

DOI: 10.13376/j.cblls/2016100

文章编号: 1004-0374(2016)07-0777-04

肝再生磷酸酶-2的最新研究进展

殷岑楠, 吴琛耘, 王兆军*

(上海交通大学医学院免疫学与微生物学系, 感染免疫实验室, 上海 200025)

摘要: 肝再生磷酸酶-2 (phosphatase of regenerating liver-2, PRL-2) 是蛋白酪氨酸磷酸酶家族的成员。作为一种蛋白磷酸酶, PRL 家族因其成员 PRL-3 在肿瘤组织中的特异性高表达而备受人们关注。在近几年的研究中, 人们逐渐把目光转向了在正常人体各个组织中均高表达的 PRL-2 分子, 现综述了 PRL-2 的生物学功能及其在肿瘤相关研究中的最新进展。

关键词: 肝再生磷酸酶-2; 生物学功能; 肿瘤

中图分类号: R730.231 **文献标志码:** A

The latest research progress in PRL-2

YIN Cen-Nan, WU Chen-Yun, WANG Zhao-Jun*

(Laboratory of Infection and Immunology, Department of Immunology and Microbiology,
Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: Phosphatase of regenerating liver-2 (PRL-2) is a member of protein tyrosine phosphatases family. As a protein phosphatase, PRL-3, the third member of PRL family, has attracted much interest due to its specific high expression in tumor tissues. However, as PRL-2 is widely expressed in normal adult tissues, researchers have become more and more interested in PRL-2. Here, we provide an overview of the physical function of PRL-2 and its role in cancer.

Key words: phosphatase of regenerating liver-2; physical function; neoplasm

肝再生磷酸酶 (phosphatase of regenerating liver, PRL) 家族共有 3 个成员, 分别是 PRL-1、PRL-2 和 PRL-3^[1]。因其家族中的 PRL-1 最早是作为一种早期反应基因, 可被有丝分裂原以及肝再生细胞诱导表达而被发现^[2], 并得名 PRL。PRL 属蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatase, PTP), 故 PRL 家族又被称为 PTP4A 家族。对于 PRLs 催化结构域的氨基酸序列分析提示, PRL 家族除了具有催化磷酸化的酪氨酸去磷酸化的能力, 还能催化磷酸化的丝/苏氨酸的去磷酸化, 因而其被认为是具有双特异性磷酸酶 (dual specificity phosphatases, DSP) 活性^[1]。

PRL 家族作为一种蛋白磷酸酶, 参与了多种信号转导^[3]。同时, 现有的研究表明, 其与肿瘤的发生发展具有相关性^[4]。作为家族中广泛表达于各种组织与器官中的成员^[5], PRL-2 受到了人们越来越多的关注。

1 PRL-2的结构特征

PRL-2 的编码基因可转录翻译成相对分子质量为 2×10^4 左右的蛋白, 其编码区域与 PRL-1 和 PRL-3 的编码基因分别有 63% 和 71% 的相似性; 而非编码区的差异却很大, PRL-2 的基因 5' 端非编码区与 PRL-1 以及 PRL-3 的基因只有 20%~30% 的相似性, 提示三者的转录调控可能有较大差异^[1]。同时, 在对应基因的染色体定位方面, PRL-2 的基因位于染色体 1p35 上, 而 PRL-1 以及 PRL-3 的基因分别位于 8q24 和 6q12 上^[6-7]。在氨基酸序列方面,

收稿日期: 2015-12-31; 修回日期: 2016-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(81471971, 8117-2808); 上海浦江计划(14PJ1406000)

*通信作者: E-mail: zjwang@sjtu.edu.cn; Tel: 021-63846590-776460

PRL-2 与 PRL-1 和 PRL-3 有很高的同源性,但在氨基酸数目上存在差异: PRL-2 由 167 个氨基酸残基组成,比 PRL-1 和 PRL-3 的氨基酸组成少了 6 个氨基酸残基^[6,8]。

在蛋白质结构上, PRL 家族蛋白二级结构以及整体折叠方式基本相似,且它们都有一个 C(X)₅R 结构域以及相同的半胱氨酸残基 CAAX 异戊烯化的修饰。前者是 PTP 催化位点序列,为 PRL 家族特有的标志;后者,即 CAAX 结构域与蛋白质翻译后的修饰——蛋白质的法尼基化有关:这两者被认为对 PRL-2 的细胞内定位很重要^[5,9-10]。除此之外,小鼠的 PRL-2 与人类的 PRL-2 氨基酸序列完全一致^[1]。

2 PRL-2的细胞定位与组织表达

在 mRNA 水平, PRL-2 广泛高表达于成人各个正常组织中,在免疫系统的 T 淋巴细胞以及 B 淋巴细胞中表达尤其高^[5]。而 PRL-1 虽然在各个组织中也有表达,但其在不同组织中的表达水平差异很大。作为在肿瘤组织中高表达的 PRL-3,其在正常生理情况下,高表达于骨骼肌、胰腺和发育的心脏中,而在其他组织中几乎不表达^[5,7]。

在正常人体细胞中,已有报道说 PRL-2 多定位于细胞膜、早期内体和内质网上^[4,5]。而在正常小鼠细胞中, PRL-2 表达后定位于细胞膜上,同时在细胞质内呈现点状弥散分布,且在细胞核周围聚集表达^[10]。

3 PRL-2的生理功能研究进展

在对 PRL-2 进行进一步研究时,人们一直希望通过寻找它的作用底物来进一步研究其生理功能。遗憾的是,虽然已经被证明对磷酸化的酪氨酸以及丝/苏氨酸具有去磷酸化的活性,但 PRL-2 的作用底物目前仍不明确。现有的研究表明, PRL-2 可以与 Rab 牛儿基转移酶 (rab geranylgeranyltransferase II, RabGGTII) 的 β 亚基相结合,但并无催化底物关系,而是作为 RabGGTII 的一个调控表达分子与其相互作用,且两者的相互作用主要取决于 PRL-2 异戊烯化的状态^[11]。

作为在正常人体各种器官中均有广泛表达,在小鼠骨骼肌以及大脑中高表达,同时,在部分癌症中表达量改变的蛋白, PRL-2 在正常生理状态下的功能引起了研究者很大的关注^[5,12]。Dong 等^[13-14]和 Li 等^[15]研究表明, PRL-2 的缺失会使得小鼠睾丸中 PTEN 蛋白表达升高。作为一种抑癌因子, PTEN 在

睾丸中的高表达,会使得细胞生长发育相关的 Kit 介导的 PI3K-Akt 信号通路减弱,从而导致精母细胞的凋亡增加,导致小鼠的精子生成及活力均受到极大影响。同时,缺失 PRL-2 会使得糖原细胞的增殖受到阻碍,从而使得胎盘发育缺陷或发育迟缓。

除了对小鼠精细胞正常生成和发育很重要以外, Kobayashi 等^[16]在研究中发现, PRL-2 在造血干细胞的自我更新过程中起到了很重要的作用。这一作用主要体现在 PRL-2 对造血干细胞和祖细胞中致癌性的 Kit 信号通路有一定的调控作用,同时,也对干细胞因子相关的信号通路很重要, PRL-2 的缺失可造成造血干细胞的再生缺陷。之后,他们在进一步的研究中发现, PRL-2 在急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML)、慢性粒细胞白血病 (chronic myeloid leukemia, CML)、多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 和急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 等多种血液系统相关恶变中高表达,进一步证实了 PRL-2 与造血干细胞的相关性^[17]。

值得注意的是, PRL 家族成员各自参与调控的信号通路分子存在很大差别,如 PRL-2 对 Src 激酶的活性无调控作用,而 PRL-1 和 PRL-3 却能够通过调控 Src 激酶中酪氨酸残基的磷酸化而调控 Src 激酶的活化及失活^[18-19]。除此之外, PRL-1 和 PRL-3 均可通过激活相应的泛素连接酶而下调抑癌分子 p53 的表达,但 PRL-2 对 p53 却没有类似的作用^[20]。

通过这些研究可以推测, PRL-2 表达的正常与否对某些细胞的正常生长和分化有一定作用,但这一作用是否适用于其他细胞仍然需要进一步更深入的研究。

4 PRL-2与肿瘤

虽然 PRL 家族很早就已经被人们所发现,但直到研究者发现其家族中 PRL-3 在肿瘤细胞中的异常高表达^[21],这个家族才真正被人们所关注。PRL-2 基因所在的染色体 1p35 上的基因大多都被证明与肿瘤生长以及恶变有关^[22],预示 PRL-2 可能与肿瘤之间也有着很多联系。

早在 1996 年,研究人员就已经证明在仓鼠胰腺腺导管上皮 D27 细胞系中过表达 PRL-2 会导致细胞生长失去接触抑制性^[9],且通过 siRNA 干扰对 PRL-1 以及 PRL-2 进行基因沉默可以抑制胰腺癌细胞在软琼脂上的克隆形成,同时,导致血清诱导的 Akt 分子磷酸化程度的改变^[23]。之后, Werner 等^[24]

的研究结果表明, PRL-2 在表皮细胞中的过表达可以刺激 DNA 的合成, 抑制 G₁ 期的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 (cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI) 的表达, 使得 p21^{Cip1/Waf1} 表达明显降低, 促进细胞从 G₁ 期转向 S 期, 从而促进细胞增殖, 使得细胞呈现出肿瘤表型。

2002 年, Wang 等^[25] 通过对前列腺癌组织中基质-上皮之间相互作用的研究, 确认了 PRL-2 作为癌基因的潜力, 且作为蛋白法尼基转移酶的底物, PRL-2 的致癌能力可以被法尼基转移酶抑制剂所抑制。

2010 年, Hardy 等^[26] 发现 PRL-2 与乳腺癌的形成和发展有很大关系。PRL-2 在乳腺癌组织中以及乳腺癌转移的淋巴结中高表达, 同时 PRL-2 与 Erb2 共表达可以加速乳腺肿瘤形成。对这一领域的进一步研究发现, PRL-2 的表达高低可以用于乳腺癌复发率以及存活率的评估^[27], 并且在临床病理检测中发现, 雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 阳性或孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 阳性的标本中, PRL-2 的表达量高于 ER 阴性或 PR 阴性的标本^[28]。而 Reuven 等^[29] 在研究卵巢癌时也发现, 患者卵巢积液 PRL-2 的 mRNA 的表达量与患者存活时间有一定的关系。

Wang 和 Lazo^[30] 在实验中发现, PRL-2 在包括 A549 细胞在内的 4 种人类肺癌细胞中高表达, 且可通过 ERK 相关信号通路对肺癌细胞迁移以及入侵进行调控; 而 Hwang 等^[31] 经过研究发现, PRL-2 蛋白表达量在非小细胞肺癌组织中显著升高, 其可通过调控 p21 的表达来加快细胞周期, 通过激活 AP-1 相关信号通路来促进癌细胞的增殖, 表明 PRL-2 在整个肺癌形成过程中可能起到了重要作用。

2015 年, Hardy 等^[32] 找到 PRL-2 的另一个可结合配体: CNNM3。CNNM3 是镁离子 (Mg²⁺) 的一种转运子。与 CNNM3 有一定同源性的 PRL-2 可以通过与 CNNM3 的胱硫酶合成酶的核心区域结合, 对细胞镁离子的流入起到一定调控作用。实验结果也证明, CNNM3 的表达水平与 PRL-2 直接相关, 且 CNNM3 的过表达可以促进肿瘤的生长, 即 PRL-2 可以通过与 CNNM3 的互作对肿瘤的生长起到一定的调控作用。

除了上述肿瘤以外, 2010 年 Akiyama 等^[33] 和 2012 年 Arora 等^[34] 研究发现, PRL-2 在小儿急性髓细胞性白血病 (AML) 患者中过表达。之后另一研究组通过对 AML 所有 PRL 基因表达情况的检测

验证了这一发现, 并且 Akiyama 等^[33] 还证实了在小鼠前 B 细胞系 Baf3ER 以及小鼠骨髓细胞中异位表达 PRL-2 可以导致细胞对促进细胞生长的促红细胞生成素 (erythropoietin, Epo) 以及白细胞介素 3 (interleukin-3, IL-3) 的刺激更加敏感, 细胞迁移增加, 细胞黏附性降低, 最终导致恶变的加速和迁移。上文所提及的 Kobayashi 等^[17] 证明, PRL-2 和 PRL-3 都参与了癌症发生发展的相关信号通路, 包括 KITD814V、FLT3-ITD、BCR-ABL、PI3K/AKT、Ras/MEK/ERK 以及 JAK/STAT 等, 但这两者在这些信号通路中各自的具体作用还需要进一步的研究。

5 展望

由于 PRL 家族成员之间高度同源, 在进行研究时, 我们需要使用一些方法将 PRL-2 与其他两者区分开来, 如使用特异性识别 PRL-2 中特有的氨基酸序列的抗体对 PRL-2 蛋白进行相关分析; 通过 Southern 杂交, 使用识别 PRL-2 基因特异性片段的探针来保证实验结果的可信性; 通过使用特异性敲除 PRL-2 基因的小鼠, 对 PRL-2 进行全面研究。

虽然目前对于 PRL-2 的研究取得了一定的进展, 但仍然有很多问题等待我们做进一步的研究来解决。

作为一个在正常人体各个组织中均有高表达的分子, PRL-2 可能对人体各个组织中细胞的生长发育都有重要作用, 但其在正常生理状态下对各个细胞有什么样的作用还需要进一步的实验研究。

作为一个蛋白磷酸酶, PRL-2 的底物一直没有被找到, 它在体内是否真的有去磷酸化的活性, 是否仅仅只是有与其他磷酸酶相似的结构, 在体外有磷酸酶活性而在体内并不具有去磷酸化的活性, 这也需要进行进一步的探究。

作为一个肿瘤相关性分子, PRL-2 除了可以作为患者预后情况的一个预测指标, 其对肿瘤细胞的生长调控作用是否可以使其作为一个肿瘤临床治疗靶点对肿瘤细胞进行特异性杀伤, 还需要进一步实验研究。目前, 已有研究证明 PRL-3 的单克隆抗体可以抑制小鼠肠癌的转移^[35], 这也给研究者们提供了一定的参考。

[参 考 文 献]

- [1] Zeng Q, Hong W, Tan YH. Mouse PRL-2 and PRL-3, two potentially prenylated protein tyrosine phosphatases homologous to PRL-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 244: 421-7

- [2] Diamond RH, Cressman DE, Laz TM, et al. PRL-1, a unique nuclear protein tyrosine phosphatase, affects cell growth. *Mol Cell Biol*, 1994, 14: 3752-62
- [3] Tonks NK. Protein tyrosine phosphatases—from house-keeping enzymes to master regulators of signal transduction. *FEBS J*, 2013, 280: 346-78
- [4] Stephens BJ, Han H, Gokhale V, et al. PRL phosphatases as potential molecular targets in cancer. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4: 1653-61
- [5] Dumauld CM, Sandusky GE, Crowell PL, et al. Cellular localization of PRL-1 and PRL-2 gene expression in normal adult human tissues. *J Histochem Cytochem*, 2006, 54: 1401-12
- [6] Al-Aidaros AQ, Zeng Q. PRL-3 phosphatase and cancer metastasis. *J Cell Biochem*, 2010, 111: 1087-98
- [7] Guzinska-Ustymowicz K, Pryczynicz A. PRL-3, an emerging marker of carcinogenesis, is strongly associated with poor prognosis. *Anticancer Agents Med Chem*, 2011, 11: 99-108
- [8] Rios P, Li X, Kohn M. Molecular mechanisms of the PRL phosphatases. *FEBS J*, 2013, 280: 505-24
- [9] Cates CA, Michael RL, Stayrook KI, et al. Prenylation of oncogenic human PTP(CAAX) protein tyrosine phosphatases. *Cancer Lett*, 1997, 110: 49-55
- [10] Zeng Q, Si X, Horstmann H, et al. Prenylation-dependent association of protein-tyrosine phosphatases PRL-1, -2, and -3 with the plasma membrane and the early endosome. *J Biol Chem*, 2000, 275: 21444-52
- [11] Si X, Zeng Q, Ng CH, et al. Interaction of farnesylated PRL-2, a protein-tyrosine phosphatase, with the β -subunit of geranylgeranyltransferase II. *J Biol Chem*, 2001, 276: 32875-82
- [12] Dumauld CM, Sandusky GE, Soo HW, et al. Tissue-specific alterations of PRL-1 and PRL-2 expression in cancer. *Am J Transl Res*, 2012, 4: 83-101
- [13] Dong Y, Zhang L, Bai Y, et al. Phosphatase of regenerating liver 2 (PRL2) deficiency impairs Kit signaling and spermatogenesis. *J Biol Chem*, 2014, 289: 3799-810
- [14] Dong Y, Bai Y, Chen H, et al. Phosphatase of regenerating liver 2 (PRL2) is essential for placental development by down-regulating PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10) and activating Akt protein. *J Biol Chem*, 2012, 287: 32172-9
- [15] Li J, Yen C, Liaw D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science*, 1997, 275: 1943-9
- [16] Kobayashi M, Bai Y, Dong Y, et al. PRL2/PTP4A2 phosphatase is important for hematopoietic stem cell self-renewal. *Stem Cells*, 2014, 32: 1956-67
- [17] Kobayashi M, Chen S, Gao R, et al. Phosphatase of regenerating liver in hematopoietic stem cells and hematological malignancies. *Cell Cycle*, 2014, 13: 2827-35
- [18] Liang F, Liang J, Wang WQ, et al. PRL3 promotes cell invasion and proliferation by down-regulation of Csk leading to Src activation. *J Biol Chem*, 2007, 282: 5413-9
- [19] Pagarigan KT, Bunn BW, Goodchild J, et al. *Drosophila* PRL-1 is a growth inhibitor that counteracts the function of the Src oncogene. *PLoS One*, 2013, 8: e61084
- [20] Min SH, Kim DM, Heo YS, et al. New p53 target, phosphatase of regenerating liver 1 (PRL-1) downregulates p53. *Oncogene*, 2009, 28: 545-54
- [21] Saha S, Bardelli A, Buckhaults P, et al. A phosphatase associated with metastasis of colorectal cancer. *Science*, 2001, 294: 1343-6
- [22] Arriba M, Garcia JL, Inglada-Perez L, et al. DNA copy number profiling reveals different patterns of chromosomal instability within colorectal cancer according to the age of onset. *Mol Carcinog*, 2016, 55: 705-16
- [23] Stephens B, Han H, Hostetter G, et al. Small interfering RNA-mediated knockdown of PRL phosphatases results in altered Akt phosphorylation and reduced clonogenicity of pancreatic cancer cells. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7: 202-10
- [24] Werner SR, Lee PA, DeCamp MW, et al. Enhanced cell cycle progression and down regulation of $p^{21Cip1/Waf1}$ by PRL tyrosine phosphatases. *Cancer Lett*, 2003, 202: 201-11
- [25] Wang Q, Holmes DI, Powell SM, et al. Analysis of stromal-epithelial interactions in prostate cancer identifies PT-PCAAX2 as a potential oncogene. *Cancer Lett*, 2002, 175: 63-9
- [26] Hardy S, Wong NN, Muller WJ, et al. Overexpression of the protein tyrosine phosphatase PRL-2 correlates with breast tumor formation and progression. *Cancer Res*, 2010, 70: 8959-67
- [27] Zhao D, Guo L, Neves H, et al. The prognostic significance of protein tyrosine phosphatase 4A2 in breast cancer. *Onco Targets Ther*, 2015, 8: 1707-17
- [28] Andres SA, Wittliff JL, Cheng A. Protein tyrosine phosphatase 4A2 expression predicts overall and disease-free survival of human breast cancer and is associated with estrogen and progesterone receptor status. *Horm Cancer*, 2013, 4: 208-21
- [29] Reich R, Hadar S, Davidson B. Expression and clinical role of protein of regenerating liver (PRL) phosphatases in ovarian carcinoma. *Int J Mol Sci*, 2011, 12: 1133-45
- [30] Wang Y, Lazo JS. Metastasis-associated phosphatase PRL-2 regulates tumor cell migration and invasion. *Oncogene*, 2011, 31: 818-27
- [31] Hwang JJ, Min SH, Sin KH, et al. Altered expression of phosphatase of regenerating liver gene family in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep*, 2012, 27: 535-40
- [32] Hardy S, Uetani N, Wong N, et al. The protein tyrosine phosphatase PRL-2 interacts with the magnesium transporter CNNM3 to promote oncogenesis. *Oncogene*, 2015, 34: 986-95
- [33] Akiyama S, Dhavan D, Yi T. PRL-2 increases Epo and IL-3 responses in hematopoietic cells. *Blood Cells Mol Dis*, 2010, 44: 209-14
- [34] Arora D, Kothe S, van den Eijnden M, et al. Expression of protein-tyrosine phosphatases in acute myeloid leukemia cells: FLT3 ITD sustains high levels of DUSP6 expression. *Cell Commun Signal*, 2012, 10: 19
- [35] Guo K, Tang JP, Tan B, et al. Monoclonal antibodies target intracellular PRL phosphatases to inhibit cancer metastases in mice. *Cancer Biol Ther*, 2014, 7: 750-7