

Research Progress on the Correlation between Epiregulin and Tumors

Mei Li¹ Qun Hu^{2*}

1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

2. The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

Abstract

Epiregulin (EREG) is a ligand of the epidermal growth factor receptor (EGFR), a member of the EGF family. The EGF family includes Epiregulin (EREG) and tumor growth factors- α (TGF- α), Epidermal Growth Factor (EGF), Heparin Binding EGF like Growth Factor (HB-EGF) β There are a total of 8 members, including Betacellulin (BTC), AREG, Epigen (EPGN), and Neuregulin (NRG). Epithelial regulatory factors play an important regulatory role in the occurrence, development, invasion, and migration of tumors. In recent years, multiple research results have shown that the expression level of EREG may be related to the prognosis and drug efficacy prediction of tumor patients. A deeper understanding of epidermal mediators can bring new breakthroughs and progress to the research on overcoming cancer. This paper provides a review of the structure, function, and research on EREG in the occurrence and development of various human tumors.

Keywords

recombinant epiregulin; epidermal growth factor receptor; tumour

表皮调节素与肿瘤的相关性研究进展

丽梅¹ 呼群^{2*}

1. 内蒙古医科大学, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

2. 内蒙古医科大学附属医院, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

摘要

人类表皮调节素 (EREG) 是表皮生长因子受体 (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR) 的配体, 属于EGF家族之一。EGF家族包括表皮调节素 (Epiregulin, EREG)、肿瘤生长因子- α (TGF- α)、表皮生长因子 (Epidermal Growth Factor, EGF)、肝素结合性EGF样生长因子 (HB-EGF)、 β 细胞素 (Betacellulin, BTC)、AREG、上皮细胞有丝分裂原 (epigen, EPGN) 和神经调节素 (Neuregulin, NRG) 共8个成员。其中表皮调节素在肿瘤的发生、发展、侵袭和迁移等方面有极其重要的调控作用。近年来, 多项研究结果表明EREG的表达水平可能与肿瘤患者的预后及药物疗效预测相关。深入了解表皮调节素, 可对攻克癌症的研究带来新的突破和进展。论文就EREG的结构、功能以及在人类各类肿瘤的发生发展中的研究做一综述。

关键词

表皮调节素; 表皮生长因子受体; 肿瘤

1 引言

EREG 异常激活表皮生长因子受体 (EGFR/ERBB1) 可导致多种恶性肿瘤, 包括肺癌和结直肠癌 (CRC)。表皮调节蛋白 (Epiregulin, EREG) 作为 EGFR 的配体, 在癌症组织当中的表达要高于正常组织。癌症组织中 EREG 升高通过激活 EGFR 信号通路, 促进癌症发展。有研究发现, 在带有野生型 Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物 (KRAS) 的

结直肠癌中, 较高的 EREG 表达水平与更好的治疗效果有关。与此相反, 抗 egfr 治疗在结直肠癌中的耐药是由低 EREG 表达、异常基因突变和信号通路改变驱动的。此外, EREG 在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中的过表达有望成为 egfr-酪氨酸激酶抑制剂 (EGFR-TKI) 的治疗靶点。在论文中, 我们总结了 EREG 表达的临床结果以及该配体在癌症发生发展过程中的作用。EREG/EGFR 通路可能是一个潜在的靶点, 并可能与其他驱动突变靶点结合起来对抗特定的癌症。

【作者简介】丽梅 (1997-), 女, 蒙古族, 中国内蒙古通辽人, 在读硕士, 从事非小细胞肺癌研究。

【通讯作者】呼群 (1973-), 男, 蒙古族, 中国内蒙古呼和浩特人, 博士, 主任医师, 从事肺癌研究。

2 EREG 的结构及其 EREG/EGFR 信号转导通路

表皮调节素 (Epiregulin, EREG) 位于人类 4 号染色体 q13.3, 其编码合成由 162 个氨基酸组成的表皮调节跨膜

蛋白^[1]。在细胞质膜上的G蛋白偶联受体(GPCR)与相关配体包括内皮素-1、血管紧张素-II和 α -凝血酶作用下刺激特异性金属蛋白酶,如去整合素和金属蛋白酶(ADAM)家族成员,成为46个氨基酸的可溶性EGFR蛋白释放。成熟的EGFR蛋白包含N末端信号肽、前肽区、EGF-like短近膜茎、疏水跨膜结构域和胞质结构域。可溶性EGFR蛋白通过旁分泌、自分泌、远端分泌方式激活表皮生长因子受体(EGFR)。可溶性EGFR与EGFR、ERBB4等ERBB结合形成同源二聚体或异源二聚体,并激活内部激酶域,启动下游信号级联反应^[2]。EGFR-EGFR轴生理情况下调控细胞的生长,异常激活后会导致细胞不可控制地生长,促进肿瘤的发生和发展。

3 EREG 和肿瘤

EGFR在大多数人和小鼠组织中表达低或不表达。研究发现,EGFR通常在各种癌症类型中表达均上调,包括非小细胞肺癌、乳腺癌、胃癌、头颈癌、卵巢癌、结肠直肠癌、宫颈癌和膀胱癌等。EGFR与配体结合后,EGFR触发下游途径的磷酸化,如MAPK、PI3K-AKT、JAK-STAT和PLC γ 1-PKC途径,导致肿瘤细胞不可控制的生长及癌细胞扩散。

3.1 EREG 对肿瘤细胞生长和凋亡的影响

研究发现EGFR在癌性组织与正常组织中差别表达,EGFR基因在Kirsten大鼠肉瘤病毒同源癌基因(KRAS)突变的非小细胞肺癌(Non-small Cell Lung Cancer, NSCLC)细胞或表达KRAS突变的永生化细胞中过表达,而在人非癌性支气管上皮细胞中表达水平较低,这意味着EGFR在肿瘤发生中发挥作用。Lee等人证实,与从人乳腺标本中分离的正常上皮相比,增生性增大的小叶单位中EGFR和AREG的表达水平明显升高^[3],这表明EGFR配体在肿瘤起始的早期阶段存在差异调节。并且Mariya等通过qRT-PCR研究发现与非转化乳腺上皮细胞MCF10A细胞株相比,MCF10DCIS细胞株的EGFR表达水平增加100倍以上,提示EGFR与乳腺组织细胞异常增殖相关。使用shRNA敲低MCF10DCIS细胞中的EGFR基因后植入裸鼠皮下,结果导致裸鼠肿瘤生长速度较对照明显降低^[4]。此外,Tianye等人通过体外实验表明,敲低EGFR会破坏宫颈癌细胞的增殖并促进癌细胞凋亡。表明,EGFR的缺失导致肿瘤细胞在体内生存的减少。

多形性胶质母细胞瘤(GBM)是最常见和最具侵袭性的原发性脑肿瘤。通过GBM细胞系LN443和U373在小鼠中的单次皮下传代,开发出了这些细胞的高度侵袭性变体。高度侵袭性变体显示出更强的肿瘤生长、集落形成潜力、球体形成潜力和侵袭能力。使用微阵列分析将恶性细胞与其亲代细胞进行比较,并使用mRNA表达分析对II至IV级胶质瘤样本进行进一步研究,发现脂肪细胞增强子结合蛋白1、EGFR和微纤维相关蛋白5被鉴定为与较高肿瘤级别和不良预后相关的候选基因。免疫组织化学分析表明EGFR的强表达与短

的总生存期相关^[5]。此外,发现EGFR引入GBM细胞系能增加表皮生长因子受体(EGFR)和细胞外信号调节激酶的磷酸化,并促进集落形成、球体形成和体内肿瘤形成^[6]。

3.2 EREG 对肿瘤细胞侵袭和转移的影响

上皮细胞-间充质转化(Epithelial-Mesenchymal Transition, 简称EMT),是指上皮细胞通过特定程序转化为具有间质表型细胞的生物学过程。其在来源于上皮组织的恶性肿瘤的侵袭及转移能力具有重要作用。Yujia Wang等通过研究发现在口腔鳞癌(Oral Squamous Cell Carcinoma, OSCC)细胞中EGFR可通过JAK2/STAT3和IL-6信号通路诱导上皮细胞-间充质转化进而促进肿瘤细胞的迁移和转移^[7]。远处转移通常是实体恶性肿瘤进展的最致命的一步。在具有肺转移潜能的乳腺癌细胞中发现了一组肺转移特征基因(LMS),包括EGFR、COX2和MMP1/2。研究发现LMS基因介导乳腺癌原发肿瘤生长、血管生成和转移性外渗。此外,联合药物(西妥昔单抗/塞来昔布/GM6001)对这些介质的阻断显著降低了转移进展。

有关EGFR在宫颈癌中的研究表明,EGFR可降低肿瘤微环境中浸润的免疫细胞,并且EGFR表达水平与CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL8和CCL20等免疫负性趋化因子呈正相关,间接影响免疫系统对肿瘤细胞的杀伤作用而促进肿瘤进展。在伴有肝转移的结肠癌中,通过基因表达分析发现EGFR为转移相关基因^[8]。细胞间黏附性改变是肿瘤细胞侵袭和转移的基础。抗EGFR抗体能显著抑制表达EGFR的结肠细胞的粘附和扩散。此外,抗EGFR抗体可有效抑制EGFR而非EGFR激活的下游EGFR信号通路。这些结果表明EGFR-EGFR信号通路与细胞粘附和迁移有关。

4 EREG 在肿瘤耐药机制中的作用

抗肿瘤靶向药物的应用不仅治疗效果显著,而且副作用较少,因此在肿瘤治疗中得到广泛应用。尽管靶向治疗已经得到越来越广泛的临床应用,但不可避免出现耐药问题。与卡铂/紫杉醇化疗相比,EGFR酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)吉非替尼靶向治疗亚洲EGFR突变NSCLC患者在客观缓解率和中位无进展生存期方面产生了更有利的结果。然而,尽管EGFR-TKI治疗在临床结果上有初步改善,但9~14个月内仍出现获得性耐药。

最近的一项研究显示,EGFR配体导致NSCLC患者对TKI(如厄洛替尼)耐药。研究发现7种EGFR配体中只有EGFR显著降低癌细胞对TKIs的敏感性,并与NSCLC患者对厄洛替尼的反应降低有关。潜在机制为EGFR通过EGFR/ERBB2和AKT信号通路降低TKI诱导的细胞凋亡。通过单细胞RNA测序发现,EGFR主要在NSCLC肿瘤微环境(Tumor Microenvironment, TME)中巨噬细胞表达。并且,EGFR富集的巨噬细胞条件培养基诱导EGFR-TKI耐药性。虽然发现,肿瘤相关巨噬细胞(Tumor Associated

Macrophages, TAMs) 产生的 EREG 导致 TME NSCLC 细胞耐药。然而, EREG 在肿瘤发生发展的复杂过程中的作用还需要在更多的基础及临床研究中得到证实。

他莫昔芬是雌激素受体 (ER) 阳性乳腺癌患者的有效抗癌药物, 但因其耐药常常导致 ER 阳性乳腺癌患者复发或转移。癌细胞的糖代谢不同于正常细胞, 有氧状态下的糖酵解为其主要获能方式, 葡萄糖是其唯一能量底物, 已被证明和化疗药物耐药性有关。研究证明, EREG 可通过激活他莫昔芬耐药乳腺癌细胞中的 EGFR 信号和下游糖酵解基因, 加强癌细胞的有氧糖酵解。此外, 发现 EREG 是 miR-186-3p 的直接靶点, 他莫昔芬通过抑制耐药细胞中靶向 EREG 的 miR-186-3p 的抑制, 增强了 EREG 的表达, 向携带他莫昔芬耐药乳腺癌小鼠全身递送胆固醇修饰的 agomiR-186-3p 可以有效地减弱肿瘤生长和 [18F]- 氟脱氧葡萄糖摄取。miR-186-3p/EREG 轴在 ER- 阳性乳腺癌中协调他莫昔芬耐药性和有氧糖酵解。

5 EREG 作为恶性肿瘤的生物标记物

5.1 作为预测因子的作用

靶向治疗是目前肿瘤治疗中的一个里程碑、一个飞跃。它给肿瘤治疗带来了新的篇章, 大量的临床试验已经证明了靶向治疗在临床当中具有不可替代的位置。但预测靶向治疗疗效相关生物标记物目前还未在临床上广泛应用。在 meta 分析中, mCRC 患者野生型 RAS, 以及 AREG 和 EREG 过表达, 使用西妥昔单抗或帕尼单抗治疗比其他患者有更好的生存结果。在 III 期试验研究 (CO.17) 中, 具有野生型 KRAS 和高 EREG mRNA 表达而非低 EREG 表达的 aCRC 患者在接受西妥昔单抗治疗后, OS 和 PFS 延长, 因此 EREG 表达水平可作为 KRAS 野生型 mCRC 患者接受抗 EGFR 抗体治疗疗效预测及患者生存期预测指标。近期 Qing Lai 等人通过生物信息分析发现, 在结肠癌中 EREG 表达水平与肿瘤微环境中浸润活化的 CD4+T 淋巴细胞呈正相关, EREG 表达水平越高, 结肠癌患者对免疫治疗越敏感, 认为 EREG 是结肠癌患者接受免疫治疗疗效的有希望的生物标志物。但仍需在临床上进一步探索和验证。

Abraham Amsterdam 等人用免疫组化染色方法检测女性卵巢良性、交界性及恶性肿瘤切片中的 EREG 表达和分布, 发现 EREG 在卵巢恶性肿瘤的染色最为明显, 交界性肿瘤其次, 良性肿瘤最为浅, 提示卵巢良性肿瘤和恶性肿瘤不同发展阶段的 EREG 蛋白水平显著不同, 所以 EREG 可以作为卵巢肿瘤发展过程中一个敏感的早期标记物。

5.2 作为预后因子的作用

对胃癌组织中的 EREG 进行免疫组化发现, 其在胃癌组织中的表达与患者预后显著相关。研究发现 EREG 在胃癌组织中的表达显著高于邻近非癌组织。并且, 胃癌中 EREG 蛋白的高表达与 TNM 分期显著相关, EREG 表达量越高分期越晚。在从 253 名胃癌根治术患者获得癌组织并进行免

疫组化分析发现, 高表达 EREG mRNA 患者的总生存率明显低于低表达组, 此外, 多因素分析显示 EREG mRNA 表达是不良生存率的独立预测因子。例如, EREG 在结肠癌及腺瘤中的表达水平显著高于正常结肠黏膜, 并且 EREG 在血清和肿瘤组织中的表达水平与预后不良呈正相关。研究发现, T3、T4 期宫颈癌患者 EREG 表达水平明显高于早期患者, 表明 EREG 表达增加导致宫颈癌的临床结果更差。此外, 一项宫颈癌癌标志基因的泛癌生存分析表明, EREG 可导致复制性永生。在接受伊立替康一线化疗的 mCRC 患者中, EREG mRNA 的高表达 (而非 AREG) 与较长的 OS 和无进展生存期 (PFS) 相关。

6 展望

经过对 EREG 的深入研究发现 EREG 有可能作为治疗恶性肿瘤的潜在靶点, 还可作为有价值的预测和预后生物标志物。尽管研究发现 EREG 在肿瘤发生发展的复杂过程中发挥一定的作用, 但 EREG 促进癌症发展的机制还需要在更多体内体外试验中得到证实。随着研究工作的不断深入, 人们对 EREG 将会有进一步的认识, 相信在人类抗癌事业中将会发挥更大的作用。

参考文献

- [1] Toyoda H, Komurasaki T, Uchida D, et al. Epireregulin. A novel epidermal growth factor with mitogenic activity for rat primary hepatocytes[J]. The Journal of biological chemistry, 1995(13):270.
- [2] Sahin U. Distinct roles for ADAM10 and ADAM17 in ectodomain shedding of six EGFR ligands[J]. Journal of Cell Biology, 2004,164(5):769-779.
- [3] Komurasaki T, Toyoda H, Uchida D, et al. Epireregulin binds to epidermal growth factor receptor and ErbB-4 and induces tyrosine phosphorylation of epidermal growth factor receptor, ErbB-2, ErbB-3 and ErbB-4[J]. Oncogene, 1997,15(23):2841-2848.
- [4] Sunaga N, Kaira K, Imai H, et al. Oncogenic KRAS-induced epiregulin overexpression contributes to aggressive phenotype and is a promising therapeutic target in non-small-cell lung cancer[J]. Oncogene, 2013,32(34):4034-4042.
- [5] Sangjun Lee, Dan Medina, Anna Tsimelzon, et al. Craig Allred. Alterations of Gene Expression in the Development of Early Hyperplastic Precursors of Breast Cancer[J]. American Journal Of Pathology, 2007,171(1):252-262.
- [6] Mariya, Farooqui, Laura, et al. Epireregulin contributes to breast tumorigenesis through regulating matrix metalloproteinase 1 and promoting cell survival[J]. Molecular Cancer, 2015.
- [7] Li T, Feng R, Chen B, et al. EREG is a risk factor for the prognosis of patients with cervical cancer[J]. Front Med (Lausanne), 2023,20(10):1161835.
- [8] Zhou Y, Xiao D, Jiang X, et al. EREG is the core onco-immunological biomarker of cuproptosis and mediates the cross-talk between VEGF and CD99 signaling in glioblastoma[J]. Journal of Translational Medicine, 2023,21(1):1-25.