专论与综述

内吞蛋白家族的研究近况*

吴 兴 中

（复旦大学上海医学院生物化学与分子生物学系 上海 20032）

摘 要 内吞蛋白是最近发现的一类功能蛋白质，主要参与细胞膜的物质运输和信息交流。内吞蛋白具有特殊的结构，家族成员之间有很高的同源性，成员蛋白一般多具有C端的SH3结构域和N端的溶血磷脂酸脂酰基转移酶结构域。C端的SH3结构域可与许多能结合SH3的蛋白质相结合，N端则参与细胞膜的内凹形成囊泡。内吞蛋白在神经递质的回收过程中发挥重要的作用，并在细胞的信号转递和凋亡过程中具有重要的作用。

内吞蛋白是近年来发现的一类新的蛋白质，其引人关注的功能是帮助神经介质的回收。最近几年随着神经科学的发展，内吞蛋白的研究逐渐深入，发现有些内吞蛋白并不全是分布在神经组织，它们的功能不仅仅局限于神经介质回收。本文就内吞蛋白近年来的研究进行综述和讨论。

一、基本特性

1. 内吞蛋白的命名

人的内吞蛋白是从一名急性淋巴细胞性白血病儿童的标本中克隆的。此病人具有11和19号染色体易位，使该基因与MLL（Mixed lineage leukemia gene）形成融合基因，1997年命名为EEN（Extra Eleven Nineteen）[1]，同时又对2个同源序列分别命名为EEN-B1和EEN-B2，后发现EEN-B1与小鼠SH3P4基因同源，EEN与小鼠SH3P8同源，EEN-B2与小鼠SH3P13同源，由于这类蛋白质主要功能与神经递质的内吞有关，就统一称为内吞蛋白（Endophilin），2002年有人建议命名为A1，A2，A3，因为又发现了一类新的成员，后者分别命名为内吞蛋白B，B1a，和B1b组成内吞蛋白家族。

2. 组织分布

内吞蛋白A1、A2、A3的mRNA表达具有组织特异性[2]，内吞蛋白A1、A3仅表达于脑神经末梢组织和睾丸组织，内吞蛋白A2和B1a则广泛分布，在体内多数组织广泛表达。

二、蛋白质结构特点

1. 基本结构

内吞蛋白具有一个共同的结构特点，在C端含有一个SH3同源序列，N端含有一个溶血磷脂酸脂酰基转移酶（LPAAT，lysophosphatic acyl transferase）的结构域，中央为含有α螺旋的序列。以内吞蛋白A2为例[1]，整个分子由368个氨基酸构成，1－130区域为LPAAT的结构域；131－266为C-C（coiled-coil）结构域，内吞蛋白平时以二聚体的形式存在并发挥作用，每分子内吞蛋白通过其C-C结构区相互作用而形成二聚体[2]。267－303为铰链区；304－368为SH3同源区，该区与一些接头蛋白如Sem-5、Grb2、Drk的SH3结构域类似。

2. 家族成员

内吞蛋白家族成员间蛋白质序列同源性高，内吞蛋白A1－A3之间同源性高达89%[1]，同源性分析见图1，N端LPAAT和C端的SH3结构域比较保守，变异主要存在于铰链区，C-C结构域也有较好的保守性，见图2。

3. 磷酸化位点

以内吞蛋白A2为例，全序列共含有丝氨酸残

*基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：30070183）。

E-mail：xz_wu@shmu.edu.cn

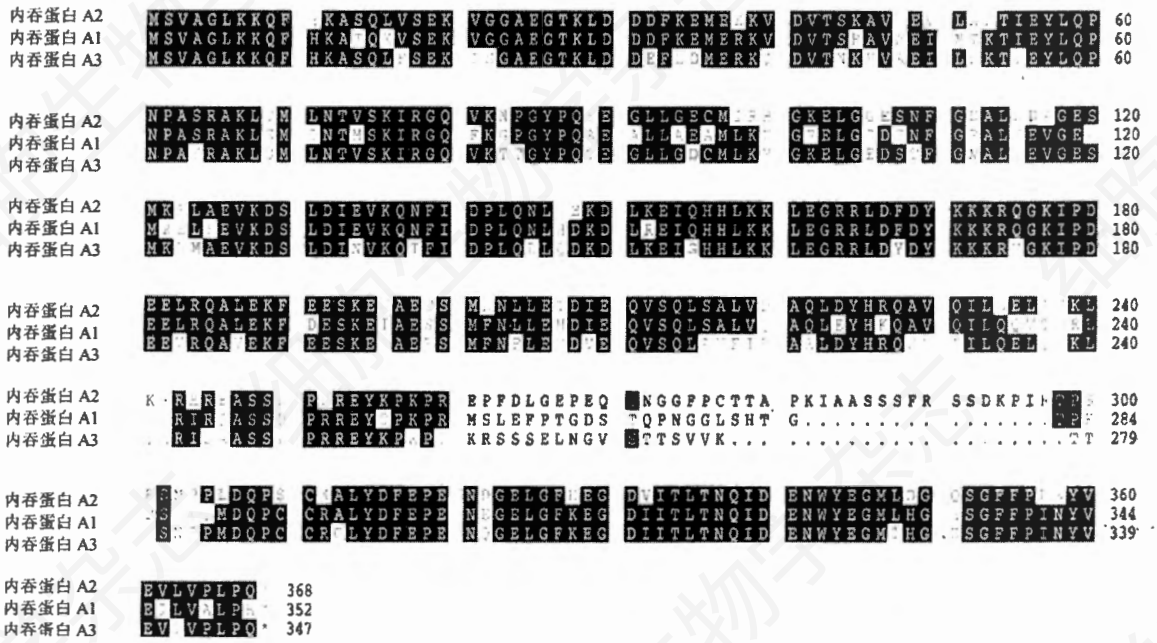

图 1 内吞蛋白家族成员的同源性[1]

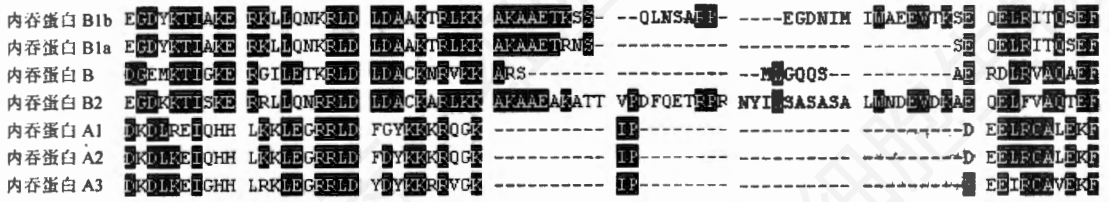

图 2 内吞蛋白 C-C 区的同源性[3]

基 26 个，苏氨酸残基 12 个，酪氨酸残基 8 个。目前已知内吞蛋白 A1 磷酸化以后活性增强[4,5]，在体外可以被蛋白激酶 A、蛋白激酶 C、钙调蛋白Ⅱ、P70S6 激酶、S248 激酶所磷酸化。

三、蛋白质相互作用

除了内吞蛋白的 C-C 结构区可以相互作用而形成二聚体外，其 C 端有一个具有独特结合功能的 SH3 结构域[6,7]，因此可以和一些特殊功能的蛋白质相互作用并结合，从而影响其他蛋白质的功能。目前已经发现的包括如下一些蛋白质：β1-肾上腺素能受体(beta1-AR)[8]；金属蛋白酶 disintegrins[9,10]，是一种膜定位的糖蛋白，具有多种功能，参与神经再生、造血、受精等过程；disintegrins 的胞浆段含有脯氨酸富含区，可与内吞蛋白结合；amphiphysin[11]是一种神经突触蛋白，协助突触间隙颗粒回收；GTP 酶 dynamin，此蛋白既具有内在 GTP 酶活性，又是小脑激酶 Dyrk1A 的底物，具有自身聚集倾向的基本特性，可以帮助新生的内膜突起囊泡从细胞膜上分离开来[12]；synaptojanin 目前已知是一种磷酸肌醇磷酸酶，在细胞内信号转导中有重要作用；synapsin 1；huntingtin 也属于内吞蛋白 A1 的结合蛋白，但是功能不清，据认为内吞蛋白 A1 含有 Huntington's 病致病基因外显子 1 的重复谷氨酰胺序列[11]，可能参与 Huntington's 病的病理过程。

四、细胞内信号传导作用

由于内吞蛋白与多种蛋白质相互作用，因此涉及细胞内多条细胞信号传导通路。

1. 与细胞膜受体相互作用

内吞蛋白主要分布于细胞浆和细胞膜上，可以和膜受体的胞浆段相互作用，而传导信号，如 β1-肾上腺素能受体，内吞蛋白通过与 β1-肾上腺素能受体的胞浆侧肽链脯氨酸富含区结合，进而调节该受体

的内吞及和 G 蛋白的结合[8]。内吞蛋白还可以与 Cbl 和 CIN85 形成复合物，介导细胞膜活化 EGF 受体的内吞，Cbl 是一种多功能接头蛋白，参与膜受体的降解和活化的膜受体信号传递的消除。CIN85 是 Cbl 的结合蛋白。Cbl 可以迅速与 CIN85 及内吞蛋白结合，从而导致 EGF 受体的内吞，及时消除活化 EGF 受体的信号传递效果[13]。同样这种复合物也调节肝细胞生长因子的内吞[14]。

2．参与磷脂信号通路

目前已知内吞蛋白可与 dynamin 及 synaptojanin 结合，dynamin 和磷脂酶 C 通过 pH 结构域又与肌醇 4，5 二磷酸（PIP2）或肌醇 3，4，5 三磷酸（PIP3）结合，从而刺激 dynamin 本身的 GTP 酶活性和在凹陷膜囊泡颈部的聚集[4]，然而 PIP2 是 PI4PK 和 PI5PK 的催化产物，后二酶均受磷脂酸（PA）的激活，PA 还可来于磷脂酶 D 催化磷脂酰胆碱的水解，但是磷脂酶 D 受 synaptojanin 抑制，后者还具有肌醇磷酸酶活性，因此内吞小体形成时伴随着 PIP2 的水解。现在知道内吞蛋白 A 1、3 这方面的作用表现较突出。

3．激活 JNK（c-jun 氨基端蛋白激酶）

内吞蛋白通过与 JNK 的 PPRPPPPR 序列结合，导致 JNK 的激活[15]，据报道内吞蛋白 A1 是该酶在神经系统中主要的结合蛋白之一。

五、神经递质回收作用

内吞蛋白的主要功能之一是神经介质的回收作用。递质的回收实质上是一种细胞的内吞作用，先由网格蛋白（clathrin）与 AP-2 或 AP-180（adaptor protein）和细胞膜类脂相互作用，聚集在细胞膜的浆侧，造成细胞膜的凹陷，一种具有 GTP 酶活性的 dynamin 聚集和环绕在凹陷膜的周围，并促使其形成颈状，这种内凹并具有颈部的膜结构即为网格蛋白包被的囊泡（clathrin-coated vesicles）。为了研究其形成的过程及其与细胞膜断裂的机制，在体外模拟形成联会样微泡（synaptic-like microvesicles，SLMVs），Söling 小组在研究时发现内吞蛋白 A1 存在于这种 SLMVs 复合体[16]，证明正是内吞蛋白 A1 驱动了凹陷膜囊泡颈部结构与供体膜之间的断裂，内吞蛋白 A1 N 端的 LPAAT 可催化溶血磷脂酸（LPA）和花生四烯酰辅酶 A 形成磷脂酸（PA），LPA 呈倒锥体型立体结构，PA 呈锥体型，前者结构有利于膜的正向突出变形，后者有利于膜的负向凹陷变形，正是这种磷脂酸的转变驱动了囊泡和供体膜的断裂，因为磷脂酶 A2（PLA2）的抑制剂可以促进囊泡与供体膜的断裂，PLA2 和 PLAAT 作用正好相反。内吞蛋白突变以后，将严重影响突触颗粒回收机制[17]。

六、内吞以外的作用

内吞蛋白主要存在于神经末梢，但是内吞蛋白 A2 和 B1a 广泛分布于体内多种组织；而且内吞蛋白 B1 不能与 synaptojanin 1 和 synapsin 1 相互作用[11]，过高表达内吞蛋白 B1 的 SH3 区也不能抑制内吞作用，因此内吞蛋白除了突触介质的回收作用以外，还有其他功能，综合如下：

1．内吞蛋白 A2 实际上还涉及吸收营养和生长因子及病原体和受体内吞等多种功能，参与多种所谓的膜交通机制[12,18]。而且内吞蛋白 B1 细胞内定位主要在细胞膜部分，不存在于细胞核和高尔基体，它的功能主要与细胞膜的动力学有关[11]。

2．有人运用凋亡相关基因相互作用蛋白（apoptosis related gene 2-interacting protein X，Alix）作为酵母双杂交的诱饵，发现内吞蛋白可以与 Alix 相结合[19]。如果内吞蛋白缺失，著名的凋亡受体 Fas/CD95就不能正确地定位于细胞膜上，从而导致细胞凋亡机制受抑制，细胞增殖过旺。

3．内吞蛋白与白血病基因形成融合基因，MLL 基因在小儿白血病经常发生断裂缺失，其 5’端具有与细胞生长分化功能有关的编码区，缺失以后就对细胞生长失去调控。内吞蛋白基因可以与缺失的 MLL 基因融合，表达成融合蛋白。但在融合蛋白质中，内吞蛋白的具体功能尚不清楚，有可能与粒、单核细胞性白血病的发病机制有关。另外，参与内吞作用的内吞蛋白在高度分化的神经细胞均位于胞浆中，所以一般都认为内吞蛋白是一种胞浆蛋白，但是，笔者通过特异抗体定位的结果显示 U937 白血病细胞的内吞蛋白主要位于细胞核，在分裂相时位于中间体，然后随着纺锤体移向子细胞，显示内吞蛋白似乎是一种核蛋白，当该细胞分化成熟为单核细胞时，内吞蛋白转位于细胞浆中，外周血单个核细胞中的内吞蛋白可位于细胞核和胞浆，成熟为巨噬细胞后则主要位于细胞浆中（笔者未发表资料）。显示内吞蛋白有可能在未分化的白血病细胞起着核蛋白的功能，设想可能与增殖分化有关，分化成熟后转位到胞浆参与内吞作用。

七、结 语

内吞蛋白由于其特殊的蛋白质结构，C端的SH3结构域可以与许多蛋白质相互作用，也可以参与细胞内的信号转导，目前已知的生物学功能主要涉及神经介质回收以及生物膜运输作用，很多功能尚不清楚，随着进一步的研究，将会发现更多作用。

参 考 文 献

[1] So, C. W., Caldas, C., Liu, M. M. et al., 1997, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, **94**:2563－2568.

[2] Ringstad, N., Nemoto, Y., and De Camilli, P., 2001, *J. Biol. Chem.*, **276**:40424－40430.

[3] Modregger, J., Schmidt, A. A., Ritter, B. et al., 2003, *J. Biol. Chem.*, **278**:4160－4167.

[4] So, C. W., So, C. K., Cheung, N. et al., 2000, *Leukemia*, **14**:594－601.

[5] So, C. W., Sham, M. H., Chew, S. L. et al., 2000, *Biochem. J.*, **348** Pt 2:447－458.

[6] Simpson, F., Hussain, N. K., Qualmann, B. et al., 1999, *Nat. Cell Biol.*, **1**:119－124.

[7] Gad, H., Ringstad, N., Low, P. et al., 2000, *Neuron*, **27**:301－312.

[8] Tang, Y., Hu, L. A., Miller, W. E. et al., 1999, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, **96**:12559－12564.

[9] Howard, L., Nelson, K. K., Maciewicz, R. A. et al., 1999, *J. Biol. Chem.*, **274**:31693－31699.

[10] Reutens, A. T. and Begley, C. G., 2002, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **34**:1173－1177.

[11] Modregger, J., Schmidt, A. A., Ritter, B. et al., 2003, *J. Biol. Chem.*, 278(6):4160－4167.

[12] Wiejak, J. and Wyroba, E., 2002, *Cell Mol. Biol. Lett.*, **7**:1073－1080.

[13] Soubeyran, P., Kowanetz, K., Szymkiewicz, I. et al., 2002, *Nature*, **416**:183－187.

[14] Petrelli, A., Gilestro, G. F., Lanzardo, S. et al., 2002, *Nature*, **416**:187－190.

[15] Ramjaun, A. R., Angers, A., Legendre-Guillemin, V. et al., 2001, *J. Biol. Chem.*, **276**:28913－28919.

[16] Schmidt, A., Wolde, M., Thiele, C. et al., 1999, *Nature*, **401**:133－141.

[17] Guichet, A., Wucherpfennig, T., Dudu, V. et al., 2002, *EMBO J.*, **21**:1661－1672.

[18] Barr, F. A. and Shorter, J., 2000, *Curr. Biol.*, **10**: R141－R144.

[19] Chatellard-Causse, C., Blot, B., Cristina, N. et al., 2002, *J. Biol. Chem.*, **277**:29108－29115.

Wnt信号转导途径及其与结肠癌的关联*

孔 民 白 阳 王敬泽**

（中国科学院动物研究所生物膜与膜工程国家重点实验室 北京 100080）

摘 要 Wnt信号转导途径参与细胞多种复杂的生化反应过程。目前认为Wnt通路的组成主要包括：细胞外因子(Wnt)、跨膜受体Frizzled(Frz)、β-连环蛋白(β-catenin)及T细胞趋化因子(T cell factor, TCF)等一系列蛋白。细胞外因子Wnt激活的信号通过胞质蛋白的相互作用，能够使胞浆内β-连环蛋白保持稳定并累积，β-连环蛋白进而入核与T细胞趋化因子联合作用激活靶基因(多数是参与细胞增殖与凋亡的基因，如：Cyclin D1、c-myc等)的转录，而且在Wnt信号途径的不同阶段有各种蛋白因子进行调控；另外，Wnt胞内信号途径的异常激活与人类各种癌症的产生有联系，尤其是结肠癌变。大多数结肠癌患者的转化细胞存在APC(adenomatous polyposis coli)基因缺失突变或失活，导致β-连环蛋白在核内的累积，并能影响相关基因转录，被认为是结肠癌发生的关键因素之一。由于该信号转导途径具有如此重要的作用，因此受到研究者越来越多的重视。

Wnt信号转导途径与细胞的发育分化密切相关，而且在许多肿瘤的发生中起重要作用，是近年来国际前沿研究的热点之一。早期对Wnt信号途径的探索主要集中在致癌病毒和果蝇(*Drosophila*)发育机制的研究，Nusse用小鼠乳头瘤病毒(mouse mammary tumor virus, MMTV)诱导小鼠产生乳腺癌，并且发现MMTV常整合于宿主染色体的特定位置，激活该位点基因Wnt-1[1]，后来发现此基因与果蝇胚胎发育基因Wingless(Wg)同源，Wg基因突变将导致成年果蝇无翅；Wnt-1是Wnt基因家族成员之一(已知哺乳动物中Wnt成员至少16个)[2]。

* 基金项目：国家自然科学基金资助项目(编号：30171071)。

** 通讯作者。E-mail: wangjz@panda.ioz.ac.cn