

从有丝分裂到肿瘤形成: Plk1 功能研究进展

王 哲, 剧世强*, 芮 荣

(南京农业大学动物医学院, 南京 210095)

摘 要: Plk1 是真核生物中高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 作为 Polo 样激酶家族的重要成员之一, 对细胞周期具有重要的调控作用。通过磷酸化不同的特异性底物, Plk1 具有促进中心体成熟及纺锤体两极分配, 控制有丝分裂启动, 促进染色体排列, 促进胞质分裂等一系列作用。新近研究表明, Plk1 还与 DNA 损伤应答、肿瘤形成、胚胎早期发育密切相关。本文就 Plk1 在细胞有丝分裂中发挥的一系列调控作用, DNA 损伤发生时如何参与细胞阻滞的启动与逆转, 促进 DNA 损伤修复, Plk1 的表达异常与肿瘤发生的因果关系, 以及 Plk1 在促进胚胎早期发育的应用前景等进行综述, 以供相关研究参考。

关键词: Plk1; 有丝分裂; DNA 损伤应答; 肿瘤; 胚胎早期发育

中图分类号: S857

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2015)05-0681-08

From Mitosis to Carcinogenesis, the Research Progress on Plk1's Function

WANG Zhe, JU Shi-qiang*, RUI Rong

(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Polo-like kinase 1 (Plk1), a well-characterized member of serine/threonine kinases Plk family, is highly conserved among eukaryotes. Plk1 has important regulatory role in cell cycles. It mediates a variety of cell cycle events, including centrosome maturation, bipolar spindle formation, mitosis entry, chromatin lining and cytokinesis by phosphorylation of different specific substrates. Recent studies suggest that Plk1, beyond its traditional function in mitosis, is also well involved in the DNA damage response, carcinogenesis and early embryonic development. In this review, the roles of Plk1 in mitosis, DNA damage response, carcinogenesis and early embryonic development will be focused, which will provide a reference for related studies.

Key words: Plk1; mitosis; DNA damage response; tumor; early embryonic development

Polo 基因编码的 Polo 样激酶 (Polo-like kinases, Plks) 是一类在真核生物中高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。Polo 样基因最早在黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 的基因组中被发现, 该基因的功能突变可导致果蝇的有丝分裂异常^[1]。随后, *Polo* 基因在真核生物中的高度保守性逐渐被证实, 其同源基因克隆在从酵母到人类的基因组中都有存在。目前已发现的 Polo 样激酶家族成员包括酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 的 Cdc5, 爪蟾

(*Xenopus laevis*) 的 plx1~plx3, 以及高等脊椎动物的 Plk 家族的 5 个成员 Plk1~Plk5。其中, 以 Plk1 发现最早, 最受关注, 研究得也最为透彻。早期的研究工作阐明了 Plk1 是有丝分裂及胞质分裂的关键调控因子, 参与细胞分裂周期中一系列进程的调控。近年来, 随着新的研究方法和新技术, 如 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi)、特异性小分子抑制物 (Specific small-molecule inhibitors)、基因修饰的等位基因 (Genetically modified alleles) 技术的应用,

收稿日期: 2014-06-25

基金项目: 国家自然科学基金 (31201967); 江苏省自然科学基金 (BK2012369); 教育部博士点基金 (20120097120007; 20130097110020)

作者简介: 王 哲 (1993-), 女, 安徽滁州人, 本科, 主要从事动物健康方面的研究, E-mail: 17110101@njau.edu.cn

* 通信作者: 剧世强, 副教授, 主要从事动物生殖生物学方面的研究, E-mail: jusq@njau.edu.cn

Plk1 的作用被进一步阐明,其在 DNA 损伤应答、肿瘤形成等方面的作用也陆续被发现,并成为相关研究领域的新热点。本文以 Plk1 结构介导的功能特性为起点,系统综述了 Plk1 在有丝分裂、DNA 损伤应答中的作用,并由此探讨其与肿瘤形成的关系。此外,有关胚胎发育的调控机制一直是生命科学领域的研究热点,如何提高胚胎的体外发育效率仍是目前相关领域的研究难点,考虑到 Plk1 在细胞周期调控中的作用,并结合其新近研究进展,预示 Plk1 很可能具有促进胚胎卵裂、提高胚胎体外发育效率的潜力,因此在本文的最后简要介绍了 Plk1 在胚胎早期发育领域的新进展与研究前景,以期对相关研究提供参考。

1 PBD 介导的 Plk1 与底物的结合

所有的 Plk 激酶在结构上高度保守,其 N-端具有一个保守的丝氨酸/苏氨酸激酶催化结构域, C-端具有一个或一个以上的 Polo 盒结构域 (Polo-box domain, PBD)。人类 Plk1~Plk5 的结构示意图见图 1。虽然结构相似,但 Plk1~Plk5 在细胞内的时间、空间定位存在很大的差异(图 2)。这种在不同亚细胞结构定位的差异也导致哺乳动物 Plk 家族成员在功能上的多样性。Plk1~Plk4 在细胞周期进程中发挥作用,参与中心粒的复制(Plk2 和 Plk4), DNA 复制(Plk3), 中心体分离和成熟(Plk1), 有丝分裂的启动(Plk1), 纺锤体的形成,染色体的分离和胞质分离(Plk1)。另一方面,Plk2 和 Plk5(可能也包括 Plk3)还参与细胞复制以外功能的调控,如神经元分化(Plk2 和 Plk5)以及突触稳态(Plk2)。此外,Plk1 还与 DNA 损伤应答(DNA damage response, DDR)以及纺锤体装配检测(Spindle assembly checkpoint, SAC)有关^[2]。那么,Plks 是如何实现在细胞周期的不同时间内的准确定位的呢? 答案就在其 PBD 结构域上。研究表明,Plks 的亚细胞定位是由 PBD 依赖的蛋白间相互作用介导的。

在 Plk1 的 PBD(表示为 PBD1)中有一段特异的磷酸肽结合区,打开了通往 PBD 依赖的蛋白间相互作用机制的大门。之后的晶体结构分析表明, PBD1 的 PB1 和 PB2 各含有一段结构完全相同的 $\beta_6\alpha$ 折叠,形成了一个“拉链样”的异源二聚体的结构,并在 PB1 的上游有一小段 α 螺旋 Polo 帽(αA)的结构帮助维持其稳定。而磷酸肽的结合位点就位于两个 PB 的 β 螺旋形成的浅沟里。结合的磷酸肽

与两个 PB 上关键的氨基酸残基间都有相互作用。其中, PB1 中的 Trp414、Lue490 与磷酸肽间的非极性作用,对于磷酸肽的识别非常关键。而 PB2 中的 His538 与 Lys540 则通过静电作用与磷酸肽中带负电的磷酸化苏氨酸残基互作用^[3]。

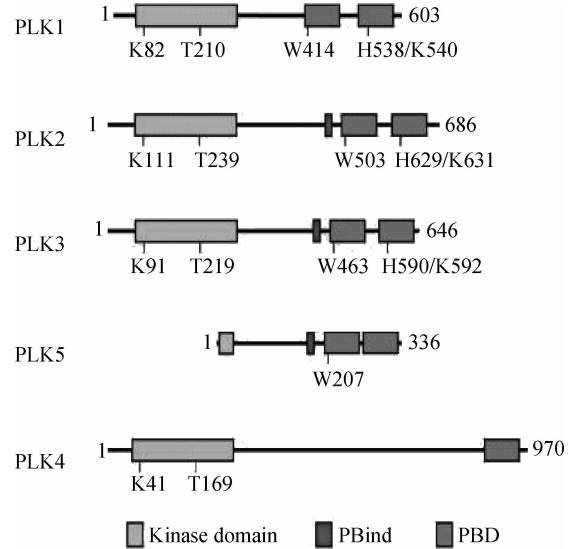


图 1 人类 Plk1~Plk5 结构图^[2]

Fig. 1 Structure of polo-like kinase

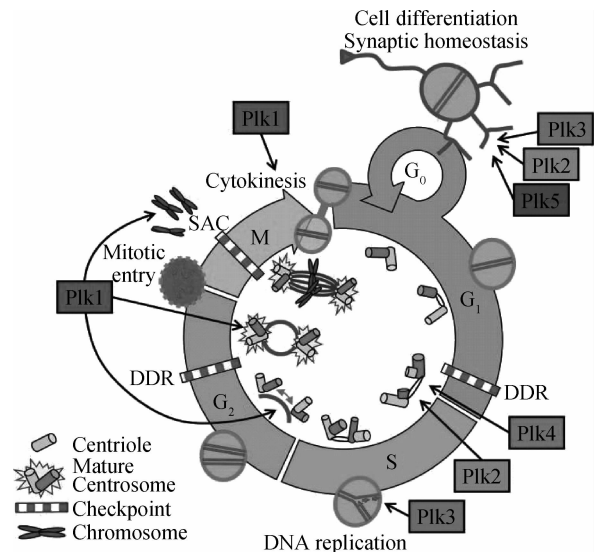


图 2 哺乳动物 Plk1~Plk5 在细胞中的时间空间分布及功能^[2]

Fig. 2 Cellular functions of Plks in cell cycle progression

因此,通过 PBD, Plk1 可以“锚定”(Dock)特异性的磷酸肽结合位点。不过与 Plk1 结合的靶蛋白需要被预磷酸化后才能被 PBD 识别。预磷酸化的作用机制有两种:一种由蛋白激酶,如 Cdc2/Cdk1

完成。此外,在体内,Plk1 也可以通过自磷酸化作用创造出自己的结合位点^[4-5]。这种预磷酸化作用以及 Plk1 锚定搭档的分布对 Plk1 活性的时间以及空间上的控制非常重要。

因此,通过 PBD 与特异性磷酸肽底物的结合,Plk1 的 N 端激酶催化结构域便可以定位至特定的亚细胞位点中。之后,通过对不同底物特定的丝氨酸或苏氨酸位点的磷酸化作用,在细胞活动中发挥各种不同的作用。目前,通过生物信息学分析,在真核生物细胞中,已有成千上万种 Plk1 的作用底物和磷酸结合蛋白被预测出来,他们大多与有丝分裂紧密相关^[6]。这些发现对于进一步阐明 Plk1 的功能和作用机制将有很大的帮助。

2 Plk1 与有丝分裂

Plk1 的表达具有细胞周期依赖性,在 G1 期和 S 期,Plk1 的活性很低,在 G2 后期其表达开始增加,在有丝分裂期(M 期)表达量达到最高峰,在有丝分裂结束时含量下降,然后在 G0 期继续保持低含量,如此循环往复^[7]。通过 PBD 介导的定位作用,Plk1 在有丝分裂的进程中有序地在各亚细胞结构中迁移。在间期中,Plk1 结合在复制前复合体上;在前期,其定位在中心体中;在前中期和中期在染色体着丝点上富集;在后期被募集到细胞中心的纺锤体上;最终在末期和胞质分裂重分配至中间体上^[8]。Plk1 是有丝分裂和胞质分裂中的关键调控因子,在细胞周期的不同时期发挥着各种重要的作用。

2.1 Plk1 促进中心体的成熟以及纺锤体的两极分配

中心体的成熟需要前期 γ -微管蛋白环状复合体(γ -tubulin ring complexes, γ -TuRC)将新的微管集结至中心体上。在间期,中心体和 Plk1 的一种底物结合形成 Ninein-like protein (NLP),起到募集 γ -TuRC 和刺激微管集结的作用。之后 Plk1 会将 NLP 的 Ser237 和 Ser1463 磷酸化,这样在 M 期 NLP 将从中心体上解离,这可能有助于间期向 M 期的转化^[9]。

Plk1 的另一个底物 Kizuna 对有丝分裂中中心体结构的维持起到重要作用。N. Oshimori 等研究发现,去除 Kizuna 或阻止 Plk1 对其的磷酸化会导致前中期中心体周围的物质的破碎和从中心体上的解离,最终导致纺锤体的多极化^[10]。

2.2 Plk1 控制有丝分裂的启动

Plk1 最重要的功能之一就是控制 Cyclin B1/Cdk1 复合物的活性推动 G2/M 期的转化。即 Plk1 是有丝分裂启动的关键调控因子。

Cdk1(Cyclin-dependent kinase 1)也叫 Cdc2 (Cell division cycle protein 2 homolog)也是一类高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。它与细胞周期蛋白 B1(CyclinB1)形成复合物后可以磷酸化多种底物,以推动有丝分裂的进程。因此,Cdk1 是有丝分裂进程中重要的促进因子。它受到一系列精密调控网络的调控,以防止其在 DNA 复制完成前被过早激活,否则基因组的完整性将会遭到破坏。在 G2 期,Wee1 和 Myt1 激酶会分别抑制磷酸化 Cdk1 的 Thr14 和 Tyr15,以确保 Cyclin B1/Cdk1 复合物保持在失活状态。当有丝分裂启动时,Plk1 一方面磷酸化激活正向调控因子 Cdc25,另一方面抑制磷酸化负向调控因子 Wee1 和 Myt1,从而激活 Cyclin B1/Cdk1 复合物,由此促进有丝分裂的启动^[8]。

在间期,Plk1 的 PBD 与激酶催化结构域相互作用,通过这种独特的构象调节,抑制其激酶活性。而 Plk1 的激活需要其激酶结构域 T 环(T-loop)上的 Thr210 被上游激酶 Aurora A 磷酸化。磷酸化后 PBD 便开始与磷酸化底物结合,激酶结构域得以脱离,从而发挥催化作用^[11]。与 Plk1 表达量的变化类似,细胞中 Aurora A 的水平在 G2 期增加,在 M 期的早期达到最大值^[12]。不过,Aurora A 必须与其共作用因子 Bora 结合后才能发挥作用。研究表明,在 G2 期,Bora 先与 Plk1 形成复合物,起到一个脚手架的作用,导致 Plk1 空间结构发生改变,使得 Aurora A 能够进入 Plk1 激酶结构域的 T 环上,磷酸化 Thr210,从而全面激活 Plk1 的活性^[13-15]。因此,Aurora A-Bora-Plk1 通路控制了 Cdk1 的激活,从而控制了有丝分裂的启动。

研究表明,细胞中 Bora 水平在 G2 期达到峰值,在进入 M 期前迅速下降,Plk1 在有丝分裂期的活性是怎么维持的?最近,B. Wytse 等^[16]的研究发现,一旦 Plk1 被激活后,极少量的 Bora 和 Aurora A 就足以维持 Plk1 的活性。因此 Bora-Aurora-A 复合物在有丝分裂中仍是 Plk1 主要的激活因子。虽然 Bora 与 Plk1 间相互作用的机制尚不清楚,但其很可能是由 Cdk1 依赖性的 Bora 的磷酸化启动的^[17]。这表明 Cdk1 的活性需要 Plk1 在 G2 期的激活启动,而 Plk1 的激活反过来也需要 Cdk1 的作

用。这种相互依赖、相互牵制的双向调节方式在细胞周期转变中很有必要,确保了细胞周期的不可逆性^[18]。

2.3 Plk1 促进染色体列队

在中期,Plk1 被多种蛋白募集到着丝粒-动粒复合体(Kinetochores/centromeres)上发挥作用。这些蛋白:Polo 盒反应蛋白 1(Polo-box interacting protein 1, PBIP1)、着丝粒内被蛋白(Inner centromere protein, INCENP)、纺锤体检测点(Spindle checkpoint)的组成之一 BubR1,以及有丝分裂检测激酶 Bub1 等^[8]。Plk1 通过与这些因子的相互作用,促进染色体列队(Chromosome alignment)。

2.4 Plk1 促进有丝分裂的退出

在 M 期末期,一系列有丝分裂事件都已完成。此时,两个姐妹染色单体已经分离至两个子细胞中,只差最后一步胞质分离,有丝分裂即可完成。此时,Plk1 也将发挥其在有丝分裂中最后一个作用,通过调控 APC/C 的活性,促进有丝分裂的退出。

有丝分裂的完成需要一系列调控因子,如 Cyclin B1 和 Securin 被降解,之后细胞将转入稳定的 G1 期^[19]。这些调控因子的降解需要 E3 泛素连接酶-APC/C (Anaphase-promoting complex or cyclosome)的作用。APC/C 首先被 Cdc20 激活,形成的 APC/C^{Cdc20} 复合物可以靶向标记含有 D 盒(Destruction box, D box)的蛋白,如 Securin,也可以导致 Cyclin B1 及其相关的 Cdk1 的降解,从而启动有丝分裂的退出。之后 Cdc20 会被降解,然后被 Cdh1 取代,这样可以扩大降解底物的范围。Emi1 是 M 期细胞中 APC/C 主要的抑制因子。在 M 期末期,Emi1 首先被 Cdk1/Cyclin B1 预磷酸化,之后便可被 Plk1 磷酸化。被 Plk1 磷酸化后,大量的 Emi1 便会与 Skp1-Cullin-F-box β -TRCP(SCF β -TRCP)泛素连接酶复合物结合,之后被降解,从而解除对 APC/C 的抑制。

此外,Plk1 还可以通过间接靶定 Cdc20,从而抑制 APC/C 的活性,激活纺锤体检测点信号通路,以确保 APC/C 的活性不被过早激活^[8,20-21]。

在胞质分裂中,Plk1 还控制着分裂沟(Cleavage furrow)的形成。此时,在其底物 Prcl 的作用下,Plk1 被募集到纺锤体的中间体上,通过其磷酸化作用激活下游信号通路,并启动胞质分裂^[22]。

3 Plk1 与 DNA 损伤应答

细胞时刻处于各种内源性和外源性不利因素的

威胁中,代谢通路中的副产物、应激、紫外线、有基因毒性的毒物等都有可能造成 DNA 损伤。一旦 DNA 损伤发生,细胞将失去其正常功能,并可能发生癌变。为了应对这种威胁,细胞进化出了一套精密复杂而又高度保守的损伤修复机制。

DNA 双链断裂(Double strand break, DSB)是由辐射等氧化应激所致的最常见的 DNA 损伤,也是 DNA 损伤中最严重的一种。当 DSB 发生时,细胞可以采取两种不同的修复机制。第一种是非同源末端连接途径(Non-homologous end-joining, NHEJ)。当采取此种修复方式时,DNA 双链的两个断端会直接被重新连接起来,其修复机制简单又不依赖 DNA 模板,可以发生在细胞周期的任一阶段。然而,它也可能错误地将不对称的 DNA 两个断端连接起来,从而导致基因错误或破坏原本序列的完整性^[23]。当采取 NHEJ 修复 DSB 时,首先需要两个感应蛋白 Ku70 和 Ku80 识别 DNA 损伤位点。之后,活化的 Ku 蛋白会将 DNA 蛋白激酶(DNA-protein kinase, DNA-PK)募集至 DNA 损伤位点。接着,DNA-PK 磷酸化其效应蛋白,特别是 DNA 连接酶 IV-XRCC4-XLF 复合物,将断裂 DNA 的两个断端连接起来^[24]。

另一种 DNA 损伤应答机制是同源重组(Homologous recombination, HR),其仅在 S 期和 G2 期发挥作用,却是正常细胞应对 DSB 的主要修复机制。与 NHEJ 不同,HR 修复途径具有 DNA 模板依赖性^[25]。DSB 发生时,数种细胞周期检测点蛋白会识别并聚集至 DNA 双链断端,激活磷酸肌醇-3 激酶样激酶(Phosphoinositidellike 3-kinase-telomerase, PIKK)家族的激酶,主要是共济失调-毛细血管扩张症突变(ATaxia-telangiectasia mutated, ATM)蛋白和 ATM 和 Rad3 相关蛋白(ATM and Rad3-related protein, ATR)。ATM 和 ATR 将 DNA 损伤信号传导到下游靶蛋白,包括检测点激酶(Checkpoint kinase, Chk)1 和 2 等,启动应激系统,产生细胞周期阻滞,从而完成 DNA 修复或启动细胞凋亡程序^[26-28]。

3.1 G2 期 Plk1 与 DNA 损伤应答

如前文所述,在有丝分裂启动时,Bora 先与 Plk1 结合,打开其空间结构,使得 Aurora A 能够进入 Plk1 激酶结构域的 T 环上,磷酸化 Thr210,从而全面激活 Plk1 的活性。当 G2 期的细胞 DNA 发生损伤时,G2/M 检测点发挥作用,使得 Plk1 失活,细

胞被阻滞在 G2 期^[1]。具体的作用机制: ATM/ATR 会直接磷酸化 Bora 的 Thr501, 磷酸化后的 Bora 会被 E3 泛素化连接酶 SCF- β -TRCP 识别并降解^[26]。一旦 Bora 被降解, Plk1 就无法被激活, 也无法激活 Cyclin B1/Cdk1 复合物, 细胞周期被阻滞在 G2 期。此外, 当 DNA 损伤发生时, ATM/ATR 激活 Ch1/Ch2。Ch1 和 Ch2 通过阻止 Cdc25 抑制性磷酸化位点的去磷酸化而使 Cdc25 失去催化活性, 使其失去活化 Cyclin B1/Cdk1 复合物的能力, 导致细胞周期的阻滞^[29]。

当 DNA 损伤修复完成后, 细胞周期的阻滞需要被解除, 细胞继续进入有丝分裂期。研究表明, Plk1 是控制这一过程的关键^[30]。当 DNA 损伤修复完成后, Plk1 重新被激活。Plk1 再激活 Cdc25, 重新启动有丝分裂^[29]。此外, 在进行 DNA 损伤修复时, ATR 激活后, 会磷酸化激活 Ch1, 在此磷酸化过程中需要一个协调蛋白(Adaptor protein)Claspin 将 ATR 与 Ch1 连接起来^[31]。当 Plk1 被激活后, 它会将 Claspin 磷酸化, 使其成为 SCF β -TRCP 的靶蛋白, 导致其泛素化之后被蛋白酶降解。

因此 ATR 无法激活 Ch1, 检测点机制终止, 细胞重新进入有丝分裂期^[32]。Plk1 介导的 Claspin 的降解对逆转 DNA 损伤造成的监测点细胞阻滞是必须的^[30]。

Plk1 不仅可以逆转 DNA 损伤导致的细胞阻滞, 还可以促进 DNA 修复。当采取 HR 修复机制时, Plk1 磷酸化感应蛋白 Rad51 (Radiation sensitive 51 homolog 1,) 的 Ser14, 导致其 Thr15 被 CK (Casein kinase)2 进一步磷酸化。双重磷酸化促使 Rad51 在损伤位点聚集, 并通过增加与 Nbs1 的相互作用, 辅助 HR 修复。尽管在 G2 期 DNA 损伤应答期间, Plk1 的活力是被抑制的, 但在修复启动的过程中需要 Plk1 的辅助。因此, 这提示损伤应答期细胞中仍有少量的有活性的 Plk1 存留, 具体的作用机制有待进一步研究^[33]。

3.2 M 期 Plk1 与 DNA 损伤应答

尽管与间期相比, M 期持续的时间极短, 但这并不影响其在有丝分裂中的重要地位。因为在 S 期完成复制的染色体, 此时要将携带的遗传信息分配至两个子细胞中。在有丝分裂期的任一时期发生 DNA 损伤都可能启动检测点, 导致有丝分裂阻滞。在正常情况下, Plk1 的活性在 M 期达到高峰。但当 DNA 损伤发生在 M 期时, ATM-Ch1-PP (Pro-

tein phosphatase)2A 途径会通过 pThr210 去磷酸化下调 Plk1 的活性, 导致有丝分裂阻滞, 从而进行损伤修复^[1]。严重的 DNA 损伤会导致包括 Plk1 在内的一系列激酶的失活, 使得细胞跳过有丝分裂后期过程及胞质分裂, 并发生核内复制 (Endoreplication), 产生 8n DNA 细胞, 最终通过细胞凋亡的方式被清除^[34]。

3.3 Plk1 与 p53 在 DNA 损伤应答中的相互作用

肿瘤抑制因子 p53 是 DNA 损伤检测点的重要调控因子。当 DNA 损伤发生时, ATM/ATR-Ch1/Ch2 磷酸化 Ser15 和 Ser20, 激活 p53。活化的 p53 通过调节下游蛋白 p21/waf1 等启动检测点, 导致细胞周期阻滞, 并启动 DNA 修复机制, 使损伤的 DNA 得以修复。当 DNA 损伤过度不能被修复时, p53 会诱导细胞凋亡。p53 功能异常可能导致肿瘤的形成^[35]。在 DNA 损伤发生时, p53 与 Plk1 相互拮抗, 共同作用, 以保证损伤的细胞及时修复, 被修复细胞的继续分化以及损伤过度, 无法修复细胞的凋亡。

DNA 损伤发生后, 除了通过 ATM/ATR 途径抑制 Plk1 的活性, p53 还可以在转录水平上抑制 Plk1 的表达。通过定位至 Plk1 的启动子上并与促进 Plk1 转录水平的 E2F1 结合形成 p52-E2F1-Plk1 启动子 DNA 复合体, p53 可以抑制 Plk1 基因的转录^[36]。此外, p53 还可以通过 p21/waf1 靶定 Plk1 启动子上的 CDE/CHR 序列, 或抑制转录因子 Fox (Forhead box protein)M1 的活性 (FoxM1 可以拮抗 p53 对 Plk1 的抑制作用) 间接抑制 Plk1 的活性^[37-38]。因此, p53 对 Plk1 的抑制作用促进了细胞周期阻滞, 以进行 DNA 损伤修复, 防止异常子代细胞的产生。

损伤修复完成后, Plk1 被重新激活, Plk1 可以通过若干机制抑制 p53 的活性, 促使监测点机制终止, 有丝分裂过程重新恢复。首先, Plk1 可以直接与 p53 的序列特异性 DNA 结合域 (Sequence specific DNA binding domain) 作用, 抑制其活性^[39]。第二, Mdm2 (Murine double minute 2) 是 p53 的一个重要负向调节因子, 它可以促使蛋白酶对 p53 的降解^[40]。Plk1 能够磷酸化 Mdm2 的 Ser260 从而促进 Mdm2 对 p53 的降解作用^[40]。第三, Topors (Topoisomerase 1 binding protein) 具有泛素和 SU-MO (Small ubiquitin modifier)-1 E3 连接酶的活性, Plk1 可以磷酸化 Topors 的 Ser718, 从而减少 p53

的 SUMO 化修饰,增加其泛素化修饰,从而促进 p53 的降解^[41]。此外,Plk1 还可以通过磷酸化 GTSE(G2 and S phase expressed protein)1 的 Ser435 促使其转运至细胞核。GTSE1 进入细胞核后即与 p53 结合,并将其转运出细胞核,从而有效阻止 p53 的功能,并促进细胞周期阻滞的恢复^[42]。

4 Plk1 与肿瘤

新近研究发现,在多种人类肿瘤中都观测到了 Plk1 的过量表达,包括乳腺癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、食道癌、头颈鳞状细胞癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌、口咽癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、乳头腺癌等^[43],并且,Plk1 的表达与不良预后密切相关,因而可以作为癌症进程的一个指标^[44]。将 Plk1 作为肿瘤基因治疗的靶点近年来广受关注。研究表明,使用 SiRNA 和小分子抑制剂阻断 Plk1 的表达或抑制其激酶活性,可以有效抑制肿瘤细胞增殖^[45]。Plk1 抑制剂作为抗癌药物的研发尽管已取得很大进展,但仍存在一些问题有待进一步研究,尚没有可以成功投入临床应用的药物出现。不过各 Plk1 的小分子抑制剂均表现出了高效低毒性,具有良好的靶向抗肿瘤应用前景^[11]。

另一方面,关于 Plk1 在肿瘤发生中的作用仍存在争议。因为 Plk1 只在增殖的细胞中表达,所以 Plk1 在肿瘤细胞中的过量表达可能只是肿瘤细胞大量增殖的结果,而不是肿瘤的成因。尽管 *Plk1* 在很大程度上被认为是促进细胞增殖和癌变的癌基因,也有文献报道 Plk1 可能具有抑制细胞增殖的作用。B. Choi 等研究表明,Plk1 在体内特异性磷酸化同源磷酸酶-张力蛋白(Phosphatase and tensin homolog,PTEN)的 Ser380,使得 PTEN 的稳定性增强,并促进其与染色体的结合,而 PTEN 是一个肿瘤抑制因子^[45]。此外,Plk1 在肿瘤细胞系 HepG2, A431、MKN74 以及 A549 的突变也被报道,提示该突变可能利于肿瘤细胞的表型转化^[46]。并且,有研究表明小鼠体内 Plk1 单倍剂量不足会促进肿瘤的发生^[47]。因此,Plk1 的生物学功能可能远比人们之前认识的要复杂。

5 Plk1 与胚胎早期发育

尽管大量研究工作集中于 Plk1 在细胞周期调控中的作用,Plk1 在胚胎早期发育中的作用却鲜有报道。受精卵早期发育机制的研究,尤其是 1-细胞

期向 2-细胞期转换,即 G2/M 期转换机制的研究一直是国际研究领域的难点和热点之一。L. Y. Lu 等利用 *Plk1* 基因敲除小鼠对 *Plk1* 在小鼠受精卵早期发育中的作用进行研究,结果表明,Plk1^{-/-} 小鼠胚胎在 8-细胞期之后就会死亡,表明 Plk1 对小鼠胚胎的早期发育是必须的^[47]。张哲使用 Plk1 shRNA 和 Plk1 的特异性抑制剂 scytomenin 抑制 Plk1 的生物学功能的方法也证明了这一点^[48]。K. Jeong 等以斑马鱼为对象进行试验,发现 Plk1 缺失会导致斑马鱼胚胎有丝分裂阻滞,并在受精后第 6 天死亡^[49]。由此可见,Plk1 是胚胎早期发育所必须的。这提示 Plk1 或许有促进胚胎卵裂、提高胚胎早期发育的潜力。

6 结 语

关于 Plk1 在细胞周期调控中作用的研究取得了一系列重大的突破,这些研究成果使人们对 Plk1 在一系列细胞周期事件中的作用机制有了更深刻的理解。与此同时,Plk1 在肿瘤发生和治疗相关领域的研究已成为了 Plk1 功能研究的新热点。考虑到 Plk1 促进胚胎卵裂的潜力,可以预见,随着 Plk1 的作用机制及其调控网络的进一步阐明,Plk1 将在胚胎早期发育领域显示出更广阔的应用前景,这或许也是未来 Plk1 功能研究的一个新方向。

参考文献(References):

- [1] SUNKEL C E, GLOVER D M. Polo, amitotic mutant of *Drosophila* displaying abnormal spindle poles[J]. *J Cell Sci*, 1988, 1(89): 25-38.
- [2] GUILLERMO C R, GERARD M, MARCOS M. From Plk1 to Plk5: Functional evolution of polo-like kinases [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(14): 2255-2262.
- [3] PARK J E, SOUNG N K, JUHMURA Y, et al. Polo-box domain: a versatile mediator of Polo-like kinase function [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(12): 1957-1970.
- [4] ELIA A E, RELLOS P, HAIRE L F. The molecular basis for phosphodependent substrate targeting and regulation of Plks by the Polo-box domain [J]. *Cell*, 2003, 115(1): 83-95.
- [5] NEEF R, GRUNEBERG U, KOPAJTICH R, et al. Choice of Plk1 docking partners during mitosis and cytokinesis is controlled by the activation state of Cdk1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(4): 436-444.
- [6] LIU Z X, REN J, CAO J, et al. Systematic analysis of

- the Plk-mediated phosphoregulation in eukaryotes [J]. *Briefings Bioinform*, 2013, 14(3):344-360.
- [7] PETRONCZKI M, LÉNÁRT P, PETERS J M. Polo on the rise—from mitotic entry to cytokinesis with Plk1 [J]. *Dev Cell*, 2008, 14(5):646-659.
- [8] STREBHARDT K. Multifaceted polo-like kinases: drug targets and antitargets for cancer therapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(8):643-660.
- [9] CASENGHI M, BARR F A, NIGG E A. Phosphorylation of Nlp by Plk1 negatively regulates its dynein-dynactin-dependent targeting to the centrosome [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118:5101-5108.
- [10] OSHIMORI N, OHSUGI M, YAMAMOTO T. The Plk1 target Kizuna stabilizes mitotic centrosomes to ensure spindle bipolarity [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(10):1095-1101.
- [11] 张 亮, 曹燕华, 卢 帅, 等. 靶向 Polo 样激酶 1 底物结合区: PBD1 抑制剂的研究进展 [J]. *药学学报*, 2013, 48(3):315-324.
- ZHANG L, CAO Y H, LU S, et al. Targeting the substrate binding domain of polo-like kinase 1: advances in the study of PBD1 inhibitors [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2013, 48(3):315-324. (in Chinese)
- [12] BARR A R, GERGELY F. Aurora-A: the maker and breaker of spindle poles [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(17):2987-2996.
- [13] MACÜREK L, LINDQVIST A, LIM D, et al. Polo-like kinase-1 is activated by Aurora A to promote checkpoint recovery [J]. *Nature*, 2008, 455(7209):119-123.
- [14] SEKI A, COPPINGER J A, JANG C Y, et al. Bora and the kinase Aurora A cooperatively activate the kinase Plk1 and control mitotic entry [J]. *Science*, 2008, 320(5883):1655-1658.
- [15] MACUREK L, LINDQVIST A, MEDEMA R H. Aurora-A and Bora join the game of polo [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(11):4555-4558.
- [16] WYTSE B, LIBOR M, RAIMUNDO F, et al. Bora and Aurora-A continue to activate Plk1 in mitosis [J]. *J Cell Sci*, 2014, 127:801-811.
- [17] CHAN E H, SANTAMARIA A, SILLJÉ H H, et al. Plk1 regulates mitotic Aurora A function through beta TrCP-dependent degradation of hBora [J]. *Chromosoma*, 2008, 117(5):457-469.
- [18] LINDQVIST A, RODRÍGUEZ-BRAVO V, MEDEMA R H. The decision to enter mitosis: feedback and redundancy in the mitotic entry network [J]. *J Cell Biol*, 2009, 185(2):193-202.
- [19] WÄSCH R, ENGELBERT D. Anaphase-promoting complex-dependent proteolysis of cell cycle regulators and genomic instability of cancer cells [J]. *Oncogene*, 2005, 24(1):1-10.
- [20] VAN LEUKEN R, CLIJSTERS L, WOLTHUIS R. To cell cycle, swing the APC/C [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1786(1):49-59.
- [21] AHONEN L J, KALLIO M J, DAUM J R, et al. Polo-like kinase1 creates the tension-sensing 3F3/2 phosphoepitope and modulates the association of spindle-checkpoint proteins at kinetochores [J]. *Curr Biol*, 2005, 15:1078-1089.
- [22] NEEF R, GRUNEBERG U, KOPAJTICH R, et al. Choice of Plk1 docking partners during mitosis and cytokinesis is controlled by the activation state of Cdk1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(4):436-444.
- [23] LIEBER M R. The mechanism of human nonhomologous DNA end joining [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(1):1-5.
- [24] CALSOU P, DELTEIL C, FRIT P, et al. Coordinated assembly of Ku and p460 subunits of the DNA-dependent protein kinase on DNA ends is necessary for XRCC4-ligase IV recruitment [J]. *J Mol Biol*, 2003, 326(1):93-103.
- [25] HELLEDAY T. Pathways for mitotic homologous recombination in mammalian cells [J]. *Mutat Res*, 2003, 532(1-2):103-115.
- [26] QIN B, GAO B, YU J, et al. Ataxia telangiectasia-mutated- and Rad3-related protein regulates the DNA damage-induced G2/M checkpoint through the Aurora A cofactor Bora protein [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288:16139-16144.
- [27] CICCIA A, ELLEDGE S J. The DNA damage response: making it safe to play with knives [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2):179-204.
- [28] 孙 佳, 李胜范, 郑丽丽. ATM/ATR 在 DNA 损伤反应中的作用 [J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2011, 6:1683-1686.
- SUN J, LI S F, ZHENG L L. The role of ATM/ATR in DNA damage response [J]. *Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition)*, 2011, 6:1683-1686. (in Chinese)
- [29] DONZELLI M, DRAETTA G F. Regulating mammalian checkpoints through Cdc25 inactivation [J]. *EMBO Rep*, 2003, 4(7):671-677.

- [30] VAN VUGT, BRÁS A, MEDEMA R H. Polo-like kinase-1 controls recovery from a G2 DNA damage-induced arrest in mammalian cells[J]. *Mol Cell*, 2004, 15(5):799-811.
- [31] KUMAGAI A, DUNPHY W G. Claspin, a novel protein required for the activation of Chk1 during a DNA replication checkpoint response in *Xenopus* egg extracts[J]. *Mol Cell*, 2000, 6(4):839-849.
- [32] MAMELY I, VAN VUGT M A, SMITS V A, et al. Polo-like kinase-1 controls proteasome-dependent degradation of Claspin during checkpoint recovery [J]. *Curr Biol*, 2006, 16(19):1950-1955.
- [33] YATA K, LLOYD J, MASLEN S, et al. Plk1 and CK2 act in concert to regulate Rad51 during DNA double strand break repair [J]. *Mol Cell*, 2012, 45(3):371-383.
- [34] HYUN S Y, ROSEN E M, JANG Y J. Novel DNA damage checkpoint in mitosis; Mitotic DNA damage induces re-replication without cell division in various cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res*, 2012, 423(3):593-599.
- [35] MEEK D W. Tumour suppression by p53: a role for the DNA damage response? [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(10):714-723.
- [36] ZHOU Z, CAO J X, LI S Y, et al. p53 Suppresses E2F1-dependent Plk1 expression upon DNA damage by forming p53-E2F1-DNA complex[J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(20):3104-3115.
- [37] LIN Y C, SUN S H, WANG F F. Suppression of Polo like kinase 1 (Plk1) by p21(Waf1) mediates the p53-dependent prevention of caspase-independent mitotic death[J]. *Cell Signal*, 2011, 23(11):1816-1823.
- [38] PANDIT B, HALASI M, GARTEL A L. p53 negatively regulates expression of FoxM1[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(20):3425-3427.
- [39] ANDO K, OZAKI T, YAMAMOTO H, et al. Polo-like kinase 1 (Plk1) inhibits p53 function by physical interaction and phosphorylation [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(24):25549-25561.
- [40] RILEY T. Transcriptional control of human p53-regulated genes[J]. *Cell Biol*, 2008, 9:402-412.
- [41] YANG X, LI H, ZHOU Z, et al. Plk1-mediated phosphorylation of Topors regulates p53 stability[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(28):18588-18592.
- [42] LIU X S, LI H, SONG B, et al. Polo-like kinase 1 phosphorylation of G2 and Sphase-expressed 1 protein is essential for p53 inactivation during G2 checkpoint recovery[J]. *EMBO Rep*, 2009, 11(8):626-632.
- [43] TRAVIS L S, MARK C L, NIHAL A. Modulating polo-like kinase 1 as a means for cancer chemoprevention[J]. *Pharm Res*, 2010, 27(6):989-998.
- [44] TAKAI N, HAMANAKA R, YOSHIMATSU J, et al. Polo-like kinases (Plks) and cancer[J]. *Oncogene*, 2005, 24(2):287-291.
- [45] CHOI B, PAGANO M, DAI W. Plk1 phosphorylates PTEN and regulates its mitotic activity during the cell cycle[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(20):14066-14074.
- [46] SIMIZU S, OSADA H. Mutations in the Plk gene lead to instability of Plk protein in human tumour cell lines [J]. *Nat Cell*, 2000, 2(11):852-854.
- [47] LU L Y, WOOD J L, MINTER-DYKHOUSE K, et al. Polo-like kinase 1 is essential for early embryonic development and tumor suppression [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(22):6870-6876.
- [48] 张 哲. Plk1 和 mTOR 激酶在小鼠受精卵早期发育中作用的研究[D]. 沈阳:中国医科大学, 2008.
- ZHANG Z. Involvement of Plk1 and mTOR in early development of mouse fertilized egg [D]. Shenyang: China Medical University, 2008. (in Chinese)
- [49] JEONG K, JEONG J Y, LEE H O, et al. Inhibition of Plk1 induces mitotic infidelity and embryonic growth defects in developing zebrafish embryos [J]. *Dev Biol*, 2010, 345(1):34-48.

(编辑 郭云雁)