

DOI: 10.13376/j.cbls/2018100

文章编号: 1004-0374(2018)08-0848-07

BCLAF1研究进展

董长江, 丁媛媛, 张 峰*

(上海师范大学, 上海 200234)

摘要: BCLAF1 (Bcl2 associated transcription factor 1, 又称为 BTF) 最初被鉴定为与 BCL2 家族的抗凋亡成员相互作用的蛋白质。初步研究表明, 该蛋白具有细胞凋亡诱导因子和转录抑制因子的作用。但后续的研究表明, BCLAF1 在更加广泛的过程中起关键作用, 这些过程通常不与 BCL2 家族成员的作用相关。现总结和概述了 BCLAF1 所具有的基本结构域和在细胞中的定位, BCLAF1 在 mRNA 的加工成熟、DNA 损伤应答 (DNA damage response, DDR)、细胞凋亡、细胞衰老、肺泡发育中的功能, 以及 BCLAF1 与肿瘤之间的关系, 同时对上述过程中可能的分子机制进行了阐述和讨论。

关键词: BCLAF1; 凋亡; 肺发育; mRNA 加工; DNA 损伤应答; 肿瘤

中图分类号: R730.5 **文献标志码:** A

The research progress of BCLAF1

DONG Chang-Jiang, DING Yuan-Yuan, ZHANG Feng*

(Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: BCLAF1 (Bcl2 associated transcription factor 1, BCLAF1 or BTF) was originally identified as a protein that interacts with anti-apoptotic members of the BCL2 family. Preliminary studies have shown that this protein acts as an apoptosis-inducing factor and a transcriptional repressor. Subsequent studies have shown that BCLAF1 plays a key role in a wide range of processes that are not normally associated with the role of BCL2 family members. This article describes the basic domains of BCLAF1 and its cellular location. The functions of Bclaf1 in mRNA maturation, DNA damage response, cell apoptosis, cell senescence, and alveolar development were summarized, and the relationship between BCLAF1 and tumors was summarized. We also elaborated and discussed possible molecular mechanisms of the above process.

Key words: BCLAF1; apoptosis; lung development; mRNA processing; DNA damage response; tumor

White 和同事在筛选的与腺病毒 E1B 19K 蛋白相互作用的蛋白质中鉴定了 BCLAF1^[1]。E1B 19K 在功能上类似于抗细胞凋亡蛋白家族 Bcl2 成员, 能阻断其他腺病毒蛋白, 如 E1A 触发的死亡信号^[2]。BCLAF1 与 E1B 19K 和抗细胞凋亡蛋白 BCL2、BCL-xL 在体外的相互作用已被证明。BCLAF1 过表达引起细胞凋亡^[1], 通过 E1B 19K 的共表达可以阻断 BCLAF1 触发细胞凋亡的能力。研究发现 BCLAF1 过表达抑制异源报告基因的转录, 当过表达 E1B19K、BCL2 或 BCL-xL 时该抑制作用可被削弱。此外, 通过 BCLAF1 抑制 E1A 介导的转化, 以及测试的肿瘤细胞系中 BCLAF1 的减少或不存

在, 表明该蛋白作为肿瘤抑制剂具有潜在的作用^[1]。BCLAF1 的促凋亡作用可以通过共表达抗凋亡 BCL2 蛋白阻断, 其内在机制尚不完全清楚是否与 BCL 抗凋亡蛋白影响 BCLAF1 在细胞内的分布有关。研究表明, BCLAF1 作为潜在的剪接体以及 RNP (ribonucleoprotein) 复合体成分参与了 mRNA 的成熟以及出核相关过程^[3-4]。同时, 近些年的研究指出, BCLAF1 作为潜在的参与 DDR 的蛋白, 其参与 DNA 损伤修复的过程可能是间接的, 同源

收稿日期: 2018-03-14; 修回日期: 2018-05-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(81572775, 81773004)

*通信作者: E-mail: fengz@shnu.edu.cn

重组修复过程中的关键蛋白 BRCA1 与 BCLAF1 相互作用调节了众多 mRNA 成熟过程, 而这些 mRNA 大多与 DNA 复制、同源重组、DNA 损伤修复、癌症信号网络以及 DDR 相关。BCLAF1 在细胞衰老诱导、癌细胞分化和凋亡过程中也发挥着关键作用^[5-6]。本文对 BCLAF1 的发现、分子功能研究的进展以及其生理功能进行了总结与讨论。

1 BCLAF1的结构以及亚细胞定位

1.1 BCLAF1的结构

虽然与 BCL2 家族成员相互作用并因此而被命名, 但 BCLAF1 与这些蛋白质在氨基酸序列上却没有相似性^[1]。BCLAF1 开放阅读框的最突出特征是 N 端的精氨酸 (R)- 丝氨酸 (S) 富集区域的存在。含有 RS 结构域的蛋白质通常与 mRNA 前体生物发生和加工事件 (如 mRNA 前体剪接) 相关。SR 蛋白 (Ser-Arg rich protein) 是一大类因子, 其中 RS 结构域在控制 mRNA 前体剪接和 mRNA 加工事件中起关键作用。SR 蛋白通常包含 N 端 RNA 识别基序和 C 端 RS 结构域, N 端 RNA 识别基序可以结合 pre-mRNA, C 端 RS 结构域介导与其他含 RS 结构域的蛋白质的相互作用^[7-9]。SR 蛋白存在于真核细胞染色质间颗粒簇集区 (interchromatin granule clusters, IGCs), 在 mRNA 剪接的过程中随着 RS 结构域的磷酸化和去磷酸化, SR 蛋白分布发生动态变化并完成循环^[10-11]。另外, 虽然 BCLAF1 具有 RS 结构域, 但是其并不具有 SR 蛋白典型的 RNA 结合基序^[12]。保守序列分析发现, BCLAF1 具有两处区域与 DNA 结合基序有较高的相似度, 其中一处位于 N 端, 与 bZIP DNA 结合基序有 88% 的同源性; 另一处保守序列位于近 C 端, 与 Myb DNA 结合基序的同源性也达到 80%。这表明 BCLAF1 具有潜在的 DNA 结合能力^[13]。另外, BCLAF1 还具有两处保守的功能区段, 分别是 THRAP3/BCLAF1 和 Btz 区段 (图 1), 这两处保守区段与 pre-mRNA 剪接加工、mRNA 降解以及 mRNA 出核相关^[3,14]。BCLAF1 与 SR 蛋白

一级结构的相似性提示, BCLAF1 可能与 mRNA 的剪接、转运相关。

1.2 BCLAF1亚细胞定位

BCL 家族成员大多定位在线粒体上, 或者受到刺激转移到线粒体上。BCLAF1 的亚细胞定位与 BCL 家族蛋白的定位不一致。BCLAF1 的亚细胞定位在不同的细胞中不尽相同, 在已知的多种癌细胞中 BCLAF1 会局限在核内, 但在 CD34⁺ 的造血祖细胞中 BCLAF1 分布在胞质中^[5]。BCLAF1 在多种癌细胞中核内局灶性分布与 IGCs 的复合物中累积的 pre-mRNA 剪接和加工事件相关的核“斑点”模式相似^[15-18]。进一步的研究发现, 在 HeLa 细胞内过表达 E1B19K、BCL2 和 BCL-xL 可以影响 BCLAF1 的亚细胞定位, 使 BCLAF1 从细胞核转移到细胞质基质中。

2 BCLAF1参与mRNA的成熟以及mRNA运输

BCLAF1 与一种被称为甲状腺激素受体相关蛋白 TRAP150 (thyroid hormone receptor associated protein 3, 也称为 THRAP3 或者 BCLAF2) 的蛋白质有较高的氨基酸序列相似度。TRAP150 最初在核受体转录激活复合物中鉴定^[19-20], 后续的研究已经证明其与 RNA 剪切以及加工相关^[7]。TRAP150 含有如 BCLAF1 的 RS 结构域, 与 BCLAF1 具有广泛的序列相似性, 特别是在 C 端区域, 与 BCLAF1 具有 48% 的相似性^[21]; 并且, RNP 复合物亲和纯化证明同时存在 BCLAF1 和 TRAP150^[22], 两者的结构相似性以及存在于 RNP 复合体中提示两者可能具有相似的功能。

2.1 BCLAF1参与相关pre-mRNA的剪接和代谢

真核细胞中将 pre-mRNA 转化成成熟 mRNA 需要协调各种转录后事件, 如 pre-mRNA 5' 加帽、剪接、聚腺苷酸化和 mRNA 从细胞核到细胞质的输出。每个阶段的逐步完成由一系列专门的分子编排, 这些分子被顺序地引入 RNA 底物。这些因子与转录初期形成的 RNP 复合物中的 RNA 相互作用。

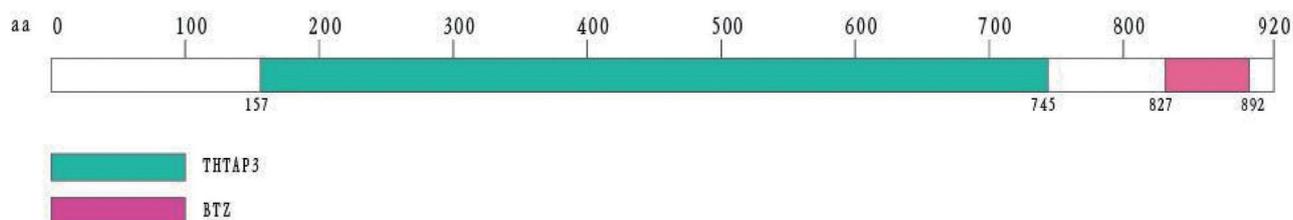


图1 BCLAF1已知保守区域示意图

RNP 的蛋白质组成在其存在的每个阶段以动态方式重塑, 以便决定所含 RNA 分子的命运^[23]。使用 LC-MS/MS 检测人 mRNP 的组成发现, mRNP 蛋白中存在 BCLAF1^[22]。BCLAF1 与 mRNP 的结合独立于剪接发生, 但依赖于 5'-m7G 帽的形成。m7G 帽是对初生转录物的最早修饰之一, 已被证明在 mRNA 代谢的几个阶段发挥关键作用, 包括 mRNA 前体剪接、3' 末端形成和 RNA 转运, 以及翻译和无义 RNA 降解^[24-25]。随后的研究确定了 BCLAF1 存在于 SNIP1、SkIP、TRAP150 和 Pinin 一起介导的细胞 Cyclin D1 信号稳定性的复合物中^[26]。SNIP1 是将 RNA 加工因子 U2AF65 募集到 Cyclin D1 转录物中所必需的。SNIP1 与相关蛋白的表达随着细胞周期变化而发生波动, 在 G₁ 期水平最高, 在 S 期和 G₂ 期降低, 这与 Cyclin D1 mRNA 随细胞周期变动的时相一致^[13]。另外一项关于 Cry2 (Cryptochrome-2) 的研究也表明, 成肌细胞中 Cry2 可以与 BCLAF1 相互作用共同稳定 Cyclin D1 mRNA 和跨膜蛋白 Tmem 176b mRNA, 从而维持成肌细胞稳定地增殖和分化^[27-28]。总之, 这些研究涉及 BCLAF1 作为控制 RNA 代谢过程的参与者, 但是 BCLAF1 在这些事件中的确切作用尚不清楚。

另有研究发现, BCLAF1 与 hnRNP A1 共沉淀参与 RNA 代谢, hnRNP A1 是一种与 RNA 结合的 RNP 蛋白, 参与细胞内转录和翻译的过程。已知在不同的细胞组分中 (核沉淀、核可溶性、细胞质) 都含有 hnRNP A1, 其中核沉淀中的 RNP 与染色质相关并含有 pre-mRNA 和 mRNA, 而来自核可溶性和细胞质组分的 RNP 主要含有 mRNA^[16]。研究发现, BCLAF1 与来自核沉淀的 hnRNP A1 复合物相关, 而不是可溶性核和细胞质组分, 这表明 BCLAF1 与含有 pre-RNA 的 RNP 相关, 而不是在后期成熟阶段含有转录本的 RNP^[13]。Savage 等^[31] 研究表明, 当敲低 BCLAF1 后, 细胞内显著减少的是成熟的 mRNA 而不是 pre-mRNA, 这也从侧面证明了 BCLAF1 与相关 pre-mRNA 结合参与成熟 mRNA 的产生。

BCLAF1 对于 pre-mRNA 剪接可能是非必需的, 因为 BCLAF1^{-/-} 小鼠没有显示出明显的早期的胚胎死亡率的升高^[13], 但对 mRNA 加工具有调节或辅助作用。研究发现与野生型细胞相比, BCLAF1 缺陷的成纤维细胞腺病毒 E1A mRNA 剪接本有所改变。比较野生型和 BCLAF1^{-/-} 成纤维细胞中产生的 E1A mRNA 的相对丰度发现, BCLAF1^{-/-} 细胞的

12S、10S 和 9S E1A mRNA 的相对水平升高, 13S 和 11S 的相对水平以及相应的 pre-mRNA 水平降低。这些发现表明, BCLAF1 可能参与负调节选择性剪接的途径, 并且这种途径中的异常可能是造成 BCLAF1^{-/-} 小鼠发生缺陷的原因^[13]。显然, BCLAF1 在调节可变剪接事件中有重要的作用。然而, 需要进一步的研究来测定 BCLAF1 调节 pre-mRNA 剪接位点选择中更加具体的作用。

2.2 BCLAF1与mRNA运输相关

在筛选与 BCLAF1 相互作用的其他 RNP 组分的同时, 观察到 BCLAF1 与 RNA 导出因子 NXF1 (nuclear RNA export factor 1, 又称 TAP1) 共定位和相互作用。使用针对 BCLAF1 和 NXF1 的抗体, 间接免疫荧光显示两种蛋白质存在于可重叠的亚细胞区域中^[13]。FLAG-NXF1 转染细胞后, 使用抗 FLAG 进行免疫沉淀可检测到 BCLAF1^[13]。NXF1 与 p15 一起形成了一种 mRNP 核转运受体, 该复合体参与 mRNA 出核^[29-30]。最新的研究发现在敲低 BCLAF1 后, 细胞内与 DDR 相关的几种 mRNA 出核受到影响。总之, 上述研究初步表明 BCLAF1 与部分 mRNA 的出核运输相关。

3 BCLAF1参与DNA损伤修复与细胞凋亡

DNA 受损后 BCLAF1 会募集到损伤位点。目前的研究表明, BCLAF1 可能通过两种方式调节 DNA 损伤后相关通路: 一是 BCLAF1 作为潜在的转录因子与相关蛋白共同激活转录, 从而促进相关蛋白含量发生变化, 使细胞损伤得以修复或者走向死亡; 二是 BCLAF1 作为潜在信号因子参与 DNA-PKcs 和 Ku70 共同调节的 NHEJ (non-homologous end joining), 或者将损伤信号向下游传递使不可修复的细胞走向凋亡。然而, Savage 等^[31] 研究指出, BCLAF1 也许并不具有在 DNA 受损时调节转录的功能, 而是在 DNA 受损时通过 ATM/ATR-BRCA1 信号通路调节相关 mRNA 加工。

3.1 BCLAF1作为潜在的信号因子参与DNA损伤修复以及决定细胞凋亡

H2AX 是组蛋白 H2A 的一种亚型, H2AX 能通过 139 位丝氨酸的快速磷酸化感知 DSBs, 当 DSBs 发生时, H2AX 能与多种蛋白定位到损伤位点参与 DNA 损伤修复以及细胞命运决定。γH2AX 是一种 DNA 损伤的标志物, Lee 等^[32] 研究表明, γH2AX 与 BCLAF1 在受到较强的电离辐射后会共定位到 DNA 损伤位点, 两者加强的相互作用已经

通过免疫共沉淀得以证实。该研究发现, 电离辐射敏感的细胞中 BCLAF1 可以正常的表达, 当细胞受到急性 DNA 损伤时 BCLAF1 可以被 DNA-PKcs 磷酸化重新定位到损伤位点。反过来, 磷酸化的 BCLAF1 可以使 DNA-PKcs 和 Ku70 更稳定地参与 NHEJ。另外, BCLAF1 和 γ H2AX 还可以促进 p53/p21 介导的凋亡途径以及细胞周期的停滞^[33]。而在电离辐射适应性细胞中 BCLAF1 的表达被内源性抑制, 导致了 DNA 损伤修复能力减弱以及 BCLAF1 通过 p53/p21 途径促进凋亡能力的削弱^[32]。

3.2 BCLAF1通过调节基因转录响应DNA损伤和决定细胞命运

在早期的研究中发现, BCLAF1 具有结合 DNA 的能力, 而进一步研究发现, BCLAF1 可以抑制基因的转录, 这种转录抑制能力可以被 E1B 19K、Bcl-2、Bcl-XL 所逆转^[13]。然而, BCLAF1 的转录抑制功能并没有被其他研究者进一步证实, 与此相反, BCLAF1 可能与其他蛋白共同参与了 TP53 的转录激活过程。TP53 肿瘤抑制因子的表达被严格控制, 其响应于 DNA 损伤并影响细胞生长、增殖和死亡^[34-35]。蛋白激酶 C δ (PKC δ) 是一个普遍表达的 PKC 家族成员, 可促进 TP53 在转录水平的表达。PKC δ 在细胞受到 DNA 损伤后被 c-Abl 磷酸化, 磷酸化后的 PKC δ 可以促进 c-Abl 的表达, 同时削弱 SHP-1 对 c-Abl 的抑制, 三者共同作用在一定程度上决定了细胞的命运^[35]。进一步的研究发现, 当暴露于基因毒性应激后, 被激活的 PKC δ 磷酸化凋亡转录因子 BCLAF1, 随后两者相互作用共同占据 CPE-TP53 (TP53 core promoter element)。PKC δ 通过 CPE-TP53 诱导 TP53 的启动子活性, 并且这种诱导在 DNA 损伤时会增强。抑制 PKC δ 的活性可降低 BCLAF1 对 CPE-TP53 的亲合力, 从而从转录水平降低了 p53 表达。与这些结果一致, 通过 RNA 干扰破坏 BCLAF1 介导的 TP53 基因转录, 可抑制基因毒性应激后 TP53 介导的细胞凋亡。这些发现表明, PKC δ 和 BCLAF1 在细胞受到 DNA 损伤时可以激活 TP53 依赖的凋亡过程^[35]。上述实验结果与 BCLAF1 过表达会导致细胞凋亡相互印证了 BCLAF1 是潜在的凋亡诱导因子, 但是其在非损伤细胞中诱发凋亡是否通过调节相关基因的表达尚未被证实。

Shao 等^[6]在有关药物诱导细胞衰老的研究中发现, BCLAF1 参与了调节基因转录过程。细胞衰老的特点包括细胞周期停滞、衰退的半乳糖苷酶活

性, 衰老的细胞还会分泌衰老相关的细胞因子和趋化因子^[36]。研究发现, 在 TIS (用阿霉素连续处理癌细胞造成细胞的衰老称为 TIS) 过程中 ATM/ATR 直接或者间接作用于 NF- κ B (nuclear factor κ B) 信号通路中的 NEMO, 之后被释放的 p65/c-REL 进核参与 BCLAF1 的转录上调, BCLAF1 又可以与 C/EBP β (转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白 β) 的启动子区域结合促进 C/EBP β 的表达。BCLAF1 与 C/EBP β 作为潜在转录因子共同参与了 TIS 相关因子的表达, 如 IL-6 和 IL-8 的上调^[6]。IL-6 和 IL-8 产生于细胞衰老的早期并促进细胞衰老进程。

3.3 BCLAF1与BRCA1相互作用响应DDR

BRCA1 主要功能包括维持基因组的稳定性、细胞周期检查点活化、HR (homologous recombination) 以及转录调节等, BRCA1 突变通常与乳腺癌以及膀胱癌的发生相关^[37-38]。在 DDR 过程中 BRCA1 发挥关键作用, DNA 损伤后损伤位点的 ATM/ATR 可以磷酸化 BRCA1, 磷酸化后的 BRCA1 进一步募集下游更多的蛋白到损伤位点共同参与 HR。而 BRCA1 相应位点的磷酸化在 DDR 中起到关键作用, 如 BRCA1 丝氨酸 -1423 和丝氨酸 -1524 位的磷酸化可以提高细胞对 IR (ionizing radiation) 的抵抗能力, 同时造成 G₁/S 和 G₂/M 周期检查点的停滞; BRCA1 丝氨酸 -1387 位的磷酸化则被认为与细胞周期 S 期停滞相关^[39]。2014 年, Savage 等^[31]研究发现, BRCA1 丝氨酸 -1423 位磷酸化与某些 pre-mRNA 加工成为成熟 mRNA 相关, 并且与 DDR 有紧密的关联。当 DNA 受到 DSB、SSB (single strand break) 或者复制叉停滞, 损伤位点的 BRCA1 丝氨酸 -1423 位被迅速磷酸化, 随后与 BCLAF1 产生相互作用, 两者以及其他剪切相关蛋白组成复合体共同定位到启动子附近, 并且与以上基因新产生的 pre-mRNA 结合, 促进 pre-mRNA 向成熟的 mRNA 转化 (图 2)。BCLAF1/BRCA1 调节的启动子, 包括 DNA 复制、重组、修复以及癌症信号网络, 与 DDR 相关的有 ATRIP、BACH1、EXO1 等。在 DDR 过程中与 DDR 相关的蛋白会被不断消耗, BRCA1 与 BCLAF1 等组成的剪切复合体可以特异促进 ATRIP、BACH1、EXO1 等成熟 mRNA 产生, 从而达到补充 DDR 相关蛋白的目的, 使细胞得以维持正常的生理功能。

4 BCLAF1与肿瘤的关系

最开始, BCLAF1 被界定为潜在的肿瘤抑制因

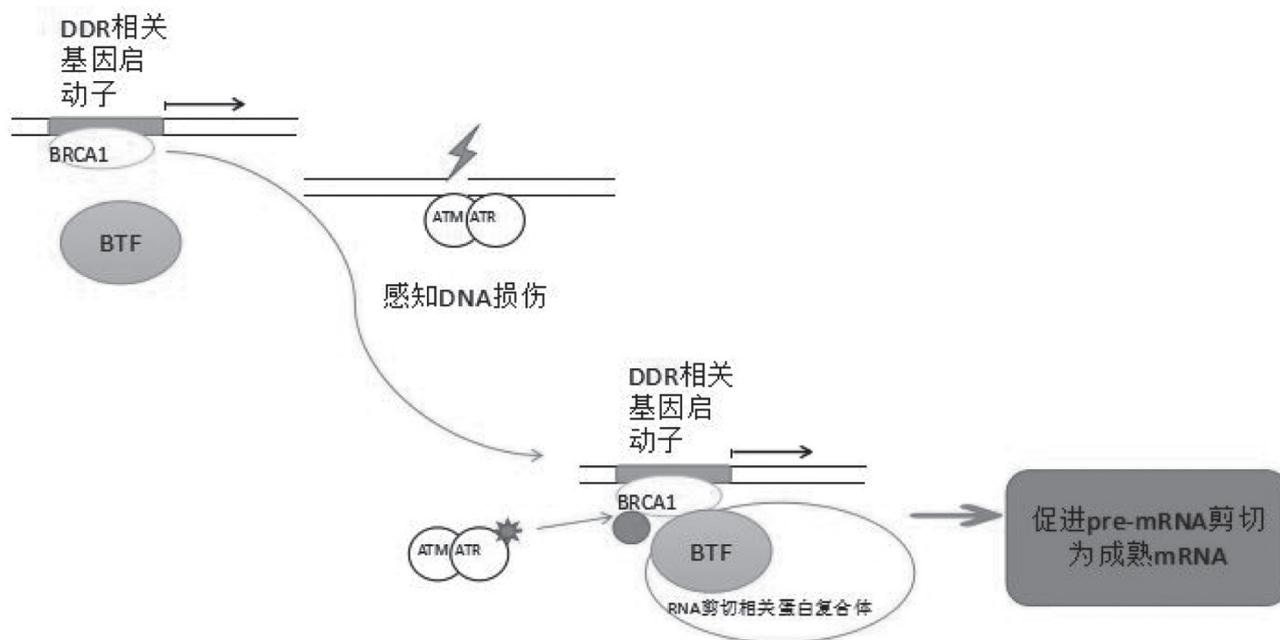


图2 BCLAF1与BRCA1相互作用响应DDR

子, 因为其抑制 E1A 介导的转化, 且多个肿瘤细胞系中 BCLAF1 表达量降低, 过表达 BCLAF1 会导致 HeLa 细胞的凋亡^[1]。一项持续的 DNA 损伤与细胞衰老的研究证实, BCLAF1 在药物诱导癌细胞衰老过程中发挥重要作用^[6]。持续的 DNA 损伤是诱发细胞衰老的关键因素, 许多治疗癌症的药物便是利用这个原理。在该项研究中发现, BCLAF1 参与了阿霉素介导的细胞衰老过程, 当用阿霉素处理三种癌细胞 (MCF-7、HCT116 和 HT-29) 3 d 时, 被处理的细胞内 BCLAF1 表达上升, 而敲低 BCLAF1 后显著降低了阿霉素诱导细胞衰老的能力。单独敲低 BCLAF1 会轻微影响细胞增殖, 但却会显著降低阿霉素对细胞增殖的抑制^[6]。以上结果说明, BCLAF1 在阿霉素诱导细胞衰老过程中发挥重要作用, 即 BCLAF1 可作为潜在抑制肿瘤的因子。Lamy 等^[40] 研究发现, 在骨髓瘤细胞中 caspase-10 与相关蛋白 c-FLIP₁ (CASP8 and FADD like apoptosis regulator) 通过剪切 BCLAF1 的方式抑制骨髓瘤发生自噬作用, 在该研究中 BCLAF1 作为潜在肿瘤抑制因子。在一项关于 AML (acute myeloid leukemia) 的研究中发现, 敲低 BCLAF1 会增加细胞对组蛋白去乙酰化酶抑制剂 SAHA (一种抗癌药物) 的敏感性, 减慢细胞增殖和减少克隆形成数。若在 U937 细胞株中过表达 BCLAF1 则会加快细胞生长速度, 并增加细胞对 SAHA 的耐受能力。另外一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂 MS275 可以诱导过表达 miR-

194-5b 的 U937 细胞中的 BCLAF1 从核转移到胞质中, 从而诱导 U937 细胞向类似树突状的细胞分化。SAHA 虽然与 MS275 都是组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 可能由于两者作用的位点不同, SAHA 处理 U937 细胞不会使位于核内的 BCLAF1 转移到胞质, SAHA 发挥作用是通过上调 miR-194-5b 和组蛋白去乙酰化酶 HDAC4 (histone deacetylase 4) 促进细胞凋亡^[5]。这项研究发现 BCLAF1 与 HDAC4 内源性相互作用, BCLAF1 在胞内定位的改变或许与此相关。值得注意的是, 在 HeLa 细胞中过表达 E1B19K、BCL2 和 BCL-xL 可以使 BCLAF1 由核内转移到胞质, 并阻断由 BCLAF1 所触发的凋亡^[1], 但尚不清楚这种阻断是否与 BCLAF1 在细胞内分布的改变相关。除此之外, BCLAF1 在结直肠癌中是致癌的^[41]。因而, BCLAF1 是否是抑癌因子存在争议。

5 BCLAF1缺失影响小鼠肺发育

BCLAF1 在小鼠的生长发育中发挥重要的作用。虽然 BCLAF1 缺陷型小鼠未出现胚胎死亡^[13], 但 BCLAF1 对于小鼠的出生后生存能力至关重要。研究发现, BCLAF1 缺陷小鼠表现出严重的肺发育停滞, 导致出生后不久死亡^[42]。肺形成被认为是小鼠胚胎第 9.5 天 (E9.5) 发生并在出生后继续进行的一系列阶段^[43-44]。小管阶段 (E16.6-E17.4) 的特征在于远上皮和间质的大量分支, 导致在支气管的顶形

成末端囊结构。在囊状期 (E17.5 至出生后第 5 天), 这些末端囊的扩张伴随着间质组织的相应减少。这个阶段是形成功能性血液 - 空气屏障所必需的, 其特征在干支气管肺泡上皮细胞分化成对于流体去除和表面活性剂生产至关重要的 I 型和 II 型谱系细胞。肺发育最后阶段是出生后开始的, 其特征在干肺泡的成熟和二次肺泡隔膜的形成。缺乏 BCLAF1 的小鼠的肺部缺乏末端囊扩张。后续的研究发现在囊状期 (E17.5 至出生后第 5 天), BCLAF1 在肺中的表达显著上调。囊状阶段是分化末端囊上皮细胞系的关键时期。BCLAF1 缺乏并未损害 I 型和 II 型上皮细胞的分化, 但会导致肺部平滑肌细胞过多, 这种非正常的肺部发育可能是导致 BCLAF1 缺陷初生小鼠死亡的原因。将来自 BCLAF1 缺陷小鼠的肺与野生型小鼠肺相比, 观察到细胞增殖或凋亡没有显著差异, 表明 BCLAF1 在肺分化中的作用与细胞生长或死亡无关。上述研究表明, BCLAF1 对小鼠肺发育至关重要, 但是其内在机制尚未清晰。最近一项关于节律调节蛋白的研究把 Cry2、BCLAF1 与成肌细胞的增殖和肌小管的形成联系到一起。Cry2 调节体内高达 20% 的基因表达, 控制细胞生理学和病理学的各个方面, 包括细胞增殖、干细胞功能和组织再生^[45]。该研究表明, 在成肌细胞中 Cry2 可以与 BCLAF1 共同维持成肌细胞的稳定增殖和分化^[27-28], 在小鼠肺发育过程中平滑肌增殖异常是否是 Cry2 与 BCLAF1 共同作用的结果, 尚需进一步探索。进一步研究 BCLAF1 在肺发育中的作用发现, 出生后第 1 天 BCLAF1 缺陷型小鼠与肌肉收缩、Wnt 相关的 mRNA 在肺中的表达较野生型上调。小鼠肺发育过程 mRNA 全局变化是否与 BCLAF1 参与相关 mRNA 稳定性相关尚未得到进一步证实。另外, 尽管 BCLAF1 最初被表征为转录抑制因子和凋亡诱导因子, 但此项研究没有发现与此相关基因表达的任何显著变化^[13]。

6 结论与展望

本文从 BCLAF1 的发现、命名、功能的研究和调控机制等方面对该蛋白进行了系统阐述。BCLAF1 在广泛的生理过程中发挥作用, 如在调控机制研究中发现 BCLAF1 参与 mRNA 的成熟和 mRNA 的出核运输; BCLAF1 在 DNA 损伤后可以募集到损伤位点作为潜在的转录因子或者信号转导因子调节细胞命运; BCLAF1 能够增加肿瘤细胞对药物的敏感性等。在生理方面, BCLAF1 对于小鼠

肺的发育是至关重要的, 同时, 它还参与了 T 细胞活化和细胞衰老的形成。最后, 本文还总结了 BCLAF1 与肿瘤之间的关系。BCLAF1 一般被认为是潜在的肿瘤抑制因子, 如过表达 BCLAF1 能诱导 HeLa 细胞凋亡以及在骨髓瘤细胞中 BCLAF 作为促肿瘤凋亡因子^[40]。而近些年的研究对这一观点提出了挑战, 如在一项研究中发现上调组蛋白甲基化转移酶 SMYD3 可以通过增强 BCLAF1 的表达以及细胞自噬促进膀胱癌的发展^[46]; 另外, BCLAF1 对于成肌细胞中原癌基因 Cyclin D1 的稳定性也是至关重要的^[28]。上述结果表明, BCLAF1 在不同的细胞中发挥的作用不尽相同。BCLAF1 在广泛的过程中发挥作用, 表明该蛋白在生物体中具有重要的作用。进一步探明 BCLAF1 在肿瘤细胞中具体的作用和内在的调控机理, 将为抗肿瘤药物的研制提供重要思路。

[参 考 文 献]

- [1] Kasof GM, Goyal L, White E. Btf, a novel death-promoting transcriptional repressor that interacts with Bcl-2-related proteins. *Mol Cell Biol*, 1999, 19: 4390-404
- [2] Cuconati A, White E. Viral homologs of BCL-2: role of apoptosis in the regulation of virus infection. *Genes Dev*, 2002, 16: 2465-78
- [3] Lee KM, Hsu IaW, Tarn WY. TRAP150 activates pre-mRNA splicing and promotes nuclear mRNA degradation. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 3340-50
- [4] Vohhodina J, Barros EM, Savage AL, et al. The RNA processing factors THRAP3 and BCLAF1 promote the DNA damage response through selective mRNA splicing and nuclear export. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 12816-33
- [5] Dell'aversana C, Giorgio C, D'amato L, et al. miR-194-5p/BCLAF1 deregulation in AML tumorigenesis. *Leukemia*, 2017, 31: 2315-25
- [6] Shao AW, Sun H, Geng Y, et al. Bclaf1 is an important NF- κ B signaling transducer and C/EBP β regulator in DNA damage-induced senescence. *Cell Death Differ*, 2016, 23: 865-75
- [7] Hastings ML, Krainer AR. Pre-mRNA splicing in the new millennium. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13: 302-9
- [8] Schaal TD, Maniatis T. Multiple distinct splicing enhancers in the protein-coding sequences of a constitutively spliced pre-mRNA. *Mol Cell Biol*, 1999, 19: 261-73
- [9] Smith CW, Valcarcel J. Alternative pre-mRNA splicing: the logic of combinatorial control. *Trends Biochem Sci*, 2000, 25: 381-8
- [10] Beli P, Lukashchuk N, Wagner SA, et al. Proteomic investigations reveal a role for RNA processing factor THRAP3 in the DNA damage response. *Mol Cell*, 2012, 46: 212-25

- [11] Jungmichel S, Rosenthal F, Altmeyer M, et al. Proteome-wide identification of poly(ADP-Ribosyl)ation targets in different genotoxic stress responses. *Mol Cell*, 2013, 52: 272-85
- [12] Varia S, Potabathula D, Deng Z, et al. Btf and TRAP150 have distinct roles in regulating subcellular mRNA distribution. *Nucleus*, 2013, 4: 229-40
- [13] Sarras H, Alizadeh Azami S, Mcpherson JP. In search of a function for BCLAF1. *ScientificWorldJournal*, 2010, 10: 1450-61
- [14] Lee KM, Tarn WY. TRAP150 activates splicing in composite terminal exons. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 12822-32.
- [15] Caceres JF, Misteli T, Sreaton GR, et al. Role of the modular domains of SR proteins in subnuclear localization and alternative splicing specificity. *J Cell Biol*, 1997, 138: 225-38
- [16] Mili S, Shu HJ, Zhao Y, et al. Distinct RNP complexes of shuttling hnRNP proteins with pre-mRNA and mRNA: candidate intermediates in formation and export of mRNA. *Mol Cell Biol*, 2001, 21: 7307-19
- [17] Misteli T, Caceres JF, Spector DL. The dynamics of a pre-mRNA splicing factor in living cells. *Nature*, 1997, 387: 523-7
- [18] Saitoh N, Spahr CS, Patterson SD, et al. Proteomic analysis of interchromatin granule clusters. *Mol Biol Cell*, 2004, 15: 3876-90
- [19] Ito M, Yuan CX, Malik S, et al. Identity between TRAP and SMCC complexes indicates novel pathways for the function of nuclear receptors and diverse mammalian activators. *Mol Cell*, 1999, 3: 361-70
- [20] Rachez C, Lemon BD, Suldan Z, et al. Ligand-dependent transcription activation by nuclear receptors requires the DRIP complex. *Nature*, 1999, 398: 824-8
- [21] Sutherland HG, Mumford GK, Newton K, et al. Large-scale identification of mammalian proteins localized to nuclear sub-compartments. *Hum Mol Genet*, 2001, 10: 1995-2011
- [22] Merz C, Urlaub H, Will CL, et al. Protein composition of human mRNPs spliced *in vitro* and differential requirements for mRNP protein recruitment. *RNA*, 2007, 13: 116-28
- [23] Wahl MC, Will CL, Luhrmann R. The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine. *Cell*, 2009, 136: 701-18
- [24] Hosoda N, Kim YK, Lejeune F, et al. CBP80 promotes interaction of Upf1 with Upf2 during nonsense-mediated mRNA decay in mammalian cells. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, 12: 893-901
- [25] Lewis JD, Izaurralde E. The role of the cap structure in RNA processing and nuclear export. *Eur J Biochem*, 1997, 247: 461-9
- [26] Bracken CP, Wall SJ, Barre B, et al. Regulation of cyclin D1 RNA stability by SNIP1. *Cancer Res*, 2008, 68: 7621-8
- [27] Hirano A, Fu YH, Ptáček LJ. The intricate dance of post-translational modifications in the rhythm of life. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 1053-60
- [28] Lowe M, Lage J, Paatela E, et al. Cry2 is critical for circadian regulation of myogenic differentiation by Bclaf1-mediated mRNA stabilization of cyclin D1 and Tmem176b. *Cell Rep*, 2018, 22: 2118-32
- [29] Carmody SR, Wentz SR. mRNA nuclear export at a glance. *J Cell Sci*, 2009, 122: 1933-7
- [30] Stutz F, Izaurralde E. The interplay of nuclear mRNP assembly, mRNA surveillance and export. *Trends Cell Biol*, 2003, 13: 319-27
- [31] Savage KI, Gorski JJ, Barros EM, et al. Identification of a BRCA1-mRNA splicing complex required for efficient DNA repair and maintenance of genomic stability. *Mol Cell*, 2014, 54: 445-59
- [32] Lee YY, Yu YB, Gunawardena HP, et al. BCLAF1 is a radiation-induced H2AX-interacting partner involved in gammaH2AX-mediated regulation of apoptosis and DNA repair. *Cell Death Dis*, 2012, 3: e359
- [33] Fragkos M, Jurvansuu J, Beard P. H2AX is required for cell cycle arrest via the p53/p21 pathway. *Mol Cell Biol*, 2009, 29: 2828-40
- [34] Nishizuka Y. The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation. *Nature*, 1988, 334: 661-5
- [35] Yoshida K. PKC δ signaling: mechanisms of DNA damage response and apoptosis. *Cell Signal*, 2007, 19: 892-901
- [36] Salama R, Sadaie M, Hoare M, et al. Cellular senescence and its effector programs. *Genes Dev*, 2014, 28: 99-114
- [37] Ziogas D, Liakakos T, Lykoudis E, et al. Exploring the role of BRCA1, BRCA2 and RAD51 as biomarkers for breast cancer. *Radiother Oncol*, 2009, 90: 161-2
- [38] Palomba G, Loi A, Uras A, et al. A role of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in breast cancer susceptibility within Sardinian population. *BMC Cancer*, 2009, 9: 245
- [39] Cortez D, Wang Y, Qin J, et al. Requirement of ATM-dependent phosphorylation of Brca1 in the DNA damage response to double-strand breaks. *Science*, 1999, 286: 1162-6
- [40] Lamy L, Ngo VN, Emre NC, et al. Control of autophagic cell death by caspase-10 in multiple myeloma. *Cancer Cell*, 2013, 23: 435-49
- [41] Zhou X, Li X, Cheng Y, et al. BCLAF1 and its splicing regulator SRSF10 regulate the tumorigenic potential of colon cancer cells. *Nat Commun*, 2014, 5: 4581
- [42] Mcpherson JP, Sarras H, Lemmers B, et al. Essential role for Bclaf1 in lung development and immune system function. *Cell Death Differ*, 2009, 16: 331-9
- [43] Ten Have-Opbroek AA. The development of the lung in mammals: an analysis of concepts and findings. *Am J Anat*, 1981, 162: 201-19
- [44] Ten Have-Opbroek AA. Lung development in the mouse embryo. *Exp Lung Res*, 1991, 17: 111-30
- [45] Takahashi JS. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat Rev Geneet*, 2017, 18: 164-79
- [46] Shen B, Tan M, Mu X, et al. Upregulated SMYD3 promotes bladder cancer progression by targeting BCLAF1 and activating autophagy. *Tumour Biol*, 2016, 37: 7371-81