

整合素与 EGFR 交叉信号通路在恶性肿瘤侵袭转移机制中的研究进展

段媛媛 王瑜玲 梁欢 张燕 刘慈

摘要 侵袭转移是恶性肿瘤的基本生物学特征,是临床抗肿瘤失败及患者死亡的最主要原因。整合素(integrin)作为黏附分子家族的成员之一,通过介导细胞与细胞或细胞与基质间的黏附作用,经一系列信号转导,在肿瘤转移进程中发挥关键作用,且与肿瘤耐药机制有很大相关性。而表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在恶性肿瘤转移及耐药中亦扮演着重要角色。随着研究深入,整合素家族与 EGFR 信号通路的交叉关系逐步明确,这将进一步揭开肿瘤转移的面纱,为以后新药开发、临床应用开辟新的思路。现就整合素家族中部分成员分子与 EGFR 信号通路间存在的交叉关系及其在肿瘤转移中的作用做简要概述。

关键词 整合素 EGFR 侵袭 转移 恶性肿瘤

中图分类号 R730.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.06.004

恶性肿瘤的侵袭转移是目前肿瘤治疗的最大难题,是临床上肿瘤复发、治疗失败和患者死亡的最主要原因^[1]。有研究表明,肿瘤细胞之所以能在特定的器官发生和转移,肿瘤微环境在其中起着至关重要的作用^[2]。而肿瘤侵袭转移又是肿瘤细胞、宿主和肿瘤微环境之间一系列复杂、多因素、多步骤相互作用的序贯连续过程。在肿瘤微环境中,黏附分子家族是介导肿瘤转移的关键分子,其中整合素作为黏附分子家族的重要成员之一,是一类跨膜糖蛋白受体,在肿瘤发生、发展及侵袭转移等生物学过程中发挥至关重要的作用。而 EGFR 属于酪氨酸激酶 I 型受体家族,可通过其下游 Ras/Raf/Erk/MAPK 和 PI₃K/PDK1/Akt(PKB)等信号通路调节多种恶性肿瘤细胞的生长、分化、增殖、凋亡及转移等生物学行为^[3-6]。而整合素表达异常与 EGFR 表达异常存在相关性,并且二者之间的相互作用在肿瘤发生、增殖及侵袭转移中发挥重要作用^[7-10]。那么二者之间可能存在的这种交叉联系又是如何在肿瘤转移中发挥协同作用的呢?下面将对近年来关于二者间的交叉信号通路研究现状做简要概述,为后续研究奠定基础。

一、整合素的结构与功能特点

整合素家族是一类由 α [(120 ~ 185) kDa] 和 β [(90 ~ 110) kDa] 两个亚单位通过非共价键所构成的跨膜异二聚体糖蛋白。迄今已发现约 18 种 α 亚单位和 8 种 β 亚单位,由于 α 亚单位和 β 亚单位的 mRNA 选择性拼接和转录后修饰的多样性,形成至少 25 种异二聚体的整合素形式,且两个亚单位并非随机组合,其配对均具有特定的结合性质和独有的信号转导特征。每个亚单位都有 1 个较长的细胞外片段(extracellular domain)、1 个跨膜片段(transmembran domain)、1 个较短的细胞内片段(intracellular domain)(β_4 除外)。细胞外片段是黏附分子的配体结合部位,可以识别配体分子中的特定序列如精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD),而整合素的配体大多为细胞外基质成分,如胶原(collagen)、纤维连接蛋白(fibronectin, FN)和层粘连蛋白(laminin, LN)等,有些可能与可溶性的配体如纤维蛋白原(Fibrinogen)及一些细胞表面分子(如 ICAM-1、MAdCAM-1)结合,介导细胞-细胞以及细胞-细胞外基质(extracellular matrix, ECM)之间的黏附,并且传递信号介导胞内反应;跨膜区域则相对保守;但细胞内片段则通过直接或间接方式与细胞骨架蛋白连接后引起细胞的形态改变;也可直接激活细胞内某些酶链系统,从而引发一系列信号转导^[11]。以此来介导细胞与细胞以及细胞与细胞外基质的黏附,并借此维持细胞形态,影响细胞的黏附、运动、吞噬等作用。此

作者单位:050017 石家庄,河北医科大学研究生学院(段媛媛);
050021 石家庄市第五医院(王瑜玲);050011 石家庄市第一医院
(梁欢、张燕、刘慈)

通讯作者:张燕,副教授、硕士生导师,电子信箱:13315978336@163.com

外,不同亚单位在机体不同状态下对细胞的侵袭和转移作用表现亦不同,可表现为促进或抑制,例如在病理状态下,其促进作用就会占主导地位。

如前所述,整合素分子广泛存在于生物体表面,因此在体内分布极其广泛,表现为一种整合素可以分布于多种细胞,而同一种细胞又往往有多种整合素表达,这也就决定了整合素作用广泛而复杂的特点。整合素家族为一组亲异性细胞黏附分子,其作用依赖于 Ca^{2+} 的存在,并具有两种主要功能:一种是介导细胞-细胞及细胞-ECM 间的相互作用,可直接黏附到 ECM 上,为细胞迁移和转移提供足够动力;另一种则是细胞内外信号传递的重要参与者。整合素就是通过以上两种功能来调节多种类型肿瘤细胞的依赖性黏附、生长、增殖、迁移、侵袭和血管生成等各个生物学行为过程,其异常表达与肿瘤转移及耐药密切相关。

二、EGFR 的结构与功能特点

人类表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因位于 7 号染色体上 p13 ~ q22 区,由 28 个外显子组成,全长近 200kb,相对分子质量约为 170kDa,是第 1 个被发现的酪氨酸激酶受体(RTKs)家族的成员。EGFR 的结构分为胞外配体结合区、跨膜疏水区、胞内酪氨酸激酶区三部分。胞外配体结合区为 N 端的 621 个氨基酸残基,对热量稳定;跨膜疏水区是一段由 23 个氨基酸残基构成的 α 螺旋结构的疏水区,通过脯氨酸与胞外配体结合区相连;胞内区实际上由 542 个氨基酸残基构成 3 个亚区,分为近膜区、保守的酪氨酸蛋白激酶区和有 ATP 结合位点的 C 末端三部分。EGFR 磷酸化位点位于 C 末端亚区,自身磷酸化后激活其下游信号分子,启动 EGFR 信号通路,进而完成跨膜信号的转导。

EGFR 活化后下游有 3 条主要的信号通路:① Ras/Raf/MEK/Erk 通路,该通路是目前研究最为透彻的信号通路,其中 Ras 的活化在该通路中起关键作用,活化后催化细胞核内 ERK1/2 等转录因子的丝/苏氨酸残基磷酸化,促进基因转录、细胞分裂和分化;② $\text{PI}_3\text{K}/\text{PDK1}/\text{Akt}$ 通路,这是重要的抗凋亡通路,活化后能够持续地促进细胞增殖,通过抑制磷酸化后的 Akt 能够显著预防细胞程序性死亡;③ JAK/STAT 通路,EGFR 能够通过依赖 JAK 和不依赖 JAK 的两种机制调节 STAT,激活后延长细胞生存。EGFR 信号通路的异常活化在多种恶性肿瘤的发生、发展以及侵袭转移过程中均发挥重要作用。

三、EGFR 与整合素交叉信号转导通路

生物体通过精密的信号转导网络完成繁冗复杂的生理活动,因此各信号通路间的交叉反应便成为目前国内外研究的重点和热点。有国外研究报道,整合素与 EGFR 之间存在交互影响,且有学者在研究胰腺癌细胞 EGFR 信号通路时发现,在使用 EGF 刺激胰腺癌细胞活化 EGFR 信号通路的同时也间接激活了整合素 - FAK - Src - p130cas 信号通路,并发现磷酸化 FAK 可能在这一交叉通路中起着至关重要的桥梁作用^[12,13]。在此研究之后有人进一步探索发现,这两条信号通路间存在的交叉反应可能影响表皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂(EGFR - TKI)的疗效,也就是说二者之间的这种交叉关系很可能参与肿瘤耐药过程,但具体机制需进一步研究^[14]。后来丁健等^[15]在研究中进一步完整地证实了上述各个研究的猜想:FN - 整合素 - FAK - p130cas 和 EGF - EGFR - ERK 这两条经典的信号通路之间确实存在交叉反应,而 FAK 正是整合素信号通路下游关键信号分子,阻断 FAK 表达可以同时抑制以上两条信号通路间的交叉反应,而且这种交叉反应对细胞的生长、代谢及侵袭转移有着重要的影响。下面简要概述整合素家族部分成员与 EGFR 信号通路交叉关系的研究现状。

1. 整合素 $\beta 1$ 与 EGFR 的交叉信号通路:整合素 $\beta 1$ 为整合素家族重要成员,表达于多种细胞类型。早前有研究通过免疫共沉淀及转移相关等实验发现,EGF 能上调 $\alpha 2\beta 1$ 整合素的表达水平,使用 $\alpha 2\beta 1$ 阻断剂后,EGF 预处理的细胞转移水平明显降低,证明 $\alpha 2\beta 1$ 整合素利用 EGFR 作为传导因素介导基质的信号转导,间接证明了二者之间存在着相互影响,但未能推测出是 EGFR 下游具体的哪条信号通路参与这一过程。后来经不断探索发现, PI_3K 依赖的整合素 $\beta 1$ 可诱导 EGFR/Akt 不同位点磷酸化,Akt 活化后亦可通过反式激活效应上调整合素 $\beta 1$ 介导的黏附,从而在细胞抗凋亡过程中起重要作用。后来,Shibue 等^[16]成功构建了 $\beta 1$ 整合素的 siRNA,经转染、直接测序、RFQ - PCR 和 Western blot 法检测等实验方法发现,当抑制整合素 $\beta 1$ 表达后,肿瘤细胞的迁移和黏附能力均明显降低;不仅证实了整合素 $\beta 1$ 与肺癌细胞的迁移和黏附能力呈正相关,同时表明整合素 $\beta 1$ 和 FAK 信号轴在调控肺癌转移细胞的起始增殖和分布中起重要作用。Charles 等^[17]先是再次证实整合素和 EGFR 存在着交叉反应,且二者共同维持着细胞骨

架结构,介导着细胞的分化与凋亡。之后进一步提出整合素 $\beta 1$ 介导的黏附作用是通过 EGFR 的进一步活化,促使 EGFR、 $\beta 1$ 整合素、Src、p130cas 直接形成复合物,进而引起下游一系列信号转导。随后, Roman 等^[18]研究证实 FAK 在介导整合素 $\beta 1$ 依赖的肿瘤转移过程中可能起着决定性作用。近年来, Galina 等^[19]也证实了 $\alpha 5\beta 1$ 和 EGFR 之间确实形成了复合物,在降低 FAK 和 Erk 的磷酸化水平后,能够使 EGFR 和 $\alpha 5\beta 1$ 磷酸化水平同时降低,进而抑制 $\alpha 5\beta 1$ 和 EGFR 的信号转导,同时抑制肿瘤转移的进程。邓沁芳等^[20]也通过实验发现,整合素 $\beta 1$ 在非小细胞肺癌耐药细胞株中高表达,且其过表达可持续激活下游 PI_3K/AKT 信号通路,进而激活下游信号分子,参与肿瘤耐药过程,并发现使用 siRNA 抑制整合素 $\beta 1$ 表达后能够明显抑制耐药细胞株的生长及促进凋亡。因此,整合素 $\beta 1$ 与 EGFR 之间的交互作用也可能是整合素 $\beta 1$ 参与 EGFR - TKI 耐药的机制之一。

2. 整合素 $\beta 3$ 与 EGFR 的交叉信号通路:整合素 $\beta 3$ 同为整合素家族重要成员,主要介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质间的黏附,在肿瘤血管生成及远处转移过程中发挥重要作用^[21]。近几年,国内外研究者对其研究也逐渐深入。因早前在人类卵巢癌细胞的研究中,通过免疫组化和免疫共沉淀的方法证明 EGFR 和 $\alpha V\beta 3$ 的共区域化,同时证明了 $\alpha V\beta 3$ 和 EGFR 协同促进整合素介导的上皮细胞黏附。然而这两条信号通路是如何整合的?又在哪个辐合点信号被级联放大,进而使生物学功能同步发生?同 $\alpha V\beta 1$ 整合素相似,他们通过研究认为 FAK 在 EGFR 和 $\alpha V\beta 3$ 整合素信号通路中发挥着至关重要的作用。同时,有效的 EGF 刺激也需要 FAK 作为靶向的羧基端,去定位细胞表面整合素的位置,进而使 EGFR 和 $\alpha V\beta 3$ 整合素形成复合物,活化下游信号分子,使信号通路级联反应。以上表明 $\alpha V\beta 3$ 信号的性质不仅与 EGFR 的功能密切相关,也通过影响 EGFR 活性和表达水平,从而影响癌症的生物学进程。MAPK 的表达和活化也和 FAK 在卵巢癌细胞中介导 EGFR 和 $\alpha V\beta 3$ 整合素的功能相似,在 $\alpha V\beta 3$ 过表达细胞中高表达。由此可见,FAK 和 MAPK 在 $\alpha V\beta 3$ 整合素与 EGFR 触发信号转导通路中扮演着重要角色。

近年来, Balanis 等^[22]研究表明依赖于配体 FN 的整合素 $\beta 3$ - EGFR 交叉通路在人类乳腺癌发生中发挥重要作用,整合素 $\beta 3$ - EGFR - p120RasGAP 复合物的形成进一步促使下游信号传导,从而促使上皮

细胞向间质改变,促进肿瘤发生。研究还发现 $\beta 3$ 整合素 - EGFR - p120RasGAP 复合物形成后的下游分子为 RhoA 和 P190RhoGAP,二者也通过一系列信号转导机制参与肿瘤转移进程。而 Ray 等^[23]也通过实验研究进一步明确了 EGFR、integrin $\beta 3$ 、Src、FAK 之间的相互关系,与肿瘤发生、发展密切相关。由此可见,整合素 $\beta 3$ 和 EGFR 可以通过 FAK、MAPK、整合素 $\beta 3$ - EGFR - p120RasGAP 复合物等形成交叉信号转导通路共同介导完成复杂的生物学行为。

3. 整合素 $\beta 5$ 与 EGFR 的交叉信号通路:整合素 $\beta 5$ 和 EGFR 的交叉信号通路也在肿瘤细胞侵袭转移过程中扮演着不可或缺的角色。与整合素 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 相似的是, Ricono 等通过实验发现,EGFR 和整合素 $\beta 5$ 也能够形成一个分子复合物,EGF 通过刺激下游的效应器 Src 进而活化整合素 $\beta 5$,形成一个 EGFR/Src/ $\beta 5$ 信号分子路径,从而介导肿瘤的增殖、侵袭和转移^[22]。以上结果表明 Src 激酶在调节整合素 $\beta 5$ 介导的肿瘤细胞转移方面发挥了非常重要的作用。曾经认为在封闭 Src 后,整合素 $\beta 5$ 的活化即被阻滞,随后导致人类癌细胞侵袭转移的信号通路被阻断,然而最新的证据表明事实并非如此,附膜蛋白(MUC1)是一种跨膜糖蛋白,其跨膜亚基转移到细胞核后,促进转移基因的转录、上皮细胞向间质的转变,进而促进整合素 $\beta 5$ 和 EGFR 所介导的侵袭和转移,重要的是,它并不影响整合素 $\beta 1$ 所介导的转移进程^[24]。那么 MUC1 与 Src 究竟有什么样的关系?其介导转移是否依赖 Src?为了验证这个问题, Steven 等分别将 MUC1 的 siRNA 和非沉默 siRNA 转染到 Src 活化的 FG 细胞中。如他们预期的是,活化的 Src 促进整合素 $\beta 5$ 介导的细胞转移,但阻断 MUC1 的两种 siRNAs 表达后,其选择性阻滞以玻连蛋白为配体的 Src 依赖的迁移,并没有影响以胶原蛋白为配体的不依赖 Src 的迁移。接着他们进一步通过转移实验发现,以玻连蛋白为配体介导的癌细胞转移对 Src 抑制剂敏感,但由 MUC1 介导的肿瘤转移并不需要 Src 激酶的活性。由此可见,不仅 Src, MUC1 在 EGFR 和整合素 $\beta 5$ 协同刺激肿瘤转移的信号通路中也扮演着重要角色。后来,又有研究发现,整合素 $\beta 5$ 与 EGFR 的相互作用在非小细胞肺癌的转移及预后中也发挥至关重要的作用^[25]。以上研究结果均表明整合素 $\beta 5$ 与 EGFR 之间的交叉关系,但具体机制还需更深入探究。

四、展 望

肿瘤细胞发生浸润、转移,黏附分子是重要的参

与者。而整合素家族作为黏附分子家族的重要成员之一,随着研究的深入发现其不仅参与肿瘤的浸润、转移,更可能与肿瘤细胞的耐药机制有很大的相关性,该家族参与并影响了这个过程的众多环节。除上述亚单位外,仍有其他诸如整合素 $\beta 4$ 等与 EGFR 交叉反应的研究在进行,关于整合素家族与 EGFR 通路的交叉关系正逐步明朗。而深入研究整合素家族及各个成员在不同瘤种中的特征性表达及作用,以及它们与其他通路间的交叉关系将有助于加深对肿瘤发生和发展的认识,并可能为临床肿瘤早期转移诊断提供重要的分子学指标,同时对耐药克服、新药开发及治疗新思路的启发具有指导性的意义,其研究意义是深远的。

参考文献

- 1 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359 – E386
- 2 Hugo HJ, Kokkinos MI, Blick T, *et al.* Defining the E – cadherin repressor interactome in epithelial mesenchymal transition: The PMC42 model as a case study [J]. *Cells Tissues Organs*, 2011, 193(1): 23 – 40
- 3 Chang H, Oh J, Zhang X, *et al.* EGFR protein expression using a specific intracellular domain antibody and PTEN and clinical outcomes in squamous cell lung cancer patients with EGFR – tyrosine kinase inhibitor therapy [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 5153 – 5162
- 4 Park JH, Cho YY, Yoon SW, *et al.* Suppression of MMP – 9 and FAK expression by pomolic acid via blocking of NF – κ B/ERK/mTOR signaling pathways in growth factor – stimulated human breast cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(3): 1230 – 1240
- 5 Gore J, Imasuen – Williams IE, Conteh AM, *et al.* Combined targeting of TGF – β , EGFR and HER2 suppresses lymphangiogenesis and metastasis in a pancreatic cancer model [J]. *Cancer Lett*, 2016, 379(1): 143 – 153
- 6 Rey C, Faustin B, Mahouche I, *et al.* The MAP3K ZAK, a novel modulator of ERK – dependent migration, is upregulated in colorectal cancer [J]. *Oncogene*, 2016, 35(24): 3190 – 3200
- 7 Kondo S, Iwata S, Yamada T, *et al.* Impact of the integrin signaling adaptor protein NEDD9 on prognosis and metastatic behavior of human lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(22): 6326 – 6338
- 8 Steven K, Lau M, David J, *et al.* EGFR – mediated carcinoma cell metastasis mediated by integrin α v β 5 depends on activation of c – Src and cleavage of MUC1 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): 1371 – 1380
- 9 Wang H, Jin H, Beauvais DM, *et al.* Cytoplasmic domain interactions of syndecan – 1 and syndecan – 4 with α 6 β 4 integrin mediate human epidermal growth factor receptor (HER1 and HER2) – dependent motility and survival [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(44): 30318 – 30332
- 10 王可铮, 吴迪, 张令, 等. 整合素与 EGFR 受体家族相互作用在乳

- 腺癌中的作用研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2015, 36: 54
- 11 张小鹏, 王晓玉. 整合素与卵巢癌转移的相关性研究进展 [J]. *蚌埠医学院学报*, 2012, 36(2): 205 – 208
- 12 Nikolas Balanis, Carlin CR. Mutual cross – talk between fibronectin integrins and the EGF receptor: molecular basis and biological significance [J]. *Cellular Logistics*, 2012, 2(1): 41 – 56
- 13 Ricono JM, Huang M, Barnes LA, *et al.* Specific cross – talk between epidermal growth factor receptor and integrin α 5 β 1 promotes carcinoma cell invasion and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(4): 1383 – 1391
- 14 Perrine Pinon, Bernhard Wehrle – Haller. Integrins: versatile receptors controlling melanocyte adhesion, migration and proliferation [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2011, 24(2): 282 – 294
- 15 丁健, 李丹, 林纳, 等. 表皮生长因子受体和整合素通路交叉作用对胃癌细胞侵袭的影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(1): 34 – 38
- 16 Shibue T, Weinberg RA. Integrin β 1 – focal adhesion kinase signaling directs the proliferation of metastatic cancer cells disseminated in the lungs [J]. *Proc Nat Acad sci USA*, 2009, 106(25): 10290 – 10295
- 17 Charles H, STREULI, Nasreen AKHTAR. Signal co – operation between integrins and other receptor systems [J]. *Biochem*, 2009, 418(3): 491 – 506
- 18 Roman J, Ritzenthaler JD, Roser – page S, *et al.* α 5 β 1 – integrin expression is essential for tumor progression in experimental lung cancer [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 43(6): 684 – 691
- 19 Galina E Morozevich, Nadezda I Kozlova, Natalia A Ushakova, *et al.* Integrin α 5 β 1 simultaneously controls EGFR – dependent proliferation and Akt – dependent pro – survival signaling in epidermoid carcinoma cells [J]. *AGING* 2012, 4(5): 368 – 374
- 20 邓沁芳, 徐建芳, 栗波, 等. 整合素 β 1 信号通路参与非小细胞肺癌吉非替尼获得性耐药 [J]. *第二军医大学学报*, 2012, 33(6): 585 – 589
- 21 何松原, 雷开键, 等. A549 和 SK – OV – 3 细胞株中 CD44V6、整合素 α v β 3、EGFR 及 E – 钙粘素的表达差异与远处转移关系 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2015, 30(3): 225 – 228
- 22 Balanisa N, Yoshigi M, Wendt M K, *et al.* β 3 Integrin – EGF receptor cross – talk activates p190RhoGAP in mouse mammary gland epithelial cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(15): 4288 – 4301
- 23 Ray RM, Li C, Bhattacharya S, *et al.* Spermine, a molecular switch regulating EGFR, integrin β 3, Src, and FAK scaffolding [J]. *Cell Signal*, 2012, 24(4): 931 – 942
- 24 SKM Lau, DJ Shields, EA Murphy. EGFR – mediated carcinoma cell metastasis mediated by integrin α v β 5 depends on activation of c – Src and cleavage of MUC1 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36753
- 25 Bai SY, Xu N, Chen C, *et al.* Integrin α v β 5 as a biomarker for the assessment of non – small cell lung cancer metastasis and overall survival [J]. *Clin Respir J*, 2015, 9(4): 457 – 467

(收稿日期: 2016 – 09 – 29)

(修回日期: 2016 – 10 – 18)