

Gli 转录因子与肿瘤

盛晓琳 洪璇 综述 陈公琰 审校

摘要 Hedgehog(HH)信号通路参与胚胎发育、成人组织再生及修复,且在肿瘤细胞生长及转移过程中发挥重要作用。已有大量研究证实该信号通路的异常激活与多种肿瘤的发生发展密切相关。Gli是HH通路直接调控靶基因的转录因子,是该通路不同水平激活的最后共同通道,在致瘤过程中起着重要作用。Gli受多通路多因素调节,故抑制Gli靶向性治疗具有非常广阔的前景。本文对Hedgehog-Gli信号通路在恶性肿瘤发生发展中的作用、Gli转录活性的调控及致瘤作用、Gli转录因子的靶向治疗价值等方面的研究进展进行综述。

关键词 Hedgehog Gli 转录因子 肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.12.015

Gli Transcription Factors and Tumor

Xiaolin SHENG, Xuan HONG, Gongyan CHEN

Correspondence to: Gongyan CHEN; E-mail: chengongyan@medmail.com.cn

The First Department of Oncology, The Third Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, China

Abstract The hedgehog (HH) signaling pathway plays an important role in the growth and metastasis of tumor cells, in addition to its role in the development of the embryo and the regeneration and repair of tissues in adults. Aberrant activation of this pathway has been found to be involved in the invasion and progression of several malignant human tumors. The Gli transcription factors that directly regulate the transcription of targeted genes act at the end of the Hh signaling cascade, and play an important role in carcinogenesis. Gli has also been found to interact with other signaling pathways commonly activated in human cancers; as such, the targeted inhibition of Gli-mediated transcription is likely valuable during the development of novel agents. The focus of this review is to summarize a number of the known mechanisms of HH - Gli signaling in tumor development. The review also aims to discuss its emerging role in cancer, the transcriptional activity and the carcinogenesis of Gli, major advances in the role of Gli in the HH signaling pathway, and its prospects in clinical applications.

Keywords Hedgehog signaling pathway; Gli; Transcription factors; Neoplasm

Hedgehog(HH)信号通路主要参与细胞分化、增殖、迁移,在胚胎发育中发挥重要作用。在成人中,HH信号通路参与组织维护及损伤修复,还可调控干细胞行为。目前越来越多的研究显示HH通路异常激活与多种肿瘤密切相关,如人类皮肤基底细胞癌、胰腺癌、乳腺癌、前列腺癌、肠癌、胃癌、肺癌、卵巢癌、白血病、多发性骨髓瘤、成神经管细胞瘤等^[1-3]。Gli(glioma-associated oncogene homolog)是HH信号通路中的核转录因子,其功能状态的改变将直接导致HH信号通路下游目的基因转录水平的改变。Gli与其他信号通路,如NOTCH、TGF- β 等相关,可能参与了这些信号通路的调控。无论是采用小RNA干扰Gli基因表达还是应用Gli抑制剂均可表现出明显的肿瘤抑制作用,所以Gli有望成为肿瘤治疗的新靶点。

1 Hedgehog 信号通路

1.1 HH信号通路的构成

Nüsslein-Vollhard C和Wieschaus E于1980年首

先在黑腹果蝇体内发现Hedgehog基因。HH信号通路主要包括HH信号多肽、跨膜蛋白Patched(Ptch)和Smoothed(Smo)、核转录因子Gli 4个部分。HH信号多肽是整个通路的启动因子,包括Sonic(Shh)、Desert(Dhh)和Indian(Ihh)3种类型。3种HH具有相同的受体Ptch。Ptch蛋白为含有12个跨膜结构域的膜蛋白。Smo蛋白是含有7个跨膜结构域的膜蛋白,属于G蛋白耦联受体FZ/SMO超家族成员,是信号转导的关键蛋白。Gli为HH通路核转录因子。通路的其他成分还包括位于Smo和Gli之间的Fused抑制物Su(Fu)、Ren、Rab23等。

1.2 HH信号通路的作用模式

在无HH配体刺激的情况下,Ptch1与Smo结合,抑制Smo的活性,Gli蛋白经蛋白酶水解作用后,仅氨基端片段进入细胞核内,实现对下游基因的抑制作用。而当HH配体与Ptch1受体结合后,Ptch1蛋白离开初级纤毛,解除对Smo的抑制作用,位于细胞质囊

泡的Smo进入亚细胞单位,即初级纤毛,触发细胞内信号级联放大反应,抑制物Su(fu)等直接与Gli转录因子结合,阻碍发挥抑制功能的Gli2/3片段的形成,同时促进激活功能的Gli转录因子发挥激活作用,进一步实现下游多种靶基因的转录。

2 Gli转录因子

2.1 Gli蛋白分子特点及功能

Gli转录因子作为HH信号通路中关键成分,在肿瘤研究中受到广泛的关注。Gli功能及作用机制类似于果蝇HH通路核转录因子Ci(cubitus interruptus)。当HH信号通路处于非活化状态时,Ci-155(即Ci的全长)与一些体节极性蛋白如Fu、cos2及Su(fu)结合,形成微管复合物,Ci-155经蛋白酶作用水解后释放出N-末端片段Ci-75,Ci-75进入细胞核内发挥转录抑制功能;当Hh信号通路激活后,cos2和Fu过度磷酸化,导致微管复合物解离,Ci-155蛋白水解酶被抑制,使Ci-155以全长的形式进入细胞核内,发挥转录激活功能。脊椎动物中存在3种Gli核转录因子Gli1、Gli2、Gli3,均可直接与靶基因启动子的特定序列(5'-TGGGTGGTC-3')结合,且此三者氨基酸序列十分相似,具有5个锌指结构,但三者功能却不相同。研究证实3种Gli蛋白均存在C末端的转录激活区,但Gli2和Gli3的N端还存在转录抑制区,故Gli1仅具有转录激活功能,而Gli2、Gli3具有激活与抑制的双重活性。通常Gli3在蛋白酶作用下形成氨基端抑制物,发挥转录抑制作用,Gli2在不同时期发挥不同作用。Gli家族通过抑制与激活功能的平衡调节着靶基因的表达。Gli转录因子活性主要受Gli核转运过程、Gli分子泛素化、乙酰化及其他特有机制的调节,如Su(fu)可阻碍Gli分子向细胞核内转运并抑制Gli1介导的转录活性。

2.2 Gli转录因子下游靶基因

Gli调控的靶基因不同种类包括调节细胞增殖和分化的CyclinD1、CyclinD2、FoxM1、N-Myc、Wnts、PdgfrA、Hes1、IGFBP-6(insulin-like growth factor binding protein-6)等,代谢相关的Bmi1、Nanog,血管生成相关基因VEGF,表皮细胞-间质细胞转化相关基因CXCR4、Snail1、Sip1、Elk1和Mx2及细胞侵袭相关基因Osteopontin等。Bcl-2是调控细胞凋亡的主要因子,同样受Gli的调控。研究发现角化细胞中,Gli1功能性结合位点5'-GACCACCAA-3',位于Bcl-2基因启动子,二者结合后,Gli1可介导Bcl-2基因表达上调,抑制细胞凋亡。此外Bcl-2的顺式调控区内有3个Gli2的结合位点,Gli2可以选择性激活Bcl-2的启动子。

2.3 Gli转录因子与肿瘤

Gli1定位于12q13.2-q13.3,1987年由Kinzler等

发现^[4]。由于Gli1受HH通路激活且只有激活功能,故Gli1的表达水平可以直接反映HH通路的活性状态。研究证实几乎所有HH通路异常激活的肿瘤中均存在Gli1过度表达。Mori等^[5]采用免疫组织化学法检测发现食管鳞状细胞癌组织中Gli1蛋白表达与肿瘤浸润程度及淋巴结转移相关。体外研究发现31种食管癌细胞系中均存在Gli1高表达。Karhadkar等^[6]报道增加Gli1异位表达可以使低转移性前列腺癌细胞向高转移性细胞转化。利用siRNA技术干扰Gli1蛋白表达可以控制前列腺癌细胞增殖,并促使其凋亡。许秋然等^[7]证实肝癌组织Gli1蛋白及mRNA含量明显高于癌旁组织,且Gli1蛋白表达和mRNA含量与病理分级、淋巴结转移、TNM分期密切相关。邹友成等^[8]发现非小细胞肺癌(NSCLC)组织中Gli-1蛋白阳性表达率显著高于相应癌旁组织,且其阳性表达与患者的组织学分级及临床分期显著相关。最新发现乳腺癌细胞系中Gli1表达与雌激素受体 α (ER α)表达呈正相关,雌激素可以通过ER α 上调Gli1的表达。ER α 阴性乳腺癌细胞系中Gli1可促进肿瘤细胞生长及存活,Gli1核定位是ER α 阴性乳癌患者不良预后指标^[9]。那么对于ER α 阳性患者,内分泌治疗联合Gli抑制剂能否成为新的治疗手段,而ER α 阴性的患者给予Gli抑制剂治疗能否改善患者的总生存,值得人们思考。

Gli2定位于2q14,1988年由Ruppert等^[10]发现。临床前期试验发现Gli2直接参与黑色素瘤的侵袭及转移过程^[11]。Gli2过度表达可增加乳腺癌骨转移的发生。研究还发现Gli2不仅能导致正常细胞向肿瘤细胞转化,并且对维持肿瘤增殖等特性起着决定性作用。在人类基底细胞癌中Gli2基因表达量较正常组织中显著增加,Gli2功能失活可完全抑制基底细胞癌细胞生长。建立经Smo调节的肿瘤模式后,敲除小鼠组织中KIF3A(纤毛成分),可以加速Gli2调节的致癌作用^[12-13]。另外,顾燕萍等^[14]研究证实胰腺癌组织中Gli2 mRNA表达量显著高于正常胰腺组织,且表达量与淋巴结转移相关。

Gli3定位于7p13,1988年由Ruppert等^[15]发现。转基因小鼠胚胎实验证实:Gli3主要以转录抑制作用为主。初级纤毛在HH信号通路中的具有重要作用,其功能调节主要依赖于内鞭毛转运蛋白(intraflagellar transport protein,IFT)。当IFT突变时,将严重影响Gli3的加工处理。研究认为Gli3被加工处理为转录抑制因子的过程可能受 β -TRCP E3连接酶介导。

Eichberger等^[15]对人类角化细胞株HaCaT进行的研究认为Gli1与Gli2功能部分重叠。体外细胞实验证实Gli2基因部分功能缺失可由Gli1基因弥补。另

有研究报道:在人脑胶质细胞瘤及星状细胞瘤中Gli1、Gli2、Gli3 3种基因表达水平均上调。说明3种Gli协调作用共同调节HH信号通路的靶基因。所以将Gli 3种分子作为一个整体,研究其基因功能的变化及在肿瘤治疗中的应用具有广阔的前景。

2.4 Gli与肿瘤耐药

肿瘤耐药是导致化疗失败的主要原因,明确耐药机制有利于解决临床化疗耐药问题。Yoon等^[16]研究虽未能发现Gli1与治疗耐药的直接证据,但已经证实在成神经管细胞瘤中,Gli1可以上调抑癌基因p53和O-6-甲基鸟嘌呤DNA甲基转移酶(O-6-methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)的表达。而p53和MGMT均与肿瘤治疗耐药相关。Sharma等^[17]已经证实MGMT可以修复由抗肿瘤药物替莫唑胺造成的O-6-烷基鸟嘌呤DNA损害。另外多项研究证实野生型p53与乳腺癌、膀胱癌、肺癌等多种肿瘤铂类耐药相关,即与p53突变或p53阴性者相比,野生型p53的存在会导致肿瘤对顺铂耐药增加,而通过翻译寡核苷酸去除突变型p53后,肿瘤细胞恢复对顺铂的敏感性。因此,Gli与肿瘤耐药的关系有待深入研究。

2.5 Gli转录因子与其他信号通路的关联

人们将Smo依赖性激活Gli的活化途径称为经典Hedgehog信号通路,而经其他信号通路激活Gli的途径称为非经典Hedgehog信号通路。研究显示KRAS基因突变激活可诱发Gli1的激活^[18]。TGF- β 及SMAD途径可以直接诱导Gli2激活,而Gli2蛋白间接诱导Gli1表达,此过程不依赖于HH通路。Maitah等^[19]发现NSCLC细胞系中TGF- β 1可以上调Shh,参与肿瘤细胞的侵袭过程。此外,最新研究^[20]证实G蛋白的 α 亚单位G13可以不依赖于Smo而调节一个或多个Gli转录因子。以上均说明了非经典途径的存在。

Yanai等^[21]发现Gli1过表达可抑制Wnt转录活性及核内 β -联蛋白积累。另有报导称Notch信号通路及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)也可以影响Gli活性。Stecca等^[22]报道表皮生长因子受体(EGFR)、肽类生长因子(PGF)、受体酪氨酸激酶(RTKs)均能激活Gli。RAS-RAF-MEK和PI3K/AKT与HH-Gli信号通路的相互作用在神经胶质瘤、黑色素瘤及前列腺癌细胞系中已经得到证实,且该实验进一步证实了致癌性H-RAS或N-RAS及AKT1通过增强Gli1的转录活性及协助Gli1的核定位来发挥Gli1的功能^[23]。另外Riobo等^[24]在NIH3T3细胞系中发现PI3K/AKT对HH-Gli通路具有正性调节作用。

2.6 Gli转录因子抑制剂

在对1990种人工合成物及94种天然物筛选中发

现GANT-58和GANT-61为Gli抑制剂,作用于Smo及Su(fu)下游区,在体内体外均可抑制肿瘤生长,但具体作用机制尚不明确。Mazumdar等^[25]研究认为Gli抑制剂发挥作用的关键机制在于诱导S期早期DNA损害,此外,该研究发现经GANT-61处理后的结肠癌细胞中Gli1和Gli2表达均下调。另一项研究中,Hyman等^[26]从122755种化合物中筛选出4种HH通路抑制剂(Hh pathway inhibitors, HPIs),HPIs作用于Su(fu)的下游,参与调节Gli的加工、激活、运输及抑制纤毛形成,其作用靶点可能为Gli转录因子。HPI-1可同时抑制Gli1及Gli2,可能是HPI-1改变了其翻译后修饰。而HPI-2和HPI-3可抑制Gli2由抑制型向活化型基因的转变。HPI-4可部分抑制纤毛发生。实验还证实HPIs抑制转录的过程不依赖PKA、PI3K或MAPK信号通路。HPIs具体作用机制有待进一步研究。

3 展望

Hedgehog-Gli信号通路与多种肿瘤的发生、发展及化疗耐药相关。最早发现的HH通路抑制剂环巴胺作用靶点为Smo,具有一定的抗肿瘤效应,但对Smo级联反应以下的分子变化却无影响。而Gli抑制剂在理论上具有更广阔的前景,但其疗效还有待动物模型和临床试验的证实。Gli与多通路的联合抑制可能会成为肿瘤治疗及逆转化疗耐药的一个新突破,尽早明确Gli调控因素将有利于开发更有效的靶向药物。

参考文献

- 1 Yang L, Xie G, Fan Q, Xie J, et al. Activation of the hedgehog-signaling pathway in human cancer and the clinical implications[J]. *Oncogene*, 2010, 29(4): 469-481.
- 2 Yuan Z, Goetz JA, Singh S, et al. Frequent requirement of hedgehog signaling in non-small cell lung carcinoma[J]. *Oncogene*, 2007, 26(7): 1046-1055.
- 3 Zhao C, Chen A, Jamieson CH, et al. Hedgehog signalling is essential for maintenance of cancer stem cells in myeloid leukaemia[J]. *Nature*, 2009, 458(7239): 776-779.
- 4 Kinzler KW, Bigner SH, Bigner DD, et al. Identification of an amplified, highly expressed gene in a human glioma[J]. *Science*, 1987, 236(4794): 70-73.
- 5 Mori Y, Okumura T, Tsunoda S, et al. Gli-1 expression is associated with lymph node metastasis and tumor progression in esophageal-squamous cell carcinoma[J]. *Oncology*, 2006, 70(5):378-389.
- 6 Karhadkar SS, Bova GS, Abdallah N, et al. Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis[J]. *Nature*, 2004, 431(7009): 707-712.
- 7 许秋然,郑鑫,姚英民,等.Hedgehog通路下游转录因子Gli1在肝癌细胞中的表达及其临床意义[J].*细胞与分子免疫学杂志*,2011,27(4): 428-432
- 8 邹友成,吕建发,刘军涛,等.Gli-1蛋白在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J].*临床肿瘤学杂志*,2011,16(8):698-700.
- 9 Xu L, Kwon YJ, Frolova N, et al. Gli1 promotes cell survival and is predictive of a poor outcome in ERalpha-negative breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 123(1): 59-71.