



Artículo de revisión

La proteína 7 unida al receptor del factor de crecimiento (GRB7) en cáncer de mama

Growth factor receptor-bound protein 7 (GRB7) in breast cancer

Carolina Bautista Saiz MD^a
Mónica María Mora MD^a
José Fernando Polo MD^b
Luz Dary Gutiérrez Castañeda^c

^a Patología, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Grupo Patología, Célula y Tejido, Bogotá DC, Colombia.

^b Patólogo, Sociedad de Cirugía de Bogotá - Hospital de San José y Hospital Infantil Universitario de San José, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá D.C., Colombia

^c Bacterióloga. M. Sc. PhD, Instituto de investigaciones. Grupo Ciencias Básicas en Salud CBS-FUCS, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Bogotá, DC, Colombia.

RESUMEN

El cáncer de mama debe considerarse como un problema de salud pública ya que es la causa principal de muerte en mujeres en el mundo. Se conoce que es multifactorial y heterogéneo de manera que cada tumor tiene características genéticas y moleculares propias, lo cual se refleja en el comportamiento clínico, respuesta al tratamiento y pronóstico. La proteína 7 unida al receptor del factor de crecimiento (*GRB7*) hace parte de un grupo de proteínas GRB que median la interacción entre receptores tirosina cinasa y proteínas efectoras en algunas vías de señalización involucradas en transducción de señales, migración celular y angiogénesis. Esta proteína es codificada por el gen *GRB7* localizado en el cromosoma 17 en el locus 17q11–21, cerca del gen *ERBB2*, lo que sugiere coamplificación y coexpresión de estos dos genes en el desarrollo del cáncer. Se ha visto que la proteína *GRB7* por sí sola está presente en la biología molecular implícita del cáncer de mama, interviniendo en la proliferación y migración celular facilitando así la invasión y posibles metástasis. Se considera como un factor de mal pronóstico en esta enfermedad.

Palabras clave: *ERBB2*, proteína 7 unida al receptor del factor de crecimiento GRB7, cáncer de mama, transducción de señal.

© 2022 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS.
Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:
Fecha recibido: febrero 8 de 2021
Fecha aceptado: agosto 10 de 2021

Autor para correspondencia:
Luz Dary Gutiérrez
ldgutierrez@fucsalud.edu.co

DOI
10.31260/Repert Med Cir.01217372.1119

ABSTRACT

Breast cancer should be recognized as a public health problem since it is the leading cause of death among women worldwide. It is known to be a multifactorial and heterogenous disease. Each tumor has its particular genetic and molecular features, which are reflected by clinical behavior, response to treatment and prognosis. Growth factor receptor-bound protein 7 (*GRB7*) belongs to the GRB family proteins that modulate the interaction between receptor tyrosine kinases and effector proteins in some signaling pathways involved in signal transduction, cell migration and angiogenesis. This protein is encoded by the *GRB7* gene located on chromosome 17 at the 17q11–21 locus, near to the *ERBB2* gene, suggesting coamplification and coexpression of these two genes in carcinogenesis. *GRB7* protein was found to be related to the implicit molecular biology of breast cancer, and plays a role in cell proliferation and migration, thus, facilitates invasion and potential metastasis. It is considered to be a poor prognosis factor in this disease.

Key words: *ERBB2*, growth factor receptor-bound protein 7 *GRB7*, breast cancer, signal transduction.

© 2022 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es la causa principal de muerte por neoplasias en mujeres alrededor del mundo, su incidencia ha aumentado en forma significativa en los últimos 30 años, por lo que se considera un problema de salud pública. De acuerdo con las estadísticas de GLOBOCAN 2018, una de cada cuatro mujeres con cáncer presenta este tipo de tumor.¹ La mortalidad para 2018 fue de 626.679 casos. En Colombia se presentaron 13.380 casos nuevos en 2018² y ocupa el tercer lugar en mortalidad con una tasa de 8%.³

El cáncer de mama es una enfermedad multifactorial y heterogénea.⁴ En las últimas décadas se han identificado características genéticas y moleculares que varían de un tumor a otro, lo cual se ve reflejado en el comportamiento clínico, la respuesta al tratamiento y el pronóstico.⁵ Perou C. y col. caracterizaron 65 muestras de tumores de 42 pacientes con perfiles de expresión por medio del uso de microarreglos de cADN que representaban 8.102 genes. Con los hallazgos de este estudio se establecieron los siguientes subtipos intrínsecos: luminal A, luminal B, HER2 (receptor epidérmico humano-2) enriquecido, basal o triple negativo y el subtipo normal.⁶ El luminal A se caracteriza por una alta expresión del gen del receptor de estrógenos (*ESR1*), el factor de transcripción *GATA 3* y la citoqueratina 8/18. El luminal B presenta expresión de *ESR1* y de otros genes como el factor de crecimiento epidérmico 1 y 2 (*ERBB1* y *ERBB2*) y la ciclina E1. El subtipo HER2 enriquecido tiene una alta expresión del gen *ERBB2* y *GRB7*, con receptores de estrógenos negativos. El subtipo basal expresa citoqueratinas 5/6 y 17 sin expresión del *ESR1* y el subtipo normal muestra expresión de genes normalmente presentes en el tejido adiposo y células mioepiteliales con muy baja expresión de genes epiteliales luminales.^{6,7,8}

Entre 15 y 30% de los cánceres de mama sobreexpresan la proteína HER2, lo que se ha relacionado con pobre respuesta a las terapias tradicionales como la hormonal. Además, estas

pacientes presentan una supervivencia libre de enfermedad reducida y un comportamiento tumoral agresivo, reflejado en grados histológicos altos, índices de proliferación celular elevados y un mayor número de metástasis.⁹

El HER2 pertenece a la familia de receptores tirosina quinasa transmembrana del factor de crecimiento epidérmico (EGF), el cual es codificado por el gen *ERBB2* localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q12-21).¹⁰ En los últimos años la región genética donde se ubica el gen *ERBB2* ha sido una de las más estudiadas y se han identificado varios genes contiguos que se coamplifican junto con el *ERBB2*¹¹ como son el *MIEN1* y *GRB7*.

El gen *MIEN1* codifica una proteína unida a la membrana constituida por 115 aminoácidos, involucrada en la adhesión, migración e invasión de células cancerosas, la cual se ha visto expresada tanto en carcinoma in situ como en lesiones metastásicas.^{12,13} Este gen desarrolla su función biológica aumentando la expresión de otras proteínas como la metaloproteínasa de matriz 9 (*MMP9*)¹⁴, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la actina, esta última un componente fundamental del citoesqueleto. Sin embargo, la información de este gen aun es limitada y se requieren más estudios para establecer su perfil biológico completo.^{15,16} A diferencia del *MIEN1*, es mayor la información disponible del gen *GRB7* y su coamplificación junto con el gen *ERBB2* en el cáncer de mama. La expresión de *GRB7* se ha involucrado en el crecimiento, migración y proliferación celular, lo cual confiere resistencia al tratamiento con anticuerpos dirigidos contra la proteína HER2.^{10,11,17} Esto ha llevado a postular a la proteína *GRB7* como un biomarcador de mal pronóstico y con posible utilidad terapéutica.^{18,19} Dada la importancia que ha adquirido *GRB7* en cáncer de mama en los últimos años, el objetivo de esta revisión es describir sus características moleculares y los mecanismos reguladores que relacionan a *GRB7* con cáncer de mama.

GRB7, ESTRUCTURA Y UBICACIÓN

La proteína 7 unida al receptor del factor de crecimiento (*GRB7*) es miembro de la familia de proteínas adaptadoras GRB que incluye *GRB10*, *GRB7* y *GRB14*. Estas median la interacción entre receptores tirosina cinasa activados (fosforilados) y proteínas efectoras corriente abajo en vías de señalización involucradas en transducción de señales, migración celular y angiogénesis.²⁰ Esta proteína es codificada por el gen *GRB7*, el cual se encuentra localizado en el cromosoma 17 en el locus 17q11–21, cerca del gen *ERBB2*^{18,21}, en donde forman el núcleo del amplicon 17q12 sugiriendo que la coamplificación y coexpresión de estos dos genes están implicados en el desarrollo de cáncer.¹⁰ El gen *GRB7* contiene 9,383 bases y 15 exones, 14 de ellos codifican para la proteína y generan tres transcritos (2,107, 2,197 y 2,228 pb) que difieren solo en la región no traducida cinco prima (5'-UTR) y todos codifican la misma proteína de 532 aminoácidos.^{20,22} Se ha descrito una variante truncada de *GRB7* (*GRB7v*) de 447 aminoácidos, la cual es codificada por un transcrito de 1,667 con solo 13 exones en cánceres de esófago²³ y de ovario.²⁴

Los miembros de la familia a la que pertenece *GRB7* tienen una estructura altamente conservada. *GRB7* es reconocida como una proteína multidominio²⁵ conformada por tres regiones: una amino terminal que presenta un dominio rico en prolina, la región central GM (por *Grb* y *Mig*) y

la región carboxilo terminal en donde se ubica el dominio SH2.^{17,18} La región amino-terminal de *GRB7* contiene una con cinco regiones consenso Prolina-x-x-Prolina, que se cree que media la interacción con otras proteínas que aún no se han definido.²⁶ La región central de *GRB7* tiene un dominio de cerca de 300 aminoácidos que muestran una alta homología con un gen de *Caenorhabditis elegans*, el gen *Mig-10*.²⁷ Este ha sido involucrado en la migración de células neuronales durante el desarrollo, por lo cual se ha sugerido un rol de *GRB7* en la regulación de la migración de células mamíferas.²⁸ La región central contiene tres dominios: RA (asociado a Ras) por lo cual se cree que *GRB7* interactúa con las GTPasas de la superfamilia Ras y de esta forma regula la progresión del cáncer, un dominio de homología a pleckstrina (PH) y el dominio BPS (entre PH y SH2) el cual interactúa principalmente con el receptor de insulina activado en el dominio SH2.¹⁸

Consistente con sus dominios estructurales, *GRB7* interactúa con una gran variedad de residuos fosfo-tirosina en receptores tirosina quinasa como EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico)²⁹, HER-2, HER3, HER4, PDGFR (receptor de factor de crecimiento derivado de plaqueta), EphB1 (receptor 1 DE efrina tipo B), c-Kit y con tirosina quinasa no receptoras como la quinasa de adhesión focal (FAK) y la proteína quinasa B (Akt); todos ellos conocidos como "socios de unión" (más de 20)^{17,30} (figura 1).

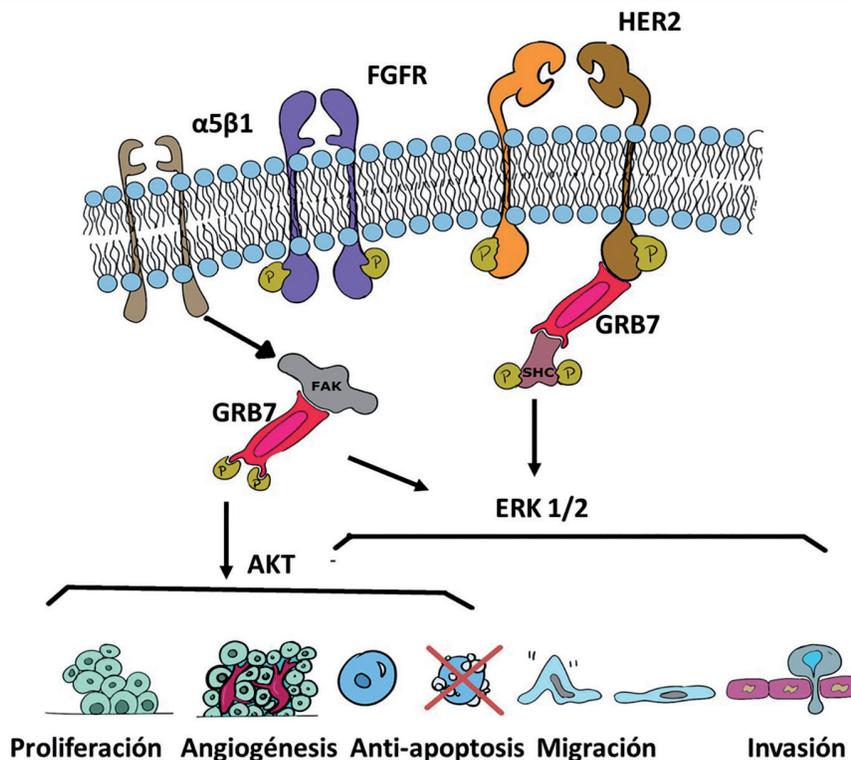


Figura 1. Representación de la vía de señalización donde participan las proteínas HER2/GRB7/AKT/ERK1/2. GRB7 es una proteína adaptadora que participa en varias vías de señalización que conducen a varios procesos celulares relacionados con cáncer. Fuente: los autores.

EXPRESIÓN, FOSFORILACIÓN Y LOCALIZACIÓN SUBCELULAR

En tejido normal *GRB7* está expresado en páncreas, hígado, pulmón, testículos y riñón, entre otros.¹⁰ Tiene un perfil de expresión más elevado en páncreas que en riñón, próstata e intestino, y aún más alto en estos últimos que en colon hígado, pulmón y testículos.³¹ La expresión de la proteína *GRB7* ha sido reportada en el citoplasma, en uniones focales, gránulos de estrés y el núcleo.^{32,33} Aunque el dominio SH2 de *GRB7* se encuentra principalmente como un monómero, varios estudios han reportado que puede hallarse como un homodímero. Se ha sugerido que la dimerización del dominio SH2 afecta la estabilidad estructural y la habilidad de unión del péptido tirosina fosforilado de *GRB7*.³⁴ El *GRB7* es fosforilado en residuos serina y treonina en células quiescentes y en las células estimuladas con factor de crecimiento. La fosforilación en el residuo tirosina de *GRB7* induce la unión a receptores tirosina quinasa.^{17,26}

GRB7 Y PROLIFERACIÓN CELULAR

Una de las características del gen *GRB7* más estudiadas es el papel que desempeña en la proliferación y el crecimiento celular, el cual está mediado por la expresión de genes de la familia *ERBB*.¹⁷ Bai y col. encontraron que la sobreexpresión de *GRB7* en cáncer de mama subtipo HER2 enriquecido facilita la fosforilación de HER2 y AKT, activando cascadas de transducción de señales que llevan a la síntesis de ADN y proliferación celular.³⁵ Usando RNA interferente (RNAi), Luoh y col. inhibieron de forma transitoria el *GRB7* en células de cáncer de mama, encontrando una disminución de la proliferación en múltiples líneas celulares que a la vez sobre expresaban HER2.¹¹ Así mismo, se ha reportado que el aumento en la proliferación en cánceres de mama que sobreexpresan HER2 se debe a un aumento en la vía de señalización HER2/*GRB7*/RAS.³⁶

Además se ha encontrado unión selectiva de *GRB7* a la caveolina-1, una proteína integral de membrana presente en la mayoría de las células, con mayor frecuencia en adipocitos, neumocitos tipo I, células endoteliales, del músculo liso y fibroblastos; dicha unión aumenta el crecimiento celular independiente de anclaje.^{37,38} Se ha observado que la interacción entre *GRB7* y HER2 facilita la activación de RAS-GTP lo que le permite tener control sobre la proliferación celular y actuar como un centro de integración de señales.³⁶ Todos estos hallazgos muestran que *GRB7* es fundamental en el desarrollo y progresión del cáncer de mama.

GRB7 Y MIGRACIÓN CELULAR

La sobreexpresión de *GRB7* estimula la migración celular por medio de diferentes interacciones moleculares.

La primera de ellas es la unión FAK-*GRB7* que regula la migración mediada por integrinas.^{17,39} El dominio SH2 del *GRB7* interactúa con la tirosina 397 de FAK lo que genera migración celular hacia la fibronectina.³⁷ La segunda asociación es la unión de *GRB7* con la tirosina 14 fosforilada de la caveolina que promueve la migración celular independiente de anclaje y la estimulada por el factor de crecimiento epidérmico (EGF).³⁸ La tercera interacción identificada es la unión del receptor tirosina quinasa con el EphB1 con el *GRB7* mediada por su dominio SH2, lo cual permite que el EphB1 estimule la motilidad de los fibroblastos en la matriz extracelular.^{17,40}

GRB7, INVASIÓN Y METÁSTASIS

La invasión de la membrana basal y la diseminación de las células cancerosas a otros órganos es un proceso complejo en el cual también se ha visto involucrado la *GRB7*. Giricz y col. encontraron que al inhibir el *GRB7* bloqueando la fosforilación del ERK que ocurre en respuesta a señales de estímulo del EGRFR/EGF en cultivos de células con subtipo de cáncer de mama triple negativo, disminuyó la capacidad invasiva de las células y aumentó la apoptosis de estas.⁴¹ Además, su presencia se ha correlacionado con metástasis a ganglios linfáticos. Estos hallazgos sugieren que la presencia del gen *GRB7* es un marcador de mal pronóstico y confiere un mayor riesgo para el desarrollo de metástasis.¹⁷

COAMPLIFICACIÓN Y COEXPRESIÓN DE HER2 Y GRB7 COMO FACTOR PRONÓSTICO DE CÁNCER DE MAMA

Varios estudios han establecido la relación del gen *GRB7* con el cáncer de mama basados en su frecuente coamplificación y coexpresión con el HER2 en un grupo de cáncer de mama.^{18,42-44} Dicho grupo representa entre 15 y 30% de las neoplasias malignas de mama y es denominado como HER2 enriquecido, el cual se caracteriza principalmente por la sobreexpresión del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) en la superficie de la membrana celular y un fenotipo tumoral complejo con características clínicas y patológicas poco favorables y de mal pronóstico, como la pobre diferenciación histológica, aumento del índice de proliferación celular y mayor probabilidad de hacer metástasis y afectar ganglios linfáticos.^{17,18,44}

El primer estudio que identificó la coexpresión de *GRB7* y *HER2* en líneas celulares de cáncer de mama fue el realizado en 1994 por Stein y col. en donde reconocieron la unión de estas dos moléculas a través del dominio SH2.⁴² Después varias investigaciones que han medido dicha expresión por medio de diferentes técnicas como RT-PCR y Western Blot¹⁰ han permitido conocer que *GRB7* facilita y amplifica las cascadas de transducción de señales mediadas por HER2

y su complicación influye en la respuesta al tratamiento, generando resistencia al trastuzumab, disminución de la supervivencia y aumento de la recurrencia tumoral.^{17,18} Así mismo la expresión de *GRB7* se ha correlacionado con el grado tumoral alto, mayor tamaño de la neoplasia primaria, mayor compromiso de ganglios linfáticos y menor tasa de supervivencia.⁴⁵ En la **tabla 1** se citan algunos estudios sobre el gen *GRB7* y los resultados obtenidos relacionados con la tasa de supervivencia y recurrencia; lo cual refleja el valor de este gen como un factor pronóstico de resultados adversos en cáncer de mama y del objetivo terapéutico.¹⁰

CONCLUSIÓN

La amplificación y sobreexpresión del *GRB7* se ha identificado en diferentes tipos de neoplasias malignas como el cáncer gástrico, esofágico, ovárico y de mama, en donde se ha reconocido su gran capacidad para interactuar con múltiples moléculas, participar en diferentes vías de señalización y regular importantes funciones biológicas

como la migración, supervivencia y proliferación celular, otorgando cierto potencial invasivo a las células neoplásicas.

Sus características han sido estudiadas en el cáncer de mama dada su coamplificación con el gen *ERBB2*, en donde diferentes estudios coinciden en su papel fundamental en el proceso de migración y proliferación celular, además de su interpretación como un factor de mal pronóstico por su asociación con un mayor índice de recurrencia, menor supervivencia, características fenotípicas agresivas como negatividad para receptores de estrógenos y mayor amplificación del *ERBB2*, además de la pobre respuesta al tratamiento; sin embargo, dichas características hacen de esta molécula un potencial biomarcador y objetivo terapéutico.^{10,18,45}

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no presentar conflictos de intereses.

Tabla 1. Estudios sobre el gen *GRB7* y los resultados obtenidos relacionados con la tasa de supervivencia y recurrencia

Estudio (año)	Objetivo	Método	Resultado
Nadler y col. (2010)(10)	Evaluar la expresión de GRB7 y estudiar su asociación con la supervivencia y otras variables clínicas.	Inmunofluorescencia	La alta expresión de GRB7 está asociada con una disminución de la supervivencia
Sparano y col. (2011)(19)	Relación entre la expresión génica y recurrencia en pacientes con cáncer de mama triple negativo tratados con quimioterapia adyuvante que contiene doxorubicina.	PCR cuantitativa contranscriptasa inversa	La mayor expresión del gen GRB7 se asoció con una elevada recurrencia en cáncer de mama triple negativo
Bivin y col. (2016)(18)	Correlación de la expresión de GRB7 por IHQ con la expresión y amplificación de HER2, y otros factores pronósticos del cáncer de mama invasivo.	Inmunohistoquímica y FISH	La expresión de GRB7 se correlacionó con: - mayor sobreexpresión y amplificación de HER2 - negatividad de ER. - positividad de p53.
Shiuh-Wen Luoh y col. (2019)(11)	Evaluar la participación funcional de GRB7 en cáncer de mama resistente a trastuzumab y lapatinib	Eliminación de la expresión de GRB7 con transfección transitoria de siRNA.	La expresión de GRB7 es esencial para la proliferación y crecimiento celular

REFERENCIAS

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. 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. doi: 10.3322/caac.21492
2. Diaz Casas S, Lancheros García E, Sánchez Campo A, Sanchez Pedraza R, Roman Vasquez V, Mendoza SD, et al. Clinical Behavior of Triple Negative Breast Cancer in a Cohort of Latin American Women. *Cureus.* 2019;11(6):e4963. doi: 10.7759/cureus.4963
3. World Health Organization. Colombia Source: Globocan 2018 The global cancer observatory [Internet]. 2018 [Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/170-colombia-factsheets.pdf>].
4. Behravan H, Hartikainen JM, Tengström M, Kosma VM, Mannermaa A. Predicting breast cancer risk using interacting genetic and demographic factors and machine learning. *Sci Rep.* 2020;10(1):11044. doi: 10.1038/s41598-020-66907-9
5. Godone RLN, Leitão GM, Araújo NB, Castelletti CHM, Lima-Filho JL, Martins DBG. Clinical and molecular aspects of breast cancer: Targets and therapies. *Biomed Pharmacother.* 2018;106:14-34. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.066
6. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406(6797):747-52. doi: 10.1038/35021093.

7. Serrano Gómez S. Perfil molecular del cáncer de mama en la población colombiana: Pontificia Universidad Javeriana; 2016.
8. Kalinowski L, Saunus JM, McCart Reed AE, Lakhani SR. Breast Cancer Heterogeneity in Primary and Metastatic Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1152:75-104. doi: 10.1007/978-3-030-20301-6_6
9. Vinatzer U, Dampier B, Streubel B, Pacher M, Seewald MJ, Stratowa C, et al. Expression of HER2 and the coamplified genes GRB7 and MLN64 in human breast cancer: quantitative real-time reverse transcription-PCR as a diagnostic alternative to immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Clin Cancer Res.* 2005;11(23):8348-57. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0841
10. Nadler Y, González AM, Camp RL, Rimm DL, Kluger HM, Kluger Y. Growth factor receptor-bound protein-7 (Grb7) as a prognostic marker and therapeutic target in breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21(3):466-73. doi: 10.1093/annonc/mdp346
11. Luoh SW, Wagoner W, Wang X, Hu Z, Lai X, Chin K, et al. GRB7 dependent proliferation of basal-like, HER-2 positive human breast cancer cell lines is mediated in part by HER-1 signaling. *Mol Carcinog.* 2019;58(5):699-707. doi: 10.1002/mc.22963
12. Kpetemey M, Chaudhary P, Van Treuren T, Vishwanatha JK. MIEN1 drives breast tumor cell migration by regulating cytoskeletal-focal adhesion dynamics. *Oncotarget.* 2016;7(34):54913-24.
13. Yin K, Ba Z, Li C, Xu C, Zhao G, Zhu S, et al. Overexpression of C35 in breast carcinomas is associated with tumor progression and lymphnode metastasis. *Biosci Trends.* 2015;9(6):386-92. doi: 10.5582/bst.2015.01161
14. Zhao HB, Zhang XF, Wang HB, Zhang MZ. Migration and invasion enhancer 1 (MIEN1) is overexpressed in breast cancer and is a potential new therapeutic molecular target. *Genet Mol Res.* 2017;16(1). doi: 10.4238/gmr16019380
15. Van Treuren T, Vishwanatha JK. CRISPR deletion of MIEN1 in breast cancer cells. *PLoS One.* 2018;13(10):e0204976. doi: 10.1371/journal.pone.0204976
16. Kushwaha PP, Gupta S, Singh AK, Kumar S. Emerging Role of Migration and Invasion Enhancer 1 (MIEN1) in Cancer Progression and Metastasis. *Front Oncol.* 2019;9:868. doi: 10.3389/fonc.2019.00868
17. Chu PY, Tai YL, Shen TL. Grb7, a Critical Mediator of EGFR/ErbB Signaling, in Cancer Development and as a Potential Therapeutic Target. *Cells.* 2019;8(5):435. doi: 10.3390/cells8050435
18. Bivin WW, Yergiyev O, Bunker ML, Silverman JF, Krishnamurti U. GRB7 Expression and Correlation With HER2 Amplification in Invasive Breast Carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2017;25(8):553-558. doi: 10.1097/PAI.0000000000000349
19. Sparano JA, Goldstein LJ, Childs BH, Shak S, Brassard D, Badve S, et al. Relationship between quantitative GRB7 RNA expression and recurrence after adjuvant anthracycline chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Clinical Cancer Research.* 2011;17(22):7194-203. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3357
20. Lucas-Fernández E, García-Palmero I, Villalobo A. Genomic organization and control of the grb7 gene family. *Curr Genomics.* 2008;9(1):60-68. doi: 10.2174/138920208783884847
21. Tang Y, Yang S, Wang M, Liu D, Liu Y, Zhang Y, et al. Epigenetically altered miR-193a-3p promotes HER2 positive breast cancer aggressiveness by targeting GRB7. *Int J Mol Med.* 2019;43(6):2352-60. doi: 10.3892/ijmm.2019.4167
22. Sang J, Kulkarni K, Watson GM, Ma X, Craik DJ, Henriques ST, et al. Evaluation of Cyclic Peptide Inhibitors of the Grb7 Breast Cancer Target: Small Change in Cargo Results in Large Change in Cellular Activity. *Molecules.* 2019;24(20):3739. doi: 10.3390/molecules24203739.
23. Tanaka S, Mori M, Akiyoshi T, Tanaka Y, Mafune K, Wands JR, et al. A novel variant of human Grb7 is associated with invasive esophageal carcinoma. *J Clin Invest.* 1998;102(4):821-7. doi: 10.1172/JCI2921
24. Gotovac JR, Liu DS, Yates MJ, Milne JV, Macpherson AA, Simpson KJ, et al. GRB7 is an oncogenic driver and potential therapeutic target in oesophageal adenocarcinoma. *J Pathol.* 2020;252(3):317-329. doi: 10.1002/path.5528
25. Watson GM, Lucas WAH, Gunzburg MJ, Wilce JA. Insight into the Selectivity of the G7-18NATE Inhibitor Peptide for the Grb7-SH2 Domain Target. *Front Mol Biosci.* 2017;4:64. doi: 10.3389/fmolb.2017.00064
26. Han DC, Shen TL, Guan JL. The Grb7 family proteins: structure, interactions with other signaling molecules and potential cellular functions. *Oncogene.* 2001;20(44):6315-21. doi: 10.1038/sj.onc.120477
27. Watson GM, Wilce JA. Direct Interaction between Calmodulin and the Grb7 RA-PH Domain. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1336. doi: 10.3390/ijms21041336.
28. Katoh K. FAK-Dependent Cell Motility and Cell Elongation. *Cells.* 2020;9(1):192. doi: 10.3390/cells9010192
29. Alcalde J, González-Muñoz M, Villalobo A. Grb7-derived calmodulin-binding peptides inhibit proliferation, migration and invasiveness of tumor cells while they enhance attachment to the substrate. *Heliyon.* 2020;6(5):e03922. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03922>
30. Watson GM, Kulkarni K, Brandt R, Del Borgo MP, Aguilar MI, Wilce JA. Shortened Penetratin Cell-Penetrating Peptide Is Insufficient for Cytosolic Delivery of a Grb7 Targeting Peptide. *ACS Omega.* 2017;2(2):670-677. doi: 10.1021/acsomega.6b00561
31. Frantz JD, Giorgetti-Peraldi S, Ottinger EA, Shoelson SE. Human GRB-IRbeta/GRB10. Splice variants of an insulin and growth factor receptor-binding protein with PH and SH2 domains. *J Biol Chem.* 1997;272(5):2659-67. doi: 10.1074/jbc.272.5.2659
32. García-Palmero I, Shah N, Ali NA, Daly RJ, Wilce JA, Villalobo A. Partners of wild type Grb7 and a mutant lacking its calmodulin-binding domain. *Arch Biochem Biophys.* 2020;687:108386. doi: 10.1016/j.abb.2020.108386
33. Villalobo A, Ishida H, Vogel HJ, Berchtold MW. Calmodulin as a protein linker and a regulator of adaptor/scaffold proteins. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2018;1865(3):507-21. doi: 10.1016/j.bbamcr.2017.12.004
34. Bradford AM, Koirala R, Park CK, Lyons BA. Characterization of the full-length human Grb7 protein and a phosphorylation representative mutant. *J Mol Recognit.* 2019;32(11):e2803. doi: 10.1002/jmr.2803

35. Bai T, Luoh SW. GRB-7 facilitates HER-2/Neu-mediated signal transduction and tumor formation. *Carcinogenesis*. 2008;29(3):473-9. doi: 10.1093/carcin/bgm221
36. Pradip D, Bouzyk M, Dey N, Leyland-Jones B. Dissecting GRB7-mediated signals for proliferation and migration in HER2 overexpressing breast tumor cells: GTP-ase rules. *Am J Cancer Res*. 2013;3(2):173-95.
37. Shen TL, Guan JL. Grb7 in intracellular signaling and its role in cell regulation. *Front Biosci*. 2004;9:192-200. doi: 10.2741/1229
38. Lee H, Volonte D, Galbiati F, Iyengar P, Lublin DM, Bregman DB, et al. Constitutive and growth factor-regulated phosphorylation of caveolin-1 occurs at the same site (Tyr-14) in vivo: identification of a c-Src/Cav-1/Grb7 signaling cassette. *Mol Endocrinol*. 2000;14(11):1750-75. doi: 10.1210/mend.14.11.0553
39. Watson GM, Kulkarni K, Sang J, Ma X, Gunzburg MJ, Perlmutter P, et al. Discovery, Development, and Cellular Delivery of Potent and Selective Bicyclic Peptide Inhibitors of Grb7 Cancer Target. *J Med Chem*. 2017;60(22):9349-59. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01320>
40. Tai YL, Tung LH, Lin YC, Lu PJ, Chu PY, Wang MY, et al. Grb7 Protein Stability Modulated by Pin1 in Association with Cell Cycle Progression. *PLoS One*. 2016;11(9):e0163617. doi: 10.1371/journal.pone.0163617
41. Giricz O, Calvo V, Pero SC, Krag DN, Sparano JA, Kenny PA. GRB7 is required for triple-negative breast cancer cell invasion and survival. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;133(2):607-15. doi: 10.1007/s10549-011-1822-6
42. Stein D, Wu J, Fuqua SA, Roonprapunt C, Yajnik V, D'Eustachio P, et al. The SH2 domain protein GRB-7 is co-amplified, overexpressed and in a tight complex with HER2 in breast cancer. *EMBO J*. 1994;13(6):1331-40.
43. Vermehren-Schmaedick A, Mhawech-Fauceglia P, Park BS, Pejovic T, Luoh SW. The prognostic significance of GRB7 protein expression and localization in human breast and ovarian cancers. *Oncotarget*. 2020;11(24):2273-2289. doi: 10.18632/oncotarget.27593
44. Luoh SW, Ramsey B, Hanlon Newell A, Troxell M, Hu Z, Chin K, et al. HER-2 gene amplification in human breast cancer without concurrent HER-2 over-expression. *Springerplus*. 2013;2:386. doi: 10.1186/2193-1801-2-386
45. Watson GM, Gunzburg MJ, Ambaye ND, Lucas WAH, Traore DA, Kulkarni K, et al. Cyclic Peptides Incorporating Phosphotyrosine Mimetics as Potent and Specific Inhibitors of the Grb7 Breast Cancer Target. *J Med Chem*. 2015;58(19):7707-18. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b00609

