

[18] Stankiewicz P, Lupski JR. Structural variation in the human genome and its role in disease[J]. *Annu Rev Med*, 2010, 61: 437-455.

[19] Bodmer W, Bonilla C. Common and rare variants in multifactorial susceptibility to common diseases[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(6): 695-701.

[20] Jimenez-Sanchez G, Childs B, Valle D. Human disease genes[J]. *Nature*, 2001, 409(6822): 853-855.

[21] Ahmuller J, Palmer LJ, Fischer G, et al. Genomewide scans of complex human diseases: tne linkage is hard to find[J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 69(5): 936-950.

[22] Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations[J]. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(5): 391-397.

[23] Carlson CS, Eberle MA, Kruglyak L, et al. Mapping complex disease loci in whole-genome association studies[J]. *Nature*, 2004, 429(6990): 446-452.

[24] Iles MM. What can genome wide association studies tell us about the genetics of common disease[J]. *PLoS Genet*, 2008, 4(2): e33.

[25] Himehhorn JN. Genetic approaches to studying common diseases and complex traits[J]. *Pediatr Res*, 2005, 57(5 pt 2): 74-77.

[26] Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(1): 30-35.

[27] Haack TB, Danhauser K, Haberberger B. Exome sequencing identifies ACAD9 mutations as a cause of complex I deficiency[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(12): 1131-1134.

[28] Bilgüvar K, Öztürk AK, Louvi A, et al. Whole-exome sequencing identifies recessive WDR62 mutations in severe brain malformations[J]. *Nature*, 2010, 467(7312): 207-210.

[29] Ng SB, Bigham AW, Buckingham KJ, et al. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of kabuki syndrome[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(9): 790-793.

(收稿日期: 2011-05-15)

Src 蛋白及其生物学特性的研究进展*

潘颖综述, 管世鹤[△]审校

(安徽医科大学第二附属医院检验科, 合肥 230032)

关键词: 研究; Src 蛋白; 生物学特性; 信号通路

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 16. 030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)16-1850-03

Src 家族激酶(SFKs)由 9 个成员组成, 分别是: LYN、FYN、LCK、HCK、FGR、BLK、YRK、YES 和 c-Src。其中, Src 蛋白是目前研究最多的成员, 也是与人类疾病联系最为密切的蛋白。Src 广泛存在于组织细胞中, 通过与信号转导通路中重要分子的相互作用, 参与细胞的代谢过程, 调控细胞的生长、发育和分化等过程, 同时也与一些疾病的发生有着密切的联系。本文就近年来国内外对于 Src 蛋白结构及生物学特性等予以综述。

1 Src 蛋白的结构及功能特性

Src 蛋白由至少 7 个不同功能的结构域组成, 位于 N 端的 SH4 区包含了豆蔻酰化和蛋白质棕榈化的位点, 这些位点的改变可使 Src 蛋白锚定于细胞膜的内表面, 使 Src 蛋白更接近于细胞因子受体; 位于 SH4 后的是一段区分 SFKs 成员的特殊区域, 其生物学功能暂不明确, 随后的 SH3 区具有与富含脯氨酸序列的基质蛋白结合的特性, 位于 SH3 区域之后的 SH2 结构域通过与 C 端磷酸化 Tyr527 的结合参与调控激酶本身活性的抑制, 在 SH2 与 SH1 结构域之间还有一段 SH2 激酶链接区; 而作为 Src 蛋白催化区域的 SH1 区是一个双裂结构, ATP 通过与铰链区结合发生自身磷酸化, 触发激酶的活性; 位于 SH1 结构域之后的 C 端区域包含 Tyr527 调控残基, 此残基的磷酸化和去磷酸化可调节 Src 激酶的活性。

非活性状态的 Src 蛋白中, 磷酸化的 Tyr527 与 SH2 结构域发生分子间的相互作用, 同时 SH3 结构域与富含脯氨酸的

SH2 激酶链接区结合。当 Tyr527 去磷酸化以及 Tyr416 磷酸化时, 这些分子间的链接断裂, Src 蛋白发生活化。

2 Src 蛋白与体内信号转导途径

Src 蛋白与体内多条信号转导途径相联系, Src 蛋白可被多条信号转导途径所激活, 而激活后的 Src 激酶又通过磷酸化相应靶蛋白的酪氨酸残基, 使之被激活, 从而使相应的信号通路发生活化。

2.1 Src 蛋白与丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)通路 MAPK 信号途径控制着细胞的多种生理过程并参与多种疾病的发生, 而作为此途径的上游激活蛋白 Ras, 其活性直接受到 Src 蛋白的调控, 激活的 Ras(GTP-Ras)再依次激活 Raf、MEK 和 MAPK/ERK, 从而引发一系列的生物学效应; 同时活化的 MAPK 途径也可以磷酸化 Src 相应的位点, 导致基因转录的激活, 而抑制 MAPK 途径的活化可逆转 Src 蛋白的部分效应^[1]。

2.2 Src 蛋白与促生长途径 Src 蛋白在促生长途径中发挥重要作用, 如它与雌激素受体及表皮生长因子受体信号转导途径之间的联系在乳腺癌的发生中起重要作用, 类固醇激素能通过 Src 蛋白家族的核受体结合而直接激活 Src 激酶, 同时雌激素所引起的有丝分裂效应被 Src 蛋白直接或间接地减轻^[2], 有实验表明^[3], 在 Src 蛋白缺陷的细胞和小鼠体内, MAPK 激酶并不能被雌激素激活。

Src 蛋白同样也是表皮生长因子受体(EGFR)途径下游的

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30600522); 安徽省卫生厅科学基金资助项目(2010C057)。 [△] 通讯作者, E-mail: Shiheguan@

重要介质, c-Src 的转染可加强表皮生长因子(EGF)的致癌作用。在临床前期模型中, EGFR 的活性伴随着 Src 激酶的活性升高而升高, 并且其活性对 Src 激酶抑制剂 AZD0530 非常敏感^[4]。

2.3 Src 蛋白与 STATs 通路 STAT3 是信号转导与转录激活因子家族的成员, 可以被多种细胞因子及其他刺激所激活, 参与细胞增殖、炎症反应、肿瘤形成等过程^[5-6], 在人类肿瘤组织中, Src 激酶激活了 STAT3 蛋白, 因此出现 Src 和 STAT3 的同时升高。陈加祥等^[7]通过用反义 c-Src ODNs 作用大鼠精原干细胞, 检测细胞的活性和细胞中 p-STAT3 的表达, 结果提示, Src 蛋白可能通过磷酸化 STAT3 蛋白影响大鼠精原干细胞的活性。Kotha 等^[8]在研究白藜芦醇的抗癌机制中发现, 白藜芦醇同时降低了 Src 与 STAT3 的磷酸化。

2.4 Src 与磷酸肌醇-3 激酶-蛋白激酶(PI3K-Akt)信号通路 PI3K-Akt 信号通路可被定位于细胞膜的 Src 所激活, 被激活的 PI-3K 促进作为第 2 信使的 PIP3 活化, 而活化的 PIP3 进一步激活下游蛋白, 调控多种转录因子, 从而抑制细胞凋亡, 调节细胞生长周期, 这一过程在肿瘤的形成和黏附中发挥作用^[9]。利用 Src 抑制剂 PP2 可阻碍 PI3K 的磷酸化, 进一步阻碍相关蛋白所引起的肿瘤细胞的黏附^[10]。

2.5 Src 与其他信号通路 Src 与体内的信号通路有着复杂的联系, 与焦点黏着激酶(FAK)的作用介导了压力引起的结肠肿瘤细胞黏附; 激活的 Src 激酶可通过 PLC 通路引起内质网内 Ca²⁺ 的释放^[11]; 增强转录因子 NF- κ B 的活化^[12]。总之, Src 蛋白与细胞内的信号转导通路构成一个级联的、放大的网路调控系统, 对细胞的行为起着调控作用, Src 蛋白是各种信号途径的中心枢纽。

3 Src 蛋白与疾病的联系

3.1 高血压 研究表明, 在小鼠的内皮细胞中, Src 蛋白的激活是 5-羟色胺受体介导的内皮细胞收缩的早期及关键机制^[13]。此外, 在高血压发病的多种机理中均有 Src 蛋白的参与, 如由 NADPH 介导引起的氧化应激对血管的损害、Src 与 P130Cas 形成复合物促使细胞的黏附、钠离子泵触发的级联反应等^[14]。由此可见, 干预 Src 蛋白与相应受体的作用将为治疗高血压开创新的思路。

3.2 恶性肿瘤 异常激活的 Src 蛋白与人类的许多肿瘤如结肠癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌、肺癌及胃癌等的发生有着联系^[15-17], 参与到肿瘤的各个阶段, 并且其活性的高低与肿瘤的发展密切相关, 相关机制涉及到: 激活相应信号通路, 引起细胞增殖凋亡效应^[18]、对癌细胞肌动蛋白骨架的重组^[19]、引发生长基质侵袭转移、诱导血管形成^[20]等。Src 与肿瘤发生、发展的密切关系使得 Src 已经成为临床治疗癌症的新靶点。

3.3 心肌肥大 心肌肥大是心肌转向功能不全最终导致慢性心力衰竭的基础, 在诸多参与心肌肥大的信号通路中, Src 蛋白主要参与了整合素和 G 蛋白偶联受体介导的心肌肥大, 在整合素信号中, 黏着斑激酶与 Src 相互作用, 形成稳定的黏着斑激酶/Src 信号复合物, 触发下游分子 Akt 和西罗莫司靶体蛋白介导心肌肥大^[21]。还有研究表明 β -肾上腺素能受体介导的胞吞作用在新生大白鼠心肌肥大过程中发挥关键作用, 而 Src 蛋白参与这一胞吞过程^[22]。

3.4 白血病 早在 1999 年, 中国学者通过检测不同类型的白血病患者骨髓贴壁细胞中 Src 原癌基因的 mRNA 表达水平发现, Src 参与白血病发病中造血微环境的改变^[23]。结构分析显

示, Src 与 Abl 有着惊人的相似之处, 而 Bcr/Abl 融合基因在慢性髓细胞性白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)的发病中起到重要作用, 此外, Src 蛋白家族激酶在 FLT3/ITD 介导的急性髓系白血病(AML)中也发挥重要作用。Bosutinib 作为 Src/Abl 双重抑制剂^[24], 是首个被批准的用于临床治疗 CML 的小分子激酶抑制剂, 并取得了良好的效果。

综上所述, Src 蛋白通过各种受体, 参与体内众多信号转导途径, 从而引发一系列的生物学效应, Src 蛋白将会成为相关疾病治疗的新靶点, 事实上已经有抑制 Src 信号途径的药物逐渐运用于临床, 如达沙替尼、AZD0530、伯舒替尼、XL999 等, 这些药物可通过减少 Src 激活而抑制肿瘤细胞的侵袭、迁徙, 增加细胞的凋亡。此外, 有实验证明, c-Src 基因和磷酸化 Src 蛋白的表达水平与癌症的临床分期、远处转移、生存期有关^[25]; 在食道癌病例中, 癌细胞分化越低, 临床分期越晚, Src 蛋白的表达越明显。因此, 在诊治过程中, 检测 Src 蛋白的水平将有助于对患者的病情进行评估, 对疾病的预后进行判断, 有助于患者得到更合理的治疗。

参考文献

- [1] Kline CL, Olson TL, Irby RB. Src activity alters alpha3 integrin expression in colon tumor cells[J]. Clin Exp Metastasis, 2009, 26(2):77-78.
- [2] Shupnik MA. Cross talk between steroid receptors and the c-Src-receptor tyrosine kinase pathways: implications for cell proliferation[J]. Oncogene, 2004, 23(48):7979-7989.
- [3] Kim H, Laing M, Muller W. C-Src-null mice exhibit defects in normal mammary gland development and ER-alpha signaling[J]. Oncogene, 2005, 24(36):5629-5636.
- [4] Hiscox S, Morgan L, Green TP, et al. Elevated Src activity promotes cellular invasion and motility in tamoxifen resistant breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res Treat, 2006, 97(3):263-274.
- [5] Turkson J. STAT proteins as novel targets for cancer drug discovery[J]. Expert Opin Ther Targets, 2004, 8(5):409-422.
- [6] Buettner R, Mora LB, Jove R. Activated STAT signaling in human tumors provides novel molecular targets for therapeutic intervention[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(4):945-954.
- [7] 陈家祥, 王新长, 王晶磊, 等. 原癌基因 c-Src 通过磷酸化信号转导与转录激活因子-3 蛋白影响大鼠精原干细胞活性[J]. 生理学报, 2008, 60(3):391-396.
- [8] Kotha A, Sekharam M, Cilenti L, et al. Resveratrol inhibits Src and Stat3 signaling and induces the apoptosis of malignant cells containing activated Stat3 protein[J]. Mol Cancer Ther, 2006, 5(3):621-629.
- [9] Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI3K and TPK signaling controls tumour cell growth[J]. Nature, 2006, 44(1):424-430.
- [10] Thamilselvan V, Craig DH, Basson MD. FAK association with multiple signal proteins mediates pressure-induced colon cancer cell adhesion via a Src-dependent PI3K/Akt pathway[J]. FASEB J, 2007, 21(8):1730-1741.
- [11] Talmor-Cohen A, Tomashov-Matar R, Eliyahu E, et al. Are Src family kinases involved in cell cycle resumption in rat eggs? [J]. Reproduction, 2004, 127(4):455-463.
- [12] Eum SY, Rha GB, Hennig B, et al. c-Src is the primary signaling mediator of polychlorinated biphenyl-induced interleukin-8 expression in a human microvascular endothelial cell line[J]. Toxicol Sci, 2006, 92(1):311-320.

- [13] Chang YM, Kung HJ, Evans CP. Nonreceptor tyrosine kinases in prostate cancer[J]. *Neoplasia*, 2007, 9(2): 90-100.
- [14] Warmuth M, Damoiseaux R, Liu Y, et al. SRC family kinases: potential targets for the treatment of human cancer and leukemia[J]. *Curr Pharm Des*, 2003, 9(25): 2043-2059.
- [15] Lu R, Alioua A, Kumar Y, et al. c-Src tyrosine kinase, a critical component for 5-HT_{2A} receptor-mediated contraction in rat aorta[J]. *J Physiol*, 2008, 586(16): 3855-3869.
- [16] Li Z, Xie Z. The Na/K-ATPase/Src complex and cardiotonic steroid-activated protein kinase cascades[J]. *Pflugers Arch*, 2009, 457(3): 635-644.
- [17] Summy JM, Gallick GE. Src family kinases in tumor progression and metastasis[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2003, 22(4): 337-358.
- [18] 毛成毅, 郑继军, 杜鹃, 等. Src 蛋白在肝癌 HepG2 细胞增殖凋亡中作用的初步研究[J]. *重庆医学*, 2010, 39(1): 19-23.
- [19] 杜军, 戈应滨, 顾洛. Src 激酶抑制剂 PP2 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞黏附、迁移能力的影响[J]. *南京医科大学学报*, 2008, 28(7): 850-854.
- [20] 于虹, 怀娜, 马季梅. Src 激酶抑制剂 PP2 对人胃癌细胞生物学行为的影响[J]. *肿瘤*, 2010, 30(10): 822-826.
- [21] Marin TM, Clemente CF, Santos AM, et al. Shp2 negatively regulates growth in cardiomyocytes by controlling focal adhesion kinase/Src and mTOR pathways[J]. *Circ Res*, 2008, 103(8): 813-824.
- [22] Morisco C, Marrone C, Galeotti J, et al. Endocytosis machinery is required for beta1-adrenergic receptor-induced hypertrophy in neonatal rat cardiac myocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 78(1): 36-44.
- [23] 李卓, 刘杰文, 齐淑玲, 等. 长期培养的急性粒细胞白血病患者骨髓贴壁细胞中 src 原癌基因的高水平表达[J]. *中国实验血液学杂志*, 1999, 7(3): 205-207.
- [24] Vultur A, Buettner R, Kowolik C, et al. SKI-606 (bosutinib), a novel Src kinase inhibitor, suppresses migration and invasion of human breast cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(5): 1185-1194.
- [25] 杜芸, 左连富, 王小玲, 等. 食管癌中 Src 蛋白与相关因子的表达及其预后意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2006, 22(3): 319-324.

(收稿日期: 2011-05-15)

· 综 述 ·

肽酰基精氨酸脱亚胺酶 4 与类风湿关节炎相关性的研究进展

蔡小慧 综述, 卿之驹 审校

(中南大学湘雅二医院检验科, 长沙 410011)

关键词: 关节炎, 类风湿; 多态现象, 遗传; 瓜氨酸; 肽酰基精氨酸脱亚胺酶

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 16. 031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)16-1852-03

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种常见的具有较高致残性的系统性自身免疫性疾病, 主要表现为对称性、慢性、进行性多关节炎。关节滑膜的病理改变为慢性炎症、增生形成血管翳、侵犯关节软骨、软骨下骨、韧带和肌腱等, 造成关节软骨、骨和关节囊破坏, 最终导致关节畸形和功能丧失。RA 在自身免疫性结缔组织病中患病率居首位, 全世界患病率大约为 1%^[1], 且较多发于中年女性, 中国人的患病率约为 0.32%~0.36%^[2]。

RA 确切的发病机制尚未明确, 多项研究表明是由遗传因素和环境因素共同作用导致的, 约 50%~60% 的表现型取决于遗传因素^[3-5]。抗原性蛋白或多肽的瓜氨酸化可能是 RA 的发病机制之一。瓜氨酸化是蛋白质翻译后修饰的一种形式, 肽酰基精氨酸脱亚胺酶 (peptidylarginine deiminase, PADI) 是催化精氨酸转化为瓜氨酸的关键酶。人类 PADI 有 5 种亚型, 分别为 PADI1、PADI2、PADI3、PADI4 和 PADI6, 其中与 RA 密切相关的为 PADI4。

1 PADI4 基因多态性与 RA 易感性

人类 PADI4 基因定位于染色体 1p36 上的 NT-034367.1 区域, 共有 2 238 个碱基对, 相对分子质量为 74 000, 包含 16 个外显子和 15 个内含子。从 PADI4 基因的 5' 非翻译区的启动子序列到 3' 非翻译区目前已发现 17 个单核苷酸多态性变异 (SNP) 位点, 其中外显子区域 padi4_89 (rs11203366)、padi4_90 (rs11203367)、padi4_92 (rs874881)、padi4_104 (rs1748033) 的 SNP 是目前的研究热点。

PADI4 基因单核苷酸和单倍体型多态性与 RA 的易感性

相关是 2003 年由日本学者 Suzuki 等^[6]首先发现的。他们发现 PADI4 在 RA 患者滑膜液中显著高表达, 进一步通过对日本人群 830 例 RA 和 736 例健康对照中 PADI4 基因进行 SNP 分析, 发现 PADI4 基因多态性与 RA 的易感性显著相关, 并用位于 PADI4 基因外显子区域的 4 个 SNP, 即 padi4_89、padi4_90、padi4_92、padi4_104 定义了 ACCC 和 GTGT 两种最常见的单倍型, GTGT 是 RA 易感性单倍型, ACCC 是 RA 非易感性单倍型。随后, 多国学者进行了类似研究。韩国学者 Kang 等^[7]分析了韩国人群的 padi4_89、padi4_90 和 padi4_92 3 个 SNP 位点, 证明了 PADI4 基因 SNP 和单倍体型在韩国人群中与 RA 易感性密切相关。Hoppe 等^[8]对德国人群 PADI4 进行研究后发现, PADI4 主要的单倍体型分布与日本人群相似, 并证明了 PADI4 在德国人群中与 RA 的相关性。2005 年 Plenge 等^[9]对北美和瑞典人群研究发现 padi4_94 与 RA 亦有很强的相关性。然而, Hamey 等^[10]对英国人群的 PADI4 基因进行研究, 发现 PADI4 基因多态性在英国与 RA 的易感性并无明显相关性, Caponi 等^[11]对法国白人的研究也得到了类似结论。2007 年 Lee 等^[12]通过对全世界相关研究的 Meta 分析显示 PADI4 基因多态性在亚洲人种和欧洲人种中均与 RA 易感性相关, 且在亚洲人种中相关性更为显著。然而 2010 年 Burr 等^[13]通过对大量英国高加索人群的 Meta 分析显示欧洲人种的 PADI4 基因多态性与 RA 没有相关性。可见, 全世界 PADI4 与 RA 关系的研究结果仍存在分歧, 二者的相关性可能存在一定的种族差异性。Freudenberg 等^[14]通过最新研究, 比较亚洲和欧洲人种后认为: RA 的遗传易感性包括两个方