

- 24: 203
- 5 Albina J E, Cui S, Mateo R B *et al.* J Immunol, 1993; 150: 5085
 - 6 Wagner B A, Buettner G R, Burns C P. Cancer Res, 1993; 53: 71
 - 7 Zhong L-T, Sarafian R, Kane D J *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90: 4533
 - 8 Kane D J, Sarafian T A, Anton R *et al.* Science, 1993; 262: 1274
 - 9 Sandstrom P A, Burtke T M. Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90: 4708
 - 10 Howard C G, Okezie I A. Immunol Today, 1994; 15 (5): 209
 - 11 Burtke T M, Sandstrom P A. Immunol Today, 1994; 15 (1): 7
 - 12 Hirose K, Longo D L, Oppenheim J J *et al.* FASEB J, 1993; 7: 361
 - 13 Hockenbery D M, Oltval Z N, Yin X-M *et al.* Cell, 1993; 75: 241
 - 14 Larrick J W, Wright S C. FASEB J, 1990; 4: 3215
 - 15 Isabelle E-B, Robert S, Anne N-S. FASEB J, 1994; 8: 1075
 - 16 Hockenbery D M, Nunez G, Millman C *et al.* Nature, 1990; 348: 334
 - 17 Jacobson M D, Burne J F, King M P *et al.* Nature, 1993; 361: 365
 - 18 Itoh N, Tsujimoto Y, Nagara S. J Immunol, 1993; 151:

621

Oxidative Stress Induced Apoptosis. Lu Yi, Pan Huazhen, Xu Caimin (*Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005, China*).

Abstract Apoptosis, an active process of cellular self-destruction involved in a variety of physiological and pathological conditions, can be induced by either oxidants or stimulators of cellular oxidative stress. Mild damages such as ionizing and ultraviolet radiation, hyperoxia, hyperthermia, infection etc, will injure the cell via reactive oxygen species (ROS), which may either react with the polyunsaturated fatty acids, leading to the formation of oxidized lipids, or activate certain genes related to cell death. As a result, the cell commits suicide following a sequence of biochemical change. bcl-2, one of the proto-oncogenes, was found to play a role in the regulation of apoptosis.

Key words apoptosis, oxidative stress, membrane lipids

尿激酶型纤溶酶原激活物受体研究进展

周爱武 吴海宏 徐贤秀

(南京大学生物化学系, 南京 210093)

摘要 尿激酶型纤溶酶原激活物受体作为胞外纤溶酶系统的一员, 以糖基磷脂酰肌醇锚的形式固定于细胞膜上, 它参与了胞外纤溶酶活性的调节, 具有内化受抑制的尿激酶的功能; 同时参与了胞外信号的传递; 另外它对癌症的临床预后及抗癌转移的研究有重要的意义。

关键词 尿激酶型纤溶酶原激活物受体, 糖基磷脂酰肌醇锚, 信号传递, 癌症转移

随着尿激酶型纤溶酶原激活物受体(uPAR)的发现, 人们对尿激酶在纤维蛋白溶解过程中的生化和生理功能有了深入的了解, 尿激酶可结合于该受体从而有效地激活胞外一

系列的分子如纤维蛋白酶原, 金属蛋白酶原等。二者对于细胞的迁移、胞外基质的降解及

组织重塑都有重要的影响. 尤其是近几年来对尿激酶型纤溶酶原激活物受体结构和功能的了解, 使人们意识到深入研究尿激酶型纤溶酶原激活物受体将有助于炎症反应的治疗和抗肿瘤转移药物的研制.

1 uPAR 的结构

人类尿激酶型纤溶酶原激活物受体由 313 个氨基酸组成, 另外包括 22 个氨基酸的信号肽^[1]. 它以糖基磷脂酰肌醇锚 (glycophospholipid anchor, GPI) 的形式附着于细胞表面. GPI 锚的一般结构见图 1. 它是 GPI 锚

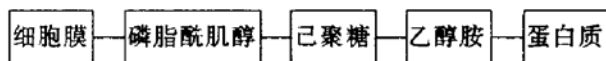


图 1 糖基磷脂酰肌醇锚的一般结构

己聚糖和乙醇胺以磷酸酯键相连, 乙醇胺和蛋白质以酰胺键相连, PI-PLC 可特异性作用于磷脂酰肌醇的磷酸部分.

定蛋白 LY6 家族的一员, 其羧基端 31 个高度疏水的氨基酸残基包含了 GPI 锚的信号和结合位点. 它的锚定位点为 Ser286 和 Gly283. 通过特异性的磷脂酶 C (phosphatidylinositol-specific phospholipase C, PI-PLC) 的作用可以使 uPAR 从细胞表面释放出来^[2]. 纯化的人类成熟的 uPAR 是一种分子量为 55~60 ku 的糖蛋白, 它们都包含 28 个半胱氨酸, 具有三个同源的结构域, 其中氨基末端的结构域 1 (domain 1) 是尿激酶型纤溶酶原激活物 (uPA) 的结合位点, 可和 uPA 的 GFD 区域结合^[3]. 另外的两个结构域对结构域 1 的结合活性也是必需的, 单独的结构域 1 的结合活性仅为完整的 uPAR 活性 1/1500, 但这种分子机制仍不清楚. 在 uPAR 结构域 1 和 2 之间有较长的铰链区, 该区域对许多酶如胰蛋白酶, 胰凝乳蛋白酶相当敏感, 通过它们的作用可把结构域 1 从 uPAR 上分开. 另外 uPAR 具有五个糖基化位点, 其中 Asn52 位于结构域 1 内, 该位点的糖基化对 uPAR 和 uPA 的结合活性有重要

的影响^[4].

2 uPAR 的一些生物学功能

2.1 在胞外纤溶系统中起重要的调节功能

纤溶酶 (plasmin, PM) 系统是胞外重要的纤溶系统, 它参与了胞外环境的调节. 胞外纤溶酶系统中各成分之间的关系如图 2 所示.

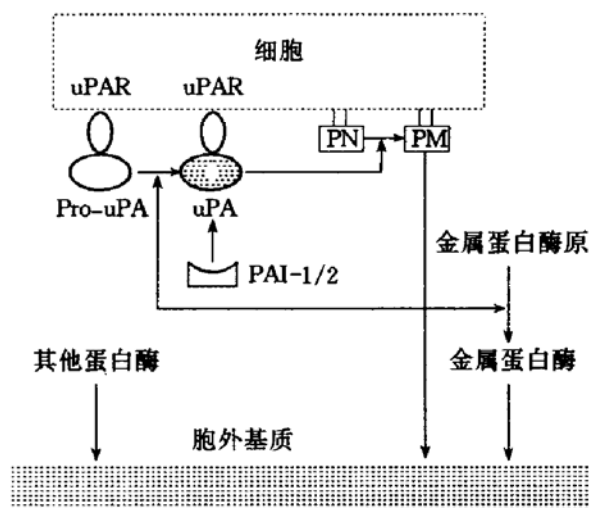


图 2 胞外纤溶系统各成分之间的关系

纤溶酶原 (plasminogen, PN) 的激活受 α_2 抗纤维蛋白酶 (α_2 -antiplasmin) 和尿激酶抑制剂 (PAI) 的调控, 但结合在细胞表面的 PM 不受 α_2 抗纤维蛋白酶抑制, 它在细胞表面的半衰期为数分钟, 而一旦脱离细胞表面到溶液中, 其半衰期仅为几毫秒. 动力学研究表明 PAI-2 和 PAI-1 能有效地抑制细胞表面结合的 uPA, 但其抑制速度常数比溶液状态的 uPA 下降了 40%^[5]. 纤溶酶原的激活可被结合于细胞表面 uPAR 的 Pro-uPA 加强, 但预先用 ATF 处理或用能识别 uPAR 氨基端的单抗处理, 会阻断这种加强, 且这种加强不能被溶液中的该受体所代替. 同时纤溶酶原结合于细胞表面对这种加强效应也是必需的^[6]. 细胞表面的与 uPAR 结合的 Pro-uPA 受 PM 激活的效果是溶液状态的 20 倍至 50 倍, 同样细胞表面 uPAR 结合的活性的双链 uPA 作用于纤溶酶原的 K_m 值为 0.1~0.7 μm , 而在溶液中 uPA 的 K_m 值上升为 20 μm . 这说明 uPAR 在细胞表面

起到了浓缩 uPA 的作用。总之 uPA 催化纤溶酶原的激活构成了一个相互的酶原激活系统, uPAR 参与的这种加强效应是两个激活系统: PN 激活系统和 Pro-uPA 激活系统相互作用的综合效果。

现在胞外结合的纤溶酶原已受到了广泛的研究, 但相关结合位点的性质尚未完全被阐明。由于纤溶酶原对许多细胞的结合能力相当高, 有可能这些位点是异源的。同时也发现一系列的蛋白和非蛋白成分都可作为胞外结合纤溶酶原的结构^[7], 但尚未发现这些成分和 uPAR 介导的纤溶酶原的激活有直接联系。而且有关细胞表面纤溶酶原激活系统中结合于细胞表面各自受体的 Pro-uPA/uPA 和 PN/PM 之间相互作用的分子机制仍不清楚。近来有实验证据表明 uPAR 可能在细胞表面起一种聚集酶和底物的模板的功能, 提高了 PN 和 Pro-uPA 的激活效率^[8]。但由于一种羧基端直接锚定于细胞表面的 uPA 也具有类似受体结合的 uPA 激活细胞表面 PN 的特性^[9], 这说明在细胞表面如确有介导纤溶酶原激活的特殊复合物存在, 那么 uPAR 可能对其形成并不起直接作用。

2.2 介导受抑制的尿激酶的內化

与其他受体不同的是 uPAR 并不內化与之结合的 uPA, 且在细胞表面 uPA 能体现完全活性, 在不同的细胞系统中它在 37℃ 半衰期可达 4~6 h^[10]。uPA 的抑制剂 PAI-1 能够作用于已与 uPAR 结合的 uPA, 从而抑制其活性; 同样 uPAR 也可结合 uPA-PAI-1 复合物, 只是其亲合性稍低于游离的 uPA。在很多细胞体系中, 一旦 uPAR: uPA-PAI-1 复合物在细胞表面形成, 另一个反应立刻产生: 快速內化和降解 uPA-PAI-1 复合物。而且 uPAR 针对 uPA 和其抑制剂 PAI-2、PN-1 等形成的复合物都有类似于 uPA-PAI-1 的现象。另外 uPA-PAI-1 复合物结合于 uPAR 对其內化是重要的, 一旦 uPAR 预先被其抗体或尿激酶氨基端部分 (ATF) 处理或预先用 PI-PLC 处理细胞表面, 则內化反应将被终止。在鼠 LB6 细胞中, 由

于种属特异性它不能结合人类的 uPA, 它亦不能內化人的 uPA-PAI-1 复合物; 而一旦将人 uPAR 的 cDNA 转入这种鼠细胞, 则其结合和降解人 uPA-PAI-1 复合物的能力和人细胞类似^[11]。这些事实都表明 uPAR 对快速清除受抑制的 uPA 是非常重要的。

那么 PAI-1 和其他抑制剂怎样使锚定 uPAR 受体变成內化受体的呢? 关于这一点了解的还不多。近来有人发现在內化过程中尚有其他低密度脂蛋白受体 (LPLR) 参与。一种是 GP330, 它参与了肾细胞 uPA-PAI-1 的內化^[12]; 另一种是低密度脂蛋白受体相关蛋白 (LRP), 又称作 α_2 MR。由于 uPAR: uPA-PAI-1 复合物的內化和降解可被这种蛋白的抗体所阻断, 且 uPA-PAI-1 和 uPA-PN-1 复合物都能和 LRP 结合, 这样 uPAR: uPA-PAI-1 和 LRP 有可能作为一个整体而內化, 随后 uPA-PAI-1 被送进溶酶体, 而 LRP 和 uPAR 可能部分再循环回到细胞表面。另外细胞表面这种四聚体的形成使 uPAR 具有对 PI-PLC 的抗性^[13]。

2.3 参与胞外信号传递

随着研究的深入, 越来越多的证据表明 uPA 可通过结合于它的 GPI 锚定受体 uPAR 传递胞外信号。在有些情况下 uPA 的蛋白水解酶活性也不是必需的, 因为没有活性的尿激酶氨基端片段 (ATF) 亦可参与信号传递^[14]。既然 uPAR 作为一种 GPI 锚定蛋白, 被认为与一种胞外脂类结构结合但并不跨越细胞膜, 那么胞外的信息又是如何与胞内反应相偶联的呢? 现在对此了解还很少。不仅 uPAR, 其他具有信号传递功能的锚定蛋白也是如此。然而一旦细胞事先用 PI-PLC 处理, 具有传递功能的锚定蛋白将失去这种能力。这说明锚定形式对信号传递是很重要的。近来许多证据都在一定程度上支持了一种假设即胞外信号可通过 uPA/uPAR 的相互作用而传递, 且这种传递机制依靠胞外磷酸化^[15,16]。

在另外一些情况下, uPA 的活性对其信号的传递是必须的。由于活性的 uPA 可作用于多种生长因子如 TGF- β , Pro-HGF (hepato-

cyte growth factor) 等, 有人认为这种情况下的信号传递可能是通过这些生长因子进行的^[17].

2.4 uPAR 与癌症的临床预后及抗转移治疗

癌症的浸润和转移与基底膜的破坏和基质的溶解紧密相关, 这一过程需要一系列蛋白酶的参与, 其中纤溶酶系统占有重要的地位, 由于uPAR是该系统重要的一员, 研究其性质与功能将有助于肿瘤的研究与防治.

很多研究都表明乳腺癌中高水平的 uPA 和较差的预后相关, 这对应于 uPA 在癌症转移中假设的作用. 同样 PAI-1 的水平也是一个较好的预后指标, 有时甚至比 uPA 更有意义^[18], 而且目前尚未发现高水平的 PAI-1 和较好的预后相关, 这同时也支持了一个假设即癌细胞产生 PAI-1 用于保护自身免遭 uPA 的降解. 目前人们通过对 uPAR 含量的检测发现高水平的该受体含量往往导致病人短的生存期; 特别在管状乳腺癌中, 由于 uPAR 往往定位于瘤浸润组织的巨噬细胞上, uPAR 的水平可以直接反映这种巨噬细胞的数量^[19]. 也许癌组织中 uPA: uPAR 和 uPAR: uPA-PAI-1 复合物和被切割过的 uPAR (结构域 2、3) 比总的 uPAR 更适合于作为预后指标, 因为它们更能准确地反映 uPA 系统的活性.

许多实验发现抑制了 uPA 和 uPAR 间的作用可有效地抑制肿瘤的转移和浸润^[20], 由于这种方法不同于单纯的对 uPA 活性的抑制, 它对正常细胞有更小的副作用, 因而可能更适宜于作为一种抗癌转移的新方法.

参 考 文 献

- Behrendt N, Rønne E, Ploug M *et al.* J Biol Chem, 1990; **265**: 6453
- Ploug M, Rønne E, Behrendt N *et al.* J Biol Chem, 1991; **266**: 1926
- Behrendt N, Ploug M, Pathy L *et al.* J Biol Chem, 1991; **266**: 1926
- Møller L B, Pollanen J, Rønne E *et al.* Eur J Biochem, 1990; **208**: 493
- Olson D, Pollanen J, Rønne E *et al.* J Biol Chem, 1992; **267**: 9129
- Moestrup S K, Nielsen S, Andreasen P *et al.* J Biol Chem, 1993; **268**: 16564
- Herz J, Clouthier D E. Cell, 1992; **71**: 411
- Pedersen H, Grøndahl-Hansen J, Francis D *et al.* Cancer Res, 1994; **54**: 120
- Ellis V, Wun T-C, Behrendt N *et al.* J Biol Chem, 1990; **265**: 9904
- Estreicher A, Muhlhauser J, Carpentier J-L *et al.* J Cell Biol, 1990; **111**: 783
- Hajjar K A, Jaconiva A T. Thromb Haemost, 1993; **69**: 1601
- Ellis V, Danø K. J Biol Chem, 1993; **268**: 4806
- Lee S W, Khan M L, Dichek D. J Biol Chem, 1992; **267**: 13020
- Nusrat A R, Chapman H A J. J Clin Invest, 1991; **87**: 1091
- Stefanova I V, Horejsi V. J Immunol, 1990; **147**: 1587
- Dumler I, Petri T, Schleuning W-D *et al.* FEBS Lett, 1993; **322**: 37
- Naldini L, Tamagnone L, Vigna E *et al.* EMBO J, 1992; **11**: 4825
- Myohanen H T, Stephens R W. J Histochem Cytochem, 1993; **41**: 1291
- Pyke C, Grem N, Ralfkier E *et al.* Cancer Res, 1993; **53**: 1911
- Crowley C W, Cohen R L, Lucas B K *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; **90**: 5021

Progress in uPAR Research. Zhou Aiwu, Wu Haihong, Xu Xianxiu (Department of Biochemistry, Nanjing University, Nanjing 210093, China).

Abstract In the extracellular plasmin system, the receptor for a urokinase plasminogen activator (uPAR) acts as an anchorage site for uPA on the cell surface where it modulates the activities of the extracellular plasmin system, has a function of internalizing uPA-inhibitors and other complexes, transmits the extracellular signals into cells and represents a new prognostic parameter and a promising approach for anti-invasive therapy in cancer.

Key words uPAR, GPI anchor, signal transmitting, cancer invasion