

## *Bcr-Abl* 癌基因与 A-MuLV 病毒诱导肿瘤发生的机理

孙亚楠<sup>1</sup>, 陈纳<sup>1</sup>, 王雪飞<sup>2</sup>, 陈吉龙<sup>1,2</sup>, 马燕梅<sup>1</sup>

1 福建农林大学 动物科学学院, 福建 福州 350002

2 中国科学院微生物研究所 中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室, 北京 100101

孙亚楠, 陈纳, 王雪飞, 等. *Bcr-Abl* 癌基因与 A-MuLV 病毒诱导肿瘤发生的机理. 生物工程学报, 2018, 34(12): 1943–1952.  
Sun YN, Chen N, Wang XF, et al. Mechanism underlying tumorigenesis induced by *Bcr-Abl* oncogene and A-MuLV virus. Chin J Biotech, 2018, 34(12): 1943–1952.

**摘要:** *Bcr-Abl* 癌基因是由人类 9 号染色体的 *c-Abl* 基因与 22 号染色体的 *Bcr* 基因易位融合而成, 其编码的融合蛋白 Bcr-Abl 可以诱导人类白血病的发生。Abelson 鼠白血病病毒 (A-MuLV) 是一种逆转录病毒, 其癌基因 *v-Abl* 可以诱导小鼠 B 淋巴细胞癌变。*Bcr-Abl* 癌基因和 A-MuLV 病毒的共同特点是表达 Abl 癌蛋白 (Bcr-Abl 和 *v-Abl*)。Abl 癌蛋白诱导肿瘤发生与多条信号转导通路的异常活化密切相关。这些信号转导通路主要包括 JAK/STAT/Pim、PI3K/AKT/mTOR 和 RAS/RAF/MEK。此外, Abl 癌蛋白诱导肿瘤发生也与重要信号分子的突变或异常修饰, 以及关键长链非编码 RNA (lncRNA) 的异常表达有关。文中对 Abl 癌基因如何激活主要的 3 条信号通路进行综述, 并介绍参与细胞增殖、抗细胞凋亡等过程的重要蛋白及其与肿瘤发生的关系, 为 Abl 阳性肿瘤的治疗提供了科学参考。

**关键词:** Bcr-Abl, A-MuLV, 信号通路, 肿瘤, 酪氨酸激酶, lncRNA

## Mechanism underlying tumorigenesis induced by *Bcr-Abl* oncogene and A-MuLV virus

Yanan Sun<sup>1</sup>, Na Chen<sup>1</sup>, Xuefei Wang<sup>2</sup>, Ji-Long Chen<sup>1,2</sup>, and Yanmei Ma<sup>1</sup>

1 College of Animal Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

2 CAS Key Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract:** The *Bcr-Abl* oncogene is produced by the reciprocal translocation between *c-Abl* gene on chromosome 9 and the *Bcr* gene on chromosome 22 in human genome. The encoded Bcr-Abl fusion protein is responsible for the pathogenesis of certain human leukemias. Abelson murine leukemia virus (A-MuLV) is a retrovirus that could lead to transformation of B lymphocyte in mice, and *v-Abl* is the oncogene of A-MuLV. Abl oncoproteins (such as Bcr-Abl and *v-Abl*) play critical roles in tumorigenesis of certain cell types. Several signal transduction pathways, including JAK/STAT/Pim, PI3K/AKT/mTOR and

**Received:** May 5, 2018; **Accepted:** June 29, 2018

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (Nos. 81472611, 81502397).

**Corresponding authors:** Yanmei Ma. Tel: +86-591-83758852; E-mail: 89mym@163.com

Jilong Chen. Tel: +86-10-64807300; Fax: +86-10-64807980; E-mail: chenjl@im.ac.cn

国家自然科学基金 (Nos. 81472611, 81502397) 资助。

RAS/RAF/MEK signaling pathway, are involved in Abl-mediated tumorigenesis. In addition, Abl-mediated tumorigenesis is associated with mutation or abnormal modification of key signal molecules as well as dysregulation of some critical long noncoding RNAs (lncRNAs). Here, we review the molecular mechanisms by which *Abl* oncogenes activate three major signaling pathways, and provide a scientific basis for therapy of Abl oncoprotein-induced tumors.

**Keywords:** Bcr-Abl, A-MuLV, signalling pathway, cancer, tyrosine kinase, lncRNA

近年来, 针对由 Abl 癌蛋白诱导肿瘤的分子靶向治疗主要着眼于对 Abl 抑制剂的研究与开发, 在临床上颇有疗效。但人们逐渐发现, 传统疗法仍存在一定的局限性。例如, *Abl* 癌基因可产生各种耐药突变以逃逸药物的靶向结合, 从而恢复持续活化的激酶活性。因此, 许多研究团队将目光转向 Abl 信号下游的多种关键节点分子, 以寻求治疗肿瘤的新思路。Steelman 等<sup>[1]</sup>研究表明, Abl 癌蛋白具有极强的非受体酪氨酸激酶活性, 可持续活化多条通路, 以调控细胞增殖、抗细胞凋亡等相关蛋白, 最终诱导肿瘤发生。本文结合了笔者实验室的研究, 对 Abl 癌蛋白调控相关的 3 条信号通路 (JAK/STAT/Pim、PI3K/AKT/mTOR、RAS/RAF/MEK) 的活化进而调控肿瘤发生过程进行综述, 有助于了解 *Abl* 癌基因诱导肿瘤发生的分子机理, 为寻找治疗肿瘤的新靶点提供理论基础。

## 1 *Bcr-Abl* 癌基因与 A-MuLV 病毒

1960 年, Nowell 和 Hungerford 首次从慢性髓细胞白血病 (Chronic myeloid leukemia, CML) 患者的白血病细胞中发现了一条异常的、截短的 22 号染色体, 命名为费城染色体 (Philadelphia chromosome, Ph)<sup>[2]</sup>。随后, Rowley 证明 Ph 染色体是由正常定位于 9q34 上的 *c-Abl* 基因和位于 22q11 上的 *Bcr* 基因, 因 t(9;22)(q34;q11) 易位使相应断裂的基因发生融合, 形成的 *Bcr-Abl* 嵌合基因<sup>[3]</sup>。*Bcr* 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 其羧基端具有 GTP 酶活性。*Abl* 是一种酪氨酸激酶, 穿梭于细胞核和细胞质之间, 并在许多组织中表达。

在正常情况下, *c-Abl* 能够传递来自配体刺激的生长因子受体的信号, 影响细胞骨架结构和其他细胞表型<sup>[4]</sup>。染色体易位的特异性断点导致 *Bcr/Abl* 蛋白产生 3 种不同的形式: p190 *Bcr-Abl*、p210 *Bcr-Abl* 和 p230 *Bcr-Abl*, 所有这些都具有组成型 Abl 激酶活性, 可以诱导免疫细胞的恶性转化, 引发不同类型白血病<sup>[5]</sup>。

1970 年, Abelson 首次从 Moloney 鼠白血病病毒 (Moloney murine leukemia virus, M-MuLV) 感染小鼠的淋巴肉瘤中分离鉴定出一种复制缺陷型逆转录病毒, 命名为 Abelson 鼠白血病病毒 (Abelson murine leukemia virus, A-MuLV)<sup>[6]</sup>。A-MuLV 是一种单股正链 RNA 病毒, 能诱导小鼠淋巴细胞转化, 导致小鼠 Abelson 白血病的发生<sup>[7]</sup>。A-MuLV 的特有性质是能够在体内促进淋巴瘤的快速发生发展, 并能在体外诱导骨髓、脾脏、胎儿肝脏成纤维细胞和造血细胞的转化, 而且 A-MuLV 转化的淋巴细胞具有前 B 淋巴细胞的特征<sup>[8]</sup>。*v-Abl* 是 A-MuLV 的癌基因, 在 A-MuLV 病毒进化过程中由 A-MuLV 的 *Gag* 基因替换细胞原癌基因 *c-Abl* 的 SH3 区而形成。因此, *v-Abl* 能够编码一个含有 A-MuLV *Gag* 序列、SH2 结构域和 SH1 (酪氨酸激酶区) 的融合蛋白。*v-Abl* 蛋白主要位于宿主细胞的细胞质<sup>[9]</sup>, 具有较强的酪氨酸激酶活性, 可以诱导细胞的转化<sup>[10]</sup>。

## 2 JAK/STAT/Pim 信号通路

### 2.1 JAK/STAT/Pim 信号通路的简介

JAK/STAT/Pim 信号通路由 4 个主要成分组成: Janus 酪氨酸激酶 (Janus family of tyrosine

kinase, JAK)、信号转导和转录活化因子 (Signal transducer and activator of transcription, STAT)、丝氨酸/苏氨酸激酶 Pim 家族 (Proviral insertion in murine, Pim) 和细胞因子信号抑制因子 (Suppressor of cytokine signaling, SOCS)。哺乳动物中 JAK 家族成员共有 4 个: JAK1、JAK2、JAK3 和 Tyk2<sup>[11]</sup>。JAK 蛋白有 7 个同源结构域 JH1-JH7, 其中 JH1 具有激酶功能。STAT 家族已经鉴定出 7 个成员: STAT1-4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6, 其主要包含氨基端保守域、coiled-coil 结构域、DNA 结构域、SH2 结构域和羧基端的转录激活结构域<sup>[12]</sup>。Pim 激酶家族共有 3 个成员: Pim-1、Pim-2 以及 Pim-3, *Pim-1* 基因最早是作为 M-Mu-LV 的前病毒插入位点而被发现<sup>[13]</sup>。SOCS 家族目前有 8 个成员, 分别是 CIS、SOCS1-SOCS7, 它们的中间段都有一个保守 SH2 结构域, 羧基端为一个保守结构域 SOCS Box。SOCS Box 的功能与泛素化降解有关, 能够募集泛素转移酶系统。当 SOCS 通过 SH2 结构域或其他区域与靶分子结合后, SOCS Box 可以与 Elongins B/C、Cullin-5、Rbx-1 等分子结合, 从而介导靶向分子的降解<sup>[14]</sup>。

JAK/STAT/Pim 信号通路涉及从细胞因子受体到细胞核的信号传导。JAK 通过细胞因子与其受体结合被激活, 激活的 JAK 将 STAT 招募至细胞因子受体处使其磷酸化, 磷酸化的 STAT 形成同源或者异源二聚体进入细胞核, 启动一系列基因的转录, 其中转录出来的 SOCS 基因作为负反馈因子负调控 JAK/STAT/Pim 信号通路的活性。研究证实, 在许多实体瘤以及白血病和淋巴瘤等肿瘤细胞中, JAK/STAT/Pim 信号通路的持续激活与其发生发展密切相关<sup>[15-16]</sup>。

## 2.2 Bcr-Abl、v-Abl 能够调控 JAK/STAT/Pim 信号通路的活化以诱导肿瘤的发生

Bcr-Abl 作为持续活化的非受体酪氨酸激酶, 借助自身 SH1 激酶特性, 活化 JAK2, 后者通过

其 JH1 激酶区进一步磷酸化 STAT5<sup>[17]</sup>。有研究表明, STAT5 的酪氨酸磷酸化也可以不依赖于 JAK2 的活化, 而是被 Bcr-Abl 直接活化<sup>[18]</sup>。另外, 癌蛋白 v-Abl 可以使得 JAK1 处于持续活化的水平, 进而活化下游蛋白 STAT1 和 STAT5<sup>[19]</sup>。经活化的 STAT5, 可通过其 SH2 结构域, 与另一个 STAT5 蛋白中磷酸化的酪氨酸相互作用形成二聚体, 靶向进入细胞核, 并通过其 DNA 结构域, 调控下游基因比如 *Pim-1*、*Pim-2* 基因的表达<sup>[20]</sup>。本实验团队首次鉴定出 eIF4B 在 Bcr-Abl、A-MuLV 转化细胞中, 可以作为 Pim 激酶的一个底物分子。被 Pim 激酶磷酸化的 eIF4B 加快了 5'UTR 具有复杂二级结构的 mRNA 的翻译, 促进细胞增殖并抑制细胞凋亡, 进而促进 Abl 癌蛋白诱导的细胞恶性转化<sup>[21]</sup>。其中, Pim-1、Pim-2 都可上调 eIF4B 的 Ser406 和 Ser422 位点的磷酸化水平, 且主要磷酸化位点为 eIF4B Ser422, 而 Pim-3 对 eIF4B 磷酸化的作用不大<sup>[21]</sup>。除此之外, eIF4B 还可以被 PI3K/AKT/mTOR 和 RAS/RAF/MEK 信号通路激活, 在细胞增殖和抗细胞凋亡中起重要作用<sup>[22]</sup>。

正常生理状态下, SOCS 蛋白可以通过其 SH2 区结合 JAK 和细胞因子受体, 竞争性抑制 STAT 与受体的结合, 导致 STAT 不能被 JAK 激酶磷酸化。同时, SOCS 蛋白利用其 SOCS box 与 Elongin B/C 复合物等结合, 介导与其相连蛋白的泛素化降解。此外, SOCS1 和 SOCS3 可利用其激酶抑制区 KIR (Kinase inhibitory region) 与 JAK 直接互动, 从而抑制 JAKs 的激酶活性<sup>[23]</sup>。研究表明, v-Abl 癌蛋白可磷酸化 SOCS-1 以破坏其负调节 JAK 的功能, 使得 JAK1 处于持续活化的状态<sup>[19]</sup>。我们的研究团队还发现, Bcr-Abl 癌蛋白可以通过磷酸化 SOCS-1 的 Tyr155、Tyr204 和 SOCS-3 的 Tyr211 残基使其失去负调节 JAK/STAT/Pim 信号通路的功能, 阐明了 Bcr-Abl 介导细胞转化的机理<sup>[23]</sup>。此外, 最近的研究报道显示, A-MuLV 转

化的细胞中,表达上调的 Pim-1、Pim-2 激酶也可通过磷酸化 SOCS1 导致细胞的恶性增殖<sup>[24]</sup>。

肿瘤的发生与细胞周期和细胞抗凋亡作用有着密切联系。细胞周期的缩短,可加快细胞增殖,而抗凋亡特性则有利于癌变中的细胞免受机体的自杀性清除。de Groot 等<sup>[25]</sup>在表达 Bcr-Abl 的 BaF3 细胞中发现,抗凋亡蛋白 Bcl-xL 的基因启动子上存在多个 STATs 结合位点,活化的 STAT5 可直接与 Bcl-xL 启动子结合而启动转录。Yang 等<sup>[21]</sup>研究报告, Bcr-Abl 阳性细胞中,持续活化的 Pim-1、Pim-2 激酶还可通过磷酸化 eIF4B,加快与抗凋亡相关的 mRNA (如 Bcl-2) 的翻译,最终诱导肿瘤发生。

### 3 PI3K/AKT/mTOR 信号通路

#### 3.1 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的简介

磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) 家族由多个类型分子构成,每个分子都由调节亚基和催化亚基组合成异源二聚体。调节亚基主要由氨基末端 SH3 结构域、断裂点簇区域同源结构域 (BCR)、脯氨酸富集区、interSH2 (iSH2) 结构域和羧基末端 SH2 结构域组成<sup>[26]</sup>。而催化亚基包含 p110 亚基结构域、RAS 结合域、激酶结构域及螺旋结构域。PI3K 的调节亚基负责与上游的激酶结合,催化亚基具有激酶活性。丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT) 家族主要包括 3 个成员: AKT1、AKT 2 和 AKT 3,其主要由氨基端的调节区 (Pleckstrin homology, PH 区)、中间的激酶区及羧基端的尾部调节区构成。其中,调节区能够和脂质结合,将相关蛋白质定位在细胞膜,并磷酸化一系列特异性底物<sup>[27]</sup>。雷帕霉素的哺乳动物靶点 (Mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,属于 PI3K 蛋白家族,在生物体内以两种复合物的形式存在,即 mTORC1 及 mTORC2。p70S6K 激酶是 mTOR 激酶下游的

一个重要效应分子,具有多个磷酸化位点,可在 mTOR 和磷脂酰肌醇依赖激酶 (Phosphoinositide-dependent kinase, PDK) 的协同作用下而活化<sup>[22]</sup>。

PI3K/AKT/mTOR 信号通路是一条由细胞刺激、毒物损害等激活的细胞内信号传导途径,与转录、翻译、增殖、生长和凋亡等相关<sup>[1,28]</sup>。IL-3 受体、Grb2 和 Ras 等能够与 PI3K 结合,使其从细胞质转移到细胞膜并激活,进而在质膜上产生 PIP 和 PIP3。其中,PIP 被磷酸酶如 PTEN 降解,而 PIP3 与 AKT 结合并激活 PDK,导致 AKT 的激活并使其激活 mTOR 等下游底物<sup>[1]</sup>。PI3K/AKT/mTOR 信号通路的异常激活与肺癌、乳腺癌、卵巢癌和白血病等多种肿瘤的发生有关<sup>[29-30]</sup>。

#### 3.2 Bcr-Abl、v-Abl 能够调控 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的活化以诱导肿瘤的发生

Bcr-Abl 酪氨酸激酶在 Grb2 等衔接蛋白的帮助下,能够激活 PI3K 从细胞质到细胞膜的转移过程,并通过与 PI3K 的 p85 调节亚基结合,磷酸化 p110 催化亚基而将其活化,进而激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路<sup>[31]</sup>。研究证明 v-Abl 也与 PI3K 相关并介导其活化,但具体活化机制还在探索中<sup>[32]</sup>。经活化的 PI3K,其 p110 催化亚基会识别磷脂酰肌醇二磷酸 (PIP2),并将其磷酸化成为 PIP3。PIP3 的 PH 结构域为下游蛋白提供锚定位点,可募集含有 PH 结构域的 AKT 与 PDK1 激酶至细胞膜附近<sup>[33]</sup>。AKT 的完全活化需要 PDK 的参与,PDK-1 只能使 Thr308 位点磷酸化,而对 Ser473 位点无直接作用,但 AKT 的 PH 区与 PIP3 等脂质产物的高亲和力结合促进了 PDK1/PDK2 复合体的形成,激活 Ser473 位点的磷酸化作用,只有 AKT 的 Ser473 和 Thr308 都被磷酸化才能充分发挥其功能<sup>[34-35]</sup>。

正常情况下,TSC-1 和 TSC-2 形成二聚体复合物,抑制小 GTP 酶 Rheb 的活性,而 Rheb 是 mTOR 活化所必需的刺激蛋白,因此 TSC-1/TSC-2

在正常情况下抑制 mTOR 的功能。当 AKT 活化后, 它可磷酸化 TSC-2 的 Ser939 和 Thr1462, 抑制了 TSC-1/TSC-2 复合物的形成, 从而解除了对 Rheb 的抑制作用, 使得 mTOR 被激活<sup>[36]</sup>。活化的 mTOR 可进一步激活 p70S6K 激酶。Bcr-Abl、v-Abl 转化细胞中, p70S6K 激酶可直接磷酸化底物 eIF4B 的 Ser422 位点<sup>[22]</sup>。另外, AKT 激酶可不依赖于经典的 Akt/mTOR/p70S6K 途径, 而是通过直接磷酸化 eIF4B 的 Ser422 位点, 促进相关 mRNA 的翻译, 最终诱导肿瘤发生<sup>[22]</sup>。

### 3.2.1 Bcr-Abl 能够影响 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控的细胞周期进程以诱导肿瘤的形成

Bcr-Abl 导致 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的持续活化, 可通过以下两种方式调控细胞周期相关分子, 进而缩短细胞周期, 加快细胞增殖, 最终诱导肿瘤生成。

第一, 促进细胞周期正调控因子 Cyclin 的转录与翻译。de Mattos 等<sup>[37]</sup>报道, 表达 Bcr-Abl 的细胞系 BV173 中, 活化的 AKT 激酶可通过磷酸化 FoxO3a, 抑制由其介导的转录抑制因子 Bcl-6 的表达, 进而促进细胞周期正调控因子 CyclinD2 的转录。Prabhu 等<sup>[38]</sup>证实, 多种 Bcr-Abl 表达的细胞中, 活化的 mTORC1 可通过磷酸化调节 mRNA 翻译起始过程的 4E-BP1 的活性, 最终加快 CyclinD3 mRNA 的翻译, 以促进细胞周期进程。

第二, 抑制细胞周期负调控因子的表达。Gesbert 等<sup>[39]</sup>研究表明, 在 Bcr-Abl 阳性细胞中, 活化的 AKT 激酶, 可通过抑制细胞周期负调控因子 p27 的表达, 来解除其对 Cyclin D1-CDK 复合物的抑制作用, 使细胞通过 G<sub>1</sub>/S 期转化的位点, 最终促进细胞周期进程。

### 3.2.2 Bcr-Abl 能够影响 PI3K/AKT/mTOR 信号通路调控的凋亡发生过程以诱导肿瘤的形成

此外, 由 Bcr-Abl 持续活化的 PI3K/AKT/

mTOR 信号通路, 还可通过以下 3 种方式调控抗细胞凋亡相关分子, 进而抑制细胞凋亡, 最终诱导肿瘤生成。

第一, 抑制促凋亡基因的转录。FoxO 转录因子家族主要存在于细胞核内, 通过结合到特异顺式作用元件促进 Bim 等细胞凋亡相关基因的转录。Essafi 等<sup>[40]</sup>在表达 Bcr-Abl 的 BaF3 细胞中发现, 活化的 Akt 激酶可磷酸化 FoxO3 转录因子使之与抗凋亡结合蛋白 14-3-3 相结合而停留在细胞质内, 以此抑制由其介导的促凋亡基因的转录。

第二, 加快抗凋亡蛋白的合成。Carayol 等<sup>[41]</sup>证实, 依赖 Bcr-Abl 持续活化的 p70S6K 激酶可通过磷酸化 PDCD4 Ser67, 使其泛素化降解, 从中释放的 eIF4A 在转录起始前复合物处结合于 eIF4G, 加快抗凋亡蛋白的合成。

第三, 抑制促凋亡蛋白的活性与释放抗凋亡蛋白。Trotta 等<sup>[42]</sup>观察到, 在表达 Bcr-Abl 的骨髓前体细胞系中, 存在 p53 下调与 MDM2 (p53 的负调节蛋白) 显著表达的现象, 说明依赖 Bcr-Abl 持续活化的某个或多个关键节点分子, 可磷酸化 p53 的负调控蛋白 MDM2, 以促进 p53 的失活, 从而抑制 p53 介导的促凋亡反应。而在此之前, Mayo 等<sup>[43]</sup>已证实 MDM2 是 PI3K/Akt 途径中 AKT 的底物。综合两项研究, 我们推测依赖 Bcr-Abl 持续活化的 AKT 激酶有可能通过磷酸化 MDM2 以调控 p53 的活性, 最终抑制细胞凋亡, 但具体机制尚待阐明。此外, Neshat 等<sup>[44]</sup>报道, Bcr-Abl 阳性细胞中活化的 AKT 可磷酸化原先与 Bcl-2 或 Bcl-xL 结合的凋亡前体蛋白 Bad, 使其与抗凋亡结合蛋白 14-3-3 结合, 进而释放游离的抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-xL, 发挥抗凋亡的作用。

## 4 RAS/RAF/MEK 信号通路

### 4.1 RAS/RAF/MEK 信号通路的简介

RAS 家族共有 3 个成员, 分别为 H-RAS、

N-RAS 和 K-RAS, 定位于细胞膜内侧, 正常情况下为与 GDP 结合的非活化状态, 与 GTP 结合后则变成活化状态<sup>[45]</sup>。RAF 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 有 RAF-1、A-RAF 和 B-RAF 三种类型, 目前研究较多的是 RAF-1, 其在细胞增殖、抗凋亡中有重要作用。RAF 的分子结构中含有 CR1、CR2 和 CR3 共 3 个保守区, CR1 区是活化的 RAS 与 RAF 蛋白激酶结合的主要部位; CR3 区具有激酶催化功能, 能与下游 MEK 激酶结合, 并将其活化。MEK 分为 MEK1 和 MEK2 两种, 属于少有的酪氨酸和苏氨酸/丝氨酸双重特异性蛋白激酶<sup>[46]</sup>, 分子结构中有一段富含脯氨酸的区域, 其为 RAF 与 MEK 的结合部位。

RAS/RAF/MEK 信号通路是一个中心信号转导通路, 它将来自多个细胞表面受体的信号传递到核内的转录因子<sup>[47]</sup>, 该通路又被称为 MAP 激酶途径。

#### 4.2 Bcr-Abl、v-Abl 能够调控 RAS/RAF/MEK 信号通路的活化以诱导肿瘤的发生

Bcr-Abl 与 RAS 之间存在着一些接头分子负责传递信号, 如 Grb2、Shc 等, 其中研究较为深入的是 Grb2, 它可通过 SH2 结构域与 Bcr-Abl 中 Bcr 蛋白的 Tyr177 位点结合, 并通过其 SH3 结构域, 与核苷酸交换因子 Sos 的脯氨酸富集序列结合, 形成 Bcr-Abl-Grb2-Sos 复合物, 进而使 RAS-GDP 转换为 RAS-GTP, 活化 RAS 激酶, 以此激活 RAS/RAF/MEK 信号通路<sup>[48]</sup>。而 v-Abl 则与 Shc/Grb2、Sos 形成 v-Abl-Shc-Grb2-Sos 复合物, 进而激活 RAS 激酶<sup>[48]</sup>。

RAF 的 CR1 区通过与 RAS 结合而被募集到细胞膜上, 并在涉及磷酸化和多种辅因子的复杂过程中被激活, 这些复杂过程尚未被完全理解<sup>[46]</sup>。活化后的 RAF 与 MEK 富含脯氨酸的一段区域结合, 通过其 CR3 激酶区磷酸化 MEK 的丝氨酸和苏氨酸位点将其激活<sup>[49]</sup>。MEK 属于少有的双重特

异性激酶, 使 ERK 的酪氨酸和苏氨酸两个调节位点磷酸化而将其激活<sup>[49]</sup>。活化的 ERK 可在 PDK1 等激酶的帮助下激活 RSK。研究表明, Bcr-Abl 和 v-Abl 转化细胞中, RSK 激酶可直接磷酸化 eIF4B 的 Ser422 位点, 促进相关 mRNA 的翻译, 最终诱导肿瘤发生<sup>[22]</sup>, 至于是否包括 Bcl-2 等抗凋亡分子的 mRNA, 有待实验进一步验证。

## 5 总结与展望

*Bcr-Abl* 癌基因和 A-MuLV 病毒诱导肿瘤发生是一个极其复杂的生物学过程, 涉及到许多与细胞增殖和凋亡相关信号通路的异常调控。本团队与前人研究成果发现, 依赖 Abl (如 Bcr-Abl、v-Abl) 持续活化的 JAK/STAT/Pim、PI3K/AKT/mTOR、RAS/RAF/MEK 信号通路可以激活下游 Pim、AKT、p70S6K、RSK 激酶的共同底物分子 eIF4B, 以此加强 5'-cap 具有复杂二级结构的 mRNA (包含一些细胞周期调控因子和抗凋亡分子) 的翻译<sup>[21-22]</sup>, 从而促进细胞增殖并抑制细胞凋亡 (图 1)。此外, Abl 癌蛋白诱导肿瘤发生也可不依赖于 eIF4B, 而通过调控细胞周期和抗细胞凋亡的相关蛋白促进细胞的增殖并抑制凋亡, 诱导细胞转化, 最终形成肿瘤<sup>[37-44]</sup>。除了重要蛋白在调控 *Bcr-Abl* 癌基因和 A-MuLV 病毒诱导的肿瘤发生过程发挥重要作用, 我们的研究表明长链非编码 RNA (Long noncoding RNA, lncRNA) 也参与其中。Guo 等<sup>[50-51]</sup>利用 lncRNA 表达谱芯片技术筛选出了两条表达量变化显著且依赖 Bcr-Abl 的 lncRNA, 分别为 lncRNA-BGL3 和 H19。深入研究发现, lncRNA-BGL3 可以作为竞争性内源 RNA (Competitive endogenous RNA, ceRNA) 调控 PTEN 的表达, 进而发挥抑癌功能, 影响 Abl 肿瘤细胞的凋亡以及裸鼠体内诱导的肿瘤生长。干扰 H19 的表达能够促进 Abl 转化细胞的凋亡, 并且抑制这些细胞在裸鼠体内的肿瘤生长。因此, 我们的

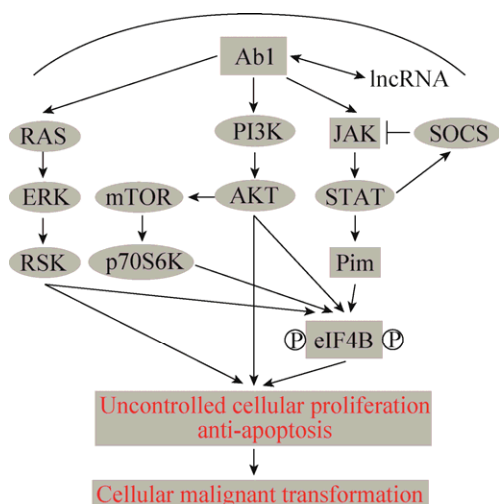


图1 *Abl* (如 *Bcr-Abl*、*v-Abl*) 癌基因诱导细胞恶性转化的机理

Fig. 1 Mechanism underlying cellular malignant transformation induced by *Abl* oncogenes such as *Bcr-Abl* and *v-Abl*. *Abl* oncoprotein activates the JAK/STAT/Pim, PI3K/AKT/mTOR and RAS/ERK/RSK pathways, which enhances the cell proliferation and suppresses the cell apoptosis through eIF4B-dependent and eIF4B-independent pathways, thereby promoting the malignant transformation of targeting cells.

实验结果表明 lncRNA-BGL3 和 H19 在 *Bcr-Abl* 诱导细胞转化中均发挥重要作用, 为 *Abl* 阳性肿瘤的治疗提供了有意义的参考。

关于 *v-Abl* 癌基因诱导肿瘤发生与调控细胞周期、抗凋亡相联系报道甚少。Guo 等<sup>[52]</sup>首次发现 AKT1 中的 E17K 突变存在于部分 *v-Abl* 转化细胞中。随后的实验结果表明, 与野生型 AKT1 相比, E17K 突变体可以显著促进 *v-Abl* 癌蛋白介导的细胞转化, 并可通过提高抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达水平和凋亡前体蛋白 Bad 的磷酸化水平, 延缓由伊马替尼 (Imatinib, *Abl* 激酶抑制剂) 介导的 *v-Abl* 转化细胞的凋亡, 也因此证实了 AKT1 遗传变异与 *Abl* 介导淋巴细胞癌变的直接相关性。此外, Pim 激酶可以通过磷酸化 eIF4B 以促进 *Bcr-Abl*、*v-Abl* 癌基因诱导的细胞转化, 而且 Shahbazian 等<sup>[53]</sup>证明了 eIF4B 磷酸化可以特异性地上调特定 mRNA 的翻译, 如 Cdc25 (细胞周期

调控因子) 和 Bcl-2 (抗凋亡分子)。因此我们推测, 依赖 *v-Abl* 持续活化的 eIF4B 可能也通过与细胞周期调控因子和抗凋亡分子相互作用, 最终诱导肿瘤的发生。参与 *v-Abl* 癌基因诱导细胞转化的具体分子还需进一步的研究去证实。

基于本实验团队前期已经证明 eIF4B 可作为 Pim 和 Akt 的共同底物分子, 整合了 *Abl* 癌蛋白激活的 JAK/STAT/Pim、PI3K/Akt/mTOR 两条信号通路。我们发现, 在 *Abl* 转化的细胞中长时间抑制一条通路能够显著促使另一条通路的活化, 从而部分恢复 eIF4B 的磷酸化水平。因此, 针对 JAK/STAT/Pim 和 PI3K/Akt/mTOR 中单一一条信号通路的抑制剂对 *Abl* 阳性细胞的杀伤效果极为有限<sup>[22]</sup>。我们将不同药物进行组合, 同时阻断这两条通路, 能够彻底有效地降低 eIF4B 的磷酸化, 显著抑制了 *Abl* 癌蛋白诱导的肿瘤发生。这种两条信号通路抑制剂联用的协同疗法, 为治疗 *Abl* 阳性肿瘤提供了新的思路<sup>[22]</sup>。临床研究发现, 还有很多恶性肿瘤伴有 JAK/STAT/Pim、PI3K/Akt/mTOR 等通路的持续活化, 如淋巴瘤、肺癌、乳腺癌等。eIF4B 是否能在大多数临床肿瘤中发挥关键的作用, 在相应癌症模型中能否通过同时阻断两条甚至多条相关通路来降低 eIF4B 的磷酸化从而抑制肿瘤生长, 这些问题还有待进一步探究, 这些研究将为肿瘤治疗提供新策略。

## REFERENCES

- [1] Steelman LS, Pohnert SC, Shelton JG, et al. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. *Leukemia*, 2004, 18(2): 189-218.
- [2] Nowell PC, Hungerford DA. Minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science*, 1960, 132(3438): 1497.
- [3] Gahrton G, Lindsten J, Zech L. Origin of the Philadelphia chromosome: tracing of chromosome 22 to parents of patients with chronic myelocytic

- leukemia. *Exp Cell Res*, 1973, 79(1): 246–247.
- [4] Hernández SE, Krishnaswami M, Miller AL, et al. How do Abl family kinases regulate cell shape and movement? *Trends Cell Biol*, 2004, 14(1): 36–44.
- [5] Ross TS, Mgbemena VE. Re-evaluating the role of BCR/ABL in chronic myelogenous leukemia. *Mol Cell Oncol*, 2014, 1(3): e963450.
- [6] Abelson HT, Rabstein LS. Lymphosarcoma: virus-induced thymic-independent disease in mice. *Cancer Res*, 1970, 30(8): 2213–2222.
- [7] Rosenberg N, Baltimore D, Scher CD. *In vitro* transformation of lymphoid cells by Abelson murine leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1975, 72(5): 1932–1936.
- [8] Baltimore D. Abelson murine leukemia virus-induced transformation of immature lymphoid cells. *Prog Clin Biol Res*, 1979, 48(1): 3–22.
- [9] Yi CR, Rosenberg N. Gag influences transformation by Abelson murine leukemia virus and suppresses nuclear localization of the v-Abl protein. *J Virol*, 2007, 81(17): 9461–9468.
- [10] Zou XM, Calame K. Signaling pathways activated by oncogenic forms of Abl tyrosine kinase. *J Biol Chem*, 1999, 274(26): 18141–18144.
- [11] Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, et al. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene*, 2002, 285(1/2): 1–24.
- [12] Levy DE, Darnell Jr JE. Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(9): 651–662.
- [13] Cuypers HT, Selten G, Quint W, et al. Murine leukemia virus-induced T-cell lymphomagenesis: integration of proviruses in a distinct chromosomal region. *Cell*, 1984, 37(1): 141–150.
- [14] Kamura T, Maenaka K, Kotoshiba S, et al. VHL-box and SOCS-box domains determine binding specificity for Cul2-Rbx1 and Cul5-Rbx2 modules of ubiquitin ligases. *Genes Dev*, 2004, 18(24): 3055–3065.
- [15] Jatiani SS, Baker SJ, Silverman LR, et al. JAK/STAT pathways in cytokine signaling and myeloproliferative disorders: approaches for targeted therapies. *Gene Cancer*, 2010, 1(10): 979–993.
- [16] Vainchenker W, Constantinescu SN. JAK/STAT signaling in hematological malignancies. *Oncogene*, 2013, 32(21): 2601–2613.
- [17] Warsch W, Walz C, Sexl V. JAK of all trades: JAK2-STAT5 as novel therapeutic targets in BCR-ABL1+ chronic myeloid leukemia. *Blood*, 2013, 122(13): 2167–2175.
- [18] Hantschel OD, Eckelhart E, Kaupe I, et al. Bcr-Abl directly activates Stat5 independent of Jak2. *Boold*, 2010, 116: 511.
- [19] Limnander A, Danial NN, Rothman PB. v-Abl signaling disrupts SOCS-1 function in transformed pre-B cells. *Mol Cell*, 2004, 15(3): 329–341.
- [20] Nieborowska-Skorska M, Hoser G, Kossev P, et al. Complementary functions of the antiapoptotic protein A1 and serine/threonine kinase pim-1 in the BCR/ABL-mediated leukemogenesis. *Blood*, 2002, 99(12): 4531–4539.
- [21] Yang JL, Wang J, Chen K, et al. eIF4B phosphorylation by pim kinases plays a critical role in cellular transformation by Abl oncogenes. *Cancer Res*, 2013, 73(15): 4898–4908.
- [22] Chen K, Yang JL, Li JN, et al. eIF4B is a convergent target and critical effector of oncogenic Pim and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in Abl transformants. *Oncotarget*, 2016, 7(9): 10073–10089.
- [23] Qiu XX, Guo GJ, Chen K, et al. A requirement for SOCS-1 and SOCS-3 phosphorylation in Bcr-Abl-induced tumorigenesis. *Neoplasia*, 2012, 14(6): 547–558.
- [24] Chen JL, Limnander A, Rothman PB. Pim-1 and Pim-2 kinases are required for efficient pre-B-cell transformation by v-Abl oncogene. *Blood*, 2008, 111(3): 1677–1685.
- [25] de Groot RP, Raaijmakers JAM, Lammers JWJ, et al. STAT5-dependent CyclinD1 and Bcl-xL expression in Bcr-Abl-transformed cells. *Mol Cell Biol Res Commun*, 2000, 3(5): 299–305.
- [26] Escobedo JA, Navankasattusas S, Kavanaugh WM, et al. cDNA cloning of a Novel 85 kD protein that has SH2 domains and regulates binding of PI3-kinase to the PDGF  $\beta$ -receptor. *Cell*, 1991, 65(1): 75–82.
- [27] Haslam RJ, Koide HB, Hemmings BA. Pleckstrin



- domain homology. *Nature*, 1993, 363(6427): 309–310.
- [28] Franke TF, Hornik CP, Segev L, et al. PI3K/Akt and apoptosis: size matters. *Oncogene*, 2003, 22(56): 8983–8998.
- [29] Jiang BH, Liu LZ. Chapter 2 PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. *Adv Cancer Res*, 2009, 102: 19–65.
- [30] Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, et al. Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(12): 988–1004.
- [31] Ren SY, Xue F, Feng J, et al. Intrinsic regulation of the interactions between the SH3 domain of p85 subunit of phosphatidylinositol-3 kinase and the protein network of BCR/ABL oncogenic tyrosine kinase. *Exp Hematol*, 2005, 33(10): 1222–1228.
- [32] Tang XW, Downes CP, Whetton AD, et al. Role of phosphatidylinositol 3-kinase and specific protein kinase B isoforms in the suppression of apoptosis mediated by the Abelson protein-tyrosine kinase. *J Biol Chem*, 2000, 275(17): 13142–13148.
- [33] Asati V, Mahapatra DK, Bharti SK. PI3K/Akt/mTOR and Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathways inhibitors as anticancer agents: structural and pharmacological perspectives. *Eur J Med Chem*, 2016, 109: 314–341.
- [34] Niu GL, Zhang SY. PI3K/Akt signaling pathways and tumor. *Prog Mod Biom*, 2010, 10(20): 3994–3996, 3390 (in Chinese).  
牛国梁, 张树友. PI3K/Akt 信号传导通路和肿瘤. *现代生物医学进展*, 2010, 10(20): 3994–3996, 3390.
- [35] Guo L, Wang Q. Correlation of PI3K/Akt/mTOR signal pathway to infiltration and metastasis of malignant Tumor. *J Mod Onc*, 2009, 17(8): 1585–1589 (in Chinese).  
郭琳, 王强. PI3K/Akt/mTOR 信号传导通路和恶性肿瘤浸润和转移的研究进展. *现代肿瘤医学*, 2009, 17(8): 1585–1589.
- [36] Zheng PS, Ji J. Advance in research on the relationship between mTOR signaling pathway and tumors. *J Xi'an Jiaotong Univ: Med Sci*, 2010, 31(1): 1–9 (in Chinese).  
郑鹏生, 冀静. mTOR 信号通路和肿瘤的研究进展. *西安交通大学学报: 医学版*, 2010, 31(1): 1–9.
- [37] de Mattos SF, Essafi A, Soeiro I, et al. FoxO3a and BCR-ABL regulate cyclin D2 transcription through a STAT5/BCL6-dependent mechanism. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(22): 10058–10071.
- [38] Prabhu S, Saadat D, Zhang M, et al. A novel mechanism for Bcr-Abl action: Bcr-Abl-mediated induction of the eIF4F translation initiation complex and mRNA translation. *Oncogene*, 2007, 26(8): 1188–1200.
- [39] Gesbert F, Sellers WR, Signoretti S, et al. BCR/ABL regulates expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 through the phosphatidylinositol 3-Kinase/AKT pathway. *J Biol Chem*, 2000, 275(50): 39223–39230.
- [40] Essafi A, De Mattos SF, Hassen YAM, et al. Direct transcriptional regulation of Bim by FoxO3a mediates STI571-induced apoptosis in Bcr-Abl-expressing cells. *Oncogene*, 2005, 24(14): 2317–2329.
- [41] Carayol N, Katsoulidis E, Sassano A, et al. Suppression of programmed cell death 4 (PDCD4) protein expression by BCR-ABL-regulated engagement of the mTOR/p70 S6 kinase pathway. *J Biol Chem*, 2008, 283(13): 8601–8610.
- [42] Trotta R, Vignudelli T, Candini O, et al. BCR/ABL activates mdm2 mRNA translation via the La antigen. *Cancer Cell*, 2003, 3(2): 145–160.
- [43] Mayo LD, Donner DB. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway promotes translocation of Mdm2 from the cytoplasm to the nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(20): 11598–11603.
- [44] Neshat MS, Raitano AB, Wang HG, et al. The survival function of the Bcr-Abl oncogene is mediated by Bad-dependent and -independent pathways: roles for phosphatidylinositol 3-kinase and Raf. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(4): 1179–1186.
- [45] Khan AQ, Kuttikrishnan S, Siveen KS, et al. RAS-mediated oncogenic signaling pathways in human malignancies. *Semin Cancer Biol*, 2018, doi: 10.1016/j.semcancer.2018.03.001.
- [46] Friday BB, Adjei AA. Advances in targeting the Ras/Raf/MEK/Erk mitogen-activated protein kinase cascade with MEK inhibitors for cancer therapy. *Clin*

- 
- Cancer Res, 2008, 14(2): 342–346.
- [47] Chang F, Steelman LS, Lee JT, et al. Signal transduction mediated by the Ras/Raf/MEK/ERK pathway from cytokine receptors to transcription factors: potential targeting for therapeutic intervention. *Leukemia*, 2003, 17(7): 1263–1293.
- [48] Cilloni D, Saglio G. Molecular pathways: BCR-ABL. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(4): 930–937.
- [49] Steelman LS, Franklin RA, Abrams SL, et al. Roles of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway in leukemia therapy. *Leukemia*, 2011, 25(7): 1080–1094.
- [50] Guo G, Kang Q, Zhu X, et al. A long noncoding RNA critically regulates Bcr-Abl-mediated cellular transformation by acting as a competitive endogenous RNA. *Oncogene*, 2015, 34(14): 1768–1779.
- [51] Guo GJ, Kang QZ, Chen QH, et al. High expression of long non-coding RNA H19 is required for efficient tumorigenesis induced by Bcr-Abl oncogene. *FEBS Lett*, 2014, 588(9): 1780–1786.
- [52] Guo G, Qiu X, Wang S, et al. Oncogenic E17K mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 promotes v-Abl-mediated pre-B-cell transformation and survival of Pim-deficient cells. *Oncogene*, 2010, 29(26): 3845–3853.
- [53] Shahbazian D, Parsyan A, Petroulakis E, et al. Control of cell survival and proliferation by mammalian eukaryotic initiation factor 4B. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(6): 1478–1485.

(本文责编 陈宏宇)