

文章编号:1005-6947(2006)04-0286-03

· 综述 ·

Pin1 与肿瘤

林美举¹, 于永惕¹综述 吴河水²审校

(1. 山东省烟台市烟台山医院 普外二科, 山东 烟台 264001; 2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院 胰腺外科, 湖北 武汉 430022)

摘要: Pin1 是人类多肽脯氨酰基顺/反异构酶, 能特异性地催化磷酸化的丝/苏-脯氨酸基序发生异构, 改变底物蛋白的构象, 调节底物蛋白的功能。最近的研究显示, Pin1 在多种肿瘤组织中过度表达, 且其过度表达能激活多条致癌通路, 被称为肿瘤发生的催化分子。笔者就 Pin1 在肿瘤发生中的作用及机制进行综述。

关键词: 多肽脯氨酰基异构酶; 肿瘤/病因学; 综述文献

中图分类号: R730.2; R44

文献标识码: A

蛋白分子中丝/苏-脯氨酸基序 (ser/thr-pro) 的磷酸化是一个重要的细胞内信号转导机制。Pin1 是一种高度保守的、特异的多肽脯氨酰基顺/反异构酶 (PPIase), 仅特异性地催化磷酸化的丝/苏-脯氨酸基序发生异构。这种磷酸化后的异构导致底物蛋白构象的改变, 从而调节它们的功能。最近的研究显示, Pin1 在许多肿瘤组织中过度表达, 并且在肿瘤的发生中起着重要作用, 被称为肿瘤发生的催化分子。

1 Pin1 的结构和功能

Pin1 是一种相对大分子质量 (18KD) 的 PPIase, 由 163 个氨基酸残基组成。它包括两个功能区域: 一个是氨基末端的色氨酸-色氨酸中心 (WW) 区, 由 39 个氨基酸残基组成, 以两个恒定的色氨酸为特征, 系一特异性的磷酸化丝/苏-脯氨酸基序的

连接区, 由其介导 Pin1 与磷酸化蛋白质结合; 另一个为羧基末端的多肽脯氨酰基异构酶区, 由 120 个氨基酸残基组成, 此区包含活化位点, 具有 RNA 聚合酶 II 的功能。WW 区与 PPIase 区之间由一 12 个残基的可变性序列连接^[1-2]。

丝/苏-脯氨酸基序是细胞周期中许多关键的蛋白激酶 (包括周期素依赖的激酶、丝裂原激活的蛋白激酶、糖原合成酶 3 β) 中唯一的磷酸化位点^[3]。这些酶催化底物使其发生磷酸化活性的功能完全取决于丝/苏氨酸后脯氨酸残基的存在。在蛋白中, 丝/苏-脯氨酸基序存在两种完全不同的顺/反异构体。迄今为止 Pin1 是已知催化该顺/反异构体相互转变唯一的酶。由此可见 Pin1 在调整蛋白的空间构象中有着重要作用。一个酶的空间构象的改变往往引起其活性、磷酸化状态、蛋白之间的相互作用、蛋白的亚细胞定位及稳定性变化。因此 Pin1 的催化反应是一条新的改变磷酸化蛋白功能的信号通路。

2 Pin1 在肿瘤中的表达和调节

2.1 Pin1 在肿瘤中的表达

研究发现 Pin1 在多种肿瘤组织中

的表达均增加。在乳腺癌组织及乳腺癌细胞的研究中显示, Pin1 不但在胞核中浓集, 而且在胞浆中也高度表达 (正常乳腺组织细胞中仅在核内有微弱表达)。与正常乳腺组织相比, 乳腺癌中的 Pin1 可高达 10 倍, 而且与乳腺癌的临床分期呈正相关; 对乳腺癌细胞的研究也得出相同的结果^[4-5]。Ayala 等^[6]通过对 580 例前列腺癌的研究发现: 与正常的前列腺组织相比, 前列腺癌中 Pin1 的表达显著增加, 与前列腺癌的临床分期也呈正相关; Pin1 高表达者较低表达者术后更易早期复发。因此 Pin1 被认为是一个新的前列腺癌的预后指标, 而且可能比目前临床上所运用的其他指标 (如前列腺特异性抗原, PSA) 更敏感。Pang 等^[7]、Nakashima 等^[8]和 Hangen 等^[9]的研究相继发现 Pin1 在肝细胞癌、甲状腺肿瘤和白血病母细胞中发现 Pin1 过表达。Bao 等^[10]的研究显示, 在 2 041 例肿瘤样本和 609 例正常的组织标本中, 38/60 种肿瘤中 Pin1 的表达超过正常对照的 10%, 其中包括前列腺、肺、乳腺、卵巢、结肠、脑肿瘤和黑色素瘤。体外培养的肿瘤细胞系 Pin1 的表达明显高于正常的细胞系, 其中 SW620 (结肠癌细胞系) 和 PC-3 (前列

收稿日期: 2005-07-13;

修订日期: 2006-02-15。

作者简介: 林美举, 男, 山东烟台人, 山东省烟台市烟台山医院住院医师, 主要从事腹部肿瘤方面的研究。

通讯作者: 林美举 E-mail: meiju_lin119@yahoo.com.cn。

腺癌细胞系)中 Pin1 的表达最高。可见 Pin1 的高表达是肿瘤的一个广泛而特异性的标志,它与多种肿瘤的发生密切相关。

2.2 Pin1 的调节

Pin1 基因的启动子区不含有 TATA 盒和 CAAT 盒,而含有 2 个 GC 盒和 3 个 E₂F 的结合位点。Pin1 是 E₂F 下游的靶基因, E₂F 家族的蛋白能通过与其连接而激活 Pin1 的启动子,增加 Pin1 的表达^[11]。有趣的是乳腺癌中 E₂F 的水平也异常增加^[12]。由此推测乳腺癌中 E₂F 的高表达可能在 Pin1 的上调中发挥关键作用。许多肿瘤存在 E₂F 失调^[13],因此在其他肿瘤中 Pin1 的高表达也可能与 E₂F 有关。除转录调节外, Pin1 还被翻译后的磷酸化调节。Pin1 WW 区的磷酸化能抑制 WW 区与靶蛋白的连接活性,调节 Pin1 的亚细胞定位。在细胞周期 G₂/M 的转变中已去磷酸化的 Pin1 为主,而在 G₁ 和 S 期以磷酸化的 Pin1 为主^[14]。乳腺癌肿瘤中的 Pin1 以去磷酸化的活性形式存在^[4]。此外,也可能通过蛋白水解调节 Pin1 的含量^[15], Polo 样激酶 1 (Plk1) 磷酸化 Pin1 65 位丝氨酸后能减少其泛素化,增加了稳定性;在人类肿瘤细胞中抑制 Plk1 的活性或者运用小干扰 RNA 抑制其表达,能增加 Pin1 的泛素化,减少 Pin1 的量^[16]。

3 Pin1 在肿瘤发生中的作用机制

Pin1 不仅在肿瘤中高表达,而且对于肿瘤的发生有极为重要的作用,被称为肿瘤发生的催化分子^[5]。它的过度表达能激活多条致癌通路。

3.1 Pin1 对周期素 D1 (cyclin D1) 的影响

Pin1 的靶蛋白有 20 多种,其中研究最多的是周期素 D1 (调节细胞周期的重要蛋白,在多种肿瘤中高表达,对肿瘤的发生起着重要作用)。人乳腺癌、肝癌、甲状腺癌等组织中 Pin1 与 cyclin D1 的表达呈正相关^[6-8]。在 24

例 cyclin D1 高表达的乳腺癌中有 20 例 Pin1 表达增加^[4]。而 Pin1 过表达的肝细胞癌中有 68% (25/37) cyclin D1 高表达,通过转染使肝细胞高表达 Pin1 可引起 cyclin D1 的显著增加。Pin1 基因敲除的小鼠表现出一定范围的细胞增殖异常,与 cyclin D1 基因敲除的小鼠非常相似;重要的是在 Pin1 -/- 的小鼠体内各组织中 cyclin D1 表达显著减少^[17]。因此可认为 Pin1 是 cyclin D1 的重要调节因子。

3.1.1 转录调节 Pin1 通过 Ras/AP-1 和 β -catenin/TCF (β -连环素/T 细胞因子) 信号转导途径增强 cyclin D1 的转录^[4,18]。(1) Ras/AP-1 途径^[4]。Ras 信号转导通路的异常激活是肿瘤发生的最普遍最重要的机制。当癌基因 Ras 激活其下游分子 JNKs 后, JNKs 又能使 c-Jun 氨基末端两个重要的丝-脯氨酸基序 (S^{63/73}-P) 磷酸化,增加其活性。Pin1 能特异性地连接磷酸化的 c-Jun 丝-脯氨酸基序,使其发生异构,进一步增强 c-Jun 的活性。相反,抑制 Pin1 的活性则降低磷酸化 c-Jun 的转录活性。激活的 c-Jun 能作用于 cyclin D1 启动子的 AP-1 位点,促进 cyclin D1 的表达。可见 Pin1 是在 Ras 和 JNKs 的协同作用下,通过增加 cyclin D1 启动子的活性增强了 cyclin D1 的转录。(2) β -catenin/TCF 途径。Pin1 对 cyclin D1 启动子的激活也能通过 β -catenin 信号转导通路作用于 cyclin D1 启动子的 T 细胞因子 (TCF) 位点而实现^[18]。致癌基因转录激活子 β -catenin 的上调在癌症的发展中发挥关键作用。肠腺瘤样息肉蛋白 (APC) 是 β -catenin 的一个关键调节子,它是由抑癌基因所编码的一种核浆穿梭蛋白,在核内与 β -catenin 结合后携带 β -catenin 一同穿出细胞核,使 β -catenin 在胞浆中被降解^[19-20]。所以 APC 的活性在很大程度上控制着 β -catenin 在核内的聚集。研究显示 Pin1 能与 β -catenin 中邻近 APC 结合位点的第 246 位

磷酸化的丝氨酸-脯氨酸基序结合并使其异构化,使 β -catenin 不能与 APC 相互作用。故认为 Pin1 通过影响 β -catenin 与 APC 的作用,使 β -catenin 出核减少,导致 β -catenin 在细胞核内聚集;大量 β -catenin 作用于 cyclin D1 启动子的 TCF 位点,提高了 β -catenin/TCF 信号转导通路激活下游靶基因的能力,从而使 cyclin D1 表达上调。Pin1 剔除小鼠中 β -catenin 表达下调,这与 cyclin D1 基因剔除小鼠表型相似。另外 β -catenin 还能促进 c-Jun 和 Myc 基因的表达,进而诱导 cdk4 和 E2F 表达^[21],如此又正反馈促进了 Pin1 的表达。

3.1.2 翻译后调节 在对 Pin1 -/- 的小鼠的研究中发现,组织中 cyclin D1 蛋白表达较 mRNA 的表达量更低。进一步研究显示, Pin1 不仅通过 c-Jun/AP-1 和 β -catenin/TCF 信号通路影响 cyclin D1 的基因表达,而且通过翻译后机制调节 cyclin D1 的亚细胞定位和稳定性^[17]。正常情况下, cyclin D1 第 286 位的苏氨酸发生磷酸化后,增加了 cyclin D1 与 CRM1 (cyclin D1 的出核因子) 的结合, cyclin D1 出核增多,引起 cyclin D1 在胞浆中降解^[22]。当 Pin1 特异性识别并连接 cyclin D1 的苏氨酸-286-脯氨酸基序后,使磷酸化的 cyclin D1 发生顺/反异构;构象的改变抑制了 cyclin D1 与 CRM1 的结合,减少了 cyclin D1 的出核,从而减少 cyclin D1 的分解,由此增加 cyclin D1 的稳定性。

3.2 Pin1 促进肿瘤发生的其他机制

众所周知, p53 的突变是细胞恶性增生和癌变发生的重要机制, p53 的突变是肿瘤组织中检测到的最常见的基因改变,约 50% 的肿瘤均可检测出 p53 基因突变。Pin1 则可藉其 WW 区与磷酸化的突变 P53 结合,使其发生顺/反同分异构,增强突变型 p53 的稳定性,从而促进肿瘤的发生^[5,23]。另外, Pin1 还能通过与 p65 磷酸化的 254 位苏氨酸结合增加其稳定性,导致 p65

的核内堆积,同时抑制 p65 与核因子- κ B 抑制蛋白 a (I κ Ba) 的结合,进而激活依赖于 I κ Ba 的核转录因子- κ B (NF- κ B) 的活性^[24]。这可能也是一条致癌途径,因为在许多癌组织和细胞中 NF- κ B 的活性增加, I κ Ba 水平增加^[25]。

综上所述, Pin1 不仅在许多肿瘤中过度表达,而且通过多条途径促进细胞的异常增殖和肿瘤的发生,成为肿瘤发生发展的标志。显然,阻抑 Pin1 的功能或减少其表达将能有效地抑制这些致癌途径。因此 Pin1 被认为是肿瘤诊断和治疗的新的分子靶点。

参考文献:

- [1] Lu KP, Hanes SD, Hunter T. A human peptidyl-prolyl isomerase essential for regulation of mitosis [J]. *Nature*, 1996, 380(6574): 544 - 547.
- [2] Wintjens R, Wieruszkeski JM, Drobecq H, *et al.* 1H NMR study on the binding of Pin1 Trp-Trp domain with phosphothreonine peptides [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(27): 25150 - 25156.
- [3] Lu KP, Liou YC, Zhou XZ. Pinning down the proline-directed phosphorylation signaling [J]. *Trends Cell Biol*, 2002, 12(4): 164 - 172.
- [4] Wulf GM, Ryo A, Wulf GG, *et al.* Pin1 is overexpressed in breast cancer and cooperates with Ras signaling in increasing the transcriptional activity of c-Jun towards cyclinD1 [J]. *EMBO J*, 2001, 20(13): 3459 - 3472.
- [5] Ryo A, Liou YC, Lu KP, *et al.* Prolyl isomerase Pin1: a catalyst for oncogenesis and a potential therapeutic target in cancer [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(5): 773 - 783.
- [6] Ayala G, Wang D, Wulf G, *et al.* The prolyl isomerase Pin1 is a novel prognostic marker in human prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(19): 6244 - 6251.
- [7] Pang R, Yuen J, Yuen MF, *et al.* PIN1 overexpression and beta-catenin gene mutations are distinct oncogenic events in human hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2004, 23(23): 4182 - 4186.
- [8] Nakashima M, Meirmanov S, Naruke Y, *et al.* Cyclin D1 overexpression in thyroid tumours from a radio-contaminated area and its correlation with Pin1 and aberrant beta-catenin expression [J]. *J Pathol*, 2004, 202(4): 446 - 455.
- [9] Hangen H, Reinhard D, Griesinger F, *et al.* Pin1 in acute myeloid leukemia blast cells [J]. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, 2005, 106: 4539.
- [10] Bao L, Kimzey A, Sauter G, *et al.* Prevalent overexpression of prolyl isomerase Pin1 in human cancers [J]. *Am J Pathol*, 2004, 164(5): 1727 - 1737.
- [11] Ryo A, Liou YC, Wulf G, *et al.* PIN1 is an E2F target gene essential for Neu/Ras-induced transformation of mammary epithelial cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(15): 5281 - 5295.
- [12] Zhang SY, Liu SC, Al-Saleem LF, *et al.* E2F-1: a proliferative marker of breast neoplasia [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2000, 9(4): 395 - 401.
- [13] Nevins JR. The Rb/E2F pathway and cancer [J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(7): 699 - 703.
- [14] Lu PJ, Zhou XZ, Liou YC, *et al.* Critical role of WW domain phosphorylation in regulating its phosphoserinebinding activity and the Pin1 function [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(4): 2381 - 2384.
- [15] Basu A, Das M, Qanungo S, *et al.* Proteasomal degradation of human peptidyl prolyl isomerase Pin1-pointing phospho Bcl2 toward dephosphorylation [J]. *Neoplasia*, 2002, 4(3): 218 - 227.
- [16] Eckerdt F, Yuan J, Saxena K, *et al.* Polo-like kinase 1-mediated phosphorylation stabilizes Pin1 by inhibiting its ubiquitination in human cells [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(44): 36575 - 36583.
- [17] Liou YC, Ryo R, Huang HK, *et al.* Loss of Pin1 function in the mouse resembles the cyclin D1-null phenotypes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(3): 1335 - 1340.
- [18] Ryo A, Nakamura N, Wulf G, *et al.* Pin1 regulates turnover and subcellular localization of β -catenin by inhibiting its interaction with APC [J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(9): 793 - 801.
- [19] Henderson BR. Nuclear-cytoplasmic shuttling of APC regulates beta-catenin subcellular localization and turnover [J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(9): 653 - 660.
- [20] Rosin-Arbesfeld R, Townsley F, Bienz M. The APC tumour suppressor has a nuclear export function [J]. *Nature*, 2000, 406(6799): 1009 - 1012.
- [21] Leone G, Nuckolls F, Ishida S, *et al.* Identification of a novel E2F3 product suggests a mechanism for determining specificity of repression by Rb proteins [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(10): 3626 - 3632.
- [22] Alt JR, Cleveland JL, Hannink M, *et al.* Phosphorylation-dependent regulation of cyclin D1 nuclear export and cyclin D1-dependent cellular transformation [J]. *Genes & Dev*, 2000, 14(24): 3102 - 3114.
- [23] Berger M, Stahl N, Sal GD, *et al.* Mutations in proline 82 of p53 impair its activation by Pin1 and Chk2 in response to DNA damage [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(13): 5380 - 5388.
- [24] Ryo A, Suizu F, Yoshida Y, *et al.* Regulation of NF- κ B signaling by Pin1-dependent prolyl isomerization and ubiquitin-mediated proteolysis of p65/RelA [J]. *Mol Cell*, 2003, 12(6): 1413 - 1426.
- [25] Karin M, Cao Y, Greten FR, *et al.* NF- κ B in cancer: from innocent bystander to major culprit [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(4): 301 - 310.