

[文章编号] 1007-385X(2003)03-0223-03

细胞周期蛋白及其与肿瘤等疾病的关系

杨连君 综述; 曹雪涛, 于益芝 审阅 (第二军医大学免疫学研究所, 上海 200433)

[摘要] 细胞周期的内源性调控主要是通过 cyclin-CDK-CKI 进行网络调控实现的。cyclin 不仅能调控细胞周期, 而且有的 cyclin 还与基因转录有关。cyclin 不仅在机体的生长发育、细胞凋亡和分化等生理过程中有重要意义, 而且与肿瘤和病毒性感染性疾病有密切关系。病毒编码的 cyclin 有癌基因特征, 其表达在肿瘤相关的逆转录病毒致癌过程中有重要作用。cyclin 在细胞周期和转录调控中的作用是目前细胞周期研究的热点。

[关键词] 细胞周期蛋白; 细胞周期; 转录; 肿瘤; 病毒

[中图分类号] R329.2⁺8; Q253 [文献标识码] A

* 细胞周期调控与细胞增殖、凋亡、分化和癌变等生理和病理过程密切相关。细胞周期蛋白(cyclin)是在从酵母到人类等真核生物中有广泛作用的分子。cyclin 不仅在正常细胞周期调控中有重要作用, 而且与肿瘤和病毒感染等病理现象也有密切关系。因为 cyclin—cyclin 依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)—CDK 抑制蛋白(CDK inhibitory proteins, CKI)网络在细胞周期调控中的重要性, 2001 年的诺贝尔医学和生理学奖授予了发现 cyclin 和 CDK 及其相关分子的科学家。cyclin 及其相关分子是目前细胞周期调控研究中的热点^[1,2]。

1 细胞周期及其调控概述

细胞周期是从单个真核亲代细胞分裂结束到子代细胞分裂结束的循环过程, 分为 G₁, S, G₂ 和 M 4 期。G₁ 期是 DNA 合成前期, 是细胞周期的关键步骤。细胞周期长短决定于 G₁ 期长度。S 期是 DNA 合成期。G₂ 期是 DNA 合成后期。M 期指有丝分裂期。M 期一结束, 2 个子代细胞就形成了。某些细胞或某个阶段的细胞可从 G₁ 期退出细胞周期而仍存活, 称为 G₀ 期。

在细胞周期中主要有 3 个检查点(check points), 即 G₁/S, G₂/M 和纺锤体装配检查点。在 G₁/S 检查点细胞 DNA 开始复制。在决定细胞是否一分为二的 G₂/M 检查点染色体收缩, 有丝分裂开始。这些检查点能够监视细胞周期调控的运作, 确保基因准确遗传。细胞周期调控是在上述检查点控制下, 通过各种调控因子的激活和灭活, 使细胞依次启动和完成细胞周期循环的过程。细胞周期调控的信号转导途径及其反馈环路上的一系列调节基因组成复杂的网络精确地调控细胞周期, 决定细胞是否继续增殖、暂不增殖或者永不增殖, 以及何时分裂和分化。细胞周期调控因子参与多种发育途径, 不仅调节细胞周期, 还影响细胞增殖、分化、凋亡、黏附和癌变。很多理化因素、生长因子、原癌基因和抑癌基因的产物都能通过调控细胞周期来促进或抑制细胞增殖。细胞周期除了受外源性因素调控外, 其内源性调控也有重要作用。细胞周期的内源性调控主要是通过以磷酸化和去磷酸

化为基础的 cyclin—CDK—CKI 途径实现的^[3]。生长因子与细胞表面的受体结合后, 刺激细胞由 G₀ 期进入增殖, 启动细胞内 fos, jun 和 myc 等立刻早期基因表达。在立刻早期基因作用下, 细胞开始激活 CDK 和 G₁ 期 cyclin 等延迟早期基因。CDK 和 cyclin 组装成有激酶活性的复合物。cyclin/CDK 复合物能使 Rb 磷酸化, 使转录因子 E2F 从磷酸化的 Rb 蛋白上脱落下来, 游离的 E2F 可促使与 DNA 合成有关的一系列基因表达, 从而促使 DNA 合成, 推动细胞周期进程。G₁/S 检查点是细胞周期中的主要限制点(restriction site), 控制着细胞从静止状态进入 DNA 合成期的调控。pRB-E2F 是细胞 G₁ 和 S 期转换的一个经典调控途径。参与细胞周期内源性调控的核心因子是 cyclin 和 CDK。其中, cyclin 的周期性积累与降解对细胞周期的进程起着关键性的作用。CKI 能在与 CDK, cyclin 或 cyclin-CDK 复合物结合, 而抑制 CDK 的催化活性。cyclin 和 CKI 分别对 CDK 进行正反调控。一旦这种正负调控的平衡被打破, 细胞就可能发生异常增殖。

2 细胞周期蛋白的种类、特点及其作用

目前在哺乳动物细胞中发现了 20 多种 cyclin。对细胞周期有明确调控作用的主要是 cyclin A, B, C, D1 ~ 3 和 E, 调控 RNA 转录作用的有 cyclin C, H, T1, T2, K 和 L1 等。cyclin G₁, G₂ 和 M 等在细胞周期或转录调控中的功能尚不明确。cyclin 分子在进化上有高度的保守性, 其分子结构上都有一段“cyclin 盒”序列。cyclin 通过与 CDK 形成复合物发挥调控细胞周期或转录的功能。CDK 含量在细胞周期的各阶段相对恒定, 其活性由于 cyclin 的调节作用有所变化。CDK 必须与相应的 cyclin 结合, 并且在一定部位发生磷酸化或去磷酸化才能有活性或被灭活。作为细胞内核蛋白的 cyclin 的含量和活性在细胞周期的不同阶段有明显的波动和差异, 呈时相特异性和周期性。cyclin 降解是通过泛素依赖性的蛋白酶水解途径完成的。

[基金项目] 中国博士后科学基金(2002031207)资助

cyclin 对细胞周期的调控主要表现在 G_1 和 M 期。 G_1 期 cyclin 在 G_1 期和 G_1/S 交界处发挥作用, 主要包括 cyclin D1 ~ 3、E 和 C。cyclin D1 是发现最早也是研究最深入的 cyclin。cyclin D1 在 G_1 早期表达, 是细胞周期启动因子, 它也是生长因子感应器。cyclin D1 过表达使细胞加速从 G_1 到 S 期转换, 细胞快速通过 G_1/S 检查点, S 期缩短。阻断或敲除 cyclin D1 基因使细胞不能顺利通过 G_1/S 检查点, 细胞周期延长, 伴随 G_2 和 M 期阻滞, 细胞容易凋亡。cyclin D2 或 D3 过表达能恢复阻断或敲除 cyclin D1 基因的细胞的周期和抑制对凋亡的过度敏感。在不断增殖的细胞中, cyclin D1 的表达水平没有明显的波动。敲除 cyclin D1 基因的小鼠体型小, 出现视网膜病变和乳腺发育不全。cyclin E 合成开始于 G_1 中期, 最大化在细胞进入 S 期时, 降解发生在 S 期, 而在 G_2 和 M 期不表达。cyclin E 主要在 G_1 晚期发挥作用, 是 G_1 和 S 期转换的限速因子。cyclin E-CDK2 复合物能使 Rb 因磷酸化而失活。磷酸化的 pRB 与 E2F 的功能区分离, 失去对 E2F 活化转录功能的抑制, 使细胞从 G_1 期进入 S 期。如果细胞在 G_1 期发生 DNA 损伤, 经 p53 诱导, p21^{WAF1/CIP1} 转录被启动。p21^{WAF1/CIP1} 能抑制 cyclin E-CDK2 复合物活性, 而阻止细胞进入 S 期。如果在 S 期发生 DNA 损伤, 由于 p21^{WAF1/CIP1} 表达增加, 可以抑制增殖细胞核抗原表达, 阻止 DNA 复制, 有利于 DNA 修复机制激活, 使细胞 DNA 损伤得以修复。cyclin C 作用于 G_1 早期, 其 mRNA 水平在 G_1 早期较高。M 期 cyclin 主要有 cyclin A 和 B, 在 G_2 和 M 期交界处发挥作用, 诱导细胞分裂。cyclin A 在 G_1 晚期开始增多, 于 S 和 G_2 期达到峰值。如果细胞内 cyclin A 表达受抑制, 细胞周期会停滞在 S 期。cyclin B 在 S 期开始合成, 在 G_2 晚期和 M 期表达。调控细胞周期的 cyclin 主要作为 CDK1, 2, 3, 4 和 6 的亚基起作用。

cyclin H 和 L1 等与其相应的 CDK 形成的复合物对转录的调控主要表现在促使 RNA 多聚酶 II 大亚基的 C 末端重复序列磷酸化上, 并且与某些转录剪切因子如 SC-35 的作用有关^[46], 这些因素都参与转录中的 RNA 延长反应。RNA 延长水平的调控在 mRNA 转录上很重要^[6]。调控基因转录的 cyclin 主要是 CDK7, 8, 9 和 PITSLRE 的调节亚基。

3 细胞周期蛋白与肿瘤的关系

3.1 细胞周期蛋白与肿瘤发生的关系

细胞周期是严格按顺序进行的。细胞在分裂中有一系列避免发生错误的机制。在 DNA 受外界因素损伤后, 细胞会停滞于 G_1 期, 暂不进入 S 期, 直到完成修复。如果在 S 期发生 DNA 复制不完全或者在 G_2 期发生纺锤体形成不好, 则细胞无法进入 M 期。这种关卡机制保证分裂产生的子代细胞的 DNA 完整性。如果其失调, 使本来应停止增殖或发生凋亡的细胞的 DNA 损伤或复制错误未能及时纠正, 细胞就会带着错误信息进入周期循环而造成恶变。 G_1 期 cyclin 基因突变, 重排, 不依赖于环境刺激而表达时, 细胞会自发地增殖和转化。致癌和促癌因素能使细胞周期调控基因及产物

发生异常, 包括基因误义、缺失、插入、框移等基因突变和放大等改变, 其产物异常包括突变基因的转录与翻译, 或非突变产物被某些蛋白质结合并灭活, 以及细胞周期检查点检控失败。这些因素都会使细胞周期失控, 细胞无限增殖, 凋亡能力丧失, 最终导致细胞恶性转化和肿瘤形成。肿瘤是多基因相关疾病。在发现的几百种肿瘤相关基因中, 与细胞周期调控有关者在肿瘤细胞对药物的敏感性方面起重要作用。很多癌基因和抑癌基因的生物效应与细胞周期异常有关, 有的能直接参与细胞周期调控, 或本身就是细胞周期调控复合体主要成分。

cyclin 和 CDK 过表达和活性异常增强, CKI 表达缺失和检测点异常都可能导致细胞周期紊乱而发生癌变。在高表达 cyclin D1 的细胞中, 没有生长因子存在的情况下, 细胞也增殖, 这种增殖能力正是癌变的基础。导入 cyclin D1 基因能使成纤维细胞转化。cyclin D1 和 ras 共转染使胚肾细胞和乳腺纤维母细胞转化。cyclin D1 转基因鼠发生乳腺增生和乳腺癌。cyclin D1 与 myc 协同诱发转基因鼠产生 B 细胞淋巴瘤。cyclin D2 和 D3 过表达阻断细胞分化, 使变异染色体积累, 进而细胞恶性转化。cyclin E 和 ras 共转染能转化成纤维细胞。目前普遍认为 G_1 期 cyclin 是原癌基因^[7]。有学者提出肿瘤本身就是细胞周期异常疾病。在 cyclin A 上有乙型肝炎病毒 (HBV) 插入位点。当 HBV 与 cyclin A 整合时, cyclin A 的 N 末端至“cyclin 盒”的序列被 HBV 的前 S2/S 蛋白取代。这种 HBV-cyclin A 嵌合蛋白丧失了 cyclin A 本身的降解结构而不能降解。在 HBV 感染的肝细胞中, 由于 HBV-cyclin A 蓄积, 使 cyclin A 作用持久细胞快速进入 M 期, 不受控制地增殖而发生恶性转化, 最终产生肝细胞癌^[8]。

3.2 细胞周期蛋白在肿瘤的表达情况及意义

cyclin D1 异常表达广泛存在于各种实体肿瘤和血液系统肿瘤中, 并与很多肿瘤的组织分级、临床分期、预后和疗效有关^[9-10]。cyclin D1 在肿瘤细胞的异常主要表现为基因扩增、染色体倒位和易位。cyclin D2 和 D3 异常表达在血液系统恶性肿瘤更多见。cyclin E 在很多肿瘤的表达在数量和活性上都有异常。乳腺癌中 cyclin E 的增加不仅与肿瘤组织分级和临床分期有关, 而且与不良预后和较高死亡率有关。人成骨细胞肉瘤细胞中有与 p53 相关的 cyclin G1 过表达。由于 HBV 与肝癌相关, 以及 HBV 能与 cyclin A 形成嵌合蛋白, 肝细胞癌中 cyclin A 过表达。最近发现 cyclin L1 在头颈上皮肿瘤过表达, 提示其可能是一个癌基因^[11]。

3.3 细胞周期蛋白对肿瘤生长的调控作用

注射 cyclin D1 抗体、反义寡核苷酸或导入反义 cyclin D1 重组质粒, 可抑制肿瘤细胞从 G_1 期向 S 期过渡, 改变或逆转细胞恶性表型。cyclin D1 过表达拮抗很多因素引起的肿瘤细胞生长抑制。cyclin D1 转基因鼠自发形成肝癌, 并且反义 cyclin D1 能抑制其肝癌生长^[12-13]。过表达 cyclin E 和 A 也促进肿瘤细胞生长, 而限制其表达则抑制肿瘤, 甚至引起其凋亡。人 cyclin G1 基因有一个 p53 结合位点。转染反义 cyclin G1 能诱导成骨细胞肉瘤细胞凋亡。将 cyclin G1 表达载

体转染到结肠癌细胞中,其生长速度明显加快。cyclin G1 过表达还能导致细胞染色体结构疏松,使肿瘤细胞对放化疗的敏感性增强。cyclin G1 可能与 G₂/M 检查点调控有关,在神经再生早期发挥作用,而在 DNA 修复中没有直接作用。p53 能够调控 cyclin G1^[14]。cyclin G1 过表达能通过使细胞停滞于 G₁ 期而抑制其生长,并且不需要 p53 参与,而是依赖 Rb。与 cyclin G1 相似的 cyclin G2 过表达能抑制卵巢癌细胞生长。在参与转录调控的人 cyclin K 基因也发现了一个 p53 结合位点。过表达 cyclin K 能抑制恶性胶质细胞瘤和结肠癌细胞的生长^[15]。

4 细胞周期蛋白与病毒感染的关系

某些病毒能在宿主细胞主动编码内源性 cyclin 的同源物,称为病毒编码的 cyclin (v-cyclin)^[16]。v-cyclin 不仅有宿主细胞 G₁ 期 cyclin 的特点,而且能使其周期失调。v-cyclin 表达可逆转很多细胞因子引起的 G₁ 期阻滞,甚至促进 G₀ 期的成纤维细胞进入细胞周期。v-cyclin 核心结构与哺乳动物细胞中的 cyclin H 和 A 相似。v-cyclin 与细胞周期调节因子之间可能有相互作用,与病毒的生存和宿主细胞分裂、分化及恶性转化密切相关。HBV-cyclin A 是发现较早的 v-cyclin。小鼠疱疹 68 病毒编码的 v-cyclin 与细胞内源性 cyclin D1 同源,其表达能促进胸腺细胞周期,抑制 T 细胞分化。Saimirine 疱疹 2 病毒编码的 v-cyclin 也与 cyclin D1 同源,能够结合并活化 CDK6,促使 Rb 和组蛋白 H1 磷酸化。Kaposi's 病毒编码的 v-cyclin 与 Kaposi's 肉瘤、多发性骨髓瘤和原发性渗出性淋巴瘤等肿瘤有关,也能促进 Rb 磷酸化,调控宿主细胞周期并在细胞中持续存在,使 T 细胞转化。嗜 T 细胞的 Saimirine 疱疹 2 病毒编码的 v-cyclin 也能使宿主细胞转化。cyclin T1 和 T2 在艾滋病的致病机制中有一定作用^[17]。

5 小结与展望

细胞周期调控是复杂而精密的过程,存在多种调节因子。细胞周期调控与机体细胞生长、发育、凋亡、分化、再生和衰老等都有一定的关系。细胞周期调节因子的异常与肿瘤发生密切相关。肿瘤发生是两个或者多个基因及其产物协同作用,多阶段的连续演变过程。阐明细胞周期调控机理以及细胞周期失控与肿瘤的关系,对探讨肿瘤发生机制,为肿瘤诊断、治疗和提示预后提供新方法有重要意义。虽然目前对于 cyclin 及其相关蛋白在细胞周期调控中的作用及其机制的认识增长很快,但是仍有很多问题不能解释。问题主要是:① 为何有的 cyclin 未发现其对细胞周期的调控作用,而能调控基因转录;② 对于细胞周期调节异常在肿瘤细胞凋亡和信号转导等领域作用的分子机制仍不明确;③ v-cyclin 在结构和功能上与细胞内源性 cyclin 相似,但其特性还是有一定差异。虽然已经认识到反转录病毒编码的 cyclin 类似物可能与反转录病毒的致癌机制有关,但对于 v-cyclin 在肿瘤发生和发展过程中的具体功能和作用机制还不清楚;④ 对于直接参与细胞周期调控的 cyclin 研究比较深入,而对

与转录有关的 cyclin 研究不多,对调节转录的 cyclin 与肿瘤的关系研究得尤其少。细胞内外的不同信号往往先作用于某些转录因子,通过调节靶基因转录,来改变细胞增殖、凋亡、分化或者静止等状态。对 cyclin 在转录调控中的作用逐渐受到重视,是 cyclin 研究中的热门课题之一。随着新 cyclin 家族成员被发现和鉴定,以及对细胞周期调控网络的认识不断深入,细胞周期调控的机理必然会越来越清楚。

[参考文献]

- [1] Duman-Scheel M, Weng L, Xin S, *et al.* Hedgehog regulates cell growth and proliferation by inducing cyclin D and cyclin E [J]. *Nature*, 2002, 417(6886): 299-304.
- [2] Koepp DM, Schaefer LK, Ye X, *et al.* Phosphorylation-dependent ubiquitination of cyclin E by the SCFFbw7 ubiquitin ligase [J]. *Science*, 2001, 294(5540): 173-177.
- [3] Murray AW, Marks D. Can sequencing shed light on cell cycling? [J]. *Nature*, 2001, 409: 844-846.
- [4] Fu TJ, Peng J, Lee G, *et al.* Cyclin K function as a CDK9 regulatory subunit and participates in RNA polymerase II transcription [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(49): 34527-34530.
- [5] Rikert P, Seghezzi W, Shanahan F, *et al.* Cyclin C/CDK8 is a novel CTD kinase associated with RNA polymerase II [J]. *Oncogene*, 1996, 12(12): 2631-2640.
- [6] Berke JD, Sgambato V, Zhu PP, *et al.* Dopamine and glutamate induce distinct striatal splicing forms of ania-6, and RNA polymerase II-associated cyclin [J]. *Neuron*, 2001, 32(2): 277-287.
- [7] Bates S, Peters G. Cyclin D1 as a cellular proto-oncogene [J]. *Semin Cancer Biol*, 1995, 6(2): 73-82.
- [8] Wang J, Chenivess X, Henglein B, *et al.* Hepatitis B virus integration in a cyclin A gene in a hepatocellular carcinoma [J]. *Nature*, 1990, 343(6258): 555-557.
- [9] Yang LJ, Si XH. Expression and significance of Cyclin D1 in human hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Cancer Res*, 2001, 13(2): 144-146.
- [10] Si X, Liu Z. Expression and significance of cell cycle-related proteins cyclin D1, CDK4, p27, E2F-1 and ets-1 in chondrosarcoma of the jaws [J]. *Oral Oncol*, 2001, 37(5): 431-436.
- [11] Redon R, Hussenet T, Bour G, *et al.* Amplicon mapping and transcriptional analysis pinpoint cyclin L as a candidate oncogene in head and neck cancer [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(21): 6211-6217.
- [12] Deane NG, Parker MA, Aramandla R, *et al.* Hepatocellular carcinoma results from chronic cyclin D1 overexpression in transgenic mice [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(14): 5389-5395.
- [13] Uto H, Ido A, Moriuchi A, *et al.* Transduction of antisense cyclin D1 using two-step gene transfer inhibits the growth of rat hepatoma cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(12): 4779-4783.
- [14] Smith ML, Kontny HU, Bortnick R, *et al.* The p53-regulated cyclin G gene promotes cell growth; p53 downstream effectors cyclin G and Gadd45 exert different effects on cisplatin chemosensitivity [J]. *Exp Cell Res*, 1997, 230(1): 61-68.
- [15] Mori T, Anazawa Y, Matsui K, *et al.* Cyclin K as a direct transcriptional target of the p53 tumor suppressor [J]. *Neoplasia*, 2002, 4(3): 268-274.
- [16] Dittmer DP. Transcription profile of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in primary Kaposi's sarcoma lesions as determined by real-time PCR arrays [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(9): 2010-2015.
- [17] Marcello A, Cinelli RA, Ferrari A, *et al.* Visualization of *in vivo* direct interaction between HIV-1 TAT and human cyclin T1 in specific subcellular compartments by fluorescence resonance energy transfer [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(42): 39220-39225.