维普资讯 http://www.cqvip.com

23.Tagami M, et al. Cell Tissue Res 1996;285:205
24.Diez J, et al. Hypertension 1997;29:776
25.deBlosi D, et al. Hypertension 1997;29(part 2):340
26.Bing OHL, J Mol Cell Cardiol 1994;26:943
27.Li Z, et al. Circulation 1995;92(suppl Ⅰ):Ⅰ-526
28.Boluyt MO, et al. Eur Heart J 1995;16(suppl N):19
29.Teiger E, et al.J Clin Invest 1996;97:2891
30.Katz AM. Clin Cardiol 1995;18(9 suppl 4):Ⅳ36
31.Liu Y, et al. Lab Invest 1995;73:771
32.Sharov VG, et al. Am J Pathol 1996;148:141
33.James TN, et al. Circulation 1996;93:1588
34.Kawano H, et al. Jpn Heart J 1994;35:745
35.Huber SA, et al. J Virol 1996;70:3039
36.Obrador D, et al. J Am Coll Cardiol 1993;21:1667
37.Haider N, et al. Circulation 1995;92(suppl Ⅰ):Ⅰ-724
38.周受儒,等.高血压杂志 1995;3:176
.39.James TN, et al. J Lab Clin Med 1993;122:309
40.James TN. Circulation 1994;90:556
41.James TN, et al. Circulation 1996;93:1424

(收稿日期 1997-09-17)

肿瘤·细胞凋亡·基因调控
107-109

Bcl-2及Bax基因对肿瘤细胞凋亡的调控

bcl-2基因 (39)
Bax基因

临床学院普外科 郑 军* 综述 姚榛祥 审校

R730.23

中图分类号 R730.23

最新的研究表明肿瘤不仅是一种细胞增殖异常疾病，同时也是一种死亡异常性疾病。早在1967年Iversen等就提出肿瘤既可看作一种较之其起源组织生长更快的组织，也可看作一种细胞死亡率大为减少的组织。很多肿瘤的发生与细胞增殖和死亡之间平衡失调有关。在实体瘤组织中一般可表现两类细胞死亡：一类是散在于肿瘤实质中的一些单个致密细胞，即通常指的凋亡细胞；另一类是成团块状的死亡细胞群，即坏死细胞。已有大量研究证实许多抗肿瘤药物及放射线治疗均是通过诱导肿瘤细胞凋亡而达到治疗目的。这些研究结果已将原来抗癌药物使肿瘤细胞坏死的结论改为诱导肿瘤细胞凋亡或凋亡及坏死两种形式并存。

虽然在细胞凋亡过程中有多种癌基因和胞内信使参与调节，但bcl-2基因族所起的作用愈来愈受到重视。Lotem等学者的研究提示各类型白血病细胞对化疗药物敏感性的差别来源于bcl-2表达水平的不同，而不是多抗耐药基因(MDR)活性不同所致。bcl-2可抑制许多因素引起的细胞凋亡，提示bcl-2基因族似乎位于凋亡通路的中心，而bcl-2本身活性已证明是由一个21Kd的bcl-2相关蛋白bax来调节的。

1 bcl-2与bax基因来源及生物功能

bcl-2为滤泡状B淋巴性瘤细胞内分离之原癌基因，当细胞内18号染色体上bcl-2基因与14号染色体上的免疫球蛋白重链基因(IgH)转位，可引起bcl-2基因过度表达[1]。其产物为线粒体外膜、核膜及内质网的膜蛋白，分子量26Kd。目前已陆续发现与bcl-2同源的基因，如BHRF1、LMW5-HL、bcl-x、bax、bad和mcl-1基因等，这些基因构成bcl-2基因家族。另外，由于mRNA剪切方式不同，bcl-x可产生两种不同大小的分子：bcl-xl和bcl-xs。

Bax基因是bcl-2基因族内的同源基因，在人

维普资讯 http://www.cqvip.com

类，bax的开放阅读框架(ORFS)为576bp，编码一条92个氨基酸肽链，分子量为21.4Kd。该蛋白与bcl－2蛋白具有20.8％的同一性及43.2％的相似性，某些同源性可存在于整个分子中[2]。bcl－2相关蛋白显示有两个高度保守区域:BH1区和BH2区，两区由大约30个氨基酸分隔。

Bax在体内可形成同源二聚体(homodimers)或与bcl－2形成异源二聚体(heterodimers)，实验证实此二聚体是因保守的BH1区和BH2区相互吸引而成。bax蛋白具有C－末端疏水结构，即预计的跨膜部分，而bcl－2也有类似结构，因此两种蛋白有可能插入同一膜部分，且方向相同，然而插入的部分并不一定相连，如果bax蛋白从细胞膜溶出，可与胞质内的bcl－2成份结合而沉淀，说明bcl－2和bax之间具有密切的功能联系。关于bcl－2基因家族的生物功能，Cory和Kormeyer研究证明B淋巴细胞会因缺乏细胞因子而凋亡，但如果将bcl－2基因引入B细胞内，再切断细胞因子的供应，细胞仍存活。不仅培养细胞如此，转基因小鼠携带bcl－2癌基因也能延长动物体内B细胞的存活期。进一步研究表明bcl－2还可抑制除细胞因子缺失以外的其它因素，如糖皮质激素、放射线、热休克等引起的细胞凋亡，但此作用的生物化学基础仍不清楚。对B细胞进行激光扫描共焦显微镜亚细胞结构研究，发现多数bcl－2位于线粒体而作为线粒体膜蛋白存在;并且bcl－2也可防止缺乏线粒体DNA的成纤维细胞系死亡;另外，在内质网、核膜等亚细胞结构也发现bcl－2表达，删去bcl－2末端锚定信号序列，bcl－2蛋白也可出现在胞质中，但仍有部分防止死亡作用。而bax的作用与bcl－2相反，对细胞凋亡具有促进作用。Zoltan等认为bcl－2/bax的比例决定了细胞对凋亡刺激的敏感性，当bcl－2蛋白过多、bcl－2/bax异源二聚体占主导地位，细胞免于死亡;当bax蛋白增多，bax/bax同源二聚体占主导地位，则细胞易于凋亡。这种相互作用代表了一种内源性死亡调节因子，何以同一基因家族成员有两种截然不同的功能，尚有待进一步研究。

2 bcl－2及bax在肿瘤中的表达对治疗的影响

许多证据表明肿瘤的发生与细胞凋亡的调节紊乱密切相关。凋亡调控的基因主要有两类[3]，一类能诱导凋亡，如野生型P53、腺病毒EIA、线虫中的Ced－3、Ced－4，细胞表面抗原APO－1(Fas)等。另一类能抑制凋亡，如突变型P53、bcl－2、腺病毒E1B(19Kd)、E3(14－7Kd)、疱疹病毒Lr1(34－5Kd)、杆状病毒P53基因等。但bcl－2基因族中，对凋亡即有促进因素(bax、bcl－xs)，又有抑制因素(bcl－2、bcl－xl)，因而在目前的肿瘤研究中倍受关注。Krajewski等运用多克隆抗体对小鼠体内皮肤、肌肉、肺、心、肝等多种器官进行bax、bcl－2蛋白检测，认为在体内bax基因具有较广泛的表达[4]。他们研究了119例转移性乳癌接受CMF等常规化疗后，体内bax及bcl－2/bax的变化，发现119例肿瘤中有34％几乎丧失bax染色，且常伴有基质浸润，而正常乳腺上皮bax阳性达97％[6];Bargon等学者分析了MCF－7，T－47D，Cal51及R30等乳癌细胞和正常乳腺上皮HMEC184细胞系，发现正常乳腺细胞和乳癌细胞之间bcl－2表达无差异，仅bax在乳癌细胞系中表现出明显减弱[6];为进一步探索bax的作用，以RT－PCR法获得bax mRNA，将其转染至R30细胞和MCF－7细胞，使在原来具有较强bcl－2及微弱bax表达的两细胞株内诱导出较强的bax表达，结果明显提高了该细胞对表阿霉素的敏感性[1,7]。

Gazzaniga等[8]以半定量RT－PCR方法对37例低分化膀胱癌切除标本进行bcl－2/bax检测，同时探讨该基因与预后的关系，结果发现无bax表达有3例，bcl－2/bax＞1有19例，bcl－2/bax＜1有15例;前二组中有18例在术后2月至1年后复发，需进一步治疗，其中有4例尚需作广泛切除术。而bcl－2/bax＜1组病人术后无一例复发，他们认为bcl－2/bax的比率可以作为评价低分化膀胱癌治疗效果的预后指标。

肿瘤细胞类型不同，bcl－2和bax的分布也有差异。Branet等[9]检查39例甲状腺肿瘤病人，其中乳头状癌23例、滤泡状癌10例，未分化癌6例，结果显示bax表达在大多数滤泡状癌中为阴性，但在所有乳头状癌中表达较强，而bcl－2的表达则滤泡状

维普资讯 http://www.cqvip.com

癌高于乳头状癌;未分化癌中bax和bcl－2表达均较弱，有人以同样的方法分析152例霍杰金氏病人血液RS细胞、发现92%的病例bax显阳性，而bcl－2阳性率为53%，因此认为凋亡诱导基因bax在该病中的高表达可以作为对化疗反应较好的原因之一[10]。同样，在黑色素瘤病人中也发现bcl－2/bax比率对肿瘤的发展影响较大，若bax缺少，容易发生转移[11]。

关于bax基因突变的报道为数不多，为探索bax突变对肿瘤细胞的影响，Meijerink[12]研究了人类的白血病细胞、发现急性T细胞性白血病内bax mRNA序列中199位的胞嘧啶(G)突变为腺嘌呤(A)，导致蛋白链中的甘氨酸残基被精氨酸替代;而在Burkitt淋巴瘤细胞中，bax mRNA在323位的胞嘧啶(G)突变为胸腺嘧啶(T)，导致甘氨酸残基被缬氨酸替代;并观察到在人类血细胞系中有30%发生bax突变，认为此突变将丧失形成bax/bax二聚体功能，对肿瘤的发生、发展及耐药性的形成有促进作用。

3 P53对bcl－2/bax功能的调控

目前，对bcl－2及bax影响较大、研究也较多的基因既为P53。该基因为温敏基因，编码53Kd蛋白，在32℃时有功能表达，37℃时则无功能表达。Miyashita等研究小鼠白血病细胞系M1(M1－P53)发现当温度为32.5℃、4h之后bcl－2mRNA开始下降、而此时尚未出现有意义的细胞死亡;19h后bcl－2mRNA下降超过90%，而bax mRNA在P53的作用下迅速增高，但不含P53的对照细胞(M1－Neo)则无此变化[13]。他们认为几乎所有的细胞毒性药物及放射线等均是通过诱导细胞凋亡而消灭癌细胞，由于人类bax基因起动子含有典型的P53结合序列，故这一过程可被P53蛋白调节;虽然近年有报道某些组织的凋亡为P53非依赖性，但这是由细胞类型的特殊性所决定。例如多数神经细胞本身已含有较高水平的bax蛋白，故P53的影响相对较小[14]。

bcl－2/bax比率的降低本身不足以引起细胞凋亡，但可使其对多种凋亡诱导剂的敏感性明显提高，因此P53通过影响bcl－2/bax比率而最终导致肿瘤细胞凋亡已成为探索肿瘤治疗的重要途径之一。Perego等学者[15]。用Northern blot探查二种卵巢癌细胞株IGROFV－1和IGROV－1/Pt1内bax及P53的表达、前者为顺铂敏感细胞株，后者为耐药细胞株，发现在顺铂敏感细胞株内bax的表达明显高于顺铂耐药株，经P53分析、前者为纯合的野生型P53序列，而后者为突变型P53，为进一步证实bax的变化是否与P53有关，在耐药细胞株内分别转染野生型和突变型P53序列、结果发现野生型P53－可以明显增强bax的表达。以上结果表明肿瘤细胞之所以产生耐药性主要是因为P53的突变而丧失功能，导致bcl－2/bax增高所致。当然P53不可能是肿瘤细胞内唯一的调节基因，因为在缺乏P53的小鼠体内也能发现bax的表达，说明bcl－2/bax对肿瘤的调控非常复杂，许多问题有待进一步探讨，但是利用多种手段增强bax或下调bcl－2表达，以促进癌细胞凋亡将为肿瘤治疗开拓新思路。

参 考 文 献

1.Wagener C et al. Int J Cancer, 1996;67:138
2.Oltvai ZN et al. Cell 1993;74:609
3.Lane DP et al. Nature, 1993;362:786
4.Krajewski S et al. Am J Pathol, 1994;145:1323
5.Krajewski S et al. Cancer Res, 1995;5:4471
6.Bargou RC et al.Int J Cancer, 1995;60:854
7.Bargou RC et al. J Clin Invest, 1996;97:2651
8.Gazzaniga P et al. Int J Cancer 1996;69:100
9.Branet F et al.J Clin Endocrinol Metab, 1996;81:2726
10.Brousset P et al. Blood 1996;87:2470
11.Grandilone A et al. J Invest Dermatol, 1996;106:382
12.Meijerink JPP et al. Leukemia, 1995;9:1828
13.Miyashita T et al. Oncogene 1994;9:1790
14.Miyashita T et al. Cell 1995;80:293
15.Perego P et al. Cancer Res 1996;56:556

(收稿日期 1997－07－23)