

[文章编号] 1007-385X(2006)04-0305-03

## 多重功能的 CYR61: 肿瘤发生与发展中的重要角色

### Role of multi-functional CYR61 in development and advancement of tumors

曹亚南<sup>1</sup>综述; 李宁丽<sup>2</sup>审阅(1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院内分泌代谢病科, 上海 200025; 2. 上海市免疫学研究所, 上海 200025)

**[摘要]** Cyr61 是 CCN 家族成员之一, 人的 Cyr61 基因位于染色体 1q22.3, 其编码的蛋白具有镶嵌型多模组结构, 可与多种因子相互作用, 是一种十分重要的细胞基质调节因子, 在细胞的黏附、迁移与增殖以及血管生成、炎症反应和组织重构等重要生理、病理过程中发挥重要的调节作用。尤其重要的是, Cyr61 参与肿瘤的发生发展过程, 且在不同的肿瘤中其作用有所不同。Cyr61 在乳腺癌、神经胶质瘤等肿瘤中起诱导肿瘤细胞增殖和迁移的促癌作用, 而在非小细胞肺癌、子宫内膜癌等肿瘤中起到促进细胞凋亡等抑癌作用。Cyr61 在不同细胞中的表达受多种信号通路的调控, 可与多种整联蛋白结合激活不同的下游通路, 调节 Bax、Bad、p53 和 p21<sup>WAF1</sup> 等分子的表达。作为细胞信号转导通路下游的一个重要角色, Cyr61 可能成为未来肿瘤药物治疗中的重要靶点。

**[关键词]** Cyr61; 肿瘤; 整联蛋白; 信号通路

**[中图分类号]** R392.11 **[文献标识码]** A

1993年, Peer Bork 将3种生长因子诱导表达的即刻早期基因: 富半胱氨酸61 (cysteine rich 61, Cyr61)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)和肾母细胞瘤过度表达基因(nephroblastoma overexpressed gene, NOV)整个家族, 命名为CCN, 其编码的蛋白具有相似结构。现在CCN家族有6个成员, 除以上3种外, 还包括WISP-1、2和3(Wnt-1 induced secreted proteins, WISP), 各成员按先后发现顺序编码为CCN1~6<sup>[1]</sup>。最早被克隆的Cyr61(CCN1)是1985年Lau等<sup>[2]</sup>在用血清或血小板源生长因子(PDGF)刺激小鼠BALB/c 3T3成纤维细胞时发现的, 因富含半胱氨酸(含10%的半胱氨酸残基)被命名为Cyr61。Cyr61是CCN家族具代表性的成员, 是重要的细胞基质调节因子, 处于细胞内、外信号转导通路下游, 调控内皮细胞和成纤维细胞的黏附、迁移与增殖, 诱导血管发生, 参与炎症反应、伤口愈合和组织重塑过程, 并在多种肿瘤的发生、发展过程中发挥不同作用。Cyr61是机体生命活动中的基本蛋白, 小鼠敲除Cyr61可导致致死性的血管发育缺陷而不能发育成活<sup>[3]</sup>。Cyr61在不同条件下的生理和病理过程中具有多重功能, 扮演着“兼职蛋白”的角色。

#### 1 Cyr61 结构与功能的关系

人类的Cyr61基因位于染色体1p22.3, 包含5个外显子和4个内含子。Cyr61蛋白由381个氨基酸组成, 相对分子质量42 000, 具有与CCN家族其他成员相似的镶嵌型多模组结构, 包括氨基端的信号肽(signal peptide, SP)和4个结构域: 胰岛素样生长因子结合蛋白(insulin-like growth factor binding protein-like module, IGBFP)、VWC因子(von willebrand factor-like module, VWC)、类血小板凝集蛋白(thrombospondin-like module, TSP1)和羧基末端(carboxyl-terminal, CT), 模组VWC与TSP1之间为肽段铰链(hinge, H)连接<sup>[3]</sup>。

Cyr61的4个模组行使独立或相互依存的功能, 直接或间接地和多种其他因子相互作用, 这些因子包括了在细胞功能调节和细胞内、外信号传导通路中许多起重要作用的分子。因此, 与不同因子的相互作用赋予了Cyr61复合的功能, 使其在生物体不同的组织、细胞环境和发育阶段中发挥多重生物效应。

#### 2 Cyr61 在肿瘤中的表达

Cyr61在不同肿瘤组织中的表达不一致且具有多重功能, 说明Cyr61具有极强的调节功能。在部分肿瘤中Cyr61可促进癌细胞的生长和发展, 发挥癌基因的作用。Xie等<sup>[5]</sup>研究发现Cyr61在36%的原发性乳腺癌中高表达, 在高侵袭性的乳腺癌细胞系MDA-MB-231、T47D和MDA-MB-157中表达水平较高, 而在侵袭性较弱的MCF-7和BT-20细胞中表达水平较低, 在正常乳腺细胞系MCF-12A中Cyr61仅为检出水平。在裸鼠的MCF-7或MCF-12A细胞中过表达Cyr61可诱导细胞增殖和迁移, 促进肿瘤发生和血管生成。与此类似, 研究发现48%的原发性神经胶质瘤病例存在Cyr61过量表达, 其中恶性程度高的样本占多数, 女性病例中高表达的比例(70%)显著高于男性(39%)。Cyr61在胰腺癌组织中的表达超过正常水平2倍, 并且在转移癌中的表达水平高于原发性原位癌。在胃腺癌细胞系RF-1、恶性黑色素瘤和良性前列腺增生病人中也存在Cyr61的表达增强<sup>[5,8]</sup>。而在子宫内膜癌、子宫平滑肌瘤、前列腺癌和乳突型甲状腺癌等肿瘤中, Cyr61的表达量降低, 其表达可以介导肿瘤细胞的凋亡并抑

**[基金项目]** 上海市科委项目(No. 03DJ14009, No. 05ZR14055, No. 054319928), 上海市教委项目(No. T0206, No. 05BZ26)

**[作者简介]** 曹亚南(1981-), 男, 山东济南人, 博士生, 主要从事内分泌肿瘤的基础及临床研究。

**[通讯作者]** 李宁丽, E-mail: ninglixiaoxue57@yahoo.com.cn

制其生长,发挥抗肿瘤的作用<sup>[9-10]</sup>。在非小细胞肺癌(NSCLC)的组织样本检测中,发现 Cyr61 mRNA 的表达明显下调。在无内源性 Cyr61 表达的 NSCLC 细胞系 NCI-H520 和 H460 中转染 Cyr61 cDNA 表达的载体后克隆数比空载体转染的对照组低 60% ~ 90%,显示 Cyr61 显著抑制 NSCLC 细胞的生长<sup>[8]</sup>。在肝细胞肝癌中,Cyr61 的表达也显著降低,34 个受检病例中 27 个的癌细胞中 Cyr61 水平与正常相比下调了至少 50%<sup>[11]</sup>。

### 3 Cyr61 的表达调节

#### 3.1 转录因子

在高侵袭性的黑色素瘤细胞中,缺氧可诱导产生 c-jun 和 HIF-1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ ),HIF-1 $\alpha$  通过和 c-jun 结合与转录因子 AP-1 相互作用,促使 AP-1 复合体与 Cyr61 启动子中的 AP-1 结合基序相结合,上调 Cyr61 的表达,发挥诱导血管生成的作用<sup>[6]</sup>。Cyr61 的启动子中还包含两段 d(CA)二核苷酸重复序列,其上游存在转录因子 ATF(activating transcription factor)和肝细胞核因子-3 $\beta$ (hepatocyte nuclear factor-3 beta gene, HNF-3 $\beta$ )的结合基序,在 Cyr61 启动子活性的调节中起重要作用。这两段序列的等位基因在部分肝癌患者中出现了体细胞镶嵌和杂合性缺失的现象,是 Cyr61 表达下调的重要原因<sup>[11]</sup>。

#### 3.2 生长因子

Cyr61 可以在多种生长因子的诱导下表达增强。在成纤维细胞和肾小体足细胞中,PDGF 和 TGF- $\beta$ 1 均诱导 CYR61 的高表达<sup>[12]</sup>。在前列腺的上皮和基质细胞中,内源性脂类生长因子溶血磷脂酸(LPA)通过 G 蛋白偶联受体诱导 Cyr61 的表达,Cyr61 作为一个自分泌或旁分泌的调节因子促进肿瘤细胞的增殖和生存<sup>[7]</sup>。此外,表皮生长因子之一 Heregulin(HRG)在乳腺癌细胞系 Hs578T 和 MDA-MB-231 中促使 Cyr61 的表达水平提高<sup>[13]</sup>。

#### 3.3 激素

在子宫内膜异位症和乳腺癌中,雌激素(E2)水平可影响 Cyr61 的表达。在孕酮增强的生长因子诱导肿瘤生长的通路中,Cyr61 起关键作用,其表达在乳腺癌细胞 T47D 中可被孕酮 R5020 诱导,并受孕酮受体水平的调节。在子宫平滑肌细胞中,E2 可以上调 Cyr61 的表达,而孕酮 R5020 无效,但在子宫平滑肌瘤中,E2 和 bFGF 对 Cyr61 的调节功能均失效,Cyr61 的表达下调<sup>[14]</sup>。

#### 3.4 毒素

在中枢海马祖细胞 H19-7 中,足叶乙苷、谷氨酸盐等神经毒素能激活 c-Jun 氨基末端激酶(JNK),促进 Cyr61 表达,诱导细胞凋亡,而阻断 Cyr61 的表达则可以抑制 H19-7 的凋亡。在 Cyr61 启动子中存在类血清反应元件-CAR $\gamma$ 盒(SRE-like CAR $\gamma$  box)结合域,通过激活 JNK 通路可直接使细胞中的血清反应因子(serum response factor, SRF)磷酸化,SRF 与 CAR $\gamma$  位点结合,激活启动子使 Cyr61 表达增高<sup>[15]</sup>。

#### 3.5 酶

在成纤维细胞中,凝血酶或纤溶酶可通过激活蛋白酶体活化受体-1(PAR-1)诱导 Cyr61 表达,而且其表达水平受 p44/42 MAPK 通路的调节。在平滑肌细胞中,用浓度为  $10^{-7}$  mol/L 的血管紧张素 II(Ang II)刺激 45 min, Cyr61 的转录水平迅速地提高了 2.5 倍。在人体的动脉硬化斑块处,Ang II 聚集,因而 Cyr61 高表达<sup>[16]</sup>。

此外,周期性的机械刺激、与组织因子结合的凝血因子 FVIIa 等多种刺激均可以促进 Cyr61 的表达<sup>[17]</sup>。综上所述,Cyr61 的表达受众多刺激因子的调控,在体内这些刺激往往通过 G 蛋白偶联受体、RhoA 激活 MAPK、PKC、PI-3K 等信号转导通路并作用于转录因子,调节 Cyr61 的表达。

### 4 Cyr61 的作用机制

#### 4.1 Cyr61 与整联蛋白结合

Cyr61 是包括  $\alpha_6\beta_1$ 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_m\beta_2$  和  $\alpha_{IIb}\beta_3$  等多种整联蛋白的配体,其与整联蛋白的相互作用可通过多种细胞信号通路调控不同的细胞功能。

4.1.1  $\alpha_v\beta_3$  Cyr61 与  $\alpha_v\beta_3$  的结合介导内皮细胞黏附和迁移,在成纤维细胞和内皮细胞中增强 EGF 诱导的 DNA 合成,促进细胞增殖,在诱导新生血管形成过程中起着关键作用。在组织中 Cyr61 的过表达也可以促进其受体  $\alpha_v\beta_3$  的表达,形成“CYR61- $\alpha_v\beta_3$  自分泌调节环路”,产生细胞的生长和抗凋亡信号。在乳腺癌中,HRG 通过 Cyr61 上调  $\alpha_v\beta_3$  的水平,Cyr61 与  $\alpha_v\beta_3$  结合激活 ERK1/ERK2 MAPK 信号通路,抑制 p53 的聚集和发挥功能,产生抗紫杉醇等药物诱导的细胞凋亡的能力,促进癌细胞的存活和生长<sup>[18]</sup>。因此  $\alpha_v\beta_3$  的过表达是乳腺癌侵袭力强和预后差的一个标志。

4.1.2  $\alpha_6\beta_1$  Cyr61 蛋白 TSP1 模组的 T1 结构域是  $\alpha_6\beta_1$  的结合位点,而在羧基末端(CT)中包含结合肝素的结构域,Cyr61 与  $\alpha_6\beta_1$  和硫酸乙酰肝素蛋白多糖(HSPG)的共结合可诱导成纤维细胞黏附。这种结合还能介导血管平滑肌细胞黏附和迁移,诱导血管平滑肌细胞的异常增殖,在动脉粥样硬化、血管再狭窄等心血管疾病的病理过程中发挥重要作用<sup>[19]</sup>。

4.1.3  $\alpha_v\beta_5$  Cyr61 与  $\alpha_v\beta_5$  结合可诱导成纤维细胞的迁移。在乳腺癌细胞 MCF-7 中,过表达的 Cyr61 与  $\alpha_v\beta_3$  和  $\alpha_v\beta_5$  作用后通过激活 PI-3K/AKT 抗细胞凋亡信号通路显著提高 NF- $\kappa$ B 的活性,NF- $\kappa$ B 的激活使信号通路下游的细胞凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, XIAP)的表达上调。

另外,Cyr61 通过与  $\alpha_m\beta_2$  结合可介导外周血内的单核细胞与其黏附,这在炎症反应、动脉粥样硬化和伤口愈合过程中都起着重要作用<sup>[3]</sup>。

#### 4.2 Cyr61 调控肿瘤抑制基因与凋亡调控蛋白

除了上文提到的 Cyr61 可在乳腺癌细胞中抑制 p53 和诱导 XIAP 表达,Cyr61 还通过多种信号通路参与调控其它癌基因、抑癌基因或凋亡调控因子的表达。在神经胶质瘤细胞中,Cyr61 通过整联蛋白耦联激酶(ILK)使糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )磷酸化,激活  $\beta$ -连锁蛋白-T 细胞因子( $\beta$ -catenin-TCF)/淋巴细胞增强因子(LEF)通路,进而加强细胞增殖相关

基因的表达, Cyr61 还通过激活 PI-3K/AKT 信号使促凋亡蛋白 Bad 活性降低, 促进细胞生长和迁移<sup>[20]</sup>。而在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中, Cyr61 对 p53 和 p21<sup>WAF1</sup> 表达明显为正调节, 并且减低了细胞周期蛋白依赖激酶 2 的活性, 在细胞中增加了 pRB2/p130 储备。Cyr61 激活  $\beta$ -catenin/TCF 复合体并诱导其转录靶向基因 c-myc 的表达, c-myc 又刺激其靶基因 p53 的表达, 继而 p53 上调 p21<sup>WAF1</sup> 和 pRB2/p130 的水平, 促使细胞停止生长和凋亡<sup>[10]</sup>。Cyr61 在子宫内癌膜细胞中表达下调, 若过表达 Cyr61, 则可诱导 caspase-3 活化和线粒体 RNA 膜去极化, 伴随促凋亡基因 Bax、Bad 和肿瘤坏死因子相关细胞凋亡诱导配体 (tumor necrosis factor receptor-associated ligand, TRAIL) 表达增加, 促进细胞凋亡和抑制细胞生长<sup>[9]</sup>。

Cyr61 还可与其它多种因子的相互作用, 实现多重功能。例如在皮肤伤口愈合过程中, Cyr61 在肉芽组织高表达, 作用包括: 上调 VEGF-A 和 VEGF-C 水平, 诱导血管发生和淋巴生成; 上调 IL-1 $\beta$  促发炎症反应; 刺激基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs), 抑制 u-PA, 促进细胞外基质重构; 促进 I 型胶原蛋白 Col1 $\alpha$ 1、Col1 $\alpha$ 2 的表达, 上调整联蛋白  $\alpha$ <sub>3</sub> 和  $\alpha$ <sub>5</sub> 亚基, 增强细胞与基质的相互作用<sup>[12]</sup>。

## 5 结 语

Cyr61 作为细胞信号传导通路下游的一个重要角色, 与多种细胞因子联系, 在体内广泛地参与生理和病理过程的调控, 发挥着复杂的功能。至今为止, 对于 Cyr61 的研究还是十分有限的, 而通过进一步研究 Cyr61 的表达调控和信号传导通路, 充分了解其功能和作用机制非常重要。在未来对肿瘤等多种疾病的治疗过程中, 可以将 Cyr61、整联蛋白等作为靶点, 通过干预 Cyr61 的表达、激活或阻断某些特定的信号通路等方式, 实现控制或消除疾病的目的。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Bork P. The modular architecture of a new family of growth regulators related to connective tissue growth factor[ J ]. FEBS Lett, 1993, 327( 2 ): 125-130.
- [ 2 ] Lau LF, Nathans D. Identification of a set of genes expressed during the G0/G1 transition of cultured mouse cells[ J ]. EMBO J, 1985, 4( 12 ): 3145-3151.
- [ 3 ] Perbal B. CCN proteins: Multifunctional signalling regulators[ J ]. Lancet, 2004, 363( 9402 ): 62-64.
- [ 4 ] Xie D, Miller CW, O'Kelly J, et al. Breast cancer. Cyr61 is overexpressed, estrogen-inducible, and associated with more advanced disease[ J ]. J Biol Chem, 2001, 276( 17 ): 14187-14194.
- [ 5 ] Xie D, Yin D, Wang HJ, et al. Levels of expression of CYR61 and CTGF are prognostic for tumor progression and survival of individuals with gliomas[ J ]. Clin Cancer Res, 2004, 10( 6 ): 2072-2081.
- [ 6 ] Holloway SE, Beck AW, Girard L, et al. Increased expression of Cyr61 ( CCN1 ) identified in peritoneal metastases from human pancreatic cancer[ J ]. J Am Coll Surg, 2005, 200( 3 ): 371-377.
- [ 7 ] Sakamoto S, Yokoyama M, Zhang X, et al. Increased expression

of Cyr61, an extracellular matrix signaling protein, in human benign prostatic hyperplasia and its regulation by lysophosphatidic acid[ J ]. Endocrinology, 2004, 145( 6 ): 2929-2940.

- [ 8 ] Kunz M, Moeller S, Koczan D, et al. Mechanisms of hypoxic gene regulation of angiogenesis factor Cyr61 in melanoma cells[ J ]. J Biol Chem, 2003, 278( 46 ): 45651-45660.
- [ 9 ] Chien W, Kumagai T, Miller CW, et al. Cyr61 suppresses growth of human endometrial cancer cells[ J ]. J Biol Chem, 2004, 279( 51 ): 53087-53096.
- [ 10 ] Tong X, O'Kelly J, Xie D, et al. Cyr61 suppresses the growth of non-small-cell lung cancer cells via the beta-catenin-c-myc-p53 pathway[ J ]. Oncogene, 2004, 23( 28 ): 4847-4855.
- [ 11 ] Wang B, Ren J, Ooi LL, et al. Dinucleotide repeats negatively modulate the promoter activity of Cyr61 and is unstable in hepatocellular carcinoma patients[ J ]. Oncogene, 2005, 24( 24 ): 3999-4008.
- [ 12 ] Chen CC, Mo FE, Lau LF. The angiogenic factor Cyr61 activates a genetic program for wound healing in human skin fibroblasts[ J ]. J Biol Chem, 2001, 276( 50 ): 47329-47337.
- [ 13 ] Vellon L, Menendez JA, Lupu R. AlphaVbeta3 integrin regulates heregulin ( HRG )-induced cell proliferation and survival in breast cancer[ J ]. Oncogene, 2005, 24( 23 ): 3759-3773.
- [ 14 ] Sampath D, Winneker RC, Zhang Z. The angiogenic factor Cyr61 is induced by the progestin R5020 and is necessary for mammary adenocarcinoma cell growth[ J ]. Endocrine, 2002, 18( 2 ): 147-159.
- [ 15 ] Kim KH, Min YK, Baik JH, et al. Expression of angiogenic factor Cyr61 during neuronal cell death via the activation of c-Jun N-terminal kinase and serum response factor[ J ]. J Biol Chem, 2003, 278( 16 ): 13847-13854.
- [ 16 ] Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Fuchs M, et al. Expression of CYR61, an angiogenic immediate early gene, in arteriosclerosis and its regulation by angiotensin II[ J ]. Circulation, 2002, 106( 2 ): 254-260.
- [ 17 ] Zhou D, Herrick DJ, Rosenbloom J, et al. Cyr61 mediates the expression of VEGF,  $\alpha$ v-integrin, and  $\alpha$ -actin genes cells through cytoskeletally based mechanotransduction mechanisms in bladder smooth muscle cells[ J ]. J Appl Physiol, 2005, 98( 6 ): 2344-2354.
- [ 18 ] Menendez JA, Vellon L, Mehmi I, et al. A novel CYR61-triggered CYR61- $\alpha$ vbeta3 integrin loop regulates breast cancer cell survival and chemosensitivity through activation of ERK1/ERK2 MAPK signaling pathway[ J ]. Oncogene, 2005, 24( 5 ): 761-779.
- [ 19 ] Grzeszkiewicz TM, Lindner V, Chen N, et al. The angiogenic factor cysteine-rich 61 ( CYR61, CCN1 ) supports vascular smooth muscle cell adhesion and stimulates chemotaxis through integrin  $\alpha$ ( 6 ) $\beta$ ( 1 ) and cell surface heparan sulfate proteoglycans[ J ]. Endocrinology, 2002, 143( 4 ): 1441-1450.
- [ 20 ] Xie D, Yin D, Tong X, et al. Cyr61 is overexpressed in gliomas and involved in integrin-linked kinase-mediated Akt and beta-catenin-TCF/Lef signaling pathways[ J ]. Cancer Res, 2004, 64( 6 ): 1987-1996.

[ 收稿日期 ] 2006 - 01 - 09

[ 修回日期 ] 2006 - 05 - 29

[ 本文编辑 ] 王莹