

MK——一种新发现的细胞因子

齐茂松 李春英

(北京医科大学第一医院中心实验室, 北京 100034)

摘要 MK 是一种新发现的细胞因子, 属于肝素结合因子家族. MK 是一种小分子多肽, 其基因表达仅见于胚胎中期及成年期肾脏, 在许多肿瘤细胞中也可见 MK 基因不同程度的表达. MK 能够促进正常细胞的生长和分化, 特别是促进神经细胞的发育, 它还可以抑制某些肿瘤细胞的生长. MK 基因在成年肾脏中表达的原因尚未阐明.

关键词 MK, 基因, 肝素结合活性, 细胞因子

MK 的全称为 midkine, 来自中孕期和肾脏两词 (midgestation and kidney), 目前尚无公认的中文名, 我们暂称之为中孕肾因子. MK 是一种对细胞生长和分化起重要作用的细胞因子, 参与胚胎发育和器官形成. 1988 年 K. Kadomatsu 等^[1]首先发现 MK, 至今有不少文献报道, 现综述如下.

1 MK 的分子生物学特性

MK 是一种多肽, 有 118 个氨基酸, 相对分子量为 14 000, 含信号序列 (signal sequence) 时长度为 140 个氨基酸, 分子量 15 500^[2,3]. MK 多肽富含半胱氨酸 (7.8%) 和碱性氨基酸 (赖氨酸 18.9%, 精氨酸 5.7%, 组氨酸 1.1%)^[1]. 人类 MK 与小鼠 MK 的同源性为 87%, 所有的氨基酸改变都是保守的, 只是人类 MK 多肽的 N 端插入了一个长度为三个氨基酸的残基^[4].

由于半胱氨酸之间可以形成二硫键, 而且 MK 的分子量仅为 14 000, 在这样的小分子蛋白质中含有较高比例的半胱氨酸, 说明 MK 分子具有高度稳定性和严格的三维结构. MK 多肽的 N 端序列具有高度疏水性, 可能是决定 MK 游出到细胞外的功能片段^[2,5]. MK 分子中心部位的 27 个氨基酸 (在人类 MK 序列中为 47—73) 在人与小鼠之间序列相同或极少变异, 说明这一区域对 MK 分子的生物学功能是极

其重要的^[4].

2 MK 基因

应用荧光原位杂交技术, 发现 MK 基因定位于 11 号染色体的 p11.2^[6]. MK 的 cDNA 有三个类型: MK₁、MK₂ 和 MK₃, 它们有一段共同的序列, 又含各自的特异性序列, 即 5' 端不翻译序列. 三种 MK cDNA 的共同表达序列长度为 420bp. 5' 端的特异性序列以 MK₃ 为最长, 可达 278bp, MK₁ 次之, 长度为 248bp, MK₂ 最短, 只有 125bp. 在共同序列中, 分别有 MboII, BamHI, KpnI 和两个 AluI 限制性内切酶的酶切位点^[7]. 应用核糖核酸酶保护分析法 (ribonuclease protection analysis), 用三种 MK 基因探针检测, 三种 MK mRNA 的含量比为 MK₁:MK₂:MK₃ (1:15:2), 由此推测 MK₂ 是主要的表达基因. MK₂ mRNA 的长度为 880bp, 应用 slot 转膜杂交技术, 发现经维甲酸 (retinoid acid, RA) 作用后, HM-1 细胞内 MK₂ mRNA 水平增加 8—10 倍, 而 MK₁ 和 MK₃ mRNA 水平无明显变化^[2]. 三种 MK cDNA 编码相同的多肽, 在 5' 端的异源性可能是 MK 基因表达调节的不同方式.

3 MK 基因的表达

维甲酸可诱导胚胎癌 (embryonalcarcino-

ma, EC) 细胞的分化, 在分化早期, 可见 MK mRNA 的含量大大增加^[1]. 利用原位杂交技术检测不同发育时期的小鼠胚胎, 在怀孕第 5 天的胚胎中未见 MK 基因的转录, 在第 7 天则可见广泛的 MK 基因表达. 在第 11 天的胚胎中, 虽然整个胚胎都有 MK 基因表达, 但有些区域的表达明显高于周围组织, 这些区域包括: 晶状体和脑室周围的脑外胚层、垂体前叶、上下颌、肺、脊柱的尾节、四肢、小肠、胃、胰和中肾(成年肾的原基). 第 13 天 MK 基因表达更加局限于上述区域, 而且在各器官内也有差别, 内胚层上皮的表达强于其它组织. 在第 15 天的胚胎中, MK 基因表达只见于肾脏. 在成年小鼠, 也只在肾脏中有 MK 基因表达, 而且此时的表达要低于新生期, MK mRNA 局限于肾小球周围的肾小管上皮^[8,9]. 在培养细胞中, 发现星形细胞能合成、释放 MK, 这种功能不受维甲酸的影响^[10].

另外, MK 基因在肾、直肠、肝、胃、肺、胰腺、食管、睾丸和泌尿膀胱恶性肿瘤及 wilm 氏瘤等细胞株中有中度到高度的表达, 在乳腺癌、口腔鳞状上皮癌和卵巢癌等细胞中有较弱的表达信号^[9,11].

4 MK 的生物学功能

4.1 促进细胞分化

在小鼠胚胎中, 当两种组织相互作用形成一个器官时, MK 基因在上皮组织中高度表达, MK 可能在上皮发生或上皮组织与其他组织的相互作用中发挥功能. MK 基因在中胚层的表达方式表明它与脊柱的形态发生有密切联系^[8]. MK 影响细胞分化的机制, 可能是通过结合于 DNA 并调节靶基因表达来完成的^[1].

4.2 促进细胞生长

MK 能促进 PC-12 嗜铬细胞瘤细胞和 NIH-3T3 细胞的生长, 并刺激 3T3 细胞的有丝分裂^[3,12]. MK 促进细胞生长的机制尚未明了, 可能是通过结合于细胞表面的受体来实现的, 或者结合于内源性硫酸乙酰肝素(endogeneous heparan sulfate), 从而降低生长调节因子的结

合稳定性^[3].

4.3 抑制肿瘤细胞的生长

即使在极低的浓度下(低于 1nmol/L), MK 也能抑制 HL60 白血病细胞的生长, 但并不诱导其粒细胞分化. 在不含 RA 和 MK 的标准培养基中传代 8 次, HL60 细胞能增加对 RA 和 MK 的耐受性, 提示 MK 和 RA 有共同的信号传递通路^[13].

4.4 MK 对神经细胞的作用

小鼠 MK 能延长中心神经元的生存期并促进其轴突的外生, 这种生物活性与 MK 本身的二硫键构象有关. MK 还能延长培养鸡感觉神经元的生存, 这种作用与神经生长因子的作用可以相互叠加, 说明这两种因子的功能是通过不同的途径实现的. 另外, MK 能促进小鼠神经上皮细胞的积聚和迁移^[13,14].

4.5 MK 与肾脏

在胚胎后期和成年期, 只有肾脏中有 MK 基因的表达. MK 是一种分泌性多肽, 成年期在肾脏内合成, 做为激素来激发某些细胞的分化^[8]. 在肾脏中, MK 可调节肾小管上皮的正常更新并维持肾小管的结构. 另外, MK 还可能与电解质转运、蛋白质/氨基酸和葡萄糖的重吸收以及维生素 D 的代谢有关^[9].

5 与 MK 相关的细胞因子

MK 具有肝素结合活性(heparin binding activity), 属于肝素结合因子家族^[3-5]. 这一家族的其他成员还包括 RI-HB (retinoid acid induced heparin binding protein) 和 HB-GAM (heparin-binding growth-associated molecule). 这三种蛋白质都富含半胱氨酸和碱性氨基酸. MK 与 RI-HB 的同源性为 64%, HB-GAM 与 RI-HB 的同源性为 49%, MK 与 HB-GAM 的总同源性为 50%, 而且全部半胱氨酸都是保守的^[4,15].

RI-HB 的分子量为 19 000, 其基因表达仅见于鸡的胚胎中期, 功能是滋养神经^[16]. 也有人认为 RI-HB 是 MK 在鸟类体内的表达方式. HB-GAM 的分子量为 18 000, 长度为 136 个

氨基酸, 其氨基酸序列在多个物种间是高度同源的. 小鼠 HB-GAM 与 MK 具有相同的外显子-内含子编排, 外显子的大小相近或相同, 而且外显子的序列高度同源, 但相应内含子的大小及序列有较大差异. HB-GAM 主要分布于脑, 其基因表达似乎受发育的调控. 在胚胎的多种组织中, HB-GAM 的含量随胚胎发育逐渐增加, 到新生期达到最高峰, 之后在大多数组织中含量降低甚至不可见, 只有在脑内成年期仍维持相当高的水平. HB-GAM 的功能与神经元生长, 脑的发育分化有关^[17,18].

6 研究 MK 的意义

MK 是与生长和分化有关的细胞因子, 明了其基因在胚胎中的表达, 有助于研究胚胎发育及器官分化和形成. MK 对多种培养细胞的生长有促进作用, 利用 MK 有可能解决细胞培养中的一些难题. MK 促进神经细胞增生, 加快轴突分枝, 提示我们用 MK 治疗某些幼儿期神经系统疾病. MK 能抑制多种肿瘤细胞生长而不导致畸形, 我们可以探索用 MK 治疗某些恶性肿瘤. MK 在多种恶性肿瘤中有异常的基因表达, 据此可以考虑, 研究是否可把 MK 当作一种肿瘤标志来用于临床诊断, 并探测潜伏的肿瘤.

目前, MK 多肽已能利用大肠杆菌来大量表达, 经提取得到 MK 纯品, MK 的单克隆抗体也在研制中. 有关 MK 还有许多有意义的工作, 对这一细胞因子的研究可能会给基础医学和临床诊断治疗带来重要突破.

参 考 文 献

- 1 Kadomatsu K, Tomomura M, Muramatsu T. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988; **151**: 1312
- 2 Tomomura M, Kadomatsu K, Matsubara S *et al.* *J Bio Chem*, 1990; **165**: 10765
- 3 Tomomura M, Kadomatsu K, Nakamoto M *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1990; **171**: 603
- 4 Tsutsui J, Uehara K, Kadomatsu K *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1991; **176**: 792
- 5 Kovesdi I, Fairhurst J L, Kretschmer P J *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1990; **172**: 850

- 6 Kaname T, Kuwano A, Murano I *et al.* *Genomics*, 1993; **17** (2): 514
- 7 Matsubara S, Tomomura M, Kadomatsu K *et al.* *J Bio Chem*, 1990; **265**: 9441
- 8 Kadomatsu K, Huang R-P, Suganuma T *et al.* *J Bio Chem*, 1990; **110**: 607
- 9 Kitamura M, Shirasawa T, Mitarai T *et al.* *Am J Pathol*, 1993; **142**: 425
- 10 Satoh J, Muramatsu H, Moretto G *et al.* *Brain Res Dev Brain Res*, 1993; **75** (2): 201
- 11 Tsutsui J, Kadomatsu K, Matsubara S *et al.* *Cancer Res*, 1993; **53** (6): 1281
- 12 Muramatsu H, Muramatsu T. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991; **177** (2): 652
- 13 Maruta H, Bartlett P F, Nurcombe V *et al.* *Growth Factors*, 1993; **8**: 119
- 14 Kikuchi S, Muramatsu H, Muramatsu T *et al.* *Neurosci Lett*, 1993; **160** (1): 9
- 15 Urios P, Duprez D, Le Caer J-P *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1991; **2**: 617
- 16 Merenmies J, Rauvala K. *J Biol Chem*, 1990; **265** (28): 16721
- 17 Nalio A, Yoshikura H, Iwamoto A. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992; **183** (2): 701
- 18 Bloch B, Normand E, Kovesdi I. *Dev Brain Res*, 1992; **70**: 267

MK: A Kind of New Identified Cytokine. Qi Maosong, Li Chunying (*Clinical Laboratory Center, The First Teaching Hospital, Beijing Medical University, Beijing 100034, China*).

Abstract MK is a new identified cytokine, which belongs to the heparin binding family. MK molecule is a small polypeptide whose gene expresses only in mid-gestation embryo and adult kidney. The expression of MK gene has also been shown in various carcinoma cells. MK can promote the growth and differentiation of normal cells, particularly the development of nerve cells. MK can also inhibit the growth of several kinds of carcinoma cells. The reason why MK gene is expressed in adult kidney has not been elucidated.

Key words MK, gene, cytokine, heparin binding activity