

肝素结合表皮生长因子及其在恶性肿瘤中的作用

李翠萍 卢美松[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院妇产科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 肝素结合表皮生长因子属表皮生长因子超家族成员之一,可促进多种细胞分裂和增殖,参与多个病理生理过程。近年研究发现肝素结合表皮生长因子可参与肿瘤发生发展的各个环节,在肿瘤化疗耐药中也发挥一定作用,使其成为恶性肿瘤生物学治疗的靶向因子。其与白喉毒素结合的特性为临床提供了一种新的治疗癌症的途径。继续对 HB-EGF 进行深入研究,并将已获得的知识与临床治疗结合,将有望产生新的治疗恶性肿瘤的途径及新型的抗肿瘤药物。

关键词 肝素结合表皮生长因子 肿瘤 CRM197

中图分类号 R730.231 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2012)23-4566-03

HB-EGF and its Role in Cancer

LI Cui-ping, LU Mei-song[△]

(Department of gynaecology and obstetrics, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

ABSTRACT: Heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF), which belongs to the epidermal growth factor (EGF) family, has been implicated as a contributor to a variety of physiological and pathological processes. Moreover, HB-EGF has been shown to stimulate the growth and proliferation of variety of cells. In recent years, HB-EGF has also been found to be implicated in each of the hallmarks characteristic of neoplastic disease and in the resistance to chemotherapy of tumor making it a targeted factor for biological therapy of cancer. Its unique identity as a receptor for diphtheria toxin may provide novel avenues for cancer therapeutics. The future challenge will be to elucidate HB-EGF and to translate our knowledge of this inimitable molecule into treatments, then we can expect new ways and new drugs for cancer.

Key words: Heparin-binding epidermal growth factor; Cancer; CRM197

Chinese Library Classification (CLC): R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)23-4566-03

肝素结合表皮生长因子(HB-EGF)是1988年由Besne等在人的巨噬细胞培养液中发现的一种肽类生长因子,属表皮生长因子(EGF)超家族成员之一。HB-EGF的生物活性与EGF类似,但促细胞分裂活性较EGF强。因与肝素有较强的亲和性得名。HB-EGF广泛分布于多种组织和器官,与某些癌症如肝癌、乳腺癌、卵巢癌等的发生有关。

1 HB-EGF的结构及基因

HB-EGF为分子量约20-22kD的单链蛋白质,含86个氨基酸残基,约35%的氨基酸与EGF同源。HB-EGF的合成过程与许多生长因子相似,以其膜前体的形式即跨膜形式(pro-HB-EGF)存在于细胞表面。在某些刺激因素作用下,pro-HB-EGF胞外域脱落形成成熟可溶性HB-EGF(sHB-EGF)。HB-EGF含有两个功能区:C末端的EGF功能区和N末端的高亲水区。其分子内含有一个21个氨基酸的残基的肝素结合区,因而与肝素及硫酸乙酰肝素蛋白多糖(HSPG)有较强的亲和性^[1]。HB-EGF基因位于人类第5号染色体上,含有6个外显子和5个内含子。该基因表达受多种因子的调节,如炎症因子

(TNF- α 、白介素-1 β),G蛋白偶联受体激动剂(血管紧张素-1,凝血酶),生长因子(EGF家族成员,血小板源生长因子)等。

2 ProHB-EGF

ProHB-EGF是HB-EGF跨膜形式,由208个氨基酸残基组成,其结构包括信号肽、前肽、sHB-EGF、近膜区、跨膜区及胞浆区。它不仅仅是HB-EGF的前体,还可以作为一种生物活性分子通过近分泌作用影响邻近细胞的生长和增殖。它同时也是白喉毒素(diphtheria toxin, DT)的受体,二者结合后通过内吞作用进入细胞,发挥其细胞毒作用。proHB-EGF还是肾脏上皮细胞及肝癌细胞的存活因子。1997年Miyoshi报道在肝癌中proHB-EGF可以阻断TGF- β 介导的凋亡过程,而sHB-EGF无该作用。近年HB-EGF的胞外域脱落越来越受关注,因为这个翻译后修饰过程在G蛋白偶联受体介导的EGFR反式激活及调节各种生物学行为中必不可少。随胞外域脱落的HB-EGF的C末端片段也有一定的生物学功能。

3 HB-EGF胞外域脱落

HB-EGF的胞外域脱落是受多种因子(如LPA、钙离子载体)调节多信号通路(如MAPK通路、PKC通路)重叠的过程。因基质金属蛋白酶(MMP)抑制剂可抑制HB-EGF的胞外域脱落,所以MMP被认为是HB-EGF胞外域脱落酶。现已发现的与HB-EGF胞外域脱落有关的MMP家族成员包括MMP3,

作者简介 李翠萍(1981-),硕士研究生,研究方向:肝素结合表皮生长因子与肿瘤及化疗敏感性的研究,电话:13030056446,

E-mail:licuipingyuan@163.com

[△]通讯作者:卢美松 E-mail:fkqjlumeisong@163.com

(收稿日期:2011-11-21 接受日期:2011-12-18)

MMP7、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM17^[2,3]等。该种蛋白酶介导的胞外域脱落过程与细胞种类及生物学环境有关,如MMP7与上皮细胞相关,ADAM12与心肌细胞相关。用特异性抑制剂作用于小鼠抑制HB-EGF胞外域脱落,可抑制鼠的皮肤创伤愈合并导致心脏畸形^[3,4],表明HB-EGF胞外域脱落在一些病理生理过程起重要作用,通过多种途径调节HB-EGF胞外域脱落可治疗某些疾病及肿瘤。现已生产出小分子MMP抑制剂用于抑制小鼠肿瘤生长,但尚未进行临床试验^[5]。

4 HB-EGF-C

HB-EGF-C是随胞外域一起脱落proHB-EGF的C末端片段。它可以和前髓细胞性白血病锌指蛋白(PLZF)结合。PLZF是转录抑制子,可通过与cyclin A结合负向调节细胞周期。HB-EGF-C脱落后在佛波醇酯指导下迁移到细胞核,使PLZF出核转运增加,二者结合后使cyclin A表达增加并使细胞周期进入S期^[6]。HB-EGF-C还可通过同样机制与另一转录抑制子BCL6结合,二者结合后使BCL6降解,减弱其负向调节细胞周期的能力。同时,sHB-EGF亦可通过MAPK通路调节cyclin D的表达,加速G1期的进程。这表明HB-EGF主要通过两种方式影响细胞周期:①通过sHB-EGF与EGFR结合后的信号传导;②HB-EGF-C逆转PLZF造成的cyclin A的低表达和S期进入延迟^[17]。二者协同可促进细胞的增殖。

5 HB-EGF的受体

文献报道HB-EGF受体主要有四种:表皮生长因子受体(EGFR/ErbB1)、ErbB-4、N-精氨酸二碱基转换酶(NRDc)、HSPG^[7]。sHB-EGF可以直接结合并激活ErbB1和ErbB4的同二聚体,或者通过与ErbB1和ErbB4结合间接激活各自与ErbB2形成的异二聚体,使ErbBs发生自身磷酸化,启动下游的MAPK等信号通路,实现对一些基因转录的调控,影响细胞增殖和迁移。NRDc被认为是HB-EGF的特异性络氨酸激酶受体,二者结合后可以增强sHB-EGF通过EGFR介导的细胞迁移能力。HB-EGF与细胞表面的HSPG结合后可增强其与EGFR的结合能力,从而增强HB-EGF的生物活性^[7]。此外,细胞表面的HSPG还可增强DT的敏感性,促进DT与其受体结合。

6 HB-EGF的生物学活性

HB-EGF可以在多种细胞中表达,如:血管内皮细胞、角质细胞和肿瘤细胞等,在人类和动物的多种组织中均有分布,如皮肤、心、肺、骨骼肌和中枢神经系统。sHB-EGF是许多细胞的有丝分裂原,包括角质形成细胞、平滑肌细胞、上皮细胞和纤维母细胞等,其以自分泌和/或旁分泌的方式促进这些细胞的增殖分化并诱导细胞迁移。以往的研究已经证明HB-EGF参与囊胚着床、骨骼肌的发育、心肌的分化、肾小管的形成、伤口处或缺血再灌注损伤后的组织修复,在肿瘤的形成中也发挥重要作用^[8]。已有的资料表明HB-EGF在肝癌、结肠癌、膀胱癌、卵巢癌等肿瘤中大量表达,促进肿瘤细胞生长、迁移、入侵及血管形成。

7 HB-EGF与肿瘤

2000年Hanahan和Weinberg提出了肿瘤细胞的六大特征:①生长信号的自我满足;②无限的自我复制能力;③抵抗生长抑制信号;④逃避凋亡;⑤转移;⑥诱导新生血管形成。近年,有人提出应将炎症列入肿瘤的特点中。下面分项阐述HB-EGF在肿瘤中的作用。

7.1 生长信号的自我满足及无限自我复制能力

作为EGFR家族的配体,HB-EGF可促进包括肿瘤细胞在内的多种细胞增殖。其基因是很多致癌基因(如v-jun、Raf、Ras等)的目的基因,因此,HB-EGF在发挥促进生长作用时可导致癌变。HB-EGF与EGFR结合后,激活下游信号转导通路Raf/Ras/MEK/Erk及PI3K/Akt,发挥促进细胞生长和增殖的作用。有研究表明HB-EGF表达与肿瘤预后有关。2001年Thogersen报道HB-EGF表达显著升高的膀胱癌患者预后差。另外,HB-EGF-C的非受体依赖性活动可以抑制转录抑制子PLZF及BCL6的作用,使cyclinA及cyclinD2表达增加,加速细胞周期进展,促进细胞增殖。

7.2 抵抗生长抑制信号逃避凋亡

作为一种生长因子,HB-EGF与细胞抵抗生长抑制有关。HB-EGF可通过激活Ras/Raf/MAPK及AKT信号传导通路对抗凋亡。1997年Miyoshi报道proHB-EGF可以阻止TGF- β 介导的肝癌细胞细胞凋亡,而sHB-EGF无此功能。在微环境中的细胞表达的HB-EGF也与肿瘤细胞存活有关。渗入肿瘤中的T细胞及巨噬细胞可分泌HB-EGF,影响肿瘤的增长^[9]。2010年Rigo报道单核巨噬细胞产生的细胞因子CXCL12可促进HB-EGF的分泌,加速激活EGFR,启动肿瘤细胞的抗凋亡及促生长信号,肿瘤细胞增殖并释放粒细胞巨噬细胞集落刺激因子GM-CSF,这反过来激活单核巨噬细胞使其释放更多的HB-EGF,产生类似级联放大效应^[10]。2005年Johnson研究发现传统的化疗及小分子抑制剂治疗可上调肿瘤细胞中HB-EGF的表达,从而增强了促生长信号,使细胞失去对正常细胞死亡信号的反应性,出现抵抗生长抑制、逃避凋亡。在肿瘤生长及耐药中均有此现象。近年有文献报道将HB-EGF作为靶因子治疗肿瘤及逆转肿瘤化疗耐药。

7.3 引起血管持续增生

Judah Folkman等曾报道肿瘤生长至一定大小后成血管依赖性。因而新生血管形成是肿瘤生长的关键环节。HB-EGF是多种细胞的促有丝分裂原,与血管生长及肿瘤血管形成有关。HB-EGF介导的血管形成过程与血管内皮生长因子(VEGF)相似但不依赖于VEGF。HB-EGF与内皮细胞表面的EGFR结合,诱导后者发生磷酸化,激活PI3K及MAPK信号转导通路,活化内皮细胞,促进新生血管形成,该过程受内皮型一氧化氮合酶调节。2004年Ongusaha等经体外实验证明HB-EGF可以使细胞内VEGF表达上调,经裸鼠体内实验证明HB-EGF表达增高的细胞致瘤能力增加,同时可增加肿瘤中血管密度及管腔直径^[11]。HB-EGF的水解酶ADAM17与病理性血管生成有关,2010年Nolan-Stevaax等研究表明用组织特异性激活子抑制ADAM17在内皮细胞及周细胞的表达可使异种移植瘤生长减弱,而因ADAM17表达减弱产生的影响可被外源性HB-EGF抵消^[9],从而证明了ADAM17依赖的HB-EGF的释放与血管生

成有关。

7.4 对迁移入侵及转移的作用

从原发肿瘤转移到远处,肿瘤细胞需具备迁移,侵入血管,在循环中生存,渗出血管及在第二位点种植的能力。2008年 Cáceres 报道 HB-EGF 可作为 G 蛋白偶联受体激动剂反式激活 EGFR 的媒介,增强前列腺癌细胞侵袭和转移的能力^[12]。2008年 Yagi 报道 HB-EGF 在胃癌及卵巢癌中参与上皮间质转换(EMT),介导肿瘤的腹膜种植^[13]。2010年 Yin 等报道在 HP 阳性的胃癌细胞中,MMP-7 及胃泌素依赖的 HB-EGF 胞外域脱落增加,诱导 EMT 的基因表达增加,抑制胃泌素及 MMP-7 的作用可抑制 HB-EGF 及 EMT 相关基因的表达^[14]。用重组 HB-EGF 治疗卵巢癌可以降低 E-钙粘素水平并上调 Snail 表达(Snail 是调节 EMT 的关键因子)。RNA 干扰介导的 Snail 沉默可减弱 HB-EGF 的表达及释放。综合上述结果可知 HB-EGF 通过 EMT 促进卵巢癌的转移。2007年 Wang 等报道在表达非裂解形式的 pro-HB-EGF 或 HB-EGF 胞外域脱落受抑制的细胞,因抑制了 ZEB1(E-钙粘素转录抑制子)使 E-钙粘素上调,使细胞的活性减弱,同时也增加了细胞对化疗的敏感性^[15],从而证明了 HB-EGF 与肿瘤的转移及化疗耐药有关。

此外,HB-EGF 还参与另外两个与肿瘤发生发展相关的过程:炎症及神经内分泌异常。在表达 HB-EGF 的肠内细胞及缺血再灌注损伤的肠组织中,HB-EGF 通过下调 NF- κ B 减少致炎症因子的表达发挥抗炎作用。在肝脏炎症组织的间充质细胞中,HB-EGF 的表达因促炎反应刺激上调。此外,在癌前病变的肝细胞,增加的 HB-EGF 可增强 DNA 合成和促有丝分裂,这与文献报道的 HB-EGF 可以促进肝癌形成相吻合。在一些肿瘤中如前列腺癌,神经内分泌异常提示肿瘤恶性度高及预后差,提示我们可以从神经内分泌方面研究 HB-EGF 与肿瘤预后的关系。

8 HB-EGF 与肿瘤治疗

鉴于 HB-EGF 在肿瘤进展转移等多方面的作用,使其成为肿瘤治疗的靶向因子。研究途径很多,下面主要阐述近年研究较热的两种。

8.1 将 HB-EGF 作为 DT 的受体

近几年将 proHB-EGF 作为 DT 受体的研究较多,也有将其无毒突变体用于临床患者的报道。CRM197 是白喉毒素 52 位的甘氨酸突变为谷氨酸后形成的无毒突变体,可与 pro-HB-EGF 及 sHB-EGF 的 EGF 样结构域特异性结合发挥抑制肿瘤生长的作用^[16]。Miyamoto 等经实验证明单独应用 CRM197 可抑制裸鼠移植瘤生长及转移,促进肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤血管生成^[17]。Yagi 等曾报道 CRM197 与紫杉醇连用后抗肿瘤作用增强,可能是因为 HB-EGF 高表达与化疗耐药有关^[18]。2004年 Buzzi 等将 CRM197 应用于晚期癌症病人,治疗应用传统化疗方法无效的难治性肿瘤,取得了一定的疗效,治疗过程中仅在少数患者发生轻微的副反应如迟发过敏反应、类流感样症状等,并均自愈^[19]。CRM197 的抗肿瘤作用已在部分肿瘤患者中得到证实。此外,已证明 CRM197 生物利用度合理,因治疗而产生的毒性也在可接受范围,因而 CRM197 有望成为一种新型的有效的抗肿瘤药物。但 CRM197 作为药物广泛应

用的一个潜在问题是在正常群体中大多数人对 DT 免疫,因此可能存在对 CRM197 的先天耐药,至今还未见相关报道。

8.2 抑制 proHB-EGF 裂解

ProHB-EGF 胞外域脱落是 HB-EGF 发挥其生物学作用的关键环节。抑制这一过程可抑制 HB-EGF 在肿瘤中的作用。Fridman 经一系列的实验证明抑制 proHB-EGF 的裂解可抑制肿瘤生长信号的激活及异种移植瘤的生长^[20]。此外,Shimura 对 HB-EGF 进行药理学研究,用 KB-R7785 抑制 MMP/ADAM 活性,可以抑制 sHB-EGF 的产生及 HB-EGF-C 的核转运^[21],使肿瘤细胞生长停止,诱发凋亡,使增殖相关基因表达减少。

9 总结

HB-EGF 在肿瘤发生发展中发挥多种重要的作用。近期的研究表明 HB-EGF 可成为一些肿瘤治疗的靶向因子。并且,其与 DT 结合的特性为临床提供了一种新的治疗癌症的途径。继续对 HB-EGF 进行深入研究,并将已获得的知识与临床治疗结合,将有望产生新的治疗恶性肿瘤的途径及新型的抗肿瘤药物,为人类健康服务。

参考文献(References)

- [1] Raab G, Klagsbrun M. Heparin-binding EGF-like growth factor[J]. Biochem Biophys Acta,1997,1333:179-199
- [2] Higashiyama S, Nanba D. ADAM-mediated ectodomain shedding of HB-EGF in receptor cross-talk[J]. Biochim Biophys Acta,2005,1751: 110-117
- [3] Mochizuki S, Okada Y. ADAMs in cancer cell proliferation and progression[J]. Cancer Sci,2007,98:621-628
- [4] Yamazaki S, Iwamoto R, Saeki K, et al. Mutant mice with defects in the ectodomain shedding of HB-EGF show severe abnormal development[J]. J Cell Biol,2003,163:469-475
- [5] Shigeki Higashiyama, Hidehiko Iwabuki, Chie Morimoto, Miki Hieda, Hirofumi Inoue and Natsuki Matsushita. Membrane-anchored growth factors, the epidermal growth factor family: Beyond receptor ligands [J]. Cancer Sci,2008,99(2):214-220
- [6] Nanba D, Mammoto A, Hashimoto K, Higashiyama S. Proteolytic release of the carboxy-terminal fragment of proHB-EGF causes nuclear export of PLZF[J]. Cell Biol, 2003,163(3):489-502
- [7] Nishi E, Prat A, Hospital V, Elenius K, Klagsbrun M. N-arginine dibasic convertase is a specific receptor for heparin-binding EGF-like growth factor that mediates cell migration [J]. EMBO J,2001,20(13): 3342-3350
- [8] Iwamoto R, Mekada EK. Heparin-binding EGF-like growth factor: a juxtacrine growth factor [J]. Cytokine Growth Factor Rev,2000,11: 335-344
- [9] Nolan-Stevaux O, Truitt MC, Pahler JC, Olson P, et al. Differential Contribution to Neuroendocrine Tumorigenesis of Parallel EGFR Signaling in Cancer Cells and Pericytes [J]. Genes Cancer,2010,1(2): 125-141
- [10] Rigo A, Gottardi M, Zamo A. Macrophages may promote cancer growth via a GM-CSF/HB-EGF paracrine loop that is enhanced by CXCL12[J]. Mol Cancer,2010,14(9):273
- [11] Pat P. Ongusaha, Jennifer C. Kwak, Andrew J. Zwible, et al. Angiogenesis HB-EGF Is a Potent Inducer of Tumor Growth and Angiogenesis[J]. Cancer Res,2004,64:5283-5290 (下转第 4559 页)

- insulin resistance [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2007, 15 (24): 2613-2618
- [15] Baranova A, Gowder SJ, Schlauch K, et al. Gene expression of leptin, resistin, and adiponectin in the white adipose tissue of obese patients with non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance [J]. *Obes Surg*, 2006, 16: 1118-1125
- [16] Farrell GC. Signalling links in the liver: knitting SOCS with fat and inflammation [J]. *J Hepatol*, 2005, 43: 193-196
- [17] Howard JK, Flier JS. Attenuation of leptin and insulin signaling by SOCS proteins [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2006, 17: 365-371
- [18] Hong F, Radaeva S, Pan HN, et al. Interleukin 6 alleviates hepatic steatosis and ischemia/reperfusion injury in mice with fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2004, 40: 933-941
- [19] Ota T, Gayet C, Ginsberg HN. Inhibition of apolipoprotein B100 secretion by lipid-induced hepatic endoplasmic reticulum stress in rodents [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(1): 316-332
- [20] Lee D, Jeong SH, Lee M, et al. The prevalence of peripheral iron overload and the presence of HFE gene (H63D) mutation among the Korean patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Korean J Hepatol*, 2007, 13: 174-184
- [21] Yoneda M, Nozaki Y, Endo H, et al. Serum Ferritin Is a Clinical Biomarker in Japanese Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) Independent of HFE Gene Mutation [J]. *Dig Dis Sci*, 2009, 3: 7
- [22] Ajay Duseja, Reena Das, Mohit Nanda, et al. Nonalcoholic steatohepatitis in Asian Indians is neither association with iron overload nor with HFE gene mutations [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 393-395
- [23] Schultz A, Mendonca LS, Aguila MB, et al. Swimming training beneficial effects in a mice model of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2010, 65: 33-43
- [24] Comar KM, Sterling RK. Drug therapy for non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 23(2): 207
- [25] Armitage J. The safety of statins in clinical practice [J]. *Lancet*, 2007, 370(9601): 1781-1790
- [26] Younossi ZM. Review article: current management of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2008, 28(1): 2-12
- [27] Lewis JR, Mohanty SR. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update [J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(2): 560-578
- [28] Lieber CS. Pathogenesis and treatment of alcoholic liver disease: progress over the last 50 years [J]. *Rocz Akad Med Bialymst*, 2005, 50: 7
- [29] Matsui H, Ikeda K, Nakajima Y, et al. Sulfur-containing amino acids attenuate the development of liver fibrosis in rats through down-regulation of stellate cell activation [J]. *J Hepatol*, 2004, 40(6): 917-925
- [30] Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial [J]. *Hepatology*, 2004, 39(3): 770
- [31] Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, et al. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98(11): 2485

(上接第 4568 页)

- [12] Caceres M, Tobar N, Guerrero J, et al. c-jun-NH-2JNK mediates invasive potential and EGFR activation by regulating the expression of HB-EGF in a urokinase-stimulated pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2008, 103(3): 986-993
- [13] Yagi H, Yotsumoto F, Miyamoto S. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor promotes transcoelomic metastasis in ovarian cancer through epithelial-mesenchymal transition [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(10): 3441-3451
- [14] Yin Y, Grabowska AM, Clarke PA, et al. Helicobacter pylori potentiates epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer: links to soluble HB-EGF, gastrin and matrix metalloproteinase-7 [J]. *Gut*, 2010, 59(8): 1037-1045
- [15] Wang F, Liu R, Lee SW, Sloss CM, Couget J, Cusack JC. Heparin-binding EGF-like growth factor is an early response gene to chemotherapy and contributes to chemotherapy resistance [J]. *Oncogene*, 2007, 26(14): 2006-2016
- [16] Kageyama T, Ohishi M, Miyamoto S. Diphtheria toxin mutant CRM197 possesses weak EF2-ADP-ribosyl activity that potentiates its anti-tumorigenic activity [J]. *J Biochem*, 2007, 142(1): 95-104
- [17] Miyamoto S, Hirata M, Yamazaki A, Kageyama T, et al. Heparin-binding EGF-like growth factor is a promising target for ovarian cancer therapy [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(16): 5720-5727
- [18] Yagi H, Yotsumoto F, Sonoda K, et al. Synergistic anti-tumor effect of paclitaxel with CRM197, an inhibitor of HB-EGF, in ovarian cancer [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(6): 1429-1439
- [19] Buzzi S, Rubboli D, Buzzi G, et al. CRM197 (nontoxic diphtheria toxin): effects on advanced cancer patients [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53(11): 1041-1048
- [20] Fridman JS, Caulder E, Hansbury M, et al. Selective inhibition of ADA-M metalloproteases as a novel approach for modulating ErbB pathways in cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(6): 1892-1902
- [21] Shimura T, Kataoka H, Ogasawara N, et al. Suppression of proHB-EGF carboxy-terminal fragment nuclear translocation: a new molecular target therapy for gastric cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(12): 3956-3965