

文章编号: 1007-4627(2005)02-0225-04

辐射诱导的 DNA 修复与细胞凋亡的 ATP 调控

周清明^{1,2}, 张红^{1,*}, 党秉荣¹, 李文建¹, 刘兵^{1,2},
闵凤玲^{1,2}, 段昕^{1,2}, 谢漪^{1,2}

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃兰州 730000;

2 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 综述了 DNA 辐射损伤导致的细胞阻遏于 G1 期以及在该时期对 DNA 的修复活动, 提出了较大剂量辐射诱导的三磷酸腺苷不足导致细胞凋亡的假说, 并分析了细胞走向凋亡与修复的辩证关系。

关键词: p53; 辐射; 三磷酸腺苷; 凋亡

中图分类号: Q691 **文献标识码:** A

1 引言

p53 蛋白及其基因被发现以后, 最初认为是癌基因, 20 世纪 80 年代后, 随着一些新的证据的发现才证实它为抑癌基因^[1]。野生型的 p53 导入细胞后, 发现细胞的生长受到抑制, 而且还检测到一些癌组织中 p53 基因发生突变, 这些都提示 p53 在细胞的生长和凋亡中起着重要的作用。而三磷酸腺苷(ATP)是细胞能量工厂(线粒体)的重要产物, 在细胞生命过程中也扮演着重要的角色。

2 细胞阻遏与细胞凋亡

2.1 细胞阻遏

周期循环中的细胞受到辐照时, DNA 受损并启动修复过程, 使一些 DNA 修复酶和 p53 蛋白表达增加, p53 与 DNA 结合并上调 p21 蛋白及其自身的表达, p21 与 Cyclin A 结合, 使 Cyclin A 不能与 CDK 形成 Rb 磷酸化酶, 从而使 Rb 蛋白保持活性, 活性蛋白 Rb 与转录因子 E2F 作用并失活 E2F, 使细胞阻遏于 G1 期, 此时 DNA 修复酶过量表达对 DNA 进行修复。修复过程需要在细胞正常的生理基础上合成修复酶^[2]以及在修复过程中需要消耗 ATP^[3-18], 因此作者提出假说: 修复过程启动

后, 线粒体的呼吸作用代偿性地增强以提供 DNA 修复所需的 ATP, 呼吸作用的增强将会导致氧自由基增多(线粒体的呼吸作用能产生氧自由基^[19]), 从而造成线粒体结构破坏^[20]、ATP 合成减少并使 ADP-p53 增加^[21]。当 DNA 和线粒体受损较小时, 线粒体生产 ATP 的量增加, 而且线粒体本身在因代偿性呼吸作用增强而受到较大破坏之前就能完成修复。DNA 的修复对 p53 的产量具有负调控作用, 使 p53 的量减少。ATP 的增加和 p53 的减少使 p53 与 DNA 结合的关闭状态 ATP-p53^[21]占主导地位, 从而失去对细胞周期的阻遏作用, 细胞继续周期循环(如图 1 所示)。若 DNA 受损较大时, 则细胞进入凋亡过程。

2.2 ATP 不足致细胞凋亡假说

DNA 损伤严重时, 阻遏于 G1 期的细胞若经一段时间还不能完成修复, 则会进入凋亡过程(图 1)。

在 DNA 修复的过程中, p53 蛋白不断表达, 并与 ADP 结合形成 ADP-p53(p53 与 DNA 结合的开启状态), 后者调节着 Bcl-2 和 Bax 两种蛋白质的比例关系^[22, 23], 即上调 Bax, 而下调 Bcl-2。Bcl-2 具有保护线粒体膜的作用^[24-26], 当 Bax 的量增加时, Bax 二聚体使线粒体膜^[26]和内质网膜的通透性发生变化, 并与内质网结合促进 Ca²⁺的释放, 同时被

收稿日期: 2004-09-06; 修改日期: 2004-12-13

* 基金项目: 中国科学院百人计划基金资助项目

作者简介: 周清明(1978-), 男(汉族), 湖北黄梅人, 硕士研究生, 从事辐射与基因治疗研究。

联系人: 张红, E-mail: zhangh@impcas.ac.cn

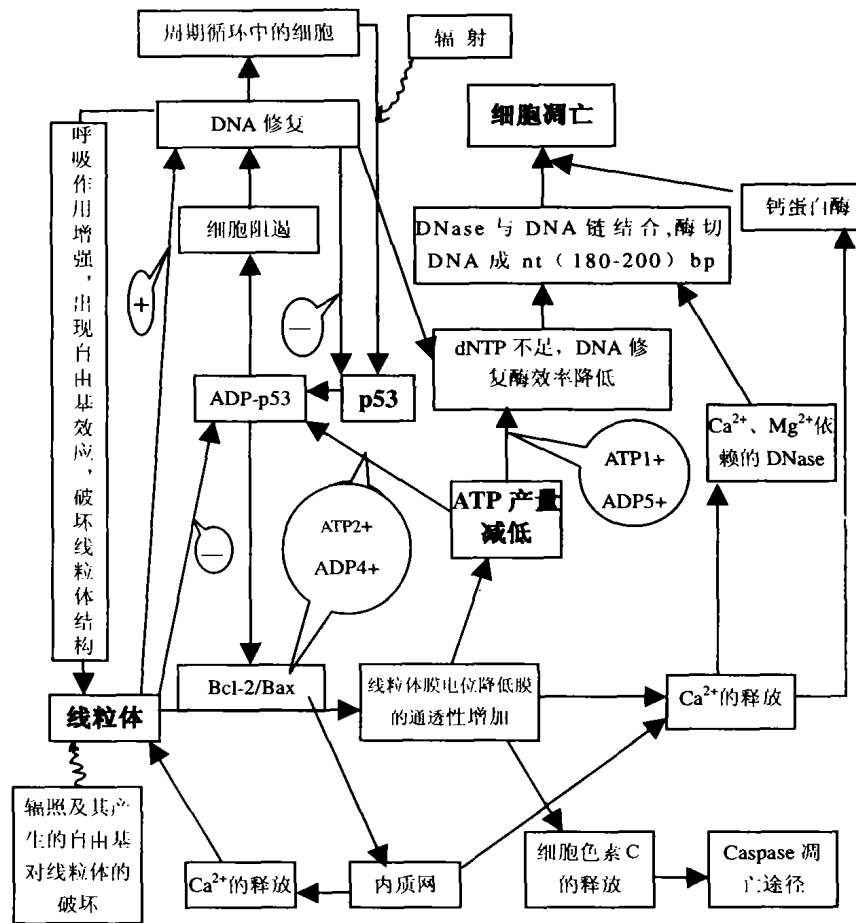


图 1 辐射诱导的 ATP 变化致细胞的不同走向——修复与凋亡

线粒体所摄取^[27, 28]。Ca²⁺ 的进入使线粒体膜电位降低^[29], 导致 ATP 产量减少^[30], 使 Bax 在 ATP 缺乏的条件下更易与线粒体结合^[31], 以增加膜的通透性, 这种变化又使 ATP 的合成进一步降低。这种正向调节作用导致了线粒体结构的严重破坏, 使得线粒体内的 Ca²⁺ 离子^[30, 32]、细胞色素 c 外流^[28, 29]。细胞内 ATP 合成的减少使得 ADP 的含量明显增加, 后者使 ADP-p53 维持在与 DNA 结合的开启状态^[21], 并有效地上调 p21 的含量和 Bax 与 Bcl-2 的比例关系^[22, 23]。这种作用将会产生双重效应: 第一是 p21 的增加, 使 DNA 的修复得以持续进行; 第二是造成线粒体膜结构更加严重的破坏^[31]。当 DNA 受损较轻时, 有可能在第二种效应尚未发生作用时, DNA 的修复就已完成, 此时细胞将会继续周期循环; 反之, 如果 DNA 受损严重, 在细胞还没有完成修复时, 第二种效应就会发挥主导作用, 使细胞进入凋亡过程。即线粒体膜的破坏, 使 ATP 合成量无法满足 DNA 修复的需要, 而 dNTP(dATP, dTTP, dCTP 和 dGTP) 的量不足也

会导致 DNA 修复酶对 DNA 修复效率的降低。同时, 由于线粒体外流的 Ca²⁺ 与先前来自内质网^[27] 的 Ca²⁺ 进入细胞核, 并激活 Ca²⁺ 和 Mg²⁺ 依赖的 DNase^[33], 从而将 DNA 降解成 180—200 碱基对及其整数倍的片断^[34, 35], 而且胞质内 Ca²⁺ 的增加使钙蛋白酶被活化, 破坏细胞骨架而使细胞皱缩, 同时谷酰胺转移酶使胞浆内蛋白质胶联, 细胞质被包装、染色质被浓缩形成凋亡小体, 并被吞噬细胞所吞噬, 从而完成细胞的凋亡与细胞碎片的清除过程。另一方面, 细胞色素 c 的释放, 则可能导致细胞进入 caspase 凋亡途径^[36]。

3 假说分析

p53 的变化是 ATP 变化的上游事件, 在整个调控过程中, p53 调控着 ATP 的产量, 而 p53 又受到 DNA 修复结果的负调控。

由细胞阻遏和细胞凋亡的分析可知: ATP 的合成速度(*m*)与修复强度成正相关, 而修复强度的

变化率(以 dm/dt 表示)与线粒体的变化 $(a-k(t)t)$ 成正比, 即 $dm/dt=a-k(t)t$ (其中 a 为线粒体的初始状态参数, $k(t)$ 为损伤因子)。由此得知 ATP 的合成速度在 DNA 修复过程中随时间的变化趋势函数为 $m=b-(1/2k)(a-kt)^2$ (这里为简化起见, 损伤因子 $k(t)$ 取常数 k , b 为修复过程中 ATP 的最高合成速度, 它在一定范围内与辐射剂量的大小成正比), 而当细胞进入凋亡期则主要靠糖酵解途径提供能量。因此, ATP 的合成速度在 DNA 修复与细胞凋亡过程中发生的变化可用图 2 表示, 在修复过程中 ATP 的合成速度是先增大后减小, 而在凋亡过程中则是持续减小。Wang 等^[37]的研究结果表明在 ATP 缺乏时导致肾小管上皮细胞凋亡, 而且 Petermann 等^[38]的实验也表明 DNA 的修复需要 ATP 的参与, 提示在修复过程中 ATP 的增加是必要的。Tirosh 等^[39]用寡霉素处理细胞, 造成 ATP 的合成

障碍, 使细胞的凋亡率增加, Lamzaeve 等^[40]的实验也证实 ATP 的不足是导致细胞凋亡和坏死的主要原因之一。

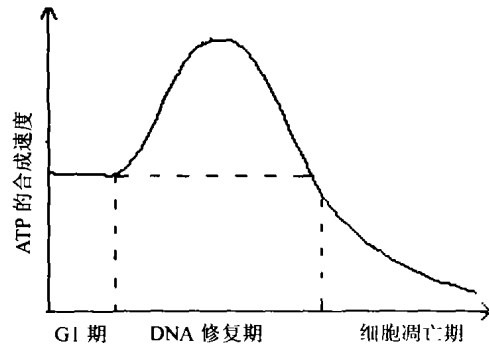
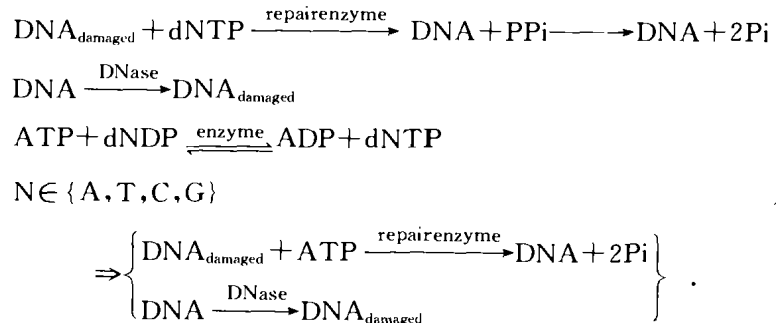


图 2 ATP 在 DNA 修复与细胞凋亡过程中的变化

而 DNA 损伤与修复的竞争关系可以由勒夏特列原理建立以下化学模型:



此模型表示, 当存在一定量的 dNTP 时, DNA 受到保护, 而酶的作用只是使这种保护作用更加有效; 相反, 当 dNTP 不足时, 这种保护作用被解除, DNA 会自动缓慢降解, 同样 DNase 只是起到加速这种进程的作用。因此, DNA 被修复还是破坏是与

ATP 的量相关的, 而酶只是起一个帮手作用而已。

综上所述, 本文探讨了细胞凋亡的机制, 全面阐述了辐射诱导 p53 引起 ATP 的变化对 DNA 修复与细胞凋亡的走向影响, 为生物学中对细胞凋亡的研究提供了可能的途径。

参 考 文 献:

[1] Hainaut P, Hollstein M. *Adv Cancer Res*, 2000, **76**: 81.
 [2] Wood R D, Mitchell M, Sgouros J, *et al.* *Science*, 2001, **291** (5 507): 1 284.
 [3] Sims J L, Berger S J, Berger N A. *Biochemistry*, 1983, **22**: 5 188.
 [4] Das S K, Berger N A. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986, **137**: 1 153.
 [5] Cox M M. *Bioessays*, 1993, **15**: 617.
 [6] Radons J, Heller B, Burkle A, *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, **199**: 1 270.
 [7] Roca A I, Cox M M. *Prog Nucl Acid Res Mol Biol*, 1997, **56**: 129.
 [8] Habraken Y, Sung P, Prakash L, *et al.* *J Biol Chem*, 1998, **273**: 9 837.
 [9] Brockhaus F, Brune B. *Oncogene*, 1999, **18**: 6 403.
 [10] Paull T T, Gellert M. *Genes Dev*, 1999, **13**: 1 276.
 [11] Braybrooke J P, Spink K G, Thacker J, *et al.* *J Biol Chem*, 2000, **275**: 29 100.

- [12] Citterio E, Van Den Boom V, Schnitzler G, *et al.* Mol Cell Biol, 2000, **20**; 7 643.
- [13] Hopfner K P, Karcher A, Shin D S, *et al.* Cell, 2000, **101**; 789.
- [14] Oei S L, Ziegler M. J Biol Chem, 2000, **275**; 23 234.
- [15] Hara N, Yamada K, Terashima M, *et al.* J Biol Chem, 2003, **278**(13); 10 914.
- [16] Blackwell L J, Bjornson K P, Allen D J, *et al.* J Biol Chem, 2001, **276**; 34 339.
- [17] Burma S, Chen B P, Murphy M, *et al.* J Biol Chem, 2001, **276**; 4 2462.
- [18] Kato R, Kataoka M, Kamikubo H, *et al.* J Mol Biol, 2001, **309**; 227.
- [19] Ambrosio G, Zweier J L, Duilio C, *et al.* J Biol Chem, 1993, **268**; 18 532.
- [20] Sastre J, Borrás C, Garcia-Sala D, *et al.* Ann N Y Acad Sci, 2002, **959**; 448.
- [21] Andrei L, Okorokov A L, Milner J. Mol Cell Biol, 1999, **19** (11); 7 501.
- [22] Delphine J, Françoise B. J Biol Chem, 2002, **277**; 37 949.
- [23] Chen R W, Chuang D M. J Biol Chem, 1999, **274**; 6 039.
- [24] Zamzami N, Susin S A, Marchetti P, *et al.* J Exp Med, 1996, **183**(4); 1 533.
- [25] Shimizu S, Eguchi Y, Kamiike W, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1998, **95**; 1 455.
- [26] Kowaltowski A J, Vercesi A E, Fiskum G. Cell Death Differ, 2000, **7**(10); 903.
- [27] Enrique J, Roberto A, Marta A, *et al.* J Biol Chem, 2003, **278**(16); 14 134.
- [28] Nutt L K, Chandra J, Pataer A, *et al.* J Biol Chem, 2002, **277** (23); 20 301.
- [29] He L, Poblenz A T, Medrano C J, *et al.* J Biol Chem, 2000, **275**(16); 12 175.
- [30] Sikha B M, Manika D, Ganapasam S, *et al.* J Biol Chem, 2002, **277**; 24 717.
- [31] Mikhailov V, Mikhailova M, Donna J, *et al.* J Biol Chem, 2001, **276**; 18 361.
- [32] Ichas F, Jouaville L S, Mazat J P. Cell, 1997, **89**(7); 1 145.
- [33] Walker P R, Sikorska M. Biochem Cell Biol, 1997, **75**(4); 287.
- [34] Steller H. Science, 1995, **267**(5 203); 1 445.
- [35] Wyllie A H. Nature, 1980, **284**(5 756); 555.
- [36] 马文丽, 郑文岭. 分子肿瘤学, 北京: 科学出版社, 2003, 23—125.
- [37] Wang Y, Knowlton A A, Christensen T G, *et al.* Kidney Int, 1999, **55**(6); 2 224.
- [38] Petermann E, Ziegler M, Oei S L. DNA Repair, 2003, **2**(10); 1 101.
- [39] Tirosh O, Aronis A, Melendez J A. Biochem Pharmacol, 2003, **66**(8); 1 331.
- [40] Lyamzaev K G, Izyumov D S, Avetisyan A V, *et al.* Acta Biochim Pol, 2004, **51**(2); 553.

Regulation of ATP on DNA Repair and Cell Apoptosis Induced by Irradiation^{*}

ZHOU Qing-ming^{1,2}, ZHANG Hong¹, DANG Bing-rong¹, LI Wen-jian¹,
LIU Bing^{1,2}, MIN Feng-ling^{1,2}, DUAN Xin^{1,2}, XIE Yi^{1,2}

(1 Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: DNA damage induced by irradiation, which makes the cell arrested at G₁ stage and DNA repair being activated in this stage, are summarized. It is proposed that the deficiency of adenosine triphosphate which is induced by the larger irradiation dose, induces cell apoptosis. And the relationship of cell selecting repair and apoptosis is also analyzed.

Key words: p53; irradiation; adenosine triphosphate; apoptosis

^{*} **Foundation item:** One Hundred Talents Project of Chinese Academy of Sciences