

· 综述 ·

肿瘤抑制基因 *PTEN* 在脑发育和分化中的作用

李德渊, 屈艺 综述, 母得志 审校

(四川大学华西第二医院儿科, 四川 成都 610041)

[中图分类号] R0 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)02-0159-03

PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10)是人类发现的第一个具有脂质、蛋白质双重磷酸化酶功能的肿瘤抑制基因。近年来研究表明 *PTEN* 介导的信号网络广泛参与了神经元的极性建立、增殖、迁徙、分化、凋亡及突触调控^[1~3]。*PTEN* 的缺失可导致脑体积增大,皮层、海马和小脑分层结构混乱,出现大头畸形、脑水肿、智力迟钝、共济失调、癫痫发作等神经发育障碍^[4,5],表明 *PTEN* 不仅在调控肿瘤发生发展中发挥作用,在调控脑发育和分化中也起着重要作用。

1 *PTEN* 在中枢神经系统中的表达特点

脑 *PTEN* 的首次报道来自于人活体组织检测,检测发现神经元胞体,尤其是胞核有 *PTEN* 的强免疫染色,体外培养小脑颗粒细胞亦证实 *PTEN* mRNA 和蛋白质的表达^[6]。Tanriover 等^[7]研究发现,在人胚胎皮质发育早期,*PTEN* 表达较强,此后 *PTEN* 的表达逐渐下降,与之相反,小鼠脑 *PTEN* 的表达开始于发育晚期,随后表达增强。成年小鼠脑的嗅球僧帽细胞、球旁细胞和颗粒细胞、皮层锥体细胞、基底前脑神经元、海马神经元、小脑蒲肯野细胞和颗粒细胞都可以观察到 *PTEN* 的表达,尤以基底前脑神经元染色最为明显,包括胞核、胞质和胞质突起^[8]。在胶质细胞中并未检测到 *PTEN* 的表达,可能与 *PTEN* 并非胶质细胞分化所必需有关。此外,室管膜下区的神经前体细胞分化过程中也观察到 *PTEN* 的表达,表明 *PTEN* 可能参与了神经前体细胞的分化调控。

2 *PTEN* 在神经元极性建立及轴突分化中的作用

神经元是高度极化细胞,具有结构和功能各异的信息传递的轴突和信息接受处理的树突,因此神经元的高度极性化是其发挥功能的结构基础^[9~11]。体外培养的神经元发育成熟分为 5 个阶段:①伪足形成;②未成熟神经突形成;③选择性轴突形成;④树突形成;⑤突触形成。其中,第 3 阶段是神经元极性建立的关键步骤,各个突起的命运从此确定,轴突与树突分化由此开始^[12,13]。到目前为止,已经发现糖原合成酶激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)、轴突特异蛋白 CRMP-2(collapsin response mediator protein-2)等许多活跃在新生轴突尖端的极性分子,其极性分布和活性调控神经元的极性建立和轴突分化^[14,15]。*PTEN* 通过脂质脱磷酸化作用,下调细胞内 Akt 磷酸化水平,增强 GSK-3β 活性,抑制 CRMP-2 对轴突延伸和分枝的促进作用^[16]。*PTEN* 的过度表达可明显抑制轴突的形成和分化,用 siRNA 抑制 *PTEN* 的表达后,可诱导树突向轴突的转变,促进和维持神经元极性^[17],表明 *PTEN* 可能参与了与轴突分化相关的极性分子调控,但其具体分子调控机制尚有待深入研究。

3 *PTEN* 对神经干细胞增殖的调节

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是一类存在于中枢神经系统中具有自我更新及多种分化潜能的特殊细胞群,其增殖和分化受内外多种因素调节。*PTEN* 作为一种肿瘤抑制基因在调控 NSCs 的增殖

[收稿日期] 2008-06-19; [修回日期] 2008-07-30
[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30770748); 四川大学华西医学中心 CMB 基金资助项目(00-722)。
[作者简介] 李德渊,男,博士研究生,主治医师。主攻方向:脑发育与新生儿脑损伤。

中发挥重要作用^[18]。Groszer等^[19]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,于胚胎发育早期条件性敲除 *PTEN*。结果表明 *PTEN* 在 NSCs 中的缺失对胚胎脑发育产生严重影响,出现脑体积增大和皮层、海马、小脑分层结构混乱。对 E14.5 突变体脑室区 NSCs 研究发现,*PTEN* 的缺失可促进 NSCs 增殖、抑制凋亡,突变体 NSCs 数目的增加可能是由于 NSCs 细胞周期缩短、凋亡减少或两者协同作用的结果。相应的体外培养体系研究亦证实,E14.5 突变体小鼠大脑皮层 NSCs 的培养物中神经球数目明显多于对照组,胞体明显增大。荧光闪烁实验(CFSE)证明 *PTEN* 纯合缺失(*PTEN*^{-/-})的 NSCs 在相同的培养阶段完成了更多的细胞分裂,随后的基因芯片和流式细胞技术亦证实,*PTEN* 的缺失影响了与细胞周期有关的基因表达,促使更多的 NSCs 从 G0 期进入 G1 期^[20]。以上结果提示 *PTEN* 是通过对 NSCs 增殖的负向调节而非阻止已分化的神经元再进入细胞周期发挥作用。

4 *PTEN* 对 SVZ 前体细胞迁移的调节

侧脑室室管膜下区(subventricular zone,SVZ)是脑增殖最为活跃的部位之一,SVZ 前体细胞沿嗅侧迁移流迁移至嗅球,经历终末分化后发育成形态及连接方式各异的中间神经元,是建立脑功能性突触回路的先决条件^[21]。*PTEN* 在协调 SVZ 前体细胞增殖、凋亡和迁移三者之间的平衡发挥重要作用^[22]。对来自于 *PTEN* 野生型(*PTEN*^{+/+})和 *PTEN* 杂合缺失(*PTEN*^{+/-})小鼠的神经球进行比较,发现尽管 *PTEN*^{+/-} 前体细胞的 *PTEN* 水平仅为 *PTEN*^{+/+} 细胞的 75%,但其 AKT 磷酸化水平却增加了 2.4 倍^[23]。*PTEN*^{+/-} 细胞的增殖速率与野生型无显著变化,但其运动性和侵袭性明显增加,可能与小 G 蛋白(small G protein)和局灶黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)活性增高有关^[24]。在 SVZ 前体细胞迁移至嗅球的过程中,*PTEN*^{+/-} 前体细胞的迁移率显著超过 *PTEN*^{+/+} 细胞。SVZ 前体细胞中 *PTEN* 的少量缺失即可显著影响前体细胞的迁移。由此可见,*PTEN* 在 SVZ 前体细胞迁移的调节中发挥重要作用,但其具体调控分子机制尚有待进一步阐明。

5 *PTEN* 对神经元存活及凋亡的调节

复杂的神经系统由简单的神经板发育而来,发

育中一个引人注目的事件是必须经历生长与退化同在,增殖与死亡并存的矛盾统一过程。神经元通过凋亡途径发生程序性死亡,该途径在中枢神经系统发育中发挥至关重要的作用。*PTEN* 作为一种重要的抑癌基因,通过拮抗 PI3K-Akt 促存活信号通路,在线粒体依赖的凋亡作用中发挥重要作用^[25-27]。Zhu 等^[28] 对非特异性蛋白激酶抑制剂十字孢碱(staurosporine, STS)诱导的体外培养海马神经元时间依赖性凋亡的研究中发现,给予 10 nM STS 后的各测试时间点(0.5 ~ 24 h) *PTEN* 的表达水平及磷酸化状态并未发生改变,但免疫双染及免疫共沉淀证实 STS 诱导凋亡后 4 h 发生了 *PTEN* 及前凋亡蛋白 Bax 的线粒体易位及聚集。应用特异性反义寡核苷酸抑制 *PTEN* 表达后,STS 诱导的线粒体前凋亡蛋白 Bax 水平明显下降,caspase 活性下调,细胞色素 C 释放减少,活性氧自由基(ROS)水平显著降低。上述研究结果暗示 *PTEN* 是线粒体依赖性神经元凋亡的一种关键介质,并有可能成为干扰神经元凋亡的新分子靶点。

6 *PTEN* 对神经突触的调节

Perandones 等^[29] 研究发现 *PTEN* 在小鼠蒲肯野细胞的轴突中有表达,生后第 3 周表达最高,而此阶段正为小脑颗粒细胞和蒲肯野细胞之间突触选择和稳定的时期。*PTEN* 的表达缺失可导致突触的发生严重受损,颗粒细胞在迁出外颗粒细胞层之前已发生凋亡,导致颗粒细胞和蒲肯野细胞之间不能正确建立突触联系。以上研究结果提示 *PTEN* 在突触的建立过程中可能发挥重要作用。Fraser 等^[30] 对 GFAP-Cre 介导的条件性 *PTEN* 敲除小鼠脑神经元超微结构观察发现,*PTEN* 敲除鼠脑皮层及小脑神经元的正常突触联系显著破坏,突触前末梢结构异常扩大,突触囊泡数目显著增多,突触后密度明显降低。进一步对突触传递功能的研究发现,*PTEN* 敲除鼠脑突触传递功能明显降低,海马 CA 及 CA3 区神经元兴奋性突触传递及突触可塑性明显减弱。以上研究结果表明,*PTEN* 在调控突触发育、突触可塑性及突触功能上发挥重要作用。

7 小结与展望

PTEN 作为脂质、蛋白质双重磷酸酶活性的肿瘤抑制基因,在神经元的极性建立、增殖、迁徙、分化、凋亡及突触调控等方面发挥重要作用。目前,人

们对其作用和功能调节机制的认识尚处于初级阶段,还有许多问题有待探索,如 *PTEN* 在神经元中的亚细胞定位与其功能的关系;*PTEN* 及其相关信号分子对神经元形态发生及其稳定性的作用及分子调控机制;*PTEN* 信号通路与其他信号通路之间的相互关系;外源性刺激时 *PTEN* 的可能调控机制;对这些问题的深入研究无疑将丰富我们对 *PTEN* 及中枢神经系统发育的认识,为神经元损伤修复和退行性神经系统疾病治疗寻找新靶点,提供新思路。

[参 考 文 献]

- [1] Blanco-Aparicio C, Renner O, Leal JF, Carnero A. *PTEN*, more than the AKT pathway[J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(7):1379-1386.
- [2] Chang N, El-Hayek YH, Gomez E, Wan Q. Phosphatase *PTEN* in neuronal injury and brain disorders[J]. *Trends Neurosci*, 2007, 30(11):581-586.
- [3] Gericke A, Munson M, Ross AH. Regulation of the *PTEN* phosphatase[J]. *Gene*, 2006, 374:1-9.
- [4] Greer JM, Wynshaw-Boris A. *PTEN* and the brain: sizing up social interaction[J]. *Neuron*, 2006, 50(3):343-345.
- [5] Backman SA, Stambolic V, Suzuki A, Haight J, Elia A, Pretorius J, et al. Deletion of *PTEN* in mouse brain causes seizures, ataxia and defects in soma size resembling Lhermitte-Duclos disease[J]. *Nat Genet*, 2001, 29(4):396-403.
- [6] Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, et al. *PTEN*, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer[J]. *Science*, 1997, 275(5308):1943-1947.
- [7] Tanriover G, Demir N, Pestereli E, Demir R, Kayisli UA. *PTEN*-mediated Akt activation in human neocortex during prenatal development[J]. *Histochem Cell Biol*, 2005, 123(4-5):393-406.
- [8] Lachyankar MB, Sultana N, Schonhoff CM, Mitra P, Poluha W, Lambert S, et al. A role for nuclear *PTEN* in neuronal differentiation[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(4):1404-1413.
- [9] Loudon RP, Silver LD, Yee HF Jr, Gallo G. RhoA-kinase and myosin II are required for the maintenance of growth cone polarity and guidance by nerve growth factor[J]. *J Neurobiol*, 2006, 66(8):847-867.
- [10] Pasterkamp RJ, Kolk SM, Hellemons AJ, Kolodkin AL. Expression patterns of semaphorin7A and plexinC1 during rat neural development suggest roles in axon guidance and neuronal migration[J]. *BMC Dev Biol*, 2007, 7:98.
- [11] Rajnicek AM, Foubister LE, McCaig CD. Growth cone steering by a physiological electric field requires dynamic microtubules, microfilaments and Rac-mediated filopodial asymmetry[J]. *J Cell Sci*, 2006 119(Pt 9):1736-1745.
- [12] Yoshimura T, Arimura N, Kaibuchi K. Signaling networks in neuronal polarization[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(42):10626-10630.
- [13] Arimura N, Kaibuchi K. Key regulators in neuronal polarity[J]. *Neuron*, 2005, 48(6):881-884.
- [14] Watabe-Uchida M, Govek EE, Van Aelst L. Regulators of Rho GTPases in neuronal development[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(42):10633-10635.
- [15] Yoshimura T, Kawano Y, Arimura N, Kawabata S, Kikuchi A, Kaibuchi K. GSK-3 β regulates phosphorylation of CRMP-2 and neuronal polarity[J]. *Cell*, 2005, 120(1):137-149.
- [16] Cole AR, Causeret F, Yadirgi G, Hastie CJ, McLauchlan H, McManus EJ, et al. Distinct priming kinases contribute to differential regulation of collapsin response mediator proteins by glycogen synthase kinase-3 in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(24):16591-16598.
- [17] Jiang H, Guo W, Liang X, Rao Y. Both the establishment and the maintenance of neuronal polarity require active mechanisms: critical roles of GSK-3 β and its upstream regulators[J]. *Cell*, 2005, 120(1):123-135.
- [18] Rossi DJ, Weissman IL. *PTEN*, tumorigenesis, and stem cell self-renewal[J]. *Cell*, 2006, 125(2):229-231.
- [19] Groszer M, Erickson R, Scripture-Adams DD, Lesche R, Trumpp A, Zack JA. Negative regulation of neural stem/progenitor cell proliferation by the *PTEN* tumor suppressor gene in vivo[J]. *Science*, 2001, 294(5549):2186-2189.
- [20] Groszer M, Erickson R, Scripture-Adams DD, Dougherty JD, Le Belle J, Zack JA, et al. *PTEN* negatively regulates neural stem cell self-renewal by modulating G0-G1 cell cycle entry[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(1):111-116.
- [21] van Diepen MT, Eickholt BJ. Function of *PTEN* during the formation and maintenance of neuronal circuits in the brain[J]. *Dev Neurosci*, 2008, 30(1-3):59-64.
- [22] Leslie NR, Yang X, Downes CP, Weijer CJ. The regulation of cell migration by *PTEN*[J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33(Pt 6):1507-1508.
- [23] Li L, Liu F, Ross AH. *PTEN* regulation of neural development and CNS stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2003, 88(1):24-28.
- [24] van Nimwegen MJ, Huigsloot M, Camier A, Tijdens IB, van de Water B. Focal adhesion kinase and protein kinase B cooperate to suppress doxorubicin-induced apoptosis of breast tumor cells[J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 70(4):1330-1339.
- [25] Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Phosphoinositide-3-kinase/akt survival signal pathways are implicated in neuronal survival after stroke[J]. *Mol Neurobiol*, 2006, 34(3):249-270.
- [26] Zhu Y, Hoell P, Ahlemeyer B, Sure U, Bertalanffy H, Kriegstein J. Implication of *PTEN* in production of reactive oxygen species and neuronal death in in-vitro models of stroke and Parkinson's disease[J]. *Neurochem Int*, 2007, 50(3):507-516.
- [27] Zhang QG, Wu DN, Han D, Zhang GY. Critical role of *PTEN* in the coupling between PI3K/Akt and JNK1/2 signaling in ischemic brain injury[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(3):495-505.
- [28] Zhu Y, Hoell P, Ahlemeyer B, Kriegstein J. *PTEN*: a crucial mediator of Mitochondria-dependent apoptosis[J]. *Apoptosis*, 2006, 11(2):197-207.
- [29] Perandones C, Costanzo RV, Kowaljew V, Pivetta OH, Carminatti H, Radrizzani M. Correlation between synaptogenesis and the *PTEN* phosphatase expression in dendrites during postnatal brain development[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2004, 128(1):8-19.
- [30] Fraser MM, Bayazitov IT, Zakharenko SS, Baker SJ. Phosphatase and tensin homolog, deleted on chromosome 10 deficiency in brain causes defects in synaptic structure, transmission and plasticity, and myelination abnormalities[J]. *Neuroscience*, 2008, 151(2):476-488.

(本文编辑:邓芳明)