

正是这些杂质促使成冰核效应发生;又如,不同类型的抗冻蛋白表现出不同的成冰核行为。这些都是新模型不曾包含的内容,有待进一步研究。

目前对鱼类四种抗冻蛋白(I型到IV型)及一种抗冻糖蛋白的研究比较详细,对植物抗冻蛋白^[22,23]和昆虫抗冻蛋白^[15,16]的研究也在不断深入。黑麦草(*Lolium perenne*)抗冻蛋白阻止重结晶的能力比鱼类抗冻蛋白和昆虫抗冻蛋白强得多,并且与脱水蛋白(dehydrins)一样,它们是煮沸稳定蛋白^[22]。转基因烟草稳定合成胡萝卜抗冻蛋白,在温室生长条件下就有很强的抗冻性^[23]。总体来说,无论对应用低温生物学还是对理论低温生物学,抗冻蛋白都具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 王君晖、黄纯农,1996,细胞生物学杂志,18:107-111.
- [2] Wang J H,2000, *Cryobiology*,41:1-9.
- [3] Yang D, Sax M, Chakrabartty A, et al., 1988, *Nature*, 1988,333:232-237.
- [4] Knight C, DeVries A L, Oolman L D, 1984, *Nature*, 308: 295-296.
- [5] Rubinsky B, Arav A, Fletcher G, 1991, *Biochem Biophys Res Commun*, 180:566-571.
- [6] Naidenko T, 1997, *Cryoletters*, 18:375-382.
- [7] Carpenter J F, Hansen T N, 1992, *Proc Natl Acad Sci USA*, 89:8953-8957.
- [8] 王君晖等,1999,实验生物学报,32:271-276.
- [9] Rubinsky B, Arav A, Mattioli M, et al., 1990, *Biochem Biophys Res Commun*, 173:1369-1374.
- [10] Hinch D K, DeVries A L, Schmitt J M, 1993, *Biochem Biophys Acta*, 146:258-264.
- [11] Hays L M, Feeney R E, Crowe L M, et al., 1996, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:6835-6840.
- [12] Wu Y L, Fletcher G L, *Biochem Biophys Acta*, 2000, 1524:11-16.
- [13] Cheng A, Merz K M, 1997, *Biophys J*, 73:2851-2873.
- [14] Jia Z C, DeLuca C I, Chao H, et al., 1996, *Nature*, 21: 285-288.
- [15] Graether S P, Kuiper M J, Gagne S M, et al., 2000, *Nature*, 406:325-328.
- [16] Lion Y C, Tocilj A, Davies P L, et al., 2000, *Nature*, 406:322-324.
- [17] Wang T, Zhu Q, Yang X, et al., 1994, *Cryobiology*, 31: 185-192.
- [18] Pham L, Dahiya R, Rubinsky B, 1999, *Cryobiology*, 38: 169-175.
- [19] Ewart K V, Li Z, Yang D S, et al., 1998, *Biochemistry*, 37:4080-4985.
- [20] Li N, Andorfer C A, Duman J G, 1998, *J Exp Biol*, 201: 2243-2251.
- [21] Xu H, Griffith M, Patten C L, et al., 1998, *Can J Microbiol*, 44:64-73.
- [22] Chris S, Sarah B, Paul P, et al., 2000, *Nature*, 406:256.
- [23] Dawn W, Luisa E, David A, et al., 1998, *Science*, 282: 115-117.

绿色荧光蛋白及其在细胞生物学研究中的应用*

吴春利 刘洁生** 杨维东

(暨南大学生物工程学系 广州 510632)

绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的发现和应 用被称为细胞生物学上的一次革命。1962年 Shimomura^[1]等首先从一种水母类动物 *Aequorea Victoria* 中分离纯化出了 GFP, 1992年 Prasher^[2]等克隆了 GFP 基因的 cDNA 并分析了 GFP 的一级结构, 1994年 M. Chalfie^[3]等最早用重组野生型 GFP 基因做报告基因, 成功地在原核和真核生物中得到表达。此后, 人们对 GFP 的性质和应用进行了不断深入的研究, 现在它已经发展成了现代生物学研究的一个精确工具。目前 GFP 在细胞生物学、植物学、动物学、微生物学等学科研究中都有着相当广泛的应用。随着人们对 GFP 发光机制研究的深入, 通过对其发光团区域和其它区域进行随机诱变, 已经得到了许多 GFP 突变型, 有的发蓝光或黄光而不是绿光^[4]; 有的发出的荧光比野生型

的强很多, 激发后很容易用肉眼观察到; 有的则是温度突变型, 其表达不受温度的限制^[5]; 有的突变体则可以特异地在某些物种中高效表达。这些突变体极大地拓宽了 GFP 的应用范围, 使 GFP 在生物学的应用显示出更为广阔和诱人的前景。

一、绿色荧光蛋白的分子特性及发光机制

随着对绿色荧光蛋白研究的深入, 人们发现从不同动物体内提取的荧光蛋白的结构、性质不尽相同, 不同动物品种的荧光产生机理也有很大的差别。目前研究得较为深入的是来自多管水母科

* 教育部科学技术研究重点项目(00214)和广州市科技项目(2001-Z-056-01)资助课题。

** 通讯联系人。

(*Aequorea*)和海紫罗兰科(*Renilla*)的荧光蛋白,即A-GFP和R-GFP,对前者的研究相对更深入一些,应用也更为广泛。A-GFP和R-GFP都是酸性、球状的蛋白质,它们的氨基酸组成也很相似。A-GFP是分子量为27 KD的单体,而R-GFP则是分子量为54 KD的同型二聚体。正常状态下二者的激发光谱不同,A-GFP在395 nm和470 nm具有吸收高峰,R-GFP在498 nm具有强烈的光吸收,而发射光谱基本相同均为504 nm。但当两种蛋白质变性后,它们的吸收光谱和发射光谱均相同,这说明这两种蛋白质可能含有相同的生色基团,但由于生色基团与其周围的蛋白质组分的连接方式不同使得两者的激发光谱产生了不同^[6]。

最近的研究表明,GFP的分子特性和发光机制是很独特的。GFP三维结构呈圆柱体,11条链的 β -片层包围着内部的 α -螺旋,短的螺旋片段在圆柱两端,可环化的生色团Ser65-Tyr66-Gly67三肽在 α -螺旋上,靠近圆柱体的几何中心。生色团的形成首先是Gly67的氨基对Ser65的羰基亲核进攻而环化成五元环,同时失去一分子水形成咪唑基的第5位碳原子。在有氧条件下,新的N=C双键促进Tyr66的 α,β -氧化脱氢,从而形成一个连续的 π 电子芳香族系统——生色团^[7]。但GFP的荧光发生机理目前还不清楚,Morise等人1974年曾提出一个能量传递模式图来解释水母的发光机制,但并未获得认同。Chattoaj等^[8]对GFP进行了光谱分析,结合前人工作提出,GFP有两个明显的吸收带对应于GFP的两种不同构象的基态A和B。基态A对应于395 nm的吸收峰,基态B对应于475 nm的吸收峰,基态A占优势,基态B的分子数约是基态A的1/6。两种基态间能缓慢地转换,但激发态(*)之间的转换很快且发生了质子转移。A*快速高效地衰变至另一激发态应该存在一个中间过渡态I。在激发态,质子转移使A*转变成I*,I*回迁到基态I时产生发射峰为504 nm的荧光,构象改变使I*转变成B*,由B* \rightarrow B发射荧光而不发生质子转移。

目前,对于GFP的作用机理较为确定的仅仅是:GFP是生物发光过程中的能量受体并且是最终的发光体;不同的生物发光机制各不相同;不同的突变体的发光机制也有很大的不同。

二、绿色荧光蛋白的基因结构特点

Prasher等用GFP相应的寡核苷酸序列为引物

从他们自己构建的水母(*Aequorea Victoria*)PBR322-cDNA文库中分离到命名为GFPI cDNA的克隆。该片段只有511个碱基,编码168个氨基酸,据此推测它缺少5'和3'编码区,以此为探针再次筛库时,没有发现另外的GFP克隆。当用GFPI序列作为杂交探针筛选*A. Victoria*的另一文库 λ gt10 cDNA时,没有发现另外的GFP克隆。当用GFPI序列作为杂交探针筛选*A. Victoria*的另一文库 λ gt10 cDNA时,也没得到GFP相关的重组子。当进一步扩增保留在培养皿中的噬菌体文库时,发现了4个gfp重组子,即gfp10,11,12,13。gfp10片段序列共有965个核苷酸,其5'端非编码区很短,无Poly(A)尾。一个多腺苷酸信号位于861~865位核苷酸。gfp10 cDNA包含一个编码238个氨基酸的阅读框架(ORF)。用GFPI cDNA为探针也能从*A. Victoria*基因组文库中筛选到3种GFP克隆,这和天然存在3种不同GFP同分异构体的结果相符合,实践也证明GFP基因确实存在3种限制性酶切图谱^[9]。对GFP基因结构进一步研究表明,它由3个外显子组成,分别编码69、98和71个氨基酸。后来的许多GFP突变体都是在其基础上通过改变若干碱基而得。

三、绿色荧光蛋白的应用特点

1. 易于检测

GFP不需外加任何反应底物和辅助因子,只需紫外光或蓝光激发,即可发出绿色荧光,用荧光显微镜或肉眼就可以观察到,且灵敏度高,对于单细胞水平的表达也可识别;同时还可利用其进行定量检测。由于GFP对生活细胞基本无毒害,因此无须特殊处理就可以很方便地进行活体观察。

2. 荧光稳定

GFP无光漂白现象,在很大的pH范围内(pH 7~12)都可以正常发出荧光,受温度的影响也很小,只有在超过65℃时才会变性,荧光消失。对于长时间光照,GFP也有很好的耐受性,根据Sheen等的研究,GFP在受体内表达时可以持续得到不低于10分钟的荧光。

3. 广谱性

首先表现在它的表达几乎不受种属范围的限制,在微生物、植物、动物中都获得了成功的表达;其次就是没有细胞种类和位置的限制,在各个部位都可以表达发出荧光。

4. 易于载体构建

由于 GFP 较小,只含有 238 个氨基酸,编码 GFP 的基因序列也较短,约 2.6 kb,所以它可以很方便地同其它序列一起构建多种质粒,而不至于使质粒过大影响转化频率。

尽管野生型的 GFP 在某些植物和动物中表达很弱,但可通过更换 GFP 生色团氨基酸、改变碱基组分、除去内含子、更换强启动子等方法加强表达。Cormack 等^[10]筛选出了三种含 Ser65 突变的突变体,在大肠杆菌中表达时,荧光强度比野生型高约 100 倍。

四、绿色荧光蛋白在细胞生物学方面的应用

1. 对细胞生理过程的监控

在过去的几年中,通过随机和人工诱变得到了许多不同颜色的 GFP 突变体。通过基因操作,许多蛋白都成功的与 GFP 进行了融合,通过这些融合蛋白就可以对相应蛋白的表达和转运及生理反应进行监控。目前 GFP 融合蛋白对细胞内迅速的生理反应的报告大概有三种方式:转移和定位、GFP 光谱的生化修饰、荧光共振的能量转移(FRET)。Shen^[11]等在培养的神经元中发现,细胞内的 Ca^{2+} 瞬间变化就会引起 GFP 标记的钙调蛋白激酶 II (CaM KII)可逆地易位到突触后膜的 densities 上。这样的易位由许多因素控制,如:自磷酸化作用、F-肌动蛋白的亲合力、钙或钙调素的结合作用等等。Shi^[12]等用 GFP 标记来监控 α -氨基羟甲基恶唑丙酸(AMPA)的受体,发现它会从细胞内膜转移到树突棘的表面。这种移动是由强直的兴奋所引起,而且还需要突触中的 N-甲基-D-天(门)冬氨酸受体的激活作用。由此可以看到,根据突触中 AMPA 受体的含量可以解释突触沉默、活化的原因和机制。Siegel^[13]等将野生型的 GFP 插入 Shaker K^+ 通道的特殊部位,形成一个异源嵌合体,这个嵌合体发出的荧光将会随着细胞的去极化作用而缓慢的减少。相反,Yanagawa^[14]等将 β -内酰胺酶插入 GFP 得到了一个融合体,当此融合体与 β -内酰胺酶抑制肽(BLIP)结合时,它的荧光发射量会大大增加。

2. 细胞亚结构及蛋白质分子的定位

对于许多蛋白质来说,易位是它们激活机制中的一部分。以前多是用细胞分级分离和免疫细胞化学的技术进行研究,而现在利用 GFP 融合蛋白的显像技术无疑是一种简便而可靠的检测方法,我们不仅可以更快地而且可以更全面地对蛋白质的移动进

行研究。近几年,在 GFP 技术的进步中最重要的就是对几个 GFP 突变体的鉴定。通过标准的荧光显微镜,根据它们所发出的不同颜色的荧光,就可以在活细胞中同时而准确的区分多种不同的荧光融合蛋白以及了解它们的分布情况^[15]。在实际中,常用蓝绿色荧光蛋白(CFP)和黄色荧光蛋白(YFP)两种突变体的组合来在活细胞中进行双色显示。而其他的突变体如蓝色荧光蛋白(BFP)和红色荧光蛋白(RFP)的使用还受到许多限制,因为它们有很快的光漂白作用或者是发射的荧光强度太低。

3. 用于细胞内蛋白质的动力学研究

研究细胞内蛋白质相互作用的技术主要有两种:光漂白荧光恢复法(FRAP)、光漂白荧光损失法(FLIP)。FRAP 主要是通过对细胞内特定的点或区域进行强烈的光照,使荧光发生光漂白作用,再通过相同时间间隔的光影像采样记录下荧光恢复的动力学过程。FRAP 不仅可以确定细胞器上的蛋白,还可以确定流动蛋白的滞留时间。转录、m-RNA 前体的剪切、DNA 的修复中蛋白质复合体操作机制都可以用这种方法来研究。FLIP 是对细胞的一个区域进行持续性的光漂白,再对光漂白区外的荧光的损失进行监控就可以获得一些标记蛋白之间的相关性信息。目前正在体外通过改变光照点的大小和固定细胞来研究光漂白作用的可逆性,不过还是与活细胞的环境有一定的差距。

另外一种可以用来研究细胞内反应动力学的方法就是荧光相关性分光光镜检查(FCS)。这种方法是首先通过聚焦照射在细胞内形成一个一定大小的光洞(light cavity),光洞中荧光探针的移动会引起荧光的波动,通过校正计算出荧光颗粒的平均滞留时间和平均数量,再根据已知光洞的大小和平均光滞留时间就可以计算出扩散蛋白的动力学参数^[16]。

4. 观察细胞内酶的活动

GFP 突变子不仅仅可以用来探测融合蛋白的空间定位,而且可以对活细胞的酶活动,如:磷酸化作用、蛋白水解作用等进行报告,还可以测量与酶活动相关的细胞内的 pH、cAMP、 Ca^{2+} 浓度。通过将外源序列插入 GFP 基因中,可以对细胞内酶的活动进行观察以及了解这些酶的生理学参数。插入外源基因后所表达的融合蛋白中的 GFP 蛋白发色基团会发生构像改变,其发射的荧光的强度也会发生很大的变化。这些指示剂可以用来检测细胞内许多酶的作用,例如:蛋白水解酶、激酶、氧化还原酶以及一些小配基的浓度^[17]。

5. 用于细胞示踪实验研究

利用 GFP 的荧光可以清楚地对肿瘤细胞的生长和转移进行追踪。体内肿瘤侵袭的研究要求在周围正常细胞背景下,能识别少量甚至是单个的瘤细胞。以往用抗肿瘤细胞特异性抗原、抗体进行免疫组化分析,操作较为复杂,且对抗原性有较高要求。利用 β 半乳糖苷酶(Lac Z)作为标记基因转染肿瘤细胞,操作较为复杂,且需底物分子。而用 GFP 就可以准确而简便地对肿瘤细胞进行示踪。李侠^[18]等将携有增强型绿色荧光蛋白(EGFP)基因的 pEGFP-N3 质粒体外转染 C6 胶质瘤细胞,筛选稳定表达绿色荧光蛋白的细胞克隆,以立体定向法植入 SD 大鼠脑实质内建立大鼠移植瘤模型。4 周后处死大鼠并作鼠脑连续石蜡切片,相邻的切片分别做苏木素—伊红(HE)或免疫组化染色后荧光显微镜下检测。在荧光显微镜很容易区分肿瘤区和非肿瘤区,并能发现侵袭至远处的单个肿瘤细胞,其敏感性和特异性明显优于 HE 染色和免疫组化方法。朱君明^[19]等将 GFP 和 HTH1 双基因的多基因表达载体 GC-GFP-P-HTH1-SN 转染 NIH-3 T3 细胞,且移植入 Parkinson 病模型大鼠纹状体内后,也清晰地观察到了 NIH-3 T3 细胞在脑内的生长情况。Xin^[20]等将 EGFP 转入 EG4 细胞(一种原胚细胞)中,建立了几株既可以表达绿色荧光蛋白又依然保持了多能干细胞特征的 EG4-GFP 细胞系,通过对聚集的 EG4-GFP 细胞到 8 细胞胚胎的研究,可以追踪到 EG4-GFP 细胞在体外分化情况以及在胚胎发育中的命运。

6. 定量分析

GFP 的荧光强度很高,很容易用仪器定量检测,而且研究表明 GFP 的荧光强度和与其相连的细胞或蛋白有一定的相关性,只需要做出一条相关性曲线,就可以对研究对象进行定量的分析。Hack^[21]等将用 GFP 标记的神经元特异性钙调蛋白 calretinin (CR)基因转入畸胎瘤细胞中,通过对微血管中 GFP 荧光的测量,再做出 GFP 和 CR 含量的标准曲线来计算出 CR 的表达量。Moore^[22]等将 GFP 在体外转染 9L 胶质细胞瘤细胞后接种于 Fisher 大鼠脑内,2 周后处死大鼠,进行鼠脑标本切片和荧光显微镜观测,无荧光标记的暗区(blackspots)为肿瘤血管区,由此可计数新生血管数量。

五、存在的问题及展望

GFP 标记蛋白有很明显的优点,但这项技术还

是有很多的局限性。第一,这种方法需要很高的空间分辨力,培养的细胞要稀疏而且很薄;第二,定量的范围会受到融合蛋白表达水平和显像分辨力的干扰;第三,因为融合蛋白扩散到膜表面需要一定的时间,因此动力学响应在某些情况下可能会受到时间上的限制;第四,由 GFP 标记物本身引起的电势干扰是很难估计的,因为几乎没有其它的方法可以用来做比较;第五,几乎在所有的情况下,细胞内 GFP 标记分子的表达都伴随着一些未标记蛋白的表达。例如,组成高尔基反面网状结构的膜蛋白 TGN38,它的正确功能定位和动力学过程需要在同源系统中低水平的表达,而在非同源系统中表达或在同源系统中高水平表达,则会导致其断裂或被错误地定位^[23]。第六,GFP 的分子量虽然不大(27kDa),但对蛋白功能的影响比一些短的(大约 10 个氨基酸)荧光标记蛋白要大。

GFP 成像技术是生化和分子细胞生物学中飞速发展的一个工具,它已经渗透到了分子生物学、遗传学、动物学、植物学、生理学等其它许多生命科学领域。有了 GFP,培育出奇异的荧光动物和荧光植物已不再是梦想。相信随着基因工程技术和细胞工程技术的日益成熟,GFP 一定可以为我们揭开细胞中许多迄今为止还不为人所知的秘密,掀起一场生物学上的绿色革命。

摘 要

绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)作为一种新型的标记蛋白,已被广泛的应用。它发出的荧光稳定,检测简单,结果真实可靠。GFP 可对活细胞的生理过程进行监控,并且可以用于活细胞中蛋白质分子的定位及动力学研究。其特有的生物化学性质使其在细胞生物学和分子生物学领域有着广泛的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Shimomura O, Johnson FH, Saiga Y, et al., 1962, *J. Cell. Comp. Physiol.*, 59: 223.
- [2] Prasher D, Eckenrode V, Ward W, et al., 1992, *Gene*, 111:229-233.
- [3] Chalfie M, Tu Y, Euskirchen G, et al., 1994, *Science*, 263: 802-805.
- [4] Wachter R M and Remington S J., 1999, *Curr Biol*, 9: R628-R629.
- [5] Siemering KR, Golbik R, Sever R, Haseloff J., 1996, *Curr Biol*, 6:1653-1663.
- [6] Heim R, Douglas CP, Roger YT., 1994, *Proc Natl Acad Sci USA*, 91:12501-12504.

- [7] Inouye S, et al., 1994, *FEBS Lett*, **341**:277.
- [8] Chattoaj M, et al., 1996, *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**:8362.
- [9] Douglas CP, virginia KE, William WW, et al., 1992, *Gene*, **111**: 229-233.
- [10] Cormack BR, et al., 1996, *Gene*, **173**: 33-38.
- [11] Shen K and Meyer T. 1999, *Science*, **284**: 162-166.
- [12] Shi SH, Hayashi Y, Petralia RS, et al., 1999, *Science*, **284**: 1811-1816.
- [13] Siegel MS and Isacoff EY., 1997, *Neuron*, **19**: 735-741.
- [14] Doi N and Yanagawa H., 1999, *FEBS Lett*, **453**:305-307.
- [15] Ellenberg J, et al., 1999, *Trends Cell Biol.*, **9**: 52-56.
- [16] Rigler R, et al., 1993, *Eur. Biophys*, **22**: 169-175.
- [17] Baird G S, et al., 1999, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**: 11241-11246.
- [18] 李侠、章翔, 2000, *癌症*, **19**, 7: 56-58.
- [19] 朱君明、唐镇生、江澄川等. 1999, *中风与神经疾病杂志*, **16**(2): 76-78.
- [20] Xin X, Yu YS, Tsung HC, et al., 1999, *Cell Res*, **9**(3): 201-208.
- [21] Nicola J and Hack. 1995, *Journal of Neuroscience Methods*, **177**-184.
- [22] Moore A, Marecos E, Simonova M, et al., 1998, *Microvas Res.*, **56**(3): 145-153.
- [23] Girotti M, et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 5740-5747.

PAI 与细胞凋亡

彭黎明 颜存粮

(四川大学华西医院检验科 成都 610041)

细胞凋亡(apoptosis)是机体生长发育、细胞分化和病理状态下细胞自主性死亡的过程。其与胚胎形成、器官退化、肿瘤生长和浸润等有密切关系。研究发现,多种蛋白酶解反应及其调控对于细胞凋亡的命运至关重要,包括白细胞介素 1 β 转化酶(ICE)家族蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、纤溶酶原激活物(plasminogen activator,PA)等。尽管 PA 与细胞凋亡的关系还不十分清楚,但纤溶酶原激活物抑制剂(plasminogen activator inhibitor,PAI)作为纤溶酶原激活系统(PAs)的重要调节物,其中 PAI-1 与 PAI-2 是 PAs 主要的特异性抑制物,两者均为丝氨酸蛋白酶抑制物 serpin 家族成员。现将 PAI 与细胞凋亡关系简述如下。

一、PAI 参与细胞凋亡抑制

1. PAI-1

在正常生理状态下,PAI-1 可有效抑制纤溶酶原激活物(PA)激活纤溶酶原(PG)成为纤溶酶(PL)的这一过程。同时,尿激酶型纤溶酶原激活物受体(u-PAR)与尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA)形成的复合物(u-PAR-u-PA)也可催化 PL 的形成。PAI-1 是多种肿瘤预后不良因子,在肿瘤细胞迁移过程中起着重要作用。其一方面可调节 u-PAR 依赖的细胞黏附作用而促进肿瘤细胞的浸润,另一方面通过阻碍玻璃连接蛋白(vitronectin,Vn)与其受体 $\alpha_v\beta_3$ 结合而抑制整合素和玻璃连接蛋白介导的细胞迁移。Gutierrez 等发现,缺乏 PAI-1 基因的转基因鼠

T241 纤维肉瘤细胞浸润能力下降,生长延缓,凋亡指数增加^[1]。Kwaan 等用喜树碱(CAM)和鬼臼乙叉甙(VP16)为诱导物,研究 PAI-1 在 PC-3 前列腺癌细胞和 HL-60 人类早幼粒白血病细胞凋亡中的作用发现,加入稳定变异型和野生型 PAI-1 可明显抑制这些细胞凋亡^[2]。这些结果显示 PAI-1 可能通过抑制细胞凋亡而参与肿瘤生长过程的调节^[1]。因此,抑制 PAI-1 的活性可能对肿瘤的治疗有很大帮助^[2]。

PAI-1 抑制细胞凋亡不仅限于肿瘤细胞。PAI-1 还参与抑制人脐静脉内皮细胞株 HUVEC 和人乳腺上皮细胞株 MCF-10A 等非肿瘤细胞凋亡,这类细胞凋亡是生理方式而非药物诱导,提示 PAI-1 的这种功能可能属生理性^[2]。最近研究还发现,PAI-1 可阻断脂多糖(LPS)激活小神经胶质细胞介导的海马神经细胞凋亡^[3];PAI-1 可通过抑制胰岛素样生长因子结合蛋白-5(IGFBP-5)的形成而抑制鼠乳腺腺细胞凋亡^[4];血管紧张素-1 受体拮抗剂(ATIRA)诱导老年硬化症缓解,并发现患者肾小管及间质细胞凋亡增加,这可能与 ATIRA 使 PAI-1 表达下降而减弱抑制凋亡的作用有关^[5]。

由于细胞分泌的 PAI-1 易发生变构而失活,无活性的 PAI-1 没有凋亡抑制作用。PAI-1 特异性单克隆抗体可促使 PAI-1 发生变构并失去抑制纤溶酶原激活物的活性,同时这种抗体能阻断 PAI-1 的凋亡抑制作用。提示只有活性形式的 PAI-1 具有凋亡抑制作用。进一步研究发现,u-PA 与 PAI-1 形成的