

细胞极性的形成

胡轶红 徐永华*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

摘要 细胞的极性形成对细胞分化、发育及其功能的发挥起着举足轻重的作用。现就线虫受精卵、果蝇卵母细胞和哺乳动物上皮细胞三类细胞极性形成的特点和异同进行阐述, 并探讨了近年来三类细胞极性形成的研究进展。

关键词 细胞极性; 分化; 发育

细胞极性(cell polarity)是多种不同类型细胞的共同特征, 对多数细胞的分化功能是必需的。细胞极性是指细胞(受精卵)中, 某些胞质成分按一定空间顺序不均等分布, 从而形成各种细胞内容物的浓度梯度, 正是由于细胞(受精卵)极性的存在导致了细胞的不对称分裂(asymmetric cell division)。许多真核细胞都具有极性表型, 具体表现为细胞的形状、细胞内的细胞器、蛋白质以及产生极性所必需的细胞骨架等的不对称分布。有些类型的真核细胞, 如神经元、上皮细胞或受精卵细胞终身具有极性, 而另一些具有特殊功能(如原肠形成和神经胚形成时期)的细胞具有暂时的极性表型, 如: 迁移、不对称细胞分裂和抗原递呈等。细胞极性形成的过程通常是由肌动蛋白细胞骨架和细胞皮质介导的, 细胞先变形为极性的形状, 然后发挥功能。常用于研究细胞极性的实验模型有三种, 即线虫受精卵、果蝇卵母细胞和哺乳动物上皮细胞。三类细胞中, 虽然非极性的诱原(cue)各不相同, 但极性的起始都依赖于非极性的诱原, 从而导致细胞骨架的重新组织以及非极性诱原调控的下游皮质蛋白的不对称分布。在这一过程中, 极性的建立和维持均与par(partitioning defective)基因家族密切相关。由于par基因的发现对细胞极性的研究来说是一个重要转折点^[1], 本文将以前述par基因为中心, 讨论上述三种细胞极性形成的特点和异同, 以探讨细胞极性形成的分子机制及近年来的研究热点。

1 线虫受精卵前/后极的形成

线虫受精卵的极性形成始于受精^[2], 精子进入的位置以后形成受精卵的后极, 与其对应的一侧为前极。精子作为极性的诱原进入线虫卵子后, 首先

是受精卵的内层胞质从前极流向后极, 而外层皮质从后极流向前极。这是线虫受精卵开始极化的第一个标志性阶段。此后, 精子雄性原核与富含肌动蛋白的卵细胞皮质相互作用, 引起本来均一分布的PAR蛋白的重新定位, 线虫受精卵的极性逐步形成。

线虫受精卵皮质的极化过程主要包括两个阶段: 由雄性原核起始的极性建立阶段以及由PAR-2和PAR-3/PAR-6/PKC-3相互作用的极性维持阶段, 如图1所示。极性建立过程中致使胞质流动和细胞内容物重排的诱原并不清楚, 但与精子中心体引起的微管成核现象有关^[2]。细胞松弛素处理和减少非肌肉肌球蛋白均可阻止线虫受精卵的极性形成, 表明肌动蛋白骨架参与了极性形成^[4]。精子星体与皮质的接近则与极性的起始有关。诸多实验结果表明, 正是精子星体与受精卵皮质的密切作用起始了线虫受精卵细胞极性的形成; 有了极性形成的“信号”, 线虫受精卵便进入了由PAR蛋白发挥主要作用的极性维持阶段。PAR家族成员(par基因编码的蛋白结构如图2所示)是含有不同结构域的多种蛋白质^[5], 结构的多样性决定了PAR家族蛋白质功能的多样性。par-3和par-6基因编码两个含有PDZ结构域的蛋白质, 它们可与非特异性的蛋白激酶C(atypical protein kinase C), 即PKC-3形成复合体分布于线虫受精卵的前极。丝、苏氨酸激酶PAR-1和锌指蛋白PAR-2则位于后极皮质。PAR-4和PAR-5是均一分布的。任一par基因的突变都会导致线虫受精卵极性的混乱^[1,6]。PAR蛋白的定位是相互依赖

收稿日期: 2003-11-20 接受日期: 2004-02-17

国家重点基础研究发展规划项目(973计划)(No. G1999053905)和中国科学院人类基因组计划资助课题

* 通讯作者。Tel: 021-54921361, E-mail: yhxu@sunm.shncn.ac.cn

1 起初分布于前极，在极化过程中重新定位于后极。若 *Baz* 突变，*PAR-1* 提早出现于前极，在随后的极化过程中则消失，提示 *Baz* 可能参与调节 *PAR-1* 的定位。而在 *PAR-1* 突变体中，*Baz* 亦消失，但 *Baz* 与 *PAR-1* 的相互作用机制并不清楚。与线虫卵细胞极化相似的是 *PAR* 蛋白在果蝇卵母细胞极性建立过程中起重要作用，但不同 *PAR* 蛋白各自的功能并不清楚。

与线虫受精卵的极性形成相比，果蝇卵母细胞的极性形成更依赖于微管。在卵细胞成熟的过程中，需要微管的参与以及后极微管组织中心(microtubule organizing center, MTOC)的形成。若 *PAR-1* 突变，后极的 MTOC 不能形成。因此，*PAR-1* 在其后的卵子发生过程中对卵细胞极化起重要作用^[14]，但 *PAR-1* 的作用机制尚不清楚。卵细胞成熟后，位于 16 细胞囊的后极，被滤泡细胞所环绕，前极被卫细胞环绕。这一细胞重排的过程需要两个前提，首先是 mRNA 编码的细胞命运决定因子(cell fate determinant, 如: *bicoid* 和 *oskar*)先后被转运至卫细胞和卵细胞中；其次是卵细胞与滤泡细胞互换信号以决定前/后极和背/腹轴。即位于后极的滤泡细胞发出信号使卵细胞再次极化，此时，后极 MTOC 消失，取而代之的是卵母细胞新的微管网络以调控 *bicoid* 和 *oskar* 的分布^[15]，*bicoid* 位于前极，而 *oskar* 位于后极。该过程是如何调控的呢？在 *PAR-1* 的部分功能缺失突变体中，微管的密度是均一的，*oskar* mRNA 分布失常，不是位于后极而是在卵细胞中心聚集^[14]。实验表明，*PAR-1* 通过后极微管的降解间接调控 *oskar* 的定位(图 3)。

从线虫受精卵和果蝇卵母细胞极化的过程来看，二者有很多相似之处。首先在 *PAR* 家族蛋白的共同作用下，暂时的极性诱导的诱导下，形成了前/后极性的轴。再者，所有的 *PAR* 蛋白中，*PAR-1* 在从皮质极性到胞质不对称性的转变过程中起最主要的作用。最后，*PAR-1* 通过控制微管的动态变化、蛋白质降解及其他多种细胞功能来调节胞质的不对称分裂。

3 哺乳动物上皮细胞的极性形成

随着细胞极性形成研究的深入，哺乳动物上皮细胞的极性形成受到了人们的关注。与线虫受精卵和果蝇卵母细胞的前/后极性形成极为不同，哺乳动物上皮细胞的极性是指顶-侧-基底极性。对哺乳动物上皮细胞的研究表明，这种顶-侧-基底极性的建立与维持与其极性诱导原——细胞间的接触(cell-cell

contact)及细胞外基质的接触(extra cellular matrix contact)密切相关^[17]。哺乳动物上皮细胞极性的建立更为复杂，主要是由 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3(m, mammalian)四元复合物负责^[18,19]，其下游分子 JAM-1、ZO-1 和 GSK-3 β 则与细胞迁移或细胞损伤后细胞骨架的动态变化相关^[20,21]，并成为了研究热点。

3.1 哺乳动物上皮细胞的极性结构模式

哺乳动物上皮细胞是高度极化的细胞，具有不同的顶-侧-基底区域(图 4)。这些区域以不同的膜脂、跨膜蛋白和相关的皮质蛋白为标志，通过细胞间接触和细胞外基质的接触逐步形成紧密连接(tight junction)，黏粒连接(adherent junction)等“桶状结构”和胞质内分子的不对称分布。细胞与细胞的接触是由钙黏素超家族跨膜蛋白分子介导的，而细胞外基质的接触是由跨膜蛋白受体整合素超家族介导的。*E-cadherin* 介导的细胞间接触和整合素与细胞外基质的接触引起了肌动蛋白细胞骨架的特异性组装、紧密连接处信号分子和受体信号网络的激活以及胞内蛋白质的分选。目前的研究主要集中于紧密连接处的组成分子及细胞骨架系统的再组装。在上皮细胞极性表型还未完全形成之时，含有钙黏素的黏粒连接在细胞膜的侧部是散在分布的，紧密连接还未形成，仅有黏粒连接和紧密连接的组成分子位于侧膜^[22]。随后，黏粒连接合并于细胞质膜的顶侧区域，从而形成带状黏粒，像环形带一样绕在整个上皮细胞的顶部(图 4)。与此同时，黏粒连接与紧密连接成分分选，紧密连接开始形成。紧密连接是细胞间分子选择性渗透的通道，同时又是防止细胞间大分子和离子扩散的屏障^[24,25]。它是由形成细胞间接触的跨膜蛋白分子——ZO-1、Claudin-1 和 Occludin 以及连接黏附分子(JAM)共同组成的，是

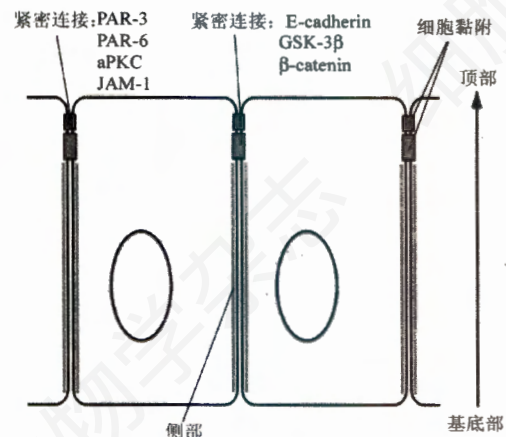


图 4 哺乳动物上皮细胞的极性结构模式图^[23](改绘)

上皮细胞最极性的结构。

然而，这种上皮细胞极性形成的机制以及位于顶部区域的黏粒连接和紧密连接是如何形成并分选的还不清楚。最近的研究表明，该过程与 CDC42、PAR-6、PKC-3 和 PAR-3 在哺乳动物中的同源物 CDC42、mPAR-6、aPKC 和 mPAR-3 形成的四元复合物及其下游分子和细胞骨架相关。

3.2 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3 四元复合物及其下游分子与哺乳动物上皮细胞的极性形成

在哺乳动物上皮细胞中，mPAR-6 和 mPAR-3 以 aPKC 作为连接分子形成一个三元复合物，三者与紧密连接蛋白 ZO-1 共定位于上皮细胞的顶部皮质区域的连接复合体处。最近又发现 CDC42/RAC1 和 PAR-6 可以通过 CRIB/PDZ 结构域相互作用^[19]，从而将 CDC42 与 mPAR-6/aPKC/mPAR-3 联系起来，该四元复合物的作用模式如图 5^[26]。aPKC 通过 V1 结构域与控制细胞极性的 mPAR-6 相互作用^[31]，mPAR-6 通过 CRIB 结构域与 CDC42 和 RAC1 相互作用^[19]，其 PDZ 结构域与 mPAR-3 相互作用。mPAR-3 又名 ASIP(aPKC-specific interacting protein)，作为 aPKC 的底物，可与 aPKC 的催化结构域结合，它与上皮细胞极性的建立和维持密切相关^[19]。aPKC 与 mPAR-6 的第 15~110 位氨基酸结合(该区域含有一个与 p62 及 MEK-5 具有同源性的短氨基酸序列)^[19]，推测 PAR-6 在对 CDC42 信号产生反应后通过 aPKC 调节肌动蛋白细胞骨架结构。这也许是在为什么在 Ras 和 CDC42 诱导的细胞转化需要 aPKC 参与的可能机制^[19,27]。mPAR-4 则是这一系统中的负调节因子，它通过与 aPKC 的锌指结构域结合抑制 aPKC 的活性，mPKC-4 过表达可使 aPKC 活性受阻，产生细胞凋亡^[28]。

在 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3 四元复合物

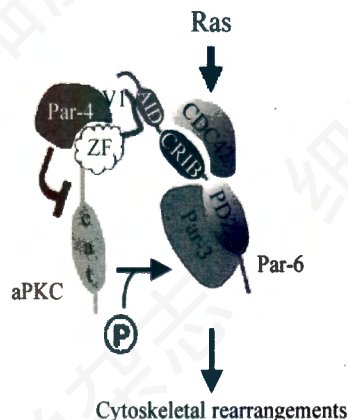


图5 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3四元复合物的作用方式^[26]

中，对 mPAR 各种缺失突变体的研究表明，CDC42 通过与 mPAR-6 结合激活 aPKC 并调节 aPKC 的活性。aPKC 对 CDC42 依赖性的激活是通过 CDC42 和 PAR-6 的相互作用实现的。同时，aPKC 活性对于哺乳动物上皮细胞的极性形成则是必需的^[29]。通过 aPKC 的激酶活性缺失突变体(aPKC-kn)的研究表明，其一，aPKC-kn 导致了 mPAR-6 和 mPAR-3/ASIP 的错位，mPAR-6/aPKC/mPAR-3 三元复合物不能形成。其二，该缺失突变体使紧密连接处的蛋白质分子 ZO-1、Claudin-1 和 Occludin 发生错位，并严重影响了紧密连接结构的形成。其三，aPKC-kn 缺失突变体使顶-基底区域的蛋白质定位发生紊乱，提示与紧密连接相作用的膜细胞骨架结构不能正常发挥其功能^[30]。因此，aPKC-kn 可以在紧密连接还未形成之时单独影响哺乳动物上皮细胞的极性形成，即它可在极性形成过程中产生以上各种影响，aPKC 及其活性对极性建立的影响甚于对极性维持的影响。

mPAR-3 作为绞手架分子可同时与 aPKC 和 PAR-6 结合，在极性形成过程中发挥重要作用。mPAR-3 最初是作为 aPKC λ/ζ 的结合蛋白被发现的，它在肺、胃和肾等多组织中均表达。mPAR-3 与 aPKC λ/ζ 以及紧密连接处的标志蛋白 ZO-1 共定位于上皮细胞的紧密连接处，但 mPAR-3 在紧密连接处的生物学功能尚未明了。新近的研究表明，与 ZO-1 蛋白不同，mPAR-3 位于上皮细胞的亚顶部区域，包括未成熟的紧密连接和成熟的紧密连接，而 ZO-1 仅位于成熟的紧密连接处。胶体金免疫电镜实验表明，mPAR-3 集中定位于紧密连接的顶部边沿，而 ZO-1 紧贴于紧密连接处^[31]。同时 mPAR-3 的过表达可促进上皮细胞 MDCK(Madin-Darby canine kidney) 细胞间接接触诱导的紧密连接的形成，若 aPKC λ 的结构域缺失突变体过表达则导致 mPAR-3 和 ZO-1 的错误定位，紧密连接的生物学功能受损^[20]。若 mPAR-3 的 N 端的 aPKC 结合结构域缺失突变体过表达，也会产生类似的实验结果^[29]。以上结果提示 mPAR-3 可能通过 aPKC 参与调节上皮细胞紧密连接处的极性形成。最近的研究表明，hpar-3(h, human) 可能通过多种不同剪接形式来调节上皮细胞的极性形成^[32]。

那么，CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3 四元复合物是如何在哺乳动物上皮细胞极性形成过程中发挥作用的呢？Ebnet 等^[33]的研究表明，mPAR-3 可能通过位于紧密连接处的跨膜黏附分子与 JAM-1 的相互作用在哺乳动物上皮细胞极性形成过程中发挥功能。JAM-1 在 N 端有一个 PDZ 结合结构域，可与

mPAR-3 的第一个 PDZ 结构域结合, 同时 JAM-1 也可与 ZO-1 的第 3 个 PDZ 结构域结合。由于 JAM-1 的自身可形成二聚体并在膜上形成大分子聚合物。因此, JAM-1 可能将 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3 四元复合物与 ZO-1 和 Claudin 等紧密连接处的蛋白质分子连接起来, 但 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3 四元复合物在紧密连接处的靶位点尚不清楚。新近的研究又将 CDC42/ PAR-6/aPKC/ PAR-3 四元复合物与 GSK-3 β - β -catenin-APC^[21] 及 PI3-kinase^[34] 信号通路联系在一起, 提示细胞的极性形成可能是多条途径控制的网络体系。

多年来的研究工作证明, 细胞的极性形成是一个极为复杂、多分子参与的过程。三类细胞的极性形成既具有共性, 又具有个性。上述三种细胞的极性形成均始于非极性的诱原, 伴随信号通路和 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3 四元复合物及其下游分子的共同作用, 极性逐步形成。在线虫受精卵和果蝇卵母细胞中, 由多种 PAR 蛋白分子或相互作用或顺序抑制发挥功能, 而 PAR-1 起重要作用, 极性形成过程相对简单。而在哺乳动物上皮细胞中, 极性形成以 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3 四元复合物为中心, 其下游的极性形成过程则十分复杂。目前, 虽然对极性的诱原、紧密连接和 CDC42/mPAR-6/aPKC/mPAR-3 四元复合物的功能已有一定的认识, 但 mpar-3 的不同剪接体的功能及其与相关分子的作用方式很模糊, 而关于哺乳动物各 PAR 蛋白的相互作用及其与 PI3-kinase 等信号通路的关系也知之甚少。我们认为, 未来的几年, 学者们将关注于 PAR 蛋白及其相互作用蛋白质的功能研究, 并在此基础上研究细胞极性形成过程中 CDC42/ PAR-6/

aPKC/ PAR-3 四元复合物及其相关信号分子和信号通路的联系, 探讨 PAR 蛋白对细胞极性形成过程中细胞骨架重建的调控作用。

参考文献 (References)

- [1] Kemphues KJ *et al. Cell*, 1988, **52**: 311
- [2] Wallenfang MR *et al. Nature*, 2000, **408**: 89
- [6] Kemphues K *Cell*, 2000, **101**: 345
- [4] Guo S *et al. Cell*, 1995, **81**: 611
- [5] Rose LS *et al. Annu Rev Gene*, 1998, **32**: 521
- [6] Watts JL *et al. Development*, 1996, **122**: 3133
- [7] Reese KJ *et al. Mol Cell*, 2000, **6**: 445
- [8] Schubert CM *et al. Mol Cell*, 2000, **5**: 671
- [9] Riechmann V *et al. Curr Opin Genet Dev*, 2001, **11**: 374
- [10] De cuevas M *et al. Development*, 1998, **125**: 2781
- [11] Vaccari T *et al. Curr Biol*, 2002, **12**: 1524
- [12] Cox DN *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 14475
- [13] Benton R *et al. Dev Cell*, 2002, **3**: 659
- [14] Shulman JM *et al. Cell*, 2000, **101**: 377
- [15] Riechmann V *et al. Curr Opin Gene, Dev*, 2001, **11**: 374
- [16] Wolpert L *et al. Principles of Development*, 2nd ed., Oxford: Oxford University Press, 2002, 154
- [17] Drubin DG *et al. Cell*, 1996, **84**: 335
- [18] Lin D *et al. Nat Cell Biol*, 2000, **2**: 540
- [19] Joberty G *et al. Nat Cell Biol*, 2000, **2**: 531
- [20] Itoh M *et al. J Cell Biol*, 2001, **154**: 491
- [21] Etienne-manneville S *et al. Nature*, 2003, **421**: 753
- [22] Fleming TP *et al. Semin Cell Dev Biol*, 2000, **11**: 291
- [23] Izumi Y *et al. J Cell Biol*, 1998, **143**: 95
- [24] Dragsten PR *et al. Nature*, 1981, **294**: 718
- [25] Van meer G *et al. Nature*, 1986, **322**: 639
- [27] Bjorkoy G *et al. J Biol Chem*, 1997, **272**: 11557
- [28] Diaz-meco MT *et al. Cell*, 1996, **86**: 777
- [29] Yamanaka T *et al. Genes Cells*, 2001, **6**: 721
- [30] Ohno S. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, **13**: 641-648.
- [31] Hirose T *et al. J Cell Sci*, 2002, **115**: 2485
- [32] Gao L *et al. Gene*, 2002, **294**: 99
- [33] Ebnet K *et al. J Biol Chem*, 2000, **275**: 27979
- [34] Shi SH *et al. Cell*, 2003, **112**: 63

The Establishment of Cell Polarity

Yi-Hong Hu, Yong-Hua Xu*

(Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract The establishment of cell polarity is very important to cell differentiation, development and cell function. In this review, we elucidated the difference and feature in cell polarity establishment in *C. elegans* zygote, the female germline cyst of *Drosophila* and mammalian epithelial cells, and discussed the research progress in the establishment of cell polarity.

Key words cell polarity; differentiation; development

Received: November 20, 2003 Accepted: February 17, 2004

This work was supported by the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program) and the Chinese Academy of Sciences

*Corresponding author. Tel: 86-21-54921361, E-mail: yhxu@sumn.shnc.ac.cn