恶性肿瘤中上游因子对 FBXW7 基因的调节机制研究进展

杨 洋 邵芳斐 陈 飞 叶魏武

摘 要 FBXW7 基因属于 WD40 重复序列蛋白家族,位于染色体 4q32,由 1 个特异性的外显子和 10 个共有的外显子组成,是近年来发现的重要抑癌基因。FBXW7 基因受其上游因子调控,作用于细胞增殖、分化、细胞周期进程、凋亡、癌变等多种生物学过程。本文将重点讨论在恶性肿瘤中上游因子对 FBXW7 基因的功能及表达的调节机制。

关键词 FBXW7 肿瘤 上游因子

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.09.004

目前,在人类基因组中发现 69 个能形成不同类型 E3 连接酶 SCF 复合物的 F-box 蛋白,它们能降解一些特定蛋白,具有调控细胞活动的意义。根据 F-box 蛋白识别域的不同,可以将其分成 3 大蛋白家族:WD40 重复序列(FBXW)、富含亮氨酸的重复序列(FBXL)和缺乏这两个结构域的蛋白组(FBXO)[1]。其中 FBXW7 是近年来发现的重要抑癌基因。恶性肿瘤的发病机制是由各种外源性致癌物的诱导以及内源性的基因紊乱表达所致。FBXW7 基因的上游因子可以调控 FBXW7 基因的表达,影响 SCF E3 连接酶作用于各种蛋白降解或肿瘤抑制的调节紊乱过程中,改变肿瘤的发生概率和预后风险[1,2]。本文对 FBXW7 基因在恶性肿瘤中相关信号通路的调节机制进行综述。

一、FBXW7 基因结构及亚型

FBXW7 基因(也称为 AGO、SEL-10 和 hCDC4),是一种能影响染色体稳定性的抑癌基因,在细胞增殖、分化、细胞周期进程、损伤应答、凋亡、癌变等多种生物学过程中起关键的负调节作用[3]。FBXW7 基因位于染色体 4q32,由 1 个特异性的外显子和 10 个共有的外显子组成,存在 3 种亚型:FBXW7α、FBXW7β 和 FBXW7γ[1,4]。

FBXW7 有 3 个保守结构域:F-box 结构域、WD40 重复序列和 D 结构域[5]。F-box 结构域可与 SKP1 相互作用。WD40 重复序列是蛋白间相互作用域,为亚基结合提供连接点。WD40 重复序列可以识别底物蛋白上发生磷酸化修饰的保守氨基酸序列 CPD[6]。D 结构域能促进 FBXW7 二聚化,FBXW7 通过形成同源二聚体或异源二聚体复合物来调节底物结合,使之泛素化并修饰。

国内外大量研究证明 FBXW7 的肿瘤抑制功能可以由多个监管机构、突变、剪接以及上游的细胞信号通路所调控[1,2,7]。其中 microRNA、p53、C/EBP-δ、Pin1、Numb4、Akt-COP1 轴、KRAS 等上游调控因子与 FBXW7 的肿瘤抑制功能最为密切。

二、microRNA(miRNA)

microRNA 是短 RNA 分子,平均长 22 个核苷酸,它能结合 mRNA 的互补序列,抑制翻译,使目标退化致基因沉默。多种 miRNA 可以调节 FBXW7 的表达,如 miR-25、miR-27、miR-92 等[8~10]。

1. miR-27:在乳腺癌细胞中,由于锌指 ZBTB10 基因表达的抑制,miR-27a 的致癌活性会导致特异性蛋白质 SP1、SP3 和 SP4 等表达增加,上调和激活 SP 依赖性生长基因,如 survivin、VEGF 和 VEGFR1。在肺癌中,miR-27a 通过调节 MET、EGFR 和 Sprouty2 而发挥其致癌作用[11]。在敲除 miR-27a 结肠癌细胞系和结肠癌干细胞中,FBXW7 高表达可使底物 c-myc、c-jun 和 Notch-1 等低表达。在食管鳞癌细胞中,FBXW7 是 mir-27a-3p 的直接目标,mir-27a-3p 表达下调可能诱导细胞周期阻滞 G_1/S 过渡[12]。胰腺癌患者外周血单核细胞中 miR-27a-3p 显着上调。在肾癌中,mir-27a-3p 可促进细胞增殖、转移和浸润。另外,通过调节 MXI1 表达,

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2013ZA020);浙江省新苗基金资助项目(2016R410004)

作者单位:310053 杭州,浙江中医药大学第二临床医学院(杨洋、邵芳斐、陈飞);浙江省肿瘤医院(叶魏武)

通讯作者:叶魏武,电子信箱:zjhzy76@163.com

miR－27a－3p 能使胶质瘤细胞增殖[8]。

miR－27b 是致癌 miRNA，通过直接调控下游靶基因 FBXW7 起作用。miR－27b 在肝癌中高表达，与不良预后和生存率相关。相反，miR－27b 的低表达能增强细胞凋亡，抑制肿瘤细胞的增殖能力和周期进展[13]。另外，miR－27b 在非小细胞肺癌组织中低表达，并且通过下调非小细胞肺癌的 Sp1，抑制细胞生长和浸润[9]。

2. miR－92：FBXW7 是 miR－92a 的靶基因，miR－92a 通过直接结合 3′UTR 抑制 FBXW7mRNA 表达水平。在宫颈癌中，miR－92a 通过促进细胞周期 G_1/S 进展，显著提高细胞增殖和宫颈癌细胞浸润能力[10]。

组织中 lncRNA MT 1 JP 表达水平与 FBXW7mRNA 表达水平呈正相关。lncRNA MT 1 JP 可能通过竞争性结合 miR－92a－3p 抑制 FBXW7 表达，参与癌细胞的发生、发展。胃癌组织中的 FBXW7 通过下调 RHOA 信号通路抑制上皮间质化生，发挥抑癌作用[14]。在 lncRNA MT 1 JP 过表达的细胞内 FBXW7 的蛋白表达水平上调，lncRNA MT 1 JP 能够恢复 miR－92a－3p 对 FBXW7 的抑制效应。当干扰 lncRNA MT 1 JP 与 FBXW7 之间的桥梁 miR－92a－3p 后，过表达的 lncRNA MT 1 JP 对 FBXW7 的蛋白表达水平上调作用减弱，故而推测 lncRNA MT 1 JP 通过竞争性结合 miR－92a－3p 调控 FBXW7 蛋白的表达进而参与胃癌发生、发展。

研究发现，在结直肠癌中 c－Myc、miR－92b 及 FBXW7 三者间可能存在分子调节环路。miR－92b、c－Myc在人结直肠癌临床样本中显著高表达。miR－92b 是一个具有分泌特性的 microRNA，以分泌形式存在于胞外及外周血中。c－Myc 可通过调节 miR－92b 的启动子活性促进后者转录。

3. miR－155：在人类恶性肿瘤中，MALAT1 异常表达。Han 等通过 MMP2 的下调和 ERK/MAPK 信号的失活证明了 MALAT1 在胶质瘤细胞中的肿瘤抑制功能。miR－155 可能靶向性抑制基因 SOCS1 和 APC，以及激酶 WEE1，阻断 Cdc2 的活性。FBXW7 mRNA 为 miR－155 在胶质瘤中的直接靶目标，MALAT1 通过下调 miR－155、激活 FBXW7 信号，抑制胶质瘤细胞增殖。MALAT1 抑制细胞生长，而 miR－155 促进细胞生长[15]。

上调的 miR－155－3p 可以增强多种癌细胞的增殖，反过来刺激肿瘤的发展。研究发现 miR－155－3p 在 HCC 组织和细胞系中均显示上调，而过表达的 miR－155－3p 增强体外 HCC 细胞增殖及肿瘤的发生[16]。

4. miR－223：miR－223 在癌细胞中过表达，调控 FBXW7，增加内源性 cyclin E 的数量和活性，改变细胞周期的进程。在 AML 中，miR－223 表达下调。研究通过荧光素酶双重活性测定确定 miR－223 直接结合 FBXW7 3′－UTR，调节 FBXW7 表达。该试验建立了 miR－223 和 FBXW7 之间的功能性连接，确认了 miR－223 对 AML 细胞增殖的抑制作用[17]。miR－223－3p 和 FBXW7mRNA 的表达水平呈负相关。miR－223－3p 通过抑制 FBXW7 促进细胞生长、抑制细胞凋亡，发挥致癌作用。在睾丸生殖细胞肿瘤细胞系中，miR－223－3p 调节 FBXW7 的蛋白表达、细胞生长和凋亡[18]。

5. 其他 miRNA：此外，有新的研究发现了 miR－25、miR－32、mir－129－5p、miR－145、miR－182、miR－218、miR－330－3p、miR－367、miR－503、miR－770、miR－1179 等上游调控因子，参与着肿瘤的发生和发展。不同的 miRNA 作用机制多种多样。研究发现在骨肉瘤细胞中，mir－129－5p 通过抑制 VCP 阻止肿瘤细胞转移。在 AML 患者血清中，上调的 miR－129－5p 可作为检测 AML 的潜在生物标志物。研究发现 miR－330－3p 可靶向编程 miR－182 和 miR－503，使其表达上调，从而下调 FBXW7 基因，使结肠腺瘤进展为腺癌[19]。研究发现 miR－182 表达还与乳腺肿瘤组织中 FBXW7 的表达呈负相关。miR－182 的高表达增加了细胞的致瘤性和浸润性，但这一影响可以被特定抗体介质中 VEGF－A 或 FBXW7 细胞异位表达所拮抗[20]。同时，SREBP2 可靶向调控 miR－182 来调节 FBXW7 表达。最新研究发现miR－770 通过 Wnt/β－catenin 信号通路抑制 FBXW7 的表达[21]，而 miR－1179 则是通过 SLIT2/ROBO1 轴促进食管鳞状细胞癌细胞的浸润[8]。

三、其他上游调控因子

1. p53：在 FBXW7 基因的第 1 个外显子上包含 p53 结合位点，p53 信号通路的靶向途径可能影响 FBXW7 的表达。p53 突变可通过 FBXW7 50 个上游区域的 DNA 超甲基化抑制 FBXW7 表达[7]。FBXW7b 也是 p53 的靶目标，通过 p53－p21－CDK2 信号通路，调节 Cyclin E 的表达，从而靶向性调节 CDK2 活性。同时，p53 能通过 p53－[miR－192/215；FBXW7b]－CDC7 信号通路使 CDC7 表达下调。调节 CDK2 和 CDC7 的两种 p53 依赖性信号通路是相互连接的，p21 的 CDK2 抑制消除了 CDC7 的 T376

磷酸化,其促进 FBXW7b 介导的 CDC7 降解,有趣的是,p53 - p21 - CDK2 和 p53 - [miR - 192/215Fbxw7b] - CDC7 信号轴之间存在进一步的串扰。基因毒性应激后,p53 诱导的 G_1 生长停滞关键依赖于 p53 - [miR - 192/215;FBXW7b] - CDC7 信号通路[22]。

MDM2 是 E3 的泛素连接酶,促进 p53 泛素化和降解,负调控 p53。Nutlin - 3 是 MDM2 的拮抗剂,可与 MDM2 在 p53 结合位点处结合,干扰 p53 的降解,导致 p53 蛋白的积累。由此发现,新型 MDM2 蛋白抑制剂可保护 p53 基因[23]。

2. C/EBP - δ:六异构体 C/EBP 家族是高度保守亮氨酸拉链型 DNA 结合蛋白,调节多种细胞的生长和分化。C/EBPδ 可以直接抑制 FBXW7 表达。通过结合转录序列 FBXW7 基因启动子,C/EBPδ 可阻断 P53 通路,抑制 FBXW7 以及其底物 mTOR 和 HIF - 1α,增强 mTOR/Akt/S6K1 的信号表达,诱导癌源性靶基因 mTOR 和 Aurora A C/EBPδ 的积累,增强 HIF - 1α 的翻译和表达,使癌细胞转移。

Pawar 等发现 C/EBP - δ 低表达能抑制前列腺癌细生长,可见 C/EBP - δ 具有肿瘤抑制功能。Roysarkar 等人发现 C/EBP - δ 能使乳腺上皮细胞在 G_0 期生长停滞。在乳腺癌中,启动子甲基化使 C/EBP - δ 基因低表达。C/EBP - δ 对 APC/C 的 CDC27 亚基的诱导表达,使 Cyclin D1 和其他 APy 底物 Cyclin B1,Skp2 和 PLK - 1 降解[2]。

3. Pin1:Pin1 是唯一的已知酶,可使特定的丝氨酸/苏氨酸 - 肽键磷酸化后异构,高效率地调节构象变化。Pin1 诱导的构象变化调节蛋白质的稳定性、磷酸化状态和亚细胞定位。Pin1 在多数肿瘤中过表达,激活大量癌基因 NEU,RAS,c - jun,Mcl - 1,Notch - 1 和 c - Myb,并灭活大量肿瘤抑制基因 p53、PML 和 Foxos,发挥其致癌作用[2]。

最近研究表明,Pin1 能调控 FBXW7 的底物 MCL - 1、c - jun 的稳定性,通过直接结合 FBXW7 抑制 FBXW7 二聚化,促进 FBXW7 自身泛素化和降解,负调控 FBXW7 的稳定性,也有作者认为 Pin1 通过磷酸化的形式使 FBXW7 降解,减少 FBXW7 表达。这表明 Pin1 可能是 FBXW7 的上游调控因子[2,24]。

4. Akt - COP1 轴:研究发现一种新的 FBXW7 稳定性的调节机制,涉及 COP1、Akt 和 CSN6。COP1 是 E3 泛素连接酶的重要底物,COP1 在 V200 和 P201 位点结合 FBXW7。Akt 影响 COP1 和 FBXW7 之间的结合。IGF - 1、EGF 诱导的 Akt1 能调节 FBXW7 在 T226 和 S227 位点的磷酸化,直接影响 FBXW7 的稳定性,使 FBXW7 泛素化。CSN6 能结合 FBXW7 致后者降解。CSN6 可以抑制 FBXW7,调节 cyclin E 和 c - jun 稳定性。Akt - COP1 轴对 FBXW7 的调控,干预 Akt - COP1 的过表达。

5. KRAS:在胰腺癌的发展和预后中,癌基因 KRAS 的突变致 ERK 激活起重要作用。FBXW7 低表达与 ERK 激活显著相关。KRAS 信号转导在 PDAC 中主要有 3 个途径:Raf/MEK/ERK、PI_3K/Pdk1/Akt 和鸟嘌呤核苷酸交换因子途径。作为最主要的 Ras 下游通路,MAPK 信号轴对 PDAC 发展很重要。激活的 Ras 结合 Raf 可以激活 MEK 激酶,使之磷酸化。随后 MEK1/2 的磷酸残基在 ERK 激酶作用下活化循环,导致 ERK 的激活。激活的 ERK 激酶能使 FBXW7 磷酸化并激活胞质和核内靶目标。Ras 通过 MAPK 途径稳定细胞 cyclin E,抑制其泛素化。此外,ERK 可直接作用在 FBXW7 的 T205 位点,使 FBXW7 磷酸化,依次促进其泛素化和蛋白酶体降解[25]。

6. 其他因素:除了上述讨论的上游因子,笔者还发现了 NF - κB1、EBP2、、FAM83D、HES - 1、HES - 5、Plk2STAT1 和 lncRNA - MIF,它们能调控 FBXW7 表达从而控制生物学进程[26~30]。晚期卵巢浆液性腺癌中,HES - 1、HES - 5 的高表达是卵巢癌预后不良的潜在因素,NICD/Hes - 5/FBXW7β 正反馈途径可抑制 FBXW7[2]。Chen 等[27]发现 STAT1 的过表达可增加 p53 和 FBXW7 蛋白的表达,同时下调 cyclin A,cyclin D1,cyclin E、CDK2 的表达水平,诱导 G_0/G_1 期阻滞和细胞凋亡。Zhang 等[28]发现 lncRNA - MIF 是一种竞争性的内源性 RNA,是 c - Myc 的 E3 连接酶,能增加 FBXW7 的表达并降解 c - Myc。lncRNA MIF 基因之间的反馈回路能对 c - Myc 蛋白稳定性进行精细控制,抑制有氧糖酵解和肿瘤的发生。

四、展 望

FBXW7 基因作为一种近年来新发现的抑癌基因,在细胞生物学过程中起关键的调节作用。在肿瘤细胞中常发现突变或下调的 FBXW7 基因,根据这一特性,FBXW7 基因可能成为恶性肿瘤的分子标志物。FBXW7 受上游因素影响,故恢复其肿瘤抑制功能可通过转变这些影响因素来设计治疗癌症患者的新思路。事实上,已有研究发现,天然的膳食剂染料木素通过抑制 miR - 223 而上调 FBWX7 的表达,导致胰腺癌细胞生长抑制与凋亡。目前,探究 FBXW7 基因的底物来推断 FBXW7 的功能仍是研究重点,然而关

于 FBXW7 的亚型在靶蛋白识别与泛素化中的作用差异、FBXW7 的全面调控网络等亟待解决的问题仍不明确，未来关于 FBXW7 研究的目光可能转移到这个方向。虽然这些机制扑朔迷离，但是我们相信关于 F－box 家族蛋白调控肿瘤细胞的功能研究必将在不久之后有新的进展。

参考文献

1 North BJ, Liu Y, Inuzuka H, *et al*. The role of FBXL subfamily of F－box proteins in tumorigenesis[J]. Springerbriefs Cancer Res, 2014, 25(9):15－45

2 Wang L, Ye X, Liu Y, *et al*. Aberrant regulation of FBW7 in cancer [J]. Oncotarget, 2014, 5(8):2000－2015

3 Yeh CH, Bellon M, Pance J, *et al*. Oncogenic mutations in the FBXW7 gene of adult T－cell leukemia patients[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2016, 113(24):1534－1537

4 Snijders AM, Mao JH. Co－expression network analysis of Fbxw7－associated LncRNAs reveals their functions in radiation－induced thymic lymphoma[J]. Insights Cancer Res, 2016, 26(1):1－5

5 Lv XB, Wu W, Tang X, *et al*. Regulation of SOX10 stability via ubiquitination－mediated degradation by Fbxw7α modulates melanoma cell migration[J]. Oncotarget, 2015, 6 (34): 36370－ 36382

6 Takeishi S, Nakayama KI. Role of Fbxw7 in the maintenance of normal stem cells and cancer－initiating cells[J]. Br J Cancer, 2014, 111(6):1054－1059

7 Kitade S, Onoyama I, Kobayashi H, *et al*. FBXW7 is involved in the acquisition of the malignant phenotype in epithelial ovarian tumors [J]. Cancer Sci, 2016, 107(10):1399－1405

8 Wu XZ, Wang KP, Song HJ, *et al*. MiR－27a－3p promotes esophageal cancer cell proliferation via F－box and WD repeat domain－containing 7 (FBXW7) suppression[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8 (9):15556－15562

9 Xiang J, Hang JB, Che JM, *et al*. miR－25 is up－regulated in non－small cell lung cancer and promotes cell proliferation and motility by targeting FBXW7[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(8): 9147－9157

10 Zhou C, Shen L, Mao L, *et al*. miR－92a is upregulated in cervical cancer and promotes cell proliferation and invasion by targeting FBXW7[J]. Biochem Biophy Res Commun, 2015, 458(1):63－69

11 Acunzo M, Romano G, Palmieri D, *et al*. Cross－talk between MET and EGFR in non－small cell lung cancer involves miR－27a and Sprouty2[J]. Proc Nat Acad Sci, 2013, 110(21):8573－8578

12 Wu XZ, Wang KP, Song HJ, *et al*. MiR－27a－3p promotes esophageal cancer cell proliferation via F－box and WD repeat domain－containing 7 (FBXW7) suppression[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8 (9):15556－15562

13 Sun XF, Sun JP, Hou HT, *et al*. MicroRNA－27b exerts an oncogenic function by targeting Fbxw7 in human hepatocellular carcinoma [J]. Tumor Biol, 2016, 34(8):1－8

14 Li H, Wang Z, Zhang W, *et al*. Fbxw7 regulates tumor apoptosis growth arrest and the epithelial－to－mesenchymal transition in part through the RhoA signaling pathway in gastric cancer[J]. Cancer Let, 2016, 370(1):39－55

15 Cao S, Wang Y, Li J, *et al*. Tumor－suppressive function of long noncoding RNA MALAT1 in glioma cells by suppressing miR－155 expression and activating FBXW7 function[J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(11):2561－2574

16 Bo T, Lei B, Qi G, *et al*. MicroRNA－155－3p promotes hepatocellular carcinoma formation by suppressing FBXW7 expression[J]. J Expe Clin Cancer Res, 2016, 35(1):93－105

17 Xiao Y, Su C, Deng T. miR－223 decreases cell proliferation and enhances cell apoptosis in acute myeloid leukemia via targeting FBXW7[J]. Oncol Lett, 2016, 12(5): 3531－3536

18 Liu J, Shi H, Li X, *et al*. miR－223－3p regulates cell growth and apoptosis via FBXW7 suggesting an oncogenic role in human testicular germ cell tumors[J]. Int J Oncol, 2017, 50(2):356－364

19 Li L, Sarver A, Khatri R, *et al*. MicroRNAs miR－503 and －182 regulate FBXW7 contributing to the malignant transformation to colon adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 2014, 74(19):4368－4374

20 Chiang CH, Chu PY, Hou MF, *et al*. MiR－182 promotes proliferation and invasion and elevates the HIF－1α－VEGF－A axis in breast cancer cells by targeting FBXW7[J]. Am J Cancer Res, 2016, 6 (8):1785－1798

21 Wu W J, Shi J, Hu G, *et al*. Wnt/β－catenin signaling inhibits FBXW7 expression by upregulation of microRNA－770 in hepatocellular carcinoma.[J]. Tumor Biol, 2016, 37(5):6045－6057

22 Tudzarova S, Mulholland P, Dey A, *et al*. p53 controls CDC7 levels to reinforce G1 cell cycle arrest upon genotoxic stress[J]. Cell Cycle, 2016, 15(21):2958－2972

23 Malonia SK, Dutta P, Santra MK, *et al*. F－box protein FBXO31 directs degradation of MDM2 to facilitate p53－mediated growth arrest following genotoxic stress[J]. Proc Nat Acad Sci, 2015, 112(28): 8632－8637

24 Rustighi A, Zannini A, Tiberi L, *et al*. Prolyl－isomerase Pin1 controls normal and cancer stem cells of the breast[J]. EMBO Mol Med, 2014, 6(1): 99－119

25 Ji S, Qin Y, Shi S, *et al*. ERK kinase phosphorylates and destabilizes the tumor suppressor FBW7 in pancreatic cancer[J]. Cell Res, 2015, 25(5):561－573

26 Oun B, Zhao, J, Guan S, *et al*. Plk2 promotes tumor growth and inhibits apoptosis by targeting fbxw7 cyclin E in colorectal cancer[J]. Cancer Lett, 2016, 380(2): 457－466

27 Chen J, Wang H, Wang J, *et al*. STAT1 inhibits human hepatocellular carcinoma cell growth through induction of p53 and Fbxw7[J]. Cancer Cell Int, 2015, 26(15): 111－121

28 Zhang P, Cao L, Fan P, *et al*. LncRNA－MIF, a c－Myc－activated long non－coding RNA, suppresses glycolysis by promoting Fbxw7－mediated c－Myc degradation[J]. Embo Rep, 2016, 17(8):1204－1220

29 Wang Z, Liu Y, Zhang P, *et al*. FAM83D promotes cell proliferation and motility by downregulating tumor suppressor gene FBXW7[J]. Oncotarget, 2013, 4(12):2476－2486

30 Liao P, Wang W, Shen M, *et al*. A positive feedback loop between EBP2 and c－Myc regulates rDNA transcription, cell proliferation, and tumorigenesis[J]. Cell Death Dis, 2014, 85(5):1032－1035

（收稿日期：2017－11－24）
（修回日期：2017－12－12）