

核磷酸酶基因与肿瘤发生和发展的研究^{*}

舒 婷 综述, 姚 军[△]审校(台州学院椒江校区医学院医学检验系, 浙江台州 318000)

【关键词】 核磷酸酶基因; 信号通路; 肿瘤

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.10.044 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)10-1282-03

磷酸酶基因(PTEN)基因即与张力蛋白同源在 10 号染色体有缺失的 PTEN 具有调节细胞周期, 抑制肿瘤细胞生长、侵袭、转移以及诱导肿瘤细胞凋亡等功能。由于该基因在人类多种肿瘤细胞中存在突变或缺失, 因此它被认为是继 p53 基因之后发现的又一重要的抑癌基因^[1]。在一些癌变组织中都有 PTEN 不同程度的突变或丢失, 如神经胶质瘤、进展期的前列腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、肾肿瘤、小细胞肺癌和皮肤黑色素瘤等^[1]。PTEN 的分布具有组织特异性, 在皮肤、结肠、乳腺、前列腺等组织细胞中, PTEN 主要分布于细胞质中; 在神经细胞、成纤维细胞、肾上腺髓质、甲状腺等组织细胞中, PTEN 分布于细胞核中; 在极化的 MDCK 犬肾细胞, PTEN 位于细胞间的紧密连接处^[2-3]。细胞质 PTEN 具有负调控磷脂酰肌醇-3-羟基激酶/丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(PI3K/AKT)信号转导通路的作用^[4]; 但新近的研究表明, PTEN 的核移位可能促成其肿瘤抑制活性^[3]。

1 PTEN 的结构与功能

PTEN 定位于 10q23.3 染色体, 全长 200 kb, 包含 9 个外显子和 8 个内含子。其 cDNA 的 5' 端是由 804 个核苷酸组成的非编码区, 含多个 CGG 三核苷酸重复序列, 为甲基化提供了基础^[1]。PTEN 的高甲基化使基因处于静止状态, 导致 PTEN 低水平转录及 PTEN 蛋白的减少甚至缺失^[1]。非编码区后是开放阅读框, 由 1 209 个核苷酸组成, PTEN mRNA 长 5.5 kb, 编码 403 个氨基酸的蛋白产物。PTEN 的第 5 外显子十分重要, 参与编码 PTEN 蛋白磷酸酶核心基序^[1]。

PTEN 蛋白由 N 端的磷酸酶结构域、C2 结构域及 C 端结构域组成^[5]。PTEN 蛋白的 C 端尾部结构域是一个由约 50 个氨基酸组成的, 主要包括 2 个氨基酸单字母编码(PEST)结构域序列和一个 PDZ (PSD-95/Dlg/ZO1) 同源结构域结合序列^[5]。PEST 结构域序列为一富含脯氨酸(P)、谷氨酰胺(E)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)等 10 个氨基酸组成的结构序列^[5]。PEST 结构域序列有助于蛋白折叠, 若其缺失将导致 PTEN 的降解速度加快^[5]。因此, PEST 序列的存在对 PTEN 蛋白的稳定性和细胞膜定位有一定作用, 如果将其敲除, 则可通过影响蛋白折叠导致 PTEN 表达下降^[6]。PDZ 同源结构域结合序列位于 C 末端的第 400~403 位氨基酸, 是蛋白质间相互作用的结构域^[5]。其主要通过参与蛋白质间的相互作用来增强 PTEN 磷酸酶活性和信号通路的转导效率, 即 PTEN 蛋白可通过 PDZ 结构域结合序列与其他含有 PDZ 结构域结合序列的蛋白相互作用而影响 PTEN 功能, 也有维护 PTEN 蛋白稳定性的作用^[5]。

PTEN 蛋白的 N 端有 1 段与细胞张力蛋白、辅助蛋白同源的序列, 含有 177 个氨基酸, 为主要的结构功能区^[7]。细胞张力蛋白是一种细胞骨架蛋白, 而辅助蛋白与神经突触小泡的

运输有关^[7]。PEST 同源结构域有助于蛋白折叠, 如果其缺失将导致 PTEN 迅速降解; PDZ 结合基序的缺失不影响 PTEN 降解, 不过它可与 PDZ 蛋白相互作用, 可能有利于 PTEN 的定位以及与其他蛋白质的相互作用^[7]。PTEN 通过 PDZ 结合基序与上皮细胞膜紧密连接上膜相关反向鸟苷酸激酶-2 的 PDZ 结构域结合, 来加强 PTEN 抑制 Akt 活性^[8]。由此可见 PTEN 的 C 端特殊区域在调节 PTEN 的稳定性和酶活性方面非常重要, 其突变可逆转抑癌基因的表型, 影响突变体的稳定性和磷酸酶活性^[8]。

2 PTEN 的核转位机制

PTEN 如何进入核内是目前的研究热点之一, 有研究表明泛素化能调控 PTEN 的核输入。Trotman 等确认 Cowden 综合征家族患者 PTEN 的 1 个赖氨酸突变为谷氨酸(K289E), 他们通过分析有这种生殖细胞突变患者的肠息肉, 展示了 K289E 突变蛋白已从发育异常的上皮细胞核中除去, 进一步展示了超量表达的绿色荧光蛋白(GFP)-PTEN, K289E 融合蛋白主要位于细胞质, 而野生型 GFP-PTEN 融合蛋白在细胞核和细胞质中都存在^[9]。PTEN 的这种分布异常与其磷酸酶活性无关, 而是由于细胞核输入的极大降低(无细胞核输出增加)导致的^[9]。此外赖氨酸 13 被确认是转染细胞内的第 2 个泛素化位点^[9]。这个最初在散发脑肿瘤患者中发现的赖氨酸突变体 K13E 中断了 PTEN 的核转位, 并减少了 PTEN 核输入^[9]。可见 K289 和 K13 这 2 个赖氨酸残基作为泛素化位点, 是 PTEN 穿梭和核输入所必需的^[9]。

泛素化是由一系列酶连续催化的反应, 研究表明核内 PTEN 随着泛素化的增加而剧烈增加, 尤其是单泛素化^[9-11]。PTEN 受多泛素化影响而在胞浆内滞留, 并最终被蛋白酶体降解^[9-11]。单泛素化的 PTEN 在核内特异浓缩, 这证实单泛素化的 PTEN 是最有效的穿梭模式, 但具体机制尚不明确^[9-11]。可能是由于单泛素化通过某些机制增强了 PTEN 核输入的信号, 或者通过其他独立的进程所致。而且核定位的 PTEN 与染色体的稳定性有关, 神经前体细胞表达的进行性下调基因(NEDD4-1)可通过泛素化调控 PTEN 入核和抑癌作用^[9]。PTEN 泛素化是通过 NEDD4-1 介导的, 其生理过程非常复杂^[10]。NEDD4-1 是 PTEN 主要的 E3 泛素化连接酶, 可以连同 PTEN 其他位点一起泛素化 K289^[11]。抑制 NEDD4-1 能使 PTEN 在胞浆内重新分配, 而 NEDD4-1 过度表达将增加 PTEN 的核转位^[11]。

单泛素化的 PTEN 富含于核碎片中, 不是所有的核 PTEN 都能被单泛素化, 这提示 PTEN 在细胞核中被泛素移除或者部分核 PTEN 没有通过泛素化进入核内^[11]。显然, 针对核中 PTEN 去泛素化酶的鉴定, 可解释另一调节 PTEN 稳定和定位的规律。与此相反, 单泛素化能介导 PTEN 进入核

内并增加其稳定性^[9],然而通过 NEDD4-1 介导的 PTEN 多泛素化会加强 PTEN 的降解^[10]。虽然核内的单泛素化 PTEN 浓缩增多,但 PTEN 并不都是通过单泛素化入核的,这表明 PTEN 在核内有去泛素化,或者一部分 PTEN 没有经过泛素化入核,但这一机制尚不清楚^[9-11]。

3 核 PTEN 的功能

核 PTEN 对细胞的许多生物学功能均有影响:(1)与 p53 形成的核内复合体能抑制 p53 降解并增加 p53 的转录活性^[12-13];(2)可不依赖于抑制 Akt 的活性来阻止细胞的增殖^[14];(3)可下调细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)水平并能阻止丝裂原活化蛋白激酶磷酸化^[15];(4)调控 PIP 结合受体类固醇生成因子-1 和肝脏受体类似物的活性^[16-17];(5)外源性 PTEN 入核可增加细胞凋亡^[3];(6)参与维持染色体的稳定性^[3]。

4 核 PTEN 与肿瘤

核 PTEN 是怎样抑制肿瘤发生和发展的呢?最近研究发现,PTEN 可以通过单泛素化进入细胞核,并通过诱导细胞周期停滞和维持染色体完整性而起到肿瘤抑制的作用^[18]。Shen 等^[18]发现阻止 PTEN 表达可造成染色体破碎片段增加,从而出现着丝粒和染色体易位。核 PTEN 有维持染色体稳定和完整的功能,可能是通过与着丝粒特异结合蛋白-C 的相互作用以维持染色体的稳定性来促进 DNA 修复家族 Rad51 转录调节的修复及减少 DNA 双链的断裂。因此,核 PTEN 可能和 p53 蛋白一样,可以起到维持基因组稳定的作用。

4.1 核 PTEN 与胃癌 胃癌是一种常见的恶性肿瘤,目前认为胃癌的发生、发展是一个有序的、多阶段、多步骤的过程,并且是多种因素的综合结果,但主要是因为抑癌基因的失活和癌基因的活化。核 PTEN 表达下调的分子基础是由基因突变、过度甲基化等构成。Hino 等^[19]发现,胃癌组织中核 PTEN 有较高的阴性表达率,并伴有 mRNA 及总蛋白水平降低。Wang 等^[20]也发现,60 例进展期胃癌中有 17 例(28.3%)存在核 PTEN 基因突变,其中包括 8 例错义突变、5 例沉默突变、2 例无义突变、1 例碱基缺失和 1 例内含子拼接供体位点突变。因此,核 PTEN 基因突变在进展期胃癌的发生中可能起重要作用。

Bai 等^[21]研究表明,核 PTEN 高表达的肿瘤患者预后显著好于核 PTEN 低表达的患者,核 PTEN 和淋巴结转移呈负相关,分化程度低的胃癌患者低表达核 PTEN。核 PTEN 的表达还与 Lauren's 分型有关,说明了核 PTEN 可能抑制胃癌的发生和发展,与既往在细胞质表达的 PTEN 研究结果相一致^[22]。因此,核 PTEN 可能作为胃癌分子分型的潜在生物标志物和治疗靶点。

4.2 核 PTEN 与结肠癌 核 PTEN 在正常结肠黏膜组织的表达也显著多于结肠癌组织,而且核 PTEN 的表达与结肠癌肿瘤的体积及血液转移的发生呈负相关^[23]。有其他研究发现,核 PTEN 的表达在正常组织-腺瘤-腺癌-转移这一序列中依次下降,提示核 PTEN 表达对于结肠癌的发生和发展至关重要,并发现核 PTEN 表达的缺失是Ⅱ期结肠癌患者预后不良的重要指标之一^[24]。

4.3 核 PTEN 与其他肿瘤 Gil 等^[25]研究发现 PTEN 磷酸化影响其核、质定位。PTEN 的第 380 位上的丝氨酸被丙氨酸取代和第 383 位上的苏氨酸被丙氨酸取代突变体主要定位于细胞核中,由于该突变体不能发生磷酸化修饰,提示非磷酸化 PTEN 更倾向定位于细胞核。然而 Chung 等^[26]用同样的 PTEN 突变体在人乳腺癌 MCF-7 细胞中研究却未发现突变对 PTEN 核、质定位有影响。体外突变体实验得到的这些矛盾结

果促使学者对内源性 PTEN 磷酸化与其核、质定位的关系进行深入研究。有研究表明,细胞缺氧 24 h 时,细胞核中 PTEN 蛋白含量明显增高,而 Western blot 结果显示磷酸化的 PTEN 降低,总蛋白未见降低,即非磷酸化的 PTEN 蛋白增多,提示缺氧可降低 PTEN 磷酸化水平,促进 PTEN 的核定位^[27],这与 Gil 等^[25]发现的非磷酸化 PTEN 倾向定位于细胞核的现象一致。

在舌鳞癌组织中,PTEN 蛋白的表达主要定位于细胞核,PTEN 的阳性率缺失表达可能参与舌鳞癌组织的分化过程。核 PTEN 通过拮抗低氧诱导因子-1 α 、基质金属蛋白酶-9,而在舌鳞癌的发生、发展和侵袭过程中发挥抑制作用^[28]。在人神经胶质细胞瘤 U251MG 细胞中,不需抑制 Akt 信号转导通路,核内的 PTEN 就能够抑制癌细胞的生长,促使细胞增殖停滞在 G1 期^[14]。又有研究发现,肝癌组织中 53.1%的核 PTEN 呈阳性,而核 PTEN 蛋白的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小及分化程度均无相关性^[29]。NEDD4-1 并不是在所有情况中都具有致癌性,因为其并不能完全消除 PTEN 水平^[11]。在大量浸润性膀胱癌标本中,发现浸润性膀胱癌与 NEDD4-1 的升高和 PTEN 蛋白减少存在一定联系,但是在 NEDD4-1 和 PTEN 表达之间不存在持续性负相关,这可从 NEDD4-1 为调控 PTEN 稳态水平的主要调节因子这一简易模型中预测到^[11]。

5 结语及展望

尽管核 PTEN 及细胞质 PTEN 均有肿瘤抑制功能,在肿瘤的发生和发展中起重要作用,但是核 PTEN 的作用及其机制与细胞质 PTEN 是不尽相同的。越来越多的证据表明,是否有多个 PTEN 的核输入机制取决于细胞类型和细胞内外微环境。核 PTEN 在调节细胞动态平衡和稳定中起强有力的作用,它有助于维持染色体的稳定,促进 DNA 修复和诱导细胞周期阻滞。针对核 PTEN 的研究将有助于深入探索 PTEN 与肿瘤发生和发展的关系,还有助于在分子水平上揭示肿瘤的发生、发展、浸润和转移机制,为筛选肿瘤标志物、早期诊断和寻找有效治疗方法打下基础。

参考文献

- [1] Song MS, Salmena L, Pandolfi PP. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(5):283-296.
- [2] Hamada K, Sasaki T, Koni PA, et al. The PTEN/PI3K pathway governs normal vascular development and tumor angiogenesis[J]. Genes Dev, 2005, 19(17):2054-2065.
- [3] Planchon SM, Waite KA, Eng C. The nuclear affairs of PTEN[J]. J Cell Sci, 2008, 121(Pt 3):249-253.
- [4] Martelli AM, Evangelisti C, Chappell W, et al. Targeting the translational apparatus to improve leukemia therapy: roles of the PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathway[J]. Leukemia, 2011, 25(7):1064-1079.
- [5] Hlobilková A, Knillová J, Bártek J, et al. The mechanism of action of the tumour suppressor gene PTEN[J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2003, 147(1):19-25.
- [6] Torres J, Rodriguez J, Myers MP, et al. Phosphorylation-regulated cleavage of the tumor suppressor PTEN by caspase-3; implications for the control of protein stability and PTEN-protein interactions[J]. Biol Chem, 2003, 278

- (33);30652-30660.
- [7] Rodríguez-Escudero I, Oliver MD, Andrés-Pons A, et al. A comprehensive functional analysis of PTEN mutations: implications in tumor- and autism-related syndromes[J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(21):4132-4142.
 - [8] Tolkacheva T, Boddapati M, Sanfiz A, et al. Regulation of PTEN binding to MAGI-2 by two putative phosphorylation sites at threonine 382 and 383[J]. Cancer Res, 2001, 61(13):4985-4989.
 - [9] Trotman LC, Wang X, Alimonti A, et al. Ubiquitination regulates PTEN nuclear import and tumor suppression[J]. Cell, 2007, 128(1):141-156.
 - [10] Wang X, Trotman LC, Koppie T, et al. NEDD4-1 is a proto-oncogenic ubiquitin ligase for PTEN[J]. Cell, 2007, 128(1):129-139.
 - [11] Baker SJ. PTEN enters the nuclear age[J]. Cell, 2007, 128(1):25-28.
 - [12] Freeman DJ, Li AG, Wei G, et al. PTEN tumor suppressor regulates p53 protein levels and activity through phosphatase-dependent and -independent mechanisms[J]. Cancer Cell, 2003, 3(2):117-130.
 - [13] Su JD, Mayo LD, Donner DB, et al. PTEN and phosphatidylinositol 3'-kinase inhibitors up-regulate p53 and block tumor-induced angiogenesis; evidence for an effect on the tumor and endothelial compartment[J]. Cancer Res, 2003, 63(13):3585-3592.
 - [14] Liu JL, Sheng X, Hortobagyi ZK, et al. Nuclear PTEN-mediated growth suppression is Independent of Akt down-regulation[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(14):6211-6224.
 - [15] Chung JH, Eng C. Nuclear-cytoplasmic partitioning of phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 (PTEN) differentially regulates the cell cycle and apoptosis[J]. Cancer Res, 2005, 65(18):8096-8100.
 - [16] Krylova IN, Sablin EP, Moore J, et al. Structural analyses reveal phosphatidyl inositols as ligands for the NR5 orphan receptors SF-1 and LRH-1[J]. Cell, 2005, 120(3):343-355.
 - [17] Ortlund EA, Lee Y, Solomon IH, et al. Modulation of human nuclear receptor LRH-1 activity by phospholipids and SHP[J]. Nat Struct Mol Biol, 2005, 12(4):357-363.
 - [18] Shen WH, Balajee AS, Wang J, et al. Essential role for nuclear PTEN in maintaining chromosomal integrity[J]. Cell, 2007, 128(1):157-170.
 - [19] Hino R, Uozaki H, Murakami N, et al. Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of PTEN gene in gastric carcinoma[J]. Cancer Res, 2009, 69(7):2766-2774.
 - [20] Wang JY, Huang TJ, Chen FM, et al. Mutation analysis of the putative tumor suppressor gene PTEN/MMAC1 in advanced gastric carcinomas[J]. Virchows Arch, 2003, 442(5):437-443.
 - [21] Bai Z, Ye Y, Chen D, et al. Homeoprotein Cdx2 and nuclear PTEN expression profiles are related to gastric Cancer prognosis[J]. APMIS, 2007, 115(12):1383-1390.
 - [22] Semba S, Satake S, Matsushita M, et al. Phosphatase activity of nuclear PTEN is required for CDX2-mediated intestinal differentiation of gastric carcinoma[J]. Cancer Lett, 2009, 274(1):143-150.
 - [23] Hsu CP, Kao TY, Chang WL, et al. Clinical significance of tumor suppressor PTEN in colorectal carcinoma[J]. Eur J Surg Oncol, 2011, 37(2):140-147.
 - [24] Jang KS, Song YS, Jang SH, et al. Clinicopathological significance of nuclear PTEN expression in colorectal adenocarcinoma[J]. Histopathology, 2010, 56(2):229-239.
 - [25] Gil A, Andrés-Pons A, Fernández E, et al. Nuclear localization of PTEN by a Ran-dependent mechanism enhances apoptosis; Involvement of an N-terminal nuclear localization domain and multiple nuclear exclusion motifs[J]. Mol Biol Cell, 2006, 17(9):4002-4013.
 - [26] Chung JH, Ginn-Pease ME, Eng C. Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10. (PTEN) has nuclear localization signal-like sequences for nuclear import mediated by major vault protein[J]. Cancer Res, 2005, 65(10):4108-4116.
 - [27] 周云英, 刘华, 郭锐翰, 等. 缺氧影响 PTEN 磷酸化和核定位[J]. 首都医科大学学报, 2011, 32(2):244-248.
 - [28] 李善昌, 刘芷君. HIF-1 α , MMP-9 及 PTEN 在舌鳞癌组织中的表达及意义[J]. 口腔医学研究, 2011, 27(10):896-898.
 - [29] Hu TH, Wang CC, Huang CC, et al. Down-regulation of tumor suppressor gene PTEN, overexpression of p53, plus high proliferating cell nuclear antigen index predict poor patient outcome of hepatocellular carcinoma after resection[J]. Oncol Rep, 2007, 18(6):1417-1426.

(收稿日期:2012-11-11)

妊娠期糖尿病的控制与护理研究

王 玲 综述, 邹 丹 审校(第三军医大学第一附属医院产科, 重庆 400038)

【关键词】 妊娠期糖尿病; 饮食调节; 运动疗法; 胰岛素; 血糖监测

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 10. 045 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)10-1284-03

近年来,随着生活方式的改变,糖尿病发病趋势升高并呈现年轻化,尤其在准母亲的人群中,糖尿病越来越常见。不少孕妇吃得多且精,而且活动少,这是妊娠期患糖尿病的重要原

因。妊娠可促使隐性糖尿病变,妊娠糖尿病血管硬化症状为显性,在妊娠期,体内拮抗胰岛素的激素水平增高,内分泌变化都会对糖代谢产生一系列影响,尤其当孕妇胰岛功能储备不足或