

mRNA。因为BGN表现出对胰腺癌细胞的抑制作用,SMAD4介导的TGF- β 效应可能代表了SMAD4的一种新的肿瘤抑制功能:通过自体抑制的BGN的表达来抑制肿瘤增殖。Paul^[24]的数据显示p21^{waf1}也是SMAD4的靶基因。p21^{waf1}基因产物为一种细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制蛋白,通过调控细胞周期的过程,参与细胞的生长、分化、衰老及死亡。

许多细胞生长、分化和肿瘤形成的转录调节因子都已经被鉴定和克隆。但目前还难以确定这些转录调节因子的下游基因。SMAD4调节的靶基因可能还包括SMAD7、AP-1、PAI-1、uPA、Jun B、Qp、Id1、VEGF、TSP-1、BGN、p21^{waf1}、p15^{INK4B}等基因。

综上所述,SMAD4在TGF- β 超家族信号传导中起着关键作用,对于细胞的增殖、分化、凋亡和免疫调节有着重要的调控作用。目前对SMAD4尚待进一步深入研究的有:1. SMADs复合物的入核机制;2. SMADs复合物下游基因的调控机制;3. SMADs途径与其他信号途径的关系。SMADs作为在胰腺癌等肠道肿瘤中出现高频缺失的基因,其深入研究不仅对高死亡率胰腺癌的治疗有着现实意义,而且对了解细胞信号调控机制,进一步研究肿瘤发生与发展也有着重要理论意义。

参 考 文 献

- [1] Hahn, S. A., et al., 1996, *Science*, **271**: 350 - 353.
- [2] Schutte, M. S., et al., 1996, *Cancer Res*, **56**(11): 2527.
- [3] Wu, D. N., et al., 2001, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **175**: 111 - 121.
- [4] Qin, B., et al., 1999, *Structure*, **7**: 1493 - 1503.
- [5] Jens, U., et al., 2001, *J. Biol. Chem.*, **276**(22): 19495 - 19502.
- [6] Wu, J. W., et al., 2001, *J. Biol. Chem.*, **276**(23): 20688 - 20694.
- [7] Bai, R. Y., et al., 2002, *Natural Cell Biology*, **4**: 181 - 190.
- [8] Xiao, Z., et al., 2001, *J. Biol. Chem.*, **276**: 36404 - 39410.
- [9] Kurisaki, A., et al., 2001, *Mol. Biol. Cell.*, **12**: 1079 - 1091.
- [10] Yagi, K., et al., 1999, *J Biol Chem.*, **274**: 703 - 709.
- [11] Liang, C. L., et al., 2000, *Virology*, **277**(1): 184 - 192.
- [12] López-Rovira, T., et al., 2002, *J. Biol. Chem.*, **277**(5): 3176 - 3185.
- [13] Rosemary J., et al., 2001, *Trends in Cell Biology*, **11**(11): S44 - S51.
- [14] Roberts, A. B., et al., 1999, *Microbes and Infection*, **1**: 1265 - 1273.
- [15] Diane, M., et al., 2001, *Am J Physiol Cell Physiol*, **281**: C311 - C319.
- [16] Callebaut, I., et al., 2002, *FEBS Letters*, **519**: 178 - 180.
- [17] Moustakas, A., et al., 2001, *Journal of Cell Science.*, **114**: 4359 - 4369.
- [18] Schwarte-Waldhoff, I., et al., 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**(17): 9624 - 9629.
- [19] Makoto, M., et al., 2000, *Cytokine & Growth Factor Reviews*, **11**: 147 - 157.
- [20] Xu, X., et al., 2000, *Oncogene*, **19**(15): 1868 - 1874.
- [21] Scarpa, A., et al., 2002, *Virchows Arch*, **440**: 155 - 159.
- [22] Müller, N., et al., 2002, *Oncogene*, **21**(39): 6049 - 6058.
- [23] Chen, W. B., et al., 2002, *J. Biol. Chem.*, **277**: 36118 - 36128.
- [24] Chiao, P. J., et al., 1999, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **880**: 31 - 37.

尿 激 酶 受 体 研 究 进 展

孙自勇 王石泉 吴佳平 陈均勇 刘建宁*

(南京大学分子医学研究所 南京 210093)

摘 要 细胞表面的尿激酶受体是一种高度糖基化的蛋白质,通过糖基磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上。尿激酶受体除能与尿激酶或尿激酶原结合外还与玻连蛋白,整合素, α_2 巨球蛋白受体-低密度脂蛋白相关蛋白等相互作用。细胞表面的尿激酶受体不仅能促进纤溶酶原的激活、细胞外基质的降解,一些生长因子的释放或活化,而且还参与细胞粘附以及尿激酶/纤溶酶原激活物抑制剂复合物的代谢和细胞迁移。在肿瘤患者血液中可溶性尿激酶受体含量显著高于正常人,因而对尿激酶受体含量的测定可作为临床肿瘤诊断的指标。动物实验结果表明,阻断尿激酶与尿激酶受体的结合或抑制尿激酶受体的表达可显著抑制肿瘤的浸润及转移。

纤溶酶原激活系统的功能不仅表现在血栓溶解方面,而且在胚胎生成,血管生长,伤口愈合,肿瘤转移和浸润过程中也起着重要作用。在纤溶酶原激活

基金项目:杰出青年基金, NO. 30025011;教育部重大科技研究项目, NO. 00 - 03。

* 通讯作者。E-mail: immnjuen@jlonline.com

系统中,尿激酶(urokinase, UK)、尿激酶原(pro-urokinase, proUK)或组织型纤溶酶原激活物(tissue type plasminogen activator, tPA)将纤溶酶原激活为纤溶酶,纤溶酶则可将 proUK 活化为高活性的 UK。UK 和纤溶酶除了可以降解血栓外,还可以降解细胞基质,从而促进细胞迁移。近年来,人们发现在肿瘤细胞中 UK 及尿激酶受体(urokinase type plasminogen activator receptor/ urokinase receptor, uPAR)的表达水平明显升高,且 uPAR 在迁移细胞的膜表面呈不均一分布,主要位于细胞迁移前导部位,使细胞外基质的降解表现出一定的方向性,在组织及细胞表面,UK 和 proUK 的活性以及纤溶酶原的激活作用均受到 uPAR 影响。因此我们认为对尿激酶原激活系统的研究必须涉及 uPAR 的结构与功能。

一、uPAR 的发现

uPAR 是由 Stoppelli 等在 1985 年发现的。他们在实验过程中观察到 UK 可以快速、特异地与单核细胞 U937 结合,并使 UK 催化激活纤溶酶原的活性显著增强,因此认为在单核细胞表面存在 UK 的高亲和性受体 uPAR,并测出 UK 与 uPAR 的解离常数为 4×10^{-10} mol/L^[1]。1990 年 Behrendt 等用亲和层析法从 U937 细胞膜抽提液中纯化出 uPAR,发现 uPAR 是一个高度糖基化的蛋白,在电泳中呈现显著的不均一性,其分子量为 55–60Kd,等电点为 4.5 左右,糖基化程度不同使分子量和等电点不完全相同^[2]。在第五次国际白细胞分化抗原会议上,uPAR 被命名为 CD87。

1989 年 Roldan 等克隆了 uPAR 的 cDNA^[3]。uPAR 的 cDNA 长 1.4Kb,编码 335 个氨基酸残基,其中前 22 个氨基酸残基为信号肽,而肽段 284–313 则在翻译后加工过程中被去除。成熟 uPAR 分子有 283 个氨基酸残基,C-末端以糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定形式结合于细胞膜上,在细胞膜内侧没有肽链(图 1)。对 uPAR 基因近 3' 端的序列进行的突变结果表明,uPAR 前体 C-末端的 8 个氨基酸残基(306–313)对 GPI 修饰加工非常重要,当去除这 8 个氨基酸残基后,uPAR 即不能锚定在细胞膜上^[4]。人的 uPAR 基因位于第 19 号染色体 q13.1–q13.2 区间^[5],长度为 21.23Kb,包括 7 个外显子和 6 个内含子。根据 DNA 序列同源性比较,发现 uPAR 的基因结构与 Ly-6(lymphocyte antigen-6),T-细胞作用蛋白,胸腺细胞 B 细胞抗原(thymocyte

B-cell antigen),鱿鱼表面糖蛋白-2 等具有一定的同源性。

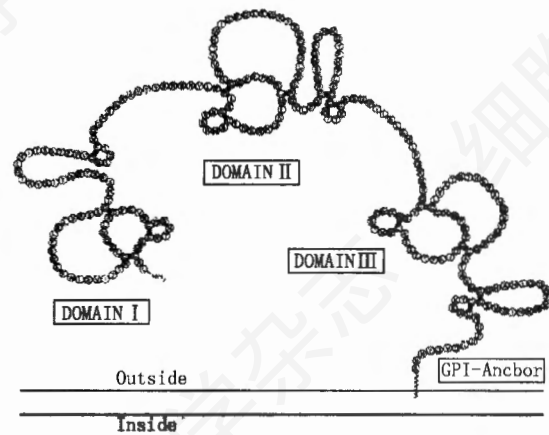


图 1 uPAR 一级结构模式图^[6]

二、uPAR 与 UK 的结合

uPAR 含有 3 个同源性结构域,称为 D_1 , D_2 , D_3 ^[7]。uPAR 的 D_1 直接参与和 UK 结合^[2,8],经定点突变证明,位于 D_1 的 Tyr⁵⁷ 以及糖基化位点 Asn⁵² 是与 UK 或 proUK 的氨基端(amino terminal fragment, ATF)接触的部位,用胰凝乳蛋白酶将 D_1 从 uPAR 分离出来后, D_1 片段虽然仍能与 UK 或 ATF 结合,但其亲和力是完整 uPAR 分子的 1/2000,若用胃蛋白酶将 Glu¹⁸³-Leu¹⁸⁴ 肽键水解,使 $D_{(1+2)}$ 与 D_3 分开, $D_{(1+2)}$ 区域对 UK 或 ATF 的结合能力是完整 uPAR 分子的 1/100–1/1000^[9]。因此 uPAR 的三个结构域对其与 UK 或 ATF 的结合均很重要。用基因工程表达的 uPAR 片段(1–277),也具有与 UK 或 ATF 相同的结合能力,但不能锚定于细胞膜,被称为可溶性 uPAR。UK 或 proUK 的氨基末端 EGF 功能区与 uPAR 结合^[10],而 UK 的丝氨酸蛋白酶功能区与 uPAR 则无亲和力,因此缺失尿激酶 A 链的低分子量尿激酶不能和 uPAR 相结合^[1]。当位于 UK 的 EGF 功能区的 Lys²³-Tyr²⁴ 或 Phe²⁵-Ser²⁶ 肽键断裂后,UK 便失去了和 uPAR 的结合能力^[10]。

连接 uPAR 的 D_1 和 D_2 功能区的肽链对蛋白酶水解非常敏感,除胰凝乳蛋白酶外^[2],纤溶酶、弹性蛋白酶和 UK 均可在此连接区域产生切点,使 D_1 与锚定在膜上的 $D_{(2+3)}$ 分离。细胞在体外培养时,其细胞膜上也存在 $D_{(2+3)}$ 形式的 uPAR 片段。用磷脂酰肌醇磷脂酶 C (PI-PLC) 或天冬氨酸酶可使 uPAR 从细胞膜上释放出来,成为可溶性的 uPAR 分子^[11]。人体内出现的可溶性 uPAR 的量可作为

临床肿瘤转移的诊断指标^[12]。但必须注意,UK 与 uPAR 的结合具有种族特异性,人的 UK 与鼠的 uPAR 不结合,反之亦然。

三、uPAR 与玻连蛋白的结合作用

uPAR 也可与存在于血浆及细胞外基质的玻连蛋白(vitronectin, Vn)结合,其解离常数 $K_d < 30 \text{ nmol/L}$, Vn 通过 SMB(somatomedin B) 结构域与 uPAR 结合,缺失了 D_1 的 uPAR $D_{(2+3)}$ 不能与 Vn 结合^[13-15]。UK 或 ATF 可诱导 uPAR 的寡聚化,使 Vn 和 uPAR 的结合亲和力增强 3-5 倍^[16],紧靠着 SMB 的羧基端存在 RGD 序列(45-47),该区域是 Vn 与整合素(integrin)的结合部位^[14,17]。Vn 还可与活性形式的纤溶酶原激活物抑制剂(PAI-1)结合,PAI-1 与 Vn 结合后可增加 PAI-1 的稳定性。Latent PAI-1 不能与 Vn 结合。PAI-1 与 Vn 的结合部位也在 SMB 结构域。基因工程表达 Vn 的 N 端 1-40 肽段与活性 PAI-1 具有高度亲和力,并可稳定 PAI-1 活性。PAI-1 与 Vn 结合后,它可以有效抑制 uPAR 及整合素与 Vn 的结合,当 PAI-1 与 UK 形成复合物后对 Vn 的亲和力显著下降^[17]。

四、uPAR 与整合素的相互作用

采用免疫沉淀和蛋白印迹法发现 uPAR 可与 $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ 整合素结合^[14,18,19],其中 β_2 整合素 Mac-1 (CD_{11b}/CD_{18}) α 链(CD_{11b}) 的 425-440 肽段参与了和 uPAR 的结合(肽段序列:RYQHIGLVVMFKQNFQ)。用此肽段可以竞争抑制 uPAR 和 β_2 -整合素 Mac-1 以及 β_1 -整合素与 uPAR 的结合,UK 或 proUK 可促进 uPAR 与 β_2 -整合素 Mac-1 的结合能力。uPAR 和 $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ 整合素的相互作用可被 N-乙酰葡萄糖胺抑制^[19],提示 uPAR 的糖链结构可能与整合素的结合有关。目前人们认为,由于 uPAR 在细胞内没有肽链,其介导的信号往往经整合素传递。

五、uPAR 及 α_2 MR-LRP 参与了 UK 和 PAI-1 复合物的内化及降解

用免疫沉淀及蛋白印迹法证明,uPAR 和 α_2 巨球蛋白受体-低密度脂蛋白相关蛋白(α_2 MR-LRP)存在相互作用^[20]。观察 I^{125} 标记的 UK 与 PAI-1 形成的复合物在细胞内的代谢发现,伴随着 I^{125} -UK/PAI-1 复合物的内化,细胞表面 uPAR(用免疫荧光标记)减少,而细胞内吞小体(endosome)中 uPAR 的

量增加^[21]。当受体结合蛋白(RAP)与细胞膜表面的 α_2 MR-LRP 结合时, I^{125} -UK/PAI-1 复合物的内化及降解作用受到显著抑制^[20],细胞表面 uPAR 的量保持稳定。当用 uPAR 特异性抗体或 PI-PLC 处理细胞后, I^{125} -UK/PAI-1 复合物的内化及降解同时被抑制。在 37℃ 长时间的保温后,伴随着 I^{125} -UK/PAI-1 复合物的内化而分布在细胞内的 uPAR 可重新分布至细胞膜,说明 uPAR 可被重新利用。此外,在细胞培养液中加入蛋白质合成抑制剂放线菌酮(cycloheximide),并不影响 I^{125} -UK/PAI-1 的内化和降解以及 uPAR 的重新利用,这证明了从细胞内转移至细胞膜的 uPAR 不是新合成的^[21]。

六、uPAR 和 CIMPR 的结合

uPAR 可以和交联在 Sepharose 上的不依赖阳离子的 6-磷酸甘露糖/胰岛素样生长因子 II 受体(cation-independent, mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor-II receptor, CIMPR)相结合,同样 CIMPR 也可与交联在 Sepharose 上的 uPAR 相结合^[22]。CIMPR 分子中与 uPAR 的结合部位不同于该分子与 6-磷酸甘露糖或胰岛素样生长因子 II 的结合部位。酶解去除 uPAR 的 D_1 结构域后, uPAR 的 $D_{(2+3)}$ 结构域仍能与 CIMPR 结合, uPAR 和 CIMPR 的解离常数在 $10 \mu\text{m}$ 以下,可溶性 uPAR 和 CIMPR 具有类似的结合能力。用免疫荧光染色及免疫电镜观察发现 CIMPR 可改变 uPAR 在细胞内的分布,并将 uPAR 导向溶酶体。若在培养液中加入蛋白酶抑制剂,则可使 uPAR 在溶酶体内的染色强度增加,说明 CIMPR 参与了 uPAR 的代谢。最近,Webb 等发现在乳腺癌细胞(MCF-7)膜表面的极低密度脂蛋白受体也参与了 uPAR 的代谢^[23]。UK/PAI-1 复合物在与 uPAR 结合后可加速 uPAR 的降解。RAP 则通过抑制 uPAR 和极低密度脂蛋白受体的结合而抑制 uPAR 的代谢,使 uPAR 的代谢周期延长。

七、uPAR 在纤溶酶原激活系统中的作用

在溶液系统中,当 UK 与可溶性 uPAR 结合后,UK 对小分子底物的水解活性没有变化,但对纤溶酶原的激活作用则有所下降,这主要是由于结合的 uPAR 产生了空间位阻。同样,当 proUK 与可溶性 uPAR 结合后,纤溶酶对 proUK 的激活作用也略有

下降。但在细胞表面,情况则完全不同,当 UK 或 proUK 与 uPAR 结合后,二者对纤溶酶原的激活作用显著加强^[24]。其原因在于 uPAR 使 UK 或 proUK 在细胞表面的局部浓度上升,以及 uPAR 的定向效应(细胞表面与受体结合的 UK 或 proUK 和纤溶酶只能在二维空间作侧向运动),此外,纤溶酶原与细胞表面的配体或受体结合后,也可能引起构象活化^[7]。

UK 与 uPAR 结合后仍可被 PAI-1, PAI-2, Nexin-3 等抑制^[25],但抑制反应速度比没有 uPAR 存在时慢,而与细胞表面配体结合的纤溶酶对 α_2 -抗纤溶酶(α_2 -antiplasmin)、 α_2 -巨球蛋白等抑制剂具有较强的抗性,它被上述抑制剂中和的速度显著低于没有配体存在时的抑制速度。由于上述原因,那些能够阻止 UK 和 proUK 与 uPAR 结合的抑制剂均可以显著地降低细胞表面的纤溶酶活性。

在细胞表面由 uPAR 参与的纤溶酶原激活系统可以降解细胞外基质成分。一方面 UK 和纤溶酶本身参与纤维蛋白,层粘连蛋白,纤粘连蛋白以及部分胶原蛋白的降解,另一方面 UK 和纤溶酶可以释放或激活存在于细胞外基质中的胶原蛋白酶原,共同参与对细胞外基质的降解。此外,UK 和纤溶酶还可以释放或激活细胞外基质中的生长因子及细胞因子,影响细胞自身或周围细胞的生长分化,而细胞表面 uPAR 的水平也受多种细胞因子和生长因子的调节^[26]。

八、uPAR 参与细胞的黏附作用

在单核细胞 U937 培养液中加入 UK 或 ATF,可刺激细胞黏附在塑料培养皿上^[27],若在培养液中加入放线菌酮或放线菌素 D(RNA 合成抑制剂)则可抑制上述黏附作用,而加入腺苷酸环化酶的激活剂(如 forskolin,霍乱毒素)或 8-Br-cAMP 可以促进 UK 诱导的细胞黏附作用。上述结果表明,uPAR 参与了 UK 促进的细胞黏附作用,并且该过程涉及 cAMP 的信号转导、基因表达和蛋白合成。

UK 或 ATF 还可促进 U937 细胞对 Vn 的黏附,但若在细胞培养液中加入 uPAR 或 β_2 -整合素的特异抗体,则可使 U937 细胞对 Vn 的黏附作用受到抑制。采用免疫沉淀及免疫荧光染色法,Xue 等人证明纤维瘤细胞在纤粘连蛋白、层粘连蛋白以及 Vn 上的黏附涉及 uPAR 与 β_1 或 β_3 整合素的相互作用^[19]。

uPAR 在胚胎肾细胞(293 细胞)膜表面的含量

极低,在正常情况下,293 细胞具有依赖于 β_1 -整合素的对纤粘连蛋白的黏附能力,但对 Vn 的黏附作用很弱^[18]。当把 uPAR 基因转导至 293 细胞(uPAR/293)后,该细胞表现出对 Vn 具有黏附作用,而对纤粘连蛋白的黏附能力则明显下降。如果在细胞培养液中加入可阻断 uPAR 与整合素结合的多肽或用 PI/PLC 去除 uPAR/293 细胞膜表面的 uPAR 后,上述现象消失。在细胞培养液中加入可溶性 uPAR 可抑制 293 细胞对纤粘连蛋白的黏附,但不能促进其对 Vn 的黏附。当细胞表面的 β_1 -整合素被活化抗体 Ts2/16 激活后,可溶性 uPAR 对 293 细胞在纤粘连蛋白上黏附的抑制作用更加显著。此外, β_2 -整合素 Mac-1 参与的骨髓细胞(THP-1)对可溶性纤维蛋白原的结合和降解过程也能被可溶性 uPAR 所抑制^[28],其 IC_{50} 为 95nmol/L。当有 β_2 -整合素的活化抗体 KIM127 存在时,可溶性 uPAR 的抑制作用显著增强,其 IC_{50} 降至 0.1nmol/L。上述实验数据表明:(1)uPAR 参与了细胞的黏附作用;(2)uPAR 通过调节整合素的功能而改变细胞对基质的黏附能力;(3)uPAR 的作用对象可能是处于活化状态的整合素。

除 forskolin,霍乱毒素等可促进 UK 诱导的细胞黏附作用外,一些细胞因子,如维生素 D₃、佛波酯、TGF- β_1 、GM-CSF 和 TNF- α 等也可促进 UK 诱导的细胞黏附作用,其中部分细胞因子可使 uPAR 表达水平显著上升^[26]。

九、uPAR 在细胞迁移过程中的作用

在骨髓细胞(THP-1)的培养液中加入 UK 或 ATF,可以促进 THP-1 的迁移^[29]。以不能结合人源 ATF 或 UK 的鼠 LB6 细胞为对照,ATF 可促进转导了人 uPAR 基因的 LB6 细胞(uPAR/LB6)的迁移作用,但若在培养液中加入 uPAR 的特异性抗体后,ATF 或 UK 对细胞迁移的促进作用则受到抑制,说明 uPAR 参与了细胞的迁移过程。当 ATF 与 uPAR 结合后,可引起 p56/p59 hck 激酶的磷酸化并使之激活。如在细胞培养液中加入酪氨酸激酶的抑制剂 herbimycin A 或三羟异黄酮(genistein)后,ATF 诱导的 p56/p59 hck 激酶活性丧失,同时 ATF 诱导的 THP-1 细胞迁移作用也被抑制,因此 p56/p59 hck 可能参与了 uPAR 介导的细胞迁移信号传递。比较有趣的现象是在培养液中加入可溶性的

uPAR 并不能促进 LB6 或 uPAR/LB6 细胞的迁移, 但若加入经糜蛋白酶切割的可溶性 uPAR, 则无论是否有 ATF 存在, 均可促进 LB6 或 uPAR/LB6 细胞的迁移, 并引起 p56/p59 hck 激酶的磷酸化。上述结果表明, 细胞膜表面 uPAR 介导的对细胞迁移的促进作用涉及 uPAR 构象变化, 并需要膜上存在其接头蛋白(adaptor)。

以不产生内源性 uPAR 和 UK 的前列腺瘤 LNCap 细胞为对照, Yebra 等人发现 UK 或 ATF 可促进转导了 uPAR 基因的 LNCap 细胞(uPAR/LNCap) 迁移至纤粘连蛋白上, 并引起粘着斑激酶(focal adhesion kinase), 和 P130cas 的酪氨酸磷酸化^[30]。用免疫沉淀及蛋白印迹法证明 uPAR 与 β_1 整合素($\alpha_5\beta_1$) 之间存在结合。若在培养液中加入 $\alpha_5\beta_1$ 的特异性抗体, 则可阻断 ATF/UK 促进的 uPAR/LNCap 细胞向纤粘连蛋白的迁移, 说明 $\alpha_5\beta_1$ 参与了 uPAR 介导的 uPAR/LNCap 细胞的迁移过程。

对上皮细胞迁移作用的研究结果表明, uPAR 与角蛋白 CK₈ 和 CK₁₈ 存在相互作用。当 uPAR 与 proUK 结合后, 引起 CK₈ 和 CK₁₈ 的丝氨酸磷酸化, 并引起细胞形状的改变和细胞骨架成分的重新分布。

UK 对乳腺癌 MCF-7 细胞迁移作用的影响表现出基质蛋白的选择性。Nguyen 等人发现 UK 对 MCF-7 细胞在纤粘连蛋白上的迁移没有作用, 但可刺激 MCF-7 细胞向 Vn 的迁移能力提高 3 倍, 该刺激作用可被整合素抑制剂或甘露糖所抑制(甘露糖可抑制 uPAR 在细胞膜上的锚定), 说明 uPAR 和整合素参与了上述细胞迁移过程^[31]。UK 刺激的 MCF-7 细胞迁移不需要基因转录和蛋白质合成, 当培养液中存在基因转录抑制剂 actinomycin 或放线菌酮时, MCF-7 细胞的迁移不受影响。此外, UK 刺激的细胞迁移还涉及有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)、Ras、MAP 激酶的激酶(MAP kinase kinase, MEK)、细胞外信号调节激酶(ERK)、肌球蛋白轻链激酶(MLCK)、肌球蛋白 II 调节轻链(RLC)等激酶的活化, 这些激酶参与了 UK 促进的 MCF-7 细胞在 Vn 迁移的信号传递, 其传递顺序为: Ras→MEK→ERK→MLCK→RLC(图 2)。UK 还可促进血管平滑肌细胞的迁移, 当 UK 和细胞膜上的 uPAR 结合后, 可导致 Jak₁、Tyk₂、P59fyn、P53/56lyn、P53/59hck 以及 P55fgr 等酪氨酸激酶的活化^[31], 同时信号传导和转录激活蛋白(Stat 1 蛋白)

也被磷酸化而被激活, 并快速从胞浆迁移至细胞核, 以调节基因转录。

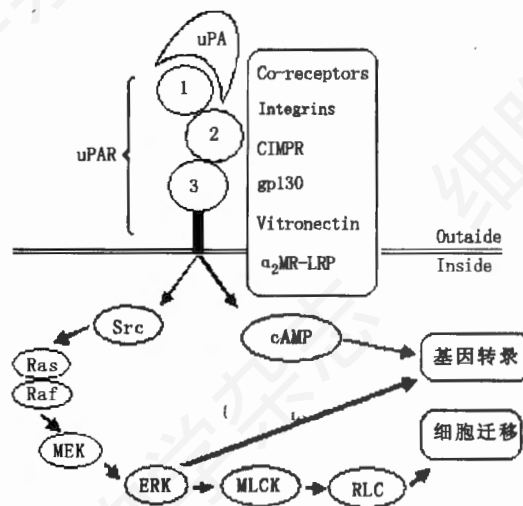


图 2 uPAR 与跨膜受体/接头蛋白相互作用以及部分细胞内信号转导途径示意图(自绘)

十、结束语

综上所述, 细胞表面的 uPAR 不仅可以促进纤溶酶原的激活、细胞基质的降解以及一些生长因子的释放和激活, 而且还参与 UK 或 proUK 促进的细胞黏附及细胞迁移过程。大量实验数据表明, uPAR 在许多肿瘤组织中的表达量远超过正常组织, 而肿瘤患者血液中可溶性 uPAR 的含量显著高于正常人, 因此可用作临床肿瘤诊断的参考指标。动物实验证明, 抑制 UK 或 proUK 与 uPAR 的结合或用反义 RNA 技术抑制细胞内 uPAR 表达, 可以抑制血管生成、降低肿瘤的浸润和迁移^[32,33]。此外 uPAR 还参与 UK/PAI 复合物的代谢。由于 uPAR 通过 GPI 锚定在细胞膜上, 缺少跨膜成分, 因此 uPAR 介导的细胞外信号必须依靠其接头蛋白, 如整合素传递。同时 uPAR 还可调节整合素的功能。UK 可促进 uPAR 与整合素或 Vn 的结合, 而 PAI 则通过抑制 uPAR 及整合素与 Vn 的结合而抑制细胞在 Vn 上的黏附及迁移^[20]。当 proUK 的 Ser¹³⁸ 或 Ser³⁰³ 磷酸化后, 其依赖于 uPAR 的对骨髓单核细胞的黏附作用和迁移能力均显著下降, 说明 proUK 的磷酸化作用可调节 uPAR 的信号传导^[34]。

参考文献

- [1] Stoppelli, M. P. et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 4939-4943.
- [2] Behrendt, N. et al., 1991, *J. Biol. Chem.*, **266**: 7842-7847.

- [3] Roldan, A. L. et al., 1990, *EMBO J.*, **9**:467-474.
- [4] Moller, L. B. et al., 1992, *Eur. J. Biochem.*, **208**: 493-500.
- [5] Borglum, A. D. et al., 1992, *Am. J. Hum. Genet.*, **50**: 492-497.
- [6] Ploug, M. et al., 1994, *FEBS Letters*, **349**: 163-168.
- [7] Behrendt, N. et al., 1998, *Fibrinolysis & Proteolysis*, **12**:191-204.
- [8] Gardsvoll, H. et al., 1999, *M. J. Biol. Chem.*, **274**: 37995-38003.
- [9] Behrendt, N. et al., 1996, *J. Biol. Chem.*, **271**: 22885-22894.
- [10] Appella, E. et al., 1987, *J. Biol. Chem.*, **262**: 4437-4440.
- [11] Hoyer-Hansen, G. et al., 2001, *Biochem J.*, **358**: 673-679.
- [12] Borstnar, S. et al., 2002, *Clin Breast Cancer*, **3**:138-146.
- [13] Memarzedeh, S. et al., 2002, *PNAS*, **99**: 10647-10652.
- [14] Wei, Y. et al., 2001, *Molecular Biology of the Cell*, **12**:2975-2986.
- [15] Okumura, Y. et al., 2002, *J. Biol. Chem.*, **277**: 9395-9404.
- [16] Sidenius, N. et al., 2002, *J Biol Chem.*, **277**: 27982-27990.
- [17] Deng, G. et al., 2001, *J Cell Physiol.* **189**: 23-33.
- [18] Wei, Y. et al., 1996, *Science*, **273**: 1551-1555.
- [19] Xue, W. et al., 1997, *Cancer Res.*, **57**: 1682-1689.
- [20] Conese, M. et al., 1995, *J. Cell Biol.*, **131**: 1609-1622.
- [21] Nykjar, A. et al., 1997, *EMBO J.*, **16**: 2610-2620.
- [22] Nykjar, A. et al., 1998, *J. Cell Biol.*, **141**: 815-828.
- [23] Webb, D. J. et al., 1999, *J. Biol. Chem.*, **274**:7412-7420.
- [24] Ellis, V. et al., 1991, *J. Biol. Chem.*, **266**: 12752-12758.
- [25] Felez, J. 1998, *Fibrinolysis & Proteolysis*, **12**:183-189.
- [26] Al-Atrash, G. et al., 2002, *Biochem Biophys Res Commun.*, **292**:184-189.
- [27] Li, C. et al., 1995, *Biol. Chem.*, **270**: 30282-30285.
- [28] Simon, D. I. et al., 1996, *Blood*, **88**: 3185-3194.
- [29] Resnati, M. et al., 1996, *EMBO J.*, **15**:1572-1582.
- [30] Yebra, M. et al., 1999, *Exp. Cell Res.*, **250**: 231-240.
- [31] Nguyen, D. H. et al., 1999, *J. Cell Biol.*, **146**: 149-164.
- [32] Qin, L. X. et al., 2002, *World J Gastroenterol.*, **8**: 385-92.
- [33] Gao, W. et al., 2002, *Int J Hematol.*, **75**:434-439.
- [34] Franco, P. et al., 1997, *J. Cell Biol.*, **137**: 779-791.

哺乳动物精子发生过程中的 细胞凋亡及其影响因素

赵 巍 李树峰 严云勤*

(东北农业大学生命科学学院 哈尔滨 150030)

摘 要 睾丸生殖细胞凋亡是维持精子发生动态平衡,限制生精上皮生殖细胞数量的一个重要生理机制,受多种因素调控。本文简要叙述精子发生过程中细胞凋亡的激素调节、基因调控及其他理化等因素的影响及其作用机制。

哺乳动物精子发生又称生精过程。在胚胎期间,原始生殖细胞迁移到生殖嵴,经有丝分裂,迅速增殖形成精原干细胞,然后进一步形成精原细胞。性成熟后,一部分精原细胞通过减数分裂依次形成初级精母细胞、次级精母细胞和精子细胞,最后经过变态形成高度分化的精子。1900年,Regand首次认识到精子发生过程中存在着生殖细胞的退化。对大鼠等啮齿目动物的研究表明,生精过程中实际产生的精子数量比理论预测的减少了25%-75%^[1]。

现已证实,睾丸生殖细胞退化是通过细胞凋亡实现的。在精子发生各个阶段,都存在自发性的生精细胞凋亡。但不同时期凋亡细胞的数目有很大差异。例如鼠类睾丸在原始生殖细胞迁移至性腺以及第1次精子发生周期开始,这两阶段存在生精细胞凋亡高峰。原位检测表明,在精子发生过程中主要是精原细胞和精母细胞发生凋亡,而精子细胞的凋亡很

* 通讯作者。E-mail: yanyunqin@sohu.com