

综述与编译。

MAPK和 SAPK信号途径的不同激活决定辐射的细胞效应

军事医学科学院放射医学研究所(北京,100850) 郭德煌 张 浩综述 毛秉智审校

摘要: 不同的细胞外刺激因素通过细胞内的信号转导途径传到细胞内的靶分子产生相应的细胞效应。辐射作为一种特殊的贯穿性损伤因子,它的信号转导有其特殊性。辐射既能激活 SAPK/JNK(应激活化蛋白激酶/c-Jun N H₂末端激酶)信号途径介导细胞凋亡,又能激活 MAPK/ERK(有丝分裂原活化激酶/细胞外相关激酶)信号途径促进细胞增殖、分化或保护细胞受到应激刺激而导致的损伤性效应,这两条通路的不同激活,决定了受辐射细胞的命运。

关键词: 辐射 信号转导 有丝分裂原活化激酶 应激活化蛋白激酶

1 概述

细胞外的刺激信号通过细胞膜和细胞内的一系列信号分子和生化级联反应传达到细胞内的靶分子,产生相应的细胞效应,这就构成了细胞信号转导的轮廓。辐射的胞内信号转导途径的研究起步较晚,目前尚未形成一个完整的信号转导体系,尽管如此,在研究过程中已获得的一些信息解释了许多辐射诱发的细胞效应,对阐述辐射诱导的细胞凋亡、辐射耐受、辐射畸变等机制起了很大的作用。电离辐射作为一种特殊的贯穿性损伤因素,它的信号转导与一般的环境损伤因素相比,有其特殊性,最为通常的理解是辐射信号转导有多方位性、多层次性、很强的时控性及滞后性等特点。仅以多层次性为例,辐射作为贯穿性刺激因素,最先接触到的是细胞膜,启动了膜的信号传递;接着射线在通过胞质时,又影响了位于胞浆内的信号转导分子,干预了正常的胞内信号转导途径,这一步并非是射线的直接作用,而是由于射线通过胞浆时水辐解产生的活性氧起着第二信使的作用;当射线达到胞核时,直接损伤 DNA分子,随后又活化了多种蛋白质分子,激活相应的信号转导途径。总之,辐射触发了数条信号转导途径。

细胞外的刺激信号通过一定的途径转导

到细胞核,在这一高度保守的信号转导途径中,有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK, mitogen-activated protein kinases)是一组关键酶,这组酶可分三个亚群,即细胞外信号相关激酶(ERK, extracellular signal-related kinase),c-Jun N H₂末端激酶(JNK, c-Jun N H₂ terminal kinase),此酶又被称为应激活化蛋白激酶(SAPK, stress activated protein kinase),第三种MAPK亚类为p38 MAPK或p38。这些激酶结构相关,都是通过磷酸化苏氨酸和酪氨酸残基而激活。ERK途径主要是对生长因子产生应答,在细胞的增殖、分化过程中起作用。最近报道,外界刺激因素包括辐射在内亦能激活ERK信号转导途径^[1]并促进细胞增殖^[2]。JNK和p38 MAPK普遍对细胞应激因素如辐射、紫外线、渗透压的变化等有明显的应答^[3]。JNK还是环境因素诱发凋亡的主要信号转导途径^[4]。JNK途径在完成对辐射的特殊应答时,还需要有其它信号途径如磷脂酰肌醇(PI3)途径、蛋白激酶C(PKC)途径等^[5]的参与。

2 MAPK/ERK信号途径的激活

在肿瘤细胞和正常细胞,胞外刺激激发一系列胞内信号调节细胞的增殖和生存。研究得比较透彻的是导致癌基因Ras激活的一条通路。激活Ras后在多个效应子的作用

下触发了一系列的下游信号转导途径。有一个被深入研究的 Ras 依赖的信号转导途径是 Raf-MEK-ERK 激酶生化级联,其传递关键的信号到核中去,这些信号是细胞增殖和生存所必须的。这一信号转导途径可能还有其它细胞学功能,如有丝分裂原和细胞因子能快速阻断由于多种细胞毒刺激而引发的细胞凋亡,在这过程中,Ras 和 Raf-MEK-ERK 激酶级联可能介导这些保护性效应。以 Ras 和 Raf-MEK-ERK 转化的细胞系呈现出照射后存活能力增加^[6],而辐射亦能激活 Ras 和 Raf-MEK-ERK 激酶级联,这一生化级联能增加受辐射肿瘤细胞的存活能力^[7]。

最近报道,辐射的另一个靶标是表皮生长因子受体。辐射通过激活表皮生长因子,产生 P13 和 Ca^{2+} 的内流,激活 MAPK 途径,激活的程度类似于生理性浓度的 EGF(表皮生长因子)所起的作用^[2]。生长因子对 MAPK 生化级联的激活根据细胞类型和激活程度的不同分别参与细胞增殖和分化过程:生长因子急剧激活 MAPK 途径促进细胞的分化,而缓慢激活 MAPK 途径则对辐射导致的细胞损伤有保护作用^[8],且通过诱导细胞周期蛋白激酶的抑制剂 p21 蛋白来抑制 DNA 的合成^[9]。其它信号转导途径作为下游效应子分别位于神经鞘磷脂酶、神经酰胺和 EGF 受体信号的下游^[10]。与激活 SAPK 途径不同的是,激活 MAPK 途径对细胞有保护作用。

尽管生长因子、细胞因子和肿瘤基因能增加受辐射哺乳动物细胞生存能力的机制有多种解释,但都涉及到被激活的最普通的信号传递元素是 Ras^[11],激活肿瘤基因家族的 Ras 增加受辐射细胞的生存能力,用药物抑制癌基因 Ras 增加受转换细胞对辐射的敏感性。Ras 的一个蛋白激酶效应子 Raf,位于 Raf-MEK-ERK 激酶级联系统的首位,类似于癌基因 Ras,激活 Raf 亦能使细胞对辐射的敏感性减低,阻断 Raf 的表达能使细胞对辐射敏感性增加。这些结果提示,激活 Raf-

MEK-ERK 生化级联途径能使受辐射细胞的生存能力增加。其它实验也证实了激活 MEK 和 ERK 能抑制由于各种死亡刺激所诱导的细胞死亡,提示这些蛋白激酶在增加受辐射细胞的生存能力时亦可能发挥了作用^[11]。最近有报告表明,辐射诱导的促有丝分裂的信号转导可增加体外培养的鳞癌细胞的增殖,可能正如在头和颈部肿瘤细胞在体外照射后所得到的结果一样,这是由于促有丝分裂信号加速了细胞的更新^[12]。

3 辐射激活的 SAPK 信号途径

辐射不仅直接对细胞核发生作用,使 DNA 分子发生断裂,而且在细胞膜激活了许多信号转导途径,其中很重要的一条是 SAPK 途径,把细胞外的刺激信号转导到细胞核^[6]。根据细胞所受的辐射剂量的不同及培养条件的变化,既可促进细胞的增殖分化,亦可能导致细胞死亡^[13]。许多在细胞外触发凋亡的刺激因子都能活化 SAPK 信号转导途径,表明这一信号转导系统在环境应激诱导的凋亡过程中可能发挥着关键的作用^[14]。

许多证据表明,SAPK/JNK 途径参与了辐射诱发凋亡的信号转导,从酶动力学和 SAPK/JNK 的激活程度来看,对辐射致死效应敏感的细胞呈现出 SAPK/JNK 激活的高效性,而对辐射不敏感的细胞则不易激活,且有很强的证据表明了 c-Jun 在凋亡中的作用^[15]。有直接证据表明,辐射是通过 SAPK/JNK 途径介导凋亡,如暴露于低剂量辐射所致的牛主动脉内皮细胞和 U937 人单核幼稚白血病细胞的凋亡以时间和剂量依赖方式进行,凋亡早期的形态和生化特征可在处理后 6 小时观察到,辐射介导的 SAPK/JNK 活性增加可在 10~20 分钟内高达 20 倍^[12]。一旦被激活,SAPK/JNK 结合到转录因子 c-Jun 氨基末端反式激活区,在此区内丝氨酸-63 和丝氨酸-73 被磷酸化,因此增加 AP-1 依赖基因的表达。现已逐渐明确,MEKK1-SEK1-

SAPK/JNK-c-Jun 途径的激活是辐射和应激介导凋亡中的关键事件^[12]。然而,把细胞外刺激传到胞内信号级联的上游激活子和下游靶效应子的机制尚不清楚。现已观察到,细菌的神经鞘磷脂酶(SMase)和人工合成的神经酰胺刺激SAPK的活性,阻断这一信号转导途径则阻止了神经酰胺介导的凋亡,从中可得出神经鞘磷脂(SM)和SAPK/JNK信号系统之间的协调作用。SM途径是连接细胞表面受体到细胞核的一个最为普遍的信号系统,该信号系统的启动是从水解SM开始的,SM是一种主要分布于哺乳动物细胞膜外面的磷脂,它不仅维护着对膜结构的完整性,而且在功能上起着胞内第二信号源头的的作用。SMase水解SM产生磷脂酰胆碱和神经酰胺,后者在很多细胞系中是一个很强的凋亡诱导物。许多刺激因素包括辐射都能应用SM途径产生神经酰胺。SAPK/JNK介导c-Jun激活而导致凋亡的机制尚不明确,可能存在以下几点: SAPK/JNK激活的持续时间对细胞的应答反应非常重要^[6],有丝分裂原短暂激活人类Jurkat T细胞SAPK/JNK途径与增殖反应有关,而被紫外线、辐射、DNA损伤药持续激活SAPK/JNK则与凋亡相关。有趣的是,最近观察到受辐射的牛主动脉内皮细胞的双相SAPK/JNK应答:受到5Gy照射后在1小时内出现快速相,接着出现持续至少20小时的第二相。其中,第二相的出现需要反复的蛋白质合成,因为它的激活能被蛋白合成抑制剂环己酰亚胺完全抑制,而环己酰亚胺仅能部分抵制凋亡,这说明辐射介导的SAPK/JNK的双相激活都参与了凋亡。

4 MAPK和SAPK信号途径的不同激活决定细胞的命运

以前的研究结果已表明,正常细胞中MAPK途径和SAPK途径保持着一个动态平衡状态,维持着细胞的正常生长、分化和代

谢,MAPK和SAPK被刺激因素如辐射等不同程度的激活将决定细胞是增殖、分化或死亡的命运^[13]。

正如今天所知的,信号转导通过有丝分裂原激活蛋白激酶途径包括三条高度同源但并不一样的生化级联途径,一条是被有丝分裂原和生长因子强烈激活并导致MAPK(MAPK/ERK)的细胞外信号调节激酶家族的激活,介导有丝分裂和分化的功能;另二条生化级联主要是被炎症因子如TNF α 和IL-1等细胞的应激所激活,并导致应激激活蛋白激酶的激活,即通常所说的SAPK/JNK和p38介导的应激反应。激活MAPK/ERK的激动剂仅微弱地激活SAPK/JNK生化级联,反之,强有力的SAPK/JNK级联激动剂亦很少能激活MAPK/ERK生化级联^[16]。从下游的靶目标和上游的激动剂亦能把MAPK/ERK和SAPK/JNK及p38区分开来。ERK在苏氨酸和酪氨酸残基处被磷酸化,磷酸化的序列为苏氨酸-谷氨酸-酪氨酸,而在SAPK/JNK及p38磷酸化时的相应序列分别为苏氨酸-脯氨酸-酪氨酸和苏氨酸-甘氨酸-酪氨酸。ERK1和ERK2分别被MAPK/ERK激酶MEK1和MEK2磷酸化,而后二者又被Raf-1磷酸化。SAPK/JNK和p38被SAPK/ERK激酶SEK1磷酸化,SEK1亦是MAPK激酶MKK4。此外,p38被MKK3和MKK6磷酸化,SEK1/MKK3和MKK6被MEK激酶MEKK1所磷酸化。不像MEK,SEK1不是双重特异性酶,它仅在酪氨酸残基处磷酸化SAPK/JNK,随后SAPK/JNK就在酪氨酸残基处自身磷酸化。位于Raf上游的Ras在激活MAPK/ERK时起了关键的作用,尽管Ras可通过激活MEKK1与SAPK/JNK生化级联相互作用,SAPK/JNK的激活主要以Ras非依赖的方式进行^[16]。显性负突变的Ras能有效地阻止SAPK/ERK被EGF所激活,但对TNF α 和茴香霉素激活SAPK/JNK并无抑制作用。

事实上,在人喉鳞癌细胞中辐射诱导短暂的 Raf-1激活,并稍微增加 MAPK/ERK 活性 2~3倍,这样就将有丝分裂应答和辐射联系起来^[17]。这些发现揭示辐射激活多条信号转导途径,并说明了多种生物学效应如细胞生长、分裂和细胞死亡之间的复杂调控关系。细胞的生存或凋亡取决于 MAPK/ERK 和 SAPK/JNK 生化级联途径之间的平衡关系。这一观点得到 Xia 等人^[18]的支持,他们证实,在 NGF(神经生长因子)存在下,当生存信号途径(通过 MAPK/ERK)被激活而抑制凋亡时,促凋亡的信号途径(通过 SAPK/JNK)被抑制;相反,NGF撤除而激活 SAPK/JNK 途径介导凋亡时,伴随着 MAPK/ERK 信号途径的失活。与此观点相符,另有人^[19]报道,两条不同神经鞘磷脂第二信号系统水平以及它们在 MAPK/ERK 和 SAPK/JNK 信号途径各自效应间的平衡控制着细胞的生存和死亡。总之,这些结果显示,细胞的生存和凋亡被 MAPK/ERK 和 SAPK/JNK 这两条不同激活方向的信号转导途径紧密调控着。在这一调控过程中,优势的信号决定最终的生物学结果。

参 考 文 献

1 Hasan NM et al. Radiat Res, 1996; 145: 128-

- 133
2 Schmidt-Ullrich RK et al. Oncogene, 1997; 15: 1191-1197
3 Chen YR et al. J Biol Chem, 1996; 271: 31929~31936
4 Verheij M et al. Nature, 1996; 380: 75-79
5 Hara T et al. Biochem Biophys Res Commun, 1998; 244: 41-44
6 McKenna WG et al. Oncogene, 1996; 12: 237-245
7 Suy S et al. Oncogene, 1997; 15: 53-61
8 Canman CE et al. Genes Dev, 1995; 9: 600-611
9 Lloyd AC et al. Genes Dev, 1997; 11: 663-677
10 Carter S et al. Oncogene, 1998; 16: 2787-2796
11 James A et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1998; 42(4): 921-925
12 Verheij M et al. Radiotherapy Oncol, 1998; 47: 225-232
13 Spector M et al. Mol Cell Biol, 1997; 17: 3556~3565
14 Chmura SJ et al. Cancer Res, 1997; 57: 1270-1275
15 Bossy-Wetzel E et al. EMBO J, 1997; 16: 1695~1709
16 Kyriakis JM et al. Nature, 1994; 369: 156-160
17 Kasid U et al. Nature, 1996; 382: 813-816
18 Xia Z et al. Science, 1995; 270: 1326-1331
19 Cuvillier O et al. Nature, 1996; 381: 800-803

(收稿日期: 1999-08-02)

免疫细胞双信号转导与电离辐射效应

苏州医学院放射生物学教研室(苏州, 215007) 周建华综述 苏燎原审核

摘 要: 近年研究发现,免疫细胞产生免疫应答需要两个信号系统的共同参与。第一信号依赖于 TCR/CD3 复合物和 CD4/CD8 协同受体的结合,第二信号是 B7 家族分子与其受体结合产生的共刺激信号。不同剂量的电离辐射对 TCR/CD3 的表达产生不同的影响,继而影响细胞信号转导和细胞的功能。电离辐射可使肿瘤细胞 B7-1 表达增强,有可能为肿瘤的治疗提供新的思路。

关键词: 免疫细胞 信号转导 电离辐射 TCR/CD3 复合物 B7 分子

T 细胞介导的免疫应答效应和免疫调节功能在机体抵抗外来因素的侵袭和各种疾病中起着非常重要的作用。诱导免疫细胞产

生免疫反应需要两个信号系统的共同参与:第一信号依赖于 T 细胞抗原受体(TCR)与 CD3 蛋白形成的 TCR/CD3 复合物和 CD4