

# Pinx1 表达与端粒酶活性及肿瘤的关系

马英玉 武良<sup>1</sup> 李继承\*(浙江大学细胞生物学研究所, 杭州 310058; <sup>1</sup>浙江省青田人民医院, 丽水 323900)

**摘要** Pinx1 作为端粒酶抑制剂, 也是最近发现的一种新型肿瘤抑制因子。通过对内源性端粒酶抑制基因 *Pinx1* 与端粒酶、端粒相关蛋白在肿瘤中的表达以及 *Pinx1* 在肿瘤演进过程中的作用及临床意义进行一系列的研究, 发现肿瘤中 *Pinx1* 表达下降与端粒酶活性增高密切相关, 且端粒酶活性增高的程度与肿瘤的预后相关。现对近年来 *Pinx1* 基因的最新研究进展, 特别是该基因表达与端粒酶活性在肿瘤发生、发展中的作用, 作一综述和分析。

**关键词** *Pinx1*; 端粒酶; 肿瘤

端粒, 起着维持基因组稳定性的作用。端粒酶维持端粒长度, 参与衰老的发生。由于末端复制的难题, 端粒随着每次细胞分裂而缩短, 短至一定长度, 衰老发生。近年来研究发现端粒酶是肿瘤发生过程中的一个关键酶, 大约 90% 肿瘤细胞有端粒酶活性, 而大多数正常体细胞中无端粒酶活性<sup>[1,2]</sup>。离体培养的肿瘤细胞在失去端粒酶活性后会老化或死亡。*Pinx1* 作为一种端粒酶的抑制剂, 已经成为近年来学者们关注的焦点。

## 1 *Pinx1* 基因

人类端粒酶有 3 个主要组分: 人端粒酶催化蛋白亚单位, 即人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)、人端粒酶 RNA(human telomerase RNA, hTR)和端粒酶相关蛋白(telomerase-associated protein, TP1)。针对端粒酶的各个组分, 以及端粒结构本身皆有抑制剂存在<sup>[3]</sup>。

*Pinx1* (Pin2/TRF1-interacting protein)是新近发现的端粒酶和端粒的共调控基因<sup>[4]</sup>, 定位于染色体的 8p23, 由 7 个外显子组成, 有两种转录形式, 分别编码 174 个氨基酸和 328 个氨基酸<sup>[5]</sup>, 其中 *Pinx1*(含 328 个氨基酸)含有两个结构域, 一个是 G-patch, 常见于 RNA 结合蛋白或损伤修复因子; 另一个是端粒抑制域(telomerase inhibitory domain, TID)。*Pinx1* 在正常人体组织中正常存在, 而在肿瘤组织中则相应的低表达或不表达<sup>[4]</sup>。

在大多数的人类肿瘤中, 8p23 是一个容易发生杂和性缺失(loss of heterozygosity, LOH)的区域, *Pinx1* 编码的蛋白质是一种新型的 Pin2/TRF 结合蛋白, 近来被鉴定是一个端粒酶的强效抑制剂<sup>[4]</sup>, *Pinx1* 以其 TID 与 hTERT 结合而抑制端粒酶活性, 影响肿瘤的

基因遗传, 被认为是一种新型的肿瘤抑制因子。Liao 等<sup>[6]</sup>的研究结果显示, *Pinx1* 或它的 TID 过度表达抑制端粒酶活性, 使端粒缩短, *Pinx1* 的减少则促进端粒酶的活性, 使其增长。在裸鼠中, *Pinx1* 基因的缺失, 被证实有促进肿瘤基因遗传的作用<sup>[4]</sup>。

## 2 *Pinx1* 基因与肿瘤的关系

### 2.1 *Pinx1* 与大肠癌

Emi 等<sup>[7]</sup>曾经报道, 在结直肠癌、肝细胞癌和肺癌中, 染色体 8p LOH 的发生率较高。如, 结直肠癌细胞 8p23.2~8p22 发生缺失, *Pinx1* 的表达与癌分化程度和淋巴结转移显著相关, 随肿瘤恶性程度的增高, *Pinx1* 逐渐降低; 在直肠癌伴淋巴转移的患者, *Pinx1* 表达明显低于无淋巴转移者。短期随访还发现, *Pinx1* 表达水平和有无淋巴结转移是影响患者术后生存率的两项重要指标, *Pinx1* 表达水平越高, 患者预后越好, 出现淋巴结转移的患者, 预后较差。

*Pinx1* 的表达水平与 hTERT 表达呈明显负相关, 但与端粒重复序列结合因子 1 (telomeric-repeat binding factor 1, TRF1)表达无关, 提示 *Pinx1* 的下调可能是影响 hTERT 表达的重要原因。而对 TRF1 的调控, 还受其他因素的制约, 尚有待于进一步研究。但 hTERT 的表达并不能确定肿瘤发生的早晚, 因此, *Pinx1* 的下调究竟是发生在细胞周期的哪个阶段, 是在端粒酶活化之前还是之后, 尚无从得知, 有待于进一步对癌前病变进行检测, 以及通过肿瘤的分化诱导试验加以证实。

收稿日期: 2008-01-30 接受日期: 2008-04-09

国家基础科学人才培养基金(No.J0730856)、浙江省医药卫生基金(No.2007B209)资助项目

\* 通讯作者。Tel: 0571-88208088, E-mail: lijichen@zju.edu.cn

## 2.2 *Pinx1* 与肝癌

在肝细胞癌中, *Pinx1* 容易发生杂和性的缺失。*Pinx1* 的过度表达抑制端粒酶的活性, 使端粒缩短, 表明在肝细胞癌的发生、发展过程中, 该基因起了关键的作用。

Oh 等<sup>[8]</sup>研究了 24 例肝癌及癌旁组织中的 *Pinx1* 表达、mRNA、端粒长度和端粒酶活性之间的关系, 以及基因序列的分析, 发现在肝细胞癌组织和癌旁正常组织中, *Pinx1* 的 mRNA 水平无明显的区别。但随着端粒的缩短, *Pinx1* 的 mRNA 的表达水平趋向于增高, 而在正常组织中没有发现这种关系。研究结果提示, 作为一种肿瘤抑制因子, *Pinx1* 在肝细胞癌的发生中可能不是最主要的因素, 但是该基因可能参与了肝细胞癌中端粒长度的调节。

*Pinx1* 作为一种新型的肝相关肿瘤抑制基因, 在肝癌细胞系中有抑制生长的作用。Park 等<sup>[9]</sup>的研究发现, 在 80 例肝细胞癌中, 有 34.5% 在一个或多个基因内的多态性位点出现了 LOH, 有趣的是, 这种杂和性缺失仅仅发生在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染所引起的肝细胞癌, LOH 率与组织学类型和临床分期无相关性, 表明 *Pinx1* 的等位基因缺失可能发生在肝癌细胞(hepatocellular carcinoma, HCC)的早期, 尤其是在由 HBV 感染引起的 HCC 中。但是, Konishi 等<sup>[9]</sup>研究报道, 在 8p23 的 LOH 率为 42%, 这种 LOH 率在 HBV 阳性的肿瘤病人和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)阳性的肿瘤病人中并无不同。

## 2.3 *Pinx1* 与白血病

肿瘤细胞中端粒酶活性增高的机制尚不清楚, 已知端粒酶活性受多种途径调控, 其中 TRF 是近年来发现的一个新的调控途径。*Pinx1* 是近年报道的一个新的 TRF<sup>[5]</sup>。大量研究发现, 在恶性肿瘤, 包括白血病细胞中, 端粒酶活性增高, 但激活的机制尚不清楚。

在肿瘤细胞中, 端粒酶的激活是在端粒缩短到一定长度后发生的<sup>[10,11]</sup>, 而 TRF 可能是缩短的端粒激活端粒酶过程中的重要信号转导分子。在实验中, 通过大量表达 *Pinx1* 能明显抑制端粒酶活性, 而大量表达其反义寡核苷酸, 则能增强端粒酶活性, 并使端粒延长<sup>[5]</sup>。所以, 在 TRF 中, *Pinx1* 因能与端粒酶直接结合而受到关注。

白血病细胞的分化过程是白血病细胞从恶性克隆向良性细胞转化的良好模型, 研究全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)诱导下 NB4 细胞分化过程中 *Pinx1* 表达改变及与端粒酶活性的关系, 有助于阐明 *Pinx1* 在急性白血病(acute leukemia, AL)细胞中对

端粒酶的作用及机制。Pendino 等<sup>[12]</sup>报道, 在 ATRA 诱导 NB4 细胞分化过程中, 端粒酶活性和 hTERT mRNA 表达均随 NB4 细胞分化而降低, 且直接与分化相关, 其机制不明, 可能受一些端粒酶活性调控因子的影响。

慢性白血病(chronic myeloid leukaemia, CML)的进展期与端粒的缩短有相关性, 为了研究 CML 中端粒酶的生物调节作用, Campbell 等<sup>[13]</sup>分析了端粒酶组成部分、调节因子和多个端粒相关蛋白的表达水平。他们发现, 在大多数慢性期(chronic phase, CP)和加速期(accelerated phase, AP)的 CML 病人, *Pinx1* 的表达水平较对照组高, 随着疾病的进展, *Pinx1* 水平下降。与未经治疗的 CP 期的 CML 病人相比, 急变期(blast crisis, BC)病人 *Pinx1* 的水平显著下降。另有研究显示, CML 的病人在疾病的进展期, 骨髓细胞中端粒酶的活性升高<sup>[14-17]</sup>。因此, 我们猜测, 在 CML 的进展期, 由于端粒的缩短, 激活端粒酶, *Pinx1* 与端粒酶结合, 表达水平下降。

*Pinx1* 在 AL 细胞中的表达明显增高, 且与 hTERT mRNA 的表达呈正相关。由此推测, *Pinx1* 在急性白血病细胞和 NB4 细胞分化过程中的改变, 可能是继发于 hTERT 的一种负反馈反应, 其目的是保持端粒酶活性的稳定。当 hTERT 增高时, 与之结合的 *Pinx1* 也增多, 使细胞内的游离 *Pinx1* 减少, 从而使 *Pinx1* 转录增加。反之, 当 hTERT 减少时, 游离的 *Pinx1* 增多, 使 *Pinx1* 转录减少。这也解释了在分化过程中 hTERT mRNA 迅速减低, 而端粒酶活性仅轻度降低的原因。因此, 在白血病细胞中, *Pinx1* 虽与 hTERT 显著相关, 但它可能并不是白血病细胞中端粒酶活性增高的直接原因。而 *Pinx1* 参与肿瘤细胞中端粒酶活性调控的具体机制, 尚有待于进一步研究。

## 2.4 *Pinx1* 与胃肠道肿瘤

Akiyama 等<sup>[18]</sup>研究了在胃肠道肿瘤(gastrointestinal tract carcinomas, GITCs) *Pinx1* 基因的突变情况。通过对 15 例 GITCs 细胞系和 20 例原发性 GITCs 患者, 分析 *Pinx1* 基因突变、mRNA 表达水平和启动子的甲基化等, 发现在 1 例结肠癌和 1 例食管癌细胞系的 254 号密码子中, 有一个错义突变; 在 2 例原发性胃肠道肿瘤患者中, 254 号密码子发生了错义突变; 在启动子区域没有发现高甲基化现象。他们认为, 人类的 *Pinx1* 不影响胃肠道肿瘤的发生。

Kondo 等<sup>[19]</sup>通过应用 RT-PCR 检测了 73 例胃癌的 *Pinx1* 表达, 对其中的 45 例进一步进行了微卫星位点的 LOH 研究, 结果显示胃癌中 *Pinx1* 基因的低表达率为 68.5%, 低表达 *Pinx1* 的胃癌组织与正常表达

*Pinx1* 的胃癌组织相比, 表现出了显著的端粒酶活性增高。他们发现, 在胃癌中, *Pinx1* 基因的 LOH 率占 33.3%, 与 *Pinx1* 的低表达有显著相关性。胃癌细胞系 MKN-74 的染色质免疫沉淀反应揭示, 由于曲古菌素 A (trichostatin A, TSA) 或烟酰胺 (nicotinamide, NAM) 的作用, *Pinx1* 的 5' 非转录区 (untranslated region, UTR) 的组蛋白 H4 的乙酰化增强, 而组蛋白 H3 却没有因此而改变。除此之外, TSA 或 NAM 处理作用可以使 MKN-74 细胞端粒酶活性增强。Kondo 等<sup>[19]</sup> 的结果表明, 在胃癌中, *Pinx1* 基因所在区的杂和性缺失, 以及 *Pinx1* 基因 5' UTR 的组蛋白 H4 乙酰化与该基因在癌组织中的低表达有显著相关性。

*Pinx1* 基因在胃肠道肿瘤中的表达报道不一致, 可能表明该基因在肿瘤中的作用与地域环境、饮食因素、化学因素等也有相关性, 但具体的因素影响还有待于进一步的研究。

### 3 小结

大量研究结果显示, 端粒酶活性在恶性肿瘤细胞中增高, 但激活的机制尚不清楚。最近发现 TRF 是参与端粒酶活性调控的重要途径之一, TRF 中 *Pinx1* 因能与端粒酶直接结合而受到关注。已知 *Pinx1* 能直接与 hTERT 结合, 是端粒酶活性的抑制因子, 成为近年来学者们研究的一种新型的肿瘤抑制因子。对它在恶性肿瘤中的表达报道不一致, Zhou 等<sup>[4]</sup> 报道 *Pinx1* 在肝癌、前列腺癌、大肠癌和肺癌组织中的表达明显下降; 但也有研究显示 *Pinx1* 在消化道恶性肿瘤<sup>[18]</sup>、成神经管细胞瘤细胞<sup>[20]</sup> 中, 及肝癌细胞<sup>[8]</sup> 中的表达, 与

正常组织无显著差异; 在前列腺癌中, 多次重复检测到了端粒酶活性的增高<sup>[21~26]</sup>, 表明端粒酶活性可能是检测前列腺肿瘤恶性程度的良好指标。但另有研究<sup>[27]</sup> 显示, 在遗传性前列腺癌的发生风险中, *Pinx1* 并不是一个主要的因子。因此, *Pinx1* 与人类不同恶性肿瘤的相关性, 以及参与肿瘤细胞中端粒酶活性调控的机制, 尚有待于进一步研究。

### 参考文献 (References)

- [1] Kim NW *et al.* *Science*, 1994, **266**: 2011
- [2] Shay JW *et al.* *Eur J Cancer*, 1997, **33**: 787
- [3] Mergny JL *et al.* *Nucleic Acids Res*, 2002, **30**: 839
- [4] Zhou XZ *et al.* *Cell*, 2001, **107**: 347
- [5] Park WS *et al.* *Cancer Lett*, 2002, **178**: 199
- [6] Liao C *et al.* *Hepatology*, 2000, **32**: 721
- [7] Emi M *et al.* *Cancer Res*, 1992, **52**: 5368
- [8] Oh BK *et al.* *Oncol Rep*, 2004, **12**: 861
- [9] Konishi M *et al.* *Jpn J Cancer Res*, 1993, **84**: 893
- [10] Autexier C *et al.* *Trends Biochem Sci*, 1996, **21**: 387
- [11] Broccoli D *et al.* *Mol Cell Biol*, 1996, **16**: 3765
- [12] Pendino F *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 6662
- [13] Campbell LJ *et al.* *Leukemia*, 2006, **20**: 671
- [14] Bock O *et al.* *Leuk Res*, 2004, **28**: 457
- [15] Ohyashiki K *et al.* *Leukemia*, 1997, **11**: 190
- [16] Tatematsu K *et al.* *Oncogene*, 1996, **13**: 2265
- [17] Verstovsek S *et al.* *Cancer*, 2003, **97**: 1248
- [18] Akiyama Y *et al.* *Oncol Rep*, 2004, **11**: 871
- [19] Kondo T *et al.* *Oncogene*, 2005, **24**: 157
- [20] Chang Q *et al.* *Int J Cancer*, 2004, **109**: 309
- [21] Dhaene K *et al.* *Virchows Arch*, 2000, **437**: 1
- [22] Guo C *et al.* *J Urol*, 2001, **166**: 694
- [23] Kim Sh SH *et al.* *Oncogene*, 2002, **21**: 503
- [24] Lin Y *et al.* *J Urol*, 1997, **157**: 1161
- [25] Uemura H *et al.* *Nippon Rinsho*, 2000, **58**: 427
- [26] Zhang W *et al.* *Cancer Res*, 1998, **58**: 619
- [27] Hawkins GA *et al.* *Prostate*, 2004, **60**: 298

## The Correlation between *Pinx1* Expression and Telomerase Activity in Tumorigenesis

Ying-Yu Ma, Liang Wu<sup>1</sup>, Ji-Cheng Li\*

(Institute of Cell Biology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

<sup>1</sup>Zhejiang Qingtian People's Hospital, Lishui 323900, China)

**Abstract** *Pinx1*, a telomerase inhibitor, is also a new tumor suppressor based on recent research. The role of endogenous telomerase catalytic inhibitor *Pinx1* was studied in the progression of tumor. The result that reduced expression of *Pinx1* is associated with high telomerase activity has been found. For the correlation between *Pinx1* expression and telomerase activity in tumorigenesis, we review and analyse *Pinx1* in the article.

**Key words** *Pinx1*; telomerase; tumors

Received: January 30, 2008 Accepted: April 9, 2008

This work was supported by the National Fund for Fostering Talents of Basic Science (NFFBS) (No.J0730856) and the Scientific Research Foundation of the Health Bureau of Zhejiang Province (No.2007B209)

\*Corresponding author. Tel: 86-571-88208088, E-mail: lijichen@zju.edu.cn