

GOLPH3 调控EGFR 的促癌机制研究

苏 航, 谢 忠*, 王镇南, 黄海丽 (广东医科大学放射肿瘤学, 广东湛江 524001)

摘要: 高尔基体磷蛋白 3 (GOLPH3) 和表皮生长因子受体 (EGFR) 除了执行正常细胞功能外, 还在多种肿瘤中存在过表达和功能异常的现象。该文将从 GOLPH3 调节 EGFR 相关信号通路、介导 EGFR 降解、修饰 EGFR 表面糖蛋白三大方面综述两者在肿瘤细胞调控中的关系, 以期 GOLPH3 成为 EGFR 靶向治疗辅助靶点的肿瘤治疗方法提供参考。

关键词: GOLPH3; EGFR; 内吞作用; DNA-PK; 糖基化; 基质金属蛋白酶 9

中图分类号: R 730.2

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2023) 01-0089-04

GOLPH3 regulating the cancer-promoting mechanism of EGFR

SU Hang, XIE Zhong*, WANG Zhen-nan, HUANG Hai-li (Radiation Oncology, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: In addition to performing normal cellular functions, Golphish phosphoprotein 3 (GOLPH3) and epidermal growth factor receptor (EGFR) have been found to be overexpressed and functionally abnormal in multiple tumors. This paper reviewed the relationship between GOLPH3 and EGFR in tumor cell regulation from three aspects including GOLPH3 regulating EGFR-related signaling pathway regulation, mediating EGFR degradation, and modifying EGFR surface glycoprotein, so as to provide reference for GOLPH3 as an auxiliary target of EGFR-targeted therapy.

Key words: GOLP; EGFR; endocytosis; DNA-PK; glycosylation; matrix metalloproteinase 9

高尔基体磷蛋白 3 (golgi phosphoprotein 3, GOLPH3) 是由 5p13 基因编码的, 具有高度保守性的磷酸化的高尔基体膜蛋白。Scott 等^[1] 通过基因敲除实验发现 GOLPH3 也是新的致癌基因, 在多种肿瘤中存在过表达现象, 并调控肿瘤的发生及转移。表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 是具有酪氨酸激酶活性的细胞膜表面糖蛋白受体, 当与其配体结合后会发生自动磷酸化, 介导细胞内有丝分裂信号, 调节细胞的增殖、分化^[2]。现已证实, 在人类各种肿瘤组织内均存在 EGFR 表达和功能异常, 促进肿瘤细胞的生长增殖和侵袭转移。GOLPH3 可通过多种方式参与 EGFR 的调节, 具体包括调控 EGFR 的内吞再循环和蛋白质糖基化等^[3]。本文就 GOLPH3 调节 EGFR 相关信号通路、介导 EGFR 降解、修饰 EGFR 表面糖蛋白三大方面作一综述。

1 GOLPH3 通过调节与 EGFR 相关信号通路来促癌发展

1.1 GOLPH3/EGFR/DNA-PK 信号通路

当肿瘤细胞受到化疗或放疗攻击后, 会激活 DNA-

pkcs 依赖的 DNA 双链断裂 (DSB) 修复机制, 在抑制肿瘤细胞死亡中发挥关键作用。一项关于肺腺癌放疗抵抗的研究发现, 与对照组相比, 下调经过 6Gy 放疗后的肺腺癌细胞中 GOLPH3 的表达促进了 EGFR 的泛素化, 除了有利于随后溶酶体介导的 EGFR 降解, 同时也减弱放疗后 EGFR 在核内的积累, 进而抑制 DNA-pk 的激活, 最终抑制肿瘤细胞 DNA 修复, 从而提高放射敏感性^[4]。可见, EGFR 核积累和 DNA-PK 激活两种方式是 GOLPH3 通过 GOLPH3/EGFR/DNA-PK 信号通路促癌发展的关键因素。

1.2 JAK2-STAT3 信号通路

细胞内 EGFR 信号除了可以通过 PI3K-AKT、MAPK/ERK、JNK 信号通路传导, 还可以通过膜受体相关 Janus 激酶 (JAK) 信号转导和转录激活因子 (STAT) 信号通路介导^[5]。STAT 作为 EGFR 信号转导的重要媒介, 其蛋白家族成员是介导细胞增殖、凋亡和分化多个方面的细胞内转录因子^[6], 它们主要由细胞因子或生长因子在细胞外结合后被 JAK 激活。该通路

收稿日期: 2022-06-09

基金项目: 广东省科技计划项目 (2014A020212599), 广东省医学科学技术研究基金项目 (B2022111)

作者简介: 苏 航 (1994-), 男, 在读硕士研究生, E-mail: 393039085@qq.com

通信作者: 谢 忠 (1970-), 男, 主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: xiexieg@126.com

的失调能促进肿瘤的发生和发展。JAK2-STAT3 通路作为EGFR 的下游效应子,近年来在胶质瘤中被证实受GOLPH3 调控^[7]。在胶质瘤的U251 和U87 细胞中,通过敲低GOLPH3 后发现JAK2 和STAT3 的活性形式p-JAK2 和p-STAT3 的水平降低,而过表达GOLPH3 后则升高,说明GOLPH3 可以调节JAK2 -STAT3 的活性。此外,通过RT-PCR 检测发现,当GOLPH3 敲除后,STAT3 的两个与增殖相关的靶基因cyclin D1 和c-myc 的转录水平下降,而当GOLPH3 过表达后则升高,这进一步证明 GOLPH3 可作为支架蛋白促进JAK2 和STAT3 相互作用和活化,从而介导 GOLPH3 对细胞增殖的影响^[7]。同时GOLPH3 被证明在结直肠癌进展中参与JAK2 / STAT3 信号通路^[8]。但至今尚无足够的证据表明GOLPH3 是通过直接与JAK2 或STAT3 结合,或者有其他中间分子介导 GOLPH3 对JAK2-STAT3 的调控,目前仍需进一步研究探索。

1.3 Src 信号通路

GOLPH3 与癌症调节途径(如EGFR、mTOR 和Src)存在广泛交叉,在GOLPH3 敲低的细胞中发现EGFR、mTOR 和Src 的磷酸化显著降低。MMP9 是由肿瘤或基质细胞分泌的,主要功能为降解细胞外基质蛋白的一种酶类,它在原发和转移瘤中表达均升高^[9],是细胞入侵所必需,也与肿瘤进展的关系密不可分^[10-11]。先前的研究证实,上皮样肉瘤中癌细胞^[12]和乳腺癌细胞^[13]中EGFR 被证明可上调MMP9 表达而促进癌细胞侵袭,EGFR 敲低则导致MMP9 表达降低。其中EGFR 对MMP9 调节方式之一是通过NFκB 的亚基RelA (P65) 与MMP9 的启动子结合并促进其转录的^[12]。研究表明,通过功能丧失法来检查前列腺癌细胞中GOLPH3 调节下游转移相关基因的表达发现,GOLPH3 敲低的细胞中除了抑制细胞迁移和侵袭,还伴随着大量金属蛋白酶9 (MMP9) 的下降,而定量PCR 显示在GOLPH3 敲低后RelA (P65) 的转录减少,表明NFκB 参与了GOLPH3 对前列腺癌中MMP9 表达的调节^[14]。除此之外,在甲状腺癌中,Src 激酶抑制剂达沙替尼可抑制骨髓细胞中MMP9 表达的同时也抑制癌细胞运动^[15-16];在小鼠模型中,Src 负调节剂羧基末端Src 激酶(Csk) 的敲除导致MMP9 升高^[16],这都直接或间接证明Src 可以驱动MMP9 表达^[17]。这些证据均表明,GOLPH3 可能通过EGFR 和Src 信号通路调节MMP9 的表达进而影响肿瘤进展,而NFκB 可能参与EGFR 和Src 信号通路间的信息传递并介导这种调节^[14]。

2 GOLPH3 通过调节 Rab5 介导的内吞作用和EGFR 的降解来促癌发展

细胞内吞作用是通过网格蛋白介导的内吞、吞噬、巨胞饮和胞饮等方式,把外界信息转化成细胞特定生物功能的重要途径之一,其与细胞信号转导功能关系密切^[18-19]。EGFR 内吞和循环的调控是一个有多基因参与的具有时序性、空间依赖性的复杂调控网络。研究证实,AP-2 通过招募内吞过程中其他成分间接促进EGFR 内吞作用;Epsin 和Eps15 也可通过非依赖网格蛋白的内吞途径促进泛素化的EGFR 内化^[20]。当配体与EGFR 结合时,Ras- 促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路或磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K) -Akt- 雷帕霉素哺乳动物靶标(mTOR) 信号通路会被激活,导致基因的转录和新的蛋白质合成,负责细胞增殖、迁移、粘附、分化和凋亡。此后,EGFR 及其配体复合物通过受体介导的内吞作用被内化,以防止EGFR 信号传导过度激发^[21]。内化后,EGFR 通过一系列内体隔室进行运输,要么被循环回质膜进行再利用,要么借助于溶酶体进行降解^[22]。EGFR 激活和内化之间的平衡失调将导致细胞生长异常,从而导致肿瘤形成^[23]。EGFR 的内化和运输到内体区室离不开Rab5 (一种EGFR 内吞作用所需的蛋白质) 的激活^[24],而EGFR 激活则会导致Rab5 从与GDP 结合的非活性形式转化为与GTP 结合的活性形式,从而刺激受体沿早期内吞途径运输,这导致了EGFR 降解^[25]。2009 年,研究人员首次报道证实了GOLPH3 可通过增强mTOR 的活性来促进细胞转化和肿瘤生长^[26-27]。最近在神经胶质瘤细胞研究证实^[28],敲低GOLPH3 表达可通过激活Rab5 来促进EGFR 内吞作用而内化和快速溶酶体介导的EGFR 降解来抑制神经胶质瘤细胞的生长,进而抑制PI3K-Akt-mTOR 信号传导。总而言之,上述研究表明,Rab5 对于GOLPH3 下调诱导的EGFR 内吞作用和运输到早期和晚期内体至关重要,GOLPH3 可以通过Rab5 以EGF 依赖性和非依赖性方式发挥调控EGFR 的降解,从而影响肿瘤进展。

3 GOLPH3 通过调节EGFR 糖基化和泛素化来促癌发展

研究已证实,GOLPH3 的首要功能之一是它在高尔基体保留一些糖基转移酶中的作用^[29-30],其水平可能通过影响某些唾液酸转移酶和岩藻糖基转移酶的分选从而调节EGFR 唾液酸化和岩藻糖基化水平^[31]。而我们知道EGFR 是高度糖基化的,其细胞外区域包

含10个典型和1个非典型N-糖基化位点,而N-聚糖唾液酸化和岩藻糖基化可以调节EGFR活性^[32]。在不同类型的癌细胞中,GOLPH3的水平可能以不同方式影响EGFR的糖基化,这可能导致不同的结果。例如,在人类肺腺癌的CL1-5细胞中,EGFR的岩藻糖基化和唾液酸化会减弱其活性^[33];在人胚胎肾细胞和非小细胞肺癌的A549细胞中,EGFR的岩藻糖基化促进EGF结合及其随后的信号传导活性;在HeLa细胞中EGFR的糖基化不受GOLPH3水平的影响;而在胶质母细胞瘤的T98G细胞中,研究证实,GOLPH3敲低后EGFR岩藻糖基化抑制了EGFR增殖信号活性,这与EGFR残基的自磷酸化显著被抑制有关^[34]。但令人意外的是,GOLPH3的敲低却导致了包括细胞表面水平在内的EGFR水平增加,对此一种解释为:在T98G细胞中,组织转谷氨酰胺酶(tTG)存在过表达现象,这是一种GTP结合蛋白/酰基转移酶^[35],在许多神经胶质瘤中上调并增强了EGFR的信号传导活性和寿命^[36],而T98G细胞中tTG的过表达增加了EGFR的水平和转化活性。肿瘤进展离不开EGFR信号传导的失控,主要表现为EGFR受体的失调,导致EGFR的泛素化在这个过程中起着决定性的作用,因为它调节受体内化、运输和降解^[37]。无论EGFR是否与配体结合,当它们到达质膜后,最终都会参与内吞转运^[21, 38]。在不同数量的配体情况下,EGFR的内吞作用也有所不同,当没有配体与之结合时,EGFR的内吞作用发生的速率比其循环回质膜的速率慢一个数量级;当可结合配体数量很低时,非泛素化的EGFR几乎完全被网格蛋白介导的内吞作用(CME)内化,当配体浓度饱和时,EGFR则会被泛素化,并且被非网格蛋白内吞作用(NCE)内化^[39]。不管内吞机制如何,内化的EGFR都会被转运到早期的内体,如果它是非泛素化的,则主要再循环回质膜;如果它是泛素化的,则主要结合到多泡体(MVB)上最终在溶酶体中降解^[28, 39-40]。而在T98G细胞研究中发现,GOLPH3的敲低增加了EGFR再循环。所以即使在配体存在的情况下,总的和细胞表面的EGFR水平也增加。总之,无论对EGFR水平影响如何,GOLPH3的敲低都会抑制EGFR的活化,从而对肿瘤细胞的增殖产生负面影响。

4 展望

GOLPH3作为一种癌基因,在多种实体瘤中存在过表达现象,而EGFR过表达对于肿瘤细胞的生长增殖和侵袭转移至关重要。全面了解GOLPH3与EGFR

两者在肿瘤细胞的关系和相互影响的机制对确定新的癌症治疗策略,尤其针对GOLPH3能否成为EGFR靶向治疗辅助靶点的进一步研究非常重要。

参考文献:

- [1] SCOTT K L, KABBARAH O, LIANG M C, et al. GOLPH3 modulates mTOR signalling and rapamycin sensitivity in cancer [J]. *Nature*, 2009, 459(7250): 1085-1090.
- [2] LIU Q, YU S, ZHAO W, et al. EGFR-TKIs resistance via EGFR-independent signaling pathways [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 53.
- [3] 蔡静怡, 余忠华, 王镇南, 等. GOLPH3在恶性肿瘤发生发展及耐药机制中的作用 [J]. *广东医科大学学报*, 2022, 40(3): 346-349.
- [4] CHEN G, KONG P, YANG M, et al. Golgi phosphoprotein 3 confers radioresistance via stabilizing EGFR in lung adenocarcinoma [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2022, 112(5): 1216-1228.
- [5] SIGISMUND S, AVANZATO D, LANZETTI L. Emerging functions of the EGFR in cancer [J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(1): 3-20.
- [6] AYELE T M, MUCHE Z T, TEKLEMARIAM A B, et al. Role of JAK2/STAT3 signaling pathway in the tumorigenesis, chemotherapy resistance, and treatment of solid tumors: A systemic review [J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 1349-1364.
- [7] WU S, FU J, DONG Y, et al. GOLPH3 promotes glioma progression via facilitating JAK2-STAT3 pathway activation [J]. *J Neurooncol*, 2018, 139(2): 269-279.
- [8] ZHANG W, CHEN X, JIA J. MiR-3150b-3p inhibits the progression of colorectal cancer cells via targeting GOLPH3 [J]. *J Investig Med*, 2020, 68(2): 425-429.
- [9] GOBIN E, BAGWELL K, WAGNER J, et al. A pan-cancer perspective of matrix metalloproteases (MMP) gene expression profile and their diagnostic/prognostic potential [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 581.
- [10] AUGOFF K, HRYNIEWICZ-JANKOWSKA A, TABOLA R, et al. MMP9: A tough target for targeted therapy for cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(7): 1847.
- [11] HUANG H. Matrix metalloproteinase-9 (mmp-9) as a cancer biomarker and mmp-9 biosensors: recent advances [J]. *Sensors (Basel)*, 2018, 18(10): 3249.
- [12] BERA A, ZHAO S, CAO L, et al. Oncogenic K-Ras and loss of Smad4 mediate invasion by activating an EGFR/NF- κ B Axis that induces expression of MMP9 and uPA in human pancreas progenitor cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82282.
- [13] JOSEPH C, ALSALEEM M, ORAH N, et al. Elevated MMP9 expression in breast cancer is a predictor of shorter patient survival [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2020, 182(2): 267-282.
- [14] LI W, QI K, WANG Z, et al. Golgi phosphoprotein 3 regulates metastasis of prostate cancer via matrix metalloproteinase 9

- [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(4): 3691-3700.
- [15] ZHANG F, XU M C, YIN X C, et al. TWEAK promotes hepatic stellate cell migration through activating EGFR/Src and PI3K/AKT pathways [J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(1): 278-285.
- [16] KESSLER B E, MISHALL K M, KELLETT M D, et al. Resistance to Src inhibition alters the BRAF-mutant tumor secretome to promote an invasive phenotype and therapeutic escape through a FAK>p130Cas>c-Jun signaling axis [J]. *Oncogene*, 2019, 38(14): 2565-2579.
- [17] LU P, CHEN J, YAN L, et al. RasGRF2 promotes migration and invasion of colorectal cancer cells by modulating expression of MMP9 through Src/Akt/NF- κ B pathway [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(4): 435-443.
- [18] KATSUNO-KAMBE H, YAP A S. Endocytosis, cadherins and tissue dynamics [J]. *Traffic*, 2020, 21(3): 268-273.
- [19] STARIGA ZDOVÁ J, NEŠPOROVÁ K, ČEPA M, et al. In vitro investigation of hyaluronan-based polymeric micelles for drug delivery into the skin: The internalization pathway [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 143: 105168.
- [20] PASCOLUTTI R, ALGISI V, CONTE A, et al. Molecularly distinct clathrin-coated pits differentially impact egfr fate and signaling [J]. *Cell Rep*, 2019, 27(10): 3049-3061.
- [21] CALDIERI G, MALABARBA M G, DI FIORE P P, et al. EGFR trafficking in physiology and cancer [J]. *Prog Mol Subcell Biol*, 2018, 57: 235-272.
- [22] SORKIN A, VON ZASTROW M. Endocytosis and signalling: Intertwining molecular networks [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(9): 609-622.
- [23] ZHOU Y, SAKURAI H. New trend in ligand-induced EGFR trafficking: A dual-mode clathrin-mediated endocytosis model [J]. *J Proteomics*, 2022, 255: 104503.
- [24] KIM H, OH H, OH Y S, et al. SPIN90, an adaptor protein, alters the proximity between Rab5 and Gapex5 and facilitates Rab5 activation during EGF endocytosis [J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(7): 1-14.
- [25] LONIC A, GEHLING F, BELLE L, et al. Phosphorylation of PKC δ by FER tips the balance from EGFR degradation to recycling [J]. *J Cell Biol*, 2021, 220(2): e201902073.
- [26] SECHI S, FRAPPAOLO A, BELLONI G, et al. The multiple cellular functions of the oncoprotein Golgi phosphoprotein 3 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(6): 3493-3506.
- [27] FARBER-KATZ S E, DIPPOLD H C, BUSCHMAN M D, et al. DNA damage triggers Golgi dispersal via DNA-PK and GOLPH3 [J]. *Cell*, 2014, 156(3): 413-427.
- [28] ZHOU X, XIE S, WU S, et al. Golgi phosphoprotein 3 promotes glioma progression via inhibiting Rab5-mediated endocytosis and degradation of epidermal growth factor receptor [J]. *Neuro Oncol*, 2017, 19(12): 1628-1639.
- [29] ISAJI T, IM S, GU W, et al. An oncogenic protein Golgi phosphoprotein 3 up-regulates cell migration via sialylation [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(30): 20694-20705.
- [30] TAKAHASHI M, HASEGAWA Y, MAEDA K, et al. Role of glycosyltransferases in carcinogenesis; growth factor signaling and EMT/MET programs [J]. *Glycoconj J*, 2022, 39(2): 167-176.
- [31] XU Y, GAO Z, HU R, et al. PD-L2 glycosylation promotes immune evasion and predicts anti-EGFR efficacy [J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(10): e002699.
- [32] INDRAMANEE S, SAWANYAWISUTH K, SILSIRIVANIT A, et al. Terminal fucose mediates progression of human cholangiocarcinoma through EGF/EGFR activation and the Akt/Erk signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 17266.
- [33] LIU Y C, YEN H Y, CHEN C Y, et al. Sialylation and fucosylation of epidermal growth factor receptor suppress its dimerization and activation in lung cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(28): 11332-11337.
- [34] ARRIAGADA C, CAVIERES V A, LUCHSINGER C, et al. GOLPH3 Regulates EGFR in T98G Glioblastoma Cells by Modulating Its Glycosylation and Ubiquitylation [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22): 8880.
- [35] BORDELEAU F, WANG W, SIMMONS A, et al. Tissue transglutaminase 2 regulates tumor cell tensional homeostasis by increasing contractility [J]. *J Cell Sci*, 2020, 133(1): jcs231134.
- [36] ZHANG J, ANTONYAK M A, SINGH G, et al. A mechanism for the upregulation of EGF receptor levels in glioblastomas [J]. *Cell Rep*, 2013, 3(6): 2008-2020.
- [37] NIÑO C A, WOLLSCHIED N, GIANGRECO G, et al. USP25 regulates egfr fate by modulating egf-induced ubiquitylation dynamics [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(11): 1548.
- [38] GAZZERI S. Nuclear EGFR: A new mode of oncogenic signalling in cancer [J]. *Biol Aujourd'hui*, 2018, 212(1-2): 27-33.
- [39] SIGISMUND S, WOELK T, PURI C, et al. Clathrin-independent endocytosis of ubiquitinated cargos [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(8): 2760-2765.
- [40] HENNE W M, BUCHKOVICH N J, EMR S D. The ESCRT pathway [J]. *Dev Cell*, 2011, 21(1): 77-91.