

Bcl-w 在肿瘤发生发展中的作用

潘 麒, 张连华, 杨国良, 薄隽杰

(上海交通大学医学院附属仁济医院, 上海 200127)

摘要: Bcl-2 家族在肿瘤的发生发展中具有重要作用并在很大程度上决定了肿瘤对放化疗的敏感性。研究表明 Bcl-w 在膀胱癌的发生发展过程中起到重要作用。文章从下游效应和上游调控两个方面对 Bcl-w 在肿瘤中的研究进展作一综述。

关键词: Bcl-2; Bcl-w; 细胞凋亡; 侵袭; 肿瘤转移; 膀胱肿瘤

中图分类号: R737.14 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2014)10-0838-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.10.B012

The Role of Bcl-w in Carcinogenesis

PAN Qi, ZHANG Lian-hua, YANG guo-liang, et al.

(Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China)

Abstract: The Bcl-2 family proteins play an important role in carcinogenesis, and influence the radiochemosensitivity of cancer. Recent research indicates that Bcl-w plays an important role in carcinogenesis of bladder cancer. The downstream effect and upstream regulation of Bcl-w in cancer are reviewed in this article.

Subject words: Bcl-2; Bcl-w; cell apoptosis; invasion; neoplasm metastasis; bladder neoplasms

1 Bcl-2 蛋白家族

Bcl-2 基因最初在发生 14 号、18 号染色体易位的 B 细胞滤泡性淋巴瘤中被发现^[1], 易位造成 Bcl-2 基因位于免疫球蛋白重链基因的启动子和增强子的控制下, 转录活性明显增强。Bcl-2 家族主要包含两大结构域: Bcl-2 同源结构域 1-4(BH1-4) 和位于羧基端的跨膜结构域(TM), 是 Bcl-2 家族成员发挥功能的结构基础。

经典的 Bcl-2 蛋白家族可以分为 3 大类^[2,3]: 第一类抑制凋亡, 包括 Bcl-2、Bcl-XL/s、Bcl-w、Mcl-1 等, 具有 BH1-4 和羧基端 TM 结构域; 第二类促进凋亡, 包括 Bax 和 Bak, 包含结构域和第一类相比, 缺少 BH4; 第三类促进凋亡, 包括 Bim、Bid、Bad、Puma 等, 仅包含 BH3 结构域, 能够和第一类抑制凋亡的 Bcl-2 家族的 BH3 结合形成异二聚体, 促进凋亡。

2 Bcl-w 基因和编码蛋白

Bcl-w 属于 Bcl-2 家族成员中抗凋亡蛋白, 在 1996 年由 Gibson 等^[4]首次发现, 基因位于人染色体 14q11, 在人和鼠之间高度保守。编码蛋白由 193 个氨基酸组成, 和 Bcl-2 家族其他成员(Bcl-2、Bcl-XL、Mcl-1 等)之间具有高度同源性, 包含 BH1-4 和 TM 结构域。Bcl-w 主要位于线粒体, 以外周膜蛋白形式存在^[5], 在正常细胞中和线粒体外膜结合, 在凋亡过程中插入线粒体膜结构中。Bcl-w 广泛高表达于脑、脊髓、睾丸、胰腺、心肌、脾和乳腺等组织, 在唾液腺、肌肉、肝脏等组织中表达阴性^[5]。

3 Bcl-w 和肿瘤细胞的凋亡

Bcl-w 作为抗凋亡 Bcl-2 亚类的一员, 抗凋亡的分子结构基础类似^[2]。在正常细胞中, 抗凋亡 Bcl-2 亚类蛋白通过结构域 BH1、BH2、BH3 竞争性地同 Bax 或 Bak 形成异二聚体, 阻止 Bax、Bak 同二聚体的形成, 从而发挥抗凋亡的效应。当细胞受到死亡刺

基金项目: 上海市科委基础研究项目(12ZR1417700)

通讯作者: 薄隽杰, 上海交通大学医学院附属仁济医院泌尿外科, 主任医师, 博士生导师; 上海市山东中路 145 号(200127); E-mail: bojuanjie@yeah.net

收稿日期: 2013-10-10; **修回日期:** 2013-11-12

激时,胞浆内仅含 BH3 的 Bcl-2 家族成员 Bim、Bid、Bad、Puma 等水平升高,通过与抗凋亡 Bcl-2 亚类蛋白结合,将 Bax 和 Bak 从异二聚体上解离下来,线粒体膜上高浓度的 Bax 和 Bak 形成具有促凋亡效应同二聚体。

在 *Bcl-w* 敲除的转基因小鼠中发现,*Bcl-w* 丢失的小鼠的外观、生长发育、造血系统均与野生型小鼠无异^[6,7],然而 *Bcl-w* 敲除小鼠的精子生成能力明显下降。尽管 *Bcl-w* 敲除小鼠胃肠细胞自发凋亡与野生型小鼠相比没有明显差异,但是 *Bcl-w* 敲除的胃肠细胞在各种细胞毒性药物和射线照射处理后却较野生型细胞凋亡的比例明显升高^[6]。

Bcl-w 在胃肠道和乳腺恶性肿瘤组织中呈高表达,其表达水平与肿瘤临床分期、分级相关^[8,9]。在结肠癌病理标本中,上皮细胞高表达 *Bcl-w*,而结肠腺瘤细胞不表达 *Bcl-w*,提示 *Bcl-w* 在结肠癌的进展过程中具有一定作用^[10]。郭文娟等^[9]用 siRNA 技术在小肠腺癌细胞系 HuTu-80 中下调 *Bcl-w* 的表达后,肿瘤细胞发生明显的细胞周期阻滞和凋亡。Lee 等^[11]通过对胃癌细胞系 SUN-16 研究,发现 *Bcl-w* 能够抑制凋亡刺激信号激活的应激活蛋白激酶/c-Jun 氨基端激酶(SAPK/JNK)信号通路所介导的细胞凋亡。

4 *Bcl-w* 和肿瘤细胞的侵袭、转移

Bcl-2 家族在肿瘤发生发展中的作用并不仅限于其抗凋亡作用,研究表明在肿瘤细胞的侵袭、转移过程中 Bcl-2 家族蛋白具有重要作用。Choi 等^[12]在小细胞肺癌细胞系中证实 Bcl-2 通过转录因子活化蛋白-1(AP1)转录激活基质金属蛋白酶 2(MMP-2)从而介导肿瘤细胞的浸润和转移。

在不同类型的肿瘤侵袭和转移过程中起关键作用的 Bcl-2 家族成员可能不同。如文献报道,*Bcl-w* 在胃肠道肿瘤组织中呈高表达。Bae 等^[13,14]通过体外研究发现 *Bcl-w* 通过下游的磷脂酰肌醇-3 激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶/特异蛋白 1(PI3K/Akt/Sp1)信号通路激活 MMP-9 和尿激酶纤维蛋白溶酶原激活剂(u-PA)的表达,使得胃癌肿瘤细胞的侵袭性和转移性明显增强。研究发现,在具有高度侵袭性的多形性胶质母细胞瘤中 *Bcl-w* 异常高表达,*Bcl-w* 通过激活 EMT 相关转录因子 β -连环蛋白(β -catenin)、twist1、snail1

来诱导肿瘤细胞波形蛋白的表达,赋予了肿瘤细胞高度侵袭和转移的间质细胞特征^[15]。

Bcl-2 家族之间不同亚类蛋白的相互作用形成了其凋亡调控的核心机制,而该机制可能在肿瘤细胞的侵袭和转移过程中也发挥了重要作用。Kim 等^[16]发现 *Bcl-w* 促进肿瘤侵袭的作用依赖于其同 Bax 形成异二聚体从而抑制 Bax 的功能,一旦 *Bcl-w* 与 Bax 结合的功能域丧失,其促进侵袭的作用也被阻断。

5 *Bcl-w* 的上游调控机制

研究表明在肿瘤细胞中,Bcl-2 家族蛋白的上游调控存在明显的异常。最先在 B 细胞滤泡性淋巴瘤中被发现的 Bcl-2,因为发生 14、18 号染色体易位,导致原本位于 18 号染色体的 *Bcl-2* 基因和位于 14 号染色体上的免疫球蛋白重链基因发生融合。在免疫球蛋白重链的启动子和增强子的作用下 *Bcl-2* 的转录水平明显提高^[1]。

除了 Bcl-2 家族基因序列本身的改变,其他的调控机制还包括转录因子转录水平的调控、microRNA 调控、DNA 去甲基化和翻译后修饰。

当 DNA 损伤时,促凋亡 Bcl-2 家族成员 Bax、Bad、NOXA 和 Puma 是转录因子 p53 的直接靶目标^[2,3]。研究发现在神经胶质瘤、慢性淋巴细胞白血病细胞系中^[17,18],转录因子 NF- κ B 上调抗凋亡蛋白 *Bcl-w* 的转录,应用 NF- κ B 抑制剂可以在 mRNA 和蛋白水平抑制 *Bcl-w*。Lapham 等^[19]在结肠癌中发现 Wnt 通路的活化可以通过下游的转录因子 β -catenin/TCF4 结合到 *Bcl-w* 启动子的特定结合区域激活 *Bcl-w* 的转录。

microRNA 是一类含 18~22 个碱基的非编码 RNA,通过和特定 mRNA 的 3'非编码区互补序列结合,介导 RNA 酶对 mRNA 进行降解^[20]。*Bcl-w* 受到多种 microRNA 的负向调节,而这种调节机制的破坏能造成 *Bcl-w* 在细胞内异常高表达,从而促进肿瘤的增殖、侵袭,在乳腺癌、卵巢癌和膀胱癌中都发现了这种 microRNA 失调所引起的 *Bcl-w* 过表达^[21-23]。

基因 5' 端启动子区域或基因第一个外显子区富含长度为 200~4 000bp 的 CpG 位点,该区域称为 CpG 岛,在肿瘤细胞中 CpG 却因为表观遗传学的修饰而发生甲基化和去甲基化^[24]。Hanada 等^[25]通过对

慢性 B 淋巴细胞白血病细胞系和病理标本检测,发现在部分不发生 Bcl-2 染色体易位的肿瘤细胞中, Bcl-2 的 CpG 岛的去甲基化可能是造成 Bcl-2 调节失控的机制之一。然而,目前对于 Bcl-w 的表观遗传学修饰的研究还未见报道。

大多数仅含 BH3 的 Bcl-2 家族蛋白还受翻译后修饰的调控^[2],例如 Bad 经过生长因子撤出后通过去磷酸化而激活, Bid 的活化是通过半胱天冬酶-8 (caspase-8)介导的蛋白水解作用。研究提示 Akt 通过与 Bcl-w 的物理结合和磷酸化,对 Bcl-w 蛋白水平进行调控。此外,通过运用蛋白水解酶抑制剂处理后观察 Bcl-w 蛋白水平变化的方法排除了 Bcl-w 可能受泛素化途径的调节^[26]。

6 Bcl-w 和膀胱肿瘤

在我国,膀胱癌发病率居所有恶性肿瘤第 8 位、泌尿生殖系统恶性肿瘤第 1 位,发病率呈逐年上升趋势^[27]。尽管 70%~75%膀胱癌初发病例是非肌层浸润性膀胱癌,但是 50%~55%的 T_a 期膀胱癌患者会复发,20%~25% T₁ 期膀胱癌患者会进展^[28]。

Bcl-2 家族作为调节细胞凋亡信号通路的重要分子,在膀胱肿瘤的发生发展过程中具有重要作用。研究表明,相对于正常上皮组织和癌旁组织,膀胱肿瘤组织部分高表达抗凋亡蛋白 Bcl-XL^[29,30], Bcl-XL 表达水平与患者的预后,尤其是放化疗后的无瘤生存期密切相关,而 Bcl-2 的表达水平对患者预后评估价值不大^[31]。应用 RNA 干扰技术,抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-XL 等的表达,能够显著提高膀胱肿瘤细胞对放化疗的敏感性,并且恢复原先已经产生耐药的细胞对化疗药物的敏感性^[32]。

研究发现在膀胱肿瘤中, miR203 异常调控下的 Bcl-w 高表达赋予了肿瘤细胞更强的抗凋亡、增殖能力,提示 Bcl-w 在膀胱肿瘤的发生发展中具有重要的作用^[23]。下一步的研究需要明确膀胱肿瘤组织中 Bcl-w 的表达情况与肿瘤分级、分期、预后是否相关,以及在膀胱肿瘤发生发展中所起的作用。

7 展 望

对于 Bcl-2 家族蛋白的研究已经有超过 30 年

的时间,目前针对这一靶点的药物尚处于临床试验阶段^[3]。目前看来最有应用前景的药物是一种耐核酸酶的针对 Bcl-2 mRNA 的反义硫代磷酸寡核苷酸,在临床 III 期试验中被证明对慢性淋巴细胞白血病和恶性黑色素瘤有一定的疗效^[33]。另外一类药物是针对抗凋亡的 Bcl-2 家族蛋白的小分子化学拮抗剂^[34],这些小分子药物能够同仅含 BH3 的促凋亡蛋白相互竞争结合至具有抗凋亡作用的 Bcl-2 蛋白的口袋结构中。

过去的研究主要集中在 Bcl-2 家族蛋白同二聚体和异二聚体的作用与细胞凋亡的关系,该家族中的部分蛋白可能具有的新功能尚未被人们所认识。在复杂的细胞内信号转导通路网络中, Bcl-2 家族蛋白除了扮演细胞凋亡和存活的开关的角色外,在调节细胞代谢、机体固有免疫系统、细胞自噬等方面发挥着重要的功能^[3]。在未来的研究中,对 Bcl-2 家族蛋白 Bcl-w 功能的深入研究将帮助我们更有效地利用这一肿瘤治疗的靶点。

参考文献:

- [1] Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, et al. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma [J]. Science, 1985, 228(4706): 1440-1443.
- [2] Youle RJ, Strasser A. The Bcl-2 protein family: opposing activities that mediate cell death [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9(1): 47-59.
- [3] Yip K, Reed J. Bcl-2 family proteins and cancer [J]. Oncogene, 2008, 27(50): 6398-6406.
- [4] Gibson L, Holmgren SP, Huang DC, et al. Bcl-w, a novel member of the bcl-2 family, promotes cell survival [J]. Oncogene, 1996, 13(4): 665-675.
- [5] O'Reilly LA, Print C, Hausmann G, et al. Tissue expression and subcellular localization of the pro-survival molecule Bcl-w [J]. Cell Death Differ, 2001, 8(5): 486-494.
- [6] Pritchard DM, Print C, O'Reilly L, et al. Bcl-w is an important determinant of damage-induced apoptosis in epithelia of small and large intestine [J]. Oncogene, 2000, 19(34): 3955-3959.
- [7] Print CG, Loveland KL, Gibson L, et al. Apoptosis regulator bcl-w is essential for spermatogenesis but appears otherwise redundant [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(21): 12424-12431.
- [8] Zhong JH, Wang Y, Wang XC, et al. The mRNA and protein expression of bcl-w and its clinical value in breast cancer [J]. China Journal of Modern Medicine, 2013, 23(16): 44-46. [袁敬华, 王勇, 王祥财, 等. 乳腺癌中 bcl-w

- 的 mRNA 和蛋白的表达及其临床意义 [J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(16):44–46.]
- [9] Guo WJ, Jin Z, Wang AY. Expression of Bcl-w protein in human small intestinal adenocarcinoma and effect of Bcl-w siRNA on apoptosis in intestinal adenocarcinoma HuTu-80 cells [J]. Chinese Journal of Oncology, 2012, 34(3):182–186. [郭文娟, 金珠, 王爱英. Bcl-w 蛋白在小肠腺癌组织中的表达及其沉默后对小肠腺癌 HuTu-80 细胞凋亡的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2012, 34(3):182–186.]
 - [10] Wilson JW, Nostro MC, Balzi M, et al. Bcl-w expression in colorectal adenocarcinoma[J]. Br J Cancer, 2000, 82(1):178–185.
 - [11] Lee HW, Lee SS, Lee SJ, et al. Bcl-w is expressed in a majority of infiltrative gastric adenocarcinomas and suppresses the cancer cell death by blocking stress-activated protein kinase/c-Jun NH2-terminal kinase activation [J]. Cancer Res, 2003, 63(5):1093–1100.
 - [12] Choi J, Choi K, Benveniste EN, et al. Bcl-2 promotes invasion and lung metastasis by inducing matrix metalloproteinase-2[J]. Cancer Res, 2005, 65(13):5554–5560.
 - [13] Bae IH, Yoon SH, Lee SB, et al. Signaling components involved in Bcl-w-induced migration of gastric cancer cells [J]. Cancer Lett, 2009, 277(1):22–28.
 - [14] Bae IH, Park MJ, Yoon SH, et al. Bcl-w promotes gastric cancer cell invasion by inducing matrix metalloproteinase-2 expression via phosphoinositide 3-kinase, Akt, and Sp1 [J]. Cancer Res, 2006, 66(10):4991–4995.
 - [15] Lee WS, Woo EY, Kwon J, et al. Bcl-w enhances mesenchymal changes and invasiveness of glioblastoma cells by inducing nuclear accumulation of β -catenin [J]. PLoS One, 2013, 8(6):e68030.
 - [16] Kim EM, Kim J, Park JK, et al. Bcl-w promotes cell invasion by blocking the invasion-suppressing action of Bax[J]. Cell Signal, 2012, 24(6):1163–1172.
 - [17] Pickering BM, de Mel S, Lee M, et al. Pharmacological inhibitors of NF- κ B accelerate apoptosis in chronic lymphocytic leukaemia cells[J]. Oncogene, 2006, 26(8):1166–1177.
 - [18] Tran NL, McDonough WS, Savitch BA, et al. The tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK)-fibroblast growth factor-inducible 14 (Fn14) signaling system regulates glioma cell survival via NF κ B pathway activation and Bcl-XL/Bcl-W expression[J]. J Biol Chem, 2005, 280(5):3483–3492.
 - [19] Lapham A, Adams JE, Paterson A, et al. The Bcl-w promoter is activated by beta-catenin/TCF4 in human colorectal carcinoma cells[J]. Gene, 2009, 432(1–2):112–117.
 - [20] Iorio MV, Croce CM. MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review[J]. EMBO Mol Med, 2012, 4(3):143–159.
 - [21] Cao J, Cai J, Huang D, et al. miR-335 represents an invasion suppressor gene in ovarian cancer by targeting Bcl-w [J]. Oncol Rep, 2013, 30(2):701–706.
 - [22] Shen L, Li J, Xu L, et al. miR-497 induces apoptosis of breast cancer cells by targeting Bcl-w [J]. Exp Ther Med, 2012, 3(3):475–480.
 - [23] Bo J, Yang G, Huo K, et al. microRNA-203 suppresses bladder cancer development by repressing bcl-w expression[J]. FEBS J, 2011, 278(5):786–792.
 - [24] Besaratinia A, Cockburn M, Tommasi S. Alterations of DNA methylome in human bladder cancer[J]. Epigenetics, 2013, 8(10):1013–1022.
 - [25] Hanada M, Delia D, Aiello A, et al. Bcl-2 gene hypomethylation and high-level expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia[J]. Blood, 1993, 82(6):1820–1828.
 - [26] Garofalo M, Quintavalle C, Zanca C, et al. Akt regulates drug-induced cell death through Bcl-w downregulation[J]. PLoS One, 2008, 3(12):e4070.
 - [27] Ma JH. Tips on the diagnosis and treatment of bladder cancer [J]. Chinese Journal of Urology, 2011, 32(4):221–222. [马建辉. 膀胱癌诊治过程中值得注意的几个问题[J]. 中华泌尿外科杂志, 2011, 32(4):221–222.]
 - [28] Ploeg M, Aben KK, Kiemeny LA. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world [J]. World J Urol, 2009, 27(3):289–293.
 - [29] Hameed DA, Abdel Raheem AM, Mosad E, et al. Bcl-XL and Bcl-2 expression in bilharzial squamous cell carcinoma of the urinary bladder; which protein is prognostic? [J]. Urology, 2008, 72(2):374–378.
 - [30] Korkolopoulou P, Lazaris A, Konstantinidou AE, et al. Differential expression of bcl-2 family proteins in bladder carcinomas. Relationship with apoptotic rate and survival [J]. Eur Urol, 2002, 41(3):274–283.
 - [31] Enache M, Simionescu C, Lascu LC. Ki67 and Bcl-2 immunoeexpression in primitive urothelial bladder carcinoma [J]. Rom J Morphol Embryol, 2012, 53(3):521–525.
 - [32] Kunze D, Wuttig D, Fuessel S, et al. Multitarget siRNA inhibition of antiapoptotic genes (XIAP, BCL2, Bcl-X(L)) in bladder cancer cells [J]. Anticancer Res, 2008, 28(4B):2259–2263.
 - [33] O'Brien S, Moore JO, Boyd TE, et al. Randomized phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide with or without oblimersen sodium (Bcl-2 antisense) in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(9):1114–1120.
 - [34] Petronelli A, Riccioni R, Pasquini L, et al. Apoptosis-based therapies for hematological malignancies [J]. Drug Future, 2005, 30(7):707–723.