维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述 文章编号:0253-3626(2007)04-0445-04

抑癌基因 PTEN 与头颈部肿瘤关系的研究

沈 娜 综述,陈鸿雁 审校

(重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R730.5 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-10-19

PTEN(也称 MMACl 或 TEP1)是 1997 年克隆到的一种新的肿瘤抑制基因,它定位于 10q23.3,是迄今发现的第一个具有特异性磷酸酶活性的抑癌基因[1]。研究表明,在原发性乳腺癌、子宫内膜癌、恶性胶质瘤等大量的肿瘤成分中有该基因的突变和失活,近年来在头颈部肿瘤中也发现其有异常表达。它在细胞的生长发育、信号转导和细胞凋亡中起重要作用,自发现以来,引起学者们的广泛关注。现就 PTEN 与头颈部肿瘤的关系研究作一综述。

1 PTEN 基因的发现

许多癌基因的本质是激酶,于是就有研究者推测,是否某些磷酸酶具有抑癌基因的性质。1997 年,Li 等[2]用差别显示分析法(Representational diference-analysis,RDA)在原发性乳腺癌的两个细胞株中发现了 10q23 染色体特定区域的同源性丢失,并分离得到一种新的基因,在其 403 个氨基酸的读码框架中有一段含 55 个氨基酸残基的酪氨酸磷酸酶功能域,另有一含 75 个氨基酸残基的序列与细胞骨架蛋白 tensin 和辅助蛋白 auxilin 同源,据此将其命名为在肿瘤 10 号染色体有缺失的与细胞骨架蛋白 tensin 同源的磷酸酯酶(Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten,PTEN)。几乎是同时,Steck 等[3]克隆得到胶质母细胞瘤细胞系定位与 10q23 的抑癌基因,命名为 MMAC1(Mutated in multiple advanced caneer 1,MMAC1)。Li 等[4]在探索蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)家族新成员过程中发现 TEP1 基因(TGF-βregulated and epithelial cell-enriched phosphatase,TEP1),发现它富含于上皮细胞,TGF—β 可使它迅速下调。后经确认,PTEN,MMAC1 和 TEP1 基因为同一基因,其编码的蛋白质为同一种蛋白质,现统一称为 PTEN。

2 PTEN 的结构及分布

2.1 结构

PTEN 基因定位于 10q23.3,全长 200ku,含 9 个外显子和 8 个内含子,其 cDNA 有一长的 5,非翻译区,其第一个外显子有 4 个 ATG 起始密码序列。真正的蛋白编码起始于第 4 个 ATG,该 cDNA 序列中含有一个有 1209 个核苷酸组成的阅读框(ORF),其编码的蛋白质有 403 个氨基酸残基组成。在 PTEN 蛋白的 N 端含有一个蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)的功能域,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[2],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,而 PTEN 可能通过去磷酸化参与细胞调控。Pavletich 小组[5]对 PTEN 晶体的结构进行研究,发现其磷酸酶活性位点可以与大体积的酸性底物 3、4、5-三磷酸脂酰肌醇(phosphatidy linositol3、4、5-trisphosphate,PIP3)结合。其活性位点的裂口和 PTP 一样深,宽度是其两倍,而大于 DSP 作用位点的宽度和深度,该功能域具有肿瘤抑制功能。PTEN 的结构决定了 PTEN 对高酸性底物有活性。

PTEN 的 N 端与张力蛋白(Tensin)和辅助蛋白(Auxilin)具有同源性,其活性位点(编码此催化核心的第 5 外显子区域)是突变热点,其过度表达能抑制细胞移动。C 端分为 C2 区和尾区,C2 区可介导蛋白质和脂质的结合及蛋白质的膜定位;尾区有与含 PDZ 的蛋白作用的位点,这些蛋白具有骨架蛋白分子的特点,可能与细胞内蛋白信号复合体的装配有关,PDZ 区可增强 PTEN 的磷酸酶活性,增强 PTEN 信号的传导效率。

2.2 分布

Pten 在细胞内的分布因组织不同而不同,主要分布于细胞胞质中,少量分布于细胞膜、细胞核上,在人类的胎盘、心脏、脑、肺和肾脏等组织表达较高。

3 PTEN 抑制肿瘤的机制

目前普遍认为 PTEN 主要是通过介导细胞凋亡,抑制细胞周期的进展,并调控细胞的粘附、迁移、扩散和分化而发挥抗肿瘤作用。

作者介绍:沈 娜(1981-),女,硕士,主要研究方向:头颈部肿瘤。

维普资讯 http://www.cqvip.com

3.1 维持 PIP3 的低水平

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 是一种全新的磷酸酶作用靶分子，是 PTEN 脂质磷酸酶作用的底物，位于细胞膜上，是胰岛素、表皮生长因子(ECGF)等细胞信号传递的第二信使。在静止期的细胞中，PIP3 的水平很低，当生长因子刺激时，激活 PI3K(Phosphatidy Linositol-3-kinase，磷酯酰肌醇-3-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[6]。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。可见 PTEN 的作用是通过维持 PIP3 的低水平，而负调 PI3K 通路。Scambolic 等[7]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 FTEN 功能的丧失将导致 PIP3 的浓度上升和 AKT 的过度活化，从而导致细胞不受各种凋亡刺激的作用。

3.2 调控细胞周期

PTEN 通过 PI3K/Akt 信号转导途径，使组织中 Akt 水平明显升高[8]，上调细胞生长周期的关键调节位点激酶抑制剂 P27KIP1，促使 P27KIP1 与细胞周期素 E 细胞周期素依赖蛋白激酶 2(CyclinE/CDK2)结合，干扰细胞生长信号，使细胞阻滞于 G1 期。

3.3 调控细胞的增殖、分化和转移

局灶粘附激酶(Focal adhesion kinase，FAK)是整合素介导的信号途径中的一个至关重要的分子。整合素通过与细胞外基质作用而被活化。整合素活化后，使 FAK 酪氨酸磷酸化水平提高，同时增加其磷酸激酶活性，而它又可使细胞转移、扩散和黏附。FAK 还被认为能阻止细胞发生凋亡。PTEN 通过使 FAK 去磷酸化而达到阻止细胞侵袭及转移的目的。Tamura 等[9]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。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。

正常细胞表面存在多种介导细胞之间、细胞与细胞外基质(ECM)之间粘附的分子，如 NCAM、E-cadherin、血凝素，细胞通过其粘附分子的胞外部分和 ECM 发生粘附、识别，然后通过粘附分子的胞内部分与骨架蛋白(α β catenin、vinculin、radixin 等)相连，从而将细胞外信号传入胞内，调节细胞生长。因此上述过程任一环节的缺失将使细胞粘附能力下降，促使肿瘤的发生与转移。张力蛋白是一种细胞骨架蛋白，与细胞与细胞外基质 ECM 的粘附有关，从而能影响细胞移动，PTEN 的 N 端有与张力蛋白和辅助蛋白（Auxilin）同源的序列，其过度表达能抑制细胞的移动。有研究表明，肿瘤细胞表达 PTEN 可抑制细胞移动，反之则增强细胞移动，从而参与肿瘤细胞的粘附、侵袭和转移。

3.4 抑制肿瘤血管

Dickerson 等[10]发现，PTEN 的点状突变或者删除 C-端结构域，可以使血管肉瘤的细胞在小范围内获得生存优势。有研究发现，如果将野生型 PTEN 基因导入裸鼠胶质细胞瘤，与对照组相比，其肿瘤体积缩小，血管生成较对照组明显减少[11]。究其机制，可能的原因是：①PTEN 缺失能上调血管内皮生长因子(VEGF)介导的血管内皮细胞增殖、迁移，延长主动脉血管出芽的长度和血管生成。②PTEN 突变后能上调 VEGF 启动子活性，增加 VEGF mRNA 的表达。③PTEN 降低 AKT 的磷酸化的水平，抑制低氧诱导因子(HIF-1)的表达和活性，并降低其稳定性。HIF-1 是重要的调节因子，两者结合后能在转录水平增加 VEGF 的表达。

4 PTEN 与头颈部肿瘤的关系

头颈部肿瘤是人类常见的肿瘤之一，特别是鼻咽癌，我国广东处于世界高发区。PTEN 基因自发现以来，引起了广泛的关注，大量研究表明，PTEN 与脑胶质瘤、乳腺癌、宫颈癌等[12-14]多种肿瘤的发生有密切关系。近年的研究发现，在头颈部肿瘤中也有 PTEN 基因表达的异常。

谢思明等[15]采用 SP 法免疫组化方法检测 62 例口腔鳞癌中和 12 例正常口腔黏膜中 PTEN 蛋白表达，发现在正常口腔黏膜中 PTEN 均为强阳性表达（12/12），在口腔鳞癌中 24.2%(15/62)表现为 PTEN 蛋白表达的缺乏或减少。王鲲等[16]的研究表明 PTEN 在高、中、低分化口腔鳞癌组的阳性表达率分别为 83.3%、78.6%和 25%；PTEN 在口腔鳞癌组织中的蛋白表达与患者的年龄、性别无显著相关性。说明 PTEN 基因在口腔鳞癌的发生发展过程中起一定作用，且 PTEN 蛋白的表达与组织分化程度显著相关。

张茹慧等[17]应用聚合酶链反应(PCR)及克隆、基因测序的方法来分析腮腺多形性腺瘤、腮腺粘液表皮样癌及正常腺体组织中 PTEN 基因第 5、第 6 及第 8 外显子有无突变及缺失。结果发现有 2 例腮腺多形性腺瘤外显子 8 发生突变，其中 1 例引起编码的氨基酸发生变化；而腮腺粘液表皮样癌中均未发现有突变及缺失。推断在 DNA 水平抑癌基因 PTEN 在腮腺多形性腺瘤中存在突变，在其发生发展过程中可能起到一定的作用；在 DNA 水平抑癌基因 PTEN 在腮腺粘液表皮样癌的发生过程中可能不起重要作用。

维普资讯 http://www.cqvip.com

Lee 等[18]采用免疫组化方法检测 41 例Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期喉鳞状细胞癌患者组织标本中 PTEN 表达(所有的患者均接受了外科手术的治疗),在 29%(12/41)的肿瘤中证实了 PTEN 的缺失,且 PTEN 缺失数多的其存活数和存活期明显减少。说明 PTEN 的缺失在舌鳞状细胞癌中并不是罕见的事件,可能作为舌癌预后的指标。

吴先光等[19]采用免疫组织化学 SABC 染色法观察鼻腔正常组织、鼻窦内翻性乳头状瘤 (Nasal inverted papilloms, NIP) 组织和癌变 NIP 组织中 PIEN 蛋白的表达,结果发现 PTEN 在鼻腔正常组织的表达阳性率(100%)高于 NIP 组织的表达阳性率(69.4%),不典型增生 NIP 表达阳性率(75.0%)与良性 NIP 表达阳性率(81.3%)之间无显著性差异($P>0.05$),癌变 NIP 表达阳性率(37.5%)和不典型增生 NIP(75.0%)、良性 NIP(81.3%)相比具有极显著性差异($P<0.01$)。表明抑癌基因 PTEN 在 NIP 瘤细胞增生、增殖过程作用和意义不明显;而在控制 NIP 瘤细胞转化恶变过程有重要作用,对其表达缺失的检测可以作为判断 NIP 癌变的客观生物指标。吴先光[20]又用同样的方法观察正常喉黏膜和喉癌组织中 PTNE 蛋白的表达,发现 PTNE 在喉癌组织的表达阳性率(52.3%)明显低于正常喉黏膜组织的表达阳性率 96.7%;Ⅰ、Ⅱ期喉癌(71.4%、63.3%)PTEN 蛋白表达阳性率又明显高于Ⅲ、Ⅳ期喉癌(25.0%、22.2%);声门型喉癌(65.8%)明显高于声门上型和声门下型喉癌(34.8%、25.0%);高分化喉鳞癌(88.0%)明显高于低分化喉鳞癌(37.5%、18.8%);N0 喉癌(78.4%)明显高于 N1\2 喉癌(17.9%)。说明 PTEN 在喉癌的发生及发展过程中有表达缺失,缺失程度与临床分期、生长部位、病理分级和淋巴转移有相关性。

Tian 等[21]用用免疫组化 SABC 染色法检测 65 例喉癌标本和 23 例正常组织中 P73 和 PTEN 的表达,发现在喉癌组织中 PTEN 蛋白的阳性率为 49.2%(32/65),而正常组织中阳性率为 95.7%(22/23);在Ⅰ-Ⅱ期喉癌中 PTEN 蛋白阳性表达高于Ⅲ-Ⅳ期,且在高分化喉癌中少见;有颈部淋巴结转移和远处转移的病例中 PTEN 的阳性率低于无转移的病例。PTEN 的表达在五年生存率高的病人中为 66,7%,而五年生存率低的病人中为 27.3%。表 PTEN 的阳性表达可能预示喉癌的预后。

Xu 等[22]用 SABC 免疫组化法来检测石蜡包埋的鼻咽癌组织中的 PTEN 表达,发现正常标本中 PTEN 的缺乏率(13.3%)低于鼻咽癌组织(47.8%);在鼻咽癌病例中,PTEN 在鼻咽鳞癌的缺乏率(58.1%)高于其他组织类型(30.8%);鼻咽癌缺乏 PTEN 的程度与肿瘤的病理期相关,缺乏 PTEN 增加鼻咽癌的低分化程度;在临床Ⅲ-Ⅳ期鼻咽癌中 PTEN 的缺乏率(78.1%)高于临床Ⅰ-Ⅱ期(21.6%)。由此推测 PTEN 基因的缺失可能影响到鼻咽癌的进程,且与组织类型、病理阶段和临床分期有关。

Poetsch 等[23]研究 PTEN/MMAC1 在头颈部鳞癌中的作用,并对比 P16 的变异和甲基化以及之前原位杂交结果关于染色体 9 和 10 的缺失。在 23%的肿瘤标本中出现 PTEN/MMAC1 的变异。有五个病例同时检测到 10 号染色体的缺失和 PTEN/MMAC1 的变异(71%)。PTEN/MMAC1 的突变发生在 5,6,7,8 位外显子上。且只有一个突变以前曾经描述过。而且,在 3 例喉癌病人(6%)中检测到 P16 的突变(2 号外显子),14%的癌显示了 P16 的突变。结论显示在肿瘤的发生和肿瘤细胞进程中并不是单独 PTEN/MMAC1 的作用。

5 小结和展望

PTEN 基因是迄今为止发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因,它的发现,被形容为能揭开人类肿瘤基因学一些未知迷团的里程碑[24]。自 1997 年发现以来,因其独特的作用途径和在多种人类肿瘤的发病机制中的重要作用而倍受关注。研究显示 PTEN 基因具有调控细胞周期、抑制细胞生长、促进凋亡、抑制血管生成及抑制细胞粘附和转移的作用。但是目前的研究还处于起步阶段,进一步研究 PTEN 与癌基因和抑癌基因的相互作用及各作用途径之间的相互关系,在肿瘤检测、预后判定、疗效评估方面具有重要意义。

参 考 文 献

[1] Steck PA,Penshouse MA,Jasser SA,et al.Identification of a candidate tumour suppressor gene,MMAC1,at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple sdvanced cancers[J].Nat Genet,1997;15(4):356-362.

[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] 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.

[4] Li DM,Sun H.TEPI,encoded by a candidate tumor suppressor locus,is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor beta[J].Cancer Res,1997;57(11):2124-2129.

[5] 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.

[6] NR Leslie,CP Downes.PTEN:The down side of PI3-kianse signaling cell signa1[J].Cell Singal,2002;14:285-288.

[7] Stambolic V,Stuzuki 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.

[8] Kanamori Y,Kigawa J,Itamochi H,et al.Correlation between loss of PTEN expression and Akt phosphorylation inendometrial carcinoma [J].Clin Cancer Res,2001;7(4):892-895.

维普资讯 http://www.cqvip.com

[9] Tamura M,Gu J,Tran H,et al. PTEN gene and inregrin sugnaling in cancer[J].J Natl Cancer lust,1999;91(21):1820-1828.

[10] Dickerson EB,Thomas R,Fosmire SP,et al.Mutations of phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 in canine hemangiosarcoma[J].VetPathol,2005;42(5):618-632.

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

[12] 尹卫宁,崔 洁,刘隆熙,等.PTEN 在脑胶质瘤表达的定性研究[J].青海医药卫生,2005;37(4):243-245.

[13] Depowski PL,Rosenthal SI,Ross JS. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer[J].Mod Pathol,2001;14(7):672-676.

[14] 孔德玲,王桂芳.抑癌基因 PTEN 在宫颈癌中的表达及意义[J].现代中西医结合杂志,2005;14(17):2240-2241.

[15] 谢思明,沈丽佳,殷 操,等.PTEN 和 PHIT 在口腔鳞癌中的表达及意义[J].暨南大学学报,2005;26(2):237-241.

[16] 王 鲲,黄克强.口腔鳞癌抑癌基因 PTEN 蛋白的表达[J].武警医学,2005;16(10):736-738.

[17] 张茹慧,李春艳,余立江,等.抑癌基因 PTEN 在腮腺肿瘤中的突变与缺失[J].口腔医学研究,2005;21(1):41-44.

[18] Lee JI,Soria JC,Hassan KA,et al.Loss of PTEN expression as a prognostic marker for tongue cancer[J].Arch Otolaryngol Head Neck Surg JT-Archives of otolaryngology-head & neck surgery,2001;127(12):1441-1445.

[19] 吴先光,姚卓华,吴南娇.抑癌基因 PTEN 在鼻内翻性乳头状瘤中的表达及意义[J]. 现代医院,2005;5(8):13-14.

[20] 吴先光,何淑华,沈志忠.喉癌组织中抑癌基因 PTEN 的表达及意义[J].中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志,2005;13(4):186-188.

[21] Tian SZ,Jiang XQ,Chi HC,et al.Expression of p73 and PTEN in laryngeal squamous cell carcinoma and their clinical significance [J].Ai Zheng,2004;23(1):90-94.

[22] Xu X,Yang H,Huo X.Expression and significance of PTEN in nasopharyngeal carcinoma[J].Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi,2004;18(11):658-659.

[23] Detection of new PTEN/MMAC1 mutations in head and neck squamous cell carcinomas with loss of chromosome[J].10Cancer Genet Cytogenet,2002;132(1):20-24.

[24] Maria LS,Ramon P.PTEN:From pathology to biology[J].J Trende in Cell,2003;13:478-483.

(上接第 441 页)

[11] Arimoto-Ishida E,Ohmichi M,Mabuchi S,et al. Inhibition of phosphorylation of a forkhead transcription factor sensitizes human ovarian cancer cells to cisplatin [J]. Endocrinology,2004;145(4):2014-2022.

[12] Furukawa-Hibi Y,Kobayashi Y,Chen C,et al.FOXO transcription factors in cell-cycle regulation and the response to oxidative stress[J]. Antioxid Redox Signal,2005;7(5-6):752-760.

[13] Zhou Y,Kato H,Asanoma K,et al. Identification of FOXC1 as a TGF-beta1 responsive gene and its involvement in negative regulation of cell growth[J].Genomics,2002;80(5):465-472.

(上接第 444 页)

[30] Palmisano W A,Divine K K,Saccomanno G et a1.Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum [J]. Cancer Res,2000;60(21):5954-5958.

[31] An Q,Liu Y,Gao Y,et a1.Detection of p16 hypermethylation in circulating plasma DNA of non-small cell lung cancer patients [J].Cancer Lett,2002;188(1-2):109-114.

[32] Kersting M,Friedl C,Kraus A,et a1.Diferential frequencies of p16INK4a promoter hyper methylation,p53 mutation,and K-ras mutation in exfoliative material mark the development of lung cancer in symptomatic chronic smokers[J].Clinical Oncology J,2000;18(18):3221-3229.

[33] 姚群峰,宁 勇,张利平,等. 错配杂交化学发光法定量检测 p16 基因过甲基化[J]. 中华检验医学杂志,2005;28(10):1057-1059.