

BAG3 蛋白 Ser187 磷酸化位点定点突变促进 FRO 细胞迁移和侵袭

李 宁¹⁾, 曹艳莎¹⁾, 李 姘¹⁾, 赵津平²⁾, 任 甫³⁾, 李克研⁴⁾*

(¹⁾锦州医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 辽宁 锦州 121000; ²⁾锦州医科大学附属第一医院
肿瘤血管与微环境实验室, 辽宁 锦州 121000; ³⁾锦州医科大学生物人类学研究所, 辽宁 锦州 121000;

⁴⁾锦州医科大学附属第一医院心内科, 辽宁 锦州 121000)

摘要 Bcl-2 相关抗凋亡蛋白 3(Bcl-2 associated athanogene 3, BAG3) 是 BAG 家族的重要成员, 调节肿瘤细胞的黏附、迁移和侵袭, 促进恶性肿瘤的复发和转移。我们的前期工作证明, PKC δ 可催化 BAG3 的 Ser187 位点磷酸化。本文研究 BAG3 蛋白磷酸化修饰对甲状腺癌 FRO 细胞迁移、侵袭的影响及其可能机制。通过定点突变的方法, 将 BAG3 蛋白的 187 位丝氨酸突变为天冬氨酸(S187D)模拟磷酸化, 或者将丝氨酸突变为丙氨酸(S187A)抵抗磷酸化, 从而间接推测 BAG3 蛋白 Ser187 位点磷酸化对 FRO 细胞迁移、侵袭的影响。FRO 细胞转染野生型 BAG3、模拟磷酸化型 BAG3、阻碍磷酸化型 BAG3, 通过划痕愈合实验和 Transwell 转移小室实验, 观察 BAG3 蛋白磷酸化对 FRO 细胞迁移、侵袭的影响。进一步通过 PKC 激活剂和抑制剂, 研究 BAG3 蛋白磷酸化对 FRO 细胞迁移、侵袭影响的机制。结果显示, FRO BAG3-S187D 模拟磷酸化组细胞在培养 24 h、48 h 时, 划痕愈合率分别达到 35% 和 80%。Transwell 及三维 Matrigel 转移小室实验显示, 平均每个视野穿膜细胞数分别达到 180 和 350 个, 与对照组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。PKC 激活剂 TPA 及抑制剂 Rottlerin 处理 FRO WT-BAG3 细胞, 24 h 愈合率分别为 40% 和 15%, 48 h 划痕愈合率分别为 55% 和 18%, Transwell 穿膜细胞数分别为 240 和 70 个, 与对照组细胞相比, 差异显著($P < 0.05$)。本研究提示, BAG3 蛋白 Ser187 磷酸化修饰, 可促进甲状腺癌 FRO 细胞迁移、侵袭, 其机制可能与 PKC 信号通路有关。

关键词 Bcl-2 相关抗凋亡蛋白 3; 磷酸化; 迁移; 侵袭

中图分类号 R736.1

BAG3 Ser187 Loci Mutation Promotes Migration and Invasion of FRO Cells

LI Ning¹⁾, CAO Yan-Sha¹⁾, LI Hua¹⁾, Zhao Jin-Ping²⁾, REN Fu³⁾, LI Ke-Yan⁴⁾*

(¹⁾Department of Biochemistry and Molecular Biology, Jinzhou Medical University, Liaoning, Jinzhou 121000, China;

²⁾Departments of Tumour Angiogenesis and Microenvironment laboratory, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Liaoning, Jinzhou, 121000, China; ³⁾Biological Anthropology Institute, Jinzhou Medical University Liaoning, Jinzhou, 121000, China;

⁴⁾Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou, 121000, China)

收稿日期: 2018-02-09; 修回日期: 2018-04-09; 接受日期: 2018-06-06

国家自然科学基金(No. 31400646); 辽宁省科技厅联合基金(No. 201602293); 辽宁省教育厅基金(No. jytqn201727)和锦州医科大学生物人类学创新团队开放课题(JYLJ201702)资助

* 通讯作者 Tel: 15084165266; E-mail: 157027083@qq.com

Received: February 9, 2018; Revised: April 9, 2018; Accepted: June 6, 2018

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 31400646); Liaoning Science and Technology Department Joint Fund (No. 201602293); Liaoning Provincial Education Department Fund (No. Jytqn 201727) and Biological Anthropology Innovation Team Project of JZMU (Grant No. JYLJ201702)

* Corresponding author Tel: 15084165266; E-mail: 157027083@qq.com

Abstract Bcl-2 associated athanogene 3 (BAG3) is one of the important members of the BAG family. BAG3 regulates the adhesion, migration and invasion of tumor cells, and promotes the recurrence and metastasis of malignant tumor. Our preliminary work had proved that PKC δ can phosphorylate BAG3 at Ser187. In this paper, we studied the effect of BAG3 phosphorylation on migration and invasion in thyroid cancer FRO cells. The serine at BAG3 187 loci was mutated to aspartic acid or alanine, and then the influence of phosphorylation on migration and invasion of FRO cells was studied. FRO cells were stably transfected with WT-BAG3, BAG3-S187D or BAG3-S187A, then wound-healing and transwell assays were used to investigate the impact of BAG3 on migration and invasion potency of FRO cells. Furthermore, the effects of PKC protein inhibitor or activator were studied. The results indicated that the rates of wound healing nearly came to 35% and 80% after 24 hours or 48 hours in FRO BAG3-S187D group, and the average invaded cells came to 180 and 350 for transwell migration and invasion assays, in which the difference was statistically significant as compared with control group ($P < 0.05$). FRO BAG3-WT cells treated with TPA or Rottelerin, the rates of wound healing nearly came to 40% and 15% after 24 hours, and the wound healing rates came to 55% and 18% after 48 hours. The average of invaded cells came to 240 and 70 with the statistically significance as compared with control group ($P < 0.05$). Our results indicated that the phosphorylation of BAG3 at Ser187 induced migration and invasion of FRO cells, which may be related with PKC signal pathway.

Key words Bcl-2 associated athanogene 3 (BAG3); phosphorylation; migration; invasion

BAG (Bcl-2 associated athanogene) 家族属于细胞凋亡调控蛋白质家族。其中, Bcl-2 相关抗凋亡蛋白 3 (Bcl-2 associated athanogene 3, BAG3) 是 BAG 家族的重要成员之一。BAG3 蛋白大小约为 74 kD, 主要分布于胞浆, 在进化上具有高度的保守性^[1-3]。BAG3 蛋白在甲状腺癌、胰腺癌和卵巢癌等多种肿瘤细胞中表达水平提高, 具有抑制肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤细胞增殖和转移等生物学功能^[4-10]。Rosati、Kassis、Iwasaki 等研究显示, BAG3 可调节乳腺癌和上皮性肿瘤细胞的黏附、迁移和侵袭, 并促进恶性肿瘤的再生和转移^[9, 11-12]。磷酸化是蛋白质翻译后修饰最普遍的方式之一。这种修饰使蛋白质的结构更复杂, 作用更专一, 调节更精细, 功能更完善。有研究表明, 在基础条件下, BAG3 蛋白与磷脂酶 C γ (phospholipase C γ , PLC γ)、热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, Hsp70) 相互作用, 在细胞内保持一定的磷酸化状态^[13]。我们的前期研究结果发现, 蛋白激酶 C δ (protein kinase C δ , PKC δ) 可磷酸化 BAG3 蛋白, 磷酸化位点在 BAG3 蛋白的丝氨酸 187 位点^[14]。本文拟研究 BAG3 蛋白磷酸化修饰, 对甲状腺癌 FRO 细胞迁移、侵袭的影响及其可能的机制。通过定点突变的方法, 将 BAG3 蛋白的 187 位丝氨酸突变为天冬氨酸 (S187D) 模拟磷酸化, 或者将丝氨酸突变为丙氨酸 (S187A) 抵抗磷酸化, 从而间接推测 BAG3 蛋白 Ser187 位点磷酸化对 FRO 细胞迁移、侵袭的影响。加深对 BAG3 在肿瘤发生、进展以及耐药等方面机制的理解, 对于寻找新的药物

作用靶点和肿瘤标志物都具有非常积极的意义和重要参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料

实验室培养人低分化甲状腺癌 FRO 细胞, 脂质体转染法构建 WT-BAG3 (野生型)、BAG3-S187D (模拟磷酸化型)、BAG3-S187A (阻碍磷酸化型) 细胞株 (质粒为本实验室前期成功构建保存)。培养条件为: 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养液, 37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱。培养基购自美国 Hyclone 公司, Lipofectamine™ 2000 购自美国 Life Technologies 公司, Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司, Transwell 转移小室购自美国 Corning 公司。

1.2 细胞培养

建立稳定转染 FRO 细胞系: 对数生长期的 FRO 细胞以 1×10^6 /孔密度接种于 6 孔板内, 37℃、5% CO₂ 湿度培养箱内培养 18 ~ 24 h, 按照 Lipofectamine 2000™ Reagent 说明书进行细胞转染, 转染 6 ~ 8 h 后换新鲜培养基, 继续培养 48 h。应用 800 mg/L 的 G418, 筛选细胞至建立稳定转染细胞系。Real-time PCR 及 Western 印迹方法检测各组细胞中 BAG3 表达情况。WT-BAG3 上游引物: 5'-TTGAATTCATGACGCCGCCACCCACTC-3', 下游引物: 5'-TACTCGAGCGGTGCTGCTGGGTTACCAG-3'; BAG3-S187A 上游引物: 5'-TCCTCATCCTCCTCGGCCGCCCTGCCTTCC-3', BAG3-S187A 下游引物: 5'-

GCGGCCGAGGAGGATGAGGATGAGCACTCA-3';
BAG3-S187D 上游引物: 5'-TCCTCATCCTCCTC
GCGGACCTGCCTTCC-3', BAG3-S187D 下游引物:
5'-TCGGCCGAGGAGGATGAGGATGAGCACTCA-3'。

WB 所用抗体为 BAG3 抗体 (AB47124, abcam)
和 GAPDH (AB8245, abcam)。

1.3 划痕愈合实验观察细胞迁移情况

状态良好的培养细胞,待生长至 80% 密度时,
胰酶消化,无血清培养基悬浮细胞,种植于 6 孔板
中,培养 24~48 h;待细胞生长至密度 95% 时,应用
灭菌的枪头于各培养孔内划 2~3 条纵线,尽量使划
痕位置的细胞去除干净,PBS 洗细胞 2~3 次,去除
漂浮细胞。显微镜下照相,为 0 h 情况;无血清培养
基培养 24 h、48 h 后分别照相,保证与 0 h 为同一位
置;通过对不同时间点划痕修复情况的对照,分析细
胞的迁移情况。

1.4 Transwell 转移小室实验观察细胞迁移的变化

状态良好的培养细胞,待生长至 80% 密度时,
胰酶消化,无血清培养基悬浮细胞,调整细胞密度至
 1×10^5 , 100 μL 此密度细胞悬液加入 Transwell 上
室,下室加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基 600 μL ,
Transwell 培养板置于培养箱内,继续培养 24 h;24 h
后取出培养板,用棉签擦掉上室剩余细胞,70% 甲醇
室温固定 30 min,PBS 洗 1~2 次,DAPI 染细胞核 3
~5 min,PBS 洗 1~2 次;荧光显微镜下观察细胞迁
移情况,并照相;计数穿过膜的细胞数,分析细胞的
迁移变化。

1.5 三维 Matrigel 转移小室实验观察细胞侵袭的变化

用预冷的无血清培养基将 Matrigel 基质胶稀释
到 1 mg/mL,将 50 μL 此基质胶加入 Transwell 上
室,培养箱内放置 2~3 h,待基质胶聚合后,弃多余
基质胶,每室加入 100 μL 预热的无血清培养基,培
养箱内放置 30~60 min;胰酶消化培养细胞;无血清
培养基悬浮细胞,调整细胞密度至 1×10^5 , 100 μL
此密度细胞加入 Transwell 上室,下室加入 600 μL
含 10% FBS 的 DMEM 培养基,将 Transwell 培养板
置于培养箱内,继续培养 24 h 后;取出培养板,棉签
擦掉上室内剩余细胞,70% 甲醇固定 30 min,PBS
洗 1~2 次,DAPI 染细胞核 3~5 min,PBS 洗 1~2
次;显微镜下观察细胞侵袭情况并照相;计数穿过膜
的细胞数,分析细胞侵袭变化。

1.6 蛋白激酶特异性激活剂及抑制剂对 FRO 细胞迁移、侵袭的作用

为进一步阐明 BAG3 蛋白的磷酸化修饰如何影
响 FRO 细胞的迁移、侵袭,在 WT-BAG3 过表达的
FRO 细胞系,应用 PKC 蛋白的特异性激活剂 TPA
和抑制剂 Rottlerin,并通过划痕愈合实验和
Transwell 转移小室实验,检测对 FRO 细胞增殖、侵
袭的影响。

1.7 统计学方法

所有数据均以均数 \pm 标准差表示 (Means \pm
SEM),建立 Excel 数据库,采用 SPSS 11.0 统计分析
软件进行数据处理。重复方差分析, $P < 0.05$ 为差
异显著性标准。

2 结果

2.1 各稳定转染 FRO 细胞系 BAG3 表达显著高于对照组

实时定量 PCR 及 Western 印迹检测各组细胞中
BAG3 表达情况。如图 1A 所示,与 FRO 对照组相
比,实验组中 BAG3 蛋白的表达明显增强, $P < 0.05$ 。
实时定量 PCR 结果同样显示,各转染组 BAG3
mRNA 表达水平高于 FRO 对照组, $P < 0.05$,如图
1B 所示。说明 BAG3 在各转染组 FRO 细胞中稳定
高表达,成功构建 BAG3 过表达的各组 FRO 细
胞系。

2.2 BAG3 蛋白 Ser187 位点磷酸化提高 FRO 细胞迁移能力

各不同转染组 FRO 细胞在划痕后 0 h 和 24 h
拍照对比。进一步利用 ImageJ 软件计算融合面积,
并通过公式 (0 h 划痕面积 - 24 h 划痕面积) / 0 h
划痕面积 $\times 100\%$ 计算迁移率,同时进行统计学分
析。结果显示,BAG3-S187D 过表达 FRO 细胞迁移
能力进一步提高,与 0 h 相比,经过 24 h,BAG3-
S187D 稳定过表达 FRO 细胞划痕迁移可达到 35%
左右。经过 48 h,可见划痕基本愈合,愈合程度可
达到 80%。与 FRO、FRO WT-BAG3 及 FRO BAG3-
S187A 各组相比,差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。而
FRO 细胞及 WT-BAG3 和 BAG3-S187A 稳定过表达
FRO 细胞划痕愈合程度相对较低 (如图 2 所示)。

2.3 BAG3 蛋白 Ser187 位点磷酸化促进 FRO 细胞迁移

与划痕愈合实验相同,转移小室实验显示,WT-
BAG3 和 BAG3-S187D 稳定过表达 FRO 细胞迁移能
力显著提高,而 BAG3-S187D 稳定过表达 FRO 细胞
迁移能力提高得更加明显。通过 DAPI 染料对细胞
核染色后荧光显微镜观察可见,大量细胞穿过小室

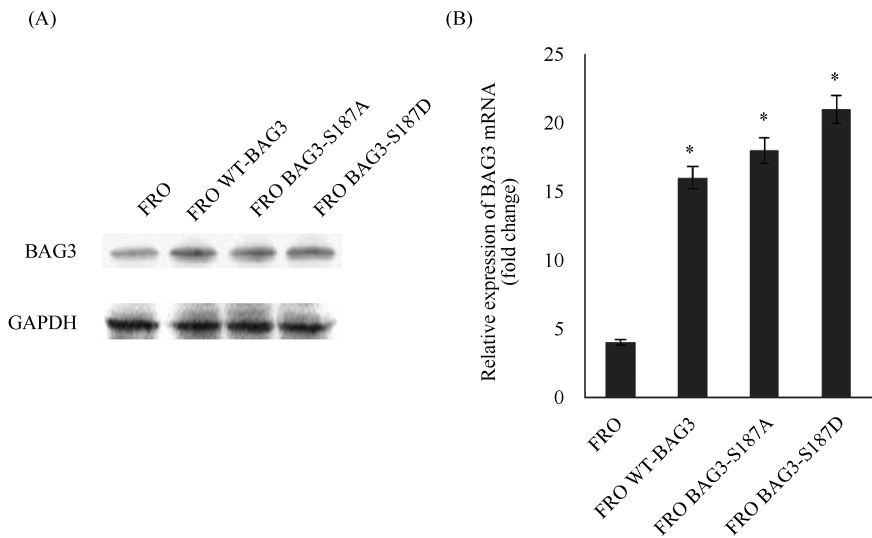


Fig. 1 The expression of BAG3 at the protein and mRNA levels was higher in BAG3 stably overexpressed FRO cells than in control cells FRO cells were stably transfected with plasmids of WT-BAG3, BAG3- S187A and BAG3-S187D respectively. FRO parental cells were used as the control. (A) Western blot analysis for BAG3 protein indicates that BAG3 is overexpressed in experimental FRO cells. Western blot was performed with specific BAG3 antibody. GAPDH was used as a loading control. (B) Real-time PCR analyses for the mRNA level of BAG3 expression. Data were expressed as the average of 4-6 independent experiments. * indicate $P < 0.05$ vs FRO control cell

膜(Fig. 3A)。对 Transwell 的结果进行定量分析,结果显示,WT-BAG3 和 BAG3-S187D 过表达的 FRO 细胞,迁移通过小室膜的细胞数显著高于 FRO 对照细胞。WT-BAG3 组平均每个视野穿膜的细胞数约为 70 个左右,而 BAG3-S187D 组平均每个视野穿膜的细胞数约为 180 个左右。与未转染的 FRO 对照组细胞相比,差异有统计学意义, $P < 0.05$ (Fig. 3B)。

2.4 三维 Matrigel 转移小室显示 BAG3 蛋白 Ser187 磷酸化促进 FRO 细胞侵袭

Matrigel 被认为类似于体内基底膜,包含体内基底膜的成分,如胶原蛋白、层黏连蛋白、蛋白多糖、细胞因子和酶等。多种肿瘤细胞能够在 Matrigel 上生长并穿透 Matrigel,证明其具有一定的侵袭性。本研究应用三维 Matrigel 转移小室实验观察细胞侵袭的变化。结果显示,BAG3-S187D 稳定过表达 FRO 细胞,迁移能力提高的更加明显。通过 DAPI 染料对细胞核染色,荧光显微镜观察可见大量细胞穿过小室膜(Fig. 4A)。对 Transwell 结果进行定量分析结果显示,BAG3-S187D 组平均每个视野通过小室膜的细胞数可达到 350 个左右,显著高于其他各组 FRO 细胞。与对照组 FRO 细胞相比,差异显著, $P < 0.05$ 。BAG3-S187A 组平均每个视野穿膜细胞数约为 20 个左右,显著低于其他各组 FRO 细胞。与

对照组 FRO 细胞相比,差异显著, $P < 0.05$ (Fig. 4B)。

2.5 激动剂和抑制剂对 WT-BAG3 FRO 细胞迁移与侵袭的作用

应用 PKC 蛋白的特异性激活剂 TPA (12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate, TPA) 和抑制剂 Rottlerin 处理 WT-BAG3 过表达 FRO 细胞系细胞,经划痕愈合实验和 Transwell 转移小室实验分析,检测到 TPA 可促进 FRO WT-BAG3 细胞的迁移与侵袭,Rottlerin 对细胞的迁移与侵袭发挥抑制作用。划痕修复的结果可见,TPA 处理组 24 h 和 48 h,划痕愈合率可达 40% 及 55% 左右;Rottlerin 处理组 24 h 和 48 h,划痕愈合率仅为 15% 及 18% 左右,与对照组细胞相比,差异显著, $P < 0.05$ (Fig. 5A, B)。Transwell 转移小室的结果可见,TPA 处理组平均每个视野穿膜细胞数为 240 个左右,Rottlerin 处理组平均每个视野穿膜细胞数仅为 70 个左右,与对照组细胞相比,差异显著, $P < 0.05$ (Fig. 5C, D)。

3 讨论

有研究显示,BAG3 蛋白在多种肿瘤细胞中表达上调,并认为 BAG3 在某些类型白血病中具有促进生存作用^[15,16]。此外,在一些应激因素的刺激

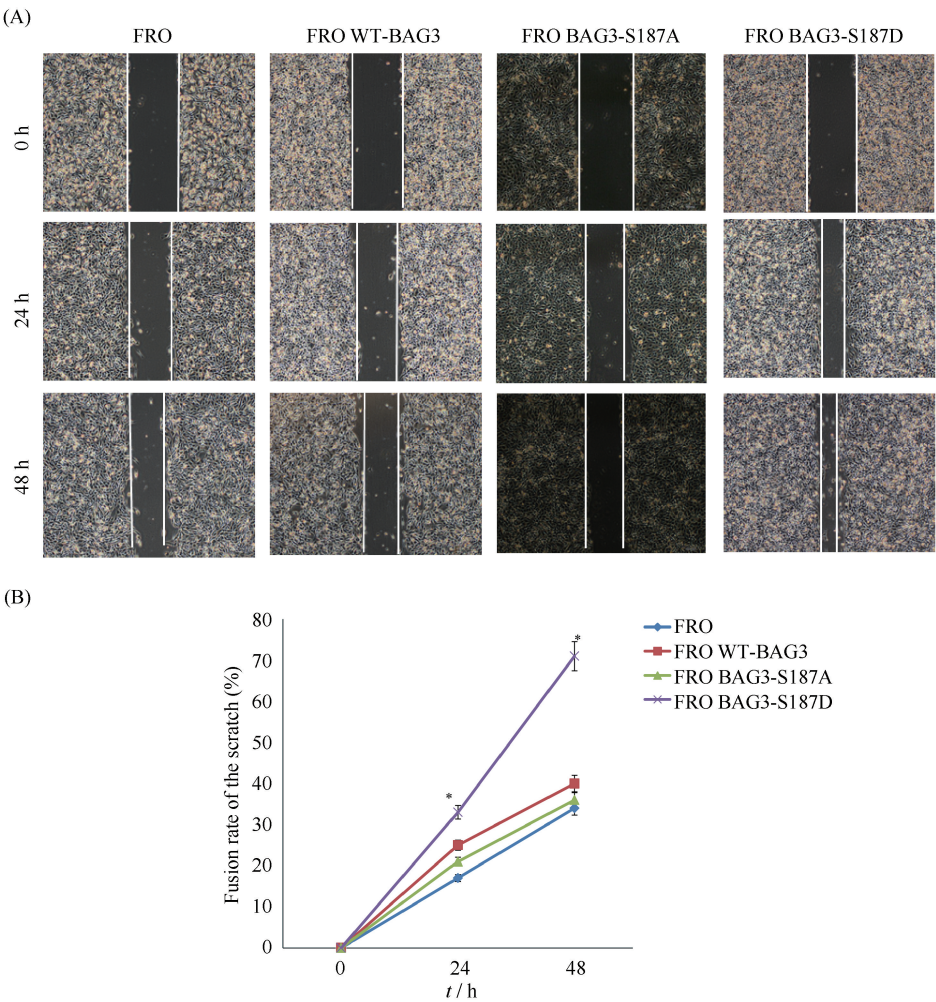


Fig. 2 Phosphorylation of BAG3 increased FRO cell migration in wound-healing assay (A) Wound-healing assay showed that the migration ability of FRO cells transfected with BAG3-S187D was increased significantly at 24 hours and 48 hours (× 40); (B) Statistical analysis of fusion rate of the scratch in FRO BAG3-S187D with other group cells at 24 hours and 48 hours. * indicate $P < 0.05$ vs FRO, FRO BAG3-S187A, FRO WT-BAG3 cells

下,如:高温、重金属、蛋白酶抑制剂和病毒感染等,BAG3 被诱导表达增强^[9]。最新研究显示,BAG3 的一个新功能是对自噬的调节作用^[17]。BAG3 在肿瘤领域研究显示,具有调节上皮癌细胞黏附、运动和侵袭的作用。

关于 BAG3 对肿瘤细胞迁移与侵袭的影响,不同类型细胞中对 BAG3 的研究,得到了不同的结论。在某些细胞中,BAG3 可促进细胞的运动。而在另外一些细胞中,BAG3 抑制细胞的运动。Iwasaki 等^[12]报道,在 Cos7、MCF-7、Du145 和 ALVA31 细胞中,BAG3 定位于细胞迁移边缘,调节肌动蛋白细胞骨架,并增加细胞的运动和侵袭能力。在卵巢癌的研究中显示,BAG3 与基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase, MMP-2) 结合,对卵巢癌细胞的运动和侵袭具有正性调节作用^[9]。与此相反,Kassis

等^[11]发现,在 WT-BAG3 过表达的 MDA435 细胞中,细胞的侵袭能力是降低的。过表达 PXXX 结构域缺失 BAG3 的 MDA435 细胞,细胞的黏附和迁移能力提高。

甲状腺癌是内分泌系统常见的肿瘤。近年来发病趋势逐渐升高,其预后与肿瘤的侵袭性高度相关。因此,了解甲状腺癌的侵袭机制可能有利于临床治疗的进步。本文的研究结果显示,WT-BAG3、模拟磷酸化的 BAG3-S187D 过表达 FRO 细胞运动和侵袭能力有所增高,表现为划痕修复时间明显缩短,划痕面积修复率高于其他组,穿透 Transwell 小室膜的细胞数明显增多,与其他组相比,差异有统计学意义。而 BAG3-S187A 过表达的 FRO 细胞,运动和侵袭能力明显降低。这些结果说明,BAG3 蛋白可促进 FRO 细胞的迁移和侵袭,而 BAG3 蛋白的磷酸化

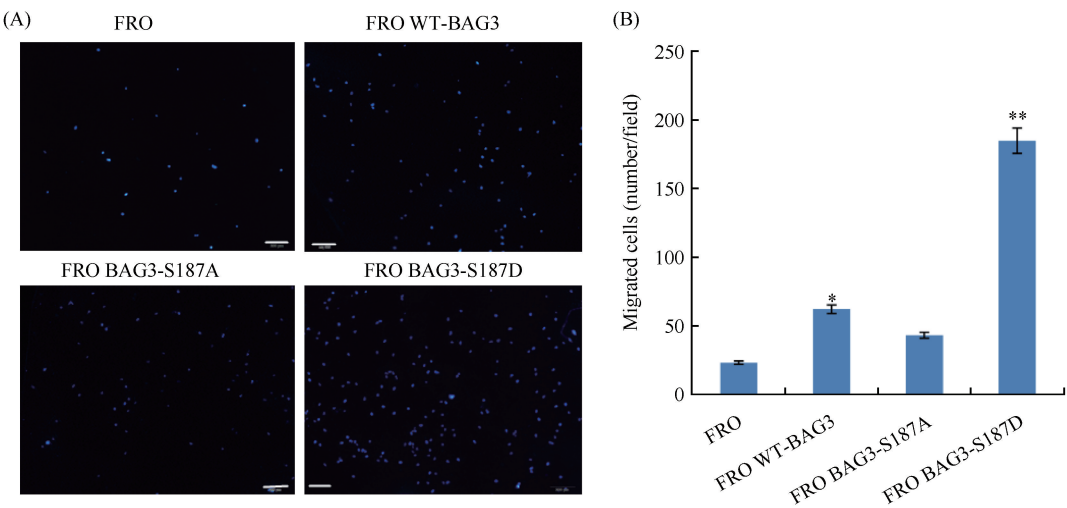


Fig. 3 Phosphorylation of BAG3 promotes the migration of FRO cells in transwell migration assay (A) Transwell migration assay showed the migration ability of FRO cells transfected with BAG3-S187D was increased significantly (DAPI staining, scale bars represent 200 μm). (B) Migrated cells were counted. Data were the average of 10 different fields at least, * indicate $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs FRO control cell

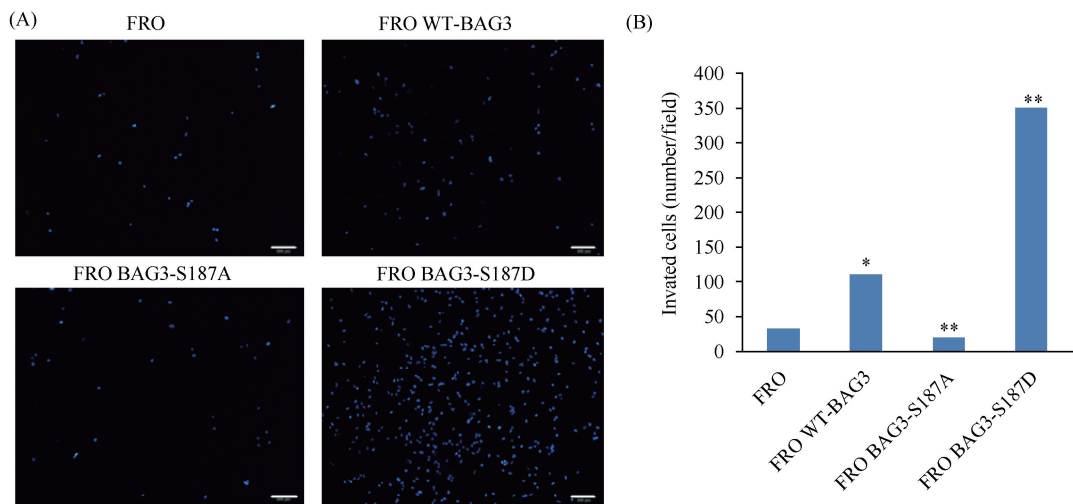


Fig. 4 Phosphorylation of BAG3 promotes the invasion of FRO cells in transwell invasion assay (A) Matrigel transwell invasion assay showed that the invasion ability of FRO cells transfected with BAG3-S187D was increased obviously (DAPI staining, scale bars represent 200 μm). (B) Invaded cells were counted. Data were the average of 10 different fields at least. * indicate $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs FRO control cells

修饰,进一步提高了甲状腺癌 FRO 细胞的迁移和侵袭能力。

我们在前期研究工作中,鉴定出 BAG3 是 PKC δ 的磷酸化底物。并且发现,可以在 Ser187 位点磷酸化 BAG3 蛋白,提示 PKC δ 信号转导通路可能通过磷酸化 BAG3,进而调节其生物学功能。PKC 蛋白的抑制剂 TPA 和激活剂 Rottlerin 对 FRO WT-BAG3 细胞的迁移和侵袭,分别起到促进和抑制作用,差异具有统计学意义。进一步证明了

BAG3 蛋白的磷酸化状态影响到 FRO 细胞的迁移和侵袭能力,并且这种影响可能是通过 PKC 信号通路发挥作用。由此推测,过表达不同 BAG3 表型导致细胞迁移和侵袭能力的差异,可能至少部分归因于 BAG3 蛋白 Ser187 位点磷酸化状态的不同。未来生产和应用特异的 Ser187 位点磷酸化 BAG3 抗体,将会解释这个问题。总之,我们的研究表明,Ser187 位点磷酸化的 BAG3 提高了甲状腺癌细胞的迁移和侵袭能力。

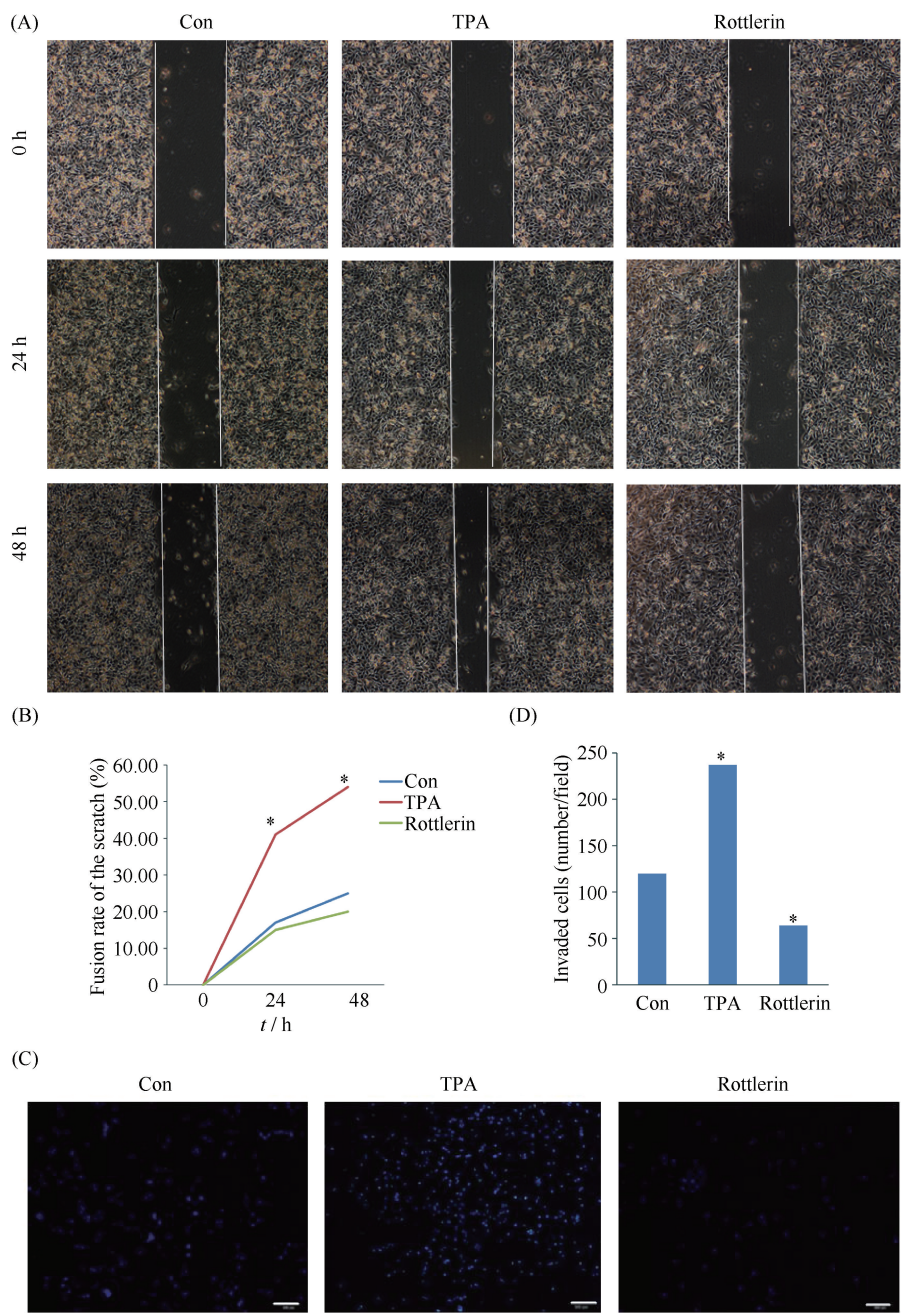


Fig. 5 The activator or inhibitor of PKC affects the migration and invasion of FRO WT-BAG3 cells (A) Wound-healing assay showed that TPA increased the migration ability of FRO WT-BAG3 cells. (B) The fusion rate of the scratch in (A) was calculated. (C) Matrigel transwell invasion assay showed that TPA increased the invasion ability of FRO WT-BAG3 cells, whereas Rottlerin had opposite results (scale bars represent 200 μm). (D) Invaded cells in (C) were counted. Data were the average of 10 different fields at least. * indicate $P < 0.05$ vs Con cell

本文研究结果显示,BAG3 蛋白的磷酸化修饰对 FRO 细胞的迁移、侵袭具有一定的影响作用,磷酸化修饰可促进 FRO 细胞的迁移和侵袭,这种影响可能是由 PKC 信号通路所介导的。

参考文献 (References)

[1] Doong H, Price J, Kim YS, *et al.* CAIR-1/BAG-3 forms an

EGF-regulated ternary complex with phospholipase C-gamma and Hsp70/Hsc70[J]. *Oncogene*, 2000, **19**(38): 4385-4395

[2] Lee JH, Takahashi T, Yasuhara N, *et al.* Bis, a Bcl-2-binding protein that synergizes with Bcl-2 in preventing cell death[J]. *Oncogene*, 1999, **18**(46): 6183-6190

[3] Takayama S, Xie Z, Reed JC. An evolutionarily conserved family of Hsp70/Hsc70 molecular chaperone regulators[J]. *J Biol Chem*, 1999, **274**(2): 781-786

[4] Liao Q, Ozawa F, Friess H, *et al.* The anti-apoptotic protein BAG-3 is overexpressed in pancreatic cancer and induced by heat stress in pancreatic cancer cell lines[J]. *FEBS Lett*, 2001, **503**

- (2-3): 151-157
- [5] Chiappetta G, Ammirante M, Basile A, *et al.* The antiapoptotic protein BAG3 is expressed in thyroid carcinomas and modulates apoptosis mediated by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, **92**(3): 1159-1163
- [6] Romano MF, Festa M, Petrella A, *et al.* BAG3 protein regulates cell survival in childhood acute lymphoblastic leukemia cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2003, **2**(5): 508-510
- [7] Romano MF, Festa M, Pagliuca G, *et al.* BAG3 protein controls B-chronic lymphocytic leukaemia cell apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2003, **10**(3): 383-385
- [8] Suzuki M, Iwasaki M, Sugio A, *et al.* BAG3 (BCL2-associated athanogene 3) interacts with MMP-2 to positively regulate invasion by ovarian carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2011, **303**(1): 65-71
- [9] Rosati A, Graziano V, De Laurenzi V, *et al.* BAG3: a multifaceted protein that regulates major cell pathways[J]. *Cell Death Dis*, 2011, **2**: e141
- [10] Liu P, Xu B, Li J, *et al.* BAG3 gene silencing sensitizes leukemic cells to Bortezomib- induced apoptosis[J]. *FEBS Lett*, 2009, **583**(2): 401-406
- [11] Kassis JN, Guancial EA, Doong H, *et al.* CAIR-1/BAG-3 modulates cell adhesion and migration by downregulating activity of focal adhesion proteins[J]. *Exp Cell Res*, 2006, **312**(15): 2962-2971
- [12] Iwasaki M, Homma S, Hishiya A, *et al.* BAG3 regulates motility and adhesion of epithelial cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2007, **67**(21): 10252-10259
- [13] Rosati A, Ammirante M, Gentilella A, *et al.* Apoptosis inhibition in cancer cells: a novel molecular pathway that involves BAG3 protein[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, **39**(7-8): 1337-1342
- [14] Li N, Du ZX, Zong ZH, *et al.* PKC δ -mediated phosphorylation of BAG3 at Ser187 site induces epithelial-mesenchymal transition and enhances invasiveness in thyroid cancer FRO cells[J]. *Oncogene*, 2013, **32**(38): 4539-4548
- [15] Du ZX, Zhang HY, Meng X, *et al.* Proteasome inhibitor MG132 induces BAG3 expression through activation of heat shock factor 1[J]. *J Cell Physiol*, 2009, **218**(3): 631-637
- [16] Rosati A, Leone A, Del Valle L, *et al.* Evidence for BAG3 modulation of HIV-1 gene transcription[J]. *J Cell Physiol*, 2007, **210**(3): 676-683
- [17] Arndt V, Dick N, Tawo R, *et al.* Chaperone-assisted selective autophagy is essential for muscle maintenance[J]. *Curr Biol*, 2010, **20**(2): 143-148

(上接 P817)

陈诗书先生学术生涯简介



陈诗书先生 1929 年 11 月出生于福建,1949 年就读圣约翰大学,1955 年毕业于上海第二医学院,1955 - 1959 年为北京医学院生物化学专业研究生,之后在上海第二医科大学(现上海交通大学医学院)从事生物化学和分子生物学教学与研究工作长达四十多年。陈诗书先生创建了我国医学领域第一个分子生物学博士点,是卓越的生物化学和分子生物学家、优秀的学科领导人和前沿学科发展的倡导者。他于 1978 年荣获上海市先进科技工作者,1989 年荣获全国优秀教师,1990 年荣获上海市劳动模范,1991 年荣获享受国务院政府特殊津贴。

陈诗书先生曾于 80 年代留学美国,在美国 Memorial Sloan Kettering 癌症中心, Rockefeller 大学及 Mount Sinai 医学中心进修学习,回国后即投入大学分子生物学学科和实验室建设,并担任分子生物学实验室和人类基因治疗研究中心主任,是上海市重点学科分子生物学的学术带头人,上海市免疫学研究所免疫生化研究室主任,于 1992 年率先在国内成立了第一家“人类基因治疗研究中心”。他以渊博的学识,坚实的基础和丰富的研究经验,在分子免疫学、肿瘤分子生物学、基因诊断、基因治疗等方面取得了一系列出色的研究成果,发表论文 200 余篇,曾作为国家 863 生物医药有关重点项目的研究,并获得各种科技进步成果奖近 20 次之多,是我国医学分子生物学领域研究的先驱者。

陈先生曾任上海生物化学和分子生物学会理事长,担任《生物化学与生物物理学报》、《中华微生物学与免疫学杂志》、《生物化学与分子生物化学杂志》、《生命的化学》、《中国肿瘤生物治疗杂志》、《胃肠病学》等刊物编委,《肝脏》杂志特约编委;主编了《肿瘤与免疫》、《医学细胞与分子生物学》及《医学生物化学》等专著和教材。

陈诗书先生也是一位优秀的教育家,为人低调,他倡导实事求是的科学精神和求实不务虚名的作风,是学生们成长过程中学习的榜样和楷模。鹤发银丝映日月,丹心热血活新花,作为教授、博士生导师,他培养了研究生 50 多名,分布于世界各地,并多有建树。陈先生精深的学术造诣,严谨的治学作风,高尚的为人风范是众多学生们终生学习的榜样,当载史册!