

· 综述 ·

## Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路参与自噬调控作用的研究进展

王雪, 张评浒\*

(中国药科大学江苏省新药筛选重点实验室, 南京 210009)

**摘要** 自噬是机体保守的自我防御机制, 是将细胞内变形坏死的细胞器和多余蛋白降解为小分子, 以供循环利用。自噬在生理和病理状态下均发挥重要作用, 可通过多条信号通路影响胞内物质的表达。目前已知 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路不仅广泛参与调控细胞生长、增殖、分化、凋亡等多个生理病理过程, 并且参与调控自噬, 并具有促进肿瘤细胞发生自噬性死亡的作用, 但是其具体参与调控自噬的作用机制尚未完全阐明。本文就 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路参与调控自噬的作用的研究进展进行详细阐述, 以期研究 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路调控自噬的作用机制提供参考。

**关键词** Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路; 自噬; B-Raf; K-Ras; 抗肿瘤

**中图分类号** R966 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)01-0110-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170117

引用本文 王雪, 张评浒. Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路参与自噬调控作用的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(1):110-116.

Cite this article as: WANG Xue, ZHANG Pinghu. Advances in research on the modulation of autophagy by Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway [J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(1):110-116.

## Advances in research on the modulation of autophagy by Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway

WANG Xue, ZHANG Pinghu\*

Jiangsu Key Laboratory for New Drug Screening, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Autophagy is a conserved self-defense mechanism of organism, degrading the necrotic organelles and excess protein into small molecules for recycling. Autophagy plays a role in both physiological and pathological condition, influencing the expression of intracellular substance through multiple signaling pathways. Although it has been demonstrated that Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway was not only extensively involved in the regulation of cell growth, proliferation, differentiation and apoptosis, but was also implicated in autophagy and autophagic cell death, though its detailed mechanisms involved in regulation of autophagy has not been fully elucidated yet. This review focused on the advances of autophagy induced by Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway, to better understand the role of Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway in regulation of autophagy.

**Key words** Ras/Raf/MEK/ERK pathway; autophagy; B-Raf; K-Ras; anti-tumor

The study is supported by the New Century Excellent Researcher Award Program (No. NCET-12-0975); the Returned Overseas Researcher Startup Program from Ministry of Education; and the Self-Exploration Project from Jiangsu Key Lab for New Drug Screening (No. JKLD2015ZZ-8)

自噬是机体保守的防御机制, 涉及体内多种生理病理过程, 与体内多条信号通路有关, 包括传统

的 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路。研究表明 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路不仅能够直接通过上调

收稿日期 2016-05-09 \*通信作者 Tel:025-83271043 E-mail:zhangpinghu@cpu.edu.cn

基金项目 新世纪优秀人才计划资助项目 (No. NCET-12-0975); 教育部回国留学人才启动项目资助项目; 江苏省新药筛选重点实验室自主探索项目资助项目 (No. JKLD2015ZZ-8)

自噬相关蛋白表达诱导自噬,而且还能通过间接激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制自噬的发生。虽然近年来以索拉菲尼(sorafenib)为代表的 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路抑制剂为肿瘤的分子靶向治疗带来新的希望,然而由于靶向此信号通路极易诱导自噬导致药物耐受甚至失效,这给此类药物的应用带来了极大挑战。此外,近年来也陆续证实通过外源刺激持续激活 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路不仅可促进肿瘤细胞发生凋亡,而且可促进肿瘤细胞发生自噬性依赖死亡,这提示激活 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路促进肿瘤细胞自噬性死亡可能是肿瘤治疗的潜在新靶点。因此,深入探讨激活或抑制 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路诱导细胞自噬的作用机制对阐明靶向抑制 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路诱导细胞耐药的机制以及寻找新型的抗肿瘤药物均具有重要意义。鉴于此,本文就有关 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路何如参与调控自噬作用的最新研究进展进行综述。

## 1 自噬形成的分子机制

自噬是存在于真核生物内的保护性防御机制,其特点是利用细胞质内自身膜成份形成能包裹细胞器和蛋白的闭合双层膜结构,即自噬体(autophagosome)。正常生理条件下机体的基础自噬水平较低,但受到饥饿、感染、药物等外源刺激时,闭合双层膜结构就会在细胞质合成自噬泡(phagophore),随之不断延伸形成能够包裹细胞器和蛋白的自噬体(autophagosome),继而与溶酶体(lysosome)融合形成自噬溶酶体(autolysosome),引起自噬潮。大体上自噬目前分为3种:大自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)、分子伴侣介导的自噬(chaperon-mediated autophagy, CMA)。自噬的形成机制极其复杂,迄今为止已发现真核生物中存在30多种自噬相关基因(autophagy related gene, Atg)参与自噬起始、延伸、成熟和降解过程。其中 Atg1-10、Atg12-14、Atg16-18、Atg29、Atg31 与 Atg101 等主要参与自噬体的形成<sup>[1]</sup>; Atg12 和 Atg8/LC3 结合系统在延伸中起到重要作用<sup>[2]</sup>; Atg9 与 VMP1 复合物起传递膜的功能<sup>[3]</sup>; Atg15 和 Atg22 可影响自噬体的降解。此外,高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 mTOR(mammalian target of rapamycin)也在细胞自噬调控中发挥重要作用。当受到饥饿、营养

缺乏等刺激时, mTOR 发挥作用,使 Atg13 去磷酸化,增强 Atg1 激酶活性,激活自噬下游信号,促进 Vps34-Atg6(Beclin 1)复合物的形成,起始自噬<sup>[3]</sup>。近年来虽然自噬相关信号通路陆续被发现,但有关自噬形成的精细分子调控机制尚未得到完全阐明,深入了解自噬形成的分子机制对人类自噬相关疾病的形成机制的揭示与预防具有极其重要的意义。

## 2 参与自噬调控的主要信号通路

随着近年来自噬领域研究热潮的兴起,与自噬调控相关的信号通路逐渐被人们所发现,其中 PI3K/Akt/mTOR、促有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、腺苷酸活化蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]信号通路被证明在自噬形成过程中扮演着非常重要的角色。

### 2.1 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

PI3K/Akt/mTOR 信号通路是一条调节自噬的经典信号通路,它主要包括磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、Akt 和 mTOR 3 个主要信号分子蛋白。PI3K 是此信号通路的起始因子,有 I、II、III 3 种亚型。Akt 又称为蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB),包括 Akt1/α、Akt1/β、Akt1/δ 3 种亚型。mTOR 不仅在细胞生长调控中发挥重要作用,也是重要的自噬负性调控因子,主要包括 mTORC1(mTOR complex 1)和 mTORC2(mTOR complex 2)。mTORC1 在调节细胞自噬,凋亡及生长等方面具有重要意义, mTORC2 广泛参与细胞骨架形成和细胞运动<sup>[4]</sup>。

当受到生长因子或氨基酸缺乏等刺激时, PI3K 被激活,催化二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol diphosphate, PIP2)转化为 3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇[phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate, PIP3],促使 Akt 迁移至细胞膜上,PIP3 活化 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1(phosphoinositide dependent kinase-1, PDK1),可将 Akt 磷酸化激活,随后 p-Akt 磷酸化结节性硬化症因子 2(tuberous sclerosis complex 2, TSC2),使其从 TSC1/TSC2 复合物中解离,最终激活 mTOR<sup>[4]</sup>。PI3K/Akt/mTOR 信号通路可通过两条途径影响自噬:一方面, mTOR 磷酸化下游 p70S6 促使核糖体黏附在内质网上,抑制自噬体膜的形成<sup>[5]</sup>;另一方面, mTOR 可

直接调控自噬基因 ULK-Atg13-FIP200 复合物, 抑制自噬起始<sup>[6]</sup>。

近年来, 研究表明 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的抑制剂可以上调多种细胞株的自噬水平, 并且诱导细胞发生自噬性死亡, 有效治疗疾病或延缓疾病进程。其中, 雷帕霉素是最先发现的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制剂, 并被 FDA 批准用做免疫抑制剂, 并对肿瘤细胞有杀伤性, 例如能诱导 MG-63 细胞自噬并促进其死亡<sup>[7]</sup>。雷帕霉素类似物如依维莫司 (everolimus)、坦西莫司 (temsirolimus) 现已批准用于晚期肾癌的治疗。目前仍有很多此类特异性抑制剂处于临床研究开发中, 如 Akt 特异性抑制剂 MK-2206 能抑制人鼻咽癌细胞 CNE-1、CNE-2、HONE-1 和 SUNE-1 的生长和增殖<sup>[8]</sup>; LY294002 能促进 SGC-7901 细胞发生凋亡<sup>[9]</sup>; PI-103 与道诺霉素 (daunorubicin) 联合用药促进白血病干细胞 (leukemia stem cells, LSC) 产生凋亡<sup>[10]</sup>; AZD8055 可抑制喉癌 Hep-2 细胞增殖和促进凋亡<sup>[11]</sup>。因此, 靶向抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路可为肿瘤等疾病的治疗提供新思路。

## 2.2 AMPK 信号通路

AMPK 是由  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  亚基构成的三聚体, 被称为细胞的“代谢与能量感受器”。主要受 AMP/ATP 比值影响, 通过调控下游信号通路的活性, 对维持机体代谢平衡极其重要。AMPK 对自噬主要起正向调控作用, 即当机体处于饥饿或能力匮乏状态, AMP/ATP 比值升高, 可激活肝激酶 B1 (liver kinase B1, LKB1), 磷酸化 AMPK $\alpha$  亚基上调 AMPK 的表达, 抑制下游的 mTORC1, 参与自噬调控。研究证明 AMPK 信号通路可通过两种途径抑制 mTORC1 的活性: 一是磷酸化 TSC1/TSC2 复合物 (与 p-Akt 相反), 不能使其解离, 抑制 mTORC1<sup>[12]</sup>; 二是直接影响 Raptor, 抑制 mTORC1<sup>[13]</sup>。此外, AMPK 上游 ULK1、p53 和下游 p27<sup>kip1</sup> 均能影响自噬。如 Fan 等研究发现羊瘙痒因子 263K 在 SMB-S15 细胞中能直接通过 AMPK-ULK1 信号通路促进自噬<sup>[14]</sup>; Liang 等<sup>[15]</sup>注意到在营养缺乏或压力等状态下, AMPK-ULK1 能够磷酸化并稳定 p27<sup>kip1</sup>, 促进细胞自噬。在营养缺乏等应激条件下, 抑癌基因 p53 可通过激活 AMPK 使 Rheb (Ras homology enriched in brain) 与二磷酸鸟苷 (guanosine diphosphate, GDP) 结合, 负性调节 mTOR 通路; 也可以促进抑癌基因 PTEN

(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) 的表达, 间接抑制 mTOR 通路。但也有报道指出胞质的 p53 能抑制正常细胞自噬, 这可能是由于其抑制 AMPK 活性或是激活 mTOR 通路所导致。另外, p53 靶向作用于 TIGAR 也能抑制自噬产生<sup>[16]</sup>。

目前也有很多针对 AMPK 信号通路的药物处于研究当中, 例如 A-769662 能够通过激活 AMPK 免受过氧化氢诱导的成骨细胞凋亡<sup>[17]</sup>; AICAR 能促使 5-FU 诱导 SGC-7901 发生细胞凋亡<sup>[18]</sup>。此外, 还存在天然产物和药物如去甲氧基姜黄素 (DMC)、黄连素、二甲双胍、白藜芦醇等也处于开发中。AMPK 的抑制剂 Compound C 在前期研究发现能够诱导自噬, 但是 Vucicevic 等<sup>[19]</sup>发现它能抑制 Akt/mTOR 诱导 U251 细胞自噬起始。

## 2.3 Beclin 1 复合体

Beclin 1 是自噬中的关键调控因子, 它对于自噬泡成核以及自噬保护性作用极为重要。它包括 3 个重要结构域: 进化保守结构域 (evolutionarily conserved domain, ECD), 螺旋-螺旋结构域 (coiled-coil domain, CCD) 和 Bcl-2 结合部位 (Bcl-2-homology-3, BH3)。Beclin 1 复合物包括 Beclin 1, Vps34 (vacuolar protein sorting 34), Bcl-2 和 UVRAG (the protein product of the ultraviolet-radiation-resistance-associated gene)。Vps 34 与 Beclin 1 的 ECD 区结合, 在前自噬体形成和调控空泡蛋白分选中起重要作用; UVRAG 与 Beclin 1 的 CCD 区结合促进自噬, 也可间接促进 Beclin 1 与 Vps 34 相互作用; Bcl-2 蛋白家族与 Beclin 1 的 BH3 区结合, 阻断 Beclin 1 与 Vps34 相互作用, 抑制自噬发生。

## 2.4 MAPK 信号通路

MAPK 信号通路是广泛存在于细胞内的重要转导通路, 它对细胞生长、分化、分化均起到重要作用, 并且能够影响自噬的发生发展。它主要包括 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK), p38 MAPK 和 ERK 3 个亚家族。JNK 通路可通过依赖或不依赖于 Beclin 1 途径调控自噬。一方面, JNK 信号通路能磷酸化 Bcl-2 家族蛋白 (Bcl-xL, Bcl-W 等), 促使 Beclin 1 从 Beclin 1/Bcl-2 复合物中游离出来, 并与 Vps34 结合, 促进自噬。Wang 等<sup>[20]</sup>证明 *N*-乙酰半胱氨酸在体内大鼠模型中通过调节 JNK 和 Bcl-2 诱导自噬; Patingre 等<sup>[21]</sup>研究

发现在饥饿状态下能激活 JNK1,促进 Beclin 1 与 Bcl-2 解离,从而诱导自噬发生。另一方面,JNK 可以通过介导 Atg 基因表达上调促进自噬,Wu 等<sup>[22]</sup>研究表明在果蝇(*Drosophila*)中氧化应激所引起的自噬是通过 JNK 介导的 Atg1、Atg6 等基因表达上调诱发的。p38MAPK 信号通路包括 p38 $\alpha$ 、p38 $\beta$ 1、p38 $\beta$ 2、p38 $\gamma$ 、p38 $\delta$  5 种亚型,也广泛参与自噬的调控,Alisertib (MLN8237)对 MCF-7 细胞<sup>[23]</sup>,响尾蛇毒素(crotoxin)对 SK-MES-1 细胞<sup>[24]</sup>均可通过激活 p38MAPK 促进自噬。对 p38 MAPK $\alpha$  亚型的研究表明其能够显著抑制细胞自噬:一方面 p38 MAPK $\alpha$  能够磷酸化 Atg5,抑制自噬泡延伸和微管相关蛋白 1 轻链 3 I (microtubule associated protein 1 light chain 3I, LC3I) 转化为 LC3 II;另一方面能够下调 ERK 活性,显著降低细胞自噬水平。

近些年来,JNK 和 p38 信号通路越发受到研究者的重视,相关药物研究与开发也越发深入。研究证明 JNK 通路的抑制剂 SP600125 增强 TGF- $\beta$  诱导的人胆管癌细胞凋亡。而在近 20 年来,已发现近百种 p38MAPK 抑制剂,如 doramapimod、SB202190、LY2228820、VX-702、SB239063、losmapimod、pexmetinib 等均具有抗肿瘤活性。其中 SB202190 与 sorafenib 联合给药可促进结肠癌细胞 HT-29 和 HCT-116 的凋亡应答<sup>[25]</sup>。此外,I 期临床研究也表明 LY2228820 对晚期肿瘤患者具有良好疗效<sup>[26]</sup>。

## 2.5 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路

Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路是一条可被广泛激活的 MAPK 通路,它通过细胞膜受体将细胞外信号传递入细胞核内,从而介导细胞内特异蛋白的表达,参与调控细胞的增殖、分化、凋亡、自噬等多种功能,但其发挥这些功能的机制一直是人类研究的重点。现已研究表明 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路包括 1 个 G 蛋白偶联蛋白 Ras,3 个蛋白激酶 Raf、MEK、ERK。Ras 家族包括 H-Ras、N-Ras、K-Ras (Ki4A-Ras, Ki4B-Ras)。正常情况下,Ras 与 GDP 结合处于失活状态,而当受到外界鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)刺激后,Ras 与三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)结合成为激活状态。GTP-Ras 磷酸化 Raf,引起下游 MEK/ERK 的活化。Raf 基因家族包括 A-Raf、B-Raf 和 C-Raf。Raf 激酶能够通过依赖或不

依赖于 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路影响细胞增殖凋亡。C-Raf 因其在细胞中表达量最多且最重要而被深入研究。但近些年发现,相较于其他 2 种 Raf 异构体,B-Raf 更易于激活 MEKs。MEK 家族包括两个异构体 MEK1 和 MEK2。MEKs 不仅能够作为 ERKs 的激活剂,也能作为 ERKs 的细胞质锚定蛋白。ERK1 和 ERK2 在体内平行激活,含量不同,功能相似却不完全相同:ERK1 对胸腺成熟有重要意义,而 ERK2 对于胚胎成型很重要<sup>[27]</sup>。Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路可由活性氧(reactive oxygen species, ROS)、Ca<sup>2+</sup>、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)等激活,并参与体内多种生理生化功能,对细胞生长、增殖、分化、凋亡均有影响。

虽然近年来有关 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路如何调控自噬的作用机制一直受到人们的关注,但由于其参与调控自噬的机制极其复杂,有时似乎还相互矛盾,特别是其在特定的环境下如何精细调控自噬的作用机制至今仍未阐明。大量研究表明,Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路在应激条件下一方面能够活化 ERK 直接促进自噬标志性蛋白 LC3 与 p62 的上调表达起始自噬<sup>[28]</sup>;另一方面能导致溶酶体相关膜蛋白 1 (lysosomal-associated membrane protein Lamp 1, LAMP1) 和 LAMP2 下调表达,阻止自噬体与溶酶体的结合,从而抑制自噬体的降解<sup>[29]</sup>。此外,也有学者证实活化的 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路可间接通过活化 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制自噬。以下就有关 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路参与调控自噬作用的研究现状进行详细阐述。

### 2.5.1 抑制 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路对自噬的影响

靶向抑制表皮生长因子受体 (Epidermal growth factor receptor, EGFR) 介导的 EGFR/Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路是一条经典的抗肿瘤治疗途径。现如今,针对此信号通路的抗肿瘤药物除 EGFR 特异性小分子或单抗外,还有多种靶向抑制 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的小分子药物上市,如 sorafenib、维罗非尼 (vemurafenib)、达拉非尼 (dabrafenib)、selumetinib (AZD6244) 和曲美替尼 (trametinib) 等。此外还有很多针对此信号通路的小分子药物正处于临床研究中如 tipifarnib、salirasib、BMS-214662、U0126、MG-132 等。近年来随着对靶向抑制 EGFR/Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路

治疗肿瘤过程中耐药机制的深入研究,抑制 EGFR/Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路参与正向调控自噬的作用也逐渐被人们所发现。如选择性 EGFR 抑制剂吉非替尼 (gefitinib) 是 FDA 批准用于治疗 NSCLC 患者的一线用药,给药后能够下调 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路蛋白的表达,促使 U87 细胞<sup>[30]</sup>, LSCLC 细胞<sup>[31]</sup> 发生自噬;玉竹凝集素 (polygonatum odoratum lectin) 能促使 MCF-7 细胞发生自噬<sup>[32]</sup>;EGFR 单抗西妥昔 (cetuximab) 通过下调 HIF-1 $\alpha$  和 Bcl-2 蛋白,激活 Beclin 1/hVps34 复合物促进 A431 细胞自噬<sup>[33]</sup>。此外,抑制 Ras 表达也能够促进细胞自噬,如 Ras 抑制剂 salirasib 能在 HeLa 细胞, HCT-116 细胞, DLD-1 细胞中促进自噬<sup>[34]</sup>;lonafarnib 对 Panc-1 细胞, FTI-276 对 U2OS 细胞均能发现相似现象。Raf 激酶抑制剂 sorafenib 能在 DU145 细胞、HepG2 细胞和 22Rv1 细胞中都可引起自噬<sup>[35]</sup>。此外,来源于盘尼西林的 SD118-xanthocillin X (1), 在 HT-29 细胞中能抑制 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路,上调自噬标志蛋白 LC3 的表达,促进自噬的发生<sup>[36]</sup>。以上研究结果表明靶向抑制 EGFR/Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路均可促进自噬的发生,然而其诱导产生自噬的机制及其诱导的自噬在肿瘤治疗过程中发挥什么样的作用至今尚未完全阐明。因此,阐明抑制 EGFR/Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路诱导细胞自噬的作用机制不仅对揭示抑制 EGFR/Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路诱导自噬在肿瘤治疗过程中的具体作用具有重要意义,而且将有助于通过调控自噬介导肿瘤的治疗。

2.5.2 活化 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路参与自噬调控的作用机制研究进展 以往研究表明,在众多肿瘤细胞中均可检测到 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的异常激活,因而阐明这条信号通路的功能对于维持机体生长,细胞增殖以及疾病治疗非常重要。现阶段有实验证明药物持续激活这条信号通路也能促进 MCF-7, HepG2 等肿瘤细胞产生自噬和凋亡。因此,有关活化 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路正向调控自噬的作用也逐渐受到人们的重视。活化的 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路不仅能直接通过 Ras 或 ERK 激活自噬,而且能通过上调自噬相关蛋白如 LC3、p62 的表达直接诱导自噬的发生。如顺铂或者依托泊苷能够激活野生型 Ras 以

及 K-Ras,上调 MEK/ERK 表达,促进自噬<sup>[37]</sup>。原癌基因 B-Raf 突变也能通过上调 Noxa 促进黑素瘤发生自噬<sup>[38]</sup>。最近陆续发现持续激活 MEK/ERK 信号通路也能直接诱导自噬的发生。如倪振洪等<sup>[39]</sup> 研究发现左旋棉酚能够通过激活 ERK 诱导淋巴瘤细胞 Daudi 发生自噬;Zucchini-Pascal 等<sup>[40]</sup> 发现林丹作用于 Sertoli 细胞时能够活化 ERK 促进自噬;其他如 Orexin A 对 HCT-116 细胞;辣椒素对 WI38 细胞;B 组大豆皂苷对 HCT-116 细胞;Dioscin 对 A549 细胞;褐藻素, VK3 对 HeLa 细胞, Apelin-13 对 A549 细胞, 苦参碱对 HepG2 细胞等均证明激活 ERK 通路能促进自噬。有趣的是, Chen 等<sup>[41]</sup> 证明抑制 Cathepsin S 的表达能激活 EGFR 介导的 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路,促进 HONE 1 细胞自噬, Kim 等<sup>[28]</sup> 研究发现用 4-羟基他莫昔芬刺激 LNCaP 细胞、HEK293 细胞、BJ 细胞、IMR90E1A 细胞能激活 MEK/ERK 信号通路促进 LC3 和 p62 的表达,促进自噬。这些报道均表明激活 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路可以介导细胞自噬,引起肿瘤细胞某些生理特性改变。而最近研究显示激活 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路也可通过活化 caspase 3, 促进多聚 (ADP-核糖) 聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 剪切,而增加相关肿瘤细胞死亡,并且在不同细胞中激活凋亡途径不同,如顺铂在诱导 HeLa 细胞凋亡中,抑制 ERK 可以阻断细胞色素 C 的释放和 caspase 3 活化<sup>[42]</sup>;在转染 Raf-1 的 HEK293 细胞中,发现异常活化 ERK 将激活 caspase 8 和 Fas,促进凋亡<sup>[43]</sup>。综上所述,持续激活 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路既可促进肿瘤细胞发生自噬性死亡也可诱导肿瘤细胞凋亡的双重活性。因此,利用恶性肿瘤细胞内 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路异常活化的特点,通过外源途径靶向持续激活此信号通路诱导肿瘤细胞发生自噬性死亡可能是未来抗肿瘤治疗的一条新途径。

### 3 结 语

自噬作为机体的一种维护内环境稳定的自我调节机制,一方面通过自噬降低错误折叠的蛋白或者损坏的细胞器为细胞生存提供新的原料抵抗不利环境促进细胞生存,另一方面它可促进细胞发生自噬性死亡防止细胞恶变的发生。自噬在肿瘤中

的这种双重作用更为明显,在特定的条件下它既可促进肿瘤细胞生存,也可抑制肿瘤细胞生长或发生。因此,深入探讨自噬形成的作用机制及其调控机制对自噬性相关疾病的治疗具有极其重要的意义。现有的研究表明,自噬的发生是受多条信号通路精密调控的,其中PI3K/AKT/mTOR与Ras/Raf/MEK/ERK是两条较为经典的自噬调控信号通路。目前人类对前者PI3K/AKT/mTOR信号通路调控自噬的作用机制有了较深的了解,然而对后者Ras/Raf/MEK/ERK信号通路如何精细调控自噬的作用机制仍缺乏深入的研究。近年来越来越多的研究发现无论是激活还是抑制Ras/Raf/MEK/ERK信号通路均可诱导自噬的发生,但其具体机制不详。现阶段,抑制Ras/Raf/MEK/ERK信号通路激活自噬治疗肿瘤的作用机制已经很清楚,且存在大量针对性的药物,然而本研究发现学者们对激活这条信号通路如何诱导细胞自噬与凋亡的机制目前仍不甚清楚。因此,深入探究Ras/Raf/MEK/ERK信号通路诱导细胞自噬作用的精细分子机制,不仅对揭示自噬在肿瘤形成、治疗以及耐药性产生的机制,对人类寻找新型的抗肿瘤治疗的新方法与新思路具有极其重要的意义,而且通过激活Ras/Raf/MEK/ERK信号通路诱导肿瘤细胞自噬性死亡或凋亡可能是抗肿瘤治疗的一条新途径。

### 参考文献

- [1] Kabeya Y, Kawamata T, Suzuki K, et al. Cisl1/Atg31 is required for autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **356**(2):405-410.
- [2] Hu Z, Yang B, Mo X, et al. Mechanism and regulation of autophagy and its role in neuronal diseases [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, **52**(3):1190-1209.
- [3] Ropolo A, Grasso D, Pardo R, et al. The pancreatitis-induced vacuole membrane protein 1 triggers autophagy in mammalian cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**(51):37124-37133.
- [4] Tarantino G, Capone D. Inhibition of the mTOR pathway: a possible protective role in coronary artery disease [J]. *Ann Med*, 2013, **45**(4):348-356.
- [5] Huang YC, Yu HS, Chai CY. Roles of oxidative stress and the ERK1/2, PTEN and p70S6K signaling pathways in arsenite-induced autophagy [J]. *Toxicol Lett*, 2015, **239**(3):172-181.
- [6] Jung CH, Jun CB, Ro SH, et al. ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery [J]. *Mol Biol Cell*, 2009, **20**(7):1992-2003.
- [7] Xie ZG, Xie Y, Dong QR. Inhibition of the mammalian target of rapamycin leads to autophagy activation and cell death of MG63 osteosarcoma cells [J]. *Oncol Lett*, 2013, **6**(5):1465-1469.
- [8] Zhao YY, Tian Y, Zhang J, et al. Effects of an oral allosteric AKT inhibitor (MK-2206) on human nasopharyngeal cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, **8**:1827-1837.
- [9] Xing C, Zhu B, Liu H, et al. Class I phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor LY294002 activates autophagy and induces apoptosis through p53 pathway in gastric cancer cell line SGC7901 [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2008, **40**(3):194-201.
- [10] Ding Q, Gu R, Liang J, et al. PI-103 sensitizes acute myeloid leukemia stem cells to daunorubicin-induced cytotoxicity [J]. *Med Oncol*, 2013, **30**(1):395.
- [11] Zhao L, Teng B, Wen L, et al. mTOR inhibitor AZD8055 inhibits proliferation and induces apoptosis in laryngeal carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, **7**(2):337-347.
- [12] Wu T, Wang MC, Jing L, et al. Autophagy facilitates lung adenocarcinoma resistance to cisplatin treatment by activation of AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, **9**:6421-6431.
- [13] Sun A, Li C, Chen R, et al. GSK-3 $\beta$  controls autophagy by modulating LKB1-AMPK pathway in prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2016, **76**(2):172-183.
- [14] Fan XY, Tian C, Wang H, et al. Activation of the AMPK-ULK1 pathway plays an important role in autophagy during prion infection [J]. *Sci Rep*, 2015, **5**:14728.
- [15] Liang J, Shao SH, Xu ZX, et al. The energy sensing LKB1-AMPK pathway regulates p27 (kip1) phosphorylation mediating the decision to enter autophagy or apoptosis [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, **9**(2):218-224.
- [16] Kumar B, Iqbal MA, Singh RK, et al. Resveratrol inhibits TIGAR to promote ROS induced apoptosis and autophagy [J]. *Biochimie*, 2015, **118**:26-35.
- [17] Zhu Y, Zhou J, Ao R, et al. A-769662 protects osteoblasts from hydrogen dioxide-induced apoptosis through activating of AMP-activated protein kinase (AMPK) [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, **15**(6):11190-11203.
- [18] Wu Y, Qi Y, Liu H, et al. AMPK activator AICAR promotes 5-FU-induced apoptosis in gastric cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, **411**(1/2):299-305.
- [19] Vucicevic L, Misirkic M, Janjetovic K, et al. Compound C induces protective autophagy in cancer cells through AMPK inhibition-independent blockade of Akt/mTOR pathway [J]. *Autophagy*, 2011, **7**(1):40-50.
- [20] Wang C, Chen K, Xia Y, et al. N-acetylcysteine attenuates ischemia-reperfusion-induced apoptosis and autophagy in mouse liver via regulation of the ROS/JNK/Bcl-2 pathway [J]. *PLoS ONE*, 2014, **9**(9):e108855.
- [21] Pattingre S, Bauvy C, Carpentier S, et al. Role of JNK1-dependent Bcl-2 phosphorylation in ceramide-induced macroautophagy [J]. *J Biol Chem*, 2009, **284**(5):2719-2728.

- [22] Wu H, Wang MC, Bohmann D. JNK protects *Drosophila* from oxidative stress by transcriptionally activating autophagy [J]. *Mech Dev*, 2009, **126**(8-9): 624–637.
- [23] Li JP, Yang YX, Liu QL, et al. The investigational Aurora kinase A inhibitor alisertib (MLN8237) induces cell cycle G2/M arrest, apoptosis, and autophagy via p38 MAPK and Akt/mTOR signaling pathways in human breast cancer cells [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, **9**: 1627–1652.
- [24] Han R, Liang H, Qin ZH, et al. Crotoxin induces apoptosis and autophagy in human lung carcinoma cells *in vitro* via activation of the p38MAPK signaling pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, **35**(10): 1323–1332.
- [25] Grossi V, Liuzzi M, Murzilli S, et al. Sorafenib inhibits p38 $\alpha$  activity in colorectal cancer cells and synergizes with the DFG-inhibitor SB202190 to increase apoptotic response [J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, **13**(14): 1471–1481.
- [26] Patnaik A, Haluska P, Tolcher AW, et al. A first-in-human phase I study of the oral p38 MAPK inhibitor, ralimetinib (LY2228820 Dimesylate), in patients with advanced cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, **22**(5): 1095–1102.
- [27] Lee CH, Lin SH, Chang SF, et al. Extracellular signal-regulated kinase 2 mediates the expression of granulocyte colony-stimulating factor in invasive cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, **30**(1): 419–424.
- [28] Kim JH, Hong SK, Wu PK, et al. Raf/MEK/ERK can regulate cellular levels of LC3B and SQSTM1/p62 at expression levels [J]. *Exp Cell Res*, 2014, **327**(2): 340–352.
- [29] Sivaprasad U, Basu A. Inhibition of ERK attenuates autophagy and potentiates tumour necrosis factor- $\alpha$ -induced cell death in MCF-7 cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2008, **12**(4): 1265–1271.
- [30] Chang CY, Li JR, Wu CC, et al. Valproic acid sensitizes human glioma cells to gefitinib-induced autophagy [J]. *IUBMB Life*, 2015, **67**(11): 869–879.
- [31] Xu Z, Hang J, Hu J, et al. Gefitinib, an EGFR tyrosine kinase inhibitor, activates autophagy through AMPK in human lung cancer cells [J]. *J BUON*, 2014, **19**(2): 466–473.
- [32] Ouyang L, Chen Y, Wang XY, et al. Polygonatum odoratum lectin induces apoptosis and autophagy via targeting EGFR-mediated Ras-Raf-MEK-ERK pathway in human MCF-7 breast cancer cells [J]. *Phytomedicine*, 2014, **21**(12): 1658–1665.
- [33] Li X, Fan Z. The epidermal growth factor receptor antibody cetuximab induces autophagy in cancer cells by downregulating HIF-1 $\alpha$  and Bcl-2 and activating the beclin 1/hVps34 complex [J]. *Cancer Res*, 2010, **70**(14): 5942–5952.
- [34] Schmukler E, Grinboim E, Schokoroy S, et al. Ras inhibition enhances autophagy, which partially protects cells from death [J]. *Oncotarget*, 2013, **4**(1): 145–155.
- [35] Labouba I, Poisson A, Lafontaine J, et al. The RelB alternative NF- $\kappa$ B subunit promotes autophagy in 22Rv1 prostate cancer cells *in vitro* and affects mouse xenograft tumor growth *in vivo* [J]. *Cancer Cell Int*, 2014, **14**(1): 67.
- [36] Zhao Y, Chen H, Shang Z, et al. SD118-xanthocillin X (1), a novel marine agent extracted from *Penicillium commune*, induces autophagy through the inhibition of the MEK/ERK pathway [J]. *Mar Drugs*, 2012, **10**(6): 1345–1359.
- [37] Mareninova OA, Sandler M, Malla SR, et al. Lysosome associated membrane proteins maintain pancreatic acinar cell homeostasis: LAMP-2 deficient mice develop pancreatitis [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2015, **1**(6): 678–694.
- [38] Liu YL, Lai F, Wilmott JS, et al. Noxa upregulation by oncogenic activation of MEK/ERK through CREB promotes autophagy in human melanoma cells [J]. *Oncotarget*, 2014, **5**(22): 11237–11251.
- [39] Ni ZH, Wang B, Ding W, et al. (-)-Gossypol induces autophagy in Daudi cells through ERK signal pathway [J]. *J Third Mil Med Univ* (第三军医大学学报), 2012, **34**(23): 2384–2387.
- [40] Zucchini-Pascal N, de Sousa G, Rahmani R. Lindane and cell death: at the crossroads between apoptosis, necrosis and autophagy [J]. *Toxicology*, 2009, **256**(1/2): 32–41.
- [41] Chen KL, Chang WS, Cheung CH, et al. Targeting cathepsin S induces tumor cell autophagy via the EGFR-ERK signaling pathway [J]. *Cancer Lett*, 2012, **317**(1): 89–98.
- [42] Wang X, Martindale JL, Holbrook NJ. Requirement for ERK activation in cisplatin-induced apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275**(50): 39435–39443.
- [43] Cagnol S, Van Obberghen-Schilling E, Chambard JC. Prolonged activation of ERK1, 2 induces FADD-independent caspase 8 activation and cell death [J]. *Apoptosis*, 2006, **11**(3): 337–346.