

NO 在肿瘤中的作用机制及基于一氧化氮的抗癌策略

向韩

福建师范大学, 福建省福州市, 350000;

摘要: 一氧化氮(NO)是一种内源性形成的气体,在人体中起着信号分子的作用。NO通过遗传毒性和诱变、DNA损伤修复、细胞周期阻滞以及调节凋亡等参与肿瘤的发生发展。通过探讨NO在肿瘤中发挥作用的机制,探索NO在疾病治疗中的作用。

关键词: 一氧化氮;遗传毒性和诱变;DNA损伤修复;细胞周期阻滞;凋亡

DOI:10.69979/3029-2808.25.06.048

引言

一氧化氮(NO)是一种多功能自由基,NO在生物过程中的作用取决于其产生来源、持续时间和空间浓度。在低浓度下,NO发挥细胞保护作用,通过激活致癌途径引发癌变。然而,在较高浓度下,NO已被证明对癌细胞产生细胞毒作用并诱导细胞凋亡。NO的促肿瘤和抗肿瘤作用在癌症生物学中发挥着重要作用,通过改变细胞对应激源的反应,如DNA损伤、癌基因激活、细胞代谢改变、DNA修复酶和肿瘤抑制基因的失调,以及调节凋亡和转移过程^[1]。

1 NO在肿瘤生物学中的作用

1.1 遗传毒性和诱变

NO介导的遗传毒性发生于DNA碱基脱胺、碱基和脱氧核糖氧化、链断裂和多种类型的交联事件。这些反应可通过N2O3脱胺和过氧亚硝酸盐形成引起直接遗传毒性,或通过亚硝胺活化、细胞凋亡、DNA修复酶抑制或脂质过氧化诱导的DNA损伤引起间接遗传毒性。

NO氧化形成RNS,亚硝酸盐化DNA碱基的伯杂环胺。这种亚硝化胺容易通过异构化生成重氮氢氧化物,然后脱水生成高活性重氮离子进行快速脱胺。脱氨在一氧化氮的有害后果中起着关键作用,这可能会对肿瘤内观察到的突变景观和异质性很重要。NO在哺乳动物细胞中的一个致突变例子是它靶向p53基因中的密码子248(CGG),而p53基因是癌症中最常见的突变基因之一。

1.2 DNA损伤修复(DDR)

NO及其衍生物可诱导DNA损伤,从而激活DDR信号网络。DDR应答受五种主要DNA修复机制调控,包括核苷酸切除修复(NER)、碱基切除修复(BER)、错配修复(MMR)。

NER通路是一个复杂的过程,涉及超过30种蛋白质,它们通过特殊的内切酶消除大块的DNA损伤。NER包括两种不同的通路,即全球基因组NER(GG-NER)和转录偶联NER(TC-NER)。GG-NER受着色性干皮病C组蛋白调控,该蛋白识别DNA损伤并招募其他修复机制,而TC-NER通过阻断转录改变区域的RNA聚合酶II活性而启动。GG-NER和TC-NER都涉及基本机制:(1)识别受损位点(分别在基因组的转录区和非转录区);(2)DNA损伤鉴定;(3)去除受损的低聚物;(4)结扎完整分子填充间隙。

BER通路特异性修复N-烷基化DNA损伤,其中DNA糖基酶搜索基因组中的损伤位点,产生无嘌呤和无嘧啶(AP)位点。此外,AP-内切酶(APE)在AP位点切割DNA,形成一个核苷酸缺口,由聚合酶-β填充正确的核苷酸。此前有报道称,NO通过APE1在半胱氨酸93和310处的S-亚硝化,诱导APE向细胞质的核输出,这可能会破坏其DNA修复功能。最后,含有XRCC1蛋白的DNA连接酶IIIα复合物将DNA主链中剩余的缺口封闭。这种BER酶的缺陷与早衰、癌症和神经退行性疾病有关。

1.3 细胞周期阻滞

NO诱导的遗传毒性触发信号转导级联,调节细胞周期检查点,允许激活恢复性DDR机制。检查点这个术语是由G1/S、S内和G2/M细胞周期阶段之间的切换来定义的。DNA损伤检查点由复杂的信号通路控制,包括三个主要组成部分:损伤传感器、信号转导器和触发细胞周期阻滞、细胞凋亡、DNA修复和/或损伤诱导转录机制激活的效应器。

DNA损伤检查点由Rad9、Rad1、Hus1和Rad17等基本因子启动和感知。Rad9、Hus1和Rad1同源物在结构上类似于增殖性核抗原(PCNA),并形成同源三聚体

Rad9-Hus-Rad1 滑动夹(9-1-1 复合体), 装载在正在进行的 DNA 复制位点的 DNA 周围。RFC 复合物作为 PCNA 的箝位加载器, 包括四个小亚基(p36, p37, p38 和 p40) 和一个大亚基(p140)。然而, 对于 9-1-1 复合体, Rad17 与 RFC 的四个小亚基相互作用, 形成另一种钳夹加载复合体(Rad17-RFC)。染色质结合的 9-1-1 复合体磷酸化并激活由共济失调毛细血管扩张突变(ATM)和 ATM 和 Rad3 相关(ATR)蛋白介导的检查点信号级联。ATM 和 ATR 是磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)相关激酶(PIKK)家族的成员, 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(270-450 kDa)超家族, 将损伤信号传递给效应检查点激酶 1 和/或 2 (Chk1/Chk2)。此外, BRCA1、Claspin、p53 结合蛋白 1 (53BP1)、拓扑异构酶结合蛋白 1 (TopBP1)和 DNA 损伤检查点介质 1 (MDC1)等中介蛋白也与 DNA 损伤反应有关。最后, 细胞分裂周期蛋白(Cdc25A、Cdc25B 和 Cdc25C)被 Chk1/Chk2 磷酸化或 Cdc25A-C 的去磷酸化调节协调 G1/S、S 内和 G2/M 转换的 cyclin/CDK 复合物。

在 G1 期早期到中期暴露于基因毒性物质的细胞可能触发 ATM 磷酸化并激活 Chk2。活化的 Chk2 促进 Cdc25A 的磷酸化, 从而导致其泛素化和蛋白酶体降解。Cdc25A 降解阻断 Cdk2 激活, 阻止 Cdc45 装载到染色质上。Cdc45 装载到染色质上的失败阻止了 DNA 聚合酶 α 的募集, 导致细胞周期在 G1/S 边界阻滞。需要进一步的 p53 转录后修饰来维持这种抑制。p53 的核输出及其降解被 ATM 或 ATR 磷酸化的 Ser15 和 Chk1 磷酸化的 Ser20 所抑制。泛素连接酶 Mdm2 的磷酸化和泛素化也导致 p53 蛋白在细胞核内的稳定和积累。p53 的核积累触发 p21 结合并抑制 Cdk2/cyclin A/E 复合物的活性, 从而抑制 G1/S 转变。此外, p21 与细胞周期蛋白 D-Cdk4 复合物结合, 通过磷酸化 Rb 蛋白抑制 Rb/E2F 通路。当细胞 S 期经历遗传毒性时, S 期内检查点通过 ATM/ATR-Chk1-Cdc25A 和 ATM-nbs1-smc1 两种不同的途径中断细胞周期。在第一个途径中, ATR 磷酸化 Chk1, Chk1 反过来磷酸化 Cdc25A, 导致其蛋白酶体降解。Cdc25A 缺失使细胞周期蛋白 E 失活将 Cdc45 装载到染色质上, 从而延迟 DNA 复制以允许修复。在第二种途径中, ATM 与 Chk2 一起激活 Nbs1-Mre11-Rad50 复合物和 intra-S 检查点。其他蛋白如 53BP1、BRCA1 和 MDC1 也介导 S 内检查点激活。

当 DNA 损伤发生在 G2 期时, G2/M 检查点中断细胞周期, 阻止细胞进入有丝分裂(M 期)。在对 DNA 损伤的

反应中, 激活的 ATM 同时传递两个级联, 最终促进 Cdc2/Cyclin B 复合物的失活。在第一个级联中, 活化的 Chk1 磷酸化 Cdc25A, 导致其蛋白酶体降解, 从而抑制 Cdc2/cyclin B。在第二个级联中, 活化的 Chk1 对 p53 的磷酸化及其与 MDM2 的分离诱导其核积累和稳定, 导致刺激许多下游靶基因阻止有丝分裂的进入, 促进这种阻滞的 p53 靶基因包括 14-3-3Sigma, 它与磷酸化的 Cdc2/cyclin B 复合物结合以促进其核输出, GADD45 诱导细胞周期蛋白 B-Cdc2 复合物解离, p21 抑制细胞周期蛋白依赖性激酶如 Cdc2。此外, p38-MAPK 的不同亚型(主要是 α 和 γ)通过抑制 Cdc25B 诱导 G2/M 检查点。治疗水平的 NO 供体诱导细胞周期阻滞和细胞凋亡。NO 供体 JS-K 通过激活/磷酸化 ATM/ATR/Chk1/Chk2 诱导 HBV 阳性肝癌细胞 G2 细胞周期阻滞, 导致 Caspase 激活和凋亡。

1.4 凋亡的影响

亚硝化性 DNA 损伤激活复杂的信号网络, 诱导细胞进行 DNA 修复, 通过衰老进入终末分化, 如果损伤太严重, 导致细胞凋亡。NO 还能激活端粒酶, 延缓内皮细胞衰老。

细胞凋亡受死亡受体与线粒体信号通路的串扰调控^[2]。死亡受体或外源性途径通过特异性死亡配体与相应的细胞表面受体(如 Fas、TNFR、CD95、Apo1 和 DR3/4/5)以及 TRAIL 受体结合来调节细胞死亡。配体在细胞表面与三聚体受体结合, 通过募集细胞内适配分子, 如 FADD (fas 相关死亡结构域蛋白)和 TRADD (tnf 相关死亡结构域蛋白), 触发下游途径。这些适配器分子通过刺激半胱氨酸蛋白酶(如半胱天冬酶)等蛋白水解酶来传递死亡信号, 半胱氨酸蛋白酶是细胞内不同底物的切割和 DNA 降解所必需的。在线粒体/内在途径中, 次级信使如 NO 和促凋亡蛋白通过通透性过渡孔复合物导致线粒体膜渗透, 从而允许线粒体细胞色素 C 和其他促凋亡分子和线粒体内 Caspases 释放到细胞质中。细胞色素 C 随后与适配蛋白凋亡蛋白酶激活因子结合, 诱导细胞质中凋亡复合物的形成, 激活 Caspase-9, Caspase-9 反过来触发 procaspase-3 和其他 Caspase, 通过切割其他死亡底物诱导凋亡死亡^[3]。

NO 诱导促或抗凋亡反应取决于 NO 的来源、浓度和 NO 通量的持续时间。在几种哺乳动物细胞中, 低水平 NO 通过激活鸟苷环化酶(GC)、诱导热休克蛋白 70 (Hsp70)

0) 反应和抑制促凋亡蛋白如 Bax 来抑制细胞凋亡。NO 通过 cGMP 依赖性机制或翻译后修饰发挥其大部分抗凋亡生理反应, 上调细胞内抗氧化系统、灭活 Caspases 和其他凋亡蛋白。高水平的 NO 通过激活凋亡相关受体如 Fas、死亡受体 5 和 TNFR1 来诱导细胞凋亡。

1.5 血管生成的影响

血管生成受到促血管生成因子和抗血管生成因子之间平衡的严格控制。在正常情况下, 平衡有利于抗血管生成因子, 抑制血管生成。相反, 在肿瘤进展过程中, 促血管生成因子如血管内皮细胞, 生长因子(VEGF)和前列腺素高表达, 抗血管生成因子如血栓反应蛋白-1 或内皮抑素被抑制^[4]。

大多数 NO 驱动的血管生成信号在 eNOS 产生的低 NO 通量下被促进, 而 eNOS 在体内的心血管功能和血压调节中起着至关重要的作用。NO/eNOS 还通过诱导多种血管生成因子调节肿瘤血管生成和伤口愈合。在实体瘤快速增殖的细胞中, 缺氧和营养物质供应的减少通过促进缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 的表达来刺激新生血管。

2 基于一氧化氮的抗癌策略

一氧化氮供体属于新型抗癌药物组, 它们对肿瘤存活的抑制作用和诱导肿瘤细胞死亡的作用已在各种肿瘤模型中得到证实。非甾体抗炎药(NSAIDs)因其有效的抗氧化和抗炎特性而被认为是很有前途的化学预防药物。NO-NSAIDs 由一种传统的非甾体抗炎药组成, 具有一氧化氮释放部分, 可降低胃毒性。在体外和动物肿瘤模型中, NO-NSAID 已被证明对预防多种结肠癌和胰腺癌非常有效。

乙酰水杨酸(ASA), 通常被称为阿司匹林, 是非甾体抗炎药物家族的原型。阿司匹林在长期使用期间的

有效性下降与胃肠道出血和出血性中风等副作用有关, 这促使人们开发出更多有效和安全的阿司匹林衍生物。而一氧化氮供体阿司匹林(NO-ASA), NO-ASA 在健康志愿者中的胃十二指肠毒性与安慰剂的相当, 并在体外和体内抑制肺肿瘤发生。与阿司匹林相比, NO-阿司匹林的癌症预防活性和胃肠道安全性得到改善。

3 结论

一氧化氮可能抑制或促进肿瘤进展, 这取决于其生物学背景、浓度和一氧化氮产生的持续时间。NO 导致蛋白质、脂质和 DNA 的氧化, 基于 NO 的抗癌药物的实施还需要进一步研究。

参考文献

- [1]Goshi E,Zhou G,He Q.Nitric oxide detection methods in vitro and in vivo.Med Gas Res.2019, 9(4):192-207.
- [2] Bertheloot D,Latz E,Franklin B S.Necroptosis, pyroptosis and apoptosis:an intricate game of cell death.Cell Mol Immunol.2021,18(5):1106-1121.
- [3]Nagata S.Apoptosis and Clearance of Apoptotic Cells.Annu Rev Immunol.2018,36:489-517.
- [4]Kazerounian S,Lawler J.Integration of pro- and anti-angiogenic signals by endothelial cells.J Cell Commun Signal.2018,12(1):171-179.

作者简介: 向韩(1998.09-), 男, 汉族, 云南昆明, 硕士研究生, 学生,

研究方向: 生物技术与工程(具体专业)