

HOX 家族及其在癌症中的研究进展

林 铃 吴兴中*

(复旦大学上海医学院生物化学与分子生物学系, 上海 200032)

摘要 编码转录因子的同源异形盒(homeobox, HOX)基因在染色体上串联成簇排列, 是生物发育中决定身体节段边界的重要基因. HOX 在机体不同部位有相应的表达模式, 同时 HOX 的表达也包含着成体细胞的位置信息. HOX 基因在癌症发生发展中起重要作用, 在白血病中的研究一直以来都受到关注, 近年来 HOX 在肺癌、胃肠道肿瘤、前列腺癌、乳腺癌和卵巢癌等实体瘤中的研究也成为新的热点. HOX 基因的表达调控、细胞学功能和转录活性的研究对阐明 HOX 在癌症中的作用具有重要意义.

关键词 HOX 家族, 表观遗传调控, 非编码 RNA, 转录活性, 肿瘤

学科分类号 R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0349

同源异形盒基因存在于几乎所有真核生物中, 人类同源异形盒基因包含两类: HOX I 类基因和 HOX II 类基因. HOX 基因家族即 HOX I 类基因, 在染色体中成簇(cluster)排布, 在进化上高度保守, 是调控胚胎发育和细胞分化的主要基因. HOX II 类基因又称非 HOX(non-HOX)基因, 在基因组内分散排布, 成员间序列相似性较低, 包括尾型同源盒基因、肌节同源盒基因、易洛魁家族同源盒基因等, 作为 HOX 蛋白的辅因子参与转录调控.

1 HOX 基因及蛋白质结构

哺乳动物 HOX 家族有 A、B、C、D 4 个亚族, 人类 HOX 基因分别位于第 7、17、12、2 号染色体上, 共有 39 个成员. HOX 各亚族分别含有 9~11 个基因成员, 位点(locus)编号沿染色体 3'→5'依次递增, 各基因位点约 12 kb 左右(图 1a). 个体发育和细胞分化时各 HOX 亚族的基因从 3'端向 5'端按时序依次活化和静默, 表现出 HOX 基因表达的共线性(colinear). HOX 各亚族基因是在进化中扩增而来的, 平行基因之间存在冗余, 即一定程度的核苷酸序列相似性、机体表达区域相似性及功能互补性. 在 HOX 基因之间的非编码区有一些长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)基因, 对相同或不同染色体上 HOX 基因的表达起非

常重要的调控作用, 常见的有 HOTAIR(HOX transcript antisense RNA)和 HOTTIP (HOXA transcript at the distal tip).

HOX 蛋白的主要功能是通过同源盒结构域 HD (homeodomain)识别并调节靶基因的转录. HOX-PBC 复合物能特异性地结合 5' TGATNNATNN 3' 序列, HOX 以碳端的 HX(hexapeptide)结构域与 PBC 类蛋白结合, 使 HOX 氮端的 HD 结构域与 DNA 大沟结合.

2 HOX 表达的调控

2.1 染色体结构对 HOX 表达的影响

HOX 和其他各类同源盒基因的表达模式决定了个体的前后向(anterior-posterior, AP)形态. 对 AP 向形态发育异常的果蝇突变体进行分析发现, 参与组蛋白甲基化修饰的多个 PcG (polycomb group)蛋白^[1-2]和 TrxG(trithorax groups)蛋白^[3]与组蛋白去甲基化酶^[4](如 UTX 和 JMJD3)共同调控 HOX 表达^[5]. 抑制性的 PcG 蛋白和活化性的 TrxG 蛋白可维持各特定位置的 HOX 表达模式, 并且在子代

* 通讯联系人.

Tel: 021-54237697, E-mail: xz_wu@shmu.edu.cn

收稿日期: 2017-06-15, 接受日期: 2017-08-21

细胞中遗传. PcG 基因突变会造成 HOX 在机体异位表达, TrxG 基因突变则造成 HOX 表达下调. PcG 中的 BMI1 基因和 MEL18 基因, 以及 TrxG 中主要调节 HOX 的 MLL 基因与人类多种肿瘤相关. TrxG 复合物可催化组蛋白 H3K4 三甲基化 (H3K4me3), 是 HOX 基因活化的前提; 多梳抑制复合物 2 (polycomb repressive complex, PRC2) 可使组蛋白 H3K27 三甲基化 (H3K27me3), 从而关闭 HOX 基因^[6]. PRC1 和 PRC2 包含一系列组蛋白修饰酶. PRC2 中的 Zeste 基因增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, Ezh2) 催化组蛋白 H3K27 三甲基化, 是抑制 HOX 基因表达所必需. PRC1 接着被 Cbx 蛋白招募到 H3K27me3 修饰位点, 使染色体紧缩进而稳定 HOX 基因的沉默. ATP 依赖的染色体重塑复合物 SWI/SNF 可与 MLL2-UTX 复合物中的组蛋白 H3K27 乙酰化酶 CBP (cAMP response element binding protein) 结合,

从而有效协调组蛋白的甲基化和乙酰化, 共同对抗 PRC 的基因沉默作用^[7-8] (图 1b).

HOX 基因的转录调控依赖于其在核内的排布 (organization). 同簇的 HOX 基因共享不同的核内空间、染色体结构、转录调控元件 (如增强子和启动子), 从而分属转录活化和抑制两个集合. 因此, HOX 基因的活化需依赖于它在基因簇中的位置, 即 HOX 基因的“共线性表达规则”. 信号分子 Wnt、FGF、RA 和转录因子 Cdx (caudal type homeobox) 参与胚胎发育中的 AP 向延伸和 HOX 表达的调控, 但它们可同时活化基因簇内很多 HOX 基因, 并有很宽的活化时间窗. 而共线性使 HOX 在机体不同位置的依次表达取决于每个 HOX 基因在亚族中的排序^[2,9], 使 HOX 基因实现时空特异性表达. 其实, 细胞在成体中的位置信息可由其表达的特定位置 HOX 基因确定并维持^[10], 细胞的分化方向也不是仅仅由其所表达 HOX 基因在亚族中的

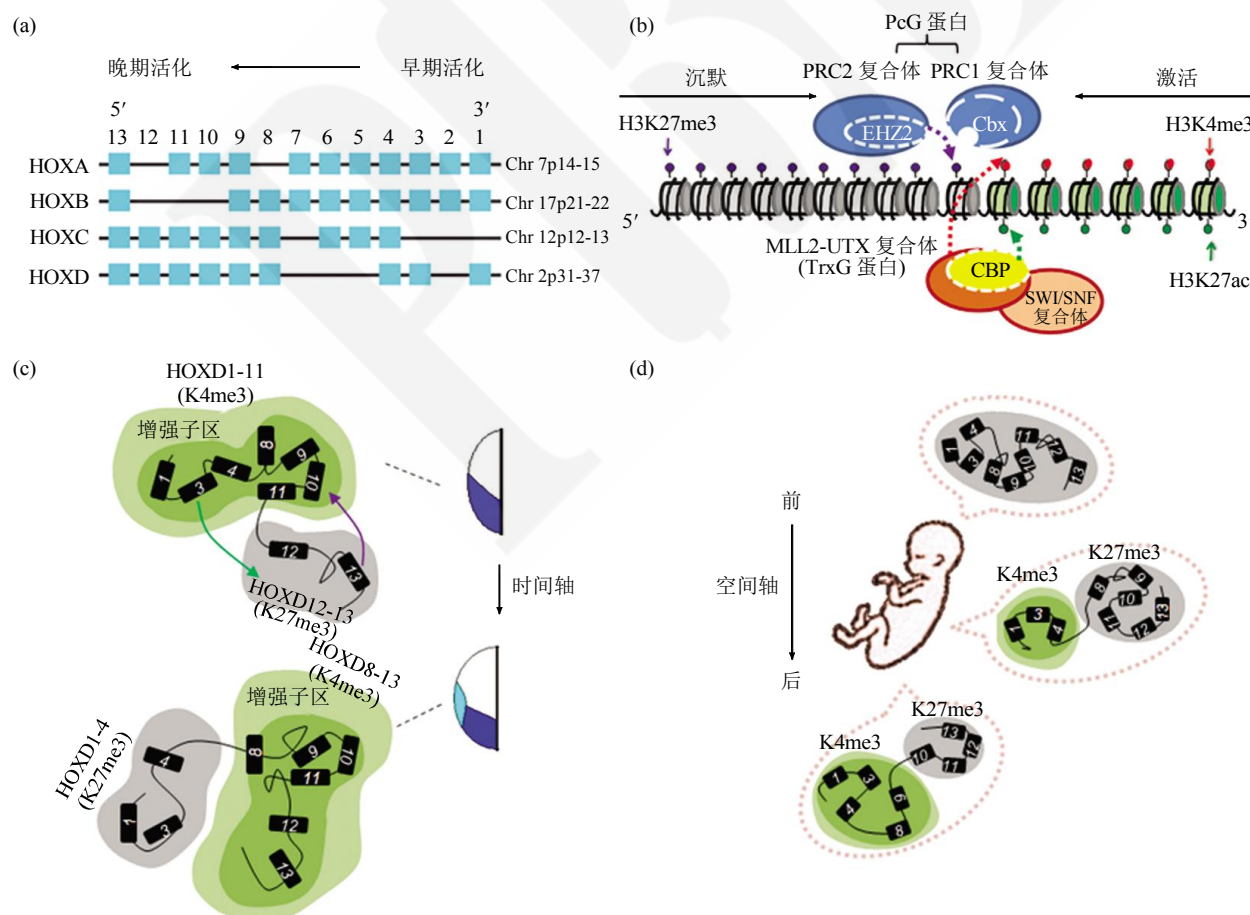


Fig. 1 Influence of Histone methylation and chromosome remodeling on HOX gene expression

图 1 组蛋白甲基化修饰与染色体重塑对 HOX 表达的影响

(a) HOX 基因簇在哺乳动物染色体上的排布. (b) HOX 基因位点的组蛋白修饰(甲基化 / 去甲基化)与表达调控(沉默 / 活化). (c) 染色体构型改变对 HOX 基因活性的影响. (d) 胚胎前后轴向 HOXD 表达的调控.

排序决定的^[11]。随着特定 HOX 启动子处沉默标记 H3K27m3 的去除, 该 HOX 基因从以 H3K27me3 为标识的染色体沉默构型区转移到以 H3K4me3 为标识的染色体活化构型区, 从而实现在特定时间(图 1c)和空间(图 1d)上的表达^[2]。基因簇内无间断完整性保证了 HOXD 基因的依次活化^[9], 说明基因间非编码区也参与了 HOXD 共线性表达的调控。

组蛋白甲基化调控 HOX 基因表达的研究比较系统, 但也有关于 MOZ 调控 HOX 基因表达的报道。MOZ(monocytic leukemia zinc-finger protein)属于组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, HAT)的 MYST 家族, 具有催化活性的 MOZ/MORF 与接头蛋白 BRPF1、ING5 和 EAF6 组成四聚体核心复合物^[12-13], MOZ 通过串联的含锌指结构的植物同源结构域(plant homeodomain, PHD)识别染色体的组蛋白修饰, 在体内催化 HOX 位点处组蛋白 H3K9 乙酰化中起关键作用, 在体外则催化 HOX 位点组蛋白 H3K14 的乙酰化^[14-15]。在急性髓细胞白血病中会发现 MOZ 与 CBP、p300、TIF2、NCOA3 等基因的融合表达^[16-18]。MOZ 是多种转录因子的活化因子, 尤其一些造血相关的转录因子如 RUNX1 和 PU.1^[19]。MOZ 复合物与 MLL 复合物通常共同参与 HOXA 基因的活化。染色体首先被 MLL 做 H3K4me3 标记, 从而招募 MOZ 复合物产生 H3K14ac 修饰打开染色体, 并进一步扩大组蛋白乙酰化的范围^[15, 20]。

2.2 非编码 RNA 对 HOX 表达的调控

非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)对 HOX 基因表达的调控建立在上述组蛋白修饰对 HOX 表达调控的机制上。HOX 基因间的 ncRNA 基因可与 HOX 共转录, 通过顺式或反式作用调节 HOX 基因的表达, 从而稳定成体 HOX 基因的表达模式。顺式作用方面, 一些 lncRNA 和 microRNA 由 HOX 基因的转录延伸而来, 影响 RNA 聚合酶 II 的附着、染色体的活化和基因的表达。反式作用方面, 一些 lncRNA 能够为远端 HOX 基因划定染色体沉默的区间, 对不同染色体上的 HOX 位点进行调控。

lncRNA HOTTIP 和 HOTAIRM1 (HOXA transcript antisense RNA, myeloid-specific 1) 对 HOXA 基因的活化为顺式调控^[21], 二者分别位于 HOXA 基因簇的两头, 促进邻近 HOXA 基因的表

达。HOTAIRM1 基因位于 HOXA 基因簇的 3' 端, 与 HOXA1 相邻。HOTTIP 基因位于 HOXA 基因簇的 5' 端, 靠近 HOXA13 基因并与之共同表达。HOTTIP 与接头蛋白 WDR5 直接结合, 将 WDR5/MLL 复合物引导到 HOXA 基因位点, 进行 H3K4me3 修饰, 活化 HOXA 基因^[22]。lncRNA Hog (Hotdog) 和 Tog(twin of Hotdog) 的基因位于 HOXD1 基因的 3' 端, 特异地表达于盲肠, 也是通过顺式作用与 HOXD 基因协同表达^[23]。再如, HoxBlinc RNA 可以招募 Set1/MLL 复合物建立活化的染色体构型, 使 AP 向的前端 HOXB 表达, 决定中胚层胚胎干细胞向造血/心肌细胞的分化^[24], 是研究 lncRNA 调控 HOX 基因表达的典型范例(图 2)。造血和心肌祖细胞均来源于中胚层 Flk1⁺(fetal liver kinase 1 positive)细胞, 在维甲酸诱导下前端 HOXB 基因可通过招募 MLL1 或组蛋白 H3K4 甲基转移酶 Set1 使 Flk1⁺ 细胞分化。进一步分析发现, 在 HOXB4 基因上游有一个 2.57 kb 的非编码区也可以在胚胎干细胞向 Flk1⁺ 细胞的分化中发生转录, 调控前端 HOXB 基因的表达和细胞分化。ChIP 分析发现 HOXB1、B3、B4、B6 基因启动子处的 H3K4me3 修饰都因 HoxBlinc RNA 的存在发生非常明显的富集。Biotin-HoxBlinc RNA 的 pull-down 实验显示 HoxBlinc RNA 的 3' 端可与 Set1 蛋白结合。RNA 免疫沉淀实验(RIP)进一步确定 HoxBlinc RNA 在细胞中可与 Set1 蛋白和 MLL1 蛋白结合, pull-down 实验在体外证明 HoxBlinc RNA 可直接与 Set1 或 MLL1 蛋白的 SET 结构域结合。Luciferase 报告基因系统显示 HoxBlinc RNA 可与 HOXB4 和 B5 基因之间的 HoxBlinc 位点结合, 招募 TrxG 组蛋白 H3K4 甲基转移酶复合物, 并在甲基转移酶活化蛋白 ASH2L 的参与下活化下游基因。在明确了 HoxBlinc RNA 的结合以及促转录机制后, 染色体构象捕获(chromosome conformation capture, 3C)技术显示 HOXB1、B2、B3 位点以及附近的绝缘子序列都与 HoxBlinc 结合位点存在不同程度的相互作用, HoxBlinc RNA 的缺失可显著降低它们的相互作用。这一研究从染色体层面反映了 HoxBlinc RNA 可招募 TrxG 复合物进行甲基化修饰, 精细地调节染色体的构型, 从而特异而定量地调控 HOXB 基因活化和细胞分化。

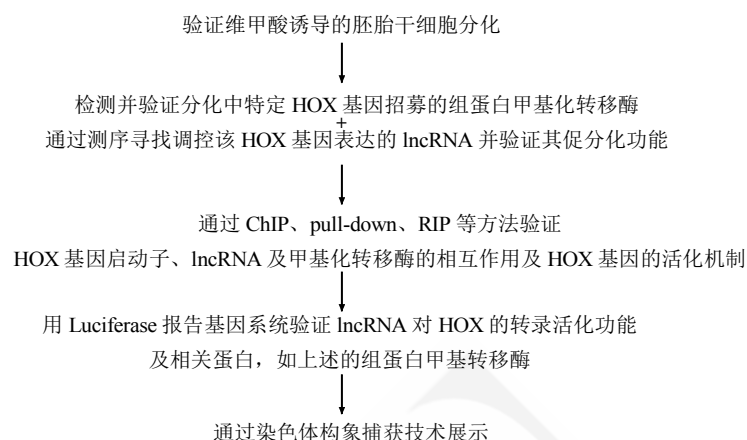


Fig. 2 Typical study flow chart of lncRNA that regulates HOX gene expression

图 2 研究 lncRNA 调控 HOX 基因的典型流程

HOTAIR 是较早发现的反式调控 HOX 表达的 lncRNA，约 2.2 kb，位于 HOXC12 与 HOXC11 基因之间。HOTAIR 可作为脚手架 lncRNA，5'端与 PRC2 结合，3'端与赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶复合体 LSD1/CoREST/REST 结合，将它们引导到靶基因 HOXD12、HOXD11、HOXD10 和 HOXD9 的启动子并保持这些基因的沉默^[25]。此外，HOTAIR 还可通过上调 DNA 甲基转移酶 DNMT1 和 DNMT3b 蛋白的表达增加 HOXA1 基因位点的甲基化，从而下调 HOXA1 基因表达^[26]。除了 HOX 基因，HOTAIR 的靶基因还有 RBM38、WIF1 和 PTEN 等，它们的表达大多数也是在 PRC2 甲基化作用下被下调的。HOTAIR 在多种肿瘤中表达上调，并与不良预后密切相关，在肿瘤的增生、血管形成和转移复发中发挥重要功能^[27]。例如，HOTAIR 可通过下调抑癌基因 PTEN 解除对 Akt 的抑制，起促癌作用。又如，WIF 是 Wnt/ β -catenin 通路的一个关键抑制因子，HOTAIR 通过沉默 WIF-1 使 Wnt 通路活化， β -catenin 入核后上调 VEGF、MMP-7 和 cyclinD1 基因表达，促进肿瘤血管形成、肿瘤转移和生长。此外，HOTAIR 可通过下调 HOXA1 基因的表达增强小细胞肺癌的耐药性^[26]。

还有很多 HOX 基因间非编码 RNA 的功能有待探索。Rinn 等^[25]以五碱基的分辨率扫描了人类 4 个 HOX 基因簇中 11 个位点上的转录地形，识别到 231 个 HOX ncRNA 基因，并首次发现 HOTAIR。

Sessa 等^[28]研究哺乳动物 HOX 基因簇的非编码区转录组，发现人类一些 HOXA 基因间非编码区的反义链转录与邻近 HOXA 基因的活化状态相关。此外，HOX 基因簇中的一些 microRNA 基因可调控 4 个亚族 HOX 基因的表达^[29-30]，如脊椎动物 miR-10 类的 miR-10a 和 miR-10b 基因^[31]，脊椎动物 miR-196 类的 miR-196a1、196a2 和 196b 基因^[31]，以及和 miR-196 同源的果蝇 miR-iab 类的 miR-iab-4s 和 miR-iab-4as。miR-196 和 miR-10 基因通常位于其靶向 HOX 基因的 3'端，在胚胎发育中抑制前端 HOX 表达，表现为以后部 HOX 替代前端 HOX 基因的空间渐变表达模式^[30]。

2.3 信号通路对 HOX 表达的调控

HOX 属于个体发育与细胞分化类转录因子。不同于大多数类型的转录因子，HOX 主要不是在细胞膜或胞浆中磷酸化后转入细胞核发挥转录作用，而是在翻译后不经氨基酸修饰直接入核。因此，HOX 的转录效能主要由其表达量及调控其表达量的信号通路决定。

在胚胎发育中，HOX 的空间表达模式明显与 FGF8^[32]、Wnt^[33]和维甲酸(retinoid acid, RA)^[34]在躯干和四肢中的浓度梯度相关，暗示着 HOX 的表达受这些信号分子的调控。Wnt 和 FGF 梯度与 RA 梯度的形成存在对抗，Wnt 和 FGF8 信号在机体后部最强，而 RA 信号与其建立了相反的梯度。RA 可调节维甲酸受体(retinoid acid receptors, RARs)与靶基因的维甲酸反应元件(retinoid acid response

elements, RAREs)的相互作用, 促进 HOX 基因和一些发育中关键基因的转录. 同时, FGF、Wnt 和 RA 信号也可整合于同源盒转录因子 Cdx, 共同调控 HOX 基因的表达^[35-36].

此外, HOX 的表达还被多种固醇类小分子调控, 如雌二醇、孕酮、睾酮、维生素 D 等^[37-38]. 这些固醇类小分子通过保守的机制调控 HOX 表达, 但经过多种 TALE(three amino acid loop extension)家族辅因子和转录因子对 HOX 转录活性的精细微调, 最终落实在 Integrin β 3、IGFBP-1、EMX2、PGE2-R 等多种 HOX 靶基因的表达上. RA 主要调节 3'端 HOX 基因, 影响胚胎前端的发育; 性激素和维生素 D 主要调节 5'端 HOX 基因, 控制胚胎尾部器官和形态的发育^[39]. 成体中各通路的异常会造成 HOX 表达的异常和相应的病变. 反过来, HOX 表达的异常也可通过影响其他信号通路致病. 例如, 过表达的 HOX 可下调雌激素受体(ER)的表达^[40]并上调 EGFR^[41-42]及其配体 EGF^[43]的表达, 从而在乳腺癌细胞对 ER 调节剂他莫昔芬的耐药性中发挥关键作用.

3 HOX 靶基因及 HOX 细胞学功能

HOX 下游基因网络以及 HOX 靶基因的功能有助于从根本上解释 HOX 对细胞的调控机制. 然而不同条件下 HOX 蛋白活化的靶基因差异很大, 没有资料整理 HOX 的靶基因, 只有 HOX 基因在特定细胞或组织中靶基因的报道. 基因组时代之前, 要识别 HOX 的 DNA 响应元件及靶基因可通过异源系统, 比如酵母单杂交方法筛查, 再通过报告基因系统或 EMSA、ChIP 等方法验证^[44]. 进入基因组时代, 微阵列表达谱芯片成为探索 HOX 功能的重要手段, 可在基因组范围内大规模检测 HOX 下游基因和 HOX 反应元件(HOX response element, HRE), 有助于对 HOX 功能的全面理解.

不同细胞环境中的 HOX 蛋白可展现出多样性的功能^[45]. HOX 蛋白可与很多环境特异性的转录因子共同结合于 HREs 位点, 决定了 HOX 对靶基因的表达调控具有环境依赖性. 此外, HOX 对转录因子活性的调控也受环境影响. 例如, HOXB13 在不同类型前列腺癌细胞中对雄激素受体(AR)的转录活性起抑制或活化作用, 使雄激素对细胞增殖产生不同的影响^[46]. 又如, HOXB13 通常可抑制前列腺癌细胞中 Rb 的磷酸化, 稳定 Rb-E2F 复合物,

抑制雄激素刺激的细胞增殖^[47]. 但在雄激素非依赖的前列腺癌细胞中, HOXB13 可抑制 p21, 使 E2F 脱离 Rb 发生活化, 促进细胞增殖, 增强前列腺癌耐药性^[42, 48].

HOX 靶基因多样性从根本上决定了 HOX 细胞学功能的多样性^[45]. HOX 可通过调节下游基因的表达, 影响细胞的增殖、生存、迁移、分化以及血管的生成. 细胞迁移方面, 果蝇尾部 HOX 基因 Abd-B 的下游包括一些细胞骨架基因和细胞黏附相关基因, 与胚胎后部形态发育中细胞形态变化及内陷相关^[49]. 此外, 在小鼠和斑马鱼发育中存在细胞集体迁移, HOX 可调节受体和配体的表达, 使迁移中的细胞和它们所穿梭的环境之间产生吸引或排斥^[50-51]. 在脊椎动物后脑发育中, HOX 通过调节 Eph/ephrins 以及其他一些细胞表面蛋白的表达, 直接调控细胞形态、细胞间通讯和信号转导, 从而限定后脑节段在功能和形态上的边界^[52].

细胞分化方面, HOXA5 可指导小鼠基质细胞分化为肺^[53]、胃^[54]、肠^[55]和乳腺^[56-57]上皮细胞, 另有一系列 HOX 蛋白在皮肤中指导分化, 一些作为效应子直接调控角蛋白等基因的转录, 一些作为高级调控者位于转录调控网络的高端.

HOX 还可调控细胞周期和细胞增殖. HOX 蛋白 Antp 可调控果蝇神经干细胞的细胞周期^[58]. HOX 在一些肿瘤中表现出促癌特性, 尤其是白血病^[59]. 近来发现, 白血病模型小鼠中 HOXA9 可以和增强子结合蛋白 CEBP α ^[60]及组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 EHMT2(G9a)^[61]协作直接控制细胞周期调节因子的转录. 此外, 小鼠的 HOXD4A 基因与斑马鱼的相应基因可调控血管形成(vasculogenesis)和血管新生(angiogenesis)^[62].

HOX 也参与细胞程序化死亡的调控^[63]. 小鼠肾脏发育中 HOXD 基因的缺失可使凋亡率提高 6 倍. HOXA13 功能缺失突变小鼠表现出趾间凋亡缺陷. HOXA5 可以在人和小鼠的乳腺癌组织中通过调节 p53^[64]、Twist^[65]和 caspase2 和 8^[66]的表达促进凋亡. 此外, 机体发育中 HOX 还可抑制自噬中的关键蛋白^[67].

这里另需强调, 斑马鱼易于养殖, 胚胎透明, 易于观察, 是研究胚胎发育中 HOX 作用机制的重要工具. 对斑马鱼胚胎发育的研究发现, 转录因子 T-box 16(Tbx16)在调控中胚层祖细胞(MPC)增殖、内移和分化的同时调节 HOX 的共线性表达, 从而

在时空上配合 MPC 细胞的生物学行为^[68]。此外,斑马鱼 69% 的基因与人类同源^[69],是除了小鼠以外最接近人类的模式生物。HOX 在小鼠中的研究较多,而在斑马鱼中的研究主要涉及造血细胞分化和血管新生。尾部基因 CDX4 突变的斑马鱼胚胎不仅尾部发育畸形,而且产生造血缺陷。Cdx4 调控 HOX 基因的表达,从而调节斑马鱼造血干细胞的分化增殖及血液的生成^[70]。近来又发现, Wnt 蛋白和 β -arrestin 蛋白可通过调控靶基因 CDX/HOX 的转录而影响斑马鱼的血液生成。Wnt 通路下游的 β -catenin 蛋白可磷酸化 T 细胞因子 TCF3,从而解除 TCF3 对 CDX4 基因表达的抑制^[71]。此外, β -arrestin 蛋白是 G 蛋白偶联受体下游的接头蛋白,在细胞核内部则结合并隔离 PcG 招募者 YY1 蛋白,从而解除 PcG 对 CDX/HOX 信号通路的抑制^[72]。

4 HOX 转录活性的调控

HOX 转录活性分两方面,序列特异性及强弱,都受环境中其他蛋白质的调控(图 3)。HOX 蛋白自身不能识别 HOX 应答元件,只有在辅因子 TALE 蛋白的协助下才能与 DNA 产生特异性的结合^[73],共同决定靶基因。HOX 转录强弱的调控则由 HOX 结合的环境辅因子(contextual HOX cofactors, CHC)及 CHC 招募的转录辅助激活因子(Co-A)或辅助抑制因子(Co-R)介导。CHC 通常是一些环境特异性的转录因子,可以通过不依赖 HOX 的方式与 DNA 结合,并通过 Co-A 或 Co-R 将细胞中的受体信号指令传递给 HOX^[74-75]。HOX 与序列辅因子及环境辅因子的结合界面有望成为调节 HOX 转录活性的药物靶点,效果比调控 HOX 的表达更精准。

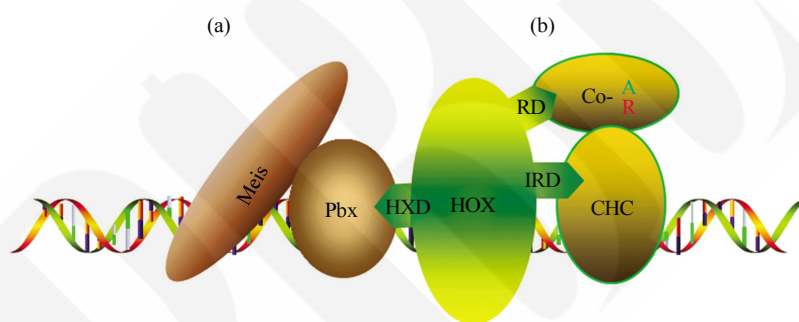


Fig. 3 Integration model of contextual information on transcriptional activity of HOX protein

图 3 环境信息调控 HOX 蛋白转录活性的整合模型

(a) HOX 的转录特异性由 TALE 家族蛋白调控,如 Pbx 和 Meis 蛋白。HOX 通过碳端的 HX 结构域与 Pbx 的疏水口袋相互作用,从而定位于特定的 DNA 序列。Meis 的加入可增强 HOX-Pbx 复合物对 DNA 序列识别的特异性。(b) HOX 的转录活性强弱由 HOX 环境辅因子(CHC)及 CHC 招募的转录辅助激活子(Co-A)或抑制子(Co-R)调控。HOX 通过“中间调控结构域”(intermediate regulatory domain, IRD)招募独立于 HOX 与 DNA 结合的 CHC。HOX 通过“调节性结构域”(regulatory domain, RD)与 CHC 招募的 Co-A 或 Co-R 直接结合,激活或抑制 HOX 的转录活性。

4.1 HOX 辅因子

通常所称的 HOX 辅因子指 HOX 的序列辅因子^[45](图 3a)。只有通过 HOX 辅因子,HOX 才能展现出潜在的转录特异性,并实现靶基因的多样性。HOX 辅因子包括 PBC 类和 MEIS 类两种 TALE 家族同源盒蛋白:果蝇的 Exd 蛋白和脊椎动物的 Pbx 蛋白属于“PBC 类蛋白”,果蝇的 Hth 蛋白和脊椎动物的 Meis 和 Prep 蛋白属于“MEIS 类蛋白”^[76]。

Pbx1 蛋白在转录中通常作为“先锋因子”穿透被抑制的染色体区域,与染色体重塑复合物如 SWI/SNF 结合进而稳定并增强转录,起类似“开关”的作用^[77-78]。此外,HOX 蛋白通常与 PBC 蛋

白结合才能发挥活性,因为 PBC 蛋白可促进 HOX 蛋白与 DNA 结合^[79]。HOX 以碳端的 HX 结构域与 PBC 蛋白的三氨基酸环疏水口袋相互作用,进而将氮端的 HD 结构域定位于 DNA 的大沟。PBC 和 HOX 都属于同源盒家族,两类蛋白的结合在进化上保守。近来发现,多肽 HXR9 可干扰 HOX 与 PBC 类蛋白 Pbx 之间二聚体的形成,从而在体内抑制多种类型的肿瘤^[80]。

HOX-PBC 复合物与 DNA 的特异性结合序列为 5' TGATNNATNN 3',HOX-PBC 复合物对靶点的识别取决于碱基序列和小沟形态,其中 HOX 以 HD 结构域的第 3 个螺旋与该序列 3'端所在的大沟

结合, PBC 则与该序列 5'端所在的小沟结合^[45]. Meis 可调节 HOX-PBC-Meis-DNA 复合物的形成, 增强 HOX 的序列特异性^[45].

4.2 HOX 在转录调控网络中与其他信号通路的交互作用

HOX 转录活性的强弱需 Co-A 或 Co-R 的调节^[76] (图 3b). 数据库显示, 转录因子 HOX 有很多结合蛋白, 包括特异性的转录因子、通用转录因子、染色体调控蛋白等^[45, 81], 推测 HOX 与细胞内信号通路存在丰富的转录水平交谈. HOX 与很多转录因子存在相互调控, 如 NF- κ B、Smad、FoxP1 等, 有的可直接结合, 有的是间接招募. 核受体是直接结合配体的转录因子, 其中雄激素受体(AR)在前列腺癌中扮演重要角色. HOX 与 AR 间相互作用的报道侧重于 HOX 对 AR 转录活性的调控. HOXC 通过阻碍雄激素受体反应元件(ARE)处 AR, 对固醇类受体辅助激活因子 3(SRC-3)和 CBP 的招募抑制 AR 的转录活性, 同时使前列腺癌细胞产生恶化的表型以适应降低的雄激素信号^[82-83], 从而促进激素耐受型前列腺癌(hormone refractory prostate cancer, HRPC)的形成.

此外, CBP 和组蛋白去乙酰化酶(HDAC)可与 HOX 蛋白结合, 分别对靶基因启动子处的组蛋白进行乙酰化和去乙酰化修饰, 开放或关闭 HOX 靶基因的转录. CBP 与 HDAC 之间的替换及增强子的活化由 Meis 和 Pbx 介导^[77], 这些均已在细胞水平及斑马鱼胚胎发育中得到证实^[84]. 而 GSK-3 的丝/苏氨酸激酶活性可维持 CBP 与 HOX 转录复合体的结合, 在很多类型白血病中发挥作用^[85].

5 HOX 在癌症发生发展中的作用

5.1 发育与癌症中的 HOX

HOX 是胚胎发育的关键调控因子. 借助由“胚胎来源”和“AP 向定位”信息构成的机体三维模型可描绘成体中 HOX 基因表达的空间分布模式^[25, 86]. 而肿瘤组织往往会发生与所在位置相应 HOX 的异常表达.

一方面, 不同胚胎来源的组织通常由相应的 HOX 基因亚族编码. 头、四肢、脊柱附近倾向于由 HOXA 簇和 D 簇基因编码, 机体内部的组织和脏器则倾向于由 HOXB 簇和 C 簇基因编码. 相应地, HOXA 的异常表达通常发生在乳腺癌和卵巢癌, HOXB 在结肠癌中的异常表达较为常见, HOXC 通常在肺癌和前列腺癌中表达异常, 而

HOXD 的表达一般在乳腺癌和结肠癌中出现异常^[87]. 此外, 相似胚胎来源的组织癌变后有较相似的 HOX 基因表达模式, 如内胚层(endodermal)来源的结肠癌、前列腺癌和肺癌的 HOXA 和 HOXB 表达模式相似, 却不同于外胚层(ectoderm)来源的乳腺癌^[87].

另一方面, 机体从前端到后部依次由从 3'到 5'端的 HOX 基因编码. 细胞分化中 HOX 基因也是从 3'到 5'端依次活化和静默, 这在造血细胞的分化成熟过程中特别明显^[86]. 正常分化中, 造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)在 Menin-MLL 的调控下伴随着 HOX3、4、5、6 的依次表达分化为造血祖细胞(hematopoietic progenitor cells, HPC), 然后在 HOX7、8、9 基因依次表达后分化为各类成熟血细胞. 在白血病发生过程中, HSC 分化为多系前白血病细胞(multi-lineage preleukemia)阶段的 HOX 表达情况和分化为正常 HPC 细胞阶段的基本相同, 不同的是, 在进一步分化中, HOX6、7、9 的表达有较长的延续, 近 5'端 HOXA10、A11、A13 的表达也一直持续, 最终产生不成熟的原始粒细胞, 导致髓性白血病的发生. 此外, 实体瘤也可由细胞分化异常所致. 未分化细胞中表达的 HOX 基因通常在肿瘤中上调, 已分化细胞中表达的 HOX 基因通常在肿瘤中下调, 但分化中较晚被活化的 5'端 HOX 基因在实体瘤中通常是上调的, 如 HOXA9~13、HOXB9/B13、HOXC9~13、HOXD9~13^[87]. 除此之外, HOX 参与并维持干细胞(stem cell, SC)的自我更新, 是肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)的重要调节者. 但目前仍需了解 HOX 基因如何调节 SC 群落, 如何影响 CSC 的生物学行为和 CSC 的自我更新信号通路^[87].

总之, HOX 主要通过调节细胞的增殖和分化参与肿瘤生成. 尽管单个 HOX 和特定肿瘤表型之间精确的因果关系尚不明确, 但肿瘤类型和 HOX 异常表达谱之间存在着一定的对映关系.

5.2 HOX 与肿瘤

HOX 在多种肿瘤中异常表达, 且与肿瘤分期、预后密切相关. HOX 基因的表达调控是影响 HOX 在肿瘤中效能的主要因素, 涉及染色体表观修饰以及一些信号分子, 如 FGF、Wnt、RA 及多种固醇类小分子. 同时, HOX 蛋白的转录活性受辅因子和其他转录因子调节. HOX 通过促进靶基因的转录调控肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭, 参与

肿瘤的发生发展和对药物的耐受。

5.2.1 HOX 与白血病

HOX 不但与造血干细胞的早期分化有关,而且参与了中晚期造血细胞的分化和定向分化。HOXA、B、C 基因分别主要在粒单系、红系和淋系细胞中表达。HOX 异常表达会导致造血能力降低,甚至诱发白血病。

HOXA 簇的 HOXA1、HOXA4、HOXA6、HOXA7、HOXA9 和 HOXA10 基因在早期造血细胞中表现出明显的致癌潜能。急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)的不良预后与细胞因子受体 Flt3 的功能异常相关,而 HOXA9 通过活化 FLT3 基因促进 B 细胞前体生成,也是 AML 的发病机制^[88]。HOXA9 还可活化 miR155 基因,促进 AML 形成^[89]。HOXA10 可通过激活 TGF β 2 基因,抑制骨髓细胞分化,导致 AML 发生^[90]。HOXA10 还可上调靶基因 FGF2 的表达,从而促进骨髓造血祖细胞(hematopoietic progenitor cells, HPCs)和 AML 白血病细胞的增殖^[91]。除了 HOXA 簇基因,HOXB 簇的 HOXB6 基因可促进 HPCs 扩增并抑制其分化,而且和 HOXA9 一样在诱导的 AML 白血病细胞中存在 2D-EH 染色体缺失。此外,全反式维甲酸(ARTA)可激活维甲酸受体 α (RAR α),从而使 HOXC4 表达上调,在促进早幼粒细胞白血病细胞分化的治疗中发挥作用。

对 HOX 基因表达的调控影响着白血病的发生发展。一些 microRNA 可调控 HOX 的表达,例如,在儿童 AML 中 miR-196a 和 miR-196b 基因的异常表达与邻近 HOXA9、HOXA10 和 HOXB9 基因的异常表达密切相关^[92]。此外,白血病细胞中存在 HOX 基因与核孔蛋白 NUP98 基因的融合,可显著上调 HOXA5、HOXA9 和 HOXA10 基因的表达^[93]。除此之外,还有很多转录调控蛋白通过修饰或结合于 HOX 基因的顺式作用元件在白血病中发挥作用。混合系白血病(mixed lineage leukemia, MLL)基因是调控造血过程的重要转录因子,MLL-AF4 融合蛋白可上调 HOXA7、HOXA9 和 HOXA10 基因,从而促进白血病细胞增殖^[94]。又如, PcG 家族的 Bmi-1 蛋白可结合于 HOXA9 的启动子,MLL-HOX 融合蛋白和 Bmi-1 蛋白相互作用共同调节白血病细胞的衰老^[95]。再如,在髓系祖细胞中 HOXA10 是转录因子 Cdx4 的直接靶基因,CDX4 的过表达可通过上调 HOX 基因的表达诱导骨髓增生,并经过 9 个月的潜伏期促发 AML^[96],

Cdx4、MLL-AF9 与 Meis1a 的联合作用能明显加速白血病形成^[97]。

HOX 蛋白与 HOX 辅因子可相互作用共同影响白血病的进展。HOXA9 与其辅因子 Meis1 以及其他 DNA 结合蛋白可共同结合于很多正常造血基因和白血病基因的增强子,并调控其转录^[98]。再如,组蛋白甲基转移酶 G9a 可调节 HOXA9 对多种靶基因的转录活性,G9a 抑制剂 UNC0638 可通过该机制减缓髓系祖细胞的生长,从而减少白血病干细胞在血液中的比例,并有望在临床上延缓 AML 的进展^[61]。近来研究发现,组蛋白赖氨酸去甲基化酶 JMJD1C 在 MLL-AF9 或 HOXA9 引起的白血病中发挥重要作用,而对造血干细胞自我更新和造血平衡影响甚微,将是很好的 AML 治疗靶点^[99]。

5.2.2 HOX 与实体瘤

人类的 39 个 HOX 基因中,除了 HOXC10 和 HOXC12 没有报道以外,大多数在实体瘤中存在异常表达^[100-101]。HOXC 基因在卵巢癌以外的大多数实体瘤中上调,实体瘤中最常见 HOXA9 和 HOXB13 基因的异常表达。

HOXA 簇基因在原发性非小细胞肺癌(NSCLC)中一般是下调的,而 HOXC 和 HOXD 簇的 HOXC4、HOXC8、HOXC9、HOXC13、HOXD8 和 HOXD10 基因在原发性肺癌中明显上调^[87]。此外,在鳞癌组织中 HOXA1、HOXA5、HOXA10 和 HOXC6 基因表达上调,而在腺癌组织中 HOXA5 和 HOXA10 基因表达上调^[87],HOXA1、HOXD9、HOXD10 和 HOXD11 基因的表达在鳞癌中比在腺癌中高^[87]。在肺腺癌的脑转移和骨转移中经典 Wnt 通路发挥关键作用,HOXB9 作为该通路下游转录因子 TCF 的靶基因可显著提高肺腺癌细胞的侵袭和增殖能力,从而介导肺腺癌的脑转移^[102]。近来研究发现,HOXB5 可反过来调控 Wnt 通路,敲低 HOXB5 可抑制 β -catenin 蛋白及其下游 c-Myc 和 cyclin D1 蛋白的表达,从而抑制 NSCLC 细胞的增殖、侵袭和转移^[103]。

HOX 在多种消化道肿瘤中的作用皆有报道。胃癌中,HOXD10 因启动子甲基化而表达下调,从而促进胃癌细胞的生存、迁移和侵袭。HOXD10 下游基因 IGFBP-3 可通过活化 caspase-3 和 caspase-8 诱导胃癌细胞的凋亡^[104]。在具有明显干细胞特征的胃癌细胞 CS12 中,HOXA13 基因和其位点附近的 HOTTIP 基因表达上调,而 HOTTIP 和 IGFBP-3 为 HOXA13 的靶基因。HOXA13 促进

IGFBP-3 表达, 从而使 CS12 细胞表现出明显的侵袭性和致瘤性^[105]; 同时, lncRNA HOTTIP 可引起 HOXA13 启动子处组蛋白 H3K4 的三甲基化, 正反馈调节 HOXA13 和 HOTTIP 基因的表达. HOXB9 可抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 诱导 MET 转化并发挥抑癌功能. 而 Pbx 蛋白可与 HOXB9 的 HX 结构域结合, 从而遏制 HOXB9 的抑癌功能^[106]. HOXB5 通过与启动子结合直接活化 CTNNB 的转录, 从而促进胃癌细胞的迁移和侵袭^[107].

HOXB7 蛋白的表达水平与结直肠癌(CRC)的临床病理特征和不良预后密切相关. HOXB7 可激活 PI3K/AKT 和 MAPK 通路, 并促进 CRC 细胞的生长、增殖和成瘤^[108]. HOXB13 可在蛋白质水平下调 Wnt 通路下游的转录因子 TCF4 和其靶基因 C-Myc 的表达, 但不影响 TCF4 的转录, 从而抑制 CRC 细胞增殖^[109]. 此外, 在正常的结肠隐窝中, HOXA 基因通常表达于基底的干细胞, HOXC 基因通常表达于顶部的分化细胞, 与之相似, 结肠癌细胞分化后 HOXA 簇基因下调, HOXC 簇基因上调^[110].

HOXA7 可上调 cyclin E1 和 CDK2 蛋白的表达, 从而促进肝癌细胞增殖^[111]. HOTAIR 基因位于 HOXC 基因簇内部, 通过招募甲基转移酶抑制 HOXD10 等 HOXD 簇基因的表达. 在肝癌组织和 HepG2 细胞中, HOTAIR 表达上调^[112], HOXD10 表达下调且促进细胞的侵袭转移^[113].

在乳腺癌细胞中 HOX 与 ER 基因的表达之间存在密切的联系. HOXA7 可上调 MCF7 细胞中 ER- α 和孕酮受体的表达, 通过 ER- α 刺激 MCF7 细胞的增殖^[114]. 反过来, ER 可通过与 MLL 相互作用介导雌二醇(estradiol, E₂)依赖的 HOXC6 和 HOXC13 基因表达, 在无 E₂ 的条件下, ER- β 和 MLL1、MLL4 仍可与 HOXC6 启动子结合, 共同维持其基础转录^[115-116]. 乳腺癌的耐药性与 HOX 调控的受体表达相关. 雌二醇竞争性拮抗剂他莫昔芬(tamoxifen, TAM)在临床上是乳腺癌的主要辅助治疗手段之一. HOXB13 可下调 ER- α 表达引起乳腺癌的 TAM 耐药, 同时上调 IL-6 从而激活下游的 mTOR 通路, 进而促进乳腺癌细胞的增殖和远处转移. mTOR 抑制剂与 TAM 联用可有效抑制乳腺癌的复发, 这种合理的给药设计可增强药效并降低药物毒性^[40]. 同时, HOXB7 可上调 EGFR 和多种 EGFR 配体的表达, 促进 ER 阳性乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖和侵袭, 从而赋予其 TAM 抗性. 因

此, HOXB7 可作为评价 TAM 耐药性乳腺癌抗 EGFR 疗法疗效的标记物^[43]. 此外, HOXA1、HOXA5 和 HOXA9 的异常表达在乳腺癌中也发挥重要的作用. 过表达 HOXA1 可促进 Bcl-2 转录, 使乳腺上皮细胞发生恶性转化^[117]. HOXA1 还可增加 MCF-7 细胞中催乳素受体(prolactin receptor, PRLR)的表达, 从而激活下游的 STAT5a/b 和 MAPK 信号通路, 增加乳腺癌细胞的增殖、存活和致瘤性^[118]. HOXA5 启动子在乳腺癌组织中通常是高甲基化的, 造成 HOXA5 和其靶基因 P53 表达的缺失, 促进乳腺癌细胞的增殖^[64]. RAR β 可结合于 HOXA5 基因 3' 端的 RARE, 维甲酸作用于 RAR β 可诱导 HOXA5 表达, 从而上调 caspases-2 和 caspases-8 活性, 促使乳腺癌细胞凋亡^[119]. HOXA9 基因通常在乳腺癌中沉默, 从而抑制下游抑癌基因 BRCA1 表达, 促进乳腺癌的发生发展^[120-121].

在雄激素依赖型前列腺癌细胞中, HOXB13 可与雄激素受体(AR)的 DNA 结合域相互作用, 抑制含有雄激素受体反应元件(ARE)基因的转录, 同时也可调控 HOXB13 靶基因的转录, 共同影响雄激素刺激下细胞的增殖和迁移^[46]. 在雄激素非依赖型前列腺癌细胞中, HOXB13 通过下调 Wnt 通路下游 TCF4 基因的表达, 抑制 PC3 细胞增殖^[122]. HOXB13 还可抑制 P21 基因的表达, 从而活化其下游的 Rb-E2F 信号通路, 在雄激素缺失条件下促进前列腺细胞生长^[48]. 此外, 全基因组关联分析(GWAS)研究发现, SNPrs339331 (6q22) 可增强 HOXB13 与增强子的结合, 从而促进 RFX6 转录, 增加前列腺癌风险^[123]. HOXC 亚族基因在来源于原发灶和淋巴结转移灶的前列腺癌细胞中多呈现高表达, 因此也有较多研究. HOXC8 可阻碍前列腺特异性抗原(PSA)基因增强子处 AR 对 SRC-3 和 CBP 的招募, 从而抑制雄激素受体依赖的转录, 但 HOXC8 仍可通过雄激素非依赖的方式促进前列腺癌细胞的侵袭^[82].

6 总结与展望

在果蝇中发现第一个 HOX 基因以来已有一个世纪^[59], 对 HOX 有较为全面的认识. HOX 是参与个体发育和肿瘤发生发展的重要转录因子. HOX 基因的表达受染色体结构的影响和转录因子网络的调控. HOX 蛋白可与多种辅因子结合, 从而特异性地调节多个靶基因的表达, 产生多样化的效应; 同时, HOX 处于复杂的转录调控网络中, 必须考

虑信号通路网络对 HOX 转录活性的影响. 对 HOX 生物学效应的认识还需加强对 HOX 靶基因的研究.

HOX 与肿瘤密切相关, 但尚未确定 HOX 本身是癌基因(或抑癌基因), 还是癌变后 HOX 表达改变并产生促癌效应. 因此, 还不确定 HOX 是否为关键的肿瘤治疗靶点. 从以下几方面看, HOX 更像是肿瘤发生的果而不是因^[86, 124]: a. HOX 与其说是癌变的驱动力量, 不如说扰动了分化和去分化的平衡, 不足以致癌; b. 肿瘤细胞的表型与多个 HOX 基因共同的异常表达相关, 并且存在剂量依赖性, 这一点不像典型的癌基因(或抑癌基因); c. 肿瘤中的 HOX 表达有组织特异性, 而典型的癌基因(或抑癌基因)在多种肿瘤组织中都有表达; d. HOX 在肿瘤中并未发生突变和功能上的改变. 如果 HOX 表达异常是肿瘤发生的后果, 通过表观遗传学调控恢复 HOX 的正常表达将成为癌症治疗的热点, 相关研究也将使人们加深对机体发育和肿瘤干性的理解. 如果 HOX 是肿瘤发生的起因, 那么辅因子对 HOX 转录活性调控的研究将有助于 HOX 相关抗癌药物的开发.

参 考 文 献

- [1] 季思涵, 管祎祺, 吴向伟, 等. PcG 蛋白复合体对 Hox 基因的调节. 中国生物化学与分子生物学报, 2013, **29**(2): 117-121
Han J S, Guan Y Q, Wu X W, *et al.* Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2013, **29**(2): 117-121
- [2] Montavon T, Soshnikova N. Hox gene regulation and timing in embryogenesis. Seminars in Cell and Developmental Biology, 2014, **34**(9): 76-84
- [3] Soshnikova N, Duboule D. Epigenetic regulation of Hox gene activation: the waltz of methyls. Bioessays, 2008, **30**(3): 199-202
- [4] Copur O, Muller J. The histone H3-K27 demethylase Utx regulates HOX gene expression in *Drosophila* in a temporally restricted manner. Development, 2013, **140**(16): 3478-3485
- [5] Soshnikova N. Hox genes regulation in vertebrates. Developmental Dynamics, 2014, **243**(1): 49-58
- [6] Calo E, Wysocka J. Modification of enhancer chromatin: what, how, and why? Molecular Cell, 2013, **49**(5): 825-837
- [7] Van Der Meulen J, Speleman F, Van Vlierberghe P. The H3K27me3 demethylase UTX in normal development and disease. Epigenetics, 2014, **9**(5): 658-668
- [8] Kingston R E, Tamkun J W. Transcriptional regulation by trithorax-group proteins. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2014, **6**(10): a019349
- [9] Soshnikova N, Duboule D. Epigenetic temporal control of mouse Hox genes *in vivo*. Science, 2009, **324**(5932): 1320-1323
- [10] Wang K C, Helms J A, Chang H Y. Regeneration, repair and remembering identity: the three Rs of Hox gene expression. Trends in Cell Biology, 2009, **19**(6): 268-275
- [11] Ackema K B, Charite J. Mesenchymal stem cells from different organs are characterized by distinct topographic Hox codes. Stem Cells and Development, 2008, **17**(5): 979-991
- [12] Yang X J. MOZ and MORF acetyltransferases: Molecular interaction, animal development and human disease. Biochimica et Biophysica Acta, 2015, **1853**(8): 1818-1826
- [13] Klein B J, Lalonde M E, Cote J, *et al.* Crosstalk between epigenetic readers regulates the MOZ/MORF HAT complexes. Epigenetics, 2014, **9**(2): 186-193
- [14] Voss A K, Collin C, Dixon M P, *et al.* Moz and retinoic acid coordinately regulate H3K9 acetylation, Hox gene expression, and segment identity. Developmental Cell, 2009, **17**(5): 674-686
- [15] Qiu Y, Liu L, Zhao C, *et al.* Combinatorial readout of unmodified H3R2 and acetylated H3K14 by the tandem PHD finger of MOZ reveals a regulatory mechanism for HOXA9 transcription. Genes and Development, 2012, **26**(12): 1376-1391
- [16] Yang X J. The diverse superfamily of lysine acetyltransferases and their roles in leukemia and other diseases. Nucleic Acids Research, 2004, **32**(3): 959-976
- [17] Kindle K B, Collins H M, Heery D M. MOZ-TIF2-mediated destruction of CBP/p300 is blocked by calpain inhibitor 2. Leukemia, 2010, **24**(7): 1359-1361
- [18] Esteyries S, Perot C, Adelaide J, *et al.* NCOA3, a new fusion partner for MOZ/MYST3 in M5 acute myeloid leukemia. Leukemia, 2008, **22**(3): 663-665
- [19] Pelletier N, Champagne N, Stifani S, *et al.* MOZ and MORF histone acetyltransferases interact with the Runt-domain transcription factor Runx2. Oncogene, 2002, **21**(17): 2729-2740
- [20] Paggetti J, Largeot A, Aucagne R, *et al.* Crosstalk between leukemia-associated proteins MOZ and MLL regulates HOX gene expression in human cord blood CD34⁺ cells. Oncogene, 2010, **29**(36): 5019-5031
- [21] Prensner J R, Chinnaiyan A M. The emergence of lncRNAs in cancer biology. Cancer Discovery, 2011, **1**(5): 391-407
- [22] Wang K C, Yang Y W, Liu B, *et al.* A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. Nature, 2011, **472**(7341): 120-124
- [23] Dasen J S. Long noncoding RNAs in development: solidifying the lncs to Hox gene regulation. Cell Reports, 2013, **5**(1): 1-2
- [24] Deng C, Li Y, Zhou L, *et al.* HoxBln1 RNA recruits Set1/MLL complexes to activate Hox gene expression patterns and mesoderm lineage development. Cell Reports, 2016, **14**(1): 103-114
- [25] Rinn J L, Kertesz M, Wang J K, *et al.* Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. Cell, 2007, **129**(7): 1311-1323
- [26] Fang S, Gao H, Tong Y, *et al.* Long noncoding RNA-HOTAIR affects chemoresistance by regulating HOXA1 methylation in small cell lung cancer cells. Laboratory Investigation, 2016, **96**(1): 60-68
- [27] Zhou X, Chen J, Tang W. The molecular mechanism of HOTAIR in tumorigenesis, metastasis, and drug resistance. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2014, **46**(12): 1011-1015

- [28] Sessa L, Breiling A, Lavorgna G, *et al.* Noncoding RNA synthesis and loss of Polycomb group repression accompanies the colinear activation of the human HOXA cluster. *RNA*, 2007, **13**(2): 223–239
- [29] Pearson J C, Lemons D, McGinnis W. Modulating Hox gene functions during animal body patterning. *Nature Reviews Genetics*, 2005, **6**(12): 893–904
- [30] Yekta S, Tabin C J, Bartel D P. MicroRNAs in the Hox network: an apparent link to posterior prevalence. *Nature Reviews Genetics*, 2008, **9**(10): 789–796
- [31] Hoss A G, Kartha V K, Dong X, *et al.* MicroRNAs located in the Hox gene clusters are implicated in huntington's disease pathogenesis. *PLoS Genetics*, 2014, **10**(2): e1004188
- [32] Nacu E, Gromberg E, Oliveira C R, *et al.* FGF8 and SHH substitute for anterior-posterior tissue interactions to induce limb regeneration. *Nature*, 2016, **533**(7603): 407–410
- [33] Aulehla A, Pourquie O. Signaling gradients during paraxial mesoderm development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010, **2**(2): a000869
- [34] Cunningham T J, Duester G. Mechanisms of retinoic acid signalling and its roles in organ and limb development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2015, **16**(2): 110–123
- [35] Lohnes D. The Cdx1 homeodomain protein: an integrator of posterior signaling in the mouse. *Bioessays*, 2003, **25**(10): 971–980
- [36] Mazzoni E O, Mahony S. Saltatory remodeling of Hox chromatin in response to rostrocaudal patterning signals. *Nature Neuroscience*, 2013, **16**(9): 1191–1198
- [37] Daftary G S, Taylor H S. Endocrine regulation of HOX genes. *Endocrine Reviews*, 2006, **27**(4): 331–355
- [38] 刘梦玲, 查运红. HOX 基因的受体信号改变在肿瘤中作用的研究进展. *广东医学*, 2014, **35**(21): 3427–3429
- Liu M L, Zha Y H. *Guangdong Medical Journal*, 2014, **35**(21): 3427–3429
- [39] Du H, Taylor H S. The role of Hox genes in female reproductive tract development, adult function, and fertility. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2015, **6**(1): a023002
- [40] Shah N, Jin K, Cruz L A, *et al.* HOXB13 mediates tamoxifen resistance and invasiveness in human breast cancer by suppressing ERalpha and inducing IL-6 expression. *Cancer Research*, 2013, **73**(17): 5449–5458
- [41] Jin K, Park S, Teo W W, *et al.* HOXB7 is an ERalpha cofactor in the activation of HER2 and multiple ER target genes leading to endocrine resistance. *Cancer Discovery*, 2015, **5**(9): 944–959
- [42] Jin K, Sukumar S. HOX genes: Major actors in resistance to selective endocrine response modifiers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2016, **1865**(2): 105–110
- [43] Jin K, Kong X, Shah T, *et al.* The HOXB7 protein renders breast cancer cells resistant to tamoxifen through activation of the EGFR pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(8): 2736–2741
- [44] Mastick G S, McKay R, Oligino T, *et al.* Identification of target genes regulated by homeotic proteins in *Drosophila melanogaster* through genetic selection of Ultrabithorax protein-binding sites in yeast. *Genetics*, 1995, **139**(1): 349–363
- [45] Rezsöházy R, Saurin A J, Maurel-Zaffran C, *et al.* Cellular and molecular insights into Hox protein action. *Development*, 2015, **142**(7): 1212–1227
- [46] Norris J D, Chang C Y, Wittmann B M, *et al.* The homeodomain protein HOXB13 regulates the cellular response to androgens. *Molecular Cell*, 2009, **36**(3): 405–416
- [47] Hamid S M, Cicek S, Karamil S, *et al.* HOXB13 contributes to G1/S and G2/M checkpoint controls in prostate. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2014, **383**(1–2): 38–47
- [48] Kim Y R, Oh K J, Park R Y, *et al.* HOXB13 promotes androgen independent growth of LNCaP prostate cancer cells by the activation of E2F signaling. *Molecular Cancer*, 2010, **9**(1): 124
- [49] Zhai Z, Fuchs A L, Lohmann I. Cellular analysis of newly identified Hox downstream genes in *Drosophila*. *European Journal of Cell Biology*, 2010, **89**(2–3): 273–278
- [50] Brea M A, Wilkinson D G, Xu Q. A Hox gene controls lateral line cell migration by regulating chemokine receptor expression downstream of Wnt signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(42): 16892–16897
- [51] Iimura T, Pourquie O. Collinear activation of Hoxb genes during gastrulation is linked to mesoderm cell ingression. *Nature*, 2006, **442**(7102): 568–571
- [52] Prin F, Serpente P, Itasaki N, *et al.* Hox proteins drive cell segregation and non-autonomous apical remodelling during hindbrain segmentation. *Development*, 2014, **141**(7): 1492–1502
- [53] Boucherat O, Chakir J, Jeanotte L. The loss of Hoxa5 function promotes Notch-dependent goblet cell metaplasia in lung airways. *Biology Open*, 2012, **1**(7): 677–691
- [54] Aubin J, Dery U, Lemieux M, *et al.* Stomach regional specification requires Hoxa5-driven mesenchymal-epithelial signaling. *Development*, 2002, **129**(17): 4075–4087
- [55] Tan S H, Barker N. Stemming colorectal cancer growth and metastasis: HOXA5 forces cancer stem cells to differentiate. *Cancer Cell*, 2015, **28**(6): 683–685
- [56] Garin E, Lemieux M, Coulombe Y, *et al.* Stromal Hoxa5 function controls the growth and differentiation of mammary alveolar epithelium. *Developmental Dynamics*, 2006, **235**(7): 1858–1871
- [57] Teo W W, Merino V F, Cho S, *et al.* HOXA5 determines cell fate transition and impedes tumor initiation and progression in breast cancer through regulation of E-cadherin and CD24. *Oncogene*, 2016, **35**(42): 5539–5551
- [58] Baumgardt M, Karlsson D, Salmani B Y, *et al.* Global programmed switch in neural daughter cell proliferation mode triggered by a temporal gene cascade. *Developmental Cell*, 2014, **30**(2): 192–208
- [59] Shah N, Sukumar S. The Hox genes and their roles in oncogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 2010, **10**(5): 361–371
- [60] Collins C, Wang J, Miao H, *et al.* C/EBPalpha is an essential collaborator in Hoxa9/Meis1-mediated leukemogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(27): 9899–9904
- [61] Lehnertz B, Pabst C, Su L, *et al.* The methyltransferase G9a regulates HoxA9-dependent transcription in AML. *Genes and*

- Development, 2014, **28**(4): 317–327
- [62] Amali A A, Sie L, Winkler C, *et al.* Zebrafish *hoxd4a* acts upstream of *meis11* to direct vasculogenesis, angiogenesis and hematopoiesis. *PloS One*, 2013, **8**(3): e58857
- [63] Domsch K, Papagiannouli F, Lohmann I. The HOX-apoptosis regulatory interplay in development and disease. *Current Topics in Developmental Biology*, 2015, **114**(4): 121–158
- [64] Raman V, Martensen S A, Reisman D, *et al.* Compromised HOXA5 function can limit p53 expression in human breast tumours. *Nature*, 2000, **405**(6789): 974–978
- [65] Stasinopoulos I A, Mironchik Y, Raman A, *et al.* HOXA5-twist interaction alters p53 homeostasis in breast cancer cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, **280**(3): 2294–2299
- [66] Chen H, Chung S, Sukumar S. HOXA5-induced apoptosis in breast cancer cells is mediated by caspases 2 and 8. *Molecular and Cellular Biology*, 2004, **24**(2): 924–935
- [67] Banreti A, Hudry B, Sass M, *et al.* Hox proteins mediate developmental and environmental control of autophagy. *Developmental Cell*, 2014, **28**(1): 56–69
- [68] Payumo A Y, Mcquade L E, Walker W J, *et al.* Tbx16 regulates hox gene activation in mesodermal progenitor cells. *Nature Chemical Biology*, 2016, **12**(9): 694–701
- [69] Ladam F, Sagerstrom C G. Functional analysis of hox genes in zebrafish. *Methods in Molecular Biology*, 2014, **1196**(35): 133–144
- [70] Davidson A J, Ernst P, Wang Y, *et al.* *cdx4* mutants fail to specify blood progenitors and can be rescued by multiple hox genes. *Nature*, 2003, **425**(6955): 300–306
- [71] Lengerke C, Daley G Q. Caudal genes in blood development and leukemia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2012, **1266**(20): 47–54
- [72] Yue R, Kang J, Zhao C, *et al.* Beta-arrestin1 regulates zebrafish hematopoiesis through binding to YY1 and relieving polycomb group repression. *Cell*, 2009, **139**(3): 535–546
- [73] Merabet S, Mann R S. To Be specific or not: the critical relationship between Hox And TALE proteins. *Trends in Genetics*, 2016, **32**(6): 334–347
- [74] Merabet S, Dard A. Tracking context-specific transcription factors regulating hox activity. *Developmental Dynamics*, 2014, **243**(1): 16–23
- [75] Ladam F, Sagerstrom C G. Hox regulation of transcription: more complex(es). *Developmental Dynamics*, 2014, **243**(1): 4–15
- [76] Merabet S, Pradel J, Graba Y. Getting a molecular grasp on Hox contextual activity. *Trends in Genetics*, 2005, **21**(9): 477–480
- [77] Gordon J A, Hassan M Q, Saini S, *et al.* Pbx1 represses osteoblastogenesis by blocking Hoxa10-mediated recruitment of chromatin remodeling factors. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, **30**(14): 3531–3541
- [78] Choe S K, Ladam F, Sagerstrom C G. TALE factors poise promoters for activation by Hox proteins. *Developmental Cell*, 2014, **28**(2): 203–211
- [79] Moens C B, Selleri L. Hox cofactors in vertebrate development. *Developmental Biology*, 2006, **291**(2): 193–206
- [80] Morgan R, El-Tanani M, Hunter K D, *et al.* Targeting HOX/PBX dimers in cancer. *Oncotarget*, 2017, **8**(19): 32322–32331
- [81] Rezsöházy R. Non-transcriptional interactions of Hox proteins: inventory, facts, and future directions. *Developmental Dynamics*, 2014, **243**(1): 117–131
- [82] Axlund S D, Lambert J R, Nordeen S K. HOXC8 inhibits androgen receptor signaling in human prostate cancer cells by inhibiting SRC-3 recruitment to direct androgen target genes. *Molecular Cancer Research*, 2010, **8**(12): 1643–1655
- [83] Miller G J, Miller H L, Van Bokhoven A, *et al.* Aberrant HOXC expression accompanies the malignant phenotype in human prostate. *Cancer Research*, 2003, **63**(18): 5879–5888
- [84] Choe S K, Lu P, Nakamura M, *et al.* Meis cofactors control HDAC and CBP accessibility at Hox-regulated promoters during zebrafish embryogenesis. *Developmental Cell*, 2009, **17**(4): 561–567
- [85] Wang Z, Iwasaki M, Ficara F, *et al.* GSK-3 promotes conditional association of CREB and its coactivators with MEIS1 to facilitate HOX-mediated transcription and oncogenesis. *Cancer Cell*, 2010, **17**(6): 597–608
- [86] He H, Hua X, Yan J. Epigenetic regulations in hematopoietic Hox code. *Oncogene*, 2011, **30**(4): 379–388
- [87] Bhatlekar S, Fields J Z, Boman B M. HOX genes and their role in the development of human cancers. *Journal of Molecular Medicine*, 2014, **92**(8): 811–823
- [88] Gwin K, Frank E, Bossou A, *et al.* Hoxa9 regulates Flt3 in lymphohematopoietic progenitors. *Journal of Immunology*, 2010, **185**(11): 6572–6583
- [89] Hu Y L, Fong S, Largman C, *et al.* HOXA9 regulates miR-155 in hematopoietic cells. *Nucleic Acids Research*, 2010, **38**(16): 5472–5478
- [90] Shah C A, Wang H, Bei L, *et al.* HoxA10 regulates transcription of the gene encoding transforming growth factor beta2 (TGFbeta2) in myeloid cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, **286**(4): 3161–3176
- [91] Shah C A, Bei L, Wang H, *et al.* HoxA10 protein regulates transcription of gene encoding fibroblast growth factor 2 (FGF2) in myeloid cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, **287**(22): 18230–18248
- [92] Danen-Van Oorschot A A, Kuipers J E, Arentsen-Peters S, *et al.* Differentially expressed miRNAs in cytogenetic and molecular subtypes of pediatric acute myeloid leukemia. *Pediatric Blood and Cancer*, 2012, **58**(5): 715–721
- [93] Novak R L, Harper D P, Caudell D, *et al.* Gene expression profiling and candidate gene resequencing identifies pathways and mutations important for malignant transformation caused by leukemogenic fusion genes. *Experimental Hematology*, 2012, **40** (12): 1016–1027
- [94] Orlovsky K, Kalinkovich A, Rozovskaia T, *et al.* Down-regulation of homeobox genes MEIS1 and HOXA in MLL-rearranged acute leukemia impairs engraftment and reduces proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(19): 7956–7961
- [95] Smith L L, Yeung J, Zeisig B B, *et al.* Functional crosstalk between

- Bmi1 and MLL/Hoxa9 axis in establishment of normal hematopoietic and leukemic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2011, **8**(6): 649–662
- [96] Bei L, Huang W, Wang H, *et al.* HoxA10 activates CDX4 transcription and Cdx4 activates HOXA10 transcription in myeloid cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, **286**(21): 19047–19064
- [97] Koo S, Huntly B J, Wang Y, *et al.* Cdx4 is dispensable for murine adult hematopoietic stem cells but promotes MLL-AF9-mediated leukemogenesis. *Haematologica*, 2010, **95**(10): 1642–1650
- [98] Huang Y, Sitwala K, Bronstein J, *et al.* Identification and characterization of Hoxa9 binding sites in hematopoietic cells. *Blood*, 2012, **119**(2): 388–398
- [99] Zhu N, Chen M, Eng R, *et al.* MLL-AF9- and HOXA9-mediated acute myeloid leukemia stem cell self-renewal requires JMJD1C. *The Journal of Clinical Investigation*, 2016, **126**(3): 997–1011
- [100] 牛苗苗, 战军, 张宏权. HOX 基因在肿瘤发生发展过程中的作用. *解剖学报*, 2014, **45**(3): 430–436
- Niu M M, Zhang J, Zhang H Q. *Acta Anatomica Sinica*, 2014, **45**(3): 430–436
- [101] 周薇, 赵龙凤, 徐恩伟. 同源盒基因家族与肿瘤关系的研究进展. *中国药物与临床*, 2016, **16**(4): 532–535
- Zhou W, Zhao L F, Xu E W. *Chinese Remedies and Clinics*, 2016, **16**(4): 532–535
- [102] Nguyen D X, Chiang A C, Zhang X H, *et al.* WNT/TCF signaling through LEF1 and HOXB9 mediates lung adenocarcinoma metastasis. *Cell*, 2009, **138**(1): 51–62
- [103] Zhang B, Li N, Zhang H. Knockdown of Homeobox B5 (HOXB5) Inhibits Cell Proliferation, Migration, and Invasion in Non-Small Cell Lung Cancer Cells Through Inactivation of the Wnt/beta-Catenin Pathway. *Oncology Research*, 2017
- [104] Wang L, Chen S, Xue M, *et al.* Homeobox D10 gene, a candidate tumor suppressor, is downregulated through promoter hypermethylation and associated with gastric carcinogenesis. *Molecular Medicine*, 2012, **18**(5): 389–400
- [105] Wang S S, Wuputra K, Liu C J, *et al.* Oncogenic function of the homeobox A13-long noncoding RNA HOTTIP-insulin growth factor-binding protein 3 axis in human gastric cancer. *Oncotarget*, 2016, **7**(24): 36049–36064
- [106] Chang Q, Zhang L, He C, *et al.* HOXB9 induction of mesenchymal-to-epithelial transition in gastric carcinoma is negatively regulated by its hexapeptide motif. *Oncotarget*, 2015, **6**(40): 42838–42853
- [107] Hong C S, Jeong O, Piao Z, *et al.* HOXB5 induces invasion and migration through direct transcriptional up-regulation of beta-catenin in human gastric carcinoma. *The Biochemical Journal*, 2015, **472**(3): 393–403
- [108] Liao W T, Jiang D, Yuan J, *et al.* HOXB7 as a prognostic factor and mediator of colorectal cancer progression. *Clinical Cancer Research*, 2011, **17**(11): 3569–3578
- [109] Jung C, Kim R S, Zhang H, *et al.* HOXB13 is downregulated in colorectal cancer to confer TCF4-mediated transactivation. *British Journal of Cancer*, 2005, **92**(12): 2233–2239
- [110] Freschi G, Taddei A, Bechi P, *et al.* Expression of HOX homeobox genes in the adult human colonic mucosa (and colorectal cancer?). *International Journal of Molecular Medicine*, 2005, **16**(4): 581–587
- [111] Li Y, Yang X H, Fang S J, *et al.* HOXA7 stimulates human hepatocellular carcinoma proliferation through cyclin E1/CDK2. *Oncology Reports*, 2015, **33**(2): 990–996
- [112] Yang Z, Zhou L, Wu L M, *et al.* Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Annals of Surgical Oncology*, 2011, **18**(5): 1243–1250
- [113] Li Q, Ding C, Chen C, *et al.* miR-224 promotion of cell migration and invasion by targeting Homeobox D 10 gene in human hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2014, **29**(4): 835–842
- [114] Zhang Y, Cheng J C, Huang H F, *et al.* Homeobox A7 stimulates breast cancer cell proliferation by up-regulating estrogen receptor- α . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, **440**(4): 652–657
- [115] Ansari K I, Hussain I, Shrestha B, *et al.* HOXC6 Is transcriptionally regulated *via* coordination of MLL histone methylase and estrogen receptor in an estrogen environment. *Journal of Molecular Biology*, 2011, **411**(2): 334–349
- [116] Ansari K I, Kasiri S, Hussain I, *et al.* Mixed lineage leukemia histone methylases play critical roles in estrogen-mediated regulation of HOXC13. *The FEBS Journal*, 2009, **276**(24): 7400–7411
- [117] Zhang X, Zhu T, Chen Y, *et al.* Human growth hormone-regulated HOXA1 is a human mammary epithelial oncogene. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, **278**(9): 7580–7590
- [118] Hou L, Xu B, Mohankumar K M, *et al.* The prolactin receptor mediates HOXA1-stimulated oncogenicity in mammary carcinoma cells. *International Journal of Oncology*, 2012, **41**(6): 2285–2295
- [119] Chen H, Zhang H, Lee J, *et al.* HOXA5 acts directly downstream of retinoic acid receptor beta and contributes to retinoic acid-induced apoptosis and growth inhibition. *Cancer Research*, 2007, **67**(17): 8007–8013
- [120] Sun M, Song C X, Huang H, *et al.* HMGA2/TET1/HOXA9 signaling pathway regulates breast cancer growth and metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(24): 9920–9925
- [121] Gilbert P M, Mouw J K, Unger M A, *et al.* HOXA9 regulates BRCA1 expression to modulate human breast tumor phenotype. *The Journal of Clinical Investigation*, 2010, **120**(5): 1535–1550
- [122] Jung C, Kim R S, Lee S J, *et al.* HOXB13 homeodomain protein suppresses the growth of prostate cancer cells by the negative regulation of T-cell factor 4. *Cancer Research*, 2004, **64**(9): 3046–3051
- [123] Huang Q, Whittington T, Gao P, *et al.* A prostate cancer susceptibility allele at 6q22 increases RFX6 expression by modulating HOXB13 chromatin binding. *Nature Genetics*, 2014, **46**(2): 126–135
- [124] Abate-Shen C. Deregulated homeobox gene expression in cancer: cause or consequence? *Nature Reviews Cancer*, 2002, **2**(10): 777–785

Research Progress on HOX Family and Cancer

LIN Ling, WU Xing-Zhong*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032)

Abstract Homeobox (HOX) genes, coding for transcription factors, are located in clusters in chromosomes and are important for defining body segment boundary. HOX genes show specific expression pattern in correspondent body part, and their expressions also represent the location information of an adult cell. HOX genes take important role in cancer initiation and progression. Researches on HOX in leukemia have continuously been concerned, while researches on HOX in solid tumors, including lung cancer, gastrointestinal cancer, breast cancer and prostate cancer gain growing attention recently. It is of great importance to illustrate HOX expression regulation, cellular level function and transcriptional activity regulation for clarifying the role of HOX in cancer.

Key words HOX family, epigenetic regulation, non-coding RNA, transcriptional activity, tumor

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0349

*Corresponding author.

Tel: 86-21-54237697, E-mail: xz_wu@shmu.edu.cn

Received: June 15, 2017 Accepted: August 21, 2017