

文章编号: 1000-7423(2013)-01-0060-04

【综述】

棘球蚴 MAPK 信号转导通路的研究进展

王成华¹, 吕海龙², 姜玉峰^{1*}, 彭心宇², 张晶¹

【提要】 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 是介导细胞反应的重要信号分子, 受到刺激后磷酸化进入核内, 激活靶基因。MAPK 信号转导通路与多种疾病的发生和发展密切相关。近年来研究发现, 该信号通路参与棘球蚴的生长和发育调控。本文就有关棘球蚴 MAPK 信号转导通路的研究进展作一综述。

【关键词】 丝裂原活化蛋白激酶; 信号转导通路; 棘球蚴

中图分类号: R383.33

文献标识码: A

Advances in Research on the MAPK Signal Transduction Pathway of *Echinococcus*

WANG Cheng-hua¹, LV Hai-long², JIANG Yu-feng^{1*}, PENG Xin-yu², ZHANG Jing¹

(1 Department of Histology and Embryology, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832008, China;

2 Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832008, China)

【Abstract】 Mitogen-activated protein kinase (MAPK) is an important signaling transduction molecules, which can enter the nucleus and activate target gene when it was stimulated and become phosphorylation. MAPK signaling pathway is closely associated with various diseases. Recent studies have indicated that MAPK signaling transduction pathway is also involved in the growth and development of *Echinococcus*. This review summarizes the progress on the relationship between MAPK signal pathway and *Echinococcus*.

【Key words】 Mitogen activated protein kinase; Signal transduction pathway; *Echinococcus*

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30960338), the Doctoral Fund of Xinjiang Production and Construction Corps of China (No. 2011BB019), the Scientific and Technical Project in Key Areas of Xinjiang Production and Construction Corps of China (No. 2011BA0158) and the Science Fund of Shihezi University (No. RCZX200925, LHJJ2010B10)

* Corresponding author, E-mail: yufengjiang03@126.com

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 是介导细胞反应的重要信号分子, 是将信号从细胞表面受体传导至细胞核内的关键。MAPK 信号转导通路在细胞生长、分化和凋亡过程中发挥着重要作用, 该信号通路的调控失调与多种疾病的发生、发展和转归密切相关。生物化学研究和分子生物学鉴定表明, 在棘球蚴细胞中 MAPK 信号通路由一个高度保守的三组分激活模件组成, 从而引起三级激酶级联反应^[1]。了解 MAPK 信号转导通路的组成成分、调控方式和作用机制, 有助于进一步揭示宿

主与棘球蚴相互作用的分子机制。本文就有关棘球蚴 MAPK 信号转导通路的研究进展进行综述。

1 MAPK 信号通路概述

MAPK 是一类细胞内丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 普遍存在于原核生物和真核生物的细胞中, 是细胞内重要信号的传递者, 参与细胞生长、分化和凋亡等多种生物活性的调节。MAPK 信号转导通路是将细胞外刺激信号转导至细胞和细胞核内的关键, 通过高度保守的三级激酶级联反应来实现。MAPK 级联反应包含 3 个激活成分, 即促细胞分裂激活性蛋白激酶 (MEK) 的激酶 (MEKK、MKKK 或 MAPKKK)、MAPK 激酶 (MEK、MKK 或 MAPKK) 和 MAPK^[1]。首先 MEK 激酶受丝裂原刺激磷酸化而激活, 继而磷酸化激活 MAPKK, 最后由 MAPKK 磷酸化 MAPK, 使其活化, 进而转导至细胞和细胞核内。MAPK 信号

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30960338); 新疆兵团博士基金 (No. 2011BB019); 新疆兵团重点领域科技攻关项目 (No. 2011BA0058); 石河子大学联合科研基金 (No. RCZX200925, LHJJ2010B10)

作者单位: 1 石河子大学医学院组织胚胎学教研室, 石河子 832008; 2 石河子大学医学院第一附属医院肝胆外科, 石河子 832008

* 通讯作者, E-mail: yufengjiang03@126.com

转导通路主要包括细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、p38 MAPK 和 c-Jun 氨基末端蛋白激酶 (c-Jun N-terminal protein kinase, JNK) 等 3 条途径。这几条通路由不同的刺激因素激活, 形成不同的通路途径, 介导不同的生物学效应^[2]。

2 MAPK 信号通路的主要途径

2.1 ERK1/2 信号转导通路 该通路是经典的 MAPK 信号转导通路, 由细胞表面受体 (如生长因子酪氨酸受体、细胞因子受体、T 细胞受体 and G 蛋白偶联受体等) 激活引发。基本的信号传递步骤遵循 MAPK 的三级酶促级联反应, 即 Ras (一种鸟苷酸结合蛋白, 具有内源性三磷酸鸟苷酶活性) → Raf (Ras 下游的关键效应蛋白之一, 是丝氨酸/苏氨酸激酶家族成员) → 丝裂原活化蛋白激酶的激酶 (MAPK kinase, MEK) → ERK 途径^[3]。细胞表面受体激活 Ras 后, Ras 利用高亲和力和 Raf N 端的两个区域 (Ras 结合域、半胱氨酸富集域) 结合, 将 Raf 从细胞质转移至细胞膜, 在胞膜上 Raf 丝/苏氨酸发生磷酸化而被激活。Raf 被激活后, 其 C 端催化区能与 MEK 结合, 并使其催化区第 VIII 亚区中两个 Ser 磷酸化, 从而使 MEK 激活。MEK 是少有的双重特异性激酶, 使 Tyr 和 Thr 两个调节位点磷酸化而激活 ERK, 进而调控基因的表达, 产生不同的生物学效应。

2.2 p38 MAPK 途径 p38 MAPK 的激活是通过 1 个三肽基 “TXY” 环邻近的酪氨酸 (T) 和苏氨酸 (Y) 磷酸化来实现的, T 环是决定 MAPK 家族各种蛋白激酶活性的关键结构。p38 MAPK 级联反应包括 4 种激酶, 即 P21 活化激酶 (p21-activating kinase, PAK)、混合系列蛋白激酶 (mixed lineage kinase, MLK)、MKK3/6/4 和 P38 MAPK, 它们均具有 1 个 “TGY” 双位点磷酸化的三肽基 (ERK 为 “TEY”, JNK 为 “TPY”), 构成了 1 个连续的蛋白激酶反应链^[4]。细胞外信号与受体特异性结合后, 通过磷酸化 MLK, 促进 MKK3/MKK6 (MAPK kinase-3/MAPK kinase-6) 基因表达, 激活 “T 环结构” 表面环状结构上的 3 肽基 “TXY” 中邻近的酪氨酸和苏氨酸磷酸化, 进而诱导 p38 MAPK 基因转录, 提高其生物功能, 活化的 p38 MAPK 通过上调激活作用转录因子 2 (activating transcription factor-2, ATF2)、C/EBP 同源性蛋白 10 (C/EBP-homologous protein 10, CHOP10) 和 MEF2C (myocyte enhancer factor 2C) 等转录因子基因的表达, 影响细胞增殖、分化和细胞因子的合成。

2.3 JNK 途径 JNK 信号转导通路可被细胞因子、生长因子和应激 (如渗透压、电离辐射、热休克和氧

化损失) 等多种因素激活, 引起激活丝裂原活化蛋白 3 激酶 (mitogen activated protein 3 kinase, MAP3K) 活化, 然后激活 MAP2K 异构体 MKK4 (MAPK kinase-4) 和 MKK7, 最后磷酸化 JNK^[5]。该通路在细胞分化、凋亡和应急反应, 以及多种疾病的发生和发展起着非常重要的作用。

3 MAPKs 信号转导通路在棘球蚴细胞中的研究

棘球蚴病是由棘球属绦虫的中绦期幼虫所致的一种人兽共患寄生虫病。棘球蚴病分为囊型棘球蚴病 (cystic echinococcosis, CE) 和泡型棘球蚴病 (alveolar echinococcosis, AE), 分别由细粒棘球蚴 (*Echinococcus granulosus*, Eg) 和多房棘球蚴 (*Echinococcus multilocularis*, Em) 寄生人体所致。近年来通过生物化学研究和分子生物学鉴定发现, 在细粒棘球蚴和多房棘球蚴细胞内存在着 MAPK 通路。

吕国栋等^[6,7]研究表明, 在细粒棘球蚴绦虫的原头节和成虫阶段均可发现 ERK 信号通路中 EgRAS 和 EgERK1 基因的存在, 生物信息学分析结果显示, EgERK1 在苯丙氨酸 22 和亮氨酸 310 残基之间有 1 个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶催化中心, 具有真核生物 ERK 基因所共有的 TXY 高度保守区, 表明 EgERK1 的 TXY 结构域的苏氨酸和酪氨酸能被上游特异的 MAPK 激酶磷酸化。有研究利用 MAPK 信号通路具有高度保守性等特点, 在对多房棘球蚴的研究中先后发现有 MAPK 样信号通路关键成员, 如接收胰岛素家族传递信号的 EmIR、接收表皮生长因子家族传递信号的 EmER、EmRas、EmRal、EmRaf、EmMKK1、EmMKK2、EmMPK1、EmMPK2 和 EmMPK3 等, 其中包括 MAPK 信号转导通路相关配体 Egfd 和 EmIns (表 1)^[8-12]。

表 1 MAPK 信号转导通路在棘球蚴细胞内的表达

蛋白	基因	功能	重叠群	参考文献
EgRas	Egras	小 GTP 激酶 (Ras-like GTPase), Raf 家族	-	[6]
EgERK1	Egerk1	MAPK, ERK 家族	-	[7]
EmRas	Emras	小 GTP 激酶, Raf 家族	0973	[8]
EmRal	Emral	小 GTP 激酶, Raf 家族	4874	[14]
EmRaf	Emraf	MAPKKK, Ras 家族	2891	[8]
EmMKK1	Emmkk1	MAPKK, MEK3/6 家族	2775	[10]
EmMKK2	Emmkk2	MAPKK, MEK1/2 家族	1752	[10]
EmMPK1	Emmpk1	MAPK, ERK 家族	3450	[9]
EmMAP2	Emmpk2	MAPK, P38 家族	1841	[13]
EmMPK3	Emmpk3	MAPK, JNK 家族	8178	[15]

注: - 表示未见报道。

Gelmedin 等^[10]应用 EmRaf 抑制剂 BAY-43-9006 和 EmMKK2 抑制剂 PD 184352 作用于多房棘球蚴囊

泡,可引起 *EmMPK1* 磷酸化,并导致囊泡生长停滞。BAY-43-9006 是 Raf 样 MAPKKs 抑制剂,当 BAY-43-9006 体外作用于多房棘球蚴囊泡时,可引起 ERK 样 MAPK *EmMPK1* 去磷酸化,表明 *EmRaf* 是多房棘球蚴 Raf MKKK 家族的成员,可使 *EmMPK1* 活化。同样,应用 MEK1/2 样 MAPKKs 特异阻断剂 PD 184352 体外作用多房棘球蚴囊泡时,亦可引起 *EmMPK1* 的去磷酸化。有趣的是,虽然这两种药物能有效的阻断 ERK 样 MAPKK 信号转导通路的级联反应,但即使增加用药时间,也无法杀死多房棘球蚴囊泡,仅能使其停止生长和分化,提示 BAY-43-9006 和 PD 184352 杀伤多房棘球蚴的效果有限。

EmMPK2 是多房棘球蚴幼虫 MAPK 家族成员之一,同源比对结果表明,*EmMPK2* 氨基酸序列与动物组织的 p38 MAPK 仅有细微差别。SB202190 和 ML3403 是 p38 MAPK 家族成员 *EmMPK2* 的特异阻断剂。Verena 等^[13] 分别应用一定浓度 (0.5 nmol/L~50 μ mol/L) SB202190 和 ML3403 体外作用于多房棘球蚴囊泡,发现这 2 种药物均可使 *EmMPK2* 去磷酸化,且可有效的杀死囊泡,但对体外培养的宿主细胞无影响。

4 感染棘球蚴宿主体内 MAPK 的活性表达

MAPK 信号通路在多房棘球蚴发生发育和宿主-寄生虫相互关系中起着重要作用。MAPK 信号通路是将细胞外刺激信号传至细胞核,进而介导细胞信息传递的共同通路^[16]。研究表明,ERK1/2 是外界刺激时决定细胞命运的关键位点,激活的 ERK1/2 由细胞外转至细胞核内,激活细胞核内转录因子(如 Elk-1、ATF、e-fos 和 e-Jun 等),这些转录因子进一步调节各自靶基因的转录,引起特定蛋白的表达或活性改变,从而参与细胞生长分化、死亡和应激,细胞间以及细胞与外来刺激之间的相互作用。在棘球蚴感染过程中,MAPK 相关的各种刺激因子被激活,造成宿主肝脏的损伤。Spiliotis 等^[9] 认为多房棘球蚴中存在 EKR 样 MAPK-*EmMPK1*,它具有酶活性且在中介宿主的幼虫阶段中表达,将多房棘球蚴幼虫阶段的囊泡与体外宿主细胞共培养时,宿主细胞表皮生长因子可导致 ERK 样 MAPK 家族的关键成员 *EmMPK1* 磷酸化。Gelmedin 等^[10] 用 Raf 或 MEK 的抑制剂作用后,可使囊泡停止生长,表明宿主细胞表皮生长因子可能与多房棘球蚴 *EmER* 受体结合,刺激多房棘球蚴 *EmRas/EmRaf/EmMKK2/EmMPK1/MAPK* 蛋白激酶级联反应,因而调控棘球蚴的生长和发育。Brehm 等^[17] 研究发现,当多房棘球蚴在与宿主肝细胞共培养时,棘球蚴续绦期 *Egfd* 表达上调,提示多房棘球蚴分配配体 *Egfd* 可

能与自身表面 *EmER* 受体结合,进一步调控自身在宿主体内的寄生、生长发育和存活等过程,或者 *Egfd* 与宿主肝细胞表面受体 ER 结合,激活肝细胞 MAPK 信号通路,活化肝细胞内的核转录因子,从而进一步影响肝细胞的增殖和分化。张传山等^[18] 将多房棘球蚴原头节与大鼠肝细胞共培养,通过蛋白质印迹 (Western blotting) 分析显示,多房棘球蚴原头节能激活大鼠肝细胞 ERK 激酶,对 JNK 和 p38 有微弱的激活作用,提示多房棘球蚴原头节可能自身分泌细胞因子,如 *EmIns*、*EmBMP1/2*、*EmAct* 或 *Egfd*,通过与宿主表面受体结合激活肝脏细胞的 MAPK 信号通路。纪静等^[19] 采用半定量逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 和免疫组织化学的方法检测泡球蚴感染小鼠和对照组小鼠的肝脏组织中 ERK1/2 和 p38 的表达水平,发现感染组的 ERK1/2 表达水平明显高于对照组,而 p38 的表达在感染组与对照组的差异无统计学意义,说明在泡球蚴感染早期,肝细胞的增殖占主要作用。Lin 等^[20] 研究发现,在泡型棘球蚴病患者的肝脏病灶旁组织有 ERK1/2、p38MAPK 激活,同时体外培养发现,多房棘球蚴续绦期囊液能够激活大鼠原代肝细胞的 ERK1/2、JNK 和 p38 信号转导通路,泡球蚴续绦期条件性培养液能激活大鼠原代肝细胞 JNK 信号通路,但多房棘球蚴原头节是否能激活宿主肝细胞 MAPK 未见相关报道。

5 结语

MAPK 是细胞增殖、分化等信息传递途径的交汇点^[21],因此 MAPK 信号通路已成为研究热点。对棘球蚴 MAPK 信号通路相关的基因克隆、序列分析和功能鉴定方面进行研究,有助于从分子水平了解棘球蚴的生长、发育和存活的调控机制,从而揭示 MAPK 信号通路在棘球蚴对宿主的致病性方面所起的作用,为临床治疗棘球蚴病提供了一个新的思路。

参 考 文 献

- [1] Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation [J]. *Physiol Rev*, 2001, 81(2): 807-869.
- [2] Brown MD, Sacks DB. Compartmentalised MAPK pathways [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2008, 186(2): 205-235.
- [3] Kolch W. Coordinating ERK/MAPK signaling through scaffolds and inhibitors [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 6(11): 827-837.
- [4] Ono K, Hart J. The p38 signal transduction pathway: activation and function [J]. *Cell Signal*, 2000, 12(1): 1-13.
- [5] Soh J W, Mao Y, Liu L, et al. Protein kinase G activates the JNK1 pathway via phosphorylation of MEKK1 [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(19): 16406-16410.
- [6] 吕国栋, 王俊华, 卢晓梅, 等. 细粒棘球蚴原头蚴和成虫发育调控基因 Ras GTPase 的克隆及序列分析 [J]. *中国寄生虫学与寄*

- 生虫病杂志, 2009, 27(1): 91-93.
- [7] 吕国栋, 纪静, 王俊华, 等. 细粒棘球蚴细胞外调节激酶基因克隆、序列分析及功能的初步鉴定[J]. 中华传染病杂志, 2010, 28(7): 402-407.
- [8] Spiliotis M, Tappe D, Brehm K. Molecular cloning and characterization of Ras- and Raf-homologues from the fox-tapeworm *Echinococcus multilocularis* [J]. Mol Biochem Parasitol, 2005, 139(2): 225-237.
- [9] Spiliotis M, Konrad C, Gelmedin V, et al. Characterisation of EmMPK1, an ERK-like MAP kinase from *Echinococcus multilocularis* which is activated in response to human epidermal growth factor[J]. Int J Parasitol, 2006, 36(10-11): 1097-1112.
- [10] Gelmedin V, Spiliotis M, Brehm K. Molecular characterization of MEK1/2- and MKK3/6-like mitogen-activated protein kinase kinases (MAPKK) from the fox tapeworm *Echinococcus multilocularis* [J]. Int J Parasitol, 2010, 40(5): 555-567.
- [11] Spiliotis M, Kroner A, Brehm K. Identification, molecular characterization and expression of the gene encoding the epidermal growth factor receptor orthologue from the fox-tapeworm *Echinococcus multilocularis* [J]. Gene, 2003, 323: 57-65.
- [12] Konrad C, Kroner A, Spiliotis M, et al. Identification and molecular characterization of a gene encoding a member of the insulin receptor family in *Echinococcus multilocularis* [J]. Int J Parasitol, 2003, 33(3): 301-312.
- [13] Gelmedin V, Caballero-Gamiz R, Brehm K. Characterization and inhibition of a p38-like mitogen-activated protein kinase (MAPK) from *Echinococcus multilocularis*: antiparasitic activities of p38 MAPK inhibitors[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(9): 1068-1081.
- [14] Spiliotis M, Tappe D, Sesterhenn L, et al. Long-term *in vitro* cultivation of *Echinococcus multilocularis* metacystodes under axenic conditions[J]. Parasitol Res, 2004, 92(5): 430-432.
- [15] Brehm K. *Echinococcus multilocularis* as an experimental model in stem cell research and molecular host-parasite interaction[J]. Parasitology, 2010, 137(3): 537-555.
- [16] Kolch W. Coordinating ERK/MAPK signaling through scaffolds and inhibitors[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005, 6: 827-837.
- [17] Brehm K, Wolf M, Beland H, et al. Analysis of differential gene expression in *Echinococcus multilocularis* larval stages by means of spliced leader differential display [J]. Int J Parasitol, 2003, 33(11): 1145-1159.
- [18] 张传山, 李朝旺, 范金亮, 等. 多房棘球绦虫原头蚴对体外培养宿主肝细胞 MAPK 信号通路影响的初步研究 [J]. 中国病原生物学杂志, 2011, 6(8): 574-577.
- [19] 纪静, 王俊华, 姜涛, 等. 泡球蚴感染对 BALB/c 小鼠肝细胞 ERK1/2 和 p38 表达变化的初步研究[J]. 地方病通报, 2009, 24(1): 10-13.
- [20] Lin RY, Wang JH, Lu XM, et al. Components of the mitogen activated protein kinase cascade are activated in hepatic cells by *Echinococcus multilocularis* metacystode [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(17): 2116-2124.
- [21] Whitmarsh AJ. Regulation of gene transcription by mitogen-activated protein kinase signaling pathways[J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773(8): 1285-1298.

(收稿日期: 2012-03-13 编辑: 杨频)

(上接第 56 页)

- 2010, 10(11): 2187-2189.
- [5] 李伟, 徐克均, 许光荣, 等. 甘孜藏族自治州棘球蚴病的流行和防控现状[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2011, 38(5): 315-317.
- [6] Thompson RC, McManus DP. Aetiology: parasites and life-cycles // Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, et al. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern [M]. Geneva: WHO/OIE, 2001: 1-5.
- [7] Jenkins DJ, Roming T, Thompson RC. Emergence/re-emergence of *Echinococcus* spp. -- a global update [J]. Int J Parasitol, 2005, 35(11-12): 1205-1219.
- [8] Craig P, Pawlowski Z. Cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis -- an emergent and global problem [M]. Ohmsha: IOS Press, 2002: 393-395.
- [9] 王立英, 伍卫平, 朱雪花. 2004-2008 年全国包虫病疫情分析 [J]. 中国人兽共患病学报, 2010, 26(7): 699-702.
- [10] 温浩, 张亚楼, Bart JM, 等. 犬体内细粒棘球绦虫和多房棘球绦虫的混合感染[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24(1): 10-13.
- [11] 张敏, 王自存, 吴向林, 等. 宁夏 2008 年包虫病网络直报病例分析[J]. 宁夏医科大学学报, 2010, 32(2): 281-282.
- [12] 姚明琴, 师茂林. 1213 例包虫病住院病例的回顾性调查分析[J]. 地方病通报, 2004, 19(4): 68-69.
- [13] 李丽, 杨炬, 吴向林, 等. 宁夏 2000-2006 年 1336 例包虫病住院病例的回顾性调查[J]. 宁夏医学院学报, 2008, 28(4): 448-449.
- [14] 耿瑞敏, 伊恒博, 刘娟. 包虫病防治措施 [J]. 新疆畜牧业, 2008, 24(1): 44-45.

(收稿日期: 2012-11-21 编辑: 杨频)