



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.11.022
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.11.022
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(11):1609-1612.

· 文献综述 ·

EMILIN 蛋白家族与肿瘤的研究进展

林峰, 陶一明 综述 王志明 审校

(中南大学湘雅医院 普通外科, 湖南 长沙 410008)

摘要

EMILIN 蛋白家族是一类细胞外基质糖蛋白, 参与维持机体组织器官形态与功能的稳态。新近研究表明, EMILIN 可能通过激活某些信号传导通路参与调控肿瘤细胞凋亡和血管新生, 在肿瘤生长和侵袭转移过程中发挥关键作用。笔者对其研究进展进行扼要综述。

关键词

肿瘤; EMILIN; 细胞凋亡; 新生血管化, 病理性; 综述文献
中图分类号: R730

EMILIN protein family and tumor: recent advances

LIN Feng, TAO Yiming, WANG Zhiming

(Department of General Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract

EMILIN protein family consists of extracellular matrix glycoproteins that participate in maintenance of the structure and function of the organism. Recent studies suggest that EMILIN protein family potentially involves in tumor apoptosis and angiogenesis activating certain signal pathways, and plays a critical role in tumor growth, invasion and metastasis. The authors address the recent research progress in EMILIN protein family.

Key words

Neoplasms; EMILIN; Apoptosis; Neovascularization, Pathologic; Review

CLC number: R730

肿瘤细胞生长分化失控和血管新生是恶性肿瘤的重要特征, 与恶性肿瘤的生长、侵袭、转移密切相关。目前, 针对肿瘤血管为靶点的治疗策略已成为肿瘤学研究领域的热点。EMILIN 蛋白家族是一类细胞外基质糖蛋白, 广泛分布于机体结缔组织中, 在维持血管、淋巴管、皮肤等组织器官稳态方面有重要作用。近年来研究发现,

EMILIN 家族可通过模拟经典的细胞外凋亡通路途径诱导肿瘤细胞的凋亡, 并可能通过与其它细胞外基质成分或细胞表面分子相互作用参与调节肿瘤血管生成。本文将对这一细胞外糖蛋白家族生物学特性及其与肿瘤的相关研究进展进行综述。

1 EMILIN 家族的起源、分子结构特征及组织表达分布

Bressan 等^[1-2]在1983年最先报道从雏鸡的主动脉中提取出一种位于弹性纤维中弹性蛋白和微原纤维交界面的新型细胞外基质糖蛋白, 被命名为EMILIN (弹性蛋白微原纤维间界蛋白)。近年来不同的成员被相继发现, 目前EMILIN 蛋白家族包含EMILIN1、EMILIN2、EMILIN3、MMRN1、

基金项目: 国家自然科学基金面上基金资助项目 (81372630, 81372631); 中南大学湘雅医院 2014 年度临床科研基金资助项目 (2014L07)。

收稿日期: 2015-07-25; 修订日期: 2015-09-19。

作者简介: 林峰, 中南大学湘雅医院住院医师, 主要从事肝癌外科、肝移植与门静脉高压临床与基础方面的研究。

通信作者: 王志明, Email: wzmxyesu@hotmail.com

MMRN2 5个成员,分子量分别为106.6、115.6、82.6、138.1、104.4 kD,其编码基因分别定位于2、18、20、4、10号染色体上。除EMILIN3不含有C1q球状结构域外,其它成员均有典型的且高度同源的蛋白分子结构,主要包含氨基端富含半胱氨酸的EMI结构域,一个可能形成卷曲螺旋结构的较长片段(coiled coil片段)和羧基端C1q球状结构域。EMILIN蛋白家族可自体组装形成同源三聚体,进而在细胞外基质中通过二硫键及其它非共价键形成大分子量的多聚体参与细胞外基质组成,也可通过分子氨基端及羧基端的结构域相互作用形成异源多聚体^[3-5]。研究^[6-8]发现EMILIN家族广泛表达于脊椎动物多种组织器官中,且在不同种属间具有高度保守性。EMILIN1广泛表达于胎儿和成人各种富含弹性纤维的组织器官中,尤其在胎儿心肺肾和成人小肠,弹性动脉中呈高表达,EMILIN2和EMILIN1在大部分组织中共表达,但表达水平相对较低^[6]。EMILIN3主要在生殖系统、软骨膜和骨骼发育过程中表达,是脊索鞘的重要组成部分,与肝素具有高度亲和力^[9-10]。MMRN1主要表达于血管壁、血小板及免疫细胞中^[11],而MMRN2由血管内皮细胞分泌,在体内分布于正常血管或肿瘤血管壁中^[12-13]。

2 EMILIN 家族功能作用

2.1 EMILIN 与机体稳态

研究发现,EMILIN1与弹性纤维的形成及血管稳态的维持有密切关联,EMILIN1与EMILIN3均可与pro-TGF- β 相互作用抑制其生成成熟的TGF- β ^[14]。在敲除Emilin1小鼠(Emilin1^{-/-}小鼠)中TGF- β 信号水平升高,外周血管阻力增加,小鼠血压水平较正常小鼠升高,而利用抗TGF- β 抗体治疗Emilin1^{-/-}小鼠后血压可恢复正常^[15-16]。此外,Munjal等^[17]研究发现Emilin1基因的缺失可能通过介导TGF- β /MAPK信号通路失调导致动脉瓣膜疾病的发生发展。TGF- β 信号通路在肿瘤发生、上皮间质转化和免疫调节中的作用已被证实^[18-19],作为TGF- β 的拮抗剂,EMILIN家族在肿瘤发生发展中的作用尚有待进一步的研究。在淋巴管的形态功能研究中发现,EMILIN1的缺失可导致淋巴管锚丝显著减少,出现病理性淋巴管增生及管腔扩大,在Emilin1^{-/-}小鼠中表现为轻度的淋巴液生成及回流功能障碍^[20-21]。

Daussi等^[22]研究发现EMILIN1在维持皮肤稳态方面同样有重要作用,EMILIN1与 $\alpha_4\beta_1$ 整合素(表达于成纤维细胞表面)及 $\alpha_9\beta_1$ 整合素(表达于角质细胞表面)结合可抑制成纤维细胞和角质细胞的过度增生,Emilin1^{-/-}小鼠表现为真皮层与角质层过度增生,伤口闭合加速。在随后的研究中,他们发现在皮肤癌的小鼠成瘤模型中,与正常小鼠相比,Emilin1^{-/-}小鼠的肿瘤生长速度和淋巴结转移率明显增加^[23]。EMILIN1是较少的可通过与整合素结合抑制细胞增生的细胞外基质成分,细胞外基质的降解是促进肿瘤细胞增生转移的关键环节。Pivetta等^[24]研究发现在肿瘤微环境中,中性粒细胞弹性蛋白酶可裂解EMILIN1蛋白分子形成无活性片段,损害其抑制细胞增生的功能。可见EMILIN家族在维持机体稳态方面发挥着重要功能,其表达分布异常可能与肿瘤等疾病的发生发展密切相关。

2.2 EMILIN 家族与肿瘤细胞凋亡

研究^[25]发现EMILIN2可触发不同细胞系的凋亡,这种外源性的促凋亡机制可能与其模仿死亡配体TRAIL的功能与DR4及DR5死亡受体结合有关,在敲除Emilin2基因的癌细胞中,细胞的生长更加活跃,而在EMILIN2过表达情况下,肿瘤细胞的生长受到了明显的抑制。在随后的研究中,研究者发现在EMILIN2蛋白中,促凋亡效应的片段位于接近蛋白分子氨基端,EMI结构域后方的1条含有90个氨基酸残基的长螺旋片段,在小鼠实验中,EMILIN2蛋白和单独的促凋亡片段具有相同抗肿瘤效应^[26]。TRAIL属于肿瘤坏死因子TNF家族的一员,可选择性诱导肿瘤细胞凋亡,在目前肿瘤凋亡机制研究中已成为研究热点^[27],EMILIN2能模拟TRAIL与死亡受体DR4和DR5结合诱导肿瘤细胞凋亡,对其深入研究可为肿瘤的靶向治疗提供新的靶点。

此外,Marastoni等^[28]研究发现EMILIN2可抑制乳腺癌细胞系MDA-MB-231的活性,在裸鼠成瘤模型中,EMILIN2可与Wnt蛋白竞争结合Wnt受体下调Wnt信号通路,抑制乳腺癌的生长和转移。目前研究表明,Wnt信号通路是一条进化上保守的信号途径,可调控细胞的生长、迁移和分化,在乳腺癌、结直肠癌、肝癌等多种肿瘤中均已证实存在Wnt信号通路的异常激活^[29]。在裸鼠乳腺癌成瘤模型中,EMILIN2可通过调节Wnt信号通路影响肿瘤的表型,在其它实体肿瘤中EMILIN2是否有类

似的调节功能还需要进一步的研究探索。

2.3 EMILIN 家族与肿瘤血管新生

目前有多项研究提示EMILIN家族与肿瘤血管新生机理密切相关, 因而备受关注, Mongiat等^[26]研究发现EMILIN2蛋白在肿瘤微环境中具有双重作用, 在抗肿瘤的同时也促进了肿瘤血管的新生, 而利用贝伐珠单抗联合EMILIN2治疗可明显抑制肿瘤的生长, 这个新发现为今后利用EMILIN2联合抗肿瘤血管生成药物治疗肿瘤提供了一个新的方向。CLEC14A是新近发现的一种肿瘤血管内皮标志物, 高度表达于人肿瘤血管壁, 是血管出芽生长方式的重要调节因子^[30-31]。Noy等^[32]研究发现在敲除Clec14a基因的小鼠肺癌模型中, 肿瘤血管密度明显降低; 通过免疫共沉淀技术发现在肿瘤组织中MMRN2可与CLEC14A细胞外区域结合, 而利用单克隆抗体阻断两者的相互作用可抑制肿瘤血管新生和肿瘤的生长速度。Lorenzon等^[33]研究发现MMRN2可损害血管内皮细胞非依赖于整合素的活性功能, 对肿瘤新生血管的生成具有抑制作用, 而并不影响正常血管的生长, 其机制在于MMRN2直接与VEGFA相结合而干扰VEGF-A/VEGFR2通路, 抑制VEGFR的激活。众所周知, VEGF是目前发现诱导肿瘤血管生成的作用最强、特异性最高的血管生长因子, 与多种人体恶性肿瘤血管新生密切相关, 抑制VEGF可抑制肿瘤血管生成^[34-35]。MMRN2可能通过干扰VEGF-A/VEGFR2信号通路, 抑制VEGFR的激活, 为今后进一步研究MMRN2与肿瘤血管新生的关联提供了线索。

近期, 发表于Nature的一项研究^[36]发现在敲除了Egf17基因的斑马鱼中, EMILIN2a及EMILIN3a, EMILIN3b mRNA等表达水平升高以代偿Egf17基因的缺失, 维持血管的正常生成。EGFL7是新近发现的一个在新生血管生成的成管过程中起关键作用的调节因子, 在人肝细胞癌、肺癌、乳腺癌等恶性肿瘤中具有明显的表达异常, 与肿瘤的血管侵犯、预后等密切相关^[37]。EMILIN蛋白家族在分子结构上与EGFL7具有类似的氨基端EMI结构域, 两者均参与弹性纤维的生成, 具有相似的表达分布特点, 因此可推测EMILIN家族可能在多种恶性肿瘤血管生成过程中起调节作用。

3 问题与展望

EMILIN家族与肿瘤的既往研究主要集中在体外和动物实验, 在人体恶性肿瘤组织中的表达和肿瘤发生、侵袭转移过程中的机制研究尚不足。在今后的研究中, 一方面需继续完善体外与动物实验的机制研究, 另一方面应完善EMILIN在人体各种恶性肿瘤的表达分布情况。对其进一步的研究对阐明肿瘤的发病机制及寻找新的治疗靶点有重要意义。

参考文献

- [1] Bressan GM, Castellani I, Colombatti A, et al. Isolation and characterization of a 115,000-dalton matrix-associated glycoprotein from chick aorta[J]. *J Biol Chem*, 1983, 258(21):13262-13267.
- [2] Bressan GM, Daga-Gordini D, Colombatti A, et al. Emilin, a component of elastic fibers preferentially located at the elastin-microfibrils interface[J]. *J Cell Biol*, 1993, 121(1):201-212.
- [3] Mongiat M, Mungiguerra G, Bot S, et al. Self-assembly and supramolecular organization of EMILIN[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(33):25471-25480.
- [4] Doliana R, Bot S, Bonaldo P, et al. EMI, a novel cysteine-rich domain of EMILINs and other extracellular proteins, interacts with the gC1q domains and participates in multimerization[J]. *FEBS Lett*, 2000, 484(2):164-168.
- [5] Bot S, Andreuzzi E, Capuano A, et al. Multiple-interactions among EMILIN1 and EMILIN2 N- and C-terminal domains[J]. *Matrix Biol*, 2015, 41(1):44-55.
- [6] Doliana R, Bot S, Mungiguerra G, et al. Isolation and characterization of EMILIN-2, a new component of the growing EMILINs family and a member of the EMI domain-containing superfamily[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(15):12003-12011.
- [7] Milanetto M, Tiso N, Braghetta P, et al. Emilin genes are duplicated and dynamically expressed during zebrafish embryonic development[J]. *Dev Dyn*, 2008, 237(1):222-232.
- [8] Braghetta P, Ferrari A, de Gemmis P, et al. Expression of the EMILIN-1 gene during mouse development[J]. *Matrix Biol*, 2002, 21(7):603-609.
- [9] Schiavinato A, Becker AK, Zanetti M, et al. EMILIN-3, peculiar member of elastin microfibril interface-located protein (EMILIN) family, has distinct expression pattern, forms oligomeric assemblies, and serves as transforming growth factor beta (TGF-beta) antagonist[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(14):11498-11515.
- [10] Corallo D, Schiavinato A, Trapani V, et al. Emilin3 is required for notochord sheath integrity and interacts with Scube2 to regulate

- notochord-derived Hedgehog signals[J]. *Development*, 2013, 140(22):4594-4601.
- [11] Hayward CP, Cramer EM, Song Z, et al. Studies of multimerin in human endothelial cells[J]. *Blood*, 1998, 91(4):1304-1317.
- [12] Christian S, Ahorn H, Novatchkova M, et al. Molecular cloning and characterization of EndoGlyx-1, an EMILIN-like multisubunit glyco- protein of vascular endothelium[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(51):48588-48595.
- [13] Koperek O, Scheuba C, Puri C, et al. Molecular characterization of the desmoplastic tumor stroma in medullary thyroid carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2007, 31(1):59-67.
- [14] Zaccogna L, Vecchione C, Notta A, et al. Emilin1 links TGF-beta maturation to blood pressure homeostasis[J]. *Cell*, 2006, 124(5):929-942.
- [15] Zanetti M, Braghetta P, Sabatelli P, et al. EMILIN-1 deficiency induces elastogenesis and vascular cell defects[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(2):638-650.
- [16] Litteri G, Carnevale D, D'Urso A, et al. Vascular smooth muscle Emilin-1 is a regulator of arteriolar myogenic response and blood pressure[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(9):2178-2184.
- [17] Munjal C, Opoka AM, Osinska H, et al. TGF- β mediates early angiogenesis and latent fibrosis in an Emilin1-deficient mouse model of aortic valve disease[J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7(8):987-996.
- [18] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6):1420-1428.
- [19] Yilmaz M, Christofori G. EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2009, 28(1/2):15-33.
- [20] Danussi C, Spessotto P, Petrucco A, et al. Emilin1 deficiency causes structural and functional defects of lymphatic vasculature[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(12):4026-4039.
- [21] Danussi C, Del Bel Belluz L, Pivetta E, et al. EMILIN1/alpha9beta1 integrin interaction is crucial in lymphatic valve formation and maintenance[J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(22):4381-4394.
- [22] Danussi C, Petrucco A, Wassermann B, et al. EMILIN1-alpha4/alpha9 integrin interaction inhibits dermal fibroblast and keratinocyte proliferation[J]. *J Cell Biol*, 2011, 195(1):131-145.
- [23] Danussi C, Petrucco A, Wassermann B, et al. An EMILIN1-negative microenvironment promotes tumor cell proliferation and lymph node invasion[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2012, 5(9):1131-1143.
- [24] Pivetta E, Danussi C, Wassermann B, et al. Neutrophil elastase-dependent cleavage compromises the tumor suppressor role of EMILIN1[J]. *Matrix Biol*, 2014, 34:22-32. doi: 10.1016/j.matbio.2014.01.018.
- [25] Mongiat M, Ligresti G, Marastoni S, et al. Regulation of the extrinsic apoptotic pathway by the extracellular matrix glycoprotein EMILIN2[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(20):7176-7187.
- [26] Mongiat M, Marastoni S, Ligresti G, et al. The extracellular matrix glycoprotein elastin microfibril interface located protein 2: a dual role in the tumor microenvironment[J]. *Neoplasia*, 2010, 12(4):294-304.
- [27] Johnstone RW, Frew AJ, Smyth MJ. The TRAIL apoptotic pathway in cancer onset, progression and therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(10):782-798.
- [28] Marastoni S, Andreuzzi E, Paulitti A, et al. EMILIN2 down-modulates the Wnt signalling pathway and suppresses breast cancer cell growth and migration[J]. *J Pathol*, 2014, 232(4):391-404.
- [29] Polakis P. The many ways of Wnt in cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2007, 17(1):45-51.
- [30] Mura M, Swain RK, Zhuang X, et al. Identification and angiogenic role of the novel tumor endothelial marker CLEC14A[J]. *Oncogene*, 2012, 31(3):293-305.
- [31] Zanivan S, Maione F, Hein MY, et al. SILAC-based proteomics of human primary endothelial cell morphogenesis unveils tumor angiogenic markers[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12(12):3599-3611.
- [32] Noy PJ, Lodhia P, Khan K, et al. Blocking CLEC14A-MMRN2 binding inhibits sprouting angiogenesis and tumour growth[J]. *Oncogene*, 2015, [Epub ahead of print]
- [33] Lorenzon E, Colladel R, Andreuzzi E, et al. MULTIMERIN2 impairs tumor angiogenesis and growth by interfering with VEGF-A/VEGFR2 pathway[J]. *Oncogene*, 2012, 31(26):3136-3147.
- [34] Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(5):1011-1027.
- [35] Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target[J]. *Nature*, 2005, 438(7070):967-974.
- [36] Rossi A, Kontarakis Z, Gerri C, et al. Genetic compensation induced by deleterious mutations but not gene knockdowns[J]. *Nature*, 2015, 524(7564):230-233.
- [37] Fan C, Yang LY, Wu F, et al. The expression of Egf17 in human normal tissues and epithelial tumors[J]. *Int J Biol Markers*, 2013, 28(1):71-83.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 林峰, 陶一明, 王志明. EMILIN蛋白家族与肿瘤的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(11):1609-1612. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.11.022

Cite this article as: LIN F, TAO YM, WANG ZM. EMILIN protein family and tumor: recent advances[J]. *Chin J Gen Surg*, 2015, 24(11):1609-1612. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.11.022