

发育调控信号蛋白 Hh 的研究进展

□ 邱 嵘

(解放军兰州医学高等专科学校, 730020)

□ 洪水根

(厦门大学细胞生物学研究室, 361005)

Hh 蛋白是发育调控基因 hedgehog (hh) 的产物。hh 基因是由 Nisslein - volhard 和 Wieschaus (1980) 在果蝇 (*Drosophila*) 中进行影响幼虫表皮层图式形成的突变体筛选时发现的。^[1] 利用果蝇的 hh 基因进行同源筛选的方法, 人们已经从多种动物中找到了它的同源基因, 例如, 脊椎动物发育调控基因 sonic hedgehog (shh)^[2]。现已证明, Hh 蛋白及其在脊椎动物中的同源蛋白 Shh 在动物早期发育中参与多种组织的诱导作用, 它们与体节、脊索、神经极、肢芽、眼等结构发育图式的形成密切相关^[2-3]。所有的 Hh 蛋白都是分泌蛋白质, 因而它们作为发育调控的信号分子起作用^[3]。Hh 蛋白是一种具有自我催化裂解功能的蛋白质, 其原蛋白在细胞中合成后随着信号肽的切除, 进一步自动裂解成 N-末端肽和 C-末端肽两种分子, 它们都为 Hh 蛋白行使完整的信号传递功能所必需^[4]。实验表明, Hh 蛋白及其同源蛋白 Shh 与生长因子 FGF、TGF β 、Wnt (发育调控基因 Wnt 的产物, 具有生长因子的特性) 等信号分子的表达有关, 它们还与依赖于 cAMP 的蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 调控系统有关^[5-9]。本文将有关 Hh 蛋白及其同源蛋白 Shh 近年来的研究进展做一简要介绍。

1 Hh 蛋白的信号传递

Hh 蛋白及 Shh 蛋白作为分泌信号分子, 它们不仅影响紧邻其分泌细胞的靶细胞的基因表达, 而且还影响距离其分泌细胞较远的靶细胞的基因表达, 因而其信号传递具有长距信

号传递 (long-range signaling) 和短距信号传递 (short-range signaling) 的特点。在理论上讲, 分泌信号分子进行长距信号传递与短距信号传递可以通过以下三种方式来完成: 第一, 分泌信号分子依据扩散原理沿距其分泌细胞的远近形成浓度梯度, 由于处于不同浓度梯度上的不同靶细胞对信号分子浓度的感受性不同而对同一信号分子做出不同反应, 从而实现其长距与短距信号传递功能; 第二, 信号分子直接作用于紧邻其分泌细胞的靶细胞, 该靶细胞产生中继信号分子作用于与它相邻的靶细胞, 依次级联传递信号, 影响远处的靶细胞; 第三, 信号分子直接作用于紧邻其分泌细胞的靶细胞, 由相邻的靶细胞产生中继信号, 该中继信号分子以与第一种相似的方式通过浓度梯度影响另外的靶细胞。

Hh 蛋白与 Shh 蛋白进行长距与短距信号传递的方式与其在发育中所起的具体作用有关。例如, 在果蝇早期胚胎的腹部上皮中, Hh 蛋白诱导紧邻其表达部位的细胞维持发育调控基因 Wg (Wnt 家族成员) 的表达^[10], 在脊椎动物的早期发育中, 脊索中表达的 Shh 蛋白以接触依赖的方式诱导其紧邻的神经管部分形成神经底板^[11], 因而在这两例中它们以第一种方式进行短距信号传递。Fan 和 Tessier-Lavigne 发现, 表达 Shh 蛋白的脊索与 COS 细胞诱导前体节中胚层 (presomitic mesoderm) 外植体表达生骨节标志蛋白 Pax-1 的能力在诱导者与被诱导者相距数百微米, 甚至隔以微孔滤膜时仍然存在, 因而脊索

通过 Shh 蛋白诱导生骨节形成是通过第一种方式直接进行长距信号传递的。又如,果蝇的附肢是由相应的附肢的像盘(imagina Idiscs)发育而来的,在果蝇腿像盘的前部域(anterior compartment)中 Wg 蛋白在腹部表达而 Dpp 蛋白(发育调控基因 deccapentaplegic, dpp 的产物,为 TGF β 家族的成员)在背部表达,后部域表达的 Hh 蛋白决定了这两种分子的表达域(如图 1 所示),而 Wg 和 Dpp 则作为次级信号激发像盘中央的细胞表达发育调控基因 *aristaless(al)* 和 *distal-less(dll)* 产物,因而在这里 Hh 蛋白通过第二或第三种方式进行长距与短距信号传递。由此可见,Hh 蛋白与 Shh 蛋白除了直接作用于其紧邻细胞进行短距信号传递外,它还通过直接或间接的方式进行长距信号传递。

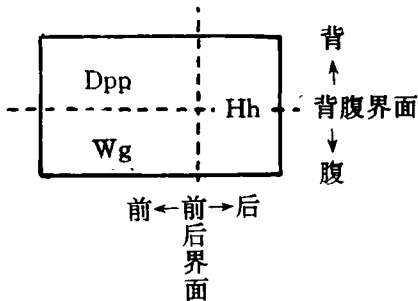


图 1 果蝇腿像盘中 Hh、Wg 和 Dpp 分布的示意图

2 Hh 蛋白信号传递的调控

研究表明,在 Hh 蛋白分泌细胞与其作用的靶细胞之间存在一个反馈环路,调节 Hh 蛋白与其靶细胞应答基因产物的产生,从而协调动物早期发育的相关事件⁵。例如,在果蝇的体节形成时,Wg 蛋白与 Hh 蛋白分别在分节单元(metameric unit)的两侧表达,这种表达状态的维持对正常体节图式的形成至关重要,当这种表达被破坏时,不能形成正常体节,而 Wg 蛋白与 Hh 蛋白的这种表达图式是通过 Wg 蛋白与 Hh 蛋白之间的表达反馈环路来维持的,当 Hh 蛋白异位表达时,伴随着 Wg 蛋白表达域的扩大^[5]。在脊椎动物附肢发育过程中,肢芽中胚层释放的 Shh 蛋白诱导肢芽外胚层产生生长因子 FGF,进而通过 Shh 蛋白与 FGF 之间表达调控的正反馈环路协调作用,维持中胚层表达 Shh 蛋白和外胚层表达 FGF,使附肢的发育按正常的图式进行。

3 Hh 蛋白信号传递的分子基础

3.1 Hh 蛋白的 N-末端肽起信号传递作用

果蝇的 hh 基因编码的原蛋白为 46KDa,在信号肽除去以后成为 39KDa 的蛋白质,随后通过一种自我催化裂解机制自动裂解成为 19KDa 的 N-末端肽和 26KDa 的 C-末端肽^[4]。Shh 蛋白在脊椎动物中的翻译后加工过程与 Hh 蛋白极为相似。N-末端肽与 C-末端肽具有不同的生化特性与分布特点:N-末端肽的氨基酸顺序较为保守,它们容易与细胞外基质相联;C-末端肽的氨基酸顺序的变异较大,它们易于在培养基中扩散^[4]。

实验表明,Hh 蛋白的 N-末端肽同时具有长距信号传递与短距信号传递的功能,而 C-末端肽则没有信号传递功能。例如,Fietz 与 Porter 等建立了分别只表达 N-末端肽与 C-末端肽的细胞系来研究它们的信号传递功能,结果证实 N-末端肽同时表现长距信号传递与短距信号传递的功能,而 C-末端肽不表现信号传递功能。这个结果与 N-末端肽氨基酸顺序的保守性正好一致。

3.2 Hh 蛋白的 C-末端肽决定着 Hh 蛋白的裂解和 N-末端肽的分布

Hh 蛋白的裂解作用对于 Hh 蛋白的信号传递功能的实现是必需的。定点突变实验分析结果表明,决定 Hh 蛋白自动裂解的关键组份在 Hh 蛋白的 C-末端肽段^[4],因此,C-末端肽的功能之一是使 Hh 蛋白自动裂解。由于 N-末端肽起信号分子作用,生物在进化过程中保留完整的 Hh 蛋白分子及其裂解机制有何生物学意义呢? Roelink 等最近的研究成果为这个问题找到了答案:他们研究了表达 Shh 蛋白的 COS 细胞所分泌的 Shh 蛋白的裂解及各段肽的分布,结果表明 COS 细胞表达的 Shh 蛋白在细胞中自动裂解成 N-末端肽和 C-末端肽,它们都被分泌出细胞,但 N-末端肽与它的分泌细胞相联而 C-末端肽则分散在整个基质中,而当 COS 细胞只表达 N-末端肽时,则它分布在整个基质中,因而说明 C-末端肽存在的生物学意义在于限制 N-末端肽在细胞外基质中的扩散,从而维持 Hh 蛋白的 N-末端肽在其分泌细胞周围的高浓

度,调控其信号传递功能。例如,在体外条件下 Shh 蛋白诱导神经板形成的浓度是运动神经元形成的五倍,因而在体内 C-末端肽保障大多数 N-末端肽保持与其分泌组织脊索的联系,从而诱导与脊索紧邻的神经管底部发育成神经板,而从脊索扩散的少量 N-末端肽以低浓度诱导神经管侧部运动神经元的产生。

4 Hh 蛋白的信号传递途径

目前,人们对 Hh 蛋白的靶细胞接收与传导 Hh 蛋白信号的机理知之甚少。一般认为,果蝇的跨膜蛋白 ptc (Patched) 是 Hh 蛋白的膜受体,因为,ptc 蛋白功能缺失会产生与 Hh 蛋白异位表达相似的表现型。然而,Hh 蛋白的功能缺失只轻微影响 ptc 蛋白功能缺失所产生的表现型,因而 Hh 蛋白可能直接或间接作用于 ptc 蛋白使 ptc 蛋白失活或抵消 ptc 蛋白的某些功能。令人振奋的是近来有不少实验结果表明 Hh 蛋白的信号传导通路 with PKA 有关^[5-9],从而将 Hh 蛋白的信号传导与主要的细胞内 cAMP 感应器 PKA 联系起来。例如,当果蝇的附肢像盘前部异位表达 Hh 蛋白时,会引起蛋白 Dpp 和 Wg 表达域的异常,导致组织类型形成的异常,当像盘前部的 PKA 功能缺失时也会产生类似的结果^[6-9]。

Hh 蛋白信号传导途径与 PKA 调控系统之间的联系究竟如何呢?从理论上讲,设想它们之间是线性调控与平行互相调控的关系都可解释有关的实验结果:若设想 Hh 蛋白或 ptc 蛋白直接通过调节 cAMP 水平而调节细胞中 PAK 的活性,进而控制像盘基因表达的图式形成,则当 PKA 功能缺失时产生实验所观察到的现象;若设想 PKA 控制像盘的图式形成是与 Hh 蛋白信号传递独立的一个系统,Hh 产生的信号抵消某些只需要基本的 PKA 活性的过程而 ptc 蛋白产生的信号增强这些过程,则亦可解释有关实验结果。因此,需更多的遗传学与生物化学分析来确定这个问题的答案。

5 小结和展望

发育调控信号蛋白 Hh 及其同源蛋白在

动物早期发育的图式形成中具有十分重要的作用。它们因具体作用不同可进行长距与短距信号传递功能。Hh 蛋白能自我催化裂解成 N-末端肽与 C-末端肽,其中 N-末端肽是信号分子而 C-末端肽则为蛋白裂解和 N-末端肽的适当分布所需要。Hh 蛋白的分泌细胞与其靶细胞之间存在一个调回路,控制着 Hh 蛋白与靶细胞应答表达的蛋白在表达量上的协调。尽管目前对 Hh 蛋白信号在其靶细胞中的传导途径仍不清楚,但已有证据表明,它与跨膜蛋白 ptc 及其依赖于 cAMP 的蛋白激酶 PKA 的表达有关,另外还有一些分子据推测与 Hh 蛋白的信号传导有关,例如,丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Fused, 转录因子 Ci-D 都与 Hh 蛋白的信号传导有关。人们有理由相信,随着研究的深入,揭示 Hh 蛋白发育调控机理的日子并非遥遥无期。

参考文献

- [1] Nusslein - Volhard, C., And Wieschaus, E. *Nature* 287, 795-801 (1980).
- [2] Smith, J. C. *Cell* 76, 193 - 196 (1994).
- [3] Perrimon, N. *Cell* 80, 517 - 520 (1995).
- [4] Lee, J. J., Ekker, S. C. et al. *Science* 266, 1528-1537 (1994)
- [5] Strutt, D. I. Wiersdorff, V. and Miodzik, M. *Nature* 373, 705-709 (1995).
- [6] Lepage, T., Cohen, S. M. et al. *Nature* 373, 711-715 (1995).
- [7] Pan, D. and Rubin, G. M. *Cell* 80, 543-552 (1995).
- [8] Jiang, J. and Struhl, G. *Cell* 80, 563-572 (1995).
- [9] Li, W., Ohlmeyer, J. T., et al. *Cell* 80, 553-562 (1995).
- [10] Perrimon, N. *Cell* 76, 781 - 784 (1994).