

锌指蛋白 ZIC2 促进 NSCLC 肿瘤发生、转移及异倍体 CTC 增加

多种锌指蛋白 (zinc finger protein, ZIC) 构成了人体细胞内最大的转录因子家族, 其异常表达可促进多种肿瘤的发生、进展和转移。最近, 中南大学湘雅医院、国家遗传病临床研究中心、中山大学江门中心医院、广东医科大学等单位联合对 ZIC2 在 NSCLC 细胞中的表达、功能、相关机理开展了系统性深入研究, 并利用赛特 SE-iFISH 明确了 ZIC2 高表达与患者 CTC 数量及不良预后的显著相关性。该研究最近已得到发表 (Liu et al. 2021 Mol Ther Oncolytics 22:195) (IF=7.200)。

Molecular Therapy
Oncolytics
Original Article



Silencing ZIC2 abrogates tumorigenesis and anoikis resistance of non-small cell lung cancer cells by inhibiting Src/FAK signaling

Aibin Liu,^{1,2} Huayan Xie,¹ Ronggang Li,³ Liangliang Ren,⁴ Baishuang Yang,¹ Longxia Dai,¹ Wenjie Lu,⁵ Baoyi Liu,⁶ Dong Ren,^{6,7,8} Xin Zhang,^{6,7,8} Qiong Chen,^{1,2} Yanming Huang,⁹ and Ke Shi^{1,2}

¹Department of Genetics, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; ²National Clinical Research Center for Genetic Diseases, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; ³Department of Pathology, Jiangmen Central Hospital, Affiliated Jiangmen Hospital of Sun Yat-sen University, Jiangmen 529000, China; ⁴Clinical Experimental Center, Jiangmen Key Laboratory of Clinical Biobanks and Translational Research, Jiangmen Central Hospital, Affiliated Jiangmen Hospital of Sun Yat-sen University, Jiangmen 529000, China; ⁵Dongguan Key Laboratory of Medical Biotechnology, Dongguan City, Guangdong Province, Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China; ⁶Translational Research, Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China; ⁷Collaborative Innovation Center for Antitumor Active Substance Research and Development, Guangdong Medical University, Zhongshan 528023, China; ⁸Collaborative Innovation Center for Antitumor Active Substance Research and Development, Guangdong Medical University, Zhongshan 528023, China

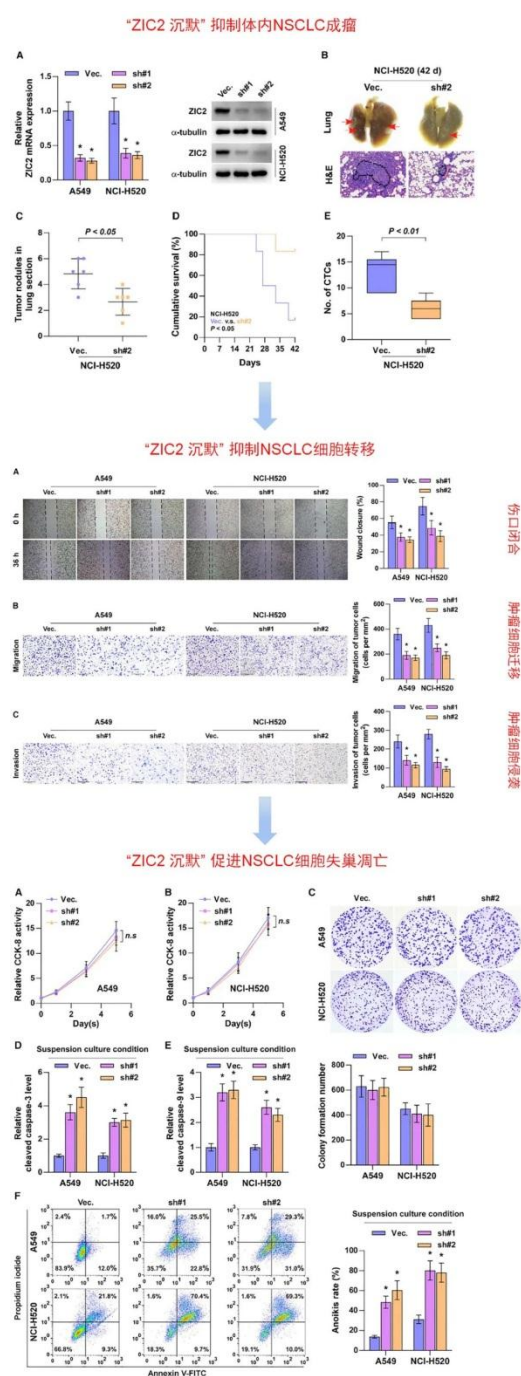
本文重点

- 首次揭示了转录因子 ZIC2 在 NSCLC 细胞中的作用靶标-Src 基因: ZIC2 被沉默(silencing)后, 可在转录水平抑制 Src 表达并阻断 Src/FAK 信号传导通路, 从而抑制肿瘤发生
- 沉默 ZIC2 后, 可促进 NSCLC 细胞失巢凋亡, 进而降低肿瘤转移能力
- ZIC2 表达与血液中 CTC 数量呈正相关: 赛特 SE-iFISH CTC 检测显示, ZIC2 在 NSCLC 细胞中高表达可导致大量 CTC 入血, 促进肿瘤转移
- 检测 ZIC2 表达可预测患者较差的总生存期 (OS) 和无进展生存期 (PFS)

肿瘤细胞从组织上脱落是肿瘤转移的起始步骤, 脱落的肿瘤细胞失去了维持细胞生长的粘附性支持, 可导致细胞凋亡, 此过程被称为“失巢凋亡”。肿瘤细胞的失巢凋亡抗性 (anoikis resistance) 对肿瘤转移的各个环节至关重要, 包括肿瘤细胞脱落、进入血循环、远端器官定植、成瘤等。肿瘤细胞有多重机制维持自身的失巢凋亡抗性, 其中最典型的是 EMT[1] 和激活 Src/FAK 通路[2]。ZIC2 与肿瘤的发生、进展、转移密切相关, 可在多种肿瘤(包括 SCLC)中高表达, 然而在乳腺癌中表达下调[3], 提示 ZIC2 因瘤种而异, 具有致癌或抑癌功能。本文重点研究并阐明了 ZIC2 在 NSCLC 细胞中如何调控失巢凋亡抗性及肿瘤转移。

ZIC2 机理研究

作者通过一系列体内和体外实验揭示了 NSCLC 细胞内 ZIC2 的作用机制。首先通过慢病毒介导建立了敲除内源性 ZIC2、稳定转染的肿瘤细胞系, 并以此构建了肿瘤动物模型。结果显示肿瘤细胞失去(沉默, silencing) ZIC2 功能后, 在鼠体内的成瘤能力明显下降。通过伤口愈合实验、肿瘤细胞迁移、侵袭实验证明, 沉默 ZIC2 可抑制 NSCLC 细胞转移。CCK-8 和细胞集落形成实验显示, 沉默 ZIC2 抑制体内成瘤与细胞增殖(proliferation)无关, 但会促进与细胞凋亡相关的 caspase-3 和 caspase-9 的剪切。进一步的流式细胞实验显示沉默 ZIC2 会阻断失巢凋亡抗性, 提高 NSCLC 细胞的失巢凋亡比例, 从而抑制体内成瘤。

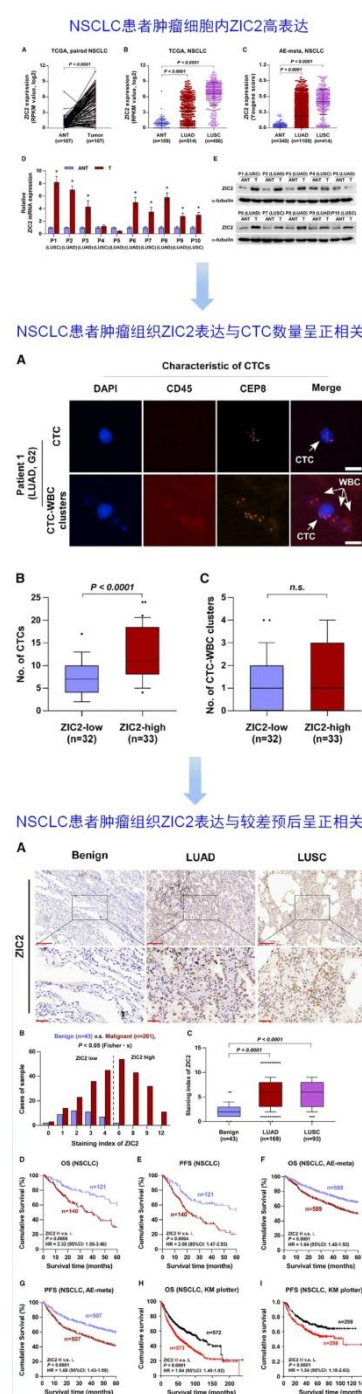


作者随后又开展了一系列实验锁定了 Src 是 ZIC2 的作用靶标,证实沉默 ZIC2 可以有效抑制 Src 的 mRNA 和蛋白表达,并阻断 Src/FAK 通路,从而下调肿瘤细胞的失巢凋亡抗性[4]。

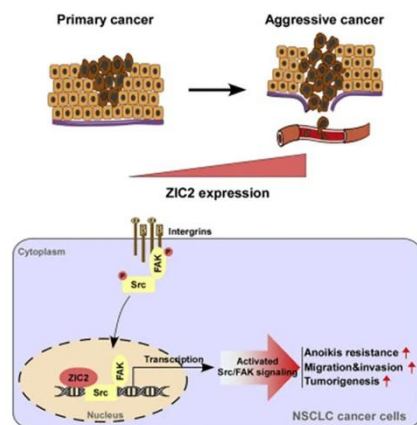
临床检测

针对上述揭示的 NSCLC 中 ZIC2 的作用机制,本文作者又开展了临床实

验来进一步验证。TCGA 分析显示,相比于癌旁组织,ZIC2 在 NSCLC(包括肺腺癌 LUAD 和肺鳞癌 LUSC)细胞核中的表达显著升高。作者利用赛特 SE-iFISH 系统性检测了 NSCLC 患者体内异倍体 CTC,发现高表达 ZIC2 与血中 CTC 数量呈显著正相关。针对大样本 NSCLC 临床数据分析显示,高表达 ZIC2 可有效预测 NSCLC 的早期进展及较差预后(包括 PFS 和 OS)。



综上所述，作者将 ZIC2 在 NSCLC 细胞中的作用原理汇总如下：锌指蛋白 ZIC2 在 NSCLC 等多种肿瘤细胞（乳腺癌除外）中含量增高，导致 Src mRNA 高表达，激活 Src/FAK 信号传导通路，从而使肿瘤细胞的失巢凋亡抗性、迁移、侵袭及成瘤能力显著增加。肿瘤细胞中 ZIC2 高表达与肿瘤进展、转移、较差预后及大量 CTC 入血密切相关。



阐明 ZIC2 在 NSCLC 中的作用机制将会增加人们对非小细胞肺癌发生、进展与转移的进一步了解，有助于开发新的肿瘤治疗方法。

相关文献

Chaffer et al. 2011 A perspective on cancer cell metastasis. Science 331:1559.

Sood et al. 2010 Adrenergic modulation of focal adhesion kinase protects human ovarian cancer cells from anoikis. J Clin Invest 120:1515.

Liu et al. 2020 ZIC2 is down regulated and represses tumor growth via the regulation of STAT3 in breast cancer. Int J Cancer 147:505.

Mo et al. 2020 IQGAP1 promotes anoikis resistance and metastasis through Rac1-dependent ROS accumulation and activation of Src/FAK signalling in hepatocellular carcinoma. Br J Cancer 123:1154.