

跨膜丝氨酸蛋白酶 TMPRSS3 与遗传性耳聋 *

葛圣雷^{1)**} 易彦²⁾ 谢鼎华¹⁾

(¹⁾中南大学湘雅二医院耳鼻咽喉科, 中南大学耳科研究所, 长沙 410011; (²⁾中南大学湘雅二医院血液科, 长沙 410011)

摘要 跨膜丝氨酸蛋白酶 TMPRSS3 (transmembrane protease, serine 3) 属于 TTSPs (type II transmembrane serine proteases) 家族成员, 在分子结构上, TMPRSS3 具有典型的 TTSPs 结构域, 如丝氨酸蛋白酶、LDLRA、SRCR 等。TMPRSS3 有不同的蛋白异构体, 其中异构体 A 是体内最主要的存在形式, 主要在内耳表达, 亚细胞水平定位于内质网膜上, TMPRSS3 基因缺陷是遗传性耳聋 DFNB8/10 的遗传基础, 因此目前对 TMPRSS3 的功能研究主要集中在听觉系统方面, 此外蛋白异构体 D 还可能是卵巢癌的生物标志物。TMPRSS3 是迄今为止发现的第一个基因突变能引起耳聋的蛋白酶, 表明听觉通路上的某些关键调控因子可能作为它的生理学底物被水解激活, 从而介导相应的信号转导途径, 但它激活了哪些信号通道, 目前尚不清楚。借鉴 mCAP (mouse channel activating protease) 的功能预测 ENaC (epithelial sodium channel) 可能是 TMPRSS3 的作用底物, 推测 TMPRSS3 参与内耳 Na⁺ 平衡调控, 但仍有待于体内实验证实。当前酶学领域研究技术的革新, 尤其酶降解组学的应用, 为认识蛋白酶 TMPRSS3 的功能及其复杂的分子调控机制提供了新的捷径。

关键词 TMPRSS3, II 型跨膜丝氨酸蛋白酶, 内耳, 底物, 信号转导途径

学科分类号 R76, Q34

近年来发现了一类新的蛋白酶家族, 它们在分子结构上由胞内 N 端结构域、疏水跨膜区、胞外丝氨酸蛋白酶结构域组成, 因此将该类蛋白酶统称为 II 型跨膜丝氨酸蛋白酶 (type II transmembrane serine proteases, TTSPs), TTSPs 归属于丝氨酸蛋白酶家族, 但由于其成员特殊的生理学功能, 目前已成为蛋白酶学领域的研究热点和难点。

2000 年 Wallrapp 等^[1]用代表性差异分析方法从胰腺癌组织中分离获得 313 bp 基因片段, 发现其编码产物与跨膜丝氨酸蛋白酶 1 (transmembrane protease, serine 1, TMPRSS1) 和 TMPRSS2 有 50% 的相似序列, 并有 35% 的相同序列, 认为此蛋白酶可能是该蛋白酶家族的第三个成员, 于是将其命名为 TMPRSS3。有趣的是在 2001 年 Scott 等^[2]鉴定了一个位于染色体 21q22 的新的遗传性耳聋基因, 该基因编码的蛋白酶也是 TTSPs 的一员, 并将其命名为 TMPRSS3, 目前学术界公认 TMPRSS3 是位于染色体 21q22.3, 而 Wallrapp 较早发现的是位于 11q23.3 的 TMPRSS4。TMPRSS3 也称为 ECHOS1、TADG12 (tumor associated differentially-expressed gene-12 protein), 它是第一个被发现的致

聋的蛋白酶, 其基因缺陷是非综合征型常染色体隐性遗传性聋 DFNB8/10 的遗传学基础, 但是在目前对于该蛋白酶的功能及其作用机制仍不清楚, 现将近年来 TMPRSS3 的研究进展作一综述。

1 TMPRSS3 基因结构特征

TMPRSS3 基因位于染色体 21q22.3, 跨度约 24 kb, 它由 13 个外显子组成, 外显子从 44 bp (外显子 7) 到 889 bp (外显子 13) 大小不等。人类有 4 个剪切转录本 (表 1): a、b、c、d, 编码产物分别为蛋白异构体 A、B、C、D, 其中转录本 a 是最主要的转录本形式。此外 2004 年 Ahmed 等^[3]提出了一种新的剪切转录本 TMPRSS3e (图 1), 它是唯一具有信号肽结构的转录本, 编码由 538 个氨基酸残基组成的蛋白异构体 E, 并认为 TMPRSS3a 是

* 国家自然科学基金资助项目 (30700940), 湖南省自然科学基金资助项目 (06JJ3011)。

** 通讯联系人。

Tel: 0731-5305572, E-mail: gsl_geger@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-01-23, 接受日期: 2008-03-10

TMPRSS3e 不完全的转录版本，甚至 TMPRSS3a 在体内并不存在，但该观点尚未得到证实，目前学术界还是认为蛋白异构体 A 是蛋白酶 TMPRSS3 在生物体内分布最广泛的、最主要的存在形式^[2]。

Table 1 Four alternative transcript of TMPRSS3 and its coding production
表 1 TMPRSS3 转录本与编码产物

转录本	长度	外显子	编码产物	蛋白质异构体
a	2 468 bp	13 个	454 个氨基酸残基	A
b	2.5 kp	较 a 缺少 1、2 外显子	327 个氨基酸残基	B
c	2 135 bp	较 a 缺少 1、2、3 外显子	327 个氨基酸残基	C
d	1 359 bp	较 a 缺少 10、11、12、13 外显子	344 个氨基酸残基	D

4 个剪切转录本的长度及其所编码的蛋白质

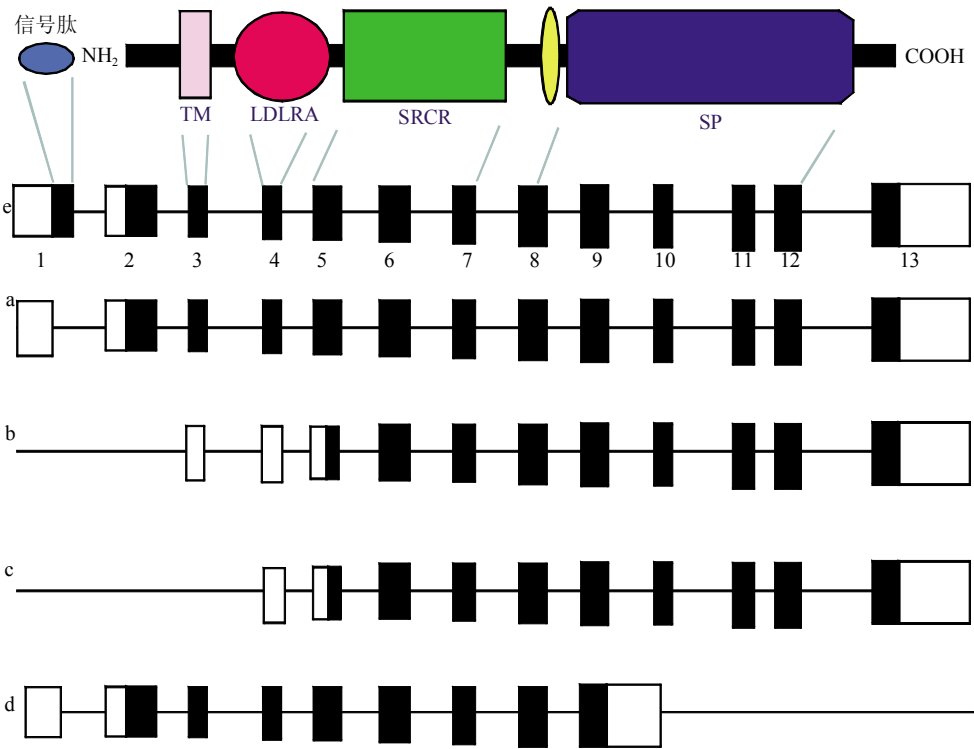


Fig. 1 A model for five alternative transcript of TMPRSS3 and its coding and non-coding exons
图 1 TMPRSS3 转录本模式图

TMPRSS3 有 5 个剪切转录本，共有 13 个外显子，黑色方框代表编码外显子，空白框代表非编码的外显子，上方的彩图代表 TMPRSS3 结构域，并描述出各外显子所编码的结构域。

2 TMPRSS3 蛋白分子结构特征

目前已在人类和鼠体内发现了 20 多个 TTSPs 家族成员^[4~7]，并发现它们之间存在着亲缘关系 (图 2)。TMPRSS3 与 TTSPs 其他成员，尤其

TMPRSS1、TMPRSS2、TMPRSS4，具有相似的结构特征，而且不同种属间 TMPRSS3 分子结构高度保守，人与鼠竟有 88% 相同氨基酸序列，目前已对该蛋白酶分子结构比较清楚(图 3)。

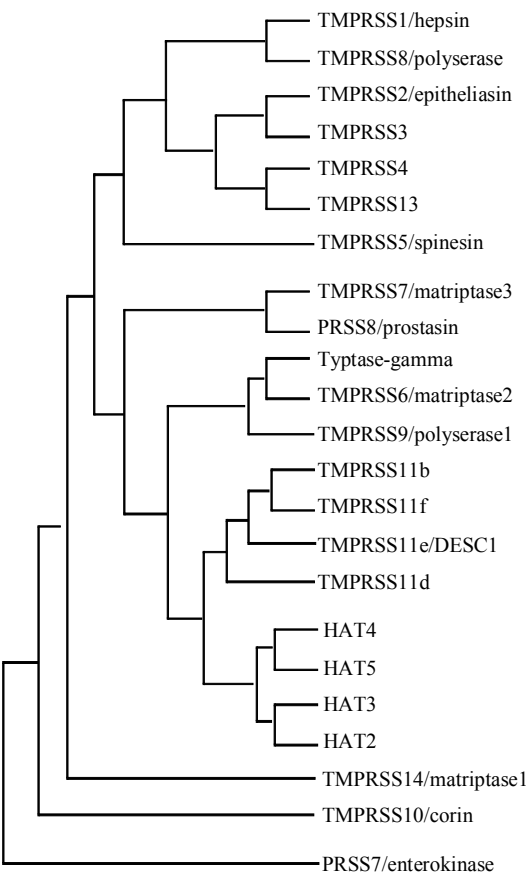


Fig. 2 Phylogenetic tree of the 23 known members of the TTSPs family
图 2 TTSPs 家族成员间的系统分化树

在 Roman Szabol 等^[7]基础上，并结合目前的研究进展而建立的 TTSPs 分支图，从中可以了解 TMPRSS3 与其他成员间的亲缘关系。

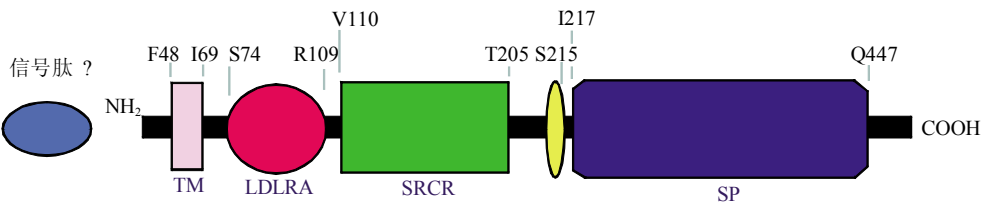


Fig. 3 TMPRSS3 protein domain structure and amino acid sequence
图 3 人蛋白酶 TMPRSS3 结构域及其对应的氨基酸序列

人 TMPRSS3 结构域包括典型的 TM、LDLRA、SRCR、SP 结构域，根据 Ahmed 等^[9]观点在 N 端可能存在信号肽结构。

2.1 胞内结构域

TTSPs 各成员在胞内结构域长度上变化很大，从 HAT(human airway trypsin-like protease)12 个氨基酸残基，到小鼠 Corin 112 个氨基酸残基，而 TMPRSS3 也有 40 多个氨基酸残基。某些 TTSPs 成员存在磷酸化作用靶点，如 Matriptase、

TMPRSS2、Corin 等存在蛋白激酶 C 和酪氨酸激酶 II 磷酸化位点，TMPRSS3 是否也有类似位点，目前尚不清楚。

既然 TMPRSS3 作为膜蛋白家族中的一员，理论上根据生物信息学分析预测其 N 端应有信号肽 (signal peptide) 结构，信号肽通过 SRP (signal

recognition partical)识别、结合,引导核糖体与内质网结合,并且通过信号肽的疏水作用,引导蛋白质跨膜转运,但由于TMPRSS3在信号肽之外还存在一个疏水跨膜区,从而使得TMPRSS3停留在质膜中,没有成为分泌性蛋白^[8]. N端信号肽作为TMPRSS3固有序列,可能对它的翻译合成和跨膜转运起重要作用.但目前仅发现蛋白异构体E具有信号肽,其他异构体是E的变构体?目前尚未得到确认.

2.2 跨膜结构域

作为膜蛋白,TTSPs各成员都包含一个N端的疏水结构,该结构既使得它们与分泌性蛋白相区别,又使得蛋白酶活性中心位于质膜外.根据电荷分布规则,TMPRSS3跨膜区在氨基酸F48~I69间.

仔细分析上述两结构域,正是由于信号肽结构和疏水跨膜区的存在才使得TMPRSS3成为膜蛋白,我们可能会进行理论上推测:转录本TMPRSS3e在该蛋白酶的翻译合成中起关键作用,而其他转录本都可能是它的不完全版本,相应地蛋白异构体E才是该蛋白酶在体内的主要形式.上述推测与Ahmed的假设相似^[9],但目前的研究结果却与该假设矛盾,因此关于TMPRSS3转录本及其蛋白异构体间的关系有待于深入研究.

2.3 主干区

TTSPs主干区多达11个结构域,典型结构域包括低密度脂蛋白受体A类结构域(low-density lipoprotein receptor class A, LDLRA)、A组清道夫结构域(scavenger receptor cysteine rich, SRCR)、丝氨酸蛋白酶结构域(serine protease domain, SP)、肠肽酶、二硫键结构域等. LDLRA位于氨基酸S74~C109间,有7个富含半胱氨酸的重复序列,编码40多个氨基酸残基,该结构域可与Ca²⁺结合,介导摄取大分子物质如丝氨酸蛋白酶抑制剂、脂蛋白等,参与脂质代谢过程. SRCR位于氨基酸V110~T205间,有4个富含半胱氨酸的重复序列,它可能结合带负电荷的蛋白质分子,如脂蛋白、硫酸多糖等,因此SRCR可能参与了蛋白质分子间的结合过程. SP是TTSPs的催化活性中心,TTSPs各成员在该结构域长度上相近,一般有200多个氨基酸残基,其三级结构比一级结构保守. TMPRSS3催化活性中心位于氨基酸Q217~Q447间,包含有催化三联体His257(H)、Asp304(D)、Ser401(S),具有胰蛋白酶样活性,水解赖氨酸和精

氨酸残基的羧基端,能水解激活许多蛋白酶原.位于SP边缘R216~I217间有一个重要的蛋白自身活化部位,可能对自身酶原激活起关键作用,2005年Wattenhofer等^[9]利用体外爪蟾卵表达系统,发现TMPRSS3 R216L突变体不具备丝氨酸蛋白水解酶活性,也证实了R216虽然不位于催化活性中心部位,但对于该蛋白酶活性却是必不可少.此外,主干区还有肽酶S1 S6等结构域.目前对于上述各结构域的确切功能及其相互作用还不很清楚,但是根据近年来的研究结果提示它们密不可分,单个结构域的变化就能引起整个蛋白酶功能活性异常.

3 生理学分布

蛋白异构体A在体内分布最广泛^[9],它在胎儿和成人许多组织中广泛表达,如在子宫、膀胱、气管上皮细胞中表达,但它主要高表达于听觉系统中,目前研究发现它在内耳螺旋神经元、柯蒂器支持细胞,血管纹细胞中广泛表达,亚细胞水平则定位于细胞内质网膜上,因此目前的研究主要集中在听觉系统方面.此外,蛋白异构体B主要在粒细胞中表达,异构体C主要在肝、肺组织中表达,异构体D主要在胰腺、胎盘、胸腺中表达,并且在卵巢癌中高表达,与肿瘤的侵袭转移和临床分期相关,可作为一个新的卵巢癌生物学标志物^[10].

4 生物学功能

TMPRSS3基因缺陷是遗传性耳聋DFNB8/10的遗传基础,目前已在巴基斯坦、巴勒斯坦、高加索、土耳其、突尼斯、德国耳聋人群中发现TMPRSS3基因存在突变^[2, 11~18](表2),但在我国尚未见报道.尽管在非综合征性遗传性耳聋人群中TMPRSS3基因突变率低,如2002年Wattenhofer等^[12]通过对西欧、澳洲的高加索耳聋患儿人群调查研究,估计在高加索人群中TMPRSS3突变率仅为0.38%;Ahmed等^[9]在前人研究基础上,进一步预测估计仅有1.8%的巴基斯坦遗传性耳聋家系是由TMPRSS3突变引起,但它仍然是不容忽视的遗传性耳聋的重要致病因素,尤其排除常见的GJB2、SLC26A4、mtDNA^{1555G}基因突变外,该基因更应值得考虑.

由表2可见基因突变发生在蛋白酶TMPRSS3重要结构域:LDLRA、SRCR、SP(图3),引起了相应的氨基酸序列的改变,而Guipponi等^[19]研究证实D103G、R109W、C194F、W251C、P404L、

Table 2 TMPRSS3 gene mutation
表 2 TMPRSS3 基因突变

种族	基因突变形式	分子结构位置	氨基酸改变	首次报道
巴基斯坦	IVS4-6 G>A	LDLRA	编码框移	2001 年 Scott 等 ^[2]
	325C>T	LDLRA	R109W	
	581G>T	SRCR	C194F	2001 年 Ben-Yosef 等 ^[13]
	1219T>C	SP	C407R	
	IVS8+8insT	SP	编码框移	2004 年 Ahmed 等 ^[9]
巴勒斯坦	Ins (B-sat)+ del	SP	编码框移	2001 年 Scott 等 ^[2]
	del988A	SP	编码框移、352stop	2006 年 Walsh 等
突尼斯	753G>C	SP	W251C	2001 年 Masmoudi 等 ^[11]
	1211C>T	SP	P404L	
西欧、澳洲的高加索人种	del207C	LDLRA	编码框移	2002 年 Wattenhofer 等
	308A>G	LDLRA	D103G	
加拿大纽芬兰	IVS8+8insT	SP	编码框移	2004 年 Ahmed 等 ^[9]
	207delC	LDLRA	编码框移	
土耳其	647G>T	SP	R216L	2005 年 Wattenhofer 等
	1192C>T	SP	Q398X	
	1211C>T	SP	P404L	
德国	646C>T	SP	R216C	2007 年 Elbracht 等 ^[16]
	916G>A	SP	A306T	

目前文献已报道的常见 TMPRSS3 基因突变形式、发生的种族人群以及首次报道者

C407R 突变株 TMPRSS3 失去了蛋白质水解活性，Wattenhofer 等^[15]体外实验也证实 R216L 突变体 TMPRSS3 失去了蛋白质水解活性。位于 SP 结构域上的 W251C、A306T、P404L 突变，引起了蛋白质分子结构重排，影响了催化三联体 His257、Asp304、Ser401 功能活性。R216C、R216L 突变使得该蛋白酶原不能自身激活，从而影响了正常功能发挥。位于 LDLRA 结构域上的剪接位点突变 IVS4-6 G>A 导致了内含子 4 不能被正常剪接，影响了蛋白酶的正常活性，而 D103G 突变使得 LDLRA 与 Ca²⁺ 不能正常结合，影响了该蛋白酶的正常功能活性的发挥。由此可见，上述 TMPRSS3 基因突变严重影响了该蛋白酶的水解活性，从而引起了耳聋，因此蛋白酶 TMPRSS3 功能活性的正常发挥对于听觉系统非常重要，但是该蛋白酶在听觉中到底起了何种作用？目前尚不清楚。

TMPRSS3 是发现的第一个能引起耳聋的蛋白酶，表明听觉通路上的某些关键调控因子可能通过该蛋白酶水解激活，因此了解该蛋白酶的信号通道有助于明确它在听觉中的功能及其作用机制，而了解蛋白酶 TMPRSS3 信号通道的关键是识别它的生理学底物。目前对 TTSPs 功能认知主要通过其结

构特征，或借鉴其他成员功能来预测，从结构上看，蛋白酶 TMPRSS3 同 TTSPs 其他成员具有亲缘关系，可能具有其他成员的生物学功能。Vallet 等^[20]证实小鼠内耳 mCAP(mouse channel activating protease)可激活上皮钠通道 ENaC(epithelial sodium channel)，既然 TMPRSS3 与 mCAP 分子结构上高度同源，那么 ENaC 或许也是 TMPRSS3 作用底物，于是 2002 年 Guipponi 等^[19]利用体外爪蟾卵表达系统，证实了 TMPRSS3 也能催化激活 ENaC，提示 TMPRSS3 参与内耳 Na⁺ 平衡调控，但缺乏体内实验证据。ENaC 理论上似乎是 TMPRSS3 作用底物，但在 I 型假性醛固酮减少症患者体内，该类疾病患者缺乏 ENaC α 亚单位，听力却正常，因此 Peters 等^[21]推测 TMPRSS3 缺陷导致耳聋分子机制中，ENaC 并不起主要作用，可能某些神经营养因子前体起重要作用，为此提出神经营养因子如 BDNF，才可能是该蛋白酶的作用底物。因此蛋白酶 TMPRSS3 在听觉系统中究竟有哪些底物？参与了哪些酶级联反应，激活了哪些重要的内耳信号通道，目前还不清楚。

如何高效地识别出生理学底物一直是酶学领域中困扰学者的热点和难点话题，也是酶学领域发展

亟待解决的瓶颈问题. 在鉴别酶底物方面, 生物信息学是较新的实验手段, 它采用噬菌体展示库、组合荧光底物库或基于共价抑制剂的位置扫描库, 确定出蛋白酶切割肽序列, 然后通过生化与体内证实. 由于体内绝大多数底物是蛋白质而非肽段, 而且该方法也不能考虑到体内蛋白质的分子构象、翻译后修饰、底物有效性等因素, 故有一定的局限性. 此外, 底物搜索的遗传学途径包括基因敲除动物模型建立和 RNA 干扰技术应用, 前者是经典的基因功能研究手段, 目前在 TTSPs 中已建立了 *TMPRSS1/hepsin*^{-/-}[22]、*TMPRSS2*^{-/-}[23] 动物模型, 但 *TMPRSS3*^{-/-} 动物模型尚未建立. 而 RNA 干扰技术作为当前生物医学领域的热点, 虽然同基因敲除技术手段一样可为功能研究提供较好的条件模型, 但不能直接用来筛选、鉴定底物. 因此如何在体内高效率地识别出作用底物, 更好地认识内耳 *TMPRSS3* 蛋白酶的功能及其分子调控网络, 无疑成为当前急需解决的首要问题.

近年来随着酶降解组学概念的提出, 蛋白质组学技术已在蛋白酶领域得到了广泛而灵活的应用, 并已成为主流趋势. 2000 年 Hwang 等[24]为鉴定 MMP-14 作用底物, 将血浆蛋白在基质金属蛋白酶 ch MMP-14(Tyr¹¹²~Ile³¹⁸)(有催化水解结构域)和 chMMP-14(无催化水解结构域)作用后, 产物行蛋白质组学分析从中筛选出底物. Major[25]为研究线粒体蛋白酶 Pim1 作用底物, 利用野生型和 *pim1*^{-/-} 线粒体作为对象, 利用蛋白质组学方法识别出 Pim1 作用底物. Tam 等[26]为鉴别基质金属蛋白酶 MT1-MMP 的作用底物, 分别用野生型和催化活性位点突变的 *MT1-MMP* 基因转染细胞株 MDA-MB-231, 利用定量蛋白质组学方法分析细胞蛋白的改变, 从中识别出底物分子. 以上研究的成功开展, 给予我们重要启示: 建立内耳蛋白酶 *TMPRSS3* 信号通道靶向调控动物模型, 在此基础上, 灵活应用蛋白质组学技术识别出该蛋白酶的作用底物, 该方法或许可行, 这也正是目前本实验室研究的重点.

5 小 结

TMPRSS3 基因缺陷是遗传性耳聋 DFNB8/10 的遗传基础, 也是迄今为止发现的第一个致聋的蛋白酶, 但关于该蛋白酶的确切生物学功能目前仍不明确. 为此本文从基因定位结构、蛋白质结构、分布以及生物学功能等方面对该蛋白酶进行了较为详

尽的概述. 在此基础上, 阐述了当前对该蛋白酶作用机制研究的现状, 并结合目前酶学领域研究的大背景及主流趋势, 深入探讨了今后开展蛋白酶研究的方法捷径. 因此本文不仅有助于明确该蛋白酶的功能及其复杂的分子调控网络, 而且也有助于深入了解听觉信号转导通路, 从而更好地认识耳聋的病因机制. 在方法学上本文对其他蛋白酶的研究也具有一定的指导意义.

参 考 文 献

- 1 Wallrapp C, Hähnel S, Müller-Pillasch F, *et al.* A novel transmembrane serine protease (TMPRSS3) overexpressed in pancreatic cancer. *Cancer Res*, 2000, **60**(10): 2602~2606
- 2 Scott H S, Kudoh J, Wattenhofer M, *et al.* Insertion of beta-satellite repeats identifies a transmembrane protease causing both congenital and childhood onset autosomal recessive deafness. *Nat Genet*, 2001, **27**(1): 59~63
- 3 Ahmed Z M, Li X C, Powell S D, *et al.* Characterization of a new full length TMPRSS3 isoform and identification of mutant alleles responsible for nonsyndromic recessive deafness in Newfoundland and Pakistan. *BMC Med Genet*, 2004, **24**(5): 24
- 4 Hooper J D, Clements J A, Quigley J P, *et al.* Type II transmembrane serine proteases. Insights into an emerging class of cell surface proteolytic enzymes. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 857~860
- 5 Puente X S, Sanchez L M, Overall C M, *et al.* Human and mouse proteases: a comparative genomic approach. *Nat Rev Genet*, 2003, **4**(7): 544~558
- 6 Szabo R, Wu Q, Dickson R B, *et al.* Type II transmembrane serine proteases. *Thromb Haemost*, 2003, **90**(2): 185~193
- 7 Szabo R, Netzel-Arnett S, Hobson J P, *et al.* Matriptase-3 is a novel phylogenetically preserved membrane-anchored serine protease with broad serpin reactivity. *Biochem J*, 2005, **390**(Pt 1): 231~242
- 8 葛圣雷, 陈主初, 肖志强, 等. 分泌性蛋白质的研究策略. *生命的化学*, 2005, **25**(6): 476~477
Ge S L, Chen Z C, Xiao Z Q, *et al.* *Chemistry of Life*, 2005, **25**(6): 476~477
- 9 Wattenhofer M, Sahin-Calapoglu N, Andreasen D, *et al.* A novel TMPRSS3 missense mutation in a DFNB8/10 family prevents proteolytic activation of the protein. *Hum Genet*, 2005, **117**(6): 528~535
- 10 Sawasaki T, Shigemasa K, Gu L, *et al.* The transmembrane protease serine (TMPRSS3/TADG-12) D variant: a potential candidate for diagnosis and therapeutic intervention in ovarian cancer. *Tumour Biol*, 2004, **25**(3): 141~148
- 11 Masmoudi S, Antonarakis S E, Schwede T, *et al.* Novel missense mutations of TMPRSS3 in two consanguineous Tunisian families with non-syndromic autosomal recessive deafness. *Hum Mutat*, 2001, **18**(2): 101~108
- 12 Wattenhofer M, Di Iorio M V, Rabionet R, *et al.* Mutations in the TMPRSS3 gene are a rare cause of childhood nonsyndromic deafness in Caucasian patients. *J Mol Med*, 2002, **80**(2): 124~131

- 13 Ben-Yosef T, Wattenhofer M, Riazuddin S, *et al.* Novel mutations of TMPRSS3 in four DFNB8/B10 families segregating congenital autosomal recessive deafness. *J Med Genet*, 2001, **38**(6): 396~400
- 14 Lee Y J, Park D, Kim S Y, *et al.* Pathogenic mutations but not polymorphisms in congenital and childhood onset autosomal recessive deafness disrupt the proteolytic activity of TMPRSS3. *J Med Genet*, 2003, **40**(8): 629~631
- 15 Wattenhofer M, Sahin-Calapoglu N, Andreassen D, *et al.* A novel TMPRSS3 missense mutation in a DFNB8/10 family prevents proteolytic activation of the protein. *Hum Genet*, 2005, **117**(6): 528~535
- 16 Elbracht M, Senderek J, Eggermann T, *et al.* Autosomal recessive postlingual hearing loss (DFNB8): compound heterozygosity for two novel TMPRSS3 mutations in German siblings. *J Med Genet*, 2007, **44**(6): e81
- 17 Guipponi M, Toh M Y, Tan J, *et al.* An integrated genetic and functional analysis of the role of type II transmembrane serine proteases (TMPRSSs) in hearing loss. *Hum Mutat*, 2008, **29**(1): 130~141
- 18 Guipponi M, Antonarakis S E, Scott H S. TMPRSS3, a type II transmembrane serine protease mutated in non-syndromic autosomal recessive deafness. *Front Biosci*, 2008, **13**: 1557~1567
- 19 Guipponi M, Vuagniaux G, Wattenhofer M, *et al.* The transmembrane serine protease (TMPRSS3) mutated in deafness DFNB8/10 activates the epithelial sodium channel (ENaC) *in vitro*. *Hum Mol Genet*, 2002, **11**(23): 2829~2836
- 20 Vallet, V, Chraïbi A, Gaeggeler H P, *et al.* An epithelial serine protease activates the amiloride-sensitive sodium channel. *Nature*, 1997, **389**: 607~610
- 21 Peters T A, Levchenko E, Cremers C W, *et al.* No evidence of hearing loss in pseudohypoaldosteronism type 1 patients. *Acta Otolaryngol*, 2006, **126**(3): 237~239
- 22 Guipponi M, Tan J, Cannon P Z, *et al.* Mice deficient for the type II transmembrane serine protease, TMPRSS1/hepsin, exhibit profound hearing loss. *Am J Pathol*, 2007, **171**(2): 608~616
- 23 Kim T S, Heinlein C, Hackman R C, *et al.* Phenotypic analysis of mice lacking the Tmprss2-encoded protease. *Mol Cell Biol*, 2006, **26**(3): 965~975
- 24 Hwang I K, Park S M, Kim S Y, *et al.* A proteomic approach to identify substrates of matrix metalloproteinase-14 in human plasma. *Biochim Biophys Acta*, 2004, **1702**(1): 79~87
- 25 Major T, von Janowsky B, Ruppert T, *et al.* Proteomic analysis of mitochondrial protein turnover: identification of novel substrate proteins of the matrix protease pml. *Mol Cell Biol*, 2006, **26**(3): 762~776
- 26 Tam E M, Morrison C J, Wu Y I, *et al.* Membrane protease proteomics: Isotope-coded affinity tag MS identification of undescribed MT1-matrix metalloproteinase substrates. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(18): 6917~6922

A Member of II Transmembrane Serine, TMPRSS3 and Hereditary Deafness *

GE Sheng-Lei¹⁾**, YI Yan²⁾, XIE Ding-Hua¹⁾

¹⁾ Department of Otolaryngology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China;

²⁾ Department of Hematology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract TMPRSS3 (transmembrane protease, serine 3) is a member of II transmembrane serine proteases (TTSPs), and like the other members of this family, it contains typical domains including a serine protease domain, a transmembrane domain, a LDL receptor-like domain (LDLRA), and a scavenger receptor cysteine-rich domain (SRCR). Four alternative protein isoforms have been described, and isoform A is thought to be primary isoform which is expressed in many tissues, especially in the cochlea. TMPRSS3 protein is primarily localized in the endoplasmic reticulum membranes where it may be anchored by its transmembrane domain. TMPRSS3 is mutated in non-syndromic autosomal recessive deafness (DFNB8/10). Therefore TMPRSS3 is thought to be involved in the development and maintenance of the inner ear, and isoform D may be proposed as a novel diagnostic marker in ovarian carcinoma. TMPRSS3 protein is the first protease which mutation could lead to deafness. These data indicate that important signaling pathways in the inner ear are controlled by proteolytic cleavage. However, it is not clear about TMPRSS3 substrates and its function. The epithelial amiloride-sensitive sodium channel (ENaC) which is regulated by membrane-bound channel activating serine proteases (CAPs), a member of TTSPs, may be a potential substrate of TMPRSS3, but this hypothesis is still to be verified *in vivo*. With the development of protease

research and the application of protease proteomics, substrate degradomes of a protease may therefore represent an important tool for the research of TMPRSS3 function and its molecular mechanism.

Key words transmembrane protease, serine 3 (TMPRSS3), type II transmembrane serine proteases (TTSPs), inner ear, substrate, signaling transduction pathway

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(30700940) and Provincial Natural Science Foundation of Hunan(06JJ3011).

**Corresponding author.

Tel: 86-731-5305572, E-mail:gsl_geger@yahoo.com.cn

Received: January 23, 2008 Accepted: March 10, 2008