

文章编号: 1007-4627(2007)03-0224-04

MAPK 途径与细胞的辐射应答*

袁志刚^{1,2}, 张 红¹

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: MAPK 信号转导途径在细胞辐射应答中起着重要作用, ERK, JNK, P38 MAPK 和大 MAPK 4 条不同的 MAPK 通路在受辐射细胞中扮演着不同角色, 它们的协调控制作用决定着细胞受辐照后的命运。描述了辐射应答中的这 4 条不同的 MAPK 途径, 并讨论了这些途径在辐射应答中的作用。

关键词: 信号转导; 辐射; 激酶; 磷酸化; MAPK

中图分类号: Q257; R730.55

文献标识码: A

1 引言

在众多的已被发现的细胞信号转导途径中, 有一个以有丝分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 超家族分子成员为级联最终“击靶者”的超级通路网, 我们统称为 MAPK 通路或 MAPK 途径。该途径的基本级联示意是: 细胞外信号 (化学的或物理的) → 受体 → MAP3K → MAP2K → MAPK → 靶分子 (通常是转录因子)。根据激活的转录因子的不同和对细胞信号调控作用的不同, 已将发现的 MAPK 分为 4 类, 即 ERK, JNK, P38 MAPK 和大 MAPK, 由此构成了 4 条与 MAPK 分子同名的信号通路。MAPK 途径已经和许多生长因子诱导的细胞事件联系到了一起, 如增殖、分化、衰老和凋亡等。电离辐射和其它一些毒性胁迫一样, 可促使细胞多 MAPK 途径的同步代偿性激活, 产生的信号在控制照射后细胞存活和增殖的结果上扮演重要角色。

2 胞外调节激酶 (ERK) 途径与辐射应答

“MAP-2 激酶” (跟后来发现的 ERK2 为同一激酶) 于 1986 年由 Thomas Sturgill 实验室首先报道^[1], 最初被描述为一个 42 kDa 的具有被胰岛素激活性质的蛋白激酶 (如果环境中存在胰岛素, 它的

酪氨酸 (tyr) 残基的磷酸化水平就会上升), 它能够磷酸化细胞骨架蛋白 MAP-2。同时期, Melanie Cobb 的实验室鉴定到了这种酶的同源物, 命名为 ERK1 (胞外信号调节的激酶), 分子量为 44 kDa^[2]。既然许多生长因子和促有丝分裂剂能激活这些酶, 那么后来这些酶就用有丝分裂原活化蛋白激酶的英文首字母缩写表示为 MAPK。另外一些研究证明, P42 (ERK2) 和 P44 (ERK1) MAPK 能调节蛋白激酶 P90^{RSK} 的活性, 同时它们自己受到另一种激酶活性的影响, 这种激酶被称为 MKK1/2 (MAPK 的激酶: MAP2K), 也称为 MEK1/2 (有丝分裂原活化 / 胞外调节的激酶 1/2)。MKK1/2 还要受到可逆的磷酸化调节, 进而催化蛋白激酶即原癌基因 RAF-1 的表达产物^[3]。

RAF 激酶在级联中处于 MEK 的激酶 (MAP3K) 的位置, 它是一个具有丝-苏氨酸蛋白激酶活性的家族, 同源物还有 B-RAF 和 A-RAF。RAF 家族成员可以磷酸化并激活 MKK1/2, 但催化能力不同, B-RAF > RAF-1 > A-RAF^[4]。细胞是利用 B-RAF 还是 RAF-1 激活 ERK 通路, 与刺激因素有关, 也与细胞类型有关。实验发现, A431 鳞癌细胞经 2 Gy γ 射线辐射, 激活了 RAF-1, 但没激活 B-RAF^[5]。利用可诱导缺失型的鸟 DT40 B 细

* 收稿日期: 2007-01-08; 修改日期: 2007-03-26

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (1075151); 甘肃省重点科技攻关项目 (2GS052-A43-008-02); 甘肃省自然科学基金资助项目 (3ZS061-A25-021)

作者简介: 袁志刚 (1977-), 男 (汉族), 甘肃兰州人, 硕士研究生, 从事重离子辐射生物学研究; E-mail: atom_e@impcas.ac.cn

胞,发现缺失 RAF-1 对高频紫外线诱导的 ERK 活化没有影响,B-RAF 的缺失显示了 ERK 活性的下降,而 RAF-1/B-RAF 双缺失的 DT40 细胞几乎完全阻断了 ERK 的活化及其直接诱导的基因产物 c-FOS 和 ERG-1 的表达^[6]。另外一些在胚胎成纤维细胞中的研究与上述发现形成了鲜明的对照。这种细胞只表达 RAF-1,但即使显性双突变的细胞(RAF-1^{-/-}细胞),也能将辐射信号传递给 ERK1/2。这显示在没有 RAF-1 存在时,胚胎成纤维细胞可能利用其它 MAP3K 分子来作为补偿信号^[7]。

另外,还发现 RAF-1 可以和凋亡信号激酶 1(ASK1)结合而抑制后者活性,这种抑制作用与 RAF 的激酶活性无关^[8]。RAF-1 的反义 RNA 在体内和体外都可以增强肿瘤细胞的辐射敏感性。如果 RAF-1 的表达丧失,那么很可能是因为促进了 ASK1 的活化而增强了辐射的细胞毒作用,而不只是因为改变了 ERK 的活性^[9]。

RAF 的 NH₂ 端结构域可以与 RAS 在质膜上进行可逆反应,并且 RAF 与 RAS 作用时 RAS 要处于 GTP 结合状态。在发现 RAF 与 RAS 关联的同时,有人又发现了生长因子通过它们的质膜受体,使 RAS 在鸟苷酸交换因子的帮助下由结合 GDP 转换成了结合 GTP 的状态。就这样,受体信号和 RAS 连接到了在一起^[10]。于是一条完整的从生长因子到 ERK 的通路(MAPK 通路)便建成了,级联关系为:生长因子 → 生长因子受体 → RAS → RAF → MEK → ERK → 靶分子。

一些研究小组指出,在许多类型的肿瘤细胞的辐射应答中,表皮生长因子受体(EGFR,或作 ERBB1,HER1)会在没有表皮生长因子(EGF)的情况下被激活。经 1—2 Gy γ 射线的照射,通过 EGFR 的活化,可以激活 ERK 通路,其水平与生理条件下约 1×10^{-10} mol EGF 作用的水平相当^[11]。有文章解释,辐射产生的自由基对 ERBB 受体家族的激活起重要作用^[12]。而另外的研究发现^[13]一些肿瘤细胞系经 γ 射线照射后,可由转化生长因子 α (TGF- α)介导,辅助活化 EGFR 及下游 ERK 和 JNK 通路。这些研究解释, γ 射线辐射引起质膜中 TGF- α 原的共价键断裂,使有活性的 TGF- α 部分释放到生长介质中去。将辐射剂量从 2 Gy 加大到 10 Gy,ERBB1 的活性以及整个 ERK 和 JNK 通路的活性都有增强,这意味着,辐射对

TGF- α 原的断裂激活有着剂量相关性,大约 10 Gy 时这种效应达到最大,然后出现平台区。应该注意的是,对照 TGF- α 的辅助活化效应,辐射对受体和通路的直接活化的高原平台出现在 3—5 Gy 的剂量区。

此外,经 ERK 途径传递的信号可以促进 EGF 等生长因子的表达,二次活化和放大了 ERK 通路信号。在肿瘤细胞中,ERBB 受体家族和 ERK 通路的辐射活化还受到 RAS 和 P53 等基因状态(突变或野生型)的影响^[14]。

3 JNK 通路和辐射应答

JNK 通路被发现和描述是在 20 世纪 90 年代中期。JNK1 和 JNK2 的生化性质最初是这样描述的:它们具有胁迫引发的蛋白激酶活性,可磷酸化转录因子 c-JUN 的 NH₂ 末端。因此这条途径常被叫做胁迫激活的蛋白激酶(SAPK)途径^[15]。JNK1/2 的活性受到苏氨酸和酪氨酸双重磷酸化作用调节,起催化作用的蛋白激酶与 MKK1/2 相似,称作胁迫活化的胞外调节激酶 1(SEK1),也叫 MKK4^[16]。随后又发现了 MKK4 的另一个同源物 MKK7^[17]。我们知道,ERK 途径主要利用了 RAF 家族的 3 种 MAP3K,而对于 JNK 途径,已知至少有 10 种蛋白激酶磷酸化和激活 MKK4/7。MKK4/7 的上一层主要是 RHO 家族的小分子 GTP 结合蛋白,包括 RHO, CDC42 和 CDC42^[18]。与 JNK 通路有关的受体主要有 ERBB1 和 TNF- α 受体。

至少有 3 种机制解释辐射激活 JNK 通路。Cremesti 等^[19]证明,辐射诱导的神经酰胺以及死亡受体聚集在 JNK 的活化中有很重要的作用。他们的实验指出,辐射作用于 TNF- α 受体,激活神经鞘磷脂酶,水解鞘磷脂产生神经酰胺,神经酰胺作为脂类第二信使,再作用于 RHO GTP 酶家族,从而激活 JNK 途径。这是一个凋亡信号的前奏。

另一些小组发现,辐射信号可自 EGFR 传递给 JNK。现在还不清楚生长因子受体是如何激活 RHO 家族小分子 GTP 结合蛋白的。一种机制可能是 RAS 直接激活了 RHO 家族小 G 蛋白,也有可能 RAS 通过 PI3K 激活的^[20]。有研究者用低剂量射线照射肿瘤细胞,随时间出现两个 JNK 活化峰,推测第一次活化由 TNF- α 受体的活化引起,第二次活化可能依赖于 EGFR^[21]。

还有的研究者认为, 辐射引起的 JNK 活化是凋亡效应物 caspase 活化的次级事件: 通路上游激酶 MEKK1 被 caspase 酶切, 导致后者组成性活化, 并持续影响 JNK 通路的下游^[22]。这将是一条不归路, 这个信号在某些细胞的凋亡中起完全决定性作用。

对于辐射应答, ERK 通路和 JNK 通路似乎处于一种竞争平衡。开始可能是希望存活的 ERK 通路抑制着预示死亡的 JNK 通路, 当 ERK 通路受到抑制时, JNK 通路信号增强。这在某种程度上与 RAS 从 ERK 到 JNK 的适时路向转变有一定关系。

4 P38 MAPK 途径与辐射应答

P38 MAPK 途径的最初描述是, 它是哺乳动物中与酵母的一个感受渗透压的信号转导途径类似的途径。RHO GTP 酶家族似乎是 P38 MAPK 途径上游的活化剂, 它需要通过几种 MAP3K 起作用, 如 PAK 家族。后者又可以调节 MAP2K, MKK3 和 MKK6。至少有 4 种 P38 MAPK 存在, 分别为: P38 α , β , γ 和 δ ^[23]。

P38 MAPK 信号在细胞应答中既能引起细胞凋亡(较 JNK 作用弱), 也能强化细胞存活, 这有赖于细胞类型和刺激因子^[24]。

电离辐射对 P38 MAPK 活性的调节也存在着很大争议。根据不同的研究, 有人认为辐射对 P38 MAPK 没有活化作用, 有人认为有较弱的作用, 还有的认为有强活化作用^[24]。这与 ERK 途径和 JNK 途径形成了鲜明的对照, 因为对各种各样的细胞, 在不同的剂量下, 常用射线活化这两条途径已经被很多研究小组证实了。

在观察到辐射激活 P38 MAPK 的研究中, 虽未确定参与应答的膜受体(可能是 FAS-R), 但认为 P38 γ 对电离辐射引起的 G2/M 期阻滞的发生起重要作用^[25]。在这些研究中, P38 γ 信号产生依赖于 ATM 蛋白的表达, 并且 MKK6 组成型过表达能增加 G2/M 期细胞数量。还有小组发现, 在紫外线诱导的 G2/M 期阻滞中, P38 α 也具有作用^[26]。总之, 这些发现意味着用特殊的抑制剂抑制 P38 γ , 将对放射病的治疗带来好处。

5 MEK5-ERK5 大 MAPK 途径与辐射应答

大 MAPK 途径是 1995 年发现的^[27]。之所以

称之为“大”, 是因为 ERK1/2 和 JNK1/2 的分子量分别是 42/44 和 46/54 kDa, 而 ERK5 的分子量高达 90 kDa。ERK5 的上游活化物是 MEK5 家族。MEK5 α 和 MEK5 β 分别集中于细胞的不同区域。MEK5-ERK5 途径对生长因子如 EGF 的应答看起来与 ERK 途径极为相似, 都是依赖 RAS 信号的。并且 ERK5 级联在生长因子刺激的细胞生长和存活过程中也起着关键的作用。在除去生长因子的 PC12 细胞中, 分别抑制 ERK1/2 和 ERK5, 细胞存活率相等^[28]。

电离辐射活化 MEK-ERK5 途径的能力还未得到充分证明。根据 EGFR/RAS 信号激活 MEK-ERK5 途径以及辐射激活 EGFR/RAS 的事实, 有理由推测电离辐射可以活化 ERK5。

6 问题和展望

MAPK 途径是细胞对辐射应答的重要信号转导途径, 但决不是唯一途径, 至少还有 PI3K 途径同样重要。这些途径相互联系和影响, 构成一个极其庞杂的 CROSS TALKING。

由于细胞对辐射能产生种种分子水平上的应激信号, 使得不同细胞对不同种类、不同剂量的辐射具有不同程度的敏感性, 深入认识细胞对辐射的应答机制, 将给不同肿瘤的放射治疗带来积极的理论指导。

在上述的研究中, 引起细胞信号转导变化的所谓电离辐射, 都是高频紫外线、X 射线、 γ 射线等光子辐射。随着重离子、质子、快中子和 π^- 介子等粒子辐射治疗技术的发展, 用它们对细胞影响的基础研究已迅速展开, 但在细胞信号转导方面还没有成熟的结论。由于这些粒子辐射都有各自不同于光子辐射的物理学特点以及独特的放射细胞生物学效应, 期待会有众多的作用于细胞信号转导的新发现, 尤其像对 MAPK 这类在细胞调控中极为重要通路的作用。中国科学院近代物理研究所在进行重离子临床治癌研究的过程中, 已迅速开展了重离子对细胞信号转导影响的研究。

参考文献 (References):

[1] Sturgill T W, Ray L B. Biochem Biophys Res Commun,

- 1986, **134**: 565.
- [2] Boulton T G, Cobb M H. *Cell Regulat*, 1991, **2**: 357.
- [3] Haystead C M, Wu J, Gregory P, *et al.* *FEBS Lett*, 1993, **7**: 12.
- [4] Bosch E, Cherwinski H, Peterson D, *et al.* *Oncogene*, 1997, **15**: 1 021.
- [5] Suy S, Anderson W B, Dent P, *et al.* *Oncogene*, 1997, **15**: 53.
- [6] Brummer T, Shaw P E, Reth M, *et al.* *EMBO J*, 2002, **21**: 5 611.
- [7] Huser M, Lockett J, Chiloeches A, *et al.* *EMBO J*, 2001, **20**: 1 940.
- [8] Chen J, Fujii K, Zhang L, *et al.* *Proc Natl Acad Sci, USA*, 2001, **98**: 7 783.
- [9] Gokhale P C, McRae D, Monia B P, *et al.* *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 1999, **9**: 191.
- [10] Olivier J P, Raabe T, Henkemeyer M, *et al.* *Cell*, 1993, **73**: 179.
- [11] Bowers G, Reardon D, Hewitt T, *et al.* *Oncogene*, 2001, **20**: 1 388.
- [12] Leach J, Van Tuyle G, Lin P S, *et al.* *Cancer Res*, 2001, **61**: 3 894.
- [13] Hagan M, Wang L, Hanley J R, *et al.* *Radiat Res*, 2000, **153**: 371.
- [14] Baba I, Shirasawa S, Iwamoto R, *et al.* *Cancer Res*, 2000, **60**: 6 886.
- [15] Derijard B, Hibi M, Wu I H, *et al.* *Cell*, 1994, **76**: 1 025.
- [16] Derijard B, Raingeaud J, Barrett T, *et al.* *Science*, 1995, **267**: 682.
- [17] Tournier C, Whitmarsh A J, Cavanagh J, *et al.* *Mol Cell Biol*, 1999, **9**: 1 569.
- [18] Chadee D N, Yuasa T, Kyriakis J M. *Mol Cell Biol*, 2002, **22**: 737.
- [19] Cremesti A, Paris F, Grassme H, *et al.* *J Biol Chem*, 2001, **276**: 23 954.
- [20] Assefa Z, Valius M, Vantus T, *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **261**: 641.
- [21] Dent P, Reardon D B, Park J S, *et al.* *Mol Biol Cell*, 1999, **10**: 2 493.
- [22] Schlesinger T K, Bonvin C, Jarpe M B, *et al.* *J Biol Chem*, 2002, **277**: 10 283.
- [23] Kyriakis J M, Avruch J. *Physiol Rev*, 2001, **81**: 807.
- [24] Dent P, Yacoub A, Contessa J, *et al.* *Radiat Res*, 2003, **159**: 283.
- [25] Wang X, McGowan C H, Zhao M, *et al.* *Mol Cell Biol*, 2000, **20**: 4 543.
- [26] Bulavin D V, Amundson S A, Fornace A J. *Curr Opin Genet Dev*, 2002, **12**: 92.
- [27] Zhou G, Bao Z Q, Dixon J E. *J Biol Chem*, 1995, **270**: 12 665.
- [28] Suzaki Y, Yoshizumi M, Kagami S, *et al.* *J Biol Chem*, 2002, **277**: 9 614.

MAPK Pathways in Radiation Responses of Cells^{*}

YUAN Zhi-gang^{1, 2, 1)}, ZHANG Hong¹

(1 *Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China*;

2 *Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

Abstract: MAPK signal transduction pathways play crucial roles in the radiation responses of cells. Four MAPK pathways, ERK, JNK, P38 MAPK and big MAPK pathway induce different effects in the radiation exposed cells. Their corresponding regulations foreordain the cells after exposure. This review describes these four MAPK pathways in radiation responses and discusses their functions in radiation responses respectively.

Key words: signal transduction; radiation; kinase; phosphatase; MAPK

* **Received date:** 8 Jan. 2007; **Revised date:** 26 Mar. 2007

* **Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (1075151); Key Scientific Technology Research Project of Gansu Province (2GS052-A43-008-02); Natural Science Foundation of Gansu Province (3ZS061-A25-021)

1) E-mail: atom_e@impcas.ac.cn