

细胞分裂周期 25 磷酸化酶家族与肿瘤的研究进展^{*}

侯艳军^{1#} 综述, 孟 峻^{2△} 审校(1. 内蒙古医科大学, 呼和浩特 010059; 2. 内蒙古医科大学附属医院检验科, 呼和浩特 010050)

【关键词】 细胞分裂周期 25; 细胞分裂; 肿瘤细胞

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2016. 04. 051 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)04-0551-03

近年来, 恶性肿瘤的发病率呈现上升趋势, 肿瘤问题是全世界范围的棘手问题, 也是目前主要病死原因之一, 已成为严重危害人类生命健康、制约社会经济发展的一大类疾病。因此对肿瘤的研究十分关注。细胞分裂周期 25 (CDC25) 是调控细胞周期重要的调节子, CDC25 家族中任何一个异构体异常都会导致细胞分裂异常, 甚至造成细胞无限增殖, 发生癌变或瘤变。

正常细胞的分裂周期受多种分子机制的合理调控, 而肿瘤细胞的细胞周期不受正常调控, 增殖失控, 这也是临床病理区分正常细胞与肿瘤细胞的金标准。99% 以上的肿瘤细胞都表现出细胞分裂周期的紊乱和不规则。具体的紊乱机制表现为调控细胞周期分子的过表达、缺失及突变。

CDC25 是细胞周期正向调节因子, 其相对分子质量约为 65×10^3 , 是一种苏氨酸/酪氨酸双特异性蛋白磷酸化酶。CDC25 磷酸化酶家族中包括 3 种同型异构体: CDC25A、CDC25B、CDC25C^[1-2]。CDC25 的表达与细胞的增殖和发育有关, 细胞内 CDC25 的过表达与细胞的恶性化增殖密切相关。正常细胞的有丝分裂失控是肿瘤发生的主要原因。CDC25 可通过激活细胞周期蛋白依赖激酶 (CDK), 参与细胞周期调控过程, 其中细胞分裂周期素 25A (CDC25A) 可促进细胞进入 S 期, CDC25A 表达量的增加促使 G1→S 和 G2→M 检验点之间的快速转变^[3]; CDC25B 主要负责激活 CDK/cyclin 复合体, 致使纺锤体的前期形成, 启动有丝分裂, 驱使细胞周期向前推进, 在 G2→M 期起调控作用; CDC25C 在细胞周期中的 G2→M 期突破点发挥重要作用, 同样调控细胞进入有丝分裂。目前研究已发现 CDC25A、CDC25B 及 CDC25C 在多种肿瘤中呈过表达状态, 如胃癌、大肠癌、肝癌、乳腺癌、肾透明细胞癌等。通过查阅文献研究, 现将 CDC25 家族的 3 个同型异构体与人类肿瘤的研究综述如下。

1 CDC25A 磷酸化酶和肿瘤

1.1 CDC25A 是细胞周期控制蛋白之一 人类基因 CDC25A 定位于 3p21, 其表达的蛋白是一种半衰期短的小稳定蛋白, 不仅可启动有丝分裂, 还负责调节 G1→S/G2→M 检测点, 过表达的 CDC25A 蛋白诱导细胞周期由 G1 期迅速进入了 S 期, 导致细胞内 DNA 的合成量增加^[4-5]。首先作为癌基因的一部分, CDC25A 在肿瘤组织中处于高表达状态, 且协同其他癌基因、抑癌基因共同引起细胞癌变。癌细胞获得无限增殖能力, 进而引起疾病的发生及癌细胞侵袭。CDC25A 表达含量与肿

瘤的临床分期和疾病的后期预后有着密不可分的关系。已有实验研究表明 CDC25A 的表达与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关, 如在泌尿生殖系统 (乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、前列腺癌), 消化系统 (胰腺癌、结直肠癌、食管癌、肝癌、胃癌), 呼吸系统 (肺癌、喉癌、头颈部癌), 神经细胞瘤, 胶质瘤, 以及非霍奇金淋巴瘤等恶性肿瘤中 CDC25A 都处于过表达状态。而且 CDC25A 的过表达与肿瘤的侵袭性 (侵袭性是指肿瘤的分化程度和淋巴结转移情况) 呈正相关, 和临床预后呈负相关。CDC25A 通过竞争激活 CDK/cyclin 复合物导致肿瘤发生。

1.2 CDC25A 过表达阻碍细胞对 DNA 损伤的应答 细胞内部本身存在着一个比较完整的信号监控系统, 正常情况下, 细胞分裂之前, 细胞核中的 DNA 会复制, DNA 的复制也有一套精密的调节机制, 以保证 DNA 的复制准确, 遗传给后代的基因和亲代一样。复制出现错误或染色体变异, 调节机制就会自动识别, 终止复制。通过一系列的信号机制修复 DNA。损伤程度比较严重, 自身修复无法完成, 则细胞会启动凋亡系统。CDC25A 是细胞周期中的突破点之一, 控制着 G1→S 期的 DNA 损伤检测点, 不依赖于 p53 且作用更迅速^[6]。在 CDC25A 的调控突破点途径中, 当 DNA 损伤→信号转导通路磷酸化 ATM/ATR→活化 CHK1/CHK2 (检测点蛋白)→使 CDC25A 发生磷酸化→磷酸化 CDC25A 酶→通过泛素-蛋白酶体途径降解→CDC25A 蛋白含量降低→抑制 cyclinE/CDK2→细胞分裂周期发生阻滞。综上所述, 过表达的 CDC25A 干扰 DNA 损伤修复调节机制, 扰乱正常细胞分裂周期, 导致细胞分裂失控, 诱发肿瘤。

1.3 CDC25A 与肿瘤

1.3.1 非霍奇金淋巴瘤 (NHL) Silvia 的实验研究发现 89 例 NHL 中约有 31 例患者肿瘤细胞 CDC25A 处于明显的高表达, 且 CDC25A 表达在侵袭性淋巴瘤比惰性淋巴瘤明显增高, 结论表明过表达的 CDC25A 参与促进 NHL 的发展、恶化及转移。

1.3.2 食管癌 CDC25A 蛋白在食管鳞状细胞癌中的表达量明显高于不典型增生组织和正常黏膜, CDC25A 蛋白在食管癌中的过表达, 跟疾病临床分型 (病因、发生、发展), 病理分型 (肿瘤细胞的分化、浸润、淋巴转移) 高度相关^[7-8]。

1.3.3 下咽癌、乳腺癌 Feng 等采用流式细胞术及 PCR 检测 CDC25A 蛋白在乳腺癌中的表达情况, 发现 CDC25A 对乳腺癌转移有明显的决定作用。过表达 CDC25A 蛋白与食管癌

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81360109); 内蒙古自然科学基金资助项目 (2013MS1163)。

[#] 内蒙古医科大学 2014 级在读研究生。 [△] 通讯作者, E-mail: nmfrank@163. com。

的病理表型有关,并增加下咽癌浸润和转移的危险性。

1.3.4 肝癌 肝癌细胞及附近的组织细胞中 CDC25A 的含量明显比正常肝细胞组织升高,提示肝癌的发病、进展及后期的临床预后,与 CDC25A 磷酸化酶显著相关。肿瘤的大小与 CDC25A 的含量呈正相关。CDC25A 磷酸化酶在肝癌发生、发展、分化程度及门静脉转移有紧密联系^[9]。

1.3.5 子宫颈癌 有文献表明 CDC25A 和 CDC25B 蛋白在子宫颈癌细胞中处于高表达状态,CDC25 磷酸酶家族 A 亚型和 B 亚型的异常表达与子宫颈癌的起因、进展、预后密切相关,其内部调节机制比较复杂^[10]。

1.3.6 口腔鳞癌 Bhawal 等^[11]的实验研究表明,采用免疫组织化学法和 PCR 方法,口腔鳞状细胞癌中 CDC25A 蛋白的表达比正常黏膜组织升高,且与肿瘤直径、淋巴结转移、病理分型、临床预后有密切联系。

1.3.7 胃癌 阎庆辉等^[12]使用免疫组织化学方法发现胃癌组织中 CDC25A 在疾病的发生、发展中起重要的作用,但是肿瘤细胞的分化程度不受 CDC25A 的调控。

2 CDC25B 与肿瘤

CDC25B 是一种丝氨酸/苏氨酸的双特异性的磷酸化酶,通过上游蛋白的磷酸化和去磷酸化对其活性进行调节。CDC25B 是调节细胞周期的调控子。对细胞周期运转起正向调控作用。其编码基因定位于 20p13,全长 cDNA 9.8 kb,编码 CDC25B 磷酸化酶^[1-2]。CDC25B 发挥重要的作用是通过信号转导实现,在 G2→M 转化中,CDC25B 使 CDC2 的第 15 位酪氨酸和第 14 位苏氨酸发生去磷酸化→激活 cyclinB-CDC2 复合物;CDC25B 也可以激活 CDK1-cyclinB,启动丝分裂,同时 CDC25B 也是卵母细胞恢复减数分裂的关键调控子^[13]。有研究表明,CDC25B 控制真核生物的细胞分裂包括有丝分裂和减数分裂,敲除 CDC25B 基因的细胞分裂发生受阻。CDC25B 是具有肿瘤源性的蛋白,在泌尿生殖系统(前列腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、乳腺癌),消化系统(食管癌、胰腺癌、胃癌、结肠癌),呼吸系统(非小细胞肺癌、头颈部肿瘤),NHL,甲状腺癌,神经母细胞瘤等癌组织中 CDC25B 均处于过度表达状态,但是在相应肿瘤中高表达的肿瘤所占的比例各不相同^[14-16]。在外界物理化学生物刺激作用下,CDC25B 基因发生突变,表达失控,引起肿瘤发生。肿瘤各型别之间的转化(腺瘤→腺癌)也需 CDC25B 调节,CDC25B 调控着肿瘤的发生、进展及临床预后。目前关于 CDC25B 的研究表明,肿瘤细胞中 CDC25B 的含量是正常细胞的 2~3 倍^[17-19]。

2.1 食管癌 CDC25B 在食管鳞状细胞癌中的表达明显高于不典型增生组织和正常黏膜组织,CDC25B 只在食管癌的早期发挥作用,并不参与食管癌的转移。但是 CDC25B 与食管癌的发生、发展、分化程度、浸润程度有关,与淋巴结转移无关。

2.2 大肠癌 CDC25B 磷酸化酶与大肠癌有着密切联系,肿瘤标志物 CEA 是否发生转移与其有一定的关系;而与临床病理分期、分化程度及肿瘤的浸润程度无关。

2.3 胰腺癌 过表达的 CDC25B 是胰腺组织的癌变、进展、预后、恶化的危险因素^[20-21]。

3 CDC25C 与肿瘤

CDC25C 基因有 5 种剪切体,其定位于染色体 5q31,编码 473 个氨基酸,相对分子质量约为 53.23×10^3 ^[1-2]。CDC25C

的 N 端和 C 端分别包含不同的功能区域,N 端有多个位点可以发生磷酸化,位点的不同修饰参与正常细胞周期不同调控。C 端 CDC25C 基因的催化区域,可使靶蛋白发生磷酸化。在 M 期的启动阶段,CDC25C 进入细胞核内,催化 CDC2 Y14/Y15 位点去磷酸化,致使 CDC2/cyclinB1 复合物激活,进入细胞有丝分裂阶段。CDC25C 在调控细胞周期 G2→M 转换过程中有重要作用,其磷酸酶活性对于激活 CDC2/cyclinB 复合物,进入细胞有丝分裂进程发挥重要作用。CDC2/cyclin B 是一个主要的 G2→M 期转变过程中 G2 期的触发点^[22]。当 CDC25C 磷酸酶活性受抑制时,CDC2/cyclinB 复合物的活性也将受阻抑,G2 期检查点的触发点处于“沉默”状态,发生 G2/M 期阻滞。如果细胞在有丝分裂周期中出现 DNA 复制受损,通过去磷酸化作用 CDC25C 蛋白在细胞质中发生分解,使细胞的有丝分裂停留在 G2/M 期,因此突变的基因不会传向子代细胞。

Wang 等在研究女性阴道鳞状细胞癌中证实 CDC25C 表达增多。研究进一步显示,CDC25C 在 Ser-216 位点高度磷酸化这一改变与肿瘤的发生密切相关。Ozen 等研究发现,CDC25C 在前列腺癌细胞中过表达,并呈现高去磷酸化活性,并与侵袭性有密切的相关性。张强等研究表明,肾透明细胞癌组织中 CDC25C 的表达量明显高于正常组织,进一步证实了 CDC25C 表达量的变化与肿瘤的发生机制有关^[23]。Yoshimi 等^[24]和 Brenner 等^[25]研究报道,53% 家族性血小板疾病/急性髓细胞白血病(FPD/AML)患者发现有 CDC25C 蛋白变异,突变蛋白破坏了 G2/M 期检查点和促进存在 DNA 损伤的细胞周期进展,提示对 FPD/AML 患者恶化有关键作用。梁马可等实验研究提示 CDC25C 在肝癌组织中的表达明显比癌旁组织及正常肝脏组织高;CDC25C 表达阳性的患者原发性肝细胞癌(HCC)复发时间早于 CDC25C 表达阴性的患者,以上结果均表明 CDC25C 对肝癌的发生、发展有重要作用,且在 HCC 的复发过程中同样起作用,CDC25C 在一些肿瘤患者中具有免疫原性,有望成为一种新的肿瘤标志物。

4 展 望

CDC25 磷酸化酶家族是调控细胞周期的关键因子之一,参与不同的细胞信号转导途径,调节细胞的生长与增殖,调控细胞的凋亡和抑制肿瘤的形成。这种细胞信号转导途径对细胞的正常生长和发育至关重要,一旦发生紊乱,将导致肿瘤的形成。通过与临床的各种肿瘤比较,发现 CDC25 磷酸化酶家族已经变成肿瘤细胞学研究的热点。但是其只参与了肿瘤细胞的发生和发展,并不能直接诱导产生肿瘤。蛋白激酶 A(PKA)/CDC25 磷酸化酶信号通路的过度激活,引起其作用的下一级底物 CDK-cyclin 复合物发生过度活化,最终引发细胞周期持续向前推进,导致 DNA 的复制发生紊乱。针对这一信号通路的调控机制,可在通路中的任何一个位点进行阻滞,使细胞周期不能持续向前推进,在细胞分裂的时间和空间上不出乱。目前最新研究以 CDC25 磷酸化酶的抑制剂作为新的调控点,抑制肿瘤细胞的增殖。目前已经发现的 CDC25 磷酸化酶的抑制剂主要有对苯醌类、邻苯醌及邻苯二酚类、香豆素类、查尔酮类、杂环类等几大类。将 CDC25 磷酸化酶作为肿瘤的主要突破口。一方面作为肿瘤标志物,早期发现肿瘤,实现临床针对肿瘤的早发现、早治疗的防治原则;另一方面可以将 CDC25 磷酸化酶的抑制剂的研发作为新的突破点,研发新的

化学合成药物,针对 CDC25 磷酸化酶这个靶位点,进行肿瘤治疗。这样的靶向治疗具有很大的优势:一是可以减少目前使用的常规化疗药物及放射治疗对患者身体本身的伤害。二是可以提高药物对肿瘤细胞的作用效果。CDC25 磷酸化酶家族为今后发现肿瘤及治疗提供新的思路和新的方法。

参考文献

- [1] Orchard CB, Siciliano I, Sorrell DA, et al. Tobacco BY-2 cells expressing fission yeast CDC25 bypass a G2/ M block on the cell cycle[J]. Plant J, 2005, 44(2): 290-299.
- [2] Nagata A, Igarashi M, Jinno S, et al. An additional homolog of the fission yeast CDC25+ gene occurs in humans and is highly expressed in some cancer cells[J]. New Biol, 1991, 3(10): 959-968.
- [3] Krauss G. Biochemistry of signal transduction and regulation[M]. 3 版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 321-324.
- [4] Demetrick DJ, Beach DH. Chromosome mapping of human CDC25A and CDC25B phosphatases[J]. Genomics, 1993, 18(1): 144-147.
- [5] Donzelli M, Squatrito M, Ganoth D, et al. Dual mode of degradation of Cdc25 A phosphatase[J]. EMBO J, 2002, 21(18): 4875-4884.
- [6] 黄文林, 朱孝峰. 信号传导[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 373-375.
- [7] Wang Z, Kar S, Carr BI. Cdc25A protein phosphatase: a therapeutic target for liver cancer therapies[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2008, 8(8): 863-871.
- [8] 李金梅, 王静, 刘辉, 等. CDC25A、CDC25B 在食管鳞癌中的表达及其与凋亡和增殖的关系[J]. 肿瘤, 2008, 28(7): 586-590.
- [9] 刘天德, 余新, 袁荣发, 等. Rock2 对细胞周期检查点 CDC25A 的调节作用[J]. 中国病理生理杂志, 2012, 6(6): 961-968.
- [10] 赵旻, 左泽华, 邱小萍, 等. CDC25A 和 CDC25B 基因在宫颈鳞癌中的表达和临床意义[J]. 肿瘤, 2008, 28(1): 44-47.
- [11] Bhawal UK, Sugiyama M, Nomura Y, et al. High-risk human papillomavirus type 16 E7 oncogene associates with Cdc25A over-expression in oral squamous cell carcinoma [J]. Virchows Arch, 2007, 450(1): 65-71.
- [12] 阎庆辉, 赵璞, 曹志峰, 等. 胃癌组织中 cyclin E、p57 与 CDC25A 的表达及意义[J]. 山东医药, 2008, 48(39): 62-63.
- [13] George-Rosenker KM, Paquette WD, Johnston PA, et al. Synthesis and biological evaluation of 3-aminoisoquinolin-1(2H)-one based inhibitors of the dual-specificity phosphatase Cdc25B[J]. Bioorg Med Chem, 2015, 23(12): 2810-2818.
- [14] Wang M, Zhu XY, Wang L, et al. Expression and significance of CDC25B, PED/PEA-15 in esophageal carcinoma

- [J]. Cancer Biother Radiopharm, 2015, 30(3): 139-145.
- [15] Song GQ, Zhao Y. MicroRNA-211, a direct negative regulator of CDC25B expression, inhibits triple-negative breast cancer cells' growth and migration[J]. Tumour Biol, 2015, 36(7): 5001-5009.
- [16] Brenner AK, Reikvam H, Lavecchia A, et al. Therapeutic targeting the cell division cycle 25 (CDC25) phosphatases in human acute myeloid leukemia-the possibility to target several kinases through inhibition of the various CDC25 isoforms[J]. Molecules, 2014, 19(11): 18414-18447.
- [17] Wu JW, Zhang H, Duan YQ. Design novel inhibitors for treating cancer by targeting Cdc25B catalytic domain with de novo design [J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2014, 17(10): 837-847.
- [18] Singh L, Pushker N, Sen S, et al. Expression of CDC25A and CDC25B phosphatase proteins in human retinoblastoma and its correlation with clinicopathological parameters [J]. Br J Ophthalmol, 2015, 99(4): 457-463.
- [19] Zarling AL, Obeng RC, Desch AN, et al. MHC-restricted phosphopeptides from insulin receptor substrate-2 and CDC25b offer broad-based immunotherapeutic agents for cancer[J]. Cancer Res, 2014, 74(23): 6784-6795.
- [20] Weber HL, Gidekel M, Werbach S, et al. A novel CDC25B promoter-based oncolytic adenovirus inhibited growth of orthotopic human pancreatic tumors in different preclinical models[J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(7): 1665-1674.
- [21] Dong J, Zeng BH, Xu LH, et al. Anti-CDC25B auto antibody predicts poor prognosis in patients with advanced esophageal squamous cell carcinoma [J]. J Transl Med, 2010, 8(5): 81-86.
- [22] Ma YC, Su N, Shi XJ, et al. Jaridonin-induced G2/M phase arrest in human esophageal cancer cells is caused by reactive oxygen species-dependent Cdc2-tyr15 phosphorylation via ATM-Chk1/2-Cdc25C pathway[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 282(2): 227-236.
- [23] Cho YC, Park JE, Park BC, et al. Cell cycle-dependent Cdc25C phosphatase determines cell survival by regulating apoptosis signal-regulating kinase 1[J]. Cell Death Differ, 2015, 22(10): 1605-1617.
- [24] Yoshimi A, Toya T, Kawazu M, et al. Recurrent CDC25C mutations drive malignant transformation in FPD/AML[J]. Nat Commun, 2014, 5(9): 4770-4775.
- [25] Brenner AK, Reikvam H, Lavecchia A, et al. Therapeutic targeting the cell division cycle 25 (CDC25) phosphatases in human acute myeloid leukemia-the possibility to target several kinases through inhibition of the various CDC25 isoforms[J]. Molecules, 2014, 19(11): 18414-18447.