

- er stiffness with two imaging techniques: magnetic resonance elastography and ultrasound elastometry [J]. J Magn Reson Imaging, 2008, 28(5): 1287-1292.
- [12] Rouvière O, Yin M, Dresner MA, et al. MR elastography of the liver: preliminary results[J]. Radiology, 2006, 240(2): 440-448.
- [13] Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, et al. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2007, 5(10): 1207-1213.
- [14] Sandrasegaran K, Akisik FM, Lin C, et al. Value of diffusion-weighted MRI for assessing liver fibrosis and cirrhosis[J]. AJR Am J Roentgenol, 2009, 193(6): 1556-1560.
- [15] Taouli B, Tolia AJ, Losada M, et al. Diffusion-weighted MRI for quantification of liver fibrosis: preliminary experience[J]. AJR Am J Roentgenol, 2007, 189(4): 799-806.
- [16] Sandrasegaran K, Akisik FM, Lin C, et al. Value of diffusion-weighted MRI for assessing liver fibrosis and cirrhosis[J]. AJR Am J Roentgenol, 2009, 193(6): 1556-1560.
- [17] Girometti R, Furlan A, Bazzocchi M, et al. Diffusion-weighted MRI in evaluating liver fibrosis: a feasibility study in cirrhotic patients[J]. Radiol Med, 2007, 112(3): 394-408.
- [18] Soyul A, Kilikesmez O, Poturolu S, et al. Utility of diffusion-weighted MRI for assessing liver fibrosis in patients with chronic active hepatitis [J]. Diagn Interv Radiol, 2010, 16(3): 204-208.
- [19] Hagiwara M, Rusinek H, Lee VS, et al. Advanced liver fibrosis: diagnosis with 3D whole-liver perfusion MR imaging-initial experience[J]. Radiology, 2008, 246(3): 926-934.
- [20] 曾燕, 赵建农. 家兔肝纤维化模型的建立及三维全肝动态磁共振灌注成像对肝纤维化分期的量化价值[J]. 中华肝脏病杂志, 2009, 17(5): 350-352.
- [21] Margolis DJ, Hoffman JM, Herfkens RJ, et al. Molecular imaging techniques in body imaging[J]. Radiology, 2007, 245(2): 333-356.
- [22] Noren B, Dahlqvist O, Lundberg P, et al. Separation of advanced from mild fibrosis in diffuse liver disease using 31P magnetic resonance spectroscopy [J]. Eur Radiol, 2008, 66(2): 313-320.
- [23] Weissleder R, Mahmood U. Molecular imaging[J]. Radiology, 2001, 219(2): 316-333.
- [24] Nichol C, Kim EE. Molecular imaging and gene therapy [J]. J Nucl Med, 2001, 42(9): 1368-1374.
- [25] Boerman OC, Oyen WJ. Multimodality probes: amphibian cars for molecular imaging[J]. J Nucl Med, 2008, 49(8): 1213-1214.

(收稿日期: 2011-11-24 修回日期: 2011-12-20)

· 综 述 ·

BCAR1/P130CAS 与肿瘤相关机制研究进展*

黄 伟, 邓 波 综述, 王如文, 蒋耀光 审核

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所/全军胸外科中心肺外科, 重庆 400042)

关键词: BCAR1/P130cas; CAS; 凋亡/失巢凋亡; 侵袭转移

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2012. 10. 031

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)10-1009-03

CAS(Crk-associated substrate)蛋白家族作为细胞信号网络连接位点之一, 过去 10 多年被相继发现, 目前明确的有乳腺癌抗雌激素药物耐药蛋白(breast cancer anti-estrogen resistance 1, BCAR1), 神经元细胞表达发育下调基因 9(NEDD9), 胚胎 FYN 相关底物(EFS), CAS 蛋白 4(CASS4)^[1], 其中研究最广泛的是 BCAR1。BCAR1 又名 P130CAS。最初由 Reynolds 等^[2]在 v-Crk 和 v-Src 转化鸡胚胎细胞中发现, 其具有酪氨酸激酶活性, 分子量为 130×10^3 蛋白, 因此命名为 P130CAS。1994 年 Sakai 等^[3]在老鼠 3Y1 细胞中通过 cDNA 克隆出 P130 基因, 并且证明 P130CAS 是 v-Src 和 v-Crk 连接位点。2000 年, Brinkman 等^[4]通过将 P130CAS 转染到人乳腺癌雌激素依赖细胞 ZR-75-1 中, 使其对雌激素产生抵抗, 并对他莫昔芬产生耐药。此外, 通过基因组分析证明 BCAR1 由 7 个外显子组成, 位于 16q22-q23 染色体; 并且 BCAR1 由 870 氨基酸所构成, 与鼠 P130CAS 高度同源。

1 BCAR1/P130CAS 结构特点

结构分析 BCAR1/P130CAS 蛋白主要由 4 个部分组成:

氨基末端结构域、底物结合区(substrate domain, SD)、4 螺旋束区(BCAR1 结构之一)、羧基末端结构域。氨基末端结构域包含 SH3 结构域, 能与富含脯氨酸的黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、鸟苷酸释放因子(Crk SH3-domain-binding guanine-nucleotide-releasing factor, C3G)、蛋白酪氨酸磷酸酶 PEST(proline-, glutamic acid-, serine- and threonine-rich family of protein tyrosine phosphatases, PTP-PEST)等蛋白结合^[5]; 底物结合区紧靠 SH3 结构域包含了大量的 YxxP 序列, 当 BCAR1/P130CAS 被 Src 家族激酶磷酸化后, 底物结合区将提供与 Crk、Crk-L 等有 SH2 结构域蛋白的连接位点^[3]; 4 螺旋束区(4HB)位于底物结合区与羧基末端结构域之间, 包含了大量的丝氨酸, 能为 CAS 蛋白家族的伴侣蛋白如生长因子结合蛋白 2(growth factor receptor-bound protein 2, GRB2)等提供连接的位点^[6]; 羧基末端结构域包含一个 YDYVHL 序列, 是 Src 家族激酶连接的位点^[7]。

2 BCAR1/P130CAS 磷酸化和去磷酸化调控

BCAR1/P130CAS 的磷酸化主要由整合素信号途径调控,

* 基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目(CSCT, 2011BB5020); 第三军医大学青年人才创新基金资助项目(2010XQN36)。

当细胞与细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 接触时整合素被激活, 其下游的 FAK 也随即被激活, FAK 结合到 BCAR1/P130CAS 氨基末端 SH3 结构域, 磷酸化 BCAR1/P130CAS 羧基末端 YDYVHL 结构域, 使其与有 SH2 结构域的 Src 家族激酶结合。Src 家族激酶迅速磷酸化 BCAR1/P130CAS 的底物结合区, 暴露出 Crk 激酶连接位点, 结合并激活 Crk, Crk 作为一种癌基因能促进细胞迁移、增殖等。除上述经典调控途径外, 其他许多调控因子亦能促进 BCAR1/P130CAS 磷酸化, 例如: 乳腺癌细胞中的成纤维生长因子受体 2 (FGFR2)、脑组织中微血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、破骨细胞中巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF)。此外, 胰岛 β 细胞在葡萄糖刺激下也能使 BCAR1/P130CAS 磷酸化^[1]。

同时有多种磷酸酶作用于 BCAR1/P130CAS, 使其去磷酸化。白细胞共有抗原相关酪氨酸磷酸酶 (LAR) 能使 BCAR1/P130CAS 去磷酸化, 并能诱导 BCAR1/P130CAS 裂解^[8]; PTP-PEST 与 BCAR1/P130CAS 的 SH3 结构域结合后, 使 BCAR1/P130CAS 去磷酸化, 导致 BCAR1/P130CAS 与 Crk 结合减少; 胃细胞相关蛋白酪氨酸磷酸酶 1 (SCAP1) 能够使 BCAR1/P130CAS 去磷酸化, 从而抑制细胞的增殖和迁移。另外耶尔森菌可产生一种跨膜受体酪氨酸磷酸酶 YopH, 亦可使 BCAR1/P130CAS 去磷酸化, 从而使细菌的毒力增强^[1]。

3 BCAR1/P130CAS 在细胞黏附和迁移中的作用

BCAR1/P130CAS 作为一种黏着斑蛋白在细胞与细胞外基质黏附中扮演了重要的角色, Nakamoto 等^[9] 研究发现 BCAR1/P130CAS 在 Src 转化的细胞中主要位于黏着斑, 在非 Src 转化的细胞中 BCAR1/P130CAS 主要位于胞浆, 部分位于黏着斑; 其结果表明 Src 激酶对 BCAR1/P130CAS 定位于黏着斑发挥重要作用; 此外有研究报道 BCAR1/P130CAS 通过增加细胞边缘肌动蛋白流动和黏着斑持续更新^[10], 使小鼠胚胎成纤维细胞迁移能力提高。Klemke 等^[11] 报道 BCAR1/P130CAS 和 Crk 形成的复合物是诱导细胞迁移的关键分子, 使 BCAR1/P130CAS 和 Crk 分离后将会抑制细胞迁移。此外, Zyxin 家族蛋白是一种细胞黏附蛋白参与了 BCAR1/P130CAS 对细胞迁移的调控, 其中 Ajuba 是 BCAR1/P130CAS 的上游调控因子^[12]。Nakamoto 等^[13] 报道 CIZ 作为一种锌指蛋白与 BCAR1/P130CAS 结合后能够促进基质金属蛋白酶的表达, 这可以增强细胞迁移和侵袭能力。

4 BCAR1/P130CAS 在细胞凋亡/失巢凋亡和增殖中的作用

在促凋亡刺激作用下, 半胱天冬酶使 BCAR1/P130CAS 发生裂解, 并释放出一个羧基末端的 31×10^3 大小片段, 它有一个 HLH 结构域能与转录因子 E2A 发生结合后, 进入到细胞核解除 E2A 对细胞周期抑制蛋白 P21 的抑制作用, 从而促进细胞凋亡。当 BCAR1/P130CAS 发生突变后, 不能产生 31×10^3 片段, 不能解除 E2A 对 P21 的抑制作用, 细胞凋亡减少^[14]。上皮细胞与基质分离后, 将会导致细胞凋亡称为失巢凋亡, 它是一种防止细胞扩散的保护机制^[15]; 有研究报道, 结肠癌细胞中 CXCL12 过度表达能够促进 BCAR1/P130CAS 裂解, 从而导致癌细胞发生失巢凋亡^[16]。研究报道肺腺癌细胞 A549 中 BCAR1/P130CAS 依靠非依赖锚定激活, 从而使肺腺癌细胞逃避失巢凋亡; 若抑制 Src 激酶, 消除 BCAR1/P130CAS 的非依赖锚定激活可重新使肺腺癌细胞产生失巢凋亡^[17]; 这说明 BCAR1/P130CAS 在细胞失巢凋亡调控中发挥关键作用。BCAR1/P130CAS 不但在细胞凋亡方面发挥重要作用, 同时在调控细胞增殖中也扮演着关键作用。BCAR1/

P130CAS 可以与转化生长因子 β (TGF- β) 信号途径的 Smad3 结合, 减少 Smad3 磷酸化, 导致细胞周期依赖性激酶 (CDK) 抑制因子 P21 和 P15 表达降低, 从而促进细胞增殖^[18]; 有研究报道 BCAR1/P130CAS 可以诱导 Grb2 与 Shp-2 结合, 激活 Ras/Mek/Erk 信号途径促进细胞增殖^[19]。

5 BCAR1/P130CAS 与肿瘤

目前发现 BCAR1/P130CAS 在乳腺癌、肺癌、胶质母细胞瘤、前列腺癌以及淋巴瘤等多种肿瘤中有过表达, 并且与肿瘤侵袭转移、增殖分化、耐药预后等生物学行为密切相关。目前研究最多是 BCAR1/P130CAS 与乳腺癌的联系, Dorssers 等^[20] 通过 ELISA 检查了 2 593 例乳腺癌患者标本, 其结果表明 BCAR1/P130CAS 与类固醇激素受体 (雌激素受体和孕激素受体)、年龄、月经状态呈正相关, 与肿瘤分化程度、总体生存率和无复发生存率呈负相关。因此, BCAR1/P130CAS 可以作为判断乳腺癌预后的重要指标。Cabodi 等^[21] 通过动物实验发现, BCAR1/P130CAS 过表达可促进乳腺上皮广泛增生, 同时与 HER2-Neu 癌基因有协同作用从而促进肿瘤形成。有研究发现通过使用 Src 激酶的抑制剂 SKI-606, 可以减少 FAK 与 BCAR1/P130CAS 的磷酸化, 抑制乳腺癌细胞增殖、侵袭和转移^[22]。最近有研究指出 BCAR1/P130CAS 在 ErbB2 转化的乳腺癌细胞中发挥重要作用^[23], 能促进其转移和侵袭能力增强, 并提出 BCAR1/P130CAS 是 ErbB2 阳性乳腺癌治疗的新靶点。

肺癌是中国最常见的恶性肿瘤, 也是病死率最高的恶性肿瘤之一^[24]。有研究报道, BCAR1/P130CAS 在 80 例非小细胞肺癌 (NSCLC) 中 79 例表达明显增强, 而在 32 例肺良性肿瘤中 BCAR1/P130CAS 全部为阴性^[25]; 此外还通过 ELISA 分析患者血清中 BCAR1/P130CAS 水平, 非小细胞肺癌患者血清中的 BCAR1/P130CAS 较正常对照组及肺良性肿瘤组显著增高, 而肺良性肿瘤组 BCAR1/P130CAS 较正常对照组无显著差异; 血清 BCAR1/P130CAS 水平与肿瘤分期呈显著正相关, 在肿瘤切除后 BCAR1/P130CAS 水平逐渐降低。

Fromont 等^[26] 研究发现, BCAR1/P130CAS 在前列腺癌中高表达, 与表皮生长因子受体 (EGFR) 呈正相关, 而与转移抑制因子 KAI1 呈负相关, 因此, 作者认为 BCAR1/P130CAS 与前列腺癌的预后和治疗相关。另外, Frankel 等^[27] 报道, BCAR1/P130CAS 参与血管内皮生长因子非酪氨酸激酶受体 (NRP1) 信号途径, 并促进胶质母细胞瘤侵袭。有研究报道^[28], 在淋巴瘤细胞中 BCAR1/P130CAS 可以不通过 Src 激酶, 直接被间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 结合并激活。在 ALK 引导淋巴瘤细胞形态变化中发挥关键的调控作用。

综上所述, BCAR1/P130CAS 与肿瘤的侵袭转移、预后、耐药等生物学行为密切相关, 其生物学功能尚有待进一步研究。BCAR1/P130CAS 作为一种接头蛋白, 主要由整合素信号途径调控并激活, 同时受其他多种信号途径的调控; 通过目前的研究证实 BCAR1/P130CAS 与增殖、分化、凋亡、迁移等多种细胞功能有关, 同时亦与肿瘤侵袭转移, 预后耐药等生物学行为密切相关。因此, 随着对 BCAR1/P130CAS 功能研究的深入, BCAR1/P130CAS 有望成为肿瘤治疗的新靶点。

参考文献:

- [1] Tikhmyanova N, Little JL, Golemis EA. CAS proteins in normal and pathological cell growth control[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(7): 1025-1048.

- [2] Kanner SB, Reynolds AB, Parsons JT. Tyrosine phosphorylation of a 120-kilodalton pp60src substrate upon epidermal growth factor and platelet-derived growth factor receptor stimulation and in polyomavirus middle-T-antigen-transformed cells[J]. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(2): 713-720.
- [3] Sakai R, Iwamatsu A, Hirano N, et al. A novel signaling molecule, p130, forms stable complexes in vivo with v-Crk and v-Src in a tyrosine phosphorylation-dependent manner[J]. *EMBO J*, 1994, 13(16): 3748-3756.
- [4] Brinkman A, van der Flier S, Kok EM, et al. BCAR1, a human homologue of the adapter protein p130CAS, and antiestrogen resistance in breast cancer cells[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(2): 112-120.
- [5] Kirsch KH, Georgescu MM, Hanafusa H. Direct binding of p130(Cas) to the guanine nucleotide exchange factor C3G[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(40): 25673-25679.
- [6] Vuori K, Hirai H, Aizawa S, et al. Introduction of p130CAS signaling complex formation upon integrin-mediated cell adhesion: a role for Src family kinases[J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(6): 2606-2613.
- [7] Nasertorabi F, Tars K, Becherer K, et al. Molecular basis for regulation of Src by the docking protein p130CAS[J]. *J Mol Recognit*, 2006, 19(1): 30-38.
- [8] Hoon Kim D, Jeon Choi S, Kook S, et al. Phosphorylation-dependent cleavage of p130CAS in apoptotic rat-1 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 300(1): 141-148.
- [9] Nakamoto T, Sakai R, Honda H, et al. Requirements for localization of p130CAS to focal adhesions[J]. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(7): 3884-3897.
- [10] Meenderink LM, Ryzhova LM, Donato DM, et al. P130CAS Src-binding and substrate domains have distinct roles in sustaining focal adhesion disassembly and promoting cell migration[J]. *Plos One*, 2010, 5(10): 13412.
- [11] Klemke RL, Leng J, Molander R, et al. CAS/Crk coupling serves as a "molecular switch" for induction of cell migration[J]. *J Cell Biol*, 1998, 140(4): 961-972.
- [12] Pratt SJ, Epple H, Ward M, et al. The LIM protein ajuba influences p130CAS localization and rac1 activity during cell migration[J]. *J Cell Biol*, 2005, 168(5): 813-824.
- [13] Nakamoto T, Yamagata T, Sakai R, et al. CIZ, a zinc finger protein that interacts with p130(cas) and activates the expression of matrix metalloproteinases[J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(5): 1649-1658.
- [14] Kim W, Kook S, Kim DJ, et al. The 31-kDa caspase-generated cleavage product of p130CAS functions as a transcriptional repressor of E2A in apoptotic cells[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 8333-8342.
- [15] Frisch SM, Sreaton RA. Anoikis mechanisms[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13(5): 555-562.
- [16] Wendt MK, Drury LJ, Vongsa RA, et al. Constitutive CX-CL12 expression induces anoikis in colorectal carcinoma cells[J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(2): 508-517.
- [17] Wei L, Yang Y, Zhang X, et al. Anchorage-independent phosphorylation of p130(Cas) protects lung adenocarcinoma cells from anoikis[J]. *J Cell Biochem*, 2002, 87(4): 439-449.
- [18] Kim W, Seok Kang Y, Soo Kim J, et al. The integrin-coupled signaling adaptor p130CAS suppresses Smad3 function in transforming growth factor-beta signaling[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(5): 2135-2146.
- [19] Petti F, Thelemann A, Kahler J, et al. Temporal quantitation of mutant kit tyrosine kinase signaling attenuated by a novel thiophene kinase inhibitor OSI-930[J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(8): 1186-1197.
- [20] Dorssers LC, Grebenchtchikov N, Brinkman A, et al. The prognostic value of BCAR1 in patients with primary breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(18 Pt 1): 6194-6202.
- [21] Cabodi S, Tinnirello A, Di Stefano P, et al. P130CAS as a new regulator of mammary epithelial cell proliferation, survival, and HER2-neu oncogene-dependent breast tumorigenesis[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(9): 4672-4680.
- [22] Vultur A, Buettner R, Kowolik C, et al. SKI-606 (bosutinib), a novel Src kinase inhibitor, suppresses migration and invasion of human breast cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(5): 1185-1194.
- [23] Cabodi S, Tinnirello A, Bisaro B, et al. P130CAS is an essential transducer element in ErbB2 transformation[J]. *FASEB J*, 2010, 24(10): 3796-3808.
- [24] 李峥, 李梦侠, 廖玲, 等. APEI 单核苷酸多肽性与肺癌易感性关系的研究[J]. *重庆医学*, 2011, 40(6): 528-531.
- [25] Deng B, Huang W, Tan QY, et al. Breast cancer anti-estrogen resistance protein 1 (BCAR1/p130CAS) in pulmonary disease tissue and serum[J]. *Mol Diagn Ther*, 2011, 15(1): 31-40.
- [26] Fromont G, Vallancien G, Validire P, et al. BCAR1 expression in prostate cancer: association with 16q23 LOH status, tumor progression and EGFR/KAI1 staining[J]. *Prostate*, 2007, 67(3): 268-273.
- [27] Frankel P, Pellet-Many C, Lehtolainen P, et al. Chondroitin sulphate-modified neuropilin 1 is expressed in human tumour cells and modulates 3D invasion in the U87MG human glioblastoma cell line through a p130CAS-mediated pathway[J]. *EMBO Rep*, 2008, 9(10): 983-989.
- [28] Ambrogio C, Voena C, Manazza AD, et al. P130CAS mediates the transforming properties of the anaplastic lymphoma kinase[J]. *Blood*, 2005, 106(12): 3907-3916.