

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.14.038

Clathrin 在急性呼吸窘迫综合征中的研究进展*

刘俊彦 综述,李玉英[△] 审校

(第三军医大学新桥医院全军呼吸内科研究所,重庆 400037)

[关键词] 呼吸窘迫综合征,成人;危重病;Clathrin;中性粒细胞;巨噬细胞;肺水肿;急性呼吸窘迫综合征;综述

[中图分类号] R563.8

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)14-1981-04

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是指由心源性以外的各种肺内外致病因素导致的急性进行性呼吸衰竭。其致病因素众多,发病机制复杂,至今尚未完全阐明。除致病因素对肺泡的直接损伤外,更重要的是多种炎症细胞及其释放的炎症介质和细胞因子对肺泡上皮和微血管的损伤。ARDS 的主要病理生理特征为肺微血管通透性增加,肺泡内富含蛋白质的液体积聚,进而导致肺水肿和透明膜的形成,造成严重的通气/血流比例失调。近年来 ARDS 的分子发病机制逐渐成为研究热点,研究表明网格蛋白 (Clathrin) 在 ARDS 的发病及进展中扮演重要角色,现就其具体机制做一简要综述。

1 Clathrin 的基本结构、功能

Clathrin 是 1976 年在动物细胞中首次被发现的一种细胞极性相关的蛋白质,被称为网格蛋白。它是由 3 条重链和 3 条轻链构成的三脚架复合体,组成六边形或五边形的笼型结构,重链是三脚架结构的主要骨架,轻链用于调节 Clathrin 笼型结构的组装和拆卸。Clathrin 是所有真核细胞蛋白质和脂类从质膜运送到胞内的主要工具,也是蛋白质和脂类从反式高尔基体网络 (trans Golgi network, TGN) 到核内体的载体。植物细胞中的 Clathrin 至今未被正式鉴定,但在拟南芥基因组中发现了类似动物 Clathrin 的编码基因^[1]。Clathrin 介导的内吞 (Clathrin-mediated endocytosis, CME) 广泛参与组织器官生长发育等生理、病理过程的信号转导。植物 Clathrin 在生长素输出载体活性亚基 (PIN) 蛋白介导的生长素的极性运输过程中具有重要的调控作用^[1]。

2 Clathrin 介导的细胞内吞作用

CME 参与多种物质的入胞及胞内转运过程。Clathrin 包被囊泡 (Clathrin-coat vesicle, CCV) 的形成主要经过以下步骤: (1) Clathrin 包被小窝的成核化 (nucleation of Clathrin-coated pits); (2) 货物的捕获; (3) 细胞膜内陷、凹窝缩隘; (4) 囊泡剪切和去包被^[2]。这一过程需要多种辅助蛋白的参与,如 AP2、AP180、eps、endophilin、BAR、Efc/F-BAR 蛋白家族成员、HSC70 等。其中 AP2 (adapter protein) 是一种重要的衔接蛋白,它能识别结合货物并将其募集到 Clathrin、介导膜结合与定位和其他辅助蛋白 (dynammin、auxilin、Eps15) 相互作用,维持包被小窝的发育。Clathrin 在 ARDS 的多种致病因素和多个病理环节中发挥重要作用。Clathrin 不仅多方面参与介导白细胞和肺内巨噬细胞的生物学功能,还在各种炎症介质如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1β (IL- 1β) 和包括转化生长因子 β (TGF- β) 在内的多种细胞因子诱导的信号通路中起重要调

控作用。此外,Clathrin 内吞调控 Na、K-ATP 酶、水通道蛋白,以及上皮细胞的黏附连接和紧密连接,在肺水肿液和蛋白的清除、肺水肿的恢复中也具有重要意义。阐明 Clathrin 在 ARDS 中的作用机制,将有助于进一步深化对 ARDS 的发病机制的理解,并对 ARDS 的临床治疗提供新的思路。

3 Clathrin 与中性粒细胞激活

肺内多形核细胞 (PMN) 的产生是 ARDS 过度炎症反应的元凶。中性粒细胞触发呼吸爆发释放活性氧、大量炎症介质和细胞因子,导致肺泡上皮细胞和毛细血管内皮的损伤,引发肺水肿和气体交换障碍。(1) Clathrin 参与 E-选择素 (E-selectin) 介导的白细胞的黏附。E-选择素是表达于活化血小板和血管内皮细胞一种介导炎症反应的重要分子,与其配体结合后介导白细胞在活化血管内皮上的滚动。白细胞结合 E-选择素后,经 Clathrin 包被小窝迅速内吞。高渗环境孵育中国仓鼠卵巢 (Chinese hamster ovary, CHO) 细胞或内皮细胞能够可逆的损伤 Clathrin 介导的 E-选择素的内吞和支持白细胞滚动的能力。证明 E-选择素与 Clathrin 包被小窝相互作用加强了白细胞的黏附^[3]。(2) Clathrin 介导中性粒细胞趋化受体的内吞。血小板活化因子 (platelet-activating factor, PAF) 是一种具有多功能生物活性的脂质介质,包括血小板的激活、白细胞活化、气道收缩和血管通透性增高。PAF 受体需要 Clathrin 介导的内吞,募集 β -arrestin-1 和 p38MAPK 信号小体实现其生物信号的转导^[4]。其他可以作为配体经 Clathrin 介导内吞相应的中性粒细胞趋化受体,实现信号传导的方式的还有甲酰胺和白三烯 B₄。使用大量的 CME 药理抑制剂抑制 Clathrin 介导的内吞途径可能减弱或抑制 PMN 介导的急性肺损伤^[5]。(3) Clathrin 调节中性粒细胞过氧化物酶的产生。已知 Clathrin 能够介导 G 蛋白耦联受体的内吞^[6]。花生四烯酸 (leukotrienes B₄, LTB₄) 是休克后肠系膜淋巴液中的一种炎症介质,作为 G 蛋白耦联受体的激动剂,促进中性粒细胞过氧化物的产生,与急性肺损伤的发展密切相关。高渗盐水通过抑制 Clathrin 介导的活化的 G 蛋白耦联受体内吞,弱化中性粒细胞的激活效应,减少中性粒细胞过氧化物酶的产生,可能有助于减轻 ARDS^[7]。

4 Clathrin 与肺内巨噬细胞

肺内巨噬细胞是 ARDS 的始动环节之一。(1) 肺泡巨噬细胞的吞噬作用需要 Clathrin 包被小窝相关蛋白。用脂质体转染 Clathrin 抗体和 AP2 进入鼠肺泡巨噬细胞抑制了酵母聚糖外壳和致敏红细胞的内吞作用;金刚烷胺 (Clathrin 抑制剂) 能够抑制 Clathrin 包被囊泡的出芽,抑制上述物质的内吞,证

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目 (81070052)。 作者简介:刘俊彦 (1990—),在读硕士,主要从事急性呼吸窘迫综合征研究。

[△] 通讯作者, E-mail: lzhyhy@163.com。

明肺泡巨噬细胞的吞噬作用需要 Clathrin 介导的受体/膜成分的循环。在 J774A.1 巨噬细胞,可以通过松弛素 D 和 MDC (Clathrin 抑制剂)阻断 Clathrin 介导的内吞作用而抑制吞噬作用和大胞饮^[8]。(2)Clathrin 介导 CD163-L1 的内化。CD163-L1 属于富含半胱氨酸蛋白家族的 B 组清道夫受体,当单核细胞被巨噬细胞集落刺激因子激活变成巨噬细胞时,CD163-L1 的表达增加。CD163-L1 的功能是作为一种或多种配体的清道夫受体,可能在促炎症消退中发挥一定作用。促炎介质 IL-4、IL-13、TNF- α 和脂多糖 (LPS)/干扰素 γ (IFN- γ) 能抑制 CD163-L1 的表达,CD163-L1 是一种内吞受体,其表达的下降可能是由于 Clathrin 介导的内吞^[9]。(3)Clathrin/dynamin 协助 LPS 介导的 TRAM-TRIF 信号通路。Toll 样受体 (Toll like receptor, TLR) 是广泛分布在免疫细胞尤其是非特异免疫细胞及某些体细胞表面的一类模式识别受体。其中 TLR4 信号系统是清除细菌、预防致死性肺损伤和菌血症的关键。TRL4 识别 LPS,激活 TRAM-TRIF 依赖的局部信号通路并启动 LPS 的内化。使用 MDC、dynamin 抑制剂 (DS)、核内体酸化成熟抑制剂 (CQ) 使巨噬细胞内吞功能紊乱。结果显示, MDC 和 DS 不但影响 LPS 的内化,还减少了细胞因子和趋化因子的释放和 TRAM-TRIF 介导的信号分子的激活^[10]。

5 Clathrin 与肺水肿

5.1 肺泡内液体的转运

ARDS 的特征是肺泡内富含蛋白水肿液的积聚,因此肺泡内液体和蛋白的清除成为肺水肿恢复的关键。(1)Clathrin 介导 Na,K-ATP 酶的内吞。肺泡上皮细胞顶端膜的 Na⁺ 通道和基底膜外侧膜的 Na,K-ATP 酶的活动在肺泡液体的清除中发挥重要作用。在肺损伤中所见的 Na,K-ATP 酶功能的降低是由于其从细胞质膜进入细胞内池被降解造成的。低氧和活性氧刺激,导致 Na,K-ATP 酶 α 亚基磷酸化触发内吞是一种 Clathrin-AP2 依赖的过程^[11]。(2)Clathrin 是水通道蛋白的载体。水通道蛋白 (AQPs) 是位于细胞膜上的转运蛋白,目前人体的发现的 AQPs 有 13 种,其中 AQP1、3、4、5 表达于肺组织中。目前还未有关于 Clathrin 与 AQP1、3、5 关系的报道,但有研究发现在犬肾上皮细胞 (MDCK 细胞) 内以酪氨酸为基础的基底外侧膜的分选信号通过与 AP2 复合体的 μ 亚基直接作用,决定 AQP4 Clathrin 介导的内吞^[12]; Clathrin 介导 AQP2 在主细胞基底膜的运输^[13];肾集合管中的 AQP2 定位于 Clathrin 包被小窝,通过降低 Clathrin 介导内吞的辅助蛋白 (dynamin) 的活性可以抑制 AQP 的内吞^[14-15]。根据以上报道推测肺内 AQPs 的表达也与 Clathrin 有关,但仍欠缺有力的证据支持。(3)Clathrin 调节上皮细胞的紧密连接和黏附连接。ARDS 中上皮细胞及内皮细胞屏障功能破坏,水、离子及各种分子的转运失衡。黏附连接 (AJs) 和紧密连接 (TJs) 是调节上皮极性和屏障功能的关键。闭合蛋白 (claudins) 被认为是 TJ 结构中的关键蛋白,其中 claudin-1、claudin-5 肽的衍生物,分别位于上皮细胞和内皮细胞。claudin-1、claudin-5 肽的摄取绝大多数是经 Clathrin 介导的^[16]。Clathrin 介导 E-钙黏蛋白的动态循环。E-钙黏蛋白是上皮细胞黏附功能的中心组成成分,也在上皮的生长和极性的建立中发挥重要作用,当细胞外信号活动破坏黏附连接时,E-钙黏蛋白通过 Clathrin 进入细胞。敲除 Clathrin 重链造成 E-钙黏蛋白极性的部分缺失。锚定蛋白 (Ankyrin-G) 和 Clathrin 协同控制 E-钙黏蛋白的内化^[17]。此外,有研究发现 T84 细胞的其他 AJs 和 TJs 蛋白 (p120、 β -catenins、occludin、JAM-1、claudins-1、claudins-4 及 ZO-1) 的内吞也经 Clathrin 介导。

5.2 肺泡水肿液蛋白的转运

ARDS 肺泡水肿液中的蛋白大部分是来源于毛细血管渗漏的清蛋白。培养的 II 型肺泡上皮细胞对清蛋白的摄取是通过 Clathrin 介导的内吞实现的^[18]。在 A549 细胞中,肺部给药多聚-L-鸟氨酸 (Poly-L-ornithine, PLO) 后,PLO 可以与 FITC-清蛋白共同孵育,使清蛋白在细胞表面的结合和摄取明显增强,促进肺水肿的恢复。该效应在存在 Clathrin 抑制剂时被明显减弱^[19]。已知 Clathrin 介导清蛋白的内吞,PLO 促进清蛋白的吸收机制未见相关研究报道,其是否与 Clathrin 内吞的增强有关还有待进一步探索。

6 Clathrin 与各细胞因子

ARDS 的发生机制涉及各种炎症细胞的激活、炎症介质的释放、信号通路的启动和细胞因子的产生,如活化的中性粒细胞释放弹性蛋白酶、基质金属蛋白酶、TNF、IL 等,肺内巨噬细胞分泌 TNF、IL、PAF 等形成细胞因子网络,通过多种信号途径调节炎症反应的发生^[20],已证实其中某些物质和信号通路与 Clathrin 密切相关。(1)TNF- α 诱发的炎症信号需要 Clathrin 重链。TNF- α 是介导 ARDS 的主要细胞因子,它不仅能够诱导血管内皮的活化、白细胞迁移,还能与其他细胞因子如 IL-1 协同激活肺部炎症细胞的核转录因子 κ B (NF- κ B),诱导炎症的级联反应,使细胞表面的黏附分子表达增加。TNF 受体 1 (TNFR1) 募集多种激酶,最终使 I κ B α 磷酸化,磷酸化的 I κ B α 降解释放活性 NF- κ B,其中多种受体需要 Clathrin 介导的内吞。敲除人类肺泡上皮细胞 Clathrin 重链,导致 I κ B α 和 P65 磷酸化作用均显著减弱,同时单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 的产生也降低。关于 TNF 受体 2 (TNFR2) 的内吞途径尚未完全知晓,但在 TNFR2 的细胞膜内结构中鉴定出的二亮氨酸基团证明 Clathrin 介导 TNFR2 的内吞^[21],表明 Clathrin 参与 TNF- α 诱导的炎症信号通路。(2)IL-1 β 的内化涉及 Clathrin 介导的内吞。IL-1 β 为一种致炎细胞因子,激活 NF- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPKs) 信号通路,诱导相关炎症因子的表达,广泛参与了人体组织破坏、水肿形成等多种病理损伤过程。IL-1 与受体结合组成 IL-1R I 和配体蛋白 IL-1RAc 实现其细胞效应。此外 IL-1 与 IL-1R II 结合使信号缺失的功能称为诱饵效应。IL-1 的内化是由诱饵受体 (IL-1R II) 特异介导的,内化需要消耗 ATP 且涉及 Clathrin 的内吞作用^[22]。(3)Clathrin 介导内吞调节 TGF- β 信号通路,参与维持生长、发育和组织稳态^[23]。ARDS 的终末阶段是肺纤维化的发生。TGF- β 1 是一个涉及多种器官的纤维化的关键细胞因子,通过与丝氨酸/苏氨酸激酶受体复合物结合诱导 Smad2 和 Smad3 磷酸化实现信号通路的转导,Clathrin 与 TGF- β 受体的内吞和降解都密切相关,通过调节 Clathrin 的功能,能够实现对 Smad 信号通路及 TGF- β 生物学作用的调控。使用 Clathrin 依赖的内吞受体 (dynamin) 抑制剂,可以抑制 TGF- β 受体内化和 Smad2/3 的磷酸化^[24]。抑制 Clathrin 介导的内吞,TGF- β Smad 信号通路被明显抑制^[25-26]。此外,Clathrin 介导内吞参与调控溶酶体途径的 TGF- β 受体的降解^[27]。Clathrin 内化 TGF- β 受体是否参与了 ARDS 终末期肺纤维化的发生还需要更多的依据。(4)除了上述介绍的 LTB4 外,PAF、内毒素、IL-18 也都是通过 G 蛋白耦联受体介导信号传导^[5],在炎症过程中起着重要作用。

7 Clathrin 参与肺泡膜磷脂代谢和自噬

肺表面活性物质结合蛋白 (surfactant-associated protein A, SP-A) 是反映 II 型肺泡上皮细胞功能的早期指标和预后标准,SP-A 含量下降可作为 ARDS 高危患者预警^[28]。SP-A 具

有多种生物学功能,如参与肺泡表面活性物质(PS)的形成及代谢;作为自身调节因子稳定细胞内外 PS 的水平;限制血浆蛋白渗漏入肺泡腔,参与局部防御;调节肺泡巨噬细胞的功能,促进其趋化活性和氧自由基的产生等。相对于补体和免疫球蛋白,SP-A 在肺泡内含量较多,对肺部炎症的调节具有重要意义。肺泡腔内 SP-A 清除的主要途径是由 II 型肺泡上皮细胞经 Clathrin 介导的内吞重摄取,摄取的 SP-A 部分进入板层小体,再与新合成的 SP-A 共同分泌进入肺泡腔^[29];还有部分与受体结合,经 Clathrin 介导被巨噬细胞摄取降解^[30]。有研究发现,Clathrin 与细胞自噬有关。禽流感病毒 H5N1 感染的患者通常患有严重的肺炎,病情迅速发展,最终发展成 ARDS、呼吸衰竭。实验证明,H5N1 假性病毒颗粒的血凝素(HA)不仅诱导促炎细胞因子和趋化因子的产生,也引发了 A549 细胞和小鼠肺组织细胞自噬。自噬介导的炎性反应涉及 NF- κ B 和 p38MAPK 信号通路的激活,需要 Clathrin 的参与^[31]。

8 总 结

Clathrin 不仅涉及 ARDS 病理过程的多个环节,更广泛参与人体多种生理过程,尚未发现参与全身和(或)肺部炎症反应的 Clathrin 存在,因此靶向治疗的可行性还有待鉴定。目前已发现多种 Clathrin 介导内吞抑制剂,虽然部分体外细胞培养和动物实验中发现调节 Clathrin 的功能对于 ARDS 或炎症反应过程有一定的影响,但缺乏相关临床实验依据,故 Clathrin 抑制剂在 ARDS 的作用机制有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 王超. 拟南芥网格蛋白轻链的功能分析[D]. 金华:浙江师范大学,2012.
- [2] 周丽,杨晓虹,徐利保,等. 网格蛋白介导型内吞作用与广谱抗病毒药[J]. 国际药学研究杂志,2013,40(1):43-47,99.
- [3] Setiadi H, Mcever RP. Clustering endothelial E-selectin in Clathrin-coated pits and lipid rafts enhances leukocyte adhesion under flow[J]. *Blood*, 2008, 111(4):1989-1998.
- [4] Smani Y, Docobo-Pérez F, López-Rojas R, et al. Platelet-activating factor receptor initiates contact of *Acinetobacter baumannii* expressing phosphorylcholine with host cells [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(32):26901-26910.
- [5] McLaughlin NJ, Banerjee A, Khan SY, et al. Platelet-activating factor-mediated endosome formation causes membrane translocation of p67phox and p40phox that requires recruitment and activation of p38 MAPK, Rab5a, and phosphatidylinositol 3-kinase in human neutrophils [J]. *J Immunol*, 2008, 180(12):8192-8203.
- [6] Soohoo AL, Bowersox SL, Puthenveedu MA. Visualizing Clathrin-mediated endocytosis of G protein-coupled receptors at single-event resolution via TIRF microscopy [J]. *J Vis Exp*, 2014(92):e51805.
- [7] Lee L, Kelher MR, Moore EE, et al. Hypertonic saline inhibits arachidonic acid priming of the human neutrophil oxidase [J]. *J Surg Res*, 2012, 174(1):24-28.
- [8] Kuhn DA, Vanhecke D, Michen B, et al. Different endocytotic uptake mechanisms for nanoparticles in epithelial cells and macrophages [J]. *Beilstein J Nanotechnol*, 2014, 5:1625-1636.

- [9] Moeller JB, Nielsen MJ, Reichhardt MP, et al. CD163-L1 is an endocytic macrophage protein strongly regulated by mediators in the inflammatory response [J]. *J Immunol*, 2012, 188(5):2399-2409.
- [10] Wang Y, Yang Y, Liu X, et al. Inhibition of Clathrin/dynamin-dependent internalization interferes with LPS-mediated TRAM-TRIF-dependent signaling pathway [J]. *Cell Immunol*, 2012, 274(1/2):121-129.
- [11] Sottejeau Y, Belliard A, Duran MJ, et al. Critical role of the isoform-specific region in alpha1-Na, K-ATPase trafficking and protein Kinase C-dependent regulation [J]. *Biochemistry*, 2010, 49(17):3602-3610.
- [12] Madrid R, Le Maout S, Barrault MB, et al. Polarized trafficking and surface expression of the AQP4 water Channel are coordinated by serial and regulated interactions with different Clathrin-adaptor complexes [J]. *EMBO J*, 2001, 20(24):7008-7021.
- [13] Yui N, Lu HA, Chen Y, et al. Basolateral targeting and microtubule-dependent transcytosis of the aquaporin-2 water Channel [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304(1):C38-48.
- [14] Rice WL, Zhang Y, Chen Y, et al. Differential, phosphorylation dependent trafficking of AQP2 in LLC-PK1 cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2):e32843.
- [15] Fenton RA, Pedersen CN, Moeller HB. New insights into regulated aquaporin-2 function [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2013, 22(5):551-558.
- [16] Zwanziger D, Staat C, Andjelkovic AV, et al. Claudin-derived peptides are internalized via specific endocytosis pathways [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1257:29-37.
- [17] Jenkins PM, Vasavda C, Hostettler J, et al. E-cadherin polarity is determined by a multifunction motif mediating lateral membrane retention through ankyrin-G and apical-lateral transcytosis through Clathrin [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(20):14018-14031.
- [18] Buchäcker Y, Rummel S, Vohwinkel CU, et al. Megalin mediates transepithelial albumin clearance from the alveolar space of intact rabbit lungs [J]. *J Physiol*, 2012, 590(20):5167-5181.
- [19] Yumoto R, Suzuka S, Nishimoto S, et al. Enhancing effect of poly(amino acid)s on albumin uptake in human lung epithelial A549 cells [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2013, 28(6):497-503.
- [20] 马李杰, 李王平, 金发光. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征发病机制的研究进展 [J/CD]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2013, 6(1):65-68.
- [21] Fischer R, Maier O, Naumer M, et al. Ligand-induced internalization of TNF receptor 2 mediated by a di-leucine motif is dispensable for activation of the NF- κ B pathway [J]. *Cell Signal*, 2011, 23(1):161-170.
- [22] Bourke E, Cassetti A, Villa A, et al. IL-1 beta scavenging by the type II IL-1 decoy receptor in human neutrophils [J]. *J Immunol*, 2003, 170(12):5999-6005.
- [23] Clement CA, Ajbro KD, Koefoed K, et al. TGF- β signaling

is associated with endocytosis at the pocket region of the primary cilium[J]. *Cell Rep*, 2013, 3(6):1806-1814.

- [24] Aki S, Yoshioka K, Okamoto Y, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase class II α -isoform PI3K-C2 α is required for transforming growth factor β -induced Smad signaling in endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(10):6086-6105.
- [25] Balogh P, Katz S, Kiss AL. The role of endocytic pathways in TGF- β signaling[J]. *Pathol Oncol Res*, 2013, 19(2):141-148.
- [26] Bizet AA, Liu K, Tran-Khanh N, et al. The TGF- β co-receptor, CD109, promotes internalization and degradation of TGF- β receptors[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(5):742-753.
- [27] Hao X, Wang Y, Ren F, et al. SNX25 regulates TGF- β signaling by enhancing the receptor degradation[J]. *Cell Signal*, 2011, 23(5):935-946.

- [28] 张雪梅, 陈海龙. 肺表面活性物质相关蛋白 A 在急性肺损伤时的作用[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2010, 16(6):720-722.
- [29] Fisher AB, Dodia C, Ruckert P, et al. Pathway to lamellar bodies for surfactant protein A[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 299(1):L51-58.
- [30] Moulakakis C, Stamme C. Role of Clathrin-mediated endocytosis of surfactant protein A by alveolar macrophages in intracellular signaling[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 296(3):L430-441.
- [31] Pan H, Zhang Y, Luo Z, et al. Autophagy mediates avian influenza H5N1 pseudotyped particle-induced lung inflammation through NF- κ B and p38 MAPK signaling pathways[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306(2):L183-195.

(收稿日期:2015-11-15 修回日期:2016-02-29)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.14.039

细胞凋亡基因 GRIM-19 研究进展*

赵 祯, 沈国华 综述, 蔡华伟[△] 审校

(四川大学华西医院核医学科, 成都 610041)

[关键词] GRIM-19; 细胞凋亡; 肿瘤; 维甲酸; 干扰素

[中图分类号] R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)14-1984-03

2000 年, Angell 等^[1]用反义 RNA 敲除技术从乳腺癌细胞中, 在维甲酸(retinoic acid, RA)/干扰素(interferon, IFN)联合应用诱导筛选鉴定出的促细胞凋亡基因(gene associated with retinoid/interferon induced mortality 19, GRIM-19)。GRIM-19 蛋白高表达可促进细胞凋亡, 而低表达可能与肿瘤细胞的异常增殖有关^[2]。本文就 GRIM-19 的结构、促凋亡作用机制、组织分布及其在肿瘤治疗中的作用, 综述如下。

1 GRIM-19 结构和促凋亡作用机制

GRIM-19 是 GRIM 家族中分子量最小的一个, 定位于人体 19 号染色体 p13.1, 全长 16 000 bp, 可以编码含 144 个氨基酸残基的蛋白质, 分别有 7-和 93-bp、59-和 39-bp 非翻译区序列^[1]。GRIM-19 在大多数细胞的细胞质和细胞核中均有分布, 是线粒体 NADH 脱氢酶 I 复合物的组成成分, 在线粒体 I 型呼吸过程中起着重要作用^[3-4]。RA 是维生素 A 的生物活性代谢产物, 对多种肿瘤, 如急性早幼粒细胞性白血病、头颈部肿瘤等具有诱导细胞分化和促进凋亡的作用^[5]。IFN 是一族具有多种功能的多肽分子复合物, 具有抗病毒、抗增生和免疫调节作用, 在宿主抗病毒和抗肿瘤免疫防御中发挥核心作用^[6]。RA 或 IFN 单独诱导 GRIM-19 基因转录和蛋白表达能力很弱, 但 RA/IFN 联合使用可促使 GRIM-19 表达能力明显增强^[7]。骨肉瘤细胞中加入 RA/IFN, GRIM-19 表达增加, 与其结合的转录信号转导子与激活子 3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)也增多。RA/IFN 联合应

用抑制肿瘤细胞增殖并诱导凋亡, 其机制可能是通过上调 GRIM-19 表达, 进而下调 STAT3 表达实现的^[8]。STAT3 在生长因子、细胞因子的刺激下发生酪氨酸磷酸化而被活化, 启动酪氨酸激酶(janus kinase, JAK)-转录信号转导子与激活子(signal transducers and activators of transcription, STAT)信号传导通路, 上调凋亡抑制因子[如 B 淋巴细胞瘤-2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)、B 淋巴细胞瘤-XL(B cell lymphoma-XL, Bcl-XL)]和细胞周期调节因子[如细胞周期蛋白(cyclin)、细胞周期调节基因(c-myc)]的表达, 导致细胞异常增殖, 与多种肿瘤形成有关。阻断 STAT3 信号通路, 可抑制细胞异常增生, 诱导凋亡。GRIM-19 与 STAT3 特异性结合, 抑制 STAT3 通路, 下调 cyclin、c-myc、Bcl-2、Bcl-XL 等下游基因的表达, 促进细胞凋亡。GRIM-19 和 STAT3 特异性结合需要转录激活域和 Ser-727 残基^[9]。GRIM-19 还通过抑制细胞黏附分子(CAM)的酪氨酸磷酸化(如 E-钙黏蛋白、局部黏附激酶、paxillin), 阻碍酪氨酸激酶(Sarcoma, Src)家族诱导的细胞恶性转化和迁移^[10]。

2 GRIM-19 组织分布

GRIM-19 在人体正常组织中普遍存在, 尤其在心脏和骨骼肌中表达较高, 但在肿瘤组织中表达降低或缺失^[11]。

2.1 肺癌 Fan 等^[12]对 51 例肺疾病患者(16 例鳞癌、15 例腺癌、10 例小细胞癌、10 例慢性炎症)研究后发现, 与慢性炎症患者相比, GRIM-19 在鳞癌、腺癌、小细胞癌中的表达均降低。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81201118、81301250)。

[△] 通讯作者, E-mail: hw.cai@yahoo.com。

作者简介:赵祯(1982-), 主治医师, 博士, 主要从事分子影像研究。