

c-Jun 在多发性骨髓瘤发病机制中的作用

乔虹

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 多发性骨髓瘤(MM)的特点是骨髓浆细胞增多、血或尿中出现单克隆蛋白、骨组织病变、肾损害及免疫缺陷。中位生存时间仅为3~5年。尽管有研究显示 c-Jun 可诱导细胞生长抑制及细胞凋亡,最近报道有些化合物可以诱导 MM 细胞 c-Jun -N 端激酶(JNK)的活性。作为 JNK 下游的重要分子,c-Jun 的研究更加详细。c-Jun 的上调和随之的 c-ABL 断裂可能不仅是药物导致,还可能是正常细胞对抗恶性转移的机制。

关键词: c-Jun; 多发性骨髓瘤

中图分类号: R979.1;R733.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2008)02-0139-03

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是成人第二大血癌,此病特点是骨髓浆细胞增多、血或尿中出现单克隆蛋白、骨组织病变、肾损害及免疫缺陷。每年的发病率为 $3.8/10^5$,中位诊断年龄为62岁。尽管近年来对其发病机制的认识及治疗取得了一定进展,但平均生存时间仅为3~5年。因而亟需了解新的、有效的治疗靶标。

1 c-Jun 在细胞生长与存活中的分子机制

c-Jun 属于 Jun 亚家族(c-Jun, Jun B, Jun D),是转录因子活性蛋白-1(activating protein-1, AP-1)家族的中心成分,属于二聚体碱性区域亮氨酸拉链(basic region-leucine zipper)蛋白。c-Jun 与 Fos(v-Fos, c-Fos, FosB, FosL1, FosL2)形成同源二聚体或异源二聚体,激活转化因子(ATF-2, LRF-1/ATF-3, B-ATF, JDP1, JDP2)或肌腱膜纤维肉瘤蛋白(c-Maf, MafB, MafA, MafG/F/K 及 NRL)。AP-1 控制细胞周期蛋白 D1, WAF1, p53, INK4A, FAS, FASL, BIM, BCL3, 增殖蛋白及 CD44 基因的表达。相反,生长因子、细胞因子及细胞外基质蛋白,以及生理和化学刺激可触发 AP-1 及其成员的活性。

AP-1 的功能,特别是 c-Jun 的功能取决于:(1) Jun, Fos, ATF 及 Maf 家族成员间形成同源二聚体或异源化二聚体的程度;(2) mRNA 与蛋白间的转化;(3) 翻译后的修饰;(4) 大量与 AP-1 成分/c-Jun 作

用的辅助蛋白。Maf 蛋白彼此之间可以形成同源二聚体或与 Fos 形成异源二聚体,不与 Jun 形成异源二聚体。Jun 既可与 Fos 也可与 ATF 家族通过异源二聚体化形成非常稳定的复合物或同源二聚体。Jun-Jun 及 Jun-Fos 二聚体优先与 12-O-十四烷酰佛波醇-13-乙酸盐应答成分结合,而 Jun-ATF 二聚体优先与 cAMP 应答成分结合。由于包括 c-Jun 在内的 AP-1 二聚体可能结合的复杂性,因此, DNA-结合活性与转录谱系在生理学及病理生理学中的作用也是多样的。照此,不同的 AP-1 因子调节不同的基因靶标,产生不同的生物功能。除作为转录因子的作用外,c-Jun 作用于并调节信号转导及转录活化蛋白 3(STAT3)和 p53 大分子,在调节 MM 的病理中起重要作用。

AP-1 的功能,尤其是 c-Jun 的功能主要与肿瘤的生长和活存,以及作为负调节剂的 JunB 有关。特别是 c-Jun-ATF-2 异二聚体诱导自分泌生长;c-Jun-c-Fos 异二聚体诱导不依赖于贴壁细胞的生长。最近有研究显示,AP-1 和 c-Jun 确有双边缘活性,既致癌又抑癌。c-Jun 与 JunB 功能的不同可能是细胞特异性的,也可能是依赖于相关蛋白的表达水平。比如, DNA 损伤剂短波紫外线和 H_2O_2 , 与 TPA 相比,又是 c-Jun 启动子强力激活剂,说明对这些应激因素的应答至少部分与蛋白激酶 C(PKC)信号序列无关。相反,对于 c-Jun 和 c-Fos, *jun* 和 *fos* 基因,以及其他早应答基因,在一定程度上受这些应激因素的影响。除了短波紫外线和 H_2O_2 外,电离辐射,丝裂霉素 C, 羟基脲, 蚜肠菌素(艾非地可宁, aphidicolin) 及喜树碱均在培养神经元及淋巴细胞上 c-Jun 表

收稿日期:2007-11-23

作者简介:乔虹,女,硕士,副研究员,研究方向:药理学与毒理学, Tel:010-66931617

达增加,以及生长因子丧失了诱导细胞凋亡的功能。细胞因子和基因毒性应激因素导致的 AP-1 激活主要是通过 JNK 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路介导的。特别是磷酸化后,转运至细胞核,磷酸化 c-Jun,因而增强转录活性。另外,磷酸化的 JNK 及 p38 可以直接激活 ATF-2、肌细胞特异性增强因子 (MEF2C) 及三元复合物因子 (ternary complex factors, TCF)。

已经在神经元、成纤维细胞及内皮细胞中证实了 c-Jun 的凋亡前功能。这些研究显示,既可以通过非直接调节转录生存/死亡基因,也可以直接通过激活半胱天冬酶 (caspase) 级联反应,导致细胞死亡。c-Jun 反义寡聚核苷酸或中性抗体增加了丧失生长因子的淋巴细胞或丧失神经生长因子的神经元的存活也支持了其细胞凋亡前的作用。更重要的是,在 T-细胞受体及肿瘤坏死因子 (TNF- α) 导致的胸腺细胞凋亡需要在 c-Jun^{Ala63/73} 进行 JNK 磷酸化。相反,在 T 细胞增殖或分化时,需要 JNK 诱导的活化 T 细胞核因子 (NF-AT) DNA 结合活性,而不是 c-Jun 磷酸化。此外,c-Jun 介导的神经元细胞的存活既依赖于诱导的 BIM 表达,又依赖于线粒体细胞色素 C 的释放,以及在 c-Jun^{Ala63/73} 的 JNK 磷酸化。

因此,相比细胞死亡来说,在调节决定细胞生长和生存的增殖前,抗增殖及细胞凋亡靶基因时,c-Jun 的双边缘活性是因细胞、组织及应激特异性导致的 c-Jun 表达水平不同造成的。除其转录活性外,c-Jun 还可以调节相关蛋白的功能。

2 多发性骨髓瘤中 JNK 及 c-Jun 的作用

JNK 及其下游靶基因 c-Jun 在 MM 致病中的作用机制还不清楚。研究结果证实,在 MM 中这些分子显示双向活性,外源刺激或抗 MM 药物的不同,可能导致 MM 细胞生长抑制和死亡或者增殖和存活。例如,IL-6 导致的 MM 细胞凋亡的抑制至少部分是通过抑制 JNK/应激活化蛋白激酶 (SAPK) 通路介导的。而且有研究显示,电离辐射,而不是地塞米松,导致 JNK 依赖的 MM 细胞凋亡。另外,一些新的药物显示可以激活 MM 中的 JNK,如 adaphostin, JS-K, 7-羟基星状孢子类 (UCN-01) 联合 HMG-CoA 还原酶抑制剂或法尼基转移酶抑制剂 L-744832; 抗 β_2 -微球蛋白单克隆抗体,咪啉妥林 (midostaurin, PCK-412), 三氧化二砷, perifosine, 合成的埃博霉素 (epot-

hillone) 类似物, 2-甲氧雌二醇, 硼替佐米 (bortezomib) 及溶血磷脂酸酰基转移酶 β 抑制剂。

更重要的是,尽管 JNK 主要与应激导致的细胞凋亡有关,但是利用 JNK 特异性抑制剂 SP-600125 还是证明了 JNK 活性在 MM 中可以引发细胞生长和存活。

2-甲氧雌二醇可以激活 JNK, 导致次级线粒体衍生的 caspase 激活剂 (second mitochondrial-derived activator of caspases, SMAC) 的释放,进而通过激活 caspase 促进细胞凋亡。另外,在用埃博霉素类似物,硼替佐米,三氧化二砷单独或联合 Trolox (一种亲水的维生素 E 类似物) 治疗时发现,JNK 可引起下游 c-Jun 磷酸化。除了改变 c-Jun 磷酸化外,c-Jun 表达水平也发生变化。最近的研究证实,一些抗 MM 的化合物,如 adaphostin, 硼替佐米及 PKC-412, 可引起 c-Jun 上调,这一点与 Fax 导致的 c-Jun 上调极其相似。但是,c-Jun 的上调作用在 MM 细胞生长及存活中的机制尚不清楚。研究证明,c-Jun 的过度表达可以抑制细胞生长,导致细胞死亡,其机制部分是通过 adaphostin 导致的 JNK 磷酸化和 c-ABL 断裂。尽管已知 JNK 是 c-Jun 最佳直接活化剂,但很可能在 MM 细胞中存在非 JNK 依赖的 c-Jun 激活通路。

3 多发性骨髓瘤中上调 c-Jun 的新药

3.1 adaphostin

二氢醌衍生的 adaphostin 是 tyrohostin 的亲脂性酯,已进行了广泛的抗肿瘤作用的临床前研究。在治疗对甲磺酸伊马替尼 (imatinib mesilate)、二代化合物达沙替尼 (dasatinib, BMS-354825) 和尼洛替尼 (nilotinib, AMN-107) 耐药的慢性粒细胞白血病 (CML), 包括 BCR-ABL 阳性, BCR-ABL 阴性, 以及 BCR-ABL T3151 变异肿瘤细胞时, adaphostin 均有一定疗效。研究还证实 adaphostin 对慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 和急性粒细胞白血病 (AML) 均有细胞毒性作用。与甲磺酸伊马替尼相比, adaphostin 可以导致更强的细胞凋亡, 其 IC_{50} 为 $5 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 这与能明显抑制 BCR-ABL 磷酸化有关。除血液系统恶性肿瘤外, adaphostin 对许多实体肿瘤, 如前列腺癌, 乳腺癌及结肠癌均有疗效。

adaphostin 的作用机制包括产生或释放活性氧 (ROS)、细胞色素 C 及细胞凋亡抑制因子 (AIF), caspase 断裂, JNK 活化, 以及 Raf-1, STAT3 及 STAT5 的失活等。最近研究证实, 抑制呼吸链中复合物 III

是 adaphostin 导致 ROS 产生及细胞毒性的原因。

由于 adaphostin 作用的靶标蛋白和相应的通路与 MM 病理学相关,有理论认为 adaphostin 治疗 MM 是有潜力的值得期待的。adaphostin 对单独 MM 细胞和 MM 细胞-骨髓干细胞(BMSC)共同培养细胞都有很高的活性。除了以上提到的机制外,最近还证实,adaphostin 可导致强烈的 c-Jun 上调,随后出现 c-ABL 断裂。使用 caspase 抑制剂,以及 c-ABL 的抗 caspase 变异株 TM-c-ABL, D565A-BAL 发现,必须激活 caspase 才能导致 c-ABL 断裂。c-Jun 和 c-ABL 片段的过度表达,或通过 siRNA 敲除 c-ABL 和 c-Jun 表达,进一步确认 adaphostin 导致的 c-Jun 上调是引发下游 caspase 介导的 c-ABL 的断裂、MM 细胞抑制和凋亡的原因。

3.2 硼替佐米

2003 年美国 FDA 批准硼替佐米治疗复发性 MM。但是患者对此药出现获得性耐受,疗效并不好。硼替佐米与其他传统的或新的药物联合使用,可以克服硼替佐米的耐药性问题。临床前正在进行体内、外硼替佐米与传统药物联合使用的疗效实验。临床上正在研究与沙利度胺、地塞米松、美法仑、多柔比星、脂质多柔比星和热休克蛋白 90 抑制剂 17-AAG (tanespimycin) 联合使用的治疗效果。

尽管对硼替佐米抗 MM 作用的研究已经很详细,但是导致 MM 细胞死亡的机制尚不清楚。研究结果显示,硼替佐米可以诱导耐药 MM 细胞凋亡,抑制在骨髓微环境中 MM 细胞的结合,进而降低介导 MM 细胞生长和存活的细胞因子的产生和释放。而且,硼替佐米还可以(1)抑制 IL-6 引发的胞外信号调节蛋白激酶(ERK)的激活,而不是 STAT3;(2)引发 p53 蛋白和 JNK 的磷酸化;(3)导致 DNA-PKC 和共济失调毛细血管扩张症变异激酶(ATM)断裂, caspase 依赖的 gp130 下调。

与 adaphostin 相似,硼替佐米可诱导 c-Jun 表达,并与 c-ABL 断裂有关。adaphostin 与硼替佐米有明显的协同作用,这与抑制泛醌类蛋白的降解、稳定断裂的 c-ABL 有关。在许多白血病细胞系中, adaphostin 与蛋白酶体抑制剂 MG-123 和硼替佐米联合有很高的协同作用。c-ABL 可中和 p53 上的鼠

双微体 2 (murine double minutes, Mdm2) 的抑制作用,而硼替佐米通过抑制泛醌类蛋白酶通路使 p53 上调。c-ABL 与 p53 形成的复合物,很可能是对 MM 细胞 G₁ 期产生协同作用的机制所在。

3.3 PKC-412

PKC-412 是自然界存在的星状孢子生物碱,即可抑制传统的 Ca²⁺ 依赖 PKC 异构体,也可抑制新型非 Ca²⁺ 依赖的 PKC 异构体。PKC-412 抑制血管内皮细胞生长因子(VEGF)受体 Flt-1 和变异的 Flt-3, 成纤维细胞生长因子受体 FGFR-1, 变异的 FGFR-3 和 c-kit, 在各种临床前模型上已证实了 PKC-412 的抗血液恶性肿瘤和实体瘤的作用,如慢性 B 淋巴细胞白血病(B-CLL), AML, 急性淋巴母细胞白血病(ALL), 肥大细胞白血病, 前 B 细胞淋巴瘤, 外周 T 细胞淋巴瘤及非小细胞肺癌(NSCLC)。临床正在研究 PKC-412 对进展性系统性肥大细胞增生病、肥大细胞白血病, 以及最新确诊的 AML 的治疗作用。在具有单个活性激酶区域变异 K650E (OPM-1 细胞) 或穿膜变异 Y373C (KMS11 细胞) t(4;14) 阳性 MM 细胞中, 观察到 PKC-412 的明显作用活性。

PKC-412 在 MM 细胞的作用活性与 JNK 依赖的 c-Jun 上调及 c-Fos 下调有关。相反,抑制 JNK 就可消除 c-Jun 激活和细胞凋亡。

4 结语

研究显示, c-Jun 的表达及活性在凋亡前的作用取决于细胞类型、组织和刺激的不同。特别是 adaphostin, 硼替佐米和 PKC-412 激发 MM 细胞中 c-Jun 的上调, 与 Fas 刺激反应类似。至少在 adaphostin 导致的 MM 细胞死亡中, c-Jun 下游重要的靶标是 c-ABL。但是这些药物如何上调 c-Jun 表达, 乃至 c-Jun 对其下游 c-ABL 是如何作用的仍不清楚。基因分析表明, c-Jun 的高表达可能与包括 MM 在内的不同肿瘤细胞升高的存活率有关。c-Jun 表达在 MM 中的作用还需进一步研究。

[编译自: Puder K, Anderson KC. The role of c-Jun in the pathogenesis of multiple myeloma [J]. *Drugs Fut*, 2007, 32 (4): 353 - 359]