

· 综 述 ·

红细胞系造血调控的研究进展*

尹智平 综述, 赵树铭[△] 审校

(第三军医大学西南医院输血科, 重庆 400038)

关键词: 红细胞; 造血系统; 调控

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.028

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2011)10-1075-04

红细胞是血液的重要组成部分, 具有运输氧气到机体各种组织和细胞的重要生理功能。在胚胎与胎儿期, 造血依次由卵黄囊、肝、脾和骨髓完成, 出生后, 骨髓成为主要的造血场所。红细胞生成经历了骨髓多能干细胞向红系分化以及红系祖细胞的继续分化和发育成熟等过程。多能干细胞分化为多能髓系祖细胞后, 在定向分红因子作用下进一步分化为红系祖细胞, 历经红系爆式集落形成单位(BFU-E)和红系祖细胞集落形成单位(CFU-E)阶段后, 逐渐增殖、分化为原幼、早幼、中幼、晚幼和网织红细胞, 最终形成失去细胞核的成熟红细胞^[1]。这一过程涉及复杂而精密的调控, 参与这一调节过程的因素主要有低氧、应激、铁稳态、生长因子、转录因子和 microRNA 等, 本文就多种关键调控因素作一综述。

1 正、负生长因子的反馈调节

红细胞系造血是一个各种调控因子良好协同、精密调节的过程, 生长因子的正、负反馈调节的平衡对于红细胞的正常产生至关重要^[1-2]。研究表明, 红细胞生成受原始红细胞岛龛的正、负反馈调节机制调节, 调控因子主要有干细胞因子(SCF)、SCF 的受体酪氨酸激酶受体(c-kit)、促红细胞生成素(EPO)、血管内皮生长因子(VEGF)等。其中, SCF、EPO 和 VEGF 为正性调控因子, SCF 主要作用于 BFU-E 阶段, 并使其进一步发育为 CFU-E; EPO 在 CFU-E 晚期有较高表达, 起重要作用。负反馈调节因子主要有 IL-6、转化生长因子β(TGF-β)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)和干扰素γ(INF-γ), 它们通过抑制红细胞生成和促进原始红细胞死亡而达到调节效果, IL-6 通过阻止造血中心巨噬细胞的铁离子释放而减少红细胞生成, 一些细胞外基质成分, 例如纤维连接蛋白和层粘连蛋白, 通过影响红系细胞的终末分化和迁移而对其进行负反馈调节。

1.1 干细胞因子 干细胞因子(SCF)是相对分子质量约 35×10^3 的酸性蛋白, 基因定位于 12 号染色体 q22-24 区, 编码膜结合型蛋白。SCF 的配体是原癌基因 c-kit 编码的蛋白, 也被称为 CD117, 其基因定位于 4 号染色体 q31-33 区, 编码 1 个由 976 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白, 胞内区有酪氨酸激酶活性。SCF 和 c-kit 结合引起后者的二聚化, 并且催化胞质部分自身酪氨酸残基磷酸化, 这些磷酸化残基成为含有各种 Src 同源结构域的酶和接头蛋白的结合位点, 从而进行信号转导。磷酰酸肌醇 3 激酶(P3IK)是 c-kit 结合活化的激酶之一, 红系造血祖细胞内的 P3IK 磷酸化后, 使 P3IK/Akt 通路活化达到正常水平。Akt 能抑制促凋亡蛋白(Bad、caspase 8 等), 间接活化转录因子 NF-κB, 通过缺氧诱导因子 1(HIF1)诱导 EPO 的生成, 从而抑制红系造血祖细胞的凋亡。Src 家族激酶是 c-kit 活化

的另一下游分子, 其活化后顺序结合并活化接头蛋白乃至招募 Ras 尿苷酸交换因子(SOS), 再活化 Ras 后激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)丝氨酸/苏氨酸激酶级联系统, 从而促进造血干细胞增殖^[3]。

1.2 促红细胞生成素 促红细胞生成素(EPO)是维持红系干细胞生存、增殖、分化和成熟的重要造血因子, 它调节红系分化的重要机制在于抑制凋亡、刺激有丝分裂、促进干细胞增殖和激活红系特异基因的表达, 诱导分化。人 EPO 受体(EPOR)只在红系细胞和白血病细胞内表达, 在红系成熟的早期阶段表达较少。在体外红系早期识别 EPO 的细胞为 BFU-E, 其细胞表面无 EPOR, 生长不受 EPO 调控。BFU-E 与 IL-3 或 GM-CSF 共同培养 48~72 h 后, 细胞逐渐成熟。细胞表面出现少量 EPOR, 4~5 d 后, 形成 CFU-E, 而 EPOR 的表达数量达到顶峰。随着 CFU-E 的成熟、分化为原始红细胞及早幼红细胞, EPOR 量逐渐减少, 到网织红细胞时, 基本消失。可以看出在整个红细胞生成过程中, EPOR 基因受到了严密的调控。EPO/EPOR 的结合使红细胞表面 EPOR 同源二聚化, 受体与 JAK2 的亲和力提高。在 EPOR→JAK2→STAT 途径中, 激活的 JAK2 使 STAT 发生酪氨酸磷酸化, 磷酸化的 STAT 迅速移至细胞核内, 与 γ 激活序列(GAS)结合, GAS 启动造血生长因子相关基因表达, 诱导红系增殖和分化。激活的 JAK2 可使 EPOR 的酪氨酸残基磷酸化, 在 Src 酪氨酸激酶家族成员 Lyn 作用下, JAK2 可激活 raf, raf 又可激活 MAPKK, MAPKK 激活 MAPK, 调节相关基因的表达, 定向调控红系造血, 形成 EPOR→JAK2→Ras→MAPK 途径。同样存在的还有 EPOR→JAK2→PI3K 和 EPOR→JAK2→PLC 途径。此外, 起负性调节作用的 Lnk 蛋白通过降低 JAK2 的活力使其位于 SH2 区的 EPOR 调低增殖信号, 负性调控造血。所以, EPO/EPOR 胞内信号转导不是单一的级联通路, 而是多个通路交联、互补形成网络的复杂过程^[4]。

1.3 Wnt 信号通路 Wnt 信号通路是 1 条含多环节、多作用位点的开放通路, 通过复杂的信号传递控制胚胎早期的发育, 决定细胞分化、细胞增殖及生长的调节。近来研究表明, Wnt 信号通路通过调节骨髓造血微环境, 诱导哺乳动物的血细胞生成^[5]。用加入 Wnt1、Wnt5a 或者 Wnt10 的条件培养基进行体外培养时, 造血祖细胞的数量能够大幅增长。此外, 人类胎儿骨髓间充质干细胞中表达 Wnt2b、Wnt5a 和 Wnt10b, 与此同时, 将这些 Wnt 转染的间充质干细胞共培养时, 人 CD34⁺ 造血祖细胞的数量也能够增加。Wnt 信号通路在造血干细胞的发育和增殖方面的作用已为人所知, 一些促进造血干细胞自我更

* 基金项目: 重庆市科委自然科学基金(CSTC2009BB5144); 第三军医大学临床科研基金资助项目(2010XLC23)。

△ 通讯作者, E-mail: shumingzhao@yahoo.com.

新的基因,如 HoxB4 和 Notch1,能够上调 Wnt 信号通路在造血干细胞的活力。同时,通过表达 Axin 阻断 Wnt 信号通路,能够抑制 HSC 的体外增殖和体内细胞的重构^[6]。

1.4 Notch 信号通路 Notch 信号通路在细胞分化、增殖以及机体发育过程中发挥极其重要的作用,影响着造血干细胞的生存、增殖,甚至自我更新和分化。激活 Notch-1 基因的表达会抑制 MEL 细胞的凋亡,同时会终止由化学诱导剂诱导的红细胞分化^[7]。Notch 信号通路可与 Wnt 信号通路在造血干细胞增殖过程中共同作用,并保持 HSC 在自我更新和分化的平衡,两种信号通路相互关联,Wnt 信号通路在影响生长和生存方面是起主导作用的,而 Notch 信号通路对于维持未分化状态是必不可少的^[8]。

2 红细胞生成的转录调节

2.1 GATA-1 GATA-1 属 GATA 家族,因其 DNA 结合区含 2 个高度保守的锌指结构能识别并结合红细胞特异基因调控区上的(A/T)GATA(A/G)序列而命名,GATA-1 表达于红系、巨核系、嗜酸、肥大和树突状细胞中,是红系发育的主要调控因子^[9-10]。通常 GATA-1 的结合位点定位在 α 和 β 珠蛋白基因的启动子和增强子元件处,以及其他红系特异基因的调节区。GATA-1 基因缺陷特异性阻遏红系细胞的发育,将 GATA-1 从小鼠胚胎干细胞基因敲除后,小鼠表现出胚胎红系发生的丧失,细胞停滞在前体细胞期并发生凋亡,提示 GATA-1 具有防止红系祖细胞凋亡的功能。PU.1 是红系分化的 1 个负调控因子,在红系发育过程中,GATA-1 通过竞争抑制 PU.1 与其共激活子 c-jun 结合,进而抑制 PU.1 对红系分化的负调控作用,使红系分化正常进行。GATA-1 可以通过诱导抗凋亡蛋白 BCL-XL 的表达,维持红系细胞在终末分化中的生存能力,与此同时,GATA-1 可以与 FOG-1、EKLF、TAL-1/SCL、PU.1 等转录因子和 CBP/p300、Brg1、MeCP1/NuRD 等辅助因子相互作用,形成复合物并形成 1 个 DNA 环发挥转录活化功能^[11]。GATA-1 与 EPOR 及 c-kit 等相互协同,调节红系祖细胞的增殖、分化和成熟^[12]。

2.2 FOG-1 FOG-1 是 1 个与 GATA 家族相互作用的核蛋白,含有 9 个锌指结构,其中锌指 1、5、6 和 9 可与 GATA-1 的氨基末端锌指(NF)结合,协助 GATA-1 促进红系和巨核系分化成熟。抑制 FOG-1 可诱导产生严重贫血和血小板减少^[13]。FOG/GATA-1 复合物可以共同抑制 GATA-2 和 c-myb 的转录,使红系分化正常进行,在 FOG-1 缺乏的情况下 GATA-1 不能关闭 GATA-2 及 c-myb 的转录,红系停留在祖细胞阶段不能继续分化。一旦细胞的链系分化定向了,FOG 就和 GATA-1 共同作用于红系成熟过程。

2.3 TAL-1/SCL/LMO2/Ldb1/E2A 复合物 干细胞白血病基因 TAL-1/SCL 属碱性螺旋-环-螺旋(bHLH)蛋白家族类,这类蛋白通过 HLH 结构域形成异二聚体,再与 DNA 上的 E-box(CANNTG)结合而发挥转录调控作用。TAL-1/SCL 可在早期造血祖细胞、红细胞、巨核细胞、肥大细胞被检测到,属 Lmo 原癌基因家族,包括 2 个半胱氨酸丰富的 LIM 区及 1 个氨基末端转录活化区,LIM 结构域不能直接与 DNA 结合,但能在转录复合物中充当分子桥梁,介导蛋白质之间的相互作用。TAL-1/SCL 和 LMO2 基因敲除小鼠的表型相似,均表现为脾层卵黄囊造血消失,血岛及卵黄血管生成缺陷,重新把这些基因导入突变体内后,干细胞、早期造血祖细胞和髓系前体细胞的生成恢复正常,但仍缺乏红系前体细胞,表明它们在红系生成过程中持续表达的必要性,也提示它们还参与了其他造

血谱系定向的调控^[14]。在红系细胞中,TAL-1/SCL 与 E47/E2A、bHLH、LMO2 和 Ldb1 组成五聚体复合物,这一复合物识别 GATA 位点上游含有 E 盒的 10 bp 的螺旋区,GATA-1 基因本身就包含这样的识别序列,说明包含这些红细胞调节蛋白的复合物的相对水平是红细胞分化的重要决定因素。

2.4 EKLF 红系 krüppel 样因子(EKLF)属于 krüppel 家族,其 C 端含有 3 个 TF III A 样的 C2 H2 型锌指结构,是 DNA 的结合结构域,其 N 端富含丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸,丝氨酸/苏氨酸的磷酸化对于 EKLF 在红系细胞中发挥转录活性具有重要意义^[15]。EKLF 在红系、巨核系和肥大细胞中表达,它结合许多红系特异基因的调节元件的保守序列 CACC,如 β 珠蛋白 LCR 区和 α 珠蛋白的 HS40 核心区,这些区域常和 GATA 序列接近,因此 GATA 蛋白可以和 krüpple 样蛋白通过生理的相互作用来调节基因的表达。

2.5 Gfi-1b Gfi-1b 是 1 种对血细胞的增殖、分化起重要作用的原癌基因,其蛋白锌指末端含 6 个 C2H2 结构序列,N-末端有 1 个含 20 个氨基酸的 SNAG 结构,通过该结构抑制转录^[16]。Gfi-1b 过表达会使造血祖细胞无法向红系正常分化,同时导致细胞凋亡。Gfi-1b 基因敲除的胚胎干细胞出现红系定向分化障碍,表明其在红系分化过程中发挥着重要作用。

2.6 BCL11A BCL11A 是 1 种编码 C2H2 锌指蛋白的 krüppel 样转录因子,在 B 淋巴造血系统发育和增殖中起重要作用。BCL11A 为转录抑制因子,能与 1 种能抑制自身转录的卵蛋白核受体(COUP-TF1)结合,调节 HbF 水平。BCL11A 能够自身不断调节,并定期通过与 β 珠蛋白作用抑制 γ 珠蛋白的基因表达^[17]。

3 miRNAs

微 RNA(miRNAs)是具有在转录水平调节基因表达的约 19-24nt 的非编码 RNA,它通过与靶基因的 3'-UTR 区互补配对,对靶基因 mRNA 进行切割或者翻译抑制,在监控生物个体发育时相转变和细胞增殖、分化进程中起着重要作用。目前发现胚胎干细胞和多种成体干细胞中均存在各自特异的 miRNAs,造血干细胞的发育受相关 miRNA 调控。Chen 等^[18]在小鼠的骨髓造血细胞中克隆了 100 个特异的 miRNA,并确定 3 种 miRNA 在造血细胞中特异性表达。Felli 等^[19]发现,在脐血 CD34⁺ 造血祖细胞向红系发育过程中,miR-221 和 222 表达逐渐下降。这 2 个 miRNA 作用于 kit 基因的 3'-UTR,在 CD34⁺ 细胞中转染 miR-221 和 222 的寡核苷酸或者慢病毒表达载体,可导致红系增殖和分化障碍,伴随 kit 蛋白水平下降。NOD-SCID 小鼠体内实验表明,转染后,CD34⁺ 细胞的增殖能力和干细胞功能受损;反之,阻断 miR-221 和 222 表达,则促进早期红系增殖。实验表明,miR-221 和 222 表达下降可促进红系发育。Kosaka 等^[20]报道,miR-210 能够上调 EPO 刺激的红系分化,阻断 miR-210 的表达会导致细胞凋亡,说明 miR-210 在红细胞生成中具有重要意义。近来研究发现,miR-451 能够促进红细胞成熟,这可能跟 miR-451 能够调控 GATA-1 的表达有关^[21]。

4 低氧、应激和 HIF 信号途径

脊椎动物的红细胞生成是 1 个受氧状态调控的动态过程,它受特殊分子机制严格调控促使细胞增殖,阻止细胞凋亡,并随着细胞的最终成熟使细胞周期停滞。尽管关于细胞成熟的分子机制,控制红系生成的信号通路尚未完全明了,但低氧、铁调节的平衡作用,相关转录因子在红系生成中均扮演了关键角色^[22]。EPO 是造血细胞因子超家族中的一员,主要在胎儿肝

脏和成人肾脏通过 EPO 基因转录激活产生。经典理论认为,调节 EPO 产生的主要因素是缺氧,缺氧可上调 EPO 基因转录,低氧状态下,EPO 生成增加从而促进红细胞生成^[23]。这个过程主要受低氧诱导因子 HIF 家族调控,同时也受 NF-κB 调节,在缺氧的情况下 HIF-1 可结合于它附近的 1 个调节位点,诱导 EPO 表达增加^[24]。红细胞内环境稳定依赖于氧化还原体系的平衡,在红系发展过程中,红系祖细胞蓄积血红蛋白,红系细胞在其生命周期的 120 d 内源源不断地运送氧,这一过程中机体处于高水平的氧化应激^[25]。因此,氧化应激的调节对红系生成和成熟红细胞的产生起着至关重要的作用。

5 铁稳态与细胞亚铁血红素

铁代谢和细胞亚铁血红素是红细胞生成的关键调节因子。细胞摄取铁主要由位于细胞表面的转铁蛋白受体介导:进入血液的铁与转铁蛋白结合后被转运至细胞,转铁蛋白与细胞膜上的转铁蛋白受体结合,通过细胞内的转铁蛋白循环,将铁转运至细胞内。铁代谢、细胞血红素与红系造血紧密相连,红细胞所需的铁主要来自血浆中的转铁蛋白,当机体缺乏铁或铁代谢紊乱时,将诱发红系生产障碍或者贫血^[26]。

哺乳动物的铁稳态主要受近端小肠上皮细胞的前体细胞—十二指肠隐窝细胞影响,该细胞为感受机体铁变化信号的部位。hepcidin 是主要由肝细胞合成的小分子抗菌肽,作为铁稳态的调节激素,它通过与位于十二指肠的细胞膜铁转运蛋白(FP)结合,形成 FP-hepcidin 复合物,FP-hepcidin 复合物能够抑制肠道铁的吸收和巨噬细胞及衰老红细胞铁的释放,降低机体铁的水平,从而对肠道铁的吸收起着负调控作用。编码人类 hepcidin 的 HAMP 基因受 IL-6、体内铁含量、氧浓度及炎性反应的影响,铁过载时 hepcidin 表达增加,反之则减少,贫血、缺氧及炎性反应会导致其表达水平下降,进而影响 hepcidin-FP 轴造成铁稳态失衡^[27]。

细胞血红素水平也是调节红细胞生产的关键因素,血红素一部分来源于血红素蛋白,一部分来源于线粒体的生物合成,血红素的合成需要大量血红素蛋白,受细胞呼吸、氧压传感及新陈代谢影响,血红素通过在细胞核水平调节珠蛋白和非珠蛋白基因影响红系造血^[28]。

红系造血生成是红系造血前体细胞向终末细胞逐渐转化,最终生成成熟红细胞的复杂生理过程,此过程涉及多种造血生长因子及转录因子,并通过多种信号转导通路进行调控,各种因素交错影响,互相之间有不同程度的协同或拮抗作用。虽然红系发生的详细机制至今尚不完全清楚,但继续寻找可能参与红系造血的各种因素并明确其作用机制,将有利于更全面地阐明红细胞的生成并将对相关的疾病治疗提供线索和依据。

参考文献

- [1] 张玥,韩代书. 红系造血微环境-成红细胞血岛[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2010, 19(2): 195-199.
- [2] Chasis JA, Mohandas N. Erythroblastic islands: niches for erythropoiesis[J]. Blood, 2008, 112(3): 470-478.
- [3] Roskoski R. Signaling by Kit protein-tyrosine kinase-the stem cell factor receptor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 337(1): 1-13.
- [4] Menon M, Fang J, Wojchowski D. Core erythropoietin receptor signals for late erythroblast development[J]. Blood, 2006, 107(7): 2662-2672.
- [5] Malhotra S, Kincade PW. Wnt-related molecules and signaling pathway equilibrium in hematopoiesis[J]. Cell Stem Cell, 2009, 4(1): 27-36
- [6] Reya T, Duncan AW, Ailles L, et al. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells[J]. Nature, 2003, 423(6938): 409-414.
- [7] Jang MS, Miao H, Carlesso N, et al. Notch-1 regulates cell death independently of differentiation in murine erythroleukemia cells through multiple apoptosis and cell cycle pathways[J]. Cell Physiol, 2004, 199(3): 418-433.
- [8] Hayward P, Brennan K, Sanders, et al. Notch modulates Wnt signaling by associating with Armadillo/beta-catenin and regulating its transcriptional activity[J]. Development, 2005, 132(8): 1819-1830.
- [9] 罗春燕,王建伟. GATA-1 与红系造血[J]. 国际内科学杂志, 2008, 35(6): 360-363.
- [10] Gutierrez L, Nikolic T, van Dijk TB, et al. Gata1 regulates dendritic-cell development and survival[J]. Blood, 2007, 110(6): 1933-1941.
- [11] Lowry JA, Mackay JP. GATA-1: one protein, many partners[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2006, 38(1): 6-11.
- [12] Munugalavada V, Dore LC, Tan BL, et al. Repression of c-kit and its downstream substrates by GATA-1 inhibits cell proliferation during erythroid maturation[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(15): 6747-6759.
- [13] Amigo JD, Ackermann GE, Cope JJ, et al. The role and regulation of friend of GATA-1(FOG-1) during blood development in the zebrafish[J]. Blood, 2009, 114(21): 4654-4663.
- [14] Mikkola HK, Klintman J, Yang H, et al. Haematopoietic stem cells retain long-term repopulating activity and multipotency in the absence of stem-cell leukaemia SCL/tal-1 gene[J]. Nature, 2003, 421(6922): 547-551.
- [15] Isern J, Fraser ST, He Z, et al. Dose-dependent regulation of primitive erythroid maturation and identity by the transcription factor Eklf[J]. Blood, 2010, 116(19): 3972-3980.
- [16] Elmaagacli AH, Koldehoff M, Zakrzewski JL, et al. Growth factor-independent 1B gene(GFI1B) is overexpressed in erythropoietic and megakaryocytic malignancies and increases their proliferation rate[J]. Br J Haematol, 2007, 136(2): 212-219.
- [17] Sankaran VG, Menne TF, Xu J, et al. Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific repressor BCL11A[J]. Science, 2008, 322(5909): 1839-1842.
- [18] Chen CZ, Li L, Lodish HF, et al. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation[J]. Science, 2004, 303(5654): 83-86.
- [19] Felli N, Fontana L, Pelosi E, et al. MicroRNAs 221 and 222 inhibit normal erythropoiesis and erythroleukemic cell growth via kit receptor down-modulation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(50): 18081-18086.
- [20] Kosaka N, Sugiura K, Yamamoto Y, et al. Identification of erythropoietin-induced microRNAs in haematopoietic cells during erythroid differentiation[J]. Br J Haematol, 2008, 142(2): 293-300.
- [21] Masaki S, Ohtsuka R, Abe Y, et al. Expression patterns of microRNAs 155 and 451 during normal human erythropoiesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 364(3): 509-514.
- [22] Kim SI, Bresnick EH. Transcriptional control of erythropoiesis: emerging mechanisms and principles[J]. Oncogene, 2007, 26(47): 6777-6794.
- [23] Smith TG, Robbins PA, Ratcliffe PJ, et al. The human side of hypoxia-inducible factor[J]. Br J Hematol, 2008, 141(3): 325-334.

- [24] Rogers HM, Yu X, Wen J, et al. Hypoxia alters progression of the erythroid program[J]. Exp Hematol, 2008, 36(1):17-27.
- [25] Hattangadi SM, Lodish HF. Regulation of erythrocyte lifespan: do reactive oxygen species set the clock[J]. Clin Invest, 2007, 117(8):2075-2077.
- [26] Nemeth E. Iron regulation and erythropoiesis[J]. Curr Opin Hematol, 2008, 15(3):169-175.
- [27] de Domenico I, Ward DM, Kaplan J. Hepcidin regulation: ironing

- out the details[J]. Clin Invest, 2007, 117(7):1755-1758.
- [28] Tsiftsoglou AS, Tsamadou AI, Papadopoulou LC, et al. Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: molecular, cellular, and pharmacological aspects[J]. Pharmacol Ther, 2006, 111(2):327-345.

(收稿日期:2011-01-05)

· 综述 ·

端粒、端粒保护蛋白与动脉粥样硬化的研究进展*

张艳波 综述, 王军 审校

(广西壮族自治区南溪山医院神经内科, 桂林 541002)

关键词: 端粒; 动脉粥样硬化; 端粒保护蛋白

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.029

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)10-1078-04

端粒是真核细胞染色体末端的 1 段特殊 DNA-蛋白质复合体结构, 它在维持细胞稳定, 稳定染色体功能, 防止染色体 DNA 降解、末端融合, 保护染色体结构基因, 调节正常细胞生长中具有重要作用^[1]。近年来的研究表明, 端粒与一些年龄相关疾病(如动脉粥样硬化)的形成及冠心病有关^[2-4]。端粒保护蛋白(POT1)是结合于富含 G 的端粒单链重复序列, 广泛存在于各种真核生物细胞中的 1 种蛋白家族。目前的研究均表明, POT1 蛋白在细胞分裂、端粒长度调控、末端保护、端粒功能维持以及染色体的稳定性方面有着非常重要的作用, 并且表达水平的变化与动脉粥样硬化的发生、发展有密切关系^[5-7]。近年来人们逐渐认识到端粒、端粒保护蛋白与动脉粥样硬化之间的关系有着重要意义, 本文就此作一综述。

1 端粒的结构和功能

早在 20 世纪 30 年代有学者在果蝇实验中发现, 经 X 线照射的果蝇染色体极不稳定, 易产生染色体断裂, 而且断裂产生的染色体片段可相互连接、融合, 但在天然染色体末端则不能与其他片段发生连接, 说明天然染色体末端有某种特殊结构将其封闭。Blackburn^[8]首次阐明了四膜虫 rDNA 分子的末端结构, 他们发现这种 rDNA 每条链的末端均含有大量的重复片段, 并且这些大量重复的片段多是由富含 G、C 的脱氧核苷酸形成的简单序列串联而成。因此, 将这种可使染色体保持稳定的末端称之为端粒。

1.1 端粒的结构 端粒位于真核细胞染色体末端 1 段特殊的 DNA-蛋白质复合体, 真核细胞端粒 DNA 很相似, 由短串联重复序列(TTAGGG)_n 组成, 四膜虫端粒的重复序列为(5'-TT-GGGG-3'), 人类染色体端粒的重复序列为(5'-TTAGGG-3'), 数量有几千个拷贝。不同物种的染色体端粒 DNA 的长度不同, 平均 5~15 kb, 人类端粒 DNA 由 7 000~10 000 bp 的双链区和约几百个核苷酸组成的富含鸟苷酸的单链 DNA 3' 突出末端组成^[9]。但是 3' 端并不悬挂在端粒末端, 而是与 POT1 和 TRF2 等端粒相关蛋白协同作用, 折回到端粒内部双链重复序列的某一区域, 并将该区域的 1 段自身链置换出来, 取而代之与互补链配对, 形成的 1 个环称为 T 环(端粒环), 3' 最末端单

链区反转探入端粒的双链区再形成 D 环(替代环)^[10]。这样, 位于染色体末端富含 G 的端粒 DNA 突出链就在 Watson-Crick 碱基配对的 G-G 连接下, 能够形成分子内或分子间鸟嘌呤四联体(G 四联体)的二级结构, 该结构有很大的动力学稳定性, 形成 1 种分子内折叠的稳定性结构^[11-12]。

1.2 端粒的功能 端粒的功能就如同是给染色体末端加 1 个保护性的“帽子”, 完成染色体末端的复制, 维持细胞稳定, 稳定染色体的功能, 防止染色体 DNA 降解、末端融合, 保护染色体结构基因, 维持染色体的稳定性, 在有丝分裂后期染色体的分离、减数分裂时染色体的重组以及 DNA 双链损伤后的修复都有重要作用。端粒的位置和长度的改变是细胞衰老的信号。因为 DNA 聚合酶并不能完全复制 3' 的单链 DNA, 故端粒随着细胞分裂而渐进性缩短, 一般丢失速度为 50~200 bp/次。当端粒缩短到一定程度, 其末端功能丧失, 染色体失稳, 细胞进入老化期并随后死亡。在许多细胞类型中, 衰老及后来的细胞死亡常常在端粒长度缩短达到 1 个关键值时发生^[10,13]。

1.3 端粒相关蛋白 端粒相关蛋白通过与端粒 DNA 相互作用, 阻止端粒被核酸酶、解旋酶等因子破坏, 从而调节端粒的长度, 影响端粒的功能, 对细胞的癌变、永生化、衰老起重要作用。迄今为止已经从包括人在内的多种生物中分离提纯了数十种与端粒作用相关的蛋白, 已经克隆的与人类端粒相关的蛋白有 TRF1、TRF2、POT1、Tankyrase、TIN2 和 UP1 等。目前的研究发现, POT1 是调节端粒的重要蛋白之一。研究发现, 若敲除 POT1 基因, 端粒序列快速丢失, 染色体端-端融合, 细胞死亡, 可见, POT1 最重要的功能是对端粒有直接而重要的保护作用^[14]。POT1 能直接与端粒 DNA 富含 G 单链结合, 似“帽子”戴在染色体两端, 防止端粒 DNA 序列丢失、降解、重组, 人们形象地称 POT1 为“端粒保镖”。因此, POT1 也一直是研究的焦点之一。

2 POT1 的结构和功能

POT1 是 Baumann 等^[15]于 2001 年在人类和裂殖酵母细胞中发现的端粒单链结合蛋白, 这些蛋白结合于富含 G 的端粒单链重复序列, 对染色体的末端有直接的保护作用, 因此将

* 基金项目: 广西省桂林市科技开发项目基金(20100315-9)。