

p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路在骨肉瘤中的研究现状

Research status of p38 mitogen – activated protein kinases signaling pathway in osteosarcoma

秦庆庆¹, 王一坤¹, 阳庆林¹,
王勇平^{1,2}

(1. 兰州大学 第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 海南医科大学 第二附属医院 骨科, 海南 海口 570311)

QIN Qing – qing¹, WANG Yi – kun¹,
YANG Qing – lin¹,
WANG Yong – ping^{1,2}

(1. The First Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; 2. Department of Orthopedics, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570311, Hainan Province, China)

基金项目: 甘肃省高等学校科研基金资助项目 (2023CYZC – 03); 兰州市人才创新创业基金资助项目 (2021 – RC – 114); 兰州大学第一医院科研计划基金资助项目 (LDYYN2021 – 12)

作者简介: 秦庆庆 (1997 –), 男, 博士研究生, 主要从事药物及分子调控骨肉瘤生物学行为的相关研究

通信作者: 王勇平, 教授, 博士生导师
MP: 15095369802

E – mail: wangyp312@163.com

摘要: p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) 参与调控了骨肉瘤 (OS) 的发生发展。本文就 p38 MAPK 信号通路在 OS 中的研究现状进行综述, 主要包括 p38 MAPK 信号通路调控 OS 的增殖、迁移、侵袭、凋亡、自噬、铁死亡、血管生成和上皮 – 间充质转化 (EMT) 等生物学行为, 以及非编码 RNA 和氧化应激通过调控 p38 MAPK 信号通路参与 OS 的发生发展进行综述, 为寻找 OS 的治疗提供新的研究思路。

关键词: p38 丝裂原活化蛋白激酶; 骨肉瘤; 信号通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001 – 6821.2025.01.022

中图分类号: R97 **文献标志码:** A

文章编号: 1001 – 6821 (2025) 01 – 0105 – 06

Abstract: p38 mitogen – activated protein kinases (p38 MAPK) are involved in the regulation of osteosarcoma (OS) development. Therefore, this paper reviews the current research status of p38 MAPK signaling pathway in OS, mainly including the p38 MAPK signaling pathway regulates the biological behaviors of OS such as proliferation, migration, invasion, apoptosis, autophagy, iron death, angiogenesis and epithelial – mesenchymal transition (EMT), and non – coding RNAs and oxidative stress are involved in the development of OS through the modulation of p38 MAPK signaling pathway. reviewed to provide new ideas for finding the treatment of OS.

Key words: p38 mitogen – activated protein kinases; osteosarcoma; signaling pathway

骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 是一种常见的原发性骨恶性肿瘤, 具有较高的局部侵袭和转移倾向, 多见于儿童和青少年^[1–2]。尽管新辅助化疗结合手术和术后化疗已被用于治疗 OS, 但由于出现早期转移和化疗耐药, OS 患者的 5 年生存率仍然不能令人满意^[3–4]。p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen – activated protein kinases, p38 MAPK) 是一种磷酸化不同转录因子的应激反应蛋白激酶, 其包括 p38 α (MAPK14)、p38 β (MAPK11)、p38 γ (MAPK12) 和 p38 δ (MAPK13) 4 种亚型, 与肿瘤的发生发展密切相关^[5], 可以通过介导 p38 MAPK 信号通路调控 OS 细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡等。本文就 p38 MAPK 信号通路对 OS 细胞生物学行为的调控, 及非编码 RNA 和氧化应激通过 p38 MAPK 信号通路对 OS 调控的研究现状进

行综述,进一步探究 p38 MAPK 信号通路的内在调控机制,为靶向治疗 OS 提供新的策略。

1 p38 MAPK 信号通路在 OS 中的作用

1.1 影响 OS 细胞增殖、迁移和侵袭

蛋白丝氨酸激酶 H1 (protein serine kinase H1, PSKH1) 是一种自磷酸化的人类蛋白丝氨酸激酶,控制富含丝氨酸/精氨酸结构域的转运,对 mRNA 加工具有下游作用。ZHU 等^[6]研究发现,PSKH1 在 OS 组织中的表达水平明显高于癌旁组织,后将其分为 PSKH1 抑制组和过表达组,24 h 后 PSKH1 抑制组的相对菌落形成率为 40%、迁移细胞率为 40%,均显著低于阴性对照组(转染 *shNC*) 的 100% 和 100%,而过表达组的情况则相反,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。进一步研究发现,过表达组和敲低组的磷酸化 p38 MAPK (phosphorylated p38 MAPK, p-p38 MAPK) 蛋白相对表达水平均较对照明显上升(1.5、1.2 vs 1.0,均 $P < 0.05$);而加入 SB203580 (p38 MAPK 抑制药)后可以有效阻断 PSKH1 的促肿瘤作用,这说明 PSKH1 通过激活 p38 MAPK 信号通路,促进 OS 细胞的增殖、迁移和侵袭。

p38 γ 是 p38 MAPK 中的一个亚型。SHI 等^[7]将人 OS 细胞 U2OS 分为抑制组和 p38 γ 过表达组,结果显示,p38 γ 抑制组的 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 占比为 7%、24 h 的迁移率为 32%、侵袭率为 20%,均显著低于对照组的 35%、100% 和 100%;而 p38 γ 过表达时则情况相反,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);进一步研究发现,在 p38 γ *shRNA* 敲低或敲除后,视网膜母细胞瘤的磷酸化和细胞周期蛋白 E1/细胞周期蛋白 A 表达均显著降低,但在异位 p38 γ 过表达后则显著增加,这说明 p38 γ 过表达会促进人 OS 细胞的进展。DAI 等^[8]研究发现,Alponin 3 (CNN3) 蛋白在 OS 组织和细胞系中高水平表达,敲低 CNN3 后细胞的 G1 占比为 70%,显著高于对照组的 60%,迁移率及侵袭率分别为 30% 和 40%,均显著低于对照组的 40% 和 60%,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。这说明敲低 CNN3 可以抑制细胞的增殖、迁移和侵袭。此外,CNN3 沉默也可以抑制体内皮下肿瘤的生长和肺转移;进一步研究发现,沉默 CNN3 后,p38 MAPK 蛋白表达水平较正常组显著降低。这说明 CNN3 可能通过激活 p38 MAPK 通路,在 OS 的进展过程中发挥致癌作用。

1.2 影响 OS 细胞凋亡

p38 MAPK 信号通路在 OS 细胞的凋亡中起到重

要的作用。LEE 等^[9]用 0 (对照组) 和 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (实验组) 的桑橙素处理 U2OS,结果发现,实验组可以通过不依赖于胱天蛋白酶-3 (Caspase-3) 的多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (poly adenosine diphosphate-ribose polymerase-1, PARP) 调控来发挥促氧化作用,并诱导人 OS 细胞 U2OS 的凋亡;进一步研究发现,实验组的 p38 MAPK 蛋白相对表达水平是对照组的 2 倍 ($P < 0.05$)。而加入抗氧化药 *N*-乙酰半胱氨酸 (*N*-acetylcysteine, NAC) 后,桑橙素对 U2OS 细胞的凋亡诱导作用减弱。这说明桑橙素诱导凋亡作用可能与其抗氧化活性及激活 p38 MAPK 信号通路密切相关。

TIAN 等^[10]用 0、10、20、40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的毛蕊异黄酮处理人 OS 细胞 143B 细胞,结果发现,随着毛蕊异黄酮浓度的上升,促凋亡蛋白裂解 Caspase-3、裂解 Caspase-9、裂解聚[腺苷二磷酸 (adenosine diphosphate, ADP)-核糖]聚合酶和 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白 (B cell lymphoma-2 associated X protein, Bax) 的表达水平升高,而抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 的表达水平则降低,这说明毛蕊异黄酮促进了细胞凋亡,且呈浓度依赖性。此外,经毛蕊异黄酮处理后,诱导了 p38 MAPK 的磷酸化,而加入 BIRB 796 (p38 MAPK 抑制药) 后,显著逆转了细胞的活力和凋亡率。这说明毛蕊异黄酮通过 p38 MAPK 调控线粒体依赖的内源性凋亡途径来抑制 OS 细胞的生长。

YANG 等^[11]用 0、5、10、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CLEFMA 处理 OS 细胞 24 h,结果显示,细胞凋亡率分别为 4.5%、9.3%、38.7% 和 41.0%,凋亡率呈浓度依赖性升高(均 $P < 0.05$);此外,除了效应 Caspase-3, CLEFMA 亦激活了外源性 Caspase-8 和内源性 Caspase-9 的启动子。进一步研究发现, CLEFMA 增加了 p38 MAPK 的磷酸化,而加入 SB203580 (p38 MAPK 抑制药) 后,可以抑制因 CLEFMA 而增加的裂解 Caspase-3、-8 和 -9 表达水平。这说明 CLEFMA 通过 p38 MAPK 激活人 OS 细胞的内源性和外源性凋亡通路,有助于更好地发挥 CLEFMA 对人 OS 的凋亡作用。

1.3 影响 OS 细胞自噬和铁死亡

自噬是细胞内大分子物质与细胞器被次级溶酶体进行降解与消化的过程,是机体内普遍存在的自稳机制^[12]。MASUELLI 等^[13]用 0 (对照组)、1.56、3.13、6.25、12.50、25.00 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AT-101 处理 OS 细胞,结果发现,AT-101 以剂量和时间依赖性方式显

著抑制 OS 细胞的生长;此外,经 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AT-101 处理 OS 细胞 48 h, Beclin 1 (0.90 vs 0.75) 和微管相关蛋白轻链 3 II (microtubule-associated protein light chain 3 II, LC3 II)/LC3 I (1.50 vs 1.00) 的表达水平均较对照组显著升高 (均 $P < 0.05$), 且促进了 p62/SQSTM1 的累积, 从而表明 AT-101 能够诱导自噬通量;此外,超微结构分析发现,AT-101 处理的 OS 细胞的细胞质中存在自噬体和液泡。进一步研究发现, $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AT-101 处理后 p-p38/p38 比值为 0.70, 显著高于对照组的 0.30 ($P < 0.05$)。这说明 AT-101 可以通过激活 p38 MAPK 信号通路, 进而激活 OS 细胞中的自噬反应, 从而抑制 OS 的生长。因此, AT-101 可以作为一个候选的化疗支持分子, 用于开发新的治疗 OS 的化疗方案。

ZHU 等^[14]用 0 (对照组)、20、30、40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的七叶皂苷处理 OS 细胞, 结果发现, 七叶皂苷以剂量和时间依赖的方式抑制 OS 细胞的增殖, 此外, LC3 (1.21 vs 1.00)、自噬相关蛋白 5 (autophagy related protein 5, ATG5; 1.73 vs 1.00)、ATG12 (1.33 vs 1.00) 和 Beclin (1.70 vs 1.00) 的表达水平均较对照组显著升高 (均 $P < 0.05$), 且透射电镜发现自噬体的形成, 说明七叶皂苷在 OS 细胞中诱导了自噬的发生。进一步研究发现, 七叶皂苷激活了 p38 MAPK, 而且加入 p38 MAPK 抑制药后, 部分抑制了七叶皂苷诱导的细胞自噬和凋亡; 这说明七叶皂苷可以通过激活 p38 MAPK 信号通路诱导自噬和凋亡来对抗 OS, 为七叶皂苷作为一种新的和有效的治疗 OS 的药物提供了证据。

铁死亡是一种新形式的调节性细胞死亡, 以铁代谢紊乱、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 物质和异常脂质过氧化 (lipid peroxidation, LP) 的累积为特点, 在 OS 的发生发展中起着重要的作用。LV 等^[15]用 0 (对照组)、1、15、30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 β -异硫氰酸苯乙酯 (β -phenethyl isothiocyanate, PEITC) 处理人 OS 细胞, 结果发现, 细胞活力呈浓度依赖性降低, 细胞周期被阻滞在 G2/M 期, 且 30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PEITC 组最为显著 (0.25 vs 0.10), 较对照组明显升高 ($P < 0.05$); 此外, 在 30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PEITC 处理下, 细胞的总铁水平 (10.00 vs 5.00)、不稳定铁 (3.50 vs 1.40)、储铁蛋白 1 (ferritin heavy chain 1, FTH1; 0.27 vs 1.00)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH; 0.20 vs 1.00)、丙二醛 (23.00 vs 0.25)、ROS (4.00 vs 1.00) 均较对照组发生了显著性变化 (均 $P < 0.05$); 进一步研究发现, p38 蛋白的表达水平随浓度 (0、1、15、30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 及时间 (0、4、

12、24、48 h) 的增加而随之升高。这说明 PEITC 可以通过诱导铁代谢紊乱和氧化应激, 激活 p38 MAPK 信号通路, 导致人 OS 细胞的铁死亡。

1.4 影响 OS 细胞血管生成

血管生成是一个极其复杂的过程, 在癌症的病理中起着重要的作用。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是一种促血管因子, 在血管生成和 OS 的转移中起着至关重要的作用。VEGF-A 的表达与 OS 的临床分期相关。脂肪因子具有促炎、促血管生成和转移的特性, 可能是一种将肥胖、炎症与癌症联系起来的预后生物标志物。TSAI 等^[16]研究发现, 经 0、10 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 抵抗素 (一种脂肪因子) 处理后的 OS 细胞, VEGF-A mRNA 相对表达水平分别为 1.0 和 1.5 ($P < 0.05$), 这说明抵抗素促进了 VEGF-A 的表达; 进一步研究发现, 抵抗素促进了 p38 蛋白的表达, 而加入 p38 抑制药后, 抑制了抵抗素诱导的 VEGF-A 表达以及内皮祖细胞 (endothelial progenitor cell, EPC) 的迁移和管腔形成。这说明抵抗素为治疗 OS 提供了一种新的策略。

在 OS 中, 血管生成与肿瘤转移密切相关。LI 等^[17]用 0、6、12、24 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的青蒿素处理 OS 细胞, 结果发现, 青蒿素对人脐静脉内皮细胞血管生成的抑制作用呈浓度依赖性; 此外, 磷酸化的 cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP response element-binding protein, CREB) 特异性地结合在血小板反应素-1 (thrombospondin-1, TSP-1) 的启动子上并促进其转录激活; 经 24 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 青蒿素干预后, TSP-1 (2.0 vs 1.0)、p38 (1.6 vs 1.0) 的表达水平均较对照组显著升高 (均 $P < 0.05$); 进一步体内实验发现, 青蒿素亦可以通过调节 p38 MAPK/CREB/TSP-1 信号通路抑制 OS 细胞的增殖和血管生成。这说明青蒿素可以通过调节 p38 MAPK/CREB/TSP-1 信号通路来抑制 OS 细胞的血管生成。

1.5 影响 OS 细胞上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)

EMT 是胚胎发育、纤维化和癌症转移的重要过程。在肿瘤进展过程中, EMT 的激活使癌细胞获得迁移、侵袭和干细胞样特性。HUANG 等^[18]分别用 0、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的薯蓣皂苷处理骨肉瘤 MG63 细胞, 结果发现, 薯蓣皂苷对 OS 细胞株的侵袭和迁移具有抑制作用; 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的薯蓣皂苷处理 MG63 细胞后, 通过蛋白质印迹法检测细胞中 EMT 相关蛋白的表达水平发现, 转化生长因子- β 1 (transforming growth factor β 1, TGF- β 1; 0.5 vs 0.8)、p38 (0.8 vs 1.0)、E-钙

黏蛋白(E-cadherin; 0.8 vs 0.3)、波形蛋白(Vimentin; 0.9 vs 0.8)的表达水平均较对照组有显著性变化(均 $P < 0.05$),这说明薯蓣皂苷可以抑制OS细胞EMT的启动;此外,通过联合p38 MAPK信号通路抑制药和定量聚合酶链反应检测下游EMT标志蛋白E-cadherin,证实了p38是薯蓣皂苷通过MAPK分子信号通路抑制OS细胞EMT的靶点,这说明薯蓣皂苷可以作为一种辅助药物用于临床,来减少OS患者的转移。

唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素15(Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 15, Siglec-15)在多种肿瘤中异常表达。FAN等^[19]研究发现, Siglec-15在骨肉瘤143B细胞中过表达,而敲低Siglec-15后,EMT相关蛋白N-cadherin(1.4 vs 2.0)、Vimentin(1.0 vs 0.5)、Slug(1.0 vs 0.8)和MMP-9(1.2 vs 1.0)均较对照组(NC组)有更为显著的变化(均 $P < 0.05$)。此外,特异性磷酸酶1(dual-specificity phosphatase 1, DUSP1/MKP1)在Siglec-15沉默后显著下调,而过表达DUSP1可以促进OS细胞的增殖、迁移和侵袭,从而挽救了Siglec-15敲低后导致的OS细胞的迁移、侵袭能力降低。进一步研究发现,敲低Siglec-15时,DUSP1介导的p-p38(1.0 vs 0.4)表达较对照组增强($P < 0.05$),表明Siglec-15通过DUSP1介导的MAPK通路促进OS细胞的恶性进展。这说明Siglec-15的表达通过激活DUSP1促进了OS的发生和进展,且DUSP1与p38 MAPK信号通路密切相关。

ZHANG等^[20]用0、25、50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的四氢姜黄素(tetrahydrocurcumin, THC)处理OS细胞,结果发现,THC显著抑制了OS细胞的增殖、迁移和侵袭,促进了MET的过程。此外,缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)在THC的抗转移作用中起着关键作用。进一步研究发现,经25、50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的THC处理OS细胞后,p-p38/p38蛋白比值分别为0.5和0.3,均显著低于对照组(0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的1.0,且药物处理后的HIF-1 α 表达水平亦被显著下调(0.75、0.50 vs 1.00,均 $P < 0.05$)。这说明THC可以通过抑制p38 MAPK通路来下调HIF-1 α 表达,进而调控EMT的表达,从而抑制OS细胞的转移。

YANG等^[21]通过用土木香内酯(Alantolactone, ALT)处理OS细胞及成骨细胞,结果发现,ALT显著抑制了OS细胞增殖,而对正常细胞的毒性很低,此外,ALT可以通过逆转EMT过程和抑制基质金属蛋

白酶来减少迁移和侵袭。用0、4、8、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的ALT处理OS细胞,p-p38蛋白表达呈浓度依赖性下降(0.6、0.4、0.3 vs 1.0,均 $P < 0.05$),且ALT联合p38 MAPK抑制药对OS细胞的增殖、迁移和侵袭具有协同抑制作用。这说明ALT可以通过抑制p38 MAPK信号通路来抑制人OS细胞的增殖和转移。

2 非编码RNA调控p38 MAPK信号通路在OS中的作用

非编码RNA是指不能编码产生蛋白质的RNA分子,参与了细胞增殖、分化、凋亡及免疫应答等病理生理的调控,与恶性肿瘤的发生发展有着密切的关系。RAIMONDI等^[22]通过与人原代成骨细胞和骨组织相比,结果发现,miR-CT3在OS细胞中表达较低,通过Target Scan及荧光素酶实验预测并证实了VEGF-A为miR-CT3的潜在生物靶点;在OS细胞中过表达miR-CT3后发现,VEGF-A mRNA相对表达水平较对照组显著降低(0.6 vs 1.0, $P < 0.05$),这说明过表达miR-CT3抑制了肿瘤血管生成;此外,过表达miR-CT3亦降低了OS细胞的迁移和侵袭。进一步研究发现,miR-CT3诱导了p38 MAPK通路的激活,调节了EMT和Vimentin的表达。这说明miR-CT3在调节OS细胞的血管生成和细胞进展中具有的新作用,且与EMT蛋白的调节有关。

LIANG等^[23]研究发现,miR-744-5p在OS组织和细胞中的表达水平降低,过表达miR-744-5p后,克隆数目(60 vs 105)、迁移细胞数目(18 vs 44)、EMT相关蛋白E-cadherin(1.5 vs 1.0)、N-cadherin(0.6 vs 1.0)、Vimentin(0.8 vs 1.0)均较对照组有明显改变(均 $P < 0.05$);此外,过表达miR-744-5p后发现,TGF- β 1(0.4 vs 1.0)及p-p38(0.3 vs 1.0)均较对照组显著降低(均 $P < 0.05$),逆转了TGF- β 1对OS细胞的影响。这说明miR-744-5p是TGF- β 1的负调控因子,并通过p38 MAPK信号通路抑制了OS的进展和转移。

长链非编码RNA(long-non-coding RNAs, lncRNA)ANCR在肿瘤的发生发展中起着重要的作用。LIU等^[24]研究发现,ANCR在OS细胞和组织中表达上调,敲低ANCR 48 h后,OS细胞的增殖率(24% vs 58%)、迁移数目(20 vs 60)、N-cadherin(0.3 vs 0.6)均较对照组明显降低(均 $P < 0.05$);进一步研究发现,敲低ANCR后,p-p38蛋白表达水平显著升高(1.7 vs 1.0, $P < 0.05$),而加入SB203580后,恢复了si-ANCR对OS细胞增殖、迁移和侵袭的抑制。这说明沉默ANCR可以通过激活p38 MAPK信号

通路抑制 OS 细胞的迁移和侵袭。

LncRNA AFAP1-AS1 的表达在人 OS 组织和细胞系中上调,SHI 等^[25]敲低 AFAP1-AS1 后发现,OS 细胞的细胞光密度值(0.4 vs 0.2)、凋亡率(30% vs 5%)、细胞迁移数目(100 vs 310)、Bax(2.0 vs 1.0)、Bcl-2(0.8 vs 1.0)、E-cadherin(1.2 vs 1.0)、N-cadherin(0.7 vs 1.0)、Vimentin(0.6 vs 1.0)的表达均较对照组发生了显著性变化(均 $P < 0.05$);进一步研究发现,敲低 AFAP1-AS1 后,ras 同系物家族成员 C(ras homolog family member C, RHOC; 0.7 vs 1.0)、Rho 相关激酶 1(Rho associated coiled-coil containing protein kinase 1, ROCK1; 0.5 vs 1.0)、Twist1(0.6 vs 1.0)和 p-p38(0.8 vs 1.0)蛋白表达水平均较对照组显著降低(均 $P < 0.05$),且 AFAP1-AS1 与 RhoC 相互作用,RhoC 的过表达可以部分逆转 AFAP1-AS1 对 OS 细胞 EMT 抑制。这说明 AFAP1-AS1 通过 RhoC/ROCK1/p38 MAPK/Twist1 信号通路在 OS 中起致癌作用,其中 RhoC 与 AFAP1-AS1 互为靶标,AFAP1-AS1 可以作为 OS 新的治疗靶点,为研究者提供了 OS 发生发展的新机制。

3 氧化应激调控 p38 MAPK 信号通路在 OS 中的作用

氧化应激是指体内氧化与抗氧化作用失衡,主要表现为 ROS 的累积,在包括 OS 在内的多种癌症中发挥着重要的作用。ZHENG 等^[26]用薯蓣皂苷处理 OS 细胞后,其凋亡相关蛋白 Bax(1.6 vs 1.0)、Bcl-2(0.7 vs 1.0)均较对照组发生了明显变化(均 $P < 0.05$),诱导了 OS 细胞的凋亡,且其抑制了 OS 细胞的增殖、迁移和侵袭;而加入 ROS 抑制剂 *N*-乙酰半胱氨酸后,抑制了薯蓣皂苷诱导的细胞凋亡,这表明 ROS 在薯蓣皂苷诱导的细胞凋亡中起重要作用。进一步研究发现,经薯蓣皂苷处理后,OS 细胞中的 p38 蛋白表达水平较对照组升高(1.5 vs 1.0, $P < 0.05$),这说明薯蓣皂苷通过上调 ROS 介导的 p38 MAPK 信号通路诱导 OS 细胞的凋亡,为 OS 的治疗提供了新的治疗策略和潜在的临床应用。

NING 等^[27]用 0(对照组)、2.5、5.0、10.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的石蒜碱(Lycorine, LY)处理人 OS 细胞,结果发现,LY 对人 OS 细胞具有剂量和时间依赖性的细胞毒性作用,且细胞凋亡率均较对照组显著升高(20%、35%、42% vs 8%, 均 $P < 0.05$),细胞周期被阻滞在 G1 期(34%、36%、42% vs 25%, 均 $P < 0.05$),ROS 含量分别较对照增加了 1.5、1.6、2.0 倍(均 $P < 0.05$),p-p38(1.2、1.5、1.7 vs 1.0)和 p-p53(1.3、1.5、2.0

vs 1.0)表达水平均较对照组升高,这说明 LY 通过增加 ROS 的产生,从而激活 p38 MAPK 和 p53 依赖的凋亡程序。进一步研究发现,加入 SB203580 后,抑制了 ROS 生成,减弱了 LY 诱导的 p53 介导的细胞周期阻滞和凋亡,且在 OS 的小鼠异种移植模型中,LY 的体内给药显著抑制了肿瘤的生长。这说明 LY 是治疗 OS 的一种潜在的药物,为治疗 OS 提供了新的策略。

4 讨论

OS 作为儿童及青少年群体中最常遭遇的原发性恶性骨肿瘤之一,其高侵袭性与低生存率一直是肿瘤学领域的研究热点与挑战。OS 的恶性本质不仅体现在其快速增殖与广泛转移的能力上,更在于其预后普遍不佳,这主要归因于其复杂的生物学行为背后涉及的多层次、多维度的分子调控网络。在探索 OS 发生发展的分子机制时发现,这一过程并非独立发生的,而是由多个信号通路协同作用、交织影响的综合体现。其中,p38 MAPK 信号通路作为关键调控者,在 OS 的发生发展中起着至关重要的作用。p38 MAPK 作为 MAPK 家族的一员,能够响应多种细胞外刺激,通过级联磷酸化反应传递信号至细胞内,进而影响基因表达与细胞功能。现有的研究表明,p38 MAPK 信号通路不仅深度参与调控 OS 细胞的增殖、迁移、侵袭及血管生成等生物学行为,而且通过调节凋亡、自噬及铁死亡等细胞死亡机制,精细调控 OS 细胞的发生发展。值得注意的是,p38 MAPK 信号通路并非孤立存在的,亦受到上游多种非编码 RNA(miRNA 和 lncRNA)的精密调控,这些非编码 RNA 通过直接与 p38 MAPK 通路的关键分子相互作用或作为竞争性内源 RNA 间接调节下游基因表达,从而在 OS 的发生发展中发挥重要调控作用。此外,氧化应激作为细胞内环境变化的重要信号,亦能通过激活或抑制 p38 MAPK 信号通路,参与 OS 的发生发展。

鉴于 p38 MAPK 信号通路在 OS 中的重要地位及其调控机制的复杂性,当前的研究已逐步深入至该通路的精细调控层面,旨在揭示不同刺激如何通过特异性地激活或抑制下游信号分子,从而导致截然不同的生物学效应。这一发现为 OS 的精准治疗提供了新的思路,可以通过开发能够特异性靶向 p38 MAPK 信号通路或其上下游关键节点的药物或生物因子,从而实现对 OS 的有效干预,改善患者的预后。具体而言,靶向 p38 MAPK 信号通路的治疗策略可以通过设计小分子抑制剂直接阻断其激酶活性或是用反义核酸技术沉默特定 miRNA/lncRNA 的表达以间接影响通路活性。此外,基于对氧化应激与 p38 MAPK 相互作用

的深入理解,调节细胞氧化还原状态也可能成为治疗 OS 的新途径。这些策略的实施,不仅需要深入的分子机制研究作为基础,还需要跨学科合作与技术创新,共同推动 OS 诊疗策略的革新,为患者带来新的希望。

参考文献:

- [1] LI S,ZHANG H,LIU J,*et al.* Targeted therapy for osteosarcoma: A review [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*,2023,149(9):6785—6797.
- [2] BEIRD H C,BIELACK S S,FLANAGAN A M,*et al.* Osteosarcoma [J]. *Nat Rev Dis Primers*,2022,8(1):77—86.
- [3] NING B,LIU Y,HUANG T,*et al.* Autophagy and its role in osteosarcoma [J]. *Cancer Med*,2023,12(5):5676—5687.
- [4] HU Z,WEN S,HUO Z,*et al.* Current status and prospects of targeted therapy for osteosarcoma [J]. *Cells*,2022,11(21):66—78.
- [5] PHAN T,ZHANG X H,ROSEN S,*et al.* P38 kinase in gastrointestinal cancers [J]. *Cancer Gene Ther*,2023,30(9):1181—1189.
- [6] ZHU X,JIANG C,WANG Z,*et al.* PSKH1 affects proliferation and invasion of osteosarcoma cells *via* the p38/MAPK signaling pathway [J]. *Oncol Lett*,2023,25(4):144—151.
- [7] SHI C,CHENG W N,WANG Y,*et al.* p38 γ overexpression promotes osteosarcoma cell progression [J]. *Aging*,2020,12(18):18384—18395.
- [8] DAI F,LUO F,ZHOU R,*et al.* Calponin 3 is associated with poor prognosis and regulates proliferation and metastasis in osteosarcoma [J]. *Aging*,2020,12(14):14037—14049.
- [9] LEE Y J,LEE S Y. Maclurin exerts anti - cancer effects in human osteosarcoma cells *via* prooxidative activity and modulations of PARP,p38,and ERK signaling [J]. *IUBMB Life*,2021,73(8):1060—1072.
- [10] TIAN W,WANG Z W,YUAN B M,*et al.* Calycosin induces apoptosis *via* p38 - MAPK pathway - mediated activation of the mitochondrial apoptotic pathway in human osteosarcoma 143B cells [J]. *Mol Med Rep*,2020,22(5):3962—3968.
- [11] YANG J S,LIN R C,HSIEH Y H,*et al.* CLEFMA activates the extrinsic and intrinsic apoptotic processes through JNK1/2 and p38 pathways in human osteosarcoma cells [J]. *Molecules*,2019,24(18):33—41.
- [12] 秦庆庆,谢森,王一坤,等. 自噬相关信号通路调控骨相关疾病发生发展的作用机制研究进展[J]. *山东医药*,2023,63(5):110—115.
- [13] MASUELLI L,BENVENUTO M,IZZI V,*et al.* *In vivo* and *in vitro* inhibition of osteosarcoma growth by the pan Bcl - 2 inhibitor AT - 101 [J]. *Invest New Drugs*,2020,38(3):675—689.
- [14] ZHU J,YU W,LIU B,*et al.* Escin induces caspase - dependent apoptosis and autophagy through the ROS/p38 MAPK signalling pathway in human osteosarcoma cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cell Death Dis*,2017,8(10):3113—3120.
- [15] LV H,ZHEN C,LIU J,*et al.* β - phenethyl isothiocyanate induces cell death in human osteosarcoma through altering iron metabolism, disturbing the redox balance, and activating the MAPK signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*,2020,20(20):983—1001.
- [16] TSAI H C,CHENG S P,HAN C K,*et al.* Resistin enhances angiogenesis in osteosarcoma *via* the MAPK signaling pathway [J]. *Aging*,2019,11(21):9767—9777.
- [17] LI Z,DING X,WU H,*et al.* Artemisinin inhibits angiogenesis by regulating p38 MAPK/CREB/TSP - 1 signaling pathway in osteosarcoma [J]. *J Cell Biochem*,2019,120(7):11462—11470.
- [18] HUANG H,NIE C,QIN X,*et al.* Diosgenin inhibits the epithelial - mesenchymal transition initiation in osteosarcoma cells *via* the p38 MAPK signaling pathway [J]. *Oncol Lett*,2019,18(4):4278—4287.
- [19] FAN M K,ZHANG G C,CHEN W,*et al.* Siglec - 15 promotes tumor progression in osteosarcoma *via* DUSP1/MAPK pathway [J]. *Front Oncol*,2021,11(2):689—701.
- [20] ZHANG Y,LIU Y,ZOU J,*et al.* Tetrahydrocurcumin induces mesenchymal - epithelial transition and suppresses angiogenesis by targeting HIF - 1 α and autophagy in human osteosarcoma [J]. *Oncotarget*,2017,8(53):91134—91149.
- [21] YANG C,ZHANG L,HUANG H,*et al.* Alantolactone inhibits proliferation,metastasis and promotes apoptosis of human osteosarcoma cells by suppressing Wnt/ β - catenin and MAPKs signaling pathways [J]. *Genes Dis*,2022,9(2):466—478.
- [22] RAIMONDI L,GALLO A,CUSCINO N,*et al.* Potential anti - metastatic role of the novel miR - CT3 in tumor angiogenesis and osteosarcoma invasion [J]. *Int J Mol Sci*,2022,23(2):11—20.
- [23] LIANG H,LI L,ZHU S,*et al.* MicroRNA - 744 - 5p suppresses tumorigenesis and metastasis of osteosarcoma through the p38 mitogen - activated protein kinases pathway by targeting transforming growth factor - beta 1 [J]. *Bioengineered*,2022,13(5):12309—12325.
- [24] LIU B,ZHAO H,ZHANG L,*et al.* Silencing of long - non - coding RNA ANCR suppresses the migration and invasion of osteosarcoma cells by activating the p38 MAPK signalling pathway [J]. *BMC Cancer*,2019,19(1):1112—1121.
- [25] SHI D,WU F,MU S,*et al.* LncRNA AFAP1 - AS1 promotes tumorigenesis and epithelial - mesenchymal transition of osteosarcoma through RhoC/ROCK1/p38 MAPK/Twist1 signaling pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2019,38(1):375—382.
- [26] ZHENG G Z,ZHANG Q H,CHANG B,*et al.* Dioscin induces osteosarcoma cell apoptosis by upregulating ROS - mediated P38 MAPK signaling [J]. *Drug Dev Res*,2023,84(1):25—35.
- [27] NING L,WAN S,JIE Z,*et al.* Lycorine induces apoptosis and G1 phase arrest through ROS/p38 MAPK signaling pathway in human osteosarcoma cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*,2020,45(3):126—139.

(收稿日期 2024 - 09 - 26;本文编辑 戴荣源)