

微 原 纤 维

邹仲之 余灵祥

(第一军医大学组织学胚胎学教研室 广州 510515)

微原纤维(microfibril)是细胞外基质中的细丝状结构,有两种,即Ⅵ型胶原蛋白微原纤维和原纤维蛋白微原纤维^[1]。

一、Ⅵ型胶原蛋白微原纤维

Ⅵ型胶原蛋白微原纤维(type Ⅵ collagen microfibril)的直径只有3-5nm,在高倍电镜下可见其上有以100nm周期出现的串珠状膨大。其结构仅由Ⅵ型胶原蛋白组成。Ⅵ型胶原蛋白是由三条不同的 α 链,即 $\alpha_1(\text{Ⅵ})$ $\alpha_2(\text{Ⅵ})$ $\alpha_3(\text{Ⅵ})$ 构成的单体,包括一个长度为100nm的三股螺旋的中央区,和两端球状的N端和C端。单体以反平行的方式通过二硫键形成二聚体,再侧向联合形成四聚体,后者以端-端连接形成微原纤维。Ⅵ型胶原蛋白于成纤维细胞合成并分泌后,在细胞表面或附近装配为微原纤维。Ⅵ型胶原蛋白微原纤维广泛存在于固有结缔组织中,主要是位于Ⅰ型胶原蛋白和Ⅲ型胶原蛋白构成的胶原纤维的周围。与其他胶原蛋白形成的纤维成分相比,Ⅵ型胶原蛋白微原纤维的量很少,在肝、肾和子宫,仅占胶原总量的0.5%,但在角膜,则占25%。比邻的Ⅵ型胶原蛋白微原纤维相互联合构成一个广泛的网络,并与胶原纤维、基膜、基质分子以及细胞发生作用,尽管其确切的功能仍不明了,但一般认为它们在维持组织的结构与机械性能的完整方面发挥了作用^[1-3]。

二、原纤维蛋白微原纤维

1. 结构和生化组成

原纤维蛋白微原纤维(fibrillin microfibril, FMF)于电镜下观察,其横切面呈直径10-12nm的小管状,由外周电子密度高的鞘包裹内部电子透明的核心构成;而观察分离的标本,单根的FMF呈现出平均周期约为56nm(介于33-165nm)的串珠状(beaded chain);这种串珠状形态也被用旋转投影法(rotary shadowing)观察所证实^[1,4-6]。FMF的组成成分除原纤维蛋白外,还有微原纤维相关蛋白、潜在转化生长因子 β 结合蛋白等。

(1) 原纤维蛋白(fibrillin) 系FMF中最主要的结构蛋白,分原纤维蛋白Ⅰ和原纤维蛋白Ⅱ两种^[3]。编码原纤维蛋白Ⅰ和原纤维蛋白Ⅱ的基因分别位于15q15-21和5q23-q31位点,均含有65个外显子^[4];其产物都是350kD的富含半胱氨酸的酸性杆状糖蛋白。原纤维蛋白分子的主要结构为43个能与钙结合的表皮生长因子样的单元(calcium binding EGF-like motif, cbEGF)。Ca²⁺在维持原纤维蛋白于FMF内的有序排列中具有关键作用^[7]。原纤维蛋白的另一个特点是含有8半胱氨酸重复序列。原纤维蛋白Ⅰ和原纤维蛋白Ⅱ的主要差异在于前者只有一个RGD单元(即精氨酸-谷氨酸-天冬氨酸单元),而后者有两个。用金标免疫电镜观察到两种原纤维蛋白均定位于FMF。在电镜下,分离的原纤维蛋白分子长148nm,宽2.2nm,具有折曲性。每6-8个原纤维蛋白分子首尾相连并集成束,形成了FMF的基本结构;或者说FMF串珠状结构的珠子之间的区域主要为原纤维蛋白;而构成珠子的成分为微原纤维相关糖蛋白1(见后述)^[3]。

原纤维蛋白Ⅰ和原纤维蛋白Ⅱ在胚胎发育期间的表达和在组织中的分布有显著差异。原纤维蛋白Ⅱ的表达早于原纤维蛋白Ⅰ,前者的转录子在弹性组织分化之前即已出现,维持一段时间后水平迅速下降以至消失;然后,原纤维蛋白Ⅰ的转录子的水平逐渐增高。原纤维蛋白Ⅱ主要存在于弹性组织内,如主动脉中膜、弹性软骨、支气管壁等。原纤维蛋白Ⅰ的分布较原纤维蛋白Ⅱ广泛,如在主动脉壁的三层结构、皮肤(从表皮和真皮连接部到真皮深层)、腱状小带等。因此,含有原纤维蛋白Ⅱ的FMF的作用可能是参与弹性纤维的早期聚合过程以及器官形态的早期形成;而含有原纤维蛋白Ⅰ的FMF是提供一个长期的承受应力的支撑结构,与器官形态的后期完成相关^[8]。

(2) 微原纤维相关蛋白(microfibril associated protein, MFAP) 包括五种蛋白,分别称为

MFAP1-5;其中 MFAP-2 和 MFAP-5 又称为微原纤维相关糖蛋白 (microfibril-associated glycoprotein, MAGP-1 和 MAGP-2)。这五种蛋白的基因位点、编码及蛋白质结构均已明确;在细胞外基质中,它们或和 FMF 相连,或以游离的方式存在。目前,有关 MAGP-1 和 MAGP-2 的功能已研究得较为深入,而其他三种蛋白的功能仍远未阐明^[9]。

MAGP-1 为 31kD 的酸性蛋白,编码基因位于 1p36.1-p35 位点。免疫组织化学研究显示,在人真皮浅层和中层的弹性纤维呈 MAGP-1 阳性,表明 MAGP-1 是弹性纤维的成分;并且,MAGP-1 总是与原纤维蛋白 1 相伴出现在组织中^[10]。在 FMF,多个 MAGP-1 分子以二硫键与原纤维蛋白相结合而呈现为珠子状结构,稳定了 FMF 中原纤维蛋白束末端与末端及侧面的聚合。在弹性纤维发生过程中,MAGP-1 还可能通过其羧基端的半胱氨酸残基以二硫键和原弹性蛋白结合,从而成为 FMF 和原弹性蛋白之间的结合位点^[11]。体外实验还发现,MAGP-1 亦能和Ⅵ型胶原蛋白的 $\alpha_3(\text{VI})$ 链结合,结合位点恰好与 MAGP-1 和原弹性蛋白的结合位点相同,表明 MAGP-1 还能在弹性纤维和周围基质中的Ⅵ型胶原蛋白微原纤维的连接中发挥作用^[2]。

MAGP-2 也是以二硫键与原纤维蛋白相结合。其编码基因位于 12p12.3-p13.1 位点,分子量为 25kD。MAGP-2 的氨基端有一个 RGD 单元,意味着 MAGP-2 具有和整合蛋白相结合的特性,能在 FMF 和表面具有整合蛋白的细胞的连接中发挥作用^[12]。而多种细胞(如成纤维细胞、平滑肌细胞和多种单核吞噬细胞)表面的整合蛋白 $\alpha_v\beta_3$ 则是 MAGP-2 的受体^[13]。Gibson 等应用免疫组织化学方法,较系统地研究了牛晚期胚胎及成体中 MAGP-2 的分布,发现 MAGP-2 的分布远比 MAGP-1 局限,如在胎牛的主动脉中膜、耳廓弹性软骨、眼球睫状小带等具有弹性纤维或 FMF 的组织中,都未能观察到 MAGP-2,而这些部位的 MAGP-1 则为阳性,表明这两种蛋白具有不同的功能。该作者还测定了从 110 天胎龄至出生后 2 年的牛项韧带中两种 MAGP 和弹性蛋白的 mRNA 含量。结果显示,MAGP-2 表达的高峰在胚胎发育的中晚期,恰好领先于弹性蛋白的表达高峰(出生前后);而 MAGP-1 的表达高峰在胚胎早期,此后维持较为稳定且较高的水平。该作者认为,MAGP-2 可能和弹性纤维的早期形成相关,但具体的机制仍然不明^[14]。

(3) 潜在转化生长因子 β 结合蛋白 (latent

transforming growth factor β -binding protein, LTBP)

有四种,分别称为 LTBP-1-4,其基因位点和分子结构都已查明。它们都具有和原纤维蛋白相同的特点,即含有大量 cbEGF 单元和 8 半胱氨酸重复序列。体内多种细胞均能分泌 TGF β ,分泌形式有两种:一种是 TGF β 前体,由 TGF β 及潜在相关肽构成,另一种是 TGF β 前体与 LTBP 共同构成的复合体。在细胞外,在某些条件下 TGF β 前体或复合体被蛋白水解酶(如血纤维蛋白溶酶)作用,TGF β 才能释放出来。在四种 LTBP 中已发现有两种和 FMF 相关。有人用免疫组织化学方法显示 LTBP-1 定位于皮肤中 FMF,或者用原位杂交法发现 LTBP-2 和前弹性蛋白共同表达于鼠胚胎发育期间的肺、心、大动脉、皮肤、软骨膜等部位,并且,LTBP-2 以共价键结合于 FMF 上,故认为这两种 LTBP 为 FMF、或和弹性纤维伴随的 FMF 的构成成分,使得 FMF 具有了贮存和调节 TGF β 释放的作用^[15-17]。但是,TGF β 是一种体内几乎无处不有的细胞因子,LTBP-1 与 LTBP-2 也像其他 LTBP 一样结合于细胞外基质中的非 FMF 成分,如纤维粘连蛋白和Ⅳ型胶原蛋白。因此,LTBP-1 与 LTBP-2 和 FMF 的结合是否具有特异性,它们是否为一种独立的细胞外基质成分,还有待深入探讨。

2. 分布和功能

在体内,FMF 以两种方式存在。一种是作为弹性纤维的组成部分,这是 FMF 最主要的存在方式;因此凡富含弹性纤维的部位(如皮肤、动脉、肺、黄韧带),都有 FMF。FMF 占弹性纤维体积的大约 10%,主要在均质状的弹性蛋白核心周围形成短丛毛状的结构,亦可少量存在于核心内部。另一种是单独地广泛分布于一些器官的细胞外基质中,如皮肤的表皮和真皮的连接部、肾、脾、眼球睫状小带、牙周韧带。在有弹性纤维的部位,成纤维细胞和平滑肌细胞是产生 FMF 的主要细胞;而在无弹性纤维的部位,除成纤维细胞外,其他如眼球睫状体上皮细胞、表皮和真皮连接部的表皮角质形成细胞也可以合成与分泌 FMF 的构成蛋白,并形成典型的 FMF 结构^[6]。

目前认为 FMF 的主要功能是:①在弹性纤维的形成过程中,为弹性蛋白的前体、即原弹性蛋白聚合成不可溶性的弹性蛋白、并沉积在 FMF 丛内侧起到支架的作用;因此,没有 FMF,弹性蛋白和弹性纤维都不能正常形成。②FMF 在弹性纤维与其他细胞外基质及细胞成分(如内皮细胞、上皮细胞)

的连接起锚定作用。③FMF 本身也具有延展性,这主要是根据 FMF 的周期可变性而推断的,正如骨骼肌细胞中肌原纤维上肌节长度的可变性,反映了肌原纤维的可伸缩性。这种延展性使得 FMF 可以在弹性纤维之间重新分配负荷力,从而维持弹性组织整体的机械性能。④在无弹性纤维的部位,如眼球睫状小带、表皮和真皮连接部,FMF 分别在晶状体和睫状体之间、表皮基膜和结缔组织之间提供了一种具有柔韧性的连接方式^[18]。

三、微原纤维病

微原纤维病(microfibrilopathies)指由于构成微原纤维的蛋白成分的基因突变而引发的疾病。迄今,仅发现原纤维蛋白基因的突变,所造成的疾病常泛称为马凡综合征(Marfan syndrome, MFS)或准确地称为 MFS 及相关的微原纤维病。MFS 是由于

1896 年法国医生 Marfan 的首例报告而命名。在国外, MFS 发病率不低于 0.01%;在我国为 0.03%。MFS 是一类常染色体显性疾病,既有家族遗传性,也可为散发。其临床表现极为多样化。典型的 MFS 主要受损器官为骨骼、主动脉和眼,主要表现为体形瘦长、细长指趾(也称蜘蛛状指)、升主动脉扩张、晶状体半脱位,多因形成的主动脉瘤或夹层动脉瘤破裂而死亡。在广义的 MFS 中,心、肺、皮肤、软骨等也可以受到损害^[8,19]。

自从 1991 年发现了原纤维蛋白基因后,人们把 MFS 的临床表现和突变基因的部位联系起来,对 MFS 进行了细致的分类。原纤维蛋白 I 的基因突变所致的疾病统称 I 型微原纤维病,其中常见的 8 种列于表 1。在 1998 年,于国际 MFS 数据库中有 137 种不同的原纤维蛋白 I 基因突变的报告,其中仅 11 种是频发性的。该基因中几乎全部 65 个外显子都可发生突变^[8]。

表 1 I 型微原纤维病

综 合 征	临 床 表 现	突变的主要外显子
1. MFS	体形瘦长,细长指趾,主动脉扩张,晶状体半脱位	51
2. 新生儿 MFS	房室瓣功能不全,肺气肿,关节挛缩等;常由于心力衰竭于出生 1 年内死亡	24-27,31-32
3. Shprintzen-Goldberg 综合征	颅缝早闭,MFS 体形	29
4. 家族性细长指趾	细长指趾,无心血管症状	28
5. 晶状体异位	双眼晶状体异位,可有脊柱侧凸,无心血管症状	59
6. 无典型 MFS 症状的升主动脉瘤或夹层动脉瘤	升主动脉瘤或夹层动脉瘤,无晶状体和骨骼异常	27,44
7. MASS 表型*	二尖瓣脱垂,主动脉根部扩张(不伴夹层动脉瘤),骨骼及皮肤异常	41
8. MFS 新变型	MFS 骨骼症状,伴关节挛缩,膝关节积液,晶状体异位,无心血管症状	4
9. MFS 样骨骼症状型	瘦长体形,脊柱侧凸,鸡胸,细长指趾	64

* MASS 即 mitral valve prolapse, aortic root dilatation without dissection, skeletal and skin abnormalities(二尖瓣脱垂,不伴夹层的主动脉根部扩张,骨骼及皮肤异常)。

原纤维蛋白 II 的基因突变位点多介于第 24-34 外显子;所致的疾病主要是先天性挛缩性细长指趾(congenital contractural arachnodactyly, CCA),表现为 MFS 样体形,指趾细长、屈曲,耳廓畸形,轻度的肘、髋、膝关节挛缩和肌发育不全。在第 34 外显子发生的突变可导致严重或致死型 CCA,表现为心房(室)间隔缺损、主动脉弓异常、单脐动脉、食管和十二指肠闭锁、肠转位异常等^[20,21]。

对患者的原纤维蛋白的分析结果显示,绝大多数突变导致了蛋白中最主要的构件即 cbEGF 单元异常。这会造成蛋白分子的钙结合能力降低,使得

分子不能正常折迭,分子的整体结构不稳定,并易于为蛋白酶所分解^[22,23]。显然,这样异常的原纤维蛋白不能够形成正常的微原纤维,继而导致弹性纤维的异常。Gigante 等对 MFS 患者的骨膜、软骨膜及关节囊的电镜观察发现,其中弹性纤维呈断裂或锯齿状,弹性蛋白呈现为不连续的团块,微原纤维分布散乱;并且,弹性纤维的量也明显低于正常。他们认为,骨膜中的弹性纤维对于骨的生长具有抑制作用;当这种抑制由于弹性纤维发育异常而减弱时,骨便会高于常速地生长,从而可以解释 MFS 患者骨骼的异常表现^[24]。由于相似的原因,我们也不难理解在

那些富含弹性纤维的部位(主动脉、肺、皮肤等)和富含 FMF 的部位(睫状小带、皮肤等)所发生的临床改变。

摘 要

微原纤维有 VI 型胶原蛋白微原纤维和原纤维蛋白微原纤维二种。前者广泛存在于固有结缔组织中,确切功能尚不清楚。原纤维蛋白微原纤维由原纤维蛋白、微原纤维相关蛋白、潜在转化生长因子 β 结合蛋白等成分构成,主要作为弹性纤维的组成部分,并参与弹性纤维的形成,其次是单独地分布于器官的细胞外基质中,提供一种柔韧性的连接方式。原纤维蛋白的基因突变可引发马凡综合征及相关的微原纤维病。

参 考 文 献

- [1] Kielty CM, et al., 1997, *Microsc Res Tech*, **38**:413-427.
- [2] Finnis ML, et al., 1997, *J Biol Chem*, **272**: 22817-22823.
- [3] Kielty CM, et al., 1998, *Anal Biochem*, **255**:108-112.
- [4] Rosenbloom J, et al., 1993, *FASEB J*, **7**:1208-1218.
- [5] Hanssen E, et al., 1998, *Biol Cell*, **90**:223-228.
- [6] Wess TJ, et al., 1998, *J Cell Biol*, **141**:829-837.
- [7] Robinson PN, et al., 2000, *J. Med Genet*, **37**:9-25.
- [8] Hayes SL, et al., 1997, *Br J Dermatol*, **137**:17-239.
- [9] Faraco J, et al., 1995, *Genomics*, **25**:630-637.
- [10] Fujimoto N, et al., 2000, *Arch Dermatol Res*, **292**:21-26.
- [11] Henderson M, et al., 1996, *J Histochem Cytochem*, **44**:1389-1397.
- [12] Gibson MA, et al., 1999, *J Biol Chem*, **274**:13060-13065.
- [13] Gibson MA, et al., 1996, *J Biol Chem*, **271**:1096-1103.
- [14] Gibson MA, et al., 1998, *J Histochem Cytochem*, **46**:871-885.
- [15] Raghunath M, et al., 1998, *J Invest Dermatol*, **111**:559-564.
- [16] Gibson MA, et al., 1995, *Mol Cell Biol*, **15**:6932-6942.
- [17] Shipley JM, et al., 2000, *Mol Cell Biol*, **20**:4879-4887.
- [18] Haynes SL, et al., 1997, *Br J Dermatol*, **137**:17-23.
- [19] 褚仁远等, 遗传性眼疾病。北京:科学出版社, 1998, 280-287.
- [20] Putnam EA, et al., 1997, *Am J Hum Genet*, **60**:818-827.
- [21] Wang M, et al., 1996, *Am J Hum Genet*, **59**:1027-1034.
- [22] Starcher BC, 2000, *Chest*, **117**:229S-234S.
- [23] Reinhardt DP, et al., 2000, *J Biol Chem*, **275**:12339-12345.
- [24] Gigante A, et al., 1999, *J Pediatr Orthop*, **19**:283-288.

NF- κ B 家族特征及其调控途径和生物学功能

刘 苏 吴 乔*

(厦门大学生命科学学院细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室 厦门 361005)

NF- κ B(nuclear factor- κ B)广泛存在于机体细胞中,与细胞对外界刺激的应答、细胞生长、分化、发育、凋亡、粘附及炎症反应密切相关,是一类重要的转录调节因子。本文结合近年来的研究进展,对 NF- κ B 家族成员、NF- κ B 活化及调控途径,以及 NF- κ B 生物学功能作一综述。

一、NF- κ B, I κ B 和 I κ K 家族

NF- κ B 家族由 5 种蛋白组成: P65(RelA)、c-Rel、RelB、P50 和 P52^[1],这些蛋白的 N 端均存在一段约 300 个氨基酸组成的保守结构域 RHD(Rel-homology domain),其中靠近 N 端的 180 个氨基酸组成 DNA 结合区;中部约 100 个氨基酸是与另一个分子结合形成二聚体的部位,其间由一条约 10 个氨基酸的柔性铰链区(flexible hinge)相连;由 15 个氨基酸构成的核定位信号(nuclear localization signal, NLS)则位于 RHD 的 C 端。RHD 以外的区域主要

与 NF- κ B 家族成员的反式激活作用有关。细胞中 NF- κ B 家族成员主要以同源或异源二聚体形式存在,不同的二聚体识别不同的 DNA 序列,转录激活能力也不同,其中 P50/P65 异源二聚体分布最广泛,含量最丰富,生物学活性也最高^[2]。

在静止细胞中, NF- κ B 结合 I κ B(Inhibitory NF- κ B)蛋白,以无活性状态存在于胞浆中。目前已发现 7 个 I κ B 家族成员: I κ B- α , I κ B- β , I κ B- γ , I κ B- ϵ , Bcl-3, P100 和 P105^[1]。它们都具有一段多拷贝的 30-33 个氨基酸残基序列,称为锚蛋白重复序列(ankyrin repeat domain, ARD), ARD 由于专一性结合 NF- κ B 的 RHD 结构域,将 NF- κ B 的 NLS 区覆盖,由此阻止 NF- κ B 由胞浆向核转移而使其处于失活状态。在 I κ B 家族中,只有 I κ B- α , I κ B- β , I κ B- ϵ 在 ARD 的 N 端具有信号接收区域(signal receiving do-

* 通讯联系人。