doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.07.045

·专论与综述·

富亮氨酸α2 糖蛋白 1(LRG1)在肿瘤中的研究进展 *

王永平 李 芬 郑安元 陈金辉 梅志丹 陶泽璋△

(武汉大学人民医院耳鼻咽喉头颈外科 湖北 武汉 430060)

摘要:富亮氨酸α2 糖蛋白 1(Leucine-rich-alpha-2-glycoprotein1,LRG1)是富亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)家族蛋白成员之一。LRG1 在人类多种肿瘤中表达异常,可以作为部分肿瘤早期诊断的潜在生物标记,而且这种异常表达可能提示患者预后不良。LRG1 在肿瘤的发生、侵袭转移、上皮间质转化和血管生成中发挥重要作用。这些环节中,协同参与调控的辅助因子众多且有差异,因而经历的信号途径有所不同。本文综合目前的研究进展,旨在阐述 LRG1 与肿瘤的关系以及其调控肿瘤发生发展的分子机制。LRG1 有望成为一种新的肿瘤分子标志物,将为恶性肿瘤的分子诊断及靶向治疗提供新的方向和手段。

关键词:LRG1;肿瘤;异常表达;TGF-β;血管生成

中图分类号:R341;R73-3;Q291 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)07-1371-04

Role of Leucine-rich-alpha-2-glycoprotein1 in Tumor*

WANG Yong-ping, LI Fen, ZHENG An-yuan, CHEN Jin-hui, MEI Zhi-dan, TAO Ze-zhang△

(Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China)

ABSTRACT: Leucine-rich-alpha-2-glycoprotein1 (LRG1) is a member of leucine-rich repeat (LRR) family proteins. It has been found abnormal expression in various types of carcinomas, serving as a potential biomarker for early diagnosis of some tumors. The dysregulation is possibly related to poor prognosis. LRG1 plays an important role in tumor genesis, invasion, metastasis, angiogenesis and epithelial to mesenchymal transition. Various auxiliary factors are involved in the regulation of these processes and undergo different signaling pathways. This article reviews recent research development to elaborate the relationship between LRG1 and tumor. In addition, molecular mechanism involved in its regulation of tumor genesis and progression is reviewed in this article. LRG1 is expected to become a novel tumor molecular marker, and provides a new direction for molecular diagnosis and targeted therapy of the malignant tumor.

Key words: LRG1; Tumor; Abnormal expression; TGF-β; Angiogenesis

Chinese Library Classification(CLC): R341; R73-3; Q291 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2017)07-1371-04

前言

如今，恶性肿瘤已经成为危害人类健康的首要疾患之一。2015 年,全中国大约有 429.2 万例新发肿瘤病例和 281.4 万例肿瘤死亡病例[1],相当于每天 12000 人新患肿瘤、7500 人死于肿瘤。所以对于恶性肿瘤的预防、诊断和治疗的研究是目前医学领域重要的课题之一。随着分子水平和基因水平的不断发展和探索,越来越多的因子被发现与肿瘤相关。富亮氨酸α2 糖蛋白 1(leucine-rich-alpha-2-glycoprotein 1,LRG1 或 LRG)就是其中之一。LRG1 是富亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)蛋白家族成员之一,最早在 40 年前被发现。目前,LRG1 的三维空间结构并未见文献报道,其功能也是直到最近几年才被逐渐研究。LRG1 被发现在神经退行性疾病、缺血性脑病和心功能紊乱等良性疾病存在异常表达,而在炎症反应、免疫反应和肿瘤中的作用是目前该蛋白研究的热点。最近研究表明,LRG1 在肿瘤的发生、发展和转移过程中起到关键作用,并且参与调控肿瘤血管生成和上皮 - 间质转化(epithelial to mesenchymal transition,EMT)。肿瘤的发生和发展是动态的、多种因素调控的过程而 LRG1 在肿瘤中的作用尚未被完全揭露。因此,对于 LRG1 的深入研究对恶性肿瘤患者的诊断、治疗和预后有重要意义。本文就目前研究进展对 LRG1 的结构及其在肿瘤中的作用进行综述,探讨其调控肿瘤发生发展的分子机制,为后续研究提供参考。

1 LRG1 的结构与功能

LRG1 在 1977 年由 Haupt 和 Baudner 首次从人血清分离出来[2],随后在黑猩猩、猕猴、狗、奶牛、小鼠、大鼠、鸡、斑马鱼和青蛙中被确认。LRG1 基因在脊椎动物中高度保守。人 LRG1 基因定位于染色体 19p13.3,含有 2810 个碱基对,由 2 个外显子和 1 个内含子构成,第一个外显子含 43 个碱基对,第二个外

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81372880)

作者简介:王永平(1984-),博士研究生,主要研究方向:头颈肿瘤的基础研究,E-mail: shuimeng2004@126.com

△通讯作者:陶泽璋(1954-),博士生导师,教授,主要研究方向:头颈肿瘤的基础研究,E-mail: taozezhang@hotmail.com,电话:027-88041911

(收稿日期:2016-11-01 接受日期:2016-11-25)

显子含 1737 个碱基对。共编码 347 个氨基酸残基。

人 LRG1 氨基酸序列在 1985 年由 Nobuhiro 等[3]确定。在其 347 个氨基酸残基中，前 35 个氨基酸残基为信号肽，余下 312 个氨基酸残基构成单个肽链。第 37 位氨基酸被寡聚半乳糖修饰，而 79、186、269、325 位氨基酸被寡聚葡萄糖修饰，43 与 56 位点、303 与 329 位点通过二硫键结合。LRG1 未修饰时分子量在 34-36 kDa[4]。2D SDS-PAGE 结果显示修饰后其分子量在 44-55 kDa 之间，等电位点在 4.52-4.72 之间[5]。一级结构中，主链 312 个氨基酸残基中含有 66 个亮氨酸，比重达 17 %。这 312 个氨基酸残基可被分为 13 组每组 24 个氨基酸残基的序列，其中 8 组含有保守的共有序列，由 11 个氨基酸残基 LxxLxLxxN/CxL（x 表示任何氨基酸，N 表示天冬酰胺，C 表示半胱氨酸，L 表示亮氨酸，但可被缬氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸替代）构成。这些共有序列被称之为 LRR。LRR 多数由 20~29 个氨基酸残基构成，主要功能是在蛋白质的相互作用过程中提供一个多用的结构框架。LRR 家族蛋白参与许多重要的生物学过程，例如激素 - 受体相互作用、酶抑制、细胞粘附、细胞间的运输[6]及细胞骨架的形态维持和动力学支持[7,8]。

LRG1 是 LRR 家族蛋白中的一员，也是最先被发现含有 LRR 结构的蛋白，被预测由肝细胞和嗜中性粒细胞产生[9]。LRG1 被认为是膜相关或分泌型蛋白，成年人血清中平均含量为 2.1-5.0 mg/100 mL[2,10]。因为其定位的染色体区域同样编码数个嗜中性粒细胞颗粒酶的基因，并且在嗜中性粒细胞分化过程中表达升高，所以 LRG1 被认为可能是一种新的中性粒细胞早期分化的标志物[11]。LRG1 可能作为炎症蛋白参与炎症反应和免疫反应，例如溃疡性结肠炎活动期[12]、急性囊尾炎[13]和活动性类风湿关节炎[14]。在溃疡性结肠炎活动期中，LRG1 被 IL-6 诱导升高，提示其参与此炎症反应[12]。越来越多的研究证明 LRG1 在肿瘤的发生、发展和转移等过程中发挥作用，下面将具体阐述。

2 LRG1 在肿瘤中的异常表达

Wu 等[15]运用 Elisa 法检测上皮性卵巢癌患者的血浆和肿瘤不同的组织亚型中发现 LRG1 蛋白表达升高，考虑其单独或联合 CA125 作为检测卵巢癌的生物标记。这和早期 Anderson 报道的类似[16,17]。Li 等[18]发现在非小细胞肺癌的尿样和肺癌组织中 LRG1 相较于正常对照组表达升高。与诱导化疗组（治疗 33 天）、正常对照组相比，刚确诊的 B 细胞急性淋巴细胞白血病（B-cell acute lymphoblastic leukemia，B-ALL）的患者血清中 9 种糖蛋白明显升高，其中 LRG1 蛋白是正常对照组的 2.16 倍，提示这 9 种糖蛋白可以作为 B-ALL 的早期诊断的候选生物标记[19]。在进展期、恶性程度越高、体积越大的肝细胞肝癌中，LRG1 的表达量越高，并且 LRG1 高表达的病人预后越差，提示 LRG1 参与肝细胞肝癌进展并且在预测患者预后上具有临床意义[20]。Uen 等[21]研究显示，LRG1 在胃癌组织中表达明显上调。Lindén 等[22]通过对膀胱癌患者的尿样进行蛋白组学分析，发现与正常对照组相比，29 种蛋白升高，其中包括 LRG1。在胰腺导管腺癌中，血清 LRG1 明显升高，可以用来鉴别正常志愿者和慢性胰腺炎患者，并且 LRG1 的表达水平与疾病进展和淋巴结转移相关[23]。作者同时指出，高表达的 LRG1 来自癌细胞膜，癌相关的 LRG1 与炎症相关的 LRG1 区别可能在于糖基化。

不同组织来源的肿瘤可能由于组织特异性(tissue specificity)，LRG1 的表达也不同。Wen 等[24]研究发现在子宫内膜癌中，免疫组化提示正常组织中的 LRG1 染色阳性率高于癌症组，并且在 III ~IV 期患者中癌组织 LRG1 染色阴性率高于 I~II 期组和淋巴结转移组，提示低表达的 LRG1 与子宫内膜癌转移和预后不良相关。我们的研究发现，在头颈部鳞癌中，免疫组化和 Western blot 结果提示肿瘤中的 LRG1 低于周围正常组织。这与 GEO 数据库中数个数据集（GSE51985、GSE33205、GSE59102、GSE58911 和 GSE39366 等）mRNA 芯片结果相符。Takemoto 等[25]认为，Lewis 肺癌中几乎不表达 LRG1。Zhang 等[26]研究的肝细胞肝癌中也出现了 LRG1 的低表达。

3 LRG1 在肿瘤发生中的作用

不同肿瘤组织中，LRG 对肿瘤生长的作用不尽相同。体外研究表明，恶性胶质瘤细胞在 LRG1 基因沉默后，生长和增殖能力明显受到抑制[27]。而 Takemoto 等[25]研究表明，Lewis 肺癌细胞皮下植入野生型小鼠和 LRG 基因敲除小鼠，LRG 基因敲除小鼠肿瘤体积和重量明显较大；相反地，mLRG 过表达和 mLRG 空载体的 Lewis 肺癌细胞植入野生型小鼠，前者肿瘤体积和重量明显比后者小，说明 LRG 对 Lewis 肺癌细胞生长有抑制作用。这两项相互矛盾的研究结果不能简单地归结于组织特异性，而是需要探索 LRG1 在精细调控肿瘤发生中的作用。

肿瘤生长基于细胞增殖与死亡的动态平衡。增殖异常和凋亡受到抑制是肿瘤发生的主要原因之一。真核细胞中，细胞周期是细胞增殖的基本过程[28]。细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖蛋白激酶（CDK）是细胞周期调控的两类关键蛋白家族[29,30]。LRG1 基因沉默致细胞周期蛋白 B, D1 和 E 减少，使细胞抑制在 $G_{0/1}$ 期，而减少向 S 期和 G2/M 期转换[27]。细胞凋亡是维持肿瘤生长平衡的另外一端。细胞凋亡发生的信号通路主要有三条：线粒体通路、内质网通路及死亡受体通路。线粒体通路中，线粒体膜间隙细胞色素 C（Cyt C）的释放是启动细胞凋亡的关键步骤。而 Cyt C 的释放受 Bcl-2 家族蛋白调控。在哺乳动物中，Bcl-2 家族蛋白分为促凋亡和抗凋亡两类。促凋亡蛋白包括 Bax、Bak、Bad、Bid、Bim 等，抗凋亡蛋白包括 Bcl-2、Bcl-XL、Bcl-w、Mcl-1、Bcl-B 等。LRG 对细胞凋亡的影响的研究存在争议。一方面，LRG 与 Apaf-1 存在同源的氨基酸序列，可以竞争性抑制 Cyt C 与 Apaf-1 结合而引起的细胞凋亡级联反应[9]。血清 LRG1 的存在阻止 Cyt C 的释放对淋巴细胞带来的细胞毒作用 -- 主要是细胞凋亡[31]。此外，恶性胶质瘤细胞在 LRG1 沉默后，抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达下降而促凋亡蛋白 Bax 和 cleaved caspase-3 上调，从而促进肿瘤细胞凋亡[27]。另一方面，LRG 在缺乏内皮因子（endoglin, ENG）的 Lewis 肺癌细胞和 Hep3B 细胞中激活 TGF-β1-smad2 信号通路[25]，使 Bim 表达上升[32]，从而促进凋亡发生。

4 LRG1 与肿瘤侵袭、转移和 EMT

在肿瘤研究中，癌细胞最为重要的生物学特征是具有侵袭和转移的能力。往往肿瘤患者病情恶化并最终死亡主要是因为肿瘤出现了转移。因此，肿瘤侵袭转移的研究有助于患者控制病情，改善预后。目前对于 LRG1 蛋白调控肿瘤侵袭转移的相

关机制研究不多,并且仅局限于体外实验研究。在胶质瘤中,细胞系 SHG-44 在 LRG1 过表达后出现侵袭和迁移的能力增强[33]。结直肠癌细胞 HCT116 在经过 rLRG1 处理 24 小时、无血清培养基培养后,收集的条件培养基可以使脐静脉内皮细胞迁移能力增强 [34]。而在 LRG1 低表达的肝癌细胞系 SMMC7721 和 SK-Hep1 中,LRG1 过表达反而使细胞侵袭和转移的能力下降[26],这体现了组织不同,LRG1 的作用也不相同。

肿瘤侵袭、转移能力的获得是肿瘤细胞变成恶性过程的一个重要环节。研究证明这与 EMT 密切相关。EMT 在某些肿瘤是可逆的,在某些混有癌和肉瘤的肿瘤中是不可逆的、永久的[35]。EMT 是一个失去上皮细胞极性、细胞间接触连接能力,变成具有间质细胞形态和特性的过程。其主要特征是 E-cadherin 的失去、ZO-1 的丢失和重定位,而上调某些间质细胞来源的蛋白如 vimetin、α-smooth muscleactin、ibronectin 和 N-cadherin 等。TGF-β 家族是体内诱导 EMT 的重要因素。在 TGF-β 依赖 Smad 的通路中,活化的 TGF-β 与 TGF-β II 型受体(TGF-β receptor type II,TβR-II)和募集而来的 TGF-β I 型受体(TGF-β receptor type I,TβR-I)形成配体受体复合物,TβR-I 磷酸化下游的 Smad2 和 Smad3。磷酸化的 Smad 与辅因子 Smad4 结合后形成复合物,进入细胞核内,在转录促进因子或转录抑制因子协同下,结合到靶基因的启动子上,促进或抑制基因转录。胶质瘤细胞在 LRG1 过表达后出现 TGF-β1、P-Smad2 和 P-Smad3 蛋白水平上升,E-cadherin 蛋白水平下降[33],而 Smad2/3 的活化可促进 EMT[36],从而使细胞侵袭和迁移能力增强;当 LRG1 过表达的胶质瘤细胞给予 TβR-I 抑制剂 SB431542 后,E-cadherin 表达上升,细胞侵袭能力减弱。结直肠癌体外研究表明,当 LRG1 出现干扰下调后,EMT 上皮标志分子 E-cadherin 和 VDR 上升,而间质标记 vimetin、α-smooth muscleactin 和 N-cadherin 表达下降,EMT 相关的转录因子 Twist1 表达下降,故细胞侵袭和迁移能力下降[34]。这些研究说明了 LRG1 可以促进 EMT,增强肿瘤细胞的侵袭转移能力。

5 LRG1 与肿瘤血管生成

新生血管形成是肿瘤的一个重要特征。其包括血管内皮细胞的激活、基底膜与胞外的蛋白降解、细胞连接的断裂、内皮细胞增殖、趋化性迁移入周围基质和新管腔形成[37]。这一过程中有许多因子进行调控,VEGF 家族蛋白及其受体是主要的调控因子[38-40]。它们共同调控血管内皮生长、增殖和迁移。此外,TGF-β 信号通路也被证实调控血管形成。在大多数情况下,其能控制从抑制血管生成的状态转为促进血管生成的方向[41]。

Zhang 等[34]发现在结直肠癌细胞系 SW480 和 HCT116 中,外源性 rLRG1 处理两种细胞后,VEGF-A 表达升高, 并与 rLRG1 的浓度和处理时间呈正相关; 而且经过 rLRG1 处理后的结直肠癌的条件培养基可以使脐静脉内皮细胞迁移、增殖能力增强。说明 LRG 通过 VEGF-A 促进肿瘤血管生成。Wang 等[42]在小鼠视网膜上证实,病理情况下,LRG1 在 TGF-β1 存在的条件下,通过结合到其辅助受体 ENG,从而激活 TGF-β 血管生成开关。LRG1-ENG-TGF-β 复合体与 TβR-II 结合并使其激活,进而招募 TβR-I 和激活素受体样激酶 -1 (activin receptor-like kinase, ALK-1),而 ALK-1 又能够激活转录因子 Smad1/5/8,后者与 Smad4 结合后进入细胞核内, 在特定的转录因子协同下调控靶基因,如 VEGF-A[43],从而促进血管生成。尽管 LRG1 通过 TGF-β 信号通路调节新生血管形成尚未在肿瘤上报道,也未发现 LRG1 通过其他分子促进或抑制肿瘤血管生成,但是仍为我们进一步研究肿瘤血管生成提供了新的靶点。

6 结语

尽管 LRG1 被发现并证实的较早,但是其功能一直不甚清楚。目前,LRG1 被发现参与中性粒细胞的分化、炎症及免疫反应。人类很多肿瘤中 LRG1 也存在异常表达。LRG1 参与肿瘤细胞的增殖和凋亡调控,对肿瘤的侵袭和转移、血管生成也有一定作用。然而其中的具体分子机制只是在特定的某种或几种肿瘤中得到验证,无推而广之的定论,仍需深入的研究。随着对以 LRG1 为靶点的分子信号通路的深入探索,新的信号分子可能被揭露。通过对错综复杂的信号通路网络来精确调控和筛选优化药物设计位点将成为可能,届时以 LRG1 为靶点的治疗必定可以改善肿瘤患者的预后,为肿瘤治疗翻开新的篇章。

参 考 文 献(References)

[1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132

[2] Haupt H, Baudner S. Isolation and characterization of an unknown, leucine-rich 3.1-S-alpha2-glycoprotein from human serum (author's transl)[J]. Hoppe Seylers Z Physiol Chem, 1977, 358(6): 639-646

[3] Takahashi N, Takahashi Y, Putnam FW. Periodicity of leucine and tandem repetition of a 24-amino acid segment in the primary structure of leucine-rich alpha 2-glycoprotein of human serum[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1985, 82(7): 1906-1910

[4] Schwick HG, Haupt H. Purified human plasma proteins of unknown function[J]. Jpn J Med Sci Biol, 1981, 34(5): 299-327

[5] Hoogland C, Mostaguir K, Sanchez JC, et al. SWISS-2DPAGE, ten years later[J]. Proteomics, 2004, 4(8): 2352-2356

[6] Buchanan SG, Gay NJ. Structural and functional diversity in the leucine-rich repeat family of proteins [J]. Prog Biophys Mol Biol, 1996, 65(1-2): 1-44

[7] Wu H, Maciejewski MW, Marintchev A, et al. Solution structure of a dynein motor domain associated light chain[J]. Nat Struct Biol, 2000, 7(7): 575-579

[8] Xu P, Mitchelhill KI, Kobe B, et al. The myosin-I-binding protein Acan125 binds the SH3 domain and belongs to the superfamily of leucine-rich repeat proteins [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997, 94 (8): 3685-3690

[9] Cummings C, Walder J, Treeful A, et al. Serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 binds cytochrome c and inhibits antibody detection of this apoptotic marker in enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Apoptosis, 2006, 11(7): 1121-1129

[10] Weivoda S, Andersen JD, Skogen A, et al. ELISA for human serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 employing cytochrome c as the capturing ligand[J]. J Immunol Methods, 2008, 336(1): 22-29

[11] O'Donnell LC, Druhan LJ, Avalos BR. Molecular characterization and expression analysis of leucine-rich alpha2-glycoprotein, a novel marker of granulocytic differentiation[J]. J Leukoc Biol, 2002, 72(3): 478-485

[12] Serada S, Fujimoto M, Terabe F, et al. Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2012, 18(11): 2169-2179

[13] Kharbanda AB, Rai AJ, Cosme Y, et al. Novel serum and urine markers for pediatric appendicitis[J]. Acad Emerg Med, 2012, 19(1): 56-62

[14] Serada S, Fujimoto M, Ogata A, et al. iTRAQ-based proteomic identification of leucine-rich alpha-2 glycoprotein as a novel inflammatory biomarker in autoimmune diseases [J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(4): 770-774

[15] Wu J, Yin H, Zhu J, et al. Validation of LRG1 as a potential biomarker for detection of epithelial ovarian cancer by a blinded study [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0121112

[16] Andersen JD, Boylan KL, Jemmerson R, et al. Leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 is upregulated in sera and tumors of ovarian cancer patients[J]. J Ovarian Res, 2010, 3: 21

[17] Andersen JD, Boylan KL, Xue FS, et al. Identification of candidate biomarkers in ovarian cancer serum by depletion of highly abundant proteins and differential in-gel electrophoresis [J]. Electrophoresis, 2010, 31(4): 599-610

[18] Li Y, Zhang Y, Qiu F, et al. Proteomic identification of exosomal LRG1: a potential urinary biomarker for detecting NSCLC [J]. Electrophoresis, 2011, 32(15): 1976-1983

[19] Cavalcante Mde S, Torres-Romero JC, Lobo MD, et al. A panel of glycoproteins as candidate biomarkers for early diagnosis and treatment evaluation of B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Biomark Res, 2016, 4: 1

[20] Wang CH, Li M, Liu LL, et al. LRG1 expression indicates unfavorable clinical outcome in hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2015, 6(39): 42118-42129

[21] Uen YH, Lin KY, Sun DP, et al. Comparative proteomics, network analysis and post-translational modification identification reveal differential profiles of plasma Con A-bound glycoprotein biomarkers in gastric cancer[J]. J Proteomics, 2013, 83: 197-213

[22] Linden M, Lind SB, Mayrhofer C, et al. Proteomic analysis of urinary biomarker candidates for nonmuscle invasive bladder cancer [J]. Proteomics, 2012, 12(1): 135-144

[23] Furukawa K, Kawamoto K, Eguchi H, et al. Clinicopathological Significance of Leucine-Rich alpha2-Glycoprotein-1 in Sera of Patients With Pancreatic Cancer[J]. Pancreas, 2015, 44(1): 93-98

[24] Wen SY, Li CH, Zhang YL, et al. Rictor is an independent prognostic factor for endometrial carcinoma[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(5): 2068-2078

[25] Takemoto N, Serada S, Fujimoto M, et al. Leucine-rich alpha-2-glycoprotein promotes TGFbeta1-mediated growth suppression in the Lewis lung carcinoma cell lines [J]. Oncotarget, 2015, 6 (13): 11009-11022

[26] Zhang Y, Luo Q, Wang N, et al. LRG1 suppresses the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells [J]. Med Oncol, 2015, 32 (5): 146

[27] Zhong D, Zhao S, He G, et al. Stable knockdown of LRG1 by RNA interference inhibits growth and promotes apoptosis of glioblastoma cells in vitro and in vivo[J]. Tumour Biol, 2015, 36(6): 4271-4278

[28] Sherr CJ. Cancer cell cycles[J]. Science, 1996, 274(5293): 1672-1677

[29] Schafer KA. The cell cycle: a review [J]. Vet Pathol, 1998, 35(6): 461-478

[30] Lee MH,Yang HY. Regulators of G1 cyclin-dependent kinases and cancers[J]. Cancer Metastasis Rev, 2003, 22(4): 435-449

[31] Codina R, Vanasse A, Kelekar A, et al. Cytochrome c-induced lymphocyte death from the outside in: inhibition by serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1[J]. Apoptosis, 2010, 15(2): 139-152

[32] Zhao X, Liu Y, Du L, et al. Threonine 32 (Thr32) of FoxO3 is critical for TGF-beta-induced apoptosis via Bim in hepatocarcinoma cells[J]. Protein Cell, 2015, 6(2): 127-138

[33] Zhong D, He G, Zhao S, et al. LRG1 modulates invasion and migration of glioma cell lines through TGF-beta signaling pathway[J]. Acta Histochem, 2015, 117(6): 551-558

[34] Zhang J, Zhu L, Fang J, et al. LRG1 modulates epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis in colorectal cancer via HIF-1alpha activation[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35: 29

[35] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression [J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(6): 442-454

[36] Valcourt U, Kowanetz M, Niimi H, et al. TGF-beta and the Smad signaling pathway support transcriptomic reprogramming during epithelial-mesenchymal cell transition [J]. Mol Biol Cell, 2005, 16 (4): 1987-2002

[37] Folkman J. Fundamental concepts of the angiogenic process [J]. Curr Mol Med, 2003, 3(7): 643-651

[38] Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen[J]. Science, 1989, 246 (4935): 1306-1309

[39] Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele[J]. Nature, 1996, 380(6573): 435-439

[40] Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, et al. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene [J]. Nature, 1996, 380(6573): 439-442

[41] Pardali E, Goumans MJ, ten Dijke P. Signaling by members of the TGF-beta family in vascular morphogenesis and disease [J]. Trends Cell Biol, 2010, 20(9): 556-567

[42] Wang X, Abraham S, McKenzie JA, et al. LRG1 promotes angiogenesis by modulating endothelial TGF-beta signalling [J]. Nature, 2013, 499(7458): 306-311

[43] Yao Y, Shao ES, Jumabay M, et al. High-density lipoproteins affect endothelial BMP-signaling by modulating expression of the activin-like kinase receptor 1 and 2 [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(12): 2266-2274