

- [2] Bellacosa A. et al. ,1991, *Science*, **254**:274 - 277.
- [3] Hemmings BA. 1997, *Science*, **275**:628 - 630.
- [4] Staal SP. et al. ,1988, *Genomics*, **2**:96 - 98.
- [5] Kulik G, et al. ,1997, *Mol Cell Biol.* ,**17**:1595 - 1606.
- [6] Bellacosa A. et al. ,1998, *Oncogene*, **17**:313 - 325.
- [7] Burgering S. et al. ,1995, *Nature*, **376**:599 - 602.
- [8] Datta K. et al. , 1996, *J. Biol. Chem.* , **271**: 30865 - 30839.
- [9] Fruman DA. et al. , 1998, *Annu. Rev. Biochem.* , **67**: 481 - 507.
- [10] Klippel A. et al. , 1992, *Mol. Cell. Biol.* , **12**: 1451 - 1459.
- [11] Carpenter CL. et al. ,1996, *Curr. Opin. Cell Biol.* , **8**:153 - 158.
- [12] Franke TF. et al. ,1997, *Science*, **275**:665 - 668.
- [13] Alessi DR. et al. ,1997, *Curr. Biol.* , **7**:261 - 269.
- [14] Balendran A. et al. ,1999, *Curr. Biol.* , **9**:393 - 404.
- [15] Hongmiao S. et al. , 2001, *J. Biol. Chem.* , **276**: 14498 - 14504.
- [16] Cross DA. et al. ,1995, *Nature*, **378**:785 - 788.
- [17] Datta SR. et al. ,1999, *Gene Dev.* , **13**:2905 - 2927.
- [18] Scott PH. et al. ,1995, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**: 7772 - 7777.
- [19] Kon H. et al. ,1999, *Oncogene*, **18**:5115 - 5119.
- [20] Rameh LE. et al. , 1999, *J. Biol. Chem.* , **274**: 8347 - 8350.
- [21] Yamaguchi A. et al. , 2001, *J. Biol. Chem.* , **276**:5256 - 5264.
- [22] Dudek H. et al. ,1997, *Science*, **275**:661 - 665.
- [23] Downward J. 1998, *Science*, **279**:673 - 674.
- [24] Del PL. et al. ,1997, *Science*, **278**:687 - 689.
- [25] Datta SR. et al. ,1997, *Cell*, **91**:231 - 241.
- [26] Cardone MH. et al. ,1998, *Science*, **283**:1318 - 1321.
- [27] Brunet A. et al. ,1999, *Cell*, **96**:857 - 868.
- [28] Javad AM. et al. , 1998, *J. Biol. Chem.* , **273**: 33922 - 33928.
- [29] Pekarsky Y. et al. ,2001, *Proc. Natl. Aca. Sci. USA*, **98**: 365 - 369.
- [30] Ueki K. et al. ,1998, *J. Biol. Chem.* , **273**:5315 - 5322.
- [31] Madge LA. et al. , 2000, *J. Biol. Chem.* , **275**: 15458 - 15465.
- [32] Yuan ZQ. et al. ,2000, *Oncogene*, **19**:2324 - 2330.
- [33] Page C. et al. , 2000, *Anticancer Res.* , **20**:407 - 416.
- [34] Cantley LC. et al. ,1999, *Proc. Natl. Aca. Sci. USA*, **96**: 4240 - 4245.
- [35] Di Cristofano A. et al. ,1998, *Nat. Genet.* , **19**:348 - 355.
- [36] Podsypanina K. et al. ,1999, *Proc. Natl. Aca. Sci. USA*, **96**,1563 - 1568.
- [37] Sunhong K. et al. , 2001, *J. Biol. Chem.* , **276**: 12864 - 12870.
- [38] Osada M. et al. , 1999, *Mol. Cell. Biol.* , **19**: 6333 - 63440.

DNA 拓扑异构酶 II 研究进展

阴梅云 郑全辉 郑力芬 韩 硕 周娜静 阎蕴力

(河北医科大学基础所细胞生物室 石家庄 050017)

DNA 拓扑异构酶 II (Topoisomerase II, Topo II) 是生物体内广泛存在的一类核蛋白,通过调节核酸结构动态变化,在 DNA 复制、修复、转录、重组以及染色体分离等生命活动中发挥重要作用。此外,Topo II 与肿瘤发生、发展以及治疗和预后等方面有较密切的联系。Topo II 有 α 与 β 两种同功酶,其中 Topo II α 研究报道颇多,有不少新见解。本文重点概述 Topo II α 表达调控和其影响因素,并对 Topo II α 与 Topo II β 同功酶异同方面的研究作一比较。

一、蛋白激酶对 Topo II α 生物活性的影响

细胞内许多激酶类蛋白质,如蛋白激酶 C、钙调蛋白依赖蛋白激酶、酪蛋白激酶 CK2、CAMP 依赖蛋白激酶以及细胞周期依赖蛋白激酶 (cyclin-dependent kinases, CDKs) 等均可影响 Topo II α 生物活性。此类蛋白质常通过它们的丝氨酸残基部位磷

酸化 Topo II α ,使其生物活性增加。而且,这些蛋白质的调节往往与 Topo II α 在细胞周期中特异性分布有关。特别是在 G_2/M 期,一系列重大事件:如 DNA 损伤修复、染色质重修饰、染色体凝集、染色体分离和细胞分裂等都与 Topo II α 的作用有关。新近,有资料研究表明:Topo II α 细胞周期特异性,主要决定于其蛋白质 3'-UTR 区域,此区包括 177 核苷酸,富含腺嘌呤/尿嘧啶,多种蛋白质可直接作用于此,以调节 Topo II α 周期性变化^[1]。其中,有下列几种蛋白激酶与 Topo II α 的活性及其在 G_2/M 期中的作用关系密切。

1. CDKs 的作用

一般来说,不同种类的 CDK 均可通过直接或间接方式,影响 Topo II α 的生物活性。其中, p34^{CDK2} 作为细胞周期由 G_2 期向 M 期过渡的重要的调节成分,能够直接和 Topo II α 形成分子复合物,对染色质进行重修饰、参与染色体形成^[2]。另外, p34^{CDK2} 在

与其调节亚单位 cyclin B1 结合后,能够明显增加 Topo II α 的活性,促进姊妹染色体分离,加速细胞分裂。如果 p34^{cdc2} 和 cyclin B1 缺乏,抑或 Topo II α 表达降低均可导致染色体幼稚化和 G₂ 期阻滞。

2. 酪蛋白激酶 CK2 的作用

CK2 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,具有活化其他蛋白质的作用^[3]。一些在细胞生长、代谢过程中起重要作用的蛋白以及某些原癌基因产物和抑癌基因产物均为 CK2 的磷酸化底物。CK2 对 Topo II α 作用主要表现在它可识别 Topo II α 的 C 末端 1469 位点的丝氨酸,使 Topo II α 在 G₂/M 期磷酸化。这一过程对于 Topo II α 在细胞内分布和染色体内的聚集关系密切。

3. 细胞外信号相关激酶(ERK)的作用

ERK 能够介导有丝分裂活化蛋白激酶 MAP 的信号,并将信息传入细胞核。研究表明,Topo II α 是 ERK 的重要作用底物。ERK 不仅能够磷酸化 Topo II α ,而且二者相互结合后作为一个功能单元,对于细胞有丝分裂程序的启动和顺利完成过程有重要作用。

4. 蛋白激酶 C 和组蛋白 H1 激酶的作用

蛋白激酶 C 在细胞内具有多种作用,与细胞生长分化、衰老凋亡等均有密切联系。蛋白激酶 C 与 Topo II α 之间的作用,在于它能够识别 Topo II α 的 N-末端 ATP 酶区,并与之结合,促进后者的生物活性。组蛋白 H1 激酶能够直接活化组蛋白 H1 参与染色体凝集。另外,它又可作用于 Topo II α ,促进后者在 G₂/M 期的作用。但蛋白质间的相互作用部位还有待确定。

二、Rb 和 P53 对 Topo II α 的调控作用

与上述蛋白激酶类物质对 Topo II α 的调节作用不同,作为 CDKs 类蛋白激酶的抑制因子,Rb 和 P53 蛋白,以及 p21 和 p16 等可与 Topo II α 基因的启动子结合,下调其活性,减少 Topo II α 的表达^[4]。其中,尤以 Rb 和 P53 蛋白的调节作用比较明确。

Rb 基因编码的 Rb 蛋白是由 928 个氨基酸组成的核磷酸蛋白,分子量约 105 - 110kD,在调节细胞周期、细胞增殖与分化以及细胞凋亡等生命活动中具有关键作用。除了能够下调 Topo II α 基因的启动子活性,减少其表达外,Rb 蛋白尚能直接抑制 Topo II α 的生物活性。对此,Rb 蛋白发挥调节作用的区域主要由 379 - 572 氨基酸序列和 646 - 772 氨基酸位点构成,前者被称为 A 盒,后者为 B 盒。研

究表明,野生型 Rb 蛋白可通过 A/B 盒与 Topo II α 相结合,抑制 Topo II α 的活性,而变异或突变型 Rb 蛋白对 Topo II α 无抑制作用^[5]。以调节细胞周期而言,Rb 蛋白与 Topo II α 结合,使细胞处于 G₀/G₁ 期低磷酸化状态。当细胞周期进入 G₁ 后期或 S 期早期,随着 Rb 蛋白的磷酸化程度提高,释放 Topo II α ,使其恢复活性,以适应 DNA 复制、细胞分裂增殖等作用。Rb 蛋白对 Topo II α 调节作用,对于细胞正常活动至关重要。其关系失衡是肿瘤发生的内在因素之一。

关于 P53 蛋白对 Topo II α 功能的调节较为复杂。一方面,野生型 P53 蛋白可直接抑制 Topo II α 基因的启动子,下调 Topo II α 的表达。从这一意义上讲,P53 基因失活或基因突变,可引起 Topo II α 基因过度表达,甚至导致细胞增殖或癌变。另一方面,P53 蛋白也通过其 22 和 23 位点的亮氨酸/色氨酸残基作用于 Topo II α C 端,加快 ATP 水解,使 Topo II α 迅速进入下一催化周期,并提高对 DNA 的解螺旋作用^[6]。由此看来,正如 P53 可以参与受损伤的 DNA 修复过程又能诱导细胞凋亡的一样,P53 对 Topo II α 的作用也具有双向调节的特点。

三、转录调节因子对 Topo II α 基因表达的影响

多种转录调节因子,如 SP1、ATF-2、CREB、PEA 和 AP-2、c-MYB、B-MYB、NF-kB、NF-M 以及具有转录调节活性的癌基因如 c-MYC、RAS 和 c-JUN 等,均可活化 Topo II α 基因启动子,促进其表达。

Topo II α 基因启动子是由一个 650bp 的区域构成,其上游 2.5Kb 内的 ATG 起始密码序列能影响启动子的活性。Topo II α 启动子区域含 GC 盒,以及数个反转的 CCAAT 元件(inverted CCAAT elements, ICE)。ICE 元件在调节 Topo II α 表达活动中具有重要作用。将含 Topo II α 启动子以及 ICE 元件的荧光素酶报告质粒转入 HIN/3T3 细胞,以荧光素酶的表达反映 Topo II α 启动子活化程度。结果可见,ICE 元件导入后能够提高 Topo II α 启动子活化程度,并增加 Topo II α 蛋白质的表达^[7]。

转录活性因子与 Topo II α 基因结合部位主要在 Topo II α 基因序列上 ICE 元件,并依此影响 Topo II α 启动子的活性^[7]。如转录调节因子 NF-Y 和 E2F 等与 Topo II α 基因的 ICE 元件结合,可上调 Topo II α 的表达。相反,如转录调节因子本身的损伤或突

变,则可下调 Topo II α 表达。如小鼠成纤维细胞内 NF-Y 变异,能够抑制 Topo II α 活性,使细胞停滞 G₁ 期^[8]。

Topo II α 的表达与转录因子之间的关系,可以是双向调节关系,也即 Topo II α 活性除了受转录因子的调控外,其本身亦可反过来影响某些转录因子的表达。研究显示:Topo II α 可作为上游物质通过它的丝氨酸拉链二聚体结构,促进众多转录因子如 CREB、ATF-2 和 c-fos 基因的表达。同时,Topo II α 也与一些转录抑制有关,有报道表明 Topo II α 可通过抑制 RNA 聚合酶 II 的转录活性,影响真核生物中 mRNA 前体分子合成,抑制蛋白质的转录过程^[9]。

近来,人们更关注于如何通过转录调节因子的途径,以影响 Topo II α 表达的研究。此项研究主要分为两个方面:其一,主要是针对下调 Topo II α 表达的研究,如利用 Hoechst 33342, Hoechst 33258 和足叶乙甙(etoposide)等作用后发现;药物可干扰 NF-Y 或 NF- κ B 与 Topo II α 基因的 ICE 元件结合,下调 Topo II α 表达^[10,11]。其二,主要通过转录因子使 Topo II α 表达上调,提高肿瘤细胞对相关药物的敏感性的研究。对此,研究者将全长 E2F/DP-1 组分导入骨肉瘤细胞,在促进 Topo II α 表达增加了三倍情况下,应用足叶乙甙处理细胞,并检查 DNA 的断裂程度、克隆形成抑制率以及细胞凋亡等指标,证实 E2F/DP-1 转入瘤细胞后可以大大提高药物对细胞的杀伤作用^[12]。同样,将 ErbB2 基因导入瘤细胞后,能够诱导 Topo II α 表达增加 4.5 倍。并且可使细胞对阿霉素(adriamycin)和足叶乙甙的敏感增加 10-100 倍^[13]。

由此可见,详细探讨转录因子与 Topo II α 相互作用机制,尤其是与相关药物结合性研究,不但对于深入了解药物的作用机理,而且对克服肿瘤细胞的耐药性、提高治疗效果是非常有益的。

四、Topo II α 和 β 同功酶之异同

1. 结构和分布

Drake 等 1987 年首先在啮齿动物细胞内发现 Topo II 具有 α 与 β 两种同功酶^[14]。并了解到不同动物体内 Topo II 的类型有较大差别,脊椎动物细胞内 Topo II 具有 α 和 β 两种同工酶,而低等生物如酵母和昆虫细胞内仅含一种 Topo II,其结构和功能与脊椎动物细胞内的 Topo II α 相近。随后, Tsai 等详细研究了人类 Topo II α 氨基酸序列,并克隆出相关

Topo II α cDNA^[15]。对于 Topo II β 的了解相对较晚,到了 1993 年前后才分别有不同的作者报道了 Topo II β 结构和序列构成,并克隆出人类 Topo II β cDNA^[16-18]。

在基因和蛋白质的结构方面,两种同功酶基本相似。Topo II α 基因由 36kb 碱基对构成,有 35 个外显子;Topo II β 由 49kb 碱基对,含 36 个外显子。整体来看,Topo II α 与 β 同功酶,在磷酸化位点、ATP 结合位点、DNA 结合区等重要功能区的结构比较接近。但其整个氨基酸序列却差别较大,只有 68% 的序列一致。其中,这些差别主要反映在蛋白质 C 端,只有 34% 的氨基酸序列二者是相同的。因此,目前普遍认为:Topo II α 和 β 同功酶的蛋白质 C 端是决定功能差别的关键区域。

另外,Topo II α 与 β 同功酶在基因染色体定位和蛋白质分子量、细胞种类分布、细胞内定位以及细胞周期特异性等方面也具有明显的不同,主要差别如下(表 1)。

表 1 拓扑异构酶 II α 与 II β 的异同

内容	Topo II α	Topo II β
基因定位	染色体 17q21-22	染色体 3p21-24
分子量	170kD	180kD
存在细胞类型	增殖细胞;如骨髓造血细胞、软骨增殖层细胞、甲状腺细胞、子宫内膜细胞等。	非增殖组织和终末分化细胞;如肝细胞、脑皮质、神经细胞、骨骼肌细胞、晶状体细胞等。
细胞内分布特点	主要分布于细胞核浆。	主要分布于核仁区。
细胞周期特异性	有细胞周期特异性,表现为 G ₁ 期含量最低,S 期开始增加,至 G ₂ /M 期表达最高。	缺乏细胞周期特异性。

2. 生物学功能

Topo II α 和 Topo II β 介导的 DNA 断裂-再连接反应是其功能的核心。许多与细胞生命活动相关事件,如 DNA 复制、转录、修复等均需要 DNA 断裂-再连接反应的参与,在此过程中,二者的功能是一致的,即均通过和 DNA 相结合,在 Mg⁺、Mn⁺ 的参与下,使 DNA 产生短暂的双链断裂。而后,依靠 ATP 供能,通过其 804 位酪氨酸与双链 DNA-5'-末端的磷酸基共价结合,形成易断复合物(cleavable complex)帮助 DNA 通过断裂缺口处,使得缠绕或打结的 DNA 松解。接着,经过构型转换,将 DNA 重新连接起来。最后,在将键合的 ATP 水解后,Topo II α 和 Topo II β 又可恢复原来的催化活性。

此外,目前对 Topo II (包括 α 和 β) 功能的认识也在不断拓宽。最近,有研究表明:除了作用于

DNA外,二者也可作用于RNA,参与RNA断裂一再连接反应。因此,在某种意义上讲,二者也被称为RNA拓扑异构酶。并推测,Topo II此种作用可参与调整RNA构型变化,以及剪切掺入DNA分子上的RNA成分等^[19]。这方面的研究尚在初始阶段,其具体的功能特点有待进一步阐明。

Topo II α 和 β 在功能上的差别,主要反映在参与染色体凝集和分离等活动方面;即 Topo II α 可参与染色体的凝聚并维持染色体的正常形态结构,而 Topo II β 对此无直接作用。与 DNA 断裂一再连接反应不同,Topo II α 参与染色体凝集反应不需要 ATP 供能,一些稳定 Topo II-DNA 断裂复合物的药物,如安吡啶(amsacrine)等对 Topo II α 此功能无直接抑制作用。随着细胞周期由 S 期向 G₂/M 期过度,可见 Topo II α 向染色体聚集,并与之有高度亲和性。而 Topo II β 此时则与染色质解离,分散于细胞质中。Topo II α 活性降低可直接导致染色体幼稚化,以及分裂后期染色体不分离,使细胞呈现多倍体或异倍体化。

另外,作为重要的细胞核和染色体结构蛋白,Topo II α 能够作用于 DNA 的核基质结合区(Matrix association regions, MARs),参与 DNA 与细胞核骨架和染色体骨架的连接^[20]。MARs 的功能十分重要,它不但是许多基因复制的起点,而且许多转录因子,以及基因表达也与其有密切联系。MARs 的另一个特点是,其 DNA 上富含 A-T 序列。相对于 G-C 序列,A-T 序列的表现熔点低,物理性质不稳定,更容易受内在和外在因素影响等特点。研究表明:MARs 是 DNase 超敏感区和易解离位点,细胞凋亡早期,Topo II α 蛋白水解,可导致 MARs 区从细胞核骨架脱落,DNA 断裂成 50-300kb 大分子片段。因此,Topo II α 与细胞凋亡的关系甚为密切。

相对于 Topo II α 功能的认识,目前对 Topo II β 了解较少。一般认为:Topo II β 与间期细胞核内 DNA 构筑和代谢以及 rRNA 转录有关。最近有资料表明,胚胎早期脑内 Purkinje 细胞和颗粒细胞中 Topo II β 有逐渐增加趋势,并在一段时间内维持一个高平台期。Topo II β 主要通过调节染色质构型变化,奠定适宜的细胞内环境,以及促使相关基因表达等因素参与神经的发育、分化。缺乏 Topo II β 将导致神经系统发育障碍^[21,22]。

另外,还需要特别指出的是,与上述 α 和 β 同功酶各自独立的功能不同,近来有关研究注意到:Topo II α 和 β 能够以异源二聚体(heterodimer)形式

存在于多种类型细胞中,并且同样具有 Topo II 所特有的催化活性^[23]。至于是否将这种异源二聚体作为 Topo II 一个新的亚单位看待,或是关于其作用部位和功能特点等方面,目前了解甚少,有待进一步研究。

3. 与肿瘤形成的相关性

肿瘤组织内,Topo II α 的表达增高是一个普遍现象,而且临床方面已逐渐将 Topo II α 作为一个标志,以判断细胞或肿瘤的增殖程度^[24,25,26]。对于 Topo II β 与肿瘤发生、发展之间的联系,目前仍不明了,相关的研究报道也较少。

一般认为:增殖活跃的肿瘤组织,如淋巴瘤、乳腺癌内 Topo II α 含量较高;增长较慢的肿瘤,主要是实体瘤组织内 Topo II β 的表达则较稳定。近来,在检测肿瘤(包括乳腺癌、肺癌、淋巴瘤、大肠癌等)组织内 Topo II α 和 β 含量变化时注意到,肿瘤组织内 Topo II α 的表达水平普遍增高,Topo II β 的表达也有不同程度的增加。另外,尚注意到 Topo II α 和 β 同功酶表达的差别与肿瘤的类型有一定关系。例如,于非小细胞肺癌组织内,Topo II α mRNA 较正常肺组织高出 7 倍;而 Topo II β mRNA 的含量没有明显变化。而在肺腺癌组织内,Topo II α 和 β mRNA 表达均高于正常组织^[27]。

同时,针对 Topo II α 和 β 表达与肿瘤预后的关系注意到:Topo II α 高表达显示肿瘤预后差,而 Topo II β 高表达显示对化疗的敏感性较差^[28]。由此可见:Topo II β 的表达并非与肿瘤的发生、发展无关。今后,在对肿瘤组织进行相关检验时,应该将 Topo II α 和 Topo II β 同时给予关注。如此,对于了解彼此的差别和联系,会有更大帮助。

4. 对化疗药物敏感与耐药性

肿瘤组织对以 Topo II 为靶点的化疗药物的敏感性方面存在一定的差别。一般来说,抑制 Topo II α 药物也能抑制 Topo II β ,药物的作用机制也较为一致。但多数药物,尤其是非 DNA 嵌入类药物,如足叶乙甙、鬼臼噻吩甙(teniposide)等对 Topo II α 敏感程度更高一些^[29]。应用从细胞直接提纯的 Topo II α 和 β 蛋白研究表明,Topo II α 对鬼臼噻吩甙敏感是 Topo II β 的 3-4 倍。美巴龙(merbarone)对 Topo II α 敏感超过 Topo II β 的 8-10 倍。

对 Topo II β 敏感的药物以 DNA 嵌入药物居多,如米托蒽醌(mitoxantrone)、多柔比星(doxorubicin)和阿克拉霉素(aclarubicin)对 Topo II β 的作用更大一些。近来,在对新近提纯的 quinoxaline 衍生

物 XK469 研究表明:该药可高选择性的作用于 Topo II β , 诱导肿瘤细胞产生 G₂/M 阻滞和细胞凋亡^[30,31]。

另外一个应该充分注意的问题是:药物敏感性的差异,在很大程度上反映了药物对 Topo II α 和 β 表达的细胞周期特点具有选择性。对 Topo II α 敏感的药物主要作用 S 期、G₂/M 期,而对 Topo II β 敏感的药物则主要作用于 G₁/G₀ 肿瘤细胞。从肿瘤类型来看,急性白血病时,癌细胞增殖活跃,S 期细胞多,因此对 Topo II α 抑制为主的药物较为敏感。实体瘤情况下,相当多的癌细胞处于 G₁/G₀ 不活跃状态,则对于 Topo II β 抑制剂更为敏感^[32]。因此,详细了解药物对 Topo II α 和 Topo II β 敏感性的差别,谋求药物种类合理的搭配,对于进一步提高肿瘤的疗效有重要意义。

药物作用后引起的 Topo II 含量或活性降低、基因变异以及在细胞内分布的改变,均是对 Topo II 抑制剂产生耐药的原因^[33,34,35]。这里,不但包括 Topo II α 也有 Topo II β 。

近来注意到:细胞内两种同功酶的表达不同,对药物的抗药性也有一定的差别。当细胞同时含有 Topo II α 和 β 同功酶时,对足叶乙甙、安吡啶和米托蒽醌等药物的杀伤效应敏感;当仅含有 Topo II α 而缺少 Topo II β 时,细胞表现对安吡啶、米托蒽醌和阿克拉霉素的耐药性增加^[36]。在 66 个对足叶乙甙和安吡啶耐药的细胞株中,观察可见其中 95.5% 的细胞株内 Topo II α mRNA 含量降低约 38%;而 Topo II β 则表现有不同程度增高。以上资料可以说明,耐药性的产生与 Topo II α 和 β 同功酶均有关系,但各有不同的侧重;即对 Topo II α 敏感的药物可能首先引起 Topo II α 改变;对 Topo II β 敏感的药物主要通过 Topo II β 途径,导致耐药性的产生。

综上,可以看出 Topo II α 和 β 有许多相似之处,也有明显的差别。Topo II β 在肿瘤组织中的作用还没有明确阐明,但并不意味着 Topo II 抑制剂对 Topo II β 的作用不重要。目前,对于肿瘤细胞抗药性的了解多集中于对 Topo II 或 Topo II α 的认识,缺乏将 Topo II α 和 Topo II β 区别对待,并进行更有针对性研究。因此,加强这方面的探讨,对于提高对肿瘤的诊断、治疗效果至关重要。

摘 要

Topo II 不仅对细胞的正常生命活动至关重要,而且在肿瘤发生、发展以及疗效等方面均扮演重要

角色。关于 Topo II α 表达调控及其影响因素大致可以分为三个方面。其一,蛋白激酶类成分多直接作用于 Topo II α 蛋白质,影响其生物活性,并且与 Topo II α 活性的周期性特点有关,其二,既能作用于基因水平又能从蛋白质水平影响 Topo II α 的物质,主要包括 p53 和 Rb 蛋白等。最后,转录调节因子类成分则主要是从基因水平调控 Topo II α 的表达。针对 Topo II α 和 β 异同,二者不仅在结构和分布方面有所差别,而且在功能上也各有侧重。特别是在药物敏感性与抗药性方面 Topo II α 与 β 也有一定的区别。因此,加强对 Topo II α 表达调控的研究,特别是开展对 Topo II β 表达调控研究,以及深入探讨 Topo II α 和 β 结构和功能特点,不但对于了解相关作用机制,而且对提高肿瘤诊断、治疗效果具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Goswami, P. C. et al., 2000, *J. Biol. Chem*, **275**: 38384 - 38392.
- [2] Escargueil, A. E. et al., 2001, *FASEB. J*, **15**: 2288 - 2290.
- [3] Escargueil A.E. et al., 2000, *J. Biol. Chem*, **275**: 34710 - 34718.
- [4] Falck J, et al., 1999, *J. Biol. Chem*, **274**: 18753 - 18760.
- [5] Bhat UG, et al., 1999, *PNAS*, **96**: 7859 - 7864.
- [6] Kwon Y, et al., 2000, *J. Biol. Chem*, **75**: 18503 - 18510.
- [7] Susan, E. et al., 2001, *Mol. Pharmacol*, **59**: 203 - 211.
- [8] Qianghua, Hu. et al., 2000, *J. Biol. Chem*, **275**: 4435 - 4444.
- [9] Mao, Y. et al., 2001, *J. Biol. Chem*, **276**: 40652 - 40658.
- [10] Tolner, B. et al., 2001, *Mol. Pharmacol*, **59**: 699 - 706.
- [11] Lori M. et al., 2001, *Mol. Pharmacol*, **60**: 559 - 567.
- [12] Hofland, K. et al., 2000, *Clin. Cancer Res*, **6**: 1488 - 1497.
- [13] Harris, L. N. et al., 2001, *Clin. Cancer Res*, **7**: 1497 - 1504.
- [14] Drake, F. H. et al., 1987, *J. Biol. Chem*, **262**: 16739 - 16747.
- [15] Tsai, P. M. et al., 1988, *PNAS*, **85**: 7177 - 7181.
- [16] Jenkins, J. R. et al., 1992, *Nucleic. Acids. Res*, **20**: 5587 - 5592.
- [17] Austin, C. A. et al., 1993, *Biochim. Biophys. Acta*, **1172**: 283 - 291.
- [18] Austin, C. A. et al., 1995, *J. Biol. Chem*, **270**: 15739 - 15746.
- [19] Wang, Y, et al., 2000, *Nucl. Acids. Res*, **28**: 4815 - 4821.
- [20] Barthelmes, H. U. et al., 2000, *Biol. Chem*, **275**: 38823 - 38830.

- [21] Sutsui, K. et al., 2001, *J. Biol. Chem*, **276**: 5769 - 5778.
- [22] Yang, X. et al., 2000, *Science*, **287**: 131 - 134.
- [23] Biersack, H. et al., 1996, *PNAS*, **93**: 8288 - 8293.
- [24] Nakopoulou, L. et al., 2000, *Pathobiology*, **68**: 137 - 143.
- [25] Willman, J. H. et al., 2000, *Prostate*, **42**: 280 - 286.
- [26] Stathopoulos, G. P. et al., 2000, *Anticancer Res*, **20**: 177 - 178.
- [27] Mirski, S. E. et al., 2000, *Lab Invest*, **80**: 787 - 795.
- [28] Dingemans, A. M. et al., 1999, *Clin. Cancer Res*, **5**: 2048 - 2058.
- [29] Michelle, S. et al., 2000, *Nucleic Acids Research*, **28**: 1947 - 1954.
- [30] Hanlin, Gao. Et al., 1999, *PANS*, **96**: 12168 - 12173.
- [31] Ding, Z. et al., 2001, *Clin. Cancer Res*, **7**: 3336 - 3342.
- [32] Dennis, W. et al., 2000, *MCB*, **20**: 9127 - 9137.
- [33] Patel, S. et al., 2000, *Mol. Pharmacol*, **57**: 784 - 791.
- [34] Oloumi, A, et al., 2000, *Cancer Res*, **60**: 5747 - 5753.
- [35] Lori, A., et al., 2001 *Blood*, **98**: 1897 - 1903.
- [36] Errington, F. et al., 1999, *Mol. Pharmacol*, **56**: 1309 - 1316.

γ -氨基丁酸 B 型受体 (GABA_BR) 研究最新进展

何晓兵 严缘昌

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所 上海 200031)

有两种类型的 GABA 受体,一种是离子通道型的受体, GABA_AR 和 GABA_CR, 这两者都是氯离子通道; 另外一种代谢型的受体——GABA_BR。GABA_BR 的大部分生理功能都与它通过 G 蛋白对电压敏感型钙通道(主要是 N, P/Q, L-型)和内向补偿性钾通道(Kir)的调节有关。在突触前膜, GABA_BR 通过降低钙电导而抑制神经递质和神经肽的释放; 在突触后膜, GABA_BR 通过激发内向型钾电流而使神经元超极化, 这也是晚期抑制性突触后电位发生的机制。晚期抑制性突触后电位与 GABA_AR 介导的快速抑制性突触后电位相比, 它的起始较慢, 持续时间较长。最近的研究证明, 内向补偿性钾通道是突触后膜 GABA_BR 主要的效应分子, 内向补偿性钾通道(Kir3.2)基因敲除的小鼠, 本应在 GABA_BR 的激动剂 L-baclofen 刺激下出现的晚期抑制性突触后电位发生了大部分的缺失; 与此相类似的是, 一种名为 Weaver 突变品系的小鼠, 其 Kir3.2 发生了点突变, 突变发生在通道形成区, 致使 GABA_BR 激发的钾电流大大降低。GABA_BR 介导的对钾通道和钙通道的快速调节是一种局限于细胞膜的传导途径, 是通过 G 蛋白的 $\beta\gamma$ 亚基在细胞膜上的作用而完成的^[1]。

GABA_BR 的激动剂 L-baclofen 有松弛肌肉和解痉的作用, 它发挥作用的基础就是它能够降低作用于脊髓腹根运动性神经元的兴奋性神经递质的释放。另外, L-baclofen 还可以有效治疗顽固性呃逆。鞘内注射 baclofen 可以减轻由于中风或脊柱受伤而引起的疼痛, 最近还发现 Baclofen 能够有效地治疗

可卡因成瘾。动物的认知能力可能因 GABA_BR 拮抗剂的作用而提高。与此相反, GABA_BR 的激动剂明显地对动物的学习能力造成了障碍。GABA_BR 抑制剂另一个可能的又很重要的作用是可以抑制意识暂时丧失性癫痫发作。GABA_BR 抑制剂和激动剂都有产生保护神经的潜能^[1]。

一、GABA_BR 基因的克隆及其结构

虽然 GABA_BR 的概念已经提出了有二十多年, 对其功能也有了一定的了解, 可是其基因直到 1997 年才被克隆^[2]。GABA_BR 作为一种 G 蛋白偶联的受体(GPCR)属于 GPCR 中的 C 家族。和所有的 GPCR 一样, GABA_BR 具有七跨膜结构, N 端位于胞外, C 端位于胞内。另外 GABA_BR 具有 C 家族 GPCR 的结构特点: 很长的胞外区。GABA_BR 最独特的是它必须由 GABA_BR1 和 GABA_BR2 组成异二聚体才能具有完整功能, 这在 G 蛋白偶联的受体中是首次发现, 因为以前所有发现的 GPCR 要么由单个亚基构成, 要么即使是由两个亚基组成也是同源二聚构成有功能的受体。GABA_BR1 和 GABA_BR2 通过分子 C 端形成螺旋-螺旋结构相互作用形成异二聚体^[2-6]。至今, 在人和大鼠, 已有六种 GABA_BR1 剪切拼接体被鉴定, 而人的 GABA_BR2 剪切拼接体已发现有三种, 在大鼠只发现了一种 GABA_BR2^[3-11]。

1. GABA_BR1 的剪切拼接体

本文受国家重点基础项目(973)资助(G199055902)。