

糖原合成酶激酶-3 β 与肿瘤的研究进展

秦 晶 周志刚 谭 晖

摘 要 糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)是普遍存在于真核细胞中的一种多功能丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,参与 Wnt/ β -catenin、NF- κ B 及 PI₃K/AKT/mTOR 等多条细胞信号转导通路。近年研究发现,GSK-3 β 除了参与糖代谢外,还参与细胞内多种生理病理过程,如细胞的分化、增殖和凋亡等,其活性异常与多种肿瘤的发生、发展、侵袭、转移和预后密切相关,已成为许多疾病治疗的靶点。

关键词 糖原合成酶激酶-3 β 肿瘤 细胞信号转导通路 治疗靶点

[中图分类号] R733

[文献标识码] A

一、GSK-3 β 的基本结构

糖原合成酶激酶-3(GSK-3)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是糖原合成酶激酶的限速酶。在哺乳动物体内有 GSK-3 α 和 GSK-3 β 两个亚型,分子质量为 51kDa 和 47kDa,分别位于人染色体 19q13.2 和 3q13.3。GSK-3 β 的功能不仅是使肝糖原合成酶(glycogen synthase,GS)磷酸化而失活,而且它的活性与细胞增殖、分化、凋亡、胰岛素反应和胚胎发育等诸多方面的生物学功能相关。

近年来,对 GSK-3 β 与急性粒细胞白血病(AML)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、多发性骨髓瘤、糖尿病、阿尔茨海默病、脑卒中、双向情感障碍和炎症等多种疾病的发生、发展及预后的关系研究较多。大量的研究证实,GSK-3 β 在多种肿瘤中表达异常,在临床诊断与治疗中有望成为多种疾病(尤其是恶性肿瘤)的一个潜在的标志物或治疗靶点。

二、GSK-3 β 在肿瘤中相关的作用机制

1. Wnt 信号转导通路:Wnt 信号通路广泛存在于真核生物细胞中,调控着细胞增殖、分化和凋亡等,与肿瘤的发生和发展密切相关。GSK-3 β 是 Wnt 信号转导通路中重要调节蛋白。在正常细胞质中含有适量的 β -连环蛋白(β -catenin),可以被 GSK-3 β 与 APC 蛋白、轴蛋白(Axin)组成的蛋白复合物磷酸化,进而被泛素蛋白水解酶降解。当 Wnt 信号转导途径

被激活时,Wnt 与膜受体卷曲受体蛋白结合后降低 GSK-3 β 的活性,阻止 β -catenin 磷酸化,不能被泛素蛋白水解酶降解。在细胞质中过量累聚的 β -catenin 进入细胞核,与 DNA 结合蛋白结合介导下游目的基因的表达,调控细胞周期蛋白(cyclin)D1 与原癌基因蛋白(c-myc)等多种基因的表达,促进肿瘤细胞的生长与增殖^[1]。此外, β -catenin 在细胞核中也可以直接与 GSK-3 β 结合,降低 β -catenin/TCF 依赖的基因转录,促进肿瘤细胞增殖^[2]。

2. 细胞核因子(NF- κ B)信号途径:NF- κ B 是一种多向调节功能的转录因子,参与许多基因的转录调控,被认为是促生存转录因子,可作为 GSK-3 β 的磷酸化底物,进一步传递信号,参与人类肿瘤细胞的增殖、分化和凋亡。Takada 等研究发现在 ALL 细胞中,GSK-3 β 通过调节组蛋白的化学修饰,促进 p65/p50 与 NF- κ B 结合,提高转录活性,促进肿瘤细胞的增殖与分化^[3]。SB216763 和氯化锂通过调控 NF- κ B 特异的启动子复活,抑制 NF- κ B 与其靶基因 Bcl-2 的启动子相结合,从而促进 ALL 细胞及慢性淋巴细胞白血病(CLL)的 B 淋巴细胞凋亡。通过 EMSA 证实,在儿童 ALL 细胞中,对 GSK-3 β 的抑制不能阻止 NF- κ B 从胞质向胞核的移位,但是该抑制作用可以使 NF- κ B 的转录受到抑制,生存素的表达减少,进而促进儿童 ALL 细胞凋亡^[-3,4]。

3. DJ-1 的突变及 Tau 的磷酸化:DJ-1 基因是线粒体依赖癌基因,DJ-1 蛋白以二聚体形式参与人体各种生理过程,同时也是一种致癌蛋白^[5]。在帕金森病(PD)和阿尔茨海默病(AD)中发现了 DJ-1 基因的两种突变类型 DJ-1L166P 和 DJ-1D149A,该突变阻止 DJ-1 蛋白与野生型的蛋白结合形成二

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81100375);湖南省高校创新平台开放基金资助项目(11K057)

作者单位:421001 衡阳,南华大学肿瘤研究所(秦晶、谭晖);南华大学附属第一医院肿瘤内科(周志刚)

通讯作者:谭晖,硕士生导师,电子信箱:tanhuiy@sohu.com

聚体或者异二聚体而影响其参与生理活动^[6]。Wang 等^[7]发现在转染 DJ-1L166P 或者 DJ-1D149A 的细胞内, GSK-3 β 的总量没有改变, 但 GSK-3 β 磷酸化水平降低约 50%, 导致 Akt 磷酸化水平降低, tau 磷酸化显著增加, 应用 GSK-3 β 的抑制剂氯化锂后, 转染 DJ-1L166P 或者 DJ-1D149A 细胞内 Akt 磷酸化水平提高, tau 磷酸化水平明显降低, 从而抑制细胞的增殖。

4. Akt 磷酸化作用: GSK-3 β 9 号位上的丝氨酸被上游起主要调控作用的蛋白激酶 A (PKA) 磷酸化后, 能够作为假底物与 GSK-3 β 酶底物竞争酶活性中心, 使 GSK-3 β 失活, 导致 β -catenin 降解减少, 在细胞质中过量聚集并进入细胞核, 与淋巴细胞增强因子/T 细胞因子作用, 促进 c-Myc、c-Jun 及 cyclinD1 的表达, 促进肿瘤增殖^[1]。

5. PI₃K/AKT/mTOR 信号通路与 Bcl-2、Bcl-xL 抗凋亡因子: 在恶性肿瘤细胞中抗凋亡因子 Bcl-2、Bcl-xL 和 Mcl-1 表达异常增高, 尤其是在血液系统恶性肿瘤中表达更为明显, 抑制细胞的凋亡, 促进细胞生长、增殖及耐药的产生。Mohamed 等^[8]研究发现, GSK-3 β 通过 PI₃K/AKT/mTOR 信号通路调节 Bcl-2、Bcl-xL 和 Bak、Bax 之间的平衡, 在 AML 中, GSK-3 β 抑制剂 BE235 和 ABT737 使 Bcl-2、Bcl-xL 和 Mcl-1 表达降低, 明显的促进 PI₃K 诱导细胞凋亡。利用 siRNA 干扰 GSK-3 β 表达后减弱了 BEZ235/ABT-737 对细胞凋亡蛋白酶-3 和聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶 (PARP) 的分解, 抑制了细胞凋亡。在皮下移植瘤模型, BE235 和 ABT737 同时服用显著的减弱了肿瘤的生长, 下调 Mcl-1, 活化半胱天冬氨酸蛋白酶, 延长生存。

三、GSK-3 β 与肿瘤的关系

1. GSK-3 β 与血液系统肿瘤的关系: 在白血病、多发性骨髓瘤等一些血液系统肿瘤中, GSK-3 β 的表达增高, 促进肿瘤细胞增殖而抑制细胞凋亡^[9]。GSK-3 β 可以诱导肿瘤细胞进入 S 期, 增加 cyclin D1 表达, 促进肿瘤细胞增殖。Wang 等^[10]发现抑制 GSK-3 β 的表达可能有助于治疗混合性白血病 (MLL), 使用 GSK-3 β 抑制剂治疗过的小鼠比未用该药的小鼠存活期明显延长, 且采用不同的 GSK-3 β 阻断剂, 均能阻止白血病细胞生长。他们认为这可能与 GSK-3 β 调控 Wnt/ β -catenin 信号途径的功能有关。Mohamed 等^[8]已经证明, 在急性粒细胞性白血病 (AML) 中, GSK-3 β 的磷酸化水平降低, 活

性增强, 其通过调节多个下游的靶点包括 Mcl-1、Bim、FOXO-3、 β -catenin 和 c-Myc 等, 可以发挥促进肿瘤细胞生长与增殖的作用。GSK-3 β 促进 Mcl-1 蛋白酶体的降解, 当 GSK-3 β 被抑制或者敲除后, 使用 BEZ235/ABT-737 治疗的 AML 细胞中 Mcl-1 的下调是减弱, 可以保护 AML 细胞不受 BEZ235/ABT-737 的杀伤破坏。说明 BEZ235/ABT-737 是通过作用 GSK-3 β 促进细胞凋亡。GSK-3 β 可以正面调节 NF- κ B 的活性, GSK-3 β 抑制剂通过作用 NF- κ B 诱导体外儿童急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 细胞凋亡^[3]。

2. GSK-3 β 与消化系统肿瘤: GSK-3 β 在胰腺癌和结肠癌中高表达。通常, GSK-3 β 表达于细胞胞质内。研究发现, 在胰腺癌细胞系中, GSK-3 β 由胞质向胞核转移且在胞核内异常积聚, 有利于肿瘤细胞的生长和增殖^[3]。Mai 等^[11]通过自行开发的非放射性酵素测定法, 对具有 GSK-3 β 活性的肝癌、胃癌、结肠癌和胰腺癌细胞系的进行测定, 结果显示具有活性的 GSK-3 β 的表达水平平均比人胚肾细胞系 (HEK293) 的高。同时也证明了 GSK-3 β 还通过提高端粒酶活性和促进端粒酶反转录酶 hTERT 表达, 促进胃肠道肿瘤生长、增殖、侵袭和转移。Shakoori 等^[12]给无胸腺小鼠皮下接种了人类结肠癌细胞 SW480 后, 腹腔注射 GSK-3 β 低分子抑制剂 SB-216763 和 AR-A014418, 5 周后观察到, 结肠癌细胞的扩散对抑制剂呈浓度依赖性抑制, 且部分癌细胞凋亡, 表明 GSK-3 β 参与了结肠癌细胞的生长和增殖过程。

3. GSK-3 β 与泌尿系统肿瘤的关系: GSK-3 β 在前列腺癌组织及细胞系中的表达均增高, Menschikowski 等^[13]发现对前列腺癌细胞系使用 GSK-3 β 抑制剂 TDZD8 或利用 siRNA 干扰 GSK-3 β 表达后, DNA 复制水平降低, 大量细胞停滞在 S 期, 从而抑制前列腺癌细胞的生长和增殖, 且与细胞周期相关因子 CDC6、CDC25、cyclin A 与 cyclin E 表达降低有关。在前列腺癌细胞中给予异黄酮, 通过抑制 AKT 信号通路而提高 GSK-3 β 的活性, 导致男性激素受体 AR 及其目的基因 PSA 下调, 从而抑制前列腺癌细胞的增殖, 诱导其凋亡^[14]。

4. GSK-3 β 与生殖系统肿瘤的关系: 抑制 GSK-3 β 的活性, 可抑制人卵巢癌细胞的增殖与存活, 促进卵巢癌细胞凋亡。在鼠胚胎瘤中研究发现, P38 可以通过使 GSK3 β 的 N 端丝氨酸磷酸化失活, 促进 β

- catenin 在肿瘤细胞核中聚集,促进细胞生长和增殖^[15]。

5. 其他:肿瘤细胞的生存依靠抗炎性相关因子、促炎性细胞因子及 Bax 和 Bcl-2 的平衡,GSK-3 β 可以主导炎症因子的产生,涉及 NF- κ B 信号途径、JNK 信号通路、抗炎性相关因子 IL-2、IL-10 以及促炎性细胞因子 IL-6、TNF- α 等^[16,17]。因此,当抗炎性相关因子 IL-2 和 IL-10 等降低,促炎性细胞因子 TNF- α 和 IL-6 等升高时,可以促进细胞凋亡^[18]。在口腔鳞状细胞癌中 GSK-3 β 通过抑制 Bcl-2 蛋白的表达,同时提高 p53 和 bax 的水平,导致细胞色素 C 的释放、线粒体膜电位的降低(缺失)及对细胞凋亡蛋白酶 9(caspase-9)的加工处理,促进细胞凋亡^[19]。涎腺癌、喉癌、食管癌等,GSK-3 β 活性降低,对肿瘤的发生发展及转移起抑制作用。

四、展 望

当前临床和实验资料均表明,GSK-3 β 参与细胞内多种病理生理过程及信号通路的调节,与许多疾病的发生有关。GSK-3 β 在大多数肿瘤中高表达,参与肿瘤发生、发展及转移过程,关于 GSK-3 β 与相关疾病的演进关系及肿瘤细胞中 GSK-3 β 的表达的作用机制尚未完全明确,目前仍需进一步研究,以评价其是否能作为安全和特异的治疗靶点,为研发有效的、不良反应小的药物提供理论基础,为疾病诊断、治疗及预后提供新思路和新方向。

参考文献

- Yan D, Avtanski D, Sanxena NK, *et al.* Leptin-induced epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells requires β -catenin activation via Akt/GSK3- and MTA1/Wnt1 protein-dependent pathways[J]. J Biol Chem, 2012,287(11):8598-8612
- CaspiM, Zilberberg A, Eldar F H, *et al.* Nuclear GSK-3B inhibits the canonical Wnt signalling pathway in a betacatenin phosphorylation-independent manner [J]. Oncogene, 2008, 27(25):3546-3551
- Yanni H, Xiaoyan G, Ruiyan L, *et al.* Glycogen synthase kinase-3 β inhibition induces nuclear factor- κ B-mediated apoptosis in pediatric acute lymphocyte leukemia cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2010, 154:26-29
- Kuzhuvelil BH, Ajaikumar BK, Kwang SA, *et al.* Modification of the cysteine residues in IkappaBalpha kinase and NF-kappaB (p65) by xanthohumol leads to suppression of NF-kappaB-regulated gene products and potentiation of apoptosis in leukemia cells[J]. Blood, 2009,113:2003-2013
- Guillaume R, Issam BS, Alexandre P, *et al.* Acadesine kills chronic myelogenous leukemia (CML) cells through PKC-dependent induction of autophagic cell death [J]. PLoS ONE, 2009,4(11):e7889
- Deeg S, Gralle M, Sroka K, *et al.* BAG1 restores formation of functional DJ-1 L166P dimers and DJ-1 chaperone activity[J]. J Cell Biol. 2010,188:505-513
- Wang YG, Liu WP, Xiao S, *et al.* Parkinson's disease-associated Dj-1 mutations increase abnormal phosphorylation of tau protein through Akt/Gsk-3 β pathways[J]. J Mol Neurosci, 2013,51(3):911-918
- Mohamed R, Mandy MA, Elisa A, *et al.* Dual inhibition of Bcl-2 and Bcl-xL strikingly enhances PI3K inhibition-induced apoptosis in human myeloid leukemia cells through a GSK3- and Bim-dependent mechanism[J]. Cancer Res, 2012,73(4):1340-1351
- Cheng YL, Huang WC, Chen CL, *et al.* Increased galectin-3 facilitates leukemia cell survival from apoptotic stimuli[J]. Biol Chem, 2011,412:334-340
- Wang Z, Smith K S, Murphy M, *et al.* Glycogen synthase kinase3 in MLL leukaemia maintenance and targeted therapy[J]. Nature, 2008, 455(7217):1205-1209
- Mai W, Kawakami K, Shakoori A, *et al.* Deregulated GSK3beta sustains gastrointestinal cancer cells survival by modulating human telomerase reverse transcriptase and telomerase [J]. Clin Cancer Res, 2009,15:6810-6819
- Shakoori A, Mai W, Miyashita K, *et al.* Inhibition of GSK-3 β activity attenuates proliferation of human colon cancer cells in rodents [J]. Cancer Sci, 2008, 98(9):1388-1393
- Menschikowski M, Hagelgans A, Tiebel O, *et al.* Regulation of thrombomodulin expression in prostate cancer cells [J]. Cancer Lett, 2012,28,322(2):177-184
- Li YW, Wang Z, Kong DJ, *et al.* Regulation of Akt/FOXO3a/GSK-3B/AR signaling network by iso flavone in prostate cancer cells [J]. J Bio Chem, 2008, 283(41):27707-27716
- Bikkavilli RK, Feigin ME, Malbon CC, *et al.* P38mitogenactivated protein kinase regulates canonical Wnt β -catenin signaling by inactivation of GSK3 β [J]. J Cell Sci, 2008,121(Pt21):598-607
- Wang MJ, Huang HY, Chen WF, *et al.* Glycogen synthase kinase-3beta inactivation inhibits tumor necrosis factor alpha production in microglia by modulating nuclear factor kappaB and MLK3/JNK signaling cascades[J]. J Neuroinflammation, 2010, 7:99
- Huang WC, Lin YS, Wang CY, *et al.* Glycogen synthase kinase-3 negatively regulates antiinflammatory interleukin-10 for lipopolysaccharide-induced iNOS/NO biosynthesis and RANTES production in microglial cells[J]. Immunology, 2009,128:275-286
- Thabe M, Vincent G, Rolf B, *et al.* Lithium modulates cancer cell growth, apoptosis, gene expression and cytokine production in HL-60 promyelocytic leukaemia cells and their drug-resistant sub-clones[J]. Biol Trace Elem Res, 2012, 149:323-330
- Rajakishore M. Glycogen synthase kinase 3 beta: can it be a target for oral cancer[J]. Mishra Molecular Cancer, 2010, 9:144

(收稿日期:2013-11-12)

(修回日期:2013-11-29)