

文章编号 1006-8147(2020)01-0096-04

综述

FOXO3a 转录因子在肿瘤临床诊疗中的应用

刘庚综述,孙晋津 审校

(天津医科大学第二医院肝胆胰外科,天津 300211)

摘要 FOXO3a 是细胞凋亡、增殖、新陈代谢状态、细胞周期阻滞、DNA 损伤和寿命等的关键调控因子,与肿瘤的发生发展密切相关。FOXO3a 对肿瘤的抑制作用为临床肿瘤治疗提供了新方向,本文就 FOXO3a 结构和功能以及在肿瘤治疗方面做一综述。

关键词 FOXO3a;肿瘤;诊断与治疗;生物靶标;耐药性

中图分类号 R730.231

文献标志码 A

叉头框 (forkhead box, FOX) 蛋白在进化上属于保守的转录因子家族,由 FOXM, FOXK, FOXA 和 FOXO 等 4 个亚族组成^[1]。其中 FOXO (forkhead box class O) 亚族是研究最多的亚族之一,是细胞凋亡、增殖、新陈代谢状态、细胞周期阻滞、DNA 损伤和寿命等的关键调控因子^[2-3]。FOXO 功能的失调将导致细胞增殖失控以及 DNA 损伤的累积,从而导致肿瘤的发生。

叉头框转录因子 O 亚型 3a (forkhead box class O3a, FOXO3a) 又名叉头横纹肌肉瘤 1 (forkhead-habdomyosarcoma-like 1, FKHR-L1), 是 FOXO 亚族最重要的成员之一,其转录活性和亚细胞定位受包括磷酸化、乙酰化、甲基化和泛素化在内的严格调控^[2, 4-5]。作为肿瘤抑制因子在多种肿瘤中可以检测到其表达的失调,更被证明是乳腺癌、胃癌、结直肠癌和其他肿瘤预后的标志物^[6-8]。笔者就 FOXO3a 在肿瘤诊治及预后等研究进展做一系统阐述。

1 FOXO3a 活性及功能的调节机制

FOXO3a 位于 6 号染色体长臂 21 区 (6q21)^[9], 由 1 个高度保守的 DNA 结合域即“叉头区”(FKH)、2 个核定位信号(NLS)、转录激活区(TAD)及核输出信号(NES)共 5 个结构域组成。FOXO3a 的活性及功能的调节受多种信号通路的影响,并参与生物体细胞中多个病理和生理过程的调节。

1.1 转录后调节 (Post-transcriptional regulation)
FOXO3a 是许多 MicroRNA (miRNA) 的作用靶点, FOXO3a 蛋白的表达直接或间接的受到多种 miRNA 调节。实验研究表明,在乳腺癌^[10]、肾缺血再灌注损伤^[11]中, miR-155 的过表达下调 FOXO3a 的表达,并且在神经胶质瘤^[12]中 miR-155 通过直接靶

向 FOXO3a 的 3'端非翻译区(3'-UTR)来下调其表达。同时在阿尔茨海默病^[13]、炎症性肠病^[14]、人类乳腺癌^[15]和特发性肺纤维化等疾病中,分别通过 miR-132 及 miR-212、miR-132 及 miR-223、miR-96 靶向 FOXO3a 的 3'端非翻译区 (3'-UTR), 从而下调 FOXO3a 的表达。此外, miR-205、miR-1307、miR-182、miR-592 等均可以直接或间接的调节 FOXO3a 的表达^[16-19]。因此,通过抑制与 FOXO3a 表达相关的 miRNA 上调 FOXO3a 的表达量,进而促进肿瘤细胞的凋亡可以作为抗肿瘤治疗的又一新策略。

1.2 翻译后修饰 (Post-translational modifications, PTMs)
翻译后修饰是调节蛋白质功能的基本过程, 通过多种官能团的加入引起蛋白质亚细胞位置、分子半衰期、DNA 结合亲和力以及蛋白质分子与其他细胞相互作用的改变。FOXO3a 活性可以由多种类型的翻译后修饰所调节,涉及多种酶及信号分子的变化^[20-21]。

FOXO3a 活性及其靶基因调节主要机制是通过一系列激酶的磷酸化来实现的。蛋白激酶 B(PKB/Akt)是最重要的可以直接磷酸化 FOXO3a 的激酶, FOXO3a 被 Akt 磷酸化后转录活性受到抑制, 并与 14-3-3 核输出蛋白相互作用,通过隐藏 FOXO3a 核定位信号阻止其再次进入至胞核,激活的 Akt 进一步促进磷酸化的 FOXO3a 与泛素 E3 连接酶结合,使 FOXO3a 多聚泛素化后通过蛋白酶体途径将其降解^[22-23]。此外,血清和糖皮质激素调节激酶(SGK)、酪蛋白激酶 1(CK1)、双特异性酪氨酸磷酸化和调节激酶 1A(DYRK1A)、janus N 末端激酶(JNK)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、哺乳动物不育系 20 样激酶 1(MST1)和 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)均可以通过磷酸化多个残基调节 FOXO3a 和其他家族成员^[24-27]。MDM2 癌基因可以介导 FOXO3a 多聚泛素化,促进其降解,单独敲除或敲低 MDM2 能够增加

基金项目 天津市自然科学基金资助项目 (16JCYBJC27100)

作者简介 刘庚(1960-),男,副主任医师,学士,研究方向:肝胆胰外科的临床及基础研究;通信作者:孙晋津, E-mail: jsun02@tmu.edu.cn。

FOXO3a 的稳定性^[28]。乙酰化在 FOXO3a 功能调节中也起着重要作用,氧化应激引起 FOXO3a 乙酰化/去乙酰化并影响 FOXO3a 的定位。在细胞核中,FOXO3a 可被 p300 和 CBP 乙酰化,而被 SIRT1 和 SIRT2 去乙酰化^[29-30]。

与激酶不同,调节 FOXO3a 的磷酸酶很少,蛋白磷酸酶-2A (protein phosphatase-2A, PP2A) 是一种可以调节 FOXO3a 功能的特殊的磷酸酶,在控制 FOXO3a 亚细胞定位和功能中的作用尚不清楚。Singh 等^[31]发现 PP2A 和 FOXO3a 之间相互作用非常密切,14-3-3 核输出蛋白不影响 PP2A 和 FOXO3a 之间的相互作用,但能限制 AKT 磷酸化位点 Thr 32/Ser 253 的活性,由此认为 PP2A 介导的 Thr 32/Ser 253 的去磷酸化是 14-3-3 核输出蛋白解离、FOXO3a 核-质穿梭及转录激活所必需的。Richard 等将成纤维细胞附着在 PP2A 活性受到抑制的胶原蛋白涂层板上时,发现 Akt 的活性增强使 FOXO3a 活性丧失从而促进了成纤维细胞增殖,但同时也发现,过度表达 PP2A 可以逆转 FOXO3a 的失活并增加去磷酸化的 FOXO3a 的比例,从而抑制成纤维细胞增殖^[32]。

因此,细胞中激酶和磷酸酶等之间的不平衡通过调节 FOXO3a 的表达可以极大地影响细胞的命运,FOXO3a 翻译后修饰可能与某些疾病包括肿瘤的发生和进展直接相关。

2 FOXO3a 与肿瘤的关系

2.1 FOXO3a 对肿瘤发生发展的调控作用 在大多数恶性肿瘤中细胞,FOXO3a 的失调主要是通过异常的翻译后修饰。在乳腺癌中,海兔素(Aplysin)可以通过 PI3K / AKT / FOXO3a 信号通路引起 FOXO3a 的去磷酸化,通过抑制细胞的增殖并促进肿瘤细胞的凋亡来抑制肿瘤的生长^[33]。FOXO3a 与 RUNX3 在 Bim 启动子上相互作用协同激活 Bim 的转录,参与诱导细胞凋亡,提示 FOXO3a 可能在胃癌的抑癌作用中发挥重要作用^[34]。FOXO3a 通过优先与 DNA 甲基转移酶 3B(DNMT3B)启动子的结合元件 FOXO3a-E(+166 至+173)相互作用而负向调节 DNMT3B 启动子活性从而促进 DNMT3B 过表达导致肺癌的进一步发展^[35]。在尿路上皮癌细胞系 KK47 及表达 Twist 1 的 TCC-sup 细胞中,FOXO3a 可负向调节 Twist 1 和 Y-box 结合蛋白 1 (YB-1),同时正向调节 E-钙粘蛋白的表达,从而抑制尿路上皮癌的侵袭及转移^[36]。这些研究表明,异常的翻译后修饰可能导致 FOXO3a 表达或功能失调而引起肿瘤的发生与发展。

2.2 FOXO3a 与肿瘤化疗 与常规化疗相比,靶向 FOXO3a 的化疗具有针对性,可特异性识别肿瘤组织,因此对正常组织的毒性作用较低。化疗药物可通过 PI3K-AKT、ERK、JNK、P38 MAPK 及 I κ B 激酶等信号通路将其信号与 FOXO3a 整合,增强 FOXO3a 的表达,介导 FOXO3a 磷酸化并诱导其核-质易位现象及降解从而发挥抗肿瘤作用。紫杉醇、多柔比星吉非替尼、伊马替尼、顺铂和他莫昔芬等细胞生长或细胞毒性药物的抗肿瘤效应是通过 FOXO3a 的活化反向抑制 PI3K-AKT 信号轴所介导的^[37-40]。目前,FOXO3a 的亚细胞定位被用于预测宫颈癌、乳腺癌和食道癌放、化疗反应^[41-42]。

FOXO3a 作为 PI3K-AKT 信号通路重要的下游靶分子,不仅是许多常规基因治疗药物和细胞毒性药物的靶标,同时也是新型内分泌治疗药物、新型化疗药物和分子靶向药物的细胞作用位点,通过对 FOXO3a 基因及上下游分子的调控有望提高肿瘤化疗的效果。

3 FOXO3a 在肿瘤治疗中的应用

3.1 FOXO3a 在肿瘤中的诊疗及预后意义 目前,FOXO3a 作为潜在的生物标志物已被用于多种恶性肿瘤的诊断、治疗和预后。在胃癌^[43]、肝细胞肝癌^[44]、胶质母细胞瘤^[45]及急性髓系白血病^[46]等肿瘤中均观察到 FOXO3a 的过表达与预后不良相关。然而,在鼻咽癌^[47]、卵巢癌^[6]、胶质瘤^[48]及尿路上皮癌^[36]患者中,低表达 FOXO3a 与预后不良相关。Akt、IKK 和 ERK 这三种激酶介导的磷酸化刺激 FOXO3a 的泛素化,导致其被蛋白酶体降解,从而减弱其对肿瘤的抑制作用^[49]。因此,目前通过靶向 FOXO3a 调节以上激酶治疗肿瘤的相关研究正在进行,如化疗药物(曲妥珠单抗,拉帕替尼,阿法替尼,西妥昔单抗,吉非替尼和奈拉替尼)通过抑制 PI3K-AKT 提高 FOXO3a 的活性来抑制上皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR),为治疗乳腺癌,结肠癌,前列腺癌,卵巢癌,肺癌和头颈癌提供了一种新的有价值的治疗策略^[50]。

3.2 作为生物标志物和治疗靶点 由于 FOXO3a 在肿瘤发生发展中的关键作用,FOXO3a 已成为化疗药物的潜在靶点。在霍奇金淋巴瘤(HL)中可以检测到 FOXO3a 的表达,而在非霍奇金淋巴瘤(NHL)中则未观察到 FOXO3a 的表达,FOXO3a 表达仅限于处于静止状态的少量霍奇金细胞,而部分表达 FOXO3a 的细胞被认为具有类似肿瘤起始细胞(Cancer-initiating cells, CICs)的潜力,说明 FOXO3a 可以是部分 HL 的 CIC 的生物标志物,但不是非 HL

的 CIC 标记^[51]。三阴性乳腺癌中 FOXO3a 的表达量与淋巴结转移和无病生存率相关,提示 FOXO3a 可能在促进肿瘤细胞迁移和增殖中具有潜在作用,可以作为三阴性乳腺癌预后的生物标志物和潜在治疗靶标^[52]。由于 FOXO3a 活性直接受多种 miRNA 调节,筛选或合成靶向这些 miRNA 的新型化疗药物也可能是治疗肿瘤的有价值的策略。

4 展望

FOXO3a 功能的复杂性和多样性表明其可能通过多种信号通路、多种方式发挥抗肿瘤作用。鉴于其在肿瘤中的关键作用,深入探讨 FOXO3a 生物学功能、调控机制及其在肿瘤中的作用和下游靶点,将有助于 FOXO3a 发展成可靠的肿瘤诊断的标志物和治疗靶点。

参考文献:

- [1] Carlsson P, Mahlapuu M. Forkhead transcription factors: key players in development and metabolism[J]. *Dev Biol*, 2002,250(1):1
- [2] Sandri M, Sandri C, Gilbert A, et al. Foxo Transcription Factors Induce the Atrophy-Related Ubiquitin Ligase Atrogin-1 and Cause Skeletal Muscle Atrophy[J]. *Cell*, 2004,117(3):399
- [3] Kops G J, Dansen T B, Polderman P E, et al. Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress[J]. *Nature*, 2002,419(6904):316
- [4] Imai Y, Kanao T, Venderova K, et al. Phosphorylation of FoxO by LRRK2 affects the maintenance of dopaminergic neurons in *Drosophila*[J]. *Embo J*, 2014,27(18):2432
- [5] Jing E, Gesta S, Kahn C R. SIRT2 regulates adipocyte differentiation through FoxO1 acetylation/deacetylation[J]. *Cell Metab*, 2007,6(2):105
- [6] Fei M, Zhao Y, Wang Y, et al. Low expression of Foxo3a is associated with poor prognosis in ovarian cancer patients[J]. *Cancer Invest*, 2009,27(1):52
- [7] Bullock M D, Bruce A, Sreekumar R, et al. FOXO3 expression during colorectal cancer progression: biomarker potential reflects a tumour suppressor role[J]. *Br J Cancer*, 2013,109(2):387
- [8] Yu S, Yu Y, Sun Y, et al. Activation of FOXO3a suggests good prognosis of patients with radically resected gastric cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015,8(3):2963
- [9] Anderson M J, Viars C S, Czekay S, et al. Cloning and Characterization of Three Human Forkhead Genes That Comprise an FKHR-like Gene Subfamily [J]. *Genomics*, 1998,47(2):187
- [10] Kong W, He L, Coppola M, et al. MicroRNA -155 regulates cell survival, growth, and chemosensitivity by targeting FOXO3a in breast cancer[J]. *J Biol Chem*, 2010,285(23):17869
- [11] Wu H, Huang T, Ying L, et al. MiR -155 is Involved in Renal Ischemia-Reperfusion Injury via Direct Targeting of FoxO3a and Regulating Renal Tubular Cell Pyroptosis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016,40(6):1692
- [12] Ling N, Gu J, Lei Z, et al. microRNA-155 regulates cell proliferation and invasion by targeting FOXO3a in glioma[J]. *Oncol Rep*, 2013,30(5):2111
- [13] Wong H K A, Veremeyko T, Patel N, et al. De-repression of FOXO3a death axis by microRNA-132 and -212 causes neuronal apoptosis in Alzheimer's disease[J]. *Hum Mol Genet*, 2013,22(15):3077
- [14] Kim H Y, Kwon H Y, Ha Thi H T, et al. MicroRNA -132 and microRNA -223 control positive feedback circuit by regulating FOXO3a in inflammatory bowel disease[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2016,31(10):1727
- [15] Lin H, Dai T, Xiong H, et al. Unregulated miR -96 induces cell proliferation in human breast cancer by downregulating transcriptional factor FOXO3a[J]. *Plos One*, 2010,5(12):e15797
- [16] Cai J, Fang L, Huang Y, et al. miR-205 targets PTEN and PHLPP2 to augment AKT signaling and drive malignant phenotypes in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2013,73(17):5402
- [17] Hudson M B, Rahnert J A, Zheng B, et al. miR -182 attenuates atrophy-related gene expression by targeting FoxO3 in skeletal muscle[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014,307(4):C314
- [18] Qiu X, Dou Y. miR -1307 promotes the proliferation of prostate cancer by targeting FOXO3a[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017,88:430
- [19] Fu Q, Du Y, Yang C, et al. An oncogenic role of miR -592 in tumorigenesis of human colorectal cancer by targeting Forkhead Box O3A (FoxO3A)[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2016,20(7):1
- [20] Tseng A H, Wu L H, Shieh S S, et al. SIRT3 interactions with FOXO3 acetylation, phosphorylation and ubiquitinylation mediate endothelial cell responses to hypoxia[J]. *Biochem J*, 2014,464(1):157
- [21] Wang X, Hu S, Liu L. Phosphorylation and acetylation modifications of FOXO3a: Independently or synergistically[J]. *Oncol Lett*, 2017,13(5):2867
- [22] Plas D R, Thompson C B. Akt activation promotes degradation of tuberlin and FOXO3a via the proteasome[J]. *J Biol Chem*, 2003,278(14):12361
- [23] Hu M C, Lee D F, Xia W, et al. IkappaB kinase promotes tumorigenesis through inhibition of forkhead FOXO3a[J]. *Cell*, 2004,117(2):225
- [24] Stephan C, Sandrine S F, Anne Sophie C, et al. Regulation of the intracellular localization of Foxo3a by stress-activated protein kinase signaling pathways in skeletal muscle cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2010,30(2):470
- [25] Andrew S, Madureira P A, Pomeranz K M, et al. Paclitaxel-induced nuclear translocation of FOXO3a in breast cancer cells is mediated by c-Jun NH2-terminal kinase and Akt[J]. *Cancer Res*, 2006,66(1):212
- [26] Xianwang W, Chen W R, Da X. A pathway from JNK through decreased ERK and Akt activities for FOXO3a nuclear translocation in response to UV irradiation[J]. *J Cell Physiol*, 2011,227(3):1168
- [27] Chatterjee A, Chatterjee U, Ghosh M K. Activation of protein kinase CK2 attenuates FOXO3a functioning in a PML-dependent manner: implications in human prostate cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2013,4(3):e543
- [28] Brenkman A B, Keizer P L J, De, Broek N J F, Van Den, et al. Mdm2 induces mono-ubiquitination of FOXO4[J]. *PloS One*, 2008,3(7):e2819
- [29] Wang F, Nguyen M, Qin F X, et al. SIRT2 deacetylates FOXO3a in response to oxidative stress and caloric restriction[J]. *Aging Cell*,

- 2007,6(4):505
- [30] Giannakou M E, Partridge L. The interaction between FOXO and SIRT1: tipping the balance towards survival[J]. Trends Cell Biol, 2004,14(8):408
- [31] Singh A, Ye M, Bucur O, et al. Protein phosphatase 2A reactivates FOXO3a through a dynamic interplay with 14-3-3 and AKT[J]. Mol Biol Cell, 2010,21(6):1140
- [32] Richard Seonghun N, Judy K. beta1-Integrin-collagen interaction suppresses FoxO3a by the coordination of Akt and PP2A[J]. J Biol Chem, 2010,285(19):14195
- [33] Zhang X, Zhuang T, Liang Z, et al. Breast cancer suppression by aplysin is associated with inhibition of PI3K/AKT/FOXO3a pathway[J]. Oncotarget, 2017,8(38):63923
- [34] Yamamura Y, Lee W L, Inoue K, et al. RUNX3 cooperates with FoxO3a to induce apoptosis in gastric cancer cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(8):5267
- [35] Yang Y C, Tang Y A, Shieh J M, et al. DNMT3B overexpression by deregulation of FOXO3a-mediated transcription repression and MDM2 overexpression in lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2014,9(9): 1305
- [36] Shiota M, Song Y H, Yokomizo A, et al. Foxo3a suppression of urothelial cancer invasiveness through Twist1, Y-box-binding protein 1, and E-cadherin regulation[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(23):5654
- [37] Hui R C, Gomes A R, Constantinidou D, et al. The forkhead transcription factor FOXO3a increases phosphoinositide-3 kinase/Akt activity in drug-resistant leukemic cells through induction of PIK3CA expression[J]. Mol Cell Biol, 2008,28(19):5886
- [38] McGovern U B, Francis R E, Peck B, et al. Gefitinib (Iressa) represses FOXM1 expression via FOXO3a in breast cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2009,8(3):582
- [39] Fernández d M S, Villalonga P, Clardy J, et al. FOXO3a mediates the cytotoxic effects of cisplatin in colon cancer cells[J]. Mol Cancer Ther, 2008,7(10):3237
- [40] Myatt S S, Lam E W. The emerging roles of forkhead box (Fox) proteins in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2007,7(11):847
- [41] Kim H J, Lee S Y, Kim C Y, et al. Subcellular localization of FOXO3a as a potential biomarker of response to combined treatment with inhibitors of PI3K and autophagy in PIK3CA-mutant cancer cells[J]. Oncotarget, 2016,8(4):6608
- [42] Chen M F, Fang F M, Lu C H, et al. Significance of Nuclear Accumulation of Foxo3a in Esophageal Squamous Cell Carcinoma[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2008,71(4):1220
- [43] Yu S, Yu Y, Sun Y, et al. Activation of FOXO3a suggests good prognosis of patients with radically resected gastric cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015,8(3):2963
- [44] Ahn H, Kim H, Abdul R, et al. Overexpression of Forkhead Box O3a and Its Association With Aggressive Phenotypes and Poor Prognosis in Human Hepatocellular Carcinoma[J]. Am J Clin Pathol, 2018, 149(2):117
- [45] Qian Z, Ren L, Wu D, et al. Overexpression of FoxO3a is associated with glioblastoma progression and predicts poor patient prognosis[J]. Int J Cancer, 2017,140(12):2792
- [46] Santamaria C M, Chillón M C, Garcíasanz R, et al. High FOXO3a expression is associated with a poorer prognosis in AML with normal cytogenetics[J]. Leuk Res, 2009,33(12):1706
- [47] Shou Z, Lin L, Liang J, et al. Expression and prognosis of FOXO3a and HIF-1 α in nasopharyngeal carcinoma[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012,138(4):585
- [48] Shi J, Zhang L A, Zhang J, et al. Clinical and biological significance of forkhead class box O 3a expression in glioma: mediation of glioma malignancy by transcriptional regulation of p27kip1[J]. J Neurooncol, 2010,98(1):57
- [49] Yang W, Dolloff N G, El-Deiry W S. ERK and MDM2 prey on FOXO3a[J]. Nature Cell Biol, 2008,10(2):125
- [50] Madden, Stephen F, Clynes, et al. A gene expression profile indicative of early stage HER2 targeted;therapy response[J]. Mol Cancer, 2013,12(1):69
- [51] Jun-Ichiro I, Tian T, Yi W, et al. Expression of FoxO3a in clinical cases of malignant lymphoma[J]. Pathol Res Pract, 2013,209(11):716
- [52] Rehman A, Kim Y, Kim H, et al. FOXO3a expression is associated with lymph node metastasis and poor disease-free survival in triple-negative breast cancer[J]. J Clin Pathol, 2018,71(9):806

(2019-02-26 收稿)