

·综述·

DOI:10.13865/j.cnki.cjbmb.2019.10.1424

未折叠蛋白反应在胰腺癌发生发展中的作用及意义

陈亮^{1),2)}, 吴育连¹⁾*⁽¹⁾浙江大学医学院附属第二医院外科, 杭州 310009; ⁽²⁾浙江省东阳市人民医院, 浙江 东阳 322100

摘要 胰腺癌是一种致死率相当高的消化系统肿瘤,其起病隐蔽导致早期诊断困难。近期研究发现,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)状态下的未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)通路的调节作用,对于胰腺癌发生发展至关重要。UPR通路伴侣蛋白GRP78抑制了胰腺导管腺癌(pancreatic adenocarcinoma, PDAC)细胞的凋亡,并增强了其化学抗性和耐药性。而UPR途径及其调节因子对于血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的调节作用,有助于胰腺癌抵抗缺血缺氧环境。尝试靶向UPR途径关键调节因子的药物来控制胰腺癌的研究,可以为胰腺癌的治疗开辟新的途径。本文通过对近年来UPR在胰腺癌发生发展中的作用及意义进行综述,希望为通过调控UPR通路作为针对治疗胰腺癌的关键过程的一种新型抗癌方法研究提供参考。

关键词 胰腺癌; 未折叠蛋白反应; 内质网应激

中图分类号 R735.9

The Role and Significance of Unfolded Protein Response in the Development of Pancreatic Cancer

CHEN Liang^{1),2)}, WU Yu-Lian¹⁾*⁽¹⁾Department of Surgery, Second Affiliated Hospital, Medical College of Zhejiang University, Hangzhou 310009, China;⁽²⁾Dongyang People's Hospital, Dongyang 322100, Zhejiang, China

Abstract Pancreatic cancer is a kind of digestive system tumor with high mortality rate. Its early diagnosis is difficult due to its concealment. It has been found that the unfolded protein response (UPR) pathway in the endoplasmic reticulum stress (ERS) is crucial for the development of pancreatic cancer in recent years. The UPR pathway chaperone protein GRP78 inhibits the apoptosis of pancreatic cancer cells and enhances the resistance and tolerance to drugs of pancreatic adenocarcinoma (PDAC). The regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) by UPR pathway and its regulatory factors contributes to the resistance of pancreatic cancer to ischemia and hypoxia. Targeted drugs for the key regulators of the UPR pathway will be a new method for the treatment of pancreatic cancer. This article reviews the recent research on the role of UPR in the development of pancreatic cancer, which helps to provide reference for the study of UPR pathway as a novel anticancer method for pancreatic cancer.

Key words pancreatic cancer; unfolded protein response (UPR); endoplasmic reticulum stress (ERS)

胰腺癌是一种消化系统的恶性肿瘤,常指胰腺导管腺癌(pancreatic adenocarcinoma, PDAC),占胰腺恶性肿瘤的95%以上^[1]。目前,胰腺癌的致死率美国已达第4位、世界第7位。根据2018年美国癌症协会统计,预计美国新发胰腺癌患者55 440例,因胰腺癌死亡的病例将达到44 330例。由于胰腺癌的转移率极高,导致其5年生存率仅为3%^[2]。目前,中国大陆胰腺癌的发病率在恶性肿瘤中已排

到第十,相关死亡率位居第六^[3]。

收稿日期:2019-03-09; 修回日期:2019-06-03; 接受日期:2019-07-25

* 通讯作者 Tel: 0571-87783989; E-mail: yulianwu@zju.edu.cn

Received: March 9, 2019; Advised: June 3, 2019; Accepted: July 25, 2019

* Corresponding author Tel: 0571-87783989; E-mail: yulianwu@zju.edu.cn

近几年,随着人们日常生活习惯和饮食的不断改变,胰腺癌发病率逐渐增高,趋势也逐渐步入年轻群体^[4]。被称为“21 世纪的癌中之王”的胰腺癌起病隐蔽,大部分患者就诊时已是晚期,根治性手术切除肿瘤存在转移复发的问题。胰腺癌极难治愈,由于胰腺癌干细胞对化疗和放疗都能耐受,导致其治疗成为临床难点^[5,6]。如何从根本上提高胰腺癌的治疗水平,改善患者的生存期和生活质量,是科研与医疗工作者努力的方向。近年来,在治疗胰腺癌的过程中发现,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)的未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)途径与胰腺癌密切相关,以未折叠蛋白反应通路分子为靶点,将是针对胰腺癌的靶向疗法的潜在方向。

1 内质网应激和未折叠蛋白反应途径

未折叠蛋白反应(UPR)是一种可传递内质网(endoplasmic reticulum, ER)腔中蛋白质折叠状态的信息,以增加蛋白质折叠能力并降低未折叠蛋白质负荷的信号途径^[7]。当内质网受某些不良因素影响时,会导致不正确折叠的蛋白质或未折叠蛋白质堆积,产生内质网应激反应^[8],从而激活未折叠蛋白反应。上调分子伴侣蛋白质以增强蛋白质折叠、促进内质网相关性降解(ER-associated degradation, ERAD)通路对未折叠蛋白质的降解作用、抑制蛋白质翻译是未折叠蛋白反应通路缓解内质网应激的 3 个主要方面。这些作用对于维持细胞功能和存活至关重要。

2 未折叠蛋白反应途径在正常生理状态中的功能

未折叠蛋白反应的 3 个主要分支分别由蛋白激酶样内质网激酶(protein kinase-like ER kinase, PERK)、转录激活因子 6(activating transcription factor 6, ATF6)和需肌醇酶 1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)跨膜应激传感器启动^[9]。在静息状态下,IRE1、PERK、ATF6 与未折叠蛋白反应的分子伴侣蛋白葡萄糖调节蛋白 78(glucose-regulated protein 78/ binding immunoglobulin protein, GRP78/ BiP)处于结合失活。而细胞内未折叠蛋白质过载触发内质网应激时,GRP78 会与三者分离,而与未折叠蛋白质和错误折叠蛋白质结合,分离后的三者经一定作用发生活化,启动相应的信号通路,激活未折叠蛋白反应。

2.1 蛋白激酶样内质网激酶通路

PERK 属于 I 型跨膜蛋白,其管腔区域感知内质网中积累的未折叠蛋白质。PERK 通过丝氨酸 51 磷酸化和寡聚化而被激活后^[7,10],使翻译起始因子 2 的 α 亚基(eukaryotic translation initiation factor 2 subunit α , eIF2 α)失活,暂停 mRNA 的翻译,导致蛋白质合成停滞,减少新蛋白质生成^[11,12]。eIF2 α 是 PERK 的直接底物,发挥作用较快,可以及时地减少蛋白质堆积,保护细胞功能。同时,此途径还可以选择性地触发未折叠蛋白反应通路中的转录因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)的翻译。ATF4 进入细胞核后,可以激活转录因子 5(activating transcription factor 5, ATF5)、C/EBP 同源蛋白(enhancer-binding protein homologous protein/ growth arrest and DNA damage-inducible gene 153, CHOP/ GADD153)和生长抑制 DNA 损伤基因 34(growth arrest and DNA damage-inducible gene 34, GADD34)等蛋白质的表达,引起凋亡等途径^[13]。eIF2 α 的磷酸化增强 ATF4 的翻译能力,ATF4 进入细胞核调节 ERAD 相关蛋白质的表达,降解累积蛋白质。此外,ATF4 还可影响血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)相关基因的表达。

2.2 转录激活因子 6 通路

ATF6 属于 II 型跨膜蛋白,朝向细胞质部分是转录活性结构域。与 GRP78 分离后,通过囊泡运转被转移至高尔基体。在高尔基体中,被蛋白酶 S1P(site 1 protease, S1P)和 S2P(site 2 protease, S2P)依次剪切激活^[14],释放 ATF6 的活性形式 pATF6(N)。活性形式的 ATF6 进入细胞核内与内质网应激反应元件(ERS response element, ERSE)结合,激活 GRP78,葡萄糖调节蛋白 94(glucose-regulated protein 94, GRP94)等伴侣蛋白质基因的转录^[15],促进蛋白质折叠。继 PERK 阻止蛋白质合成后,ATF6 促进过载蛋白质的折叠能力,缓解内质网应激。另外 ATF6 也可调节 CHOP 表达,引起细胞凋亡。

2.3 需肌醇酶 1 通路

与 PERK 相同,IRE1 也属于 I 型跨膜蛋白。但 IRE1 通路起效比 PERK 和 ATF6 通路作用缓慢。IRE1 通路是未折叠蛋白反应的保守核心,解离后其通过自身磷酸化和二聚化而活化^[10,16],具有双向调节内质网应激的作用。一方面,被激活的 IRE1 具有核酸内切酶活性,从编码 X 盒结合蛋白 1(X-box binding protein1, XBP1)的 mRNA 剪切移除 26

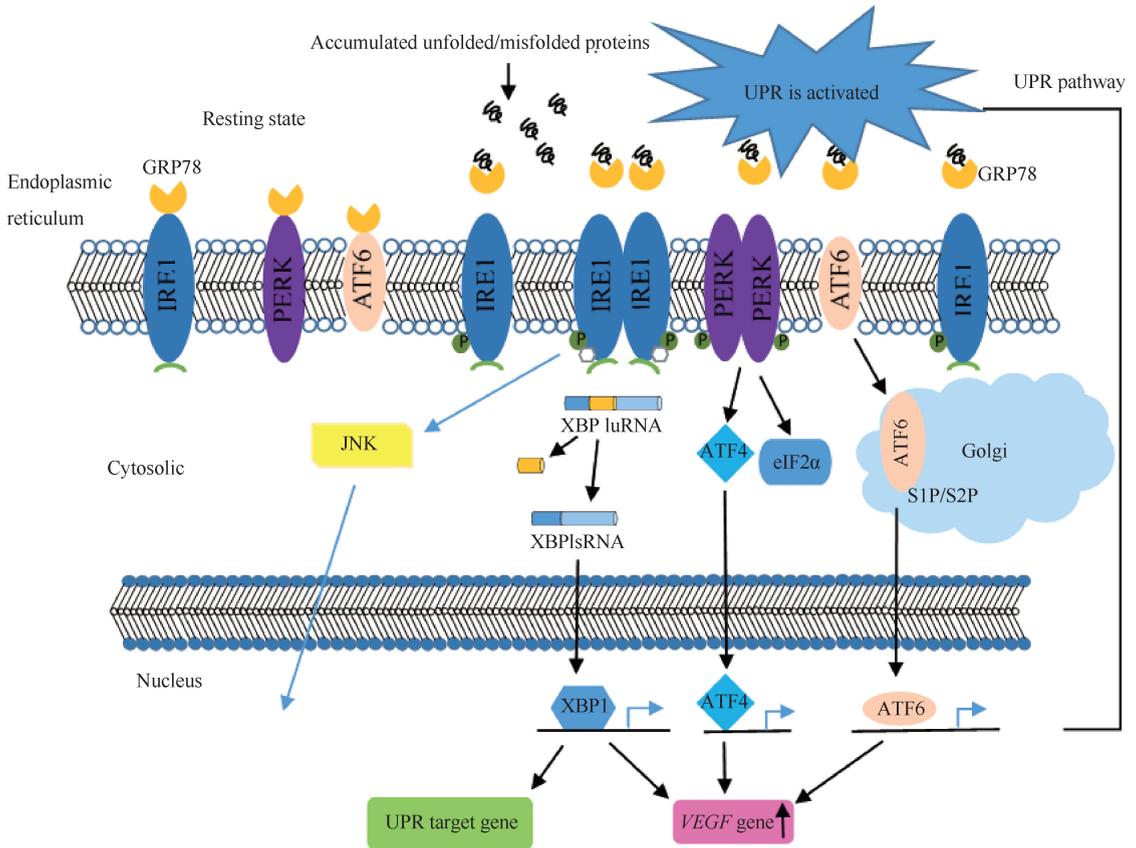


Fig.1 The diagram of UPR pathway The unfolded protein response reduces the accumulation of unfolded or misfolded proteins and promotes angiogenesis through regulation of the IRE1, PERK, and ATF6 pathways

个核苷酸内含子,最终翻译出更稳定更有效未折叠蛋白反应调节因子 XBP1 蛋白^[17,18]。XBP1 诱导与蛋白质折叠、转运和降解相关基因(例如 GRP78、ERAD 等)的转录,减少蛋白质堆积;同时,IRE1 也可通过 IRE1 α 依赖性衰减 (IRE1 α -dependent decay, RIDD)^[19]作用,减轻内质网的蛋白质负荷,缓解内质网应激。另一方面,激活的 IRE1 也可对某些凋亡通路进行调节,例如通过诱导凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal regulating kinase, ASK1),使 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun-N-terminal kinase, JNK) 被激活,促使细胞产生凋亡。

2.4 未折叠蛋白反应通路产生的生理效应

未折叠蛋白反应通路产生的生理效应主要有:
(1) 首先,通过 PERK 途径的快速效应,抑制大部分蛋白质的合成过程,减少进入内质网的新生蛋白质,为内质网减负^[20,21]; (2) 其次,通过 PERK-ATF4 和 ATF6 途径,增强编码分子伴侣的基因转录功能,促进内质网对未折叠蛋白质和错误折叠蛋白质的折叠加工能力,减少内质网蛋白质堆积^[12,20]; (3) 最后,通过 ATF6 和 IRE1 途径加强内质网相关降解蛋白质基因的表达能力,降解无法正确折叠的

蛋白质^[12,20,22]。通过这 3 种生理效应,避免了内质网内蛋白质的长时间堆积,有效阻止过载蛋白质对细胞功能的损害,提高细胞在不利因素下的生存能力。但当应激状态持续过久,或应激过强而超过内质网自我调节能力时,细胞就会启动凋亡程序^[23]。这样,能够防止细胞一直产生未折叠蛋白质和错误折叠蛋白质未折叠蛋白反应,以保证机体机制的正常运行。

3 未折叠蛋白反应在促进胰腺癌发生发展中的作用

肿瘤细胞由于生长迅速,普遍存活在缺血低氧微环境中,胰腺癌也不例外。缺血低氧的微环境容易导致内质网内未折叠蛋白质或错误折叠蛋白质聚积引起内质网应激。为适应应激微环境,细胞激活未折叠蛋白反应,恢复内质网稳态。多项研究支持未折叠蛋白反应通路对于肿瘤发生发展意义非凡^[24,27],并对于肿瘤的不同时期有着不同的影响。肿瘤发生早期,内质网应激增加了 VEGF 的表达和分泌,促进了血管生长,降低 PERK 活化,导致细胞周期阻滞于 G₁ 期,并诱导癌细胞休眠。在肿瘤生成

时,未折叠蛋白反应引起 GRP78 和其他伴侣蛋白质上调,通过增强内质网蛋白折叠能力维持内质网稳态的同时,GRP78 抗凋亡特性保护癌细胞免于凋亡。除此之外,还会在条件适宜时诱导肿瘤复发^[28]。而胰腺癌恶性程度较高也可能是由于未折叠蛋白反应有利于侵袭性肿瘤细胞在患者病程中,抵抗缺氧环境和化学疗法导致的不利环境。未折叠蛋白反应通路降低了胰腺癌细胞的凋亡率,促进了其增殖和侵袭,使其适应缺血低氧的微环境并提高了生存能力。另外,未折叠蛋白反应通路对于 VEGF 表达的调节作用,促进胰腺癌细胞的生长、增殖和迁移。

3.1 未折叠蛋白反应有助于胰腺癌细胞适应缺血缺氧环境

胰腺细胞具有高激素和酶分泌功能,并具有高度发达的内质网。内质网应激在胰腺癌病理学和炎症中的作用已越来越多地被认为是肿瘤发生和化学抗性的重要因素^[29]。内质网应激可能对胰腺癌细胞的存活具有积极作用。胰腺癌的恶性程度高和预后差的特点,可能与未折叠蛋白反应通路的激活提高了胰腺癌细胞在缺氧缺血的生存能力密切相关^[30]。

未折叠蛋白反应通路与特定的胰腺分泌细胞维持细胞稳态密切相关。未折叠蛋白反应通路中的 PERK-eIF2 α 可使翻译起始水平较低,全面降低内质网中新合成蛋白质的负荷^[31,32]。在包括 XBP1 和 ATF6 的未折叠蛋白反应的调节因子中,PERK 可能具有比其他因子更广泛的细胞效应^[33]。缺氧是胰腺癌的重要特征之一。缺氧导致 PERK 活化,保护胰腺癌细胞免受低氧应激。PERK 对于肿瘤存活和生长中的作用十分重要。业已证实,缺乏 PERK 活性的肿瘤很小,存活和生长的能力降低^[34]。因此,PERK 对 eIF2 α 的激酶活性对于胰腺癌生长和增殖的作用至关重要。可以通过损害 PERK 功能,实现较低的 eIF2 α 磷酸化,从而抑制肿瘤生长。

3.2 未折叠蛋白反应伴侣蛋白 GRP78 抗凋亡功能以及其表达对胰腺癌化学抗性的影响

未折叠蛋白反应的 PERK-eIF2 α 、IRE1-XBP1 和 ATF6 三条通路与胰腺癌的关系非常密切。GRP78 是未折叠蛋白反应的重要伴侣蛋白,被认为是未折叠蛋白反应激活的标志分子。未折叠蛋白反应通路上调分子伴侣 GRP78 和 GRP94 增加内质网折叠能力,缓解内质网应激的作用,这增强了癌细胞

抵抗缺氧因素的能力。

有研究表明,GRP78 的过表达在胰腺癌新生组织和发展过程中扮演着重要的角色。杜进兵等^[35]构建了稳定表达的 GRP78 shRNA 胰腺癌细胞株,采用荧光定量 PCR、Annexin V-FITC/PI 双染色和 SRB 法检测发现:与未转染 GRP78 shRNA 组比较,转染组胰腺癌细胞内 GRP78 的 mRNA 表达减少,凋亡峰值达到 91%,细胞增殖也受到了明显的抑制。GRP78 的抗凋亡作用抑制了胰腺癌细胞的凋亡,并且促进了胰腺癌中肿瘤细胞的增殖。因此,GRP78 在促进胰腺癌的发展过程中发挥了至关重要的作用。GRP78 是维持胰腺癌细胞群的“干性”所必需的,下调 GRP78 会干扰细胞代谢,从而有助于难治性癌症干细胞人群的治疗^[36]。Gifford 等研究结果表明,升高的 GRP78 与 PDAC 中的化学抗性相关,GRP78 表达对于调节 PDAC 中的吉西他滨(gemcitabine,GEM)抗性十分重要,未折叠蛋白反应和 GRP78 表达的诱导会导致这些细胞中化学抗性行为的增加,并且抑制 GRP78 将使具化学抗性的肿瘤对目前的化学疗法敏感^[37]。与其他细胞机制相同,肿瘤细胞通过激活未折叠蛋白反应传感器 ATF6、IRE1 α 和 PERK 及其主调节器 GRP78,来劫持未折叠蛋白反应以允许耐药性^[38]。Zhou 等^[39]研究表明,ATF6 信号途径通过调节胰腺腺泡细胞凋亡,进而调控慢性胰腺炎的发展。袁新普等^[40]初步研究了 GRP78 在胰腺癌及癌旁组织中的表达,GRP78 的表达动态变化与胰腺癌发生发展过程密切相关,其高表达可体现胰腺癌病变的严重程度。Dauer 等^[41]人的研究表明,一种在胰腺癌中过表达的转录因子,即特异性蛋白 1(Sp1)的下调,可激活未折叠蛋白反应并导致慢性内质网应激。此外,Sp1 的下调导致其与内质网应激的主要调节因子 GRP78 启动子中的内质网应激反应元件的结合降低,导致溶酶体膜透化(LMP),细胞溶质钙的持续积累,并最终导致胰腺癌细胞死亡。多项研究结果表明,GRP78 通过改变细胞周期促进 PDAC 细胞的增殖。GRP78 可能通过影响波形蛋白等某些功能蛋白质的表达,进而促进 PDAC 的迁移和侵袭^[42-44]。因此,GRP78 对于胰腺癌诊治具有重大意义,其高表达会有助于判断胰腺癌患者的病变程度。进一步深入研究 GRP78 在人胰腺癌发生及演变中的分子作用机制,对于胰腺癌的临床诊治价值具有重要意义^[45]。

3.3 未折叠蛋白反应通路促进胰腺癌血管生成作用

XBP1 是未折叠蛋白反应的关键调节因子,是内质网应激的一种重要的细胞保护性分子,在缺氧条件下存活是必需的,并且对于肿瘤生长和移植至关重要^[46]。XBP1 基因在胰腺细胞的外分泌活动中扮演重要角色,并且在肿瘤研究领域,对 XBP1 的研究热点主要集中在内质网应激与未折叠蛋白反应上^[46]。Koong 等^[47]通过免疫组化实验,发现胰腺癌术后标本中胰腺癌细胞 XBP1 的表达明显增多,在癌旁组织中表达很少或无表达。Romero-Ramirez 等^[48]对人胰腺癌标本进行 XBP1 表达染色,并将 XBP1 的表达模式与 CD31(内皮细胞标记物)表达相关联,证明未折叠蛋白反应的 IRE1 α -XBP1 分支调节复杂的促血管生成,有助于胰腺癌早期生长过程中血管的生成。

研究表明,IRE1 α -XBP-1、PERK-ATF4 和 ATF6 途径调节 VEGF 的转录,有助于快速生长的细胞在恶劣环境下获得足够的营养和生长因子^[49]。未折叠蛋白反应通路对 VEGF 的表达调节,影响肿瘤的发生发展、侵袭和迁移。类似于其他肿瘤细胞,VEGF 的表达上调,可以诱导胰腺癌肿瘤新生血管的形成,促进胰腺癌细胞的生长和侵袭^[50],对于胰腺癌的发生发展十分重要^[51]。VEGF 在胰腺癌细胞中过表达将预示预后不良,而超过 90%的胰腺癌 VEGF 呈高表达^[52]。PERK 和其他未折叠蛋白反应效应子调节 VEGF-A mRNA

稳定性,以及在缺氧或化学应激下 VEGF-A 和其他促血管生成因子的上调。已有报道^[49,53,54]显示,未折叠蛋白反应的传导通路 PERK 与 VEGF 的表达呈正相关。PERK 通路被激活后,诱导下游因子 GRP78,ATF4 的表达,通过 ATF4 调节 VEGF 促进新生血管的生成,利于肿瘤细胞的生长、增殖和转移。因此推测,这种应激状态下的分子调控机制也能在胰腺癌发生发展中发挥重要作用,进而猜想胰腺癌中 VEGF 的表达较高也与未折叠蛋白反应途径的调控相关。

4 胰腺癌的治疗及靶向未折叠蛋白反应途径治疗胰腺癌的尝试

内质网应激和未折叠蛋白反应途径与胰腺癌的某些化疗药物治疗胰腺癌的机制密切相关。例如,衣霉素可以阻断蛋白质糖基化,并导致内质网中未折叠蛋白质的积累,从而触发未折叠蛋白反应^[55]。上调未折叠蛋白反应所需的 IRE1 α 寡聚化,可被小化合物 STF-083010 抑制,后者阻断 XBP1 剪接活性^[56]。李淑静等研究证实,舒尼替尼(sunitinib)对胰腺癌细胞增殖有显著的抑制作用,而且抑制作用依赖于舒尼替尼的浓度和作用时间,虽然其抑制作用的分子机制仍不清楚^[57],但超过大部分的胰腺癌中 VEGF 呈高表达,舒尼替尼可抑制胰腺癌细胞增殖可能与未折叠蛋白反应通路相关。舒尼替尼联合氯喹通过抑制自噬和增加细胞凋亡来减少肿瘤生长,达到良好效果(Table 1)。

Table 1 Attempts to target pancreatic cancer by targeting the UPR pathway

Classification	Dose	Animal model	Dosing time	Effect	Mechanism
Chloroquine and/or Sunitinib GEM ^[58]	Chloroquine 50 mg/kg; sunitinib; GEM 25 mg/kg	Mouse; <i>In vitro</i> PDAC cell line	72 h incubation and administration Every day, for 4 weeks	Increased apoptosis of PDAC cells	UPR cell apoptosis and autophagy
Foretinib ^[59]	30 mg/kg	Mouse; <i>In vitro</i> PDAC cell line	15 days	Reduced proliferation of angiogenic cells	Inhibition of VEGFR-2 and VEGFR-3
Bortezomib ^[55]	100 nmol/L	Mouse cell line; Human PDAC cell	24 h	Suppress UPR	Suppress UPR
TL-118 ^[61]	Not stated	Not stated	Not stated	General effect	VEGF targeted drugs
Aflibercept ^[61]	Not stated	Not stated	Not stated	General effect	VEGF ligand inhibitor
Bevacizumab ^[61]	Not stated	Not stated	Not stated	General effect	VEGF monoclonal antibody
A novel pan-SR modulator RC-106 ^[62]	0.1 to 100 μ mol/L	Male CD-1 mice; Pancreatic adenocarcinoma cell	24 h, 48 h, 72 h	Promote apoptosis	Enhancing the expression of GRP78/BiP, ATF4 and CHOP
Artesunate binds to GRP78 inhibitor ^[63]	20 μ mol/L	Human pancreatic cancer cell lines	24 h	PDAC	Induce KRAS mutant PDAC ferroptosis

胰腺癌分子信号通路串扰的复杂性导致现有治疗极其困难,而目前分子靶向药物中只有厄洛替尼取得了生存期延长的效果。近些年来,靶点抗癌药物研发的不断发展,促进了胰腺癌分子靶向治疗的不断发展。硼替佐米(PS-341, Velcade)是一种在胰腺癌模型中具有活性的选择性蛋白酶体抑制剂,该药物诱导内质网应激,但也抑制未折叠蛋白反应,目前正在研究治疗实体恶性肿瘤。Nawrocki 等人的研究数据证实,硼替佐米使胰腺癌细胞对内质网应激诱导的细胞凋亡敏感,联合顺铂联合治疗可诱导原位胰腺肿瘤中 JNK(JNK 是 UPR 调节通路里被激活的物质之一)的激活和凋亡,从而减轻肿瘤负荷^[60]。

而以 VEGF 为靶点的贝伐单抗 (bevacizumab)、阿帕替尼 (apatinib)、TL-18、阿柏西普 (Aflibercept) 和 Foretinib 等 VEGF 的抑制剂,也在治疗胰腺癌中不断进行尝试^[59]。以 ERS/UPR 调控的 VEGF 通路为靶点治疗胰腺癌可能成为新的治疗手段。Sarkar Bhattacharya 等^[64]系统地分析了内质网应激介导的未折叠蛋白反应和 Ca^{2+} 信号交叉对 PDAC 细胞存活的影响。Mahanine 通过激活几种未折叠蛋白反应途径增强内质网应激和 Ca^{2+} 信号传导,减弱内质网糖基化,以及 PDAC 细胞中 GD3 的过表达而引起细胞凋亡,结果为通过内质网应激相关信号通路进行 PDAC 治疗提供策略。Mujumdar 等^[65]研究表明,雷公藤内酯通过下调葡萄糖调节蛋白 78 (Grp78) 导致慢性内质网应激,致使胰腺癌细胞死亡。Clarke 等^[66]研究发现,吉西他滨耐药与 GRP78 相互作用需要 CLPTM1L 的细胞外环。通过抑制 CLPTM1L 抗体,可靶向此途径赋予的相互作用和化学抗药性,探究治疗胰腺肿瘤中潜在新的靶向机制。

5 问题与展望

总之,内质网应激和未折叠蛋白反应通路调节因子 GRP78 和 XBP1,以及未折叠蛋白反应调控下的 3 条途径和胰腺癌密切相关,在胰腺癌发生发展、侵袭和迁移中扮演着重要角色。GRP78 的抗凋亡功能和促进细胞增值的作用,以及 GRP78 增加 PDAC 细胞化学抗性均提高了胰腺癌在低血缺氧的环境下的生存能力。未折叠蛋白反应的 IRE1 α -XBP1 分支,对于胰腺癌早期生长过程中的血管生成至关重要,有助于癌细胞的增殖和转移。内质网伴侣 GRP78 / BIP 是内质网应激的主要调节因子,被称为胰腺癌预后不良的标志物^[67]。

胰腺癌的治疗,早期以手术为主,晚期以化疗和

放射治疗结合药物为主。手术切除早期胰腺癌存在术后转移率极高、再复发的问題。耐药性导致化疗并不能有效地延长病人的平均生存期。而胰腺本身解剖位置较深,放射治疗也受到限制。分子靶向治疗可以提高患者的生活质量,减少像化疗、放疗和手术切除等治疗方案给患者所带来的痛苦以及副作用。目前的胰腺癌分子靶向治疗分为表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 抑制剂、酪氨酸酶抑制剂、胰岛素样生长因子抑制剂、VEGF 受体抑制剂和其他信号通路抑制剂等。因此要不断地研究和挖掘未折叠蛋白反应通路,靶向未折叠蛋白反应通路的因子将是一种极具前景的胰腺癌治疗方法。

参考文献 (References)

- [1] Kuroczycki-Saniutycz S, Grzeszczuk A, Zwierz ZW, *et al.* Prevention of pancreatic cancer [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2017, **21**(1): 30-34
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2018 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, **68**(1): 7-30
- [3] Chen W, Zheng R, Zhang S, *et al.* Cancer incidence and mortality in China in 2013: an analysis based on urbanization level [J]. *Chin J Cancer Res*, 2017, **29**(1): 1-10
- [4] 王成刚, 王小林. 胰腺癌的疼痛及其治疗的研究进展 [J]. 复旦学报(医学版) (Wang CG, Wang XL. Advances in pancreatic cancer pain and its treatment [J]. *Fudan Univ J Med Sci*), 2018, **45**(1): 126-133
- [5] 金钢, 邵卓, 胡先贵, 等. 胰腺癌 2061 例外科手术的疗效与预后分析 [J]. 中华胰腺病杂志 (Jin G, Shao Z, Hu XG, *et al.* Efficacy and prognosis analysis of 2061 cases of pancreatic cancer resection [J]. *Chin J Pancreatol*), 2013, **13**(1): 1-4
- [6] Rao CV, Mohamed A. New insights into pancreatic cancer stem cells [J]. *World J Stem Cells*, 2015, **7**(3): 547-555
- [7] Hetz C, Martiong F, Rodriguez D, *et al.* The unfolded protein response: integrating stress signals through the stress sensor IRE1 α [J]. *Physiol Rev*, 2011, **91**(4): 1219-1243
- [8] Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions [J]. *J Clin Invest*, 2005, **115**(10): 2656-2664
- [9] Brewer JW, Hendershot LM, Sherr CJ, *et al.* Mammalian unfolded protein response inhibits cyclin D1 translation and cell-cycle progression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(15): 8505-8510
- [10] Bertolotti A, Zhang Y, Hendershot LM, *et al.* Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response [J]. *Nat Cell Biol*, 2000, **2**(6): 326-332
- [11] Feldman DE, Chauhan V, Koong AC. The unfolded protein response: a novel component of the hypoxic stress response in tumors [J]. *Mol Cancer Res*, 2005, **3**(11): 597-605
- [12] Fels DR, Koumenis C. The PERK/eIF2 α /ATF4 module of the UPR in hypoxia resistance and tumor growth [J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, **5**(7): 723-728
- [13] Hiramatsu N, Chiang WC, Kurt TD, *et al.* Multiple Mechanisms of Unfolded Protein Response-Induced Cell Death [J]. *Am J Pathol*, 2015, **185**(7): 1800-1808
- [14] Nadanaka S, Okada T, Yoshida H, *et al.* Role of disulfide bridges formed in the luminal domain of ATF6 in sensing endoplasmic reticulum stress [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, **27**(3): 1027-1043
- [15] Yoshida H, Haze K, Yanagi H, *et al.* Identification of the cis-acting endoplasmic reticulum stress response element responsible

- for transcriptional induction of mammalian glucose-regulated proteins. Involvement of basic leucine zipper transcription factors [J]. *J Biol Chem*, 1998, **273**(50): 33741-33749
- [16] Ali MM, Bagratuni T, Davenport EL, *et al.* Structure of the Ire1 autophosphorylation complex and implications for the unfolded protein response [J]. *EMBO J*, 2011, **30**(5): 894-905
- [17] Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, *et al.* XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor [J]. *Cell*, 2001, **107**(7): 881-891
- [18] Aragon T, van Anken E, Pincus D, *et al.* Messenger RNA targeting to endoplasmic reticulum stress signalling sites [J]. *Nature*, 2009, **457**(7230): 736-740
- [19] Hollien J, Weissman JS. Decay of endoplasmic reticulum-localized mRNAs during the unfolded protein response [J]. *Science*, 2006, **313**(5783): 104-107
- [20] Wang HQ, Takahashi R. Expanding in sights on the involvement of endoplasmic reticulum stress in Parkinson's disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2007, **9**(5): 553-561
- [21] Schroder M, Kohno K. Recent advances in understanding the unfolded protein response [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2007, **9**(12): 2241-2244
- [22] Ding WX, Yin XM. Sorting, recognition and activation of the misfolded protein degradation pathways through macro autophagy and the proteasome [J]. *Autophagy*, 2008, **4**(2): 141-150
- [23] Sundar Rajan S, Srinivasan V, Balasubramanyam M, *et al.* Endoplasmic reticulum (ER) stress & diabetes [J]. *Indian J Med Res*, 2007, **125**(3): 411-424
- [24] Bi M, Naczki C, Koritzinsky M, *et al.* ER stress-regulated translation increases tolerance to extreme hypoxia and promotes tumor growth [J]. *EMBO J*, 2005, **24**(19): 3470-3481
- [25] Romero-Ramirez L, Cao H, Nelson D, *et al.* XBP1 is essential for survival under hypoxic conditions and is required for tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2004, **64**(17): 5943-5947
- [26] Shuda M, Kondoh N, Imazeki N, *et al.* Activation of the ATF6, XBP1 and grp78 genes in human hepatocellular carcinoma; a possible involvement of the ER stress pathway in hepatocarcinogenesis [J]. *J Hepatol*, 2003, **38**(5): 605-614
- [27] Blais J, Bell JC. Novel therapeutic target: the PERKs of inhibiting the integrated stress response [J]. *Cell Cycle*, 2006, **5**(24): 2874-2877
- [28] 屠建棋, 杨欣欣. 未折叠蛋白反应与肿瘤研究进展 [J]. 济宁医学院学报 (Tu JQ, Yang XX. Progress in unfolded protein response and tumor research [J]. *J Jining Med Univ*), 2012, **35**(4): 292-296
- [29] Yadav RK, Chae SW, Kim HR, *et al.* Endoplasmic reticulum stress and cancer [J]. *J Cancer Prev*, 2014, **19**(2): 75-88
- [30] Feig C, Gopinathan A, Neesse A, *et al.* The pancreas cancer micro environment [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, **18**(16): 4266-4276
- [31] Shi Y, Vattem KM, Sood R, *et al.* Identification and characterization of pancreatic eukaryotic initiation factor 2 alpha-subunit kinase, PEK, involved in translational control [J]. *Mol Cell Biol*, 1998, **18**(2): 7499-7509
- [32] Harding HP, Novoa I, Zhang Y, *et al.* Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells [J]. *Mol Cell*, 2000, **6**(5): 1099-1108
- [33] Lu PD, Jousse C, Marciniak SJ, *et al.* Cytoprotection by pre-emptive conditional phosphorylation of translation initiation factor 2 [J]. *EMBO J*, 2004, **23**(1): 169-179
- [34] Blais JD, Addison CL, Edge R, *et al.* Perk-dependent translational regulation promotes tumor cell adaptation and angiogenesis in response to hypoxic stress [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, **26**(24): 9517-9532
- [35] 杜进兵, 李清华. GRP78 蛋白在胰腺癌中的表达及对胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响研究 [J]. 中国医学装备 (Du JB, Li QH. Study on the expression of GRP78 protein in pancreatic cancer and the effect of GRP78 on the proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells [J]. *Chin Med Equip*), 2014, **11**(8): 47-51
- [36] Dauer P, Sharma NS, Gupta VK, *et al.* ER stress sensor, glucose regulatory protein 78 (GRP78) regulates redox status in pancreatic cancer thereby maintaining "stemness" [J]. *Cell Death Dis*, 2019, **10**(2): 132
- [37] Gifford JB, Huang W, Zeleniak AE, *et al.* Expression of GRP78, master regulator of the unfolded protein response, increases chemoresistance in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, **15**(5): 1043-1052
- [38] Avril T, Vauléon E, Chevet E. Endoplasmic reticulum stress signaling and chemotherapy resistance in solid cancers [J]. *Oncogenesis*, 2017, **6**(8): e373
- [39] Zhou L, Tan JH, Cao RC, *et al.* ATF6 regulates the development of chronic pancreatitis by inducing p53-mediated apoptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, **10**(9): 662
- [40] 袁新普, 周建平, 李新, 等. 葡萄糖调节蛋白 78 在胰腺导管腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 解放军医学院学报 (Yuan XP, Zhou JP, Li X, *et al.* Expression of glucose-regulated protein 78 in pancreatic ductal adenocarcinoma and its clinical significance [J]. *Acad J Chin PLA Med Sch*), 2014, **35**(7): 744-746
- [41] Dauer P, Gupta VK, McGinn O, *et al.* Inhibition of Sp1 prevents ER homeostasis and causes cell death by lysosomal membrane permeabilization in pancreatic cancer [J]. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 1564
- [42] Yamada S, Fuchs BC, Fujii T, *et al.* Epithelial-to-mesenchymal transition predicts prognosis of pancreatic cancer [J]. *Surgery*, 2013, **154**(5): 946-954
- [43] Kang Y, Ling J, Suzuki R, *et al.* SMAD4 regulates cell motility through transcription of N-cadherin in human pancreatic ductal epithelium [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(9): e107948
- [44] Niu Z, Wang M, Zhou L, *et al.* Elevated GRP78 expression is associated with poor prognosis in patients with pancreatic cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, **5**: 16067
- [45] 牛哲禹, 刘乔飞, 王梦一, 等. 葡萄糖调节蛋白 78 在小鼠胰腺癌发生演进过程中的表达变化 [J]. 中国医学科学院学报 (Niu ZY, Liu QF, Wang MY, *et al.* Changes in the Expression of Glucose-regulated Protein 78 in the Occurrence and Progression of Pancreatic Cancer in Mouse Models [J]. *Acta Acad Med Sin*), 2015, **37**(3): 259-263
- [46] 王宇, 刘耀华, 赵世光. XBP1 在肿瘤中作用的研究进展 [J]. 中华肿瘤防治杂志 (Wang Y, Liu YH, Zhao SG. Research advances of XBP1's role in tumor [J]. *Chin J Cancer Prev Treat*), 2012, **19**(10): 787-790
- [47] Koong AC, Chauhan V, Romero-Ramirez L. Targeting XBP-1 as a novel anti-cancer strategy [J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, **5**(7): 756-759
- [48] Romero-Ramirez L, Cao H, Regalado MP, *et al.* X Box-binding protein 1 regulates angiogenesis in human pancreatic adenocarcinomas [J]. *Transl Oncol*, 2009, **2**(1): 31-38
- [49] Ghosh R, Lipson KL, Sargent KE, *et al.* Transcriptional regulation of VEGF-A by the unfolded protein response pathway [J]. *PLoS One*, 2010, **5**(3): e9575
- [50] Buchler P, Reber HA, Buchler MW, *et al.* Antiangiogenic activity of genistein pancreatic carcinoma cells is mediated by the inhibition of hypoxia-inducible factor-1 and the down-regulation of VEGF gene expression [J]. *Cancer*, 2004, **100**(1): 201-210
- [51] Masood R, Cai J, Zheng T, *et al.* Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an autocrine growth factor for VEGF receptor-positive human tumors [J]. *Blood*, 2001, **98**(6): 1904-1913
- [52] Seo Y, Baba H, Fukuda T, *et al.* High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis and a poor prognosis for patients with ductal pancreatic adenocarcinoma [J]. *Cancer*, 2000, **88**(10): 2239-2245
- [53] Karali E, Bellou S, Stellas D, *et al.* VEGF Signals through ATF6 and PERK to Promote Endothelial Cell Survival and Angiogenesis in the Absence of ER Stress [J]. *Mol Cell*, 2014, **54**(4): 559-572
- [54] 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 [J]. *Cancer Res*, 2012, **72** (20): 5396-5406
- [55] Nawrocki ST, Carew JS, Pino MS, *et al.* Bortezomib Sensitizes Pancreatic Cancer Cells to Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis [J]. *Cancer Res*, 2005, **65** (24): 11658-11666
- [56] Papandreou I, Denko NC, Olson M, *et al.* Identification of an Ire1alpha endonuclease specific inhibitor with cytotoxic activity against human multiple myeloma [J]. *Blood*, 2011, **117** (4): 1311-1314
- [57] 李淑静, 张爱东, 袁博, 等. 舒尼替尼通过抑制 Notch-1 表达诱导人胰腺癌细胞凋亡 [J]. *实用医学杂志* (Li SJ, Zhang AD, Yuan B, *et al.* Role of Notch-1 in the process of sunitinib induced apoptosis of human pancreatic cancer cells [J]. *J Pract Med*), 2018, **34** (14): 2303-2306
- [58] Thakur PC, Miller Ocuin JL, Nguyen K, *et al.* Inhibition of endoplasmic-reticulum-stress-mediated autophagy enhances the effectiveness of chemotherapeutics on pancreatic cancer [J]. *J Transl Med*, 2018, **16** (1): 190
- [59] Chen HM, Tsai CH, Hung WC. Foretinib inhibits angiogenesis, lymphangiogenesis and tumor growth of pancreatic cancer in vivo by decreasing VEGFR-2/3 and TIE-2 signaling [J]. *Oncotarget*, 2015, **6** (17): 14940-14952
- [60] Nawrocki ST, Carew JS, Pino MS, *et al.* Bortezomib sensitizes pancreatic cancer cells to endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis [J]. *Cancer Res*, 2005, **65** (24): 11658-11666
- [61] 王瑞芝, 王小林. 胰腺癌分子靶向治疗的研究进展 [J]. *复旦学报 (医学版)* (Wang RZ, Wang XL. Research progress of molecular targeting treatment in pancreatic cancer [J]. *Fudan Univ J Med Sci*), 2018, **45** (1): 77-86
- [62] Tesei A, Cortesi M, Pignatta S, *et al.* Anti-tumor efficacy assessment of the sigma receptor pan modulator rc-106, a promising therapeutic tool for pancreatic cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2019, **10**:490
- [63] Wang K, Zhang ZY, Wang Ming, *et al.* Role of GRP78 inhibiting artesunate-induced ferroptosis in KRAS mutant pancreatic cancer cells [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2019, **13**: 2135-2144
- [64] Sarkar Bhattacharya S, Mandal C, Albiez RS, *et al.* Mahanine drives pancreatic adenocarcinoma cells into endoplasmic reticular stress mediated apoptosis through modulating sialylation process and Ca²⁺- signaling [J]. *Sci Rep*, 2018, **8** (1): 3911
- [65] Mujumdar N, Banerjee S, Chen Z, *et al.* Triptolide activates unfolded protein response leading to chronic ER stress in pancreatic cancer cells [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, **306** (11): G1011- 1020
- [66] Clarke WR, Amundadottr L, James MA. CLPTMIL/CRR9 Ectodomain Interaction with GRP78 at the Cell Surface Signals for Survival and Chemoresistance upon ER Stress in Pancreatic Adenocarcinoma Cells [J]. *Int J Cancer*, 2019, **144** (6): 1367-1378
- [67] Ma X, Guo W, Yang S, *et al.* Serum GRP78 as a Tumor Marker and Its Prognostic Significance in Non-Small Cell Lung Cancers: A Retrospective Study [J]. *Dis Markers*, 2015, **2015**: 814670