

## 参 考 文 献

- [1] Ben-Ze'ev, A., 1985, *Biochim. Biophys. Acta*, 780: 197—212.
- [2] Burrige, K., 1986, *Cancer Rev.*, 4: 18—78.
- [3] Wong, M. K. K., and A. I. Gotlieb, 1988, *J. Cell Biol.*, 107: 1777—1783.
- [4] Rinnerthaler, G., et al., 1988, *J. Cell Biol.*, 106: 747—760.
- [5] Langanger, G. et al., 1986, *J. Cell Biol.*, 102: 200—209.
- [6] Holtzer, H. et al., 1986, *Bibliothca Anat.*, 29: 109—125. (Karger, Basel).
- [7] Lazarides, E. 1976, *J. Cell Biol.*, 68: 202—219.
- [8] Lin, Z. X. et al., 1989, *J. Cell Biol.*, 108: 2355—2367.
- [9] Chen, W. T. et al., 1986, *J. Cell Biol.*, 103: 1649—1661.
- [10] Akiyama, S. K. et al., 1989, *J. Cell Biol.*, 109: 863—875.
- [11] David-Pfeuty, T. and S. J. Singer, 1980, *Proc. Natl. acad. Sci. USA.*, 77: 6687—6691.
- [12] Carley, W. W. et al., 1981, *J. Cell Biol.*, 90: 797—802.
- [13] Marchisio, P. C. et al., 1987, *Exp. Cell Res.*, 169: 202—214.
- [14] Rohrschneider, L. R. 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77: 3514—3518.
- [15] Sefton, B. M. et al., 1981, *Cell*, 24: 165—174.
- [16] Hunter, T., and J. A. Cooper, 1983, *Progr. Nucl. Acid Res. & Molecular Biol.*, 29: 221—232.
- [17] Stickel, S. K. and Y. L. Wang, 1987, *J. Cell Biol.*, 104: 1521—1526.
- [18] Raz, A. and B. Geiger, 1982, *Cancer Res.*, 42: 5183—5190.
- [19] Volk, T. et al., 1984, *Cancer Res.*, 44: 811—824.
- [20] Lin, Z. X. et al., 1989, *Cell Res.*, (Submitted).
- [21] Chen, W. T. et al., 1984, *J. Cell Biol.*, 98: 1546—1555.
- [22] Hebert, C. A. and J. B. Baker, 1988, *J. Cell Biol.*, 106: 1241—1247.
- [23] Schilwa, M. et al., 1984, *J. Cell Biol.*, 99: 1045—1059.
- [24] Meigs, J. B. and Y. L. Wang, 1987, *J. Cell Biol.*, 102: 1430—1438.
- [25] Lin, Z. X. et al., 1989 *J. Cell Biol.*, 108: 1079—1091.

## 血小板衍生生长因子对细胞的生物学效应

李 敏 孙芝琳

(华西医科大学生化教研室)

七十年代初, Balk<sup>[1]</sup>首次报道在血小板中存在生长因子活性, 在血小板众多组份中, 最主要也最为人熟悉的是血小板衍生生长因子 (Platelet-derived growth factor, PDGF)。人血小板 PDGF 是分子量约 30 KD 的阳离子糖蛋白<sup>[2-4]</sup>, 由 A 链和 B 链两条多肽链通过二硫键连接形成, 还原二硫键将破坏其促细胞分裂活性, 产生分子量 14-17 KD 的多种蛋白质, 对这些蛋白质序列分析的结果, 揭示出存在两种性质不同但却相关的顺序<sup>[5,6]</sup>。猪血小板 PDGF 是由 B-B 链均二聚体组成<sup>[7]</sup>, 而由骨肉瘤细胞产生的 PDGF 则是 A-A 链均二聚

体<sup>[8]</sup>, A 链和 B 链这两种均二聚体同样具有促细胞分裂作用。

血小板是 PDGF 的主要来源, 但近几年也观察到其他种类的细胞产生 PDGF。内皮细胞在调节 PDGF 基因转录的因子的控制下产生 PDGF<sup>[9,10]</sup>; 巨噬细胞在应答受伤组织和出现炎症情况时, 也是 PDGF 的重要来源<sup>[11]</sup>。在正常发育过程中, PDGF 存在于胎盘<sup>[12]</sup>、早期鼠胚<sup>[13]</sup>以及视神经的星形胶质细胞<sup>[14]</sup>。人 PDGF 的结构和猴肉瘤病毒 (Simian Sarcoma Virus, SSV) 癌基因 V-sis 产物——P<sup>28518</sup> 的同源关系, 则第一次指出了在正常生长调节和

肿瘤转化之间有密切联系<sup>[5,16]</sup>。本文主要就 PDGF 的作用机制、细胞效应以及对细胞周期的影响等方面作一简要论述。

### 一、PDGF 的作用机制

PDGF 通过作用于细胞膜的专一受体而发挥其生物学效应。PDGF 受体是分子量为 180—190 KD 的糖蛋白,在完整细胞或膜制备物与 <sup>125</sup>I-PDGF(AB 杂二聚体形成)结合的实验里,发现血管平滑肌细胞、成纤维细胞和胶质细胞均有 PDGF 受体,而在内皮细胞或大多数造血细胞则未观察到<sup>[16,17]</sup>。PDGF 受体在细胞膜外部分上有与免疫球蛋白类似的 5 个结构域(domain),构成结合 PDGF 的位点;在胞浆区则是酪氨酸激酶插入区<sup>[18]</sup>。与表皮生长因子(EGF)、胰岛素、集落刺激因子-1(CSF-1)和生长调节素 C 的受体相似,PDGF 受体具有内在的酪氨酸激酶活性<sup>[19]</sup>。PDGF 和受体结合后,激活酪氨酸激酶,这样促细胞分裂信号转导通过了细胞膜。考虑到 PDGF 受体与其他生长因子受体和一组癌基因产物都具有酪氨酸激酶活性,提示 PDGF 受体激酶的底物有可能参与细胞内信息链。有实验证实当 PDGF 刺激细胞后,PDGF 受体酪氨酸磷酸化<sup>[20]</sup>。

磷脂酰肌醇和 4-磷酸-磷脂酰肌醇是 Src 和 ros 癌基因产物的底物,也是与酪氨酸激酶活性有关的生长因子受体的底物。磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸在磷酸脂酶 C 的作用下,分解生成具有细胞效应的两种化合物:激活蛋白激酶 C 的二乙酰甘油和动员贮存于细胞内 Ca<sup>2+</sup> 释放的三磷酸肌醇。分析蛋白激酶 C 在肿瘤形成和 Ca<sup>2+</sup> 在细胞生长中所发挥的作用,对于我们理解 PDGF 的作用机制是很有启发的。Habenicht 等人<sup>[21]</sup>观察到在 Swiss 3 T 3 细胞,PDGF 刺激磷脂酶活性,释放出二乙酰甘油,二乙酰甘油进一步水解生成乙酰甘油和花生四烯酸。PDGF 对细胞具有较低类的 EGF 结合<sup>[22]</sup>,该效应通过与 EGF 受体结合介导,由此降低 EGF 受体对其配体的亲和力。这一过

程在激活蛋白激酶 C 时发生,蛋白激酶 C 使 EGF 受体磷酸化,导致受体转调(receptor transmodulation)发生,因该过程受细胞内高浓度 cAMP 的影响,所以也可能涉及到依赖于 cAMP 的蛋白激酶。

有文献报道<sup>[23]</sup>,加入 PDGF 到静止期的人纤维细胞,观察到胞浆游离的 Ca<sup>2+</sup> 浓度迅速地提高了 3 倍,PDGF 动员细胞内 Ca<sup>2+</sup> 的释放。该作者认为这一效应可能是在磷脂酰肌醇的转换过程中,形成三磷酸肌醇的同时伴随着二乙酰甘油的释放而受到调节的。Ca<sup>2+</sup> 浓度的提高可以作为生长因子作用的起始信号。

PDGF 和其他生长因子一样,刺激核糖体蛋白 S 6 上丝氨酸残基磷酸化<sup>[24]</sup>。S 6 的磷酸化是与提高蛋白质合成的活性相一致的,由生长因子诱导的这一现象与分裂细胞要求增加蛋白质的合成可能有联系。Balb/c 3 T 3 细胞经 PDGF 刺激后,几小时内合成了多种蛋白质,其中分子量为 35 KD 的蛋白为主要的分泌性蛋白质。此外,PDGF 刺激人成纤维细胞生长调节素 C 的合成<sup>[25]</sup>。3 T 3 细胞本身不合成生长调节素 C,需要加入外源性生长调节素 C,所以内源性生长调节素 C 的合成,在 PDGF 诱导的人成纤维细胞促分裂途径中为必需的环节。有意义的是,PDGF 还使生长调节素 C 受体数目增加,以提高对生长调节素 C 的细胞应答。

### 二、PDGF 的细胞效应

PDGF 的细胞效应主要包括激活氨基酸运输、液相内吞作用、蛋白质合成、脂质合成以及氨基葡萄糖聚糖合成等。

生长细胞需要胆固醇来进行胞膜合成,PDGF 以两种机制提高胆固醇的利用:直接刺激胆固醇合成;提高 LDL 结合能力以使大量外源性胆固醇摄入。PDGF 刺激前列腺素的合成,当细胞与 PDGF 和 VLDL 或 LDL 共同作用时,前列腺素的合成显著增加,<sup>[26]</sup> PDGF 的作用主要通过增加 LDL 受体的表达和 LDL

的摄取,该应答是依赖于LDL受体介导的相互作用的。Coughlin等<sup>[27]</sup>发现PDGF刺激小牛主动脉血管平滑肌细胞和肾内皮细胞环前列腺素的合成,使血管扩张并抑制血小板聚集。PDGF通过刺激前列腺素E<sub>2</sub>,影响新生鼠颅盖的骨吸收作用,且通过花生四烯酸的脂氧合酶产物的形成,刺激平滑肌细胞的趋向性。有人观察到PDGF刺激Swiss 3 T 3细胞前列腺素E型的合成<sup>[28]</sup>,这可能是由在PDGF刺激后所提高的cAMP浓度调节的。在Swiss 3 T 3细胞和哺乳类上皮细胞,cAMP浓度的提高与生长促进有关,而对于平滑肌细胞和人成纤维细胞则抑制生长。

PDEF、EGF和转化生长因子β(TGF-β)刺激人真皮成纤维细胞后,胶原蛋白酶的活性提高3倍<sup>[29]</sup>,细胞和PDGF接触8—10小时,开始分泌胶原蛋白酶。由于该酶的作用涉及到胶原蛋白降解的限速步骤,因而PDGF的刺激效应除了为有丝分裂制造细胞外环境的可能作用外,胶原酶在伤口愈合、胎盘形成、发育过程以及涉及到软骨损伤的关节炎等病理状况都是很重要的。

PDGF对细胞形态具有意想不到的效应。人脑胶质细胞在有PDGF的培养液中,其形态几天后与对照细胞明显不同,呈不规则样,以具有长的胞浆突出为最显著的特征<sup>[30]</sup>,这在3 T 3细胞更为突出。PDGF刺激3 T 3细胞后,形态变化类似转化细胞,这与癌基因的转化理论是一致的,PDGF至少具有部分共同的促细胞分裂途径。有作者提出<sup>[31]</sup>,当V-sis癌基因在有PDGF受体的细胞内表达时,其编码蛋白通过激活受体进入细胞,引起细胞转化。PDGF的快速形态学效应包括了肌动蛋白细丝的迅速重组,当PDGF加入到人脑胶质细胞,几分钟后在细胞背侧表面形成大的环形褶边。起皱的活性是短暂的,2—3小时后仅见残余部分,在3 T 3细胞也观察到类似效应。

PDGF诱导结缔组织细胞,如成纤维细胞和平滑肌细胞的趋向性应答,而其他的促细胞

分裂剂对间质细胞没有这一作用,达到最大趋向活性所需PDGF的剂量与达到最大促细胞分裂刺激的要求是一致的<sup>[32]</sup>。细胞趋向性可能是由调节促细胞分裂信号的另一受体所介导。作为与创伤愈合有关的“激素”,在刺激细胞增殖之前,PDGF的化学吸引性质使细胞到受伤部位显然是很关键的。刺激增殖和趋向性的结合,导致新细胞的产生和沉积新的细胞外基质,受刺激的细胞迁移至受伤区域进行再生,结果形成组织。一般来讲这一效应发生于伤口愈合期,作为组织被破坏后的正常生理反应。不过要注意的是,过份激活该途径,会涉及到细胞的病理反应,如临床上的动脉粥样硬化,骨髓纤维化和硬皮症,就被认为与PDGF的增殖过度有关。

### 三、PDGF的细胞周期效应

对生长因子的细胞周期效应的研究一般是在“促进”(Step-up)实验中进行。PDGF能刺激停滞于G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub>细胞周期的成纤维细胞、神经胶质细胞、平滑肌细胞等进入分裂增殖周期。对Balb/c 3 T 3细胞复制前相的剖析,证实了由生长因子控制的“感受态”(competence)和“促进态”(progression)这两种不同的细胞周期事件。PDGF与细胞短暂接触后使其“感受”进行DNA复制,但只有在与血浆或第二类生长因子(促进类生长因子)相接触后才进行复制前相的“促进”。所以在细胞周期中,感受态与促进态因子依次有效地起作用,PDGF作为感受态因子,以诱导“感受”状态。

Pledger等<sup>[33]</sup>认为Balb/c 3 T 3细胞感受态的形成是一个迅速的过程。在最适PDGF浓度,不到两小时大多数细胞成为感受态,感受状态相当稳定,在除去PDGF后还可以维持12小时之久。在细胞融合实验中,感受态可以从胰蛋白酶处理了的、与PDGF有接触的细胞转移到非接触细胞<sup>[34]</sup>,当细胞外PDGF被其抗体中和后,感受态依然存在<sup>[35]</sup>。细胞内cAMP浓度的提高,增强了PDGF对感受态形

成的刺激作用<sup>[36]</sup>。细胞在形成感受态后,应答类胰岛素生长因子或 EGF 等第 2 类生长因子的信号。

在静止期 Balb/c 3 T 3 细胞, DNA 合成起始受多肽生长因子 (PDGF、EGF 和生长调节素 C) 的控制, 但尚不清楚这一细胞周期模式是否可应用于培养的正常细胞。Betsholtz 等<sup>[37]</sup>指出, PDGF 和 EGF 在最适浓度可产生相当强的生长刺激信号, 但当达到最大刺激活性时, 增加生长因子的浓度并不发挥增效作用。观察 PDGF 和 EGF 对人成纤维细胞的影响, 细胞在与 PDGF 接触 4 小时或与 EGF 接触 11 小时后, 可达 1/2 最大刺激效应, 这一时间不能因增加生长因子浓度而缩短, 这与 Balb/c 3 T 3 细胞有所不同。对 PDGF 和 EGF 在细胞周期中的作用还将进一步研究。

#### 四、前 景

PDGF 因其促细胞分裂作用以及与 SSV 癌基因产物具高度同源性的特殊性质, 已作为研究生长控制机制有价值的对象。本文仅仅是对 PDGF 作用于细胞引起生物学效应方面作了一些论述, 继续的研究将是深入分析在经 PDGF 诱导后, 一连串的早期细胞事件与膜的关系, 从而涉及到生长刺激特异基因表达调节的信号系统。80 年代以来, 对高度纯化的 PDGF 的研究, 在细胞和分子生物学领域提供了不少很有意义的实验结果, 但需要进一步阐明的是 PDGF 在人生理和病理生理学中可能的作用, 以说明 PDGF 在正常组织修复以及某些非恶性增殖疾病中的功能。要深入了解这些问题, 需要更灵敏的分析方法, 甚至超过原位分析。围绕着 PDGF 是血小板释放产物这样一个事实, 作出了对 PDGF 的生理意义的推论, 但希望引起人们注意, PDGF 具有更广泛的功能, 诸如正常胚胎形成、发育方面。

#### 摘 要

PDGF 是血小板主要成分, 是强有力的促

细胞分裂剂, 刺激多种类型细胞的分裂和增殖, 具有广泛的细胞生物学效应。本文讨论了 PDGF 的作用机制, 认为与酪氨酸激酶有关; 简述了 PDGF 的细胞效应; 对影响细胞周期的因素进行了探讨, 并提出了今后对 PDGF 研究的可能方向。

#### 参 考 文 献

- [1] Balk S.D., 1971, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68: 271.
- [2] Antoniades H.N., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 7314.
- [3] Heldin C.-H., et al., 1981, *Biochem. J.*, 193: 907.
- [4] Deuel T.F., et al., 1981, *J. Biol. Chem.*, 256: 8896.
- [5] Waterfield M. D., et al., 1983, *Nature*, 304: 35.
- [6] Antoniades H.N., 1983, *Science*, 220: 963.
- [7] Stroobant P and Waterfield M.D., 1984, *EMBO J.*, 3: 2963.
- [8] Heldin C.-H., et al., 1986, *Nature*, 319: 511.
- [9] Daniel T.O., et al., 1986, *J. Biol. Chem.*, 261: 9579.
- [10] Kavanaugh W.M., et al., 1988, *ibid*, 263: 8470.
- [11] Shimokado K., et al., 1985, *Cell*, 43: 277.
- [12] Goustin A. S., et al., 1985, *ibid*, 41: 301.
- [13] Rappolee D.A., et al., 1988, *Science*, 241: 1823.
- [14] Richardson W.D., et al., 1988, *Cell*, 53: 309.
- [15] Devare S.G., et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 731.
- [16] Glen K., et al., 1982, *J. Biol. Chem.*, 257: 5172.
- [17] Williams L.T., et al., 1984, *ibid*, 259: 5287.
- [18] Williams L.T., 1989, *Science*, 243: 1564.
- [19] Yarden Y., et al., 1986, *Nature*, 323: 226.
- [20] EK B., et al., 1984, *J. Biol. Chem.*, 259: 11145.
- [21] Habenicht A. J. R., et al., 1985, *J. Clin. Invest.*, 75: 1381.
- [22] Collins M. K. L., et al., 1983, *J. Biol.*

- Chem*, 258: 11689.
- [23] Moolenaar W. H., et al., 1984, *ibid*, 259: 8066.
- [24] Chambard J. C., et al., 1983, *ibid*, 258: 1706.
- [25] Ciemmons D. R., et al., 1981, *J. Clin. Invest*, 67:10.
- [26] Habenicht A. J. R., et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83: 1344.
- [27] Coughlin S. R. et al., 1981, *ibid*, 78: 7134.
- [28] Rozengurt E., et al., 1983, *Cell*, 34: 265.
- [29] Chua C. C., et al., 1985, *J. Biol. Chem*, 260: 5213.
- [30] Heldin C. -H., et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 6611.
- [31] Keating M. T. and Williams L. T., 1988, *Science*, 239: 914.
- [32] Grotendorst G., et al., 1982, *J. Cell. Physiol*, 113:261.
- [33] Pledger W. J., et al., 1977, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75: 2839.
- [34] Smith J. C., et al., 1981, *ibid*, 78:4365.
- [35] Singh J. P., et al., 1983, *J. Cell. Biol*, 96: 1497.
- [36] Wharton W., et al., 1982, *J. Cell. Physiol*, 111: 201.
- [37] Betsholtz C., et al., 1984, *ibid*, 113: 203.

## erbB 族癌基因的结构和功能

陈 汉 源

(第一军医大学生物教研室)

癌基因研究加深对细胞转化和动物致癌的理解,并在肿瘤临床有广阔的应用前景。

### 一、v-erbB 的结构和表达

将鸟成红细胞增多症病毒(AEV)注射到雏鸡静脉内,诱发生成红细胞增多症(红白血病)、注射到肌肉中引起纤维肉瘤,也能在体外转化鸡骨髓的成红细胞和鸡胚的成纤维细胞。这是复制缺陷型病毒,含有 erbB 癌基因。AEV-R (同 AEV-ES 4) 的基因组全长 5.5 kb, 5'- $\Delta$ gag-erbA-erbB- $\Delta$ env-3', 其中 erbB 顺序长 1900 bp。转化细胞表达<sup>[1,2]</sup>: (1) 由 5.4 kb mRNA 转译成融合蛋白 p74 <sup>$\Delta$ gag-erbA</sup>, 含有残留的 gag 蛋白的 N 端部分和 crbA 蛋白 p50。(2) 由 3.5 kb mRNA 转译 p61<sup>erbB- $\Delta$ env</sup>。在转化细胞中, v-erbB 最初合成 p61, 经过葡萄糖化和磷酸化成为 p66, p68 和 p74, 并从细胞质转输到质膜内。在体外则由此转录本的断片合成 p41<sup>erbB</sup>(图 1)。其次, AEV-H 基因组为 5'-gag-pol-erbB-3', 其中 erbB 顺序长 1812 bp, 推定编码 p68 蛋白<sup>[3]</sup>。在转化细胞中, AEV-H 前病毒 DNA 长 7.8 kb, 合成 p41、

p45 和 p60, 为不含 gag 的 erbB 蛋白。在 AEV-H td 130 突变体中, erbB 的 3' 端缺失 169 n(核苷酸), 能诱发鸡肉瘤, 但不引起成红细胞增多症。这是由于 erbB 蛋白的 N 端部分能转化成纤维细胞, 而其 C 端 1/3 部分为转化成红细胞所必需<sup>[2]</sup>。Frykberg(1983)<sup>[4]</sup>构建成 AEV-erbA<sup>-</sup>B<sup>+</sup> 突变体, 其中 erbA 缺失 0.5 kb。这能在体外转化成纤维细胞, 并使骨髓细胞形成红细胞样小群落, 诱发鸡肉瘤和不典型的红白血病。所构建的 AEV-erbA<sup>+</sup>B<sup>-</sup> 突变体

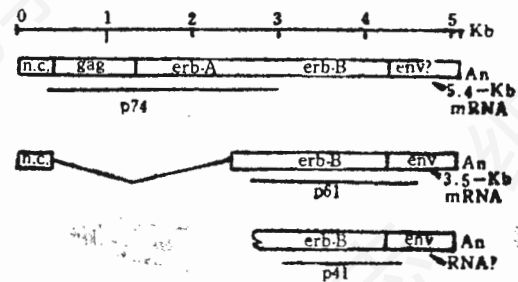


图 1 AEV-R 基因组及其表达图解

横线代表合成的多肽, n. c. 代表 5' 端不编码的前导顺序。