

PLK1 在肿瘤发生中的研究进展

周 燕 唐运莲 甘润良 黄 玘 付 阳

摘 要 Polo 样激酶 1 (polo - like kinase1, PLK1) 属于 PLKs 家族成员, 是一种广泛存在于真核生物中的丝/苏氨酸蛋白激酶, 因在细胞周期中起重要作用而受到广泛关注。研究发现, PLK1 在人类大多数肿瘤中高表达, 并与肿瘤细胞的增殖及患者的预后密切相关。临床前期结果表明干扰 PLK1 的表达能显著抑制包含非小细胞肺癌、淋巴瘤、结直肠癌在内的多种肿瘤的生长, 且对正常细胞无明显影响。因此, PLK1 被认为是一个有良好应用前景的恶性肿瘤治疗新靶点。目前, 针对 PLK1 的一些低分子抑制剂 (如 BI2536) 已经进入了临床试验阶段。然而, 尚未在临床水平得到证实。由于缺乏临床证据, 人们对 PLK1 的作用产生了质疑, 即 PLK1 在肿瘤细胞中的高表达是直接参与细胞的恶性转化还是仅仅作肿瘤细胞大量增殖的一个指标。本文主要通过 PLK1 与细胞周期、原癌基因及肿瘤相关信号通路之间的关系来探讨 PLK1 在肿瘤发生、发展中的作用。

关键词 PLK1 肿瘤 P53 信号通路
中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.046

自 20 世纪 80 年代开始, 随着人们对酵母及果蝇分子遗传学的研究进展, 调控有丝分裂的一些重要激酶被先后发现, 其中包括 Polo 激酶^[1]。Polo 样激酶 (polo - like kinase, PLK) 是一类广泛存在于真核细胞中的呈周期依赖性的丝/苏氨酸蛋白激酶, 因导致果蝇体内异常纺锤体的形成而得名。哺乳动物中, PLKs 家族至少包括 4 个成员, 即 PLK1、PLK2 (也称为 SNK)、PLK3 (也称为 FNK 或 PRK) 和 PLK4 (也称为 SAK)。De Carcer 等^[2]在研究恶性胶质瘤时发现 PLK 家族新成员 PLK5, 与其他成员相比, PLK5 缺乏激酶结构域, 其在细胞周期中的作用尚不十分清楚, 可能与促进细胞的凋亡有关。PLK1、PLK2、PLK3 及 PLK4 在结构上具有高度同源性, N 端均有 1 个丝/苏氨酸激酶结构域, C 端具有调节 PLKs 激酶活性及亚细胞动态定位的特征性结构域 (polo box domain, PBD)。尽管 PLKs 家族成员在结构上具有高度相似性, 但各自具有独特的生物学功能及细胞定位 (表 1)。5 个家族成员中, 目前对 PLK1 研究最为透彻, 可能与 PLK1 在细胞周期中的重要作用有关。Kitada 等发现敲除裸鼠体内 PLK1 的表达可导致胚胎期小鼠死亡, 而在其他家族成员的类似实验中, 尚未发现致命性损伤。据统计 PLK1 在人类大多数肿瘤细胞中高表达, 利用 PLK1 抗体、siRNA 或低分子激酶抑制

剂阻断 PLK1 的表达, 能有效抑制肿瘤细胞的增殖, 并诱导肿瘤细胞的凋亡, 提示 PLK1 是一个颇具吸引力的基因治疗靶点^[3,4]。目前针对 PLK1 的部分低分子抑制剂已进入了 II 期临床试验阶段。过去 20 年研究表明, PLK1 在有丝分裂中起重要的作用, 包括促进中心体的成熟、染色体的分离及胞质分裂等。然而, PLK1 在肿瘤细胞中的作用及地位尚不十分清楚。本文联合 PLK1 作用的一些下游产物及蛋白包括 FoxM1、Myc、Mdm2 及 β - catenin, 和一些肿瘤抑制因子如 P53、pRb、Brca2 及 Pten 等共同探讨 PLK1 在肿瘤细胞发生、发展中的作用^[5,6]。

表 1 PLK 家族成员结构、定位及功能

名称	激酶结构域	PBD	定位	功能
PLK1	有	2	中心体 着丝点	中心体的成熟、有丝分裂的 进入、双极纺锤体的分离
PLK2	有	2	中心体	中心体的成熟、神经元的分 化、细胞毒性应激反应
PLK3	有	2	细胞核	DNA 复制、细胞毒性应激反 应
PLK4	有	1	中心体	中性粒的形成
PLK5	无	2	细胞质	神经元分化、细胞凋亡

一、PLK1 与有丝分裂

PLK1 最早于 1994 年由 Golsteyn 等^[7]报道并克隆, 定位于 16p12, mRNA 长约 2.3 kb。PLK1 主要在增殖活跃的细胞中高表达如胎盘、卵巢、睾丸、脾, 而在多数成体组织 (如肝、脑、胸腺、心脏等) 不表达或表达水平很低。PLK1 在细胞周期中的表达遵循一定

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81272182)
作者单位: 421001 衡阳, 南华大学肿瘤研究所
通讯作者: 唐运莲, 电子信箱: tangyunlian@163.com

的规律: G_0 、 G_1 期几乎检测不到, 进入 S 期后逐渐增加, M 期达到峰值, 分裂完成后迅速降解灭活, 主要在 M 期发挥作用。值得注意的是, 肿瘤细胞中 PLK1 的表达不同于正常细胞。前者在 G_2 /M 期定位于细胞核, 并且可以在 G_1 /S 期检测, 而后者只能在 M 期检测, 提示肿瘤细胞中 PLK1 在分裂间期同样发挥作用。这个观点在随后发现 PLK1 的确参与肿瘤细胞 G_1 /S 期转化及 DNA 的复制得到验证^[8]。

PLK1 在有丝分裂中起重要的作用, 包括促进中心体的成熟、染色体的分离及胞质分裂等。其功能的实现可能与 PLK1 下游信号分子的激活有关, 如腺苷酸活化酶 (AMPK), 参与调节细胞生长和生长相关的代谢途径; PRC1, 参与微管形成; CDK1, 参与细胞周期的调控等^[9]。临床前期结果表明, PLK1 的异常表达与多种人类肿瘤相关, 可能是肿瘤细胞生长与增殖所必需^[10]。

二、PLK1 与肿瘤

PLK1 在多种肿瘤中高表达, 包括肺癌、头颈部肿瘤、食管癌、胃癌、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、大肠癌、胶质瘤、肾细胞癌及甲状腺癌^[11]。Smith 等将外源的 PLK1 转染到正常的成纤维细胞内, 可以导致细胞的恶性转化并诱导裸鼠成瘤, 提示 PLK1 能直接作用于细胞的恶性转化。另外, 近期对肝癌、胰腺癌的研究发现 PLK1 的高表达主要发生在肿瘤早期^[12]。此外, PLK1 还可以通过磷酸化 G_2 /S 表达蛋白 1 (G_2 and S - phase - expressed 1 protein, GTSE1) 和 Topors (一种泛素化 SUMO E3 连接酶), 抑制 p53 的活性, 帮助 DNA 受损的细胞逃逸检查点的阻滞^[13]。综上所述, PLK1 的过表达一方面可以直接促进细胞增殖, 另一方面还可以通过协助 DNA 受损的细胞逃逸监测点的阻滞以增加染色体不稳定最终导致肿瘤的发生。

1. 非小细胞性肺癌: Wolf 等发现非小细胞性肺癌 (NSCLC) 中 PLK1 mRNA 的水平为 NSCLC 患者提供了一个新的独立的预后指标。Wang 等^[14]也证实 PLK1 蛋白的高表达与 NSCLC 的临床分期、分级及淋巴结转移相关, 并可能成为提示肿瘤预后不良的分子标志物。Spänkuch - Schmitt 等利用反义寡核苷酸技术下调肿瘤细胞中 PLK1 的表达可以显著抑制体内外肿瘤细胞包括 NSCLC 细胞 (A549) 的增殖, 诱导细胞生长阻滞于 G_2 /M 期甚至凋亡, 并能提高肺癌细胞对放化疗的敏感度。该研究小组还发现, PLK1 在中心体的成熟及纺锤体的集聚中起重要的作用。因

此, 靶向 PLK1 的 siRNA 技术可能成为一种有效的抗肿瘤手段。此外, Raab 等发现, 原代细胞的增殖、生长及凋亡与许多肿瘤细胞系不同, 前者很少依赖于 PLK1 的表达, 而干扰肿瘤细胞中 PLK1 的表达, 可严重抑制肿瘤细胞的生长和增殖。同时, Liu 等^[15]证实正常细胞在 PLK1 缺失的条件下也能生存。这些数据进一步表明, PLK1 可能是 NSCLC 治疗的一个新靶点。

2. 淋巴瘤: 自 Ito 等发现甲状腺恶性淋巴瘤中存在 PLK1 的异常表达以来, 越来越多的证据提示 PLK1 在淋巴瘤中高表达并可作为评估淋巴瘤预后的独立影响因子。贺荣芳等^[16]应用免疫组织化学方法检测 50 例 T 细胞淋巴瘤及 30 例反应性增生淋巴组织中 PLK1 的表达, 结果显示, T 细胞淋巴瘤中 PLK1 蛋白表达阳性率为 72.0 % (36/50), 显著高于反应性增生淋巴组织 40.0 % (12/30) ($\chi^2 = 7.900$, $P < 0.01$), 且与恶性程度及临床分期密切相关。此外, 在某些 B 细胞淋巴瘤中也发现 PLK1 的异常表达, 并与阴阳因子 -1 (Yinyang - 1, YY1) 相互作用协助肿瘤细胞逃逸 G_2 /M 期检查点阻滞^[17]。利用 RNAi 技术或低分子抑制剂干扰淋巴瘤细胞中 PLK1 的表达, 可以显著抑制皮肤 T 细胞淋巴瘤 (CTCL) 细胞系的增殖^[18]。目前用于治疗淋巴瘤的一些 PLK1 低分子抑制剂 BI 2536 已进入临床 I 期实验阶段, 其不良反应主要包括血小板减少等。

3. 鼻咽癌: 作为头颈部常见的恶性肿瘤, 目前对于 PLK1 在鼻咽癌中的研究相对较少。Cheung 等^[19]发现与正常的鼻咽上皮细胞相比, 鼻咽癌细胞系 (HONE1、HK1 和 C666 - 1) 中 PLK1 水平显著高于正常细胞组。该小组还发现加入 PLK1 抑制剂 Ro5203280 后, 大部分肿瘤细胞阻滞于 G_2 /M 期甚至凋亡, 并可抑制裸鼠体内肿瘤的生长。

4. 结直肠癌: 2003 年 Takahashi 等发现 PLK1 在结直肠癌中高表达。随后, Weichert 也证实 PLK1 水平可作为提示结直肠癌预后的分子标志物, 并与结直肠癌的临床分期、分级密切相关。此外, 有研究发现 PLK1 还参与结直肠癌的侵袭和转移^[3]。干扰 PLK1 的表达不仅可以显著抑制结直肠癌细胞的增殖, 而且可以增强肿瘤细胞对放化疗的敏感度。然而, 目前对于 PLK1 如何参与结直肠癌的发生、发展尚不十分清楚。Tan 等^[20]发现 PLK1 可能是通过 PDK1 - PLK1 - MYC 信号通路促进结直肠癌细胞的生长、侵袭和转移。此外, 有研究发现 p53 失活的结肠癌细胞对

PLK1 抑制剂的敏感度高于野生型 p53 组,这也说明了 PLK1 可能与 p53 存在某种关系并最终导致肿瘤的发生。同时,Cholewa 等^[21]对参与肿瘤发生与发展的 12 条信号通路总结发现,PLK1 参与其中 75 % 的信号通路。这些信号通路涉及 DNA 的损伤修复、G₁/S 转化等,似乎为证实 PLK1 在有丝分裂间期发挥作用提供了有力的证据。这一发现也为进一步探讨 PLK1 如何导致肿瘤的发生、发展提供了新的思路。

三、PDK1 - PLK1 - Myc 通路

PDK1 属于 AGC 激酶家族,其介导调节的 PI₃K/AKT/mTOR 信号转导通路异常,因与多种恶性肿瘤的发生、发展密切相关而一度成为研究热点。PI₃K 通路中,PDK1 磷酸化 Akt 而使后者活化,活化的 Akt 进一步激活 mTOR,从而引起信号转导通路的级联反应,在细胞内发挥着抑制凋亡、促进增殖的关键作用。目前,Akt 被认为是 PDK1 的主要下游靶点。然而,Vasudevan 等^[22]发现许多 PIK3CA 突变的肿瘤细胞系在维持细胞增殖方面极少依赖 Akt 激活。这就表明 PDK1 致癌作用可能是通过介导其他下游靶点实现的。

Myc 是一个在进化上较为保守的,具有 b/HLH/LZ 结构的转录调节因子,参与调控细胞的增殖、分化、生长、凋亡、细胞周期进程以及细胞的恶性转化。Tan 等^[20]诱导细胞中 PDK1 的过表达,检测发现转化细胞中 Myc 蛋白显著增加,为 PDK1 可能通过上调 Myc 蛋白参与介导新的信号通路提供了证据。随后,该研究小组证实 PLK1 是 PDK1/Myc 通路中的关键成员,PDK1 首先激活 PLK1,激活的 PLK1 通过磷酸化 Ser 62 位点进一步激活 Myc,共同维持肿瘤细胞的生长、分化等(图 1)。此外,Sander 等在研究淋巴瘤中也发现了 PI₃K 通路与 Myc 基因在维持细胞分化上存在相互作用。目前,参与调节 PI₃K 通路与 Myc 相互作用的因子及机制尚在进一步研究中。

四、PLK1 与 p53

p53 是目前研究最广泛的抑癌基因之一,也是细胞内的一个强大的转录因子,在正常状态下呈低水平表达。当外界刺激导致细胞 DNA 损伤时,ATM/ATR 和 Chk1/Chk2 分别磷酸化 p53 的 Ser15 及 Ser20 位点,使后者激活并稳定。磷酸化 p53 蛋白的累积主要靠抑制 p53 和 Mdm2 相互作用而实现,后两者的相互作用可以刺激 Mdm2 介导 p53 的降解。p53 主要通过诱导细胞周期阻滞对抗 PLK1 促进细胞周期的功能。当 DNA 损伤时,PLK1 主要受 ATM / ATR 通路的抑制,转录活性直接或间接受 p53 调控。p53 定位

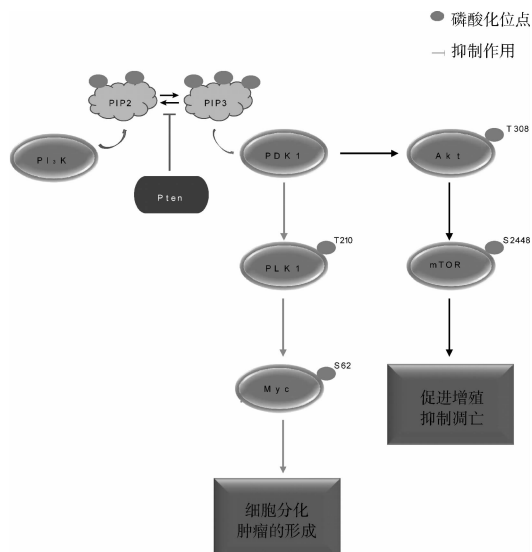


图 1 PDK1 参与 PI₃K - Akt - mTOR 通路(黑色箭头)及 PDK1 - PLK1 - Myc 通路(绿色箭头)

PI₃K 通路中,PI₃K 活化产生 PIP₃ 与 PDK1 相互作用,通过磷酸化 Akt 的 Thr308 位点,使 Akt 完全活化,激活的 Akt 进一步磷酸化 mTOR 的 Ser2448 位点而激活 mTOR。PI₃K /Akt 信号转导通路主要受抑癌基因 Pten 的调节。PDK1 - PLK1 - Myc 通路中,PDK1 首先激活 PLK1,被激活的 PLK1 进一步激活 Myc

于 PLK1 启动子,并与 E2F1 相结合,E2F1 主要诱导 PLK1 转录水平的增加。p53 - E2F1 - PLK1 复合物能增加 DNA 的复杂程度并抑制 PLK1 的表达。此外,p53 还可以通过 P21/waf1 靶向定位于 PLK1 启动子序列 CDE/CHR 及对 FoxM1 的负反馈调节间接抑制 PLK1 的表达,其中 FoxM1 主要是促进 PLK1 的表达。因此,在 DNA 的损伤修复过程,通过 p53 对 PLK1 的抑制作用来防止异常多倍体的形成。当 DNA 损伤不能完全修复时,细胞周期阻滞将一直存在,直到细胞死亡。相反,当 DNA 损伤修复后,细胞将继续细胞周期进程。毫无疑问,p53 在一定程度上具有调节 PLK1 的能力,反过来 PLK1 是否通过某些通路调节 p53 的活性?研究表明,PLK1 可以直接绑定 p53 上一个特定的 DNA 结合域来抑制 p53 的转录活性及诱导凋亡的功能。此外,PLK1 还可以通过磷酸化 Mdm2 的 Ser 260 位点而加速 p53 与 Mdm2 相互作用。

最近的一项研究表明,PLK1 通过磷酸化 Topors 上的 ser718 位点,促进 p53 的泛素化降解。除了泛素化信号外,PLK1 通过磷酸化 GTSE1 直接影响 p53 在细胞中的定位,导致 p53 从细胞核向细胞质转移,促进 p53 的降解^[13]。这些结果表明,PLK1 与 p53 相互

作用的协调性对于维持细胞周期的正常运行至关重要。然而,PLK1 与 p53 的关系尚存在争议,研究表明,抑制肿瘤细胞中 PLK1 的表达,显示出类似的细胞毒性和特异性,而与 p53 存在与否无关。因此,后期还需要开展大量实验探讨 PLK1 与 p53 之间的关系。

五、展 望

自果蝇体内发现 polo 激酶以来,大多数研究一直专注于 PLK1 在有丝分裂的作用。近年来,越来越多的实验开启了 PLK1 在有丝分裂以外功能的新纪元。研究表明,PLK1 在 DNA 复制及染色体/微管动力学中起重要的作用。作为 PDK1/Myc 通路中的关键成员,PLK1 通过磷酸化 Ser 62 位点进一步激活 Myc,共同维持肿瘤细胞的生长、分化等。此外,PLK1 还与 p53 相互作用,共同调节检查点的激活和 DNA 的修复。总之,PLK1 的以上功能让我们有理由相信对于 PLK1 仅在分裂期发挥作用做出了过早的结论。临床前期试验显示,PLK1 是多种肿瘤治疗的有效靶点。大量证据也证实癌基因依赖 PLK1 不是在肿瘤形成后发生的。因此,笔者认为 PLK1 在基因组不稳定性 and 细胞的生存及恶性转化中起着积极的作用,最终驱动细胞癌变。

参考文献

- 1 Sunkel CE, Glover DM. Polo, a mitotic mutant of *Drosophila* displaying abnormal spindle poles[J]. *J Cell Sci*, 1988, 89(Pt 1):25-38
- 2 De Carcer G, Escobar B, Higuero AM, *et al.* Plk5, a polo box domain-only protein with specific roles in neuron differentiation and glioblastoma suppression [J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(6):1225-1239
- 3 Han DP, Zhu QL, Cui JT, *et al.* Polo-like kinase 1 is overexpressed in colorectal cancer and participates in the migration and invasion of colorectal cancer cells [J]. *Med Sci Monit*, 2012, 18(6):BR237-246
- 4 Gorlick R, Kolb EA, Keir ST, *et al.* Initial testing (stage 1) of the Polo-like kinase inhibitor volasertib (BI 6727), by the Pediatric Preclinical Testing Program [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2014, 61(1):158-164
- 5 Cunningham JT, Ruggero D. New connections between old pathways: PDK1 signaling promotes cellular transformation through PLK1-dependent MYC stabilization [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(10):1099-1102
- 6 Choi B, Pagano M, Dai W. Plk1 phosphorylates PTEN and regulates its mitotic activity during the cell cycle [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(20):14066-14074
- 7 Golsteyn RM, Schultz SJ, Bartek J, *et al.* Cell cycle analysis and chromosomal localization of human Plk1, a putative homologue of the mitotic kinases *Drosophila* polo and *Saccharomyces cerevisiae* Cdc5 [J]. *J Cell Sci*, 1994, 107(Pt 6):1509-1517
- 8 Shen M, Cai Y, Yang Y, *et al.* Centrosomal protein FOR20 is essen-

- tial for S-phase progression by recruiting Plk1 to centrosomes [J]. *Cell Res*, 2013, 23(11):1284-1295
- 9 Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraro C, Cufi S, *et al.* Polo-like kinase 1 regulates activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) at the mitotic apparatus [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(8):1295-1302
- 10 Craig SN, Wyatt MD, McInnes C. Current assessment of polo-like kinases as anti-tumor drug targets[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2014, 9(7):773-789
- 11 Zhang G, Zhang Z, Liu Z. Polo-like kinase 1 is overexpressed in renal cancer and participates in the proliferation and invasion of renal cancer cells [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3):1887-1894
- 12 Petrelli A, Perra A, Schernhuber K, *et al.* Sequential analysis of multistage hepatocarcinogenesis reveals that miR-100 and PLK1 dysregulation is an early event maintained along tumor progression [J]. *Oncogene*, 2012, 31(42):4517-4526
- 13 Liu XS, Li H, Song B, *et al.* Polo-like kinase 1 phosphorylation of G2 and S-phase-expressed 1 protein is essential for p53 inactivation during G2 checkpoint recovery [J]. *EMBO Rep*, 2010, 11(8):626-632
- 14 Wang ZX, Xue D, Liu ZL, *et al.* Overexpression of polo-like kinase 1 and its clinical significance in human non-small cell lung cancer [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(1):200-210
- 15 Liu J, Lu KH, Liu ZL, *et al.* MicroRNA-100 is a potential molecular marker of non-small cell lung cancer and functions as a tumor suppressor by targeting polo-like kinase 1 [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12:519
- 16 贺荣芳, 赵强, 谢黎明, 等. Survivin 与 PLK1 在 T 细胞淋巴瘤中的表达及其临床意义 [J]. *海南医学*, 2012, 23(4):1-4
- 17 Sandison HE, Usher S, Karimiani EG, *et al.* PLK1 and YY1 interaction in follicular lymphoma is associated with unfavourable outcome [J]. *J Clin Pathol*, 2013, 66(9):764-767
- 18 Nihal M, Stutz N, Schmit T, *et al.* Polo-like kinase 1 (Plk1) is expressed by cutaneous T-cell lymphomas (CTCLs), and its downregulation promotes cell cycle arrest and apoptosis [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(8):1303-1311
- 19 Cheung AK, Ip JC, Lung HL, *et al.* Polo-like kinase inhibitor Ro5203280 has potent antitumor activity in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(8):1393-1401
- 20 Tan J, Li Z, Lee PL, *et al.* PDK1 signaling toward PLK1-MYC activation confers oncogenic transformation, tumor-initiating cell activation, and resistance to mTOR-targeted therapy [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(10):1156-1171
- 21 Cholewa BD, Liu X, Ahmad N. The role of polo-like kinase 1 in carcinogenesis: cause or consequence? [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(23):6848-6855
- 22 Vasudevan KM, Barbie DA, Davies MA, *et al.* AKT-independent signaling downstream of oncogenic PIK3CA mutations in human cancer [J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(1):21-32

(收稿日期:2014-08-15)

(修回日期:2014-09-30)