

The Function of PRGMC1 and Its Role in Tumorigenesis and Tumor Development*

Wen Ma, Xiangying Xia, Shufang Liang[#]

State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu
Email: mawenmelissa@126.com, 2008xiaxiangying@163.com, [#]zizi2006@scu.edu.cn

Received: Mar. 17th, 2013; revised: Mar. 25th, 2013; accepted: Apr. 20th, 2013

Copyright © 2013 Wen Ma et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Progesterone receptor membrane component 1 (PGRMC1) is overexpressed in breast, colon, ovarian, lung and thyroid tumor tissues, as well as in cancer cell lines. PGRMC1 is associated with tumor growth and development, and it also can resist apoptosis of tumor cells, promote tumor growth independently and benefit to invasion and metastasis of tumor. PGRMC1 regulates cholesterol synthesis and signal transduction. Further studies on the relationship between PGRMC1 and tumorigenesis will help to find new cancer biomarkers, which will provide theoretical and experimental evidences for early diagnosis and prognosis, as well as effective drug target for cancer.

Keywords: PGRMC1; Cancer; Biomarker

PGRMC1 蛋白功能及其在肿瘤发生发展中的作用*

马 雯, 夏祥颖, 梁淑芳[#]

四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室, 成都
Email: mawenmelissa@126.com, 2008xiaxiangying@163.com, [#]zizi2006@scu.edu.cn

收稿日期: 2013 年 3 月 17 日; 修回日期: 2013 年 3 月 25 日; 录用日期: 2013 年 4 月 20 日

摘 要: 孕酮受体膜组分 1 蛋白(PGRMC1)在乳腺癌, 甲状腺癌, 结肠癌, 卵巢癌和肺癌等多种肿瘤组织和肿瘤细胞系中高表达。PGRMC1 蛋白在肿瘤的生长和促进肿瘤细胞的存活中发挥作用, 它还可以抵制肿瘤细胞凋亡, 促进锚着独立生长, 侵袭以及肿瘤生长和转移。PGRMC1 蛋白还调节胆固醇合成, 其信号转导对于癌症的发展是非常重要的, 进一步深入研究 PGRMC1 蛋白与肿瘤发生的关系有助于寻找新的肿瘤标志物, 将为肿瘤的早期诊断与预后以及有效药物靶点的发现提供理论和实验依据。

关键词: PGRMC1 蛋白; 肿瘤; 标志物

1. 引言

孕酮受体膜组分 1(progesterone receptor membrane component 1, PGRMC1)是一个 28KDa、由 194 氨基酸组成的蛋白, 属于膜相关孕酮受体(membrane-

associated progesterone receptor, MAPR)蛋白家族。PGRMC1, 又名 Hpr6.6(或 Hpr6), 在各种属中高度保守的蛋白。PGRMC1 除 N-端跨膜域(1-20aa)、跨膜域(21-69aa)外, 在胞质内 C-端有亚铁血红素 1(heme-1)结构域和一个亚铁血红素(heme)结合(细胞色素 b5)结构域(70-130aa), 与细胞色素 b5 相关蛋白高度同源^[1]。PGRMC1 蛋白的细胞定位在不同的细胞中有差异, 多

*资助信息: 自然科学基金(30970654、31071235)、教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-10-0595)、教育部博士点基金(20120181110025)。

[#]通讯作者。

数情况下 PGRMC1 主要定位在细胞内质膜, 但 PGRMC1 能改变其细胞定位, 从膜结合的形式转到细胞质或细胞核中^[2]。PGRMC1 在 MCF-7 细胞中定位于核周和内质网^[3], 而在卵巢癌细胞 Ovar-3 中 PGRMC1 主要定位于细胞质和细胞核中^[2]。在不同的环境条件下 PGRMC1 能改变它的亚细胞定位, 参与不同的细胞调控活动。与 PGRMC1 蛋白的多亚细胞定位特点对应的是 PGRMC1 能与不同的蛋白结合通过不同的相互作用发挥不同的生物学功能。PGRMC1 能与孕酮(progesterone)、亚铁血红素、类固醇/固醇结合, 同时也能与 SH2-、SH3-结构域的蛋白和激酶结合^[1]。PGRMC1 可能作为接头蛋白(adaptor protein)与它结合的配体分子共同参与调节蛋白之间的相互作用和胞内信号传导和膜转运, 如: 它的免疫受体酪氨酸激活域序列能参与细胞内吞和囊泡作用(vesicle targeting)。PGRMC1 具有与孕酮(progesterone)结合的功能^[1,4], 但 PGRMC1 并非孕酮的特异受体, 因迄今都未证实与孕酮结合的真正受体是 PGRMC1、而不是与它共表达的能形成蛋白复合物的 PAIRBP1(plasminogen activator inhibitor RNA-binding protein 1)蛋白^[2]。因为 PAIRBP1 是一种 RNA 结合蛋白, PGRMC1 能与 PAIRBP1 结合, 从细胞内腔跨膜转到内质网来调节它们间的相互作用, 从而发挥胞内和胞外效应。

2. PGRMC1 蛋白表达与肿瘤的关联

PGRMC1 在多种肿瘤组织和肿瘤细胞系中高表达^[1,2]。PGRMC1 在肺癌细胞系比正常肺细胞株高 2~4 倍^[5], 在乳腺癌组织中比正常乳腺组织高得多^[6], 在卵巢癌^[7]、结肠癌和甲状腺肿瘤组织及其细胞株中都有高表达^[8]。PGRMC1 在多种肿瘤中过度表达表明 PGRMC1 有助于肿瘤的生存和发展, PGRMC1 可能是指示肿瘤进展的潜在标志物和治疗肿瘤的潜在靶标分子^[8]。

最近, Neubauer 等对乳腺癌蛋白质组学研究表明, 乳腺癌中 PGRMC1 的不同磷酸化与乳腺癌组织中的雌激素受体(estrogen receptor, ER)状况之间有关联^[6]。对 16 例乳腺癌组织(8 例雌激素受体阳性, 8 例雌激素受体阴性)蛋白进行二维凝胶比较, 发现了 3 个 PGRMC1 蛋白异构体存在。发现 PGRMC1 蛋白异构体的差异主要是其磷酸化状态的不同, 其中 2 个碱

性 PGRMC1 蛋白异构体高表达于雌激素受体阴性(ER⁻)乳腺癌组织中, 而磷酸化的 PGRMC1 蛋白主要存在于雌激素受体阳性(ER⁺)的乳腺癌。在 ER⁻的乳腺癌中, 两个磷酸化位点——57 位和 181 位丝氨酸(Ser-57, Ser-181)双突变的 PGRMC1 转染 MCF7 细胞获得的稳定细胞株能完全阻止 PGRMC1 对过氧化氢(H₂O₂)诱导的细胞死亡效应^[6]。而稳定表达野生型 PGRMC1 的 MCF7 细胞能提高 Akt 的磷酸化, 从而增强细胞对 H₂O₂ 诱导的致死效应^[3]。因此, PGRMC1 蛋白的 Ser-57, Ser-181 两个磷酸化位点的突变能够影响细胞的存活能力。PGRMC1 主要存在于肿瘤组织的缺氧区, 位于细胞核周围。这些研究结果表明, PGRMC1 是乳腺癌中表征雌激素受体状况和组织缺氧的新的生物标志物^[9]。

在 HeLa 细胞中, 磷酸化的 PGRMC1 主要存在于细胞核, 磷酸化位点是 Ser-57, Ser-181 两个残基^[10], 这是 Casein 激酶 2 位点, 但 PGRMC1 是否诱导 Casein 激酶 2 的激活、引起系列的级联反应等有关作用机制并不清楚^[2]。此外, Craven 等发现 PGRMC1 还属于调节肿瘤细胞对化疗药物敏感性的基因之一^[11], PGRMC1 是通过与亚铁血红素结合来调节肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[12]。

迄今对于 PGRMC1 在细胞中的表达调控研究并不多, 调节 PGRMC1 表达的因素也不清楚。孕酮可能是一个重要的影响 PGRMC1 表达的因素。因为孕酮能抑制大鼠体内 PGRMC1 的转录, 而孕酮受体敲除的雌鼠的 PGRMC1 表达水平比正常老鼠高^[13]。此外, PGRMC1 的表达还受氧的调节。细胞生长在低氧条件能提高 PGRMC1 的表达, 但其生理意义并不清楚。同样地, PGRMC1 在肾组织中表达及其作用也不明白^[2]。最近, 我们的研究表明, PGRMC1 蛋白在肾癌与癌旁组织中表达差异显著, 发现 PGRMC1 蛋白的表达水平与肾癌发展具有临床相关性, PGRMC1 蛋白在肾癌中普遍上调, 该蛋白高表达与肾癌肿瘤恶性程度的 Fuhrman 等级和低分化相关。

3. PGRMC1 蛋白在胆固醇合成中的作用

PGRMC1 蛋白的结合配体还有 P450 蛋白, PAIR-BP1(纤维蛋白溶酶原激活抑制剂 1 RNA 结合蛋白), Insig(胰岛素诱导基因), Scap(固醇调节元件结合

蛋白裂解激活蛋白), 以及一些激素/药物结合蛋白。

PGRMC1 蛋白直接与 P450 蛋白甾醇 14 α -去甲基化酶(Cyp51), Cyp3A4, Cyp7A1/胆固醇 7 α -羟化酶和 Cyp21A2/21-羟化酶结合^[14], 这提示 PGRMC1 蛋白在胆固醇合成, 药物/激素代谢和胆汁酸合成方面的作用。在酵母中, PGRMC1 蛋白在胆固醇合成的 Cyp51 催化步骤中是需要的^[5]。PGRMC1 蛋白及其相似物被比作 P450 蛋白的助手^[7], PGRMC1 蛋白与细胞色素 b5 相关, 而细胞色素是许多 P450 反应的激活剂。PGRMC1 蛋白在鼠及人肝脏中高表达表明 PGRMC1 蛋白参与 P450 蛋白介导的多种生物学过程。

PGRMC1 蛋白起初命名为 Hpr6(血红素-1 结合域蛋白)或 mPR(膜孕激素受体), 是一个未知特征的孕激素受体复合物的组分^[1]。PGRMC1 蛋白也与孕酮信号和 PAIR-BP1 蛋白有关联。但在 PGRMC1 蛋白敲除的肺癌细胞中孕酮活动和 PAI1(plasminogen activator inhibitor 1)纤溶酶原激活物抑制物 1 转录水平都没有改变。PGRMC1 蛋白与孕激素结合蛋白共纯化时, 它没有明显的激素受体同源性, 并且重组 PGRMC1 蛋白并不直接与孕酮结合。利血平 mRNA 结合蛋白(SERBP1), 也称为纤维蛋白溶酶原激活抑制剂 1 RNA 结合蛋白(PAIRBP1)参与转导孕酮的抗凋亡活动^[4,15], 进一步研究表明, PAIRBP1 与 PGRMC1 蛋白结合。

胆固醇合成途径是治疗心血管疾病和抑制真菌感染的重要靶标。PGRMC1 蛋白可能以两种方式调节胆固醇的合成。在模式生物中, PGRMC1 蛋白与铁运输和胆固醇合成相关^[11,16-18]。在真菌酿酒酵母和裂殖酵母中, PGRMC1 蛋白结合并激活细胞色素 P450 蛋白 Cyp51/羊毛甾醇脱甲基酶, 此酶是催化固醇合成通路中的一个重要的反应。PGRMC1 蛋白同源物 Dap1(损伤抑制蛋白 1)能激活 Cyp51, 而 Cyp51 是吡咯类抗真菌药物的靶标常用于研发治疗酵母菌感染药物^[14,18]。人源性的 PGRMC1 蛋白与 Cyp51 结合, 人胚胎肾细胞中敲除 PGRMC1 蛋白后胆固醇的合成部分终止^[14]。

PGRMC1 在调节胆固醇合成方面还可与另外的基因结合发挥作用。除了激活 Cyp51, PGRMC1 蛋白还与胆固醇调节者 Insig(胰岛素诱导基因)和 Scap(SREBP 裂解激活蛋白^[19])结合, Scap 横跨内质网并可以感知胆固醇的水平。SREBP(固醇调节元件结合蛋白)

是一种转录因子, 以前体形式存在于内质网^[14,20]。Insig 通过与 Scap 结合抑制 SREBP 激活^[20]。当 Insig 本身被抑制, Scap 释放并护送 SREBP 到高尔基体进行加工^[20]。但 PGRMC1 蛋白调节 Insig 和 Scap 的生物学作用尚不清楚, 也不确定是否 Insig 和 Scap 都是 P450 或与 PGRMC1 蛋白相关的孕激素结合复合物的一部分。此外, PGRMC1 蛋白在雌激素和孕激素的合成和代谢中也起作用。

4. PGRMC1 参与的信号通路

PGRMC1 能与孕酮结合, 介导调控激素(孕酮)信号通路^[1,2], 这与肿瘤细胞中的 PGRMC1 参与的存活信号通路(pro-survival signaling)有联系^[21]。但由于孕酮在生殖器官(如卵巢)和在肿瘤细胞中的生物学作用的不同(生理条件下孕酮能抑制卵巢的粒层细胞和黄体细胞凋亡^[4], 而孕酮在肿瘤细胞中却引起细胞分化和凋亡^[22]), 可能导致 PGRMC1 在卵巢粒层细胞和肿瘤细胞中参与调节孕酮诱导的信号通路也不相同。因此, 对于在卵巢粒层细胞中 PGRMC1 与 PAIRBP1 结合形成蛋白复合物诱导参与孕酮对粒层细胞的抗凋亡作用^[4,21,23,24]这是否是 PGRMC1 在肿瘤细胞中的真正作用还存在争议^[4,25], 而且 PGRMC1 怎样调节孕酮诱导后的抑制凋亡的信号通路也不清楚^[22,24]。

已有研究表明在不同的细胞中与 PGRMC1 相互作用的蛋白是不同的, 这也可能是在不同细胞中 PGRMC1 蛋白具有不同调节功能的原因^[2]。最近在粒层细胞中通过带 GFP 标签的 PGRMC1 解析了 PGRMC1 的相互作用蛋白, 质谱鉴定了一个相互作用蛋白 Grp78(Bip), 该蛋白能参与凋亡过程, 但它是否是与 PGRMC1 相互作用参与孕酮抑制粒层细胞的凋亡仍有待研究^[2]。而在 COS-7 细胞中, PGRMC1 还能与 Insig-1, SCAP, SREBP 形成蛋白复合物^[19]调节胆固醇/类固醇的合成和表达水平^[4]。

值得关注的是在乳腺癌细胞 MCF-7 中, PGRMC1 能激活 Akt 激酶参与的胞内信号通路; 而且在 PGRMC1 过表达的细胞中, PGRMC1 的 Ser-57, Ser-181 氨基酸是细胞受到氧化(H₂O₂)损伤后 Akt 激酶激活所必需的^[3]。PGRMC1 激活 Akt 激酶参与胞内信号通路可能由两种机制导致: 1) PGRMC1 通过激活 P450 蛋白, 产生的有氧代谢物能启动 Akt 的磷酸化;

2) PGRMC1 直接与 Akt 的激活因子结合。如果是后者, PGRMC1 的 Ser-57, Ser-181 氨基酸是与激活 Akt 的结合蛋白(如 PDK1)的对接位点^[1], PGRMC1 是作为一种接头蛋白直接参与细胞信号通路。但对于 PGRMC1 激活 Akt 激酶的下游作用蛋白有哪些, 激活 Akt 激酶后的级联效应怎样进行和放大的? 除 Ser-57, Ser-181 外, PGRMC1 的其他磷酸化氨基酸残基(如 Tyr113, Thr74)在调节细胞凋亡中具有怎样的作用? 目前这些问题都没有阐明。

5. 展望

总之, PGRMC1 的异常表达、其介导的由孕酮诱导的抗凋亡作用与胞内信号转导都与多种肿瘤的发生具有紧密联系。但目前关于 PGRMC1 在肿瘤细胞内介导孕酮诱导的细胞信号通路、具体参与蛋白/因子和其调控机制^[23,24]以及它们与肿瘤细胞的凋亡的关系并不清楚^[2,25], 这也是揭示 PGRMC1 功能所急需研究的重要内容。由于 PGRMC1 能够促进肿瘤存活的生物学功能, PGRMC1 可能是癌症和相关恶性肿瘤干扰治疗的靶标, 因此进一步深入研究 PGRMC1 蛋白与肿瘤发生的关系有助于寻找新的肿瘤标志物, 将为肿瘤的早期诊断与预后以及有效药物靶点的发现提供理论和实验依据。

6. 致谢

本课题受到国家自然科学基金(30970654、31071235)、教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-10-0595)和教育部博士点基金(20120181110025)资助。

参考文献 (References)

- [1] M. A. Cahill. Progesterone receptor membrane component 1: An integrative review. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, 105: 16-36.
- [2] R. M. Lösel, D. Besong, J. J. Peluso and M. Wehling. Progesterone receptor membrane component 1—Many tasks for a versatile protein. *Steroids*, 2008, 73(9-10): 929-934.
- [3] R. A. Hand, R. J. Craven. Hpr6.6 protein mediates cell death from oxidative damage in MCF-7 human breast cancer cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2003, 90(3): 534-547.
- [4] J. J. Peluso, A. Pappalardo, R. Losel and M. Wehling. Progesterone membrane receptor component 1 expression in the immature rat ovary and its role in mediating progesterone's antiapoptotic action. *Endocrinology*, 2006, 147(6): 3133-3140.
- [5] S. Difilippantonio, Y. Chen, A. Pietas, et al. Gene expression profiles in human non-small and small-cell lung cancers. *European Journal of Cancer*, 2003, 39(13): 1936-1947.
- [6] H. Neubauer, S. E. Clare, W. Wozny, et al. Breast cancer proteomics reveals correlation between estrogen receptor status and differential phosphorylation of PGRMC1. *Breast Cancer Research*, 2008, 10(5): R85.
- [7] J. J. Peluso, X. Liu, M. M. Saunders, et al. Regulation of ovarian cancer cell viability and sensitivity to cisplatin by progesterone receptor membrane component-1. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2008, 93(5): 1592-1599.
- [8] G. Crudden, R. Loesel and R. J. Craven. Overexpression of the cytochrome p450 activator hpr6 (heme-1 domain protein/human progesterone receptor) in tumors. *Tumour Biology*, 2005, 26(3): 142-146.
- [9] R. J. Craven. PGRMC1: A new biomarker for the estrogen receptor in breast cancer. *Breast Cancer Research*, 2008, 10(5): 113.
- [10] S. A. Beausoleil, M. Jedrychowski, D. Schwartz, et al. Large-scale characterization of HeLa cell nuclear phosphoproteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2004, 101(33): 12130-12135.
- [11] J. C. Mallory, G. Crudden, A. Oliva, et al. A novel group of genes regulates susceptibility to antineoplastic drugs in highly tumorigenic breast cancer cells. *Molecular Pharmacology*, 2005, 68(6): 1747-1756.
- [12] G. Crudden, R. E. Chitti and R. J. Craven. Hpr6 (heme-1 domain protein) regulates the susceptibility of cancer cells to chemotherapeutic drugs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2006, 316(1): 448-455.
- [13] C. J. Krebs, E. D. Jarvis, J. Chan, et al. A membrane-associated progesterone-binding protein, 25-Dx, is regulated by progesterone in brain regions involved in female reproductive behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2000, 97(23): 12816-12821.
- [14] A. L. Hughes, D. W. Powell and M. Bard. Dap1/PGRMC1 binds and regulates cytochrome P450 enzymes. *Cell Metabolism*, 2007, 5(2): 143-149.
- [15] J. J. Peluso, A. Pappalardo and G. Fernandez. Involvement of an unnamed protein, RDA288, in the mechanism through which progesterone mediates its antiapoptotic action in spontaneously immortalized granulosa cells. *Endocrinology*, 2004, 145(6): 3014-3022.
- [16] G. I. Lipesheva, M. R. Waterman. Sterol 14alpha-demethylase cytochrome P450(CYP51), a P450 in all biological kingdoms. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 1770(3): 467-477.
- [17] R. J. Craven, J. C. Mallory and R. A. Hand. Regulation of iron homeostasis mediated by the heme-binding protein Dap1 (damage resistance protein 1) via the P450 protein Erg11/Cyp51. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(50): 36543-36551.
- [18] J. C. Mallory, G. Crudden and B. L. Johnson. Dap1p, a heme-binding protein that regulates the cytochrome P450 protein Erg11p/Cyp51p in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, 2005, 25(5): 1669-1679.
- [19] M. Suchanek, A. Radzikowska and C. Thiele. Photo-leucine and photo-methionine allow identification of protein-protein interactions in living cells. *Nature Methods*, 2005, 2(4): 261-267.
- [20] J. L. Goldstein, R. A. DeBose-Boyd and M. S. Brown. Protein sensors for membrane sterols. *Cell*, 2006, 124(1): 35-46.
- [21] J. J. Peluso, J. Romak and X. Liu. Progesterone receptor membrane component-1 (PGRMC1) is the mediator of progesterone's antiapoptotic action in spontaneously immortalized granulosa cells as revealed by PGRMC1 small interfering ribonucleic acid treatment and functional analysis of PGRMC1 mutations. *Endocrinology*, 2008, 149(2): 534-543.
- [22] A. Gompel, S. Somai, M. Chaouat, et al. Hormonal regulation of apoptosis in breast cells and tissues. *Steroids*, 2000, 65(10-11): 593-598.
- [23] L. Engmann, R. Losel, M. Wehling and J. J. Peluso. Progesterone regulation of human granulosa/luteal cell viability by an RU486-independent mechanism. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2006, 91(12): 4962-4968.

PGRMC1 蛋白功能及其在肿瘤发生发展中的作用

- [24] J. J. Peluso, G. Fernandez, A. Pappalardo and B. A. White. Characterization of a putative membrane receptor for progesterone in rat granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 2001, 65: 94-101.
- [25] H. J. Rohe, I. S. Ahmed, K. E. Twist and R. J. Craven. PGRMC1 (progesterone receptor membrane component 1): A targetable protein with multiple functions in steroid signaling, P450 activation and drug binding. *Pharmacology & Therapeutics*, 2009, 121(1): 14-19.