

FoxO 转录因子的活性调控及其对骨骼肌生长发育的调节

朱宇旌¹ 于治姣¹ 张勇^{1*} 李艳¹ 邵彩梅²

(1. 沈阳农业大学畜牧兽医学院, 沈阳 110866; 2. 辽宁禾丰牧业股份有限公司, 沈阳 110164)

摘要: FoxO 转录因子受到各种外界刺激而被调控, 主要包括胰岛素 (insulin)、胰岛素样生长因子 I (IGF-I)、营养状况、细胞因子和应激等。这些外界因素通过 FoxO 修饰翻译后的复杂组合来调控 FoxO 的亚细胞定位、DNA 结合特性、蛋白质水平和转录活性, 这些修饰包括磷酸化、乙酰化、泛酸化和甲基化等。现在已证明 FoxO 参与蛋白质的降解和合成, 并且参与调节骨骼肌的生长发育。但 FoxO 活性调控及其信号途径在骨骼肌中具体的调控机理尚不明确。本文就 FoxO 的活性调控及其如何参与骨骼肌生长发育进行了综述。

关键词: FoxO 转录因子; 活性调控; 蛋白质降解; 蛋白质合成; 骨骼肌

中图分类号: S811.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2013)04-0677-08

Fox 蛋白是一类广泛存在于从酵母到哺乳类真核生物的转录因子, 属于“螺旋-转角-螺旋”类蛋白的一个亚群。而 FoxO 转录因子是 Fox 家族中研究最深入的 O 亚家族, 现已确定 FoxO 蛋白及其各种结合物之间存在着物理的交互作用^[1]。哺乳动物细胞中有 4 个 FoxO 因子, 其中 FoxO1、FoxO3a 和 FoxO4 存在于骨骼肌中。骨骼肌细胞内蛋白质降解的 2 个主要途径是泛素蛋白酶体系统 (UPS) 和自噬/溶酶体蛋白降解, 而 FoxO 转录因子与这 2 种代谢途径的调控有关, 并且 Goodman 等^[2] 研究认为, FoxO 能通过活性的变化以某种方式参与蛋白质降解或蛋白质合成的调节。

1 FoxO 蛋白家族及其结构特点

1989 年, Weigel 等在果蝇中发现了第 1 个 Foxhead 基因。Fox 蛋白的标准命名由“Fox + 亚家族符号 + 数字符号”构成, 现在根据 DNA 结合区的同源性将该家族分为 17 个亚家族, FoxA ~ Q。FoxO 是 Fox 家族中研究最深入的 O 亚家族, 哺乳动物体内含有 4 种 FoxO 蛋白, 分别为 FoxO1/

FKHR/FoxO1a、FoxO3/FKHRL1/FoxO3a、FoxO4/AFX 和 FoxO6, 这几种蛋白具有高度的同源性^[3]。首次被发现的哺乳动物 FoxO 是 FoxO1 基因, 位于人类 13 号染色体上。FoxO4 是第 2 个在癌症中发现的进行重排的 Fox 转录因子。FoxO3 位于 6 号染色体上, 是以 FoxO1 的 DNA 结合结构域为诱饵寻找其同源物时发现的, FoxO3 和 FoxO1 具有很高的同源性。FoxO6 位于人类 1 号染色体上。

FoxO 蛋白包括 4 个区域: 1 个氨基端的高度保守 DNA 结合域; 1 个核定位信号 (NLS); 1 个核输出信号 (NES); 1 个羧基端结构域。它们分别由不同的基因编码, 并定位于不同的染色体上^[4]。所有 FoxO (FoxO6 除外) 均包含 3 个蛋白激酶 B (AKT) 磷酸化位点 (FoxO6 缺乏羧基末端位点), AKT 共同磷酸化位点也可以被其他 AGC 家族激酶^[5], 如蛋白激酶 A (PKA)、蛋白激酶 C (PKC)、血清激酶性激酶 (SGK) 和 p21 激活蛋白激酶 (PAK) 磷酸化。

收稿日期: 2012-10-10

基金项目: 国家自然科学基金 (31101253; 30972112)

作者简介: 朱宇旌 (1972-), 女, 辽宁彰武人, 副教授, 博士, 主要从事饲料资源开发利用的研究与教学工作。E-mail: syndzhyj@163.com

* 通讯作者: 张勇, 教授, 硕士生导师, E-mail: syndzhy@126.com

2 FoxO 转录活性调节

2.1 磷酸化调节

磷酸化可使 FoxO 由细胞核转入到细胞质中,从而失活。FoxO 一般被 4 种物质磷酸化: AKT、I κ B 激酶 β (inhibitor kappa B kinase β , IKK β)、c-jun 氨基末端激酶 (JNK) 和哺乳动物不育系 20 样激酶 1 (mammalian sterile 20-like kinase 1, Mst1)。这 4 种激酶对 FoxO 磷酸化表现出不同的表达功能, FoxO 被 AKT 或 IKK β 磷酸化后活性降低, 细胞增殖, 产生肿瘤。而 JNK 和 Mst1 磷酸化作用可激活 FoxO, 促进细胞凋亡基因的表达。AKT 调控细胞的增殖和存活, 支架蛋白 (connector enhancer of KSR1, CNK1) 在几个信号通路中控制着 FoxO 蛋白的功能, 它可以直接调节 AKT 的活性, 也可以通过对其上游催化剂细胞附着蛋白的调控而影响 AKT 的活性, CNK1 是 JNK 和以 JNK 为依赖的信号途径的关键调节器, 而且其也参与由蛋白激酶 Mst1 诱导的细胞凋亡。FoxO 通过 AKT 和 SGK 磷酸化使 FoxO 封闭在细胞质或令 FoxO 蛋白酶失去活性, 这一过程能被 Mst1 和 JNK 阻碍。

伴侣蛋白 14-3-3 是一种进化上保守的调控蛋白, 在细胞内通过绑定到特定靶蛋白的丝氨酸/苏氨酸磷酸化序列来调节多个信号转导通路^[6]。通常 14-3-3 蛋白是 FoxO 活性的负调节器, 能将 FoxO 隔离在细胞质内, 已知 14-3-3 蛋白结合位点包括 2 个已定义位点: RSxpS/TXP (模式 1) 和 RxxxpSxP (模式 2), 以及其他一些磷酸化序列和一些非磷酸化序列^[7]。其与靶基因结合后形成二聚体, 作为二聚体, 14-3-3 蛋白可以直接调控靶蛋白的酶活性、蛋白质稳定性和细胞定位从而影响靶蛋白的功能。AKT 依赖性磷酸化 FoxO 能与 14-3-3 蛋白结合, 在细胞质中形成整合 FoxO 蛋白, 阻碍 FoxO 进入细胞核, 从而抑制 FoxO 所调节基因的表达。14-3-3 蛋白可以影响靶蛋白磷酸化状态时的半衰期, 这表明其可以防止靶蛋白降解和去磷酸化^[6]。Dobson 等^[8] 研究证明, 14-3-3 蛋白表达增加会促进 FoxO 蛋白及其磷酸化个体的表达, 机制为避免其去磷酸化和降解。此功能说明细胞内自由的 14-3-3 蛋白可能会加速 FoxO 蛋白在细胞核内的回收, 促进其在细胞质内稳定或

使其降解。Dobson 等^[8] 还认为细胞内 14-3-3 蛋白的含量可以决定 FoxO 蛋白的水平和活性强弱, 在细胞条件改变的前提下允许通路微调。同时 Densham 等^[9] 研究认为, FoxO3 核定位的调节可能是由 14-3-3 蛋白的绑定而导致, AKT 的活化诱导 FoxO3 在细胞质中积累从而抑制 FoxO3 在细胞核中的积累。虽然 AKT 磷酸化后可能作为 14-3-3 蛋白结合位点, 但磷酸化不直接影响蛋白质的功能, 如 DNA 的结合力。晶体学研究也认为这些磷酸化不影响 FoxO 蛋白的功能^[10]。14-3-3 蛋白防止由 AKT 引起的 FoxO3 去磷酸化, 此过程由蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 介导 (图 1), PP2A 是 FoxO1 的磷酸酶, PP2A 与 FoxO3 的 T32 和 S253 位点的去磷酸化作用相关。在 AKT 被抑制的条件下, PP2A 被抑制或降解能够使 FoxO3 磷酸化稳定^[11], 这种效应也导致 FoxO3-14-3-3 复合物的稳定。此外, PP2A 的衰减抑制由 AKT 抑制引起的 FoxO3 细胞核内转移, 并且增加 FoxO3 转录活性, 但 PP2A 不参与调控 FoxO1 或 FoxO4。

Lee 等^[12] 研究发现, 血管内皮细胞内猪肾酰转移酶 (PKAa) 使 FoxO1 在 AKT 磷酸化位点磷酸化, 但是磷酸化的具体程度及需要的条件仍有待确定。对于磷酸化位点, 以前认为 AKT 在质膜上被激活, 随后激活的 AKT 易位到细胞核中。而现在的观点是, 在细胞核内通过 PI3K 核池, 包括被磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (PDK1) 和 DNA 依赖性蛋白激酶 (DNA-PK) 磷酸作用直接激活 AKT^[13]。因此在细胞质和细胞核中 FoxO 蛋白均可被磷酸化, 但是在细胞质中 FoxO 蛋白磷酸化的 AKT 位点可以被检测到, 而在细胞核内没有检测到 FoxO 的磷酸化位点, 这表明在细胞核中即使 FoxO 蛋白被磷酸化, 它们的半衰期也很短^[9]。至于 AKT 与 FoxO 的相互作用, 已经发现到内源性 AKT 和 FoxO 的复合, 而这 2 种蛋白之间的相互作用并没有被具体研究。Singh 等^[11] 研究表明, 3 个 AKT 磷酸化序列没有参与 AKT-FoxO 交互作用, 说明 FoxO 内存在一个远距离 AKT 结合位点, 这还有待进一步研究。不过也有相关文献报道, AKT 和相关激酶 SGK 在 3 个调节位点 (人 FoxO1 序列 Thr24、Ser256 和 Ser319) 上直接磷酸化 FoxO^[14]。

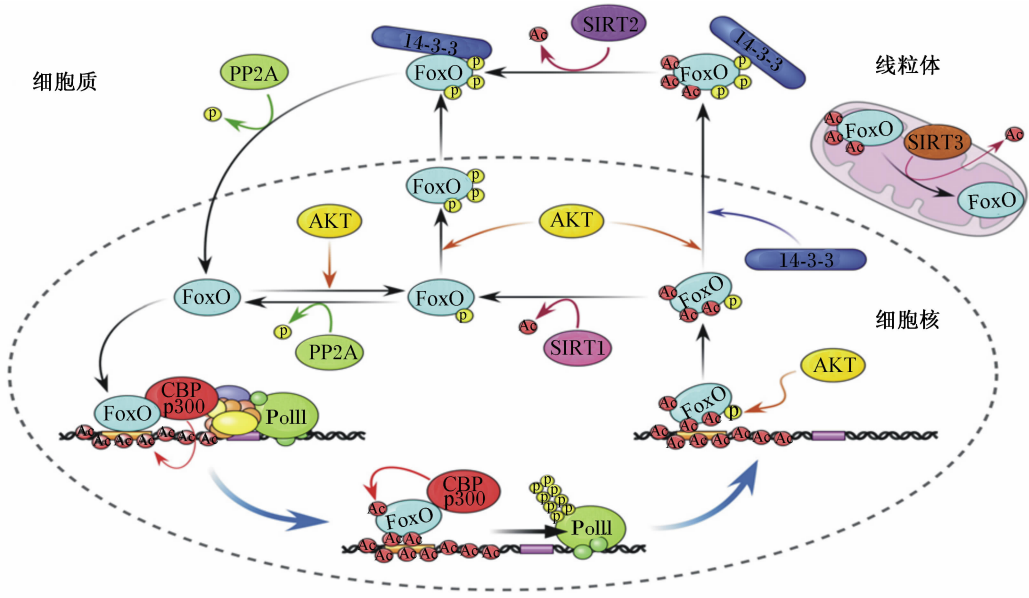


图 1 FoxO 转录因子的可逆乙酰化和磷酸化调控原理模型图

Fig. 1 Schematic model for the regulation of FoxO transcription factors by reversible phosphorylation and acetylation^[15]

3.2 乙酰化调节

最初酵母菌双杂交筛选的结果引导人们研究 FoxO 转录因子乙酰化, FoxO 乙酰化能减少 DNA 结合, 以增加其在 S256 位点上 AKT 的磷酸化, 对 FoxO 起负调控作用。Daitoku 等^[15] 研究表明, 乙酰化的 FoxO 蛋白能降低它的超激活功能。反应原件结合蛋白 (CBP) 和它相关的 p300 蛋白 (CBP p300) 是众所周知的组蛋白乙酰转移酶, 它作为众多转录因子的辅激活因子, 它在叉形头 DNA 结合区域能直接绑定和乙酰化 FoxO, 减小它与靶基因相互作用的能力 (图 1)。因此, 推测 FoxO 蛋白可能是 CBP 的底物, 已经证明 CBP 可以在 Lys-242、Lys-245 和 Lys-262 这 3 个位点乙酰化 FoxO。

沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (辅酶 1, NAD) - 依赖蛋白去乙酰基酶家族中的一员, 被称为去乙酰化酶, 能在被组蛋白乙酰转移酶乙酰化的 FoxO 蛋白赖氨酸残基上结合和脱去乙酰基 (图 1)。在哺乳动物细胞中的 SIRT1 过度表达可以有效的降低 FoxO1 的乙酰化水平。沉默信息调节因子 2 (SIRT2) 属于 NAD 依赖性去乙酰基酶家族, 它的过度表达能延长出芽酵母和蠕虫线虫的寿命, 线虫体内寿命延长可能是依赖 *daf-16* 的存在, 而 *daf-16* 是 FoxO 家族唯一的线虫直接同源物。SIRT2 和 *daf-16* 之间的遗传相关让人们猜想人类 SIRT2 的直接同源物 SIRT1 能

直接绑定和脱去乙酰化 FoxO, 从而恢复其超激活功能。

维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 是一种调节 FoxO 信号的支架蛋白, VDR 能够阻碍被乙酰化和磷酸化的 FoxO 蛋白失活。在细胞维生素 D (1,25 二羟维生素 D) 的刺激下, 结合配体 VDR 能直接与核内 FoxO3 和 FoxO4 结合, 同时也能与脱乙酰酶 SIRT1 和蛋白质水解酶 1 (PP1) 的催化亚基结合^[15]。因此 FoxO 蛋白是 1,25 二羟维生素 D 的抗增殖作用的主要下游调节介质, 不过 VDR 支架只与激活的 SIRT1 和 PP1 有关系或调节它们酶的活性现在仍是一个待研究的问题^[15]。至于 FoxO 乙酰化和去乙酰化在新陈代谢中的调节作用, 在不同类型细胞中均有报道, 如心肌细胞^[16]。Chamberlain 等^[17] 用地塞米松对培养肌管处理导致细胞水平的乙酰化 FoxO1 和 FoxO3 大量增长, Mammacuri^[18] 发现 FoxO1 和 FoxO3 调节 *atrogen-1* 和 *MuRF1* 基因的转录, 这些基因参与自噬溶酶体肌肉的蛋白质分解, 而且乙酰化的 FoxO1 能促进自噬^[19]。

3.3 甲基化和泛素化

泛素依赖性蛋白的蛋白酶降解调节 FoxO 的蛋白水平。AKT、细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 和 I κ B 激酶 (IKK) 引起的磷酸化诱导 FoxO 泛素化和降解。

FoxO 蛋白所识别的泛素连接酶 (E3) 包括 S 期激酶相关蛋白 2 (Skp2), 其在 Ser256 和 MDM2 位点结合 AKT 磷酸化的 FoxO1, 并且能够结合 ERK 磷酸化的 FoxO^[20], MDM2 既可以诱导 FoxO 单泛素化又可以诱导其聚泛素化。单泛素化相对于聚泛素化而言, 其促使 FoxO 降解, 导致 FoxO 核转移及转录活性增加^[21]。FoxO 翻译修饰后, 精氨酸甲基化与 AKT/14-3-3 的 FoxO 调节机制相互作用^[22]。

4 FoxO 信号途径的生物学功能

FoxO 存在于多种细胞内并且参与多种生理过程, 已证明 FoxO 转录因子家族在胰岛素 (insulin) 或胰岛素样生长因子 I (IGF- I) 下游生长因子受体表达过程中发挥重要作用。FoxO 蛋白可能作为其他转录因子的辅助因子而影响其转录^[23]。FoxO 蛋白作为 insulin/IGF- I 信号的下游靶目标, 能被 insulin/IGF- I 诱导, 将 AKT 磷酸化的 FoxO 封存于细胞质内, 从而起到调节生理变化的作用, 例如新陈代谢和生命的延续^[24]。在 FoxO 所有的亚型中, FoxO1 在胰腺、肝脏、骨骼肌、白色脂肪和棕色脂肪以及下丘脑中表达是最显著的, 这些组织都能影响体内能量的代谢。细胞核的 FoxO1 通过上调与细胞融合有关的基因表达促进肌管的形成。而 FoxO 作为能量代谢的一个新的调节器和胰岛素信号靶目标在近几年已经被人们所认同^[33]。ProF 蛋白在机体脂肪形成过程中作为 FoxO1 的支架蛋白主要作用于 insulin/IGF- I 和 JNK 信号通路^[26], 在线虫体内调节寿命期和应激反应。细胞质中的 ProF 与 AKT 和 FoxO 相互作用, 调节 FoxO 的 Ser253 位点上的依赖性 AKT 磷酸化, 该位点位于 FoxO 的 DNA 结合域上。ProF 通过对 FoxO 的活性钝化, 成为 insulin 诱发脂肪生成的一个正调节器, 在分化的细胞中增加葡萄糖的摄取。

5 FoxO 相关信号途径在骨骼肌生长发育中的调节作用

骨骼肌 FoxO 核定位和转录活性受到 IGF- I / PI3K/PKB 信号和应激活化蛋白激酶 (JNK 和 p38) 的抑制^[27], 并且受乙酰化调控^[28]。肌群质量受合成代谢和分解代谢的动态平衡调控, 肌肉肥大与蛋白质的合成增多有关, 而肌肉萎缩时蛋白质降解增强^[29]。在禁食期间骨骼肌中 FoxO1 调

节碳水化合物分解来提供能量, 这个过程导致骨骼肌的萎缩和胰岛素抵抗^[30], 加速蛋白质的降解。在禁食, 癌症恶病质, 停用和老化的条件下骨骼肌中 FoxO1 和 FoxO3 的 mRNA 表达上调。此外 FoxO3 的过度表达可以刺激肌管的蛋白质水解, 降低 FoxO1 基因表达能降低肌管蛋白质降解^[19]。有研究证明, 停用性肌肉中抑制 FoxO 的转录活性可以防止几乎 1/2 的肌纤维发生萎缩, 确定了在某一生理条件下正常肌肉的萎缩需要 FoxO 的激活。肌肉发生萎缩基本上都涉及到上调肌肉特定的 *atrogin-1* 和 *MuRF1* 基因, 野生型且成型活化的 FoxO3 过度表达能提高 *atrogin-1* 和 *MuRF1* 启动子的活性及 mRNA 的表达, 但其作用机制可能不同^[31]。此外, FoxO3 降解或显性阴性 FoxO3 表达在某些情况下抑制 *atrogin-1* 和 *MuRF1* 启动子活性的增加, 但在所有的萎缩性条件下都会出现这种现象^[40]。FoxO3、FoxO1 的降解抑制 *atrogin-1* 启动子活性增加及 *atrogin-1* 和 *MuRF1* 在一定萎缩性条件下的表达^[30]。与 FoxO3 不同, 野生型且成型活化的 FoxO1 基因的过度表达不足以引起 *atrogin-1* 或 *MuRF1* 表达的增加。截至目前为止, 很少有关于 FoxO4 介导调节 *atrogin-1*, *MuRF1* 和 UPS 的报道, 可能不同的刺激可以激活不同的 FoxO 家族成员, 进而通过不同的机制调节 UPS 达到降解蛋白质的作用。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 参与调节合成代谢, 包括蛋白质合成、核糖体合成、线粒体生物合成以及分解代谢, 如细胞自噬等^[32-33]。mTORC1 信号活化能够引起骨骼肌肥大, FoxO 可以下调 mTORC1 信号, 减少蛋白质合成, 从而调节骨骼肌蛋白质含量。FoxO3 能与 Ras 鸟苷酸结合蛋白超家族中的 Rheb 相互作用增加 *Bnip3* 的表达^[34], 进而衰减 mTORC1 信号或者通过结节硬化复合物 1 (tuberous sclerosis complex1, TSC1) 依赖机制调节 mTORC1^[35]。事实上, 在 C2C12 成肌细胞分化时, FoxO1 能诱导 mTORC1 某些组件的蛋白酶体依赖性降解^[36], 从而潜在的减少 mTORC1 信号。

5'-AMP-激活蛋白激酶 (5'-AMP-activated protein kinase, AMPK) 不仅参与蛋白质降解的调节, 它还可以调节蛋白质的合成。在骨骼肌中, AMPK 通过何种机制来调节蛋白质合成的还没有

被确定,但是这个过程可能包含对 mTORC1 信号的调节。从另一方面说,肌肉内 AMPK 活性的降低导致 mTORC1 信号增强^[37-38]。在哺乳动物的非肌细胞中,FoxO1 活化间接激活 AMPK,然后其磷酸化 TSC2,进而导致 mTORC1 信号降低(图 2)^[39]。因此这表明 AMPK 可以直接或间接影响 mTORC1 信号,并且这可能是 AMPK 调节蛋白质合成的一种机制。AMPK 另一个潜在的调节蛋白

质合成的能力可能与 AMPK 调节 *atrogen-1* 的表达有关^[40]。运动、饥饿、线粒体裂变和功能紊乱导致的腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)水平下降诱导 AMPK 激活,最后刺激 FoxO 活化,活化的 FoxO 会进一步诱导线粒体裂变和功能紊乱(图 2)。FoxO3 诱导 AMPK 活性增加,可能进一步激活 FoxO3 诱导的自噬活性^[41]和 UPS 蛋白质降解。

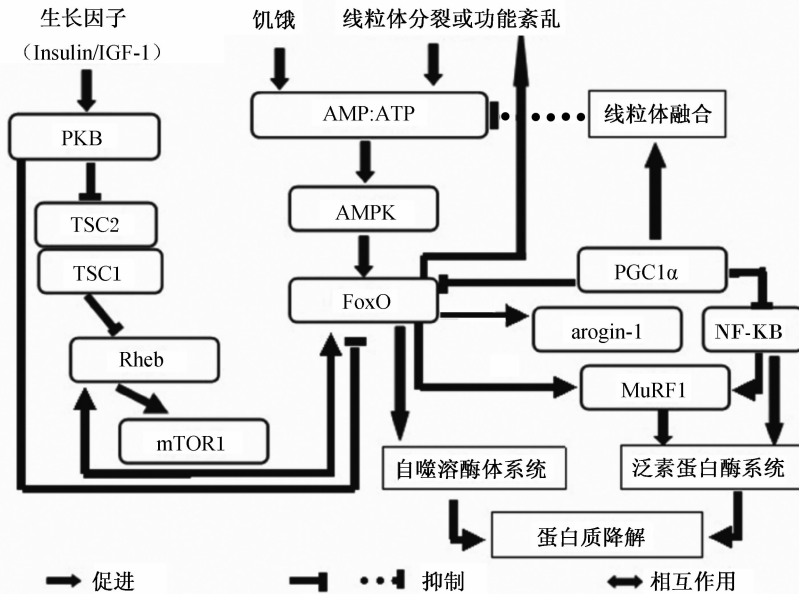


图 2 骨骼肌中调节蛋白质降解的相关分子信号途径

Fig. 2 The signaling molecules pathways involved in the regulation of protein degradation in skeletal muscle^[2]

另外,FoxO 和核转录因子- κ B (NF- κ B)也可能存在某种联系,Reed 等^[42]研究发现,抑制 FoxO 和 NF- κ B 活性能预防由石膏固定引起的肌肉萎缩,通过阻断上游 IKK (IKK α 和 IKK β) 可以抑制 NF- κ B 活性。NF- κ B 和 FoxO 在萎缩信号或萎缩基因的表达上具有累积效应,在多个肌肉萎缩模型中 NF- κ B 和 FoxO 的活性均增加,在因肌肉停用而发生的肌肉萎缩中,它们分别起到 50% 的作用^[42]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α (PGC1 α) 的过度表达能同时抑制 FoxO 和 NF- κ B 的转录活性(图 2)^[2]。有学者猜测,降低 NF- κ B 的转录水平能达到促进骨骼肌细胞分化的目的^[43]。因此笔者推测,在骨骼肌中很可能是由 AMEK-FoxO、AMEK-atrogen-1、FoxO-(atrogen-1, MuRF1)-NF- κ B、AMEK-FoxO-mTORC1 这 4 个途径维持骨骼肌细胞内蛋白质含量的稳定。不过它们对骨骼肌的具体相互调控机制仍有待确定。

6 小结

FoxO 转录因子通过对靶基因的转录调控以及与其他转录调节器之间的相互作用来调节自身的转录活性,而且它在细胞中的存在状态影响其功能,例如细胞周期调控、凋亡和细胞代谢。现在已证明 FoxO 参与骨骼肌中蛋白质的降解和合成,当面对外界刺激时,通过与 AMEK、mTORC1 和 NF- κ B 之间的相互作用来调节骨骼肌蛋白质含量的稳定。研究 FoxO 及其相关信号途径调控肌肉降解和合成的分子机制,为维护骨骼肌的正常发育和改善肉品质提供了新思路。

参考文献:

- [1] VANDERVOS K E, COFFER P J. FoxO-binding partners: it takes two to tango [J]. *Oncogene*, 2008, 27 (16): 2289 - 2299.

- [2] GOODMAN C A, MAYHEW D L, HORNBERGER T A. Recent progress toward understanding the molecular mechanisms that regulate skeletal muscle mass [J]. *Cellular Signalling*, 2011, 23 (12) : 1896 – 1906.
- [3] CALNAN D R, BRUNET A. The FoxO code [J]. *Oncogene*, 2008, 27 (16) : 2276 – 2288.
- [4] TZIVION G, DOBSON M, RAMAKRISHNANA G. FoxO transcription factors: regulation by AKT and 14-3-3 proteins [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1813 : 1938 – 1945.
- [5] PEARCE L R, KOMANDER D, ALESSI D R. The nuts and bolts of AGC protein kinases [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2010, 11 (1) : 9 – 22.
- [6] MORRISON D K. The 14-3-3 proteins: integrators of diverse signaling cues that impact cell fate and cancer development [J]. *Trends in Cell Biology*, 2009, 19 (1) : 16 – 23.
- [7] MOHAMMAD D H, YAFFE M B. 14-3-3 proteins, FHA domains and BRCT domains in the DNA damage response [J]. *DNA Repair*, 2009, 8 (9) : 1009 – 1017.
- [8] DOBSON M, RAMAKRISHNAN G, MA S, et al. Bimodal regulation of FoxO3 by AKT and 14-3-3 [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1813 (8) : 1453 – 1464.
- [9] DENSHAM R M, ONEILL E, MUNRO J, et al. MST kinases monitor actin cytoskeletal integrity and signal via c-Jun N-terminal kinase stress-activated kinase to regulate p21Waf1/Cip1 stability [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2009, 29 (24) : 6380 – 6390.
- [10] SILHAN J, VACHA P, STRNADOVA P, et al. 14-3-3 protein masks the DNA binding interface of forkhead transcription factor FoxO4 [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284 (29) : 19349 – 19360.
- [11] SINGH A, YE M, BUCUR O, et al. Protein phosphatase 2A reactivates FoxO3a through a dynamic interplay with 14-3-3 and AKT [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2010, 21 (6) : 1140 – 1152.
- [12] LEE J W, CHEN H, PULLIKOTIL P, et al. Protein kinase A- α directly phosphorylates FoxO1 in vascular endothelial cells to regulate expression of vascular cellular adhesion molecule-1 mRNA [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286 (6) : 6423 – 6432.
- [13] BOZULIC L, SURUCU B, HYNX D, et al. PKB α /Akt1 acts downstream of DNA-PK in the DNA double-strand break response and promotes survival [J]. *Molecular Cellular*, 2008, 30 (2) : 203 – 213.
- [14] FRITZ R D, RADZIWIŁL G. CNK1 and other scaffolds for Akt/FoxO signaling [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1813 (11) : 1971 – 1977.
- [15] DAITOKU H, SAKAMAKI J, FUKAMIZU A. Regulation of FoxO transcription factors by acetylation and protein-protein interactions [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1813 (11) : 1954 – 1960.
- [16] HARIHARAN N, MAEJIMA Y, NAKAE J, et al. Deacetylation of FoxO by Sirt1 plays an essential role in mediating starvation induced autophagy in cardiac myocytes [J]. *Circulation Research*, 2010, 107 (12) : 1470 – 1482.
- [17] CHAMBERLAIN W, GONNELLA P, ALAMDARI N, et al. Multiple muscle wasting-related transcription factors are acetylated in dexamethasone-treated muscle cells [J]. *Biochemistry and Cell Biology: Biochimie et Biologie Cellulaire*, 2012, 90 (2) : 200 – 208.
- [18] MAMMACURI C, SCHIAFFINO S, SANDRI M. Downstream of Akt; FoxO3 and mTOR in the regulation of autophagy in skeletal muscle [J]. *Autophagy*, 2008, 4 (4) : 524 – 526.
- [19] SMITH I J, ALAMDARI N, O'NEAL P, et al. Sepsis increases the expression and activity of the transcription factor forkhead box O 1 (FoxO1) in skeletal muscle by a glucocorticoid dependent mechanism [J]. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2010, 42 (5) : 701 – 711.
- [20] FU W, MA Q, CHEN L, et al. MDM2 acts downstream of p53 as an E3 ligase to promote FoxO ubiquitination and degradation [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284 (21) : 13987 – 14000.
- [21] HUANG H, TINDALL D J. Regulation of FoxO protein stability via ubiquitination and proteasome degradation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813 (11) : 1961 – 1964.
- [22] YAMAGATA K, DAITOKU H, TAKAHASHI Y, et al. Arginine methylation of FoxO transcription factors inhibits their phosphorylation by Akt [J]. *Molecular Cellular*, 2008, 32 (2) : 221 – 231.
- [23] LANDIS J N, MURPHY C T. Integration of diverse inputs in the regulation of *Caenorhabditis elegans* DAF-16/FoxO [J]. *Developmental Dynamics*, 2010, 239 (5) : 1405 – 1412.
- [24] SALMINEN A, KAARNIRANTA K. Insulin/IGF-1 paradox of aging: regulation via AKT/IKK/NF- κ B signaling [J]. *Cellular Signalling*, 2010, 22 (4) : 573 – 577.

- [25] FERRON M, WEI J, YOSHIKAWA T, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism [J]. *Cell*, 2010, 142 (2) : 296 – 308.
- [26] FRITZIUS T, MOELLING K. Akt- and FoxO1-interacting WD-repeat-FYVE protein promotes adipogenesis [J]. *The EMBO Journal*, 2008, 27 (9) : 1399 – 1410.
- [27] CLAVEL S, SIFFROI-FERNANDEZ S, COLDEFY A S, et al. Regulation of the intracellular localization of FoxO3a by stress-activated protein kinase signaling pathways in skeletal muscle cells [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, 30 (2) : 470 – 480.
- [28] SENF S M, SANDESARA P B, REED S A. P300 acetyltransferase activity differentially regulates the localization and activity of the FoxO homologues in skeletal muscle [J]. *Cell Physiology*, 2011, 300 (6) : C1490 – C1501.
- [29] 王远孝, 王恬. FoxOs 转录因子对机体代谢的调控 [J]. *动物营养学报*, 2010, 22 (4) : 811 – 816.
- [30] KOUSTENI S. FoxO1, the transcriptional chief of staff of energy metabolism [J]. *Bone*, 2012, 50 (2) : 437 – 443.
- [31] ROMANELLO V, GUADAGNIN E, GOMES L, et al. Mitochondrial fission and remodelling contributes to muscle atrophy [J]. *The EMBO Journal*, 2010, 29 (10) : 1774 – 1785.
- [32] ZONCU R, EFEYAN A, SABATINI D M. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2011, 12 (1) : 21 – 35.
- [33] JUNG C H, RO S H, CAO J, et al. mTOR regulation of autophagy [J]. *FEBS Letters*, 2010, 584 (7) : 1287 – 1295.
- [34] MAMMUCARI C, MILAN G, ROMANELLO V, et al. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle *in vivo* [J]. *Cell Metabolism*, 2007, 6 (6) : 458 – 471.
- [35] KHATRI S, YEPISKOPOSYAN H, GALLO C A, et al. FoxO3a regulates glycolysis via transcriptional control of tumor suppressor TSC [J]. *Biological Chemistry*, 2010, 285 (21) : 15960 – 15965.
- [36] WU A L, KIM J H, ZHANG C, et al. Forkhead box protein O1 negatively regulates skeletal myocyte differentiation through degradation of mammalian target of rapamycin pathway components [J]. *Endocrinology*, 2008, 149 (3) : 1407 – 1414.
- [37] LANTIER L, MOUNIER R, LECLERC J, et al. Coordinated maintenance of muscle cell size control by AMP-activated protein kinase [J]. *The FASEB Journal*, 2010, 24 (9) : 3555 – 3561.
- [38] GWINN D M, SHACKELFORD D B, EGAN D F, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint [J]. *Molecular Cellular*, 2008, 30 (2) : 214 – 226.
- [39] CHEN C C, JEON S M, BHASKAR P T, et al. FoxOs inhibit mTORC1 and activate Akt by inducing the expression of Sestrin3 and Rictor [J]. *Developmental Cell*, 2010, 18 (4) : 592 – 604.
- [40] KRAWIEC B J, NYSTROM G J, FROST R A, et al. AMP-activated protein kinase agonists increase mRNA content of the muscle-specific ubiquitin ligases MAFbx and MuRF1 in C2C12 cells [J]. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism*, 2007, 292 (6) : E1555 – E1567.
- [41] ZHAO J, BRAULT J J, SCHILD A, et al. FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteasomal pathways in atrophying muscle cells [J]. *Cell Metabolism*, 2007, 6 (4) : 472 – 483.
- [42] REED S A, SENF S M, CORNWELL E W, et al. Inhibition of ikappab kinase alpha (IKK α) or IKKbeta (IKK β) plus forkhead box O (FoxO) abolishes skeletal muscle atrophy [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 405 (3) : 491 – 496.
- [43] 张勇, 马勇, 朱宇旌, 等. p38 丝裂原活化蛋白激酶信号途径调节骨骼肌生长发育的机理 [J]. *动物营养学报*, 2012, 24 (1) : 14 – 19.

Regulation of FoxO Transcription Factors Activity and Its Functions in Growth and Development of Skeletal Muscle

ZHU Yujing¹ YU Zhijiao¹ ZHANG Yong^{1*} LI Yan¹ SHAO Caimei²

(1. College of Veterinary and Animal Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China;

2. Liaoning Wellhope Agri-Tech Co., Ltd., Shenyang 110164, China)

Abstract: FoxO transcription factors are regulated by a wide range of external stimuli, including insulin, insulin-like growth factor I (IGF-I), nutritional status, cytokines and oxidative stress. These environmental stimuli control FoxO activity by altering an intricate combination of post-translational modifications of FoxO, such as phosphorylation, acetylation, ubiquitination and methylation, which in turn regulate subcellular localization, DNA-binding properties, protein levels and transcriptional activity. Changes in FoxO activity are somehow involved in regulation of protein degradation and/or protein synthesis, growth and development of skeletal muscle. But the regulation of FoxO activity and the regulatory mechanisms of its signaling pathways in skeletal muscle are a little known. This review summarized the regulation of FoxO activity and its functions in growth and development of skeletal muscle. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(4):677-684]

Key words: FoxO transcription factors; activity regulation; protein degradation; protein synthesis; skeletal muscle