

PTEN 与神经干细胞调控

熊 涛 屈 艺 母得志

第 10 号染色体同源丢失性磷酸酶 - 张力蛋白基因 (PTEN) 是 1997 年发现的一个抑癌基因。PTEN 具有脂质和蛋白质双重磷酸酶功能,也是人类肿瘤中最常见的突变基因之一^[1]。PTEN 具有广泛的生物学功能,它通过 PI_3K/AKT 、FAK 和 MAPK 信号转导通路调节细胞的生长、凋亡、迁移和转化。目前发现 PTEN 可以调控神经干细胞的转化和增生,在多种疾病中发挥重要作用^[2]。

一、PTEN 概述

PTEN 基因位于染色体 10q23.3 区,有 9 个外显子和 8 个内含子,编码 403 个氨基酸。PTEN 蛋白的主要结构包括:(1)氨基端:由 1209 个核苷酸编码的 403 个氨基酸组成,是 PTEN 的主要功能区,氨基末端区域的 175 个氨基酸具有双特异性的磷酸酶活性,不仅可使蛋白分子中的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基脱磷酸,而且还能作用于磷脂酰肌醇三磷酸的 D3 位点使之脱磷酸,从而在多种信号通路和细胞周期调控中发挥作用。(2)C2 结构域:为反向平行的 β 片层结构,能结合多种配体和底物,介导信号传递的相关过程,同时该区可通过与膜磷脂多位点的接触,介导 PTEN 与细胞膜的结合。(3)羧基端:由 50 个氨基酸组成,具有规则的 PEST(350~357,379~396 位氨基酸)序列和 PDZ (PSD95, Dig 和 ZO1)结构域。PEST 序列对维持蛋白质稳定性具有重要作用,而 PDZ 结构域对于蛋白间相互作用具有重要意义。

二、神经干细胞定义及分布

神经干细胞是指具有分化为神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞的能力,能自我更新并足以提供大量脑组织细胞的一类细胞总称。自 20 世纪 90 年代以来,相继从哺乳动物及人的中枢神经系统分离培养出神经干细胞。自此以中枢神经可重建性的新观念

代替了其不可再生的传统观念。采用各种途径激活神经干细胞的增生、迁移和分化能力,进而促进神经重建及功能恢复,为治疗一些迄今尚无有效治疗方法的中枢神经系统疾病带来了曙光。神经干细胞广泛存在于发育期和成体哺乳动物神经系统。研究发现集中分布在室管膜下区的 Nestin 阳性细胞即神经干细胞。成年动物嗅球、皮质、室管膜层或者室管膜下层、纹状体、海马的齿状回颗粒细胞下层等脑组织中分布着神经干细胞;脊髓、隔区也分离出神经干细胞,表明神经干细胞广泛存在于神经系统^[3]。神经干细胞受细胞外信号分子和胞内因子的协同调控。多种细胞内因子调控神经干细胞自我更新和分化,研究发现 PTEN 参与了干细胞的更新和神经干细胞分化^[4]。

三、PTEN 信号通路干细胞

PTEN 具有脂质和蛋白质双重磷酸酶功能。由于具有脂质磷酸酶活性,PTEN 可去磷酸化 PIP_3 为 PIP_2 。其缺失导致 PIP_3 聚集,进一步激活下游信号分子级联,依次包括磷脂酰肌醇、蛋白激酶 B、S6 激酶、哺乳动物雷帕霉素位点等。蛋白激酶 B 为研究最多的下游信号分子,可抑制 BAD 和 caspase-9 等凋亡因子和并可下调 G_1 期抑制子 p27 而刺激细胞周期进展^[2]。此外,PTEN 可调控另一抑癌基因 p53 水平,并可调控基因组稳定性和老化过程^[5-7]。PTEN/ PI_3K 信号轴在多种组织内调控干细胞稳态,最近研究发现包括 PI_3K 突变,FOXO 途径激活,NOTCH1 和 c-myc 激活参与了干细胞调控^[4]。

四、PTEN 调控神经干细胞

1. PTEN 对发育期脑神经干细胞的调控: Groszer 等^[8]将携带 loxP 序列的 PTEN loxP 雌鼠与携带 nestin 启动子的 Cre 重组酶转基因雄鼠进行杂交,证实发育期脑的神经干细胞正常增生和自我更新依赖 PTEN 存在。PTEN 缺失鼠脑体积增大,神经干细胞大量增生,细胞体积增大,死亡减少。用核苷酸替代法分析神经干细胞在胚胎第 14.5 天的增生情况,发现 PTEN 基因敲除小鼠模型的室管区 5 溴-2 脱氧尿苷标记的细胞核显著增加;采用 TUNEL 法染色发现

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30825039, 30973236, 30770748); 四川省科技厅基金 (08ZQ026-069); 四川省卫生厅基金 (080236); 四川省人事厅基金 (078RC-256515)

作者单位: 610041 成都, 四川大学华西第二医院儿科

通讯作者: 母得志, 电子信箱: dezhimu@yahoo.com

在胚胎第 14.5 天 PTEN 突变体的端脑中细胞凋亡的明显减少。因此 PTEN 突变体中细胞数目增加源于神经干细胞细胞周期缩短和凋亡的减少。而 PTEN 缺失并未阻断神经干细胞向神经元的分化过程。在体外实验中,PTEN 可抑制神经干/祖细胞对于生长因子刺激的反应,从而降低神经干细胞的自我更新能力。流式细胞仪计数和基因芯片技术均证实 PTEN 抑制细胞生长和周期控制相关基因如细胞周期蛋白 B1、B2、D1 和 E1,PTEN 缺失可促进细胞周期由 G₀ 向 G₁ 前进。研究发现 PTEN 纯合缺失神经干细胞在相同的培养时间内完成了更多的细胞分裂次数。可见 PTEN 缺失导致细胞生理功能改变,促进神经干细胞和前体细胞自我增生能力,从而逃避增生稳态机制的调控,这可能是脑肿瘤发生的机制^[9]。此外,PTEN 可与其他抑癌基因一起调控神经干细胞增生和分化。在抑癌基因 p53 和 PTEN 双重敲除后,myc 表达增加,神经干细胞分化能力缺乏,由此神经干细胞获得持久的自我更新能力。并可进一步促进神经干细胞向脑肿瘤干细胞分化^[10]。敲除 myc 不仅显著降低神经干细胞增生和自我更新能力,且增加神经干细胞对于分化诱导的敏感性。总之,PTEN 对发育期脑神经干细胞的维持至关重要。

2. PTEN 调控成年脑神经干细胞的分化:成年神经干细胞终生存在于大脑的室管膜下区和海马,是胚胎发育早期所遗留下来的,可发育分化为神经细胞或胶质细胞。新生的干细胞在分化前需要离开其祖细胞群,按照内源性的迁移,分化和整合途径最后在嗅球分化出新的神经细胞。未完成此旅程的细胞均会死亡,只有最终与其他神经元形成有活性连接的神经元才得以存活。PTEN 可调控成年动物神经干细胞的迁移运动和凋亡。PTEN 阴性的室管膜下区的神经干细胞和前体细胞可按照内源性的迁移,分化和整合途径最后在嗅球分化出新的神经细胞。成年神经干细胞中敲除 PTEN 可使神经干细胞获得持久的自我更新能力,嗅球体积增大,功能增强。此外,PTEN 缺失可减少过氧化氢诱导的凋亡,改变神经祖细胞的基因表达^[11,12]。在此过程中,神经干细胞介导的神经发生最终可参与了神经修复过程,Yamashita 等^[13]已经研究证实内源性的新生神经元参与了神经损伤如脑卒中的神经回路修复过程。在局部脑卒中缺血模型中,PTEN 阴性的神经前体细胞可分化出更多数量的神经母细胞,并迁移到梗死皮质周围,但是与 PTEN 阳性组比较,长期存活和整合并无显著差异,

说明尚有其他的因子参与调控新生神经元长期存活^[14]。

五、脑肿瘤干细胞与神经干细胞和 PTEN 的关系

肿瘤组织并非由相同的肿瘤细胞所构成,绝大部分肿瘤细胞经过短暂的分化之后死亡,另小部分特殊的肿瘤细胞具有干细胞包括自我更新能力、无限增生能力和多向分化潜能在内的基本特性,因此在肿瘤的形成和生长中起着决定性作用。此类担当着干细胞角色的肿瘤细胞即为肿瘤干细胞。肿瘤干细胞的发现对于癌症发病机制和治疗研究均具有划时代的意义^[15]。Yuan 和 Qiang 等研究发现脑组织中存在与肿瘤发生和生长有密切相关的细胞亚群^[16,17]。该亚群显示出干细胞样的特性,并且在遗传学和表型上与正常神经干细胞相似,故被称为脑肿瘤干细胞。正常的神经干细胞和脑肿瘤干细胞之间有显著的相关性。Sutter 等^[18]认为在神经干细胞和肿瘤干细胞均表达 CD133 和 Nestin,提示两者之间在细胞发生学上存在同源关系。神经干细胞是中枢神经系统最活跃的细胞,处于不断分裂增生的状态,容易发生突变。许多研究发现,由于各种原因引起基因突变时,干细胞数目开始不断扩增,其永生的 DNA 链不断重建、扩增并出现分配紊乱,导致神经干细胞向脑肿瘤干细胞方向转化,最终导致癌变发生^[19,20]。神经干细胞的分化过程中,自身基因调控和外源性信号调控两种机制交互作用而实现对神经干细胞的控制。自身基因调控是指神经干细胞自身的转录因子及其他功能蛋白对其发育的调控。许多恶性肿瘤如乳腺癌中,PTEN 可在维持胚胎和组织特异性干细胞和肿瘤干细胞中发挥作用^[21]。在神经系统,肿瘤抑制基因 PTEN 等失活可诱导神经干细胞和祖细胞向恶性星形细胞瘤前体分化^[22]。Jacques 等^[23]在成熟的星形胶质细胞和神经干细胞中分别去除包括 PTEN 在内的几个抑癌基因后发现,只有神经干细胞中缺失抑癌基因后可产生脑肿瘤。Alcantara Llaguno 等^[24]发现在小鼠模型中,恶性星形细胞瘤起源于神经干/祖细胞。当 p53、Nf1 和 PTEN 抑癌基因失活后,所有突变老鼠均发生星形细胞瘤。在体外实验,抑癌基因失活后,变异细胞和其后代最终将分化形成肿瘤。而在肿瘤细胞群形成前,PTEN 缺失个体中神经干/祖细胞已经表现出生长和分化改变。

六、展 望

在以进行性的神经细胞缺失为特征的神经变性疾病如帕金森病、老年痴呆症、肌萎缩性(脊髓)侧索

硬化和以大量神经组织损伤的急性疾病如缺血、脑卒中、脊髓损伤中、当前的治疗偏重于口服药物以影响神经递质或刺激脑功能恢复的对症治疗^[25]。探讨 PTEN 和其他相关因子对于神经干细胞的影响,将会为以神经干细胞为靶标进行神经再生治疗带来新的途径。此外,探讨 PTEN 对神经干细胞向脑肿瘤干细胞转化进程的影响也有利于揭开脑肿瘤的发病机制。

参考文献

- Keniry M, Parsons R. The role of PTEN signaling perturbations in cancer and in targeted therapy[J]. *Oncogene*, 2008, 27(41):5477-5485
- Hill R, Wu H. PTEN, Stem Cells, and Cancer Stem Cells[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(18):11755-11759
- Deleyrolle LP, Reynolds BA. Identifying and enumerating neural stem cells: application to aging and cancer[J]. *Prog Brain Res*, 2009, 175:43-51
- Qu Q, Shi Y. Neural stem cells in the developing and adult brains[J]. *J Cell Physiol*, 2009, 221(1):5-9
- Freeman DJ, Li AG, Wei G, *et al.* PTEN tumor suppressor regulates p53 protein levels and activity through phosphatase-dependent and-independent mechanisms[J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(2):117-130
- Shen WH, Balajee AS, Wang J, *et al.* Essential role for nuclear PTEN in maintaining chromosomal integrity[J]. *Cell*, 2007, 128(1):157-170
- Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, *et al.* Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis[J]. *Nature*. 2005, 436(7051):725-730
- Groszer M, Erickson R, Scripture-Adams DD, *et al.* Negative regulation of neural stem/progenitor cell proliferation by the Pten tumor suppressor gene in vivo[J]. *Science*, 2001, 294(5549):2186-2189
- Groszer M, Erickson R, Scripture-Adams DD, *et al.* PTEN negatively regulates neural stem cell self-renewal by modulating G0-G1 cell cycle entry[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(1):111-116
- Zhang CL, Zou Y, He W, *et al.* A role for adult TLX-positive neural stem cells in learning and behaviour[J]. *Nature*, 2008, 451(7181):1004-1007
- Li L, Liu F, Salmonsens RA, *et al.* PTEN in neural precursor cells: regulation of migration, apoptosis, and proliferation[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2002, 20(1):21-29
- Li L, He F, Litofsky NS, Recht LD, Ross AH. Profiling of genes expressed by PTEN haploinsufficient neural precursor cells[J]. *Mol Cell Neurosci*. 2003, 24(4):1051-1061
- Yamashita T, Ninomiya M, Hernández Acosta P, *et al.* Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(24):6627-6636
- Gregorian C, Nakashima J, Le Belle J, *et al.* Pten deletion in adult neural stem/progenitor cells enhances constitutive neurogenesis[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(6):1874-1886
- Lobo NA, Shimono Y, Qian D, *et al.* The biology of cancer stem cells[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23:675-699
- Yuan X, Curtin J, Xiong Y, *et al.* Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme[J]. *Oncogene*, 2004, 23(58):9392-9400
- Qiang L, Yang Y, Ma YJ, *et al.* Isolation and characterization of cancer stem like cells in human glioblastoma cell lines[J]. *Cancer Lett*, 2009, 279(1):13-21
- Sutter R, Yadirgi G, Marino S. Neural stem cells, tumour stem cells and brain tumours: dangerous relationships[J]? *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1776(2):125-137
- Rapp UR, Ceteci F, Schreck R. Oncogene-induced plasticity and cancer stem cells[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(1):45-51
- Lee JS, Gil JE, Kim JH, *et al.* Brain cancer stem-like cell genesis from p53-deficient mouse astrocytes by oncogenic Ras[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 365(3):496-502
- Korkaya H, Paulson A, Charafe-Jauffret E, *et al.* Regulation of Mammary Stem/Progenitor Cells by PTEN/Akt/ β -Catenin Signaling[J]. *PLoS Biology*, 2009, 7(6):1-14
- Llaguno SA, Chen J, Kwon CH, *et al.* Malignant Astrocytomas Originate from Neural Stem/Progenitor Cells in a Somatic Tumor Suppressor Mouse Model[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(1):1-21
- Jacques TS, Swales A, Brzozowski MJ, *et al.* Combinations of genetic mutations in the adult neural stem cell compartment determine brain tumour phenotypes[J]. *EMBO J*, 2010, 29(1):222-235
- Alcantara Llaguno S, Chen J, Kwon CH, *et al.* Malignant astrocytomas originate from neural stem/progenitor cells in a somatic tumor suppressor mouse model[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(1):45-56
- Koch P, Kokaia Z, Lindvall O, *et al.* Emerging concepts in neural stem cell research: autologous repair and cell-based disease modeling[J]. *neurology*, 2009, 8:819-829

(收稿:2010-04-21)

中国科学家发现白癜风易感基因

由安徽医科大学张学军教授领衔的研究团队历时5年,运用全基因组关联分析研究(GWAS)成功发现了白癜风易感基因,首次在国际上明确白癜风是自身免疫性疾病,为最终征服白癜风这种复杂疾病奠定了第一步基础。据介绍,本研究首次在国际上以强有力的证据指出由遗传因素导致的自身免疫异常是白癜风发病的主要原因,为全面揭示白癜风的发病机制提供了新的契机,并且为疾病预警、临床诊断及新药开发奠定了理论基础。同时,该研究也建立了第一个亚洲人群白癜风病例-对照的全基因组关联分析数据库,为今后白癜风易感基因的深入研究打下了坚实的基础。