

# 决定细胞形状和运动性的蛋白质 palladin

张应玖<sup>1,2)\*</sup> YANMIN YANG<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>吉林大学生命科学学院, 分子酶学工程教育部重点实验室, 长春 130023;

<sup>2)</sup>Department of Neurology, Stanford University, Stanford, CA 94305, USA)

**摘要** Palladin 是肌动蛋白结合蛋白家族的新成员, 广泛分布于平滑肌、中枢神经系统和胚胎的各种组织中, 其主要的生物功能是参与构建肌动蛋白骨架系统, 并在细胞骨架的动态变化中起作用. 在肌动蛋白细胞骨架中 palladin 与  $\alpha$ -辅肌动蛋白共存在. 目前发现, palladin 在决定细胞的形态和迁移或运动等过程中起关键的作用. 在转移性癌细胞和中枢神经受损伤后的星形胶质细胞中, 都有 palladin 的特殊表达. Palladin 的表达使星形胶质细胞形成了神经胶质疤痕.

**关键词** palladin, 形状, 运动, 神经胶质疤痕

**学科分类号** Q245

## 1 Palladin 蛋白的发现

1990年 Otey 在美国北卡罗莱那大学(University of North Carolina) Keith 教授的细胞生物学实验室做博士后研究. 当时她在研究  $\alpha$ -辅肌动蛋白( $\alpha$ -actinin), 这是一种众所周知的微丝结合蛋白质, 其作用是横向连接微丝形成束, 参与构建细胞内部的骨架结构. 她当时需要  $\alpha$ -辅肌动蛋白抗体, Keith 教授记起来: 他的实验室有这种抗体, 放在那一直没用过, 于是他建议 Otey 用它试试.

Otey 在实验中发现, 这种抗体并不识别  $\alpha$ -辅肌动蛋白, 但它却和另外一种完全不同的蛋白质发生反应, 而这种蛋白质在当时还是一种未知蛋白质, Otey 决心要揭开它的面纱, 搞清楚它的结构与功能.

从此, Otey 和她领导的研究小组在长达 10 年的时间里逐步对这种未知蛋白质展开了研究, 并终

于在 2000 年公布了她的研究结果, 并借用 16 世纪意大利著名建筑学家 Andrea Palladio 的大名, 将这种蛋白质命名为 palladin<sup>[1]</sup>.

为什么要借用建筑学家的名字呢? 其寓意很明显, 就是表示 palladin 是一种构建细胞骨架结构的蛋白质. Palladin 是一种肌动蛋白结合蛋白, 直接参与组装和构建细胞骨架, 以肌动蛋白细胞骨架系统发挥作用, 控制着细胞的形态(状)、粘附或运动.

## 2 Palladin 的结构与分布特性

Palladin 是一种磷蛋白, 由单条肽链构成. 在生物体中依细胞的种类不同 palladin 有多种存在形式, 分子大小也不相同, 主要为 90 ~ 92 ku、110 ku、140 ku. 通过序列分析, 发现在 palladin 分子中存在着多种特定的结构域, 如图 1 所示. 在肽链的 N 端部分, 间隔出现富含 Ser 和 Pro 的基序(Ser-rich/ Pro-rich motifs); 在 C 端部分, 存在 3 个

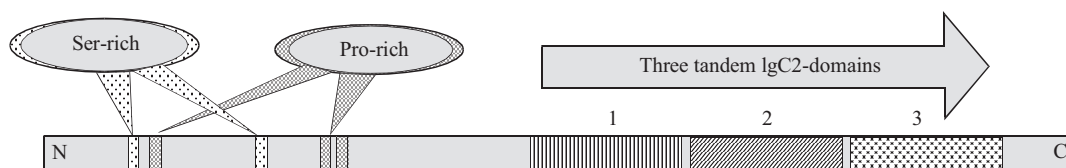


Fig.1 Schematic view of protein structure of palladin

图 1 Palladin 蛋白结构简图

\*通讯联系人. Tel: 0431-8498104, E-mail: yingjiu@jlu.edu.cn

收稿日期: 2005-01-14 接受日期: 2005-02-28

串联的 IgC2 结构域(three tandem IgC2-domains)<sup>[1,2]</sup>.

一般属于细胞骨架系统的蛋白质, 分子中多存在有 IgC2 结构域. 另外, 绝大多数含有 IgC2 结构域的蛋白质存在于骨骼肌中, 而 palladin 却广泛存在于肌肉组织和非肌肉组织中. 从广义上讲, 蛋白质分子中的 Ig 样结构域使分子的刚性增强, 常常作为周期性规则分布的结构成分而存在, 但对于有些分子来说, 它们仍具有弹性, 如大分子骨架蛋白质 titin<sup>[3-6]</sup>.

通过 BLAST 数据库分析得知, palladin 分子中存在的结构域属于蛋白质-蛋白质相互作用结构域<sup>[7]</sup>, 由此推测 palladin 在构建肌动蛋白细丝网络时能同时结合多种蛋白质, 是一种接头蛋白. 位于 N 端部分包含 Pro 基序 (FPPPP, LPPPPP, SPPPPP) 的肽段与纽蛋白 (vinculin)、VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein) 等中相应肽段的同源性非常高, 靠近 N 端的包含 FPPPP 基序的肽段能介导 Ena/VASP/WASP 蛋白定向结合于肌动蛋白调节位点上<sup>[8-11]</sup>, 从而促进肌动蛋白聚合体的装配, 并引起肌动蛋白聚合与解聚合的动态调节. 应用酵母双杂交、亲和沉淀等技术得知, palladin 分子中的 1~3 或 2~3 IgC2 结构域能介导 palladin 与 ezrin 蛋白发生相互作用, 后者也是肌动蛋白骨架系统的组成成分.

Palladin 与 Z-盘 myotilin 蛋白是同系物, 两分子的同源性非常高, 尤其是在 IgC2 区域. 两者都与 alpha-辅肌动蛋白相结合, 但 myotilin 主要在横纹肌 (striated muscle) 中表达, 是横纹肌 Z-盘 (Z-disc) 的成分, 而 palladin 的表达较普遍, 除了胸腺、脾和外周血淋巴细胞中不存在外, 在各类细胞和组织中都存在, 但主要在平滑肌 (smooth muscle)、上皮组织和神经系统中表达, 沿微丝呈周期性分布, 在平滑肌致密体、应力纤维的致密区、生长中的神经突、胚胎、粘着斑 (focal adhesions) 以及细胞连接处 (cell-cell junctions) 浓度较高<sup>[1,12-15]</sup>.

2000 年 Otey 等发现, palladin 在参与组装和构建肌动蛋白骨架系统中起着细胞支架 (cellular scaffold) 的重要作用. 支架蛋白是一类具有稳固细胞骨架结构以及调节其动态变化功能的蛋白质, Otey 等称 palladin 是目前发现的唯一一种能结合多达 6 种不同蛋白质的支架蛋白, 说明它是一种功能非常强大的支架蛋白质, palladin 的存在象是提供了一种分子“胶水”, 将其他蛋白质粘连在骨架系统的特定位点处, 从而调节骨架系统的形态及其动

态变化. 在不同类型的细胞中, 与 palladin 相结合的蛋白质也可能不同, 但它总是与 alpha-辅肌动蛋白 (alpha-actinin) 紧密相连, alpha-辅肌动蛋白是 palladin 的一个结合伴侣.

由此可见, palladin 主要的生物功能是参与构建肌动蛋白骨架系统, 并在动态变化中起作用. 在多数情况下, palladin 的表达是受发育调节的.

### 3 Palladin 在决定细胞形态 (形状) 中的作用

肌动蛋白细胞骨架 (微丝) 是细胞内蛋白纤维网状体系, 通常在很大程度上决定了细胞的基本形态, 而细胞的形态既是影响分化的重要因素, 同时也直接关系到它的生物功能, 如中枢神经元具有长的轴突, 这样才能到达其作用的靶部位以行使神经传导的功能, 上皮细胞 (包括表皮细胞) 要求彼此紧密地粘附在一起, 并形成片层结构才能起到屏蔽的作用. 最初的研究结果表明, palladin 帮助原始细胞 (primitive cells) 形成特定的形态 (specific shapes), 从而成为特化细胞, 如神经细胞和皮肤细胞.

Otey 等用小鸡和小鼠的滋养层细胞进行研究, 发现 palladin 的表达与滋养层细胞分化是紧密连锁的, 表达的同时滋养层细胞的形状也开始发生奇妙的变化, 由小而圆变成了大而平, 同时细胞内部也发生了高度组织化. 另一方面, palladin 在多种成年细胞中呈低表达或不表达, 但在成年动物的中枢神经系统中却大量存在. 在未成熟的神经元中它的表达增加, 并主要位于神经突起活跃的末端<sup>[16]</sup>. 如果抑制 palladin 在胚胎神经元中的表达, 则神经元就完全不能长出神经突起, 可见, 神经突起的生长和靶向运动主要取决于 palladin, palladin 属于突触内细胞基质 (cytomatrix of synapse) 中不断产生的蛋白质, 这与新细胞骨架的构建和形态的改变是一致的. 当人们学习的时候, 大脑细胞处于不断变化中, 这种形态上的变化是大脑完成学习任务的基础.

2001 年 Mykkanen 等用免疫印记法分析单核细胞向树突状细胞 (dendritic cell) 分化过程中 palladin 水平的变化, 发现单核细胞中并不存在 palladin, 但从开始分化便伴随有 palladin 的产生, 不论是在成熟的还是未成熟的树突状细胞中均有 palladin 的表达, 同时伴随有细胞形态的显著变化, 由圆形变为树突状.

以上结果说明, palladin 在神经系统中发挥着重要的作用, 其表达对细胞形态的变化和新骨架系统的形成起重要的作用, palladin 的表达是引起细

胞形态改变的诱因。

细胞的形状对其参与的各种生物过程, 如癌细胞的转移, 伤口的愈合, 大脑的发育以及胚胎在子宫中的着床等, 都非常重要, 目前的研究结果表明, *palladin* 在以上这些过程中起关键性的作用。

#### 4 *Palladin* 对细胞的迁移与粘附的影响

许多的生物学过程是以细胞的运动调节为基础的, 如胚胎的形态变化, 伤口的愈合, 免疫细胞对感染部位的靶向运动等。然而, 当细胞的这种运动性一旦失控或异常, 就会导致严重的疾病。例如, 癌细胞的扩散就是一种非正常的运动, 细胞向血管内腔移动导致心瓣狭窄也是运动调节异常的结果。

细胞的形状和运动状态主要由肌动蛋白细胞骨架的组装所决定, 肌动蛋白在细胞前缘的快速聚合推动了细胞的前部向前移动, 同时肌动蛋白微丝发生收缩, 以带动细胞的其他部分同时移动。目前研究者认为, *palladin* 除了在确定细胞形态上发挥作用外, 还参与细胞间的粘附和移动, 在调节肌动蛋白动态变化中起重要的作用: 首先, 在各类细胞中 *palladin* 存在于富含肌动蛋白的结构中; 其次, *palladin* 与众多参与形成肌动蛋白微丝的蛋白质相结合; 第三, 它的存在对于维持细胞中肌动蛋白细胞骨架结构是必需的——在培养的细胞(如成纤维细胞)中, *palladin* 的表达若受到抑制, 细胞骨架就不完整或完全解体了, 反之, *palladin* 超表达时, 则促进了骨架的超常形成。

细胞要想运动就必须改变形状, 例如, 若不小心割了个伤口, 伤口两侧的细胞就要向受伤部位移动, 以愈合伤口。研究发现, 在移动中细胞的形状不断变化, *palladin* 的数量也随之增加。Otey 等称, *palladin* 的增加或减少导致细胞运动性的增强或减弱。

最近相关的研究显示, 在转移的癌细胞和早期的胎盘中, 都高表达一种高分子质量的 *palladin* 分子, 这说明了什么呢? 转移的癌细胞和早期的胎盘有什么联系呢? Otey 等称, 两者在“侵袭性”上是一致的。2003 年 Otey 等用来自肿瘤库的 5 种主要的肿瘤细胞进行研究, 发现 *palladin* 可促进癌细胞向其他组织转移扩散。肿瘤细胞发生转移时, 其细胞形态要发生多次变化<sup>[1]</sup>。

我们能否设想: 如果能够找到一种方法阻止肿瘤细胞的移动, 那就有可能成为控制癌细胞转移的一种方法? 目前研究者们正通过敲除肿瘤细胞中

*palladin* 基因来研究这样是否可以阻止癌细胞的扩散。

#### 5 *Palladin* 与脑细胞受伤后形成的疤痕有关

外周神经系统中的神经细胞在受损伤后神经轴突会再生, 而脑部和脊髓中的神经细胞却不能, 如何从理论上解释这种差异呢? 一种普遍的观点认为, 在中枢神经系统中, 受损伤的部位发生了一些特异的化学变化, 如出现了一些生长抑制因子, 这些变化阻止了神经元重新长出轴突。2003 年美国科学家提出, *palladin* 的发现可以从另一方面为真正揭示这种差异的本质提供重要依据。

在大脑和脊髓中, 神经元受损伤后局部发生了一系列特异的生物学过程, 星形神经胶质细胞(又称为星形胶质细胞)移动到受伤部位, 交织在一起形成了一种物理性障碍叫做神经胶质疤痕, 虽然轴突受损伤的神经元可以重新长出其轴突, 但它能感受到这种无法通过的物理性障碍, 结果其细胞骨架结构发生了变化, 阻止了中枢神经元的复原, 抑制轴突的再生和向其他神经元或组织传递神经冲动。最终这种疤痕导致神经传导功能丧失和麻痹瘫痪。

Otey 等培养了单层的星形胶质细胞, 轻轻刮一下造成了损伤状态。在不同时间固定细胞并检测 *palladin* 的表达。结果发现, *palladin* 在成熟的星形胶质细胞中不表达, 但在靠近受损部位的星形胶质细胞中 *palladin* 的表达很快被上调, 而且生成的 *palladin* 存在于朝向受伤部位的前缘。应用染色技术看到, 受损伤 3 h 后受损部位周围的星形胶质细胞中 *palladin* 的表达呈上调趋势, 6 h 后, 这种调节趋于平缓, 但 *palladin* 呈阳性的星形胶质细胞覆盖了整个受伤区域。

Otey 与 Dr. Juli 合作在实验动物身上进行进一步研究, 用玻璃针在小鼠脑部造成一个微小的创伤并观察 *palladin* 在受伤部位的表达情况。结果发现, 在受伤后几小时内, 受伤部位附近就聚集了大量表达 *palladin* 的星形胶质细胞, 而且这一过程会持续数天之久。到第 7 天, 受伤部位周围出现了一个很漂亮的、显现 *palladin* 高水平表达的环。这说明在靠近受伤部位的细胞中, 以及那些形态发生改变并移向受伤部位的细胞中, 都有 *palladin* 快速而持久地表达。

研究者们将 *palladin* 和绿色荧光蛋白融合基因以及单独的绿色荧光蛋白基因分别转移到星形胶质细胞中, 发现表达有 *palladin* 和绿色荧光蛋白的细

胞失去了星形形态,变成了多边形,变厚、变平了,而只表达绿色荧光蛋白的细胞却没有发生变化.此外,在 *palladin* 转染的细胞内部,在受损伤和形态改变之前就出现了结构变化的迹象.这些结果显示, *palladin* 似乎就是主宰星形胶质细胞形状的因素: *palladin* 的表达改变了星形胶质细胞的形态,并促使它向受损伤的部位移动,在那里聚集,最终形成了胶质疤痕,这种疤痕阻挡了受损伤的神经元轴突的再生.

这项研究结果能否为中枢神经系统受损(可能是中风、脑部外伤、复发性的癫痫)后的再生提供一条新的、可行的途径呢?

Otey 等提出,如果 *palladin* 的上调促使了星形胶质细胞形成神经胶质疤痕,那么抑制 *palladin* 的上升调节就有可能使轴突再生,成为促进中枢神经系统恢复的一种方法.但同时 Otey 等也注意到实际情况可能要比在培养细胞中的更复杂:“让这种神经胶质疤痕形成到一定程度,然后再削弱可能是必要的,其意义可能是隔离受损伤的部位,以防止发生炎症反应.这我们不得而知”<sup>[7]</sup>.

首先我们会想到,抑制神经胶质疤痕的形成就能使轴突再生吗?这样做是否会引起其他问题?这方面的研究显然很有意义,但首先要建立一种基因敲除的动物模型,使其星形胶质细胞在受损害后不能表达 *palladin*,在此基础上研究神经胶质疤痕的形成是否减弱,若疤痕的形成减弱或不形成,损伤能否修复,由此便可以确定能否以 *palladin* 作为单一的靶标在中枢神经功能性康复中发挥作用.

所有的细胞都具有与其功能密切相关的形态,而 *palladin* 参与构建细胞的形态.对 *palladin* 蛋白从发现到现在虽然只有短短几年,但进展的速度很快,对其生物功能的揭示也在不断深入.目前对 *palladin* 的研究主要是运用现代生物化学、分子生物学和细胞生物学的理论和技术在分子、细胞和实验动物水平上对其功能进行研究,包括以 *palladin* 为唯一的靶标来研究细胞的运动机制,探索 *palladin* 在中枢神经系统中的作用等.目前较集中研究两种不同的生理过程:胚胎的发育和对中枢神经系统损伤的反应,对于后者主要是应用免疫印记、显微注射、基因敲除和神经损伤等技术探索 *palladin* 在形成与稳定触突以及在对损伤和反复性刺激的感应调节中的功能.

也许有一天能通过增加或减少 *palladin* 在一些特定类别细胞中的表达量来控制和治疗某些疾病.

## 参考文献

- 1 Parast M M, Otey C A. Characterization of palladin, a novel protein localized to stress fibers and cell adhesions. *J Cell Biol*, 2000, **150** (3): 643~656
- 2 Mykkanen O M, Gronholm M, Ronty M, *et al.* Characterization of human palladin, a microfilament-associated protein. *Mol Biol Cell*, 2001, **12** (10): 3060~3073
- 3 Puius Y A, Mahoney N M, Almo S C. The modular structure of actin-regulatory proteins. *Curr Opin Cell Biol*, 1998, **10** (1): 23~34
- 4 Linke W A, Stockmeier M R, Ivemeyer M, *et al.* Characterizing titin's I-band Ig domain region as an entropic spring. *J Cell Sci*, 1998, **111** (Pt 11): 1567~1574
- 5 Trombitas K, Greaser M, Labeit S, *et al.* Titin extensibility in situ: entropic elasticity of permanently folded and permanently unfolded molecular segments. *J Cell Biol*, 1998, **140** (4): 853~859
- 6 Witt C C, Olivieri N, Centner T, *et al.* A survey of the primary structure and the interspecies conservation of I-band titin's elastic elements in vertebrates. *J Struct Biol*, 1998, **122** (1~2): 206~215
- 7 Gregorio C C, Trombitas K, Centner T, *et al.* The NH<sub>2</sub> terminus of titin spans the Z-disc: its interaction with a novel 19-kD ligand (T-cap) is required for sarcomeric integrity. *J Cell Biol*, 1998, **143** (4): 1013~1027
- 8 Prehoda K E, Lee D J, Lim W A. Structure of the enabled/VASP homology 1 domain-peptide complex: a key component in the spatial control of actin assembly. *Cell*, 1999, **97** (4): 471~480
- 9 Gertler F B, Niebuhr K, Reinhard M, *et al.* Mena, a relative of VASP and *Drosophila enabled*, is implicated in the control of microfilament dynamics. *Cell*, 1996, **87** (2): 227~239
- 10 Symons M, Derry J M, Karlak B, *et al.* Wiskott-Aldrich syndrome protein, a novel effector for the GTPase CDC42Hs, is implicated in actin polymerization. *Cell*, 1996, **84** (5): 723~734
- 11 Boukhefifa M, Parast M M, Bear J E, *et al.* Palladin is a novel binding partner for Ena/VASP family members. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2004, **58** (1): 17~29
- 12 Ronty M, Taivainen A, Moza M, *et al.* Molecular analysis of the interaction between palladin and  $\alpha$ -actinin. *FEBS Lett*, 2004, **566** (1~3): 30~34
- 13 Salmikangas P, Mykkanen O M, Gronholm M, *et al.* Myotilin, a novel sarcomeric protein with two Ig-like domains, is encoded by a candidate gene for limb-girdle muscular dystrophy. *Hum Mol Genet*, 1999, **8** (7): 1329~1336
- 14 Salmikangas P, van der Ven P F, Lalowski M, *et al.* Myotilin, the limb-girdle muscular dystrophy 1A (LGMD1A) protein, cross-links actin filaments and controls sarcomere assembly. *Hum Mol Genet*, 2003, **12** (2): 189~203
- 15 Hwang S J, Pagliardini S, Boukhefifa M, *et al.* Palladin is expressed preferentially in excitatory terminals in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 2001, **436** (2): 211~224
- 16 Boukhefifa M, Parast M M, Valtchanoff J G, *et al.* A role for the cytoskeleton-associated protein palladin in neurite outgrowth. *Mol Biol Cell*, 2001, **12** (9): 2721~2729
- 17 Boukhefifa M, Hwang S J, Valtchanoff J G, *et al.* A critical role for palladin in astrocyte morphology and response to injury. *Mol Cell Neurosci*, 2003, **23** (4): 661~668

## Palladin is a Key Molecule to Cell Shape and Movement

Zhang Ying-Jiu<sup>1,2)</sup>\*, YANMIN YANG<sup>2)</sup>

*(<sup>1)</sup>College of Life Science, Key Laboratory for Molecular Enzymology and Engineering of Ministry of Education,*

*Jilin University, Changchun 130023, China;*

*<sup>2)</sup>Department of Neurology, Stanford University, Stanford, CA 94305, USA)*

**Abstract** Palladin is a novel actin-associated protein, its distribution is ubiquitous in smooth muscle, central nervous system and embryonic tissues. It seems that palladin is required for the establishing/maintaining actin cytoskeleton and its dynamic assembly. Palladin colocalizes with alpha-actinin in actin cytoskeleton. Findings show that palladin play a critical role in controlling cell shape, cell migration or movement. Palladin expression is upregulated in metastatic cancer cells and astrocytes following traumatic injury to the central nervous system. Palladin upregulation allows the astrocytes to form the glial scar.

**Key words** palladin, shape, movement, glial scar

---

\*Corresponding author . Tel: 86-431-8498104, E-mail: yingjiu@jlu.edu.cn

Received: January 14, 2005 Accepted: February 28, 2005