

靶向细胞周期蛋白 B1 的抗肿瘤研究

张 伶^{1,2} 陈日署³ 张 涛^{1*} 李继承²¹中国人民解放军成都军区总医院肿瘤科, 成都 610083; ²浙江大学细胞生物学研究所, 杭州 310058;³浙江乐清第二人民医院, 乐清 325608)

摘要 细胞周期蛋白 B1 (cyclin B1, CCNB1)是有丝分裂期(M期)周期蛋白,与细胞周期蛋白依赖性激酶 1 (cyclin-dependent kinase 1, CDK1)结合形成成熟促进因子(maturation promoting factor, MPF), MPF 的激活为真核细胞启动有丝分裂所必需。CCNB1 在肿瘤组织中普遍高表达,该蛋白质作为一种细胞周期进程调节剂在肿瘤细胞内的表达量是判断肿瘤恶性程度高低的指标之一,被视为肿瘤抗原,故靶向 CCNB1 进行抗肿瘤治疗是肿瘤基因治疗中一个极有潜力的策略。首先分析了 CCNB1 与肿瘤的相关性,进而从 CCNB1 活性抑制因子、药物或化合物对 CCNB1 的抑制作用及 CCNB1 与抗肿瘤免疫等多方面对靶向 CCNB1 的抗肿瘤研究进行了综述。

关键词 细胞周期蛋白 B1; 肿瘤

肿瘤的发生是多基因参与,多步骤的复杂过程,在致癌因素作用下,细胞在基因水平上失去对其生长的正常调控,导致异常增生而形成肿瘤;即细胞周期调控异常是细胞过度增殖和肿瘤发生的重要原因之一^[1]。故研究肿瘤细胞增殖周期中各种调控因子的状况,可以为深入了解肿瘤发生及对肿瘤进行基因治疗提供理论依据。细胞周期蛋白 B1 (cyclin B1, CCNB1)是成熟促进因子(maturation promoting factor, MPF)的调节亚单位,其与 MPF 的催化亚单位细胞周期蛋白依赖性激酶 1 (cyclin-dependent kinase 1, CDK1)结合后,在 G₂/M 期交接处发挥作用,驱动细胞周期时相转换,是启动有丝分裂的关键分子^[2]。相关研究证实 CCNB1 与肿瘤关系密切,许多肿瘤组织和细胞中 CCNB1 过表达,导致细胞 MPF 磷酸化调节机制失控,使 MPF 在细胞 DNA 已经受损的情况下仍可被激活,受损细胞继续进行有丝分裂,最终无限制地增殖而形成肿瘤,故 CCNB1 基因已被视为癌基因,其蛋白质亦被视为肿瘤抗原^[3-5]。基于此,许多研究将 CCNB1 作为抗肿瘤的靶基因,研究者通过不同的方法下调恶性肿瘤细胞 CCNB1 水平,不同程度地抑制了肿瘤的恶性表型及增殖^[6-28]。本文试从多方面就近年来靶向 CCNB1 抗肿瘤的研究作一综述。

1 CCNB1 与肿瘤

1.1 CCNB1 的生物学特征

细胞周期蛋白及细胞周期蛋白依赖性激酶结构

和功能的改变是导致细胞周期破坏的主要原因,也是许多癌基因和抑癌基因作用的汇集点^[29]。CCNB1 作为细胞周期蛋白家族中的重要成员之一,对其生物学特征的认识可以从机制上更深入地理解靶向 CCNB1 抗肿瘤研究的意义。

CCNB1 为 CDK1 的伴侣分子,二者结合后形成 MPF。CCNB1 通过其结构中的周期蛋白框与 CDK1 激酶结构域中的一段保守序列与 CDK1 结合并激活之,引导 CDK1 发挥激酶作用,磷酸化不同底物(尤其是与启动有丝分裂有关的蛋白),进而启动有丝分裂,即 CCNB1 活性的发挥对细胞能否通过 G₂/M 检验点进入 M 期起决定性作用^[2]。CCNB1 属细胞结构蛋白,其含量在整个细胞周期中呈周期性变化,一般于 G₁晚期在细胞质中合成,在 G₂ 期含量达最大,核被膜破裂之前被输入到核内;CDK1 在周期中含量稳定,其激活始于 CCNB1 的积聚,CDK1 与 CCNB1 结合后活性随 CCNB1 含量的增大而逐渐增大直至触发有丝分裂,故 CCNB1 的积聚尤其是其核内的积聚是 MPF 触发有丝分裂的先决条件之一^[3]。当细胞周期进入 M 中期,MPF 活性达到最高时,后期促进复合物(anaphase promoting complex, APC)将泛素连接在 CCNB1 上,结合

收稿日期: 2008-01-04 接受日期: 2008-06-30

浙江省自然科学基金(No.Y207353),浙江省博士后科研资金(No.2006-bsh-34)和浙江省卫生厅基金(No.2007A180)资助

* 通讯作者。Tel: 028-86571072, Fax: 028-84766126, E-mail: zhangling711@hotmail.com

泛素的 CCNB1 被蛋白酶体(proteasome)识别后降解, MPF 失活, M 期结束, 一个细胞周期完成^[30]。即 MPF 复活物既决定细胞能否进入 M 期, 也决定其能否退出 M 期。CCNB1 N 端有一段序列与其降解有关, 称降解盒(destruction box); 蛋白酶体是一个大型蛋白酶, 可将泛素化的蛋白质分解成短肽; 见图 1。除启动有丝分裂外, MPF 在细胞进入 M 期后仍发挥着重要作用, 如 M 期纺锤体的形成需要细胞骨架(微管)进行重新组合或装配, MPF 在 M 期可以与纺锤体微管发生联合, 联合后 CCNB1 对纺锤体微管的作用估计为辅助后者运动以促进细胞分裂^[31]。

CCNB1 可通过其自身的生物学特性实现对细胞周期进程的调控, 多种因子也可通过促进 CCNB1 的合成或降解从而活化或抑制 MPF 激酶活性来实现对周期进程的调节。

1.2 CCNB1 与肿瘤

正常细胞内存在维持其基因组完整性和稳定性的各种分子, 包括许多与细胞周期调控相关的蛋白质, 周期调控失常将导致染色体异常, 细胞增殖失控, 凋亡障碍并最终形成肿瘤。通常细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI)是肿瘤抑制基因的产物, 而细胞周期蛋白是一些原癌基因的产物, 所以原癌基因、癌基因和抑癌基因是与细胞周期调控相关的基因。有研究者^[1]指出肿瘤是一个细胞周期相关性疾病, 恶性肿瘤细胞内 DNA 数量的改变通常是由于有丝分裂期间染色质异常分离所致, 阻止癌细胞分裂即有可能达到抑制其恶性生长

甚至将其杀灭的目的; 该研究还指出肿瘤可以部分地定义为细胞持续不断地通过有丝分裂的能力, 而这种能力的获取与 CCNB1 功能异常直接相关。

通常, 正常细胞如发生 DNA 损伤, 在损伤恢复前, 其 MPF 活性多数会受到抑制, 细胞难以进入有丝分裂; 而如前所述, 许多肿瘤细胞系均高表达 CCNB1, 细胞 MPF 磷酸化调节机制存在缺陷(部分由于 CCNB1 活性增强所致), 细胞可因之获得无限增殖的能力, 最终出现恶性转化, 所以 CCNB1 被视为肿瘤抗原^[3-5]。Warner 等^[1]的研究表明丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine kinases, STKs)家族成员 aurora-2 可以通过与 CDK1/CCNB1 交互作用调控 CCNB1 的转录而控制细胞周期的出入, 细胞如“滥用”这种能力则可产生恶性倾向。另有研究^[32]也提出 CCNB1 活性的增强, 可提高活化的 CDK1 对下游基因表达产物的磷酸化作用, 如可使雄激素受体(androgen receptor, AR)磷酸化而稳定, 变相地增加了 AR 的表达, 使其能够有效地刺激激素非依赖性前列腺癌细胞的增殖, 故控制 CCNB1 的表达, 抑制 CDK1 的活性, 将是抑制激素非依赖性前列腺癌的有效方法。

不少学者还对 CCNB1 在肿瘤组织和细胞中的高表达作了进一步研究。如 Kao 等^[4]通过免疫组化等方法检测了多种肿瘤细胞系和肿瘤组织, 发现其 CCNB1 通常过表达且异常定位于细胞质而非胞核; Porter 等^[3]研究得出 CCNB1 在核内积聚的细胞对 γ 射线导致 DNA 损伤诱导的凋亡敏感而该蛋白质在胞质内积聚的细胞则不敏感, 应用 leptomycin B (出核转

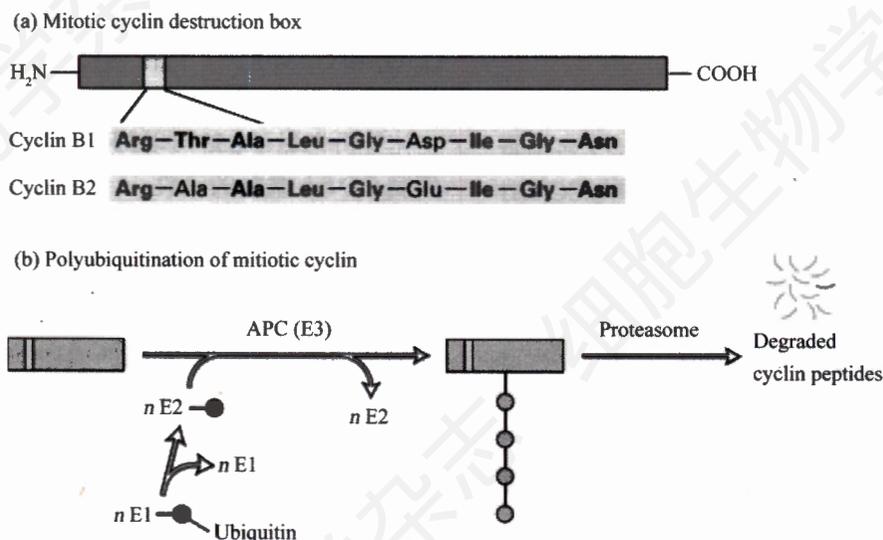


图 1 CCNB1 降解盒(destruction box)结构及该蛋白质降解过程(参考 <http://www.cella.cn/jxck/13.pdf>)

a: 降解盒结构; b: 蛋白酶体识别和降解 CCNB1 的过程。

运抑制剂)抑制CCNB1向胞质的转运可以诱导凋亡,另外过表达能够在核内优先定位的CCNB1-5xE也可以促发凋亡,相反,在胞内优先定位的CCNB1-5xA的过表达则可以抵抗凋亡的发生,这一结论提示核内积聚是CCNB1依赖的凋亡所必需的,即CCNB1过表达尤其是胞质内高表达与肿瘤发生、发展相关,胞质内高表达与肿瘤的抗凋亡作用有关。

Singhal等^[33]认为CCNB1可以作为生物分子标志物对非小细胞肺癌复发的危险度进行预测,用以指导临床治疗;Nozoe等^[34]也提出CCNB1表达量的多少和表达的部位(核内或胞质表达)能够作为独立的预测因子对食道鳞癌患者的生存率进行预测;Glinsky等^[35]制作了一个含11个基因(包括CCNB1)的基因芯片,对肿瘤患者的肿瘤组织进行了微阵列分析,结果提示上述基因在肿瘤组织中的表达可以作为较好的预测因子对肿瘤患者的抗药性、局部或远处转移、复发、生存等指标进行预测,以指导临床治疗和评估;Björck等^[36]检测了57名滤泡性淋巴瘤患者肿瘤组织中的基因表达,以寻找针对滤泡性淋巴瘤的诊断和判断预后的标记分子,结果提示有11个与细胞周期G₂/M转换、有丝分裂和DNA调节有关的基因高表达(包括CCNB1)。即CCNB1表达量的高低和/或表达的部位可以作为判断肿瘤患者预后或肿瘤细胞恶性表型的指标。

2 靶向CCNB1的抗肿瘤研究

鉴于CCNB1与肿瘤发生、发展的密切相关性,许多研究从不同角度靶向该分子,探求其抗肿瘤治疗的可行性并对靶向CCNB1后肿瘤细胞生物学特性的改变进行了分析。

2.1 CCNB1活性抑制因子

CCNB1活性抑制因子包括的范围较广,多为蛋白质分子,主要作用于细胞周期调控系统中与CCNB1表达或功能有关的信号转导通路中的某一或多个环节而抑制其活性。在肿瘤细胞或组织中诱导各种CCNB1抑制因子基因高表达或直接导入相关的蛋白质产物,理论上可以通过下调CCNB1活性,阻止恶性肿瘤细胞进入M期而达到抗肿瘤的目的。反之,对于CCNB1促进因子,则可以通过其他药物或因子抑制之,进而抵消或削弱CCNB1的活性,达到抗肿瘤的目的。

E2F-1是细胞周期调控机制中cyclin-cdk-Rb通道最重要的转录因子。有研究^[37]提示E2F-1过表达

可以增加CCNB1的表达水平从而使U2OS骨肉瘤细胞增殖加快;基于此,Park等^[10]希望通过抑制E2F-1的表达降低其对CCNB1的促进作用而控制肿瘤的增殖,研究选用洛伐他汀(lovastatin)下调E2F-1的表达,有效抑制了包括CCNB1在内的细胞周期相关因子的活性,导致前列腺癌细胞的死亡。细胞周期蛋白激酶抑制剂CYC202(R-roscovitine)可以在转录水平抑制细胞周期蛋白D1、A和B1的表达,下调细胞周期蛋白激酶CDK2、CDK4和CDK1的活性,从而抑制HT29和KM12结肠癌细胞的生长^[11]。

14-3-3 σ (属于14-3-3蛋白家族)可以降低胞质内的MPF,细胞没有足够的CCNB1用于核内积聚而滞留于G₂/M检验点;乳腺癌细胞内常有14-3-3 σ 的丢失,导致G₂/M检验点的缺失,细胞无限制分裂,引起染色体畸变和细胞转化;小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)细胞中存在高度DNA甲基化及14-3-3 σ 基因沉默,考虑14-3-3 σ 基因沉默与DNA甲基化有关^[12]。可以推测,在上述两种肿瘤细胞中转染14-3-3 σ 基因或降低DNA甲基化,恢复该基因功能,增强其对CCNB1的抑制,将有可能抑制甚至逆转肿瘤细胞的恶性表型。

一些抑癌基因如p16^{INK4A}及p53的产物也可以通过对MPF的抑制而产生抗肿瘤效应。p16^{INK4A}是细胞周期依赖性激酶抑制剂和重要的细胞周期调节剂,有学者^[13]构建的重组腺病毒Adp16^{INK4A}感染肿瘤细胞系令p16^{INK4A}在细胞中高表达并使细胞的CCNB1水平下降,MPF活性丧失,细胞出现周期阻滞及凋亡。在p53缺失的人非小细胞肺癌细胞中导入野生型p53基因可以下调CCNB1的表达,导致细胞周期阻滞于G₀/G₁和G₂/M期^[9]。Park等^[14]在p53功能缺乏的人膀胱癌细胞中导入p53基因后使细胞难以进入M期,生化分析也显示p53可以抑制CCNB1和CDK1进而抑制CDK1激酶的活性。

2.2 药物或化合物对CCNB1的抑制作用

除了上述各种CCNB1活性抑制因子外,不少药物或化合物分子也可以直接或间接作用于CCNB1,抑制其功能,下调MPF活性进而抑制肿瘤增殖。

2.2.1 中药成分 蓼科草本药用植物虎杖的根和根茎中提取的多酚类化合物白藜芦醇(resveratrol)对激素依赖性肿瘤(包括乳腺癌、前列腺癌、子宫内膜癌和卵巢癌等)有明显的预防作用,可以下调CCNB1水平,致多种肿瘤细胞生长受抑^[15]。槲皮酮(quercetin)和木黄酮(genistein,又称金雀异黄素)同属

类黄酮物质(favonoids), 是以 α - 苯基苯并吡喃酮为主体的一类植物化合物, 有研究^[16]提出栝皮酮可以下调人乳腺癌细胞的 CCNB1 水平并抑制 MPF 的活性, 从而诱导细胞凋亡及 G₂/M 期阻滞, 使细胞增殖受到抑制。类异戊二烯紫苏醇、香叶醇和金合欢醇三者的混合物可以下调 CCNB1 和其他细胞周期相关蛋白的表达, 致细胞周期阻滞, 最终使 MIA PaCa-2 人胰腺癌细胞增殖活性下降^[16]。口服葡萄籽提取物(grape seed extract, GSE)也可以明显下调小鼠前列腺癌转基因(transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate, TRAMP)小鼠的前列腺肿瘤组织 CCNB1 和其他细胞周期相关蛋白表达, 抑制该种小鼠体内前列腺肿瘤的生长^[17]。

2.2.2 组蛋白去乙酰化酶抑制剂 组蛋白去乙酰化酶抑制剂丁酸钠(butyrate, NaB)可以明显下调 CCNB1 的 mRNA 水平从而使 HT-29 人结肠癌细胞增殖受抑, 即 NaB 对 CCNB1 的抑制是转录水平的; 该抑制作用可能的机制为丁酸钠延迟了组蛋白去乙酰化, 促进了 p21 表达, 而 p21 对 CCNB1 最小的增强子有抑制作用, 即 NaB 可以在转录水平抑制 CCNB1^[18]。NaB 还可以明显下调喜树碱作用后的乳腺癌和肺癌细胞的 CCNB1 水平, 同时抑制抗凋亡因子 XIAP 和 survivin, 从而达到抑瘤作用^[19]。另一组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素 A (trichostatin A, TSA)处理乳腺癌细胞后再行放疗可以明显下调细胞 CCNB1 的 mRNA 水平, 考虑上述作用为 TSA 抗肿瘤机制之一^[20]。

2.2.3 化疗药物、小分子化合物及其他 化疗药物拓扑异构酶抑制剂喜树碱也可以抑制 CCNB1 的表达, 促进脑肿瘤细胞发生 G₂ 期阻滞^[21]。Huynh 等^[22]用 MEK 酶抑制剂 AZD6244(有丝分裂激活蛋白抑制剂)与阿霉素联合用于肝细胞性肝癌的治疗取得了一定的抑瘤效果, 研究提示 AZD6244 的抗肿瘤机制之一为下调了 CCNB1 和其他细胞周期相关蛋白的表达, 其与阿霉素联合有增效作用。广谱细胞周期依赖性激酶抑制剂 flavopiridol 处理前列腺癌细胞可以明显下调细胞的 CCNB1 和其他细胞周期相关蛋白水平, 其机制也许为 flavopiridol 激活了蛋白酶体降解通路使上述蛋白降解所致, 这些蛋白质的降解一定程度上影响了肿瘤细胞的增殖活性^[23]。

Piechocki 等^[24]用表皮生长受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)抑制剂易瑞沙(iressa, 吉非替尼)作用于 HER2/neu 原癌基因表达阳性的细胞, 并进行了体内、外研究, 提示该肿瘤对易瑞沙敏感, 机制

之一为易瑞沙抑制 EGFR 后下调了 CCNB1 和其他细胞周期相关蛋白的表达, 从而影响了某些下游的信号转导途径如促有丝分裂和 / 或胁迫信号转导途径, 最终导致细胞增殖抑制和周期阻滞。醇内酯化合物(isoobtusilactone A, IOA)可以通过增加 p21 水平同时下调 CCNB1、细胞周期蛋白 A、CDK1 和 cdc25C 水平而诱导肿瘤细胞出现 G₂/M 阻滞并进而抑制细胞增殖^[25]。有学者将一种蝮属蛇种的蛇毒素(snake venom toxin, SVT)用于激素非依赖性前列腺癌细胞 PC-3 和 DU145, 使细胞增殖受抑, 其机制部分与 SVT 使细胞的 CCNB1 表达下降, 从而诱导细胞出现 G₂/M 期阻滞有关^[26]。

2.3 反义技术靶向 CCNB1 基因

反义技术利用反义分子使特异基因的 mRNA 转录、前体剪接和 / 或蛋白质翻译受阻而干预该基因的表达, 以达到治疗某种疾病(比如恶性肿瘤)的目的。有学者^[6]根据 CCNB1 基因序列, 通过共价或非共价连接设计了一段具有特殊结构的反义寡核苷酸(AS-oligo), 称为 HypNA, 其结构中含有 CCNB1 基因的反义序列, HypNA 转染细胞后可直接靶向细胞的 CCNB1 基因, 其转染效率较脂质体明显提高, 转染 HypNA 后乳腺癌等细胞系的 CCNB1 含量显著降低, 细胞增殖受抑。反义 cDNA 是反义技术中另一种简便有效的下调靶基因的方法, 笔者在近期的研究中构建了 CCNB1 反义全长 cDNA (AS-CLB1), 研究提示 AS-CLB1 可以明显下调肿瘤细胞 CCNB1 水平, 导致肿瘤细胞发生形态学改变、生长受抑、凋亡增加和 G₁ 期阻滞; AS-CLB1 与化疗药物联用的体内、外抗肿瘤研究提示 AS-CLB1 具有化疗增敏性^[27]。我们后续的研究工作正在进行, 部分研究结果已投稿或待发表。

2.4 小分子干扰 RNA (siRNA) 靶向 CCNB1 基因

Yuan 等^[7]将化学合成的特异 siRNA 片段导入多种肿瘤细胞内靶向其 CCNB1 基因, 有效抑制了 CCNB1 的表达, 使细胞出现凋亡、G₂/M 阻滞及生长抑制。

2.5 CCNB1 与抗肿瘤免疫

肿瘤细胞往往通过各种机制逃避机体的免疫监控, 如缺乏共刺激分子, 低表达 MHC, 分泌抑制因子抵抗肿瘤免疫等, 进而诱导机体对肿瘤的免疫耐受^[38]。CCNB1 是体内各种组织细胞普遍表达的共同抗原, 有丝分裂中期在胞核内经泛素化而降解。正常情况下 CCNB1 在细胞内的表达量是很低的, 仅在 G₂/M 期稍有积聚并同时迁移入细胞核以利细胞启动有丝分裂,

而肿瘤细胞的CCNB1在整个细胞周期都过表达并多在细胞质中堆积,这种堆积可能导致肿瘤抑制基因p53功能的失活^[5]。

就CCNB1与肿瘤免疫的关系而言,Kao等^[4]认为CCNB1在多种肿瘤组织和细胞中过表达且表达的CCNB1还易出现错译和错误折叠而极易被蛋白酶体识别后降解成肽段并在细胞质中储积,这种CCNB1特异性肽段能够在胞质中形成“HLA I类-CCNB1肽段复合物”刺激CD8⁺T细胞并使之活化,活化后的CD8⁺T细胞能够特异识别过表达CCNB1的肿瘤细胞并发挥其溶细胞的细胞毒作用而实现抗肿瘤免疫效应,故得出CCNB1是一个可以被CD8⁺T淋巴细胞特异识别的肿瘤抗原的结论,该蛋白质可应用于乳腺、肺和头颈部等癌症的疫苗试验。另有学者也发现乳腺癌细胞MHC-I类分子递呈的CCNB1抗原肽片段能够刺激乳癌和头颈部肿瘤患者产生肿瘤特异性细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)反应,且诱导该免疫反应的CCNB1抗原肽片段序列已经被鉴定出来;另外,CCNB1还可以在一些早期肿瘤或癌前病变患者体内诱导机体产生辅助T细胞依赖的体液免疫反应,在前列腺癌、乳腺癌、结直肠癌、肺癌和肝细胞癌患者中已检测到针对CCNB1的抗体反应,用递归分割方法评估上述肿瘤中对抗CCNB1这一肿瘤抗原的抗体水平可用于区分肿瘤和非恶性疾病或健康人群(后两者的抗CCNB1水平低或无),CCNB1高表达的肿瘤或癌前病变其体内抗CCNB1(IgG和IgA)的滴度也很高,这种在肿瘤和癌前病变患者体内针对CCNB1的异常免疫反应提示CCNB1可以作为肿瘤诊断和判断预后的标记分子,CCNB1抗体水平还可用于肿瘤的早期诊断,以便对患者进行相应的早期干涉;上述在肿瘤患者体内检测到的辅助T细胞依赖的抗CCNB1的体液免疫反应提示过表达CCNB1也能够激活B细胞,使之形成CCNB1抗原特异性的B淋巴细胞,进一步获得T淋巴细胞的辅助而产生抗CCNB1抗体,该抗体不是通过抗原肽片段而是通过可溶性CCNB1对B细胞的刺激作用而产生的^[5](图2)。

虽然肿瘤组织高表达CCNB1,其表达及功能异常与肿瘤关系密切,被视为肿瘤抗原^[3~5],但如前述CCNB1是共同抗原,机体多已对该蛋白质产生了不同程度的免疫耐受,要产生针对CCNB1有效的抗肿瘤免疫,达到明显的抑瘤效果,必须通过某种方法打破机体对该蛋白质的免疫耐受。有学者^[39]用异种同源基因表达产物作为肿瘤疫苗,均可明显增强抗原呈递细

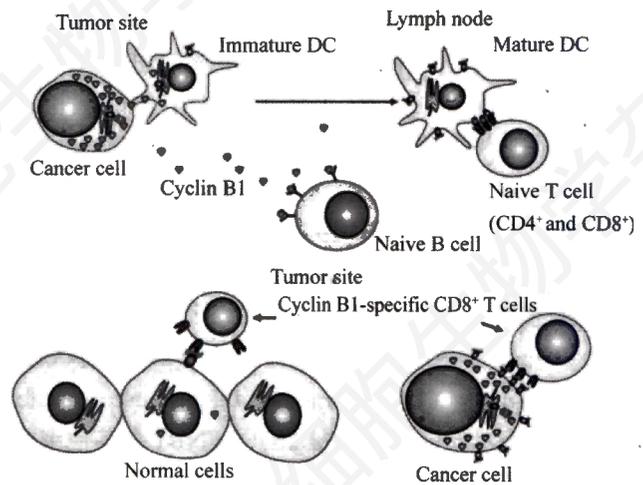


图2 CCNB1在体内诱导免疫反应的示意图^[5]

胞(antigen presenting cell, APC)对肿瘤抗原肽片段的呈递,有效地打破了机体的免疫耐受。笔者在前期研究中遵循上述科研思路构建了偶联有OX-M的新型重组小鼠细胞周期蛋白B1腺病毒OX-M-AdmCLB1,体外研究提示OX-M-AdmCLB1可被树突状细胞(dendritic cell, DC)特异识别;体内实验显示了OX-M-AdmCLB1明显的抗肿瘤作用,推测可能的抑瘤机制为OX-M-AdmCLB1在动物体内亦能被DC特异识别和摄取,其携带的CCNB1基因在DC内高效表达并通过“交叉呈递”方式呈递相应的抗原肽片段给CD8⁺T细胞,打破了机体对CCNB1的免疫耐受,激发了针对肿瘤组织的特异性CTL反应,诱导并激活了机体抗肿瘤免疫^[28]。

2.6 靶向CCNB1的抗肿瘤治疗中存在的争议及问题

大多数研究均提示下调CCNB1会导致细胞MPF功能障碍、引发凋亡和/或周期阻滞及细胞增殖受抑等生物学特性的改变。但下调CCNB1是否一定会诱导细胞凋亡尚无定论,甚至有研究得出下调CCNB1会降低细胞凋亡。如 γ 射线处理细胞后可以见到CCNB1异常高表达,并随即诱导细胞凋亡,提示CCNB1高表达与 γ 射线诱导的凋亡直接相关;用反义技术下调CCNB1则可以降低凋亡^[2]。Russo等^[37]提出过表达CCNB1可以使更多的肿瘤细胞进入M期(包括DNA损伤的细胞),增加细胞对M期特异性化疗药物的敏感性而更易诱发凋亡;同一研究还提示E2F-1过表达可以增加CCNB1表达水平从而使U2OS骨肉瘤细胞增殖加快,但同时却可以增加细胞对化疗

药物紫杉醇的敏感性,即增加 CCNB1 表达在一定条件下可能会有利于肿瘤化疗。关于细胞周期阻滞,CCNB1 为 M 期细胞周期蛋白,作用于 G₂/M 检验点,下调其表达理论上应该导致 G₂/M 期阻滞,但实际上也可以出现 G₀/G₁ 等不同时期的周期阻滞^[9]。Björck 等^[36]检测了 57 名滤泡性淋巴瘤患者肿瘤组织中的基因表达,提出 CCNB1 (RNA)的高表达对肿瘤病人的生存反而有利。上述争议和问题的存在估计与不同环境下机体内各种复杂的调控因子产生交互作用的差异有关,其机制有待进一步研究,但这些差异的存在并不影响靶向 CCNB1 抗肿瘤治疗的可行性。

另外,由于 CCNB1 是机体内各种组织细胞普遍表达的共同抗原,故针对 CCNB1 的抗肿瘤免疫疗法在抑制肿瘤的同时引发自身免疫性疾病的可能尚不能完全排除,因此靶向 CCNB1 抗肿瘤治疗潜在的毒副作用亦是需要进一步关注的问题。对上述顾虑 Kao 等^[4]却有不同看法,他们认为虽然凡是在分裂、增殖的细胞都有 CCNB1 的表达,但正常细胞该蛋白质的表达方式和表达量均与肿瘤细胞不同,正常细胞不会因为过表达,错译和错误折叠而出现 CCNB1 特异性肽段并在胞质中储积而最终导致 T 细胞对之的特异识别,即其表面无“HLA I 类-CCNB1 肽段复合物”,不会使 CD8⁺ T 细胞活化而对其产生明显的杀伤作用。

3 前景与展望

综上所述,由于肿瘤组织和细胞高表达 CCNB1,其 MPF 磷酸化调节机制存在缺陷,故通过靶向 CCNB1,抑制 MPF 功能,使细胞难以越过 G₂/M 检验点进入有丝分裂进行分裂增殖的方法进行抗肿瘤治疗是可行的。笔者认为可以通过重组 DNA 技术将各种 CCNB1 活性抑制因子的基因重组后或体外合成相应的蛋白质分子导入机体发挥高效的抗肿瘤作用,重组载体可以首选病毒载体,如选择转染效率较高的腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)载体等;也可以通过反义技术或 siRNA 阻断 CCNB1 活性增强因子的表达以降低这些因子对 CCNB1 的激活作用;植物化合物(中药成分),化疗药物、组蛋白去乙酰化酶抑制剂等抑制 CCNB1 的药物亦可试用于各种肿瘤的治疗或与 CCNB1 活性抑制因子联合应用;另外,针对 CCNB1 的抗肿瘤免疫治疗是一个很有前途的方法,诱导患者产生肿瘤特异性 CTL 反应的 CCNB1 抗原肽片断序列已被鉴定出来,故完全可以将该片段重组克隆

后用于诱发机体产生特异的抗肿瘤免疫反应,估计此方法具有高效的抗肿瘤作用。虽然目前直接靶向 CCNB1 的临床研究尚处于起步阶段,仅限于测定肿瘤患者体内针对 CCNB1 的体液免疫和细胞免疫指标等,研究患者肿瘤组织 CCNB1 表达水平与肿瘤发生、发展、预后和对其他治疗(如放疗)敏感性的关系等,有关临床治疗方面的研究还不太成熟,但如果能够更进一步地解决抗 CCNB1 药物的肿瘤组织靶向问题,降低其潜在的毒副作用,并对肿瘤与 CCNB1,肿瘤与 CCNB1 信号转导通路上相关蛋白质相互关系的机制进行更深入的研究,寻找更多有效的抗癌靶点,靶向 CCNB1 的抗肿瘤研究必将有更广阔的应用前景。

参考文献(References)

- [1] Warner SL *et al. Mol Cancer Ther*, 2003, 2: 589
- [2] Porter LA *et al. Blood*, 2000, 95: 2645
- [3] Porter LA *et al. Blood*, 2003, 101: 1928
- [4] Kao H *et al. J Exp Med*, 2001, 194: 1313
- [5] Egloff AM *et al. Cancer Res*, 2006, 66: 6
- [6] Morris MC *et al. Gene Ther*, 2004, 11: 757
- [7] Yuan J *et al. Oncogene*, 2004, 23: 5843
- [8] Choi JA *et al. Int J Oncol*, 2001, 19: 837
- [9] Dubrez L *et al. Gene Ther*, 2001, 8: 1705
- [10] Park C *et al. Carcinogenesis*, 2001, 22: 1727
- [11] Whittaker SR *et al. Cancer Res*, 2004, 64: 262
- [12] Osada H *et al. Oncogene*, 2002, 21: 2418
- [13] Kim M *et al. Cell Death Differ*, 2000, 7: 706
- [14] Park M *et al. Cancer Res*, 2000, 60: 542
- [15] Joe AK *et al. Clin Cancer Res*, 2002, 8: 893
- [16] Wiseman DA *et al. J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 320: 1163
- [17] Raina K *et al. Cancer Res*, 2007, 67: 5976
- [18] Archer SY *et al. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 289: G696
- [19] Bevins RL *et al. Cancer Res*, 2005, 65: 6957
- [20] Nome RV *et al. Mol Cancer Ther*, 2005, 4: 1231
- [21] Janss AJ *et al. Neuro Oncol*, 2001, 3: 11
- [22] Huynh H *et al. Mol Cancer Ther*, 2007, 6: 2468
- [23] Gomez LA *et al. Mol Cancer Ther*, 2006, 5: 1216
- [24] Piechocki MP *et al. Cancer Res*, 2007, 67: 6825
- [25] Kuo PL *et al. Cancer Res*, 2007, 67: 7406
- [26] Son DJ *et al. Mol Cancer Ther*, 2007, 6: 675
- [27] 张 伶等. *细胞生物学杂志*, 2007, 29: 539
- [28] Zhang L *et al. Cell Res*, 2006, 16: S105
- [29] 喻春钊等. *癌症*, 2005, 24: 170
- [30] 刘 萱等. *生物技术通讯*, 2004, 15: 267
- [31] Charrasse S *et al. Exp Cell Res*, 2000, 254: 249
- [32] Chen S *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 15969
- [33] Singhal S *et al. Clin Cancer Res*, 2005, 11: 3974
- [34] Nozoe T *et al. Clin Cancer Res*, 2002, 8: 817
- [35] Gliinsky GV *et al. J Clin Invest*, 2005, 115: 1503
- [36] Björck E *et al. Blood*, 2005, 105: 2908
- [37] Russo AJ *et al. Cancer Res*, 2006, 66: 7253

[38] Mapara MY *et al.* *J Clin Oncol*, 2004, 22: 1136

[39] Wei YQ *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 11545

Study in Targeting to Cyclin B1 against Malignant Tumors

Ling Zhang^{1,2}, Ri-Shu Chen³, Tao Zhang^{1*}, Ji-Cheng Li²

(¹Department of Oncology, General Hospital of Chengdu Military Command of PLA, Chengdu 610083, China; ²Institute of Cell Biology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; ³Zhejiang Yueqing Second Hospital, Yueqing 325608, China)

Abstract Cyclin B1 (CCNB1) is the regulatory subunit of the cdc2 serine/threonine kinase (mitotic promoting factor, MPF), and accumulation of CCNB1 in late G₂ phase of the cell cycle is a prerequisite for mitotic initiation in mammalian cells. In addition, CCNB1 is overexpressed in various tumor types and plays important roles in cancer development, and was identified a new tumor antigen. Therefore, a potential strategy for cancer gene therapy is to suppress the expression and/or activity of CCNB1 by various methods. This paper reviews the recent advances of anti-tumor research in the field of inhibiting CCNB1.

Key words cyclin B1; neoplasms

Received: January 4, 2008 Accepted: June 30, 2008

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.Y207353), the Postdoctoral Science Foundation of Zhejiang Province (No.2006-bsh-34) and the Health Bureau of Zhejiang Province (No.2007A180)

*Corresponding author. Tel: 86-28-86571072, Fax: 86-28-84766126, E-mail: zhangling711@hotmail.com