

The Research Progress of Neuregulin 1 in the Reproductive Development

Dawei Liu, Xinhong Luan

College of Animal Husbandry and Veterinary of Shenyang Agricultural University, Shenyang Liaoning
Email: 2689558571@qq.com, xhluan@163.com

Received: Jul. 23rd, 2015; accepted: Aug. 6th, 2015; published: Aug. 10th, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Neuregulin 1 (NRG1) is one of Neuregulin proteins, a kind of epidermal growth factor encoded by the selective shear of NRG1 gene, which promotes proliferation, differentiation and survival of neurons, muscle and other cells. NRG 1 has an important regulating function on female reproductive endocrine. The research development of NRG1 in the field of animal reproductive endocrine is described on the hypothalamus, pituitary and ovarian in this paper.

Keywords

Neuregulin 1, Hypothalamus, Pituitary, Ovarian, Reproductive Endocrine

神经调节蛋白1在生殖发育中的研究进展

刘大伟, 栾新红

沈阳农业大学, 畜牧兽医学院, 辽宁 沈阳
Email: 2689558571@qq.com, xhluan@163.com

收稿日期: 2015年7月23日; 录用日期: 2015年8月6日; 发布日期: 2015年8月10日

摘要

神经调节蛋白1 (NRG1)是神经调节蛋白家族成员之一, 是NRG1基因选择性剪切编码的一种表皮生长

因子, 具有促进神经元和肌细胞等多种细胞的增殖、分化及存活功能。*NRG1*对雌性动物的生殖、内分泌功能具有重要的调节功能。本文就*NRG1*在动物生殖内分泌中的研究进展, 从下丘脑、垂体和卵巢三个水平进行综述。

关键词

神经调节蛋白1, 下丘脑, 垂体, 卵巢, 生殖内分泌

1. 神经调节蛋白 1 及其作用机制

1.1. 神经调节蛋白 1 概述

神经调节蛋白(Neuregulins)是表皮生长因子(EGF)大家族中一类相关蛋白质群的总称, 至少包括 12 个成员, 如神经分化因子、乙酰胆碱受体诱导活性因子、胶质细胞生长因子等, 因为首先在神经科学领域发现而得名[1]。

神经调节蛋白 1 (Neuregulin 1, *NRG1*)是神经调节蛋白家族成员之一, 又称作胶质细胞生长因子(GGF), 是一种调节和保护性生长因子, 对神经系统的发育和维持有重要作用。*NRG1* 基因通过特异性的剪切后, 产生具有生物活性的神经调节蛋白 1, 最早的文献记录显示它是从乳腺肿瘤细胞中发现的[2]。有人从牛脑和垂体中提取, 体外条件下具有提高有丝分裂活性的作用[3]。

神经调节蛋白 1 由 4 个独立基因编码。胞外结构域的多种剪切和 5'侧翼调节序列使得 *NRG1* 基因产生至少 6 种蛋白产物, 亚型达到 30 多种, 其中主要选择性剪切编码形成 4 个亚型:I 型 *NRG1*~IV 型 *NRG1*, 其中最主要的 I 型~III 型 3 种不同的 *NRG1* 亚型, 是通过几种启动子和选择性剪切分别表达出来[4]。如图 1 所示。

所有类型的 *NRG1* 都含有 α 、 β 两种 EGF 样结构域。表皮生长因子(EGF)样受体结合域是 ErbB 受体酪氨酸激酶活化的必要条件, 位于胞外结构域的近膜区。每种蛋白类型都具有一个特征性的氨基末端区域, 不同 *NRG1* 亚型具有不同的功能。与可溶性 *NRG1* 不同, 覆膜性 *NRG1* 经研究确认包括了跨膜结构和细胞内结构域(ICD)。ICD 进一步可以分为 ICD a、b 和 c。连接细胞外结构和跨膜结构的部分称为柄(S), 进一步可分为 S1、S2 和 S4。大多数 *NRG1* 亚型是作为锚定于膜的前体被合成的, 又称为 *NRG1* 前体蛋白。*NRG1* 的结构域 C 端附近, 前体蛋白发生水解, 变成具有生物功能活性的 *NRG1*。*NRG1* 前体蛋白水解, 释放可溶性结构, 激活自分泌或旁分泌通路。然而 S3 含有的终止密码子导致细胞外物质向细胞质内输送的终结, 这也是非膜性锚定 *NRG1* 的 α 和 β 两种结构域的形成。有报道称 β 亚型 *NRG1* 的生物学活性是 α 亚型的 10~100 倍。

1.2. *NRG1* 和 ErbB 受体概述

ErbB 蛋白属于受体酪氨酸蛋白激酶家族的一员, 由 4 个基因, 即 ErbB1~ErbB4 编码, *NRG* 信号主要经由 ErbB2~ErbB4 传导。*NRG1* 作为 ErbB 的激动剂或配体, 与 ErbB 受体结合激活形成二聚体复合物, 以旁分泌或自分泌机制参与高等动物脑功能活动。ErbB 受体之间形成同二聚体(ErbB3/ErbB3 和 ErbB4/ErbB4)或异二聚体形式, 再与配体 *NRG1* 发生反应[5]。如图 2 所示: 这就是 *NRG1*/ErbBs 信号系统。*NRG1* 通过 *NRG1*/ErbBs 信号系统及其下游信号通路发挥作用。配体受体复合物的互相作用可激活下游信号, 通过 MEK/ERK、PI3K/ Akt、Src/FAK、NO 合酶等多种信号通路发挥作用。

NRG1 的生物学功能主要是由同源受体 ErbB4 和 ErbB3/ErbB2 以及异源二聚体 ErbB4/ErbB2 复合物介导完成。人们在人乳腺癌细胞系培养基中提取到 *NRG1*, 发现它是一种生长因子, 可以特异性激活酪

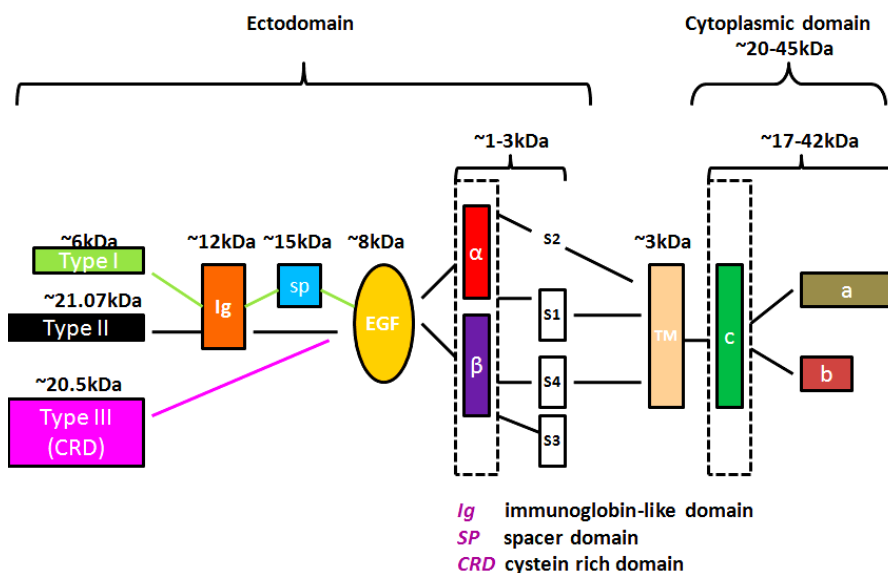


Figure 1. The schematic diagram of I-III types of NRG1 (the forming of three types of NRG1 by multiple splicing)
图 1. I-III 型 NRG1 示意图(NRG1 经多重剪接形成三种类型 NRG1)

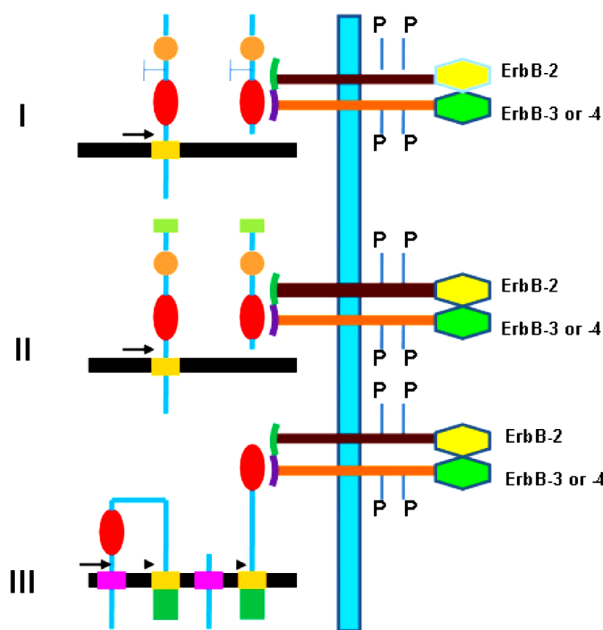


Figure 2. Type I-III NRG1 interaction with their receptors (the proteolytic site is indicated by the arrows)
图 2. I-III 型 NRG1 与受体的相互作用(箭头所示为蛋白水解位点)

氨酸激酶受体 ErbB2。有科学家从大脑和牛的垂体前叶中纯化得到 II 型 NRG1，发现它可以促进施旺氏细胞的有丝分裂活性。NRG1 和受体互作启动了复杂的细胞内信号级联反应，激活了细胞外信号调节激酶(ERK)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT)、促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)、磷脂酰肌醇 3-激酶 γ (PIK3 γ)、蛋白激酶 C (PKC)和 Janus 激酶信号转导转录激活因子(JAK-STAT)。信号传导途径的活化也引起了诸如致癌性发育、细胞周期停滞、细胞增殖、分化和抗凋亡等活动。Sharif 等人研究报道称， β 1 型 NRG1 通

过 ErbB1/ErbB3 异二聚体复合物介导了大脑皮质星形胶质细胞的有丝分裂[6]。

2. 神经调节蛋白 1 与生殖发育

2.1. 神经调节蛋白 1 对下丘脑分泌活动的影响

NRG1 受体存在于下丘脑中星形细胞, 促进其分泌前列腺素 E₂, 刺激黄体生成素释放激素(LHRH)的释放。性发育和繁殖性能取决于一系列神经内分泌神经元的完整性。这些神经元可以产生 LHRH。下丘脑星形胶质细胞和 LHRH 神经元紧密相关。大部分 LHRH 细胞膜附近分布着星形胶质细胞, 尤其是神经轴突。星形胶质细胞一方面影响着 LHRH 重构神经轴突传递位点; 另一方面通过影响营养和神经活性因子, 调节 LHRH 释放。营养因子在细胞间互动机制上起着关键作用, 而星形胶质细胞借此调控 LHRH 神经元的功能。ErbB 受体信号传导不只是单一的一个配体激活一个受体, 最近的研究发现它还包括相关受体的募集。和其它 ErbB 受体相比, ErbB2 是一个辅助因子, 其募集也受到受体 ErbB1、ErbB3 和 ErbB4 的调节。星形胶质细胞是编码 ErbB2 和 ErbB4 的基因表达的主要区域, 并早于或伴随着雌性性成熟的出现而在大脑内选择性增加该受体的表达, 这主要依赖于性腺, 其次是性激素的调节。NRGs 和 TGF α 都可以有效刺激星形胶质细胞释放 PGE₂。PGE₂ 是一种前列腺素, 可以介导神经递质, 诱导 LHRH 的释放。

Vincent Prevot 等研究表明, 单个星形胶质细胞功能的完整性构成了整个神经元 - 神经胶质细胞系统, 也维持着发育过程和性成熟的正常。这样的结果也揭示出初情期发生的调节是依靠细胞间的信号传导机制完成的。在初情期发生时, 如果神经元 - 神经胶质细胞传导通路紊乱会导致中枢神经某些鲜为人知的改变[7]。

神经胶质细胞转化生长因子 α 激活 ErbB1 受体, 是哺乳动物神经内分泌系统调控生殖发育的重要一环。除此之外, ErbB2/ErbB4 受体复合物在下丘脑调控性成熟过程中十分重要。下丘脑星形胶质细胞表达 ERBB2、ERBB4 受体基因, 释放前列腺素 E₂ 来应答神经调节蛋白。前列腺素 E₂ 作用于神经内分泌的神经元, 刺激黄体生成素释放激素, 这样神经肽调控着性发育。转化生长因子 α 和 NRG 在星形胶质细胞中起协同作用。初情期前, 下丘脑表达 ErbB2 和 ErbB4 的增加和性腺无关; 初情期时其增加又依赖于性激素。

星形胶质细胞受损, NRG-ErbB4/2 信号通路被切断, 会导致性发育延迟, 动物成年后生殖力会出现短暂的缺失。这些可能会与人类原发性青春期延迟综合征有一定关系, 这种综合征是由于促性腺激素缺乏引起, 会导致人的青春期延后, 但成年后生殖能力正常[8]。

让转基因小鼠表达显性阴性 ErbB 受体(DN-ErbB4), 它会阻止 ErbB4 和 ErbB2 依赖活化作用, 转基因小鼠表现出性成熟延后和生殖能力下降, 结果说明, LHRH 释放能力受损。前列腺素 E₂ 介导刺激星形胶质细胞 ErbB 受体对神经元 LHRH 释放的活化作用。下丘脑星形胶质细胞 ErbB4 和 ErbB2 依赖活化作用缺失, 无法对 NRG1 产生的前列腺素 E₂ 做出应答, 导致 LHRH 释放的减少, 表明神经胶质细胞 NRG1 及 ErbB 受体介导青春期 LHRH 分泌的增长。星形细胞 ErbB 受体是青春期产生的必要条件。NRG1-ErbB4/2 受体信号通路对神经元——星形胶质细胞在大脑调控性成熟进程中是必不可少的。早先神经调节蛋白有关神经系统的报道已见诸报端, 尤其是关于大脑皮层、脊髓和下丘脑。在下丘脑中, ARIA (或 NRG1 α/β) 只在与垂体后叶建立映射关系的突触神经元中表达, 那些没有建立关系的神经元中未见有该基因的表达, 这表明下丘脑分泌的神经调节蛋白对垂体的某些功能起到调节作用。此外, NRG1 受体通过旁分泌的刺激作用, 在下丘脑星形胶质细胞内表达活化, 对刺激黄体生成素释放激素(LHRH)分泌、垂体内促性腺激素释放和正常的性成熟至关重要。

NRG1 介导的 ErbB 信号模块是由 ErbB2 和 ErbB4 构成的, 它支配着下丘脑 LHRH 神经元的分泌活动, 是神经胶质 - 神经元通信系统的重要组成部分。受体复合物的激活包括初情期的开始和由类固醇

调节的整个初情期活动。这个结果与 LHRH 的两步法分泌机制相一致：首先一步是星形胶质细胞 ErbB 受体的近分泌-旁分泌刺激，它是通过细胞接触依赖性信号传导通路完成的；第二步是神经活性物质的释放，如 PGE2 能够诱导相邻 LHRH 神经元的分泌活动。除了 NRG 家族信号传导系统，这个机制在 TGF α -ErbB1 信号传导复合物中也发挥作用。ErbB2 密切依赖着 NRG1 和 TGF α -ErbB1 信号传导系统，这两个信号传导在哺乳动物初情期开始的过程高度协调，相互作用[9]。

此外，NRG1 的表达可见于灰质、下丘脑以及小脑。NRG1 可通过激活 ErbBs 受体(酪氨酸激酶受体)，启动抗凋亡程序、促进细胞周期改变和细胞分化，并参与泌乳素(PRL)调节。

2.2. 神经调节蛋白 1 对垂体分泌功能的影响

新近研究发现，NRG1 可表达于垂体促性腺激素细胞，并以旁分泌方式激活催乳素细胞表面受体磷酸化，促进催乳素释放。赵炜疆等为了研究神经调节蛋白-1 的内源性表达变化，使用实时荧光定量 PCR 技术观察 NRG1 亚型和同源受体 ErbB2/4 基因的表达变化。通过 Western blot 在蛋白水平上检测 NRG1 的表达。免疫荧光染色用于鉴定垂体细胞表达 NRG1 和观察 NRG1 的定位、分布，以及 ErbB4 的功能性磷酸化。同时在对恒河猴垂体前叶的 NRG1 和 ErbB4 的共表达研究中显示，NRG1 的亚型，尤其是 III 型 NRG1，在发情周期 E1 和 E2 中具有更高的表达水平，这与同时期 Western blot 的研究结果一致。而免疫荧光染色试验证明了垂体前叶中 NRG1 主要来源于促性腺激素细胞，在发情期 E1 和 E2 中广泛分布于垂体前叶；同时期 ErbB4 开始发生表观磷酸活化。试验中也观察到雄性恒河猴垂体前叶 NRG1 和 ErbB4 阳性细胞的相邻分布现象。由此证明，雌性 Wistar-Furth 大鼠垂体前叶有多种 NRG1 亚型的表达和 NRG1/ErbB4 信号通路的存在，并且与发情期密切相关。此外，NRG1/ErbB4 介导的信号通路还存在于非人类灵长类动物的垂体前叶中[10]。

黄体生成素促性腺激素细胞可以与 ErbB3 阳性细胞形成联系，而 ErbB3 受体经证实定位于催乳素细胞上。综合以上的观察结果可提出一个假说，即 NRG1 存在于促性腺激素细胞，通过与细胞膜 ErbB3 受体相互作用来调节催乳素细胞。因此，垂体内促性腺激素细胞和催乳素细胞部分以间隙连接的方式使得促性腺激素衍生的与膜结合的 III 型 NRG1 与催乳素细胞膜上的 ErbB3 受体结合。这些分子可能增强了 NRG1 和 ErbB 受体之间的作用。例如 ErbB3 和 ErbB4 会产生一系列细胞内信号，并加强 PRL 前体的酶裂解作用。

NRG1 主要在大鼠垂体促性腺激素细胞中表达，并以旁分泌的形式调控 PRL。NRG1 和同源受体 ErbB3/ErbB4 结合介导细胞内和细胞间的物质交换。体外实验可见于该信号通路调控垂体瘤细胞 PRL 的分泌。I 型和 III 型 NRG1 在大鼠垂体前叶表达。促性腺激素细胞对 NRG1 具有趋向性，而催乳素细胞对 ErbB3 受体具有趋向性，二者形成了某种联系。催乳素细胞和促性腺激素细胞通过细胞粘附分子形成联系，细胞粘附分子广泛分布于垂体前叶，包括 L1 细胞粘附分子和神经细胞粘附分子[11]。体外实验发现，促性腺激素细胞分泌 NRG1 调节一种来自垂体促生长激素 GH₃ 细胞、分子量为 18 kDa 的 PRL 分子。

Western blot 试验检测出大量蛋白质，分子量在 30~114 kDa，在促性腺激素 α T3-1 细胞的无血清培养基中可检测到分子量为 70、60 和 45 kDa 的蛋白质。然而通常可见、分子量在 40~25 kDa 的水溶性 NRG1 鲜有观察，表明该前体为 NRG1 在促性腺激素细胞系中的主要形式，也为 NRG1 和相关受体的旁分泌作用提供物质基础。

随后，将分泌 PRL 和 GH 的 GH₃ 细胞与针对 NRG1 预处理的 siRNA 促性腺激素细胞进行混合培养，通过免疫荧光观察发现，针对 NRG1 处理过的 siRNA 显著降低细胞内 NRG1 α/β 的染色强度和共定位现象。在混合培养的 GH₃ 细胞中， α T3-1 细胞中 NRG1 的减少引起 PRL 表达量的降低。在 48 h 内，GH₃ 细胞中一种 18 kDa 的 PRL 蛋白分泌量显著减少，而 23 kDa 的 PRL 和 22 kDa 的 GH 无明显变化。这个

结果, 加上此前关于 III 型 NRG1 主要在促性腺激素细胞的现象, 表明 III 型 NRG1 介导的近分泌机制可能对垂体前叶的 PRL 分泌产生作用。NRG1 可以调节 PRL 酶切结构的释放, 它是 GH₃ 细胞中一种典型的分子, 分子量为 18 kDa。这一过程可能和 NRG1 调节 PRL 特异性裂解酶有关。

重组 NRG1 在大鼠催乳素瘤 GH₃ 细胞中内源性表达, 通过 GH₃ 细胞的自分泌或旁分泌来调节催乳素的分泌。据报道, 大鼠外源性添加 NRG1 可以调控生长激素 GH₃ 细胞 PRL mRNA 表达和分泌, 其中 ErbB 受体已被证实与泌乳素瘤的恶性转化相关[12]。重组 NRG1 能调控大鼠核糖体蛋白 L4 中的催乳素分泌, 也能调控 GH₃ 细胞分泌生长激素, 表明 NRG1 成为新发现的催乳素分泌的调节因子。III 型 NRG1 亚型在 GH₃ 细胞中发生内源性表达, 其内源性表达以及在 GH₃ 细胞中介导的自分泌或旁分泌机制扩展了前人的研究成果, 揭示了 NRG1 是泌乳素瘤诊断中潜在的血清学标志物。

2.3. 神经调节蛋白 1 与卵巢

NRG1 受 LH (黄体生成素) 诱导而激活 EGF 受体 ErbB1/ERK1/2 通路, 影响排卵。NRG1 是以完整分泌的形式存在于卵巢中, 它可能与 ErbB3/ErbB2 复合物结合, 在颗粒细胞和卵丘细胞中表达, 受体是 ErbB3 的配体。NRG1 基因两个转录本在颗粒细胞中表达, III 型 NRG1 在排卵期以 ERK1/2 和 C/EBP 依赖的方式被诱导。在颗粒细胞中, NRG1 选择性刺激 AKT/PKB 的磷酸化(而不是 ERK1/2)。外源性添加 AREG(双调蛋白)后, ERK1/2 的磷酸化显著增强。NRG1 和 AREG 的协调作用增加孕酮的分泌量; 与含有 AREG 而不添加 NRG1 相比, 卵丘卵母细胞在同时有 NRG1 和 AREG 的培养基中, 明显具有更高的发育能力。III 型 NRG1 在排卵期的颗粒细胞中发生诱导作用, 增强了颗粒细胞、卵丘细胞 AREG 诱导的 ERK1/2 磷酸化。NRG1 途径提高增加了 AREG 诱导的孕酮产量, 并通过卵丘细胞依赖机制调节卵细胞成熟。

蛋白印迹试验表明, 在未成熟小鼠卵巢中, NRG1 是以完整分泌的形式在颗粒细胞和卵丘细胞中表达。NRG1 与双调蛋白的协同作用增加孕酮的分泌量。在培养基中添加 NRG1, 卵丘、卵母细胞明显具有更高的发育能力。

J. Mao 等人对卵母细胞成熟期线粒体 DNA 的复制扩增规律进行了研究, 预测通过添加 NRG1 可能会使猪的线粒体 DNA 拷贝数增加并提高卵母细胞的发育能力。结果发现, 从减数分裂 I 偶线期到减数分裂 II 中期, 线粒体 DNA 拷贝数呈增长趋势。生长因子增强了卵母细胞的成熟。NRG1 可以刺激减数分裂 II 中期线粒体复制, 增加线粒体 DNA 拷贝数, 提高孤雌生殖和体外受精胚胎的胚泡百分比。另外, 卵母细胞线粒体 DNA 拷贝数和发育能力有关[13]。

此外, 内分泌器官, 如肾上腺素和胰腺等, 可表达神经调节蛋白。Fluge 等报道发现, 甲状腺细胞培养的细胞系和乳头状瘤也表达了 NRG1 和 ErbB2/ErbB4 受体[14] [15]。

3. 小结

在 PRL 众多调节因子中, NRG1 的研究才刚刚兴起就成了热点。NRG1 和同源受体 ErbB2 的过表达以及共定位有了显著的研究成果, 有望用于控制泌乳素瘤和高泌乳素血症。在 GH₃ 细胞中, 对 NRG1 介导的自分泌或旁分泌机制的研究揭示了它在泌乳素瘤诊断和预后评估中具有重要意义。

神经和内分泌系统共同调节着动物的生殖发育进程, 而越来越多的研究表明, NRG1 介导的信号通路对神经和内分泌系统具有显著的调节作用, 提示利用 NRG1 进行体外干预可能会促进动物生殖发育和生产繁育力。

参考文献 (References)

- [1] 黄鑫, 李宾公, 郑泽琪, 肖坚, 李勇, 李哲 (2011) 神经调节蛋白-1 对糖尿病心肌病大鼠心肌重构的影响. *中国药理学通报*, **11**, 1532-1536.

- [2] Ritch, P.S., Carroll, S.L. and Sontheimer, H. (2005) Neuregulin-1 enhances survival of human astrocytic glioma cells. *Glia*, **51**, 217-228. <http://dx.doi.org/10.1002/glia.20197>
- [3] Lemake, G.E. and Brockes, J.P. (1984) Identification and purification of glial growth factor. *The Journal of Neuroscience*, **4**, 75-83.
- [4] Mei, L. and Xiong, W.C. (2008) Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*, **9**, 437-452. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2392>
- [5] Liu, J. and Kem, J.A. (2002) Neuregulin-1 activates the JAK-STAT pathway and regulates lung epithelial cell proliferation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **27**, 306-313. <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.4850>
- [6] Sharif, A., Duhem-Tonnelle, V., Allet, C., *et al.* (2009) Differential ErbB signaling in astrocytes from the cerebral cortex and the hypothalamus of the human brain. *Glia*, **57**, 362-379. <http://dx.doi.org/10.1002/glia.20762>
- [7] Prevot, V. (2003) Normal female sexual development requires neuregulin-erbB receptor signaling in hypothalamic Astrocytes. *Neuroscience*, **23**, 230-239.
- [8] Grumbach, M.M. and Styne, D.M. (1998) Puberty: Ontogeny, neuroendocrinology, physiology, and disorders. In: *Williams Textbook of Endocrinology*, 9 Edition, WB Saunders, Philadelphia, 1509-1625.
- [9] Ying, J. (1999) Neuregulins signaling via a Glial erbB-2-erbB-4 receptor complex contribute to the neuroendocrine control of mammalian sexual development. *Neuroscience*, **19**, 9913-9927.
- [10] 赵炜疆, 任颂光 (2011) 雌性 Wistar-Furth 大鼠动情期间垂体前叶内源性 neuregulin-1 的表达变化(英文). *南方医科大学学报*, **06**, 921-927.
- [11] Zhao, W., Zhao, X., Peng, S., *et al.* (2010) Expression and localization of cell adhesion molecules in the pituitary of C57BL/6 mice. *Medical College of Shantou University*, **23**, 65-67.
- [12] Vlotides, G., Cooper, O., Chen, Y.H., *et al.* (2009) Neuregulin regulates prolactinoma gene expression. *Cancer Research*, **69**, 4209-4216. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-4934>
- [13] Mao, J., Whitworth, K.M., *et al.* (2012) Regulation of oocyte mitochondrial DNA copy number by follicular fluid, EGF and neuregulin 1 during *in vitro* maturation affects embryo development in pigs. *Theriogenology*, **78**, 887-897. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.04.002>
- [14] Fluge, O., Akslén, L.A., Haugen, D.R., *et al.* (2000) Expression of neuregulins and associations with the ErbB family of tyrosine kinase receptors in papillary thyroid carcinomas. *International Journal of Cancer*, **87**, 763-770. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0215\(20000915\)87:6<763::AID-IJC1>3.0.CO;2-T](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0215(20000915)87:6<763::AID-IJC1>3.0.CO;2-T)
- [15] Mincione, G., Piccirelli, A., Lazzereschi, D., *et al.* (1998) Neuregulin-dependent autocrine loop regulates growth of K-ras but not ErbB-2 transformed rat thyroid epithelial cells. *Journal of Cellular Physiology*, **176**, 383-391. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(199808\)176:2<383::AID-JCP17>3.0.CO;2-4](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(199808)176:2<383::AID-JCP17>3.0.CO;2-4)