维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2003)03-0394-04

细胞周期素依赖激酶抑制蛋白 p27 与泌尿系统肿瘤

沈 俊 综述;唐 伟 审校

(重庆医科大学临床学院泌尿外科,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R737.11 【文献标识码】B 【收稿日期】2002-07-10

细胞周期素、周期素依赖激酶及周期素依赖激酶抑制蛋白控制细胞周期的运转,从而决定细胞的增生肥大等。其中任何一种发生变化均可导致细胞增生的异常,甚至癌变。$P27^{kip1}$(简称 p27)是一种重要的细胞周期素依赖激酶抑制蛋白,它可抑制细胞的增生。近年研究发现 P27 的缺失起抵抗生长抑制因素的作用,并参与细胞增生的失调和致癌作用,与泌尿系统肿瘤的发生、发展密切相关,对肾、输尿管、膀胱以及前列腺等恶性肿瘤有较高的预后价值。为此,本文就近年来相关研究资料进行综述。

1 细胞周期及其检验点的调控

细胞可分为暂时静止细胞(正常情况下不分裂增生,但在适当的有丝分裂原刺激下可以再次进入细胞周期分裂增生的细胞。比如:肾脏系膜细胞、上皮细胞及内皮细胞均为暂时静止细胞。)、持续分裂细胞(增生分裂不受控制的细胞即为肿瘤细胞)、衰老凋亡的的细胞等。细胞周期(cell cycle)是指细胞前一次分裂结束开始生长到下一次分裂终了所经历的过程。根据研究,人们把细胞周期分为 4 个时相。G_1 期:从有丝分裂完成到 DNA 复制之前的间歇期(gap1 phage);S 期:DNA 复制期(synthesis phage);G_2 期:从 DNA 复制完成到有丝分裂开始的间歇期(gap2 phage);M 期从有丝分裂开始到结束,即有丝分裂期(mitosis)。细胞周期中的主要突变发生于 S 期和 M 期,而 G_1 期和 G_2 期则是为 DNA 的复制和细胞有丝分裂做准备工作。现有的研究表明在细胞周期运转进程中,存在两个检验点(checkpoints),细胞可能在此两个检验点处发生细胞周期停顿(cycle arrest)[1]。一个是从 G_1 期到 S 期(G_1/S),即 DNA 合成起始转换点,另一个是从 G_2 期到 M 期(G_2/M),即有丝分裂诱导转换点,其中 G_1/S 转换点十分重要,如果细胞不能通过 G_1/S 转换点,则细胞可能发生肥大。如果细胞的 G_1 期明显缩短,通过 G_1/S 转换点加快,则细胞可能发生过度分裂增生。目前知道调节细胞周期运转(包括细胞能否通过 G_1/S 转换点)的物质是细胞周期调节蛋白。

2 细胞周期调节蛋白

细胞周期调节蛋白分为周期素(cycline)周期素依赖激酶(cyclin-dependent kinase,CDK)及周期素依赖激酶抑制物(cyclin-dependent kinase inhilitors,CDKI)。周期素和 CDK 为细胞周期正调节蛋白(positive cell-cycle regulatory proteins),其作用是促进细胞周期的运转;CDKI 为细胞周期负调节蛋白(negative cell-cycle regulatory proteins),其功能是抑制细胞周期的运转。周期素有 8 种亚型,分别命名为周期素 A、周期素 B,一直到周期素 H。CDK 有 7 种亚型:cdc2,CDK2 至 CDK7,不同的细胞周期时相有各自特异的周期素和周期素依赖激酶,从而决定不同的细胞周期时相有不同的细胞突变发生,例如,S 期的 DNA 合成、M 期的细胞分裂。周期素与周期素依赖激酶结合形成复合物,通过作用于下激靶蛋白来促进细胞周期的运转[1]。例如,成视网膜瘤蛋白是一种十分重要的下游靶蛋白,它有低磷酸化和磷酸化两种状态,Cyclin-CDK 复合物使成视网膜瘤蛋白由低磷酸化状态转化为磷酸化状态,从而允许 G_1/S 进行转换及 DNA 合成[2]。

3 周期素依赖激酶抑制物

作者介绍:沈 俊(1973-),男,硕士研究生,
主要研究方向:泌尿系统肿瘤诊断与治疗。

维普资讯 http://www.cqvip.com

周期素依赖激酶抑制物 CDKI 是一种细胞周期负调节蛋白,存在于细胞核中,和 Cyclin－CDK 复合物紧密结合,抑制 CDK 活性,影响下游靶蛋白的功能,从而阻止 G_1/S 及 G_2M 转换等,导致细胞周期停顿(Cell－cycle arrest)。人们根据蛋白质的分子量大小来命名 CDKI,如 p27;根据 CDK1 同源序列及作用底物的不同将其分为两类:第一类是 Cip/Kip 家族,抑制 G_1 期及 S 期的 Cyclin－CDK 复合物,包括 p21,p27 及 p57 等。第二类是 INK4 家族,抑制 D 型 Cyclin－CDK 复合物,包括 p15、p16、p18 及 p19 等。

4 P27 蛋白的结构、功能与调控

1994 年 Polyak 等在研究细胞间接触抑制和 TGF－β 诱导细胞生长停滞于 G_1 期的机制时,从静息的细胞抽提物中发现一个 27Kd 的热稳定蛋白质,称之为 $p27^{kip1}$,它具有抑制 CyclinE－CDK2 复合物的活性,对细胞周期产生负调控作用,被公认具有抑癌基因活性。随后 Pietenpol 等利用 p27cDNA 作探针筛选得到定位于人染色体 $12p^{13}$的 p27 基因,它包含了 2 个外显子和 2 个内含子。人 p27cDNA 长 569bp,含 198 个氨基酸。P27 蛋白在 N－端有一个抑制 CDK 结构域,其中有 42% 的氨基酸序列与 p21 同源,有 47% 的氨基酸序列与 p57 同源。在体外实验中,p27 蛋白首先能与 CyclinDS－CDK4 的复合物有效结合,CyclinE－CKD2 结合,从而抑制这些复合物的活性,研究发现其抑制效应区是 p27 蛋白 N－端与 p21 同源区域的片段[3]。现已证实在大多数的哺乳动物细胞中存在 p27[4],在真核细胞的细胞周期调控中起重要的作用。p27 作为细胞周期的负调控因子,具有阻止细胞通过 G_1/S 期转换的"关卡"作用,从而抑制细胞的增殖,使细胞有机会修复损伤的 DNA 或纠正 DNA 复制中产生的错误。一般来讲,p27 水平高则细胞处于静止期,p27 水平减低则细胞可能分裂增生。有实验证实静止期的细胞 p27 水平很高,超过 Cyclin－CDK 复合物的数量[5];如果细胞增生,则 p27 水平明显降低[6]。p27 缺乏的小鼠同正常小鼠相比,许多器官细胞数目增多,从而体积增大[7]。上述结果提示 p27 缺乏可导致细胞增生,进而也从反面证实了 p27 增高可以抑制细胞增生。由此可见 p27 蛋白可能是直接参与细胞周期检验点控制的相关物质,对细胞的分化增殖具有明显的调控作用。另外,研究发现 p27 蛋白的表达是通过细胞外信号或细胞内信号来进行调控的。p27 不同于同家族的 p21,不能和细胞增生标志物——增生细胞核抗原(PCNA)结合,不受 p53 调节。此外,在整个细胞周期中,p27mRNA 水平无变化[3],这提示 p27 在转录水平不受调控,考虑到 p27 在不同的细胞周期时相中表达不同,故推测其可能在翻译水平受到调控,另外 p27 的降解也影响其水平[8]。总之,p27 的水平是由 p27 的合成(翻译水平)和降解决定的。

5 p27 与泌尿系肿瘤

抑癌基因的失活或癌基因的激活与肿瘤的发生、发展关系密切。抑癌基因的点突变、重组、缺失或甲基化所致的功能失活与多种人类恶性肿瘤的发生及发展有关。在肿瘤的发生过程中,抑癌基因的失活比原癌基因的激活起着更关键的作用。尽管 p27 基因的突变和缺失很少发生,但近年来的诸多研究表明 p27 蛋白表达水平与泌尿系统肿瘤的恶性程度、侵袭性的强弱及预后密切相关。

5.1 p27 与肾、输尿管癌

Polyak 等的实验表明,p27 蛋白表达水平及活性的改变与肿瘤的形成有关。Chen[9] 等用包含 p27cDNA 的腺病毒载体(Adp27)转染低水平表达 p27 的星形胶质瘤细胞,获得 p27 过度表达的细胞失去了瘤细胞的生长特性,停滞于 G_1 期的细胞和非整倍体细胞数明显增多,而经 Adp27 转染的细胞在裸鼠中不能形成肿瘤病灶。Yang 等[10]应用免疫组织化学方法检测各种类型肾癌中 p27 蛋白表达情况,发现在颗粒细胞癌、混合细胞癌及未分化癌等三种病理类型肾癌中 p27 阳性表达随 Robson 分期增加而降低($P<0.05$)。从而认为用免疫组织化学方法检测 p27 蛋白表达在上述三种病理类型肾癌的预后方面有一定的临床应用价值,并且认定 p27 失活或低表达与这三种肾癌的 Robson 临床分期高密切相关。此外,Zhang 等[11]用免疫组化的方法检测肾透明细胞癌及正常肾组织中 p27 蛋白的表达,结果发现 p27 在正常肾组织中的阳性率明显低于其在肾癌组织中的阳性率,并且 p27 蛋白表达的高低与肾癌的组织学分级呈负相关,分级越高,p27 表达越低。因此认为 p27 有可能作为判别肾癌分化程度的标志物,并可能成为判断肾癌预后的有用指标。据

维普资讯 http://www.cqvip.com

报导,肿瘤的分级,分期和淋巴结转移情况与肾盂、输尿管移行细胞癌患者的生存率是相关的[12,13],Kamai T 等报道了 p27 蛋白在肾盂及输尿管移行细胞癌中的表达,发现 p27 蛋白表达与肿瘤浸润深度有关,在分期较高及有明确淋巴结转移的肿瘤中 p27 蛋白表达水平较低。这说明 p27 对上尿路恶性肿瘤患者存活率的影响可能是一种有用的预后指标;同样,Masuda M 等[15]用多元回归统计分析表明:对于肾盂及输尿管移行细胞癌,p27 有一种独立的前瞻性的预后价值($P<0.05$)。也就是说,对于上尿路恶性肿瘤来讲,p27 可能就是一种新的预后标志。

5.2 p27 与膀胱癌

Del-Pizzo, -J-J 等[16]通过免疫组化的方法发现,与正常人膀胱上皮相比,在恶性膀胱组织中 p27 的含量显著下降,而 cyclinE 的表达水平明显上升。此外,在高分级、分期的膀胱癌中 p27 表达相对偏低,而 cyclinE 表达相对偏高,且膀胱癌Ⅲ级与Ⅰ、Ⅱ级相比,p27 明显较低($P=0.004$),cyclinE 表达相对偏高但未达到以有统计学意义的程度。该文还报告了病人生存率与 p27($P=0.001$)和 cyclinE($P=0.002$)表达有关,p27 高表达、cyclinE 低表达病人生存率较高。由此,他们认为 p27 与 cyclinE 可作为膀胱肿瘤一种新的具有潜在性生物学意义的预后指标,它将能判别膀胱肿瘤是否已侵及肌层并且可依此推断患者的生存率有多大。同样,Lee-C-C 等[17]在用大鼠模型所做实验中也发现 p27 蛋白在正常尿路上皮细胞中会成组大量表达,这种情况也会出现在大多数小乳头状瘤和团块状增生组织(无异型性变)中,而在膀胱移行细胞癌和巨大乳头状瘤中 p27 蛋白却是减少或缺失的。实验统计数据也明,在大鼠膀胱癌形成的两个阶段过程中 p27(Kip1)、p21(WAF/Cip1)和/或 p53 蛋白的异常下调将会促使肿瘤的进一步恶化。另外,有人用 Stranrosporine 在离体的细胞实验中上调 p27 的表达,结果使膀胱癌细胞系 5637 的生长受到抑制[18]。而在体内实验中,Ogawa, -K 等[19]研究发现,在细胞增生刺激因素停止作用后,膀胱乳头状增生随即发生退行性改变,而在此期间,p27 蛋白水平上升,并伴有 cyclinD1 和 cyclinE 的降低。相反,在不可逆癌肿所致膀胱损伤当中,却出现持续性的 p27 低表达和 CyclinD1 及 cyclinE 高表达。最近,Korkolopoulou, -p 等[20]研究报告指出,与高分化、浅表性膀胱癌相比,p27 低表达在侵袭至肌层的低分化膀胱移行细胞癌中更为常见,同时也说明了 p27 是抑制膀胱癌细胞周期的主要调控因子。

5.3 p27 与前列腺癌

Yang 等[21]首次报道了用免疫组化方法分析 p27 蛋白在前列腺癌中的表达。他们发现 p27 蛋白免疫组化的低表达是无病生存期短的重要预示指标,并且应用多元回归分析表明它也能最有力地预测疾病的进展。Tsihlias 等[22]进行更大量的研究发现 p27 的低表达与精囊受累及手术切缘不净有相关性。他们也发现 p27 低表达是短期淋巴结转移的一个独立标志。另外,Cheville 等人[23]发现了其与手术边缘不净,阴囊受累,淋巴结转移及异倍体的癌有很明显的相关性。最近,Cote 等人[24]用免疫组化方法检测了 96 例前列腺癌组织标本中 p27 的表达水平,结果发现 p27 在肿瘤中的表达随着肿瘤分级水平的上升而显著下降,而且与肿瘤的复发、患者的存活率的降低有显著的相关性。同时,在对 $pT_3N_0M_0$ 前列腺癌病人的研究中,发现 p27 低表达与肿瘤的分级、前列腺特异性抗原的发展及生存有关。在最近的报道,Cordon-Cardo 等[25]报告原发性前列腺癌 p27 的低表达(<40%)组与那些高表达组(>40%)相比较,前者在统计学上肿瘤病程发展的可能性显著增加。根据上述研究结果及发现说明,p27 功能缺失可能是前列腺癌发生的一个早期事件,并独立地预示癌的发展。

6 结语与展望

综上所述,p27 作为一种新发现的细胞周期抑制物,通过影响 cyclin-CDK 复合物的活性,使细胞阻滞于 G_1 期,抑制细胞增殖,此外,尚有诱导细胞分化、诱导细胞调亡等作用。在肿瘤中 p27 基因的改变极为罕见,但多有蛋白表达的异常。目前,对于泌尿系统肿瘤的多数研究结果表明,p27 蛋白的表达下调预示肿瘤的进展和预后不良,并有望作为临床泌尿系肿瘤新的预后指标,但这还缺乏大宗病例以及前瞻性研究的进一步证实与完善。深入研究 p27 对细胞周期调控的分子机制将有助于了解肿瘤发生发展的机制及预测肿瘤的生物学行为,并可能使 p27 成为肿瘤的一个新的预后判断指标以及基因诊断与治疗的新的契入点。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

[1] Morgan DO. Principles of CDK regulation[J]. Nature (Lond), 1995;374:131 - 134.

[2] Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control[J]. cell, 1995;81:323 - 330.

[3] Hengst l, Reed SI. Translational control of p27kip1 accumulation during the cell cycle [J]. Seience, 1996;271: 1851 - 1864.

[4] Rivard N, L'Allemain G, Bartek J, et al. Abrogation of p27kip1 by cDNA antisense suppresses quiescence (G_0 state) in fibroblasts [J]. J Biol Chem, 1996;271(31):183377 - 18341.

[5] Polyak K, Lee MH, Erdjument BH, et al. Cloning of p27ikpl a cyclin - dependent kinase inhibitor and a potential mediator of extra - cellular antimitogenic signals[J]. Cell, 1994; 78:59 - 66.

[6] Nouse J, Firpo E, Flanagan WM, Coats S, et al. Inetrleukin - 2 - nediated elimilation of the p27kip1 cyclin - dependent kinase prevented by rapamycin [J]. Nature, 1994; 372 (6506):570 - 573.

[7] Nakayama K, Ishida N, Shirama M, et al. Mice lacking p27kipl display increased body size , multiple orgen hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors[J]. cell, 1996;85:707 - 720.

[8] Pangno M, Tam SW, Theodoras AM, et al. Role of the ubiquitin - proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin - dependent kinase inhibitor p27[J]. Science, 1995;269: 682 - 685.

[9] Chen J, Willingham T, Shuford M, et al. Tumor suppression and inhibitor of aneuploid cell accumlation in human brain rumor cell by ectopic over expression the cyclin - dependent kinase inhibitor p27kip1[J]. j Clin Invest, 1996, 97:1983 - 1988.

[10] Yang ZB, Liu Q, Ren CS, Study on the relationship between the expression of CDKIp27kip1 with robson stage for renal carcinoma[J]. J Chin Med Univ, 1999;28(5):364 - 370.

[11] Zhang JH, Wang XF, Ye HY, et al. Expression of p27kip1 protein and cyclinD1protein in renal cell carcinoma[J]. Chin J Urol, 2001;22(5):264 - 266.

[12] Hall MC, Womack S, Sagalowsky AI, et al. Prognostic factors, recurrence, and survival in transitional cell carcinoma of the upper urinary rtact: a 30 - year experience in 252 patients [J]. Urology, 1998;52:594 - 601.

[13] Miyano N, Masumori N, Takahashi A, et al. Lymph node metastasis in patients with carcinomas of the renal pelvis and ureter[J]. Eur Urol, 1998;33:180 - 185.

[14] Kamai T, Takagi K, Asami H, et al. Prognostic significance of p27kip1 and ki - 67 expression in carcinoma of the renal pelvis and ureter[J]. BJU Int, 2000;86:14 - 19.

[15] Masuda M, Takano Y, Iki M, et al. Cyclin - dependent kinase inhibitor p27kip1 expression in transitional cell carcinoma of renal pelvis and ureter[J]. Cancer Letters, 2000;150:183 - 189.

[16] Del - Pizzo, - J - J, Borkowski A, Jacobs SC, et al. Loss of cell cycle regulators p27kip1 and cyclinE in transitional cell carcinoma of the bladder correlates with tumor grade and patient survival[J]. AM - J - Pathol. 1999 Oct;155(4):1129 - 1136.

[17] Lee CCR, Ichihara T, Yamamoto S, et al. Reduced expression of the CDK inhibitor p27kip1 in rat two - stage bladder carcinogenesis and its association with expression profiles of $p21^{WAFE/Cip1}$ and p53[J]. Carcinogenesis. 1999;20(9):1697 - 1708.

[18] Zi X, Adam WG, Hsing JK, et al. A flavonoid antioxidant, silymarin, inhibits activation of erbB1 signaling and induces cyclin - dependent kinase inhibitors, G_1 arrest, and anticarcinogenic effects in human prostate carcinoma DU145 cells [J]. Cancer Res, 1998;58(9):1920 - 1923.

[19] Ogawa K, Kimoto N, Asamoto M, et al. Aberrant expression of p27kip1 is associated with malignant transformation of the rat urinary bladder epithelium[J]. Carcinogenesis, 2000; 21(1):117 - 121.

[20] Korkolopoulou p, Christodoulou p, Konstantinidou AE, et al. Cell cycle regulators in bladder cancer: a multivariate survival study with emphasis on P27kip1[J]. Hum - Pathol. 2000 Jun; 31(6):751 - 760.

[21] Yang RM, Naitoh J, Murphy M, et al. Low p27 expression predicts poor in patients with prostate cancer[J]. J Urol, 1998;159:941 - 945.

[22] Tsihilas J, Kapusta LR, Deboer G, et al. Loss of cyclin dependent kinase inhibitor p27kip1 is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 1998;58:542 - 548.

[23] Cheville JC, Lloyd RV, Sebo TJ, et al. Expression of p27kip1 in prostatic adenocarcinoma[J]. Mod Pathol, 1998;11: 324 - 328.

[24] Cote RJ, Shi Y, Groshen s, et al. Association of p27kip1 levels With recurrence and survival in patients with stage Cprostate carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 1998;90(12):916 - 920.

[25] Cordon - Cardo C, Koff A, Drobnjak M, et al. Distinct altered patterns of p27kip1 gene expression in benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 1998;90:1284 - 1291.