

文章编号 1006-8147(2015)05-0455-04

综述

叉头框转录因子调控乳腺癌生物学特性的研究进展

蔡隼 综述,冯玉梅 审校

(天津医科大学肿瘤医院肿瘤研究所,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市“肿瘤防治”重点实验室,乳腺癌防治教育部重点实验室,天津 300060)

关键词 叉头框转录因子;乳腺癌;生物学特性

中图分类号 R737.9

文献标志码 A

乳腺癌是目前女性最常见的恶性肿瘤之一,根据基因表达谱差异,可将乳腺癌分为5种具有特异性分子特征和预后意义的亚型,即luminal A、luminal B、HER2⁺、basal-like和normal-like亚型^[1]。Luminal型是乳腺癌分子分型中最为常见的一种类型,属于ER阳性乳腺癌,对内分泌治疗敏感,预后好^[2];而basal-like型则以ER⁻/PR⁻/HER2⁻及基底上皮分子标志物CK5/6、EGFR高表达为特征^[2],故其对内分泌治疗无效,只能选择化疗。此类乳腺癌通常具有高组织学分级,侵袭性强,易发生局部复发及远处转移的特性^[3]。迄今为止,对这两种亚型乳腺癌的研究最多,并且它们两者间的内在生物学特性差异最大。肿瘤细胞内在生物学特性的不同决定了亚型特异性,而远处器官转移是乳腺癌患者死亡的主要原因。因此,掌握乳腺癌浸润和转移的潜在分子机制可以更有效地诊断和治疗乳腺癌。近年来研究证实叉头框转录因子家族在乳腺癌细胞亚型决定中起着重要作用,这就为乳腺癌的分子诊断和靶向治疗提供了重要的线索^[4-5]。

1 转录因子家族概况

FOXs蛋白是一类进化保守的、并且在动植物细胞中广泛存在的转录调控因子超家族^[6]。FOX蛋白的DNA结合域约含100个氨基酸,核心部分由3个 α 螺旋依次排列组成,两侧的“翼”环结构通过 β 链相连,此特征性结构形似蝴蝶,因此FOX蛋白又称为翼状螺旋蛋白^[7]。人类FOX家族至少有43个成员,根据DNA结合区的同源性而将FOX家族分为19个亚家族(FOXA-FOXs)。FOX蛋白结合DNA的七核苷酸核心序列5-(G/A)(T/C)(A/C)AA(C/T)A-3是一致的^[7],而转录激活和转录抑制等功能区域却存在很大差异,因此表现出转录调控功能的多样性。FOX蛋白可调控细胞的增殖、分化、凋亡、寿命

和迁移等广谱生物学过程,在胚胎形态发生、组织器官发育和内环境稳态中起关键作用^[6]。因此,对FOXs蛋白功能的阐明有可能解释其在乳腺癌亚型决定和命运决定中的作用,并为肿瘤治疗提供新的策略。

2 FOXA1在luminal乳腺癌发生、发展中的作用机制研究

2.1 FOXA1与ER、GATA3之间的关系 FOXA1不仅调控胰腺、肺、前列腺、肝脏、肾脏等内胚层起源器官的分化发育^[6],还可调节乳腺导管的形态发生和分化^[8]。Laganiere等^[9]研究发现FOXA1蛋白不仅在正常乳腺和乳腺肿瘤中的表达情况与ER存在惊人的相似性,而且ER和FOXA1的募集区域也是高度统一的,约50%的雌激素受体存在与FOXA1的相互作用。迄今为止,主要可以从ER基因表达调控和ER对靶基因结合活性两个方面来解释FOXA1与ER的关系。一方面,FOXA1可通过直接调控*ESR1*启动子转录活性或者间接调控*TFF-1*来调控ER mRNA的表达^[10]。另一方面,Cirillo等^[11-12]发现FOXA1可以通过叉头框模序扫描染色质的方式发现增强子,结合于其低甲基化的DNA区域,进而诱发这些区域的组蛋白H3第4位赖氨酸(H3K4)甲基化。这些表观遗传的改变能够稳定FOXA1的结合,增强ER α 对靶基因启动子位点的结合能力,进而促进雌激素应答。

此外,Kouros-Mehr等^[13]研究发现FOXA1和GATA结合蛋白3(GATA binding protein 3, GATA3)也存在相互作用,它们的表达也呈正相关。GATA3对腺腔上皮细胞分化和乳腺癌导管发育起重要作用。高表达GATA3可诱导肿瘤分化并抑制转移,而GATA3缺失时则会减少表达ER α 的luminal细胞群。GATA3通过直接结合于FOXA1的启动子区来正转录调控FOXA1 mRNA的表达。以上结果说明ER α 、GATA3和FOXA1三者之间在表达和功能等

作者简介 蔡隼(1989-),女,硕士在读,研究方向:生物化学与分子生物学;E-mail:caijun9865@126.com。

方面关系密切,这就对维持 luminal 乳腺癌的生物学特性起到关键性的作用。

2.2 FOXA1 与增殖 FOXA1 可直接或间接影响调控细胞周期的关键因子的表达,从而调控细胞周期的进展。在存在雌激素的乳腺癌细胞中,FOXA1 可增强 RET/PTC 激酶基因对雌激素的应答,进而诱发细胞增殖^[14]。RPRM 是一种细胞周期抑制因子,抑制 RPRM 的表达可促使细胞进入 S 期。由于 RPRM 序列上存在多个 FOXA1 结合位点,当 FOXA1 结合到 RPRM 启动子上之后,便会使 RNA Pol II 脱离 RPRM 启动子^[15],降低 RPRM 转录效率,加快细胞增殖。除此之外,Williamson 等^[16]报道 FOXA1 还可以调节 E-cadherin 和 p27Kip1 的表达,抑制上皮间质转化,从而调节细胞的生长。因此推测表达 ERa/FOXA1 的细胞在获得致瘤性后,通过促进细胞的增殖,从而促进 luminal A 型乳腺癌的形成。

2.3 FOXA1 调控 luminal 乳腺癌的其他机制研究

Bernardo 等^[17]研究发现 FOXA1 不仅可以诱发 luminal 基因表达,还可直接抑制 basal-like 特异性基因群表达以调控乳腺癌细胞分化。FOXA1 沉默的 luminal 型细胞表现出 basal-like 型细胞的特征,即迁移浸润、细胞运动性的增强。另外在 ER-/AR+乳腺癌细胞中发现 ErbB2 和 ErbB3 可诱发 FOXA1 表达,反之 FOXA1 也可以调节 ErbB2 信号基因的转录^[18]。这些数据表明 FOXA1 可以通过 ER 非依赖的相关机制来维持乳腺癌的 luminal 表型。

2.4 FOXA1 与 Luminal 乳腺癌的预后 乳腺癌是异质性疾病,不同分子特征的癌细胞可能会对相同治疗方式产生不同的应答^[6]。乳腺癌中 luminal 型最为常见,此类肿瘤分化较好、恶性程度较低且肿瘤患者预后更好,这在很大程度上可以归结于 ERa 阳性及激素应答^[2]。许多研究显示 FOXA1 的表达与小的肿瘤体积、低组织学分级,ER、BRCA1 和 E-cadherin 的表达呈正相关,而与 CK14、CK5/6 表达呈负相关^[17,19]。Luminal 乳腺癌患者根据 FOXA1 的表达水平可分为高复发风险组、低复发风险组,FOXA1-negative 较 FOXA1-positive 患者的 5 年生存率低大约 10%^[19]。大量研究证实 FOXA1 可作为 ER-positive 乳腺癌独立预后因子^[19-20]。值得注意的是,luminal A 型乳腺癌虽然预后良好,但临床上仍存在 30% 左右的患者对内分泌治疗敏感性低,临床上常难以决定 ER 阳性而淋巴结阴性的乳腺癌患者是否给予化疗^[6]。于是可根据 FOXA1 表达水平,从中筛选出低复发风险的患者,以避免对这些患者施行不必要的化疗。

3 FOXC1、FOXC2 和 FOXQ1 在基底样乳腺癌发生、发展中的作用

3.1 FOXC1、FOXC2 和 FOXQ1 促进细胞浸润转移

转移是癌症患者死亡的主要原因,而上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是癌细胞转移过程中经常触发的关键机制^[21]。在此过程中,粘连的上皮细胞失去细胞间连接和细胞极性并获得间质特性,包括间质基因表达、纤维状表型、细胞骨架发生重大改变等,使其表现出运动性和浸润性增加^[21]。文献报道 FOXC1^[22]、FOXC2^[14]以及 FOXQ1^[5]均可诱发乳腺上皮细胞发生 EMT,进而发生转移。其中 E-cadherin 的缺失被认为是 EMT 的标志,三者均可通过直接或间接抑制 E-cadherin 表达来诱发 EMT^[5,23-24]。除此以外,过表达 FOXC1 还可通过上调间质标志物波形蛋白、纤连蛋白,基质金属蛋白酶 2、7 和 9,下调 P-钙黏蛋白的表达,从而增加癌细胞的转移和浸润^[23]。FOXC2 可以直接抑制 p120-连环蛋白(一种稳定 E-cadherin 对上皮细胞粘连的调节蛋白)的表达,进而调控乳腺癌的转移^[24]。FOXQ1 作为上皮细胞极性的重要调节物,参与调节体内许多器官发育中的上皮分化^[25]。现已证实 FOXC1、FOXC2 以及 FOXQ1 在 EMT 中均可促进间质分化,作为 EMT 程序中协调间质成分的关键调节物。这三者均与高浸润性的基底样乳腺癌高度相关,且可作为基底样乳腺癌的高度特异性分子标志物。

3.2 FOXC1、FOXC2 和 FOXQ1 促进细胞增殖 Pin1 是一种对特定丝氨酸或苏氨酸磷酸化的肽基脯氨酰异构酶,它对 p65 蛋白稳定性和活性起到关键作用并涉及肿瘤的发展。FOXC1 转录调控 *Pin1* 的表达,使得 Pin1 竞争性抑制 p65 与 I κ B α 、SOCS-1 的结合^[26],即减弱了 p65 的泛素化,增强了 p65 蛋白的稳定性,进而激活 NF- κ B 促进细胞增殖。FOXC1 和 FOXC2 均可通过上调 cyclin D1 促进细胞增殖^[22]。

研究发现抑制 FOXQ1 会导致 CDK4/CDK6 表达降低,进而减缓细胞周期进展^[5,25],这说明 FOXQ1 可以促进细胞增殖。另外 FOXQ1 还可直接转录激活 *p21* 的启动子活性,增加 p21CIP1/WAF1 表达,从而抑制细胞凋亡^[27]。p21CIP1/WAF1 是细胞周期蛋白激酶抑制物 cip/kip 家族成员,它能够与驱动细胞周期的 cyclin、CDKs 和增殖细胞核抗原(PCNA)相互作用,抑制 cyclin、CDKs 等物质活性,进而调节 DNA 复制和修复^[27]。这可能会对遏制肿瘤生长提供作用靶点,为治疗基底样乳腺癌提出新的方向。

3.3 FOXC1、FOXC2 和 FOXQ1 促进血管生成 肿瘤血管生成对肿瘤的发育和进展起到重要作用,肿

瘤组织需要肿瘤血管为之提供氧气并且协助癌细胞的浸润和转移。在早期胚胎发育中,FOXC2 作为Notch 信号通路的下游靶基因调控动脉细胞特异性^[28];在血管内皮细胞中,FOXC2 直接转录调节趋化因子受体 4 和整联蛋白 $\beta 3$ 调控血管生成^[29]。在血管发育中,FOXC1 和 FOXC2 相互依赖,起到协同作用。CD31 染色实验发现,FOXQ1 过表达会上调 VEGFA、WNT3A、RSPO2 和 BCL11A 等促肿瘤生长的因子^[27],这提示 FOXQ1 在体内还介导血管的生成和抗凋亡作用。

3.4 FOXC1、FOXC2、FOXQ1 与基底样乳腺癌的预后 基底样乳腺癌常常与组织学高分级、临床上的浸润性、高转移率有关^[3]。FOXC1、FOXC2 以及 FOXQ1 在高浸润性乳腺癌亚型中均高表达,并且与乳腺癌患者预后差有关。FOXC1 能促进乳腺癌的脑转移,抑制乳腺癌的骨转移^[22];FOXC2 表达是小鼠乳腺癌细胞获得肺转移能力所必须的,FOXC2 过表达可进一步提高小鼠乳腺癌细胞的迁移能力^[6]。目前对 FOXQ1 的研究较少,仅发现 FOXQ1 能促进乳腺癌转移,但尚没有针对脑转移和骨转移进行的研究。最近发现诱导正常或乳腺癌上皮细胞群发生 EMT 会使细胞产生类似干细胞的生物学特性,表现出对化疗药物的抗性增加^[30]。已有研究发现过表达 FOXC1/2 和 FOXQ1 会诱发乳腺癌细胞产生化疗抗性^[4, 26, 31]。这就提示 FOXC1、FOXC2 以及 FOXQ1 可作为分子靶点增强基底样乳腺癌患者对化疗的敏感性,这对乳腺癌治疗具有重要的指导意义。

乳腺癌是一种高度异质性的肿瘤,不同分子亚型乳腺癌生物学行为和预后均有明显差异。本文总结了 FOXA1、FOXC1/2 和 FOXQ1 蛋白调控乳腺癌亚型生物学特征的具体机制,并指出了它们为乳腺癌早期诊断和预后判断所作出的指导意义。虽然到目前为止,研究发现 FOX 家族中的许多成员可以调控肿瘤的恶性发展,如在神经胶质瘤、肝癌、非小细胞肺癌和胰腺癌细胞中,高表达的 FOXM1 可调控有丝分裂周期调控蛋白 Cdc25B、Aurora B kinase、survivin、CENPA 和 CENPB 的转录而促进细胞增殖^[32];在神经母细胞瘤中,FOX D3 通过调节 N-myc 下游调控因子 NDRG1 和 MMP9 的表达来抑制生长、转移和血管生成^[33],但是这些 FOX 蛋白是否对乳腺癌的发生发展具有作用,是否影响乳腺癌特异性的生物学行为,是否可以用于乳腺癌的早期诊断和治疗,还尚需进一步研究。另外 Kong 等^[34]研究发现 FOXF2 mRNA 低表达是乳腺癌早发转移和分化差的分子标志,且可预测三阴乳腺癌患者预后,但具

体机制仍需要进一步探索。本文就目前研究的 FOXs 对乳腺癌生物学特性和转移的机制进行了概括,旨在进一步加深对 FOXs 因子的认识,为解决乳腺癌的异质性、治疗方案的选择以及预后预测提供依据,并最终实现乳腺癌的个体化治疗。

参考文献:

- [1] Goldhirsch A, Wood W C, Coates A S, et al. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(8): 1736
- [2] Eroles P, Bosch A, Alejandro Perez -Fidalgo J, et al. Molecular biology in breast cancer: Intrinsic subtypes and signaling pathways [J]. *Cancer Treat Rev*, 2012,38(6):698
- [3] Karihtala P, Auvinen P, Kauppila S, et al. Vimentin, zeb1 and sip1 are up-regulated in triple-negative and basal-like breast cancers: association with an aggressive tumour phenotype[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013,138(1):81
- [4] Hollier B G, Tinnirello A A, Werden S J, et al. FOXC2 expression links epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2013,73(6):1981
- [5] Zhang H J, Meng F Y, Liu G, et al. Forkhead transcription factor Foxq1 promotes epithelial-mesenchymal transition and breast cancer metastasis[J]. *Cancer Res*, 2011,71(4):1292
- [6] Benayoun B A, Caburet S, Veitia R A. Forkhead transcription factors: key players in health and disease[J]. *Trends Genet*, 2011,27 (6):224
- [7] Katoh M, Igarashi M, Fukuda H, et al. Cancer genetics and genomics of human Fox family genes[J]. *Cancer Lett*, 2013,328(2):198
- [8] Bernardo G M, Lozada K L, Miedler J D, et al. FOXA1 is an essential determinant of ER alpha expression and mammary ductal morphogenesis[J]. *Development*, 2010,137(12):2045
- [9] Laganière J, Deblois G, Lefebvre C, et al. From the cover: location analysis of estrogen receptor alpha target promoters reveals that FOXA1 defines a domain of the estrogen response [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005,102(33):11651
- [10] Robinson J L, Macarthur S, Ross -Innes C S, et al. Androgen receptor driven transcription in molecular apocrine breast cancer is mediated by FoxA1[J]. *EMBO J*, 2011,30(15):3019
- [11] Serandour A A, Avner S, Percevault F A, et al. Epigenetic Switch involved in activation of pioneer factor FOXA1 -dependent enhancers[J]. *Genome Res*, 2011,21(4):555
- [12] Ghosh S, Gu F, Wang C M, et al. Genome-wide DNA methylation profiling reveals parity-associated hypermethylation of FOXA1[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014,147(3):653
- [13] Theodorou V, Stark R, Menon S, et al. GATA3 acts upstream of FOXA1 in mediating ESR1 binding by shaping enhancer accessibility[J]. *Genome Res*, 2013,23(1):12
- [14] Wang C Y, Mayer J A, Mazumdar A, et al. The rearranged during transfection/papillary thyroid carcinoma tyrosine kinase is an estrogen-dependent gene required for the growth of estrogen receptor positive breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res Treat*,

- 2012, 133(2):487
- [15] Malik S, Jiang S M, Garee J P, et al. Histone deacetylase 7 and FoxA1 in Estrogen-Mediated repression of RPRM[J]. *Mol Cell Biol*, 2010,30(2):399
- [16] Williamson E A, Wolf I, O'Kelly J, et al. BRCA1 and FOXA1 proteins coregulate the expression of the cell cycle-dependent kinase inhibitor p27(Kip1)[J]. *Oncogene*, 2006,25(9):1391
- [17] Bernardo G M, Bebek G, Ginther C L, et al. FOXA1 represses the molecular phenotype of basal breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 2013, 32(5):554
- [18] Naderi A, Meyer M, Dowhan D H. Cross-regulation between FOXA1 and ErbB2 signaling in estrogen receptor-negative breast cancer[J]. *Neoplasia*, 2012,14(4):283
- [19] Badve S, Turbin D, Thorat M A, et al. FOXA1 expression in breast cancer – correlation with luminal subtype A and survival[J]. *Clin Cancer Res*, 2007,13(15, 1):4415
- [20] Kawase M, Toyama T, Takahashi S, et al. FOXA1 expression after neoadjuvant chemotherapy is a prognostic marker in estrogen receptor-positive breast cancer[J]. *Breast Cancer*, 2015, 22(3):308
- [21] Cappelletti V, Fina E, Miodini P, et al. Gene expression profiling of circulating tumor cells in breast cancer[J]. *Clin Chem*, 2011,47(4): 12
- [22] Ray P S, Wang J H, Qu Y, et al. FOXC1 is a potential prognostic biomarker with functional significance in basal-like breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2010,70(10):3870
- [23] Jin Y L, Han B C, Chen J Y, et al. FOXC1 is a critical mediator of EGFR function in human basal-like breast cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2014,21(4):758
- [24] Mortazavi F, An J B, Dubinett S, et al. p120 -Catenin is transcriptionally downregulated by FOXC2 in non-small cell lung cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2010,8(5):762
- [25] Feuerborn A, Srivastava P K, Kueffer S, et al. The forkhead factor FoxQ1 influences epithelial differentiation[J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(3):710
- [26] Wang J, Ray P S, Sim M S, et al. FOXC1 regulates the functions of human basal-like breast cancer cells by activating NF-kappa B signaling[J]. *Oncogene*, 2012,31(45):4798
- [27] Kaneda H, Arao T, Tanaka K, et al. FOXQ1 is overexpressed in colorectal Cancer and enhances tumorigenicity and tumor growth[J]. *Cancer Res*, 2010,70(5):2053
- [28] Tammela T, Zarkada G, Nurmi H, et al. VEGFR-3 controls tip to stalk conversion at vessel fusion sites by reinforcing Notch signalling[J]. *Nat Cell Biol*, 2011,13(10):1202
- [29] Kume T. The role of FoxC2 transcription factor in tumor angiogenesis[J]. *J Oncol*, 2012, 2012:204593
- [30] Mallini P, Lennard T, Kirby J, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition: What is the impact on breast cancer stem cells and drug resistance[J]. *Cancer Treat Rev*, 2014,40(3):341
- [31] Qiao Y Y, Jiang X, Lee S T, et al. FOXQ1 regulates epithelial-mesenchymal transition in human cancers[J]. *Cancer Res*, 2011,71(8):3076
- [32] Zhang Y J, Zhang N, Dai B B, et al. FoxM1B transcriptionally regulates vascular endothelial growth factor expression and promotes the angiogenesis and growth of glioma cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(21): 8733
- [33] Li D, Mei H, Qi M, et al. FOXD3 is a novel tumor suppressor that affects growth, invasion, metastasis and angiogenesis of neuroblastoma[J]. *Oncotarget*, 2013,4(11):2021
- [34] Kong P Z, Yang F, Li L, et al. Decreased FOXF2 mRNA expression indicates early-onset metastasis and poor prognosis for breast Cancer patients with histological grade II tumor[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): 61591

(2014-11-16 收稿)

.....

(上接第 454 页)

- urinary bladder.risk factors and value of postoperative radiotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2003, 13(3): 193
- [2] 夏同礼.现代泌尿病理学[M].北京:人民卫生出版社,2002:292-292
- [3] 李晓飞,梅骅,郑克立,等.膀胱腺癌[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2000,21(2):96
- [4] Zaghloul M S, Nouh A, Nazmy M, et al. Long-term results of primary adenocarcinoma of the urinary bladder: a report on 192 patients[J]. *Urol Oncol*, 2006, 24(1): 13
- [5] 陆文,刘燕,邵丽华,等.奥沙利铂联合卡培他滨新辅助化疗治疗进展期胃癌的临床观察[J]. *实用医学杂志*, 2011,27(2):295
- [6] Tatli A M, Uysal M, Goksu S S, et al. Complete response of primary bladder adenocarcinoma with the FOLFOX4 regimen[J]. *Urol Int*, 2015, 94(3): 363
- [7] Teo M, Swan N C, Mcdermott R S. Sustained response of adenocarcinoma of the urinary bladder to FOLFOX plus bevacizumab[J]. *Nat Rev Urol*, 2011, 8(5): 282
- [8] Pouessel D, Huguet H, Iborra F, et al. A pilot study of gemcitabine in combination with oxaliplatin and vinorelbine in patients with metastatic bladder cancer[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(11): 4711

(2015-04-16 收稿)