

综述

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.12.003

TEM8 在恶性肿瘤中的研究进展

黄芙蓉 冯诚天 曹世玉 姜永冬

【摘要】 肿瘤内皮细胞标志物 8 (TEM8) 是一种高度保守的单次跨膜糖蛋白。TEM8 是肿瘤内皮标志物家族中较为特别的一员, 首次发现于结肠癌组织中, 研究表明 TEM8 在多种恶性肿瘤细胞与肿瘤血管内皮特异性表达, 并参与肿瘤增殖、血管形成等恶性生物学行为, 是一些恶性肿瘤早期诊断和预后的生物标志物, 并可作为恶性肿瘤治疗新靶点。该文将介绍 TEM8 在恶性肿瘤中的作用机制以及其在临床中的应用进展。

【关键词】 肿瘤内皮细胞标志物 8; 恶性肿瘤; 靶点; 机制通路

Research progress on TEM8 in malignant tumors Huang Furong[△], Feng Chengtian, Cao Shiyu, Jiang Yongdong.[△] Breast Surgery Ward 1, Harbin Medical University Cancer Hospital (Harbin Medical University), Harbin 150000, China
Corresponding author, Jiang Yongdong, E-mail: jiangyongdonghmu@126.com

【Abstract】 Tumor endothelial marker 8 (TEM8) is a highly-conserved single-shot transmembrane glycoprotein. TEM8 is a special member of the tumor endothelial marker family, which was first discovered in colon cancer tissues. Studies have shown that TEM8 is specifically expressed in a variety of malignant tumor cells and tumor vascular endothelia, and participates in malignant biological behaviors, such as tumor proliferation and angiogenesis, which is a biomarker for early diagnosis and prognosis of some malignant tumors, and can be used as a new target for the treatment of malignant tumors. This article will introduce the mechanism of TEM8 in malignant tumors and its clinical application progress.

【Key words】 Tumor endothelial marker 8; Malignant tumor; Target; Mechanism pathway

恶性肿瘤是全球范围内最主要的健康威胁之一, 其对人类生命和健康造成了严重影响。在过去的几十年里, 深入的研究揭示了恶性肿瘤的复杂性和多样性, 为开发更有效的抗肿瘤治疗策略提供了新的机会。除了直接针对肿瘤细胞的治疗方法外, 近年来, 越来越多的研究关注到了肿瘤微环境中的重要角色, 特别是抗肿瘤血管生成过程。

肿瘤血管生成是恶性肿瘤生长和转移所必需的一个关键过程。由于肿瘤细胞的快速增殖和代谢需求的增加, 肿瘤组织中的血供常常不足, 从而导致低氧环境的形成。为了满足其生存和生长的需要, 肿瘤细胞会通过激活血管生成途径来重新建立血供网络。这个过程涉及多种细胞类型、因子和信号通路的复杂调控。近年来, 研究人员对抗肿瘤血管生成的机制进行了深入研究, 并发现了一系列与血管生成相关的分子和靶点。其中,

肿瘤内皮细胞标志物 8 (TEM8) 作为一种在肿瘤相关血管内皮细胞上高表达的蛋白质, 引起了广泛的关注。TEM8 在肿瘤血管生成中发挥着重要的作用, 其表达水平与肿瘤的生长、转移和预后密切相关。针对 TEM8 的研究不仅有助于我们更深入地了解肿瘤血管生成的机制, 还为开发新型的抗肿瘤治疗策略提供了潜在的靶点。

一、TEM8 的概述

TEM8 是肿瘤内皮细胞标志物家族 (TEMs) TEM1~TEM9 中的一员。在 2000 年, St Croix 等^[1]通过基因表达系列分析 (SAGE) 对比结直肠癌组织与正常结直肠组织的血管内皮细胞的基因表达时, 发现 9 个肿瘤内皮细胞特异性表达的基因或蛋白, 并将其命名为 TEMs。与其他 TEM 家族成员相比, TEM8 在胚胎组织血管生成、肿瘤细胞与肿瘤血管内皮特异性表达, 而没有在伤口愈合、

基金项目: 黑龙江省博士后科研基金 (LBH-Q20133)

作者单位: 150000 哈尔滨, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院乳腺外科一病区 (黄芙蓉, 姜永冬); 314000 嘉兴, 嘉兴市妇幼保健院乳腺科 (冯诚天); 441000 襄阳, 襄阳市第一人民医院普外四科 (曹世玉)

通信作者, 姜永冬, E-mail: jiangyongdonghmu@126.com

卵巢及正常组织的血管中检测出表达^[2]。TEM8还可作为炭疽毒素的细胞受体介导炭疽毒素进入细胞内,因而又命名为炭疽毒素受体1(ANTXR1)^[3]。除此之外,TEM8也是塞内卡谷病毒(SVV)的细胞受体^[4]。目前,还发现TEM8在各种癌症的基质中呈过表达,在肿瘤相关内皮细胞、周细胞、相关成纤维细胞中都有选择性的上调,其功能和表达与血管系统的发育和肿瘤血管生成有着密切关系^[5]。有趣的是,最近的一篇文章发现肿瘤相关基质中TEM8阳性细胞可介导胶原蛋白的结合和摄取。将胶原蛋白加工成谷氨酰胺,然后由癌细胞释放和内化。在肿瘤高代谢的需求驱动下,癌细胞可利用谷氨酰胺存活^[6]。

TEM8是一种I型跨膜蛋白,由位于染色体2p13.3上的基因所编码^[78]。TEM8胞内段氨基酸序列由于转录翻译时剪切的不同,可产生5种不同的可变剪切体^[9-10]。它们的胞质区域均富含含有脯氨酸的尾部及磷酸化位点,与相关信号转导调控有关;胞外区域含有vWA结构域,vWA结构域内部有金属离子依赖性黏附位点,在细胞黏附、蛋白的识别上发挥着重要作用^[11]。TEM8不仅在肿瘤血管内皮细胞中过度表达,还参与调节血管生成的过程。在肿瘤微环境中,与肿瘤相关的细胞和细胞外基质成分相互作用,调节肿瘤的生长、侵袭和转移。此外,TEM8被认为与肿瘤免疫逃逸和抗肿瘤免疫应答相关。由于TEM8在肿瘤中的表达特异性和与肿瘤发生和进展的关联,它被认为是潜在的治疗靶点。一些研究已经探索了针对TEM8的抗体和抗肿瘤药物的开发,以抑制肿瘤的生长和转移。

二、TEM8在恶性肿瘤中的作用与机制

1. TEM8与乳腺癌

三阴性乳腺癌(TNBC)是一种缺乏靶向治疗的侵袭性疾病。已经在临床样本中被证实,与正常乳腺组织和正常淋巴组织的比较,在TNBC组织和转移的淋巴结中TEM8呈过表达^[12]。Gutwein等^[12]的研究在验证TNBC中TEM8的表达水平高于管腔和HER-2亚型乳腺癌,并且TEM8高表达的TNBC患者,无复发生存期较差,这可能意味着TEM8的表达与TNBC的侵袭性和预后有关。与此同时,此研究还报道了TEM8在乳腺癌中可能作用的机制通路。TEM8可以通过招募RhoC和GNAS蛋白,抑制RhoC的失活,进而增强RhoC/ROCK1信号。ROCK1的表达增加会促进SMAD5的磷酸

化,从而激活SMAD5信号通路。这最终导致肿瘤细胞的血管拟态和干性增强,促进了肿瘤的发生和发展。该研究还发现泛素-蛋白酶体系统可以调节TEM8蛋白的表达。这表明TEM8的表达差异可能受到翻译后修饰的调控^[12]。综合来看,TEM8在侵袭性乳腺癌的进展、血管生成和转移上起到重要的作用,是TNBC诊疗中的一个新的潜在靶点。然而,还需要进一步研究来验证TEM8作为TNBC治疗靶点的可行性和疗效。miRNA在转录水平对肿瘤细胞中的抑癌基因或癌基因的表达发挥重要调节作用。研究表明miR-664a-3p在乳腺癌中处于高表达状态,TEM8是其靶基因。miR-664a-3p过表达抑制下游TEM8的表达,TEM8蛋白的下调引起CDK4、Cyclin-D1、 β -链蛋白的表达下降,以及波形蛋白的表达升高。说明过表达的miR-664a-3p通过抑制TEM8蛋白表达可以抑制乳腺癌细胞的增殖活性和侵袭能力^[13]。

2. TEM8与呼吸系统肿瘤

肺癌是呼吸系统最常见的恶性肿瘤,免疫组化结果提示与相邻的正常肺组织相比,TEM8在肺癌中的表达明显上调,并影响肿瘤的生物行为^[14-15]。Gong等^[15]通过使用针对TEM8的shRNA(干扰载体)沉默TEM8的表达,发现TEM8-shRNA组的肺癌细胞增殖、迁移能力和侵袭能力明显降低,细胞凋亡率增加,并且细胞周期停滞在G1期^[15]。其他的研究中也得出同样的结果^[14,16-17]。目前,Wnt信号通路的失调与肿瘤的发生、发展密切相关。一项国内的研究提示,TEM8通过激活Wnt/ β -catenin信号通路促进肿瘤内皮细胞的增殖、迁移和血管生成^[17]。在Ding等^[14]的研究中,TEM8低表达组中,与Wnt信号通路相关的关键分子(如Wnt1、pGSK3 β 、 β -catenin)的表达水平均降低,与肿瘤细胞增殖相关的蛋白:p21表达水平增加,Cyclin-D1表达水平下降。通过使用Wnt/ β -catenin抑制剂(ICG001),TEM8过表达组中肿瘤细胞的生物学行为被抑制。ERK/Bcl-2信号通路是一个重要的细胞生存和凋亡调控途径。在多种生理和病理过程中发挥重要作用,包括发育、肿瘤生长、神经退行性疾病等。一项非小细胞肺癌的研究发现,敲低TEM8在转录和蛋白水平上抑制了ERK磷酸化和Bcl-2的表达,说明敲低TEM8抑制了肿瘤组织中的ERK/Bcl-2信号通路^[18]。综合上述研究结果,说明TEM8可通过激活Wnt/ β -catenin以及ERK/Bcl-2信号通路在肺癌的发生和发展中发挥了

重要作用。

3. TEM8 与生殖系统肿瘤

研究发现,与卵巢良性肿瘤以及正常卵巢组织相比,TEM8在卵巢癌组织中的表达存在明显差异。Wang等^[19]发现TEM8上游受到转录因子GATA2的调控。GATA2与TEM8在mRNA和蛋白表达水平呈正相关。TEM8的过表达会促进卵巢癌细胞增殖、迁移、侵袭以及G0/G1转化等行为,同时促进Ki-67、Cyclin-D1、Bcl-2/Bax、MMP2、MMP9的表达。此外,在通路机制的探索中,TEM8过表达会增强Rac1/cdc42、JNK、MEK/ERK和STAT3(Ser727)等信号通路的磷酸化。通过添加RAC1和MEK通路抑制剂,TEM8过表达组的恶性行为被抑制。这些结果表明在卵巢癌中TEM8通过激活Rac1/Cdc42/JNK和MEK/ERK/STAT3等信号通路,进而参与了卵巢癌的发生和发展过程。我国学者在宫颈癌的研究中发现,TEM8也会受到miR-488-5p的调控,过表达miR-488-5p会影响TEM8基因表达的明显下调,进而对下游通路产生影响,TEM8蛋白的下调引起蛋白p-EGFR、p-ERK、p-AKT表达降低,说明下调TEM8蛋白表达可以抑制EGFR/ERK和EGFR/AKT信号通路的磷酸化激活,导致宫颈癌细胞的增殖活性和迁移能力^[20]。

TEM8与VEGF-A结合,可以增强VEGF-A在肿瘤细胞和内皮细胞中的功能,进而促进肿瘤血管生成。在一项前列腺癌的研究中也证明了TEM8与VEGF的表达有明显的相关性^[21]。但如何促进前列腺癌进展的分子机制,两者是否存在相关的信号通路还有待研究和探索。N-Myc属于Myc家族的成员之一,N-Myc的过表达与血管生成过程的调控有关,与血管生成相关因子和信号通路相互作用,如VEGF和其受体的信号转导。一项研究报道了N-Myc可通过与TEM8相互作用,促进前列腺癌的血管生成并增加对治疗的耐药性。还有研究发现N-Myc可通过正向调控前列腺癌细胞中TEM8的表达,促进前列腺癌细胞的增殖速率和血管生成,并且N-Myc的高表达会使前列腺癌细胞从雄激素剥夺疗法中逃逸,导致治疗耐药性的发生^[22]。N-Myc和TEM8可能作为前列腺癌的预后标志物和潜在治疗靶点,且靶向N-Myc/TEM8通路可能成为加强前列腺癌患者治疗及耐药性发生的新策略。

4. TEM8 与消化系统肿瘤

在胃癌的机制研究中,明确TEM8可以通过PI3K/AKT/mTOR信号通路来促进胃癌的发生发展^[23]。学者对140例胃癌患者的原发肿瘤、转移部位肿瘤以及正常胃组织中的TEM8阳性细胞进行对比。发现在原发与转移部位的肿瘤细胞和内皮细胞中,TEM8均有表达。并且表明新辅助化疗不会影响原发性或转移性肿瘤组织中TEM8的表达^[24-25]。这意味着即使在接受治疗的过程中,TEM8仍然存在并维持其表达水平。且由于TEM8在肿瘤细胞和内皮细胞中均有表达,具有同时靶向两个重要区域的潜力。所以基于这些发现,TEM8可认为是胃癌潜在的免疫治疗靶点。陈炯煌^[26]认为TEM8是影响胰腺癌患者预后的独立危险因素,可以联合术前CA19-9水平更好地评估胰腺癌患者的预后。通过体内外实验发现,敲低TEM8的表达,上皮-间质转化相关表型发生逆转,抑制了胰腺癌细胞恶性的生物学行为,其分子机制可能与TEM8调控Wnt/ β -catenin信号通路有关。

三、靶向 TEM8 的肿瘤治疗进展

由于肿瘤血管在促进肿瘤生长和转移方面的关键作用,其已成为抗癌治疗的主要靶标^[27]。在TEM8的研究中发现其可以在病理性而非生理性血管生成中起作用^[5]。所以综合相关研究,认为靶向TEM8为对抗癌症提供了一个更加合理的策略。

嵌合抗原受体T细胞免疫疗法(CAR-T)是一种治疗肿瘤的新型精准靶向疗法。目前CAR-T细胞疗法在治疗白血病已取得临床成功。CAR是一种蛋白质受体,表达CAR的T淋巴细胞被称为CAR-T,可识别并结合肿瘤表面的特定抗原,进而攻击肿瘤细胞。CAR-T治疗是从患者血液中收集分离T细胞,然后进行基因修饰,修饰好的CAR-T在体外大量培养扩增后,再输入患者体内继续繁殖,最终识别、靶向、杀伤体内癌细胞。2012年的一项使用抗体噬菌体的研究展示报道了5种TEM8特异性人抗体(L1、L2、L3、L5和1D2)的产生,这些抗体抑制了几种小鼠肿瘤模型中肿瘤诱导的血管生成以及癌细胞的生长^[5]。目前已经有研究通过使用三阴性乳腺癌小鼠模型探索了基于L2抗体的TEM8特异性CAR的安全性和治疗潜力,并表现出良好的初期疗效^[28]。研究表明,输注L2 CAR-T细胞不仅可以抑制肿瘤生长,而且没有

毒性作用的报道。与之相矛盾的是最近的一项研究发现其中包括 L2 抗体的 TEM8 特异性 CARs 在健康小鼠中引起了明显的毒性，可以在健康组织中靶向 TEM8^[29]。这些矛盾的发现，可能是 CAR 设计不同改变导致的。由于实体瘤的复杂性和免疫逃逸机制，CAR-T 细胞疗法在实体瘤中也面临一些挑战，如抗原选择、免疫抑制性微环境等。需要进一步的临床试验和研究来改进 CAR-T 细胞疗法在实体瘤治疗中的效果。

自然杀伤 (NK) 细胞对病毒感染和恶性转化的细胞具有强大的细胞杀伤作用。其活性受细胞因子调节，特别是 IL-2 和 IL-15^[30]。目前报道了许多使用 NK 细胞对抗癌症的疗法，包括 NK 细胞过继疗法，同种异体 NK 细胞以及使用重组 IL-15 和 IL-15 超激动剂复合物的细胞因子^[31-33]。最近国外学者开发了一种针对 TEM8 的三特异性杀手接合器 (TriKE) “cam1615TEM8”，它由 3 个臂组成，在 NK 细胞和靶标之间形成细胞溶解的桥梁。cam1615TEM8 可以通过与 IL-15 共同刺激，选择性靶向和激活 NK 细胞，进而刺激 NK 细胞脱颗粒以及炎性细胞因子的产生，对抗表达 TEM8 的肿瘤和基质细胞系^[34]。cam1615TEM8 TriKE 是一种针对实体瘤患者的新型抗肿瘤、抗间质和抗血管生成的疗法。

四、总结

TEM8 是一种在肿瘤细胞自身或周围基质中选择性表达的新型肿瘤标记蛋白。随着 TEM8 与肿瘤相关机制的研究，TEM8 的重要作用逐渐显现。它有望作为不同肿瘤类型的生物标志物，发挥早期筛查、监测预后等重要相关作用，同时它也成为具有吸引力的潜在新型抗癌疗法的靶点。

参 考 文 献

- [1] St Croix B, Rago C, Velculescu V, et al. Genes expressed in human tumor endothelium. *Science*, 2000, 289 (5482): 1197-1202.
- [2] Chaudhary A, St Croix B. Selective blockade of tumor angiogenesis. *Cell Cycle*, 2012, 11 (12): 2253-2259.
- [3] Bradley K A, Mognridge J, Mourez M, et al. Identification of the cellular receptor for anthrax toxin. *Nature*, 2001, 414 (6860): 225-229.
- [4] Miles L A, Burga L N, Gardner E E, et al. Anthrax toxin receptor 1 is the cellular receptor for Seneca Valley virus. *J Clin Invest*, 2017, 127 (8): 2957-2967.
- [5] Chaudhary A, Hilton M, Seaman S, et al. TEM8/ANTXR1 blockade inhibits pathological angiogenesis and potentiates tumoricidal responses against multiple cancer types. *Cancer Cell*, 2012, 21 (2): 212-226.
- [6] Hsu K S, Dunleavy J M, Szot C, et al. Cancer cell survival depends on collagen uptake into tumor-associated stroma. *Nat Commun*, 2022, 13 (1): 7078.
- [7] Cryan L M, Rogers M S. Targeting the anthrax receptors, TEM-8 and CMG-2, for anti-angiogenic therapy. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2011, 16 (4): 1574-1588.
- [8] Friebe S, Deuquet J, van der Goot F G. Differential dependence on N-glycosylation of anthrax toxin receptors CMG2 and TEM8. *PLoS One*, 2015, 10 (3): e0119864.
- [9] Vargas M, Karamsetty R, Leppla S H, et al. Broad expression analysis of human ANTXR1/TEM8 transcripts reveals differential expression and novel splice variants. *PLoS One*, 2012, 7 (8): e43174.
- [10] Stránecký V, Hoischen A, Hartmannová H, et al. Mutations in ANTXR1 cause GAPO syndrome. *Am J Hum Genet*, 2013, 92 (5): 792-799.
- [11] Santelli E, Bankston L A, Leppla S H, et al. Crystal structure of a complex between anthrax toxin and its host cell receptor. *Nature*, 2004, 430 (7002): 905-908.
- [12] Gutwein L G, Al-Quran S Z, Fernando S, et al. Tumor endothelial marker 8 expression in triple-negative breast cancer. *Anticancer Res*, 2011, 31 (10): 3417-3422.
- [13] 张沛, 岳青芬, 侯青霞, 等. 微小 RNA-664a-3p 在乳腺癌组织的表达及对乳腺癌细胞生物学行为的影响. *医学研究杂志*, 2019, 48 (5): 165-169.
- [14] Ding C, Liu J, Zhang J, et al. Tumor endothelial marker 8 promotes proliferation and metastasis via the Wnt/ β -catenin signaling pathway in lung adenocarcinoma. *Front Oncol*, 2021, 11: 712371.
- [15] Gong Q, Liu C, Wang C, et al. Effect of silencing TEM8 gene on proliferation, apoptosis, migration and invasion of XWLC-05 lung cancer cells. *Mol Med Report*, 2018, 17 (1): 911-917.
- [16] 王炳焱, 王永生, 高培惠. 沉默肿瘤内皮标志物 8 基因对 XWLC-05 肺癌细胞活性的影响. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36 (14): 2073-2075.
- [17] 武则鑫. TEM8 通过激活 wnt- β -catenin 信号通路促进 TECs 增殖、迁移和血管生成的研究. 长春: 吉林大学, 2020.
- [18] Gong Q, Deng J, Zhang L, et al. Targeted silencing of TEM8 suppresses non-small cell lung cancer tumor growth via the ERK/Bcl-2 signaling pathway. *Mol Med Rep*, 2021, 24 (2): 595.
- [19] Wang C X, Xiong H F, Wang S, et al. Overexpression of TEM8 promotes ovarian cancer progression via Rac1/Cdc42/JNK and MEK/ERK/STAT3 signaling pathways. *Am J Transl Res*, 2020, 12 (7): 3557-3576.
- [20] 张沛, 岳青芬, 侯青霞, 等. 过表达 miR-488-5p 通过靶向 TEM8 降低宫颈癌 C33A 细胞的增殖和迁移能力. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25 (12): 1270-1275.

- [21] 李明凤, 方林娜, 计翼, 等. 前列腺癌组织中 TEM8 与 VEGF 的表达及临床意义. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36 (10): 1144-1148.
- [22] Li M, Fang L, Kwantwi L B, et al. N-Myc promotes angiogenesis and therapeutic resistance of prostate cancer by TEM8. *Med Oncol*, 2021, 38 (10): 127.
- [23] 蔡晨. ANTXR1 在胃癌增殖转移中的作用及其机制研究. 上海: 上海交通大学, 2020.
- [24] Sotoudeh M, Shirvani S I, Merat S, et al. MSLN (Mesothelin), ANTXR1 (TEM8), and MUC3A are the potent antigenic targets for CAR T cell therapy of gastric adenocarcinoma. *J Cell Biochem*, 2019, 120 (4): 5010-5017.
- [25] Sotoudeh M, Shakeri R, Dawsey S M, et al. ANTXR1 (TEM8) overexpression in gastric adenocarcinoma makes the protein a potential target of immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68 (10): 1597-1603.
- [26] 陈炯煌. 胰腺癌 ANTXR1 的功能及其分子机制研究. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [27] Kerbel R S. Tumor angiogenesis. *N Engl J Med*, 2008, 358 (19): 2039-2049.
- [28] Byrd T T, Fousek K, Pignata A, et al. TEM8/ANTXR1-specific CAR T cells as a targeted therapy for triple-negative breast cancer. *Cancer Res*, 2018, 78 (2): 489-500.
- [29] Petrovic K, Robinson J, Whitworth K, et al. TEM8/ANTXR1-specific CAR T cells mediate toxicity *in vivo*. *PLoS One*, 2019, 14 (10): e0224015.
- [30] Lanier L L. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23: 225-274.
- [31] Davis Z B, Felices M, Verneris M R, et al. Natural killer cell adoptive transfer therapy: exploiting the first line of defense against cancer. *Cancer J*, 2015, 21 (6): 486-491.
- [32] Conlon K C, Lugli E, Welles H C, et al. Redistribution, hyperproliferation, activation of natural killer cells and CD8 T cells, and cytokine production during first-in-human clinical trial of recombinant human interleukin-15 in patients with cancer. *J Clin Oncol*, 2015, 33 (1): 74-82.
- [33] Wrangle J M, Velcheti V, Patel M R, et al. ALT-803, an IL-15 superagonist, in combination with nivolumab in patients with metastatic non-small cell lung cancer: a non-randomised, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol*, 2018, 19 (5): 694-704.
- [34] Kaminski M F, Bendzick L, Hopps R, et al. TEM8 Tri-specific Killer Engager binds both tumor and tumor stroma to specifically engage natural killer cell anti-tumor activity. *J Immunother Cancer*, 2022, 10 (9): e004725.

(收稿日期: 2023-10-02)

(本文编辑: 杨江瑜)

