

· 文献综述 ·

CMTM6 蛋白与肿瘤发生、发展及预后关系的研究进展*

付 玮 综述 张 静 丁士刚** 审校

(北京大学第三医院消化科, 北京 100191)

文献标识: A 文章编号: 1009-6604(2020)01-0077-04

doi: 10.3969/j.issn.1009-6604.2020.01.020

肿瘤的发生发展与免疫系统关系密切。程序性死亡受体 1(programmed death receptor-1, PD-1)主要表达于 T 细胞等免疫细胞表面^[1]。程序性死亡受体配体 1(programmed cell death ligand-1, PD-L1)表达于多种肿瘤细胞表面,包括肺癌、黑色素瘤、卵巢癌、肾癌、口腔鳞状细胞癌等,与 PD-1 结合后可抑制 T 细胞迁移、增殖和杀伤功能,实现肿瘤免疫逃逸^[2,3]。肿瘤细胞通过多种机制逃避免疫系统攻击,PD-1/PD-L1 信号通路是其主要机制之一。目前,针对 PD-1/PD-L1 的肿瘤靶向治疗成为肿瘤治疗的热点,这一途径的调控因子也逐渐受到关注。2017 年《Nature》杂志刊登的 2 篇文章^[4,5]同时提出,CMTM6 蛋白能够特异性保护 PD-L1 免受降解,提示其在肿瘤免疫逃逸中起着重要作用,也使 CMTM6 逐渐受到重视。本文就 CMTM6 与肿瘤发生、发展及预后关系的研究进展做一综述。

1 CMTM6 概况

含 MARVEL(the myelin and lymphocyte and related proteins for vesicle trafficking and membrane link)跨膜结构域的趋化素样因子(chemokine-like factor, CKLF)家族(CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing family, CMTM)是 2001 年由北京大学人类疾病基因研究中心首次报道的基因家族,原名趋化素样因子超家族(CKLF super family, CKLFSF),人类基因命名委员会于 2005 年将其更名为 CMTM 家族^[6]。CMTM 家族中多个成员已被发现参与肿瘤的发生发展过程,且部分已成为肿瘤的潜在治疗靶点和预后指标^[7,8]。

CMTM6 蛋白由 3 号染色体 3p22.3 区的 CMTM6 基因编码,是一个由 183 个氨基酸组成的Ⅲ

型跨膜蛋白,主要由 MARVEL 结构域及两端的胞内段组成。MARVEL 结构域包含 4 个跨膜螺旋结构域,为蛋白参与囊泡运输和膜结合相关事件的重要结构^[9]。CMTM6 广泛表达于人体正常组织内,主要定位于细胞膜和参与胞内物质循环的胞内体上。Human Protein Atlas 数据库显示 CMTM6 蛋白在直肠、膀胱及女性生殖系统中高表达,其他大多数组织中呈中等程度表达。CMTM6 蛋白在不同肿瘤组织中表达水平有差异,在肝癌、胰腺癌、尿路上皮癌和卵巢癌等肿瘤组织中高表达,而在胶质瘤、肺癌、肾癌、黑色素瘤等肿瘤组织中为低表达。WEE1 和 ATM 为细胞周期调节蛋白,Jin 等^[10]的研究显示,WEE1 激酶抑制剂 AZD1775 和 ATM 抑制剂 AZD0156 能够降低 CMTM6 表达,且二者联合抑制效果更强,这可能与二者对 CMTM6 转录的影响有关,其具体机制仍有待探索。

2 CMTM6 与肿瘤发生发展的关系

近年来,CMTM6 与肿瘤发生发展之间的关系逐渐引起关注。Guan 等^[11]分析 TCGA(The Cancer Genome Atlas)数据库胶质瘤患者中 648 例体细胞突变病例和 690 例体细胞拷贝数改变病例,结果显示 CMTM6 高表达与更频繁的体细胞突变、体细胞拷贝数改变高度相关($r=0.245, P<0.01; r=0.213, P<0.01$),全基因组关联分析显示 CMTM6 能够正性调控部分抑制 T 细胞过程,还可以负性调控细胞毒性 T 细胞分化及 T 细胞杀伤肿瘤细胞作用,提示 CMTM6 可能通过多种方式参与肿瘤发生发展,但具体机制仍待进一步实验研究。PD-1/PD-L1 是肿瘤免疫逃逸的重要途径,CMTM6 对 PD-L1 的保护作用已经实验证实,为其参与肿瘤发生发展过程的重要方式。

* 基金项目:国家自然科学基金(81870386)

** 通讯作者, E-mail: dingshigang222@163.com

2.1 CMTM6 对 PD-L1 蛋白质水平的影响

CMTM6 与 PD-L1 共定位于细胞膜及胞内体上,能够保护 PD-L1 免受降解,这一现象存在于多种人类肿瘤细胞中,包括黑色素瘤细胞、结直肠癌细胞、肺癌细胞等^[4,5]。Mezzadra 等^[4]在 CMTM6 基因敲除的 A375 黑色素瘤细胞中观察到,CMTM6 通过抑制 PD-L1 的泛素化起到保护 PD-L1 作用,E3 泛素连接酶 STUB1 参与其中。Burr 等^[5]通过研究 CMTM6 基因敲除的 WM-852 Cas9 细胞观察到,CMTM6 在胞内循环过程中能够保护同处于胞内体的 PD-L1 免受溶酶体降解,且溶酶体酸化抑制剂可以恢复 CMTM6 敲除细胞中的 PD-L1 水平。而 PD-L2 水平不受 CMTM6 影响,提示 CMTM6 对 PD-L1 的保护存在特异性^[4,5]。在 35 例非小细胞肺癌和 44 例口腔鳞状细胞癌中,观察到 CMTM6 蛋白水平与 PD-L1 蛋白水平呈正相关($r = 0.342, P = 0.044; r = 0.441, P < 0.01$)^[12,13]。溶酶体途径和泛素-蛋白水解酶途径是蛋白质降解的 2 种方式,CMTM6 在这 2 种途径中都发挥作用,推测其功能可能与影响蛋白酶水解 PD-L1 过程有关,其具体机制仍需进一步探索。

此外,细胞实验和动物实验^[4,5]验证了该结果。通过将 T 细胞与肿瘤细胞共培养,观察到只有 T 细胞表面 PD-1 及肿瘤细胞表面 CMTM6、PD-L1 同时存在,肿瘤细胞才能实现抑制 T 细胞功能的作用。与 CMTM6 缺失的肿瘤细胞共培养的 T 细胞功能不被抑制,这与肿瘤细胞 PD-L1 缺失或应用 PD-1 阻断剂结果相似。在小鼠荷瘤实验中,移植 CMTM6 基因沉默黑色素瘤细胞的小鼠生存期明显长于移植 CMTM6 基因野生型黑色素瘤细胞的小鼠。上述结果表明 CMTM6 缺失抑制了肿瘤的发生发展,为 CMTM6 通过保护 PD-L1 使肿瘤细胞实现免疫逃逸提供证据。

2.2 CMTM6 对 PD-L1 mRNA 水平的影响

CMTM6 蛋白对 PD-L1 mRNA 无影响,其 mRNA 却与 PD-L1 mRNA 水平呈正相关。Mezzadra^[4]和 Burr^[5]的研究结果均显示,CMTM6 基因敲除只导致细胞表面 PD-L1 蛋白的减少,而不降低 PD-L1 mRNA 水平,即 CMTM6 在蛋白水平调控 PD-L1 水平。另有研究表明,CMTM6 与 PD-L1 mRNA 水平呈正相关。Koh 等^[12]分析 TCGA 数据库中 510 例肺腺癌患者和 484 例肺鳞状细胞癌患者 mRNA 表达数据,结果显示 2 种肺癌中 CMTM6 mRNA 水平与 PD-L1 mRNA 水平均呈正相关(Spearman $\rho = 0.21, P < 0.001; \rho = 0.13, P < 0.001$)。不仅如此,研究者对 TCGA 及 Pan-Cancer Atlas 数据库中 28 种实体瘤的 CMTM6 mRNA 与 PD-L1 mRNA 水平进行相关性分析,结果显示其中 18 种实体瘤的 CMTM6 和 PD-

L1 mRNA 水平之间存在显著的正相关,包括胃腺癌($\rho = 0.277, P < 0.001$),结直肠腺癌($\rho = 0.2, P < 0.001$),肝细胞肝癌($\rho = 0.21, P < 0.001$),胆管癌($\rho = 0.4, P = 0.0149$),胰腺癌($\rho = 0.316, P < 0.001$),肾透明细胞癌($\rho = 0.2, P < 0.001$),肾乳头状细胞癌($\rho = 0.25, P < 0.001$),前列腺癌($\rho = 0.135, P < 0.001$),甲状腺癌($\rho = 0.3, P < 0.001$),胸腺瘤($\rho = 0.314, P < 0.001$),乳腺浸润性癌($\rho = 0.015, P < 0.001$),间皮瘤($\rho = 0.346, P < 0.001$),子宫内膜癌($\rho = 0.105, P = 0.016$),脑低级别胶质瘤($\rho = 0.413, P < 0.001$),多形性胶质母细胞瘤($\rho = 0.242, P < 0.001$),头颈部鳞状细胞癌($\rho = 0.331, P < 0.001$),皮肤黑色素瘤($\rho = 0.366, P < 0.001$),葡萄膜黑色素瘤($\rho = 0.328, P < 0.001$)。

2.3 CMTM6 对 PD-L1 的保护作用可被 H1A 抗体降解

Tu 等^[14]观察到一种 PD-L1 抗体,称为 H1A,可以结合于 PD-L1 的 20~32 氨基酸片段,抑制 CMTM6 与 PD-L1 的相互作用,从而增加溶酶体介导的 PD-L1 降解,降低细胞 PD-L1 水平。与目前临床应用的 PD-L1 拮抗剂不同,H1A 对于 PD-L1 的调控的新途径可能能够成为抗 PD-L1 治疗的新的潜在靶点。

3 CMTM6 与肿瘤患者预后的关系

CMTM6 表达水平与多种肿瘤预后相关,综合分析 CMTM6 与 PD-L1 表达水平,能够更好地预测肿瘤患者预后。

3.1 非小细胞肺癌

肺癌是全球癌症相关死亡的首要原因,分为小细胞肺癌和非小细胞肺癌,后者占有肺癌的 85% 左右^[15,16]。Koh 等^[12]分析 2016~2018 年 35 例接受 PD-1 抑制剂治疗的晚期难治性非小细胞肺癌患者治疗反应数据,结果显示 CMTM6 蛋白水平是对 PD-1 拮抗剂反应效果的独立预测因子($OR = 5.333, P = 0.037$)。丁雨等^[17]根据肿瘤组织与癌旁组织 CMTM6 蛋白差异将 52 例手术治疗的肺腺癌分为表达上调组(肿瘤组织 CMTM6 蛋白水平高于癌旁组织)和表达不变组(肿瘤组织 CMTM6 蛋白水平与癌旁组织相同),生存分析显示表达上调组总生存率显著低于表达不变组($P = 0.014$),多因素回归分析提示 CMTM6 表达是影响肺腺癌患者术后生存的独立因素($HR = 1.79, 95\% CI: 1.006 \sim 3.189, P = 0.048$),且在高临床分期组及发生远处转移组中表达上调组患者的比例显著高于表达不变组($\chi^2 = 4.269, P = 0.033; \chi^2 = 3.980, P = 0.046$);另外,外周血 CMTM6 与 PD-L1 蛋白水平正相关($r = 0.623, P < 0.01$)。上述研究结果支持 CMTM6 水平

对非小细胞肺癌、肺腺癌患者预后及 PD-1 抑制剂疗效的预测能力。

3.2 肝细胞肝癌

肝细胞肝癌起病隐匿,转移频繁,术后复发率高,在全球癌症相关死亡原因中居第 4 位^[15]。The Human Protein Atlas 数据库以及 Yafune 等^[18]的研究结果均显示肝细胞肝癌组织中 CMTM6 蛋白水平高于非肿瘤组织,且 CMTM6 与肝细胞增殖性病变标记 CK8/18 共表达,有成为肝细胞增殖性病变的标记物的可能。然而,Zhu 等^[19]研究 75 例肝细胞肝癌,结果显示 CMTM6 蛋白在肝癌中水平明显低于癌旁组织,CMTM6 蛋白阴性表达肝癌患者中位生存时间(55 个月,95% CI:43.40 ~ 66.60)明显短于蛋白阳性表达者(85 个月,95% CI:75.56 ~ 94.44) ($P < 0.05$);此外,CMTM6 蛋白水平与肿瘤病理分级、肿瘤转移及 AFP 水平相关 ($OR = 5.53, P < 0.05$; $OR = 5.87, P < 0.05$; $OR = 5.41, P < 0.05$)。就目前研究结果看,CMTM6 对肝细胞肝癌的发生发展的作用仍不能给予定论,相关性及其机制仍需进一步研究。

单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphism, SNP)指单个核苷酸变异导致 DNA 序列多态性的现象,拥有遗传稳定性。Bei 等^[20]通过分析来自中国南方人群的 315 例肝细胞肝癌和 315 名非癌症对照者的基因型,观察到 CMTM6 基因 SNP 影响肝细胞肝癌的易感性:CMTM6 基因的 rs164207 AA 基因型个体比 CC 基因型个体患肝细胞肝癌的风险显著增加 ($OR = 2.794, 95\% CI: 1.143 \sim 6.828, P = 0.014$)。这一结果为肝细胞肝癌患者的早期发现提供新的研究方向。

3.3 胰腺导管癌

胰腺导管癌恶性程度很高,5 年生存率低于 5%^[15]。Mamessier 等^[21]整合 TCGA、GEO (Gene Expression Omnibus)等数据库的 403 例原发性胰腺导管癌患者的生存数据,结果显示肿瘤组织高 CMTM6 mRNA 水平与更低的 2 年总生存率相关 ($P < 0.01$)。另外,PD-L1 高表达与胰腺导管癌患者更短的无病生存率及总生存率相关^[22]。综合分析二者 mRNA 水平,高 CMTM6 mRNA 且高 PD-L1 mRNA 组患者的 2 年总生存率(27%)明显低于高 CMTM6 mRNA 且低 PD-L1 mRNA 组(46%)、低 CMTM6 mRNA 且高 PD-L1 mRNA 组(47%)和低 CMTM6 mRNA 且低 PD-L1 mRNA 组(51%) ($P < 0.01$)^[21]。CMTM6 高表达患者预后更差,且 PD-L1 表达水平增强了 CMTM6 表达对患者预后预测能力。

3.4 乳腺癌

乳腺癌是发生在乳腺的腺上皮组织的恶性肿

瘤,为全球癌症发病率第二的肿瘤^[15]。三阴乳腺癌指雌激素受体、孕激素受体及人表皮生长因子受体 2 均为阴性的乳腺癌,治疗更加困难。Mamessier 等^[21]分析 TCGA、GEO 等数据库的 509 例三阴原发性乳腺癌的生存数据,结果显示肿瘤组织高 CMTM6 mRNA 水平与更高的 5 年无转移生存率相关 ($P < 0.01$),高 PD-L1 mRNA 水平提示较长的无转移生存。综合二者 mRNA 水平,高 CMTM6 mRNA 且高 PD-L1 mRNA 者的 5 年无转移生存率为 70%,明显高于高 CMTM6 mRNA 且低 PD-L1 mRNA 组(55%)、低 CMTM6 mRNA 且高 PD-L1 mRNA 组(57%)和低 CMTM6 mRNA 且低 PD-L1 mRNA 组(40%) ($P < 0.01$),提示这一分组方式能够为三阴乳腺癌提供更好的预后预测功能。

3.5 胶质瘤

胶质瘤是中枢神经系统常见原发性肿瘤,总生存率较低。胶质瘤能通过多种机制逃避免疫监视,如下调抗原呈递、促进免疫抑制效应细胞扩增等^[23]。Guan 等^[11]分析来自 CGGA、TCGA 等数据库的 1862 个胶质瘤样本,观察到增生微血管中有高水平 CMTM6 mRNA,该结构在肿瘤发生中发挥重要作用;此外,组织中高 CMTM6 mRNA 水平提示胶质瘤恶性程度高,如 WHO 级别越高,CMTM6 mRNA 水平越高,各级间差异显著 ($P < 0.001$),且恶性程度更高的胶质母细胞瘤中 CMTM6 mRNA 水平也显著高于其他类型 ($P < 0.001$)。此外,生存分析显示高 CMTM6 mRNA 水平的胶质瘤患者生存期更短 ($P < 0.05$),多因素回归分析提示 CMTM6 mRNA 水平与胶质瘤患者预后相关性显著 (CCGA 数据库 310 例: $HR = 1.047, P = 0.013$; TCGA 数据库 678 例: $HR = 1.029, P = 0.030$)。CMTM6 高表达与组织病理学恶性相关,且提示胶质瘤患者预后不佳^[11,24]。

3.6 肾透明细胞癌

肾透明细胞癌是最常见的肾实质癌,由于 PD-1 在肾透明细胞癌组织中表达水平高于正常肾组织,针对 PD-1/PD-L1 的免疫抑制剂成为其治疗的热点之一。Zhao 等^[25]根据 CMTM6 表达情况将 TCGA 数据库 525 例肾透明细胞癌患者中 9% 的患者纳入高 CMTM6 mRNA 组,91% 纳入低 CMTM6 mRNA 组,并分别比较 2 组内 PD-L1 表达水平与患者生存情况。结果显示,在高 CMTM6 mRNA 组中,高 PD-L1 mRNA 水平患者的总生存率比低 PD-L1 mRNA 更低 ($HR = 0.758, 95\% CI: 0.665 \sim 0.865, P < 0.01$);与之相反,在低 CMTM6 mRNA 组中,高 PD-L1 mRNA 患者的总生存率比低 PD-L1 mRNA 更高 ($HR = 1.559, 95\% CI: 1.028 \sim 2.362, P = 0.037$)。

CMTM6 高表达使 PD-L1 成为肿瘤预后的不利因素,而当 CMTM6 表达不足时,PD-L1 的高表达则提示预后好。研究虽未明确纳入患者的治疗方式,但这一结果提示 CMTM6 可能能够作为临床进行针对 PD-1/PD-L1 通路免疫抑制剂治疗前的一个评估指标。当然,这需要更多的临床与基础实验进一步研究。

值得注意的是,对于胰腺导管癌、乳腺癌和肾透明细胞癌的研究都是通过测量 mRNA 水平来衡量 CMTM6 与 PD-L1 的表达水平,前述研究结果也提示二者 mRNA 水平呈正相关,二者基因表达调控相关性及其机制仍值得研究。

4 总结与展望

CMTM6 通过保护 PD-L1 参与肿瘤免疫逃逸。值得注意的是,与 CMTM6 有 55% 同源性的 CMTM4 也被证实能够保护 PD-L1,而 CMTM 家族其他成员则没有这一能力,二者结构与功能的相似之处值得进一步研究^[4]。CMTM6 表达能够预测部分肿瘤预后及对 PD-1 抑制剂的反应性。由于肿瘤治疗对患者身体及经济负担很大,其疗效预测对于医生及患者都十分重要,因此,针对 CMTM6 表达与肿瘤预后的关系亟待研究。PD-1/PD-L1 途径靶向治疗是肿瘤的重要疗法,PD-L1 保护因子 CMTM6 也有望成为肿瘤靶向治疗靶点,H1A 抗体可能为新的研究方向。总之,目前的研究显示 CMTM6 通过保护 PD-L1 参与肿瘤免疫逃逸,但这只是新的开始,CMTM6 仍有许多未知之处,期待未来更多相关研究结果。

参考文献

- Boussiotis VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway. *N Engl J Med*,2016,375(18):1767-1778.
- Pardoll D. Cancer and the immune system; basic concepts and targets for intervention. *Semin Oncol*,2015,42(4):523-538.
- Boussiotis VA,Chatterjee P, Li L. Biochemical signaling of PD-1 on T cells and its functional implications. *Cancer J*, 2014, 20(4):265-271.
- Mezzadra R, Sun C, Jae LT, et al. Identification of CMTM6 and CMTM4 as PD-L1 protein regulators. *Nature*, 2017, 549(7670):106-110.
- Burr ML, Sparbier CE, Chan YC, et al. CMTM6 maintains the expression of PD-L1 and regulates anti-tumour immunity. *Nature*, 2017,549(7670):101-105.
- Han W, Ding P, Xu M, et al. Identification of eight genes encoding chemokine-like factor superfamily members 1-8 (CKLFSF1-8) by in silico cloning and experimental validation. *Genomics*,2003,81(6):609-617.
- Su Y, Lin Y, Zhang L, et al. CMTM3 inhibits cell migration and invasion and correlates with favorable prognosis in gastric cancer. *Cancer Sci*,2014,105(1):26-34.
- Gao D, Hu H, Wang Y, et al. CMTM8 inhibits the carcinogenesis and progression of bladder cancer. *Oncol Rep*, 2015, 34(6):2853-2863.
- Sánchez-Pulido L, Martín-Belmonte F, Valencia A, et al. MARVEL: a conserved domain involved in membrane apposition events. *Trends Biochem Sci*,2002,27(12):599-601.
- Jin MH, Nam AR, Park JE, et al. Therapeutic co-targeting of WEE1 and ATM downregulates PD-L1 expression in pancreatic cancer. *Cancer Res Treat*,2019 Jun 25. [Epub ahead of print].
- Guan X, Zhang C, Zhao J, et al. CMTM6 overexpression is associated with molecular and clinical characteristics of malignancy and predicts poor prognosis in gliomas. *EBioMedicine*,2018,35:233-243.
- Koh YW, Han JH, Haam S, et al. Increased CMTM6 can predict the clinical response to PD-1 inhibitors in non-small cell lung cancer patients. *Oncol Immunology*,2019,8(10):e1629261.
- 冯晓波,赵九洲,李武,等. PD-1、PD-L1、CMTM6 在口腔鳞癌中的表达及意义. *肿瘤学杂志*,2019,25(6):577-580.
- Tu X, Qin B, Zhang Y, et al. PD-L1 (B7-H1) competes with the RNA exosome to regulate the DNA damage response and can be targeted to sensitize to radiation or chemotherapy. *Molecular Cell*, 2019,74(6):1215-1226. e1214.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*,2018,68(6):394-424.
- Quintanal-Villalonga A, Molina-Pinelo S. Epigenetics of lung cancer: a translational perspective. *Cell Oncol (Dordr)*,2019 Aug 8. [Epub ahead of print].
- 丁雨,蒋敬庭. CMTM6 在肺腺癌组织中的表达及其临床意义. *中国肿瘤生物治疗杂志*,2019,26(5):544-549.
- Yafune A, Kawai M, Itahashi M, et al. Global DNA methylation screening of liver in piperonyl butoxide-treated mice in a two-stage hepatocarcinogenesis model. *Toxicol Lett*,2013,222(3):295-302.
- Zhu X, Qi G, Li C, et al. Expression and clinical significance of CMTM6 in hepatocellular carcinoma. *DNA Cell Biol*,2019,38(2):193-197.
- Bei C, Tan C, Zhu X, et al. Association between polymorphisms in CMTM family genes and hepatocellular carcinoma in Guangxi of China. *DNA and Cell Biology*,2018,37(8):691-696.
- Mamessier E, Birnbaum DJ, Finetti P, et al. CMTM6 stabilizes PD-L1 expression and refines its prognostic value in tumors. *Ann Transl Med*,2018,6(3):54.
- Birnbaum DJ, Finetti P, Lopresti A, et al. Prognostic value of PDL1 expression in pancreatic cancer. *Oncotarget*,2016,7(44):71198-71210.
- Xue S, Hu M, Li P, et al. Relationship between expression of PD-L1 and tumor angiogenesis, proliferation, and invasion in glioma. *Oncotarget*,2017,8(30):49702-49712.
- Delic S, Thuy A, Schulze M, et al. Systematic investigation of CMTM family genes suggests relevance to glioblastoma pathogenesis and CMTM1 and CMTM3 as priority targets. *Genes Chromosomes Cancer*,2015,54(7):433-443.
- Zhao W, Zhao F, Yang K, et al. An immunophenotyping of renal clear cell carcinoma with characteristics and a potential therapeutic target for patients insensitive to immune checkpoint blockade. *J Cell Biochem*,2019,120(8):13330-13341.

(收稿日期:2019-09-23)

(修回日期:2019-11-11)

(责任编辑:王惠群)