

Fbxw7在干细胞维持中的作用

周 戴¹ 张 鹏¹ 范立青^{1,2*}

(¹中南大学生殖与干细胞工程研究所, 长沙 410078; ²中信湘雅生殖与遗传专科医院, 长沙 410078)

摘要 干细胞拥有独特的细胞周期状态, 具有自我更新和多向分化的潜能。干细胞一般分为成体干细胞、胚胎干细胞和诱导多功能干细胞三大类。成体干细胞一般处于静止状态, 在需要增殖的情况下, 可以转换到增殖状态。然而, 胚胎干细胞和诱导多功能干细胞会一直保持快速增殖的状态, 直到出现分化诱导, 中止细胞周期进程。揭示干细胞细胞周期的调控机制, 能帮助我们更好地了解干细胞自我更新和分化之间的调控。目前已经鉴定出许多细胞因子及小分子化合物能促进干细胞增殖, 但相关的负调控因子却了解不多。Fbxw7(F-box and WD40 repeat domain-containing 7)作为一种泛素连接酶, 能负向调控造血干细胞、神经干细胞、胚胎干细胞、精原干细胞以及肿瘤干细胞等的细胞周期进程, 尤其是在调控成体干细胞的静止、增殖和分化方面有重要作用。

关键词 Fbxw7; 干细胞; 细胞周期; 增殖; 分化

Role of Fbxw7 in the Maintenance of Stem Cells

Zhou Dai¹, Zhang Peng¹, Fan Liqing^{1,2*}

(¹Institute of Reproductive & Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha 410078, China;

²The Reproduction Centre of Reproductive & Genetic Hospital, CITIC-XIANGYA, Changsha 410078, China)

Abstract Stem cells are identified by their particular cell cycle status, they have the properties of self-renewal and multipotency. Stem cells undergo self-renewal divisions to support tissues renewal throughout life. Somatic stem cells are maintained in a quiescent condition but change-over from quiescence to proliferation as needed, but embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells will keep proliferation until the appearance of differentiation factor resulting in blocking of cell cycle progression. To reveal the mechanisms of cell cycle control in stem cells will provide new insights into the regulatory biology of the cell-cycle transitions. Although various positive regulators of stem cell self-renewal have been discovered, little is known about the negative regulators. Here, this review summarises our understanding of the role of Fbxw7 (F-box and WD-40 domain-containing 7), a component of the Skp1-Cullin-F-box type ubiquitin ligase, which is a negative regulator of stem cell self-renewal, and a key regulator controlling the maintenance and differentiation of stem cells, especially the somic stem cells.

Keywords Fbxw7; stem cells; cell cycle; proliferation; differentiation

Fbxw7(F-box and WD40 repeat domain containing 7)是F-box蛋白质家族成员, 它是SCF(Skp1-

Cul1-F-box protein)型泛素连接酶复合体中负责底物识别的部分, Fbxw7在调控细胞增殖、生长以及

收稿日期: 2015-12-09 接受日期: 2016-03-18

国家自然科学基金(批准号: 31472054)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13974871287, E-mail: fanliqingszx@sina.com

Received: December 9, 2015 Accepted: March 18, 2016

This work was supported by the the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31472054)

*Corresponding author. Tel: +86-13974871287, E-mail: fanliqingszx@sina.com

网络出版时间: 2016-04-22 16:59:07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160422.1659.002.html>

分化方面有重要作用^[1]。*Fbxw7*基因最早发现于芽殖酵母, 被称为Cdc4(cell division cycle-associated protein 4)^[2], *Fbxw7*主要通过调控周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)的抑制因子SIC1(p40SIC1)的活性, 来影响芽殖酵母的细胞周期^[3-5]。在线虫及果蝇中发现了*Fbxw7*的同源基因, 在线虫中, *Sel10*(suppressor/enhancer of lin-12 protein 10)作为*Fbxw7*的同源基因, 它主要通过调控Lin12的降解来影响细胞增殖^[6-7]。与此同时, 在果蝇中也发现了*Cdc4*的同源基因*AGO*(protein archipelago), 它能识别*Cyclin E*, 引起其通过泛素化途径降解^[8], 抑制细胞周期进程。在小鼠中, *Fbxw7*敲除后, 会导致胎鼠在胚胎期10.5 d时死亡, 并伴随有严重的血管发育畸形^[9-10]。经检测发现, 细胞中的Notch1(neurogenic locus notch homolog protein 1)蛋白质大量累积, 导致其下游调控血管形成的HEY1(hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif protein 1)蛋白质表达上调^[9]。*Fbxw7*^{+/-}小鼠表现出了放射性处理后易患癌症的特性, 这可能是由于*Cyclin E*的表达上调^[11-12]。*Fbxw7*^{+/-}小鼠与*Fbxw7*^{-/-}小鼠的细胞中还同时表现出了Myc(myelocytomatosis oncogene)蛋白质的上调, Myc能调控多种编码蛋白的转录, 促进细胞增殖^[13-14]。此外, *Fbxw7*还能通过调控JUN(proto-oncogene c-Jun)、Notch的降解, 影响细胞的增殖, 因为JUN是转录因子AP1(activator protein 1)的主要构成部分, AP1的活性与细胞增殖有关^[15]。*Notch*则会影响到下游*HRAS*(harvey rat sarcoma virus oncogene)、*Cdc20*(cell division cycle-associated protein 20)以及*Cdh1*(cadherin 1)的活性, 它们都与细胞的增殖相关^[16-17]。

*Fbxw7*基因家族在功能上具有一定的保守性, *Fbxw7*主要作为底物特异性识别因子来调控蛋白质的降解^[18]。目前发现, *Fbxw7*在多种人类干细胞中均有表达, *Fbxw7*主要通过与其底物相互作用, 识别并通过泛素化途径来降解靶蛋白, *Fbxw7*调控Myc、Notch1、Notch4、Cyclin E、JUN等的降解来影响细胞周期中G₁/S期的转换^[19], 因此, *Fbxw7*可能在调控干细胞的增殖和分化过程中有重要作用。

1 *Fbxw7*基因结构与作用机制

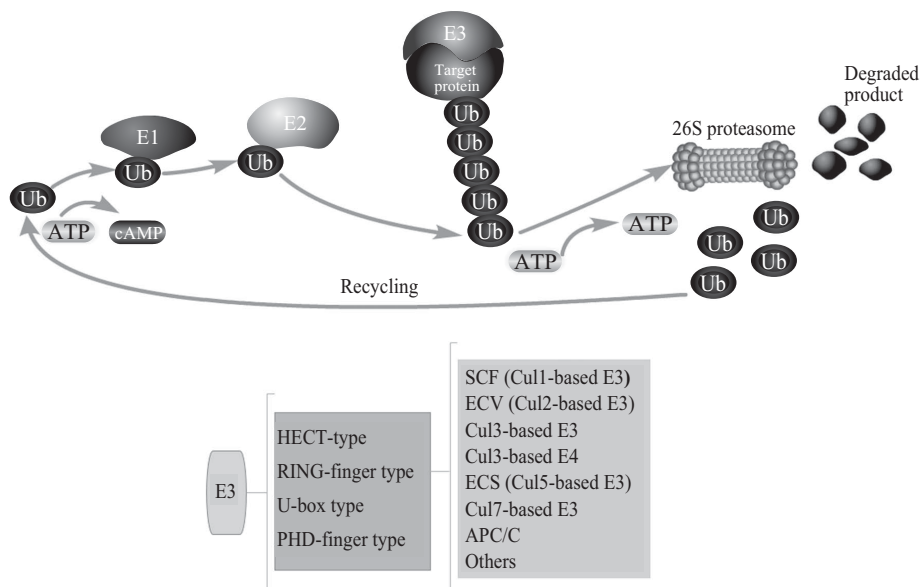
人类*Fbxw7*基因定位于4q31.3, 全长约200 Kb,

共计16个外显子, 可以编码产生三种蛋白, 根据其氨基酸序列不同分为*Fbxw7α*、*Fbxw7β*和*Fbxw7γ*, 每种亚型都拥有一个二聚化结构域, F-box蛋白质募集其他SCF型泛素蛋白酶的组成构件, WD40重复序列构成底物结合域^[1]。*Fbxw7*蛋白质的不同定位会有相应不同的功能, *Fbxw7α*在大部分组织都会有表达, *Fbxw7β*仅表达在脑部^[20], 它们的亚细胞定位也有所差异, *Fbxw7α*、*Fbxw7γ*主要表达在细胞核, *Fbxw7β*主要表达在细胞质^[21]。*Fbxw7*在调控细胞的分裂、生长、增殖方面有重要作用, *Fbxw7*通过泛素化途径靶向降解其底物蛋白(图1), *Fbxw7*的底物蛋白包括Myc、Notch1、Notch4、JUN和Cyclin E等^[18]。*Fbxw7*通过识别一个保守的磷酸化区域Cdc4磷酸降解决定子(Cdc4 phosphodegron, CPD)来与底物结合, 不同的CPD与*Fbxw7*之间的亲和力不同, 这决定了*Fbxw7*是否需要二聚化来降解靶蛋白。*Fbxw7*降解的底物大部分为原癌蛋白(oncoprotein), 因此它被认为具有抑制肿瘤生长的作用, 目前已经在许多人类肿瘤中发现了*Fbxw7*的杂合突变, 包括T细胞急性淋巴细胞白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)、T细胞淋巴瘤、胆管癌、皮肤癌、结肠癌、肾癌、肝癌、胃癌等^[1,18,22]。*Fbxw7*基因突变的位置主要集中在WD40区域, 该区域参与底物识别的过程。因此, WD40区域的点突变将会影响其底物的降解。*Fbxw7*同时也会对干细胞的增殖分化造成影响, 已经证实*Fbxw7*影响许多成体干细胞、胚胎干细胞以及诱导多功能干细胞的增殖和分化^[19,23-25]。本文后续主要讨论*Fbxw7*对干细胞的增殖和分化的影响。

2 *Fbxw7*在干细胞细胞周期中的作用

2.1 *Fbxw7*在造血干细胞细胞周期中的作用

造血干细胞(haematopoietic stem cells, HSCs)是目前研究的较为透彻的一种成体干细胞, 通过对HSCs的大量研究, 我们发现维持干细胞静止是实现其功能的一个关键。最近研究表明, HSCs进入细胞周期受许多细胞因子调控, 主要包括干扰素- α (interferon- α)和粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor)^[26], 但是有关细胞周期内部调控机制的研究还处于起步阶段。



泛素分子(Ub)通过消耗ATP的方式结合到泛素蛋白激活酶(E1)上,接着传递到泛素结合酶(E2),最后Ub又通过泛素连接酶(E3)连接到靶分子上。多聚泛素化的蛋白,最终被26S蛋白酶识别并降解。E3连接酶主要分为四类:HECT型、RING-finger型、U-box型、PHD-finger型。RING-finger家族又进一步分为更多家族,SCF型泛素连接酶为成员最多的一个家族。

Ubiquitin (Ub) protein binds to the ubiquitin-activating enzyme, E1, in an ATP-dependent manner. Then, the activated ubiquitin is transferred to the ubiquitin-conjugating enzyme, E2. Finally, the ubiquitin is linked to the target protein by E3 ubiquitin ligase. The ubiquitylated protein is destroyed in an ATP-dependent manner by the 26S proteasome. E3 ubiquitin ligases have four major families: HECT-type, RING-finger-type, U-box-type and PHD-finger-type. RING-finger-type E3s are further divided into more subfamilies, SCF constitute one of the largest classes of E3s.

图1 蛋白泛素化途径概况

Fig.1 The schematic of ubiquitin proteasome pathway

在生物体的整个生命周期中,干细胞静止对维持其自我更新能力以及防止癌变有关键作用,控制Myc的丰度能够有效调控HSCs的自我更新和分化^[27],特异性敲除小鼠造血系统的*Fbxw7*基因会导致HSCs在细胞静止方面的缺陷^[28-29],进一步敲除Myc基因能够弥补这种缺陷。这说明,*Fbxw7*敲除可能引起Myc的累积,导致处于静止状态的HSCs进入细胞周期,此外,*Fbxw7*还能调控胎鼠肝脏造血干细胞中的Myc的表达^[27]。

*Fbxw7*敲除后,有30%的小鼠表现出了HSCs在数量上的显著下降,并引起了严重的全血细胞减少,大多数没有表现出白细胞减少症的小鼠最终都发展成了T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)(图2)。此外,在HSCs数量减少的小鼠中,还发生了*p53*上调引起的细胞凋亡。*Fbxw7*敲除后,同时沉默*p53*可以改善贫血和血小板减少,但是会在短时间内引发T细胞恶性肿瘤。这说明,将小鼠*Fbxw7*敲除后,Myc在细胞中的累积引起了造血干细胞池扩大,并激活*p53*依赖的细胞凋亡信号通路,启动凋亡程序来阻止细胞癌变。*Fbxw7*和*p53*可能在HSC中构成一个双重保护

系统来确保造血干细胞池的稳定。*Fbxw7*过表达后,促进Myc的降解,HSCs更加趋向于维持静止状态^[30]。*Fbxw7*过表达的HSCs具有更强的骨髓重建能力,进一步说明*Fbxw7*通过调控细胞静止在干细胞维持方面的重要作用。

2.2 *Fbxw7*在神经干细胞周期中的作用

在神经干细胞(neural stem cells, NSCs)中,Notch信号通路对NSCs的自我更新具有关键性的调控作用,神经干细胞的维持需要Notch1和Notch3在细胞中的积累,*Fbxw7*依赖的Notch蛋白质降解对于神经干细胞的维持以及正常分化具有重要的调节作用^[31]。

特异性敲除小鼠脑部*Fbxw7*后发现,在胚胎期16.5 d(E16.5)时,敲除小鼠的脑部细胞和神经球中出现Notch1的大量累积^[32]。与此同时,胚胎期16.5 d时,敲除小鼠脑室区的神经干细胞增殖能力明显增强。除了Notch、*Fbxw7*缺陷,神经球还出现了JUN的累积,与HSCs不同的是,细胞中没有发现Myc的累积。通过对神经球的分析发现,*Fbxw7*敲除小鼠的神经细胞经培养后,形成的原代神经球比对照组

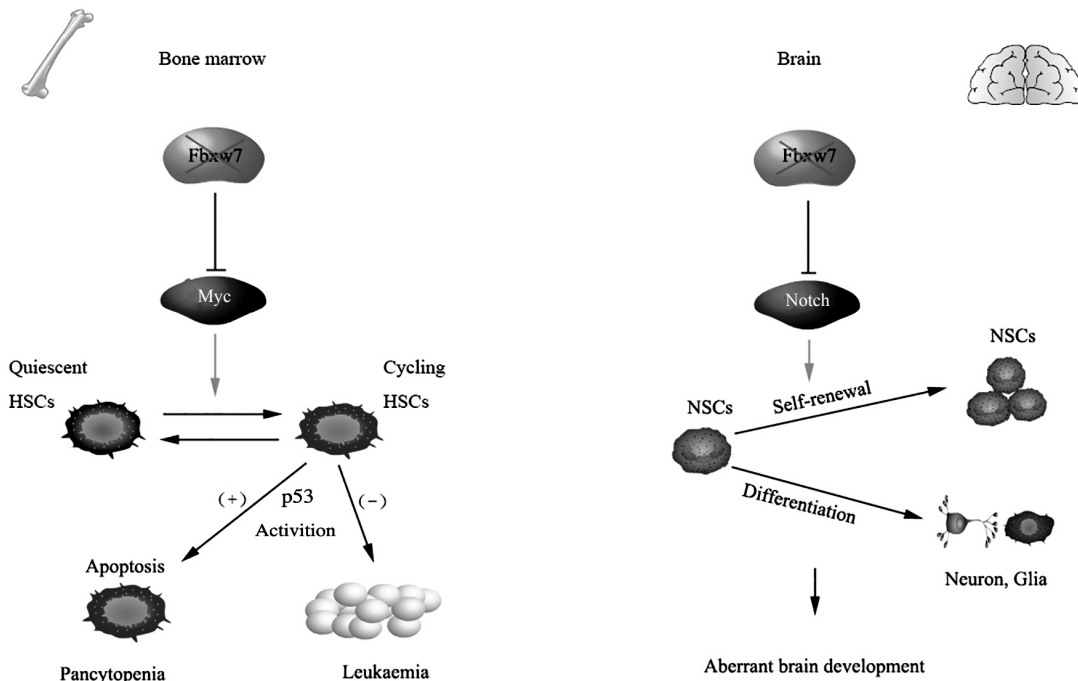
明显要小,但是*Fbxw7*缺失却引起了第二代和第三代神经球在数量上的增加。这些结果表明,*Fbxw7*缺失引起了NSCs数量的增加。*Fbxw7*缺失对NSCs和HSCs造成的影响不同的原因,目前还没有确切的解释。这可能是由于目前NSCs的纯化程度还没有达到HSCs的纯化水平。此外,在这两种干细胞中,*Fbxw7*的靶蛋白也不一样。*Fbxw7*的缺失不仅会影响NSCs自我更新,原代培养的分析结果表明,*Fbxw7*的缺失还会影响NSCs的分化能力,NSCs向神经元分化能力的减弱,而更加趋向于往星形胶质细胞的方向分化。*Fbxw7*缺失在神经球培养和NSCs原代培养引起的表型变化,可以通过同时阻断Notch信号通路,得到表型上的逆转^[33]。以上结果表明,*Fbxw7*缺失增强了NSCs的自我更新能力,并通过增强Notch信号通路影响NSCs的分化潜能(图2)。

*Fbxw7*缺失引起的NSCs在增殖和分化方面的失衡最终导致了大脑形态发育异常,突变小鼠第三脑室出现了扭曲和扩张,出生后由于失去哺乳行为而快速死亡。有研究表明,在NSCs中,Notch信号通

路下游关键的效应分子Hes5(hairy and enhancer of split 5)会抑制*Fbxw7*基因的转录,*Fbxw7*杂合小鼠的NSCs体外培养也表现出了分化能力的受损^[33]。这些结果都表明,*Fbxw7*对NSCs的增殖与分化具有重要的调控作用。

2.3 *Fbxw7*在肠道干细胞周期中的作用

小肠上皮由许多绒毛-隐窝单位(crypt-villus units)构成,这些单位拥有自我更新能力,并且比其他组织有更高的更新频率。肠道干细胞(intestinal stem cells, ISC)被认为在这一循环过程中有重要作用^[34]。*Fbxw7*杂合小鼠的肠道杯状细胞表现出了分化能力受损^[33],条件敲除肠道*Fbxw7*后引发了肠道腺瘤,并发现了Notch和Myc在肠道细胞中的累积^[35]。然而*Fbxw7*的部分敲除并没有引起自发性的小肠肿瘤,但是在腺瘤性结肠息肉病中,*Fbxw7*的缺失增加了JUN和DEK(DEK proto-oncogene)的累积,刺激肠道肿瘤的发生。在肠道中同时敲除*p53*和*Fbxw7*会诱发具有侵袭性和转移性的小肠腺瘤发生^[36]。该研究表明,*Fbxw7*与*p53*共同抑制小肠



在造血干细胞中,*Fbxw7*缺失引起Myc在细胞中的累积,使静止的造血干细胞重新进入细胞周期,造血干细胞的过度增殖激活p53的凋亡信号通路,最终导致全血细胞减少症,p53信号通路若没激活则最终会发展导致白血病。在神经干细胞中,*Fbxw7*的缺失会导致Notch的累积,使神经干细胞的自我更新与分化之间的失衡,最终导致大脑发育的异常。

Loss of *Fbxw7* in HSCs leading to the accumulation of Myc and the re-entry of HSCs into the cell cycle. Then, the *Fbxw7*-deficient HSCs may subject to apoptosis as a result of p53 activation, and give rise to pancytopenia. In the absence of p53 induction, the cycling HSCs eventually leading to the development of pancytopenia. *Fbxw7* ablation in NSCs results in Notch accumulation and the imbalance between self-renewal and differentiation, the *Fbxw7*-deficient NSCs eventually give rise to aberrant brain development.

图2 *Fbxw7*缺失在造血干细胞与神经干细胞中引起异常表型

Fig.2 *Fbxw7* ablation result in aberrant stem cell development in HSCs and NSCs

腺癌,但是不能确定*Fbxw7*缺失引起的肠癌是否是由*Fbxw7*对ISCs的影响而产生的。

2.4 *Fbxw7*在胚胎干细胞周期中的作用

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)与成体干细胞不同,它具有很强的增殖能力^[37]。在成体干细胞中, Cyclin E-CDK2复合物会周期性的激活,并在细胞周期的G₁/S转换期时具有最高活性。然而在ESCs中, Cyclin E-CDK2复合物一直处于激活状态,因而使得ESC的G₁期极大地缩短。与之相应的, Myc在自我更新的ESCs中含量丰富,在诱导分化的ESCs中, Myc的量开始下调。与Myc相反, Fbxw7的量在自我更新的ESCs中很低,而在诱导分化的ESCs中表达量上调^[38]。特异性敲除ESCs中的*Fbxw7*,不影响碱性磷酸酶和*Nanog*(*Nanog* homeobox)的表达,这表明*Fbxw7*可能不参与ESCs的自我更新。此外,在诱导分化的ESCs中,通过RNA干扰阻碍*Fbxw7*表达,可使其重返克隆形态,细胞呈现Oct4(octamer-binding protein 4)或者*Nanog*阳性^[39]。*Fbxw7*缺失仅引起已知底物Myc的表达上调;反过来,阻碍Myc的表达,可逆转*Fbxw7*缺失引起的表型变化。这表明*Fbxw7*通过调控Myc的丰度来影响ESCs的多能性。ESCs的多能性调控已经在基因转录水平有了广泛深入地研究,这些结果表明, ESCs在翻译后水平的调控也不容忽视。

2.5 *Fbxw7*在诱导多功能干细胞周期中的作用

在成纤维细胞中强制表达OSKM[*Oct3/4*、*Sox2*(SRY-box 2)、*Klf4*(krueppel-like factor 4)以及*Myc*基因]^[40],最后得到了诱导多功能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)。它的细胞形态、细胞周期以及发育潜能都与ESCs高度相似^[41],基于*Fbxw7*对ESCs的多能性调控, *Fbxw7*可能也影响iPSCs的多能性。在小鼠胚胎成纤维细胞中强制表达OSKM并同时敲除*Fbxw7*,与单独强制表达OSKM相比,最终得到的AP阳性克隆多出了60%,这表明沉默*Fbxw7*可使iPSCs的转化效率提升60%^[39]。尽管Myc是一个影响重编程的重要因子^[40],但是阻断Myc并不能改变*Fbxw7*缺失对iPSCs转化率的提升,说明*Fbxw7*可能通过另外的底物来影响iPSCs的转化效率^[25]。这些结果表明,诱导多能性和维持干性的分子机制存在差异。我们去寻找*Fbxw7*底物中可提升iPSCs转化率的分子,就需要对重编程机制有更加深入地了解 and 探究。

2.6 *Fbxw7*在精原干细胞周期中的作用

精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSCs)是位于睾丸曲细精管基底膜上能够自我更新维持自身群体恒定,定向分化产生精子并将自身遗传物质传递给子代的一种精原细胞。SSCs存在于一个特殊的微环境中,环境提供给促进自我更新的细胞因子,胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)就是一种尤为重要的细胞因子,它刺激SSCs自我更新^[42]。

有关SSCs的分子调控机制,目前我们认为, GDNF通过SRC家族的分子激活*HRAS*基因,通过细胞转导激活*HRAS*基因后, SSC可以在不添加任何外源细胞因子的情况下自我更新^[43]。阻断*HRAS*基因的下游分子AKT(RAC-alpha serine/threonine-protein kinase)和MAP2K1(dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1)后,精原干细胞细胞停止增殖^[44-46],这证明它们是自我更新的必需因子。精原干细胞细胞过表达AKT或者MAP2K1后,精原干细胞能通过只添加成纤维细胞生长因子2(fibroblast growth factor 2, FGF2)或者GDNF增殖^[44-45]。这些信号通路上调Etv5(ETS translocation variant 5)和Bcl6b(B-cell CLL/lymphoma 6 member B protein)^[44,47],它们与其他转录因子,如ZBTB16(Zinc finger and BTB domain containing 16)或者Taf4b(transcription initiation factor TFIID subunit 4B),共同刺激SSCs的自我更新。

最近研究发现,小鼠精原干细胞中也存在*Fbxw7*的表达,SSCs中*Fbxw7*过表达后,进行移植实验,与对照组相比,形成克隆数明显减少,说明*Fbxw7*抑制SSCs的增殖能力。条件敲除小鼠睾丸内的*Fbxw7*,曲细精管内的精子发生严重受损,大部分生殖细胞都阻滞在精原细胞阶段,很少见到减数分裂细胞,并伴有大量的细胞凋亡现象。*Fbxw7*缺失的SSCs与对照组相比,增殖能力变强。在*Fbxw7*的靶蛋白中, *Fbxw7*缺失引起了Notch1/2、Myc、Cyclin E1的显著增加,但只有同时阻断Myc时,才能逆转SSCs的表型变化,此外,单独过表达Myc也可以实现对SSCs的增殖调控^[23]。这说明, *Fbxw7*通过影响Myc的表达对SSCs的增殖活力进行调控。

3 讨论

尽管*Fbxw7*在干细胞维持中的作用日益明确,

但仍然存在许多重要的问题尚未解决。我们已经讨论过Fbxw7与Myc在HSCs细胞周期调控中的作用,但是Myc可能还通过其他途径来影响HSCs的维持。值得注意的是,有报道称,HSCs中线粒体很少并且可以进行无氧呼吸,这种状态能直接调节HSCs的功能^[48-49]。Myc能调节许多线粒体相关基因的表达,Fbxw7缺失引起的Myc增多可能影响HSCs的代谢状态。

另外一个重要问题就是,Fbxw7功能的调控机制。至少存在三种调节方式:Fbxw7的丰度、Fbxw7的酶活性和Fbxw7底物的磷酸化。Fbxw7在HSCs中高表达^[38],Fbxw7过表达增强了HSCs的骨髓重建能力^[30]。此结果证明,Fbxw7的丰度对其功能有重要影响。尽管有报道很多分子,包括microRNAs都对Fbxw7的表达进行调控^[50-51],这些结果大多来自于肿瘤细胞,但是在干细胞中,这些分子是否也有同样的作用机制,还值得去探索。大部分的Fbxw7底物,其识别过程都依赖糖原合成酶激酶3(glycogen synthase kinase 3, GSK3)的磷酸化作用,GSK3的活性被PI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)-AKT(serine/threonine-protein kinases)通路抑制^[1],GSK3活性高时,Fbxw7的底物被磷酸化,通过泛素化途径降解,细胞周期循环进程受阻。PTEN(phosphatase and tensin homolog)能负调控PI3K-AKT通路,它能够调节GSK3活性,维持HSCs的静止^[37]。因此,PI3K-AKT通路可能通过控制GSK3的活性来调控Fbxw7的功能。

Fbxw7酶活性相关的调控机制,在肿瘤中发现了PIN1(peptidyl-prolyl isomerase 1)通过促进Fbxw7的自我泛素化来调控其稳定性以及功能,但是PIN1在SSCs中的作用却出乎意料^[23,52]。PIN1缺失会导致不育^[53],SSCs中敲除PIN1可引起Fbxw7表达下调,这与肿瘤中的PIN1促进Fbxw7降解的结果相反。PIN1过表达没有引起Fbxw7量的变化,可能由于其过表达的量不足以影响Fbxw7,或者PIN1可能与其他分子共同作用于这一过程。在SSCs中,PIN1与Fbxw7之间的相互作用可能更加复杂,会涉及到更多的分子。PIN1与Fbxw7的表达应该是负相关的^[52],然而PIN1在未分化精原细胞中的表达却高于分化细胞^[53],这预示着可能有其他调控机制的存在。PIN1缺失损伤SSCs的活力,在SSCs中,PIN1与Fbxw7的平衡可能对SSCs命运决定有重要

作用。

在不同的细胞中,Fbxw7的作用机制存在差异,在HSCs、NSCs、SSCs以及肿瘤细胞中的发现是否适用于其他类型的干细胞还值得进一步验证。据目前的结果,Fbxw7在许多细胞中都具有抑制细胞周期进程并维持细胞静止的功能,如何利用Fbxw7这一靶向蛋白质实现对细胞表型及细胞周期的调控,达到预期目的,还需要作更多的探索和研究。

参考文献 (References)

- 1 Welcker M, Clurman BE. FBW7 ubiquitin ligase: A tumour suppressor at the crossroads of cell division, growth and differentiation. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(2): 83-93.
- 2 Hartwell LH, Mortimer RK, Culotti J, Culotti M. Genetic control of the cell division cycle in yeast: V. genetic analysis of *cdc* mutants. *Genetics* 1973; 74(2): 267-86.
- 3 Verma R, Feldman RM, Deshaies RJ. SIC1 is ubiquitinated *in vitro* by a pathway that requires CDC4, CDC34, and cyclin/CDK activities. *Mol Biol Cell* 1997; 8(8): 1427-37.
- 4 Verma R, Annan RS, Huddleston MJ, Carr SA, Reynard G. Phosphorylation of Sic1p by G1 Cdk required for its degradation and entry into S phase. *Science* 1997; 278(5337): 455-60.
- 5 Feldman RM, Correll CC, Kaplan KB, Deshaies RJ. A complex of Cdc4p, Skp1p, and Cdc53p/cullin catalyzes ubiquitination of the phosphorylated CDK inhibitor Sic1p. *Cell* 1997; 91(2): 221-30.
- 6 Hubbard EJ, Wu G, Kitajewski J, Greenwald I. sel-10, a negative regulator of lin-12 activity in *Caenorhabditis elegans*, encodes a member of the CDC4 family of proteins. *Genes Dev* 1997; 11(23): 3182-93.
- 7 Sundaram M, Greenwald I. Suppressors of a lin-12 hypomorph define genes that interact with both lin-12 and glp-1 in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 1993; 135(3): 765-83.
- 8 Moberg KH, Bell DW, Wahrer DC, Haber DA, Hariharan IK. Archipelago regulates Cyclin E levels in *Drosophila* and is mutated in human cancer cell lines. *Nature* 2001; 413(6853): 311-6.
- 9 Tsunematsu R, Nakayama K, Oike Y, Nishiyama M, Ishida N, Hatakeyama S, et al. Mouse Fbw7/Sel-10/Cdc4 is required for notch degradation during vascular development. *J Biol Chem* 2004; 279(10): 9417-23.
- 10 Tetzlaff MT, Yu W, Li M, Zhang P, Finegold M. Defective cardiovascular development and elevated cyclin E and Notch proteins in mice lacking the Fbw7 F-box protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(10): 3338-45.
- 11 Spruck CH, Won KA, Reed SI. Deregulated cyclin E induces chromosome instability. *Nature* 1999; 401(6750): 297-300.
- 12 Mao JH, Perez-Losada J, Wu D, Delrosario R, Tsunematsu R. Fbxw7/Cdc4 is a p53-dependent, haploinsufficient tumour suppressor gene. *Nature* 2004; 432(7018): 775-9.
- 13 Yada M, Hatakeyama S, Kamura T, Nishiyama M, Tsunematsu R, Imaki H, et al. Phosphorylation-dependent degradation of c-Myc is mediated by the F-box protein Fbw7. *EMBO J* 2004; 23(10):

- 2116-25.
- 14 Adhikary S, Eilers M. Transcriptional regulation and transformation by Myc proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(8): 635-45.
- 15 Hartl M, Bader AG, Bister K. Molecular targets of the oncogenic transcription factor jun. *Curr Cancer Drug Targets* 2003; 3(1): 41-55.
- 16 Weng AP, Aster JC. Multiple niches for Notch in cancer: Context is everything. *Curr Opin Genet Dev* 2004; 14(1): 48-54.
- 17 Weijzen S, Rizzo P, Braid M, Vaishnav R, Jonkheer SM, Zlobin A, *et al.* Activation of Notch-1 signaling maintains the neoplastic phenotype in human Ras-transformed cells. *Nat Med* 2002; 8(9): 979-86.
- 18 Nakayama KI, Nakayama K. Ubiquitin ligases: Cell-cycle control and cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(5): 369-81.
- 19 Takeishi S, Nakayama KI. Role of Fbxw7 in the maintenance of normal stem cells and cancer-initiating cells. *Br J Cancer* 2014; 111(6): 1054-9.
- 20 Li J, Pauley AM, Myers RL, Shuang R, Brashler JR, Yan R, *et al.* SEL-10 interacts with presenilin 1, facilitates its ubiquitination, and alters A-beta peptide production. *J Neurochem* 2002; 82(6): 1540-8.
- 21 Popov N, Wanzel M, Madiredjo M, Zhang D, Beijersbergen R, Bernards R, *et al.* The ubiquitin-specific protease USP28 is required for MYC stability. *Nat Cell Biol* 2007; 9(7): 765-74.
- 22 Ishikawa Y, Hosogane M, Okuyama R, Aoyama S, Onoyama I, Nakayama KI, *et al.* Opposing functions of Fbxw7 in keratinocyte growth, differentiation and skin tumorigenesis mediated through negative regulation of c-Myc and Notch. *Oncogene* 2013; 32(15): 1921-32.
- 23 Kanatsu-Shinohara M, Onoyama I, Nakayama KI, Shinohara T. Skp1-Cullin-F-box (SCF)-type ubiquitin ligase FBXW7 negatively regulates spermatogonial stem cell self-renewal. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(24): 8826-31.
- 24 Kim HS, Woolard K, Lai C, Bauer PO, Maric D, Song H, *et al.* Gliomagenesis arising from Pten- and Ink4a/Arf-deficient neural progenitor cells is mediated by the p53-Fbxw7/Cdc4 pathway, which controls c-Myc. *Cancer Res* 2012; 72(22): 6065-75.
- 25 Okita Y, Matsumoto A, Yumimoto K, Isoshita R, Nakayama KI. Increased efficiency in the generation of induced pluripotent stem cells by Fbxw7 ablation. *Genes Cells* 2012; 17(9): 768-77.
- 26 Trumpp A, Essers M, Wilson A. Awakening dormant haematopoietic stem cells. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(3): 201-9.
- 27 Wilson A, Murphy MJ, Oskarsson T, Kaloulis K, Bettess MD, Oser GM, *et al.* c-Myc controls the balance between hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation. *Genes Dev* 2004; 18(22): 2747-63.
- 28 Matsuoka S, Oike Y, Onoyama I, Iwama A, Arai F, Takubo K, *et al.* Fbxw7 acts as a critical fail-safe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL. *Genes Dev* 2008; 22(8): 986-91.
- 29 Thompson BJ, Jankovic V, Gao J, Buonamici S, Vest A, Lee JM, *et al.* Control of hematopoietic stem cell quiescence by the E3 ubiquitin ligase Fbw7. *J Exp Med* 2008; 205(6): 1395-408.
- 30 Iriuchishima H, Takubo K, Matsuoka S, Onoyama I, Nakayama KI, Nojima Y, *et al.* *Ex vivo* maintenance of hematopoietic stem cells by quiescence induction through Fbxw7 & alpha; overexpression. *Blood* 2011; 117(8): 2373-7.
- 31 Schuurmans C, Guillemot F. Molecular mechanisms underlying cell fate specification in the developing telencephalon. *Curr Opin Neurobiol* 2002; 12(1): 26-34.
- 32 Matsumoto A, Onoyama I, Sunabori T, Kageyama R, Okano H, *et al.* Fbxw7-dependent degradation of Notch is required for control of "stemness" and neuronal-glia differentiation in neural stem cells. *J Biol Chem* 2011; 286(15): 13754-64.
- 33 Sancho R, Blake SM, Tendeng C, Clurman BE, Lewis J, *et al.* Fbw7 repression by hes5 creates a feedback loop that modulates Notch-mediated intestinal and neural stem cell fate decisions. *PLoS Biol* 2013; 11(6): e1001586.
- 34 Clevers H. The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. *Cell* 2013; 154(2): 274-84.
- 35 Babaei-Jadidi R, Li N, Saadeddin A, Spencer-Dene B, Jandke A, *et al.* FBXW7 influences murine intestinal homeostasis and cancer, targeting Notch, Jun, and DEK for degradation. *J Exp Med* 2011; 208(2): 295-312.
- 36 Grim JE, Knoblauch SE, Guthrie KA, Hagar A, Swanger J, *et al.* Fbw7 and p53 cooperatively suppress advanced and chromosomally unstable intestinal cancer. *Mol Cell Biol* 2012; 32(11): 2160-7.
- 37 Orford KW, Scadden DT. Deconstructing stem cell self-renewal: Genetic insights into cell-cycle regulation. *Nat Rev Genet* 2008; 9(2): 115-28.
- 38 Reavie L, Della Gatta G, Crusio K, Aranda-Orgilles B, Buckley SM, Thompson B, *et al.* Regulation of hematopoietic stem cell differentiation by a single ubiquitin ligase-substrate complex. *Nat Immunol* 2010; 11(3): 207-15.
- 39 Buckley SM, Aranda-Orgilles B, Strikoudis A, Apostolou E, Loizou E, Moran-Crusio K, *et al.* Regulation of pluripotency and cellular reprogramming by the ubiquitin-proteasome system. *Cell Stem Cell* 2012; 11(6): 783-98.
- 40 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-76.
- 41 Stadtfeld M, Hochedlinger K. Induced pluripotency: History, mechanisms, and applications. *Genes Dev* 2010; 24(20): 2239-63.
- 42 Meng X, Lindahl M, Hyvonen ME, Parvonen M, de Rooij DG, Hess MW, *et al.* Regulation of cell fate decision of undifferentiated spermatogonia by GDNF. *Science* 2000; 287(5457): 1489-93.
- 43 Lee J, Kanatsu-Shinohara M, Morimoto H, Kazuki Y, Takashima S, Oshimura M, *et al.* Genetic reconstruction of mouse spermatogonial stem cell self-renewal *in vitro* by Ras-cyclin D2 activation. *Cell Stem Cell* 2009; 5(1): 76-86.
- 44 Ishii K, Kanatsu-Shinohara M, Toyokuni S, Shinohara T. FGF2 mediates mouse spermatogonial stem cell self-renewal via upregulation of Etv5 and Bcl6b through MAP2K1 activation. *Development* 2012; 139(10): 1734-43.
- 45 Lee J, Kanatsu-Shinohara M, Inoue K, Ogonuki N, Miki H, Toyokuni S, *et al.* Akt mediates self-renewal division of mouse spermatogonial stem cells. *Development* 2007; 134(10): 1853-9.
- 46 Oatley JM, Avarbock MR, Brinster RL. Glial cell line-derived neurotrophic factor regulation of genes essential for self-renewal of mouse spermatogonial stem cells is dependent on Src family

- kinase signaling. *J Biol Chem* 2007; 282(35): 25842-51.
- 47 Oatley JM, Avarbock MR, Telaranta AI, Fearon DT, Brinster RL. Identifying genes important for spermatogonial stem cell self-renewal and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(25): 9524-9.
- 48 Suda T, Takubo K, Semenza GL. Metabolic regulation of hematopoietic stem cells in the hypoxic niche. *Cell Stem Cell* 2011; 9(4): 298-310.
- 49 Kocabas F, Xie L, Xie J, Yu Z, DeBerardinis RJ. Hypoxic metabolism in human hematopoietic stem cells. *Cell Biosci* 2015; 5: 39.
- 50 Wang L, Ye X, Liu Y, Wei W, Wang Z. Aberrant regulation of FBW7 in cancer. *Oncotarget* 2014; 5(8): 2000-15.
- 51 Xu Y, Sengupta T, Kukreja L, Minella AC. MicroRNA-223 regulates cyclin E activity by modulating expression of F-box and WD-40 domain protein 7. *J Biol Chem* 2010; 285(45): 34439-46.
- 52 Min SH, Lau AW, Lee TH, Inuzuka H, Wei S, Huang P, *et al.* Negative regulation of the stability and tumor suppressor function of Fbw7 by the PIN1 prolyl isomerase. *Mol Cell* 2012; 46(6): 771-83.
- 53 Atchison FW, Means AR. Spermatogonial depletion in adult PIN1-deficient mice. *Biol Reprod* 2003; 69(6): 1989-97.