

growth factor by ovarian carcinoma cells: implications for ascites formation [J]. *Cancer Res* 2003 63(3): 5224 - 5231.

[7] Rauvala U ,Puistola T ,Trpenniemi H *et al.* Gelatinases and their tissue inhibitors in ovarian tumors; TIMP-1 is a predictive as well as a prognostic factor [J]. *Gynecol Oncol* ,2005 ,99( 6) : 656 - 662.

[8] Fishman DA ,Liu Y ,Ellerbroek SM *et al.* Lysophosphatidic acid promotes matrix metalloproteinase activation and MMP-dependent invasion in ovarian cancer cells [J]. *Cancer Res* ,2001 ,61( 4) : 3194 - 3201.

[9] Lin CK ,Chao TK ,Yu CP *et al.* The expression of six biomarkers in the four most common ovarian cancers: correlation with clinic pathological parameters [J]. *APMIS* 2009 ,117( 3) : 162 - 175.

[10] Kim DS ,Jeon OH ,Lee HD. Integrin  $\alpha\beta 3$ -mediated transcriptional regulation of TIMP-1 in a human ovarian cancer cell line [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2008 ,377( 2) : 479 - 483.

[11] Ahmed N ,Riley C ,Oliva K ,*et al.* Integrin-linked kinase expression increases with ovarian tumour grade and is sustained by peritoneal tumour fluid [J]. *J Pathol* ,2003 ,201( 2) : 229 - 237.

[12] Cruet-Hennequart S ,Maubant S ,Luis J ,*et al.*  $\alpha(v)$  integrins regulate cell proliferation through integrin-linked kinase in ovarian cancer cells [J]. *Oncogene* 2003 22( 11) : 1688 - 1702.

[13] 于翠珍,李双标,孙德飞. 整合素连接激酶在卵巢肿瘤组织中的表达及意义 [J]. *中国实用妇科与产科杂志* 2007 23( 9) :

712 - 715.

[14] Muller-Klingspor V ,Hefler L ,Obermair A *et al.* Prognostic value of  $\beta 1$ -integrin( = CD29) in serous adenocarcinomas of the ovary [J]. *Anticancer Res* 2001 21( 3C) : 2185 - 2188.

[15] Burleson KM ,Casey RC ,Skubitiz KM *et al.* Ovarian carcinoma ascites spheroids adhere to extracellular matrix components and mesothelial cellmonolayers [J]. *Gynecol Oncol* ,2004 ,93( 1) : 170 - 181.

[16] 陈洁,刘鸣,汤春生. 整合素  $\beta 1$  与卵巢癌侵袭性的相关研究 [J]. *中国实用妇科与产科杂志* 2005 21( 4) : 240 - 242.

[17] 汤艳,张爽.  $\alpha v$  整合素与卵巢癌细胞增殖及凋亡关系的研究 [J]. *辽宁医学院学报* 2007 28( 1) : 38 - 40.

[18] Leong KG ,Hu XL ,Li L ,*et al.* Activated Notch4 inhibits angiogenesis: role of  $\beta 1$ -integrin activation [J]. *Mol Cell Biol* , 2002 22( 8) : 2830 - 2834.

[19] 杨丽华,李玛琳,王凯峰,等. bFGF、 $\alpha\beta 3$  和 NF $\kappa$ B 在 hOEC 中的表达及其与血管生成关系的研究 [J]. *昆明医学院学报* , 2005 26( 2) : 19 - 22.

[20] Carreiras F ,Thiébot B ,Leroy-Dudal J *et al.* Involvement of  $\alpha \beta 3$  integrin and disruption of endothelial fibronectin network during the dhesion of the human ovarian adenocarcinoma cell line IGROV1 on the human umbilicalvein cell extracellu larmatrix [J]. *Int J Cancer* 2002 99( 6) : 800 - 808.

( 本文编辑 刘璐)

[文章编号] 1000-2200( 2011) 02-0208-05

• 综 述 •

## 细胞周期检查点激酶 1 在相关肿瘤中的研究现状

杨 洋 综述,郑荣生 审校

[关键词] 肿瘤; 细胞周期检查点激酶; 肿瘤/药物疗法; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 730. 2 [文献标识码] A

细胞在生长进化的过程中发展出了一套保证细胞周期中 DNA 复制和染色体分配质量的检查机制, 通常被称为细胞周期检查点。细胞周期检查点调节出现异常时, 则会引起一系列疾病, 尤其是恶性肿瘤的发生。细胞周期检查点主要有 2 个激酶: 细胞周期检查点激酶 1( Chk1) 和 Chk2, 其中研究较多的是 Chk1。Chk1 是一种蛋白激酶, 是 G<sub>2</sub> 期 DNA 损伤检查点的效应分子, 是细胞周期以及协调 DNA 合成所必不可少的激酶。有研究<sup>[1]</sup>显示 Chk1 在调节正常细胞周期的复制时间和进程中起到了关键的作用。尽管越来越多的证据<sup>[2]</sup>提示 Chk1 直接在细胞复制中起作用, 但是 Chk1 如何进行调控的机制目前仍

不完全明确。本文就 Chk1 与相关肿瘤的关系及 Chk1 抑制剂的研究现状作一综述。

### 1 Chk1 的结构及分子生物学特性

1.1 Chk1 的结构 Chk1 是 1 个含有 200 个氨基酸的复合物, 包含 1 个 N-末端激酶结构域和 1 个 C-末端结构域, 包含作用于 ATM/R 激酶的激活磷酸化位点, 并通过仍然未知的机制激活 ATM/R。在哺乳动物中, Chk1 磷酸化首先发生于羧基端的 Ser-317 和 Ser-345 两个丝氨酸残基上。自体磷酸化、构象变化、Chk1 的亚细胞定位的改变对它的活性起一定作用, 也是其功能所必需<sup>[3]</sup>。Peddibhotla 等<sup>[4]</sup>在 Chk1 的羧基端发现一种保守的 PCNA 相关蛋白( PIP), 是 Chk1 有效地应对 DNA 损伤诱导的磷酸化和染色质释放所必需, 并且证明 PIP 在 Chk1 介导

[收稿日期] 2010-06-20

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 肿瘤内科 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 杨 洋( 1983 - ) 男, 硕士研究生。

的 S-M 期和 G<sub>2</sub>-M 期检查点及恰当地调节 DNA 复制中起关键作用。

1.2 Chk1 的分子生物学特征 Chk1 蛋白在多种组织中均有表达,在细胞质和细胞核亦有表达,但主要在细胞核内发挥作用,目前的研究<sup>[5]</sup>表明,Chk1 的 mRNA 和蛋白主要在 S 期和 G<sub>2</sub> 期表达。而且 Chk1 还参与染色质和纺锤体装配。O'Connell 等<sup>[6]</sup>认为在体内截断 C-末端结构域则会使 Chk1 活性消失,并确定在 C-末端结构域的额外突变能够激活 Chk1 异位的表达,该过程不需要磷酸化。

1.3 Chk1 在 DNA 损伤修复中的作用 DNA 损伤检查点通路被定义为一个信号转导通路,当存在 DNA 损伤时,延迟细胞进入有丝分裂期以保持基因组的完整性<sup>[7]</sup>。许多包含在这条通路中的蛋白被从基因学方面进行确定,表明它们在整个进化过程中高度保守。当存在 DNA 损伤时,这些蛋白的突变或者缺失导致细胞周期进程停滞的失败<sup>[8]</sup>;而 Chk1 可以磷酸化体外细胞周期的关键调控因子,在 DNA 损伤检查点通路和细胞周期结构之间提供一个有吸引力的链接。研究<sup>[9]</sup>表明,在电离辐射引起的损伤反应中,Chk1 可能是以一种 ATM-依赖性的方式磷酸化的,ATR-Chk1 通路通常以复制叉进程受损的形式被激活。该通路包含了作为 DNA 损伤元件的复制叉中的某些组成部分。Chk1 介导的级联磷酸化结果是 S 和 G<sub>2</sub> 细胞周期进程的延迟<sup>[10]</sup>。

在 DNA 损伤中,Chk1 的关键作用是诱导细胞周期停滞,为 DNA 修复提供时间<sup>[11]</sup>。然而,Chk1 有着独特的有丝分裂定位模式,在未受干扰的哺乳动物的细胞有丝分裂及细胞质分裂中具有活性,且该活性不受秋水仙碱和紫外线的影响。而缺乏 Chk1 的有丝分裂细胞会出现细胞质分裂的失败和细胞多核化。而 Peddibhotla 等<sup>[4]</sup>的研究证明,Chk1 不仅仅是细胞周期的 S 期和 G<sub>2</sub> 期所必需,而且也是有丝分裂和细胞质分裂及完全的细胞分离所必需。Ward 等<sup>[12]</sup>发现当 DNA 发生损伤后,共济失调毛细血管扩张症突变(ataxia-telangiectasia-mutant,ATM)基因和 ATM/Rad3 相关蛋白(ATM-anRad3-related protein,ATR)基因立即激活,识别并下传 DNA 损伤信号,引起细胞周期阻滞并激活 DNA 损伤修复系统,DNA 损伤修复系统与细胞周期检查点调控相互协调以维持细胞基因组的稳定性。

研究<sup>[13]</sup>认为,细胞周期检查点途径主要由 ATM/ATR-Chk1/2-CDC25A/25B/25C 轴组成。Chk1 一般不影响体细胞的正常生长,但其基因突变

影响 DNA 损伤修复,如 Chk1 缺陷的人淋巴瘤细胞 DT40 生长正常,但对放射线高度敏感,放射线照射后出现 G<sub>2</sub> 期阻滞减弱,并出现复制不完全和细胞存活减少现象<sup>[14]</sup>。Curman 等<sup>[15]</sup>发现,Chk2<sup>-/-</sup>鼠由于脾淋巴细胞得以保存从而依然表现为对放射线抗拒。在放射线等引起 DNA 损伤或复制阻滞发生后,Chk1/2 激酶磷酸化而发挥细胞周期检查点功能。临床常用的放化疗药物均可通过不同机制直接或间接地引起 DNA 双链断裂,这被认为是最常见、最严重的一种 DNA 损伤,而 Chk1 已被证明是应答的关键分子。在细胞周期检查点激活而导致周期停滞后,Chk1 在修复断裂 DNA 中的作用可能更为显著<sup>[16]</sup>。

## 2 Chk1 与肿瘤的关系

2.1 Chk1 异常在肿瘤发生中的作用 肿瘤细胞的标志之一,是由有缺陷的基因组维护机制所导致的染色体畸变的累积,这包括细胞周期检查点路径和 DNA 修复路径。而 Chk1 是一个进化上保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,不仅为正常的细胞周期进程所必需,而且也是细胞分裂中维持基因组完整性所必需<sup>[17]</sup>。

虽然 Chk1 被假设作为一个肿瘤抑制子,但是 Lam 等<sup>[18]</sup>已经证明在 Chk1 的一个等位基因失活后,Chk1 作为一个潜在的肿瘤抑制子其功能会呈现出单倍剂量不足,这会导致细胞不恰当地进入 S 期,使得 DNA 损伤在复制中逐渐积累,而失去调节的 S 期也不能限制有丝分裂的进行。并证明 Chk1 的一个等位基因的失活就可能引起足够的基因组不稳定性,使得肿瘤形成。而事实上,在 Chk1<sup>+/+</sup>细胞系中肿瘤发生率确实是增加的。

2.2 Chk1 与乳腺癌 乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤,严重威胁女性的生命健康。在我国,乳腺癌的发病率逐年增高。近年来,许多研究表明染色体不稳定性及肿瘤细胞 DNA 非整倍体是恶性肿瘤特征性标志之一。在乳腺癌中,非整倍体肿瘤较二倍体肿瘤生长迅速,侵袭性强。非整倍体肿瘤较二倍体肿瘤具有更多的基因改变,包括基因重排、基因缺失、基因扩增等。因而对基因组不稳定性与恶性肿瘤关系的研究已越来越多。有研究发现乳腺癌 CCND1 基因的扩增和 Chk1 基因的缺失往往同时出现,两基因拷贝数的改变有关联。且同时出现 CCND1 扩增和 Chk1 缺失的肿瘤,多为非整倍体,且组织学分级高。说明 CCND1 和 Chk1 与乳腺癌基因不稳定

性和恶性生物学行为有关。同时,不同分化区域, Chk1 基因拷贝数存在差异, Chk1 杂合性缺失在肿瘤发生早期的原位癌阶段即可出现,提示 Chk1 基因缺失可能是乳腺癌的早期分子生物学事件。目前关于 Chk1 与乳腺癌的关系正在进一步研究中。

而三阴乳腺癌作为乳腺癌的一种独特类型,是以缺乏雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)及人类表皮生长因子受体-2(HER-2)表达为特点。由于缺乏内分泌治疗的手段,目前化疗仍是三阴乳腺癌辅助治疗或者已经转移的患者唯一可能的选择。但化疗由于其毒副作用以及化疗药物对肿瘤的敏感性等问题制约了三阴乳腺癌的治疗效果,因此,如果能够选择分子靶向药物进行单独或者联合化疗药物,将有可能进一步提高三阴乳腺癌治疗的效果,改善预后。

目前关于 Chk1 与三阴乳腺癌的研究已有报道。Verlinden 等<sup>[19]</sup>分析 103 例原发性浸润型乳腺癌,证实 Chk1 和 claspin 这 2 个 DNA 损伤的关键检查点蛋白是由一个已知的细胞增殖抑制剂 1,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> 下调的,并且证实两者的表达具有很强的相关性,这与现有的观点: Chk1 的过表达会增加 claspin 的水平相一致。Verlinden 等的实验结果显示, claspin 和 Chk1 这 2 种蛋白在组织学分级为 III 级的肿瘤中高表达,在 ER 和 PR 缺失的乳腺癌中也高表达;而 Chk1 在组织学 III 级的三阴乳腺癌中尤其表现为高表达,且表达与淋巴结的状态无关。Chk1 的表达与三阴乳腺癌肿瘤大小是否有关,仍有待进一步研究。

2.3 Chk1 与消化系统肿瘤 目前已有研究<sup>[20]</sup>指出,抑制 Chk1 的表达,可以减轻食管癌细胞照射后 G<sub>2</sub> 期的阻滞程度,从而增加食管癌放射敏感性。关于 Chk1 在胃癌中的研究报道,目前 Shigeishi 等<sup>[21]</sup>研究表明 Chk1 在胃癌组织中高表达,但其表达水平与 p53 之间却无明显相关性。凌晖等<sup>[22]</sup>研究也表明,在胃癌组织中 Chk1 可被二烯丙基二硫化物激活进而引起人胃癌 MGC803 细胞 G<sub>2</sub>/M 期阻滞,展示胃癌新的可能的治疗方案,而目前胃癌的新辅助及辅助化疗尚无统一的标准。薛慧琴等<sup>[23]</sup>研究发现, Chk1 在肝癌组织中表达率高于癌旁组织,明显高于正常肝组织; Chk1 阳性表达与肝癌病理分级有关,而与 TNM 分期、有无复发及性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤结节、门静脉癌栓、血清甲胎蛋白含量、有无乙型肝炎、丙型肝炎及是否合并肝硬化、腹水等无关。而 Matsumoto 等<sup>[24]</sup>研究发现,在原发性肝细胞

癌(肝癌)和胆管细胞癌(CCC)细胞株中,吉西他滨能够诱导 Chk1 的激活,并且能激活细胞外信号调节激酶(ERK) 1/2,当用 MEK 抑制剂 U0126 预处理 HCC 和 CCC 细胞株后,检查点激酶的活性被消除,细胞死亡的现象增加。由此 Matsumoto 等<sup>[24]</sup>认为,当吉西他滨联合 MEK 抑制剂和(或)检查点激酶抑制剂后,有望进一步提高 HCC 或 CCC 的疗效。王伟章等<sup>[25]</sup>研究发现, Chk1 siRNA 能有效提高姜黄素诱导 Huh7 细胞的凋亡率,通过 RNA 干扰的方法抑制 Chk1 表达能够明显抑制姜黄素诱导的肝癌细胞凋亡,表明 Chk1 是姜黄素诱导 BxPC-3 细胞凋亡的关键蛋白。因此, Chk1 可以作为肝癌治疗增敏的有效靶点, Chk1 siRNA 与姜黄素联合治疗有望成为治疗肝癌的新途径。有关靶向干扰 Chk1 对力达霉素(LDM)的增敏作用及其与 p53 相关性研究表明, Chk1 干扰可通过消除 LDM 引起的 G<sub>2</sub>/M 期阻滞、增加 DNA 损伤,从而诱导细胞进入未成熟的细胞周期、增加 LDM 所致的细胞凋亡和细胞毒性。此外,在 p53 敲除型细胞中, Chk1 干扰还可激活 p53 非依赖的 Caspase-2 和 Caspase-3 介导的凋亡通路,增强 LDM 在的凋亡诱导作用。提示 Chk1 可能是 LDM 联合治疗结肠癌的有效作用靶点之一。在结肠癌治疗中, Shao 等<sup>[26]</sup>认为在细胞周期检查点缺失的结肠癌患者中, Chk1 抑制剂联合 ara-C 使用能够增强结肠癌治疗的疗效。这为结肠癌的进一步治疗提供了新的参考。

2.4 Chk1 与生殖系统肿瘤 马全富等<sup>[27]</sup>分析子宫内膜癌患者及正常子宫内膜组织中 Chk1 的表达,认为 Chk1 的表达与子宫内膜癌患者的年龄、组织病理学类型和临床分期无关。但 Chk1 的表达在不同分化程度子宫内膜癌患者中的差异有统计学意义。而分化越低,表达越高,提示 Chk1 在低分化子宫内膜癌的发生、发展中发挥某些作用。而黄晓圆等<sup>[28]</sup>研究结果表明, Chk1 在子宫颈癌患者中的阳性率为 76.7%,在慢性宫颈炎患者中的阳性率为 30.0%,在子宫颈癌的表达显著高于慢性宫颈炎。虽然 Chk1 蛋白的表达在不同年龄、病理类型和临床分期的子宫颈癌患者中差异无统计学意义,但 Chk1 的表达在不同分化程度的子宫颈癌患者中差异有统计学意义,并认为 Chk1 亦可能成为比较理想的子宫颈癌治疗靶点。Zuco 等<sup>[29]</sup>研究认为,在 ST1926/HDAC 抑制剂诱导的卵巢癌细胞中, DNA 损伤出现累积性, Chk1 是显著激活的。而在男性生殖系统中, Ray 等<sup>[30]</sup>证实 Apo2 配体肿瘤坏死因子

相关凋亡诱导配体联合 CPT-11 可通过 Chk2-Cdc25A 和 Chk1-Cdc25A 通路调节 S 期检查点,诱导人类 C4-2 前列腺癌细胞株凋亡。

2.5 Chk1 与血液系统肿瘤 关于 Chk1 在血液系统恶性肿瘤的研究报道不多,且观点尚不一致。周剑锋等<sup>[31]</sup>研究认为 Chk1 mRNA 的水平与白血病发生无关,但 Chk1 蛋白表达水平在初治和幼稚细胞 >30% 的复治白血病中的核表达水平显著升高,提示 Chk1 在白血病中的表达有一定的特异性,有作为白血病治疗靶点的可能性。而 Tsimaratou 等<sup>[32]</sup>研究则发现,人类高增殖活性的淋巴瘤细胞其 Chk1 mRNA 水平和蛋白质水平均有所增加。Chk1 与血液系统恶性肿瘤的关系要想取得一致的结论,仍有待进一步深入研究。

2.6 Chk1 与呼吸系统肿瘤 Haruki 等<sup>[33]</sup>研究 44 例肺癌,发现虽然肺癌患者的体内 Chk2 基因发生细胞突变,而且突变频率很低,但是 Chk1 的短异构体却优先表达于小细胞肺癌中。提示 Chk1 与肺癌的发生可能存在正相关。而 Yuki 等<sup>[34]</sup>研究发现在非小细胞肺癌中,当敲除了 hRad9 后,Chk1 的磷酸化受到抑制。通过敲除 hRad9 进而抑制 Chk1 可作为肺癌治疗的新靶点。

### 3 Chk1 抑制剂的研究

在癌症的情况下,检查点的活性保护了肿瘤细胞,使得肿瘤细胞能够对许多抗癌药物发生耐药。这些机制已经启发研究人员研究新的能够抑制检查点的药物,通过推动细胞进入细胞周期进程,在充分的 DNA 修复损伤前促进肿瘤细胞的死亡<sup>[35]</sup>。

在增生组织中,Chk1 缺失是高度致死性的,表明 Chk1 是增殖细胞存活所必需<sup>[36]</sup>。对于 G<sub>2</sub>/M 细胞周期检查点,现有的研究证明其是在细胞毒性压力后,由一个众多的细胞信号通路所调控。当存在基因组损伤时,G<sub>2</sub>/M 检查点被激活用来延迟细胞进入有丝分裂期,从而阻止受损伤的遗传物质传递到子代细胞中。而消除 G<sub>2</sub>/M 检查点后会致细胞对化疗或者放疗的敏感性增加,尤其表现在 p53 功能缺失的细胞中。这使得使用小分子的抑制剂阻断 Chk1 介导的通路诱导细胞死亡成为可能<sup>[37]</sup>。目前许多基因研究已将 Chk1 作为化疗或放疗敏感性的靶点,而有的研究<sup>[38]</sup>也已经证明胚胎干细胞和体细胞中 Chk1 的失活会导致细胞对细胞毒性药物敏感性的增加。

Chk1 抑制剂 7-羟基星胞菌素(UCN-01)可以克

服 S 和 G<sub>2</sub> 期停滞,推动细胞经历一个致死性的有丝分裂。由于低浓度使用,UCN-01 的关键靶点是 Chk1,而并不抑制已被报道<sup>[39]</sup>的检查点蛋白如 Chk2 和 MAPKAPK2。而 Kohn 等<sup>[40]</sup>先前的研究也显示,在 p53 突变的 MDA-MB-231 细胞中 Chk1 抑制剂 UCN-01 能够消除细胞的 S 和 G<sub>2</sub> 期停滞,使细胞周期恢复正常。

Parsels 等<sup>[41]</sup>测试一个小分子 Chk1 抑制剂 PD-321852,在一组胰腺癌细胞系中用 PD-321852 联合吉西他滨,使得基因克隆的死亡成为可能。而 PD-321852 也被证明是通过稳定 Cdc25A 进而在细胞中抑制 Chk1。Dai 等<sup>[42]</sup>将 U937 淋巴细胞暴露于亚毒性浓度的 Chk1 抑制剂和法尼基转移酶抑制剂(L744832)的联合液中,观察到染色体出现去功能化及凋亡现象。而用 siRNA 或者化学性的抑制剂来抑制 Chk1,阻止药物诱导的 Cdc25A 退化,也会导致 S 间期和(或)G<sub>2</sub>-M 检查点的消除<sup>[43]</sup>。

### 4 结语

目前,关于 Chk1 通路的抑制及阻断在恶性肿瘤中尤其是乳腺癌中的研究尚不多,且 Chk1 抑制剂的研究仍处于实验阶段,尚未进入临床试验。因此,深入了解肿瘤细胞周期检查点的调控机制,以 Chk1 为作用靶点,阻断细胞周期检查点的信号转导通路,进而干扰细胞损伤修复机制,对于提高肿瘤化学治疗的敏感性具有重要意义,可为乳腺癌,尤其是三阴乳腺癌的治疗提供新的思路。

但目前 Chk1 抑制剂的研究仍然存在一些问题,如 Zaugg 等<sup>[35]</sup>证实的抑制 Chk1 对正常细胞和肿瘤细胞都将产生不利的影晌,使得抗 Chk1 药物的抗肿瘤效果还不能被接受。而在老鼠的乳腺腺体中使用条件缺失的 Chk1 + / - 突变细胞,Lam 等<sup>[18]</sup>认为在控制细胞增殖、维持基因组的稳定性及细胞周期间的协调上,Chk1 的一个等位基因的缺失是单倍体剂量不足性的。通过调控 Chk1 进而控制肿瘤的发生、发展以及预后尚言之过早,对于 Chk1 及其抑制剂仍然需要进一步的探索。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] Maya-Mendoza A, Petermann E, Gillespie DA, et al. Chk1 regulates the density of active replication origins during the vertebrate S phase [J]. EMBO 2007 26(11): 2719-2731.
- [2] Jennifer S, Meng QD, John R et al. A conserved proliferating cell nuclear antigen-interacting protein sequence in Chk1 is required for checkpoint function [J]. J Biol Chem, 2008, 283(25): 17250-17259.

- [3] Loffler H ,Bochtler T ,Fritz B ,*et al.* DNA damage-induced accumulation of centrosomal Chk1 contributes to its checkpoint function[J]. *Cell Cycle* 2007 6(20) : 2541 – 2548.
- [4] Peddibhotla S ,Lam MH ,Gonzalez-Rimbau M ,*et al.* The DNA-damage effector checkpoint kinase 1 is essential for chromosome segregation and cytokinesis [J]. *PNAS* 2009 ,106(13) : 5159 – 5164.
- [5] Schwartz GK ,Shah MA. Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy [J]. *J Clin Oncol* 2005 23(36) : 9408 – 9421.
- [6] O'Connell MJ ,Cimprich KA. G<sub>2</sub> damage checkpoints: what is the turn-on [J]. *Cell Sci* 2005 ,118( Pt 1) : 1 – 6.
- [7] Hartwell LH ,Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events [J]. *Science* ,1989 246(4930) : 629 – 634.
- [8] Weinert TA ,Hartwell LH. The RAD9 gene controls the cell cycle response to DNA damage in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Science* ,1988 241(4863) : 317 – 322.
- [9] O'Connell MJ ,Walworth NC ,Carr AM. The G<sub>2</sub>-phase DNA-damage checkpoint [J]. *Trends Cell Biol* 2000 ,10(7) : 296 – 303.
- [10] Sorensen CS ,Syljuasen RG ,Lukas J *et al.* ATR ,Claspin and the Rad9-Rad1-Hus1 complex regulate Chk1 and Cdc25A in the absence of DNA damage [J]. *Cell Cycle* 2004 3(7) : 941 – 945.
- [11] Abraham RT. Cell cycle checkpoint signaling through the ATM and ATR kinases [J]. *Genes Dev* 2001 ,15(17) : 2177 – 2196.
- [12] Ward IM ,Minn K ,Chen J. UV-induced ataxia-telangiectasia-mutated and Rad3-related activation requires replication stress [J]. *Biol Chem* 2004 279(11) : 9677 – 9680.
- [13] Pichierri P ,Rosselli F. The DNA crosslink-induced Sphase checkpoint depends on ATR-CHK1 and ATR-NBS1-FANCD2 pathways [J]. *EMBO J* 2004 23(5) : 1178 – 1187.
- [14] Buscemi G ,Perego P ,Carenini N ,*et al.* Activation of ATM and Chk2 kinases in relation to the amount of DNA strand breaks [J]. *Oncogene* 2004 23(46) : 7691 – 7700.
- [15] Curman D ,Cinel B ,Williams DE ,*et al.* Inhibition of the G<sub>2</sub> DNA damage checkpoint and of protein kinases chk1 and chk2 by the marine sponge alkaloid debromohymenialdisine [J]. *J Biol Chem* , 2001 276(21) : 17914 – 17919.
- [16] Afienti KL ,Brunmark A ,Axe FU ,*et al.* Checkpoint kinase inhibitors: SAR and radioprotective properties of a series of 2-arylbenzimidazoles [J]. *Med Chem* 2005 48(6) : 1873 – 1885.
- [17] Takai H ,Tominaga K ,Motoyama M ,*et al.* Aberrant cell cycle checkpoint function and early embryonic death in Chk1 (-/-) mice [J]. *Genes Dev* 2000 ,14(12) : 1439 – 1447.
- [18] Lam MH ,Liu Q ,Elledge SJ ,*et al.* Chk1 is haploinsufficient for multiple functions critical to tumor suppression [J]. *Cancer Cell* , 2004 6(1) : 45 – 59.
- [19] Verlinden L ,Bempt IV ,Eelen G ,*et al.* The E2F-regulated gene Chk1 is highly expressed in triple-negative estrogen receptor - / progesterone receptor - /HER-2 - breast carcinomas [J]. *Cancer Res* 2007 67(14) : 6574 – 6581.
- [20] Wang X ,Khadpe J ,Hu B ,*et al.* An overactivated ATR/CHK1 pathway is responsible for the prolonged G<sub>2</sub> accumulation in irradiated AT cells [J]. *J Biol Chem* ,2003 278(33) : 30869 – 30874.
- [21] Shigeishi H ,Yokozaki H ,Oue N. Increased expression of CHK2 in human gastric carcinomas harboring p53 mutations [J]. *Cancer Res* 2000 60(17) : 4689 – 4692.
- [22] 凌晖 吉晓霞 文玲 等. 二烯丙基二硫化物对人胃癌 MGC803 细胞 G<sub>2</sub>/M 期检查点激酶 Chk1/2 的影响 [J]. *中国病理生理杂志* 2009 25(9) : 1736 – 1740.
- [23] 薛慧琴. HSP90 和 Chk1 在肝癌中的表达及肝癌细胞凋亡中的作用 [D]. 南宁: 广西医科大学博士毕业论文 ,2009.
- [24] Matsumoto K ,Nagahara T ,Okano J. The growth inhibition of hepatocellular and cholangiocellular carcinoma cells by gemcitabine and the roles of extracellular signal-regulated and checkpoint kinases [J]. *Cancer Lett* 2008 272(2) : 232 – 241.
- [25] 王伟章 金小宝 毛建文 等. Chk1 基因沉默增强姜黄素诱导肝癌细胞 Huh7 凋亡的敏感性 [J]. *中国癌症杂志* ,2010 20(2) : 95 – 100.
- [26] Shao RG ,Cao CX ,Pommier Y. Abrogation of Chk1-mediated S/G<sub>2</sub> checkpoint by UCN-01 enhances ara-C-induced cytotoxicity in human colon cancer cells [J]. *Int J Cancer* 2002 99(1) : 58 – 62.
- [27] 马全富 黄晓园 高庆蕾 等. Chk1/2 和 Plk1 蛋白在子宫内膜癌中的表达 [J]. *肿瘤防治研究* ,2008 35(6) : 424 – 426.
- [28] 黄晓园 高庆蕾 庄亮 等. Chk1/2/Plk1 蛋白在宫颈良性病变组织中的表达及其意义 [J]. *中国癌症杂志* ,2007 17(6) : 429 – 432.
- [29] Zuco V ,Benedetti V ,Cesare MD ,*et al.* Sensitization of ovarian carcinoma cells to the atypical retinoid ST1926 by the histone deacetylase inhibitor ,RC307: enhanced DNA damage response [J]. *Oncol Rep* 2008 20(5) : 1047 – 1052.
- [30] Ray S ,Shyam S ,Fraizer GC ,*et al.* S-phase checkpoints regulate Apo2 ligand/TRAIL and CPT-11-induced apoptosis of prostate cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther* 2007 6(4) : 1368 – 1378.
- [31] 周剑锋 黄伟 张瑶珍 等. 细胞周期检测点激酶 Chk1 和 Chk2 在急性白血病骨髓单个核细胞中表达的研究 [J]. *华中科技大学学报* 2004 33(2) : 161 – 164.
- [32] Tsimaritou K ,Kletsas D ,Kastrinakis NG ,*et al.* Evaluation of claspin as a proliferation marker in human cancer and normal tissues [J]. *J Pathol* 2007 211(3) : 331 – 339.
- [33] Haruki N ,Saito H ,Tatematsu Y ,*et al.* Histological type-selective , tumor-predominant expression of a novel CHK1 isoform and infrequent in vivo somatic CHK2 mutation in small cell lung cancer [J]. *Cancer Res* 2000 60(1) : 4689 – 4692.
- [34] Yuki T ,Maniwa Y ,Doi T ,*et al.* DNA damage sensor protein hRad9 a novel molecular target for lung cancer treatment [J]. *Oncol Rep* 2008 20(5) : 863 – 872.
- [35] Levesque AA ,Fanous AA ,Poh A ,*et al.* Defective p53 signaling in p53 wild-type tumors attenuates p21/waf1 induction and cyclin B repression rendering them sensitive to Chk1 inhibitors that abrogate DNA damage-induced S and G<sub>2</sub> arrest [J]. *Mol Cancer Ther* 2008 7(2) : 252 – 262.
- [36] Zaugg K ,Su YW ,Reilly PT ,*et al.* Cross-talk between Chk1 and Chk2 in double-mutant thymocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci* , 2007 ,104(10) : 3805 – 3810.
- [37] Tse AN ,Carvajal R ,Schwartz GK. Targeting checkpoint kinase 1 in cancer therapeutics [J]. *Clin Cancer Res* ,2007 ,13(7) : 1955 – 1960.
- [38] Zachos G ,Rainey MD ,Gillespie DA. Chk1-deficient tumour cells are viable but exhibit multiple checkpoint and survival defects

- [J]. EMBO J 2003 22(3):713-723.
- [39] Reinhardt HC, Aslanian AS, Lees JA, et al. p53-deficient cells rely on ATM- and ATR-mediated checkpoint signaling through the p38 MAPK/MK2 pathway for survival after DNA damage [J]. Cancer Cell 2007 11(2):175-189.
- [40] Kohn EA, Ruth ND, Brown MK, et al. Abrogation of the S phase DNA damage checkpoint results in S phase progression or premature mitosis depending on the concentration of UCN-01 and the kinetics of Cdc25C activation [J]. J Biol Chem 2002 277(29):26553-26564.
- [41] Parsels LA, Morgan MA, Tanska DM, et al. Gemcitabine sensitization by checkpoint kinase 1 inhibition correlates with

- inhibition of a Rad51 DNA damage response in pancreatic cancer cells [J]. Mol Cancer Ther 2009 8(1):45-54.
- [42] Dai Y, Landowski TH, Rosen ST, et al. Combined treatment with the checkpoint abrogator UCN-01 and MEK1/2 inhibitors potently induces apoptosis in drug-sensitive and -resistant myeloma cells through an IL-6-independent mechanism [J]. Blood 2002 100(9):3333-3343.
- [43] Chen Z, Xiao Z, Gu WZ, et al. Selective Chk1 inhibitors differentially sensitize p53-deficient cancer cells to cancer therapeutics [J]. Int J Cancer 2006 119(12):2784-2794.

( 本文编辑 刘璐 )

[文章编号] 1000-2200(2011)02-0213-04

· 综 述 ·

## 甲状腺乳头状癌中 NTRK1 基因重排的研究进展

汪运生<sup>1</sup> 综述 石建华<sup>1</sup> 项平<sup>2</sup> 审校

[关键词] 甲状腺肿瘤; 乳头状癌; NTRK1; 基因重排; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 736.1 [文献标识码] A

甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC) 是来源于甲状腺滤泡上皮最为常见的恶性肿瘤, 约占甲状腺癌的 80%。PTC 的发生、发展与染色体重排、癌基因激活和基因突变等分子生物学改变关系密切, 主要包括 NTRK1、RET 基因重排和 BRAF 基因 V600E 点突变等。本文就 NTRK1 基因重排与 PTC 的关系作一综述。

### 1 NTRK1 基因及功能

NTRK1 基因位于 1 号染色体 q21~22, 由一个 25 kbp 的基因片段分布的 17 个外显子构成, 编码一种含酪氨酸激酶(TK) 的受体, 即细胞表面跨膜蛋白 TK——神经生长因子(NGF) 受体, 它在中枢和外周神经系统的生长、发育和成熟过程中扮演着非常重要的作用, 其生物学效应包括促进神经元分化、存活、生长和突触可塑性, 在神经损伤后的修复中也起着举足轻重的作用, 是一类正性调节作用受体。此外, 它还促进淋巴细胞、角化细胞和前列腺细胞的增殖分化。

NTRK1 编码的蛋白产物即 NGF 受体, 是一种跨膜糖蛋白, 相对分子质量为 140 000 的 TK 受体,

由 790 个氨基酸组成, 分为 3 个部分, 即胞外部、跨膜部和胞质部。胞外部含有 8 个亮氨酸的重复区域, 其前后分别串联着一组半胱氨酸残基, 紧挨细胞膜的是被称之为 C2 的免疫球蛋白恒定区; 胞质部含有 TK。

当配体 NGF 与 NGF 受体结合后引起受体分子在细胞表面发生的二聚化和受体自身结构中 5 个酪氨酸(Y490、Y670、Y674、Y675 和 Y785) 的自身磷酸化。其中激酶结构域的 3 个酪氨酸(Y670、Y674 和 Y675) 是 TK 区域的自身控制区, 控制激酶的活性, 即它们的磷酸化增强 TK 活性。继而结构域外的 2 个酪氨酸磷酸化将产生连接蛋白质和酶的结合位点。然后, 激活下游信号分子 Ras、Rac、PI3K 和 PLC- $\gamma$  诱导信号转导途径, 如丝裂原活化蛋白激酶(MAPK) 途径, 产生生物学效应<sup>[1]</sup>。

### 2 NTRK1 基因重排及其分子机制

2.1 NTRK1 基因重排及其类型 在 PTC 中, NTRK1 基因其 TK 区域与其他基因 5' 端相连接, 从而发生 NTRK1 基因重排, 形成 NTRK1 的重排基因( 又称融合基因), 有以下 4 种类型: 第一种为 TRK, 其 5' 端被非肌肉性原肌球蛋白基因(TPM3) 所置换; 第二种和第三种其 5' 端分别被不同长度的 TPR 基因所置换, 产生 2 种不同的重排基因, 称为 TRK-T1 和 TRK-T2; 第四种其 5' 端被 TFG 基因所置换, 称为 TRK-T3。4 种 NTRK1 重排基因中各不相同 5' 端

[收稿日期] 2010-03-28

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 1. 内分泌科 2. 中心实验室, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 汪运生(1983-) 男, 硕士研究生。