

DOI:10.3724/zdxbyxb-2022-0459

· 综述 ·

# 恶性肿瘤新靶标PHF5A的研究现状及治疗展望

李曼<sup>1</sup>,程倩倩<sup>1</sup>,王效静<sup>2,3</sup>,杨燕<sup>1</sup>

1. 蚌埠医学院第一附属医院肿瘤内科,安徽蚌埠 233004
2. 呼吸系病临床基础安徽省重点实验室,安徽蚌埠 233004
3. 蚌埠医学院第一附属医院分子诊断中心,呼吸与危重症医学科,安徽蚌埠 233004

**[摘要]** 植物同源域锌指蛋白5A(PHF5A)是PHD-finger样蛋白超家族成员之一,广泛表达于真核生物细胞核中,其PHD-finger样结构域是蛋白质-DNA或蛋白质-蛋白质相互作用区。PHF5A除作为剪接体蛋白组成亚单位调控靶基因的选择性剪接外,还在胚胎干细胞的多潜能性维持、染色质结构重塑、DNA损伤修复、胚胎形成与组织形态发育等方面发挥重要作用。近年来,越来越多的研究集中在探索PHF5A的剪接体相关功能和非剪接体相关功能,及其功能异常与乳腺癌、肺癌、结直肠癌等多种恶性肿瘤的发生、发展及预后的关系,并发现其潜在机制可能包括介导靶基因的异常选择性剪接、作为原癌基因/蛋白激活下游信号通路、作为核转录因子或辅因子调控异常的基因转录等。此外,PHF5A还参与某些肿瘤干细胞的生长调控。本文就PHF5A的结构及功能特点及其在多种恶性肿瘤发生发展中的作用进行综述,以期抗肿瘤治疗提供潜在作用靶点。



**[关键词]** 植物同源域锌指蛋白5A;恶性肿瘤;胚胎干细胞;肿瘤干细胞;选择性剪接;综述

**[中图分类号]** R73 **[文献标志码]** A

## Research progress and therapeutic prospect of PHF5A acting as a new target for malignant tumors

LI Man<sup>1</sup>, CHENG Qianqian<sup>1</sup>, WANG Xiaojing<sup>2,3</sup>, YANG Yan<sup>1</sup> (1. Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, Anhui Province, China; 2. Anhui Clinical and Preclinical Key Laboratory of Respiratory Disease, Bengbu 233004, Anhui Province, China; 3. Molecular Diagnosis Center, Department of

收稿日期:2022-08-03 接受日期:2022-10-01

基金项目:国家自然科学基金(82072585);安徽省自然科学基金(2008085MH238);安徽省高校优秀青年人才支持计划(gxyq2022042);蚌埠医学院研究生科研创新计划(Byyxcx20046)

第一作者:李曼,硕士研究生,主要从事呼吸和消化系统恶性肿瘤的临床和基础研究;E-mail:leeman6361@outlook.com; <https://orcid.org/0000-0003-4292-1564>

通信作者:杨燕,副主任医师,副教授,硕士生导师,主要从事呼吸和消化系统恶性肿瘤的临床和基础研究;E-mail: [qianmianhupo@163.com](mailto:qianmianhupo@163.com); <https://orcid.org/0000-0003-0887-2770>

*Pulmonary and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, Anhui Province, China)*

Corresponding author: YANG Yan, E-mail: [qiannianhupo@163.com](mailto:qiannianhupo@163.com), <https://orcid.org/0000-0003-0887-2770>

[ **Abstract** ] PHD-finger domain protein 5A (PHF5A) is a member of the PHD-finger like protein superfamily and widely expressed in the nucleus of eukaryotes. The PHD-finger like domain is a protein-DNA or protein-protein interaction region. In addition to regulate alternative splicing of target genes as a spliceosome protein subunit, PHF5A is also involved in pluripotency maintenance of embryonic stem cells, chromatin remodeling, DNA damage repair, embryogenesis and histomorphological development. Recently, increasing studies have focused on exploring spliceosome-related and non-spliceosome-related functions of PHF5A and its relationship with the tumorigenesis, development and patient prognosis of various malignant tumors, such as breast cancer, lung cancer and colorectal cancer. The underlying mechanisms of PHF5A may include mediating aberrant alternative splicing of target genes, activating downstream signaling pathways as an oncogene/protein, and regulating abnormal gene transcription as a nuclear transcription factor or cofactor. Besides, PHF5A was also found to be involved in the growth regulation of cancer stem cells. In this review, we aimed to delineate the structural and functional characteristics of PHF5A, to summarize its role in the occurrence and development of malignant tumors hitherto described, and to provide potential targets for anti-tumor therapy.

[ **Key words** ] PHD-finger domain protein 5A; Malignant tumor; Embryonic stem cell; Cancer stem cell; Alternative splicing; Review

[ J Zhejiang Univ (Med Sci), 2022, 51(5): 647-655. ]

[ **缩略语** ] 植物同源域锌指蛋白5A(PHD-finger domain protein 5A, PHF5A); U2-核小核糖核蛋白(U2-small nuclear ribonucleoprotein, U2-snRNP); 剪接因子3B(splicing factor 3b, SF3B); RNA聚合酶II相关因子1复合物(polymerase II-associated factor 1 complex, PAF1C); Fas激活的丝氨酸/苏氨酸激酶(FAS-activated serine/threonine kinase, FASTK); 转录增强相关结构域(transcriptional enhanced associate domain, TEAD); 核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B); 胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)

近年来,高通量测序和其他组学方法等高通量技术的应用将人们对肿瘤发病机制的认知从大体和病理层面转向更为深入的分子和基因层面,同时还发现了许多与肿瘤发生发展相关的基因或分子靶标。针对这些异常基因或分子的靶向治疗,研究者通过干扰特定基因或分子而特异性地杀伤肿瘤细胞,从而抑制肿瘤的生长、进展和转移,同时不影响病变周围正常组织及细胞的生长和功能<sup>[1]</sup>。针对明确位点的分子靶向药物正逐渐应用于临床,在一定程度上改善了该类肿瘤患者的预后和生存<sup>[2]</sup>。然而,获得精准、有效的分子靶

向治疗的前提是明确与肿瘤生物学特性有关的分子位点。

研究发现,PHF5A功能异常与肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭等恶性生物学行为有关<sup>[3-5]</sup>。PHF5A是PHD-finger样蛋白超家族成员之一,广泛表达于真核生物细胞核中。PHF5A一方面可作为RNA剪接体复合物的组成亚单位参与靶基因的选择性剪接;另一方面可通过其非剪接体相关功能参与调控多种生物学事件,如胚胎干细胞多潜能性维持<sup>[6]</sup>、染色质重塑<sup>[7-8]</sup>、DNA损伤修复<sup>[9]</sup>以及细胞生长和分化<sup>[10]</sup>等,因此,未来可能作为一种

新的抗肿瘤靶标。本文简要介绍了PHF5A的结构及生物学功能,并阐述PHF5A参与恶性肿瘤发生发展的作用机制及潜在的治疗药物。

## 1 PHF5A的生物学功能

*Phf5a*基因最早发现位于小鼠15号染色体E区上<sup>[7]</sup>,后来发现其表达于从酵母菌到人类几乎所有的真核生物中。人PHF5A与小鼠*Phf5a*、大鼠*Phf5a*的基因编码序列的一致性分别高达91%和94%,三个物种的蛋白氨基酸编码序列则完全一致<sup>[7]</sup>。PHF5A基因编码一种由110个氨基酸组成的、进化上高度保守的小分子蛋白,后者含有一个特征性PHD-finger样功能结构域。而早在1993年就发现PHD-finger样结构域是一段由八个规律间隔氨基酸(Cys<sub>4</sub>-His-Cys<sub>3</sub>)组成的序列<sup>[11]</sup>,主要参与构成转录激活物、抑制物、协同因子的蛋白质组和涉及染色质调节复合物蛋白质组<sup>[12]</sup>,是蛋白质-蛋白质或蛋白质-DNA相互作用的功能区域。PHF5A具有多种生物学功能,其中最主要分为剪接体相关功能和非剪接体相关功能两大类。

### 1.1 PHF5A参与的剪接体相关功能调控

选择性剪接指通过不同的剪接方式将前mRNA转变为功能、结构各异的mRNA异构体的过程,有利于维持机体稳态,是细胞内蛋白质获得多样性的基础。约95%的人类基因在细胞核中会发生不同程度的选择性剪接<sup>[13]</sup>。选择性剪接由五种不同的核小核糖核酸和包含U2-snRNP在内的多种核小核糖核蛋白组装而成。研究发现,PHF5A是构成U2-snRNP剪接复合物的重要亚单位(图1),可维持SF3B剪接体的结构稳定性<sup>[14]</sup>。SF3B复合物是由U2-snRNA、剪接因子3A和SF3B以及其他相关蛋白组装而成的U2-snRNP的一部分。在前mRNA剪接的过程中,PHF5A主要发挥识别内含子3'端分支点序列的作用,从而确保RNA的剪接过程精准无误。PHF5A可作为桥梁蛋白促进U2-snRNP和ATP依赖的DNA/RNA解旋酶EP400和DDX1之间的相互作用<sup>[15]</sup>。此外,小鼠*Phf5a*的表达水平在小鼠精子发生的不同阶段具有差异;体内免疫共沉

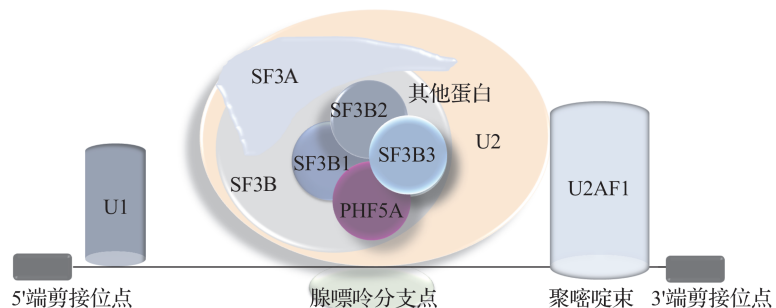
淀检测证实*Phf5a*在精子发生过程中的精母细胞阶段与构成U2-snRNP辅助因子小亚基的U2AF1和剪接因子强烈共表达,提示*Phf5a*是雄性生殖细胞减数分裂分化的重要因子<sup>[15]</sup>。

选择性剪接异常可导致蛋白促癌功能的激活,进而参与如细胞癌变、肿瘤进展、药物抵抗等多种生物学过程。作为选择性剪接的关键调节因子,剪接因子在肿瘤选择性剪接功能失调中起关键作用,可能是癌症治疗新的潜在靶点<sup>[16]</sup>。已有研究表明,PHF5A作为剪接因子在乳腺癌<sup>[3]</sup>、肺癌<sup>[17]</sup>、直肠癌<sup>[5,18]</sup>等的发生及发展中发挥重要作用。

### 1.2 PHF5A参与的非剪接体相关功能调控

已有不少研究发现,构成U2-snRNP复合体的SF3B亚单位具有非剪接体相关功能调控作用,在稳定PAF1C结构、控制RNA聚合酶II在多潜能位点上的延长及胚胎干细胞多潜能性<sup>[6]</sup>、参与DNA损伤修复和与组蛋白直接的相互作用中发挥重要作用<sup>[9,19-20]</sup>。

胚胎干细胞具有无限增殖、自我更新及多向分化潜能,可以分化为组织中几乎所有细胞类型,这一特性依赖各种调节因子的维持<sup>[21]</sup>,其中最核心的多潜能转录调节因子是Oct4、Sox2和Nanog等<sup>[22]</sup>。PAF1C是决定RNA聚合酶II功能和组蛋白修饰沉积的关键因子,可调控胚胎干细胞的分化和发育。目前研究表明,PHF5A可通过稳定PAF1C结构稳定性及控制RNA聚合酶II在多潜能位点上的延长来维持胚胎干细胞的多潜能性和自我更新;相反,沉默PHF5A后,通过质谱分析及免疫共沉淀技术证实PHF5A与PAF1C亚单位失去相互作用,导致PAF1C亚单位结构稳定性下降、结



U2-snRNP主要由SF3A、SF3B1/2/3、PHF5A等构成,在识别及去除前mRNA内含子中发挥重要作用。U2-snRNP:U2-核小核糖核蛋白;PHF5A:植物同源域锌指蛋白5A;SF:剪接因子;U2AF:U2小核糖核蛋白辅助因子。

图1 剪接复合物U2-snRNP组成结构示意图

Figure 1 Schematic of components and structure of splicing complex U2-snRNP

合 Nanog 等多潜能基因的功能丧失<sup>[6]</sup>。此外,敲减 *PHF5A* 还可导致 PAF1C 靶基因转录延长相关的组蛋白修饰标志物的表达及多潜能基因的转录发生障碍<sup>[23]</sup>,如 H2BK120 泛素化增强而 H3K79 甲基化减弱。通过对比多潜能胚胎干细胞和已分化的细胞中 *PHF5A* 基因及其蛋白表达的差异,发现多潜能胚胎干细胞中 *PHF5A* 无论在基因还是蛋白水平均高表达,但随着细胞不断分化,其表达水平迅速下调;沉默 *PHF5A* 后,与干性维持有关的基因呈现下调趋势,而早期胚胎发育相关基因表达则上调<sup>[24]</sup>。另外,*PHF5A* 沉默还可造成多潜能基因的 RNA 聚合酶 II 近端启动子的停顿及延伸障碍从而促进细胞分化<sup>[23]</sup>。以上结果提示,*PHF5A* 在维持胚胎干细胞多能性、细胞重编程等方面发挥重要作用。

作为 PHD-finger 样结构超家族成员,*PHF5A* 还可能是一种染色质相关蛋白,参与染色质重塑<sup>[7]</sup>。在小鼠 B 细胞上,*Phf5a* 可通过保持染色质完整性来调节非同源末端连接依赖的 DNA 修复,进而产生最佳的 DNA 损伤反应,其机制可能是 *Phf5a* 参与稳定组蛋白 p400 伴侣复合体,反过来又促进了组蛋白 H2A 异构体如 H2AX 和 H2A.Z 的沉积,这对早期 DNA 损伤反应及非同源末端连接至关重要<sup>[9]</sup>。

此外,*PHF5A* 还在胚胎形成和组织形态发育等方面发挥重要作用。在秀丽隐杆线虫中,*Phf5a* 的表达兼具时空特异性和组织特异性;*Phf5a* 在线虫胚胎发育的形态发生阶段开始表达,一直持续到成虫阶段,且特异性地表达于咽部、体壁肌肉和肛门肌中;*Phf5a* 基因敲除具有胚胎致死性,可见 *Phf5a* 在秀丽隐杆线虫胚胎发育的形态发生及幼虫阶段至关重要<sup>[8]</sup>。此外,有研究表明 *Phf5a* 缺失在酵母菌中是致命的<sup>[7]</sup>。然而,*PHF5A* 在胚胎形成和组织形态发育中的机制尚未完全阐明。

## 2 PHF5A在恶性肿瘤发生发展中的作用

恶性肿瘤的发生、发展往往受基因的多方面异常调控。目前发现 *PHF5A* 可通过介导靶基因的异常选择性剪接、作为原癌基因/蛋白、转录因子或辅因子等在乳腺癌<sup>[3]</sup>、肺癌<sup>[4]</sup>、结直肠癌<sup>[5]</sup>、肝细胞癌<sup>[25]</sup>、子宫内膜癌<sup>[26]</sup>、口腔鳞癌<sup>[27]</sup>等多种肿瘤的发生发展过程中发挥调控作用。此外,*PHF5A* 还参与调控肿瘤干细胞的自我更新、生长

等<sup>[24,28-29]</sup>。*PHF5A* 在不同肿瘤中的调控作用及生物学功能见表 1。

### 2.1 PHF5A通过介导靶基因的异常选择性剪接调控肿瘤进程

研究发现,*PHF5A* 是乳腺癌进展的重要选择性剪接因子,在乳腺癌中高表达,并与患者生存不良相关,可作为独立的预后因素;体外敲减 *PHF5A* 基因可显著抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和体内成瘤能力,并可通过增强 FASTK 的表达而促进 Fas 介导的细胞凋亡,这种受 *PHF5A* 调控的 FASTK-选择性剪接轴引起的细胞凋亡效应在三阴性乳腺癌细胞上尤为明显<sup>[3]</sup>。说明 *PHF5A* 作为一种表观遗传的细胞凋亡抑制因子,将来可能成为一个有价值的表观遗传学治疗新靶点。这一发现深入揭示了可变剪接与表观遗传学信息的内在联系,为相关领域的研究提供了重要启示,也为肿瘤新靶标的发掘提供了理论依据。Mao 等<sup>[17]</sup>发现 *PHF5A* 可通过调节许多细胞周期及凋亡相关基因的异常选择性剪接促进肺癌的发生发展,如细胞周期相关基因 *SKP2*、*CHEK2*、*ATR* 和凋亡相关基因 *API5* 和 *BCL2L13* 等。Wang 等<sup>[5]</sup>研究表明,肿瘤组织中 *PHF5A* 赖氨酸 29 号残基 (*PHF5A*-K29) 乙酰化水平较癌旁组织升高,这与较差的临床分期和较低的 3 年存活率密切相关;机制上,细胞应激条件下,*PHF5A*-K29 高乙酰化可增强其与 U2-snRNP 相关蛋白之间的相互作用,影响前 mRNA 的整体剪接模式和全基因组范围内的基因表达<sup>[5]</sup>。此外,该研究还发现高 *PHF5A*-K29 乙酰化诱导的选择性剪接可通过稳定赖氨酸去甲基化酶 3A 的 mRNA、增强其蛋白表达来激活 Wnt 信号通路,从而增强结肠癌细胞的应激抵抗能力,促进结直肠癌的发生<sup>[5]</sup>。Chang 等<sup>[18]</sup>发现,与正常癌旁组织比较,结直肠癌组织标本上 *PHF5A* 表达上调,并与患者不良预后相关;且 *PHF5A* 在肝转移灶中的表达较结直肠癌原发肿瘤组织更高;体内外研究结果显示,*PHF5A* 可促进结直肠癌的增殖、转移和进展,其机制可能与 *PHF5A* 诱导 TEAD2 基因 2 号外显子异常拼接形成长异构体 TEAD2-L,进而促进 Hippo 信号转导及肿瘤进展有关;采用染色质免疫沉淀测序进一步发现,与正常人结肠上皮细胞相比,结直肠癌细胞中组蛋白 H3-赖氨酸 27 号残基乙酰化水平在 *PHF5A* 的启动子区域显著升高,说明 *PHF5A* 可在结直肠癌中以蛋白乙酰化修饰的表观遗传学

表1 PHF5A在不同肿瘤中的调控作用及生物学功能

Table 1 Regulatory role and biological functions of PHF5A in different tumors

肿瘤类型	功能	靶基因/蛋白	相关机制或通路	作用	参考文献
乳腺癌	剪接因子	FASTK	作为表观遗传的细胞凋亡抑制因子调控FASTK-AS轴	增强细胞增殖、迁移能力和致瘤性,抑制细胞凋亡	[3]
非小细胞肺癌及其肿瘤干细胞	癌基因;剪接因子	IGFBP3、DDIT3、CHD4和HDAC8、PIK3CB、SKP2等	PHF5A-TOMM22-氧化磷酸化调控网络;CHD4-PHF5A相互作用激活RhoA/ROCK通路	增强细胞增殖、迁移、侵袭能力和致瘤性,抑制细胞凋亡,促进异种移植瘤生长;与肿瘤进展及患者预后不良相关	[4, 17, 30-32]
结直肠癌	剪接因子	KDM3A、TEAD2	增强U2-snRNP亚单位间的相互作用,影响前mRNA的整体剪接模式;高PHF5A-K29乙酰化诱导的AS上调KDM3A并激活Wnt通路,进而调控细胞应激反应;促进TEAD2外显子2包含体剪接以激活Yes相关蛋白	在体内外促进细胞增殖、转移;促进异种移植瘤生长;与患者较差的临床分期及较低的3年存活率密切相关	[5, 18]
肝细胞癌	癌基因	NF-κB	增强NF-κB通路活性,上调MMP9及Slug	促进肝细胞癌迁移、侵袭及肿瘤进展	[25]
胃癌	癌基因	NF-κB	增强NF-κB通路活性,上调磷酸化IκBα及细胞周期蛋白D1	促进细胞增殖、迁移;与患者不良预后相关	[33-34]
口腔鳞癌肿瘤干细胞	—	—	—	与患者较短的无病生存期有关	[27]
胰腺癌肿瘤干细胞	剪接因子	—	形成PAF1-PHF5A-DDX3亚复合体,定位于Nanog启动子区域,增加肿瘤干细胞多能干细胞转录因子及干性标志物的表达以维持干性	促进肿瘤球、原位瘤及转移灶的形成	[24]
子宫内膜癌	剪接因子/辅因子	Gja1	在雌激素存在下,促进Gja1的表达	与子宫内膜腺癌发生可能有关	[26]
GBM干细胞	剪接因子	—	增强对富含C的3'端剪接位点外显子的识别	促进GBM干细胞增殖及异种移植瘤的发生发展	[35]

—:无相关资料。PHF5A:植物同源域锌指蛋白5A;FASTK:Fas激活的丝氨酸/苏氨酸激酶;AS:选择性剪接;IGFBP:胰岛素样生长因子结合蛋白;DDIT:DNA损伤诱导转录因子;CHD:染色质解旋酶DNA结合蛋白;HDAC:组蛋白去乙酰化酶;SKP:S期激酶相关蛋白;TOMM:线粒体外膜转移酶;RhoA:Ras同源基因家族成员A;ROCK:Rho相关卷曲螺旋蛋白激酶;KDM3A:赖氨酸去甲基化酶3A;TEAD:转录增强相关结构域;U2-snRNP:U2-核小核糖核蛋白;NF-κB:核因子-κB;MMP:基质金属蛋白酶;IκB:NF-κB抑制蛋白;PAF:RNA聚合酶II相关因子;DDX:DEAD-box RNA解旋酶;Gja1:缝隙连接蛋白α1;GBM:胶质母细胞瘤。

机制调控肿瘤的发生。总之,以上研究揭示了PHF5A通过调节靶基因的选择性剪接进而在恶性肿瘤发生、发展中发挥重要作用,可能成为抗肿瘤治疗的潜在靶点。

## 2.2 作为原癌基因/蛋白参与肿瘤的发生发展

研究发现,PHF5A还作为原癌基因或癌蛋白参与非小细胞肺癌、肝细胞癌、胃癌、子宫内膜腺癌等肿瘤的发生发展<sup>[25-26,33]</sup>。Yang等<sup>[4]</sup>通过组织微阵列、免疫组化及TCGA数据库分析发现,PHF5A在肺腺癌组织中表达显著高于癌旁正常组织,并与肿瘤大小、淋巴结转移及临床分期正相关;而体外敲减PHF5A能显著抑制细胞增殖及迁移、侵袭,诱导细胞凋亡与S期细胞周期阻滞等,同时抑制异种移植小鼠体内肺腺癌的生长,提示PHF5A可作为一种新的原癌基因促进肺腺癌的发

生和发展;PHF5A还在转录水平上通过调控细胞凋亡/周期相关因子DDIT3、Skp2、P53及胰岛素样生长因子-1信号通路分子IGFBP3、PIK3CB、AKT2等参与肿瘤的发生<sup>[4]</sup>。此外,在基于RNA结合蛋白基因预测肺鳞癌患者预后模型的研究中,PHF5A-线粒体外膜转移酶22-氧化磷酸化调控网络是一种重要的调控方式<sup>[30]</sup>。染色质解旋酶DNA结合蛋白4是一种与DNA损伤修复、细胞周期调控有关的蛋白,其过表达可与PHF5A在蛋白层面上相互作用,从而间接增强非小细胞肺癌的增殖和迁移能力<sup>[31]</sup>。Yang等<sup>[25]</sup>发现PHF5A在肝细胞癌组织及细胞表达上调,敲减PHF5A可抑制肝癌细胞的迁移、侵袭能力,且该效应与下调NF-κB经典信号通路活性有关。曹一凡等<sup>[33]</sup>发现,胃癌MGC803细胞上PHF5A的表达较正常胃上皮细胞

高,而敲减胃癌细胞中 *PHF5A* 也可以通过 NF- $\kappa$ B 通路影响细胞增殖和迁移。

### 2.3 作为核转录因子或辅因子参与肿瘤的发生

研究发现,*PHF5A* 在雌激素存在的情况下作为核转录因子或辅因子与缝隙连接蛋白 $\alpha$ 1 基因(编码缝隙连接蛋白43)启动子-71~-34位的核苷酸特异性结合,进而增强宫颈癌细胞上缝隙连接蛋白 $\alpha$ 1 基因的表达来介导后续的细胞间信息交流<sup>[36]</sup>。Falck 等<sup>[26]</sup>通过对比人类和大鼠子宫内腺癌组织标本及良性子宫内膜组织上 *PHF5A* 及缝隙连接蛋白 $\alpha$ 1 的表达情况发现,与良性组织相比,*PHF5A* 在人类子宫内腺癌中表达上调,而在大鼠肿瘤标本中表达下调。可见,*PHF5A* 及缝隙连接蛋白 $\alpha$ 1 在不同恶性肿瘤的进程中扮演不同的角色,其病理生理功能及作用机制值得进一步研究。

### 3 *PHF5A* 参与肿瘤干细胞的调控及其相关机制

肿瘤细胞中存在一小部分被称为肿瘤干细胞的亚群<sup>[37]</sup>,该亚群细胞因拥有自我更新、无限增殖、多向分化潜能等特性而被认为是肿瘤形成和进展的重要基础,亦与肿瘤复发、转移和耐药等密切相关<sup>[38]</sup>,清除肿瘤干细胞成为临床亟待攻克的难题。*PHF5A* 除参与调控肿瘤进程外,还参与调控肿瘤干细胞的自我更新、生长等<sup>[24,28-29]</sup>。在患者来源的 GBM 干细胞上进行多基因组的 RNAi 筛选发现,*PHF5A* 是 GBM 干细胞扩增所必需的差异基因。靶向敲减该干细胞上 *PHF5A* 基因后,细胞发生周期停滞和活力丧失,体内肿瘤干细胞异种移植瘤的形成和已建立的患者来源异种移植 GBM 的生长均被抑制<sup>[28]</sup>,此过程可能与 *PHF5A* 介导的外显子的剪接作用有关<sup>[35]</sup>。*PHF5A* 还与 PAF1C、RNA 聚合酶 DDX3 结合形成亚复合体并定位在多潜能基因 *Nanog* 的启动子区域,从而调节胰腺癌肿瘤干细胞干性基因等的表达<sup>[24]</sup>。Mohanta 等<sup>[27]</sup>通过对比组织微阵列、TCGA 数据库及肿瘤干细胞数据库发现,*PHF5A* 与口腔鳞癌患者较差的无病生存期有关,可能是一种能够特异性预测患者预后的有效肿瘤干细胞标志物。与非小细胞肺癌亲本细胞相比,肿瘤干细胞上 *PHF5A* 高表达,且其迁移、侵袭能力增强;过表达 *PHF5A* 可诱导非小细胞肺癌干样表型出现,而靶向敲减肿瘤干细胞上 *PHF5A* 可抑制细胞干性表型<sup>[32]</sup>。可见,*PHF5A* 可

能为临床消灭肿瘤干细胞,解决肿瘤复发、转移、耐药等难题提供潜在治疗靶点。

### 4 靶向 *PHF5A* 或相关 SF3B 复合物的潜在药物

SF3B1 是构成剪接体的特异性亚单位之一,其构象的维持对剪接体的正确组装及细胞正常生物学功能的发挥具有重要意义<sup>[39]</sup>。某些血液系统恶性肿瘤如慢性粒细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病和骨髓异常增生综合征等常伴 *SF3B1* 突变,而后可导致不当的分支点选择和错误拼接,从而促进疾病的发生<sup>[40]</sup>。在细胞功能调控中,选择性剪接处于较为上游的位置,且具有比 DNA 操控更为灵活的可干预性。因此,在抗肿瘤研究及药物研发中,剪接调节剂的应用有望为癌症治疗提供新颖和个性化的手段<sup>[41]</sup>。随着选择性剪接及其小分子抑制剂的研究不断深入,目前已研发出几种特异性靶向 SF3B 复合物或直接靶向 SF3B1 的小分子抑制剂,如 Spliceostatin A<sup>[42]</sup>、Pladienolide B<sup>[43]</sup> 等可通过改变 SF3B1 和 *PHF5A* 蛋白识别不同内含子分支点序列的能力来精确校准前 mRNA 的组成性或选择性剪接过程,从而发挥其抗肿瘤活性。

Spliceostatin A 是最早发现的靶向 SF3B 复合物的小分子调节剂,可通过阻止 SF3B1 与前 mRNA 的结合而发挥抑制前 mRNA 剪接的作用<sup>[44]</sup>。作为假单胞菌细菌发酵产物的衍生物,Spliceostatin A 在体内、外均展现出一定的抗肿瘤活性和细胞增殖抑制效应。Spliceostatin A 及其衍生物在前列腺癌中显示出一定的抗肿瘤效应及逆转耐药的能力<sup>[45-46]</sup>。Spliceostatin A 还具有抑制 *SF3B1* 突变的乳腺癌细胞生长<sup>[47]</sup>、诱导患者组织来源的慢性淋巴细胞白血病细胞凋亡<sup>[48]</sup>、抑制宫颈癌细胞增殖<sup>[44]</sup>等效应。与此同时,Spliceostatin A 还可干扰肿瘤细胞中包括血管内皮生长因子在内多种蛋白的表达,从而发挥抗肿瘤作用<sup>[49]</sup>。

Pladienolide B 是一种天然产物,最早在平板链球菌 Mer-11107 中发现,作为靶向 SF3B1 的选择性剪接抑制剂,在异种移植小鼠模型中展现出较好的抗肿瘤活性<sup>[50-51]</sup>。Pladienolide B 可阻断剪接复合物与分支序列结合,造成选择性剪接障碍,进而诱导红白血病细胞<sup>[52]</sup>与人宫颈癌细胞<sup>[53]</sup>凋亡和细胞周期阻滞。通过抑制异常的选择性剪接及诱导细胞凋亡,Pladienolide B 可抑制胃癌细胞株和胃癌患者癌性腹水原代培养癌细胞增殖,并能

够抑制体内异种移植瘤的生长<sup>[34]</sup>。此外, Pladienolide B在胰腺癌<sup>[54]</sup>、弥漫性恶性腹膜间皮瘤<sup>[55]</sup>等多种恶性肿瘤中均表现出一定的抗肿瘤活性。

作为选择性剪接复合物SF3B的重要组成部分,靶向调控SF3B的小分子或化合物也与PHF5A关系密切。如靶向SF3B1的选择性剪接抑制剂Pladienolide B同时具有抑制PHF5A的作用<sup>[14]</sup>。有研究利用Pladienolide B处理肺癌细胞,结果发现Pladienolide B以剂量依赖的方式抑制细胞增殖,并可诱导与PHF5A基因敲除相似的变化<sup>[17]</sup>。骨髓异常增生综合征或白血病患者SF3B1或PHF5A常发生突变,从而导致DNA双链断裂损伤<sup>[56-57]</sup>;相反,敲除SF3B1或PHF5A后,急性淋巴细胞白血病细胞SEM对DNA交联剂丝裂霉素C高度敏感,表明Pladienolide B联合DNA损伤剂可在急性淋巴细胞白血病中引起协同效应。Sciarrillo等<sup>[58]</sup>发现,糖皮质激素抵抗的小儿急性淋巴细胞白血病细胞系CEM/R30dm对Pladienolide B敏感,后者可能成为糖皮质激素耐药急性淋巴细胞白血病患者的一种潜在治疗选择。

然而,利用Spliceostatin A、Pladienolide B等剪接调节剂进行抗性克隆筛选并通过基因组测序后发现,组成SF3B复合物亚单位的PHF5A或SF3B1可发生突变,常见突变体包括PHF5A-Y36C、SF3B1-K1071、SF3B1-R1074和SF3B1-V1078等,这些突变会导致剪接调节剂抵抗;同时PHF5A-Y36C可通过抑制剪接调节剂的整体作用、改变剪接调节剂诱导的内含子保留/外显子跳跃谱而产生Spliceostatin A、Pladienolide B耐药<sup>[14]</sup>。然而,在晶体结构上,Pladienolide B可将原本处于“开放”构象状态的SF3B复合体转变为“关闭”状态,从而影响正常的选择性剪接,并产生Pladienolide B抵抗<sup>[59]</sup>。但与此同时,Finci等<sup>[60]</sup>发现PHF5A-R38C突变可使细胞对某些Pladienolide类似物敏感。以上研究说明PHF5A的不同位点突变可能对某些剪接调节剂产生不同的生物学效应。

## 5 结 语

PHF5A通过剪接体相关或者非剪接体相关的功能参与恶性肿瘤的发生发展及肿瘤干细胞调控,可见PHF5A是一个具有良好抗癌治疗前景的肿瘤新靶标。针对PHF5A的剪接调节剂研发也具

有重要意义,并可能为实现某些天然产物的基于结构的药物设计提供重要参考。未来有必要深入了解PHF5A的结构及生物学功能,如PHF5A可能存在的不同突变位点及其结构特点、生物学功能等,并挖掘其在肿瘤进展中的深层分子机制,在此基础上进一步开发特异性药物,从而为临床抗肿瘤治疗提供新思路 and 策略。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] LEE Y T, TAN Y J, OON C E. Molecular targeted therapy: treating cancer with specificity[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 834: 188-196.
- [2] BEDARD P L, HYMAN D M, DAVIDS M S, et al. Small molecules, big impact: 20 years of targeted therapy in oncology[J]. *Lancet*, 2020, 395(10229): 1078-1088.
- [3] ZHENG Y Z, XUE M Z, SHEN H J, et al. PHF5A epigenetically inhibits apoptosis to promote breast cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(12): 3190-3206.
- [4] YANG Y, ZHU J, ZHANG T, et al. PHD-finger domain protein 5A functions as a novel oncoprotein in lung adenocarcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 65.
- [5] WANG Z, YANG X, LIU C, et al. Acetylation of PHF5A modulates stress responses and colorectal carcinogenesis through alternative splicing-mediated upregulation of KDM3A[J]. *Mol Cell*, 2019, 74(6): 1250-1263.e6.
- [6] STRIKOUDIS A, LAZARIS C, TRIMARCHI T, et al. Regulation of transcriptional elongation in pluripotency and cell differentiation by the PHD-finger protein Phf5a[J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(11): 1127-1138.
- [7] TRAPPE R, AHMED M, GLÄSER B, et al. Identification and characterization of a novel murine multigene family containing a PHD-finger-like motif[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293(2): 816-826.
- [8] TRAPPE R, SCHULZE E, RZYMSKI T, et al. The Caenorhabditis elegans ortholog of human PHF5a shows a muscle-specific expression domain and is essential for C. elegans morphogenetic development[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 297(4): 1049-1057.
- [9] BEGUM N A, HAQUE F, STANLIE A, et al. Phf5a regulates DNA repair in class switch recombination via p400 and histone H2A variant deposition[J/OL]. *EMBO J*, 2021, 40(12): e106393.
- [10] OLTRA E, VERDE F, WERNER R, et al. A novel

- RING-finger-like protein Ini1 is essential for cell cycle progression in fission yeast[J]. **J Cell Sci**, 2004, 117(6): 967-974.
- [11] SCHINDLER U, BECKMANN H, CASHMORE A R. HAT3.1, a novel Arabidopsis homeodomain protein containing a conserved cysteine-rich region[J]. **Plant J**, 1993, 4(1): 137-150.
- [12] 王天一, 王应祥, 尤辰江. 植物PHD结构域蛋白的结构与功能特性[J]. **遗传**, 2021, 43(4): 323-339.  
WANG Tianyi, WANG Yingxiang, YOU Chenjiang. Structural and functional characteristics of plant PHD domain-containing proteins[J]. **Yi Chuan**, 2021, 43(4): 323-339. (in Chinese)
- [13] ZHANG Y, QIAN J, GU C, et al. Alternative splicing and cancer: a systematic review[J]. **Sig Transduct Target Ther**, 2021, 6(1): 78.
- [14] TENG T, TSAI J H, PUYANG X, et al. Splicing modulators act at the branch point adenosine binding pocket defined by the PHF5A-SF3b complex[J]. **Nat Commun**, 2017, 8(1): 15522.
- [15] RZYMSKI T, GRZMIL P, MEINHARDT A, et al. PHF5A represents a bridge protein between splicing proteins and ATP-dependent helicases and is differentially expressed during mouse spermatogenesis[J]. **Cytogenet Genome Res**, 2008, 121(3-4): 232-244.
- [16] LEE S C W, ABDEL-WAHAB O. Therapeutic targeting of splicing in cancer[J]. **Nat Med**, 2016, 22(9): 976-986.
- [17] MAO S, LI Y, LU Z, et al. PHD finger protein 5A promoted lung adenocarcinoma progression via alternative splicing[J]. **Cancer Med**, 2019, 8(5): 2429-2441.
- [18] CHANG Y, ZHAO Y, WANG L, et al. PHF5A promotes colorectal cancer progression by alternative splicing of TEAD2[J]. **Mol Ther Nucleic Acids**, 2021, 26: 1215-1227.
- [19] KFIR N, LEV-MAOR G, GLAICH O, et al. SF3B1 association with chromatin determines splicing outcomes[J]. **Cell Rep**, 2015, 11(4): 618-629.
- [20] MARTINEZ E, PALHAN V B, TJERNBERG A, et al. Human STAGA complex is a chromatin-acetylating transcription coactivator that interacts with pre-mRNA splicing and DNA damage-binding factors *in vivo*[J]. **Mol Cell Biol**, 2001, 21(20): 6782-6795.
- [21] HUANG G, YE S, ZHOU X, et al. Molecular basis of embryonic stem cell self-renewal: from signaling pathways to pluripotency network[J]. **Cell Mol Life Sci**, 2015, 72(9): 1741-1757.
- [22] BOYER L A, LEE T I, COLE M F, et al. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells[J]. **Cell**, 2005, 122(6): 947-956.
- [23] STRIKOUDIS A, LAZARIS C, NTZIACHRISTOS P, et al. Opposing functions of H2BK120 ubiquitylation and H3K79 methylation in the regulation of pluripotency by the Paf1 complex[J]. **Cell Cycle**, 2017, 16(24): 2315-2322.
- [24] KARMAKAR S, RAUTH S, NALLASAMY P, et al. RNA polymerase II-associated factor 1 regulates stem cell features of pancreatic cancer cells, independently of the PAF1 complex, via interactions with PHF5A and DDX3[J]. **Gastroenterology**, 2020, 159(5): 1898-1915.e6.
- [25] YANG Q, ZHANG J, XU S, et al. Knockdown of PHF5A inhibits migration and invasion of HCC cells via downregulating NF- $\kappa$ B signaling[J]. **Biomed Res Int**, 2019, 2019: 1621854.
- [26] FALCK E, KLINGA-LEVAN K. Expression patterns of Phf5a/PHF5A and Gjal/GJA1 in rat and human endometrial cancer[J]. **Cancer Cell Int**, 2013, 13(1): 43.
- [27] MOHANTA S, SEKHAR KHORA S, SURESH A. Cancer stem cell based molecular predictors of tumor recurrence in oral squamous cell carcinoma[J]. **Arch Oral Biol**, 2019, 99: 92-106.
- [28] HUBERT C G, BRADLEY R K, DING Y, et al. Genome-wide RNAi screens in human brain tumor isolates reveal a novel viability requirement for PHF5A[J]. **Genes Dev**, 2013, 27(9): 1032-1045.
- [29] 辛梦阳, 王嘉倍. PHF5A在肿瘤发生发展中作用的研究进展[J]. **医学综述**, 2021, 27(16): 3178-3182.  
XIN Mengyang, WANG Jiabei. Research progress in role of PHF5A in tumor development[J]. **Medical Recapitulate**, 2021, 27(16): 3178-3182. (in Chinese)
- [30] ZHAO S, LIU Q, LI J, et al. Construction and validation of prognostic regulation network based on RNA-binding protein genes in lung squamous cell carcinoma[J]. **DNA Cell Biol**, 2021, 40(12): 1563-1583.
- [31] XU N, LIU F, WU S, et al. CHD4 mediates proliferation and migration of non-small cell lung cancer via the RhoA/ROCK pathway by regulating PHF5A[J]. **BMC Cancer**, 2020, 20(1): 262.
- [32] YANG Y, LI M, ZHOU X, et al. PHF5A Contributes to the Maintenance of the cancer stem-like phenotype in non-small cell lung cancer by regulating histone deacetylase 8[J]. **Ann Clin Lab Sci**, 2022, 52(3): 439-451.
- [33] 曹一凡, 张如通, 苟雅雯, 等. PHF5A通过NF- $\kappa$ B通路影响胃癌细胞MGC803的增殖和迁移[J]. **安徽医科大学学报**, 2020, 55(8): 1198-1203.  
CAO Yifan, ZHANG Rutong, GOU Yawen, et al. Effect of PHF5A on proliferation and migration of human gastric cancer cells via regulating NF- $\kappa$ B signaling[J]. **Acta Universitatis Medicinalis Anhui**, 2020, 55(8): 1198-1203. (in Chinese)
- [34] SATO M, MUGURUMA N, NAKAGAWA T, et al. High antitumor activity of pladienolide B and its derivative in gastric cancer[J]. **Cancer Sci**, 2014, 105(1): 110-116.
- [35] A spliceosome protein is essential for glioma stem cell viability[J]. **Cancer Discov**, 2013, 3(7): OF22.



- [36] OLTRA E, PFEIFER I, WERNER R. Ini, a small nuclear protein that enhances the response of the connexin43 gene to estrogen[J]. **Endocrinology**, 2003, 144(7): 3148-3158.
- [37] REYA T, MORRISON S J, CLARKE M F, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells[J]. **Nature**, 2001, 414(6859): 105-111.
- [38] NAJAFI M, FARHOOD B, MORTEZAEI K. Cancer stem cells (CSCs) in cancer progression and therapy[J]. **J Cell Physiol**, 2019, 234(6): 8381-8395.
- [39] MAJI D, GROSSFIELD A, KIELKOPF C L. Structures of SF3b1 reveal a dynamic Achilles heel of spliceosome assembly: implications for cancer-associated abnormalities and drug discovery[J]. **Biochim Biophys Acta Gene Regulatory Mech**, 2019, 1862(11-12): 194440.
- [40] LARSEN N A. The SF3b complex is an integral component of the spliceosome and targeted by natural product-based inhibitors [J]. **Subcell Biochem**, 2021, 96: 409-432.
- [41] BONNAL S C, LÓPEZ-OREJA I, VALCÁRCEL J. Roles and mechanisms of alternative splicing in cancer — implications for care[J]. **Nat Rev Clin Oncol**, 2020, 17(8): 457-474.
- [42] KAIDA D, MOTOYOSHI H, TASHIRO E, et al. Spliceostatin A targets SF3b and inhibits both splicing and nuclear retention of pre-mRNA[J]. **Nat Chem Biol**, 2007, 3(9): 576-583.
- [43] KOTAKE Y, SAGANE K, OWA T, et al. Splicing factor SF3b as a target of the antitumor natural product pladienolide[J]. **Nat Chem Biol**, 2007, 3(9): 570-575.
- [44] CORRIONERO A, MIÑANA B, VALCÁRCEL J. Reduced fidelity of branch point recognition and alternative splicing induced by the anti-tumor drug spliceostatin A[J]. **Genes Dev**, 2011, 25(5): 445-459.
- [45] WANG B, LO U G, WU K, et al. Developing new targeting strategy for androgen receptor variants in castration resistant prostate cancer[J]. **Int J Cancer**, 2017, 141(10): 2121-2130.
- [46] YOSHIKAWA Y, ISHIBASHI A, TAKEHARA T, et al. Design and synthesis of 1,2-deoxy-pyranose derivatives of spliceostatin A toward prostate cancer treatment[J]. **ACS Med Chem Lett**, 2020, 11(6): 1310-1315.
- [47] MAGUIRE S L, LEONIDOU A, WAI P, et al. SF3B1 mutations constitute a novel therapeutic target in breast cancer[J]. **J Pathol**, 2015, 235(4): 571-580.
- [48] LARRAYOZ M, BLAKEMORE S J, DOBSON R C, et al. The SF3B1 inhibitor spliceostatin A (SSA) elicits apoptosis in chronic lymphocytic leukaemia cells through downregulation of Mcl-1[J]. **Leukemia**, 2016, 30(2): 351-360.
- [49] FURUMAI R, UCHIDA K, KOMI Y, et al. Spliceostatin A blocks angiogenesis by inhibiting global gene expression including VEGF[J]. **Cancer Sci**, 2010, 101(11): 2483-2489.
- [50] YOKOI A, KOTAKE Y, TAKAHASHI K, et al. Biological validation that SF3b is a target of the antitumor macrolide pladienolide[J]. **FEBS J**, 2011, 278(24): 4870-4880.
- [51] MIZUI Y, SAKAI T, IWATA M, et al. Pladienolides, new substances from culture of streptomyces platensis mer-11107 III. *In vitro* and *in vivo* antitumor activities[J]. **J Antibiot**, 2004, 57(3): 188-196.
- [52] JORGE J, PETRONILHO S, ALVES R, et al. Apoptosis induction and cell cycle arrest of pladienolide B in erythroleukemia cell lines[J]. **Invest New Drugs**, 2020, 38(2): 369-377.
- [53] ZHANG Q, DI C, YAN J, et al. Inhibition of SF3b1 by pladienolide B evokes cycle arrest, apoptosis induction and p73 splicing in human cervical carcinoma cells[J]. **Artif Cells Nanomed Biotechnol**, 2019, 47(1): 1273-1280.
- [54] ALORS-PEREZ E, BLÁZQUEZ-ENCINAS R, ALCALÁ S, et al. Dysregulated splicing factor SF3B1 unveils a dual therapeutic vulnerability to target pancreatic cancer cells and cancer stem cells with an anti-splicing drug[J]. **J Exp Clin Cancer Res**, 2021, 40(1): 382.
- [55] SCIARRILLO R, WOJTUSZKIEWICZ A, EL HAS-SOUNI B, et al. Splicing modulation as novel therapeutic strategy against diffuse malignant peritoneal mesothelioma[J]. **eBiomedicine**, 2019, 39: 215-225.
- [56] SINGH S, AHMED D, DOLATSHAD H, et al. The SF3B1 K700E mutation induces R-Loop accumulation and associated DNA damage[J]. **Blood**, 2019, 134(Supplement\_1): 4219.
- [57] SANKAR S, GUILLEN NAVARRO M, PONTAN F, et al. The SF3b splicing complex regulates DNA damage response in acute lymphoblastic leukemia[J]. **Blood**, 2019, 134(Supplement\_1): 1237.
- [58] SCIARRILLO R, WOJTUSZKIEWICZ A, KOOI I E, et al. Glucocorticoid resistant pediatric acute lymphoblastic leukemia samples display altered splicing profile and vulnerability to spliceosome modulation[J]. **Cancers**, 2020, 12(3): 723.
- [59] CRETU C, AGRAWAL A A, COOK A, et al. Structural basis of splicing modulation by antitumor macrolide compounds[J]. **Mol Cell**, 2018, 70(2): 265-273.e8.
- [60] FINCI L I, ZHANG X, HUANG X, et al. The cryo-EM structure of the SF3b spliceosome complex bound to a splicing modulator reveals a pre-mRNA substrate competitive mechanism of action[J]. **Genes Dev**, 2018, 32(3-4): 309-320.

[本文编辑 沈敏 沈洁]