

DOI: 10.13376/j.cblls/2021089

文章编号: 1004-0374(2021)07-0824-09

# 转录因子FOXO1在肿瘤形成中的调控 作用及机制研究进展

易陈鹏<sup>#</sup>, 黄锦云<sup>#</sup>, 许蓝阳, 邹晨, 黄秀媚, 王启瑞<sup>\*</sup>

(南方医科大学中医药学院, 广州 510515)

**摘要:** FOXO1 (forkhead box O1) 是 FOXO 家族重要成员, 作为一种转录调控因子, 其缺失可扰乱细胞增殖与死亡平衡, 与肿瘤形成有着密切关系。FOXO1 可通过磷酸化、乙酰化、泛素化和甲基化等多种翻译后修饰方式, 与 PI3K/Akt、Wnt/ $\beta$ -catenin 等信号通路相互作用, 参与调控肿瘤细胞的增殖、凋亡、EMT、氧化应激、自噬及物质代谢等多种生物学活动。该文就 FOXO1 相关分子通路及其在肿瘤形成中的调控作用进行综述, 探讨其作为肿瘤治疗分子靶标的可能性。

**关键词:** FOXO1; 翻译后修饰; 生物学功能; 信号通路; 肿瘤形成

**中图分类号:** R730.23 **文献标志码:** A

## Research progress on the regulation and mechanism of transcription factor FOXO1 in tumorigenesis

YI Chen-Peng<sup>#</sup>, HUANG Jin-Yun<sup>#</sup>, XU Lan-Yang, ZOU Chen, HUANG Xiu-Mei, WANG Qi-Rui<sup>\*</sup>

(School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Abstract:** FOXO1 (forkhead box O1), as a transcription regulator, is an important member of FOXO family. Its deficiency can break the balance between cell proliferation and death, which is intimately related to tumorigenesis. FOXO1 can interact with PI3K/Akt, Wnt/ $\beta$ -catenin or other signaling pathways through various post-translational modifications, such as phosphorylation, acetylation, ubiquitination and methylation, to participate in the regulation of proliferation, apoptosis, EMT, oxidative stress, autophagy and metabolism of tumor cells. In this review, FOXO1-related molecular pathways and its role in tumorigenesis are described, and the prospect of FOXO1 as a candidate molecular target for tumor therapy is discussed.

**Key words:** FOXO1; post-translational modifications; biological function; signal pathway; tumorigenesis

叉头框 (forkhead box, FOX) 蛋白最早发现于果蝇“叉头”基因, 是第一个被发现的叉头盒转录因子。FOX 蛋白广泛分布于哺乳动物中, 由 FOXA、FO XK、FOX M 和 FOX O 4 个亚族组成<sup>[1]</sup>。FOX O 1 隶属于被研究最多的 O 亚族, 参与调节细胞的增殖、凋亡、迁移及氧化应激等诸多生物学活动<sup>[2]</sup>。越来越多的数据表明, FOX O 1 缺失可扰乱细胞增殖与死亡平衡, 且与多种肿瘤的发生发展、侵袭转移等病理过程有着密切关系。本文对 FOX O 1 的结构、翻译后修饰、生物学特性及其在肿瘤发生发展中的主要功能及相关信号通路作一综述, 探讨其作为肿

瘤分子治疗作用靶点的可能性。

### 1 FOXO1的位置与结构

FOXO 亚族主要参与糖代谢调节及癌症的发生

收稿日期: 2021-02-05; 修回日期: 2021-04-01

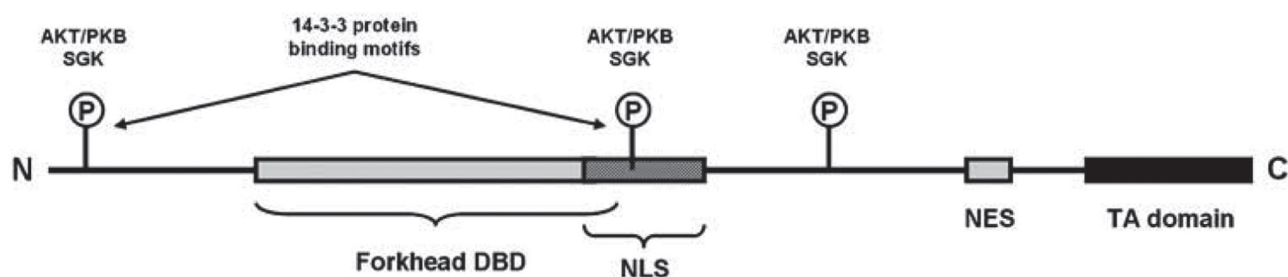
基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81873295, 82074337); 广东省自然科学基金项目(2018A030313106, 2019A1515012209); 广东省科技创新战略专项资金 (“攀登计划”专项资金, pdjh2020b0120)

\*通信作者: E-mail: wqrv@hotmail.com

<sup>#</sup>共同第一作者

和发展<sup>[3-4]</sup>, 该家族具有独特的叉头结构域, 人类拥有4个FOXO同源基因, 分别命名为FOXO1、FOXO3、FOXO4和FOXO6, 前三者的基因序列具有高度同源性。FOXO3主要在代谢应激反应中促进线粒体DNA的转录, 并是凋亡和自噬的转录激活剂<sup>[5-6]</sup>。FOXO4主要参与胰岛素信号通路调控与细胞周期的负调控<sup>[7-8]</sup>。2015年, Calabuig-Navarro等<sup>[9]</sup>发现FOXO6与葡萄糖代谢异常相关。人FOXO1基因定位于13号染色体(13q14.11), 编码655个氨基酸的FOXO1蛋白, 其含有4个结构域: 依次为N端的forkhead区域(为DNA结合域)、核定位信号肽(NLS)、核输出序列(NES)和C端富含脯氨酸

和丝/苏氨酸的转录激活域(TA)(一级结构见图1, 3D结构见图2)。FOXO1基因广泛分布于人体的各组织器官, 如心脏、肝脏、骨骼肌、脑、卵巢、小肠等<sup>[10]</sup>, 通过与磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/Akt、Zeste同源增强子2(enhancer of zeste homologue 2, EZH2)/信号转导及转录激活蛋白3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、Wnt/ $\beta$ -catenin等重要信号通路<sup>[11-13]</sup>或其下游靶基因, 包括细胞周期调控基因如细胞周期蛋白D2(cyclin D2, CCND2)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A(cyclin-dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A), 氧化应激保护因子如超氧化物歧化酶



DBD: DNA结合结构域(DNA-binding domain); NLS: 核定位信号(nuclear localization signal); NES: 核输出序列(nuclear export sequence); TA: 转录激活域(transactivation domain); SGK: 血清和糖皮质激素诱导蛋白激酶(serum and glucocorticoid induced kinase)

图1 人FOXO1蛋白一级结构简图<sup>[14]</sup>

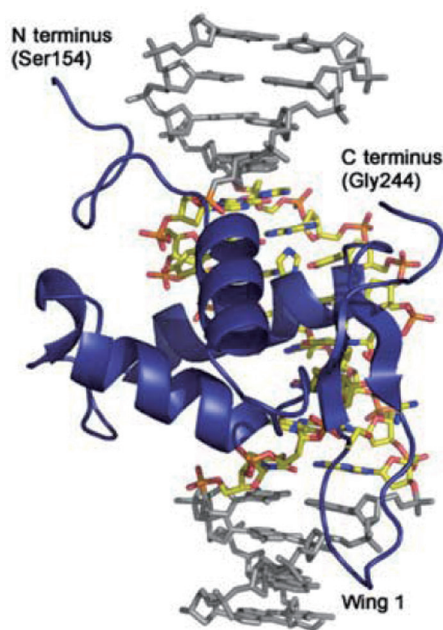
(superoxide dismutase, SOD), 前凋亡基因如促凋亡蛋白 Bim (Bcl-2 interacting mediator of cell death)、Noxa 等相互作用发挥其调控功能。

## 2 FOXO1蛋白的翻译后修饰

蛋白质的翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs)是指蛋白质在翻译后的化学修饰, 方式繁多, 可改变蛋白质的稳定性、活性及细胞定位, 对生理、病理条件下蛋白质的结构和功能都至关重要, 是蛋白质功能调控的重要方式。常见的修饰类型包括丝氨酸/苏氨酸残基上的磷酸化、糖基化, 赖氨酸残基上的乙酰化、泛素化、甲基化等等。目前报道的FOXO1翻译后修饰有磷酸化(Thr24、Ser256和Ser322)、乙酰化(Lys262、Lys265和Lys274)、泛素化、甲基化、PhosphoSitePlus位点及neXtProt位点修饰等。

### 2.1 磷酸化修饰

当胰岛素/胰岛素样生长因子作用于PI3K和Akt时, FOXO1的3个高度保守的位点(Thr24、Ser256



DBD/DNA复合物: FOXO1结合于Daf-16家族结合元件1(Daf-16 family binding element 1, DBE1)序列, 2.1 Å<sup>[15]</sup>

图2 FOXO1蛋白3D结构图

和 Ser319) 被磷酸化, Ser256 位点磷酸化会降低 FOXO1 的 DNA 结合活性, 进一步促进 Thr24 和 Ser319 磷酸化后, 与 14-3-3 蛋白结合, 导致 FOXO1 核输出增加, 转录活性丧失<sup>[16-17]</sup>。此外, 由胰岛素介导的 FOXO1 磷酸化可以促进 FOXO1 泛素化, 导致 FOXO1 蛋白降解<sup>[18]</sup>。

在对氧或一氧化氮的氧化应激反应中, 蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB)/Akt1 介导  $\beta$  细胞中的蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase-2A, PP2A) 对 Thr24 和 Ser256 进行去磷酸化, 导致 FOXO1 核滞留。细胞周期蛋白依赖性激酶 1 (cyclin-dependent kinase 1, CDK1) 对 Ser249 的磷酸化可破坏 FOXO1 与 14-3-3 蛋白的结合, 导致 FOXO1 核聚积, 其 DNA 结合能力和转录活性不受影响。另外, 氧化应激时, 丝氨酸/苏氨酸激酶 4 (serine/threonine kinase 4, STK4)/哺乳动物 Ste20 样激酶 1 (mammalian Ste20-like kinase 1, MST1) 对 Ser212 的磷酸化也可以抑制 FOXO1 与 14-3-3 蛋白的结合及其核输出。

## 2.2 乙酰化修饰

发生在位点 Lys262、Lys265 和 Lys274 的乙酰化修饰可导致 FOXO1 DNA 结合能力减弱, 转录活性受到抑制, 是诱导细胞自噬的必要条件<sup>[19]</sup>。具有内源性乙酰转移酶活性的共激活因子 p300 可使 FOXO1 乙酰化, 降低 FOXO1 与 DNA 的结合能力和转录活性<sup>[20]</sup>。相反, 在氧化应激或血清饥饿情况下, 沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 可对 FOXO1 去乙酰化修饰, 使 FOXO1 局限于特定的核亚区, 阻止其被泛素化, 并重新激

活其转录活性, 促进糖异生和肝葡萄糖生成基因的转录<sup>[21-22]</sup>。SIRT2 对 FOXO1 进行去乙酰化修饰后, 则对其介导的自噬进行负调控, 当 SIRT2 的活性降低时, FOXO1 的转录活性也会受到抑制<sup>[23]</sup>。

## 2.3 泛素化修饰

泛素化修饰对 FOXO1 的功能调控非常重要。E3 泛素连接酶的 S 期激酶相关蛋白 2 (S-phase kinase-associated protein 2, Skp2) 是一种重要的泛素连接酶, 可催化 FOXO1 发生泛素化修饰, 导致其转录活性降低及降解<sup>[24]</sup>。

## 2.4 甲基化修饰

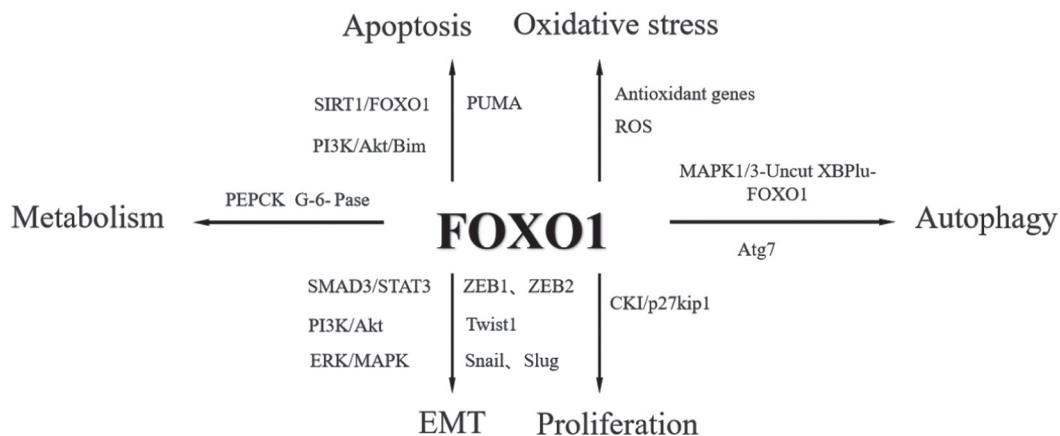
氧化应激可增强蛋白精氨酸甲基转移酶 1 (protein arginine methyltransferase 1, PRMT1) 诱导的 FOXO1 甲基化修饰, FOXO1 甲基化则可以阻止 Akt1 介导其 Ser256 位点的磷酸化, 从而使 FOXO1 在核内聚集, 提高其转录活性, 进而发挥调控作用<sup>[25]</sup>。

# 3 FOXO1的生物学功能

FOXO1 处于肿瘤分子调节网络的中枢, 通过作用于肿瘤细胞的增殖和凋亡、侵袭转移、上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)、耐药性获得、自噬、氧化应激、物质代谢以及肿瘤干细胞的增殖、迁移侵袭及凋亡等过程调控肿瘤的进展, 研究其各种生物学功能对肿瘤的预防和治疗起着不可忽视的作用 (图 3)。

## 3.1 抑制肿瘤细胞增殖

FOXO1 可诱导肿瘤细胞周期阻滞而抑制肿瘤发生发展, 是重要的抑制细胞增殖的调节因子<sup>[26]</sup>,



PUMA: P53上调细胞凋亡调控因子; CKI: 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物; ERK: 细胞外调节蛋白激酶; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; ZEB1: E盒结合锌指蛋白1; Atg7: 自噬相关基因7; Uncut XBP1u: 未剪接型X盒结合蛋白1; PEPCCK: 磷酸烯醇式丙酮酸羧基激酶; G-6-Pase: 葡萄糖-6-磷酸酶

图3 FOXO1的生物学功能

如作用于细胞周期蛋白依赖性激酶抑制物 (cyclin dependent kinase inhibitor, CKI) 的 KIP (kinase inhibition protein) 家族成员 p27kip1, 可诱导肝癌细胞株 SMMC-7721 和 Bel-7402 停滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期<sup>[27-28]</sup>。另外, miR-196a 可直接靶向 FOXO1, 抑制其表达, 促进口腔鳞状细胞癌增殖与迁移<sup>[29]</sup>。研究还发现, 天然产物姜黄素可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路, 激活 FOXO1, 抑制胰腺癌细胞增殖<sup>[30]</sup>。

### 3.2 促进肿瘤细胞凋亡

多项研究发现, FOXO1 在多种实体瘤中表达频率降低, 将 FOXO1 的 S249 磷酸化位点转化为缬氨酸 (V) 残基, 形成 FOXO1:S249V cDNA 并导入多形性胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) 细胞, 可抑制其磷酸化, 提高核表达, 造成 G<sub>2</sub>/M 细胞周期阻滞, 促进细胞凋亡, 有效抑制胶质瘤生长<sup>[31]</sup>。FOXO1 可通过调控 PI3K/Akt 信号通路提高其靶基因 Bim 表达水平, 诱导人肺腺癌细胞株 GLC-82 和人肝癌细胞株 Hep3B 凋亡<sup>[32]</sup>。除此之外, FOXO1 可直接增强 P53 上调细胞凋亡调控因子 (P53 upregulated modulator of apoptosis, PUMA) 表达, 促进肿瘤细胞凋亡, 还可增强 Caspases 和细胞死亡受体的表达而导致细胞死亡<sup>[33]</sup>; 但 SIRT1 可使 FOXO1 去乙酰化, 减弱 FOXO1 诱导的细胞凋亡<sup>[34]</sup>。Weng 等<sup>[35]</sup> 研究表明, 花姜酮通过抑制 IκB 激酶 (IκB kinase, IKK)-Akt-FOXO1 信号通路来诱导 IKK 去磷酸化, 降低 Akt 与 FOXO1 磷酸化水平, 引起 FOXO1 核转运, 增强其转录活性, 触发 GBM 细胞凋亡。

### 3.3 抑制 EMT

肿瘤细胞发生上皮细胞-间充质样转化 (EMT-like) 可使细胞间黏附丧失, 细胞迁移能力、侵袭能力提高<sup>[36]</sup>。FOXO1 可通过抑制 PI3K/Akt、细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK)/丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 Wnt/β-catenin 等通路介导的 EMT-like, 抑制胶质母细胞瘤、乳腺癌、非小细胞肺癌侵袭转移<sup>[37-39]</sup>。沉默肝癌细胞 SK-HEP-1 中的 FOXO1 可提高 EMT 关键调节因子 Snail、Slug、E 盒结合锌指蛋白 1 (zinc finger E-box binding homeobox 1, ZEB1)、ZEB2 和 Twist1 的 mRNA 水平, 而在 FOXO1 过表达细胞中它们则降低, 在此过程中 FOXO1 直接与 ZEB2 启动子区域结合, 抑制 ZEB2 表达从而逆转 EMT<sup>[40]</sup>。

### 3.4 抑制肿瘤的侵袭转移

抑制肿瘤的侵袭转移能有效提高治疗效果。研

究表明, FOXO1 过表达可以上调 E-cadherin, 下调 N-cadherin、Vimentin、CD44 和人几丁质酶 3 样蛋白 1 (human chitinase-3-like protein 1, CHI3L1) 的表达, 阻止胶质瘤 EMT-like 进程, 抑制胶质瘤侵袭转移<sup>[41-42]</sup>。Tang 等<sup>[43]</sup> 研究表明, FOXO1 在胶质瘤组织中表达频率下降, 与胶质瘤中 Kruppel 样因子 4 (Kruppel-like factor 4, KLF4) 蛋白水平显著上调有关, KLF4 可与 FOXO1 的启动子结合, 从而抑制其功能, 下调 KLF4 或上调 FOXO1 都可显著抑制胶质瘤的侵袭。Chen 等<sup>[37]</sup> 研究表明, EGF/EGFR 信号能激活下游 PI3K/Akt 通路, 诱导 FOXO1 核排斥, 激活基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9), 从而促进胶质母细胞瘤的侵袭转移。

### 3.5 调控肿瘤细胞自噬

FOXO1 是自噬途径 MAPK1/3-未剪接型 X 盒结合蛋白 1u (Uncut X-box binding protein 1u, Uncut XBPlu)-FOXO1 轴的重要组成部分。长期谷氨酰胺饥饿可诱导 MAPK1/3 激活, 使 XBPlu 磷酸化并结合于 FOXO1, 进入蛋白酶体降解, 导致自噬中断<sup>[44]</sup>。在血清饥饿的情况下, FOXO1 与自噬相关基因 7 (autophagy-related 7, Atg7) 结合, 促进自噬, 发挥抗胆管癌细胞活性作用<sup>[45]</sup>。另外, 抑制 FOXO1 的降解可过度激活自噬, 降低结肠直肠癌细胞活性<sup>[46]</sup>。

### 3.6 调控肿瘤细胞物质代谢

肿瘤细胞的糖代谢异常是肿瘤组织区别于正常组织的特征之一。FOXO1 可以通过糖异生、糖酵解等途径对糖代谢进行调节, 如通过直接或间接方式与糖皮质激素等协同作用, 激活磷酸烯醇式丙酮酸羧基激酶 (phosphoenolpyruvate carboxy kinase, PEPCK) 和葡萄糖-6-磷酸酶 (glucose-6-phosphatase, G-6-Pase) 基因启动子, 促进胰岛素介导的糖异生基因表达<sup>[47-48]</sup>。Masui 等<sup>[49]</sup> 发现, mTOR 复合体 2 (mammalian target of rapamycin complex 2, mTORC2) 通过提高 FOXO1 乙酰化水平, 降低 FOXO1 表达, 抑制 FOXO1-DNA 复合物的形成, 促进糖酵解基因的表达, 增加葡萄糖和谷氨酰胺摄取, 增强 GBM 细胞生长能力。另外, 大剂量孕酮能抑制 GBM 细胞糖酵解代谢的调节因子 FOXO1、p-FOXO1、葡萄糖转运蛋白 1 (glucose transporter 1, GLUT1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, G3PDH) 的表达, 通过调节 GBM 细胞代谢来抑制 GBM 生长<sup>[50]</sup>。

### 3.7 调控氧化应激

当大量活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 堆积在细胞内时, 机体发生过度氧化应激反应, 造成

组织细胞损伤。FOXO1 表达上调可促进心肌组织产生 ROS, 当 FOXO1 活性受到抑制时, 抗氧化基因表达增加, 细胞可免受氧化应激造成的损伤<sup>[51-52]</sup>。Shao 等<sup>[53]</sup>研究表明, 西黄丸通过抑制 Akt/mTOR 信号通路, 降低 FOXO1 的磷酸化水平, 增强 Bax 的表达和氧化应激的产生, 从而激活线粒体介导的凋亡级联反应, 触发 U-87 MG 细胞凋亡。

### 3.8 逆转肿瘤细胞耐药性

多重耐药 (multidrug resistance, MDR) 是肿瘤化疗失败的重要原因。阻止胶质瘤细胞中 Akt 磷酸化可增强 FOXO1 核转运, 降低 MDR1、多药耐药相关蛋白 1 (multidrug resistance-associated protein 1, MRP1) 和肺耐药蛋白 (lung resistance protein, LRP) 基因表达水平, 抑制阿霉素 (doxorubicin, DOX) 外流, 进而降低胶质瘤的 DOX 耐药性, 抑制胶质瘤复发<sup>[54]</sup>。另外, miR-374a 表达水平在胶质瘤细胞系中显著上调, 抑制 miR-374a 表达可恢复 FOXO1 表达, 增强依托泊苷对胶质瘤细胞的毒性<sup>[55]</sup>。

### 3.9 抑制肿瘤干细胞增殖迁移

肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 具有强大的自我更新和增殖能力, 在肿瘤发生、恶性进展中发挥关键作用<sup>[56]</sup>。在胶质瘤干细胞 (glioma stem cells, GSCs) 中, mir-196-5p 靶向 FOXO1-3'-UTR 而特异性下调 FOXO1, 而过表达的生长阻滞特异转录物 5 (growth arrest-specific transcript 5, GAS5) 可与 miR-196a-5p 结合, 使 FOXO1 上调, 促进 GSCs 中磷酸酪氨酸相互作用结构域 1 (phosphotyrosine interaction domain containing 1, PID1) 和迁移侵袭抑制蛋白 (migration and invasion inhibitor protein, MIIP) mRNA 的转录, 进而抑制 CSCs 增殖、迁移和侵袭, 并诱导其凋亡<sup>[57]</sup>。另外, 低剂量内皮单核细胞活化多肽 II (endothelial monocyte activating polypeptide II, EMAP-II) 可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路减少 FOXO1 磷酸化, 提高 FOXO1 核表达, 加强对 Atg2B 的转录调控, 进而诱导有自噬缺陷特性的 CSCs 发生 G<sub>2</sub>/M 细胞周期停滞, 恢复其自噬能力<sup>[58]</sup>。

## 4 FOXO1 相关信号通路

越来越多的证据表明, 在肿瘤发生和发展中, FOXO1 具有重要调节作用, 处于肿瘤分子调节网络的中枢, 深入了解调控其表达、活性和细胞亚定位等变化的信号通路对于制定肿瘤治疗策略尤为重要。研究发现, PI3K/Akt、EZH2/STAT3、JAK/STAT3、MAPK/ERK、Wnt/ $\beta$ -catenin、NF- $\kappa$ B/Snail 等多种信号通路均参与 FOXO1 表达的调控。

### 4.1 PI3K/Akt 信号通路

在成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 等细胞外生长因子的作用下, PI3K/Akt 信号通路被激活, 可导致细胞恶性转化、肿瘤细胞凋亡受到抑制、肿瘤细胞迁移黏附能力增强以及肿瘤血管生成增加等<sup>[59-60]</sup>。

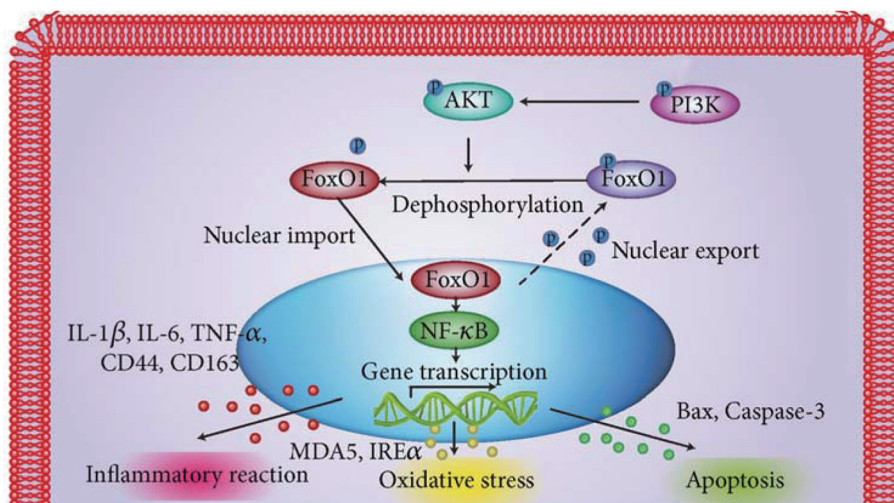
目前发现胶质瘤、胃癌、乳腺癌、前列腺癌等多种实体瘤的发生发展均与 PI3K/Akt 信号通路异常活化相关。研究表明, 表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 和成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor 2, FGF2) 可通过 PI3K/Akt 通路降低 FOXO1 的表达, 抑制酪氨酸激酶 Fyn (tyrosine kinase Fyn) 转录, 诱导乳腺癌细胞的 EMT, 促进乳腺癌细胞的增殖、迁移与侵袭<sup>[61]</sup>。Liang 等<sup>[61]</sup>发现, FOXO1 是 miR-204 的靶基因, 两者结合能激活 PI3K/Akt 信号通路, 增加 Akt 蛋白表达, 从而促进人 MDA-MB-231 乳腺癌细胞增殖。Li 等<sup>[62]</sup>发现, 异质核糖核蛋白 F (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F, hnRNP-F) 可诱导膀胱癌细胞 EMT 和转移, hnRNP-F 的表达与 PI3K/AKT 下游 FOXO1 磷酸化水平相关, FOXO1 可与 hnRNP-F mRNA 启动子区域结合, 抑制其转录, 抑制膀胱癌细胞的迁移、侵袭; 相反, 当 FOXO1 磷酸化水平增加时, hnRNP-F 表达升高, 促进膀胱癌细胞的增殖。另有研究表明, PTEN 基因 (gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN) 可通过拮抗酪氨酸激酶等磷酸化酶的活性而抑制肿瘤的发生发展, 如 PTEN 的磷酸酶结构域双等位基因失活可导致 PTEN 缺失或突变, 进一步激活 PI3K/AKT 信号通路, 促进 FOXO1 磷酸化, 诱导其从细胞核转位到细胞质, 从而导致前列腺细胞恶性转化、抑制前列腺癌细胞的凋亡并促进其迁移、黏附等进程<sup>[63]</sup>。

FOXO1 与 PI3K/Akt 信号通路之间的相互作用总结见图 4。

### 4.2 STAT3 相关信号通路

STAT 是一种能与 DNA 结合的蛋白质独特家族。在静息细胞中, STAT 存在于细胞质中; 被激活后, STAT 分子形成二聚体入核。

作为一种经典的癌症信号通路, EZH2/STAT3 在肿瘤生长和转移中起着关键的作用。当 EZH2 过表达或突变时, p-STAT3 表达水平上调, 进而促进肿瘤新生血管形成以及肿瘤侵袭、转移<sup>[64]</sup>。FOXO1 作为 STAT3 信号转导的关键下游蛋白, 是葡萄糖稳态、细胞增殖和凋亡的关键调节因子。Zheng 等<sup>[11]</sup>



MDA5: 黑色素瘤分化相关基因5; IRE $\alpha$ : 内质网感应蛋白肌醇需求酶 $\alpha$

图4 FOXO1与PI3K/Akt信号通路相互作用调控炎症反应、凋亡、氧化应激(略有改动)<sup>[12]</sup>

发现, EZH2 异位表达可增加 STAT3 pY705 位点磷酸化, 降低 FOXO1 表达, 促进口腔鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 细胞侵袭和糖酵解。

Janus 激酶 1 (Janus kinase 1, JAK1)/STAT3 信号通路是细胞因子激活的重要信号通路。当白介素 6 (interleukin 6, IL-6) 等细胞因子 / 生长因子与受体结合后, 受体胞浆区近膜端的 JAK1 可被磷酸化, 进一步招募并磷酸化转录因子 STAT3, 使其以二聚体的形式入胞核与靶基因结合, 调控下游基因的转录, 参与细胞增殖、凋亡等过程<sup>[65]</sup>。Jiang 等<sup>[66]</sup>发现, 阻断 JAK1/STAT3-FOXO1 信号通路可导致肝癌细胞 G<sub>2</sub>/M 期阻滞, 抑制 EMT 相关迁移和侵袭, 促进肝癌细胞凋亡。

#### 4.3 MAPK/ERK信号通路

MAPK/ERK 信号通路在进化过程中非常保守, Ras/Raf/MEK/ERK 是 MAPK/ERK 信号通路的主要激活途径。细胞外的各种刺激物与细胞表面受体的结合使 Ras 释放二磷酸鸟苷 (guanosine diphosphate, GDP) 并结合三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP) 后活化, 从而进行经典的酶促级联反应, 激活 ERK, 调控细胞增殖、分化<sup>[67-68]</sup>。

FOXO1 可被 MAPK/ERK 通路激活<sup>[69]</sup>, 应用 ERK 抑制剂 UO126 能显著抑制 FOXO1 的磷酸化, 表明 MAPK/ERK 通路可增加 FOXO1 的磷酸化水平, 促进其向细胞质转位, 降低其转录活性, 增强肺癌细胞侵袭能力<sup>[70]</sup>。

#### 4.4 Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路是在进化上高度保守的

信号途径, 在控制胚胎发育、调节细胞生长分化、调控正常组织重建等生命活动中发挥重要作用, 其异常活化与众多人类肿瘤的发生发展密切相关。当 Wnt 被激活时,  $\beta$ -catenin 与 E-cadherin 和  $\alpha$ -catenin 形成的复合体被破坏, 从而使其在细胞中积累, 与叉头转录因子 M1 (forkhead box M 1, FOXM1) 结合, 促进  $\beta$ -catenin 进入细胞核结合靶基因, 从而调节细胞黏附、周期、增殖及凋亡等多方面作用, 最终导致肿瘤的发生<sup>[71]</sup>。

miR-27a 可通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制 FOXO1 表达, 促进卵巢癌 EMT 进程和恶性进展<sup>[72]</sup>。有研究表明, miR-5188 可直接靶向 FOXO1 促进细胞质中  $\beta$ -catenin 降解, 并降低  $\beta$ -catenin 核聚积, 从而激活 Wnt 通路及 EMT 标记物表达, 增强乳腺癌转移、增殖和耐药<sup>[13]</sup>。

#### 4.5 NF- $\kappa$ B/Snail信号通路

核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 是重要的炎症始动因子, 其异常调节与癌症、炎症和自身免疫性疾病的发生发展密切相关<sup>[73]</sup>。在肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 等炎症因子作用下, NF- $\kappa$ B 被激活, 迅速入核并结合靶基因, 调节其表达, 促进细胞增殖、抑制细胞凋亡<sup>[74]</sup>。

过表达 miR-9 可以激活 NF- $\kappa$ B/Snail 通路, NF- $\kappa$ B 被激活后迅速转位入核, 作用于 Snail 启动子区, 增加其转录; 而 Snail 可结合于 E-cadherin 基因启动子近端的 E-box 序列, 抑制其表达, 进一步下调 FOXO1 的表达, 促进乳腺癌等肿瘤细胞的 EMT 进程, 促进细胞的侵袭迁移。敲除 miR-9 基因后,

FOXO1 表达上调, 抑制 NF- $\kappa$ B/Snail 通路的激活, 阻止乳腺癌细胞 EMT 进程<sup>[75]</sup>。

## 5 结论与展望

转录因子 FOXO1 具有多种调节活性, 在肿瘤细胞增殖、凋亡、上皮间质转化、自噬、氧化应激、物质代谢等过程中发挥重要作用。本文总结了调控 FOXO1 表达水平及翻译后修饰的众多分子通路如 PI3K/Akt、EZH2/STAT3、JAK/STAT3、MAPK/ERK、Wnt/ $\beta$ -catenin、NF- $\kappa$ B/Snail 等, 但促使 FOXO1 在不同肿瘤甚至不同分型中通过不同信号通路而差异性发挥不同调控作用的内在机制尚未明确, FOXO、FOXA、FOXK、FOXN 各亚族和 FOXO 亚族各成员间的功能相关性及其多样化的翻译后修饰参与何种生理或病理功能调节等均有待深入研究。

在肿瘤发生过程中, 不同信号通路相互交织, 形成复杂的调控网络, FOXO1 则处于肿瘤分子调节网络的中枢, 是重要的转录因子与靶基因之一, 揭示其在肿瘤细胞及肿瘤干细胞的凋亡、侵袭转移、耐药性获得、糖代谢等过程中激活的存活、凋亡、转移及耐药等相关关键信号分子、非编码 RNA 或转录因子等, 也将为发现新的有效靶标及肿瘤治疗策略的制定提供一定的新思路。

综上所述, 尽管具有抑癌功能的 FOXO1 可能是治疗相关肿瘤的一个关键的、潜在的靶点, 但将其作为药物作用靶标的相关基础与临床研究尚不充分, 明确其功能学意义, 阐明其表达、翻译后修饰、活性和亚细胞定位等在肿瘤发生发展过程中发挥调控作用的分子机制, 并探索其在实体瘤中诊断、复发转移和治疗中的重要临床作用, 将有望为恶性肿瘤如胶质瘤等的临床诊治提供更多的思路。

## [参 考 文 献]

- [1] Carlsson P, Mahlapuu M. Forkhead transcription factors: key players in development and metabolism. *Dev Biol*, 2002, 250: 1-23
- [2] Katoh M, Igarashi M, Fukuda H, et al. Cancer genetics and genomics of human FOX family genes. *Cancer Lett*, 2013, 328: 198-206
- [3] Martins R, Lithgow GJ, Link W. Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity. *Aging Cell*, 2016, 15: 196-207
- [4] Hannenhalli S, Kaestner KH. The evolution of Fox genes and their role in development and disease. *Nat Rev Genet*, 2009, 10: 233-40
- [5] Liu Y, Ao X, Ding W, et al. Critical role of FOXO3a in carcinogenesis. *Mol Cancer*, 2018, 17: 104
- [6] Fasano C, Disciglio V, Bertora S, et al. FOXO3a from the nucleus to the mitochondria: a round trip in cellular stress response. *Cells*, 2019, 8: 1110
- [7] Lee SJ, Dong HH. FoxO integration of insulin signaling with glucose and lipid metabolism. *J Endocrinol*, 2017, 233: R67-79
- [8] Intuyod K, Chomwong S, Thongpon P, et al. Expression of FOXO4 inhibits cholangiocarcinoma cell proliferation *in vitro* via induction of G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> arrest. *Anticancer Res*, 2020, 40: 6899-905
- [9] Calabuig-Navarro V, Yamauchi J, Lee SJ, et al. Forkhead Box O6 (FoxO6) depletion attenuates hepatic gluconeogenesis and protects against fat-induced glucose disorder in mice. *J Biol Chem*, 2015, 290: 15581-94
- [10] van der Horst A, Burgering BM. Stressing the role of FoxO proteins in lifespan and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 440-50
- [11] Zheng M, Cao MX, Luo XJ, et al. EZH2 promotes invasion and tumour glycolysis by regulating STAT3 and FoxO1 signalling in human OSCC cells. *J Cell Mol Med*, 2019, 23: 6942-54
- [12] Liu YN, Tong CC, Xu Y, et al. CD28 deficiency ameliorates blast exposure-induced lung inflammation, oxidative stress, apoptosis, and T cell accumulation in the lungs via the PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4848560
- [13] Zou YJ, Lin X, Bu J, et al. Timeless-stimulated miR-5188-FOXO1/ $\beta$ -catenin-c-Jun feedback loop promotes stemness via ubiquitination of  $\beta$ -catenin in breast cancer. *Mol Ther*, 2020, 28: 313-27
- [14] Obsil T, Obsilova V. Structure/function relationships underlying regulation of FOXO transcription factors. *Oncogene*, 2008, 27: 2263-75
- [15] Brent MM, Anand R, Marmorstein R. Structural basis for DNA recognition by FoxO1 and its regulation by posttranslational modification. *Structure*, 2008, 16: 1407-16
- [16] Tang ED, Nunez G, Barr FG, et al. Negative regulation of the forkhead transcription factor FKHR by Akt. *J Biol Chem*, 1999, 274: 16741-6
- [17] Rena G, Prescott AR, Guo S, et al. Roles of the forkhead in rhabdomyosarcoma (FKHR) phosphorylation sites in regulating 14-3-3 binding, transactivation and nuclear targeting. *Biochem J*, 2001, 354: 605-12
- [18] Matsuzaki H, Daitoku H, Hatta M, et al. Insulin-induced phosphorylation of FKHR(Foxo1) targets to proteasomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 11285-90
- [19] Langlet F, Haeusler RA, Lindén D, et al. Selective inhibition of FOXO1 activator/repressor balance modulates hepatic glucose handling. *Cell*, 2017, 171: 824-35
- [20] Xu J, Liu F, Xiong ZY, et al. The cleft palate candidate gene BAG6 supports FoxO1 acetylation to promote FasL-mediated apoptosis during palate fusion. *Exp Cell Res*, 2020, 396: 112310
- [21] Guarente L, Franklin H. Epstein lecture: sirtuins, aging, and medicine. *N Engl J Med*, 2011, 364: 2235-44

- [22] Nogueiras R, Habegger KM, Nilika C, et al. Sirtuin 1 and sirtuin 3: physiological modulators of metabolism. *Physiol Rev*, 2012, 92: 1479-514
- [23] Jing EX, Gesta S, Kahn CR. SIRT2 regulates adipocyte differentiation through FoxO1 acetylation/deacetylation. *Cell Metab*, 2007, 6: 105-14
- [24] Jiang ZZ, Xing BW, Feng ZJ, et al. Menin upregulates FOXO1 protein stability by repressing Skp2-mediated degradation in  $\beta$  cells. *Pancreas*, 2019, 48: 267-74
- [25] Yamagata K, Daitoku H, Takahashi Y, et al. Arginine methylation of FOXO transcription factors inhibits their phosphorylation by Akt. *Mol Cell*, 2008, 32: 221-31
- [26] Wang Q, Zhang QW, Wang X, et al. Yak FOXO1 and FOXO3 SNPs and association with production traits, and their promotes cells apoptosis via RNAi. *Gene*, 2020, 743: 144592
- [27] Prasad SB, Yadav SS, Mitali D, et al. Down regulation of FOXO1 promotes cell proliferation in cervical cancer. *J Cancer*, 2014, 5: 655-62
- [28] Jiang J, Huang Z, Chen X, et al. Trifluoperazine activates FOXO1-related signals to inhibit tumor growth in hepatocellular carcinoma. *DNA Cell Biol*, 2017, 36: 813-21
- [29] Song HN, Lai LF, Liu M, et al. Investigating the role and mechanism of microRNA-196a in oral squamous cell carcinoma by targeting FOXO1. *Exp Ther Med*, 2020, 19: 3707-15
- [30] Zhao Z, Li C, Xi H, et al. Curcumin induces apoptosis in pancreatic cancer cells through the induction of forkhead box O1 and inhibition of the PI3K/Akt pathway. *Mol Med Rep*, 2015, 12: 5415-22
- [31] Piao XY, Li WZ, Li Z, et al. Forced FoxO1:S249V expression suppressed glioma cell proliferation through G<sub>2</sub>/M cell cycle arrests and increased apoptosis. *Neurol Res*, 2019, 41: 189-98
- [32] 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. *Int J Cancer*, 2010, 127: 220-9
- [33] Puthanveetil P, Wan A, Rodrigues B. FoxO1 is crucial for sustaining cardiomyocyte metabolism and cell survival. *Cardiovasc Res*, 2013, 97: 393-403
- [34] Kou DQ, Jiang YL, Qin JH, et al. Magnolol attenuates the inflammation and apoptosis through the activation of SIRT1 in experimental stroke rats. *Pharmacol Rep*, 2017, 69: 642-7
- [35] Weng HY, Hsu MJ, Wang CC, et al. Zerumbone suppresses IKK $\alpha$ , Akt, and FOXO1 activation, resulting in apoptosis of GBM 8401 cells. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 86
- [36] Cervantes-Arias A, Pang LY, Argyle DJ. Epithelial-mesenchymal transition as a fundamental mechanism underlying the cancer phenotype. *Vet Comp Oncol*, 2013, 11: 169-84
- [37] Chen J, Huang Q, Wang F. Inhibition of FoxO1 nuclear exclusion prevents metastasis of glioblastoma. *Tumor Biol*, 2017, 35: 7195-200
- [38] Xie Y, Yu Y, Hou L, et al. FYN promotes breast cancer progression through epithelial-mesenchymal transition. *Oncol Rep*, 2016, 36: 1000-6
- [39] Yin H, Wang XY, Zhang X, et al. UBE2T promotes radiation resistance in non-small cell lung cancer via inducing epithelial-mesenchymal transition and the ubiquitination-mediated FOXO1 degradation. *Cancer Lett*, 2020, 494: 121-31
- [40] Dong TX, Zhang Y, Chen YD, et al. FOXO1 inhibits the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by reversing ZEB2-induced epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget*, 2017, 8: 1703-13
- [41] Chen C, Han GS, Li YA, et al. FOXO1 associated with sensitivity to chemotherapy drugs and glial-mesenchymal transition in glioma. *J Cell Biochem*, 2019, 120: 882-93
- [42] Yan H, Wu AH. FOXO1 is crucial in glioblastoma cell tumorigenesis and regulates the expression of SIRT1 to suppress senescence in the brain. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 2535-42
- [43] Tang GD, Liu DY, Xiao GL, et al. Transcriptional repression of FOXO1 by KLF4 contributes to glioma progression. *Oncotarget*, 2016, 7: 81757-67
- [44] Zhao Y, Li X, Ma K, et al. The axis of MAPK1/3-XBP1u-FOXO1 controls autophagic dynamics in cancer cells. *Autophagy*, 2013, 9: 794-6
- [45] He Wei, Zhang AQ, Qi L, et al. FOXO1, a potential therapeutic target, regulates autophagic flux, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and apoptosis in human cholangiocarcinoma QBC939 cells. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45: 1506-14
- [46] Zhao Y, Li X, Cai M, et al. XBP-1u suppresses autophagy by promoting the degradation of FoxO1 in cancer cells. *Cell Res*, 2013, 23: 491-507
- [47] Haeusler RA, Kaestner KH, Domenico A. FoxOs function synergistically to promote glucose production. *J Biol Chem*, 2010, 285: 35245-48
- [48] Zhang KB, Li L, Qi YJ, et al. Hepatic suppression of Foxo1 and Foxo3 causes hypoglycemia and hyperlipidemia in mice. *Endocrinology*, 2012, 153: 631-46
- [49] Masui K, Tanaka K, Akhavan D, et al. mTOR complex 2 controls glycolytic metabolism in glioblastoma through FoxO acetylation and upregulation of c-Myc. *Cell Metab*, 2013, 18: 726-39
- [50] Atif F, Yousuf S, Espinosa-Garcia C, et al. Progesterone treatment attenuates glycolytic metabolism and induces senescence in Glioblastoma. *Sci Rep*, 2019, 9: 988
- [51] Sengupta A, Molkentin JD, Yutzey KE. FoxO transcription factors promote autophagy in cardiomyocytes. *J Biol Chem*, 2009, 284: 28319-31
- [52] Shao D, Zhai PY, Del Re DP, et al. A functional interaction between Hippo-YAP signalling and FoxO1 mediates the oxidative stress response. *Nat Commun*, 2014, 5: 3315
- [53] Shao M, He ZQ, Yin ZX, et al. Xihuang pill induces apoptosis of human glioblastoma U-87 MG cells via targeting ROS-mediated Akt/mTOR/FOXO1 pathway. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 6049498



- [54] Chen XZ, Luo XQ, Cheng Y. Trifluoperazine prevents FOXO1 nuclear excretion and reverses doxorubicin-resistance in the SHG44/DOX drug-resistant glioma cell line. *Int J Mol Med*, 2018, 42: 3300-8
- [55] Ni W, Luo L, Zuo P, et al. miR-374a inhibitor enhances etoposide-induced cytotoxicity against glioma cells through upregulation of FOXO1. *Oncol Res*, 2019, 27: 703-12
- [56] Shen CY, Yang C, Xia B, et al. Long non-coding RNAs: emerging regulators for chemo/immunotherapy resistance in cancer stem cells. *Cancer Lett*, 2021, 500: 244-52
- [57] Zhao XH, Liu YH, Zheng J, et al. GAS5 suppresses malignancy of human glioma stem cells via a miR-196a-5p/FOXO1 feedback loop. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2017, 1864: 1605-17
- [58] Liu J, Liu L, Xue Y, et al. Anti-neoplastic activity of low-dose endothelial-monocyte activating polypeptide-II results from defective autophagy and G<sub>2</sub>/M arrest mediated by PI3K/Akt/FoxO1 axis in human glioblastoma stem cells. *Biochem Pharmacol*, 2014, 89:477-89
- [59] Wang S, Song ZJ, Gong XM, et al. Chloroform extract from *Sophora Tonkinensis* Gagnep. inhibit proliferation, migration, invasion and promote apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells by silencing the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *J Ethnopharmacol*, 2021, 271: 113879
- [60] Yu XF, Li Y, Jiang GD, et al. FGF21 promotes non-small cell lung cancer progression by SIRT1/PI3K/AKT signaling. *Life Sci*, 2021, 269: 118875
- [61] Liang CY, Huang ZG, Tang ZQ, et al. FOXO1 and hsa-microRNA-204-5p affect the biologic behavior of MDA-MB-231 breast cancer cells. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13: 1146-58
- [62] Li F, Xie WW, Fang YZ, et al. HnRNP-F promotes the proliferation of bladder cancer cells mediated by PI3K/AKT/FOXO1. *J Cancer*, 2021, 12: 281-91
- [63] Yan YQ, Huang HJ. Interplay among PI3K/AKT, PTEN/FOXO and AR signaling in prostate cancer. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1210: 319-31
- [64] Huang B, Huang MP, Li Q. MiR-137 suppresses migration and invasion by targeting EZH2-STAT3 signaling in human hepatocellular carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2018, 214: 1980-6
- [65] Chiang KC, Chang KS, Hsu SY, et al. Human heme oxygenase-1 induced by interleukin-6 via JAK/STAT3 pathways is a tumor suppressor gene in hepatoma cells. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9: 251
- [66] Jiang J, Chen YD, Dong TX, et al. Polydatin inhibits hepatocellular carcinoma via the AKT/STAT3-FOXO1 signaling pathway. *Oncol Lett*, 2019, 17: 4505-13
- [67] Kurtzeborn K, Kwon HN, Kuure S. MAPK/ERK signaling in regulation of renal differentiation. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 1779
- [68] Degirmenci U, Wang M, Hu J. Targeting aberrant RAS/RAF/MEK/ERK signaling for cancer therapy. *Cells*, 2020, 9: 198
- [69] Yang XH, Ju SJ, Fan DX, et al. Orexin A stimulates Foxo1 phosphorylation via OX1R-induced PI3K/AKT and MAPK/ERK signaling pathways in hepatocytes. *Int J Clin Exp Med*, 2019, 12: 6757-67
- [70] Yu Z, Ju Y, Liu H. Anti-lung cancer effect of glucosamine by suppressing the phosphorylation of FOXO. *Mol Med Rep*, 2017, 16: 3395-400
- [71] Chen YH, Li Y, Xue JF, et al. Wnt-induced deubiquitination FoxM1 ensures nucleus  $\beta$ -catenin transactivation. *EMBO J*, 2016, 35: 668-84
- [72] Zhang LY, Chen Y, Jia J, et al. MiR-27a promotes EMT in ovarian cancer through active Wnt/ $\beta$ -catenin signalling by targeting FOXO1. *Cancer Biomark*, 2019, 24: 31-42
- [73] López-Novoa JM, Nieto MA. Inflammation and EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression. *EMBO Mol Med*, 2009, 1: 303-14
- [74] Wu Y, Zhou BP. TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *Br J Cancer*, 2010, 102: 639-44
- [75] Wang W, Xing H. MicroRNA-9 promotes cell proliferation, migration and invasion by targeting FOXO1 gene via NF- $\kappa$ B/Snail signaling pathways in breast cancer cell lines. *Breast*, 2019, 44: S24-5