

文章编号:1004-616X(2002)02-0131-0

综述·

## 肿瘤抑制基因 PTEN 的研究进展

周 隽 综述,吴 强 审校

(安徽医科大学病理学教研室,安徽 合肥 230032)

**【摘要】**PTEN/MMAC1/TEP1 基因是 1997 年克隆到的一个新的肿瘤抑制基因,具有酪氨酸磷酸酶的活性,有促进细胞凋亡,参与细胞周期的调控以及抑制细胞的粘附及肿瘤转移的作用。本文阐述了 PTEN 的结构功能,以及在肿瘤抑制中的作用机制。

**【关键词】**PTEN/MMAC1/TEP1;抑癌基因;肿瘤

中图分类号:R730.231<sup>+</sup>.9 文献标识码:A

PTEN(也称 MMAC1 或 TEP1)是 1997 年克隆到的一种新的肿瘤抑制基因,该基因定位于 10q23,在许多肿瘤中这个基因区域有杂合性丢失(LOH)。目前已经在恶性胶质瘤、原发性乳腺癌、子宫内膜癌、前列腺癌等大量的肿瘤成分中证实了这种基因的缺失和突变。PTEN 突变中有 1/3 是与以常染色体为主的疾病有关,如 Cowden 病(CD)、Lhermitte-Duclos 病(LDD)、Bannayan-Zonana 综合征(BZS)等。PTEN 基因突变失活的小鼠杂合体也显示出增生性发育异常的特征和不同组织起源的自发性肿瘤的高发率。这些发现都提示了 PTEN 在肿瘤抑制基因中的重要地位。另外实验已经证明人、鼠、狗的 PTEN 蛋白具有 99.75%的同源性,说明 PTEN 是一个高度保守的蛋白,在细胞生命中起重要作用。

### 1 PTEN 的结构及功能

PTEN 基因全长 200 kb,有 9 个外显子和 8 个内含子。序列分析显示其包含有蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)区,这段氨基酸序列内排列有双特异磷酸酶(dual specificity phosphatase, DSPs)催化区的核心基序 HCXXGXXTS/T<sup>1</sup>,能对酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸残基脱磷酸化。PTEN 的磷酸酶活性区和 CDC14,

PRL-1 和 BVP 等双特异磷酸酶序列同源性最高。CDC14 和 PRL-1 均参与细胞生长的调控,且 CDC14 还能起始 DNA 复制。磷酸化和去磷酸化是调节细胞活动的重要方式,许多癌基因的产物都通过磷酸化而刺激细胞生长,所以 PTEN 可能通过去磷酸化参与细胞调控。PTEN 对高酸性底物的去磷酸化作用要比其他的磷酸酶底物强 50 倍,磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol-(3,4,5)-triphosphate, PIP-3)是其作用底物。PTEN 的结构决定了 PTEN 对高酸性底物有活性。Lee 等<sup>2</sup>的研究显示,PTEN 里包绕催化部位的一个环含有 4 个残基的插入序列,形成一个宽阔的囊状结构能容纳 PIP-3,且其催化部分是由 3 个带正电荷的氨基酸所包绕(Lys-125, Lys-128, His-93)。

PTEN 的 N 端具有一段与细胞张力蛋白(tensin)、辅助蛋白(auxilin)同源的序列,含 177 个氨基酸,在锚着点与肌动蛋白结合,并与该位点的复合物(包括锚着点激酶 FAK, Src, 酪氨酸激酶,生长因子受体和整合素)共同参与细胞生长调节<sup>3</sup>。细胞张力蛋白(tensin)通过粘着斑连接肌动蛋白轴丝,粘着斑是由张力原纤维、膜相关蛋白整合素(integrin)、Src 和生长因子受体组成的复合物,整合素参与介导

收稿日期:2001-04-06; 修订日期:2001-09-10

作者简介:周 隽(1977-),女,安徽芜湖市人,硕士研究生,研究方向:乳腺癌病理学。

细胞扩散和局灶粘附的形成,所以 PTEN 可能通过对肌动蛋白、整合素等作用的下调起到抑制肿瘤的作用。PTEN 的 C 端有一个 PDZ 结合位点,可与 PDZ 蛋白相互作用,PDZ 区域经常与多蛋白复合物的排列有关,故这段结构域可能有利于 PTEN 的定位以及与其他蛋白质的相互作用。PTEN 通过一个 C2 结构域连接到磷脂质膜上,然而不同于其他几种信号蛋白的 C2 区域的是,PTEN 不需要  $Ca^{2+}$  的协作而能直接连接到细胞膜上。由于 C2 结构域与 PTEN 的磷酸酶结构域紧密相连,提示 C2 区域也可能参与了正确定位 PTEN 的催化结构域。与该假设相吻合的是, Lee<sup>2</sup> 的实验证明,在没有牵涉到 PTEN 磷酸酶活性作用的情况下,对 C2 结构域进行诱变,PTEN 肿瘤抑制活性降低。

## 2 PTEN 与细胞凋亡和细胞周期调控

PTEN 作为一种肿瘤抑制基因参与细胞凋亡调控,主要是依赖其脂质磷酸酶的活性而实现的。PIP3 是 PTEN 脂质磷酸酶作用的底物,是胰岛素和表皮生长因子(EGF)等一些细胞生长因子的细胞第二信使。一般情况下,PIP3 在细胞水平上很低,但是一旦遇到生长因子等的刺激,激活 PI3 激酶,使其信使 PIP2 再获得一个磷酸基团,生成 PIP3,PIP3 的水平会迅速上升。PIP3 在细胞膜上的聚集也使得含有 PH 同源结构域的丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt(也称 PKB)被脱磷酸化而活化,活化的 Akt 通过两种方式起到抗细胞凋亡的作用,即阻止从线粒体释放细胞色素 C 和使 Forkhead 转录因子失活,这两个作用所诱导的基因过表达对细胞凋亡是至关重要的。Akt 还会使原凋亡因子 BAD 和 caspase-9 脱磷酸化而失活。在这条作用途径里,PTEN 的作用是维持 PIP3 的低水平,Stambolic 等<sup>4</sup> 在体外实验中发现,纯化的 PTEN 能从 PIP3 上转移特异的磷酸基团,使 PIP2 向 PIP3 的转化发生逆转,从而抑制了 PI3 激酶的磷酸化作用,阻断了 Akt 及其下游激酶的活性,引起细胞凋亡。而失去 PTEN 的作用会导致 PIP3 的聚集和 Akt 的高水平状态,从而导致细胞不受各种凋亡刺激的作用。PTEN 在神经胶质瘤和乳腺癌细胞的过度

表达引起 Akt 的失活外还能介导失巢凋亡(anoikis)<sup>5</sup>,即细胞从细胞外基质脱离所引发的一条特殊的细胞凋亡途径。这种凋亡可以用 PI3 激酶抑制剂信号来模拟。PTEN 在控制 anoikis 中的作用是重要的,突变型 PTEN 常与肿瘤的侵袭性和转移性表型有关。

PTEN 限制 Akt 的功能可以解释 PTEN 的肿瘤抑制作用,然而 PTEN 是否在控制细胞周期循环中起作用还有待于进一步研究。Di Cristofan 等<sup>6</sup> 用一种去除有丝分裂的方法培育同步发育的胚胎干细胞(ES),发现 PTEN<sup>-/-</sup> 细胞里细胞周期循环有轻微的缩短(5%~10%),然而在小鼠胚胎成纤维细胞或不同时相 ES 细胞培养中没有这种不同。Paramio 等<sup>7</sup> 则发现 PTEN 在 G1 期阻断细胞周期进程中,与 p27 蛋白的转录后上调有关,也与 cyclin E/CDK2 复合物及 Rb 磷酸化抑制有关。在 PTEN<sup>-/-</sup> ES 细胞中,p27 蛋白水平是降低的,PI3 激酶抑制剂如 wortmannin 和 LY294002 能够模拟 PTEN 作用于细胞周期循环和 p27 蛋白水平,PTEN 对 p27 水平的影响似乎依赖于 PI3 激酶/Akt 途径的抑制作用。PTEN 失活通过依赖 Akt 磷酸化和糖原合成酶激酶-3(GSK-3)可能也会导致加速细胞循环周期的进程,反过来说,即会导致 cyclin D1 稳定。与这种观念相一致的是,在 PTEN 过度表达的 C33A 细胞株中也观察到 cyclin D1 水平的降低。Paramio 等<sup>7</sup> 还提出 PTEN 与 Rb 途径更深层的关系:除非 Rb 同时转染,否则在 Rb<sup>-/-</sup> Saos-2 或 C33A 细胞里 PTEN 不能诱导 G1 期阻遏。最近 Gottschalk 等<sup>8</sup> 亦证明 PTEN 的表达与 p27kip1 表达上调、cyclin A 和 cyclin D3 表达下调、cdk2 活性抑制以及 Rb 蛋白去磷酸化有关,p27kip1 是 PTEN 诱导 G1 期终止的关键性的中介者。

有人发现在许多高分化肿瘤中可找到肿瘤抑制基因 PTEN 的突变,当给缺乏野生型 PTEN 基因的肿瘤细胞株导入 PTEN 后,PTEN 能抑制这些细胞的生长,PTEN 的过表达刺激细胞周期素依赖蛋白激酶的抑制物 p21<sup>WAF1</sup>、p27<sup>KIP1</sup>、p57<sup>KIP2</sup>,而 PTEN 表达的上调会使细胞对凋亡敏感<sup>11</sup>,这提示,PTEN 既有抑制生长作用又有促进细胞凋亡作用。Weng 等<sup>9</sup>

观察发现,在 MCF-7 乳腺癌细胞株中,PTEN 过表达导致凋亡的细胞不是来自阻遏于 G<sub>1</sub> 期的细胞。而且与 PTEN 过表达所致的作用相比,起决定性负面作用的 Akt 的过表达会导致更多的细胞凋亡而较少的细胞发生周期阻遏。

那么对不同肿瘤细胞株进行 PTEN 的再导入,为什么有的会引起细胞周期终止(如恶性胶质瘤、肾癌的细胞株),而有的会引起细胞凋亡(如前列腺癌细胞株)?究其原因,可能是 PTEN 再表达的肿瘤抑制结果是取决于肿瘤发生的细胞类型,但同时别的致癌途径也很可能影响 PTEN 的生物学行为。

Hlobilkova 等<sup>10</sup> 通过实验发现,外源性野生型 PTEN 可以在 G<sub>1</sub> 期遏制部分乳腺癌细胞系,然而出人意料的是,在 G<sub>129E</sub> 细胞株中,PTEN 选择性丢失脂质磷酸酶活性仍然能遏止 MCF-7 细胞的细胞周期循环,而缺乏蛋白磷酸酶活性的 G<sub>129R</sub>、H<sub>123Y</sub> 突变株却没有这种作用,这些结果提示在一部分肿瘤里 PTEN 的蛋白磷酸酶活性可能有助于其肿瘤抑制作用。所以,对 PTEN 作用底物的进一步研究阐述对未来肿瘤治疗策略将会有重要的指示作用。

### 3 PTEN 与细胞粘附和肿瘤转移

Tamura 等<sup>12</sup> 把 PTEN 导入恶性胶质瘤细胞株 U-87MG 中,导致 FAK 被 PTEN 直接脱磷酸化,从而阻止整合素介导的细胞扩散、转移和局灶粘附的形成。而脂质磷酸酶失活的 PTEN 突变株 G<sub>129E</sub> 能阻止细胞扩散和导致 FAK 脱磷酸化。随后, Tamura 小组继续提出 PTEN 能连接并脱磷酸化 ShCp52 异构重整,这样阻止 Grb2 接受因子的修复以及抑制接下来的细胞外信号调节激酶(ERK)/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路的活化。PTEN 就是这样通过控制 FAK 和 Shc 脱磷酸化来调整细胞粘附和转移的。而 FAK 的过表达可以拮抗 PTEN 对细胞浸润及转移的抑制作用,并可促进细胞增生。因此, PTEN 可能通过对细胞和细胞外基质相互作用的负调节而起到抑制肿瘤的作用。

Zundel 等<sup>13</sup> 在研究恶性胶质细胞瘤细胞株发现,缺乏 PTEN 的细胞在导入外源性 PTEN 后,通过

下调 Akt 活性和 HIF-1 调控基因的表达可以控制 IGF-1 介导的血管源性基因的表达,有助于抑制肿瘤恶性进行性扩散。Wen 等<sup>14</sup> 观察患脑肿瘤的裸鼠模型体中重组 PTEN cDNA 的 U87MG 胶质瘤细胞生长情况发现,野生型 PTEN 重组体在体内能抑制血管生成活性抑制肿瘤生长延长小鼠寿命,而脂质磷酸酶失活的 PTEN 重组肿瘤细胞株 G<sub>129E</sub> 则没有这种作用,提示 PTEN 脂质磷酸酶在体内控制血管的生成反应。PTEN 通过调控依赖磷酸肌醇信号途径控制肿瘤介导的血管生成以及胶质瘤的恶性转变,从而调控肿瘤发展。

### 4 PTEN 在肿瘤中的突变

人类肿瘤 PTEN 突变的研究发现,在许多原发性肿瘤中的 10q23 上 LOH 是很普遍的现象(25%~50%),但在肿瘤早期便发生 PTEN 完全缺失的只出现在子宫内膜癌和卵巢癌里,在恶性胶质瘤和前列腺癌等病例中,PTEN 的完全失活发生在肿瘤后期,此时肿瘤更具侵袭性,且通常是转移性肿瘤。所以 PTEN 基因的缺失被认为是恶变过程中的后期事件。据报道,从人类 PTEN/MMAC1 磷酸酶中已经分离出一种假基因 PTEN,它在许多细胞株和组织中都具转录活性,一些病例中,假基因转录甚至达到 PTEN/MMAC1 RNA 的 70%。用 RT-PCR 技术予以控制,发现有大量的 PTEN/MMAC1 突变误翻译以及大量 PTEN 密码子翻译产物的表达,提示 PTEN 的表达会引起 PTEN/MMAC1 在分子水平上作用的复杂化<sup>15</sup>。

Perren 等<sup>16</sup> 对 33 例散发性原发性乳腺癌用免疫组化分析 PTEN 的表达发现,导管上皮不管是否伴有不典型性增生都比正常乳腺上皮细胞表现出更高的 PTEN 蛋白水平。PTEN 蛋白质定位在胞质和细胞核(或核膜上)。而在免疫染色阴性的肿瘤细胞中都有 PTEN 杂合性丢失,在着色减弱的 6 例病例中,有 5 例有 PTEN 半合子的丢失,在 5 例免疫组化染色阴性病例中同时也有雌激素和孕激素受体阴性,而 22 例阳性病例中只有 5 例是两者均为阴性的。Sano 等<sup>17</sup> 发现在恶性胶质细胞瘤中蛋白水平表达

的高低与疾病的病理分级和预后有关,预后越差,恶性程度越高,PTEN 蛋白水平越低。国人群体中 PTEN 基因在各种肿瘤中的表达则有待进一步证实。

## 5 小结与展望

总之,PTEN 作为具有磷酸酶活性的抑癌基因,因其独特的作用途径和在多种人类肿瘤的发生机制中的重要作用而倍受重视。PTEN 作为第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因,有抑制生长作用,又有促进细胞凋亡作用,参与细胞周期的调控以及抑制细胞的粘附及肿瘤转移。但是,PTEN 的表达与肿瘤的关系尚需进一步深入研究,目前的研究尚存在一定的缺陷,如多数的研究只限于对细胞株,在人实体瘤中观察较少。进一步明确 PTEN 的作用底物及各作用途径间的相互关系,观察不同肿瘤组织中 PTEN 蛋白表达的情况,将对判断病人的预后等提供参考价值,有助于为临床治疗等提供新的方向。

## 参考文献:

- 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) : 1 943 ~ 1 947.
- Lee JO, Yang H, Georgescu MM, et al. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association J. *Cell*, 1999, 99(3) : 323 ~ 334.
- Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, et al. Identification of a candidate tumor suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers J. *Nat Genet*, 1997, 15(4) : 356 ~ 362.
- Stambolic V, Suzuki A, de la Pompa JL, et al. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN J. *Cell*, 1998, 95(1) : 29 ~ 39.
- Lu Y, Lin YZ, Lapushin R, et al. The PTEN/MMAC1/TEP tumor suppressor gene decreases cell growth and induces apoptosis and anikis in breast cancer cells J. *Oncogene*, 1999, 18(50) : 7 034 ~ 7 045.
- Di Cristofano A, Kotsi P, Peng YF, et al. Impaired Fas response and autoimmunity in Pten<sup>+/-</sup> mice J. *Science*, 1999, 285 (5 436) : 2 122 ~ 2 125.
- Paramio JM, Navarro M, Segrelles C, et al. PTEN tumor suppressor is linked to the cell cycle control through the reinoblastoma protein J. *Oncogene*, 1999, 18(52) : 7 462 ~ 7 468.
- Gottschalk AR, Basila D, Wong M, et al. P27kip1 is required for PTEN-induced G1 growth arrest J. *Cancer Res*, 2001, 61(5) : 2 105 ~ 2 111.
- Weng L, Brown J, Eng C. PTEN induces apoptosis and cell cycle arrest through phosphoinositol-3-kinase/Akt-dependent and-independent pathways J. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(3) : 237 ~ 242.
- Hlobilkova A, Gulberg P, Thullerg M, et al. Cell cycle arrest by the PTEN tumor suppressor is target cell specific and may require protein phosphatase activity J. *Exp Cell Res*, 2000, 256 (2) : 571 ~ 577.
- Wu RC, Li X, Schonthal AH. Transcriptional activation of p21<sup>WAF1</sup> by PTEN/MMAC1 tumor suppressor J. *Mol Cell Biochem*, 2000, 203(1 - 2) : 59 ~ 71.
- Tamura M, Gu J, Tran H, et al. PTEN gene and integrin signaling in cancer J. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91(21) : 1 820 ~ 1 828.
- Zundel W, Schindler C, Haas - Kogan D, et al. Loss of PTEN facilitates HIF-1-mediated gene expression J. *Genes Dev*, 2000, 14(4) : 391 ~ 396.
- Wen S, Stolarov J, Myers MP, et al. PTEN controls tumor-induced angiogenesis J. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98 (8) : 4 622 ~ 4 627.
- Fujii GH, Morimoto AM, Berson AE, et al. Transcriptional analysis of the PTEN/MMAC1 pseudogene, PTENJ. *Oncogene*, 1999, 18(9) : 1 765 ~ 1 769.
- Perren A, Weng LP, Boag AH, et al. Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast J. *Am J Pathol*, 1999, 155(4) : 1 253 ~ 1 260.
- Sano T, Lin H, chen X, et al. Differential expression of MMAC1/PTEN in glioblastoma multiforme: relationship to localization and prognosis J. *Cancer Res*, 1999, 59(8) : 1 820 ~ 1 824.