

Krüppel 样因子 4 在肺癌中的研究进展

胡文献¹, 吕可真², 陈永霞²

(1. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院, 浙江 杭州 310016;

2. 浙江大学医学院附属第一医院, 浙江 杭州 310003)

摘要: Krüppel 样因子 4 (Krüppel-like factor 4, KLF4) 是一种进化保守的能够通过结合特异蛋白进行转录调控的 Krüppel 样因子 (Krüppel-like factors, KLFs), 其在组织细胞生长、分化过程中发挥重要作用。KLF4 不仅在多种肿瘤细胞与组织中表现出不同程度的差异表达, 而且在肿瘤发生发展的进程中起着重要的作用。对 KLF4 在肺癌中的差异表达和作用机制进行总结梳理, 并探寻其作为诊断标志物或治疗靶点的可能性具有重大临床意义。全文综述 KLF4 在肺癌中的差异表达及潜在的分子机制, 为进一步揭示肺癌的发生发展机制提供参考。

关键词: Krüppel 样因子 4; 肺癌; 表达; 机制

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)07-0600-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.07.B007

Progress of Krüppel-like Factor 4 in Lung Cancer

HU Wen-xian¹, LV Ke-zhen², CHEN Yong-xia²

(1. Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China; 2. The First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

Abstract: Krüppel-like factor 4 (KLF4) belongs to an evolutionarily conserved Krüppel-like factor (KLFs) family that regulates gene transcription by binding specific proteins. It plays an important role in the cell growth and differentiation. KLF4 is expressed in various tumor cells at different degrees and is involved in the process of tumorigenesis and development. Recent researches have revealed that the expression of KLF4 is associated with the clinicopathological features of lung cancer. Therefore it is of clinical significance to explore its application as a diagnostic marker or therapeutic target for lung cancer. This article reviews the differential expression of KLF4 in lung cancer and its underlying molecular mechanism, to provide a reference for further studies.

Subject words: Krüppel-like factor 4; lung cancer; expression; mechanism

Krüppel 样因子 (Krüppel-like factors, KLFs) 是一个在人类中至少包含 17 个组员的大家族, 是一类 DNA 结合转录调控因子, 它们在肿瘤的增殖、分化和迁移过程中发挥着不同的作用, 其中某些 Krüppel 样因子在正常细胞和肿瘤细胞中以及不同肿瘤进程中具有不同的功能^[1]。Krüppel 样因子 4 (Krüppel-like factor 4, KLF4) 是 Krüppel 样因子家族中最早被鉴定的一种进化保守的含锌指结构的转录调控因子, 于 1996 年首次由 Shields 等学者通过编码立即早期转录因子 Zif/268 锌指结构区域从 NIH3T3 文

基金项目: 国家自然科学基金 (81000996); 浙江省自然科学基金 (LY15H160020)

通信作者: 胡文献, 副主任医师, 硕士生导师, 博士; 浙江大学医学院附属邵逸夫医院肿瘤外科, 浙江省杭州市庆春东路 3 号 (310016); E-mail: wenxianhu@zju.edu.cn

收稿日期: 2019-12-15; **修回日期:** 2020-03-09

库中分离获得 KLF4cDNA^[2], 而在 2006 年^[3]又进一步被发现是多能干细胞 (pluripotent stem cells, PSCs) 诱导必需的四大因子之一并得到广泛的关注。Krüppel 样因子 4 在包括肿瘤细胞生长、增殖和分化的多种细胞活动中能够调控基因转录从而发挥相当重要的功能^[4]。但是, 它在人类不同的肿瘤中具有相反的作用, 一方面可以在胃肠肿瘤中发挥抑癌作用^[5-6], 另一方面可以在头颈肿瘤中发挥促癌作用^[7-8]。目前, KLF4 蛋白表达已被证实在非小细胞肺癌中显著性下降, 而且在非小细胞肺癌不同分期中存在分布差异^[9]。研究学者通过进一步深化机制研究发现 KLF4 能够抑制非小细胞肺癌细胞增殖和侵袭^[10]。因此, 总结 KLF4 在肺癌发生发展中的作用有助于探索新的肺癌诊断与预后分子标志物以及新的药物开

发靶点。本文将从KLF4在肺癌中的差异表达研究和临床意义以及发生发展进程中发挥的重要作用及机制作一探讨。

1 KLF4 结构特征与生理功能

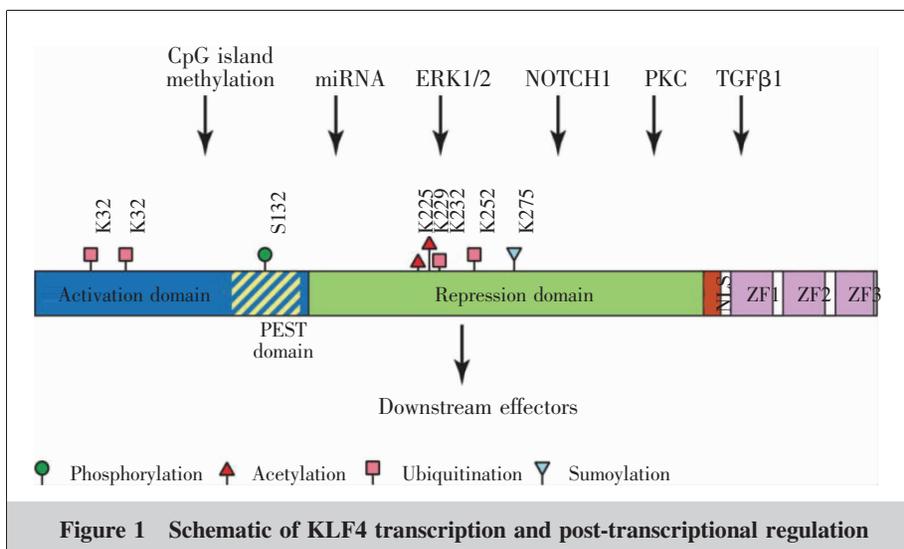
Krüppel(Kr)是果蝇的一个分节基因,编码一种和转录因子ⅢA(transcription factor,TFⅢA)DNA结合的锌指模序共有蛋白。其成员的C-端由81个氨基酸组成,均含有三个保守的Cys2-His2锌指DNA结合区,通过与富含GC序列(包括GC盒和GT盒即CACCC盒)的多个基因的启动子区结合而发挥调节作用。KLFs具有多种生物活性,可以调控血细胞生成、血管形成、淋巴细胞生长、肿瘤形成、诱导多能干细胞形成等,因而广泛参与了多个病理和生理过程。KLF4是KLF样因子家族中在羧基末端序列中的基序中含有3个锌指结构的转录因子,其特征在于其氨基末端拥有一个反式激活域,并在其附近有一个抑制域,通过与其他因素相互作用并调节DNA结合效率,它们共同决定了KLF4转录调控活性的特异性(Figure 1)^[11-12]。为了了解调节编码KLF4基因表达的机制,Mahatan CS等^[13]分离了含有鼠KLF4的基因组克隆(5.3 kB),进一步通过研究发现其包含与多个已建立的转录因子,包括Sp1、AP-1、Cdx、GATA和USF的结合位点同源的多个顺式元件。KLF4可以通过转录和转录后调控发挥不同活性,可以在细胞增殖中起抑制作用,在细胞分化中起导向作用,在不同的组织中可与不同的靶基因相互

作用,发挥促癌或抑癌效应,我们通过KLF4对肺癌细胞增殖和凋亡的作用研究发现其在肺癌中主要起抑癌作用^[14]。

2 KLF4 在肺癌中的差异表达及其临床意义

KLF4在不同肿瘤中以及同一肿瘤的不同类型中呈现完全相反的表达水平。之前的研究发现KLF4在大肠癌^[15]、肺癌^[14]、食管癌^[16]、膀胱癌^[17]、髓母细胞瘤^[18]和T细胞白血病^[19]中呈现低表达,表现为肿瘤抑制作用。相反,KLF4也能表现促癌作用,已有研究发现KLF4表达是早期乳腺癌和皮肤癌的不良预后因素^[20-21],证实了其致癌作用;皮肤中KLF4过度表达导致不典型异型增生^[22],最终导致鳞状细胞癌的发展^[23]。最近的一项KLF4在肺癌中的表达实验研究结果表明,非小细胞肺癌中的KLF4表达与正常组织相比显著性下降,而在小细胞肺癌中却检测到过表达,这可能与其在肺癌细胞中的亚细胞定位相关^[9,24]。

KLF4在肺癌中的差异表达呈现出一定程度的临床病理特征。国内外研究结果均显示出KLF4在肺癌中的差异表达与肿瘤临床分期、淋巴结转移相关,有望成为非小细胞肺癌诊断及预后的分子标志物^[9,25]。有无淋巴结转移的非小细胞肺癌患者KLF4阳性表达率存在显著性差异;但是,KLF4在不同临床分期中的研究结果截然相反。Fadous-Khalifé等^[9]学者的研究成果显示相较于非小细胞肺癌I期患者,II、III和IV期患者的KLF4的阳性表达率更高;而Zhang等^[25]学者的研究成果显示KLF4表达与非小细胞肺癌临床分期等级呈负相关,随着肿瘤分期等级的增加,KLF4表达逐渐下降。通过比较两者的研究设计类型和研究样本数量,分析结果的不同可能与研究对象人种差异和研究样本数相关。未来有待大样本多中心研究对其进行进一步分析。



3 KLF4 参与肺癌发生发展进程的机制

自从 KLF4 被发现是多能性干细胞诱导必须的四大因子之一, KLF4 在不同肿瘤中的表达及机制研究相继开展。越来越多的研究期望突破 KLF4 在肿瘤发生发展进程中的重要机制, 从而为其在肿瘤的药物开发和临床应用提供可靠的理论依据。KLF4 广泛参与了肺癌细胞生长、凋亡、侵袭和迁移进程。

3.1 KLF4 与肺癌细胞增殖

KLF4 在肺癌中的差异表达与临床意义结果激发了我们极大的兴趣对其机制进行进一步的研究。我们发现 KLF4 通过抑制端粒酶催化亚基 (human telomerase reverse transcriptase, hTERT) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号传导而抑制肺癌细胞增殖^[26]; KLF4 还可以通过抑制胎盘特异性蛋白 8 (placenta-specific 8, PLAC8) 水平而抑制肺癌细胞增殖^[27]。同样, 体外研究表明 KLF4 可以抑制非小细胞肺癌细胞分泌的转化生长因子- β 1 (transforming growth factor beta 1, TGF- β 1) 介导的细胞外信号从而调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK)/C-jun 氨基末端激酶 (C-jun N-terminal kinase, JNK)/核因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 转录程序实现非小细胞肺癌细胞模型小鼠的肿瘤生长^[10]。Yu T 等^[28]分析了 KLF4 启动子甲基化和表观遗传因素的概况, 结果表明组蛋白去乙酰化酶 (HDACs) 在肺癌中过表达, HDAC 抑制剂诱导 KLF4 的表达并抑制肺癌细胞增殖。研究表明, KLF4 能够通过抑制 KLF4/hTERT/MAPK、KLF4/PLAC8 和 ERK/JNK/NF- κ B 信号传导从而抑制肺癌细胞增殖, 而 KLF4/hTERT/MAPK、KLF4/PLAC8 和 ERK/JNK/NF- κ B 有望成为肺癌潜在药物研发靶标。

3.2 KLF4 与肺癌细胞凋亡

KLF4 在胃癌中与 p53 凋亡刺激蛋白抑制剂 (inhibitor of apoptosis-stimulating protein of p53, iASPP) 负相关, KLF4 能够调节 iASPP 表达, KLF4 下调导致了 iASPP 的上调则抑制了胃癌细胞的凋亡, 进一步促进了肿瘤的发展^[29]。在非小细胞肺癌中, 极性蛋白 Numbl 过表达与总体生存率降低相关, 进一步机制研究发现 Numbl-KLF4 信号对于维持肺癌转移进程的多个节点 (包括癌症起始细胞的持久性) 至

关重要^[30]。Zohre 等学者的研究表明曲古抑菌素 A 能够通过增加 KLF4 在肺癌 A549 细胞中的表达从而诱导肺癌细胞凋亡^[31]。

3.3 KLF4 与肺癌细胞侵袭迁移

KLF4 在肺癌中起着抑癌作用, 但其机制仍然不明。早期研究表明 KLF4 异位表达导致富含半胱氨酸酸性蛋白 (secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC) 的分泌表达被广泛抑制, 在 H322 和 A549 细胞中抑制 SPARC 表达可导致细胞侵袭的抑制。此外, 逆转录病毒介导的 KLF4 转染细胞中 SPARC 表达的恢复消除了 KLF4 诱导抗侵袭活性。总之, 前人的研究结果表明 KLF4 能够通过抑制 SPARC 基因表达来抑制肺癌细胞的侵袭^[32]。KLF4 也被认为是非小细胞肺癌细胞中 miR-25 的新型靶标, miR-25 激活了 ERK 信号通路, 最终导致波形蛋白、基质金属蛋白酶 11 和 N-钙黏蛋白水平升高, 以及 E-钙黏着蛋白表达下降而下调 KLF4, 而 KLF4 基因的下调则促进了非小细胞肺癌细胞的迁移和侵袭^[33]。KLF4 促进非小细胞肺癌细胞迁移的机制研究发现, KLF4 与一种 NAD 依赖性脱乙酰基酶 (sirtuin 6, SIRT6) 构成 SIRT6/Snail/KLF4 轴调节上皮间质转化和非小细胞肺癌细胞的侵袭^[34]。

4 小结及展望

KLF4 在肺癌中的差异表达表明 KLF4 有望成为新的肺癌诊断与预后标志物, 并有可能成为治疗靶点之一。但是, 迄今为止, 人们对于 KLF4 在肺癌中的差异表达方式与具体作用机制研究仍然不够深入, 深入阐明 KLF4 在肺癌发生发展中的表达与分子机制对于有效地防治肺癌具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] Tetreault MP, Yang Y, Katz JP. Kruppel-like factors in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(10): 701-713.
- [2] Shields JM, Christy RJ, Yang VW. Identification and characterization of a gene encoding a gut-enriched Kruppel-like factor expressed during growth arrest [J]. J Biol Chem, 1996, 271(33): 20009-20017.
- [3] Wei D, Kanai M, Huang S, et al. Emerging role of KLF4 in human gastrointestinal cancer [J]. Carcinogenesis, 2006, 27(1): 23-31.
- [4] Ghaleb AM, Yang VW. Kruppel-like factor 4 (KLF4): what

- we currently know[J]. *Gene*, 2017, 611:27–37.
- [5] Zhu M, Zhang N, He S. Transcription factor KLF4 modulates microRNA-106a that targets Smad7 in gastric cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(8):152467.
 - [6] Chen Z, Gao Y, Gao S, et al. MiR-135b-5p promotes viability, proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells by targeting Kruppel-like factor 4(KLF4)[J]. *Arch Med Sci*, 2020, 16(1):167–176.
 - [7] Li X, Zhao Z, Yi S, et al. Nuclear Klf4 accumulation is associated with cetuximab drug-resistance and predicts poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1):183.
 - [8] Roy S, Kar M, Roy S, et al. KLF4 expression in the surgical cut margin is associated with disease relapse of oral squamous cell carcinoma [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2019, 128(2):154–165.
 - [9] Fadous-Khalifé MC, Aloulou N, Jalbout M, et al. Krüppel-like factor 4: a new potential biomarker of lung cancer[J]. *Molecular and Clinical Oncology*, 2016, 5(1):35–40.
 - [10] Yu R, Han L, Ni X, et al. Kruppel-like factor 4 inhibits non-small cell lung cancer cell growth and aggressiveness by stimulating transforming growth factor-beta1-mediated ERK/JNK/NF-kappaB signaling pathways[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6):1010428317705574.
 - [11] Yet SF, McA Nulty MM, Folta SC, et al. Human EZF, a Kruppel-like zinc finger protein, is expressed in vascular endothelial cells and contains transcriptional activation and repression domains[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(2):1026–1031.
 - [12] Geiman DE, Ton-That H, Johnson JM, et al. Transactivation and growth suppression by the gut-enriched Kruppel-like factor (Kruppel-like factor 4) are dependent on acidic amino acid residues and protein-protein interaction [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(5):1106–1113.
 - [13] Mahatan CS, Kaestner KH, Geiman DE, et al. Characterization of the structure and regulation of the murine gene encoding gut-enriched Kruppel-like factor (Kruppel-like factor 4)[J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(23):4562–4569.
 - [14] Hu W, Hofstetter WL, Li H, et al. Putative tumor-suppressive function of Kruppel-like factor 4 in primary lung carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(18):5688–5695.
 - [15] Zhao W, Hisamuddin IM, Nandan MO, et al. Identification of Kruppel-like factor 4 as a potential tumor suppressor gene in colorectal cancer[J]. *Oncogene*, 2004, 23(2):395–402.
 - [16] Wang N, Liu ZH, Ding F, et al. Down-regulation of gut-enriched Kruppel-like factor expression in esophageal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(6):966–970.
 - [17] Ohnishi S, Ohnami S, Laub F, et al. Downregulation and growth inhibitory effect of epithelial-type Kruppel-like transcription factor KLF4, but not KLF5, in bladder cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 308(2):251–256.
 - [18] Nakahara Y, Northcott PA, Li M, et al. Genetic and epigenetic inactivation of Kruppel-like factor 4 in medulloblastoma[J]. *Neoplasia*, 2010, 12(1):20–27.
 - [19] Yasunaga J, Taniguchi Y, Nosaka K, et al. Identification of aberrantly methylated genes in association with adult T-cell leukemia[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(17):6002–6009.
 - [20] Pandya AY, Talley LI, Frost AR, et al. Nuclear localization of KLF4 is associated with an aggressive phenotype in early-stage breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(8):2709–2719.
 - [21] Chen YJ, Wu CY, Chang CC, et al. Nuclear Kruppel-like factor 4 expression is associated with human skin squamous cell carcinoma progression and metastasis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(5):777–782.
 - [22] Foster KW, Liu Z, Nail CD, et al. Induction of KLF4 in basal keratinocytes blocks the proliferation-differentiation switch and initiates squamous epithelial dysplasia [J]. *Oncogene*, 2005, 24(9):1491–1500.
 - [23] Huang CC, Liu Z, Li X, et al. KLF4 and PCNA identify stages of tumor initiation in a conditional model of cutaneous squamous epithelial neoplasia[J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(12):1401–1408.
 - [24] Liu M, Li X, Peng KZ, et al. Subcellular localization of Klf4 in non-small cell lung cancer and its clinical significance[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99:480–485.
 - [25] Zhang Z, Wang Z, Liu X, et al. Correlation of KLF4 and SPARC expression with the clinical characteristics of non-small cell lung cancer[J]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*, 2012, 15(12):720–724.
 - [26] Hu W, Jia Y, Xiao X, et al. KLF4 downregulates hTERT expression and telomerase activity to inhibit lung carcinoma growth[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(33):52870–52887.
 - [27] Jia Y, Ying X, Zhou J, et al. The novel KLF4/PLAC8 signaling pathway regulates lung cancer growth[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6):603.
 - [28] Yu T, Chen X, Zhang W, et al. KLF4 regulates adult lung tumor-initiating cells and represses K-Ras-mediated lung cancer[J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(2):207–215.
 - [29] Wang L, Li Y, Li L, et al. Role of Kruppel-like factor 4 in regulating inhibitor of apoptosis-stimulating protein of p53 in the progression of gastric cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5):6865–6872.
 - [30] Vaira V, Favarsani A, Martin NM, et al. Regulation of lung cancer metastasis by Klf4-Numb-like signaling[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(8):2695–2705.
 - [31] Zohre S, Kazem NK, Abolfazl A, et al. Trichostatin A-induced apoptosis is mediated by Kruppel-like factor 4 in ovarian and lung cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(16):6581–6586.
 - [32] Zhou Y, Hofstetter WL, He Y, et al. KLF4 inhibition of lung cancer cell invasion by suppression of SPARC expression[J]. *Cancer Biol Ther*, 2010, 9(7):507–513.
 - [33] Ding X, Zhong T, Jiang L, et al. miR-25 enhances cell migration and invasion in non-small-cell lung cancer cells via ERK signaling pathway by inhibiting KLF4 [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5):7005–7016.
 - [34] Li Z, Huang J, Shen S, et al. SIRT6 drives epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis in non-small cell lung cancer via snail-dependent transrepression of KLF4[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):323.