

EphA2 及其与肿瘤关系的研究进展

李才政 综述,李庆文 审校

[关键词] 肿瘤;生促红素人肝细胞;酪氨酸蛋白激酶受体;综述

[中国图书资料分类法分类号] R 73 [文献标识码] A

酪氨酸蛋白激酶受体(RTKs)是将细胞外信息传递至细胞核发挥细胞效应,在细胞信号传导通路起重要作用,参与细胞的增生、分化、胚胎发育和细胞内信号转导以及肿瘤的形成过程中,具有重要的生理功能^[1]。生促红素人肝细胞(erythropoietin-producing human hepatocellular, Eph)是 RTKs 家族中最大的一个家族,目前为止,已发现 14 个 Eph 受体和 8 个 Eph 配体,Eph 受体家族成员具有结构和功能上的相似性。EphA2 是 Eph 受体之一,它广泛表达于不同的肿瘤细胞中。已有研究表明,EphA2 的过表达可导致细胞的恶性转化,且与肿瘤的浸润、转移及血管的形成有密切关系。

1 EphA2 基因及结构

EphA2 是 Lindberg 等^[2]用简并引物从人角化上皮细胞 cDNA 文库中筛选得到的一个 Eph 家族成员,广泛表达于人类上皮来源的细胞,包括皮肤、肠道上皮、肺及卵巢组织等。作为 Eph 亚家族成员中被发现的具有酪氨酸酶活性的第一个基因编码产物,其基因定位于染色体 1p36.1^[3],cDNA 全长 4.7 kb,编码含有一个 976 个氨基酸的多肽,相对分子量为 130 000,为膜结合 I 型糖蛋白。EphA2 包括一个氨基酸末端胞外配体结合域、一个跨膜结构域和一个胞内酶结构域^[4],其中胞外区由一个 N 端球状结构域、一个独特的富含半胱氨酸的基序和两个黏连蛋白 III 型重复区构成,胞内区则由具有酪氨酸激酶活性的结构域、SAM 结构域^[5]和定位于 C 端为 PDZ 结构域结合基序组成。

2 EphA2 稳定性调节

有研究证实,肿瘤细胞向更高恶性表型进展时,

EphA2 的蛋白水平增加与其 mRNA 水平增加不成比例。在乳腺癌、子宫颈癌的研究^[6-7]已表明,EphA2 的蛋白水平与其 mRNA 水平不呈现相应的增高。在一些肿瘤细胞的模型中 EphA2 的表达高于其基因水平的 50~500 倍^[7-8]。目前这种现象的确切机制仍不清楚,在已有的证据基础上,研究推测可能由于配体刺激减少所导致的 EphA2 降解减少而引起肿瘤细胞中 EphA2 的高表达^[8-9]。为了揭示 EphA2 稳定性的调控机制,有研究者提出了一个假设,即是否配体的刺激能导致 EphA2 与其下游的信号蛋白接触并导致 EphA2 的降解^[9]。由于 c-Cbl 与其他酪氨酸受体激酶的降解有关,研究者将重点放在了 c-Cbl 蛋白上,c-Cbl 的过表达能降低 EphA2 的蛋白表达水平,相反,c-Cbl 降低则能抑制 EphA2 的降解,使 EphA2 表达水平增加,但 EphA2-Cbl 结合的分子基础目前还不清楚。EphA2 在酪氨酸 813 上有一个 c-Cbl 的结合位点^[2],但该位点的突变不能阻止配体介导的降解。可能 c-Cbl 通过另一种不同的位点或中介物与 EphA2 结合。有研究^[10-11]显示,EphA2 可以与 GRB2 交联,而 GRB2 能和 c-Cbl 共同调节泛素和其他酪氨酸蛋白激酶受体的降解。EphA2 的蛋白质在癌组织中积聚或降解通路发生障碍有关。在正常上皮细胞,配体与受体的结合能导致 EphA2 受体发生磷酸化,并通过其下游信号调节细胞正常的生长、发育等,同时也能促进 EphA2 受体自身的降解。而在肿瘤细胞中,EphA2 却通常处于失磷酸化的状态且表达增高。这是由于大部分恶性肿瘤组织中,细胞之间的联系很不稳定,导致 EphA2 难以有效的与膜锚定配体结合并发生磷酸化,因而其降解减少。这只是其中一部分的原因,具体原因还有待研究。

3 EphA2 在恶性肿瘤中的过表达及意义

研究表明,EphA2 广泛高表达于许多肿瘤组织中,包括乳腺癌^[7]、恶性黑色素瘤^[12]、前列腺癌^[13]、非小细胞肺癌^[14]和结肠癌^[15]等,表明 EphA2 高表达

[收稿日期] 2009-09-29

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 泌尿外科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 李才政(1981-),男,硕士研究生。

[通讯作者] 李庆文,硕士研究生导师,副教授,主任医师,Email: qwl@yahoo.com.cn

是肿瘤细胞浸润、转移的一个共同事件,但是否可将 EphA2 作为这些肿瘤的标志物尚需进一步研究。Zeng 等^[13]在前列腺癌研究, EphA2 的表达和患者的年龄、组织学分级、淋巴结转移、前列腺外扩散和血管侵袭等临床病理学指标并无统计学关系,但其表达随前列腺上皮细胞向更加恶性的表型进展而增高,而张平等^[16]报道在低分化前列腺癌及转移病例中 EphA2 表达最强且其表达与前列腺癌分级、分期及转移呈正相关。但他们都表明 EphA2 在前列腺癌表达明显增加,与临床病理特征的关系则有待进一步研究。冯延平等^[17]报道,在胰腺癌组织中, EphA2 的高表达与胰腺癌分期、转移有关,也有研究报道 EphA2 在卵巢癌^[18]和子宫颈鳞癌^[19]中 EphA2 表达与患者的年龄、FIGO 分期、组织学类型、组织分化程度及残余肿瘤大小均无关。可见, EphA2 在肿瘤中作用需要进一步的研究。尽管 EphA2 表达与肿瘤的临床分期、分级、组织学类型等的关系尚无定论,但其与肿瘤预后的关系比较肯定。最近的研究发现, EphA2 与手术后肿瘤再发生时间及向更高级别转化的关系都很密切。Herrem 等^[20]在对 34 例肾细胞癌(RCC)患者肿瘤组织的研究中发现,不管其组织病理学分级如何,高表达 EphA2 的 RCC 肿瘤体积更大($P=0.093$)、更高的分期($P<0.05$)以及更丰富的血供($P=0.05$),且 EphA2 过表达的程度(与从患者身上取得的正常肾组织相比)似乎比肿瘤再发病间隔时($P<0.001$)和患者总体生存率($P<0.001$)有更加重要的预测意义。这些数据表明, EphA2 的表达水平可以作为对肿瘤的恶性程度及患者的预后进行预测的指标。

4 EphA2 在肿瘤血管中的作用

肿瘤血管的生成对肿瘤的生长、侵袭、转移起到至关重要的作用,一旦肿瘤组织的直径超过 1 mm,将发生广泛的血管形成^[21]。Kataoka 等^[22]对大肠癌研究发现, EphA2 高表达于癌组织中,并与肿瘤组织中血管形成呈正相关,同时他们还发现在 EphA2 高表达癌细胞区周围环绕大量的新生微血管。研究^[23]证实, EphA2 能促进肿瘤血管内皮细胞的迁移,并通过影响细胞骨架、基质黏附和(或)细胞黏附而促进毛细血管样结构的形成, EphA1 也被证实血管重塑过程中发挥了作用,可能也有其它机制存在,即使病理性血管生成的准确机制仍未明确,但存在的证据提示由肿瘤细胞和血管内皮细胞表达的 EphA2 受体和其配体之间的相互作用,共同参与了

肿瘤血管的生成。这些表明在肿瘤血管的形成是一个涉及大量不同分子信号的多步骤过程。由于肿瘤的血管对肿瘤的生长、浸润、转移有重要意义,故目前,抗肿瘤血管基因的治疗日益受到重视,并且有可能以后成为肿瘤治疗的重要手段之一。EphA2 和 EphA1 在恶性肿瘤细胞和肿瘤血管内皮细胞共同表达的特征,为抗肿瘤血管基因的治疗提供了较为理想的靶,通过抑制 EphA2/EphA1 的表达而抑制肿瘤血管生成的同时,也影响了肿瘤细胞。因此,在以后的基因治疗中,不仅可以通过杀伤肿瘤细胞,而且可以通过将 EphA2 作为靶蛋白来影响肿瘤血管的形成,从而起到抑制肿瘤生长的作用^[24]。

5 EphA2 在肿瘤细胞迁移中的作用

细胞迁移是肿瘤侵袭和转移的重要环节,与肿瘤细胞某些黏附分子表达的减弱有关,肿瘤细胞脱离与周围细胞的附着,造成肿瘤的浸润与转移,细胞与细胞外基质(ECM)的黏附与解离是其必要的步骤。EphA2 的过表达不仅能导致正常细胞的恶性转化,而且能增强肿瘤细胞侵袭的能力,这可以通过削弱肿瘤细胞之间的连接,增加肿瘤细胞与 ECM 成分的黏附和增强在基质的侵袭等几方面来实现^[4]。Fox 等^[25]对 3 种乳腺上皮细胞(MCF-10A、MCF-7 和 MDA-MB-231)的研究结果表明, EphA2 在侵袭性乳腺癌细胞中的表达明显高于在其他两种细胞中的表达,与上述观点相一致。因此, EphA2 的突变、过表达、异常定位和(或)对 2 周异常活化,可能与肿瘤的发生、恶性程度及转移有关。

EphA2 可通过与细胞黏附分子作用而影响细胞与细胞之间的黏附。与 EphA2 的相互作用中最常见的黏附分子是 E-钙黏素(E-cadherin),是胚胎早期和成人上皮细胞的主要黏附分子,缺乏这种分子将影响 EphA2 受体和配体的表达和亚细胞定位^[26-27]。Zantek 等^[26]报道 E-钙黏素在功能正常的正常上皮细胞中, EphA2 是酪氨酸磷酸化的,并位于细胞与细胞连接区,而在 E-cadherin 功能缺陷或不表达的乳腺癌上皮细胞中, EphA2 磷酸化的量很少并定位于细胞膜的皱褶处,被 E-钙黏素活化的 EphA2 将导致 ECM 黏附以及细胞生长的降低。有研究证明, Eph 受体能够上调整合素调节的黏附作用。整合素是与细胞外基质中蛋白结合的细胞表面受体,其能够诱发信号传导通路^[28]。Eph 受体就是通过调节整合蛋白的活性来影响细胞的运动和黏附。EphA2 可通过分子水平控制整合素活性如磷脂

酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 和 FAK^[21], 从而影响细胞间的黏附。Miao 等^[29] 研究发现在 PC23 前列腺癌细胞上, 激活的内源性 EphA2 与 EphA1 配体结合显示出短暂的抑制整合素调节的细胞黏附作用, 还发现 EphA2 激酶能够诱导整联蛋白的非活性重组并抑制细胞的扩散、迁移和整联蛋白调节的黏附。类似研究也证实, EphA1 刺激所引起的 EphA2 活化在引起 FAK 和桩蛋白的去磷酸化、FAK-EphA2 复合体降解后能迅速引起 EphA2 的酪氨酸激酶 SHP2 的募集。

总之, EphA2 是一个很有意义的基因, 有望作为某些肿瘤的早期诊断、恶性程度和预后判断的指标, 并可成为肿瘤基因治疗的新靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Yarden Y, Ullrich A. Growth factor receptor tyrosine kinase [J]. *Annu Rev Biochem*, 1988, 57: 443 - 478.
- [2] Lindberg RA, Hunter T. cDNA cloning and characterization of Eck, an epithelial cell receptor protein-tyrosine kinase in the eph/Eck family of protein kinases [J]. *Mol Cell Biol*, 1990, 10(12): 6316 - 6324.
- [3] Sulman EP, Tang XX, Allen C, et al. ECK, a human EPH-related gene, maps to 1p36.1, a common region of alteration in human cancers [J]. *Genomics*, 1997, 40(2): 371 - 374.
- [4] Walker-Daniels J, Hess AR, Hendrix MJ, et al. Differential regulation of EphA2 in normal and malignant cells [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(4): 1037 - 1042.
- [5] Stapleton D, Balan I, Pawson T, et al. The crystal structure of an Eph receptor SAM domain reveals a mechanism for modular dimerization [J]. *Nat Struct Biol*, 1999, 6(1): 44 - 49.
- [6] Wu D, Suo Z, Kistensen GB, et al. Prognostic value of EphA2 and EphrinA-1 in squamous cell cervical carcinoma [J]. *Gynecol Oncol*, 2004, 94(2): 312 - 319.
- [7] Zelinski DP, Zantek ND, Stewart JC, et al. EphA2 overexpression causes tumorigenesis of mammary epithelial cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 2301 - 2306.
- [8] Zantek ND, Walker-Daniels J, Stewart J, et al. MCF-10A-NeoST: a new cell system for studying cell-ECM and cell-cell interactions in breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(11): 3640 - 3648.
- [9] Walker-Daniels J, Riese DJ, Kinch MS. c-Cbl-dependent EphA2 protein degradation is induced by ligand binding [J]. *Mol Cancer Res*, 2002, 1(1): 79 - 87.
- [10] Wong A, Lamothe B, Lee A, et al. FRS2 alpha attenuates FGF receptor signaling by Grb2-mediated recruitment of the ubiquitin ligase Cbl [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(10): 6684 - 6689.
- [11] Waterman H, Katz M, Rubin C, et al. A mutant EGF-receptor defective in ubiquitylation and endocytosis unveils a role for Grb2 in negative signaling [J]. *EMBO J*, 2002, 21(3): 303 - 313.
- [12] Easty DJ, Bennet DC. Protein tyrosine kinases in malignant melanoma [J]. *Melanom Res*, 2000, 10(5): 401 - 411.
- [13] Zeng G, Hu Z, Kinch MS, et al. High-level expression of EphA2 receptor tyrosine kinase in prostatic intraepithelial neoplasia [J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(6): 2271 - 2276.
- [14] Kinch MS, Moore MB, Harpole DH Jr. Predictive value of the EphA2 receptor tyrosine kinase in lung cancer recurrence and survival [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(2): 613 - 618.
- [15] Li Z, Tanaka M, Kataoka H, et al. EphA2 Up-regulation induced by deoxycholic acid in human colon carcinoma cells, an involvement of extracellular signal-regulated kinase and p53-independence [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2003, 129(12): 703 - 708.
- [16] 张平, 陈晓春, 陈江, 等. EphA2 和 E-cadherin 在前列腺癌中的表达及其意义 [J]. *华中科技大学学报: 医学版*, 2005, 34(1): 51 - 54.
- [17] 冯延平, 黄涛, 高军, 等. EphA2 与 E-cadherin 在胰腺癌中的表达及其意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 1(12): 914 - 917.
- [18] 韩丽萍, 董子明, 乔玉环, 等. 卵巢癌组织中 EphA2 受体蛋白的表达 [J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2005, 40(2): 308 - 401.
- [19] 吴丹, 李珊珊, 乔玉环, 等. 宫颈鳞癌组织中 EphA2 基因的表达 [J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2004, 39(3): 381 - 385.
- [20] Herrem CJ, Tatsumi T, Olson KS, et al. Expression of EphA2 is prognostic of disease-free interval and overall survival in surgically treated patients with renal cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(1): 226 - 231.
- [21] Setfor EA, Meltzer PS, Schatteman GC, et al. Expression of multiple molecular phenotypes by aggressive melanoma tumor cells; role in vasculogenic mimicry [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2002, 44(1): 17 - 27.
- [22] Kataoka H, Igarashi H, Knaamori M, et al. Correlation of EphA2 over expression with high microvessel count in human primary colorectal cancer [J]. *Cancer Sci*, 2004, 95(2): 136 - 141.
- [23] Pandey A, Shao H, Makris RM, et al. Role of B61, the ligand for the Eck receptor tyrosine kinase in TNF-alpha-induced angiogenesis [J]. *Science*, 1995, 268(5210): 567 - 569.
- [24] Brantley-Sieders DM, Fang WB, Hiels DJ, et al. Impaired tumor microenvironment in EphA2-deficient mice inhibits tumor angiogenesis and metastatic progression [J]. *AFSEB J*, 2005, 19(13): 1554 - 1556.
- [25] Fox BP, KandPal RR. Invasiveness of breast carcinoma cells and transcript profile; Eph receptors and ephrin ligands as molecular markers of potential diagnostic and prognostic application [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 318(4): 882 - 892.
- [26] Zantek ND, Azimi M, Fedor-Chaiken M, et al. E-cadherin regulates the function of the EphA2 receptor tyrosine kinase [J]. *Cell Growth Differ*, 1999, 10(9): 629 - 638.
- [27] Osrulic S, Kemler R. Expression of Eph receptors and ephrins is differentially regulated by E-cadherin [J]. *J Cell Sci*, 2000, 113(Pt 10): 1793 - 1802.
- [28] Maulik G, Shrikhande A, Kijimat T, et al. Role of the hepatocyte growth factor receptor c-Met, in oncogenesis and potential for therapeutic inhibition [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2002, 13(1): 41 - 59.
- [29] Miao H, Burnett E, Kinch M, et al. Activation of EphA2 kinase suppresses integrin function and causes focal-adhesion-kinase dephosphorylation [J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(2): 62 - 69.

(本文编辑 刘畅)