



叉头框蛋白 A 基因在进化、发育和疾病中的功能*

王静涵 杨立新**

(中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012)

摘要 叉头框蛋白 A (*FoxA*) 基因家族作为一个保守的转录因子家族, 在调控胚胎发育、细胞分化以及疾病发生过程中起着关键作用。*FoxA* 最初被命名为 *Hnf3 α* (肝细胞核因子 3 α), 在肝脏特异性基因的激活和形态发生过程中具有重要功能。研究表明, *FoxA* 蛋白能够与特定的 DNA 序列以及缠绕在核小体上的 DNA 相互作用, 通过改变染色质局部结构来调控基因表达, 因此被称为“先锋因子”(pioneer factors)。*FoxA* 家族有 3 个成员: *FoxA1*、*FoxA2* 和 *FoxA3*。*FoxA1* 主要在肺、肝脏、胰腺和前列腺等内胚层来源的器官中表达, 参与调控激素代谢、细胞周期和细胞增殖。*FoxA2* 主要在脊椎动物的脊髓底板中表达, 调控神经管背腹模式的建立。*FoxA3* 主要在睾丸中表达, 调控生殖细胞的形成。在基因家族现存的变体中, *foxa2*^{-/-} 基因突变斑马鱼胚胎能够存活, 为解释胚胎发育提供可能。现有研究表明, *FoxA* 参与早期胚胎发育过程、癌症以及代谢相关疾病的发生。本文在总结 *FoxA* 基因发现、蛋白质表达和生物学功能的基础上, 提出需要解决的科学问题, 为读者更好地理解 *FoxA* 基因在胚胎发育和癌症发生中的作用提供依据。

关键词 叉头框蛋白 A (*FoxA*), 转录因子, 组蛋白, 上皮间充质转化, 癌症发生

中图分类号 Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0390

CSTR: 32369.14.pibb.20240390

叉头框蛋白 A (fork head box A, *FoxA*) 是叉头框 (fork head box, *Fox*) 蛋白质家族的一员, 该蛋白质家族在结构上具有高度保守的翼状螺旋 DNA 结合域^[1]。由于其蛋白质结构与组蛋白相似, *FoxA* 蛋白能够与特定 DNA 序列以及缠绕在核小体上的 DNA 结合, 改变染色质局部结构, 促进基因转录调控的启动^[2]。作为转录因子, *FoxA* 在调控多种细胞的基因表达中发挥关键作用, 尤其是在调控胚胎发育、细胞增殖和分化、肿瘤发生和转移以及糖脂代谢等过程中发挥重要作用。因此, *FoxA* 成为一个具有潜力的靶点, 为肿瘤以及一些疾病的治疗提供了新选择^[3]。

1 *FoxA* 基因的发现

1989 年, Darnell 的研究团队在小鼠肝脏中分离并发现了一种新的 DNA 结合蛋白, 命名为肝细胞核因子 3 α (hepatocyte nuclear factor 3 α , HNF3 α), 该蛋白质对肝脏特定基因的激活和肝脏形态的发生具有重要的作用^[1]。与此同时, Weigel 等^[2] 揭示了果蝇叉头 (fork head, FKH) DNA 结合蛋白对果蝇胚胎发育的调控作用。他们的研究表

明, 4 种 *fkf* 基因突变果蝇产生的蛋白质均缺乏 DNA 结合活性, 并确定了 *fkf* 的基因序列^[3]。进一步研究发现, HNF3 叉头蛋白不仅可以结合 DNA 的特定序列 (核心序列为 GGGCCC), 还可以结合与核小体结合的 DNA 位点, 改变染色质局部结构, 允许特异性转录因子与 DNA 结合并启动基因转录调控事件^[4]。目前, 已发现总计超过了 100 种蛋白质, 其 DNA 结合域与 HNF3 α 和果蝇 FKH 高度同源, 这些蛋白质广泛分布于无脊椎动物和脊椎动物^[5]。

2 *FoxA* 基因家族

为了规范蛋白质命名, 所有与 *Fork head* 相关的基因被命名为 *Fox* (fork head box) 基因。*Fox* 基因包含一个相似但功能各异的翼螺旋 DNA (winged-helix domain, WHD) 结合域, 也称为叉头结合域^[6]。*Fox* 家族的转录因子以其保守的叉头

* 国家自然科学基金 (42177259) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-84919263, E-mail: yanglx@cracs.org.cn

收稿日期: 2024-09-03, 接受日期: 2024-12-13

盒序列为特征，编码有翼螺旋DNA结合结构域^[7]。根据系统发育关系，Fox基因家族在脊索动物中被分为17组，从A到Q。在人类基因组中，已经鉴定出49种叉头蛋白，并根据叉头结构域内和外部

的序列同源性，进一步将它们分为19个亚组，从FOXA到FOXS。鉴于FoxA基因在胚胎发育中的重要作用，本文将重点介绍FoxA基因家族的成员^[8]（图1）。

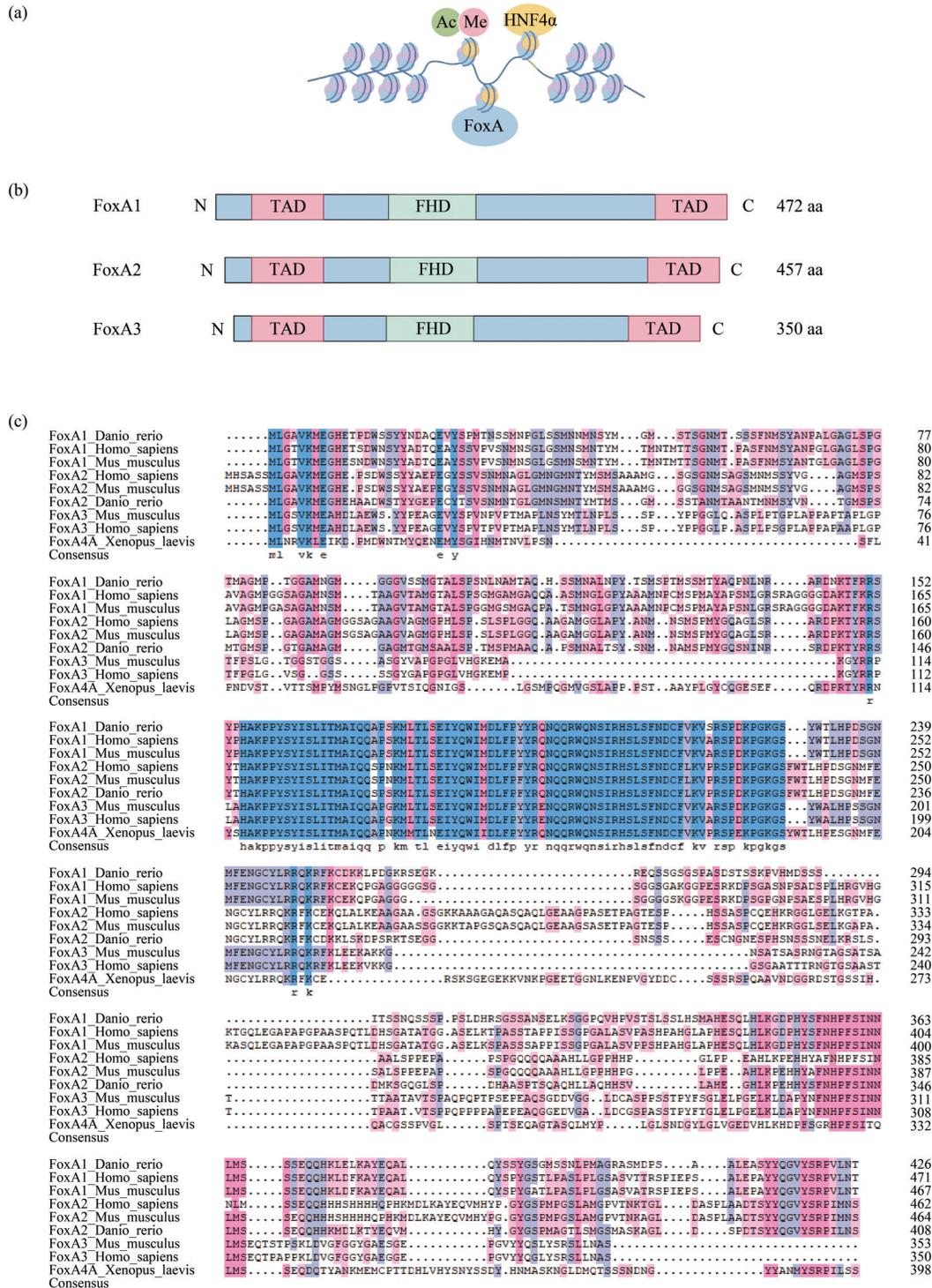


Fig. 1 Transcriptional activation and protein structure of the FoxA family

图1 FoxA家族的转录激活和蛋白质结构

(a) 转录激活示意图，解释了FoxA蛋白驱动靶基因转录的机制。(b) FoxA家族成员结构示意图，突出显示了高度保守的叉头DNA结合域(FHD)和两个转录激活域(TAD)，这些结构在FoxA家族成员中均具有保守性。(c) FoxA蛋白家族成员氨基酸序列比较分析，展示了大鼠、小鼠和斑马鱼等模式生物中FoxA家族成员的氨基酸序列同源性。比对图用DNAMAN作图软件绘制。

目前发现的FoxA家族成员有FoxA1/HNF3 α 、FoxA2/HNF3 β 和FoxA3/HNF3 γ , 果蝇FKH蛋白与FoxA1、FoxA2和FoxA3蛋白(也称为HNF3 α 、 β 和 γ)密切相关, 果蝇中的*fkh*是FoxA家族中唯一的直系同源物^[3]。

FoxA1、FoxA2和FoxA3的叉头结构域序列(FHD)同源性高达95%(图1b, c)。在叉头结构域之外, FoxA1和FoxA2的序列同源性为90%, 然而FoxA3与FoxA1和FoxA2相似性较低, 仅在N端和C端的反式激活结构域中具有较高同源性。值得注意的是, 只有FoxA2在叉头结构域N端处具有潜在的AKT2/PKB磷酸化位点^[6]。这表明, 即使FoxA1、FoxA2和FoxA3可能在某些功能上存在相似性, 但独特的结构特征使它们在细胞中发挥不同的调节作用^[3]。

FOXA先锋因子的这种功能特性归因于其结合结构域与组蛋白H1具有结构相似性^[9], 人类FoxA2蛋白与组蛋白H1的结构非常相似^[10](图2)。该特征使FoxA转录因子能够接近封闭的染色质, 将异染色质局部打开, 与DNA相互作用(图3)。FoxA2的DNA结合结构域采用典型的翼螺旋折叠, 螺旋H3和翼1区域主要介导DNA识别, 从而允许募集替代性的组蛋白并促进随后在附近位点结合其他转录因子^[11]。有研究表明, FoxA蛋白向染色质的募集依赖于细胞谱系特异性的表观遗传标记, 其活性比简单的转录激活或抑制更为复杂, 并且高度依赖于细胞谱系特异性的染色质环境^[7]。

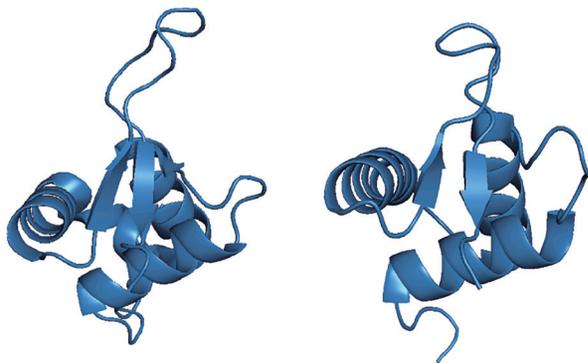


Fig. 2 3D structure of human FoxA2 protein (left) and histone H1 (right)

图2 人类FoxA2蛋白(左)和组蛋白H1(右)的三维结构
使用pymol软件绘制。

其中简单的转录激活是指转录因子要么激活基因表达, 要么抑制基因表达^[12]。而FoxA蛋白的作用不仅限于此, 它们可能通过改变染色质结构、招募其他因子等方式来调控基因表达^[13]。

小鼠FoxA蛋白即便是在缺乏SWI-SNF染色质重塑复合体的情况下也能实现染色质的正常重塑, 这主要归因于FoxA蛋白羧基端结构域与核心组蛋白H3和H4的相互作用(图3)^[11]。因此, FoxA蛋白能够取代紧密染色质中的接头组蛋白, 并促进其他转录因子的结合^[14]。这种作用的遗传证据是通过观察FoxA1和FoxA2敲除的小鼠前肠内胚层细胞, 发现其无法响应诱导信号并激活肝脏分化程序^[15]。

作为一种先锋转录因子, FoxA可能首先定位于染色质中的靶点, 这种初始结合可以通过被动地减少结合DNA所需额外因子的数量来增强转录活性^[16]。此外, 先锋因子结合主动打开染色质局部区域, 使其能够与其他因子结合。这种独特的机制使FoxA蛋白在生物的发展和分化过程中扮演了重要的角色^[17]。

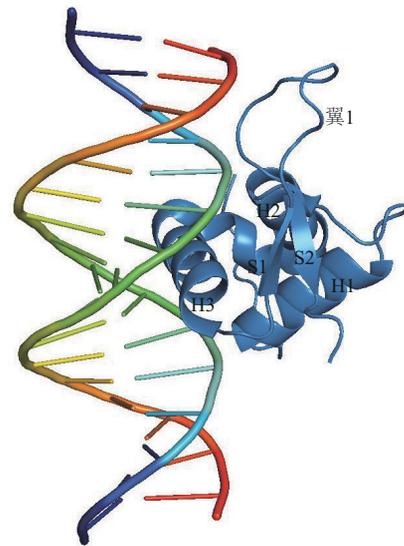


Fig. 3 3D diagram of the interaction between human FOXA2 protein and DBE2 (Daf-16 family binding element 2)

图3 人类FOXA2蛋白与DBE2 (Daf-16家族结合元件2) 之间相互作用的三维图

DBE2基因可以与FOXA2的H3结构域相互作用从而改变核小体的可及性。使用pymol软件作图。

3 FoxA基因表达

Fox 基因家族是转录因子中最保守的家族，其中 FoxA 基因的保守性尤为突出，表明它们在物种发育过程和生理功能中发挥基础性作用，表 1 汇总了 FoxA 基因家族在不同物种之间的同源基因，在各物种间 FoxA 保守性较高^[15]。FoxA 在后生动物的内胚层和中胚层细胞中广泛表达，如小鼠、线虫、海胆的消化道中以及脊索动物的脊索^[18]。对秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 和海胆 (*Echinoidea*) 中 foxa 同源基因的研究发现，尽管它们在转录调控这两种生物体之间存在显著差异，如在秀丽隐杆线虫和海胆咽形成过程中具有显著差异，但 FoxA 在控制间充质细胞向上皮细胞转化的调控网络中发挥关键作用是一致的^[19]。环节动物 (*Annelida*) 为了适应陆地生活，其胚胎发育模式经历了重大变化，采用了直接发育的策略，在这一过程中，FoxA 基因的新功能及其协同选择对于支持环节动物直接发育模式的进化至关重要^[20]。以水蛭 (*Hirudo medicinalis*) 为例，水蛭 Hau-FoxA1 首先在内胚层细胞亚群中表达，随后在前肠和中肠表达，Hau-FoxA2 在口道 (oral cavity) 中表达，Hau-FoxA3 在来自外胚层终末细胞谱系的节段神经节的形态发生期间表达^[21]。Hau-FoxA1 和 Hau-FoxA2 还在水蛭特异性前吸盘的形态发生期间表达^[21]。表达模式表明，Hau-FoxA1 在内胚层和肠道发育中发挥重要功能，而其他两种蛋白质在直接发育的带状体胚胎中进化出独特新功能^[21]。随着生物的进化，FoxA 蛋白的调控功能在不同组织中发生变化，例如，秀丽隐杆线虫的咽部和脊索动物的脊索，这两者都是中胚层衍生物，显示了 FoxA 对细胞分化的调控层次^[19, 22]。

脊椎动物的背中线 (dorsal midline)、前索板 (prechordal plate)、脊索 (notochord)、下索 (hypochord) 和底板 (floor plate) 的胚胎结构具有共同起源，在斑马鱼中，这些结构来源于原肠胚形成时位于胚盾 (embryonic shield) 的一群祖细胞^[18]。foxa2 和 foxa3 在斑马鱼胚胎原肠期早期的胚盾和脊索中胚层 (chordamesoderm) 表达，foxa1 在原肠期后期表达^[23]。小鼠胚胎内胚层最先表达 FoxA2，随后表达 FoxA1 和 FoxA3，小鼠胚胎

原基 (node) 表达 FoxA2，而 FoxA1 和 FoxA2 均在脊索和底板表达^[18]。此外，FoxA 家族基因在多种动物轴向中胚胎细胞中表达，FoxA 家族成员对维持脊索前板、脊索、底板和下脊索祖细胞轴向同一性至关重要，显示了其在背轴结构发育中的核心作用^[24]。FoxA2 通过 Sonic hedgehog (Shh) 和 Nodal 通路调控，参与胚胎神经管背腹模式形成和腹侧神经元的分化，图 4 是本实验室受精后 24 h (24 hours post fertilization, 24 hpf) 斑马鱼的原位杂交结果，可以看出 Foxa2 主要在脊髓底板、前脑和中脑^[6]。FoxA3 在胚胎及成体中的表达模式与 FoxA1 和 FoxA2 不同，FoxA3 不在脊索原基、轴向中胚层或神经中表达，其最初在小鼠 E8.5 胚胎从后肠延伸到中肠-前肠边界区域表达，并在成年期维持其在胚胎内胚层衍生的器官表达^[25]。事实上，FoxA3 是 FoxA 家族在成年肝脏中表达量最高的成员^[26]。FoxA3 还是唯一在小鼠长骨中表达的 FoxA 基因，这种表达仅限于小鼠胚胎的 E13~16 阶段^[27]。还有研究表明，FoxA3 与生殖系统有关，缺陷会导致生殖细胞丢失甚至不育^[27]。尽管不同 FoxA 成员在不同脊椎动物中的表达存在差异，但它们在轴向中胚层和内胚层中作用保守^[18]。虽然 FoxA 基因家族各成员都参与了类似的发育过程，但在不同的脊椎动物物种中的功能存在一些差异^[3]。例如，在小鼠中，该家族的每个成员都存在突变体 (表 2)。其中，FoxA2^{-/-} 突变体表现出在轴向中线形成缺陷，原条无法伸长，从而阻止了轴向结构祖细胞的诱导，导致内胚层最终无法形成肠管^[28]。而在斑马鱼中，foxa2 基因突变导致底板不能继续分化，腹侧脊髓神经元的诱导受损^[23]。在非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 中，FoxA4a 表达可以诱导后脑异位底板细胞的形成 (其同源基因为 FoxA2)^[23]。

随着对生物发育中基因调控网络 (gene regulatory networks, GRN) 理解的深入，发育 GRN 的进化与多样化形态结构的进化之间的联系越来越明显^[19]。目前可以清楚地看到，GRN 的不同组成部分以不同的速率进行演化，其中一些部分展现出更强的保守性^[3]。研究表明，在广泛的生物谱系中，FoxA 基因对于细胞嵌入、延伸和上皮形成过程至关重要，特别是在内胚层和中胚层中^[29]。FoxA 基因作为早期内胚层发育的核心调控因子，跨越后生动物的不同类群，起到保守性功

能, *FoxA* 在发展过程中的高度保守性可能源于其祖先基因直接控制了间充质到上皮细胞的转化过程, 并确保了肠道的发生。在脊椎动物中, *FoxA* 基因家族分化为 *FoxA1*、*FoxA2* 和 *FoxA3* [25]。图 5 显示, *FoxA2* 是最先从祖先基因进化的基因, *FoxA1* 与 *FoxA3* 进化稍晚, 而且 *FoxA1* 与 *FoxA3* 在进化上的距离更近 [19]。FoxA 蛋白的进化与其在不

同物种的适应性进化密切相关, 例如, 鱼类的 *FoxA* 在功能上更多地保留了祖先基因的特征, 经演化适应了水环境。两栖类与爬行动物的 *FoxA* 基因开始进化出新的功能, 如调控肺的发育。哺乳动物的 *FoxA1* 和 *FoxA2* 进一步演化, 支持复杂的肺泡发育、气道结构维持和表面活性剂调控, 以适应高代谢需求和更高效的气体交换 [29]。

Table 1 *FoxA* gene family homologues

表1 *FoxA*基因家族同源基因

动物类别	物种	<i>FoxA</i> 同系物	开始表达阶段	表达区域	参考文献
哺乳动物	小鼠	<i>FoxA1</i>		内胚层细胞亚群, 而后在前肠和中肠中表达	[30]
		<i>FoxA2</i>	E6.5	轴向中胚层	[28]
		<i>FoxA3</i>	E8.5	内胚层发育	[27]
鱼类	斑马鱼	<i>foxa1</i>	10 hpf	神经发生	[18]
		<i>foxa2</i>	4 hpf	底板发育	[23]
		<i>foxa3</i>	3 hpf	内胚层发育	[31]
两栖动物	非洲爪蟾	<i>foxA1</i>		内胚层发育	[32]
		<i>foxA2</i>		内胚层和中轴中胚层	[33]
		<i>FoxA4a</i>		后脑异位底板细胞	[34]
节肢动物	家蚕	<i>BmFoxA</i>	幼虫期	翅盘早期发育	[35]
	果蝇	<i>fh</i>		前脑和前肠	[36]
环节动物	秀丽隐杆线虫	<i>PHA-4/FoxA</i>		早期咽部发育	[37]
	水蛭	<i>Hau-FoxA</i>		内胚层细胞亚群中表达, 然后在前肠和中肠中表达	[21]
棘皮动物	海胆	<i>foxa</i>	21hpf	内胚层和中胚层的前体区域表达	[38]
腔肠动物	水螅	<i>Cn-FoxA</i>		内胚层形成	[38]



Fig. 4 *foxa2* expressing in zebrafish embryo at 24 hpf *in situ* hybridization

图4 24 hpf斑马鱼胚胎*foxa2*表达 (原位杂交结果)

心肌细胞的特定基因表达, 调控心脏结构的形态发育^[11]。研究发现, FoxA2通过与Gata4、Nkx2.5等其他心脏发育调控因子的协同作用, 推动心脏结构的形成和发育^[6]。这种协同作用不仅在早期心脏发育中必不可少, 还在心脏病理状态中扮演了重要角色, 为心脏组织修复和再生提供了潜在的靶点。此外, 在血管系统的形成过程中, FoxA通过调控内皮细胞的分化和迁移, 对血管形成起到了支持作用^[7]。FoxA可以通过调节内皮细胞的增殖和分化, 确保新生血管的正常生长及其结构的稳定性, 特别是在胚胎血管形成的过程中, FoxA1和FoxA2的表达对于血管的管腔形成及分支发育发挥关键的调控作用^[11]。

在外胚层中, FoxA的直接作用相对较少, 但它们通过调控发育信号通路间接影响外胚层的发育, 尤其在神经系统的形成和分化中发挥作用^[44]。例如, 在模式生物斑马鱼中, Foxa2调节底板的分化^[23]。Norton等^[23]研究表明, Nodal信号诱导斑马鱼胚胎内侧底板的发生, 而来自内侧底板或下面的轴向内胚层组织的Shh信号诱导外侧底板细胞的分化。在内侧底板中, *foxa2*在Nodal下游发挥作用例如, Nodal信号转导的细胞自主激活诱导*foxa2*表达^[45]。而在外侧底板Shh通路的突变体中*foxa2*表达缺失, 表明*foxa2*在该区域中的转录依赖于

Shh活性。在*mol*^{-/-}突变体(即*foxa2*基因突变)胚胎表现出100%的显性性状和完全一致的表型, 即这些突变体胚胎能够形成底板, 但是在所有轴向水平上不能正常诱导细胞分化^[23]。位于头部的底板标记基因表达量下降, 但底板细胞仍然可以通过其立方体形态识别^[46]。此外, 内侧纵束在突变体胚胎中向中线移位, 但很少融合, 就像它们在*Nodal*突变体中一样, 这表明至少保留了底板细胞的一些特性^[47]。最新研究结果表明, 在没有FoxA2活性的情况下, *Nodal*能够诱导底板细胞发生, 但底板细胞的分化很大程度上取决于功能性Foxa2^[48]。Foxa2在底板的横向扩展中起作用, 尽管底板在*mol*^{-/-}突变体中形成, 但其横向扩展程度未达到野生型胚胎底板组织的全宽度^[48]。Shh和Foxa2蛋白之间的调节可能导致*mol*^{-/-}胚胎中底板组织的侧向扩张失败^[23]。也就是说, FoxA2是维持底板特异性基因表达所必需的因子。此外, *FoxA2*基因的缺失会导致多种发育异常, 包括少突胶质细胞、肾上腺素能中缝核以及颅运动神经元的发育缺陷^[18]。

综上所述, FoxA家族成员在脊椎动物背轴结构的形成中发挥着关键作用^[23]。在不同物种和发育阶段中FoxA家族成员的独特表达模式和功能, 突显了这些转录因子在维持胚胎发育及决定细胞命运过程中的多样性和复杂性。

Table 2 Variants of FoxA family members in mice and zebrafish

表2 小鼠和斑马鱼中FoxA家族成员的变体

物种	基因型	基因型变化	表型	参考文献
斑马鱼	<i>mol</i> ^{-/-}	<i>foxa2</i> 基因突变	底板缺失, 尾部卷曲突变体仅存活5 d左右	[23]
	<i>mo-foxa3</i>	<i>foxa3</i> 基因敲低	缺乏孵化腺, 轴向结构保留	[18]
	<i>mo-foxa2-foxa3</i>	<i>foxa2</i> 、 <i>foxa3</i> 基因同时敲低	中轴结构完全丧失, 神经管背侧凋亡细胞增加	[18]
小鼠	<i>FoxA1</i> ^{-/-}	<i>FoxA1</i> 基因敲除	P2~P12时死亡, 低血压, 前列腺形态异常, 呼吸细胞成熟和肺泡形态发生延迟	[49]
	<i>FoxA2</i> ^{+/-}	<i>FoxA2</i> 单倍体敲除	脂肪细胞出现葡萄糖摄取代谢缺陷, 高脂饮食导致肥胖增加	[15]
	<i>FoxA2</i> ^{-/-}	<i>FoxA2</i> 基因敲除	E10~11时死亡, 淋巴结、脊索、神经管和肠管严重缺陷	[28]
	<i>FoxA3</i> ^{-/-}	<i>FoxA3</i> 基因敲除	正常形态功能减退, 生殖细胞缺失, 寿命减少	[27]
	<i>FoxA1</i> ^{LL} / <i>FoxA2</i> ^{LL} / <i>FoxA3</i> ^{-/-}	<i>FoxA</i> 三重敲除	肝细胞酶丙氨酸氨基转移酶和碱性磷酸酶的血浆水平显著升高, 表现严重肝损伤	[4]

4.2 FoxA影响疾病发生

4.2.1 癌症发生

研究表明, *FoxA*基因在多种疾病, 尤其是癌症和相关代谢紊乱的发生中具有重要作用^[50]。在不同类型的癌症中, *FoxA*基因的功能可能作为致癌因子或肿瘤抑制因子而有所不同^[51]。

FoxA蛋白作为核受体的伴侣在核激素受体调控中发挥重要作用^[52]。例如, 在禁食期间激活的糖皮质激素受体对FoxA2存在高度依赖性^[53]。同样, 雄激素反应元件与FoxA1/FoxA2的结合位点通常共同定位于前列腺特异性基因的顺式调节元件中, 雄激素受体与FoxA蛋白相互作用^[54]。大规模

分析雌激素受体结合位点的研究揭示了雌激素反应元件与FoxA1结合位点之间的密切邻近关系,进一步体外研究表明,在乳腺癌细胞系中,雌激素反应至少部分依赖于FoxA1的功能^[55]。

在雌激素受体 α (estrogen receptor, ER α)阳性乳腺癌中,FoxA1过表达通过改变雌激素受体转录和IL-8表达,介导内分泌抵抗^[56]。FoxA1不仅是ER α 阳性乳腺癌的独立愈后生物标志物,其表达还与乳腺癌管腔A亚型(乳腺癌的一种分子亚型)呈正相关。此外,FOXA1对于雄激素受体(androgen receptor, AR)介导的雄激素信号在促进前列腺癌细胞生长中不可或缺^[57]。FoxA1在前列腺肿瘤中的表达水平与格里森分级(Gleason分级)无直接关系,而FoxA2与其有着直接关系并且在浸润性癌和一些高Gleason评分腺癌中上调^[55]。FoxA1通过调节胰岛素样生长因子结合蛋白途径促进前列腺肿瘤的进展^[30]。在急性髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)、食管癌、肺癌和甲状腺癌中FoxA1的表达水平增加,表明它可能是这些癌症的致癌基因^[55]。相反,在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)、胰腺癌和神经胶质瘤中,FoxA1表达降低^[49]。FoxA2表达水平与乳腺癌的复发相关,它通过增加细胞增殖,维持癌症干细胞并促进肿瘤发展发挥作用^[58]。

对消化系统恶性肿瘤的研究发现,FoxA参与了多条信号通路,包括上皮-间质转化过程(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、Hippo-YAP信号通路、调节 α 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)分泌、基因突变、m6A甲基化修饰等^[59]。FoxA1在肺癌的起始中起重要作用,FoxA1的结合位点在FoxA2的启动子区,FoxA1通过FoxA2起作用^[60]。FoxA2与Slug启动子区的结合从而对Slug负性调节,进而调控E钙黏蛋白(E-cadherin),表明FOXA1可能是通过FoxA2调节Slug,进而调控E钙黏蛋白参与EMT途径^[55]。

最近的研究表明,FoxA家族与维持胚胎干细胞状态密切相关。在管腔型乳腺癌(luminal B breast cancer, BC)中,肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)数量与FoxA1表达之间存在显著相关性,乳腺球形成细胞相较于贴壁培养细胞展现了更高的FoxA1和干细胞相关基因的表达水平^[61]。此外,FoxA2和H2A.Z在胚胎干细胞分化期间调节核小体解体和基因激活,表明其在干细胞生物学中的重要作用^[62]。

4.2.2 代谢紊乱

研究表明,FoxA蛋白在代谢器官发育的早期阶段是必不可少的,例如肝脏和胰腺^[15],有助于建立器官在代谢过程中正常运作所必需的基因表达网络^[6]。FoxA蛋白家族具有调节糖脂代谢的作用,与肝脂肪变性和非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)密切相关^[6]。FoxA基因还与代谢疾病相关,特别是在生命晚期,如年龄相关的肥胖症^[63]。

在葡萄糖代谢的调控中,FoxA蛋白起核心作用,其中FoxA2在维持葡萄糖稳态方面尤为重要^[15]。在禁食状态下,FoxA2激活磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)和葡萄糖6磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6Pase)等参与糖异生的基因转录,从而增加葡萄糖的产生以满足身体的能量需求^[63]。相反,在进食状态下,胰岛素信号抑制FoxA2活性,减少糖异生并促进葡萄糖储存。此外,FoxA蛋白对胰腺 α 细胞和 β 细胞的成熟至关重要,这些细胞分别负责胰高血糖素和胰岛素的分泌,调节参与肝糖异生和糖酵解的基因,确保平衡血糖水平^[64]。FoxA1和FoxA3也参与葡萄糖代谢,尽管其作用不如FoxA2明确,但它们在调控外周组织中的胰岛素敏感性和葡萄糖摄取中发挥作用^[65]。研究表明,FoxA1可以增强胰岛素受体的表达,从而改善胰岛素信号通路^[63]。

FoxA在哺乳动物生命多个阶段影响脂质代谢,从糖脂代谢到肝脏脂肪变性和NAFLD的发展,再到年龄相关性肥胖^[37]。它们控制调节脂质摄取、储存和氧化基因的表达,在维持脂质稳态中起关键作用^[64]。NAFLD的特征是非酒精作用引起的肝脏中脂肪堆积过多^[66]。FoxA蛋白参与脂质代谢并成为NAFLD发病机制的关键参与者,FoxA2活性降低可导致脂肪酸氧化减少和脂肪生成增加,促进肝脏中的脂肪堆积^[63]。在人类患者和NAFLD动物模型中都观察到FoxA蛋白表达的改变,例如,FoxA2已被证明在肝脂肪变性期间的表达量减少,从而调节其靶基因内源性肝脏再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)的表达水平,导致内质网应激和脂质沉积增加,影响肝细胞的状态和功能,这一过程对肝脂肪变性和非酒精性脂肪性肝炎的发生至关重要^[63]。此外,FoxA蛋白还调节炎症细胞因子和成纤维基因的表达,从而影响肝脏损伤的严重程度^[63]。

FoxA 蛋白家族还与年龄相关的代谢变化密切相关, 特别是FoxA2和FoxA3, 这两者与年龄增长引起的肥胖和胰岛素抵抗的发展息息相关^[63]。FoxA2突变小鼠的生长激素水平和Stat5b信号转导降低, 年轻时期的FoxA2^{-/-}基因缺陷小鼠的基因表达与老年小鼠相似, 表明FoxA2突变表现出过早衰老的表型^[67]。老化的FoxA3^{-/-}基因缺陷小鼠表现出增加白色脂肪褐变和产热、减少脂肪组织膨胀、改善肝脏脂肪变性和胰岛素敏感性并延长寿命的特征^[26]。FoxA3对棕色脂肪基因程序的调控机制包括通过干扰cAMP反应元件结合蛋白1介导的对过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha, PGC1 α) 启动子的转录调控来抑制PGC1 α 水平, 这些蛋白质会影响脂肪组织功能和能量消耗, 它们的失调会导致与衰老相关的代谢紊乱^[64]。

5 总结与展望

FoxA1、FoxA2和FoxA3具有高度同源的氨基酸序列和相似的DNA结合结构域(FHD)。作为先锋转录因子, FoxA通过核小体换位、开放DNA, 启动基因转录, 并通过降低增强子(enhancer)甲基化水平, 提高增强子活性, 维持染色体持续性结合转录因子的能力^[11], 在决定和维持细胞命运中扮演关键的调控因子^[68-69]。FoxA1、FoxA2和FoxA3通过在胚胎发育的不同阶段表达, 调控基因表达, 参与胚胎发育、细胞分化及疾病发生等关键生理过程。尽管FoxA1^{-/-}、FoxA2^{-/-}和FoxA3^{-/-}单一基因与FoxA1^{-/-}/FoxA3^{-/-}双基因功能缺失小鼠胚胎的前肠内皮细胞和肝脏发育正常, 但是FoxA1^{-/-}/FoxA2^{-/-}基因功能缺失小鼠胚胎肝脏原基缺失, 而FoxA1^{-/-}/FoxA2^{-/-}/FoxA3^{-/-}成年小鼠肝脏基因表达量下降, 肝脏细胞坏死, 导致小鼠死亡, 表明FoxA1、FoxA2和FoxA3功能的补偿性。FoxA在不同动物胚胎发育中呈现出功能多样性, 为揭示FoxA基因的进化和功能演化提供了可能。FoxA2^{-/-}小鼠胚胎死于原肠胚期, 而FoxA1^{-/-}/FoxA2^{-/-}小鼠胚胎死于受精后第10天(E10), 胚胎死亡限制了研究FoxA1、FoxA2和FoxA3的发育功能。但是foxa2^{-/-}基因突变斑马鱼胚胎能够存活, 突变体身体呈“C”型弯曲, 神经和脊髓底板发育出现异常。通过基因编辑技术(CRISPR/Cas9), 构建foxa1^{-/-}和foxa3^{-/-}基因敲除斑马鱼, 为揭示FoxA1、FoxA2

和FoxA3的胚胎发育功能提供可能性。单细胞水平上的转录组、蛋白质组学技术发展, 将为揭示调控FoxA表达的基因及其相互作用关系, 理解FoxA的生理功能和在进化过程中的功能演变奠定基础。

研究支持FoxA蛋白在某些情况下具有致癌作用, 并且它们是肿瘤抑制途径的重要组成部分^[55], 但目前尚不清楚FoxA蛋白如何在这两种相对矛盾的功能之间发挥作用。表观基因组学研究发现, 敲除FoxA导致增强转录活性相关的H3K3me1和H3K27ac修饰丢失, 基因表达水平下降。那么, 能否通过降低FoxA的表达水平, 实现对染色体结构的调整, 降低导致疾病或者癌症基因的表达水平, 从而达到治疗肝脏疾病和癌症的目的, 将会成为未来一个重要的研究方向。

参 考 文 献

- [1] Clevidence D E, Overdier D G, Tao W, *et al.* Identification of nine tissue-specific transcription factors of the hepatocyte nuclear factor 3/forkhead DNA-binding-domain family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(9): 3948-3952
- [2] Weigel D, Seifert E, Reuter D, *et al.* Regulatory elements controlling expression of the *Drosophila* homeotic gene fork head. *EMBO J*, 1990, **9**(4): 1199-1207
- [3] Wang J, Li W, Zhao Y, *et al.* Members of FOX family could be drug targets of cancers. *Pharmacol Ther*, 2018, **181**: 183-196
- [4] Reizel Y, Morgan A, Gao L, *et al.* Collapse of the hepatic gene regulatory network in the absence of FoxA factors. *Genes Dev*, 2020, **34**(15/16): 1039-1050
- [5] Liu Y, Lehmann M. Genes and biological processes controlled by the *Drosophila* FOXA orthologue Fork head. *Insect Mol Biol*, 2008, **17**(2): 91-101
- [6] Friedman J R, Kaestner K H. The Foxa family of transcription factors in development and metabolism. *Cell Mol Life Sci*, 2006, **63**(19/20): 2317-2328
- [7] Lam E W F, Brosens J J, Gomes A R, *et al.* Forkhead box proteins: tuning Forks for transcriptional harmony. *Nat Rev Cancer*, 2013, **13**(7): 482-495
- [8] Lim C Y, Lin H T, Kumsta C, *et al.* SAMS-1 coordinates HLH-30/TFEB and PHA-4/FOXA activities through histone methylation to mediate dietary restriction-induced autophagy and longevity. *Autophagy*, 2023, **19**(1): 224-240
- [9] 张偲昂. FOXA3对食管鳞癌生长及侵袭迁移能力的影响[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2020
- [10] Zhang S A. The Impact of FOXA3 on the Growth and Invasive Migration Ability of Esophageal Squamous Cell Carcinoma [D]. Shanghai: The Naval Medical University, 2020
- [10] Li J, Dantas Machado A C, Guo M, *et al.* Structure of the forkhead domain of FOXA2 bound to a complete DNA consensus site. *Biochemistry*, 2017, **56**(29): 3745-3753

- [11] Iwafuchi-Doi M, Donahue G, Kakumanu A, *et al.* The pioneer transcription factor FoxA maintains an accessible nucleosome configuration at enhancers for tissue-specific gene activation. *Mol Cell*, 2016, **62**(1): 79-91
- [12] Ballaré C, Castellano G, Gaveglia L, *et al.* Nucleosome-driven transcription factor binding and gene regulation. *Mol Cell*, 2013, **49**(1): 67-79
- [13] Kaestner K H. The FoxA factors in organogenesis and differentiation. *Curr Opin Genet Dev*, 2010, **20**(5): 527-532
- [14] Lerner J, Katznelson A, Zhang J, *et al.* Different chromatin-scanning modes lead to targeting of compacted chromatin by pioneer factors FOXA1 and SOX2. *Cell Rep*, 2023, **42**(7): 112748
- [15] Christian W, Shih David Q, Satoru K, *et al.* Role of Foxa-2 in adipocyte metabolism and differentiation. *J Clin Investig*, 2003, **112**(3): 345-356
- [16] Soufi A, Garcia M F, Jaroszewicz A, *et al.* Pioneer transcription factors target partial DNA motifs on nucleosomes to initiate reprogramming. *Cell*, 2015, **161**(3): 555-568
- [17] Heslop J A, Duncan S A. FoxA factors: the chromatin key and doorstep essential for liver development and function. *Genes Dev*, 2020, **34**(15/16): 1003-1004
- [18] Dal-Pra S, Thisse C, Thisse B. FoxA transcription factors are essential for the development of dorsal axial structures. *Dev Biol*, 2011, **350**(2): 484-495
- [19] Zhang Y, Zou X, Ding Y, *et al.* Comparative genomics and functional study of lipid metabolic genes in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Genomics*, 2013, **14**: 164
- [20] Kalke P, Linder S S, Beckers P, *et al.* Palps across the tree - the neuronal innervation and development of sensory head appendages in Annelida. *Front Neurosci*, 2023, **17**: 1310225
- [21] Kuo D H, Hsiao Y H. Duplicated FoxA genes in the leech *Helobdella*: insights into the evolution of direct development in clitellate annelids. *Dev Dyn*, 2018, **247**(5): 763-778
- [22] Sheaffer K L. The Dynamic Gut: Nutrient Regulation of Aging and Development by Pha-4/FoxA. Salt Lake City: The University of Utah, 2010: 19-22
- [23] Norton W H, Mangoli M, Lele Z, *et al.* Monorail/Foxa2 regulates floorplate differentiation and specification of oligodendrocytes, serotonergic raphé neurones and cranial motoneurones. *Development*, 2005, **132**(4): 645-658
- [24] Maier J A, Lo Y, Harfe B D. Foxa1 and Foxa2 are required for formation of the intervertebral discs. *PLoS One*, 2013, **8**(1): e55528
- [25] Jeong Y, Epstein D J. Distinct regulators of Shh transcription in the floor plate and notochord indicate separate origins for these tissues in the mouse node. *Development*, 2003, **130**(16): 3891-3902
- [26] Ma X, Xu L, Gavrilova O, *et al.* Role of forkhead box protein A3 in age-associated metabolic decline. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(39): 14289-14294
- [27] Garon G, Bergeron F, Brousseau C, *et al.* FOXA3 is expressed in multiple cell lineages in the mouse testis and regulates pdgfra expression in leydig cells. *Endocrinology*, 2017, **158**(6): 1886-1897
- [28] Jeong J W, Kwak I, Lee K Y, *et al.* Foxa2 is essential for mouse endometrial gland development and fertility. *Biol Reprod*, 2010, **83**(3): 396-403
- [29] 张雪, 梅梅, 孙华威, 等. FOXA2在肺发育和肺疾病中的研究进展. *微量元素与健康研究*, 2024, **41**(1): 77-79
Zhang X, Mei M, Sun H W, *et al.* *Stud Trace Elem Health*, 2024, **41**(1): 77-79
- [30] Kim J, Jin H, Zhao J C, *et al.* FOXA1 inhibits prostate cancer neuroendocrine differentiation. *Oncogene*, 2017, **36**(28): 4072-4080
- [31] Hong L, Chen M, Huang M, *et al.* FOXA2 suppresses gallbladder carcinoma cell migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition by targeting SERPINB5. *Environ Toxicol*, 2024, **39**(2): 708-722
- [32] Lee J, Møller A F, Chae S, *et al.* A single-cell, time-resolved profiling of *Xenopus* mucociliary epithelium reveals nonhierarchical model of development. *Sci Adv*, 2023, **9**(14): eadd5745
- [33] Durant-Vesga J, Suzuki N, Ochi H, *et al.* Retinoic acid control of pax8 during renal specification of *Xenopus* pronephros involves hox and meis3. *Dev Biol*, 2023, **493**: 17-28
- [34] Watanabe M, Yasuoka Y, Mawaribuchi S, *et al.* Conservatism and variability of gene expression profiles among homeologous transcription factors in *Xenopus laevis*. *Dev Biol*, 2017, **426**(2): 301-324
- [35] Song J, Li Z, Tong X, *et al.* Genome-wide identification and characterization of Fox genes in the silkworm, *Bombyx mori*. *Funct Integr Genomics*, 2015, **15**(5): 511-522
- [36] Lan Q, Cao M, Kollipara R K, *et al.* FoxA transcription factor Fork head maintains the intestinal stem/progenitor cell identities in *Drosophila*. *Dev Biol*, 2018, **433**(2): 324-343
- [37] Wu J, Jiang X, Li Y, *et al.* PHA-4/FoxA senses nucleolar stress to regulate lipid accumulation in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1195
- [38] Lu Q, Gao Y, Fu Y, *et al.* *Ciona* embryonic tail bending is driven by asymmetrical notochord contractility and coordinated by epithelial proliferation. *Development*, 2020, **147**(24): dev185868
- [39] Augello M A, Hickey T E, Knudsen K E. FOXA1: master of steroid receptor function in cancer. *EMBO J*, 2011, **30**(19): 3885-3894
- [40] Ang S, Rossant J. HNF-3 β is essential for node and notochord formation in mouse development. *Cell*, 1994, **78**(4): 561-574
- [41] Lee C S, Friedman J R, Fulmer J T, *et al.* The initiation of liver development is dependent on Foxa transcription factors. *Nature*, 2005, **435**(7044): 944-947
- [42] Wan H, Dingle S, Xu Y, *et al.* Compensatory roles of Foxa1 and Foxa2 during lung morphogenesis. *J Biol Chem*, 2005, **280**(14): 13809-13816
- [43] Bach D H, Long N P, Luu T T T, *et al.* The dominant role of forkhead box proteins in cancer. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(10): 3279
- [44] Schwaiger M, Andrikou C, Dnyansagar R, *et al.* An ancestral Wnt-Brachyury feedback loop in axial patterning and recruitment of

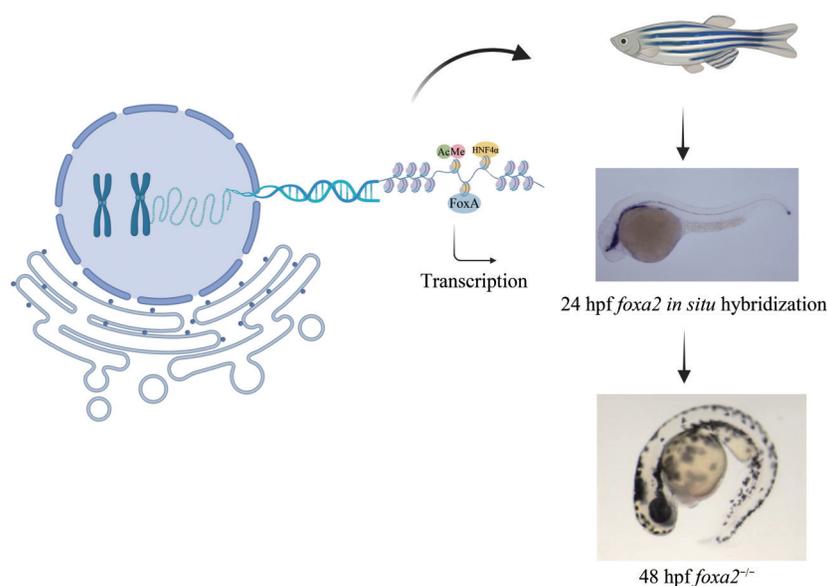
- mesoderm-determining target genes. *Nat Ecol Evol*, 2022, **6**(12): 1921-1939
- [45] Albert S, Müller F, Fischer N, *et al.* Cyclops-independent floor plate differentiation in zebrafish embryos. *Dev Dyn*, 2003, **226**(1): 59-66
- [46] Dickmeis T, Plessy C, Rastegar S, *et al.* Expression profiling and comparative genomics identify a conserved regulatory region controlling midline expression in the zebrafish embryo. *Genome Res*, 2004, **14**(2): 228-238
- [47] Briscoe J, Chen Y, Jessell T M, *et al.* A hedgehog-insensitive form of patched provides evidence for direct long-range morphogen activity of sonic hedgehog in the neural tube. *Mol Cell*, 2001, **7**(6): 1279-1291
- [48] Camus A, Perea-Gomez A, Moreau A, *et al.* Absence of Nodal signaling promotes precocious neural differentiation in the mouse embryo. *Dev Biol*, 2006, **295**(2): 743-755
- [49] Liu Y, Zhao Y, Skerry B, *et al.* Foxa1 is essential for mammary duct formation. *Genesis*, 2016, **54**(5): 277-285
- [50] Ding L, Wang Y, Tang Z, *et al.* Exploration of vitamin D metabolic activity-related biological effects and corresponding therapeutic targets in prostate cancer. *Nutr Metab*, 2024, **21**(1): 17
- [51] Lin Z, Huang W, He Q, *et al.* FOXC1 promotes HCC proliferation and metastasis by Upregulating DNMT3B to induce DNA hypermethylation of CTH promoter. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, **40**(1): 50
- [52] Kim J Y, Kim H J, Kim K T, *et al.* Orphan nuclear receptor small heterodimer partner represses hepatocyte nuclear factor 3/Foxa transactivation *via* inhibition of its DNA binding. *Mol Endocrinol*, 2004, **18**(12): 2880-2894
- [53] Ghazi A. Transcriptional networks that mediate signals from reproductive tissues to influence lifespan. *Genesis*, 2013, **51**(1): 1-15
- [54] Han M, Li F, Zhang Y, *et al.* FOXA2 drives lineage plasticity and KIT pathway activation in neuroendocrine prostate cancer. *Cancer Cell*, 2022, **40**(11): 1306-1323.e8
- [55] Seachrist D D, Anstine L J, Keri R A. FOXA1: a pioneer of nuclear receptor action in breast cancer. *Cancers*, 2021, **13**(20): 5205
- [56] Perez-Balaguer A, Ortiz-Martínez F, García-Martínez A, *et al.* FOXA2 mRNA expression is associated with relapse in patients with triple-negative/basal-like breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, **153**(2): 465-474
- [57] Teng M, Zhou S, Cai C, *et al.* Pioneer of prostate cancer: past, present and the future of FOXA1. *Protein Cell*, 2021, **12**(1): 29-38
- [58] Li Z. Abstract A1-08: Comparative genomics study of FOXA/ER dual regulation in breast cancer and liver cancer. *Cancer Res*, 2015, **75**(22_Supplement_1): A1-8-A1-08
- [59] Jäggle S, Busch H, Freißen V, *et al.* *SNAIL1*-mediated downregulation of FOXA proteins facilitates the inactivation of transcriptional enhancer elements at key epithelial genes in colorectal cancer cells. *PLoS Genet*, 2017, **13**(11): e1007109
- [60] Jin H J, Zhao J C, Ogden I, *et al.* Androgen receptor-independent function of FoxA1 in prostate cancer metastasis. *Cancer Res*, 2013, **73**(12): 3725-3736
- [61] Lee K, Cho H, Rickert R W, *et al.* FOXA2 is required for enhancer priming during pancreatic differentiation. *Cell Rep*, 2019, **28**(2): 382-393.e7
- [62] Xu T, Cao L, Duan J, *et al.* Uncovering the role of FOXA2 in the development of human serotonin neurons. *Adv Sci*, 2023, **10**(32): e2303884
- [63] Yu C, Li X, Zhao Y, *et al.* The role of FOXA family transcription factors in glucolipid metabolism and NAFLD. *Front Endocrinol*, 2023, **14**: 1081500
- [64] Kaestner K H. The hepatocyte nuclear factor 3 (HNF₃ or FOXA) family in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2000, **11**(7): 281-285
- [65] Banasik K, Hollensted M, Andersson E, *et al.* The effect of FOXA2 rs1209523 on glucose-related phenotypes and risk of type 2 diabetes in Danish individuals. *BMC Med Genet*, 2012, **13**: 10
- [66] Byrne C D, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*, 2015, **62**(1 suppl): S47-S64
- [67] 李国强. FOXA3在急/慢性肝损伤后肝再生过程中的作用和机制研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2023
- Li G Q. Study on the Role and Mechanism of FOXA3 in Liver Regeneration After Acute/Chronic Liver Injury[D]. Shanghai: East China Normal University, 2023
- [68] Iwafuchi M, Cuesta I, Donahue G, *et al.* Gene network transitions in embryos depend upon interactions between a pioneer transcription factor and core histones. *Nat Genet*, 2020, **52**(4): 418-427
- [69] Matsui S, Granitto M, Buckley M, *et al.* Pioneer and PRDM transcription factors coordinate bivalent epigenetic states to safeguard cell fate. *Mol Cell*, 2024, **84**(3): 476-489.e10

The Function of *FoxA* Gene in Evolution, Development, and Disease*

WANG Jing-Han, YANG Li-Xin**

(State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Graphical abstract



Abstract The *FoxA* genes belong to a conserved family of transcription factors, that play a crucial role in regulating embryonic development, cellular differentiation, and disease pathogenesis. Initially identified as hepatocyte nuclear factor 3 α (*Hnf3 α*), FoxA is pivotal in activating liver-specific genes and contributing to liver morphogenesis. Studies have shown that FoxA proteins interact with specific DNA sequences and nucleosome-bound DNA, altering the local chromatin structure to regulate gene expression. The unique ability has earned them the designation of “pioneer factors”. The FoxA family comprises three members: FoxA1, FoxA2, and FoxA3. FoxA1 is predominantly expressed in endoderm-derived organs such as the lungs, liver, pancreas, and prostate, where it regulates hormone metabolism, cell cycle, and cell proliferation. FoxA2 is primarily expressed in the floor plate of the vertebrate spinal cord, where it plays a key role in establishing the dorsal-ventral patterning of the neural tube. FoxA3 is mainly expressed in the testes, where it regulates germ cell formation. *FoxA* genes exhibit functional diversity in embryonic development across different species, offering insights into their evolutionary roles. For instance, zebrafish embryos with mutations in the *foxa2^{-/-}* gene can survive,

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (42177259).

** Corresponding author.

Tel: 86-10-84919263, E-mail: yanglx@craes.org.cn

Received: September 3, 2024 Accepted: December 13, 2024

providing an opportunity to study embryonic development mechanisms. Currently, a growing body of research suggests that *FoxA* genes are involved in early embryonic development, cancer, and metabolism-related diseases. This paper summarizes the discovery, expression patterns, and biological functions of the *FoxA* genes while identifying key scientific questions that remain unresolved. It aims to provide readers a solid scientific basis for understanding the molecular mechanisms through which *FoxA* genes regulate embryonic development and contribute to cancer pathogenesis.

Key words FoxA, transcription factor, histone, epithelial mesenchymal transformation, carcinogenesis

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0390

CSTR: 32369.14.pibb.20240390