

FoxM1 的分子进化、结构与蛋白调控及与肿瘤的关系

崔健¹, 郭泰林², 茆灿泉²

关键词: FoxM1; 生物信息学; 肿瘤; 结构与功能

中图分类号: R735.3⁺5; R730.53 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2011)11-1329-03

0 引言

Fox(fork head box)蛋白是一类从酵母到人类都广泛存在的转录因子,属于“螺旋-转角-螺旋”类蛋白的一个亚群。目前,根据 DNA 结合区的同源性,在不同种属中证实了 100 多个 Fox 家族成员,分属于 17 个亚族。Fox 家族成员众多,生物学作用广泛,功能涉及胚胎发育、细胞周期调控、糖类和脂类代谢、生物衰老、免疫调节等多种生物学过程,其突变和表达异常与发育畸形、代谢性疾病以及肿瘤发生等密切相关。

FoxM1 为 Fox 转录因子家族中进化保守的重要成员之一,在肿瘤等活跃的分裂细胞中大量表达,与肿瘤的生长和转移密切相关。本文根据国内外 FoxM1 的最新进展,结合生物信息学分析,对 Fox 家族的系统进化进行特征分析,并对人类 FoxM1 的结构、蛋白调控以及与肿瘤的关系进行了综述。

1 Fox 家族的系统进化

从 NCBI 数据库收集共计 19 条代表性人 Fox 全序列进行多重序列比对,采用极大似然法构建分子进化树,距离矩阵法检验进化树准确性,最后用 TreeView 软件对多序列比对后得到的进化树进行展示,结果见图 1,可见家族成员 C1 和 S1、J1 和 K1、H1 和 Q1、P1 和 R1 等在进化树中种属于同一分支的同源性较高,与 M1 同源性最高的是 O1,另外 N1、J1、K1 也与 M1 族有较高同源性。

2 FoxM1 的结构与蛋白调控

2.1 FoxM1 的可变剪切

收稿日期: 2010-10-25; 修回日期: 2011-06-09

基金项目: 国家 863 项目(2006AA06Z353); 西南交通大学中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(SWJTU09ZT28)

作者单位: 1. 610031 成都, 西南交通大学生命科学与工程学院; 2. 分子进化与应用生物学实验室

作者简介: 崔健(1986-), 男, 硕士, 主要从事生物技术制药的研究



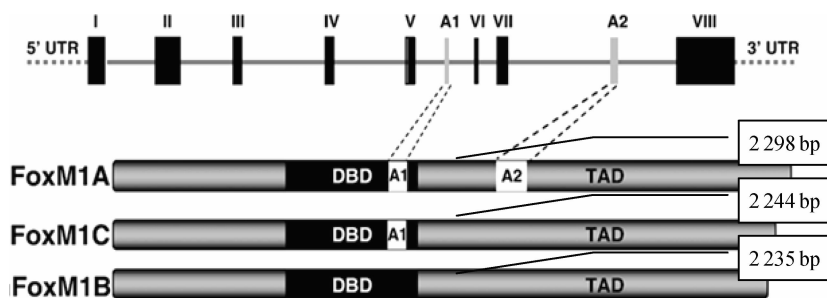
图 1 Fox 家族成员进化树分析

Figure 1 Evolutionary tree of Fox family

人 FoxM1 编码基因由 10 个外显子构成,定位在约 20 kb 的染色体端粒(telomeric position)位置的 12p13-3。外显子 A1 和 A2 为选择性剪接,A1 编码 15 个氨基酸,位于蛋白的 DNA 结合域,外显子 A2 编码 38 个氨基酸,位于蛋白的转录活化域。根据 A1 和 A2 的存在与否,人类 FoxM1 基因具有三类剪切体:A 类包括两个外显子,B 类不含有任何一个,C 类中仅包含外显子 A1^[1],见图 2。FoxM1b 和 FoxM1c 具有转录活性,而 FoxM1A 虽有正常的 DNA 结合活性,但转录活化能力缺失^[2],细胞内仍然保持这一自然的剪切体也许可以在一定条件下调节所有的 FoxM1 的活性。然而,针对不同剪切体的表达模式和相关功能仍有待深入研究。

2.2 FoxM1 蛋白活化及分子调控机制

FoxM1 的表达与细胞增殖密切相关,是增殖特异性蛋白质,高表达限制在增殖细胞中。在静止或未分化细胞中 FoxM1 不表达或低表达,当细胞进入细胞分裂过程时表达受到诱导。研究发现,FoxM1 在



Note: TAD, transcriptional activation domain; DBD, DNA binding domain

图 2 FoxM1 的三种剪切体

Figure 2 Three different splicing of FoxM1

所有胚胎组织,特别在上皮和间叶前体的增殖细胞中高表达,而在成人组织中,仅发现在胸腺和睾丸中高表达,在肺和肠道中中度表达。此外,FoxM1 在许多细胞系和癌前体细胞系中高表达。

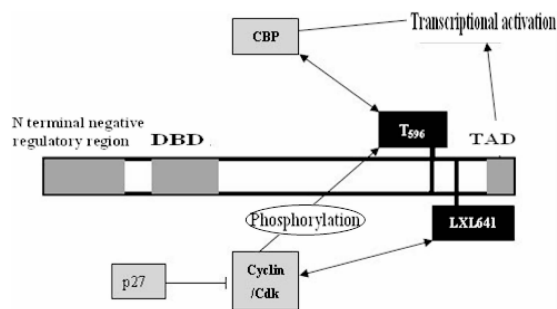
FoxM1 的转录活性受到细胞周期的限制,在 G_2 期达到最高水平,与蛋白磷酸化水平的增加相一致。研究表明,FoxM1 可转录调控包括 Cdc25A、Cdc25B、cyclin B、cyclin D1、p21cip1、p27kip1、Plk1 等对于从 $G_1 \sim S$ 和 $G_2 \sim M$ 进程的细胞周期相关基因。FoxM1 的磷酸化主要发生在有丝分裂期,通过细胞周期蛋白依赖激酶(Cdk)起始于细胞周期的 G_1 期,持续存在于 G_2 和 M 期^[2]。根据假定的磷酸化位点,Cdk2 和 Cdk1 类的激酶、有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)和丝氨酸/苏氨酸激酶(Plk-1)也许与 FoxM1 的磷酸化有关。

FoxM1 通过 C 端 LXL 基序与细胞周期蛋白(Cyclin)结合,激活 Cdk,使自身磷酸化而实现功能的活化。在 G_1 和 S 期,FoxM1 与 CyclinE/Cdk2 复合物的结合力大大增强,而在 G_2 期 FoxM1 优先与 CyclinB/Cdk1 复合物相结合^[3]。依赖于 Cyclin/CDK 的 FoxM1 的 C 端区域的磷酸化是特别重要的。此外,FoxM1 被证实与 Cdk 抑制剂 p27Kip1 相互作用,这也许阻止了 FoxM1 转录活化区域的磷酸化,从而在 G_1 期阻止了 FoxM1 的活化,见图 3。

除了与 Cyclin/CDK 复合物相互作用外,FoxM1 被证明可以在细胞周期的特殊阶段结合其他细胞周期调控蛋白。但总的来说,FoxM1 转录因子的表达和转录活性依赖于细胞周期过程。FoxM1 转录活性的起始和维持需要与 Cyclin/Cdk 结合,之后通过促有丝分裂激酶和 Cyclin/Cdk 复合物进行磷酸化,同样此过程需要其他调节蛋白,如 pRb、p19ARF 等。

2.3 FoxM1 对靶基因的转录调控

作为转录活化因子,根据双头翅状 DNA 结合



Note: TAD, transcriptional activation domain; DBD, DNA binding domain

图 3 FoxM1 的活化与抑制

Figure 3 Activation and inhibition of FoxM1

区域(DBD)结合位点的不同,FoxM1 主要以两个不同的机制转录活化靶基因:一是作为一个常规的转录因子,通过与靶基因核心启动子上游结点的结合($5'-A-C/TAAA-C/T-AA-3'$)^[4]而发挥作用;二是 FoxM1 以一个新的转录机制,直接结合到 TATA 盒框,转录活化人类 c-myc P1 和 P2 启动子^[5]。FoxM1c 的中心区域对常规 FoxM1c 结合位点它可能作为抑制区域^[4]。不同的 FoxM1c 结合位点决定了中心区域截然相反的功能,它的结构基础可能是中心区域与它自身的相互作用^[6],相反地,FoxM1c 的 DBD、TAD 和 N-末端对于它的两个转录机制来说表现出相似的功能^[4-5]。

3 FoxM1 与肿瘤发生、抗肿瘤药物研发

作为刺激细胞增生的重要转录激活因子,FoxM1 与肿瘤密切相关。FoxM1 与多种癌基因信号转导途径有关,包括 PI3K/Akt、NF- κ B、Shh、ERK、MAPK、COX-2、EGFR、ER、VEGF、MMP、c-myc、p53、ROS、HIF-1 等^[7]。生物芯片分析表明,FoxM1 在大鼠乳腺癌模型和大部分实体瘤中表达增加^[8]。在前列腺和乳腺癌细胞中抗癌药物通过下调 FoxM1 的转录活性来抑制细胞的生长,进一步说明了 FoxM1 与肿瘤之间的紧密联系,是抗肿瘤

治疗和药物研发的一个新的重要靶点。

3.1 FoxM1 与肿瘤的关系

研究表明, FoxM1 在肺癌、胶质母细胞瘤、前列腺癌、基底细胞瘤、HCC、原发乳腺癌以及胰腺癌中表达上调^[9]。FoxM1 可促进前列腺癌和肺癌的发展, 前列腺癌转基因鼠模型在 FoxM1 表达增加的情况下, 肿瘤的发展得到了加强^[9]。相反, 有选择地敲除 FoxM1 基因可导致小鼠肺癌细胞和胰腺瘤数量减少, 体积变小。FoxM1 对肝癌的发展是必需的, 其在肝癌细胞内过量表达^[10]。

FoxM1 的敲除减少了肺腺瘤、结直肠癌或肝腺瘤和 HCC 的大小和数量。在前列腺癌转基因鼠模型 (TRAMP 和 LADY) 以及在 AOM/DSS 诱导的直肠肿瘤实验中^[11], FoxM1B 的表达增加了前列腺的重量和结肠肿瘤的大小, 表明 FoxM1B 的过量表达加速了前列腺癌和结肠癌的进展。

3.2 FoxM1 与抗肿瘤治疗与药物研发

FoxM1 参与多种肿瘤的发生、发展而成为人类抗癌治疗与药物研发的一个重要靶标。Gartel^[12]的研究结果显示, 用噻唑抗生素处理不同来源的人癌细胞系, 可产生 FoxM1 表达的下调和细胞凋亡, 揭示能抑制 FoxM1 的噻唑抗生素可能成为人类新的抗癌药物。在生物活性肽方面, Major 等^[3]的研究显示, 通过在 N-末端增加 9 个 D-精氨酸以增强细胞摄取能力, 含有 p19ARF 蛋白上 26-44 的 19 个氨基酸肽段可以有效抑制 HCC 中 FoxM1b 的转录活性。本实验室已成功筛选和获得 FoxM1c DNA 结合区高效结合的蛋白多肽, 深入研究正在进行中。其他的 FoxM1 抑制剂还有硫链丝菌肽、吉非替尼等。最近, Bhat 等^[13]发现蛋白酶抑制剂如 MG115、MG132 以及硼替佐米可以抑制 FoxM1 的转录活性和表达。所有这些抑制剂如需进入临床靶向 FoxM1 治疗应用尚有待深入的基础和临床试验研究。

4 结语

迄今为止, 尚不清楚 FoxM1 家族各成员尤其是 FoxM1b 和 FoxM1c 是否具有相同的 DNA 结合特异性、转录活化能力和蛋白与蛋白相互作用特性。由于 FoxM1 在细胞周期调控中的重要功能, 对它的进一步研究, 将会对细胞增生、肿瘤的发生与发展起到极大的促进作用, 也必将促进人们对生命体老化现象的理解。最近, 位于全长第 222~360 个氨基酸位置的人 FoxM1c 的 DNA 结合区三维结构已通过晶体衍射方法获得^[14], 相信随着未来 FoxM1 全长结构的晶体解析以及生物信息学、生物芯片、计算机辅助药物设计、组学等高通量技术和方法的深入

应用, 将会加快我们对 FoxM1 蛋白的了解和靶向 FoxM1 药物的研发进程。

参考文献:

- [1] Luscher-Firzlaff JM, Lilischkis R, Luscher B. Regulation of the transcription factor FOXM1c by Cyclin E/CDK2[J]. FEBS Lett, 2006, 580(7):1716-1722.
- [2] Laoukili J, Stahl M, Medema RH. FoxM1: at the crossroads of ageing and Cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1775(1):92-102.
- [3] Major ML, Lepe R, Costa RH. Forkhead box M1B transcriptional activity requires binding of Cdk - Cyclin complexes for phosphorylation-dependent recruitment of p300/CBP coactivators[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(7):2649-2661.
- [4] Wierstra I, Alves J. Despite its strong transactivation domain, transcription factor FOXM1c is kept almost inactive by two different inhibitory domains[J]. Biol Chem, 2006, 387(7):963-976.
- [5] Wierstra I, Alves J. FOXM1c is activated by cyclin E/Cdk2, cyclin A/Cdk2 and cyclin A/Cdk1, but repressed by GSK-3 α [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 348(1):99-108.
- [6] Wierstra I, Alves J. The central domain of transcription factor FOXM1c directly interacts with itself in vivo and switches from an essential to an inhibitory domain depending on the FOXM1c binding site[J]. Biol Chem, 2007, 388(8):805-818.
- [7] Wang Z, Ahmad A, Li Y, et al. Forkhead box M1 transcription factor: A novel target for cancer therapy[J]. Cancer Treat Rev, 2010, 36(2):151-156.
- [8] Marxfeld H, Staedtler F, Harleman JH. Characterisation of two rat mammary tumour models for breast cancer research by gene expression profiling[J]. Ex Toxicol Pathol, 2006, 58(2-3):133-143.
- [9] Kalin TV, Wang IC, Ackerson TJ, et al. Increased levels of the FoxM1 transcription factor accelerate development and progression of prostate carcinomas in both TRAMP and LADY transgenic mice[J]. Cancer Res, 2006, 66(3):1712-1720.
- [10] Dai BD, Kang SH, Gong W, et al. Aberrant FoxM1B expression increases matrix metalloproteinase-2 transcription and enhances the invasion of glioma cells[J]. Oncogene, 2007, 26(42):6212-6219.
- [11] Yoshida Y, Wang IC, Yoder HM, et al. The Forkhead Box M1 transcription factor contributes to the development and growth of mouse colorectal cancer [J]. Gastroenterology, 2007, 132(4):1420-1431.
- [12] Gartel AL. FoxM1 inhibitors as potential anticancer drugs[J]. Expert Opin Ther Targets, 2008, 12(6):663-665.
- [13] Bhat UG, Halasi M, Gartel AL. Thiazole antibiotics target FoxM1 and induce apoptosis in human cancer cells[J]. PLoS One, 2009, 4(5):e5592.
- [14] Littler DR, Alvarez-Fernández M, Stein A, et al. Structure of the FoxM1 DNA-recognition domain bound to a promoter sequence[J]. Nucleic Acids Research, 2010, 38(13):4527-4538.

[编辑:安 凤;校对:黄园玲]