

# 转录因子 Foxo3a 高表达对小鼠 T 淋巴瘤 EL-4 细胞周期和凋亡的影响

马晓杰<sup>①②</sup> 刘光伟<sup>①</sup> 王娜<sup>①</sup> 崔旻<sup>①</sup> 李景鹏<sup>②</sup> 赵勇<sup>①\*</sup>

(<sup>①</sup> 中国科学院动物研究所 生物膜与膜生物工程国家重点实验室 移植生物学研究组 北京 100080 ;

<sup>②</sup> 东北农业大学生命科学中心基因部 哈尔滨 150080)

**摘要 :**为了研究转录因子 Foxo3a 高表达对小鼠 T 淋巴瘤 EL-4 细胞周期和凋亡的影响 ,采用电穿孔法将真核表达载体 pEGFP-N1/Foxo3a 转染小鼠 T 淋巴瘤细胞系 EL-4 细胞 ,并通过聚合酶链式反应和免疫印迹法分别检测 Foxo3a mRNA 及蛋白表达。转录因子 Foxo3a 高表达后 ,采用细胞计数法绘制其细胞生长曲线 ;采用荧光显微镜及流式细胞仪定性和定量观察典型 EL-4 细胞凋亡形态特征、细胞凋亡百分率及细胞周期变化情况。结果表明 ,转录因子 Foxo3a 真核表达质粒 pEGFP-N1/Foxo3a 经酶切鉴定及测序检测序列正确。转染 pEGFP-N1/Foxo3a 的小鼠 EL-4 细胞表达 Foxo3a mRNA 和蛋白水平显著升高。Foxo3a 高表达明显抑制 EL-4 细胞的增殖能力 ,并使 EL-4 细胞发生明显 G2 期阻滞 ( $P < 0.001$ )。Foxo3a 基因高表达后 ,荧光显微镜可以观察到典型凋亡的细胞形态。同时 ,EL-4 细胞凋亡百分率显著升高 ( $P < 0.01$ )。结果提示 ,Foxo3a 高表达可以有效抑制小鼠 T 淋巴瘤细胞体外细胞增殖 ,使细胞周期 G2 时相阻滞 ,并具有诱导细胞凋亡的作用。

**关键词 :** Foxo3a ;EL-4 细胞 ;基因高表达 ;细胞周期 ;细胞凋亡

中图分类号 :Q952 文献标识码 :A 文章编号 :0250-3263(2006)05-25-07

## Effects of Over-expressed Transcription Factor Foxo3a on the Cell Cycle and Apoptosis of Mouse T Leukemia EL-4

MA Xiao-Jie<sup>①②</sup> LIU Guang-Wei<sup>①</sup> WANG Na<sup>①</sup> CUI Min<sup>①</sup> LI Jing-Peng<sup>②</sup> ZHAO Yong<sup>①</sup>

(<sup>①</sup> *Transplantation Biology Research Division ,State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology ,Institute of Zoology ,Chinese Academy of Sciences ,Beijing 100080 ;*

<sup>②</sup> *Northeast Agricultural University ,Harbin 150080 ,China*)

**Abstract :** To study the effects of overexpressing transcription factor Foxo3a on cell proliferation and apoptosis in mouse T leukemia EL-4 cell line ,we have transfected the eukaryotic expression vector pEGFP-N1/Foxo3a to the mouse T leukemia EL-4 cells by electroporation. The expression of Foxo3a was determined by RT-PCR and Western blot analysis. After overexpression of transcription factor Foxo3a ,the cell growth curve was evaluated with a cell count method. The EL-4 cell morphology ,cell cycle and apoptosis were detected with fluorescent microscopy and flow cytometry. Results showed that the transcription factor Foxo3a eukaryotic expression plasmid pEGFP-N1/Foxo3a

基金项目 中国科学院引进海外杰出人才百人计划资助项目( No. 2003-85 ) ,国家杰出青年基金( No. C03020504 ) ,国家基础研究计划“973 项目”( No. 2003CB515501 ) ,国家教育部海外归国学者科研基金( No. 2005-546 ) ,中国科学院创新基金( No. KSCX2-SW-333 ) ,中国博士后基金项目( No. 2004036300 ) 和中科院王宽诚博士后科研基金项目( 2005 ) 资助 ;

\* 通讯作者 ,E-mail :zhaoy@ioz.ac.cn ;

第一作者介绍 马晓杰 ,硕士研究生 ,主要从事分子免疫学研究。

收稿日期 2006-04-30 ,修回日期 2006-07-03

sequence is correct with the method of sequencing identification. The EL-4 cells showed increased Foxo3a expression in mRNA and protein levels after transfection with the plasmid pEGFP-N1/Foxo3a. Moreover, these cells expressing high levels of Foxo3a showed a significant decrease in cell proliferation and an significant increase in G2 phase arrest ( $P < 0.001$ ) as well as a significant increase in apoptosis ( $P < 0.01$ ). The data indicate that Foxo3a over-expression significantly inhibits the cell proliferation, induces cell cycle G2 phase arrest, and enhances the occurrence of apoptosis in EL-4 cells *in vitro*.

**Key words** Foxo3a ; EL-4 cells ; Over-expression ; Cell cycle ; Apoptosis

Fox(foxhead)转录因子家族包括从 Foxa 到 Foxq 至少 17 个亚族,它们对生物的发育、增殖、衰老和癌症都具有调控作用<sup>[1]</sup>。该家族蛋白功能多样,有同有异,其中很多功能目前尚不清楚<sup>[2]</sup>。近来的研究显示,Fox 家族中的几个转录因子在免疫应答的调节中具有重要的调节作用。如 Foxp3 基因是 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 的调节性 T 细胞发育的关键调控因子,Foxp3 基因缺失小鼠,可以导致自身免疫病发生<sup>[2,3]</sup>。而其他转录因子 Foxn1、Foxp1、Foxq1、Foxd2 和 Foxj1 等分别在胸腺上皮细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞和 T 细胞等发育分化或活化中具有重要调控作用<sup>[1,4]</sup>。另外,研究者在培养或已发生转型的细胞研究中发现,Foxo 家族成员具有调节细胞增殖和凋亡的作用<sup>[5-8]</sup>,如在 UT-7/EPO 白血病细胞、人原代造血原细胞、Ba/F3 原 B 细胞系中高表达 Foxo3a 能够诱导细胞发生凋亡。但是,在 CCL39、293T 等细胞系仅有细胞周期发生阻滞等。Foxo3a 基因敲除鼠的研究显示,T 细胞没有任何凋亡受损的表型,而是表现为辅助型 T 细胞(Th)高度分化增殖,分泌大量 Th1 和 Th2 型细胞因子,并器官浸润诱导自身免疫性疾病发生<sup>[6,8]</sup>。

在机体中,淋巴细胞的生存及凋亡是调节适应性免疫应答的重要方式之一,淋巴细胞的适度凋亡才能保证免疫应答的及时下调,并使一定数量的具有抗原特异性及免疫记忆功能的淋巴细胞保留下来,参与及维持机体正常的免疫应答<sup>[2,5-8]</sup>。转录水平检测显示,在哺乳动物 Foxo 基因家族中 Foxo3a 是表达在淋巴细胞中的主要亚型<sup>[4,6,8]</sup>。因此,本研究目的在于进一步探究 Foxo3a 对 T 细胞的凋亡及周期的影响。

我们的研究结果证实,Foxo 家族成员 Foxo3a 基因高表达可以诱导 EL-4 细胞凋亡并且与细胞周期阻滞明显相关。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞株和质粒** 真核表达质粒 pEGFP-N1/Foxo3a、小鼠 T 淋巴瘤细胞(EL-4)、大肠杆菌 DH5 $\alpha$  由本室保存。

**1.1.2 主要试剂** 限制性内切酶 *EcoR* I、*Bam*H I 均购自 NEB 公司,dNTP、*Taq* 酶和 T4 DNA 连接酶购自 Takara 公司,Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司,引物由现北京英骏公司合成,胰蛋白胨和酵母提取物购自英国 OXOID 公司,质粒快速提取试剂盒购自北京博大泰克基因技术有限公司。质粒大量提取试剂盒购自德国 QIAGEN 公司。兔抗鼠 Foxo3a 多克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品。小鼠抗人 actin 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司,辣根酶标记山羊抗兔 IgG 购自 KPL 公司,辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG 购自中杉公司,ECL 显色底物购自美国 Pierce 公司。RPMI-1640 购自美国 Invitrogen 公司,四季青胎牛血清购自杭州四季青生物工程有限公司。碘化丙啶(PI)购自美国 Sigma 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 小鼠 T 淋巴瘤细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液,在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中常规培养,细胞呈悬浮生长。

**1.2.2 真核表达载体 pEGFP-N1/Foxo3a 的酶切鉴定及序列测定** 取 1  $\mu$ g 质粒用 *EcoR* I 单酶切,用 *EcoR* I 和 *Bam*H I 分别双酶切质粒

pEGFP-N1 和 pEGFP-N1/Foxo3a 37℃ 7 h, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 凝胶成像仪扫描拍照。序列测定由北京英骏公司完成。

**1.2.3 电穿孔法瞬时转染 EL-4 细胞** 收集 EL-4 细胞于 15 ml 离心管中, 将细胞用无血清的 RPMI 1640 洗 3 次, 细胞计数调细胞浓度为  $1 \times 10^7$  个/ml, 取 350  $\mu$ l 细胞悬液于 Eppendorf 管中将 20  $\mu$ g 质粒悬起混匀, 将质粒细胞悬液加入电转杯中, 给予 130 V 和 25 ms 电击, 电转仪中静置 10 min, 用吸管将其吸到六孔板中继续培养。24 h 荧光显微镜下观察转染情况。

**1.2.4 荧光显微镜下观察转染细胞** 取转染 24 h 的 EL-4 细胞, 将荧光显微镜调到蓝光激发绿色荧光, 观察 GFP 的表达情况, 粗略估计转染效率, 并进行拍照。

**1.2.5 RT-PCR 检测 Foxo3a 的 mRNA 的表达** 将 EL-4 细胞系, 以及转染 pEGFP-N1 和 pEGFP-N1/Foxo3a 的 EL4 细胞, 1.0 ml 的 Trizol 试剂提取总 RNA, 分光光度计定量, 2  $\mu$ g RNA 逆转录成 cDNA, PCR 扩增 Foxo3a 及管家基因 G3PDH, 设计引物跨越基因内含子区, Foxo3a 上游引物序列: 5'-TCAGTCACCCAT GCAGACTATCC-3'; Foxo3a 下游引物序列: 5'-TGTCACATTCCAAGC-TCCCATT-3'; 管家基因 G3PDH 上游引物序列: 5'-ACC ACAGTCCATGCCATCAC-3'; G3PDH 下游引物序列: 5'-TCCACCACCCTGTT GCTGTA-3'。扩增条件为 95℃ 5 min, 95℃ 30 s, 64℃ 45 s, 72℃ 1 min, 20 个循环, 终延伸 72℃ 10 min。

**1.2.6 免疫印迹法检测 Foxo3a 蛋白表达** 分别提取 3 组细胞内总蛋白, 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜 5% 脱脂奶粉封闭后, 1:300 稀释度的兔抗鼠 Foxo3a 多抗杂交过夜, 加入二抗, PBST 洗膜, ECL 增强发光, X 射线曝光。

**1.2.7 细胞形态学观察** 用荧光倒置显微镜对细胞进行拍照, 取  $2 \times 10^4$  个转染 Foxo3a 质粒的 EL-4 细胞于 96 孔板中, 70% 乙醇 4℃ 固定 2 h, 200  $\mu$ l 培养体系中加 PI 4  $\mu$ l, 37℃ 孵育 15 min 后 PBS 洗细胞一次, 荧光显微镜下观察典型凋亡细胞形态学改变。

**1.2.8 细胞计数检测细胞生长情况** 每 24 h

收集细胞, 1 ml RPMI 1640 悬起, 取 20  $\mu$ l 细胞悬液稀释 2~10 倍, 进行常规光学显微镜下细胞计数。

**1.2.9 细胞凋亡和细胞周期动力学分析** 收集转染 72 h 的 EL-4 对照组及实验组细胞, 用冰冷的 1 ml PBS 配制 70% 乙醇 4℃ 固定过夜。次日, 离心收集细胞, PBS 洗细胞一次, 离心后用 400  $\mu$ l 含有 5  $\mu$ l 10 mg/ml RNase, 50  $\mu$ l 500  $\mu$ g/ml PI 的 PBS 将细胞悬起, 37℃ 孵育 30 min。3 ml 的 PBS 洗细胞一次, 离心后用 300  $\mu$ l 的 PBS 悬起后进行流式细胞仪检测。

**1.2.10 统计学分析** 利用 SPSS 软件进行统计学分析。对计数资料采用  $\chi^2$  检验, 对样本比较采用 *t*-检验,  $P < 0.05$  为具有显著性差异。

## 2 结果

**2.1 Foxo3a 真核表达载体的酶切鉴定** pEGFP-N1/Foxo3a 质粒为由载体 pEGFP-N1(图 1) 多克隆位点 *Sal* I 和 *Kpn* I 插入 Foxo3a 基因全长, 限制性核酸内切酶 *Eco*R I 和 *Bam*H I 双酶切质粒 pEGFP-N1/Foxo3a, 应得到 4.691 kb 和 2.052 kb 大小的片段, 双酶切质粒 pEGFP-N1 则得到 4.67 kb 和 30 bp 的两片段; 单酶切质粒 pEGFP-N1/Foxo3a 则应得到 6.752 kb 大小的片段, 而单酶切质粒 pEGFP-N1 则得到 4.7 kb 大小的片段, 电泳符合预期结果(图 2)。并且, 序列测定结果与 NCBI 发布的 Foxo3a 序列一致。

**2.2 荧光显微镜观察转染细胞** 在倒置荧光显微镜下观察转染 24 h 的 EL-4 细胞, 100 $\times$  镜在蓝色荧光激发下进行拍摄, 并计算转染效率在 30%~60% 之间。

**2.3 RT-PCR 方法检测 EL-4 细胞 Foxo3a 转录水平表达** Trizol 法提取 3 组 EL-4 细胞总 RNA, 电泳结果显示 RNA 没有降解, 28S、18S 和 5S 条带清晰且比例合适, 且 260/280 比值在 1.8~2.0 之间, 可用于 RT-PCR 法扩增目的基因。经 PCR 扩增 Foxo3a 及 G3PDH 的表达, 可见经电穿孔法转染质粒 pEGFP-N1/Foxo3a 的 EL-4 细胞 Foxo3a mRNA 表达水平明显高于转染空 pEGFP-N1 组以及未经转染的对照组 EL-4 细胞

(图 3)。经凝胶成像系统灰度扫描分析结果显示,经转染 pEGFP-N1/Foxo3a 的 EL-4 细胞 Foxo3a 扩增条带灰度值明显高于对照组和空质

粒转染组细胞,而 G3PDH 各组灰度值之间没有明显差异。

pEGFP-N1 Vector Information  
GenBank Accession #U55762

PT3027-5  
Catalog #6085-1

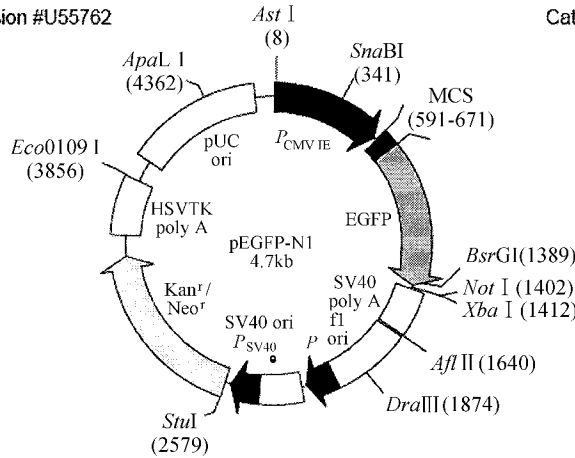


图 1 载体质粒 pEGFP-N1 物理图谱

Fig. 1 The map of plasmid pEGFP-N1  
(引自 :www.ncbi.nlm.nih.gov)

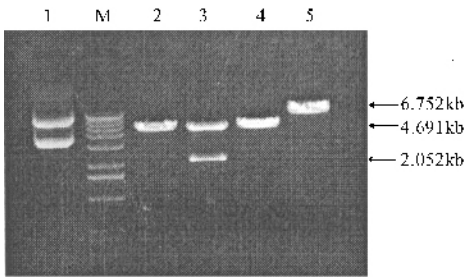


图 2 质粒 pEGFP-N1/Foxo3a 酶切鉴定电泳图

Fig. 2 The plasmid digested by restricted enzymes

M 1 000 bp DNA marker ; 1. pEGFP-N1/Foxo3a ; 2. *EcoR* I 和 *Bam*H I 双酶切质粒 pEGFP-N1 ; 3. *EcoR* I 和 *Bam*H I 双酶切质粒 pEGFP-N1/Foxo3a ; 4. *EcoR* I 单酶切质粒 pEGFP-N1 ; 5. *EcoR* I 单酶切质粒 pEGFP-N1/Foxo3a.

M 1 000 bp DNA marker ; 1. pEGFP-N1/Foxo3a ; 2. the plasmid pEGFP-N1 digested by two enzymes of *EcoR* I and *Bam*H I ; 3. the plasmid pEGFP-N1/Foxo3a digested by two enzymes of *EcoR* I and *Bam*H I ; 4. the plasmid pEGFP-N1 digested by *EcoR* I enzyme ; 5. the plasmid pEGFP-N1/Foxo3a digested by *EcoR* I enzyme.

2.4 免疫印迹方法检测 EL-4 细胞 Foxo3a 蛋白水平表达 提取 3 组 EL-4 细胞总蛋白并定量,经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜和抗体杂交后曝光显示,第 2 泳道转染了质粒 pEGFP-

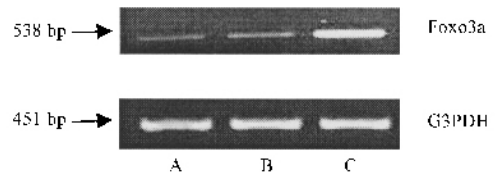


图 3 RT-PCR 法鉴定转染后 EL-4 细胞 Foxo3a 表达情况

Fig. 3 Foxo3a expression in EL-4 cells detected by RT-PCR after transfection

A 对照组 ; B pEGFP-N1 转染组 ; C pEGFP-N1/Foxo3a 转染组。

A :control groups ; B :pEGFP-N1 transfected groups ; C :pEGFP-N1/Foxo3a transfected groups.

N1/Foxo3a 的 EL-4 细胞有 102.1 ku 的 Foxo3a 与 GFP 融合蛋白表达,条带符合预期大小。EL-4 细胞内源 Foxo3a 大小为 97 ku,管家基因( actin )的蛋白为 44 ku,这两条带为 3 组细胞共有的条带(图 4)。

### 2.5 高表达 Foxo3a 的 EL-4 细胞形态学观察

在荧光倒置显微镜下观察发现,绿色荧光蛋白 GFP 被蓝光激发呈绿色(图 5 :A),而 PI 标记的细胞被绿光激发呈红色(图 5 :B)。同时,红光与绿光叠加呈黄色(图 5 :D,E)。镜下可见,

转染 pEGFP-N1/Foxo3a 的 EL-4 细胞染色质发生断裂、凝集并向核膜靠拢, 且此时核膜和细胞膜

仍是完整的, 表现为典型的细胞凋亡的形态学改变, 而对照组细胞形态多正常(图 5:A ~ E)。

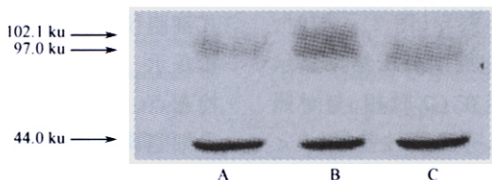


图 4 免疫印迹方法检测 EL-4 细胞转染后蛋白 Foxo3a 表达

Fig. 4 The identification of the Foxo3a expression in EL-4 cells by Western blot after transfection

A: 对照组; B: pEGFP-N1/Foxo3a 转染组; C: pEGFP-N1 转染组。

A: control groups; B: pEGFP-N1/Foxo3a transfected groups; C: pEGFP-N1 transfected groups.

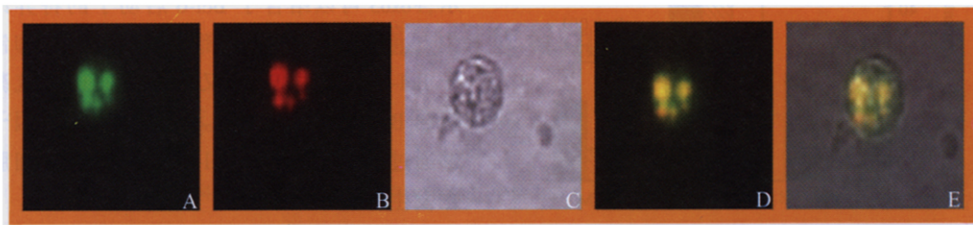


图 5 高表达 Foxo3a 后 EL-4 细胞典型凋亡形态学特征

Fig. 5 The apoptotic cell morphology of EL-4 cells after over-expression of Foxo3a

A: pEGFP-N1/Foxo3a-GFP 质粒转染细胞; B: DAPI 染细胞核; C: 明场; D: 荧光染色叠加; E: 荧光染色和明场叠加。

A: pEGFP-N1/Foxo3a-GFP; B: DAPI; C: light field; D: overlays; E: overlays. (× 400)

### 2.6 高表达 Foxo3a 的 EL-4 细胞生长变化

每隔 24 h 取转染的细胞 20 μl, 加入等量的台盼蓝稀释 2 倍, 取 10 μl 在倒置显微镜下细胞计数。结果显示, 转染 pEGFP-N1/Foxo3a 的 EL-4 细胞组与转染 pEGFP-N1 空质粒组和正常细胞组相比 EL-4 细胞数明显减少, 具有显著性差异(图 6)。

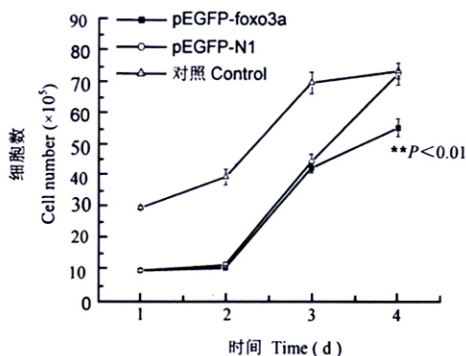


图 6 高表达 Foxo3a 后 EL-4 细胞数变化

Fig. 6 The changes in EL-4 cell numbers after over-expression of pEGFP/Foxo3a

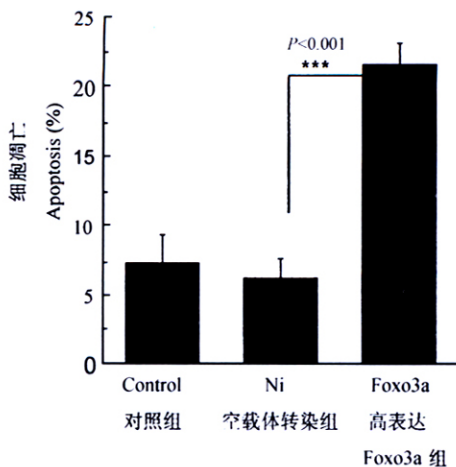


图 7 高表达 Foxo3a 后细胞凋亡百分率变化

Fig. 7 The percentages of apoptotic cells in EL-4 cells after over-expression of Foxo3a gene

### 2.7 高表达 Foxo3a 的 EL-4 细胞周期和凋亡的检测 流式细胞仪检测细胞周期及凋亡情况

显示,转染真核表达质粒 pEGFP-N1/Foxo3a 的 EL-4 凋亡百分率明显升高,与对照组及空载体转染组相比较,具有显著性差异(图 7)。同时,高表达 Foxo3a 的 EL-4 细胞周期分析结果显示(图 8),大量的细胞被阻滞在 G2 时相,与对照组及空载体转染组相比较,有显著性差异( $P < 0.001$ )。

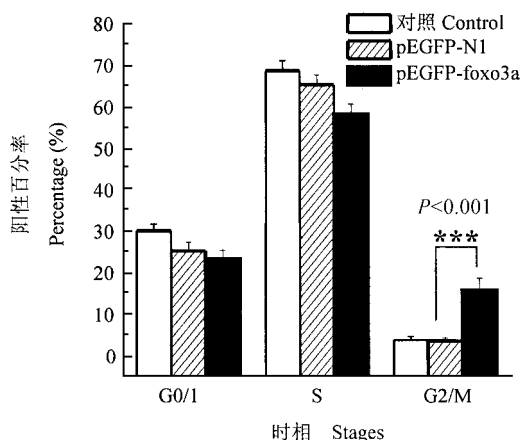


图 8 高表达 Foxo3a 后细胞周期各时相细胞百分率变化

Fig. 8 The cell percentage changes of each EL-4 cell cycle stage after over-expression of Foxo3a gene

### 3 讨论

在机体免疫系统中,淋巴细胞的生存及凋亡是调节适应性免疫应答的重要方式之一,只有调节适度的淋巴细胞凋亡,才可保证一定数量的具有抗原特异性及免疫记忆功能的淋巴细胞被保留下来,从而参与及维持机体正常的免疫应答<sup>[2,5-8]</sup>。为进一步阐明 Foxo3a 对免疫系统淋巴细胞的免疫调控作用,采用 pEGFP-N1/Foxo3a 真核表达载体转染小鼠的 T 淋巴瘤细胞 EL-4 淋巴瘤细胞系,观察其对淋巴瘤细胞的增殖和死亡的影响。结果显示,高表达 Foxo3a 基因能够使 EL-4 细胞多阻滞在细胞 G2 期,并同时诱导 EL-4 细胞凋亡发生(图 7,8)。细胞生长曲线结果显示,在 3 d 细胞生长观察中,高表达 Foxo3a 基因细胞数明显减少(图 6)。而同时,荧光显微镜观察结果显示,在高表达 Foxo3a 基

因后,EL-4 细胞出现典型的核断裂和染色体凝集等细胞凋亡形态学改变(图 5)。该结果与流式细胞仪检测结果相一致。对各种结果综合分析提示,高表达 Foxo3a 基因可能是通过调控 G2 检查点,从而使大量细胞阻滞在 G2 时相,并诱导细胞凋亡发生。这与在其他细胞系高表达 Foxo3a 基因研究结果基本一致<sup>[5-8]</sup>。Foxo 蛋白可通过多种途径调节细胞凋亡发生<sup>[9,10]</sup>。Foxo3 的激活能够刺激 Bim 的表达,而 Bim 是 Bcl-2 基因家族成员。因此,Foxo3 可以通过调节 Bim,而诱导细胞凋亡发生<sup>[7,10]</sup>。另外,也有研究显示,Foxo3 可以结合于 Bcl-6 启动子的特异结合位点。Foxo3a 和 Foxo4 都能够诱导转录抑制因子 Bcl-6 的表达,Bcl-6 又依次负向调节抗凋亡蛋白 Bcl-xl 的表达<sup>[11,12]</sup>。这表明,Foxo3 因子能够通过 Bcl-6 介导的 Bcl-xl 抑制而诱导细胞凋亡发生。

本文研究结果提示,Foxo3a 基因可能在淋巴细胞发育和增殖方面具有调节作用。但同时我们也应该注意到,该结果与 Foxo3a 基因敲除小鼠无明显凋亡损伤表现的实验结果不一致<sup>[6,8]</sup>。这可能是由于 EL-4 细胞为肿瘤细胞的特殊性所致,进一步工作应比较 Foxo3a 基因高表达对正常细胞与肿瘤细胞系的细胞凋亡和细胞周期效应的异同。

### 参 考 文 献

- [1] Jonsson H, Peng S L. Forkhead transcription factors in immunology. *Cell Mol Life Sci* 2005 **62** (4):397~409.
- [2] Hori S, Sakaguchi S. Foxp3: a critical regulator of the development and function of regulatory T cells. *Microbes Infect* 2004 **6** (8):745~751.
- [3] 饶恩于,赵勇. Foxp3 调节性 T 细胞发育的一个关键转录因子. *生物化学与生物物理进展*, 2005, **25** (2):123~126.
- [4] Coffey P J, Burgering B M. Forkhead-box transcription factors and their role in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2004, **4** (11):889~899.
- [5] Jonsson H, Allen P, Peng S L. Inflammatory arthritis requires Foxo3a to prevent Fas ligand-induced neutrophil apoptosis. *Nat Med* 2005, **11** (6):666~671.
- [6] Asselin-Labat M L, David M, et al. GILZ, a new target for the

- transcription factor Foxo3, protects T lymphocytes from interleukin-2 withdrawal-induced apoptosis. *Blood* 2004, **104** (1) 215 ~ 223.
- [ 7 ] Gilley J, Coffey P J, Ham J. Foxo transcription factors directly activate bim gene expression and promote apoptosis in sympathetic neurons. *J Cell Biol* 2003, **162**(4) 613 ~ 622.
- [ 8 ] 崔旻, 赵勇. Foxo 转录因子研究进展. 中国生物工程杂志 2005, **26**(2) 53 ~ 55.
- [ 9 ] Barthelemy C, Henderson C E, Pettmann B. Foxo3a induces motoneuron death through the Fas pathway in cooperation with JNK. *BMC Neurosci* 2004, **5**(1) 48 ~ 53.
- [ 10 ] Ghaffari S, Jagani Z, Kitidis C, et al. Cytokines and BCR-ABL mediate suppression of TRAIL-induced apoptosis through inhibition of forkhead Foxo3a transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, **100**(11) 6523 ~ 6528.
- [ 11 ] Fernandez de Mattos S, Essafi A, Soeiro I, et al. Foxo3a and BCR-ABL regulate cyclin D2 transcription through a STAT5/BCL6-dependent mechanism. *Mol Cell Biol*, 2004, **24**(22): 10058 ~ 10071.
- [ 12 ] Burgering B M, Kops G J. Cell cycle and death control: long live forkheads. *Trends Biochem Sci* 2002, **27**(7) 352 ~ 360.