

troscopy for assessment of apoptosis in cervical carcinomas[J]. BMC Cancer, 2007, 7: 11.

[24] 聂苗苗. 宫颈癌的磁共振波谱及扩散加权成像研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2014.

[25] De Silva SS, Payne GS, Morgan VA, et al. Epithelial and stromal metabolite changes in the transition from cervical

intraepithelial neoplasia to cervical cancer: an in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopic imaging study with ex vivo correlation[J]. Eur Radiol, 2009, 19(8): 2041-2048.

(收稿日期: 2015-05-08 修回日期: 2015-07-03)

• 综 述 • doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2015. 34. 041

EMP2 基因与肿瘤*

肖浪潮 综述, 黄守国[△] 审校

(中南大学湘雅医学院附属海口医院妇产科, 海口 570208)

[关键词] 肿瘤; EMP2; 抗 EMP2 抗体

[中图分类号] R714

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)34-4860-03

EMP2 是 GAS-3/PMP22(peripheral myelin protein 22) 又称为肿瘤相关膜蛋白(tumor-associated membrane protein, TMP) 基因家族成员之一, 最初在 1995 年由 Taylor 等和 EPM3 首次同时报告出来, 其家族成员具有多重生物学功能, 已发现在不同肿瘤中发挥着促进或者抑制作用, 现就 EMP2 的分子结构、生物学功能及其与肿瘤的生物学行为关系综述如下。

1 EMP2 的分子结构

EMP2 分子量为 19 KD, 人类 EMP2 基因定位于 16 号染色体(16 p13. 2), 该区段 DNA 全长 52. 3 Kb, 含 4 个外显子, 编码含 167 个氨基酸的蛋白质。1995 年 Taylor 等发现人类 EMP2 基因的 cDNA 文库, 全长 520 个碱基对, EMP2 的 cDNA 序列显示包含一个长度为 501 个碱基对的以 ATG 为起始密码子及 TAG 为终止密码子的开放阅读框。Fu 等^[1] 通过研究证实, EMP2 蛋白主要在肺泡上皮细胞、眼色素上皮、子宫内膜、阴道和输卵管上皮细胞中表达, 而在肠道、胰腺、肝脏、脾脏和肾脏中则未见表达。

2 EMP2 的功能

2.1 调节细胞的迁移 作为与四旋蛋白和连接蛋白形成缝隙连接中重要的 4 次跨膜蛋白结构元件, EMP2 可与许多类型细胞表面分子结合, 在选择受体从细胞内到细胞膜的有效转运中不可或缺, 由此而影响细胞的黏附和迁移。已知细胞黏附、迁移是肿瘤细胞形成和侵袭级联的关键步骤, 如在子宫内膜癌中, EMP2 可直接与整合素 $\alpha v \beta 3$ 和黏着斑激酶 FAK 结合, 促进整合素介导的 FAK-Src 磷酸化, 并有助于他们在脂质筏中内定位, 从而促进细胞迁移和侵袭^[2]。其次, EMP2 能选择性的调节 caveolin-1、caveolin-2 的表达, 从而参与 caveolae 调节的膜泡运输和信号传导过程^[3]。

2.2 促进细胞死亡 特定的靶向四连体蛋白可以诱导细胞内信号转导级联导致细胞凋亡、抑制细胞生长、抗体依赖性细胞毒作用(ADCC)、补体介导的细胞毒作用以及活化抗肿瘤免疫反应^[4]。研究发现, EMP2 的表达能增加成纤维细胞系

(NIH3T3) 对细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL) 毒素的易感性, 并能促进细胞表面的 MHC1 表达来增加 CTL 引起的细胞死亡。此外, 胞外的 ATP 和胞膜上的配体门控离子通道型嘌呤受体(P2X7) 的结合能够开启胞膜上的阳离子传递通道, 且能导致细胞膜发泡。Wilson 等研究发现, EMP2 和 P2X7 受体的羧基端有着相互作用, 从而诱导细胞膜发泡, 且可能通过调节 P2X7 受体的活化而引起信号的持续传导, 如含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase) 依赖的细胞凋亡通路。

2.3 调节血管生成 血管内皮生长因子能特异性地作用于血管内皮细胞, 诱导血管生成, 在血管发生和血管形成过程中起重要作用^[5]。EMP2 调节血管生成主要通过调节血管内皮生长因子水平、抑制 FAK 和 Src 活化来降低 VEGF 的表达及改变血管内皮细胞迁移 3 个过程来完成。研究表明, EMP2 通过促进 FAK 和 Src 的活化诱导血管内皮生长因子表达, 从而调节肿瘤新生血管生成; 在缺氧条件下, EMP2 通过上调 HIF-1 α 依赖途径促进 VEGF 的表达, 从而导致毛细血管样管形成。相反地, EMP2 的低表达则与 HIF-1 α 和 VEGF 的低表达相关, 继而导致血管形成不良^[6-7]。

2.4 其他 研究认为, EMP2 蛋白是囊胚植入子宫内膜时不可或缺的一种蛋白质, 其机制可能为植入期 EMP2 调控 $\alpha v \beta 3$ 整合素的表面运输参与子宫内膜和胚泡相互作用有关^[8]。此外, EMP2 能够调节机体被感染沙眼衣原体的能力, 其表达水平与鼠型沙眼衣原体菌株 MoPn 的感染能力成正比^[9]。EMP2 还可以增加 FAK 的聚集和活化能力, 从而实现对视网膜色素上皮细胞 ARPE-19 的胶原凝胶收缩的调节^[10]。另外, 动脉粥样硬化的进展被认为是一种与多种促炎细胞因子(如 IL-1) 相关的慢性炎症性疾病有关。最近的研究表明 EMP2 还有助于调节 P2X7 受体依赖的 THP1 单核细胞释放 IL-1 β , 进而促进动脉粥样硬化的进展^[11]。

3 EMP2 与肿瘤

目前, 针对 EMP2 在肿瘤中的研究报道相对不多, 它在不同的肿瘤中扮演的角色并不一致。EMP2 在 B 细胞淋巴瘤、鼻

* 基金项目: 海南省自然科学基金资助项目(2012-SRZ-08-11)。

[△] 通讯作者, Tel: 13698983596; E-mail: shouguohuang@126. com。

作者简介: 肖浪潮(1990-), 在读硕士, 主要从事妇科肿瘤方面的研究。

咽癌、尿路上皮癌中表达下调或缺失,表明 EMP2 作为一个抑癌基因在上述肿瘤的形成和进展中发挥作用;而 EMP2 作为癌基因在许多肿瘤中表达上调,如胆囊腺瘤、胶质母细胞瘤、乳腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌等,上调 EMP2 的表达与肿瘤的进展、侵袭密切相关。

3.1 B 细胞淋巴瘤 Jonathan 等通过抑制性削减杂交(suppression subtractive hybridization,SSH)方法筛选与 B 细胞淋巴瘤致瘤性相关的基因时在 DAC 细胞系(小鼠脾淋巴细胞自体产生)和 MV 细胞系(DAC 子代)中发现 EMP2 基因,在 MV 细胞系中稳定转染 EMP2 基因可以明显抑制肿瘤形成。实验还证明在压力条件下,过表达 EMP2 的细胞更易出现细胞死亡。从这些结果中不难推断,EMP2 在 B 细胞淋巴瘤的形成中充当抑癌基因的角色。

3.2 鼻咽癌 应用免疫组织化学法^[12]分别检测 124 例无远处转移的鼻咽癌及其周围非肿瘤癌旁组织中 EMP2 的表达,细胞中染色区域主要定位于细胞质或细胞核,其中,癌旁组织中有 71 例呈强阳性表达,而肿瘤组织中 63 例呈现特异性的,EMP2 染色(肿瘤细胞大于 5%),62 例弱染色或不染色。EMP2 的表达缺失与原发肿瘤的原发灶、有无淋巴结转移及肿瘤分期显著相关,说明其在预防鼻咽癌的进展和侵袭上发挥着潜在的作用,EMP2 有望成为判断鼻咽癌预后的生物标志物。基于 EMP2 蛋白抑制鼻咽癌进展的作用机制尚不明确,需进一步研究。

3.3 尿路上皮癌 研究发现,体外异黄酮能够激活 EMP2 在 RT4(I 级尿路上皮细胞)细胞系的高达 3.5 倍的表达,同时 EMP2 表达于相对高分化的尿路上皮癌细胞,EMP2 的过表达可抑制癌灶的形成及在体外的独立生长。此外,EMP2 过表达可减少有免疫缺陷小鼠的致瘤性^[13]。由此推测,EMP2 是尿路上皮癌发生、进展的一个肿瘤抑制基因,可能成为尿路上皮癌的一个候选预后靶基因。

3.4 胆囊癌 胆囊癌是最常见的胆道系统恶性肿瘤,尽管已知胆囊结石和慢性胆囊炎是其发生的高危因素,对其病因作者仍知之甚少,因此,造成对其早期的诊断较为困难,且其恶性程度较高,预后较差^[14]。最近 Li 等^[15]研究发现,EMP2 蛋白在正常的胆囊上皮中不表达,而在胆囊腺瘤中呈现不均一的阳性表达。然而,从腺瘤到腺癌的进展过程中,EMP2 表达水平逐渐下降,且在低临床分期阶段的高分化胆囊癌显著表达,在高临床分期阶段的低分化胆囊癌中则表达较弱或者不表达。另外还发现低表达 EMP2 蛋白与肿瘤患者的性别、恶性程度、有无侵犯血管、周围神经及高 ki-67 标记指数密切相关。由此可见,EMP2 可能作为癌基因促进胆囊腺瘤的形成,而 EMP2 的低表达或者表达缺失可能是通过影响其与特定膜蛋白的相互作用,亦或是影响下游信号转导通路,从而促进肿瘤的进展,EMP2 在胆囊癌的发生和进展中的作用机制有待进一步阐明。总之,EMP2 与胆囊癌的不良预后有关,可将其作为胆囊癌恶性转变的一个潜在分子标志物。

3.5 胶质母细胞瘤 迄今为止,关于 EMP2 在中枢神经系统中的作用鲜有报道。研究发现,与正常脑组织对比,EMP2 mRNA 高表达于胶质母细胞瘤,EMP2 mRNA 的高表达可作为预测胶质母细胞瘤早期预后的独立指标;其次,EMP2 蛋白在正常脑组织中低表达或者不表达,而在大于 95%的胶质母细胞瘤中高度表达。另外,向胶质母细胞瘤小鼠异种移植模型

中注射抗 EMP2 IgG1 和抗 EMP2 抗体后发现其可抑制体内及体外胶质母细胞瘤的生长,减少小鼠异种移植模型中肿瘤负荷^[16-17]。对于胶质母细胞瘤患者,目前的化学治疗、手术治疗及靶向疗法并不能显著增加其生存率^[18],而 EMP2 在胶质母细胞瘤的发生、进展中发挥着作用,将 EMP2 作为胶质母细胞瘤潜在的治疗靶标,可一定程度上延长其生存时间及改善预后。

3.6 乳腺癌 已有研究证实 EMP2 mRNA 在乳腺肿瘤组织中表达上调,且在 ER/PR/ErbB2 均阴性即三阴性乳腺癌中亦如此^[19-20]。EMP2 蛋白主要表达于乳腺癌细胞的细胞膜和(或)细胞质中,而在正常的乳腺导管上皮中则未见有表达,且从正常-浸润性乳癌-乳癌伴随淋巴结转移的标本中 EMP2 的表达依次递增。在人的异种移植小鼠模型中,用靶向 EMP2 IgG1 治疗表达 EMP2 的恶性肿瘤细胞时可促进细胞的死亡及减少肿瘤的总负荷,其中细胞的死亡包括通过 EMP2 IgG1 抗体直接诱导及抗体依赖细胞介导的 ADCC。研究发现,在乳腺癌中,EMP2 的表达与 FAK 和 Src 的活化相关,它们都能促进体外肿瘤细胞的侵袭,用 EMP2 IgG1 抗体治疗则可减少 Src 的磷酸化作用^[21]。此外,已有研究证实 EMP2 高度表达于肿瘤干细胞,新的数据表明,EMP2 可通过上调 HIF-1 α 、CD44 和乙醛脱氢酶(ALDH)的表达来提高肿瘤细胞的转移潜力。而 EMP2 IgG1 则可降低 HIF-1 α 及 CD44 的表达及 ALDH 的活性,最终导致肿瘤生长缓慢及血管形成受阻。靶向 EMP2 IgG1 治疗乳腺癌可显著降低肿瘤负荷及改善转移性乳腺癌的生存率^[22]。由此可见,靶向 EMP2 IgG1 可能通过多方面因素来影响乳腺癌的进展和转移,其明确的分子生物学机制仍值得进一步研究。

3.7 卵巢癌 公共数据库中的评估显示,EMP2 在浆液性卵巢肿瘤中高表达,且在分化程度不同的肿瘤中均如此。研究发现,与非恶性的卵巢上皮相比,EMP2 在 129 例卵巢癌患者中的过表达率高达 70%以上;使用体外完全人重组双价抗 EMP2 抗体于卵巢癌异种移植小鼠模型中,结果表明双价抗 EMP2 抗体显著抑制肿瘤生长和诱导细胞死亡^[23]。由此可见,EMP2 可以作为大多数卵巢癌治疗的一个可行的潜在靶点。

3.8 子宫内膜癌 目前,针对 EMP2 与子宫内膜癌关系的研究报道相对较多。子宫内膜中 EMP2 的表达是激素依赖性的;EMP2 在增殖期的子宫内膜中低水平表达,而在分泌期的子宫内膜中表达水平增加。在子宫内膜癌中,EMP2 阳性肿瘤相对于 EMP2 阴性的肿瘤有着明显的子宫肌层侵袭性,且临床分期高,术后易复发,持续发病以及预后差。另外,在子宫内膜癌中,EMP2 是独立于雌激素受体与孕激素受体的生物标志物,且对于不适应当前激素治疗或化学治疗患者,它是惟一的预后生物标志物^[24]。Habeb 等^[25]对不同生理周期的 207 例女性患者通过子宫内膜取样活检制作的子宫内膜芯片进行免疫组织化学和蛋白印记分析,EMP2 的表达水平从内膜增生-不典型增生-癌变呈现逐步上升。在癌前病变阶段分析 EMP2 的表达,发现此阶段 EMP2 高表达的患者进展为子宫内膜癌的风险相对较高,提示 EMP2 是子宫内膜癌的早期预后标志物。Gordon 等^[7]发现,在子宫内膜癌异体移植模型中,人 EMP2 IgG 可显著抑制肿瘤的生长,减少肿瘤负荷,改善其生存率。EMP2 有望成为子宫内膜癌治疗的潜在分子靶向药物。

此外,用 ^{64}Cu -标记的有机多齿配体(DOTA)缀合的抗 EMP2 微抗体 KS83(^{64}Cu -DOTA-KS83)扫描人 EMP2 阳性的子宫内膜癌异种移植体可有效成像^[2],据此可以进一步改进抗 EMP2 微抗体片段,为 EMP2 阳性肿瘤定位成像和治疗开辟新的思路。

参考文献

- [1] Fu M, Brewer S, Olafsen T, et al. Positron emission tomography imaging of endometrial cancer using engineered anti-EMP2 antibody fragments[J]. *Mol Imaging Biol*, 2013, 15(1): 68-78.
- [2] Fu MY, Rao R, Sudhakar D, et al. Epithelial membrane protein-2 promotes endometrial tumor formation through activation of FAK and Src[J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e19945.
- [3] Forbes A, Wadehra M, Mareninov S, et al. The tetraspan protein EMP2 regulates expression of caveolin-1[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(36): 26542-26551.
- [4] Caplan MJ, Kamsteeg EJ, Duffield A. Tetraspan proteins: regulators of renal structure and function[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2007, 16(4): 353-358.
- [5] Vempati P, Popel AS, Mac Gabhann F. Extracellular regulation of VEGF: Isoforms, proteolysis, and vascular patterning[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2014, 25(1): 1-19.
- [6] Morales SA, Telander DG, Leon D, et al. Epithelial membrane protein 2 controls VEGF expression in ARPE-19 cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(3): 2367-2372.
- [7] Gordon LK, Kiyohara M, Fu M, et al. EMP2 regulates angiogenesis in endometrial cancer cells through induction of VEGF[J]. *Oncogene*, 2013, 32(46): 5369-5376.
- [8] Wadehra M, Forbes A, Pushkarna N, et al. Epithelial membrane protein-2 regulates surface expression of alpha v beta 3 integrin in the endometrium[J]. *Dev Biol*, 2005, 287(2): 336-345.
- [9] Shimazaki K, Chan AM, Moniz RJ, et al. Blockade of epithelial membrane protein 2 (EMP2) abrogates infection of chlamydia muridarum murine genital infection model[J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2009, 55(2): 240-249.
- [10] Morales SA, Telander D, Notterpek L, et al. Rewiring integrin-mediated signaling and cellular response with the peripheral myelin protein 22 and epithelial membrane protein 2 components of the tetraspan web[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(8): 5465-5472.
- [11] Daigneault M, Angyal A, Hadadi E, et al. 208 A novel role for the GAS3/PMP22 family member EMP2 in the regulation of inflammation[J]. *Heart*, 2013, 99(suppl 2): A114-A115.
- [12] Chen YH, Wu LC, Wu WR, et al. Loss of epithelial membrane protein-2 expression confers an independent prognosticator in nasopharyngeal carcinoma: a cohort study [J]. *BMJ Open*, 2012, 2(2): e000900.
- [13] Wang YW, Li WM, Wu WJ, et al. Epithelial membrane protein 2 is a prognostic indicator for patients with urothelial carcinoma of the upper urinary tract[J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(3): 709-719.
- [14] Du Q, Jiang L, Wang X, et al. Tumor necrosis factor- α promotes the lymphangiogenesis of gallbladder carcinoma through nuclear factor- κ B-mediated upregulation of vascular endothelial growth factor-C[J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(10): 1261-1271.
- [15] Li CF, Chen LT, Lin CY, et al. Loss of epithelial membrane protein-2 expression confers an independent prognosticator in gallbladder carcinoma[J]. *Biomarkers Genomic Med*, 2013, 5(1-2): 31-38.
- [16] Qin Y, Fu MY, Takahashi M, et al. Epithelial membrane protein-2 (EMP2) activates Src protein and is a novel therapeutic target for glioblastoma [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(20): 13974-13985.
- [17] Fu M, Goodglick L, Gordon LK, et al. Therapeutic targeting of glioblastoma multiforme using anti-EMP2 antibodies[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(suppl 8): 3624-3625.
- [18] Buonerba C, Di Lorenzo G, Marinelli AA, et al. A comprehensive outlook on intracerebral therapy of malignant gliomas[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2011, 80(1): 54-68.
- [19] Obermayr E, Sanchez-Cabo F, Tea MK, et al. Assessment of a six gene panel for the molecular detection of circulating tumor cells in the blood of female cancer patients[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 666.
- [20] Christgen M, Geffers R, Kreipe H, et al. IPH-926 lobular breast cancer cells are triple-negative but their microarray profile uncovers a luminal subtype[J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(12): 1726-1730.
- [21] Fu MY, Maresh EL, Helguera GF, et al. Rationale and pre-clinical efficacy of a novel anti-EMP2 antibody for the treatment of invasive breast cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(4): 902-915.
- [22] Wadehra M, Kiyohara M, Ashki N. Therapeutic targeting of EMP2 reduces breast cancer stem cells [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(suppl 8): 240-248.
- [23] Fu M, Maresh EL, Soslow RA, et al. Epithelial membrane protein-2 is a novel therapeutic target in ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(15): 3954-3963.
- [24] Wadehra M, Natarajan S, Seligson DB, et al. Expression of epithelial membrane protein-2 is associated with endometrial adenocarcinoma of unfavorable outcome[J]. *Cancer*, 2006, 107(1): 90-98.
- [25] Habeeb O, Goodglick L, Soslow RA, et al. Epithelial membrane protein-2 expression is an early predictor of endometrial cancer development [J]. *Modern Pathol*, 2010, 23(1): 244A-245A.