

III 与癌症发生相关的蛋白质相互作用的研究

1 整体水平上的人类癌蛋白相互作用研究^[1] (图7)

细胞在诸如增殖等过程中常常受到蛋白质之间相互作用不同频率和不同开启时间的调控。最近，来自英国伦敦肿瘤研究所生物分子模型实验室的研究人员首次从蛋白质组水平上报道了肿瘤相关蛋白之间的相互作用。

该研究有以下几个重大发现：

- 癌蛋白之间的相互作用是非癌蛋白之间相互作用数量的2倍(图7)，这也是癌蛋白与正常蛋白的一个重要区别；
- 癌蛋白和正常蛋白是进化过程中的不同分化形式；
- 生殖细胞癌变（可以遗传）的几率大大高于体细胞癌变（不可以遗传）。

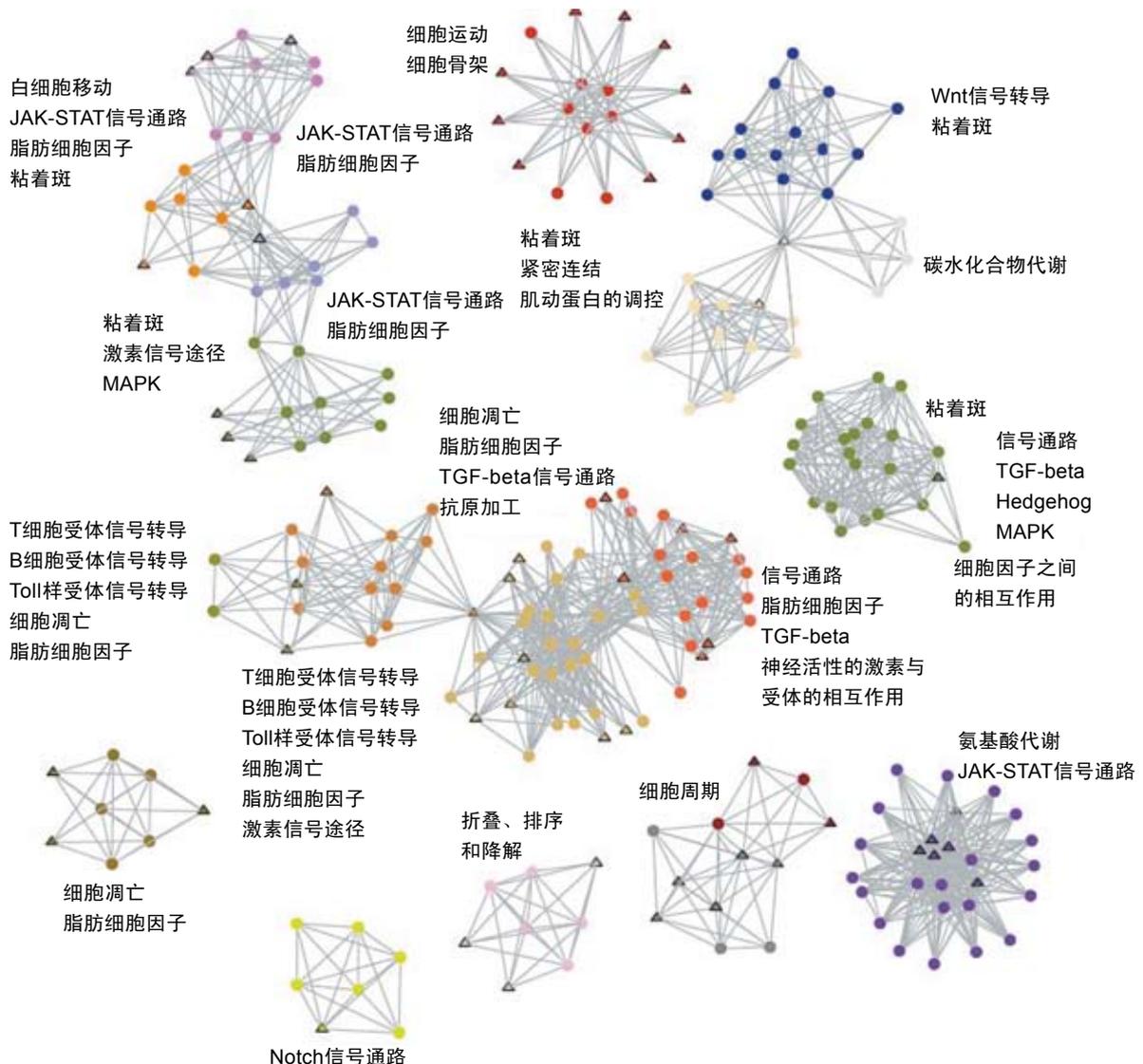


图7 基于K-CLIQUE的聚类算法的癌蛋白相互作用研究 (▲为癌蛋白)，不同的颜色代表不同的蛋白质组群，同一种蛋白可以属于不同的蛋白质组群

乳腺癌蛋白质相互作用的研究^[2] (图8)

乳腺癌浸润和转移是复杂的多步骤接连事件，是众多因子相互协调以及共同作用的结果。因此，只有从整体上研究蛋白质分子间的相互作用，才能更真实地了解乳腺癌发生的机制。

为此，加州大学旧金山分校的Anil等人选用了四种细胞系，分别为MDA-MB-231人乳腺癌细胞（文后小词典1）、MCF7-c18人乳腺癌细胞（小词典2）、人乳腺导管瘤细胞株BT474以及正常细胞人内皮细胞株HMEC-1（与癌细胞作对照）。

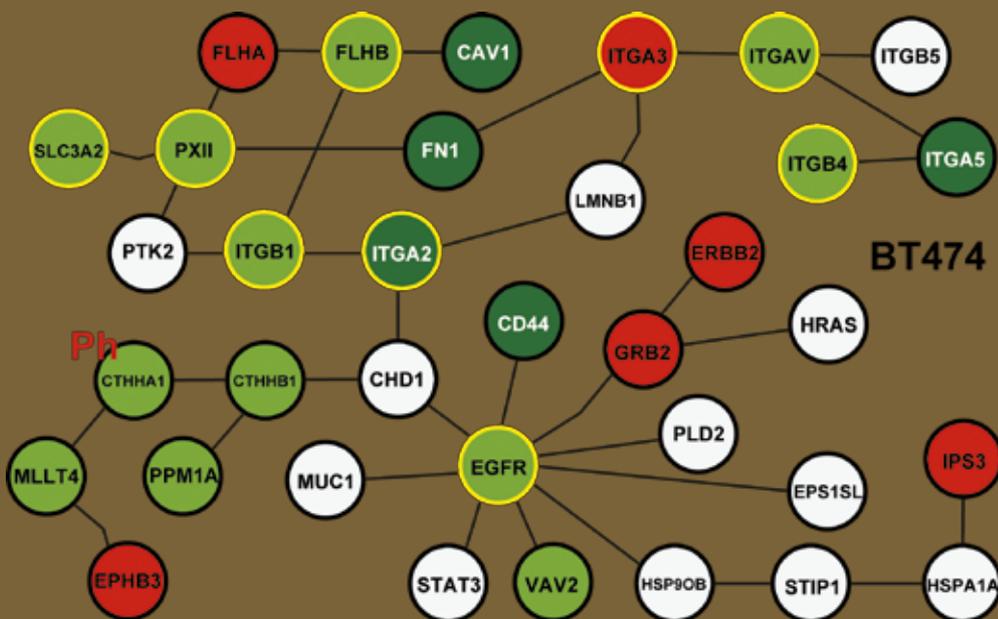
另外，在MDA-MB-231中，雌激素受体 α （ER- α ）和甲状腺激素受体 β （TR- β ）低水平表达，而在MCF7-c18以及BT474中，ER- α 与TR- β 均高水平表达。MCF7-c18和BT474都能过表达人表皮受体（HER），它们具有促进有丝分裂的作用，是由HER1/EGFR的结合而介导的。每个受体都是跨膜蛋白，它们由三个不同的结构域组成，包括细胞外区、跨膜部和细胞内区。细胞外区参与配体和受体的特异性结合，而HER2没有天然配体。疏水的跨膜部与细胞内和细胞外区相连，并在细胞膜上锚定受体。细胞内通常具有酪氨酸激酶活性（特别是HER3）。细胞内位点的磷酸化通过酪氨酸激酶激活下游信号传导。在乳腺癌细胞中，ER- α 和TR- β 的表达水平密切

相关。大量临床资料显示，在乳腺癌组织中，ER的存在状态与乳腺癌患者预后和内分泌治疗结果密切相关，乳腺癌患者中ER水平的检测已成为临床实验室中的常规检测项目。

Anil等人利用液相色谱-串联质谱法（LC/MS/MS）对四种细胞系的总蛋白进行分析，并结合多种研究策略、方法反复搜索了翻译后修饰（泛素化、磷酸化、糖基化、脂基化、甲基化和乙酰化等）的蛋白。

有9种相互作用的蛋白即SLC3A2（溶质转运蛋白家族）、PXN（小词典3）、ITGB1（整合素beta1）、ITGA2（整合素alpha-2）、FLNB（细胞细丝蛋白）、ITGB4（整合素beta4）、ITGAV（整合素alpha-V）、ITGA3（整合素alpha-3）和EGFR表皮生长因子在所有的癌细胞系中表达量均低于正常细胞HMEC。

其中，尤其值得引起注意的是整合素，它是细胞表面一类重要的兼具粘附和信号转导功能的受体。癌细胞与细胞外基质（ECM）的粘附是恶性肿瘤侵袭的首要步骤。表皮生长因子受体（EGFR）与整合素在这四种细胞系中都有类似的表达模式，而EGFR可以被磷酸化的整合素激活（图8）。表皮生长因子受体2（cerbB-2）是能预测乳腺癌术后早期复发和预后差的分子标志物。



Ph标注的节点表示在乳腺癌细胞发现的磷酸化蛋白，而正常的细胞中没有该修饰。有9个基因的表达数据显示，它们的表达模式在不同细胞系有类似的模式（黄色的圈）。红色表示蛋白基因转录水平高，绿色表示转录水平低。

图8 与乳腺癌有关的蛋白质相互作用

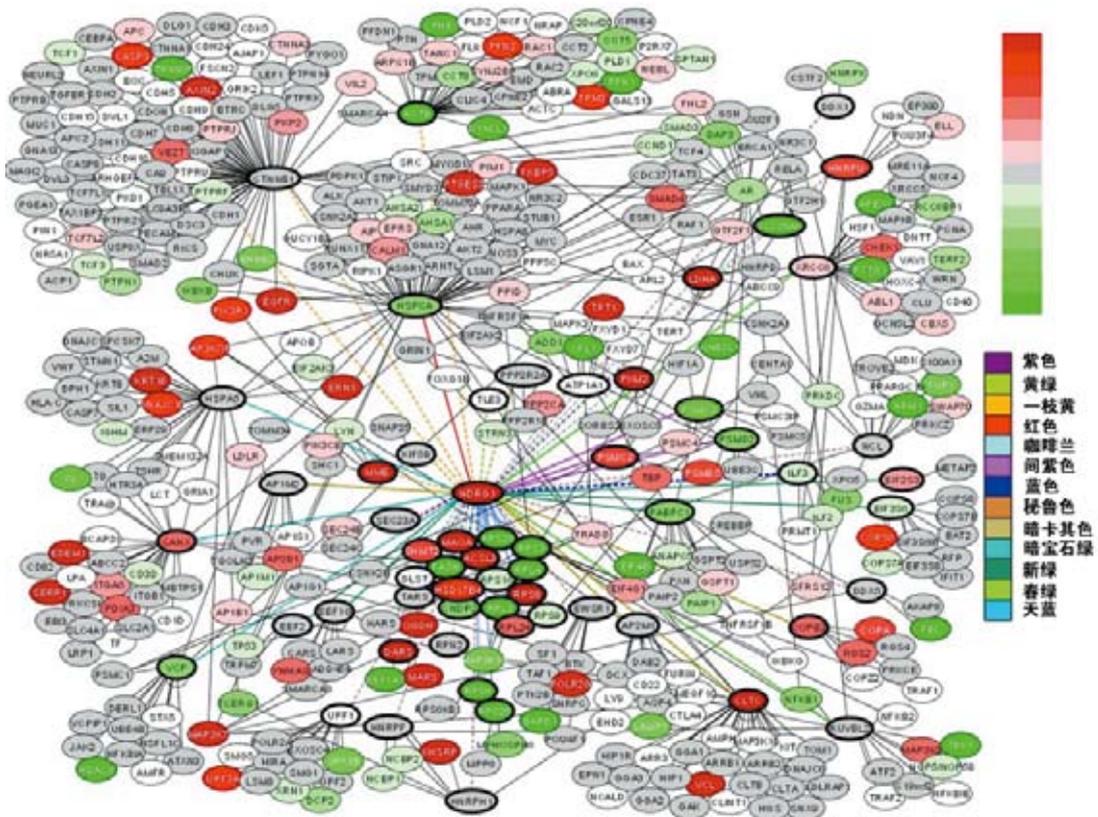
3 前列腺癌蛋白质相互作用的研究^[3]

N-myc下游调节基因1 (NDRG1) 由多位学者相继独立发现和分离, 其后被人类基因组织正式统一命名。该基因定位于人染色体8q2413, 广泛参与多种生物学功能。它与肿瘤的关系引人关注。有研究表明, NDRG1在乳腺癌、胰腺癌和肠癌等多种肿瘤组织中均有表达^[4-9], 但与前列腺癌的关系报道较少。Cangul等人研究发现, NDRG1在正常组织中低表达, 在脑瘤、乳腺癌、肺癌、肾癌等多种癌组织中高表达, 认为可以把NDRG1作为一种新型检测恶性肿瘤的标志物^[10]。

本文作者利用免疫共沉淀和LC-MS/MS技术在前列腺癌细胞中发现了与NDRG1相互作用的58种蛋白(图9)。这些蛋白包括:

- 核糖体蛋白
- DNA修复蛋白
- 蛋白质翻译调控蛋白
- ER分子伴侣蛋白
- 胞内运输蛋白
- 泛素依赖性蛋白
- 分子伴侣蛋白
- RNA加工蛋白
- 内质网到尔基运输蛋白
- 转录因子
- 代谢酶
- 细胞粘连
- 细胞骨架
- 细胞蛋白
- 信号转导蛋白

这些相互作用同时也说明了NDRG1具有多种多样的功能。同时, 也验证了NDRG1与信号转导分子 β -Catenin和Cadherin可以直接结合, 即使磷酸化的NDRG1也不会阻断这种结合。另外, NDRG1的相互作用与 β -Catenin和热激蛋白90有直接的关系。



红色, 表示表达水平上调; 绿色, 表示表达水平下调; 灰色, 表达水平没有明显的变化; 白色, 未能发现。颜色从亮到浅表示表达水平从高到底。外周颜色代表不同种类的蛋白: 实线天蓝, 核糖体蛋白; 春绿, DNA 修复蛋白; 新绿, 蛋白质翻译调控蛋白; 暗宝石绿, ER 分子伴侣蛋白; 暗卡其色, 胞内运输蛋白; 间紫色, 泛素依赖性蛋白; 红色, 分子伴侣蛋白。虚线: 秘鲁色, RNA 加工蛋白; 紫色, 内质网到高尔基运输蛋白; 咖啡兰, 代谢酶; 一枝黄, 细胞粘连和细胞骨架组织蛋白; 黄绿, 信号转导。

图9 N-myc下游调节基因1相互作用



胰腺癌蛋白质相互作用的研究

含多SH3结构域的蛋白的相互作用在胰腺癌细胞的信号转导中起着重要作用。**Src**是一种调节细胞粘连的蛋白酪氨酸激酶。**Src**由SH2、SH3和一个激酶催化结构域等3个主要的结构域组成，能通过磷酸化状态的控制或蛋白质与蛋白质之间的相互作用而从非活性状态转化到活性状态。

90%的胰腺癌有**ras**基因的点突变。**Ras**能被复杂的网络激活。首先，被磷酸化激活的受体如PDGFR、EGFR直接结合生长因子受体结合蛋白（**Grb2**），这些受体也可以间接结合并磷酸化含有**src**同源区2（SH2）结构域的蛋白质后，再激活**Grb2**。**Grb2**的**src**同源区3（SH3）结构域与靶蛋白如**mSos1**、**mSos2**、**C3G**及发动蛋白结合。**C3G**与连接蛋白**Crk**的SH3结构域结合后耦联酪氨酸磷酸化而激活**Ras**。含有SH3结构域蛋白与衔接蛋白相互作用从而形成有功能的蛋白复合体，在胰腺癌细胞信号转导中扮演着十分重要的角色^[11]。

小词典

1 MDA-MB-231人乳腺癌细胞：

来源：患有转移乳腺癌的51岁女病人的胸水；

特性：在裸鼠和ALS处理的BALB/c小鼠中，它能形成低分化腺癌。

2 MCF7-c18人乳腺癌细胞

特性：保留了多个分化了的乳腺上皮的特性，包括：能通过胞质雌激素受体加工雌二醇并能形成圆形复合物；含有Tx-4癌基因，肿瘤坏死因子 α 可以抑制MCF-7细胞的生长。

3 PXN（桩蛋白）

桩蛋白是一种细胞骨架上的磷酸蛋白，主要定位于粘着斑。近来研究发现，虽然桩蛋白分子本身可能不具有酶活性，但因为分子中含有多种结构域，能够与一系列信号蛋白和结构蛋白结合，于是决定了桩蛋白可以作为一种“码头”或“支架”，将来自上游的信号整合而高效地向下游传递。

参考文献

1. Jonsson, P. F., and Bates, P. A. (2006) Global topological features of cancer proteins in the human interactome, *Bioinformatics* (Oxford, England) 22, 2291-2297.
2. Patwardhan, A. J., Strittmatter, E. F., Camp, D. G., 2nd, et al. (2005) Comparison of normal and breast cancer cell lines using proteome, genome, and interactome data, *Journal of proteome research* 4, 1952-1960.
3. Tu, L. C., Yan, X., Hood, L., et al. (2007) Proteomics analysis of the interactome of N-myc downstream regulated gene 1 and its interactions with the androgen response program in prostate cancer cells, *Mol Cell Proteomics* 6, 575-588.
4. Ellen, T. P., Ke, Q., Zhang, P., et al. (2008) NDRG1, a growth and cancer related gene: regulation of gene expression and function in normal and disease states, *Carcinogenesis* 29, 2-8.
5. Wang, Z., Liu, Q., Chen, Q., et al. (2006) [Overexpression of NDRG1: relationship with proliferative activity and invasiveness of breast cancer cell line and breast cancer metastasis], *Zhonghua bing li xue za zhi Chinese journal of pathology* 35, 333-338.
6. Angst, E., Sibold, S., Tiffon, C., et al. (2006) Cellular differentiation determines the expression of the hypoxia-inducible protein NDRG1 in pancreatic cancer, *British journal of cancer* 95, 307-313.
7. Maruyama, Y., Ono, M., Kawahara, A., et al. (2006) Tumor growth suppression in pancreatic cancer by a putative metastasis suppressor gene Cap43/NDRG1/Drg-1 through modulation of angiogenesis, *Cancer research* 66, 6233-6242.
8. Fotovati, A., Fujii, T., Yamaguchi, M., et al. (2006) 17Beta-estradiol induces down-regulation of Cap43/NDRG1/Drg-1, a putative differentiation-related and metastasis suppressor gene, in human breast cancer cells, *Clin Cancer Res* 12, 3010-3018.
9. Wang, Z., Wang, F., Wei, W. L., et al. (2004) [Expression of NDRG1 gene in the progression of colorectal cancer and its relation to lymphatic metastasis], *Zhonghua bing li xue za zhi Chinese journal of pathology* 33, 264-265.
10. Cangul, H. (2004) Hypoxia upregulates the expression of the NDRG1 gene leading to its overexpression in various human cancers, *BMC genetics* 5, 27.
11. Thalappilly, S., Suliman, M., Gayet, O., et al. (2008) Identification of multi-SH3 domain-containing protein interactome in pancreatic cancer: a yeast two-hybrid approach, *Proteomics* 8, 3071-3081.