

巨噬细胞中 FBXW7 基因缺失对小鼠黑色素瘤肺转移的影响

张 玮^{1,2}, 来利华³, 王青青³

1. 杭州市第一人民医院肿瘤科, 浙江 杭州 310006

2. 杭州市肿瘤医院肿瘤化疗科, 浙江 杭州 310002

3. 浙江大学免疫学研究所, 浙江 杭州 310058

[摘要] **目的:**探究巨噬细胞中 E3 泛素连接酶 FBXW7 基因的表达对小鼠 B16F10 黑色素瘤肺转移的影响及可能的机制。**方法:**构建巨噬细胞中缺失 FBXW7 基因的条件性基因敲除小鼠。将 FBXW7^{flax/flax} 小鼠与带有 Lysozyme M-Cre 的转基因小鼠杂交繁殖,通过提取尾巴基因组 DNA 进行 PCR 鉴定,建立髓系细胞选择性 FBXW7 基因缺失的小鼠即 Lysm⁺ FBXW7^{fl/fl} 小鼠(实验组),同窝生的 Lysm⁻ FBXW7^{fl/fl} 小鼠作为对照组。尾静脉注射小鼠黑色素瘤细胞系 B16F10 至两组小鼠,14 d 后处死小鼠,计数肺部肿瘤的转移灶,称量肺部的重量。将肺组织消化成单细胞悬液后,流式细胞术检测免疫细胞亚群。**结果:**构建的 Lysm⁻ Cre-FBXW7^{fl/fl} 小鼠腹腔巨噬细胞和骨髓来源巨噬细胞中,FBXW7 基因成功敲除。与对照组比较,实验组肺肿瘤转移灶减少($P < 0.05$),脾脏中巨噬细胞、树突状细胞、粒细胞的比例均无变化(均 $P > 0.05$),肺组织中的转移相关巨噬细胞比例降低($P < 0.05$),而居住型巨噬细胞比例增加($P < 0.05$)。**结论:**巨噬细胞 FBXW7 基因缺失能够抑制小鼠黑色素瘤肺部转移,其机制可能与转移部位的转移相关巨噬细胞比例降低有关;FBXW7 可能参与调控转移相关巨噬细胞的趋化及功能。



[关键词] 巨噬细胞;黑色素瘤;肺肿瘤/继发性;肿瘤转移;细胞运动;泛素蛋白连接酶复合物;基因缺失

[中图分类号] R73-37; R739.5 **[文献标志码]** A

Effects of myeloid specific deficiency of FBXW7 on lung metastasis of murine melanoma

ZHANG Wei^{1,2}, LAI Lihua³, WANG Qingqing³ (1. Department of Oncology, Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 310006, China; 2. Department of Chemotherapy, Hangzhou Cancer Hospital, Hangzhou 310002, China; 3. Institute of Immunology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

收稿日期:2017-01-04 接受日期:2017-03-08

基金项目:国家自然科学基金(81373115)

第一作者:张 玮(1980—),女,硕士,主治医师,主要从事肿瘤复发转移相关机制的研究;E-mail: zhangwei329@hotmail.com; <http://orcid.org/0000-0003-0687-123X>

通讯作者:王青青(1971—),女,博士,教授,主要从事炎症微环境中巨噬细胞功能的调控;E-mail: wqq@zju.edu.cn; <http://orcid.org/0000-0002-0415-0052>

Corresponding author: WANG Qingqing, E-mail: wqq@zju.edu.cn, <http://orcid.org/0000-0002-0415-0052>

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of myeloid-specific deficiency of FBXW7 on lung metastasis of murine B16F10 melanoma and its mechanisms. **Methods:** Mice carrying the floxed allele of FBXW7 and lysozyme M-Cre were used for generation of mice with myeloid cell-specific deletion of FBXW7. Mouse genotypes were examined by genomic DNA PCR. B16F10 cells in PBS were injected into the tail vein of $Lysm^{-}FBXW7^{f/f}$ and $Lysm^{+}FBXW7^{f/f}$ mice. After 14 d, the mice were sacrificed, and the lungs were removed and weighed. B16F10 tumor colonies in the lungs were counted. The myeloid cells were analyzed by flow cytometry. **Results:** Myeloid-specific deficiency of FBXW7 mice were generated successfully, as FBXW7 expressions in peritoneal macrophages and bone marrow-derived macrophages (BMDMs) of $Lysm^{+}FBXW7^{f/f}$ mice were knockdown. Flow cytometry results showed the deletion of FBXW7 in myeloid lineages did not affect the development of myeloid immune cell subsets. Metastasis was reduced in $Lysm^{+}FBXW7^{f/f}$ mice compared with control mice. The number of tumor colonies was 165 ± 42 , 122 ± 12 respectively. The proportion of metastasis-associated macrophages (MAM) in the lungs of $Lysm^{+}FBXW7^{f/f}$ mice was reduced [$(23.15 \pm 7.59)\%$ vs $(13.13 \pm 2.26)\%$], while the proportion of resident macrophages increased [$(5.426 \pm 0.42)\%$ vs $(10.42 \pm 1.90)\%$]. The proportion of myeloid-derived suppressor cells in the lung showed no difference between $Lysm^{-}FBXW7^{f/f}$ and $Lysm^{+}FBXW7^{f/f}$ mice. **Conclusion:** Myeloid-specific deficiency of FBXW7 can inhibit lung metastasis of murine B16F10 melanoma in mice, and the mechanism may be associated with regulation of MAM in the metastatic tumor lesions.

[Key words] Macrophages; Melanoma; Lung neoplasms/secondary; Neoplasm metastasis; Cell movement; Ubiquitin-protein ligase complexes; Gene deletion

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2017,46(2):111-117.]

肿瘤转移是导致肿瘤患者死亡的主要原因之一,影响肿瘤转移的因素除了肿瘤细胞本身的特质以外,肿瘤微环境也在其中发挥着重要的作用^[1]。研究发现,骨髓来源的免疫细胞,如B细胞^[1]、髓系来源的抑制性细胞^[2]、巨噬细胞^[3]等都能够影响肿瘤的发生、发展和转移。其中,肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage)作为浸润在肿瘤原位的巨噬细胞,能够促进肿瘤的生长和转移^[4]。近年来研究发现,在肿瘤转移部位有一群转移相关巨噬细胞(metastasis-associated macrophages)^[5],主要由外周血的 $CD11b^{+}Ly6c^{+}$ 单核细胞通过 CCR2/CCL2 途径趋化至肿瘤转移部位分化产生,其可能通过分泌血管内皮生长因子改变血管的渗透性,从而促进肿瘤细胞在转移部位的渗出及存活、生长,但其中的调控机制尚不

清楚^[6]。由此,深入了解转移相关巨噬细胞发挥功能的调控机制,能帮助我们更好地了解肿瘤转移的发生机制,并为临床提供潜在的治疗靶点。

FBXW7,又名 FBW7、SEL-10、hCDC4、hAgo,是 SCF E3 泛素连接酶复合物(SKPI-CUL1-F-box)中的 F-box 蛋白,具有识别靶蛋白的作用^[7]。FBXW7 在肿瘤的发生发展、脂类代谢、维持干细胞的稳态等过程中发挥着重要的作用,其机制主要通过识别靶蛋白,导致靶蛋白降解。迄今研究发现,FBXW7 识别的靶基因大部分为促进生长相关基因,如 cyclin E^[8]、c-Myc^[9]、c-Jun^[10]等,由此认为 FBXW7 是一个抑癌基因。约有 6% 的肿瘤患者原发癌组织中 FBXW7 基因发生了突变,其中约 43% 的突变发生于识别底物的 WD40 结构域中的精氨酸残基(Arg 465、Arg 479),最终导致

其不能识别相关靶基因并使其降解^[11]。利用 FBXW7 组织特异性敲除小鼠证实 FBXW7 参与了 T 细胞淋巴瘤、肠道肿瘤等的发生发展^[12-13]。然而,FBXW7 对肿瘤微环境中的免疫细胞的调控作用仍不明确,对肿瘤转移的作用也不清楚。本研究采用髓系细胞特异性 FBXW7 基因缺失的小鼠,探究巨噬细胞中的 FBXW7 基因对小鼠黑色素瘤肺转移的调控作用。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

小鼠黑色素瘤细胞系 B16F10 购于美国标准生物制品收藏中心(ATCC),冻存于浙江大学免疫学研究所;FBS 购于美国 Gibco 公司;DMEM 培养基、青霉素和链霉素双抗、胰酶 EDTA 消化液购于杭州科易公司;PCR 引物购于杭州擎科梓熙生物技术有限公司;RNAiso Plus 提取试剂盒购于日本 TaKaRa 公司;逆转录试剂盒购于日本 TOYOBO 公司;荧光定量试剂盒 SYBR 购于上海罗氏诊断产品有限公司;PBS 配制试剂购于国药化学试剂有限公司自己配制;抗 CD11c-APC 抗体、抗 F4/80-FITC 抗体、抗 Gr1-FITC 抗体、抗 CD11b-PE 抗体购于美国 eBioscience 公司。凝胶电泳成像仪系美国 Bio-Rad ChemiDoc™ XRS+, 荧光定量 PCR 仪系美国 Bio-Rad CFX96 Touch™, 流式细胞仪系美国 BD FACS Calibur。

1.2 实验动物

C57BL/6J 背景的 FBXW7^{fl/fl} 转基因小鼠购于美国 Jackson 实验中心。C57BL/6J 背景的 Lysm-Cre 小鼠由浙江大学吴希美教授惠赠。小鼠均在浙江大学实验动物中心 SPF 级环境中饲养和繁殖。

1.3 Lysm⁺ FBXW7^{fl/fl} 小鼠的构建

通过 Cre/loxP 重组系统构建髓系细胞(包括巨噬细胞和中性粒细胞)中特异性敲除 FBXW7 的小鼠,即将 FBXW7^{fl/fl} 小鼠与带有 Lysozyme M-Cre 的转基因小鼠杂交繁殖,后代经鉴定为 Lysm⁺ FBXW7^{fl/fl} 小鼠作为实验组($n = 6$)。FBXW7^{fl/fl} 小鼠中,Loxp 插入在第 5、6 个外显子两端,Cre 酶可将这两个外显子剪除(图 1)。同时,将同窝生的 Lysm⁻ FBXW7^{fl/fl} 小鼠作为对照组($n = 6$)。

1.4 Lysm⁺ FBXW7^{fl/fl} 小鼠基因组鉴定

取小鼠尾巴提取基因组 DNA,通过相应的引

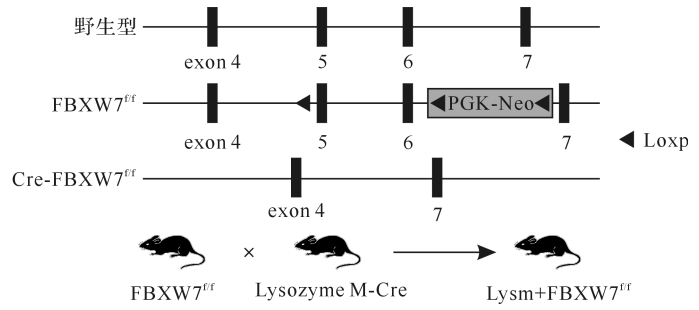


图 1 建立 Lysm⁺ FBXW7^{fl/fl} 小鼠技术路线图

Figure 1 Construction of mice with myeloid deficiency of FBXW7

物(Lysm 基因:上游引物,5'-CCCAGAAATGCCAG ATTACG-3',下游引物,5'-CTTGGGCTGCCAGAAT TTCTC-3';FBXW7 基因:上游引物,5'-ATTGATA CAAACTGGAGACGAGG-3',下游引物,5'-ATAGT AATCCTCCTGCCTTGGC-3'),进行 PCR,产物采用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶电泳成像仪观察条带大小。

1.5 RT-PCR 验证 Lysm⁺ FBXW7^{fl/fl} 小鼠模型

收集细胞,按 RNAiso Plus 说明书提取细胞总 RNA,使用逆转录试剂盒进行逆转录得到 cDNA,使用相应的定量 PCR 引物和 SYBR 染料,在荧光定量 PCR 仪上进行检测和分析。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 FBXW7 mRNA 的表达水平。 $\Delta\Delta Ct = Ct$ 值(实验组靶基因 - 实验组 GAPDH) - Ct 值(对照组靶基因 - 对照组 GAPDH)。引物序列如下:FBXW7:上游引物,5'-TGCAAAGTCTCAGATTATACC-3',下游引物,5'-ACTTCTCTGGTCCGCTCCAGC-3';GAPDH:上游引物,5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGG-3',下游引物,5'-ACACATTGGGGGTAGGAACA-3'。

1.6 建立小鼠肿瘤肺转移模型

取对数生长期 B16F10 细胞,消化计数并调整细胞浓度至所需浓度,用注射器抽取肿瘤细胞悬液注射两组小鼠尾静脉下,每只注射 0.2 mL。接种后第 14 d 小鼠断颈处死,开胸取肺脏置于培养皿中称取质量,肉眼观察并计数小鼠肺部肿瘤转移灶数目。

1.7 流式细胞术检测肿瘤肺转移小鼠免疫细胞亚群

小鼠断颈处死后,取脾脏置于含预冷的 PBS 培养皿,用注射器吸取 PBS 反复冲洗脾脏,离心收集脾脏细胞后,加入红细胞裂解液裂解红细胞,再用 PBS 洗涤重悬并计数,获得脾脏单细胞悬液。

将肿瘤转移灶计数后的肺脏置于含预冷的 PBS 培养皿中,剪碎,转移至 50 mL 离心管中,加入胶原蛋白酶 IV 37 °C 消化 1 h。之后,过 200 目筛网收集细胞,进一步加入红细胞裂解液裂解红细胞后用 PBS 洗涤重悬并计数,获得肺单细胞悬液。

上述得到的脾脏或肺脏单细胞悬液中,分别加入 Fc 受体阻断剂 CD16/CD32 室温孵育 10 min 之后,加入相应抗体(抗 CD11c-APC 抗体、抗 F4/80-FITC 抗体、抗 Gr1-FITC 抗体、抗 CD11b-PE 抗体)室温避光孵育 15 min, PBS 洗涤一次后,400 mL PBS 重悬,在流式细胞仪上进行检测。所得结果用 FlowJo 软件进行分析,分析小鼠脾脏中性粒细胞、巨噬细胞、树突状细胞的比例,以及肺脏巨噬细胞亚群的比例。

1.8 统计学方法

实验数据采用 Graphpad Prism 6 软件进行 Student's *t* 检验,计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 $Lysm^+$ FBXW7^{fl/fl} 小鼠鉴定结果

FBXW7^{fl/fl} 小鼠与带有 Lysozyme M-Cre 的转基因小鼠杂交繁殖后,子代基因型鉴定结果如图 2 所示,Cre 阳性 PCR 片段大小为 700 bp,FBXW7^{fl/fl} 阳性 PCR 片段大小为 497 bp;FBXW7^{+/+} WT PCR 片段大小为 315 bp。含 Cre 阳性片段及 FBXW7^{fl/fl} 阳性片段,同时不含 FBXW7^{+/+} WT 片段的小鼠即为 $Lysm^+$ FBXW7^{fl/fl} 小鼠(图 2)。PCR 检测结果显示,与对照组比较, $Lysm^+$ FBXW7^{fl/fl} 小鼠腹腔巨噬细胞和骨髓巨噬细胞中 FBXW7 表达均降低(0.9550 ± 0.04546 与 0.1410 ± 0.06199 , 1.0350 ± 0.16040 与 0.1417 ± 0.03547 , 均 $P < 0.001$),提示 $Lysm^+$ FBXW7^{fl/fl} 小鼠巨噬细胞中 FBXW7 已敲除。

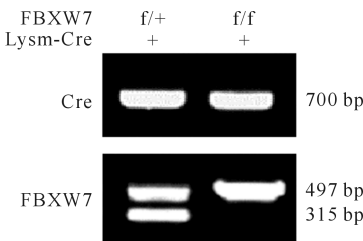
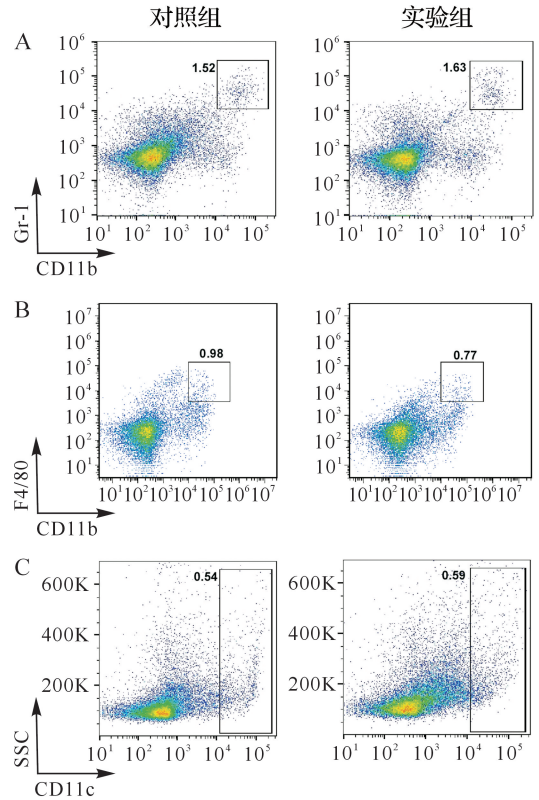


图 2 $Lysm^+$ FBXW7^{fl/fl} 小鼠基因组 PCR 结果

Figure 2 Identification of the genome of $Lysm^+$ FBXW7^{fl/fl} mouse

2.2 实验组小鼠表型检测结果

实验组与对照组小鼠外形、毛色等表型特征上相近。进一步检测两组脾脏中 CD11b⁺ Gr1⁺ 中性粒细胞、CD11b⁺ F4/80 巨噬细胞、CD11c⁺ 树突状细胞的比例,结果两组差异无统计学意义,见图 3 和表 1。提示髓系细胞中 FBXW7 缺失不影响髓系细胞的发育。



A: 中性粒细胞; B: 巨噬细胞 C: 树突状细胞。

图 3 两组脾脏中髓系细胞流式细胞术检测结果

Figure 3 Flow cytometry analyses of myeloid cells in splenocytes from $Lysm^-$ FBXW7^{fl/fl} and $Lysm^+$ FBXW7^{fl/fl} mice

表 1 两组脾脏中髓系细胞比例比较

Table 1 The proportion of myeloid cells in the spleen of $Lysm^-$ FBXW7^{fl/fl} and $Lysm^+$ FBXW7^{fl/fl} mice

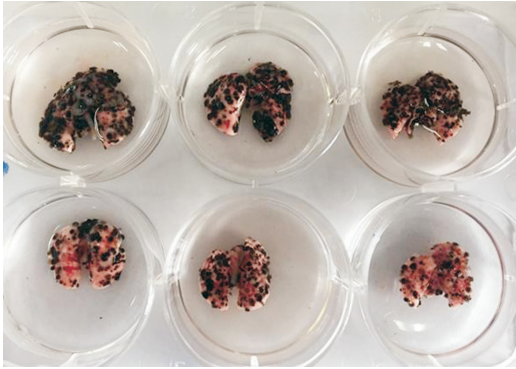
($n = 6, \bar{x} \pm s, \%$)

细胞种类	实验组	对照组
中性粒细胞	1.6500 ± 0.2412	1.6530 ± 0.2659
巨噬细胞	1.1530 ± 0.3734	0.8400 ± 0.3219
树突状细胞	0.5375 ± 0.1725	0.8250 ± 0.2415

2.3 实验组小鼠黑色素瘤肺转移变化

注射 B16F10 肿瘤细胞 14 d 后,实验组肺部

肿瘤转移灶较对照组少 ($P < 0.05$), 而对对照组肺组织质量与实验组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 4 和表 2。可见, 髓系细胞中的 FBXW7 对黑色素瘤肺转移具有一定的影响。



上排为对照组, 下排为实验组。

图 4 髓系细胞特异性 FBXW7 基因缺失小鼠黑色素瘤肺转移灶大体变化

Figure 4 Effect of myeloid deficiency of FBXW7 on lung metastasis of murine melanoma

表 2 两组肺部黑色素瘤转移灶数及肺质量比较

Table 2 Comparison of the lung tumor metastases and lung weights of WT and $Lysm^+ FBXW7^{V/f}$ mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肿瘤转移灶数	肺质量 (g)
实验组	6	122 ± 12 *	0.2729 ± 0.0081
对照组	6	165 ± 42	0.3200 ± 0.0166

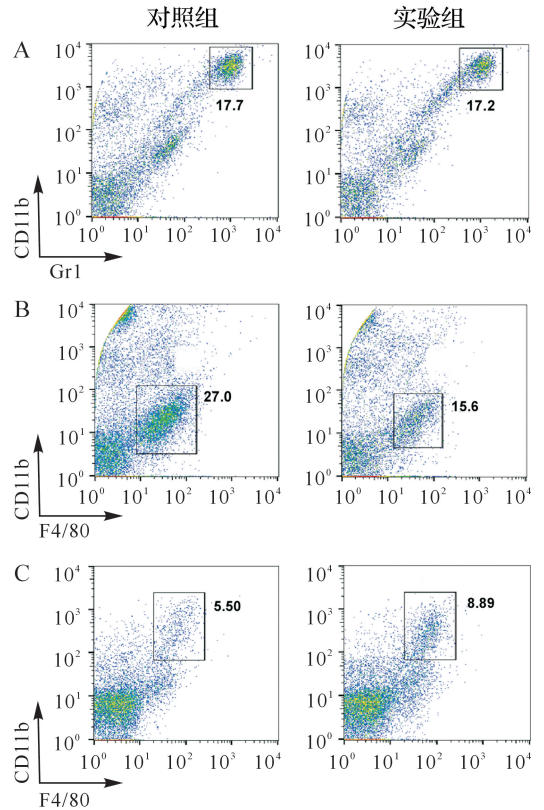
与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2.4 实验组黑色素瘤肺转移小鼠肺组织巨噬细胞亚群变化

用 $CD11b^+ Gr1^+$ 标记髓系来源的抑制性细胞, 用 $F4/80^+ CD11b^+$ 标记肺部转移相关巨噬细胞, 用 $F4/80^+ CD11c^+$ 标记肺部居住型巨噬细胞。结果实验组髓系来源的抑制性细胞比例无变化 ($P > 0.05$); 实验组转移相关巨噬细胞的比例降低 ($P < 0.05$); 实验组居住型巨噬细胞的比例有所增加 ($P < 0.05$), 见图 5, 表 3。以上结果表明, 髓系细胞中 FBXW7 基因的缺失降低了肺部转移相关巨噬细胞的比例, 增加了居住型巨噬细胞的比例。

3 讨论

FBXW7 是一个潜在的抑癌基因, 其在多种人



A: 髓系来源的抑制性细胞; B: 肺部转移相关巨噬细胞; C: 肺部居住型巨噬细胞。

图 5 髓系细胞特异性 FBXW7 基因缺失黑色素瘤小鼠肺部髓系细胞亚群变化

Figure 5 Flow cytometry analyses of myeloid cells in lungs from $Lysm^- FBXW7^{V/f}$ and $Lysm^+ FBXW^{V/f}$ mice

表 3 两组肺组织髓系来源的巨噬细胞比例比较

Table 3 The proportion of myeloid-derived macrophages in the pulmonary tissue of control and $Lysm^+ FBXW7^{V/f}$ mice

细胞类型	(n = 6, $\bar{x} \pm s, \%$)	
	实验组	对照组
髓系来源的抑制性细胞	18.00 ± 1.071	15.42 ± 1.602
转移相关巨噬细胞	23.15 ± 7.59 *	13.13 ± 2.26
肺部居住型巨噬细胞	10.42 ± 1.90 *	5.426 ± 0.42

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

类肿瘤中发生了突变^[11], 同时在条件性敲除小鼠中也促进了肿瘤的形成^[12,14]。FBXW7 能特异性地与底物结合, 并使底物泛素化后由蛋白酶体降解。FBXW7 的抗肿瘤作用主要源于其能够降解一些重要的促进生长的蛋白分子, 如 Notch、c-MYC、cyclin E、c-JUN 及 mTOR 等^[15-16]。目前的

研究大部分集中在 FBXW7 对肿瘤细胞本身的作用,却很少有对肿瘤微环境中其他细胞的调控作用的相关研究。最新的一项研究表明,FBXW7 缺失的骨髓基质细胞会分泌更多的趋化因子 CCL2,招募髓系来源的抑制性细胞及肿瘤相关巨噬细胞至肿瘤转移部位,从而促进肿瘤的转移^[17]。本研究发现,髓系细胞特异性 FBXW7 基因的缺失抑制了黑色素瘤肿瘤细胞在肺部的转移;髓系来源的免疫细胞,特别是巨噬细胞中的 FBXW7 能够促进黑色素瘤的转移。由此,不同细胞中的 FBXW7 基因可能对肿瘤的转移起着不同的调控作用。我们的研究发现为 FBXW7 对肿瘤微环境细胞以及肿瘤转移的调控增添了新的观点。

转移相关巨噬细胞最初在乳腺癌肺转移的小鼠模型中发现,后来证明在胰腺癌肝转移、乳腺癌脑转移小鼠模型的转移部位中也存在^[18-20]。转移相关巨噬细胞主要来自于外周血表达 CCR2 的 CD11b⁺ Ly6c⁺ 单核细胞,即炎性单核细胞(inflammatory monocytes)。肿瘤转移部位分泌的趋化因子 CCL2 能够招募炎性单核细胞至转移灶部位分化成转移相关巨噬细胞。CCR2/CCL2 信号通路的激活能促进转移相关巨噬细胞分泌 CCL3,从而进一步促进其在转移部位的聚集^[21]。研究表明,转移相关巨噬细胞可通过分泌血管内皮生长因子一定程度上增加血管的渗透性,从而促进肿瘤细胞在转移部位的渗出^[3]。肝脏中的转移相关巨噬细胞也可通过高分泌颗粒体蛋白激活居住型肝星状细胞成为肌成纤维细胞,从而形成一个纤维化的微环境,促进肿瘤细胞肝转移^[20]。此外,转移相关巨噬细胞表面特异性地表达血管内皮细胞生长因子受体 1,该信号通路对转移相关巨噬细胞促进肿瘤细胞在转移部位的生长起着重要的作用。转移相关巨噬细胞也可通过血管细胞黏附分子 1 与肿瘤细胞相互作用,从而促进肿瘤细胞的存活^[22]。然而,调控转移相关巨噬细胞分化 and 功能的分子生物学机制仍然不清楚。本研究结果显示,髓系细胞特异性 FBXW7 基因的缺失会影响小鼠黑色素瘤肺转移部位巨噬细胞亚群的分布,而对髓系来源的抑制性细胞的比例没有影响。对照组小鼠肺组织中 F4/80⁺ CD11b⁺ 转移相关巨噬细胞的比例降低,而居住型的巨噬细胞比例增加。因此,FBXW7 可能参与调控了肿瘤转移部位转移相关巨噬细胞的招募、分

化及功能,但其中的具体分子生物学机制还有待进一步研究。

综上所述,髓系细胞特异性 FBXW7 基因的缺失,可能通过影响黑色素瘤转移部位转移相关巨噬细胞的比例,从而影响黑色素瘤的转移。

参考文献

- [1] FRIDMAN W H, PAGÈS F, SAUTÈS-FRIDMAN C, et al. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome [J]. **Nat Rev Cancer**, 2012,12(4):298-306.
- [2] TALMADGE J E, GABRILOVICH D I. History of myeloid-derived suppressor cells [J]. **Nat Rev Cancer**, 2013,3(10):739-752.
- [3] QIAN B Z, POLLARD J W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis [J]. **Cell**, 2010,141(1):39-51.
- [4] 秦鑫,张萍,张毓飞,等. 肿瘤相关巨噬细胞的研究进展 [J]. **细胞与分子免疫学杂志**, 2015,31(7):1004-1007.
QIN Xin, ZHANG Ping, ZHANG Yufei, et al. Advances in tumor-associated macrophage [J]. **Chinese Journal Cellular Molecular Immunology**, 2015,31(7):1004-1007. (in Chinese)
- [5] QIAN B, DENG Y, IM J H, et al. A distinct macrophage population mediates metastatic breast cancer cell extravasation, establishment and growth [J]. **PLoS One**, 2009,4(8):e6562.
- [6] QIAN B Z, LI J, ZHANG H, et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis [J]. **Nature**, 2011,475(7355):222-225.
- [7] WELCKER M, CLURMAN B E. FBW7 ubiquitin ligase: a tumour suppressor at the crossroads of cell division, growth and differentiation [J]. **Nat Rev Cancer**, 2008,8(2):83-93.
- [8] STROHMAIER H, SPRUCK C H, KAISER P, et al. Human F-box protein hCdc4 targets cyclin E for proteolysis and is mutated in a breast cancer cell line [J]. **Nature**, 2001,413(6853):316-322.
- [9] YADA M, HATAKEYAMA S, KAMURA T, et al. Phosphorylation-dependent degradation of c-Myc is mediated by the F-box protein Fbw7 [J]. **EMBO J**, 2004,23(10):2116-2125.
- [10] WEI W, JIN J, SCHLISIO S, et al. The v-Jun point mutation allows c-Jun to escape GSK3-dependent recognition and destruction by the Fbw7 ubiquitin ligase [J]. **Cancer Cell**, 2005,8(1):25-33.
- [11] AKHOONDI S, SUN D, VON DER LEHR N, et al. FBXW7/hCDC4 is a general tumor suppressor in

- human cancer [J]. **Cancer Res**, 2007, 67 (19): 9006-9012.
- [12] MATSUOKA S, OIKE Y, ONOYAMA I, et al. Fbxw7 acts as a critical fail-safe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL[J]. **Genes Dev**, 2008, 22(8):986-991.
- [13] BABAEI-JADIDI R, LI N, SAADEDDIN A, et al. FBXW7 influences murine intestinal homeostasis and cancer, targeting Notch, Jun, and DEK for degradation[J]. **J Exp Med**, 2011, 208(2):295-312.
- [14] ONOYAMA I, TSUNEMATSU R, MATSUMOTO A, et al. Conditional inactivation of Fbxw7 impairs cell-cycle exit during T cell differentiation and results in lymphomatogenesis [J]. **J Exp Med**, 2007, 204(12):2875-2888.
- [15] WANG X, ZHANG J, ZHOU L, et al. Fbxw7 regulates hepatocellular carcinoma migration and invasion via Notch1 signaling pathway [J]. **Int J Oncol**, 2015, 47(1):231-243.
- [16] MAO J H, KIM I J, WU D, et al. FBXW7 targets mTOR for degradation and cooperates with PTEN in tumor suppression [J]. **Science**, 2008, 321 (5895): 1499-1502.
- [17] YUMIMOTO K, AKIYOSHI S, UEO H, et al. F-box protein FBXW7 inhibits cancer metastasis in a non-cell-autonomous manner [J]. **J Clin Invest**, 2015, 125(2):621-635.
- [18] QIAN B Z, ZHANG H, LI J, et al. FLT1 signaling in metastasis-associated macrophages activates an inflammatory signature that promotes breast cancer metastasis[J]. **J Exp Med**, 2015, 212(9):1433-1448.
- [19] RIPPAUS N, TAGGART D, WILLIAMS J, et al. Metastatic site-specific polarization of macrophages in intracranial breast cancer metastases [J]. **Oncotarget**, 2016, 7(27):41473-41487.
- [20] NIELSEN S R, QUARANTA V, LINFORD A, et al. Macrophage-secreted granulins supports pancreatic cancer metastasis by inducing liver fibrosis [J]. **Nat cell biol**, 2016, 18(5):549-560.
- [21] KITAMURA T, QIAN B Z, SOONG D, et al. CCL2-induced chemokine cascade promotes breast cancer metastasis by enhancing retention of metastasis-associated macrophages [J]. **J Exp Med**, 2015, 212(7):1043-1059.
- [22] CHEN Q, ZHANG X H, MASSAGUE J. Macrophage binding to receptor VCAM-1 transmits survival signals in breast cancer cells that invade the lungs [J]. **Cancer Cell**, 2011, 20(4):538-549.

[本文编辑 黎仕娟 沈 敏]

· 学术动态 ·

王青青教授团队发现 FBXW7 在抗病毒天然免疫中的调控功能

近日,浙江大学免疫学研究所王青青教授团队在《自然—通讯》(*Nature Communications*)发表了研究论文“E3 ligase FBXW7 is critical for RIG-I stabilization during antiviral responses”(https://www.nature.com/articles/ncomms14654),阐明在RNA病毒感染过程中,E3泛素连接酶FBXW7通过保持维甲酸诱导I型基因(RIG-I)的稳定性,正向调控I型干扰素的产生,促进抗RNA病毒的自然免疫应答。

机体在遭遇病原微生物感染后,天然免疫细胞通过模式识别受体,识别病原微生物中一系列保守的病原分子模式,触发天然免疫应答。RIG-I作为细胞内重要的受体,识别病毒双链RNA后迅速活化下游信号,促使I型干扰素的产生。研究人员前期发现,在感染呼吸道合胞病毒的患者外周血单个核细胞中,FBXW7表达显著降低,这预示着FBXW7在抗病毒感染中可能具有重要的调控作用。随后发现,在髓系细胞中特异性敲除FBXW7基因的小鼠对水疱性口炎病毒和H1N1病毒感染更加敏感,病毒复制更加活跃,I型干扰素的产生减少。进一步的机制研究发现,在病毒感染过程中FBXW7能够结合并降解SHP2,从而抑制SHP2/C-cbl复合物对RIG-I的降解。该研究揭示了FBXW7在抗病毒天然免疫中发挥着重要的调控作用,这为深入认识天然免疫的调节机制提供了新的途径,并可能为感染性疾病的诊治提供新的视角。

该研究主要由宋寅敬博士研究生、来利华博士后、种振路博士研究生共同完成,得到国家自然科学基金和国家重点基础研究发展计划(973计划)资助。