

- 3 赵振声, 李 晖. 磁性微粉吸收剂应用于肿瘤治疗的展望. 磁性材料及器件, 1996, 27 (2): 38~39
- 4 Yamasawa K, Suzuki S. Analysis of the operation of value: type temperature sensitive magnetic actuators. 日本应用磁学会, 1984, 8 (2): 225~228
- 5 都有为. 铁氧体. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996. 22~40

Temperature Autocontrol and Stabilization in the Thermotherapy of Tumors. ZHAO Zhensheng, LI Hui¹⁾, WU Mingzhong, ZHAN Jidong²⁾ (*Department of Solid State Electronics, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;* ¹⁾*Department of Bioengineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;* ²⁾*Department of Clinical Therapy, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China*).

Abstract The technique of thermotherapy of tumors has been widely adopted in clinical treat-

ments. But the efficiency is not so ideal in treating the tumor tissues growing in the depth of the body, because of the difficulties in transmission and concentration of heat energy. And another problem to be resolved in tumor thermotherapy is to measure the temperature of tumor tissues being treated with thermotherapy exactly and rapidly. The difficulties in thermo-dosage control affect the efficiency directly. The purpose of temperature autocontrol and stabilization in the thermotherapy of tumors can be achieved through Mn-Zn ferrite, a powdered magnetic absorber which absorbs electromagnetic wave and has Curie temperature. The efficiency can be improved by injecting Mn-Zn ferrite powder into blood vessels in the course of thermotherapy.

Key words thermotherapy of tumors, temperature autocontrol and stabilization, Curie temperature

G1 阻滞中 p21-E2F 间的相互作用

董为人 彭必友¹⁾ 李 进

(第一军医大学细胞生物学实验室, 广州 510515)

摘要 前列腺素 A2 (PGA2) 具有强的体内、外抗增殖活性, 引起细胞周期阻滞, 同时, 可诱导 cdk 抑制物 p21 蛋白的表达, 后者亦可介导多种细胞的 G1 阻滞. 提示 p21^{waf1/cip1} 在 PGA2 诱导的细胞周期阻滞中具有重要作用. 主要介绍了近两年来有关 p21^{waf1/cip1} 与转录因子 E2F 间的相互作用的研究, 阐述 p21^{waf1/cip1} 在 PGA2 介导的细胞周期阻滞中的作用机制.

关键词 前列腺素 A2, G1 阻滞, p21^{waf1/cip1}, E2F, pRb

1 PGA2 通过 p21 诱导 G1 阻滞

已证实, 前列腺素 A2 (prostaglandin A2, PGA2) 具有强的体内、外抗增殖、抗肿瘤活性, 引起细胞周期阻滞 (cell cycle arrest), 但其机制不详. 药理学研究表明, PGA2 通过胞浆载体系统摄取, 经内在化后结合于胞浆蛋白而迁移入核, 引起细胞周期停滞于 G1 中、晚

期. Hitomi 等^[1] 最近亦证实, PGA2 使 NIH3T3 细胞呈现 G1 和 G2/M 阻滞, 但后者维持短暂. Gorospe 等^[2] 的研究表明, PGA2 处理的人乳腺癌细胞系 MCF-7 约 90% 处于 G1 期, 而未受处理的 MCF-7 细胞仅有 55% 处于 G1 期. 有趣的是后两项的研究者们发

¹⁾解放军 155 医院, 开封 475003.

收稿日期: 1996-10-08, 修回日期: 1997-03-12

现^[1,2], 伴随 G1 阻滞尚有 cyclin/CDK 抑制物 p21^{waf1/cip1} 的诱导表达. 由于 p21^{waf1/cip1} 亦可介导多种细胞的 G1 阻滞^[3], 而 p21 基因敲除小鼠虽可正常发育, 但缺乏 G1 阻滞^[4], 反义 p21 RNA 载体导入可使细胞退出 G0 期而进入 S 期^[5], 转染 p21 基因入人 MG-63 骨肉瘤细胞则可出现瘤细胞生长阻滞并诱导凋亡^[6]. 提示 PGA2 诱导的 p21^{waf1/cip1} 可能或部分介导了 PGA2 诱发的细胞周期阻滞效应.

细胞周期自 G0/G1 运行至 S 期至少存在三种分子系统的调节^[1]: a. 接受细胞外信号并传递至细胞内的信号转导途径, 其中最主要、最普遍的为原癌基因 (proto-oncogenes) 信号转导途径; b. cyclin/CDK 及其调制物 (如 p21, p16) 的共同调节使其通过 G1 检测点 (checkpoints) 和其他细胞周期检测点; c. 细胞成分 (含 DNA) 倍增必需的代谢过程, 主要包括 DNA 聚合酶催化的 DNA 复制、活性 cyclin D/CDK4 使与转录因子 E2F/DP 结合的低磷酸化的抑癌蛋白 pRb (protein retinoblastoma) 磷酸化, 从而使 E2F/DP 释放, 诱导许多 DNA 合成所需分子的转录.

已知 p21 蛋白为一广谱的 cyclin/cdk 抑制物, 又称 waf1 (wt-p53 活化片段 1)、cip1 (cdk 作用蛋白 1)、Pic-1、sdi1 或 mda-6. p21 链上有 CDKs 和增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 的结合位点, 并与之结合形成 p21-cyclin-CDK-PCNA 四元复合物, 抑制 CDK 和 PCNA 的活性. PCNA 为 DNA 聚合酶 δ 和 ϵ 的辅因子, p21 从而可抑制 DNA 的合成. p21 尚可与 Gadd45 作为 p53 的下游效应子, 两者相互作用, 共同调节细胞周期. 癌基因产物可灭活 p21 蛋白的功能, p21 蛋白亦可抑制癌基因的表达及其信号转导途径^[7]. c-myc 的过表达可消除 p53 诱导的细胞周期阻滞, 这并非 c-myc 增高 cyclins 或 CDKs 的活性, 而是诱导一种热稳定性 p21 抑制物并与 p21 结合从而灭活 p21; bcl-2 的过表达亦可抑制 p21 的表达; 另一方面, p21 逆转录病毒转导可使转染 c-myc、v-src、tf-Ras、c-mos 等

癌基因的鸡胚成纤维细胞生长阻滞. 最近发现^[1], PGA2 可抑制 cyclin/CDK 活性, 阻断 pRb 高磷酸化过程, 阻止 E2F/DP-1 的释放. 由于 PGA2 不参与任何原癌基因信号分子的作用, 不改变丝裂原活化的蛋白激酶刺激^[1], 因而本文主要讨论 p21 与 pRb 家族-E2F 复合物间的作用.

2 G1 阻滞中 p21 与 pRb-E2F 间的作用

2.1 pRb 磷酸化与 E2F

pRb 家族主要包括 pRb、p107 和 p130, 以活性的非磷酸化和失活的高磷酸化两种形式存在, 可抑制许多哺乳动物细胞类型的细胞周期运行. 静止期 (G0) 细胞中 pRb 以非磷酸化存在, 与转录因子 E2F 结合, 抑制细胞生长. 已证实, pRb 调节 E2F1、E2F2、E2F3, 而 p107 和 p130 调节 E2F4 和 E2F5 的功能活性. 细胞受刺激活化后, cyclin/CDK 复合物等使 pRb 产生 CDK 依赖性磷酸化, 如 cyclin D1、D2、D3 与 CDK4、CDK6 结合及 cyclinE/CDK2 复合物均可使 pRb 磷酸化^[8], E2F 释放. E2F 与细胞周期通过 G1/S 检测点及细胞增殖直接相关. 一些生长相关基因如 c-myc、n-myc、B-myc、cdc2、dhfr 及胸苷合成酶、胸苷激酶、DNA 聚合酶 α 等基因调节区均含 E2F 结合位点, 其中某些被证实细胞周期调节表达中依赖于 E2F^[9]. pRb 基因导入原代培养的大鼠颈动脉损伤的平滑肌细胞 (smooth muscle cells, SMC) 可抑制生长因子刺激的 SMC 的增殖^[10]. 可见, E2F 释放的关键在于 pRb 磷酸化.

2.2 p21 抑制 pRb 磷酸化

p21 能否阻抑 pRb 的磷酸化? 如果可以, 又是如何发挥作用的呢? Gorospe 等^[2,8] 最新的两项研究表明, PGA2 处理的 MCF-7 细胞出现 p53 非依赖性生长阻滞, 负调节 CDK4、cyclin D1 基因表达, 降低 CDK2、CDK4 激酶活性, 同时 p21 表达增强. 利用 p53 基因敲除技术证实, PGA2 诱导的 p21 表达为 p53 非依赖性. 另一方面, PGA2 处理的 MCF-7 细胞

中 pRb 呈低磷酸化状态, 该状态可能为 p21 作用的结果. p107 和 p130 与 cyclin/CDK2 结合, 以及 p107 与 cyclin A/CDK2 通过非 E2F 结合位点作用形成 E2F-p107 (或 p130) - cyclin/CDK2 四元复合物. 该高度组织化的复合物可能为 p107 与 E2F 间作用破坏的中介^[9, 11]. Cyclin A、E、D1、D2、D3 及 G1 cyclin/CDK 复合物引起的 pRb 的磷酸化均可被 p21 阻断^[12]. 这与 Ad-p21 感染的静止的 SMC 中生长因子刺激的 pRb 磷酸化的完全抑制及血清刺激后 pRb 低磷酸化状态的研究结果相符^[13]. 最近的一项研究^[11]揭示, p107 与 p21-cyclin/CDK2 的结合依赖于其结构和功能相关区. DNA 损伤剂处理的细胞中 p21 表达增高, 引起 p107-cyclin/CDK2 激酶复合物解离, 形成 p21-cyclin/CDK2 激酶复合物. 进一步的研究表明, p107 的 651~669 多肽片段为 cyclin/CDK2 结合位点, 该区域与 p21 N 端 15~28 氨基酸残基序列有高度同源性. 这可解释 p21 与 p107 竞争性与 cyclin/CDK2 结合从而将 E2F-p107-cyclin/CDK2 复合物中的 E2F-p107 解离出来.

p21 尚可破坏 CDK2 与 E2F-p130 复合物间的相互作用^[9]. 非增殖或生长阻滞细胞中, 转录因子 E2F 与 pRb 家族的 p130 结合形成 E2F-p130 复合物, 该复合物的蓄积与细胞周期阻滞相关. Shiyonov 等^[9]最新的研究表明, 小鼠 L 细胞提取物组分中, 纯化的 E2F-p130 复合物制备物中含 CDK2, 即 E2F-p130-CDK2. 将该三元复合物与重组 p21 孵育则中断 CDK2 与 E2F-p130 复合物间的连接. p21 破坏 CDK2 与 E2F-p130 复合物之间作用的机制尚不清楚, 可能 p21 与 E2F-p130-cyclin/CDK2 中 cyclin/CDK2 与 p130 具有同一作用位点, 从而在过量 p21 存在下, 由于竞争性抑制导致 E2F-p130 从四元复合物中解离. 对 p130 内的 cyclin/CDK2 结合位点尚不清楚, 但对与 p130 结构相关的 p107 却有详细的研究. p130 与 p107 有广泛的序列同源性: p107 的 cyclin/CDK2 结合位点 (651~669 残基)

亦存在于 p130 的 672~688 多肽区^[14]. 有趣的是, p130 的该区域与 p21 的 11~28 残基序列有 47% 的同源性. 因而我们推测, p21 亦可通过与 p130 竞争性结合 cyclin/CDK2, 从而使 E2F-p130 从复合物解离出来而保持细胞周期阻滞活性.

PGA2 干扰 pRb 的高磷酸化引起的 G1 阻滞虽不被癌基因 Ras 显微注射所阻断, 但却被 E2F-1/DP1 或 E1A 显微注射所阻断^[1], 细胞进入 S 期. 有趣的是, 虽然单个 E2F-1 或 DP-1 均可使无血清静止细胞进入 S 期, 但均不能单独有效地灭活 PGA2 诱导的细胞周期阻滞. 提示 PGA2 不仅通过干扰增殖信号转导和细胞周期调节系统及两种增殖控制系统间的联系, 而且尚通过影响细胞周期控制系统和 DNA 合成过程 (含 pRb、pRb 相关蛋白、E2F/DP 转录因子) 间的相互作用来阻断细胞周期运行^[15]. 另一种可能的解释为通过抑制 cyclin E/CDK2 的活性. PGA2 可关闭 pRb、E2F、cyclin E 的正反馈环, 使游离的 E2F/DP 释放减少. Weinberg 指出, PGA2 的这些作用中, p21 可能具有重要意义.

2.3 其他

另外, p21 尚可介导 PGA2 引起的 E2F 调节基因如 *c-myc*、cyclin D1 mRNA 转录阻滞, 抑制 E2F-反应性启动子 (如二氢叶酸还原酶、*cdc2*) 的活性^[16], 抑制细胞增殖. PGA2 诱导 p21 表达的机制尚有待阐明, 可能与细胞内钙浓度的迅速升高有关^[17].

3 p21 研究的潜在意义

可见, p21 的抗增殖和细胞周期阻滞作用使其成为增殖相关疾病如肿瘤、血管损伤后再狭窄 (restenosis) 等基因治疗的重要策略之一^[10, 12], 但某些肿瘤中 p21 却高表达. 虽然 p21 基因罕见突变, 但该基因具有多态性和变异体, p21 蛋白可能以活性和非活性两种形式存在, 且 p21 基因转染并不能抑制头颈部肿瘤的生长^[18]. 更有趣的是, p21 尚可介导某些类型细胞的凋亡^[16], 但大多数的研究认为 p21 仅

诱导 G1 阻滞^[18], 反而保护细胞免于凋亡. Canman 等^[19]报告小鼠造血细胞 Baf-3 在去除生长因子后对辐射诱导的凋亡的高敏感性与 p21 的低表达相关. 而 Gorospe 等^[2]则证实, PGA2 诱导 p21 基因敲除的 RKO 细胞的凋亡而仅诱导 MCF-7 细胞出现 G1 阻滞. 在 MCF-7 细胞中导入反义 p21 表达载体后经 PGA2 处理则可出现大量的细胞凋亡. 缺乏 p21 的细胞在 DNA 损伤后停滞于 G2 样状态, 而后不经 M 期直接进入 S 期, 这种 M/S 脱偶联导致细胞以凋亡形式死亡^[20]. 可见 p21 可能决定着细胞周期阻滞和细胞凋亡的命运开关. 阐明 p21 的这一机制将为肿瘤基因治疗开辟新的领域.

总之, p21 的表达可能介导了 PGA2 诱导的细胞周期阻滞, 表现为 p21 对 cyclin/CDK 的广谱抑制, 阻断 pRb 家族的磷酸化, 竞争性与 E2F-pRb-cyclin/CDK 结合并置换出 E2F-pRb (p107 或 p130), 并下调 E2F 调节基因如 c-myc 等的表达. 另外, p21 尚与 Gadd45 相互作用, 抑制 PCNA 活性, 从而抑制 DNA 的复制. 对 p21 的生长阻滞和细胞保护矛盾机制的阐明将为增殖相关疾病的治疗开拓新的思路.

致谢 感谢第一军医大学微机检索室张杰民、吴娴波和李玉敏教授提供情报检索, 以及组胚教研室陈友良为文字处理所做的大量工作.

参 考 文 献

- Hitomi M, Shu J, Strom D *et al.* Prostaglandin A2 blocks the activation of G1 phase cyclin-dependent kinase without altering mitogen-activated protein kinase stimulation. *J Biol Chem*, 1996, **271** (16): 9376~ 9383
- Gorospe M, Holbrook N J. Role of p21 in prostaglandin A2-mediated cellular arrest and death. *Cancer Res*, 1996, **56** (3): 475~ 479
- Guadagno T M, Newport J W. Cdk2 kinase is required for entry into mitosis as a positive regulator of Cdc2-cyclin B kinase activity. *Cell*, 1996, **84** (1): 73~ 82
- Deng C, Zhang P, Harter J M *et al.* Mice lacking p21CIP1/WAF1 undergo normal development, but are defective in G1 checkpoint control. *Cell*, 1995, **82** (4): 675~ 684
- Nakanish M, Adami G R, Robetorye R S *et al.* Exit from G0 and entry into the cell cycle of cells expressing p21Sdi1 antisense RNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92** (10): 4352~ 4356
- Skotzko M, Wu L, Anderson W F *et al.* Retroviral vector mediated gene transfer of antisense cyclin G1 (CYCG1) inhibits proliferation of human osteogenic sarcoma cells. *Cancer Res*, 1995, **55** (23): 5493~ 5498
- Hermeking H, Fund J O, Reichert M *et al.* Abrogation of p53-induced cell cycle arrest by c-Myc: evidence for an inhibitor of p21WAF1/CIP1/SDI1. *Oncogene*, 1995, **11** (7): 1409~ 1415
- Gorospe M, Liu Y, Xu Q B *et al.* Inhibition of G1 cyclin-dependent kinase activity during growth arrest of human breast carcinoma cells by prostaglandin A2. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (3): 762~ 770
- Shiyanov P, Bagchi S, Adami G *et al.* p21 Disrupts the interaction between cdk2 and the E2F-p130 complex. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (3): 737~ 744
- Chang M W, Barr E, Seitzer J *et al.* Cytostatic gene therapy for vascular proliferative disorders with a constitutively active form of the retinoblastoma gene product. *Science*, 1995, **267** (5197): 518~ 522
- Zhu L, Harlow E, Dynlacht B D. p107 uses a p21CIP1-related domain to bind cyclin/cdk2 and regulate interactions with E2F. *Genes Dev*, 1995, **9** (14): 1740~ 1752
- Horton L E, Qian Y, Templeton D J. G1 cyclins control the retinoblastoma gene product growth regulation activity *via* upstream mechanisms. *Cell Growth Differ*, 1995, **6** (4): 395~ 407
- Chang M W, Barr E, Lu M M. Adenovirus-mediated over-expression of the cyclin/cyclin-dependent kinase inhibitor, p21 inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation in the rat carotid artery model of balloon angioplasty. *J Clin Invest*, 1995, **96** (5): 2260~ 2268
- Hannon G J, Demetrick D, Beach D. Isolation of the Rb-related p130 through its interaction with CDK2 and cyclins. *Genes Dev*, 1993, **7** (12A): 2378~ 2391
- Weinberg R A. The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell*, 1995, **81** (3): 323~ 330
- Dimri G P, Nakanishi M, Desprez P Y *et al.* Inhibition of E2F activity by the cyclin-dependent protein kinase inhibitor p21 in cells expressing or lacking a functional retinoblastoma protein. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (6): 2987~ 2997
- Cheng G, Liu B F, Yu Y *et al.* The exit from G (0) into the cell cycle requires and is controlled by sarco (endo) plasmic reticulum Ca²⁺ pump. *Arch Biochem Biophys*, 1996, **329** (1): 65~ 72
- Eastham J A, Hall S J, Sehgal I *et al.* *In vivo* gene therapy with p53 or p21 adenovirus for prostate cancer. *Cancer Res*, 1995, **55** (22): 5151~ 5155
- Canman C E, Gilmer T M, Coutts S B *et al.* Growth factor modulation of p53-mediated growth arrest versus apoptosis. *Genes Dev*, 1995, **9** (5): 600~ 611
- Waldman T, Lengauer C, Kinzler K W *et al.* Uncoupling of S phase and mitosis induced by anticancer agents in cells lacking p21. *Nature*, 1996, **381** (6584): 713~ 716

Role of Interaction of p21 and E2F Played in PGA2-mediated G1 Arrest. DONG Weiren, PENG Biyou¹⁾, LI Jin, (*Department of Cell*

Biology, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; ¹⁾ The 155th Hospital of PLA, Kaifeng 475003, China).

Abstract The cyclopentenone prostaglandin A2 (PGA2) exhibits potent antiproliferative and antitumor activities both *in vitro* and *in vivo*, leading to cell cycle arrest associated with a dramatic decrease in the levels of cyclins and cyclin-dependent kinases (CDKs), and accompanied by an obvious increase of the expression of one of

the cdk inhibitors, p21waf1/cip1. p21 waf1/cip1 protein (p21) can also mediate p53 dependent or p53-independent G1 arrest of many cell types, and plays an important role in PGA2-induced cell cycle arrest. Latest progress on the role of interaction of p21 and transcription factor E2F played in PGA2-mediated cell cycle arrest is reviewed.

Key words prostaglandin A2, G1 arrest, p21waf1/cip1, E2F, pRb

核酸生物传感器及其研究进展

朱 滨 王国荃

(新疆医学院预防医学系, 乌鲁木齐 830054)

摘要 核酸生物传感器在涉及分子生物学的研究领域具有重要意义. 为适应分子生物学及其相关学科的发展需要, 其研究正成为 90 年代生物传感技术研究热点. 文章对核酸生物传感器的工作原理、分类、研究现状以及发展趋势作了较详细的介绍.

关键词 核酸, 传感器, 生物传感器

1 核酸生物传感器

核酸生物传感器 (nucleic acid biosensor, NABS) 是指以核酸物质为检测对象, 在待测物的识别及信号转化中涉及了生物、生化过程的一类传感器, 是生物传感器的一个分支. 通常认为, 其包含两部分^[1]: 识别器件 (sensing element) 和转换器件 (transducer). 但是要从结构上或组成上区分二者常常是困难的. 许多时候, 同一种 (或一组) 物质同时具有二者的属性. 虽然如此, 在阐述生物传感器工作原理的时候, 这种区分是十分必要的. 识别器件主要用来感知样品中是否含有 (或含有多少) 待测物质; 转换器件则将识别器件感知的信号转化为我们可以观察记录的信号 (如电压、电流大小; 荧光、光吸收的强度等). 在待测物、识别器件以及转化器件之间由一些化学、生物、生化作用或物理作用过程彼此联系 (图 1).

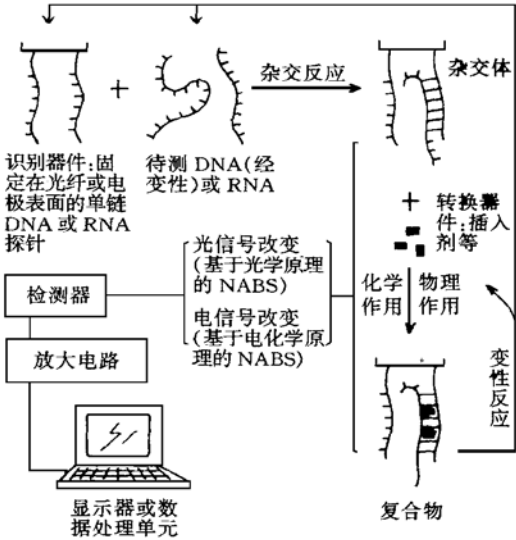


图 1 核酸生物传感器工作原理示意图