

Protoonkogen c-myb koduje jądrowy czynnik transkrypcyjny i wykazuje znaczącą homologię sekwencji z dwoma innymi członkami rodziny myb – genami a-myb i b-myb. Czynniki transkrypcyjne myb pełnią kluczową rolę w kontroli proliferacji i różnicowania licznych typów komórek, jednak ich mechanizm działania pozostaje niejasny. Rodzina czynników transkrypcyjnych myb jest mocno związana z regulacją wzrostu i różnicowania komórek hematopoetycznych. Zahamowanie funkcji genów myb przez antysensowne oligodeoksynukleotydy może ewentualnie stanowić podstawę molekularnego podejścia do leczenia białaczek.

Słowa kluczowe: onkogeny, myb, czynniki transkrypcyjne, hematopoeza, oligonukleotydy antysensowne

The protooncogene c-myb is a nuclear transcription factor that shares significant sequence homology with two other myb family members, a-myb and b-myb. Myb transcription factors are crucial to the control of proliferation and differentiation in a number of cell types but their mechanism of action is nuclear. The myb family of transcription factors has been strongly implicated in the regulation of cell growth and differentiation in the haematopoietic system. Inhibition of myb function with antisense oligodeoxynucleotides might eventually form the basis for a molecular approach to leukemias therapy.

Key words: oncogenes, myb, transcription factors, hematopoiesis, antisense oligonucleotides

Rodzina protoonkogenów myb

The myb proto-oncogenes family

Wojciech Pawlak, Cezary Szczylik

Klinika Onkologii Centralnego Szpitala Klinicznego Wojskowej Akademii Medycznej w Warszawie

Rodzina protoonkogenów myb (skrót od *myeloblastosis*) należy do grupy genów kodujących czynniki transkrypcyjne (TFs – *transcription factors*). TFs aktywują transkrypcję genów kodujących białka uczestniczące w mechanizmach regulacji cyklu komórkowego. Uruchomienie syntezy tych białek powoduje przejście komórki przez punkt R w fazie G1 cyklu komórkowego. W skład rodziny myb wchodzi geny oznaczane jako c-myb (odkryty najwcześniej), a-myb i b-myb.

Locus dla protoonkogeny c-myb znajduje się u człowieka w chromosomie 6. Gen c-myb wykazuje homologię z genem v-myb, który jest zlokalizowany na końcu 3' genu wirusa mieloblastozy ptaków (AMV – *avian myeloblastosis virus*, szczepki BAl-A i E26). Białko c-myb bierze udział w aktywacji genów regulujących wzrost i różnicowanie komórek poprzez wiązanie się ze specyficznymi sekwencjami DNA. Podobny mechanizm działania wykazują pozostałe geny rodziny myb (a-myb i b-myb). Domena wiążąca DNA białka c-myb składa się z trzech niedoskonałych, bogatych w tryptofan powtórzeń (R1, R2 i R3). Domena ta, tworząca strukturę heliks-skრეტ-heliks wiąże się ze specyficzną sekwencją DNA [C/T-A-A-C-G/T-G] [1]. Choć potencjalnie wiele genów może podlegać regulacji przez c-myb, to jednak nieznanym pozostaje główny cel działania tego czynnika transkrypcyjnego [2]. Gen b-myb uczestniczy także w kontroli proliferacji i różnicowania, jego ekspresja została potwierdzona w różnych typach komórek – m.in. w prekursorach elementów morfotycznych krwi oraz w proliferujących komórkach nabłonka jelitowego. Z kolei a-myb reprezentuje bardzo ograniczony model ekspresji, sugerujący jego specyficzną rolę. A-myb ulega ekspresji w subpopulacji normalnych limfocytów B, która jest zlokalizowana w ośrodkach rozmnażania obwodowych narządów limfatycznych. Dotychczas nie stwierdzono znaczącego poziomu ekspresji tego genu w komórkach hematopoetycznych szpiku kostnego, limfocytach, granulocytach lub monocytach. Ekspresję a-myb wykazano w chłoniaku Burkitta oraz slg+B-ALL (ostra białaczka limfoblastyczna z komórek B). Ponadto

ekspresję a-myb stwierdzono w ok. 25 proc. przypadków CLL (przewlekła białaczka limfatyczna) [3]. Gen a-myb wydaje się być słabym aktywatorem transkrypcji w porównaniu z c-myb [4].

Utrata ekspresji c-myb ściśle koreluje z rozpoczęciem końcowego różnicowania, ale równocześnie nie powoduje utraty aktywności mitotycznej. Zatem funkcja genu c-myb, podczas różnicowania komórki, polega zarówno na aktywacji genów komórki niedojrzałej, jak i na supresji końcowego różnicowania [5]. Przypuszczalnie aktywacja genów myb w komórkach nowotworowych następuje poprzez ich amplifikację, którą można wykryć m.in. w białaczkach, raku jelita grubego, czerniaku złośliwym, raku piersi i guzach jajnika [6].

Dotychczas zgromadzono wiele dowodów przemawiających za udziałem genów myb zarówno w fizjologicznej, jak i patologicznej hematopoezie. Zahamowanie ekspresji c-myb indukuje dojrzewanie komórek hematopoetycznych [7, 8], natomiast nadekspresja tego genu powoduje zahamowanie różnicowania komórek mysiej erytroleukemii w odpowiedzi na erytropoetynę [9]. Białko c-myb wchodzi w interakcję z białkiem p100, które z kolei jest fosforylowane przez serynowo-treoninową kinazę białkową, kodowaną przez onkogen pim-1. Wydaje się, że pim-1 i p100 uczestniczą w szlaku przekazywania sygnałów, którego efektem jest gen c-myb. Szlak ten ma mieć udział w regulacji wzrostu, różnicowania i apoptozy komórek hematopoetycznych przez cytokiny [10]. Ekspresja genu c-myb jest kontrolowana przez interleukinę-6 [11]. Odbywa się to za pośrednictwem kinazy tyrozynowej JAK, która oddziałuje z aktywatorem transkrypcji STAT oraz uruchamia szlak Ras-MAP kinazy. W późnej fazie G1 cyklu komórkowego ekspresja b-myb jest pobudzana przez mechanizm transkrypcyjny zależny od E2F. Czynniki transkrypcyjne wchodzące w skład rodziny E2F są wiązane przez białko RB. Ich uwolnienie następuje po hiperfosforylacji PRB. Prawdopodobnie odpowiednie kombinacje białek RB z czynniki transkrypcyjnymi rodziny E2F regulują procesy transkrypcyjne w fazie G1. Białko b-myb jest fosforylowane przez kompleks cyklina A/CDK 2 w fazie S cyklu [12]. Również czynnik transkrypcyjny

NF- κ B prawdopodobnie bierze udział w stymulacji ekspresji c-myb [13]. C-myb indukuje ekspresję antygenu CD34. Obecność c-myb nie jest konieczna do ekspresji CD34 w pierwotnych komórkach hematopoetycznych woreczka żółtkowego, ale jest niezbędna podczas ostatecznej hematopoezy [14]. Prawdopodobnie białka Myb i Ets odgrywają ważną rolę w regulacji ekspresji kinazy tyrozynowej Kit. Być może chodzi tu o kooperację białek Myb i Ets. Kit jest kinazą odgrywającą ważną rolę we wzroście ludzkich komórek hematopoetycznych. Region flankowy 5' ludzkiego genu kit zawiera miejsca wiążące Myb i Ets [15]. Wydaje się, że b-myb i c-myb biorą udział w aktywacji transkrypcji cykliny A1, która może odgrywać znaczącą rolę w proliferacji i różnicowaniu komórek hematopoetycznych szpiku [16]. Wykazano, że podczas późnej fazy różnicowania komórek prekursorowych (zwłaszcza szeregu granulopoetycznego) istotną rolę odgrywa interakcja izoform p30 i p32 czynnika transkrypcyjnego C/EBP ϵ oraz c-myb [17].

Ekspresję c-myb może hamować kwas retinowy (RA) działający za pośrednictwem swoistych receptorów (RAR/RAX). Przyłączenie agonisty do RAR/RAX indukuje różnicowanie rozmaitych komórek hematopoetycznych. RAR hamuje czynność białka c-myb, co wyraża się m.in. zahamowaniem ekspresji zależnego od c-myb genu tom-1. Z kolei białko fuzyjne Myb-Ets antagonizuje działanie RA i hormonów gruczołu tarczowego na komórki prekursorowe hematopoezy [18]. W komórkach mysiej erytroleukemii obserwowano hamowanie ekspresji c-myb przez kalcyneurynę [19].

Ekspresja c-myb jest istotnym czynnikiem warunkującym proliferację limfocytów T. Ilość mRNA c-myb i kodowanego przez ten gen białka zwiększa się znacząco w limfocytach stymulowanych PHA³ (największa ekspresja wykrywana jest w fazie S). Ponadto ilość mRNA ulega zmianie w czasie poszczególnych faz cyklu komórkowego. Zablockowanie ekspresji c-myb powoduje zahamowanie syntezy białek, które normalnie są produkowane podczas przejścia komórki z fazy G1 do S (np. histon H3 i α -polimeraza DNA).

Zaburzona ekspresja c-myb może być kluczowym czynnikiem rozwoju fenotypu nowotworowego. Ekspresja c-myb jest obecna w przewlekłej białaczce szpikowej. W niektórych przypadkach obserwowano zwiększenie ekspresji w fazie przyspieszonej [20]. Podczas przełomu blastycznego T-komórkowego w przebiegu przewlekłej białaczki szpikowej wykrywano mutację c-myb polegającą na utracie domeny wiążącej inhibitory ekspresji. Domena ta zlokalizowana jest przy końcu 3' eksonu 9. Wydaje się, że opisana mutacja jest nabywana w czasie progresji choroby [21]. Ważnym dowodem udziału genów myb w proliferacji komórek białaczkowych są wyniki badań prowadzonych z zastosowaniem antysensownych oligonukleotydów (AO). Ekspozycja na działanie AO komórek szpiku pobra-

nych od pacjentów z białaczką T-komórkową, w większości przypadków spowodowała zmniejszenie wbudowywania [³H] tymidyny. Jednakże komórki pobrane od pewnej grupy chorych nie zareagowały na zastosowanie AO zmniejszeniem syntezy DNA. Natomiast u wszystkich chorych zaobserwowano zmniejszenie ilości mRNA c-myb pod wpływem AO [22]. Wprowadzenie AO do hodowli komórek jednojądrzastych szpiku pobranego od chorych z CML (przewlekła białaczka szpikowa) w czasie przełomu blastycznego, spowodowało statystycznie znaczne hamowanie tworzenia kolonii białaczkowych, co było związane ze znaczącym obniżeniem ekspresji c-myb. Podobnego efektu nie obserwowano w przypadku hodowli komórek pobranych w fazie przewlekłej choroby [23].

PIŚMIENNICTWO

1. Biedenkapp H, Borgmeyer U, Sippel AE, Klempnauer K-H. *Nature* 1988; 335:835-837.
2. Gonda TJ. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30:547-551.
3. Golay J, Facchinetti V, Ying G, Introna M. *Leuk Lymphoma* 1997; 26:271-279.
4. Oh IH, Reddy EP. *J Biol Chem* 1997; 272:21432-21443.
5. Ess KC, Witte DP, Bascomb CP, Aronow BJ. *Oncogene* 1999; 18:1103-1111.
6. Wallis YL, Macdonald F. *J Clin Pathol:Mol Pathol* 1999; 52:55-63.
7. Gonda TJ, Metcalf D. *Nature* 1984; 310:249-251.
8. Barletta C, Pelicci PG, Kenyon LC, Smith SD, Dalla-Favera R. *Science* 1987; 235:1064-1067.
9. Todokoro K, Watson RJ, Higo H, Amanuma H, Kuramochi S, Yanigisawa H, Ikawa Y. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:8900-8904.
10. Levenson JD, Koskinen PJ, Orrico FC, Rainio EM, Jalkanen KJ, Dash AB, Eisenman RN, Ness SA. *Mol Cell* 1998; 2:417-425.
11. Hirano T. *Int Rev Immunol* 1998; 16:249-284.
12. Saville MK, Watson RJ. *Adv Cancer Res* 1998; 72:109-140.
13. Pyatt DW, Stillman WS, Yang Y, Gross S, Zheng JH, Irons RD. *Blood* 1999; 10:3302-3308.
14. Krause DS, Mucenski ML, Lawler AM, May WS. *Exp Hematol* 1998; 26:1086-1092.
15. Ratajczak MZ, Perrotti D, Melotti P, et al. *Blood* 1998; 91:1934-1946.
16. Yang R, Nakamaki T, Lubbert M, et al. *Blood* 1999; 93:2067-2074.
17. Verbeek W, Gombart AF, Chumakov AM, Muller C, Friedman AD, Koeffler HP. *Blood* 1999; 93:3327-3337.
18. Pflitzner E, Kirfel J, Becker P, Rolke A, Schule R. *Natl Acad Sci USA* 1998; 95:5539-5544.
19. Schaefer A, Magocsi M, Fandrich A, Marquardt H. *Biochem J* 1998; 335:505-511.
20. Beck Z, Bacsi A, Kovacs E i wsp. *Leuk Lymphoma* 1998; 30:293-306.
21. Tomita A, Watanabe T, Kosugi H, et al. *Leukemia* 1998; 12:1422-1429.
22. Venturelli D, Mariano MT, Szczylik C, Valtieri M, Lange B, Crist W, Link M, Calabretta B. *Cancer Res* 1990; 50:7371-7375.
23. Szczylik C, Skorski T, Malaguarda L, Hetman J, Chen ST, Calabretta B. *Folia Histochem, Cytobiol* 1996; 34:129-134.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr n. med. **Wojciech Pawlak**
Klinika Onkologii CSK WAM
ul. Szaserów 128
00-909 Warszawa