

p38 丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路与角膜新生血管

张海峰, 钟彦彦, 陆晓和

基金项目:中国广东省科技计划项目资助(No. 2008B080703037)
作者单位:(510282)中国广东省广州市,南方医科大学珠江医院眼科
作者简介:张海峰,男,在读博士研究生,主治医师,研究方向:角膜病。
通讯作者:陆晓和,教授,主任医师,研究方向:角膜病. luxh63@163. com
收稿日期:2011-05-23 **修回日期:**2011-07-12

Advances on p38 signal transduction pathway and corneal neovascularization

Hai-Feng Zhang, Yan-Yan Zhong, Xiao-He Lu

Foundation item: Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China(No. 2008B080703037)
Department of Ophthalmology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China
Correspondence to: Xiao-He Lu. Department of Ophthalmology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China. luxh63@163. com
Received:2011-05-23 **Accepted:**2011-07-12

Abstract

• Inflammation can promote the growth of corneal neovascularization. p38 mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway may play an important role in the progress of inflammation by controlling the expressions of IL-1 β , IL-6, TNF- α and so on. p38 inhibitors not only suppress the expressions of inflammatory mediators, but also block their activities. p38 inhibitors greatly curb the progress of inflammations. It is a new strategy to explore the developing mechanism of corneal neovascularization through the pathway of p38 signal transduction.

• **KEYWORDS:** mitogen-activated protein kinase; p38; signal transduction; corneal neovascularization

Zhang HF, Zhong YY, Lu XH. Advances on p38 signal transduction pathway and corneal neovascularization. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(9):1564-1566

摘要

炎症是促进角膜新生血管生长的重要因素。p38 丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路通过调控 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 等的表达,从而在炎症反应中发挥重要作用。p38 抑制剂不仅抑制炎症介质的表达,而且阻断其功能,因此在抑制炎症反应中具有重大作用。从 p38 信号转导角度研究角

膜新生血管的形成机制,是角膜新生血管机制研究的新方向。

关键词:丝裂原活化蛋白激酶;p38;信号转导;角膜新生血管

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2011.09.022

张海峰,钟彦彦,陆晓和. p38 丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路与角膜新生血管. 国际眼科杂志 2011;11(9):1564-1566

0 引言

正常角膜没有血管,但在特定条件下角膜缘周边血管网侵入透明角膜组织,形成角膜新生血管(corneal neovascularization, CNV),从而使得角膜透明性下降,导致视力减退甚至失明;CNV 同时彻底摧毁了角膜的相对免疫赦免机制,导致角膜移植术后排斥反应大大增加^[1]。分子生物学、免疫学、功能蛋白组织学进展和生物新技术的应用,极大地丰富了对 CNV 的认识。目前的研究证实 CNV 与炎症反应相互作用、相互依赖、相互协同。角膜炎性浸润的部位与 CNV 部位一致,炎性细胞浸润角膜通常出现在 CNV 之前。炎症反应引起各种炎性介质、细胞因子释放,从而打破促血管生长因子和抑制血管生长因子之间的平衡,最终导致 CNV 发生^[2]。信号转导是细胞通过细胞表面或细胞内受体接受外界信号,通过系统级联放大传递至细胞内,发生生理反应或特定基因表达,最终引起细胞应答。信号转导参与生命活动各个过程,从信号转导角度研究 CNV 的形成机制,是 CNV 机制研究的新途径。

1 丝裂原活化蛋白激酶信号通路成员及其生物学作用

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是一组能被不同细胞外刺激激活的一系列丝氨酸-苏氨酸激酶,可磷酸化其它细胞质蛋白,并从细胞浆移位至细胞核,作用于多种转录因子,从而激活不同基因表达,产生复杂的生物学功能。在哺乳动物,高度保守的 MAPK 是信号从细胞外到细胞核传递的重要信使,参与了胚胎发育、细胞分化、细胞增殖、细胞死亡、对环境的应激适应、炎症反应等多种细胞生理及病理反应。MAPK 是信号从细胞表面传递到细胞核内部的重要传递者^[3]。

目前共发现了四种 MAPK 亚族,分别是细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)、p38 和 ERK5^[4]。ERK 信号途径主要在作用于细胞分化、转化和增殖^[5];JNK 信号途径参与了胚胎发育、细胞分化,并且与肿瘤的发生密切相关^[6];ERK5 信号通路参与细胞周期、细胞增殖和早期基因表达的调控^[7];p38 信号通路在炎症反应中起着重要作用^[8]。

2 p38 家族及其结构特征

p38 家族有 4 个常见的成员:p38 α , p38 β , p38 γ 和 p38 δ ,其中 p38 α 和 p38 β 各有一个不同的剪切亚型。p38 家族具有很高的同源性,p38 β , p38 γ 和 p38 δ 分别与 p38 α

有 73% ,63% ,62% 的氨基酸序列一致。p38 α 在白细胞、骨髓、肝脏和胎盘中高度表达^[9]; p38 β 高表达于心脏和大脑组织^[10]; p38 γ 主要在骨骼肌表达^[11]; p38 δ 在肺、肾脏、睾丸、卵巢、肾上腺、垂体和小肠表达^[12]。p38 家族选择性的表达在不同组织, 但是其确切作用及其机制尚未明确。研究表明 p38 表达于损伤后的角膜, 参与了角膜损伤的修复。

p38 具有特征性的一级结构, 即苏氨酸-甘氨酸-酪氨酸序列, p38 的激活就是通过对苏氨酸和酪氨酸的双重磷酸化而实现。p38 有氨基端结构域和羧基端结构域, 分别形成 β 折叠和 α 螺旋, 二者之间的裂隙形成 ATP 结合位点^[13]。p38 特异性的抑制剂就是特异性的结合在该位点, 从而抑制 p38 的活性^[14]。

3 p38 的激活

p38 的激活是细胞内磷酸化级联反应的最后步骤。MAPK 激酶激活能磷酸化并激活 MAPK 激酶, 然后 MAPK 激酶通过对苏氨酸和酪氨酸的双重磷酸化而实现 p38 的最终激活^[15, 16]。p38 通路的关键酶有 MAPK 激酶类的 MKK3, MKK6 以及 MAPK 激酶激酶类的 TAK, ASK, MLK 等。但是这些信号通路的确切作用尚不清楚。

p38 激活后立即进入细胞核, 激活多种蛋白激酶和转录因子, 如产生复杂的生物学效应。p38 激活 MAPK 激活的蛋白激酶-2 (MAPKAPK2), MAPKAPK3, MNK1, MNK2 以及转录因子 ATF2, ATF1, CHOP10, MEF2C, AP1 等。

4 p38 信号转导通路的生物学效应

激活后的 p38 作用于多种底物, 产生了复杂多变的生物学效应。p38 诱导细胞凋亡^[17]、抑制细胞增殖^[18]、参与细胞周期调控^[19]并且在细胞分化中起着重要作用; 但是更关键的是 p38 在炎症过程中发挥了非常重要的作用^[20]。p38 通过以下路径精准地调控了炎症反应的过程, 调控炎症性细胞因子 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 等的表达; 诱导 COX-2 表达, 参与结缔组织重塑过程; 调控 iNOS 表达, 控制细胞内氧化过程酶类的表达; 诱导黏附分子 VCAM-1 等的表达^[1]。p38 在炎症反应过程中的多效性、高效性, 使得 p38 信号转导通路成为炎症相关疾病研究的新的作用靶点而备受关注。p38 成为 MAPK 家族中调控炎症反应的最重要的成员^[20]。

令人欣慰的是, 上述细胞因子多数直接或者间接参与调控 CNV 的生长, 这就使得通过调控 p38 信号转导通路从而达到调控 CNV 在理论上成为可能。

5 p38 抑制剂

鉴于 p38 信号转导通路的多效性和高效性, 针对 p38 抑制剂的研究正如火如荼。p38 参与调控 TNF- α 和 IL-1 的表达, p38 抑制剂不仅抑制炎症介质的表达, 而且可以阻断细胞因子的生理功能, 从而在抑制炎症反应中发挥更大的作用。

p38 抑制剂是吡啶异咪唑啉类化合物, 主要有 SB203580^[21], SB216995, SB220025, SB235699 以及 VK-19911 等。该抑制剂通常特异性的结合于 p38 的 ATP 结合位点, 特异性的抑制 p38 的功能。研究发现 p38 抑制剂在炎症相关疾病动物模型中表现出较好的抗炎作用。SB220025 显著降低肉芽肿组织内血管密度^[22]。p38 抑制剂可显著抑制肿瘤组织血管生长^[23, 24]。这些实验结果均

提示我们 p38 可能参与调控了 CNV。一旦高效、低毒的 p38 抑制剂获得进展, 将对炎症以及新生血管的研究及治疗产生巨大的变革性的推动作用。

6 CNV 与 p38

CNV 形成机制非常复杂, 目前的研究证实多种因素均在 CNV 形成过程中发挥了重要作用。缺氧、炎症、白细胞浸润、新生血管抑制物质以及细胞因子都在该病理生理过程中发挥了作用, 但遗憾的是其确切机制仍然不明。

p38 复杂的生物学效应主要是通过调节多种细胞因子表达来实现; 而 CNV 形成机制非常复杂, 炎症以及细胞因子在 CNV 发生、进展过程中发挥了重要作用, 多种细胞因子参与其中。据此我们推测 p38 信号转导通路可能在 CNV 发生过程中具有重大作用。

研究证实血管内皮生长因子 (VEGF) 可以促进血管内皮细胞迁徙、增殖, 是 CNV 的重要促进因素^[25]; 而 p38 抑制剂可以降低肉芽肿组织中血管密度, 我们推测 p38 与 VEGF 表达相关, 但尚需进一步文献证实。此外已经证实 IL-1 β 诱发家兔 CNV, 并促进血管增生^[26]; TNF- α 诱发小鼠 CNV^[27]; 黏附分子 VCAM-1 是小鼠 CNV 早期生长的关键因素^[28]; iNOS 参与调控大鼠 CNV^[29]。上述细胞因子均为 p38 的下游因子, 换言之, p38 均调控这些因子的表达, 所有这些证据均间接提示我们: p38 信号转导通路参与调控了 CNV。

7 展望

信号转导研究是生命科学的热点和前沿, 其基本思路已浸染生命科学的各领域。信号转导将为解释生命基本现象、细胞代谢、肿瘤分子机制、病理反应过程以及开发新型药物提供新的思路。CNV 研究一直是眼科研究的热点和难点。p38 信号通路具有复杂的生物学效应, 参与了炎症反应过程, 调控多种细胞因子的表达, 从该通路研究 CNV 的机制, 必将成为 CNV 研究的新方向。

参考文献

- 1 钟一声, 朱益华. 新生血管性眼病. 北京: 人民军医出版社 2006; 244-257
- 2 Shakiba Y, Mansouri K, Arshadi D, et al. Corneal neovascularization: molecular events and therapeutic options. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* 2009; 3(3): 221-231
- 3 姜勇, 罗深秋. 细胞信号转导的分子基础与功能调控. 北京: 科学出版社 2005; 141-171
- 4 黄文林, 朱孝峰. 信号转导. 北京: 人民卫生出版社 2005; 304-341
- 5 Rak-Mardyla A, Gregoraszczyk EL. ERK 1/2 and PI-3 kinase pathways as a potential mechanism of ghrelin action on cell proliferation and apoptosis in the porcine ovarian follicular cells. *J Physiol Pharmacol* 2010; 61(4): 451-458
- 6 Bhattacharya U, Halder B, Mukhopadhyay S, et al. Role of oxidation-triggered activation of JNK and p38 MAPK in black tea polyphenols induced apoptotic death of A375 cells. *Cancer Sci* 2009; 100(10): 1971-1978
- 7 Garaude J, Kaminski S, Chermi S, et al. The role of ERK5 in T-cell signaling. *Scand J Immunol* 2005; 62(6): 515-520
- 8 Almela P, García-Nogales P, Romero A, et al. Effects of chronic inflammation and morphine tolerance on the expression of phospho-ERK 1/2 and phospho-P38 in the injured tissue. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2009; 379(3): 315-323
- 9 Bukhtiyarova M, Northrop K, Chai X, et al. Improved expression, purification, and crystallization of p38 α MAP kinase. *Protein Expr*

- Puif* 2004;37(1):154-161
- 10 Piao CS, Yu YM, Han PL, *et al.* Dynamic expression of p38beta MAPK in neurons and astrocytes after transient focal ischemia. *Brain Res* 2003;976(1):120-124
- 11 Ho RC, Alcazar O, Fujii N, *et al.* p38gamma MAPK regulation of glucose transporter expression and glucose uptake in L6 myotubes and mouse skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;286(2):342-349
- 12 Cuenda A, Nebreda AR. p38delta and PKD1: kinase switches for insulin secretion. *Cell* 2009;136(2):209-210
- 13 Jiang Y, Gram H, Zhao M, *et al.* Characterization of the structure and function of the fourth member of p38 group mitogen-activated protein kinases, p38delta. *J Biol Chem* 1997;272(48):30122-30128
- 14 Tong L, Pav S, White DM, *et al.* A highly specific inhibitor of human p38 MAP kinase binds in the ATP pocket. *Nat Struct Biol* 1997;4(4):311-316
- 15 Ono K, Han J. The p38 signal transduction pathway: activation and function. *Cell Signal* 2000;12(1):1-13
- 16 Zarubin T, Han J. Activation and signaling of the p38 MAP kinase pathway. *Cell Res* 2005;15(1):11-18
- 17 Baltriukiene D, Kalvelyte A, Bukelskiene V. Induction of apoptosis and activation of JNK and p38 MAPK pathways in deoxynivalenol-treated cell lines. *Altern Lab Anim* 2007;35(1):53-59
- 18 Petersen C, Svechnikov K, Fr ysa B, *et al.* The p38 MAPK pathway mediates interleukin-1-induced Sertoli cell proliferation. *Cytokine* 2005;32(1):51-59
- 19 Smalley KS, Eisen TG. Differentiation of human melanoma cells through p38 MAP kinase is associated with decreased retinoblastoma protein phosphorylation and cell cycle arrest. *Melanoma Res* 2002;12(3):187-192
- 20 Schieven GL. The biology of p38 kinase: a central role in inflammation. *Curr Top Med Chem* 2005;5(10):921-928
- 21 Hamanoue M, Sato K, Takamatsu K. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase-induced apoptosis in cultured mature oligodendrocytes using SB202190 and SB203580. *Neurochem Int* 2007;51(1):16-24
- 22 Jackson JR, Bolognese B, Hillegass L, *et al.* Pharmacological effects of SB 220025, a selective inhibitor of P38 mitogen-activated protein kinase, in angiogenesis and chronic inflammatory disease models. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;284(2):687-692
- 23 Xu K, Gao H, Shu HK. Celecoxib can induce vascular endothelial growth factor expression and tumor angiogenesis. *Mol Cancer Ther* 2011;10(1):138-147
- 24 Koodie L, Ramakrishnan S, Roy S. Morphine suppresses tumor angiogenesis through a HIF-1alpha/p38MAPK pathway. *Am J Pathol* 2010;177(2):984-997
- 25 Turgut B, Guler M, Akpolat N, *et al.* The impact of tacrolimus on vascular endothelial growth factor in experimental corneal neovascularization. *Curr Eye Res* 2011;36(1):34-40
- 26 Lu P, Li L, Liu G, *et al.* Enhanced experimental corneal neovascularization along with aberrant angiogenic factor expression in the absence of IL-1 receptor antagonist. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(10):4761-4768
- 27 Fujita S, Saika S, Kao WW, *et al.* Endogenous TNFalpha suppression of neovascularization in corneal stroma in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(7):3051-3055
- 28 Zhu SN, Dana MR. Expression of cell adhesion molecules on limbal and neovascular endothelium in corneal inflammatory neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(7):1427-1434
- 29 Sagoo P, Chan G, Larkin DF, *et al.* Inflammatory cytokines induce apoptosis of corneal endothelium through nitric oxide. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(11):3964-3973