

BCL3转录共激活因子的亚细胞定位研究

谢业成¹ 郭仪琳¹ 李雪露¹ 高静涛¹ 张硕¹ 段良伟^{1,2} 牛玉娜^{1,2*}

(¹新乡医学院医学检验学院, 新乡 453003; ²河南省免疫与靶向药物重点实验室, 新乡 453003)

摘要 BCL3转录共激活因子(BCL3 transcription coactivator)通过与p50或p52同型二聚体结合,发挥调节细胞周期、促进细胞存活和抗细胞凋亡的生物学功能。*BCL3*基因的异常表达与多种恶性肿瘤的发生、发展相关。研究表明,BCL3在细胞中的定位与功能相关,然而其亚细胞定位和调节机制尚不清楚。该研究旨在探讨BCL3蛋白在HeLa细胞中的亚细胞定位。首先,通过数据库和在线软件预测BCL3的亚细胞定位;然后,构建*BCL3*的缺失突变体表达质粒,用其转染HeLa细胞,利用Western blot检测蛋白表达情况;最后,用间接免疫荧光实验标记高尔基体、线粒体和内质网,共聚焦荧光显微镜观察BCL3与细胞器的共定位情况。结果表明,BCL3在细胞中分别呈现弥散状、斑点状和核定位型三种形状;N-端结构域(134–237 aa)在BCL3蛋白的核定位中起决定性作用,C-端结构域(338–454 aa)影响BCL3蛋白形成斑点状;BCL3与内质网呈现高比例的共定位。该研究揭示了BCL3的亚细胞定位及其决定结构域,为深入研究该分子的功能奠定了基础。

关键词 BCL3转录共激活因子;亚细胞定位;内质网;高尔基体

Investigation on Subcellular Localization of BCL3 Transcription Coactivator

XIE Yecheng¹, GUO Yilin¹, LI Xuelu¹, GAO Jingtao¹, ZHANG Shuo¹, DUAN Liangwei^{1,2}, NIU Yuna^{1,2*}

(¹Department of Laboratory Medicine, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China;

²Henan Key Laboratory of Immunology and Targeted Drugs, Xinxiang 453003, China)

Abstract BCL3 transcriptional coactivator functions through binding with p50 or p52 homodimers, which plays roles in regulating cell cycle, promoting cell survival and inhibiting cell apoptosis. It has been revealed that abnormal expression of *BCL3* proto-oncogene correlates with the occurrence and development of many cancers. Localization of BCL3 in cells is related to its function, while its subcellular localization and regulatory mechanism are still unclear. The aim of this study was to investigate the subcellular localization of BCL3 transcription coactivator in HeLa cells. Predication of subcellular localization of BCL3 protein was carried out using database and online software. A series of *BCL3* gene deletion mutants were constructed and transfected into HeLa cells, and protein expression was confirmed by Western blot. Golgi, mitochondria and endoplasmic reticulum were labeled by indirect immunofluorescence assay, and the co-localization of BCL3 with these organelles was observed by confocal fluorescence microscopy. The results showed that BCL3 protein was dispersed, spotted and nuclear localized in different cells; the N-terminal domain (134–237 aa) played a decisive role in the nuclear localization of BCL3 protein; the C-terminal domain (338–454 aa) affected the formation of BCL3 protein spots; BCL3 and endoplasmic reticulum showed a high proportion of co-localization. These findings revealed the subcellular localization of BCL3

收稿日期: 2021-05-11

接受日期: 2021-06-16

国家自然科学基金(批准号: 81701554)和河南省高等学校重点科研项目(批准号: 21A310011)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0373-3029977, E-mail: niuyuna@126.com

Received: May 11, 2021

Accepted: June 16, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81701554) and the Key Scientific Research Projects of Colleges and Universities in Henan Province (Grant No.21A310011)

*Corresponding author. Tel: +86-373-3029977, E-mail: niuyuna@126.com

and its determining domain, which provided a basis for further studying the function of BCL3.

Keywords BCL3 transcription coactivator; subcellular localization; endoplasmic reticulum; Golgi

B细胞慢性淋巴细胞白血病/淋巴瘤因子3(B-cell CLL/lymphoma 3, *BCL3*)基因在白血病患者中首次被发现,与伴有t(14;19)染色体易位的慢性B细胞白血病有关^[1]。在乳腺癌、鼻咽癌、肺癌和前列腺癌等多种实体瘤中,*BCL3*表现出不依赖t(14;19)染色体易位的过度表达,促使肿瘤的发生与耐药^[2-5]。人*BCL3* ORF全长1 365 bp,编码的蛋白为454 aa,其氨基酸序列与NF- κ B抑制因子(NF- κ B inhibitors, I κ B)家族成员高度相似。*BCL3*蛋白在结构上可分为3个功能区域: N-端,含有核定位序列(nuclear localization signal, NLS);中间区域,含有7个锚蛋白重复序列(ankyrin repeats),其中1~4锚蛋白重复序列负责与NF- κ B结合; C-端,含有转录激活结构域^[6]。细胞核内的*BCL3*作为转录辅助因子与p50或p52同型二聚体结合,激活或抑制相应靶基因的表达,从而发挥促癌作用^[6-7]。除了能与NF- κ B因子结合之外,*BCL3*还可通过蛋白质之间的相互作用,桥连其他转录调节因子参与基因转录的激活或抑制,如与转录共激活因子Tip60结合激活基因的转录,而与对转录有负调控作用的HADC1/3、HADC6结合则会抑制基因的转录^[8-11]。由此可见,最初的命名已不能完全反映该基因的功能,于是2020年在GeneBank数据库中*BCL3*基因的名字被改为BCL3转录共激活因子(BCL3 transcription coactivator)。

细胞免疫荧光实验表明,胞质和胞核中均含有*BCL3*蛋白,定位于细胞核内的*BCL3*通过与NF- κ B或其他转录因子结合,调节炎症反应、增殖与迁移等细胞进程;而胞质型*BCL3*的作用尚不清楚^[12]。此外,*BCL3*在细胞质中的定位也与癌症有关。*BCL3*在乳腺癌细胞核内的蛋白水平显著高于癌旁组织细胞核。比较有趣的是,在结肠癌患者人群中*BCL3*主要定位于细胞质中,而在癌旁组织细胞里*BCL3*以核定位为主,*BCL3*的细胞质定位及其在细胞质内的水平与结肠癌的早期诊断和预后有关^[13]。由此可见,*BCL3*通过核内转录途径或胞质中的非转录途径在不同的肿瘤中发挥作用。位于N-端的NLS序列是*BCL3*入核的前提条件,*BCL3*最终入核还需要受到磷酸化和泛素化的修饰^[6]。虽然也有文献报道,*BCL3*在细胞质中呈现斑点状分布,但其在细胞质中的具

体功能和确切的亚细胞定位仍然未知^[6]。本文通过细胞免疫荧光、片段缺失突变构建、激光共聚焦显微镜法,分别检测了*BCL3*的亚细胞定位,为进一步研究*BCL3*基因的功能奠定了基础,也有助于对其功能做出合理解释。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

人宫颈癌细胞株HeLa、人肾上皮细胞293T、T淋巴细胞株MT2均为本实验室保存。*BCL3*基因的cDNA克隆购自北京义翘神州生物技术有限公司; DMEM培养基、RPMI-1640培养基、胎牛血清和胰蛋白酶-EDTA(Trypsin-EDTA)购自BI公司; 线粒体红色荧光探针MitoTracker Red购自Thermo Fisher公司; 内质网红色荧光探针ER-Tracker Red购自碧云天生物技术有限公司; *BCL3*、MG130、PDI抗体购自Cell Signaling Technology公司; GAPDH抗体购自Abcam公司; 其他常规试剂均为国产分析纯。激光共聚焦显微镜为日本尼康公司的Eclipse Ti2成像系统。

1.2 载体构建

p5'Flag是本实验室以pcDNA3.1为基础自行构建的载体。通过PCR扩增获得*EGFP* ORF片段(不含3'端的终止子),在*Cla* I/*Eco*R I酶切位点将其连入p5'Flag,以构建pEGFP载体。以人*BCL3* cDNA克隆为模板,使用PCR扩增获得*BCL3* ORF全长及突变体,在*Eco*R I/*Xho* I位点将其分别连入pEGFP载体,使之位于*EGFP* ORF下游,从而构建EGFP-*BCL3*融合表达载体。所有载体及表达情况均经过Sanger和Western blot测序验证。载体构建所用引物见表1。

1.3 细胞培养、转染与制片

细胞培养: HeLa和293T细胞使用DMEM培养基培养,MT2细胞使用RPMI-1640培养基,培养时培养基中添加10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μ g/mL链霉素,细胞放在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养。

细胞转染: 常规培养HeLa细胞至对数生长期后,将其接种于底部放置细胞爬片的24孔板中,1.2 \times 10⁵个/孔,过夜培养。第二天,更换为不含双抗的新鲜培养基,每孔使用0.8 μ g去内毒素质粒和

表1 扩增BCL3 ORF全长及突变体的引物

Table 1 Primers used for amplification of full ORF and mutant of BCL3

引物名称 Primer name	序列(5'→3') Sequence (5'→3')	酶切位点 Enzyme cutting site	产生的片段 Generated fragment
EGFP-F	CCA TCG ATA TGG TGA GCA AGG GCG	<i>Cla</i> I	The total length of
EGFP-R	CGG AAT TCC TTG TAC AGC TCG TCC A	<i>Eco</i> R I	EGFP was 239 aa
BCL3-F	CGG AAT TCA TGG ACG AGG GGC CCG	<i>Eco</i> R I	The total length of
BCL3-R	CCG CTC GAG TCA GCT GCC TCC TGG A	<i>Xho</i> I	BCL3 was 454 aa
BCL3 Δ 50-F	CGG AAT TCA TGC CCC GAT GCC CCG	<i>Eco</i> R I	Delete 1-50 aa
BCL3-R	CCG CTC GAG TCA GCT GCC TCC TGG A	<i>Xho</i> I	
BCL3 Δ 133-F	CGG AAT TCG ACG GAG ACA CGC CTC	<i>Eco</i> R I	Delete 1-133 aa
BCL3-R	CCG CTC GAG TCA GCT GCC TCC TGG A	<i>Xho</i> I	
BCL3 Δ 237-F	CGG AAT TCG ACG GGC TCA CCG CCC	<i>Eco</i> R I	Delete 1-237 aa
BCL3-R	CCG CTC GAG TCA GCT GCC TCC TGG A	<i>Xho</i> I	
BCL3 Δ 337-F	CGG AAT TCA AGA ACT GCC ACA ACG	<i>Eco</i> R I	Delete 1-337 aa
BCL3-R	CCG CTC GAG TCA GCT GCC TCC TGG A	<i>Xho</i> I	
BCL3-F	CGG AAT TCA TGC CCC GAT GCC CCG	<i>Eco</i> R I	Delete 338-454 aa
BCL3 Δ C-R	CCG CTC GAG TCA GAG GCT GCT GTC AGC G	<i>Xho</i> I	

2 μ L Lipofectamine 2000, 按照说明书进行转染。转染24~36 h后, 根据EGFP的表达情况评估转染效率。

制片: 吸弃24孔板中的培养基, 用PBS清洗以去掉死细胞, 加入200 μ L DAPI(5 μ g/mL)染液标记细胞核, 染色10 min。弃掉DAPI染液, 加入4%的多聚甲醛固定30 min, 用PBS清洗。使用镊子小心取出玻片, 使细胞面向下, 放置在载玻片上, 用指甲油封片, 以避免产生气泡。在激光共聚焦显微镜下观察。

1.4 间接免疫荧光实验

将处于对数生长期的细胞接种于底部放置爬片的24孔板中, 1.5 \times 10⁵个/孔, 37 $^{\circ}$ C培养。待细胞贴壁后, 吸去培养基, 用PBS洗涤2次, 加入4%的多聚甲醛固定。加入含有0.2% Triton X-100的PBS进行破膜, 静置5 min, PBS洗涤2次。加入200 μ L BSA(5%)封闭液室温封闭30 min。吸去封闭液, 加入200 μ L按1:100稀释的一抗, 室温摇床上放置1 h。吸弃一抗, PBS清洗3次, 每次5 min, 加入200 μ L按1:250稀释的Cy3标记的羊抗兔IgG, 室温摇床上放置30 min。吸弃二抗, PBS清洗5次, 每次5 min。滴入抗荧光淬灭剂, 制片, 用激光共聚焦显微镜观察。

1.5 Western blot

HeLa细胞转染36 h后, 加入RIPA缓冲液裂解, 100 $^{\circ}$ C煮沸10 min, 12 000 r/min离心5 min, 上清即为总蛋白。用10% SDS-PAGE胶分离蛋白, 在300 mA条件下将其转至PVDF膜上。用5%脱脂牛奶常温封闭

1 h, BCL3抗体(1:1 000)和内参GAPDH抗体(1:10 000)于4 $^{\circ}$ C孵育过夜; TBST洗膜3次, 每次10 min。室温下孵育二抗(1:5 000) 1 h, TBST洗膜3次, 每次10 min。用ECL化学发光检测显影, 凝胶成像系统拍照。

1.6 统计方法

实验结果用3次独立实验的平均值表示, 采用SPSS 19.0软件进行统计分析, 用*t*检验比较数据差异, 以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EGFP融合的BCL3及突变体的表达验证

采用Western blot对pEGFP-BCL3、N-端片段缺失突变(pEGFP Δ 50、pEGFP Δ 133、pEGFP Δ 237和pEGFP Δ 337)、C-端缺失突变(pEGFP Δ C)的表达进行验证, 由图1可以看出, BCL3及其突变体pEGFP-BCL3 Δ 50、pEGFP-BCL3 Δ 133、pEGFP-BCL3 Δ 237、pEGFP-BCL3 Δ 337都能表达出对应长度的融合蛋白, 为下一步研究奠定了基础。

2.2 BCL3蛋白在细胞中的分布情况

细胞免疫荧光结果显示, BCL3蛋白呈现斑点聚集状(图2A)或相对均匀状(图2B), 分布于细胞核和细胞质中, 这与前人的研究是一致的^[6,12]。LPS处理细胞能引起BCL3发生磷酸化修饰, 促进BCL3向核中聚集, 改变其在细胞中的分布模式^[6]。用EGFP-BCL3融合基因转染HeLa细胞, 使用终浓度为1 μ g/mL的LPS处理细胞6 h, 然后使用激光共聚焦显微镜观察, 结果显示BCL3

在HeLa细胞内的分布主要呈现三种形式。(1) 弥散型: BCL3蛋白在细胞中呈现均匀分布, 在这种类型的细胞中, 虽然BCL3均匀分布于细胞质与细胞核中, 但荧光强度较弱, 说明BCL3在这种类型细胞里的蛋白水平较低(图2C); (2) 斑点型: BCL3蛋白在细胞中呈现聚集的斑点状分布, 主要分布在细胞质中, 多定位于核周区(图2D); (3) 核定位型: 在细胞质和细胞核内都有BCL3蛋白, 但其主要定位于细胞核中(图2E)。在相同的细胞培养条件下, BCL3在HeLa细胞中呈现三种表达和分布模式, 这些差异可能与细胞所处的生长周期有关。

2.3 N-端影响BCL3的核定位

为了研究影响BCL3定位的机制, 构建N-端片段

缺失突变(pEGFP Δ 50、pEGFP Δ 133、pEGFP Δ 237和pEGFP Δ 337)和C-端缺失突变(pEGFP Δ C), 使其分别转染HeLa细胞, 用LPS处理HeLa细胞6 h后使用共聚焦显微镜观察。结果显示, pEGFP Δ 50、pEGFP Δ 133和C-端缺失突变pEGFP Δ C的核定位没有受到明显影响(图3A、图3B和图3E), 而pEGFP Δ 237和pEGFP Δ 337则在细胞内呈现弥散分布且低水平表达(图3C和图3D), 表明决定BCL3核定位的结构域在134–237 aa(图3)。值得注意的是, C-端缺失(338–454 aa)的突变体虽然不影响入核, 但不再呈现斑点聚集的形状, 而是在细胞质和细胞核中均显示弥散状, 提示C-端结构域影响BCL3的聚集及其在胞器上的定位。

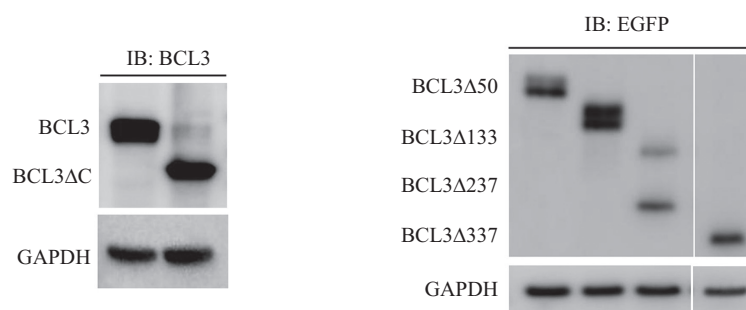
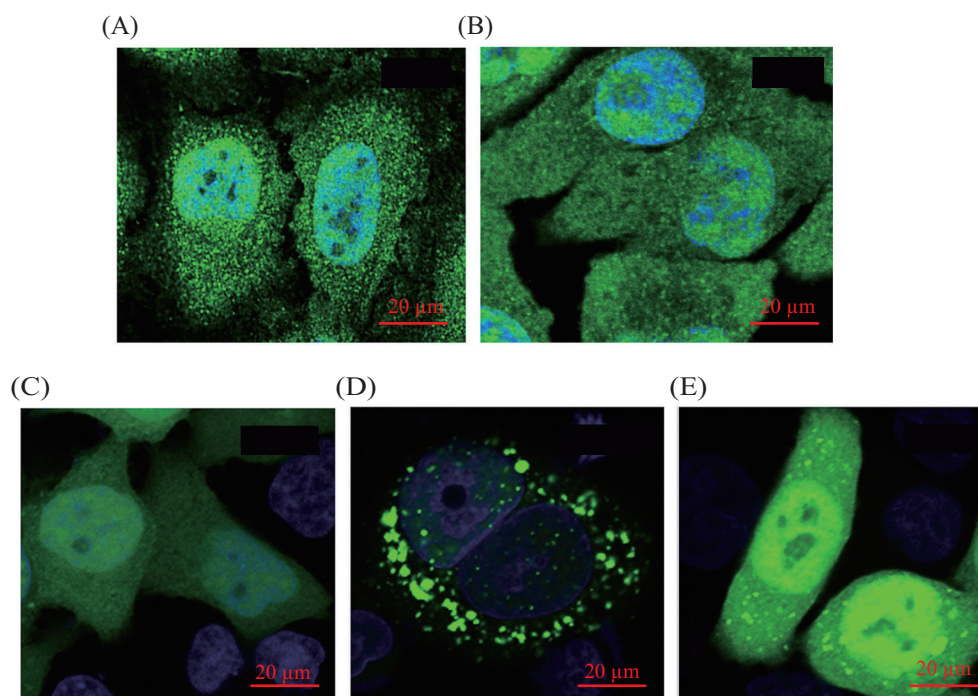


图1 Western blot验证BCL3及其突变体表达

Fig.1 Expression of BCL3 and its deletion mutants were confirmed by Western blot

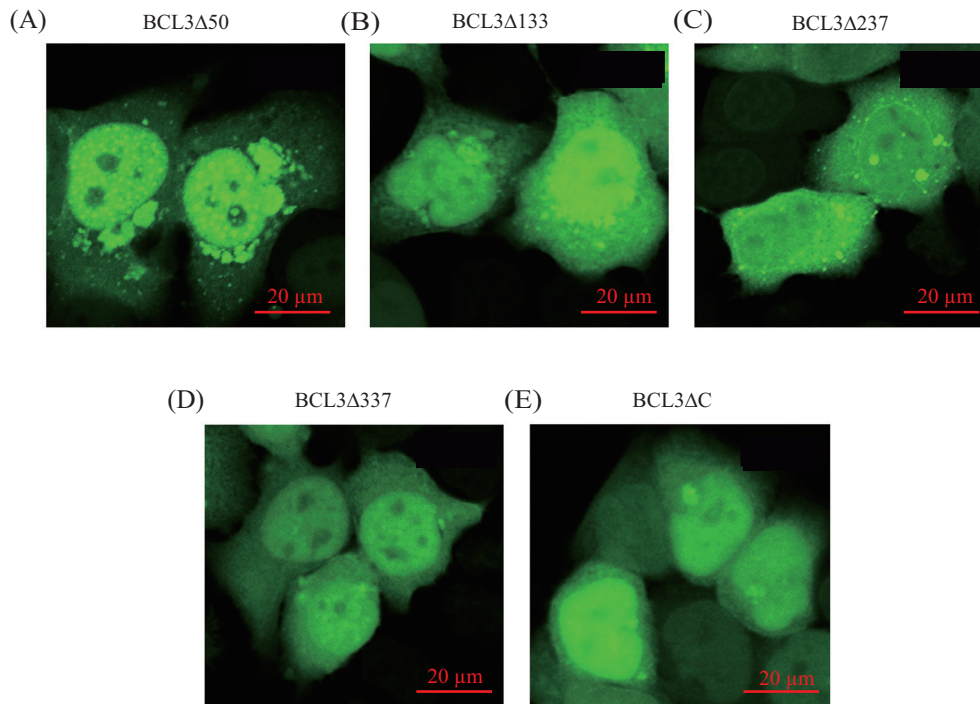


A、B: BCL3蛋白在未处理的HeLa细胞中的分布; C~E: BCL3蛋白在LPS(1 μ g/mL)处理后6 h的HeLa细胞中的分布。

A,B: distribution of BCL3 protein in untreated HeLa cells; C-E: distribution of BCL3 protein in HeLa cells treated with LPS (1 μ g/mL) for 6 h.

图2 BCL3蛋白在HeLa细胞中的表达与分布

Fig.2 Expression and distribution of BCL3 protein in HeLa cells

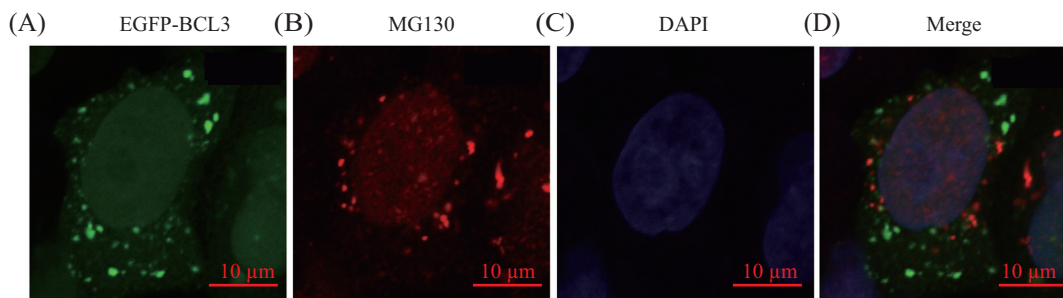


A: 缺失1-50 aa; B: 缺失1-133 aa; C: 缺失1-237 aa; D: 缺失1-337 aa; E: 缺失338-454 aa.

A: 1-50 aa deletion; B: 1-133 aa deletion; C: 1-237 aa deletion; D: 1-337 aa deletion; E: 338-454 aa deletion.

图3 BCL3突变体在HeLa细胞中的表达和定位

Fig.3 Expression pattern and distribution of BCL3 mutants in HeLa cells



A: EGFP-BCL3融合蛋白(绿色); B: MG130抗体细胞免疫荧光染色(红色); C: DAPI(蓝色); D: 绿-红-蓝合并图。

A: EGFP-BCL3 fused protein (green); B: immunofluorescence staining with MG130 antibody (red); C: DAPI (blue); C: green-red-blue merged image.

图4 BCL3与高尔基体在HeLa细胞中的共定位

Fig.4 The co-localization of BCL3 and Golgi in HeLa cells

2.4 BCL3与高尔基体的共定位

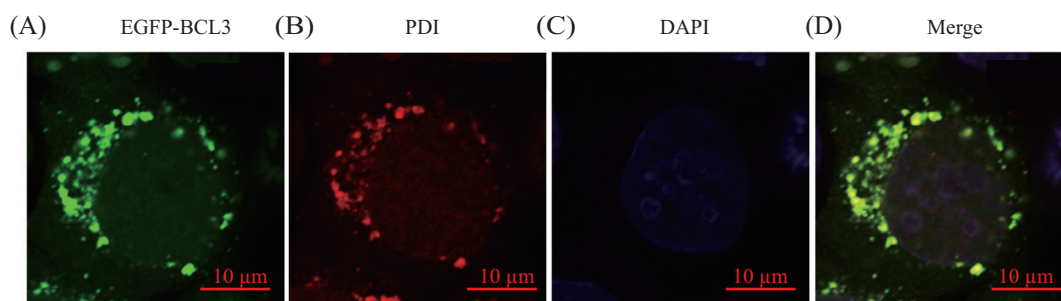
BCL3在细胞中呈现斑点状分布促使我们进一步研究BCL3的亚细胞定位,在HeLa细胞中转染pEGFP-BCL3质粒,用LPS处理HeLa细胞6 h,然后采用间接免疫荧光实验特异性标记高尔基体(anti-MG130),共聚焦显微镜观察BCL3与高尔基体的共定位情况。红色标记的高尔基体呈现斑点状,围绕核周分布,虽然BCL3也呈现斑点状分布于细胞质中,但两者没有共定位,表明BCL3与高尔基体不结合(图4)。

2.5 BCL3与内质网的共定位

接下来,我们研究了BCL3与内质网之间的共定位情况。将转染pEGFP-BCL3质粒的HeLa细胞用LPS处理6 h,然后使用间接免疫荧光实验标记内质网(anti-PDI),之后用共聚焦显微镜进行观察,结果显示BCL3呈现斑点状与内质网共定位(图5)。

3 讨论

蛋白的翻译后修饰如磷酸化、乙酰化和泛素化可改变蛋白质的生化性质,继而影响蛋白质的亚细



A: EGFP-BCL3融合蛋白(绿色); B: PDI抗体细胞免疫荧光(红色); C: DAPI(蓝色); D: 绿-红-蓝合并图。

A: EGFP-BCL3 fused protein (green); B: immunofluorescence staining with PDI antibody (red); C: DAPI (blue); D: green-red-blue merged image.

图5 BCL3与内质网在HeLa细胞中的共定位

Fig.5 The co-localization of BCL3 and endoplasmic reticulum in HeLa cells

胞定位。肿瘤相关蛋白亚细胞定位的改变,可影响蛋白质的生物学功能,与肿瘤的发生、发展和预后密切相关^[14-15]。BCL3作为转录共激活因子,通过与p50/p52同源二聚体或其他转录因子结合而调节相关基因的转录,在炎症反应、细胞周期与生长、癌症发生等多种生命过程中都起着重要的调控作用。根据在细胞中的定位不同,BCL3被分为核型和胞质型。研究表明,BCL3基因的异常表达和其蛋白质在细胞中的定位均与癌症有关,但BCL3的亚细胞定位情况尚不清楚^[13]。因此,本研究以HeLa细胞为工具细胞,探讨了BCL3蛋白质在HeLa细胞中的亚细胞定位情况。

通过细胞间接免疫荧光实验,我们发现内源性的BCL3在HeLa细胞内的分布主要呈现三种形式:弥散型、斑点型和核定位型,其形成的原因尚不清楚。在弥散型分布的细胞里,荧光信号较弱,表明BCL3蛋白质的水平较低,VIATOUR等^[6]报道糖原合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase 3, GSK3)在Ser394和Ser398位点使BCL3发生组成型磷酸化,导致其被泛素蛋白酶体途径降解。在呈现弥散型分布的细胞里,细胞处于静息态(resting cells),此时不需要BCL3发挥作用,因此BCL3趋于降解,在细胞内维持了较低水平。

用LPS处理HeLa细胞可通过NF- κ B(p65/p50)通路促进细胞增殖^[17]。在本研究中,经LPS处理后,部分细胞中的BCL3转移入核,形成核定位型。WANG等^[6]报道,使用LPS处理细胞,触发AKT激酶催化BCL3 Ser33位点发生磷酸化,可阻止BCL3被泛素蛋白酶体途径降解,同时为BCL3的核移位提供必要条件,促进细胞增殖和迁移;由此可见,Ser33位点磷酸化起开关作用,使BCL3由降解转为稳定。然

而,由于BCL3与p50具有更强的亲和力,BCL3入核后将与p65/p50二聚体抢夺p50分子,从而抑制经典NF- κ B(p65/p50)通路。由此可推测,BCL3促进细胞增殖的途径与经典NF- κ B通路无关。LPS作用之后,决定BCL3入核的关键因素可能与细胞周期有关:(1)在G₀期,BCL3发生组成型磷酸化继而降解,因此在细胞中呈现低水平的弥散状分布;(2)在处于生长期的细胞中,BCL3降解被抑制,位移入核,表现为核定位型。

在某种未知的情况下,BCL3的降解和核转移同时被抑制,BCL3滞留在细胞质中,与某个细胞器结合,表现出斑点形状。通常,导致一个蛋白呈现不规则的斑点形状的原因可能是其与某个细胞器结合,如高尔基体、内质网、线粒体、自噬体、过氧化物酶体、内涵体等^[18]。为了研究BCL3蛋白的亚细胞定位情况,我们使用细胞间接免疫荧光实验标记高尔基体、线粒体和内质网,用共聚焦显微镜观察BCL3与它们的定位,发现BCL3与内质网具有很高的共定位比例(图5),同时与线粒体也有相当比例的共定位(数据未公开),而与高尔基体没有共定位。我们前期的研究发现,在BCL3敲除的HeLa细胞中线粒体形态发生变化、功能受到损伤^[19],提示BCL3在线粒体上的定位可能与线粒体的形态和功能有关。我们课题组另一项研究发现,BCL3表达上调促进细胞自噬^[20],而内质网是自噬体膜的重要来源^[21],BCL3定位于内质网可能与自噬体膜的形成有关。目前,没有关于BCL3蛋白的亚细胞定位的研究报道,我们首次报道了BCL3定位于内质网,但其具体功能尚需进一步研究。

参考文献 (References)

- [1] LEGGE D N, CHAMBERS A C, PARKER C T, et al. The role of

- B-Cell Lymphoma-3 (BCL-3) in enabling the hallmarks of cancer: implications for the treatment of colorectal carcinogenesis [J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(3): 249-56.
- [2] DIMITRAKOPOULOS F D, ANTONACOPOULOU A G, KOTTOROU A E, et al. Expression of intracellular components of the NF-kappaB alternative pathway (NF-kappaB2, RelB, NIK and Bcl3) is associated with clinical outcome of NSCLC patients [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 14299.
- [3] CHEN X, CAO X, SUN X, et al. Bcl-3 regulates TGFbeta signaling by stabilizing Smad3 during breast cancer pulmonary metastasis [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(12): e2508.
- [4] THORNBURG N J, PATHMANATHAN R, RAAB-TRAUB N. Activation of nuclear factor-kappaB p50 homodimer/Bcl-3 complexes in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(23): 8293-301.
- [5] AHLQVIST K, SAAMARTHY K, SYED KHAJA A S, et al. Expression of Id proteins is regulated by the Bcl-3 proto-oncogene in prostate cancer [J]. *Oncogene*, 2013, 32(12): 1601-8.
- [6] WANG V Y, LI Y, KIM D, et al. Bcl3 phosphorylation by Akt, Erk2, and IKK is required for its transcriptional activity [J]. *Mol Cell*, 2017, 67(3): 484-97, e485.
- [7] URBAN B C, COLLARD T J, EAGLE C J, et al. BCL-3 expression promotes colorectal tumorigenesis through activation of AKT signalling [J]. *Gut*, 2016, 65(7): 1151-64.
- [8] DECHEND R, HIRANO F, LEHMANN K, et al. The Bcl-3 oncoprotein acts as a bridging factor between NF-kappaB/Rel and nuclear co-regulators [J]. *Oncogene*, 1999, 18(22): 3316-23.
- [9] NA S Y, CHOI J E, KIM H J, et al. Bcl3, an IkappaB protein, stimulates activating protein-1 transactivation and cellular proliferation [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(40): 28491-6.
- [10] REBOLLO A, DUMOUTIER L, RENAULD J C, et al. Bcl-3 expression promotes cell survival following interleukin-4 deprivation and is controlled by AP1 and AP1-like transcription factors [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(10): 3407-16.
- [11] ZHAO H, WANG W, ZHAO Q, et al. BCL3 exerts an oncogenic function by regulating STAT3 in human cervical cancer [J]. *Oncotargets Ther*, 2016, 9: 6619-29.
- [12] ZHANG Q, DIDONATO J A, KARIN M, et al. BCL3 encodes a nuclear protein which can alter the subcellular location of NF-kappa B proteins [J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14(6): 3915-26.
- [13] SAAMARTHY K, BJORNER S, JOHANSSON M, et al. Early diagnostic value of Bcl-3 localization in colorectal cancer [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 341.
- [14] BERGER C M, GAUME X, BOUVET P. The roles of nucleolin subcellular localization in cancer [J]. *Biochimie*, 2015, 113: 78-85.
- [15] LIU S, GNEN M, STADLER Z K, et al. Cellular localization of PD-L1 expression in mismatch-repair-deficient and proficient colorectal carcinomas [J]. *Mod Pathol*, 2019, 32(1): 110-21.
- [16] VIATOUR P, DEJARDIN E, WARNIER M, et al. GSK3-mediated BCL-3 phosphorylation modulates its degradation and its oncogenicity [J]. *Mol Cell*, 2004, 16(1): 35-45.
- [17] HAO H, XU F, HAO J, et al. Lipoxin A4 suppresses lipopolysaccharide-induced hela cell proliferation and migration via NF-kappaB pathway [J]. *Inflammation*, 2015, 38(1): 400-8.
- [18] KOWALIK D, HALLER F, ADAMSKI J, et al. In search for function of two human orphan SDR enzymes: hydroxysteroid dehydrogenase like 2 (HSDL2) and short-chain dehydrogenase/reductase-orphan (SDR-O) [J]. *J Steroid Biochem*, 2009, 117(4/5): 117-24.
- [19] 李莉, 张艺博, 张林波, 等. BCL3基因敲除对线粒体呼吸作用及ATP合成的影响 [J]. *中国细胞生物学学报* (LI L, ZHANG Y B, ZHANG L B, et al. Effects of *BCL3* gene knockout on mitochondrial respiration and ATP synthesis [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2018, 40(4): 533-41.
- [20] WANG J, NIU Z, SHI Y, et al. Bcl-3, induced by Tax and HTLV-1, inhibits NF-kappaB activation and promotes autophagy [J]. *Cell Signal*, 2013, 25(12): 2797-804.
- [21] FUJIOKA Y, ALAM J M, NOSHIRO D, et al. Phase separation organizes the site of autophagosome formation [J]. *Nature*, 2020, 578(7794): 301-5.