

Mcl-1 分子研究进展 *

郭俊¹ 杨华强^{2△}

(1 湖北医药学院附属太和医院体检中心 湖北 十堰 442000 2 湖北医药学院附属太和医院细胞治疗中心 湖北 十堰 442000)

摘要 Mcl-1(myeloid cell leukemia-1)是 Bcl-2 家族的一个新成员,在凋亡调控中具有重要作用,此外它还可以直接对细胞分化和细胞周期进行调控,进一步研究表明 Mcl-1 在胚胎形成,组织发育和免疫系统中具有重要作用,Mcl-1 表达异常可以导致恶性肿瘤的发生,因此通过反义寡核苷酸技术或小分子干扰 RNA 抑制 Mcl-1 基因的表达,促进细胞凋亡并提高肿瘤细胞对放疗及化疗的敏感性,为难治性肿瘤的治疗开辟了一条新途,所以对 Mcl-1 的深入研究具有重要意义。

关键词 凋亡; Mcl-1 肿瘤; 治疗

中图分类号 R730.231 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273 (2012) 02-393-05

Progression of Research for on Mcl-1 Molecule*

GUO Jun¹, YANG Hua-qiang^{2△}

(1 Medical examination center, Taihe Hospital, Hubei University of medicine, Shiyan, Hubei 442000, P.R. China;

2 Center of Cell Therapy, Taihe Hospital, Hubei University of medicine, Shiyan, Hubei 442000, P.R. China)

ABSTRACT: Myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1), which has important role in regulation of apoptosis besides it directly regulate cell differentiation and cell cycle, is a new member of B cell lymphoma-2(Bcl-2) families. Further study show that Mcl-1 has important role in embryogenesis, tissue development, and immune system and abnormal expression of Mcl-1 contribute to tumourgenesis. We may develop a new approach by inhibiting mcl-1 gene expression through Mcl-1 antisense oligonucleotide or small interfere RNA, facilitate tumour cell apoptosis, and improve tumor cell sensitivity to radiotherapy and chemotherapy. So it has significant meaning in further study for Mcl-1.

Key word: Apoptosis; Mcl-1; Tumor; Treatment

Chinese Library Classification: R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273 (2012) 02-393-05

前言

凋亡是机体在进化过程中形成的一种保守的死亡途径,对于维持组织内环境的稳定,机体发育和清除受损的细胞具有重要作用。凋亡调节异常可以导致人类疾病,包括 恶性肿瘤和神经变性疾病^[1]。由于细胞凋亡在肿瘤的发生和发展中起着重要的作用,人们对细胞凋亡调节基因,尤其是其中 B 细胞淋巴瘤/白血病 -2 (B Cell lymphoma/Leukemia-2,Bcl-2) 这一基因家族进行了深入的研究。Bcl-2 家族按其功能分为两类 抑制细胞凋亡(例如 Bcl-2, Bcl-xl)和促进细胞凋亡(例如 Bad,Bax)^[2]。Mcl-1 是 Bcl-2 家族的一个抗凋亡成员,1993 年在研究髓白血病细胞系的过程中被首次发现^[3],自那以后人们发现 Mcl-1 在多种细胞系中表达并且证明是凋亡调控分子家族的一个重要成员。

1 Mcl-1 基因的结构和蛋白表达

MCL-1 基因是在研究人 ML-1 髓白血病细胞系用佛波酯(phorbol ester)诱导后,沿单核/巨噬细胞途径分化过程中,作为早期诱导基因被首次发现的。MCL-1 基因全长 6502bp,含有 3 个外显子和两个内含子,并且每个外显子都含有蛋白编码信

息,Mcl-1 mRNA 至少具有两个多聚腺苷酸化位点。人类 Mcl-1 基因位于染色体 1q21,该区域在肿瘤性疾病及其癌前病。

在家族蛋白质间介导蛋白质相互作用的短的基序并且对凋亡调节具有重要作用^[1]。Mcl-1L 具有 BH1-3 结构域,但缺乏 Bcl-2 和 Bcl-XL 氨基末端的 BH4 结构域。与许多其它 Bcl-2 家族蛋白质一样,Mcl-1 在碳末端含有一个跨膜(transmembrane, TM)结构域,其功能是使 Mcl-1 定位在不同的细胞内膜,特别是线粒体外膜^[4]。这种定位与 Mcl-1 的功能相一致,可以使 Mcl-1 在凋亡过程中对线粒体中发生的重要反应进行调节,另外发现其它细胞内膜上也存在有 Mcl-1。Mcl-1 分子在其 N-端部分含有 2 个富含脯氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸的 PEST 结构域。进一步研究表明 PEST 结构域常常存在更新较快的蛋白质中,而这与细胞中 Mcl-1 有较短的半衰期^[5,6]相符合。蛋白酶的降解可能是 Mcl-1 迅速代谢的一个主要途径。

Mcl-1 第 2 外显子选择性剪接产生另外一种蛋白质, Mcl-1S/△TM,这个含有 271 氨基酸残基的蛋白质 N-端部分(包括 PEST 和 BH3 结构域)与 Mcl-1L 是相同的,但 Mcl-1S/△TM 缺乏 BH1,2 和跨膜区^[7]。尽管这种亚型的重要性还没有完全弄清楚,但是 Mcl-1S/△TM 的结构象仅仅含有 BH3 结构

* 基金项目 湖北省教育厅基金资助 (B20092404)

作者简介 郭俊(1968),女,主管护师,主要从事体检和疾病的健康筛查工作

△通讯作者 杨华强,Email:yanghuaqiang2004@126.com, telephone:13986871847

(收稿日期 2011-05-12 接受日期 2011-06-06)

域的促凋亡蛋白,并且 Mcl-1S/ Δ TM 功能与 Mcl-1L 相反, Mcl-1S/ Δ TM 过表达可促进细胞死亡,利用免疫印迹也可以检测到 Mcl-1 分子其它亚型,它们可能来源于 Mcl-1 磷酸化,选择性翻译起始和/或 Caspase 分解,然而除了 Caspase 分解,其它过程并不是有特征性(Mcl-1 的分子组成如上图 1)。

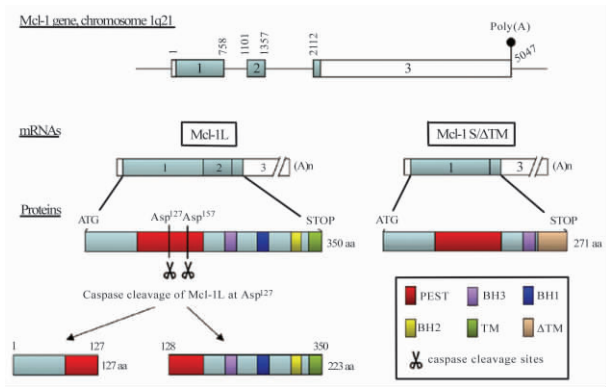


图 1 Mcl-1 基因的结构和蛋白质表达

Fig.1 Structure of gene and expression of protein of Mcl-1

2 Mcl-1 分子的分布,合成和降解

在许多细胞都可以检测到 Mcl-1 的表达,在分化能力较强的上皮细胞的顶端层(apical layer)可以检测到 Mcl-1 的高表达,例如前列腺,乳房,结肠和肺上皮,而 Bcl-2 在基底细胞层表达较高^[8]。另外子宫内皮、胃上皮、小肠上皮、呼吸道上皮、神经内分泌细胞(如肾上腺皮质细胞、交感神经元细胞、部分胰岛细胞及睾丸的生精细胞等)等均有 MCL-1 基因的表达。在淋巴系统 Mcl-1 在生发中心的 B 细胞区域大量表达,而 Bcl-2 主要表达于套区的克隆选择的 B 细胞^[8]。这种分布的不同,表明 Mcl-1 和 Bcl-2 在凋亡调控中具有不同作用。

许多生存和分化信号可诱导 Mcl-1 表达,例如细胞因子和生长因子^[5],丝裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases),磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)和酪氨酸激酶/信号诱导和转录活化因子(Janus Kinase,JAK/Signal transducer and activator of transcription,STAT) 依赖途径都可以通过 Mcl-1 启动子中特异性转录因子应答元件刺激 Mcl-1 的转录^[5,9]。并且 Mcl-1 的直接磷酸化对调控 Mcl-1 表达与功能也具有重要作用^[5,1]。

与抗凋亡的 Bcl-2 和 Bcl-XL 蛋白相反,Mcl-1 在许多细胞凋亡过程中其表达下调^[5,10]。Caspase 介导的对 Mcl-1 的分解可能是其表达下调的主要原因,因为 Caspase 特别是效应 Caspase,例如 Caspase3 可以在人 Mcl-1 蛋白两个天冬氨酸残基 ASP127 和 ASP157 裂解 Mcl-1^[10,11]。这些残基位于 PEST 区域并且哺乳动物和斑马鱼 Mcl-1 蛋白中的这些残基具有保守性,在细胞中 ASP127 可能是主要裂解位点。在 ASP127 位点裂解所形成的碳末端片段是一个有效的细胞死亡促进蛋白,所以 Caspase 在裂解 Mcl-1 使细胞生存分子丧失同时产生一个有效的细胞死亡促进分子^[10]。另外在某些情况下,细胞在凋亡过程中由于启动子活性和/或翻译水平降低,可能导致 Mcl-1 水平的下调(例如辐射或病毒感染)^[12,13,6]。

3 Mcl-1 生物学功能

Mcl-1 的快速诱导和降解表明 Mcl-1 在细胞适应环境迅速变化的凋亡调控中有重要作用^[5]。与这种功能适应,Mcl-1 为胚胎形成^[14],发育、机体内 T 和 B 淋巴细胞的维持所必需^[15]。利用 Mcl-1 的反义寡核苷酸可引起表达 Mcl-1 的肿瘤细胞的凋亡^[16,10]表明 Mcl-1 的过表达可以促进恶性肿瘤细胞生存。Mcl-1 保护细胞生存的真正分子机制还没有完全弄清楚,但是认为其原因包括抑制线粒体释放细胞色素 C,与促凋亡 Bcl-2 家族蛋白,例如 Bim 或 Bak 形成异二聚体并抵抗其促凋亡效应^[12,15]。Mcl-1 在细胞凋亡调控中处于凋亡信号传导的上游,调节导致细胞色素 C 释放的早期级联反应。另外在一些细胞系统,Mcl-1 表达的快速下调可能为凋亡级联反应的发动所必需^[6]。Mcl-1 除具有促进细胞生存功能外,Mcl-1 也可以促进细胞凋亡,活化的 Caspase 对 Mcl-1 裂解所产生的细胞死亡促进蛋白参与形成正反馈导致更多的 Caspase 活化^[10]。Mcl-1 也可能有其它功能,它可以直接对细胞分化和细胞周期进行调控,例如 Mcl-1 与增殖细胞核抗原(PCNA)结合使细胞周期停止,而细胞周期重要的调节因子-转录因子 E2F1 可以抑制 Mcl-1 表达^[17,18]。

4 Mcl-1 与人类疾病

肿瘤的发生是由于细胞增殖,分化失控和细胞凋亡失衡综合作用的结果,Mcl-1 是 Bcl-2 家族的一个重要成员,研究表明 Mcl-1 的表达与调节异常与许多人类疾病有关。

4.1 血液系统疾病

多发性骨髓瘤(MM)是由于骨髓中浆细胞异常积累而导致的一种恶性肿瘤,Zhang B 等人^[19]研究表明 Mcl-1 是 MM 的一个重要的生存因子。它们发现 MM 细胞在放线菌素 D(actinomycin D)存在的条件培养基中 Mcl-1 的水平快速降低的同时伴有效应 Caspase 活化,加入蛋白酶体抑制剂可以逆转 Mcl-1 的减少并且维持细胞的生存。在这个过程中其它的抗凋亡蛋白包括 Bcl-2 和凋亡抑制因子的成员不受影响。此外,Mcl-1 的反义寡核苷酸引起 Mcl-1 蛋白的快速下调的同时诱导细胞发生凋亡,而 Mcl-1 的过表达延迟 actinomycin D 诱导的凋亡。这些数据表明 Mcl-1 的表达为 MM 细胞生存所必需并且 Mcl-1 代表了 MM 治疗的一个重要的靶点。Derenne S 等^[16]使用电穿孔法(electroporation)把 Bcl-2,Bcl-x(L)和 Mcl-1 每一反义寡核苷酸(ASO; Bcl-2, Bcl-x(L), or Mcl-1 ASO)引入人类的骨髓瘤细胞系诱导相应蛋白水平的显著减少,发现 Mcl-1 ASO 引起所有测试的骨髓瘤细胞系和 2 个原代骨髓瘤细胞成活力的显著降低,而 Bcl-2 和 Bcl-x(L)不影响骨髓瘤细胞的成活力。Mcl-1 ASO 诱导的骨髓瘤细胞成活力的降低与线粒体膜电位 $\Delta \Psi$ 的丧失和效应 Caspase-3 的活化诱导的细胞凋亡有关,并且 IL-6 不能防止 Mcl-1 ASO 诱导的凋亡。Song L 等^[20]用碘化丙锭核染色流式细胞术来检测 IL-6 丧失诱导的 XG-7 骨髓瘤细胞的凋亡和用免疫印迹方法监测 XG-7 细胞中 Bcl-2, Bcl-xL 和 Mcl-1 蛋白的表达。结果表明在 IL-6 缺乏的某个时间可以观察到 XG-7 细胞发生显著的凋亡和 XG-7 细胞中 3 个抗凋亡蛋白只有 Mcl-1 的表达下调。然后用 IL-6 重新刺激 IL-6 丧失的 XG-7 细胞可以使 Mcl-1 的表达上调并且抑制细胞凋亡。这些结果表明 Mcl-1 在 IL-6 丧失诱导的 XG-7 人骨髓瘤细胞凋亡中具有重要作用,IL-6 引起 MM 细胞的增殖并且通过

上调 Mcl-1 来保护 MM 细胞免受凋亡。血管内皮生长因子 (VEGF) 诱导 MM 细胞适度的增殖和诱导 MM 细胞和骨髓基质细胞以自分泌形式分泌 IL-6。Le Gouill S 等^[21]使用鼠成纤维细胞作为模型 (Mcl-1(wt/wt) and Mcl-1(Delta/null)) 证明 Mcl-1 的缺失降低胎牛血清 (FBS)、VEGF- 和 IL-6 诱导的增殖。进一步研究显示 VEGF 在 3 个 MM 细胞系和 MM 病人的细胞以时间和剂量依赖的方式使 Mcl-1 的表达上调。而 pan-VEGF 抑制剂 GW654652 抑制 VEGF 诱导的 Mcl-1 表达的上调, 并且 VEGF 可以保护 MM 细胞免受 FBS 饥饿诱导的凋亡。这些研究表明 VEGF 诱导的 MM 细胞增殖和生存是通过 Mcl-1 介导的。

淋巴瘤是具有不同临床病理特征的一组疾病, 与其它恶性肿瘤一样, 异常基因的积累可以导致淋巴细胞的恶性转化。对 Mcl-1 在血液淋巴瘤组织表达的转基因小鼠进行长期的跟踪随访发现这种小鼠淋巴瘤发生的潜伏期较长并且淋巴瘤发生率较高 (两年超过 85%), 表明 Mcl-1 参与淋巴瘤的发生。外套细胞淋巴瘤 (MCL) 是 B 细胞非霍奇金淋巴瘤的一个特殊的类型, 其特征是具有 t(11; 14)(q13; q32) 和 cyclin D1 的过表达。凋亡缺陷可以导致该疾病的发生。Khouri JD 等^[22]使用蛋白印迹分析对 2 个 MCL 细胞系和 5 个冰冻 MCL 肿瘤 (4 个小细胞型, 一个 blastoid/ 大细胞型) 的抗凋亡蛋白 Mcl-1 的表达进行评估。同时使用免疫组织化学对 36 例福尔马林固定, 石蜡包埋的 MCL 肿瘤中 (24 例小细胞型, 12 例 blastoid/ 大细胞型) Mcl-1 的表达进行评估。蛋白印迹分析 (Western blot analysis) 显示在 MCL 细胞系和 5 个冰冻肿瘤中都可以检测到 Mcl-1 的表达, 并且在 blastoid/ 大细胞型 Mcl-1 的表达水平最高。以 Mcl-1 的免疫标记细胞 >10% 为阳性标准, 在 36 例 MCL 肿瘤中有 12 例阳性。Mcl-1 阳性的肿瘤中 blastoid/ 大细胞型, p53 过表达和 KI-67 强阳性发生的比例较高。因此 Mcl-1 过表达与高度的形态学, 高增殖状态和 p53 的过表达有关。Michels J 等^[10]用 Mcl-1 特异性的反义寡脱氧核苷酸引起 Akata6 淋巴瘤细胞的凋亡, 证明 Mcl-1 在恶性 B 细胞广泛表达并且 Mcl-1 的高表达为 B 淋巴瘤细胞的生存所必需。体外试验表明顺铂诱导的 B 淋巴瘤细胞系凋亡和原发性的恶性 B 细胞的自发性的凋亡过程中 Caspase 可以在进化保守的门冬氨酸残基处有效分解 Mcl-1。在凋亡过程中积累的 Mcl-1 分解产物足以使细胞死亡。因此, Mcl-1 是 B 淋巴瘤细胞的一个重要的生存分子并且在凋亡的过程中被 Caspase 分解成一个死亡促进分子。而与 Mcl-1 相反, 在体外和完整的细胞 Bcl-2, Bcl-xL 对 Caspase 的分解相对耐受。Cho-Vega JH^[23]等利用免疫组织化学和蛋白印迹分别对 B 细胞淋巴瘤 Mcl-1 的表达和 B 细胞淋巴瘤细胞系 Mcl-1 全长和短型的表达进行分析, 免疫组化结果表明在研究的 9 种淋巴瘤类型中大部分淋巴瘤都表达 Mcl-1, 高度恶性组 Mcl-1 表达阳性率和表达强度要高于低度恶性组。在滤泡性淋巴瘤 Mcl-1 的表达与分级呈正相关, 随着分级的增加 Mcl-1 的表达阳性率也相应增加。浆细胞性骨髓瘤 Mcl-1 的表达全为阳性。蛋白印迹分析表明 7 例高度 B 细胞淋巴瘤细胞系中有 6 例主要表达全长 Mcl-1。一个骨髓瘤细胞系和 2 例外套细胞淋巴瘤细胞系中 1 例显示仅仅表达全长的亚型。这些数据表明 Mcl-1 经常表达于高度的 B 细胞淋巴瘤和浆细胞性骨髓瘤, Mcl-1 的表达与淋巴瘤的分级相关并且导致滤泡性淋巴瘤的转化。

白血病是造血干细胞的一种恶性克隆性疾病, 凋亡异常可以导致该病发病。Kaufmann SH 等^[24]用免疫印迹的方法来检测来源于 123 例成人急性髓细胞白血病和 36 例成人急性淋巴细胞白血病人抗白血病治疗前的骨髓标本和 19 例配对的标本 (第一次采集于化疗前和第二次采集于白血病复发后的第 23 天到 290 天之间) Mcl-1 的细胞水平, 结果发现复发白血病的 Mcl-1 的水平明显升高。Karl 等^[25]对原发性慢性粒细胞白血病 (CML) 细胞和 BCR/ABL 转化细胞系 Mcl-1 的表达进行研究, 试验表明离体的原发性 CML 细胞构成性的表达 Mcl-1mRNA 和 Mcl-1 蛋白, 而 BCR/ABL 抑制剂 imatinib (=STI571) 减少这些细胞的 Mcl-1 的表达。相应的在 Ba/F3 细胞 BCR/ABL 增强 Mcl-1 启动子的活性, Mcl-1mRNA 的表达和 Mcl-1 蛋白的产生, 并且这种依赖于 BCR/ABL 的 Mcl-1 的表达能够被丝裂原活化的蛋白激酶 (MAPK)/ 细胞外的信号调节激酶 (MEK) 抑制剂所抑制, 但是不能被磷脂酰肌醇 -3- 激酶抑制剂 LY294002 所抑制。在 CML- 来源的细胞系 K562 和 KU812 同样可以观察到 Mcl-1 构成性的表达。应用 Mcl-1 小干扰 RNA (siRNA) 和 mcl-1 反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide) 在 K562 细胞可以观察到 Mcl-1 得下调和 K562 细胞得生存能力降低。这些结果表明 Mcl-1 是 BCR/ABL 依赖的生存因子并且是 CML 的一个重要的靶点。

4.2 消化系统疾病

胆管癌是起源于胆管上皮细胞的一种致死性肿瘤。肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 (TRAIL) 是包括胆管癌在内的肿瘤治疗的一种有前途的药物。然而许多胆管癌细胞对 TRAIL 介导的凋亡耐受。Tanai M 等^[26]对 TRAIL 诱导的凋亡耐受的胆管癌细胞系进行了研究发现抗凋亡的 Bcl-2 蛋白家族 Bcl-2, Bcl-xL 和 Mcl-1 中只有 Mcl-1 在细胞系中过表达。用小干扰 RNA (siRNA) 技术使 Bcl-2, Bcl-xL 和 Mcl-1 的表达降低, 仅仅 Mcl-1 小干扰 RNA (Mcl-1-shRNA) 使细胞对 TRAIL 介导的凋亡敏感。在 Mcl-1- 小干扰 RNA (Mcl-1-shRNA) 稳定转染的细胞系, Mcl-1 的表达缺失虽然在有 Bcl-2 表达的情况下仍然可以使细胞对 TRAIL 介导的凋亡敏感, 并且 TRAIL 介导的细胞凋亡与线粒体的去极化, Bax 的活化, 线粒体细胞色素 C 的释放和 Caspase 活化有关。另外, flavopiridol (一种快速下调 Mcl-1 的抗癌药物) 也使细胞对 TRAIL 的细胞毒性敏感。总之, 这项研究表明 Mcl-1 通过阻滞细胞死亡的线粒体途径使胆管癌细胞对 TRAIL 诱导的凋亡耐受。胆汁酸可以通过活化表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 导致胆管癌的形成。Mcl-1 的过表达也可以导致胆管癌, 因为受体酪氨酸激酶样的 EGFR 可以调节抗凋亡蛋白的表达, Yoon JH 等^[27]研究表明胆汁酸可以通过 EGFR 对 Mcl-1 的表达水平进行调节。脱氧胆酸能够以浓度依赖性的方式使细胞内的 Mcl-1 的蛋白的水平增加, 并且脱氧胆酸诱导的细胞 Mcl-1 蛋白的增加能够被 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂或 EGFR- 中和抗体所抑制。尽管抑制丝裂原活化的蛋白激酶 (MAPK) 并不能降低脱氧胆酸引起的 Mcl-1 蛋白的增加, 而 Raf-1 抑制剂 BAY 37-9751 能有效地抑制细胞 Mcl-1 蛋白的增加。另外脱氧胆酸诱导 Mcl-1 的增加减少 FAS 介导的细胞凋亡, Raf-1 抑制剂促进 FAS 介导的凋亡。这些结果表明胆汁酸通过活化 EGFR/Raf-1 级连反应而抑制 Mcl-1 蛋白的降解导致它在细胞内的聚集, Raf-1 抑制剂阻滞

Mcl-1 的增加并且使细胞对凋亡的敏感性增加。有研究表明直肠癌恶性肿瘤 Mcl-1 表达增加并与其不良预后有关。Ulrich-Pur H 等^[28]使用免疫组织化学染色的方法研究 Mcl-1 在直肠癌病人的生物学意义及其预后价值。结果表明 Mcl-1 在所有直肠癌(共有 23 例,其中一半病人在行根治性手术前行短期的 25 Gy 放射治疗,而其它病人仅仅行根治性手术)标本的表达阳性率为 35%,经放射治疗的直肠癌组织 Mcl-1 的表达与没有被照射的组织相比要显著增强,并且 Mcl-1 的表达方式与临床病理学的类型之间没有相关性。这些发现表明经过放射治疗的直肠癌与没有放射治疗的直肠癌相比 Mcl-1 的水平在前者明显增加,并且放射治疗可以诱导 Mcl-1 的表达增加。Mcl-1 作为一个抗凋亡调节因子,在被照射的直肠癌过表达形成一种不利因素使辅助性放疗的疗效减弱,因此需要对 Mcl-1 的表达与直肠癌恶性肿瘤的生存关系做进一步评估。

4.3 呼吸系统疾病

Eric B 等^[29]对肺癌的研究表明肺癌细胞 Mcl-1 蛋白大量表达并且与附近正常的肺组织相比 Mcl-1 在直接来源于病人的非小细胞肺癌(NSCLC)细胞的表达明显升高。加入表皮生长因子(EGF)能够以 Src- 激酶激活的形式刺激 Mcl-1 的表达,因为 Src 的药物抑制剂能预防 EGF 使 Mcl-1 的上调。并且 Mcl-1 的反义寡核苷酸在 A549 和 H1299 肺癌细胞系可以诱导凋亡。进一步的研究显示 Mcl-1 的反义寡核苷酸使 Mcl-1 的水平降低的同时能使肺癌细胞对顺铂(cisplatin),足叶乙甙,多西紫杉醇(docetaxel)诱导的凋亡敏感,稳定过表达 Mcl-1 的肺癌细胞在接触许多化学治疗药物后生存能力增加。因此 Mcl-1 在人非小细胞肺癌中过表达并且以 Mcl-1 为靶点的药物(agents)能诱导凋亡并且使肺癌细胞对细胞毒药物诱导的凋亡敏感。Song L 等^[30]对 Mcl-1 对 NSCLC 细胞系的肿瘤细胞的生存影响以及 Mcl-1 在肿瘤的表达方式进行研究,结果表明 Mcl-1 在 NSCLC 细胞大量表达并且 Mcl-1 的反义寡核苷酸使 Mcl-1 的表达丧失在 A549 和 H1299 肺癌细胞可以诱导凋亡。Mcl-1 的水平减少能使肺癌细胞对细胞毒药物和电离辐射诱导的凋亡敏感,而过表达 Mcl-1 的肺癌细胞对化学治疗药物,ZD1839(表皮生长因子受体酪氨酸激酶的抑制剂)和 Bcl-2 或 Bcl-x(L)反义寡核苷酸诱导的凋亡耐受。表皮生长因子能够以细胞外信号调节激酶(ERK)依赖的方式使 Mcl-1 蛋白的水平增加。这些数据表明 Mcl-1 在 NSCLC 过表达并且 Mcl-1 水平的增加可以保护肺癌细胞免受促凋亡刺激诱导的细胞死亡。

4.4 生殖系统疾病

葡萄胎(HM)是一种异常妊娠,它容易转变成妊娠滋养层细胞瘤(GTN)而发展为一种需要化疗的持续性的疾病。研究表明细胞的凋亡活性减低可能与 HM 向 GTN 进展有关,并且一些凋亡相关基因决定这种进展。Fong PY 等^[31]使用凋亡芯片(apoptosis array)在最终形成 GTN 的 HM 病人可以检测到 Mcl-1 的大量表达,发展为持续性并且需要化疗的 HM 病人的 Mcl-1mRNA 和 Mcl-1 蛋白的表达水平与那些自发缓解的 HM 病人相比明显升高。而且,Mcl-1 免疫组化染色阳性细胞主要位于细胞滋养层,与细胞凋亡指数呈负相关,这些结果表明 Mcl-1 可能在 HM 的发病中起重要的作用并且是预测 HM 临床行为的一个有用的指标。Mcl-1 和 IL-6 共同表达于宫颈组织组织和细胞系中,而在正常宫颈组织中不表达。Mcl-1 的表达强

度与宫颈癌的细胞分化呈负相关。用抗 IL-6 或 IL-6 受体的抗体阻断 IL-6 自分泌环后,人宫颈癌细胞系 C33A 细胞 Mcl-1 的表达水平显著降低,且可提高细胞对放疗和化疗的敏感性^[32],说明通过检测 Mcl-1 基因的表达可预测宫颈癌患者对放、化疗的敏感性,从而为临床治疗方案提供参考。

4.5 泌尿系统疾病

研究表明前列腺腺癌的治疗逃逸和进展与生存信号的增强和对凋亡的耐受有。Pfeil K 等^[33]测量 Mcl-1 在肿瘤标本中的表达和在 LNCaP 前列腺癌进展模型中表达的调节,并对它在前列腺中的作用进行了研究。结果表明 Mcl-1 在行根治性前列腺切除术恶性前列腺组织中的表达率为 67%和表达于因激素治疗耐药而行姑息性经直肠手术的大多数标本中。然而,在相应的良性标本 Mcl-1 的检出率仅仅为 6%。非恶性的前列腺上皮细胞与转移癌细胞系相比显示在肿瘤组织中 Mcl-1 的表达增加。这些研究表明 Mcl-1 与前列腺腺癌的发病有关。Sano M 等^[34]应用免疫组织化学和反转录聚合酶链反应(RT-PCR)对睾丸生殖细胞瘤 Mcl-1 表达进行研究,结果表明 Mcl-1 在睾丸生殖细胞瘤的表达与非瘤性生殖细胞相比明显升高。因此 Mcl-1 的过表达可以增强睾丸生殖细胞的生存并在其恶性转化中具有重要的作用。

5 Mcl-1 潜在的医学应用

因为凋亡缺陷和肿瘤之间具有明确联系,所以目前关于 Mcl-1 和疾病的研究主要是以恶性肿瘤为主要研究对象,转基因小鼠 Mcl-1 过表达导致淋巴瘤发病率增加,表明 Mcl-1 可以直接导致恶性肿瘤的发生^[35]。Mcl-1 在人类恶性肿瘤细胞广泛表达,越来越多的研究表明 Mcl-1 在临床疾病中是一个有效的预后/预测指标^[36]。通过反义寡核苷酸技术或小分子干扰 RNA 抑制 Mcl-1 基因的表达,促进细胞凋亡并提高肿瘤细胞对放疗及化疗的敏感性,为难治性肿瘤的治疗开辟了一条新的途径。另外阻断调节 Mcl-1 基因表达的信号途径也能有效的诱导细胞凋亡,提供了药物干预的新靶点,可开发研制抗肿瘤新药。所以 Mcl-1 可能是新的抗癌治疗策略中一个新的靶点(例如具有重要 BH 结构域的小分子干扰 RNA)^[37]。

6 结束语

综上所述,Mcl-1 的表达和调节异常可以导致人类疾病,对 Mcl-1 基因深入研究有助于推动凋亡与肿瘤发生发展关系的研究。然而肿瘤的发生是一个多阶段多步骤的过程以及凋亡调控网络的复杂性,对 Mcl-1 导致人类肿瘤的精确机理和 Mcl-1 在凋亡调控中与其它凋亡因子的相互作用还有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease [J]. Science, 1995, 267(5203):1456-1462
- [2] Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis [J]. Genes and Development, 1999, 13 (15): 1899-1911
- [3] Kozopas KM, Yang T, Buchan HL, et al. MCL1, a gene expressed in programmed myeloid cell differentiation, has sequence similarity to BCL2 [J]. Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America, 1993, 90(8): 3516-3520
- [4] Yang T, Kozopas KM, Craig RW. The intracellular distribution and

- pattern of expression of Mcl-1 overlap with, but are not identical to, those of Bcl-2[J]. *Journal of Cell Biology*,1995, 128(6): 1173-1184
- [5] Craig RW. MCL-1 provides a window on the role of the BCL2 family in cell proliferation, differentiation and tumorigenesis [J]. *Leukemia*, 2002, 16(5): 444-454
- [6] Nijhawan D, Fang M, Traer E, et al. Elimination of Mcl-1 is required for the initiation of apoptosis following ultraviolet irradiation [J]. *Genes and Development*, 2003, 17(6): 1475- 1486
- [7] Bae J, Leo CP, Hsu SY, et al. MCL-1S, a splicing variant of the anti-apoptotic BCL-2 family member MCL-1, encodes a proapoptotic protein possessing only the BH3 domain[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275 (33) : 25255-25261
- [8] Krajewski S, Bodrug S, Krajewska M, et al. Immunohistochemical analysis of Mcl-1 protein in human tissues. Differential regulation of Mcl-1 and Bcl-2 protein production suggests a unique role for Mcl-1 in control of programmed cell death in vivo [J]. *American Journal of Pathology*, 1995, 146(6): 1309-1319
- [9] Townsend KJ, Zhou P, Qian L, et al. Regulation of MCL1 through a serum responsefactor/ Elk-1-mediated mechanism links expression of a viability-promoting member of the BCL2 family to the induction of hematopoietic cell differentiation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(3): 1801-1813
- [10] Michels J, O'Neill JW, Dallman CL, et al. Mcl-1 is required for Akata6 B-lymphoma cell survival and is converted to a cell death molecule by efficient caspase-mediated cleavage [J]. *Oncogene*, 2004, 2(28): 4818-4827
- [11] Snowden RT, Sun XM, Dyer MJ, et al. Bisindolylmaleimide IX is a potent inducer of apoptosis in chronic lymphocytic leukaemic cells and activates cleavage of Mcl-1 [J]. *Leukemia*, 2003, 17 (10): 1981-1989
- [12] Cuconati A, Mukherjee C, Perez D, et al. DNA damage response and MCL-1 destruction initiate apoptosis in adenovirus-infected cells[J]. *Genes and Development*, 2003, 17 (23): 2922-2932
- [13] Inoshita S, Takeda K, Hatai T, et al. Phosphorylation and inactivation of myeloid cell leukemia 1 by JNK in response to oxidative stress[J]. *Journal of Biological Chemistry*,2002, 277(46): 43730-43734
- [14] Rinkenberger JL, Horning S, Klocke B, et al. Mcl-1 deficiency results in peri-implantation embryonic lethality[J]. *Genes and Development*, 2000, 14(1): 23-27
- [15] Opferman JT, Letai A, Beard C, et al. Development and maintenance of B and T lymphocytes requires antiapoptotic MCL-1 [J]. *Nature*, 2003,426(6967): 671-676
- [16] Derenne S, Monia B, Dean NM, et al. Antisense strategy shows that Mcl-1 rather than Bcl-2 or Bcl-x(L) is an essential survival protein of human myeloma cells[J]. *Blood*,2002, 100(1): 194-199
- [17] Fujise K, Zhang D, Liu J, et al. Regulation of apoptosis and cell cycle progression by MCL1. Differential role of proliferating cell nuclear antigen [J]. *Journal of Biological Chemistry*,2000, 275 (50): 39458 -39465
- [18] Croxton R, Ma Y, Song L, et al. Direct repression of the Mcl-1 promoter by E2F1[J]. *Oncogene*,2002, 21(9): 1359-1369
- [19] Zhang B, Gojo I, Fenton RG. Myeloid cell factor-1 is a critical survival factor for multiple myeloma[J]. *Blood*, 2002, 99(6):1885-1893
- [20] Song L, Li Y, Sun Y, et al. Mcl-1 mediates cytokine deprivation induced apoptosis of human myeloma cell line XG-7[J]. *Chinese medicinal journal*, 2002, 115(8):1241-1243
- [21] Le Gouill S, Podar K, Amiot M, et al. VEGF induces Mcl-1 up-regulation and protects multiple myeloma cells against apoptosis [J]. *Blood*, 2004, 104(9):2886-2892
- [22] Khoury JD, Medeiros LJ, Rassidakis GZ, et al. Expression of Mcl-1 in mantle cell lymphoma is associated with high-grade morphology, a high proliferative state, and p53 overexpression [J]. *J Pathol*, 2003, 199(1): 90-97
- [23] Cho-Vega JH, Rassidakis GZ, Admirand JH, et al. MCL-1 expression in B-cell non-Hodgkin's lymphomas [J]. *Hum Pathol*, 2004, 35 (9): 1095-1000
- [24] Kaufmann, SH, Karp JE, Svingen PA, et al. Elevated expression of the apoptotic regulator Mcl-1 at the time of leukemic relapse [J]. *Blood*, 1998 , 91(3):991-1000
- [25] Aichberger KJ, Mayerhofer M, Krauth MT, et al. Identification of mcl-1 as a BCR/ABL- dependent target in chronic myeloid leukemia (CML): evidence for cooperative antileukemic effects of imatinib and mcl-1 antisense oligonucleotides[J].*Blood*, 2005, 105(8):3303-3311
- [26] Taniai, M, Grambihler A, Higuchi H, et al. Mcl-1 mediates tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand resistance in human cholangiocarcinoma cells [J]. *Cancer research*, 2004, 64 (10): 3517-3524
- [27] Yoon JH, Werneburg NW, Higuchi H, et al. Bile acids inhibit Mcl-1 protein turnover via an epidermal growth factor receptor/Raf-1-dependent mechanism[J]. *Cancer research*,2002, 62 (22): 6500-6505
- [28] Ulrich-Pur H, Erovic BM, Soleiman A,et al. Changes in Mcl-1 expression in rectal cancer in relation to neo-adjuvant radiotherapy[J]. *Wien Klin Wochenschr*.2005 ,117(4):136-140
- [29] Eric B, Haura, Lanxi S, et al. MCL-1 is a survival factor in lung cancer [J]. *Oral Sessions/ Prognostic Factor*, 2003, 8:574-575
- [30] Song L, Coppola D, Livingston S, et al. Mcl-1 Regulates Survival and Sensitivity to Diverse Apoptotic Stimuli in Human Non-Small Cell Lung Cancer Cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(3): [Epub ahead of print]
- [31] Fong PY, Xue WC, Ngan HY, et al. Mcl-1 expression in gestational trophoblastic disease correlates with clinical outcome: a differential expression study[J]. *Cancer*, 2005, 103(2):268- 276
- [32] Wei LH, Kuo ML. The anti-apoptotic role of interleukin-6 in human cervical cancer is mediated by up-regulation of Mcl-1 through a PI 3-K/Akt pathway[J]. *Oncogene*, 2001, 20 (41): 5799-5809
- [33] Pfeil K, Eder IE, Bektic J, et al. Overexpression of THE ANTI-apoptotic protein MCL-1 IS AN early event in prostate cancer[J]. *European Urology Supplements*, 2004, 3 (2): 24
- [34] Sano M, Nakanishi Y, Yagasaki H, et al. Overexpression of anti-apoptotic Mcl-1 in testicular germ cell tumours[J]. *Histopathology*. 2005, 46(5):532-539
- [35] Zhou P, Levy NB, Xie H, et al. MCL1 transgenic mice exhibit a high incidence of B-cell lymphoma manifested as a spectrum of histologic subtypes[J].*Blood*, 2001, 97 (12):3902- 3909
- [36] Kitada S, Andersen J, Akar S, et al. Expression of apoptosis-regulating proteins in chronic lymphocytic leukemia: Correlations with in vitro and in vivo chemoresponses[J]. *Blood*, 1998, 91(9): 3379-3389
- [37] Oxford SM, Dallman CL, Johnson PW, et al. Current strategies to target the anti-apoptotic Bcl-2 protein in cancer cells[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2004, 11(8): 1031-1039