

细胞内各种不同的生化反应途径都是由一系列不同的蛋白组成的，执行着不同的生理生化功能。各个信号通路中上游蛋白对下游蛋白活性的调节（包括激活或抑制作用）主要是通过添加或去除磷酸基团，从而改变下游蛋白的立体构象完成的。所以，构成信号通路的主要成员是蛋白激酶和磷酸酶，它们能够快速改变和恢复下游蛋白的构象。从细胞受体接收外界信号到最后做出综合性应答，不仅是一个信号转导过程，更重要的是将外界信号进行逐步放大的过程。受体蛋白将细胞外信号转变为细胞内信号，经信号级联放大、分散和调节，最终产生一系列综合性的细胞应答，包括下游基因表达的调节、细胞内酶活性的变化、细胞骨架构型和DNA合成的改变等（如图3）。这些变化并非都是由一种信号引起的，也可以通过几种信号的不同组合产生不同的反应。

原文检索：

1. <http://www.cancer.gov/cancertopics/what-is-cancer>
2. http://en.wikipedia.org/wiki/Signal_transduction

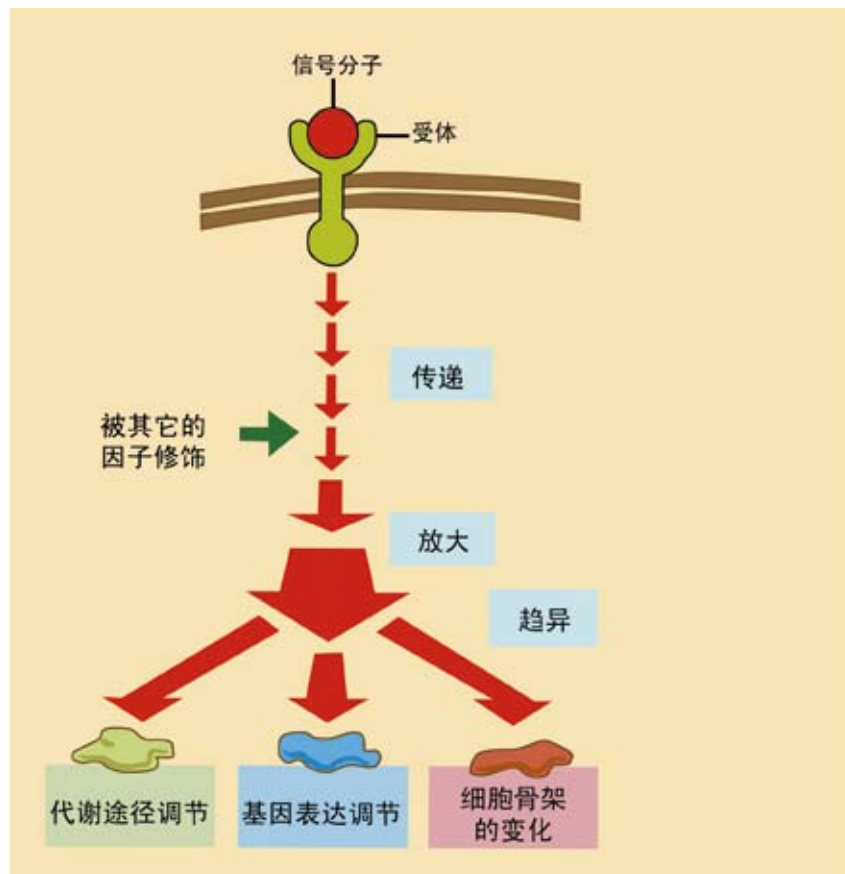


图3 信号转导与细胞应答

图片来源：Google

二 癌症发生中的关键信号通路

导读：

信号传递过程是细胞对外界刺激产生反应并最终引发特异性生物学效应的有效方式。几十年的基础研究正在逐渐阐明癌症发生、生长和转移过程中的关键信号通路，同时针对信号通路的药物筛选也令治愈癌症成为可能。2008年10月份《癌细胞》（*Cancer Cell*）杂志刊登了 Mignon L. Loh博士领导的研究小组的成果，他们以白血病JMML为研究对象，通过流式细胞仪技术在单细胞水平上发现了JAK-STAT5信号通路才是癌细胞形成和生长的关键信号。这项成果为研究癌症的形成机制带来了新的思路，而未来采用单细胞检测癌症的技术也为癌症的诊断和治疗带来契机。接下来，我们将逐一介绍包括JAK-STAT信号在内的癌症发生过程中的几大主要信号通路。

1 JAK-STAT信号通路

1) JAK与STAT蛋白

JAK-STAT信号通路是近年来发现的一条由细胞因子刺激的信号转导通路，参与细胞的增殖、分化、凋亡以及免疫调节等许多重要的生物学过程。与其它信号通路相比，这条信号通路的传递过程相对简单，它主要由三个成分组成，即酪氨酸激酶相关受体、酪氨酸激酶JAK和转录因子STAT。

① 酪氨酸激酶相关受体 (tyrosine kinase associated receptor)

许多细胞因子和生长因子通过JAK-STAT信号通路来传导信号，这包括白介素2~7 (IL-2~7)、GM-CSF (粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子)、GH (生长激素)、EGF (表皮生长因子)、PDGF (血小板衍生因子) 以及IFN (干扰素) 等等。这些细胞因子和生长因子在细胞膜上有相应的受体。这些受体的共同特点是受体本身不具有激酶活性，但胞内段具有酪氨酸激酶JAK的结合位点。受体与配体结合后，通过与之相结合的JAK的活化，来磷酸化各种靶蛋白的酪氨酸残基以实现信号从胞外到胞内的转递。

② 酪氨酸激酶JAK (Janus kinase)

很多酪氨酸激酶都是细胞膜受体，它们统称为酪氨酸激酶受体 (receptor tyrosine kinase, RTK)，而JAK却是一类非跨膜型的酪氨酸激酶。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。JAK蛋白家族共包括4个成员：JAK1、JAK2、JAK3以及Tyk2，它们在结构上有7个JAK同源结构域 (JAK homology domain, JH)，其中JH1结构域为激酶区、JH2结构域是“假”激酶区、JH6和JH7是受体结合区域 (如图4)。

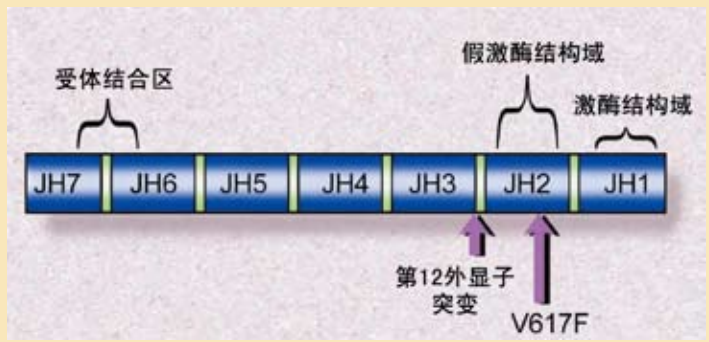


图4 酪氨酸激酶JAK的JH结构域

图片来源: Blood

③ 转录因子STAT (signal transducer and activator of transcription)

STAT被称为“信号转导子和转录激活子”。顾名思义，STAT在信号转导和转录激活上发挥了关键性的作用。目前已发现STAT家族的六个成员，即STAT1-STAT6。STAT蛋白在结构上可分为以下几个功能区段：N-端保守序列、DNA结合区、SH3结构域、SH2结构域及C-端的转录激活区。其中，序列上最保守和功能上最重要的区段是SH2结构域，它具有与酪氨酸激酶Src的SH2结构域完全相同的核心序列“GTFLRRFSS”。

2) JAK-STAT信号通路

与其它信号通路相比，JAK-STAT信号通路的传递过程相对简单。信号传递过程如下：细胞因子与相应的受体结合后引起受体分子的二聚化，这使得与受体偶联的JAK激酶相互接近并通过交互的酪氨酸磷酸化作用而活化。JAK激活后催化受体上的酪氨酸残基发生磷酸化修饰，继而这些磷酸化的酪氨酸位点与周围的氨基酸序列形成“停泊位点”（docking site），同时含有SH2结构域的STAT蛋白被招募到这个“停泊位点”。最后，激酶JAK催化结合在受体上的STAT蛋白发生磷酸化修饰，活化的STAT蛋白以二聚体的形式进入细胞核内与靶基因结合，调控基因的转录（如图5）。值得一提的是，一种JAK激酶可以参与多种细胞因子的信号转导过程，一种细胞因子的信号通路也可以激活多个JAK激酶，但细胞因子对激活的STAT分子却具有一定的选择性。例如IL-4激活STAT6，而IL-12却特异性激活STAT4。

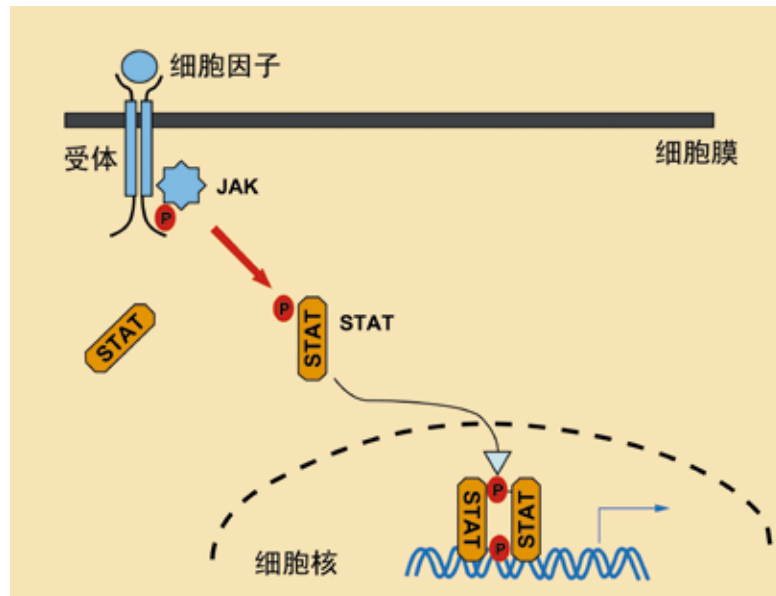


图5 经典的JAK-STAT信号通路

图片来源: Trends Cell Biol

3) JAK-STAT信号通路与白血病

JAK-STAT信号通路功能广泛，目前许多研究都集中于免疫反应与免疫调控。结合最新一期《癌细胞》（*Cancer Cell*）杂志刊登有关STAT5信号与白血病JMML的关系，下面我们将着重介绍JAK-STAT信号通路与白血病的发病机制。

白血病是造血组织的恶性疾病，又称“血癌”，是我国最常见的恶性肿瘤之一。该病居年轻人所患恶性疾病中的首位。与正常的造血细胞相比，白血病细胞表现出截然相反的生物学特性。正常造血细胞在细胞因子的作用下不断分化成熟，而白血病细胞则表现为分化过程受阻，进而无限制地增殖，这提示细胞内信号通路的异常在白血病形成中起着重要的作用。很多研究成果都表明，JAK-STAT通路的异常激活在白血病的病理机制中占据着重要的地位。

在白血病细胞中普遍存在着JAK-STAT信号通

路的持续激活，因此，STAT蛋白也就成为重点检测的指标之一。STAT分子的过量表达往往出现在很多恶性增殖性疾病中，而造血系统的肿瘤（包括白血病和淋巴瘤）中STAT家族被活化的种类最多，例如STAT1、STAT3和STAT5就是白血病中最常见的持续激活的信号蛋白。不同类型的白血病细胞可以表现为一种或多种STAT蛋白的异常激活，例如在淋巴细胞白血病和单核粒细胞白血病中，常见的是STAT5的持续激活；而骨髓系白血病细胞则以STAT3持续激活为主。

激酶JAK对整个信号通路激活起着关键作用。迄今，我们已经在人体白血病细胞中发现了很多JAK基因的点突变，其中的一些点突变造成激酶JAK持续激活STAT蛋白。最典型的例子就是JAK2 V617F突变（蛋白JAK2第617位的缬氨酸突变成苯丙氨酸）造成JAK-STAT信号通路的异常激活。曾

有一份针对白血病患者的统计结果显示，222例AML（acute myeloid leukemia，急性骨髓系白血病）患者中有4例出现JAK2 V617F突变，其中3例有MPD（myeloproliferative disorders，骨髓增生综合症）病史。另外，116例CML（chronic myeloid leukemia，慢性骨髓系白血病）患者中有9例出现JAK2 V617F突变。此外，JAK蛋白的其它突变形式也与很多白血病类型紧密相关（表2）。

表2 人JAK蛋白突变与白血病发病的相关性

JAKs	突变位点	相关疾病
果蝇Hopscotch	E695K	淋巴细胞增生性疾病
	G341E	白血病
人JAK2	V617F	骨髓增生综合症
	K539L	真性红细胞增多症（polycythemia vera）
	T875N	急性巨核细胞白血病
	第682—686位氨基酸缺失	急性淋巴细胞性白血病
人JAK3	A572V	急性巨核细胞白血病
	V722I	急性巨核细胞白血病
	P132T	急性巨核细胞白血病
人JAK1	G871E	子宫平滑肌瘤

数据来源：Trends Biochem Sci.

4) 结语与展望

尽管大量证据显示JAK-STAT信号通路的持续激活与白血病之间有着密切的关系，但白血病的产生是多个基因异常的结果，发病过程也涉及多个步骤。因此，我们需要进一步研究以探究JAK-STAT信号与白血病形成中的详细机制。另外，既然白血病的发生与JAK-STAT的活化联系密切，那么JAK和STAT等蛋白很可能是治疗白血病最好的药物靶点，针对这些蛋白设计特异性抑制剂无疑会为白血病的治疗带来新的希望。

原文检索：

1. Constantinescu SN, Girardot M, Pecquet C. Mining for JAK-STAT mutations in cancer. Trends Biochem Sci. 2008 Mar; 33(3):122-31.
2. Li WX. Canonical and non-canonical JAK-STAT signaling. Trends Cell Biol. 2008 Nov; 18(11):545-51.
3. Kalaitzidis D, Gilliland DG. Going with the flow: JAK-STAT signaling in JMML. Cancer Cell. 2008 Oct 7; 14(4): 279-280

2 p53信号

1) p53基因的发现

p53基因是迄今发现与肿瘤相关性最高的基因。1979年，Lane和Crawford在感染了SV40的小鼠细胞内分离获得一个与SV40大T抗原相互作用的蛋白，因其分子量为53 kDa，故而取名为p53（人的基因称为TP53）^[3]。起初，p53被误认为是癌基因，直到上个世纪90年代，人们才认识到引起肿瘤形成或细胞癌变的p53蛋白是p53基因的突变产物。野生型p53基因是一种重要的抑癌基因，它是细胞生长周期中的负调节因子，在细胞周期调控、DNA损伤修复、细胞分化、凋亡和衰老等许多过程中发挥了重要的生物学功能，因而被誉为“细胞卫士”（如图6）。随着研究的深入，人、猴、鸡、大鼠、非洲爪蟾和斑马鱼等多种模式动物的p53基因也相继被克隆。

其中，人类TP53基因定位于染色体17P13.1，小鼠p53基因被定位在11号染色体上，并在14号染色体上发现无功能的假基因。在这些进化程度迥异的动物中，它们的p53基因结构却异常保守，基因全长16-20kb，都由11个外显子和10个内含子组成。其中第1个外显子不编码结构域，外显子2、4、5、7、8则分别编码5个进化上高度保守的结构域，转录形成约2.5 kb的mRNA。之后，在基因同源性的基础上又陆续发现了p53家族的其它成员，分别是p73和p63，它们也因各自编码的蛋白的分子量而得名，具有和p53相似的结构和功能。

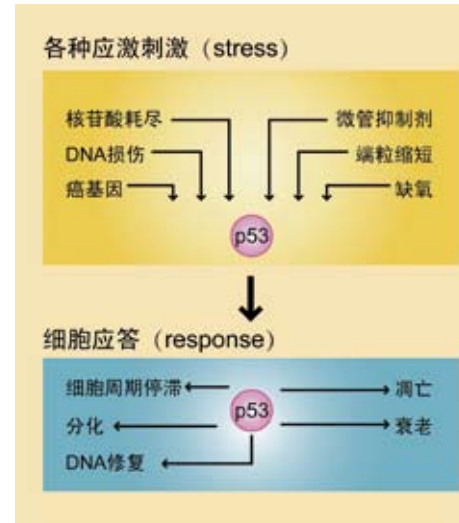


图6 p53的功能

图片来源: *Nature Reviews Cancer*

2) p53信号通路

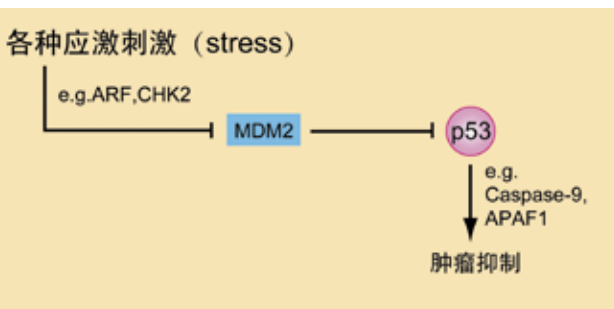


图7 正常细胞内p53的调控途径

图片来源: *Nature Reviews Cancer*

p53基因受多种信号因子的调控。例如：当细胞中的DNA损伤或细胞增殖异常时，p53基因被激活，导致细胞周期停滞并启动DNA修复机制，使损伤的DNA得以修复。然而，当DNA损伤过度而无法被修复时，作为转录因子的p53还可进一步激活下游促凋亡基因的转录，诱导细胞凋亡并杀死有DNA损伤的细胞。不然，这些DNA损伤的细胞就可能逐渐脱离正常的调控，有可能最终形成肿瘤。

虽然正常状态下p53的mRNA水平很高，而且有大量蛋白质合成，但p53蛋白容易降解，所以正常细胞内p53蛋白水平很低。蛋白的泛素化（ubiquitination）修

饰是细胞内蛋白代谢过程中的最普遍的降解方式，p53蛋白的降解也是通过泛素化来实现的。MDM2是一种特异性针对p53的泛素化E3连接酶，它可直接与p53蛋白结合来促进p53蛋白的泛素化降解，并在细胞内p53蛋白动态平衡中发挥关键的作用。MDM2本身也可被p53蛋白激活，因此MDM2是p53通路中重要的负反馈调节因子（negative feedback regulator）（如图7）。

3) p53与肿瘤

*p53*基因敲除小鼠虽然可以产生后代，但其生长发育过程中会出现高频率的自发性肿瘤，这提示*p53*蛋白与肿瘤之间存在密切的关系。事实上，目前*TP53*基因是与人类肿瘤的相关性最高的基因，与50%以上的人类恶性肿瘤有关，而且现正已在超过51种人类肿瘤病例中发现*TP53*基因的异常表达和功能失活。*TP53*基因突变是其功能失活的主要原因，至今已发现400多种*TP53*基因突变类型，其中147种与胃肠道肿瘤有关，而最常见的突变方式是点突变。通过分析大量肿瘤病例中的*TP53*突变位点，证实肿瘤中95.1%的*p53*点突变位点发生在高度保守的DNA结合区，尤以第175、245、248、249、273和282位点的突变率最高（如图8）。此外，某些点突变改变了*p53*的空间构象，影响了*p53*蛋白与MDM2和p300等蛋白的相互作用。另一些点突变发生在*p53*的核定位信号区，使*p53*无法进入细胞核发挥转录激活的功能。不同肿瘤的*TP53*基因突变位点并不一致，例如：结肠癌中G:C→A:T转换占到79%；在乳腺癌中，G→T颠换占到1/4，而这种突变在结肠癌十分少见；淋巴瘤和白血病的*TP53*基因突变方式与结肠癌相似；在肺癌中G:C→T:A突变最普遍，而食道癌中发生G→T颠换的频率很高。

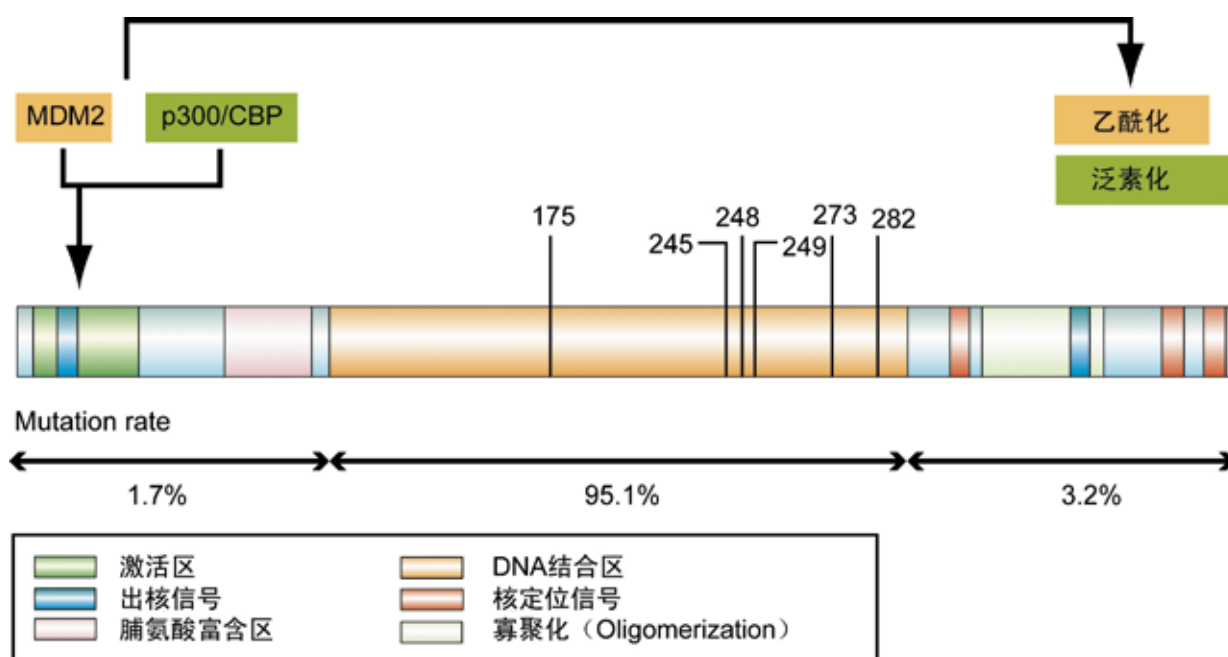


图8 *p53*蛋白的结构和与肿瘤相关的点突变位点

图片来源: *Nature Reviews Cancer*

目前看来，在肿瘤形成的复杂网络和调控体系中，*p53*是最主要的因素。有人认为*p53*是很好的肿瘤诊断标志物，可以作为癌症早期诊断的重要指标。认识到*p53*基因的重要作用后，全世界数以千计的分子生物学家正在抛开原来的课题转而研究*p53*，希望以此作为攻克癌症的突破口。科学家相信，利用*p53*基因发现并治疗癌症的前景非常广阔。除了基因治疗，研究人员正在筛选可以影响*p53*基因上下游调控的小分子化合物。罗氏制药公司开发的一种名为*nutlins*的小分子化合物，能够干扰*p53*和MDM2之间的调控关系，有望成为一种有效的抗癌药物。

原文检索:

1. Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to *p53*. *Nature Reviews Cancer*. 2002 Aug; 2(8): 594-604.

3 NF- κ B信号

1975年, E. A. Carswell和L. J. Old等人发现已接种卡介苗的小鼠注射脂多糖后, 小鼠血清中产生了一种可引起动物肿瘤组织出血坏死的物质, 该物质对体外培养的多种肿瘤细胞株都具有细胞杀伤作用, 于是他们将这种物质命名为肿瘤坏死因子 (tumour necrosis factor, TNF)^[5]。TNF是迄今发现的抗肿瘤效果最强的细胞因子。1984年起, 欧美国家就开始把TNF的基因工程产品应用到癌症临床治疗中, 并一度取得轰动的成果, 然而最终由于毒副作用严重而被迫终止。九十年代末以来, 随着基础研究的深入和基因工程技术的发展, 科学家研制出一些高效、低毒的TNF变构体, 从而重新确立了TNF在抗肿瘤中的重要地位, 掀开了TNF在肿瘤研究和治疗中的新篇章。

1) TNF简介

TNF是一种糖蛋白, 它以两种形式存在: TNF- α 和TNF- β 。TNF- α 由单核细胞和巨噬细胞产生, 它可引起肿瘤组织出血坏死, 而脂多糖 (Lipopolysaccharides, LPS) 是较强的刺激剂。TNF- β 是一种淋巴因子, 又称淋巴毒素 (lymphotoxin, LT)。抗原或丝裂原均可刺激T淋巴细胞分泌TNF- β , 具有肿瘤杀伤及免疫调节功能。

人的TNF- α 基因长2.76 kb, 由4个外显子和3个内含子组成, 定位在第六号染色体上。人TNF- α 前体由233个氨基酸组成, 含有76个氨基酸残基的信号肽, 切除信号肽后形成157个氨基酸的成熟型非糖基化的TNF- α 。通过基因工程方法改造后的TNF- α 具有更好的生物学活性和抗肿瘤效果。

2) TNF与NF- κ B信号通路

TNF- α 与TNF- β 分子结构相似, 所发挥的生物学效应相近。胞外因子TNF- α 以三聚体形式发挥信号转导功能, 与TNF受体 (TNF receptor, TNFR) 结合引起受体多聚化, 这种多聚化使得TNF受体与细胞质中TRADD分子发生相互作用。TRADD招募相应蛋白后介导两条转导通路: 一条是通过TRAF2和RIP分子诱导NF- κ B的活化, 参与抗凋亡; 另一条是通过FADD分子导致细胞凋亡。TNFR只有在蛋白合成受阻的情况下才会诱导凋亡, 下面我们将着重介绍由TNF激活的NF- κ B信号通路。

NF- κ B (nuclear factor-kappa B) 是1986年从B淋巴细胞的细胞核抽提物中找到的转录因子^[6], 它能与免疫球蛋白kappa轻链基因的增强子B序列GGGACTTTCC特异性结合, 促进 κ 轻链基因表达, 故而得名。它是真核细胞转录因子Rel家族成员之一, 广泛存在于各种哺乳动物细胞中。迄今为止, 在哺乳动物细胞内共发现5种NF- κ B/Rel家族成员, 它们分别是RelA (即p65)、RelB、C-Rel、

p50/NF- κ B1 (即p50/RelA) 和p52/NF- κ B2。这些成员均有一个约300个氨基酸的Rel同源结构域 (Rel homology domain, RHD)。这个高度保守的结构域介导Rel蛋白形成同源或异源二聚体, 该结构域也是NF- κ B与靶基因DNA序列的特异性结合区域。

细胞内NF- κ B的活化过程受到精细调控。通常情况下, 在细胞质中的NF- κ B处于失活状态, 与抑制蛋白I κ B (inhibitory protein of NF- κ B) 结合成三聚体复合物。当出现TNF- α 信号、炎症因子以及LPS、紫外线等外界刺激时, 细胞因子与细胞膜表面的TNF受体结合后, TNF受体发生多聚化并与细胞质中TRADD分子发生相互作用。TRADD招募TRAF (TNFR-associated factor) 和激酶RIP (receptor interacting protein), 由RIP将信号传递给IKK (I κ B kinase)。在NF- κ B信号通路中IKK扮演了非常重要的角色, 尽管上游信号路径的不同, 但是最终都汇集到IKK。IKK由 α 、 β 和 γ 三个亚基组成, 作为激酶的IKK能使I κ B的 α 亚基的

Ser32和Ser36残基和β亚基的Ser19和Ser23残基磷酸化。IκB随即从p50/p65/IκB异源三聚体中解离出来，经泛素化修饰后通过蛋白酶体降解。于是，受到IκB抑制的NF-κB得以暴露其核定位序列（nuclear localization signals, NLS），迅速从细胞质进入细胞核内，与核内DNA上的特异序列相结合，从而启动或增强相关基因的转录（如图9）。

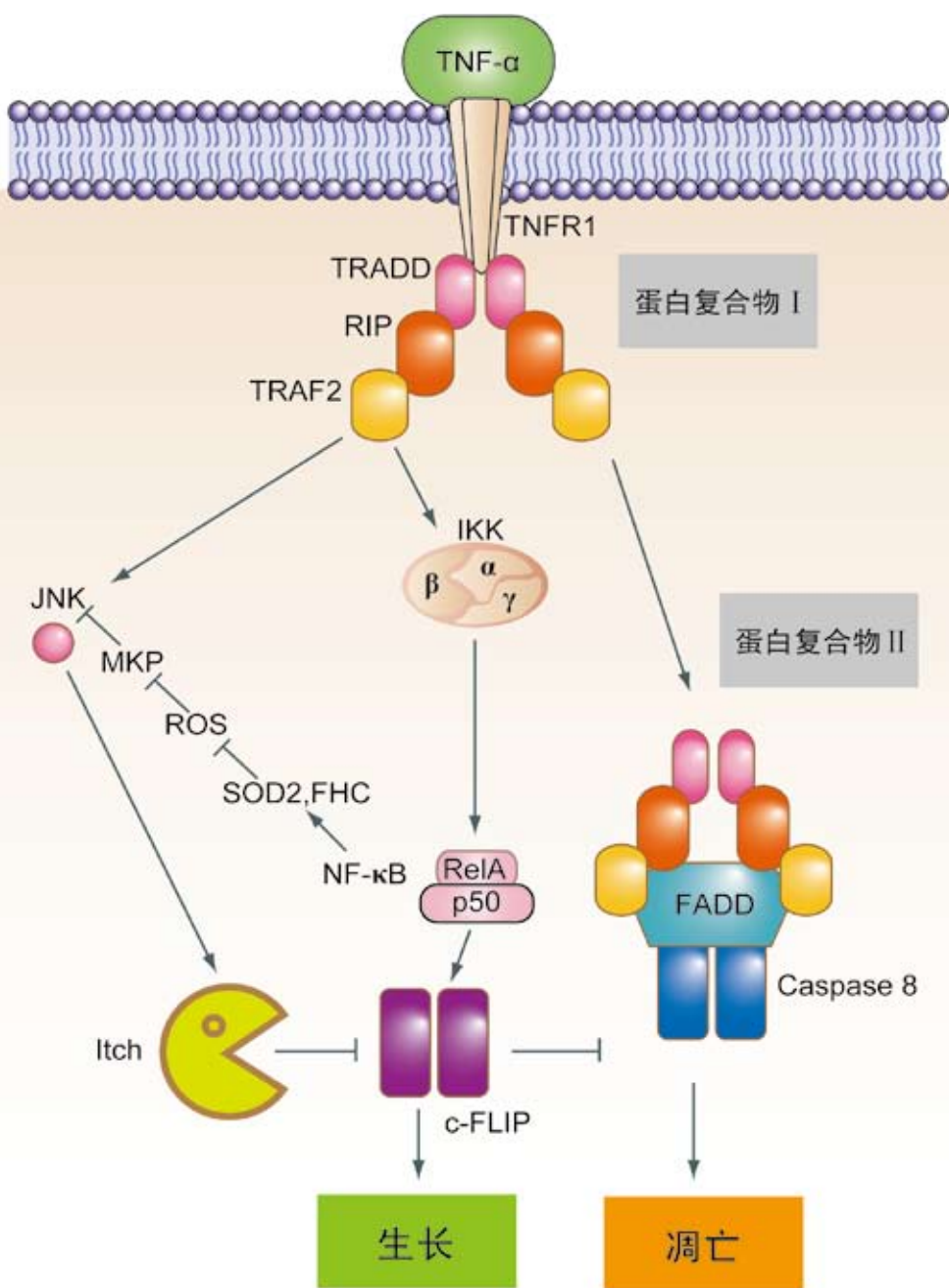


图9 TNF-α 介导的信号通路
图片来源: Nature

3) NF-κB信号通路与癌症

NF-κB具有明显的抑制细胞凋亡的功能，与肿瘤的发生、生长和转移等多个过程密切相关。在人类肿瘤尤其是淋巴系统的恶性肿瘤中，常可发现NF-κB家族基因的突变。NF-κB家族与癌症相关性的第一个线索是*c-Rel*基因的发现，它是禽类逆转录病毒癌基因*v-Rel*在细胞内的同源基因。该病毒在鸡体中造成多种造血细

胞恶性转化，引起淋巴瘤的发生。由于NF- κ B的下游基因包括*CyclinD1*和*c-Myc*，因此NF- κ B的持续激活会刺激细胞生长，导致细胞增殖失控。NF- κ B在很多癌细胞中表达异常，如在75%的乳腺癌样品中NF- κ B2的表达比邻近的正常组织高很多倍。肿瘤细胞迁移并浸润到周围组织是肿瘤扩散和转移的前提条件。NF- κ B对肿瘤转移具有明显的促进作用，它能促进肿瘤转移相关基因*ICAM-1*、*VCAM-1*、*MMP-9*等的表达。NF- κ B还能诱导血管内皮生长因子VEGF的表达，促进血管形成。此外，NF- κ B还能通过调节*COX2*等基因的表达来促进肿瘤生长。

NF- κ B与肿瘤治疗息息相关。IFN- α 、IFN- β 、TNF- α 、IL-2、G-CSF、GM-CSF和EPO是迄今为止被批准用于临床肿瘤治疗的几种细胞因子，其中前6种生长因子已被证实与NF- κ B的信号通路有关。目前，国内外主要以NF- κ B为靶点，使用抗氧化剂抑制NF- κ B活性以及针对p65和p50设计小分子干扰RNA (siRNA) 抑制NF- κ B合成等方法作为癌

症的治疗策略，而且在动物实验及细胞培养中取得不同程度的疗效，但是离临床应用还有很大距离。由于TNF- α 具有很好的抗肿瘤作用和多种免疫调节功能，许多国家开展了用TNF治疗癌症的临床研究。动物实验和临床实验均表明，TNF- α 对某些肿瘤具有明显的抑制作用，但是由于不能很好地区分癌细胞和正常细胞，使用TNF- α 后副作用较大，这为其大规模临床应用造成困难。应用基因工程改造得到低毒高效的TNF- α 变构体，对某些肿瘤的治疗效果尤佳。将TNF- α 与其它具有肿瘤抑制作用的细胞因子，如IL-2、IFN- γ 等联合使用，既可减少用药量、降低毒副作用，又可提高疗效，因而有望更快地大量应用于临床。

原文检索:

1. Karin M. Nuclear factor- κ B in cancer development and progression. *Nature*. 2006 May 25; 441(7092): 431-436

4 Ras、PI(3)K和mTOR信号

1) 控制肿瘤生长的Ras、PI(3)K和mTOR信号

随着人类基因组测序的完成，目前已发现了几百种蛋白激酶。根据它们结构上的相似性，这些激酶可分为多个蛋白家族，在细胞的增殖、生长、分化和凋亡等过程中发挥重要的生物学功能。Ras、PI(3)K和mTOR就是一类与细胞增殖紧密相关的蛋白激酶。

真核细胞的正常生长受到周围环境所提供的养分的限制。Ras和PI(3)K信号通过调控下游分子mTOR，在调控细胞生长方面起着关键作用。在绝大多数的人肿瘤细胞中，Ras和PI(3)K信号通路中的关键调控因子都发生了明显的突变。究其原因，人们发现这条信号通路如果发生突变，就会导致细胞的存活和生长不再受到养分等环境条件的限制，进而诱导细胞癌变。

Ras、PI(3)K和mTOR是目前研究得最为清楚的信号通路之一。下面，我们将简单地介绍一下这条信号通路中的几个关键组分：

① PI(3)K是英文phosphatidylinositol-3-kinase (磷脂酰肌醇-3-激酶)的缩写。包括许多脂质激酶家族，由一个调节亚基(p85)和一个催化亚基(p110)组成。当配体与膜受体结合后，受体激活p85并招募p110，进而催化膜内表面的PIP2 (phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate)生成PI3P (phosphatidylinositol 3-phosphate)。PI3P作为第二信使，进一步激活AKT和PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase 1)。

② AKT又称作PKB (protein kinase B)，是PI3K重要的下游分子，包括至少3种形式，分别为AKT1、AKT2和AKT3。它们对于调控细胞的生长、增殖、存活以及糖代谢都起着十分重要的作用。

③ mTOR (mammalian target of rapamycin) 是一类丝/苏氨酸激酶。1991年,人们在酵母中发现了雷帕霉素 (rapamycin) 的作用靶点,取名为TOR^[7]。与酵母相比,哺乳动物的TOR蛋白在进化和功能上高度保守,也就相应地称为mTOR^[8]。mTOR蛋白的C末端具有激酶活性,它是细胞生长和增殖的关键调节分子,可接收生长因子、营养、能量等多种信号,并通过PI3K/AKT或Ras/ERK信号通路来发挥作用,而对mTOR信号通路的抑制可以使细胞停滞在G1期而触发细胞凋亡。

简单地说,当EGF、胰岛素等生长因子结合到细胞膜表面的酪氨酸激酶受体 (receptor tyrosine kinase, RTK) 后,RTK通过其酪氨酸激酶活性分别激活两个关键的信号转导分子:小G蛋白Ras和激酶PI(3)K,再由Ras和PI(3)K共同激活下游关键分子mTOR (如图10)。激活后的mTOR蛋白促使底物S6K (S6 kinase) 和4EBP1 (4E binding protein 1) 发生磷酸化。由于这两个底物都是蛋白翻译过程中关键性的调节因子,它们的磷酸化导致核糖体蛋白合成的起始和增加。此外,胞外营养物质氨基酸、ATP等也能调控mTOR的激酶活性。于是,mTOR蛋白整合生长因子和环境养分两种信号,通过严格调控细胞有丝分裂和代谢响应不同的环境条件,保证细胞只在有利的环境下增殖。

值得注意的是,一些肿瘤抑制因子,如TSC1、TSC2和LKB1在营养匮乏的条件下减弱了mTOR信号通路的强度。相应地,TSC1、TSC2或者LKB1的失活突变,就会导致相似的癌症症状,并具有共同的临床表现。因此,这条确保细胞在环境适宜条件下发生增殖的信号通路,在被癌细胞利用后就可以使癌细胞在养料匮乏的条件下存活并生长。

在筛选激酶抑制剂的过程中,人们设计了一系列针对mTOR、PI(3)K、RTKs和Raf等激酶的药物。在癌症的分子机理研究中,尽管这条信号通路研究得最透彻,但这些激酶在细胞和生物体内的生理功能远比我们想象的要复杂。

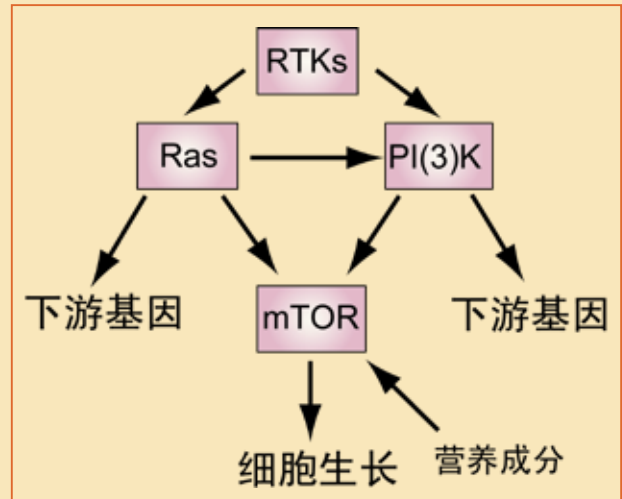


图10 Ras、PI(3)K和mTOR信号与细胞生长
图片来源: Nature

2) Ras-Raf通路 with 癌症

1982年,美国科学家R.A. Weinberg等人从膀胱癌细胞中克隆得到第一个人类癌基因,由于它和之前发现的鼠肉瘤病毒基因c-ras高度同源,故而被命名为ras基因 (rat sarcoma)^[9]。ras基因在进化中高度保守,广泛存在于各种真核生物细胞中。哺乳动物的Ras蛋白家族有三个成员,分别是H-ras、K-ras和N-ras。由于Ras蛋白的相对分子量是21 kDa,故又被称为p21。Ras蛋白定位于细胞膜内侧,为GTP/GDP结合蛋白,通过GTP与GDP的相

互转化来调节信号通路的传递;之后,人们又发现了Ras的直接效应因子Raf-1^[10],这就将Ras和ERK/MAPK信号通路联系起来。在高等生物中,Raf丝/苏氨酸激酶家族由三个成员组成,分别为A-raf、B-raf和C-raf (也称Raf-1)。

随着研究的深入,Ras信号通路构成一个复杂的网络。简单地说,被生长因子激活的酪氨酸激酶受体RTKs以直接或间接的方式结合GRB2 (growth factor receptor-bound protein 2)。GRB2与受体

RTK结合后招募鸟苷酸交换因子SOS蛋白定位在与Ras相邻的细胞膜上。这样，SOS与Ras形成复合体后，GTP取代GDP与Ras结合，Ras被激活；而当GTP被水解成GDP后，Ras失活。Ras蛋白被激活后，产生一系列级联放大反应。首先，它招募细胞浆内的Raf1蛋白至细胞膜上。之后，Raf激酶磷酸化MAPK激酶（MAPKK，又称MEK），再由MEK激活ERK1/2（extracellular signal regulated kinase，又称MAPK）。ERK被激活后，转至细胞核内并直接激活转录因子，产生相应的生物学效应（如图11）。需要特别指出的是，Raf的激活并不完全依赖于Ras，ERK也能被除Ras之外的其它蛋白激活。这表明信号通路级联反应中的每一个信号蛋白都可能被多个上游蛋白所控制，而它们也可以有多个下游的靶蛋白，从而形成一个极其复杂的网络调控结构。

随着信号通路研究的拓展，人们开始研究Ras信号致癌的机理。在超过60%的人类恶性黑色素瘤中，都发现了B-raf的激活突变，这种突变还存在于一些直肠癌以及甲状腺和肺部的肿瘤中。B-raf突变后，在某些情况下与C-raf形成异源二聚体，随后持续地激活下游的ERK信号，并最终激活蛋白激酶mTOR（如图11）。肿瘤细胞中也存在不涉及Ras本身的突变而又持续激活Ras的情况。NF1基因是最早被发现的肿瘤抑制基因之一，它是一个GAP蛋白（GTPase-activating protein）。NF1基因缺失突变后，由于GTP水解的减少而导致GTP结合形式的Ras蛋白的积累，从而提高Ras的活性。除此之外，降低miRNA *let-7*的表达使靶基因Ras mRNA增加，也能提高Ras的活性。这里所提到的这些蛋白成分都是未来很好的药物靶点分子。

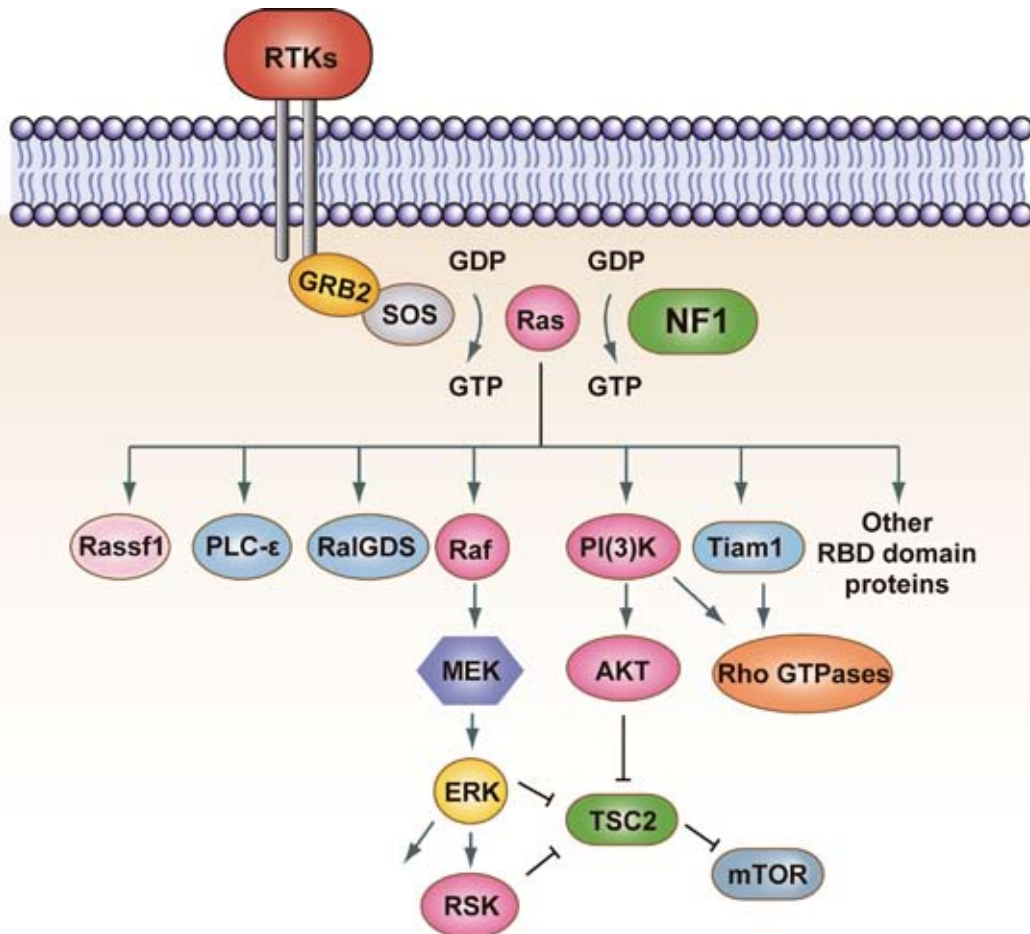


图11 Ras信号通路

图片来源: Nature

3) Ras-PI(3)K信号通路与癌症

早在20年前，PI(3)K信号就被视为一条与病毒癌基因密切相关的信号通路。最近5年，人们发现在所有的散发性肿瘤中这条信号通路最常见。在淋巴瘤、卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌、肾癌、肺癌、前列腺癌以及其它癌症中这条通路都具异常性。PI(3)K信号通路可以通过激活RTK和Ras，进而活化下游的靶蛋白mTOR。需要指出的是，丝/苏氨酸蛋白激酶AKT家族的很多成员都是PI(3)K信号通路在癌症中的重要靶点，例如在10%~20%的胰腺癌、40%的肝癌和50%的结肠癌中都可以检测到AKT2基因的大量表达，这是PI(3)K信号通路在癌细胞中异常激活的有力证据。在一些原发性结肠癌和卵巢癌中也检测到PI(3)K调控亚基p85 α 的突变。这条通路中另一个关键的调节因子是PTEN (phosphatase and tensin homolog)，作为重要的肿瘤抑制基因，它的突变将会导致第二信使PIP3的大量积累，过度激活下游的mTOR通路而使细胞发生癌变。

4) 结语

Ras-Raf和Ras-PI(3)K以及其所激活的mTOR信号通路涉及了多个癌基因和抑癌基因的激活和失活，与肿瘤的发生密切相关，日益成为肿瘤研究的热点。这些基础研究将为癌症的治疗提供更多的方案。在过去的几年中，激酶mTOR的三种抑制剂，分别是雷帕霉素的类似物everolimus、deforolimus和前体temsirolimus已经进入临床试验阶段。随着这些研究的深入，我们相信会有更多的针对这些信号通路中的分子药物被筛选出来，为最终诊治癌症提供良方。

原文检索：

1. Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. Nature. 2006 May 25; 441(7092): 424-430.

5 Wnt信号

Wnt信号通路广泛存在于无脊椎动物和脊椎动物中，是一类在物种进化过程中高度保守的信号通路。Wnt信号在动物胚胎的早期发育、器官形成、组织再生和其它生理过程中，具有至关重要的作用。如果这条信号通路中的关键蛋白发生突变，导致信号异常活化，就可能诱导癌症的发生。1982年，R. Nusse和H.E. Varmus在小鼠乳腺癌细胞中克隆得到第一个Wnt基因，最初它被命名为Int1 (integration 1)^[1]。后来的研究发现小鼠Int基因与果蝇的无翅基因wg (wingless) 为同源基因，因而将两者合称为Wnt。H.E. Varmus 本人也因他在癌症研究中的杰出贡献而获得1989年的诺贝尔生理学奖。

1) Wnt信号通路

Wnt是一类分泌型糖蛋白，通过自分泌或旁分泌发挥作用。Wnt信号通路的主要成分包括：分泌蛋白Wnt家族、跨膜受体Frizzled家族、CK1、Dishevelled、GSK3、APC、Axin、 β -Catenin、以及转录因子TCF/LEF家族。

Wnt信号通路是一个复杂的调控网络，目前认为它包括三个分支：经典Wnt信号通路，通过 β -Catenin激活基因转录；Wnt/PCP通路 (planar cell polarity pathway)，通过小G蛋白激活JNK (c-Jun N-terminal kinase) 来调控细胞骨架重排；Wnt/Ca²⁺通路，通过释放胞内Ca²⁺来影响细胞粘连和相关基因表达。

一般提到Wnt信号通路主要指的是由 β -Catenin介导的经典Wnt信号通路。下面我们将简单介绍一下经典Wnt信号通路的主要成分：

① Frizzled (Fzd或Frz)

分泌型糖蛋白Wnt的细胞膜上受体，为7次跨膜蛋白，结构类似于G蛋白偶联型受体。FZD胞外的N端有一个富含半胱氨酸的结构域 (cysteine rich domain, CRD)，能与Wnt结合。

② Dishevelled (Dsh或Dvl)

Dsh蛋白在细胞质中接受上游信号，通过抑制APC、Axin以及GSK3 β 等蛋白形成的复合物的功能，稳定细胞质中游离状态的 β -Catenin蛋白。细胞质中积累的 β -Catenin蛋白进入细胞核与TCF/LEF家族的转录因子结合，从而开启了下游靶基因的转录。

③ GSK3 β

是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。在没有Wnt信号时，GSK3 β 能将磷酸基团加到 β -Catenin N端的丝氨酸/苏氨酸残基上，磷酸化的 β -Catenin经 β -TRCP泛素化共价修饰后，被蛋白酶体 (proteasome) 降解。

④ CK1 (casein kinase 1, 酪蛋白激酶1)

能将 β -Catenin的Ser45位点磷酸化，随后GSK3 β 将 β -Catenin的Thr41、Ser37、Ser33位点磷酸化。

⑤ Axin

是一种支架蛋白，具有多个与其它蛋白作用的位点，能与APC、GSK3 β 、CK1等形成 β -Catenin降解复合物。此外它还与Dishevelled、PP2A (protein phosphatase 2A) 等wnt信号的其它组分相互作用。

⑥ TCF/LEF

是一类具有双向调节功能的转录因子，它与Groucho结合可以抑制基因转录，而与 β -Catenin结合则促进下游靶基因的转录。

当细胞没有接受Wnt信号刺激时，细胞质内大部分的 β -Catenin与细胞膜上Cadherin蛋白结合使之附着于细胞骨架蛋白肌动蛋白上，参与细胞的黏附作用。而少部分的 β -Catenin被磷酸化后，与GSK3 β 等形成降解复合物，最终通过泛素化修饰而降解。Wnt信号的激活就是指分泌型的配体蛋白Wnt与膜表面受体蛋白FZD结合后，激活胞内蛋白DVL。DVL通过抑制GSK3 β 等蛋白形成的 β -Catenin降解复合物的降解活性，稳定细胞质中游离状态的 β -Catenin蛋白。胞浆中稳定积累的 β -Catenin进入细胞核后结合LEF/TCF转录因子家族，启动下游靶基因 (如*c-myc*、*Cyclin D1*等) 的转录。我们可以把Wnt信号通路简单概括为：Wnt→FZD→DVL→ β -Catenin降解复合体解散→ β -Catenin入核→TCF/LEF→下游基因转录 (如图12)。

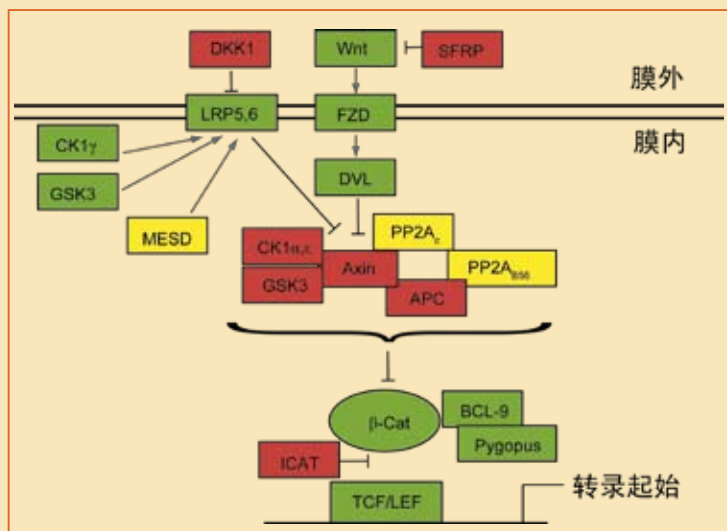


图12 Wnt信号通路。红色为Wnt信号通路的负调控因子，绿色为正调控因子，黄色为不能确定正负影响的调控因子。

图片来源: *Curr Opin Genet Dev*.

2) 经典Wnt信号通路与癌症

虽然研究人员很早就发现了Wnt信号通路的许多成员，但是直到十年之后，人们才真正将Wnt信号通路和癌症联系起来。1993年，Vogelstein等人报道肿瘤抑制因子APC（adenomatous polyposis coli，腺瘤性结肠息肉病蛋白）和 β -Catenin之间存在着相互作用。他们发现大约85%的人结肠癌中APC基因都发生了突变，其缺失突变会导致结肠癌中的腺瘤性息肉。在Wnt信号通路中， β -Catenin的稳定性与APC蛋白密切相关。APC蛋白可作为一个载体将 β -Catenin和GSK3 β 联系起来，促进GSK3 β 磷酸化 β -Catenin氨基端保守的Ser/Thr位点，并促使 β -Catenin降解。在肿瘤细胞中，APC基因的突变导致APC蛋白不能与 β -Catenin相互作用，同时也失去了对 β -Catenin表达水平的调节。 β -Catenin在胞浆内大量积聚并进入细胞核，与TCF/LEF转录因子结合，激活相关基因的转录，从而导致了细胞增殖异常和肿瘤发生。

β -Catenin本身的突变也可能造成癌症。 β -Catenin基因的突变可以造成 β -Catenin蛋白无法被磷酸化和泛素化降解，致使 β -Catenin在胞浆内大量聚集，从而进入细胞核并激活与细胞分裂和生长调控相关的基因（如*c-myc*和*Cyclin D1*等基

因），导致细胞增殖失控而致癌。最初，人们只在大约10%的散发性大肠癌样本中发现了 β -Catenin基因的突变。随后，研究人员检查了超过3500份的癌症样本，包括结肠癌、黑色素瘤、肝细胞瘤、脊髓母细胞瘤、消化道肿瘤等，发现在超过700个癌症病例中出现 β -Catenin的多种突变。 β -Catenin的N端序列可能是其致癌的关键位点，这些位点的突变使得 β -Catenin在胞内表达失控，导致Wnt信号异常激活，从而诱发包括结直肠癌、肝母细胞瘤、卵巢癌和前列腺癌等在内的多种癌症。

目前看来，超过90%的结肠癌以及很高比例的其他癌症均与Wnt信号通路的异常激活密切相关，而且细胞实验也证明如果阻断Wnt信号通路可以抑制肿瘤细胞的增殖。因此，人们开始尝试把Wnt/ β -Catenin信号通路中的关键蛋白作为药物靶点，筛选分子药物治疗癌症。目前，已有多种分子靶向药物进入临床试验阶段。然而癌症的发生是一个多因素、多阶段、多基因变异积累的复杂过程，多种信号通路可能同时参与了癌症的发生。随着未来研究的深入，我们期待更多Wnt信号通路新成员地发现。细胞内信号通路协同机制的研究，能够为我们设计更加有效的抗癌药物提供更多的理论基础。

原文检索：

1. Polakis P. The many ways of Wnt in cancer. *Curr Opin Genet Dev.* 2007 Feb; 17(1):45-51
2. Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nature Reviews Cancer.* 2008 May; 8(5):387-398.

6 BMP信号与结肠癌

1) BMP信号通路

BMP（骨形态发生蛋白，bone morphogenetic protein）是TGF- β （转化生长因子，transforming growth factor- β ）超家族中的重要成员。它通过调节一系列下游基因的活性，控制着诸如中胚层形成、神经系统分化、牙齿和骨骼发育以及癌症发生等许多重要的生物学过程。BMP信号的传递主要通过配体BMP与细胞膜上的丝氨酸/苏氨酸激酶受体（BMP receptor, BMPR）特异性结合，形成配体受体二元复合物。同时，II型受体（BMPR2）能够活化I型受

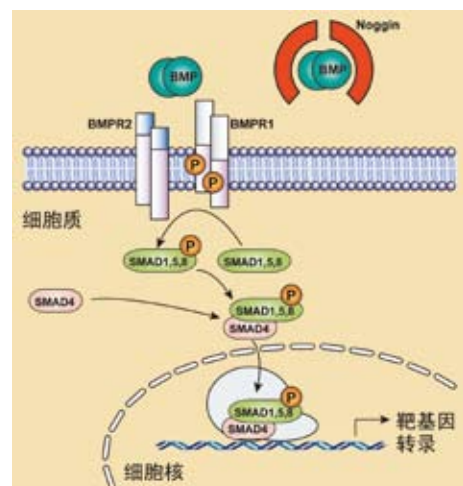


图13 BMP信号通路

图片来源：Nature Reviews Cancer

体（BMPRI），并进一步将信号传递给细胞内的Smad分子。在BMP和TGF- β 信号由细胞膜传递至细胞核的过程中，Smad蛋白起到了关键性的作用。活化的I型受体（BMPRI）进一步磷酸化Smad蛋白（Smad1、Smad5和Smad8），促使Smad分子从细胞膜受体上脱离下来，并在胞质内结合Smad4分子（common Smad, Co-Smad）后进入细胞核。在细胞核内，Smad多元复合物在其它DNA结合蛋白的参与下作用于特异的靶基因，调控靶基因的转录（如图13）。

2) 结肠中的BMP信号

结肠（colon）是大肠的主要部分，它的解剖结构由内向外依次为粘膜层及粘膜下层、肌层及外膜。粘膜和部分粘膜下层向肠腔内的突起为半环形皱襞的断面，凹陷处即称为结肠隐窝（colonic crypt）。结肠隐窝处的细胞类型依次为单层柱状上皮细胞、干细胞、肌成纤维细胞（myofibroblast）和粘膜肌（muscularis mucosae）（如图14）。结肠中的干细胞位于隐窝底部，不断分裂增殖后形成的子细胞边分化边向内移动，当到达肠腔表面时就分化成为成熟的肠上皮细胞。许多研究证据显示，多种BMP信号通路中的关键蛋白都在结肠隐窝的细胞中表达。例如，位于结肠粘膜层的柱状上皮细胞表达BMP蛋白和BMP受体。同时通过免疫组化方法可以在这些细胞中检测到Smad1、Smad5和Smad8蛋白的磷酸化形式，这表明在分化成熟的柱状上皮细胞中，BMP信号是被激活的。而肌成纤维细胞和结肠干细胞则通过表达BMP信号的拮抗分子Noggin来抑制这些细胞内的BMP信号（如图14），这些结果提示BMP信号可能促进成熟的结肠上皮细胞走向凋亡。

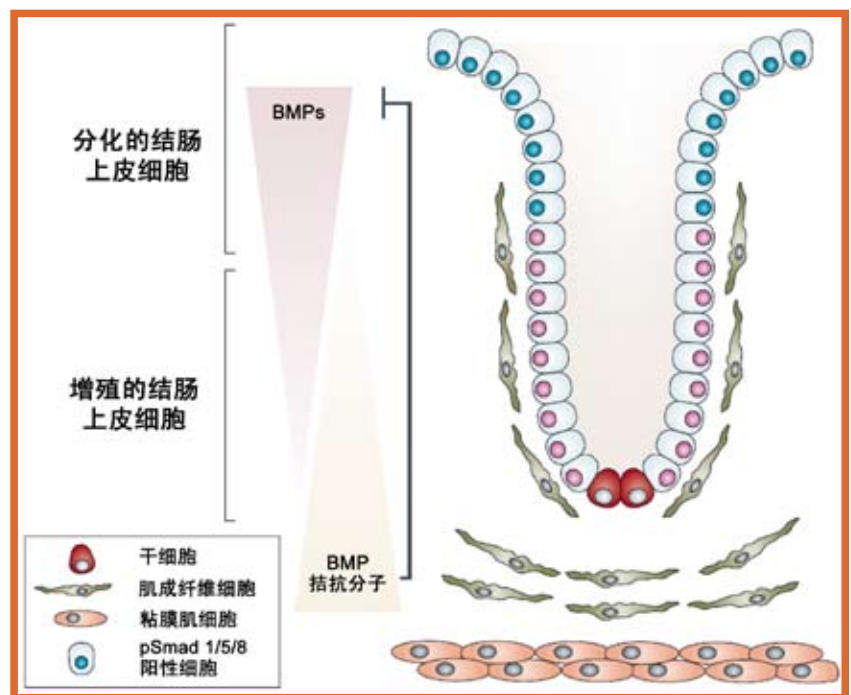


图14 结肠隐窝（colonic crypt）细胞中的BMP信号分子的表达

图片来源：Nature Reviews Cancer

3) 结肠癌与BMP信号

结肠癌是一种高发病率的恶性肿瘤，在工业化国家里，它是仅次于肺癌的第二大杀手。据美国国立癌症研究院估计，2008年全美新增结肠癌约11万例，死亡约5万人。健康成年人体肠道每天大约有 1×10^{10} 个细胞更新，是人体细胞更新最快的器官。这个更新速度甚至远远超过了肿瘤组织，这反映肠道具有非常卓越和精细的细胞增殖与分化的调控机制，但这种无与伦比的更新速率如同一把“双刃剑”，一方面可以迅速地更新和修复肠粘膜细胞，另一方面却大大增加了肠道细胞因增殖失控而癌变的可能性。近些年来，人们从基因水平、转录水平、蛋白质水平以及细胞信号通路等方面对肿瘤进行了大量的研究，肿瘤的发病机制逐渐被阐明。从分子遗传机制角度看，结肠癌可能是目前研究最为透彻的肿瘤之一。

最初发现BMP分子是因为这类蛋白能诱导异位的软骨和骨的形成，但目前由于其在大多数肿瘤，特别是结肠癌中的异常表达而成为研究的新热点。早在十多年前，人们发现结肠癌病例中常有*Smad4*基因的缺失，不过当时这被认为是结肠癌的发生与TGF- β 信号相关，而不是BMP信号。幼年性息肉综合症（juvenile polyposis syndrome, JPS）是一种常染色体显性遗传病，多见于儿童和青少年。患者的结肠部位通常有50-200个息肉，息肉被大量的基质包围，呈现慢性炎症状态，沿着整个肠管线性分布。

JPS患者很高的结肠癌患病风险，其家族成员中得结肠癌的可能性约为9%-50%，患胃癌和胰腺癌也有报道。目前超过50%的JPS病例中发现*Smad4*和*BMPRIA*基因发生缺失和错义突变，导致BMP信号传递受阻。这就说明BMP信号通路在肠道上皮细胞的增殖平衡中起着关键的调节作用，而BMP信号过低或失活是JPS病发的缘由。目前，通过检测细胞内Smad蛋白的磷酸化水平，发现约70%的结肠癌病例中BMP信号是失活和降低的，这就为肿瘤特别是结肠癌的临床诊断提供了重要的指标。

4) 结语

尽管BMP信号通路在动物胚胎发育、组织分化和细胞增殖更新中发挥关键作用，但有关BMP信号在结肠癌的成癌机制中扮演的角色还有待阐明。Schwarte等人利用裸鼠作为动物模型，在结肠癌和胰腺癌细胞中过量表达*Smad4*能够有效降低血管内皮生长因子的表达，进而减少肿瘤组织周围血管的生成，起到抑制肿瘤生长的效果。因此，通过*Smad4*和BMP信号通路中的其它分子来调控肿瘤血管生成可以作为抑制肿瘤的一种新方法。深入研究肠道上皮系统的分子生理机制可能为肠道疾病治疗提供一个新思路。

原文检索:

1. Hardwick JC, Kodach LL, Offerhaus GJ, van den Brink GR. Bone morphogenetic protein signalling in colorectal cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2008 Oct; 8(10): 806-812.

三 信号通路与药物靶点

近年来，人们开始尝试使用一些特异性分子药物来治疗癌症。相对于化疗而言，这种新方法能够很好地区分正常细胞和肿瘤细胞，因而能更特异地杀死肿瘤细胞，而不损伤正常细胞。在这些试验中，一些分子药物开始显现出了临床应用的前景。这也表明，通过干扰肿瘤生长和存活中所依赖的信号通路，可以起到治疗癌症的效果。下面我们将简单介绍一下关键信号通路上的一些蛋白激酶，籍此以阐明这些小分子抑制剂在多个激酶靶点上是如何工作的。

*c-src*基因是第一个被发现的原癌基因。1976年，Bishop和Varmus发现，*src*的基因产物是一个60 kDa的磷酸化蛋白^[1]。随后不久，另外2个实验室也证明了Src蛋白是一种激酶。在目前已知的50多种癌基因中，大部分都是蛋白激酶。在细胞的正常生长和增殖中，癌基因被一些信号通路抑制。但当癌基因发生突变或者被异常激活后，细胞的异常增殖将会导致肿瘤发生。针对细胞信号通路中的关键蛋白作为药物靶点，我们可以设计出相应的药物用于癌症治疗。