

非典型蛋白激酶 C 复合物在细胞极性建立中的作用

陈 励[#] 辛天池[#] 李明发^{*}

(上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240)

摘要 极性是多数细胞的共同特征, 是细胞分化和细胞行使正常功能的基础, 细胞极性的建立对于生物体的生长发育至关重要。过去十年的研究显示, 进化上保守的非典型蛋白激酶 C (aPKC) 复合物在许多生物的多种细胞中都参与了细胞极性的建立, 并且在其中扮演着相当重要的角色, 这为揭示极性建立的机制提供了重要的线索。以线虫合子前-后极(anterior-posterior)的形成、哺乳动物和果蝇上皮细胞顶-底极(apical-basal)的建立以及果蝇神经母细胞不对称分裂中细胞命运决定子的分配这 3 个典型的极性过程为主线, 综述了 aPKC 复合物在细胞极性建立中的作用, 并探讨其中的分子机制。

关键词 Par; 非典型蛋白激酶 C; 细胞极性

细胞极性是指细胞形状、细胞物质分布和细胞功能的不对称性。从简单的单细胞生物细菌、酵母, 到高等哺乳动物中高度特化的神经细胞, 极性对于大多数细胞来说都是十分重要的属性。正是由于极性的建立, 某些细胞的不同区域才可以行使不同的功能以实现这些细胞的特定生物学使命, 而某些特定细胞也需要通过建立极性来进行不对称分裂以产生不同类型的子代细胞。所以, 细胞极性的建立对于细胞行使正常的生物学功能和实现细胞分化至关重要。现已发现, 许多不同类型细胞的极性建立过程均受到一个进化上保守的蛋白质复合物的调控, 一般认为这个蛋白质复合物由非典型蛋白激酶 C (atypical protein kinase C, aPKC)、partitioning defective 6 (Par6) 和 partitioning defective 3 (Par3) 组成^[1-3](表 1), 在此我们称之为 aPKC 复合物。它在线虫合子、哺乳动物和果蝇上皮、果蝇神经母细胞等细胞的极性建立过程中发挥了重要的作用。

1 aPKC 复合物的组成

组成 aPKC 复合物的 aPKC 是一种丝/苏氨酸蛋白激酶, 而 Par6、Par3 都是支架蛋白(scaffold protein), 三者相互作用形成功能性的复合物^[3]。aPKC 与 Par6 通过它们 N 端的 PB1 结构域相互结合^[4]。Par6 中的半 CRIB 模体(Cdc42/Rac interactive binding motif)和邻近的 PDZ 结构域(PSD95/Discs-Large/ZO1 domain)可以与小分子 GTP 酶 Cdc42 结合^[5], 后者被认为是细胞极化信号整合的中心^[6]。因而, Par6 还可以作为接头分子介导极化信号从 Cdc42 到 aPKC 的传

递。另一个支架蛋白 Par3 是通过其中心的保守区域与 aPKC 的激酶结构域相互作用的^[7]。尽管免疫共沉淀实验支持 Par3 与 aPKC 的相互结合^[7, 8], 但也有研究观察到 Par3 与 Par6 和/或 aPKC 有着稍稍不同的亚细胞定位^[9], 而且在体外 Par3 被 aPKC 磷酸化可以降低其与 aPKC 的亲合力^[10]。所以, aPKC 与 Par3 的相互结合可能是动态的。

2 aPKC 复合物与线虫合子前-后极的形成

包括 *par3*、*par6* 在内的 6 个 *par*(partitioning defective) 基因都是在研究线虫合子不对称分裂时被发现的^[2, 11, 12]。线虫合子不对称分裂的正常进行有赖于合子前-后极的形成, 而前-后极的形成则需要某些细胞物质的不对称分配, 其中 aPKC 复合物在合子前端皮层的积聚对于合子极性的建立至关重要。以往的研究发现, 精子在线虫卵细胞后方的进入, 触发了原本均匀分布的 aPKC 复合物向合子前端聚集^[13]。由于 aPKC 复合物对另一 *par* 基因产物 Par2 的膜结合能力具有抑制作用, 所以 aPKC 复合物的前移可以解除 Par2 在合子后端的抑制, 导致 Par2 在后端皮层积聚, 后者在极性建立后又反过来维持 aPKC 复合物的前端定位^[14]。在 aPKC 复合物与 Par2 的这样一种相互拮抗的作用下线虫合子标定出了前后两极^[13](图 1)。

收稿日期: 2007-01-12 接受日期: 2007-03-22

国家自然科学基金(No.30470890)和上海市浦江人才计划(No.05PJ14075)资助项目

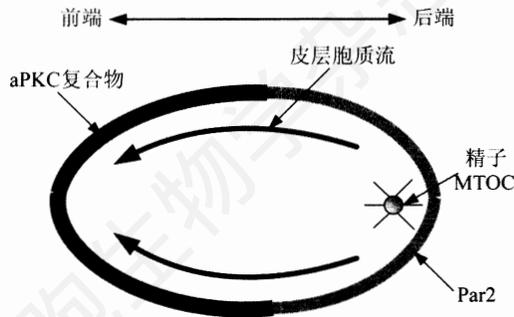
[#] 同为第一作者

^{*} 通讯作者。Tel: 021-34204918, Fax: 021-34204051, E-mail: mfli@sju.edu.cn

表 1 aPKC 复合物的组分与亚细胞定位^[3]

线虫	果蝇	哺乳动物	亚细胞定位			
			线虫受精卵	果蝇	哺乳动物上皮细胞	
			晚期卵母细胞	上皮细胞	神经母细胞	
PKC-3	aPKC	PKC λ , PKC ξ	前端皮层	SAR/ 顶部质膜	顶部皮层	TJ/ 顶部质膜
PAR-3	Bazooka	ASIP/PAR-3	前端皮层			
PAR-6	PAR-6	mPAR-6 α , mPAR-6 β , mPAR-6 γ				

SAR, subapical region, 亚顶部区域; TJ, tight junction, 紧密连接; “X/Y”表示定位于Y且在X处集中。

图 1 aPKC 复合物在线虫合子中的极性定位^[2]

它们中任一蛋白质丧失功能都会导致线虫合子极性的缺陷以及后续不对称分裂的异常,表现出P颗粒(P granules)的错误定位和第一次分裂后产生相同大小的子细胞^[8,11,12]。

最新的研究表明,精子进入时精子微管组织中心(microtubule organizing center, MTOC)抑制局部肌球蛋白收缩,使原本收缩均匀的皮层肌球蛋白网络(cortical actomyosin meshwork)不均匀收缩,这种不均匀收缩产生的皮层胞质流驱动aPKC复合物和其他一些蛋白质定位到合子前端^[14](图1)。aPKC复合物对其本身的前端积聚也具有促进作用,这可能是通过促进皮层胞质流的前向移动来实现的,Par2在后期对aPKC复合物前端定位的维持作用也可能借助于类似的途径,其中的具体机制还有待于进一步的研究发现。

3 aPKC复合物与上皮细胞顶-底部极性的建立

上皮由密集排列的上皮细胞和少量细胞间质组成,它通常覆盖于动物体表或衬贴在有腔器官的腔面。每个上皮细胞都呈现出明显的极性,可以将其划分为结构和功能迥异的两个部分——顶部(apical)和底侧部(basolateral)。顶部朝向体表或有腔器官的

腔面,而与之相对的底侧部则面向基膜。这个顶-底部极性对于维持上皮细胞的结构和功能至关重要^[9]。成熟上皮细胞顶-底部极性的一个特征是其侧膜上会形成几种细胞连接复合物,将侧膜分隔成不同区域。在脊椎动物上皮中,细胞侧膜顶部到底部依次形成紧密连接(tight junction, TJ),黏着连接(adherent junction, AJ)和底部区域(basal region)。无脊椎动物没有TJ,在相似位置形成的是亚顶部区域(subapical region, SAR),同时在AJ底侧会形成分隔连接(septate junction, SJ),行使与脊椎动物TJ相似的功能^[2,15](图2A)。

在成熟的哺乳动物上皮细胞中aPKC复合物主要定位于TJ^[4]。哺乳动物的TJ作为一道生理屏障阻止了上皮顶部成分和底部成分的相互扩散,因而对于上皮顶-底部极性的建立与维持十分重要,aPKC在此处的集中定位暗示了它在上皮极性形成中可能的重要作用^[16]。上皮细胞极性的初始信号来源于细胞与细胞或细胞与胞外基质之间的接触,而细胞间的接触会引发多种细胞连接蛋白向细胞接触的位置聚集,形成初生的连接结构——点状AJ,其中包含了将来构建成熟AJ和TJ的组分。之后,这些点状AJ发生融合,并分化为成熟的TJ和带状AJ,环绕于上皮细胞的顶部^[17]。aPKC复合物在细胞接触后相对较早的时期内就被募集到点状AJ处^[18],这个过程被认为是通过更早被募集到细胞接触点的JAM(junctional adhesion molecule)蛋白介导的,JAM-A蛋白C端与Par3第一个PDZ结构域的结合可以起到锚定aPKC复合物的作用^[19]。然后随着点状AJs的分化,aPKC复合物逐步积聚至TJ中。过表达显性失活型(dominant negative)aPKC或Par3会阻滞哺乳动物上皮细胞AJ和TJ的成熟,尽管并不影响早期点状AJ中蛋白质的募集,但点状AJ不能进一步分化为成熟的带状AJ和TJ^[4,18],这就意味着aPKC复合物可能通过促进细胞连接结构的成熟来影响上皮细胞顶-底部极性的建立。

在成熟的果蝇上皮中,aPKC复合物定位于顶部

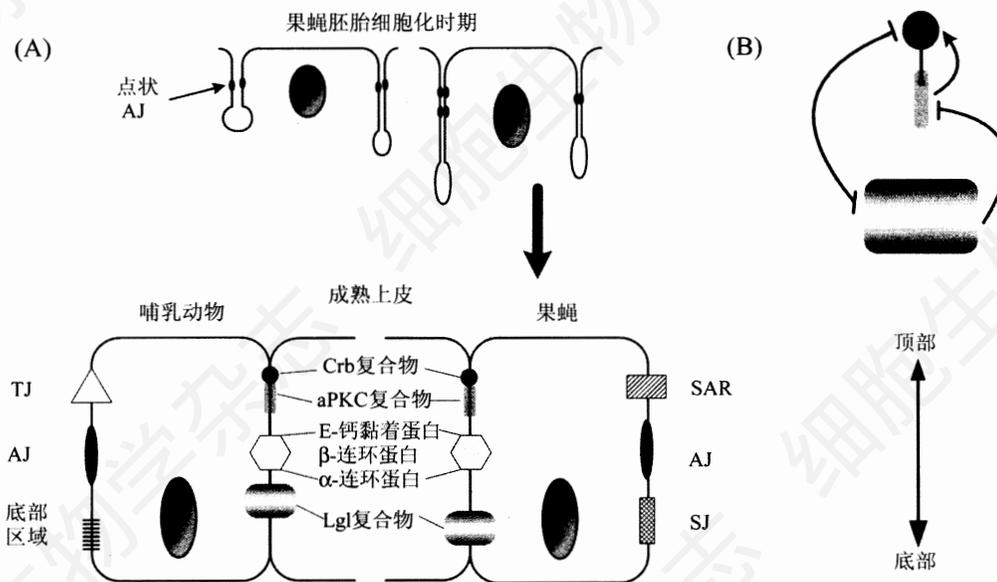


图2 aPKC复合物在上皮细胞中的定位与作用^[2,15]

A: 上皮细胞连接复合物的形成与定位; B: 参与调节果蝇上皮极性建立的3个蛋白质复合物之间的相互作用。

质膜,并在 SAR 处富集,它对于果蝇上皮细胞 AJ 的正确形成同样不可或缺。果蝇胚胎上皮是果蝇最初的上皮组织,它通过胚胎发育中的细胞化 (cellularization) 过程形成,点状 AJ 出现在细胞化阶段的早期,随后于原肠形成阶段 (gastrulation) 装配形成带状 AJ^[20] (图 2A)。baz、par6 和 aPKC 中任一基因的突变都会导致胚胎上皮细胞 AJ 结构的缺陷和细胞极性的丧失^[9,21-23],但三者的突变表型不完全相同。在 aPKC 或 par6 的突变体中,原肠胚时期不能正确形成带状 AJ^[9,23],这与哺乳动物上皮细胞中 aPKC 复合物促进带状 AJ 成熟的结论是一致的。而 baz 突变体不仅在原肠形成期呈现 AJ 结构的丧失,在更早的细胞化时期也已出现了点状 AJ 的装配异常^[21]。另外,在缺失点状 AJ 的情况下 Baz 仍然可以正确定位^[21],果蝇上皮细胞的 SAR 并没有 TJ 结构等都提示, aPKC 复合物在果蝇上皮细胞极性建立中所起的作用与在哺乳动物中的不尽相同。

遗传和生化研究显示 aPKC 复合物与另外两个蛋白质复合物一起参与调节果蝇上皮细胞极性以及带状 AJ 的形成,它们分别是 Crumbs (Crb) 复合物和 Lethal giant larvae (Lgl) 复合物 (图 2)。Crb 复合物由蛋白质 Crb 和 Stardust (Std) 组成,其胞内定位与 aPKC 复合物类似,也在顶部质膜分布,并富集于 SAR; 而 Lgl 复合物则定位于带状 AJ 底侧的质膜区域,是由蛋白质 Lgl、Discs large (Dlg) 和 Scribble (Scrib) 组成的

功能性复合体^[3]。这两个复合物的组分丧失功能也会影响原肠形成时期带状 AJ 的形成与细胞极性的建立^[24,25]。但遗传分析显示, baz 突变对 dlg 突变具有上位效应,而 baz 突变体中 AJ 缺陷出现的时间要早于 crb 突变体,提示 aPKC 复合物可能位于控制上皮极性的遗传层次的最上游, Crb 复合物和 Lgl 复合物随后与之相互作用共同参与上皮极性的调控^[24,25]。对 baz、crb 和 std 突变体的表型分析表明, aPKC 复合物对 Crb 复合物在顶部的稳定定位是必须的,而在原肠形成后 Crb 复合物又在顶部维持 aPKC 复合物的定位,两者对胚胎上皮细胞极性的建立起协同作用^[24,25] (图 2B)。近期的研究发现, Crb 是 aPKC 的磷酸化底物,这个磷酸化的发生可能对 Crb 复合物和 aPKC 复合物在顶部的正确定位具有重要作用^[26]。Lgl 复合物在果蝇上皮中可能对 aPKC 复合物的定位与活性起拮抗作用^[24,27] (图 2B),因为在 lgl 突变的胚胎上皮中, Par6 的分布错误地扩展到了底部侧区域^[23],此外,在果蝇成虫盘上皮中 aPKC 突变可以部分逆转 (rescue) lgl 突变体中上皮极性丧失的表型^[27]。由于 aPKC 可以磷酸化 Lgl 使其与膜解离^[28],而 Lgl 可能与 Par3 竞争结合 Par6-aPKC 复合体^[29],所以这个拮抗作用的分子机制可能是:在果蝇上皮细胞底侧部, Par6-aPKC 与此处定位的 Lgl 结合, Lgl 被 aPKC 磷酸化从而使该复合物无法在膜上稳定定位;而在上皮细胞顶部, Lgl 浓度很低, Par6-aPKC 转而结合 Baz, 释放出 Lgl, 从而稳定定

位于该处质膜, 发挥正常的功能。另外, 在果蝇胚胎上皮中, Lgl 复合物与 Crb 复合物相互拮抗, 前者维持后者的顶部定位, 而后者将前者的活性限制在底侧部^[24,25](图 2B)。上述 3 个复合物在进化上是保守的, 它们在哺乳动物上皮极性的建立中也有一定的作用, 它们之间相互作用的分子机制仍需进一步的研究。

4 aPKC 复合物与果蝇神经母细胞命运决定子的不对称分配

果蝇神经母细胞(neuroblast)是果蝇中枢神经系统中各种神经细胞的祖细胞, 它通过不对称分裂来实现在自我更新的同时产生分化的神经细胞。在有丝分裂期间, 一些蛋白质在神经母细胞中的不对称分配(asymmetric segregation)决定了分裂后两个子细胞不同的命运, 这些蛋白质被称为细胞命运决定子(cell fate determinants), 如 Prospero、Numb 和 Miranda 等。神经母细胞分裂后, 位于顶部的不含细胞命运决定子的子细胞成为新的神经母细胞, 而位于底部的含有细胞命运决定子的子细胞成为相对较小的神经节母细胞(ganglion mother cell, GMC), GMC 继续分裂分化形成神经元和神经胶质^[30]。研究表明, 细胞命运决定子的这种底部分配受 aPKC 复合物的调控, 因为 *baz*、*par6* 或 *aPKC* 突变的神经母细胞在分裂时细胞命运决定子均呈现出均匀分布而不能向底部集中^[22,27,31]。现在认为 aPKC 复合物通过与 Lgl 的相互作用来指导细胞命运决定子的不对称分配^[32]。

神经母细胞是在果蝇胚胎发育过程中从神经外胚层这一单层上皮中脱离(delaminate)出来的, 尽管丧失了上皮的形态, 但神经母细胞仍保留了部分的上皮顶-底部极性, aPKC 复合物在细胞顶部皮层的定位被继承^[33]。而 Lgl 在神经母细胞中的定位并无极性, 它均匀分布在整个细胞皮层上。Lgl 突变的神经母细胞会出现 aPKC 突变体类似的表型, 即细胞命运决定子在细胞分裂时的非极性定位, 但对于 aPKC 复合物的定位影响甚微^[34-36], 提示 Lgl 对于细胞命运决定子的正确定位同样不可或缺, 而它可能在 aPKC 复合物的下游发挥作用。Lgl 是 aPKC 的磷酸化底物这一发现支持了上述观点^[32]。过表达不能被 aPKC 磷酸化的突变型 Lgl 会导致 Prospero、Numb 和 Miranda 在细胞分裂期的错误定位, 而过表达野生型的 Lgl 则不会出现类似的表型, 提示磷酸化的 Lgl 可能丧失了指导细胞命运决定子定位的能力, aPKC 可能通过磷酸化来抑制 Lgl 活性。Betschinger 等^[32]由此提出了一个

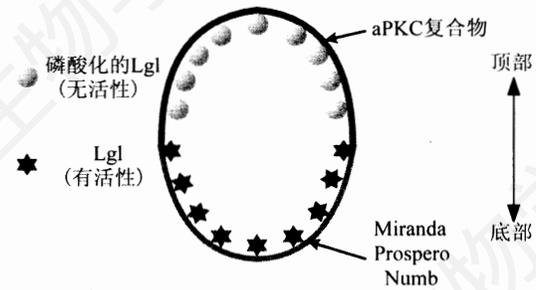


图3 aPKC 复合物调节果蝇神经母细胞命运决定子分配的模式^[32]

模型: 顶部定位的 aPKC 磷酸化 Lgl 使得细胞顶部的 Lgl 失活, 从而将 Lgl 的活性限制在神经母细胞的底部, 之后 Lgl 在底部发挥作用指导细胞命运决定子向底部分配(图 3)。至于 Lgl 募集细胞命运决定子到底部的分子机制目前还未阐明。近年的研究发现, 肌球蛋白 II 可能受到 aPKC-Lgl 通路的调控来促使 Miranda 等细胞命运决定子分配到神经母细胞的底部^[37]。另外, 根据酵母中 Lgl 同源蛋白在极化胞吐(polarized exocytosis)途径中所起的作用推断, 活性的 Lgl 可能通过调节膜泡运输(vesicle trafficking)来募集细胞命运决定子到底部^[38,39]。

5 小结与展望

极性是生命的一个基本特征, 极性的建立与维持是一个复杂的生物学过程。除了上述 3 种极性过程, aPKC 复合物在果蝇卵母细胞的不对称分裂^[17], 小鼠星型胶质细胞的迁移^[3], 大鼠海马神经元轴突的确定^[40]中都起了重要作用。由此推断, 虽然极性在不同种类的细胞中表现为不同的形式, 但其建立过程均受到 aPKC 复合物介导的信号通路所调节: aPKC 复合物作为极性建立的媒介将细胞极性的初始信号(如精子的进入、胞间的接触等)传递到下游的相关分子通路中。另外, 越来越多的证据表明 aPKC 复合物参与调节肌动球蛋白和微管动力蛋白系统, 它与膜泡运输机制之间的联系也受到重视。将来的研究应发掘更多受 aPKC 复合物调控的下游靶点, 藉以揭示 aPKC 复合物在细胞特定部位发挥作用的细节, 进一步了解在细胞极性建立与维持的过程中, aPKC 复合物连结相关分子通路的机制。

参考文献(References)

- [1] Henrique D et al. *Curr Opin Genet Dev*, 2003, 13: 341
- [2] Macara IG. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5: 220
- [3] Suzuki A et al. *J Cell Sci*, 2006, 119: 979

- [4] Suzuki A *et al. J Cell Biol*, 2001, **152**: 1183
 [5] Joberty G *et al. Nat Cell Biol*, 2000, **2**: 531
 [6] Etienne-Manneville S. *J Cell Sci*, 2004, **117**: 1291
 [7] Izumi Y *et al. J Cell Biol*, 1998, **143**: 95
 [8] Tabuse Y *et al. Development*, 1998, **125**: 3607
 [9] Harris TJ *et al. J Cell Biol*, 2005, **170**: 813
 [10] Nagai-Tamai Y *et al. Genes Cells*, 2002, **7**: 1161
 [11] Watts JL *et al. Development*, 1996, **122**: 3133
 [12] Kempfues KJ *et al. Cell*, 1988, **52**: 311
 [13] Cuenca AA *et al. Development*, 2003, **130**: 1255
 [14] Munro E *et al. Dev Cell*, 2004, **7**: 13
 [15] Humbert P *et al. Bioessays*, 2003, **2**: 542
 [16] Ohno S. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, **13**: 641
 [17] Wodarz A. *Nat Cell Biol*, 2002, **4**: E39
 [18] Suzuki A *et al. J Cell Sci*, 2002, **115**: 3565
 [19] Ebnet K *et al. J Cell Sci*, 2004, **117**: 19
 [20] Tepass U *et al. Annu Rev Genet*, 2001, **35**: 747
 [21] Harris TJ *et al. J Cell Biol*, 2004, **167**: 135
 [22] Petronczki M *et al. Nat Cell Biol*, 2001, **3**: 43
 [23] Hutterer A *et al. Dev Cell*, 2004, **6**: 845
 [24] Bilder D *et al. Nat Cell Biol*, 2003, **5**: 53
 [25] Tanentzapf G *et al. Nat Cell Biol*, 2003, **5**: 46
 [26] Sotillos S *et al. J Cell Biol*, 2004, **166**: 549
 [27] Rolls M M *et al. J Cell Biol*, 2003, **163**: 1089
 [28] Betschinger J *et al. Curr Biol*, 2005, **15**: 276
 [29] Yamanaka T *et al. Curr Biol*, 2003, **13**: 734
 [30] Wodarz A *et al. Mech Develop*, 2003, **120**: 1297
 [31] Wang H *et al. EMBO J*, 2006, **25**: 5783
 [32] Betschinger J *et al. Nature*, 2003, **422**: 326
 [33] Wodarz A *et al. J Cell Biol*, 2000, **150**: 1361
 [34] Ohshiro T *et al. Nature*, 2000, **408**: 593
 [35] Peng CY *et al. Nature*, 2000, **408**: 596
 [36] Lee CY *et al. Nature*, 2006, **439**: 594
 [37] Barros CS *et al. Dev Cell*, 2003, **5**: 829
 [38] Vasioukhin V. *Dev Neurosci*, 2006, **28**: 13
 [39] Wirtz-Peitz F *et al. Trends Cell Biol*, 2006, **16**: 234
 [40] Chen YM *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**: 8534

The Role of aPKC Complex in the Establishment of Cell Polarity

Li Chen[#], Tian-Chi Xin[#], Ming-Fa Li^{*}

(School of Life Science and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract Polarity is a common characteristic of most cells. As is fundamental for cell differentiation and cell functions, the establishment of cell polarity is very important in the development of organisms. Work over the past decade has shown that the evolutionarily conserved atypical protein kinase C (aPKC) complex plays an essential role in generating cell polarity in various biological contexts. These include asymmetric cell division in *Caenorhabditis elegans* zygote and *Drosophila* neuroblasts, as well as the establishment of apical-basal polarity in mammalian and *Drosophila* epithelial cells. Here, we review the role of aPKC complex in these three biological processes, and discuss the underlying molecular mechanism.

Key words Par; atypical protein kinase C; cell polarity

Received: January 12, 2007 Accepted: March 22, 2007

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30470890) and the Shanghai Pujiang Program (No. 05PJ14075)

[#]Co-first authors

^{*}Corresponding author. Tel: 86-21-34204918, Fax: 86-21-34204051, E-mail: mfli@sjtu.edu.cn