

Received: 2016.05.17
Accepted: 2017.03.23
Published: 2017.09.20

Udział białka BMI-1 w procesie nowotworzenia

Participation of BMI-1 protein in cancer

Agnieszka Zaczek, Paweł Józwiak, Anna Krześlak

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Cytobiochemii, Łódź

Streszczenie

Białko BMI-1 (B-lymphoma Mo-MLV insertion region 1) jest składnikiem represyjnego kompleksu Polycomb-PRC1, który przez ubikwitynylację histonu H2A uczestniczy w regulacji ekspresji licznych genów. BMI-1 wpływa na przebieg procesów komórkowych, takich jak naprawa DNA, proliferacja, wzrost, starzenie się i apoptoza. Ponadto białko to odgrywa istotną rolę w biologii komórek macierzystych, w tym również nowotworowych komórek macierzystych, regulując ich zdolność do samoodnowy i różnicowania. Dane literaturowe wskazują, że wysoka ekspresja BMI-1 występująca w wielu typach ludzkich nowotworów jest skorelowana z gorszymi rokowaniami u pacjentów i niepowodzeniem terapii. Wyniki badań *in vitro* i *in vivo* potwierdzają, że nadekspresja BMI-1 może się przyczynić zarówno do powstawania nowotworów, jak i do inwazji, metastazy i chemiooporności komórek nowotworowych. Uwzględniając liczne dowody wskazujące na zaangażowanie *BMI1* w proces nowotworzenia szczególnie z udziałem komórek macierzystych, gen ten wydaje się obiecującym celem terapii przeciwnowotworowych.

Słowa kluczowe:

BMI-1 • PRC1 • nowotwory • nowotworowe komórki macierzyste • odpowiedź na uszkodzenia DNA • cykl komórkowy • metastaza

Summary

BMI-1 (B-lymphoma Mo-MLV insertion region 1) protein is a constituent of Polycomb Repressive Complex 1 (PRC1) that *via* ubiquitination of histone H2A affects expression of many genes. BMI-1 is involved in cellular processes such as DNA repair, proliferation, growth, senescence and apoptosis. BMI-1 plays a key role in biology of stem cells including cancer stem cells by regulation of their self-renewal and differentiation. Accumulating evidence has revealed that overexpression of BMI-1 in many human cancers correlates with disease progression and therapy failure. The results of *in vitro* and *in vivo* studies confirm the involvement of BMI-1 in tumor initiation as well as invasion, metastasis and chemoresistance. Taking into account significant role of *BMI1* in tumorigenesis, especially associated with cancer stem cells, it seems that this gene may be a promising target of anticancer therapies.

Keywords:

BMI-1 • PRC1 • cancer • cancer stem cells • DNA damage response • cell cycle • metastasis

GICID 01.3001.0010.4649
DOI: 10.5604/01.3001.0010.4649
Word count: 8360
Tables: 1
Figures: 3
References: 119

Adres autorki: mgr Agnieszka Zaczek, Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: agnieszka.zaczeka@biol.uni.lodz.pl

Wykaz skrótów: **AKT** – kinaza białkowa B, **ATM** – kinaza serynowo-treoninowa zaangażowana w naprawę DNA, **BCL2** – białko antyapoptotyczne, **BMI-1** – białko Polycomb wchodzące w skład kompleksu PRC1, **BRCA1** – białko zaangażowane w naprawę DNA, **βTrCP** – ligaza ubikwitynowa, **CAM** – błona kosmówkowo-omoczniova kurzych zarodków, **CBX4** – białko zaangażowane w sumoilację, wchodzące w skład kompleksu PRC1, **Cdc2** – białko zaangażowane w regulację cyklu komórkowego, **CD24** – marker powierzchniowy nowotworowych komórek macierzystych, **CD44** – marker powierzchniowy nowotworowych komórek macierzystych, **CD133** – marker pluripotencji, marker powierzchniowy nowotworowych komórek macierzystych, **CDK 2,4,6** – kinazy zależne od cyklin 2,4,6, **CHK2** – kinaza serynowo-treoninowa zaangażowana w naprawę DNA, **c-Myc** – czynnik transkrypcyjny, **CSC** – nowotworowe komórki macierzyste, **DDR** – odpowiedź na uszkodzenia DNA, **DNA-pK** – kinaza serynowo-treoninowa zaangażowana w naprawę DNA, **DU145** – linia wyprzewadzona z przerzutów do mózgu raka gruczołu krokowego, **ENL** – czynnik elongacji transkrypcji, **EED** – białko wchodzące w skład kompleksu PRC2, **EMT** – przejście nabłonkowo-mezenchymalne, **EZH2** – metylotransferaza histonowa wchodząca w skład kompleksu PRC2, **E2F1** – czynnik transkrypcyjny, **FIGO** – skala rangowa zaawansowania choroby nowotworowej, **FOXM1** – czynnik transkrypcyjny, **GSK3β** – izoforma β kinazy syntazy glikogenu 3, **H-Ras** – białko należące do małych białek G, **HDAC** – deacetylaza histonów, **hnRNP** – niejednorodne jądrowe RNP, **HOX** – geny homeotyczne, **HSC** – hematopoetyczne komórki macierzyste, **HTH** – struktura heliks-skręt-heliks, **HT108** – linia komórkowa włókniako-mięśniaka, **Ki-67** – marker komórkowej proliferacji, **KLF4** – czynnik transkrypcyjny podobny do czynnika Kruppela 4, **INK4/ARF (CDKN2A)** – locus kodujące białka p16^{INK4A} i p19^{ARF} lub p14^{ARF}, **LSC** – białaczkowe komórki macierzyste, **MCF10** – linia immortalizowanych komórek nabłonkowych gruczołu sutkowego, **MCF-7** – linia komórkowa pochodząca z przerzutu do płuc gruczolakoraka piersi, **MDM2** – ligaza ubikwitynowa, **Mel18** – składnik kompleksu PRC1, **MMP9 i MMP6** – geny kodujące metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej, **MSD** – zespół mielodysplastyczny, **Nanog** – czynnik transkrypcyjny, marker pluripotencji, **Nanog** – gen zaangażowany w proces samoodnowy komórek macierzystych, **NCS** – neuronalne komórki macierzyste, **NF-κB** – czynnik transkrypcyjny, który wiąże się z promotorem genu łańcucha kappa immunoglobulin w dojrzałych limfocytach B, **N-myc** – czynnik transkrypcyjny, **NHEJ** – naprawa przez łączenie niehomologicznych końców DNA, **NLS1 i NLS2** – sygnały lokalizacji jądrowej, **Noth** – szlak zaangażowany w regulację proliferacji i różnicowania komórek, **NVP-LDE-225/Erismodegib** – inhibitor białka smoothed, **Oct4** – gen zaangażowany w proces samoodnowy komórek macierzystych, **PARP1** – polimeraza Poli-ADP-rybozy, **PCGF4** – białko wchodzące w skład kompleksu PRC1, **PEST** – region bogaty w prolinę, kwas glutaminowy, serynę, treoninę, **PHC1-3** – białka wchodzące w skład kompleksu PRC1, **PI3K** – 3-kinaza fosfatydyloinozytolu, **PRC1 i PRC2** – kompleksy represyjne Polycomb, **PTEN** – fosfataza o podwójnej specyficzności białkowo-lipidowej, **p16^{INK4A}** – białko 16 kDa; inhibitor kinaz zależnych od cyklin, **p19^{ARF} (p14^{ARF})** – białko 19/14 kDa; czynniki zaangażowane w regulację cyklu komórkowego, **p21^{CIP}** – białko 21 kDa; inhibitor kinaz zależnych od cyklin, **p53** – białko 53 kDa; czynnik transkrypcyjny o aktywności supresora nowotworów, **p53BP1** – białko wiążące p53, **RAP80** – czynnik zaangażowany w odpowiedź na uszkodzenia DNA, **Rb** – białko retinoblastoma, **RbAp46/48** – białko wchodzące w skład kompleksu PRC2, **RING1A/B** – ligaza ubikwitynowa składnik kompleksu PRC1, **ROS** – reaktywne formy tlenu, **SALL4** – czynnik transkrypcyjny, **SHH** – szlak Sonic hedgehog, **SMO** – białka smoothed, **Snail1** – czynnik transkrypcyjny, **SOX2** – marker pluripotencji, **Sox2** – gen zaangażowany w proces samoodnowy komórek macierzystych, **Sp1** – czynnik transkrypcyjny, **SUMO** – podobne do ubikwityny polipeptydy przyłączane na drodze enzymatycznej do białek docelowych; **SUZ12** – białko wchodzące w skład kompleksu PRC2, **TIC** – komórki inicjujące nowotwory, **Twist1** – czynnik transkrypcyjny, **UTR** – obszar mRNA nieulegający translacji, **VEGF-C** – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, **Wnt** – szlak sygnałowy odgrywający istotną rolę w regulacji takich procesów jak embriogeneza, różnicowanie, przeżywalność i proliferacja komórek, **3pk (MAPKAPK3)** – kinaza serynowo-treoninowa, **γH2AX** – marker dwuniciowych pęknięć DNA.

WSTĘP

Modyfikacje ogonów histonów stanowią jeden z głównych mechanizmów epigenetycznej regulacji ekspresji genów u organizmów eukariotycznych [3]. Zależnie od rodzaju modyfikacji oraz pozycji modyfikowanych aminokwasów są indukowane zmiany konformacji chromatyny prowadzące do zmniejszenia lub zwiększenia ekspresji określonych genów. Istotną rolę w modyfikacjach histonów odgrywają, zidentyfikowane po raz pierwszy u *Drosophila melanogaster*, wielopodjednostkowe kompleksy białkowe Polycomb, będące represorami transkrypcji. U człowieka istnieją dwa kompleksy Polycomb: PRC1 i PRC2 (Polycomb repressive complex). W skład kompleksu PRC1 wchodzi białka PHC1-3 (Polyhomeotic-like protein), CBX (Chromobox 2, 4, 6, 7, 8), RING1A/1B (Really interesting New gene 1) i PCGF1-6 (Polycomb group ring finger). Jednym z białek PCGF (PCGF4) jest białko BMI-1 (B-lymphoma Mo-MLV insertion region 1). Kompleks PRC2 składa się z białek EZH2 (Enhancer of Zeste Homologue 2), EED (Embryonic Ectoderm Development), SUZ12 (Suppressor of Zeste 12), RbAp46/48 (Retinoblastoma-Associated Protein 46/48a) [16]. Występujące w kompleksie PRC2 białko EZH2 ma aktywność metylotransferazy histonów i odpowiada za metylację lizyny 27. histonu H3 (H3K27). Natomiast RING1, białko kompleksu PRC1 wykazuje aktywność ligazy ubikwitynowej, która przyłącza pojedynczą resztę ubikwityny do lizyny 119 histonu H2A (H2AK119) [3].

Obydwa kompleksy Polycomb przez modyfikacje histonów regulują ekspresję genów homeotycznych, czynników transkrypcyjnych i genów kodujących białka szlaków sygnalizacyjnych wpływając na liczne procesy komórkowe [16]. Zaburzenia w ekspresji i aktywności białek wchodzących w skład kompleksów represyjnych Polycomb mogą prowadzić do nieprawidłowej regulacji genów kontrolujących podziały, wzrost, apoptozę czy migrację komórek, a przez to do rozwoju i progresji nowotworów. Najnowsze badania wykazują, że istotną rolę w nowotworzeniu odgrywa białko BMI-1, które jest składnikiem kompleksu PRC1. *BMI1* jest uznawane za onkogen, a jego nadekspresja występuje w wielu typach nowotworów, tj. w glejakach, rdzeniakach, nowotworach głowy i szyi, jamy nosowo-gardłowej, płuc, wątroby, trzustki, żołądka, jelita, piersi, jajnika, stercza, pęcherza moczowego oraz w białaczkach [8,77,80]. Ponadto białko to odgrywa istotną rolę w biologii komórek macierzy-

stych, w tym również nowotworowych komórek macierzystych [81].

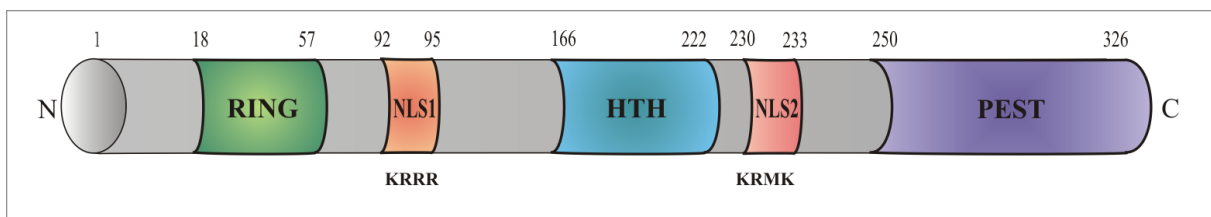
WYSTĘPOWANIE I STRUKTURA BIAŁKA BMI-1

Białko BMI-1 ulega ekspresji w komórkach prawie wszystkich tkanek, a najwyższy poziom jego ekspresji stwierdzono w komórkach mózgu, przełyku, gruczołów ślinowych, grasicy, nerek, płuc, gonad, łożyska i szpiku kostnego. Wysoka ekspresja BMI-1 występuje także w keranocytach tworzących warstwę naskórka [81].

Gen *BMI1*, zlokalizowany na chromosomie 10 (10p11.23), składa się z 10 eksonów i 9 intronów, koduje białko zbudowane z 326 aminokwasów o masie cząsteczkowej około 37 kDa [81]. W strukturze białka BMI-1 można wyróżnić trzy charakterystyczne regiony: centralną domenę zwierającą strukturę heliks-skręt-heliks (HTH, helix-turn-helix), N-końcową domenę RING oraz C-końcową domenę PEST (ryc. 1) [8,51]. Domena RING składa się z potrójnie skreconej struktury β -kartki, dwóch pętli wiążących cynk i α -helisy [51]. Jest potrzebna do wiązania BMI-1 z ligazą ubikwitynową RING1B, stanowiącą katalityczny komponent kompleksu PRC1, odpowiedzialny za ubikwitynylację Lys119 histonu H2A. Ponadto domeny RING i HTH odgrywają ważną rolę w lokalizacji BMI-1 w miejscu pęknięć DNA oraz jego roli w hamowaniu procesu starzenia się komórek [24]. Region PEST jest bogaty w prolinę (P), kwas glutaminowy (E), serynę (S) i treoninę (T), który odpowiada za kierowanie białka do degradacji [107]. Oprócz trzech podstawowych funkcjonalnych regionów BMI-1 zawiera dwie sekwencje lokalizacji jądrowej NLS1 (sekwencja KRRR, reszty 92-95) oraz NLS2 (sekwencja KRMK, reszty 230-233). Badania wskazują, że za jądrowe umiejscowienie BMI-1 odpowiada przede wszystkim druga sekwencja [14].

REGULACJA EKSPRESJI BMI-1

Gen kodujący białko BMI-1 ulega regulacji przez wiele czynników transkrypcyjnych, które istotnie wpływają na zwiększenie ekspresji *BMI1*, należą N-Myc, c-Myc, Sp1, E2F1, Twist1 i Nanog (ryc. 2). Odgrywają główną rolę w proliferacji, wzroście, różnicowaniu i apoptozie komórek. Wyniki badań wykazały, że białka te wpływają na zwiększenie ekspresji *BMI1* przez bezpośrednie przyłączenie się do promotora tego genu [35,72,92,102,103]. Natomiast FOXM1 i SALL4 są czynnikami transkrypcyj-



Ryc. 1. Struktura domenowa białka BMI-1 (opis w tekście)

nymi, które działają pośrednio na ekspresję *BMI1*. FOXM1 zwiększa ekspresję *BMI1* przez zwiększanie ekspresji c-Myc [48]. SALL4 przyłącza się do *locus BMI1* i pozytywnie reguluje jego ekspresję przez indukcję metylacji H3K4 i H3K79 w obrębie regionu promotorowego tego genu, chociaż mechanizm procesu nie jest znany [109]. Do czynników, które hamują ekspresję *BMI1* należą KLF4 i Me18 [30,112]. Wykazano, że KLF4 w komórkach raka okrężnicy łączy się z promotorem *BMI1* i obniża jego ekspresję. Natomiast Me18 obniżając ekspresję białka c-Myc hamuje transkrypcję *BMI1* w ludzkich fibroblastach [30].

Poziom ekspresji *BMI1* jest w znacznym stopniu regulowany potranskrypcyjnie przez miRNA. Zidentyfikowano wiele miRNA o charakterze supresorów, których obniżona ekspresja w komórkach nowotworowych może sprzyjać wzrostowi ekspresji *BMI1* (ryc. 2). Sugihara i wsp. wykazali odwrotną korelację między ekspresją *BMI1* a miR-30e* w preparatach raka żołądka [86]. Natomiast miR-15 i miR-16 wiążą się do regionu 3'-UTR *BMI1* i wpływają na zmniejszenie ekspresji białka w liniach komórkowych raka jajnika. Zaobserwowano również odwrotną korelację między ekspresją tych miRNA a ekspresją BMI-1 w preparatach pochodzących od pacjentek z rakiem jajnika [5]. U pacjentów z gruczolakorakiem przewodowym trzustki niska ekspresja miR-183 jest związana ze stopniem zaawansowania nowotworu, jego histologiczną złośliwością oraz gorszymi rokowaniami dla pacjentów. Wykazano, że ważnym celem dla tego miRNA w raku trzustki jest *BMI1*, a jego ekspresja jest odwrotnie skorelowana z miR-183 [118].

Do jednych z najważniejszych regulatorów ekspresji *BMI1* należy rodzina mikroRNA miR-200. Przedstawiciele tej rodziny, a przede wszystkim miR-200b i miR200c, hamują ekspresję *BMI1* w komórkach raka piersi, pęcherza moczowego, stercza, języka, głowy i szyi oraz czerniaka [57,59,63,74,111]. miR-218 również zidentyfikowano jako negatywny regulator *BMI1* w wielu typach komórek nowotworowych np. w komórkach rdzeniaka, czerniaka, raka jelita grubego, wątroby i woreczka żółciowego [22,33,88,98].

Zidentyfikowano także miRNA, które mają charakter onkogenny, przyczyniając się pośrednio do wzrostu ekspresji *BMI1*. Przykładem takiego miRNA jest miR-130b, którego nadekspresja w komórkach glejaka zwiększa ekspresję *BMI1*, jak również innych markerów pluripotencji CD133, SOX2, Nanog, MYC, co powoduje uzyskanie przez te komórki właściwości komórek macierzystych [119]. Pośrednio do wzrostu ekspresji *BMI1* przyczynia się również miR-22, który w komórkach raka piersi negatywnie reguluje ekspresję miR-200 stanowiącego supresor nowotworów [84].

Znaczący wpływ na poziom białka BMI-1 w komórkach mają modyfikacje potranslacyjne tego białka, takie jak sumoilacja, fosforylacja i ubikwitynylacja (ryc. 2). Sumoilacja to proces polegający na przyłączeniu białka SUMO

do białka docelowego (Small Ubiquitin-like Modifier). W procesie biorą udział trzy enzymy: aktywujący E1, koniugujący E2 i ligaza E3. Stwierdzono, że białko CBX4 (Chromobox Homolog 4), które wchodzi w skład kompleksu PRC1, ma aktywność ligazy E3. Badania wykazały, że uszkodzenia DNA stymulują sumoilację BMI-1 przez CBX4 na lizynie 88, powodując gromadzenie się BMI-1 w miejscach uszkodzeń DNA [37].

Inną modyfikacją, która wpływa na stabilność i funkcję białka BMI-1 jest ubikwitynylacja. W domenie PEST białka BMI-1 występuje motyw podlegający ubikwitynylacji przez ligazę ubikwitynową β TrCP (β -transducing repeat-containing protein) [78]. W komórkach MCF10A nadekspresja β TrCP powoduje wzrost degradacji BMI-1 w proteasomach, natomiast wyciszenie β TrCP ogranicza degradację tego białka i zwiększa jego proonkogenne właściwości [78].

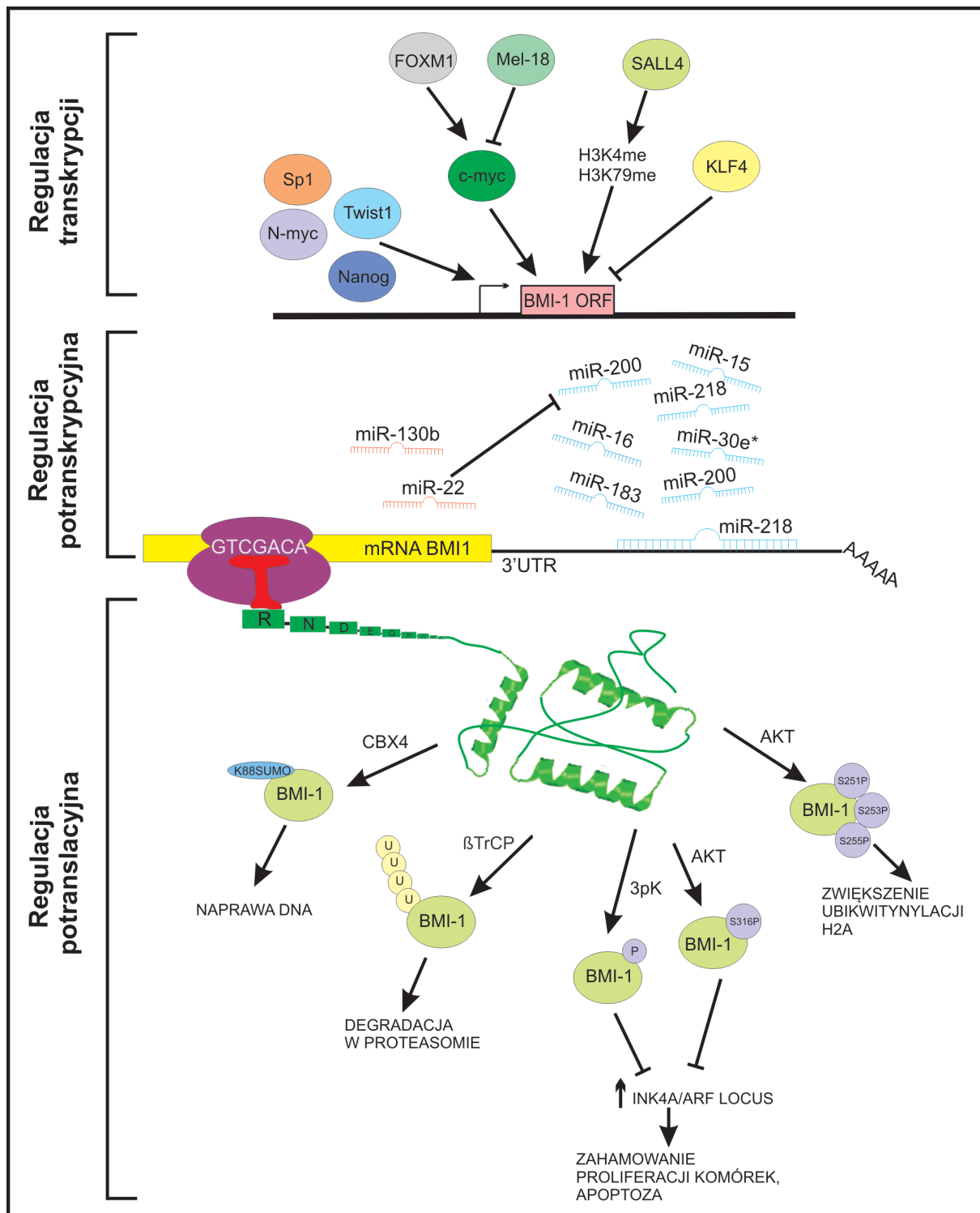
BMI-1 ulega fosforylacji przez kinazę 3pK (MAPKAPK3, mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 3). Wykazano, że aktywacja lub nadekspresja kinazy 3pK prowadzi do fosforylacji BMI-1 i innych białek Polycomb, co powoduje ich oddysocjowanie od chromatyne i aktywację transkrypcji *locus INK4A/ARF* [90].

Białko BMI-1 może być także fosforylowane w szlaku PI3K/AKT. Wyniki badań sugerują, że modyfikacja BMI-1 przez kinazę AKT w zależności od rodzaju modyfikowanej reszty może różnie wpływać na onkogenne właściwości tego białka. Fosforylacja seryny 316. BMI-1 przez AKT zmniejsza ubikwitynylację histonu H2A przez PRC1, a także uniemożliwia przyłączenie się tego kompleksu do *locus INK4A/ARF* [58]. Hamuje to zdolność BMI-1 do promowania proliferacji komórek i wzrostu guzów nowotworowych [58]. Natomiast inne badania sugerują, że w komórkach raka stercza u myszy fosforylacja reszt seryny 251, 253 i 255 zwiększa ubikwitynylację H2A przez PRC1 i wzmacnia onkogenny potencjał Bmi-1 niezależny od hamowania *locus Ink4A/Arf* [67]. Wyniki sugerują, że fosforylacja BMI-1 przez AKT może różnie wpływać na onkogenną aktywność BMI-1 zależnie od kontekstu.

UDZIAŁ BMI-1 W PROCESIE NOWOTWORZENIA

BMI-1 jako składnik kompleksu represyjnego wpływa na ekspresję wielu genów, których produkty białkowe regulują procesy, takie jak naprawa DNA, proliferacja, wzrost, starzenie się i apoptoza komórek [81]. Podczas nowotworzenia dochodzi do istotnych zaburzeń tych procesów w czym, jak sugerują wyniki wielu badań, znaczący udział może mieć deregulacja ekspresji i aktywności BMI-1.

BMI1 jest uznanym onkogenem, który może wpływać na indukcję transformacji nowotworowej i promować rozwój guza w modelach zwierzęcych, choć zwykle nie samodzielnie [8]. Stwierdzono, że Bmi-1 razem z c-Myc może się przyczynić do powstawania chłoniaka u myszy



Ryc. 2. Regulacja ekspresji BMI-1 (opis w tekście)

[31]. Hoenerhoff i wsp. stwierdzili, że nadekspresja BMI-1 w immortalizowanych komórkach piersi MCF10A nie jest wystarczająca do transformacji, aczkolwiek jego koekspresja z H-RAS powoduje transformację nowotworową tych komórek [34]. Koekspresja obu onkog-

nów wpływa na wzrost proliferacji komórek i zwiększa oporność na indukcję apoptozy *in vitro*. Ponadto komórki z koekspresją BMI-1 i H-RAS mają zdolność do indukcji powstawania nowotworów po ich wprowadzeniu do organizmu myszy. Stwierdzono, że tylko nowotwory

wywodzące się z komórek wykazujących nadekspresję BMI-1 mają zdolność do tworzenia przerzutów do mózgu [34].

ROLA BMI-1 W ODPOWIEDZI NA USZKODZENIA DNA

Genom organizmów jest stale narażony na uszkodzenia w wyniku działania wielu czynników endo- i egzogen-nych. Integralność genomu jest jednak monitorowana przez złożony system wzajemnie powiązanych procesów określanych mianem odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA (DNA damage response – DDR), które obejmują wykrywanie uszkodzeń DNA, aktywację punktów kontroli cyklu komórkowego i uruchomienie mechanizmów naprawy. Dzięki DDR następuje zatrzymanie podziałów, a jeśli naprawa DNA nie przebiegnie pomyślnie komórka ulega starzeniu i apoptozie, co uniemożliwia przekazanie uszkodzonego DNA do komórek potomnych [23].

Stwierdzono, że białko BMI-1 bierze udział zarówno w odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA jak również w zapobieganiu uszkodzeniom DNA. Liu i wsp. [55] wykazali, że *Bmi-1* wpływa na utrzymanie homeostazy redoks w mitochondriach. U myszy z wyciszoną ekspresją *BMI1* zaobserwowano wzrost poziomu reaktywnych form tlenu związany z nieprawidłową ekspresją genów odpowiedzialnych za funkcjonowanie mitochondriów [55]. W komórkach raka jajnika stwierdzono, że wyciszenie ekspresji *BMI1* zwiększa, po traktowaniu komórek cisplatiną, wytwarzanie reaktywnych form tlenu, które indukowały uszkodzenia DNA i apoptozę [91].

Białko BMI-1 lokalizuje się w miejscach występowania uszkodzeń DNA wywołanych promieniowaniem jonizującym. Na rekrutację BMI-1 do miejsc uszkodzeń DNA wpływa jego sumoilacja na lizynie 88, za którą odpowiada białko CBX4 – składnik kompleksu PRC1 [37]. Facchino i wsp. [20] wykazali, że nadekspresja BMI-1 w neuronalnych komórkach macierzystych (NCS) zwiększa rekrutację kinazy ATM (ataxia telangiectasia mutated) do miejsc uszkodzeń DNA. Badania wskazują, że w napromieniowanych komórkach BMI-1 ulega kolo-kalizacji z ATM i γ H2AX. Stwierdzono, że BMI-1 może także oddziaływać z DNA-PK (DNA-dependent protein kinase), PARP-1, hnRNP U (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U) i histonem H1 podczas naprawy przez scalanie niehomologicznych końców DNA (NHEJ, non-homologous end joining) w komórkach glejaka wykazujących ekspresję antygenu CD133+. Wyciszenie ekspresji *BMI1* w tych komórkach zwiększało wrażliwość komórek na promieniowanie jonizujące [20].

BMI-1 wpływa na naprawę uszkodzeń DNA przez stymulowanie ubikwitynylacji histonu H2A i H2AX dzięki wiązaniu i stabilizacji RING1B, katalitycznej podjednostki kompleksu PRC1 [54]. Ubikwitynylacja H2A/H2AX rekrutuje ATM do miejsc uszkodzeń i tworzy γ -H2AX [100]. Chociaż BMI-1 jest wymagane do początkowej rekrutacji ATM, kinaza ta jest odpowiedzialna za utrzymanie BMI-1 w miejscu pęknięć, co jest konieczne do efektyw-

nej rekombinacji homologicznej [54]. Jednym z mechanizmów utrzymujących BMI-1 w miejscu pęknięć może być fosforylacja czynnika ENL przez ATM, powodująca jego połączenie z BMI-1. To oddziaływanie powoduje akumulację PRC1 i monoubikwitynylację H2AK119, które przyczyniają się do represji transkrypcji w pobliżu dwuniciowych pęknięć DNA [54]. Ubikwitynylacja w miejscach uszkodzeń jest rozpoznawana przez białka p53BP1 (tumor suppressor p53-binding protein 1), RAP80 (receptor-associated protein 80) i BRCA1 (breast cancer 1, early onset), które są zaangażowane w naprawę DNA. Wyciszenie w komórkach ekspresji *BMI1* ogranicza ubikwitynylację histonów i naprawę przez te białka uszkodzonego DNA [36,54].

BMI-1 wpływa także na drugi ważny aspekt odpowiedzi na uszkodzenia DNA, tj. aktywację punktów kontrolnych. Wykazano, że nadekspresja *BMI1* w komórkach MCF-7 i DU145, w których indukowano podwójne pęknięcia przez zastosowanie etopozydu, dochodziło do obniżenia fosforylacji Ser 1981. kinazy ATM, fosforylacji Thr 68. kinazy CHK2, poziomu γ H2AX i aktywacji punktu kontrolnego G2/M [96].

Lin i wsp. [54] sugerują, że BMI-1 może promować proces karcynogenezy w dwojaki sposób. Po pierwsze przez wzmocnienie mechanizmu naprawy podwójnych pęknięć DNA powoduje, że komórki stają się odporne na chemioterapię w przypadku zastosowania czynników uszkadzających DNA. Po drugie BMI-1 redukując aktywację punktów kontrolnych wpływa na niestabilność genomową i przyczynia się do progresji nowotworów [54].

BMI-1 A CYKL KOMÓRKOWY

BMI-1 hamuje ekspresję *locus* CDKN2A (INK4A/ARF) kodującego białka supresorowe p16^{INK4A} i p19^{ARF} (u człowieka p14^{ARF}) regulujące cykl komórkowy, których ekspresja wiąże się z procesem starzenia się komórek [39]. Nadekspresja BMI-1 może wpływać na karcynogenezę przez promowanie cyklu komórkowego. W wyniku nadekspresji tego białka dochodzi do represji p16^{INK4A} będącego inhibitorem kinaz zależnych od cyklin: CDK4 i CDK6. W rezultacie CDK4 i CDK6 po związaniu z cykliną D fosforylują białko pRb (retinoblastoma protein). Dobrze ufosforylowana postać białka pRb nie wiąże czynnika transkrypcyjnego E2F, dzięki czemu może pośredniczyć w aktywacji transkrypcji genów kodujących białka odpowiedzialne za przejście z fazy G1 do S, umożliwiając postęp cyklu komórkowego [76]. BMI-1 wpływa również na zahamowanie ekspresji p19^{ARF}, co sprzyja nagromadzeniu ligazy ubikwitynowej MDM2 (mouse double minute 2 homolog), która przyczynia się do degradacji białka p53. Białko to wpływa na ekspresję czynników regulujących m.in. stabilność i aktywność białek Cdc2 (cell division control protein 2 homolog) i Cdk2 (cyclin-dependent kinase 2), które są zaangażowane w kontrolę cyklu komórkowego. Zwiększona ekspresja BMI-1 może więc wywołać niekontrolowaną proliferację komórek i oporność na indukowanie apoptozy [11,25,76]. Wyniki

wielu badań, w których ekspresja BMI-1 była redukowana przez miRNA wyraźnie sugerują wpływ tego białka na proliferację komórek raka piersi, żołądka, pęcherza moczowego, stercza, trzustki niedrobnokomórkowego raka płuc [9,10,29,49,92,99,104,111].

WPEŁYW BMI-1 NA INWAZJĘ, ANGIOGENEZĘ I METASTAZĘ

BMI-1 ulegający nadekspresji w wielu typach komórek nowotworowych wpływa nie tylko na wzrost proliferacji tych komórek, ale także na ich zdolność do inwazji metastazy. Yin i wsp. [110] wykazali, że zmniejszenie ekspresji *BMI1* w komórkach raka trzustki przez shRNA redukowało ich oporność na chemioterapeutyki oraz zdolność do inwazji. Wyciszenie ekspresji *BMI1* powodowało hamowanie szlaku PI3K/AKT i zwiększało zdolność komórek raka trzustki do tworzenia sferoid podczas hodowli *in vitro* [110]. Pozytywny wpływ BMI-1 na zdolności do inwazji i metastazy przez hamowanie szlaku PI3K/AKT stwierdzono również w nowotworowych komórkach macierzystych trzustki [94]. Wykazano, że zmniejszenie aktywności tych kinaz wynikało z negatywnej regulacji *PTEN* przez BMI-1.

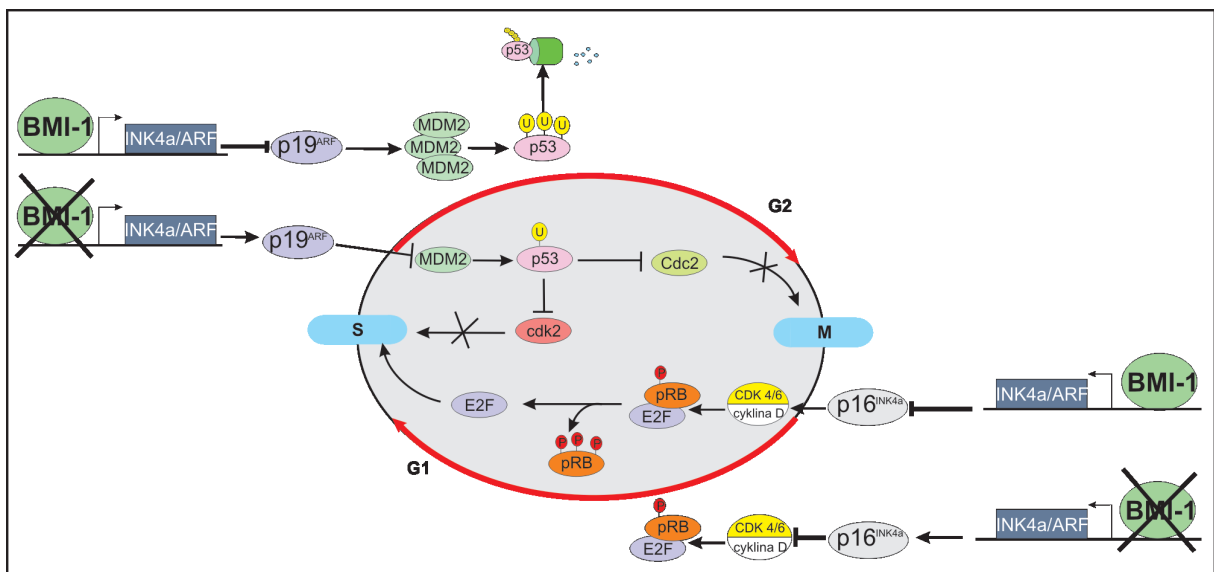
W komórkach raka jamy nosowo-gardłowej białko BMI-1 promuje przejście nabłonkowo-mezenchymalne hamując ekspresję *PTEN*, dzięki czemu dochodzi do aktywacji szlaku PI3K/AKT/GSK-3 β , który wpływa na stabilizację czynnika transkrypcyjnego Snail1. Wiązanie Snail1 i PRC1 z promotorem genu E-kadheryny obniża jej ekspresję i zwiększa potencjał inwazyjny komórek przez zmniejszenie ich zdolności do adhezji [82]. Wpływ nadekspresji BMI-1 na migrację komórek przez stabilizację Snail1 i deregulację ekspresji markerów epitelialnych i mezenchymalnych stwierdzono także w komórkach piersi linii MCF10A [27]. Natomiast w komórkach glejaka

nadekspresja BMI-1 przyczynia się do wzrostu migracji i inwazyjności przez aktywację czynnika NF-kappaB, który przyłącza się do promotorów genów *MMP9* i *MMP3* (matrix metalloproteinase) i wpływa na zwiększenie ich ekspresji [41].

Stwierdzono również rolę BMI-1 w promowaniu angiogenezy [40] w doświadczeniu przeprowadzonym z wykorzystaniem błony kosmówkowo-owodniowej kurzych zarodków (chorioal Latonic membrane – CAM) ocenili wpływ ekspresji *BMI1* na zdolność do inwazji komórek glejaka. Wykazali, że nadekspresja *BMI1* wzmacnia, a wyciszenie ekspresji *BMI1* redukuje zdolność komórek glejaka do promowania tworzenia tubul w teście *in vitro* na matrygelu i migracji komórek endotelialnych, a także neowaskularyzacji. Autorzy otrzymali podobne wyniki w badaniach *in vivo* w ksenograftach ludzkiego glejaka. Stwierdzono, że nadekspresja *BMI1* indukuje angiogenezę przez zwiększenie transkrypcyjnej aktywności NF-kappaB wywołując ekspresję naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu VEGF-C [40].

BMI-1 JAKO POTENCJALNY BIOMARKER NOWOTWORÓW

Wyniki wielu badań wskazują na wyraźny wzrost ekspresji BMI-1 w komórkach ludzkich nowotworów w porównaniu z tkanką prawidłową. Nadekspresję tego białka stwierdzono w glejaku, rdzeniaku, raku języka, jamy nosowo-gardłowej, płuc, piersi, wątroby, jelita grubego, pęcherza moczowego, jajnika i trzustki (tabela 1). W niektórych nowotworach stwierdzono korelację między stopniem zaawansowania nowotworów a ekspresją BMI-1. W raku jajnika wysoka ekspresja *BMI1* korelowała ze stopniem zaawansowania klinicznego wg klasyfikacji FIGO (The International Federation of Gynecology and Obstetrics) oraz stopniem złośliwości histologicznej



Ryc. 3. Wpływ białka BMI-1 na regulację cyklu komórkowego (opis w tekście)

[1]. W większości nowotworów wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów. W raku pęcherza moczowego i stercza wysoki poziom ekspresji jest związany z większym ryzykiem nawrotu [75,89]. Chociaż większość nowotworów, szczególnie zaawansowanych, wykazuje zwiększoną ekspresję BMI-1, to zdarzają się wyjątki. Odmiennie wyniki uzyskano bowiem w raku trzonu macicy, gdzie stwierdzono, że niska ekspresja *BMI1* jest charakterystyczna dla nowotworów o wysokim stopniu złośliwości histologicznej i koreluje z utratą ekspresji receptorów estrogenowego i progesteronowego oraz wzrostem inwazyjności [19]. Häyry i wsp. [32] wykazali, że w kolczystokomórkowym raku języka brak ekspresji BMI-1 był związany z obniżonym czasem przeżycia pacjentów i autorzy sugerują, że może on być markerem prognostycznym w tym raku [32]. Li i wsp. [52] również wskazują na przydatność BMI-1 jako markera diagnostycznego i prognostycznego w raku języka. Jednak ich wyniki w przeciwieństwie do poprzednich sugerują związek nadekspresji BMI-1 z przerzutami do węzłów chłonnych, ekspresją markera Ki-67 oraz gorszymi prognozami dla pacjenta [52]. Nadekspresja BMI-1 została zidentyfikowana również u pacjentów z zespołem mielodysplastycznym (myelodysplastic syndrome, MDS), przewlekłą białaczkę szpikową, ostrą białaczkę szpikową i chłoniakami [77]. Zespół mielodysplastyczny jest heterogeniczną chorobą, w której prognozy są bardzo zróżnicowane. MDS stwarza duże ryzyko rozwoju ostrej białaczki szpikowej, dlatego identyfikacja markerów MDS ma istotne znaczenie we wczesnej diagnozie i prognozie. Stwierdzono, że ekspresja BMI-1 może stanowić jeden ze wskaźników pozwalających na rozróżnienie populacji komórek blastycznych, które mają tendencję do transformacji nowotworowej. W ostrej białaczce szpikowej stwierdzono wyraźny związek między mniejszą ekspresją BMI-1 a dłuższym czasem remisji choroby i ogólnym czasem przeżycia pacjentów [13,70]. Te, jak również inne, badania wskazują, że w ostrej białaczce szpikowej BMI-1 może być niezależnym biomarkerem, czynnikiem prognostycznym i celem terapeutycznym [77]. U pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową ekspresja BMI-1 była mniejsza w fazie przewlekłej w porównaniu z fazą akceleracji i przełomu blastycznego, co sugeruje, że BMI-1 może być użyteczny jako marker prognostyczny służący do monitorowania progresji choroby [65]. Zwiększoną ekspresję BMI-1 stwierdzono również w niektórych typach chłoniaków np. chłoniaka z komórek płaszczka, w przypadku którego jest związana z gorszymi prognozami [77].

BMI-1 W NOWOTWOROWYCH KOMÓRKACH MACIERZYSTYCH

Jedną z teorii nowotworzenia zakłada, że w rozwoju nowotworów istotną rolę odgrywa mała populacja komórek, które podobnie jak komórki macierzyste mają zdolność do samoodnowy i różnicowania. Komórki te, nazywane nowotworowymi komórkami macierzystymi (CSC, cancer stem cells), mogą odpowiadać za różnorodność komórek nowotworowych w obrębie guza

przyczyniając się do jego heterogenności [15]. Charakterystyczną cechą nowotworowych komórek macierzystych jest zdolność do inicjacji zmian nowotworowych po ich przeszczepieniu do organizmów zwierzęcych, dlatego często są określane jako komórki inicjujące nowotwory (TIC, tumor-initiating cells). CSC wykazują wiele właściwości podobnych do prawidłowych komórek macierzystych. Oprócz zdolności do samoodnowy i różnicowania w różne typy komórek, zalicza się do nich małą aktywność proliferacyjną i oporność na działanie czynników, które uszkadzają DNA. CSC wykazują ekspresję markerów powierzchniowych charakterystycznych dla komórek macierzystych, np. CD24, CD44 i CD133, a także ekspresję genów zaangażowanych w proces samoodnowy komórek macierzystych (*Sox2*, *Nanog*, *Oct4*). Ponadto w CSC, podobnie jak w prawidłowych komórkach macierzystych, aktywacji ulegają szlaki sygnałowe Notch, Hedgehog i Wnt. Obecnie uważa się, że CSC są odpowiedzialne nie tylko za powstawanie nowotworów, ale także za ich progresję, metastazę, oporność na leczenie i wznowę [4].

Wyniki wielu badań wskazują na udział BMI-1 w przeżyciu i samoodnowie zarówno prawidłowych, jak i nowotworowych komórek macierzystych. Lessard i Sauvageau [46] stwierdzili, że BMI-1 odgrywa podstawową rolę w regulacji proliferacji hematopoetycznych komórek macierzystych (HSC, hematopoietic stem cells) oraz białaczkowych komórek macierzystych (LSC, leukemic stem cells). W badaniach na mysim modelu białaczki wykazano, że białko Bmi-1 jest konieczne do proliferacji i utrzymania puli nowotworowych komórek macierzystych. W przypadku braku ekspresji Bmi-1 komórki tracą zdolność do samoodnowy, wykazują cechy różnicowania i apoptozy oraz nie są zdolne do inicjowania białaczki [46]. Stwierdzono również, że BMI-1 jest odpowiedzialny za przeprogramowanie komórek progenitorowych linii mieloidalnej w komórki białaczkowe [113].

Ekspresja BMI-1 jest wysoka w komórkach ludzkiego glejaka wielopostaciowego wykazujących ekspresję antygenu CD133. Wykazano, że BMI-1 hamuje w tych komórkach apoptozę oraz różnicowanie komórek w astrocycy. Ponadto stwierdzono, że BMI-1 reguluje samoodnowę komórek macierzystych glejaka i promuje wzrost guza [2].

Wpływ BMI-1 na zdolność nowotworowych komórek macierzystych do inicjowania powstawania nowotworów wykazano także w rakach wątrobowokomórkowym, stercza, krtani, żołądka, jamy nosowo-gardłowej i piersi [11,42,56,60,61,97,105,116]. Uważa się, że BMI-1 promuje samoodnowę komórek macierzystych i nowotworowych komórek macierzystych, m.in. przez represję *locus* INK4A/ARF, co wpływa na zaburzenie szlaków sygnałowych p16INK4a/Rb i ARF/p53 związanych z proliferacją, starzeniem się i apoptozą [11,25,66]. Prawdopodobnie istnieją też inne mechanizmy regulacyjne niezależne od INK4A/ARF. Fasano i wsp. [21] stwierdzili, że wyciszenie ekspresji *BMI1* w mysich neuronalnych komórkach

Tabela 1. Zmiany w ekspresji białka BMI-1 w wybranych nowotworach

Nowotwór	Metoda oznaczenia ekspresji BMI-1	Ekspresja w nowotworach w porównaniu z tkanką prawidłową	Związek z progresją choroby i prognozą	Źródło
Glejak	Immunohistochemia qRT-PCR Immunoblotting	↑	Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów	[47,62]
Rdzeniak	qRT-PCR	↑	Najwyższa ekspresja występowała w agresywnych subtypach rdzeniaków. Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów	[95,114]
Rak języka	Immunohistochemia	-/↑	Brak ekspresji BMI-1 koreluje z ze wzrostem ryzyka nawrotu choroby i obniżonym czasem przeżycia pacjentów. Wzrost ekspresji koreluje z przerzutami do węzłów chłonnych i gorszymi prognozami dla pacjenta	[32,52]
Rak jamy nosowo-gardłowej	Immunohistochemia	↑	Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów	[82]
Rak płuc	Immunohistochemia	↑	Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów z gruczolakorakiem płuc	[64,117]
Rak piersi	Immunohistochemia qRT-PCR	↑	Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów	[27,43,73]
Rak wątroby	Immunohistochemia qRT-PCR	↑	Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów	[18,50]
Rak jelita grubego	Immunohistochemia	↑	-	[17]
Rak pęcherza moczowego	Immunohistochemia	↑	Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z większym ryzykiem wznowy nowotworu i obniżonym czasem przeżycia pacjentów	[53,75]
Rak prostaty	Immunohistochemia qRT-PCR	↑	Nadekspresja BMI-1 występuje w nowotworach z wysokim współczynnikiem Gleasona. Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje ze większym ryzykiem wznowy i obniżonym czasem przeżycia pacjentów	[89]
Rak jajnika	Immunohistochemia qRT-PCR	↑	Wysoka ekspresja koreluje ze stopniem zaawansowania FIGO. Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów. Wyższa ekspresja występuje w guzach po wznowie nowotworu niż w guzach pierwotnych	[1,26]
Rak endometrium	Immunohistochemia qRT-PCR	-	Niska ekspresja występuje w guzach o wysokim stopniu histologicznej złośliwości oraz w guzach inwazyjnych. Brak związku między ekspresją BMI-1 a przeżywalnością wśród pacjentów	[19]
Rak trzustki	Imunohistochemia	↑	Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów	[85, 94]
Białaczki	qRT-PCR	↑	Wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z obniżonym czasem przeżycia pacjentów u pacjentów z przewlekłą i ostrą białaczką szpikową	[79]

macierzystych nie zwiększa ekspresji p16^{INK4A}/p19^{ARF}, wpływa natomiast na ekspresję inhibitora cyklu komórkowego p21^{CIP}[21]. BMI-1 może również zapobiegać różnicowaniu komórek macierzystych przez represję genów *HOX* [6].

Białko BMI-1 nie tylko promuje proliferację i samoodnowę nowotworowych komórek macierzystych, ale również wpływa na ich zdolności metastatyczne.

Wang i wsp. [94] stwierdzili, że BMI-1 w nowotworowych komórkach macierzystych trzustki przez supresję *PTEN* przyczynia się do aktywacji PI3K/AKT, co promuje ich zdolność do inwazji i metastazy [94]. Ponadto zwiększona ekspresja BMI-1 jest związana z chemioopornością nowotworowych komórek macierzystych. Stwierdzono, że komórki raka głowy i szyi o właściwościach komórek macierzystych, takich jak samoodnowa i wolna proliferacja są odpowiedzialne za oporność na

konwencjonalną chemioterapię. Cisplatyna indukuje ekspresję BMI-1 i przyczynia się do zwiększenia populacji komórek macierzystych [71]. Zhang i wsp. [115] wykazali zwiększoną oporność komórek raka jajnika na chemioterapię z wykorzystaniem chemioterapeutyków, takich jak paklitaksel i cisplatyna, w których dochodziło do nadekspresji markerów komórek macierzystych BMI-1, Notch-1, Nanog, OCT4 [115]. Wyciszenie ekspresji *BMI1* w komórkach raka nosogardła z ekspresją CD44 wykazujących cechy komórek macierzystych, przyczyniło się do znacznego zmniejszenia ich proliferacji, zdolności do tworzenia kolonii, migracji i inwazji oraz uwrażliwiło na cisplatynę [107]. Ponadto brak BMI-1 zwiększał radio-wrażliwość tych komórek. Naświetlanie takich komórek powodowało zatrzymanie cyklu komórkowego w punkcie kontrolnym G2/M, hamowało naprawę DNA i przyczyniło się do ekspresji p16, p14 oraz p53 i wzrostu apoptozy [106].

BMI-1 JAKO POTENCJALNY CEL TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Uwzględniając liczne dowody wskazujące na zaangażowanie *BMI1* w proces nowotworzenia, szczególnie z udziałem komórek macierzystych, gen wydaje się obiecującym celem terapii przeciwnowotworowych. Cao i wsp. [8] wykazali, że hamowanie ekspresji *BMI1* w komórkach HT1080 przez siRNA całkowicie pozbawia te komórki właściwości indukowania powstawania nowotworów po ich przeszczepieniu do atymicznych myszy. Sugeruje to, że zastosowanie technologii interferencji RNA skierowanej przeciwko *BMI1* może przynieść korzyści w terapii przeciwnowotworowej [8].

Chociaż obecnie nie ma swoistego inhibitora BMI-1, kilka stosowanych terapeutyków wpływa pośrednio na aktywność lub ekspresję BMI-1. Jednym z nich jest NVP-LDE-225/Erismodegib będący inhibitorem białka *smoothened* (SMO), które wchodzi w skład receptora błonowego oddziałującego z białkiem Sonic Hedgehog (SHH) i w związku z tym uczestniczy w aktywacji jednego z podstawowych szlaków sygnałowych w komórkach macierzystych. Nanta i wsp. [68] badając wpływ NVP-LDE-225 na nowotworowe komórki macierzyste stercza wykazali, że jednym ze skutków była indukcja miR-128, która przyczyniła się bezpośrednio do spadku ekspresji białka BMI-1 [68].

BMI-1 jest również pośrednim celem inhibitorów deacetylaz histonów. Bommi i wsp. [7] wykazali, że komórki raka piersi traktowane inhibitorami deacetylaz, takimi jak maślan sodu, kwas walproinowy oraz trichostatyna wykazywały obniżoną ekspresję BMI-1, czemu towarzyszył spadek ubikwitynylacji lizyny 119 histonu H2A [7]. Podobnie Jung i wsp. [44] wykazali wpływ obniżenia aktywności HDAC na ekspresję BMI-1 w ludzkich multipotencjalnych komórkach macierzystych [44]. Inhibitory HDAC wydają się wpływać na ekspresję BMI-1 pośrednio przez regulację swoistych mikroRNA. Wykazano, że dwa szeroko stosowane inhibitory HDAC maślan sodu i panobinostat zwiększają ekspresję miR-31 w komórkach raka piersi, co

przyczynia się do spadku ekspresji BMI-1 i indukcji procesu starzenia w tych komórkach [12].

Hamująco na ekspresję BMI-1 w komórkach macierzystych raka głowy i szyi wpływa salinomycyna [45]. Salinomycyna jest karboksylowym jonoforowym antybiotykem polieteryowym izolowanym ze *Streptomyces albus*, który jest skuteczny w zabijaniu chemioopornych komórek CSC różnych typów nowotworów [69]. Traktowanie komórek macierzystych raka głowy i szyi salinomycyną przyczyniło się do hamowania samoodnowy tych komórek i ich zdolności do tworzenia sferoid *in vitro* [45].

Innym związkiem wpływającym na ekspresję BMI-1 jest lek przeciwmalaryczny – artemizyna. Wiele badań wskazuje również na dużą aktywność przeciwnowotworową artemizyna oraz jej półsyntetycznego analogu artesunate. Wu i wsp. [101] stwierdzili, że w komórkach raka jamy nosowo-gardłowej artemizyna obniża ekspresję *BMI1* zarówno na poziomie mRNA jak i białka. Jednak wyciszenie w komórkach ekspresji *BMI1* powodowało, że komórki te były bardziej wrażliwe na artemizynę i dochodziło w nich do nasilenia indukcji ekspresji p16 oraz zmniejszenia aktywności CDK4. Wydaje się więc, że szlak BMI-1/p16/CDK4 może odpowiadać za zależne od artemizyny zatrzymanie komórek w fazie G1. Autorzy sugerują, że zastosowanie artemizyny z obniżeniem ekspresji *BMI1* może być skuteczne w terapii raka jamy nosowo-gardłowej [101].

Niektóre naturalnie występujące związki, takie jak kurkumina, eodyna czy 1,6,7-trihydroksyksanton, również wpływają na ekspresję BMI-1. Kurkumina jest składnikiem przyprawy curry otrzymywanym z kłącza ostrzyżu długiego (*Curcuma longa*), natomiast eodyna znajduje się w skórcie *Aloe vera*. Guo i wsp. [28] stwierdzili, że traktowanie komórek raka piersi jednocześnie kurkumina i eodyną powoduje wzrost poziomu miR-34a, które hamuje ekspresję *BMI1* i *BCL2* [28]. Fui i wsp. [22] wykazali, że 1,6,7-trihydroksyksanton występujący w roślinie *Goodyera oblongi folia* należącej do rodziny storczykowatych indukuje w komórkach raka wątroby miR-218, przez co dochodzi do represji *BMI1* [22].

PODSUMOWANIE

Wyniki wielu badań potwierdzają, że nadekspresja BMI-1 stwierdzona w różnych typach ludzkich nowotworów przyczynia się do wzrostu proliferacji, metastazy i chemiooporności komórek nowotworowych. W niektórych nowotworach wysoka ekspresja BMI-1 koreluje z ich zawaśnieniem i złymi rokowaniami. BMI-1 jest również jednym z najważniejszych regulatorów procesu różnicowania i samoodnowy nowotworowych komórek macierzystych, które są główną przyczyną oporności nowotworów na leczenie i powstawania wznowy. Badania *in vitro* i *in vivo* wskazują, że bezpośrednie wyciszenie ekspresji *BMI1* lub ograniczenie jego ekspresji przez indukcję określonych supresorowych mikroRNA redukuje

zdolność komórek CSC do samoodnowy i inicjowania nowotworów, a także właściwości metastatyczne komórek nowotworowych i chemiooporność. Wyniki tych badań sugerują więc, że *BMI1* może być obiecującym

celem terapii przeciwnowotworowych, tym bardziej cennym, że niewiele jest skutecznych strategii wymierzonych przeciwko nowotworowym komórkom macierzystym.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abd El Hafez A., El-Hadaad H.A.: Immunohistochemical expression and prognostic relevance of Bmi-1, a stem cell factor, in epithelial ovarian cancer. *Ann. Diagn. Pathol.*, 2014; 18: 58-62
- [2] Abdouh M., Facchino S., Chatoow W., Balasingam V., Ferreira J., Bernier G.: BMI1 sustains human glioblastoma multiforme stem cell renewal. *J. Neurosci.*, 2009; 29: 8884-8896
- [3] Aranda S., Mas G., Di Croce L.: Regulation of gene transcription by Polycomb proteins. *Sci. Adv.*, 2015; 1: e1500737
- [4] Bandhavkar S.: Cancer stem cells: a metastasizing menace! *Cancer Med.*, 2016; 5: 649-655
- [5] Bhattacharya R., Nicoloso M., Arvizo R., Wang E., Cortez A., Rossi S., Calin G.A., Mukherjee P.: MiR-15a and MiR-16 control Bmi-1 expression in ovarian cancer. *Cancer Res.*, 2009; 69: 9090-9095
- [6] Biehs B., Hu J.K., Strauli N.B., Sangiorgi E., Jung H., Heber R.P., Ho S., Goodwin A.F., Dasen J.S., Capecchi M.R., Klein O.D.: BMI1 represses *Ink4a/Arf* and *Hox* genes to regulate stem cells in the rodent incisor. *Nat. Cell Biol.*, 2013; 15: 846-852
- [7] Bommi P.V., Dimri M., Sahasrabudhe A.A., Khandekar J., Dimri G.P.: The polycomb group protein BMI1 is a transcriptional target of HDAC inhibitors. *Cell Cycle*, 2010; 9: 2663-2673
- [8] Cao L., Bombard J., Cintron K., Sheedy J., Weetall M.L., Davis T.W.: BMI1 as a novel target for drug discovery in cancer. *J. Cell. Biochem.*, 2011; 112: 2729-2741
- [9] Chen T., Xu C., Chen J., Ding C., Xu Z., Li C., Zhao J.: MicroRNA-203 inhibits cellular proliferation and invasion by targeting Bmi1 in non-small cell lung cancer. *Oncol. Lett.*, 2015; 9: 2639-2646
- [10] Cheng Y., Yang X., Deng X., Zhang X., Li P., Tao J., Lu Q.: MicroRNA-218 inhibits bladder cancer cell proliferation, migration, and invasion by targeting BMI-1. *Tumour Biol.*, 2015; 36: 8015-8023
- [11] Chiba T., Seki A., Aoki R., Ichikawa H., Negishi M., Miyagi S., Oguro H., Saraya A., Kamiya A., Nakauchi H., Yokosuka O., Iwama A.: Bmi1 promotes hepatic stem cell expansion and tumorigenicity in both *Ink4a/Arf*-dependent and - independent manners in mice. *Hepatology*, 2010; 52: 1111-1123
- [12] Cho J.H., Dimri M., Dimri G.P.: MicroRNA-31 is a transcriptional target of histone deacetylase inhibitors and a regulator of cellular senescence. *J. Biol. Chem.*, 2015; 290: 10555-10567
- [13] Chowdhury M., Mihara K., Yasunaga S., Ohtaki M., Takihara Y., Kimura A.: Expression of Polycomb-group (PcG) protein BMI-1 predicts prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2007; 21: 1116-1122
- [14] Cohen K.J., Hanna J.S., Prescott J.E., Dang C.V.: Transformation by the Bmi-1 oncoprotein correlates with its subnuclear localization but not its transcriptional suppression activity. *Mol. Cell. Biol.*, 1996; 16: 5527-5535
- [15] Dawood S., Austin L., Cristofanilli M.: Cancer stem cells: implications for cancer therapy. *Oncology*, 2014; 28: 1101-1107
- [16] Di Croce L., Helin K.: Transcriptional regulation by Polycomb group proteins. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2013; 20: 1147-1155
- [17] Du J., Li Y., Li J., Zheng J.: Polycomb group protein Bmi1 expression in colon cancers predicts the survival. *Med. Oncol.*, 2010; 27: 1273-1276
- [18] Effendi K., Mori T., Komuta M., Masugi Y., Du W., Sakamoto M.: Bmi-1 gene is upregulated in early-stage hepatocellular carcinoma and correlates with ATP-binding cassette transporter B1 expression. *Cancer Sci.*, 2010; 101: 666-672
- [19] Engelsen I.B., Mannelqvist M., Stefansson I.M., Carter S.L., Beroukhim R., Øyan A.M., Otte A.P., Kalland K.H., Akslen L.A., Salvesen H.B.: Low BMI-1 expression is associated with an activated BMI-1-driven signature, vascular invasion, and hormone receptor loss in endometrial carcinoma. *Br. J. Cancer*, 2008; 98: 1662-1669
- [20] Facchino S., Abdouh M., Chatoow W., Bernier G.: BMI1 confers radioresistance to normal and cancerous neural stem cells through recruitment of the DNA damage response machinery. *J. Neurosci.*, 2010; 30: 10096-10111
- [21] Fasano C.A., Dimos J.T., Ivanova N.B., Lowry N., Lemischka I.R., Temple S.: shRNA knockdown of Bmi-1 reveals a critical role for p21-Rb pathway in NSC self-renewal during development. *Cell Stem Cell*, 2007; 1: 87-99
- [22] Fu W.M., Tang L.P., Zhu X., Lu Y.F., Zhang Y.L., Lee W.Y., Wang H., Yu Y., Liang W.C., Ko C.H., Xu H.X., Kung H.F., Zhang J.F.: MiR-218-targeting-Bmi-1 mediates the suppressive effect of 1,6,7-trihydroxyxanthone on liver cancer cells. *Apoptosis*, 2015; 20: 75-82
- [23] Gieni R.S., Ismail I.H., Campbell S., Hendzel M.J.: Polycomb group proteins in the DNA damage response: a link between radiation resistance and "stemness". *Cell Cycle*, 2011; 10: 883-894
- [24] Ginjala V., Nacerddine K., Kulkarni A., Oza J., Hill S.J., Yao M., Citterio E., van Lohuizen M., Ganesan S.: BMI1 is recruited to DNA breaks and contributes to DNA damage-induced H2A ubiquitination and repair. *Mol. Cell. Biol.*, 2011; 31: 1972-1982
- [25] Grinstein E., Mahotka C.: Stem cell divisions controlled by the proto-oncogene BMI-1. *J. Stem Cells*, 2009; 4: 141-146
- [26] Gui T., Bai H., Zeng J., Zhong Z., Cao D., Cui Q., Chen J., Yang J., Shen K.: Tumor heterogeneity in the recurrence of epithelial ovarian cancer demonstrated by polycomb group proteins. *Onco. Targets Ther.*, 2014; 7: 1705-1716
- [27] Guo B.H., Feng Y., Zhang R., Xu L.H., Li M.Z., Kung H.F., Song L.B., Zeng M.S.: Bmi-1 promotes invasion and metastasis, and its elevated expression is correlated with an advanced stage of breast cancer. *Mol. Cancer*, 2011; 10: 10
- [28] Guo J., Li W., Shi H., Xie X., Li L., Tang H., Wu M., Kong Y., Yang L., Gao J., Liu P., Wei W., Xie X.: Synergistic effects of curcumin with emodin against the proliferation and invasion of breast cancer cells through upregulation of miR-34a. *Mol. Cell. Biochem.*, 2013; 382: 103-111
- [29] Guo S., Xu X., Tang Y., Zhang C., Li J., Ouyang Y., Ju J., Bie P., Wang H.: miR-15a inhibits cell proliferation and epithelial to mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma by down-regulating Bmi-1 expression. *Cancer Lett.*, 2014; 344: 40-46
- [30] Guo W.J., Datta S., Band V., Dimri G.P.: Mel-18, a polycomb group protein, regulates cell proliferation and senescence via transcriptional repression of Bmi-1 and c-Myc oncoproteins. *Mol. Biol. Cell*, 2007; 18: 536-546
- [31] Haupt Y., Bath M.L., Harris A.W., Adams J.M.: bmi-1 transgene induces lymphomas and collaborates with myc in tumorigenesis. *Oncogene*, 1993; 8: 3161-3164
- [32] Häyry V., Mäkinen L.K., Atula T., Sariola H., Mäkitie A., Leivo I., Keski-Säntti H., Lundin J., Haglund C., Hagström J.: Bmi-1 expression

predicts prognosis in squamous cell carcinoma of the tongue. *Br. J. Cancer*, 2010; 102: 892-897

[33] He X., Dong Y., Wu C.W., Zhao Z., Ng S.S., Chan F.K., Sung J.J., Yu J.: MicroRNA-218 inhibits cell cycle progression and promotes apoptosis in colon cancer by downregulating BMI1 polycomb ring finger oncogene. *Mol. Med.*, 2013; 18: 1491-1498

[34] Hoenerhoff M.J., Chu I., Barkan D., Liu Z.Y., Datta S., Dimri G.P., Green J.E.: BMI1 cooperates with H-RAS to induce an aggressive breast cancer phenotype with brain metastases. *Oncogene*, 2009; 28: 3022-3032

[35] Huang R., Cheung N.K., Vider J., Cheung I.Y., Gerald W.L., Tickle S.K., Holland E.C., Blasberg R.G.: MYCN and MYC regulate tumor proliferation and tumorigenesis directly through BMI1 in human neuroblastomas. *FASEB J.*, 2011; 25: 4138-4149

[36] Ismail I.H., Andrin C., McDonald D., Hendzel M.J.: BMI1-mediated histone ubiquitylation promotes DNA double-strand break repair. *J. Cell. Biol.*, 2010; 191: 45-60

[37] Ismail I.H., Gagné J.P., Caron M.C., McDonald D., Xu Z., Masson J.Y., Poirier G.G., Hendzel M.J.: CBX4-mediated SUMO modification regulates BMI1 recruitment at sites of DNA damage. *Nucleic Acids Res.*, 2012; 40: 5497-5510

[38] Itahana K., Zou Y., Itahana Y., Martinez J.L., Beausejour C., Jacobs J.J., Van Lohuizen M., Band V., Campisi J., Dimri G.P.: Control of the replicative life span of human fibroblasts by p16 and the polycomb protein Bmi-1. *Mol. Cell. Biol.*, 2003; 23: 389-401

[39] Jacobs J.J., Kieboom K., Marino S., DePinho R.A., van Lohuizen M.: The oncogene and Polycomb-group gene *bmi-1* regulates cell proliferation and senescence through the *ink4a* locus. *Nature*, 1999; 397: 164-168

[40] Jiang L., Song L., Wu J., Yang Y., Zhu X., Hu B., Cheng S.Y., Li M.: Bmi-1 promotes glioma angiogenesis by activating NF- κ B signaling. *PLoS One*, 2013; 8: e55527

[41] Jiang L., Wu J., Yang Y., Liu L., Song L., Li J., Li M.: Bmi-1 promotes the aggressiveness of glioma via activating the NF- κ B/MMP-9 signaling pathway. *BMC Cancer*, 2012; 12: 406

[42] Jin M., Zhang T., Liu C., Badeaux M.A., Liu B., Liu R., Jeter C., Chen X., Vlassov A.V., Tang D.G.: miRNA-128 suppresses prostate cancer by inhibiting BMI-1 to inhibit tumor-initiating cells. *Cancer Res.*, 2014; 74: 4183-4195

[43] Joensuu K., Hagström J., Leidenius M., Haglund C., Andersson L.C., Sariola H., Heikkilä P.: Bmi-1, c-myc, and Snail expression in primary breast cancers and their metastases – elevated Bmi-1 expression in late breast cancer relapses. *Virchows Arch.*, 2011; 459: 31-39

[44] Jung J.W., Lee S., Seo M.S., Park S.B., Kurtz A., Kang S.K., Kang K.S.: Histone deacetylase controls adult stem cell aging by balancing the expression of polycomb genes and jumonji domain containing 3. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2010; 67: 1165-1176

[45] Kuo S.Z., Blair K.J., Rahimy E., Kiang A., Abhold E., Fan J.B., Wang-Rodriguez J., Altuna X., Ongkeko W.M.: Salinomycin induces cell death and differentiation in head and neck squamous cell carcinoma stem cells despite activation of epithelial-mesenchymal transition and Akt. *BMC Cancer*, 2012; 12: 556

[46] Lessard J., Sauvageau G.: Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature*, 2003; 423: 255-260

[47] Li J., Gong L.Y., Song L.B., Jiang L.L., Liu L.P., Wu J., Yuan J., Cai J.C., He M., Wang L., Zeng M., Cheng S.Y., Li M.: Oncoprotein Bmi-1 renders apoptotic resistance to glioma cells through activation of the IKK-nuclear factor- κ B pathway. *Am. J. Pathol.*, 2010; 176: 699-709

[48] Li S.K., Smith D.K., Leung W.Y., Cheung A.M., Lam E.W., Dimri G.P., Yao K.M.: FoxM1c counteracts oxidative stress-induced senescence and stimulates Bmi-1 expression. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 16545-16553

[49] Li W., Li Y., Tan Y., Ma K., Cui J.: Bmi-1 is critical for the proliferation and invasiveness of gastric carcinoma cells. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2010; 25: 568-575

[50] Li X., Yang Z., Song W., Zhou L., Li Q., Tao K., Zhou J., Wang X., Zheng Z., You N., Dou K., Li H.: Overexpression of Bmi-1 contributes to the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by increasing the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and vascular endothelial growth factor via the PTEN/PI3K/Akt pathway. *Int. J. Oncol.*, 2013; 43: 793-802

[51] Li Z., Cao R., Wang M., Myers M.P., Zhang Y., Xu R.M.: Structure of a Bmi-1-Ring1B polycomb group ubiquitin ligase complex. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 20643-20649

[52] Li Z., Wang Y., Yuan C., Zhu Y., Qiu J., Zhang W., Qi B., Wu H., Ye J., Jiang H., Yang J., Cheng J.: Oncogenic roles of Bmi1 and its therapeutic inhibition by histone deacetylase inhibitor in tongue cancer. *Lab. Invest.*, 2014; 94: 1431-1445

[53] Liang W., Zhu D., Cui X., Su J., Liu H., Han J., Zhao F., Xie W.: Knock-down BMI1 expression inhibits proliferation and invasion in human bladder cancer T24 cells. *Mol. Cell. Biochem.*, 2013; 382: 283-291

[54] Lin X., Ojo D., Wei F., Wong N., Gu Y., Tang D.: A novel aspect of tumorigenesis-BMI1 functions in regulating DNA damage response. *Biomolecules*, 2015; 5: 3396-3415

[55] Liu J., Cao L., Chen J., Song S., Lee I.H., Quijano C., Liu H., Keyvanfar K., Chen H., Cao L.Y., Ahn B.H., Kumar N.G., Rovira I.I., Xu X.L., van Lohuizen M., Motoyama N., Deng C.X., Finkel T.: Bmi1 regulates mitochondrial function and the DNA damage response pathway. *Nature*, 2009; 459: 387-392

[56] Liu S., Dontu G., Mantle I.D., Patel S., Ahn N.S., Jackson K.W., Suri P., Wicha M.S.: Hedgehog signaling and Bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells. *Cancer Res.*, 2006; 66: 6063-6071

[57] Liu S., Tetzlaff M.T., Cui R., Xu X.: miR-200c inhibits melanoma progression and drug resistance through down-regulation of BMI-1. *Am. J. Pathol.*, 2012; 181: 1823-1835

[58] Liu Y., Liu F., Yu H., Zhao X., Sashida G., Deblasio A., Harr M., She Q.B., Chen Z., Lin H.K., Di Giandomenico S., Elf S.E., Yang Y., Miyata Y., Huang G. i wsp.: Akt phosphorylates the transcriptional repressor Bmi1 to block its effects on the tumor-suppressing *Ink4a-Arf* locus. *Sci. Signal.*, 2012; 5: ra77

[59] Lo W.L., Yu C.C., Chiou G.Y., Chen Y.W., Huang P.I., Chien C.S., Tseng L.M., Chu P.Y., Lu K.H., Chang K.W., Kao S.Y., Chiou S.H.: MicroRNA-200c attenuates tumour growth and metastasis of presumptive head and neck squamous cell carcinoma stem cells. *J. Pathol.*, 2011; 223: 482-495

[60] Lukacs R.U., Memarzadeh S., Wu H., Witte O.N.: Bmi-1 is a crucial regulator of prostate stem cell self-renewal and malignant transformation. *Cell Stem Cell*, 2010; 7: 682-693

[61] Ma J., Lanza D.G., Guest I., Uk-Lim C., Glinskii A., Glinsky G., Sell S.: Characterization of mammary cancer stem cells in the MMTV-PyMT mouse model. *Tumour Biol.*, 2012; 33: 1983-1996

[62] Madathan Kandy S., Ishwara Bhat D., Choppavarapu L., Suvaatha A., Ghati Kasturirangan C.: Overexpression and lack of copy number variation in the BMI-1 gene in human glioma. *Oncol. Lett.*, 2015; 10: 3318-3322

[63] Martínez-Fernández M., Dueñas M., Feber A., Segovia C., García-Escudero R., Rubio C., López-Calderón F.F., Díaz-García C., Villacampa F., Duarte J., Gómez-Rodríguez M.J., Castellano D., Rodríguez-Peralto J.L., de la Rosa F., Beck S., Paramio J.M.: A Polycomb-mir200 loop regulates clinical outcome in bladder cancer. *Oncotarget*, 2015; 6: 42258-42275

[64] Meng X., Wang Y., Zheng X., Liu C., Su B., Nie H., Zhao B., Zhao X., Yang H.: shRNA-mediated knockdown of Bmi-1 inhibit lung adenocarcinoma cell migration and metastasis. *Lung Cancer*, 2012; 77: 24-30

- [65] Mohty M., Yong A.S., Szydło R.M., Apperley J.F., Melo J.V.: The polycomb group BMI1 gene is a molecular marker for predicting prognosis of chronic myeloid leukemia. *Blood*, 2007; 110: 380-383
- [66] Molofsky A.V., He S., Bydon M., Morrison S.J., Pardoll R.: Bmi-1 promotes neural stem cell self-renewal and neural development but not mouse growth and survival by repressing the p16Ink4a and p19Arf senescence pathways. *Genes Dev.*, 2005; 19: 1432-1437
- [67] Nacerddine K., Beaudry J.B., Ginjala V., Westerman B., Mattioli F., Song J.Y., van der Poel H., Ponz O.B., Pritchard C., Cornelissen-Steijger P., Zevenhoven J., Tanger E., Sixma T.K., Ganesan S., van Lohuizen M.: Akt-mediated phosphorylation of Bmi1 modulates its oncogenic potential, E3 ligase activity, and DNA damage repair activity in mouse prostate cancer. *J. Clin. Invest.*, 2012; 122: 1920-1932
- [68] Nanta R., Kumar D., Meeker D., Rodova M., Van Veldhuizen P.J., Shankar S., Srivastava R.K.: NVP-LDE-225 (Erismodegib) inhibits epithelial-mesenchymal transition and human prostate cancer stem cell growth in NOD/SCID IL2R γ null mice by regulating Bmi-1 and microRNA-128. *Oncogenesis*, 2013; 2: e42
- [69] Naujokat C., Steinhart R.: Salinomycin as a drug for targeting human cancer stem cells. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2012; 2012: 950658
- [70] Nishida Y., Maeda A., Chachad D., Ishizawa J., Qiu Y.H., Kornblau S.M., Kimura S., Andreeff M., Kojima K.: Preclinical activity of the novel B-cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1 inhibitor PTC-209 in acute myeloid leukemia: Implications for leukemia therapy. *Cancer Sci.*, 2015; 106: 1705-1713
- [71] Nör C., Zhang Z., Warner K.A., Bernardi L., Visioli F., Helman J.I., Roesler R., Nör J.E.: Cisplatin induces Bmi-1 and enhances the stem cell fraction in head and neck cancer. *Neoplasia*, 2014; 16: 137-146
- [72] Nowak K., Kerl K., Fehr D., Kramps C., Gessner C., Killmer K., Samans B., Berwanger B., Christiansen H., Lutz W.: BMI1 is a target gene of E2F-1 and is strongly expressed in primary neuroblastomas. *Nucleic Acids Res.*, 2006; 34: 1745-1754
- [73] Paranjape A.N., Balaji S.A., Mandal T., Krushik E.V., Nagaraj P., Mukherjee G., Rangarajan A.: Bmi1 regulates self-renewal and epithelial to mesenchymal transition in breast cancer cells through Nanog. *BMC Cancer*, 2014; 14: 785
- [74] Polyarchou C., Iliopoulos D., Struhl K.: An integrated transcriptional regulatory circuit that reinforces the breast cancer stem cell state. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 14470-14475
- [75] Qin Z.K., Yang J.A., Ye Y.L., Zhang X., Xu L.H., Zhou F.J., Han H., Liu Z.W., Song L.B., Zeng M.S.: Expression of Bmi-1 is a prognostic marker in bladder cancer. *BMC Cancer*, 2009; 9: 61
- [76] Raaphorst F.M.: Deregulated expression of Polycomb-group oncogenes in human malignant lymphomas and epithelial tumors. *Hum. Mol. Genet.*, 2005; 14 (Suppl.): R93-R100
- [77] Sahasrabudhe A.A.: BMI1: a biomarker of hematologic malignancies. *Biomark. Cancer*, 2016; 8: 65-75
- [78] Sahasrabudhe A.A., Dimri M., Bommi P.V., Dimri G.P.: β TrCP regulates BMI1 protein turnover via ubiquitination and degradation. *Cell Cycle*, 2011; 10: 1322-1330
- [79] Saady N.S., Fawzy I.M., Azmy E., Goda E.F., Eneen A., Abdul Salam E.M.: BMI1 gene expression in myeloid leukemias and its impact on prognosis. *Blood Cells Mol. Dis.*, 2014; 53: 194-198
- [80] Sauvageau M., Sauvageau G.: Polycomb group proteins: multi-faceted regulators of somatic stem cells and cancer. *Cell Stem Cell*, 2010; 7: 299-313
- [81] Siddique H.R., Saleem M.: Role of BMI1, a stem cell factor, in cancer recurrence and chemoresistance: preclinical and clinical evidences. *Stem Cells*, 2012; 30: 372-378
- [82] Song L.B., Li J., Liao W.T., Feng Y., Yu C.P., Hu L.J., Kong Q.L., Xu L.H., Zhang X., Liu W.L., Li M.Z., Zhang L., Kang T.B., Fu L.W., Huang W.L. i wsp.: The polycomb group protein Bmi-1 represses the tumor suppressor PTEN and induces epithelial-mesenchymal transition in human nasopharyngeal epithelial cells. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 3626-3636
- [83] Song L.B., Zeng M.S., Liao W.T., Zhang L., Mo H.Y., Liu W.L., Shao J.Y., Wu Q.L., Li M.Z., Xia Y.F., Fu L.W., Huang W.L., Dimri G.P., Band V., Zeng Y.X.: Bmi-1 is a novel molecular marker of nasopharyngeal carcinoma progression and immortalizes primary human nasopharyngeal epithelial cells. *Cancer Res.*, 2006; 66: 6225-6232
- [84] Song S.J., Polisenio L., Song M.S., Ala U., Webster K., Ng C., Beringer G., Brikbak N.J., Yuan X., Cantley L.C., Richardson A.L., Pandolfi P.P.: MicroRNA-antagonism regulates breast cancer stemness and metastasis via TET-family-dependent chromatin remodeling. *Cell*, 2013; 154: 311-324
- [85] Song W., Tao K., Li H., Jin C., Song Z., Li J., Shi H., Li X., Dang Z., Dou K.: Bmi-1 is related to proliferation, survival and poor prognosis in pancreatic cancer. *Cancer Sci.*, 2010; 101: 1754-1760
- [86] Sugihara H., Ishimoto T., Watanabe M., Sawayama H., Iwatsuki M., Baba Y., Komohara Y., Takeya M., Baba H.: Identification of miR-30e* regulation of Bmi1 expression mediated by tumor-associated macrophages in gastrointestinal cancer. *PLoS One*, 2013; 8: e81839
- [87] Sun P., Mu Y., Zhang S.: A novel NF- κ B/MMP-3 signal pathway involves in the aggressivity of glioma promoted by Bmi-1. *Tumour Biol.*, 2014; 35: 12721-12727
- [88] Tu Y., Gao X., Li G., Fu H., Cui D., Liu H., Jin W., Zhang Y.: MicroRNA-218 inhibits glioma invasion, migration, proliferation, and cancer stem-like cell self-renewal by targeting the polycomb group gene Bmi1. *Cancer Res.*, 2013; 73: 6046-6055
- [89] van Leenders G.J., Dukers D., Hessels D., van den Kieboom S.W., Hulsbergen C.A., Witjes J.A., Otte A.P., Meijer C.J., Raaphorst F.M.: Polycomb-group oncogenes EZH2, BMI1, and RING1 are overexpressed in prostate cancer with adverse pathologic and clinical features. *Eur. Urol.*, 2007; 52: 455-463
- [90] Voncken J.W., Niessen H., Neufeld B., Rennefahrt U., Dahlmans V., Kubben N., Holzer B., Ludwig S., Rapp U.R.: MAPKAP kinase 3pK phosphorylates and regulates chromatin association of the polycomb group protein Bmi1. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 5178-5187
- [91] Wang E., Bhattacharyya S., Szabolcs A., Rodriguez-Aguayo C., Jennings N.B., Lopez-Berestein G., Mukherjee P., Sood A.K., Bhattacharya R.: Enhancing chemotherapy response with Bmi-1 silencing in ovarian cancer. *PLoS One*, 2011; 6: e17918
- [92] Wang H.B., Liu G.H., Zhang H., Xing S., Hu L.J., Zhao W.F., Xie B., Li M.Z., Zeng B.H., Li Y., Zeng M.S.: Sp1 and c-Myc regulate transcription of BMI1 in nasopharyngeal carcinoma. *FEBS J.*, 2013; 280: 2929-2944
- [93] Wang L., Liu J.L., Yu L., Liu X.X., Wu H.M., Lei F.Y., Wu S., Wang X.: Downregulated miR-495 inhibits the G1-S phase transition by targeting Bmi-1 in breast cancer. *Medicine*, 2015; 94: e718
- [94] Wang M.C., Jiao M., Wu T., Jing L., Cui J., Guo H., Tian T., Ruan Z.P., Wei Y.C., Jiang L.L., Sun H.F., Huang L.X., Nan K.J., Li C.L.: Polycomb complex protein BMI-1 promotes invasion and metastasis of pancreatic cancer stem cells by activating PI3K/AKT signaling, an *ex vivo*, *in vitro*, and *in vivo* study. *Oncotarget*, 2016; 7: 9586-9599
- [95] Wang X., Venugopal C., Manoranjan B., McFarlane N., O'Farrell E., Nolte S., Gunnarsson T., Hollenberg R., Kwiciej J., Northcott P., Taylor M.D., Hawkins C., Singh S.K.: Sonic hedgehog regulates Bmi1 in human medulloblastoma brain tumor-initiating cells. *Oncogene*, 2012; 31: 187-199
- [96] Wei F., Ojo D., Lin X., Wong N., He L., Yan J., Xu S., Major P., Tang D.: BMI1 attenuates etoposide-induced G2/M checkpoints via reducing ATM activation. *Oncogene*, 2015; 34: 3063-3075
- [97] Wei X., He J., Wang J., Yang X., Ma B.: Bmi-1 is essential for the oncogenic potential in CD133⁺ human laryngeal cancer cells. *Tumour Biol.*, 2015; 36: 8931-8942
- [98] Wei Y., Du Y., Chen X., Li P., Wang Y., Zang W., Zhao L., Li Z., Zhao

- G.: Expression patterns of microRNA-218 and its potential functions by targeting CIP2A and BMI1 genes in melanoma. *Tumour Biol.*, 2014; 35: 8007-8015
- [99] Wu C., Zheng X., Li X., Fesler A., Hu W., Chen L., Xu B., Wang Q., Tong A., Burke S., Ju J., Jiang J.: Reduction of gastric cancer proliferation and invasion by miR-15a mediated suppression of Bmi-1 translation. *Oncotarget*, 2016; 7: 14522-14536
- [100] Wu C.Y., Kang H.Y., Yang W.L., Wu J., Jeong Y.S., Wang J., Chan C.H., Lee S.W., Zhang X., Lamothe B., Campos A.D., Darnay B.G., Lin H.K.: Critical role of monoubiquitination of histone H2AX protein in histone H2AX phosphorylation and DNA damage response. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 30806-30815
- [101] Wu J., Hu D., Yang G., Zhou J., Yang C., Gao Y., Zhu Z.: Down-regulation of BMI-1 cooperates with artemisinin on growth inhibition of nasopharyngeal carcinoma cells. *J. Cell. Biochem.*, 2011; 112: 1938-1948
- [102] Wu K.J., Yang M.H.: Epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness: the Twist1-Bmi1 connection. *Biosci. Rep.*, 2011; 31: 449-455
- [103] Xie X., Piao L., Cavey G.S., Old M., Teknos T.N., Mapp A.K., Pan Q.: Phosphorylation of Nanog is essential to regulate Bmi1 and promote tumorigenesis. *Oncogene*, 2014; 33: 2040-2052
- [104] Xu L., Li Y., Yan D., He J., Liu D.: MicroRNA-183 inhibits gastric cancer proliferation and invasion via directly targeting Bmi-1. *Oncol. Lett.*, 2014; 8: 2345-2351
- [105] Xu X., Liu Y., Su J., Li D., Hu J., Huang Q., Lu M., Liu X., Ren J., Chen W., Sun L.: Downregulation of Bmi-1 is associated with suppressed tumorigenesis and induced apoptosis in CD44⁺ nasopharyngeal carcinoma cancer stem-like cells. *Oncol. Rep.*, 2016; 35: 923-931
- [106] Xu X.H., Liu X.Y., Su J., Li D.J., Huang Q., Lu M.Q., Yi F., Ren J.H., Chen W.H.: ShRNA targeting Bmi-1 sensitizes CD44⁺ nasopharyngeal cancer stem-like cells to radiotherapy. *Oncol. Rep.*, 2014; 32: 764-770
- [107] Xu X.H., Liu Y., Li D.J., Hu J., Su J., Huang Q., Lu M.Q., Yi F., Bao D., Fu Y.Z.: Effect of shRNA-mediated gene silencing of Bmi-1 expression on chemosensitivity of CD44⁺ nasopharyngeal carcinoma cancer stem-like cells. *Technol. Cancer Res. Treat.*, 2016; 15: NP27-NP39
- [108] Yadav A.K., Sahasrabudhe A.A., Dimri M., Bommi P.V., Sainger R., Dimri G.P.: Deletion analysis of BMI1 oncoprotein identifies its negative regulatory domain. *Mol. Cancer*, 2010; 9: 158
- [109] Yang J., Chai L., Liu F., Fink L.M., Lin P., Silberstein L.E., Amin H.M., Ward D.C., Ma Y.: Bmi-1 is a target gene for SALL4 in hematopoietic and leukemic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 10494-10499
- [110] Yin T., Wei H., Leng Z., Yang Z., Gou S., Wu H., Zhao G., Hu X., Wang C.: Bmi-1 promotes the chemoresistance, invasion and tumorigenesis of pancreatic cancer cells. *Chemotherapy*, 2011; 57: 488-496
- [111] Yu J., Lu Y., Cui D., Li E., Zhu Y., Zhao Y., Zhao F., Xia S.: miR-200b suppresses cell proliferation, migration and enhances chemosensitivity in prostate cancer by regulating Bmi-1. *Oncol. Rep.*, 2014; 31: 910-918
- [112] Yu T., Chen X., Zhang W., Colon D., Shi J., Napier D., Rychahou P., Lu W., Lee E.Y., Weiss H.L., Evers B.M., Liu C.: Regulation of the potential marker for intestinal cells, Bmi1, by β -catenin and the zinc finger protein KLF4: implications for colon cancer. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 3760-3768
- [113] Yuan J., Takeuchi M., Negishi M., Oguro H., Ichikawa H., Iwama A.: Bmi1 is essential for leukemic reprogramming of myeloid progenitor cells. *Leukemia*, 2011; 25: 1335-1343
- [114] Zakrzewska M., Zakrzewski K., Grešner S.M., Piaskowski S., Zalewska-Szewczyk B., Liberski P.P.: Polycomb genes expression as a predictor of poor clinical outcome in children with medulloblastoma. *Childs Nerv. Syst.*, 2011; 27: 79-86
- [115] Zhang S., Balch C., Chan M.W., Lai H.C., Matei D., Schilder J.M., Yan P.S., Huang T.H., Nephew K.P.: Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res.*, 2008; 68: 4311-4320
- [116] Zhang X., Guo W., Wang X., Liu X., Huang M., Gan L., Cheng Y., Li J.: Antitumor activity and inhibitory effects on cancer stem cell-like properties of Adeno-associated virus (AAV) - mediated Bmi-1 interference driven by Bmi-1 promoter for gastric cancer. *Oncotarget*, 2016; 7: 22733-22745
- [117] Zhang X., Sun J., Wang H., Lou Y., Zhang Y., Sha H., Feng J., Han B.: IGF-1R and Bmi-1 expressions in lung adenocarcinoma and their clinicopathologic and prognostic significance. *Tumour Biol.*, 2014; 35: 739-745
- [118] Zhou L., Zhang W.G., Wang D.S., Tao K.S., Song W.J., Dou K.F.: MicroRNA-183 is involved in cell proliferation, survival and poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating Bmi-1. *Oncol. Rep.*, 2014; 32: 1734-1740
- [119] Zhu G., Wang Y., Mijiti M., Wang Z., Wu P.F., Jiafu D.: Upregulation of miR-130b enhances stem cell-like phenotype in glioblastoma by inactivating the Hippo signaling pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015; 465: 194-199

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.