



DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.05.035

http://www.lcbl.net/articles/666

## CIC-3氯通道蛋白调控细胞增殖机制的研究进展

吴慧 综述 李红枝, 毛建文 审校

(广东药学院生物学教研室, 广州 510006)

**[摘要]** CIC-3是电压门控性氯离子通道家族的成员, 主要作为容积激活性氯通道通过调节容积激活性氯电流[ $C_{i(vol)}$ ], 调节细胞体积, 细胞膜电位等影响细胞增殖。近年的研究发现CIC-3也可通过调节有丝分裂前凝集 (premitotic condensation, PMC) 过程, 或维持细胞囊泡酸化和细胞内氧压, 或作为调控因子通过Akt-GSK-3 $\beta$ 信号通路和CaMKII调节的信号通路等途径参与细胞增殖的调控。

**[关键词]** CIC-3; 细胞增殖; 氯离子通道

## The mechanism of CIC-3 proteins on cell proliferation

WU Hui, LI Hongzhi, MAO Jianwen

(Department of Biology, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract** As a member of the CIC voltage-gated chloride channel family, CIC-3 mainly act as a volume-activated chloride channel to affect the cell proliferation by regulating the volume activation chloride current, the cell volume and membrane potential and so on. In recent researches, the study found that CIC-3 can also be involved in the regulation of the cell proliferation via several other mechanisms, such as regulate the process of premitotic condensation (PMC), maintain intracellular vesicle acidification and the oxygen pressure, act as a regulatory factor involved in the Akt-GSK-3 $\beta$  signaling pathway and the signaling pathways regulated by CaMKII.

**Key words** CIC-3; cell proliferation; chloride channel

氯离子转运通常被认为是阴离子转运的代表, 其转运对细胞的活性而言显得尤为重要。CIC-3由CLCN-3基因编码, 其全称为H<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> exchange transporter 3, 是电压门控性氯离子通道家族成员之一。CIC-3通道蛋白有13个跨膜区域, N和C末端均位于细胞内, 其有短型和长型之分, 短型CIC-3蛋白由760个氨基酸构成, 在短型CIC-3

蛋白氨基末端(N端)加上58个氨基酸残基即构成长型CIC-3通道蛋白。CIC-3通道蛋白广泛分布于脑、心脏、骨骼肌、肾、肝胰腺等各种细胞, 在细胞的不同亚结构上都有表达。一般情况下, 大约25%新合成的CIC-3转移到细胞膜上, 通过细胞的内吞作用, 最后留在细胞膜上的仅仅只有6%, 其余大约94%则分布在细胞内<sup>[1]</sup>。CIC-3细胞内定

收稿日期 (Date of reception): 2014-04-09

通信作者 (Corresponding author): 毛建文, E-mail: jianwenmao@hotmail.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (31371144, 81170339, 30800435)。This work was supported by the grants from The National Science Foundation of China (31371144, 81170339, 30800435).

位研究表明, CIC-3在质膜、细胞器及细胞核上都有表达, 且主要表达于细胞核上<sup>[2]</sup>。

细胞增殖是生物体的重要生命特征, 是生物体生长、发育、繁殖和遗传的基础。研究发现用CIC-3小干扰RNA(siRNA)转染细胞, CIC-3表达水平减少且细胞增殖受到抑制<sup>[3]</sup>。沉默CIC-3能阻止细胞从G1期过渡到S期, 使细胞停留在G0/G1期<sup>[4]</sup>; 在3T3-L1前脂肪细胞中, 抑制或沉默CIC-3的表达, 导致细胞在G0/G1期累积, 细胞增殖减少10%-60%<sup>[5]</sup>。而在鼻咽癌CNE-2Z细胞中也发现CIC-3的表达水平与细胞增殖有关<sup>[6]</sup>; 这些结果都说明CIC-3在细胞增殖中扮演着重要的角色。另外, 一些疾病的发生和许多癌症的发生都与细胞增殖有着密不可分的联系, 现已有研究表明CIC-3基因参与宫颈癌恶性增殖过程, 其在宫颈癌不同时期的表达有显著性差异<sup>[7]</sup>。在乳腺癌中, CIC-3也是高表达, 且在恶性之间存在明显的差异<sup>[8]</sup>。因此, 研究CIC-3调控细胞增殖的机制迫在眉睫, 现对CIC-3参与细胞增殖的可能的机制进行概述。

## 1 作为 VRCC 的候选通道蛋白调节 Cl<sup>-</sup> 电流和 RVD

当细胞所处的环境为非等渗的情况下时, 位于胞膜上的容积激活性钾离子通道与容积激活性氯离子通道会开启, 通过K<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>的外向电流, 同时伴随着水的被动流出, 可使肿胀的细胞恢复原来的体积, 这一过程称为调节性容积减小(regulatory volume decrease, RVD)。RVD在细胞生长、细胞分化、细胞增殖和细胞凋亡等一些生理过程中非常重要。容积调节性氯通道(volume-regulated/sensitized chloride channels, VRCC), 又被称为容积激活性氯通道(volume-activated chloride channels, VACC), 是容积调节Cl<sup>-</sup>转运的主要机制, 在维持细胞体积中发挥重要作用。陈丽新等<sup>[9]</sup>发现细胞中容积激活性氯电流 $[I_{Cl, (vol)}]$ 是周期依赖的, 且在低渗条件下激活的RVD也是周期依赖的, 也能被氯离子通道阻断剂所抑制。又有研究表明氯离子通道阻断剂抑制细胞VRCC后抑制了内皮细胞<sup>[10]</sup>、肝细胞<sup>[11]</sup>的增殖。研究还发现细胞通过G0/G1需要高表达的容积激活性氯通道和高的调节性容积减小能力<sup>[12]</sup>。这些结论表明VRCC和RVD能影响细胞增殖。

CIC-3可能作为容积激活性氯通道的一个候选蛋白而参与细胞的增殖、凋亡等生理过程<sup>[13]</sup>。在人胃腺癌细胞<sup>[14]</sup>、乳腺癌细胞、卵母细胞<sup>[15]</sup>等细胞中, 抑制CIC-3的表达将导致 $C_{l, (vol)}$ 的减少。有文

献<sup>[16]</sup>报道, 抑制CIC-3的表达能够抑制容积激活性氯通道的激活, 减少RVD, 并能抑制细胞生长, 影响细胞增殖。又有报道<sup>[17]</sup>表示CIC-3可能作为VRCC参与动脉血管平滑肌细胞增殖, 进而引起高血压血管相关疾病。通过抑制CIC-3、VRCC和细胞增殖, 可改良高血压引起的血管重构。提示CIC-3可能作为VRCC参与细胞增殖过程。然而也有研究发现, 通过比较哺乳动物表达系统中CIC-3和内生的容积激活性氯通道的特征, 发现CIC-3既不能被细胞膨胀所激活, 也不和内生的容积激活性氯通道相同<sup>[18]</sup>。用CIC-3基因敲除鼠(Clcn3<sup>-/-</sup>)、CIC-3野生型鼠(Clcn3<sup>+/+</sup>)和CIC-3杂合子鼠(Clcn3<sup>+/-</sup>)研究<sup>[19]</sup>发现, 其激活的 $C_{l, (vol)}$ 没有差异。因此关于CIC-3是容积激活性氯通道的候选蛋白这个观点现仍存在着很大的争议。CIC-3作为VRCC参与细胞增殖的调控可能与其调节细胞周期有关, 机制可能是通过改变细胞内Cl<sup>-</sup>浓度来激活其它离子通道、影响周期相关调控因子的浓度或一些调节性分子的释放来影响细胞周期和细胞内其他功能; 又或者是通过改变细胞体积使细胞膜发生改变等途径来影响细胞的生长能力和细胞周期。

## 2 通过 PMC 影响细胞周期

有丝分裂前凝集(premitotic condensation, PMC)即细胞进入有丝分裂期前, 染色质高度凝集, 细胞质也发生凝集的现象, 其功能主要是使细胞在分裂之前达到分裂所需的最适体积, 其过程与染色质凝集功能相关。如果扰乱, 有丝分裂完成所需要的时间明显延长, 说明PMC是细胞周期不可缺少的部分。有研究也表明PMC与有CIC-3生物特性的Cl<sup>-</sup>通道有关。在神经胶质瘤细胞中敲除CIC-3不仅导致有丝分裂期Cl<sup>-</sup>电流的明显减少, 而且使PMC过程减缓, 阻止染色质凝集<sup>[20]</sup>。Christa W等<sup>[21]</sup>用二维时差显微技术同时观察对照组细胞株和转染CIC-3小干扰RNA的细胞株, 发现对照组细胞其细胞质凝集发生很快, 而转染处理过的细胞其细胞质凝集时间延长, 说明抑制CIC-3将阻碍PMC, 延长细胞周期。该研究小组同时还发现PMC的发生与RVD有关, 减少PMC同时也会减少核的浓缩。这些现象提示PMC是完整细胞分裂的重要环节, 并依赖于CIC-3的功能, 后者可能通过RVD调节细胞容积而发挥作用。另外Vishnu等<sup>[22]</sup>研究发现在分裂的人类神经胶质瘤细胞中, 激活的CaMKII和CIC-3共定位于细胞内的某些区域, 敲除内源性CIC-3蛋白的表达消除CaMKII依赖的Cl<sup>-</sup>电流, 阻碍PMC。而

PMC可能通过凝集细胞质而使调节激酶和磷酸酶接近Cdk/cyclin复合物, 促使细胞通过S期<sup>[21]</sup>。这些结论说明CIC-3可能作为离子通道调控Cl<sup>-</sup>外流, 伴随着水的流出, 使细胞体积减小, 产生PMC, 与DNA的凝集相关而影响细胞增殖。

### 3 参与 Akt-GSK-3 $\beta$ 信号通路

Cyclin D1是一个细胞周期进程的重要调节者, 在G1期积累, 是CDK4、CDK6激活所必需, 可与CDK4/6结合形成复合物, 促使细胞通过G1/S期检验点。研究表明, 下调cyclin D1的表达将会导致细胞周期阻滞在G1期<sup>[22]</sup>。最近有研究发现, 敲除CIC-3能下调cyclin D1和cyclin E的表达, 上调p27<sup>KIP</sup>和p21<sup>CIP</sup>的表达, 且能显著的降低ET-1诱导的Akt(又名蛋白激酶B, Protein kinase B, PKB)的Thr308位点和GSK-3 $\beta$ 的Ser9位点的磷酸化<sup>[4]</sup>, 提示CIC-3与Akt-GSK-3 $\beta$ 这个信号通路存在联系, 后者已被证实与细胞增殖密切相关。已表明PKB可以通过Akt-GSK途径促进cyclin D1表达水平的升高来影响细胞增殖, GSK3是PKB的底物, 被PKB在N-端磷酸化<sup>[23]</sup>。而cyclin D1是GSK3 $\beta$ 的底物, GSK3能够磷酸化cyclin D1的Thr286, 促进cyclin D1与细胞核输出蛋白的接触, 将cyclin D1从细胞核转移到细胞质, 然后泛素化降解。在这个过程中, PKB磷酸化GSK-3 $\beta$ 后抑制其活性, 使cyclin D1磷酸化减少, 维持细胞核中cyclin D1的积累<sup>[24]</sup>。说明Akt-GSK-3 $\beta$ 这个信号通路通过调节cyclin D1的表达量来参与调控细胞周期。综上所述, 提示CIC-3可能通过直接或间接的调控Akt、GSK-3 $\beta$ 的磷酸化来参与调控信号通路, 从而影响细胞增殖。而且PKB能够促进癌症的发生, 当PKB过度活化后, 本来停滞生长的细胞持续增殖<sup>[24]</sup>, 因此CIC-3可能通过此通路使细胞过度增殖, 从而导致癌症的发生。但具体CIC-3如何影响Akt/GSK-3 $\beta$ 信号通路这个过程还有待进一步研究。

### 4 参与 CaMKII 调节的信号通路

CIC-3通道的活性被一系列酶调控, 包括蛋白激酶C(PKC)、钙调素依赖性蛋白激酶II(CaMKII)、血清和肌醇磷脂(PI4)等。细胞外的Ca<sup>2+</sup>转入细胞内, 并作用于CaMKII, 使CaMKII在其Thr286位点(pCaMKII)自我磷酸化激活, 然后作用于CIC-3蛋白的109位点, 使CIC-3离子通道激活<sup>[25]</sup>。现有研究发现在人骨肉瘤细胞中, 抑

制CaMKII导致细胞增殖减少70%-80%, 使细胞周期停滞在G0/G1期<sup>[26]</sup>, 那么CaMKII参与细胞增殖与CIC-3有没有关系呢? 最近有研究<sup>[4]</sup>发现, 下调CIC-3的表达抑制cyclin D1和cyclin E的表达, 增加(CDKs) p27<sup>KIP</sup>和p21<sup>CIP</sup>的表达。而在CaMKII<sup>-/-</sup>鼠, p21的表达增多并与CDK 2/cyclin E和CDK 4/cyclin D复合物紧密结合在一起, 使CDK激酶的活性降低, 导致细胞周期阻滞从而抑制细胞增殖, 在这个过程中Akt的活性显著降低<sup>[27]</sup>。有研究<sup>[28]</sup>也表明CaMKII能激活Akt。提示CIC-3可能通过CaMKII调节的Akt信号通路来参与细胞增殖, 通过调控CDK激酶的活性, 使细胞周期发生阻滞。另外, 研究表明, 在甲状腺乳头状癌(TPC-1)中, 抑制CaMKII使Erk和DNA合成减弱, CaMKII通过参与Erk信号通路而参与调节肿瘤细胞增殖<sup>[29]</sup>。还有研究指出CaMKII不是直接磷酸化Erk, 而是促进Raf1活化, 促进Raf/MEK/ERK复合物的组装, 进而通过Raf/MEK/ERK信号通路而参与细胞增殖<sup>[30]</sup>, 有研究<sup>[31]</sup>表明Erk也能调节细胞核内p27的磷酸化, 阻断细胞由G1期向S期过渡, 延长G1期, 提示CIC-3也可能通过CaMKII调节的Raf/MEK/ERK信号通路来参与细胞增殖, 通过使DNA合成减弱来影响细胞周期。

### 5 促进细胞内囊泡的酸化

V-type H<sup>+</sup> ATPase (V-ATP)是一个生电质子泵, V-H<sup>+</sup>-ATPase作为管家基因广泛存在于真核细胞的胞质膜及囊泡膜系统中, 能依赖分解ATP产生的能量作为动力, 逆浓度梯度地将H<sup>+</sup>质子泵出细胞外或泵入细胞囊泡腔内, 维持细胞胞质的pH值在7.0左右。并使某些囊泡细胞器, 如溶酶体、吞饮小泡或高尔基体维持较低的pH值<sup>[32]</sup>。CIC家族蛋白被认为通过中和H<sup>+</sup>-ATPase产生的电流来促进囊内酸化, 其中就包括CIC-3<sup>[33]</sup>。CIC-3被认为是一种H<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>逆向运输蛋白, 通过和V-ATPase一起参与维持细胞囊泡内pH<sup>[34-35]</sup>。研究发现在细胞外的酸度低于pH6.2时, CIC-3 H<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>转运体解离成阴离子通道, 这对V-ATPase的细胞囊泡内酸化很重要<sup>[35]</sup>。Sandra M等用敲除CIC-3的老鼠和野生型老鼠研究<sup>[36]</sup>发现, 无论是野生型还是CIC-3缺失的老鼠, 在突触囊泡内由ATP刺激引起的酸化都依赖于Cl<sup>-</sup>, 但是CIC-3缺失的老鼠酸化效率很低。提示CIC-3对促进细胞囊泡酸化非常重要, 可能通过调节Cl<sup>-</sup>来促进细胞内囊泡酸化。在鼠肝细胞中, CIC-3敲除鼠的溶酶体酸化和Cl<sup>-</sup>都明显减少<sup>[37]</sup>。用野生型老鼠和CIC-3敲除鼠实验研究发现,

CIC-3为内吞体提供必需的 $\text{Cl}^-$ , 参与正常的溶酶体酸化<sup>[38]</sup>。而溶酶体只有在pH为酸性的环境下才会维持其内酸性水解酶的活性, 使其能消化生物大分子, 维持细胞的正常代谢。另外, 又有研究发现用雄激素处理的C-33细胞中, Cdc25C显著上调, 促进细胞增殖, 而发生此现象的原因就是抑制了Cdc25C的蛋白酶体和溶酶体途径, 使其不能被降解<sup>[39]</sup>。Cdc25C是一个细胞周期蛋白, 对激活CDK1/cyclin B1复合物进入有丝分裂很重要。可见囊泡的酸化对细胞增殖存在影响。总之, 通过囊泡上的V-ATPase将 $\text{H}^+$ 泵进囊泡内, 使囊泡酸化, CIC-3作为 $\text{H}^+/\text{Cl}^-$ 将 $\text{Cl}^-$ 泵入, 中和其产生的电流, 并通过泵出 $\text{H}^+$ 维持囊泡内的pH值, 从而影响细胞周期中一些重要蛋白质的合成和降解而参与细胞增殖。

## 6 参与维持细胞内氧压

超氧自由基(ROS)是生物体有氧代谢过程中产生的一类活性含氧化合物的总称, 包括 $\text{O}_2^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{OH}^\cdot$ 等对蛋白质、脂类、DNA这些重要的生理学分子有毒的化合物, 在细胞增殖、细胞凋亡中发挥着重要的作用。细胞内的ROS可以通过很多途径产生, 比如线粒体, 细胞内内生 $\text{O}_2^-$ 促发细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 的释放, 激活线粒体 $\text{O}_2^-$ 产生。但ROS主要是通过质膜上的NADPH氧化酶产生<sup>[40]</sup>。通过NADPH氧化酶产生 $\text{O}_2^-$ , 自发的或酶促的转变成 $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 作为第二信使激活容积敏感性外向整流性 $\text{Cl}^-$ 通道(VROR), 调节细胞增殖<sup>[41]</sup>。在脉管系统, Nox1, Nox2, Nox4和Nox5四种NADPH氧化酶成员是ROS的重要来源, 血管Nox酶受Poldip2 Rac, CIC-3和蛋白二硫异构酶调节<sup>[42]</sup>。CIC-3在早期内吞体与Nox1共定位, 并且是胞内囊泡TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 刺激平滑肌细胞产生ROS所必需。其作为 $\text{H}^+/\text{Cl}^-$ 交换通道, 中和通过Nox1产生的电子<sup>[43]</sup>。这些研究提示CIC-3可能通过参与NADPH产生 $\text{H}_2\text{O}_2$ 来参与细胞增殖过程。ROS产生需要CIC-3  $\text{H}^+/\text{Cl}^-$ 转运体和NADPH氧化酶, CIC-3  $\text{H}^+/\text{Cl}^-$ 转运体通过向细胞内吞体内转运 $\text{H}^+$ 来消除细胞膜电势, 为 $\text{H}_2\text{O}_2$ 产生提供 $\text{H}^+$ <sup>[44]</sup>。在伴随着高血压发展的脑血管改造中, CIC-3调节ROS的产生和功能, ROS作为信号分子调节血管平滑肌细胞增殖<sup>[45]</sup>。总之, 通过NADPH氧化酶将NADPH氧化释放电子, 电子被转运给胞外的 $\text{O}_2$ , 生成 $\text{O}_2^-$ , 此即ROS过程。 $\text{O}_2^-$ 通过蛋白通道渗透到细胞内, 引起一系列的信号反应, 如细胞凋亡,  $\text{Ca}^{2+}$ 瞬时增加等这些对细胞生

长增殖有重大影响反应。CIC-3可作为 $\text{H}^+/\text{Cl}^-$ 逆向转运载体, 使 $\text{H}^+$ 流进, 细胞内 $\text{Cl}^-$ 流出, 中和细胞内电荷, 从而维持细胞正常增殖, 也可能是依赖CIC-3产生的 $\text{O}_2^-$ , 最后生成 $\text{H}_2\text{O}_2$ , 其作为信号分子, 来参与调控细胞增殖。

## 7 作为调控因子参与细胞周期的调控

我们的研究发现在细胞周期的不同阶段, CIC-3在细胞亚细胞上的分布不同, 在G1期和S期主要集中在细胞核, 少量在细胞膜和细胞质。G2期主要在细胞质中, 而M期则主要在染色体或染色质周围<sup>[46]</sup>。CIC-3在G1期早期、G1晚期、S期和有丝分裂前期主要分布在细胞核中, 而细胞核内无膜性细胞器, 其不可能作为氯离子通道发挥作用。有文献表明敲除CIC-3能下调cyclin D1和cyclin E的表达, 上调p27<sup>KIP</sup>和p21<sup>CIP</sup>的表达, 且能影响Akt-GSK-3 $\beta$ 这个信号通路<sup>[4]</sup>, 说明在G1期早期和晚期, 集中在细胞核的CIC-3可能间接的与异染色质作用或者作为信号通路的调节者, 通过参与G1期到S期的过渡来调控细胞增殖。研究表明在正常和恶性胶质瘤细胞的DNA合成期, CIC-3绝大多数位于细胞核<sup>[19]</sup>, 而我们也HeLa细胞和鼻咽癌CNE-2Z细胞发现了相同的现象<sup>[46]</sup>, 说明在S期, CIC-3可能与DNA的合成有关。在有丝分裂前期, 当染色质开始凝集时, CIC-3也重新定位于细胞核, 然后聚合, 提示CIC-3可能参与染色质凝集。这些现象都说明CIC-3可能作为调控因子, 通过参与蛋白质互作而影响细胞周期。

在正常和恶性胶质瘤细胞有丝分裂期期间, CIC-3与 $\alpha$ -tubulin共定位在纺锤体<sup>[19]</sup>, 而我们也HeLa细胞有丝分裂的中期发现了这一现象, 提示CIC-3可能直接影响纺锤体的组装。在有丝分裂后期, CIC-3与 $\alpha$ -tubulin共定位且在分开的姐妹染色单体之间积累<sup>[46]</sup>。说明CIC-3可能通与与 $\alpha$ -tubulin相互作用来参与调节姐妹染色体分开。通过这些现象可以看到, CIC-3不仅仅只是作为氯离子通道蛋白, 也可能作为周期调控蛋白参与细胞增殖的调控。

## 8 结语与展望

在细胞膜上CIC-3主要作为氯离子通道蛋白参与调节细胞容积, 维持一定的细胞体积对细胞通过G1/S转换至关重要; 抑制 $\text{Cl}^-$ 电流将抑制PMC, 延长细胞G1期; 在胞内, 抑制CIC-3能通过Akt-

GSK-3 $\beta$ 信号通路抑制cyclin D1和cyclin E的表达,使细胞阻滞在G1期。也能通过参与CaMKII调节的Akt和Raf/MEK/ERK信号通路降低CDK激酶的活性或者减弱DNA的合成能力;还可能作为调控因子影响细胞周期,如参与影响细胞核内DNA的合成、染色体凝集,与 $\alpha$ -tubulin与相互作用影响细胞有丝分裂;在细胞内囊膜上,CIC-3可能通过调节细胞内囊泡的酸化,影响其细胞周期运转所需重要蛋白质的合成和降解,如影响CDC25C的降解,促进细胞进入有丝分裂期;CIC-3也可能通过维持细胞内氧压来影响细胞的生长。

CIC-3作为氯离子通道蛋白中的一种,对维持细胞的正常生命活动至关重要,其异常可导致细胞代谢活动紊乱,影响其正常功能,影响细胞增殖,甚至导致细胞凋亡、死亡。现在CIC-3已作为研究肿瘤的一个热点,抑制细胞增殖能很好的抑制肿瘤的生长,因此研究CIC-3参与细胞增殖的作用机制将有助于开发抗肿瘤药物的新靶点。目前对CIC-3参与细胞增殖作用机制的研究比较少,有很多问题需要解决。CIC-3参与细胞增殖已基本确定,未来对CIC-3的研究将会侧重在对其作用机制的研究,CIC-3在细胞周期每个阶段的不同的作用机制都会成为研究重点。

## 参考文献

- Zhao Z, Li X, Hao J, et al. The CIC-3 chloride transport protein traffics through the plasma membrane via interaction of an N-terminal dileucine cluster with clathrin[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(39): 29022-29031.
- Jordt SE, Jentsch TJ. Molecular dissection of gating in the CIC-2 chloride channel[J]. *EMBO J*, 1997, 16(7): 1582-1592.
- Wang GL, Wang XR, Lin MJ, et al. Deficiency in CIC-3 chloride channels prevents rat aortic smooth muscle cell proliferation[J]. *Circ Res*, 2002, 91(10): E28-E32.
- Tang YB, Liu YJ, Zhou JG, et al. Silence of CIC-3 chloride channel inhibits cell proliferation and the cell cycle via G/S phase arrest in rat basilar arterial smooth muscle cells[J]. *Cell Prolif*, 2008, 41(5): 775-785.
- Zhang XH, Zhang YY, Sun HY, et al. Functional ion channels and cell proliferation in 3T3-L1 preadipocytes[J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(5): 1972-1979.
- Xu B, Mao J, Wang L, et al. CIC-3 chloride channels are essential for cell proliferation and cell cycle progression in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2010, 42(6): 370-380.
- 李威. CIC-3基因在宫颈癌中的表达及临床意义[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2008.
- LI Wei. Expression of CLC-3 mRNA in cervical cancer[D]. Shenyang, China Medical University, 2008.
- 赵维, 王岩, 韩振国, 等. 氯离子通道CLC-3在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. *中国实验诊断学*, 2009, 13(3): 350-352.
- ZHAO Wei, WANG Yan, HAN Zhen-guo, et al. Expression of the CLC-3 in the breast cancer and its clinical significances[J]. *Chin J Lab Diagn*, 2009, 13(3): 350-352.
- Chen L, Wang L, Zhu L, et al. Cell cycle-dependent expression of volume-activated chloride currents in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 283(4): C1313-C1323.
- Voets T, Szücs G, Droogmans G, et al. Blockers of volume-activated Cl-currents inhibit endothelial cell proliferation[J]. *Pflügers Arch*, 1995, 431(1): 132-134.
- Wondergem R, Gong W, Monen SH, et al. Blocking swelling-activated chloride current inhibits mouse liver cell proliferation[J]. *Physiol*, 2001, 532(Pt 3): 661-672.
- Chen LX, Zhu LY, Jacob TJ, et al. Roles of volume-activated Cl-currents and regulatory volume decrease in the cell cycle and proliferation in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Cell Prolif*, 2007, 40(2): 253-267.
- Duan D, Winter C, Cowley S, et al. Molecular identification of a volume-regulated chloride channel[J]. *Nature*, 1997, 390(6658): 417-421.
- Jin NG, Kim JK, Yang DK, et al. Fundamental role of CIC-3 in volume-sensitive Cl<sup>-</sup> channel function and cell volume regulation in AGS cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 285(5): G938-G948.
- Zhu L, Yang H, Zuo W, et al. Differential expression and roles of volume-activated chloride channels in control of growth of normal and cancerous nasopharyngeal epithelial cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(3): 324-334.
- Li X, Shimada K, Showalter LA, et al. Biophysical properties of CIC-3 differentiate it from swelling-activated chloride channels in Chinese hamster ovary-K1 cells[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(46): 35994-35998.
- Duan DD. The CIC-3 chloride channels in cardiovascular disease[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32(6): 675-684.
- Gong W, Xu H, Shimizu T, et al. CIC-3-independent, PKC-dependent activity of volume-sensitive Cl channel in mouse ventricular cardiomyocytes[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2004, 14(4-6): 213-224.
- Habela CW, Olsen ML, Sontheimer H. CIC3 is a critical regulator of the cell cycle in normal and malignant glial cells[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(37): 9205-9217.
- Habela CW, Sontheimer H. Cytoplasmic volume condensation is an integral part of mitosis[J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(13): 1613-1620.
- Cuddapah VA, Habela CW, Watkins S, et al. Kinase activation of CIC-3 accelerates cytoplasmic condensation during mitotic cell rounding[J].

- Am J Physiol Cell Physiol, 2012, 302(3): C527-C538.
22. Blain SW. Switching cyclin D-Cdk4 kinase activity on and off[J]. Cell Cycle, 2008, 7(7): 892-898.
  23. Alt JR, Cleveland JL, Hannink M, et al. Phosphorylation-dependent regulation of cyclin D1 nuclear export and cyclin D1-dependent cellular transformation[J]. Genes Dev, 2000, 14(24): 3102-3114.
  24. Lawlor MA, Alessi DR. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses?[J]. J Cell Sci, 2001, 114(Pt 16): 2903-2910.
  25. Cuddapah VA, Turner KL, Sontheimer H. Calcium entry via TRPC1 channels activates chloride currents in human glioma cells[J]. Cell Calcium, 2013, 53(3): 187-194.
  26. Yuan K, Chung LW, Siegal GP, et al. alpha-CaMKII controls the growth of human osteosarcoma by regulating cell cycle progression[J]. Lab Invest, 2007, 87(9): 938-950.
  27. Li W, Li H, Sanders PN, Mohler PJ, et al. The multifunctional Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II delta (CaMKIIdelta) controls neointima formation after carotid ligation and vascular smooth muscle cell proliferation through cell cycle regulation by p21[J]. J Biol Chem, 2011, 286(10): 7990-7999.
  28. Li F, Malik KU. Angiotensin II-induced Akt activation is mediated by metabolites of arachidonic acid generated by CaMKII-stimulated Ca<sup>2+</sup>(+)-dependent phospholipase A2[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288(5): H2306-H2316.
  29. Rusciano MR, Salzano M, Monaco S, et al. The Ca<sup>2+</sup>-calmodulin-dependent kinase II is activated in papillary thyroid carcinoma (PTC) and mediates cell proliferation stimulated by RET/PTC[J]. Endocr Relat Cancer, 2010, 17(1): 113-123.
  30. Cipolletta E, Monaco S, Maione AS, et al. Calmodulin-dependent kinase II mediates vascular smooth muscle cell proliferation and is potentiated by extracellular signal regulated kinase[J]. Endocrinology, 2010, 151(6): 2747-2759.
  31. Persaud SD, Lin YW, Wu CY, et al. Cellular retinoic acid binding protein I mediates rapid non-canonical activation of ERK1/2 by all-trans retinoic acid[J]. Cell Signal, 2013, 25(1): 19-25.
  32. Nishi T, Forgac M. The vacuolar (H<sup>+</sup>)-ATPases--nature's most versatile proton pumps[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2002, 3(2): 94-103.
  33. Jentsch TJ. Chloride and the endosomal-lysosomal pathway: emerging roles of CLC chloride transporters[J]. J Physiol, 2007, 578(Pt 3): 633-640.
  34. Hara-Chikuma M, Yang B, Sonawane ND, et al. CLC-3 chloride channels facilitate endosomal acidification and chloride accumulation[J]. J Biol Chem, 2005, 280(2): 1241-1247.
  35. Matsuda JJ, Filali MS, Collins MM, et al. The CLC-3 Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> antiporter becomes uncoupled at low extracellular pH[J]. J Biol Chem, 2010, 285(4): 2569-2579.
  36. Stobrawa SM, Breiderhoff T, Takamori S, et al. Disruption of CLC-3, a chloride channel expressed on synaptic vesicles, leads to a loss of the hippocampus[J]. Neuron, 2001, 29(1): 185-196.
  37. Li X, Wang T, Zhao Z, et al. The CLC-3 chloride channel promotes acidification of lysosomes in CHO-K1 and Huh-7 cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2002, 282(6): C1483-C1491.
  38. Stauber T, Jentsch TJ. Chloride in vesicular trafficking and function[J]. Annu Rev Physiol, 2013, 75: 453-477.
  39. Chou YW, Zhang L, Muniyan S, et al. Androgens upregulate Cdc25C protein by inhibiting its proteasomal and lysosomal degradation pathways[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61934.
  40. Sauer H, Wartenberg M, Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation[J]. Cell Physiol Biochem, 2001, 11(4): 173-186.
  41. Varela D, Simon F, Riveros A, et al. NAD(P)H oxidase-derived H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signals chloride channel activation in cell volume regulation and cell proliferation[J]. J Biol Chem, 2004, 279(14): 13301-13304.
  42. Lassègue B, Griendling KK. NADPH oxidases: functions and pathologies in the vasculature[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(4): 653-661.
  43. Miller FJ Jr, Filali M, Huss GJ, et al. Cytokine activation of nuclear factor kappa B in vascular smooth muscle cells requires signaling endosomes containing Nox1 and CLC-3[J]. Circ Res, 2007, 101(7): 663-671.
  44. Lamb FS, Moreland JG, Miller FJ Jr. Electrophysiology of reactive oxygen production in signaling endosomes[J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(6): 1335-1347.
  45. Tang YB, Zhou JG, Guan YY. Volume-regulated chloride channels and cerebral vascular remodelling[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2010, 37(2): 238-242.
  46. Mao J, Li X, Chen W, et al. Cell cycle-dependent subcellular distribution of CLC-3 in HeLa cells[J]. Histochem Cell Biol, 2012, 137(6): 763-776.

**本文引用:** 吴慧, 李红枝, 毛建文. CLC-3 氯通道蛋白调控细胞增殖机制的研究进展 [J]. 临床与病理杂志, 2014, 34(5): 630-635. DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.05.035

**Cite this article as:** WU Hui, LI Hongzhi, MAO Jianwen. The mechanism of CLC-3 proteins on cell proliferation[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2014, 34(5): 630-635. DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.05.035