

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2026.01.0032

论著

FOXQ1 调节 luminal 乳腺癌细胞增殖的研究

谭魏, 冯玉梅

(天津医科大学肿瘤医院肿瘤研究所生物化学与分子生物学研究室, 国家恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 乳腺癌防治教育部重点实验室, 天津 300060)

摘要 目的: 探究 FOXQ1 调节 luminal 乳腺癌(LumBC)细胞增殖的作用及机制。方法: 以 LumBC 细胞 MCF-7 和 T-47D 为研究对象, 慢病毒感染构建 FOXQ1 稳定过表达的 LumBC 细胞; CCK-8 和克隆形成实验检测 FOXQ1 对细胞增殖的影响; 免疫荧光和蛋白免疫印迹检测 FOXQ1 对 β -catenin 核易位的影响; ChIP-seq 筛选 FOXQ1 的靶基因; RT-qPCR 和蛋白免疫印迹检测 FOXQ1 对 Wnt/ β -catenin 信号通路靶基因的调控作用; 基于 METABRIC 数据库分析 FOXQ1 与 CDK4/6 抑制剂耐药相关基因表达的相关性; CCK-8 测定半抑制浓度(IC50)和克隆形成实验检测 FOXQ1 过表达细胞对 CDK4/6 抑制剂敏感性的影响。结果: FOXQ1 过表达的 MCF-7 和 T-47D 细胞生长加快($t=8.262, 8.192$, 均 $P<0.001$)、细胞克隆形成增多($t=7.476, P<0.01$; $t=9.277, P<0.001$); FOXQ1 过表达促进 LumBC 细胞的 β -catenin 核易位; FOXQ1 在 WNT2 基因启动子上富集并促进其表达($t=6.063, P<0.01$; $t=9.716, P<0.001$); FOXQ1 促进 Wnt/ β -catenin 信号通路下游基因 MYC($t=5.729, 7.228$, 均 $P<0.01$)和 CCND1($t=5.484, P<0.01$; $t=3.601, P<0.05$) mRNA 和蛋白的表达; FOXQ1 与 CCNE1($r=0.271, P<0.000 1$)、CDK2($r=0.13, P<0.000 1$)、CDK4($r=0.187, P<0.000 1$)和 CDK6($r=0.382, P<0.000 1$)表达均呈正相关; FOXQ1 过表达细胞 CDK4/6 抑制剂的 IC50 上调, 克隆形成能力增强($t=14.85, 5.871$, 均 $P<0.001$)。结论: 在 LumBC 细胞中, FOXQ1 上调 WNT2, 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 并上调 MYC 和 CCND1 表达, 从而促进乳腺癌细胞的增殖并降低对 CDK4/6 抑制剂的敏感性。

关键词 luminal 乳腺癌; FOXQ1; Wnt/ β -catenin 信号通路; 增殖; CDK4/6 抑制剂

中图分类号 R737.9

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2026)01-0032-07

Study on the regulation of FOXQ1 in cell proliferation in luminal breast cancer

TAN Wei, FENG Yumei

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University; Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education; Tianjin's Clinical Research Center for Cancer; National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of FOXQ1 on the proliferation of luminal breast cancer (LumBC) cells and its regulatory mechanism. **Methods:** LumBC cells MCF-7 and T-47D were used as research subjects. FOXQ1 stably overexpression LumBC cells were constructed by lentivirus infection. CCK-8 and colony formation assays were used to detect the effect of FOXQ1 on cell proliferation. Immunofluorescence and Western blotting were used to detect the effect of FOXQ1 on β -catenin nuclear translocation. ChIP-seq was used to screen the target genes of FOXQ1. RT-qPCR and Western blotting was used to detect the regulatory effect of FOXQ1 on the target genes of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. The correlation between FOXQ1 and the expression of CDK4/6 inhibitor resistance-related genes was analyzed based on the METABRIC database. CCK-8 was used to determine the half-maximal inhibitory concentration (IC50), and colony formation assays were used to detect the effect of FOXQ1 overexpression on the sensitivity of cells to CDK4/6 inhibitors. **Results:** FOXQ1 overexpression in MCF-7 and T-47D cells accelerated cell growth ($t=8.262, 8.192$, both $P<0.001$) and increased cell colony formation ($t=7.476, P<0.01$; $t=9.277, P<0.001$). FOXQ1 overexpression promoted β -catenin nuclear translocation in LumBC cells. FOXQ1 was enriched on the promoter of the WNT2 gene and promoted its expression ($t=6.063, P<0.01$; $t=9.716, P<0.001$). FOXQ1 promoted the mRNA and protein expression of downstream genes MYC ($t=5.729, 7.228$, both $P<0.05$) and CCND1 ($t=5.484, P<0.01$; $t=3.601, P<0.05$) of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. FOXQ1 was positively correlated with the expression of CCNE1 ($r=0.271, P<0.000 1$), CDK2 ($r=0.13, P<0.000 1$), CDK4 ($r=0.187, P<0.000 1$) and CDK6 ($r=0.382, P<0.000 1$). The IC50 of CDK4/6 inhibitors in FOXQ1 overexpression cells was increased, and the colony formation ability was enhanced ($t=14.85, 5.871$, both $P<0.001$). **Conclusion:** In LumBC cells, FOXQ1 upregulates WNT2 to activate the Wnt/ β -catenin signaling pathway and upregulate the expression of MYC and CCND1, thereby promoting the proliferation of breast cancer cells and reducing the sensitivity to CDK4/6 inhibitors.

Key words luminal breast cancer; FOXQ1; Wnt/ β -catenin signaling pathway; proliferation; CDK4/6 inhibitors

基金项目 天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYXZDXK-009A)

作者简介 谭魏(2001-),男,硕士在读,研究方向:肿瘤分子生物学;通信作者:冯玉梅, E-mail: ymfeng@tmu.edu.cn。

乳腺癌是严重威胁女性健康的恶性肿瘤,具有高度异质性,可分为 luminal、HER2 阳性和三阴性乳腺癌等亚型^[1]。其中 luminal 乳腺癌(LumBC)是最常见的亚型,约占所有乳腺癌的 70%,其典型特征为激素受体(HR)阳性^[2]。在 LumBC 中,细胞的增殖依赖雌激素受体信号通路上调 CyclinD1 的表达,CyclinD1 结合并激活 CDK4/6,因而靶向 CDK4/6 在临床上常用于治疗 LumBC^[3]。尽管 CDK4/6 抑制剂很大程度改善了乳腺癌患者的预后,但仍有患者出现原发性或获得性耐药,因此发掘有效的生物标志物和靶向 CDK4/6 抑制剂耐药具有临床意义^[4]。

转录因子叉头框 Q1(forkhead box Q1, FOXQ1)在多种恶性肿瘤中异常表达。在结直肠癌中,FOXQ1 异常高表达并促进肿瘤生长^[5]、血管生成^[6]、侵袭和转移^[7];在胃癌中,FOXQ1 维持肿瘤细胞干性并促进细胞增殖、侵袭和转移^[8];在乳腺癌中,FOXQ1 的表达具有亚型特异性:在三阴性乳腺癌中高表达,而在 LumBC 中低表达^[9]。研究报道,FOXQ1 促进乳腺癌上皮-间充质转化(EMT)、干性维持、化疗药物耐药和转移^[10]。然而 FOXQ1 在 LumBC 细胞增殖中的具体作用尚未明确。本研究旨在探讨 FOXQ1 对 LumBC 细胞增殖的影响及调控机制。

1 材料与方法

1.1 细胞和试剂、仪器

LumBC 细胞 MCF-7 和 T-47D (美国 Type Culture Collection);DMEM 培养基、RPMI-1640 培养基、胎牛血清、青霉素/链霉素(美国 Gibco 公司);定量 qPCR 引物(北京擎科生物公司);SYBR qPCR Master Mix 试剂(南京诺唯赞生物公司);RIPA 蛋白裂解液(美国 MCE 公司);兔抗人 FOXQ1(ab51340)和兔抗人 c-Myc(ab32072)抗体(英国 Abcam 公司);染色质免疫沉淀试剂盒(9003S)、兔抗人 β -catenin(8480)、兔抗人 Histone H3(4499)、兔抗人 Flag(14793)和兔抗人 Cyclin D1(2978)抗体(美国 CST 公司);兔抗人 β -actin 抗体(AC026)、山羊抗兔荧光二抗(AS014,武汉 ABclonal 公司);山羊抗兔荧光 488 nm 二抗(A11008)、BCA 蛋白定量试剂盒、Trizol RNA 提取试剂、CO₂ 培养箱、低温高速离心机及全波长酶标仪(美国 Thermo Fisher 公司);细胞核蛋白与细胞浆蛋白提取试剂盒(P0028)和结晶紫染色液(C0121,上海碧云天公司);CDK4/6 抑制剂 palbociclib(0332991,美国 Selleck 公司);CCK-8(CK04)试剂(中国同仁化学公司);电泳仪、转膜仪(美国 Bio-Rad 公司);普通光学及荧光显微镜(德国 Zeiss 公司);7500 Fast Real-Time PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司);Tanon 5200 全自

动化学发光图像分析系统(上海天能生命科学有限公司)。

1.2 研究方法

1.2.1 细胞培养和药物处理

MCF-7 细胞培养于 DMEM 培养基;T-47D 细胞培养于 RPMI-1640 培养基。DMEM 和 RPMI-1640 培养基中均添加 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素。所有细胞都在 5% CO₂、37°C 湿润孵育箱内培养。

1.2.2 FOXQ1 过表达细胞的构建

使用 pLV-CMV-MCS-EF1-T2A-Puro 作为慢病毒空载质粒,将人 FOXQ1-3 X FLAG 序列插入慢病毒载体以构建过表达 FOXQ1-3 X FLAG 质粒。慢病毒质粒与辅助质粒 psPAX2 和 pMD2G 进行慢病毒包装,分别使用空载慢病毒和表达 FOXQ1 慢病毒感染细胞获得对照细胞 MCF7-Vector 和 T47D-Vector 以及 FOXQ1 过表达细胞 MCF7-FOXQ1 和 T47D-FOXQ1,感染 24 h 后使用含 2 μ g/mL 嘌呤霉素的完全培养基进行筛选。

1.2.3 反转录-定量 PCR(RT-qPCR)

使用 Trizol 法提取细胞的总 RNA,逆转录得到 cDNA 后进行定量 PCR,所有实验均独立重复 3 次。反应体系:2 \times SYBR qPCR Master Mix 10 μ L,正、反向引物各 0.6 μ L (10 μ mol/L),cDNA 1 μ L(40 ng/ μ L),无核酸水 7.8 μ L。反应条件:95°C 预变性 30 s;95°C 变性 10 s、60°C 退火 30 s、72°C 延伸 30 s,40 个循环。以 GAPDH 为内参,采用 2^{- $\Delta\Delta$} 法计算基因的 mRNA 相对表达量。引物序列分别为 GAPDH (F:5'-GAAGGTGAAGGTCGG-AGTC-3',R:5'-GAAGATGGT GATGGGATTTCC3');FOXQ1 (F:5'-AACTCCGTGCGCCACAACCTTT-3',R:5'-GTACTCGCTGTTGGGGTTGAGCA-3');WNT2 (F:5'-GGATGACCAAGTGTGGGTGT-3',R:5'-TG-TAGCGGTTGTCCAGTCAG-3');MYC (F:5'-GTCA-CACCCCTTCTCCCTTCG-3',R:5'-CGGGTCGCAGAT-GAAACTCT-3');CCND1 (F:5'-GATGCCAACCTCC-TCAACGA-3',R:5'-ACTTCTGTTCCCTCGCAGACC-3')。

1.2.4 蛋白免疫印迹(Western blotting)

使用含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液在 4°C 摇床裂解细胞 1 h,刮取至离心管,12 000 r/min 4°C 离心 10 min 后收取上清液,采用 BCA 法测定蛋白浓度,加 Loading Buffer 煮沸变性。蛋白上样量均为 20 μ g 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳并转移到膜上,用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,孵育抗体 FOXQ1(1:1 000)、 β -catenin (1:1 000)、Histone H3(1:2 000)、c-Myc(1:2 000)、Cyclin D1(1:1 000)和 β -actin(1:2 000),4°C 过夜。次日用 TBST 洗膜后分别孵育与一抗种属相同的二

抗(1:5 000),室温孵育 2 h, TBST 洗膜,加入 ECL 工作液,使用成像仪显影拍照。

1.2.5 CCK-8 实验 检测细胞增殖:细胞接种于 96 孔板,每孔接种约 1 000 个细胞,对照组和实验组各 5 个重复,每天测 1 次,共统计 0~5 d,检测前 2 h 更换含 10% CCK-8 试剂的完全培养基,用酶标仪检测 450 nm 处吸光度。以每次测定吸光度的天数作为横坐标,以每次测定的吸光度数值减去无细胞培养基的吸光度值作为纵坐标,绘制折线图。检测细胞活性:细胞铺板于 96 孔板,每孔接种约 5 000 个细胞,对照组和实验组各 5 个重复,待细胞贴壁后,将 96 孔中的培养基更换为含不同浓度梯度 Palbociclib 的培养基,最终浓度分别为 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 。细胞在 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 条件下继续培养 96 h,在 48 h 时更换 1 次培养液,在检测前 2 h 更换含 10% CCK-8 试剂的完全培养基,用酶标仪检测 450 nm 处吸光度。

1.2.6 细胞克隆形成实验 细胞接种于 6 孔板,每孔接种约 1 000 个细胞,对照组和实验组分别 3 个重复,每 3 d 更换新鲜的培养基,持续培养 14 d。弃去培养基,使用 PBS 清洗细胞,每孔加入 1 mL 4% 多聚甲醛固定细胞 30 min,使用 PBS 清洗细胞,每孔加入 500 μL 结晶紫染料,染色 10 min 后使用 PBS 清洗,空气干燥后拍照。

1.2.7 免疫荧光(immunofluorescence, IF) 细胞接种于腔室载玻片上,待细胞融合度达到 60%~80%时,弃去培养基,使用 4% 多聚甲醛固定细胞 20 min,0.5% TritonX-100 通透细胞 15 min,免疫染色封闭液封闭 1 h,加入 β -catenin(1:200)抗体于 4 $^\circ\text{C}$ 孵育过夜。PBS 清洗细胞,加入 488 nm 荧光标记二抗(1:500),室温避光孵育 1 h, DAPI 避光染色 10 min, PBS 清洗细胞,空气晾干后封片,荧光显微镜观察。

1.2.8 染色质免疫沉淀测序(ChIP-seq) 细胞培养至融合度达到 80%~90%时,使用甲醛交联细胞,甘氨酸解交联,刮取细胞后离心收集细胞沉淀,消化细胞离心留细胞核沉淀,通过超声破碎仪裂解细胞核,离心后收集 DNA 上清,同时保留 2% input 样品,加入抗 Flag 抗体于 4 $^\circ\text{C}$ 过夜孵育,并与 Protein A/G 磁珠进行免疫共沉淀,使用洗脱液洗脱磁珠上的染色质,对染色质溶液解交联释放 DNA,对获得的 DNA 进行纯化,对 DNA 序列进行测序分析。

1.2.9 转录因子结合位点分析 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取 *WNT2*(NC_000007.14)转录起始位点上游 1 000 bp 序列,使用 JASPAR 工具(<https://jaspar.elixir.no/>)进行分析,预测参数采用默

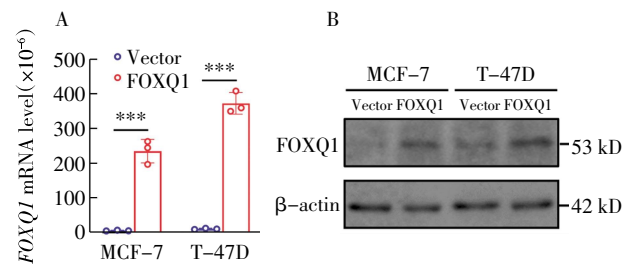
认设置,仅保留相关得分(relative score) ≥ 0.8 的位点。

1.2.10 基因间的表达相关性分析 基于 METABRIC 数据库,下载 1 980 例来源于原发性乳腺癌患者组织的 RNA-seq 数据,分析乳腺癌组织中 *FOXQ1* 与 CDK4/6 抑制剂耐药相关基因 mRNA 表达的相关性。

1.3 统计学处理 使用 GraphPad Prism 9.5 软件进行数据分析。正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析,采用 Pearson 相关性分析评估基因 mRNA 之间的相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 构建 FOXQ1 稳定过表达的 MCF-7 和 T-47D 细胞 FOXQ1 过表达细胞 MCF7-FOXQ1 和 T47D-FOXQ1 的 *FOXQ1* mRNA ($t=25.06$ 、20.06,均 $P < 0.001$,图 1A)和蛋白(图 1B)表达水平较对照细胞显著升高。



注:*** $P < 0.001$; Vector:对照细胞;FOXQ1:FOXQ1 过表达细胞;A:RT-qPCR 检测 *FOXQ1* mRNA 表达水平;B:蛋白免疫印迹检测 FOXQ1 蛋白表达水平

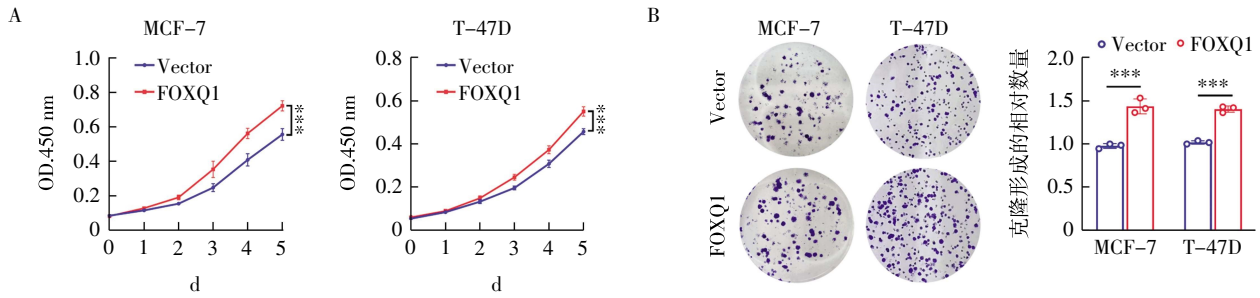
图 1 FOXQ1 稳定过表达细胞的验证

Fig.1 Verification of FOXQ1 stably overexpressing cells

2.2 FOXQ1 过表达促进 LumBC 细胞增殖 CCK-8 实验结果显示,FOXQ1 过表达促进 MCF-7 和 T-47D 细胞增殖($t=8.262$ 、8.192,均 $P < 0.001$,图 2A);细胞克隆形成实验结果显示,FOXQ1 过表达细胞较对照细胞克隆形成数量增多($t=7.476$, $P < 0.01$; $t=9.277$, $P < 0.001$,图 2B)。

2.3 FOXQ1 过表达驱动 LumBC 细胞 β -catenin 核易位 IF 实验结果显示,在对照细胞中, β -catenin 主要分布在细胞膜和细胞质内,而在 FOXQ1 过表达的 MCF-7 和 T-47D 细胞中, β -catenin 在细胞核内分布增多(图 3A);蛋白免疫印迹实验结果显示,FOXQ1 过表达的 MCF-7 和 T-47D 细胞核内 β -catenin 蛋白水平上调(图 3B)。

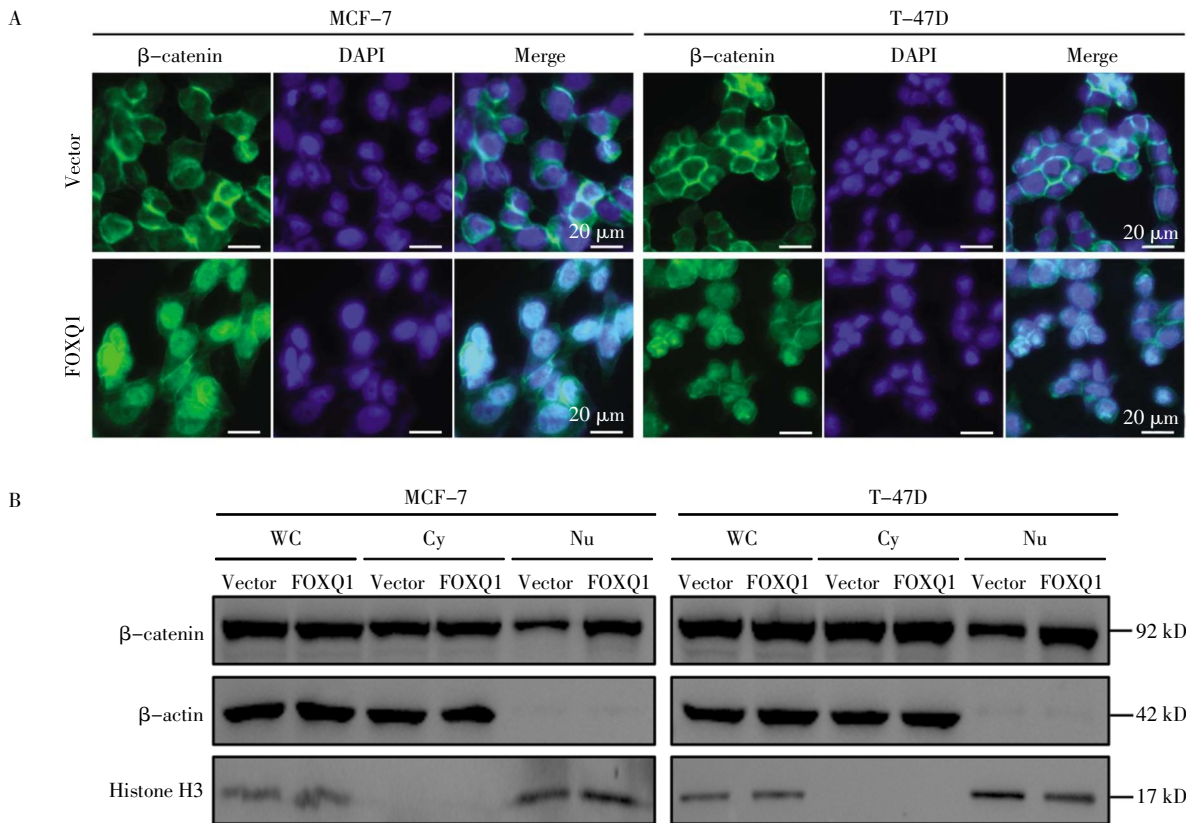
2.4 LumBC 细胞中 FOXQ1 转录上调 *WNT2* 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路 ChIP-seq 结果显示,FOXQ1 在 *WNT2* 基因启动子区域富集增加(图 4A);



注:*** $P < 0.001$; A: CCK-8 检测细胞增殖; B: 细胞克隆形成检测细胞集落数量

图 2 FOXQ1 对 LumBC 细胞增殖的影响

Fig.2 The effect of FOXQ1 on the proliferation in LumBC cells



注:A: IF 检测 β -catenin 在细胞中的分布; B: 蛋白免疫印迹检测 β -catenin 蛋白在细胞中的表达; WC: 全细胞提取物; Cy: 细胞质提取物; Nu: 细胞核提取物

图 3 LumBC 细胞中过表达 FOXQ1 对 β -catenin 核易位的影响

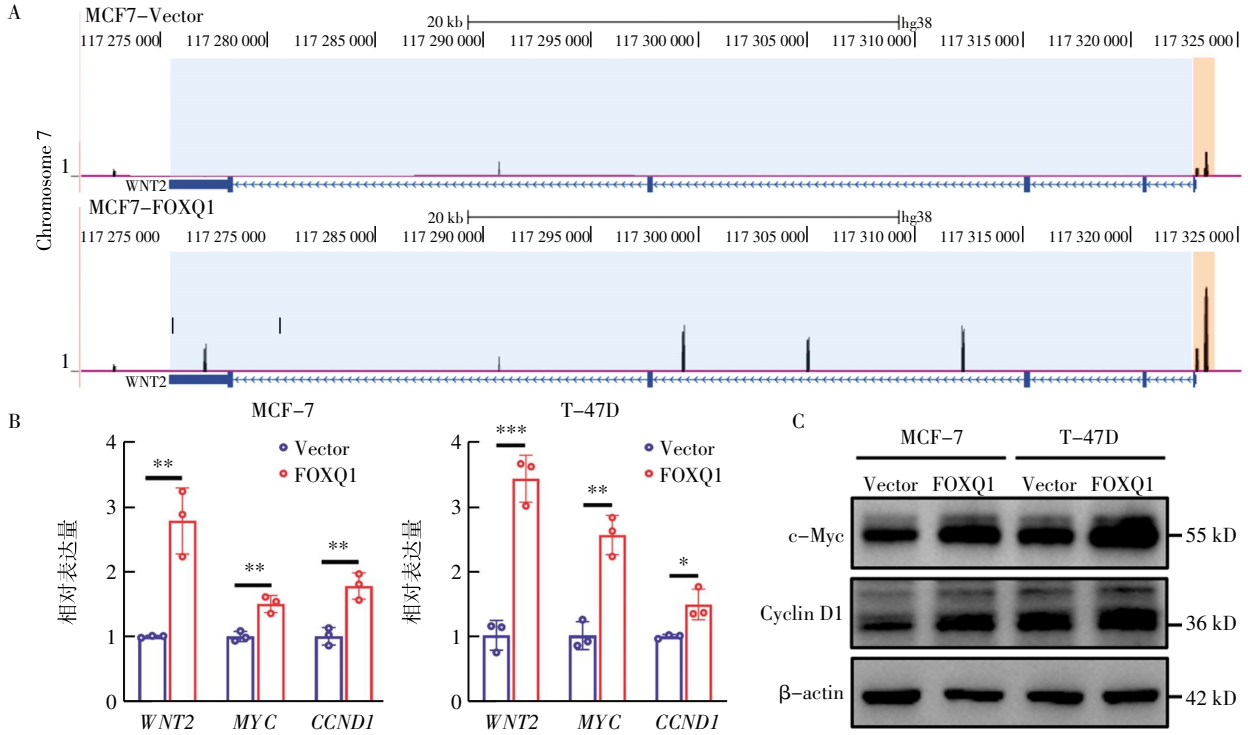
Fig.3 The effect of FOXQ1 overexpression on β -catenin nuclear translocation in LumBC cells

JASPAR 预测 FOXQ1 在 *WNT2* 启动子区域有两处结合位点(表 1); RT-qPCR 结果显示, FOXQ1 过表达上调 *WNT2* ($t=6.063, P < 0.01; t=9.716, P < 0.001$) 以及 *Wnt/\beta*-catenin 信号通路靶基因 *MYC* ($t=5.729, 7.228, 均 P < 0.01$) 和 *CCND1* ($t=5.484, P < 0.01; t=3.601, P < 0.05$) mRNA(图 4B)及蛋白表达(图 4C)。

2.5 乳腺癌组织中 FOXQ1 与 CDK4/6 抑制剂耐药相关基因表达水平相关性分析 相关性分析结果发现 FOXQ1 与 *CCNE1* ($r=0.271, P < 0.0001$)、*CDK2* ($r=0.13, P < 0.0001$)、*CDK4* ($r=0.187, P < 0.0001$) 和

CDK6 ($r=0.382, P < 0.0001$) 表达均呈正相关(图 5)。

2.6 FOXQ1 降低 LumBC 细胞对 CDK4/6 抑制剂敏感性 FOXQ1 过表达细胞对 CDK4/6 抑制剂 palbociclib 的 IC50 升高, 过表达 FOXQ1 的 MCF-7 及对照细胞的 IC50 为 2.651、0.905 $\mu\text{mol/L}$, 过表达 FOXQ1 的 T-47D 及对照细胞的 IC50 为 0.866 5、0.425 9 $\mu\text{mol/L}$ (图 6A)。进一步探索在 CDK4/6 抑制剂刺激下, FOXQ1 过表达对细胞克隆形成能力的影响, 发现与对照组相比, FOXQ1 过表达细胞的克隆形成集落更多($t=14.85, 5.871, 均 P < 0.001$, 图 6B)。



注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; A: ChIP-seq 检测 FOXQ1 在 WNT2 基因位点富集水平, 蓝色区域为基因区域, 橙色区域为启动子区域, 长度 1 000 bp; B: RT-qPCR 检测 WNT2、MYC 和 CCND1 mRNA 表达水平; C: 蛋白免疫印迹检测 c-Myc 和 Cyclin D1 蛋白表达水平

图 4 LumBC 细胞中 FOXQ1 对 Wnt/β-catenin 信号通路的调节

Fig.4 The regulation of FOXQ1 on Wnt/β-catenin signaling pathway in LumBC cells

表 1 FOXQ1 在 WNT2 启动子区的预测结合域

Tab.1 The predicted FOXQ1 binding site in the promoter region of WNT2

| TF ID | 基因 | 相关得分 | 结合位点 | 预测序列 |
|----------------|------|-------------|-----------|-------------|
| MA0040.1.Foxq1 | WNT2 | 0.818 531 4 | -117/-107 | CAATGTTTCTG |
| MA0040.1.Foxq1 | WNT2 | 0.828 091 8 | -213/-203 | TTTCGTTTATT |

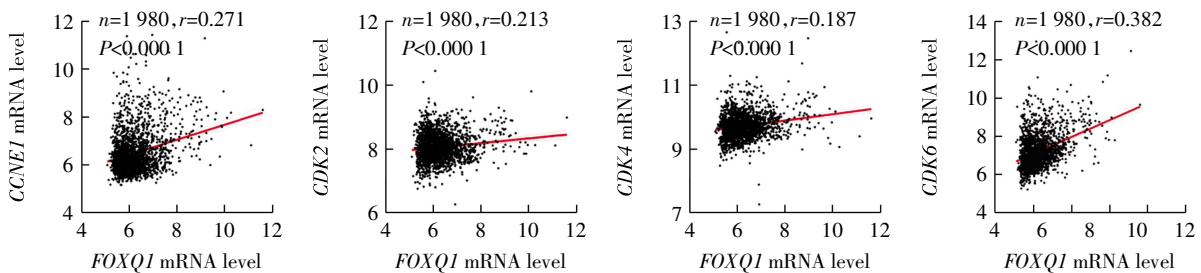
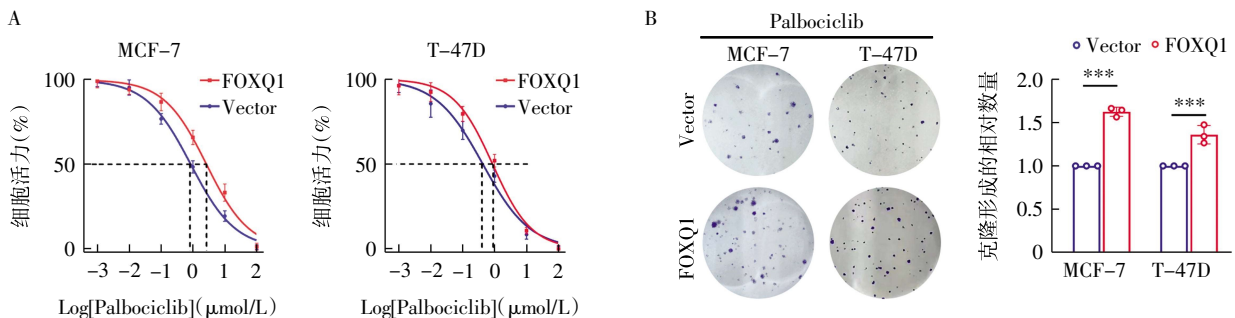


图 5 乳腺癌中 FOXQ1 与 CDK4/6 抑制剂耐药相关基因表达相关性

Fig.5 Correlation between FOXQ1 and CDK4/6 inhibitor resistance-related genes expression in breast cancer



注: *** $P < 0.001$; A: CCK-8 检测细胞的 IC50; B: 克隆形成检测细胞在 palbociclib 处理前后形成的细胞集落数量, 使用 2 μmol/L 的 palbociclib 处理 4 d, 剩余 10 d 换用新鲜培养基继续培养

图 6 LumBC 细胞 FOXQ1 过表达对 CDK4/6 抑制剂敏感性的影响

Fig.6 The effect of FOXQ1 overexpression on CDK4/6 inhibitors sensitivity in LumBC cells

3 讨论

目前研究 FOXQ1 调控乳腺癌的进展主要关注于调控 EMT 和转移,对乳腺癌细胞增殖的研究较少且调控作用存在争议,在三阴性乳腺癌中,Zhang 等^[10]发现 FOXQ1 未显著影响乳腺癌细胞增殖,而 Lin 等^[11]发现 FOXQ1 促进乳腺癌细胞增殖和肿瘤生长,而对 LumBC 细胞增殖的调控尚未报道。因此本研究探究了 FOXQ1 对 LumBC 细胞增殖的影响,通过 CCK-8 和克隆形成实验发现过表达 FOXQ1 促进 LumBC 细胞的增殖。

经典的 Wnt/ β -catenin 信号通路在细胞命运决定中发挥重要作用,Wnt 信号通路激活后, β -catenin 核易位与 TCF/LEF 转录因子结合,启动多种靶基因的转录^[12],可促进细胞增殖、维持干细胞特性、耐药、侵袭和转移等^[13-14]。研究发现,FOXQ1 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,来促进肿瘤细胞 EMT 和转移^[15-16]。因此本研究进一步探究 FOXQ1 是否通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进 LumBC 细胞增殖。通过 IF 和蛋白免疫印迹检测细胞核内 β -catenin 蛋白水平证实,FOXQ1 过表达驱动 β -catenin 入核,提示 Wnt/ β -catenin 信号通路被激活。另外,研究发现 FOXQ1 在 WNT2 启动子上富集并且转录上调 WNT2,WNT2 作为 Wnt 信号通路中的配体激活 Wnt/ β -catenin 信号通路^[17]。因此笔者推测 FOXQ1 可能通过上调 WNT2 的表达,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路。研究报道,MYC 和 CCND1 作为 Wnt 信号通路靶基因,促进细胞的增殖^[18-19]。本研究进一步发现,FOXQ1 过表达上调 MYC 和 CCND1 的表达。以上结果表明,FOXQ1 上调 WNT2 的表达激活 Wnt/ β -catenin 通路,并上调其下游靶基因 MYC 和 CCND1 mRNA 和蛋白的表达,从而驱动 LumBC 细胞的增殖。

细胞周期受多种调控因子精确而严密地控制^[20],其核心调控因子包括细胞周期依赖性蛋白激酶(CDKs)和细胞周期蛋白(Cyclins),CDKs 抑制因子的缺失或者 CDKs、Cyclins 的过表达可导致细胞周期紊乱,是恶性肿瘤的重要特征之一^[21]。CDK4/6 抑制剂作为临床治疗 HR 阳性乳腺癌的靶向药物^[22],通过抑制 CDK4/6 活性导致细胞周期停滞于 G1 期,从而抑制肿瘤细胞的恶性增殖,但是原发性或继发性耐药的出现影响着患者的治疗和预后^[23]。常见的耐药机制有 Rb1 缺失或 CyclinE 和 CDK2 过表达,通过绕开 CDK4/6 途径激活 E2F 表达产生耐药^[24],而 CDK4/CDK6 的过表达则增强 CyclinD-CDK4/6-Rb-E2F 通路产生耐药^[25]。因此本研究分析 FOXQ1

与 CCNE1、CDK2、CDK4 和 CDK6 基因表达的相关性,发现 FOXQ1 与这些基因表达均呈正相关,推测 FOXQ1 的过表达可能与 CDK4/6 抑制剂的耐药相关,因此进一步检测了 FOXQ1 过表达的 LumBC 细胞 CDK4/6 抑制剂的 IC50 和细胞克隆形成数量,结果表明 FOXQ1 过表达降低了 LumBC 细胞对 CDK4/6 抑制剂 palbociclib 的敏感性,这为改善乳腺癌细胞对 CDK4/6 抑制剂耐药提供了新的思路。

综上所述,本研究阐明了在 LumBC 细胞中,FOXQ1 上调 WNT2 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,上调 MYC 和 CCND1 的表达从而促进细胞的增殖,并且 FOXQ1 过表达可降低细胞对 CDK4/6 抑制剂的敏感性。本研究丰富了 FOXQ1 在乳腺癌中的生物学功能和调控机制,认为其可作为 CDK4/6 抑制剂耐药的潜在分子标志物。此外,本研究仍存在一定的局限性,如仅在体外细胞学实验进行了相关功能和机制研究,今后还需通过动物模型和临床组织样本进一步验证。另外本研究发现 FOXQ1 的过表达与 CDK4/6 抑制剂耐药性的增强密切相关,提示 FOXQ1 可能参与调控该类药物的耐药,但具体的分子机制也有待进一步阐明。

参考文献:

- [1] YEO S K, GUAN J L. Breast cancer: multiple subtypes within a tumor? [J]. Trends Cancer, 2017, 3(11): 753-760.
- [2] GIAQUINTO A N, SUNG H, NEWMAN L A, et al. Breast cancer statistics 2024 [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(6): 477-495.
- [3] First CDK 4/6 Inhibitor Heads to Market [J]. Cancer Discov, 2015, 5(4): 339-340.
- [4] HUANG J, ZHENG L, SUN Z, et al. CDK4/6 inhibitor resistance mechanisms and treatment strategies (review) [J]. Int J Mol Med, 2022, 50(4): 128.
- [5] 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): 2053-2063.
- [6] TANG H, ZHENG J, BAI X, et al. Forkhead box Q1 is critical to angiogenesis and macrophage recruitment of colorectal cancer [J]. Front Oncol, 2020, 10: 564298.
- [7] ZHANG J J, CAO C X, WAN L L, et al. Forkhead box q1 promotes invasion and metastasis in colorectal cancer by activating the epidermal growth factor receptor pathway [J]. World J Gastroenterol, 2022, 28(17): 1781-1797.
- [8] XIANG X J, DENG J, LIU Y W, et al. MiR-1271 inhibits cell proliferation, invasion and EMT in gastric cancer by targeting FOXQ1 [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(4): 1382-1394.
- [9] ELIAN F A, ARE U, GHOSH S, et al. FOXQ1 is differentially expressed across breast cancer subtypes with low expression associated with poor overall survival [J]. Breast Cancer (Dove Med Press), 2021, 13: 171-188.
- [10] ZHANG H, MENG F, LIU G, et al. Forkhead transcription factor

- foxq1 promotes epithelial–mesenchymal transition and breast cancer metastasis[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(4): 1292–1301.
- [11] LIN Y, LIN F, ZHANG Z, et al. The FGFR1 signaling pathway up-regulates the oncogenic transcription factor FOXQ1 to promote breast cancer cell growth [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(3): 744–759.
- [12] KOELMAN E M R, YESTE–VAZQUEZ A, GROSSMANN T N. Targeting the interaction of beta–catenin and TCF/LEF transcription factors to inhibit oncogenic Wnt signaling[J]. *Bioorg Med Chem*, 2022, 70: 116920.
- [13] YU F, YU C, LI F, et al. Wnt/beta–catenin signaling in cancers and targeted therapies[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 307.
- [14] XU X, ZHANG M, XU F, et al. Wnt signaling in breast cancer: biological mechanisms, challenges and opportunities[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 165.
- [15] WU J, WU Y, CHEN S, et al. PARP1–stabilised FOXQ1 promotes ovarian cancer progression by activating the LAMB3/WNT/beta–catenin signalling pathway[J]. *Oncogene*, 2024, 43(12): 866–883.
- [16] PIZZOLATO G, MOPARTHI L, SODERHOLM S, et al. The oncogenic transcription factor FOXQ1 is a differential regulator of Wnt target genes[J]. *J Cell Sci*, 2022, 135(19): jcs260082.
- [17] ZHANG Z, WANG J, DONG X. Wnt2 contributes to the progression of gastric cancer by promoting cell migration and invasion [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 2857–2864.
- [18] XU J, CHEN Y, HUO D, et al. Beta–catenin regulates c–Myc and CDKN1A expression in breast cancer cells[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(5): 431–439.
- [19] TETSU O, MCCORMICK F. Beta–catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells[J]. *Nature*, 1999, 398(6726): 422–426.
- [20] BURY M, LE CALVE B, FERBEYRE G, et al. New insights into CDK regulators: novel opportunities for cancer therapy[J]. *Trends Cell Biol*, 2021, 31(5): 331–344.
- [21] CHONG Q Y, KOK Z H, BUI N L, et al. A unique CDK4/6 inhibitor: current and future therapeutic strategies of abemaciclib[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 156: 104686.
- [22] MORRISON L, LOIBL S, TURNER N C. The CDK4/6 inhibitor revolution—a game–changing era for breast cancer treatment[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(2): 89–105.
- [23] WU S, XU J, MA Y, et al. Advances in the mechanism of CDK4/6 inhibitor resistance in HR⁺/HER2⁻ breast cancer [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2024, 16: 17588359241282499.
- [24] GOMES I, ABREU C, COSTA L, et al. The evolving pathways of the efficacy of and resistance to CDK4/6 inhibitors in breast cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(19):4835.
- [25] GOEL S, BERGHOLZ J S, ZHAO J J. Targeting CDK4 and CDK6 in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(6): 356–372.

(2025–05–13 收稿)

(上接第 31 页)

- [16] TAJIK F, FATTAHI F, REZAGHOLIZADEH F, et al. Nuclear overexpression of DNA damage–inducible transcript 4 (DDIT4) is associated with aggressive tumor behavior in patients with pancreatic tumors[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 19403.
- [17] LI F, MIAO J, LIU R, et al. Pan–cancer analysis of DDIT4 identifying its prognostic value and function in acute myeloid leukemia[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2024, 150(3): 144.
- [18] DU F, SUN L, CHU Y, et al. DDIT4 promotes gastric cancer proliferation and tumorigenesis through the p53 and MAPK pathways [J]. *Cancer Commun*, 2018, 38(1): 1–14.
- [19] FATTAHI F, KIANI J, ALEMRAJABI M, et al. Overexpression of DDIT4 and TPTEP1 are associated with metastasis and advanced stages in colorectal cancer patients: a study utilizing bioinformatics prediction and experimental validation[J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 303.
- [20] CORONEL L, HÁCKES D, SCHWAB K, et al. P53–mediated AKT and mTOR inhibition requires RFX7 and DDIT4 and depends on nutrient abundance[J]. *Oncogene*, 2021, 41(7): 1063–1069.
- [21] CHENG Q, CHEN L, LI Z, et al. ATM activates p53 by regulating MDM2 oligomerization and E3 processivity[J]. *EMBO J*, 2009, 28(24): 3857–3867.
- [22] SUBHASREE N, JIANGJIANG Q, KALKUNTE S, et al. The MDM2–p53 pathway revisited[J]. *J Biomed Res*, 2013, 27(4): 254–271.
- [23] LINDSTRÖM M S, BARTEK J, MAYA–MENDOZA A. P53 at the crossroad of DNA replication and ribosome biogenesis stress pathways[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(5): 972–982.

(2025–05–08 收稿)