前列腺素核受体系统信号转导及基因表达调控

陈 瑛[1)] 栾黎明 杨增明*
（东北农业大学生命科学院，哈尔滨 150030）

摘要 脂肪酸和前列腺素等脂代谢的产物不仅通过膜受体起作用，也可以通过与核受体结合来调节基因表达. 前列腺素 I_2（PGI_2）既可以与 G 蛋白偶联的细胞表面 IP 受体起作用，也可以通过核受体过氧化物酶体增殖因子活化受体（PPARs）发挥生物学功能. 前列腺素 E_2（PGE_2）的受体（EPs）不仅仅在质膜上有，最近在核膜上也发现了 EPs 受体. 前列腺素核受体介导的信号转导途径与膜受体介导的信号途径不同，对于基因转录的调控机制也不同.

关键词 前列腺素，核受体，信号转导
学科分类号 Q26

前列腺素是一类重要的信号分子，在细胞内存在 2 个受体系统——膜受体和核受体系统（图 1），不同的前列腺素通过各自不同的受体影响着核的有丝分裂和基因转录. 前列腺素的膜受体为一些与 G 蛋白偶联的细胞表面受体，可以分为 5 种：DP、EP、FP、IP 和 TP 受体，前列腺素分子与膜上相应的受体结合，引起细胞内信使分子 cAMP 或 Ca^{2+} 水平发生变化，激活下游 ERK-MAPK（extracellular-signal-regulated kinase-mitogen-activated protein kinase）途径、磷脂酶 Cγ-蛋白激酶途径以及 PI_3（phosphatidylinositol 3-kinase）途径等，从而影响核事件. 另外，近年发现了前列腺素的核受体包括过氧化物酶体增殖因子活化受体（peroxisome proliferation-activated receptor，PPAR）、维甲酸 X 受体（retinoid X receptor，RXR）和 EPs 受体. 前列腺素 I_2（PGI_2）通过核受体 PPAR 起作用，PPAR 与 DNA 结合伴侣 RXR 形成二聚体后才能调节转录，PPAR 可以识别并与靶基因启动子上的

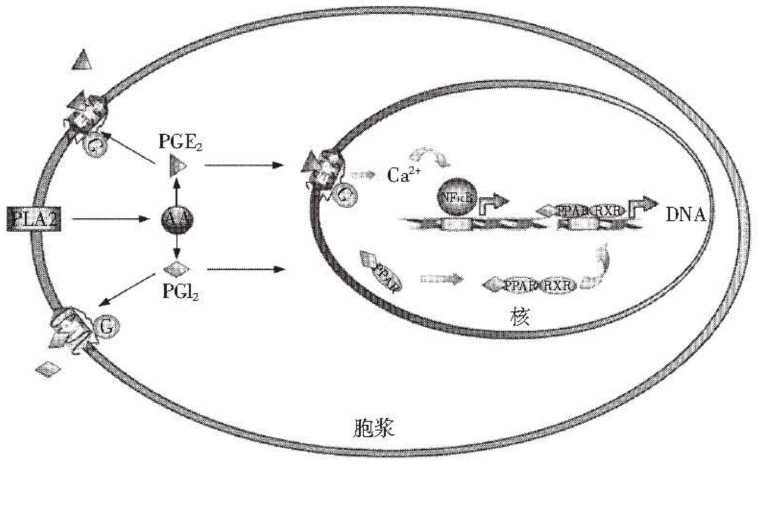

Fig. 1 Sketch map of the pathway of prostaglandin action

图 1 前列腺素作用的路线示意图

PGE_2 可以通过细胞膜上的膜受体 EPs 起作用，也可以与核膜上 EPs 核受体相互作用，引发核内一系列信号级联反应，直接引发核内基因转录；PGI_2 可以通过细胞膜上的 IP 受体起作用，也可以通过活化核内的 PPAR，使 PPAR/RXR 二聚体形成，通过与靶基因启动子上的 PPAR 反应元件（PPRE）结合调节基因转录.

1) 现工作单位：哈尔滨医科大学附属第二医院，哈尔滨 150086.
* 通讯联系人. Tel：0451-55191416，E-mail：zmyang@mail.neau.edu.cn
收稿日期：2003-08-27，接受日期：2003-10-28

PPAR 反应元件（PPRE）结合直接调节基因转录，EPs 核受体介导的信号转导途径与 EPs 膜受体介导的信号途径不同. EPs 膜受体激活引起第二信使 cAMP 或 IP_3 产生，而 EPs 核受体的激活不产生第二信使，而直接影响核 Ca^{2+} 信号和基因转录. 在核周合成的 PGE_2 直接与核膜上 G 蛋白偶联的 EPs 核受体相互作用，引发核内一系列信号级联反应来调节基因转录. 前列腺素核受体存在不同的信号通路，对于不同基因转录的调控机制也不同. 本文着重对前列腺素核受体系统进行综述.

1　核受体家族

核膜在信号转导级联反应中占据着重要的地位，核膜上的核受体作为一种序列特异性转录因子，可以通过募集共调节子参与目标基因的表达调控，这些共调节蛋白一方面是染色质重建因子或具有组蛋白乙酰酶活性，可以使染色质去致密化从而解除转录抑制，另一方面可以直接与基本的转录元件相互作用使转录激活. 自从 40 多年前发现第一个类固醇激素核受体以来，核激素受体亚家族已发展成由类固醇激素受体、甲状腺激素受体、视黄酸受体和维生素 D 受体以及配基不明的孤儿受体（orphan receptor）等组成的近 50 个成员的大家族[1,2].

激活的核受体通过与靶基因上的特异 DNA 序列——激素反应元件（HREs）结合来调节转录. 少数核受体可以直接以单体形式与激素反应元件结合，多数核受体以同源二聚体或异源二聚体形式与激素反应元件结合. 核受体也可以和 RXR 形成异源二聚体，通过与共抑制子解离从而解除抑制功能，通过共激活子募集而获得转录激活功能[3].

2　前列腺素核受体

首先发现的前列腺素核受体是前列腺素 I_2 的受体——过氧化物酶体增殖因子活化受体（peroxisome proliferation-activated receptor，PPAR）. 此外，以前认为，前列腺素 E_2（PGE_2）的各种功能都是通过质膜上的前列腺素 E_2 受体（EP 受体）介导的，但最近在许多组织和细胞中发现，EP 受体不仅仅存在于质膜上，在核膜中也发现了 EP_1、EP_2、$EP_{3\alpha}$、EP_4 受体[4].

2.1　PPARs

PPAR 家族包括 PPARα、PPARγ 及 PPARδ 三种亚型，它们在脂肪代谢和形成中起重要作用. 前列腺素 D_2（PGD_2）及其代谢物——前列腺素 J_2（PGJ_2）和 PGI_2 都可以激活 PPARs. 此外，已发现有 60 多种能与 PPARs 结合的配体，包括脂肪酸、花生酸类物质以及 30 多个人工合成产物都可以激活 PPARs[4,5].

单独的 PPAR 或同源二聚体不能行使功能，PPAR 只有与 DNA 结合伴侣 RXR 形成二聚体后才能调节转录. PPAR 可以识别 DNA 上的 AGGTCA 6 核苷酸序列. 在不同组织中，已发现有 16 种 PPAR 反应元件，分为 3 个功能组：强反应、中间反应和弱反应元件. PPAR 与 DNA 结合的强度受两个因素影响，5′端的核苷酸类型决定结合反应的强弱，PPARγ 的结构特点决定它与 PPAR 反应元件的结合强度比 PPARα 和 PPARδ 都强. 此外，PPAR 结合 DNA 的能力还受到 RXR 异构体的影响，如 PPAR 与 RXRγ 结合可以与强反应元件结合，而与 RXRα 结合更易与弱反应元件结合. PPAR∶RXR 除了可以识别 DNA 上的 PPAR 反应元件外，还可以识别雌激素反应元件（ERE），这样这两个路径间就存在一个对话，PPAR∶RXR 与雌激素受体一起调节含雌激素反应元件的基因的转录，很可能雌激素、脂肪酸、9-顺视黄酸共同参与该基因的转录调节[5].

2.2　EPs

PGE_2 的受体分为 EP_1、EP_2、EP_3 及 EP_4 4 种亚型. 其中，小鼠 EP_3 又分为 $EP_{3\alpha}$、$EP_{3\beta}$ 及 $EP_{3\gamma}$ 3 种异构体. 牛、兔、人分别有 4 种、5 种和 7 种 EP_3 异构体. EP 受体为视红质型受体，具有 7 个跨膜的结构域. 除了质膜上的 EP_3 受体外，在脑微血管细胞、Swiss 3T3 细胞、宿主细胞 HEK293 等许多细胞的细胞核上都发现了 PGE_2 的 EP_3 受体[6]. $EP_{3\alpha}$ 核受体在原代培养的新生猪脑微血管内皮细胞的核膜中也存在[7]. 在成年大鼠脑皮质内皮细胞和神经元中也检测到了核 EP 受体[6]. 用 EP 受体基因转染不表达该受体的人胚胎肾 HEK-293 细胞，在转染细胞的近核周处可检测到 EP 受体. 将 EP_1 受体与绿色荧光蛋白融合后，在 HEK-293 中表达也得到了相似分布结果. 在此之前，也曾发现其他一些 G 蛋白偶联的受体出现在核周区域，但通常认为是由于发生了内在化所致，如已报道的血管紧张肽Ⅱ、生长抑素、神经降压肽和其他神经肽等[8]. 目前，对受体的内在化仍有争论. 在 EP 受体的 C 端存在基本的核定位信号（nuclear localization signal）序列. 已证实，具有核定位信

号序列的受体可以通过 Ran-GTP 转运机制直接将新合成的受体运送到核上. 因此这些 EP 受体确实定位在核上，而不是受体内在化的结果.

2.3 RXR

在核受体家族中，研究较多的孤儿受体是维甲酸 X 受体（retinoid X receptor，RXR），它参与类固醇激素受体对类固醇脱氢酶表达的调控，也参与调节类固醇代谢. 有 3 种 RXR 基因产物，即 RXRα、RXRβ、RXRγ. RXR 在核受体信号传递中具有双重作用：一个是作为 9-顺视黄酸的配体，9-顺视黄酸与 RXR 结合后，促进形成 RXR 同源二聚体，然后作用于激素反应元件[9]；另一个是作为一些核受体的异源二聚体的伴侣. RXR 是包括 PPAR 在内的许多类固醇激素受体、甲状腺素受体亚家族成员的 DNA 结合伴侣. 由于几个核受体都共用 RXR 作为伴侣，它们竞争性地与 RXR 结合，一个路径的活化对另一个路径起到某种程度的抑制作用.

3 核受体介导的信号转导途径

最早发现的前列腺素核受体介导的信号转导是 PGI_2-PPAR 途径. PGI_2 的合成酶环氧合酶（COX）和 PGI 合成酶（PGIS）在核上和内质网上都有表达，为 PGI_2 引发的膜受体介导的和核受体介导的两个信号途径提供可能. PGI_2 的类似物 cPGI 和伊洛前列素（iloprost）可以有效地活化核受体 PPARα 和 PPARδ，使其与 DNA 结合伴侣 RXR 结合形成二聚体，直接诱导转录激活[10]. 然而，在同一实验中，当施加外源 PGI_2 时不能诱导 PPAR 与 RXR 的二聚体化，可能是这种前列腺素具有化学不稳定性，无法穿透质膜并到达核上，从而不能发挥作用. 而 PGI_2 的类似物 cPGI 具有细胞穿透性，能够很容易地与核上的受体发生相互作用，进而发挥生物学效应.

PPAR 与 RXR 结合后，使转录抑制子从 RXR 上脱离下来，解除转录抑制，同时募集转录共激活子——PPAR 结合蛋白（PPAR-binding protein，PBP）、类固醇受体共激活子-1（SRC-1）或 p300 蛋白等，共同参与靶基因的转录激活. PPAR 可以识别 DNA 上的 AGGTCA 6 核苷酸序列. PPAR/RXR 异源二聚体主要通过与靶基因启动子上的 PPAR 反应元件（PPRE）结合调节基因转录，两段 AGGTCA 核心序列正向重复、中间间隔一个可变的核苷酸构成 PPREs. PPAR 与 PPAR 反应元件上游的 AGGTCA 结合，RXR 则结合在核心序列的下游. 已经在脂酰辅酶 A 氧化酶、细胞色素 P450 4A6、水合酶/脱氢酶、3-羟-3 甲基谷氨酰辅酶 A 合成酶、中链脂酰辅酶 A 脱氢酶、脂肪细胞 P2 等基因启动子中鉴定出存在 PPAR 反应元件[11]. 另外，PPAR/RXR 还与雌激素受体（ER）信号转导途径间存在对话，可以竞争性地与雌激素反应元件（ERE）结合，体外构建的质粒转染实验证实，不论将 ERE 放在靠近转录起始点的地方还是远离转录起始点的地方，PPAR/RXR 都可以结合并刺激基因转录[12]. 但体内实验显示，PPAR/RXR 只能与 ERE 结合而不能起到激活转录的作用，可能是体内天然存在的启动子上含有其他不容许转录的调节结构.

在不同细胞中，EP 膜受体介导的信号途径有很大差异，信号转导机制较为复杂，有的是通过第二信使 cAMP、Ca^{2+} 或 IP_3 完成信号传导，而有的是通过 Ras 途径. EPs 核受体介导的信号转导途径与 EPs 膜受体介导的信号途径不同. iNOS 的表达受内源性和外源性 PGE_2 调控的作用方式相反，可能与 PGE_2 作用于不同部位受体有关. 内源 PGE_2 对 iNOS 有促进作用，而外源 PGE_2 对 iNOS 有抑制作用[13,14]. 这可能是由于内源 PGE_2 通过 EP 核受体介导的信号通路直接对基因转录进行调控，而外源 PGE_2 需要通过膜受体介导的信号通路起作用. EPs 膜受体激活引起第二信使 cAMP 或 IP_3 产生，而 EPs 核受体的激活不产生第二信使，而直接影响核 Ca^{2+} 信号和基因转录. G 蛋白、离子通道、Ca^{2+} 通道、乙酰环化酶、PKC、MAPK、Rel 蛋白、核因子 kappa B（NFκB）等构成前列腺素信号转导网络，参与了前列腺素引发的基因转录激活. PGE_2 使 EP_3 核受体激活后，将与 EP_3 核受体偶联的 Ca^{2+} 依赖型 K 离子通道打开，使 K^+ 内流入核，调节核 Ca^{2+} 通道（Ca^{2+}-ATP 酶），并使核内 Ca^{2+} 动员. 核钙通过调节钙调素、钙网蛋白（calreticulin）和钙蛋白酶（calpain）等核钙结合蛋白，而在 DNA 修复、染色质凝缩、凋亡和调节基因转录中起重要作用[15,16]. 采用 Ca^{2+} 指示剂 fura-2/AM 测量体外分离的核对 EP_3 受体刺激物的反应时，证实 Ca^{2+} 确实有瞬时反应[17]. 刺激 PGE_2 的合成可以增加分离的血管内皮细胞核的 eNOS 基因表达. 当用 EGTA 或 BAPTA 等 Ca^{2+} 螯合剂阻断通道，则可阻止 eNOS 基因表达上调[8]. 在 EP_3 核受体介导的 eNOS 表达上调过程中，可能由 PI_3 激

酶/Akt、Erk-MAPK依赖途径以及NFκB激活途径来完成[8]．因此，前列腺素核受体存在不同的信号通路，对于不同基因转录的调控机制也不同．

目前，对核膜在信号级联反应中的重要作用已经很清楚．核膜以及核质含有各种中介因子形成网络，介导复杂的信号传递．在核上存在一个前列腺素信号转导网络，直接参与生殖与发育过程中某些基因转录的调控，以旁分泌方式分泌的 PGE_2 以及在细胞质由 $cPLA_2$/COX-1/cPGES 途径合成的 PGE_2，可以与位于核膜上的EPs受体结合，而引起一系列生理变化．此外，在核周，在前列腺素合成酶 $cPLA_2$/COX-2/mPGES 的催化下合成并释放 PGE_2．PGE_2 直接与核膜上G蛋白偶联的 EP_3 核受体相互作用，引发核内一系列信号级联反应，直接引发核内基因转录[8]．揭示该信号通路对于基因表达调控机制、某些疾病机理的研究以及药物研制等都有重要意义．

参 考 文 献

1 Aranda A, Pascual A. Nuclear hormone receptors and gene expression. Physiol Rev, 2001, **81** (3): 1269～1304

2 Chawla A, Repa J J, Evans R M, *et al*. Nuclear receptors and lipid physiology: Opening the X-files. Science, 2001, **294** (5548): 1866～1870

3 Giguere V. Orphan nuclear receptors: from gene to function. Endocrine Rev, 1999, **20** (5): 689～725

4 Willson T M, Brown P J, Sternbach D D, *et al*. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. Med Chem, 2000, **43** (4): 527～550

5 Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. Endo Rev, 1999, **20** (5): 649～688

6 Bhattacharya M, Peri K G, Almazan G, *et al*. Nuclear localization of prostaglandin E_2 receptors. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, **95** (26): 15792～15797

7 Gobeil F, Dumont I, Marrache A M, *et al*. Regulation of eNOS expression in brain endothelial cells by perinuclear EP3 receptors. Circulation Res, 2002, **90** (6): 682～689

8 Gobeil F, Vazquez-Tello A, Marrache A M, *et al*. Nuclear prostaglandin signaling system: biogenesis and actions via heptahelical receptors. Can J Physiol Pharmacol, 2003, **81** (2): 196～204

9 Mangelsdorf D J, Evans R M. The RXR heterodimers and orphan receptors. Cell, 1995, **83** (6): 841～850

10 Lim H, Dey S K. Minireview: a novel pathway of prostacyclin signaling-hanging out with nuclear receptors. Endocrinology, 2002, **143** (9): 3207～3210

11 Keller H, Givel F, Perroud M, *et al*. Signaling cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor/retinoid receptor and estrogen receptor through estrogen response elements. Mol Endo, 1995, **9** (7): 794～804

12 Hatae N, Sugimoto Y, Ichikawa A. Prostaglandin receptors: advances in the study of EP_3 receptor signaling. J Biochem, 2002, **131** (6): 781～784

13 Milano S, Arcoleo F, Dieli M, *et al*. Prostaglandin E_2 regulates inducible nitric oxide synthase in the murine macrophage cell line. Prostaglandins, 1995, **49** (2): 105～115

14 Minghetti L, Nicolini A, Polazzi E, *et al*. Inducible nitric oxide synthase expression in activated rat microglial cultures is downregulated by exogenous prostaglandin E_2 and by cyclooxygenase inhibitors. Glia, 1997, **19** (2): 152～160

15 Malviya A N, Rogue P J. Tell me where is calcium bred: clarifying the roles of nuclear calcium. Cell, 1998, **92** (1): 17～23

16 D'Santos C S, Clarke J H, Divecha N. Phospholipid signaling in the nucleus. Biochim Biophys Acta, 1998, **1436** (1～2): 201～232

17 Costet P, Legendre C, More J, *et al*. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-isoform deficiency leads to progressive dyslipidemia with sexually dimorphic obesity and steatosis. IBID, 1998, **273** (45): 29577～29585

Signal Transduction and Regulation of Gene Expression by Prostaglandin Nuclear Receptor System

CHEN Ying[1)], LUAN Li-Ming, YANG Zeng-Ming[*]

(*Life Science Institution, Northeast Agricultural University, Harbin* 150030, China)

Abstract Fatty acids and prostaglandins, function not only through their cell membrane receptors but also through nuclear receptors to regulate gene expression. PGI_2 can interact with G protein-coupled receptor IP on the surface of cell membrane and nuclear receptor PPARs. Recently it was found that PGE_2 receptors localized not only on the cell membrane but also on the envelope of the nucleus. There exists difference in the signaling pathway and in regulation mechanism between nuclear receptor and membrane receptors.

Key words prostaglandin, nuclear receptor, signal transduction

[1)] Present address: The 2nd Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086.

[*] Corresponding author. Tel: 86-0451-55191416, E-mail: zmyang@mail.neau.edu.cn

Received: August 27, 2003 Accepted: October 28, 2003