

细胞外基质的 分子生物学 与临床疾病

成军 编著



北京医科大学出版社

R7
CJ

细胞外基质的分子生物学与临床疾病

成 军 编著

Y7R1/21

北京医科大学出版社

XIBAO WAI JIZHI DE FENZI SHENGWUXUE
YU LINCHUANG JIBING

图书在版编目 (CIP) 数据

细胞外基质的分子生物学与临床疾病/成军编著. —北京: 北京医科大学出版社, 1999. 10

ISBN 7-81034-965-1

I. 细… II. 成… III. ①人体-细胞外-基质 (生物学)-分子生物学②人体-细胞外-基质 (生物学)-关系-疾病 IV. R329.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 16897 号

北京医科大学出版社出版发行

(100083 北京学院路 38 号 北京医科大学院内)

责任编辑: 彭学敏 安林

责任校对: 张卫

责任印制: 郭桂兰

北京东晓印刷厂 新华书店经销

* * *

开本: 787×1092 1/16 印张: 22.25 字数: 562 千字

1999 年 6 月第 1 版 1999 年 6 月北京第 1 次印刷 印数: 1—3000 册

定价: 46.50 元

内容提要

本书为细胞外基质的一本专著。首先详细叙述胶原、纤维粘连蛋白、层粘连蛋白、弹性蛋白、亲玻粘连蛋白、固生蛋白、粘结蛋白、凝血酶应答蛋白、串珠聚糖、冯·威勒布兰德因子、骨钙蛋白、骨连蛋白和骨桥蛋白等13种主要的胶原和非胶原糖蛋白的分子结构与生物学功能，然后再介绍细胞外基质与损伤修复、骨关节疾病、血液疾病、中枢神经系统疾病、心血管疾病、呼吸疾病、肾纤维化、肝纤维化与肿瘤转移之间相互关系。本专著适合于高等院校生物学、医学专业以及各专业临床医师、研究生等学习参考。

序

人体是由器官组成的，器官是由组织组成的，组织是由细胞组成的。那么这些不同的细胞是怎样连接在一起，发挥其生命活动呢？将不同的细胞连接在一起，以形成组织、器官的物质基础就是体内无处不在的细胞外基质（ECM, extracellular matrix）。由胶原（collagen）和非胶原糖蛋白（non-collagenous protein）构成的细胞外基质，不仅是将各种细胞连接在一起，赋予各种组织、器官的基本结构和形状，也赋予其力学性质。近年来的研究表明，人体内的细胞外基质的生物学意义，决不限于这些物理学作用和性质，而是在人体的发育、细胞分化与移行、信号转导等生理过程和炎症、损伤与修复、免疫应答以及肿瘤转移等病理过程中具有重要的功能和作用。但是，相对于细胞及其分子生物学研究来讲，细胞外基质的研究在一定程度上没有受到应有的重视。近年来，细胞外基质的研究已成为细胞生物学与生物学研究中的一个热点，细胞外基质与临床疾病的关系也越来越受到人们的重视。作者将近年来细胞外基质的分子生物学研究成果以及与临床疾病相关的资料进行分析综合，意欲详细介绍细胞外基质分子生物学及其在临床疾病防治研究中的进展，促进我国细胞外基质研究进展，为此经年累月，终成本书。

本书前半部分按照细胞外基质的主要类型，从其基因结构与功能、表达与调控以及生物学意义进行详细描述，后半部分介绍细胞外基质代谢与临床疾病之间的关系。因此，希望本书不仅能够成为细胞生物学和分子生物学等生物医学基础学科工作者的参考书，同时也期盼得到广大临床医学工作者的认可。

从选题到完成这本书专著，都是作者在美国德克萨斯大学进行博士后研究时完成的。其间得到陈菊梅教授、斯崇文教授、王勤环教授、Talal N 教授和 Melbg P. C 教授在我攻读硕士学位、博士学位以及进行博士后研究期间对我的亲切教诲，终生难忘。在本专著付梓之际我还将特别感谢北京医科大学出版社的老师，是他们付出了艰辛的劳动，才有这部专著的出版，他们对作者的关心远不止这些。1997 年作者的《程序性细胞死亡与疾病》在北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社时就得到了他们的关怀与支持。由于本专著的完成主要在国外进行的，因而有些近几年新出现的学术术语，因为在国外无相应的中文资料作参考，多有不妥之处。本书责编逐字逐句予以修改，他们的敬业精神堪为楷模。由于作者水平有限，书中不妥甚至错谬之处，尚祈读者和各位专家批评指正，不胜感激。

成 军
解放军传染病研究所，北京
一九九九年五月

目 录

序	
第一章	细胞外基质概论 (1)
第二章	胶原 (13)
第三章	纤维粘连蛋白 (29)
第四章	层粘连蛋白 (44)
第五章	弹性蛋白 (60)
第六章	亲玻粘连蛋白 (74)
第七章	固生蛋白与粘结蛋白 (89)
第八章	凝血酶应答蛋白与串珠聚糖 (104)
第九章	冯·威勒布兰德因子 (119)
第十章	骨钙蛋白、骨连蛋白与骨桥蛋白 (134)
第十一章	细胞外基质代谢酶类 (149)
第十二章	细胞外基质与损伤修复 (163)
第十三章	细胞外基质与骨关节疾病 (178)
第十四章	细胞外基质与血液疾病 (192)
第十五章	细胞外基质与中枢神经疾病 (206)
第十六章	细胞外基质与心血管疾病 (221)
第十七章	细胞外基质与呼吸疾病 (236)
第十八章	细胞外基质与肾纤维化 (250)
第十九章	细胞外基质与肝纤维化 (265)
第二十章	细胞外基质与肿瘤转移 (280)
索引	

第一章 细胞外基质概论

细胞外基质 (ECM, extracellular matrix) 是指位于上皮或内皮细胞下层、结缔组织细胞周围, 为组织、器官甚至整个机体的完整性提供力学支持和物理强度的物质。在简单的多细胞生物系统中, 维系各个细胞之间的相互关系的细胞外基质, 可能仅仅就是基底膜结构。在更为复杂的动物机体中, 细胞外基质可有多种方式的存在形式, 如皮肤、骨、肌腱、韧带、软骨以及广泛存在的基底膜等。然而, 细胞外基质不应该仅仅视为组织和机体提供力学支持和物理强度的组织部分, 因为目前的研究越来越清楚地表明, 这一类型的细胞外基质, 对于其所作用的细胞类型中基因表达的方式, 细胞的粘附、扩散及移行等表现都有极其深远的影响。

关于判断一种分子是否属于细胞外基质的范畴, 应该有一定的依据和标准。作为一种细胞外基质成分, 必须是基质结构中的一种成分, 起到一定的结构作用。同时, 必须是作为一种完整的蛋白质分子在细胞中合成之后, 再分泌到细胞外。根据这样的一个标准, 插入细胞膜结构中的蛋白聚糖, 以及与细胞外基质之间虽然有十分密切的关系, 但又不起结构性作用的成分, 都不能算是细胞外基质的类型。因为跨膜蛋白的细胞外结构位点虽然与细胞外基质之间有十分密切的关系, 但其主要的生物学功能是介导跨膜的信号转导, 因而只能将其归属为细胞膜受体类。有些细胞外分子与细胞外基质之间有密切关系, 或只是简单地滞留于细胞外基质中, 这种蛋白却不是细胞外基质的结构部分, 如金属蛋白酶类、生长因子类以及白蛋白等血浆蛋白类等, 也不是细胞外基质蛋白的成分。

第一节 细胞外基质的分类

根据目前细胞外基质的定义和标准, 所研究的细胞外基质达 40 余种, 按照其英文词的字母顺序排列, 如表 1-1 所示。

结缔组织 (connective tissue) 将机体其它部位的各种类型的组织结合在一起, 承受运动时的冲击、维持机体各部位的形状, 其主要组成成分就是不溶性的各种类型的纤维 (fibre) 以及一些可溶性的多聚体 (polymer) 蛋白质分子。主要的纤维类型当属于胶原 (collagen) 以及弹性蛋白 (elastin), 主要的可溶性蛋白质分子则是一些蛋白聚糖 (proteoglycan) 和糖蛋白 (glycoprotein) 分子。不同的结缔组织其结构与功能的不同, 则主要是由于结缔组织中这些细胞外基质蛋白各种成分各自的含量以及所占的比例来决定的。需要承受巨大牵拉力量的结缔组织类型, 如肌腱 (tendon) 等, 含有较多的纤维性胶原 (fibrillar collagen) 成分, 而承受巨大压力的结缔组织类型, 如软骨 (cartilage) 等, 则含有较多的蛋白聚糖分子。总的说来, 细胞外基质蛋白大体上可以分为胶原、蛋白聚糖和糖蛋白三大类, 但有时也将蛋白聚糖和糖蛋白分子统称为非胶原蛋白 (non-collagenous protein)。

表 1-1 细胞外基质蛋白的种类

凝集聚糖 (aggrecan)
 二糖聚糖 (biglycan)
 骨唾液蛋白 (bone sialoprotein)
 软骨基质蛋白 (cartilage matrix protein)
 软骨寡聚体基质蛋白 (cartilage oligomeric matrix protein)
 I 型胶原 (collagen type I)
 II 型胶原 (collagen type II)
 III 型胶原 (collagen type III)
 IV 型胶原 (collagen type IV)
 V 型胶原 (collagen type V)
 VI 型胶原 (collagen type VI)
 VII 型胶原 (collagen type VII)
 VIII 型胶原 (collagen type VIII)
 IX 型胶原 (collagen type IX)
 X 型胶原 (collagen type X)
 XI 型胶原 (collagen type XI)
 XII 型胶原 (collagen type XII)
 XIII 型胶原 (collagen type XIII)
 XIV 型胶原 (collagen type XIV)
 XV 型胶原 (collagen type XV)
 XVI 型胶原 (collagen type XVI)
 装饰蛋白 (decorin)
 弹性蛋白 (elastin)
 粘结蛋白 (entactin)
 原纤维蛋白 (fibrillin)
 纤维蛋白原 (fibrinogen)
 纤维调节蛋白 (fibromodulin)
 纤维粘连蛋白 (fibronectin)
 层粘连蛋白 (laminin)
 连结蛋白 (link protein)
 (lumican)
 基质 (matrix gla protein)
 微原纤维相关糖蛋白 (microfibril-associated protein)
 骨钙蛋白 (osteocalcin)

骨连蛋白 (osteonectin)
骨桥蛋白 (osteopontin)
串珠聚糖(perlecan)
(phosphoryn)
固生蛋白 (tenascin)
凝血酶应答蛋白(thrombospondin)
(versican)
亲玻粘连蛋白 (vitronectin)
冯·威勒布兰德因子 (von Willebrand factor)

一、胶原

胶原是一个由多种糖蛋白分子组成的家族。到目前为止,至少发现了 30 余种胶原链 (collagen chain) 的编码基因,这些不同的胶原链,以不同的方式组合,可以形成至少 16 种以上的胶原三聚体糖蛋白分子。新的胶原链以及胶原蛋白分子类型正在不断地被发现。许多类型的胶原蛋白具有非常复杂的结构,以至于鉴定一种蛋白质分子是否属于胶原的难度也越来越大。至少有三种类型的胶原组成蛋白聚糖分子的蛋白核心成分。其它几种类型的蛋白质,如补体 C_{1q}和乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase) 的分子结构中,也含有胶原的基本结构单位,即三螺旋 (triple helix) 结构形式,但这些并不属于胶原蛋白类型。因为作为一种细胞外基质蛋白的成分,必须是与细胞外基质有关的结构密切相关的成分。

1. 胶原的三螺旋结构

胶原的三螺旋结构是由 3 个 α 链 (α chain) 多肽组成的。每一条胶原蛋白链都是左手螺旋构型 (left-handed helical configuration), 三条链又相互缠绕成右手螺旋—即超螺旋 (superhelix) 状结构。胶原链的一级结构中,每三个氨基酸残基中就有一个是甘氨酸 (glycine) 残基,即为 (Gly-x-y)_n 的结构形式。因为只有甘氨酸残基的侧链较小,不至于影响三螺旋结构的形成。而 x 和 y 位点上的氨基酸残基 20%~22% 是亚氨基氨基酸 (imino acid) 残基。即脯氨酸 (proline) 和羟脯氨酸 (hydroproline) 残基。羟脯氨酸的羟基基团 (hydroxyl group) 是三螺旋结构赖以形成的氢键 (hydrogen bond) 基团。在螺旋和非螺旋结构位点区特定部位的赖氨酸与羟赖氨酸,对于胶原链的链内和链间稳定的共价交联 (covalent cross-linking)、形成超分子 (supramolecule) 的过程具有决定性的作用。羟赖氨酸残基位点还是潜在的糖基化位点,可以发生半乳糖化或葡糖半乳糖化。羟赖氨酸/赖氨酸的比例以及羟赖氨酸的糖基化修饰程度,在不同的胶原分子,或是不同组织中同一种胶原分子中都是不同的。不同胶原分子的三螺旋结构的长度不同,或者是连续型结构,或者被非螺旋结构所分割。

2. 胶原的生物合成

胶原 α 链的合成符合其它类型分泌型蛋白合成的一般规律,但有一系列特殊的翻译后加工,包括脯氨酸和赖氨酸残基的羟基化 (hydroxylation) 等。羟赖氨酸残基的糖基化、酪氨酸 (tyrosine) 的硫酸化 (sulfation)、二硫键 (disulphide bond) 的形成、链间的结合、分泌及沉积到细胞外基质之前在非胶原位点 (non-collagenous domain) 区碳水化合物链以及氨基聚糖 (glycosaminoglycan) 链的加成 (addition) 等,都是胶原蛋白重要的翻译后加工形式。细胞外基质中不同类型的胶原分子及特殊的超分子结构 (supramolecular structure) 有不同的修饰形

式。

3. 经典的纤维胶原

I、II和III型胶原称为经典的纤维形成胶原 (fibril-forming collagen), 约占体内总胶原的80%~90%。这三种胶原在细胞内以前体形式的前胶原 (procollagen) 合成, 结构中形成三螺旋结构的序列是连续分布的, 两端都是非螺旋结构位点, 即多肽前体 (propeptide) 区。在纤维形成 (fibrillogenesis) 过程中, 在N-或C-蛋白酶的作用下两端的多肽前体序列被水解掉, 形成以三螺旋结构区为主, 仅有较短的非螺旋结构区。胶原链的单体分子可以自发地形成纤维结构, 每个单体分子中有234个氨基酸残基参与多聚体的形成, 使其与相邻的单体分子之间产生最大的静电与疏水作用效果。这一结构方式还使得赖氨酸/羟赖氨酸残基之间, 无论是在螺旋结构区还是在非螺旋结构区, 相距不到0.4D (一个D单位相当于67nm长), 使这些氨基酸残基之间稳定的共价交联的形成。非螺旋区的 ϵ -NH₂基团在赖氨酰氧化酶 (lysyl oxidase) 的催化作用下发生氧化 (oxidation), 螺旋区的 ϵ -NH₂与醛基 (aldehyde) 缩合为希夫氏碱基 (schiff's base)。双功能交联与另外的赖氨酸羟/赖氨酸或组氨酸 (histidine) 残基进行缩合, 形成更为成熟的三功能交联 (trifunctional cross-links)。

V型和VI型胶原虽然也划分为纤维胶原, 也只是从其结构序列与I~III型胶原分子结构的同源性角度来划分的。所有其它类型的胶原分子无论是其结构还是在细胞外基质中组织的方式, 都有显著的差别。最近的研究表明, 或许不存在什么I、II或III型胶原纤维, 因为有些胶原是由不同的胶原链组合而成的异形分子, 甚至在I和II型胶原分子中发现有V型和XI型胶原链的掺入。IX、XII和XIV型胶原, 只是结合在纤维表面上, 对于胶原的反应性质具有修饰作用, 因而称为三螺旋结构不连续的纤维相关胶原 (FACIT, fibril-associated collagen with interrupted triple helix)。

4. 其它类型的胶原

纤维胶原与其它类型的胶原之间存在着两种类型的相互关系, 但其它类型的胶原无论是结合在纤维胶原的表面还是其结构内部, 都将改变纤维胶原的反应性质和能力。其它类型的胶原对于纤维胶原的影响, 也随着组织类型的不同而有差别, 即使是同一种类型的组织中, 在不同的发育阶段, 其影响也是不同的。另外, 还有一些类型的胶原分子形成不同的结构形式, 如IV型胶原参与三维网状结构的形成, VI型胶原形成串珠状纤维结构、VII型胶原形成反平行二聚体 (dimer) 形式的锚定纤维结构、VIII型胶原则与六边晶格 (hexagonal lattice) 结构的形成有关。

二、蛋白聚糖

蛋白聚糖 (proteoglycan) 是由一系列相差很大的蛋白质分子组成的一个家族, 其结构特点是一个核心蛋白分子, 与一个或多个氨基聚糖 (GAG, glycosaminoglycan) 侧链 (side chain) 相结合。这类分子在动物细胞中广泛分布, 参与一系列不同的生物学功能。蛋白聚糖分子可以存在于细胞外, 与细胞膜呈结合状态, 在细胞内则是以颗粒状态贮存。绝大部分的蛋白聚糖分子与细胞外基质之间有着极为密切的关系, 但也有些蛋白聚糖分子与细胞外基质无关。

蛋白聚糖分子的结构不同, 不仅仅是指其核心蛋白的结构不同, 其氨基聚糖分子的类型和大小也不一样。在不同的发育阶段, 细胞表达不同类型的蛋白聚糖分子。氨基聚糖复杂的碳水化合物类型主要包括硫酸软骨素 (CS, chondroitin sulfate)、硫酸皮肤素

(dermatansulfate)、硫酸乙酰肝素 (HS, heparan sulfate)、硫酸角质素 (keratan sulfate) 和透明质酸 (HA, hyaluronan)。这些分子的共同特点是由 2 个不同的糖形成的双糖 (disaccharide) 重复序列, 其中一个为己糖 (hexuronate), 另一个为己糖胺 (hexosamine)。由于双糖键 (disaccharide bond) 以及硫酸化 (sulfation) 位置的不同, 导致这些氨基聚糖链的结构不同。

1. 硫酸软骨素

一分子葡糖醛酸 (glucuronic acid) 与 N-乙酰半乳糖胺 (N-acetylgalactosamine) 之间形成 β_1-3 连接构成基本的重复单位。硫酸化位点可位于胺基团的第 4 或第 6 位置上。分别称为硫酸软骨素-4 (chondroitin 4-sulphate) 和硫酸软骨素-6 (chondroitin-6 sulphate)。在两个位点上都发生硫酸化修饰的软骨素则更为常见。但有时也可见到两个位点都未发生硫酸化修饰或仅一个位点上发生硫酸化修饰的软骨素分子类型。

2. 硫酸皮肤素

硫酸皮肤素这种氨基聚糖分子与硫酸软骨素的分子结构是相似的, 只是葡糖醛酸残基变成了艾杜糖酸 (iduronic acid) 残基。这种氨基聚糖分子一旦形成, 可以在不同的 2 个位点上同时发生硫酸化修饰。糖苷键 (glycosidic bond) 也随之变为 $\alpha 1-3$ 型。因此, 含有一个或多个艾杜糖酸残基的硫酸软骨素链则称为硫酸皮肤素。

3. 硫酸角质素

在硫酸角质素蛋白质的分子结构中, 糖醛酸 (uronic acid) 残基则以半乳糖 (galactose) 基团所代替。重复序列就是半乳糖基团与 N-乙酰葡糖胺之间的形成 β_1-4 连接。每一个残基上的第 6 个位点上则发生硫酸化修饰。

4. 硫酸乙酰肝素

葡糖醛酸与 N-乙酰葡糖胺之间形成 β_1-4 连接。两个残基可在 O-或 N-一位点上发生广泛的硫酸化修饰, 糖醛酸则出现表异构化 (epimerization)。

5. 透明质酸

透明质酸含有为数不定的多聚体型葡糖酸与 N-乙酰葡糖胺之间形成的 β_1-3 连接形式。

三、糖蛋白

在细胞外基质中, 糖蛋白分子具有多种类型的功能性活性多肽位点结构, 除了与细胞膜相应的受体蛋白分子进行结合以外, 还与基质中其它类型的分子之间也存在着相互作用。在矿化结缔组织中发现的细胞外基质糖蛋白分子, 还与骨及牙质 (dentine) 中的无机成分之间存在着相互作用。一些糖蛋白分子可以借助二硫键 (disulphide bond) 的形成或非共价结合, 形成寡聚体 (oligomer) 形式。另外, 糖蛋白基因的转录表达产物往往存在着剪切加工现象, 产生一系列结构与功能十分相似的蛋白质, 并组成一个家族。在糖蛋白的分子结构中, 碳水化合物 (carbohydrate) 链与蛋白核心骨架结构共价结合, 有时为 N-型, 有时为 O-型, 或 O-型、N-型共存。其它类型的翻译后修饰加工, 还包括丝氨酸 (serine) 和苏氨酸 (threonine) 残基的磷酸化 (phosphorylation)、酪氨酸 (tyrosine) 残基的硫酸化 (sulphation) 等。一些糖蛋白分子具有粘附作用, 称为粘附性糖蛋白, 其中纤维粘连蛋白 (fibronectin) 就是一个典型的代表。除此之外, 还包括亲玻粘连蛋白 (vitronectin)、层粘连蛋白 (laminin)、凝血酶应答蛋白 (thrombospondin) 和冯·威勒布兰德因子 (von Willebrand factor) 等。在这些

粘附性糖蛋白的分子结构中,有一些特殊的功能与结构位点以及一些重复位点结构(repetitive motif),如纤维粘连蛋白Ⅲ型位点结构以及表皮生长因子(EGF, epidermal growth factor)样重复序列等,都是这些粘附性糖蛋白分子中共同结构位点。这些具有粘附作用的糖蛋白分子结构中还常常含有天门冬氨酸残基的序列结构,如RGD三肽序列,可通过与细胞膜上相应的整合素(integrin)受体蛋白之间的结合,介导糖蛋白与细胞之间的粘附过程。

除了这些具有粘附作用的细胞外基质糖蛋白之外,在软骨、骨以及牙质等骨骼组织中也含有一些基质糖蛋白分子。骨相关的基质糖蛋白一个突出的特点就是其阴离子性质(anionic nature)。这是因为分子结构中富含酸性氨基酸残基所决定的,如天门冬氨酸(aspartic acid)和谷氨酸(glutamic acid)等。在骨桥蛋白(ostepontin)分子结构中,某些序列片段含有连续的天门冬氨酸残基序列,而在骨唾液蛋白(bone sialoprotein)中则含有连续的谷氨酸残基序列。除了这类骨相关的基质糖蛋白分子结构中含有较多的酸性氨基酸残基决定了其带有负电荷的性质之外,其翻译后的一系列修饰过程也与其带有负电荷的性质有关。如丝氨酸残基位点发生磷酸化、苏氨酸残基位点发生磷酸化、酪氨酸残基位点发生硫酸化,这些都与整个糖蛋白所带电荷的性质有关。

第三类的糖蛋白分子即弹性蛋白和弹性蛋白沉积有关的糖蛋白。典型的就数原纤维蛋白(fibrillin)和基质相关糖蛋白(MAGP, matrix-associated glycoprotein)。原纤维蛋白的异常是马凡氏综合征(Marfan's syndrome)的一个病因,因而获得了较为广泛的重视。

细胞外基质中的糖蛋白在胚胎发育以及生后的一系列病理过程的发生发展过程中具有重要作用。粘附性糖蛋白与细胞的粘附及迁移过程有关,骨骼相关性糖蛋白在离子浓度的调节中具有重要作用。原纤维蛋白在弹性蛋白的沉积过程中具有重要影响。

第二节 细胞外基质的结构特点

细胞外基质蛋白是一群具有特殊结构与功能的生物大分子。其基本结构骨架还是蛋白质,由不同的氨基酸残基组成的特殊的多肽序列。胶原是由不同的胶原链蛋白组成的一系列结构不同的三螺旋蛋白结构形式。蛋白聚糖的核心结构也是蛋白质,不过有氨基聚糖侧链的加成修饰。糖蛋白则是一些分布于不同的亚细胞部位,在O-、N-或两种氨基酸残基位点上都发生糖基化修饰的分子类型。胶原蛋白赋予细胞外基质的抗牵拉张力,蛋白聚糖则结合大量的水分,使组织具有弹性,缓冲碰撞与挤压,糖蛋白既有与细胞之间相互作用的能力与性质,又通过蛋白-蛋白之间的相互作用,影响细胞外基质组装过程。其中最为突出的特点是有细胞外基质特征性结构位点的存在。

细胞外基质结构的突出特点就是重复序列位点结构以及功能性位点结构。在细胞外基质中存在着一系列的特征性结构位点。

1. 酸性序列结构 由连续的酸性氨基酸残基,如天门冬氨酸或谷氨酸残基组成的序列。这种酸性氨基酸残基组成的序列一般不长,但可使多肽分子带有负电荷的性质,对于离子浓度的调节,起到一定的作用。

2. 过敏性毒素结构位点 过敏性毒素(anaphylotoxin)结构位点由30~40个氨基酸残基组成,其中包括6个半胱氨酸(cysteine)残基。在补体成分C3a、C4a和C5a,以及白蛋白(albumin)的分子结构中可以发现这种过敏性毒素结构位点的存在。

3. 胶原三螺旋结构 由甘氨酸与另外两种氨基酸残基组成的三肽序列重复排列而成。即

每三个氨基酸残基中即有一个甘氨酸残基,或每隔两个氨基酸残基就是甘氨酸残基,即 Gly-x-y 三体形式的重复序列。其中 20%~22%的 x 和 y 位置上的氨基酸残基是脯氨酸 (proline) 或羟脯氨酸 (hydroxy proline) 残基。羟脯氨酸残基中的羟基与三螺旋结构中的氢键 (hydrogen bond) 形成有关。

4. 弹性蛋白交联位点 由 10~30 个氨基酸残基组成,其中包括两个赖氨酸 (lysine) 残基,相距 3~4 个氨基酸残基,参与链间的交联 (cross linking)。其结构形式不太清楚。

5. 弹性蛋白疏水结构位点 由 10~80 个氨基酸残基组成,其中疏水氨基酸残基所占的比例很高,特别是丙氨酸 (alanine) 和缬氨酸 (valine) 残基的比例很高。其结构不清楚。

6. 表皮生长因子结构位点 表皮生长因子 (EGF, epidermal growth factor) 结构位点由 30~80 个氨基酸残基组成,其中含有 6~8 个半胱氨酸 (cysteine) 残基。在数种细胞外基质的蛋白质分子结构中都有表皮生长因子位点结构。关于表皮生长因子本身的结构以及凝血因子 IX (factor IX) 分子结构中的表皮生长因子重复序列 (EGF repeat) 已得到测定。

7. 纤维蛋白原 β 、 γ 位点 纤维蛋白原 (fibrinogen) 即凝血因子 I (factor I) 的结构位点含有大约 200 个氨基酸残基,其结构不太清楚。

8. 纤维粘连蛋白 I 型重复序列 纤维粘连蛋白 (FN, fibronectin) I 型重复序列 (type I repeat) 由 40~50 个氨基酸残基组成,重复序列内部有两个二硫键 (disulphide bond)。在组织型血纤维蛋白溶酶原激活剂 (TPA, tissue plasminogen activator) 和凝血因子 XI (factor XI) 的分子结构中都有纤维粘连蛋白 I 型重复序列的结构位点。纤维粘连蛋白等 7 个 I 型重复序列的结构已得到测定。

9. 纤维粘连蛋白 II 型重复序列 纤维粘连蛋白 II 型重复序列 (type II repeat), 又称为 Kringle 位点 (Kringle domain), 由大约 60 个氨基酸残基组成,重复序列的结构中含有 2 个二硫键结构。在组织型血纤维蛋白溶酶原激活剂以及血纤维蛋白溶酶原的蛋白质分子结构中,都存在着纤维粘连蛋白 II 型重复序列的位点结构。牛精液蛋白 (seminal fluid protein) 的分子结构中的纤维粘连蛋白 II 型重复序列的结构已得到测定。

10. 纤维粘连蛋白 III 型重复序列 纤维粘连蛋白 III 型重复序列 (type III repeat) 由 90~100 个氨基酸残基组成,但与 I 型和 II 型纤维粘连蛋白的重复序列不同,其结构中并不存在着重复序列结构内的二硫键。纤维粘连蛋白以及固生蛋白 (tenascin) 分子结构中含有 RGD 三肽序列的两种 III 型位点结构已得到测定。纤维粘连蛋白与固生蛋白分子结构中的 III 型重复序列位点结构与免疫球蛋白位点 (immunoglobulin domain) 的结构方式相似,但两种结构位点的一级结构序列的同源性却有限。

11. Gla 位点 Gla 位点是指含有一系列 γ -羧基谷氨酸 (γ -carboxylglutamic acid) 残基的多肽片段区。

12. 血红素结合蛋白位点 血红素结合蛋白 (hemopexin) 位点结构由 140~190 个氨基酸残基组成。这一段结构序列中含有 3 个半胱氨酸残基,其结构还不清楚。

13. x 螺旋状结构位点 与双螺旋或三螺旋结构形成的相关性链状结构位点,称为 x 螺旋 (heptad coiled-coil) 状结构位点,因为这段多肽序列与螺旋结构的形成有关,而且由 7 个氨基酸残基组成而得名。x 氨基酸重复序列结构中,在第 1 和 4 个氨基酸残基位点上的氨基酸为非极性氨基酸残基,而位于第 5 和 7 位上的氨基酸残基则为极性氨基酸残基。

14. 免疫球蛋白位点 免疫球蛋白 (Ig, immunoglobulin) 位点由 90~100 个氨基酸残基组成。在某些类型的免疫球蛋白折叠结构中,含有重复序列结构内部二硫键结构。所有的

免疫球蛋白结构位点都呈三明治 (sandwich) 结构, 相对的片层由两段 β -链 (β -strand) 折叠而成。免疫球蛋白位点结构可以分为两种, 即 V-型位点结构与 C-型位点结构, 而且还可以进行进一步的分类。C-型位点结构中含有 7 β 链结构组成。一面由 3 个 β 链组成, 另一面由 4 个 β 链组成。在 V-型位点结构中, 在由 3 个 β 链组成的 2 个 β 链上有另外的氨基酸残基序列, 其余与 C-型位点结构相同。各个片层之间以长短不同的环状结构相连。

15. Kunitz 蛋白酶抑制剂位点结构 Kunitz 蛋白酶抑制剂 (Kunitz proteinase inhibitor) 位点结构是大约 50 个氨基酸残基组成的一段序列。这段序列中包含有 6 个半胱氨酸残基, 其结构还不十分清楚。

16. 层粘连蛋白 G 位点 层粘连蛋白 (laminin) 的 G 位点 (G domain) 结构由 160~230 个氨基酸残基组成, 其中有 4 个半胱氨酸残基, 结构不清。

17. 低密度脂蛋白受体位点 低密度脂蛋白 (LDL, low density lipoprotein) 受体位点结构由 40~50 个氨基酸残基组成。在这段重复序列结构中不存在二硫键结构, 其结构不清楚。

18. 外源凝集素位点 外源凝集素 (lectin) 位点结构由 120~130 个氨基酸残基组成。这段结构序列内部有 2 个链内二硫键结构。外源凝集素位点又称为 C-型外源凝集素 (C-type-lectin), 因为某些蛋白质分子结构中的外源凝集素位点可以与碳水化合物 (C, carbohydrate) 分子进行结合, 而且是钙依赖性方式。C-型外源凝集素位点的结构已经得到测定, 是以大鼠的甘露糖结合蛋白 (mannose-binding protein) 中外源凝集素的位点进行测定的。X-射线结晶学 (X-ray crystallography) 分析表明, 外源凝集素位点结构由 2 个区域组成, 一个区域为非有序结构, 而另一个则由 α 螺旋 (α -helix) 和 β 片层 (β sheet) 结构组成的有序结构区。

19. 富含亮氨酸位点 富含亮氨酸位点 (leucine-rich domain) 是一个较短的多肽片段, 其中含有高比例的亮氨酸残基, 结构不清楚。

20. 连接蛋白位点 连接蛋白位点 (link-protein domain) 含有 70~80 个氨基酸残基, 其中有 4 个半胱氨酸残基。在 CD44 分子中存在着这种连接蛋白位点结构, 其结构还不清楚。

21. 富含赖氨酸/脯氨酸位点 富含赖氨酸/脯氨酸位点 (lysine/proline-rich domain) 因其含有高比例的赖氨酸 (lysine) 残基和脯氨酸 (proline) 残基而得名。其结构不清楚。

22. 卵粘蛋白位点 卵粘蛋白位点 (ovomuroid domain) 由 55 个氨基酸残基组成, 其中包括 6 个半胱氨酸残基。卵粘蛋白结构位点在几种类型的丝氨酸蛋白酶抑制剂 (serine proteinase inhibitor) 的分子结构中都有存在, 其结构还不清楚。

23. PARP 位点 PARP 位点 (PARP domain) 是指富含脯氨酸、精氨酸残基蛋白 (PARP, proline-and arginine-rich protein) 结构位点。这一位点结构由 210 个氨基酸残基组成, 其结构不清楚。

24. 备解素位点 备解素位点 (properdin domain) 含有大约 50 个氨基酸残基, 其中 6 个是半胱氨酸残基。在补体成分 C6 和 C9 蛋白质的分子结构中含有这种备解素位点结构序列, 其结构不清楚。

25. 转化生长因子 β_1 受体重复序列位点 转化生长因子 β_1 (TGF β_1 , transforming growth factor β_1) 受体重复序列位点由 70~80 个氨基酸残基组成, 其中含有 8 个半胱氨酸残基。其结构不清楚。

26. 凝血酶应答蛋白 III 位点 凝血酶应答蛋白 III (TSP III, thrombospondin III) 位点结构由 20~40 个氨基酸残基组成, 其中包括两个半胱氨酸残基。结构不清楚。

27. 甲状腺球蛋白位点 甲状腺球蛋白 (thyroglobulin) 位点由 30~40 个氨基酸残基组

成，含有几个为数不定的半胱氨酸残基。结构不清。

28. 富含硫酸酪氨酸的位点 富含硫酸酪氨酸的位点 (tyrosine sulphate-rich domain)，因其结构中含有几个硫酸化修饰的酪氨酸残基位点而得名。

29. 冯·威勒布兰德因子 A 位点 冯·威勒布兰德因子 A (vWFA, von Willebrand factor A) 位点结构由 190~230 个氨基酸残基组成，但其序列中没有链内二硫键 (intra-chain disulfide bond) 结构。在许多种类型的蛋白质分子中，都有这种冯·威勒布兰德因子 A 的位点结构。其结构还不十分清楚。

30. 冯·威勒布兰德因子 B 位点 冯·威勒布兰德因子 B 位点由 25~35 个氨基酸残基组成，其中含有几个半胱氨酸残基，结构不清楚。

31. 冯·威勒布兰德因子 C 位点 冯·威勒布兰德因子 C 位点又称为前胶原位点 (pro-collagen domain)，大约由 70 个氨基酸残基组成，也含有几个半胱氨酸残基，结构不清楚。

32. 冯·威勒布兰德因子 D 位点 冯·威勒布兰德因子 D 位点结构由 270~290 个氨基酸残基组成，其中含有几个半胱氨酸残基，其结构也不十分清楚。

第三节 细胞外基质的生物学功能

机体是由器官 (organ)、组织 (tissue) 和细胞 (cell) 组成的。不同的器官、不同的组织，是由不同的细胞来组成的。细胞外基质将这些不同类型的细胞集合在一起，使其构成不同的组织和器官。没有细胞外基质的参与，就不能构成一个机体。因此，细胞外基质也具有十分重要的生物学功能。细胞外基质不仅赋予机体的物理性特征，为全身的各种细胞提供附着的支架组织，而且还对于这些细胞的生物学功能，具有深远的影响。

一、细胞外基质的物理学功能

细胞外基质是构成骨 (bone)、软骨 (cartilage)、韧带 (tendon)、皮肤、头发、各种器官包膜以及各种实质器官的基底膜的主要成分。因此，细胞外基质成分构成的这些类型的组织、器官在维持机体的结构的完整性，为机体提供支架结构，具有十分重要的功能。细胞外基质在维持各种器官的形态以及其物理学特征方面，也有十分重要的作用。如肺中由纤维粘连蛋白以及层粘连蛋白等组成的基底膜结构，是肺上皮细胞与内皮细胞附着的支架结构，便于气体交换。同时，其中的弹性纤维结构部分，又赋予肺组织的高度弹性，使其随着呼吸的变化而收缩与舒张，完成呼吸动作，达到气体交换之目的。皮肤及实质脏器周围由细胞外基质蛋白组成的屏障结构，既防止机体在运动过程中造成脏器的过度震荡而受到损伤，又能作为缓冲屏障结构，防止在突然外力的冲击下发生损伤。实际上，机体的运动机能大部分都是由细胞外基质蛋白所构成的组织、器官来完成的。

二、细胞外基质是由细胞分泌表达的

所有的细胞外基质蛋白都是由细胞合成并分泌到细胞外，在经过一系列的加工、修饰，构成特殊类型的组织和器官。绝大部分的细胞外基质蛋白都是作为一种蛋白质前体分子分泌到细胞外。因为这些细胞外基质蛋白都是可分泌型的蛋白质，因而其氨基末端都毫无例外地有一段由 20 个左右氨基酸残基组成信号肽序列。细胞外基质蛋白的修饰加工包括糖基化 (glycosylation)、磷酸化 (phosphorylation)、硫酸化 (sulphation)、末端肽序列的切除、二硫键 (disulphide

bond) 的形成、链内交联 (intrachain cross linking)、链间交联 (interchain cross linking)、二聚体 (dimer)、三聚体 (trimer)、四聚体 (tetramer) 等多聚体结构的形成等。

三、细胞外基质对于细胞功能的影响

细胞外基质不仅仅为各种类型的细胞提供支架结构与附着位点, 而且反过来对于细胞的粘附、迁移、增殖、分化以及基因表达的调控具有重要的作用和显著的影响。一方面, 在发育过程中有助于正常组织和器官的形成, 而且在病理状态下参与修复过程。同时, 细胞外基质与主要脏器官的纤维化有关, 而且与肿瘤细胞的转移有关。

1. 细胞外基质与细胞的粘附过程

细胞与细胞外基质之间的结合过程, 不是被动的, 而是主动的; 不是随机的, 而是一种特异性的过程。细胞与细胞外基质之间的结合, 不仅仅为细胞的附着提供一个物理位点, 而且还触发跨膜信号转导 (signal transduction), 对于细胞的基因表达及细胞表型和功能产生显著的影响, 细胞外基质蛋白分子结构中具有与细胞结合的位点, 称为细胞粘附位点 (cell adhesion site)。细胞粘附位点与细胞膜上的相应的受体相结合, 这是细胞外基质与细胞之间进行结合的一般方式。

骨唾液蛋白 (BSP, bone sialoprotein) 分子结构中的细胞粘附位点位于 286~288 氨基酸残基之间, 称为 RGD 位点, 这是与细胞粘附过程密切相关的结构位点。在粘结蛋白 (entactin)、纤维蛋白原 (fibrillin)、纤维粘连蛋白、骨桥蛋白 (osteopontin)、凝血酶应答蛋白-1 (TSP1, thrombospondin 1)、亲玻粘连蛋白 (vitronectin)、冯·威勒布兰德因子 (von Willebrand factor) 等结构中都有 RGD 或类似的位点序列。

2. 细胞外基质与细胞的迁移过程

细胞外基质与细胞膜上相应的受体之间的相互作用, 决定了细胞迁移 (migration) 过程。与细胞迁移有关的细胞膜上的受体分子, 主要是整合素这种细胞表面的粘附性受体蛋白分子。每一种整合素分子都是由 α 和 β 亚单位组成的异二聚体 (heterodimer) 分子形式, 两者之间以 1:1 的比例共价结合。到目前为止, 已鉴定了 20 余种不同类型的整合素分子, 与纤维粘连蛋白、层粘连蛋白、亲玻粘连蛋白和胶原蛋白之间都存在着结合功能。

在多细胞生物的发育过程中, 许多发育过程和步骤都涉及到细胞向新的位点迁移的过程。在形态学发生过程中, 由纤维粘连蛋白以及其它类型的具有粘附作用的生物大分子, 构成了细胞粘附与迁移的主要基质结构。尽管各个胚胎之间有所差别, 但一般来说, 阻断由整合素介导的细胞迁移, 会阻断胚胎原肠胚的形成 (gastrulation)。含有 RGDS 序列的合成多肽, 抗整合素抗体的 Fab 片段、抗纤维粘连蛋白的抗体, 单独情况下都可以抑制细胞迁移过程。如果细胞内注射 β_1 整合素亚单位胞浆位点特异性的单克隆抗体或者抗体的 Fab 片段, 都可以打乱细胞基质的装配。进一步证实整合素在细胞迁移过程中的重要作用。

细胞在纤维粘连蛋白上的迁移过程, 需要 RGD 和其它协同的结构位点。针对 RGD 和协同作用位点的单克隆抗体, 都能抑制细胞的移行过程。以能与 β_1 整合素片段的抗体或含有 RGD 序列的多肽, 都能在体外抑制正常细胞与肿瘤细胞的迁移过程。含有 RGD 多肽的抑制效应仅仅是部分性的。对于细胞迁移的抑制过程, 其作用机制多数情况下是破坏了 β_1 整合素与纤维粘连蛋白之间的相互的作用。

3. 细胞外基质与细胞的增殖过程

细胞外基质蛋白的某些类型具有促有丝分裂素 (mitogen) 的功能, 可以促进细胞的增殖

(proliferation) 活动。如在神经细胞增殖过程的早期阶段,神经上皮细胞 (neuroepithelial cell) 对于成纤维细胞生长因子 (FGF, fibroblast growth factor) 的作用十分敏感。FGF 对于体外培养的神经上皮细胞的作用之一,就是能够促进这种细胞层粘连蛋白 (laminin) 表达水平的升高。以 Northern blotting 杂交技术证实,受到 FGF 刺激作用的细胞中,层粘连蛋白 B1 和 B2 链的 mRNA 表达水平都显著升高。随着前体细胞群具有不同的主要组织相容性 I 型抗原 (major histocompatibility class 1 antigen) 表达,又可分为前体细胞群与胶质细胞群,而只有分化为胶质细胞的细胞亚群,才具有层粘连蛋白的合成能力。因而推测 FGF 对于神经上皮细胞的主要作用就是促进其层粘连蛋白的合成与释放能力,以旁分泌 (paracrine) 的方式,进一步刺激神经细胞的分化 (differentiation)。在一项研究中还发现,视网膜中的神经前体细胞与其下层的细胞外基质之间保持持续的接触,对于维持神经前体细胞的增殖状态,具有十分重要的意义。

4. 细胞外基质与细胞的分化过程

神经系统的发育过程是一个非常复杂的过程。神经细胞的分化,在很大程度上取决于神经细胞与环境中各种活性分子之间的相互作用。利用体外细胞培养系统,鉴定了一系列的可溶性神经营养因子,诸如神经生长因子 (NGF, nerve growth factor)、膜结合型细胞粘附分子 (CAM, cell adhesion molecule) 以及细胞外基质等。近年来,在神经元周围环境中鉴定发现了对于神经轴突 (neurite) 生长具有促进作用的细胞外基质蛋白分子及其膜表面的受体蛋白分子。层粘连蛋白、纤维粘连蛋白以及胶原蛋白等基质蛋白成分,都具有促进体外培养的神经元的轴突生长的功能。

大鼠的嗜铬细胞瘤 (pheochromocytoma) 细胞系 PC12 是研究神经元细胞分化过程的一个重要模型。以 NGF 进行长时间的刺激之后,PC12 细胞发生有丝分裂阻滞 (mitotic arrest),从形态学以及生物化学等方面进行分化,表现为交感神经元 (sympathetic neuron) 的特征。由 NGF 刺激之后,使 PC12 细胞能够在无血清培养基中存活,因而可以对于单个的细胞外基质蛋白对于细胞粘附以及轴突生长的影响进行逐一研究。一系列的研究表明,PC12 细胞受到 NGF 的刺激作用之后,PC12 细胞及其生长的轴突可以有效地与层粘连蛋白、I 型和 IV 型胶原以及纤维粘连蛋白等进行粘附结合。经 NGF 处理之后,如果在含有血清的培养基中,PC12 细胞的轴突可以在未进行包被的塑料细胞培养皿的表面上伸展,提示血清中即含有能够促进神经元轴突生长的细胞外基质蛋白分子。

目前已积累的研究资料表明,每一种类型的细胞外基质蛋白都可以被一种整合素受体蛋白所识别。在细胞外基质蛋白分子结构中,已鉴定出几种不同的与整合素结合有关的结构位点,其中最为重要的是纤维粘连蛋白 III 型重复序列 (type III repeat) 结构位点。这一与整合素受体结合有关的位点结构,存在于一系列的细胞外基质糖蛋白分子中的序列结构中。纤维粘连蛋白的 III 型重复序列含有 RGDS 四肽序列,这是纤维粘连蛋白细胞粘附作用有关的主要结构位点。在冯·威勒布兰德因子 (vWF, von Willebrand factor)、凝血酶应答蛋白 (thrombospondin) 和亲玻璃粘连蛋白 (Vn, vitronectin) 的蛋白质分子结构中都有 RGD 三肽序列,这是这些细胞外基质糖蛋白与细胞膜上相应的整合素受体进行结合的重要结构位点。对于 PC12 细胞来说,RGDS 序列结构是纤维粘连蛋白与 PC12 细胞进行结合并促进 PC12 细胞轴突生长的主要结构位点。含有这段 RGDS 的合成多肽,可以抑制 NGF 刺激的 PC12 细胞在纤维粘连蛋白包被的培养皿上的形态学分化过程。

Grabham 等 (1992) 也利用 PC12 细胞系的体外培养模型,证实亲玻璃粘连蛋白是血清中促