

PER3 基因在消化系统肿瘤中的研究进展

何沂洋 王 红

摘 要 PER3 基因作为一种重要的昼夜节律基因,在许多生物的节律调控中起重要作用,其与生物的转录、修复等过程有关。目前许多研究结果显示,PER3 基因在消化系统肿瘤中表达下调,且高表达的 PER3 基因可抑制肿瘤的发生与发展,PER3 基因的异常表达可能与肿瘤的耐药性及预后有关。本文将对 PER3 基因与消化系统肿瘤的相关性做进一步阐明。

关键词 PER3 基因 昼夜节律 消化系统肿瘤

中图分类号 R735

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.11.046

昼夜节律特性普遍存在于哺乳动物中。昼夜节律系统控制着许多重要的生物学过程,其中包含细胞代谢和细胞增殖等功能^[1]。扰乱昼夜节律基因功能对人体健康有重大影响,可能导致睡眠障碍、抑郁症、胃肠道和心血管疾病等。此外,昼夜节律的紊乱可能与各种癌症发生率增加有关。有研究者发现 PER3 基因在消化系统肿瘤中有着抑制癌细胞发生、发展的作用,且与肿瘤的化学耐药性及预后有着紧密联系^[2]。

一、PER3 的功能

目前,人们在哺乳动物体内发现至少 10 种昼夜调节基因(包括 PER1、PER2、PER3、CLOCK、CRY、CRY2、Bmal1 等)^[3]。Period (PER) 基因家族在昼夜节律基因中扮演着重要角色,参与并形成昼夜节律的主反馈回路。在昼夜节律主反馈回路中,PER 和 CRY 蛋白质转移到 PER 蛋白质的细胞质中被 CKIε 磷酸化,PER 蛋白磷酸化后其稳定性降低,并被泛素化降解,CRY 蛋白促进 PER/CRY 复合物的形成,并重新进入细胞核,阻断 CLOCK/Bmal1 来抑制其自身的基因转录^[4]。PER3 基因来源于 Period 基因家族,研究发现它与生物的昼夜节律调控以及肿瘤发生、发展存在密切联系。研究者通过实验发现 PER1、PER2、PER3 和 DEC1 基因在人类外周血单核细胞中以一种类似昼夜节律方式表达出现,表明 PER3 基因可能是保持昼夜节律的一个重要因素^[5]。研究表明在 PER 蛋白(例如 PER1、PER2 或 PER3)缺乏或缺陷

的小鼠中,凋亡细胞的毒性减弱,导致肿瘤发生率和放射诱导肿瘤形成的易感性增加^[6,7]。有研究认为 PER3 基因是一种生物钟调控基因^[8]。Jun - Sub 等^[7]通过研究发现当 DNA 双链发生断裂或损伤时,激活 Chk2 蛋白需要 PER3 基因的帮助,当 PER3 基因表达上调时,Chk2 蛋白则被激活,以此来修复受损的 DNA。因此,当 DNA 受到损伤时,PER3 基因在修复其功能中可能发挥重要的作用,通过参与 DNA 的损伤修复来调控肿瘤的发生与发展。但是,PER3 基因在昼夜节律及肿瘤形成中的机制尚不明确。

二、PER3 与消化系统肿瘤

1. PER3 与肝癌:研究发现 PER3 基因在肝细胞癌的癌组织和结直肠癌肝转移患者中表达较低,表明 PER3 基因表达与肿瘤进展呈负相关,特别是与肝脏疾病相关的肿瘤。一项研究表明 PER3 基因在肝癌中的多态性表达可能有利于癌细胞的选择性存活^[9,10]。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是遗传中常见的变异形式之一,新的证据表明 SNP 有望作为替代生物遗传背景标志物来预测癌症患者的治疗效果和预后^[11]。Binyu 等^[12]发现昼夜节律基因的多态性可能与肝癌经导管动脉化疗栓塞治疗(TACE)的患者预后相关,他们对 337 例接受 TACE 治疗的肝癌患者进行了总体生存率分析,发现 PER3 基因中的 SNP rs2640908 与肝细胞癌患者的总体生存率显著相关,PER3 rs2640908 可作为接受 TACE 治疗的 I ~ III 期肝癌患者的独立预后标志物。Zhao 等^[13]也发现昼夜负反馈环的多态性基因可以作为接受根治性切除术的肝癌患者的独立的预后生物学标志物,通过评估 489 例接受根治性切除术的肝癌患者中 13 个对昼夜负反馈回路基因(PER1、Per2、PER3、CRY1 和 CRY2)有影响功能的 SNP 基

基金项目:贵州省科技计划项目[黔科合 SY 字(2013)3006 号];
贵州省科学技术基金资助项目[黔科合 J 字(2010)2172 号]

作者单位:563003 遵义医学院附属医院

通讯作者:王红,电子信箱:wanghong89zy@163.com

因,发现了 PER3 基因中的 SNPs rs228669、rs2640908 与肝癌的总体生存率及肝癌复发相关。生存树分析进一步表明,野生型 PER3 rs228729 是肝癌复发的主要风险因素。研究发现 SNPs 在基因表达调控、mRNA 降解和翻译、以及蛋白质结构中发挥重要作用,这可能影响蛋白质的生物学功能^[14]。有研究分析显示 SNP rs228729 位于 PER3 基因的转录因子结合区域,这可能会影响基因 mRNA 的表达,从而调控癌细胞中的蛋白质含量。正如预测的,PER3 rs228669 位于外显子剪接增强子(ESE)地带,这可能会影响 mRNA 的序列,从而使蛋白质结构与功能产生变化,但 SNPs 影响肝癌患者的预后的基本机制尚不清楚。

2. PER3 与结直肠癌:虽然结肠直肠癌症已被广泛研究,但潜在的分子机制尚不清楚。研究表明,PER3 基因在结直肠癌组织中的表达与正常黏膜组织相比显著下调,且 PER3 基因低表达与较差的生存率有关,结果表明 PER3 基因可能作为结直肠癌的肿瘤抑制因子^[15,16]。结直肠癌干细胞(colorectal cancer stem cells, CSCs)具有自我更新能力和分化的潜能,肿瘤干细胞理论从细胞水平解释肿瘤的产生机制,研究肿瘤干细胞在肿瘤中的作用是目前的研究热点。研究证实结直肠癌的 HCT-116 培养细胞富集于 CSCs,为建立 CSCs 模型提供了有效的依据^[17]。Feng 等^[18]建立了 HCT-116 细胞模型对 5-Fu(HCT-116/R)的耐药性菌株,结果显示 5-Fu 在 HCT-116/R 细胞中的半抑制浓度高于对照组 HCT-116 细胞,且 HCT-116/R 细胞中的 PER3 mRNA 和蛋白的水平与 HCT-116 细胞相比显著降低,PER3 基因在细胞中过表达,导致被 5-Fu 处理的 HCT-116 细胞活力降低以及自我更新减少,这些结果证实 PER3 基因的下调可能与结直肠癌化学耐药性和干性的获得有关。Notch 和 β -catenin 信号通路在 CSCs 维持中起重要作用,与 CSCs 的自我更新、分化、化学敏感度等有关,研究者通过分析检测发现 PER3 基因的过表达可能导致 Notch 和 β -catenin 信号在 HCT-116 细胞中的表达减少,从而降低 CSCs 的自我更新能力及化学耐药性,表明 PER3 基因可能通过抑制 Notch 和 β -catenin 信号通路的转导来抑制 CSCs 的化学耐药性和自我更新能力^[19-22]。有研究显示,结直肠癌患者癌组织中的 PER3 mRNA 水平低于正常组织。此外,还发现 PER3 表达涉及多种临床病理因素,包括肿瘤位置,分化和分期,而且 PER3 阴性的患者发生率更高,PER3 阳性患者整体生存率高于阴性肿瘤

患者^[23]。研究发现高表达的 miR-103 与结直肠癌患者预后不良有关,结直肠癌细胞的增殖和迁移由 miR-103 调节, Hong 等^[24]用慢病毒转染被 SW480 和 HCT-116 细胞,结果表明,过表达的 PER3 基因显著抑制癌细胞增殖及侵袭,促进 SW480 细胞和 HCT-116 细胞凋亡,PER3 基因作为肿瘤抑制因子在结直肠癌细胞中减少。另外,研究进一步验证了 miR-103 直接靶向作用于 PER3 基因,表明 PER3 基因是 miR-103 的靶基因,调控着结直肠癌的发生、发展^[24]。Alexander 等^[25]研究证实了 PER3 基因的串联重复序列(variable number tandem repeat, VNTR)多态性与结直肠腺癌之间的关系,他们发现了结直肠腺癌患者携带 PER3 5-VNTR 的概率比非腺癌者增加 2~5 倍,且携带 PER3 5-VNTR 的患者发生昼夜节律紊乱的概率将增加。以上实验证明了 PER3 基因对结直肠癌的发生、发展起着抑制作用,且影响着结直肠癌的化学敏感度及预后。

3. PER3 与胰腺癌:有研究证明,胰腺癌的发生、发展也与昼夜节律基因的失调有关。Relles 等^[26]选取了 65 例行胰腺癌肿瘤切除术的病例,采用蛋白印迹法检测 PER1、PER2、PER3 表达,发现其在胰腺癌肿瘤组织中的表达降低,然后根据基因表达水平将 65 例病例分为高表达组和低表达组,根据 2 年生存率统计发现,PER3 基因高表达组和低表达组两年生存率分别为 43.3%、24.3%,表明 PER3 基因下调与胰腺癌患者生存率相关。SIRT1 的异常表达是导致胰腺癌发生、发展的重要蛋白, Tavano 等^[27]评估了昼夜节律基因 PER1、PER2、PER3、CRY1、CRY2 等和被饥饿激活的组蛋白/蛋白脱乙酰酶 SIRT1 在 34 个匹配的肿瘤和非肿瘤胰腺癌患者组织标本中的表达,并在胰腺癌衍生细胞系中评估发现,饥饿可能导致 PER3 基因在胰腺癌中表达下调。PER3 基因可作为胰腺癌的肿瘤标志物,其下调与胰腺癌存在着密切关系。

4. PER3 与肝内胆管癌:肝门部胆管癌因其特殊的解剖位置,导致其诊断及治疗十分困难,所以肿瘤标志物的检测对诊断早期肝门部胆管癌具有很重要的参考价值^[28]。有研究证明,PER3 基因可作为多种肿瘤的肿瘤标志物。彭桦等^[29]的实验中,他们检测了 60 例肝内胆管癌患者肿瘤组织及癌旁组织中 PER3 蛋白的表达,发现 PER3 在癌旁组织中的阳性表达率高于肝内胆管癌组织,且肿瘤直径越大,其阳性表达率越低,以及在肿瘤组织中,有血管侵犯者

PER3 的阳性率低于无血管侵犯者,证明了 PER3 蛋白在肝内胆管癌组织中表达降低。这项研究结果表明肝内胆管癌的发生、发展可能与低表达的 PER3 基因有关。但其具体作用机制及在肝内胆管癌发展过程中的每个阶段所起作用仍需进一步深入研究。

5. PER3 与胃癌:我国是胃癌高发的国家之一,因起病初期缺乏典型临床表现,故在早期很难发现。因为昼夜负反馈回路基因在癌症发展中起重要作用,为了解 SNP 在负反馈回路基因中对胃癌患者的存活率的影响,Falin 等^[30]发现了在胃癌中 PER3 rs228729 的多态性和死亡风险存在着联系,但这项结果需要未来更大规模的临床病例研究来确认这种 SNP 对胃癌生存率的影响。该研究首次表明 PER3 rs228729 与胃癌患者的总体生存率相关,可成为独立预测胃癌预后的标志物。PER3 基因属于核心昼夜节律基因,参与癌症发生、发展,PER3 rs228729 对胃癌预后的影响也是令人感兴趣的,但是,目前还没有研究评估了解 PER3 rs228729 的分子功能,这需要进一步去探讨发现。

综上所述,昼夜节律的紊乱可能促进肿瘤的发生、发展,随着对 PER3 基因研究的不断深入,PER3 基因的调控作用及其在消化系统恶性肿瘤中的表现形式不断得到新的认识。PER3 作为一种肿瘤抑制因子,其下调可能导致结直肠癌、肝癌、胰腺癌等的发生,PER3 基因的多态性可影响肿瘤细胞对放化疗的敏感度,也与肿瘤的预后存在密切的联系。笔者推测当受到外界刺激昼夜节律出现紊乱时,PER3 修复 DNA 的功能可能也出现失调,从而导致昼夜反馈回路的异常,故造成了肿瘤的形成,当然具体机制还需要进一步研究。虽然目前对 PER3 基因在肿瘤中的作用机制尚不明确,但通过进一步对 PER3 基因在放化疗中的敏感度研究以及对预后的判断,PER3 基因可能成为消化道肿瘤的靶向治疗基因,并可通过调控 PER3 基因来治疗癌症。

参考文献

- 1 Loning F, Nicole MK. The circadian clock in cancer development and therapy[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2013, 119(3):221-282
- 2 Bin L, Ke X, Yufeng J, et al. Aberrant expression of Per1, Per2 and Per3 and their prognostic relevance in non-small cell lung cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(11):7863-7871
- 3 Eugene L, Po-Hsiu K, Yu-Li L, et al. Effects of circadian clock genes and health-related behavior on metabolic syndrome in a Taiwanese population: evidence from association and interaction analysis[J]. PLoS One, 2017, 12(3):1997-2005
- 4 Ray Z, Nicholas FL, Heather IB, et al. A circadian gene expression

- atlas in mammals: implications for biology and medicine [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(45):16219-1624
- 5 Benna C, Helfrich-forster C, Rajendran S, et al. Genetic variation of clock genes and cancer risk: a field synopsis and meta-analysis [J]. Oncotarget, 2017, 8(14):23978-23995
- 6 Yong W, Yunsheng C, Gang Y, et al. Expression of PER, CRY, and TIM genes for the pathological features of colorectal cancer patients [J]. Oncotargets Therapy, 2016, 9:1997-2005
- 7 Jun-Sub I, Bo-Hyeon J, Sang-Eun K, et al. Per3, a circadian gene, is required for Chk2 activation in human cells [J]. FEBS Lett, 2010, 584(23):4731-4734
- 8 Peiliang G, Juanjuan O, Jianjun L, et al. Genetic association between PER3 genetic polymorphisms and cancer susceptibility: a meta-analysis [J]. Medicine, 2015, 94(13):e568
- 9 Sande AH, Ali RA, Jan NMI, et al. Disruption of clock gene expression in human colorectal liver metastases [J]. Tumour Biol, 2016, 37(10):13973-13981
- 10 Oshima T, Takenoshita S, Akaike M, et al. Expression of circadian genes correlates with liver metastasis and outcomes in colorectal cancer [J]. Oncol Rep, 2011, 25(5):1439-1446
- 11 Isabelle CC, Julieta G, Diego M, et al. A new panel of SNPs to assess thyroid carcinoma risk: a pilot study in a Brazilian admixture population [J]. BMC Medical Genetics, 2017, 18(1):140
- 12 Binyu Z, Jianguo L, Jikai Y, et al. A functional polymorphism in PER3 gene is associated with prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. Liver International Official Journal of the International Association for the Study of the Liver, 2012, 32(9):145-149
- 13 Zhaohui Z, Fei M, Feng Z, et al. Functional polymorphisms of circadian negative feedback regulation genes are associated with clinical outcome in hepatocellular carcinoma patients receiving radical resection [J]. Med Oncol, 2014, 31(12):179
- 14 Mik M, Dziki L, Malinowska K, et al. Polymorphism of MSH2 Gly322Asp and MLH1 -93G>A in non-familial colon cancer - a case-controlled study [J]. Arch Med Sci, 2017, 13(6):1295-1302
- 15 Karantanos T, Theodoropoulos G, Pektasides D, et al. Clock genes: their role in colorectal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 28, 20(8):1986-1992
- 16 Karantanos T, Theodoropoulos G, Gazouli M, et al. Association of the clock genes polymorphisms with colorectal cancer susceptibility [J]. J Surg Oncol, 2013, 108(8):563-567
- 17 Eunkyung C, Inkyung O, Yeon Lk, et al. Characterization of sphere-forming HCT116 clones by whole RNA sequencing [J]. Ann Surg Treat Res, 2016, 90(4):183-193
- 18 Feng Z, Hong S, Sai Z, et al. Overexpression of PER3 inhibits self-renewal capability and chemoresistance of colorectal cancer stem-like cells via inhibition of notch and β -catenin signaling [J]. Oncol Res, 2016, 25(5):709-719
- 19 Borah A, Raveendran S, Rochani A, et al. Targeting self-renewal pathways in cancer stem cells: clinical implications for cancer therapy [J]. Oncogenesis, 2015, 4(11):e177

- 20 Wei Z, Xiangdong M, Wei H, *et al.* Caveolin-1 mediates chemoresistance in cisplatin-resistant ovarian cancer cells by targeting apoptosis through the Notch-1/Akt/NF-kappaB pathway [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(6): 3256-3263
 - 21 Mohammed MK, Shao C, Wang J, *et al.* Wnt/beta-catenin signaling plays an ever-expanding role in stem cell self-renewal, tumorigenesis and cancer chemoresistance [J]. *Genes Dis*, 2016, 3(1): 11-40
 - 22 Hye-Jin D, Gyu-Beom J, Hwa-Yong L, *et al.* The Wnt/beta-catenin signaling/Id2 cascade mediates the effects of hypoxia on the hierarchy of colorectal-cancer stem cells [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22966
 - 23 Xiaoling W, Dongwang Y, Mujian T, *et al.* Reduced expression of PER3 is associated with incidence and development of colon cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(9): 3081-3088
 - 24 Hong Z, Feng Z, Sai Z, *et al.* PER3, a novel target of miR-103, plays a suppressive role in colorectal cancer in vitro [J]. *Bmb Rep*, 2014, 47(9): 500-505
 - 25 Alexander M, Burch JB, Steck SE, *et al.* Case-control study of the PERIOD3 clock gene length polymorphism and colorectal adenoma formation [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(2): 935-941
 - 26 Relles D, Sendecki J, Chipitsyna G, *et al.* Circadian gene expression and clinicopathologic correlates in pancreatic cancer [J]. *J Gastrointest Surg*, 2013, 17(3): 443-450
 - 27 Tavano F, Paziienza V, Fontana A, *et al.* SIRT1 and circadian gene expression in pancreatic ductal adenocarcinoma: effect of starvation [J]. *Chronobiol Int*, 2015, 32(4): 1-16
 - 28 Cheng QB, Yi B, Wang JH, *et al.* Resection with total caudate lobectomy confers survival benefit in hilar cholangiocarcinoma of Bismuth type III and IV [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2012, 38(12): 1197-1203
 - 29 彭桦, 何前进, 柳湘洁, 等. 生物钟基因 Per 家族在肝内胆管癌组织中的表达及意义 [J]. *山东医药*, 2015, 55(26): 50-52
 - 30 Falin Q, Qing Q, Nan W, *et al.* Genetic polymorphisms in circadian negative feedback regulation genes predict overall survival and response to chemotherapy in gastric cancer patients [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22422
- (收稿日期: 2018-01-24)
(修回日期: 2018-03-09)
-
- (上接第 204 页)
- 9 Yu Z, Wang Y, Qin L, *et al.* Functional cooperation between KCa3.1 and TRPV4 channels in bronchial smooth muscle cell proliferation associated with chronic asthma [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 25(8): 559-572
 - 10 Deng H, Hershenson MB, Lei J, *et al.* p70 Ribosomal S6 kinase is required for airway smooth muscle cell size enlargement but not increased contractile protein expression [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 42(6): 744-752
 - 11 Ma L, Brown M, Kogut P, *et al.* Akt activation induces hypertrophy without contractile phenotypic maturation in airway smooth muscle [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 300(5): L701-709
 - 12 Tran T, McNeill KD, Gerthoffer WT, *et al.* Endogenous laminin is required for human airway smooth muscle cell maturation [J]. *Respir Res*, 2006, 7(1): 117-132
 - 13 Boser SR, Mauad T, Araújo-Paulino BB, *et al.* Myofibroblasts are increased in the lung parenchyma in asthma [J]. *PloS One*, 2017, 12(8): 0182378-0182392
 - 14 Alalwan LA, Chang Y, Rousseau S, *et al.* CXCL1 inhibits airway smooth muscle cell migration through the decoy receptor Duffy antigen receptor for chemokines [J]. *J Immunol*, 2014, 193(3): 1416-1426
 - 15 Wang Q, Li H, Yao Y, *et al.* HB-EGF-promoted airway smooth muscle cells and their progenitor migration contribute to airway smooth muscle remodeling in asthmatic mouse [J]. *J Immunol*, 2016, 196(5): 2361-2367
 - 16 Doeing DC, Solway J. Airway smooth muscle in the pathophysiology and treatment of asthma [J]. *J Appl Physiol*, 2013, 114(7): 834-843
 - 17 Leclerc M, Lavoie-Lamoureux A, Gelinis-Lymburner E, *et al.* Effect of antigenic exposure on airway smooth muscle remodeling in an equine model of chronic asthma [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(1): 181-187
 - 18 Ding MJ, Wang LX, Dai YR. Changes of airway smooth muscle cell apoptosis in asthmatic airway remodeling and the effect of dexamethasone in rats [J]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*, 2008, 31(8): 607-610
 - 19 Mebratu YA, Schwalm K, Smith KR, *et al.* Cigarette smoke suppresses bik to cause epithelial cell hyperplasia and mucous cell metaplasia [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(11): 1531-1538
 - 20 Chen P, Qiu Z, Huang G, *et al.* Anti-miR-145 promotes human airway smooth muscle cell proliferation and osteopontin synthesis in vitro [J]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao*, 2015, 35(7): 1073-1075
 - 21 Perry MM, Durham AL, Austin PJ, *et al.* BET bromodomains regulate transforming growth factor-beta-induced proliferation and cytokine release in asthmatic airway smooth muscle [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(14): 9111-9121
 - 22 Yeganeh B, Mukherjee S, Moir LM, *et al.* Novel non-canonical TGF-beta signaling networks: emerging roles in airway smooth muscle phenotype and function [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2013, 26(1): 50-63
 - 23 Chen G, Khalil N. TGF-beta 1 increases proliferation of airway smooth muscle cells by phosphorylation of map kinases [J]. *Respir Res*, 2006, 3(7): 2-12
 - 24 Chen M, Lv Z, Huang L, *et al.* Triptolide inhibits TGF-beta1-induced cell proliferation in rat airway smooth muscle cells by suppressing Smad signaling [J]. *Exp Cell Res*, 2015, 331(2): 362-368
- (收稿日期: 2018-01-19)
(修回日期: 2018-01-20)