

文章编号:1000-1336(2003)05-0344-02

ADAM 家族的结构特征与生物学功能

蔡亮 朱鹏程* 商琪颖 徐人尔 赵寿元

(复旦大学生命科学学院遗传学研究所, 上海 200433)

摘要: ADAM 家族(A Disintegrin And Metalloproteinase domain)是一类包括去整合域和金属蛋白酶域的跨膜蛋白分子,具有发育、细胞间相互作用、精卵结合、肌管融合、神经发育和肿瘤发生等功能。本文对 ADAM 家族的结构和主要功能进行介绍。

关键词: ADAM; 细胞融合; 细胞粘附; 金属蛋白酶活性

中图分类号: Q26

ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase domain) 又名 MDC (Metalloproteinase Disintegrin Cysteine-rich), 是锚定于细胞膜的细胞表面蛋白质家族。该家族成员通常由 800-1200 个氨基酸组成, 具有显著的结构特点; 在细胞外基质的水解、细胞-细胞和/或细胞-基质的粘连、细胞融合及信号传导等细胞活动中可能具有重要作用^[1]。迄今为止已报道的 ADAM 家族成员有约四十种, 广泛存在于多细胞动物中。

1. ADAM 家族的结构特征(见表 1)

2. ADAM 家族参与细胞粘连与融合功能

细胞粘连是细胞融合的前奏, 二者息息相关; ADAM 蛋白在此过程中具有重要作用。

2.1 受精过程 致育蛋白(Fertilin) α 、 β , 也称为 ADAM1、ADAM2, 是 ADAM 家族中最早被发现的两个成员。致育蛋白在睾丸中表达, 是存在于精子表

面的异源二聚体, 由两个 I 型跨膜糖蛋白——致育蛋白 α 和致育蛋白 β 构成。豚鼠致育蛋白 α 、 β 前体, 在精子发生过程中被水解, 去除了前导肽和类金属蛋白域, 致育蛋白 β 的去整合素域和卵细胞的整合素域 $\alpha 6 \beta 1$ 相结合, 介导精卵结合^[9]。在小鼠基因剔除实验中, 缺少致育蛋白 β 的小鼠精子在精卵细胞膜粘连、精卵结合及从子宫迁移至输卵管的过程中, 表现出功能缺陷^[10]。

ADAM1~3 的去整合域都有 13 个连续的半胱氨酸, 在精卵结合中有重要作用; 其中人工合成的 ADAM3 去整合素域的抑制精卵粘连和融合的作用强于致育蛋白 β 的相似片段。荧光免疫实验显示, 在进行顶体反应的活精蛋白质分子中, ADAM3 和致育蛋白 β 都分布在中纬区域, 该区域的细胞膜参与精卵融合的早期阶段^[11]。

表 1 ADAM 家族成员功能域

功能域	结构特征	功能活性
前导肽	约由 200 个氨基酸构成, 和类金属蛋白酶域之间相隔一个或者多个 Furin 切割位点	封闭蛋白酶活性, 成为催化区域的抑制因子 ^[2] ; 有自身催化的活性 ^[3] ; 具有的半胱氨酸调控基序破坏和 ZINC 的活化位点
类金属蛋白域	约由 200 个氨基酸构成, HEXGHNLGXXHD 为共同的序列, 其中三个 H 结合锌离子, G 发生链转角, E 是催化位点	(未见报道)
类去整合素域	由 60~90 个氨基酸构成, 包括 6~15 个 C 残基, 与去整合素类似	整合素或其它受体的配体, 通过 13 个氨基酸组成的去整合素环与整合素作用 ^[4] ; 其 ECD 保守基序参与细胞-细胞的粘连 ^[5]
融合域 (潜在)	C-rich 和 EGF-like 域分别含有约 160 个氨基酸(包括 10~14 个 C)和 40 个氨基酸(包括 6 个 C)	具有 IGFBP-3 蛋白酶活性 ^[6] ; 参与生物合成或构成细胞表面其他结构
跨膜域	分为游离和膜锚定构型	使 ADAM 蛋白可以对细胞表面和远距离细胞进行调节
信号传导域 (潜在)	氨基酸数目从 11 个到 250 个不等, 有些富含 P, 另一些含较多的 K 和 S	可能含有细胞骨架相关蛋白的结合位点 ^[7] ; 与肌细胞融合相关 ^[8]

收稿日期: 2003-03-27

作者简介: 蔡亮, 男, 23, 本科; * 朱鹏程, 同为第一作者; 赵寿元, 联系作者。

迄今为止,已发现 ADAM 家族成员中的致育蛋白 β , ADAM9, ADAM12, ADAM15, ADAM23 与 $\alpha 6\beta 1$, $\alpha V\beta 3$, $\alpha 9\beta 1$, $\alpha V\beta 5$, 以及 $\alpha 5\beta 1$ 的膜融合,在细胞内和细胞表面的生物途径如膜泡运输、病毒-细胞融合、细胞-细胞融合中都有重要作用。

2.2 肌管形成 同受精作用一样,由成肌细胞形成肌管的过程,也是一个复杂的多步骤过程;融合前的成肌细胞必须先经历分化才能融合。成肌细胞的粘连过程中涉及许多复杂的分子间相互作用,分为钙依赖型和非钙依赖型两种。肌细胞中找到的致育蛋白的三个同源物,即 Meltrin α 、 β 和 γ ,极有可能参与了该过程。

三个基因中, Meltrin α 的表达最为特异,它含有保守的锌离子结合序列和金属蛋白酶域,体外实验表明,它具有水解 $\alpha 2$ -巨球蛋白复合物的能力^[12]。Meltrin α 的水解蛋白能力在降解细胞外基质过程中可能有作用。Meltrin α 也可能与水解活化其自身或其它成肌细胞表面蛋白有关。Meltrin α 氨基酸序列中包含类去整合素域,可能在细胞粘连中有作用。

经 Northern 和 Western 杂交分析, Meltrin γ 在多种组织中都有表达,其显著作用是蛋白水解功能。Meltrin γ 的前体是没有酶活性的,只有在它被水解前导肽,或被蛋白激酶 C 磷酸化后才能表现出水解活性。缺失突变实验表明, Meltrin γ 的金属蛋白酶域对加工类表皮生长因子(如:肝素结合生长因子)是必需的^[13]。Meltrin γ 通过水解加工一些膜蛋白的胞外域,改变蛋白的状态、位置、活性形式而实现其生物功能。

总之, ADAM 蛋白参与两类不同的细胞融合途径:异源的精卵融合以及同源的成肌细胞融合;在细胞融合过程中具有相似的机制。尽管致育蛋白 α 和 Meltrin α 在半胱氨酸富集区域都具有潜在的融合性多肽,但是还不能完全断定它们就是融合蛋白。即使它们不介导融合,也可能在融合前期或者融合后期具有重要功能。除致育蛋白 α 和 Meltrin α 之外, ADAM9、ADAM11, 以及在巨噬细胞中克隆的 ADAM8 等也具有潜在的融合多肽。从果蝇中克隆的 ADAM14, 从蝶螈中克隆的 ADAM13 都与融合相关,线虫中首次克隆的 ADAM14 在皮下组织中也参与了融合过程。在很多低等生物中都发现 ADAM 蛋白质参与融合,某些细胞融合的特征在整个动物界具有保守性,这对功能预测具有一定作用。而我们最近的研究工作表明, ADAM22 也具有细胞粘附的功能,并发现 ADAM 与 14-3-3 两大基因家族的蛋

白产物存在着相互作用;我们证明 ADAM 22 的胞质尾序列和 14-3-3 能够在体外和体内结合,验证 14-3-3 具有调节 ADAM 22 介导的细胞粘附的功能,开拓了研究视野^[14,15]。

3. ADAM 家族金属蛋白酶活性

金属蛋白酶在很多生理过程中起着重要的作用:参与细胞增殖、分化、胞外基质重建、血管形成和细胞迁移等。ADAM 利用去整合域和底物或者底物关连蛋白结合,而其金属蛋白酶活性则切割底物,使底物具有生物活性。

ADAM17(TACE) 和 ADAM10 具有显著的金属蛋白酶活性,分别对肿瘤坏死因子- α 前体和髓鞘碱性蛋白有水解作用。

3.1 TACE TACE 在组织中广义表达,前导肽序列通常在晚期高尔基体中被碱性氨基酸蛋白酶或者相关的酶切除。TACE 能够水解膜结合型的 TNF- α 前体的 Ala76 ~ Val77 之间的肽键,释放出可溶性的 TNF- α 。TACE 基因缺失突变的 T 细胞和野生型相比, TNF- α 释放率下降 80 ~ 90%, 而细胞表面的 TNF- α 表达量却显著上升。该种突变细胞的 γ -干扰素的分泌量没有任何改变,说明 TACE 缺失的细胞对刺激仍会有响应,其它蛋白的分泌也没有缺陷^[16]。TACE 的胞质尾富含脯氨酸,并包含一个潜在的酪氨酸磷酸化位点 - KKLDKQYESL, 该位点具有和 SH3 区域相结合的潜能;很可能具有信号传导的功能,或对酶的亚细胞定位有重要作用。缺失了 TACE 基因中的离子结合域的 TACE Δ Zn/ Δ Zn 缺陷型小鼠大多于胚胎期 17.5 天至出生后第一天间死亡,出生的缺陷型小鼠都具有未充分发育的触须和睁开的眼睑;少数在出生后存活几天的小鼠的体重比正常小鼠轻 20 ~ 40%, 并表现出眼的退化、皮肤毛囊结构及毛发色素分布异常等各种突变表型;证明 TACE 基因对多种结构功能各异的膜蛋白分子有水解加工作用,并在发育过程中有重要作用。

近年来, TACE 对淀粉样蛋白质前体(amyloid protein precursor, APP)的水解加工作用成为一个新的研究热点^[17]。TACE 能专一地促进 APP 以 α -裂解方式水解,从而大大降低 β -AP 的形成(在老年痴呆症患者的脑中可见 β -AP 的大量堆积)。

3.2 ADAM10 ADAM10 最早从牛肾中纯化得到,体外实验表明,它能水解人胎盘 IV 类胶原蛋白。ADAM10 具有典型的活性金属蛋白酶域,很可能和加工细胞因子前体有关,也可能和在介导免疫反应中各细胞因子的膜表面受体的释放相关。

文章编号:1000-1336(2003)05-0346-02

新型的干扰素 λ 家族邹 炜 黄仕和¹(武汉大学生命科学院,武汉 430072;¹武汉生物制品研究所,武汉 430060)

摘要: 干扰素 λ 为一类新型的干扰素家族,分 IFN- λ 1、IFN- λ 2 和 IFN- λ 3 等 3 种,也分别称为 IL-29、IL-28A 和 IL-28B;其功能受体复合物是由新鉴定的 CRF2-12 和 IL-10R2 组成的异二聚体。配体与受体相互作用能活化 Jak-STAT 通路,并起抗病毒或其他防御功能作用。

关键词: 干扰素 λ ; 白介素-28; 白介素-29; CRF2-12

中图分类号: Q511

干扰素(IFN)是发挥多种生物学功能的一类重要细胞因子,它分为 I 型 IFN(IFN- $\alpha\beta$ 家族)和 II 型

IFN(IFN- γ 家族)。在人类,前者包括 13 种 IFN- α s、IFN- β 、IFN- ω 、IFN- κ 和 IFN- ϵ ;后者只存在单一成员 IFN- γ 。2003 年,美国 Kotenko、Sheppard 及其同事^[1,2]鉴定了一类新型的干扰素家族—干扰素 λ (IFN- λ s)及其受体 IFN- λ R,人类基因组组织(Hu-

收稿日期:2003-03-19

作者简介:邹炜(1982—),男,本科生;黄仕和(1965—),男,副研究员,硕士。

ADAM10 mRNA 在各种年龄段的人软骨样品中均被检出。随着年龄的增加,ADAM10 mRNA 显著减少,骨关节炎病人的软骨样品中,ADAM10 的 mRNA 明显增加三倍。骨关节炎发病的早期特征是在关节软骨处外周和区域性的基质减少。ADAM10 mRNA 水平上升表明了 ADAM10 和这种变化有着紧密联系,其金属蛋白酶域的活性在降解、破坏软骨基质过程中发挥着重要作用^[18]。在胎儿肾上腺和肾上腺髓质肿瘤的交感性神经节中也测到 ADAM10 的表达,但在正常成人的肾上腺髓质中不表达^[19]。

遗传突变实验证明,ADAM10 在果蝇中的同源物 KUZ 基因突变后的表型,类似于 Notch 基因突变后的表型。缺失了蛋白酶域的 KUZ 基因可导致显性棒眼、缺刻翅及多余小盾刚毛等表型的产生,而其它缺失突变体没有产生任何显性突变表型:证明 KUZ 蛋白是一个有活性的蛋白酶。ADAM10 的线虫同源物 SUP-17 也能够影响果蝇 Notch 基因的线虫同源物 LIN-12 的活性和信号传导。

ADAM 家族是一个成员众多的蛋白质大家族,该家族成员尽管都含有四个相当保守的结构功能域,但是它们的组织分布、活性功能以及发挥的生物学作用各不相同。它们在精卵结合、神经发育、肌管形成等各个生理过程中的重要作用使其成为近年来的研究热点。尽管各种功能实验还未完全解开这些蛋白质

的作用机制和调控机理,但随着研究的进一步深入,人们对于它们的了解一定会更加深刻。

参 考 文 献

- [1] Primakoff P *et al.* *Trends in Genetics*, 2000, 16(2):83—87
- [2] Milla ME *et al.* *J Biol Chem*, 1999, 274:30563
- [3] Howard L *et al.* *Biochem J*, 2000, 348:21
- [4] Zhang XP *et al.* *J Biol Chem*, 1998, 273(13):7345—7350
- [5] Bigler D *et al.* *J Biol Chem*, 2000, 275:11576
- [6] Shi Z *et al.* *J Biol Chem*, 2000, 275:18574
- [7] Howard L *et al.* *J Biol Chem*, 1999, 274:31693
- [8] Galliano MF *et al.* *J Biol Chem*, 2000, 275:13933
- [9] Evans JP *et al.* *Biol Reprod*, 1998, 59(1):145—152
- [10] Chang C *et al.* *Trends in Cell Biology*, 2001, 11: S37—S43
- [11] Yuan R *et al.* *J Cell Biol*, 1997, 137(1):105—112
- [12] Loechel F *et al.* *J Biol Chem*, 1998, 273(27):16993—16997
- [13] Izumi Y *et al.* *EMBO J*, 1998, 17: 7260—7272
- [14] ZHU PC *et al.* *Science in China (Series C)*, 2002, 45(6): 577—582
- [15] ZHU PC *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 301: 991—999
- [16] Wen C *et al.* *Development*, 1997, 124(23): 4759—4767
- [17] Buxbaum JD *et al.* *J Biol Chem*, 1998, 273(43): 27765—27777
- [18] Chubinskaya S *et al.* *J Histochem Cytochem*, 1998, 46(6): 723—729
- [19] Yavari R *et al.* *Hum Mol Genet*, 1998, 7(7): 1161—1167