

FK506 结合蛋白在肿瘤中的研究进展

邱林 王爽 刘涵 张军

摘要 目的 随着肿瘤基础研究不断深入以及与之相关的基因检测技术的持续改进、提高,针对恶性肿瘤的分子靶向治疗得到广泛关注,并获得了一些满意的临床效果。近年来,越来越多的证据表明,FK-506 结合蛋白(FK-506 binding protein, FKBP)在肿瘤的诊断、发生、预后及治疗监测中发挥重要作用,有可能成为肿瘤个体化靶向治疗的新靶点。本文就国内外有关 FKBP 家族蛋白核心成员的分子结构、基因表达水平和在肿瘤发生及发展中的功能作用、临床意义及相关分子机制研究进行回顾,以期对该蛋白家族有更全面、深入的了解,为肿瘤的治疗提供理论依据。

关键词 肿瘤 FK506 结合蛋白 靶点

中图分类号 R78 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.04.005

FK506 结合蛋白(FKBP)是一种分布广泛,系统发育保守的非淋巴特异性蛋白,存在于从酵母菌到人体的许多真核生物中^[1]。FKBPs 属于亲免疫家族,能与免疫抑制药物如 FK506 和雷帕霉素结合,并且参与肿瘤进展和化疗耐药等各种过程^[2]。该家族的原型 FKBP12 在 1989 年第一次被分离出来,只包含一个由 108 个氨基酸残基组成的 FK506 结合域(FK506-binding domain, FKBD),被认为是代表了 FKBP 家族一部分成员所必需的最小结构域^[3]。FKBPs 可以和免疫抑制药物结合正是由于 FKBD 的存在,并且 FK-BPs 也具有肽基脯氨酰/反式异构酶活性(PPIase),这种酶活性有助于多肽重组^[4]。

人 FKBPs 包含多种蛋白质,范围从(12~135) kDa,分布于各种组织和亚细胞室中。这些蛋白质最多可包含 3 个 FKBD,通常紧随其后的是四肽重复(TPR)结构域,该结构域与热休克蛋白 90(Hsp90)、C-末端钙调蛋白结合域、跨膜基序的蛋白质-蛋白质相互作用有关。根据已有的研究表明,FKBP12-免疫抑制剂复合物可以通过干扰 Ca^{2+} 来调节神经磷酸酶,从而导致 T 淋巴细胞转导途径中下游信号被抑制,因此可以用于治疗某些自身免疫性疾病,防止器官移植后产生排斥反应^[5]。除此之外,FKBPs 还参与许多细胞功能,如蛋白质折叠、蛋白质稳定性、激酶活

性、受体信号转导和蛋白质运输等^[6]。

最近,FKBPs 已被证明参与了其他的细胞过程,特别是癌变进展和化疗耐药性。与正常的组织和细胞比较,FKBPs 的表达水平在癌细胞系和人类癌症组织中发生了改变。因此本文就 FKBPs 核心成员的分子结构、基因表达水平和在肿瘤发生及发展中的功能作用、临床意义及相关分子机制研究进行回顾,并介绍它们作为癌症生物学标志物的潜在用途。

一、FKBP3

FKBP3(也称为 FKBP25)是第 1 个被确认主要位于细胞核中的 FKBP 家族成员,相对分子质量为 25kDa,它定位于染色体 14q21.2,由 7 个外显子组成,普遍存在于多种组织中,以脑、前列腺、心脏表达量最多^[7]。它包含 1 个 N 末端螺旋-环-螺旋(HLH)域和 1 个 C 末端 FKBD,它们通过一个长度为 35 个氨基酸残基的柔性环相连。它独特的 N 末端结构域与 DNA 相互作用,且与任何哺乳动物蛋白均未显示出明显的序列相似^[8]。尽管 FKBP3 两个独立结构域的结构已经明确,但它的全长结构以及和核酸之间相互作用的分子机制还不是很明确。Prakash 等^[9]通过磁共振法确定了人 FKBP3 在溶液中的三维结构,表征了其于 DNA 的结合,并提出了一个模型来显示 FKBP3 的 DNA 结合机制,为识别核酸的分子调控机制提供见解,由此进一步明确了它的结构,为进一步的功能研究奠定了基础。

Liu 等^[10]对经过褪黑素处理的两种乳腺癌细胞进行全基因组芯片检测,发现了 203 个 mRNA 和 66 个长链非编码 RNA(lncRNA)在两种细胞中均下调了至少 2 倍,通过筛选找到了下调量最多的 FKBP3

基金项目:天津市临床医学重点学科专项基金资助项目(HWZX004)

作者单位:300071 天津,南开大学医学院(邱林、刘涵);300070 天津医科大学(王爽);300041 天津市口腔医院(邱林、王爽、刘涵、张军);300041 天津市口腔功能重建重点实验室(邱林、王爽、刘涵、张军)

通讯作者:张军,电子信箱:zjsurgeon@126.com

和 Nonmmut010561 并将后者命名为 lnc010561。通过 Western blot 法检测证明 FKBP3 在乳腺癌细胞中高表达;在体外实验中,沉默 FKBP3 和 lnc010561 后发现乳腺癌细胞的增殖、侵袭以及集落形成能力减弱;RNA 免疫沉淀分析表明 lnc010561 和 FKBP3 是 miR-30 的内源竞争 RNA (CeRNAs),由此表明,褪黑素通过 lnc010561/miR-30/FKBP3 轴调节乳腺癌的进展。

Tong 等^[11]通过 real-time PCR 和 Western blot 法检测了结直肠癌中 FKBP3 和 HDAC2 的表达,发现 FKBP3 和 HDAC2 在结直肠癌组织中高表达;在体外,通过慢病毒转染使得原代结直肠癌细胞中的 FKBP3 表达量下调,HDAC2 的表达量降低,AKT 的磷酸化也随之减少,同时增加了 PTEN 的表达并显著增加原代结直肠癌细胞对奥沙利铂的敏感性,由此证明 FKBP3 下调可能通过降低 HDAC2 表达减弱结直肠癌细胞对奥沙利铂的抗性,而且 FKBP3 可能会通过调节 PTEN/AKT 通路参与结直肠癌的化疗耐药中。

Zhu 等^[12]研究证明,非小细胞肺癌细胞中 FKBP3 的 mRNA 和蛋白质表达水平均上调,体外和体内实验均表明它可以促进非小细胞肺癌细胞增殖。同时在体外实验中 FKBP3 的敲低显著降低了非小细胞肺癌细胞中 HDAC2 的表达,增加了 p27 (细胞周期抑制剂)的表达,并且 FKBP3 通过抑制转录因子 Sp1 的泛素化诱导 HDAC2 启动子活性。由此表明,FKBP3 可能通过调节 Sp1/HDAC2/p27 通路促进非小细胞肺癌细胞增殖。

目前针对 FKBP3 在肿瘤中的研究内容还比较少,涉及的癌症类型也相对局限,虽然研究人员对 FKBP3 的结构以及功能的认知日渐完善,但是它在所有的癌组织中是否都是高表达以及它对于促进各种癌细胞的增殖能力有无差异这些都是未知的。以往的研究已经为 FKBP3 在乳腺癌、结直肠癌和非小细胞肺癌中存在的可能作用提供了实验依据,经过进一步挖掘相关的分子机制以及增加动物实验验证,那么它或许有望成为这几类癌症临床治疗的新靶点。除此之外,FKBP3 在其他癌组织中的表达特点以及是否发挥某些作用还需要进行更多的验证。

二、FKBP11

FKBP11 是 FKBP 家族的一个新兴成员,最初由 Rulten 等描述,它包含 1 个编码 22kDa 前体蛋白的开放阅读框,这个前体蛋白在 3kDa 的预测位点上被切割留下 1 个 19kDa 的成熟蛋白,因此 FKBP11 也被命

名为 FKBP19。FKBP11 的其他特征还包括 1 个富含亮氨酸的具有 25 个氨基酸残基的 N-末端前导序列,1 个包含跨膜结构域的 C-末端,最后是内质网膜蛋白中发现的定位基序,由此认为 FKBP11 参与蛋白质的折叠和分泌^[13]。FKBP11 定位于染色体 12q13.12,由 8 个外显子组成,在胰腺和阑尾组织中广泛表达。研究表明,FKBP11 与许多炎症性疾病有关,如当处于高水平循环游离脂肪酸的环境中,FKBP11 可能调节 β 细胞中未折叠的蛋白反应 (UPR),从而参与 2 型糖尿病的发病机制^[14]。

FKBP11 可以通过抑制克罗恩病中内质网应激相关的 JNK/caspase 凋亡途径,保护肠上皮细胞免受干扰素- γ (IFN- γ)/肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 诱导的凋亡^[15]。通过分析静止性系统性红斑狼疮 (SLE) 患者 B 细胞转录组,证实 FKBP11 过表达,同时,动物实验证实 FKBP11 过表达可通过在 paired box 5 主调节基因的上游发挥作用来破坏 B 细胞对 DNA 的耐受性,并启动浆细胞分化,这可能在 SLE 免疫病理学中协同促成 B 细胞基因异常^[16]。Lin 等^[17]通过分析肿瘤组织和与肿瘤相邻的组织样本,发现无论它们的临床病理特征如何,均可在肝癌组织中观察到 FKBP11 高表达,重要的是 FKBP11 表达水平从良性肝组织到癌组织逐渐增加。因此,确定 FKBP11 为肝细胞癌新型标志物,并认为 FKBP11 有可能成为肝癌早期标志物。此外,与正常皮肤比较,在黑色素瘤中 FKBP11 的表达上调了 2.42 倍。有关 FKBP11 是否在黑色素瘤进展中发挥作用以及它是否能成为恶性黑色素瘤的标志物尚未见任何报道^[18]。

FKBP11 在肿瘤中的研究仅限于此,对于 FKBP11 的探索还处于初级阶段。对 FKBP11 的结构认识仍需不断的完善,以期后续具体的功能研究提供理论基础。但是,已有证据表明,大约 25% 的人类癌症归因于慢性炎症,许多微生物与癌症的发生和进展有关,炎症标志物在癌症患者中高表达也与预后差有关,这充分表明炎症是癌症的重要标志之一^[19]。因此,在已有的关于 FKBP11 在炎症方面研究的基础上,可以针对炎症相关癌症的调控进行探索,同时 FKBP11 在其他类型的癌症组织中的表达特点以及在肿瘤发生、发展中的功能作用及其潜在机制也需要进一步探索。

三、FKBP38

FKBP38 是 FKBP 家族中的一种多功能蛋白,又名 FKBP8,包含 FKBD、三方 TPR 结构域及推测的钙

调蛋白和跨膜基序。它定位于染色体 19p13.11,由 9 个外显子组成,在睾丸和脑组织中表达量最高。与大多数规范性 FKBP 不同,FKBP38 是非规范性家族成员,缺乏结合 FK506 和 PPIase 活性所需的保守氨基酸残基,表明其有独立于 FKBP 的功能^[20]。在压力超负荷时,FKBP38 通过防止蛋白质错误折叠并产生内质网相关的细胞凋亡,起到保护心脏作用^[21]。在肿瘤中,FKBP38 可以帮助抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-XL 定位于线粒体膜,并保护细胞免于凋亡,从而促进肿瘤发生和化疗抵抗,但作用机制尚不明确^[22]。

众所周知,癌症形成的过程很复杂,与癌基因和抑癌基因突变的逐渐累积有关,会导致细胞周期失调、生长抑制和抗凋亡。与此同时,肿瘤细胞与微环境的相互作用也会促进癌症的进展。癌细胞增殖速度普遍较快,疾病进展也通常迅速,在短短几个月内肿瘤的体积可以增加一倍,这种加速的进展也是癌症预后不良的原因之一,因此抑制肿瘤细胞的增殖现在也成为了研究热点。细胞凋亡作为抑制细胞增殖的一种机制,也同样具有很广阔的研究前景,FKBP38 已经展现出了和细胞凋亡的关系,那么未来或许可以研究在不同癌症中 FKBP38 的表达特点从而将 FKBP38 的异常表达与癌细胞的凋亡相结合。

四、FKBP51

FKBP51 又名 FKBP5、FKBP54,相对分子质量为 51kDa,定位于染色体 6p21.31,由 13 个外显子组成,在脂肪及淋巴结中表达量最高。FKBP51 由两个连续的 FKBP 域和一个 TPR(四肽重复)域组成,第 1 个 FKBP 域具有肽基脯氨酰基异构酶活性,第 2 个 FKBP 域与第 1 个相似,二者的不同之处在于第 2 个 FKBP 结构域缺少肽基脯氨酰基异构酶活性,而且第 2 个 FKBP 结构域的插入会影响孕酮受体复合物的形成。该蛋白还可以通过与 Hsp90 结合,参与高亲和力类固醇受体复合物的形成,比如糖皮质激素(GR)或孕激素(PR)的受体必须通过涉及 Hsp40、Hsp70、Hsp90 及各种 Hsp 结合伴侣蛋白的有序途径进行组装^[23]。除了 FKBP51 在免疫抑制方面的作用研究外,近些年在肿瘤中的研究也取得了一定进展。如 Wu 等^[24]研究发现 FKBP51 在前列腺癌中高表达,并且可以促进雄激素受体的活性,增强雄激素受体结合雄激素的能力,导致下游基因表达上调,最终促进前列腺癌细胞的增殖。Gao 等^[25]研究发现与临近的正常组织比较,FKBP51 在甲状腺乳头状癌中表达增加,并且表达水平与临床肿瘤、淋巴结和转移阶段相关。

在体外实验中选用 K1 细胞和 TPC-1 细胞,确定 FKBP51 可以促进甲状腺乳头状癌的迁移和侵袭。进一步研究表明,FKBP51 激活了 NF- κ B 通路和上皮间充质转化从而导致细胞的迁移和侵袭能力增强。夏志秀等^[26]研究发现,与正常结直肠组织比较,FKBP51 在结直肠癌组织中表达高,而且与肿瘤增殖和浸润深度呈正相关,由此表明 FKBP51 作为癌基因可能促进结直肠癌生长和侵袭,有可能成为结直肠癌个体化诊治的候选靶点。Chen 等^[27]研究发现,与邻近正常组织比较,肺癌组织中 FKBP51 表达量明显下调。在非小细胞肺癌细胞 A549 中过表达 FKBP51 可显著增加细胞凋亡,p53 和 caspase-3 的水平也显著升高;A549 细胞生存力与空载对照比较,暴露在顺铂中的 FKBP51 过表达细胞显示出明显较低的存活率,由此表明 FKBP51 可以通过改变 p53 信号转导途径的活性影响肺癌进展且提高药物敏感度。李庆敏等^[28]研究发现,FKBP51 在乳腺癌中低表达,而且其表达水平与组织学分级呈负相关,即 FKBP51 的表达水平越高,组织学分级越低,细胞分化越好,恶性程度越低,预后相对较好,可能在乳腺癌中发挥抑癌基因的作用而抑制癌细胞增殖。

综上所述,FKBP51 在前列腺癌、甲状腺乳头状癌、结直肠癌、黑色素瘤、神经胶质瘤中过表达,在肺癌、乳腺癌中表达下调或不表达。因此,对于 FKBP51 的性质目前还无法给出一个明确的定义,对于肿瘤的诱发机制来说,可能作为促癌基因或抑癌基因在不同肿瘤组织中受不同信号通路调控发挥作用。虽然 FKBP51 在肿瘤中的研究比较广泛,但由于它在不同肿瘤甚至是不同分化程度的同一肿瘤中都有可能表现出不同作用,表明它在某些肿瘤中的功能作用不具有普遍性,在疾病中受到的调控机制相对复杂且尚不明确。因此针对 FKBP51 的这种表达特性,未来研究的方向主要是针对于它在不同类型的癌症中的个性化靶向治疗,在没有完全认清它对于某种癌症及其全部分型的作用之前,不可以贸然下结论。

五、展 望

自 1989 年 FKBP 被发现并且命名后,已陆续发现多达 16 种 FKBP 家族成员,它们拥有相似的结构与作用,定位于不同的染色体,在各种组织中的表达有明显差异^[3]。尽管 FKBP 家族成员发现 30 余年,但相关研究仍处于初级阶段,许多问题亟待探究,如该蛋白家族成员尚未完全被发现,现已发现的成员结构认识尚不完全以及相关生理作用未见报道,研究多在基因表达和细胞

实验水平,蛋白表达调控及功能作用机制研究不全面深入,缺乏体内实验验证,多数研究对象是结直肠癌、前列腺癌、乳腺癌等发生率较高的恶性肿瘤,在其他类型癌症发生、发展中的作用、分子机制及临床意义方面鲜有研究。

目前肿瘤治疗依然是以外科手术、放疗以及化疗等治疗手段为主的综合治疗模式,尽管这种模式日益成熟,但癌症患者的预后仍然不理想,所以迫切需要寻找一些具有足够特异性和敏感度的标志物用于临床癌症诊断,特别是早期癌症,以求做到早发现、早诊断、早治疗。随着分子肿瘤时代的到来,针对肿瘤治疗的策略实现了从“寻找和破坏肿瘤”到“靶向和控制肿瘤”的转变。除FKBPs在免疫抑制方面作用外,其在肿瘤发生与化疗耐药中的作用也愈来愈受重视,未来一或多个蛋白家族成员可能成为肿瘤个体化诊治的候选靶点,结合传统临床治疗模式,最终达到阻遏和治疗肿瘤的目的。

参考文献

- Siekierka JJ, Wiederrecht G, Greulich H, *et al.* The cytosolic - binding protein for the immunosuppressant FK - 506 is both a ubiquitous and highly conserved peptidyl - prolyl cis - trans isomerase[J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(34): 21011 - 21015
- Siekierka JJ, Staruch MJ, Hung SH, *et al.* FK - 506, a potent novel immunosuppressive agent, binds to a cytosolic protein which is distinct from the cyclosporin A - binding protein, cyclophilin[J]. *J Immunol*, 1989, 143(5): 1580 - 1585
- Siekierka JJ, Hung SHY, Poe M, *et al.* A cytosolic binding protein for the immunosuppressant FK506 has peptidyl - prolyl isomerase activity but is distinct from cyclophilin[J]. *Nature*, 1989, 341(6244): 755 - 757
- Schiene C, Fischer G. Enzymes that catalyse the restructuring of proteins[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2000, 10(1): 40 - 45
- Liu J, Farmer JD, Lane WS, *et al.* Calcineurin is a common target of cyclophilin - cyclosporin A and FKBP - FK506 complexes[J]. *Cell*, 1991, 66(4): 807 - 815
- Solassol J, Mange A, Maudelonde T. FKBP family proteins as promising new biomarkers for cancer[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2011, 11(4): 320 - 325
- Jin YJ, Burakoff SJ. The 25 - kDa FK506 - binding protein is localized in the nucleus and associates with casein kinase II and nucleolin[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(16): 7769 - 7773
- Rivière S, Ménez A, Galat A. On the localization of FKBP25 in T - lymphocytes[J]. *FEBS Lett*, 1993, 315(3): 247 - 251
- Prakash A, Shin J, Rajan S, *et al.* Structural basis of nucleic acid recognition by FK506 - binding protein 25 (FKBP25), a nuclear immunophilin[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2909 - 2925
- Liu P, Xie XH, Yang AL, *et al.* Melatonin regulates breast cancer progression by the lnc010561/miR - 30/FKBP3 axis[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19: 765 - 774
- Tong JF, Shen Y, Chen X, *et al.* FKBP3 mediates oxaliplatin resistance in colorectal cancer cells by regulating HDAC2 expression[J]. *Oncol Rep*, 2019, 42: 1404 - 1412
- Zhu WZ, Li Z, Xiong LW, *et al.* FKBP3 promotes proliferation of non - small cell lung cancer cells through regulating Sp1/HDAC2/p27[J]. *Theranostics*, 2017, 7(12): 3078 - 3089
- Rulten SL, Kinloch RA, Tateossian H, *et al.* The human FK506 - binding proteins: characterization of human FKBP19[J]. *Mamm Genome*, 2006, 17(4): 322 - 331
- Kim M, Lee JS, Oh JE, *et al.* SIRT3 overexpression attenuates palmitate - induced pancreatic β - cell dysfunction[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0124744
- Wang XT, Cui XP, Zhu CW, *et al.* FKBP11 protects intestinal epithelial cells against inflammation induced apoptosis via the JNK caspase pathway in Crohn's disease[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(5): 4428 - 4438
- Ruer - lavebtie J, Simoni L, Schickel JN, *et al.* Overexpression of FKBP11, a feature of lupus B cells, leads to B cell tolerance breakdown and initiates plasma cell differentiation[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2015, 3(3): 265 - 279
- Lin IY, Yen CH, Liao YJ, *et al.* Identification of FKBP11 as a biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(6): 2763 - 2769
- Hagedorn M, Siegfried G, Hooks KB, *et al.* Integration of zebrafish fin regeneration genes with expression data of human tumors in silico uncovers potential novel melanoma markers[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(44): 71567 - 71579
- Karpinski TM. Role of oral microbiota in cancer development[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(1): 20 - 34
- Lam E, Martin M, Wiederrecht G. Isolation of a cDNA encoding a novel human FK506 - binding protein homolog containing leucine zipper and tetratricopeptide repeat motifs[J]. *Gene*, 1995, 160(2): 297 - 302
- Misaka T, Murakawa T, Nishida K, *et al.* FKBP8 protects the heart from hemodynamic stress by preventing the accumulation of misfolded proteins and endoplasmic reticulum - associated apoptosis in mice[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 114(2018): 93 - 104
- Nie H, Rathbun G, Tucker H. Smyd1C mediates cd8 t cell death via regulation of bcl2 - mediated restriction of outer mitochondrial membrane integrity[J]. *J Cell Signal*, 2017, 2(3): 163 - 186
- Stechschulte LA, Sanchez ER. FKBP51 - a selective modulator of glucocorticoid and androgen sensitivity[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2011, 11(4): 332 - 337
- Wu D, Tao XY, Chen ZP, *et al.* The environmental endocrine disruptor p - nitrophenol interacts with FKBP51, a positive regulator of androgen receptor and inhibits androgen receptor signaling in human cells[J]. *Hazard Mater*, 2016, 307(4): 193 - 201
- Gao Y, Elamin E, Zhou RF, *et al.* FKBP51 promotes migration and invasion of papillary thyroid carcinoma through NF - κ B - dependent epithelial - to - mesenchymal transition[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(6): 7020 - 7028
- 夏志秀, 王昌亮, 韩彦梁, 等. FKBP51在结直肠癌与正常组织中的表达差异及与临床病理特征的关系[J]. *中国医师杂志*, 2017, 19(3): 362 - 366
- Chen Y, Liu ZQ, Wang YQ, *et al.* FKBP51 induces p53 dependent apoptosis and enhances drug sensitivity of human non small cell lung cancer cells[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 2236 - 2242
- 李庆敏, 宋淑亚, 董竞, 等. FKBP51在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2016, 10(16): 2419 - 2422

(收稿日期: 2020 - 08 - 13)

(修回日期: 2020 - 10 - 16)