· 综　　述 ·

抑癌基因 LKB1 与肿瘤关系的研究进展

柏书博[1]　综述，王敬晗[2]，陈贵敏[1]　审校

［摘要］　肝激酶 B1（LKB1）是一种具有普遍作用的抑癌基因，编码一种丝氨酸/苏氨酸激酶，LKB1 基因的胚系突变是黑色素斑-胃肠多发性息肉综合征的主要致病因素。现有研究表明，LKB1 对细胞代谢、细胞周期和细胞极性等的调控是其抑制肿瘤发生和发展的重要方面。LKB1 的失活性表达以低频率事件广泛存在于全身多种类型恶性肿瘤中，如肺癌、胃癌和乳腺癌等；其功能异常还与腺癌的发生密切相关。本文就目前已知的 LKB1 的抑癌机制作以综述。

［关键词］　抑癌基因；肝激酶 B1；肿瘤；细胞生长和代谢

［中图分类号］　R730.2；Q754　　［文献标志码］　A　　doi：10.3969/j.issn.1672-271X.2016.04.022

肝激酶 B1（liver kinase B1，LKB1）基因又名 STK11（serine/threonine kinase 11）基因是 1998 年被芬兰及德国学者在黑色素斑-胃肠多发性息肉综合征（Peutz-Jeghers syndrome，PJS）患者中鉴定的抑癌基因[1]。它可通过调节细胞的代谢、细胞周期和诱导细胞凋亡等功能来发挥抑癌作用[2]。研究结果显示 LKB1 蛋白表达的下降可见于肺癌、胃癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤[3]。

1　LKB1 的生物学特征

人的 LKB1 基因定位于第 19 号染色体短臂 13.3 区，编码分子量为 60KD 的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，该激酶由 433 个氨基酸组成，包括非催化区，激酶催化区，核定位信号序列和 C 端调节区。人体中几乎所有组织均有 LKB1 的表达。LKB1 的胚系突变是 PJS 患者的主要致病因素。LKB1 的激酶活性需要第 189 位点的苏氨酸（Thr）的自磷酸化来完成，此位点的突变可使其丧失激酶活性，导致 LKB1 的失活，与其由错构瘤样息肉向腺瘤和癌变发展关系密切[4]。LKB1 与假激酶样衔接蛋白和脚手架蛋白 25 形成复合体，可极大地提高其激酶活性和稳定性[5]。

2　LKB1 的功能和调控作用

2.1　*LKB1 是腺苷酸活化蛋白激酶（AMPK）的上游激酶*　AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，由催化亚基 AMPKα 和调节亚基 AMPKβ，AMPKγ 组成的异源三聚体，它是 LKB1 最重要的底物。AMPK 被称为细胞的“代谢和能量感受器”，与 AMP/ATP 比值密切相关。机体在各种应激情况下，AMPK 被激活后，抑制脂肪的生成、增加脂肪酸氧化、抑制脂肪分解、促进葡萄糖摄取和利用，维持机体的正常代谢。AMPK 的活化需要上游激酶（AMPKK）对 AMPKα 亚基活化环上 172 位点的 Thr 进行磷酸化来完成。LKB1 可以磷酸化 Thr 进而激活 AMPK，因此认为它是 AMPKK 家族的成员。同时 LKB1 也激活 12 种接近 AMPK 的酶，使它们的活性增加 50 倍以上，AMPK 和这 12 种 AMPK 相关激酶是 LKB1 激酶主要的下游底物。

2.2　*LKBI 下调哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mTOR）活性，抑制细胞生长*　mTOR 蛋白是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，它以 mTORC1 和 mTORC2 两种复合体形式存在，mTOR 抑制剂通过阻断细胞周期、促进肿瘤细胞凋亡和自噬并抑制肿瘤血管的生成，从而抑制肿瘤生长，但在大多数肿瘤细胞却出现异常调节[6]。活化的 mTOR 主要通过磷酸化核糖体蛋白 S6 激酶（S6K）和真核细胞翻译启始因子（4E-BP1）来控制细胞生长，二者是蛋白翻译的起始因子。S6K 在多种人类肿瘤中呈高表达，高表达 S6K 的肿瘤预后较差[7]。4E-BP1 经 mTOR 作用发生磷酸化后，解除了翻译起始的抑制作用，并减少肿瘤细胞凋亡，同时促进细胞周期蛋白 D1、缺氧诱导因子 1、血管内皮生长因子等一组促进细胞生长关键蛋白的翻译，促进细胞周期进展和血管生成，而这些都可成为形成肿瘤的成因。此外，在缺氧、营养匮乏等应激下，LKB1 依赖的激活 AMPK，活化的 AMPK 还可以磷酸化结节性硬化症复合物（TSC1-TSC2），TSC 复合物可抑制小 GTP 酶 Rheb 而抑制 mTORC1

作者单位：1. 200052　上海，解放军 85 医院口腔科；2. 100048　北京，解放军海军总医院肝胆外科
通讯作者：陈贵敏，E-mail：chengm196009@sina.com
引用格式：柏书博，王敬晗，陈贵敏.抑癌基因 LKB1 与肿瘤关系的研究进展［J］.东南国防医药，2016，18（4）：408-410，414.

的活性[8]。mTOR 的调控结合蛋白(raptor)被确定为 AMPK 下游直接底物,raptor 的磷酸化在 AMPK 激活后下调 mTOR 活性和 G2/M 阻滞的过程中是必须的[9]。在能量压力下,LKB1-AMPK 还可以直接磷酸化 TSC2 和 raptor 来抑制 mTORC1 活性。上述研究表明,LKB1 通过激活其直接底物 AMPK 对 mTOR 通路发挥负向调控。

2.3 LKB1 通过细胞周期素依赖性激酶抑制因子(P21,P27)负向调控细胞周期　LKB1 可以稳定体内抑癌基因 P53,直接参与 P53 的靶基因 P21/WAF1 激活过程。将 LKB1 融合到缺陷型 P53 可以提高 P21/WAF1 的激活,使细胞周期阻滞于 G1 期,抑制了细胞的增生[10],相反,LKBI 缺失或降低表达则伴随着 P21/WAF1 水平下调,表明 LKB1 通过促进肿瘤细胞进入凋亡程序来抑制肿瘤细胞的增殖。有研究证明 P27 也是 AMPK 的底物,AMPK 在调节 P27 能量胁迫时自噬和凋亡的选择中起重要作用[10]。

2.4 LKB1 参与其他信号通路的调节　蛋白激酶 B(Akt/PKB)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,被认定为是一种癌基因。LKB1 通过激活 AMPK,负向调节 Akt/PKB 信号通路,使其具有抑制肿瘤血管生成及转移的作用。LKB1 通过抑制 Akt 的表达阻断此基因的致癌作用,还能阻断此通路上游多种相关联的致癌基因,影响肿瘤的发生发展[11]。Smad 是转化生长因子 β(TGF-β)的转录调节因子,LKB1 与 LIP1 结合后,与 Smad4 形成 LKB1-LIP1-Smad4 三聚体,调节 TGF-β 信号转导通路[12]。张力蛋白同源基因(PTEN)是第一个具有双特异性磷酸酶活性的抑癌基因。有研究发现:在肺腺癌细胞株 A549 细胞中过表达 LKB1,可使 PTEN mRNA 表达增加。3、4、5-三磷酸磷脂酰肌醇(PIP3)是促进细胞增殖的第二信使,PTEN 具有磷酸酯酶的功能,可分解 PIP3,说明 LKB1 可能参与 PTEN 信号通路的调节抑制细胞生长[13]。LKB1 和 PTEN 共同作用可调节上皮间质转化(EMT)来抑制肿瘤的转移,相反 LKB1 的缺失会增进肿瘤细胞的 EMT,促进肿瘤转移[14]。

3　LKB1 与肿瘤的关系

3.1 LKB1 与肺癌　LKB1 的突变见于各种病理类型的肺癌,并且与肺癌的发生发展以及肺癌的分化、转移关系密切[15]。有研究表明,在非小细胞肺癌[16]和肺腺癌[17]中,LKB1 的低表达能够促进肿瘤的淋巴结转移,提高肺癌的分期,提示不良预后。生存素基因(Survivin)是抑制细胞凋亡基因,LKB1 的低表达和 Survivin 的高表达可能与肺癌的发生、转移有关;LKB1 有利于辅助诊断肺癌的临床分期;而 Survivin 更利用在区分肿瘤病理类型和分化程度[18]。Liang 等[19]以肺腺癌细胞株 A549 为研究对象,通过 LKB1 基因转染至 A549 肺癌细胞后,发现 LKB1 的高表达通过降低转录因子 SP1 的表达导致 VEGF 的表达下调,从而抑制肺癌细胞的侵袭能力。另一项研究以大细胞肺癌细胞株 95D 为研究对象,通过建立沉默 LKB1 细胞模型,认为 LKB1 表达下调促进肺癌细胞的增殖活性,但对肺癌细胞的凋亡影响不明显[20]。Safe 等[21]研究也证实,LKB1 突变所致的功能缺失,导致了 SP1 和 VEGF 表达水平的升高,促进肺癌新生血管形成,从而促进了肿瘤的转移;同时,LKB1 在低转移性的大细胞肺癌中表达较高,而在高转移性的肺腺癌细胞中表达较低。

3.2 LKB1 与胃癌　李利义等[22]通过研究 LKB1 和 VEGF-C 在 70 例人胃癌组织中的表达,发现 LKB1 在胃癌组织中的表达显著低于正常组织;VEGF-C 在胃癌组织中的表达显著高于正常组织,LKB1 表达与 VEGF-C 表达呈显著负相关;胃癌组织中 LKBI 和 VEGF-C 的表达水平与肿瘤的组织分化程度、肿瘤浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期显著相关($P<0.05$)。徐新宇等[23]通过检测 115 例胃癌组织、20 例正常胃组织中 LKB1 和 P53 的表达证实:胃癌组织中 LKB1 及 P53 表达具有负相关性,LKB1 和 P53 在胃癌组织中的表达程度与胃癌的 TNM 分期、淋巴结转移、Lauren 分型及预后有关($P<0.05$);LKB1 和 P53 通过调节肿瘤细胞的增殖、分化和凋亡,调控胃癌的发生、发展。孙俊杰[24]分别应用荧光定量 PCR 检测胃癌高分细胞株 MKN-28、低分化细胞株 MKN-45、正常人胃上皮细胞 GES-1 的 mRNA 和蛋白表达情况,以及实时荧光定量 PCR 方法检测 155 例胃癌患者和 95 例正常胃组织的石蜡标本,结果证明:LKB1 的表达与胃癌的组织分化程度、TNM 临床分期明显相关,提示 LKB1mRNA 低表达可能胃癌预后不良。

3.3 LKB1 与乳腺癌　有研究报道认为在乳腺癌中同样存在着 LKB1 的缺失、突变。沈赞等[25]分别通过构建 LKB1 表达质粒,转染至该基因低表达的乳腺癌细胞株 MDA-MB-435 细胞中,并检测 LKB1 在 121 例乳腺癌手术标本的表达,认为转入该基因能显著抑制乳腺癌的生长,其抑制作用与 P21 介导的 G1 期细胞阻滞相关,并且 LKB1 与乳腺癌的预后差显著相关。庄志刚等[26]应用 RNA 干扰技术建立 LKB1 沉默乳腺癌细胞模型,发现 LKB1 沉默后乳腺癌细胞增殖明显加快,表

明 LKB1 的表达下调对乳腺癌细胞的恶性生物学行为具有促进作用。进一步应用 LKB1 转染的 MDA-MB-435 乳腺癌细胞,发现转染后的肿瘤细胞中基质金属蛋白酶 2,9(MMP-2、MMP-9)和 VEGF、碱性成纤维细胞生长因子(b-FGF)的表达下降,MMP 是血管生成最初的调节因子,VEGF 被证实在乳腺癌有较高表达,提示 LKB1 可能降低乳腺癌细胞的血管生成能力[27]。继续通过组织芯片及免疫组织化学法对 180 例乳腺浸润性导管癌、18 例导管原位癌及 20 例正常乳腺组织中 LKBI、细胞角蛋白 56(CK56)和 P53 等基因的表达进行检测,证明 LKBl 与乳腺浸润性导管癌的淋巴结转移呈负相关,提示 LKB1 对乳腺癌的浸润与转移过程有抑制作用[28]。以上研究表明,LKB1 与乳腺癌的发生、发展以及乳腺癌的分化、转移关系密切。

3.4　LKB1 与其他肿瘤　有学者将 LKB1 过表达质粒转染至人胰腺癌细胞 ASPC-1,并与空载体及 LKB1 过表达的细胞株相比较,发现 LKB1 可能通过磷酸化激活 AMPK 信号通路抑制人胰腺癌细胞 ASPC-1 的上皮间质转化,降低细胞迁移侵袭能力[29]。Gu 等[30]通过对食管癌的研究发现:LKB1 蛋白在食管癌组织中的表达下降,而且 LKB1 的低表达与食管鳞癌的浸润、转移密切相关。黄约翰等[31]研究证实 LKB1 的表达与肝细胞性肝癌的分化程度,TNM 分期,门静脉侵袭有关($P<0.05$)。LKB1 阳性表达的肝细胞性肝癌患者生存时间比阴性表达的显著延长($P<0.05$)。

4　结语和前景

LKB1 作为一个重要的抑癌基因参与的信号通路和调节靶点被逐渐发现和分析,但是目前对 LKB1 的研究还处于起步阶段,其生物学功能、LKB1 相关蛋白的相互作用以及蛋白的磷酸化作用尚未得到全面的揭示。应用不断更新的生物医学技术和方法,并结合现有的科研成果以及临床样本分析,相信对 LKB1 抑癌机制的研究会不断加深,LKB1 作为抑癌基因中的一员,可能为基因治疗肿瘤提供一个重要的选择。

【参考文献】

[1] Green AS, Chapuis N, Lacombe C, et al. LKB1/AMPK/mTOR signaling pathway in hematological malignancies: from metabolism to cancer cell biology[J]. Cell Cycle, 2011,10(13):2115-2120.

[2] Feng Y, Wang Y, Wang Z, et al. The CRTC1-NEDD9 signaling axis mediates lung cancer progression caused by LKB1 loss[J]. Cancer Res, 2012,72(24):6502-6511.

[3] Osoegawa A, Kometani T, Nosaki K, et al. LKBl mutations frequently detected in mucinous bronchioloalveolar carcinoma[J]. Jpn J Clin Oncol, 2011, 41(9):1132-1137.

[4] Van Veelen W, Korsse SE, van de Laar L, et al. The long and winding road to rational treatment of cancer associated with LKB1, AMPK/TSC/mTORCl signaling[J]. Oncogene, 2011, 30(20): 2289-2303.

[5] Mehellou Y, Alessi DR, Macartney TJ, et al. Structural insights into the activation of MST3 by MO25[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013,431(3): 604-609.

[6] EkmanS, Wynes MW, Hirsch FR. The mTOR pathway in lung cancer and implications for therapy and biomarker analysis[J]. Thorac Oncol, 2012,7(6):947-953.

[7] Grewe M, Gansauge F, Schmid RM, et al. Regulation of cell growth and cyclin D1 expression by the constitutively active FPAP-p70s6K pathway in human pancreatic cancer cells[J]. Cancer Res, 1999,59(15):3581-8587.

[8] Nanjundan M, Byers LA, Carey MS, et al. Proteomic profiling identifies pathways dysregulated in non-small cell lung cancer and an inverse association of AMPK and adhesion pathways with recurrence[J]. Thorac Oncol, 2010, 5(12):1894-1904.

[9] Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint[J]. Mol Cell, 2008, 30(2):214-226.

[10] Tanwar PS, Kaneko arui T, Zhang L, et al. Altered LKB1/AMPK/TSC1/TSC2/mTOR signaling causes disruption of Sertoli cell polarity and spermatogenesis[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(20):4394-4405.

[11] Chan CH, Jo U. Posttranslational regulation of Akt in human cancer[J]. Cell Biosci, 2014,4(1):59-67.

[12] Boudeau J, Sapkota G, Alessi DR. LKBl, a protein kinase regulating cell proliferation and polarity[J]. FEBS Lett, 2003, 546(1):159-165.

[13] Jimenez AI, Fernandez P, Dominguez O, et al. Growth and molecular profile of lung cancer cells expressing ectopic LKBl: downregulation of the phosphatidylinositol 3"-phosphate kinase/PTEN pathway[J]. Cancer Res, 2003, 63(6):1382-1388.

[14] Shorning BY, Griffiths D, Clarke AR. Lkb1 and Ptensynergise to suppress mTOR-mediated tumorigenesis and epithelial-mesenchymal transition in the mouse bladder[J]. PLoS One, 2011, 6(1):e16209.

[15] Gill RK, Yang SH, Meerzaman D, et al. Frequent homozygous deletion of the LKB1/STK11 gene in non-small cell lung cancer[J]. Oncogene, 2011, 30(35):3784-3791.

[16] 田胜国, 董景珍, 于锦萍, 等. LKB1 和 VEGFR 在不同分期非小细胞肺癌中的表达[J]. 临床肺科杂志, 2014, 19(10): 1883-1884.

[17] 王国臣, 李作生, 侯静朴, 等. LKB1 和 VEGFR2 评价肺腺癌预后的意义[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(6):1096-1097.

[18] 池　菲, 张　新, 才虹美, 等. LKB1 在非小细胞肺癌细胞的表达及其与 Survinin 相关性的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(10):972-975.

[19] Liang X, Li ZL, Jiang LL, et al. Suppression of lung cancer cell invasion by Lkb1 is due to the downregulation of tissue factor and vascular endothelial growth factor, partly dependent on SP1[J]. Int J Oncol, 2014, 44(6):1989-1997.

[20] 梁　璇, 南克俊, 徐勤技, 等. 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 基因沉默对肺癌细胞生物学行为的影响[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(9): 1303-1306.

(下转第 414 页)

sus: a systematic review [J]. Obstet Gynecol, 2009, 114(2Pt4): 341-353.
[9] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 6932-6951.
[10] 蔡　红. 孕产妇合并系统性红斑狼疮的心理调查和分析[J]. 解放军护理杂志, 2004, 21(1): 25-26.
[11] Stanhope TJ, White WM, Moder KG, et al. Obstetric nephrology: lupus and lupus nephritis in pregnancy [J]. Clin J Am Soe Nephrol, 2012, 7(12): 2089-2099.
[12] 范亚芬, 秦晓莉. 妊娠合并系统性红斑狼疮 34 例临床护理[J]. 现代实用医学, 2013, 25(6): 707-709.
[13] 路　榕, 张必利. 诊治系统性红斑狼疮 1 例[J]. 东南国防医药, 2006, 8(3): 163.
[14] 杨艳梅, 马文芳. 妊娠并发系统性红斑狼疮[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2006, 27(8): 1014-1015.
[15] 蔡尚霞. 妊娠合并系统性红斑狼疮临床分析 25 例[J]. 中国社区医师, 2014, 4(13): 27.
[16] 吴莉莉, 杨　柳. 系统性红斑狼疮患者中期终止妊娠的护理[J]. 护理学杂志, 2009, 24(7): 33-34.
[17] 陈颂卿. 就糖皮质激素问题对 SLE 病人的健康教育探讨[J]. 实用护理杂志, 2001, 17(12): 47.
[18] 徐明娟, 沙金燕. 成功救治妊娠合并 SLE 及子宫先天发育不良 1 例[J]. 实用妇产科杂志, 2001, 17(2): 117.
[19] 孙晓燕. 系统性红斑狼疮并发急性呼吸衰竭 5 例的护理体会[J]. 护理实践与研究, 2008, 5(10): 49-50.
[20] 杨爱琴, 韩清凤. 妊娠合并系统性红斑狼的母婴护理[J]. 解放军护理杂志, 2012, 29(4B): 53-55.
[21] 江　雁. 系统性红斑狼疮合并妊娠 16 例的观察和护理体会[J]. 中国药业, 2012, 21(9): 93-94.
[22] Ogishima D, Matsumoto T, NaKamura Y, et al. Placental pathology in systemic lupus erythematosus with antiphospholipid antibodie [J]. Pathol Int, 2000, 50(3): 224-229.
[23] 杨子彬. 系统性红斑狼疮的药物治疗进展[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2010, 13(3): 479-482.
[24] 李逸群, 罗　妍, 王　迁. 新生儿红斑狼疮的研究进展[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(1): 73-75.
[25] 张乃怿, 杨慧霞, 廖秦平. 妊娠合并狼疮性肾炎的处理[J]. 中国妇产科临床杂志, 2010, 11(4): 307-309.

(收稿日期: 2015-10-28; 修回日期: 2015-12-15)
(本文编辑: 齐　名)

(上接第 410 页)

[21] Safe S, Abdelrahim M. Sp transcription factor family and its role in cancer[J]. Eur J Cancer, 2005, 41(16): 2438-2448.
[22] 李利义, 罗　越, 周玲玲, 等. 胃癌组织中 LKBl 和 VEGF-C 的表达及其意义[J]. 医学研究杂志, 2015, 44(9): 81-84.
[23] 徐新宇, 夏雷莫, 莫伏根, 等. 肝激酶 B1 和 p53 在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2014, 26(7): 451-453.
[24] 孙俊杰. 肝激酶 B1(LKB1) mRNA 表达与胃癌预后的相关性研究[J]. 世界最新医学信息文摘, 2014, 14(35): 11-14.
[25] 沈　赞, 吴　晴, 岳　麓, 等. 抑癌基因 LKB1 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(1): 15-18.
[26] 庄志刚, 蒋蓓琦, 李正东, 等. LKBl 基因沉默对乳腺癌细胞生物学行为的影响[J]. 同济大学学报(医学版), 2010, 31(6): 11-12.
[27] 庄志刚, 狄根红, 侯　意, 等. LKBl 基因与乳腺癌细胞侵袭性相关因子的研究[J]. 中华医学杂志, 2007, 87(2): 81-84.
[28] 庄志刚, 贺其志, 蒋蓓琦, 等. LKBl 基因在不同基因亚型乳腺癌中表达的意义[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(12): 2363-2366.
[29] 张志强, 王梓瑛, 王晓舟, 等. LKB1 对胰腺癌细胞迁移侵袭及上皮间质转化的影响及机制研究[J]. 实用癌症杂志, 2016, 31(3): 362-365.
[30] Gu Y, Lin S, Li JL, et al. Altered LKB1/CREB-regulated transcription co-activator (CRTC) signaling axis promotes esophageal cancer cell migration and invasion[J]. Oncogene, 2012, 31(4): 469-479.
[31] 黄约翰, 何　彬, 李　鹏, 等. LKB1 在肝细胞癌中的表达及其对预后的影响[J]. 肝胆胰外科杂志, 2013, 25(6): 467-470.

(收稿日期: 2016-06-12; 修回日期: 2016-06-24)
(本文编辑: 黄攸生)