

# 内质网应激PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路在血液肿瘤中的研究进展

贺梦可<sup>1</sup>, 徐子真<sup>2,3</sup>, 李军民<sup>1</sup>

## Research Progress of Endoplasmic Reticulum Stress PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP Signaling Pathway in Hematological Malignancies

HE Mengke<sup>1</sup>, XU Zizhen<sup>2,3</sup>, LI Junmin<sup>1</sup>

1. Department of Hematology, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 3. College of Health Science and Technology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China.

Corresponding Author: LI Junmin, E-mail: drlijunmin@126.com

**Abstract:** The biosynthesis and maturation of proteins are primarily regulated by the endoplasmic reticulum in its physiological state. Thus, the disruption of physiological homeostasis initiates the buildup of unfolded and misfolded proteins in the endoplasmic reticulum, resulting in endoplasmic reticulum stress (ERS) and unfolded protein response (UPR). One of the important pathways by which UPR maintains intracellular homeostasis under ERS is activating protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (PERK). The activation of the PERK pathway stimulates eukaryotic translation initiation factor 2 subunit- $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ ) phosphorylation and the selective translation of active transcription factor 4 (ATF4), and PERK induces cell apoptosis by directly binding to the promoter of pro-apoptotic transcription factor C/EBP homologous protein (CHOP). This signaling pathway is also one of the important mechanisms by which UPR participates in the regulation of hematological malignancies and immune cells in a tumor microenvironment. This article provides an overview of advancements in research into the PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP signaling pathway in hematological malignancies and the potential therapeutic benefits of targeting this signaling pathway.

**Key words:** Endoplasmic reticulum stress; Unfolded protein response; PERK; eIF2 $\alpha$ ; ATF4; CHOP; Hematological malignancies

**Competing interests:** The authors declare that they have no competing interests.

**摘要:** 在生理状态下, 内质网主要负责蛋白质的生物合成和成熟。然而, 当机体稳态受到内外因素干扰破坏后, 引发内质网中未折叠和错误折叠蛋白的累积, 进而诱导产生内质网应激和未折叠蛋白反应 (UPR)。在内质网应激条件下, 未折叠蛋白反应可通过不同途径来维持细胞内稳态, 其中活化蛋白激酶R样内质网激酶 (PERK) 是其重要途径之一。活化的PERK使真核翻译起始因子2亚基 $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ ) 磷酸化, 引发活性转录因子4 (ATF4) 选择性翻译, 并与促凋亡转录因子C/EBP同源蛋白 (CHOP) 的启动子直接结合诱导细胞凋亡。该信号通路也是UPR参与血液肿瘤细胞和免疫细胞调节的重要机制之一。本文阐述了PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路在血液肿瘤中的研究进展, 以及靶向该信号通路在血液肿瘤治疗中的潜在价值。

**关键词:** 内质网应激; 未折叠蛋白反应; 蛋白激酶R样内质网激酶; eIF2 $\alpha$ ; ATF4; CHOP; 血液肿瘤

中图分类号: R733

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



收稿日期: 2023-06-08; 修回日期: 2023-09-29

**作者单位:** 1. 200025 上海, 上海交通大学医学院附属瑞金医院血液内科; 2. 200025 上海, 上海交通大学医学院附属瑞金医院检验系; 3. 200025 上海, 上海交通大学医学院医学技术学院

**通信作者:** 李军民 (1964-), 男, 博士, 主任医师, 主要从事血液系统恶性肿瘤发病机制研究及临床治疗, E-mail: drlijunmin@126.com, ORCID: 0000-0002-5546-8589

**作者简介:** 贺梦可 (1995-), 女, 硕士在读, 主要从事血液系统恶性肿瘤发病机制研究及临床治疗, ORCID: 0009-0007-2623-7507

## 0 引言

血液肿瘤是一系列高度异质的血液恶性克隆性疾病的总称, 包括骨髓异常综合征、急/慢性白血病和淋巴瘤、多发性骨髓瘤等。近年来, 在血液肿瘤领域的研究中发现, 肿瘤微环境中的缺氧、营养缺乏和pH失衡等不利条件可使肿瘤以及免疫细胞发生内质网应激反应 (endoplasmic reticulum stress, ERS), 进而诱导未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 活化<sup>[1]</sup>。活化的UPR

通过蛋白激酶R样内质网激酶 (protein kinase R-like ER kinase, PERK)、肌醇需酶1 (inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$ , IRE1 $\alpha$ ) 和转录活化因子6 (activating transcription factor 6, ATF6) 依赖途径介导的三种协调途径启动多种下游信号调节通路以维持内质网和细胞的稳态<sup>[2]</sup>。这种维持内质网和细胞稳态的方式称为适应性UPR。另有研究发现, 对血液肿瘤细胞中适应性UPR进行抑制, 会激活PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路从而促进细胞凋亡<sup>[3]</sup>。因此, 对在ERS条件下产生的UPR进行调控, 将会影响细胞的生存与发展。本综述归纳了PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路在血液肿瘤的研究进展, 旨在为血液肿瘤的靶向治疗提供新方向。

## 1 内质网应激与未折叠反应

内质网是真核生物细胞内承载重要生命活动的细胞器, 不仅参与蛋白质合成、加工和分泌, 还是脂质生物合成部位和Ca<sup>2+</sup>储存库, 在维持正常细胞生命活动以及协调机体代谢网络中发挥着关键作用<sup>[4]</sup>。当不利因素刺激细胞时, 大量未折叠蛋白和错误折叠蛋白在内质网腔内聚集导致内质网稳态失衡, 即ERS。为维持内质网稳态, 细胞内启动由3种内质网跨膜感应蛋白所介导的UPR, 即PERK、IRE1 $\alpha$ 和ATF6, 通过转录重编程、mRNA降解、抑制整体蛋白翻译、内质网相关蛋白降解系统 (ER-associated protein degradation, ERAD) 和诱导自噬等机制减少或清除细胞内未折叠和错误折叠蛋白, 从而调节和恢复内质网和细胞稳态。这种维持内质网和细胞稳态的方式称之为适应性UPR。根据UPR持续的时间和强度, ERS会产生不同的结果<sup>[2]</sup>。若是弱而短暂的ERS, 则会启动适应性UPR; 若是强且持久的ERS, 则会诱导细胞凋亡<sup>[5]</sup>。UPR的这些通路之间相互作用, 形成一个调控内质网稳态的复杂的相互作用网络<sup>[6]</sup>。

## 2 PERK-eIF2 $\alpha$ -AFT4-CHOP信号通路的生物学特性

PERK-eIF2 $\alpha$ -AFT4-CHOP信号通路是UPR中重要的促凋亡信号通路之一。PERK是一种具有丝氨酸/苏氨酸细胞质结构域并富集于线粒体相关内质网上的I型跨膜受体<sup>[7]</sup>。在ERS条件下, PERK与分子伴侣免疫球蛋白重链结合蛋白 (heavy chain-binding protein, BiP, 也称GRP78) 分离, 发生同源寡聚化和自磷酸化而被激活, 但也有研究表明, 感应蛋白在与BiP不脱离的情况下, 仍可被激

活进而启动UPR<sup>[6]</sup>。活化的PERK使真核翻译起始因子2亚基 $\alpha$  (eukaryotic translation initiation factor 2 subunit- $\alpha$ , eIF2 $\alpha$ ) 的Ser51位点发生磷酸化, 导致eIF2 $\alpha$ -GTP-tRNA<sup>met</sup>复合物的合成下降, 从而使蛋白质翻译功能整体减弱, 继而内质网腔内的蛋白质负荷下降以恢复内质网稳态<sup>[8]</sup>。然而, PERK-eIF2 $\alpha$ 活化后仍有部分蛋白质翻译功能继续进行, 该功能是由活性转录因子4 (activating transcription factor 4, ATF4) 所介导。ATF4与促凋亡转录因子C/EBP同源蛋白 (pro-apoptotic transcriptional factor C/EBP homologous protein, CHOP) 的启动子直接结合而诱导细胞凋亡<sup>[9]</sup>。CHOP作为ERS中的主要促凋亡因子, 可调节多条下游促凋亡机制通路的发生。CHOP能够诱导磷酸化B细胞淋巴瘤/白血病 (B-cell lymphoma/Leukemia, BCL)-2/BCL-XL和抗凋亡蛋白髓系白血病序列 (myeloid cell leukemia sequence, MCL)-1的表达下调, 同时上调BCL-2相关X蛋白 (BCL-2-associated X protein, BAX) 和BCL-2拮抗物 (BCL-2 antagonist/killer, BAK) 凋亡蛋白的表达<sup>[10]</sup>。BAX和BAK凋亡蛋白形成二聚体通过线粒体途径促进凋亡因子的释放, 从而诱导细胞凋亡<sup>[10]</sup>。CHOP还能通过上调Tribble3相关蛋白3 (tribbles-related protein 3, TRB3) 和死亡受体4/5 (death receptor4/5, DR4/DR5) 的表达, 直接或间接影响Caspase活性, 进而促进细胞凋亡<sup>[11]</sup>。CHOP还可通过诱导内质网氧化酶1 $\alpha$  (ER oxidase 1 $\alpha$ , ERO1 $\alpha$ ) 基因表达, 激活钙释放通道蛋白IP3R调节的Ca<sup>2+</sup>释放并在线粒体内大量聚集, 促使线粒体形态变化而激活线粒体凋亡途径<sup>[11-12]</sup>。

有研究表明, 若UPR适应性调节机制无法维持内质网稳态, 则会增强PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP所介导的促凋亡信号通路表达<sup>[13]</sup>。因此, 促凋亡信号通路的强弱取决于ERS的强度和持续时间长短。

## 3 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路对血液肿瘤的影响与作用

### 3.1 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路对血液肿瘤细胞的作用机制

低氧微环境下的血液肿瘤将产生适应性UPR, 这使肿瘤细胞能处理持续增殖的代谢需求。目前分析表明, 持续性的PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP激活与细胞凋亡相关<sup>[5]</sup>, 而生理应激条件下的PERK活化将参与适应性UPR调节。这对于白血病发生、进展以及治疗性耐药的研究有新的启发。

#### 3.1.1 白血病

(1) 急性髓系白血病 急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是最为常见的恶性增殖性血液肿瘤, 为维持其持续增殖的高代谢需求可激活适应性UPR, 即自噬和ERAD等相关的基因高表达<sup>[14]</sup>。其中高表达的囊泡膜蛋白 (vacuole membrane protein 1, VMP1) 可与苺氯素 1 (Beclin-1) 一起作为激活自噬分子的开关, 从而增加自噬通量和降低凋亡敏感性, 以维持AML细胞的生存<sup>[15]</sup>。但最新研究表明, VMP1缺失可引起钙紊乱和线粒体损伤特异激活的PERK信号通路, 并抑制IRE1 $\alpha$ 和ATF6信号通路, 进而抑制细胞增殖和降低细胞对适应性UPR的敏感性<sup>[16]</sup>。由此可以看出, VMP1可能是AML中调控适应性UPR和自噬作用的共同分子。为了解决这一适应性UPR调节机制, 以达到缓解AML进展的目的, 大量研究集中于增强PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP的促凋亡信号通路。其中有研究通过活化单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate (AMP) -activated protein kinase, AMPK) 增强UPR中PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP的促线粒体凋亡途径, 同时合用BCL-2抑制剂维奈克拉, 最终有效促进了AML细胞的凋亡<sup>[17]</sup>。还有研究通过曲霉苷处理AML细胞后可以增强PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP的促凋亡信号通路<sup>[18]</sup>。研究人员还通过PERK抑制剂Salubrinal (见表1) 或敲低GRP78的表达来抑制ERS, 从而显著抑制了AML细胞中曲霉苷诱导的细胞凋亡<sup>[18]</sup>。因此, 曲霉苷可以通过诱导GPR78和PERK之间的相互作用促进凋亡。另在急性早幼粒细胞

白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 的研究中发现, 在全反式维甲酸敏感和耐药的APL细胞系中三氧化二砷和内质网应激诱导剂衣霉素 (tunicamycin, Tm) 具有很强的协同细胞毒性, 主要是通过PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP的促凋亡信号通路<sup>[19]</sup>。其中通过使用GSK抑制剂直接抑制PERK, PERK被抑制将阻碍eIF2 $\alpha$ 的磷酸化, 进而抑制了下游CHOP介导促凋亡途径的表达<sup>[19]</sup>。由此, 这种通过增强PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP的促凋亡信号通路, 可以作为控制AML进展以及治疗耐药性的一种方式。此外, 有研究通过上调CHOP基因的表达, 同时抑制mTOR的表达和线粒体的呼吸, 增加AML细胞对化疗药物的敏感性, 最终促进AML细胞发生凋亡<sup>[20-21]</sup>。另外, 在对ERS下高表达的VMP1研究中也发现, 过表达VMP1将会引发自噬流的增加, 从而减弱PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP的促凋亡信号通路, 但这将会减弱维奈克拉对于AML细胞的凋亡作用<sup>[15]</sup>。

(2) 慢性髓系白血病 随着伊马替尼 (imatinib)、达沙替尼 (dasatinib)、尼洛替尼 (nilotinib) 等非受体酪氨酸激酶 (cellular-abelson-gene, c-ABL) 的酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKIs) 的出现, 慢性髓系白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 的治疗效果得到了显著改善。然而, TKI耐药或TKI停药后癌症复发仍然是治愈的障碍。值得注意的是, PERK-eIF2 $\alpha$ 磷酸化与CML对这些抑制剂的耐药性呈正相关<sup>[22]</sup>。在髓系细胞中异位表达BCR-ABL或在CML细胞系 (如

表1 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路抑制剂

Table 1 Inhibitors of PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP signaling pathway

Inhibitor	Function
GSK2606414	A selective inhibitor of PERK
ISRIB	Reverse the translation effect caused by eIF2 $\alpha$ phosphorylation, inhibit the expression of endogenous ATF4 while maintaining the expression of XBP1s mRNA splicing and XBP1s, and it has insignificant changes in translation or mRNA levels in unstress cells
GSK2656157	A selective and ATP-competitive inhibitor of PERK can activate and reduce the downstream substrate phosphorylation eIF2 $\alpha$ , ATF4 and CHOP
AMG PERK 44	Highly selective PERK inhibitors
PERK-IN-6	Inhibitor of PERK
PERK-IN-5	Highly efficient and selective PERK inhibitors can significantly inhibit tumor growth in a 786-O renal cell carcinoma xenograft model
PERK-IN-4	Effectively selective PERK inhibitors
(S)-PERK-IN-5	Enantiomers of PERK-IN-5 and inhibitor of the PERK
PERK-IN-2	Highly efficient inhibitor of the PERK
PERK-IN-3	Highly efficient inhibitor of the PERK
PERK-IN-4-d3	PERK-IN-4 deuterated compound, PERK-IN-4 is an effectively selective PERK inhibitor
Salubrinal	The inhibitor of selective eIF2 $\alpha$ dephosphorylation can inhibit ER stress-mediated stress
Sal003	Salubrinal derivatives, the efficient and specific inhibitor of cell permeability eIF2 $\alpha$ phosphatase

Notes: PERK: protein kinase R-like ER kinase; eIF2 $\alpha$ : eukaryotic translation initiation factor 2 subunit- $\alpha$ ; ATF4: activating transcription factor 4; XBP1s: the spliced form of X-box binding protein 1; ATP: adenosine triphosphate; CHOP: pro-apoptotic transcriptional factor C/EBP homologous protein.

K562和BV173等)表达BCR-ABL融合基因,这将与ERS水平升高和PERK-eIF2 $\alpha$ 通路的激活相吻合<sup>[22]</sup>。在伊马替尼或其他TKIs耐药的CML患者外周血CD34<sup>+</sup>细胞中发现PERK和eIF2 $\alpha$ 蛋白及磷酸化也相应增加<sup>[14]</sup>。这很有可能是PERK-eIF2 $\alpha$ 信号通路的双重作用,不仅能够促进细胞凋亡,还能产生自噬作用维持细胞稳态的适应性UPR调节机制<sup>[23]</sup>。自噬是CML细胞生存、白血病发生和伊马替尼耐药所必需的保护性机制<sup>[24]</sup>。有研究通过使用蛋白酶体抑制剂Cpd21对CML细胞内适应性UPR启动的ERAD产生抑制,使CML细胞内大量未折叠蛋白和错误折叠蛋白持续累积,以促进PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP促凋亡信号通路的表达<sup>[3]</sup>。

**3.1.2 淋巴瘤 弥漫大B细胞淋巴瘤 (diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)**是成人非霍奇金淋巴瘤最常见的类型,根据起源可主要分为生发中心型和活化样B细胞型两大类<sup>[25]</sup>。近年来DLBCL研究领域不断扩展,嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)免疫治疗是目前研究的重点,但在代谢方面的研究也愈发受到关注。有研究发现,脂肪酸合成酶活性与DLBCL中脂质代谢和蛋白质翻译异常有关,通过体外实验验证了脂肪酸合成酶在SU-DHL-2和U2932细胞中过表达,通过沉默脂肪酸合成酶可调节PERK-CHOP-BCL-2信号通路而促细胞凋亡<sup>[26]</sup>。此外,鉴于蛋白酶体抑制剂在非霍奇金淋巴瘤中的功效有限,研究人员使用TAK-243,即泛素激活酶的小分子抑制剂,在DLBCL细胞中抑制泛素化诱发ERS和UPR,致使CHOP表达上调并促进凋亡<sup>[27]</sup>。另外,汉黄芩素衍生物LW-213也能通过激活PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路诱导皮肤T细胞淋巴瘤发生凋亡<sup>[28]</sup>。说明通过调控淋巴瘤产生的ERS和UPR,可以促进淋巴瘤细胞凋亡,这为淋巴瘤的治疗手段提供了新的方向。

**3.1.3 多发性骨髓瘤 多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM)**是浆细胞恶性克隆性肿瘤。有研究表明,MM细胞内有显著的ERS,并高度依赖适应性UPR以维持稳态,在使用PERK抑制剂后,适应性PERK通路的关键分子将下调,而CHOP表达上调显著促进了MM细胞凋亡<sup>[29]</sup>。此外,还有研究表明使用硼替佐米(Bortezomib)可快速诱导MM细胞中的终末UPR,如活化PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP促凋亡信号通路促进细胞凋亡<sup>[30]</sup>。这种通过调控MM中UPR的促凋亡机制,可尝试作为探究治

疗MM的机制之一。

### 3.2 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路参与免疫调控的作用机制

对肿瘤产生持久免疫是一个复杂的过程,该过程涉及固有、适应性免疫细胞和肿瘤微环境之间的相互协调<sup>[2]</sup>。内质网作为维持细胞稳态的枢纽,能够感知和整合在外界条件影响下的细胞内各种改变<sup>[4]</sup>。在肿瘤微环境的影响下,免疫效应细胞发生内质网应激反应,除了触发典型的UPR外,还可引发免疫细胞特异性的调节方式<sup>[2]</sup>。因此,靶向内质网应激传感器或其相关的UPR通路,可有助于改善血液肿瘤中免疫抑制的情况。

#### 3.2.1 固有免疫细胞

(1) 巨噬细胞 巨噬细胞中M1型具有抗肿瘤作用,而M2型具有促肿瘤作用<sup>[31]</sup>。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是巨噬细胞的一个特定亚群,代表人类肿瘤微环境中浸润的大量免疫细胞,其可以共表达M1和M2基因特征,并促进TAMs可以表达与M2活化经典相关的基因以外的基因<sup>[32]</sup>。因此,若促M2型巨噬细胞向抗肿瘤的M1型巨噬细胞极化,则可改善肿瘤微环境中的免疫抑制现象<sup>[32]</sup>。因此,将M2型重编程为M1型成为肿瘤免疫治疗的可能途径。有研究表明,PERK是巨噬细胞免疫抑制功能的关键代谢枢纽。辅助细胞2(T helper 2 cell, Th2)分泌的白介素4(interleukin 4, IL4)和周围肿瘤微环境可增加巨噬细胞中PERK信号级联的活性,进而促进了M2型细胞的活化和增殖,同时PERK激活下游逆转录因子ATF4可介导磷酸丝氨酸氨基转移1(phosphoserine aminotransferase 1, PSAT1)和丝氨酸生物合成的上调。另外,PERK信号的缺失则可阻碍M2型巨噬细胞中至关重要的线粒体呼吸和脂质氧化,并抑制免疫检查点的功效<sup>[33]</sup>。因此,通过调控PERK信号通路来诱导巨噬细胞的极化,可改变TAMs的免疫调节效应。

(2) 树突状细胞 树突状细胞(dendritic cells, DC)是免疫系统中重要的抗原提呈细胞。在肿瘤微环境中,DC能够对抗原进行摄取、加工处理和提呈给效应T细胞,从而引发效应T细胞的抗肿瘤免疫应答。然而,肿瘤微环境产生的一系列抑制正常免疫应答的因素,将会抑制DC的正常功能,进而影响效应T细胞的肿瘤杀伤效果。ERS条件下UPR中的PERK对DC产生一定的影响。最新研究表明,ERS中PERK的缺失可触发SEC61 $\beta$ 诱导的类凋亡,从而促进免疫原性细胞

死亡 (immunogenic cell death, ICD) 和全身抗肿瘤反应。ICD诱导刺激DC中 I 型干扰素的产生, 从而诱导单核细胞前体分化为单核细胞系炎性  $Ly6C^+CD103^+$  DCs和T细胞的抗肿瘤免疫<sup>[34]</sup>。

(3) 自然杀伤细胞 自然杀伤细胞 (natural killer cells, NK) 是固有免疫系统中具有直接识别和杀伤肿瘤效应的淋巴细胞, 其效应功能活性由激活性受体和抑制性受体之间的平衡决定。激活性受体, 包括天然细胞毒性受体3 (natural cytotoxicity triggering receptor 3, NKp30)、天然细胞毒性受体2 (natural cytotoxicity triggering receptor 2, NKp44) 和天然细胞毒性受体1 (natural cytotoxicity triggering receptor 1, NKp46) 等, 与肿瘤相关配体结合后, 可诱导NK细胞的杀伤活性以起到抗肿瘤作用<sup>[4]</sup>。有研究表明, 接受药物性ERS的肿瘤细胞中, 活化的PERK-eIF2 $\alpha$ 轴可诱导B7H6的表达, 即NK细胞受体NKp30的配体, 使NK的活性受体激活增加以促进抗肿瘤效应的发生<sup>[35]</sup>。因此, 有必要进一步研究恶性肿瘤细胞中特异性内质网应激传感器的激活如何阻止或促进NK细胞识别肿瘤。

### 3.2.2 适应性免疫细胞

(1)  $CD8^+$ T细胞 了解导致肿瘤微环境中 $CD8^+$ T细胞功能失调的内在介质是发展更有效的肿瘤免疫治疗的必要条件。CHOP是终末UPR的下游调控因子, 在各种肿瘤小鼠模型中, 肿瘤浸润的 $CD8^+$ T细胞中CHOP表达增加, 其是肿瘤反应性 $CD8^+$ T细胞效应功能的主要负调节因子。在机制上,  $CD8^+$ T细胞中的CHOP表达主要通过PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4轴活化诱导而上调, CHOP可直接抑制T细胞中表达的 I 型T辅助细胞 (T helper 1 cell, Th1) 转录因子T-box (T-bet) 进而抑制 $CD8^+$ T细胞功能, 并减少IFN $\gamma$ 的产生<sup>[29]</sup>。此外, 高表达的CHOP还可促进ERO1 $\alpha$ 基因表达, 导致线粒体活性氧 (mitochondrial reactive oxygen species, mtROS) 大量累积和 $CD8^+$ T细胞表面的PD-1表达升高, 致使肿瘤浸润的 $CD8^+$ T细胞耗竭<sup>[36]</sup>。这些发现揭示了CHOP在肿瘤诱导的 $CD8^+$ T细胞功能障碍中的作用, 以及阻断CHOP或ER应激释放T细胞介导的抗肿瘤免疫的治疗潜力。

(2) 调节性T细胞 调节性T细胞 (regulatory T cells, Tregs) 对于免疫系统起着负调控的作用, 可防止免疫系统的过度活化而造成自身免疫性疾病的发生。有研究表明, Tregs在内质网应激条件下, PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路被激

活, 增强了Tregs对T细胞抗原受体 (T cell receptor, TCR) 刺激的负调控应答, 如Foxp3转录因子的表达、白介素10 (interleukin 10, IL-10) 和转化生长因子 (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 的产生。这表明在内质网应激条件下, UPR中的PERK信号通路促进了Tregs的免疫抑制功能, 减弱了效应T细胞的抗肿瘤作用<sup>[37]</sup>。

3.2.3 骨髓源性抑制细胞 骨髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 的内质网中有大量的错误折叠蛋白和未折叠蛋白累积, 显示出强大的PERK激活, 不仅增加抑制STING信号调节MDSCs的抑制功能, 还可通过激活转录因子核因子E2相关因子2 (nuclear factor-erythroid 2-related factor, NRF2) 来促进对氧化应激的抵抗, 从而缓解ROS积累以降低细胞对于应激的敏感性<sup>[38-39]</sup>。有研究表明, 敲除或靶向PERK的MDSCs在各种癌症小鼠模型中诱导 I 型干扰素介导的抗肿瘤免疫反应<sup>[39]</sup>。此外, UPR活化产生的CHOP能正向调控MDSCs的聚集和抑制功能<sup>[40]</sup>。因此, 可利用PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP介导的T细胞抑制因子表达和NRF2驱动反应来抑制机体的抗肿瘤免疫, 并抑制保护性 I 型干扰素的产生<sup>[2]</sup>。有研究表明, 在对敲除CHOP后, MDSCs将转化为一种免疫刺激细胞, 对抗肿瘤特异性T细胞进行活化进而发挥抗肿瘤免疫效应<sup>[40]</sup>。因此, PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP轴对于MDSCs的功能调控, 可成为改善机体免疫调节效应的新的突破口。

## 4 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路在血液肿瘤与免疫调控之间的作用

肿瘤细胞受到外界刺激发生死亡的同时, 由非免疫原性转变为免疫原性而介导机体产生抗肿瘤免疫应答的过程称为ICD。肿瘤细胞发生ICD的同时, 会产生一系列的信号分子, 此类物质被称为损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMP)。ICD过程中释放的DAMPs能够和DC细胞表面的模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 结合, 启动一系列的细胞学反应, 最终激活先天和适应性免疫反应, 是一种有效的治疗肿瘤相关免疫逃避的策略<sup>[41]</sup>。

在实体瘤领域中已有大量研究发现, 在持续ERS条件下, PERK所介导的促凋亡信号通路表达上调, 继而通过产生的DAMP所介导的ICD来诱导树突状细胞的成熟和细胞毒性T细胞的募集以增强其杀伤效应<sup>[42]</sup>。此外, 还在黑色素瘤细胞研究中也

发现清除ERS中的适应性UPR, 可通过类凋亡产生DAMP所介导的ICD以激活保护性T细胞应答<sup>[34]</sup>。但在血液肿瘤中, ERS引起适应性UPR以维持肿瘤细胞的正常增殖。在肿瘤微环境中, 则会抑制杀伤性免疫细胞和促进抑制性免疫细胞的功能。目前, 血液肿瘤领域有关于促进ERS增强PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP促凋亡信号通路产生DAMP, 从而引发ICD的研究较少, 其机制尚不明确。

## 5 小结与展望

血液肿瘤的恶性增殖、高代谢需求以及各种化疗药物治疗过程中产生的ERS状态激活UPR, 进而启动了三种感应蛋白的调控的下游信号通路。尽管, 这些信号通路既可以产生适应性调节维持细胞稳态, 又可以产生终末UPR促进细胞凋亡, 但在肿瘤细胞内引起的UPR可导致机体适应慢性应激、免疫功能改变和防止细胞死亡, 这可能成为引起抗肿瘤治疗效果不佳的原因之一。

根据目前的研究来看, 不同类型的血液肿瘤细胞产生的PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP信号通路均是一个相互协调和复杂的过程, 它可能依赖于不同分支的激活水平之间的微妙平衡。因此, 进一步研究有关于血液肿瘤的UPR中PERK促凋亡信号通路或许将成为治疗肿瘤的一个靶点, 这对于改进血液肿瘤的治疗策略具有重要意义。

### 利益冲突声明:

所有作者均声明不存在利益冲突。

### 参考文献:

- [1] Śniegocka M, Liccardo F, Fazi F, *et al.* Understanding ER homeostasis and the UPR to enhance treatment efficacy of acute myeloid leukemia[J]. *Drug Resist Updat*, 2022, 64: 100853.
- [2] Chen X, Cubillos-Ruiz JR. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(2): 71-88.
- [3] Wang F, Wang X, Li N, *et al.* Prolonged unfolded protein reaction is involved in the induction of chronic myeloid leukemia cell death upon oprozomib treatment[J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(1): 133-143.
- [4] Ozcan L, Tabas I. Role of endoplasmic reticulum stress in metabolic disease and other disorders[J]. *Annu Rev Med*, 2012, 63: 317-328.
- [5] Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation[J]. *Science*, 2011, 334(6059): 1081-1086.
- [6] Cui Y, Parashar S, Zahoor M, *et al.* A COPII subunit acts with an autophagy receptor to target endoplasmic reticulum for degradation[J]. *Science*, 2019, 365(6448): 53-60.
- [7] Kadowaki H, Nishitoh H. Signaling pathways from the endoplasmic reticulum and their roles in disease[J]. *Genes (Basel)*, 2013, 4(3): 306-333.
- [8] Wang M, Kaufman RJ. The impact of the endoplasmic reticulum protein-folding environment on cancer development[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(9): 581-597.
- [9] Han J, Back SH, Hur J, *et al.* ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(5): 481-490.
- [10] Iurlaro R, Muñoz-Pinedo C. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress[J]. *FEBS J*, 2016, 283(14): 2640-2652.
- [11] Hu H, Tian M, Ding C, *et al.* The C/EBP Homologous Protein (CHOP) Transcription Factor Functions in Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Apoptosis and Microbial Infection[J]. *Front Immunol*, 2019, 9: 3083.
- [12] Chen F, Sun J, Wang Y, *et al.* Silica nanoparticles induce ovarian granulosa cell apoptosis via activation of the PERK-ATF4-CHOP-ERO1 $\alpha$  pathway-mediated IP3R1-dependent calcium mobilization[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2023, 39(4): 1715-1734.
- [13] Bhattarai KR, Riaz TA, Kim HR, *et al.* The aftermath of the interplay between the endoplasmic reticulum stress response and redox signaling[J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(2): 151-167.
- [14] Khateb A, Ronai ZA. Unfolded Protein Response in Leukemia: From Basic Understanding to Therapeutic Opportunities[J]. *Trends Cancer*, 2020, 6(11): 960-973.
- [15] Folkerts H, Wierenga AT, van den Heuvel FA, *et al.* Elevated VMP1 expression in acute myeloid leukemia amplifies autophagy and is protective against venetoclax-induced apoptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6): 421.
- [16] Li T, Zhao H, Guo G, *et al.* VMP1 affects endoplasmic reticulum stress sensitivity via differential modulation of the three unfolded protein response arms[J]. *Cell Rep*, 2023, 42(3): 112209.
- [17] Grenier A, Poulain L, Mondesir J, *et al.* AMPK-PERK axis represses oxidative metabolism and enhances apoptotic priming of mitochondria in acute myeloid leukemia[J]. *Cell Rep*, 2022, 38(1): 110197.
- [18] Rong C, Wei W, Yu-Hong T. Asperuloside exhibits a novel anti-leukemic activity by triggering ER stress-regulated apoptosis via targeting GRP78[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 109819.
- [19] Masciarelli S, Capuano E, Ottone T, *et al.* Retinoic acid and arsenic trioxide sensitize acute promyelocytic leukemia cells to ER stress[J]. *Leukemia*, 2018, 32(2): 285-294.
- [20] Stevens AM, Xiang M, Heppler LN, *et al.* Atovaquone is active against AML by upregulating the integrated stress pathway and suppressing oxidative phosphorylation[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(24): 4215-4227.
- [21] Moses BS, McCullough S, Fox JM, *et al.* Antileukemic efficacy of a potent artemisinin combined with sorafenib and venetoclax[J]. *Blood Adv*, 2021, 5(3): 711-724.
- [22] Kusio-Kobialka M, Podrzywalow-Bartnicka P, Peidis P, *et al.* The PERK-eIF2 $\alpha$  phosphorylation arm is a pro-survival pathway of

- BCR-ABL signaling and confers resistance to imatinib treatment in chronic myeloid leukemia cells[J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(21): 4069-4078.
- [23] B'chir W, Maurin AC, Carraro V, *et al.* The eIF2 $\alpha$ /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(16): 7683-7699.
- [24] Bellodi C, Lidonnici MR, Hamilton A, *et al.* Targeting autophagy potentiates tyrosine kinase inhibitor-induced cell death in Philadelphia chromosome-positive cells, including primary CML stem cells[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(5): 1109-1123.
- [25] Wang L, Li LR. R-CHOP resistance in diffuse large B-cell lymphoma: biological and molecular mechanisms[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 134(3): 253-260.
- [26] Zhong X, Liu Z, Luo Q, *et al.* Upregulation of fatty acid synthase in MYC and BCL-2 double-expressor lymphoma[J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(4): 245.
- [27] Best S, Hashiguchi T, Kittai A, *et al.* Targeting ubiquitin-activating enzyme induces ER stress-mediated apoptosis in B-cell lymphoma cells[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(1): 51-62.
- [28] Cao Y, Trillo-Tinoco J, Sierra RA, *et al.* ER stress-induced mediator C/EBP homologous protein thwarts effector T cell activity in tumors through T-bet repression[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1280.
- [29] Bagratuni T, Patseas D, Mavrianou-Koutsoukou N, *et al.* Characterization of a PERK Kinase Inhibitor with Anti-Myeloma Activity[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(10): 2864.
- [30] Obeng EA, Carlson LM, Gutman DM, *et al.* Proteasome inhibitors induce a terminal unfolded protein response in multiple myeloma cells[J]. *Blood*, 2006, 107(12): 4907-4916.
- [31] Li X, Liu R, Su X, *et al.* Harnessing tumor-associated macrophages as aids for cancer immunotherapy[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 177.
- [32] Pittet MJ, Michielin O, Migliorini D. Clinical relevance of tumour-associated macrophages[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(6): 402-421.
- [33] Raines LN, Zhao H, Wang Y, *et al.* PERK is a critical metabolic hub for immunosuppressive function in macrophages[J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(3): 431-445.
- [34] Mandula JK, Chang S, Mohamed E, *et al.* Ablation of the endoplasmic reticulum stress kinase PERK induces paraptosis and type I interferon to promote anti-tumor T cell responses[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(10): 1145-1160. e9.
- [35] Obiedat A, Charpak-Amikam Y, Tai-Schmiedel J, *et al.* The integrated stress response promotes B7H6 expression[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2020, 98(1): 135-148.
- [36] Hurst KE, Lawrence KA, Essman MT, *et al.* Endoplasmic Reticulum Stress Contributes to Mitochondrial Exhaustion of CD8+ T Cells[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(3): 476-486.
- [37] Feng ZZ, Luo N, Liu Y, *et al.* ER stress and its PERK branch enhance TCR-induced activation in regulatory T cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 563: 8-14.
- [38] Mohamed E, Sierra RA, Trillo-Tinoco J, *et al.* The Unfolded Protein Response Mediator PERK Governs Myeloid Cell-Driven Immunosuppression in Tumors through Inhibition of STING Signaling[J]. *Immunity*, 2020, 52(4): 668-682. e7.
- [39] Cullinan SB, Zhang D, Hannink M, *et al.* Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(20): 7198-7209.
- [40] Thevenot PT, Sierra RA, Raber PL, *et al.* The stress-response sensor chop regulates the function and accumulation of myeloid-derived suppressor cells in tumors[J]. *Immunity*, 2014, 41(3): 389-401.
- [41] Park SJ, Ye W, Xiao R, *et al.* Cisplatin and oxaliplatin induce similar immunogenic changes in preclinical models of head and neck cancer[J]. *Oral Oncol*, 2019, 95: 127-135.
- [42] Feng X, Lin T, Chen D, *et al.* Mitochondria-associated ER stress evokes immunogenic cell death through the ROS-PERK-eIF2 $\alpha$  pathway under PTT/CDT combined therapy[J]. *Acta Biomater*, 2023, 160: 211-224.

[编辑: 尤婷婷; 校对: 邱颖慧]

作者贡献:

贺梦可: 文章撰写、资料收集、整合归纳

徐子真、李军民: 指导并撰写文章