

· 综 述 ·

Akt/FoxO传导通路调节细胞凋亡作用的研究进展

姚 越, 孟 佳, 姜礼红, 张一娜*

(哈尔滨医科大学附属第二医院老年病科, 哈尔滨 150086)

【摘 要】 FoxO转录因子是PKB/Akt的下游靶点。Akt调节细胞生存和增殖。Akt磷酸化FoxO抑制FoxO的转录功能, 促进细胞生存、生长和增殖。在癌症中FoxO在不同的细胞信号通路中发挥重要作用。FoxO通过两个途径抑制凋亡信号, 促进细胞生长, 其包括线粒体靶点蛋白Bcl12家族的多种前凋亡成员的表达、死亡受体配体如Fas配体和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)的表达, 或是增加各种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白的水平。本文主要概括了Akt/FoxO调节细胞生长和生存的机制, 以期抗癌治疗提供新的可能。

【关键词】 FoxO; Akt; 细胞凋亡

【中图分类号】 R329.25

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2013.00241

Role of Akt/FoxO pathway in regulation of cell apoptosis

YAO Yue, MENG Jia, JIANG Li-Hong, ZHANG Yi-Na*

(Department of Geriatrics, the Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

【Abstract】 The transcription factor FoxO is a downstream target of PKB/Akt that regulates cell survival and proliferation. Phosphorylation of FoxO by Akt inhibits its own transcriptional function and thus promotes cell survival, growth and proliferation. Substantial evidence showed that FoxO plays vital roles in diverse cellular signaling pathways that are implicated in cancer. There are two means by which FoxO inhibited cell apoptosis and promoted cell growth. One means is to regulate the expression of members of mitochondrial Bcl12 family, Fas ligands and tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand (TRAIL). The other is to enhance the level of cyclin-dependent kinase inhibitors. In this paper, we reviewed the underlying mechanisms of the involvement of Akt/FoxO in the regulation of cell survival and growth in order to provide new options for anti-tumor therapy.

【Key words】 FoxO; Akt; apoptosis

This work was supported by the Science and Technology Research Project of Educational Commission of Heilongjiang Province (1252Z019).

Corresponding author: ZHANG Yi-Na, E-mail: yinazhlu@163.com

肿瘤从本质上说是一种基因病, 各种致癌因素引起DNA损害, 从而激活原癌基因、灭活抑癌基因及凋亡调节基因、改变DNA修复基因, 继而引起表达水平的异常, 使靶细胞发生转化。FoxO通过两个途径抑制凋亡信号, 促进细胞生长, 参与肿瘤的发生和发展, 抑制肿瘤活性导致肿瘤细胞凋亡, 这可能成为肿瘤治疗的靶点。

1 Akt/FoxO途径概述

1.1 Akt

Akt是相对分子质量为 57×10^3 的丝氨酸-酪氨酸

激酶, 由第二信使磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide-3 kinase, PI3K)活化调节, 它包括Akt1、Akt2和Akt3等3个亚型, 这3个同工酶在不同的位置编码。Akt1在多组织中广泛表达, Akt2主要在胰岛素敏感的组织中表达, 在其他组织中低表达, Akt3仅在脑组织和睾丸组织中表达。Akt这3个亚型的组织表达特异性表明, 它们在不同的器官或组织的生理功能维持和疾病发生过程中可能起到重要作用。Akt激酶通过多种途径在细胞加工过程中起到重要作用。Akt通过作用于靶点细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(cell dependent kinase inhibitors, CDKIs) p21和p27

收稿日期: 2013-06-10; 修回日期: 2013-08-22

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(1252Z019)

通信作者: 张一娜, E-mail: yinazhlu@163.com

直接调节细胞周期和增殖,通过调节细胞周期蛋白D1和p53间接调节细胞周期和增殖。

1.2 FoxO

Forkhead转录因子家族是2000年正式统一命名的转录因子家族,目前分为19个亚家族FoxA~FoxS。Forkhead家族的共同特征是具有1个高保守的DNA片段Fox域。FoxO转录因子是Forkhead转录因子家族中的1个亚群,从蠕虫到人均有表达。在哺乳动物细胞中由4个基因编码组成,分别是FoxO1 (FKHR), FoxO3 (FKHRL1), FoxO4 (Afx) 和FoxO6^[1]。FoxO蛋白质通过后转录修饰发挥作用,如丝氨酸或苏氨酸以及赖氨酸残基的磷酸化和乙酰化等。FoxO转录因子穿梭于细胞核内外,调节细胞分化、增殖、细胞周期、新陈代谢、应激和肿瘤抑制途径。

1.3 Akt/FoxO途径

FoxOs转录因子是PKB/Akt的下游靶点, Akt磷酸化FoxOs抑制FoxOs的转录功能。Akt磷酸化FoxOs的丝氨酸/苏氨酸残基,磷酸化的FoxOs与DNA的亲合力下降,与伴侣蛋白14-3-3蛋白结合的亲和力增加,并从细胞核转移到细胞质,细胞质中的14-3-3蛋白与FoxOs结合,阻止FoxOs逆转运至细胞核内,从而抑制FoxOs转录活性^[2,3]。当Akt活性降低时, FoxO发生去磷酸化, FoxO进入细胞核内,转录活性被激活,并结合靶基因对应的DNA靶向序列,行使它的转录功能。Akt调节细胞生存包括直接抑制(磷酸化)前凋亡信号,如Bad和FoxOs。目前研究表明KSR1连接增强子(connector enhancer of KSR 1, CNK1)和Akt相互作用,通过激活Akt/FoxO信号通路促进细胞增殖^[4]。

2 FoxO与抑制信号

2.1 FoxO调节细胞周期蛋白

细胞周期是指从细胞分裂结束开始,到下一次细胞分裂结束为止的过程。细胞周期蛋白(cyclin, CYC)、细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin dependent kinases, CDKs)、CDKIs3种分子相互作用调节细胞周期。抑制CDKs活性的物质可以抑制肿瘤细胞恶性生长。FoxOs调节多种细胞周期抑制基因CDKI p27^{KIP1},促进细胞周期停滞在G₁/S边界。致癌信号通过Akt磷酸化FoxOs,阻碍干扰p27^{KIP1}基因转录的核转运功能,促进细胞增殖。FoxOs可以上调CDKIs的INK4家族如p15和p19。INK4家族特异性地结合D-CDK4/6复合物,导致D-CDK4/6复合物不被激活,使细胞周期停滞^[5]。FoxO另一个靶点基因是CDKI p21^{WAF1/CIP1}。FoxO3a抑制急性髓系白血病细

胞增殖,一部分是通过激活Fas配体(Fas ligands, FasL)和p21^{WAF1/CIP1}基因转录,而IKK维持FoxO3a在细胞质中的活性,这样在急性髓系白血病细胞的增殖中FoxO3a失活/核移除起到重要作用^[6]。在乳腺癌细胞上保守Sam68的抗增殖作用与CDKI p21^{WAF1/CIP1}的上调有关,提高FoxOs的转录活性减弱Akt/GSK-3 β 信号^[7]。在脑疾病中,CDK1的激活与成熟神经元的凋亡相关。CDK1使FoxO1的Ser249位点磷酸化阻断了FoxO1与14-3-3蛋白的结合, FoxO1在神经元胞核聚集诱导了易感凋亡基因Bim的表达,最终导致神经元的凋亡^[8]。FoxO引起细胞周期阻滞可以为已损伤的DNA修复和细胞修复提供时间。

2.2 FoxO与p53的关系

p53是一个重要的抑癌基因, FoxO和p53的调节功能和方式有很多相似之处,两者都能被磷酸化及乙酰化。FoxO和p53通过多重机制引起凋亡,但主要是上调前凋亡蛋白BH3-only蛋白。事实上FoxOs许多靶点包括p21^{WAF1/CIP1}, GADD45, WIP1和PA26也通过p53调节^[9]。由于营养素缺失, FoxO解除p53依赖性Sirt1基因的抑制,上调Sirt1表达。Sirt1基因的阻拮可能通过FoxO和p53蛋白相互作用而调节,而不依赖Sirt1启动子上FoxO结合位点的存在^[10]。这些都暗示FoxO和p53有相似作用,至少通过重叠调节靶基因的方式抑制肿瘤形成。目前研究发现,在小鼠的肺腺癌和人的非小细胞肺癌中,致癌物使FoxO3被删除,这证明FoxO3的缺失与非小细胞肺癌形成的机制相关^[11]。吸烟者肺腺癌中几乎有24.2%的FoxO3纯合子或等位基因缺失^[12]。以上均说明FoxOs作为肿瘤抑制因子可能是治疗的靶点。

3 FoxO与凋亡

3.1 FoxO与Bcl-2家族

Bcl-2家族蛋白是细胞凋亡的特征性调节者,并在BH(Bcl-2同源体)基础上分为3个亚型。促凋亡蛋白BH3-only蛋白包括BIK, ECL-1, Bim, BMF, NOXA, BID, BAD, BNIP3, PUMA和Beclin-1。用蛋白酶抑制剂治疗减少了通过修复正常的FoxO3a表达的BCR-ABL-诱导白血病的负担,延长BCR-ABL转导小鼠的生存率^[13]。紫朱草素(alkannin)新型衍生物(SYUNZ-16)诱导凋亡与外源性FoxO蛋白在核内积聚增加有关,在肝癌细胞中上调Bim和TRADD的mRNA表达^[14]。PUMA通过阻拮作用和致敏作用强效调节线粒体外膜的通

透性, 它们都依赖PUMA结合抗凋亡蛋白Bcl-2^[15]。细胞因子或生长因子缺失时FoxO3a上调PUMA的转录, 这表明在细胞凋亡和应激反应调节中FoxO介导PUMA转录可能起到重要作用^[16]。

3.2 FoxO介导外源凋亡途径

FoxO增加凋亡因子如FasL和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 的转录直接调节外在凋亡途径。TRAIL是肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 超家族中的一员, 与TNF和FasL不同的是TRAIL能诱导多种肿瘤细胞与转化细胞发生凋亡而对正常细胞无诱导凋亡作用。TRAIL的选择性诱导肿瘤细胞凋亡的特性使其具有良好的临床应用前景, 在肿瘤领域里得到深入的研究。肝星形细胞TRAIL的暴露导致FoxO1和FoxO3a的去磷酸化和核内聚集。LX-2细胞中FoxOs活化促进TRAIL诱导凋亡^[17]。在难治性急性淋巴细胞白血病中, FoxO3通过TRAIL引起细胞的凋亡, 肿瘤抑制因子p16INK4A可以抑制急性淋巴细胞白血病细胞内源性FoxO3的表达, 表明这两种肿瘤抑制蛋白共同作用来抑制儿童白血病的发生^[18]。

3.3 FoxO/PTEN轴在细胞凋亡中的作用

在恶性肿瘤中PTEN是最常见的突变肿瘤抑制基因之一, 它通常在人染色体10q23上因纯合子缺失而发生突变。PTEN通过催化使PIP3转化为PIP2, 抑制PI3K-Akt-FoxO通路, 从而抑制细胞生长和增殖。对缺乏PTEN的造血系统的分析表明, 条件性去除PTEN驱动器通过PI3K/Akt的过度活化退出静止期, 导致正常造血干细胞衰竭, 从而在同一时间导致白血病^[19]。PTEN是PI3K/Akt通路重要的负性调控器。由于PTEN是FoxO靶点基因, FoxOs增加PTEN转录确实增强FoxO的肿瘤抑制的生物学功能。因此, 恢复FoxO核表达和及其的靶基因可能为针对性癌症治疗提供了一个重要的方法。

4 修复FoxO基因表达

由于其他肿瘤抑制因子如p53或PTEN无法通过遗传或外在条件改变它们的功能, 因此再活化FoxOs肿瘤抑制基因可能成为值得关注的抗癌策略。有两个重要的方法为修复FoxO活性提供了广泛的可能性: (1) FoxO和调节器重新活化; (2) 针对PI3K-Akt-mTOR通路修复FoxO活性。

4.1 FoxO的再活化

Akt磷酸化FoxOs有3个重要的调控点 (FoxO3序

列的Thr32, Ser253和Ser315), 一种可能是FoxOs上3个特征性Akt磷酸化位点发生突变, 使FoxOs不再进行磷酸化而在细胞核内聚集, 在PTEN失活的细胞中使FoxO再活化。事实上, 过表达的FoxO1或FoxO3a的3个突变体通过诱导细胞周期停滞在G₁期使腺病毒介导的基因转移, 抑制细胞周期增殖, 促进细胞凋亡。Lam等^[20]发现在MCF-7和MDA-MB-231乳腺癌细胞中, 经过蒺藜科植物提取物处理的乳腺癌细胞, FoxO3a表达升高, 出现细胞周期停滞和细胞死亡。进一步分析表明, 甲基硒酸在前列腺癌细胞中抗癌作用的关键是FoxO1基因激活^[21]。Shou等^[22]发现在鼻咽癌组织中FoxO3a表达减低, 并与其临床分期、淋巴结转移和远处转移明显相关, FoxO3a低表达者与高表达者相比预后明显不良。通过不同的方法恢复FoxO活性对癌症的治疗和预防是有益的。

4.2 PI3K-Akt-mTOR通路

PI3K-Akt-mTOR信号通路在肿瘤发生过程中起核心作用。PTEN是PI3K/Akt通路的关键拮抗剂。很多恶性肿瘤中PTEN缺失, 这不仅与肿瘤的发展也与抗肿瘤药物的临床耐药有关。作用于单一类型PI3K, 抑制多个PI3K亚型或是抑制其他PIK家族成员的抑制剂已通过临床前期研究, 进入了I期和II期临床试验^[23]。PI3K抑制剂的临床益处是有限的。迄今止, 尽管已经有几个因子 (如MK-2206, RX-0201, PBI-05204和GSK2141795) 进行不同阶段的临床试验^[24], 但已研究的几种类型Akt抑制剂因其高毒性或在体内的低生物利用率及稳定性, 应用也很局限。Akt抑制剂所具有的严重副作用可能是因为Akt在很多细胞进程中起到重要作用。PI3K-Akt-mTOR信号通路研究最多的靶点是mTOR信号, 临床上有西罗莫司 (雷帕霉素, sirolimus, Rapamycin)、西罗莫司脂化物替西罗莫司 (temsirolimus)、依维莫司 (everolimus) 和地福莫司[42- (二甲基亚磷酰) 雷帕霉素, deforolimus] 靶向作用于mTOR^[25]。在雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 阳性的乳腺癌患者中, 联合应用依维莫司和来曲唑 (letrozole) 的缓解率 (68%) 高于单独应用来曲唑的缓解率 (59%)^[26]。以上说明肿瘤特异性信号转导通路的分子靶向治疗是一种有前途的新型有效抗癌方案。

5 结 论

综上所述, FoxO转录因子是调节细胞生长的重要物质。激活PI3K途径使FoxO磷酸化, 从细胞核转移至细胞质聚集, 抑制其转录功能。FoxO生长抑制功能涉及细胞周期抑制剂、内在及外在细胞凋亡诱

导剂以及与肿瘤抑制因子p53的相互作用,因此修复FoxO活性是很好的防癌策略。Akt磷酸化促进FoxO核转移和降解,PI3K/Akt通路的药物靶点促进FoxOs在细胞核聚集,这可能成为炎症相关性疾病包括癌症的治疗靶点。

【参考文献】

- [1] Gross DN, van den Heuvel AP, Birnbaum MJ. The role of FoxO in the regulation of metabolism[J]. *Oncogene*, 2008, 27(16): 2320–2336.
- [2] Fabre S, Lang V, Bismuth G. PI3-kinase and the control of T cell growth and proliferation by FoxOs[J]. *Bull Cancer*, 2006, 93(5): E36–E38.
- [3] Van Der Heide LP, Hoekman MF, Smidt MP. The ins and outs of FoxO shuttling: mechanisms of FoxO translocation and transcriptional regulation[J]. *Biochem J*, 2004, 380(Pt 2): 297–309.
- [4] Fritz RD, Varga Z, Radziwill G. CNK1 is a novel Akt interaction partner that promotes cell proliferation through the Akt-FoxO signalling axis[J]. *Oncogene*, 2010, 29(24): 3575–3582.
- [5] Węsierska-Gądek J, Maurer M, Zulehner N, *et al.* Whether to target single or multiple CDKs for therapy? That is the question[J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(2): 341–349.
- [6] Chapuis N, Park S, Leotoing L, *et al.* IκB kinase overcomes PI3K/Akt and ERK/MAPK to control FOXO3a activity in acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2010, 116(20): 4240–4250.
- [7] Song L, Wang L, Li Y, *et al.* Sam68 up-regulation correlates with, and its down-regulation inhibits, proliferation and tumorigenicity of breast cancer cells[J]. *J Pathol*, 2010, 222(3): 227–237.
- [8] Yuan Z, Becker EB, Merlo P, *et al.* Activation of FOXO1 by Cdk1 in cycling cells and postmitotic neurons[J]. *Science*, 2008, 319(5870): 1665–1668.
- [9] Fu Z, Tindall DJ. FOXOs, cancer and regulation of apoptosis[J]. *Oncogene*, 2008, 27(16): 2312–2319.
- [10] Nemoto S, Fergusson MM, Finkel T. Nutrient availability regulates SIRT1 through a forkhead-dependent pathway[J]. *Science*, 2004, 306(5704): 2105–2108.
- [11] Blake DC Jr, Mikse OR, Freeman WM, *et al.* FOXO3a elicits a pro-apoptotic transcription program and cellular response to human lung carcinogen nicotine-derived nitrosaminoketone (NNK)[J]. *Lung Cancer*, 2010, 67(1): 37–47.
- [12] Mikse OR, Blake DC Jr, Jones NR, *et al.* FOXO3 encodes a carcinogen-activated transcription factor frequently deleted in early-stage lung adenocarcinoma[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(15): 6205–6215.
- [13] Jagani Z, Song K, Kutok JL, *et al.* Proteasome inhibition causes regression of leukemia and abrogates BCR-ABL-induced evasion of apoptosis in part through regulation of forkhead tumor suppressors[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(16): 6546–6555.
- [14] Deng R, Tang J, Xie BF, *et al.* SYUNZ-16, a newly synthesized alkannin derivative, induces tumor cells apoptosis and suppresses tumor growth through inhibition of PKB/AKT kinase activity and blockade of AKT/FOXO signal pathway[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(1): 220–229.
- [15] Chipuk JE, Green DR. PUMA cooperates with direct activator proteins to promote mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(17): 2692–2696.
- [16] Chiacchiera F, Simone C. The AMPK-FoxO3A axis as a target for cancer treatment[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(6): 1091–1096.
- [17] Park SJ, Sohn HY, Yoon J, *et al.* Down-regulation of FoxO-dependent c-FLIP expression mediates TRAIL-induced apoptosis in activated hepatic stellate cells[J]. *Cell Signal*, 2009, 21(10): 1495–1503.
- [18] Ausserlechner MJ, Salvador C, Deutschmann A, *et al.* Therapy-resistant acute lymphoblastic leukemia (ALL) cells inactivate FOXO3 to escape apoptosis induction by TRAIL and Noxa[J]. *Oncotarget*, 2013, 4(7): 995–1007.
- [19] Ito K, Bernardi R, Pandolfi PP. A novel signaling network as a critical rheostat for the biology and maintenance of the normal stem cell and the cancer-initiating cell[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2009, 19(1): 51–59.
- [20] Lam M, Carmichael AR, Griffiths HR. An aqueous extract of *Fagonia cretica* induces DNA damage, cell cycle arrest and apoptosis in breast cancer cells via FOXO3a and p53 expression[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e40152.
- [21] Zhang H, Fang J, Yao D, *et al.* Activation of FOXO1 is critical for the anticancer effect of methylseleninic acid in prostate cancer cells[J]. *Prostate*, 2010, 70(12): 1265–1273.
- [22] Shou Z, Lin L, Liang J, *et al.* Expression and prognosis of FOXO3a and HIF-1α in nasopharyngeal carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(4): 585–593.
- [23] Ihle NT, Powis G. Take your PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors race through the clinic and toward cancer therapy[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(1): 1–9.
- [24] Pal SK, Reckamp K, Yu H, *et al.* Akt inhibitors in clinical development for the treatment of cancer[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2010, 19(11): 1355–1366.
- [25] Konings IR, Verweij J, Wiemer EA, *et al.* The applicability of mTOR inhibition in solid tumors[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2009, 9(3): 439–450.
- [26] Di Cosimo S, Baselga J. Targeted therapies in breast cancer: where are we now[J]? *Eur J Cancer*, 2008, 44(18): 2781–2790.

(编辑:张青山)