

FoxO 转录因子与红细胞信号通路的研究进展*

冯婷婷 综述,冀林华[△] 审校
(青海大学医学院,青海西宁 810001)

[关键词] FoxO 转录因子;磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路;红细胞信号通路

[中图分类号] R331.14

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)21-3002-03

红细胞的生成是个复杂的过程,通过激活干细胞因子/干细胞因子受体(stem cell factor/stem cell factor receptor, SCF/c-kit)和促红细胞生成素/促红细胞生成素受体(erythropoietin/erythropoietin-receptor, EPO/EPOR)通路,完成红细胞生长发育。叉头状转录因子(forkhead transcription factor, FoxO)是一个与红细胞关系密切的转录因子。磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/PKB)通路是红细胞信号转导中 SCF/c-kit 和 EPO/EPOR 通路共同的一条通路, FoxO 受 PI3K/PKB 磷酸化级联通路的调节,其活性与磷酸化状态直接相关。PI3K 激活可使膜磷酸肌醇磷酸化,其产物可作为第二信使在细胞中传递信号,介导细胞的信号转导。FoxO 转录因子与红细胞信号通路关系密切,本文主要针对 FoxO 转录因子与红细胞信号通路关系的研究进展进行综述。

1 FoxO 转录因子家族的构成特点及生物学特性

1.1 FoxO 转录因子家族的构成 FoxO 转录因子家族含有约由 110 个氨基酸组成的 DNA 结合域(Fork head 结构域),该结构域相当保守,也称为翼状螺旋结构域^[1]。其核心部分由 N-末端的 3 个 α -螺旋(H1、H2、和 H3)依次排列,两侧由 β -折叠(W1 和 W2)片连接了两个“翼”的环状结构,因此 FoxO 蛋白又称翼状螺旋蛋白^[2]。此外, Fork head 结构域中多数氨基酸都相同,呈高度保守结构。

1.2 FoxO 转录因子的结构特点 根据现有的命名法及其 DNA 结合域的同源性, Fox 家族已被分为 19 个亚族(A~S)。目前,已经证实 FoxO 蛋白对红细胞生成的影响较大^[3]。FoxO 是 Fox 转录因子家族中的一个亚族,在人类的 4 个同源基因分别为 FoxO1、FoxO2、FoxO3a 和 FoxO4^[4]。在斑马鱼中发现 FoxO 家族中的一个成员命名为 FoxO5,在小鼠体内发现的另一个 FoxO 新成员命名为 FoxO6^[5]。FoxO 蛋白有 3 个高度保守的 PKB 磷酸化位点,包括 Thr24、Ser256 和 Ser319,其基本功能是调节细胞周期、细胞凋亡、萎缩和体内能量的平衡^[6]。FoxO 能够与特异的序列结合,作为转录活化因子,其活性受多条信号通路的调节,主要方式是对 FoxO 特定的氨基酸位点进行磷酸化/去磷酸化的调控^[7]。

1.3 FoxO 转录因子表达范围 FoxO 蛋白表达范围广泛,在卵巢、前列腺、骨骼肌、脑组织、心脏、肺、肝脏、胰腺、胸腺、脾脏和睾丸组织中均有表达。FoxO1 及 FoxO3a 的基因通过肺泡横纹肌肉瘤中的染色体转位被鉴定出^[8]。FoxO4 与急性淋

系白血病中 t(X;11)染色体转位有关^[9]。研究证实,在胚胎鼠和成年鼠中, FoxO1、FoxO3a 及 FoxO4 在肌肉、脂肪组织和肝脏中表达最高, FoxO3a 在心脏、大脑和肾脏中比 FoxO1 分布更广^[10]。FoxO3 在整个大脑中均有表达,包括认知和运动区域。

1.4 FoxO 转录因子的生物学功能 FoxO 转录因子的活性与磷酸化状态直接相关。FoxO 特异性的氨基酸位点被磷酸化后,从细胞核内转移到细胞质中,失去转录调控活性,功能被抑制。因此, FoxO 在核内外的转位决定了其对基因转录的调控。下游调节的靶基因多与细胞周期、细胞凋亡、衰老及代谢有关。FoxO1 是成骨细胞增殖和维持机体氧化还原平衡所必须的转录因子,控制着骨的形成^[11]。胰岛素、类胰岛素样生长因子及其他转录因子与其特异的酪氨酸激酶受体结合后激活 PKB,活化的 PKB 使上述 3 个位点磷酸化,导致 FoxO1 蛋白从细胞核易位到细胞质中,从而抑制其转录活性,导致 FoxO1 靶基因的表达下降^[12],影响下游基因的表达。FoxO 转录因子可参与多种生理及病理过程,例如细胞的增殖、凋亡、自噬、代谢、老化、癌症及神经系统疾病^[13-14]。其中, FoxO3 可能与炎性反应有关,缺少 FoxO3 可能会引起年龄相关性不孕、神经细胞减少^[3];而 FoxO4 的缺失可引起肠炎, FoxO6 与记忆相关性较大^[15]。

2 红细胞信号通路

红细胞的信号转导通路主要涉及 SCF/c-kit、EPO/EPOR 等信号转导通路。SCF/c-kit 通路分别激活 Src 家族通路,涉及调节因子 Src、Yes、Lyn、Fyn、Lck、Blk、Fgr、Hck 和 Yrk; PI3K 通路,涉及调节因子蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)和糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3, GSK3);以及磷脂酶 C- γ (phospholipase C- γ , PLC- γ)通路,涉及调节因子二脂酰甘油(diacylglycerol, DAG)、磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol 4,5-biphosphate, PIP2)和蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)。EPO/EPOR 通路分别激活 Janus 激酶/信号转导和转录激活子(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)通路,涉及调节因子 JAK1、JAK2、JAK3 和酪氨酸激酶 2(tyrosine kinase 2, TYK2); Ras/丝裂原活化蛋白激酶(Ras/mitogen activated protein kinase, Ras/MAPK)通路,涉及调节因子 Src 同源区 2 结构域蛋白 C(Src homology domain 2 containing protein, Shc)、Src 同源区 2(Src homology 2, SH2)、生长因子受体结合蛋白 2

* 基金项目:青海省国际合作项目基金资助项目(2014-HZ-808)。研究。[△] 通讯作者, E-mail:13997244508@163.com。

作者简介:冯婷婷(1989—),住院医师,在读硕士,主要从事慢性高原病

(growth factor receptor-bound protein 2, Grb2) 和 SOS(son of sevenless); 以及 PI3K 通路, 涉及调节因子 PKB、Akt 和持续活化型 Akt(constitutively active mutant of AKT, Myr-Akt)^[16]。另外, SCF/c-kit 激活 Src, EPO/EPOR 激活 JAK2 后, 可共同作用于 Ras, 进而激活 MAPK, 引起细胞核内 c-jun 及 c-fos 的表达, 促进红细胞的增殖分化。红细胞分化发育过程中的两条主要通路 SCF/c-kit 和 EPO/EPOR 既可分别发挥作用, 又可通过 Ras 途径互相联系, 共同促进红细胞的分化发育。PI3K 通路是红细胞生成发育的共同途径, FoxO 受 PI3K/PKB 磷酸化级联通路的调节, 其活性与磷酸化状态直接相关。PI3K 激活可使膜磷酸肌醇磷酸化, 其产物可作为第二信使在细胞中传递信号, 介导细胞的信号转导。

3 FoxO 转录因子的信号通路及其与红细胞信号通路的相互关系

3.1 FoxO 转录因子影响 PI3K/PKB 信号通路传导的过程及效应 PKB 也称 Akt, PI3K 信号通路能够使 FoxO 发生磷酸化, 使其由细胞核转运至细胞质, 导致其转录活性下调, 从而抑制 FoxO 调控的下游基因的表达^[17]。FoxO 的乙酰化可削弱 FoxO1 结合同源 DNA 序列的能力, 进而又加强 FoxO 的磷酸化, 进一步降低其转录活性。FoxO 转录因子能够调节 PI3K/PKB 信号通路中的下游基因。研究证实, FoxO 在细胞凋亡、DNA 损伤(修复)、应激、血管生成、糖代谢和肿瘤发生等过程中发挥着关键性的作用。磷酸化和去磷酸化的修饰作用在介导各种生长因子信号传导中最常见, 胰岛素和生长因子等与受体结合后激活 PI3K/PKB 信号通路, FoxO 被 PKB 磷酸化, 磷酸化的 FoxO 与受体蛋白结合后构象发生改变, 从细胞核进入细胞质, 失去转录活性。

PI3K/PKB 信号通路是红细胞信号转导中较为重要的一条通路, PI3K 激活可使膜磷酸肌醇磷酸化, 其产物可作为第二信使在细胞中传递信号, 介导细胞的信号转导。PI3K 激活后主要使 4,5-二磷酸肌醇转变生成 3,4,5-三磷酸肌醇, 随后激活 PKB、c-jun 氨基末端激酶、PKC 等下游磷酸化底物激酶^[15]。PI3K 通路主要与细胞有丝分裂、分化、存活、黏附及分泌有关。激活后的 PI3K 磷酸化小分子磷脂酰肌醇-2 磷酸(PIP2)形成磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate, PIP3)。PIP3 是 PI3K/PKB 信号途径中一个重要的第二信使。3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1((3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1, PDK1) 和 PKB 的共同结构域与 PIP3 结合定位到细胞膜, 进而 PDK1 使 PKB 磷酸化激活^[18]。PKB 激活后进一步磷酸化调控下游基因, 其中 FoxO 是一个重要基因, 磷酸化的 FoxO 因子从细胞核穿梭并滞留到细胞质中, 这些磷酸化的蛋白导致 DNA 损伤, 从而产生约束作用, 形成新的复合物并从细胞核中脱出, 抑制蛋白表达, 不能发挥其转录活性。无刺激因子时, FoxO 停留在细胞核中, 处于去磷酸化的状态。处于细胞核中的 FoxO 转录因子可以与相关的靶基因相结合从而影响细胞周期、凋亡, 以及新陈代谢和应激反应等^[19]。实验证实, 在果蝇中约有 277 个基因的表达受 FoxO 直接或间接调节^[20]。

3.2 FoxO 与红细胞信号转导其他信号通路的关系 FoxO1 通过激活 PKB, 可以调控核转录因子- κ B(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)等炎性因子的转录活性^[21]。红细胞信号转

导 JAK/STAT 通路被认为是一种多种细胞外信号导致特异性靶细胞上基因表达快速改变的经典途径, 可能是 EPO 实现抗炎、抗凋亡作用的重要途径。磷酸化的 JAK2 可激活 NF- κ B 通路, 调控炎症反应。对于 NF- κ B 的抗凋亡机制, 已证实 NF- κ B 为 PKB 的靶分子并受其调控, 且这些信号分子之间构成了复杂的交叉信号通路以共同发挥作用。NF- κ B 可诱导凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis family of protein, IAP)家族的表达, 从而调控细胞生成。因此, FoxO1 可以通过 PKB 影响红细胞信号转导。

4 小结

综上所述, FoxO 转录因子与 PI3K/PKB 信号通路影响红细胞的生成、增殖、活力及凋亡。目前, 关于 FoxO 转录因子的研究还在不断深入, 今后的研究重点将集中在 FoxO 转录因子与其他信号通路的关系上。笔者相信随着对 FoxO 转录因子不断深入的研究, 将为探讨红细胞生成的调控机制提供更重要的依据。

参考文献

- [1] Wijchers PJ, Burbach JP, Smidt MP. In control of biology: of mice, men and Foxes[J]. *Biochem J*, 2006, 397(2): 233-246.
- [2] Carlsson P, Mahlapuu M. Forkhead transcription factors: key players in development and metabolism[J]. *Dev Biol*, 2002, 250(1): 1-23.
- [3] Renault VM, Rafalski VA, Morgan AA, et al. FoxO3 regulates neural stem cell homeostasis[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 5(5): 527-539.
- [4] van der Vos KE, Coffey PJ. The extending network of FOXO transcriptional target genes[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(4): 579-592.
- [5] Kim DH, Perdomo G, Zhang T, et al. FoxO6 integrates insulin signaling with gluconeogenesis in the liver[J]. *Diabetes*, 2011, 60(11): 2763-2774.
- [6] Tzivion G, Dobson M, Ramakrishnan G. FoxO transcription factors; regulation by AKT and 14-3-3 proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(11): 1938-1945.
- [7] Storz P. Forkhead homeobox type O transcription factors in the responses to oxidative stress[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(4): 593-605.
- [8] Maiese K, Chong ZZ, Shang YC. "Sly as a FOXO": new paths with Forkhead signaling in the brain[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2007, 4(4): 295-302.
- [9] Jagani Z, Singh A, Khosravi-Far R. FOXO tumor suppressors and BCR-ABL-induced leukemia: a matter of evasion of apoptosis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1785(1): 63-84.
- [10] Yeo H, Lyssiotis CA, Zhang Y, et al. FoxO3 coordinates metabolic pathways to maintain redox balance in neural stem cells[J]. *EMBO J*, 2013, 32(19): 2589-2602.
- [11] Rached MT, Kode A, Xu L, et al. FoxO1 is a positive regulator of bone formation by favoring protein synthesis and resistance to oxidative stress in osteoblasts [J]. *Cell*

- Metab, 2010, 11(2):147-160.
- [12] Zhao X, Gan L, Pan H, et al. Multiple elements regulate nuclear/cytoplasmic shuttling of FOXO1; characterization of phosphorylation- and 14-3-3-dependent and -independent mechanisms[J]. Biochem J, 2004, 378(Pt 3):839-849.
- [13] Maiese K, Chong ZZ, Shang YC. OutFOXOing disease and disability; the therapeutic potential of targeting FoxO proteins[J]. Trends Mol Med, 2008, 14(5):219-227.
- [14] Greer EL, Brunet A. FOXO transcription factors in ageing and cancer[J]. Acta Physiol(Oxf), 2008, 192(1):19-28.
- [15] Zhou W, Cao Q, Peng Y, et al. FoxO4 inhibits NF- κ B and protects mice against colonic injury and inflammation[J]. Gastroenterology, 2009, 137(4):1403-1414.
- [16] Ingley E. Integrating novel signaling pathways involved in erythropoiesis[J]. IUBMB Life, 2012, 64(5):402-410.
- [17] Li F, Chong ZZ, Maiese K. Vital elements of the Wnt-
• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.21.041
- Frizzled signaling pathway in the nervous system[J]. Curr Neurovasc Res, 2005, 2(4):331-340.
- [18] Wu Q, Brown MR. Signaling and function of insulin-like peptides in insects[J]. Ann Rev Entomol, 2006, 51(1):1-24.
- [19] Accili D, Arden KC. FoxOs at the crossroads of cellular metabolism, differentiation, and transformation[J]. Cell, 2004, 117(4):421-426.
- [20] Hirota K, Daitoku H, Matsuzaki H, et al. Hepatocyte nuclear factor-4 is a novel downstream target of insulin via FKHR as a signal-regulated transcriptional inhibitor[J]. J Biol Chem, 2003, 278(15):13056-13060.
- [21] Su D, Coudriet GM, Hyun Kim D, et al. FoxO1 links insulin resistance to proinflammatory cytokine IL-1 β production in macrophages[J]. Diabetes, 2009, 58(11):2624-2633.
- (收稿日期:2016-01-11 修回日期:2016-03-02)

Ras/Raf/MEK/ERK 通路与低氧性疾病关系的研究进展*

韩园芳¹综述,冀林华² Δ 审校

(1. 青海大学研究生院,青海西宁 810000;2. 青海大学附属医院血液科,青海西宁 810001)

[关键词] Ras/Raf/MEK/ERK;信号通路;低氧性疾病

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)21-3004-04

Ras/Raf/MEK/细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated protein kinase, ERK)信号通路又称 ERK 通路,该通路主要由一个三级酶联功能单位构成,其通过“瀑布式”的级联反应,将细胞外刺激信号传至细胞内,引起一系列细胞反应,从而调控细胞增殖、分化、凋亡、转移等功能。ERK 通路与低氧性疾病的发生、发展及治疗存在着不可忽视的联系。现结合相关文献,对 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的生物学特征及与多种缺血低氧性疾病关系的研究进展综述如下。

1 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的组成特征

1.1 Ras 蛋白超家族 Ras 蛋白超家族结构上均由约 190 个氨基酸残基构成,仅有一个鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate, GTP)酶结构域。Ras 家族包含 3 种基因类型:HRAS、NRAS 和编码 21×10^3 蛋白的 KRAS。Ras 基因是一种低相对分子质量 GTP 结合蛋白,它有多条信号通路,包括 Raf/MEK/ERK、磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)和 RasG37、Ral-鸟苷酸交换因子(guanine-nucleotide exchange factor, GEF)通路,其中 Ras/Raf/MEK/ERK 途径与细胞的增殖和分化密切相关^[1]。Ras 及相关蛋白在众多的细胞调节过程中起着关键作用,包括细胞增殖与分化、胞内胞液间运输、胞内氧化酶的产生、细胞骨架的调控及胞外信息的跨膜传递等分子开关作用。

1.2 Raf 基因家族 Raf 是丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)蛋白激

酶又称丝裂原活化蛋白质激酶激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase kinase, MAPKKK),Raf 激酶家族是 Ras 的下游效应,是公认的介导增殖信号的必需成分。目前有 Raf-1、A-Raf、B-Raf 3 种类型,其中 Raf-1 是研究最广泛也是功能最多的激酶。Raf 可以通过不同的磷酸化使细胞外不同的信号转化为细胞内特殊的信号应答,其通常是由一系列复杂的事件所活化,包括:(1)通过与 Ras 的配合招募到质膜;(2)Raf 蛋白二聚体的形成;(3)在不同的区域磷酸化或去磷酸化;(4)Raf 激酶抑制剂的裂解;(5)与支架性复合物的联系。

1.3 MEK 与 ERK MEK 即丝裂原活化蛋白质激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase, MAPKK),是丝裂原活化蛋白激酶的一种,主要包括即 MEK1 和 MEK2 两种类型,虽然 MEK1 和 MEK2 有 90% 的氨基酸序列相似,但发现 cDNA 的核苷酸序列存在差异,表明它们是不同的基因产物。MEK1 与 MEK2 被 Ras 和 Raf 下游位于激活结构域的两个磷酸化的丝氨酸残基所活化^[2]。ERK 属于丝裂原活化蛋白质激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族,又被称为 MAPK,具有两种异构体:ERK1 和 ERK2^[3],其可在多种不同的信号传导途径中充当一种共同的信号传导成份,且在细胞周期调控中发挥重要的作用。ERK1 和 ERK2 在细胞周期进展和细胞增殖中的作用被很好地建立在许多类型的细胞,包括免疫细胞。此外,ERK 的激活需要 3 个阶段:(1)Ras 激活 Raf;

* 基金项目:2014 年青海省科技厅国际合作项目(2014-HZ-808)。

通讯作者, E-mail: lindajil@163.com.

作者简介:韩园芳(1989-),在读硕士,主要从事血液病学研究。 Δ