

# 细胞的表皮生长因子及其受体

徐永华

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

细胞生物学研究领域的中心问题之一是阐明细胞增殖和相关基因表达的调控物质及其控制机制。

有一类被称为细胞生长因子(Growth Factor)的多肽类物质已证明与细胞增殖的控制有关,并能影响细胞的分化。众所周知,在体外培养条件下正常二倍体细胞的增殖依赖于培养液中血清成分的存在,而在血清中起有丝分裂原作用的成分中就包括很多种细胞生长因子。在缺少合适的有丝分裂原存在时,正常细胞离开分裂周期,可逆地停留在 $G_1/G_0$ 期,成为静止细胞。但是,肿瘤细胞对培养液中血清成分的需要明显减少,甚至可能在无血清成分的培养基中增殖。这是因为很多病毒或化学致癌物诱发的或自发转化的恶性细胞能自身产生某种生长因子,并通过和细胞表面专一受体结合,对细胞产生自我刺激,促进细胞增殖。肿瘤细胞的这一特性被 Sporn 和 Todaro 称为自生性(Autocrine)<sup>[1]</sup>。

正常细胞的增殖受外源生长因子的控制,而肿瘤细胞的自主性生长可能与细胞中生长因子或其受体基因结构与表达的异常有关。因此,从细胞生物学和分子生物学水平研究细胞生长因子及其受体的结构与功能,将有助于阐明细胞增殖和基因表达的控制机制。

已经发现的细胞生长因子有很多种,其中研究和了解得较多的有以下几类:

1. 表皮生长因子族,包括表皮生长因子(EGF)和转化生长因子 $\alpha$ (TGF- $\alpha$ )。

2. 血小板生长因子族,包括血小板来源生长因子(PDGF),骨肉瘤来源生长因子

(ODGF)。

3. 胰岛素族,包括胰岛素,类胰岛素生长因子 I (IGFI)和类胰岛素生长因子 II (IGF II)等。

4. 其他。例如, T 细胞生长因子(IL-2)等。

本文综述细胞表皮生长因子及其受体的结构与功能,以及最近几年在分子生物学水平上的研究进展。

## 一、表皮生长因子(EGF)

### 1. 结构和性质

二十多年前, Cohen 将小鼠颌下腺抽提物注射给新生小鼠,结果诱导小鼠的眼睑提早张开,因为注射物促进了表皮的生长。Cohen 分离了产生这一效应的因子,发现它是一个小分子量、热稳定、不可透析的多肽,称它为表皮生长因子(EGF)<sup>[2]</sup>。进一步研究表明,小鼠的 EGF 是一条有 53 个氨基酸残基的多肽链。分子内有三个二硫键,用巯基乙醇或尿素将二硫键还原,EGF 的活力就丧失。

人的 EGF 和小鼠 EGF 有同样的生物活性和共同的抗原性。令人非常惊奇的是人的 EGF 和人的尿抑胃激素(urogastrone)有十分相似的结构和功能。从人尿液分离的 EGF 和尿抑胃激素都能在放射受体测定中与<sup>125</sup>I 标记的小鼠 EGF 竞争。尿抑胃激素和 EGF 各有 53 个氨基酸残基,其中 37 个是相同的,而且三个二硫键的位置也相同。它们还有几乎相同的生物学效应,小鼠 EGF 能抑制胃的分泌,而尿抑胃激素能促使新生小鼠眼睑张开。

EGF 在颌下腺中有较多的贮存,同时也可在人和动物的体液如尿液、乳汁和血液中发现。可见,EGF 不是局限在一个特定的组织或器官中合成,而可能是很多种细胞在特定生理条件下的产物。

## 2. 功能

利用体外培养的细胞研究 EGF 的生物学功能,表明 EGF 对很多种细胞有着多效性作用<sup>[3]</sup>(Pleiotropic action)。从时间上划分,EGF 的作用可以分为瞬时效应(1小时以内)和长时效应(几小时到几天)。当 EGF 和细胞表面受体结合后,立即促使膜蛋白磷酸化,细胞表面起皱,EGF 和受体结合的复合物被内吞进入细胞,无机离子和氨基酸的转移增加等等。细胞对 EGF 的瞬时效应,主要是涉及细胞的一些代谢活动。EGF 作用细胞一小时以后,细胞的蛋白质合成逐渐增加,EGF 和受体在细胞内降解,随后,细胞开始合成新的 RNA,并开始合成 DNA,为细胞分裂作准备,最后导致细胞的分裂。

EGF 除了能促进很多类细胞在体内、体外的增殖,起着有丝分裂原的作用外,还能影响某些组织的形态发生,调节细胞的表型表达。用低于诱导细胞增殖所需浓度的 EGF 作用于小鼠 3T3 细胞,就能诱导细胞表面纤维结合蛋白(Fibronectin)出现。另一个例子是 EGF 对垂体细胞合成生长激素(GH)和催乳激素(prolactin)的调节作用<sup>[4]</sup>。垂体细胞合成生长激素和催乳激素是受到多种激素控制的。用甲状腺素和地塞米松处理细胞,能诱导合成生长激素,但催乳激素的合成则受抑制。如换用 20 ng/ml EGF 处理细胞 48 小时,则生长激素的合成被抑制,却又促进了催乳激素的合成。EGF 对这两种激素基因表达的调节作用,可能是 EGF 影响靶细胞的染色质结构,从而增加了转录起始位点。

EGF 对细胞的生物学效应是通过和细胞表面专一受体的相互作用,以及随之发生的 EGF—受体复合物的内吞作用来实现的。在

这些作用发生过程中,某些信号分子被释放出来,起着调节细胞活动的功能。有人曾经利用微量注射方法将 EGF 注入细胞,表明这种游离存在的 EGF 不起有丝分裂原的作用。

EGF 及其受体结合的复合物在发生内吞作用时被吸入笼形结构蛋白(clathrin)中,然后形成一个囊体进入细胞,被称为内吞的受体复合物(Receptosome 或 Endosome)。囊体移动到网状高尔基器进行某些加工后,再输送到溶酶体上,在那里 EGF 和它的受体被降解<sup>[5]</sup>。

## 二、表皮生长因子受体(EGF receptor)

### 1. 结构

EGF 受体(EGFR)是一个分子量为 170 kd 的糖蛋白,带有内在的酪氨酸专一的蛋白质激酶活力。在 EGF 和其受体结合时,受体分子内的激酶活力就被活化。

图 1 是 EGFR 的结构模式<sup>[6]</sup>。在 EGFR 的氨基端有一个 24 氨基酸的信号肽,从前身物分解除去信号肽就产生成熟的含有 1186 氨基酸的 EGFR 蛋白。整个受体分子可分为三部分:621 氨基酸的氨基端区域,542 氨基酸的羧基端区域和中间部位由 26 个偏疏水氨基酸组成的越膜区域。氨基端区域是在细胞外能与 EGF 结合的部分,包含有 12 个糖苷化位置。羧基端区域是在细胞质内的部分,具有蛋白质激酶活力。

1984 年 2 月 Waterfield 等报告<sup>[7]</sup>,EGFR 和鸟类成红细胞增多症病毒癌基因 v-erbB 的转化蛋白 gp 65<sup>erbB</sup> 有相似的氨基酸顺序。他们分析了 14 个胰酶消化的 EGFR 多肽片段,发现其中 6 个片段的 83 个氨基酸中有 74 个氨基酸残基的顺序和 gp 65<sup>erbB</sup> 的顺序相同。erbB 仅有 604 个氨基酸。EGFR 的另 8 个多肽片段超出了 erbB 的分子范围。这是继 1983 年报告血小板来源生长因子 PDGF 和猴肉瘤病毒癌基因 sis 的转化蛋白 P 28<sup>sis</sup> 有相同的氨基酸顺序<sup>[8]</sup>之后的第二个重要发现。细胞生长因子及其受体与癌基因的关系引起世界各国科学家的极大

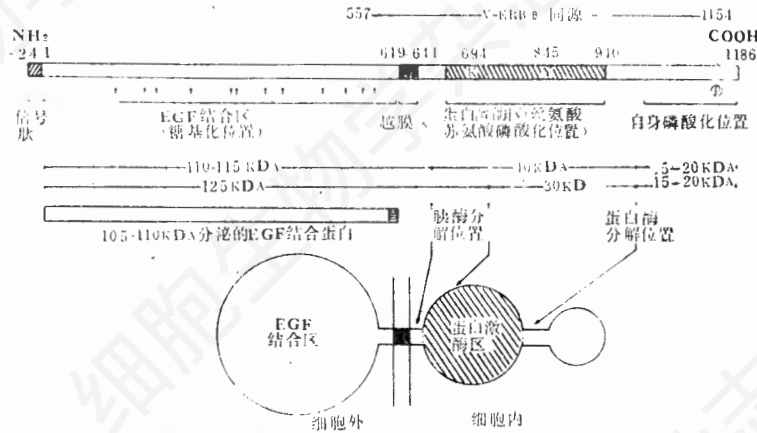


图1 表皮生长因子受体结构的图解

兴趣和重视。

1984年4—6月美国三个实验室先后报告分离了EGFR的cDNA克隆,研究EGFR基因的表达<sup>[9-12]</sup>。徐永华等构建了人表皮癌细胞株A 431的cDNA库,并利用EGFR和erbB氨基酸顺序相似的特点,以erbB的BamHI-BamHI片段为探针筛选cDNA库,获得了EGFR的cDNA克隆<sup>[9,11]</sup>。与此同时,Ullrich等根据EGFR N端的氨基酸顺序合成了一个51 bp的核苷酸链作探针进行筛选<sup>[10]</sup>,Lin等利用免疫筛选的方法<sup>[12]</sup>,也分别从A 431细胞的cDNA库中分离到了EGFR的cDNA克隆。

对EGFR cDNA的顺序分析说明<sup>[10,11]</sup>,在EGFR的氨基端有一段成熟蛋白内不存在的24氨基酸的信号肽。在整个EGF结合区内有51个半胱氨酸残基,而且集中在各为170个氨基酸的两个区段内。EGFR的细胞内区域,从离开越膜区50个氨基酸的残基No. 694开始,有长达250个氨基酸的蛋白质激酶区,这个区段内的氨基酸顺序不仅和erbB同源,而且与Src基因家族成员之蛋白质激酶部分的顺序十分相似。EGFR羧基端的最后240个氨基酸不和任何已知蛋白质有同源性。

## 2. EGFR的mRNA

用EGFR cDNA为探针进行Northern杂交分析,表明在很多种正常和恶性的组织和细

胞中(包括人的胎盘组织、成纤维细胞、肾癌细胞、卵巢癌细胞、宫颈癌细胞、表皮癌细胞和胶质瘤细胞)都有10 kb和5.6 kb两种EGFR的mRNA<sup>[13,10]</sup>。这两种mRNA都具有编码EGFR的信息,但是它们之间的关系还不清楚。A 431细胞有异常高的EGFR基因的表达,其细胞膜上EGFR的含量达到 $2-3 \times 10^6$ 分子/细胞的水平,比其它细胞株高50倍左右。Northern杂交表明,A 431细胞除了含有比其它细胞丰富的10 kb和5.6 kb EGFR mRNA之外,还存在一种能与EGFR cDNA杂交的、含量十分丰富的2.9 kb mRNA<sup>[10,11,12]</sup>。这种mRNA在大多数正常和肿瘤细胞中检测不到。现在知道的唯一例外是,人脑胶质瘤细胞中也发现有能与EGFR cDNA杂交的2.8 kb mRNA。目前尚无实验证明脑胶质瘤细胞的2.8 kb mRNA与A 431细胞2.9 kb mRNA的关系。用EGFR cDNA的不同片段作探针进一步分析A 431细胞的2.9 kb mRNA,证明它由两部分核苷酸顺序组成,其5'端带有编码EGFR N端氨基酸顺序的信息,而3'端是一段未知功能的核苷酸顺序<sup>[14]</sup>。分子中不包含有EGFR的越膜区和蛋白激酶区顺序的信息。A 431细胞除了具有大量固定于细胞表面的EGFR分子外,还向细胞外分泌一种剪短了的EGFR分子<sup>[15]</sup>。推测这种可分泌的EGFR片段可能是

由 2.9 kb mRNA 编码的。

### 3. 基因分析

EGFR 的结构基因定位于人 7 号染色体的  $p^{13}-q^{22}$ <sup>[16]</sup>。A 431 细胞的染色体是亚四倍体, 它带有两个拷贝的 7 号染色体和两个包含有 7 号染色体  $p^{22}-q^{10}$  区域及一段未知染色体的易位染色体 M 4 和 M 14。用 A 431 细胞和小鼠 A 9 细胞融合的杂交细胞检查结合 EGF 的能力, 发现 A 431 细胞中 EGFR 的高度表达与标记染色体 M 4 有关<sup>[17]</sup>。Southern 杂交分析表明, 在 A 431 细胞中 EGFR 的基因被放大了 30 倍以上<sup>[14]</sup>, 并且有 EGFR 基因的重排<sup>[18]</sup>。因此, EGFR 基因在 A 431 细胞中的过度表达是 EGFR 基因被易位、重排, 导致基因放大的结果。

对 EGFR 基因的深入分析正在进行之中。现有实验资料表明<sup>[19]</sup>, EGFR 基因的 5' 侧翼区具有和大多数真核生物基因很不相同的特征。EGFR 基因的起动机(Promoter)区有很高的 G + C 含量(88%), 包括 6 个(CCGCCC)和 4 个([TCC]TCCTCCTCC)重复顺序。EGFR 基因的起动机不含有典型的 TATA 或 CAAT 顺序。但它却有 6 个转录 RNA 的起始位置。EGFR 基因起动机区的结构和 HMG CoA 还原酶的起动机和 SV 40 早期起动机的结构相似, 这种独特结构对 EGFR 基因表达的调控作用有待进行深入研究来说明。

### 三、表皮生长因子及其受体与癌变的可能关系

EGF 对多种体外培养细胞具有有丝分裂原的功能和影响分化的能力, 但至今还没有报告说明 EGF 具有直接转化培养的二倍体细胞的作用。然而 EGF 和 EGFR 与某些癌基因在结构、功能上的联系<sup>[7, 21]</sup>, 与促癌物的相似的生物学效应<sup>[22, 25]</sup>以及和转化生长因子的协同作用<sup>[20]</sup>等都表明了 EGF 和 EGFR 可能和某些细胞的癌变密切相关。

EGFR 和癌基因 erbB 转化蛋白在氨基酸

顺序上的同源性<sup>[7]</sup>从结构上说明了两者的内在联系; 而 EGF 与癌基因 ras 的关系则又提示了它对癌基因转化能力的调节作用<sup>[21]</sup>。癌基因 ras 编码分子量为 21 kd 的转化蛋白 P 21, P 21 能与鸟嘌呤核苷酸(GTP)结合, 促使蛋白自身磷酸化, 其转化能力与蛋白的结合 GTP 和磷酸化程度有关。EGF 作用于小鼠肉瘤病毒转化的 RK 细胞, 具有明显促进细胞内 P 21 蛋白与 GTP 相结合和自身磷酸化的作用。

在癌发生过程中, 促癌物对细胞有丝分裂和分化状态的改变起了重要作用。实验证明 EGF 和促癌物有某些相似的生物学效应。当促癌物噁吩脂(phorbol ester)和 EGF 分别作用于人口腔粘膜上皮癌细胞株 KB 时, 都引起细胞表面 EGFR 的下行调节(down regulation), 而且又都伴随着对 EGFR mRNA 合成的促进<sup>[22]</sup>。EGF 作用于 A 431 细胞, 能快速而短暂地诱导细胞内原癌基因 fos、myc 的表达。促癌物 TPA 对 A 431 细胞具有同样的作用<sup>[24]</sup>。这些实验不仅表明 EGF 和促癌物对细胞基因表达有着相仿的调控机制, 也提示了 EGF 与癌基因活力的密切关系。

EGF 没有直接转化细胞的能力, 但是它与转化生长因子(TGF)的关系十分引人注目。小鼠肉瘤病毒转化的 3 T 3 细胞释放出一类多肽因子, 具有转化正常细胞的能力, 被称为肉瘤生长因子<sup>[23]</sup>, 由于其具有转化细胞的能力, 后来就被称为转化生长因子(TGF)。TGF 包括 TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  和最近发现的 TGF- $\gamma$ 。具有转化活性的 TGF- $\alpha$  和 EGF 的氨基酸顺序有 40% 相同, 而且 TGF- $\alpha$  与 EGF 竞争共同的受体 EGFR。TGF- $\beta$  单独作用不能转化正常细胞, 只有和 TGF- $\alpha$  或 EGF 共同作用才有转化活性。TGF- $\beta$  作用于正常大鼠肾(NRK)成纤维细胞, 能提高靶细胞的 EGFR 水平, 如有 EGF 同时存在, NRK 成纤维细胞就被转化, 而且细胞中 EGFR 的增多与 TGF- $\beta$  的转化能力呈平行关系<sup>[20]</sup>。虽然, 对 EGF 和 TGF- $\beta$  转化正常细胞的协同作用的机制还不了解, 推测 EGF 和

EGFR 在转化过程中是起了传递信号的重要作用的。

综合上述研究资料, EGF 或是单独或是和其它因素协同, 对细胞的正常和异常生长、分化都有着重要的调控作用。进一步深入研究 EGF 和 EGFR 在正常发育、生长、分化和恶性转化中作用之分子机制, 都是很有意义和引人入胜的。

包括 EGF 在内的细胞生长因子对细胞增殖和分化的影响, 都依赖于从生长因子受体到细胞核之间的一条信息传递系统。这条信息系统包括特定基因的表达, 活性蛋白的翻译和修饰以及其他信号分子的调节等。信息系统上任何一个调节成分活性的改变都会对细胞的增殖和分化发生影响。某些细胞癌基因有可能在这条信息传递系统中起着重要作用。随着对生长因子及其受体基因结构和功能的认识之深入, 有可能对其控制细胞生长、分化机制的研究取得更加令人鼓舞的进展。

#### 参 考 文 献

- [1] Sporn M. B. and Todaro G. J., 1980, *The New English Journal of Medicine*, 303: 878.
- [2] Cohen S., 1962, *J. Biochem.*, 237: 1555.
- [3] Fox C. F. et al., 1982, *Federation Proceedings*, 41: 2988.
- [4] Martial J. A. et al., 1977, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74: 4293.
- [5] Pastan I. and Willingham M. C., 1983, *Trends Biochem. Sci.*, 8: 250.
- [6] Hunter T., 1984, *Nature*, 311: 414.
- [7] Downward J. et al., 1984, *Nature*, 307: 521.
- [8] Waterfield M. et al., 1983, *Nature*, 304: 35.
- [9] Xu Y. H. et al., 1984, Abstract, 1984 meeting on "RNA Tumor Viruses" at Cold Spring Harbor. P. 91.
- [10] Ullrich A. et al., 1984, *Nature*, 309: 418.
- [11] Xu Y. H. et al., 1984, *Nature*, 309: 806.
- [12] Lin C. R. et al., 1984, *Science*, 224: 843.
- [13] Xu Y. H. et al., 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 7308.
- [14] Merlino G. et al., 1985, *Cell*, in press.
- [15] Weber W. et al., 1984, *Science*, 224: 294.
- [16] Kondo I. and Shimizu N., 1983, *Cytogenet. Cell Genet.*, 35: 9.
- [17] Shimizu N. et al., 1984, *Somatic Cell and Molecular Genetics*, 10: 45.
- [18] Merlino G. et al., 1984, *Science*, 224: 417.
- [19] Ishii S. et al., 1985, *Cell*, in press.
- [20] Assoian R. K. et al., 1984, *Cell*, 36: 35.
- [21] Kamata T. and Feramisco J. R., 1984, *Nature*, 310: 147.
- [22] Clark A. J. L. et al., 1985, Submitted.
- [23] De Larco and Todaro G. J., 1978, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74: 2790.
- [24] Bravo R. et al., 1985, *EMBO J.*, 4: 1193.

## 真核基因组研究的一些进展

陈 汉 源

(第一军医大学生物教研室)

基因组是物种的基本属性。在个体发育中, 每单倍体 DNA 含量(C)保持恒定, 然不乏例外<sup>[1,2]</sup>。在种属演化中, C 值逐渐增大, 但也

出现矛盾<sup>[3,4]</sup>。这是生物学中心问题之一。包括:(1) 近缘物种之间 C 值相差悬殊, 在两栖类中相差 25 倍, 毛茛科中相差 40 倍。(2) 机体

mutations in *Drosophila melanogaster*.  
*Science* 170, 695—706  
 Stern C (1954) Genes and developmental  
 patterns. *Caryologia (Suppl.)* 6, 355—369  
 Toyama K (1912) On certain character-  
 istics of the silkworm which are appa-  
 rently non-Mendelian. *Biol. Zbl.* 32, 593—  
 607  
 Weismann A (1885) *Die Continuität des*

*Keimplasmas als Grundlage einer Theorie  
 der Vererbung.* Jena: G. Fischer  
 Weismann A (1892) *Das Keimplasma.  
 Eine Theorie der Vererbung.* Gustav Fi-  
 scher Verlag, Jena (English edition: Roe-  
 nnefeldt, London 1893)  
 Wilson E B (1896) *The cell in develop-  
 ment and inheritance.* The Macmillan  
 Company, New York

(上接第 61 页)

- [17] 陈振国, 姚 鑫, 1984, 实验生物学报, 17:  
 253—261.
- [18] Rayner, M. et al., 1982, *J. Cell Sci.*, 58:  
 331—344.
- [19] Jakobovits, A. et al., 1984, Abstracts of  
 papers presented at the Second Cold Sp-  
 ring Harbor Meeting on cancer cells.  
 Sept. 19—23, 1984, pp. 89.
- [20] Heath, J. K. et al., 1984, Abstracts of  
 papers presented at the Second Cold Sp-  
 ring Harbor Meeting on cancer cells. Sept.  
 19—23, 1984, pp. 24.
- [21] Rizzino, A. et al., 1985, *Develop. Biol.*  
 in press.
- [22] Isacke, C. M. et al., 1983, *J. Cell. Phy-  
 siol.*, 117: 407—414.
- [23] Muller, R. et al., 1982, *Nature*, 299:  
 640—642.
- [24] Schindler, J. et al., 1981, *Proc. Natl.  
 Acad. Sci. USA*, 78: 1077—1080.
- [25] Libby, P. R. et al., 1982 *Carcinogenesis  
 (Lond.)* 3: 481—484.
- [26] Darmon, M. et al., 1981, *Develop. Biol.*  
 85: 463—473.
- [27] 姚 鑫, 丛笑倩, 1985, 实验生物学报, 18:  
 239—249.
- [28] Muramatsu, T. et al., 1982, In "teratocar-  
 cinoma and embryonic cell interactions".  
 eds. Muramatsu, T. et al., Japan Scien-  
 tific Societies press, pp. 143—156.
- [29] Sporn, M. B. et al., 1983, *Cancer Res.*,  
 43: 3034—3040.