

DOI: 10.13376/j.cblls/2021087

文章编号: 1004-0374(2021)07-0810-07

靶向内质网应激作为肿瘤治疗的新策略

刘要甫^{1,2}, 谭正之¹, 田芳³, 杨义力^{1,2,4*}

(1 中国医学科学院苏州系统医学研究所, 苏州 215123; 2 北京协和医学院, 北京 100730; 3 郑州大学基础医学院病理生理学系, 郑州 450001; 4 国际遗传工程和生物技术中心中国区域研究中心, 泰州 225326)

摘要: 内质网应激是细胞应对蛋白质突变和表达水平异常的防御性反应, 包括未折叠蛋白反应 (UPR)、内质网相关蛋白质降解 (ERAD) 和自噬体形成等多个组成部分。许多研究指出, 肿瘤细胞依赖高水平的内质网应激反应以维持生存和高速生长, 干扰 UPR 和 ERAD 可抑制肿瘤细胞的生长。同时, 癌细胞发生抗药的关键机制是产生新的突变, 这些突变可能会进一步诱导 UPR 和 ERAD 等, 使抗药癌细胞对内质网应激的抑制剂更加敏感。因此, 面对后基因组时代发现的肿瘤细胞突变的多样性、异质性和持续性, 靶向细胞对突变的反应——内质网应激, 是值得关注和研究的新的抗肿瘤策略。

关键词: 内质网应激反应; 未折叠蛋白反应; 内质网相关蛋白质降解; 肿瘤治疗

中图分类号: Q244; R730.5 文献标志码: A

Targeting endoplasmic reticulum stress as a novel strategy for cancer treatment

LIU Yao-Fu^{1,2}, TAN Zheng-Zhi¹, TIAN Fang³, YANG Yi-Li^{1,2,4*}

(1 Suzhou Institute of Systems Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Suzhou 215123, China; 2 Peking Union Medical College, Beijing 100730, China; 3 Department of Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 4 International Centre of Genetic Engineering and Biotechnology, China Regional Research Centre, Taizhou 225326, China)

Abstract: Endoplasmic reticulum stress is a cellular defense response to mutated or inadequately expressed proteins. It is composed of multiple components, including unfolded protein response (UPR), endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD), and autophagy formation. It has been revealed that tumor cells rely on high level of ER stress response to survive and grow rapidly. It has also been shown that meddling UPR and ERAD often induces inhibition of tumor cell growth. Of note, novel mutations are largely responsible for tumor cells to become resistant to chemotherapeutics. It is conceivable that these mutations are able to further augment ER stress response and make the cells more susceptible to inhibition of ER stress response. With the increasing understanding of cancer mutations, their diversity, heterogeneity, and continuity, we believe that targeting the cellular response to mutations represents a novel anti-tumor strategy that is worthy of being further studied and explored.

Key words: endoplasmic reticulum stress response; unfolded protein response; ER-associated degradation; cancer therapy

1 引言——内质网应激反应的分子机制

内质网 (ER) 是真核细胞内蛋白质折叠、修饰和成熟的重要细胞器。在环境、生理或病理因素的影响下, ER 能够感受蛋白质折叠和修饰异常或亚单位的比例失衡等, 启动应激反应来维持细胞自稳。

内质网应激反应中的关键机制是未折叠蛋白通过和内质网伴侣蛋白 BIP 的结合而激活 PERK-eIF2 α 、

收稿日期: 2020-12-13; 修回日期: 2021-04-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(81973358)

*通信作者: E-mail: yili.yang@icgeb.cn

IRE1 α -XBP1 和 ATF6 α 等转录因子和激酶,以减少蛋白质合成,提高内质网蛋白质折叠能力,增强蛋白质转运及降解,达到缓解内质网压力的目的。如果异常蛋白持续蓄积,UPR 通路将进一步激活细胞程序死亡机制。因此,UPR 是蛋白质质量控制、维持细胞及机体内环境稳定的关键机制。

PERK-eIF2 α 通路的启动分子 PERK 是内质网中的丝氨酸/酪氨酸激酶。未折叠蛋白与 BIP 结合使游离出来的 PERK 形成二聚体而激活,激活的 PERK 在 Ser51 位点磷酸化翻译起始因子 eIF2 α ,显著提高了其与 GDP 的结合,阻止和 GTP 的交换,从而抑制了细胞内蛋白质的合成,导致未折叠蛋白的产生减少,细胞阻滞于 G₁ 期。值得注意的是,eIF2 的激活增加转录因子 ATF4 的翻译,进而诱导一部分基因的表达,使细胞更耐受应激。这些变化有助于重塑蛋白质稳态和细胞生存,同时,ATF4 也促进促凋亡基因 CHOP 的表达,使细胞在受到强烈持久的 ER 应激情况下发生凋亡,进而维持机体内环境的稳定。

IRE1 α -XBP1 通路由具有丝氨酸/酪氨酸激酶和 RNA 酶双重活性的 IRE1 α 启动。未折叠蛋白和 BIP 结合后,释放出的 IRE1 α 通过二聚化和磷酸化而激活核酸内切酶活性^[1],可以从 XBP1 mRNA 上切除 26 个核苷酸的小片段,由此产生的新移码 XBP1 蛋白作为转录因子进入细胞核,调控一系列 UPR 相关基因的表达来促进蛋白质折叠、分泌及降解^[2],以此解决大量未折叠或异常折叠蛋白在内质网内的蓄积^[3]。而在过度的内质网应激压力下,寡聚化激活的 IRE1 α 会剪切多种 mRNA、rRNA 及 miRNA (统称为 RIDD, IRE1 α -dependent decay),诱导细胞凋亡^[4]。研究发现,线粒体泛素化酶 MITOL 能够泛素化 IRE1 α ,防止多聚化和 RIDD 的发生,说明线粒体可以调节 UPR 在促生存和促凋亡间的转变^[5]。

和上述两条通路不同,ATF6 通路的激活发生在高尔基体。ATF6 是含 LZ 结构域 (leucine zipper) 的转录因子,有 ATF6 α 和 ATF6 β 两种剪切体。非应激状态下,BIP 与 ATF6 α 结合使其驻留在内质网膜上。当异常蛋白在内质网蓄积时,脱离 BIP 结合的 ATF6 α 被转运至高尔基体,在蛋白酶 MBTPS1 (S1P) 和 MBTPS2 (S2P) 的作用下,释放出有转录活性的氨基端片段,该片段进入细胞核增加一系列参与蛋白质折叠、ERAD 的基因的转录^[6],增强细胞对未折叠蛋白的耐受和处理能力。因此,PERK-

eIF2 α 通路主要通过抑制蛋白质翻译减少未折叠蛋白的产生,而 IRE1 α -XBP1 和 ATF6 通路主要通过转录调节应对内质网中未折叠蛋白的积累。

通过内质网相关蛋白质降解减少内质网腔内的异常折叠蛋白蓄积是内质网应激反应的重要组成部分。ERAD 主要包括未折叠蛋白的识别、泛素化、逆转位和蛋白酶体降解四个步骤。识别各种不同未折叠蛋白的分子机制尚不完全清楚,一般认为和糖基化修饰、疏水结构的暴露及内质网滞留时间有关。小分子抑制剂、病毒蛋白表达、酵母的遗传学筛选、siRNA 和生物信息学等研究发现,至少 1 个泛素 E1、3 个 E2、15 个 E3 及 6 个去泛素化酶直接参与未折叠蛋白的泛素化过程^[7]。有证据表明,单个底物蛋白可同时或相继为多种 E3 泛素化,分别促进泛素化的起始和多聚泛素链的延伸。同时,为能够修饰多达千种的底物,ER 中的 E3 往往含有高亲和力的 E2 结合位点,并通过和伴侣蛋白结合,识别和促进未折叠蛋白的泛素化^[7]。许多研究发现,HRD1 和相关蛋白在逆转位过程中起关键作用。HRD1 和 DOA 10 一起参与“胞浆区未折叠蛋白”的逆转运,和辅因子 HRD3、YOS9、USA1 及 DER1 一起促进“内质网腔内部分异常折叠蛋白”的逆转位,而“跨膜区未折叠蛋白”的逆转运仅需 HRD1 和 HRD3。最近冷冻电镜研究发现,HRD3 和 YOS9 识别底物蛋白,在 USA1 的帮助下,HRD1 和 DDR1 合作形成逆转位通道,并且使通过的蛋白质发生多聚泛素化^[8]。这些修饰的蛋白质大多需要借助分离酶 VCP 的作用转运至蛋白酶体。VCP 是属于 AAA 家族 (ATPases associated with diverse cellular activities) 的 ATP 酶,6 个 VCP 分子形成一个有中心孔的双环结构,能够把多聚泛素化的未折叠蛋白从 ER 膜分离,并进一步传递到蛋白酶体降解^[9]。

值得指出的是,内质网应激也可通过 ATF6、Ca²⁺ 释放等诱导自噬体的形成,由溶酶体酶进一步消化聚集和异常折叠蛋白及损伤的细胞器,维持细胞内环境的稳定^[10]。当 ER 受长期或超强的应激时,PERK-eIF2 α 、IRE1 α -XBP1、ATF6 α 通路也可以通过激活 CHOP、Ca²⁺ 释放、JNK 和 ER 相关的 Caspase4/12 等机制导致细胞死亡,帮助维护机体内环境的稳定^[11]。研究表明,CHOP 通过下调 Bcl-2 和上调 Bax 促进细胞凋亡^[12]; Ca²⁺ 通过 IP3 受体和 Ryanodine 受体从 ER 释放,作用于线粒体而促使细胞色素 C 的释放和激活细胞凋亡程序^[13]。一系列实验还发现,未折叠蛋白可以和 ER-高尔基体的致死受体 DR5

结合, 导致 Caspase-8 的激活和细胞凋亡^[14]。因此, 当 ER 应激反应不能解决未折叠蛋白质在 ER 蓄积时, 可以和多种细胞凋亡的途径偶联, 从而帮助维持机体内环境的稳定。

2 发生内质网应激反应是肿瘤细胞的特征

2.1 肿瘤细胞ER应激的检测

肿瘤细胞内往往含有数十到数百种突变蛋白质, 且有持续生长所需要的高速蛋白质合成和加工, 这些都能够有效激活内质网应激反应。肿瘤中代谢改变、炎症和抗肿瘤免疫反应等因素也可以干扰蛋白质正常折叠并触发内质网应激。例如, 缺乏血管导致的缺氧乏糖状态造成的氧化还原、ATP 和 Ca^{2+} 变化均可以影响蛋白质修饰, 可直接诱导 UPR^[15]。但是, 虽然单个未折叠蛋白质引起的 UPR 可以清楚地通过其在内质网蓄积而被检测发现, 如何全面测定细胞内质网应激的水平仍然是一个有待解决的问题^[16-17]。对于未标记细胞和临床肿瘤标本, 研究中通常采用检测 UPR 通路中一个或多个分子的磷酸化或表达改变作为内质网应激的标志^[18]。其中最常用的是内质网伴侣蛋白 BIP, 反映了它在激活 UPR 三条通路中的关键作用。其他蛋白, 如 CHOP、GRP94、XBP1、GRP75、HSP60、CANX、HSP90、ATF6、HSP27、HSP70、IRE1 α 和 GADD34 等的变化也常常能检测到^[19]。大量的研究发现, 不但在分泌型的肿瘤细胞, 如多发性骨髓瘤(分泌 Ig) 和高表达黏蛋白的胰腺癌、结直肠癌细胞中有高水平的内质网应激反应^[20], 在非分泌型的肿瘤细胞, 如皮肤癌、前列腺癌、脑癌、胃癌、肝癌、肾癌细胞中也有内质网应激通路的激活^[19]。值得指出的是, 由于肿瘤细胞基因突变的多样性和发生、发展中的适应性改变, 上述分子的变化往往表明内质网应激的发生, 但是些变化的缺失不能证明不存在内质网应激反应。

2.2 ER应激在肿瘤发生、发展中的作用

参与内质网应激反应的分子和信号通路在细胞转化过程中起重要作用。例如, 小鼠原代角质细胞用 H-Ras 转化后, 诱导 UPR 并持续增殖 7~10 d, 继而发生衰老。进一步实验证明, IRE1 α 的激活一方面为转化细胞的增殖所必需, 同时通过剪切转录因子 ID1 促进细胞的衰老^[21]。C-Myc 诱导的细胞转化则需要激活 PERK, 促进自噬体形成^[22], 说明 ER 应激反应在肿瘤细胞的形成过程中起关键的双重作用: 维持细胞生存和防止细胞癌变。UPR 对肿

瘤血管生成也起着重要调节作用。UPR 激活的转录因子 XBP1、ATF4 和 ATF6 均可以结合到血管内皮生长因子 A (VEGFA) 的启动子区域, 增强其转录^[23]。敲减 PERK、IRE1 α 或 ATF6 则显著抑制乏氧、乏糖诱导的肿瘤血管生成和 VEGFA、IL-6 及 FGF2 的表达^[24]。IRE1 α 通过作用于 XBP1, 促进参与血管生成的 FGF2、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 表达, 也可以通过 RIDD 显著促进肿瘤血管生成^[25]。大量的研究也证明, 在原发和移植瘤中, UPR 信号通路的分子及其激活在肿瘤细胞生存和生长中起关键作用。例如, PERK-eIF2 α -ATF4 通路的持续激活和肿瘤细胞的上皮间质转化 (EMT) 及转移有密切关系^[26]。持续的 ER 应激能保持离开原位的胰腺癌细胞存活, 逃避免疫监视和建立潜在转移^[27]。因此, 内质网应激参与肿瘤发生、形成和转移的各个环节。在肿瘤细胞中可检测到 ER 应激通路的激活, 有理由相信, 细胞已经通过不同的机制形成耐受, 依赖高水平 UPR、ERAD 等得以在体内生存和发展。

2.3 肿瘤细胞ER应激和死亡的脱偶联

在发生内质网应激反应后, 细胞对未折叠蛋白的耐受性提高, 有利于细胞的生存。而当刺激过强或持续时间过长时, 触发 IRE1 α 寡聚化和 RIDD 介导的细胞凋亡。一系列实验发现, 持续内质网应激导致 IRE1 α 和 ATF6 通路迅速衰减, 而 PERK 通路和其下游的促凋亡分子 CHOP 却能保持激活, 并触发凋亡通路^[28]。在黑色素瘤细胞实验中发现, 激活 MEK/ERK 信号通路可以维持 IRE1 α 和 ATF6 的持续激活, 并由此拮抗内质网压力下的细胞凋亡^[29]。还有研究发现, 在有些肿瘤细胞中, IRE1 α 的突变使其失去了 RIDD 功能而依旧保留有剪切 XBP1 mRNA 的功能^[30]。因此, 可以推测, 肿瘤细胞可以在利用 UPR 促生存功能的同时, 通过多种不同的机制抑制其诱导的凋亡的活性, 从而促进肿瘤的发展。还有报道发现, 在发生 UPR 的肿瘤细胞中, 由于 p-eIF2 α 介导的总体翻译抑制, 减少了可供 MHC I 装载的肽段池, 虽然细胞内 MHC I 蛋白的含量没有降低, 但表面 MHC I 的表达显著下调, 从而有利于逃避免疫监视^[31]。

3 内质网应激反应作为肿瘤治疗的靶点

3.1 肿瘤细胞对ER应激反应抑制剂更敏感

许多实验发现, 诱导 ER 应激反应的小分子化合物常常可以选择地杀死肿瘤细胞。例如, 衣霉素和其衍生物通过抑制 UDP-N-乙酰葡萄糖胺向磷酸

多萜醇的转化, 阻断蛋白糖基化而诱发内质网应激, 在多种肿瘤细胞中诱导自噬与凋亡, 并提高肿瘤细胞对放、化疗的敏感性。毒胡萝卜内酯则通过抑制内质网 Ca^{2+} -ATP 酶而诱导 ER 应激, 能够选择性地杀死肿瘤细胞^[32]。二硫苏糖醇和其他影响二硫键形成的小分子也能诱导 ER 应激反应和细胞凋亡^[33]。噻唑苯磺酰胺类分子 HA15 抑制 BIP 的 ATP 酶活性, 诱导 ER 应激, 在体内和体外实验中展现抗黑色素瘤的作用^[34]。这些分子由于生物利用度、特异性和效力等缺陷, 目前难以直接用于临床肿瘤治疗, 但它们的效应表明, 肿瘤细胞对诱导 ER 应激的刺激较正常细胞敏感, 进一步增强的内质网应激将优先把它们推向死亡。因此, 发现新的更有效 UPR 诱导剂成为许多实验室努力的方向。有报告发现, 采用 BIP 调控序列-荧光素酶报告基因的高通量筛选发现, 若干含有 2,9-二氮杂螺环 [5.5] 十一烷 (2,9-diazaspiro[5.5]undecane) 核的化合物能够通过诱导 ER 应激反应, 在普通和 3D 培养条件下优先杀伤肿瘤细胞^[35]。已经进入 II 期临床试验的抗肿瘤药物 ABTL0812 通过增加二氢神经酰胺诱导内质网应激, 由 ATF4 介导细胞毒性自噬体形成^[36]。值得注意的是, 不同肿瘤和肿瘤内不同细胞的 ER 应激水平和机制有很大差异, 选择这类药物进行抗肿瘤研究和治疗时应依据细胞的应激水平和特征而选择种类、剂量和标志物。

3.2 发现新的ER应激反应抑制剂

肿瘤细胞依赖高水平的 ER 应激反应以应对大量突变蛋白及高速生长, 因此, 抑制 UPR 和 ERAD 等过程能有效诱导细胞死亡。已有大量研究针对 UPR 通路 PERK-eIF2 α 、IRE1 α -XBP1 和 ATF6 α 开发了各种特异的抑制剂^[37]。其中, IRE1 α 的抑制剂包括针对其 RNA 酶活性和蛋白激酶活性两类。STF083010 等 RNA 酶活性抑制剂展示了一定的抗肿瘤作用^[38-39], 而抑制蛋白激酶活性的化合物抗肿瘤作用并不明显。有报告指出, PERK 激酶抑制剂能有效抑制肿瘤生长^[40], ATF6 特异性抑制剂 Ceapins 则选择性地杀伤有 ER 应激反应的细胞^[41]。除了特异性、效力和生物利用度等缺陷外, 这些抑制剂尚难以成为有效抗肿瘤药物的主要原因是 ER 应激反应通路的多重性和功能交叉性^[19]。值得关注的是, ERAD 是 ER 控制蛋白质质量、清除未折叠蛋白的关键机制, 其中由 ER 到胞浆的逆转位是所有蛋白的共同通路^[19], 因而抑制 ERAD, 尤其是逆转位可能是更有效阻断 ER 应激反应和抗肿瘤的有效策略。蛋白酶

体抑制剂已成功地进入临床, 作为抗骨髓瘤和淋巴瘤的有效药物。许多研究发现, 抑制 VCP 能有效阻断 ERAD, 诱导肿瘤细胞的凋亡^[42]。高效特异的 VCP 抑制剂 CB-5083 已经进入临床试验^[43]。但是, 尚未有针对逆转位的特异抑制剂, 重要原因是蛋白质由内质网到细胞浆的逆转位通常是用生化方法检测的, 这些方法的实验步骤复杂, 灵敏度不高, 不适合大量筛选, 是研究逆转位的分子机制和发现靶向分子的主要障碍。我们前期的研究发现, 含绿色荧光蛋白 (GFP) 片段的未折叠蛋白由内质网逆转位后, 可以和胞浆表达的另一个 GFP 片段重组而产生绿色荧光, 能够作为转位的定位和定量指标。把这个方法和活细胞成像技术结合, 可以监测蛋白质转位、研究转位的分子机制, 也为筛选抑制逆转位的小分子化合物提供了有效的平台^[44]。

3.3 抗药性相关DNA损伤可能激活ER应激

克服肿瘤细胞的抗药性是改善肿瘤治疗、提高患者生存的重要关键。多种不同机制可以导致肿瘤细胞抗药, 包括药物转运增强、药物在细胞内修饰代谢的增强、细胞内相应信号转导通路改变等。越来越多的研究表明, 这些改变大多源于肿瘤细胞基因组修复缺陷和随之而来的基因突变。2020 年, 有研究发现, 诱导的基因组损伤可以直接激活 IRE1 α , 诱导一些与 DNA 修复、细胞生存相关 RNA 的降解, 从而直接调控 DNA 修复和细胞死亡过程^[45]。可以想象, 肿瘤细胞产生抗药突变的同时, 也会激活部分或全部的 ER 应激通路, 支撑细胞生存, 而阻断这些通路则抑制抗药细胞的产生。因而, 靶向 ER 应激反应的药物和其他抗肿瘤药物联合使用, 是值得研究的肿瘤治疗策略。

3.4 靶向细胞表面BIP作为独特靶点

靶向细胞表面 BIP (csBIP) 是另一个靶向内质网应激的策略。BIP 是蛋白质在 ER 的折叠和感受未折叠蛋白蓄积的关键分子, 在许多肿瘤细胞中高水平表达。BIP 也表达于细胞表面, 尤其是在肿瘤细胞表面, 且和肿瘤的侵袭力、放射和药物敏感性及其复发密切相关^[46]。进一步分析发现, 细胞表面 BIP (csBIP) 能和包括 MHC I 型分子在内的若干膜分子相结合, 并作为 $\alpha 2$ -巨球蛋白、纤溶酶原 Kringle5、前列腺凋亡反应蛋白 4 等多种蛋白的受体, 起着包括促进细胞增生、促进细胞生存或凋亡在内的多种广泛作用^[47]。其中, 促凋亡的配体不仅包括天然蛋白和合成的肽段, 也包括可溶性 BIP 和一些单克隆抗体。这些抗体能够在体内、体外抑制肿瘤细胞生

长,抑制 PI3K/AKT 信号通路,激活细胞凋亡程序,但目前尚未有临床实验证明这些抗体治疗肿瘤的有效性。因此,深入研究 csBIP 介导的信号转导机制、发现新的更好的抗体、开展更多更精准的临床试验是目前努力的方向。

4 总结和展望

4.1 靶向ER应激的挑战和可能方向

肿瘤生存对内质网应激反应的依赖性使它成为潜在的肿瘤治疗靶点,抑制内质网应激反应可以有效促进肿瘤细胞生长停滞和死亡。针对 UPR 的 PERK-eIF2 α 、IRE1 α -XBP1 和 ATF6 α 通路,已发现和合成多种不同的抑制剂,但大多数分子在体内的抗肿瘤效应仍待进一步研究。关键原因之一是参与 UPR 分子的多样性、信号传播的网络性和功能的重复性。因此,阻断共同通路 VCP 或蛋白酶体的抑制剂最先显现临床抗肿瘤作用。ERAD 过程中也有多种不同的泛素化酶参与,但泛素化未折叠蛋白的逆转运是此过程的一个共同通路,因而,建立新的高通量筛选方法并发现特异的逆转位抑制剂是今后研究的重要方向。值得注意的是,在肿瘤形成过程中,持续高水平 UPR 在支持肿瘤细胞生存的同时,已经和细胞死亡通路间脱偶联。因此,发现在不同肿瘤中的脱偶联机制,恢复 UPR 通路介导的细胞死亡是靶向内质网抗肿瘤的一个新策略。

4.2 肿瘤细胞的抗药突变可能诱导ER应激反应

不同类型的肿瘤有着不同强度的内质网应激反应,同一个肿瘤组织中的不同肿瘤细胞也可能处在不同的内质网应激阶段,因此靶向 ER 应激反应的策略和药物,往往首先考虑对 ER 应激反应高度依赖的肿瘤,如骨髓瘤和淋巴瘤。另一方面,胰腺等有分泌功能的组织细胞也可能受靶向 ER 应激反应药物的影响。例如,小分子 PERK 抑制剂 GSK2656157 可以有效降低 PERK 的自身磷酸化及对 eIF2 α 的磷酸化过程,对多发性骨髓瘤细胞有显著的抑制和促凋亡作用,但在体内对小鼠胰腺外分泌细胞及胰岛细胞造成了严重损伤^[40]。因此,寻找肿瘤细胞在内质网应激反应通路中的特征仍是发现有效干预措施的重要任务和前提。

4.3 ER和很多疾病相关联

ER 应激后造成的细胞损伤等也在癌症以外的许多疾病的发生过程中起关键作用,其中包括糖尿病、神经退行性疾病、肺纤维化、心血管疾病、病毒感染和炎症疾病。这些看起来不相关疾病中一个

共同的关键问题是细胞内外的改变扰乱了蛋白质折叠,导致未折叠蛋白在 ER 的蓄积^[48]。ER 应激和细胞死亡除直接导致上述疾病的病理变化外,也能够有效激活 NLRP3 炎症小体,这可能是上述疾病组织中持续、低强度炎症的重要原因^[49]。因此,干预 ER 应激反应可能为肥胖、糖尿病等一系列疾病的治疗提供新的线索。值得指出的是,越来越多的证据表明,肿瘤化疗的成功有赖于诱导新的细胞死亡方式,如细胞焦亡,以激活天然和特异免疫系统^[50]。除影响炎症和细胞死亡过程外,内质网和 ER 应激反应对细胞抗原呈递过程的多个环节有重要影响,进一步研究干预相应通路过程对特异免疫的作用,无疑对发展新的抗肿瘤策略有重要的理论和实际意义。

[参 考 文 献]

- [1] Ali MM, Bagratuni T, Davenport EL, et al. Structure of the Ire1 autophosphorylation complex and implications for the unfolded protein response. *EMBO J*, 2011, 30: 894-905
- [2] Lee K, Tirasophon W, Shen X, et al. IRE1-mediated unconventional mRNA splicing and S2P-mediated ATF6 cleavage merge to regulate XBP1 in signaling the unfolded protein response. *Genes Dev*, 2002, 16: 452-66
- [3] Calton M, Zeng H, Urano F, et al. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. *Nature*, 2002, 415: 92-6
- [4] Hetz C, Papa FR. The unfolded protein response and cell fate control. *Mol Cell*, 2018, 69: 169-81
- [5] Takeda K, Nagashima S, Shiiba I, et al. MITOL prevents ER stress-induced apoptosis by IRE1 α ubiquitylation at ER-mitochondria contact sites. *EMBO J*, 2019, 38: e100999
- [6] Yamamoto K, Sato T, Matsui T, et al. Transcriptional induction of mammalian ER quality control proteins is mediated by single or combined action of ATF6 α and XBP1. *Dev Cell*, 2007, 13: 365-76
- [7] Christianson JC, Ye Y. Cleaning up in the endoplasmic reticulum: ubiquitin in charge. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21: 325-35
- [8] Wu X, Siggel M, Ovchinnikov S, et al. Structural basis of ER-associated protein degradation mediated by the Hrd1 ubiquitin ligase complex. *Science*, 2020, 368: eaaz2449
- [9] Bodnar NO, Rapoport TA. Molecular mechanism of substrate processing by the Cdc48 ATPase complex. *Cell*, 2017, 169: 722-35
- [10] Qi Z, Chen L. Endoplasmic reticulum stress and autophagy. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206: 167-77
- [11] Tan Y, Dourdin N, Wu C, et al. Ubiquitous calpains promote caspase-12 and JNK activation during endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *J Biol Chem*, 2006, 281: 16016-24

- [12] Zhang J, Wang X, Liu H, et al. TNF- α enhances apoptosis by promoting chop expression in nucleus pulposus cells: role of the MAPK and NF- κ B pathways. *J Orthop Res*, 2019, 37: 697-705
- [13] Saunders R, Szymczyk KH, Shapiro IM, et al. Matrix regulation of skeletal cell apoptosis III: mechanism of ion pair-induced apoptosis. *J Cell Biochem*, 2007, 100: 703-15
- [14] Lam M, Marsters SA, Ashkenazi A, et al. Misfolded proteins bind and activate death receptor 5 to trigger apoptosis during unresolved endoplasmic reticulum stress. *Elife*, 2020, 9: e52291
- [15] Koritzinsky M, Levitin F, van den Beucken T, et al. Two phases of disulfide bond formation have differing requirements for oxygen. *J Cell Biol*, 2013, 203: 615-27
- [16] Akiyama M, Hatanaka M, Ohta Y, et al. Increased insulin demand promotes while pioglitazone prevents pancreatic β cell apoptosis in Wfs1 knockout mice. *Diabetologia*, 2009, 52: 653-63
- [17] Merksamer PI, Trusina A, Papa FR. Real-time redox measurements during endoplasmic reticulum stress reveal interlinked protein folding functions. *Cell*, 2008, 135: 933-47
- [18] Ali I, Liu HX, Zhang-Shu L, et al. Reduced glutathione alleviates tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress in mouse preimplantation embryos. *J Reprod Dev*, 2018, 64: 15-24
- [19] Wang M, Kaufman RJ. The impact of the endoplasmic reticulum protein-folding environment on cancer development. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14: 581-97
- [20] Auner HW, Cenci S. Recent advances and future directions in targeting the secretory apparatus in multiple myeloma. *Br J Haematol*, 2015, 168: 14-25
- [21] Blazanic N, Son J, Craig-Lucas AB, et al. ER stress and distinct outputs of the IRE1 α RNase control proliferation and senescence in response to oncogenic Ras. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 9900-5
- [22] Hart LS, Cunningham JT, Datta T, et al. ER stress-mediated autophagy promotes Myc-dependent transformation and tumor growth. *J Clin Invest*, 2012, 122: 4621-34
- [23] Ghosh R, Lipson KL, Sargent KE, et al. Transcriptional regulation of VEGF-A by the unfolded protein response pathway. *PLoS One*, 2010, 5: e9575
- [24] Wang Y, Alam GN, Ning Y, et al. The unfolded protein response induces the angiogenic switch in human tumor cells through the PERK/ATF4 pathway. *Cancer Res*, 2012, 72: 5396-406
- [25] Lhomond S, Avril T, Dejeans N, et al. Dual IRE1 RNase functions dictate glioblastoma development. *EMBO Mol Med*, 2018, 10: e7929
- [26] Feng YX, Sokol ES, Del Vecchio CA, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition activates PERK-eIF2 α and sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress. *Cancer Discov*, 2014, 4: 702-15
- [27] Pommier A, Anaparthi N, Memos N, et al. Unresolved endoplasmic reticulum stress engenders immune-resistant, latent pancreatic cancer metastases. *Science*, 2018, 360: eaao4908
- [28] Lin JH, Li H, Yasumura D, et al. IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response. *Science*, 2007, 318: 944-9
- [29] Tay KH, Luan Q, Croft A, et al. Sustained IRE1 and ATF6 signaling is important for survival of melanoma cells undergoing ER stress. *Cell Signal*, 2014, 26: 287-94
- [30] Ghosh R, Wang L, Wang ES, et al. Allosteric inhibition of the IRE1 α RNase preserves cell viability and function during endoplasmic reticulum stress. *Cell*, 2014, 158: 534-48
- [31] Granados DP, Tanguay PL, Hardy MP, et al. ER stress affects processing of MHC class I-associated peptides. *BMC Immunol*, 2009, 10: 10
- [32] Czyz A, Brutkowski W, Fronk J, et al. Tunicamycin desensitizes store-operated Ca²⁺ entry to ATP and mitochondrial potential. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 381: 176-80
- [33] Ferreira RB, Wang M, Law ME, et al. Disulfide bond disrupting agents activate the unfolded protein response in EGFR- and HER2-positive breast tumor cells. *Oncotarget*, 2017, 8: 28971-89
- [34] Cerezo M, Lehraiki A, Millet A, et al. Compounds triggering ER stress exert anti-melanoma effects and overcome BRAF inhibitor resistance. *Cancer Cell*, 2016, 29: 805-19
- [35] Martinez NJ, Rai G, Yasgar A, et al. A high-throughput screen identifies 2,9-diazaspiro[5.5]undecanes as inducers of the endoplasmic reticulum stress response with cytotoxic activity in 3D glioma cell models. *PLoS One*, 2016, 11: e0161486
- [36] Munoz-Guardiola P, Casas J, Megias-Roda E, et al. The anti-cancer drug ABTL0812 induces ER stress-mediated cytotoxic autophagy by increasing dihydroceramide levels in cancer cells. *Autophagy*, 2021, 17: 1349-66
- [37] Markouli M, Strepkos D, Papavassiliou AG, et al. Targeting of endoplasmic reticulum (ER) stress in gliomas. *Pharmacol Res*, 2020, 157: 104823
- [38] Papandreou I, Denko NC, Olson M, et al. Identification of an Ire1 α endonuclease specific inhibitor with cytotoxic activity against human multiple myeloma. *Blood*, 2011, 117: 1311-4
- [39] Zheng Y, Tu J, Wang X, et al. The therapeutic effect of melatonin on GC by inducing cell apoptosis and autophagy induced by endoplasmic reticulum stress. *Oncotargets Ther*, 2019, 12: 10187-98
- [40] Atkins C, Liu Q, Minthorn E, et al. Characterization of a novel PERK kinase inhibitor with antitumor and antiangiogenic activity. *Cancer Res*, 2013, 73: 1993-2002
- [41] Gallagher CM, Walter P. Ceapins inhibit ATF6 α signaling by selectively preventing transport of ATF6 α to the Golgi apparatus during ER stress. *Elife*, 2016, 5: e11880
- [42] Nishimura N, Radwan MO, Amano M, et al. Novel p97/VCP inhibitor induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in both bortezomib-sensitive and -resistant multiple myeloma cells. *Cancer Sci*, 2019, 110: 3275-87
- [43] Lan B, Chai S, Wang P, et al. VCP/p97/Cdc48, a linking

- of protein homeostasis and cancer therapy. *Curr Mol Med*, 2017, 17: 608-18
- [44] Zhong Y, Shen H, Wang Y, et al. Identification of ERAD components essential for dislocation of the null Hong Kong variant of α -1-antitrypsin (NHK). *Biochem Biophys Res Comm*, 2015, 458: 424-8
- [45] Dufey E, Bravo-San Pedro JM, Eggers C, et al. Genotoxic stress triggers the activation of IRE1 α -dependent RNA decay to modulate the DNA damage response. *Nat Commun*, 2020, 11: 2401
- [46] Gopal U, Mowery Y, Young K, et al. Targeting cell surface GRP78 enhances pancreatic cancer radiosensitivity through YAP/TAZ protein signaling. *J Biol Chem*, 2019, 294: 13939-52
- [47] Ge R, Kao C. Cell surface GRP78 as a death receptor and an anticancer drug target. *Cancers (Basel)*, 2019, 11: 1787
- [48] Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol*, 2015, 10: 173-94
- [49] Chen X, Guo X, Ge Q, et al. ER stress activates the NLRP3 inflammasome: a novel mechanism of atherosclerosis. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 3462530
- [50] Zhang J, Lou X, Jin L, et al. Necrosis, and then stress induced necrosis-like cell death, but not apoptosis, should be the preferred cell death mode for chemotherapy: clearance of a few misconceptions. *Oncoscience*, 2014, 1: 407-22