

动物细胞的形态变化与基因表达

Avri Ben-Ze'ev

一、前言

动物细胞的一个基本特征就是它们与邻近细胞及与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)之间的有规律的相互作用。正是通过细胞-细胞类型或细胞-细胞外基质类型的细胞接触受体与细胞内细胞骨架成分之间的跨膜联系,决定着动物细胞的形态。确定与细胞内外的蛋白质之间一系列结构上相互作用的组分,这方面的工作是一个很活跃的研究领域。在细胞接触的区域其质膜内侧,数种调节蛋白的定位意味着这些蛋白质结构上的相互作用之改变,可能不仅参与组织形成的“物理学”方面,或细胞对底物粘着的“物理学”方面的调节,而且还参与了与激活生长、发育,以及维持分化表型有关的基因表达的信号传递。

本文总结了说明装配状态的变化和参与形成这些结构装配的蛋白的基因表达的变化之间相互关系的研究情况。本文将综述有关的证据来说明,这些蛋白质在表达及组装上的变化是基因调控程序的整合性部分,而这个调控程序与静止期细胞的生长刺激、转化表型的形态变化特征以及分化细胞的特异基因表达具有密切联系。最后,对细胞骨架在传递外界信息过程中的几种可能机制进行了讨论。

二、细胞骨架蛋白的装配和表达之间的关系。

细胞骨架蛋白结构的形式是决定细胞形态和细胞接触结构的主要因素。当细胞接触和细胞骨架蛋白装配发生变化时,细胞骨架基因表达的调节可以作为通过细胞和组织形态发生过程中的变化来研究基因调节的有用模型。

在通过非聚合的微管蛋白的水平来研究微管蛋白mRNA含量的自我调节的过程中发现,在细胞骨架系统的装配状态发生变化之后发生细胞骨架mRNA的调节。用秋水酰胺、nocodazole或秋水仙素使微管解聚,导致了微管蛋白合成的快速下降。而当用长春花碱使微管蛋白人为地呈结晶态,或用紫杉酚(taxol)处理导致超稳定微管的形成而使微管蛋白人为地呈结晶态时,微管蛋白的合成增加。最近的研究表明,这种自我调节是发生在细胞质内的一种通过非聚合的微管蛋白亚基识别多核糖体上微管蛋白的N末端头四个新

生的氨基酸的胞质事件。这种蛋白与蛋白间的相互作用可能调节一种RNA酶的活性,而这种酶能降解微管蛋白的mRNA。

其他几种细胞骨架组分的表达与其装配模型之间的关系也已得到证明。早就发现,粘着斑蛋白(vinculin)的合成及其mRNA水平与在细胞-细胞和细胞-细胞外基质接触的区域形成粘着性连接(junction)程度有关。在成纤维细胞中,当使细胞悬浮于methocel中而丧失粘着的时候,细胞内总的蛋白质和mRNA含量中肌动蛋白的表达下降,而在重新贴附的成纤维细胞中,当广泛的张力纤维形成时,肌动蛋白的表达又被超诱导。中等纤维的蛋白合成及其mRNA水平也与细胞-细胞和细胞-细胞外基质接触的形成有关:在培养的成纤维细胞和上皮细胞中,当细胞在底物上完好地铺展时,波形蛋白(vimentin)的表达达到最高值,而在细胞-细胞接触含有丰富的桥粒时,单层上皮细胞的细胞角蛋白(cytokeratin)的表达量最高。因细胞的形态建成过程中的变化而引起的波形蛋白型和细胞角蛋白型中间纤维的不同表达,在共表达这两种类型的微丝的同一种细胞中也观察到。这些研究表明,存在着连结细胞骨架蛋白的组装模式与细胞骨架蛋白表达的反馈调节机制。

三、癌细胞的细胞形态和细胞骨架基因表达的变化

细胞转化是以包括细胞形状、细胞粘着以及细胞骨架蛋白组装上的变化在内的表型改变为其特征的。的确,粗的微丝束,或张力纤维的明显缺乏是培养的转化细胞及人类肿瘤的原代培养细胞的标记。有人提出,各种与微丝有关的组分的表达上的变化,可能导致在转化细胞中观察到的肌动蛋白纤维的结构变化,从而可以作为转化表型的标志。例如,在大量的转化细胞中,稳定的并与微丝交联的各种原肌球蛋白(tropomyosin)异构体其表达的启动是与由癌基因、各种致癌物、肿瘤病毒诱发的转化细胞相同的。最近,另一种与微丝有关的蛋白,凝胶溶蛋白(gelsolin),其表达之下降被证明是各种转化细胞的特征。

用单个氨基酸发生突变的肌动蛋白转染正常的人

成纤维细胞, 可以使表达突变的肌动蛋白的细胞获得致瘤的表型。在这些细胞中, 微丝的分布发生了改变, 而且原肌球蛋白异构体的表达形式也转变成与在各种其它的转化细胞中所观察到的相同。在类似的转染研究中, 例如, 将编码 $\alpha_5\beta_1$ 纤连蛋白(fibronectin)受体的 cDNA 转染中国仓鼠细胞发现, 这些细胞的转化表型在体内和体外均受到抑制。对不同组正常的与转化的细胞, 包括对温度敏感的转化细胞进行分析, 都表明了 $\alpha_5\beta_1$ 整合素型(integrin-type)纤连蛋白受体的表达水平下降。可以想象, 这种跨膜的细胞外基质受体表达水平的下降, 可能是微丝系统在被作为转化表型特征的细胞-基质接触的区域其组装水平下降的原因。因而, 在迄今为止所发现的几种肿瘤抑制基因中存在有编码细胞粘着样蛋白和细胞外基质蛋白的基因也就不足为奇了。

四、生长活化过程中细胞形状、细胞外基质细胞-骨架复合物的组装与其表达的变化

很久以来, 人们一直认为细胞附着于底物是培养过程中正常细胞生长所必需的。这就意味着细胞与细胞外基质组分的“适度粘着”(或“规律性粘着”)是促有丝分裂信号传递到细胞核内所必需的。如果微丝系统被破坏, 则这个由生长因子启动的信号传递就会受到损害。然而, 即使在缺少生长因子刺激时, 使用微管系统解聚的方法也可以诱导培养的静止期或纤维细胞中一个周期的 DNA 合成。

用纯化的生长因子去刺激细胞即可快速诱导细胞形态以及微丝系统组装的变化。有报道说用 PDGF 刺激 Balb/c 3T3 细胞 2—5 分钟后, 粘着斑蛋白在粘着斑处消失, 紧接着肌动蛋白-张力纤维发生解聚。在用生长因子刺激细胞后其转录水平迅速提高的一系列即早期基因('immediate early' gene)中, 已经鉴定出编码细胞外基质-微丝复合物的几种组分的基因(例如, 纤连蛋白, β -整合素, 粘着斑蛋白, α -原肌球蛋白以及肌动蛋白)。现已证明, 在血清生长因子的刺激下, 粘着斑蛋白基因的表达是迅速的, 而且是暂时的, 与 c-fos 和 c-myc 对这样的刺激的反应相似。有可能微丝蛋白基因表达的提高是细胞由静止期进入细胞周期所必需的。这个假说被我们最近的研究证实。我们发现, 肝被切除了 2/3 以后, 在其再生过程中, 细胞外基质-细胞质基因的表达立即出现, 但瞬间即逝。这个反应先于再生肝中 DNA 合成的启动。然而, 值得注意的是, 有数种血清生长因子已被证实不仅是促有丝分裂的。而且是成纤维细胞趋化物。

这就意味着这些基因在转录水平上的激活可能并不一定是促有丝分裂反应中的一部分。有可能细胞骨架-细胞外基质基因的诱导与诸如发生于伤口愈合过程中的趋化反应, 或者是胚胎发育期间的形态建成过程中作为某些细胞特征的细胞移动这样一些复杂的细胞学过程有关。

五、分化过程中细胞形态的变化与特异基因表达的调节

大量研究表明, 在细胞-细胞和/或细胞-细胞外基质接触发生改变之后, 细胞形态的变化与细胞分化特征有关。例如, 用不同的血清因子诱导的不同的 3T3 亚系, 在其发生脂肪性转变时就需要在细胞形态上由铺展的形状变成圆形。而当细胞培养在纤连蛋白上, 或培养在诸如非水合的、不能变形的细胞外基质、或像多聚赖氨酸一样的高度带电荷的分子上时, 这种效应就被抑制了。软骨细胞培养在纤连蛋白上时会变成纤维细胞样细胞。这时, 细胞呈铺展状, 并且表达 I 型胶原蛋白; 而在悬浮培养时, 软骨细胞就呈圆形, 并且维持着、或者是重新获得软骨细胞 II 型胶原蛋白的表达。乳腺上皮细胞的原代培养物, 当其培养在水合的基底膜型的细胞外基质上时, 就形成一个围绕着一个密闭腔的三维小泡结构。这些细胞表达大量的乳清酸蛋白, 并分泌到腔内; 而在其他基质上时, 由于小泡结构不能形成, 乳清酸蛋白的表达也就受到抑制。

细胞-细胞和细胞-基质接触在启动组织特异性基因表达方面的重要性, 在肝细胞的原代培养中也得到证实。除非肝细胞通过形成小团块来维持住细胞-细胞接触, 否则, 这些细胞在单层培养时就会迅速失去肝特异性的基因转录。在分散的肝细胞中, 分布广泛的转录因子 jun-B 的转录增厚, 而从肝中分离出的增强子结合蛋白、c/EBP 的转录增加及数种肝特异性基因的转录却在 24 小时后消失了。正在增殖的原代培养的肝细胞, 主要是通过能影响 mRNA 半衰期的转录后机制来诱导主要的细胞骨架蛋白的表达。当肝细胞培养在水合的基底膜型的细胞外基质上时, 其分化表型就可以得到有效的维持。在这种基质上, 细胞的增殖与细胞骨架蛋白 mRNA 的表达下降, 但细胞类型特异性基因的表达却得以维持。细胞外基质的物理学性质似乎较其组分更为重要, 因为如果肝细胞以充分高的密度培养, 以便形成广泛的细胞-细胞接触的话, 那么培养在水合的胶原蛋白凝胶上的细胞就可以维持细胞的分化表型。在对毛细管形成过程的一系列

研究中也做了这方面的观察。当在体外观察细胞外基质的单一组分和纯化的单一生长因子对上皮细胞的生长和毛细管形成的作用时,就可以发现,不同的细胞外基质分子能促进细胞在底物上的铺展以及FGF能对上皮细胞生长产生刺激作用。然而,当细胞致密地培养在几乎没有粘着性的底物上时,细胞变圆,并发生聚集,毛细管的形成过程即可以进行。这些发现意味着上皮细胞的生长、分化和毛细管形成各步的开关,可能通过细胞对细胞外基质粘着状态的改变来调节。

为发育和维持分化特征所必需的细胞结构的“适应性变化”,常常包括对细胞骨架组分装配过程的修饰,这些组分依次与细胞接触的形成。例如,已经证实,张力纤维系统在细胞松弛素的作用下受到破坏时,足以诱导培养的滑膜成纤维细胞中蛋白酶的表达,并能诱导在培养的肢体间质细胞中的软骨的形成,以及粒细胞成熟为高度类化的粒层黄体素细胞。通过影响跨膜的整合素型受体,即可诱导成纤维细胞转变为肌细胞以及蛋白酶基因的表达式。然而,在某种情况下,通过诱导蛋白酶表达的纤粘连蛋白受体的信号传递,也可能在不涉及到细胞形态及微丝组装发生明显变化的条件下出现。

在生长激活的情况下,细胞形态和细胞接触的变化与分化表型的表达有关,而这种分化表型也包括对细胞骨架蛋白基因表达的调控。这一点,在以下实验中尤其明显:用生长因子处理培养的细胞,或影响细胞接触,或将上皮细胞悬浮在胶原凝胶内,均可诱导上皮细胞与间质细胞间的转换。在这些研究中已经发现,从上皮细胞的细胞角蛋白型中等纤维系统向含波形蛋白的间质细胞的中等纤维的转变。在培养的正在分化的粒细胞中,在体内实验中的卵泡成熟过程以及激活的巨噬细胞中,也已发现了微丝组分表达中的协同变化。

六、细胞骨架与信号传递系统间的相互作用

除了对细胞形态和细胞接触起决定作用外,细胞骨架似乎还参与了对基因表达进行调节的信号传递机制。但是,信号由细胞表面经过胞质传递到核内的化学本质目前尚知之甚少。有人根据以下发现提出,细胞骨架在这个过程中作用是:1.在微丝系统和细胞外基质之间紧密联系的区域,即粘着斑处包含大量的信号传递级联物质,如酪氨酸激酶、蛋白激酶C、 Ca^{2+} -依赖性蛋白酶以及不同的原癌基因和癌基因的产物;2.粘着斑的结构组分,如 β -整合素、粘着斑蛋白、毛棘蛋白(paxillin)和踝蛋白(talin),可以被以

上调节分子磷酸化或蛋白水解而得以修饰;3.粘着斑组装上的变化被认为是与这些调节分子的活化有关;4.可以和微丝结合的蛋白,如前纤维蛋白(profilin)、凝溶胶蛋白(gelsolin)、组蛋白及 α -辅肌动蛋白(α -actinin),似乎能与脂类相作用,并因而直接插入到质膜的疏水区域。在质膜内,被脂类修饰的微丝蛋白便与磷脂酰肌醇信使途径的代谢产物相作用。有趣的是,前纤维蛋白(profilin)已被证明是对磷脂酶C活性有负调作用的,并因而可能是信号传递系统的一部分。这样,前纤维蛋白就可以将多聚磷脂酰肌醇代谢因信号传递而引起的变化与经受体介导的许多活化细胞中的微丝系统的变化联系起来。

七、与细胞骨架相结合的调节分子的定位

细胞骨架参与信号传递的另一种机制可能是通过不同的调节分子(激酶、磷酸酶、转录因子、mRNA)在细胞内的不同定位来实现的。例如,核活性的调节因子可以保留在细胞质内与不同的细胞骨架成分相联结,从而不在核内出现。传入的信号对微丝系统装配的调节就会释放出被隔绝的核因子,并可以向核内移位。这种在细胞激活后被细胞质隔绝的蛋白激酶亚基向核内的转移可以在几个系统中见到。最有趣的是,一个包括NF- κ B、KbF1、果蝇背部基因产物的转录因子家族,以及鸟类逆转录病毒癌基因rel,已被证实可以通过改变其在亚细胞结构上的定位而得以调节。最近,编码这个蛋白质家族的DNA-结合亚基的cDNA克隆已经证实,锚蛋白(ankyrin)(肌动蛋白结合蛋白)在结合DNA的亚基上有重复结构,对转录因子保留在细胞质内可能有作用。细胞质-细胞核的这种因子的隔绝式调节(sequestering regulation)被认为是既参与了鸟类逆转录病毒对淋巴细胞淋巴瘤(lymphoid cell tumor)的诱导,又参与了果蝇的背腹轴的形成。

细胞骨架还被认为在对不同种mRNA的定位中起着关键作用。这在许多生物的形态发育的调节中具有特别重要的意义。在发育过程中对形态建成具有调节作用的一些蛋白质的准确定位中,细胞骨架具有调节作用。例如,果蝇的nanos基因编码一种决定腹部形态所必需的蛋白质。在胚胎中,nanos的优先定位明显地由另外两个基因来决定:其中一个即编码一种细胞骨架蛋白(肌球蛋白样蛋白)。果蝇中的bicoid基因产物定位在卵中,这种基因产物即为具有转录调节活性的形成素。有3种其表达产物为bicoid的限制性分布所必需的基因已经被鉴定出来,但还不清楚它们是编码细胞骨架蛋白,还是编码能将bicoid mRNA与

细胞骨架相联结的蛋白。用破坏细胞骨架的药物进行的研究表明,果蝇中的另一种控制发育的基因, *ftz*, 其准确的定位与细胞骨架有关。这种蛋白在胚胎的细胞极化过程中具有限制性方式,并且首先定位于在形成的细胞的端部。

最近,进一步的研究表明,在非洲爪蟾的卵中, *vgl* mRNA 的定位(微丝)和移位(微管)过程有不同的细胞骨架蛋白的特异地参与。这种 *vgl* mRNA 在非洲爪蟾卵的形成过程中是一种重要的形态建成分子。与此类似,有一种鳞翅目绒膜基因产物是已被鉴定为在蚕蛾的卵中为细胞骨架所富集的 mRNA。现在,有关

细胞骨架与 mRNA 之间这种特异性联结的分子学基础尚不清楚。但这个分子学基础很可能与 mRNA 顺序和几种“细胞骨架结合蛋白”有关。

是否可以这样认为,在对外界信号的应答反应中,细胞骨架可能直接与信号传递网络相互作用和/或通过对调控分子在细胞内的不同定位而起作用。精确地解释这种调节事件的分子学基础是未来研究的主要课题。

赵 贇译自《生物学评论》Vol.13 No.5—May 1991 P 207—212.

(李 宁、王端顺、姚曾序审校)

史料介绍

生物学中的摩尔根时代

Judith R. Goodstein

J. R. Goodstein 于 1969 年获华盛顿大学博士学位。1968 年已担任加州工学院首位档案保管员,因此对该学院历史知之甚详。著有 Millikan School: “A History of the California Institute of Technology” 一书,本文即摘自该书。谨以此作为科学史料供读者参阅。

编 者

摩尔根(T. H. Morgan)1866 年生于肯塔基州 Lexington 市,外曾祖父 F. S. Key 是“星条旗”一书的作者,伯父 J. H. Morgan 曾是臭名昭著的美国南部联邦将官。青年时期,摩尔根对博物学的爱好胜过政治,常于肯塔基州农村边缘森林中和荒芜小径中,寻觅区系动物和化石。1886 年他获得肯塔基州大学动物学学士学位后,以夏季数月时间在马萨诸塞州的 Annisquam 海洋生物实验室工作,并随后被录取为约翰霍普金斯大学研究生,1890 年得到博士学位,论文是有关不同种的海蜘蛛的研究。当 1904 年摩尔根受聘于哥伦比亚大学时,已经因在实验胚胎学和再生方面的工作而远近驰名了。但使摩尔根久负盛誉的,是那些与果蝇有关的研究。他为了试图确定在性状的世代传递中染色体起着什么作用,如果有作用的话,在 1908 年开始了果蝇的繁殖。

摩尔根着手研究果蝇的时候,正值生物学家们首次正确评价久被忽视的 19 世纪奥地利神父孟德尔(G. Mendel)的发现。孟德尔的植物杂交试验结果(1866 年以简报报道),使他推断豌豆种子的特征,诸

如种子形状、豆荚色泽、株茎长短都是由他称之为遗传“单位”所决定的。今天每个学童都知道,孟德尔在修道院的小菜园里独自辛勤地劳动着,如何从豌豆反复杂交的无数次试验中,推理出豌豆存在着显性和隐性特征。可是,孟德尔的工作却受到了人们的漠视,直到 1909 年才分别为三位植物学家重新发现。

最初,许多研究者也包括摩尔根在内,对接受孟德尔的“遗传单位”(基因名词始见于 1909 年)系染色体组成成分的观点是十分勉强的,除非他们所依据的不是寺院内豌豆的统计学研究,而是源于实验室所观察得到的现象。这样,摩尔根及持相同意见的同事们就面临两方面问题:其一是,在多大程度上可以把孟德尔的工作视为生物体遗传特征的信得过的描述?其二是,染色体确为遗传的物质基础的论点究竟有多少正确性?C. B. Bridges(摩尔根的学生和后来的合作者),只花费了几年时间(1914—1916)就证实了染色体理论是正确无误的。要使摩尔根信服孟德尔的“基因”确实以染色体为载体,还得更多时间积累证据。

生物学家 J. Moore 谈到过在 1910—1911 年间摩