

Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路 与细胞命运的联系

常超

细胞在接受特定的细胞外信号刺激后会产生相应的特异性生理应答。Ras/Raf/MEK/ERK 信号级联通路是一条可被广泛激活的有丝分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路, 它可将细胞外信号传递入细胞核内, 引起细胞内特异蛋白的表达谱变化, 从而影响细胞命运。

在不同情况下激活该通路可引发细胞发生特异的甚至截然相反的应答反应^[1]。最初, 关于该通路的研究大多集中在转录层面, 认为在不同条件下激活的该通路可调节不同的即刻早期基因 (immediate early genes, IEG) 的转录表达, 从而引发相应的细胞特异性应答。但近年来随着研究的逐渐深入, 人们发现几乎所有的生长因子和细胞因子都能激活同样的 IEG^[2], 并逐渐将研究关注点转移至激活该通路后所导致的蛋白翻译后调节层面。现本文就 Ras/Raf/MEK/ERK 信号级联通路对细胞生理过程影响因素的最新研究进展做一综述。

1 生物学功能

Ras/Raf/MEK/ERK 信号级联通路又称 ERK 通路, 本文中 MEK 仅指 MEK1/2, ERK 仅指 ERK1/2。该通路主要由一个三级酶联功能单位构成, 即 Raf、MEK、ERK 激酶依次被磷酸化激活。在生理状态下, ERK 是 MEK 的唯一下游底物, 表明 MEK 及 ERK 在该通路中具有重要地位, 激活后的 ERK 通过磷酸化激活一系列细胞膜表面以及细胞质、细胞核内的类似核糖体 S6 蛋白激酶 (ribosomal protein S6 kinase, RSK) 的蛋白激酶底物, 并与其共同入核的方式促进环腺苷酸应答元件结合蛋白 (cAMP responsive element binding protein, CREB) 等重要转录因子的磷酸化, 从而调节 IEG 如 *c-Fos*、*c-Myc*、*c-Jun*、*Egr1* 等基因的转录表达^[3]。

ERK 通路被激活后, 该通路中的各组分尤其是信号激活的持续时间与强度、激活前后通路各组分亚细胞定位改变、通路蛋白与支架蛋白的相互作用、与其他通路的交叉影响等因素均能参与调节 IEG 编码蛋白的稳定性^[4]、磷酸化或定位等应答反应, 从而诱导更广泛的下游蛋白表达, 在细胞生理应答的调节过程中发挥重要作用。

2 调节机制

2.1 信号激活的持续时间与强度

在不同的外界刺激作用下, ERK 通路激活的持续时间

以及强度各不相同, 并且在刺激前后该通路中各组分的细胞定位也会发生巨大改变, 这 2 点也是该通路影响细胞命运的主要决定因素。

ERK 被磷酸化激活的持续时间与细胞命运密切相关。通常持续且强度适宜的激活可通过促进蛋白质合成、细胞周期蛋白/细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin/cyclin dependent kinase, cyclin/CDK) 复合体形成^[5]以及提高蛋白质稳定性等途径促进细胞增殖。例如, ERK 通路所诱导的 cyclinD1 的表达即为细胞周期实现 G1/S 期转换的必需蛋白, 而 cyclinB/CDK1 复合体的形成则能促进细胞进入 M 期^[3]。但过度激活 ERK 通路则会阻滞细胞周期的进程, 使细胞内 cyclinD1 积聚, 过度积聚的 cyclinD1 可与细胞周期抑制蛋白 p21cip1 结合, 使 p21cip1 免受降解, 导致细胞进入静息状态^[6]。

ERK 通路对细胞周期的影响也因细胞而异, 对于不同的刺激因素, 不同的细胞其 ERK 激活强度和时间的阈值不同。例如, 对于大鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤 PC12 细胞而言, 表皮生长因子 (EGF) 可强烈而短暂地激活 ERK, 细胞表现出增殖趋势; 而神经生长因子 (NGF) 可同样强度地激活 ERK, 但其是一个持续性的过程, 细胞即表现出分化趋势, 因此通过过表达表皮生长因子受体 (EGF Receptor, EGFR), 可以人为地延长 EGF 激活 ERK 的时间, 从而达到促进 PC12 细胞分化的目的^[7]。

2.2 各组分的亚细胞定位

在刺激前后, ERK 通路中各组分 MEK、ERK、RSK 等的亚细胞定位改变也能很大程度地影响细胞命运。由于蛋白质本身的原因或者通过与其他锚定蛋白的相互作用, 该通路中各组分在没有外界刺激的情况下通常定位于细胞质; 在接受外界刺激后, MEK、ERK、RSK 与各自的锚定蛋白脱离而大量入核, 定位发生巨大改变, 它们的入核也是细胞内一些蛋白质表达及细胞周期转换的必需因素。由于 MEK 的 N 端 NES (nuclear exporting sequence) 序列以及 C 端结构域的作用, MEK 在短暂入核后即会迅速转移出核, 而 ERK 则可在细胞核内停留较长时间; 另外, MEK 还能通过与 ERK 相互作用形成复合体的形式而影响 ERK 的定位, 促使 ERK 也随之一同转移出核^[8], 从而在一定程度上

作者单位: 100850 北京, 军事医学科学院基础医学研究所

通讯作者: 常超, Email: bigantcc@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-04-22

导致细胞恢复原始状态。

2.3 通路蛋白与支架蛋白的相互作用

ERK 在细胞内可与多种蛋白相互作用,这也是 ERK 通路特异性决定细胞命运的一个重要影响因素,尤其是 ERK 与一些支架蛋白的相互作用。

与相互作用蛋白和锚定蛋白不同,支架蛋白通常可同时与通路中的几个蛋白质结合,拉近各通路蛋白的距离而使它们相互接触,因此支架蛋白也被称为信号转导系统中的“分子胶水”;另外,支架蛋白还可以通过调节通路蛋白的稳定性、定位以及使其免受去磷酸化等途径而影响该通路的下游级联反应,通过上述这些方式,支架蛋白可加速该通路的特异性激活,并参与调节通路信号的持续性和强度,以及该通路与其他通路的交叉影响等^[9]。Ras 激酶抑制因子 1(kinase suppressor of Ras, KSR1) 可称为该通路的首席支架蛋白,它与 Raf-1、MEK、ERK 均能相互作用,功能强大。虽然 KSR1 的 C 端序列貌似具有激酶的性质,但其是否具有激酶的功能还有待进一步验证^[10]。在细胞静止时, KSR1 的 S392 位点因被转化生长因子 β 激活激酶 1(TGF- β -activated kinase 1, c-TAK1) 磷酸化^[11]而与负性调节蛋白 14-3-3、蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A)、昔肌酸 (inosine monophosphate, IMP)^[12-13]结合,从而定位于细胞质。但当细胞接受外界刺激后, S392 位点发生去磷酸化,使得 KSR1 失去了与 14-3-3 结合的能力,促使 KSR1 倾向定位于细胞膜,同时引导 MEK 靠近细胞膜与激活的 Raf 结合,另外,与 14-3-3 解离还能促使 KSR1 中可与 ERK 相互作用的 FXFP 位点暴露并结合 ERK,最终促进 Raf/MEK/ERK 复合体的形成,并实现该通路的依次磷酸化^[14]。

Sef1 (similar expression to fgf genes 1) 是另一个可以调节 ERK 质核定位的蛋白质,它通常跨膜定位于高尔基体,可通过阻止 MEK/ERK 复合体的解聚使 ERK 无法入核,而只能停留在细胞质中发挥作用^[15],相反, Sef1 也可以与 Ras 相互作用而抑制该通路的激活^[16]。

2.4 与其他通路的交叉

众所周知,细胞命运受众多相互交叉通路的共同影响,它们之间或相互协作,或相互拮抗、相互制衡,从而更精准、细致地调节细胞的特异性应答。下面仅就该通路与 3-羟基磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 通路的相互交叉影响为例简述如下。

PI3K/AKT 通路是细胞内另一条重要的信号通路,在酪氨酸激酶受体或 G 蛋白偶联受体被激活后, PI3K 的调节亚基 p85 和催化亚基 p110 即依次被招募到细胞膜附近并被激活^[17],进而激活 CREB 并与 ERK 通路共同调节 CREB 的活性。此外, PI3K 抑制剂 LY294002 可使 ERK 通路诱导的 cyclinD1 表达下调,说明 PI3K 还能影响 ERK 通路的下游级联效应^[18]。PI3K/AKT 通路中被激活的 AKT 还可通过磷酸化 Raf-1 的 S259 位点 (B-Raf 的 S364、S428 位点) 而使 Raf-1 与 14-3-3 蛋白结合而失

活^[19]。星形细胞内富含的磷酸蛋白 15 (phosphoprotein enriched in astrocytes 15, PEA15) 可与 ERK 紧密结合,并利用 ERK 的出核序列将其引导出核,因此通过过表达 PEA15 即能阻止 ERK 入核,降低 ERK 通路对细胞应答的调节活性,而过度激活的 AKT 可进一步提高 PEA15 蛋白的稳定性从而大大降低 ERK 的入核概率^[20],因此,为了促使 ERK 正常入核以推动细胞周期进程,保证细胞内 AKT 活性维持在一个适当的水平至关重要。另外, PEA15 蛋白还可以作为支架蛋白增强 ERK 对 RSK2 的激活作用,进而通过 CREB 调节细胞应答^[21]。

2.5 其他调节途径

2.5.1 非蛋白途径 ERK 通路不仅能通过调节蛋白质的表达修饰影响细胞命运,还能通过调节染色体的重塑^[22]、噬啶和核糖体的合成^[23]等过程影响细胞命运。

2.5.2 自身反馈调节 ERK 通路中的许多成员都以几种不同形式的异构体存在于细胞内,每种异构体还具有多种剪切方式,这就使得该通路变得更加复杂,调节方式也更为多样。例如, Raf 有 A-Raf、B-Raf、Raf-1 共 3 种异构体,在鼠成纤维细胞 NIH-3T3 细胞中, A-Raf 或 Raf-1 的过表达可促进细胞增殖,而 B-Raf 的过表达则可使细胞抑止在 G1 期^[14]。此外, ERK 通路还可进行自身负反馈调节,例如激活的 ERK 可通过诱导 Raf-1 的过度磷酸化而使其丧失与 Ras 结合形成复合体的能力,从而阻断该通路的进展^[24]。

3 结语与展望

通过对 ERK 通路近 20 年来的研究积累,人们了解到 ERK 通路主要是通过不同时间、不同空间条件下的激活而实现其对细胞应答的调节,各种激活调节机制通常交叉、难分你我,通过相互协同作用最终影响、决定细胞命运的发展。

除此之外,由于 ERK 通路的不正常激活通常发生在多数肿瘤细胞内,因而深刻理解该通路的作用机制对于寻找一个更为有效的抑癌策略具有重要意义。例如,已进入 II 期临床试验阶段的抗肿瘤药物 MEK 抑制剂 PD184352、PD0325901 等^[25]。据此我们有理由相信,随着对细胞通路机制研究的不断深入,今后必将有更多的针对该通路的新型治疗药物不断涌现出来。

参考文献

- [1] Murphy LO, Blenis J. MAPK signal specificity: the right place at the right time. *Trends Biochem Sci*, 2006, 31(5):268-275.
- [2] Murphy LO, MacKeigan JP, Blenis J. A network of immediate early gene products propagates subtle differences in mitogen-activated protein kinase signal amplitude and duration. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(1):144-153.
- [3] Chambard JC, Lefloch R, Pouyssegur J, et al. ERK implication in cell cycle regulation. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(8):1299-1310.
- [4] Yamashita M, Shinnakasu R, Asou H, et al. Ras-ERK MAPK cascade regulates GATA3 stability and Th2 differentiation through

- ubiquitin-proteasome pathway. *J Biol Chem*, 2005, 280(33):29409-29419.
- [5] Lents NH, Keenan SM, Bellone C, et al. Stimulation of the Raf/MEK/ERK cascade is necessary and sufficient for activation and Thr-160 phosphorylation of a nuclear-targeted CDK2. *J Biol Chem*, 2002, 277(49):47469-47475.
- [6] Coleman ML, Marshall CJ, Olson MF. Ras promotes p21 (Waf1/Cip1) protein stability via a cyclin D1-imposed block in proteasome-mediated degradation. *EMBO J*, 2003, 22(9):2036-2046.
- [7] Traverse S, Seedorf K, Paterson H, et al. EGF triggers neuronal differentiation of PC12 cells that overexpress the EGF receptor. *Curr Biol*, 1994, 4(8):694-701.
- [8] Adachi M, Fukuda M, Nishida E. Nuclear export of MAP kinase (ERK) involves a MAP kinase kinase (MEK)-dependent active transport mechanism. *J Cell Biol*, 2000, 148(5):849-856.
- [9] Morrison DK, Davis RJ. Regulation of MAP kinase signaling modules by scaffold proteins in mammals. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2003, 19:91-118.
- [10] Kolesnick R, Xing HR. Inflammatory bowel disease reveals the kinase activity of KSR1. *J Clin Invest*, 2004, 114:1233-1237.
- [11] Müller J, Ory S, Copeland T, et al. C-TAK1 regulates Ras signaling by phosphorylating the MAPK scaffold, KSR1. *Mol Cell*, 2001, 8(5):983-993.
- [12] Ory S, Zhou M, Conrads TP, et al. Protein phosphatase 2A positively regulates Ras signaling by dephosphorylating KSR1 and Raf-1 on critical 14-3-3 binding sites. *Curr Biol*, 2003, 13(16):1356-1364.
- [13] Matheny SA, Chen C, Kortum RL, et al. Ras regulates assembly of mitogenic signalling complexes through the effector protein IMP. *Nature*, 2004, 427(6971):256-260.
- [14] Shaul YD, Seger R. The MEK/ERK cascade: from signaling specificity to diverse functions. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(8):1213-1226.
- [15] Torii S, Kusakabe M, Yamamoto T, et al. Sef is a spatial regulator for Ras/MAP kinase signaling. *Dev Cell*, 2004, 7(1):33-44.
- [16] Ren Y, Cheng L, Rong Z, et al. hSef co-localizes and interacts with Ras in the inhibition of Ras/MAPK signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 347(4):988-993.
- [17] Chang F, Lee JT, Navolanic PM, et al. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy. *Leukemia*, 2003, 17(3):590-603.
- [18] Sheng H, Shao J, Dubois RN. Akt/PKB activity is required for Ha-Ras-mediated transformation of intestinal epithelial cells. *J Biol Chem*, 2001, 276(17):14498-14504.
- [19] McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(8):1263-1284.
- [20] Whitehurst AW, Robinson FL, Moore MS, et al. The death effector domain protein PEA-15 prevents nuclear entry of ERK2 by inhibiting required interactions. *J Biol Chem*, 2004, 279(13):12840-12847.
- [21] Vaidyanathan H, Opoku-Ansah J, Pastorino S, et al. ERK MAP kinase is targeted to RSK2 by the phosphoprotein PEA-15. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(50):19837-19842.
- [22] Soloaga A, Thomson S, Wiggin GR, et al. MSK2 and MSK1 mediate the mitogen- and stress-induced phosphorylation of histone H3 and HMG-14. *EMBO J*, 2003, 22(11):2788-2797.
- [23] Stefanovsky VY, Langlois F, Bazett-Jones D, et al. ERK modulates DNA bending and enhancesome structure by phosphorylating HMG1-boxes 1 and 2 of the RNA polymerase I transcription factor UBF. *Biochemistry*, 2006, 45(11):3626-3634.
- [24] Dougherty MK, Müller J, Ritt DA, et al. Regulation of Raf-1 by direct feedback phosphorylation. *Mol Cell*, 2005, 17(2):215-224.
- [25] Kohno M, Pouyssegur J. Targeting the ERK signaling pathway in cancer therapy. *Ann Med*, 2006, 38(8):200-211.

· 读者来信 ·

关于“假设检验”表述的建议

编辑同志：你们好！

贵刊第3卷第3期中182页关于“本刊对来稿中统计学处理的有关要求”写得很好，尤其是关于“显著性”的问题。但最后仍然用了“显著性检验”的说法，建议用“假设检验”。

意见供参考。

致礼

复旦大学公共卫生学院 金丕焕

2008年6月26日

编辑部答复

尊敬的金丕焕老师：您好！

非常感谢您对我刊的关注与厚爱，您提出的宝贵意见我们会认真吸取，并在今后的工作中积极予以改正。再次感谢您对我们工作的支持，衷心希望得到您继续的关心、指导与支持。

此致

敬礼

《中国医药生物技术》杂志编辑部

2008年6月27日