

Bmi-1 基因研究进展

唐卓葳 综述 吴诚义 审校

(重庆医科大学附属第一医院 内分泌外科, 重庆 400016)

摘要: Bmi-1 基因是多梳基因 (Polycomb group genes) 家族重要的调节基因, 是一种癌基因, 调节同源盒基因的转录。Bmi-1 基因在维持正常干细胞自我更新和多向分化方面起重要作用, 具有促进白血病干细胞和乳腺癌干细胞的增殖能力。现发现 Bmi-1 基因在多种肿瘤中高表达, 笔者就其研究现状作一综述。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(3): 273-276]

关键词: Bmi-1 基因; 干细胞; 肿瘤干细胞

中图分类号: R 730.2

文献标识码: A

多梳基因 (polycomb group genes, PcG) 家族是果蝇发育时维持同源异形基因稳定表现的重要因子。在胚胎发育、肿瘤发生和干细胞的维持中有着重要的作用。由荷兰癌症中心于 1991 年在鼠淋巴瘤中发现的 Bmi-1 基因 (B cell-specific MLV integration site-1) 是多梳基因家族中重要成员之一, 参与干细胞的增殖、分化与衰老, 在多种肿瘤形成过程中起重要作用。笔者现就 Bmi-1 基因的研究现状作一综述。

1 Bmi-1 基因的结构和功能

人类 Bmi-1 基因克隆和定位在 10 号染色体短臂 13 区 (该区域被认为与各种白血病染色体易位有关), DNA 大小为 4.9 kb, mRNA 为 3 199 bp, 含 10 个外显子, 编码含 326 个氨基酸的蛋白质, 分子质量为 36.9 kD。其蛋白表达在细胞质、染色质或染色体。Alkema 等用鼠 Bmi-1 cDNA 片断作为探针从人白血病细胞中分离出 Bmi-1 并进行分析, 发现其核苷酸序

列与鼠的一致性达 86%, 所编码的蛋白质的氨基酸系列与鼠的一致性达 98%。

Bmi-1 基因含有一个环指模序, 位于 N-末端的环指结构域 (ring finger domain, RF), 与抑癌基因 c-Myc 协同在细胞增殖和肿瘤形成中发挥作用。Bmi-1 通过环指结构与其他环指蛋白, 如 dinG 等形成异源二聚体, 再与其他成分相互结合, 抑制其靶基因的转录。Bmi-1 基因还含有一个位于中心的保守 DNA 结合模序螺旋-转角-螺旋-转角 (DNA binding helix-turn-helix-turn motif, H-T-H-T), 起转录抑制作用^[1]。研究表明, 这两个结构在细胞生存期的延长和抑制 p16 上是不可或缺的, 敲除这两个结构, Bmi-1 基因即会失活, 导致早衰^[2]。

2 Bmi-1 基因与正常干细胞的相关性

在多细胞生物体的整个生命周期中, 干细胞会产生分化细胞类型, 最终对生物体的寿命取决定作用。为维持自身稳定, 干细胞在自我更新、多向分化、防止过早衰老和细胞凋亡方面有严格的调节机制。纯化的鼠和人造血干细胞 (HSCs) 都表达高水平的 Bmi-1^[3]。Park 等^[3] 和 Lessard 等^[4] 分别对 Bmi-1 基因敲除小鼠的胎肝细胞及胎肝造血干细胞进行

的研究表明, Bmi-1 在造血干细胞的自我更新过程中起关键作用。Suling 等^[5] 最近的研究显示, Hedgehog 信号通路调节人乳腺干细胞的自我更新可能是通过 Bmi-1 介导的。神经干细胞 (NSC) 也表达高水平的 Bmi-1^[6], Bmi-1 的缺失引起 NSC 增殖及自我更新能力下降。Molofsky 等^[7] 指出, Bmi-1 可以通过抑制 INK4a/ARF 位点以促进神经干细胞的自我更新。缺乏 Bmi-1 的周围及中枢神经干细胞的自我更新减少, 出生后干细胞衰竭, 但定型的先祖细胞 (committed progenitor cells) 的存活期及增殖能力基本正常, 表明 Bmi-1 是维持神经干细胞稳定的关键因子, 而对分化细胞影响不大^[6]。对 HSCs 的研究也得出同样结果^[3]。

Bmi-1 通过控制对干细胞的命运起决定作用的基因如生存基因, 抗增殖基因及干细胞相关基因^[3] 以调节 HSC 的自我更新。Ink4a 位点是 Bmi-1 调节的关键位点, 它通过不同的启动子调控 p16Ink4a 和 p19Arf 基因。Bmi-1 蛋白和 c-Myc 蛋白共同作用抑制 Ink4a 基因位点, 对 p16Ink4a 和 p19Arf 的转录具有负调控作用, 从而抑制细胞衰老^[8]。这已被 Ink4a 和 p19Arf 基因敲除小鼠模型实验所证实^[9]。研究表明, 一种 PcG 环指蛋白 Mel-18 在 mRNA 水平通过下调 c-Myc 癌基因下调 Bmi-1, 导致老化加

收稿日期: 2007-12-12;

修订日期: 2008-02-04。

作者简介: 唐卓葳, 女, 重庆医科大学附属第一医院硕士研究生, 主要从事乳腺癌基础与临床方面的研究。

通讯作者: 吴诚义 E-mail: NFM-WK1192@hospital-cqmu.com

速,使正常的人体细胞复制周期缩短^[10]。Itahana等^[11]认为,Bmi-1通过抑制p16依赖的老化途径以延长人类成纤维细胞的复制周期。分别表达了p16Ink4a和p19Arf的HSCs发生衰老和凋亡;p16Ink4a的不足可以部分恢复Bmi-1缺失的干细胞自我更新功能^[3,6]。

p16Ink4a是一个周期依赖蛋白激酶抑制因子,可以抑制周期蛋白D-Cdk4/6复合物^[12],使pRB超磷酸化。超磷酸化的pRB不能结合E2F转录蛋白(如DNA多聚酶2,细胞周期蛋白E,p19,二氢叶酸还原酶^[13])。这样,E2F的靶基因即可转录,其结果是细胞周期G₁/S顺利进行,细胞分裂继续。当Bmi-1缺乏时,p16Ink4a上调,阻止Cdk4/6与cyclin D的结合,导致pRB去超磷酸化;去超磷酸化的pRB结合E2F,抑制了E2F介导的转录,这使细胞周期停滞,促进其老化。研究表明,许多类型的人体细胞衰老都通过激活p16Ink4a/Rb途径,Bmi-1的注入可以抑制p16Ink4a的表达,并延长人类皮肤,乳腺,支气管上皮细胞的生长期^[14]。但在正常人口腔角质化细胞和皮肤角质化细胞中,Bmi-1并不下调p16Ink4a,表明可能存在其他尚未被鉴定出来的与细胞增殖有关的Bmi-1靶点^[15-16]。p19Arf能隔离小鼠双微基因2(MDM2),抑制p53的降解,导致p53介导的细胞周期停滞和凋亡^[12]。

Bmi-1广泛表达于多种类型干细胞,以致出生后的小鼠,若缺乏Bmi-1则在造血功能、骨骼发育、神经系统功能和小脑的发育上都存在缺陷。张世庆等^[17]首先从小鼠睾丸组织中克隆到Bmi-1基因,Bmi-1基因大量表达于未分化的精原细胞,表明其对精原干细胞的自增殖有影响。Qiao等^[18]从脐带分离的间质干细胞(MSC)上也有Bmi-1表达。这提示脐带可能因成为人MSC的来源而应用于实验和临床。

3 Bmi-1与肿瘤发生

3.1 BMI-1与细胞的永生性

致瘤转化过程中的关键之一是

细胞能克服衰老,致永生性。Goberdhan等^[1]的研究发现,Bmi-1在几种乳腺癌细胞系和经人类乳头状瘤病毒E6癌基因致永生化的候选人类乳腺上皮细胞(MECs)中有过表达,且这种细胞的p53/p21waf已经被破坏。Bmi-1过表达可抑制p19Arf的作用,p53的降解增加,进而阻止p53介导的细胞凋亡,提示Bmi-1可能与永生性有关。Bmi-1能延长复制周期永生性乳腺上皮细胞(MECs),其机制主要是通过激活人端粒酶逆转录酶(hTERT)的转录从而诱导端粒酶的活性,在人类乳腺癌的发生中扮演重要角色。但研究又表明,Bmi-1诱导端粒酶活性不依赖于hTERT启动因子上的c-Myc结合位点,这并不排除c-Myc与Bmi-1介导的诱导端粒酶活性有间接联系。Haga等^[14]最近的实验也表明,抑制p16Ink4a,同时注入hTERT能使来自人乳腺、皮肤、支气管的上皮细胞使永生性。Suling认为Bmi-1调节正常干细胞自我更新,部分通过抑制p16而介导^[19]。在肿瘤形成过程中,p16启动子甲基化,p16Ink4a日益静默,自我更新调节失控。原代乳腺组织上皮细胞的异质群体通过一定的培养可以获得MECs,在此过程中,p16Ink4a日益静默,不会在MECs中表达^[1]。

3.2 Bmi-1与肿瘤干细胞

Lessard等^[4]将Hoxa9和Meis1a基因分别植入转染了Bmi-1野生型和基因缺失型(Bmi-1^{-/-})的14.5d的小鼠胎肝,发现在Bmi-1^{-/-}型小鼠的血液中,白血病细胞数量相对于野生型明显减少,并且来自原代Bmi-1^{-/-}型的白血病干细胞(L-HSCs)不能在第二代的受体身上致急性粒细胞性白血病(AML)发生。这表明,Bmi-1对白血病干细胞的增殖与致白血病的能力具有决定性作用。Suling等^[5]运用定量聚合酶链反应(PCR)技术对标记为CD44⁺CD24^{-low}lin⁻的人乳腺癌干细胞的Hh信号成分PTCH1, Gli1, Gli2和Bmi-1的mRNAs水平进行测定,发现它们比同一肿瘤缺乏肿瘤干细胞标志的癌细胞分别高表达1.7倍,30

倍,6倍和5倍。Suling等认为,Hh信号和Bmi-1对正常人乳腺干细胞和乳腺癌干细胞的自我更新具有非常重要的作用。Yu等^[20]用反义RNA介导抑制Bmi-1的表达,可以抑制肺癌干细胞系A549的增殖。

3.3 Bmi-1与肿瘤

在血液肿瘤方面,早期发现Bmi-1能促成Bmi-1基因鼠体内T淋巴瘤和B淋巴瘤的产生。Beà等^[21]检测262例恶性肿瘤患者中Bmi-1的表达情况,其中血液系统恶性疾病患者173例,包括AML、慢性粒细胞白血病(CML)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、毛细胞白血病、淋巴瘤等。检测结果表明,Bmi-1在CLL和边缘带淋巴瘤中的表达显著高于滤泡细胞淋巴瘤和大B细胞淋巴瘤,而急性白血病和T细胞淋巴瘤患者中未检测到Bmi-1的重组或扩增。

实体肿瘤方面, Kim等^[22]检测了人乳腺浸润性导管癌中的Bmi-1,免疫组织化学染色法显示,70例乳腺癌组织中的44例(62%)Bmi-1蛋白有强阳性表达,并且在原发性乳腺癌组织浸润的周边比中心部分染色更强。运用逆转录(RT)-PCR方法显示,与对照组的非新生组织的测试标本相比,33份乳腺癌组织标本中28份标本出现显著上调。且Bmi-1的高表达与临床分期及淋巴结转移成正相关,提示Bmi-1在乳腺癌晚期发生浸润转移过程中也起重要作用。冯艳等^[23]对Bmi-1与乳腺癌关系的研究也得出类似结果,但发现与雌激素受体阳性无明显相关性。这与Kim等的结果不同,可能与样本数偏少或东西方人种不同有关。Wei等^[24]的研究显示, Mel-18作为肿瘤抑制因子通过抑制Bmi-1的表达下调Akt的活性,从而抑制肿瘤发生。Javier等^[25]的研究提示,外周循环血中的Bmi-1 mRNA可能作为进展期乳腺癌患者的预后指标。

Breuer等^[26]研究了支气管鳞癌及癌前病变中Bmi-1和P-16的表达,发现鳞癌中有69%不表达P16,77%表达Bmi-1,4例p16阳性的病例中2例Bmi-1阳性,其中在9例

p16 阴性表达的样本中,8 例(89%) Bmi-1 阳性,4 例(44%)的 p16/Ink4a 启动区的甲基化。此外在支气管鳞癌的癌前病变中,48%有 Bmi-1 过表达。

Bmi-1 与肝癌的不良预后有明显的相关性,并且可以作为肝癌长期生存预后的一个生物学标志。Bmi-1 在前列腺癌^[27],阴茎癌^[28]和胃肠道肿瘤^[29]等中也呈过度表达,提示 Bmi-1 在多种肿瘤的发生发展中发挥作用。

Bmi-1 的高表达与皮肤黑色素瘤转移倾向关系密切,高 Bmi-1/低 p16(ink4a)的表达模式是一个有意义的预示转移的报警器^[30]。提示 Bmi-1 对 p16(ink4a)的抑制增加了黑色素瘤干细胞的恶性程度。

Leung 等^[31]在 3 种成神经管细胞瘤的瘤株及人肿瘤标本中检测 Bmi-1 的表达情况,发现与正常小脑比较,所有肿瘤细胞株均呈过度表达,66.7%的肿瘤标本呈过度表达。Dmitri 等^[32]认为 Bmi-1 和 Mel-18 在成神经管肿瘤细胞生长过程中有功能叠加。Nowak 等^[33]认为 Bmi-1 是 E2F-1 的靶基因,E2F-1 能激活 Bmi-1 的表达,促进原发性成神经管细胞瘤的发生。

此外,Song 等^[34]的研究表明,Bmi-1 在鼻咽癌中高表达,Bmi-1 与原发灶的浸润范围和患者预后有关,并建立了 Bmi-1 单基因诱导的永生鼻咽上皮细胞株。这有力地证明 Bmi-1 是癌基因,提示其可能成为一种判断恶性肿瘤进展和预后的新分子标志物。

参考文献:

- [1] Dimri GP, Martinez JL, Jacobs JJ, *et al.* The Bmi-1 oncogene induces telomerase activity and immortalizes human mammary epithelial cells [J]. *Cancer Res*, 2002, 62 (16):4736-4745.
- [2] Itahana K, Zou Y, Itahana Y, *et al.* Control of the replicative life span of human fibroblasts by p16 and the polycomb protein Bmi-1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23 (1):389-401.
- [3] Park IK, Qian D, Kiel M, *et al.* Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing haematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2003, 423 (6937):302-305.
- [4] Lessard J, Sauvageau G. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells [J]. *Nature*, 2003, 423 (6937):255-260.
- [5] Liu S, Dontu G, Mantle ID, *et al.* Hedgehog signaling and Bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (12):6063-6071.
- [6] Molofsky AV, Pardal R, Iwashita T, *et al.* Bmi-1 dependence distinguishes neural stem cell self-renewal from progenitor proliferation [J]. *Nature*, 2003, 425 (6961):962-967.
- [7] Molofsky AV, He S, Bydon M, *et al.* Bmi-1 promotes neural stem cell self-renewal and neural development but not mouse growth and survival by repressing the p16Ink4a and p19Arf senescence pathways [J]. *Genes Dev*, 2005, 19 (12):1432-1437.
- [8] Park IK, Qian D, Kiel M, *et al.* Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing haematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2003, 423 (6937):302-305.
- [9] Molofsky AV, He S, Bydon M, *et al.* Bmi-1 promotes neural stem cell self-renewal and neural development but not mouse growth and survival by repressing the p16Ink4a and p19Arf senescence pathways [J]. *Genes Dev*, 2005, 19 (12):1432-1437.
- [10] Guo WJ, Datta S, Band V, *et al.* Mel-18, a polycomb group protein, regulates cell proliferation and senescence via transcriptional repression of Bmi-1 and c-Myc oncoproteins [J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18 (2):536-546.
- [11] Itahana K, Zou Y, Itahana Y, *et al.* Control of the replicative life span of human fibroblasts by p16 and the polycomb protein Bmi-1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23 (1):389-401.
- [12] Sorrentino BP. Clinical strategies for expansion of haematopoietic stem cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4 (11):878-888.
- [13] Vernell R, Helin K, Müller H. Identification of target genes of the p16INK4A-pRB-E2F pathway [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (46):46124-46137.
- [14] Haga K, Ohno S, Yugawa T, *et al.* Efficient immortalization of primary human cells by p16INK4a-specific short hairpin RNA or Bmi-1, combined with introduction of Htert [J]. *Cer Sci*, 2007, 98 (2):147-154.
- [15] Kang MK, Kim RH, Kim SJ, *et al.* Elevated Bmi-1 expression is associated with dysplastic cell transformation during oral carcinogenesis and is required for cancer cell replication and survival [J]. *Br J Cancer*, 2007, 96 (1):126-133.
- [16] Lee K, Adhikary G, Balasubramanian S, *et al.* Expression of Bmi-1 in epidermis enhances cell survival by altering cell cycle regulatory protein expression and inhibiting apoptosis [J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128 (1):9-17.
- [17] 张世庆,李德雪,李恩中,等.小鼠睾丸组织 Bmi-1 基因德克隆及原核表达 [J]. *中华男科学*, 2006, 12 (4):308-310, 314.
- [18] Qiao C, Xu W, Zhu W, *et al.* Human mesenchymal stem cells isolated from the umbilical cord [J]. *Cell Biol Int*, 2008, 32 (1):8-15.
- [19] Liu S, Dontu G, Wicha MS. Mammary stem cells, self-renewal pathways, and carcinogenesis [J]. *Breast Cancer Res*, 2005, 7 (3):86-95.
- [20] Yu Q, Su B, Liu D, *et al.* Antisense RNA-mediated suppression of Bmi-1 gene expression inhibits the proliferation of lung cancer cell line A549 [J]. *Oligonucleotides*, 2007, 17 (3):327-335.
- [21] Beà S, Tort F, Pinyol M, *et al.* Bmi-1 gene amplification and overexpression in hematological malignancies occur mainly in mantle cell lymphomas [J]. *Cancer Res*, 2001,

- 61(6):2409-2412.
- [22] Kim JH, Yoon SY, Jeong SH, *et al.* Overexpression of Bmi-1 oncogene correlates with axillary lymph node metastases in invasive ductal breast cancer [J]. *Breast*, 2004, 13(5):383-388.
- [23] 冯艳, 宋立兵, 郭宝红, 等. Bmi-1 在乳腺癌组织中的表达及意义 [J]. *癌症*, 2007, 26(2):154-157.
- [24] Guo WJ, Zeng MS, Yadav A, *et al.* Mel-18 Acts as a Tumor Suppressor by Repressing Bmi-1 Expression and Down-regulating Akt Activity in Breast Cancer Cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(11):5083-5089.
- [25] Silva J, Garcia V, Garcia JM, *et al.* Circulating Bmi-1 mRNA as a possible prognostic factor for advanced breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res*, 2007, 9(4):1-9.
- [26] Breuer RH, Snijders PJ, Sutedja GT, *et al.* Expression of the p16 (INK4a) gene product, methylation of the p16 (INK4a) promoter region and expression of the polycomb-group gene Bmi-1 in squamous cell lung carcinoma and premalignant endobronchial lesions [J]. *Lung Cancer*, 2005, 48(3):299-306.
- [27] van Leenders GJ, Dukers D, Hesselts D, *et al.* Polycomb-group oncogenes EZH2, BMI1, and RING1 are overexpressed in prostate cancer with adverse pathologic and clinical features [J]. *Eur Urol*, 2007, 52(2):455-463.
- [28] Ferreux E, Lont AP, Horenblas S, *et al.* Evidence for at least three alternative mechanisms targeting the p16INK4A/cyclin D/Rb pathway in penile carcinoma, one of which is mediated by high-risk human papillomavirus [J]. *J Pathol*, 2003, 201(1):109-118.
- [29] Reinisch C, Kandutsch S, Uthman A, *et al.* Bmi-1: a protein expressed in stem cells, specialized cells and tumors of the gastrointestinal tract [J]. *Histol Histopathol*, 2006, 21(11):1143-1149.
- [30] Mihic-Probst D, Kuster A, Kilgus S, *et al.* Consistent expression of the stem cell renewal factor Bmi-1 in primary and metastatic melanoma [J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(8):1764-1770.
- [31] Leung C, Lingbeek M, Shakhova O, *et al.* Bmi1 is essential for cerebellar development and is overexpressed in human medulloblastomas [J]. *Nature*, 2004, 428(6980):337-341.
- [32] Wiederschain D, Chen L, Johnson B, *et al.* Contribution of Polycomb Homologues Bmi-1 and Mel-1 to Medulloblastoma Pathogenesis [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(13):4968-4979.
- [33] Nowak K, Kerl K, Fehr D, *et al.* BMI1 is a target gene of E2F-1 and is strongly expressed in primary neuroblastomas [J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(6):1745-1754.
- [34] Song LB, Zeng MS, Liao WT, *et al.* Bmi-1 is a novel molecular marker of nasopharyngeal carcinoma progression and immortalizes primary human nasopharyngeal epithelial cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(12):6225-6232.

本刊为新闻出版总署首批出版规范检查 A 类期刊

国家新闻出版总署 2007 年对全国期刊进行了一次全面的出版规范检查,这项工作是从 2007 年 7 月 1 日启动的,检查组将 7300 多种期刊全部初检、复检,并经各省新闻出版局报刊处认真核实,首批合格期刊名单已在媒体和中国记者网上公布。《中国普通外科杂志》顺利通过这次检查,成为新闻出版总署首批出版规范检查合格(A类)期刊。同时国家新闻出版总署对多年来严格遵守出版法规的期刊进行了表扬,认为这些期刊是全国期刊树立学习的榜样。

多年来,中国普通外科杂志在期刊主管主办单位和新闻出版管理部门的正确指导和管理下,坚持科学发展观,严格遵守新闻出版规范、法规和相关规定,保证了刊物按既定的办刊宗旨出版。今后本刊将进一步做好期刊的编辑出版工作,使《中国普通外科杂志》更上一个新的台阶,在读者心中树立更好的形象,为中国期刊增光添彩。