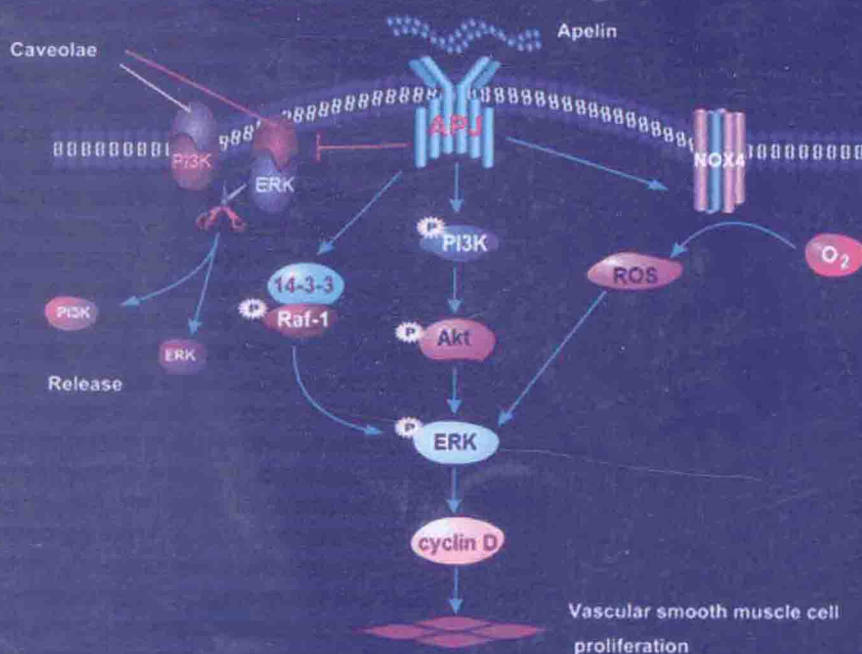


主 编 陈临溪 李兰芳 王 毅

细胞信号转导 药理与临床

Cell Signal Transduction
Pharmacology and Clinic



人民军医出版社
PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

细胞信号转导药理与临床

Cell Signal Transduction Pharmacology and Clinic

主 编 陈临溪 李兰芳 王 毅

执行主编 曾 斌

副 主 编 唐国涛 危当恒 罗迪贤 梁晓秋

编 著 者 (以姓氏拼音为序)

曹建刚	陈临溪	陈 意	戴志兵	顾 洪 丰	郭远薇
韩 单	何平平	贺冬秀	黄 浩	黄 秋 林	李 峰
李兰芳	李娜梅	李小红	梁晓秋	刘 清 南	刘晓旺
柳 威	罗迪贤	莫 靛	莫中成	欧阳新平	潘伟男
皮 卓	覃 丽	屈顺林	宋爱华	唐 国 涛	涂 剑
王 毅	王 玉	王中群	危当恒	位 冒 冒	谢远杰
杨 陈	杨 海	杨 军	杨向仪	杨 心 治	游 咏
余 加	喻翠云	袁中华	曾 斌	张 海 涛	张青海
赵子湔	钟 警	周寿红	朱 能	祖 旭 宇	



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目(CIP)数据

细胞信号转导药理与临床/陈临溪,李兰芳,王毅主编. —北京:人民军医出版社,2014. 10
ISBN 978-7-5091-7616-0

I. ①细… II. ①陈… ②李… ③王… III. ①细胞—信号—转导—应用—药理学—研究
IV. ①Q735②R96

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 222047 号

策划编辑:高玉婷 文字编辑:秦 珑 黄维佳 责任审读:黄栩兵 郁 静

出版发行:人民军医出版社

经销:新华书店

通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱

邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927290;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927270

网址:[www. pmmp. com. cn](http://www.pmmp.com.cn)

印刷:北京天宇星印刷厂 装订:京兰装订有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:21.25 字数:518 千字

版、印次:2014 年 10 月第 1 版第 1 次印刷

印数:0001—3000

定价:56.00 元



版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

内容提要



本书编者系统阐述了体内众多细胞信号转导途径的转导通路、调控方式,细胞信号转导的生理学意义,以及这些信号转导途径异常介导和参与相关疾病的发生机制,进而阐述了作用于这些细胞信号转导途径药物的相关研究,包括分子药物的结构、理化性质、药理作用、机制、临床应用、应用方法、疗效评价和不良反应。总结概括了国内外近年来的细胞信号转导分子药物研究的最新现状,提出了细胞信号转导分子药物研究未来发展方向和研究趋势。本书适合细胞信号转导和分子药理学相关领域的人员使用,也可作为研究生、医学生和临床医师研究、学习、培训的教材和参考用书。

前 言

细胞信号转导是指细胞因子通过与受体(膜受体或核受体)结合,从而引发细胞内的一系列生物化学反应及蛋白质间相互作用,直至细胞生理反应所需基因开始表达、各种生物学效应形成的过程。细胞内存在多种信号转导的方式和途径,各种方式和途径间又有多个层次的交叉与相互调控,是一个十分复杂的网络信号转导系统。细胞信号转导的异常与疾病的发生发展密切相关,研究细胞信号转导在探讨疾病的病理机制和防治各方面有着重要的意义。针对这些信号转导途径和信号分子的异常,通过激活或抑制信号转导通路,促进或抑制信号分子的表达,寻找和研发作用于细胞信号转导和信号分子的药物,在临床对于由细胞信号转导异常引发的疾病的预防和治疗有着非常重要的意义。

基于信号转导通路在整个细胞生命活动包括增殖、分化、死亡和转化等过程中的重要、甚至决定性的作用,现在已经研究并设计出大量以信号转导通路中起介导和信号传递作用的信号分子为靶标的药物,并且还在不断地研发新的药物。为系统介绍细胞信号转导与疾病的发生,以及作用于信号转导的药物研发最新研究进展,特邀请了长期从事细胞信号转导和分子药理学相关研究的专家参编本书。本书将作用于细胞信号转导的药物大体分为4大类。第Ⅰ类:以G蛋白偶联受体为靶点的药物;第Ⅱ类:以蛋白激酶为靶点的药物,如蛋白激酶B、I κ B激酶、促分裂原活化的蛋白激酶、p70S6K激酶、蛋白激酶CK2、蛋白激酶C、蛋白质酪氨酸激酶、细胞外调节蛋白激酶;第Ⅲ类:针对配基和受体的药物;第Ⅳ类:调节信号转导过程的药物,如作用于真核生物翻译起始因子(eIF)信号通路、NF- κ B信号转导、磷脂酶C、PPAR信号转导通路、Wnt信号通路、IP₃等信号转导通路的药物等。我们讨论了上述相关的细胞信号转导涉及的复杂信号网络调控,以及针对相应细胞信号转导途径的药物作用机制和应用,最后还提供了最常用的细胞信号转导研究方法和细胞信号转导学术期刊投稿目录。本书系统全面阐述了体内众多细胞信号转导途径的转导通路、调控方式,细胞信号转导的生理学意义,以及这些信号转导途径介导和参与相关疾病发生的病理机制,进而阐述了作用于这些细胞信号转导途径的药物,包括分子结构、理化性质、药理作用、机制、临床应用、应用方法、疗效评价、不良反应。总结了国内外近年来的细胞信号转导分子药物研究的最新现状,提出了细胞信号转导分子药物研究未来发展方向和研究趋势。内容全面、丰富、新颖、实用,从不同层次满足细胞信号转导和分子药理学研究及临床工作的需要。

本书能如期出版,要衷心感谢各位编著者付出的辛勤劳动及出版社的大力支持。此外,南华大学、国家自然科学基金项目(81270420,81372825,81370378)、湖南省自然科学基金省市联合(衡阳)基金重点项目(12JJ8013)、湖南省自然科学基金(14JJ3102)、湖南省十二五重点学科建设项目(药理学)对本书的出版给予了大力支持和资助,在此表示最诚挚的感谢。

如果本书对读者的学习、研究、临床应用有所启发和帮助将是对所有作者最大的鼓舞和鞭策,但受编著者水平所限,对书中的错误或不妥之处,恳请学术界前辈和同行给予批评指正。

湖南南华大学 陈临溪

2014年8月于衡阳

目 录

第 1 章 总论	1
第一节 细胞信号转导	1
第二节 细胞信号转导药物	11
第 2 章 MAPK 信号	17
第一节 概述	17
第二节 作用于 MAPK 信号转导系统的抗肿瘤药物	21
第三节 研究现状	26
第 3 章 ERK1/2 信号转导	31
第 4 章 p70S6K 信号	38
第 5 章 PI3K 信号	48
第 6 章 AKT 信号通路	55
第 7 章 PPAR 信号通路	60
第 8 章 钙信号	65
第 9 章 钙调蛋白	73
第 10 章 Wnt 家族及其信号转导通路	80
第 11 章 Notch 信号通路	85
第 12 章 NF- κ B 信号转导	96
第 13 章 14-3-3 蛋白	104
第 14 章 蛋白激酶 C	115
第 15 章 三磷酸肌醇	124
第 16 章 磷脂酶 C	130
第 17 章 磷脂酶 D	138
第 18 章 磷脂酶 A2	144
第 19 章 STAT	156
第 20 章 JAK 激酶	161

第 21 章	Rho 激酶	170
第 22 章	Ras 蛋白	180
第 23 章	蛋白质酪氨酸激酶	189
第 24 章	mTOR	205
第 25 章	Smad 蛋白	212
第 26 章	I κ B 激酶	220
第 27 章	糖原合成酶激酶 3	229
第 28 章	蛋白激酶 CK2	239
第 29 章	eIF2 信号	248
第 30 章	AMP 活化的蛋白激酶	256
第 31 章	硫化氢	271
第 32 章	一氧化氮	281
第 33 章	一氧化碳	301
第 34 章	细胞信号转导与中药	311
附录 A	细胞信号转导研究方法	319
附录 B	信号转导研究论文投稿专业杂志目录	327

第一节 细胞信号转导

一、基本概念

细胞信号转导是指细胞因子通过与受体(膜受体或核受体)结合,从而引发细胞内的一系列生物化学反应及蛋白质间相互作用,直至细胞生理反应所需基因开始表达、各种生物学效应形成的过程。Martin Rodbell 开创了细胞信号转导的研究领域,并于 1994 年和 Alfred G. Gilman 共同获得了诺贝尔医学奖和生理学奖。细胞信号转导研究涉及细胞生物学、分子生物学、生物化学、生理学、免疫学等多个学科和领域,与临床医学中的一些重大疾病和治疗密切相关。单细胞生物直接对外界环境变化做出反应。而高等生物则需要细胞间复杂的信号传递系统来传递,从而调控机体内每个细胞的新陈代谢和行为,以保证整体生命活动的正常进行。对于人体,精细调节的信号转导是正常生命活动的前提,而信号转导异常可以导致各种病理过程。细胞的各项生物学功能,如生长、发育、代谢、死亡、适应、防御等均受信号转导通路的调控。如果细胞间不能准确有效地传递信息,机体就可能出现代谢紊乱、疾病甚至死亡。人类的一些重大疾病,如肿瘤、心血管病、糖尿病及阿尔茨海默病,均与控制细胞各项生理功能的信号转导通路障碍有关。

人体细胞之间的信息传递可通过相邻细胞的直接接触来实现,但更重要的则是通过细胞分泌各种化学物质来调节自身和其他细胞的代谢和功能。这些具有调节细胞生命活动的化学物质称为信息物质。人体的信息物质和受体种类繁多,信息传递形成一个网络系统,故细胞的信息传递极其复杂。阐明细胞信号转导的调控机制不仅有助于深入认识各种疾病的发病机制,而且为临床诊断和治疗技术提供新的靶位。

二、物质基础

生物细胞所接受的信号多种多样,可以分为物理信号、化学信号和生物学信号等,如光、热、紫外线、X 线、离子、生长因子、分化因子、神经递质和激素等。细胞外小分子信息物质,诸如激素、神经递质、细胞因子及生长因子、血管活性物质等,由腺细胞等各种细胞合成和释放,被称为细胞间信息传递的“第一信使”。

受体是细胞膜上的特殊蛋白质分子,可以识别和选择性地与某些物质发生特异性结合反应,产生相应的生物效应。能与受体蛋白质结合的物质,如神经递质、调质、激素和药物等,统称为配基或配体。受体是指糖蛋白或脂蛋白构成的生物大分子,存在于细胞膜、胞质或细胞核内。不同的受体有特异的结构和构型。细胞是通过它表面的相应受体接受来自其外界环境的细胞因子和生长因子的信号从而启动了整个细胞信号转导过程。

蛋白激酶又称蛋白质磷酸化酶,是一类磷酸转移酶。其作用是把腺苷三磷酸(ATP)上的 γ -磷酸转移到底物分子的氨基酸残基上。其中主要的两类蛋白激酶是蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶(STK)和蛋白质酪氨酸激酶(PTK)。

连接蛋白在信号转导通路起着重要的桥梁作用,它们把被配体激活的受体与其下游的信号转导分子相连接,沟通整条信号转导通路。配体与受体结合后,需要通过一类叫做传达器或者转换器的调节蛋白的介导才进一步激活过程。起着转换器作用的蛋白质是与GTP结合的蛋白质(G蛋白)。第二信使是指受体被激活后在细胞内产生的介导信号转导通路的活性物质。已经发现的第二信使有许多种,其最重要的有cAMP、钙离子、肌醇磷脂、一氧化碳等。其中,肌醇磷脂主要有三类:磷脂酰肌醇(PI),磷脂酰肌醇-4-磷酸(PIP)和磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(PIP_2)。

PIP_2 的分解产物二酰甘油(DAG)可以激活依赖钙离子和(或)磷脂质的蛋白质磷酸化酶C激酶(PKC)。PKC在微量的钙离子介导下,与细胞膜的磷脂酰丝氨酸(PS)结合,形成钙离子-磷脂酰丝氨酸-酶三元复合物。DAG结合在这个复合物上就明显地增加了PKC的活性。cAMP、钙离子等细胞内的第二信使可以激活各种蛋白质磷酸化酶。它们在信号转导通路中起着非常重要的作用。细胞信号转导系统可以概括为三部分:首先,胞外信号被质膜上的特异性受体蛋白识别,受体被活化;然后通过胞内信号转导体(蛋白激酶、第二信使等)的相互作用传递信号。最后导致效应物蛋白的活化,引发细胞应答(如激活核内转录因子,调节基因表达等)。比如腺苷酸环化酶或磷脂酶C等可以起到这种作用。其次,还有起转换和协调作用的因素,比如G蛋白,它决定了GTP水解的速度,还决定了效应物的被激活时间。最后磷酸化协调着多条信号转导通路的相互关系。

三、参与细胞信号转导的因子

细胞因子(cytokine,CK)是一类能在细胞间传递信息、具有免疫调节功能的蛋白质或小分子多肽。生长因子是具有刺激细胞生长活性的细胞因子,细胞生长因子具有多种功能,对促进成纤维细胞的代谢和胶原蛋白的形成等发挥着重要功能。

(一)胰岛素样生长因子

胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor,IGF)是生长激素(growth hormone,GH)诱导靶细胞产生的一种具有促生长作用的肽类物质,其化学结构和胰岛素近似。其在动物生长发育中起重要作用,如促生长作用,促细胞增殖和抑制细胞凋亡作用及促物质代谢作用。IGF具有广泛的生物学功能,IGF系统失调会引发多种疾病。有研究表明IGF的抑制药具有显著的抗肿瘤活性,IGF可作为肿瘤治疗的良好靶点。因此,IGF可为肿瘤和各类代谢疾病的防治提供新思路。

(二)成纤维细胞生长因子家族

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)是一类具有广泛生物学活性的肽类物质。FGF在人发育的各个时期大量表达,在体内和体外均具有活性,参与血管新生、促有丝分裂、细胞分化、细胞迁移、组织创伤修复等。FGF具有很强的促细胞生长作用和广泛的生物学作用,能影响多种细胞的生长、分化及功能,如血管内皮细胞、平滑肌细胞、心肌细胞、成纤维细胞、神经元、星形胶质细胞、卵泡粒层细胞等。FGF同时也是重要的有丝分裂促进因子,是形态发生和分化的诱导因子,在正常生理和病理过程中参与生长发育和组织损伤的修复过程。

大部分 FGF 通过结合细胞表面的磷酸激酶而发挥生物学功能,FGF 可以与肝素和硫酸肝素糖蛋白(HSPG)结合,这种结合能增强 FGF 和受体的结合作用。最近人们也发现 FGF19、FGF21 和 FGF23 亚家族具有调节内分泌激素的功能,如对胆汁酸、胆固醇、葡萄糖、维生素 D 和磷酸盐起到内稳调节器的作用。

(三)类固醇生成因子-1

类固醇生成因子-1(steroidogenic factor-1,SF-1)也称 Ad4BP 或 NR5A1,是核受体超家族中的成员,是一种孤儿核受体,是研究人员 20 世纪 90 年代初在寻找与类固醇羟化酶基因启动子元件相互作用的转录因子时发现的。SF-1 在内分泌组织如肾上腺、性腺和垂体的发育及类固醇激素的生成过程中都发挥着关键作用,广泛参与各种基因如类固醇合成酶类、米勒(Müllerian)抑制性物质、黄体生成素 β 亚基等基因的表达。它在类固醇生成、脑和垂体激素调控、肾上腺肿瘤发生发展中发挥着关键作用,是肾上腺和性腺发育及功能的重要调控因子。

(四)趋化因子

1988 年 Valente 等发现第一个趋化因子单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein,MCP-1)。趋化因子是能使细胞发生趋化作用的细胞因子,是一类小分子碱性蛋白质。在肝、肾、气道等炎症疾病中起重要作用。根据其 N 端半胱氨酸残基的位置和数目可将趋化因子分为 4 个亚族:C、CC、CXC 和 CX3C。根据表达方式和在免疫系统中的作用,可以把趋化因子分为内环境稳定性趋化因子和炎症性趋化因子。趋化因子及其受体的相互作用参与细胞的生长、发育、分化、凋亡和分布等多种生理功能,并在多种病理过程中发挥重要作用,如炎症反应、病原体感染、创伤修复及肿瘤形成和转移等,在协调非特异性免疫和特异性免疫反应中起重要作用。

(五)趋化因子受体

趋化因子受体为 7 次跨膜 G 蛋白偶联受体,趋化因子通过与细胞表面的特异性受体结合发挥相应的生物学作用。趋化因子受体属 G 蛋白偶联受体,具有 7 个跨膜片断,主要表达于骨髓来源的各白细胞亚群,同时也表达于上皮细胞、血管内皮细胞、神经细胞等类型的细胞上。趋化因子受体根据其结合的配体不同也分为 4 个亚家族:C 趋化因子受体(XCR),CC 趋化因子受体(CCR),CXC 趋化因子受体(CXCR)和 CX3C 趋化因子受体(CX3CR)。主要表达于中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞表面,亦可表达于上皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞等结构细胞。通常一种趋化因子受体能与多个趋化因子相结合,而一个趋化因子可能有多个高亲和性受体,它们共同构成复杂的网络系统,在多种炎症疾病中起到重要作用。其生物学功能涉及淋巴细胞生成与归巢;抗原呈递与 T、B 细胞活化;T 细胞极化;介导炎症反应;促进血管生成等。

(六)展望

细胞因子在抗感染免疫、抗肿瘤免疫、抗排斥反应、自身免疫疾病治疗及机体造血等方面都具有重要作用。细胞因子已由原来的基础研究向应用研究发展,随着对细胞因子研究的不断深入,学者们对细胞因子的拮抗药、细胞因子的基因导入疗法、细胞因子与基因工程抗体、细胞因子基因工程药物等进行了越来越多的研究。细胞因子类药物的研发也在基因工程药物中占据显著地位,细胞因子类疫苗佐剂的研究将有可能解决目前许多疫苗不能达到有效保护的问题。因此,细胞因子佐剂有望成为一个新的技术产业,将产生不可估量的社会 and 经济效益。同时,研究细胞因子的作用、转录调控及其受体介导的信号传递方式,有助于人们通过有目的

地控制细胞因子产生或通过基因工程方法生产细胞因子相关产品。

四、G 蛋白及其偶联受体及信号转导途径

(一) G 蛋白的结构和种类

G 蛋白(G-protein/GTP binding protein)是指与膜受体偶联的异源三聚体,由 3 个亚基组成,分别是 α 亚基、 β 亚基和 γ 亚基。G 蛋白有两种构象,一种是以 $\alpha\beta\gamma$ 三聚体存在并与 GDP 结合,为非活化型;另一种构象是 α 亚基与 GTP 结合并导致 $\beta\gamma$ 亚基脱落,此为活化型。G 蛋白是一个超级家族(GTP 结合蛋白质超家族,GTP binding protein superfamily),包括异源三聚体和小 G 蛋白。异源三聚体分子量大,是受鸟嘌呤核苷酸调控的超级家族的信号转导分子;小 G 蛋白的分子量小,为单体,可能与信号转导无直接联系。不同的 G 蛋白能特异地将受体和与之相适应的效应酶偶联起来。G 蛋白有许多种,常见的有激动型 G 蛋白(stimulatory G protein, G_s),抑制型 G 蛋白(inhibitory G protein, G_i)和磷脂酶 C 型 G 蛋白(PI-PLC G protein, G_p)。

(二) G 蛋白偶联受体

G 蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)是一类重要的细胞表面受体,跨过细胞双磷脂层,并能传导各种细胞外的蛋白质超家族。一般认为 GPCR 功能是通过其单体而实现的。GPCR 存在二聚体及多聚体形式。二聚化可以扩展药理多样性,不同受体产生的异二聚体可能有着比单体更多的药理学功能;二聚化可以影响受体的活性和调控;二聚化对受体转运起着作用。GPCR 分子有结构独特的 7 个跨膜区,能被不同的外部刺激物如生长因子、血管性多肽、化学趋化剂、神经递质、激素、磷脂酶、光、气味及味觉配基等活化。GPCR 分子的内源性配基也呈多样性,有肾上腺素、生长激素和乙酰胆碱等。

(三) G 蛋白偶联的信号传导系统

G 蛋白偶联的信号传导系统由 G 蛋白偶联受体、G 蛋白和效应器(腺苷酸环化酶、磷脂酶 C、 Ca^{2+} 通道、 K^+ 通道)组成。G 蛋白偶联受体是已知 3 类涉及跨膜信号传导的膜受体之一。不同种类 G 蛋白的 α 亚基都有鸟苷酸结合区,既可与 GTP 结合,又可与 GDP 结合。与 GTP 和 GDP 的可逆结合使 G 蛋白在信号转导过程中起着分子开关的作用。G 蛋白传导由 GPCR 接收的信号,再以 G 蛋白解离亚基作为传导物,活化相应酶和离子通道,产生重要的第二信使从而引起胞内相应的生物反应。

(四) G-蛋白偶联受体激酶

G 蛋白偶联受体激酶(G-protein coupled receptor kinase, GRK)属蛋白质丝氨酸/酪氨酸激酶家族。GRK 由 7 个结构上同源序列的家族成员组成,每种 GRK 都含有共同的功能结构,包括一个中心的催化区、一个底物识别区和含有 G 蛋白信号调节蛋白(regulator of G protein signaling, RGS)样结构的氨基端区和一个作用于胞膜的羧基端区。其亚型广泛存在于各种组织。GRK 能特异地使活化的 G 蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)发生磷酸化及脱敏化,从而终止后者介导的信号转导通路。GRK 不仅能与 G 蛋白偶联,还可以对细胞内第二信使钙离子进行调节及活化。组织细胞表面存在多种 GPCR,如血小板活动因子(platelet activating factor, PAF)受体,通过与其受体属 G 蛋白偶联受体结合发挥生物学效应。

(五)展望

随着 G 蛋白及其偶联受体研究的深入和分子生物学技术的更新,人们对它的认识的广度和深度在不断发生变化。以往认为的单体模式现在已经扩展到二聚体或更高的寡聚体结构模式。不再是单一的信号模式,而是多种因素参与的复杂信号传导网络系统。虽然 G 蛋白偶联受体的结构信息还不是很多,但借助于生物信息学进行蛋白质三维结构的预测及在此基础上进行的生物功能分析,已经成为人们研究 G 蛋白偶联受体的有力工具。GPCR 的高分辨率的三维结构,信号传递给 G 蛋白的分子基础,以及 GPCR 结构和功能的关系将是 GPCR 今后研究的主要内容。G 蛋白偶联受体作为一种重要的药物靶标,参与许多生理和病理过程,如 G 蛋白偶联受体的失调可导致许多疾病,如阿尔茨海默病、帕金森病、哮喘等。G 蛋白也参与了细胞凋亡的过程,对此的深入了解将更有助于了解凋亡的实质。G 蛋白家族的庞大和复杂,对 G 蛋白的深入研究将更有利于全面了解细胞间信号传导系统,将极大地推动新医药的开发,将有助于对疾病起因的了解。

GPCR 有上千种,其所介导的信号转导广泛参与细胞的生物学反应。作用于 GPCR 的 GRK 虽然不多,但是 GRK 在生物体信号转导方面发挥着广泛、巨大作用,因此,GRK 也逐渐成为临床治疗上重要的药物靶点之一。随着 GRK 亚型对各信号通路的调控和在生理功能上的作用日渐明确,如何通过调节 GRK 介导的信号转导来有效预防和治疗心脏病、高血压、癌症等疾病将成为新的课题。

五、蛋白质酪氨酸激酶

蛋白质酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase,PTK,简称酪氨酸激酶)是细胞信号转导过程中极为重要的物质,具有多种细胞功能;酪氨酸激酶也与肿瘤的发生和发展密切相关,酪氨酸激酶的活性过高,导致其下游信号途径激活,从而导致细胞转化、增殖、对抗细胞凋亡、促进细胞生存,最终导致肿瘤的形成。

(一)蛋白质酪氨酸激酶的分类与功能

蛋白质酪氨酸激酶按其结构可分为受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase,RTK)和非受体酪氨酸激酶(nonreceptor tyrosine kinase,nRTK)。RTK 通常具有一个细胞外结构域、一个跨膜区和一个细胞内激酶域。nRTK 一般没有细胞外结构,它们通常与细胞膜偶联或存在于胞质中。nRTK 在细胞增殖、分化和死亡调控中起不同的作用,有些广泛表达,有些则只在特异组织中表达。在肿瘤组织中 nRTK 常被激活,再激活下游的信号转导途径,促进细胞增殖、抵抗细胞凋亡,促使肿瘤发生和发展。

(二)蛋白质酪氨酸激酶细胞信号转导途径

1. 受体酪氨酸激酶信号转导 细胞外配体如 EGF、VEGF、PDGF、FGF 等与受体结合,触发受体的同源或异源二聚复合物的形成,激活 RTK 使其发生自身磷酸化,从而再激活下游的信号分子。RTK 的主要信号转导是 Ras/Raf/MAPK(mitogen activated protein kinase,促分裂原活化的蛋白激酶)途径和 PI3K(phosphoinositide 3-kinase,磷脂酰肌醇-3 激酶)/AKT(protein kinase B,PKB)途径。Ras/Raf/MAPK 信号转导途径是调控细胞增殖和细胞生存过程。

2. 非受体酪氨酸激酶信号转导 非受体酪氨酸激酶家族能诱导类似 RTK 的反应,但又没有内源性催化活性。T 细胞受体、B 细胞受体、白介素-2 受体、免疫球蛋白受体、红细胞生成

素受体等能够募集 nRTK,而后通过酪氨酸磷酸化形成信号转导复合物,再激活下游的信号转导如 Ras/Raf/MAPK、PI3K/AKT、JAK(Janus kinase,JAK 激酶)/STAT(signal transducer and activator of transcription,信号传导及转录活化因子)等途径,促进细胞增殖,导致肿瘤的形成。

3. PI3K/AKT 途径 PI3K/AKT 信号转导途径涉及细胞生长、凋亡抑制、侵袭和转移过程,起着与 Ras/Raf/MAPK 途径同等重要的作用。PI3K 的持续激活可以促进慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia,CML)细胞周期进程,拮抗凋亡从而导致细胞恶性生长。PI3K 是由一个催化亚单位(P110)和一个调节亚单位(P85)构成的异二聚体,P85 亚单位包含 1 个 SH3 结构域,2 个富含脯氨酸的结构域和 2 个 SH2 结构域,P85 的 SH2 结构域可与激活蛋白质的酪氨酸磷酸化位点结合,参与信号的传递。

(三)Src 信号转导途径

1. Src 激酶家族 Src 激酶家族是具有蛋白质酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase,PTK)活性的蛋白质,包括 Sre、Lyn、Fyn、Lck、Hek、Fgr、Blk、Yes 和 Yrk 等。大多数 Src 激酶表达非常广泛。作为连接许多细胞外和细胞内重要信号途径的膜结合开关分子,Src 激酶在受体介导的信号传递及细胞间通讯中具中心调节作用。

Src 的活性是通过磷酸化与去磷酸化形式表现出来的。两种状态(抑制型和激活型)都是稳定形式,两种状态可以发生可逆性转换。Src 激酶通过复杂的分子内相互作用而处于抑制状态,在正常细胞中,Src SH2 结构域与 C 端 Tyr527 结合,后者被羧基端 Src 激酶(C-terminal Src kinase,CSK)磷酸化,使分子状态改变,将酶活性中心遮盖,从而使 Src 激酶活性处于抑制状态。

2. Src 信号转导途径 许多刺激因素都可激活内源性的 Src,如 527 位酪氨酸激酶突变或缺失、527 位酪氨酸激酶磷酸基团水解、SH2 或 SH3 结构域被高亲和性配体取代等,使 Src 转变成活性构象,被修饰定位于细胞膜,从而募集高亲和力的配体到特异性的细胞内位点,再分别激活细胞周期、介导细胞的生存。此外,Src 也可被 RTK(如 PDGFR)激活,形成 PDGF/PDGFR/Src/STAT3/c-Myc 信号途径。Src 激活后也能减弱细胞黏附力、促进迁移,有助于血管生成。所以,抑制 Src 的活性会对肿瘤生物学行为产生明显的影响,是潜在的肿瘤治疗药物靶点。

(四)JAK/STAT 信号转导通路

JAK 是英文 Janus kinase 的缩写,Janus 在罗马神话中是掌管开始和终结的两面神。之所以称为两面神激酶,是因为 JAK 既能磷酸化与其相结合的细胞因子受体,又能磷酸化多个含特定 SH2 结构域的信号分子,是一类非跨膜型的酪氨酸激酶。转录因子 STAT(signal transducer and activator of transcription)被称为“信号转导及转录激活蛋白”。STAT 在信号转导及转录激活上发挥了关键性的作用,目前已发现 STAT 家族的 6 个成员,即 STAT1-STAT6。许多细胞因子都能够激活 JAK/STAT 信号途径,如干扰素(IFN)家族、gp130 家族、yC 家族、单链家族等。细胞因子与其受体结合引起细胞质受体的构象改变,进而激活与受体关联的 JAK 激酶家族,JAK 激酶促使相应的 STAT 磷酸化而激活,激活的 STAT 从受体上游离,形成二聚体后进入细胞核,与 GAS(γ 活性位点,gamma activated site)增强子家族成员结合,从而激活转录、诱导细胞转化、调控某些与细胞增殖和存活相关基因的表达,在肿瘤的发生中起重要的作用。

(五) MET 和 RON

MET 和 RON 是受体酪氨酸激酶(RTK)的跨膜蛋白质,在调节细胞生长、分化和生存中起着基础性作用,并在肿瘤的发生发展中起重要作用。RTK 家族中 MET 原癌基因亚家族有 MET 和 RON 两个成员。RON 的配体是巨噬细胞刺激蛋白(macrophage stimulating protein, MSP),为一血清蛋白质,与肝细胞生长因子(HGF)同源。体外研究发现 RON 的激活引起上皮细胞的分化、迁移和基质的侵袭,这提示 RON 与人体内某些上皮源性肿瘤的发病有着密切关系。RON 在人体上皮细胞、粒细胞、单核巨噬细胞、巨核细胞、破骨细胞,以及扁桃体生发层、小肠、结肠、肾、肺、骨髓的细胞中均有表达。RON 激活后向胞内转导信号,调节细胞的生长、分化和生存。

(六) Eph 受体及 Ephrin 配体

1. Eph 受体及 Ephrin 配体的结构特点和分类 1987 年,从产生红细胞生成素的肝癌细胞系中克隆出一种新的酪氨酸激酶受体,命名为 Eph 受体。而促红细胞生成素产生肝细胞受体(erythropoietin-producing hepatocyte receptor, Eph 受体)激酶是众多的细胞表面型蛋白质酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTK)中的一种,其配体主要表达于细胞表面,被命名为 Ephrin。Eph 受体及其配体 Ephrin 统称为 Eph 家族蛋白,是蛋白质酪氨酸激酶家族中的最大成员。

Eph 受体与 Ephrin 配体相互作用后, Eph 受体自磷酸化从而导致细胞内正向信号产生,如诱导酪氨酸磷酸化细胞蛋白质。另一方面,由于胞质尾区羧基端具有一个 PDZ 结构域的结合基序,故细胞表达的 Ephrin B 配体可以与相邻细胞表达的 EphB 受体相互作用,从而导致细胞内反向信号的产生。

2. Eph 家族蛋白的功能 Eph 受体酪氨酸激酶及其配体 Ephrin 能够对细胞的多种功能进行调节,如轴突导向、细胞迁移、体节形成和血管生成。Eph 受体既是轴突导向的重要调节子,又能在包括血管内皮细胞和特异上皮细胞的细胞交互作用控制中发挥重要作用。

Eph 受体酪氨酸激酶家族分子与其配体 Ephrin 都是重要的神经导向因子,同时对树突棘结构也有直接的调控作用, Eph 家族蛋白能在某些细胞株上调节 Tau 蛋白的磷酸化,并且还以趋化因子的形式在成体中继续发挥着重要的功能,它们的异常可能参与了多种脑疾病的发生。Eph 受体与 Ephrin 配体对成年神经系统的可塑性、学习和记忆,以及神经损伤后的再生可能具有重要的调节作用。

(七) 蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶

蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶(protein serine/threonine kinase)是一类能使特定底物蛋白中丝氨酸或苏氨酸羟基磷酸化的酶。蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶在生物有机体中起着重要而广泛的生理作用。在胚胎发育、组织重建、细胞分化、血管形成和病原侵入等过程中都发挥着重要的作用。c-Jun 氨基端激酶(c-Jun N terminal kinase)家族,是一类蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶,参与调节细胞生长、分化、死亡等多种生命过程,与多种疾病的发生密切相关。

丝氨酸蛋白酶作为一类重要的水解酶,已经有不少种类的丝氨酸蛋白酶被应用到医药等领域。在这些研究成果的基础上,通过丝氨酸蛋白酶基因的克隆、重组、表达,以及蛋白质相互作用等方面的研究为丝氨酸蛋白酶的应用提供新的思路。

1. MAPK 信号调节通路 促分裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是脊椎动物体内广泛存在的一类蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶,其家族主要成员有

MAPKKK、MAPKK 和 MAPK 三级保守的蛋白激酶,通过三级级联反应激活下游转录因子,传递细胞外部多种类型刺激至细胞核内的信号通路,与细胞的增殖、分化、转化,炎症及凋亡等多种细胞反应,以及机体多种生理病理过程密切相关。

MAPK 的激活是一个非常复杂的过程。首先细胞膜上的特定受体,如受体酪氨酸激酶、G 蛋白偶联受体等与胞膜外的生长因子、细胞因子等相结合,引起受体二聚体化及构象的改变,胞外信号通过这种方式进行跨膜传递。信号传递至细胞质后,偶联膜受体与效应器的小 G 蛋白在信号传递过程中发挥“关卡”作用。小 G 蛋白属于鸟嘌呤核苷酸结合蛋白,为单链小分子,G 蛋白超家族的一大类。小 G 蛋白家族的成员较多,依据同源性程度的高低,将其分为 6 个亚家族:Ras、Rho、Arf、Sar、Ran 和 Rab。

Ras 亚家族的 Ras 主要在 ERK1/2 的活化中起介导作用,Rho 亚家族的 Rho 和 Rac/cdc42 主要在 JNK、p38MAPK 的活化中起介导 MAPKKK 磷酸化的作用。但不同的 MAPK 在激活时,由于 MAPKKK 上游激酶及 MAPK 下游底物的多样性变化导致细胞信号传递的复杂化。不同的 MAPK 可以被独立激活,也可以被协同激活。

2. 小 G 蛋白家族 小 G 蛋白家族是普遍存在于真核细胞中的一个 GTP 结合蛋白质家族。小 G 蛋白是真核生物中成员数量较多的一类信号转导蛋白质,家族成员超过 100 个,分别参与调控细胞的多种生命活动。由于发现的第一个小 G 蛋白是致癌基因 Ras,人们习惯把小 G 蛋白家族归属于 Ras 蛋白家族。在功能上 Ras 家族调控基因的表达,Rho 家族调控细胞骨架重组、基因表达、细胞壁合成、细胞周期进程及 MAPK 信号的转导,Rab 家族和 Sar/Arf 家族调控囊泡运输和笼形蛋白的形成,Ran 家族调控核质运输、微管形成、有丝分裂的纺锤体形成及细胞分裂后核膜的组装。

小 G 蛋白的结构呈现两种形式:与 GDP 结合的非活化态和与 GTP 结合的激活态。上游的信号刺激使 GDP 从小 G 蛋白 GDP 结合态中解离下来,这一分子过程由质膜上的鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors,GEF)参与完成,并使小 G 蛋白结合上 GTP 成为与 GTP 结合的激活态,从而完成小 G 蛋白由非活化态到激活态之间的转变。激活态的小 G 蛋白分别通过其上游的效应器结合位点、下游的一个或多个特异的效应器结合位点与多个蛋白质相互作用,来完成信号的传递。

3. Ras 家族 Ras 基因是一类在生物进化过程中非常保守的原癌基因,广泛存在于生物界,其表达的蛋白为 Ras 蛋白。Ras 蛋白能与鸟苷酸结合,Ras 蛋白与 GDP 结合的为失活型;与 GTP 结合是激活型,所以 Ras 的功能可视为分子开关,因为激活型和失活型两种构象可以来回转换。Ras 蛋白介导的信号转导,首先在 GTP 的作用下被激活,GTP 激活下游的效应蛋白,发挥生理效应,然后在 GTP 酶激活蛋白(GTPase-activating protein,GAP)的作用下恢复到失活状态的 GDP 结合型。Ras 蛋白在胞质内合成,翻译后与类脂结合并转移到质膜,定位到细胞的内表面,是细胞质内参与跨膜信号传递的主要物质,对生长刺激信号起调节作用。

细胞内 Ras-MAPK 信号通路在胚胎的发育,细胞的分化、增殖、死亡等生物学过程中具有重要的调节作用。Ras-MAPK 信号通路包括了一系列蛋白激酶的级联反应:细胞膜受体或胞内受体通过与胞内接头分子,如 Grb2(the growth factor receptor-bound protein-2),Crkl(CT 10 regulator of kinase like protein),Shc(Src homology and collagen protein),以及 P62DOK 等结合,导致 Ras 的激活。Ras 激活后可使另一分子 Raf 募集到细胞膜并与之结合,随后活化一组蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶的级联反应,即促分裂原活化的蛋白激酶(mitogen activated

protein kinase, MAPK)的激酶(MAPKK), MAPK 激酶的激酶(MAPKKK)的级联反应,最后引起细胞核内基因表达的变化而产生生物学效应,促进细胞的增殖。Ras 除通过 MAPK 途径介导核内基因表达外,还可作用于其他靶分子,如 JNK/SAPK(c-Jun N-terminal kinase/stress activated protein kinase)、Bcl-2 等而产生生物学作用。

4. 展望 目前,有关 PTK 的研究依然是抗肿瘤药物开发的热点,已上市的酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)为各类实体瘤的预防和治疗提供了新的思路,为肿瘤疾病的治疗提供了更多的选择方向。毒性反应远低于其传统细胞毒类药物,且不易产生耐药性。针对 EGFR 酪氨酸激酶小分子抑制药吉非替尼(Gefitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)被批准为用于临床晚期非小细胞肺癌的治疗,针对 Bcr-Abl 的酪氨酸激酶小分子抑制药 Gleevec 被批准用于临床慢性髓性白血病的治疗。与此同时,单靶点 PTK 抑制药抗肿瘤效果不够理想,而能够同时抑制多种 PTK 的抑制药有可能提高疗效,故多靶点 PTK 抑制药是目前抗肿瘤药物研发的新方向。

六、NF- κ B

核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是一种分布和作用均十分广泛的真核细胞转录因子,因首先发现于 B 细胞 Ig κ 轻链转录调控而得名。NF- κ B 调节多种基因的转录,特别是参与免疫反应和炎症反应的基因转录。通过调节干扰素基因的表达, NF- κ B 在抗病毒反应中也有一定作用。NF- κ B 通过调控多种基因的表达,参与免疫反应、炎症反应、细胞凋亡、肿瘤发生与转移等多种生物进程。在静息状态下, NF- κ B 在胞质内与其抑制因子 I κ B 结合形成复合物,处于非活化状态;当细胞受到各种细胞内外刺激因素的作用时, I κ B 被 I κ B 磷酸化激酶复合物(IKK)磷酸化后,与泛素蛋白结合,后经蛋白酶体降解,使得 NF- κ B 释放出来,并进一步转位到细胞核内,处于活化状态。

NF- κ B 是细胞因子在炎症反应中被激活的主要通路之一,包括 TNF、IL-1、IL-18 以及 Toll 样受体的激活。它的激活可以通过调节炎性细胞因子、黏附分子、趋化因子、生长因子、可诱导的酶类如环加氧酶 2(COX2)和可诱导的一氧化氮合酶(iNOS)的转录而在炎症中起到中心环节的作用。

非甾体消炎药水杨酸钠有可能通过激活 p38 来抑制 NF- κ B 活化,发挥抗炎作用。并且,另一种消炎药吲哚美辛也可能通过 p38 对 I- κ B 的抑制作用而促进肿瘤细胞凋亡、增强放疗效果。

七、蛋白激酶 A 和蛋白激酶 C

蛋白激酶 A(PKA)又叫 cAMP 依赖性蛋白激酶,是普遍存在于动物体内的一种蛋白激酶,由 Kerbs 等在研究糖原的代谢过程中发现的,是蛋白激酶 A,尤其是蛋白激酶 A I α (PKA I α)作为 cAMP 的主要调节分子,在癌细胞系、原发性肿瘤和增生过度的细胞中呈过度表达。cAMP 依赖性 PKA 是 cAMP 发挥作用的主要调节子。PKA 被 cAMP 活化后,在 ATP 的存在下调节细胞的物质代谢和基因表达,并影响细胞的增殖和分化。

蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)是一个多基因家族,包含多种同工酶,分布广泛且功能复杂,在许多信号转导通路中发挥重要作用。PKC 通过使底物发生丝氨酸或苏氨酸磷酸化调节底物的生物活性,进而参与不同的信号通路。磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸[phosphatidylinosi-

tol(4,5)bispophosphate, $PI(4,5)P_2$, 简称 PIP_2] 是分布在细胞膜中的磷脂类信号分子, 在细胞中的分布和含量处于动态变化中。 PIP_2 自身和许多细胞内信号物质有相互作用。 PIP_2 本身也是一种重要的第二信使, PIP_2 水解后生成 DAG 和 IP_3 , DAG 可以直接激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), 而 IP_3 通过调节细胞内钙离子的浓度从而改变钙依赖型 PKC 的活性。同时, PKC 通过激活 PIP_4K 或 PIP_5K 可以调节细胞膜 PIP_2 水平。PKC 使离子通道蛋白发生磷酸化, 改变通道蛋白与 PIP_2 的亲合力, 从而影响 PIP_2 对离子通道的调节。

同时, G 蛋白偶联受体和生长因子类受体在受到细胞外信号分子的刺激后可以激活 PLC, 水解 PIP_2 生成 DAG 和 IP_3 。DAG 可以直接激活 PKC, 而 IP_3 通过调节细胞内钙离子的浓度从而改变钙依赖型 PKC 的活性。此外, PKC 使对 PIP_2 敏感的离子通道发生磷酸化, 改变了通道蛋白与 PIP_2 的亲合力从而影响 PIP_2 对离子通道的调节。PKC 和 PIP_2 既独立参与细胞信号传导又相互影响相互调节。

八、依赖 Ca^{2+} / 钙调蛋白的蛋白激酶

(一) 钙调蛋白

钙调蛋白 (calmodulin, CaM) 是广泛存在于各种真核生物细胞中的多功能调节蛋白质, 为钙离子 (Ca^{2+}) 的受体蛋白, 对生物体内多种 Ca^{2+} 依赖的细胞功能有重要的调节作用。CaM 的外形像哑铃, 有两个相似的球形末端, 被定义为 EF 手结构, EF 手结构是 Ca^{2+} 的结合区。

CaM 与 Ca^{2+} 结合后的构型相当稳定。当细胞受到相关刺激, 胞内 Ca^{2+} 浓度升高时, Ca^{2+} 和 CaM 就会结合形成钙-钙调蛋白复合物 (Ca^{2+} -CaM), 这会引起 CaM 构型的变化, 增强了 CaM 与许多效应物结合的亲和力。

CaM 是细胞内 Ca^{2+} 信号传导途径中的主要信号转导分子, 介导调控由 Ca^{2+} 引起的一系列生理生化反应, 参与并调节细胞的增生、分化、运动等基本代谢过程。CaM 通常是以 Ca^{2+} / CaM 复合物形式参与调节细胞的各种活动。CaM 与 Ca^{2+} 可逆性结合后主要通过两条途径发挥作用, 一条途径是直接与靶酶结合, 诱导靶酶活性, 发生构象变化而调节其活性。另一条途径是通过活化依赖 Ca^{2+} / CaM 的蛋白激酶磷酸化许多靶酶, 间接影响其活性。其功能主要是调节各种酶的活性, 调节肌肉收缩和舒张, 调节神经系统功能, 参与刺激分泌偶联及调节糖代谢及参与调节前列腺素、胰岛素的合成与释放等。

(二) 依赖 Ca^{2+} / 钙调蛋白的蛋白激酶

依赖 Ca^{2+} / 钙调蛋白的蛋白激酶 (Ca^{2+} / calmodulin-dependent protein kinase, CDPK) 是在植物中首先发现的一种钙依赖型蛋白激酶, 属于蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶。各种各样的胞外刺激能够引起各种特异的钙信号, 参与这种钙信号传导过程。CDPK 在其氨基端有一个激酶活性域, 在其羧基端有一个类似 CaM 的结构区域, 在两者之间还有一个自我抑制域。当类似 CaM 的结构域上的钙离子结合位点与 Ca^{2+} 结合后, 抑制被解除。一些磷脂在信号转导中扮演着第二信使的角色, 有可能是通过 CDPK 发挥作用的。激素引起的信号反应可带来胞质钙离子浓度的改变, 而 CDPK 作为钙信号感受器发挥作用。

九、鸟苷酸环化酶

鸟苷酸环化酶 (guanylate cyclase, GC) 是把 GTP 转化为 cGMP 的蛋白酶。第二信使 cGMP 作用于信号级联反应下游元件: 蛋白激酶 G (protein kinase G, PKG)、cGMP 依赖性磷