

NgBR 在肿瘤中潜在机制的研究进展

杨 阳 林 劼 柯亭羽

摘 要 神经轴突生长抑制因子-B受体(neurite outgrowth inhibitor B receptor, NgBR)是神经轴突生长抑制因子-B(neurite outgrowth inhibitor B, Nogo-B)氨基末端特异性的受体,可以和Nogo-B特异性结合从而产生生物学效应,NgBR主要表达于肺、乳腺、平滑肌和血管中并在肝脏中广泛分布。本文综述了已发表的文献中关于NgBR在肿瘤中潜在机制领域的相关研究并进行了系统综述和展望。

关键词 神经轴突生长抑制因子-B受体 肿瘤学 研究机制

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.09.004

神经轴突生长抑制因子-B受体(neurite outgrowth inhibitor B receptor, NgBR)是一类具有单一跨膜结构域的I型受体,被鉴定为神经轴突生长抑制因子-B(neurite outgrowth inhibitor B, Nogo-B)氨基末端特异性的受体,可以和Nogo-B特异性结合从而产生生物学效应。近年来研究发现,NgBR在许多人类疾病中起着重要作用,尤其是在各种肿瘤的发生、发展中发挥着重要作用。目前还没有对NgBR在肿瘤中潜在机制研究领域的最新研究成果进行系统评价,本综述评估和讨论了先前关于NgBR在肿瘤相关机制研究中取得的新进展,这些结果表明NgBR很可能成为肿瘤治疗的潜在靶点。

一、有关 NgBR 的概述

美国生物技术信息中心数据库显示编码人类NgBR的基因Nus1(脱氢二氢二磷酸合酶亚基)可能位于6q22.1,其主要在肺、乳腺、平滑肌和血管中表达,并广泛分布于肝脏。NgBR在质膜上具有多种功能和作用,NgBR主要和Nogo-B特异性结合并发挥生物学效应,NgBR也可以和血管内皮生长因子相互作用或独立发挥多种作用^[1]。NgBR是网状蛋白质家族(reticulon protein family, RTN)的关键成员,RTN参与人体内多种生理过程,包括参与抑制神经突生长和轴突再生、促进内皮细胞迁移、抑制血管壁平滑肌细胞迁移、促进上皮-间质转化以及促进或抑制细胞凋亡等过程^[2,3]。已经鉴定出哺乳动物RTN1、RTN2、

RTN3和RTN4c蛋白的网状异构体,它们形成了网状超家族的最大分支。

近年来关于NgBR结构的研究显示全长的NgBR具有高含量的螺旋结构,其结构在胞外域和胞质域中包含38%的 α -螺旋、15%的 β -折叠和47%的无规卷曲,NgBR的胞外域没有二级和三级结构,虽然NgBR胞质结构域具有部分二级结构,但没有紧密的三级结构堆积,只有利用短基元组装两个结合伴侣即异戊二烯基脂质和(或)烯丙基化的蛋白质维持NgBR结构^[4]。NgBR在N端包含一个假定的残基信号序列、一个胞外结构域、一个单跨膜结构域和一个胞质结构域,分别由残基1~46、47~119、120~139和140~293组成^[5]。Grabińska等^[6]在NgBR的C末端鉴定出了一个关键的RXG序列,该序列十分保守并且对酶活性至关重要,RXG基序的强保守性表明NgBR对于聚戊二烯二磷酸的合成和细胞功能起着关键作用。

二、NgBR 在肿瘤中的潜在机制

NgBR失调是肿瘤生物学公认的肿瘤发生、发展的一个方面,肿瘤治疗的许多治疗策略都依赖于通过改变肿瘤细胞代谢方式来靶向干预。迄今为止,NgBR在肿瘤中的病理生理学仍然难以完全弄明白,并且研究主要集中在NgBR在恶性肿瘤类型中的潜在机制^[1]。

1. NgBR在乳腺癌及其耐药中的潜在机制:Wang等^[7]研究了乳腺癌的发病机制,结果表明NgBR的表达对雌二醇刺激的浸润性导管癌细胞生长和生存素表达至关重要,生存素是一种众所周知的凋亡抑制剂。该实验数据表明在雌激素受体阳性乳腺癌中,NgBR的表达通过诱导生存素促进肿瘤细胞增殖,这一过程对肿瘤细胞增殖可能是必不可少的。此外该

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81960423)

作者单位:650101 昆明医科大学第二附属医院

通讯作者:柯亭羽,主任医师,博士生导师,电子信箱:ketingyu@

hotmail.com

研究还表明 NgBR 的上调与雌激素受体(+) /人表皮生长因子受体2(-) 乳腺癌有关。蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB, 又名 Akt) 是一种丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白激酶, 在多种细胞过程(例如葡萄糖代谢、细胞凋亡、细胞增殖、转录和细胞迁移) 中起关键作用, 抑制 NgBR 能够减弱乳腺癌细胞中 Akt 信号通路的激活, 并随后减少细胞生长、迁移、存活和增殖^[2]。

ras 是一种众所周知的致癌基因, 可通过激活下游激酶引起肿瘤发生和耐药性, ras 基因家族与人类肿瘤相关的特征性基因有 3 种, 分别是 H-ras、K-ras 和 N-ras。最近的一项乳腺癌发病机制研究表明, 在乳腺癌中 NgBR 优先结合法尼基化的 H-ras, 由疏水残基组成的 NgBR 羧基末端对于与法尼基化的 ras 整合形成稳定的复合物至关重要, 并且其可介导 H-ras 信号转导^[8,9]。通过细胞表面生物素化测定, Zhao 等^[8] 研究发现, NgBR 对于 ras 在肿瘤细胞膜中的积累至关重要并且其在 ras 介导的肿瘤生长的致癌功能中起关键作用, NgBR 的上调增加了膜相关的 K-ras 基因和 H-ras 基因的数量, 但没有改变它们的总水平, 也就是说 NgBR 仅介导 ras 在质膜上的积累, 而不能提高 ras 的水平。此外, NgBR 可能影响表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF) 介导的 K-ras 和 H-ras 的激活, 因为 K-ras 和 H-ras 必须易位至细胞膜才能被激活, 而 K-ras 和 H-ras 的上调被认为是介导下游激酶在整个细胞中的作用。这些结果足以表明在乳腺癌中 NgBR 的过表达能够增强 EGF 介导的 ras 及其下游激酶的激活。该研究还得出 NgBR 的过表达增强了人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中 Akt 的磷酸化^[9]。Pula 等^[10] 研究揭示了浸润性导管癌中 NgBR 的蛋白质和 mRNA 表达水平显著增加, 并得出浸润性导管癌中 NgBR 的低表达能够下调哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、PI₃K(phosphatidylinositol 3-kinase, PI₃K)/Akt 信号通路, 从而减少癌细胞的增殖、迁移、黏附、存活和侵袭性。这些研究结果清楚地表明, NgBR 可能介导 PI₃K/Akt/mTOR 信号通路, 从而在浸润性导管癌的发病机制中起主要作用。除此之外, 还有研究发现 NgBR 增强了雌激素受体阳性乳腺癌细胞对它莫昔芬和紫杉醇的耐药性, 其作用机制复杂且新颖^[9,11]。

研究发现, 耐他莫昔芬乳腺癌细胞中 NgBR 表达增加, 为了研究增加的 NgBR 表达对他莫昔芬耐药性

的机制, 研究者用特异性 NgBR siRNA (siNgBR) 敲低了 NgBR 的表达, 结果表明 NgBR 敲低增加了乳腺癌细胞对他莫昔芬的敏感度, 研究还通过比较 NgBR 敲低前后耐他莫昔芬雌激素受体阳性乳腺癌细胞中 p53 和生存素表达的变化, 发现 NgBR 的缺失增加了抑癌基因 p53 的表达, 但在蛋白水平上降低了凋亡抑制剂生存素的数量^[11]。雌激素受体丝氨酸 118 残基的磷酸化与他莫昔芬耐药有关, 为了了解 NgBR 在 EGF 刺激的雌激素受体丝氨酸 118 磷酸化中的作用, 研究者用 EGF 处理了 MCF-7-TamR 乳腺癌细胞后得出 EGF 处理增加了 MCF-7-TamR 乳腺癌细胞中 AKT、细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK) 和 MDM2 癌基因的磷酸化^[11]。

通过研究分析还发现 NgBR 敲低减弱了 EGF 刺激的 AKT、ERK 和 MDM2 的磷酸化, 但是 NgBR 基因敲低并不影响 AKT、ERK 和 MDM2 的总蛋白水平和 EGF 受体的磷酸化, 同样 NgBR 敲低也减弱了 MCF-7-TamR 细胞中 EGF 刺激的 ras 激活, NgBR 介导的 ras 活化可能有助于 EGF 刺激的雌激素受体磷酸化。总之, 他莫昔芬耐药性乳腺癌细胞中 NgBR 的表达增加通过增加 AKT/ERK 和 MDM2 的磷酸化来促进 EGF 信号转导, 从而减弱 p53 的表达并增加生存素的表达, 这可能是导致他莫昔芬获得性耐药的机制。耐紫杉醇乳腺癌细胞中 NgBR 表达也增加, NgBR 表达增加导致紫杉醇耐药的机制是和他莫昔芬耐药相同的^[9]。这些都说明 NgBR 是一个潜在的治疗靶点, 可以恢复耐他莫昔芬和耐紫杉醇乳腺癌细胞对传统内分泌治疗的敏感度。

2. NgBR 在肝细胞癌中的潜在机制: NgBR 蛋白在肝癌组织中被发现过表达, 而在相匹配的正常相邻肝组织中没有这种 NgBR 过表达的现象。MDM2 癌基因编码核定位的 E3 泛素连接酶(p53 的真正泛素连接酶), 它在 p53 的稳定性中起着重要作用并且可导致 p53 的转录改变, p53 作为一种肿瘤抑制基因, 可抑制人癌细胞的转化^[12,13]。PI₃K/Akt 通路是刺激生长因子的核心胞内信号通路之一, 在多种细胞生理病理过程中起关键作用。由 NgBR 激活引起的 PI₃K/Akt/MDM2 途径逐渐有序变化被认为是肝细胞肝癌发病机制中的重要机制, 研究人员观察到, NgBR 水平的升高会增强 Akt 的磷酸化, 磷酸化的 Akt 随后会上调磷酸化 MDM2 的表达, 而磷酸化的 MDM2 又会介导 p53 泛素化。这些数据清楚地表明, 肝细胞肝癌患者中高水平的 NgBR 与磷酸化的 Akt 结合并将

MDM2 募集到细胞核,这是激活肝细胞肝癌细胞中 $PI_3K/Akt/MDM2$ 信号转导和肿瘤发生的必要步骤^[14]。此外,为了研究 NgBR 敲低是否影响肝癌细胞的生长,研究者使用了 siNgBR 沉默 NgBR 的表达,结果表明,NgBR 敲低显著降低了 HepG2 和 SMMC-7721 肝癌细胞的活力,进而表明 NgBR 敲低降低了人肝癌细胞的体外生存能力。

为了确定 NgBR 敲低是否通过 Akt 信号通路抑制人类肝癌细胞的生长,研究者使用蛋白质印迹分析来检测 HepG2 和 SMMC-7721 细胞中 Akt 的磷酸化水平,结果表明 HepG2 和 SMMC-7721 细胞的 NgBR 敲低显著降低了 Akt 水平的磷酸化,而总 Akt 保持不变^[14]。此外,研究还发现通过共转染的 pIRES-NgBR 质粒以及 HepG2 和 SMMC-7721 中的 siNgBR 使 NgBR 过表达可以挽救 NgBR 敲低的 HepG2 和 SMMC-7721 细胞中 Akt 磷酸化的受损,同时,CCK-8 分析显示 NgBR 过表达可以挽救 NgBR 敲低 HepG2 和 SMMC-7721 细胞中观察到的细胞生长抑制有研究。这表明了人类肝癌细胞中 NgBR 的过度表达可以挽救肝癌细胞 Akt 水平的磷酸化受损,充分说明 NgBR 触发了 Akt 磷酸化水平的改变,这与人类肝癌细胞中细胞活力的改变是一致的^[15]。

3. NgBR 在肺癌中的潜在机制:Wu 等^[16]进行的肺癌发病机制研究表明,NgBR 在非小细胞肺癌细胞的细胞膜和细胞质中均存在,在支气管上皮细胞和基质细胞中也检测到 NgBR 表达,但在邻近的肺组织和肺泡上皮细胞中几乎未观察到 NgBR 表达。上皮细胞-间充质细胞转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤转移的驱动因子,参与肿瘤细胞的侵袭和迁移并在肺癌的转移和侵袭中起着重要作用, Twist1 和 Snail1 是进化上保守的转录抑制因子并在 EMT 调控中起重要作用。研究者探讨了 NgBR 在转录水平上调节基因表达的作用,主要分析了转录因子 Twist1 和 Snail1 的表达情况,结果提示 NgBR 通过诱导 Snail1 表达而非 Twist1 表达来增强肺癌中 EMT。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/ERK 是真核细胞中广泛存在的一条复杂的高度保守的细胞信号转导通路,在肿瘤的发生、发展及恶性转化过程中非常重要,MEK 称之为 MAPK/ERK 激酶,Raf 是(40~75)kDa 的丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)蛋白激酶,ras/Raf/MEK/ERK 是 MAPK/ERK 通路中的一条经典通路,通过诱导恶性肿瘤异常增殖、侵袭生长和远处转移参与肿瘤发展,

许多细胞因子的异常表达可能会过度激活该信号通路的失调,包括 NgBR、EGF 样配体的突变激活以及 Ras 的突变和过表达^[8,17,18]。Snail1 的表达受 PI_3K/Akt 和 MEK/ERK 信号通路激活的驱动,因此研究者评估了 NgBR 过表达的 A549 和 H1299 非小细胞肺癌细胞中这些信号通路的活性,研究发现 NgBR 过表达增加了 ERK1/2 磷酸化的水平,但并未增加 Akt 磷酸化的程度;相反,NgBR 敲低可降低 A549 和 H1299 细胞的 ERK1/2 磷酸化水平。类似在过表达 NgBR 或 NgBR 基因敲除的 A549 和 H1299 细胞中获得了相应一致的 MEK1/2 磷酸化水平的结果。这些结果表明,NgBR 诱导的 Snail1 表达是由 MEK/ERK 信号通路介导的。研究还发现 NgBR 与 ras 强烈的相互作用,促进非小细胞肺癌细胞中的 EMT,NgBR 过表达诱导了非小细胞肺癌细胞的质膜定位和 ras 的激活,进而激活了下游 ERK1/2 途径,从而促进 Snail1 表达并降低 E-钙黏着蛋白表达,进一步表明 ras 活性的改变与癌症的发生和进展相关^[16]。

4. 其他潜在机制:血管生成对恶性实体肿瘤的生长、转移乃至预后都有着极其重要的意义,恶性实体肿瘤中新生血管的定量检测被认为是一种重要且独立的预后标志意义。最近 Sherbet^[19]对癌细胞侵袭的研究再一次证明,血管生成在癌细胞的增殖和运动中起关键作用,在致癌过程的早期阶段,增殖的癌细胞介导促血管生成微环境从而增加供应的营养素、能量和氧气。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是癌细胞产生和分泌的主要血管生成因子,在人类癌症中上调的 VEGF/VEGF 受体促血管生成途径是最广泛研究的途径,由 VEGF 受体介导的内皮型一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)在癌发生中具有显著的功能,包括抑制 DNA 修复系统和抑制细胞凋亡^[20]。此外, Ricciuti 等^[21]最近的一项研究表明,血管生成促进了癌症的进程并且是 VEGF、eNOS、Akt 和 ERK 诱导侵袭和转移的原因。而有研究指出 NgBR 与 Nogo-B 相互作用影响血管生成,NgBR 主要是通过促进 eNOS 和 Akt 磷酸化来减弱血管生成中的缺陷,促进血管形成以改善血管生成障碍^[22]。Rana 等^[23]的研究也指出 NgBR 是脑血管发育所必需的且对于脉管系统的发育来说 NgBR 是必不可少的,Nogo-B 和 VEGF 可能与 NgBR 相互作用,导致 Akt 磷酸化以增强血管生成。miR-26a 是一类小的非编码 RNA, miR-26a 可能直接与 NgBR 相互作用以抑制 VEGF/

NgBR 途径并减弱 eNOS 的磷酸化,这能够显著减少血管形成、血管生成和细胞迁移和增殖^[24]。这些结果暗示 NgBR 是血管生成和维持迁移所必需的,靶向 NgBR 治疗是一种影响肿瘤驱动血管生成的诱人策略,特别是考虑到 NgBR 可以介导包括内皮细胞迁移、增殖和血管形成在内的过程。因此,NgBR 参与的血管生成轴可能是从新血管生成向癌变的潜在治疗靶点。

三、展 望

综上所述,NgBR 作为 Nogo - B 氨基末端特异性的受体在肿瘤的发生、发展中起着重要的作用,NgBR 除了在本文相关肿瘤的发生、发展中发挥作用外,在其他癌症中的表达和作用机制有待于更多的研究来补充。NgBR 在肿瘤相关机制研究中虽然取得了一定的新进展但仍不够全面,其在相关癌症中涉及的作用机制十分复杂,需要更多的样本和更多的基础研究来进一步研究。总之,NgBR 靶向治疗可能具有延迟或改善癌症进展的潜力,有望成为癌症治疗的新靶点。尽管现在的研究大多数都明确表明 NgBR 在肿瘤发生、发展中起促进作用,但对于 NgBR 有没有抑制肿瘤发生的作用,需要开展深入研究。

参考文献

- Long SL, Li YK, Xie YJ, *et al.* Neurite outgrowth inhibitor B receptor: a versatile receptor with multiple functions and actions[J]. DNA Cell Biol, 2017, 36(12): 1142 - 1150
- Li YK, Xie YJ, Wu DC, *et al.* Nogo B receptor in relevant carcinoma: current achievements, challenges and aims[J]. Int J Oncol, 2018, 53(5): 1827 - 1835
- Jia S, Qiao X, Ye J, *et al.* Nogo - C regulates cardiomyocyte apoptosis during mouse myocardial infarction[J]. Cell Death Dis, 2016, 7(10): e2432
- Li M, Song J. Nogo - B receptor possesses an intrinsically unstructured ectodomain and a partially folded cytoplasmic domain[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 360(1): 128 - 134
- Holcomb J, Doughan M, Spellmon N, *et al.* SAXS analysis of a soluble cytosolic NgBR construct including extracellular and transmembrane domains[J]. PLoS One, 2018, 13(1): e0191371
- Grabifńska KA, Edani BH, Park EJ, *et al.* A conserved C - terminal RXG motif in the NgBR subunit of cis - prenyltransferase is critical for prenyltransferase activity [J]. J Biol Chem, 2017, 292(42): 17351 - 17361
- Wang B, Zhao B, North P, *et al.* Expression of NgBR is highly associated with estrogen receptor alpha and survivin in breast cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e78083
- Zhao B, Hu W, Kumar S, *et al.* The Nogo - B receptor promotes Ras plasma membrane localization and activation[J]. Oncogene, 2017, 36(24): 3406 - 3416
- Jin Y, Hu W, Liu T, *et al.* Nogo - B receptor increases the resistance

- of estrogen receptor positive breast cancer to paclitaxel[J]. Cancer Lett, 2018, 419: 233 - 244
- Pula B, Olbromski M, Owczarek T, *et al.* Nogo - B receptor expression correlates negatively with malignancy grade and ki - 67 antigen expression in invasive ductal breast carcinoma[J]. Anticancer Res, 2014, 34(9): 4819 - 4828
- Gao P, Wang X, Jin Y, *et al.* Nogo - B receptor increases the resistance to tamoxifen in estrogen receptor - positive breast cancer cells [J]. Breast Cancer Res, 2018, 20(1): 112 - 127
- Inoue K, Fry EA. Aberrant splicing of the DMP1 - ARF - MDM2 - p53 pathway in cancer[J]. Int J Cancer, 2016, 139(1): 33 - 41
- Ryu HW, Shin DH, Lee DH, *et al.* A potent hydroxamic acid - based, small - molecule inhibitor A452 preferentially inhibits HDAC6 activity and induces cytotoxicity toward cancer cells irrespective of p53 status[J]. Carcinogenesis, 2018, 39(1): 72 - 83
- Dong C, Zhao B, Long F, *et al.* Nogo - B receptor promotes the chemoresistance of human hepatocellular carcinoma via the ubiquitination of p53 protein[J]. Oncotarget, 2016, 7(8): 8850 - 8865
- Dong C, Liu Y, Jiang K, *et al.* The Nogo - B receptor promotes human hepatocellular carcinoma cell growth via the Akt signal pathway [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(9): 7738 - 7746
- Wu D, Zhao B, Qi X, *et al.* Nogo - B receptor promotes epithelial - mesenchymal transition in non - small cell lung cancer cells through the Ras/ERK/Snail1 pathway[J]. Cancer Lett, 2018, 418: 135 - 146
- Song Q, Jiang S, Zhang X, *et al.* Radiosensitivity of human ovarian-cancer cells is enhanced by pseudolaric acid B due to the inhibition of the Ras/Raf/ERK signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(1): 685 - 690
- Srskanthadevan - Pirahas S, Lee J, Grewal SS. The EGF/Ras pathway controls growth in Drosophila via ribosomal RNA synthesis[J]. Dev Biol, 2018, 439(1): 19 - 29
- Sherbet GV. Suppression of angiogenesis and tumour progression by combretastatin and derivatives[J]. Cancer Lett, 2017, 403: 289 - 295
- Ceci C, Atzori MG, Lacal PM, *et al.* Role of VEGFs/VEGFR - 1 signaling and its inhibition in modulating tumor invasion: experimental evidence in different metastatic cancer models[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(4): 1388 - 1440
- Ricciuti B, Foglietta J, Bianconi V, *et al.* Enzymes involved in tumor - driven angiogenesis: a valuable target for anticancer therapy [J]. Semin Cancer Biol, 2019, 56: 87 - 99
- Teng RJ, Rana U, Afolayan AJ, *et al.* Nogo - B receptor modulates angiogenesis response of pulmonary artery endothelial cells through eNOS coupling[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 51(2): 169 - 177
- Rana U, Liu Z, Kumar SN, *et al.* Nogo - B receptor deficiency causes cerebral vasculature defects during embryonic development in mice [J]. Dev Biol, 2016, 410(2): 190 - 201
- Jo HN, Kang H, Lee A, *et al.* Endothelial miR - 26a regulates VEGF - Nogo - B receptor - mediated angiogenesis[J]. BMB Rep, 2017, 50(7): 384 - 389

(收稿日期: 2020 - 04 - 22)

(修回日期: 2020 - 05 - 01)