

# MAPK 信号通路与肿瘤侵袭和转移研究进展

曾 亮综述,曹 亚审校

关键词:肿瘤;转移;信号;基因

中图分类号:R73-37 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2002)05-0419-03

肿瘤侵袭和转移是多阶段、多基因参与的过程,转移相关基因的调节涉及复杂的机制及多条信号传导途径,其中胞浆蛋白激酶介导的调节逐渐被认识,常见的蛋白激酶有 MAPK、PKC、PKA、CAMK、PI-3 等,而 MAPK 通路是研究最多的激酶通路。

MAPK 是 MAPK 信号通路的枢纽,属丝氨酸/苏氨酸激酶,较为保守,其特点是它的丝氨酸/苏氨酸和酪氨酸须同时被磷酸化,才能获得全部酶活性。活化前的 MAPK 位于胞浆,一旦活化即进入核内激活靶基因。MAPK 有多个亚家族,其中较为确定的,在细胞功能中发挥重要作用的有细胞外信号调节激酶(ERK),c-Jun-N 端激酶(JNK/SAPK)以及 p38MAPK。近年来,较多研究发现 MAPK 信号通路与肿瘤恶性演进相关。本文主要就以上三种 MAPK 亚家族介导的转移相关基因表达调控的研究进展作一介绍。

## 1 MAPK 信号通路与细胞外基质降解

肿瘤细胞侵袭和转移需细胞外基质(ECM)粘附和 ECM 降解的精确协同。受体酪氨酸激酶配体诱导大量 ECM 降解酶包括 MMP-9,也同时发现 ERK、JNK、p38MAPK 在 MMP-9 基因表达中起作用。丝裂原或应激活化的 MAPK 信号通路可调节 AP-1 和 Ets 转录因子,也发现存在特异性联结蛋白,可连接 MAPK 级联反应中的激酶,这提示在特殊状态下,可能有高度特异性 MAPK 级联反应被激活<sup>[1]</sup>。

在 Ras 转化的 HaCaT 细胞株 A-5 和皮肤鳞状癌细胞(UT-SCC-7)中,TNF- $\alpha$  可活化 ERK1/2、JNK 和 p38MAPK,TGF- $\beta$  可活化两种细胞的 p38MAPK 和 A-5 中 ERK2。选择性抑制 p38 活性可阻断 TNF $\alpha$  和 TGF- $\beta$  诱导的 MMP-1、MMP-13、MMP-9 表达,ERK1/2 无影响;这表明 p38MAPK 通路在转化的鳞状上皮细胞侵袭行为中起关键作用,可能成为抑制侵袭的较特异性靶分子<sup>[2]</sup>。p38 特异性抑制因子也可极大程度抑制 PMA 诱导的 MMP-9 分泌,但对 uPA 无影响。细胞外基质金属蛋白酶诱导剂(EMMPRIN)可通过 p38MAPK 诱导肺癌旁间质

纤维母细胞 MMP-1 表达,与 ERK1/2 和 JNK/SAPK 无关。

研究显示口腔癌细胞的侵袭是通过转录因子 AP-1 依赖性机制促进 MMPs 表达的;AP-1 的活性和表达部分由 ERK1/ERK2 调节。在裸鼠体内实验中,ERK1/ERK2 活化抑制剂 PD098059-脂质体的应用使口腔癌细胞侵袭性降低,伴有 MMP-9 下调和 ERK1/ERK2 活性减弱<sup>[3]</sup>。

VoHP 等发现全反式视黄酸(All Trans RA)通过调节 MMPs 而抑制瘤细胞侵袭,在对 RA 敏感的细胞株,RA 下调 MMP-9 活性并抑制侵袭,抗 -1 抗体或 MAPK 通路抑制剂可通过抑制整合素信号传导而阻断 RA 的作用<sup>[4]</sup>;进一步的研究显示 RA 和型胶原的粘附抑制了 MAPK 通路上的效应子 ERK1,ERK-1 可使转录因子 Ets-1 磷酸化,而低磷酸化的 Ets-1 表达增加可抑制 MMP-9 的表达,即存在 RA-ERK-1-Ets-1-MMP-9 通路,这可能是 RA 调节 MMP-9 的新机制<sup>[5]</sup>。此外,在鳞状细胞癌 UM-SCC1 细胞中 uPA 表达部分由 ERK1 信号通路介导,ERK2 未参与。

## 2 MAPK 介导的肿瘤细胞粘附和运动

肿瘤细胞粘附能力异常是转移发生的重要机制。Paine 等的研究发现花生四烯酸促进人转移性乳腺癌细胞 MDA-MB-435 粘附于基底膜型胶原上,p38MAPK 在其中起调节作用。花生四烯酸可使 p38 磷酸化,p38 下游的 MAPK 活化蛋白激酶 2(MAPKAPK2)活化和 MAPKAPK2 下游的 HSP27 磷酸化;p38 抑制剂 PD169316 则可阻断花生四烯酸诱导的粘附作用,这种抑制较特异,因为 ERK1,2 和 JNK 抑制剂均不能阻断花生四烯酸诱导的粘附<sup>[12]</sup>。

结肠癌细胞株 HT29-D4 中,PKC 可激活 MAPK 通路,如果 MAPK 通路受阻则使细胞失去迁移能力;PKC 和 MAPK 抑制剂均影响生长因子诱导的 HT29-D4 运动,说明 HT29-D4 运动加强需要 PKC 诱导的整合素-配体连接反应及 MAPK 活化。HGF 对 HT29 细胞运动的调节有整合素和生长因子依赖性通路介入,且 MAPK 参与细胞间粘附和上皮细胞运动的调节<sup>[13]</sup>。受体酪氨酸激酶、整合素、胰岛素样生长因子(IGF)均可经 MAPK 通路影响细胞迁移。

MAPK 影响细胞运动的机制是使肌浆球蛋白磷

收稿日期:2001-04-10;修回日期:2002-05-28

作者单位:410078 长沙,中南大学湘雅医学院肿瘤研究所

酸化并增加肌浆球蛋白轻链激酶活性 (MLCK), 使 MLC 磷酸化, 抑制 MAPK 活性使 MLCK 功能、MLC 磷酸化及细胞运动下降, 突变型 MAPK 表达激活 MAPK, 而使 MLCK 和 MLC 磷酸化, 运动加强, 此外 ERK 磷酸化的 MLCK 对钙调蛋白的敏感性也增加。IL6 及类似物可抑制乳腺癌细胞 T47D 增殖但促进细胞运动, 也可诱导 MAPK 和 PI3K 活化, 抑制二者活性则可逆转 IL6 介导的细胞迁移; 并且 IL6 活化 MAPK 很大程度依赖于 EGF 受体活性。IL6 与 EGF 受体自分泌活性协同作用, 通过 MAPK/PI3K 来传递信号, 促进细胞迁移<sup>[14]</sup>。Giehl 等发现具有 K-Ras 突变的胰腺癌细胞株 LANC-1 中存在 Ras-Raf-MEK-MAPK 级联反应, 可诱导生长因子 EGF 介导的细胞增殖和定向性细胞迁移<sup>[15]</sup>。LisaI 发现 MMP-9 在 EGF 和 SF/HGF 诱导的迁移中起作用, 而抑制 MMP-9 活性可减弱 SCC 受体酪氨酸依赖性运动<sup>[16]</sup>。

### 3 MAPK 信号通路与肿瘤血管生成

在人头颈部鳞状细胞癌 (HNSCCs) 及其它多种肿瘤中, IL-8 和 VEGF 共同表达并促进肿瘤血管生成、生长、转移。IL8 和 VEGF 的启动子上存在 AP-1 和 NF- $\kappa$ B 的多个识别位点, AP-1 和 NF- $\kappa$ B 受到 B 激酶抑制剂 (IKK) 和 MAPK 通路的调节。IKK 抑制 NF- $\kappa$ B 活化使 IL8 表达部分受阻但 VEGF 不受影响; ERK1/2 可作为替代途径诱导 IL8 和 VEGF。MEK 抑制剂 U0126 可特异抑制基础和 TNF- $\alpha$  诱导的 ERK1/2 磷酸化和 IL8 及 VEGF 分泌, 说明 ERK 通路在 HNSCCs 的 IL8 及 VEGF 表达及 AP-1 和 NF- $\kappa$ B 的反式活化中起作用; 抑制 IL8 和 VEGF 分泌及血管生成可能需要同时阻断 MAPK 和 IKK 通路<sup>[6]</sup>。PKC 也可启动 VEGF 信号通路, PKC 抑制剂可抑制肝癌细胞 (HCC) 中 VEGF 过表达, 使肿瘤缩小, 新生血管减少以及 P44/P42MAPK 活化<sup>[7]</sup>。在鼠肝上皮细胞株 RLE 和 v-H-Ras 转化的 RLE 细胞中, ERK 通路介导 VEGF 表达上调, 而 p38 介导 VEGF 下调<sup>[8]</sup>。也有报道, EGF 诱导血管生成调节因子 bFGF 是由 MEK/ERK 和 p38 信号通路介导的。FGF 结合蛋白 (FGF-BP) 结合并激活 FGF1 和 FGF2 而诱导一些肿瘤的血管生成。PKC、MAPK/ERK1/2 (MEK1/2) 和 p38 抑制剂可完全阻断此作用, 与 JNK 无关, 说明 EGF 通过 p38 和 MEK/ERK/MAPK 途径而激活 FGF-BP 启动子上的 AP-1 和 CCAAT/增强子结合蛋白位点, 从而诱导 FGF-BP 表达<sup>[9]</sup>。抑癌基因 VHL 的突变或功能缺失常出现于散发性肾细胞癌, wt-VHL 使 PKC $\zeta$  和 delta 亚型失效而抑制 MAPK 活化, 进而阻止 VEGF/VPF 过

表达及血管生成。

恶性肿瘤中组织因子 (TF) 过表达与血管生成、预后不良等恶性行为有关; 在转移性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中, Raf-ERK 活化诱导 TF 表达, MAPK 抑制剂 PD98059 作用使 TFmRNA 水平降低<sup>[10]</sup>。

低氧状态在实体瘤中广泛存在, 它通过调节一系列基因的表达而影响肿瘤的血管生成等多种生物学行为。低氧信号传递给 c-Jun 和一些蛋白激酶, 这些蛋白激酶启动子区与 AP-1 复合物结合后激活 c-Jun 表达相关的应激诱导蛋白激酶 (SIPK), 包括 SAPK/JNK 和 p38MAPK。在人 SiHa 鳞癌细胞中, 低氧使 SAPK/JNKs 及 MAPK 磷酸酶 (MKP-1) 活化; MKP-1 在肿瘤低氧环境中作为低氧反应性基因调节 SAPK/JNKs 的活化, 即存在低氧 MKP-1 SAPK/JNKs c-JUN 下游基因通路<sup>[11]</sup>。

### 4 MAPK 信号通路与肿瘤细胞生长、增殖及凋亡

MAPK 通路在细胞生长中有正性和负性双重作用。有报道, 一些恶性肿瘤中 MAPK 呈高度活化, 并且 MAPK 的活化可能通过细胞过度增殖参与致癌过程。早期遗传学改变使 MAPK 级联反应减弱并与正常生长失调有关。MAPK 活性在结直肠癌腺瘤和癌中均下调, 但癌中 MAPK 的活性高于腺瘤, 说明 MAPK 可能参与肿瘤进展<sup>[17]</sup>。氧化应激引起的细胞膜脂质过氧化产物 HNE 可诱导细胞生长抑制, 在表皮样癌细胞 A431 中, HNE 呈剂量依赖性地引使包括 EGFR 在内的多种细胞蛋白磷酸化, EGFR 的磷酸化及激活引起联结蛋白 Shc 的磷酸化和 MAPK 活化, 说明在 EGFR/MAPK 激活与 HNE 诱导的生长抑制间存在密切联系。EGF 的促细胞增殖作用是由 MAPK 介导的, 但研究发现 EGF 可活化 Stat 后诱导 P21waf1 表达而抑制一些类型癌细胞增殖, 在不同的人膀胱癌细胞及永生化的尿道上皮细胞的研究中显示, Stat 诱导 P21waf1 和 MAPK 活性间的平衡调节 EGF 介导的膀胱癌细胞生长。EGF 和 HGF 处理 SCC 后, 抑制 Ras/MAPK 并不能显著减少细胞侵袭, 也不能完全阻断 EGF 和 HGF 引起的刺激效应, 提示 MAPK 信号是增殖的条件, 但可能不是侵袭发生的条件<sup>[18]</sup>。

IGF-1 在 HT29-D4 中的抗凋亡作用是作用于 TNF 通路而不是 Fas 通路, 并由 MAPK/p38、MAPK/ERK、NF- $\kappa$ B 介导, 这些信号分子协同抑制凋亡<sup>[19]</sup>。低剂量的皮肤癌抑制剂 Silymarin 处理可有力抑制表皮样癌细胞 A431 中 MAPK/ERK1/2 的活化, 高剂量则激活 MAPK/JNK1; 即低剂量引起抑制生长而高剂量诱导细胞凋亡; 低剂量 Silymarin 也诱导 Cip1/p21 和 Kip1/p27<sup>[20]</sup>。低氧诱导的 VEGF 也

可通过激活 MAPK/ERK 通路而抑制无血清细胞的凋亡<sup>[21]</sup>。ERK1/2 通路活化可对抗细胞凋亡,而应激诱导的 JNK/SAPK 活化可引起细胞凋亡;但在体内是否存在侵袭特异性 MAPK-AP-1/ETS 通路,是否抑制这些通路可作为特异性靶以阻止肿瘤侵袭和转移有待进一步研究。

### 5 小结

综上所述,MAPK 及其信号通路在肿瘤侵袭和转移中起中介和信号放大作用,一方面接受大量来自生长因子、丝裂原、环境刺激等的信号。另一方面,通过 MAPK 级联反应作用于核转录因子,调控基因表达,期间伴有与其它信号通路的相互作用,如整合素通路及 PKC 通路。在转移相关基因的调控中,不同 MAPK 亚家族调控作用存在复杂性,如在细胞生长增殖、凋亡和 VEGF 表达调控中,不同 MAPK 成员发挥促进或抑制作用;也由于 MAPK 信号通路与其它信号通路的相互作用还不清楚,故采用以 MAPK 为靶的治疗须慎重。

### 参考文献:

- [1] Jukka W, Veli-Matti K. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion [J]. *FASEB J*, 1999, 13: 781-792.
- [2] Johansson N, Ala-Aho R, Uitto V, et al. Expression of collagenase-3 (MMP-13) and collagenase-1 (MMP-1) by transformed keratinocytes is dependent on the activity of p38 mitogen-activated protein kinase [J]. *J Cell Sci*, 2000, 113 (pt 2): 227-235.
- [3] Simon C, Hicks MJ, Nemecek AJ, et al. PD098059, an inhibitor of ERK1 activation, attenuates the in vivo invasiveness of head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 1999, 80 (9): 1412-1419.
- [4] Vo HP, Lee MK, Crowe DL. Alpha2beta1 integrin signaling via the mitogen-activated protein kinase pathway modulates retinoic acid-dependent tumor cell invasion and transcriptional down-regulation of matrix metalloproteinase activity [J]. *Int J Oncol*, 1998, 13 (6): 1127-1134.
- [5] Tsang KJ, Crowe DL. Retinoic acid and extracellular matrix metalloproteinase expression is mediated by the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Int J Oncol*, 2001, 18 (2): 369-374.
- [6] Bancroft CC, Chen Z, Dong G, et al. Coexpression of proangiogenic factors IL-8 and VEGF by human head and neck squamous cell carcinoma involves coactivation of MEK-MAPK and IKK-NF-kappaB signaling pathways [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7 (2): 435-442.
- [7] Yoshiji H, Kuriyama S, Wakisaka DK, et al. Protein kinase C on the signaling pathway for vascular endothelial growth factor-mediated tumor development and angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 1999, 59 (17): 4413-4418.
- [8] Okajima E, Thorngersson UP. Different regulation of vascular endothelial growth factor expression by the ERK and p38 kinase pathways in v-ras, v-raf, and v-myc transformed cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 270 (1): 108-111.
- [9] Harris VK, Coticchia CM, Kang BL, et al. Induction of the angiogenic modulator fibroblast growth factor-binding protein by epidermal growth factor is mediated through both MEK/ERK and p38 signal transduction pathways [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (15): 10802-10811.
- [10] Zhou JN, Lungdash S, Shoushan MC, et al. Activating tissue factor gene expression in breast carcinoma cells by stimulation of the RAF-ERK signaling pathway [J]. *Mol Carcinog*, 1998, 21 (4): 234-243.
- [11] Keith RL, Hollenly L, Johnson M, et al. Mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1) expression is induced by low oxygen conditions found in solid tumor microenvironments [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274 (18): 12890-12897.
- [12] Paine E, Palmantier R, Akiyama SK, et al. Arachidonic acid activates mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 and mediates adhesion of human breast carcinoma cell lines to collagen type I through a p38 MAPK kinase-dependent pathway [J]. *J Biol Chem*, 2000, 274 (15): 11284-11290.
- [13] Herrera R. Modulation of the hepatocyte growth factor-induced scatterin in HT29 colon carcinoma cells. Involvement of the MAPK pathway [J]. *J Cell Sci*, 1998, 111 (pt 8): 1039-1049.
- [14] Badache A, Hynes NE. Interleukin-6 inhibits proliferation and cooperation with the epidermal growth factor receptor autocrine loop, increases migration of T47D breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61 (1): 383-391.
- [15] Giehl K, Skrzypczynski B, Mansard A, et al. Growth factor-dependent activation of the Ras-Raf-MEK-MAPK pathway in the human pancreatic carcinoma cell line PANC-1 carrying activated K-ras: implications for cell proliferation and cell migration [J]. *Oncogene*, 2000, 19 (25): 2930-2942.
- [16] Lisa J, M, Shunan L, Elizabeth V, W, et al. Sustained activation of the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274 (7): 4347-4353.
- [17] Park KS, Kim NG, Kim JJ, et al. Differential regulation of MAPK kinase cascade in human colorectal tumor genesis [J]. *Br J Cancer*, 1999, 81 (7): 1116-1121.
- [18] Tsang DK, Crowe DL. The mitogen-activated protein kinase pathway is required for proliferation but not invasion of human squamous cell carcinoma lines [J]. *Int J Oncol*, 1999, 15 (3): 519-523.
- [19] Remacle-Bonnet MM, Garrouste FL, Heller S, et al. Insulin-like growth factor-1 protects colon cancer cells from death factor-induced apoptosis by potentiating tumor necrosis factor alpha-induced mitogen-activated protein kinase and nuclear factor kappaB signaling pathways [J]. *Cancer Res*, 2000, 60 (7): 2007-2017.
- [20] Zi X, A garwal R. Modulation of mitogen-activated protein kinase activation and cell cycle regulations by the potent skin cancer preventive agent vitamin D [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 263 (2): 528-536.
- [21] Baek JH, Janjige, Kang CM, et al. Hypoxia-induced VEGF enhances tumor survival via up-regulation of serine protease-induced apoptosis [J]. *Oncogene*, 2000, 19 (40): 4621-4631.

(贺文校对)