

## 食管癌中抑癌基因 PTEN 研究进展

胡 骏 综述, 彭开桂 审校

[关键词] 食管肿瘤; PTEN; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 735.1

[文献标识码] A

食管癌是我国高发的恶性肿瘤, 恶性度高, 5 年生存率仅 20% 左右, 但其病因和发病机制尚不明确, 可能与原癌基因激活、抑癌基因失活以及细胞凋亡相关基因和肿瘤转移抑制基因异常等有关<sup>[1]</sup>。因此, 加强对食管癌特异的分子病理学变化的研究, 不仅有助于阐明其发生、发展的机制, 而且更利于指导临床治疗。PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10), 又称 MMAC1 或 TEP1, 是 Li 等<sup>[2]</sup> 从原发性乳腺癌、前列腺癌以及胶质母细胞瘤细胞株克隆得到的定位于人染色体 10q23.3 的一种具有双特异性磷酸酶活性的新型抑癌基因。作为迄今为止发现的第 1 个具有磷酸酶活性的抑癌基因, PTEN 自发现起就受到众多学者的关注, 其结构、功能异常广泛存在于人类多种恶性肿瘤中, 已成为近年肿瘤学研究的热点, 成为继 p53 后又一具有重要意义的抑癌基因。现就近年来抑癌基因 PTEN 在食管癌中的研究进展作一综述。

## 1 PTEN 的结构及其抑癌机制

1.1 PTEN 结构 PTEN 是迄今为止发现的第一个具有双特异性磷酸酶活性的抑癌基因, 位于第 10 号染色体 q23.3 区, 又名 MMAC1 或 TEP1, 有 9 个外显子和 8 个内含子, 5' 端有 804 个核苷酸的非翻译区, 其后有长度为 1 209 bp 的开放阅读框架, 编码的 PTEN 蛋白由 403 个氨基酸残基组成, 主要包括氨基端磷酸酶区域、C2 区域和羧基端区域。PTEN 的氨基端与张力蛋白 tensin 高度同源, 可能通过调节黏着斑而影响肿瘤细胞浸润和转移, 其氨基端还具有脂质磷酸酶活性, 这是其作为抑癌基因的主要活性; C2 结构域与膜定位有关, 具有抑制癌细胞的能力; PTEN 羧基端含有串联的两个 PEST (脯、谷、丝、苏氨酸) 序列和一个 PSD295/DLG/ZO-1 (PDZ) 同源区域结合序列以及多个磷酸化位点, 对调节蛋白质稳定性的自身酶活性重要作用。

1.2 PTEN 抑癌机制 目前普遍认为 PTEN 抑癌作用机制包括以下几个方面: (1) PTEN 通过拮抗 PI3 K/AKT 信号系统, 诱导细胞周期阻滞。这种作用与诱导三个细胞周期素依赖性激酶抑制剂 p21、p27、p57 的表达, 以及抑制细胞周期素 D1 (cyclinD1) 的积聚和核定位有关<sup>[3]</sup>; (2) PTEN 可能通过以下机制促进细胞凋亡: 阻断转录因子 NF- $\kappa$ B 介导的 Ras/PI3K/PKB/IKK/NF- $\kappa$ B 抗凋亡信号传导通路<sup>[4]</sup>; 抑制胰岛素样生长因子-I 受体信号传导通路<sup>[5]</sup>; (3) PTEN 通过阻断整合素信号途径, 抑制肿瘤细胞黏附、铺展和迁移行为。这种效应除与 FAK 去磷酸化有关外, 尚与其下游的有丝分裂原

激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路受阻有关<sup>[6]</sup>; (4) PTEN 通过下调 VEGF 的表达抑制肿瘤血管形成<sup>[7]</sup>。PTEN 调控肿瘤血管发生是通过磷酸肌醇信号传导途径实现的, 与其脂质磷酸酶活性有关。

## 2 PTEN 在食管癌组织中的研究

2.1 食管癌中 PTEN 基因的研究 PTEN 基因突变常见于恶性胶质瘤、子宫内膜癌、前列腺癌等多种人类恶性肿瘤, 而至今在食管癌研究表明, PTEN 基因突变在食管癌组织中的发生频率较低, 而仅表现为蛋白表达普遍下降。目前, 在肺癌、肝癌、胃癌等 PTEN 基因的研究表明其失活可以发生在 DNA、mRNA 和蛋白 3 个水平, DNA 水平失活的主要机制是基因突变和基因所在 10q23 染色体的杂合性缺失 (LOH)<sup>[8]</sup>, Hu 等<sup>[9]</sup> 首先 PCR-SSCP 和 DNA 直接测序方法, 对 33 例原发性食管鳞癌标本和 20 例癌旁正常组织中 PTEN 基因突变情况进行研究, 发现 33 例鳞癌中仅 1 例出现异常的 SSCP 条带, 测序分析表明在第 7 内含子 802~829 位点发生了 T-C 置换, 在所有标本的第 5 内含子 492 位点发现一个碱基 T 缺失, 在 PTEN 突变的“热点”第 5 外显子没有发现突变, 似乎 PTEN 突变在原发性食管鳞癌的发生中不起重要作用。吴颜晖等<sup>[10]</sup> 用 PCR 法对 12 例原发性食管鳞癌的 10q23 微卫星不稳定性 (micro-satellite instability, MSI) 和 LOH 进行研究, 所分析的 12 例样本的微卫星都为信息个体, 无一例出现纯合缺失, 10q23 的 MSI 发生率为 17%, LOH 发生率为 25%, 总等位基因不平衡率为 42%, 等位基因不平衡与国人的 TNM 分期、淋巴结转移差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。因此推测, 抑癌基因 PTEN 在中国人食管癌中杂合性缺失的可能性较小, 基因的突变会导致蛋白表达的异常, 但由于蛋白的表达存在转录或翻译水平的调控, PTEN 的表达异常是否与这两者有关还有待研究。Ding 等<sup>[11]</sup> 应用 RT-PCR 技术研究发现, 全部 30 个食管癌细胞系 (KYSE 系列) 和正常培养的食管上皮细胞中都表达 PTEN 的 mRNA, Western blot 分析确定所有食管癌上皮细胞系均表达 PTEN, 说明食管癌组织中 PTEN 基因在转录水平没有差异。因此, 在蛋白水平研究 PTEN 与食管癌的关系可能有重要意义。PTEN 基因突变在消化道恶性肿瘤组织中比较常见, 但这些肿瘤的组织学类型主要为腺癌, 而食管癌多为鳞癌, PTEN 基因突变在食管癌的低频率发生是否与此有关, 目前知道尚少。另外, p53-Rb 抑癌基因系统改变是高发区食管癌癌变的重要分子机制。PTEN 基因和 p53 基因两者之一发生突变就足以使鳞状上皮突变。食管鳞癌组织中 PTEN 基因改变比较少见可能与此有关, 在一定程度上解释了 PTEN 在食管癌中的突变率低而蛋白表达普遍下降的原因, 但不能排除其他的原因, 还有待

[收稿日期] 2009-05-22

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 放疗科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 胡 骏 (1983-), 男, 硕士研究生。

进一步研究。

2.2 食管癌中关于 PTEN 的研究 Tachibana 等<sup>[12]</sup>应用免疫组织化学的方法研究 97 例食管癌标本,发现有 48 例 PTEN 定位于细胞核,其表达情况和其余表达在胞质中 PTEN 一样,随着肿瘤的恶性程度升高其表达有下调的趋势。蒋虹等<sup>[13]</sup>应用免疫组织化学方法检测 42 例 EC 及其癌旁组织中 AKT、PTEN 的表达情况。研究发现,PTEN 在癌组织中阳性表达率为 47.6%,正常组织为 100%。表明 EC 组织中 PTEN 水平低于癌旁组织 ( $P < 0.01$ ),两者呈线性负相关 ( $r = -0.583, P < 0.01$ )。PTEN 在晚期、低分化、有淋巴结转移的 EC 中的表达显著低于病变较早、高分化、无淋巴结转移者。表明 PTEN 的低表达在 EC 的发生发展中起重要作用。李劲松等<sup>[14]</sup>采用免疫组织化学法检测 60 例食管癌组织及癌旁正常食管上皮组织 PTEN 的表达情况,结果食管癌组织中 PTEN 的阳性率为 65.0%,显著低于癌旁正常食管上皮组织的阳性率(94.4%),差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。PTEN 蛋白表达在食管癌高、中、低分化组的阳性率逐渐降低,分别为 88.9%、69.6%、36.8%,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),说明 PTEN 蛋白表达的降低在食管癌的发生发展中可能起重要的作用。另外,也有部分学者得出不同结论,如安继业等<sup>[15]</sup>采用免疫组织化学方法检测了河南省林州市 EC 高发区 43 例 EC 伴淋巴结转移标本 PTEN 表达情况:正常上皮 20 例、基底细胞过度增生 29 例、间变 36 例、原位癌 40 例、43 例鳞癌组织及 43 例配淋巴结的 PTEN 免疫反应阳性率分别为 5.0%、27.6%、52.8%、77.5%、90.7% 和 100.0%;免疫阳性反应主要发生在胞核,随着病变进展 PTEN 表达有明显增高趋势 ( $P < 0.05$ ),研究的结果完全相反。目前的 PTEN 有两种抗体,一种是兔抗人多克隆抗体,阳性表达在细胞质,另一种是鼠抗人单克隆抗体,阳性表达在细胞核,是 EC 有独特的分子机制,还是使用不同的抗体检测出 PTEN 野生型或者突变型的不同,都有待于进一步深入研究。

2.3 PTEN 与食管癌血管生成的关系 肿瘤是典型的血管依赖性病变,其发展过程中必然有血管的快速增殖及新生血管的形成。因此,肿瘤的侵袭和转移与肿瘤性血管生成关系密切。研究表明,常血管生成需要 PIP3K/AKT 信号途径:当 VEGF 与其受体结合会激活 PIP3K 使之激活信使前体 PIP2 磷酸化生成 P1。PIP3 通过 PKB/AKT 信号通路作用下游靶蛋白,促进 VEGF 的合成,进而促进血管的形成,而抑癌基因 PTEN 可以直接使 PIP3 的 D3 位去磷酸化,继而降低 PKB/AKT 的磷酸化水平,拮抗下游通路的转导,拮抗 PIP3K/AKT 信号途径抑制 VEGF 的表达而抑制血管生成的作用<sup>[16]</sup>,另据国外研究<sup>[17]</sup>报道,PTEN 的丢失或突变可增强 VEGF 的表达,促进肿瘤组织中微血管的生成,这些反过来又促进肿瘤的浸润和转移。目前关于 PTEN 与食管癌血管生成关系的研究中,国内外有少量报道,如李琴颖等<sup>[18]</sup>应用免疫组织化学 SABC 法检测 PTEN 与食管癌新生血管的关系,结果 PTEN 表达强度与 MVD 呈负相关,PTEN 阳性表达组的平均 MVD 值 ( $76.97 \pm 4.98$ ) 明显低于阴性表达组 ( $89.50 \pm 5.67$ ) ( $P < 0.01$ )。PTEN 有可能作为食管癌进展的肿瘤标志物,PTEN 基因的丢失或突变可以促进肿瘤间质微血管生成,加速肿瘤浸润转移。

2.4 PTEN 与食管癌预后的关系 Tachibana 等<sup>[12]</sup>应用免疫组织化学技术检测食管鳞癌组织中 PTEN 表达情况。结果发现,97 例中 48 例 PTEN 在细胞核表达(49.5%),但 PTEN 在细胞核表达与在细胞质表达的强度、范围差异没有统计学意义。细胞核 PTEN 表达与肿瘤肉眼分级、浸润深度(T 分期)、美国癌症联合会(AJCC)临床分期显著相关,细胞核 PTEN 阳性表达患者的 10 年生存率显著高于细胞核阴性表达者 ( $P < 0.01$ )。多因素分析表明,AJCC 分期 ( $P < 0.05$ ; 相对危险度  $RR = 2.038$ )、细胞核 PTEN 阴性表达 ( $P < 0.05$ ;  $RR = 1.852$ ) 是 EC 生存预后不良的独立因素。细胞核 PTEN 表达可以作为食管鳞癌患者理想的生物学标志和预后指标。

PTEN 基因是继 p53 基因后发现的又一重要抑癌基因,已成为国内外学者关注的焦点。其基因突变在多种原发性恶性肿瘤发生中具有重要作用,在 EC 组织中,PTEN 基因突变发生频率比较低,但 PTEN 表达下调却很普遍,PTEN 表达与食管癌细胞分化程度及预后有关,PTEN 的表达降低可能参与了食管癌的发生、发展及肿瘤性血管的形成,对判断患者的预后具有重要价值。对 EC 中 PTEN 在基因水平、蛋白水平的综合研究,将有助于了解 PTEN 的失活机制。进一步研究 PTEN 基因的作用机制及其与其他癌基因和抑癌基因的相互关系,将有助于探讨食管癌变的分子机制,为开发新的抗食管癌药物、寻找新的基因治疗靶位提供理论依据,为临床治疗提供新思路。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] Lu SH. Alterations of oncogenes and tumor suppressor genes in esophageal cancer in China[J]. *Muta Res*, 2000, 462(3): 343 - 345.
- [2] Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer[J]. *Science*, 1997, 275(5308): 1943 - 1947.
- [3] Radu A, Neubauer V, Akagi T, et al. PTEN induces cell cycle arrest by decreasing the level and nuclear localization of cyclin D1[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(17): 6139 - 6149.
- [4] Vasudevan KM, Gurumurthy S, Rangnekar VM. Suppression of PTEN expression by NF- $\kappa$ B prevents apoptosis[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(3): 1007 - 1021.
- [5] Wu Y, Karas M, Dupont J, et al. Multiple signaling pathways are involved in the regulation of IGF-I receptor inhibition of PTEN enhanced apoptosis[J]. *Growth Horm IGF Res*, 2004, 14(1): 52 - 58.
- [6] Attwell S, Mills J, Troussard A, et al. Integration of cell attachment, cytoskeletal localization, and signaling by integrin-linked kinase (ILK), CH-ILKBP, and the tumor suppressor PTEN[J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(12): 4813 - 4825.
- [7] Huang J, Kontos CD. PTEN modulates vascular endothelial growth factor-mediated signaling and angiogenic effects[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(13): 10760 - 10766.
- [8] Lee HS, Lee HK, Kim HS, et al. Tumour suppressor gene expression correlates with gastric cancer prognosis[J]. *J Pathol*, 2003, 200(1): 39 - 46.
- [9] Hu YC, Lam KY, Tang JC, et al. Mutation analysis of the PTEN/MMAC1 gene in primary esophageal squamous cell carcinomas[J]. *Mol Pathol*, 1999, 52(6): 353 - 356.

[10] 吴颜晖,陈汉春,刘新发,等. 中国人食管鳞癌 10q23 微卫星不稳定和杂合性缺失初步探讨[J]. 中国肿瘤临床, 2004, 31(8): 466 - 468.

[11] Ding Y, Shimada Y, Kano M, et al. PTEN/MMAC1 expression in esophageal squamous cell carcinomas[J]. Int J Oncol, 2000, 17(4): 695 - 699.

[12] Tachibana M, Shibakita M, Ohno S, et al. Expression and prognostic significance of PTEN protein in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer, 2002, 94(7): 1955 - 1960.

[13] 蒋虹,徐志飞,邱秀华,等. 食管癌中 AKT 和 PTEN 蛋白表达及其临床相关性研究[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003, 10(4): 265 - 268.

[14] 李劲松,杨琨,王建军. PTEN 蛋白在食管癌中的表达及临床意义[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2006, 35(5): 623 - 629.

[15] 安继业,贺新伟,王启鸣,等. 河南食管癌高发区人群食管癌和癌旁组织 PTEN 蛋白的表达[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(4): 506.

[16] Pore N, Liu S, Hasas-kogan DA, et al. PTEN mutation and epidermal growth factor receptor activation regulate vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA expression in human glioblastoma cells by transactivating the proximal VEGF promoter[J]. Cancer Res, 2003, 63(1): 236 - 241.

[17] Huang J, Kontos CD. PTEN modulates vascular endothelial growth factor-mediated signaling and angiogenic effects[J]. J Biol Chem, 2002, 277(13): 10760 - 10766.

[18] 李琴颖,王沁,严祥. 食管癌中抑癌基因 PTEN 表达及其对血管新生的影响[J]. 临床内科杂志, 2004, 21(4): 243 - 245.

[文章编号] 1000-2200(2010)05-0534-03

· 综述 ·

## 激活素、抑制素与肿瘤的研究进展

陈晓 综述,王启之 审校

[关键词] 肿瘤;激活素;抑制素;综述

[中国图书资料分类法分类号] R 73 [文献标识码] A

肿瘤的发生、发展受众多因素调节,是一个多步骤复杂的过程。很多研究表明,激活素与抑制素对卵巢、甲状腺、肾上腺、前列腺等生殖内分泌肿瘤及其它肿瘤的发生发展有一定影响。激活素、抑制素均属转化生长因子-β 超家族成员(transforming growth factor-β, TGF-β)。TGF-β 是一组结构相似,但功能不同的生长因子构成, TGF-β 还包括缪勒管抑制素和骨形成蛋白等。近年来发现 TGF-β 对细胞的生长、分化和免疫功能都有重要的调节作用。现就激活素、抑制素与肿瘤的研究进展作一综述。

### 1 激活素、抑制素的概况

1.1 激活素结构、功能 激活素由两个 β 亚单位构成,包括激活素 A、AB、B 3 种,分别由 βA、βA; βA、βB; βB、βB 构成。1995 又有学者发现了另外 3 个亚基 βC、βD、βE。人们研究较多的是激活素 A。激活素最初是从性腺中分离出来的,可促进卵泡刺激素的生成和分泌,促红细胞生成,中胚层分化,调节其它垂体激素和胰岛素分泌,抑制上皮细胞的增生,促进其凋亡作用<sup>[1]</sup>。

1.2 激活素的信号转导 激活素首先与细胞膜上激活素 A II 型受体(Activin Receptor-II, ActR-II)结合后使激活素 A I 型受体(Activin Receptor-I, ActR-I)磷酸化,并与磷酸化后的 ActR I 聚合形成 ActR II-ACT-ActR I 三元络合物,再经胞质内 Smads 蛋白系统向细胞核传导激活素信号<sup>[2]</sup>。Smads 是由 Smads 基因编码的蛋白分子,按生理功能分三类:(1) 通路限制性 Smad 或受体激活的 Smad 1、2、3、5、8;(2) 通用性

Smad 4;(3) 抑制性 Smad 6、7。胞质中如果存在抑制性 Smad 6、7,它们会与 I 型受体结合,干扰信号传导。ActR II-ACT-ActR I 三元络合物与相关受体 R-Smads 相互作用,并使 Smad 2、3 蛋白 C 端丝氨酸残基磷酸化,同时 R-Smads 与 Smad 1、5、8 结合调节骨形成蛋白信号转导<sup>[3]</sup>,之后, R-Smads 与 Smad 4 形成杂聚体后易位到核内,与靶基因启动子区结合,因转录因子类型的不同,从而促进或抑制靶基因表达。Smads 杂聚体与 API、Sp1 或 p300/CBP 等转录激活因子结合可促进靶基因转录;与 TGIF、c2Ski 或 Sno2N 等阻遏物结合,则抑制靶基因转录<sup>[4-5]</sup>。由于激活素-激活素受体-细胞内信号传导分子-基因表达-细胞生长抑制、分化或凋亡,这一通路中的任一环节异常都会导致细胞异常增殖而发生疾病。

1.3 抑制素结构、功能 抑制素由卵巢颗粒细胞产生,在正常人卵巢及颗粒细胞、细胞基质中早已发现抑制素受体 mRNA 的表达。抑制素包括 A、B 两种类型,分别由 α、βA 及 α、βB 亚单位并通过二硫键连接构成。两者均可选择性反馈抑制垂体卵泡刺激素的合成和分泌,不影响黄体生成素的分泌<sup>[6]</sup>。抑制素 α-亚单位被大量试验证明是一种肿瘤抑制因子,具有抑制卵巢及肾上腺等肿瘤细胞生长的作用。

1.4 抑制素的信号转导 抑制素与激活素一样,通过 β-亚单位与 ActR-II 型受体及 TGF-β III 型受体形成复合物,但 α-亚单位不能与 I 型受体结合从而导致激活素受体信号传导被抑制<sup>[7]</sup>,因此 α-亚单位被推测在肿瘤的发生过程中起重要作用,同时抑制素能抑制骨形成蛋白信号转导通路,从而抑制细胞的异常增生。

### 2 激活素/抑制素与生殖内分泌系统肿瘤

2.1 卵巢肿瘤 (1) 性索间质肿瘤:抑制素已被发现可以作

[收稿日期] 2009-05-27

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 消化内科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 陈晓(1984-),女,硕士研究生。