# Axin 在肿瘤发生中的作用机制

金利华* 李勤喜 叶志云

(厦门大学医学院生物医学工程研究中心, 厦门 361005; [1] 厦门大学生命科学学院生物医学科学系, 厦门 361005)

**摘要** 阐明肿瘤发生机制的细胞信号转导途径的研究是当今生物医学领域研究的热点。Axin是一个肿瘤抑制因子, 它以构架蛋白的形式在Wnt、JNK、p53、TGF-β、G蛋白信号转导途径等众多信号转导途径中参与细胞生长、增殖、分化、癌变和凋亡等多种重要细胞命运的调控过程。现从Axin的发现、Axin通过多种信号转导途径抑制肿瘤发生和AXIN1基因突变与肿瘤发生之间的关系这三个方面介绍肿瘤抑制因子Axin与肿瘤之间的研究进展。

**关键词** Axin; 信号转导; 肿瘤

癌症在本质上是一种基因结构或表达异常的疾病。在过去的几十年里, 人们已经发现了导致不同肿瘤发生的许多基因。发现引起肿瘤发生的基因并鉴定这些基因变异引发的后果, 对肿瘤的研究以及发现新的治疗靶子具有重要意义。肿瘤抑制因子Axin在Wnt、JNK、p53、TGF-β、G蛋白信号转导途径等众多重要的信号转导途径中参与细胞生长、增殖、分化、癌变和凋亡等多种重要细胞命运的调节过程, 引起了人们对Axin与人类肿瘤发生之间联系的广泛研究兴趣。本文主要介绍肿瘤抑制因子Axin在肿瘤发生中的作用机制的研究进展。

## 1 Axin的发现

体轴抑制因子(Axis inhibitor, Axin)是1997年从一种称为Fused的小鼠突变株中克隆得到的基因[1]。Axin作为构架蛋白, 通过Wnt信号转导途径, 在体轴形成过程中起着负调节的作用。Axin与其等位基因都能导致相似的显性表型特征: 尾巴的纽结、缩短以及隐性胚胎致死效应。许多Axin突变的纯合子胚胎都会产生双向体轴[2]。

从果蝇、爪蟾、鸡、小鼠到人类, Axin的序列和功能都是十分保守的[2]。Axin普遍表达于不同的组织, 包括脑、胸腺、心脏、肺、肝、脾和肾等等。人类染色体中表达Axin的AXIN1基因定位于第16条染色体的长臂上(16q13-3), 其编码区由10个外显子组成, 编码含862个氨基酸残基的Axin。

## 2 Axin通过不同信号转导途径抑制肿瘤发生

Axin也是一个肿瘤抑制因子, 它有一系列功能区域, 能与多种信号转导途径中的重要成员相互结合, 参与细胞生长、分化、凋亡等重要细胞命运的调节。

### 2.1 Wnt信号转导途径

Wnt是一个富含半胱氨酸的分泌型配体家族, 在果蝇里称为wingless。Wnt信号转导途径是在对果蝇极性发育和爪蟾的胚胎体轴形成的信号遗传研究中发现的。这一信号途径从果蝇、爪蟾到哺乳动物等不同物种中都非常保守。Wnt在细胞增殖、细胞形态、细胞黏附、细胞运动、机体发育、分化等过程中起着重要调节作用[3]。

Axin能与Wnt信号途径中的许多成员相互结合[2](图1), 包括肿瘤抑制因子肠腺息肉瘤蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)、蛋白磷酸酶(protein phosphatase 2A, PP2A)、酪蛋白激酶(casein kinase I, CKI)、糖原合成激酶GSK-3β、多能因子Diversin、低密度脂蛋白受体相关蛋白(LDL-receptor-related protein 5/6 or Arrow, LRP)、肌浆蛋白抑制子I-mfa、β连环蛋白(β-catenin)、Axin结合分子(Axin associating molecule, Axam)、Dishevelled (简称Dvl或Dsh)、突触构架分子(synaptic scaffolding molecule, S-SCAM)[4]和周期蛋白依赖的蛋白激酶2(cyclin-dependent kinase 2, CDK2)[5]。Axin还通过C末端DIX结构域(Disheveled/Axin homologous domain)形成同源二聚体[2]。

Axin作为构架蛋白, 通过Wnt信号转导途径参与细胞命运的调控。如图2, 细胞正常生长时, 细胞质内CKIα和GSK-3β以三明治的模式将β连环蛋白

收稿日期: 2006-07-06 接受日期: 2006-12-08

*通讯作者。Tel/Fax: 0592-2185299, E-mail: jinlh@xmu.edu.cn

适用于生命科学各研究领域的宝尔超纯水系统, 使实验数据更逼真 Tel: 021-64040161 www.baolor.com

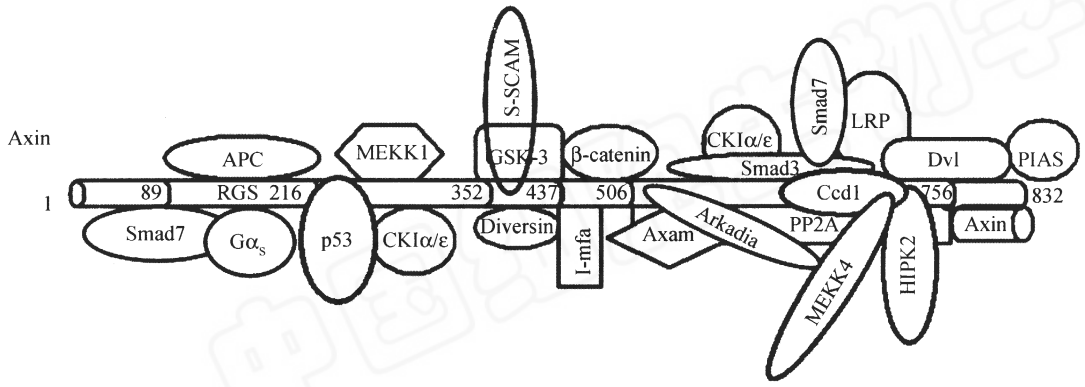


**Fig. 1 Proteins interacting with Axin and the corresponding binding domains on Axin (modified from reference 2)**

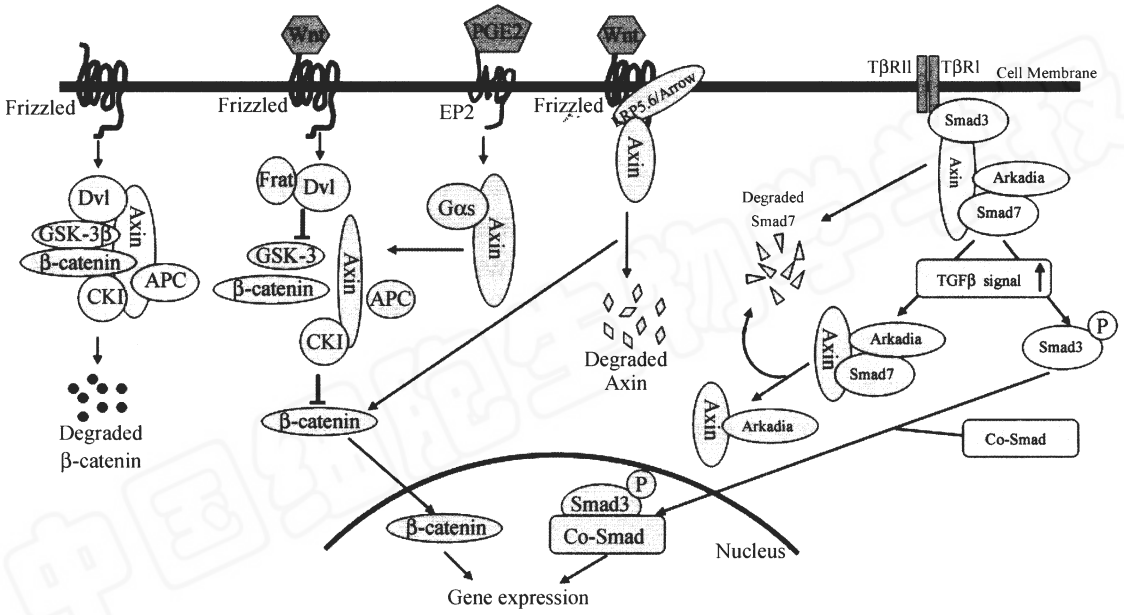


**Fig. 2 The roles of Axin in the Wnt signaling pathway, the G-protein signaling pathway and the TGF-β signaling pathway [3,12]**

夹在中间, 三者结合在 Axin 上。CKIα 首先磷酸化 β 连环蛋白的第 45 位丝氨酸, 然后再由 GSK-3β 依次磷酸化 β 连环蛋白的第 41 位苏氨酸, 第 37 位和第 33 位丝氨酸。磷酸化的 β 连环蛋白能被泛素识别并泛素化, 然后被蛋白酶复合体水解[6], 因此细胞内的 β 连环蛋白总保持较低的水平。当 Wnt 信号被异常激活时, Wnt 信号与细胞表面受体 Frizzled 结合, 接受信号的 Frizzled 激活 Dvl, Dvl 再激活下游因子 GSK-3β 结合蛋白(GSK-3β binding protein, GBP), 激活的GBP能识别并抑制 GSK-3β 的磷酸化活性, 使 GSK-3β 不能正常磷酸化 β 连环蛋白, 导致 β 连环蛋白不能被泛素识别, 从而不能被蛋白酶复合体降解[2]。在细胞质中没有被降解而过量积累的 β 连环蛋白会转移到细胞核内, 与核内转录因子 LEF/TCF 家族成员结合, 刺激 c-myc、细胞周期蛋白 D1、fra-1、c-jun 等一系列癌基因的过量表达[3], 引起细胞异常增殖, 最终致使细胞发生癌变。

Axin通过三种机制, 在该信号通路中起着负调节作用。第一, 它通过与 CKIα、GSK-3β、β 连环蛋白和肿瘤抑制因子 APC 结合形成复合体, 促进β连环蛋白的磷酸化及降解。通过其 C 末端形成寡聚体也是 Axin 调节 β 连环蛋白所必须的。第二, GSK-3β 和 CDK2两种激酶都能磷酸化Axin, 使Axin更加稳定并且结合 β 连环蛋白的能力更强, 促进 β 连环蛋白磷酸化及降解[5]。第三, Axin 还具有核输出信号序列和 C 末端双向的核定位序列, 穿梭于细胞核 - 细胞质的 Axin 作为一种分子伴侣协同 β 连环蛋白从细胞核转移至细胞质, 促进 β 连环蛋白在细胞质中的降解[7]。

由于过量积累的β连环蛋白能促进癌基因的表达, Axin又能抑制β连环蛋白积累, 所以Axin能通过Wnt信号通路抑制细胞发生癌变。

在Axin负调控β连环蛋白、抑制Wnt信号通路的同时, Wnt通路又通过另外一种机制调控Axin对β连环蛋白的作用, 如图2: Frizzled家族的七重跨膜受体蛋白和LRP家族的单次跨膜蛋白都能与Axin结合, 将Axin拉到细胞膜的部位[2], 导致Axin的降解, 使胞内没有足够的Axin参与β连环蛋白的降解作用, 从而加强了胞内β连环蛋白的积累。

### 2.2 JNK信号转导途径

c-Jun氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinase, JNK)是通过能磷酸化c-Jun转录因子而被发现的, 也因此而得名。JNK是哺乳动物中几个主要的能被有丝分裂原激活的蛋白激酶之一, 能对一系列细胞刺激, 包括炎症因子、TNF、热激或化学试剂刺激、细菌内毒素或细胞内ATP损耗等产生应激反应。JNK通过自身被磷酸化而被激活, 调节细胞核内主要癌基因c-Jun的转录活性, 与细胞凋亡、细胞存活和细胞生长有密切联系[8]。

Axin能与JNK信号转导途径中的多个成员结合, 通过JNK信号通路调控细胞命运。如图1, 与Axin结合的JNK信号通路成员有[2]: 促分裂原活化蛋白三重激酶 (MAPK/ERK kinase kinase, MEKK1)、CKI、GSK-3β、Diversin、I-mfa、Dvl、MEKK4、活化STAT蛋白抑制因子(protein inhibitor of activated STAT, PIAS)和含有DIX和Coil-coil结构域的蛋白质(Coiled-coil-DIX1, Ccd1)[9]。

Axin能诱导激活JNK[2,9]。该过程中, Axin必须通过其C末端DIX结构域形成同源二聚体、通过其MID结构域(MEKK1 interacting domain, MID, 位于鼠Axin的第217~352位氨基酸残基区域)与MEKK1结合或通过Axin的PP2A结合区域与MEKK4结合以及通过C末端的最后6个氨基酸的小泛素相关修饰(sumoylation)作用才能激活JNK。Axin通过激活JNK信号转导途径诱导细胞凋亡。

Axin、Ccd1和Dvl都是有名的含有DIX结构域的蛋白质, 它们在Wnt信号途径中起着重要作用, Ccd1能通过Axin和Dvl强烈地抑制JNK的活性。当Axin与Ccd1形成复合体后, 它就不能结合MEKK1, 而且Ccd1能通过竞争结合MEKK4来阻止MEKK4与Axin结合。这些结果表明Ccd1通过同时采用两种不同的机制抑制Axin对JNK的激活, 一种是通过构象改变使Axin不结合MEKK1, 另一种是通过直接扣住MEKK4使Axin不能结合MEKK4[9]。

### 2.3 p53信号转导途径

p53多年以来一直是肿瘤研究的热点领域。p53基因是一种肿瘤抑制基因, 定位于人类17号染色体短臂, 编码p53。在人类50%的肿瘤组织中有p53的突变和缺失, 目前发现的有肝癌、乳腺癌、膀胱癌、胃癌、结肠癌、前列腺癌、软组织腺瘤、卵巢癌、脑癌、淋巴细胞肿瘤、食道癌、肺癌、成骨肉瘤等。

Axin也参与了p53调控的信号转导途径, Axin是通过整合多种因子来促进p53功能从而实现其肿瘤抑制因子作用的。如图1, 与Axin结合的p53信号通路成员有p53和同源域结合蛋白激酶2(homeodomain-interacting protein kinase-2, HIPK2)[10]。HIPK2能磷酸化p53的Ser46并与之结合, 参与紫外线诱导的细胞凋亡过程。在这一调控过程中, Axin作为构架蛋白, 与HIPK2和p53结合形成三聚体复合物, 参与p53调控的细胞凋亡诱导过程[10]。

Axin还能与p53一起下调β连环蛋白水平[11]。Wnt信号通路中过量积累的β连环蛋白激活p53, 活化的p53能诱导构架蛋白Axin转移到胞浆β连环蛋白降解复合体, Axin和磷酸化β连环蛋白的复合体聚集在质膜附近, 导致β连环蛋白降解。动力学研究表明p53的存在促进了Axin进出该复合体的运动。p53使Axin更快的转移到降解复合体, 增强β连环蛋白的降解, 也是p53作为肿瘤抑制因子, 在肿瘤发生过程中起到的一种保护机制[11]。

### 2.4 TGF-β信号转导途径

从早期胚胎发育到成熟组织的生长过程中, TGF-β信号转导途径一直都起着重要作用, 包括对细胞增殖、分化、凋亡等重要细胞命运的调控。TGF-β超家族成员能通过一系列信号分子, 包括受体、Smads家族成员和一些起着正调节或负调节作用的调节因子引起生物学效应。TGF-β配体与其相应受体结合传递信号信息, 该受体要与称为R-Smads的信号传递分子结合, 不同的TGF-β信号受体结合的Smads成员不同。在配体的刺激下, 不同的R-Smads和共同的调节因子Smad (Co-Smad)结合, 形成激活的Smad复合体, 转移到细胞核内调节目的基因的转录。Smads家族还有一种成员是由抑制型Smads (I-Smads)组成, 脊椎动物中有Smad6和Smad7, 它们通过与R-Smads竞争性地结合活化的I型受体(TβRI,

适用于生命科学各研究领域的宝尔超纯水系统，使实验数据更逼真 Tel: 021-64040161 www.baolor.com

TGF-β receptor I)并使其降解从而抑制TGF-β信号转导[12]。

在没有配体刺激时，Axin与Smad3结合，共同定位在胞质内。一旦受体被激活，Smad3就被TβRI受体高度磷酸化，与TβRI和Axin脱离，转移到细胞核内刺激TGF-β的转录活性[13]。Arkadia是通过小鼠的插入突变试验发现的一种泛素化E3连接酶，最新研究表明，作为构架蛋白的Axin还能通过与TGF-β信号途径成员Smad7和Arkadia结合形成复合物激活TGF-β信号转导[12]。在这个过程中，不管受体是否被激活，Axin与Smad7和Arkadia都是处于结合状态，促进由Arkadia介导的Smad7的泛素化和降解，抑制型调节因子Smad7的降解导致TGF-β的转录活性增强(图2)。Wnt信号能通过诱导Axin的降解从而抑制TGF-β的转录活性。因此，Axin能通过促进Smad3的磷酸化和诱导Smad7的降解增强TGF-β信号转导，参与TGF-β信号调控的参细胞命运的调节。

### 2.5 G蛋白信号转导途径

众多的信号转导途径中最主要的一种就是通过G蛋白偶联受体(GPCRs)介导的G蛋白信号途径。该途径普遍存在于各种生物体内，各种胞外信号，包括化学药物、蛋白激素甚至光子都通过细胞膜上具有七个跨膜片段结构特征的GPCRs的介导转入细胞内，由众多家族成员通过一系列的级联放大反应及调节机制控制着细胞的生长、繁殖、分化等许多生命活动[14]。

研究表明，前列腺素E2 (PGE2)能激活G蛋白偶联受体EP2，使G蛋白Gαs与Axin的G蛋白信号调节因子(regulator of G protein signaling, RGS，位于鼠Axin的第89~216位氨基酸残疾区域)结构域直接结合，导致GSK-3β从Axin/β连环蛋白降解复合体中释放出来并失活，从而促进了β连环蛋白的磷酸化被抑制，使其信号转导被激活(图2)，刺激结肠癌细胞的生长[15]。G蛋白信号转导途径能够通过Axin介导，调控细胞生长，更说明了Axin在各重要信号转导途径中起着关键的交叉分子、参与细胞生命活动调控的重要作用。

## 3 AXIN1基因突变与肿瘤发生有关

Axin在多种信号转导途径中的作用机制体现了Axin在调节细胞生长和癌变过程中的关键作用。同时，对Axin在不同肿瘤组织中突变的研究也从另一方面证实了Axin的抑癌功能。

研究人员发现AXIN1基因突变可能与癌症的发生存在密切联系[16]。他们在肝癌细胞株和原发性肝癌组织中发现AXIN1基因存在突变，正如预料中的一样，突变的Axin功能缺失，导致β连环蛋白稳定并积累，在突变的肝细胞核中形成稳定的β连环蛋白/TCF4复合体。与APC基因和CTNNB1基因(编码β连环蛋白)突变的细胞一样，在AXIN1基因突变的细胞中，TCF调节的报告基因的表达出现了异常。在肿瘤中检测到AXIN1基因的缺陷以及腺病毒转染野生型AXIN1到AXIN1基因、APC基因或者CTNNB1基因突变的癌细胞，导致β连环蛋白的降解及细胞凋亡，都说明AXIN1是肿瘤抑制基因，通过导入野生型AXIN1可能成为治疗这些类型癌症的一种手段。

他们还发现，即使在β连环蛋白发生突变，过量表达的Axin不能促进突变的β连环蛋白发生降解的情况下，Axin还是能使核内的β连环蛋白转移到细胞质中去，这表明，突变体β连环蛋白与过量表达的Axin结合能阻止β连环蛋白由细胞质到核的转移。因此，Axin抑制细胞生长的原因除了促进β连环蛋白的降解，还能限制突变体β连环蛋白往细胞核内的转移。另外，用腺病毒将AXIN1转入到AXIN1基因、CTNNB1基因或者APC基因突变的肝癌细胞和结肠癌细胞，能使细胞周期停滞在sub-$G_1$期，感染Axin比APC能更有效地诱导细胞死亡。因此，对肝癌和结肠癌的基因治疗，AXIN1基因可能能提供比APC更有效和广泛的应用。

自从在肝癌细胞株和肝癌组织中发现AXIN1基因突变以来，人们相继在结肠癌细胞、结肠癌组织、成神经管细胞瘤组织、胶质瘤组织、膀胱癌组织中发现了AXIN1基因的突变[17~27]。虽然在各种癌症组织中检测到的AXIN1基因的突变率都不是很高，但是检测到的这些突变中，很多都是发生在Axin的重要功能区域，如Satoh等[16]发现的13处突变中，有1处33 bp的缺失突变就包括了两处GSK-3β对Axin的磷酸化位点；12处点突变中就有9处发生在磷酸化位点丝氨酸或者苏氨酸残基。如上所述，由于Axin通过各功能区域与多种功能蛋白结合，起着关键的构架蛋白的作用，而这些关键区域氨基酸残基发生点突变、插入突变或者缺失突变，都有可能改变Axin的空间结构或者自身的磷酸化作用，影响Axin与相应区域功能蛋白的结合，从而影响Axin在信号转导途径中的正常功能。已有证据表明，在Axin中检测到的点突变改变了Axin与GSK-3β的结合能力[20]；我们在结

与世界接轨，用宝尔超纯水系统 Tel: 021-64040161 www.baolor.com

肠癌组织中发现的 6 处点突变中就有四处突变明显减弱了 Axin 与 APC、GSK-3β 或 Axin 结合的能力，并且减弱了 Axin 促进 β 连环蛋白降解或者激活 JNK 的功能(待发表)。还有人发现有 β 连环蛋白积累的肝癌组织中就有一半以上的组织中存在 AXIN1 基因的突变[18]，检测有 AXIN1 基因突变的肝癌组织中有一半存在 β 连环蛋白的积累现象[17]。这些结果表明，在肝癌、结肠癌、成神经管细胞瘤、胶质瘤和膀胱癌中，AXIN1 基因的突变可能与 β 连环蛋白的积累存在密切联系，AXIN1基因的突变可能是这些肿瘤发生的原因之一。

## 4 小结与展望

由于在不同肿瘤组织中检测到 AXIN1 基因的突变，人们推测AXIN1基因突变可能是某些肿瘤发生的原因之一。但是肿瘤发生是一个遗传和表型的多步骤的过程，肿瘤是通过导致遗传不稳定并失去生长调节功能的遗传因素的逐步积累而引发的，与一定的内环境改变和基因变异有关。最新报道表明 Axin 在晚期结肠癌组织和低分化肺癌组织中表达减少[28,29]，也体现了 Axin 在肿瘤恶化过程中的作用。Axin 在多种重要的调节细胞生长、癌变的信号转导途径中起着关键的构架蛋白的作用，作为各信号途径的交叉分子，Axin 是如何在各途径中进行调配并调节细胞命运的机制，还有待进一步研究。在 AXIN1 基因突变与肿瘤发生这一复杂的关系中，到底是 AXIN1 基因的突变导致细胞癌变，还是由于细胞发生癌变产生了某种环境或者因素诱导了 AXIN1 基因发生突变？这一问题也需要进一步探讨，我们可以培育转基因细胞或者动物，转入突变型 Axin，通过分析突变型 Axin 对细胞或者动物的生长或癌变过程来确定 Axin 的突变能否导致细胞癌变或动物肿瘤的形成。

通过生物学手段导入野生型 Axin 能消除 APC 基因、CTNNB1 基因或者 AXIN1 基因突变产生的症状并诱导细胞死亡，这些都说明Axin可能作为治疗癌症的一种有效分子，Axin在癌症治疗方面具有很大的应用前景。探讨 Axin 在各信号转导途径中的调控及协调机制，鉴定 Axin 在肿瘤发生中的地位和作用机制，将为肿瘤的诊断和治疗提供一种新的有效的分子手段。

## 参考文献(References)


[1] Zeng L *et al. Cell*, 1997, **90**: 181
[2] Luo W *et al. Neurosignals*, 2004, **13**: 99
[3] Peifer M *et al. Science*, 2000, **287**: 1606
[4] Hirabayashi S *et al. J Neurochem*, 2004, **90**: 332
[5] Kim SI *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **317**: 478
[6] Liu C *et al. Cell*, 2002, **108**: 837
[7] Cong F *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 2882
[8] Verheij M *et al. Radiother Oncol*, 1998, **47**: 225
[9] Wong CK *et al. J Biol Chem*, 2004, **279**: 39366
[10] Rui Y *et al. EMBO J*, 2004, **23**: 4583
[11] Levina E *et al. Oncogene*, 2004, **23**: 4444
[12] Liu W *et al. EMBO J*, 2006, **25**: 1646
[13] Furuhashi M *et al. Mol Cell Biol*, 2001, **21**: 5132
[14] Hermans E. *Pharmacol Ther,* 2003, **99**: 25
[15] Castellone MD *et al. Science,* 2005, **310**: 1504
[16] Satoh S *et al. Nat Genet*, 2000, **24**: 245
[17] Taniguchi K *et al. Oncogene*, 2002, **21**: 4863
[18] Ishizaki Y *et al. Int J Oncol*, 2004, **24**: 1077
[19] Miao J *et al. Hepatol Res*, 2003, **25**: 174
[20] Webster MT *et al. Genes Chromosomes Cancer*, 2000, **28**: 443
[21] Jin LH *et al. Int J Cancer*, 2003, **107**: 696
[22] Dahmen RP *et al. Cancer Res*, 2001, **61**: 7039
[23] Yokota N *et al. Int J Cancer*, 2002, **101**: 198
[24] Baeza N *et al. Oncogene*, 2003, **22**: 632
[25] 邵秋杰等。*中华神经外科疾病研究杂志*, 2003, **2**: 334
[26] Daa T *et al. Mod Pathol,* 2004, **17**: 1475
[27] Tokumoto N *et al. Int J Oncol,* 2005, **27**: 973
[28] Pospisil H *et al. BMC Genomics,* 2006, **7**: 148
[29] Xu HT *et al. Am J Clin Pathol,* 2006, **125**: 534


适用于生命科学各研究领域的宝尔超纯水系统，使实验数据更逼真 Tel: 021-64040161 · www.baolor.com

# Mechanism of Tumorigenesis Regulated by Axin

Li-Hua Jin*, Qin-Xi Li[1], Zhi-Yun Ye[1]

(*Research Center of Biomedical Engineering, School of Medicine, Xiamen University, Xiamen 361005, China; [1]Department of Biomedical Sciences, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China*)

**Abstract** Cell signaling pathways involved in tumorigenesis are the focus of biomedical research nowadays. Axin, a tumor suppressor, is an essential scaffold protein participating in a network of separate but interacting signaling transduction pathways. Emerging evidence indicates its diverse roles in Wnt, JNK, p53, TGF and G-protein signaling pathways to regulate cellular fate determination, growth and proliferation. In this light, there has been intense investigation into the pivotal nature of Axin in assuring appropriate cell cycle progression and the detrimental effect of AXIN1 mutation that leads to human cancer. This review starts from the original identification of Axin and introduces the tumor suppressor roles of Axin in multiple signaling pathways with the emphasis on reported mutational study of AXIN1 gene in human tumorigenesis.

**Key words** Axin; signaling transduction; tumor

Received: July 6, 2006 Accepted: December 8, 2006

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-592-2185299, E-mail: jinlh@xmu.edu.cn

与世界接轨，用宝尔超纯水系统 Tel: 021-64040161 www.baolor.com