



新生物学丛书

新生物学年鉴

2012

《新生物学年鉴2012》编委会 主编

- ▶ 细胞信号转导的分子机制
- ▶ 神经可塑性与认知过程
- ▶ 天然免疫的分子机制与免疫性疾病
- ▶ 蛋白质复合物的空间结构
- ▶ 定量蛋白质组学
- ▶ 生命科学的新技术与新方法
- ▶ 药物化学研究



科学出版社

. 013931470

Q
06
2012

新生物学丛书

新生物学年鉴 2012

《新生物学年鉴 2012》编委会 主编



Q
06
2012

科学出版社

北京



北航

C1640010

内 容 简 介

本书为一部反映生命科学最前沿领域的综述性文集,内容涉及细胞生物学、免疫学、药物化学、蛋白质组学,以及现代生物学的新技术与新方法等,共12篇文章。这些文章由《新生物学丛书》7位编委组稿并遴选,各地大学及研究所相关领域的领军科学家撰写,因此体现了这些领域的最新研究成果,以及前沿生命科学的发展现状。《新生物学年鉴》每年出版一本,记录生命科学的发展与进步。

本书适合各相关领域的高年级本科生、研究生、专业研究人员学习参考。对于希望了解生物学发展现状的科研爱好者,本书也可作为很好的阅读材料。

图书在版编目(CIP)数据

新生物学年鉴 2012 /《新生物学年鉴 2012》编委会主编. —北京:科学出版社, 2013. 2

(新生物学丛书)

ISBN 978-7-03-036403-6

I. ①新… II. ①新… III. ①生物学-文集 IV. ①Q-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 319032 号

责任编辑:王 静 岳漫宇 / 责任校对:陈玉凤

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:北京美光制版有限公司



本书各篇文章均可以在线阅读,请到生命科学图书网站 www.lifescience.com.cn 索取激活码,用手机拍摄二维码即可直接登录网站。

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京通州皇家印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013年2月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2013年2月第一次印刷 印张:23 1/2

字数:536 000

定价:98.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《新生物学丛书》专家委员会

主 任：蒲慕明

副主任：吴家睿

专家委员会成员（按姓氏汉语拼音排序）

昌增益	陈洛南	陈晔光	邓兴旺	高 福
韩忠朝	贺福初	黄大昉	蒋华良	金 力
李家洋	林其谁	马克平	孟安明	裴 钢
饶 毅	饶子和	施一公	舒红兵	王 琛
王梅祥	王小宁	吴仲义	徐安龙	许智宏
薛红卫	詹启敏	张先恩	赵国屏	赵立平
钟 扬	周忠和	朱 楨		

《新生物学年鉴 2012》编委会

主 编：蒲慕明

副主编：吴家睿

编 委（按姓氏汉语拼音顺序）

昌增益 北京大学生命科学学院

陈晔光 清华大学生命科学学院

贺福初 军事医学科学院

蒋华良 中国科学院上海药物研究所

饶 毅 北京大学生命科学学院

施一公 清华大学生命科学学院

舒红兵 武汉大学生命科学学院

丛 书 序

当前，一场新的生物学革命正在展开。为此，美国国家科学院研究理事会于 2009 年发布了一份战略研究报告，提出一个“新生物学”（New Biology）时代即将来临。这个“新生物学”，一方面是指生物学内部各种分支学科的重组与融合，另一方面是指化学、物理、信息科学、材料科学等众多非生命学科与生物学的紧密交叉与整合。

在这样一个全球生命科学发展变革的时代，我国的生命科学研究也正在高速发展，并进入了一个充满机遇和挑战的黄金期。在这个时期，将会产生许多具有影响力、推动力的科研成果。因此，有必要通过系统性集成和出版相关主题的国内外优秀图书，为后人留下一笔宝贵的“新生物学”时代精神财富。

科学出版社联合国内一批有志于推进生命科学发展的专家与学者，联合打造了一个 21 世纪中国生命科学的传播平台——《新生物学丛书》。希望通过这套丛书的出版，记录生命科学的进步，传递对生物技术发展的梦想。

《新生物学丛书》下设三个子系列：科学风向标，着重收集科学发展战略和态势分析报告，为科学管理者和科研人员展示科学的最新动向；科学百家园，重点收录国内外专家与学者的科研专著，为专业工作者提供新思想和新方法；科学新视窗，主要发表高级科普著作，为不同领域的研究人员和科学爱好者普及生命科学的前沿知识。

如果说科学出版社是一个“支点”，这套丛书就像一根“杠杆”，那么读者就能够借助这根“杠杆”成为撬动“地球”的人。编委会相信，不同类型的读者都能够从这套丛书中得到新的知识信息，获得思考与启迪。

《新生物学丛书》专家委员会

主 任：蒲慕明

副主任：吴家睿

2012 年 3 月

前 言

当前, 生命科学正处于革命性变化的前夜, “新生物学时代” 已经到来。创立《新生物学丛书》的一个主要目的, 就是要及时总结当下最新的科研成果, 展望未来的发展方向。为此, 《新生物学丛书》编委会决定打造中国的生命科学年度报告——《新生物学年鉴》(以下简称《年鉴》)。《年鉴》以综述性文集的形式出版, 系统总结国内外生命科学的研究成果, 重点追踪和评述近年来生命科学各个领域的研究热点和前沿进展。《年鉴》的编委每年从《新生物学丛书》专家委员会中产生, 负责撰写或组织相关领域的专家学者进行评述。

《年鉴》每年出版一期, 涉及的研究领域都是当今生命科学最热点的前沿领域, 参与文章撰写的所有人员均是活跃在科研第一线的权威专家学者, 每篇文章都可以很好地体现出相关领域的前沿进展。我们希望能够将《年鉴》打造成与美国 *Annual Review* 系列一样高水平的中文版综述平台, 及时地报道生命科学的成果和进步。

本期《年鉴》包含 7 个领域, 包括细胞信号转导的分子机制、神经可塑性与认知过程、天然免疫的分子机制与免疫性疾病、蛋白质复合物的空间结构、定量蛋白质组学、生命科学的新技术与新方法、药物化学研究, 共 12 篇文章。由丛书 7 位专家担任编委, 亲自或者邀请同行撰写。

本书适合各相关领域的高年级本科生、研究生, 以及专业研究人员学习参考。对于希望了解生物学发展现状和动态的科研爱好者, 本书也是一本很好的阅读材料。

《新生物学年鉴 2012》编委会

2013 年 1 月

目 录

TGF- β 细胞信号转导及其调控	1
Wnt 信号通路及其生物学功能	40
端粒信号调控机制研究进展	74
神经可塑性研究进展	107
认知神经科学研究十年回顾	124
抗病毒天然免疫的分子调控机制	146
白介素 17 家族细胞因子在炎症性疾病中的功能与机制研究进展	179
光合作用光反应中的重要蛋白质及复合物的结构生物学研究进展	205
NSF 蛋白解聚 SNARE 复合体机制的研究进展	254
定量蛋白质组学	271
基因编码的非天然氨基酸：蛋白质研究的新工具	310
药物化学研究进展	328

* 策划编辑：陈晔光 清华大学生命科学学院

TGF- β 细胞信号转导及其调控

作 者：严晓华 陈晔光

清华大学生命科学学院生物膜与膜工程国家重点实验室
清华-北大生命科学联合中心

- ▶ 1. 前言 /2
- ▶ 2. TGF- β 家族 /4
- ▶ 3. TGF- β 受体 /5
- ▶ 4. Smad 蛋白 /8
- ▶ 5. 非 Smad 信号转导通路 /11
- ▶ 6. TGF- β /Smad 细胞信号转导通路的精细调控 /12
- ▶ 7. Smad 蛋白的转录调控作用 /24
- ▶ 8. 总结与展望 /28

摘要

TGF- β 家族含有结构相关的多个细胞因子，它们具有广泛的生物学功能，包括调控胚胎发育和成体稳态平衡。TGF- β 家族细胞因子主要通过膜上的丝氨酸/苏氨酸激酶型受体激活胞内的 Smad 蛋白，并诱导它们在细胞核内的聚集，然后 Smad 作为转录因子结合 DNA 和调控靶基因转录。在体内，TGF- β 细胞信号转导通路受到多种机制的时空特异性调控，包括配体、受体、Smad 以及转录水平的调控等；其信号转导异常则与多种疾病相联系，例如胚胎发育异常、肿瘤、组织纤维化和骨骼相关疾病等。本文将介绍 TGF- β /Smad 细胞信号转导通路的基本框架与分子机制，并重点阐述其调控机制，尤其是近年来取得的一些重要进展。

关键词

TGF- β 、BMP、受体、Smad、信号转导、转录、调控

1. 前言

TGF- β (transforming growth factor-beta) 是一个为数众多的细胞因子家族。在果蝇、线虫到小鼠和人类等各种多细胞生物体中，目前已经发现超过 60 个 TGF- β 家族细胞因子。人类 TGF- β 家族包括 33 个成员，它们都是二聚体的分泌型多肽，在早期胚胎发育与成体组织器官稳态平衡中发挥重要作用。

TGF- β 的全称是转化生长因子 β ，最初发现它能够在体外促进成纤维细胞的增殖并诱导其转化，故得名；此后不久，发现 TGF- β 能抑制多种类型细胞的生长与增殖，包括表皮细胞、内皮细胞、造血前体细胞、神经前体细胞、B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞等，因此 TGF- β 对细胞增殖的作用与细胞类型相关 (Siegel and Massague, 2003)。此外，TGF- β 家族细胞因子还广泛参与调控细胞分化、细胞衰老、细胞凋亡、细胞黏连与迁移、胞外基质合成与重塑、表皮细胞-间充质细胞转变 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)、免疫抑制和血管形成等过程，并因此在早期胚胎发育、组织器官形成和成体稳态平衡中发挥作用 (Chen et al., 2002; Hogan, 1996; Kulkarni et al., 2002; Schier, 2009; Sieber et al., 2009)。通过基因敲除或者转基因技术对斑马鱼、爪蟾和小鼠等模式动物的研究表明，TGF- β 家族细胞因子 (如 activin、nodal 和 BMP) 在胚胎发育过程中具有重要作用。它们不仅在早期参与 3 个胚层的分化与建立，而且在后期参与各种图式形成 (patterning) 和组织器官形成，例如 TGF- β 2 参与心脏、肺、四肢和眼睛等的发育；nodal 参与左右图式形成、背腹轴决定和前后轴形成等；而 BMP 则参与背腹轴建立、神经系统图式形成，以及心脏、骨骼、肌肉和四肢等组织与器官的发育。TGF- β 家族细胞因子信号转导过程受到严格的时空特异性调控，而信号转导失调不仅可能导致胚胎发育异常，还与多种人类疾病相联系，包括肿瘤、组织纤维化、心血管疾病、免疫性疾病和骨骼相关疾病等。

我国科学家在了解 TGF- β 的生理功能方面也进行了一系列的研究,如军事医学科学院生物医学研究所杨晓研究组利用小鼠基因敲除技术研究 Smad 在胚胎发育和成体组织器官稳态平衡中的功能;清华大学生命科学学院孟安明研究组使用斑马鱼为模型研究 nodal 信号在早期胚胎发育中的作用及其调控机制;中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所景乃禾研究组以细胞和鸡胚胎为模型研究 BMP 在神经分化中的作用;中国科学院上海生命科学研究院营养科学研究所陈雁研究组使用小鼠模型研究 Smad7 在胚胎发育、成体稳态平衡和疾病中的作用;中国医学科学院基础医学研究所朱大海研究组则使用小鼠和鸡模型研究 GDF8/myostatin 在骨骼肌分化过程中的功能。

自从 1981 年确认 TGF- β 活性并于 1982 年成功纯化 TGF- β 以来,过去 30 多年的研究不仅使我们发现 TGF- β 家族具有广泛的生物学功能,而且对于 TGF- β 细胞信号转导通路有了深入的认识。简单地说,TGF- β 家族配体二聚体与膜上相应的 II 型受体和 I 型受体形成复合物,诱导 II 型受体磷酸化 I 型受体并激活其激酶活性,然后 I 型受体招募并活化下游的 Smad 蛋白,从而诱导 Smad 蛋白在细胞核内聚集并作为转录因子发挥转录调控作用(图 1)。既然 TGF- β 家族因子的细胞信号转导过程如此简单而直接,那它们如何能够发挥

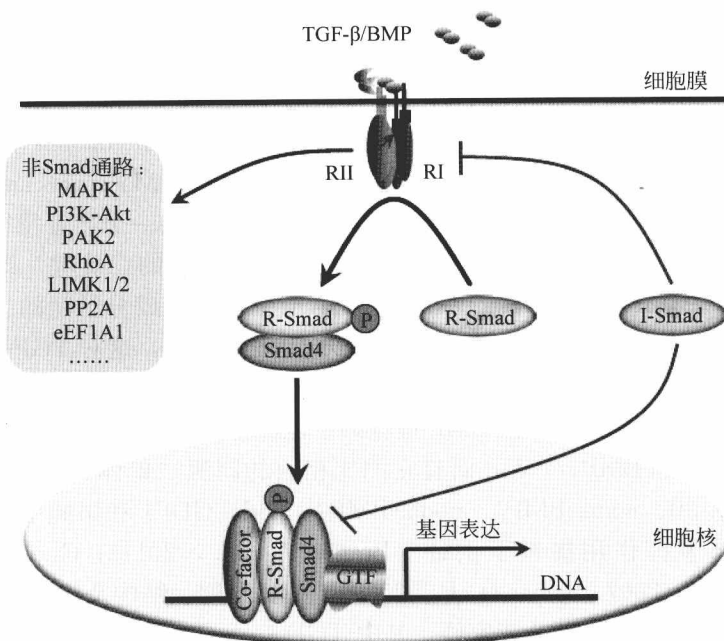


图 1 TGF- β 细胞信号转导通路

TGF- β 家族细胞因子诱导细胞膜上的丝氨酸/苏氨酸激酶型受体形成功能性复合物,包括两个 II 型受体(RII)和两个 I 型受体(RI),其中 RII 磷酸化 RI 胞内结构域中的 GS 区,从而激活 RI 的激酶活性;RI 继续磷酸化下游 R-Smad 蛋白 C 端的 SXS 基序,诱导 Smad 复合物形成、细胞核转运以及 Smad-DNA 结合,然后 Smad 与通用转录因子(general transcriptional factor, GTF)、其他转录因子或者辅助蛋白一起调控靶基因转录。TGF- β 家族细胞因子也能以细胞类型依赖的方式激活其他信号分子,包括 MAPK、PI3K-Akt、PAK2 和 RhoA 等。除了 R-Smad 和 Co-Smad/Smad4,抑制型 Smad 蛋白(I-Smad,包括 Smad6 和 Smad7)是 TGF- β 信号通路的关键负调控因子,它们既能在细胞质中抑制受体/Smad 活性,也能作为转录抑制蛋白在细胞核中发挥作用

如此多样而特异的生物学功能呢？首先，细胞内存在各种各样的机制对 TGF- β 信号转导过程进行精细调控，从而以时空特异性的方式控制 TGF- β 信号的强度与可持续性；第二，为了对不同的环境因素作出不同的响应，Smad 蛋白在细胞核内能与不同的转录因子或者辅助蛋白结合，从而调控不同靶基因的表达；最后，除了经典的 Smad 通路，TGF- β 家族细胞因子也能以细胞类型依赖的方式激活一些其他信号分子。

TGF- β 细胞信号转导通路在不同的层面受到精细的调控，包括配体、受体、Smad 以及核内转录水平的调控；其调控机制多种多样，比如蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质翻译后修饰、蛋白质降解、蛋白质运输与细胞内定位，以及 Smad-DNA 结合等。本文除了介绍 TGF- β 细胞信号转导通路，将重点阐述其调控机制，并试图突出华人学者的贡献。

2. TGF- β 家族

2.1 TGF- β 家族细胞因子

如上所述，TGF- β 家族包括为数众多的细胞因子成员，它在多细胞生物出现的时候便已经开始存在。目前知道在人类中共存在 33 个 TGF- β 家族蛋白，包括 3 个 TGF- β (TGF- β 1/2/3)、10 个 BMP (bone morphogenetic protein) 和 11 个 GDF (growth and differentiation factor, 其中 GDF2 = BMP9、GDF8 = myostatin)，以及 activin、nodal、inhibin 和 AMH/MIS 等 (Derynck and Feng, 1997; Kang et al., 2009; Massague, 1990; Moustakas and Heldin, 2009; Schmierer and Hill, 2007)。总的看来，TGF- β 家族细胞因子的一个显著特征是在其成熟蛋白结构中，有 6 个严格保守的半胱氨酸残基形成 3 个分子内的二硫键，即“半胱氨酸结 (cysteine knot)”的结构，而另一个保守的半胱氨酸则参与形成分子间的二硫键 (GDF3、GDF9 和 BMP15 除外，它们缺失此半胱氨酸和分子间二硫键)，这对 TGF- β 细胞因子的二聚化具有重要意义 (Schmierer and Hill, 2007; Shi and Massague, 2003)。尽管同源二聚体是这些细胞因子的主要形式，但 BMP 细胞因子也经常形成异源二聚体，比如 BMP2/5、BMP2/6、BMP2/7 和 BMP4/7 等，而且它们比相应的同源二聚体具有更强的生物活性；此外，activin β A- β B、nodal-BMP4、nodal-BMP7、nodal-GDF1 和果蝇中的 DPP-SCW 等也为异源二聚体发挥作用提供了例证 (Bragdon et al., 2011a; Guo and Wu, 2012; Schmierer and Hill, 2007; Sieber et al., 2009)。根据序列、结构及信号转导分子的差异，TGF- β 细胞因子大致被分为两个亚家族，其中 TGF- β 、activin 和 nodal 等属于同一个亚家族，而 BMP、GDF 和 AMH 等组成 BMP 亚家族 (Derynck and Feng, 1997; Massague, 1990; Massague, 1998)。

2.2 TGF- β 细胞因子的合成与分泌

在细胞内合成后，TGF- β 细胞因子的前体蛋白 (pro-protein) 在内质网内通过二硫键形成二聚体。在高尔基体内，前体蛋白 N 端的前体结构域 (pro-domain) 通常会进行糖基化修饰，并被 SPC (subtilisin-like pro-protein convertase, 比如 furin 和 PACE4 等) 家族

蛋白酶进行酶切,产生前体结构域二聚体与细胞因子二聚体 (Jenkins, 2008; Massague and Chen, 2000; Munger and Sheppard, 2011; Schmieder and Hill, 2007; Umlis et al., 2009)。以 TGF- β 为例,其前体蛋白在高尔基体内被 furin 剪切以后,释放的前体结构域二聚体继续与 TGF- β 同源二聚体通过非共价键结合,抑制 TGF- β 与其受体结合并使其处于非活化的潜伏状态,其中的前体结构域二聚体被称为潜伏相关蛋白 (latency associated protein, LAP)。除了维持 TGF- β 的潜伏性, LAP 还能促进 TGF- β 的正确折叠与分泌。在大部分情况下, LAP-TGF- β 复合体与 LTBP (large TGF- β binding protein) 结合 (Annes et al., 2003; Todorovic et al., 2005); LTBP 与胞外基质成分直接连接,从而将 TGF- β 锚定在胞外基质中,并控制 TGF- β 的运输、定位和组织分布。在体内,大部分的潜伏 TGF- β 都被隔离在胞外基质中。除了 TGF- β , GDF8/myostatin 和 GDF11 等也以潜伏复合物的形式分泌 (Schmieder and Hill, 2007; Sieber et al., 2009)。

与 TGF- β 类似,前体 BMP 也能被 SPC 家族蛋白酶 (例如 furin 和 PACE4) 剪切 (Sieber et al., 2009; Umlis et al., 2009)。多数情况下,它们的前体结构域蛋白继续通过非共价键结合成熟的具有生物活性的 BMP 二聚体,然后一起分泌到细胞外。由于前体结构域蛋白通常能与胞外基质成分结合,尤其是原纤维蛋白 (fibrillin),因此将 BMP 锚定在胞外基质中,包括 BMP4/7/9/10/11 和 GDF5/8 等。但在有些组织中,剪切产生的前体结构域不能结合成熟的 BMP4 二聚体,使 BMP4 以游离的形式分泌;此外, BMP2 的前体结构域也不能与细胞因子结合。与 TGF- β 不同,前体结构域蛋白并不能赋予 BMP 分子潜伏性 (latency), BMP 仍然能与膜上的受体结合并诱导信号转导,但是它们的最大生物活性需要其从胞外基质中释放出来。此外,胞外的 BMP 通常与各种 BMP 结合蛋白 (如 noggin、chordin、follistatin 等) 结合,使其处于非活化的状态。在细胞外,不管 TGF- β 家族细胞因子是以潜伏复合物的形式存在,还是与其他拮抗蛋白结合,它们在诱导信号转导与发挥生物学功能以前都需要被活化,这与蛋白酶和整合素等有关。

3. TGF- β 受体

3.1 TGF- β 受体家族

TGF- β 细胞因子主要通过单次跨膜的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族传递信号 (de Caestecker, 2004; Ehrlich et al., 2011; Feng and Derynck, 2005; Heldin et al., 1997; Massague, 1998; Moustakas et al., 2001)。1991 年, activin 的二型受体 ActR II 首先被克隆 (Mathews and Vale, 1991), 此后其他受体成员也很快通过配体同位素标记和交联的方法被发现和克隆。这些受体都含有大概 500 个氨基酸, 结构上包括胞外配体结合结构域、单次跨膜结构域和胞内的丝氨酸/苏氨酸激酶结构域。根据激酶结构域的序列保守性和功能差异, 这些受体被分成两个亚家族, 即 I 型受体和 II 型受体, 其中 I 型受体在其胞内近膜区与激酶区之间含有一个富含甘氨酸/丝氨酸的 GS 区 (GS region)。实际上, 结构研究和生化研究发现 TGF- β 受体的激酶结构域类似于酪氨酸激酶的催化中心, 也具有酪氨酸激酶的活性, 因此是双特异性的激酶 (Huse et al., 1999; Lee et al., 2007)。

在脊椎动物中总共有 7 个 I 型受体成员并被分为 3 组, 包括 ALK5 组 (ALK5/T β R I、ALK4/ActR I B 和 ALK7, 主要结合 TGF- β 亚家族细胞因子)、ALK3 组 (ALK3/BMPR I A 和 ALK6/BMPR I B, 主要结合 BMP 亚家族细胞因子) 和 ALK1 组 (ALK1 和 ALK2/ActR I, 结合 TGF- β 或者 BMP 亚家族细胞因子), 它们分别含有相似的激酶结构域和信号转导特征。II 型受体共有 5 个成员, 其中 T β R II、BMPR II 和 AMHR II 分别结合 TGF- β 、BMP 和 AMH/MIS, 而 ActR II 和 ActR II B 除了结合 activin 和 nodal 以外, 还能结合 BMP/GDF 相关细胞因子。

3.2 配体-受体结合以及受体复合物的形成

配体-受体结合以及功能性 I / II 型受体复合物的形成对于 TGF- β 细胞因子激活信号通路是必需的。早期基于¹²⁵I 标记和配体-受体交联的研究结果显示, TGF- β -T β R II-T β R I 复合物的形成具有顺序性和协作性, 即 TGF- β 首先结合 T β R II, 然后招募 T β R I 形成功能性复合物 (de Caestecker, 2004; Derynck and Feng, 1997; Ehrlich et al., 2011; Heldin et al., 1997; Massague, 1998; Shi and Massague, 2003)。T β R I / T β R II 的胞外结构域 (extra-cellular domain, ECD) 和 TGF- β 1/3 结合的晶体结构显示, TGF- β 二聚体与两个 I 型受体和两个 II 型受体形成复合物, 其中 T β R II 的 ECD 直接结合 TGF- β , 每个 T β R II ECD 单体结合一个 TGF- β 单体, 并形成一个混合的凹陷表面; 而 T β R I 的 ECD 则通过此表面同时与配体和 T β R II 结合。通过免疫荧光 co-patching 和 patch/FRAP (fluorescence recovery after photobleaching) 的研究进一步证明, 体内同时存在 T β R I 和 T β R II 的单体和同源/异源二聚体, 而配体能刺激 T β R II 同源二聚体和 T β R I-T β R II 异源二聚体的形成 (Ehrlich et al., 2011); 本研究组和中国科学院化学研究所方晓红研究组合作使用单分子成像技术在活细胞内的研究也显示, T β R I 和 T β R II 在低表达时主要以单体形式存在, 而 TGF- β 刺激能诱导它们形成同源二聚体, 其中 T β R I 同源二聚体的形成依赖于 T β R II (Zhang et al., 2009a; Zhang et al., 2010)。除了 ECD, T β R I 和 T β R II 的胞内结构域对于其同源/异源二聚体以及配体-受体复合物的形成也具有促进作用 (de Caestecker, 2004; Ehrlich et al., 2011)。与 TGF- β 类似, activin 结合 ActR II B 并招募 I 型受体 ALK4, BMP6 和 BMP7 结合 ActR II / ActR II B 并招募 ALK2、ALK3 或者 ALK6。

与 TGF- β 不同, BMP2/BMP4 与其 I 型受体 ALK3/ALK6 的亲合力比 II 型受体高, 因此 BMP 首先结合其 I 型受体, 然后招募 II 型受体, 此时配体与受体具有最大亲和力并形成稳定复合物 (Bragdon et al., 2011a; de Caestecker, 2004; Derynck and Feng, 1997; Ehrlich et al., 2011; Heldin et al., 1997; Massague, 1998)。有研究认为 BMP 配体-受体复合物形成的方式还与其激活的信号通路密切相关, 比如 BMP2 可以首先与 I 型受体 ALK3 结合, 然后招募 BMPR II 形成复合物, 导致受体通过 caveolae 途径内吞并激活非 Smad 信号通路 (如 MAPK 通路); 而 BMP2 与预先形成的 I 型-II 型受体复合物 (performed complex) 结合则诱导 clathrin 介导的受体内吞和激活 Smad 信号通路 (Hartung et al., 2006; Sieber et al., 2009)。此外, 由于一些 TGF- β 细胞因子 (包括

TGF- β 2 和 inhibin 等) 本身与相关受体的亲和力较低, 因此需要特定的辅助受体才能与受体稳定结合。

3.3 配体-受体结合的特异性与多样性

细胞信号转导的显著特征之一便是它们的特异性。对于 TGF- β 而言, 这种特异性首先来源于配体-受体的特异性结合。但其复杂性在于, TGF- β 细胞因子不仅存在同源二聚体, 也存在异源二聚体; 此外, 人类中存在 33 个 TGF- β 细胞因子, 却只有 5 个 II 型受体和 7 个 I 型受体, 因此一个细胞因子可能与多种受体结合, 而同一个受体也能与多种细胞因子结合。为了结合不同的细胞因子, I 型/II 型受体形成不同的组合(辅助受体在此过程中发挥重要作用), 这为 TGF- β 配体的结合和信号传递提供了多样性和选择性。

绝大部分情况下, TGF- β 都结合其高亲和力的 II 型受体 T β R II 并与 I 型受体 T β R I / ALK5 形成复合物, 然后通过 Smad2/3 传递信号。但在内皮细胞中, TGF- β 、T β R II 和 ALK1/2 也能形成复合物并激活 Smad1/5/8 蛋白 (Pardali et al., 2010)。在血管内皮细胞中, TGF- β 通过 T β R I / ALK5 和 Smad2/3 抑制细胞增殖、迁移和管状结构形成; 另一方面, 它却能通过 ALK1 介导的 Smad1/5/8 活化促进这些过程。不仅如此, 在一些表皮细胞与成纤维细胞中, TGF- β 通过 T β R II 和 ALK5, 以及 ALK2/3 激活 Smad1/5 信号 (Daly et al., 2008; Pardali et al., 2010)。此外, BMP2 和 BMP4 结合 I 型受体 ALK3/ALK6 以及 II 型受体 BMPRII、ActRII 和 ActRIIB, GDF5 和 GDF6 与 ActRII、ActRIIB、BMPRII 和 ALK6 相互作用, 而 GDF9B 则与 BMPRII、ActRIIB 和 ALK6 结合。一个极端的例子是, activin 的 II 型受体 ActRIIB 几乎能与各种 I 型受体结合, 比如 activin 存在时结合 ALK4、nodal 存在时结合 ALK4/7、BMP2 存在时结合 ALK3、GDF8/myostatin 存在时结合 ALK4/5, 以及 GDF11 存在时结合 ALK4/5/7 (de Caestecker, 2004; Schmierer and Hill, 2007)。因此, 配体-受体结合还有其他机制来实现它们的特异性和选择性。

由于很多 TGF- β 细胞因子能以不同的亲合力结合相同的受体, 因此这些细胞因子之间有可能存在功能性的拮抗作用, 例如 inhibin 对 activin 的抑制作用便是一个很好的例子。Activin 由不同的 β 单体组成 (包括 activin β A- β A、 β A- β B 和 β B- β B), 而 inhibin A 和 inhibin B 二聚体则是由 inhibin α 和 activin β (A/B) 组合而成。与 activin 类似, inhibin 也能通过其 β 亚基与 activin 的 II 型受体结合, 但是却不能招募 I 型受体, 因此竞争性的抑制 activin 与受体的结合及其信号转导 (Chen et al., 2002; Harrison et al., 2005)。此外, inhibin 也能竞争性抑制一些 BMP 与 ActRII、ActRIIB 或者 BMPRII 的结合。Lefty 蛋白对 nodal 的抑制也与此类似。成熟的 Lefty 缺失形成二聚体所需要的保守半胱氨酸残基, 因此主要以单体存在; Lefty 结合 II 型受体 ActRII / ActRIIB 后不能招募 I 型受体以及传递信号, 从而竞争性的抑制 nodal 与 II 型受体的结合 (Schier, 2009)。另外, activin、nodal 和 GDF8 也能以类似机制抑制 BMP 信号 (de Caestecker, 2004)。

3.4 受体的活化

在 TGF- β 细胞因子诱导形成的配体-R II-R I 复合物 (2 : 2 : 2) 中, II 型受体磷酸化 I 型受体近膜端 GS 区中的 Ser/Thr 而激活 R I 的激酶活性, 然后 R I 通过磷酸化下游的 Smad 蛋白继续传递信号; GS 区因含有 SGSGSG 序列而得名, 它在所有的 I 型受体中都是保守的并与其 C 端的激酶结构域直接相邻 (Feng and Derynck, 2005; Heldin et al., 1997; Massague, 1998; Massague and Chen, 2000; Schmierer and Hill, 2007; Shi and Massague, 2003)。

TGF- β 家族的 I 型受体和 II 型受体都属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 与很多其他激酶一样, 它们能发生自磷酸化。例如 T β R II, 其自磷酸化不仅发生在 Ser 和 Thr, 也发生在 Tyr, 这些位点的磷酸化对于信号传递可能是必要的。ActR II / ActR II B 等 II 型受体也发生自磷酸化, 它们和 T β R II 的磷酸化状态都不受配体的影响, 因此认为 II 型受体具有持续活化的激酶活性。

与 II 型受体不同, 体内的 I 型受体在没有配体时是没有激酶活性的, 它们的活化不仅需要配体-受体结合, 还需要功能性受体复合物的形成 (de Caestecker, 2004; Ehrlich et al., 2011; Feng and Derynck, 2005; Heldin et al., 1997; Massague, 1998; Massague and Chen, 2000; Shi and Massague, 2003)。在受体复合物中, I 型受体 GS 区的磷酸化诱导其构象变化, 从而激活 I 型受体的激酶活性。此外, II 型受体也可能磷酸化 I 型受体 GS 区外的氨基酸, 比如 ALK5 胞内近膜区的 Ser165。活化的 I 型受体不仅能磷酸化 Smad, 也能诱导自磷酸化, 但其发生的氨基酸位点及其在 TGF- β 家族信号转导中的功能尚不清楚。

4. Smad 蛋白

4.1 Smad 蛋白家族

Smad (由线虫的 Sma 和果蝇的 Mad 缩写而来) 蛋白是 TGF- β 家族受体下游的信号转导分子 (Feng and Derynck, 2005; Heldin et al., 1997; Heldin and Moustakas, 2012; Massague, 1998; Moustakas and Heldin, 2009; Schmierer and Hill, 2007; ten Dijke and Hill, 2004)。在哺乳动物中总共存在 8 个 Smad 蛋白 (Smad1~Smad8)。根据在 TGF- β 信号转导中的功能差异, 它们被分为 3 类, 包括受体调控的 Smad (receptor-regulated Smad, R-Smad——Smad1/2/3/5/8)、通用 Smad (common Smad, Co-Smad——Smad4) 和抑制型 Smad (inhibitory Smad, I-Smad——Smad6/7)。R-Smad C 端 SXS 基序 (X 指代 M 或 V) 中的丝氨酸 (S) 能直接被 I 型受体磷酸化而导致 R-Smad 活化, 其中 Smad2/3 被 TGF- β /activin/nodal 亚家族的 I 型受体 ALK4/5/7 磷酸化, 而 Smad1/5/8 则主要被 BMP/GDF/AMH 亚家族的 ALK2/3/6 和 ALK1 磷酸化。磷酸化的 R-Smad 与 Co-Smad/Smad4 聚合并继续传递信号。而抑制型 Smad 主要起抑制信号转导的作用 (Yan

and Chen, 2011)。

R-Smad 和 Co-Smad 都含有两个保守的结构域, 即 N 端的 MH1 (MAD-homology 1) 结构域和 C 端的 MH2 结构域, 它们由中间的铰链 (linker) 区连接。MH1 结构域含有核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) 并介导 Smad 的细胞核定位; MH1 结构域能结合 MH2 结构域并抑制其功能, 此外它也介导 Smad-DNA 结合。MH2 结构域在 R-Smad 和 Co-Smad 中非常保守, 它们主要通过介导蛋白-蛋白相互作用而发挥功能: 包括 Smad-受体相互作用、Smad 同源/异源复合物的形成、Smad 与细胞质滞留蛋白的相互作用、与核孔复合物的相互作用, 以及与核内其他转录因子和辅助蛋白的结合等。无论是在长度还是序列上, 铰链区的变化都比较大, 但其中也有一些保守的氨基酸位点, 比如多种激酶 (包括 CDK8/9、MAPK 和 GSK3 β 等) 的 Ser/Thr 磷酸化位点; R-Smad (Smad8 除外) 的铰链区还含有与 WW-HECT 家族 E3 泛素连接酶结合的 PY 基序; 此外, 在 Smad4 的铰链区还存在一个出核信号 (nuclear export signal, NES)。I-Smad 也含有保守的 MH2 结构域及其前面的 PY 基序, 但它们的 N 端序列与其他 Smad 蛋白的序列差异较大, 相互之间同源性也较低 (Yan and Chen, 2011)。

4.2 R-Smad 活化与信号转导

4.2.1 R-Smad 与受体的瞬时结合与活化

与许多其他激酶-底物反应一样, I 型受体对 R-Smad 的磷酸化需要它们的直接结合。结构生物学结合生物化学的研究已经阐明, R-Smad MH2 结构域的碱性表面 (富含带正电荷的氨基酸基团) 与 I 型受体磷酸化后的 GS 区 (带负电荷) 结合, 并为受体-Smad 相互作用提供亲和力; 另一方面, 陈晔光和浙江大学生命科学研究院冯新华等人发现 I 型受体激酶结构域内与 GS 区直接相邻的 L45 环与 R-Smad MH2 结构域中的 L3 环结合并决定受体-Smad 相互作用的特异性 (Chen et al., 1998; Chen and Massague, 1999; Feng and Derynck, 1997; Feng and Derynck, 2005; Lo et al., 1998; Massague and Chen, 2000)。此外, 细胞内还存在 SARA 等辅助蛋白促进受体-Smad 相互作用。受体对 R-Smad SXS 基序的磷酸化不仅破坏了 R-Smad 与 SARA 的稳定结合, 同时使 R-Smad 从受体复合物中解离出来, 其原因之一可能是磷酸化的 SXS 基序能与磷酸化的 GS 区竞争结合 R-Smad 的 MH2 结构域。

4.2.2 Smad 复合物形成与信号转导

一旦 R-Smad 被受体磷酸化, 它们便形成同源/异源复合物 (Feng and Derynck, 2005; Heldin and Moustakas, 2012; Massague et al., 2005; Shi and Massague, 2003; ten Dijke and Hill, 2004)。施一公等通过晶体结构解析和生化研究发现, 磷酸化 Smad2 或 Smad3 的 MH2 结构域能分别形成稳定的同源三聚体, 其中一个 Smad 分子的 pSXpS 基序与相邻 Smad 分子 MH2 结构域的碱性表面结合; 此外, Smad4 也能形成同源三聚体。而 R-Smad 与 Smad4 的聚合也主要以异源三聚体的形式存在, 包括两个 R-Smad 和一个 Smad4 分子, 其中 R-Smad 可能是相同的, 也可能是不同的, 比如 Smad2 或者 Smad3 能