

昼夜节律基因 PER 家族与肿瘤研究

孙成铭¹综述,冯文莉^{2△}审校

(1. 山东省烟台市毓璜顶医院 264000; 2. 重庆医科大学血液学教研室 400016)

关键词: 基因; 肿瘤; DNA 损伤; 磷酸化**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 06. 023**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)06-0666-02

昼夜节律(24 h)存在于所有的原核和真核生物中,在哺乳动物中,这一系统的中央起搏点位于下丘脑前部的视交叉上(suprachiasmatic nucleus, SCN)^[1]。目前,昼夜节律的产生机制已成为生命科学研究的一个热点和前沿性问题。许多研究表明,昼夜节律与失眠症、内分泌代谢性疾病、肿瘤等都具有一定的相关性^[2-6]。近年来,节律失调与肿瘤的关系越来越受到关注,现综述如下。

1 昼夜节律基因结构与功能

在哺乳动物中,昼夜节律起搏器即内源性节律定位于下丘脑的 SCN。在近日钟基因中 per1、per2、per3、cry1 和 cry2 的启动子上游均带有 E-box 序列,因此 CLOCK、BMAL1 和 NPAS2、BMAL1 分别可以与这些基因调控序列结合,激活这些基因转录分别产生 per1、per2、per3(统称为 pers 家族)及 cry1、cry2(统称为 crys 家族)mRNA,当 clock、bmal-和 npas2 表达较强产生相应的蛋白多数形成大量异二聚体,上述钟基因转录活性强,这样形成一条正反馈环路,在核内产生的这些 mRNA 逐渐通过一定方式进入细胞质合成相应的蛋白质 PER、PER2、PER3、CRY1、CRY2 等^[2]。

2 昼夜节律基因与细胞周期

昼夜节律基因可以调节细胞周期的关键位点,这一研究最初在单细胞原核生物薄肌眼虫中得到证实^[7]。在这些基因中,c-myc(G_0/G_1)、cyclinD1(G_1/S)、wee1 和 cyclinB1(G_2/M)等被节律基因所调控。mper1 和 mper2 突变体小鼠的细胞分裂周期明显短于野生型小鼠,表明昼夜节律基因在细胞分裂中起到了重要的作用。国外学者对小鼠的肝脏模型的研究显示,昼夜节律基因调节细胞的分裂周期,而且在调节 G_2/M 期的过程中表现显著。

G_2/M 期的进程是由激活的 Cdc/CyclinB1 复合物所驱动,CyclinB1 的转录水平和翻译水平都将对 G_2/M 期起到关键作用。CyclinB1 的低表达在一定程度上可以导致细胞 G_2/M 期阻滞,促使细胞增殖减慢。而在人类的许多肿瘤中都观察到 CyclinB1 的过表达。有研究表明钟基因 per2 在 G_2/M 期中扮演着重要的角色,但其具体机制有待深入研究^[8]。

有研究证实^[9],c-myc 基因作为一种钟控基因(ccgs)被昼夜节律钟系统所调控。在许多肿瘤中,c-myc 都是上调的并且其过表达在转基因鼠中可以导致肿瘤的发生。而在 per2 突变的情况下 c-myc 出现异常的表达,由于 c-myc 是一主要的转录因子,癌症的发生与细胞周期的失调存在许多相关的机制,时钟基因在细胞周期中的重要调节作用为研究肿瘤的机制开拓了新的视野^[10]。

3 昼夜节律基因与 DNA 损伤修复

研究者发现,per2 突变小鼠与野生型小鼠比较发生肿瘤

的风险性明显增高。per2 突变的小鼠其唾液腺增生病变伴有淋巴瘤。在经 γ 射线(DNA 损伤)照射后,与野生型小鼠相比对射线的敏感性增加,发生肿瘤的概率增加。per2 一方面促使细胞本身对射线引起的 DNA 损伤进行修复,另一方面也通过对相关基因的调控发挥作用,特别是对 p53 基因的调控作用。这就可以解释在动物实验中出现的现象。p53 基因与 DNA 损伤修复密切相关。正常情况下,P53 蛋白很不稳定并且在细胞中的水平非常低。但是,当细胞感觉其 DNA 出现了损伤时,它就会放慢 P53 的降解,促使 P53 蛋白水平增加并起保护性作用。当较高水平的 p53 肿瘤抑制因子存在时,就有足够的 p53 与细胞的基因组中的调节位点结合以活化其他终止细胞分裂的蛋白制造(如果这种 DNA 损伤还能修复)。

另有研究显示时钟基因可以调控小鼠的转录子和影响细胞增殖^[9],这一现象在运动失调毛细血管扩张症突变体(ATM)杂合子小鼠中也存在。ATM 激酶在 DNA 损伤中扮演重要角色。在离子射线引起的 DNA 双链断裂(DSBs)中发挥着重要作用。ATM 通过抑制 chk1 和 chk2 两个激酶来起作用。在应答 DNA 损伤时,chk2 的 SCD 区域的 Thr68 在体内和体外都可被 ATM 磷酸化。chk2 的磷酸化是其活性激活的必要条件。这些早期的实验表明 mper2 基因和 ATM 可能存在共同的 DNA 损伤反应通路。

4 昼夜节律基因的磷酸化修饰

遗传学研究表明,CKI ϵ 是动物昼夜节律的调节因子,PER2 蛋白是其重要的底物。对哺乳动物的遗传学观察发现,CKI ϵ 活性的下降会缩短昼夜节律长度^[11]。人类中 PER2 的激酶结合区域中的 CKI ϵ 磷酸化位点的突变会影响昼夜节律。在培养的细胞中,蛋白酶体的抑制剂会增加 PER1、PER2 的含量。研究显示,磷酸化依赖的蛋白酶体降解对昼夜节律的调节具有重要的作用。药理抑制内源性的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶可以导致磷酸化、泛素化并降解 PER2 蛋白。关于 CKI ϵ 在血细胞生长和分化中的作用需要进一步研究。在肿瘤中,CKI ϵ 的磷酸化是否影响 PER2 的降解还需进一步的研究。

PER2 蛋白的磷酸化可以被蛋白激酶和蛋白磷酸酶所调控,PP1 和 PP2A 是细胞中主要的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶。PP2A 活性的缺失或改变与肿瘤发生有一定联系,许多细胞毒素的促肿瘤作用与抑制 PP2A 的活性有关。PP2A 在最近的研究中可以影响 PER2 的稳定性。在体内可能存在 PP1 和 PP2A 共同的位点。由于磷酸化是一可逆过程,如果 CKI ϵ 磷酸化 PER2 并促其降解,那么磷酸酶通过去磷酸化并提高其稳定性。

PP1 作为哺乳动物 PER2 调节因子,调节 PER2 的去磷酸化。过表达 PP1 的抑制因子,如 PP1 的显性负突变,可以加速

△ 通讯作者,E-mail:fengwlcqmu@sina.com。

PER2 的泛素化-蛋白酶体降解。在 BCR/ABL 阳性细胞中, PP1 抑制 BCR/ABL 激酶活性及其自身磷酸化,并诱导 BCR/ABL 细胞凋亡。PP1 在细胞信号转导中具有重要作用。而 PP1 通过去磷酸作用而阻止 PER2 蛋白的降解。免疫共沉淀实验证实,在 PP1 转染的 HEK-293 细胞中 PER2 与 PP1 相结合,从而增加了 PER2 的稳定性。

5 昼夜节律基因与肿瘤

流行病学调查研究表明,长期夜班的女性患乳腺癌的概率明显高于正常上班人群,而值夜班的男性人群易患前列腺癌^[12]。因此很容易把癌症的发生和节律失调联系在一起。早期的研究显示体温波动规律的癌症患者其预后明显好于体温波动不规律的患者。临床研究显示错乱的休息活动时间的转移癌患者其生存时间明显下降。以上的研究显示昼夜节律失调能够加速肿瘤的进程。小鼠的研究实验表明干扰正常的节律,则会加速肿瘤的进程。在小鼠肿瘤中,特定的节律期内抑癌基因的表达可以提高小鼠对肿瘤的耐受性和抗癌效果。对人类的外周血单核细胞检测发现,per2 表达水平具有一定的时间节律性,这对如何设定癌症患者的具体给药时间能有效提高药物效果提供了帮助^[13]。

节律基因 per2 在肿瘤的进程中发挥着重要的作用,近期研究发现^[14-15],许多肿瘤都在不同程度上伴随着节律基因 per2 mRNA 或者蛋白水平的下调。Hua 等^[16]发现在动物体内 per2 的过表达可以抑制肺癌细胞生长。Yang 等^[17]对慢性粒细胞白血病(CML)的外周血研究发现,在急性期 per1、per2、per3 明显下调,而慢性期 per2、per3 则明显下调,继续研究证实所有的 CML 患者中 per3 都有甲基化,在急性期和慢性期 per3 的下调与其甲基化有相关性。尽管钟基因与肿瘤的关系得到一定的认可,但是其在白血病特别是慢性粒细胞白血病中的作用还需继续探讨。在 BCR/ABL 阳性的 CML 细胞中,per1、per2、per3 是位于 BCR/ABL 的上游或下游也还需进一步的探讨。当其在慢性期下调时,会导致 BCR/ABL 酪氨酸激酶的活化,患者会从慢性期进入急性期。总之,PER 家族蛋白在抑制小鼠和人类癌症中的重要角色为进一步的研究提供了新的思路。

6 结 语

现着重介绍了昼夜节律基因与细胞周期、DNA 损伤修复、磷酸化修饰、肿瘤的关系。在此之前,节律基因与肿瘤的关系一直是一空白。通过分子和遗传学证据证实了节律基因在癌症中的重要作用,然而这一新的发现仅仅是研究的起点,许多尚未阐明的机制还需深入的研究。如节律基因在肿瘤中如何通过相关的作用因子起作用以及其在信号转导机制中的作用通路等^[18]。研究昼夜节律基因与肿瘤的关系为人类癌症的治疗提供了新的策略。当前,在肿瘤的治疗中许多潜在的治疗方式还未得到充分的发掘,而时间生物疗法作为一新的治疗手段逐渐得到认可,虽然目前的许多实验还只是处于动物研究阶段,还未达到临床应用,但是这一治疗方案的实施必将对癌症患者带来新的希望。

参考文献

[1] Yagita K, Yamanaka I, Emoto N, et al. Real-time monitoring of

circadian clock oscillations in primary cultures of mammalian cells using Tol2 transposon-mediated gene transfer strategy[J]. BMC Biotechnol, 2010, 10(1):3.

[2] Cermakian N, Boivin DB. The regulation of central and peripheral circadian clocks in humans[J]. Obes Rev, 2009, 10(2):25-36.

[3] Tomaszewski M, Samani NJ. Genes, circadian clock and nocturnal blood pressure[J]. J Hypertens, 2009, 27(12):2344-2355.

[4] Fu L, Pelicano H, Liu J, et al. The circadian gene period 2 plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo[J]. Cell, 2002, 4(111):41-50.

[5] Shou TC, Kong BC, Ming FH, et al. Deregulated expression of the PER1, PER2 and PER3 genes in breast cancers carcinogenesis[J]. Cell, 2005, 26(11):1241-1246.

[6] Gery S, Virk RK, Chumakov K, et al. The clock gene Per2 links the circadian system to the estrogen receptor[J]. Oncogene, 2007, 26(18):7916-7920.

[7] Panda S, Antoch MP, Miller BH, et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock[J]. Cell, 2002, 109(3):307-320.

[8] 孙成铭, 黄世峰, 罗红伟, 等. 钟基因 Per2 对白血病 K562 细胞增殖、分化、凋亡的影响及其机制[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(4):301-306.

[9] Miller BH, McDearmon EL, Panda S, et al. Circadian and CLOCK-controlled regulation of the mouse transcriptome and cell proliferation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(9):3342-3347.

[10] 张琳琳, 梁艳, 李顺君. 基因芯片在检验医学中的应用进展[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(12):1117-1119.

[11] Okamura A, Iwata N, Nagata A, et al. Involvement of casein kinase I in cytokine-induced granulocytic differentiation[J]. Blood, 2004, 103(8):2997-3004.

[12] Kubo T, Ozasa K, Mikami K, et al. Prospective cohort study of the risk of prostate cancer among rotating-shift workers: findings from the Japan collaborative cohort study[J]. Am J Epidemiol, 2006, 164(26):549-555.

[13] Kusanagi H, Hida A, Satoh K, et al. Expression profiles of 10 circadian clock genes in human peripheral blood mononuclear cells[J]. Neurosci Res, 2008, 61(2):136-142.

[14] Mostafaie N, Kállay E, Sauerzapf E, et al. Correlated downregulation of estrogen receptor beta and the circadian clock gene Per1 in human colorectal cancer[J]. Mol Carcinog, 2009, 15(6):332-334.

[15] Tokunaga H, Takebayashi Y, Utsunomiya H, et al. Clinicopathological significance of circadian rhythm-related gene expression levels in patients with epithelial ovarian cancer[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2008, 87(10):1060-1070.

[16] Hua H, Wang Y, Wan C, et al. Inhibition of tumorigenesis by intratumoral delivery of the circadian gene mPer2 in C57BL/6 mice[J]. Cancer Gene Ther, 2007, 14(9):815-818.

[17] Yang MY, Chang JG, Lin PM, et al. Downregulation of circadian clock genes in chronic myeloid leukemia: alternative methylation pattern of hPER3[J]. Cancer Sci, 2006, 97(12):1298-1307.

[18] 袁向飞, 陆敏. Ras/MAPK 与 PI3K/Akt 信号转导通路及其相互作用[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(3):261-263.

(收稿日期:2011-01-16)