



多发性硬化症信号传导通路异常研究进展

郑娜^{1,2}, 王奇², 尹琳琳¹

(1. 首都医科大学宣武医院药物研究室, 北京市老年病医疗研究中心, 北京 100053;
2. 广州中医药大学临床药理研究所, 广州 510405)

【摘要】 多发性硬化症的病因涉及多种信号传导途径改变, 这就为我们研发更加有效的治疗药物提出了更大挑战。已知在多发性硬化症中多种细胞因子及其受体信号传导异常, 根据其下游效应分子不同分为: Jak/Stat, NF- κ B, ERK1/2, p38 or Jun/Fos 通路等。目前仅有部分多发性硬化症治疗药物靶向上述信号通路, 本文将综述系统生物学最新研究成果分别阐述多发性硬化症发生发展过程中信号通路的异常, 为今后靶向上述通路的新药研发提供个体化或复合型治疗策略。

【关键词】 多发性硬化症; 信号传导通路; 药物研发

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 07-0077-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.007.017

Progress of signaling pathways abnormal in multiple sclerosis

ZHENG Na^{1,2}, WANG Qi¹, YIN Lin-lin²

(1. Xuan-Wu Hospital of Capital Medical University, Beijing Geriatrics Medical Research Center, Beijing 100053, China;
2. Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

【Abstract】 The pathogenesis of multiple sclerosis (MS) involves alterations to multiple pathways and processes, which represent a significant challenge for developing more-effective therapies. In MS, abnormalities have been identified in several cytokine-signaling pathways, as well as those of other immune receptors. Among the downstream molecules implicated are Jak/Stat, NF- κ B, ERK1/2, p38 or Jun/Fos, current MS drugs target some of these pathways. This article will with the aid of the latest research results of systems biology approaches that study pathway dysregulation in the process of MS development, targeting these relevant MS-signaling pathways, offers the opportunity to accelerate the development of novel individual or combination therapies for the future of new drug research.

【Key words】 Multiple sclerosis; Signaling pathways; Drug research and development

多发性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 是以中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 炎症性脱髓鞘为主要病理改变的自身免疫性疾病。目前 MS 的发病机制尚不明确, 本文将借助系统生物学方法通过对临床信息和数据的整合, 并结合当前的生物学知识, 关注如何从信号传导通路的角度研究 MS

的发病机制和药物作用的分子靶点, 以提高我们对该病的认识了解, 并有助于开辟新的疗法。

1 MS 中信号传导通路的异常

1.1 JAK/STAT 信号传导通路异常与 MS

Janus 激酶/信号转导与转录激活子 (JAK/

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81341088; 81273817); 北京市科技新星计划 (Z12111000250000)。

[作者简介] 郑娜 (1989 -), 女, 硕士生, 研究方向: 中药治疗神经系统疾病。E-mail: 371747985@qq.com。

[通讯作者] 尹琳琳 (1977 -), 女, 副研究员, 研究方向: 中枢神经炎症的中药干预策略。E-mail: yinll913@126.com。

STAT) 是一条由多种细胞因子和生长因子共同介导的信号通路,广泛参与细胞的增殖、分化、凋亡及免疫调节等病理生理过程。该信号通路主要由酪氨酸激酶相关受体、JAK 和 STAT 组成。至今已发现的 JAK 家族成员有 JAK1、JAK2、JAK3、TYK2,其中 JAK1、JAK2 和 TYK2 广泛存在于各种细胞和组织中,JAK3 则仅存在于骨髓和淋巴系统中^[1]。STAT 蛋白长约 800 个氨基酸,相对分子量 89 ~ 97kDa,STAT 家族由 STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, and STAT6 共 7 个成员组成^[2]。JAK/STAT 信号传导通路是一种进化保守通路,它介导胞外信号向胞核的传递。细胞因子或生长因子与细胞膜上相应受体结合,形成同源或异源二聚体,使胞质内 JAKs 发生聚集,邻近的 JAKs 相互磷酸化而被激活,激活后 JAKs 磷酸化受体上的酪氨酸位点,使受体产生与 STATs 结合的区域。STATs 通过 SH2 结构域将 STAT 补位到受体复合物的酪氨酸磷酸化特异位点,此时 JAKs 接近 STATs 并使 STATs 的一个羟基酪氨酸磷酸化,从而激活 STATs,活化后的 STATs 与受体分离,形成二聚体转位至胞核,与特定的 DNA 片段结合调控基因转录,转录结束后,STAT 在核内酪氨酸磷酸酶的作用下去磷酸化,核输出因子将非磷酸化的二聚体转运至胞质。JAK/STAT 信号通路除了在各种细胞活动中起关键的作用外,还与几种人类疾病的发病机制相关。

已证实 JAK/STAT 信号传导通路异常与 MS 的发生发展密切相关^[3],在拟 MS 的实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)大鼠上发现:疾病高峰期动物脑组织中 JAK/STAT 信号转导通路关键蛋白磷酸化显著增加;抑制 JAK/STAT 信号通路蛋白磷酸化能够降低实验动物的发病率、减轻发病的严重程度,并对模型动物的行为功能障碍有一定改善作用^[4]。由此可见,抑制 JAK/STAT 信号传导通路的异常活化对 MS 的治疗十分有效,JAK/STAT 有望做为 MS 治疗的一个新靶点^[5]。

1.2 NF- κ B 信号传导通路异常与 MS

NF- κ B 是 NF- κ B/Rel 蛋白家族成员之一,目前已发现 5 种 NF- κ B/Rel 蛋白,包括 p50 (NF- κ B1)、p52 (NF- κ B2)、RelA (p65)、RelB 和 c-Rel。每一个 NF- κ B/Rel 蛋白家族成员的 N 端均含有一段由约 300 个氨基酸组成的 Rel 同源区 (Rel homology domain, RHD),其中含有核定位信号序列、二聚化区域、DNA 结合区和 I κ B 结合位点,其中 p65 和 p50 组成的二聚体复合物存在最为广泛^[6]。细胞处于静息态时,NF- κ B 以非活化状态存在于细

胞质中,且通常以无活性的 p65/p50 /NF- κ B 抑制因子 α (inhibitor of NF- κ B- α , I κ B- α) 三聚体复合物形式存在于胞质中,三聚体复合物可以被多种因素激活,包括细胞因子如白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 和 IL-17、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、细菌内毒素脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、蛋白激酶 C 和理化因素 (X 射线、氧化剂及化疗药物制剂) 等,NF- κ B 受两个激酶 IKK α 和 IKK β 调节,IKK β 特别重要,因为 I κ B 的磷酸化、泛素化,并通过 26S 蛋白酶体降解,从而使 NF- κ B 活化。

转录因子 NF- κ B 介导了 IL-17 调节下游细胞信号通路的作用,抑制 NF- κ B 信号通路使得由 IL-17 诱导的巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α) 表达显著降低,而 MIP-1 α 参与了包括 MS 在内的多种病理过程。例如,在 EAE 实验动物的胼胝体中星形胶质细胞激活并伴有 MIP-1 α 表达显著增加,IL-17 可调节星形胶质细胞中 MIP-1 α 的表达;同时,NF- κ B 信号通路异常活化可导致 MIP-1 α 表达的过度增加,抑制 NF- κ B 信号通路可降低 MIP-1 α 的表达从而对 MS 起治疗作用^[7]。因此,NF- κ B 信号传导通路亦可做为一个 MS 的潜在治疗靶点。

1.3 ERK 信号传导通路异常与 MS

细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 是有丝分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 家族的一个重要亚族。ERK1 和 ERK2 是其中的两个重要成员,相对分子量分别为 44×10^3 和 42×10^3 。ERK 通路主要由 3 个蛋白激酶级联组成,即丝裂原活化的蛋白激酶激酶激酶 (MAPKKK)、丝裂原活化的蛋白激酶激酶 (MAPKK) 和细胞外信号调节激酶 (ERK)^[8],ERK 激酶家族属于酪氨酸蛋白激酶,此类激酶在磷酸化以后才能发挥作用进行细胞信号的转导。ERK 信号传导通路受多种因素刺激而被激活,其中 Ras-Raf-MEK-ERK 是激活 ERK 通路的主要途径。ERK 信号通路在生长因子分泌增多和氧化应激时被激活^[9],生长因子与受体结合后激活酪氨酸激酶,通过衔接蛋白将信号传递给 Ras 蛋白,Ras-GTP 直接与 Raf 相结合,形成一个短暂的膜锚定结构。活化的 Raf 通过磷酸化促分裂原激活的蛋白激酶的激酶 (MEK) 激活环上的丝氨酸残基。MEK 再将促分裂原激活的蛋白激酶 (ERK) 激活,进而磷酸化许多与胞质和胞膜相连的底物。ERK 具有控制细胞分化的功能,并与细胞的增殖、分化、迁移、侵袭、凋亡、癌性转化等密切相关^[10]。在炎症过

程中, MAPKs 活性增加, 并调节炎性介质生成, 因此, MAPKs 成为最重要的抗炎治疗靶点之一^[11]。ERK 信号通路抑制剂能够减轻 EAE 模型动物疾病发展期和缓解期的行为功能障碍, 分析认为上述作用可能与 ERK 抑制剂具有特异性抑制 Th17 和 Th1 细胞的免疫应答有关^[12]。抑制 ERK 信号转导通路的过度活化有利于 MS 的治疗。

1.4 p38MAPK 信号传导通路异常与 MS

p38 是由 360 个氨基酸残基组成的相对分子质量为 38×10^3 的钙结合蛋白, 与 JNK 同属 SAPK。是丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 家族成员之一。同时, p38MAPK 是 MAPK 家族中的重要组成部分, 并参与炎症、增殖、凋亡等多种生理过程。p38MAPK 家族中包括 p38 α 、p38 β 、p38 γ 、p38 δ 4 种异构体亚型。Han 等^[13]研究发现, p38 β 、p38 γ 及 p38 δ 在蛋白质一级结构上与 p38 α 分别具有 73%、63% 和 62% 的序列同源性。p38 不同亚型的分布具有组织特异性。p38 α 在白细胞、肝、脾、小脑、骨髓、甲状腺及胎盘中广泛表达且水平较高; p38 β 主要在心脏和大脑组织中高表达; p38 γ 主要在骨骼肌中高表达; p38 δ 主要在肺、肾、肠的表皮细胞和睾丸、卵巢、肾上腺和垂体中表达。p38MAPK 信号通路与其他 MAPK 通路一样, 都是保守的三级酶促级联反应: MAPK 激酶 (MAPKKK)-MAPK 激酶 (MAPKK)-MAPK。p38MAPK 的信号转导途径亦是细胞内磷酸化级联反应的最后步骤: MEKKs/TAK-MKK6/MKK3-p38MAPK, 其中 p38 通路的关键酶有 MAPK 激酶类的 MKK3、MKK4、MKK6 以及 MAPK 激酶类的 TAK、ASK、MLK 等, 其中 MKK3 与 MKK6 是公认的 p38 上游激酶, 他们能直接磷酸化酪氨酸、丝氨酸/苏氨酸残基激活 p38, MKK3 只激活 p38 α 和 p38 β , 而 MKK6 则能够强烈激活所有 p38MAPK 亚型。伴着细胞激活, p38 从胞质进入细胞核, 激活多种蛋白激酶和转录因子, 在炎症反应、细胞分化、细胞周期、细胞凋亡和发育等方面均发挥重要的调节作用。例如, 环氧合酶 (COX)-2、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、白介素 10 (IL-10) 等炎症因子的产生都依赖于 p38 信号通路的调节。p38 MAPK 的激活除能促进单核巨噬细胞产生 TNF- α 、IL-1、IL-4、IL-6、IL-8、IL-12 等炎性因子外, 还可显著促进抑炎因子 IL-10 的产生。IL-10 在 MS 中起重要作用, 有文献报道 MS 患者外周血 B 细胞分泌了少量的 IL-10; IL-10 在动物实验中对 EAE 的行为改善有一定调节作用^[14]。p38MAPK 信号通路激活能够诱导 IL-10 的

产生^[15], 从而对 MS 所致损伤有保护作用。

1.5 Jun/Fos 信号传导通路异常与 MS

Jun 家族包括 c-Jun、JunB 和 JunD。Jun 家族各成员的基因结构相似, 都是仅有一个外显子, 但是功能存在差异, c-Jun 促进细胞增殖, 与激活的 ras 基因一起可以使细胞转化, 而 JunD 的过表达可以减慢细胞生长, 拮抗 ras 基因的细胞转化作用。Fos 蛋白作为细胞原癌基因, 最初是在鼠的骨肉瘤细胞中发现的, 有研究表明, 表达该蛋白的基因属一种原癌基因, 在细胞的恶性转化方面发挥了重要作用。Fos 家族包括 c-Fos、FosB、fra-1、fra-2。c-Fos 及其他 Fos 家族成员常与 Jun 家族成员如 c-Jun 等形成异源二聚体以 AP-1 的形式发挥作用^[16], 其中 c-Fos 和 c-Jun 组成的异源二聚体最稳定。AP-1 中的 Jun 家族成员既可同源聚合, 也可与 Fos 家族成员异源聚合; 而 Fos 家族成员只能与 Jun 蛋白嵌合形成异源二聚体的 AP-1 形式。激活蛋白 (AP-1) 参与了增生、炎症、分化、凋亡、细胞迁移和伤口愈合等多个病理生理过程。因此, Fos 蛋白涉及细胞的增殖、分化、和转化。与对照组相比, 在 MS 的白质中发现 Fos 蛋白的 RNA 链增长了两倍, 提示 Fos 蛋白在 MS 发病中可能发挥中枢调控作用^[17]。

2 信号传导通路分析面临的挑战与问题

细胞内多条信号传导通路间存在明显的交叉感应, 同一关键蛋白质也同时参与多个信号传导通路的级联反应中。因此, 信号传导通路的分析中仍然面临着巨大挑战。首先, 同一细胞中各信号通路间的感应是复杂的, 仅根据现有实践经验很难研究; 其次, 在系统层面间的感应如何转化为特异细胞型反应; 再次, 由于 MS 主要影响身体中最为复杂的两个组织/器官系统, 即免疫系统和中枢神经系统, 解释分析现有 MS 数据非常困难; 第四, 基因功能信息仍不完善。由此可见, 现有数据不足以提供一个可以完全模拟的机械模型, 阻碍了对新的信号机制的预测。

3 结合已知信号通路的新药研发

尽管近年来科技飞速发展, 为 MS 治疗提供了大量相关数据, 但 MS 药物研发仍步履维艰。究其原因, 主要归咎于生物信息如何转化为适当的疾病模型的问题没有得到解决。新药研发主要受制于以下几个方面: 来自于人体/患者的定量和动力数据的有效性; 个体的异质性和基因背景的综合对界定治疗的反应; 需要建立方法来整合和模拟的既包括

细胞,还有组织的复杂网络。

此外,多种药物协调、联合应用以同时调节多条信号传导通路亦是一个有效治疗策略。不同作用机制的药物协同效应可提高疗效、安全性和耐受性。临床、生物体和医药等数据可通过计算模型的整合来评估药物的疗效和协同效应。最后,提高药物研发效率的另一个关键问题是预测该药物治疗的副作用。信号通路和药物蛋白网络可以使用机器学习的方法来重新定位现有药物,推断药物新的适应症或预测毒性。

4 结论与展望

多发性硬化症的发病机制十分复杂,涉及多条信号传导通路的数百个基因和蛋白,并且这些基因和蛋白随着时间和疾病的进展不断变化,不同疗法对这些基因和蛋白的影响在不同个体上也呈现出不同反应。系统生物学整合了遗传易感性的作用,其是按风险等位基因轻微的调控参数来管理通路的功能。因此,单一的等位基因对给定的通路并没有显著的影响,但所有风险等位基因聚集在给定的个体中可能影响免疫通路对产生自身免疫激活水平的功能。这些因素可能有助于提高自身免疫反应在个体层面的预测。同样,没有针对任何单一风险等位基因的药物分层,如果有新的治疗策略能够靶向多发性硬化症相关基因和调控药物的生物效能,上述情况则有可能改变。一些数学建模方法在系统生物学领域已成功建立,它们将能够广泛应用于从逻辑到物理化学模型范围的信号通路的研究中^[18]。一旦数据从数据库中检索,生物信息学工具允许识别可以作为假设的基因、蛋白质和细胞之间的相互作用。系统生物学整合现有的知识、实验结果和医学数据,结合与 MS 发生发展相关的信号传导通路,构建模拟 MS 发病的综合模型,有利于我们发现 MS 新的作用机制,预测 MS 治疗的方向和最优治疗药物组合。

参考文献:

- [1] Smimova OV, Ostroukhova TY, Bogorad RL. JAK-STAT pathway in carcinogenesis: is it relevant to cholangiocarcinoma progression? [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(48):6478 - 6491.
- [2] Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, Schindler CW. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges[J]. *Gene*, 2002, 285(1-2):1 - 24.
- [3] Benveniste EN, Liu Y, McFarland BC, *et al.* Involvement of the janus Kinase/signal transducer and activator of transcription signaling pathway in multiple sclerosis and the animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Interferon Cytokine Res*, 2014, 34(8): 577 - 588.
- [4] Yin L, Chen Y, Qu Z, *et al.* Involvement of JAK/STAT signaling in the effect of cornel iridoid glycoside on experimental autoimmune encephalomyelitis amelioration in rats [J]. *Neuroimm- unol*, 2014, 274(1-2):28 - 37.
- [5] Liu Y, Holdbrooks AT, De Sarno P, *et al.* Therapeutic efficacy of suppressing the Jak/STAT pathway in multiple models of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Immunol*, 2014, 192(1):59 - 72.
- [6] Lawrence T. The nuclear factor NF - κ B pathway in inflammation [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(6):1 - 10.
- [7] Yi H, Bai Y, Zhu X, *et al.* IL - 17A induces MIP - 1 α expression in primary astrocytes via Src/MAPK/PI3K/NF- κ B pathways: implications for multiple sclerosis [J]. *Neuroimmunol*, 2014, 274(1-2):28 - 37.
- [8] Yoav D. Shaul, Rony Seger. The MEK/ERK cascade: From signaling specificity to diverse functions [J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 2007, 1773(8) 1213 - 1226.
- [9] Bonvin C, Guillon A, van Bemmelen MX, *et al.* Role of the amino-terminal domains of MEKs in the activation of NF kappa B and MAPK pathways and in the regulation of cell proliferation and apoptosis[J]. *Cell Signal*, 2002, 14(2):123 - 131.
- [10] 潘伟东. ERK1/2 研究进展及其与神经胶质瘤相关性[J]. *海南医学*, 2011, 22:121 - 124.
- [11] Kaminska B. MAPK signalling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy —from molecular mechanisms to therapeuticbenefits[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1754(1-2):253 - 262.
- [12] Brereton CF, Sutton CE, Lalor SJ, *et al.* Inhibition of ERK MAPK suppresses IL - 23 - and IL - 1 - driven IL - 17 production and attenuates autoimmune disease [J]. *Immunol*, 2009, 183(3): 1715 - 1723.
- [13] 张频捷,朱立新,耿小平. p38 MAPK 信号传导通路及其抑制剂的研发现状[J]. *安徽医药*, 2010, 14(5):596 - 598.
- [14] Ireland SJ, Monson NL, Davis LS. Seeking balance: Potentiation and inhibition of multiple sclerosis autoimmune responses by IL - 6 and IL - 10[J]. *Cytokine*, 2015, 73(2): 236 - 244.
- [15] Rajgopal A, Rebhun JF, Burns CR, *et al.* Immunomodulatory Effects of Lippia sidoides Extract: Induction of IL - 10 Through cAMP and p38 MAPK-Dependent Mechanisms[J]. *Med Food*, 2015, 18(3):370 - 377.
- [16] Malnou CE, Brockly F, Favard C, *et al* Heterodimerization with different Jun proteins controls c-Fos intranuclear dynamics and distribution[J]. *Biol Chem*. 2010, 285(9):6552 - 6562.
- [17] Liu M, Hou X, Zhang P, *et al.* Microarray gene expression profiling analysis combined with bioinformatics in multiple sclerosis[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(5): 3731 - 3737.
- [18] Kholodenko B, Yaffe MB, Kolch W. Computational approaches for analyzing information flow in biological networks [J]. *Sci Signal*, 2012, 5(220):1 - 14.

[修回日期]2015-06-25