

# Mitotic Catastrophe 的研究进展

张博<sup>1,2</sup> 周平坤<sup>2\*</sup><sup>1</sup> 军事医学科学院放射与辐射医学研究所放射毒理与肿瘤学研究室, 北京 100850;<sup>2</sup> 沈阳农业大学畜牧兽医学院, 沈阳 110161)

**摘要** 细胞死亡是多细胞生物生命过程中重要的生理或病理现象, 可分为坏死和程序性细胞死亡, 而后者根据死亡细胞的形态学和发生机制的不同又可分为凋亡、自吞噬和 mitotic catastrophe, 其中 mitotic catastrophe 是近年来才被揭示报道, 是指细胞在有丝分裂过程中死亡的现象, 是一种发生在细胞有丝分裂期由于异常的细胞分裂而导致的细胞死亡, 它常常伴随着细胞有丝分裂检查点的异常和基因或纺锤体结构的损伤而发生。现对 mitotic catastrophe 及相关的调控机制进行综述。

**关键词** mitotic catastrophe; DNA 损伤; 细胞周期检查点; 纺锤体

1989年, Molz 等<sup>[1]</sup>在一种对热敏感的酵母突变株中发现, 细胞分裂时因染色体分离发生异常而死亡。相应的一些学者便把这种在 DNA 发生损伤时, 细胞无法进行完全的分裂从而导致四倍体或多倍体的现象称为 mitotic catastrophe<sup>[2]</sup>。但也有学者认为 mitotic catastrophe 不是一种细胞死亡形式, 而更像是一种不可逆转的中间状态, 最终通过凋亡、坏死或衰老等途径引发细胞死亡<sup>[3]</sup>。也有人认为, mitotic catastrophe 是一种由于细胞损伤和细胞周期检查点异常引起的一种特殊形式的细胞死亡<sup>[4]</sup>。不断积累的实验证据表明, mitotic catastrophe 的发生是受到多种信号通路调节的精密过程, 与细胞周期检查点异常、中心体或纺锤体结构异常以及 DNA 损伤存在密切的联系。在发生机制上, PI3K/Akt 和 Ras 信号通路参与对 mitotic catastrophe 的调节<sup>[5,6]</sup>。目前为止, 关于 mitotic catastrophe 尚未有一种被普遍接受的定义, 有人称之为有丝分裂障碍、有丝分裂灾难等, 对 mitotic catastrophe 的研究也处于起步阶段, 特别是作为另一种新的抗癌机制已受到重视。本文将对近些年在 mitotic catastrophe 发生机制上取得的进展进行初步的探讨。

## 1 Mitotic catastrophe 死亡的特征

尽管发现 mitotic catastrophe 死亡现象距今已近二十年, 但是人们对其了解还十分有限, 其中一个关键的原因就是对于 mitotic catastrophe 的认识缺乏一致的辨别标准, 真正引起重视还是在近几年。Mitotic catastrophe 有一些细胞学和形态学特征, 具体

包括: G<sub>1</sub>/S 期细胞关卡缺失或延迟, 细胞出现 G<sub>2</sub>/M 期阻滞; 出现长时间的有丝分裂中期阻滞; 中心体异常复制, 出现多中心体; 不能完成胞质分裂, 形成多核细胞或核割裂现象; 多核细胞具有静止衰老样的细胞表型(senescence-like phenotype, SLP), 细胞体积增大、变扁平, 衰老细胞特异的分子标记  $\beta$ -半乳糖苷酶(senescence-associate  $\beta$ -galactosidase, SA- $\beta$ -gal) 被激活<sup>[7]</sup>。从一系列 mitotic catastrophe 的特征, 可以看出 mitotic catastrophe 可能在细胞分裂的不同时期发生, 长时间的细胞中期阻滞能引起 mitotic catastrophe, 纺锤体检查点异常、损伤的遗传物质发生异常分配形成多核后也能启动 mitotic catastrophe 通路。

Mitotic catastrophe 虽然在细胞学和形态学上与凋亡有所不同, 但在分子特征上与凋亡类似点, 但也有其独特之处。有文献报道, 发生 mitotic catastrophe 时伴随 caspase 的活化, 并且细胞通过 p53 依赖方式死亡<sup>[8]</sup>。如果 DNA 受到损伤或复制不完全导致细胞发生 mitotic catastrophe 的过程中, cyclinB1/Cdk1 复合物进入细胞核并且被异常激活, 可以观察到核内 cyclinB1 水平上升, 也发现一些涉及 G<sub>2</sub>/M 期检查点基因表达的变化, 尤其是 PI3K 家族成员 ATM、ATR 等。至于 mitotic catastrophe 所引起的死亡与凋亡是通过相同的信号通路还是完全不同的通路目前还没有定论。

收稿日期: 2007-04-20 接受日期: 2007-06-21

\* 通讯作者。Tel: 010-66931217, Fax: 010-68183899, E-mail: zhoupk@nic.bmi.ac.cn, zhoupkpek@yahoo.com.cn

## 2 Mitotic catastrophe 与细胞周期检查点的关系

细胞周期的运行是十分有序的,这是与细胞周期进行有关的基因表达量的变化或蛋白质的激活/失活或降解的结果。这些基因的有序表达或量的变化是受细胞周期中检查点的调节。细胞周期检查点保证了细胞周期中的关键事件高度准确地完成,对于维持基因组的稳定起着至关重要的作用。细胞周期检查点可概括为两大类型,即 DNA 结构检查点(DNA structure checkpoint)和纺锤体检查点(spindle checkpoint),前者主要是由 DNA 损伤或 DNA 复制不完全诱发,后者是由于纺锤体结构破坏诱发。mitotic catastrophe 的发生与这两种类型的检查点存在着密切的联系。

### 2.1 DNA 结构检查点与 mitotic catastrophe

当 DNA 发生损伤,有关的细胞信号通路被激活,阻止存在损伤的 DNA 复制,避免错误的遗传信息传递到子代细胞<sup>[9]</sup>。在这个信号网络中,处于中心地位的有 ATM(ataxia telangiectasia mutated)和 ATR(ataxia telangiectasia related)等。这两种激酶分别独立行使功能,能够直接识别受损的 DNA,ATM 与 ATR 活化后,信号传递给下游 Chk1(checkpoint kinase1)和 Chk2(checkpoint kinase2),Chk1 和 Chk2 作为效应子激酶,把损伤信号传递给下游的信号分子<sup>[10]</sup>。在 G<sub>1</sub> 期,Chk1 和 Chk2 可以使 Cdc25A 的 Ser123 位点磷酸化,随后被泛素化介导的蛋白酶体靶向降解,而 Cdc25A 的缺失会使 CDK2 在失活状态被锁定,从而使细胞无法进入 S 期,即出现 G<sub>1</sub>/S 期阻滞。G<sub>2</sub> 期的损伤检查点利用了许多 G<sub>1</sub> 期损伤检查点的组分,Chk1 和 Chk2 活化后使 Cdc25B/C 的不同 Ser 位点磷酸化,这些磷酸化的残基适合作为 14-3-3 $\sigma$  蛋白家族成员的伴侣分子,与 14-3-3 $\sigma$  结合后 Cdc25B/C 的磷酸酶活性被抑制,同时还影响其在细胞中的分布,使其与 cyclinB1-Cdk1(Cdc2)分离,周期蛋白不能被活化,细胞无法进入 M 期<sup>[11]</sup>。研究证明,在 DNA 损伤后,14-3-3 $\sigma$  能促使细胞在有丝分裂前停止细胞周期进程,而且其表达由 p53 抑癌基因来调控,而 14-3-3 $\sigma$  缺失的细胞阻滞于 G<sub>2</sub> 期,最终发生 mitotic catastrophe<sup>[12]</sup>。

DNA 结构检查点和 mitotic catastrophe 之间有密切的联系。药物作用或者遗传因素造成 G<sub>2</sub>/M 期检查点基因表达的变化能够促进 DNA 损伤诱导的 mitotic catastrophe,这些基因如 ATM、ATR、Chk1、Chk2、Plk-1(-2、-3)、Pin1 和 14-3-3 $\sigma$  等<sup>[14]</sup>。另

外,在细胞发生 mitotic catastrophe 的过程中,还观察到核内 cyclinB1 水平上升,如使用同源的 p53 野生型和突变型小鼠胚胎成纤维细胞照射后两种细胞系都引起 G<sub>2</sub> 期阻滞。突变型 p53 细胞中 cyclinB1 表达水平升高,大部分细胞发生 mitotic catastrophe,而野生型 p53 细胞中 cyclinB1 表达没有明显变化而且只有很少的细胞发生 mitotic catastrophe<sup>[13]</sup>。用阿霉素处理 14-3-3 $\sigma$  缺失的 HCT116 结肠癌细胞与对照细胞相比 Chk2 的活性受到抑制,而 Cdk1/cyclinB 持续活化使细胞进入有丝分裂期,最终引起 mitotic catastrophe<sup>[14]</sup>。最近有实验报道, p53 缺失细胞对于亚砷酸盐诱导的 mitotic catastrophe 更加敏感,这是因为亚砷酸盐可以使 p53 Ser15 磷酸化,进而激活 p21 表达,细胞在进入 M 期之前或在 M 期周期蛋白活性被抑制使细胞通过 M 期<sup>[15]</sup>。通过细胞融合,使 DNA 复制不完全的细胞提前进入有丝分裂期,细胞会停滞在有丝分裂早期,Chk2 的 Thr68 位磷酸化, cyclinB/Cdk1 水平突然下降,细胞通过 p53 依赖的途径发生凋亡<sup>[16]</sup>。如果抑制 Chk2 的活性, cyclinB/Cdk1 持续激活,推动细胞进入分裂中期,细胞通过 mitotic catastrophe 的形式死亡。

DNA 结构检查点对于 DNA 损伤药物诱导的 mitotic catastrophe 起着负调控作用。DNA 结构检查点正常的细胞,一旦感受到受损伤的 DNA 就会阻断细胞周期的进程启动修复机制,如果损伤过于严重则启动凋亡通路彻底清除受损细胞,受损细胞根本没有机会进入分裂期,避免了 mitotic catastrophe 的发生。

### 2.2 纺锤体检查点与 mitotic catastrophe

纺锤体检查点是存在于动粒上的一个高度保守的有丝分裂监督系统,它确保了染色体的聚集、定位以及姐妹染色体分离过程的时空可调性,功能正常的纺锤体检查点甚至能检测出一个未配对的染色体并能阻止细胞进行有丝分裂,而纺锤体检查点未激活或功能异常将导致子代细胞的染色体数目不稳定,微管严重被破坏、纺锤体损伤将导致细胞快速发生 mitotic catastrophe<sup>[17]</sup>。当细胞 DNA 损伤后能启动 DNA 结构检查点或纺锤体检查点,诱发细胞周期阻滞从而有利于保持子代细胞基因组的稳定性,如果发生持续不可恢复的 G<sub>2</sub>/M 期阻滞,将会启动凋亡程序或 G<sub>2</sub>/M 期特有的 mitotic catastrophe<sup>[18]</sup>。有报道纺锤体装配检查点异常的细胞对药物 Taxol 诱发的细胞死亡不敏感<sup>[19]</sup>。着丝粒蛋白 hNuf2 在微管黏附过程中起重要作用,解除 hNuf2 引起细胞有丝分裂前期阻滞并诱发细胞发生死亡,这表明纺锤体检查点和 mitotic

catastrophes 间存在着密切的联系<sup>[20]</sup>。有进一步的实验证据表明纺锤体检查点的功能对于 DNA 损伤药物诱发的 mitotic catastrophe 是必须的。DNA 损伤药物作用于 BubR1 或 Mad2 沉默的细胞, 导致细胞逃离纺锤体检查点, 避免 mitotic catastrophe 及随后异常有丝分裂的发生<sup>[21]</sup>。

Mitotic catastrophe 是由于有丝分裂异常或细胞长时间的阻滞在有丝分裂期而被诱发的一种细胞死亡形式, 因此细胞的纺锤体检查点在维持有丝分裂的过程至关重要。如果出现纺锤体检查点异常, 细胞在受到 DNA 损伤后不能正常启动检查点, 有丝分裂仍然进行必然会形成非整倍体或多倍体细胞, 增加了遗传不稳定性。至于长时间的有丝分裂阻滞最终通过何种途径引起细胞死亡, 还有待于深入研究。

### 3 Mitotic catastrophe 和凋亡的关系

DNA 发生损伤时, 如果细胞不能有效地阻断细胞周期的进程会导致染色体的异常分离, 这些非正常分裂的细胞在下一轮有丝分裂中会继续导致细胞形成多倍体从而成为癌变的基础。而细胞 mitotic catastrophe 作为一种死亡机制可以使这种非正常分裂的细胞死亡, 有利于维持遗传稳定性。Mitotic catastrophe 的细胞形态变化在前文已介绍, 而凋亡的形态学特征为: 染色质凝集和边缘化、细胞皱缩、细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸外翻、细胞出泡形成凋亡小体。

很多抗癌药物包括 DNA 损伤药物和微管阻断药物都可引起 mitotic catastrophe 和凋亡, 这两种细胞死亡形式之间的关系比较模糊, 出现了很多不太一致的结果。有人认为 mitotic catastrophe 并不是一种直接的细胞死亡形式, 发生 mitotic catastrophe 的细胞需要通过凋亡途径最终死亡。如有实验显示 mitotic catastrophe 最终也出现凋亡所具有的特征, 如染色质凝集、线粒体释放细胞色素 c (cytochrome c, Cyt c) 和凋亡促进因子 (apoptosis inducing factor, AIF)、caspase 的激活等。在一些实验中抑制线粒体膜通透性或者剔除 Bax 能够阻止 mitotic catastrophe<sup>[4]</sup> 的发生, 而通过反义寡核苷酸抑制 Bcl-2 的表达会增加 mitotic catastrophe<sup>[22]</sup> 的发生。也有研究表明, 细胞在有丝分裂中期死亡是由于 caspase 活化和线粒体损伤造成, 某些现象也表明 mitotic catastrophe 与 caspase-2 前体的活化有关, 通过 RNA 干扰抑制 caspase-2 阻断线粒体膜通透性可以抑制 mitotic

catastrophes, 细胞可以分裂但是发生不对称分裂<sup>[4]</sup>。同样的, 在诱导 DNA 损伤发生的 mitotic catastrophe 的模型中, 抑制凋亡可以导致非整倍体细胞的产生<sup>[23]</sup>。这些实验证据都证明了凋亡在执行 mitotic catastrophe 时起着重要的作用。

最新的实验证据更支持 mitotic catastrophe 是一种独立于凋亡的死亡方式。依托泊苷可以诱导凋亡和 mitotic catastrophe。50  $\mu\text{mol/L}$  依托泊苷作用于 HeLa 细胞 3 h 后, 出现多极纺锤体引起中期阻滞, 最终发生 mitotic catastrophe, 96 h 后存活的细胞也发生凋亡<sup>[24]</sup>。结肠癌细胞暴露于 5-氟尿嘧啶引起两种不同的死亡形式, 低浓度引起 mitotic catastrophe, 高浓度药物作用引起 G<sub>1</sub>/S 期阻滞, 随后诱发凋亡<sup>[25]</sup>。Park 等<sup>[26]</sup>的工作也支持这一观点, 他们分别用高、低浓度的阿霉素处理 Huh-7 细胞, 发现低浓度药物诱发细胞发生 mitotic catastrophe, 其形态学特征和生化特征与高浓度药物诱发的细胞凋亡完全不同。分子机制的研究显示, caspase 和应激激活信号通路如 JNK、p38 和 NF- $\kappa$ B 仅在细胞发生凋亡的过程中被激活, Cdk1 和 Cdk2 在发生 mitotic catastrophe 的细胞的初期(1 天)被激活, 而发生凋亡的细胞中这两种激酶活性逐渐下降, 说明 Cdk1 和 Cdk2 对于低浓度阿霉素诱发的细胞 mitotic catastrophe 中起着重要的调控作用。

如此之多的实验结果并不完全一致, 原因可能是不同的细胞类型对于不同因素的刺激引发不同的信号通路。另外, 从不同的实验结果中, 我们可以看到对于 mitotic catastrophe 的描述并非都发生在细胞周期的同一时期, 如 Nitta 等<sup>[21]</sup>观察到的 mitotic catastrophe 是细胞阻滞在中期, 染色体尚未向两极移动, 长时间的中期阻滞诱发 mitotic catastrophe, 细胞出现多微核最终死亡; 而 Park 等<sup>[26]</sup>观察到的 mitotic catastrophe 是一个较为长期的过程(9 天), 有丝分裂已经进入后期, 由于染色体的异常分裂形成多核细胞, 这种细胞具有类似于衰老细胞的表型可能通过 Cdk1 和 Cdk2 相关的信号通路引起细胞死亡。

由此看来, mitotic catastrophe 是复杂的受多种信号通路调控的细胞死亡形式, 同时很可能和凋亡等其他细胞死亡形式有密切联系。

### 4 小结

细胞周期是由一系列连续事件按精确的时间顺序进行的动态过程, 受到 DNA 损伤检查点和纺锤体

组装检查点等细胞周期检查点的精密调控,它们在维持细胞染色体结构和基因组稳定性中发挥着重要的作用,同时与细胞死亡机制也有密切联系。当DNA受到损伤或纺锤体结构破坏,细胞会通过一系列的信号通路激活细胞周期检查点,如G<sub>1</sub>/S期检查点、G<sub>2</sub>/M期检查点和纺锤体检查点,使细胞周期停滞,对损伤的DNA进行修复,如果损伤过于严重无法修复,细胞便启动死亡通路,其中就有近年来逐渐揭示的 mitotic catastrophe。

细胞周期主要由细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶和细胞周期蛋白依赖性抑制物三类物质进行调控。在细胞周期调控因子的作用下,正常细胞可以忠实而有序地启动和完成细胞周期进程。G<sub>1</sub>/S、G<sub>2</sub>/M和M期纺锤体检查点失控都有可能使DNA受到损伤、DNA复制错误或染色体分配错误的细胞进入细胞周期,导致细胞过度增殖和遗传不稳定性促使细胞癌变。而癌细胞的细胞周期相关蛋白往往出现异常,导致癌细胞细胞周期检查点的异常,DNA损伤药物或辐射处理后,癌细胞会携带出现损伤的DNA进行复制,造成遗传不稳定性。由于复制期的DNA处于高度浓缩状态很难被修复,造成细胞长时间的停滞在有丝分裂中期,因此可以通过开发微管损伤药物使细胞启动检查点机制引起 mitotic catastrophe,最终导致细胞死亡达到肿瘤治疗的目的。

越来越多的实验证据更多的支持 mitotic catastrophe 是一种独特的细胞死亡形式,但是 mitotic

catastrophe 和其他细胞死亡形式也存在着密切的联系。Mitotic catastrophe 的形态学特征和发生 mitotic catastrophe 的细胞信号通路还需要进一步明确,对 mitotic catastrophe 的深入研究为DNA损伤药物或放射与微管阻断药物联合运用治疗肿瘤提供了理论依据。

### 参考文献(Reference)

- [1] Molz L *et al. Genetics*, 1989, **122**: 773
- [2] Margottin-Goguet F *et al. Dev Cell*, 2003, **4**: 813
- [3] Weaver BA *et al. Cancer Cell*, 2005, **8**: 7
- [4] Castedo M *et al. Oncogene*, 2004, **23**: 2825
- [5] Yan YQ *et al. Int J Oncol*, 2006, **29**: 1167
- [6] Hemstrom TH *et al. Int J Cancer*, 2006, **119**: 1028
- [7] Eom Y W *et al. Oncogene*, 2005, **24**: 4765
- [8] Castedo M *et al. Oncogene*, 2004, **23**: 4362
- [9] Ricci SM *et al. The Oncologist*, 2006, **11**: 342
- [10] Rouse J *et al. Science*, 2002, **297**: 547
- [11] 刘巍峰等. *遗传学报*, 2006, **33**: 381
- [12] Lodygin D *et al. Cell Res*, 2005, **15**: 237
- [13] Ianzini F *et al. Cancer Cell Int*, 2006, **6**: 11
- [14] Castedo M *et al. Oncogene*, 2004, **23**: 4353
- [15] Taylor BF *et al. J Pharmacol Expe Ther*, 2006, **318**: 142
- [16] Roninson IB *et al. Drug Resist Updat*, 2001, **4**: 303
- [17] Dowling M *et al. Cancer Biol Ther*, 2005, **4**: 197
- [18] Huang X *et al. Porc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 1065
- [19] Anand S *et al. Cancer Cell*, 2003, **3**: 51
- [20] DeLuca JG *et al. J Cell Biol*, 2002, **159**: 549
- [21] Nitta M *et al. Oncogene*, 2004, **23**: 6548
- [22] Elez R *et al. Oncogene*, 2003, **22**: 69
- [23] Castedo M *et al. Oncogene*, 2004, **23**: 4362
- [24] Rello-Varona S *et al. Int J Biochem Cell Biol*, 2006, **38**: 2183
- [25] Yoshikawa R *et al. Cancer Res*, 2001, **61**: 1029
- [26] Park SS *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **334**: 1014

## Progress in Mitotic Catastrophe

Bo Zhang<sup>1,2</sup>, Ping-Kun Zhou<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Radiation Toxicology and Oncology, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China;

<sup>2</sup>Prologue and Veterinarian Institution, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

**Abstract** Cell death is an important physiology and pathology phenomenon to the multi-cellular organisms. The cell death can be categorized into necrosis and programmed cell death (PCD). PCDs include apoptosis, autophagic cell death and mitotic catastrophe, each with different morphological changes and biochemical mechanistic pathways. The mitotic catastrophe was most recently recognized and described, and it characterizes as a cell death occurred during mitosis due to abnormal mitotic progress, usually accompanying with abnormal cell cycle check-point and genomic or spindle lesion. Herein we review the related molecular mechanisms regulating the mitotic catastrophe.

**Key words** mitotic catastrophe; DNA damage; cell cycle checkpoint; spindle

Received: April 20, 2007 Accepted: June 21, 2007

\*Corresponding author. Tel: 86-10-66931217, Fax: 86-10-68183899, E-mail: zhoupk@nic.bmi.ac.cn, zhoupkpek@yahoo.com.cn