

huCdc7 激酶及其与肿瘤的关系*

李 伟 田雪君 刘 立** 钱 程**

(浙江理工大学生命科学学院, 新元医学与生物技术研究所, 杭州 310018)

摘要 Cdc7 在人类细胞里的同源蛋白 huCdc7 几乎在人体所有组织中均有表达, 在细胞周期中 huCdc7 可以通过磷酸化作用行使调控 DNA 复制起始的功能, 同时也可通过参与 ATR/Chk1 途径调控细胞周期中 DNA 损伤的 S 期检验点。而近来研究发现, huCdc7 表达水平的改变也参与恶性肿瘤的发生发展, 在肿瘤细胞里 huCdc7 能加快肿瘤细胞的异常增殖同时对抗化疗药物也起到关键性的作用。目前, huCdc7 已成为治疗肿瘤的一个重要靶标, 最新发现的 huCdc7 有效抑制剂——PHA-767491 在癌症治疗中显示出了独特的抑制肿瘤的作用, 并且对正常细胞无毒副作用。因此, 对 huCdc7 激酶及其抑制剂的进一步深入研究有望为临床治疗肿瘤开辟新的途径。

关键词 huCdc7 激酶, 肿瘤, huCdc7 抑制剂

学科分类号 R730.5

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00753

Cdc7 最早于 1974 年在酿酒酵母中发现^[1], 此后科学家们在其他真核生物里, 如裂殖酵母 Cdc7 (sp. Cdc7)^[2]、鼠源 Cdc7(muCdc7)等^[3], 也发现了与其同源的蛋白质。不同物种的 Cdc7 在结构上都存在着一定差异如 sp. Cdc7 和 muCdc7 的激酶插入区, 但它们之间的功能却极其相似, 一方面是通过磷酸化 DNA 复制起始物一个重要元件微染色体维持蛋白(MCM 蛋白), 从而激活 MCM 促进复制起始复合物的形成, 另一方面也可作为细胞周期 S 期检验点的重要调控因子来控制细胞周期的顺利进行。

人类细胞里 Cdc7 的同源蛋白——huCdc7^[4,5]是 20 世纪 90 年代后科学家们才发现的。huCdc7 在人类几乎所有的组织细胞中均有表达, 但人们发现, 在人类多种肿瘤细胞里 huCdc7 均出现异常高表达, 这种异常高表达与肿瘤的异常增殖、转移以及化疗药物性之间都显示出很高的相关性。因此 huCdc7 也就成为了目前肿瘤研究的重要标记和靶点。随着近来 Nature 刚发表的文章中指出, 已找到 huCdc7 的抑制剂——PHA-767491^[6], 这也就意味着人们可以通过抑制剂 PHA-767491 抑制 huCdc7 在肿瘤中异常高活性表达, 进一步达到抑制肿瘤细胞异常的 DNA 复制和细胞周期的进行。本文将对近年 huCdc7 激酶及其抑制剂生物学功能以及在肿瘤发生、发展和治疗中的研究进展作一详细阐述, 以为今后抗癌新药的研发寻找一条新思路。

1 huCdc7 的生物学特征

Cdc7 是丝氨酸 / 苏氨酸激酶, 其最早在酿酒酵母中被发现。虽然不同种真核生物内 Cdc7 的结构是有差异的, 但它们在进化过程中也有一定的保守性, 如在激酶保守区不同物种间就表现出很高的相似性。Jiang 等^[9]发现, 酿酒酵母的 Cdc7 和人源的 huCdc7 同源性达到 44%, 其中酿酒酵母 Cdc7 包含 4 个保守区, 3 个插入区, N 端和 C 端尾巴, 而 huCdc7 和酵母的 Cdc7 相比只是没有插入区 I 和 C 端的长尾巴(图 1)。

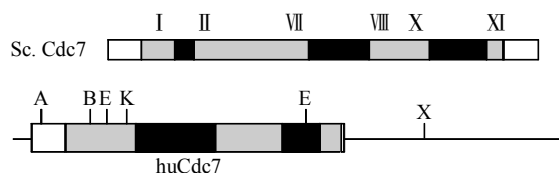


Fig. 1 The structure of Sc. Cdc7 and huCdc7^[4]

图 1 Sc. Cdc7 和 huCdc7 结构^[4]

□: 激酶保守区; ■: 激酶插入区。

* 国家重点基础研究发展计划(973)(2004CB518804)和国家高技术研究发展计划(863)(2006AA02Z126)资助项目。

** 通讯联系人。

刘 立. Tel: 0571-86843186, E-mail: liuli7001@yahoo.com.cn

钱 程. Tel: 0571-86843182, E-mail: cqian3184@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-11-01, 接受日期: 2009-01-19

huCdc7 在人体所有组织内都有表达^[9], 其基因全长是 1 722 bp, 具有能编码 574 个氨基酸长度蛋白的开放阅读框. 另外 Sato 等^[9]发现, 由于 huCdc7 外显子的可变剪接作用, huCdc7 还存在 3 种转录子: 3.5 kb 转录子、4.4 kb 转录子和 2.4 kb 转录子, 其中 3.5 kb 转录子在所有组织中均存在且表达量很高, 4.4 kb 转录子存在于睾丸、胸腺、小肠、大脑、胎盘和外周血液白细胞中, 但表达量都很低, 2.4 kb 则仅在睾丸中被发现.

2 huCdc7 在细胞周期中的作用机制

2.1 huCdc7 在细胞周期中被激活

在细胞周期中 huCdc7 的含量始终保持不变^[4, 7], 现有多个研究表明 huCdc7 激酶是一类核内行使调控细胞周期功能的蛋白质^[4, 5], 但它要想发挥调控功能还必须结合一个重要的辅助蛋白——ASK

(activator of S phase kinase)^[8~10]. ASK 蛋白在几乎所有组织中也均有表达^[9], 但 ASK 蛋白的表达严格受到细胞周期中一些细胞因子的调控, 其在细胞周期中的表达量是随着细胞周期的变化而改变的^[9]. Yamada 等^[11]就发现, ASK 蛋白基因上有 E2F 识别结合位点, 它可以在转录水平调控 ASK 的表达量从而保证 ASK 的表达量受细胞周期的控制. Kumagai 等^[9]进一步深入研究发现, 由于受到细胞因子的调控, 细胞周期中 ASK 蛋白在静止期表达量很低, 但在 G1 期后期大量表达并在 S 期达到最高. ASK 蛋白的 motif-M 富含脯氨酸、motif-C 含有 C2H2 型的锌指结构, 二者都可以单独地和 huCdc7 结合从而激活 huCdc7^[12~14], 在这个结合过程中 huCdc7 的插入区 2 和插入区 3 对两个蛋白质识别结合起着很重要的作用^[4](图 2).

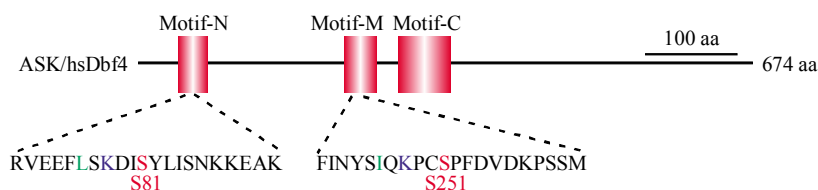


Fig. 2 The structure of ASK^[11]

图 2 ASK 蛋白的结构^[11]

此外, huCdc7 活性也受到细胞周期因子对其磷酸化的调控作用. 有研究表明^[10], huCdc7 的激活不仅需要结合辅助蛋白 ASK, 而且可能还需要 Cdk(cyclin-dependent kinase)等一些细胞因子对其磷酸化的调控作用. Masai 等^[10]指出, Cdk 家族的 Cdk2-Cyclin E 和 Cdk2-Cyclin A 可以磷酸化 huCdc7 的 Thr-376 等位点, 而这些位点的磷酸化对激活 huCdc7 有很重要的作用.

由此可见, huCdc7 由于受到了 ASK 和细胞因子的调控, 其活性随着细胞周期的变化而变化, huCdc7 在促进细胞周期进行的同时又受到细胞周期的严格调控.

2.2 huCdc7 对 DNA 复制起始的调控作用

huCdc7 是在核内完成对细胞周期中 DNA 复制调控的, 其中辅助蛋白 ASK 是在自身的 2 个核定位信号 NLS1 (P346KKKRIK) 和 NLS2 (K201RVGSGAQKTRTGRLKK)作用下被牵引到细胞核内^[15]. Kim 等^[16]则发现 huCdc7 通过插入区 II 和核转运蛋白 importin B 结合从而进入细胞核内.

据报道, huCdc7 在核内与 ASK 结合并被激活, 激活后的 huCdc7-ASK 复合体可以在 ASK 上的 motif-N 作用下结合到染色体上^[13, 14]. Sato 等^[15]却发现 huCdc7 在 G1 前期就已经大量结合到染色体上, 而 ASK 是在 G1 后期才大量出现在染色体上, 这提示 huCdc7 和 ASK 在染色体上的结合是两个独立的过程. 从上述研究中我们可以推测 huCdc7 和 ASK 结合激活的基本过程是: a. G1 前期 huCdc7 在 importin B 作用下进入细胞核并结合到染色体上; b. G1 后期 ASK 在核定位信号作用下进入细胞核; c. ASK 在 motif-N 介导下结合到染色体上并通过 motif-M 和 motif-C 与 huCdc7 结合进而激活 huCdc7.

在细胞核内 huCdc7-ASK 形成复合体后就开始磷酸化激活结合在染色体上的微染色体维持蛋白质 (minichromosome maintenance complex, MCM) 家族的多个成员如 MCM2、MCM4、MCM6, 尤其是对 MCM2 的磷酸化作用最强^[10], 而 MCM 则是细胞周期起始复合物中解旋酶的重要组成部分^[17]. 目前,

huCdc7 对 MCM2 磷酸化激活位点的研究, 研究人员却持有不同观点, 如有报道 huCdc7 是通过磷酸化 MCM2 的 Ser40 和 Ser53 等位点来加速对 MCM2 激活^[18]. Tsuji 等^[19]则认为 huCdc7 是磷酸化 Ser27、Ser41、Ser139 等位点来促进激活 MCM2. 而 Charych 等发现 Ser229 也可能是 MCM2 磷酸化激活位点. 此外, 又有研究指出^[10]MCM2 的彻底激活可能还需要 Cdk 对其磷酸化作用的参与. 因此对 MCM2 具体磷酸化激活位点的研究还需要进一步深入地展开. 有多个报道证明未激活的 MCM2 对解旋酶活性有抑制作用^[20, 21], 因此 Kumagai 等^[9]就推测激活后的 MCM2 可能是通过空间构象的改变来解除对解旋酶的抑制从而进一步促进 DNA 复制的起始. 另 Masai 等^[22]发现, huCdc7 可以通过磷酸化 MCM4 的 N 端多个氨基酸来激活 MCM4, 有活性的 MCM4 在 Cdk 的协助下诱导 Cdc45 结合到染色体上最终形成起始复合物以促进复制的起始和细胞周期的进行(图 3). 此外, 许多研究人员还发现 Cdc7 还可以磷酸化许多 DNA 复制因子, Kim 等^[23]就指出在小鼠胚胎干细胞里 Cdc7 对 DNA 聚合酶 α 也有磷酸化作用而这种作用对聚合酶 α 的激活可能起到很重要的作用. 上述研究显示, huCdc7 可通过磷酸化细胞周期中 DNA 复制的多种因子从而调控 DNA 复制的顺利进行.

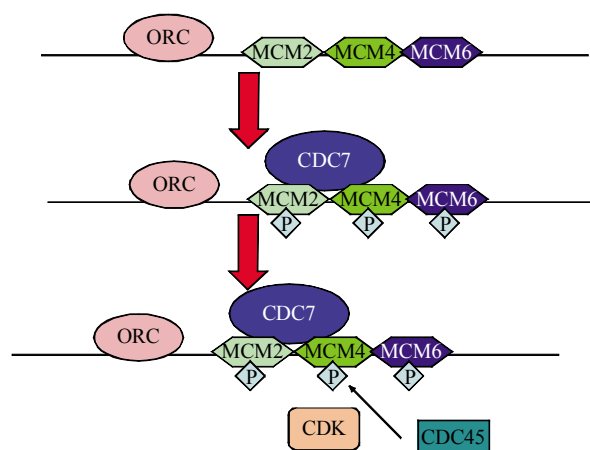


Fig. 3 The mechanism of huCdc7 activates the replication of DNA

图3 huCdc7 激活 DNA 复制起始的机制

2.3 huCdc7 对细胞周期 S 期的调控作用

Montagnoli 等^[18]发现, 细胞周期中出现复制损伤时 huCdc7 可以大量磷酸化 MCM2 激活位点以外

的多个氨基酸位点, 同时他们发现 huCdc7 的辅助亚基 ASK 则磷酸化 MCM2 的 Ser41 位点, 这些效应最终促使 MCM2 从染色体上脱落进而阻止细胞周期通过 S 期以减少细胞损伤. Montagnoli 等更惊喜地发现 huCdc7 磷酸化的大量氨基酸位点中的 Ser108 也是 DNA 损伤反应中重要因子 ATR 的磷酸化位点. 可以推测在 DNA 复制出现损伤时, huCdc7 和 ATR 可能发挥协同作用对 DNA 损伤做出反应. 由此可以看出, 当 DNA 复制出现损伤时, huCdc7 对 MCM2 的 Ser108 等氨基酸位点以及 ASK 对 MCM2 的 Ser41 磷酸化对出现复制损伤细胞 MCM2 失活以维持细胞生存起到很重要的作用. 但与此持不同观点的 Charych 等^[24]却发现在细胞周期中 huCdc7 对 MCM2 的 Ser108 磷酸化是起到激活 MCM2 和促进复制起始作用. 因此 huCdc7 对 MCM2 磷酸化位点在 DNA 复制起始以及 DNA 损伤检验中的作用仍需要更深入的研究来确证.

细胞周期中当 DNA 复制出现损伤时, huCdc7 不仅可以抑制复制起始来维持细胞生存, 其也可以参与到 DNA 损伤信号通路中来促进细胞周期中止和 DNA 修复. Kim 等^[25]发现, 在细胞周期 S 期中 DNA 复制损伤时 huCdc7 通过磷酸化作用激活 Claspin 来进一步磷酸化 Chk1 的 Ser317 和 Ser345, 从而激活 ATR/Chk1 途径使其对细胞周期中 DNA 复制损伤做出反应中止有丝分裂修复 DNA 维持细胞的生存. 最近他们还用可以引起 DNA 损伤的化疗药物羟基脲(hydroxy urea, Hu)处理分裂期的细胞后发现当 huCdc7 被抑制后 Chk1(checkpoint kinase 1)活性明显下降. 而 Chk1 是 DNA 复制发生损伤时一个重要的检验点蛋白. 在 DNA 复制发生损伤时 Chk1 大量表达并被激活可引起 Cdc25 的 Ser216 磷酸化来抑制 Cdc25 活性进而抑制 MPF 的活性, 导致损伤细胞中止细胞周期, 而且有活性的 Chk1 还可以促使一些 DNA 损伤信号蛋白和 DNA 修复蛋白在 DNA 损伤位置聚集以修复 DNA 损伤维持细胞生存^[26]. 另有研究表明^[27]在细胞周期 DNA 损伤反应中, Chk1 也可以磷酸化 ASK 多个氨基酸位点. 以上研究提示, 在 DNA 损伤检验点反应中 huCdc7 参与 ATR/Chk1 信号通路可能是这样的途径: a. 细胞周期中 DNA 复制出现损伤时, 单链 DNA 激活 ATR→ATR 进一步激活 Chk1→Chk1 磷酸化 ASK 多个位点促使与之结合的 huCdc7 功能发生改变, 使其从促进 DNA 复制起始转变为应对 DNA 复制损伤. b. huCdc7 一方面在 ATR 协助下

磷酸化 MCM2 激活位点以外的多个位点使其丧失活性阻止 DNA 复制起始复合物形成, 另一方面 huCdc7 还通过磷酸化 Claspin 进一步激活 ATR/Chk1 信号通路对 DNA 损伤做出反应. 可见在 DNA 复制损伤反应中, huCdc7 既是 ATR/Chk1 通路的效应因子, 同时也是 ATR/Chk1 信号通路的放大因子.

3 huCdc7 与肿瘤的关系

3.1 huCdc7 在肿瘤细胞里异常高表达

huCdc7 在正常细胞周期中表达水平是不变的, 并且受到细胞周期中一些因子和辅助蛋白调控, 因此处于一种动态平衡状态. 在肿瘤细胞里由于细胞周期发生紊乱, huCdc7 是处于异常表达和过度激活状态. Hess 等^[28]研究表明, 由于 huCdc7 在多种肿瘤细胞里过表达, 过表达的 huCdc7 可促进肿瘤细胞的重要标记 MCM2 的过度活化, 因而促进了肿瘤细胞的异常增殖. 同时, 他们还发现 huCdc7 在所有转移肿瘤细胞里也都显示出高表达, 这也提示 huCdc7 的异常高表达与肿瘤细胞的转移可能有密切的联系. Nambiar 等^[29]最近发现在多个皮肤黑色素瘤细胞系里 huCdc7 辅助蛋白 ASK 也是呈高表达状态, 这也进一步增强 huCdc7 在肿瘤细胞里的活性. 此外, huCdc7 的异常高表达和激活对肿瘤细胞化疗药物抗性也起到很关键的作用, Tenca 等^[30]用化疗药物 Hu 和 etoposide 处理肿瘤细胞后发现 huCdc7 大量表达并具有很高的活性, 研究指出 huCdc7 是通过磷酸化 MCM2 和 MCM4 的多个氨基酸位点来抑制二者活性从而减少肿瘤细胞受到的损伤. 具体表现为: a. MCM2 多个位点如 Ser41、Ser108 等位点磷酸化能进一步抑制起始复合物的装配; b. MCM4 多位点磷酸化能促使 Cdc45 在染色体上不能准确定位, 最终使 DNA 复制起始中断. 同时, Tenca 等还发现 huCdc7 还可能通过调节染色质装配因子 1 和组蛋白在复制叉处的沉淀来延缓复制叉延伸, 降低肿瘤细胞受到损害维持肿瘤细胞存活. 另有研究证实^[25] huCdc7 也可以通过磷酸化 Claspin 来进一步激活 ATR/Chk1 通路中止有丝分裂、修复受损的 DNA 来保护肿瘤细胞.

3.2 抑制 huCdc7 促进肿瘤细胞凋亡

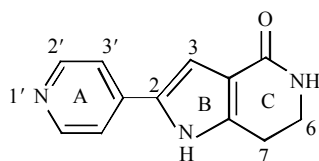
由于 huCdc7 对肿瘤细胞的增殖、转移以及抗药性起到很重要的促进作用. 为了抑制肿瘤细胞增殖、转移的持续发展, Montagnoli 等^[31]将 siRNA 干扰技术引入肿瘤细胞来抑制 huCdc7 的高表达, 实

验结果显示, MCM2 激活位点的磷酸化水平大大下降, 肿瘤细胞的 DNA 复制起始受到抑制, 肿瘤细胞生长减缓. 同时, 在 p53 缺陷的肿瘤细胞里 huCdc7 被 siRNA 抑制后, 他们用化疗药物 Hu 处理肿瘤细胞发现, DNA 复制损伤检验点 ATR/Chk1 途径重要下游因子 Chk1 的 Ser 345 位点磷酸化水平大大降低, 导致肿瘤细胞不能正常地对 DNA 损伤做出反应, 使原本在 S 期应分散的 DNA 聚集到一起, 从而引起肿瘤细胞 DNA 复制在 S 期的紊乱促使肿瘤细胞经过非 p53 途径而凋亡. Im 等^[32]进一步研究发现, 在 p53 缺陷的肿瘤细胞里 huCdc7 被 siRNA 特异抑制后 DNA 复制损伤检验点不能应答, ATR 可以通过激活 p38 MAPK 促使肿瘤细胞发生凋亡. 而当 huCdc7 被下调后处于细胞周期中的正常细胞出现 DNA 复制损伤, 此时具有正常功能的 p53 可以被激活并进一步上调和激活 p21 来阻止细胞周期的进行并能修复损伤细胞以维持细胞的正常生存. 另 Kim 等^[25]则发现, huCdc7 被 siRNA 抑制后, MCM4 的 N 端磷酸化水平下降使 Cdc45 不能定位到染色体上致使复制起始复合物无法形成, 这也在一定程度上抑制了肿瘤的增殖. 因此只要能有效地抑制肿瘤细胞里 huCdc7 活性就可以有效抑制肿瘤细胞生长并可促进肿瘤细胞的凋亡, 且对正常细胞无损害.

4 huCdc7 抑制剂的研究

虽然研究人员对如何抑制 huCdc7 展开了广泛研究, 但结果却都不是很理想. 最近 huCdc7 第一个抑制剂 -PHA-767491 (2-pyridin-4-yl-1, 5, 6, 7-tetrahydro-pyrrolo [3, 2-c]pyridin-4-one) 的研究发现引发了人们对 huCdc7 及其抑制剂研究的高度关注.

PHA-767491 是一类和 ATP 结构很相似的小分子化合物, 它们之间有着极其相似的空间构型. PHA-767491 是通过竞争性地与一些激酶结合来达到抑制激酶磷酸化功能的^[33](图 4). Vanotti 等^[34]研究也证实了这点, 他们最近对 PHA-767491 及其 50 多种衍生物进行结构活性 (structure-activity relationship, SAR) 研究, 结果表明, PHA-767491 与其他衍生物相比具有最佳的几何学构型和熵值, 使其与 huCdc7 具有很强亲和力, 因而能很有效地抑制 ATP 和 huCdc7 的正常结合. 他们同时也预测 huCdc7 和 ATP 或 PHA-767491 结合的模型, 并认为 huCdc7 的 Met 134 上的 S 原子是主要介导者.

Fig. 4 PHA-767491 molecular structure^[34]图4 PHA-767491 的分子结构^[34]

最近 Montagnoli 等^[6]用 PHA-767491 处理肿瘤细胞后发现, PHA-767491 能有力地结合到 huCdc7 上而大大降低其活性, 同时他们还发现 RNA 聚合酶 II 表达量在此过程中下降将近 50%, 这也进而引起 huCdc7 在肿瘤细胞里表达量的减少. 而随着 huCdc7 被其抑制剂 PHA-767491 抑制, MCM2 的可能激活位点 Ser40 磷酸化水平也出现显著下降, DNA 复制起始也随之受到了抑制, 同时也使 huCdc7 不能诱导一些细胞因子对细胞周期损伤检验点做出反应. 当对 huCdc7 和 p53 缺陷的肿瘤细胞用 Hu 处理发现, 由于肿瘤细胞无法正常应对化疗药物 Hu 造成的 DNA 损伤, 多种凋亡蛋白如 γ -H2AX、有活性的 caspase-3、聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)大量聚集诱导肿瘤细胞进入凋亡. 同时该研究小组还发现, PHA-767491 对 Cdk9 也有很强的抑制作用, Cdk9 被抑制后促使抗凋亡蛋白 Mcl1 和 Xiap 表达量下降, 从而大大增加了肿瘤细胞发生凋亡的几率. 他们还进一步利用此抑制剂进行肿瘤杀伤实验, 发现一定剂量的 PHA-767491 可以有效地抑制肿瘤生长, 在此实验过程中也未检测到对未处于分裂期的正常细胞以及 P53 功能完全的分裂期正常细胞的毒副作用. 因此 PHA-767491 作为 huCdc7 的抑制剂能有效地抑制它的活性, 促进肿瘤细胞凋亡并对正常细胞无毒害作用. 因此 PHA-767491 作为抗癌新药物具有很广阔的研究和发展前景.

5 问题和展望

Cdc7 是细胞周期中一个重要的调节蛋白, 它可以通过对 MCM2 和 MCM 4 不同位点的磷酸化来激活或抑制其活性以调节细胞周期中 DNA 复制的起始和 DNA 复制损伤的反应修复. 同时它也可以通过参与 ATR/Chk1 信号通路来应对 DNA 复制损伤. 上述许多研究已经表明 huCdc7 和人类肿瘤增殖、转移以及抗药性有着很密切的联系. 但由于 huCdc7 参与细胞周期的调节网络是极其复杂的,

因此, huCdc7 的许多调节机制我们目前仍不太清楚, 如: a. 在细胞周期中 huCdc7 被激活的发生机制. b. 有研究表明细胞周期中 Cdk 对 huCdc7 和 ASK 都有磷酸化作用^[10], 但具体行使何种功能还尚待研究. c. huCdc7 是如何调节复制起始和 DNA 损伤检验点的精确机制的. 这些疑问也将是未来研究的方向.

随着科学家们对新近发现的 huCdc7 抑制剂 PHA-767491 的研究, 显示 PHA-767491 可以有效地抑制肿瘤细胞复制的起始和 DNA 复制损伤的应答反应, 从而促进肿瘤细胞的凋亡并对正常细胞无毒害作用. 同时 PHA-767491 也大大降低了肿瘤细胞的抗药性(如对化疗药物 Hu), 因此在今后对 PHA-767491 的研发中我们是否可以将该抑制剂与其他药物联合应用以提高治疗效果. 如: a. 在肿瘤细胞里由于许多基因发生了突变, 肿瘤细胞高活性的 huCdc7 不能识别这种自身 DNA 突变损伤但它却可以识别外来的 DNA 损伤如化疗药物 Hu, 当用化疗药物对肿瘤进行治疗时 huCdc7 可以参与到 DNA 损伤反应中修复化疗药物带来的 DNA 损伤, 维持肿瘤细胞生存, 这就大大降低了化疗药物在肿瘤治疗中的作用. 如果通过将 PHA-767491 和化疗药物结合有可能实现对肿瘤细胞 DNA 复制前和复制中的双重抑制作用. b. 利用 huCdc7 抑制剂结合有效的病毒基因联合治疗. 有研究表明^[20], 某些病毒可以被细胞识别为 DNA 的损伤, 因而当 huCdc7 存在时可诱导细胞产生 DNA 损伤反应, 修复损伤, 维护细胞生存. 今后在未来癌症治疗中我们也可以考虑利用 huCdc7 抑制剂结合有效的病毒基因治疗, 使 huCdc7 抑制剂与病毒以及病毒携带的外源基因进行协同作用以取得更加理想的肿瘤治疗效果.

总之, 随着 huCdc7 作用机理以及 huCdc7 和肿瘤之间关系研究的深入, 将有助于我们研究更多有效的 huCdc7 抑制剂并设计出更为科学合理的肿瘤治疗方案以取得理想的治疗效果.

参 考 文 献

- 1 Hartwell L H, Culotti J, Pringle J R, *et al.* Genetic control of the cell division cycle in yeast. *Science*, 1974, **183**(4120): 46~51
- 2 Masai H, Miyake T, Arai K, *et al.* hsk1+, a *Schizosaccharomyces pombe* gene related to *Saccharomyces cerevisiae* CDC7 is required for chromosomal replication. *EMBO J*, **1995**(14): 3094~3104.
- 3 Kim J M, Sato N, Yamada M, *et al.* Growth regulation of the expression of mouse cDNA and gene encoding a serine/threonine

- kinase related to *Saccharomyces cerevisiae* CDC7 essential for G1/S transition: Structure, chromosomal localization, and expression of mouse gene for *S. cerevisiae* CDC7-related kinase. *J Biol Chem*, 1998, **273**(36): 23248~23257
- 4 Sato N, Arai K, Masai H. Human and *Xenopus* cDNAs encoding budding yeast Cdc7-related kinases: *in vitro* phosphorylation of MCM subunits by a putative human homologue of Cdc7. *EMBO J*, 1997, **16**(14): 4340~4351
 - 5 Jiang W, Hunter T. Identification and characterization of a human protein kinase related to budding yeast Cdc7p. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(26): 14320~14325
 - 6 Montagnoli A, Valsasina B, Croci V, *et al.* A Cdc7 kinase inhibitor restricts initiation of DNA replication and has antitumor activity. *Nat Chem Biol*, 2008, **4**(6): 357~365
 - 7 Jackson A L, Pahl P M, Harrison K, *et al.* Cell cycle regulation of the yeast Cdc7 protein kinase by association with the Dbf4 protein. *Mol Cell Biol*, 1993, **13**(5): 2899~1908
 - 8 Montagnoli A, Bosotti R, Villa F, *et al.* Drf1, a novel regulatory subunit for human Cdc7 kinase. *EMBO J*, 2002, **21**(12): 3171~3181
 - 9 Kumagai H, Sato N, Yamada M, *et al.* A novel growth- and cell cycle-regulated protein, ASK, activates human Cdc7-related kinase and is essential for G1/S transition in mammalian cells. *Mol Cell Biol*, 1999, **19**(7): 5083~5095
 - 10 Masai H, Matsui E, You Z, *et al.* Human Cdc7-related kinase complex. *In vitro* phosphorylation of MCM by concerted actions of Cdks and Cdc7 and that of a critical threonine residue of Cdc7 by Cdks. *J Biol Chem*, 2000, **275**(37): 29042~29052
 - 11 Yamada M, Sato N, Taniyama C, *et al.* A 63 base-pair DNA segment containing a Sp1 site but not a canonical E2F site can confer growth-dependent and E2F-mediated transcriptional stimulation of the human ASK gene encoding the regulatory subunit for human Cdc7-related kinase. *J Biol Chem*, 2002, **277**(31): 27668~27681
 - 12 Kim J M, Yamada M, Masai H, *et al.* Functions of mammalian Cdc7 kinase in initiation/monitoring of DNA replication and development. *Mutat Res*, 2003, **532**(1~2): 29~40
 - 13 Ogino K, Takeda T, Matsui E, *et al.* Bipartite binding of a kinase activator activates Cdc7-related kinase essential for S phase. *J Biol Chem*, 2001, **276**(33): 31376~31387
 - 14 Masai H, Arai K. Cdc7 kinase complex: a key regulator in the initiation of DNA replication. *J Cell Physiol*, 2002, **190**(3): 287~296
 - 15 Sato N, Sato M, Nakayama M, *et al.* Cell cycle regulation of chromatin binding and nuclear localization of human Cdc7-ASK kinase complex. *Genes Cells*, 2003, **8**(5): 451~463
 - 16 Kim B J, Lee H. Importin-beta mediates Cdc7 nuclear import by binding to the kinase insert II domain, which can be antagonized by importin-alpha. *J Biol Chem*, 2006, **281**(17): 12041~12049
 - 17 Forsburg S L. Eukaryotic MCM proteins: beyond replication initiation. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, **68**(1): 109~131
 - 18 Montagnoli A, Valsasina B, Brotherton D, *et al.* Identification of Mcm2 phosphorylation sites by S-phase-regulating kinases. *J Biol Chem*, 2006, **281**(15): 10281~10290
 - 19 Tsuji T, Ficarro S B, Jiang W, *et al.* Essential role of phosphorylation of MCM2 by Cdc7/Dbf4 in the initiation of DNA replication in mammalian cells. *Mol Biol Cell*, 2006, **17**(10): 4459~4472
 - 20 Ishimi Y. A DNA helicase activity is associated with an MCM4, -6, and -7 protein complex. *J Biol Chem*, 1997, **272**(39): 24508~24513
 - 21 Ishimi Y, Komamura Y, You Z, *et al.* Biochemical function of mouse minichromosome maintenance 2 protein. *J Biol Chem*, 1998, **273**(14): 8369~8375
 - 22 Masai H, Taniyama C, Ogino K, *et al.* Phosphorylation of MCM4 by Cdc7 kinase facilitates its interaction with Cdc45 on the chromatin. *J Biol Chem*, 2006, **281**(51): 39249~39261
 - 23 Kim J M, Masai H. Genetic dissection of mammalian Cdc7 kinase: cell cycle and developmental roles. *Cell Cycle*, 2004, **3**(3): 300~304
 - 24 Charych D H, Coyne M, Yabannavar A, *et al.* Inhibition of Cdc7/Dbf4 kinase activity affects specific phosphorylation sites on MCM2 in cancer cells. *J Cell Biochem*, 2008, **104**(3): 1075~1086
 - 25 Kim J M, Kakusho N, Yamada M, *et al.* Cdc7 kinase mediates Claspin phosphorylation in DNA replication checkpoint. *Oncogene*, 2008, **27**(24): 3475~3482
 - 26 Jurvansuu J, Raj K, Stasiak A, *et al.* Viral transport of DNA damage that mimics a stalled replication fork. *J Virol*, 2005, **79**(1): 569~580
 - 27 Hutchins J R, Hughes M, Clarke P R, *et al.* Substrate specificity determinants of the checkpoint protein kinase Chk1. *FEBS Lett*, 2000, **466**(1): 91~95
 - 28 Hess G F, Drong R F, Weiland K L, *et al.* A human homolog of the yeast CDC7 gene is overexpressed in some tumors and transformed cell lines. *Gene*, 1998, **211**(1): 133~140
 - 29 Nambiar S, Mirmohammadsadegh A, Hassan M, *et al.* Identification and functional characterization of ASK/Dbf4, a novel cell survival gene in cutaneous melanoma with prognostic relevance. *Carcinogenesis*, 2007, **28**(12): 2501~2510
 - 30 Tenca P, Brotherton D, Montagnoli A, *et al.* Cdc7 is an active kinase in human cancer cells undergoing replication stress. *J Biol Chem*, 2007, **282**(1): 208~215
 - 31 Montagnoli A, Tenca P, Sola F, *et al.* Cdc7 inhibition reveals a p53-dependent replication checkpoint that is defective in cancer cells. *Cancer Res*, 2004, **64**(19): 7110~7116
 - 32 Im J S, Lee J K. ATR-dependent activation of p38 MAP kinase is responsible for apoptotic cell death in cells depleted of Cdc7. *J Biol Chem*, 2008, **283**(37): 25171~25177
 - 33 Anderson D R, Meyers M J, Vernier W F, *et al.* Pyrrolopyridine inhibitors of mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 (MK-2). *J Med Chem*, 2007, **50**(11): 2647~2654
 - 34 Vanotti E, Amici R, Bargiotti A, *et al.* Cdc7 kinase inhibitors: pyrrolopyridinones as potential antitumor agents. 1. Synthesis and structure-activity relationships. *J Med Chem*, 2008, **51**(3): 487~501

huCdc7 Kinase and Relationship With Tumor*

LI Wei, TIAN Xue-Jun, LIU Li**, QIAN Cheng**

(Xin Yuan Institute of Medicine and Biotechnology, College of Life Science, Zhejiang Science and Technology University, Hangzhou 310018, China)

Abstract Cdc7 protein, a serine-threonine kinase, acts as a regulator in the initiation of DNA replication by phosphorylation, and is also implicated in S phase checkpoint response *via* the interaction with ATR/Chk1 pathway. A human homologue of Cdc7 (huCdc7) is ubiquitously expressed in human tissues, while is overexpressed and activated in a high level in many tumor cell lines. Recent studies show huCdc7 kinase play an important role in the development and chemical resistance of cancer, and huCdc7 has been accepted as a new biomarker of tumor. More recently, it has been reported that PHA-767491, an efficient inhibitor of huCdc7, suppresses tumor growth without the damage of normal cells. Thus, the insight into huCdc7 kinase and its inhibitors would provide a novel strategy for tumor treatment.

Key words huCdc7 kinase, tumor, inhibitor of huCdc7

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00753

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2004CB518804) and Hi-Tech Research and Development Program of China (2006AA02Z126).

**Corresponding author.

LIU Li. Tel: 86-571-86843186, E-mail: liuli7001@yahoo.com.cn

QIAN Cheng. Tel: 86-571-86843182, E-mail: cqian3184@yahoo.com.cn

Received: November 1, 2008 Accepted: January 19, 2009