

# Research Progress of PHLPP2 on Tumor Expression

Yaowei Wang Chunli Liu\*

Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China

## Abstract

Tumors pose a serious threat to human life and health, therefore exploring efficient methods for early diagnosis, treatment, and prognosis of tumors has always been a research focus in the medical field. In recent years, a large number of studies have found that PHLPP2 has shown great potential in tumor treatment. PHLPP2 is a serine/threonine phosphatase, and Dr. Alexandra Newton first discovered that PHLPP is an effective tumor suppressor. Currently, research has confirmed that PHLPP2 can inhibit cell growth and survival through the dephosphorylation of substrates such as the AGC kinase family, protein kinase C (PKC), ribosomal protein S6 kinase (S6K), and macrophage stimulating protein 1 (Mst1), and promote tumor inhibition. The paper will review the function, signaling pathway, and research progress of PHLPP2 expression in various types of tumors, aiming to provide new targets for tumor treatment.

## Keywords

PHLPP2; tumor; progress

# PHLPP2 对肿瘤表达的研究进展

王耀伟 刘春丽\*

承德医学院附属医院, 中国·河北承德 067000

## 摘要

肿瘤严重威胁着人类的生命健康, 因此探索高效的肿瘤早期诊断、治疗和预后方法一直是医学领域的研究重点。近年来, 有大量研究发现PHLPP2在肿瘤治疗方面展示出了巨大潜力。PHLPP2是一种丝氨酸/苏氨酸磷酸酶, 亚历山德拉·牛顿 (Alexandra Newton) 博士首次发现PHLPP是一种有效的肿瘤抑制因子, 目前研究中, 已经证实PHLPP2可以通过AGC激酶家族、蛋白激酶C (PKC)、核糖体蛋白S6激酶 (S6K) 和巨噬细胞刺激蛋白1 (Mst1) 这些底物的去磷酸化抑制细胞生长和存活, 并促进肿瘤抑制。论文将对PHLPP2的功能、信号通路以及其在各类肿瘤中表达的研究进展进行综述, 旨在为肿瘤治疗提供新的靶点。

## 关键词

PHLPP2; 肿瘤; 进展

## 1 引言

肿瘤一直是医学领域研究的焦点, 然而, 其发生发展是一个复杂的、综合的过程, 一些基因在多种肿瘤中发挥了作用。因此, 对相关肿瘤基因进行泛表达分析, 验证其与临床预后的对应关系及潜在的分子机制非常关键。近年来, 有大量研究发现 PHLPP2 在各类疾病的治疗中发挥有效的作用, 尤其在肿瘤治疗方面展示出了巨大潜力。PHLPP2 (PH 结构域富亮氨酸重复蛋白磷酸酶 2) 属于丝氨酸/苏氨酸磷酸酶家族的成员, 包含 PH 结构域后跟富亮氨酸重复序列区域, PP2C 磷酸酶结构域和 C 端 PDZ 配体结构域。在现阶段的研究中, 已被证明可通过 AGC 激酶家族、蛋白激酶 C (PKC)、核糖体蛋白 S6 激酶 (S6K) 和巨噬细胞刺激蛋白 1 (Mst1) 这些底物的去磷酸化抑制细胞生长和存活, 并

促进肿瘤抑制。比如其在胃癌组织中表达比癌旁的组织更高, 而在结肠癌组织中的 PHLPP2 表达水平明显下降<sup>[1]</sup>。论文将总结 PHLPP2 在肿瘤中表达的相关研究, 并对其研究进展进行综述, 以期能为肿瘤治疗提供新的靶点。

## 2 PHLPP2 的化学结构、作用机制

PH 结构域富含亮氨酸的重复蛋白磷酸酶 2 (PHLPP2), 是丝氨酸/苏氨酸磷酸酶家族的成员, 包含 PH 结构域后跟富亮氨酸重复序列区域, PP2C 磷酸酶结构域和 C 端 PDZ 配体结构域。此外, PHLPP2 在 PH 结构域之前包含一个 Ras 关联结构域<sup>[1]</sup>。AGC 激酶家族介导一系列重要的细胞功能, 它们的失调与许多人类疾病的发病机制密切相关, 尤其与癌症密切相关<sup>[2]</sup>。然而 PHLPP2 催化 AGC 激酶 AKT, PKC 和 S6 激酶上保守调节基序 (疏水基序) 的脱磷酸化, 以及激酶 Mst1 上的抑制位点, 以抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡。在 AKT 的情况下<sup>[3]</sup>, 该位点的去磷酸化 (AKT1 的 Ser-473) 降低其内在催化活性, 导致细胞凋亡增加和增殖减少<sup>[4]</sup>会破坏 PKC 的稳定性并将其分流到降解途径; 在 S6K 的情况下, 疏水基序 (Thr-389) 的去磷酸化会降低其

【作者简介】王耀伟 (1997-), 男, 中国河南平顶山人, 在读硕士, 从事耳鼻咽喉头颈外科研究。

【通讯作者】刘春丽 (1976-), 女, 满族, 中国河北承德人, 博士, 主任医师, 从事耳鼻咽喉头颈外科研究。

活性,从而降低蛋白质翻译的功能后果<sup>[5]</sup>。因此,PHLPP2通过其疏水基序的选择性去磷酸化来终止三种AGC激酶的信号传导。PHLPP2去磷酸化以抑制细胞存活的另一种底物是Mst1<sup>[6]</sup>。Mst1信号通路是细胞存活的关键调节因子,在肿瘤发生过程中经常被灭活<sup>[7]</sup>。通过与自身抑制位点(Thr-387)的Mst1结合和去磷酸化,PHLPP2激活Mst1信号通路,导致下游促凋亡MAPK通路的激活<sup>[6]</sup>。因此,PHLPP2的抗增殖和凋亡诱导作用不仅通过AKT/PKC前生途径的失活,而且通过激活Mst1控制的促凋亡途径来介导除了对细胞存活的影响外,PHLPP还参与各种生理过程,包括昼夜节律,记忆形成和T细胞发育<sup>[9]</sup>。

### 3 PHLPP2在不同肿瘤中的表达情况

PHLPP2与多种肿瘤疾病发生、发展有密切关系,临床研究中将其作为潜在治疗靶点。在中国,结直肠癌(Carcinoma of colon and rectum, CRC)的发病率和死亡率较高,仅次于肺癌、胃癌和肝癌,结直肠癌是一种异质性疾病,且发病机制复杂,近些年其发病率持续上升。Wu<sup>[8]</sup>等用免疫组化法检测PHLPP2、PI3KCA和PI3KCB在130例CRC和正常组织中的表达,发现PHLPP2在CRC中的阳性率为22.31%,远远低于在正常组织中91.54%的阳性率,而PI3KCA、PI3KCB、p-Akt1、VEGF、Bcl-2、Cyclin-D1在CRC中的阳性率明显高于正常组织。这一研究结果表明,上述生物学现象可能是通过PHLPP/AKT和PHLPP/PKC途径实现的。除此之外,Xiong<sup>[9]</sup>等研究发现,在CRC中PHLPP2的低表达会使Nrf2-ARE信号通路表达升高。而通过一项挽救实验,WB和qRT-PCR结果证实,向PHLPP2过表达的CRC细胞施用Nrf2的选择性化学激动剂萝卜硫素可逆转PHLPP2过表达诱导的Nrf2降低。由此,可以得出结论,PHLPP2通过选择性调节Nrf2的表达来抑制CRC细胞的干性,此外还通过流式细胞术实验证明PHLPP2的过表达显著增加CRC细胞中的调节活性氧(Regulating reactive oxygen species, ROS)水平,已有研究表明低ROS水平对于维持CRC细胞的干性至关重要,而ROS水平升高会促进CRC干细胞的分化,现有研究已表明Nrf2在调节活性氧(ROS)中发挥的关键作用,由此可得出PHLPP2、Nrf2-AER通路和ROS水平之间的潜在联系,通过PHLPP2通过抑制Nrf2-ARE信号通路和增加ROS水平,影响CRC细胞的干性,作为CRC中的抑癌基因。上述抗癌分子机制表明PHLPP2可以通过调控多个下游靶点来调节CRC细胞的干性,PHLPP2与肿瘤发生发展的关系及其分子机制具有重要意义,对评估结直肠癌的预后和抑制肿瘤发展具有重要意义。

下咽鳞状细胞癌(Hypopharyngeal squamous cell carcinomas, HSCC)约占所有头颈癌的5%~15%,在头颈部最具侵袭性,预后最差。目前,HSCC的主要治疗策略是手术后放疗,目前还没有一种令患者满意的治疗方法,估计5年

生存率只有25%~40%,HSCC预后较差可能是由于早期发现不足且转移率高。zhou<sup>[10]</sup>等采用逆转录聚合酶链反应定量和免疫组化法检测HSCC组织中PHLPP1和PHLPP2的表达水平,发现大多数非癌组织表现出高表达水平PHLPP1和PHLPP2,而PHLPP2在的肿瘤组织中表达显著降低,采用逆转录聚合酶链反应定量和免疫组化法检测PHLPP1和PHLPP2的表达水平,肿瘤样本中PHLPP1和PHLPP2 mRNA转录水平显著低于配对的邻近非肿瘤粘膜,大多数非癌组织表现出高表达水平的PHLPP1和PHLPP2。两种PHLPP亚型的表达均与肿瘤临床分期、分化和颈部淋巴结转移显著相关,但是与肿瘤T分期显著相关的是PHLPP1,而不是PHLPP2。PHLPP1和PHLPP2低表达与HSCC患者总生存期(Overall survival, OS)差相关。然而通过单因素Cox回归分析及多因素Cox回归分析提示,PHLPP1是OS的独立预后因素,PHLPP2蛋白水平可能在HSCC中发挥重要作用,但并不能确定为独立的预后指标。

胶质瘤(Glioma)是一种原发性颅内肿瘤,具有多种组织学亚型,包括星形细胞瘤、多形性胶质母细胞瘤、少突胶质细胞瘤以及混合肿瘤。胶质瘤通常表现为明显的侵袭性和异质性,目前恶性胶质瘤的治疗方法是化疗和放疗的联合治疗。尽管试图改进治疗方案,但胶质瘤患者的5年生存率仍然很低。Agarwal<sup>[11]</sup>等学者采用逆转录聚合酶链反应定量和免疫组化法证实胶质瘤级别越高,胶质瘤细胞中检测到的PHLPP2越低,且低PHLPP2表达与高PHLPP2表达的胶质母细胞瘤病例之间的生存分析显示,PHLPP2低表达病例的生存期显著缩短。这些研究结果表明PHLPP2可能是一种癌症进展标志物。Peng<sup>[12]</sup>等学者通过逆转录定量聚合酶链反应(RT-qPCR)证实PHLPP2的高表达会抑制神经胶质瘤干细胞(GSCs)的增殖,而蜗牛家族转录抑制因子2(SNAI2)的高表达会促进了GSCs的增殖,随后通过染色质免疫沉淀、RT-qPCR和琼脂糖凝胶电泳检测,SNAI2与PHLPP2的启动子区结合并抑制PHLPP2的转录,而SNAI2抑制PHLPP2,导致AKT通路的激活来调控GSC的增殖。除此之外,Chen<sup>[13]</sup>等学者研究发现microRNA-372(miR-372)通过直接靶向PHLPP2的3'-非翻译区(3'-UTR)来调节其表达,并且miR-372的表达与胶质瘤样本中PHLPP2的表达呈负相关,此外miR-372低表达抑制了PI3K/AKT通路主要成分AKT、mTOR和P70S6K的磷酸化水平,综上,miR-372及SNAI2因子可显著降低胶质瘤细胞中PHLPP2蛋白的含量,进而通过过度激活AKT信号通路调节胶质瘤细胞的生物学功能,这些研究提示PHLPP2可以作为通路因子受到上游因子的调控对胶质瘤发生、发展具有重要作用。

肺癌(Lung cancer)是最常见的恶性肿瘤之一,肺癌可分为小细胞肺癌(small-cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC),后者又有肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)和肺鳞癌(lung

squamous cell carcinoma, LUSC) 两种, 在中国, 非小细胞肺癌 (Non-small cell lung cancer, NSCLC) 占有肺癌病例的 87%, 诊断后的五年生存率为 21%。虽然手术、化疗、放疗和免疫治疗等各种治疗方法在一定程度上改善了 NSCLC 的预后, 但复发的风险仍然很高, 因此对于识别与患者预后相关的致癌和肿瘤抑制基因作为分子生物标志物具有重要意义。Wang<sup>[14]</sup> 等通过癌症基因组图谱 (TCGA) 和基因表达综合 (GEO) 数据库数据, 发现 PHLPP2 在非小细胞肺癌组织样本中的表达明显降低, 并通过免疫组化测定验证发现低 PHLPP2 表达水平与淋巴结转移相关, 单因素分析结果显示, 晚期 pTNM 分期、淋巴结转移阳性和 PHLPP2 低表达是导致 NSCLC 患者生存期较差的关键因素。多因素分析结果显示, pTNM 分期和 PHLPP2 表达是生存期的独立预后因素。该研究结果提示 PHLPP2 在非小细胞肺癌中有作为临床预后判定指标的潜力。

胃癌 (Gastric Cancer, GC) 是一种常见的恶性肿瘤, 在所有癌症中, 胃癌的发病率排名第五, 死亡率排名第三, 超过 70% 的新发胃癌病例发生在发展中国家。2018 年 2 月, 中国国家癌症中心的最新统计数据显示, 尽管胃癌总体发病率呈下降趋势, 但仍位居中国所有恶性肿瘤发病率第二位, 仅次于肺癌, 就发病率而言, 它在男性和女性中分别排名第二和第五。在死亡率方面, 它排名第三, 其次是肺癌和肝癌, 其中男性和女性的死亡率分别排名第三和第二<sup>[15]</sup>。Yang<sup>[16]</sup> 等通过免疫组化检测 221 例胃癌组织标本, 证实 GC 组织中 PHLPP2 表达显著低于正常胃黏膜组织。Ding<sup>[17]</sup> 等发现 MiR-27a 通过与 PHLPP2 的 3' -UTR 结合来抑制 PHLPP2 的表达, 从而激活 AKT/GSK3 $\beta$  通路, 对 GC 细胞发挥生物学作用, 此外, Pang<sup>[18]</sup> 等通过采用定量聚合酶链式反应和 Western blot 法检测 82 例胃癌中的 miR-15a-5p 和 PHLPP2 因子, 结果表明 miR-15a-5p 直接靶向并抑制胃癌细胞中的 PHLPP2, 增强下游 AKT 磷酸化来增加胃癌细胞的顺铂耐药性。综上所述, 通过对 PHLPP2 因子的上游及下游因子进行研究, 对于胃癌的靶向治疗及预后具有重要意义。

## 4 展望

目前, PHLPP2 通过信号通路对影响肿瘤发生发展的研究越来越完善, 而对于 PHLPP2 上、下游调控因子的研究相对较少, 未来应进一步探索 PHLPP2 对细胞的增殖、凋亡、迁移以及侵袭的影响, 探究其在多种肿瘤发生和发展中的作用, 为肿瘤的治疗提供潜在的治疗靶点。

## 参考文献

- [1] Brognard, J, Sierceki, E, Gao, T, et al. PHLPP and a second isoform, PHLPP2, differentially attenuate the amplitude of Akt signaling by regulating distinct Akt isoforms[J]. MOL CELL, 2007, 25 (6): 917-931.
- [2] Pearce, LR, Komander, D, Alessi, DR. The nuts and bolts of AGC protein kinases[J]. NAT REV MOL CELL BIO, 2010, 11 (1): 9-22.
- [3] Warfel, NA, Newton, AC. Pleckstrin homology domain leucine-rich repeat protein phosphatase (PHLPP): a new player in cell signaling[J]. J BIOL CHEM, 2011, 287 (6): 3610-3616.
- [4] Gao, T, Furnari, F, Newton, AC. PHLPP: a phosphatase that directly dephosphorylates Akt, promotes apoptosis, and suppresses tumor growth[J]. MOL CELL, 2005, 18 (1): 13-24.
- [5] Chung, J, Kuo, CJ, Crabtree, GR, et al. Rapamycin-FKBP specifically blocks growth-dependent activation of and signaling by the 70 kd S6 protein kinases[J]. CELL, 1992, 69 (7): 1227-1236.
- [6] Qiao, M, Wang, Y, Xu, X, et al. Mst1 is an interacting protein that mediates PHLPPs' induced apoptosis[J]. MOL CELL. 2010, 38 (4): 512-523.
- [7] de Souza PM, Lindsay MA. Mammalian Sterile20-like kinase 1 and the regulation of apoptosis[J]. Biochem Soc Trans, 2004, 32(Pt3): 485-488.
- [8] Wu, SH, Xu, XY, Sun, CB, et al. Expression of PHLPP2 correlates with clinicopathologic characteristics and prognosis in colorectal cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12 (8): 2909-2919.
- [9] Yongfu, X, He, Z, Xujian, H, et al. PHLPP2 inhibits the stemness of colorectal cancer by inactivating the Nrf2 signaling pathway[J]. J Cancer, 2022, 13 (4): 1313-1323.
- [10] Zhou, J, Yu, X, Wang, J, et al. Aberrant expression of PHLPP1 and PHLPP2 correlates with poor prognosis in patients with hypopharyngeal squamous cell carcinoma[J]. PLoS One. 2015, 10 (3): e0119405.
- [11] Agarwal, NK, Zhu, X, Gagea, M, et al. PHLPP2 suppresses the NF- $\kappa$ B pathway by inactivating IKK $\beta$  kinase[J]. Oncotarget, 2014, 5 (3): 815-823.
- [12] Peng, L, Fu, J, Chen, Y, et al. Transcription factor SNAI2 exerts pro-tumorigenic effects on glioma stem cells via PHLPP2-mediated Akt pathway[J]. Cell Death Dis, 2022, 13 (6): 516.
- [13] Chen, X, Hao, B, Han, G, et al. miR-372 regulates glioma cell proliferation and invasion by directly targeting PHLPP2[J]. J CELL BIOCHEM, 2015, 116 (2): 225-232.
- [14] Wang, H, Gu, R, Tian, F, et al. PHLPP2 as a novel metastatic and prognostic biomarker in non-small cell lung cancer patients[J]. THORAC CANCER, 2019, 10 (11): 2124-2132.
- [15] Wang, FH, Zhang, XT, Li, YF, et al. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO): Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of gastric cancer, 2021[J]. Cancer Commun (Lond), 2021, 41 (8): 747-795.
- [16] 杨东杰, 王志雄, 徐建波, 等. PHLPP2 在胃癌中的表达及其临床意义探讨[J]. 消化肿瘤杂志(电子版), 2018, 10(4): 191-195.
- [17] Ding, L, Zhang, S, Xu, M, et al. MicroRNA-27a contributes to the malignant behavior of gastric cancer cells by directly targeting PH domain and leucine-rich repeat protein phosphatase 2[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36 (1): 45.
- [18] Pang, K, Song, J, Bai, Z, et al. miR-15a-5p targets PHLPP2 in gastric cancer cells to modulate platinum resistance and is a suitable serum biomarker for oxaliplatin resistance[J]. NEOPLASMA, 2020, 67 (5): 1114-1121.