

• 综 述 •

Gab2 支架蛋白——新的抗癌药物靶点

刘 巍, 徐为人, 汤立达

天津药物研究院, 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193

摘 要: 接头蛋白或支架蛋白可以介导蛋白-蛋白之间的相互作用, 并促进蛋白复合物的形成。Gab2 作为中介分子, 通过招募受体酪氨酸激酶等膜受体与其下游的效应蛋白如 SHP2、PI3K 的 p85 亚基、PLC γ 、CRK、SHC 和 SHIP 的结合来实现信号的传递。近年来, 由于 Gab2 支架蛋白在信号转导过程中发挥着重要的作用, 使得其在人类癌症特别是白血病、乳腺癌、卵巢癌及黑色素瘤中的角色备受关注。Gab2 主要参与介导 SHP2/RAS/ERK 和 PI3K/AKT 两条经典的信号通路。综述 Gab2 的结构与功能, 调解的蛋白, 在癌症中的作用以及其作为药物治疗靶点的潜力。

关键词: 支架蛋白; Gab2; 信号通路; 癌症; 靶点

中图分类号: R962.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2014)01-0074-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.01.017

Gab2 scaffolding protein as a new therapeutic target in cancer

LIU Wei, XU Wei-ren, TANG Li-da

Tianjin Key Laboratory of Molecular Design & Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Adaptor or scaffolding proteins mediate protein-protein interactions that drive the formation of protein complexes. Gab2 scaffolding protein is an intermediary molecule that links plasma membrane receptor signaling including receptor tyrosine kinases with the downstream effectors such as SHP2, p85 subunit of PI3K, PLC γ , CRK, SHC, and SHIP. Although well described in signal transduction, the role of Gab2 scaffolding protein in cancer has recently been emerging especially in leukemia, breast and ovarian cancer, and melanoma. Gab2 is essential for mediating the two major signal transduction pathways in cancer, the PI3K-AKT and ERK signaling pathways. This review focuses on the structure and function of Gab2, its regulatory proteins, emerging role in cancer, and potential as a therapeutic target.

Key words: scaffolding protein; Gab2; signaling pathway; cancer; target

蛋白酪氨酸激酶 (protein tyrosine kinases, PTKs) 的磷酸化作用与蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatases, PTPs) 的去磷酸化作用是生物体内普遍存在的信号转导机制, 它们共同调节细胞内蛋白质的磷酸化水平, 与细胞的生长、分化、细胞周期调控等密切相关^[1]。研究表明, 多数生长因子及激素类受体胞内段具有酪氨酸激酶的活性, 而大部分细胞因子受体本身缺乏内在的酪氨酸激酶活性, 需要借助非受体型酪氨酸激酶来实现信号的传递。当配体与受体结合后, 受体型酪氨酸激酶及非受体型酪氨酸激酶被活化并迅速产生与 Src 同源

区 2 (Src homology 2, SH2) 结构域和与磷酸化酪氨酸结合结构域的结合位点, 并激活下游底物。接头蛋白或支架蛋白就是一类能与酪氨酸激酶结合的底物分子, 可以介导蛋白-蛋白之间的相互作用, 并且促进蛋白复合物的形成, 参与多条信号通路的激活。

Gabs 家族蛋白 (Grb2-associated binder family proteins) 是一类在进化过程中高度保守的支架蛋白, 该家族成员包括哺乳动物内 Gab1、Gab2、Gab3, 果蝇属 DOS, 海葵内 Ne-Gab 及秀丽线虫内 Soc1。虽然仅具有 40%~50% 的同源性序列, 但它们与许多特殊的细胞功能却是密切相关的^[2]。其中, Gab1

收稿日期: 2013-08-07

作者简介: 刘 巍 (1981—), 男, 助理研究员, 研究方向为新药筛选与评价。Tel: 13702113617 E-mail: liuw@tjipr.com

和 Gab2 支架蛋白广泛表达于机体的各种组织,特别是在血液、大脑、肾脏、肺、心脏、睾丸和卵巢等器官^[3]。Gab3 支架蛋白主要是在血液和淋巴组织中表达^[3]。尽管 Gabs 蛋白结构中缺少催化区域,不具有酶的活性,但其可作为受体酪氨酸激酶和非受体酪氨酸激酶,如细胞因子受体和 G 蛋白偶联受体的底物分子,通过各种结构域和结合位点,招募多种接头蛋白及酶类分子,完成信号传递。当细胞接受多种胞外因素(如生长因子、细胞因子、黏附因子等)刺激后, Gabs 蛋白结构域中某些重要的酪氨酸残基被磷酸化激活,在功能上一方面可介导膜受体与信号转运蛋白间的偶联,另一方面促使各信号传递组分结合定位于胞内某一特定区间,实现各信号蛋白间的相互调节及信号的迅速放大^[3-6]。因此, Gabs 支架蛋白作为中介分子,在细胞增殖、存活、分化、凋亡及迁移等生理过程中发挥重要作用,但具体机制仍需进一步了解。近年来,由于 Gab2 支架蛋白在信号转导过程中发挥着重要的作用,使得其在人类癌症,特别是白血病、乳腺癌、卵巢癌及黑色素瘤的发生、发展中所扮演的角色备受关注。现对 Gab2 的结构与功能,在信号转导中的作用,在癌症发病中的作用以及其作为潜在的治疗靶点等方面作一综述。

1 Gab2 的分子结构与功能

人类 Gab2 是由 *GAB2* 基因所编码的一种在机体内广泛表达的中介分子,蛋白相对分子质量 $0.97 \times 10^5 \sim 1 \times 10^5$ 。Gab2 支架蛋白的结构组成主要包括 N-末端的 Pleckstrin 同源结构域,中间富含脯氨酸的基序,以及含多个酪氨酸残基的 C-末端^[4,7]。

Gab2 主要通过两种机制来调节自身的亚细胞定位。首先, PH 结构域是 Gabs 家族蛋白质最保守的元件,可以识别细胞膜的磷脂成分,特别是磷酸肌醇类(phosphatidyl-inositol-phosphates, PIPs)如 PIP(3, 4, 5)₃(phosphatidyl-inositol-3, 4, 5-triphosphate)、PIP(3, 4)₂(phosphatidyl-inositol-3, 4-triphosphate)、PIP(4, 5)₂(phosphatidyl-inositol-4, 5-triphosphate)等,诱发了细胞膜对 Gab2 的募集,对 Gab2 的膜定位具有重要意义^[8-9]。另外一种机制则需要接头蛋白 Grb2 的参与, Grb2 蛋白中包含有 2 个 Src 同源区 3 (Src homology 3, SH3) 和 1 个 SH2 结构域,它是 Gab2 主要的上游调控分子,可以间接的募集其至胞膜受体,包括受体酪氨酸激酶(EGFR, KIT), 细胞因子受体(IL-1, IL-3, IL-15, TPO, EPO, KITL,

M-CSF, Flt310, gp130), Fc 受体(FcεR1, FcγR1), T 和 B 细胞抗原受体,以及 G 蛋白偶联受体^[3]。当受体酪氨酸激酶接受胞外刺激后,其胞内段的酪氨酸残基迅速磷酸化,并与 Grb2 中的 SH2 结构域结合,而 Gab2 内的富含脯氨酸的结构域中包含多个 PXXP (proline-rich sequences) 基序,可以识别 Grb2 蛋白的 SH3 结构域,并作为与其结合的绑定位点^[10]。通常 Gab2 在结构上通过一个“典型的”PXXPRX 基序和一个“非典型的”PXXRXKKP 基序与 Grb2 接头蛋白的 SH3 结构域结合,并促进蛋白复合物的形成^[11]。但是,并非所有受体都能通过 Grb2 介导与 Gab2 偶联,在某些如 IL-2 (interleukin-2) 和 IL-3 (interleukin-3) 受体的 β 链中未发现 Grb2 的结合位点,它们需要含有 Src 同源区 2 结构域(Src homology 2 domain containing, SHC) 蛋白作为另一个连接此类受体和 Grb2-Gab2 复合物的桥梁分子来完成信号级联放大反应^[12-13]。由此推测,其他分子结构中包含 SH2 结构域和 SH3 结构域的蛋白都可能具有类似的衔接功能。

2 Gab2 介导的信号转导机制

在 Gab2 介导的信号转导过程中,位于 C-末端的多个酪氨酸残基被磷酸化后与富含 SH2 结构域的游离信号转运分子结合,并介导 Gab2 与其下游的效应蛋白如 SHP2 (SH2 domain containing protein tyrosine phosphatase-2), P13K (phosphatidylinositol-3-kinase) 的 p85 亚基, PLCγ (phospholipaseγ), CRK (Sarcoma virus CT10 oncogene homology) 以及 GC-GAP (RAS-GTPase activating protein) 等的相互调节,实现信号传递^[7]。Gab2 主要参与 SHP2/RAS/ERK 和 PI3K/AKT 两条经典的信号通路。

2.1 SHP2/RAS/ERK 信号通路

SHP2 是由 *PTPN11* 基因所编码的一种蛋白酪氨酸磷酸酶,作为 Gab2 下游重要的结合分子,其 N-末端包含 2 个 SH2 结构域, C-末端含有 1 个具有催化活性的磷酸酶结构域及富含脯氨酸基团和酪氨酸磷酸化位点的尾巴。在基础状态下, SHP2 的 N-SH2 结构域和 PTP 结构域紧密结合,形成一种分子内部的自身抑制构象,使这种磷酸酶维持在钝化状态而失去催化活性。Gab2 分子结构中包含 2 个 SHP2 的结合位点,即酪氨酸残基 Y614 和 Y643, Gab2 被激活后该位点首先发生自磷酸化,组成一类双磷酸化酪氨酸激活基序 (bisphosphoryl tyrosine-based activation motif, BTAM),它可与 SHP2

分子中的2个SH2结构域结合,将SHP2分子内部的封闭构象解除并使其活化,进而激活下游的RAS/ERK(Gab2-SHP2-ERK)信号通路^[7]。值得注意的是,来源于Gab2敲除小鼠的肥大细胞和巨噬细胞经过SCF刺激后,其下游的ERK活性明显降低。在此过程中,Gab2不仅是一类支架蛋白,也是一类变构激活剂。因此,Gab2蛋白中的酪氨酸磷酸化位点与SHP2中的SH2结构域之间的偶联对于SHP2的活化以及由此引起的一系列生理功能,包括细胞骨架重排、上皮细胞迁移、细胞黏附及形态学发生等都至关重要。

Gab2/SHP2复合体不仅能激活RAS/ERK通路,还可以正向调节其他途径,包括肥大细胞发育过程中c-kit诱发的Rac/JNK的激活,以及肝细胞DNA合成中 β 1-整合蛋白和生长因子诱发的PI3K的激活等。

2.2 PI3K/AKT 信号通路

在哺乳类Gab2蛋白中存在3个重要的酪氨酸残基,即Y452、Y476,以及Y584,它们可与PI3K的p85亚基结合,PI3K活化后会导致PIPs的大量生成,PIPs能与Gab2结构中的PH结构域绑定结合,并增强膜受体对Gab2的招募,进而激活下游的AKT(Gab2-p85-AKT),由此通过Gab2的介导而形成一个正向反馈循环实现了下游信号的放大,该机制对于特定信号途径产生特定的生理效应非常重要^[7]。研究发现,在效应B淋巴细胞中Gab1/Gab2通过SHP2/ERK和PI3K/AKT途径影响细胞的存活,而且PI3K催化活性的降低会减弱Gab2-SHP2之间的相互作用。因此,Gab2/SHP2/ERK通路的信号传递也需要依赖PI3K的正常活化。

2.3 其他信号通路

在破骨细胞中,Gab2结构中酪氨酸残基的磷酸化需要与PLC γ 的结合,并被募集至核因子 κ B的受体激活蛋白(receptor activator of nuclear factor κ B, RANK),进而调节破骨细胞生成^[14]。14-3-3蛋白在Gab2信号通路中具有负调节作用,它以磷酸化依赖的方式结合于Gab2的S210和T391位点,进而减弱Gab2介导的信号转导,这种机制可能是由于Gab2-Grb2复合物的解离或者由于Gab2-Grb2复合物与Gab2-14-3-3复合物之间的平衡发生转换,即前者在体内的水平降低,而后者在体内的水平升高所引起的^[15]。GC-GAP是一种Rho家族的鸟苷三磷酸酶活化蛋白,它与Gab1和Gab2两个支架蛋白都

会发生相互作用。在大脑中,GC-GAP高度表达,并与Gab2共同定位于细胞膜,并且激活鸟苷三磷酸酶^[16]。SHIP-1和SHIP-2是两个含有SH2结构域的肌醇-5-磷酸酶,它们可以将PIP(3,4,5)₃水解为PIP(3,4)₂,研究表明,它们的生理作用均与Gab2的结合相关^[17-18]。SHIP-1和SHIP-2在肥大细胞的活化过程中均起负调节作用,这同时也取决于它们与IgE受体(FC ϵ RI)的高亲和力^[18-19]。Gab2还能促进I型干扰素反应,这很可能与它同IFNAR2竞争性的结合于IFNAR1有关^[20]。此外,其他效应蛋白如CRK、及信号转导激活因子STAT3(signal transducer and activator-3)和STAT5(signal transducer and activator-5)等同样也可以与Gab2形成复合物,但他们的功能学意义仍不清楚。

3 Gab2与癌症的关系

在人类癌症中,DNA扩增是导致癌基因活化的一种普遍机制。GAB2基因定位于染色体长臂11q14.1,而11q13~11q14.1段的扩增则多发于人类的恶性肿瘤中^[21]。位于染色体长臂11q13.2上的CCND1一直被认为是导致DNA扩增的关键基因^[22-23]。然而,在11q13~11q14.1(9~10 Mb)这段区间内,其他不同于CCND1的原癌基因,以及狭窄的端粒扩增子的发现都提示了在DNA扩增的过程中同时存在多种潜在的驱动因素。这些基因包括EMS1、EMSY、PKA1、RSF1和GAB2^[24]。

在对乳腺癌、卵巢癌、白血病和黑色素瘤的研究中,GAB2被鉴定为一个潜在的致癌基因^[24-28]。10%~15%的乳腺癌患者中发现有染色体长臂11q14.1段的扩增,而与正常导管上皮细胞相比,人类原发乳腺癌细胞和肿瘤细胞系中存在着Gab2的高表达^[29-30]。基因表达分析显示,8%的乳腺癌患者的标本中有GAB2表达上调,其中一部分同时伴有基因组的扩增^[25]。采用比较基因组杂交技术,对172例原发乳腺癌患者的标本进行DNA拷贝数的研究表明,其中28%的患者含有CCND1基因的11q13.2~11q13.3段存在一个近端扩增子,15%患者的11q13.5~11q14.1段存在一个远端扩增子^[26]。更为重要的是,3%患者中远端扩增子是独立存在的,并不伴有CCND1基因的扩增,而在这段狭窄的区域内包含了ALG8、KCTD21、USP35和GAB2等基因。

同样,类似的拷贝模式也发生在黑色素瘤中。采用微阵列-比较基因组杂交技术,对64例人类转

移性黑色素瘤细胞和 20 种细胞系的研究发现, 11% 的标本中存在 *GAB2* 基因的多度扩增, 而其中一部分并不伴有 *CCND1* 基因的扩增^[28]。总之, 这些基因组的研究证实了在人类癌症发展过程中, 染色体长臂 11q13.5~11q14.1 段存在一个独立于 *CCND1* 基因的远端扩增子, 而对其功能学的研究中提示了 *GAB2* 就是一个重要的驱动基因^[25,28]。

3.1 *Gab2* 与乳腺癌

近年来, *Gab2* 引起人类乳腺癌的发病机制已逐渐阐明, 它与乳腺癌的侵袭和转移过程密切相关, 在功能上常作为某些原癌基因的介导元件共同影响此类癌症的发生发展^[30-31]。研究发现, *Gab2* 在永生化乳腺癌上皮细胞系 MCF10A 中存在高表达, 并可在不依赖表皮生长因子和其他生长因子的条件下促进该细胞的增殖^[32]。与之相反, 在一些具有基因组异常扩增的乳腺癌细胞系中, 将内源性 *GAB2* 基因沉默后, 细胞黏附性未受影响, 但其可由于细胞周期减缓, 凋亡增加, 以及侵袭性降低而导致肿瘤细胞的增殖能力下降^[26]。

研究表明, *GAB2* 本身具有潜在的原癌基因的特性, 可能成为乳腺癌的新型肿瘤标志物, 但具体调控机制仍需要深入探讨。此外, *GAB2* 可以与其他原癌基因如 *ErbB2* (*HER2/Neu*)、*Sf-STK* 和 *Src* 等共同协作, 促进癌细胞对胞外刺激更加敏感。在某些乳腺癌细胞中存在 *GAB2* 与 *ErbB2* 的共同扩增, 而 *Gab2* 作为 *ErbB2* 的下游分子, 其酪氨酸磷酸化取决于上游信号通路的激活^[25]。将 *GAB2* 与 *ErbB2* 共转染入正常人乳腺上皮细胞后, 可导致正常乳腺上皮细胞癌变和浸润性生长, 该作用主要是通过激活下游的 *Gab2*/*SHP2*/*ERK* 信号通路完成的, 而 *PI3K*/*AKT* 通路未见明显影响^[25]。在 *ErbB2* 诱发行成乳腺癌的转基因小鼠中发现, 共同表达 *Gab2* 可加速原位肿瘤的发生, 并促进侵袭性肿瘤的转化过程, 而 *Gab2* 蛋白的缺失会严重抑制肿瘤病灶向肺部的转移, 但对肿瘤的发生和增长未见明显影响^[25]。体外研究发现, 该模型的肿瘤细胞在 *Gab2* 敲除后可以正常的增殖, 但是却大大降低了细胞的运动性, 然而在转入野生型 *GAB2* 后, 细胞又重新恢复了该功能^[33]。

除了受体酪氨酸激酶之外, *Gab2* 与 *SRC* 家族的受体蛋白相关激酶也具有协同作用, 在原代培养的细胞中, 这种关系首次被确定。当细胞经过表皮生长因子刺激后, *Gab2* 的酪氨酸残基被 *c-SRC* 磷

酸化, 进而激活了下游的 *PI3K*^[34]。*Gab2* 和 *c-SRC* 均高表达于乳腺癌细胞中, 将它们共转染入 MCF10A 细胞后, 在没有表皮生长因子的条件下, 依然可促进细胞的增殖^[35]。另外, 在体外研究中, *Gab2* 与病毒肿瘤蛋白 *v-SRC* 或者活化的 *c-SRC-Y527F* 突变体共同表达可以导致三维细胞球体的分离, 形成一个高度分散和紊乱的滤泡状结构^[36-37]。这可能是由于细胞在相互作用时, *Gab2-SRC-PI3K* 复合物的形成破坏了 *E-钙黏蛋白* 的完整性和结合强度, 导致细胞黏附性丧失。进一步研究表明, 细胞的迁移和侵袭能力也有所增强, 但是上述作用并不依赖于 *PI3K* 的激活^[35]。在软琼脂的集落形成试验中, *Gab2* 高表达可以促进 MCF10A 细胞的非锚定依赖性生长, 导致集落形成的体积增大、数目增加。这些作用依赖于 *SRC* 信号通路和下游致癌转录因子 *STAT3* 的激活^[38]。最近研究发现, *Gab2* 通过调节 *Rho* 家族蛋白的活性参与乳腺细胞的运动, 侵袭和转移扩散, 其中 *RhoA* 可以促进收缩肌动球蛋白应力纤维和黏着斑的形成。*Gab2* 高表达可以降低 MCF10A 乳腺上皮细胞内 *RhoA* 的活性, 导致细胞扩散延迟, 应力纤维和成熟黏着斑的形成减少, 以及细胞迁移能力的增强, 而这些作用依赖于 *Gab2* 与 *SHP2* 的绑定结合位点^[39]。以上研究揭示了 *Gab2* 在癌症发展中的作用机制。

在乳腺癌中, 通过 *Gab2* 信号途径可以激活下游多种参与癌症进展的效应蛋白。研究发现, *Gab2* 高表达的 MCF10A 细胞中存在一段含有 205 个转录子的基因组标签, 而这段不同于临床已知分类的基因组序列和乳腺癌的转移复发密切相关^[38]。这一结果表明, *Gab2* 及其转录靶点可以作为乳腺癌患者预后的一个新的标志物。

在转录完成后, 微小 RNA (*miRNA*) 通过识别目标 *mRNAs* 3'端非编码区的互补位点来抑制基因的表达。人类 *let-7* *miRNA* 家族包括 13 个成员, 它们分布于基因组的 8 个区域, 而在某些癌症中, 经常出现该家族成员的缺失。其中, *let-7g* 表达的降低与乳腺癌患者的淋巴结转移和不良预后具有极显著的相关性^[40]。抑制 *let-7g* 的表达可以增加 *Gab2* 和纤维粘连蛋白 I 的表达, 进而提高 *ERK*、*MMP-2*、*MMP-4* 的活性。这也是 *Gab2* 调节乳腺癌发生发展的另一个机制。

3.2 *Gab2* 与白血病

Gab2 可以调节造血细胞的存活与增殖。在

Gab2 敲除的小鼠, 尽管其外部体征未见异常, 但还是存在某些选择性的缺陷: 由于肥大细胞内依赖于 PI3K 的 FC ϵ RI 上游信号的减弱, 使得这些小鼠缺乏适当的过敏反应; 它们的骨髓由于 RANK 介导的破骨细胞分化能力降低而发生骨质石化现象, 但骨髓细胞结构和外周血细胞计数仍在正常范围; 由于造血功能的缺陷而导致细胞增殖能力的下降, 以及对早期作用的细胞因子如 Flt3、c-kit、IL-3R、c-Mpl 等所引起的 PI3K/AKT 和 ERK/MAPK 信号通路的反应降低^[41-43]。此外, Gab2 的敲除可以导致骨髓中集落刺激因子-1 (colony stimulating factor-1, CSF-1) 受体依赖的单核-吞噬细胞的增殖、分化能力的降低^[44]。

Gab2 在融合酪氨酸激酶所致白血病的信号通路中扮演着重要的角色。慢性粒细胞白血病 (chronic myelogenous leukemia, CML) 是由于 t (9; 22) (q34; q11) 染色体异位形成的一种在结构上激活的融合酪氨酸激酶, 即 BCR-ABL 所引起的, 而该蛋白对造血干细胞具有转化作用^[45]。在对 CML 的深入研究中发现, BCR-ABL 蛋白内酪氨酸残基 Y177 的自磷酸化可以招募 Grb2-Gab2 复合物, 进而激活包括 RAS/RAF/MEK/ERK、PI3K/AKT, 以及 JAK/STAT 等多种促进白血病生成的信号通路^[46]。Gab2 是 BCR-ABL 诱发髓系粒细胞转化过程中所必需的蛋白, 但是它对淋巴细胞并没有影响。BCR-ABL-T177F 突变的细胞由于 ERK 和 AKT 活性的降低, 而引起细胞增殖和自发迁移能力的减弱^[46]。此外, 将 Gab2 或者其下游的效应蛋白 SHP2 和 STAT5 沉默后, 可以降低由 BCR-ABL 诱发的 CML 细胞的增殖和集落形成能力^[47]。值得注意的是, 由其他融合癌蛋白如 TEL-ABL、TEL-JAK2、NPM-ALK 和 BCR-FGFR1 所启动的信号通路中, 以及在鼠红白血病细胞由 Friend 病毒引起的 SF-STK 激活过程中, Gab2 也有类似的功能^[48-52]。

在临床上, 应用 BCR-ABL 小分子抑制剂伊马替尼 (Imatinib) 治疗 CML 已经取得显著效果。然而, 耐药现象的出现也给临床治疗带来了诸多困难。其中, LYN 激酶在与 Gab2 形成复合物后的连续激活, 并导致 Gab2 和 BCR-ABL 的持久磷酸化就是耐药机制之一。因此, 即使在应用伊马替尼治疗的情况下, BCR-ABL 下游的信号通路仍然处于持续激活状态, 只有将 LYN 沉默后, 药物的敏感性才得以恢复^[53]。

除了 CML 之外, Gab2 在幼年型粒-单核细胞白

血病 (juvenile myelomonocytic leukemia, JMML) 的发生发展中也起到了重要作用。JMML 属于一种早期儿童骨髓增生性疾病 (myeloproliferative disease, MPD), 而在大约 35% 的患者发现有 SHP2 的异常突变。SHP2 是由 *PTPN11* 基因所编码的一种蛋白酪氨酸磷酸酶, 也是该家族中目前唯一已被证实的原癌基因, 而 Gab2 是 SHP2 突变所启动的信号转导通路中的关键调节蛋白^[54]。Gab2 作为分子伴侣, 可以与 SHP2 直接结合, 在小鼠早期髓系粒细胞向后代转化, 并激活 ERK、AKT 和 STAT5 等信号通路的过程中起到重要的作用^[55]。在 SHP2^{D61G} 敲入的转基因小鼠中, 造血干细胞始终处于高活化状态, 同时伴有细胞周期加快, 储备增多, 以及自我更新能力的增强, 这些功能最终导致了 MPD 的发生。如果在该模型中同时敲除 Gab2, 则大大改善了上述异常的造血功能, 进一步验证了 Gab2 在血液肿瘤形成中扮演着重要的角色^[56]。

研究发现, 在许多恶性血液病 (如 JAK2^{V617F} 突变诱发的 MPD) 中都有转录因子 STAT5 的持续活化, 而 Gab2 作为 JAK/STAT 通路的上游分子, 是在体内维持血液干细胞平衡的重要调节蛋白。STAT5 和 Gab2 共同突变的小鼠表现为干细胞数量明显减少, 存活能力降低, 以及自我更新潜能的显著缺失^[57]。另一方面, 在 STAT5 诱发白血病发展的过程中, Gab2 介导 PI3K/AKT 通路的激活, 对细胞的生长和存活起到了促进作用^[58]。

3.3 Gab2 与黑色素瘤

黑色素瘤的发展与 ERK 和 PI3K/AKT 信号通路的激活是密切相关的^[59-60]。Gab2 支架蛋白在这些信号传递过程中起到中枢调节器的作用, 它也是诱发黑色素瘤发生的主要因素之一。与原发黑色素瘤和黑色素痣相比, Gab2 在转移性黑色素瘤内的表达水平明显升高, 因而可以作为一个新型的肿瘤标志物。将转移性黑色素瘤细胞系内的 Gab2 沉默后, 可以降低它们的侵袭能力。与之相反, 原发黑色素瘤内 Gab2 的过度表达可以促进细胞的迁移和浸润。此外, 体内研究显示 Gab2 的过度表达可以导致肿瘤的发生和转移^[28]。

虽然 Gab2 本身不具有转化黑色素细胞的能力, 但它可以与其他原癌基因协同促进肿瘤的进展。当 Gab2 和 NRAS 蛋白共同表达时, 它们可以促进某些黑色素瘤向更为恶性的表型转变。在软琼脂集落形成实验中, Gab2 过度表达可以增强肿瘤细胞非锚

定依赖性的转移能力。此外,小鼠异种移植模型也证明了 Gab2 过度表达介导的 HIF-1 α 和 VEGF 的上调可以促进肿瘤血管的生成^[61]。

3.4 Gab2 与卵巢癌

约 15% 的卵巢癌患者存在 Gab2 的基因组扩增,在浆液性囊腺癌细胞的 mRNA 水平和多种卵巢癌细胞系的蛋白水平也可见 Gab2 的过度表达^[62]。将外源性 Gab2 转入 Gab2 低水平表达的上皮细胞后,可以促进它们向间充质细胞的转化。通过创伤修复和侵袭小室试验的测定, Gab2 高表达可以促进细胞的迁移和侵袭,下调了 E-钙黏蛋白的表达。与之相反,将 Gab2 沉默后,则抑制了细胞的迁移和侵袭,上调了 E-钙黏蛋白的表达。Gab2 介导的以上作用主要是通过激活 PI3K 信号通路来完成的,进而促进参与上皮细胞向间充质细胞转化的转录因子 Zeb1 的表达。Gab2/PI3K/ZEB1 信号通路可以被 PI3K 和 mTOR 抑制剂所阻断,并且该通路可以作为治疗由 Gab2 所诱发卵巢癌的一个新靶点。

4 结语

Gab2 支架蛋白的发现,使人们对受体型酪氨酸激酶及非受体型酪氨酸激酶与其下游信号转导通路之间的关系有了深入的理解。Gabs 蛋白家族各成员之间虽然在结构上有着很大的相似性,包含多个同源序列,但各自在功能上却有着很大的差异,单个 Gabs 蛋白可能不足以完成某一个信号的传递, Gab2 与其他成员之间在功能上可能存在某些协同机制尚未证实。研究表明, GAB2 具有潜在的原癌基因特性,其过度表达且与多种癌症的发生、发展密切相关。因此,针对 Gab2 信号转导机制与癌症相关性的研究将为寻找临床癌症的预防和治疗靶点提供新的思路。此外, Gab2 小分子抑制剂的开发也将成为今后医药工作者关注的热点,该研究对于解决肿瘤的多药耐药现象也具有重要意义。

参考文献

- [1] Ostman A, Hellberg C, Bohmer F D. Protein-tyrosine phosphatases and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4): 307-320.
- [2] Gu H, Neel B G. The "Gab" in signal transduction [J]. *Trends Cell Biol*, 2003, 13(3): 122-130.
- [3] Nishida K, Hirano T. The role of Gab family scaffolding adapter proteins in the signal transduction of cytokine and growth factor receptors [J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(12): 1029-1033.
- [4] Wohrle F U, Daly R J, Brummer T. Function, regulation and pathological roles of the Gab/DOS docking proteins [J]. *Cell Commun Signal*, 2009, 7: 22. doi: 10.1186/1478-811X-7-22
- [5] Liu Y, Rohrschneider L R. The gift of Gab [J]. *FEBS Lett*, 2002, 515(1/3): 1-7.
- [6] Sarmay G, Angyal A, Kertesz A, et al. The multiple function of Grb2 associated binder (Gab) adaptor/scaffolding protein in immune cell signaling [J]. *Immunol Lett*, 2006, 104(1/2): 76-82.
- [7] Gu H, Pratt J C, Burakoff S J, et al. Cloning of p97/Gab2, the major SHP2-binding protein in hematopoietic cells, reveals a novel pathway for cytokine-induced gene activation [J]. *Mol Cell*, 1998, 2(6): 729-740.
- [8] Maroun C R, Moscatello D K, Naujokas M A, et al. A conserved inositol phospholipid binding site within the pleckstrin homology domain of the Gab1 docking protein is required for epithelial morphogenesis [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(44): 31719-31726.
- [9] Isakoff S J, Cardozo T, Andreev J, et al. Identification and analysis of PH domain-containing targets of phosphatidylinositol 3-kinase using a novel *in vivo* assay in yeast [J]. *EMBO J*, 1998, 17(18): 5374-5387.
- [10] Harkiolaki M, Tsirka T, Lewitzky M, et al. Distinct binding modes of two epitopes in Gab2 that interact with the SH3C domain of Grb2 [J]. *Structure*, 2009, 17(6): 809-822.
- [11] Lock L S, Royal I, Naujokas M A, et al. Identification of an atypical Grb2 carboxyl-terminal SH3 domain binding site in Gab docking proteins reveals Grb2-dependent and -independent recruitment of Gab1 to receptor tyrosine kinases [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(40): 31536-31545.
- [12] Edmead C E, Fox B C, Stace C, et al. The pleckstrin homology domain of Gab-2 is required for optimal interleukin-3 signalsome-mediated responses [J]. *Cell Signal*, 2006, 18(8): 1147-1155.
- [13] Leahy M, Lyons A, Krause D, et al. Impaired Shc, Ras, and MAPK activation but normal Akt activation in FL5. 12 cells expressing an insulin-like growth factor I receptor mutated at tyrosines 1250 and 1251 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(18): 18306-18313.
- [14] Mao D, Eppl H, Uthgenannt B, et al. PLC gamma2 regulates osteoclastogenesis via its interaction with ITAM proteins and GAB2 [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(11): 2869-2879.
- [15] Brummer T, Larance M, Herrera Abreu M T, et al. Phosphorylation-dependent binding of 14-3-3 terminates signalling by the Gab2 docking protein [J]. *EMBO J*, 2008, 27(17): 2305-2316.

- [16] Zhao C, Ma H, Bossy-Wetzel E, *et al.* GC-GAP, a Rho family GTPase-activating protein that interacts with signaling adapters Gab1 and Gab2 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(36): 34641-34653.
- [17] Liu Y, Jenkins B, Shin J L, *et al.* Scaffolding protein Gab2 mediates differentiation signaling downstream of Fms receptor tyrosine kinase [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(9): 3047-3056.
- [18] Leung W H, Bolland S. The inositol 5'-phosphatase SHIP-2 negatively regulates IgE-induced mast cell degranulation and cytokine production [J]. *J Immunol*, 2007, 179(1): 95-102.
- [19] Huber M, Helgason C D, Damen J E, *et al.* The src homology 2-containing inositol phosphatase (SHIP) is the gatekeeper of mast cell degranulation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(19): 11330-11335.
- [20] Baychelier F, Nardeux P C, Cajean-Feroldi C, *et al.* Involvement of the Gab2 scaffolding adapter in type I interferon signalling [J]. *Cell Signal*, 2007, 19(10): 2080-2087.
- [21] Schwab M. Amplification of oncogenes in human cancer cells [J]. *Bioessays*, 1998, 20(6): 473-479.
- [22] Schuurin E, Verhoeven E, van Tinteren H, *et al.* Amplification of genes within the chromosome 11q13 region is indicative of poor prognosis in patients with operable breast cancer [J]. *Cancer Res*, 1992, 52(19): 5229-5234.
- [23] Sauter E R, Yeo U C, von Stemm A, *et al.* Cyclin D1 is a candidate oncogene in cutaneous melanoma [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(11): 3200-3206.
- [24] Brown L A, Kalloger S E, Miller M A, *et al.* Amplification of 11q13 in ovarian carcinoma [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2008, 47(6): 481-489.
- [25] Bentires-Alj M, Gil S G, Chan R, *et al.* A role for the scaffolding adapter GAB2 in breast cancer [J]. *Nat Med*, 2006, 12(1): 114-121.
- [26] Bocanegra M, Bergamaschi A, Kim Y H, *et al.* Focal amplification and oncogene dependency of GAB2 in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2010, 29(5): 774-779.
- [27] Zatkova A, Schoch C, Speleman F, *et al.* GAB2 is a novel target of 11q amplification in AML/MDS [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2006, 45(9): 798-807.
- [28] Horst B, Gruvberger-Saal S K, Hopkins B D, *et al.* Gab2-mediated signaling promotes melanoma metastasis [J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(4): 1524-1533.
- [29] Bekri S, Adelaide J, Merscher S, *et al.* Detailed map of a region commonly amplified at 11q13-->q14 in human breast carcinoma [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1997, 79(1/2): 125-131.
- [30] Daly R J, Gu H, Parmar J, *et al.* The docking protein Gab2 is overexpressed and estrogen regulated in human breast cancer [J]. *Oncogene*, 2002, 21(33): 5175-5181.
- [31] Fleuren E D, O'Toole S, Millar E K, *et al.* Overexpression of the oncogenic signal transducer Gab2 occurs early in breast cancer development [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(6): 1486-1492.
- [32] Brummer T, Schramek D, Hayes V M, *et al.* Increased proliferation and altered growth factor dependence of human mammary epithelial cells overexpressing the Gab2 docking protein [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(1): 626-637.
- [33] Ke Y, Wu D, Princen F, *et al.* Role of Gab2 in mammary tumorigenesis and metastasis [J]. *Oncogene*, 2007, 26(34): 4951-4960.
- [34] Kong M, Mounier C, Dumas V, *et al.* Epidermal growth factor-induced DNA synthesis. Key role for Src phosphorylation of the docking protein Gab2 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(8): 5837-5844.
- [35] Bennett H L, Brummer T, Jeanes A, *et al.* Gab2 and Src co-operate in human mammary epithelial cells to promote growth factor independence and disruption of acinar morphogenesis [J]. *Oncogene*, 2008, 27(19): 2693-2704.
- [36] Reynolds A B, Vila J, Lansing T J, *et al.* Activation of the oncogenic potential of the avian cellular src protein by specific structural alteration of the carboxy terminus [J]. *EMBO J*, 1987, 6(8): 2359-2364.
- [37] Frame M C. Newest findings on the oldest oncogene; how activated src does it [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 7): 989-998.
- [38] Mira A, Isella C, Renzulli T, *et al.* The GAB2 signaling scaffold promotes anchorage independence and drives a transcriptional response associated with metastatic progression of breast cancer [J]. *Oncogene*, 2009, 28(50): 4444-4455.
- [39] Herrera Abreu M T, Hughes W E, Mele K, *et al.* Gab2 regulates cytoskeletal organization and migration of mammary epithelial cells by modulating RhoA activation [J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(1): 105-116.
- [40] Qian P, Zuo Z, Wu Z, *et al.* Pivotal role of reduced let-7g expression in breast cancer invasion and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(20): 6463-6474.
- [41] Gu H, Saito K, Klamann L D, *et al.* Essential role for Gab2 in the allergic response [J]. *Nature*, 2001, 412(6843): 186-190.
- [42] Wada T, Nakashima T, Oliveira-dos-Santos A J, *et al.* The molecular scaffold Gab2 is a crucial component of RANK signaling and osteoclastogenesis [J]. *Nat Med*, 2005,

- 11(4): 394-399.
- [43] Zhang Y, Diaz-Flores E, Li G, *et al.* Abnormal hematopoiesis in Gab2 mutant mice [J]. *Blood*, 2007, 110(1): 116-124.
- [44] Lee A W, Mao Y, Penninger J M, *et al.* Gab2 promotes colony-stimulating factor 1-regulated macrophage expansion via alternate effectors at different stages of development [J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(22): 4563-4581.
- [45] Ben-Neriah Y, Daley G Q, Mes-Masson A M, *et al.* The chronic myelogenous leukemia-specific P210 protein is the product of the bcr/abl hybrid gene [J]. *Science*, 1986, 233(4760): 212-214.
- [46] Sattler M, Mohi M G, Pride Y B, *et al.* Critical role for Gab2 in transformation by BCR/ABL [J]. *Cancer Cell*, 2002, 1(5): 479-492.
- [47] Scherr M, Chaturvedi A, Battmer K, *et al.* Enhanced sensitivity to inhibition of SHP2, STAT5, and Gab2 expression in chronic myeloid leukemia (CML) [J]. *Blood*, 2006, 107(8): 3279-3287.
- [48] Million R P, Harakawa N, Roumiantsev S, *et al.* A direct binding site for Grb2 contributes to transformation and leukemogenesis by the Tel-Abl (ETV6-Abl) tyrosine kinase [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(11): 4685-4695.
- [49] Nguyen M H, Ho J M, Beattie B K, *et al.* TEL-JAK2 mediates constitutive activation of the phosphatidylinositol 3'-kinase/protein kinase B signaling pathway [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(35): 32704-32713.
- [50] Voena C, Conte C, Ambrogio C, *et al.* The tyrosine phosphatase Shp2 interacts with NPM-ALK and regulates anaplastic lymphoma cell growth and migration [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(9): 4278-4286.
- [51] Roumiantsev S, Krause D S, Neumann C A, *et al.* Distinct stem cell myeloproliferative/T lymphoma syndromes induced by ZNF198-FGFR1 and BCR-FGFR1 fusion genes from 8p11 translocations [J]. *Cancer Cell*, 2004, 5(3): 287-298.
- [52] Teal H E, Ni S, Xu J, *et al.* GRB2-mediated recruitment of GAB2, but not GAB1, to SF-STK supports the expansion of Friend virus-infected erythroid progenitor cells [J]. *Oncogene*, 2006, 25(17): 2433-2443.
- [53] Wu J, Meng F, Lu H, *et al.* Lyn regulates BCR-ABL and Gab2 tyrosine phosphorylation and c-Cbl protein stability in imatinib-resistant chronic myelogenous leukemia cells [J]. *Blood*, 2008, 111(7): 3821-3829.
- [54] Lauchle J O, Braun B S, Loh M L, *et al.* Inherited predispositions and hyperactive Ras in myeloid leukemogenesis [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2006, 46(5): 579-585.
- [55] Mohi M G, Williams I R, Dearolf C R, *et al.* Prognostic, therapeutic, and mechanistic implications of a mouse model of leukemia evoked by Shp2 (PTPN11) mutations [J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(2): 179-191.
- [56] Xu D, Wang S, Yu W M, *et al.* A germline gain-of-function mutation in Ptpn11 (Shp-2) phosphatase induces myeloproliferative disease by aberrant activation of hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 2010, 116(18): 3611-3621.
- [57] Li G, Wang Z, Miskimen K L, *et al.* Gab2 promotes hematopoietic stem cell maintenance and self-renewal synergistically with STAT5 [J]. *PLoS One*, 2010, 5(2): e9152.
- [58] Harir N, Pecquet C, Kerenyi M, *et al.* Constitutive activation of Stat5 promotes its cytoplasmic localization and association with PI3-kinase in myeloid leukemias [J]. *Blood*, 2007, 109(4): 1678-1686.
- [59] Yajima I, Kumasaka M Y, Thang N D, *et al.* RAS/RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT signaling in malignant melanoma progression and therapy [J]. *Dermatol Res Pract*, 2012, 2012: 354191.
- [60] McCubrey J A, Steelman L S, Abrams S L, *et al.* Roles of the RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT pathways in malignant transformation and drug resistance [J]. *Adv Enzyme Regul*, 2006, 46: 249-279.
- [61] Yang Y, Wu J, Demir A, *et al.* GAB2 induces tumor angiogenesis in NRAS-driven melanoma [J]. *Oncogene*, 2013, 32(31): 3627-3637.
- [62] Wang Y, Sheng Q, Spillman M A, *et al.* Gab2 regulates the migratory behaviors and E-cadherin expression via activation of the PI3K pathway in ovarian cancer cells [J]. *Oncogene*, 2012, 31(20): 2512-2520.