

受体酪氨酸激酶 RON 在上皮源性肿瘤靶向治疗中的研究进展

余晓雯¹, 赵文权², 吴连俊¹, 王慧明^{1,2}

(1. 浙江大学医学院附属口腔医院, 浙江 杭州 310006;

2. 浙江大学医学院附属第一医院, 浙江 杭州 310003)

摘要: RON(recepteur d'origine nantais)属于受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)原癌基因家族中 c-Met 亚家族的一员, 其配体是巨噬细胞刺激蛋白 (macrophage stimulating protein, MSP)。受体酪氨酸激酶 RON 过度表达、变异体的产生以及点突变, 将激活 RON 信号通路, 从而促进癌细胞增殖、侵袭, 有利于血管生长以及提高细胞耐药性。大量研究表明, RON 及其变异体与人体某些上皮源性肿瘤的发生和发展有密切关系。全文重点综述 RON 在恶性肿瘤发生发展中的作用机制以及在上皮源性肿瘤靶向治疗中的潜在可能性。

关键词: 受体酪氨酸激酶 RON; 上皮源性肿瘤; 作用机制; 靶向治疗

中图分类号: R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2016)09-0711-04

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2016.09.A010

Research Progress of RON Receptor Tyrosine Kinase in the Targeted Therapy of Epithelial Tumor

YU Xiao-wen¹, ZHAO Wen-quan², WU Lian-jun¹, et al.

(1. The Affiliated Stomatology Hospital, Medical College, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China;

2. The First Affiliated Hospital, Medical College, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

Abstract: Recepteur d'origine nantais(RON) is a member of the c-Met subfamily of receptor tyrosine kinases (RTK) proto-oncogene family. Macrophage stimulating protein (MSP) is the ligand of RON. The over expression of the RON, and point mutation as well as the variants production will activate the RON signaling pathway, which promotes cell proliferation, infiltration, drug-resistance and induces angiogenesis in tumor. Many studies have indicated that RON and its variants were related to the occurrence and development of some epithelial tumors of human closely. The aims of the study were to clarify the mechanism of RON in the development of malignant tumor and to explore the RON-targeted therapy to epithelial tumor.

Key words: RON; epithelial tumor; mechanism; targeting therapy

早在 1993 年, 法国科学家 RONsin 等首次从人皮肤角化细胞克隆出编码 RON(Recepteur d'origine nantais) 蛋白的 cDNA 并发现其属于 RTKs(Receptor tyrosine kinases)原癌基因家族中 c-Met 亚家族的一员。RON 在胚胎发育过程中是必需的, 其不仅参与了固有免疫反应, 还参与上皮源性肿瘤的发生、发展以及恶变过程。因此, RON 在恶性肿瘤中的作用及其在肿瘤靶向治疗中的潜在可能性受到了广泛

关注。

1 RON 的分子结构及其生物学作用

RON 的编码基因位于人染色体 3p21, 其唯一的特异性配体是 MSP (macrophage stimulating protein), 属于肝细胞生长因子(HGF)家族成员, 以单链非激活前体蛋白的形式存在于血液循环中, 前体蛋白水解后成为有生物活性的成熟 MSP, 可与 RON 蛋白结合, 导致 RON 构象改变, 发生二聚化, 从而导致激酶结构域激活。同时, RON 存在多种异构体。这

收稿日期: 2016-01-15; 修回日期: 2016-04-10

基金项目: 浙江省医药卫生科技项目(2015103983)

通讯作者: 王慧明, E-mail: hmwang1960@hotmail.com

些异构体在肿瘤发生发展过程中起着重要的作用。

近年来, RON 及其变异体在上皮源性肿瘤的发生、发展以及恶变过程中所起的作用受到了广泛地关注。RON 的过度表达以及同种异构体的产生均可激活下游信号传导途径, 从而提高细胞的增殖、迁移以及侵袭能力。Maggiore 等^[1]研究发现在乳腺组织中, RON 在正常细胞和良性病变细胞中表达量相对较低, 且 RON 表达的增加与肿瘤的磷酸化状态及侵袭活动相关。Zinser 等研究发现通过转染技术增加肺癌和乳腺癌细胞中 RON 的表达可导致肿瘤生长加速和远处转移。Park 等^[2]研究发现沉默结肠癌细胞中的 RON 基因可阻滞致癌信号的传导及抑制癌细胞的浸润性生长; 而 RON 的过表达与结肠癌的肿瘤大小、淋巴管浸润、浸润深度、淋巴结转移、远处转移、肿瘤分期及生存率息息相关。Mayer 等^[3]通过分析 45 例原发性卵巢癌和 4 例生理卵巢组织标本, 发现 RON 的变异体 (RON Δ 165, RON Δ 160) 的表达水平在癌组织中明显增加, 提示 RON 在卵巢癌发生发展过程中可能起着重要的作用。

2 RON 在上皮源性肿瘤靶向治疗中的相关研究

2.1 RON 与乳腺癌

在乳腺癌中, 浸润性癌组织中 RON 蛋白的表达显著高于原位癌, 且与肿瘤临床的进展和淋巴结转移密切相关^[4]。Bieniasz 等报道 RON/Met 的抑制剂 ASLAN002 通过降低 RON 活性对乳腺癌细胞生长起到抑制作用; Johnson 等^[5]报道维生素 D3 可以抑制 RON 蛋白高表达的乳腺癌细胞的生长、转移和侵袭活性。敲除 RON 蛋白后可以增强维生素 D3 对乳腺癌细胞的生长抑制的敏感性。因此联合应用 RON 抑制剂和维生素 D3 或维生素 D3 有效的类似物对乳腺癌治疗可能会有显著的疗效。Nancy 等^[6]研究发现缺乏肝细胞生长因子样 (HGFL) 的 MMTV-RON 小鼠的乳腺增生和乳腺肿瘤的发生率明显降低。进一步研究发现 HGFL 可以降低肿瘤细胞的增殖和血管生成, 同时可以促进肿瘤细胞的死亡。该研究阐明 HGFL 在致癌基因 RON 激活条件下对乳腺肿瘤发生、发展的重要作用。另外, 有研究通过 3 种乳腺瘤移植瘤模型治疗实验, 显示 PHA665752 通过作用

于 RON Δ 160 而在分子靶向治疗乳腺癌中起重要作用^[7]。还有学者报道 RON-cAbl-PCNA、MAPK、STAT3 和 NF- κ B 等信号通路在 RON 引起的乳腺癌细胞增殖过程起重要作用^[4,8-10], 这些途径或许会成为今后对乳腺癌治疗研究的新方向。

2.2 RON 与肺癌

大量研究报道 RON 在肺癌的发生和转移过程中起重要作用^[11-14]。Kanteti 等^[15]报道称 PAX8 在非小细胞肺癌中表达量明显升高。沉默非小细胞肺癌中 PAX8 因子可导致 Met 和 RON 的表达量下降, 在功能方面影响细胞的活力和细胞运动。Kawada 等^[16]研究发现, 在非小细胞肺癌中 Met 和 RON 的表达量明显升高, 当降低 Met 和 RON 的表达程度可以明显抑制肺癌细胞的生长。在小鼠肺癌模型和肺癌细胞的研究中, 他们还发现新型 Met/RON 的抑制剂 LY2801653。无论在体内实验还是体外实验, 都可以通过降低 Met 和 RON 的活性, 来抑制肺癌细胞的生长及促进其凋亡。

2.3 RON 与结肠癌

研究发现人结肠癌中 RON 的表达量明显高于正常结肠组织。结肠癌组织中 RON 的异常高表达与患者的生存率呈直接负相关性^[17]。Park 等研究发现敲除 RON 可使得结肠癌细胞系 DLD1 的细胞周期在 G₁ 期发生停滞, 而 SW480 细胞系在 G₀/G₁ 期发生停滞, 并可以使两个细胞系凋亡细胞数量增加。在人结肠癌细胞中, 敲除 RON 后可明显降低磷酸化 Akt、ERK1/2、JNK 和 p38 的表达量。因此 RON 可能通过 Akt 和 MAPK 信号通路调节结肠癌细胞的生长和增殖。 β -catenin 信号被认为在结肠癌发生中起到重要作用。Park 还发现降低 RON 表达可以导致 DLD1 细胞中 β -catenin 的 Ser45 发生磷酸化, SW480 细胞中 β -catenin 的 Ser33、Ser37 和 Thr41 发生磷酸化, 并下调细胞周期蛋白 D1 和 c-myc 的表达, 从而抑制结肠癌细胞的生长^[2,18]。实验中使用 RON 的单克隆抗体, 例如 Zt/g4 或者 Zt/f2 可使得癌细胞中 RON 大量富集, 因而应用抗 RON 单克隆抗体靶向药物运送, 可以增加药物对癌细胞的毒性, 这可能成为临床上治疗结肠癌的一种方法。在小鼠的结肠癌模型上, 应用抗 RON 单克隆抗体运送药物, 发现可以明显抑制结肠癌细胞活性, 并对细胞的 G₂M 期有明显抑制作用, 导致细胞大量死亡。因此在

未来对治疗结肠癌的研究中抗 RON 抗体可以作为结肠癌治疗的一个靶标^[19]。

2.4 RON 与胰腺癌

近年有文献报道, RON 在人的胰腺癌样本中的表达量明显高于正常胰腺组织, 免疫组织化学染色显示 RON 在 33%~96% 胰腺癌组织中有表达^[20], 而正常胰腺组织中很少有 RON 的表达。可见, RON 作为治疗胰腺癌的生物靶标可能会是一种有效的治疗方法^[21]。上皮间质化是生物过程中极化上皮发生生理和病理变化的条件, RON 激活的 Ras-Erk1/2 在上皮间质化过程中起重要作用, 而核糖体蛋白 S6 激酶-2 (RSK2) 是 Ras-Erk1/2 信号通路下游的重要信号分子。Ma 等^[22] 研究发现抑制 RSK2 的活性可以阻止 RON 激活引起的胰腺上皮细胞的间质化, 从而抑制胰腺癌的发生。近来发现 BMS-777607 可以抑制 RON P5P6 磷酸化, 从而降低 AKT 表达, 起到抑制胰腺癌细胞生长的作用^[23]。Zou 等^[24] 研究发现 IMC-RON8 可以降低胰腺癌细胞系中 RON 磷酸化水平, 并明显降低 pMAPK 和 pAkt 活性, 从而通过调节 PI3K/Akt 信号通路对胰腺癌细胞活性起到抑制作用。

2.5 RON 与胃癌

敲除胃癌细胞中 RON 可以引起癌细胞的凋亡, 并可以通过下调细胞周期蛋白和 CDK 对细胞周期起到负调控作用, 这证实 Akt 和 MAPK 信号通路参与 RON 引起胃癌细胞的凋亡过程^[25]。Zhou 等^[26] 研究发现 RON 在胃癌中的表达率为 56.1%, 癌旁组织中表达率为 25.6%, 然而正常胃黏膜上皮中未见 RON 表达。在肺癌细胞系 MGC-803 中过表达 RONΔ160 可以增强人胃癌细胞的增殖、转移和侵袭性, 胃癌细胞大部分处于细胞周期的 S 期, 处于 G₀-G₁ 期的细胞数量明显减少, 应用 RON 抑制剂可以消除过表达 RONΔ160 引起的生物学效应。Xia 等^[27] 研究发现白杨素呈剂量依赖性抑制 RON 的表达, 而 Egr-1 和 NF-κB 是 RON 转录所必须的转录因子, 因此白杨素可能通过抑制 Egr-1 和 NF-κB 调控 RON 的转录, 从而抑制胃癌细胞生长。Park 等^[28] 研究发现没食子儿茶素-3-没食子酸酯通过抑制 Egr-1 的活性而调节 RON 的表达, 从而对胃癌细胞生长起到抑制作用。

2.6 RON 与膀胱癌

研究发现缺氧状态可以使膀胱癌细胞核中一种

独立的表皮生长因子 RON 发生转位。在缺氧应激状态下 RON 和 HIF-1α 是相互作用的, 然而 RON 的活性在这个过程中起重要作用。RON-HIF-1α 与 c-JUN 前体相结合, 活化 c-JUN, 使膀胱癌细胞增殖、分化, 使得在缺氧条件下的膀胱癌细胞继续生存, 因此应用 RON 的特异性抑制剂可以抑制膀胱癌细胞的活性^[29]。Liu 等^[30] 研究发现 MSP 激活 RON 使其发生磷酸化, 磷酸化 RON 激活 PI3K/Akt 信号通路, 使得膀胱癌细胞发生转化。还发现在应激条件下 RON 和 EGFR 的交互作用可激活膀胱癌细胞转录, 从而使癌细胞在恶劣环境中得以存活。

3 前景与展望

近十年来, 分子靶向药物用于肿瘤治疗取得了突破性进展。据报道, 国内外已有十多种药物被批准用于临床肿瘤治疗^[31]。伴随着分子生物学研究的飞速发展, 恶性肿瘤细胞内的信号转导、细胞凋亡的诱导、血管生成以及细胞与胞外基质的相互作用等各种基本过程也正逐渐被阐明。

近年有关 RON 抑制剂的研究报道较多。已确认对 RON 介导的肿瘤形成、进展有明确抑制作用的酪氨酸激酶抑制剂只有 BMS-777607 这一种药物, 且目前处于 I 期临床试验阶段。我国学者研发的 RON 抑制性小鼠单克隆抗体 Zt/f2, 能够在体内对 RON 介导的致瘤活性有抑制作用。联合使用 Zt/f2 和化疗药物可提高抑制肿瘤生长的效率。虽然近年来有关 RON 作为上皮源性肿瘤靶向治疗的靶点报道较多, 但其与肿瘤发生、发展的具体信号通路及机制仍需进一步深入研究。全面了解 RON 的作用机制, 将为临床上治疗上皮源性肿瘤提供新的思路和方法。

参考文献:

- [1] Maggiora P, Marchio S, Stella MC, et al. Overexpression of the RON gene in human breast carcinoma [J]. *Oncogene*, 1998, 16(22): 2927-2933.
- [2] Park YL, Lee GH, Kim KY, et al. Expression of RON in colorectal cancer and its relationships with tumor cell behavior and prognosis [J]. *Tumori*, 2012, 98(5): 652-662.
- [3] Mayer S, Hirschfeld M, Jaeger M, et al. RON alternative splicing regulation in primary ovarian cancer [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(1): 423-430.

- [4] Gurusamy D, Gray JK, Pathrose P, et al. Myeloid-specific expression of RON receptor kinase promotes prostate tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(6): 1752–1763.
- [5] Johnson AL, Zinser GM, Waltz SE. Vitamin D3-dependent VDR signaling delays RON-mediated breast tumorigenesis through suppression of beta-catenin activity [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(18): 16304–16320.
- [6] Benight NM, Wagh PK, Zinser GM, et al. HGFL supports mammary tumorigenesis by enhancing tumor cell intrinsic survival and influencing macrophage and T-cell responses [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(19): 17445–17461.
- [7] Yao HP, Zhuang CM, Zhou YQ, et al. Oncogenic variant RON160 expression in breast cancer and its potential as a therapeutic target by small molecule tyrosine kinase inhibitor [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2013, 13(6): 686–697.
- [8] Zhao H, Chen MS, Lo YH, et al. The RON receptor tyrosine kinase activates c-Abl to promote cell proliferation through tyrosine phosphorylation of PCNA in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2014, 33(11): 1429–1437.
- [9] Thobe MN, Gray JK, Gurusamy D, et al. The RON receptor promotes prostate tumor growth in the TRAMP mouse model [J]. *Oncogene*, 2011, 30(50): 4990–4998.
- [10] Peace BE, Toney-Earley K, Collins MH, et al. RON receptor signaling augments mammary tumor formation and metastasis in a murine model of breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(4): 1285–1293.
- [11] Kanteti R, Nallasura V, Loganathan S, et al. PAX5 is expressed in small-cell lung cancer and positively regulates c-Met transcription [J]. *Lab Invest*, 2009, 89(3): 301–314.
- [12] Ghigna C, De Toledo M, Bonomi S, et al. Pro-metastatic splicing of RON proto-oncogene mRNA can be reversed: therapeutic potential of bifunctional oligonucleotides and indole derivatives [J]. *RNA Biol*, 2010, 7(4): 495–503.
- [13] Kanteti R, Krishnaswamy S, Catenacci D, et al. Differential expression of RON in small and non-small cell lung cancers [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2012, 51(9): 841–851.
- [14] Zinser GM, Leonis MA, Toney K, et al. Mammary-specific RON receptor overexpression induces highly metastatic mammary tumors associated with beta-catenin activation [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(24): 11967–11974.
- [15] Kanteti R, El-Hashani E, Dhanasingh I, et al. Role of PAX8 in the regulation of MET and RON receptor tyrosine kinases in non-small cell lung cancer [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 185.
- [16] Kawada I, Hasina R, Arif Q, et al. Dramatic antitumor effects of the dual MET/RON small-molecule inhibitor LY2801653 in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(3): 884–895.
- [17] Wang MH, Lee W, Luo YL, et al. Altered expression of the RON receptor tyrosine kinase in various epithelial cancers and its contribution to tumorigenic phenotypes in thyroid cancer cells [J]. *J Pathol*, 2007, 213(4): 402–411.
- [18] Xu XM, Wang D, Shen Q, et al. RNA-mediated gene silencing of the RON receptor tyrosine kinase alters oncogenic phenotypes of human colorectal carcinoma cells [J]. *Oncogene*, 2004, 23(52): 8464–8474.
- [19] Feng L, Yao HP, Wang W, et al. Efficacy of anti-RON antibody Zt/g4-drug maytansinoid conjugation (Anti-RON ADC) as a novel therapeutics for targeted colorectal cancer therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(23): 6045–6058.
- [20] Wang MH, Lee W, Luo YL, et al. Altered expression of the RON receptor tyrosine kinase in various epithelial cancers and its contribution to tumorigenic phenotypes in thyroid cancer cells [J]. *J Pathol*, 2007, 213(4): 402–411.
- [21] Thomas RM, Toney K, Fenoglio-Preiser C, et al. The RON receptor tyrosine kinase mediates oncogenic phenotypes in pancreatic cancer cells and is increasingly expressed during pancreatic cancer progression [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(13): 6075–6082.
- [22] Ma Q, Guin S, Padhye SS, et al. Ribosomal protein S6 kinase (RSK)-2 as a central effector molecule in RON receptor tyrosine kinase mediated epithelial to mesenchymal transition induced by macrophage-stimulating protein [J]. *Mol Cancer*, 2011, 10: 66.
- [23] Chakedis J, French R, Babicky M, et al. A novel protein isoform of the RON tyrosine kinase receptor transforms human pancreatic duct epithelial cells [J]. *Oncogene*, 2016, 35(25): 3249–3259.
- [24] Zou Y, Howell GM, Humphrey LE, et al. RON knockdown and RON monoclonal antibody IMC-RON8 sensitize pancreatic cancer to histone deacetylase inhibitors (HDACi) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69992.
- [25] Song YA, Park YL, Kim KY, et al. RON is associated with tumor progression via the inhibition of apoptosis and cell cycle arrest in human gastric cancer [J]. *Pathol Int*, 2012, 62(2): 127–136.
- [26] Zhou DH, Li C, Yang LN. Variant RONDelta160 of the RON receptor tyrosine kinase promotes the growth and invasion in vitro and in vivo in gastric cancer cell lines [J]. *Cancer Cell Int*, 2015, 15(1): 9.
- [27] Xia Y, Lian S, Khoi PN, et al. Chrysin inhibits cell invasion by inhibition of Recepteur d'origine Nantais via suppressing early growth response-1 and NF-kappaB transcription factor activities in gastric cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(4): 1835–1843.
- [28] Park JS, Khoi PN, Joo YE, et al. EGCG inhibits recepteur d'origine nantais expression by suppressing Egr-1 in gastric cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(3): 1120–1126.
- [29] Chang HY, Liu HS, Lai MD, et al. Hypoxia promotes nuclear translocation and transcriptional function in the oncogenic tyrosine kinase RON [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(16): 4549–4562.
- [30] Liu HS, Hsu PY, Lai MD, et al. An unusual function of RON receptor tyrosine kinase as a transcriptional regulator in cooperation with EGFR in human cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(8): 1456–1464.
- [31] Wang SY, Liu N. Advances in tumor targeted therapy [J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2013, (15): 2003–2005. [王淑燕, 刘妮. 肿瘤靶向治疗的研究进展 [J]. *国际检验医学杂志*, 2013, (15): 2003–2005.]