

## ·放射生物学·

## 脆性组氨酸三联体与细胞信号转导研究进展

杨剑 韩玲

【摘要】脆性组氨酸三联体(FHIT)基因是一种抑癌基因,其与许多肿瘤的发生有密切的关系。近几年有关FHIT基因的研究,侧重于辐射后FHIT及其上下游调控基因之间的关系和作用方式,包括ATR/CHK1、bcl-2基因、caspase家族、环孢霉素A和核因子-κB之间的作用。

【关键词】信号转导;辐射效应;基因表达调控;脆性组氨酸三联体

【中图分类号】Q344.13 【文献标识码】A 【文章编号】1673-4114(2007)03-0173-04

## Progress on fragile histidine triad and cell signal transduction

YANG Jian, HAN Ling

(Department of Radiation Medicine in Navy Medicine Faculty, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

【Abstract】Fragile histidine triad (FHIT) gene is a new tumour suppress gene. During the past decade, evidence has accumulated in support that plays a role in many tumors. In this review, describe the recent finding between FHIT and upstream or downstream gene in post-radiation, including ATR/CHK1 gene, bcl-2 gene, caspase family, cyclophilin A gene and nuclear factor-κB.

【Key words】Signal transduction; Radiation effects; Gene expression regulation; Fragile histidine triad

脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, FHIT)基因是1996年由Ohta等<sup>[1]</sup>用差异显示分析探针和外显子捕获法发现的抑癌基因,它位于人类3号染色体短臂3p<sup>142</sup>区域的脆性位点FRA3B处,全长约1Mb。在70%的上皮肿瘤中发现有FHIT的异常表达,特别是在外界致癌因素(射线、化学致癌物等)引起的恶变中有明显改变,包括FHIT基因的缺失、甲基化、蛋白表达的减少。在其他类型的肿瘤中也明确了FHIT基因与肿瘤发生过程有密切关系。近年来,对FHIT基因的上下游调控基因和作用方式的研究日趋增多,包括: FHIT基因的作用、FHIT基因与肿瘤的发生及治疗的关系、FHIT基因与辐射致癌等。

## 1 FHIT与共济毛细血管扩张症和Rad3相关蛋白/检测点激酶1(ataxia telangiectasia mutation and Rad3 related/checkpoint kinase 1, ATR/CHK1)

### 1.1 ATR/CHK1的作用

在细胞周期中有四个负责监控反馈信号及阻滞细胞周期的检查点,分别为G<sub>1</sub>/S期检查点、S期检查点、G<sub>2</sub>/M期检查点、M期检查点,是在细胞周

期的暂停中允许编辑和修复遗传信息,并使每个子细胞接受与亲代细胞相同的整套遗传信息,其中有两个重要的“生长控制点”:G<sub>1</sub>/S期检查点和G<sub>2</sub>/M期检查点<sup>[2]</sup>,它们不仅能监控细胞数量的增加,而且能监视DNA损伤情况,阻止DNA损伤的细胞进入分裂期。当细胞周期暂时停滞在这些DNA损伤检查点上,为修复DNA损伤提供了时间,修复后细胞周期继续进行,若损伤严重则细胞在此处发生凋亡。

Abraham等<sup>[3]</sup>发现,ATR蛋白与共济失调性毛细血管扩张症突变(ataxia telangiectasia mutation, ATM)蛋白在DNA损伤反应中具有重要的作用,它们是DNA损伤后众多检查点调控蛋白中较重要的调控蛋白。ATR及ATM蛋白在结构上与磷酸肌醇激酶家族甚为类似,是磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3-K)家族成员,具有丝氨酸和苏氨酸蛋白激酶活性,在同源重组修复(homologous recombination repair, HRR)、细胞周期阻滞及其他细胞损伤应激反应中是一种非常重要的信号转导蛋白<sup>[4-6]</sup>。Cliby等<sup>[7]</sup>报道,在显性抑制ATR表达的哺乳动物细胞中,对各种类型的DNA损伤都变得敏感,而且使辐射后的细胞在G<sub>2</sub>/M期检查点的停滞减少,这说明ATR在辐射诱导的检查点停滞修复中起着重要的作用,其下游的调控基

因 CHK1 对辐射诱导的 S 期和 G<sub>2</sub> 期检查点反应起着重要作用。阻滞 ATR/CHK1 通路则发现细胞对辐射的敏感性增加<sup>[8]</sup>。

### 1.2 FHIT、ATR/CHK1 与辐射敏感性

FHIT、ATR/CHK1 通路影响 HRR 发挥作用, 与细胞的辐射敏感性、肿瘤的发生有着密切的关系。

Hu 等<sup>[9]</sup>报道, FHIT<sup>-/-</sup>细胞受到电离辐射后, 在 S 期和 G<sub>2</sub> 期的检查点抑制比 FHIT<sup>+/+</sup> 细胞要强得多, 细胞对辐射的敏感性降低。研究发现, 在 FHIT<sup>-/-</sup>细胞中 ATR/CHK1 通路非常活跃, 可以使细胞在 S 期和 G<sub>2</sub> 期的检查点停滞进行细胞修复, 提示 Fhit<sup>-/-</sup>细胞的辐射敏感性降低与 ATR/CHK1 信号转导调控通路的作用相关, 这也证明了缺失 FHIT 的肿瘤细胞是辐射敏感性降低的一个原因<sup>[9, 10]</sup>。

### 1.3 FHIT、ATR/CHK1 与 HRR

辐射诱导的细胞损伤中最重要的损伤之一是 DNA 双链断裂(double-strand break, DSB)。DSB 修复有两种重要的途径: HRR 和非同源末端连接(nonhomologous end-joining, NHEJ) 修复。HRR 在减数分裂、有丝分裂晚 S 期、G<sub>2</sub> 期以及胚胎细胞 DSB 修复中发挥重要作用, 而 NHEJ 修复在有丝分裂细胞的 G<sub>0</sub> 期和 G<sub>1</sub> 期中起重要作用<sup>[11]</sup>。高等真核生物 DNA 复制又遇到单链断裂时会形成 DSB, 这种 DSB 损伤的修复以 HRR 为主, 有效地保证了复制的忠实性。HRR 还参与端粒长度的维持, 是基因杂合性丢失的主要机制之一。HRR 缺陷的细胞对电离辐射的敏感性明显增加, 癌变倾向高, 表明 HRR 与肿瘤发生有关。

检查点反应的平衡与维持细胞的稳定性密切相关, 正常的 HRR 对维持细胞的完整性和稳定性起着重要的作用, 但是过度活跃的检查点停滞会引起过度的 HRR, 产生 DNA 错配或者对 DNA 损伤的不敏感, 致使自发或者诱发的突变产生。肿瘤细胞增殖能力强, 处于 S 期与 G<sub>2</sub> 期的比例高, HRR 是这两个阶段中重要的修复途径, 如果有效抑制 HRR, 能使肿瘤对放疗与化疗的敏感性提高<sup>[12, 13]</sup>。Hu 等<sup>[9]</sup>应用非对称场倒置技术研究发现, FHIT<sup>-/-</sup>细胞的损伤修复、ATR/CHK1 通路激活细胞的损伤修复都依赖于 HRR, 但是两者对 HRR 起着相反的影响, 剔除 FHIT 基因使 HRR 增加, 可引起染色体异常重排, 导致基因组不稳定, 使细胞易于癌变; 剔除 ATR/CHK1 则减少 HRR, 染色体断裂增加, 使细胞的

辐射抗性降低, 细胞凋亡增加。

## 2 FHIT 与 bcl-2 基因和 caspase 家族

细胞凋亡的过程非常复杂, 与此有关的 bcl-2 基因, caspase 家族对细胞凋亡的调控起着重要的作用, bcl-2 基因是 caspase 活性的调节因素。将 FHIT 基因导入 FHIT 缺失的肿瘤细胞中能使肿瘤细胞发生凋亡。Kim 等<sup>[14]</sup>报道, 抗肿瘤药作用于 FHIT 表达的肿瘤细胞所诱导的凋亡比剔除 FHIT 基因后抗肿瘤药诱导的肿瘤细胞凋亡要多。在 FHIT 表达的细胞中, caspase-3 和 caspase-7 活跃程度比 FHIT 基因被剔除的对照组要高, 若在 FHIT 表达的细胞中抑制 caspase 活性, 则抗肿瘤药诱导的凋亡明显下降。

已知 bcl-2 基因、bcl-xL 基因起着抑制凋亡的作用, bax 基因、bad 基因则能促进凋亡。对 FHIT 表达的细胞用抗肿瘤药处理后发现, bcl-2 基因、bcl-xL 基因下调, 而 bax 基因、bad 基因上调, 这些都表明 FHIT 基因和抗肿瘤药对细胞凋亡的作用与 bcl-2、caspase 密切相关的。但它们之间具体的作用机制还不是很清楚, 还需进一步的研究。

## 3 FHIT 与 PI3-K-AKT-survivin 通路

AKT 是 PI3-K 家族的重要成员, AKT 磷酸化后能激活抑制细胞凋亡的分子, 如: survivin、bad、caspase-9、雷帕霉素靶蛋白和糖原合酶激酶-3 $\beta$  等, 促进细胞存活<sup>[15]</sup>; 激活 PI3-K-AKT 能上调 survivin 的表达, 抑制凋亡的发生。FHIT 能阻滞 AKT 的活性, 在缺失 FHIT 的细胞中, AKT 和 survivin 磷酸化水平上调, 阻滞细胞凋亡信号, 加速癌基因的增殖; 剔除 FHIT 基因使小鼠的肿瘤发生率升高, 而且过度激活的 AKT 能阻滞 FHIT 诱导的凋亡<sup>[16]</sup>。

Ramesh 等<sup>[17]</sup>报道, FHIT 能抑制 PI3-K-AKT-survivin 通路, 促进肿瘤细胞凋亡。该研究发现, 在缺失 FHIT 的细胞中导入野生型的 FHIT 后, PI3-K-AKT 信号通路被抑制, 进而使抗凋亡的蛋白 survivin 表达减少。

## 4 FHIT 与环孢霉素 A

细胞周期蛋白(calceinurin, CaN)是一种受 Ca<sup>2+</sup> 及钙调蛋白(calmodulin, CaM)活化的蛋白磷酸酶, 环孢霉素 A 通过在 G<sub>1</sub> 末期上调细胞周期蛋白 D1

和细胞周期蛋白依赖性激酶 4 的表达, 促进依赖于 CaN 的 G<sub>1</sub> 期-S 期的转变。Semba 等<sup>[8]</sup>认为, FHIT 能抑制环孢霉素 A 受体亚型, 调节钙调神经磷酸酶 CaN 活性和 G<sub>1</sub> 期-S 期的转变。环孢霉素 A 的下调是 FHIT 参与凋亡调节的最先表现之一<sup>[9]</sup>。研究 FHIT 缺失的人肺癌细胞中环孢霉素 A 的作用机制能给研究 FHIT 缺失致癌的分子机制提供新的解释。

## 5 FHIT 与核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB)

磷酸化 NF-κB 抑制蛋白 α(phospho-IκB-α, p-IκB-α) 与 NF-κB 活性密切相关, NF-κB 的激活是通过先磷酸化真核细胞转录因子抑制蛋白(IκB-α)形成 p-IκB-α, 激活后的 NF-κB 进入细胞核发挥作用。Nakagawa 等<sup>[20]</sup>在 FHIT 缺失的结肠癌细胞 SW480 中导入野生型 FHIT, 在 FHIT 表达的 DLD-1 细胞中用小干扰 RNA 抑制 FHIT 表达, 结果导入野生型 FHIT 的肿瘤细胞生长受到明显抑制, 而用小干扰 RNA 抑制 FHIT 表达的肿瘤细胞增殖旺盛, 发现 FHIT 能明显抑制线粒体电子转移, 通过阻止 IκB-α 磷酸化使 p-IκB-α 显著减少, 抑制 NF-κB 信号通路, 使细胞对有害因素敏感性增加, 促进细胞的凋亡; 在抑制 FHIT 后, 能激活 p-IκB-α 并促进细胞生长。研究表明, FHIT 调控细胞增殖与 FHIT 底物复合物(FHIT·ApnA)密切相关, 二腺苷磷酸复合物(ApnA)能抑制非受体酪氨酸激酶(pp60src)产生的免疫球蛋白 G 磷酸化以及酸性成纤维细胞生长因子介导的蛋白磷酸化, FHIT 是通过调节 ApnA 的代谢来调节 IκB-α 的磷酸化, 再作用于 NF-κB 的信号调节来抑制细胞的生长, 从而抑制肿瘤细胞的形成。

FHIT 在肿瘤抑制方面起着重要的作用, 自从 1996 年发现此基因后, 对其抑癌作用机制的研究日益增多。Semba 等<sup>[10]</sup>发现, FHIT 抑制肿瘤与其位于 C 环末端反应 114 位点的酪氨酸密切相关, 当此位点的酪氨酸发生突变, 则肿瘤细胞的凋亡减少, 肿瘤发生率明显上升。

近年来, 通过对 FHIT 在细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡以及相关信号蛋白的研究使其作用机制日益清晰, 进一步对 FHIT 基因和细胞信号通路的深入研究可以更清晰地了解肿瘤的发生机制和 FHIT 抑癌作用的途径, 并为肿瘤的治疗提供方向。

## 参 考 文 献

- Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, et al. The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3; 8)breakpoint, is abnormal in digestive tract cancer. *Cell*, 1996, 84 (4): 587-597.

- Paulovich AG, Hartwell LH. A checkpoint regulates the rate of progression through S phase in *S. cerevisiae* in response to DNA damage. *Cell*, 1995, 75 (4): 841-847.
- Abraham RT. Cell cycle checkpoint signaling through the ATM and ATR kinases. *Genes Dev*, 2001, 15(17): 2177-2196.
- Bakkenist CJ, Kastan MB. Initiating cellular stress responses. *Cell*, 2004, 118(1): 9-17.
- Shiloh Y. ATM and ATR: Networking cellular responses to DNA damage. *Curr Opin Genet Dev*, 2001, 11(1): 71-77.
- Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kacmaz K, et al. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*, 2004, 73: 39-85.
- Cliby WA, Roberts CJ, Cimprich KA, et al. Overexpression of a kinase-inactive ATR protein causes sensitivity to DNA-damaging agents and defects in cell cycle checkpoints. *EMBO J*, 1998, 17(1): 159-169.
- Hu B, Han SY, Wang X, et al. Involvement of the Fhit gene in the ionizing radiation-activated ATR/CHK1 pathway. *J Cell Physiol*, 2005, 202(2): 518-523.
- Hu B, Wang H, Wang X, et al. Fhit and CHK1 have opposing effects on homologous recombination repair. *Cancer Res*, 2005, 65 (19): 8613-8616.
- Ottey M, Han SY, Druck T, et al. Fhit deficient normal and cancer cells are mitomycin C and UVC resistant. *Br J Cancer*, 2004, 91(9): 1669-1677.
- Liang F, Han M, Romanienko PJ, et al. Homology-directed repair is a major double-strand break repair pathway in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(9): 5172-5177.
- Wang H, Wang X, Iliakis G, et al. Caffeine could not efficiently sensitize homologous recombination repair deficient cells to ionizing radiation-induced killing. *Radiat Res*, 2003, 159(3): 420-425.
- Wang X, Wang H, Iliakis G, et al. Caffeine-induced radiosensitization is independent of nonhomologous end joining of DNA double strand breaks. *Radiat Res*, 2003, 159(3): 426-432.
- Kim CH, Yoo JS, Lee CT, et al. FHIT protein enhances paclitaxel-induced apoptosis in lung cancer cells. *Int J Cancer*, 2006, 118(7): 1692-1698.
- Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(7): 489-501.
- Semba S, Trapasso F, Fabbri M, et al. Fhit modulation of the Akt-survivin pathway in lung cancer cells: Fhit-tyrosine 114 (Y114) is essential. *Oncogene*, 2006, 25(20): 2860-2872.
- Ramesh R, Saeki T, Templeton NS, et al. Successful treatment of primary and disseminated human lung cancers by systemic delivery of tumor suppressor genes using an improved liposome vector. *Mol Ther*, 2001, 3(3): 337-350.
- Sembas S, Huebner K. Protein expression profiling identifies cyclophilin A as a molecular target in Fhit-mediated tumor suppression. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(8): 529-538.
- Kahl CR, Means AR. Calcineurin regulates cyclin D1 accumulation in growth-stimulated fibroblasts. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(4): 1833-1842.
- Nakagawa Y, Akao Y. Fhit protein inhibits cell growth by attenuating the signaling mediated by nuclear factor-κB in colon cancer cell lines. *Exp Cell Res*, 2006, 312(13): 2433-2442.