

视网膜母细胞瘤发病机制的分子生物学研究回顾与进展

李 雁, 张军军

作者单位: (610041) 中国四川省成都市, 四川大学华西医院眼科
作者简介: 李雁, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 玻璃体、视网膜疾病。

通讯作者: 张军军, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主任医师.
zhangjunjun@medmail. com. cn

收稿日期: 2010-01-04 修回日期: 2010-01-26

Review and progress of retinoblastoma pathogenesis in molecular biology

Yan Li, Jun-Jun Zhang

Department of Ophthalmology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Jun-Jun Zhang. Department of Ophthalmology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. zhangjunjun@medmail. com. cn

Received: 2010-01-04 Accepted: 2010-01-26

Abstract

• Retinoblastoma is a common pediatric eye malignant tumor, it not only seriously affects children's eyesight, but also endangers their lives. With the rapid development of biological technology, some breakthroughs have been made in retinoblastoma biological research. It has an important clinical significance to explore the pathogenesis of retinoblastoma in order to inhibit tumor growth and metastasis and improve the survival rate of children. Now the pathogenesis of retinoblastoma research is summarized.

• KEYWORDS: retinoblastoma; mutation; p53; MDM2; pRb

Li Y, Zhang JJ. Review and progress of retinoblastoma pathogenesis in molecular biology. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)* 2010; 10(4): 703-705

摘要

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 是婴幼儿最常见的一种眼内恶性肿瘤, 不仅严重影响患儿的视力, 更危及生命。随着生物学技术的迅猛发展, RB 的生物学研究已取得一些突破, 探讨 RB 的发病机制对抑制肿瘤的生长和转移, 提高患儿的生存率, 具有重要的临床意义。现将视网膜母细胞瘤发病机制的研究进展综述如下。

关键词: 视网膜母细胞瘤; 基因突变; p53; 鼠双微体 2; Rb 蛋白

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2010. 04. 030

李雁, 张军军. 视网膜母细胞瘤发病机制的分子生物学研究回顾与进展. *国际眼科杂志* 2010; 10(4): 703-705

0 引言

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 是发生于婴幼儿时期最为常见的眼内恶性肿瘤^[1], 出现首个体征的平均年龄为生后 7mo (双侧发病病例) 和 24mo (单侧发病病例)^[2], 严重危害着患儿的视力和生命, 已经受到医学界的广泛关注。我国每年新病例约有 1000 人, 占全世界每年新病例的 20%。其中 30% ~ 40% 的病例属于遗传型, 符合常染色体不完全显性遗传, 外显率约 90%; 60% ~ 70% 的病例属于非遗传型。遗传型是由生殖细胞突变引起, 变异存在于每一个体细胞中; 非遗传型, 基因突变仅发生在视网膜细胞。因此, 遗传型 RB 通常为双侧、或单眼多发性; 非遗传型则以单侧、散发型多见。

RB 是人类特有的一种视网膜肿瘤, 对其成因学者们提出了许多假说: 1971 年, Knudson^[3] 的二次突变假说认为 RB 需要经历某个基因的两次突变才能发生; Benedict 等^[4] 在 1983 年提出类似 Knudson 的假说; 同年 Cavenee 证实了两个等位基因的失活致 RB 发生, 该基因位于 13q14 位点, 编码 pRb 蛋白, 靠近脂酶 D 的编码区, 命名为 Rb1 基因。pRb 在细胞的增殖和分化中起重要作用, 决定细胞是否进入 S 期^[5]。Rb1 基因启动子包含多个转录因子的结合位点 (RBF-1, Sp1, ATF 和 E2F)^[6], 遗传型 Rb 在这些位点上发生突变, 造成转录调节因子无法结合, 降低了转录活性^[7], 导致细胞内 pRb 功能低下或缺失, 细胞的正常周期被打破, 表现出细胞快速生长形成肿瘤。

1 RB 基因突变

1970 年代, Knudson^[3] 首次提出视网膜母细胞瘤发生的“二次突变学说”, 即一个正常的视网膜母细胞瘤变成肿瘤细胞需发生 2 次突变。随机发生的 2 次突变可使 RB 基因中正常的等位基因失活。当两个等位基因均发生突变, 由体细胞的杂合子型变成了纯合子状态, 细胞将失去正常 RB 蛋白功能, 细胞分化失去控制, 从而形成肿瘤。1980 年代, 对 RB 基因的位置和作用方式有了基本了解。多位学者对 RB 肿瘤细胞内 RB 基因及产物进行详细分析^[8,9]: (1) 在 DNA 分子水平, 大约 15% ~ 30% 的 RB 肿瘤显示 RB 基因结构异常, 主要限于显示大的缺失、易位、重组以及影响限制性酶切位点的点突变; (2) 在 mRNA 表达水平, 更多的 RB 肿瘤表现出低于正常胎儿视网膜或分子量大小异常。RB 的 mRNA 异常被认为是由于不同的 RB 基因点突变对 mRNA 稳定性-转录及剪接影响所致; (3) 在蛋白质水平, 绝大多数 RB 或缺失 RB 蛋白或仅表达少量的或分子量异常的 RB 蛋白。RB 基因突变的类型: (1)

大片段缺失^[8-11];即大片段(全部或部分)RB基因缺失,缺失断裂点可出现于整个RB基因范围内(外显子13~17区域内);(2)在基因编码序列中缺失或插入几个碱基,引起阅读框架移位^[12-14]。(3)点突变:按其性质可分为2类:错义突变和无能突变。据文献统计,遗传型患者中,仅25%有阳性家族史,多数RB患者为新发生的生殖细胞突变。这说明RB发病过程除了基因突变外可能有其他机制的参与。

2 癌基因、抑癌基因论

近年来,对RB中一些癌基因和抗癌基因的研究开始引起人们的重视。越来越多的研究表明,视网膜母细胞瘤的发生、发展是一个复杂的过程,有多个癌基因和抑癌基因的异常改变,其中MDM2基因的扩增或过表达及p53基因突变有着举足轻重的作用。我们着重对P53及其可能相关的癌基因MDM2做一综述。p53为一公认的抗癌基因,50%以上的肿瘤组织中可检测到它的突变。肿瘤抑制基因p53位于人类17号染色体短臂17P13.1上,其编码产物位于细胞核,是一种分子量约为53KD的含磷蛋白,可分为野生型和突变型两种。正常细胞所产生的P53蛋白(野生型)很少,而且在细胞中易水解,半衰期为20min左右,用常规免疫组化方法难以检出^[15]。突变型p53基因由野生型突变产生,失去抑癌基因活性,可导致正常细胞恶性转化,肿瘤发生^[16-18]。因其多积聚在细胞核内,稳定性增加,半衰期延长,故可通过免疫组织化学染色检测^[17]。在正常细胞中,p53信号通路主要调节细胞损伤后反应(修复或凋亡)^[19]。研究发现^[20-23],RB组织中有高水平的突变型p53基因蛋白表达,提示p53基因突变与RB发生关系密切。p53基因突变与P53蛋白过度表达间的高度一致性已经被证实^[24]。

MDM2是一种癌基因,其主要的功能是与野生型或突变型P53蛋白的相互作用^[25]。野生型p53基因诱导MDM2转录增强,致使MDM2蛋白水平升高;反过来,MDM2蛋白与P53结合形成复合物,促使P53蛋白降解,抑制其功能的发挥,二者构成了负反馈调节环。通过这种调节,二者在细胞内能处于平衡状态,这即利于DNA损伤后的修复,同时又防止修复后细胞生长受阻^[26]。研究表明:MDM2-P53负反馈调节环异常可导致细胞中抑癌基因p53功能失活,与多种肿瘤的发生发展密切相关^[27]。MDM2(鼠双微粒体2)癌基因定位于12q13-14,多项实验证实了该基因能使体外细胞发生转化并具有动物成瘤性^[28,29]。

MDM2还可通过P53非依赖性方式在肿瘤的发生、发展中起作用。最近新的研究表明MDM2和P53的调节通路有新的酶化途径参与^[30],这表明两者之间的作用不是单一途径。

3 其他观点

Rb基因编码的Rb蛋白(pRb)是一种具有广泛生物学意义的转录调节因子,为具有DNA结合能力的核磷酸化蛋白,主要参与细胞周期的调节,对细胞生长起负调控作用,它是调节细胞增殖信号通路的中心成分。近期研究认为,pRb与RB的发生密切相关。

pRb作用于肿瘤的发生、发展可能是通过两种机制:(1)细胞周期调控作用,pRb及其相关蛋白是决定细胞分裂增殖还是休止、分化的重要分子^[31]。pRb的功能受磷酸化状态影响,pRb以非磷酸化的活性形式与转录因子E2F结合而抑制其活性,阻止细胞从G1期进入S期^[32],抑制细胞增殖,而pRb的磷酸化可使其失活。(2)诱导细胞凋亡,通过p53依赖和p53非依赖的细胞凋亡途径,诱导细胞凋亡^[33]。有研究表明^[34-36]:pRb功能异常导致中心体和非整倍体的扩增。这就意味着pRb与中心体扩增和染色体稳定性有关。最近研究发现:肿瘤的发生开始于干细胞的表观遗传变异,这就意味着基因表达的后天性缺失(非突变性的)比突变更常见。所以就有人提出质疑“二次基因突变论”的合理性。

4 展望

众所周知,肿瘤的发生和发展是一个复杂的过程,有很多影响因素,包括癌基因的激活、抗癌基因的失活、凋亡机制的异常及其他因子的改变。肿瘤细胞既是分化紊乱的产物又是增殖失控的产物。视网膜母细胞瘤亦是如此。目前的研究还没有对RB的发病机制做出较权威的结论,但其分子生物学研究取得了一定进展,我们了解到RB的发生不仅是基因突变那么简单,可能有抑癌基因、癌基因、抗凋亡因子的参与,我们已了解了相当一部分,以后要继续完善研究它们之间的内在关系及相互影响,找出RB发病的主要机制。从分子水平重新认识RB的发生、发展规律,具有明显的理论价值与广泛的应用前景,能为以后基因治疗RB提供科学依据。

参考文献

- 1 Poplack DG. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Philadelphia: Lippincott-Raven 1997:699-715
- 2 Balmer A, Zografos L, Munier F. Diagnosis and current management of retinoblastoma. *Oncogene* 2006;25(38):5341-5349
- 3 Knudson AG Jr. Mutation and cancer; statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971;68(4):820-823
- 4 Benedict WF, Murphree AL, Banerjee A, et al. Patient with 13 chromosome deletion; evidence that the retinoblastoma gene is a recessive cancer genes. *Science* 1983;219(4587):973-975
- 5 Mittnacht S. The retinoblastoma protein-from bench to bedside. *Eur J Cell Biol* 2005;84(2-3):97-107
- 6 Lohmann DR, Gallie BL. Retinoblastoma: revisiting the model prototype of inherited cancer. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2004;129(1):23-28
- 7 Sakai T, Ohtani N, McGee TL, et al. Oncogenic germ-line mutations in Spl and ATF sites in the human retinoblastoma gene. *Nature* 1991;353:83-86
- 8 Lee EY, Chang CY, Hu N, et al. Mice deficient for RB are nonviable and show defects in neurogenesis and haematopoiesis. *Nature* 1992;359:288-294
- 9 Lee WH, Bookstein R, Hong F, et al. Human retinoblastoma susceptibility gene: cloning, identification and sequence. *Science* 1987;235(4794):1394-1399
- 10 Friend SH, Bernards R, Rogelj S, et al. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 1986;323(6089):643-646
- 11 Fung YK, Murphree AL, Tang A, et al. Structural evidence for the authenticity of the human retinoblastoma gene. *Science* 1987;236(4809):

1657-1661

- 12 Mori N, Yokota J, Akiyama T, *et al.* Variable mutations of the RB gene in small-cell lung carcinoma. *Oncogene* 1990;5(11):1713-1717
- 13 Dunn JM, Phillips RA, Zhu X, *et al.* Mutations in the RB1 gene and their effects on transcription. *Mol Cell Biol* 1989;9(11):4594-4602
- 14 Dunn JM, Phillips RA, Becker AJ, *et al.* Identification of germline and somatic mutations affecting the retinoblastoma gene. *Science* 1988;241(4874):1797-1800
- 15 童坦君. 遗传不稳定性与人类肿瘤. 生命的化学 1993;13:7
- 16 Oki E, Tokunaga E, Nakamura T, *et al.* Genetic mutual relationship between PTEN and p53 in gastric cancer. *Cancer Lett* 2005;227(1):33-38
- 17 Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, *et al.* Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of PTEN-deficient tumorigenesis. *Nature* 2005;436(7051):725-730
- 18 Wang J, Ouyang W, Li J, *et al.* Loss of tumor suppressor p53 decreases PTEN expression and enhances signaling pathways leading to activation of activator protein 1 and nuclear factor kappaB induced by UV radiation. *Cancer Res* 2005;65(15):6601-6611
- 19 Sherr CJ, McCormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell* 2002;2(2):103-112
- 20 Yule K, Nakajima M, Uemura Y, *et al.* Immunohistochemical features of the humor retina and retinoblastoma. *Virchows Arch* 1995;426(6):571-575
- 21 郭浩轶, 宋绣雯. 视网膜母细胞瘤中 p53 bcl-2 和 c-myc 蛋白表达相关性研究. 河南医学研究 2002;11(3):206-208
- 22 申煌焯, 张清炯, 肖学珊, 等. p53 和 MDM2 在 3 种 RP 小鼠视网膜中的表达. 眼科新进展 2002;22(5):301-304
- 23 张杰, 孟瑞华, 徐建森, 等. PTEN 和 p53 在视网膜母细胞瘤中的表达及临床意义. 眼科新进展 2008;28(10):754-757
- 24 Rodrigues NR, Rowan A, Smith ME, *et al.* p53 mutation in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87(19):7555-7559
- 25 Chi SW, Lee SH, Kim DH, *et al.* Structural details on MDM2-P53 interaction. *Biol Chem* 2005;280(46):38795-38802
- 26 雷晓华, 朱润庆, 胡学斌. 视网膜母细胞瘤中 MDM2、P16 和 P53 的表达及其意义. 中国实用神经疾病杂志 2006;9(6):16-18
- 27 Momand J, Wu HH, Dasgupta G, *et al.* MDM2-master regulator of the p53 tumor suppressor protein. *Gene* 2000;242(1-2):15-29
- 28 Alkhalaf M, Ganguli G, Messaddeq N, *et al.* MDM2 overexpression generates a skin phenotype in both wild type and P53 null mice. *Oncogene* 1999;18(7):1419-1434
- 29 Zhanig Y, Xiong Y. Mutations in human ARF exon 2 disrupt its nucleolar localization and impair its ability to block nuclear export of MDM2 and P53. *Mol Cell* 1999;3(5):579-591
- 30 Zhang Z, Wang H, Li M, *et al.* Novel MDM2 P53-independent functions identified through RNA silencing technologies. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1058:205-214
- 31 Kather A, Ferrara A, Nonn M, *et al.* Identification of a naturally processed HLA-A 0201 HPV 18E7 T cell epitope by tumor cell mediated *in vitro* vaccination. *Int J Cancer* 2003;10(4):345-353
- 32 Classon M, Dyson N. p107 and p130: Versatile proteins with interesting pockets. *Exp Cell Res* 2001;264(1):135-138
- 33 D'Adda di Fagagna F, Reaper PM, ClayFarrace L, *et al.* A DNA damage checkpoint response in telomere initiated senescence. *Nature* 2003;426(6963):194-198
- 34 Lentini L, Pipitone L, Di Leonardo A. Functional inactivation of pRB results in aneuploid mammalian cells after release from a mitotic block. *Neoplasia* 2002;4(5):380-387
- 35 Duensing S, Lee LY, Duensing A, *et al.* The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centrosome duplication from the cell division cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(18):10002-10007
- 36 Lentini L, Iovino F, Amato A, *et al.* Centrosome amplification induced by hydroxyurea leads to aneuploidy in pRB deficient human and mouse fibroblasts. *Cancer Letters* 2006;238(1):153-160