

转录因子Fra-1在肿瘤进展中的调控机制及其作为治疗靶点的临床意义

袁洪梅*, 白晓彦

(大连大学医学院, 大连 116622)

摘要: 在AP-1二聚体复合物中, 由*FOSL1*编码的转录因子Fra-1在人类肿瘤的发生和进展中发挥了至关重要的作用, 它在大多数实体肿瘤中呈现高表达, 有望成为一个极具价值的治疗靶点。本文首先总结了癌细胞内调控*FOSL1*表达的分子机制, 包括*FOSL1*基因的转录调控、转录后修饰以及Fra-1蛋白的翻译后修饰过程。其次, 系统阐述了Fra-1在多种癌细胞中发挥的作用以及相应的调控机制, 特别是Fra-1及其靶基因产物在癌细胞增殖、存活、上皮间质转化以及转移过程中发挥的重要功能。最后, 探讨了以Fra-1为靶点的靶向治疗的研究进展, 以及Fra-1在癌症靶向治疗耐药过程中的作用, 旨在为开发抗Fra-1药物指导癌症的临床诊疗提供依据。

关键词: Fra-1; 转录调控; 肿瘤; 靶向治疗

Effect of transcriptional factor Fra-1 on control of tumor progression and the clinical implications as a therapeutic target

QIU Hongmei*, BAI Xiaoyan

(Medical College of Dalian University, Dalian 116622, China)

Abstract: Transcription factor Fra-1, encoded by *FOSL1* gene among the AP-1 dimeric complex, plays an important role in carcinogenesis and progression of tumor, and it is overexpressed in most solid tumors, so it might be a valuable target for cancer therapy. In the review, we summarize the findings related to the control of Fra-1 expression in cancer cell, including transcription, posttranscription regulation, and posttranslational modification for protein stability. Then, we systematically demonstrate the Fra-1-based gene regulatory net to control cell proliferation, survival, epithelial-mesenchymal transitions and metastasis in various cancer types. Finally, the research progress of Fra-1 as therapeutic target and resistance to targeted therapies are discussed, aimed at providing a basis of the anti-Fra-1 drugs for the clinical diagnosis and treatment of cancers.

Key Words: Fra-1; transcriptional regulation; tumor; target therapy

由*FOSL1*基因编码的FOS相关抗原1(FOS related antigen-1, Fra-1)转录因子是一种癌蛋白, 并且在大多数实体肿瘤中高表达^[1]。细胞中, Fra-1发挥主要作用的方式为参与形成激活蛋白1

(activator protein-1, AP-1)转录因子复合物, 该复合物由JUN家族成员(c-Jun、JunB、JunD)、FOS家族成员(c-Fos、FosB、Fra-1、Fra-2)或者其他bZIP转录因子(ATF和Maf)家族成员之间二聚化形成,

收稿日期: 2022-02-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(81802758)

*通信作者: E-mail: xyqhm@126.com

其功能与复合物中的蛋白质结构和功能密切相关^[2]。作为转录因子, Fra-1主要结合于DNA上的顺式作用元件——TPA反应元件(TPA responsive element, TRE), 介导下游靶基因的转录合成。Fra-1自身的合成主要受一系列上游转录因子以及表观调节因子的调控, 同时, 其蛋白质稳定性也受翻译后修饰过程调节。除了作为直接转录因子结合于DNA顺式作用元件发挥作用外, Fra-1还可以通过细胞内复杂的信号调控网络与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关转录因子、miRNAs以及细胞因子相互作用, 进而控制癌细胞增殖、存活、运动和失巢凋亡的抵抗作用, 除此之外, Fra-1在调控癌细胞细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解方面也发挥重要作用^[3]。

本综述系统总结了Fra-1蛋白在癌细胞内表达的调控因素, 并且对其在癌症发生发展过程中的主要作用进行了归纳。同时, 结合Fra-1作为癌症靶点的研究现状, 讨论了其在癌症治疗中的重要意义。

1 肿瘤细胞中控制Fra-1表达的机制: 转录、翻译以及蛋白质稳定性

Fra-1在细胞内的累积主要受两方面调控, 一方面是*FOSL1*基因的转录合成, 包括*FOSL1*转录过程中转录因子以及表观修饰因子的调节作用, 还包括一些miRNAs在*FOSL1*转录后靶向其转录产物, 进而影响*FOSL1*转录产物的表达进程; 另一方面, 通过翻译后修饰过程影响Fra-1蛋白降解以及半衰期, 进而调控Fra-1在细胞内的表达量。本文将对Fra-1蛋白表达量的调节机制进行分类总结。

1.1 *FOSL1*基因转录的调节机制

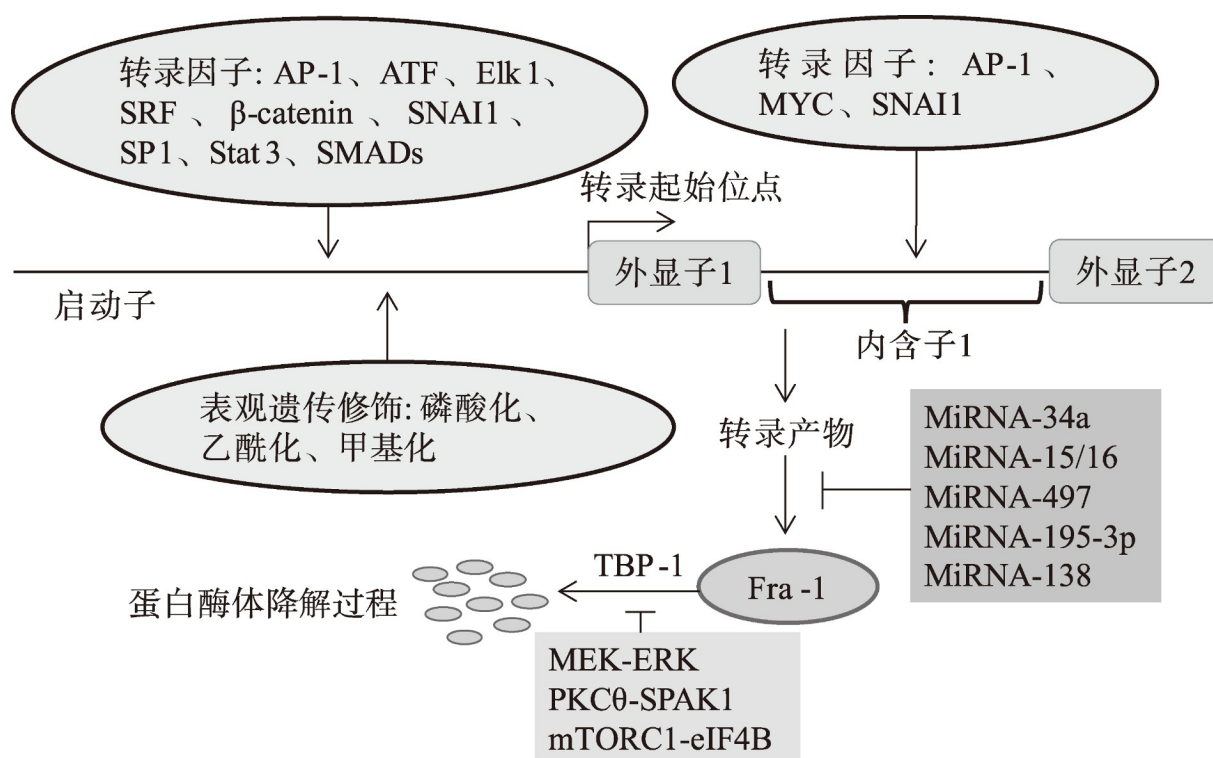
*FOSL1*基因的转录主要受各种生长因子以及细胞因子的诱导。很多转录因子可以结合在*FOSL1*启动子上, 如AP-1、Elk1、SRF以及ATF/CREB等, 通过多种信号通路调节Fra-1的表达。在*FOSL1*的转录激活过程中需要广泛的染色质重构, 如组蛋白3(histone 3, H3)第10位丝氨酸被PIM1磷酸化后, 会招募蛋白14-3-3、溴结构域蛋白4(bromodomain-containing protein 4, BRD4)以及正性转录延伸因子b(positive transcription elongation

factor b, P-TEFb), 使*FOSL1*的启动子部位RNA聚合酶Pol-Ⅱ(RNA polymerase Ⅱ, Pol-Ⅱ)暂停被解除, 促进染色质发生重构和转录过程的延伸^[4]。*FOSL1*的转录活性还可以被其基因第一个内含子内的增强子元件加强, 这个区域还可以介导*FOSL1*自身的正反馈作用, 即随着RAS-BRAF-MEK-ERK通路的激活, c-Jun激酶随之激活, c-Jun与Fra-1形成二聚体结合于*FOSL1*的增强子区域上调*FOSL1*的转录活性^[5]。在鳞状细胞癌的癌细胞内, 去甲基化酶KDM4介导组蛋白去甲基化, 促进AP-1转录复合物结合于*FOSL1*及*JUN*的启动子以激活*FOSL1*及*JUN*基因转录, 上调相应的Fra-1和Jun蛋白表达, 形成正反馈机制, 增加Fra-1/Jun复合物——AP-1的表达, 从而增强癌细胞的转移能力^[6]。经典的癌蛋白c-Myc作为转录因子, 可以结合于*FOSL1*第一内含子区域内的E-box元件, 通过磷酸化H3第10位丝氨酸促进*FOSL1*的转录激活^[7]。因此, *FOSL1*基因的启动子与第一内含子区域是控制其转录活性的关键区域, 多种转录因子会结合于该区域调节Fra-1的合成(图1)。

随着对RAS-BRAF-MEK-ERK通路调节Fra-1转录过程研究的不断深入, Wnt和信号转导及转录激活蛋白3(signal transducer and activator of transcription 3, Stat3)致癌信号通路也被陆续发现与*FOSL1*的转录调控相关。在结直肠癌以及胶质母细胞瘤等多种癌细胞中, 当Wnt通路激活时, β -catenin入核增加, 活性 β -catenin通过TCF结合于*FOSL1*基因启动子TCF/LEF位点, 激活*FOSL1*的转录, 进而上调Fra-1的蛋白质表达^[9]。Stat3是细胞因子和生长因子触发信号的主要传导途径, 在被白介素6(interleukin 6, IL-6)激活后, Stat3结合于结直肠癌细胞内的*FOSL1*启动子上, 随着Stat3第705位酪氨酸的磷酸化以及685位赖氨酸乙酰化的增加, 逐步上调*FOSL1*的转录活性^[10]。

1.2 表观遗传修饰作用激活*FOSL1*基因的转录

*FOSL1*基因转录过程中包含很多表观遗传修饰作用, 如磷酸化、乙酰化和甲基化(图1)。其中, 转录过程中大多数的表观修饰发生在组蛋白上, 并且有很多表观遗传因子的参与, 如“写入器”(writers, 包括组蛋白激酶MSK1/2、AURKB、PIM1等)、“阅读器”(readers, 如



转录因子AP-1、ATF、Elk1、SRF、 β -catenin、SNAI1、SP1、Stat3以及SMADs可以结合于*FOSL1*基因转录起始位点上游的启动子区域激活基因转录；一些转录因子如AP-1、MYC或SNAI1还可以结合于*FOSL1*基因第一内含子区域的顺式作用元件(如增强子)调控基因转录活性；对于*FOSL1*转录后生成的转录产物mRNA，一些miRNAs(如miR-34a、miR-15/16、miR-497、miR-195-3p和miR-138)可以靶向结合mRNA的相应位点，进而抑制mRNA产物的翻译。在合成Fra-1蛋白后，一些激酶通路如MEK-ERK、PKC θ -SPAK1、mTORC1-eIF4B可以通过磷酸化过程稳定Fra-1蛋白，进而抑制其蛋白酶体降解过程

图1 *FOSL1*基因表达的调控机制^[8]

BRD4)和“擦除器”(erasers, 如KDM4A/JMJ2A)^[11]。在Myc的作用或ERK激活剂TPA的处理条件下,有丝分裂原激活的MSK1/2与*FOSL1*启动子结合,PIM1激酶与Myc结合于*FOSL1*内含子中的增强子元件,共同介导H3第10位丝氨酸的磷酸化,进而促进*FOSL1*的转录^[4]。TPA触发ERK介导的Elk-1磷酸化和TCF-SRF的激活,并伴随AURKB催化的组蛋白H3第10位丝氨酸的磷酸化^[12],S10磷酸化的H3依次诱导H4-K16、H3-K9的乙酰化,使“适配器”(adaptor)蛋白和表观“阅读器”蛋白在此处聚集,进而招募调节因子以及P-TEFb复合物,最后,P-TEFb催化RNA聚合酶Pol-Ⅱ羧基末端结构域S2磷酸化,触发*FOSL1*转录本的延伸^[4]。

组蛋白3第10位丝氨酸磷酸化/第9位赖氨酸乙酰化(H3-S10ph/K9Ac)、组蛋白4第16位赖氨酸乙酰化(H4-K16Ac)修饰之间的相互作用,能够招募表观“阅读器”BRD4^[4]。细胞内高水平的BRD4与染色质重构、H3第27位赖氨酸的乙酰化修饰(H3-

K27Ac)相关,是转录活性增强的显著特征。对多种癌细胞染色质上BRD4全基因组的分布情况分析表明,*FOSL1*、Myc和其他核癌基因一起,嵌在Fra-1过表达细胞(多发骨髓瘤和胶质母细胞瘤)BRD4结合的超级增强子区域^[13]。因此,在一些癌细胞系中,H3-K27Ac广泛分布于*FOSL1*基因的转录起始附近区域。超级增强子调控的基因对BRD4抑制剂表现出极高的敏感性^[13],包括治疗效果确定的药物JQ1等。在造血系统肿瘤中,Myc是JQ1的主要作用靶点,而在肺腺癌以及其他实体肿瘤(如骨肉瘤)中,*FOSL1*是JQ1的主要作用靶点,因此,降低Fra-1的表达与JQ1的作用效果相似^[14]。

除了H3-K9Ac/S10ph和H4-K16Ac修饰的组蛋白外^[4],一些与BRD4相互作用的转录因子很可能也参与了BRD4依赖的*FOSL1*转录过程。与BRD4相互作用的转录因子包括Yap/Taz辅激活因子,Hippo通路激活后,Yap/Taz与转录因子TEAD4结合,促进下游靶基因表达。Fra-1/AP-1既是Yap/Taz

的辅调节因子, 又是Yap/Taz的靶基因, Fra-1与Yap/Taz在大多数Yap/Taz/TEAD结合的顺式作用元件上共同聚集, 协同促进包括*FOSL1*基因在内的靶基因的转录表达^[15,16]。在三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)细胞中, BRD4增强了Hippo通路中Yap/Taz的转录活性, 促进*FOSL1*的基因表达, 并且提高了细胞对BRD4抑制剂的敏感性, 因此, 在TNBC中, *FOSL1*是BRD4抑制剂JQ1的作用靶点以及转录因子Yap/Taz的直接靶基因^[17]。

表观遗传因子中除了“写入器”和“阅读器”在*FOSL1*的转录中发挥作用, 特定的表观“擦除器”也参与了*FOSL1*的转录调控过程^[11]。在头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)中, 组蛋白去甲基化酶KDM4A/JMJD2A表达增加并与*FOSL1*启动子结合, KDM4A催化的组蛋白抑制性修饰H3-K9me3的甲基清除有利于增加Fra-1的细胞内表达, 这与头颈部鳞状细胞癌的淋巴结转移相关^[6]。

综上所述, *FOSL1*基因的转录过程包含了大量表观遗传修饰, 这些表观遗传因子介导的修饰作用促进或抑制基因转录进程, 与转录因子共同调节*FOSL1*的基因转录。在癌症中, 靶向修饰位点或催化蛋白有望成为Fra-1高表达肿瘤治疗的有效策略。

1.3 Fra-1表达的转录后调节机制: miRNAs的靶向作用

与癌症相关的多种抑癌miRNAs的表达下调会导致Fra-1在肿瘤细胞中累积(图1)。在乳腺癌和结肠癌细胞中, 调控p53的miR-34a可以靶向Fra-1的转录产物^[18]。在nutlin-3a处理的结直肠癌细胞(HCT116)中, p53及miR-34a可以下调Fra-1的表达^[18]。然而, 在乳腺癌细胞MCF7、肝癌细胞以及结直肠癌细胞中, p53可以转录激活*FOSL1*的表达, 与nutlin-3a诱导的结果相反。因此, p53可能通过双向的、细胞内环境依赖的机制调控*FOSL1*的基因表达, Fra-1蛋白的上调或下调依赖p53介导的转录激活与miR-34a介导的*FOSL1*转录后抑制之间的平衡。

其他抑癌miRNAs成员(如miR-15/16)同样可以靶向Fra-1发挥作用。例如, 在结直肠癌细胞中,

miR-497通过靶向Fra-1抑制癌细胞的侵袭和EMT的发生^[19], 而miR-195-3p也以类似的机制影响前列腺癌细胞的功能。此外, 在HNSCC细胞中, miR-138可以靶向*FOSL1*基因3'-UTR、5'-UTR和CDS多个区域下调Fra-1的蛋白质表达^[20]。

1.4 Fra-1稳定性的翻译后修饰调节机制

Fra-1是一种可以通过蛋白酶体途径降解但不需要泛素化修饰过程参与的蛋白质。当Fra-1氨基酸序列中所有赖氨酸残基均被精氨酸替代时, 其发生蛋白质水解的程度不受影响^[21], 说明Fra-1不依赖赖氨酸位点的泛素化修饰而发生蛋白质降解。在多种癌症类型中, 直接靶向Fra-1促进其蛋白质降解可以替代靶向与Fra-1发生互作的蛋白酶体成分TBP1的作用效果^[22](图1)。FOS家族其他成员的蛋白质降解过程与Fra-1不尽相同, 如c-Fos的降解与TBP1不相关。研究提出, 两种策略可以用来控制癌细胞中Fra-1的蛋白质水平。其一, 乳腺癌细胞的激酶PKC θ 和SPAK1被激活后, 会促进Fra-1的蛋白质稳定性^[23,24], 该过程中PKC θ 依赖的Fra-1蛋白稳定性的维持需要PKC θ 第265位丝氨酸以及第223、230位的苏氨酸发生磷酸化, 而此过程中, ERK介导的磷酸化也部分参与Fra-1稳定性的维持^[24]。然而, 在RAS/RAF突变的肿瘤细胞中, Fra-1的稳定性主要依赖ERK催化的磷酸化过程^[25]。其二, 有证据显示, 在肺淋巴管肌瘤中, mTORC1/S6K1信号通路可以调节Fra-1的表达, 在此过程中, mTORC1的激活通过eIF4B第422位的磷酸化提高Fra-1的翻译效率^[26]。因此, 干预癌症细胞中的激酶PKC θ 以及mTORC1/eIF4B的活性状态有可能成为靶向降低癌细胞中Fra-1表达量的有效策略。

翻译后修饰不仅对Fra-1的蛋白质稳定性产生影响, Fra-1的乙酰化还会导致其作为转录因子的转录活性增强^[27]。总之, 多种翻译后修饰能够调控Fra-1的蛋白质稳定性及其与DNA的结合活性。

2 Fra-1在癌细胞增殖、存活、上皮间质转化、转移中发挥的功能

2.1 Fra-1调控癌细胞增殖与存活过程

Fra-1在多种细胞中可以调节细胞的增殖能力, 包括Ras转化的甲状腺、膀胱、肺上皮细胞,

还包括乳腺癌、胰腺癌、肺癌、胃癌细胞等。在Ras转化的大鼠甲状腺细胞中，Fra-1的表达受细胞周期的调控，在G₂/M期达到高峰，Fra-1沉默导致细胞停滞在G₂期、基因组不稳定和细胞凋亡，从而抑制细胞的增殖^[28]。研究表明，在K-Ras过度激活的胰腺癌细胞模型中，Fra-1调控的靶基因*AURKA*表达上调，其编码的蛋白Aurora A激酶在K-Ras依赖的有丝分裂进程中发挥了重要作用，使癌细胞过度生长^[29](图2)；同时，胰腺癌病人中Fra-1的高表达与患者的不良预后相关^[29]。

在TNBC细胞中，对Fra-1/c-Jun调控的关键靶基因进行筛选，发现包含增殖作用相关的调控因子。其中，与增殖极为相关的Fra-1靶基因为*CLCA2*^[30]，其编码的蛋白质hCLCA2参与p53介导的增殖调节作用(图2)。在胃癌^[31]与肺癌细胞^[32]中，Fra-1的过表达会增加鼠双微体2(murine double minute 2, MDM2)蛋白的累积，进而抑制p53通路，促进癌细胞增殖。

还有研究显示，在乳腺癌MDA-MB-231细胞系中，由于Fra-1的缺失导致细胞生存能力下降，可能是Fra-1介导的自分泌机制发挥了作用，即Fra-1缺失导致其诱导的生长因子分泌下降，从而抑制癌细胞的存活^[33]。与该机制类似，在K-Ras过度激活的肺癌细胞模型中，上调的Fra-1会通过促

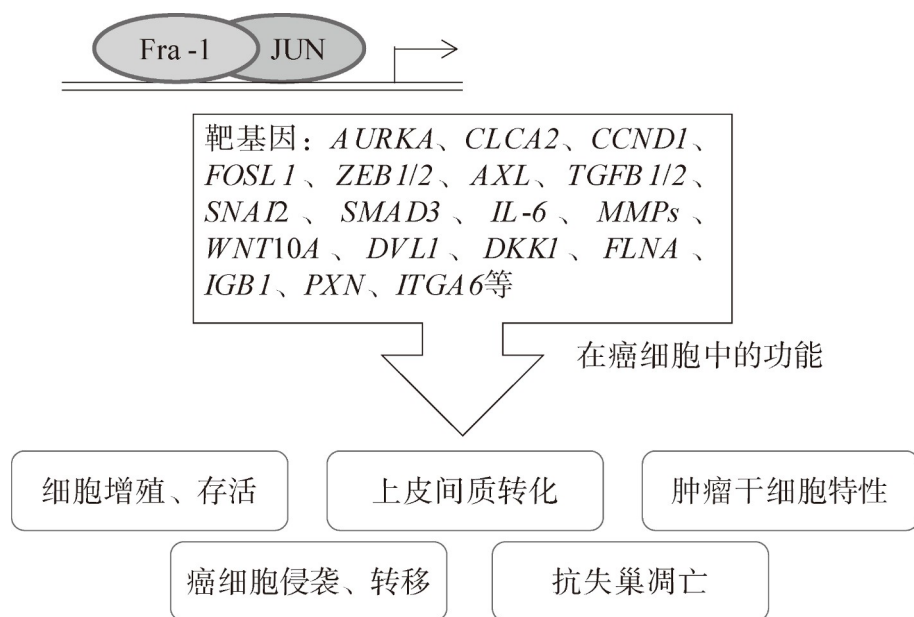
进自分泌生长因子AREG的分泌，增加癌细胞的增殖和存活能力^[34]。

以上结果说明，在大多数类型的癌症中，Fra-1会通过各种机制如细胞周期调控、p53通路或自分泌机制等，促进癌细胞增殖以及存活。

2.2 Fra-1调控癌细胞的上皮间质转化及转移过程

Fra-1参与了绝大多数转移相关的生物学过程，包括组织浸润、内渗、血管或淋巴管中的存活、血管外渗和远处种植。Fra-1促进细胞转移的主要机制是Fra-1可以调节上皮间质转化相关转录因子(EMT-related transcription factors, EMT-TFs)表达过程中的转录活性，在这里，我们主要总结Fra-1调节EMT-TFs表达的研究现状。

应用ChIP-seq数据进行整合分析Fra-1的功能性靶基因，鉴定出了一系列临床特征相关的、基因组范围内的Fra-1结合位点以及表达谱^[35]。在TNBC细胞系(BT549)中，通过将Fra-1/c-Jun的顺式作用元件与转录组相比对，鉴定出*ZEB2*是Fra-1的直接靶基因，*ZEB2*可以抑制EMT标志性分子E-钙黏蛋白的转录，从而促进EMT过程^[35,36]。同样的，在小鼠乳腺上皮细胞系(EpH4)中，过表达Fra-1可以诱导*ZEB2*的表达，从而促进癌细胞的侵袭、间质转化以及转移。具体机制为：Fra-1转录激活*Tgfb1*基因[编码转化生长因子β(transforming growth



Fra-1/JUN二聚体转录因子复合物转录激活下游靶基因的表达，在癌细胞增殖、存活、上皮间质转化、侵袭转移以及抗失巢凋亡过程中发挥重要的功能

图2 Fra-1调控癌细胞功能示意图

factor- β , *TGF- β*)]以及*ZEB1/2*基因的表达, *TGF- β* 通路活化后通过自分泌机制维持细胞的间质特性^[37]。在结直肠癌细胞中, 除了*vimentin*、*AXL*、EMT-TFs基因*ZEB1*和*SNAIL2*^[3]之外, Fra-1结合的顺式作用元件还存在于*TGFB2*和*SMAD3*基因启动子中, 通过与这些元件结合转录激活*TGFB2*和*SMAD3*的表达, 进而促进*TGF- β* 通路的激活。在结直肠癌细胞中, 当敲除*FOSL1*后, *TGF- β* /Smad3信号通路下游靶基因中间质标志物的表达受到抑制, 说明Fra-1可以通过*TGF- β* 通路上调间质标志物表达, 促进癌细胞发生EMT过程^[38]。Fra-1除了作为转录因子激活*SMAD3*基因表达之外, 还可以与Smad2/3蛋白发生相互作用, Fra-1可以招募Smads到Smad/AP-1转录激活复合物中, 介导侵袭相关基因(*SERPINE1*和*MMP10*)的表达^[39,40]。在另一项关于结直肠癌的研究中, Fra-1会增强去乙酰化酶SIRT1介导的EMT过程, 而促进结直肠癌细胞的转移^[41]。应用结直肠癌细胞进行Fra-1转录谱的鉴定, 其中包括几种Wnt通路成员(*WNT10A*、*DVL1*、*DKK1*), 这些成员的表达会进一步激活Wnt通路, 从而促进EMT进程^[42](图2)。除此之外, Fra-1还可以诱导结直肠癌细胞局部黏附因子家族某些成员(*FLNA*、*IGBI*、*PXN*)的表达^[42], 使Fra-1在控制细胞骨架、局部黏附以及细胞运动中发挥作用^[8]。综上, Fra-1通过诱导EMT过程、黏附因子表达从而发挥促进癌细胞转移的作用。

与癌细胞转移相关的过程还包括细胞的内渗和外渗, 该过程指的是癌细胞破坏内皮屏障、穿过内皮层的能力。在小鼠TNBC细胞中, 体外研究显示, Fra-1是细胞穿过内皮渗透过程的必要蛋白, 并且在原位种植乳腺癌细胞的小鼠模型中, 循环肿瘤细胞中Fra-1的表达明显高于原发种植部位^[43,44]。还有研究显示, 静脉注射结直肠癌细胞形成微转移灶的小鼠, 敲除*FOSL1*致使Fra-1表达下降或缺失, 会抑制小鼠的肺转移^[42]。因此, Fra-1还可以在癌细胞脱离原发部位播散后的转移过程中发挥促进作用。

抗失巢凋亡作用也是癌细胞成功转移的条件之一。抗失巢凋亡指的是细胞具有抵抗脱离细胞外基质后凋亡过程发生的能力, 它是癌细胞在血液和淋巴液中存活的必要条件。在3D培养基中生

长的极化上皮细胞(Madin-Darby canine kidney, MDCK)检测体系中, 已经发现了几个参与抗失巢凋亡的Fra-1靶基因^[45]。在MDCK细胞中, 通过异位K-RasV12的表达激活MEK/ERK通路, 足以触发Fra-1表达、EMT过程以及失巢凋亡抗性的产生, 这些过程都与Fra-1转录激活*ITGA6*(编码 $\alpha 6$ -整合素)的表达相关^[45]。在人类黑色素细胞中, 即使去除诱导因子, 异位Fra-1诱导的失巢凋亡抗性以及3D培养基中的细胞克隆仍然存在, 提示Fra-1依赖的表观遗传基因重编程现象的发生^[46]。综上所述, Fra-1通过转录激活EMT-TFs表达, 促进癌细胞EMT表型转换, 进而增强细胞转移能力以及获得肿瘤干细胞特性, 同时, Fra-1还可以调节细胞外基质激酶、细胞骨架蛋白以及黏附蛋白的表达, 从而提高癌细胞的运动能力。并且, Fra-1能够促进细胞穿透内皮细胞以及获得抗失巢凋亡特性, 介导癌细胞脱离原发肿瘤后的远端转移(图2)。

3 以Fra-1为靶点的靶向治疗

3.1 以Fra-1或相关产物为靶点的临床治疗策略

在多种癌细胞中, 应用CRISPR-Cas9筛选全基因组范围内癌症相关的靶基因, 对19种不同组织、30种癌症类型、324种人类癌细胞系的综合分析结果显示, *FOSL1*基因在AP-1组分中占比最多, 敲除*FOSL1*可以抑制324种细胞系中的50种细胞的体外活性。该研究又进一步应用生物信息学手段分析了617种人类癌症的表达数据, 发现*FOSL1*基因为食管癌和胰腺癌的特异性“有效靶点”^[47]。

对于靶向Fra-1治疗策略的早期尝试是基于肠道细菌携带的DNA疫苗, 在转移性乳腺癌小鼠模型中, 该肠道细菌对Fra-1有保护性免疫作用。随着体外细胞制造和非病毒基因组整合技术的发展, 针对实体肿瘤T细胞受体的免疫疗法显现出一定的治疗潜力^[48], 为靶向Fra-1的癌症治疗提供了新策略。与细胞表面受体和细胞内蛋白激酶抑制剂不同, 转录因子小分子抑制剂的应用具有很大的挑战性。截至目前, 通过Ⅱ期临床试验的唯一一种选择性AP-1抑制剂是基于c-Jun/c-Fos/DNA复合物的DNA结合抑制剂(T-5224)^[49]。但是, 由于异源二聚体AP-1的DNA结合域的保守结构, 决定了

这种抑制剂很难实现Fra-1的特异性抑制^[50]。

鉴于Fra-1的稳定性受到磷酸化作用的严格调控,人们采用新的手段来鉴定Fra-1的降解产物或降解过程调控因子。在*K-Ras*突变的胰腺癌细胞中应用该方法鉴定出新的Myc蛋白稳定性调节因子^[51]。与该过程类似,设计Fra-1降解的报告体系可以用于Fra-1过表达细胞内、基于流式细胞技术的激酶抑制剂(或其他小分子抑制剂)的筛选。通过对乳腺癌转移过程中Fra-1下游效应基因的鉴定,发现了编码腺苷2b受体的*ADORA2B*基因,该基因可被普通药物(茶碱)靶向抑制^[52]。因此,未来的治疗策略可以靶向与Fra-1靶基因产物互作的分子,这些Fra-1靶基因包括受体(*AXL*、*ADORA2B*)、细胞因子(*IL-6*、*TGFB2*)、细胞内激酶(*AURKA*)等。在胰腺导管腺癌和肺腺癌细胞中,*AURKA*可以显著增加*K-Ras*突变肿瘤细胞对Fra-1缺失的敏感性。所以,在*K-Ras*突变的肺腺癌细胞中,联合应用*AURKA*与MEK特异性抑制剂比单一处理更加有效^[29]。在靶向Fra-1下游产物方面,可以选择一些受体基因(*ADORA2B*、*AXL*、*PLAUR*)作为靶点,设计相应的嵌合RNA适配子用来传递细胞内的siRNAs以及miRNAs,以靶向抑制受体基因的表达。

除此之外,还可以依据发生EMT转化的癌细胞具有表型可塑性的特点,发展创新性的治疗策略。EMT-TFs的表达程度与细胞上皮、间质之间的过渡表型相关,该状态下的细胞会形成动态的癌细胞亚群。这种上皮/间质(epithelial/mesenchymal, E/M)的可塑性对于肿瘤干细胞亚群的形成至关重要。目前,针对E/M细胞群表型的可塑性发展治疗策略的研究被高度关注。在体外有丝分裂后期的脂肪组织中,EMT来源的乳腺癌细胞可以发生转分化成为有丝分裂后期的脂肪细胞;在动物模型中,应用诱导脂肪生成的药物可以促进癌细胞转分化为脂肪细胞进而抑制乳腺癌的转移^[53]。由于Fra-1是脂肪生成的负调控因子^[54],FOS家族蛋白的显性失活抑制剂会使癌细胞发生转分化,进而抑制肿瘤进程^[55]。综上所述,我们提出合理设想:在癌症中,针对可塑性E/M状态的细胞群,应用Fra-1抑制剂联合促脂肪生成药物可以使E/M细胞表型发生转分化,或许可以达到

治疗的目的。

3.2 Fra-1在癌症靶向治疗耐药性中的作用

在一些激酶抑制剂应用于临床抗肿瘤靶向治疗的过程中,出现了药物不敏感的耐药现象。在对黑色素瘤和其他实体肿瘤的研究中,越来越多的证据表明,BRAF抑制剂出现了耐药性。有研究显示,BRAF抑制剂治疗肿瘤会出现两种癌细胞群,一是抑制剂敏感性细胞群,二是抑制剂抵抗性细胞群^[56]。例如,应用BRAF抑制剂威罗菲尼(vemurafenib)处理黑色素瘤细胞会使Fra-1表达下降,进而上调表皮生长因子以及下调生长抑制因子IGFBP3的表达,细胞表现出衰老抑制和转移能力增强的现象^[56]。关于黑色素瘤治疗耐药性的另一项研究显示,通过旁分泌机制产生的FGF1是肿瘤细胞对BRAF或MEK抑制剂产生耐药性的关键因素^[57]。细胞经过BRAF或MEK抑制剂处理后会同Fra-1的表达下降以及PI3K表达的上升,随后促进FGF1的表达,这个现象是BRAF/MEK抑制剂治疗期间的一种代偿事件,分泌的FGF1反过来降低了原始癌细胞群体对BRAF/MEK抑制剂的敏感性^[57]。

蛋白质组联合转录组学分析结果表明,细胞对MEK抑制剂的内在抗性是由于发生了药物诱导的基因组范围内代偿性激酶组的重编程。在TNBC细胞中,药物诱导的激酶组重编程依赖ERK催化的磷酸化下降以及癌蛋白Myc的降解^[58]。在NF1缺失的卵巢癌细胞中,应用MEK抑制剂曲美替尼(Trametinib)会导致Fra-1表达下降,进而诱导受体酪氨酸激酶(PTKs)的表达,激活下游激酶相关通路(如RAF、PI3K通路),介导激酶组发生重编程,最终导致细胞对抑制剂发生抵抗^[59]。鉴于Fra-1通过调节EMT-TFs促进细胞发生EMT,经历间质转化的癌细胞具有干细胞样特征,对放疗或化疗的抵抗性增加。因此,Fra-1很可能导致癌细胞对细胞毒性治疗产生抵抗作用。

4 总结

癌蛋白Fra-1在大多数实体肿瘤中高表达,作为一种转录因子,其自身以及下游调控的靶基因产物在肿瘤发生、进展中发挥至关重要的作用,可以作为癌症诊断和治疗的潜在靶点。在癌细胞

中, 由于多数致癌通路的显著激活, 导致AP-1二聚体中的Fra-1蛋白表达增加以及其在细胞中的累积。本综述围绕*FOSL1*基因表达、Fra-1蛋白稳定性调节以及Fra-1在癌细胞中的功能活性展开分类总结, 突显了Fra-1在肿瘤诊疗、药物开发中的靶向价值。

Fra-1不仅可以调节核效应因子(如EMT-TFs)的表达, 还可以调控多个信号通路(TGF- β /SMAD3、IL-6/Stat3、Wnt/ β -catenin、Hippo/YAP、Gas6/Axl、Notch/Hey1)的活性进而影响细胞内的生物学过程。此外, Fra-1还参与细胞自分泌和旁分泌机制、促进EMT并使癌细胞获得肿瘤干细胞特性。这些研究结果支持了Fra-1可以作为癌症治疗中非常有价值的靶点, 在癌症发生进展以及药物耐药性中发挥至关重要的作用。鉴于Fra-1复杂的信号调控网络及其在抑制剂治疗耐药中发挥的作用, 在临床实践中, 当药物靶向Fra-1进行抑制来治疗肿瘤时, 应根据不同癌细胞内环境以及治疗手段的联合应用来达到满意的效果。

参考文献

- [1] Jiang X, Xie H, Dou Y, et al. Expression and function of FRA1 protein in tumors. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(1): 737-752
- [2] Ruiz EJ, Lan L, Diefenbacher ME, et al. JunD, not c-Jun, is the AP-1 transcription factor required for Ras-induced lung cancer. *JCI Insight*, 2021, 6(13): e124985
- [3] Shu L, Chen A, Li L, et al. NRG1 regulates Fra-1 transcription and metastasis of triple-negative breast cancer cells via the c-Myc ubiquitination as manipulated by ERK1/2-mediated Fbxw7 phosphorylation. *Oncogene*, 2022, 41(6): 907-919
- [4] Zippo A, Serafini R, Rocchigiani M, et al. Histone crosstalk between H3S10ph and H4K16ac generates a histone code that mediates transcription elongation. *Cell*, 2009, 138(6): 1122-1136
- [5] Wu J, Sun Y, Zhang PY, et al. The Fra-1-miR-134-SDS22 feedback loop amplifies ERK/JNK signaling and reduces chemosensitivity in ovarian cancer cells. *Cell Death Dis*, 2016, 7(9): e2384
- [6] Ding X, Pan H, Li J, et al. Epigenetic activation of AP1 promotes squamous cell carcinoma metastasis. *Sci Signal*, 2013, 6(273): ra28.1-13
- [7] Gopal U, Gonzalez-Gronow M, Pizzo SV. Activated α 2-macroglobulin regulates transcriptional activation of c-MYC target genes through cell surface GRP78 protein. *J Biol Chem*, 2016, 291(20): 10904-10915
- [8] Dhillon AS, Tulchinsky E. FRA-1 as a driver of tumour heterogeneity: a nexus between oncogenes and embryonic signalling pathways in cancer. *Oncogene*, 2015, 34(34): 4421-4428
- [9] Zhang L, Liu H, Mu X, et al. Dysregulation of Fra1 expression by Wnt/ β -catenin signalling promotes glioma aggressiveness through epithelial-mesenchymal transition. *Biosci Rep*, 2017, 37(2): BSR20160643
- [10] Liu H, Ren G, Wang T, et al. Aberrantly expressed Fra-1 by IL-6/STAT3 transactivation promotes colorectal cancer aggressiveness through epithelial-mesenchymal transition. *Carcinogenesis*, 2015, 36(4): 459-468
- [11] 郭思岐. 基于新型组蛋白乙酰化“阅读器” ENL YEATS domain的先导化合物发现研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2021
- [12] Esnault C, Gualdrini F, Horswell S, et al. ERK-induced activation of TCF family of SRF cofactors initiates a chromatin modification cascade associated with transcription. *Mol Cell*, 2017, 65(6): 1081-1095.e5
- [13] Lovén J, Hoke HA, Lin CY, et al. Selective inhibition of tumor oncogenes by disruption of super-enhancers. *Cell*, 2013, 153(2): 320-334
- [14] Calder J, Nagelberg A, Luu J, et al. Resistance to BET inhibitors in lung adenocarcinoma is mediated by casein kinase phosphorylation of BRD4. *Oncogenesis*, 2021, 10(3): 27
- [15] Rozengurt E, Sinnott-Smith J, Eibl G. Yes-associated protein (YAP) in pancreatic cancer: at the epicenter of a targetable signaling network associated with patient survival. *Signal Transduct Target Ther*, 2018, 3(1): 11
- [16] Zanconato F, Forcato M, Battilana G, et al. Genome-wide association between YAP/TAZ/TEAD and AP-1 at enhancers drives oncogenic growth. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(9): 1218-1227
- [17] Zanconato F, Battilana G, Forcato M, et al. Transcriptional addiction in cancer cells is mediated by YAP/TAZ through BRD4. *Nat Med*, 2018, 24(10): 1599-1610
- [18] Wu J, Wu G, Lv L, et al. MicroRNA-34a inhibits migration and invasion of colon cancer cells via targeting to Fra-1. *Carcinogenesis*, 2012, 33(3): 519-528
- [19] Zhang N, Shen Q, Zhang P. miR-497 suppresses epithelial-mesenchymal transition and metastasis in colorectal cancer cells by targeting fos-related antigen-1. *Oncotargets Ther*, 2016, 9: 6597-6604
- [20] Jin Y, Wang C, Liu X, et al. Molecular characterization of the microRNA-138-Fos-like antigen 1 (FOSL1) regulatory module in squamous cell carcinoma. *J Biol Chem*, 2011, 286(46): 40104-40109

- [21] Basbous J, Chalbous D, Hipskind R, et al. Ubiquitin-independent proteasomal degradation of Fra-1 is antagonized by Erk1/2 pathway-mediated phosphorylation of a unique C-terminal destabilizer. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(11): 3936-3950
- [22] Pakay JL, Diesch J, Gilan O, et al. A 19S proteasomal subunit cooperates with an ERK MAPK-regulated degron to regulate accumulation of Fra-1 in tumour cells. *Oncogene*, 2012, 31(14): 1817-1824
- [23] Belguise K, Cherradi S, Sarr A, et al. PKC θ -induced phosphorylations control the ability of Fra-1 to stimulate gene expression and cancer cell migration. *Cancer Lett*, 2017, 385: 97-107
- [24] Belguise K, Milord S, Galtier F, et al. The PKC θ pathway participates in the aberrant accumulation of Fra-1 protein in invasive ER-negative breast cancer cells. *Oncogene*, 2012, 31(47): 4889-4897
- [25] Talotta F, Mega T, Bossis G, et al. Heterodimerization with Fra-1 cooperates with the ERK pathway to stabilize c-Jun in response to the RAS oncoprotein. *Oncogene*, 2010, 29(33): 4732-4740
- [26] Gu X, Yu JJ, Ilter D, et al. Integration of mTOR and estrogen-ERK2 signaling in lymphangiogenesis pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(37): 14960-14965
- [27] Wang T, Song P, Zhong T, et al. The inflammatory cytokine IL-6 induces FRA1 deacetylation promoting colorectal cancer stem-like properties. *Oncogene*, 2019, 38(25): 4932-4947
- [28] Casalino L, Bakiri L, Talotta F, et al. Fra-1 promotes growth and survival in RAS-transformed thyroid cells by controlling cyclin A transcription. *EMBO J*, 2007, 26(7): 1878-1890
- [29] Vallejo A, Perurena N, Guruceaga E, et al. An integrative approach unveils FOSL1 as an oncogene vulnerability in KRAS-driven lung and pancreatic cancer. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 14294
- [30] Annis MG, Ouellet V, Rennhack JP, et al. Integrin-uPAR signaling leads to FRA-1 phosphorylation and enhanced breast cancer invasion. *Breast Cancer Res*, 2018, 20(1): 9
- [31] He J, Zhu G, Gao LU, et al. Fra-1 is upregulated in gastric cancer tissues and affects the PI3K/Akt and p53 signaling pathway in gastric cancer. *Int J Oncol*, 2015, 47(5): 1725-1734
- [32] Zhong G, Chen XI, Fang X, et al. Fra-1 is upregulated in lung cancer tissues and inhibits the apoptosis of lung cancer cells by the P53 signaling pathway. *Oncol Rep*, 2016, 35(1): 447-453
- [33] Ibrahim SAEF, Abudu A, Johnson E, et al. The role of AP-1 in self-sufficient proliferation and migration of cancer cells and its potential impact on an autocrine/paracrine loop. *Oncotarget*, 2018, 9(76): 34259-34278
- [34] Elangovan IM, Vaz M, Tamatam CR, et al. FOSL1 promotes Kras-induced lung cancer through amphiregulin and cell survival gene regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 58(5): 625-635
- [35] Zhao C, Qiao Y, Jonsson P, et al. Genome-wide profiling of AP-1-regulated transcription provides insights into the invasiveness of triple-negative breast cancer. *Cancer Res*, 2014, 74(14): 3983-3994
- [36] 王奕婷, 刘玉婷, 白晓彦. EMT在癌症转移中的作用: 内环境依赖的调控过程. *生命的化学*, 2021, 41(3): 428-436
- [37] Song D, He H, Sinha I, et al. Blocking Fra-1 sensitizes triple-negative breast cancer to PARP inhibitor. *Cancer Lett*, 2021, 506: 23-34
- [38] Finnson KW, Almadani Y, Philip A. Non-canonical (non-SMAD2/3) TGF- β signaling in fibrosis: mechanisms and targets. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 101: 115-122
- [39] Sundqvist A, Zieba A, Vasilaki E, et al. Specific interactions between Smad proteins and AP-1 components determine TGF β -induced breast cancer cell invasion. *Oncogene*, 2013, 32(31): 3606-3615
- [40] Yao CD, Haensel D, Gaddam S, et al. AP-1 and TGFB cooperativity drives non-canonical Hedgehog signaling in resistant basal cell carcinoma. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5079
- [41] Cheng F, Su L, Yao C, et al. SIRT1 promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis in colorectal cancer by regulating Fra-1 expression. *Cancer Lett*, 2016, 375(2): 274-283
- [42] Iskit S, Schlicker A, Wessels L, et al. Fra-1 is a key driver of colon cancer metastasis and a Fra-1 classifier predicts disease-free survival. *Oncotarget*, 2015, 6(41): 43146-43161
- [43] Rattanasinchai C, Llewellyn BJ, Conrad SE, et al. MLK3 regulates FRA-1 and MMPs to drive invasion and transendothelial migration in triple-negative breast cancer cells. *Oncogenesis*, 2017, 6(6): e345
- [44] Hoang VT, Matossian MD, La J, et al. Dual inhibition of MEK1/2 and MEK5 suppresses the EMT/migration axis in triple-negative breast cancer through FRA-1 regulation. *J Cell Biochem*, 2021, 122(8): 835-850
- [45] Zhang K, Myllymäki SM, Gao P, et al. Oncogenic K-Ras upregulates ITGA6 expression via FOSL1 to induce anoikis resistance and synergizes with α V-Class integrins to promote EMT. *Oncogene*, 2017, 36(41): 5681-5694
- [46] Maurus K, Hufnagel A, Geiger F, et al. The AP-1 transcription factor FOSL1 causes melanocyte reprogramming and transformation. *Oncogene*, 2017, 36(36): 5110-

5121

- [47] Behan FM, Iorio F, Picco G, et al. Prioritization of cancer therapeutic targets using CRISPR-Cas9 screens. *Nature*, 2019, 568(7753): 511-516
- [48] Chandran SS, Klebanoff CA. T cell receptor-based cancer immunotherapy: emerging efficacy and pathways of resistance. *Immunol Rev*, 2019, 290(1): 127-147
- [49] Kamide D, Yamashita T, Araki K, et al. Selective activator protein-1 inhibitor T-5224 prevents lymph node metastasis in an oral cancer model. *Cancer Sci*, 2016, 107(5): 666-673
- [50] Zhao Q, Zhang K, Li Y, et al. OLFML2A is necessary for anti-triple negative breast cancer effect of selective activator protein-1 inhibitor T-5224. *Transl Oncol*, 2021, 14(8): 101100
- [51] Blake DR, Vaseva AV, Hodge RG, et al. Application of a MYC degradation screen identifies sensitivity to CDK9 inhibitors in KRAS-mutant pancreatic cancer. *Sci Signal*, 2019, 12(590): eaav7259
- [52] Desmet CJ, Gallenne T, Prieur A, et al. Identification of a pharmacologically tractable Fra-1/ADORA2B axis promoting breast cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(13): 5139-5144
- [53] Ishay-Ronen D, Diepenbruck M, Kalathur RKR, et al. Gain fat-lose metastasis: converting invasive breast cancer cells into adipocytes inhibits cancer metastasis. *Cancer Cell*, 2019, 35(1): 17-32.e6
- [54] Luther J, Driessler F, Megges M, et al. Elevated Fra-1 expression causes severe lipodystrophy. *J Cell Sci*, 2011, 124(9): 1465-1476
- [55] Gerdes MJ, Myakishev M, Frost NA, et al. Activator protein-1 activity regulates epithelial tumor cell identity. *Cancer Res*, 2006, 66(15): 7578-7588
- [56] Obenauf AC, Zou Y, Ji AL, et al. Therapy-induced tumour secretomes promote resistance and tumour progression. *Nature*, 2015, 520(7547): 368-372
- [57] Grimm J, Hufnagel A, Wobser M, et al. BRAF inhibition causes resilience of melanoma cell lines by inducing the secretion of FGF1. *Oncogenesis*, 2018, 7(9): 71
- [58] Duncan JS, Whittle MC, Nakamura K, et al. Dynamic reprogramming of the kinome in response to targeted MEK inhibition in triple-negative breast cancer. *Cell*, 2012, 149(2): 307-321
- [59] Kurimchak AM, Shelton C, Herrera-Montávez C, et al. Intrinsic resistance to MEK inhibition through BET protein-mediated kinome reprogramming in NF1-deficient ovarian cancer. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(8): 1721-1734