

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.01529

# 乳腺癌耐药蛋白基因的转录调控机制

吴新刚, 彭姝彬, 黄谦

岳阳职业技术学院医学基础部, 岳阳 414000

**摘要:** 乳腺癌耐药蛋白(Breast cancer resistance protein, BCRP), 又名 *ABCG2*, 是 ATP 结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白超家族成员之一, 在肿瘤多药耐药中具有十分重要的作用。*BCRP* 基因启动子区无 TATA 盒, 含 CAAT 盒、AP1 位点、AP2 位点以及 CpG 岛下游的多个 Sp-1 位点。近年来的研究发现, 转录因子孕激素受体(PR)、雌激素受体(ER)、核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、缺氧诱导因子(HIF)、Nrf2、芳香烃受体(AhR)、过氧化物酶体增殖活化受体(PPAR)和 KLF5 等可与 *BCRP* 启动子或增强子区的特定反应元件结合进而激活 *BCRP* 的转录。促炎细胞因子、生长因子、同源盒基因 *MSX2*、Sonic hedgehog 信号通路、Notch 信号通路和 RAR/RXR 信号通路等均参与了 *BCRP* 的转录调控。此外, 启动子甲基化和组蛋白乙酰化在 *BCRP* 转录调控尤其是药物诱导 *BCRP* 表达中发挥重要作用。文章综述了这一研究领域的进展, 着重讨论了转录因子及表观遗传学在 *BCRP* 转录调控中的作用。

**关键词:** 乳腺癌耐药蛋白; 转录调控; DNA 甲基化; 转录因子; 多药耐药

## Transcriptional regulation of breast cancer resistance protein

WU Xin-Gang, PENG Shu-Bin, HUANG Qian

Department of Basic Medical Sciences, Yueyang Higher Vocational and Technical College, Yueyang 414000, China

**Abstract:** Breast cancer resistance protein (BCRP), also known as *ABCG2*, is a member of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily, and is known to play important roles in cancer multidrug resistance. The *BCRP* promoter lacks a TATA-box and contains a CAAT-box, lots of AP1, AP2 sites and several putative Sp1 sites which are downstream of a putative CpG island. Several transcription factors, such as progesterone receptor (PR), estrogen receptor (ER), nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), hypoxia-inducible factors (HIFs), nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), aryl hydrocarbon receptor (AhR), peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and Krüppel-like factor 5 (KLF5), have been recently shown to bind to their response elements in the promoter/enhancer to activate the transcription of *BCRP*. *BCRP* transcription can be influenced by proinflammatory cytokines, growth factors, and homeobox protein *MSX2*. Signaling pathways, such as Sonic hedgehog (Shh), Notch and RAR/RXR pathways, may also involve in the transcriptional regulation of *BCRP*. In addition, promoter methylation and histone acetylation are essential for the *BCRP* transcription, especially for the drug-induced *BCRP* expression. This paper reviews the recent research progresses in this field with an emphasis on the

收稿日期: 2012-03-20; 修回日期: 2012-05-11

基金项目: 岳阳职业技术学院(编号: YZ1104G)和湖南省教育厅项目(编号: 11C1284)资助

作者简介: 吴新刚, 硕士, 讲师, 研究方向: 乳腺癌分子生物学。Tel: 13873069242; E-mail: wu\_alwin@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2012/8/30 13:27:50

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120830.1327.003.html>

roles of transcription factors and epigenetics in the transcriptional regulation of *BCRP*.

**Keywords:** breast cancer resistance protein (BCRP); transcriptional regulation; DNA methylation; transcription factors; multidrug resistance(MDR)

乳腺癌耐药蛋白(Breast cancer resistance protein, BCRP), 又名胎盘特异性ATP结合盒蛋白(Placenta-specific ATP-binding cassette protein, ABCP)、米托蒽醌耐受相关蛋白(Mitoxantrone resistance-associated protein, MXR)和*ABCG2*, 是ATP结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白超家族G亚族成员之一。*BCRP*基因(GeneID 9429)于1998年由Doyle等<sup>[1]</sup>自乳腺癌耐药细胞株MCF-7/AdrVp中首次克隆。该基因定位于人染色体4q22, 编码655个氨基酸残基组成的跨膜糖蛋白。大规模筛检实验表明, *BCRP*在消化道肿瘤、生殖道肿瘤、肺癌、黑色素瘤及急性白血病等中有较高表达, 并与药物耐受相关。目前已知的BCRP底物有米托蒽醌(MX)、托泊替康(TPT)、柔红霉素(DNR)、阿霉素(ADM)、氨甲喋呤(MTX)、SN38和酪氨酸激酶抑制剂等化疗药物<sup>[2,3]</sup>。因此, 研究*BCRP*转录调控机制对逆转肿瘤多药耐药(Multidrug resistance, MDR), 提高化疗疗效具有十分重要的意义。

与ABC转运蛋白超家族其他成员如*MDR1*和*MRP1*基因相似, *BCRP*基因启动子区无TATA盒, 含CAAT盒、AP1位点、AP2位点以及CpG岛下游的多个Sp-1位点, 但它们在*BCRP*转录中的作用有待深入的研究。近年来的研究表明, 多种转录因子如孕激素受体(Progesterone receptor, PR)、雌激素受体(Estrogen receptor, ER)、核因子- $\kappa$ B(Nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)和缺氧诱导因子(Hypoxia-inducible factor, HIF)等可通过与*BCRP*启动子或增强子区的特定反应元件结合, 参与*BCRP*的转录调控。促炎细胞因子、生长因子和某些信号通路可调节*BCRP*的表达。此外, DNA甲基化和组蛋白乙酰化在*BCRP*转录中也具有重要作用。本文就近年来*BCRP*的转录调控机制研究进展进行了简要的概述。

## 1 与BCRP转录相关的转录因子

### 1.1 性激素受体

*BCRP*在胎盘中高表达, 并在妊娠期受到黄体

酮(Progesterone,  $P_4$ )和17 $\beta$ -雌二醇(17 $\beta$ -Estradiol,  $E_2$ )等妊娠相关激素的严密调控。上述激素与相应受体结合后导致受体构象改变, 后者与伴侣蛋白如热休克蛋白90(Heat shock protein 90, Hsp90)解离并形成二聚体, 该二聚体结合到*BCRP*启动子区的相应反应元件进而激活*BCRP*的转录。

*BCRP*启动子区(-187/-173)存在孕激素反应元件(Progesterone response element, PRE)。通过构建包含PRE的*BCRP*启动子报告基因质粒并转染人胎盘绒毛膜癌细胞系BeWo后发现, 在抑制内源性 $P_4$ 的情况下, 生理浓度的 $P_4$ 可有效激活*BCRP*启动子活性, 这种激活作用是PR依赖性的。BeWo细胞中存在两种PR亚型即PRA和PRB, 其中PRB与上述调节有关<sup>[4]</sup>。由于PRA可抑制PRB的表达, 因此, 激活PRA反而可抑制PRB的转录活性。与 $P_4$ 单独处理相比, 联合低浓度 $E_2$ 可使BeWo细胞中*BCRP*的表达水平明显升高, 其机制可能与 $E_2$ 诱导PRB表达有关。然而, 在不抑制内源性 $P_4$ 的情况下, 只有高浓度 $P_4$ 才能诱导BeWo细胞和原代滋养层细胞中*BCRP*的表达, 且这一效应不能被PR拮抗剂RU-486所抑制<sup>[5]</sup>, 上述结果可能与高浓度内源性 $P_4$ 导致PR处于饱和状态有关。PR与Sp1的相互作用在*BCRP*的转录调控中可能发挥重要作用。研究发现,  $P_4$ 可激活乳腺癌细胞系T47D中*BCRP*启动子活性, 但这一效应可被RU-486和Sp1抑制剂光神霉素所消除<sup>[6]</sup>。然而, 最近有研究发现, 乳腺癌组织中PR与*BCRP*表达水平呈负相关;  $P_4$ 处理外源性*BCRP*过表达MCF-7细胞后, 细胞中BCRP mRNA和蛋白表达水平明显降低, 这一效应与PR结合PRE进而抑制*BCRP*表达有关<sup>[7]</sup>。

ER包括由不同基因编码的两种亚型, 即ER $\alpha$ 和ER $\beta$ 。 $E_2$ 对*BCRP*的转录调控主要是通过ER $\alpha$ 与雌激素反应元件(Estrogen response element, ERE)结合所介导的。研究发现,  $E_2$ 可诱导ER阳性T47D:A18细胞和稳定表达外源性ER $\alpha$ 的卵巢癌细胞系PA-1中*BCRP*的表达。在ER $\alpha$ 阳性的MCF-7细胞中也获得了类似的结果, 并且抗雌激素药物托瑞米芬以剂

量依赖性关系下调内源性和外源性BCRP mRNA的表达水平,同时使细胞对MX的耐受性降低;但在ER $\alpha$ 阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231中,BCRP mRNA的表达水平并没有改变<sup>[8]</sup>。在BeWo细胞中,雌酮、E<sub>2</sub>和雌三醇以浓度依赖性方式上调BCRP mRNA和蛋白表达水平;由于ERE和PRE重叠,P<sub>4</sub>可以抑制上述作用<sup>[4]</sup>。然而,有研究<sup>[6,9]</sup>发现,E<sub>2</sub>对BeWo细胞、T47D细胞、大鼠和小鼠脑微血管中BCRP mRNA表达水平无影响,但可通过ER $\beta$ 、PTEN/PI3K/AKT/GSK3下调BCRP蛋白表达水平。

生理浓度的睾酮对BeWo细胞中BCRP的表达无影响,但联合E<sub>2</sub>可显著上调BCRP mRNA和蛋白表达水平,该效应可被ER $\alpha$ 拮抗剂或睾酮受体(Testosterone receptor, TR)拮抗剂所抑制,提示,上述作用可能与ER $\alpha$ 诱导TR表达有关<sup>[10]</sup>。

## 1.2 NF- $\kappa$ B

NF- $\kappa$ B由Rel蛋白家族成员即p50、p52、p65(RelA)、RelB和c-Rel等以同源或异源二聚体形式组成,其中p65/p50异源二聚体是最常见的形式。作为转录因子,NF- $\kappa$ B可结合到靶基因上的 $\kappa$ B位点进而调节基因的表达。BCRP启动子区存在NF- $\kappa$ B(p50)位点(-27/-18),NF- $\kappa$ B通过与该位点结合可激活BCRP的表达。在野生型p53(Wild-type p53, wt-p53)低表达的MCF-7细胞中,wt-p53通过抑制NF- $\kappa$ B的转录活性进而下调BCRP mRNA和蛋白表达水平,细胞对MX的敏感性明显增加<sup>[11]</sup>。然而,在p53缺陷的骨肉瘤细胞系Saos-2中,外源性wt-p53以NF- $\kappa$ B依赖性方式激活BCRP的表达,其机制可能是p53与NF- $\kappa$ B可依细胞类型和刺激性质的不同而在功能上相互协同或拮抗<sup>[12]</sup>。外源性人表皮生长因子受体2(Human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)过表达MCF-7细胞中,BCRP表达水平明显升高,细胞对紫杉醇(Taxol)、顺铂(DDP)、依托泊苷(VP-16)、ADM、5-氟尿嘧啶(5-Fu)和MX等的敏感性降低,但这一效应可被PI3K抑制剂LY294002、I $\kappa$ B磷酸化抑制剂Bay11-7082和显性负突变I $\kappa$ B $\alpha$ 所消除<sup>[13]</sup>,提示,HER-2可能通过PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B信号通路激活BCRP的转录。

## 1.3 HIF

HIF由氧调节亚单位HIF- $\alpha$ 和结构亚单位HIF- $\beta$ 组成,其中HIF- $\alpha$ 既是调节亚基又是活性亚基。常氧

条件下,HIF- $\alpha$ 的脯氨酸残基被脯氨酸羟化酶羟基化,致使HIF- $\alpha$ 与Von Hippel Lindau (VHL)结合,经泛素化-蛋白酶体途径降解。缺氧条件下,脯氨酸羟化酶活性被抑制,HIF- $\alpha$ 蛋白稳定性增加并转移到细胞核内,与HIF- $\beta$ 结合组成有活性的HIF,后者募集辅激活蛋白CBP/P300并结合到靶基因启动子区的缺氧反应元件(Hypoxia response element, HRE),启动基因的表达。研究发现,在缺氧条件下培养的多种肿瘤细胞和侧群(Side population, SP)细胞中,BCRP mRNA表达水平明显升高,并且外源性HIF-2 $\alpha$ 以剂量依赖性关系激活小鼠C2C12成肌细胞中BCRP启动子活性。然而,在缺氧条件下培养的HIF-1 $\beta$ 缺失小鼠细胞系BpRcl中,BCRP表达水平未见明显改变<sup>[14,15]</sup>。上述效应与HIF-1和HIF-2结合BCRP启动子区的HRE(-2549/-2528)有关。

## 1.4 Nrf2

核因子E2相关因子2(Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是CNC(Cap 'n' collar)转录因子家族成员之一。生理条件下,Nrf2与KEAP1(Kelch-like ECH-associated protein1)结合而锚定于细胞浆内。氧化应激状态时,KEAP1构象改变或者Nrf2发生磷酸化,导致两者分离,Nrf2转移到细胞核内,与Maf形成异二聚体,后者识别并结合到抗氧化反应元件(Antioxidant response element, ARE)上,启动靶基因的表达。研究发现,Nrf2激活剂吡嗪硫酮和叔丁基对苯二酚可上调人原代肝细胞和肝癌细胞系HepG2中BCRP mRNA表达水平,而Nrf2缺陷小鼠的肝细胞中,BCRP表达水平明显降低<sup>[16]</sup>。通过ShRNA抑制肺癌细胞系A549、H460和前列腺癌细胞系DU145中Nrf2活性后,BCRP表达水平明显降低,细胞对MX和TPT的敏感性增加;当抑制肺上皮细胞中KEAP1的表达水平进而激活Nrf2后,BCRP mRNA表达水平明显升高。上述效应与Nrf2结合BCRP启动子区的ARE(-431/-420)有关<sup>[17]</sup>。

## 1.5 芳香烃受体

芳香烃受体(Aryl hydrocarbon receptor, AhR)激动剂如2,3,7,8-四氯二苯-对-二恶英(TCDD)、苯并[k]荧蒽(B[k]F)、3-甲基胆蒽(3-MC)和苯并[a]芘(BP)等可上调MCF-7、HepG-2、结肠癌细胞系Caco-2、S1和SW640等细胞中BCRP mRNA和蛋白表达水平;AhR

沉默或其拮抗剂如白藜芦醇、山柰酚和柳酰胺等可消除上述作用<sup>[18]</sup>。上述结果提示, AhR可能在BCRP的转录调控中发挥作用。AhR是一种配体依赖性转录因子, 无配体时, AhR与Hsp90、p23以及AhR结合蛋白形成复合物, 处于非激活状态; 一旦与配体结合, AhR解离并转移到细胞核内, 与芳香烃受体核转位蛋白结合形成二聚体, 后者结合到芳香烃受体反应元件(AhR responsive element, AhRE)上, 进而启动基因的转录。分析BCRP启动子区序列发现, BCRP基因含有9个可能的AhRE, 其中位于-194/-190的AhRE与AhR有很强的亲和力, 报告基因实验表明该反应元件在TCDD和B[k]F等诱导BCRP表达中起关键性作用<sup>[18,19]</sup>。组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylase, HDAC)抑制剂罗米地辛可诱导Hsp90乙酰化, 导致AhR与Hsp90解离并增强AhR与上述AhRE的亲和力, 因此, 罗米地辛可选择性诱导S1细胞中BCRP的表达<sup>[19]</sup>。然而, 上述AhRE与3-MC诱导结肠癌细胞系LS174T中BCRP的表达无关。研究证实, 3-MC是通过增强AhR与BCRP增强子区的AhRE(-2357/-2333)结合进而激活BCRP转录的<sup>[20]</sup>。

### 1.6 过氧化物酶体增殖活化受体

过氧化物酶体增殖活化受体(Peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)是一种配体依赖性转录因子, 包括由不同基因编码的三种亚型, 即PPAR- $\alpha$ 、PPAR- $\gamma$ 和PPAR- $\delta$ 。PPAR与配体结合后被激活, 与视黄酸类X受体(Retinoid X receptor, RXR)结合形成PPAR/RXR异二聚体, 后者与靶基因上的PPAR反应元件(PPAR response element, PPRE)结合, 启动基因的转录。研究发现, PPAR- $\gamma$ 激动剂罗格列酮、曲格列酮和GW7845可上调人树突状细胞中BCRP mRNA表达水平, 导致细胞对MX的耐受性增强, 而PPAR- $\gamma$ 沉默或其拮抗剂可消除上述作用。进一步研究显示, BCRP增强子区存在3个PPRE, PPAR- $\gamma$ /RXR $\alpha$ 可与之结合进而激活BCRP的转录<sup>[21]</sup>。Hirai等<sup>[22]</sup>报道, PPAR- $\alpha$ 激动剂Wy14643和GW7647喂养的野生型PPAR- $\alpha$ 小鼠小肠上皮细胞中, BCRP表达水平较PPAR- $\alpha$ 缺陷小鼠明显升高。提示, PPAR- $\alpha$ 可能参与了BCRP的转录调控。

### 1.7 KLF5

KLF5(Krüppel-like factor 5)是KLF转录因子家族成员之一。KLF5沉默肺癌细胞系H441中, BCRP mRNA表达水平明显升高; 而外源性KLF5过表达H441细胞中, BCRP表达水平明显降低, 上述效应与KLF5结合BCRP增强子区的KLF5结合位点(-7014/-6999)有关<sup>[23]</sup>。

## 2 促炎细胞因子与BCRP转录

促炎细胞因子可影响BCRP的表达, 但这种影响具有组织特异性。研究发现, 溃疡性结肠炎患者肠粘膜组织中BCRP mRNA表达水平与白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)水平明显相关。细胞实验证实, IL-6可使原代肝细胞、宫颈癌细胞系HeLa和人脑微血管内皮细胞系hCMEC/D3中BCRP mRNA表达水平降低, 但不影响HeLa和hCMEC/D3中BCRP蛋白表达水平, 且对MX耐药MCF-7/MX细胞中BCRP的表达无影响。IL-1 $\beta$ 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )可使猪脑微血管内皮细胞、HeLa、hCMEC/D3和原代胎盘滋养层细胞中BCRP mRNA表达水平降低, 但对HeLa和hCMEC/D3细胞中BCRP蛋白表达无明显影响。此外, 它们对胃癌细胞系EPG85-257和MCF-7/MX细胞中BCRP的表达无影响。然而, 在MCF-7细胞中, IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 可上调BCRP mRNA和蛋白表达水平, IL-6对BCRP mRNA表达水平无影响, 但可上调BCRP蛋白表达水平<sup>[24,25]</sup>。

与E<sub>2</sub>单独处理相比, 联合TNF- $\alpha$ 可使MCF-7细胞中BCRP mRNA和蛋白表达水平明显升高; 在TNF- $\alpha$ 存在的情况下, E<sub>2</sub>以剂量依赖性方式激活BCRP的表达; TNF- $\alpha$ 单独处理对BCRP的表达影响轻微, 但在E<sub>2</sub>存在的情况下, TNF- $\alpha$ 以剂量依赖性方式激活BCRP的表达, 上述效应是通过NF- $\kappa$ B与ER的相互作用(Cross-talk)而介导的。TNF- $\alpha$ 通过活化膜受体继而活化I $\kappa$ B激酶, 后者使I $\kappa$ B- $\alpha$ 磷酸化并通过泛素-蛋白酶体途径降解。NF- $\kappa$ B与I $\kappa$ B解聚后, 其核定位信号暴露, 活化的NF- $\kappa$ B二聚体转移到细胞核内, 与BCRP启动子区位于ERE附近的NF- $\kappa$ B反应元件(NF $\kappa$ BRE)结合。但这种结合有赖于ER与ERE的结合, 后者招募p65使之与NF $\kappa$ BRE结合。p65与NF $\kappa$ BRE

的结合可使ER与ERE的结合更加稳定, 进而增强E<sub>2</sub>对BCRP表达的诱导作用<sup>[26]</sup>。

### 3 生长因子与 BCRP 转录

转化生长因子- $\beta$ (Transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )和表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)可能与BCRP转录有关。TGF- $\beta$ 与细胞膜上具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性的受体T $\beta$ R 和T $\beta$ R 结合后激活受体, 激活的T $\beta$ R 磷酸化Smad2/3, 后者与Smad4 结合形成Smad2/3-Smad4 复合体并转移到细胞核内, 参与基因的表达调控。研究发现, TGF- $\beta$ 可显著下调MCF-7 细胞和胃癌细胞系OCUM-2MLN中BCRP mRNA表达水平, 上述效应是通过Smad2/3 与BCRP启动子及增强子区发生特异性结合而介导的<sup>[27]</sup>。EGF可诱导BeWo、MCF-7 和原代胎盘滋养层细胞中BCRP mRNA的表达, 上述效应与EGF诱导细胞中MAP激酶ERK1/2 和JNK/SAPK磷酸化有关<sup>[28]</sup>。然而, Imai等<sup>[29]</sup>报道, EGF通过激活ERK1/2 及其下游分子RSK进而抑制MCF-7 细胞中BCRP的转录, 抑制ERK激酶(MEK)可上调BCRP mRNA表达水平, 但会促进BCRP蛋白的降解。

### 4 信号通路与 BCRP 转录

Sonic hedgehog(Shh)信号通路在BCRP转录中发挥重要作用。神经胶质瘤关联癌基因同源物 1 (Glioma-associated oncogene homolog 1, GLI1)是Shh信号通路的主要效应蛋白。研究发现, 外源性重组Shh配体可使食管癌细胞系SEG-1、前列腺癌细胞系LnCaP、人胚肾细胞系293T和弥漫性大B细胞淋巴瘤细胞中GLI1 和BCRP表达水平明显升高, 细胞对MTX、Taxol和ADM等的耐受性增强; 通过SiRNA或Cyclopamine抑制GLI1 后, 细胞中BCRP表达水平降低, 细胞对MTX、Taxol和ADM等的耐受性随之降低。上述效应与GLI1 结合BCRP启动子区的GLI结合位点(-416/-408)有关<sup>[30]</sup>。Notch信号通路由Notch受体、Notch配体和CSL组成。当Notch受体与配体结合后, 其胞内段(NICD)被激活, 与细胞膜解离并转移到细胞核内, 与CSL结合形成NICD-CSL复合体, 后者结合到靶基因上的特定序列启动基因转录<sup>[31]</sup>。研究证实, CSL可与BCRP启动子区的CSL结合位点结合进而激活BCRP的转录<sup>[32]</sup>。此外, RAR/RXR信号通路

可能参与BCRP的转录调控。研究发现, 全反式维甲酸、维甲酸受体(retinoic acid receptor, RAR)激动剂Am580 和RXR激动剂CD2608 均可诱导Caco-2 细胞中BCRP mRNA的表达<sup>[33]</sup>。

## 5 表观遗传学与 BCRP 转录

### 5.1 DNA 甲基化

DNA甲基化是调节基因转录的一种重要表观遗传修饰方式。研究发现, 骨髓瘤患者标本中BCRP mRNA表达水平与其等位基因甲基化状态呈负相关。通过分析细胞中BCRP表达水平与其启动子甲基化状态后发现, BCRP低表达细胞中BCRP启动子甲基化、组蛋白H3(K9)去乙酰化和甲基化较BCRP中或高表达细胞明显增加, 上述改变促使甲基化CpG 结合蛋白(MBD2 和MeCP2)与BCRP启动子结合并募集HDAC1、mSin3A、DNA 甲基转移酶 1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)和DNMT3a, 共同形成转录抑制复合体进而抑制BCRP转录, 同时, 细胞对MX、TPT和SN-38 的敏感性增加。经DNMT抑制剂 5-氮脱氧胞苷诱导后, BCRP低表达细胞中BCRP mRNA和蛋白表达水平明显升高<sup>[34]</sup>。

BCRP启动子去甲基化是获得性耐药的重要机制之一。低浓度MX诱导的耐药细胞系MCF-7/wt中, BCRP表达水平明显升高。通过检测不同时段细胞中BCRP表达水平与DNA甲基转移酶的变化情况后, 发现, DNMT1 和DNMT3a降低与BCRP过表达密切相关<sup>[35]</sup>。小细胞肺癌细胞系PC-6 不表达BCRP mRNA, 其BCRP等位基因所有CpG位点(CpG site)均发生甲基化。经SN-38 诱导的耐药细胞系PC-6/SN2-5H中BCRP过表达, 与亲代PC-6 细胞相比, BCRP启动子部分CpG岛去甲基化。Bram等<sup>[36]</sup>发现, T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)患者标本和白血病细胞系中普遍存在BCRP启动子甲基化。柳氮磺吡啶和TPT诱导耐药细胞系CCRF-CEM中BCRP启动子完全去甲基化, BCRP表达水平明显升高进而介导MDR。

### 5.2 组蛋白乙酰化

组蛋白乙酰化修饰是调节基因转录的关键机制之一。研究发现, 结肠癌耐药细胞系S1MI80 中, BCRP mRNA和蛋白表达水平较亲代细胞S1 明显升高; 罗米地辛可诱导S1 细胞中BCRP的表达, 但对

MCF-7、人脑胶质瘤细胞系SF295 和结肠癌细胞系SW620 中BCRP的表达无影响。ChIP分析表明, S1MI80 细胞和罗米地辛处理的S1 细胞与其他细胞相比, BCRP启动子区组蛋白H3(K9,14)高乙酰化, H3(K4)三甲基化和H3(S10)磷酸化增加, 而H3(K9)三甲基化减少, 上述改变促使HDAC1、HDAC3 和Sp1 等与BCRP启动子的解离, 促进染色质重塑因子Brg-1、HAT、辅激活蛋白和RNA多聚酶II与启动子的结合从而启动基因的转录<sup>[37]</sup>。

## 6 其他转录调控机制

研究发现, 多种胰腺癌细胞系中BCRP表达水平与MSX2 水平相关, 并且MSX2 可上调BCRP启动子活性; 当启动子中的Sp1 结合位点突变后, MSX2 的转录激活作用消失; 同时, 在MSX2 过表达细胞中, Sp1 与Sp1 结合位点的结合更加稳定。提示, MSX2可能通过招募Sp1 并促进其与Sp1 结合位点的结合进而激活BCRP转录<sup>[38]</sup>。最近, 有研究发现, 癌基因产物c-MYC可能通过与BCRP启动子区的结合位点结合进而激活BCRP转录<sup>[39]</sup>。此外, 孕烷X受体(Pregnane X receptor, PXR)、组成型雄烷受体(Constitutive androstane receptor, CAR)和糖皮质激素受体(Glucocorticoid receptor, GR)等也可能参与BCRP的转录调控<sup>[40]</sup>。

综上所述, BCRP 的转录受到多种转录因子、细胞因子和生长因子等的调控, 也受某些信号通路的影响, 而表观遗传学机制是 BCRP 基础表达的主要机制, 并在 BCRP 介导的获得性耐药中发挥重要作用。上述研究虽然对 BCRP 的转录机制进行了有益的探讨, 但存在一些相互矛盾的结论, 而且很多机制有待更深入的阐明。

## 参考文献(References):

- [1] Doyle LA, Yang WD, Abruzzo LV, Krogmann T, Gao YM, Rishi AK, Ross DD. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(26): 15665–15670. DOI
- [2] Natarajan K, Xie Y, Baer MR, Ross DD. Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(8): 1084–1103. DOI
- [3] Noguchi K, Katayama K, Mitsuhashi J, Sugimoto Y. Functions of the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in chemotherapy. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61(1): 26–33. DOI
- [4] Wang H, Lee EW, Zhou L, Leung PC, Ross DD, Unadkat JD, Mao Q. Progesterone receptor (PR) isoforms PRA and PRB differentially regulate expression of the breast cancer resistance protein in human placental choriocarcinoma BeWo cells. *Mol Pharmacol*, 2008, 73(3): 845–854. DOI
- [5] Evseenko DA, Paxton JW, Keelan JA. Independent regulation of apical and basolateral drug transporter expression and function in placental trophoblasts by cytokines, steroids, and growth factors. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(4): 595–601. DOI
- [6] Yasuda S, Kobayashi M, Itagaki S, Hirano T, Iseki K. Response of the ABCG2 promoter in T47D cells and BeWo cells to sex hormone treatment. *Mol Biol Rep*, 2009, 36(7): 1889–1896. DOI
- [7] Wu XJ, Zhang XF, Zhang H, Su P, Li WW, Li L, Wang Y, Liu WJ, Gao P, Zhou GY. Progesterone receptor downregulates breast cancer resistance protein expression via binding to the progesterone response element in breast cancer. *Cancer Sci*, 2012, 103(5): 959–967. DOI
- [8] Zhang YH, Wang HP, Wei LJ, Li G, Yu J, Gao Y, Gao P, Zhang XF, Wei FL, Yin DL, Zhou GY. Transcriptional modulation of BCRP gene to reverse multidrug resistance by toremifene in breast adenocarcinoma cells. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 123(3): 679–689. DOI
- [9] Hartz AMS, Madole EK, Miller DS, Bauer B. Estrogen receptor  $\beta$  signaling through phosphatase and tensin homolog/phosphoinositide 3-kinase/Akt/glycogen synthase kinase 3 down-regulates blood-brain barrier breast cancer resistance protein. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 334(2): 467–476. DOI
- [10] Wang HG, Unadkat JD, Mao QC. Hormonal regulation of BCRP expression in human placental BeWo cells. *Pharm Res*, 2008, 25(2): 444–452. DOI
- [11] Wang XD, Wu XG, Wang CK, Zhang WJ, Ouyang YM, Yu YH, He ZM. Transcriptional suppression of breast cancer resistance protein (BCRP) by wild-type p53 through the NF- $\kappa$ B pathway in MCF-7 cells. *FEBS Lett*, 2010, 584(15): 3392–3397. DOI
- [12] 吴新刚, 彭姝彬, 阎四平, 张年凤, 邹进. p53 对乳腺癌耐药蛋白基因的转录调控. *中国生物化学与分子生物学报*, 2012, 28(2): 152–157. DOI
- [13] Zhang WJ, Ding W, Chen Y, Feng ML, Ouyang YM, Yu YH, He ZM. Up-regulation of breast cancer resistance protein plays a role in HER2-mediated chemoresistance through PI3K/Akt and nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathways in MCF7 breast cancer cells. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2011, 43(8): 647–653. DOI

- [14] Krishnamurthy P, Ross DD, Nakanishi T, Bailey-Dell K, Zhou S, Mercer KE, Sarkadi B, Sorrentino BP, Schuetz JD. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme. *J Biol Chem*, 2004, 279(23): 24218–24225. [DOI](#)
- [15] Martin CM, Ferdous A, Gallardo T, Humphries C, Sadek H, Caprioli A, Garcia JA, Szweda LI, Garry MG, Garry DJ. Hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  transactivates Abcg2 and promotes cytoprotection in cardiac side population cells. *Circ Res*, 2008, 102(9): 1075–1081. [DOI](#)
- [16] Reisman SA, Yeager RL, Yamamoto M, Klaassen CD. Increased Nrf2 activation in livers from Keap1-knockdown mice increases expression of cytoprotective genes that detoxify electrophiles more than those that detoxify reactive oxygen species. *Toxicol Sci*, 2009, 108(1): 35–47. [DOI](#)
- [17] Singh A, Wu HL, Zhang P, Happel C, Ma JF, Biswal S. Expression of ABCG2 (BCRP) is regulated by Nrf2 in cancer cells that confers side population and chemoresistance phenotype. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(8): 2365–2376. [DOI](#)
- [18] Tan KP, Wang B, Yang MD, Boutros PC, Macaulay J, Xu HB, Chuang AI, Kosuge K, Yamamoto M, Takahashi S, Wu AML, Ross DD, Harper PA, Ito S. Aryl hydrocarbon receptor is a transcriptional activator of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Mol Pharmacol*, 2010, 78(2): 175–185. [DOI](#)
- [19] To KKW, Robey R, Zhan ZR, Bangiolo L, Bates SE. Upregulation of ABCG2 by romidepsin via the aryl hydrocarbon receptor pathway. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(4): 516–527. [DOI](#)
- [20] Tompkins LM, Li HS, Li LH, Lynch C, Xie Y, Nakanishi T, Ross DD, Wang HB. A novel xenobiotic responsive element regulated by aryl hydrocarbon receptor is involved in the induction of BCRP/ABCG2 in LS174T cells. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(11): 1754–1761. [DOI](#)
- [21] Szatmari I, Vámosi G, Brazda P, Balint BL, Benko S, Széles L, Jeney V, Özvegy-Laczka C, Szántó A, Barta E, Balla J, Sarkadi B, Nagy L. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ -regulated ABCG2 expression confers cytoprotection to human dendritic cells. *J Biol Chem*, 2006, 281(33): 23812–23823. [DOI](#)
- [22] Hirai T, Fukui Y, Motojima K. PPAR $\alpha$  agonists positively and negatively regulate the expression of several nutrient/drug transporters in mouse small intestine. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(11): 2185–2190. [DOI](#)
- [23] Meyer SE, Hasenstein JR, Baktula A, Velu CS, Xu Y, Wan HJ, Whitsett JA, Gilks CB, Grimes HL. Krüppel-like factor 5 is not required for K-RasG12D lung tumorigenesis, but represses ABCG2 expression and is associated with better disease-specific survival. *Am J Pathol*, 2010, 177(3): 1503–1513. [DOI](#)
- [24] Mosaffa F, Kalalinia F, Lage H, Afshari JT, Behravan J. Pro-inflammatory cytokines interleukin-1 $\beta$ , interleukin 6, and tumor necrosis factor- $\alpha$  alter the expression and function of ABCG2 in cervix and gastric cancer cells. *Mol Cell Biochem*, 2012, 363(1–2): 385–393. [DOI](#)
- [25] Poller B, Drewe J, Krähenbühl S, Huwyler J, Gutmann H. Regulation of BCRP (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1) by cytokines in a model of the human blood-brain barrier. *Cell Mol Neurobiol*, 2010, 30(1): 63–70. [DOI](#)
- [26] Pradhan M, Bembinster LA, Baumgarten SC, Frasor J. Proinflammatory cytokines enhance estrogen-dependent expression of the multidrug transporter gene ABCG2 through estrogen receptor and NF $\kappa$ B cooperativity at adjacent response elements. *J Biol Chem*, 2010, 85(41): 31100–31106. [DOI](#)
- [27] Ehata S, Johansson E, Katayama R, Koike S, Watanabe A, Hoshino Y, Katsuno Y, Komuro A, Koinuma D, Kano MR, Yashiro M, Hirakawa K, Aburatani H, Fujita N, Miyazono K. Transforming growth factor- $\beta$  decreases the cancer-initiating cell population within diffuse-type gastric carcinoma cells. *Oncogene*, 2011, 30(14): 1693–1705. [DOI](#)
- [28] Yin LQ, Castagnino P, Assoian RK. ABCG2 expression and side population abundance regulated by a transforming growth factor  $\beta$ -directed epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res*, 2008, 68(3): 800–807. [DOI](#)
- [29] Imai Y, Ohmori K, Yasuda S, Wada M, Suzuki T, Fukuda K, Ueda Y. Breast cancer resistance protein/ABCG2 is differentially regulated downstream of extracellular signal-regulated kinase. *Cancer Sci*, 2009, 100(6): 1118–1127. [DOI](#)
- [30] Singh RR, Kunkalla K, Qu C, Schlette E, Neelapu SS, Samaniego F, Vega F. ABCG2 is a direct transcriptional target of hedgehog signaling and involved in stroma-induced drug tolerance in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncogene*, 2011, 30(49): 4874–4886. [DOI](#)
- [31] Zheng MH, Zhang ZF, Zhao XC, Ding YQ, Han H. The Notch signaling pathway in retinal dysplasia and retina vascular homeostasis. *J Genet Genomics*, 2010, 37(9): 573–582. [DOI](#)
- [32] Bhattacharya S, Das A, Mallya K, Ahmad I. Maintenance of retinal stem cells by *Abcg2* is regulated by notch signaling. *J Cell Sci*, 2007, 120(15): 2652–2662. [DOI](#)
- [33] Hessel S, Lampen A. All-*trans* retinoic acid enhances the transport of phase II metabolites of benzo[a]pyrene by inducing the Breast Cancer Resistance Protein expression

- in Caco-2 cells. *Toxicol Lett*, 2010, 197(2): 151–155. [DOI](#)
- [34] To KKW, Zhan Z, Bates SE. Aberrant promoter methylation of the *ABCG2* gene in renal carcinoma. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(22): 8572–8585. [DOI](#)
- [35] Ji NN, Yuan JH, Liu JJ, Tian SL. Developing multidrug-resistant cells and exploring correlation between BCRP/ABCG2 over-expression and DNA methyltransferase. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2010, 42(12): 854–862. [DOI](#)
- [36] Bram EE, Stark M, Raz S, Assaraf YG. Chemotherapeutic drug-induced ABCG2 promoter demethylation as a novel mechanism of acquired multidrug resistance. *Neoplasia*, 2009, 11(12): 1359–1370. [DOI](#)
- [37] To KKW, Polgar O, Huff LM, Morisaki K, Bates SE. Histone modifications at the *ABCG2* promoter following treatment with histone deacetylase inhibitor mirror those in multidrug-resistant cells. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(1): 151–164. [DOI](#)
- [38] Hamada S, Satoh K, Hirota M, Kanno A, Umino J, Ito H, Masamune A, Kikuta K, Kume K, Shimosegawa T. The homeobox gene *MSX2* determines chemosensitivity of pancreatic cancer cells via the regulation of transporter gene *ABCG2*. *J Cell Physiol*, 2012, 227(2): 729–738. [DOI](#)
- [39] Porro A, Iraci N, Soverini S, Diolaiti D, Gherardi S, Terragna C, Durante S, Valli E, Kalebic T, Bernardoni R, Perrod C, Haber M, Norris MD, Baccarani M, Martinelli G, Perini G. c-MYC oncoprotein dictates transcriptional profiles of ATP-binding cassette transporter genes in chronic myelogenous leukemia CD34<sup>+</sup> hematopoietic progenitor cells. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(8): 1054–1066. [DOI](#)
- [40] Petropoulos S, Gibb W, Matthews SG. Breast cancer-resistance protein (BCRP1) in the fetal mouse brain: development and glucocorticoid regulation. *Biol Reprod*, 2011, 84(4): 783–789. [DOI](#)

## •综合信息•

### 八届三次《遗传》编委会议在昆明召开

2012年12月1日下午,“八届三次《遗传》编委会议”在昆明云安会都召开,执行主编张永清、副主编褚嘉祐、李巍、张勤、编委方向东、何凤田、赫崇波、胡松年、李家乐、李庆伟、刘钢、苗龙、石春海、施鹏、王义权、肖春杰、徐存拴、杨永华、张博、张根发、朱友林等参加了会议。中国遗传学会办公室主任王长城、《遗传》编辑部主任李绍武、副主任张颖与陈晓芳、张艳编辑参加了会议。

执行主编张永清研究员主持会议,首先向优秀编委张博、褚嘉祐、张勤、刘钢编委颁发了荣誉证书。

《遗传》编辑部主任、专职副主编李绍武从编委会建设、编辑部建设、期刊出版工作和思考与讨论四个方面作了第八届编委会工作报告。

到会编委就期刊的发展问题展开了热烈讨论:大家认为《遗传》这本中文期刊定位很好,为年轻人提供了一个很好的展示平台。同时编委们就录取的综述文章提出了明确的要求,指出应该由相关领域的专家亲自执笔或指导,不要由研究生写,希望编委们在任期内至少贡献一篇本领域研究进展的综述文章,不追求影响因子和稿件数量,但是要有自己的特色。编委们对期刊的发表周期提出了很好的建议,希望快速发表能成为《遗传》的一个亮点,以吸引更好的稿源。同时有的编委还提出可以适当发一些有争议的文章,以引导学术讨论。

会议认为,由编委负责稿件处理的方式可以接受,这样可对稿件的送审有更好地把握,更充分地发挥编委会的作用。会议决定稿件送审可以由编辑部灵活掌握,采取两条腿走路的方针,编辑部送审与编委送审相结合。

会议决定,2013年组织出版1期“表观遗传学研究专刊”。

会议还向编委们介绍了编辑部新任副主任张颖博士。

会议达到了预期的效果,取得了圆满的成功。

