

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.01243

• 综述 •

## 粒状头样 2 (GRHL2) 与肿瘤

唐冠楠, 颜宏利, 王玉招, 孙树汉\*

第二军医大学基础部医学遗传学教研室, 上海 200433

**[摘要]** 粒状头样 2 (GRHL2) 作为果蝇 *GRH* (grainyhead) 基因在哺乳动物中的同源基因之一, 不仅参与调控胚胎发育、表皮屏障形成、表皮损伤修复以及中枢神经系统的发育等诸多生命活动过程, 而且在乳腺癌、肝癌、口腔鳞状细胞癌等多种肿瘤的发生发展中发挥着重要作用。GRHL2 在肝癌、乳腺癌、口腔鳞状细胞癌等肿瘤中表达升高, 促进肿瘤细胞增殖, 抑制细胞凋亡; 而在上皮-间质转化 (EMT) 相关的乳腺癌中则下调表达, 促进 EMT 的发生。GRHL2 在肿瘤细胞中作用机制复杂而多样, 既包括死亡受体相关的凋亡作用, 人端粒反转录酶 (hTERT) 的活化, 也涉及到 EMT 的发生、失巢凋亡敏感性增加。随着对 GRHL2 研究的深入, 将有望为恶性肿瘤的临床诊断和治疗开辟新的方向。

**[关键词]** 粒状头样 2; 肿瘤; 上皮-间质转化

**[中图分类号]** R 730.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2013)11-1243-05

### Grainyhead-like-2 (GRHL2) and carcinogenesis: an advance

TANG Guan-nan, YAN Hong-li, WANG Yu-zhao, SUN Shu-han\*

Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Grainyhead-like-2 (GRHL2), a mammalian homolog of *Drosophila* grainyhead (*GRH*), is involved in a variety of biological processes, including mammalian embryonic development, epidermal barrier maturation, epithelial wound healing, and central nervous system development. Notably, GRHL2 is also essential for tumor origination and development in various kinds of cancer tissues, such as hepatocellular carcinoma, breast cancer and oral squamous cell carcinoma. In these cancer cells, GRHL2 expression is markedly enhanced, and the gain of GRHL2 can significantly facilitate cancer cell proliferation and inhibit apoptosis. On contrast, in epithelial-mesenchymal transition (EMT) related breast cancer, the down-regulated GRHL2 can promote the EMT process. The underlying mechanisms of GRHL2 in tumorigenesis remain complex and diverse, including the death receptor-mediated apoptosis, aberrant activation of the human telomerase reverse transcriptase (hTERT), EMT, and enhanced anoikis-sensitivity as well. We believe that further research on GRHL2 may cast new lights on cancer therapy.

**[Key words]** grainyhead-like-2; neoplasms; epithelial-mesenchymal transition

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(11):1243-1247]

粒状头样 2 (grainyhead-like-2, GRHL2) 是粒状头样 (grainyhead-like, GRHL) 家族成员之一, 于 2002 年由 Wilanowski 等<sup>[1]</sup> 首先报道, 并被认为是新的转录因子。GRHL2 参与调控胚胎发育、上皮细胞分化、表皮屏障形成以及表皮损伤修复等一系列的生命过程<sup>[2-3]</sup>, 并可通过靶向上皮表型基因 E-钙黏蛋白 (*E-cadherin*) 和 *claudin 4* (*Cldn4*) 调控上皮顶端连接复合体的形成<sup>[4]</sup>。GRHL2 的表达异

常与疾病密切相关, 近年研究发现, 在乳腺癌、肝癌和口腔鳞状细胞癌等多种肿瘤中均有 GRHL2 的功能异常<sup>[5-7]</sup>。本文主要综述近年来 GRHL2 的研究进展, 解析其在肿瘤发生中的作用和机制, 为深入了解 GRHL2 与肿瘤的关系提供参考。

### 1 GRHL 家族

*GRHL* 家族是果蝇 *GRH* (grainyhead) 家族在

**[收稿日期]** 2013-03-05

**[接受日期]** 2013-06-17

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (81272780). Supported by National Natural Science Foundation of China (81272780).

**[作者简介]** 唐冠楠, 硕士生. E-mail: tangguannan.123@163.com

\* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81871053, E-mail: shsun@sina.vip.com

脊椎动物中的同源家族。*GRH* 家族编码一系列在果蝇胚胎发育、表皮形态学形成和中枢神经系统发育等多种生命活动中发挥重要作用的转录因子<sup>[8-9]</sup>,其家族成员包含有 1 个富含异亮氨酸的激活结构域、1 个特殊的 DNA 结合结构域和 1 个二聚体相互作用结构域<sup>[10-11]</sup>。*GRH* 家族成员首先发现于果蝇,之后陆续在线虫和脊椎动物中发现了其同源基因,并根据其与果蝇 *GRH* 基因和 *dCP2* 基因的亲缘关系又分成 *GRHL* 亚家族和 *CP2* 亚家族<sup>[12]</sup>。果蝇和蠕虫的基因组只含有 1 个 *GRH* 基因,而哺乳动物中 *GRHL* 家族含有 3 个成员,分别为 *GRHL1*、*GRHL2* 和 *GRHL3*。*GRH* 家族成员是重要的转录因子,既可以作为转录激活子也可作为转录抑制子而发挥功能<sup>[8,12]</sup>。*GRH* 不但可以促进果蝇胚胎的发育、表皮屏障的形成和表皮损伤的修复,而且对于中枢神经系统的发育、胚胎神经管的闭合都发挥着重要的作用,其功能异常会导致表皮损伤修复障碍和神经管闭合缺陷<sup>[9]</sup>。同时,*GRH* 还可以调节细胞的增殖。有文献报道,在胚胎后的成神经细胞中有丝分裂活性的维持依赖于 *GRH* 的表达<sup>[13]</sup>。*GRH* 还可以结合于增殖细胞核抗原(PCNA)的启动子区,从而调节 PCNA 的转录活性,提示 *GRH* 在 DNA 复制中发挥重要作用<sup>[14]</sup>。

*GRH* 基因从果蝇到人类表现出高度的保守性,因此 *GRHL* 家族与 *GRH* 家族在结构和生物学功能上有很高的相似性。哺乳动物的 *GRHL* 基因同样也可以调控胚胎发育、表皮屏障的形成和表皮损伤的修复。但不同的是,*GRHL* 家族的 3 个成员在胚胎发育中存在着不同的时空调控和功能作用。例如 Auden 等<sup>[15]</sup> 在小鼠中发现,不同的 *GRHL* 基因在小鼠胚胎发育中有不同的时空调控模式,表达存在非一致性。而在小鼠的胚胎发育中其功能也不尽相同:小鼠缺乏 *GRHL1* 表现出异常的被毛和脚掌皮肤角化病,而 *GRHL2* 和 *GRHL3* 的突变则会表现为表皮分化异常和神经管闭合缺陷,且 *GRHL2* 突变的胚胎是致死性的<sup>[16-17]</sup>。在表皮屏障功能等方面,*GRHL* 家族成员也有不同,*GRHL1* 可以通过黏附相关基因 *DSG1* (desmo-glein-1) 调控表皮形成分化和被毛的锚定,*GRHL3* 则可以调控表皮屏障的

形成、神经管的闭合和表皮角质的分化<sup>[17-18]</sup>。而 *GRHL2* 不但可以负性调控表皮的分化和表皮形态学的形成,同时还可以促进细胞的增殖,并与口腔鳞状细胞癌、乳腺癌和肝癌等多种肿瘤相关<sup>[2-7]</sup>。*GRHL2* 的功能也更加引起人们的关注。

## 2 GRHL2 的功能

*GRHL2* 在生命过程中发挥着多种重要的生理功能,既包括如前所述的调控表皮形态学形成、表皮分化,影响胚胎神经管的闭合,同时,*GRHL2* 还可以通过靶向上皮表型基因 *E-cadherin* 和 *Cldn4* 调控上皮顶端连接复合体的形成,调控上皮-间质转化(EMT)<sup>[4]</sup>。*GRHL2* 可以通过转录抑制调节表皮分化复合物的一系列基因,而在人端粒反转录酶(hTERT)的启动区调控中则发挥了转录激活的作用,说明 *GRHL2* 作为转录因子,既可以作为转录激活子也可以作为转录抑制子发挥功能<sup>[3]</sup>。

在对斑马鱼中的同源基因 *GRHL2b* 的研究中,也显示 *GRHL2* 对于脑的形态学发育、维持中脑-后脑边界具有重要作用<sup>[19]</sup>。同时 *GRHL2* 在脊椎动物内耳发育中也是必需的。Peters 等<sup>[20]</sup> 通过分析美国一个耳聋家族发现人类渐进性常染色体显性听力损失(DFNA28)与 *GRHL2* 突变相关。利用斑马鱼 Tol2 转座子介导的基因捕获技术,Han 等<sup>[21]</sup> 模拟了 *GRHL2* 引起 DFNA28 的过程,发现 *GRHL2* 是通过促进 claudin b 和 epcam 在内耳中的表达从而调控了内耳上皮细胞间连接的发育,进而维持内耳腔内的组分和浓度,为耳石和半规管系统等的正常发育提供必需的环境,保证了听力和平衡系统的功能。

值得注意的是,*GRHL2* 可以促进细胞增殖,诱导细胞凋亡,其异常表达也与多种肿瘤的发生发展密切相关<sup>[2-7]</sup>。

## 3 GRHL2 与肿瘤发生

与 *GRHL* 家族其他成员不同,*GRHL2* 不仅对于胚胎发育、表皮屏障形成、表皮分化以及神经管闭合有重要作用,其功能异常也与多种肿瘤的发生发展密切相关,其作为肿瘤治疗的潜在靶点也引起人

们的极大关注。有文献报道,在染色体 8q22.3 上 GRHL2 的拷贝数增加与原发性肝细胞癌的预后相关<sup>[6]</sup>。GRHL2 在口腔鳞状细胞癌中也存在明显的表达上调<sup>[7]</sup>。GRHL2 在乳腺癌中表现为表达增强,但在 EMT 相关的乳腺癌中则表现为 GRHL2 的表达抑制,体现出 GRHL2 在肿瘤发生中的复杂作用<sup>[5,22]</sup>。

**3.1 GRHL2 与口腔鳞状细胞癌** GRHL2 在人口腔鳞状细胞癌中存在着明显的上调表达,其异常表达增强了 hTERT 的异常活化,从而促进了肿瘤的发生。Kang 等<sup>[7]</sup>通过启动子区特异性磁性沉淀 (PMP) 分离得到特异性结合于 hTERT 启动子区的转录因子,并进行质谱分析发现,GRHL2 可以结合于 hTERT 的启动子区。鉴于 hTERT 在维持肿瘤细胞恶性表型中的重要作用和其作为抗肿瘤药物的理想靶点的定位,GRHL2 对于 hTERT 的调控作用显得尤为重要。进一步分析发现,GRHL2 的沉默可以导致 hTERT 启动子区活性明显减弱,端粒活性下降,相对地,GRHL2 的沉默表达对于突变的 hTERT 启动子区活性则无影响,说明 GRHL2 可以调控 hTERT 转录活性,且具有序列的特异性,同时发现 hTERT 启动子区 -49~+5 区段是 GRHL2 结合的重要区段。Chen 等<sup>[23]</sup>进一步研究发现,GRHL2 结合 hTERT 启动子区域的关键区域为 -53~-13,且 -21~-19 的三碱基序列是 GRHL2 结合的核心区段。GRHL2 是通过抑制 hTERT 5'-CpG 岛区的 DNA 甲基化,从而调控端粒活性;此外,GRHL2 还可以通过抑制 DNA 甲基转移酶 DNMT1 的活性,调节 hTERT 启动子区的甲基化。GRHL2 对于 hTERT 的活化作用不仅存在于口腔鳞状细胞癌中,Chen 等<sup>[3]</sup>发现在正常的人口腔角质细胞中 GRHL2 的过表达可以抑制老化相关的端粒活性丢失;此外,他们还发现在人口腔鳞状细胞癌细胞系 SCC4 和 SCC15 中 GRHL2 可以通过调控表皮分化复合物 (EDC) 基因的表达调控肿瘤细胞的分化。

**3.2 GRHL2 与乳腺癌** GRHL2 在乳腺癌中同样也存在异常的上调表达。Dompe 等<sup>[24]</sup>发现在乳腺癌中 GRHL2 可以通过下调 FAS 和 DR5 死亡受体

的表达从而抑制死亡受体介导的凋亡,并认为 GRHL2 的表达下调和功能沉默可以作为临床治疗策略来改善死亡受体对药物的响应,发挥肿瘤治疗作用。有文献报道,在小鼠模型中,GRHL2 的过表达也能够明显促进肿瘤生长和转移;大规模临床数据分析显示 GRHL2 的高表达与乳腺癌患者的无复发生存时间负性相关,并且可以增加患者的转移风险<sup>[5]</sup>。

然而,在发生 EMT 的弥散型乳腺癌肿瘤细胞中,GRHL2 则表现为下调表达。通过对人类乳腺癌细胞系的大规模表达谱分析,Xiang 等<sup>[5]</sup>发现 GRHL2 的表达与上皮表型的标记分子 E-cadherin 高度相关:在正常人乳腺上皮细胞 MCF10A 中,干扰 GRHL2 表达可以导致 E-cadherin 的下调,从而促进 EMT 的发生;在 EMT 型的乳腺癌肿瘤中,过表达 GRHL2 可以显著诱导上皮表型基因的表达,在乳腺癌的上皮表型、EMT 发生和肿瘤发生发展中,GRHL2 均发挥着重要作用;在诱导发生 EMT 的乳腺癌 MMTV-NEU 小鼠中,GRHL2 也存在显著性下调。GRHL2 促进肿瘤细胞 EMT 发生的机制一方面归结于 GRHL2 对一系列上皮表型基因的调控,包括 E-cadherin、Tjp2、cldn4、cldn7 和 Wnt 配体等<sup>[5]</sup>,另一方面也有报道称 GRHL2 可以通过抑制 ZEB1 和 Smad 的表达,抑制 TGF- $\beta$  诱导的 EMT<sup>[22]</sup>。此外,GRHL2 可以在乳腺癌细胞系中调节 miR-200 家族的表达,说明 GRHL2 在促进肿瘤细胞 EMT 中作用的多样性和复杂性<sup>[5,22]</sup>。

在乳腺癌患者中,大部分肿瘤为 luminal A、B 和 HER-2 阳性型;只有少于 10% 的患者为低 claudin、高转移型乳腺癌,这类肿瘤与 EMT 相关。因此 GRHL2 在乳腺癌中整体表现为上调表达,仅在少数 EMT 相关的乳腺癌中下调表达,提示 GRHL2 在肿瘤发生中具有复杂的作用<sup>[22,25-26]</sup>。

**3.3 GRHL2 与肝癌** 通过对 17 个肝癌细胞系进行高通量的基因组 DNA 分析,Tanaka 等<sup>[6]</sup>发现 GRHL2 在肝癌细胞中发生了拷贝数的复制增加;之后在 70 例的肝癌临床样本中进行了验证,并发现 GRHL2 的拷贝数增加与肝癌患者的无复发生存率负性相关,提示 GRHL2 可作为一个潜在的诊断肝

癌患者复发的标记物;进一步在细胞学水平上进行 GRHL2 的干扰,发现能够抑制肝癌细胞的增殖,说明 GRHL2 对于肝癌细胞增殖具有促进作用。

3.4 GRHL2 与其他肿瘤 GRHL2 的拷贝数缺失在多种肿瘤中存在,除乳腺癌和肝癌外,还包括肺癌、黑素瘤和卵巢癌等,并且其基因组的拷贝数增加和 GRHL2 表达水平显著相关<sup>[24]</sup>,此外也有文献报道 GRHL2 在头颈鳞状上皮细胞癌中也有上调表达<sup>[7,23]</sup>。上述研究提示 GRHL2 对肿瘤的调控作用具有普遍性,深入研究 GRHL2 与肿瘤的关系对于肿瘤治疗具有广泛而深远的意义。

#### 4 小结

GRHL2 作为果蝇 GRH 基因在哺乳动物中的同源基因,在生命过程中发挥着复杂而多样的重要功能。GRHL2 不仅与正常机体的生物学功能紧密相关,在肿瘤的发生发展中也发挥着重要的作用。GRHL2 在多种肿瘤中存在着异常表达,与多种肿瘤的发生发展有密切关系,其作用方式更是复杂多样。相信随着对 GRHL2 生物学功能及其在肿瘤发生中的作用和机制的深入研究,会为恶性肿瘤的临床诊断和治疗开辟新的方向。

#### 5 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] Wilanowski T, Tuckfield A, Cerruti L, O'Connell S, Saint R, Parekh V, et al. A highly conserved novel family of mammalian developmental transcription factors related to *Drosophila* grainyhead[J]. *Mech Dev*, 2002, 114(1-2):37-50.

[2] Pyrgaki C, Liu A, Niswander L. Grainyhead-like 2 regulates neural tube closure and adhesion molecule expression during neural fold fusion[J]. *Dev Biol*, 2011, 353:38-49.

[3] Chen W, Xiao Liu Z, Oh J E, Shin K H, Kim R H, Jiang M, et al. Grainyhead-like 2 (GRHL2) inhibits keratinocyte differentiation through epigenetic mechanism[J]. *Cell Death Dis*, 2012, 20:e450.

[4] Werth M, Walentin K, Aue A, Schönheit J, Wuebken A, Pode-Shakked N, et al. The transcription factor grainyhead-like 2 regulates the molecular composition of the epithelial apical junctional complex[J]. *Development*, 2010, 137:3835-3845.

[5] Xiang X, Deng Z, Zhuang X, Ju S, Mu J, Jiang H, et al. Grhl2 determines the epithelial phenotype of breast cancers and promotes tumor progression [J]. *PLoS One*, 2012, 7:e50781.

[6] Tanaka Y, Kanai F, Tada M, Tateishi R, Sanada M, Nannya Y, et al. Gain of GRHL2 is associated with early recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2008, 49:746-757.

[7] Kang X, Chen W, Kim R H, Kang M K, Park N H. Regulation of the hTERT promoter activity by MSH2, the hnRNPs K and D, and GRHL2 in human oral squamous cell carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2009, 28: 565-574.

[8] Huang J D, Dubnicoff T, Liaw G J, Bai Y, Valentine S A, Shirokawa J M, et al. Binding sites for transcription factor NTF-1/Elf-1 contribute to the ventral repression of decapentaplegic[J]. *Genes Dev*, 1995, 9:3177-3189.

[9] Narasimha M, Uv A, Krejci A, Brown N H, Bray S J. Grainy head promotes expression of septate junction proteins and influences epithelial morphogenesis[J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 6):747-752.

[10] Attardi L D, Tjian R. *Drosophila* tissue-specific transcription factor NTF-1 contains a novel isoleucine-rich activation motif[J]. *Genes Dev*, 1993, 7(7B): 1341-1353.

[11] Uv A E, Thompson C R, Bray S J. The *Drosophila* tissue-specific factor Grainyhead contains novel DNA-binding and dimerization domains which are conserved in the human protein CP2[J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14: 4020-4031.

[12] Bray S J, Kafatos F C. Developmental function of Elf-1: an essential transcription factor during embryogenesis in *Drosophila*[J]. *Genes Dev*, 1991, 5:1672-1683.

[13] Cenci C, Gould A P. *Drosophila* Grainyhead specifies late programmes of neural proliferation by regulating the mitotic activity and Hox-dependent apoptosis of neuroblasts[J]. *Development*, 2005, 132:3835-3845.

[14] Hayashi Y, Yamagishi M, Nishimoto Y, Taguchi O,

- Matsukage A, Yamaguchi M. A binding site for the transcription factor Grainyhead/Nuclear transcription factor-1 contributes to regulation of the *Drosophila* proliferating cell nuclear antigen gene promoter[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274:35080-35088.
- [15] Auden A, Caddy J, Wilanowski T, Ting S B, Cunningham J M, Jane S M. Spatial and temporal expression of the Grainyhead-like transcription factor family during murine development[J]. *Gene Expr Patterns*, 2006, 6: 964-970.
- [16] Wilanowski T, Caddy J, Ting S B, Hislop N R, Cerruti L, Auden A, et al. Perturbed desmosomal cadherin expression in grainy head-like 1-null mice[J]. *EMBO J*, 2008, 27:886-897.
- [17] Yu Z, Lin K K, Bhandari A, Spencer J A, Xu X, Wang N, et al. The Grainyhead-like epithelial transactivator Get-1/Grhl3 regulates epidermal terminal differentiation and interacts functionally with LMO4[J]. *Dev Biol*, 2006, 299:122-136.
- [18] Caddy J, Wilanowski T, Darido C, Dworkin S, Ting S B, Zhao Q, et al. Epidermal wound repair is regulated by the planar cell polarity signaling pathway[J]. *Dev Cell*, 2010, 19:138-147.
- [19] Dworkin S, Darido C, Georgy S R, Wilanowski T, Srivastava S, Ellett F, et al. Midbrain-hindbrain boundary patterning and morphogenesis are regulated by diverse grainy head-like 2-dependent pathways [J]. *Development*, 2012, 139:525-536.
- [20] Peters L M, Anderson D W, Griffith A J, Grundfast K M, San Agustin T B, Madeo A C, et al. Mutation of a transcription factor, TFCP2L3, causes progressive autosomal dominant hearing loss, DFNA28[J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11:2877-2885.
- [21] Han Y, Mu Y, Li X, Xu P, Tong J, Liu Z, et al. Grhl2 deficiency impairs otic development and hearing ability in a zebrafish model of the progressive dominant hearing loss DFNA28[J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20:3213-3226.
- [22] Cieply B, Riley P 4th, Pifer P M, Widmeyer J, Addison J B, Ivanov A V, et al. Suppression of the epithelial-mesenchymal transition by Grainyhead-like-2[J]. *Cancer Res*, 2012, 72:2440-2453.
- [23] Chen W, Dong Q, Shin K H, Kim R H, Oh J E, Park N H, et al. Grainyhead-like 2 enhances the human telomerase reverse transcriptase gene expression by inhibiting DNA methylation at the 5'-CpG island in normal human keratinocytes [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 40852-40863.
- [24] Dompe N, Rivers C S, Li L, Cordes S, Schwickart M, Punnoose E A, et al. A whole-genome RNAi screen identifies an 8q22 gene cluster that inhibits death receptor-mediated apoptosis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108:E943-E951.
- [25] Hennessy B T, Gonzalez-Angulo A M, Stemke-Hale K, Gilcrease M Z, Krishnamurthy S, Lee J S, et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics[J]. *Cancer Res*, 2009, 69:4116-4124.
- [26] Herschkowitz J I, Simin K, Weigman V J, Mikaelian I, Usary J, Hu Z, et al. Identification of conserved gene expression features between murine mammary carcinoma models and human breast tumors[J]. *Genome Biol*, 2007, 8:R76.