

# BCR/ABL 融合基因与慢性粒细胞白血病的发生

陈晓玲 魏莎莉

**【摘要】** BCR/ABL 融合基因是一个重要的凋亡抑制基因,具有较强的 PTK 活性。src 激酶、蛋白激酶家族 C、信号转导和转录激活因子(STAT)等在 BCR/ABL 融合基因介导的肿瘤恶性转化中起着重要的作用。

**【关键词】** BCR/ABL 融合基因; 蛋白酪氨酸激酶; 信号转导

**The BCR/ABL Fusion Gene and the Nosogenesis of Chronic Myelocytic Leukemia** CHENG Xiao-ling, WEI Sha-li. (Department of Reproduction Physiology, School of Public Health, Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, P. R. China)

Corresponding author: WEI SHA-li. E-mail: zwz007cn@yahoo.com.cn

**【Abstract】** The BCR/ABL fusion gene is an important inhibiting gene of apoptosis and displays higher protein tyrosine kinases activity. The fusion gene activates a number of signaling molecules including SRC kinases, PKC, STAT, which may play an important role in tumor malignant transformation.

**【Key words】** The BCR/ABL fusion gene; Protein tyrosine kinase; Signal transduction

费城染色体(philadelphia, Ph)自 1960 年在慢性粒细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)中被发现后,成为第一个认识的与恶性疾病相关的细胞遗传学改变。Ph 染色体阳性已成为 CML 诊断的重要指标,其产生是由于染色体易位,即 t(9;22)(q34;q11)。研究证明,易位是由 9 号染色体上的原癌基因(abelson proto-oncogene, ABL)易位至 22 号染色体的断裂点簇集区(breakpoint cluster region, BCR)上,形成 BCR/ABL 融合基因,是恶性克隆的标记基因,被认为是引起 CML 的始动突变。该基因翻译成有活性的酪氨酸蛋白激酶(protein tyrosine kinase, PTK)通过作用于多种不同的信号途径导致细胞增殖和减少细胞凋亡。PTK 是在分子信号转导中把 ATP 的  $\gamma$ -磷酸基转移到酪氨酸残基的羟基上的一种酶,而信号转导分子的磷酸化是肿瘤发展中一个重要的标志,酪氨酸激酶是信号转导的中枢,在相互独立的信号分子复杂的网络联系中起中转站的作用,最终作用于胞核中基因的转录<sup>[1]</sup>。随着目前 31 个变异位点的提出,激酶结构域的变异被认为是 BCR/ABL 融合基因酪氨酸激酶活化的主要机制<sup>[2]</sup>。

现就 BCR/ABL 融合基因与白血病发病的关系作一简要综述。

## 1 BCR/ABL 融合基因及其编码蛋白

CML 中 95% 以上存在 BCR/ABL 融合基因,随着目前研究范围的不断扩大,逐渐发现部分急性淋巴细胞性白血病(acute lymphocytic leukemia, ALL)、急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)和真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)等也有 BCR/ABL 融合基因。近年来发现在 3%~5% 的儿童急性淋巴细胞性白血病中也存在 BCR/ABL 融合基因<sup>[3]</sup>,因此 BCR/ABL 融合基因不但是 CM 诊断、疗效观察和微小残留病灶(MRD)监测的有效指标,而且也是制定 AML、ALL 化疗方案以及预后的指标。

1.1 BCR/ABL 融合基因的结构: t(9;22)(q34;q11)形成 Ph 染色体,产生 BCR/ABL 融合基因。BCR 蛋白的功能位点包括外显子 1 上的丝氨酸、苏氨酸激酶结构域,中间的鸟嘌呤交换因子(GEF)结构域和羧基末端鸟苷三磷酸酶激活蛋白结构域,src 同源区-2(SH<sub>2</sub>)结合位点也在外显子 1 上,SH<sub>2</sub> 结构

域是由近 100 个氨基酸残基组成的高度保守的氨基酸序列,是识别磷酸酪氨酸的主要的基序<sup>[16]</sup>。BCR 联合蛋白 1 (Bap-1) 作用于远端的位点,生长因子受体结合蛋白 2 (Grb-2) 与近端的包含 177 位的磷酸酪氨酸 SH<sub>2</sub> 结合位点相互结合。而 ABL 与第二个和第三个 SH<sub>2</sub> 结合位点相互影响。正常的 ABL 蛋白在接近 N-末端包含有 3 个 SH 结构域,在激酶结构域里面第 393 位的酪氨酸是主要的自动磷酸化位点。在包含 SH<sub>3</sub> 结构域的蛋白酪氨酸激酶中第 401 位的苯丙氨酸是高度保守的,蛋白的中心区域是一个富含吡咯氨酸的区域,它能够结合 SH<sub>3</sub> 结构域和一个核的定位信号。羧基末端包含除 G、F 肌动蛋白结合区域,一个核输出信号和核定位信号之外的 DNA<sup>[15]</sup>。

1.2 BCR/ABL 融合基因的形成及编码蛋白的种类:融合基因的形成目前大多同意两步形成的学说,第一步是经典的(9;22)号染色体的基因重排,紧接第二步即(9;22)染色体易位,经此易位后的断裂点就接近了经典的 BCR/ABL 融合基因的断裂点。在此易位中 9 号染色体上的断裂点比较恒定,22 号上的断裂点不恒定(绝大多数断裂点位于第 14 号外显子的上下游)<sup>[4]</sup>。因此形成了几种不同的融合基因,主要有三种类型,他们的 ABL 基因位点均为外显子 a<sub>2</sub>,区别在于 BCR 基因断裂位点的不同,分别是 m-型(minor)(e1a<sub>2</sub>)、M-型(major):包括 b<sub>2</sub>a<sub>2</sub>(e<sub>13</sub>a<sub>2</sub>)和 b<sub>3</sub>a<sub>2</sub>(e<sub>14</sub>a<sub>2</sub>)及 u 型(e<sub>19</sub>a<sub>2</sub>),相应翻译成 P190<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup>、P210<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup>及 P230<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup>融合蛋白,分别主要见于 CML 及 ALL。绝大部分 CML 为 M-BCR/ABL 型。其中分子量最小的 P190<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup> 包含的 BCR 基因是三者中最小的<sup>[15]</sup>。ABL 基因外显子 2 (a<sub>2</sub>) 共编码 58 个氨基酸,其中 17 个氨基酸为 ABL 蛋白 SH<sub>3</sub> 区的部分序列,目前认为 SH<sub>3</sub> 的主要作用为下调 SH<sub>1</sub> 区 PTK 活性。理论上 a<sub>2</sub> 缺失会引起 ABL 活性增高,转化能力增强<sup>[6]</sup>。不同的 BCR/ABL 蛋白的生物学行为的微小差异可能对疾病的表现型至关重要。

PTK 在许多细胞信号转导通路和调节细胞因子的活性诸如细胞生长、有丝分裂发生、细胞分化及细胞死亡等方面发挥着重要的作用。PTK 功能的缺陷和肿瘤的发生密切相关,此外,许多癌基因的产物即为 PTK。其中 M-型 BCR/ABL 融合基因产物 P210<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup> 酪氨酸蛋白激酶活性的异常增高,可导致

底物信号分子磷酸化,这在 BCR/ABL 融合基因恶性转化中起重要作用,是导致 CML 的主要类型。m-型融合基因产物为 P190<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup>,更倾向于导致 ALL。Deininger<sup>[5]</sup>认为 P210<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup> 较 P190<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup> 的 PTK 活性弱,但足够诱导 CML,而对于诱导 ALL 只是偶然事件,所以 P210<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup> 更易表现为 CML。其中在 P210<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup> 中 GTP 的调换和 rac GTP 酶表现的功能可能起至关重要的作用。

1.3 BCR/ABL 融合蛋白与 Grb<sub>2</sub>: BCR/ABL 融合蛋白可组成性激活酪氨酸激酶。ABL 激酶包括一个含有 ATP 结合区域的有活性的环,这个区域含有一个被认为和 BCR/ABL 酪氨酸激酶功能活化至关重要的区域。和野生型的 ABL 激酶穿梭于核和胞质之间不同,BCR/ABL 固定在细胞质中,在胞质中 BCR/ABL 经历自动磷酸化,而酪氨酸残基就成了衔接蛋白 Grb<sub>2</sub> 的 SH<sub>2</sub> 结构域或 CRK 原癌基因类似蛋白(CRKL)的锚定位点。Grb<sub>2</sub> 是一个广泛表达的受体蛋白,在细胞的多种基本的功能方面起着至关重要的作用,在细胞表面生长因子受体和 Ras 信号途径之间提供重要的联系,有利于激活下游的信号蛋白。在人类的多种恶性肿瘤的发生中起着重要的作用。BCR/ABL 还影响癌基因 p21<sup>ras</sup>、C-myc、类脂激酶 PI3K、有丝分裂原激酶家族(MAPK)、酪氨酸磷酸酶、信号转导及转录激活因子(STAT)和细胞周期调控蛋白 P27<sup>kip1</sup><sup>[7]</sup>。

## 2 BCR/ABL 融合基因与细胞周期调控紊乱

细胞周期调控紊乱与 CML 的发生也存在相关性。宋俊敏等<sup>[8]</sup>采用 RT-PCR、免疫印记法及流式细胞术分析证实,人 G<sub>1</sub> 期 cyclinD 亚家族成员 cyclinD<sub>2</sub>(细胞周期调控装置的重要组分)在 BCR/ABL<sup>+</sup> K562 细胞系中表达异常增高。为了了解这种高表达与 p210<sup>bc<sub>r</sub>/abl</sup> 融合基因异常增高的酪氨酸激酶活性之间的关系,他们构建了表达抗 ABL 蛋白酪氨酸激酶区胞内单抗的 K562-ib-Egfp 细胞模型,证实 CMLcyclinD<sub>2</sub> 的表达上调与异常增高的 BCR/ABL 蛋白酪氨酸激酶活性具有直接的相关关系,认为 BCR/ABL 所激活的 cyclinD<sub>2</sub> 的过表达可加速细胞由 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期直接进入 S 期,促进细胞的增殖。有研究证明取出缺乏 cyclinD<sub>2</sub> 但不缺乏其他细胞周期调节蛋白小鼠的骨髓,BCR/ABL 不能诱导其任何增殖反应,提示 BCR/ABL 诱导的增殖中 cyclinD<sub>2</sub> 的活

性必须达到一定的域值。虽然如此,也有报道显示 cyclinD<sub>2</sub> 不是作用于 BCR/ABL 唯一的细胞周期调节器。BCR/ABL 也可能通过干扰周期素依赖性蛋白激酶抑制因子 P27<sup>kip1</sup>, 从而促进细胞周期的进行。用 PI3K 抑制因子处理表达 BCR/ABL 的细胞进一步显示 cyclinD<sub>2</sub> 和 P27<sup>kip1</sup> 的失调可能最初是由一个依赖 PI3K/AKT 的途径介导的。但是 BCR/ABL、cyclinD<sub>2</sub> 和 P27<sup>kip1</sup> 之间的分子联系还不完全清楚<sup>[9]</sup>。

### 3 BCR/ABL 融合基因下游信号转导

3.1 Src 激酶: BCR/ABL 融合基因复杂的结构域激活多种信号通路, 包括 RAS、RAF、MAPK、STAT、JNK/SAPK、PI-3K、NF-KB 和 c-myc, BCR/ABL 嵌合蛋白的自身磷酸化是信号转导的启动环节, 首先 BCR/ABL 嵌合蛋白形成二聚体使自身酪氨酸残基间交叉磷酸化, 产生磷酸化的酪氨酸, 之后底物蛋白的 SH<sub>2</sub> 区( src 同源区 2) 和磷酸化的酪氨酸连接, 激活信号转导途径。在骨髓细胞株中, BCR/ABL 激活 src 激酶家族的 Lyn 和 Hck, BCR/ABL 复杂的结构域干扰和激活 src 激酶并诱导其自动磷酸化。对显性阴性突变体和 src 抑制因子的研究提示, src 激酶能够提高体外表达 BCR/ABL 的骨髓细胞株的存活率<sup>[10]</sup>。

Deininger 等<sup>[5]</sup> 研究发现 src 激酶对于诱导急性 B 淋巴细胞型白血病( B-ALL ) 是必需的, 而对于 CML 的诱导则不是必需的。在原发的 B 淋巴母细胞小鼠模型中, BCR/ABL 激活 src 激酶家族 Lyn、Hck 和 Fgr, 从至少缺乏两个 src 激酶的小鼠中获得了感染了 BCR/ABL 的骨髓, 把这种骨髓移植到野生型的小鼠中, 发现疾病的潜伏期和小鼠存活率有了很大提高, 而在诱导 CML 中则没有此反应。在 CML 和在 B-ALL 中 src 激酶传递信号的方式也是不同的。Hck 可激活 STAT<sub>5</sub>, 表达 BCR/ABL, 当缺乏 STAT<sub>5</sub> 时, BCR/ABL 既能诱导 CML, 也能诱导 B-ALL<sup>[10]</sup>。另一方面 Deininger 等<sup>[5]</sup> 发现 src 抑制因子 CGP76030 能显著延长 B-ALL 小鼠的存活期, 但对 CML 小鼠无此作用。因此 src 激酶在 BCR/ABL 诱导的白血病中扮演重要的角色。

3.2 蛋白激酶家族 C( PKC ): 蛋白激酶 C 家族中的丝氨酸/苏氨酸激酶在许多肿瘤的信号转导途径中起着重要的作用, 包括 BCR/ABL 癌基因的下游区

的信号转导。当 BCR/ABL 在 BCR/ABL 阴性的骨髓细胞性白血病细胞中表达的时候, PKC-β<sub>1</sub>、PKC-β<sub>2</sub> 和 PKC-ι 基因的表达被诱导加强, 而 PKC-δ 基因的表达被减弱至在 CML 中的水平<sup>[11]</sup>。从基因组 DNA 分离出来的一个 1 200bp 的 PKC-ι 启动子在 BCR/ABL 阳性的 K562 细胞中是有活性的, 并且在 BCR/ABL 阴性的细胞中被转染上 BCR/ABL 基因后也激活 PKC-ι。BCR/ABL 介导的 PKC-ι 启动子的诱导依赖于 MEK1 或 MEK2 的活性而不依赖磷脂酰肌醇 3 激酶( PI3K ) 或 P38MAPK 的活性, Gustafson 等<sup>[11]</sup> 对 PKC-ι 启动子突变的分析, 显示了在转录起始位点上游区 94 和 114bp 之间的一段区域对 BCR/ABL 的诱导至关重要, 他们的研究揭示了 BCR/ABL 介导的恶性转化包括 PKC-ι 基因的转录激活。

3.3 STAT<sub>5</sub>: 信号转导蛋白 STAT 家族是第一个被认识的转录因子, 它们能对干扰素的刺激起反应, STAT 转录蛋白能被配体结合的细胞因子受体和生长因子受体酪氨酸激酶激活, 如表皮生长因子受体和血小板衍生的生长因子受体, 这些生长因子受体通过激活细胞质的酪氨酸激酶直接或间接磷酸化 STAT( 如 c-src 产物 ) 因此, 细胞在细胞因子和生长因子的刺激下通常会发生 STAT 家族的激活。

STAT 蛋白在 BCR/ABL 介导的肿瘤生成中非常重要, 这些转录因子在静止休眠期的细胞中正常表达, 在有细胞活素或生长因子的刺激下发生磷酸化导致二聚体形成, 核易位, 最终表达特殊的靶基因 STAT<sub>5</sub> 是 CML 患者造血细胞中被 BCR/ABL 激活的主要 STAT 蛋白, 是被酪氨酸和丝氨酸磷酸化后激活的潜在的转录因子<sup>[18]</sup>。活化的 STAT<sub>5</sub> 能够增强各种蛋白质诸如 Cyclin D1、Bcl-xL、CIS、A1、pim-1、Id-1、OSM、c-fos 和 c-jun 等的表达<sup>[18]</sup> BCR/ABL 的抗凋亡作用是依赖于 STAT<sub>5</sub> 信号途径激活 bcl-2 家族成员 bcl-xL 和 McL-1<sup>[14, 18]</sup>, BCR/ABL 加强 bcl-2 家族成员中的抗凋亡蛋白 A<sub>1</sub> 和丝/苏氨酸激酶 E pim-1 的表达, 这种表达的上调要求通过 BCR/ABL 的 SH<sub>3</sub> 和 SH<sub>2</sub> 区共同发出信号激活 STAT<sub>5</sub>。A1 和 pim-1 的增强表达在 BCR/ABL 介导的抗细胞凋亡中起了关键的作用, 而且, pim-1 还促进 BCR/ABL 变异细胞的增殖, A1 和 pim-1 在诱导不依赖白介素-3 的细胞生长、抑制半胱天冬酶-3 的激活和刺激细胞分裂周期的进行等方面都是必需的。此外, A1 和 pim-1 表达的同时上调对 BCR/ABL 介导的体外转

导和体内白血病的生成至关重要<sup>[18]</sup>。McL-1 是一个重要的抗凋亡因子<sup>[14]</sup>,原发的 CML 细胞表达 McL-1 并且 BCR/ABL 通过激活 RAS/RAF/MAP 激酶途径促进 McL-1 的表达。

随着研究的深入越来越多的证据表明 STAT 蛋白能被 SRC 基因家族成员激活, SRC 家族中的两个 Lyn 和 Hck 能使 STAT<sub>5</sub> 磷酸化, Hck 激酶的突变能降低 STAT<sub>5</sub> 的磷酸化和阻止 BCR/ABL 介导的恶性转化, Gu 等<sup>[19]</sup>发现在 32D 和 FL5. 12 细胞中 SRC 磷酸化的水平非常高, SRC 的磷酸化不依赖于 P185<sup>BCR/ABL</sup> 的表达。然而, SRC 在人类的 BCR/ABL 阳性的细胞中磷酸化的水平更高。因此可以认为 SRC 和 STAT<sub>5</sub> 同时在 BCR/ABL 介导的白血病中起作用。

#### 4 结语

目前对于 BCR/ABL 融合基因与慢性粒细胞白血病的发病机制方面国内外已经做了大量的研究, 但对于慢性粒细胞白血病的治疗及防止复发与白血病危象方面仍没有很好的治疗方法, 慢性粒细胞白血病的发病机制提示我们通过研制新的酪氨酸激酶抑制因子, 抑制蛋白酶体或通过作用于 BCR/ABL 下游的靶向信号途径<sup>[20]</sup>, 对慢性粒细胞白血病的治疗可能是一个新的有效的途径。

#### 参 考 文 献

- 1 Vlahovic G , Crawford J. Activation of tyrosine kinases in cancer. *Oncologist* ,2003 8 :531 - 538.
- 2 Cardama AQ , Kantarjian H , Talpaz M , et al. Imatinib mesylate therapy may overcome the poor prognostic significance of deletions of derivative chromosome 9 in patients with chronic myelogenous leukemia. *Blood* ,2005 105 :2281 - 2286.
- 3 Hawkins LM , Jayanthan AA , Narendran A , et al. Effects of 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin ( 17-AAG ) on Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia ( ALL ) with Respect to Bcr-Abl Status and Imatinib Mesylate Sensitivity. *Pediatr Res* ,2005 57 :430 - 437.
- 4 Storlazzi CT , Anelli L , Surace C , et al. Molecular cytogenetic characterization of a complex rearrangement involving chromosomes 9 and 22 in a case of Ph-negative chronic myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* ,2002 136 :141 - 145.
- 5 Deininger M. Src Kinases in ph + lymphoblastic leucemia. *Nat Genet* ,2004 36 :440 - 441.
- 6 Qin YZ , Liu YR , Li JL , et al. Two ph chromosome positive chronic myelogenous leukemia patients with rare bcr/abl fusion gene. *Chin J Hematol* ,2004 25 :409 - 412.

[ 秦亚涛, 刘艳荣, 李金兰等. 两例 Ph 染色体阳性慢性粒细胞白血病患者具有少见型 BCR/ABL 融合基因. 中华血液学杂志,

- 2004 25 :409 - 412. ]
- 7 Tsao AS , Kantarjian H , Talpaz M , et al. STI - 571 in chronic myelogenous leukemia. *Br J Haematol* ,2002 119 :15 - 24.
- 8 Song JM , Xu D , Fan EJ , et al. Cyclin D2 expression in chronic myelogenous leukemia. *Chin J Hematol* ,2004 25 :103 - 105.
- [ 宋俊敏 徐东 范尔进等. 慢性粒细胞白血病 cyclinD2 基因的表达研究. 中华血液学杂志, 2004 25 :103 - 105. ]
- 9 Anastasiadou E , Schwaller J. Role of constitutively activated protein tyrosine kinases in malignant myeloproliferative disorders : an update. *Curr Opin Hematol* ,2003 10 :40 - 48.
- 10 Hu YG , Liu YH , Pelletier S , et al. Requirement of Src kinases Lyn , Hck and Fgr for BCR-ABL1-induced B-lymphoblastic leukemia but not chronic myeloid leukemia. *Nat Genet* ,2004 36 :453 - 461.
- 11 Gustafson WC , Ray S , Jamieson L , et al. Bcr-Abl regulates protein kinase C iota ( PKC iota ) transcription via an Elk1 site in the PKC iota promoter. *J Biol Chem* 2004 279 :9400 - 9408.
- 12 Sternberg DW , Gilliland DG. The role of signal transducer and activator of transcription factors in leukemogenesis. *J Clin Oncol* ,2004 22 :361 - 371.
- 13 Buettner R , Mora LB Jove R. Activated STAT signaling in human tumors provides novel molecular targets for therapeutic intervention. *Clin Cancer Res* ,2002 8 :945 - 954.
- 14 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. *Blood* ,2005 105 :3303 - 3311.
- 15 Kurzrock R , Kantarjian HM , Druker BJ , et al. Philadelphia chromosome-positive leukemias : from basic mechanisms to molecular therapeutics. *Ann Intern Med* ,2003 138 :819 - 830.
- 16 Dharmawardana PG , Peruzzi B , Giubellino A , et al. Molecular targeting of growth factor receptor-bound 2 ( Grb2 ) as an anti-cancer strategy. *Lippincott Anticancer Drugs* ,2006 17 :13 - 20.
- 17 de Groot RP , Raaijmakers JA , Lammers JW , et al. stat5-dependent cyclinD1 and Bcl-xL expression in bcr-abl-transformed cells. *Mol Cell Biol Res Commun* ,2000 3 :299 - 305.
- 18 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 :4531 - 4539.
- 19 Gu JJ , Santiago L , Mitchell BS. Synergy between imatinib and mycophenolic acid in inducing apoptosis in cell lines expressing BcrAbl. *Blood* ,2005 105 :3270 - 3277.
- 20 Aichberger KJ , Mayerhofer M , Krauth MT , et al. Low-level expression of proapoptotic Bcl-2-interacting mediator in leukemic cells in patients with chronic myeloid leukemia role of BCR/ABL characterization of underlying signaling pathways and reexpression by novel pharmacologic compounds. *Cancer Res* ,2005 65 :9436 - 9444.

( 收稿日期 2005-11-03 )

( 本文编辑 孙岩伟 )