

文章编号: 1001-098X(2004)06-0278-03

辐射及细胞因子对 p21 基因表达的调控作用

闫风琴 鞠桂芝

摘要 p21 基因是细胞周期的负向调控因子, 在一定的因素诱导下, p21 基因可有效地引起细胞周期 G₁ 期和 G₂ 期阻滞, 从而在维持基因组稳定性中起重要作用。辐射及 TGFβ₁、TNFα、PTEN、IGF 等因子均可诱导 p21 基因表达增高, 而 E1A、c-jun、Tbx2、PLD1 和 PLD2 等因子则抑制 p21 基因表达。

关键词 辐射; 细胞因子; p21 基因; 基因表达调控

中图分类号 Q345⁺.2 文献标识码 A

The regulation of radiation and cytokines to p21 gene expression

YAN Feng-qin JU Gui-zhi

(Department of Radiation Biology, Public Health School, Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract p21 gene is a negative regulator of cell cycle, which affect cell cycle progression arrest at G₁ and G₂ by some factors induced. p21 gene plays an important role to maintain genomic stability. Radiation and TGFβ₁, TNFα, PTEN, IGF can increase p21 gene expression, however E1A, c-jun, Tbx2, PLD1 and PLD2 can inhibit p21 gene expression.

Key words radiation; cytokine; p21 gene; gene expression regulation

研究表明, p21 基因是细胞周期负调控因子, 可广泛抑制周期素依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)-周期素复合物活性并覆盖增殖细胞核抗原上的某些功能区, 使细胞周期发生 G₁ 期和 G₂ 期阻滞。p21 基因诱导细胞阻滞使 DNA 损伤得以修复, 在维持基因组稳定性中也起重要作用^[1]。因此, 了解不同因素对 p21 基因表达的影响具有重要意义。

1 细胞因子对 p21 基因表达的影响

1.1 TGF-β₁、TNFα、PTEN、IGF 等诱导 p21 基因表达增高

Fan G 等^[2] 把人肝细胞瘤 HuH-7 细胞给予转化生长因子 β₁(transforming growth factor β₁, TGF-β₁) 处理, 结果显示处理后的 HuH-7 细胞中 P21 蛋白表达增高, 同时 90% 的 HuH-7 细胞发生 G₁ 期阻滞, 此时 P53 蛋白去磷酸化水平增高, 同时伴有 CDK2、CDK4 和周期素 E 表达下降。

Kobayashi N 等^[3] 报道, 肿瘤坏死因子 α (tu-

mor necrosis factor α, TNFα) 能诱导人结肠癌细胞 p21 基因的 mRNA 和 P21 蛋白水平表达增高, 并表现出明显的剂量依赖关系; 研究还证实放线菌酮(一种蛋白合成抑制剂)可通过 TNFα 诱导人结肠癌细胞 p21 基因的 mRNA 水平表达增高。他们通过构建由 p21 基因启动子控制的含荧光素酶的 p53 基因和 His (273) 共转染表达体系检测 p21 基因转录水平的变化, 结果显示 p21 基因的 mRNA 表达增高, 并发现 TNFα 可明显增加 P21 蛋白的稳定表达。这些发现暗示, TNFα 以 p53 基因非依赖方式诱导 p21 基因表达增高的主要机制是提高 P21 蛋白的稳定性。

Moon SK 等^[4] 报道, 肿瘤抑制基因 PTEN (phosphatase and tension homolog deleted on chromosome ten) 能抑制血小板衍生生长因子介导的血管平滑肌细胞增殖。研究其分子机制表明, PTEN 可使 P21 蛋白和 P27 蛋白表达上调, 同时可下调周期素和 CDK 的活性, 使细胞周期进程阻滞于 G₁ 期, 进而达到抑制血管平滑肌细胞增殖的目的。

Murray SA 等^[5] 报道, 胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor -1, IGF-1) 能以 p53 依赖方式诱导 P21 蛋白表达水平上调。研究还发现, 抑制

作者单位: 130021 长春, 吉林大学公共卫生学院放射生物学教研室

磷脂酰肌醇-3 激酶表达或使磷脂酰肌醇-3 激酶异常表达能解除 IGF-1 诱导的 P21 蛋白表达上调。另外, 还证实 IGF-1 能解除紫外线对 P21 和 MDM2 蛋白表达的抑制作用。

除此之外, 还有人报道表皮生长因子、血小板衍生生长因子、白细胞介素 6、 γ 干扰素和组蛋白脱乙酰酶抑制剂等也能诱导 p21 基因表达上调。

1.2 E1A、c-jun、Tbx2、PLD1 和 PLD2 因子抑制 p21 基因表达

许多研究证实, 在 DNA 损伤的细胞中, 腺病毒早期蛋白 E1A 能与 P21 蛋白结合而直接干预其抑制细胞周期进程的功能。Chattopadhyay D 等^[6]在检测 E1A 诱导人结肠癌 HCT116 细胞凋亡中发现, E1A 能与 P21 蛋白结合而恢复 CDK2 活性, 解除 G₁ 期阻滞; 当 E1A 突变后, 则不出现这种现象。Timofeev OV 等^[7]也报道 E1A Ad2(人腺病毒 2 型)和 E1A Ad12(人腺病毒 12 型)能在体内与 P21 蛋白形成复合物, 他们用两种酵母杂合体系—SRS 体系研究了 E1A Ad2 和 E1A Ad12 的不同多肽片段与 P21 蛋白的结合能力, 结果证明, E1A Ad2 的 12S mRNA 片段能与 P21 蛋白结合, 而 E1A Ad12 的 13S mRNA 片段不能与 P21 蛋白结合。

Wang CH 等^[8]报道, c-jun 基因能抑制 p21 基因转录。通过分析 p21 基因启动子的缺失和点突变, 他们研究了 c-jun 基因抑制 p21 基因表达的可能机制, 结果发现, 在 p21 基因的启动子上, 与转录起始有关的 Sp1-3 位点 (-77 和 -83) 在 c-jun 基因反式作用元件中起重要作用, Sp1-3 位点是 c-jun 基因抑制 p21 基因转录活性的重要位点; 研究还发现, c-jun 基因能抑制丁酸盐诱导的 p21 基因 mRNA 水平表达。

Prince S 等^[9]报道, Tbx(一类在胚胎早期发育和遗传性疾病中起多方面重要作用的调控因子)能与 P21 蛋白结合而抑制其转录功能。Tbx 因子与多种人类疾病及多种肿瘤的发生发展有关, 其中重要机制是通过其家族成员 Tbx2 和 Tbx3 解除复制终止信号, 使 DNA 复制失去控制。p21 基因是 DNA 损伤后诱导复制终止和细胞周期阻滞的重要信号分子。通过采用染色体免疫沉淀反应分析显示, Tbx2 能在体内外与 p21 基因启动子结合并干预 p21 基因启动子活性, 从而抑制 p21 基因转录, 而用 siRNA 干预 Tbx2 后, p21 基因 mRNA 表达则上调。

Kwun HJ 等^[10]报道, 磷脂酶 D(phospholipase D, PLD) 的同工酶能通过抑制 p21 基因表达而刺激细胞生长, 诱导细胞的恶性转化。他们用子宫颈癌 HeLa 细胞系检测了 PLD1 和 PLD2 对 p21 基因转录和 P21 蛋白水平表达的影响, 结果发现, 与对照组相比, 在转染 PLD1 和 PLD2 的 HeLa 细胞中, p21 基因 mRNA 水平表达分别降低约 30% 和 70%, P21 蛋白水平表达分别降低约 20% 和 50%; 同时还发现 PLD1 转染的细胞中 P53 蛋白表达也降低 50%, 因为 p53 基因是 p21 基因转录的重要调节因子, 说明 PLD1 可能是通过降低 p53 基因的表达水平而抑制 p21 基因的转录, PLD2 则是通过下调 p21 基因序列位于 TATA 框附近的 Sp1 位点的活性而抑制 p21 基因的表达。

此外, 还有人报道 triptolide、丁内脂、凋亡刺激蛋白、组蛋白脱乙酰酶 1、渥曼青霉素和 LY294002 (磷脂酰肌醇 3-激酶的特异性抑制剂)等亦能使 p21 基因表达下调。

2 辐射对 p21 表达的影响

2.1 紫外线辐射对 p21 表达的影响

近年来, 关于紫外线影响 p21 表达的报道较多, 但报道结果不太一致。

2.1.1 紫外线辐射诱导 p21 基因表达增高

Murphy M^[11]报道, 紫外线照射后基细胞癌患者 P21 蛋白表达呈增高趋势, 照后 9 h 每个视野中 P21 蛋白阳性细胞百分率平均为 12.27%, 照后 24 h 平均为 12.21%, 照后 33 h 平均为 18.69%。Hattinger CM 等^[12]在研究紫外线照射对人正常成纤维细胞、U2OS 骨肉瘤细胞和取自血液综合征患者的 GM1492 成纤维细胞的影响中发现, 未经紫外线照射时细胞中 p21 基因的 mRNA 水平表达很低, 而照后 6 h 几乎 50% 的细胞核中表达 p21 基因的 mRNA, 照射后 17 h p21 基因的 mRNA 水平在细胞质中的表达达峰值, 同时 P21 蛋白水平表达增高。

2.1.2 紫外线辐射下调 p21 表达

在许多研究报道紫外线辐射引起 DNA 损伤可诱导 P21 蛋白表达增高的同时, 也有研究报道低剂量紫外线照射能引起许多细胞 P21 蛋白表达下调, 其机制可能是通过泛素/ F-box 蛋白依赖的蛋白酶降解通路所致。紫外线照射后, ATR (ataxia-telangiectasia mutated and rad3-related)活化也是激活

P21 蛋白的降解所必须的^[13]。

Fotedar R 等^[14]从另一方面报道了低剂量紫外线辐射可诱导 P21 蛋白表达下调。他们认为,紫外线导致 DNA 损伤的修复主要是通过核苷酸切除通路(nucleotide excision pathway, NER)。增殖细胞核抗原对受损伤 DNA 的修复也是通过 NER, P21 蛋白能与增殖细胞核抗原上的 NER 功能区结合从而抑制紫外线诱导 DNA 损伤的修复,因此很难认为紫外线引起的细胞周期阻滞及 DNA 损伤的修复是由 p21 基因介导的。紫外线引起细胞周期阻滞是 p21 基因非依赖性的,而且低剂量紫外线照射诱导 P21 蛋白表达下调是使 DNA 损伤得以修复的重要因素。

2.2 γ 射线对 p21 基因表达的影响

体内外实验均证明, γ 射线可诱导 p21 基因表达增高。

Reynolds R 等^[15]用 4 周龄小鼠做 DNA 损伤后诱导 G₁ 期阻滞的模型,在用 DNA 损伤因子博莱霉素或 10 Gy γ 射线全身照射诱导 DNA 损伤后,小鼠肝细胞中许多基因表达均发生了改变,其中 p21 基因 mRNA 水平在照后 2 h 升高,照后 8 h 开始下降, P21 蛋白表达水平也在照后 2 h 开始上升。

Szkanderova S 等^[16]用 γ 射线照射人白血病 MOLT-4 细胞并采用流式细胞仪检测 γ 射线诱导 MOLT-4 细胞凋亡的信号通路发现, γ 射线照射后, MOLT-4 细胞中 P21 蛋白水平表达上调,同时证实 p53 的丝氨酸-392 和丝氨酸-15 位点的磷酸化水平增高, P53 蛋白水平表达也增高。说明 γ 射线诱导 MOLT-4 细胞发生凋亡是通过 P21 蛋白和 P53 蛋白依赖性通路。

综上所述,多数体内外实验研究结果表明,紫外线、 γ 射线和多种细胞因子均可诱导 p21 基因表达增高。但是,紫外线对 p21 基因表达的影响尚存在与上述结论不一致之处,并且引起 p21 基因表达增高或降低的机制尚需进一步研究证实。也有一些研究证明,某些因子可明显抑制 p21 基因的表达。同时,除某些因素单独影响 p21 基因表达外,可能有一些因素联合作用共同影响 p21 基因表达水平,也可能存在一些未发现的因素能影响 p21 基因的表达。这一切尚需继续研究。

参 考 文 献

- 1 Katsumata K, Sumi T, Tomioka H, et al. Induction of apoptosis by p53, bax, bcl-2, and p21 expressed in colorectal cancer[J]. *Int J Clin Oncol*, 2003, 8(6): 352-356.
- 2 Fan G, Ma X, Wong PY, et al. p53 dephosphorylation and p21 (Cip1/Waf1) translocation correlate with caspase-3 activation in TGF-beta1-induced apoptosis of HuH-7 cells[J]. *Apoptosis*, 2004, 9(2): 211-221.
- 3 Kobayashi N, Takada Y, Hachiya M, et al. TNF-alpha induced p21 (WAF1) but not Bax in colon cancer cells WiDr with mutated p53: important role of protein stabilization[J]. *Cytokine*, 2000, 12(12): 1745-1754.
- 4 Moon SK, Kim HM, Kim CH. PTEN induces G1 cell cycle arrest and inhibits MMP-9 expression via the regulation of NF-kappaB and AP-1 in vascular smooth muscle cells[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2004, 421(2): 267-276.
- 5 Murray SA, Zheng H, Gu L, et al. IGF-1 activates p21 to inhibit UV-induced cell death[J]. *Oncogene*, 2003, 22(11): 1703-1711.
- 6 Chattopadhyay D, Ghosh MK, Mal A, et al. Inactivation of p21 by E1A leads to the induction of apoptosis in DNA-damaged cells[J]. *J Virol*, 2001, 75(20): 9844-9856.
- 7 Timofeev OV, Pospelov VA. The p21(WAF1)cyclin-kinase inhibitor: in vivo interaction with E1A adenoviral Ad2 and Ad12 oncoproteins [J]. *Tsitologia*, 2003, 45(11): 1109-1118.
- 8 Wang CH, Tsao YP, Chen HJ, et al. Transcriptional repression of p21((Waf1/Cip1/Sdi1)) gene by c-jun through Sp1 site[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 270(1): 303-310.
- 9 Prince S, Carreira S, Vance KW, et al. Tbx2 directly represses the expression of the p21(WAF1) cyclin-dependent kinase inhibitor[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(5): 1669-1674.
- 10 Kwun HJ, Lee JH, Mindo S, et al. Transcriptional repression of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 gene by phospholipase D1 and D2 [J]. *FEBS Lett*, 2003, 544(1-3): 38-44.
- 11 Murphy M, Mabruk MJEMF, Lenane P, et al. Comparison of the expression of p53, p21, Bax and the induction of apoptosis between patients with basal cell carcinoma and normal controls in response to ultraviolet irradiation[J]. *J Clin Pathol*, 2002, 55(11): 829-833.
- 12 Hattinger CM, Jochemsen AG, Tanke HJ, et al. Induction of p21 mRNA synthesis after short-wavelength UV light visualized in individual cells by RNA FISH[J]. *J Histochem Cytochem*, 2002, 50(1): 81-89.
- 13 Bendjennat M, Boulaire J, Jascour T, et al. UV irradiation triggers ubiquitin-dependent degradation of p21(WAF1) to promote DNA repair[J]. *Cell*, 2003, 114(5): 599-610.
- 14 Fotedar R, Bendjennat M, Fotedar A. Role of p21(WAF) in the cellular response to UV [J]. *Cell Cycle*, 2004, 3(2): 134-137.
- 15 Reynolds R, Witherspoon S, Fox T. The infant mouse as a in vivo model for the detection and study of DNA damage-induced changes in the liver [J]. *Mol Carcinog*, 2004, 40(1): 62-72.
- 16 Szkanderova S, Vavrova J, Rezacova M, et al. Gamma irradiation results in phosphorylation of p53 at serine-392 in human T-lymphocyte leukaemia cell line MOLT-4[J]. *Folia Biol (Praha)*, 2003, 49(5): 191-196.

(收稿日期: 2004-07-11)