

Axin 研究进展

郑鸿平 徐立红*

(浙江大学医学院生物化学与分子生物学教研室, 杭州 310031)

摘要 Axin 作为一种多功能的支架蛋白参与了多种生理病理过程, 涉及到胚胎发育、肿瘤形成、细胞凋亡、糖原代谢等过程, 至少在 Wnt 信号转导通路、应激反应蛋白激酶(SAPK)信号通路、转化生长因子 β (TGF β) 信号通路和胰岛素信号转导通路中扮演着重要的角色。对 Axin 的研究将有助于对胚胎发育、肿瘤形成等重要的生物学问题进一步了解, 同时对细胞信号调控网络有一个新的认识。现从 Axin 在相关疾病、代谢及主要细胞信号通路中的作用等方面对其研究进展做一综述。

关键词 Axin; 信号转导/通路; 代谢; 疾病

Axin 是一种普遍存在于生物体内的蛋白质, 早期做为鼠基因“fused”的产物被鉴定。自此, Axin 逐渐向人们展示了它在胚胎发育、肿瘤发生等多种生理病理过程中所扮演的重要角色。Zeng 等^[1]在 1997 年分离、克隆了其 cDNA, 并介绍了其基因结构。Zeng 等观察到, 在蛙胚胎中 Axin 高表达会抑制背轴形成, 而其基因突变则造成同源鼠胚形成双轴; 他们的研究还暗示了 Wnt 信号通路在哺乳动物和两栖类的胚轴形成早期起着关键的调控作用, Axin 通过抑制该通路而在轴形成过程中发挥作用, 是 Wnt 信号通路的一个新的抑制因子。鉴于这些认识, 结合其功能同时也为了避免它和与之不相关的果蝇基因“fused”的混淆, 他们将其更名为 Axin (axis inhibition)。随着研究的深入, 到目前为止已经发现, Axin 至少参与了胚胎发育、肿瘤形成、细胞凋亡、糖原代谢等生理病理过程; 至少在 Wnt 信号转导通路、应激反应蛋白激酶(SAPK)信号通路、转化生长因子 β (TGF β) 信号通路和胰岛素信号转导通路中发挥重要作用。

1 Axin 的生物学特性

目前的研究认为 Axin 家族有两个同源蛋白 Axin1 (也称 Axin) 和 Axin2 (或称 Axil、Conductin), 在人类这两者编码基因分别位于染色体 16q13-3 和 17q23-24, cDNA 都含 10 个外显子; Axin 基因又可以编码 Axin a (862 个氨基酸) 和 Axin b (826 个氨基酸) 两种蛋白质, Axin a 比 Axin b 多出的 36 个氨基酸片断位于第 8 外显子编码部分的 N 端; Axin2 基

因编码含 842 个氨基酸的蛋白质^[1,2]。

做为多结构域、多功能的支架蛋白 Axin1 和 Axin2 两者都含有与多种分子结合的位点或者结构域 (图 1)。这些分子包括结肠腺瘤性息肉病基因(蛋白) (APC), 糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)、 β 连环蛋白(β -catenin)、DVL 蛋白、有丝分裂原激活蛋白胞外调节激酶激酶激酶 1 (MEKK1)、酪蛋白激酶 I (CKI)、蛋白磷酸酶 2A (PP2A)、低密度脂蛋白受体相关蛋白(Lrp)和 Axin 自身。Axin 的 N 端为 RGS 结构域, C 端为 DIX 结构域, 它们分别与 APC 蛋白和 DVL 蛋白结合; MID 结构域与 MEKK1 结合。Axin 与 APC 蛋白、GSK-3 β 、 β 连环蛋白和 DVL 蛋白的结合区域分别位于氨基酸序列 81~200、327~413、414~476 和 761~843^[3]。除了这些 Axin 还与同源结构域相互作用蛋白激酶 2 (HIPK2)^[4]、MEKK4^[5] 发生作用, 正是 Axin 与这些分子的广泛相互作用奠定了 Axin 生物学功能的基础。

2 Axin 与信号通路

Axin 在 Wnt 通路、SAPK/JNK 通路以及 TGF β 通路中都发挥了重要作用, 各种分子间的相互作用也非常复杂。图 2 简单描绘了这三条通路的情况, 可以看出 Axin 在这三者中所处的位置还有与其作用的部分主要分子。

收稿日期: 2005-08-15 接受日期: 2005-10-10

教育部博士点基金资助项目(No.20020335078)

* 通讯作者。Tel: 0571-87217154, Fax: 0571-87217154, E-mail:

xulihong@zju.edu.cn

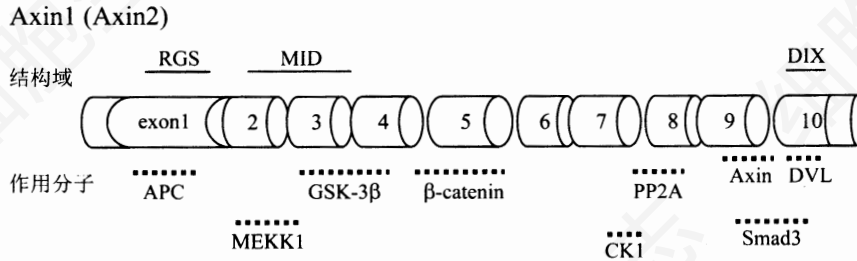


图1 Axin 的分子结构及与其作用的分子^[3]

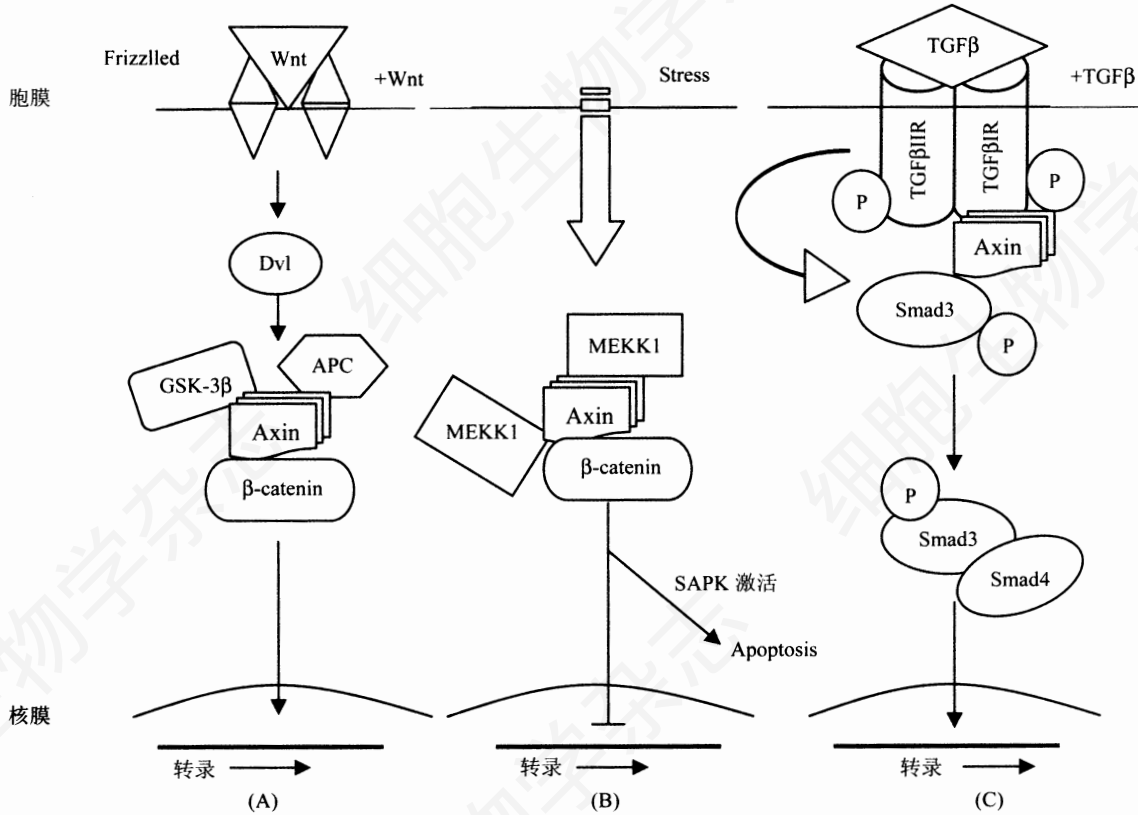


图2 Axin 参与的信号通路^[3]

A: Wnt 信号通路; B: SAPK/JNK 信号通路; C: TGFβ 信号通路。

2.1 Axin 与 Wnt 信号通路(图 2A)

Wnt 信号通路可以调节细胞的增殖、分化及运动, 对个体发育及形态形成都至关重要, 其主要过程为: 分泌型 Wnt 蛋白作用于细胞表面受体 Frizzled 进而激活 DVL, 激活的 DVL 可以抑制其下游 GSK-3α/β 对 β 连环蛋白的磷酸化, 也就阻断了 β 连环蛋白的降解, 这样 β 连环蛋白就得以在胞浆内积累并可以转移到核内与 T 细胞特异因子(TCF)等结合进而诱导靶基因转录^[3]。

Axin 因其在脊椎动物胚轴形成过程中的抑制作用而得名^[1]。Axin 的高表达可导致 β 连环蛋白这个 Wnt 通路下游效应分子水平的下降^[6]。作为 Wnt 通

路的抑制因子, Axin 与这条通路的多个分子发生作用, 这些分子包括 APC、GSK-3β、β 连环蛋白、DVL 等, 并主要通过调节 β 连环蛋白的磷酸化状态来实现它作为 Wnt 通路抑制因子的角色^[7,8]。Axin 可以直接与 GSK-3β 和 APC 结合, 是三重复合体 APC-Axin-GSK3β 的成员之一, 只有这三者形成复合体才可以对 β 连环蛋白进行有效调节^[6], 但 Axin 的浓度 (20 pmol/L) 显著低于 Wnt 通路其他成员 (35 nmol/L β 连环蛋白, 100 nmol/L APC, 100 nmol/L Dsh, 50 nmol/L GSK-3β)^[9]。

在正常情况下, β 连环蛋白被 GSK-3β 磷酸化继而经由泛素-蛋白酶体(ubiquitin-proteasome)途径

而被降解,这确保了 β 连环蛋白在正常细胞内的一个非常低的浓度。但是这个磷酸化的过程并不是那么简单,首先只有当 β 连环蛋白和GSK-3 β 接近到一定程度时磷酸化作用才会发生,同时这种作用又需要一个“场地”,而Axin做为一个具有多结构域的支架蛋白在这里就起了核心作用^[11,10],如果没有Axin的作用,GSK-3 β 无法对 β 连环蛋白发挥磷酸化作用^[11]。不仅如此,除了调节GSK-3 β 对 β 连环蛋白的磷酸化作用外,Axin还可调节GSK-3 β 对其他底物的作用^[12],特别是加强GSK-3 β 对其底物的磷酸化作用^[13]。例如,Axin可以加强依赖GSK-3 β 的APC磷酸化^[6]。APC的磷酸化提高了其结合 β 连环蛋白的能力^[11],而 β 连环蛋白与APC的结合也是确保它被GSK-3 β 磷酸化继而被降解的必要条件^[14]。Axin本身也可直接被GSK-3 β 磷酸化,体外实验证明Axin的磷酸化不影响它与GSK-3 β 和 β 连环蛋白的结合能力,但其磷酸化形式要比非磷酸化形式更加稳定^[10]。也有研究认为,磷酸化的Axin可以更有效的结合 β 连环蛋白^[15]。而Cong等^[16]的研究则暗示了Axin可以做为分子伴侣促进 β 连环蛋白向胞浆转移。Wiechens等^[17]则发现Axin能够穿梭进出胞核,这种穿梭行为是不是印证了Axin作为 β 连环蛋白分子伴侣的角色呢?

当Wnt信号存在时,Wnt可以通过Dvl对Axin复合体的作用来抑制GSK-3 β 对Axin的磷酸化从而促使其降解,失去了Axin的作用 β 连环蛋白就可从复合体脱离^[18]。另外,研究认为Wnt信号可以引起Axin向浆膜分布,而不是先前认为的那样——降低了细胞内Axin的水平^[19]。

另有研究发现,一个由泛素-蛋白酶体直接介导的通路可以负向调节APC水平——Wnt信号抑制这一过程,而Axin则以寡聚体的形式促进这一过程^[20]。

从上面的研究可以看出:一方面,Axin要通过种种行为加强其作为Wnt通路抑制因子的地位;另一方面,Wnt信号则通过多种途径以达到削弱Axin抑制作用的目的。总之,这两者是对立的。

2.2 Axin与SAPK/JNK信号通路(图2B)

促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)是一种细胞浆内广泛分布的丝氨酸和(或)苏氨酸类的蛋白激酶。在真核细胞中有4条信号通路,SAPK/JNK信号通路是其中之一。在细胞应激过程SAPK/JNK信号通路被激活,不仅如此在很多生理过程中(比如:细胞

分化、存活、死亡、组织形成),这个信号通路也发挥作用^[21]。在JNK通路,Axin以MEKK1作用结构域(MEKK1 interacting domain, MID)与MEKK1相作用并通过MKK4/7来激活JNK^[22]。Axin与MEKK1的作用方式是,Axin与MEKK1 C端的激酶结构域作用形成复合物;剔除210~352位氨基酸序列,Axin就完全失去丧失了对JNK的激活作用,而将这一片断与其C端509~832位氨基酸片断融合,则这一融合片断就完全恢复了对JNK的激活作用,这说明Axin分子的MID和C端509~832位氨基酸片断对其保留对JNK的激活功能是必要的;而217~352位氨基酸片断则为Axin与MEKK1作用形成复合物所必须^[23]。又有研究发现,Axin通过一个新的结构域(序列679~711)作用于MEKK4,不同于与MEKK1的作用位点(序列210~338);缺乏MEKK1结合位点的Axin突变体仍有激活JNK的能力;在没有MEKK4参与的情况下,Axin介导的JNK激活作用减弱。进一步的实验则证明了Axin可以在MEKK4介导的条件下激活JNK,而不需要MEKK1的加入^[5]。另有实验证明,Axin过表达导致细胞凋亡,可是如果在细胞中共表达Axin与激酶缺陷的MEKK1或无激酶活性的JUN1,细胞死亡率就降到原来的26%,这暗示了MEKK1和JNK在Axin介导的细胞凋亡中的作用^[24]。

在Axin与JNK通路作用过程中如果再来关注一下Wnt通路,就可发现Wnt通路中的一些成员如GSK-3 β ,酪蛋白激酶I ϵ (casein kinase I ϵ ,CKI- ϵ)表现为抑制Axin对JNK的激活;GSK-3 β 通过结合与MID不同的区域起作用,CKI- ϵ 则通过与MEKK1竞争结合位点而发挥作用;但Wnt途径另外的成员如, β 连环蛋白可以与Axin-MEKK1共存而不影响Axin介导的SAPK/JNK通路的激活;Axin在Wnt通路和JNK通路中发挥作用必要的结构域完全不同,这使得Axin能够身兼二职——在被开启激活JNK通路的同时仍具有下调Wnt通路中 β 连环蛋白的能力^[25],这也意味着这个由Axin与众多分子组成的复合体至少在Wnt和JNK通路中的功能是分化的,可以说“貌合而神离”。但是完全有理由相信这些只是Wnt通路与JNK通路两者关系中冰山的一角,更精彩的在海平面以下。

2.3 Axin与TGF β 信号通路(图2C)

Axin除了在Wnt和SAPK/JNK信号通路中发挥作用外,还在另一条重要的信号途径——TGF β 通

路中扮演角色。与其在 Wnt 通路中所起的“促退”作用不同, Axin 在 TGF β 通路中起促进作用。TGF β 超家族的成员是一些多功能蛋白质, 它们在细胞增殖、分化、迁移、凋亡等多种细胞活动中发挥作用^[26]。在肿瘤形成过程中 TGF β 也起到一定作用。在激活状态下, TGF β 受体可以磷酸化 TGF β 的效应蛋白 Smad^[27], 磷酸化的 Smad3 则转入核内调节靶基因的转录。研究还表明, 与 Axin 结合的 Smad3 可以更高的效率被激活的 TGF β 受体磷酸化, 而被磷酸化的 Smad3 则与 Axin 分离; 另外当活化的 TGF β 受体持续存在时, Axin 与 Smad3 的相互作用明显减少, 这也表明 Smad3 在未被活化时可与 Axin 结合, 被活化后则被释放。这些结果暗示 Smad3 和 Axin 以复合物形式与 TGF β 受体作用, 被活化后则脱离 TGF β 受体和 Axin, Axin 则使这一活化过程更加顺利, 进一步的实验也证明了 Axin 的存在增强了 TGF β 的转录活性^[28]。

做为抗癌因素之一, TGF β 可以通过抑制 Wnt 通路核 β 连环蛋白信号, 但是 TGF β 的另一个效应因子 Smad4 却可以与 β 连环蛋白和 TCF/LEF 复合而加强 Wnt 信号^[29]。Smad4 与 β 连环蛋白和 TCF/LEF 的相互作用增加了人们对 Wnt 通路和 TGF β 通路调控网络的认识, 但问题的复杂性恐怕还不止于此。

3 Axin 与代谢和疾病

3.1 Axin 作为抑癌基因

很多证据奠定了 Axin 作用抑癌基因的基础。首先, 作为支架蛋白的 Axin 在 Wnt 通路中通过为 APC/GSK-3 β /CKI α 降解复合体在结构上提供支撑而在调节癌蛋白 β 连环蛋白的过程中起到了核心作用^[30]; 其次, 在原发癌细胞中发现了 Axin 基因突变, 而向癌细胞中引入野生型的 Axin 则导致癌细胞死亡^[31,32]; 还有, Axin 可以促进众所周知的抑癌基因 p53 产物磷酸化, 进而提高了依赖 p53 的转录活性和细胞凋亡^[4]; 最后, 在高表达 Axin 的转基因动物胸腺和脾内表现为高水平的细胞凋亡^[32]。

3.2 Axin 与阿尔茨海默病

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以获得性持续性记忆减退, 认知功能障碍以及行为异常为特征的神经退行性疾病。AD 的两个典型病理特征是脑神经细胞外出现 β 淀粉样肽(A β)聚集形成的神经斑, 以及脑神经内微管相关蛋白 tau 异常聚集形成神经纤维缠结。正常人脑 tau 蛋白的功能主要

表现在两方面: (1)与管蛋白形成微管; (2)与已形成的微管结合维持其稳定。在 AD 患者, tau 被异常过度磷酸化^[33]。GSK-3 是使神经纤维缠结中 tau 磷酸化的磷酸酶之一^[34], 被 GSK-3 磷酸化的 tau 结合并稳定微管的能力下降^[35], 而 Axin 可以负向调节 GSK-3 对 tau 的磷酸化^[12]。这意味着 Axin 可能通过对 tau 磷酸化的调节进而在 AD 发生的病理过程中起一定作用。

3.3 Axin 与糖代谢

Axin 可以与 LRP5^[36]、DCAP^[37]、GSK-3 β 结合。这三者中, LRP5 在人类是作为胰岛依赖型糖尿病 (IDDM) 的候选基因识别的^[38-41]; DCAP 是依赖胰岛素的葡萄糖转运途径的成员, 也参与了糖代谢^[36]; GSK-3 β 则是葡萄糖-糖原的代谢、修饰酶, 更是胰岛素信号途径的一分子。这些都暗示了 Axin 参与了糖代谢和胰岛素信号途径。实验也证明了这点: 在早期胚胎中, 如果 Axin 是无效的突变体, 那么糖原分解的起始将大大推迟; 针对 Axin 基因进行 RNA 干扰后, S2 细胞中糖原积累显著增多^[37]。Axin 在糖代谢中的作用由此可见一斑。

4 小结

随着研究的深入, Axin 的“庐山面目”一方面似乎越来越清晰; 而另一方面, 景象却似乎越来越令人眼花缭乱。Axin 在 Wnt 通路中的作用相对明确, 但仍有必要进一步研究, 其中的一个问题就是在 Wnt 通路相关组件中 Axin 的浓度最低却作用甚大, 这是不是意味着 Axin 是一个类似于限速酶的角色呢? 对 Axin 在 SAPK/JNK 和 TGF β 信号通路中的作用研究还较少; 对 Axin 在多条细胞信号转导通路中的地位则更是知之甚少——其功能是简单的分流还是有机的整合, 其工作方式是多线程还是多时程; Axin 是否还参与到其他信号通路中; 还有, Axin 在细胞分化、增殖、凋亡以及多种生理病理过程中的作用都有待深入研究。

参考文献 (References)

- [1] Zeng L et al. *Cell*, 1997, **90**: 181
- [2] Mai M et al. *Genomics*, 1999, **55**: 341
- [3] Salahshor S et al. *J Clin Pathol*, 2005, **58**: 225
- [4] Rui Y et al. *EMBO J*, 2004, **23**: 4583
- [5] Luo W et al. *J Biol Chem*, 2003, **278**: 37451
- [6] Hart MJ et al. *Curr Biol*, 1998, **8**: 573
- [7] Kishida S et al. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 10823
- [8] Kishida S et al. *Mol Cell Biol*, 1999, **19**: 4414

- [9] Lee E *et al.* *PLoS Biol*, 2003, **1**: 116
- [10] Ikeda S *et al.* *EMBO J*, 1998, **17**: 1371
- [11] Rubinfeld B *et al.* *Science*, 1996, **272**: 1023
- [12] Stoothoff WH *et al.* *J Neurochem*, 2002, **83**: 904
- [13] Ha NC *et al.* *Mol Cell*, 2004, **15**: 511
- [14] Gumbiner BM *et al.* *Curr Biol*, 1997, **7**: R443
- [15] Willert K *et al.* *Genes Dev*, 1999, **13**: 1768
- [16] Cong F *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 2882
- [17] Wiechens N *et al.* *J Biol Chem*, 2004, **279**: 5263
- [18] Yamamoto H *et al.* *J Biol Chem*, 1999, **274**: 10681
- [19] Cliffe A *et al.* *Curr Biol*, 2003, **13**: 960
- [20] Choi J *et al.* *J Biol Chem*, 2004, **279**: 49188
- [21] Ip YT *et al.* *Curr Opin Cell Biol*, 1998, **10**: 205
- [22] Jin LH *et al.* *Int J Cancer*, 2003, **107**: 696
- [23] Zhang Y *et al.* *J Biol Chem*, 1999, **274**: 35247
- [24] Neo SY *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **272**: 144
- [25] Zhang Y *et al.* *J Biol Chem*, 2001, **276**: 32152
- [26] Massague J. *Annu Rev Biochem*, 1998, **67**: 753
- [27] Heldin CH *et al.* *Nature*, 1997, **390**: 465
- [28] Furuhashi M *et al.* *Mol Cell Biol*, 2001, **21**: 5132
- [29] Nishita M *et al.* *Nature*, 2000, **403**: 781
- [30] Liu C *et al.* *Cell*, 2002, **108**: 837
- [31] Satoh S *et al.* *Nat Genet*, 2000, **24**: 245
- [32] Hsu W *et al.* *J Cell Biol*, 2001, **155**: 1055
- [33] Kopke E *et al.* *J Biol Chem*, 1993, **268**: 24374
- [34] Lovestone S *et al.* *Curr Biol*, 1994, **4**: 1077
- [35] Spittaels K *et al.* *J Biol Chem*, 2000, **275**: 41340
- [36] Mao J *et al.* *Mol Cell*, 2001, **7**: 801
- [37] Yamazaki H *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **304**: 229
- [38] Davies JL *et al.* *Nature*, 1994, **371**: 130
- [39] Hashimoto L *et al.* *Nature*, 1994, **371**: 161
- [40] Hey PJ *et al.* *Gene*, 1998, **216**: 103
- [41] Figuroa DJ *et al.* *J Histochem Cytochem*, 2000, **48**: 1357

Progress in Axin

Hong-Ping Zheng, Li-Hong Xu*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical School of Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract As a multifunctional scaffold protein, Axin participates in many kinds of physiological and pathological processes, including embryo development, carcinogenesis, cell apoptosis and glycogen metabolism etc., and plays important roles at least in Wnt signaling pathway, SAPK signaling pathway, TGF β signaling pathway and insulin signaling pathway. The investigation of Axin will be help to figure out the important biological problems such as embryo development and carcinogenesis, and provide new insights into the signaling transduction and its regulatory net. This review is to focus on recent developments of the effects of Axin on diseases, metabolism and especially on cell signaling transduction pathway.

Key words Axin; signaling transduction/pathway; metabolism; diseases

Received: August 15, 2005 Accepted: October 10, 2005

This work was supported by the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education (No.20020335078)

*Corresponding author. Tel: 86-571-87217056, Fax: 86-571-87217154, E-mail: xulihong@zju.edu.cn