

## 鸟氨酸脱羧酶抗酶基因功能的研究进展

刘津津<sup>1</sup>, 柯赛赛<sup>1</sup>, 何 琿<sup>1</sup>, 姜冬梅<sup>1</sup>, 胡熙璟<sup>2</sup>, 康 波<sup>1\*</sup>

(1. 四川农业大学 动物科技学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川农业大学 动物医学院, 四川 雅安 625014)

**摘要:** 鸟氨酸脱羧酶抗酶(OAZ)具有调控细胞多胺代谢、诱导细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖的功能。近年来研究发现,鸟氨酸脱羧酶抗酶在动物繁殖过程中也具有重要调控作用。就鸟氨酸脱羧酶抗酶基因功能的研究现状做一综述,为进一步深入研究 OAZ 功能提供帮助。

**关键词:** 鸟氨酸脱羧酶抗酶; 多胺代谢; 细胞增殖; 繁殖

**中图分类号:** Q78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)01-0015-03

## Progress in Functional Researches on Ornithine Decarboxylase Antizyme Gene

LIU Jin-jin<sup>1</sup>, KE Sai-sai<sup>1</sup>, HE Hui<sup>1</sup>, JIANG Dong-mei<sup>1</sup>, HU Xi-xun<sup>2</sup>, KANG Bo<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;

2. College of Animal Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

**Abstract:** Ornithine decarboxylase antizyme plays important roles in regulating the processes of polyamine metabolism, apoptosis, and cell proliferation. Recent studies have shown that ornithine decarboxylase antizyme may regulate the reproduction function in mammal and poultry. Therefore, the progress in researches on ornithine decarboxylase antizyme gene functions was reviewed in this paper.

**Key words:** ornithine decarboxylase antizyme; polyamine metabolism; cell proliferation; reproduction

多胺在细胞周期、基因表达、胚胎发育、细胞生长及分化上起着重要作用<sup>[1]</sup>。鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC)是多胺代谢途径的限速酶,其活性可在转录、翻译和翻译后水平方面被精确调控。鸟氨酸脱羧酶抗酶(ornithine decarboxylase antizyme, OAZ)是由 OAZ 基因通过特殊的阅读框移码机制翻译的蛋白质,可以连接到 ODC 蛋白上,抑制 ODC 的催化活性并靶向地促使 26S 蛋白酶体降解 ODC,在翻译后水平调节 ODC 活性,进而负调控细胞内多胺含量<sup>[2]</sup>。目前,已发现的 OAZ 家族成员有 4 种,其中 OAZ1 和 OAZ2 具有酶抑制剂和鸟氨酸脱羧酶调节活性;OAZ3 是精子特异性表达的抗酶<sup>[3]</sup>;OAZ4 从人脑 cDNA 文库中克隆获得,但其结构和功能尚不十分清楚<sup>[4]</sup>。研究表明,OAZ 除具有调节多胺代谢的功

能外,还对动物机体的免疫系统产生影响。就 OAZ 基因功能的新近研究进展做一综述,旨在为进一步深入研究 OAZ 功能提供帮助。

### 1 OAZ 参与调控多胺代谢

OAZ 通过 2 条途径降低细胞内多胺的浓度:第 1 条途径是通过非泛素依赖性机制和泛素依赖性机制直接抑制 ODC 的催化活性。在非泛素依赖性机制中,OAZ 与底物分子 ODC 结合形成 OAZ-ODC 复合物,运输至胞浆后使 ODC 被 26S 蛋白酶体降解。但 OAZ 本身不含蛋白酶体的识别位点,它与 ODC 特异性结合后使 ODC 构象发生改变,ODC 与蛋白酶体的亲和力显著增强,降解速度可提高 8 倍,半衰期由原来的 1 h 变为 10 min<sup>[5]</sup>。而在泛素依赖性机制中,

收稿日期:2012-08-28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31201798);四川农业大学动物类实验教学示范中心资助项目;高等学校博士学科点专项科研基金项目(20105103120003)

作者简介:刘津津(1988-),男,河北保定人,在读本科生,研究方向:动物繁殖生理学。E-mail:157046207@qq.com

\* 通讯作者:康 波(1978-),男,黑龙江林口人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事动物繁殖生理学研究。

E-mail: albertkb119@yahoo.com.cn

OAZ 以共价键形式结合多个泛素分子,形成靶蛋白多聚泛素链,即泛素化后再输送到 26S 蛋白酶体上被消化降解<sup>[6]</sup>。第 2 条途径是 OAZ 通过调控细胞膜上多胺转运载体蛋白的表达及其活性,进而抑制细胞从外环境摄取多胺<sup>[7-8]</sup>。多胺转运体同时也是多胺类似物等抗肿瘤药物进入细胞的通道。多胺类似物类进入细胞后,能诱导细胞合成功能性的 OAZ1,并抑制 OAZ1 的降解,但 OAZ1 水平上升能反馈性抑制多胺转运体生成,从而限制多胺类似物在胞内的积累,降低其抗肿瘤效应<sup>[9-11]</sup>,这成为制约多胺类似物抗肿瘤效应的瓶颈之一。

OAZ1、OAZ2 和 OAZ3 均具有调控多胺代谢的功能。OAZ1 几乎在所有组织中均表达,是目前研究最为深入的一种 OAZ 基因。在离体和在体条件下,OAZ1 均能抑制 ODC 活性,促使 ODC 降解<sup>[12]</sup>,并能调节多胺转运。OAZ2 的分布及功能与 OAZ1 相似,但 mRNA 表达量较低。OAZ3 特异性分布于精巢,它在精子发生的中期开始表达、后期达到高峰,而在成熟精子中不表达,与 ODC 表达峰相一致<sup>[13]</sup>,这说明 OAZ3 和 ODC 协同调节多胺水平以维持精子的发生。当 OAZ3 的表达量远大于 ODC 时,才能抑制 ODC 的活性,但抑制能力很差,且不能促进 ODC 的降解。此外,OAZ3 可能通过阻止 ODC 与 OAZ1 的相互作用而对 ODC 起到稳定作用。与 OAZ1 和 OAZ2 相似,OAZ3 能够有效抑制抗酶抑制剂 1 和 2 的泛素依赖性降解,以及抑制多胺的吸收<sup>[14]</sup>。因此,OAZ 基因可通过调控 ODC 的生物活性来调控细胞内多胺的代谢。

## 2 OAZ 参与调控细胞周期和细胞增殖

研究发现,ODC 活性在细胞周期中呈两阶段性,一是 G1 晚期,二是在 G2 期。OAZ 对 ODC 活性的抑制在 G1/S 转变期影响较小,而对 G2/M 的转变有更大影响。刘梦瑶等<sup>[15]</sup>研究表明,OAZ1 和 OAZ2 高表达可使 B16—F1 细胞生长阻滞于 G0/G1 期,OAZ2 虽无促进 ODC 降解的能力,但仍同 OAZ1 一样能显著影响 G0/G1 期。Newman 等<sup>[6]</sup>研究发现,OAZ1 与 Cyclin D1 在细胞内的浓度呈相反趋势,OAZ1 除了能够与 ODC 结合后使之降解,还能够与细胞周期素 Cyclin D1 结合,并使之被蛋白酶降解,从而干扰 Cyclin D1 与 CDK 的结合,使后者催化性的蛋白激酶活性降低,造成 Rb 蛋白磷酸化降低,使细胞停止于 G1 期。细胞无法越过调控点进入 S 期,使细胞周期受到抑制。Feith 等<sup>[16]</sup>通过转基因小鼠研究 OAZ 时发现,由 K5 或 K6 启动子诱导的 K14—MEK 转基因鼠 OAZ 过表达时,可使 K14—MEK 转基因鼠在 8 周内

肿瘤数目(1 个/只)明显低于同龄的 MEK 鼠(13 个/只),并且转基因鼠肿瘤的生长率较慢,大大延迟了肿瘤的形成,其主要表现为 S 期细胞减少和 M 期细胞大比例减少,使细胞周期中的 G2 期相应延长。另外,OAZ 对细胞凋亡也具有一定的调控作用。人白血病 HL260 细胞、急性 T 白血病 Jur2bat 细胞及小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 中高表达的 OAZ1 cDNA 可以促进细胞凋亡,而小鼠 NIH3T3 细胞中,当 OAZ1 活性被抑制后,细胞生长加速<sup>[17]</sup>。Liu 等<sup>[18]</sup>研究表明,高水平 OAZ1 可进入线粒体中促使 Bax 蛋白升高、Bcl—2 和 Bcl—x1 下降、线粒体膜电位下降、细胞色素 C 进入细胞质、caspase—3 和 caspase—9 活性升高,进而诱导细胞凋亡。

## 3 OAZ 参与调控动物繁殖

目前,有关 OAZ 对动物繁殖功能调控的研究主要集中在 OAZ3 对精子发生的影响方面。Ike 等<sup>[19]</sup>研究表明,OAZ3 的 mRNA 在睾丸干细胞中表达,而 OAZ3 蛋白表达在精子形成阶段早期表达,终止于精子形成后晚期,表明 OAZ3 主要参与精子发生过程。对转基因鼠的研究结果表明,过表达 ODC 转基因鼠的多胺合成显著增加,但是几乎没有成熟的精子,说明 ODC 对精子发育具有重要的调控作用<sup>[20-21]</sup>。Tosaka 等<sup>[22]</sup>研究表明,精子发育过程中 ODC 表达显著升高,而在 ODC 高表达之后 OAZ3 的表达量也显著升高。这些研究表明,OAZ3 通过调控 ODC 活性和细胞内多胺水平来参与调控精子生成的过程。另外,近年来的研究表明,OAZ1 也参与动物繁殖功能的调控。Kang 等<sup>[23]</sup>研究表明,在产蛋期籽鹅卵巢组织中 OAZ1 表达上调,并推测高水平的 OAZ1 可抑制 ODC 活性,从而通过抑制多胺的生物合成调控卵泡细胞的发育,这可能是影响鹅产蛋性能的重要因素之一。An 等<sup>[24]</sup>在筛选奶山羊产羔性状基因的研究中发现,多胎奶山羊卵巢组织中 OAZ1 表达水平高于单胎奶山羊卵巢组织,推测 OAZ1 可能对奶山羊的卵泡发育、排卵等过程具有促进作用。另外,OAZ1 可结合 Smad1/4 通过调控骨形态发生蛋白(bone-morphogenetic protein,BMP)刺激物的强度和持续时间调控 BMP 信号转导途径中的转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor $\beta$ ,TGF $\beta$ ),进而调节卵泡的生长发育<sup>[25-26]</sup>。因此,OAZ1 可能参与调控动物的卵泡发育和排卵过程,进而参与调控动物的繁殖过程。

综上所述,OAZ 具有调控细胞内多胺代谢、细胞凋亡和细胞增殖以及动物繁殖过程的功能。目前,关于 OAZ 调控细胞多胺代谢、细胞凋亡和细胞增殖方面

的研究较多,而有关 OAZ 调控动物繁殖功能的研究报道较少,其内在分子调控机制仍不清楚。因此,进一步开展 OAZ 在动物繁殖功能方面的研究将有助于对 OAZ 家族基因功能的最终阐释。

#### 参考文献:

- [1] Wallace H M, Fraser A V, Hughes A. A perspective of polyamine metabolism[J]. The Biochemical Journal, 2003, 376(1):1-14.
- [2] Coffino P. Regulation of cellular polyamines by antizyme [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2001, 2(3): 188-194.
- [3] Petros L M, Howard M T, Gesteland R F, *et al.* Polyamine sensing during antizyme mRNA programmed frameshifting [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 338(3):1478-1489.
- [4] Ivanov I P, Gesteland R F, Atkins J F. Antizyme expression: A subversion of triplet decoding, which is remarkably conserved by evolution, is a sensor for an autoregulatory circuit [J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(17): 3185-3196.
- [5] Zhang M, Pickart C M, Coffino P. Determinants of proteasome recognition of ornithine decarboxylase, a ubiquitin-independent substrate [J]. The EMBO Journal, 2003, 22(7):1488-1496.
- [6] Newman R M, Mobascher A, Mangold U, *et al.* Antizyme targets cyclin D1 for degradation. A novel mechanism for cell growth repression [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(40):41504-41511.
- [7] Verjovski-Almeida S, Demarco R, Martins E A, *et al.* Transcriptome analysis of the acoelomate human parasite *Schistosoma mansoni* [J]. Nature Genetics, 2003, 35(2): 148-157.
- [8] Zhou Z, Hu X, Huang Y, *et al.* Molecular cloning and identification of a novel *Clonorchis sinensis* gene encoding a tegumental protein [J]. Parasitology Research, 2007, 101(3):737-742.
- [9] Mitchell J L, Thane T K, Sequeira J M, *et al.* Unusual aspects of the polyamine transport system affect the design of strategies for use of polyamine analogues in chemotherapy [J]. Biochemical Society Transactions, 2007, 35(2):318-321.
- [10] Mitchell J L, Simkus C L, Thane T K, *et al.* Antizyme induction mediates feedback limitation of the incorporation of specific polyamine analogues in tissue culture [J]. The Biochemical Journal, 2004, 384(2):271-279.
- [11] Mitchell J L, Thane T K, Sequeira J M, *et al.* Antizyme and antizyme inhibitor activities influence cellular responses to polyamine analogs [J]. Amino Acids, 2007, 33(2): 291-297.
- [12] Chen H, Macdonald A, Coffino P. Structural elements of antizymes 1 and 2 are required for proteasomal degradation of ornithine decarboxylase [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(48):45957-45961.
- [13] Ivanov I P, Rohrwasser A, Terreros D A, *et al.* Discovery of a spermatogenesis stage-specific ornithine decarboxylase antizyme; antizyme 3 [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000, 97(9):4808-4813.
- [14] Snapir Z, Keren-Paz A, Bercovich Z, *et al.* Antizyme 3 inhibits polyamine uptake and ornithine decarboxylase (ODC) activity, but does not stimulate ODC degradation [J]. The Biochemical Journal, 2009, 419(1):99-103.
- [15] 刘梦瑶, 韩钰, 蔡富强, 等. 鸟氨酸脱羧酶抗酶融合蛋白高表达对小鼠黑色素瘤细胞 B16-F1 细胞周期的影响 [J]. 免疫学杂志, 2011, 27(8):662-665, 682.
- [16] Feith D J, Origanti S, Shoop P L, *et al.* Tumor suppressor activity of ODC antizyme in MEK-driven skin tumorigenesis [J]. Carcinogenesis, 2006, 27(5):1090-1098.
- [17] Keren-Paz A, Bercovich Z, Porat Z, *et al.* Overexpression of antizyme-inhibitor in NIH3T3 fibroblasts provides growth advantage through neutralization of antizyme functions [J]. Oncogene, 2006, 25(37):5163-5172.
- [18] Liu G Y, Liao Y F, Hsu P C, *et al.* Antizyme, a natural ornithine decarboxylase inhibitor, induces apoptosis of haematopoietic cells through mitochondrial membrane depolarization and caspases' cascade [J]. Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death, 2006, 11(10):1773-1788.
- [19] Ike A, Yamada S, Tanaka H, *et al.* Structure and promoter activity of the gene encoding ornithine decarboxylase antizyme expressed exclusively in haploid germ cells in testis (OAZt/Oaz3) [J]. Gene, 2002, 298(2):183-193.
- [20] Hakovirta H, Keiski A, Toppari J, *et al.* Polyamines and regulation of spermatogenesis: selective stimulation of late spermatogonia in transgenic mice overexpressing the human ornithine decarboxylase gene [J]. Mol Endocrinol, 1993, 7(11):1430-1436.
- [21] Christensen G L, Ivanov I P, Wooding S P, *et al.* Identification of polymorphisms and balancing selection in the male infertility candidate gene, ornithine decarboxylase antizyme 3 [J]. BMC Medical Genetics, 2006, 7:27.
- [22] Tosaka Y, Tanaka H, Yano Y, *et al.* Identification and characterization of testis specific ornithine decarboxylase antizyme (OAZ-t) gene; expression in haploid germ cells and polyamine-induced frameshifting [J]. Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms, 2000, 5(4): 265-276.
- [23] Kang B, Guo J R, Yang H M, *et al.* Differential expression profiling of ovarian genes in prelaying and laying geese [J]. Poultry Science, 2009, 88(9):1975-1983.
- [24] An X P, Hou J X, Li G, *et al.* Analysis of differentially expressed genes in ovaries of polycous versus monotocous dairy goats using suppressive subtractive hybridization [J]. Reproduction in Domestic Animals Zuchthygiene, 2012, 47(3):498-503.
- [25] Hayashi T, Matsufuji S, Hayashi S. Characterization of the human antizyme gene [J]. Gene, 1997, 203(2):131-139.
- [26] Hoffman D W, Carroll D, Martinez N, *et al.* Solution structure of a conserved domain of antizyme: A protein regulator of polyamines [J]. Biochemistry, 2005, 44(35): 11777-11785.