

PTEN 及 p27^{Kip1} 在子宫内膜癌中的研究进展

原继荣 付小萌 傅松滨

【摘要】 肿瘤抑制基因 *PTEN* 被称为子宫内膜的看家基因,许多学者提出 *PTEN* 基因在子宫内膜癌发生发展中起重要作用。另一个肿瘤抑制基因 *p27* 在子宫内膜癌的预后中具有重要的作用。现就 *PTEN*、*p27* 基因在子宫内膜癌中的表达及其与子宫内膜癌发生、发展的关系以及在治疗和预后方面的研究进展进行综述。

【关键词】 子宫内膜癌; *PTEN*; *p27*

Advance in *PTEN* Gene and *p27*^{Kip1} gene in Endometrial Carcinoma YUAN Ji-rong¹, FU Xiao-meng¹, FU Song-bin². (¹Department of Gynecology and Obstetrics, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081; ²Laboratory of Medical Genetics, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)
Corresponding author: YUAN Ji-rong. E-mail: jryuan@hotmail.com

【Abstract】 *PTEN*, a novel tumor suppressor gene identified recently, is called the house-keeping gene of endometrium. Many researchers indicate that *PTEN* play important roles in genesis and development of endometrial carcinoma. An other novel tumor suppressor gene, *p27*, plays a key role in prognosis of endometrial carcinoma. This article dicusses the expression of *PTEN* gene and *p27* gene in endometrial carcinoma, and the relation with development, therapeutic effect and prognosis of the disease.

【Key words】 Endometrial carcinoma; *PTEN*; *p27*

子宫内膜癌是最常见的女性生殖道恶性肿瘤,近年来其发病率有增高和年轻化的趋势。早期发现、治疗是改善患者预后、提高治愈率的关键。深入研究子宫内膜癌相关基因,为临床提供筛查高危人群的检测手段,使肿瘤的早期诊断、治疗及预防成为可能。目前发现,*PTEN* 基因在子宫内膜癌组织中的突变率较高,常发生在子宫内膜癌病变的早期阶段。*p27* 基因作为一种候选抑癌基因,在肿瘤发生和发展过程中起到相对独立的预后作用。现就 *PTEN* 和 *p27* 基因生物学特征、功能、抑癌机制及与子宫内膜癌的关系作一综述。

1 抑癌基因 *PTEN*

1.1 *PTEN* 的发现和生物学特征:Li 等^[1] 于 1997 年分离得到一种新的抑癌基因,命名为第 10 号染色

体同源丢失性磷酸酶—张力蛋白基因 *PTEN* (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)。同年 Steck 等^[2] 克隆胶质母细胞瘤中的一种抑癌基因,其位于染色体 10q23.3,并将其命名为 *MMAC1* (mutated in multiple advanced cancer),目前文献上多使用 *PTEN* 或 *PTEN/MMAC1* 表示。

PTEN 基因定位于染色体 10q23.3,含 9 个外显子。其 cDNA 序列中含有一个由 1209 个核苷酸组成的开放阅读框(open reading frame, ORF),编码一个由 403 个氨基酸残基组成的蛋白质。*PTEN* 蛋白的主要功能区位于多肽链的 N 端。

1.2 *PTEN* 的功能和抑癌机制:关于 *PTEN* 抑癌作用机制众多研究者说法不一,但目前普遍认为与它的两种磷酸酶:蛋白酪氨酸磷酸酶和脂质磷酸酶的活性有关。

1.2.1 使 PIP₃ 去磷酸化 *PTEN* 是一种多功能蛋白,位于细胞膜上的磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(PIP₃)是它的第一个生理性底物。Maehama 等^[3] 研

作者单位:150081,哈尔滨医科大学第二附属医院妇产科(原继荣、付小萌);150081,哈尔滨医科大学医学遗传学研究室(傅松滨)
通讯作者:原继荣(E-mail:jryuan@hotmail.com)

究表明 PIP₃ 通过蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 抑制细胞凋亡并通过其他效应刺激细胞增殖。PTEN 通过减少 PIP₃ 抑制细胞增殖、增加细胞凋亡。他们还发现 PTEN 可使磷脂酰肌醇第 3 位基因发生去磷酸化, 显示其脂质磷酸酶活性而不是蛋白磷酸酶活性。Myers 等^[4] 也发现, PTEN-G129E (129 位谷氨酸取代了甘氨酸) 突变蛋白的脂质磷酸酶活性丧失了, 但它的蛋白磷酸酶活性仍保留。该突变的 PTEN 丧失了脂质磷酸酶的活性, 便不能抑制恶性胶质瘤细胞系的生长^[4,5]。证据表明正是脂质磷酸酶, 而不是蛋白磷酸酶的特性对 PTEN 的肿瘤抑制功能起了至关重要的作用。PTEN 抑癌基因的功能也主要体现于此。

1.2.2 抑制 FAK 的功能 Tamura 等^[6] 提出 PTEN 的另一重要底物是黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK), 这种蛋白酪氨酸激酶是整合素介导的信号转导途径中的一个重要分子。FAK 可引起有丝分裂原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路激活, MAPK 对细胞的分化和生长调控起着重要的作用。FAK 也可激活肌醇-3-激酶和它的信号通路。FAK 的表达水平在增殖细胞或进展期侵袭性肿瘤中是增加的, 抑制 FAK 可引起细胞周期停滞和凋亡。PTEN 能直接去除 FAK 酪氨酸磷酸酯上的磷酸基团, 从而抑制细胞迁徙、侵袭和部分细胞生长。

1.3 PTEN 基因改变与子宫内膜癌: Lax 等^[7] 提出将子宫内膜癌 (endometrial cancer, EC) 分为 I 和 II 两种类型。I 型为低组织分级且与雌激素相关的子宫内膜样癌 (estrogen-dependent endometrial cancer, EEC), II 型为非子宫内膜样癌 (non-estrogen-dependent endometrial cancer, NEEC) 包括浆液性乳头状癌和透明细胞癌, 与雌激素无关。II 型子宫内膜癌的发生通常与抑癌基因 p53 突变和多位点杂合性缺失有关, 而 I 型子宫内膜癌在某些情况下同时存在 3 种分子水平的改变: 微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MI)、 β 连环素基因和 PTEN 基因突变^[8,9]。子宫内膜癌细胞染色体 10q23 杂合性丢失率为 40%, PTEN 恰位于染色体 10q23 激发了妇科肿瘤学者研究 PTEN 与子宫内膜癌关系的兴趣。

Minaguchi 等^[9] 用聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR)、单链构象多态 (single-strand conformation polymorphism, SSCP)、DNA 测序法, 检

测了 67 例子宫内膜癌标本, PTEN 基因的突变率高达 55%。以 Mutter 等^[10] 的变性梯度凝胶电泳结合计算机形态测定法检出的 PTEN 基因突变率最高, 在 I 型子宫内膜癌中高达 83%。无论采用何种检测方法, PTEN 基因在 I 型子宫内膜癌中的突变率均为最高, 高于其他基因的突变 (MI 和 β 连环素基因的突变率分别为 25% ~ 30% 和 25% ~ 38%)。据此推测, PTEN 基因突变是 I 型子宫内膜癌发生的分子学水平的重要事件。

Sun 等^[11] 检测了 50 例子宫内膜样腺癌和 7 例非内膜样癌的 PTEN 突变情况, 发现以移码突变和错义突变最多见。Minaguchi 等^[9] 进一步对子宫内膜癌的 PTEN 外显子突变与患者生存进行研究, 发现 PTEN 外显子 5 ~ 7 以外的突变是一个独立的良好生存的预后指标。

MI 也参与了 I 型子宫内膜癌的发生, 多数研究发现, PTEN 基因在 MI (+) 的子宫内膜癌中突变率更高。Tashiro 等^[12] 发现在 MI (+) 的子宫内膜癌中 PTEN 基因的突变率为 86%, 明显高于 MI (-) 的子宫内膜癌的突变率 (33%), 且在 MI (+) 的子宫内膜癌中多为 2 个外显子同时发生突变。而且进一步研究发现, PTEN 基因突变常发生在 MI (+) 肿瘤的短编码单核苷酸重复序列的 A5 和 A6 区。最近, Hirai 等^[13] 采用最新的比较基因组杂交技术, 同时分析了 MI (+) 和 MI (-) 的子宫内膜癌中 PTEN 基因的突变, 其结果进一步证实了上述 2 位研究者的结论。而且 PTEN 基因突变与其他分子 (β 连环素、转化生长因子 β II 受体、Bax 基因) 几乎无关。说明在 I 型子宫内膜癌的发生中 PTEN 基因突变和 MI (+) 共同起致癌作用。

Mutter 等^[10] 检测了 29 例子宫内膜癌前病变, PTEN 基因的突变率为 55%, 与 I 型子宫内膜癌的突变率 85% 相比, 差异有显著性 ($P = 0.025$); 子宫内膜发生癌前病变时, PTEN 蛋白的表达缺失或减少率为 100%, 略高于 I 型子宫内膜癌的 97%。说明, PTEN 基因突变失活是子宫内膜癌变的分子学水平的早期事件, PTEN 基因促进了子宫内膜癌的发展, 通过检测 PTEN 基因的表达把对癌前病变的发现推到了比以前更早期的阶段。

1.4 PTEN 与子宫内膜癌预后的关系: Sun 等^[11] 对 57 例子宫内膜癌进行 PTEN 突变与预后的研究, 得出 PTEN 突变病例比 PTEN 基因未突变的病例预后好。Kanamori 等^[14] 为研究晚期子宫内膜癌中 PTEN

蛋白表达与预后的关系,对 98 例腹膜后淋巴结转移的子宫内膜样癌标本用免疫组化方法进行 PTEN 表达检测,PTEN 染色阴性或混合性的占 65.3%,PTEN 阳性的生存率较 PTEN 阴性或混合性的生存率高,PTEN 染色结果与患者年龄、手术分期、肌层浸润、组织学分级无关。并认为术后接受化疗 PTEN 染色结果阳性者预后好。Orbo 等^[15] 研究认为作为子宫内膜癌预后的标记物,PTEN 的特异性为 92%,敏感性为 56%。

1.5 PTEN 在肿瘤发生中的作用:PTEN 作为第一个被发现的具有磷酸酶活性的抑癌基因,由于其独特的作用途径和在多种肿瘤的发病机制中的重要作用,自发现起就引起了人们的广泛关注。通过它的脂质磷酸酶和蛋白磷酸酶活性,抑制肿瘤细胞生长;诱导细胞凋亡;抑制肿瘤细胞黏附、移行和侵袭。

但是 PTEN 基因的许多作用机制仍不清楚,例如,PTEN 基因的上游调节分子情况如何? PTEN 是具有蛋白性磷酸酯酶活性和脂性磷酸酯酶活性的功能,它的脂性磷酸酯酶活性在其生物学作用是必需的,但是其蛋白性磷酸酯酶活性的作用目前还不清楚;PTEN 介导的信号传导通路的下游靶分子仍需要进一步的阐明。可以预见通过对 PTEN 的较全面的了解,将会研究出新的治疗肿瘤的新药。

2 抑癌基因 p27

2.1 p27 基因的结构和生物学特征:1994 年,Pol yak 等^[16] 从静息的细胞抽提物中发现了一种相对分子质量为 27kDa 的耐热细胞周期抑制蛋白,将其命名为 p27^{Kip1}。p27 基因定位于染色体 12p13,包含两个外显子和两个内含子。人的 p27cDNA 长 594bp,编码 198 个氨基酸。p27N 端有锌指结构,C 端含有酪氨酸磷酸化位点和双核定位信号序列。

2.2 P27 的功能及其作用机制:P27 的主要功能是广泛的抑制各种细胞周期素-细胞周期素依赖激酶(cyclin-CDK)复合物,主要是与细胞周期素结合而发挥作用。P27 的其他功能研究也较多,但目前较肯定的功能有以下 3 种:①P27 参与细胞分化调控:Durand 等^[17] 在对少突神经胶质细胞分化机制的研究中提出 P27 参与细胞分裂和启动细胞分化的观点并认为 P27 缺乏可引起细胞的增殖改变;②P27 参与细胞凋亡:有的学者研究表明,P27 蛋白表达阴性

的肾小球系膜细胞和纤维母细胞的细胞凋亡率明显提高,若提高 P27 蛋白的表达,用吡啶美辛处理结肠癌细胞系结果同样减少细胞的增生率,增加细胞的凋亡率,由此可见 P27 的高表达和表达缺如均可导致细胞凋亡;③P27 具有抗炎症损伤的作用。

2.3 P27 与子宫内膜癌:大量的研究表明在肿瘤细胞中游离的 P27 蛋白远远低于正常细胞水平。Lloyd 等^[18] 运用免疫印迹和免疫组化方法研究了 177 例人体各种组织的 P27 蛋白表达情况,发现在正常组织中有丰富的 P27 蛋白表达,肿瘤组织中明显下降。Chen 等^[19] 报道用 P27 转染星形瘤细胞系,引起了其恶性潜能的降低,P27 在高度恶性子宫内膜癌中的表达相对于低度恶性肿瘤有明显的下降,提示 P27 蛋白表达的缺失与子宫内膜癌的发生发展和分化有关。此研究结果也显示,P27 蛋白表达下降可成为预示高度恶性的指标。

Wang 等^[20] 在研究中未发现 P27 蛋白表达与淋巴结转移之间的差异有统计学意义,但可以看出来一种趋势,即有淋巴结转移的子宫内膜癌 P27 蛋白阳性率(55%) 低于无淋巴结转移组(70%)。在临床分期中,临床 II、III、IV 期 P27 的蛋白平均阳性表达率明显低于临床 I 期($P < 0.05$),提示 P27 蛋白表达的下降与子宫内膜癌的发展和演进有关。说明 P27 蛋白改变不仅发生在肿瘤的起始阶段,也发生在其进展阶段。

研究也显示子宫内膜癌组织学类型与 P27 蛋白表达无显著关系。Chen 等^[19] 报道用包含 P27cDNA 的腺病毒载体转染低水平 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,异倍体细胞数明显减少,表明外源性 p27 基因可作为目的基因用于肿瘤的基因治疗。异倍体是子宫内膜癌恶性程度高的重要指标,且与预后密切相关。抑癌基因 p27 在恶性程度高的子宫内膜癌表达低或缺如,以及 P27 蛋白表达与异倍体呈负相关的实验结果为其基因治疗奠定了一定的理论基础。

p27 基因作为一种新的肿瘤候选抑制基因正越来越引起人们的研究兴趣,其在肿瘤发生、发展和治疗方面的作用正被不断发现,对于机体发育的调控作用也开始显露出来,但对于 p27 作用的机制目前还知之甚少,甚至可能还有很多功能没有被发现。对 p27 进行修饰后能否起到更有效的肿瘤治疗效

果,其对于某些肿瘤的预后和指导治疗作用能否真正用于临床。相信随着分子生物学的发展,这些问题都将获得圆满解决。

参 考 文 献

- 1 Li J, Yen C, Liaw D, *et al.* PTEN a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science*, 1997, 275 :1943-1947.
- 2 Steck PA, Pershons MA, Jasser SA, *et al.* Identification of a candidate tumour suppressor gene, MML1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet*, 1997, 15 :356-362.
- 3 Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3, 4, 5 trisphosphate. *J Biol Chem*, 1998, 273 :13375-13378.
- 4 Myers MP, Pass I, Batty IH, *et al.* The lipid phosphatase activity of PTEN is critical for its tumor suppressor function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95 :13513-13518.
- 5 Furnari FB, Huang HJ, Cavenee WK. *et al.* The phosphoinositol phosphatase activity of PTEN mediates a serum-sensitive G1 growth arrest in glioma cells. *Cancer Res*, 1998, 58 :5002-5008.
- 6 Tamura M, Gu J, Tran H, *et al.* PTEN gene and integrin signaling in cancer. *Natl Cancer Inst*, 1999, 91 :1820-1828.
- 7 Lax SF. Dualistic model of molecular pathogenesis in endometrial carcinoma. *Zentralbl Gynakol*, 2001, 124 :10-16.
- 8 Gunter Kieback D, Fischer DC. Gene expression profile in endometrioid endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*, 2001, 83 :175-176.
- 9 Minaguchi T, Yoshikawa H, Oda K, *et al.* PTEN mutation located only outside exons 5, 6 and 7 is an independent predictor of favorable survival in endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res*, 2001, 7 :2636-2642.
- 10 Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, *et al.* Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Nat Cancer Inst*, 2000, 92 :924-930.
- 11 Sun H, Enomoto T, Fujita M, *et al.* Mutational analysis of the PTEN

gene in endometrial carcinoma and hyperprasia. *Am J Clin Pathol*, 2001, 115 :32-38.

- 12 Tashiro H, Blazes MS, Wu R, *et al.* Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynecological malignancies. *Cancer Res*, 1997, 57 :3935-3940.
- 13 Hirai Y, Tanaka N, Furuta R, *et al.* Somatic mutations of the PTEN/MMAC1 gene associated with frequent chromosomal loss detected using comparative genomic hybridization in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 2001, 83 :81-88.
- 14 Kanamori Y, Kigsaws J, Itamochi H, *et al.* PTEN expression is associated with prognosis for patients with advanced endometrial carcinoma undergoing postoperative chemotherapy. *Int J Cancer*, 2002, 100 :686-689.
- 15 Orbo A, Nilsen MN, Arnes MS, *et al.* Loss of expression of MLH1, MSH2, MSH6, and PTEN related to endometrial cancer in 68 patients with endometrial hyperplasia. *Int J Gynecol*, 2003, 22 :141-148.
- 16 Polyak K, Kato J, Solomon M, *et al.* p27^{KIP1}, a cyclin-CDK inhibitor; links transforming growth factor- β and contact inhibition to cell cycle arrest. *Genes Dev*, 1994, 8 :9-22.
- 17 Durand B, Gao FB, Raff M. Accumulation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27^{KIP1} and the timing of oligodendrocyte differentiation. *EMBO J*, 1997, 16 :306-317.
- 18 Loiyd RV, Jin L, Qian X, *et al.* Aberant p27^{KIP1} expression in endocrine and other tumors. *Am J Pathol*, 1997, 150 :401-407.
- 19 Chen J, Wilingham T, Shuford M, *et al.* Tumor suppression and inhibition of an euploid cell accumulation in human brain tumor cells by ectopic overexpression of the cyclin dependent kinase inhibitor p27^{KIP1}. *J Clin Invest*, 1996, 97 :1983-1988.
- 20 Wang H, Wang JH, Bu H, *et al.* Expression of p27^{KIP1} in endometrial carcinoma and its significance. *J Clin Exp Pathol*, 2000, 16 :265-268.

(收稿日期: 2005-12-23)

(本文编辑:王璐)

(上接 146 页)

- 24 Ueda M, Hung YC, Terai Y, *et al.* Fas gene promoter -670 polymorphism (A/G) is associated with cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol*, 2005, 98 :129-133.
- 25 Lai HC, Sytwu HK, Sun CA, *et al.* Single nucleotide polymorphism at Fas promoter is associated with cervical carcinogenesis. *Int J Cancer*, 2003, 103 :221-225.
- 26 Lai HC, Lin WY, Lin YW, *et al.* Genetic polymorphisms of FAS and FASL (CD95/CD95L) genes in cervical carcinogenesis: An analysis of haplotype and gene-gene interaction. *Gynecol Oncol*, 2005, 99 : 113-118.

- 27 Engelmark MT, Renkema KY, Gyllensten UB. No evidence of the involvement of the Fas -670 promoter polymorphism in cervical cancer in situ. *Int J Cancer*, 2004, 112 : 1084-1085.
- 28 Dybikowska A, Sliwinski W, Emerich J, *et al.* Evaluation of Fas gene promoter polymorphism in cervical cancer patients. *Int J Mol Med*, 2004, 14 : 475-478.

(收稿日期:2006-03-22)

(本文编辑: 孙岩伟)