

转录因子GLI1在肿瘤发生与侵袭转移作用中的机制

谢萍^① 王茂梅^② 综述 熊小亮^① 审校

摘要 哺乳动物Hedgehog基因家族包括3个成员:Sonic hedgehog(SHH)、Desert hedgehog(DHH)和Indian hedgehog(IHH)。SHH信号通路主要由分泌型信号糖蛋白SHH配体、跨膜蛋白受体PTCH和另一跨膜蛋白SMO的复合物,以及3种GLI蛋白的下游转录因子GLI1、GLI2、GLI3组成。作为最经典的信号通路之一,SHH信号通路在胚胎发生、发育和组织更新等过程中发挥至关重要作用。GLI1是该通路中最重要转录因子之一,其异常活化与纤维化修复、肿瘤的发生发展与侵袭转移、肿瘤耐药和预后等密切相关。本文就GLI1与肿瘤发生与侵袭转移作用机制进行综述。

关键词 GLI1 肿瘤 侵袭 转移 EMT

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20131546

Mechanism of transcription factor GLI1 in the tumorigenesis, invasion, and metastasis of tumors

Ping XIE¹, Maomei WANG², Xiaoliang XIONG¹

Correspondence to: Xiaoliang XIONG; E-mail: xx1122@163.com

¹Department of Pathology, Nanchang University Medical School; ²The Affiliated Eye Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China.

Abstract The mammalian animal gene family Hedgehog includes three members, namely, Sonic hedgehog (SHH), Desert hedgehog, and Indian hedgehog. As one of the classical signaling pathways, the SHH signaling pathway has a crucial function in the processes of embryogenesis, development, and tissue regeneration. GLI1 is one of the most important transcription factors in this pathway. Abnormal GLI1 activation is closely related to fibrosis repair, tumorigenesis, invasion and metastasis of tumors, and tumor drug resistance and prognosis. This article briefly describes the relationship among GLI1, tumorigenesis, and tumor development.

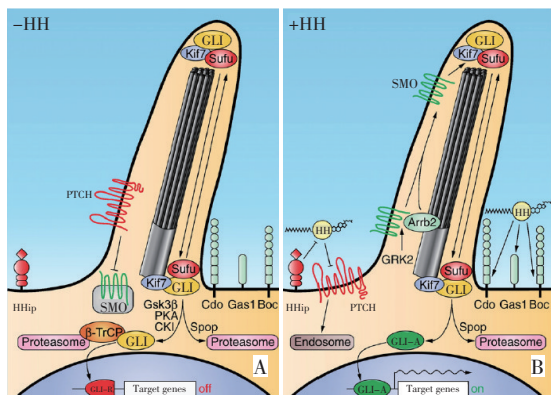
Keywords: GLI1, tumor invasion, metastasis, EMT

在经典的Sonic hedgehog(SHH)信号通路中, GLI1是重要的组分之一。如图1所示^[1],在无HH(-HH)配体时,受体PTCH与SMO结合并抑制其活性,转录因子GLI1被磷酸化,之后的GLI1被泛素化酶识别,继而被蛋白酶体切割,使GLI1不能以全长形式入核,从而抑制对靶基因的转录(图1A);在有HH(+HH)配体时,HH与PTCH结合,解除对SMO的抑制,SMO至顶部解除了GLI1磷酸化,从而使GLI1以全长形式入核启动对靶基因的转录(图1B),参与人类胚胎期形成发育的生理性和纤维性修复、肿瘤等多种病理生理性过程。在人类胚胎发育过程中, GLI1处于高度活化状态而精确调控细胞增殖和组织分化、器官形成、维持组织极性^[2-3]。机体发育成熟后GLI1在成年组织和细胞中一般很少或不表达,但当

GLI1发生异常激活时,常会导致成熟个体中如慢性纤维化,尤其是肿瘤等疾病的发生。研究已证实GLI1在肺^[4],肝脏^[5]等多个器官纤维化疾病中存在着异常激活。而近年来有关GLI1研究更为透彻成熟的集中在GLI1与肿瘤的关系方面。

1 GLI1基因结构与定位

GLI1基因定位于人类12号染色体q13.2~13.3,为编码锌指蛋白家族成员之一。由于GLI1基因最初是由Kinzler等^[6]在1987年发现且详细阐述于恶性神经胶质瘤中,所以将这个癌基因命名为神经胶质瘤相关癌基因(glioma-associated oncogene homolog),该基因在神经胶质瘤中存在高表达,经测序发现GLI1含有5个锌指结构,锌指间由组氨酸和半胱氨酸链接,且均属于Krupple锌指蛋白家族(C2H2)。



A. Without HH; B. With HH

图1 Hedgehog 信号通路结构示意图

Figure 1 Schematic diagram of Hedgehog signaling pathway

2 GLI1 与肿瘤

GLI1 在胚胎发生发育和组织更新等过程中保持较高活性。正常情况下,当胚胎发育成熟后该信号通路处于失活或低活性状态,在成熟个体中一般不表达,当 GLI1 异常活化时,常与肿瘤的增殖分化、细胞凋亡、血管新生、侵袭转移以及预后不良密切相关。因此,研究 GLI1 通过与其他分子共同调控 EMT 将有利于深入阐明 GLI1 在肿瘤侵袭转移中具体分子机制,可为肿瘤的临床治疗提供更多新的思路和手段。

2.1 GLI1 与肿瘤发生

GLI1 是 SHH 信号途径最重要的下游转录因子之一,也是 SHH 信号最终的响应者和功能的执行者,其激活是反映 SHH 信号通路活性比较准确可靠的标志。GLI1 在肺癌,尤其是非小细胞肺癌(NSCLC)中表达明显升高,SHH 信号通路的激活与 GLI1 表达呈正相关。Chi 等^[7] 首先运用原位杂交技术,在肺癌组织芯片发现 GLI1 在肺癌中高表达,而在正常肺组织不表达; Yuan 等^[8] 通过 qPCR、Western blot 验证了 GLI1 在多种 NSCLC 细胞系中表达明显升高,采用免疫组织化学方法在大量临床标本上验证了 GLI1 在 NSCLC 中的表达明显高于癌旁组织,有力证实了在 NSCLC 中存在着 SHH 通路异常激活; Gialmanidis 等^[9] 通过干扰技术降低 GLI1 表达后发现,NSCLC 细胞出现活力下降倍增时间延长的现象。以上研究表明,GLI1 在肺癌尤其是非小细胞肺癌的发生、发展中发挥重要作用。因此,研究拮抗 GLI1 的表达,对于治疗因 GLI1 激活而导致的 NSCLC 将具有广阔的应用前景。

转录因子 GLI1 是 SHH 信号通路的最终影响者,其异常激活会导致肝癌的发生。研究报道 GLI1 在肝癌组织标本中的表达明显高于癌旁组织,证实了肝癌发生和 GLI1 呈正相关;进一步于细胞水平实验显示,GLI1 在多种肝癌细胞株中的表达明显高于正常肝细胞,从而证实了 GLI1 在肝癌发生中发挥

重要作用^[10-11]。

GLI1 作为 SHH 信号通路中的关键分子,在各种癌症中存在过表达现象,已得到了众多研究者一致认可。然而 Savani 等^[12] 在非小细胞肺癌组织芯片的免疫组织化学实验发现,GLI1 在超过一半非小细胞肺癌组织里面不表达,仅在少部分组织有极微量或微量表达,而在正常的肺上皮细胞高表达。因此,虽然目前有关 GLI1 与肿瘤发生的关系存在一定争议,但大部分研究数据均显示,GLI1 的表达水平在肿瘤发生中是一个准确可靠的指标,是反映 SHH 通路活性的一个可靠指标,在 SHH 通路的信号转导及致癌过程中发挥着非常重要的作用。

2.2 GLI1 与肿瘤侵袭转移

2.2.1 GLI1 在肿瘤中高表达与侵袭转移中的关系 GLI1 在通路中是具有很强活性的转录激活因子,不仅在肿瘤发生中发挥重要作用,而且在肿瘤的侵袭转移中也扮演重要角色。研究证实 GLI1 是乳腺癌晚期的重要调解者,GLI1 在三阴性乳腺癌伴淋巴结转移组织中的表达明显高于三阴性乳腺癌无淋巴结转移组织,GLI1 的表达与三阴性乳腺癌分级具有相关性^[13]。乳腺癌根治术后复发的淋巴结转移性乳腺癌与原发性淋巴结转移性乳腺癌相比,前者核内 GLI1 明显升高,表明 GLI1 与肿瘤侵袭性密切相关^[14]。此外,GLI1 的高表达与肝内转移、门静脉侵袭、早期的 TNM 分级密切相关。可作为一种临床标志判断肝癌的进展。Yoo 等^[15] 研究证明 GLI1 在胃癌伴淋巴结转移组织中的表达明显高于胃癌无淋巴结转移组织,GLI1 高表达与胃癌早期临床分级、淋巴结转移、预后差相关。Ding 等^[16] 利用免疫组织化学验证,GLI1 在肝转移性结肠癌中的表达明显高于正常结肠组织,并在伴有淋巴结转移性结肠癌中表达明显升高。由此推断 GLI1 表达上调与肝转移性结肠癌有着明显相关性,尤其在伴有淋巴结转移性结肠癌中密切相关,GLI1 在结肠癌的侵袭进展中扮演重要角色。

以上报道证实多种肿瘤发生发展和侵袭转移中广泛存在 GLI1 的高度活化,深入阐明了 GLI1 的至关重要地位和作用。GLI1 在多种肿瘤中的异常活化常常会导致上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)现象,且与多种信号途径相互影响。

2.2.2 GLI1 在肿瘤中侵袭转移的机制 EMT 是指上皮细胞失去极性,转换成为具有间质细胞特征、获得可塑性、迁移和侵袭能力的生物学过程,描述了恶性肿瘤获得侵袭转移进展的特性。在侵袭转移肿瘤中,GLI1 的表达水平与 EMT 分子标记物的表达水平密切相关^[17],在 GLI1 高表达的肝癌组织中,EMT 上皮标记物 E-cadherin 在肝癌组织中较癌旁正常组织表

达明显下调,间质标记物S100A4在肝癌组织中的表达与癌旁正常组织比较明显上调。分析发现GLI1、SHH与E-cadherin呈负相关,GLI1、SHH与S100A4均呈正相关。表明GLI1的高表达会促进肝癌EMT现象的发生,证实了异常表达的GLI1可能通过诱导EMT发生而在肝癌侵袭转移中发挥重要作用。在GLI1高表达的卵巢癌耐药性细胞中,EMT的上皮标记物E-cadherin表达明显下调,间质标记物N-cadherin和Vimentin表达明显上调,肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)表达明显升高。由此推断EMT标记物和HGF可能是GLI1下游的靶基因^[18]。

在侵袭转移肿瘤中GLI1与EMT分子标记物密切相关基础上,国内外研究者提出^[17-23]GLI1可能通过激活一些下游靶基因而调控EMT在肿瘤侵袭转移中的生物学作用。GLI1被活化后进入细胞核内,会引起下游众多靶基因如TGF-β1、SNAIL、FOXM1等的激活。转化生长因子TGF-β1被公认为是EMT的一个重要调节因子,在体内和体外培养的大多数上皮细胞、上皮来源的肿瘤细胞中均具有诱导EMT的作用。TGF-β1能够诱导EMT而引起NSCLC侵袭转移^[19-21],而GLI1表达上调也可引起下游靶基因TGF-β1上调而诱导EMT发生。如图2所示^[22],TGF-β1与TGF-β受体结合上调SHH蛋白的表达,导致GLI1入核激活下游靶基因的转录,从而导致EMT现象发生。发生EMT的NSCLC细胞SHH通路的活性被明显上调,这些细胞比原来的细胞具有更强的迁移和侵袭能力。阻滞SHH通路能够有效逆转或减弱TGF-β1诱导的EMT。Xu等^[23]运用cDNA微点阵序列分析出与GLI1调控EMT相关的下游靶基因,并深入阐明了在胰腺癌中GLI1是通过TGF-β、Ras、Wnt、P13K/AKT、S100A4、生长因子、整合素等特定的下游靶基因而调控EMT的作用机制,从而为临床治疗提供新的治疗方案。该研究中GLI1通过以上GLI1的靶基因而促进EMT,调节一个复杂的信号网络系统(图3A);GLI1通过直接调节EMT相关GLI1的靶基因而促进EMT,之间相互调控形成正反馈路线(图3B)。此外,GLI1还通过直接上调下游靶基因SNAIL的表达而诱导EMT的发生^[10]。在基底细胞癌和肝癌中,GLI1可上调FOXM1的表达,并提出GLI1的表达上调是FOXM1表达的决定因素^[24-25]。

以上研究都有力证实了GLI1通过众多重要下游调节因子共同参与诱导EMT而调控肿瘤侵袭转移的分子机制,深入认识到在肿瘤中高度活化的GLI1调控EMT不是单独发挥作用,可能通过与TGF-β1、Ras、Wnt、SNAIL、SNAI2、TWIST等信号分子组成复杂的交叉调控网络系统,精密调控肿瘤EMT发生,GLI1是众多信号通路和调控因子相互联系的中心枢纽。

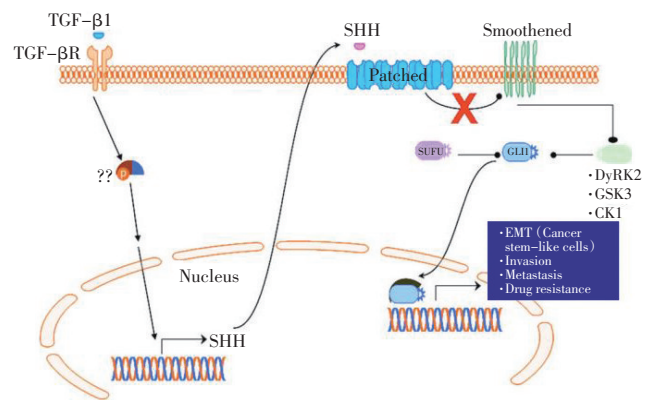
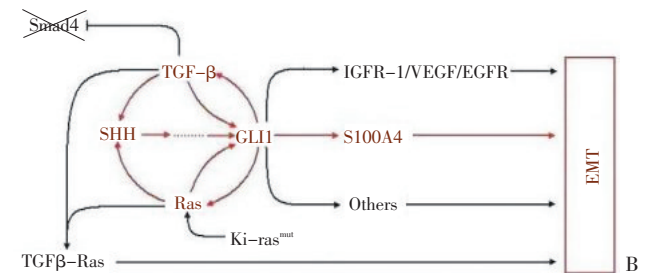
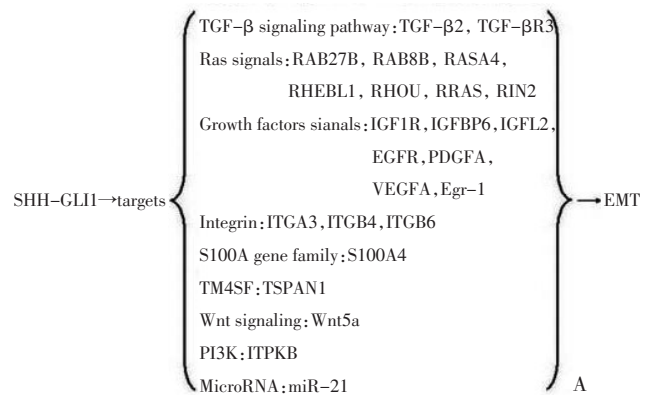


图2 TGF-β1上调GLI1示意图
Figure 2 Schematic diagram of the upregulation of GLI1 by TGF-β1



A. GLI1 promotion of EMT by the target gene of GLI1; B. GLI1 and downstream target genes regulate each other to form a positive feedback path

图3 GLI1调节EMT相关GLI1下游靶基因的示意图

Figure 3 Schematic diagram for GLI1 regulation of EMT-related GLI1 downstream target genes

3 展望

GLI1作为经典的SHH信号通路中最重要转录因子之一,在胚胎发生和组织发育、器官形成中发挥着不可替代的作用。然而,当GLI1发生异常时,常导致机体发生相关疾病,尤其是肿瘤。转录因子GLI1作为整个SHH通路中最终决策和执行者,其表达水平高低对整个通路起到关键性作用,是反映该通路活性的可靠标志。因此GLI1的表达水平是肿瘤发生发展、侵袭转移中的一个关键性标志。同时,GLI1异常活化引起肿瘤侵袭转移的机制中,GLI1可能通过调控TGF-β1、Ras、Wnt、SNAIL等下游信号分子而调控

EMT在肿瘤侵袭转移的作用。GLI1不仅调控以上提及的下游靶基因,还与众多其他信号通路和调控因子相互作用,形成一个复杂而全面的分子信号网络调节系统,共同在GLI1调控EMT机制中发挥生物学功能而精细地调控着生命的进程。均强调了GLI1作为这个细胞生物学程序的中心调控者重要地位。当前,针对GLI1的表达异常与各种肿瘤发生、发展、侵袭转移及其EMT之间关系的研究已较成熟,已有研究提出^[24-25]GLI1通过调控下游靶基因FOXM1的表达而发挥在肿瘤侵袭转移中的重要作用,鉴于二者在多种肿瘤中存在共表达,由此设想是否也存在GLI1通过调控FOXM1而调控EMT在肿瘤侵袭转移的作用机制,有待于进一步研究。继续深入研究这些与GLI1调控EMT相关的调节因子,可为研究肿瘤发生和侵袭转移的分子机制提供更广阔有力依据,最终将为临床的具体靶向治疗提供坚实可靠的理论支持和指导。

参考文献

- 1 Teglund S, Toftgård R. Hedgehog beyond medulloblastoma and basal cell carcinoma[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1805(2):181-208.
- 2 Epstein DJ. Regulation of thalamic development by sonic hedgehog[J]. *Front Neurosci*, 2012, 6:57.
- 3 Komada M. Sonic hedgehog signaling coordinates the proliferation and differentiation of neural stem/progenitor cells by regulating cell cycle kinetics during development of the neocortex[J]. *Congenit Anom(Kyoto)*, 2012, 52(2):72-77.
- 4 Bolaños AL, Milla CM, Lira JC, et al. Role of sonic hedgehog in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(11):L978-990.
- 5 Ding H, Zhou D, Hao S, et al. Sonic hedgehog signaling mediates epithelial-mesenchymal communication and promotes renal fibrosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(5):801-813.
- 6 Kinzler KW, Bigner SH, Bigner DD, et al. Identification of an amplified, highly expressed gene in a human glioma[J]. *Science*, 1987, 236(4797):70-73.
- 7 Chi S, Huang S, Li C, et al. Activation of the hedgehog pathway in a subset of lung cancers[J]. *Cancer Lett*, 2006, 244(1):53-60.
- 8 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.
- 9 Gialmanidis IP, Bravou V, Amanetopoulou SG, et al. Overexpression of hedgehog pathway molecules and FOXM1 in non-small cell lung carcinomas[J]. *Lung Cancer*, 2009, 66(1):64-74.
- 10 Zheng X, Vittar NB, Gai X, et al. The transcription factor GLI1 mediates TGF- β 1 driven EMT in hepatocellular carcinoma via a SNAI1-dependent mechanism[J]. *PloS One*, 2012, 7(11):e49581.
- 11 Che L, Yuan YH, Jia J, et al. Activation of sonic hedgehog signaling pathway is an independent potential prognosis predictor in human hepatocellular carcinoma patients[J]. *Chin J Cancer Res*, 2012, 24(4):323-331.
- 12 Savani M, Guo Y, Carbone DP, et al. Sonic hedgehog pathway expression in non-small cell lung cancer[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2012, 4(5):225-233.
- 13 Tao Y, Mao J, Zhang Q, et al. Overexpression of Hedgehog signaling molecules and its involvement in triple-negative breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2011, 2(5):995-1001.
- 14 Li YH, Gao HF, Wang Y, et al. Overexpression of Gli1 in cancer interstitial tissues predicts early relapse after radical operation of breast cancer[J]. *Chin J Cancer Res*, 2012, 24(4):263-274.
- 15 Yoo YA, Kang MH, Lee HJ, et al. Sonic hedgehog pathway promotes metastasis and lymphangiogenesis via activation of Akt, EMT, and MMP-9 pathway in gastric cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(22):7061-7070.
- 16 Ding YL, Zhou Y, Xiang L, et al. Expression of glioma-associated oncogene homolog 1 is associated with invasion and postoperative liver metastasis in colon cancer[J]. *Int J Med Sci*, 2012, 9(5):334-338.
- 17 Zheng X, Yao Y, Xu Q, et al. Evaluation of glioma-associated oncogene 1 expression and its correlation with the expression of sonic hedgehog, E-cadherin and S100a4 in human hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2010, 3(6):965-970.
- 18 Mozzetti S, Martinelli E, Raspaglio G, et al. Gli family transcription factors are drivers of paclitaxel resistance in ovarian cancer[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(11):1409-1418.
- 19 Gupta PB, Onder TT, Jiang G, et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening[J]. *Cell*, 2009, 138(4):645-659.
- 20 Kim JH, Jang YS, Eom KS, et al. Transforming growth factor beta1 induces epithelial-to-mesenchymal transition of A549 cells[J]. *J Korean Med Sci*, 2007, 22(5):898-904.
- 21 Saito RA, Watabe T, Horiguchi K, et al. Thyroid transcription factor-1 inhibits transforming growth factor-beta-mediated epithelial-to-mesenchymal transition in lung adenocarcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(7):2783-2791.
- 22 Maitah MY, Ali S, Ahmad A, et al. Up-regulation of sonic hedgehog contributes to TGF- β 1-induced epithelial to mesenchymal transition in NSCLC cells[J]. *PloS One*, 2011, 6(1):e16068.
- 23 Xu X, Zhou Y, Xie C, et al. Genome-wide screening reveals an EMT molecular network mediated by Sonic hedgehog-Gli1 signaling in pancreatic cancer cells[J]. *PloS One*, 2012, 7(8):e43119.
- 24 Teh MT, Wong ST, Neill GW, et al. FOXM1 is a downstream target of Gli1 in basal cell carcinomas[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(16):4773-4780.
- 25 Calvisi DF, Pinna F, Ladu S, et al. Forkhead box M1B is a determinant of rat susceptibility to hepatocarcinogenesis and sustains ERK activity in human HCC[J]. *Gut*, 2009, 58(5):679-687.

(2013-09-16收稿)

(2014-01-16修回)

(本文编辑:张佖)

作者简介

谢萍, 硕士, 住院医师, 主要研究方向为病理学专业。

E-mail: xpp0223@163.com

