

Cyclin D1、P16 及 CDK4 基因与胃癌相关性的研究进展

宋吉¹⁾ 综述, 李玛琳²⁾ 审校

(1) 昆明医科大学天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650500; 2) 云南中医学院药学院, 云南昆明 650500)

[摘要] 胃癌是全世界发病率和死亡率排名第二位的恶性肿瘤, 而我国是世界上胃癌发病率最高的国家之一。细胞周期蛋白的调控能对肿瘤的机制研究及基因治疗提供有效依据。细胞周期中的 G₁/S 期是调控的关键点, 其中 Cyclin D1、P16 及 CDK4 基因起着重要的作用, 且与胃癌之间有着较大的关联性, 但上述基因与胃癌之间的关系尚不明确。为了更好地认识 Cyclin D1、P16 及 CDK4 基因在胃癌中表达的情况, 就近年来相关的研究进行综述。

[关键词] Cyclin D1; P16; CDK4; 胃癌; 基因治疗

[中图分类号] R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2013) 10-0148-04

Research Progress of Cyclin D1, P16 and CDK4 in Gastric Cancer

SONG Ji¹⁾, LI Ma-lin²⁾

(1) Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 2) School of pharmacy, Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] Gastric cancer is a malignant tumor with the second highest incidence and mortality in the world, and China is one of the countries with the highest incidence of gastric cancer in the world. Research on the regulation of cell cycle protein can provide effective evidence for the mechanism of tumor and gene therapy. G₁/S phase is the key point for cell cycle regulation, Cyclin D1 and CDK4 gene and P16 play important roles in this phase and have great correlation with gastric cancer, but the exact relationship between these genes and gastric cancer is still unclear. In order to better understand the expression of Cyclin D1 and CDK4 gene and P16 in gastric cancer, the related researches in recent years were summarized in this paper.

[Key words] Cyclin D1; P16; CDK4; Gastric cancer; Gene therapy

当今胃癌的研究已进入分子生物学水平, 如何在分子生物学水平解释胃癌的恶性行为^[1]及判断其预后^[2], 已成为近期研究的热点。因此, 正确判断分子标志物有助于正确预测胃癌的生物学行为及预后^[3], 并为胃癌的个体化治疗提供依据。Cyclin D1-P16-CDK4 通路是细胞周期 G₁/S 期转变中一条主要的分子信号转导途径^[4], 在细胞周期的调节中具有重要的关卡效应^[5]。对此通路各蛋白与胃癌关系的研究有助于胃癌基因治疗的发展。

1 Cyclin D1 与胃癌相关性

Cyclin D1 主要功能是促进细胞增殖, 是 G₁ 期细胞增殖信号的关键蛋白质, 其过度表达可致细胞增殖失控而恶性化^[6]。现有的研究表明, 抑癌基因、代谢酶基因、DNA 修复基因等基因的多态性^[7]与胃癌易感性^[8]有一定关系。刘耀煌等^[9]采用病例对照法, 从分子水平探讨 Cyclin D1 基因 (870 位点)

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81060271)

[作者简介] 宋吉 (1988~), 女, 福建古田县人, 硕士研究生, 主要从事天然产物抗肿瘤活性研究工作。

[通讯作者] 李玛琳. E-mail: limalinb@vip.163.com

多态性与胃癌易感性的关系, 研究结果表明 Cyclin D1 A/G 多态性与胃癌的发生密切相关. Jia 等^[10]的研究发现 Cyclin D1 基因 (870 位点) GG 型能增加胃癌患者的死亡风险. 而 Lee 等^[11]通过免疫组化法和 TUNEL 法对 293 例胃癌患者的组织进行检测. 研究发现, Cyclin D1 的表达可作为胃癌诊断的早期分子标记物.

早期研究表明^[12], Cyclin D1 基因扩增与 Cyclin D1 蛋白表达间有分离现象仅仅 Cyclin D1 的过表达还不足引起多数细胞发生转化, 需要其他的肿瘤原癌基因或抑癌基因连续协同作用. 可见 Cyclin D1 并不是转化的唯一因子, 但他是维持转化细胞所必需的. Hayakawa 等^[13]通过对胃癌中 Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 通路的凋亡信号调控激酶 1 (ASK1) 研究发现, 胃癌细胞中 ASK1 的沉默 RNA 通过阻滞细胞周期于 G₁ 期和下调 Cyclin D1 而抑制细胞增殖. 过表达的 ASK1 通过与 Rb-E2F 通路竞争的 AP-1 激活通路促进 Cyclin D1 转录.

2 P16 与胃癌相关性

目前认为 P16 基因表达缺失主要与 P16 基因的缺失、突变和甲基化有关, DNA 甲基化是目前胃癌病因学研究的热点, 也是导致 P16 基因失活的一个常见原因^[14]. Matsuda 等^[15]提出 P16 基因甲基化比例是肿瘤形成的关键点, 当其达到 60% 以上时, 能关闭基因的转录表达, 为潜在的恶性细胞提供生长优势. Ding 等^[16]比较了胃癌组织中基因 Cp G 岛甲基化、纯合性缺失及基因突变对 P16 基因失活的贡献, 发现 P16 外显子 1 和外显子 2 的甲基化率明显高于纯合性缺失率及基因突变率. 有研究还发现^[17], 胃癌及其癌前病变中均存在 P16 基因甲基化, 且腺癌及腺癌相关的腺瘤组织中 P16 基因甲基化率明显高于与腺癌无关的胃黏膜分化不良和腺瘤, 说明 P16 甲基化发生于胃癌形成的早期, 并在胃癌发展的各阶段起作用. 有研究^[18]通过甲基化特异性 PCR (MSP) 法提出了 DNA 甲基化的检测可能成为胃癌早期诊断的生物标记物. 接着有研究就指出^[19], P16 基因的甲基化率在浸润转移组明显高于无浸润转移组, 而与年龄和性别均无关, 提示 P16 甲基化可能参与了胃癌的浸润及转移, 可以作为胃癌预后判断的重要指标之一.

Helicobacter Pylori (H. pylori) 的感染是引起胃癌的一个重要原因, Ping 等^[20]通过检测胃癌细胞

中 P16 基因和蛋白的表达情况发现 H. pylori 能激活 P16 基因的转录, 但 H. pylori 本身不是转录因子, 主要靠结合 P16 而起作用, 同时 P16 上调与预后差有紧密的联系, 上述发现预示着 P16 的过度表达会增加胃癌恶性的可能性. Kim 等^[21]提出针对性使 HDAC2 突变能够恢复 P16 的活性, 则对胃癌的治疗有一定的帮助.

3 CDK4 与胃癌相关性

细胞周期中, CDK4 在癌基因的转录进程中有重要的作用, 早期研究就发现在人类大多数肿瘤细胞中 CDK4 均为异常表达^[22], 呈高表达状态^[23]. 作为 CDK 家族成员的 CDK4 已被证实是一种癌基因, 其异常表达可促进肿瘤的发展, 有学者^[24]认为其具有早期诊断和判断预后的价值.

胃癌的诊断及治疗与许多胃癌相关基因密不可分, 但其中大部分基因是通过 CDK4 的调节而使细胞周期阻滞于 G₁/S 期, 从而抑制胃癌细胞的增殖^[25]. 研究发现^[26]RON 的缺失能抑制肿瘤细胞的迁移, 其主要通过减少 CDK4 等基因的表达而抑制细胞周期的运转. Wu 等^[27]发现 mTORC1 (Mammalian target of rapamycin complex 1) 定向治疗的应用对胃癌的治疗有重要的作用, 其抗肿瘤机制主要与 CDK4 等细胞周期基因有关. Motohashi 等^[28]发现 Cyclin D1/CDK4 复合物是细胞增殖的标记物, 其调控与 ERs (Estrogen receptors) 的表达密切联系. 同时表明男性胃癌患者 Cyclin D1/CDK4 基因的表达比女性胃癌患者显著增加. 由此推断, Cyclin D1/CDK4 基因的表达与性别密切相关.

4 Cyclin D1、P16 及 CDK4 在胃癌发生中的相互作用

胃癌的发生发展是一个长时间多步骤多阶段逐步演进的过程, 其发生需多个遗传物质的异常. 其中, 细胞周期的调控直接或间接的影响着胃癌的发生发展^[29]. Cyclin D1, CDK4 及其抑制剂 P16 基因的调控是其间接调控的一种方式.

Kishimoto 等^[30]发现, 胃癌在发生、发展过程中至少需要多于 2 个活化癌基因的异常表达. 近 40% ~ 50% 的病例中均出现 P16/Rb 缺失和 Cyclin D1/CDK4 过表达, 尽管有个体差异, P16、Cyclin D1、CDK4 仍可作为胃癌的预后标准. 戴文斌等^[31]通过应用免疫组化 SP 法检测胃癌、不典型增生、慢性浅表性胃炎及正常胃组织中 P16、CDK4 和

Cyclin D1 蛋白的表达情况。发现胃癌发生机制涉及 P16、CDK4 和 Cyclin D1 调节通路中多个基因的异常, 且与胃癌 Lauren 分型、浸润深度、淋巴结转移有关。

5 小结

胃癌的发生发展是多步骤多因素共同作用的结果, 在细胞周期的进程中, 细胞周期的调节是一个极其复杂的过程, 其中 P16、CDK4、Cyclin D1 之间的相互作用在细胞周期调控中有重要地位^[32]。由于目前的研究在目标人群、样本含量、样本取材、随访时间、化疗方案、检测方法等方面有差异, 3 种基因与化疗反应之间的相关性还需要更多更具体的评价。在胃癌的发生、发展中, P16、CDK4 与 Cyclin D1 之间是否存在 1 个平衡点、是否有量的关系、如何利用 P16、CDK4 和 CyclinD1 的变异去早期诊断、治疗胃癌及这 3 种基因检测对临床选用敏感的化疗药物有多少指导作用也有待于进一步研究。

目前基因治疗成为 1 种广泛受到关注的治疗方法, 尤其在肿瘤治疗及感染性疾病治疗方面尤为突出^[33]。然而恶性肿瘤基因治疗所取得的疗效并没有达到期望的效果, 主要原因在于缺乏安全有效的载体系统^[34]和高效的治疗基因^[35]。但自杀基因作为 1 种高效的治疗基因是 1 个引人瞩目方面^[36]。因此, 基因治疗法有望应用于胃癌治疗或其他更多的恶性肿瘤领域。

[参考文献]

- [1] LIM J, DUONG T, DO N, et al. Antitumor activity of cell-p- permeable RUNX3 protein in gastric cancer cells [J]. *Clinical cancer research*, 2013, 19(3): 680 - 690.
- [2] WANG D D, CHEN Y B, PAN K, et al. Decreased expression of the ARID1A gene is associated with poor prognosis in primary gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): 1 - 9.
- [3] WANG P, MAI C, WEI YL, et al. Decreased expression of the mitochondrial metabolic enzyme aconitase (ACO2) is associated with poor prognosis in gastric cancer [J]. *Med Oncol*, 2013, 30(2): 552.
- [4] AL-KHALAF H H, COLAK D, AL-SAIF M, et al. p16INK4 Positively Regulates Cyclin D1 and E2F1 through Negative Control of AUF1 [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): 1 - 13.
- [5] COUSIN F J, JOUAN-LANHOUE T S, DIMANCHE - BOITREL M T, et al. Milk fermented by *Propionibacterium freudenreichii* induces Apoptosis of HGT-1 Human Gastric Cancer Cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): 1 - 12.
- [6] ARBER N, GAMMON M D, HIBSHOOSH H, et al. Overexpression of cyclin D1 occurs in both squamous carcinomas and adenocarcinomas of the esophagus and in adenocarcinomas of the stomach [J]. *Hum Pathol*, 1999, 30(9): 1 087 - 1 092.
- [7] HUSSAIN S K, MU L N, CAI L, et al. Genetic variation in immune regulation and DNA repair pathways and stomach cancer in China [J]. *Cancer epidemiol biomarkers prev*, 2009, 18(8): 2 304 - 2 309.
- [8] GU H, YANG L, SUN Q, et al. Gly82Ser polymorphism of the receptor for advanced glycation end products is associated with an increased risk of gastric cancer in a Chinese population [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11): 3 627 - 3 632.
- [9] 刘耀煌, 方向明, 方志军. 细胞周期蛋白D1基因多态性与胃癌易感性的分析 [J]. *检验医学与临床*, 2009, 6(24): 2 117 - 2 119.
- [10] JIA A, GONG J, LI Y, et al. GG genotype of cyclin D1 G870A polymorphism is associated with non-cardiac gastric cancer in a high-risk region of China [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2008, 43(11): 1 353 - 1 359.
- [11] LEE K H, LEE H E, CHO S J, et al. Immunohistochemical analysis of cell cycle-related molecules in gastric carcinoma: prognostic significance, correlation with clinicopathological parameters, proliferation and apoptosis [J]. *Pathobiology*, 2008, 75(6): 364 - 372.
- [12] BARTKOVA J, LUKAS J, MLLER H, et al. Cyclin D1 protein expression and function in human breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 1994, 57(3): 353-361.
- [13] HAYAKAWA Y, HIRATA Y, NAKAGAWA H, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 and cyclin D1 compose a positive feedback loop contributing to tumor growth in gastric cancer [J]. *PNAS*, 2010, 108(2): 780 - 785.
- [14] KANG GH, LEE S, KIM J S. Profile of aberrant CpG island methylation along the multistep pathway of gastric carcinogenesis [J]. *Lab Invest*, 2003, 83(5): 635 - 641.
- [15] MATSUDA Y, ICHIDA T, MATSUZAWA J, et al. p16 (INK4) is inactivated by extensive CpG methylation in human hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 1999, 116(2): 394 - 400.
- [16] DING Y, LE X P, ZHANG Q X, et al. Methylation and mutation analysis of p16 gene in gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(3): 423 - 426.
- [17] LEE J H, PARK S J, ABRAHAM S C, et al. Frequent CpG island methylation in precursor lesions and early gastric adenocarcinomas [J]. *Oncogene*, 2004, 23(26): 4 646 - 4 654.
- [18] ABBASZADEGAN M R, MOAVEN O, SIMA H R, et al. p16 promoter hypermethylation: A useful serum marker for

- early detection of gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(13):2 055.
- [19] MITOMI H, FUKUI N, TANAKA N, et al. Aberrant p16 ((INK4a)) methylation is a frequent event in colorectal cancers: prognostic value and relation to mRNA expression and immunoreactivity [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(2):323 – 331.
- [20] WANG P, MEI J, ZHANG N, et al. *Helicobacter pylori* Up-regulates the Expression of p16 [INK4] in Gastric Cancer Cells [J]. *Hepatogastroenterology*, 2011, 58 (107 – 108): 846 – 853.
- [21] KIM J K, NOH J H, EUN J W, et al. Targeted inactivation of HDAC2 restores p16INK4a activity and exerts antitumor effects on human gastric cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(1):62 – 73.
- [22] EL-RIFAI W, FRIERSON HF J R, HARPER J C, et al. Expression profiling of gastric adenocarcinoma using cDNA array [J]. *Int J Cancer*, 2001, 93(107 – 108):832 – 838.
- [23] ZHANG T, NANNEY LB, LUONGO C, et al. Concurrent overexpression of cyclin D1 and cyclin-dependent kinase 4 (Cdk4) in intestinal adenomas from multiple intestinal neoplasia (Min) mice and human familial adenomatous polyposis patients [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(1): 169 – 175.
- [24] WANG D, YE F, SUN Y, et al. Protein signatures for classification and prognosis of gastric cancer a signaling pathway-based approach [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179 (4): 1 657 – 1 666.
- [25] ZHENG Q, ZHAO L Y, KONG Y, et al. CDK-associated Cullin 1 can promote cell proliferation and inhibit cisplatin-induced apoptosis in the AGS gastric cancer cell line [J]. *World J Surg Oncol*, 2013, 11(5):1 – 11.
- [26] SONG Y A, PARK Y L, KIM K Y, et al. RON is associated with tumor progression via the inhibition of apoptosis and cell cycle arrest in human gastric cancer [J]. *Pathol Int*, 2012, 62(2):127 – 136.
- [27] WU W K, LEE C W, CHO C H, et al. RNA interference targeting raptor inhibits proliferation of gastric cancer cells [J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317(10):1 353 – 1 358.
- [28] MOTOHASHI M, WAKUIS, MUTO T, et al. Cyclin D1/cdk4, estrogen receptors α and β , in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced rat gastric carcinogenesis: immunohistochemical study [J]. *J Toxicol Sci*, 2011, 36 (3):373 – 378.
- [29] CHEN M, XU J, ZHAO J. Effects of HSP90 inhibitor 17 – AAG on cell cycle and apoptosis of human gastric cancer cell lines SGC-7901 [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2013, 33(2):271 – 275.
- [30] KISHIMOTO I, MITOMI H, OHKURA Y, et al. Abnormal expression of p16 (INK4a), cyclin D1, cyclin-dependent kinase 4 and retinoblastoma protein in gastric carcinomas [J]. *J Surg Oncol*, 2008, 98(1):60 – 66.
- [31] 戴文斌, 任占平, 阮伶, 等. 胃癌及癌前病变中 p16、CDK4、cyclinD1 蛋白的表达及其意义 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2002, 9(5):35 – 37.
- [32] BORUC J, MYLLE E, DUDA M, et al. Systematic localization of the Arabidopsis core cell cycle proteins reveals novel cell division complexes [J]. *Plant Physiol*, 2010, 152 (2):553 – 565.
- [33] SHIRAKURA Y, MIZUNO Y, WANG L, et al. T-cell receptor gene therapy targeting melanoma-associated antigen-A4 inhibits human tumor growth in non-obese diabetic/SCID/ γ cnull mice [J]. *Cancer Sci*, 2012, 103 (1):17 – 25.
- [34] MNCH R C, JANICKI H, VLKER I, et al. Displaying high – affinity ligands on adeno-associated viral vectors enables tumor cell-specific and safe genetransfer [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(1):109 – 118.
- [35] LONG H, LI Q, WANG Y, et al. Effective combination gene therapy using CEACAM6-shRNA and the fusion suicide gene yCDglyTK for pancreatic carcinoma in vitro [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 5(1):155 – 161.
- [36] CHEN Y, WANG G, KONG D, et al. Double-targeted and double-enhanced suicide gene therapy mediated by generation 5 polyamidoamine dendrimers for prostate cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(3):237 – 246.
(2013 – 06 – 10 收稿)