

PCDH10 启动子甲基化与恶性肿瘤关系的研究进展

郭小凡 综述, 邓靖宇, 梁 寒 审校

(天津医科大学肿瘤医院胃部肿瘤科, 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津 300060)

关键词 原钙粘蛋白细胞粘附分子; 甲基化; 肿瘤

中图分类号 R73

文献标志码 A

原钙粘蛋白细胞粘附分子(PCDH10)是一种新发现的肿瘤抑制基因, 既往研究认为其在多种恶性肿瘤中因高甲基化而下调, 并与肿瘤的发生、增殖、侵袭及转移密切相关, 相信深入了解 PCDH10 启动子甲基化与恶性肿瘤的关系对揭示肿瘤的发生发展过程有重要的意义, 能够帮助准确全面的评价临床, 指导治疗策略的制定, 提高患者预后。

1 PCDH10 功能介绍

PCDH10 基因(也称为 OL-PCDH 或者 KIAA1400), 是原钙粘蛋白基因亚家族的一员, 位于 4q28, 长约 42.26 kb, 其编码的 PCDH10 蛋白是原钙粘蛋白亚家族中 82 亚组的成员^[1]。早期对 PCDH10 的研究主要集中在神经生理方面, 认为其对纹状体轴突的形成以及腹侧端脑高度有序神经回路的建立至关重要^[2], PCDH10 异常表达可以影响神经元活性, 是自闭症相关基因^[3-4]; 最近有研究表明它参与真核细胞的分类、识别、边界形成、感应以及细胞间黏附。其异常表达可以抑制肿瘤细胞生长、迁移、浸润和集落形成。在多种恶性肿瘤中, PCDH10 表达下调或沉默, 被认为是一种肿瘤抑制基因^[5]。

2 PCDH10 甲基化与肿瘤

PCDH10 在人体各系统中广泛表达, 选择性的表达于包膜、突触连接。在胃癌^[6-7]、结直肠癌^[8]、宫颈癌^[9]、非小细胞肺癌^[10]、淋巴瘤^[11]、膀胱癌^[12]、前列腺癌^[13]等多种恶性肿瘤组织和细胞株中 PCDH10 基因启动子甲基化而导致表达下调或沉默, 且这种异常与预后密切相关, 证实 PCDH10 参与肿瘤发生发展的多个环节。在胃癌研究中发现, PCDH10 广泛表达于正常的胃腺上皮细胞和基质细胞, 但在 94% 的胃癌细胞株中表达下调或沉默, 且出现 PCDH10 沉默的患者预后不良^[14-15]。在结直肠癌的研究中, 也有相似的发现, 53 例结直肠癌组织样本中, 41 例表现出 PCDH10 基因的沉默或显著下调, 这种基因的异常

与肿瘤的进展和远处转移密切相关^[16]。此外, Ma 等^[17]发现膀胱癌中 PCDH10 水平下调与肿瘤的分期分级进展、肿瘤增大、复发率升高及生存期降低显著相关。多元分析显示 PCDH10 下调是膀胱癌的独立预后因子, 与肿瘤恶性行为和生存率降低相关。据 Fang 等^[18]报道, PCDH10 表达在 69.2% 的肝癌细胞株中出现下调, 且 PCDH10 下调与肿瘤大小、血清 AFP 水平、有无转移和 TNM 分期密切相关。

3 PCDH10 甲基化在恶性肿瘤中的作用

既往文献报道, PCDH10 是肿瘤抑制基因, 在多种恶性肿瘤中, PCDH10 表达沉默或下调, 恢复 PCDH10 表达可以抑制肿瘤发生、生长、浸润、转移和血管生成, 诱导肿瘤细胞凋亡, 具体情况如下。

3.1 PCDH10 甲基化与肿瘤发生 PCDH10 甲基化程度在正常组织、癌旁及癌组织依次升高, 这一现象提示 PCDH10 甲基化可能参与肿瘤的发生过程。Narayan 等^[19]发现正常宫颈组织、轻度鳞状上皮内瘤变、高度鳞状上皮内瘤变、侵袭性宫颈癌组织中 PCDH10 启动子甲基化的比率分别为 0、13.1%、46%、91%, 正常肝组织、癌旁及肝癌组织中 PCDH10 甲基化检出率分别为 0、40%、76%^[18]。Zhao 等^[20]的研究发现, PCDH10 可抑制 MALAT1 启动子区与 TCF 结合, 从而抑制 WNT/ β -catenin 信号通路活化, 最终导致长链非编码 RNA(lncRNA)MALAT1 的水平下调, 已有文献报道 MALAT1 的致癌作用。因此, 当 PCDH10 高甲基化而下调时, 可上调 MALAT1 表达, 进而促进肿瘤的发生。Zhao 等进一步检测发现 PCDH10 过表达的 AN3CA 和 HEC-1-B 细胞中 Wnt 靶点如 LEF1、TCF1 和 c-MYC 减少, 且 Wnt 通路报告信号 Topflash 荧光素酶活性下调 40%。而 LiCl 处理细胞激活 Wnt 信号通路后, MALAT1 的表达缓慢但显著地上调。上述结果都提示 PCDH10 的肿瘤抑制作用可能是通过“PCDH10-Wnt/ β -catenin-MALAT1”调节轴实现的。

3.2 PCDH10 甲基化与肿瘤增殖 既往文献报道,

PCDH10 启动子甲基化而表达下调与肿瘤增殖能力密切相关,恢复 PCDH10 正常表达的肿瘤细胞生长受到抑制,Li 等^[21]发现该基因在多发性骨髓瘤(MM)的组织和细胞株中表达明显下调或沉默,克隆形成实验、细胞周期分析等证实:转染 PCDH10 基因的 RPMI-8226 生长和集落形成延迟,细胞周期停滞于 G1 期。而 Zhong 等^[22]报道去甲基化处理结肠癌细胞株后,PCDH10 恢复表达,结肠癌细胞的增殖受到抑制。Tang 等^[23]观察到恢复 PCDH10 表达的非小细胞肺癌细胞增殖能力、克隆形成及细胞活性均显著降低。研究进一步推测了 PCDH10 抑制肿瘤增殖的机制:PCDH10 有两个典型的保守细胞内模序,CM1 和 CM2,层粘连蛋白型 EGF 样结构域和 C2HC 型锌指结构域相似,可以调节蛋白间相互作用。虽然迄今为止没有发现直接与 PCDH10 结合的蛋白质,但是稳定转染 PCDH10 的细胞微阵列显示出上调抗增殖和促凋亡基因,这提示 PCDH10 可能通过未知的结构域与其他的生物分子相互作用从而引起了细胞增殖抑制。

3.3 PCDH10 甲基化与肿瘤侵袭和转移 PCDH10 甲基化及其下调与多种肿瘤的分期分级进展及有无转移密切相关,揭示 PCDH10 对肿瘤侵袭和转移的抑制作用。Yu 等^[13]检测 PCDH10 过表达对细胞迁移的作用,对照组单层细胞划痕损伤在 72 h 后痊愈而转染 PCDH10 过表达质粒的实验组的愈合过程明显被抑制。Jao 等^[14]在 SCID 小鼠脾内注射结直肠肿瘤细胞,同时分别注入 PCDH10-c6 细胞及安慰剂,6 周后小鼠肝转移的结果显示:安慰剂组小鼠均出现肝转移(CEA 免疫组化证实),而注入 PCDH10 的小鼠肝中没有发现肿瘤结节。有学者推测 PCDH10 和其他粘附分子一样,是通过加强肿瘤细胞粘附而抑制癌症细胞转移^[21]。

此外,有文献报道 PCDH10 甲基化的其他抗肿瘤作用,如诱导肿瘤细胞凋亡、抑制血管生成,并进一步推测其机制。Li 等^[24]首次报道 PCDH10 能够显著诱导多发性骨髓瘤(MM)细胞的凋亡,增加活化的 caspase-3 和聚 ADP-核糖聚合酶(PARP)的水平,同时抑制抗凋亡蛋白的表达,且 PCDH10 诱导凋亡可能是通过抑制 NF- κ B 途径。另一项多发性骨髓瘤的研究揭示了 PCDH10 与血管生成的关系,转染 PCDH10 基因的细胞在鸡胚绒毛尿囊膜上培养可见鸡胚绒毛尿囊膜上血管分支减少,而对照组和空白组均见血管分支增多^[19]。

4 PCDH10 的应用前景

大量研究均显示,PCDH10 可以准确全面的评

估临床与预后、增加早期诊断的准确性、为治疗策略的选择提供新的证据。在预后评估方面,Deng 等^[25]的研究发现,91.92%的胃癌患者中存在 PCDH10 启动子甲基化,5 个以上的启动子 CPG 位点的甲基化与生存期缩短显著相关。同时,研究证实了 CpG(-115,-108,-13,+3)联合甲基化可以导致胃癌患者生存期缩短。多元分析显示,对 N 期和 T 期的患者来说,CpG(-115,-108,-13,+3)联合甲基化是判断胃癌预后的一个独立因素。因此,PCDH10 启动子甲基化状态可以准确的判断胃癌预后。多项研究证实此发现^[26-27]。Wang 等^[28]最近的研究结果显示 PCDH10 甲基化可以作为前列腺根治性切除术后无生化复发(BCR)生存期的独立预后因子,术后检测肿瘤样本 PCDH10 甲基化可能帮助确定生化复发的高危人群,虽然临床应用之前还需要进一步的研究,但 PCDH10 甲基化可能显著提高预测前列腺癌生化复发水平。最近的一项研究中报道了 PCDH10、SPARC、UCHL1 等 3 种基因启动子的甲基化状态可以作为评估结直肠癌患者的预后的分子标记物,可助于 II 期结直肠癌患者的治疗策略的制定。在早期诊断方面,Lin 等^[29]发现了 PCDH10 甲基化在宫颈刮物中的肿瘤特异性,与高位人类乳头状病毒检测相比,PCDH10 甲基化检测在浸润性宫颈癌中具有更高的特异性,可作为宫颈刮片检查的特异性诊断项目。在大肠癌,Danese 等^[30]报道了 PCDH10 启动子甲基化在早期结直肠癌患者的血浆甲基化率与肿瘤组织甲基化率正相关,提供了从生物角度调节组织和血浆甲基化谱一致性的新视角。在靶向治疗方面,研究发现 PCDH10 表达下调的急性淋巴细胞性白血病细胞株对白血病特异性药物的敏感性降低^[31],而出现 PCDH10 甲基化的 T 细胞和 B 细胞淋巴瘤细胞表现出阿霉素抵抗^[32],这就表明该基因的甲基化状态有助于预测某些肿瘤对化疗药物的反应,为治疗方案的选择提供新的证据,同时 PCDH10 可作为肿瘤治疗的潜在靶基因。

5 总结

目前的研究证实 PCDH10 启动子甲基化下调与多种恶性肿瘤临床病理参数及预后密切相关,因此 PCDH10 甲基化状态可作为恶性肿瘤早期诊断及预后评估的依据。脱甲基化上调 PCDH10 表达的肿瘤细胞生长、浸润、侵袭及转移均受到抑制,因此 PCDH10 可作为肿瘤治疗的潜在靶点。相信深入了解 PCDH10 在肿瘤发生发展中的分子作用机制和信号转导途径,可为恶性肿瘤的早期诊断、靶向治疗及预后评估提供新的思路。

参考文献:

- [1] Kim S Y, Yasuda S, Tanaka H, et al. Non-clustered protocadherin [J]. *Cell Adh Migr*, 2011, 5(2):97
- [2] Hirano S. Pioneers in the ventral telencephalon: The role of OL-protocadherin-dependent striatal axon growth in neural circuit formation[J]. *Cell Adh Migr*, 2009, 1(4):176
- [3] Morrow E M, Yoo S Y, Flavell S W, et al. Identifying autism loci and genes by tracing recent shared ancestry[J]. *Science*, 2008, 321(5886): 218
- [4] Redies C, Hertel N, Huebner C A. Cadherins and neuropsychiatric disorders[J]. *Brain Res*, 2012, 1470: 130
- [5] Ying J, Li H, Seng T J, et al. Functional epigenetics identifies a protocadherin PCDH10 as a candidate tumor suppressor for nasopharyngeal, esophageal and multiple other carcinomas with frequent methylation[J]. *Oncogene*, 2006, 25(7):1070
- [6] Yu B, Yang H, Zhang C, et al. High-resolution melting analysis of PCDH10 methylation levels in gastric, colorectal and pancreatic cancers[J]. *Neoplasma*, 2010, 57(3): 247
- [7] Li Z, Chim J C, Yang M, et al. Role of PCDH10 and its hypermethylation in human gastric cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1823(2): 298
- [8] Heitzer E, Artl M, Filipits M, et al. Differential survival trends of stage II colorectal cancer patients relate to promoter methylation status of PCDH10, SPARC, and UCHL1[J]. *Mod Pathol*, 2014, 27(6):906
- [9] Ying J M, Gao Z F, Li H Y, et al. Frequent epigenetic silencing of protocadherin 10 by methylation in multiple haematologic malignancies[J]. *Br J Haematol*, 2007, 136(6): 829
- [10] Harada H, Miyamoto K, Yamashita Y, et al. Prognostic signature of protocadherin 10 methylation in curatively resected pathological stage I non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Med*, 2015, 4(10):1536
- [11] Narayan G, Xie D, Freddy A J, et al. PCDH10 promoter hypermethylation is frequent in most histologic subtypes of mature lymphoid malignancies and occurs early in lymphomagenesis [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2013, 52(11):1030
- [12] Lin Y L, Li Z G, He Z K, et al. Clinical and prognostic significance of protocadherin-10 (PCDH10) promoter methylation in bladder cancer[J]. *J Int Med Res*, 2012, 40(6):2117
- [13] Li Z S, Li W J, Xie J, et al. Epigenetic inactivation of PCDH10 in human prostate cancer cell lines[J]. *Cell Biol Int*, 2011, 35(7):671
- [14] Yu J, Cheng Y Y, Tao Q, et al. Methylation of protocadherin 10, a novel tumor suppressor, is associated with poor prognosis in patients with gastric cancer[J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(2): 640
- [15] Ho u Y C, Deng J Y, Zhang R P, et al. Evaluating the clinical feasibility: The direct bisulfite genomic sequencing for examination of methylated status of protocadherin10 (PCDH10) promoter to predict the prognosis of gastric cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2015, 15(5):567
- [16] Jao T M, Tsai M H, Lio H Y, et al. Protocadherin 10 suppresses tumorigenesis and metastasis in colorectal cancer and its genetic loss predicts adverse prognosis[J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(11):2593
- [17] Ma J G, He Z K, Ma J H, et al. Downregulation of protocadherin-10 expression correlates with malignant behaviour and poor prognosis in human bladder cancer[J]. *J Int Med Res*, 2013, 41(1): 38
- [18] Fang S, Huang S F, Cao J, et al. Silencing of PCDH10 in hepatocellular carcinoma via de novo DNA methylation Independent of HBV infection or HBX expression[J]. *Clin Exp Med*, 2013, 13(2):127
- [19] Narayan G, Scotto L, Neelakantan V, et al. Protocadherin PCDH10, involved in tumor progression, is a frequent and early target of promoter hypermethylation in cervical cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2009, 48(11): 983
- [20] Zhao Y, Yang Y, Trovik J, et al. A novel wnt regulatory axis in endometrioid endometrial cancer[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(18):5103
- [21] Li Y, Yang Z S, Song J J, et al. Protocadherin-10 is involved in angiogenesis and methylation correlated with multiple myeloma[J]. *Int J Mol Med*, 2012, 29(4): 704
- [22] Zhong X, Zhu Y, Mao J, et al. Frequent epigenetic silencing of PCDH10 by methylation in human colorectal cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, 139(3): 485
- [23] Tang X K, Yin X E, Xiang T X, et al. Protocadherin 10 is frequently downregulated by promoter methylation and functions as a tumor suppressor gene in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2012, 12(1):11
- [24] Li Z, Yang Z, Peng X, et al. Nuclear factor- κ B is involved in the protocadherin-10-mediated pro-apoptotic effect in multiple myeloma [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(2): 832
- [25] Deng J, Liang H, Ying G, et al. Clinical significance of the methylated cytosine-phosphate-guanine sites of protocadherin-10 promoter for evaluating the prognosis of gastric cancer[J]. *J Am Coll Surg*, 2014, 219(5): 904
- [26] Schneider B G, Mera R, Piazzuelo M B, et al. DNA methylation predicts progression of human gastric lesions[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2015, 24(10): 1607
- [27] Wang L, Xie P G, Lin Y L, et al. Aberrant methylation of PCDH10 predicts worse biochemical recurrence-free survival in patients with prostate cancer after radical prostatectomy[J]. *Med Sci Monit*, 2014, 20: 1363
- [28] Lin C J, Lai H C, Wang K H, et al. Testing for methylated PCDH10 or WT1 is superior to the HPV test in detecting severe neoplasms (CIN3 or greater) in the triage of ASC-US smear results[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2011, 204(1): 21
- [29] Danese E, Minicozzi A M, Benati M, et al. Epigenetic alteration: new insights moving from tissue to plasma - the example of PCDH10 promoter methylation in colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(3):807
- [30] Narayan G, Freddy A J, Xie D X, et al. Promoter methylation-mediated inactivation of PCDH10 in acute lymphoblastic leukemia contributes to chemotherapy resistance[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2011, 50(12): 1043

(2015-10-22 收稿)