

• 综 述 •

# 氨基酸对内质网应激影响的研究进展

徐文龙, 崔梦竹, 梁红艳 综述, 姜晓峰<sup>△</sup> 审校

(哈尔滨医科大学附属第四医院检验科, 黑龙江哈尔滨 150000)

**摘要:**内质网应激(ERS)的发生参与了人体多种疾病的发生、发展。精准、有效的干预和调控 ERS 成为近年来关注的热点。氨基酸作为构成人体所需蛋白质的营养元素,同时,也是人体内重要的信号传导分子。通过氨基酸对 ERS 反应的干预和调节很可能是一个重要且未开发的领域,有望成为探求恶性肿瘤、心血管疾病等新防治策略的潜在靶点。因此,该文将近年来氨基酸对细胞 ERS 反应影响的研究进展作一综述。

**关键词:**氨基酸; 内质网; 应激; 综述**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.03.005**中图法分类号:**Q517**文章编号:**1673-4130(2019)01-0273-04**文献标识码:**A

## Research progress in effects of amino acids on endoplasmic reticulum stress

XU Wenlong, CUI Mengzhu, LIANG Hongyan, JIANG Xiaofeng<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, The 4th Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150000, China)

**Abstract:** The occurrence of endoplasmic reticulum stress (ERS) is involved in the development of various diseases in human body. Accurate and effective intervention and regulation of ERS has become a hot spot in recent years. Amino acids are the nutrients that make up the proteins that people need, and they are also important signal transduction molecules in the human body. Intervention and regulation of ERS stress by amino acids is likely to be an important and unexplored area, and it is expected to become a potential target for new prevention strategies such as malignant tumors and cardiovascular diseases. Therefore, in this article, we will briefly review the research progress of the effects of amino acids on cellular ERS stress in recent years.

**Key words:** amino acid; endoplasmic reticulum stress; review

内质网(ER)是真核细胞将新合成蛋白质折叠成正确构象的场所,当 ER 中未折叠或错误折叠的蛋白质增加时会诱发 ER 应激(ERS)。ERS 的发生参与了人体多种疾病的发生、发展。近年来,对 ERS 和代谢疗法的深入研究为控制疾病的发生、发展提供了新的视角。氨基酸既是蛋白质合成所需的营养元素,也是人体内重要的信号传导分子。多项研究表明,人体内一些氨基酸与 ERS 具有非常密切的关系。现将近年来 ERS 及氨基酸对 ERS 影响的研究进展介绍如下。

### 1 ERS 的特点及信号传导

ERS 可由许多生理和病理条件触发,包括缺氧、感染、葡萄糖饥饿、ER 腔脱钙、蛋白质合成分泌增加、蛋白质折叠、运输或降解平衡失衡等<sup>[1]</sup>。响应于这些条件,细胞通过一种适应性途径响应 ER 功能障碍。ERS 信号适应途径由 3 种类型的 ER 跨膜受体介导,肌醇依赖酶 1 $\alpha$ /X 盒结合蛋白-1(IRE1 $\alpha$ /XBP-1)途

径、蛋白激酶 R 样 ER 激酶(PERK)途径和激活转录因子 6(ATF6)途径。在非应激条件下,所有 3 种 ERS 受体通过与 ER 分子伴侣 BIP(也称为 GRP78)结合而维持在无活性状态<sup>[2]</sup>。然而,由于 BIP 对错误折叠蛋白质的亲和力更高,因此,当错误折叠的蛋白质在 ER 腔中积累就会释放应激传感器以允许下游信号传导:(1)IRE1 自身二聚化磷酸化促进 XBP-1 mRNA 剪接为短型 XBP-1s,以诱导各种 ER 相关伴侣蛋白,参与蛋白质折叠酶的转录和下游信号的传导<sup>[3]</sup>。(2)PERK 的自磷酸化抑制核糖体组装,导致翻译阻断以允许细胞管理暂时的 ERS。激活转录因子 4(ATF4)逃避 ERS 条件下的翻译抑制并诱导促进存活的基因的转录<sup>[4]</sup>。(3)ATF6 在迁移至高尔基体后经蛋白水解切割而被激活从而活化下游靶基因转录。在慢性 ERS 或通过 ER 自身调节失败时细胞凋亡信号通路就会被激活。这种 ERS 导致的细胞凋亡已涉及如动脉粥样硬化、炎症性肠病,神经退行性疾病等

作者简介:徐文龙,男,硕士,主要从事临床检验诊断及分子诊断研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail:jiangxiaofeng912359@163.com。

本文引用格式:徐文龙,崔梦竹,梁红艳,等.氨基酸对内质网应激影响的研究进展[J].国际检验医学杂志,2019,40(1):273-276.

多种疾病的发病机制<sup>[5]</sup>。

## 2 氨基酸与 ERS

氨基酸是供给人体基础代谢需求和蛋白质合成的主要营养元素,同时也是人体内重要的信号传导分子。氨基酸的饥饿或补充均可影响 ERS,具有增强或保护 ERS 的作用。

**2.1 精氨酸(Arg)** Arg 是人体内条件必需氨基酸,意味着机体自身可生成足够的量以供机体基础代谢需求。然而,在应激或快速生长(如创伤、感染、新生儿发育)时期,Arg 需求增加且可用性变得有限。一方面,GARCIA-NAVAS 等<sup>[6]</sup>在 Arg 饥饿 Jurkat 细胞和外周血有丝分裂原激活的 T 淋巴细胞研究中发现,XBP-1 mRNA 的剪接和环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白(CHOP)表达的升高,证明了 Arg 饥饿在人 T 淋巴细胞触发了 ERS。BOBAK 等<sup>[7]</sup>研究结果首次表明,Arg 饥饿在源自人的不同实体瘤如:人结肠癌细胞(HCT-116)、卵巢腺癌细胞(SKOV3)、胶质母细胞瘤(U251)细胞中诱导 ERS。通过氨基酸代谢疗法靶向调节 ERS 可能是未来治疗癌症的良好策略。最新研究也与早先 MA 等<sup>[8]</sup>声称单个氨基酸的饥饿不会引发人类癌细胞的 ERS 的结果不同。这些研究只观察到与药物 ERS 诱导剂比较,亮氨酸饥饿在 CHOP 和 GRP78 等 ERS 标记基因的表达中引发不太显著的上调。然而,生理性 ERS 因素如葡萄糖饥饿也会引发较轻微的 ERS。这种较轻微的 ERS 不容忽视,也不应低估。另一方面,DEKA 等<sup>[9]</sup>研究结果表明,Arg 补充通过调节 HSP 基因表达和 mRNA 稳定性对 ERS 具有拮抗性,从而在应激反应中发挥保护性作用。因此,加入氨基酸干预 ERS,发挥氨基酸对 ERS 的保护作用,可能会抵抗一部分同型半胱氨酸(Hcy)或其他危险因素引起的内皮细胞 ERS 的风险,减少内皮细胞功能障碍。

**2.2 谷氨酰胺(Gln)** Gln 是人体中含量最丰富的非必需氨基酸,占骨骼肌游离氨基酸库的 60%和血浆氨基酸库的 20%<sup>[10]</sup>。其是涉及能量形成、大分子合成、氧化还原稳态和信号传导的多功能代谢物之一<sup>[11]</sup>。SHANWARE 等<sup>[12]</sup>在 U2OS 骨肉瘤细胞 Gln 饥饿期间观察到经典 ERS 反应基因 DDIT3(也称为 CHOP 或 GADD153)和 PP1R15A(GADD34)的强烈诱导。为 Gln 饥饿诱导 ERS 反应提供了证据。QING 等<sup>[13]</sup>研究发现,Gln 饥饿在 MYCN 过表达的神经母细胞瘤中通过增加真核翻译起始因子 2 $\alpha$ (eIF2 $\alpha$ )磷酸化引发 ERS 使 ATF4 积累最终引发凋亡通路的激活,揭示了 Gln 代谢拮抗剂作为潜在的 Myc 选择性癌症治疗剂的潜力。DILSHARRA 等<sup>[14]</sup>研究发现,Gln 饥饿在 TNF 相关凋亡诱导肌体(TRAIL)存在下通过诱导 ERS-CHOP-死亡受体 5(DR5)轴增

强 MDA-MB-231 乳腺癌细胞 CHOP 表达,刺激 DR5 表达介导凋亡信号通路的激活。使用该概念,Gln 代谢抑制剂可用于克服各种癌症中 TRAIL 抗性的治疗,并进一步促进了针对 TRAIL 抗性癌症新疗法的开发。CRESPO 等<sup>[15]</sup>研究发现,Gln 对 ERS 也具有保护作用,通过施用 Gln,TNBS 诱导的结肠炎大鼠模型的所有 ERS 信号传导分支均被抑制。在用 2 种 ERS 物处理的 Caco-2 细胞中,Gln 降低了 ERS 传感器 PERK、ATF6 和磷酸-IRE1 的表达,进一步证实了这一点。

**2.3 Hcy** Hcy 是在必需氨基酸甲硫氨酸的分解代谢过程中产生的含硫氨基酸。冠心病、高血压、阿尔茨海默病、缺血性脑卒中等疾病均与血清 Hcy 水平升高相关。HOSSAIN 等<sup>[16]</sup>研究发现,病理水平的 Hcy 可诱导 ERS 介导的内皮细胞凋亡,导致内皮细胞功能障碍,增加心血管疾病的发病风险。AUSTIN 等<sup>[17]</sup>通过使用 Western 印迹和 Northern 印迹分析更加证实了 Hcy 与其他已知的 ERS 诱导剂——衣霉素和毒胡萝卜素相似,在内皮细胞中以剂量依赖的方式提高 ERS 反应分子的水平,包括 GRP78 和 GRP94。AI 等<sup>[18]</sup>研究也发现,Hcy 升高是非酒精性脂肪肝病发病机制中的关键因素,ERS 反应的激活可能与 Hcy 诱导的肝脏脂肪变性有关。因此,设想体内通过适当补充有益氨基酸拮抗 ERS 反应,提高 ERS 发生的阈值,可能是一个新的有待研发的方向。

综上所述,依据最近的研究成果,单个氨基酸确实可对 ERS 产生影响。然而,ERS 相关事件的水平及氨基酸对细胞应激的贡献可能取决于细胞类型和氨基酸水平。ERS 相关事件的调节被广泛阐述为治疗癌症的策略,因此,认为氨基酸干预的治疗方案可在更广阔的领域发挥其潜力如心血管系统疾病、神经系统疾病等。这需要进一步研究单个氨基酸对 ERS 的诱导和进展的贡献,以便结合 ERS 诱导药物和氨基酸干预策略开发推定新的治疗方案。

## 3 ERS 与疾病

有研究表明,ERS 在人体免疫和炎症反应发生的机制中具有至关重要的作用。一方面,IRE1 $\alpha$  可被 Toll 样受体(TLR)下游的信号磷酸化以诱导 XBP-1 mRNA 剪接并支持巨噬细胞中促炎症细胞因子的产生<sup>[19]</sup>;另一方面,TLR 信号也可抑制巨噬细胞中的 ATF6 和 CHOP 表达,避免 CHOP 诱导的细胞凋亡,以发挥其免疫炎症反应的作用<sup>[20]</sup>。未折叠的蛋白质积聚也在许多自身免疫性疾病中有所描述,包括炎症肠病、多发性硬化症和类风湿关节炎<sup>[21]</sup>。

有研究表明,ERS 也参与了心血管相关疾病的发生、发展。一些心血管疾病的危险因素如脂质超负荷、氧化还原状态变化、自由基等物理和化学因素均

可刺激 ERS 的发生,使内皮细胞受损,发生凋亡,从而导致内皮细胞功能障碍,导致动脉粥样硬化、糖尿病性心脏病、高血压、心肌肥大及心力衰竭等心血管疾病的发生<sup>[22]</sup>。

在神经退行性疾病如阿尔茨海默病和帕金森病中已表明分别由  $\beta$ -淀粉样蛋白和  $\alpha$ -突触核蛋白积聚诱发的 ERS 在这些疾病的发病机制中具有因果作用。如在阿尔茨海默病患者大脑中发现了剪接的 XBP-1 和磷酸化 IRE1 $\alpha$ <sup>[23]</sup>。此外, $\beta$ -淀粉样蛋白在培养的细胞和动物大脑中诱导 CHOP 表达,而用 CHOP 反义 RNA 处理细胞,改善了暴露于  $\beta$ -淀粉样蛋白后的神经元存活<sup>[24]</sup>。

病毒感染期间合成大量其所需蛋白质,特别是糖蛋白,以允许其复制及成熟。这种高合成需求引发了 ERS,导致细胞死亡。似乎在大多数病毒感染中均会诱导 BIP 表达,不同病毒可诱导特定的 ERS 反应<sup>[25]</sup>。如巨细胞病毒感染抑制 ATF6 途径,但触发 IRE1 $\alpha$  途径作为增加伴侣蛋白表达的替代机制。而 XBP-1 靶基因的转录活化则被抑制,以防止 ER 中的病毒蛋白被降解<sup>[26]</sup>。再如已知的诸如单纯疱疹病毒 1 型可解除 PERK 通路的激活。丙型肝炎病毒的复制已显示刺激 ATF6 途径,但抑制 IRE1 $\alpha$ /XBP-1 途径<sup>[25]</sup>。在细菌感染过程中结核分枝杆菌在小鼠肺的富含巨噬细胞肉芽肿病变中诱导 ERS,其中可检测到细胞凋亡<sup>[27]</sup>。

幽门螺杆菌诱导的胃癌发生也与 ERS 的诱导相关,并通过空泡细胞毒素 A (VacA) 的作用发生在胃上皮细胞中。VacA 中毒可激活 PERK 和 eIF2 $\alpha$ ,导致 CHOP 诱导,线粒体功能障碍和凋亡<sup>[28]</sup>。

ERS 是一把双刃剑。适度的 ERS 可帮助细胞恢复稳态,肿瘤细胞持续的 ERS 可诱导其凋亡,为肿瘤诊治提供了新的靶点,同时,正常细胞中持续的 ERS 也导致了多种疾病的发生、发展,影响了机体健康状态。如何控制 ERS,利用 ERS 的有益方面,避免 ERS 对机体的不利方面将是未来要研究和突破的主要方向。

#### 4 展 望

氨基酸对 ERS 的影响在过去的十几年研究中取得了巨大的进步。利用 Arg 和潜在的其他氨基酸可靶向癌症、心血管疾病及其他疾病的代谢疗法越来越成为可能。未来氨基酸补充和剥夺效果的实验有利于更好地了解特定疾病对代谢疗法的易感性。人体内氨基酸水平的监测和个体化调控也为精准检验医学带来了新的前景。

#### 参考文献

[1] CELLI J, TSOLIS R M. Bacteria, the endoplasmic reticu-

lum and the unfolded protein response: friends or foes? [J]. Nat Rev Microbiol, 2015, 13(2): 71-82.

- [2] NISHITOH H. CHOP is a multifunctional transcription factor in the ER stress response[J]. J Biochem, 2012, 151(3): 217-219.
- [3] MAUREL M, CHEVET E, TAVERNIER J, et al. Getting RIDD of RNA: IRE1 in cell fate regulation[J]. Trends Biochem Sci, 2014, 39(5): 245-254.
- [4] SONG B, SCHEUNER D, RON D, et al. Chop deletion reduces oxidative stress, improves beta cell function, and promotes cell survival in multiple mouse models of diabetes[J]. J Clin Invest, 2008, 118(10): 3378-3389.
- [5] KARAGOZ G, CHEN V, SCHAEFER J, et al. An unfolded protein-induced conformational Switch activates mammalian IRE1[J]. Mol Biol Cell, 2017, 6: e30700.
- [6] GARCIA-NAVAS R, MUNDER M, MOLLINEDO F. Depletion of L-arginine induces autophagy as a cytoprotective response to endoplasmic reticulum stress in human T lymphocytes[J]. Autophagy, 2012, 8(11): 1557-1576.
- [7] BOBAK Y, KURLISHCHUK Y, VYNNYTSKA-MYRONOVSKA B, et al. Arginine deprivation induces endoplasmic reticulum stress in human solid cancer cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2016, 70: 29-38.
- [8] MA Y, HENDERSHOT L M. The role of the unfolded protein response in tumour development: friend or foe? [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(12): 966-977.
- [9] DEKA K, SINGH A, CHAKRABORTY S, et al. Protein arginylation regulates cellular stress response by stabilizing HSP70 and HSP40 transcripts[J]. Cell Death Discov, 2016, 2: 16074.
- [10] OLIVEIRA G P, DE ABREU M G, PELOSI P A. Exogenous Glutamine in Respiratory Diseases: Myth or Reality? [J]. Nutrients, 2016, 8(2): 76.
- [11] HENSLEY C T, WASTI A T, DEBERARDINIS R J. Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities[J]. J Clin Invest, 2013, 123(9): 3678-3684.
- [12] SHANWARE N P, BRAY K, ENG C H, et al. Glutamine deprivation stimulates mTOR-JNK-dependent chemokine secretion[J]. Nat Commun, 2014, 5: 4900.
- [13] QING G, LI B, VU A, et al. ATF4 regulates MYC-Mediated neuroblastoma cell death upon glutamine deprivation [J]. Cancer Cell, 2012, 22(5): 631-644.
- [14] DILSHARA M G, JEONG J W, Prasad Tharanga Jayasooriya R G, et al. Glutamine deprivation sensitizes human breast cancer MDA-MB-231 cells to TRIAL-mediated apoptosis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 485(2): 440-445.
- [15] CRESPO I, SAN-MIGUEL B, PRAUSE C, et al. Glutamine treatment attenuates endoplasmic reticulum stress and apoptosis in TNBS-Induced colitis[J]. PLoS One,

2012,7(11):e50407.

- [16] HOSSAIN G S, VAN THIENEN J V, WERSTUCK G H, et al. TDAG51 is induced by homocysteine, promotes detachment-mediated programmed cell death, and contributes to the development of atherosclerosis in hyperhomocysteinemia [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (32): 30317-30327.
- [17] AUSTIN R C, LENTZ S R, WERSTUCK G H. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease [J]. *Cell Death Differ*, 2004, 11 Suppl 1: S56-64.
- [18] AI Y, SUN Z, PENG C, et al. Homocysteine induces hepatic steatosis involving ER stress response in high methionine Diet-Fed mice [J]. *Nutrients*, 2017, 9(4): E346.
- [19] MARTINON F, CHEN XI, LEE A H, et al. TLR activation of the transcription factor XBP1 regulates innate immune responses in macrophages [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(5): 411-418.
- [20] WOO C W, KUTZLER L, KIMBALL S R, et al. Toll-like receptor activation suppresses ER stress factor CHOP and translation inhibition through activation of eIF2B [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(2): 192-200.
- [21] GARG A D, KACZMAREK A, KRYSKO O A, et al. ER stress-induced inflammation: does it aid or impede disease progression? [J]. *Trends Mol Med*, 2012, 18(10): 589-598.
- [22] OCHOA C D, WU R F, TERADA L S. ROS signaling

and ER stress in cardiovascular disease [J]. *Mol Aspects Med*, 2018, 63: 18-29.

- [23] LEE J H, WON S M, SUH J, et al. Induction of the unfolded protein response and cell death pathway in Alzheimer's disease, but not in aged Tg2576 mice [J]. *Exp Mol Med*, 2010, 42(5): 386-394.
- [24] SILVA R M, RIES V, OO T F, et al. CHOP/GADD153 is a mediator of apoptotic death in substantia nigra dopamine neurons in an in vivo neurotoxin model of parkinsonism [J]. *J Neurochem*, 2005, 95(4): 974-986.
- [25] JHENG J R, HO J Y, HORNG J T. ER stress, autophagy, and RNA viruses [J]. *Front Microbiol*, 2014, 5: 388.
- [26] TIROSH B, IWAKOSHI N N, LILLEY B N, et al. Human cytomegalovirus protein US11 provokes an unfolded protein response that may facilitate the degradation of class I major histocompatibility complex products [J]. *J Virol*, 2005, 79(5): 2768-2779.
- [27] BAIRD M, WOON ANG P, CLARK I, et al. The unfolded protein response is activated in Helicobacter-induced gastric carcinogenesis in a non-cell autonomous manner [J]. *Lab Invest*, 2013, 93(1): 112-122.
- [28] AKAZAWA Y, ISOMOTO H, MATSUSHIMA K, et al. Endoplasmic reticulum stress contributes to helicobacter pylori VacA-Induced apoptosis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82322.

(收稿日期: 2018-07-22 修回日期: 2018-09-28)

(上接第 272 页)

- [30] GRANERT C, RAUD J, WAAGE A, et al. Effects of polysaccharide fucoidin on cerebrospinal fluid interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in pneumococcal meningitis in the rabbit [J]. *Infect Immun*, 1999, 67(5): 2071-2074.
- [31] MITCHELL L, SMITH S H, BRAUN J S, et al. Dual phases of apoptosis in pneumococcal meningitis [J]. *J Infect Dis*, 2004, 190(11): 2039-2046.
- [32] WEN L L, CHIU C T, HUANG Y N, et al. Rapid glia expression and release of proinflammatory cytokines in experimental Klebsiella pneumoniae meningoencephalitis [J]. *Exp Neurol*, 2007, 205(1): 270-278.
- [33] CHIU C T, WEN L L, PAO H P, et al. Cortistatin is induced in brain tissue and exerts neuroprotection in a rat model of bacterial meningoencephalitis [J]. *J Infect Dis*, 2011, 204(10): 1563-1572.
- [34] TORRES M P, ENTWISTLE F, COOTE P J. Effective

immunosuppression with dexamethasone phosphate in the Galleria mellonella larva infection model resulting in enhanced virulence of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2016, 205(4): 333-343.

- [35] WEI W J, YANG H F, YE Y, et al. Galleria mellonella as a model system to assess the efficacy of antimicrobial agents against Klebsiella pneumoniae infection [J]. *J Chemother*, 2017, 29(4): 252-256.
- [36] 王讯, 孙树梅, 欧阳妮, 等. 秀丽隐杆线虫-泛耐药肺炎克雷伯菌感染模型的建立 [J]. *中国感染控制杂志*, 2016, 15(7): 457-460.
- [37] PAN Y J, LIN T L, HSU C R, et al. Use of a dictyostelium model for isolation of genetic loci associated with phagocytosis and virulence in klebsiella pneumoniae [J]. *Infect Immun*, 2011, 79(3): 997-1006.

(收稿日期: 2018-07-24 修回日期: 2018-09-30)