

综述

神经调节蛋白4生物学功能的研究进展

杨帆, 李晓南*

南京医科大学附属儿童医院儿童保健科, 南京 210008

摘要: 神经调节蛋白4 (neuregulin 4, NRG4)是一种含有表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)类似区域的蛋白分子, 主要在棕色脂肪细胞中表达和分泌。NRG4通过与EGF的受体ErbB4 (v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4)特异性结合, 发挥其刺激细胞增殖、抑制细胞凋亡以及改善细胞能量代谢等生理学功能。越来越多的证据表明NRG4在上皮细胞相关疾病、心血管疾病、多部位肿瘤以及糖脂代谢相关疾病中发挥重要的作用, 因此有可能成为多种疾病潜在的治疗靶点。

关键词: 神经调节蛋白4; ErbB4; 生物学功能

中图分类号: R33

Research progress of neuregulin 4 biological function

YANG Fan, LI Xiao-Nan*

Department of Child Health Care, Children's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China

Abstract: Neuregulin 4 (NRG4) is a kind of protein containing epidermal growth factor (EGF)-like domains, mainly expressed and secreted by brown adipocytes. It specifically activates EGF receptor ErbB4 (v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4) to stimulate cell proliferation, inhibit apoptosis and improve energy metabolism of cells. Increasing evidence has shown that NRG4 plays an important role in epithelial cell-related diseases, cardiovascular diseases, tumors and glycolipid metabolic diseases, and therefore it could be a potential therapeutic target of some diseases.

Keywords: neuregulin 4; ErbB4; biological function

神经调节蛋白 (neuregulin, NRG) 是一类在神经系统、心脏、乳腺等组织和器官中介导细胞与细胞间信号转导的表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF), 哺乳类动物 NRGs 家族拥有四种 NRG 因子, 即 NRG1、NRG2、NRG3 和 NRG4, 均可编码相应的 EGF 类似区域与 ErbBs (v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homologs) 胞外区域结合, 引起 ErbBs 的二聚化, 最终激活细胞内的信号转导, 如磷脂酰肌醇激酶 3 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K) 和促细胞分裂蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路等, 具有刺激细胞增殖、抗细胞凋亡或刺激细胞修复等功

能^[1]。NRG4 是 NRG 家族的成员之一, 与 NRGs 其它家族成员类似, 其 NH2 端包含带有胞外 EGF 类似区域的跨膜结构^[2], 它可特异地与细胞膜表面的 ErbB4 受体结合^[3, 4], 激活细胞内的信号转导, 发挥其刺激细胞增殖、抑制细胞凋亡以及改善细胞能量代谢等生理学功能^[5-7]。本文对近年来国内外关于 NRG4 生物学功能的研究进展作一综述。

1 NRG4组织分布与结构功能

NRG4 是 NRG 家族成员之一, 位于人类染色体 15q24, 和其它 NRG 家族成员 (NRG1、2、3) 一样, 在神经系统均有表达, 但仅 NRG4 表达在一些

特定的外周组织^[8], 如肺、肝脏、心脏以及脂肪等, 其中以棕色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 表达水平最高^[9]。NRGs 家族成员多具有亚型, NRG1~3 的亚型较早被人发现^[10-12], 之后也有研究证实, NRG4 有 5 种基因产物, 即 NRG4A1、NRG4A2、NRG4B1、NRG4B2 和 NRG4B3, 每一种都拥有相同的翻译起始位点, 其中两种变异体——NRG4A1 和 NRG4A2, 拥有相同的跨膜区域并且编码具有相同生物活性的片段, 该片段包括了 EGF 结合位点, 因而具有生物学活性^[13], 其余 3 种 NRG4 变异体 (NRG4B1~3) 由于缺失了用于跨膜的第 6 个外显子而只能存在于细胞内, 并且因为缺失了 C 末端 2 个半胱氨酸而仅具有部分 EGF 结构, 因此不能与相应受体结合, 而缺乏相应的生物学活性^[14]。

NRG4 在相应组织的细胞中生成, 经蛋白水解后, 拥有 EGF 结合位点的胞外片段作为活性蛋白释放入血, 以自分泌、旁分泌或者是内分泌形式作用于靶器官^[9]。不同的 NRGs 呈现出明显的特异性, 与不同的 ErbB 受体有不同的亲和力, 最终产生不同的二聚模式、信号和细胞响应^[15, 16], NRG4 只特异性地与 ErbB4 结合^[3, 4], ErbB4 形成的同源二聚体是介导 NRG4 信号路径的有效受体, 可通过下游 PI3K/Akt、STAT5 磷酸化等路径影响细胞凋亡和脂质代谢等功能^[7, 17]。

2 NRG4的合成与调控

早期研究认为, NRG4 多表达在胰腺, 在肌肉组织中也有少量表达^[8], 近年来研究证实, BAT 是 NRG4 含量最为丰富的组织, NRG4 主要由棕色脂肪细胞合成并分泌, 而在 BAT 血管基质中 NRG4 含量较少甚至无法检测^[7, 18]。BAT 是体内一类较为特殊的脂肪组织, 可通过解耦联蛋白 -1 (uncoupling protein 1, UCP1) 产热释放多余的能量以调节机体糖脂代谢^[19], 但成人体内 BAT 已大面积退化, 目前可检测的成人体内 BAT, 可能是白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT) 棕色化后形成的“米色脂肪组织 (brite adipose tissue)”^[20, 21]。WAT 可分为皮下和内脏 WAT, 主要用于脂质积聚以及能量储存, 可在冷刺激、药物等干预下发生棕色样变成米色脂肪, 米色脂肪拥有与 BAT 相似的形态与功能, 而皮下 WAT 棕色化的能力高于内脏 WAT^[19, 21, 22]。NRG4 在不同脂肪组织中的分布与产热相关基因 *Cidea* 等

类似, 即 BAT 中表达最高, 皮下 WAT 次之, 内脏 WAT 最少, 但都明显高于其它外周组织, 如胰腺、肺和肝脏等^[7, 18, 22]。寒冷刺激是导致脂肪组织中 NRG4 生成增多的有效干预方式, 但在短期快速冷暴露情况下, 只有 BAT 中 NRG4 升高明显, 而在长期冷暴露条件下, BAT 和皮下 WAT 中 NRG4 均有升高, 这可能是 BAT 中交感神经分布较为密集, 对环境刺激更为敏感所致^[7, 23]。有研究指出, 随着棕色脂肪细胞的分化成熟, NRG4 生成也明显增多, 提示 NRG4 的合成与脂肪细胞分化成熟水平密切相关; 去甲肾上腺素干预已分化成熟的棕色脂肪细胞和白色脂肪细胞, 只有棕色脂肪细胞中的 NRG4 表达升高, 但是在 TNF α 和 IL-1 β 干预下, 两种脂肪细胞中的 NRG4 均减少^[7]。以上研究结果表明, NRG4 在脂肪组织中的产生存在部位差异, 并受到神经内分泌和免疫等多因素调控, 进一步研究其分泌调控的机制, 有助于阐明其生理功能及其在疾病中的作用。

3 NRG4的生物学功能

3.1 促进细胞增殖

细胞增殖是指细胞以分裂的方式进行增殖, 包括有丝分裂、无丝分裂、减数分裂等, 是生物体重要的生命特征, 而肿瘤的主要特征就是细胞的恶性增殖, 它与肿瘤的侵袭性密切相关^[24]。多项研究证实, NRG4 可与其特异性受体 ErbB4 结合, 引起细胞增殖, 其中包括恶性淋巴瘤中的淋巴细胞^[5] 和口腔黏膜白斑中的上皮细胞^[25], 并且可促进神经细胞突触形成^[18], 其引起细胞增殖的作用主要通过激活 MAPK 信号通路^[8], 但下游通路尚不明确。

3.2 抑制细胞凋亡

细胞凋亡是程序性细胞死亡的一种形式, 用于清除多余或者衰老的细胞, 以维持细胞在数量、形态或者功能上的平衡, 细胞凋亡调控异常可能会导致个体不能正常发育、严重畸形、不能存活或肿瘤的发生, 与许多疾病的发生密切相关, 凋亡最常见的就是炎症因子引起的细胞凋亡, 其中常见的有肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 和干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)^[26]。当细胞被 IFN- γ 和 TNF 干扰时, 胞内核转录因子 κ B (nuclear transcription factor κ B, NF- κ B) 被激活, 引发“瀑布效应”, 从而引起大量炎症因子释放, 最终导致细胞凋亡, 其中 TNF α 被认为是起始刺激因子^[27-29]。NRG4 与其特

异性受体 ErbB4 结合后，通过使 Src 磷酸化，激活下游 PI3K/Akt 途径，拮抗 TNF 和 IFN- γ 引起的大量炎症因子释放，从而阻止细胞凋亡^[30,31]。

3.3 抑制肝细胞脂合成代谢

肝细胞的脂质代谢包括输入、合成、氧化和输出四个过程，受到大量的脂代谢酶和核受体调控，其中脂质合成主要受肝脏 X 受体 (liver X receptor, LXR)、胆固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol regulatory element binding protein 1c, SREBP-1c)、脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FASN)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC)、固醇酰辅酶 A 脱氢酶 1 (stearoyl-coenzyme A desaturase 1, SCD1) 等调节，LXR 活性增强能够上调 SREBP-1c 表达，而 SREBP-1c 作为转录调控因子，可激活下游多种脂肪酸合成酶转录，包括 FASN、ACC 和 SCD1，最终增加肝脏的脂质合成^[32]。研究指出，NRG4 的主要作用位点为肝细胞，它在 BAT 中合成经蛋白酶水解，胞外活性蛋白片段裂解，经血液循环到达肝脏，与肝细胞表面 ErbB4 受体结合，激活细胞内 STAT5 使其磷酸化，抑制 LXR 活性，使 SREBP-1c 表达明显降低，最终减少与脂肪酸合成密切相关的 ACC、FASN、SCD1 转录，从源头抑制肝细胞的脂质合成，但其对脂质摄入、氧化、输出等环节并没有明显影响^[7]。

4 NRG4与疾病的关系

4.1 NRG4与肿瘤

肿瘤已经成为危害人类健康的主要疾病之一，NRG4 亦参与多种肿瘤相关疾病。在不同细胞来源的肿瘤中，NRG4 的表达不尽相同：(1) 在胃肠道肿瘤中，肿瘤组织中的 NRG4 及其受体 ErbB4 的表达水平明显降低^[33]；(2) 在胃肠道的恶性淋巴瘤中，NRG4 的表达水平明显增高^[5]；(3) 在人类原发乳腺癌以及乳腺导管癌中均有 NRG4 表达，且在高度恶性肿瘤中表达更高^[34,35]；(4) 在前列腺肿瘤中，NRG4 的表达水平亦是明显上升^[14]；(5) 在膀胱迁移细胞癌中，NRG4 的表达水平并不高^[36]。由此可见，在不同部位的肿瘤中，甚至是同一部位不同细胞来源的肿瘤中，NRG4 的表达水平都不相同，根据其表达水平的不同，我们可以推测 NRG4 在不同肿瘤中的功能并不完全一致，如在胃肠道淋巴瘤中，NRG4 可通过刺激淋巴细胞增殖影响肿瘤的侵袭性^[5]，而在前列腺肿瘤中，NRG4 的 5 个变异体

NRG4A1、NRG4A2 和 NRG4B1~3 在细胞中的分布不同，其中 NRG4A2 和 NRG4B1~3 多位于细胞质，NRG4A1 则位于细胞膜，但只有具备跨膜区域的 NRG4A1 和 NRG4A2 可增加细胞的迁移能力，提高前列腺肿瘤的侵袭能力^[14,37]；研究指出，氧化平衡指数与直肠癌发生密切相关，而与氧化应激相关的饮食和生活方式可以影响 NRG4 的表达水平，提示 NRG4 与结肠癌发生可能相关，但机制未明^[38,39]。上述结果显示，NRG4 可通过影响细胞增殖、细胞运动能力等途径影响肿瘤的发生和发展，具体机制还需进一步探讨。

4.2 NRG4与糖脂代谢紊乱

研究指出，冷刺激诱导下 BAT 活性增加可增强机体对外周甘油三酯的清除能力^[40]，这是由于 BAT 中 NRG4 合成后水解为活性蛋白，可分泌至肝脏，改善肝脏脂质代谢，增加机体对胰岛素的敏感性^[7]。动物实验表明，过表达 NRG4 小鼠可抵抗高脂饮食引起的肥胖，并且可通过抑制脂质合成和 PPAR- γ 诱导的脂质堆积减轻高脂饮食引起的肝脏脂肪变性^[41]。人群调查亦显示，外周血中 NRG4 的水平与非酒精性脂肪肝的严重程度呈负相关^[42]。此外，NRG4 可通过减少炎症因子表达，改善机体对胰岛素的敏感性^[41]，事实上，胰腺中也有 NRG 家族成员存在，外源性 NRG4 可以刺激胰岛素分泌，而糖耐量受损或 2 型糖尿病小鼠的 WAT 中 NRG4 表达水平明显低于正常小鼠^[43]，但流行病学调查显示糖尿病患者血清中的 NRG4 含量明显高于正常对照组^[44,45]，这可能是机体的代偿反应。外周血中 NRG4 水平与肥胖人群中代谢综合征发生率和动脉粥样硬化严重程度呈负相关^[46,47]。以上研究结果表明，NRG4 参与机体糖脂代谢的调节，在维护机体能量及代谢平衡中发挥着重要的作用。由于成人体内 BAT 已广泛退化^[48]，仅少量存在，而机体广泛存在的 WAT，在寒冷、药物等刺激下可转化为米色脂肪^[23,49]，合成和分泌 NRG4 的能力大大提升，因此研究白色脂肪棕色化机制，将有助于 NRG4 作为糖脂代谢相关疾病治疗靶点的研究。

4.3 NRG4与上皮细胞相关疾病

研究显示，在新生儿坏死性小肠结肠炎中，NRG4 可通过 Src 通路抑制肠道上皮细胞凋亡，减少疾病的发生，并促进肠道功能恢复^[6]，而在另一种肠道上皮细胞疾病——炎症性肠病中，NRG4/ErbB4 则可通过 PI3K/Akt 途径，拮抗由 TNF α 和

IFN- γ 引起的结肠上皮细胞凋亡, 降低疾病严重程度, 但 NRG4 并不影响上皮细胞的增殖或者迁移^[17]。而在口腔上皮细胞相关疾病中, 有恶变倾向的口腔黏膜白斑疾病的主要病理改变是上皮细胞过度或异常增生^[50, 51], 其黏膜白斑损伤部位 ErbB4 表达量较正常人群明显上升, 而在口腔扁平苔癣患者中, 其病变部位 NRG4 表达量亦明显高于正常人群^[25]。

4.4 NRG4与心脏疾病

心肌缺血是指心脏的血液灌注减少, 导致心脏供氧减少, 心肌能量代谢不正常, 不能支持心脏正常工作的一种病理状态, 它可导致不可逆的心肌损伤。研究表明, 肝脏对缺血的心肌有保护作用, 肝脏合成并分泌包括 NRG4 在内的多种因子, 通过血液循环导到心脏, 作用于心肌细胞, 减轻心肌缺血对心肌细胞的损害作用, 而在用 siRNA 沉默肝脏的 NRG4 基因后, 由于心肌缺血导致的心肌细胞损伤明显加重^[52, 53]。

5 展望

目前越来越多的研究显示, NRG4 参与机体多种生物功能的调节, 如细胞增殖、凋亡、肿瘤细胞运动及侵袭等, 而其对机体的糖脂代谢亦拥有强大的调节功能, 对机体能量代谢稳态的维持具有不可或缺的作用, 这为临床治疗提供了新的方向。虽然已知 NRG4 在 BAT 及米色脂肪中含量最为丰富, 但其生成及分泌调控机制尚不明确, 因此, 深入探讨 NRG4 作用机制, 研究影响其生成及分泌调控的有效激动剂, 将有望实现其多样的生物功能, 更有利于指导临床, 为疾病的预防与早期治疗提供科学依据。

* * *

致谢: 本综述受国家自然科学基金 (No. 81273064) 和南京市卫生局重点项目 (No. ZKX-14011) 资助。

参考文献

- Wansbury O, Panchal H, James M, Parry S, Ashworth A, Howard B. Dynamic expression of ErbB pathway members during early mammary gland morphogenesis. *J Invest Dermatol* 2008; 128(4): 1009–1021.
- Guma A, Martinez-Redondo V, Lopez-Soldado I, Canto C, Zorzano A. Emerging role of neuregulin as a modulator of muscle metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 298(4): E742–E750.
- Hobbs SS, Coffing SL, Le AT, Cameron EM, Williams EE, Andrew M, Blommel EN, Hammer RP, Chang H, Riese DJ 2nd. Neuregulin isoforms exhibit distinct patterns of ErbB family receptor activation. *Oncogene* 2002; 21(55): 8442–8452.
- Warren CM, Landgraf R. Signaling through ERBB receptors: multiple layers of diversity and control. *Cell Signal* 2006; 18(7): 923–933.
- Ebi M, Kataoka H, Shimura T, Hirata Y, Mizushima T, Mizoshita T, Tanaka M, Tsukamoto H, Ozeki K, Tanida S, Kamiya T, Inagaki H, Joh T. The role of neuregulin4 and HER4 in gastrointestinal malignant lymphoma. *Mol Med Rep* 2011; 4(6): 1151–1155.
- McElroy SJ, Castle SL, Bernard JK, Almohazey D, Hunter CJ, Bell BA, Al Alam D, Wang L, Ford HR, Frey MR. The ErbB4 ligand neuregulin-4 protects against experimental necrotizing enterocolitis. *Am J Pathol* 2014; 184(10): 2768–2778.
- Wang GX, Zhao XY, Meng ZX, Kern M, Dietrich A, Chen Z, Cozacov Z, Zhou D, Okunade AL, Su X. The brown fat-enriched secreted factor Nrg4 preserves metabolic homeostasis through attenuating hepatic lipogenesis. *Nat Med* 2014; 20(12): 1436–1443.
- Harari D, Tzahar E, Romano J, Shelly M, Pierce JH, Andrews GC, Yarden Y. Neuregulin-4: a novel growth factor that acts through the ErbB-4 receptor tyrosine kinase. *Oncogene* 1999; 18(17): 2681–2689.
- Pfeifer A. NRG4: An endocrine link between brown adipose tissue and liver. *Cell Metab* 2015; 21(1): 13–14.
- Carteron C, Ferrer-Montiel A, Cabedo H. Characterization of a neural-specific splicing form of the human neuregulin 3 gene involved in oligodendrocyte survival. *J Cell Sci* 2006; 119(Pt 5): 898–909.
- Harrison PJ, Law AJ. Neuregulin 1 and schizophrenia: genetics, gene expression, and neurobiology. *Biol Psychiatry* 2006; 60(2): 132–140.
- Yamada K, Ichino N, Nishii K, Sawada H, Higashiyama S, Ishiguro H, Nagatsu T. Characterization of the human NTAK gene structure and distribution of the isoforms for rat NTAK mRNA. *Gene* 2000; 255(1): 15–24.
- Hayes NV, Newsam RJ, Baines AJ, Gullick WJ. Characterization of the cell membrane-associated products of the neuregulin 4 gene. *Oncogene* 2007; 27(5): 715–720.
- Hayes NV, Blackburn E, Smart LV, Boyle MM, Russell GA, Frost TM, Morgan BJT, Baines AJ, Gullick WJ. Identification and characterization of novel spliced variants of neuregulin 4 in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13(11): 3147–3155.
- Saito T, Okada S, Ohshima K, Yamada E, Sato M, Uehara Y,

- Shimizu H, Pessin JE, Mori M. Differential activation of epidermal growth factor (EGF) receptor downstream signaling pathways by betacellulin and EGF. *Endocrinology* 2004; 145(9): 4232–4243.
- 16 Sweeney C, Lai C, Riese DJ, Diamonti AJ, Cantley LC, Carraway KL. Ligand discrimination in signaling through an ErbB4 receptor homodimer. *J Biol Chem* 2000; 275(26): 19803–19807.
- 17 Bernard JK, McCann SP, Bhardwaj V, Washington MK, Frey MR. Neuregulin-4 is a survival factor for colon epithelial cells both in culture and *in vivo*. *J Biol Chem* 2012; 287(47): 39850–39858.
- 18 Rosell M, Kaforou M, Frontini A, Okolo A, Chan YW, Nikolopoulou E, Millership S, Fenech ME, MacIntyre D, Turner JO, Moore JD, Blackburn E, Gullick WJ, Cinti S, Montana G, Parker MG, Christian M. Brown and white adipose tissues: intrinsic differences in gene expression and response to cold exposure in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2014; 306(8): E945–E964.
- 19 Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell* 2014; 156(1–2): 20–44.
- 20 Sharp LZ, Shinoda K, Ohno H, Scheel DW, Tomoda E, Ruiz L, Hu H, Wang L, Pavlova Z, Gilsanz V, Kajimura S. Human BAT possesses molecular signatures that resemble beige/brite cells. *PLoS One* 2012; 7(11): e49452.
- 21 Wu J, Bostrom P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH, Khandekar M, Virtanen KA, Nuutila P, Schaart G, Huang K, Tu H, van Marken Lichtenbelt WD, Hoeks J, Enerback S, Schrauwen P, Spiegelman BM. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* 2012; 150(2): 366–376.
- 22 Shan T, Xiong Y, Zhang P, Li Z, Jiang Q, Bi P, Yue F, Yang G, Wang Y, Liu X, Kuang S. Lkb1 controls brown adipose tissue growth and thermogenesis by regulating the intracellular localization of CRTC3. *Nat Commun* 2016; 7: 12205.
- 23 Seki T, Hosaka K, Lim S, Fischer C, Honek J, Yang Y, Andersson P, Nakamura M, Naslund E, Yla-Herttuala S, Sun M, Iwamoto H, Li X, Liu Y, Samani NJ, Cao Y. Endothelial PDGF-CC regulates angiogenesis-dependent thermogenesis in beige fat. *Nat Commun* 2016; 7: 12152.
- 24 Leal MF, Ribeiro HF, Rey JA, Pinto GR, Smith MC, Moreira-Nunes CA, Assumpcao PP, Lamarao LM, Calcagno DQ, Montenegro RC, Burbano RR. YWHAE silencing induces cell proliferation, invasion and migration through the up-regulation of CDC25B and MYC in gastric cancer cells: new insights about YWHAE role in the tumor development and metastasis process. *Oncotarget* 2016; 7(51): 85393–85410.
- 25 Kobayashi H, Kumagai K, Gotoh A, Eguchi T, Yamada H, Hamada Y, Suzuki S, Suzuki R. Upregulation of epidermal growth factor receptor 4 in oral leukoplakia. *Int J Oral Sci* 2013; 5(1): 14–20.
- 26 Messer JS. The cellular autophagy/apoptosis checkpoint during inflammation. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74(7): 1281–1296.
- 27 Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell* 2014; 157(5): 1013–1022.
- 28 Nunes T, de Souza HS. Inflammasome in intestinal inflammation and cancer. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 654963.
- 29 Wesemann DR, Benveniste EN. STAT-1 alpha and IFN-gamma as modulators of TNF-alpha signaling in macrophages: regulation and functional implications of the TNF receptor 1:STAT-1 alpha complex. *J Immunol* 2003; 171(10): 5313–5319.
- 30 Feng Y, Ralls MW, Xiao W, Miyasaka E, Herman RS, Teitelbaum DH. Loss of enteral nutrition in a mouse model results in intestinal epithelial barrier dysfunction. *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1258: 71–77.
- 31 Feng Y, Teitelbaum DH. Epidermal growth factor/TNF-alpha transactivation modulates epithelial cell proliferation and apoptosis in a mouse model of parenteral nutrition. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302(2): G236–G249.
- 32 Musso G, Gambino R, Cassader M. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Prog Lipid Res* 2009; 48(1): 1–26.
- 33 Nielsen TO, Friis-Hansen L, Poulsen SS, Federspiel B, Sorensen BS. Expression of the EGF family in gastric cancer: downregulation of HER4 and its activating ligand NRG4. *PLoS One* 2014; 9(4): e94606.
- 34 Dunn M, Sinha P, Campbell R, Blackburn E, Levinson N, Rampaul R, Bates T, Humphreys S, Gullick WJ. Co-expression of neuregulins 1, 2, 3 and 4 in human breast cancer. *J Pathol* 2004; 203(2): 672–680.
- 35 Marshall C, Blackburn E, Clark M, Humphreys S, Gullick WJ. Neuregulins 1-4 are expressed in the cytoplasm or nuclei of ductal carcinoma (*in situ*) of the human breast. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 96(2): 163–168.
- 36 Amsellem-Ouazana D1, Bièche I, Tozlu S, Botto H, Debré B, Lidereau R. Gene expression profiling of ERBB receptors and ligands in human transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 2006; 175(3Pt1): 1127–1132.
- 37 Hayes NV, Blackburn E, Boyle MM, Russell GA, Frost TM, Morgan BJ, Gullick WJ. Expression of neuregulin 4 splice variants in normal human tissues and prostate cancer and their effects on cell motility. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18(1): 39–49.
- 38 Slattery ML, Lundgreen A, Welbourn B, Wolff RK, Corcoran C. Oxidative balance and colon and rectal cancer: interaction

- of lifestyle factors and genes. *Mutat Res* 2012; 734(1–2): 30–40.
- 39 Slattery ML, Pellatt DF, Mullany LE, Wolff RK. Differential gene expression in colon tissue associated with diet, lifestyle, and related oxidative stress. *PLoS One* 2015; 10(7): e0134406.
- 40 Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, Hohenberg H, Ittrich H, Peldschus K, Kaul MG, Tromsdorf UI, Weller H, Waurisch C, Eychmuller A, Gordts PLSM, Rinninger F, Bruegelmann K, Freund B, Nielsen P, Merkel M, Heeren J. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med* 2011; 17(2): 200–205.
- 41 Ma Y, Gao M, Liu D. Preventing high fat diet-induced obesity and improving insulin sensitivity through neuregulin 4 gene transfer. *Sci Rep* 2016; 6: 26242–26251.
- 42 Dai YN, Zhu JZ, Fang ZY, Zhao DJ, Wan XY, Zhu HT, Yu CH, Li YM. A case-control study: Association between serum neuregulin 4 level and non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 2015; 64(12): 1667–1673.
- 43 South JC, Blackburn E, Brown IR, Gullick WJ. The neuregulin system of ligands and their receptors in rat islets of langerhans. *Endocrinology* 2013; 154(7): 2385–2392.
- 44 Chen LL, Peng MM, Zhang JY, Hu X, Min J, Huang QL, Wan LM. Elevated circulating Neuregulin4 level in patients with diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2017; 33(4): e2870. doi: 10.1002/dmrr.2870.
- 45 Kang YE, Kim JM, Choung S, Joung KH, Lee JH, Kim HJ, Ku BJ. Comparison of serum Neuregulin 4 (Nrg4) levels in adults with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus and controls without diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2016; 117: 1–3.
- 46 Cai C, Lin M, Xu Y, Li X, Yang S, Zhang H. Association of circulating neuregulin 4 with metabolic syndrome in obese adults: a cross-sectional study. *BMC Med* 2016; 14(1): 165–173.
- 47 Jiang J, Lin M, Xu Y, Shao J, Li X, Zhang H, Yang S. Circulating neuregulin 4 levels are inversely associated with sub-clinical cardiovascular disease in obese adults. *Sci Rep* 2016; 6: 36710–36717.
- 48 Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, Kuo FC, Palmer EL, Tseng YH, Doria A, Kolodny GM, Kahn CR. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med* 2009; 360(15): 1509–1517.
- 49 Kim M, Goto T, Yu R, Uchida K, Tominaga M, Kano Y, Takahashi N, Kawada T. Fish oil intake induces UCP1 upregulation in brown and white adipose tissue via the sympathetic nervous system. *Sci Rep* 2015; 5: 18013–18024.
- 50 Sitheeque MA, Samaranayake LP. Chronic hyperplastic candidosis/candidiasis (candidal leukoplakia). *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14(4): 253–267.
- 51 van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol* 2009; 45(4–5): 317–323.
- 52 Liu SQ, Tefft BJ, Roberts DT, Zhang LQ, Ren Y, Li YC, Huang Y, Zhang D, Phillips HR, Wu YH. Cardioprotective proteins upregulated in the liver in response to experimental myocardial ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 303(12): H1446–H1458.
- 53 Liu SQ, Tefft BJ, Zhang B, Liu C, Wu YH. Regulation of hepatic cell mobilization in experimental myocardial ischemia. *Cell Mol Bioeng* 2011; 4(4): 693–707.