

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.09.001

◇ 综述 ◇

Capicua 在肿瘤中的研究进展

薛俊麟, 孟庆辉, 肖鹏, 裴铁民

作者单位: 哈尔滨医科大学附属第一医院肛肠外科, 黑龙江 哈尔滨 150001

通信作者: 孟庆辉, 男, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 研究方向为肛周疾病、结直肠肿瘤, E-mail: hui-90@163.com

基金项目: 吴阶平医学基金会(320.6750.16018)

摘要: Capicua (CIC) 是一种在生物进化过程中高度保守的高迁移率族蛋白 (high mobility group-box, HMG-box) 转录因子, 可特异性识别 T(G/C)AATG(A/G)A 序列, 并抑制靶基因的表达。作为受体酪氨酸激酶 (RTK) 信号通路的下游效应因子, CIC 可参与多种发育决定。CIC 突变以及染色体易位相关的 CIC 基因融合可造成多种人类疾病, 且与肿瘤关系尤为密切, 如少突胶质瘤、肺癌和尤文肉瘤等。本课题组现就 CIC 在肿瘤的最新研究进展作一综述, 揭示其在信号传导、肿瘤发生及新型治疗中的重要作用。

关键词: 肿瘤/病因学; 高迁移率族蛋白质类; 受体蛋白质酪氨酸激酶类; 同源盒结构域蛋白质类; Capicua; CIC-DUX4; RTK 信号通路; 多瘤病毒增强子激活剂 3 (PEA3)

Research progress on the role of Capicua in neoplasm

XUE Junlin, MENG Qinghui, XIAO Peng, PEI Tiemin

Author Affiliation: Department of Anorectal Surgery, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China

Abstract: Capicua (CIC) is a high mobility group-box (HMG-box) transcription factor that is well conserved in the process of biological evolution. It can specifically recognize T(G/C)AATG(A/G)A sequence and inhibit the expression of target gene. CIC controls multiple developmental decisions acting as downstream of Receptor Tyrosine Kinase (RTK) signaling. CIC mutation as well as chromosomal translocation-associated gene fusions are involved in multiple human diseases especially neoplasm, such as oligodendroglioma, lung carcinoma, Ewing's sarcoma. This article is aimed to reveal the significant role of CIC in signal transduction, carcinogenesis and developing novel therapies by reviewing the latest research progress of CIC in neoplasm.

Key words: Neoplasms/etiology; High mobility group proteins; Receptor protein-tyrosine kinases; Homeodomain proteins; Capicua; CIC-DUX4; RTK signaling pathway; PEA3

恶性肿瘤是严重威胁人类健康和社会发展的疾病。国际癌症研究中心发布的数据显示, 2012 年全球恶性肿瘤新发病例约 1 409 万, 死亡约 820 万^[1], 且恶性肿瘤的发病率呈逐年增高的趋势。我国恶性肿瘤中死亡率排名首位的肿瘤为肺癌, 其次依次为肝癌、胃癌、食管癌和结直肠癌^[2]。肿瘤的防控形势严峻。本研究以 Capicua (CIC) 为研究对象, 探讨 CIC 在肿瘤发生过程中的分子机制, 这对其相关癌症的诊断和靶向治疗有至关重要的作用。

1 CIC 的结构和功能

高迁移率族蛋白 (high mobility group-box, HMG-box) 因子是细胞内功能多样化的一系列核蛋白。含有 HMG-box 串联结构域的蛋白质通常只作为结构因子和染色质因子发挥作用, 而不表现出 DNA 序列

特异性。有些含有单个 HMG-box 的蛋白质, 如性别决定基因相关基因 (Sex-determining region of Y chromosome Related HMG-box genes, Sox) 和 T 细胞因子 (TCF) 转录因子, 能够特异性结合于启动子和增强子中富含 AT 的模体, 调控生长发育过程^[3]。CIC 属于 HMG-box 家族的成员之一, 在不同物种间高度保守。作为一种转录抑制因子, 它与 Sox 和 TCF 紧密相关, 但有别于 Sox 和 TCF 的 HMG-box, CIC 的 HMG-box 另有两个保守的模体——C1 和 C2, 分别位于其 C 端和中心部分, C1 模体与 HMG-box 的相互作用可使 DNA 的结合更加稳定^[3]。由促前胸腺激素受体 (Torso) 和表皮生长因子受体 (EGFR) 激活的丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路中, C2 模体作为 MAPK 的停泊位点, 通过与 Rolled 相互作用而发挥 MAPK 的作用^[4]。C2 模体的突变可产生 CIC 衍生

物,使 Torso 和 EGFR 激活的下游信号逃逸,产生类似于 Torso 和 EGFR 功能失活的表型^[4]。人类 CIC 编码至少两种蛋白质亚型——CIC-S 和 CIC-L,它们的分子大小和 N 端区域皆有差别。据目前研究可知,CIC 的活性主要与 CIC-S 亚型有关,CIC-L 亚型的 N 端片段包含一个高度保守的延伸的未知功能域,其细胞作用尚不清楚^[5]。

受体酪氨酸激酶(Receptor Tyrosine Kinase, RTK)信号通路能调节多种生物学过程,其信号传导能引起各种细胞反应,如增殖、分化、代谢与迁移,RTK 信号传导异常则导致多种疾病,尤其在癌症的发生机制中发挥重要作用。CIC 通过特异性识别 T(G/C)AATG(A/G)A 序列^[6],抑制 RTK 信号传导通路中 Torso, EGFR, Ras, Raf, MAPK 等信号传导分子的应答基因表达,从而在组织形成和细胞增殖过程中发挥重要作用,并参与肺泡形成^[7]和肝内环境稳定^[8]等重要生理过程。当该级联反应下游的 MAPK 信号处于静止状态时,CIC 组成性表达并抑制其目标基因。一旦 MAPK 磷酸化,CIC 的表达迅速下降,从而诱导 PEA3 家族基因表达^[9]。PEA3 家族基因属于 E26 转录因子(E26 transformation-specific, ETS)家族成员之一,包含 3 个家族成员:ETV1, ETV4 和 ETV5,这些转录因子的过度表达与细胞侵袭性和转移性密切相关,因而在肿瘤发生过程中发挥重要作用。据相关文献报道,与基因融合和扩增有关的 ETS 转录因子 ETV1, ETV4 和 ETV5 过表达存在于乳腺癌和前列腺癌中,其中 ETV1 与前列腺癌的侵袭性有关,并被确定为黑色素瘤的驱动突变基因^[10-12]。正常情况下,CIC 的 HMG-box 可结合于编码 ETV1, ETV4 和 ETV5 启动子的 DNA 序列上,抑制 PEA3 的表达。EGFR 的激活直接或通过 p90 核糖体 S6 蛋白激酶(p90 ribosomal S6 kinase, p90RSK)激活 HMG-box 邻近区域的 Ser173 位点,诱导 MAPK 依赖性 CIC 磷酸化,促进 CIC 与 14-3-3 蛋白的结合,抑制入核蛋白 KPNA3 定位于 CIC 的 C 端核定位序列(nuclear localization sequence, NLS);同时,CIC 与 14-3-3 蛋白的结合也使 CIC 与 DNA 的结合能力减弱^[13]。此外,细胞外信号调节激酶(ERK)诱导的磷酸化会降低 CIC 的转录抑制活性,促进磷酸化的 CIC 从细胞核中输出,最终导致 CIC 降解^[14-15],该降解方式是通过 ERK 依赖的泛素 E3 连接酶复合体 Cullin1/SKP1/Archipelago 实现的^[16]。值得一提的是,相当一部分 RTK 信号的反应元件可与 CIC 相结合,因此,RTK 信号通路在 CIC 的表达过程中扮演着很重要的角色。

2 CIC 在癌症中的作用

2.1 CIC 作为转录抑制因子在癌症中的作用 转录因子及其转录抑制因子的生物学功能对维持细胞内环境稳态十分重要,在人类的癌症研究中多可见转录因子和转录抑制因子的失调。CIC 对 RTK/RAS/MAPK 信号通路下游靶基因的抑制作用表明,它可作为肿瘤抑制基因在肿瘤发生过程中发挥作用。CIC 作为一种转录抑制因子,其基因突变可导致多种人类癌变,如乳腺癌^[17]、肺癌^[9]、肝细胞癌^[18]、胃癌^[9]、血管肉瘤^[19]、髓母细胞瘤^[20]、少突胶质细胞瘤^[21]等。

在脑肿瘤中,CIC 突变绝大部分发生于少突胶质瘤,而在星形胶质肿瘤中非常少见^[22]。少突胶质瘤的 CIC 突变与异柠檬酸脱氢酶(IDH1)和远端上游元件结合蛋白(FUBP1)突变密切相关,这 3 个基因在肿瘤发生中具有协同作用。在少突胶质细胞瘤中,CIC 突变主要存在于 HMG-box 和 C1 结构域附近^[3]。这种特征性的突变分布情况提示 CIC 的基因突变可能与 HMG-box 及 C1 模体相关,并影响其 DNA 的结合能力^[3]。但在少数复发型少突胶质细胞瘤中并未发现 CIC 突变,提示这种突变不是少突胶质瘤存活所必需的前提。

除脑部肿瘤外,CIC 还参与多种肿瘤的发生与发展过程。肝细胞癌中 CIC 的研究表明,CIC-ETV4-MMP1 轴参与肝细胞癌的演进过程。MMP1 是一种基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs),它可通过降解细胞外基质、活化生长因子、抑制细胞凋亡、诱导血管生成等作用促进肿瘤的发生。肺癌和胃癌中 CIC 的研究表明,CIC-ETV4-MMP24 轴增加癌症的侵袭和转移能力^[9]。急性 T 淋巴细胞白血病的研究表明,CIC 可能通过 CIC-ETV4 轴诱导急性 T 淋巴细胞白血病^[23]。

2.2 CIC-DUX4 融合基因在癌症中的作用 尤文氏肿瘤家族(Ewing's family tumors, EFTs)是一类发生于儿童和青少年的高度恶性肿瘤,包括尤文肉瘤、Askin 瘤和原始神经外胚层瘤^[24]。细胞遗传学认为,绝大部分 EFTs 的病变是由于 5' 端 22q12 位点的尤文肉瘤蛋白(Ewing sarcoma protein, EWS)基因与 3' 端的 ETS 转录因子家族,如 FLI1(11q24),ERG(21q22),ETV1(7p22),E1AF(17q12)或 FEV(2q33)之间相互融合而成。Kawamura-Saito 等^[25]在尤文氏肉瘤病人中发现 CIC 与双同源框蛋白 4(Double homeobox 4, DUX4)相互融合,产生 CIC-DUX4 融合体。该融合体中大部分 CIC 蛋白质如 HMG-box、TLE 蛋白质的结合位点、MAPK 磷酸化位点都被保留。然

而, DUX4相当一部分N端区域丢失, 如DNA结合的同源结构域等。DUX4加入于该融合体的C端后, CIC的抑制功能转化为反式激活功能, 从而导致PEA3家族基因等靶基因的表达迅速升高。这种反式激活活性可能与p300/CBP有关^[26]。CIC-DUX4融合体的C端结构域可以通过招募p300/CBP来获得DUX4的转录激活功能, 逆转CIC的转录抑制能力, 上调靶基因的表达, 从而显示出强致癌作用。此外, Okimoto等^[27]发现, 在未分化的圆形细胞肉瘤中, CIC-DUX4融合体能直接靶定于细胞周期蛋白E1 (cyclin E1, CCNE1) 和ETV4, 增加CCNE1和ETV4的表达, 从而加强肿瘤细胞的生存和侵袭能力。

此外, CIC融合体可存在于DUX4以外的基因。在罕见的小圆形细胞肉瘤病例中可发现CIC与叉头样转录因子O4(FOXO4)的融合^[28]; 在中枢神经系统的原始神经外胚层瘤中发现CIC-NUTM1融合体^[29]。另外, 在120例血管肉瘤中, 有9例血管肉瘤病人存在CIC突变以及CIC-LEUTX融合, 在CIC突变病例中, PEA3家族基因也被上调^[19]。目前尚无相关研究阐明非DUX4融合是否也改变了CIC的抑制功能, 但HMG-box在CIC-FOXO4和CIC-NUTM1融合体中都被保留, 这表明在非DUX4融合体中可能也存在类似的功能调整蛋白, 这些功能调整蛋白可增强CIC的致癌作用^[30]。

3 CIC在其他疾病中的作用

CIC不仅能参与多种肿瘤的发病过程, 也参与除肿瘤外的多种疾病。脊髓小脑性共济失调1型(CSA1)是一种遗传性神经退行性疾病。有研究表明, 聚谷氨酰胺扩增型人失调蛋白1(ATXN1)可与CIC组成一个庞大的复合体, 逆转CIC的转录抑制活性^[5], 其可能原因是CIC的结合干扰了ATXN1的同源二聚化, 并重构形成新的聚合物, 进而改变了ATXN1-CIC复合体的构象或功能状态^[31]。CIC还可调节肝脏炎症反应和胆汁酸稳态, CIC失调会导致慢性肝性疾病及代谢紊乱^[8]。此外, CIC可通过CIC-EVT5轴维持外周免疫系统的稳定并抑制滤泡性辅助T细胞的分化, 从而维持自身免疫, CIC缺失会导致小鼠自身免疫性淋巴增生, 从而导致自身免疫性疾病^[32]。

4 基于CIC的分子靶向治疗及未来方向

RTK/RAS/MAPK信号通路是分子靶向治疗的常见靶点, 但针对该通路的分子靶向治疗药物多可见获得性耐药^[33]。CIC作为RTK信号通路的下游修饰因子, 可成为一个很好的替代治疗靶点。由于

CIC能抑制MAPK下游信号传导, CIC表达量下调可能是靶向治疗中产生耐药机制之一。Bunda等^[34]的研究发现, ERK通路抑制剂PD98059和司美替尼的长期治疗会减少CIC的信使RNA(mRNA)表达量, 这可能是上述药物在胶质母细胞瘤的治疗过程中易产生耐药性的原因。MAPK诱导的CIC磷酸化会导致CIC丧失转录抑制功能, 因此抑制CIC磷酸化是一个不错的替代治疗方法, 比如使用可阻止CIC的C2模体与p90RSK相结合的基因类似物。COP9信号复合体亚基1b(CSN1b)以不依赖于MAPK的方式抑制CIC降解, 从而发挥CIC的转录抑制作用, 因此, 利用CSN1b基因类似物抑制CIC磷酸化也可能是今后分子靶向治疗方向之一。此外, 检测CIC和ATXN1L的表达量可用来预测酪氨酸激酶抑制剂和丝裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)抑制剂治疗效果, 指导后续治疗。

综上所述, 在正常生理情况下, CIC可作为转录抑制因子参与细胞增殖和组织形成等生长及发育过程。CIC突变会导致PEA3家族转录因子、MMPs等转录异常, 或通过CIC-DUX4等融合体导致CIC的反式激活, 进而影响细胞生长、侵袭、转移等能力。目前仍有许多疑问尚待解决: 除了RTK信号通路外, CIC是否还在其他调控通路中起作用? CIC-L亚型的细胞功能是什么? 为何MAPK诱导的CIC磷酸化会减弱CIC的表达? 对这些问题的进一步探究将有利于阐明CIC在正常生理状态及疾病状态的不同调控机制, 为CIC相关的癌症的分子靶向治疗提供理论基础。

参考文献

- [1] INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. GLOBOCAN 2012: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 [EB/OL]. (2014-08-31) [2019-10-11]. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx.
- [2] 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2013年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(1): 1-7.
- [3] FORÉS M, SIMÓN-CARRASCO L, AJURIA L, et al. A new mode of DNA binding distinguishes capicua from other HMG-box factors and explains its mutation patterns in cancer [J/CD]. PLoS Genet, 2017, 13 (3): e1006622. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006622.
- [4] ASTIGARRAGA S, GROSSMAN R, DIAZ-DELFIN J, et al. A MAPK docking site is critical for downregulation of Capicua by Torso and EGFR RTK signaling [J]. EMBO J, 2007, 26(3): 668-677.
- [5] LAM YC, BOWMAN AB, JAFAR-NEJAD P, et al. ATAXIN-1 interacts with the repressor Capicua in its native complex to cause

- SCA1 neuropathology[J].Cell, 2006, 127(7):1335-1347.
- [6] AHMAD ST, ROGERS AD, CHEN MJ, et al. Capicua regulates neural stem cell proliferation and lineage specification through control of Ets factors[J].Nat Commun, 2019, 10(1):2000.
 - [7] LEE Y, FRYER JD, KANG H, et al. ATXN1 protein family and CIC regulate extracellular matrix remodeling and lung alveolarization[J].Developmental Cell, 2011, 21(4):746-757.
 - [8] KIM E, PARK S, CHOI N, et al. Deficiency of Capicua disrupts bile acid homeostasis[J].Sci Rep, 2015, 5:8272.
 - [9] OKIMOTO RA, BREITENBUECHER F, OLIVAS VR, et al. Inactivation of capicua drives cancer metastasis[J].Nat Genet, 2017, 49(1):87-96.
 - [10] JEON IS, DAVIS JN, BRAUN BS, et al. A variant Ewing's sarcoma translocation (7;22) fuses the EWS gene to the ETS gene ETV1[J].Oncogene, 1995, 10(6):1229-1234.
 - [11] CARVER BS, TRAN J, CHEN Z, et al. ETS rearrangements and prostate cancer initiation[J].Nature, 2009, 457(7231):E1. DOI: 10.1038/nature07738.
 - [12] JANÉ-VALBUENA J, WIDLUND HR, PERNER S, et al. An oncogenic role for ETV1 in melanoma[J].Cancer Res, 2010, 70(5):2075-2084.
 - [13] DISSANAYAKE K, TOTH R, BLAKEY J, et al. ERK/p90(RSK)/14-3-3 signalling has an impact on expression of PEA3 Ets transcription factors via the transcriptional repressor capicua[J].Biochem J, 2011, 433(3):515-525.
 - [14] LIM B, SAMPER N, LU H, et al. Kinetics of gene derepression by ERK signaling[J].Proc Natl AcadSci U S A, 2013, 110(25):10330-10335.
 - [15] GRIMM O, SANCHEZ ZINI V, KIM Y, et al. Torso RTK controls capicua degradation by changing its subcellular localization[J].Development, 2012, 139(21):3962-3968.
 - [16] SUISSE A, HE DQ, LEGENT K, et al. COP9 signalosome subunits protect Capicua from MAPK-dependent and-independent mechanisms of degradation[J].Development, 2017, 144(14):2673-2682.
 - [17] SJÖBLÖM T, JONES S, WOOD LD, et al. The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers[J].Science, 2006, 314(5797):268-274.
 - [18] KIM E, KIM D, LEE JS, et al. Capicua suppresses hepatocellular carcinoma progression by controlling the ETV4-MMP1 axis[J].Hepatology, 2018, 67(6):2287-2301.
 - [19] HUANG SC, ZHANG L, SUNG YS, et al. Recurrent CIC gene abnormalities in angiosarcomas: a molecular study of 120 cases with concurrent investigation of PLCG1, KDR, MYC, and FLT4 gene alterations[J].The American Journal of Surgical Pathology, 2016, 40(5):645-665.
 - [20] LEE CJ, CHAN WI, SCOTTING PJ. CIC, a gene involved in cerebellar development and ErbB signaling, is significantly expressed in medulloblastomas[J].Journal of Neuro-oncology, 2005, 73(2):101-108.
 - [21] BETTEGOWDA C, AGRAWAL N, JIAO Y, et al. Mutations in CIC and FUBP1 contribute to human oligodendroglioma[J].Science, 2011, 333(6048):1453-1455.
 - [22] JIAO Y, KILLELA PJ, REITMAN ZJ, et al. Frequent ATRX, CIC, FUBP1 and IDH1 mutations refine the classification of malignant gliomas[J].Oncotarget, 2012, 3(7):709-722.
 - [23] SIMÓN-CARRASCO L, GRAÑA O, SALMÓN M, et al. Inactivation of capicua in adult mice causes T-cell lymphoblastic lymphoma[J].Genes Dev, 2017, 31(14):1456-1468.
 - [24] SANDBERG AA, BRIDGE JA. Updates on the cytogenetics and molecular genetics of bone and soft tissue tumors: clear cell sarcoma (malignant melanoma of soft parts)[J].Cancer Genetics and Cytogenetics, 2001, 130(1):1-7.
 - [25] KAWAMURA-SAITO M, YAMAZAKI Y, KANEKO K, et al. Fusion between CIC and DUX4 up-regulates PEA3 family genes in Ewing-like sarcomas with t(4;19)(q35;q13) translocation[J].Hum Mol Genet, 2006, 15(13):2125-2137.
 - [26] CHOI SH, GEARHART MD, CUI Z, et al. DUX4 recruits p300/CBP through its C-terminus and induces global H3K27 acetylation changes[J].Nucleic Acids Research, 2016, 44(11):5161-5173.
 - [27] OKIMOTO RA, WU W, NANJO S, et al. CIC-DUX4 oncoprotein drives sarcoma metastasis and tumorigenesis via distinct regulatory programs[J].J Clin Invest, 2019, 129(8):3401-3406.
 - [28] SUGITA S, ARAI Y, TONOOKA A, et al. A novel CIC-FOXO4 gene fusion in undifferentiated small round cell sarcoma: a genetically distinct variant of Ewing-like sarcoma[J].The American Journal of Surgical Pathology, 2014, 38(11):1571-1576.
 - [29] STURM D, ORR BA, TOPRAK UH, et al. New brain tumor entities emerge from molecular classification of CNS-PNETs[J].Cell, 2016, 164(5):1060-1072.
 - [30] LE LOARER F, PISSALOUX D, WATSON S, et al. Clinicopathologic features of CIC-NUTM1 sarcomas, a new molecular variant of the family of CIC-Fused sarcomas[J].Am J Surg Pathol, 2019, 43(2):268-276.
 - [31] KIM E, LU HC, ZOGHBI HY, et al. Structural basis of protein complex formation and reconfiguration by polyglutamine disease protein Ataxin-1 and Capicua[J].Genes Dev, 2013, 27(6):590-595.
 - [32] PARK S, LEE S, LEE CG, et al. Capicua deficiency induces autoimmunity and promotes follicular helper T cell differentiation via derepression of ETV5[J].Nat Commun, 2017, 8:16037.
 - [33] SCHMITT MW, LOEB LA, SALK JJ. The influence of subclonal resistance mutations on targeted cancer therapy[J].Nature Reviews Clinical Oncology, 2016, 13(6):335-347.
 - [34] BUNDA S, HEIR P, METCALF J, et al. CIC protein instability contributes to tumorigenesis in glioblastoma[J].Nat Commun, 2019, 10(1):661.

(收稿日期:2019-12-12,修回日期:2020-01-04)