

①

SHP-1 基因与白血病/淋巴瘤

李英华¹ 综述 罗建民² 审校

(1. 哈励逊国际和平医院血液科, 河北 衡水 053000; 2. 河北医科大学第二医院血液科, 石家庄 050000)

[摘要] SHP-1 基因是近年来发现的抑癌基因, 通过对下游信号蛋白分子磷酸酪氨酸脱磷酸化而终止、削弱细胞生长信号或激活凋亡信号负调控造血细胞的分化、发育和增殖。启动子甲基化是 SHP-1 基因沉默的主要机制, SHP-1 表达降低及缺如与造血细胞的恶性转化及增殖优势表型有密切的关系, 并与白血病/淋巴瘤的形成、侵袭性及预后相关。

[关键词] SHP-1; 抑癌基因; 基因沉默; 甲基化

[中图分类号] R733.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2007)06-0507-05

SHP-1 gene and leukemia/lymphoma

LI Ying-hua¹, LUO Jian-min²

(1. Department of Hematology, Harrison International Peace Hospital, Hengshui Hebei 053000;

2. Department of Hematology, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

[Abstract] SHP-1 is a tumor suppressor gene found in recent years. SHP-1 negatively modulates the differentiation, growth and proliferation of hematopoietic cells by dephosphorylating the downstream proteins, which subsequently either terminate or attenuate the activated growth signal or activate apoptosis pathway. Aberrant promoter methylation is the major mechanism of SHP-1 gene silencing. The decreased levels of SHP-1 protein and mRNA were associated with the transformation and growth advantage of hematopoietic cells, and were related to the onset, aggression, and prognosis of leukemia/lymphoma.

[Key words] SHP-1; tumor suppressor gene; gene silencing; methylation

[Int J Pathol Clin Med, 2007, 27(6):0507-05]

SHP-1 是主要表达于造血细胞的胞浆酪氨酸磷酸酶, 以前也称造血细胞磷酸酶 (HCP), SHPTP-1, SHP, PTP1C, PTPN6。人类 SHP-1 基因定位于 12p12-13, 表达分子量为 68 kD 的蛋白质, 首先在人乳腺癌细胞中发现, 并证实主要在造血细胞中表达, 上皮细胞有少量表达^[1]。SHP-1 蛋白是含 SH₂ 结构域的胞浆非受体酪氨酸磷酸酶, 通过对受体和/或与偶联的激酶直接脱磷酸化而负调控受体酪氨酸激酶 (RTKs)、细胞因子及生长因子受体、抗原受体复合

物 (TCR/BCR) 三大信号通路, 抑制造血细胞的有丝分裂、增殖、分化和生物活性。无论造血生长因子受体胞浆段或 SHP-1 蛋白 SH₂ 结构域突变均可导致造血细胞对多种生长因子刺激的超敏反应; SHP-1 亦可通过 SH₂ 结构域与 CD22, CD72, KIR 等抑制性受体胞浆段免疫球蛋白酪氨酸抑制基序 (ITIM) 偶联, 使下游信号蛋白脱磷酸化而终止、削弱细胞生长信号或激活凋亡信号^[2-4]。

①收稿日期: 2007-07-18 修回日期: 2007-07-23

作者简介: 李英华 (1971-), 女, 河北衡水人, 硕士, 副主任医师, 主要从事白血病/淋巴瘤的发病机制、诊断和靶向治疗的研究。

基金项目: 河北省自然科学基金 (C200500074); 衡水市科技局科学技术研究与发展计划项目 (06020Z) This work was supported by Hebei Provincial Natural Scientific Foundation (C200500074); Studying and Developing Program of Hengshui science-technology bureau (06020Z)

1 白血病/淋巴瘤细胞中 SHP-1 基因的表达

越来越多的研究表明大部分白血病/淋巴瘤细胞中 SHP-1 蛋白及 mRNA 表达是降低或缺如的,但不同的白血病/淋巴瘤细胞中 SHP-1 表达存在差异。与 EB 病毒 (EBV) 阴性的 Burkitt 淋巴瘤细胞株相比,EBV 阳性的 Burkitt 淋巴瘤细胞株中 SHP-1 蛋白降低较明显甚至缺如,而在无 c-myc 易位的 EBV 阴性 Burkitt 淋巴瘤细胞株 AG876BL, KK124 中 SHP-1 蛋白表达正常; CML 急变细胞株 K562, TCLL 细胞株 SKW3, 部分 B-ALL 细胞株 SCOTT, KW 中 SHP-1 基因表达缺如,而部分 B-ALL 细胞株 KCA 和 BALL1, ATL 细胞株 Jurkat 中 SHP-1 基因表达正常^[1]。SFFV (spleen focus-forming virus) 转化的鼠红白血病细胞株 NP4, NP5 中 SHP-1 高表达,鼠白血病病毒 (MuLV) 转化的鼠红白血病细胞株 SHP-1 低表达^[5]; γ 射线诱发的白血病小鼠 SHP-1 蛋白及 mRNA 的表达明显高于对照组及未癌变组^[6]。Oka 等^[7]分析了 200 例淋巴瘤/白血病患者 SHP-1 蛋白的表达,结果显示 100% 的 NK/T 淋巴瘤患者、95% 的 DLBL, FL, HL, ATLL 患者中 SHP-1 蛋白表达缺如。急性白血病患者 SHP-1 mRNA 表达阳性率为 33.3%, CML 患者慢性期 SHP-1 mRNA 表达阳性率为 37.5%, 所有 CML 急变期患者均未检测到 SHP-1 mRNA^[8]。白血病/淋巴瘤细胞中 SHP-1 表达差异的原因尚不清楚,可能与白血病/淋巴瘤细胞的恶性程度及不同恶性转化机制有关。

2 SHP-1 与白血病/淋巴瘤细胞的生物学特性

SHP-1 与白血病/淋巴瘤细胞的增殖、分化、转化等生物学行为密切相关。分化诱导剂二甲基亚砜 (DMSO)、丁酸钠可诱导 K562 恢复 SHP-1 的表达抑制 K562 的增殖,并诱导 K562 向红系和巨核细胞分化,提示 SHP-1 表达的缺如与 K562 分化受阻及增殖优势有关^[9]。人类 T 淋巴细胞白血病病毒 1 (HTLV-1) 感染人新鲜外周血 CD4⁺ 的 Th 细胞,随着 IL-2 非依赖性增殖的发生,出现 SHP-1 的表达逐渐降低并消失,提示 SHP-1 表达的降低与 HTLV-1 的转化作用相关^[10]。SHP-1 的白血病细胞株转染 SHP-1 后其生长受到明显的抑制,并对白血病细胞增长优势的表型起重要的作用^[11]。SHP-1 蛋白表达缺失或明显降低的白血病/淋巴瘤细胞株转染 SHP-1 后细胞的增殖率降低 1~3 倍,并且 SHP-1 的增殖抑制作

用依赖于其磷酸酶活性,转染无磷酸酶活性的突变 SHP-1M 无抗增殖作用^[12]。反义核苷酸降低 SHP-1 的表达增加 NPM/ALK 的磷酸化水平并增加淋巴瘤细胞株增殖活性,而增加 SHP-1 的表达可降低 NPM-ALK 的磷酸化,抑制细胞增殖;抑制 TF-1 细胞株 SHP-1 的表达可促进细胞增殖和存活^[13-14]。

3 白血病/淋巴瘤中 SHP-1 基因功能降低的机制

3.1 SHP-1 基因启动子甲基化 基因启动子的甲基化是基因沉默的重要机制。K562 及多种 B 细胞淋巴瘤/白血病细胞株 HDLM2, L428, Daudi, NK-YS 有 SHP-1 启动子区 CpG 岛的甲基化,相应细胞株 SHP-1 蛋白及 mRNA 的表达降低或缺如,甲基化抑制剂 5-杂氮, 2'-脱氧胞苷 (5-Aza-CdR) 处理后 SHP-1 恢复表达^[1]。Reddy 等^[15]检测了 150 例淋巴瘤/造血组织恶性肿瘤标本及 12 种 EBV 转化的 B 淋巴瘤母细胞株和 10 种白血病/淋巴瘤细胞株,也发现 SHP-1 基因启动子普遍存在甲基化及 SHP-1 表达的降低及缺如,同样 5-AzaCdR 治疗能恢复 SHP-1 的表达。最近研究表明恶性 T 淋巴细胞中信号转导子及转录激活子 3 (STAT3) 与 DNA 甲基化转移酶 1 (DNMT1) 及组蛋白去乙酰化酶 1 (HDAC1) 形成复合物并与 SHP-1 的启动子结合引起 SHP-1 基因启动子甲基化, DNMT1 和 STAT3 的反义核苷酸能诱导恶性 T 淋巴细胞 SHP-1 启动子的去甲基化及 SHP-1 的表达,并抑制恶性 T 淋巴细胞的增殖和诱导其凋亡^[16]。以上资料表明白白血病/淋巴瘤细胞中 SHP-1 基因启动子 CpG 岛甲基化与 SHP-1 基因表达减低和缺如密切相关。

3.2 SHP-1 基因转录及转录后异常 Beghini 等^[17]首次报道在基因组 DNA 正常的 AML 患者 CD34⁺, CD117⁺ 白血病细胞中,由于转录后编码 SH₂N 的 mRNA 存在腺苷 (A) 向鸟苷 (G) 的转化,导致包含内含子 3 的异常转录本的出现,而治疗完全缓解后异常转录本明显下降或消失,推测异常编辑剪接 mRNA 翻译产物的磷酸酶活性降低或消失与白血病发病有关。Jurkat 细胞株中有外显子 4 缺失的异常 SHP-1 mRNA,翻译产物包含 SH₂N, 分子量为 7 kD, 与正常 SHP-1 竞争底物,转染 7 kD 的 SHP-1 后正常造血细胞的形态发生改变。T 细胞白血病/淋巴瘤细胞株 Jurkat, SupT, Molt4, HuT78 中有内含子 2 插入的 mRNA,引起框架移位使 mRNA 无翻译密码

功能^[18]。以上资料表明转录及转录后异常与白血病/淋巴瘤细胞中 SHP-1 基因功能的降低有关。

3.3 SHP-1 基因突变 基因突变或缺失可致基因失活,SHP-1 基因天然失活突变可导致 me 和 me^v 鼠表型。早期有报道 10% 的儿童急性白血病有 SHP-1 基因的缺失或易位;杂合子的 me 和 me^v 鼠易发生淋巴瘤^[19]。但 SHP-1 表达降低的大部分白血病/淋巴瘤细胞株中未检测到基因组 DNA 的缺失及点突变^[1]。检测 41 例 AL 患者及 8 株白血病细胞株 SHP-1 基因,仅 1 例 ALL 患者存在 SH₂N 的错义突变,同时发现 SHP-1 基因有 69,85,86,266 密码位点的多态性^[20]。提示 SHP-1 基因突变和缺失在白血病/淋巴瘤发病中所起的作用可能较小。

4 白血病/淋巴瘤中 SHP-1 相关信号通路的变化

SH P-1 是 JAK/STAT 信号通路的负调控因子,白血病/淋巴瘤细胞 JAK/STAT 信号通路的组成性激活与 SHP-1 功能的降低或缺如有关。皮肤 T 淋巴瘤细胞株 HUT-78 中 SHP-1 的表达缺失与 JAK3 的高磷酸化有关^[21]。白血病/淋巴瘤原代肿瘤细胞及细胞株中 SHP-1 表达的缺失与 STAT3 持续磷酸化高度相关,5-AzaCdR 恢复 SHP-1 的表达并下调白血病/淋巴瘤细胞株中 STAT3 的磷酸化水平^[15]。Wu 等^[18]首次提出 SHP-1 不但抑制 JAKs 激酶活性,并且通过蛋白酶体途径促进 JAKs 的降解而起作用。间变淋巴瘤激酶 ALK⁺ 的 ALCL 细胞株 Karpas299 和 SU-DHL-1 中 JAK3/STAT3 的持续激活与 SHP-1 表达缺如有关,高表达 SHP-1 可降低 JAK3, STAT3 的磷酸化水平,对 STAT3 的表达无影响而 JAK3 的表达降低,蛋白酶体抑制剂 MG132 可阻断高表达 SHP-1 引起的 JAK3 的降低,转染 SHP-1 后随着 Karpas 299, SU-DHL-1 细胞株中 JAK3/STAT3 磷酸化水平的降低,STAT3 的靶基因 cyclinD3, mcl-1 和 bcl-2 产物也下降^[13]。SH P-1 与天冬酰胺特异酶切的半胱氨酸蛋白酶 caspase-1, 3 表达呈正相关,提示 SHP-1 可能通过活化 caspase-1, 3 发挥作用^[8]。FLT3/ITD 可导致造血细胞非细胞因子依赖性的转化,TF-1 是 CD34⁺, Ph⁻, GM-CSF 依赖的髓系白血病细胞株,FLT3/ITD 转化细胞较 TF-1 细胞中 SHP-1 活性降低 3 倍,FLT3 特异的抑制剂 CEP-701 增加 FLT3/ITD⁺ 的 AML 细胞株及原代 AML 白血病细胞 SHP-1 蛋白及 mRNA 表达,提示 FLT3/ITD 可能通过抑制

SH P-1 的表达而致白血病形成,但具体机制未明^[14]。

5 SHP-1 与白血病/淋巴瘤的治疗和预后

通过对 200 例白血病/淋巴瘤患者研究显示,高度侵袭性 NK/T 淋巴瘤细胞、DLBL 及 ATLL 中 SHP-1 的表达缺如,而在部分原代低度恶性淋巴瘤 MCL, MZL, CLL 中正常表达或轻度降低,在静止的 B 淋巴细胞以及反应性增生的淋巴结组织中高表达^[7]; SHP-1 启动子甲基化发生率在高度及低度恶性 MALT 中分别为 100%, 54%, SHP-1 表达缺失的发生率分别是 80% 和 54%^[11],说明 SHP-1 的表达和甲基化与血细胞的恶性转化及白血病/淋巴瘤的侵袭性有关。白血病/淋巴瘤的 SHP-1 的甲基化检测敏感性和特异性很强,是诊断和检测白血病/淋巴瘤微小残留病灶的有价值的检测手段^[15]。SH P-1 在不同类型的白血病患者中阳性率不同,在 CML 不同分期中表达亦有差异,全部 CML 急变患者 SHP-1 表达缺如,SH P-1 阳性患者的首次完全缓解率明显高于阴性患者,说明其可作为判断白血病预后和疗效的指标^[8]。

SH P-1 是造血及上皮细胞恶性肿瘤的抑癌基因,SH P-1 表达或功能的异常与多种肿瘤的形成有关,在白血病/淋巴瘤中通常表达降低或缺如,但在部分白血病/淋巴瘤细胞株及大部分非造血恶性肿瘤中正常或高表达,这种差异的机制和意义尚不清楚。白血病/淋巴瘤中 SHP-1 表达降低或缺如的详细机制,以及 SHP-1 表达异常如何通过下游信号通路引起细胞转化、影响细胞增殖凋亡和分化还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Wu C, Sun M, Liu L, et al. The function of the protein tyrosine phosphatase SHP-1 in cancer[J]. *Gene*, 2003, 306(13): 1-12.
- [2] Zhang J, Somani A K, Siminovitch K A. Roles of the SHP-1 tyrosine phosphatase in the negative regulation of cell signalling[J]. *Semin Immunol*, 2000, 12(4): 361-378.
- [3] Samuel W, Douglas J H. Inhibitors of cytokine signal transduction [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(2): 821-824.
- [4] Coggeshall K M, Nakamura K, Phee H. How do inhibitory phosphatases work? [J]. *Mol Immunol*, 2002, 39(9): 521-529.
- [5] Nishigaki K, Hanson C, Ohashi T, et al. Erythroblast transformation by the friend spleen focus-forming virus is associated with a block in erythropoietin-induced STAT1 phosphorylation and DNA binding and correlates with high expression of the hematopoietic

- phosphatase SHP-1[J]. *J Virol*, 2006, 80(12): 5678-5685.
- [6] 黄定德, 陈杞, 韩玲, 等. SHP-1、SHP-2 蛋白的酪氨酸磷酸化水平在 γ 射线诱发的白血病小鼠胸腺细胞中变化的研究[J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2003, 23(3): 174-175.
HUANG Ding-de, CHEN Qi, HAN Ling, et al. Change of tyrosine phosphorylation of SHP-1 and SHP-2 in γ -ray irradiation induced leukemia in mice[J]. *Chin J Radiat Med Protect*, 2003, 23(3): 174-175.
- [7] Oka T, Yoshino T, Hayashi K, et al. Reduction of hematopoietic cell-specific tyrosine phosphatase SHP-1 gene expression in natural killer cell lymphoma and various types of lymphomas/leukemias: combination analysis with cDNA expression array and tissue microarray[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(4): 1495-1505.
- [8] 韩颖, 罗建民, 贾晓辉, 等. 白血病患者造血细胞磷酸酶与半胱氨酸蛋白酶基因表达及其临床意义[J]. *中华内科杂志*, 2006, 45(5): 363-365.
HAN Yin, LUO Jin-ming, JIA Xiao-hui, et al. The expression and clinical significance of hematopoietic cell phosphatase and cysteinyl aspartate-specific proteinase in leukemia[J]. *Chin J Intern Med*, 2006, 45(5): 363-365.
- [9] Bruecher-Encke B, Griffin J D, Neel B G, et al. Role of the tyrosine phosphatase SHP-1 in K562 cell differentiation [J]. *Leukemia*, 2001, 15(9): 1424-1432.
- [10] Mulloy J C, Migone T S, Ross T M, et al. Human and simian T-cell leukemia viruses type 2 (HTLV-2 and STLV-2pan-p) transform T cells independently of Jak/STAT activation[J]. *J Virol*, 1998, 72(5): 4408-4412.
- [11] Koyama M, Oka T, Ouchida M, et al. Activated proliferation of B-cell lymphomas/leukemias with the SHP-1 gene silencing by aberrant CpG methylation[J]. *Lab Invest*, 2003, 83(12): 1849.
- [12] Wu C, Guan Q, Wang Y, et al. SHP1 suppresses cancer cell growth by promoting degradation of jak kinases[J]. *J Cell Biochem*, 2003, 90(5): 1026-1037.
- [13] Honorat JF, Ragab A, Lamant L, et al. SHP1 tyrosine phosphatase negatively regulates NPM-ALK tyrosine kinase signaling [J]. *Blood*, 2006, 107(10): 4130-4138.
- [14] Chen P, Levis M, Brown P, et al. FLT3/ITD mutation signaling includes suppression of SHP-1 [J]. *JBC*, 2005, 280(7): 5361-5369.
- [15] Reddy J, Shivapurkar N, Takahashi T, et al. Differential methylation of genes that regulate cytokine signaling in lymphoid and hematopoietic tumors[J]. *Oncogene*, 2005, 24: 732-736.
- [16] Zhang Q, Wang H Y, Marzec M, et al. STAT3- and DNA methyltransferase 1-mediated epigenetic silencing of SHP-1 tyrosine phosphatase tumor suppressor gene in malignant T lymphocytes [J]. *PNAS*, 2005, 102(19): 6948-6953.
- [17] Beghini A, Ripamonti C B, Peterlongo P, et al. RNA hyperediting and alternative splicing of hematopoietic cell phosphatase (PTPN6) gene in acute myeloid leukemia [J]. *Hum Mol Genet*, 2000, 9(15): 2297-2304.
- [18] Ma X Z, Jin T, Sakac D, et al. Abnormal splicing of SHP-1 protein tyrosine phosphatase in human T cells. Implications for lymphomagenesis [J]. *Exp Hematol*, 2003, 31(2): 131-142.
- [19] Bignon J S, Siminovitch K A. Identification of PTP1C mutation as the genetic defect in motheaten and viable motheaten mice: a step toward defining the roles of protein tyrosine phosphatases in the regulation of hemopoietic cell differentiation and function [J]. *Clin Immunol Immunopathol*, 1994, 73(2): 168-179.
- [20] Luo J M, Liu Z L, Hao H L, et al. Mutation analysis of the HCP gene in acute leukemia [J]. *J Exp Hematol*, 2004, 12(2): 128-132.
- [21] Leon F, Cespon C, Franco A, et al. SHP-1 expression in peripheral T cells from patients with Sezary syndrome and in the T cell line HUT-78: implications in JAK3-mediated signaling [J]. *Leukemia*, 2002, 16(8): 1470-1477.