

# 关于野生型 P53 诱导的磷酸酶 1 的研究进展

李婕妤<sup>1</sup> 顾笑梅<sup>2\*</sup>

(1.华北理工大学 2.华北理工大学附属唐山市妇幼保健院)

摘要：野生型 P53 诱导的磷酸酶 1 (wild-type p53-induced phosphatase 1, wip1) 是属于 PP2C 家族的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶，通过激活 P38 丝裂原活化蛋白激酶 (P38MAPK)、共济失调毛细血管扩张突变 (ataxia telangiectasia-mutated, ATM)、细胞周期检测点激酶 1 (Chk1)、细胞周期检测点激酶 2 (Chk2) 参与细胞增殖、衰老、自噬、程序性死亡等过程，与其他致癌基因协同发挥促癌作用<sup>[1]</sup>，大量前期研究发现 wip1 在肿瘤组织中广泛表达，例如：乳腺癌、胃癌、肝癌、卵巢癌、胶质细胞瘤等。同时 Wip1 通过负反馈调节 P53 参与 DNA 损伤反应，在维持细胞稳态方面发挥重要作用，具有很高的研究价值和临床意义。

正文：wip1 基因是目前研究领域中热门的促癌基因，广泛参与多种病理生理过程，当机体受到损伤刺激，则通过直接、间接的方式，促进癌症发展、所涉及相关疾病进展或转归。因此本文就上述方面展开综述。

## 1. wip1 的发现

wip1 基因主要位于细胞核中，是属于 PP2C 家族的丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶，通常依赖  $Mg^{2+}$  或  $Mn^{2+}$  在  $\gamma$  射线、电离辐射、光电刺激及毒物诱导下被激活。由 PPM1D (Protein phosphatase magnesium-dependent 1 delta) 基因编码，人 wip1 与小鼠 wip1 染色体位置相近，二者 PPM1D 有着高度同源性。

## 2. wip1 与癌症的关系

DNA 携带合成 RNA 和蛋白质所必需的遗传信息，是生物体发育和正常生理活动不可缺少的生物大分子。在环境压力 (例如：紫外线、热暴露、营养缺乏) 下往往发生 DNA 损伤。为了维持遗传信息的准确传递，真核细胞进化出了 DNA 损伤反应 (DNA damage repair, DDR)，当发生 DDR 时检查点被激活，下游细胞周期蛋白依赖性激酶能够诱导细胞周期阻滞，DNA 损伤得以修复，细胞恢复正常的复制分裂。当损伤严重时激活下游 P53 以及参与 DNA 损伤反应通路中的 P38MAPK、ATM、Chk1、Chk2 及细胞程序性死亡相关激酶<sup>[2]</sup>，细胞发生癌变、衰老、死亡，从而促进肿瘤的形成。P53 在 DNA 损伤的情况下，通过激活促凋亡基因、与胞浆及线粒体膜上的凋亡因子发挥促凋亡作用。wip1 是 P53 的强负反馈因子，同理参与上述信号通路中<sup>[3]</sup>。Wip1 通过修复 DNA 损伤反应，减少细胞凋亡，避免影响细胞周期、线粒体功能。在浆液性卵巢癌中 Wip1 通过 STAT3-VEGF 信号通路抑制血管生成<sup>[13]</sup>。在人肝癌细胞中 wip1 参与适应地塞米松、肾上腺素、去甲肾上腺素所诱导的 DNA

损伤反应。在结直肠癌中研究发现由 PPM1 基因扩增导致的 wip1 过表达，同时通过抑制 ATM 的磷酸化来限制 DDR 反应，导致肿瘤的进展。

Wip1 在各组织器官广泛表达，在肿瘤组织中往往高表达，通过不同信号通路调控不同的生理活动，当前研究主要集中在恶性肿瘤方面，促进肿瘤发生主要途径是激活促癌通路，包括 p53、p38MAPK、ATM、CHK2 等。王<sup>[4]</sup>等人通过免疫组化发现乳腺癌组织中 wip1 的表达高于癌旁组织及正常乳腺组织，同时与乳腺癌的生存期、临床分期、肿瘤大小、淋巴结转移密切相关。随后，wip1 在其他肿瘤中的作用陆续被发现，包括肝癌、胃癌、胰腺癌、结直肠癌、肺癌等。卵巢透明细胞癌 (OCCC) 是恶性程度较高的卵巢癌类型之一，早期 OCCC 往往通过手术治疗即可治愈，但晚期时常因化疗耐药而预后不佳<sup>[5]</sup>。此前已有报道称，编码 wip1 的 PPM1D mRNA 高表达与 OCCC 患者的低生存率显著相关<sup>[6]</sup>。Wip1 可能是提高晚期 OCCC 化疗敏感性和不良结局的理想靶点。经典的 P53 通路参与很多生理活动，例如诱导细胞凋亡、控制细胞周期进程、DNA 损伤修复。在肿瘤细胞中 P53 触发致癌信号，激活视网膜母细胞瘤蛋白的表达，从而促进细胞衰老，延缓肿瘤细胞清除。P53 是主要负责基因转录调控的特异性 DNA 结合蛋白，早在脊椎动物和果蝇中就已经发现了 P53 的蛋白同源异构体<sup>[7]</sup>，这说明 P53 的功能和调节生理活动的复杂性。Wip1 基因是 P53 的调控基因。正常情况下细胞内存在 P53-wip1 负反馈调节系统。当上游靶蛋白出现堆积时。通过针对 p53-wip1 的靶向治疗或调控作用，研发有高效抗癌的药物有望成为治疗肿瘤的新手段。

恶性肿瘤主要的治疗手段除了手术，化疗、放疗仍然是关键的治疗方式，癌细胞具有侵犯全身器官的特点，最大的特征是复发和

远处转移,手术切除只能解决局部问题,化学治疗才能满足全身性治疗。化疗耐药是治疗恶性肿瘤过程中最常见的问题之一,多项研究已经证实沉默 wip1 基因可提高肿瘤细胞的化疗敏感性,增加癌细胞的凋亡率。P-糖蛋白(P-gp)主要存在于正常肝脏细胞、胎盘上皮细胞、小肠上皮细胞等起到保护机体不受外界刺激干扰。多项研究表明宫颈瘤化疗耐药性的产生与 p-gp 的上调相关<sup>[8]</sup>。p-gp 在肿瘤细胞中表达,与磷脂酰肌醇-3-羟基酶(phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, P13K)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine protein kinase, Akt)、核转录因子-KB(NF-kB)等多种相关信号通路。在多发骨髓瘤细胞中 wip1 过表达组通过上调 P-糖蛋白(p-gp)表达,降低对化疗药物的敏感性。Wip1 能激活 NF-kB 信号通路<sup>[9]</sup>,使肿瘤细胞获得干细胞样特性,获得多药耐药性。对于结肠癌中 5-氟尿嘧啶、奥沙利铂化疗的患者,下调 wip1 基因的表达可能会激活 P53 相关通路诱导细胞凋亡,提高化疗敏感性。将不同剂量射线处理后的胶质瘤细胞 wip1 基因沉默,发现细胞增殖能力显著下降。同源结构域相互作用蛋白激酶 2(HIPK2)是一种抑癌基因<sup>[10]</sup>,研究发现 wip1 与 HIPK2 结合发生磷酸化,而导致 wip1 表达量维持在较低水平,当 HIPK2 缺失或活性受损时,在结直肠癌及乳腺癌中 wip1 表达量增高,与淋巴转移数量、临床分期、预后呈正相关。利用基因敲除小鼠建立部分肝缺血再灌注模型以研究 Wip1 基因敲除后对肝脏的影响,发现可能与 wip1 敲除后促进 P13K/AKT/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路进一步激活,并通过下游蛋白对细胞凋亡的调控完成<sup>[11]</sup>。自噬是一种不易受外界干扰的细胞自我代谢机制,根据肿瘤细胞的差异性,自噬既促进肿瘤细胞的增殖,又可诱导其发生程序性死亡提高肿瘤的放化疗敏感性。在急性胰腺炎中 Wip1 通过 STING/TBK1/IRF3 诱导细胞自噬和炎症反应。

因此研究 wip1 抑制剂能够维持基因组的稳定性、防止癌症形成,有望成为治疗癌症的新方向。

### 3.Wip1 的生理作用

机体为了防止机体在受到外界刺激时基因组发生突变、单双链断裂,细胞演化形成 DNA 损伤反应机制来维持基因组完整性。Wip1 与多种蛋白相互协同发挥生理作用,参与机体稳态调节,例如细胞能量代谢、蛋白磷酸化、细胞周期。DNA 损伤后, P53 介导转录因子 cMAP 反应原件结合蛋白/激活转录因子的表达,促进 wip1 蛋白的翻译和表达。wip1 作为 P53 的强负反馈因子, Wip1 通过去磷酸化 DNA 损伤反应蛋白,来抑制应激反应,终止 DNA 损伤。因此可

以抑制凋亡、减少炎症因子的产生。P53 参与细胞周期的进行,加快神经干细胞的生成,维持神经系统的稳态, wip1 抑制其活性导致细胞周期停滞。Wip1 敲除小鼠表现出免疫缺陷、胸腺和脾脏发育不良、T 细胞和 B 细胞分化缺陷以及对病毒的易感性,同时 wip1 敲除小鼠在炎症性肠病模型中表现出皮肤与肠道的促炎表型,炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-2 水平升高。在 293T 中敲低 wip1 之后,细胞内 H2AX 磷酸化(Gamma-H2A histone family memberX,  $\gamma$ -H2AX)的表达明显高于对照组<sup>[12]</sup>。DNA 损伤发生时,组蛋白 H2AX 磷酸化形成  $\gamma$ -H2AX,而 wip1 使  $\gamma$ -H2AX 去磷酸化,防止 DNA 过度损伤,保证遗传信息完整性。由此证明 Wip1 主要参与 DNA 损伤修复方式中的同源重组(Homologous Recombination, HR)。毛细血管共济失调突变蛋白(ataxia-telangiectasia mutated protein, ATM)是与 DNA 损伤反应相关的重要基因,ATM 缺乏研究发现 wip1 通过 ATM-P53 信号传导通路降低活化的 AKT、mTOR 和 S6 核糖体蛋白水平,敲除 wip1 的小鼠伤口愈合过程明显延迟,同时出现小鼠伤口周围皮肤溃烂。Wip1 参与多种病理生理过程,除了促癌机制,在免疫炎症调节、脂肪沉积方面也发挥了重要的作用。CCAAT/增强子结合蛋白(C/EBP)转录因子家族以及过氧化物酶体增殖物活化受体  $\gamma$ (PPAR  $\gamma$ )调控脂肪细胞的分化。Yin 等<sup>[13]</sup>发现敲除 wip1 小鼠脂肪细胞后分化水平急剧下降, PPAR  $\gamma$  等代表脂肪生成的相关基因表达下调,在不同生长阶段(15 日龄、6 周龄和 5 月龄)小鼠中,5 月龄小鼠 wip1 表达量极显著高于其余两组。

子痫(preeclampsia, PE)是严重危及母儿安全的妊娠合并症,其病因及发病机制尚未完全明确的,目前缺乏有效预防手段。有研究表明 PE 的发生往往有家族聚集性及脂代谢异常。其中子宫螺旋动脉痉挛,重构不充分导致胎盘缺氧和过度氧化是主要病理生理过程。研究胎盘组织和构建滋养细胞缺氧模型发现, wip1 主要在孕晚期子痫患者胎盘中高表达,其中涉及到何种调控机制还需要进一步研究。动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是通常导致冠状动脉和脑血管疾病的基础,同样具有脂质堆积、血管受损的病理特征,随着该过程的逐渐演化动脉管壁逐渐狭窄,影响靶器官的血流供应,功能受损;严重时引起局部血栓的形成,导致急性心血管疾病的发生甚至危及生命。研究发现, wip1 可通过单磷酸腺苷激活蛋白激酶参与调控 mTOR 通路,导致动脉内膜中炎症因子激活,最终引起 AS 导致血管再狭窄方面发生了很多变化,高脂肪高盐饮食使得急性心肌梗死发病率逐年升高,同时 45 岁以下人群患病率呈上升趋势

势。大中动脉管壁中的脂质黏附在管壁上,逐渐沉积形成粥样斑块,当机体受到精神刺激、剧烈运动血管收缩,导致血流不畅心肌相应缺血坏死,发生心肌梗死。心肌梗死与动脉粥样硬化相关,而 wip1 促进动脉粥样硬化形成。有人猜想 wip1 是否影响心功能,是否会影响到心脏组织中相关基因及蛋白的表达,课题组构建敲除 wip1 小鼠对小鼠行心脏超声评估心功能发现,两组小鼠相关凋亡蛋白没有明显差异<sup>[14]</sup>,但敲除组小鼠心功能降低、心脏体积增大,具体机制还需要后续进一步研究。为探究 wip1 在急性胰腺炎中发挥何种作用,采用雨蛙素构建大鼠模型发现, wip1 可能通过介导 STING-TBK1 的调控参与急性胰腺炎发生发展<sup>[15]</sup>。

神经元作为高级生物神经系统的功能单位,通过不断更新发挥功能。神经祖细胞(neural progenitor cells, NPC)对神经顺应性、学习、记忆等多种功能有着重要的作用,多能干细胞不断释放神经祖细胞, wip1 通过抑制 p38 MAPK 通路<sup>[16]</sup>,强化祖细胞的自我更新周期。然而另一项研究表示,有丝分裂过程中抑制 p38 MAPK,神经祖细胞数量降低、自我更新能力减弱,表示 wip1 参与 NPC 的生物学效应。

T 细胞和 B 细胞是免疫系统中的重要组成部分,在识别、消灭感染及炎症部分的病原体或异常细胞发挥关键作用。T 细胞来源于骨髓的多能干细胞,在人体胚胎初期和婴儿时期,骨髓中的一部分多能干细胞或前 T 细胞迁移到胸腺内分化成熟,成为具有免疫活性的 T 细胞。发现幼年小鼠敲除 wip1 后,与对照组相比胸腺细胞数量减少、凋亡率升高。B 细胞在骨髓中发育成熟,作用及功效主要包括免疫调节、清除体内的肿瘤细胞,从而达到预防肿瘤的效果。同时具有调节血糖浓度,降低胰岛细胞凋亡等作用及功效。研究表明 wip1 在前体 B 细胞发育成熟为 B 细胞的过程中,参与调节与激活作用。同时延长 B 细胞的生理周期,使其发挥更高效的免疫调节作用。胰岛素能够通过 wip1-ATM-P53 途径促进脂肪合成,抑制肝糖原的分解,从而达到降低血糖的目的。

研究发现肢端肥大症、生长激素水平升高及生长激素肿瘤的患者体内,均检测出高 wip1 表达,提出生长激素(GH)可能诱导 wip1 表达, GH 诱导 WIP1 导致 DDR 抑制, ATM、CHK2、H2AX 和 p53 的磷酸化降低, DNA 损伤反应加剧。反之如果抑制 wip1 可以通过 ATM 和其他 DDR 蛋白的磷酸化来逆转 GH 诱导的 DNA 损伤。为证明 GH/wip1 相互作用的机制,发现 GH 通过激活 Src/AMPK 磷酸化<sup>[17]</sup>,触发 HIPK2 核向细胞质迁移,从而解离 HIPK2-wip1 复合物,抑制

wip1 泛素化,从而增加 wip1 的稳定性。这些结果证明了生长激素的新作用途径。同时 GH 导致 DNA 损伤反应修复功能减弱,并伴随细胞转化、细胞周期检查点蛋白(包括 ATM、CHK2 和 ATR 激酶)失活,这是导致恶性肿瘤的发生和进展所必需的。

细菌性肺炎是秋冬季最常见的流行性感染性疾病,致病菌以肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯杆菌、铜绿假单胞菌为主,肺炎的并发症中严重脓毒症易发生感染性休克,好发于免疫力低下下的学龄前儿童和老年人,因此如何准确、快速识别细菌性肺炎是关键。白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 8(IL-8)、C-反应蛋白(CRP)、血清降钙素原(PCT)等感染指标对诊断和治疗有一定的意义,但因为医疗水平差异准确性较差。徐[7]通过比较健康人群与细菌性肺炎患者血清中 wip1 表达量与外周血 PCT、IL-6、CRP 水平,发现 wip1 与其他炎症感染指标相比存在高度特异性与敏感性<sup>[18]</sup>,因此 wip1 可能是细菌感染性疾病的潜在标志物,为疾病的鉴别及诊断提供新方法。

目前关于 wip1 在遗传学方面的研究主要集中在生殖领域,生活习惯、射线毒物、生活方式、吸烟及酗酒都可以降低精子存活导致不育。精子活力的强弱不仅决定受精卵的着床能力,还可能引发胚胎停育、发育畸形等不良妊娠结局,因此研究影响 wip1 与人类精子之间的关联性为目前热点领域。睾酮是一类类固醇激素,由男性的睾丸或女性的卵巢分泌,是雄激素最主要的构成部分,促进男性第二性征发育、促进蛋白合成和肌肉生长。精子发生发育依赖睾酮激素的支持, wip1 敲除小鼠血清中睾酮含量显著降低,同时阻碍精子的生成与活性,进一步研究表明 wip1 基因通过 ATM、Wnt 信号通路而调控精子发生发育过程<sup>[19]</sup>。邱<sup>[20]</sup>等人利用哺乳动物模型,以 wip1 敲除组为实验组,不做任何处理组为对照组,发现在雄性生殖组织睾丸中 wip1 高表达,且 wip1 与血清睾酮含量正相关。

#### 结语

随着研究的深入和进展, Wip1 基因在恶性肿瘤中所发挥的作用逐渐被发现。通过影响不同的信号通路, wip1 影响各类肿瘤细胞与疾病的发展中发挥重要作用。这些研究提供了对于疾病治疗的新方向。为分子靶向药的研发提供新的理论依据, wip1 抑制剂和 wip1 激活剂的开发将是对相关疾病治疗的一项有效措施。

#### 参考文献:

- [1]Oghabi Bakhshaiesh T, Majidzadeh-A K, Esmaceli R. Wip1: A candidate phosphatase for cancer diagnosis and treatment [J]. DNA Repair (Amst), 2017, 16(54): 63–66
- [2]杨德华,王明军,于龙飞,等. p16/p38 MAPK/p53/Wip1 通路在乳腺癌发生、发展中的作用及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志,2010,27(8):1086–1087
- [3]务春瑞.AMPK 通过 WIP1 调控 DNA 损伤修复的分子机制研究[D].华中科技大学
- [4]王楠,冯保亮,郑云曦等.WIP1 基因对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖分化的影响及其在小鼠不同生长阶段的表达[J].中国畜牧兽医,2022,49(08):2869–2879
- [5]Li D ,Zhang L ,Huang X , et al.WIP1 Phosphatase Plays a Critical Neuroprotective Role in Brain Injury Induced by High-Altitude Hypoxic Inflammation[J]. Neuroscience Bulletin,2017,33(03):292–298.
- [6]宋颖辉,余张涛,李雪鹏等.Wip1 通过 STING-TBK1 信号通路调控急性重症胰腺炎的进展[J].实用休克杂志(中英文),2020,4(05):277–282.
- [7]徐辉,徐朝晖,沈克彦等.细菌性肺炎儿童外周血中性粒细胞中 Wip1 的表达和临床意义[J].西部医学,2020,32(05):717–721.
- [8]王鹏.Wip1 在结直肠癌发生发展过程中的调控机制研究[D].北京协和医学院,2019.
- [9]刘可美.Wip1、 $\alpha$ B-crystallin 和 HspB2 在心肌损伤中的作用研究[D].北京协和医学院,2017.
- [10]Apaydin T, Zonis S, Zhou C, Valencia CW, Barrett R, Strous GJ, Mol JA, Chesnokova V, Melmed S. WIP1 is a novel specific target for growth hormone action. iScience. 2023 Oct 4;26(11):108–117.
- [11]Su Z ,Yueyue X ,Yingying C , et al.The inhibition of WIP1 phosphatase accelerates the depletion of primordial follicles.[J].Reproductive biomedicine online,2021,43(2):161–171.
- [12]邱乙卿,高倩,魏迎辉等. 小鼠 Wip1 基因的表达及其对受精能力的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46 (10): 3007–3015.
- [13]Yin S, Yang L, Zheng Y, Zang R. Correction: Wip1 suppresses angiogenesis through the STAT3-VEGF signalling pathway in serous ovarian cancer. J Ovarian Res. 2022 Jul 10;15(1):82. doi: 10.1186/s13048-022-01017-w. Erratum for: J Ovarian Res. 2022 May 10;15(1):56. PMID: 35821053; PMCID: PMC9277843.
- [14]Hirasawa A, Saito-Ohara F, Inoue J, Aoki D, Susumu N, Yokoyama T, et al.Association of 17q21-q24 gain in ovarian clear cell adenocarcinomas with poor prognosis and identification of PPM1D and APPBP2 as likely amplification targets. Clin Cancer Res. 2003;9:1995 – 2004.
- [15]Tugce A ,Svetlana Z ,Cuiqi Z , et al.WIP1 is a novel specific target for growth hormone action.[J].iScience,2023,26(11):108117–108117.
- [16]Yifang C ,Chenxu Z ,Han G , et al.Wip1 inhibits neutrophil extracellular traps to promote abscess formation in mice by directly dephosphorylating Coronin-1a.[J].Cellular molecular immunology,2023,20(8):941–954.
- [17]Nanze Y ,Tianhao L ,Zikai Q , et al.Wip1 regulates wound healing by affecting activities of keratinocytes and endothelial cells through ATM-p53 and mTOR signaling.[J].Burns : journal of the International Society for Burn Injuries,2023,49(8):1969–1982.
- [18]Jihyun L ,Jongdoo K ,Mi E K , et al.p21WAF1/CIP1 promotes p53 protein degradation by facilitating p53-Wip1 and p53-Mdm2 interaction[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,2021,54323–28.
- [19]Lenka S ,Petra K ,Marketa J , et al.CHEK2 Germline Variants in Cancer Predisposition: Stalemate Rather than Checkmate.[J].Cells,2020,9(12):
- [20]Can S A ,Lele W ,Feng Q N , et al.: an evolutionarily conserved lncRNA essential for licensing coordinated activation of p38 and NF- $\kappa$ B in colitis[J].Gut,2020,70(10):1857–1871.
- 作者简介：李婕妤，女，汉族，1994年8月，甘肃天水，在读硕士研究生，妇产科学
- 通讯作者：顾笑梅，女，1978年2月，河北唐山，医学硕士，妇产科学