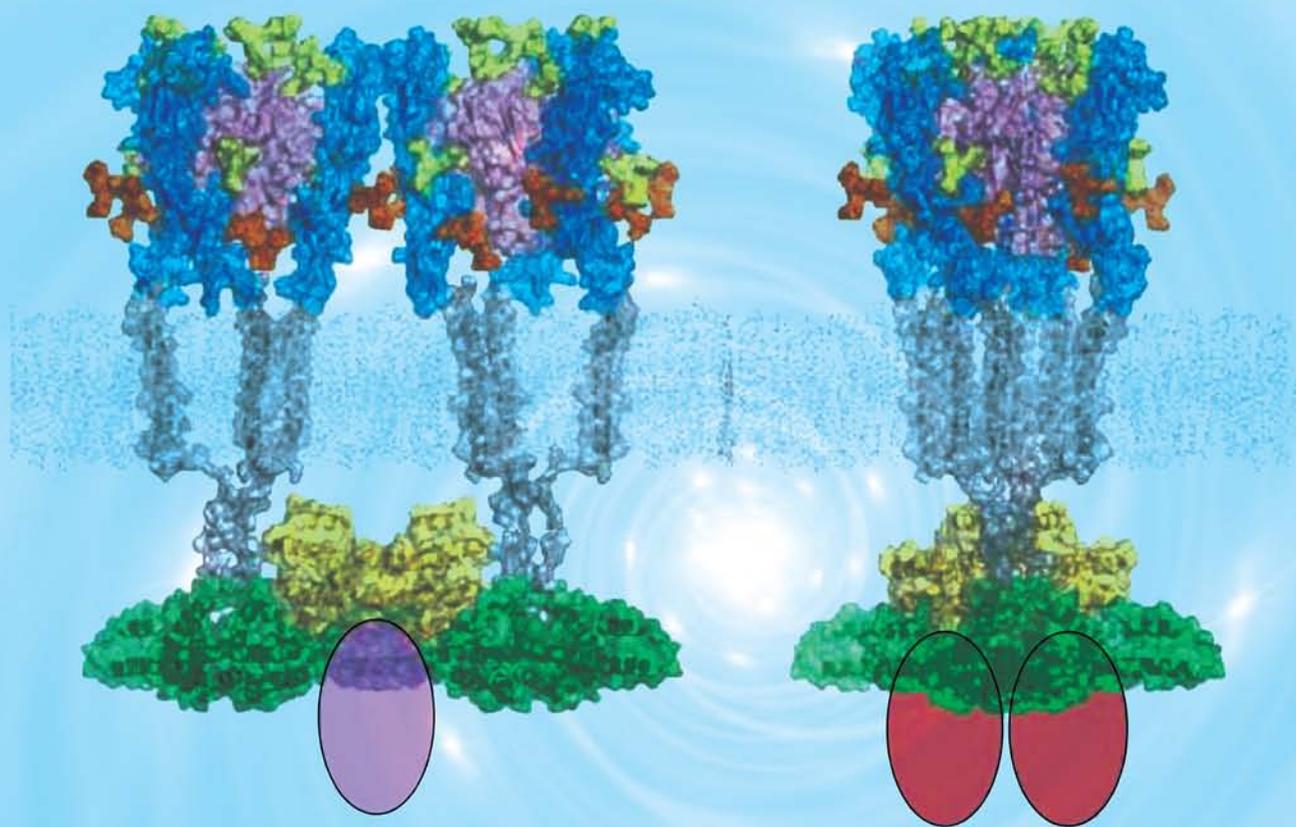


肝炎病毒·分子生物学丛书

现代细胞外基质分子生物学

(第二版)

成军 主编



 科学出版社

肝炎病毒·分子生物学丛书

现代细胞外基质分子生物学

(第二版)

成 军 主编

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书共 52 章,详细介绍了细胞外基质分子生物学、代谢调控及其与临床医学的关系;一方面,对胶原蛋白、纤维粘连蛋白、层粘连蛋白、聚合素、二聚糖、骨涎蛋白等细胞外基质成分进行了详细阐述;另一方面,对细胞外基质代谢调控相关的结构基础、基质金属蛋白酶、组织型金属蛋白酶抑制剂、细胞外基质代谢相关信号转导通路,以及细胞外基质与胚胎发育、免疫系统发育、衰老、损伤修复、硬化性心脏病、肝纤维化、肾脏疾病、肺纤维化、中枢神经系统疾病、骨关节疾病、血液疾病、肿瘤转移、皮肤疾病等进行了详细论述。

本书内容新颖、翔实、系统、全面,是细胞外基质最新进展的权威总结,适宜从事医学和生物学研究的科研工作者、研究生等参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

现代细胞外基质分子生物学 / 成军主编. —2 版. —北京:科学出版社,2012. 6
(肝炎病毒·分子生物学丛书)

ISBN 978-7-03-035018-3

I. 现… II. 成… III. 细胞外基质—分子生物学—研究 IV. Q249

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 133240 号

责任编辑:康丽涛 / 责任校对:郑金红 李 影

责任印制:刘士平 / 封面设计:范璧合

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

1999 年 6 月第 一 版 由北京医科大学、协和医科大学联合出版社出版

2012 年 6 月第 二 版 开本:787×1092 1/16

2012 年 6 月第二次印刷 印张:47 插页:8

字数:1 116 000

定价:198.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)



肝炎病毒·分子生物学丛书



学术委员会

- 庄 辉 中国工程院院士,北京大学医学部
田 波 中国科学院院士,中国科学院微生物所
斯崇文 教授,北京大学第一医院
徐道振 教授,首都医科大学附属北京地坛医院
陈菊梅 教授,中国人民解放军第 302 医院
翁心华 教授,复旦大学附属华山医院

《现代细胞外基质分子生物学》
(第二版)
编写人员

主 编 成 军

编 者 (按姓氏汉语拼音排序)

曹建彪	陈晓红	成 军	程丹颖	董金玲
董 菁	段雪飞	冯胜虎	高 萍	高学松
郭 江	郭志琴	韩聚强	鞠 威	李 敏
李 玥	李 越	李 卓	李洪杰	李文东
李蕴铤	刘 平	刘成海	刘景院	刘墨林
刘森林	刘顺爱	罗晓敏	伦文辉	欧蔚妮
全 敏	宋 蕊	王 琳	王 琦	王清兰
王晓杰	王艳斌	魏红山	温少芳	吴 亮
武会娟	肖 琳	谢 雯	谢 尧	邢卉春
闫 杰	杨 松	杨志云	张 强	张 婷
张锦前	张梦然	张泽高	赵 红	郑铁龙

肝炎病毒·分子生物学丛书

前 言

由甲型肝炎病毒(HAV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒(HDV)和戊型肝炎病毒(HEV)等五种肝炎病毒感染引起的急性和慢性肝脏疾病在全球流行,严重影响人类健康,给世界各国带来了沉重的医疗和经济负担,影响深远。最终控制由肝炎病毒感染造成的疾病流行,必须通过综合的防治措施。事实上,作为一类流行病和传染病,通过公共卫生体系和临床医疗体系的共同努力,在一定程度上做出了尝试,并取得了一系列卓有成效的业绩。但是,我们还必须清醒地看到,在世界范围内,肝炎病毒感染引起的肝脏疾病的防治仍然是医学界一项长期的重要任务。

研究肝炎病毒感染引起的急、慢性病毒性肝炎,以及肝硬化(LC)、肝衰竭(LF)和肝细胞癌(HCC),可以有很多可能的切入角度。事实上,近三十年来现代生物学和医学理论与技术的不断发展,也的确为肝炎病毒感染相关性肝病的研究提供了全新的思路。特别是20世纪70年代以来,分子生物学的理论和技术迅猛发展,为肝炎病毒及其相关的肝脏疾病研究,提供了前所未有的推动和支持。因此,在肝炎病毒及其相关的肝脏疾病研究领域中,分子生物学理论和技术的应用,显著促进了肝炎病毒及其相关肝脏疾病的研究进展;同时,这些研究的成果,也进一步丰富了分子生物学理论和技术。因此,利用分子生物学理论和技术研究肝炎病毒及其相关肝脏疾病,始终是近三十年来最为活跃的领域之一。经过三十年的不断探索,肝炎病毒及其相关肝脏疾病领域积累了丰富的研究结果,同时为肝炎病毒感染相关肝脏疾病的治疗和预防提供了新的理论和技术手段,促进了肝炎病毒感染相关肝脏疾病的治疗和预防的进步。有鉴于此,为了更好地总结和利用已经取得的成就,促进这一领域的不断进步,我们与科学出版社一起策划了由八个分册组成的“肝炎病毒·分子生物学丛书”,将陆续出版。

从肝炎病毒感染以后引起的急、慢性肝病,以及迁延不愈造成的肝硬化、肝衰竭、肝细胞癌的发生、发展整个连续的过程,可以人为地分成几个不同的层次和阶段。从病原学角度来看,用分子生物学研究肝炎病毒取得了很大成就;肝炎病毒直接的致病作用不是主要的致病机制,主要是通过免疫学机制;在细胞水平上,细胞凋亡(apoptosis)、细胞自噬(autophagy)和细胞周期(cell cycle)都参与了肝脏疾病的发病机制;肝脏炎症迁延不愈,产生过量的炎症细胞因子引起肝脏中胶原和非胶原糖蛋白代谢紊乱,逐步形成了肝脏纤维化;在诸多因素长期、相互作用的基础上,最终发展为肝细胞癌。这就是肝炎病毒相关的肝脏疾病发展的一个比较完整的过程。分子生物学理论和技术,同时也为分子生物学水平的治疗提供了前所未有的机遇,这就是基因治疗(gene therapy)。因此,为了从病原学、发病机制、细胞学变化、肝脏纤维化、肝细胞癌和分子生物学水平的治疗等阶段全面反映分子生物学理论和技术在肝炎病毒相关性肝脏疾病中的应用和进展,我们为“肝炎病毒·分子生物学丛书”设计了八个分册,即《现代肝炎病毒分子生物学》、《现代肝炎病毒分子免疫学》、《现代细胞凋亡分子生物学》、《现代细胞自噬分子生物学》、《现代细胞周期分子生物学》、《现代细胞外基质分子生物

学》、《现代肿瘤基因分子生物学》、《现代基因治疗分子生物学》。事实上,我们为这一计划已努力了18年之久。1993年,我们出版了这一系列的第一部专著《基因治疗》(学苑出版社),之后陆续出版了《现代肝炎病毒分子生物学》(人民军医出版社,1997)、《程序性细胞死亡与疾病》(北京医科大学出版社,1997)、《细胞外基质的分子生物学与临床疾病》(北京医科大学、协和医科大学联合出版社,1999)、《肿瘤相关基因》(北京医科大学、协和医科大学联合出版社,2000)。这些专著的顺利出版,为“肝炎病毒·分子生物学丛书”奠定了坚实基础。2009年,在科学出版社领导的关怀下,我们计划将八个分册陆续出齐,以形成“肝炎病毒·分子生物学丛书”的完整体系。2009年安排了《现代肝炎病毒分子生物学》(第二版)出版,2010年出版《现代细胞周期分子生物学》,2011年出版《现代肝炎病毒分子免疫学》和《现代细胞自噬分子生物学》,2012年出版《现代细胞凋亡分子生物学》(第二版)和《现代细胞外基质分子生物学》(第二版),2013年出版《现代肿瘤基因分子生物学》(第二版)和《现代基因治疗分子生物学》(第二版),从而最终完成“肝炎病毒·分子生物学丛书”八个分册的出版。在时机适当的时候,对每个分册陆续再版更新,以维持这套丛书不断更新的活力状态。

这一丛书的策划和出版,有幸得到了该领域内知名专家的肯定和鼓励。中国工程院院士庄辉教授、田波教授,肝病领域的资深专家斯崇文教授、徐道振教授、陈菊梅教授、翁心华教授欣然担任这套丛书的学术委员会委员,对这一套丛书的出版进行学术指导,从而保证了这一套丛书的学术质量。科学出版社也已将“肝炎病毒·分子生物学丛书”列为出版社的重点出版计划。相信这一计划将会取得圆满成功,丛书的出版也将会促进这一领域的进展。

这套丛书能够顺利出版,首先要感谢我的三位恩师:陈菊梅教授、斯崇文教授、Peter C. Melby教授,他们在我攻读硕士、博士学位以及进行博士后研究阶段给予了我无私帮助和悉心教育,他们的品德和修养、他们的胸怀和学识,永远是我学习的榜样。1997年我从美国得克萨斯大学完成博士后研究回国以来,在肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制研究方向上,共指导了120名硕士生、博士生及博士后研究人员。十几年的无数个日日夜夜,我们研究肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制,为之奋斗,为之痴狂,无怨无悔。感谢我的学生们的勤奋探索,使我有机会系统研究肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制。感谢无数个曾经在我人生的各个阶段给予我重要帮助的领导、师长、朋友和同事。没有他们的帮助,我就不能很好地学习和理解肝炎病毒的分子生物学致病机制,就不能很好地研究我将会为之奋斗一生的肝炎病毒和病毒性肝炎相关的课题。

一套信息量庞大的丛书的出版是一件十分艰难的事情,也是一项遗憾的艺术。面对陆续出版的分册,我们百感交集。一方面为我们取得的一点成绩而沾沾自喜,同时也为各个分册中存在的缺点乃至错误而惶恐不安。我们恳切期望本丛书的热心读者,能够直率地指出我们每一个分册中存在的问题和谬误,以便在再版时不断加以改进,共同促进分子生物学理论和技术在肝炎病毒和病毒性肝炎领域中的应用,为最终控制肝炎病毒感染及其相关的肝脏疾病而不断奋斗。



博士、教授

首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所

2010年6月于北京

第二版前言

现代生物医学的发展非常注重以细胞为基础的研究,包括细胞内生物大分子的组成和变化规律。特别是以基因为核心的分子生物学的内容,一直是现代生物研究的核心。一方面关于分子水平的变化内容受到重视,另一方面关于细胞与细胞之间的相互关系,组织、器官以及机体的赋型和功能的完成,也都是非常重要的研究内容。这样的认识,促使人们更加关注位于上皮或内皮细胞下层、结缔组织细胞周围,为组织、器官甚至整个机体的完整性提供力学支持和物理强度的物质——细胞外基质(extracellular matrix, ECM)。近年来,关于细胞外基质的种类、结构、功能、调控的研究变得非常重要。除了机体的生理功能与细胞外基质的关系不可或缺,细胞外基质在各种疾病的形成和演变中也具有非常重要的作用。因此,细胞外基质的研究已经成为生物医学领域中非常重要的研究内容和研究方向。为了全面反映细胞外基质的生物学特性及其在医学中的意义,我在早年间出版了《细胞外基质的分子生物学与临床疾病》一书。多年过去了,细胞外基质的研究进展很快,积累了很多新的内容。为了及时总结、分析细胞外基质的最新研究进展,促进细胞外基质的理论研究和实际应用,我们根据细胞外基质的最新研究成果,对第一版的内容进行了系统的更新,形成了这本《现代细胞外基质分子生物学》(第二版),与其他7本书组成了“肝炎病毒·分子生物学丛书”。

在“肝炎病毒·分子生物学丛书”中,《现代细胞外基质分子生物学》一册的内容非常独特和重要。关于细胞外基质领域的专著非常少,许多生物医学的专著中,即使涉猎细胞外基质的内容,也大多比较简略。因此,为了使读者更加全面、系统地掌握细胞外基质的研究进展,在本册的第一篇,对细胞外基质进行了概述。第二篇中对医学领域中较为重要的细胞外基质的成分逐一进行了叙述,包括每一种细胞外基质成分的结构、功能、调控、生物学特性,以及功能与疾病的关系。在第三篇中,从机体的功能和整体的角度,对细胞外基质的代谢、信号转导、细胞因子和激素对细胞外基质代谢的影响和调节,以及在细胞微环境中细胞外基质的作用进行了较为细致的叙述。细胞外基质与临床疾病的关系是本书的第四篇,包括细胞外基质与肝、肺、肾等主要实质性脏器纤维化之间的关系,损伤与修复过程中细胞外基质的作用,以及其他类型的疾病与细胞外基质变化的相互关系等。相信这些内容体现了细胞外基质研究领域中最主要的部分。同时,本书的作者大多是传染病或肝病专业的医生,特别熟悉肝纤维化的内容,对于中医药治疗肝纤维化的医学理论和临床实践也较为熟悉,因此,在西方医学目前缺乏针对脏器纤维化防治的有效手段之时,介绍这些在抗肝纤维化临床治疗中发挥着非常重要作用的中药复方,也是本书的特点之一。

第二版在上一版的基础上进行了较大的修订,力求反映细胞外基质研究领域中的最新进展和趋势,由于各位作者的认识不同,在各自章节中可能会出现叙述不尽相同、甚至存在

相互矛盾的地方,这也正反映了对细胞外基质研究和认识的一个真实的发展历程。在任何
一个研究领域中,都会存在类似的现象和过程。但是,随着研究的不断深入,资料的不断累
积,这一现象将会逐步解决。因此,在这里我谨代表全体编者对于书中的不完善之处表示歉
意,并恳请各位读者不吝赐教,指出我们的不足和谬误之处,供再版修改时参考。



首都医科大学附属北京地坛医院

2012年4月于北京

目 录

第一篇 概 论

第一章 细胞外基质概论.....	(3)
第一节 细胞外基质的分类.....	(3)
第二节 细胞外基质的结构特点.....	(7)
第三节 细胞外基质的生物学功能	(10)

第二篇 细胞外基质分子生物学基础

第二章 胶原蛋白	(17)
第一节 胶原蛋白的结构	(17)
第二节 胶原的生物合成	(21)
第三节 胶原蛋白及其亚基	(23)
第四节 胶原基因表达调控机制	(37)
第三章 纤维粘连蛋白	(43)
第一节 纤维粘连蛋白的结构	(43)
第二节 纤维粘连蛋白基因转录物的剪切	(47)
第三节 纤维粘连蛋白相关的信号转导过程	(53)
第四节 纤维粘连蛋白的生物学功能及意义	(55)
第五节 纤维粘连蛋白与相关疾病	(57)
第四章 层粘连蛋白	(68)
第一节 层粘连蛋白的分子结构	(68)
第二节 层粘连蛋白的受体及信号转导	(70)
第三节 层粘连蛋白的生物学意义	(74)
第五章 双糖链蛋白聚糖	(85)
第六章 二聚糖	(92)
第一节 概述	(92)
第二节 二聚糖与临床疾病	(95)
第七章 骨涎蛋白	(99)
第八章 软骨寡聚基质蛋白.....	(108)
第一节 软骨寡聚基质蛋白的分子结构.....	(108)
第二节 软骨寡聚基质蛋白的合成和分泌.....	(109)

第三节	软骨寡聚基质蛋白的生物学意义	(109)
第九章	弹性蛋白	(115)
第一节	弹性蛋白的基因及分子结构	(115)
第二节	弹性蛋白的基因表达及调控	(117)
第三节	弹性纤维的形成	(120)
第四节	弹性蛋白与临床相关疾病	(125)
第十章	玻连蛋白	(132)
第一节	玻连蛋白的分子结构	(132)
第二节	玻连蛋白的生物学功能	(136)
第十一章	腱生蛋白	(140)
第十二章	巢蛋白	(149)
第一节	巢蛋白的分子结构	(149)
第二节	巢蛋白分子中的位点结构	(150)
第三节	巢蛋白的基因表达与调控	(153)
第四节	巢蛋白分子的糖基化位点	(154)
第五节	巢蛋白的酶学降解	(154)
第六节	巢蛋白的生物学功能	(155)
第十三章	多能素	(158)
第一节	多能素的基因结构和蛋白结构	(158)
第二节	多能素的功能	(160)
第三节	多能素基因表达的调节	(164)
第十四章	微纤维蛋白	(169)
第十五章	纤维蛋白原	(176)
第一节	纤维蛋白原的基因结构	(176)
第二节	纤维蛋白原的蛋白结构	(177)
第三节	纤维蛋白原的生物合成	(178)
第四节	纤维蛋白原的功能	(179)
第五节	纤维蛋白原的结构和功能关系	(180)
第六节	纤维蛋白原与疾病	(182)
第十六章	纤维调节素	(188)
第十七章	基膜聚糖	(201)
第一节	基膜聚糖	(201)
第二节	基膜聚糖与肿瘤	(201)
第三节	基膜聚糖与眼部疾病	(203)
第十八章	激活第Ⅶ因子	(208)
第一节	总论	(208)
第二节	激活第Ⅶ因子与临床疾病	(209)
第十九章	血栓黏合素	(215)
第二十章	核心蛋白聚糖	(231)

第一节 核心蛋白聚糖的结构·····	(231)
第二节 核心蛋白聚糖与纤维化·····	(233)
第三节 核心蛋白聚糖与肿瘤·····	(236)
第二十一章 基底膜蛋白聚糖·····	(242)
第二十二章 骨钙素·····	(249)
第二十三章 骨连蛋白·····	(260)
第一节 骨连蛋白基因和分子结构·····	(260)
第二节 骨连蛋白的表达与调控·····	(261)
第三节 骨连蛋白的生物学功能及其与临床疾病的关系·····	(263)
第二十四章 骨桥蛋白·····	(270)
第二十五章 骨形成蛋白·····	(279)
第一节 骨形成蛋白概述·····	(279)
第二节 骨形成蛋白各论·····	(281)
第二十六章 选择素·····	(287)
第一节 选择素的分子结构及功能·····	(287)
第二节 选择素与临床疾病·····	(291)
第二十七章 整合素·····	(305)
第一节 整合素的分子结构及分布·····	(305)
第二节 整合素的生物学功能·····	(309)
第三节 整合素在生理、病理过程中的作用·····	(313)
第四节 整合素拮抗剂及其生物学作用·····	(318)
第五节 展望·····	(319)

第三篇 细胞外基质的代谢调控

第二十八章 细胞外基质代谢的结构基础·····	(323)
第一节 信号分子的糖基化修饰与间质细胞分化调控·····	(323)
第二节 糖基化修饰在干细胞向间质细胞分化过程中的作用·····	(324)
第三节 糖基化修饰与成纤维细胞凋亡调控·····	(327)
第二十九章 基质金属蛋白酶·····	(334)
第一节 基质金属蛋白酶的分类·····	(334)
第二节 基质金属蛋白酶的表达调控·····	(338)
第三节 基质金属蛋白酶的功能·····	(344)
第三十章 组织型金属蛋白酶抑制剂·····	(356)
第一节 总论·····	(356)
第二节 组织型金属蛋白酶抑制剂在肝纤维化中的应用研究·····	(362)
第三节 组织型金属蛋白酶抑制剂与肾脏疾病·····	(367)
第四节 组织型金属蛋白酶抑制剂与骨科疾病·····	(372)
第五节 组织型金属蛋白酶抑制剂与肺部疾病·····	(373)
第六节 组织型金属蛋白酶抑制剂与心血管疾病·····	(375)

第七节	组织型金属蛋白酶抑制剂与消化系统疾病	(377)
第八节	组织型金属蛋白酶抑制剂与生殖系统疾病	(379)
第九节	组织型金属蛋白酶抑制剂与眼部疾病	(382)
第十节	组织型金属蛋白酶抑制剂与其他疾病	(385)
第三十一章	细胞外基质代谢相关信号转导	(389)
第一节	TGF- β -Smad 信号系统	(389)
第二节	PPAR γ 信号系统	(397)
第三节	JAK/STAT 信号系统	(401)
第四节	Notch 信号系统	(404)
第三十二章	细胞因子与细胞外基质代谢	(409)
第一节	细胞外基质的合成及分解代谢	(409)
第二节	参与细胞外基质合成及分解代谢的细胞因子及其作用	(412)
第三节	与细胞因子相关的细胞外基质代谢疾病	(416)
第三十三章	细胞微环境与细胞外基质代谢	(423)
第三十四章	激素与细胞外基质代谢	(430)
第一节	糖皮质激素与细胞外基质	(430)
第二节	雌激素与细胞外基质	(433)

第四篇 细胞外基质与临床医学

第三十五章	细胞外基质与胚胎发育	(439)
第三十六章	细胞外基质与免疫系统发育	(449)
第一节	细胞外基质概述	(449)
第二节	免疫系统发育	(451)
第三节	细胞外基质与免疫系统发育	(455)
第三十七章	细胞外基质与衰老	(461)
第三十八章	细胞外基质与损伤修复	(472)
第一节	参与损伤修复的因素	(472)
第二节	损伤修复的过程	(477)
第三节	组织损伤修复	(482)
第三十九章	细胞外基质与心血管疾病	(488)
第一节	细胞外基质与心血管构成	(488)
第二节	细胞外基质与高血压	(493)
第三节	细胞外基质与心肌梗死	(501)
第四节	细胞外基质与动脉粥样硬化	(505)
第五节	非胶原糖蛋白与心血管疾病	(506)
第四十章	细胞外基质与肝纤维化	(512)
第一节	肝脏中的细胞外基质蛋白类型	(512)
第二节	肝脏中分泌细胞外基质的细胞类型	(516)
第三节	肝脏细胞外基质的降解	(521)

第四节	肝纤维化中的信号转导通路·····	(525)
第五节	肝纤维化研究现况·····	(530)
第四十一章	细胞外基质与肾脏疾病·····	(543)
第一节	肾小球基底膜结构成分·····	(543)
第二节	胶原与肾脏疾病·····	(550)
第三节	非胶原蛋白与肾脏疾病·····	(553)
第四节	其他细胞外基质与肾脏疾病·····	(556)
第四十二章	细胞外基质与肺纤维化·····	(562)
第一节	胶原与肺纤维化·····	(562)
第二节	非胶原糖蛋白与肺纤维化·····	(565)
第三节	弹性蛋白与肺纤维化·····	(569)
第四节	肺纤维化形成的调节·····	(571)
第四十三章	细胞外基质与中枢神经系统疾病·····	(577)
第一节	细胞外基质与神经系统·····	(577)
第二节	层粘连蛋白与中枢神经系统·····	(578)
第三节	亲玻粘连蛋白与中枢神经系统·····	(584)
第四节	促进轴突生长的细胞外基质·····	(586)
第五节	蛋白聚糖与中枢神经系统·····	(590)
第六节	短蛋白聚糖与神经系统·····	(592)
第七节	肌腱生长蛋白与中枢神经系统·····	(593)
第八节	细胞外基质与脊髓损伤·····	(594)
第九节	细胞外基质蛋白的调节与神经系统疾病·····	(595)
第四十四章	细胞外基质与骨关节疾病·····	(600)
第四十五章	细胞外基质与血液疾病·····	(613)
第一节	细胞外基质与血小板的凝集·····	(613)
第二节	细胞外基质与造血调节·····	(618)
第四十六章	细胞外基质与肿瘤转移·····	(628)
第一节	肿瘤转移的过程与途径·····	(628)
第二节	细胞外基质成分在肿瘤转移过程中的作用·····	(630)
第三节	细胞外基质受体与肿瘤转移·····	(633)
第四节	细胞外基质代谢酶与肿瘤的转移·····	(637)
第四十七章	细胞外基质与皮肤病·····	(644)
第一节	皮肤的基本结构与细胞外基质·····	(644)
第二节	皮肤结构中主要细胞外基质及其受体的生理功能·····	(646)
第三节	皮肤细胞外基质相关主要皮肤疾病·····	(652)
第四十八章	细胞因子拮抗剂与抗纤维化治疗·····	(662)
第一节	细胞因子拮抗剂与抗肝纤维化治疗·····	(662)
第二节	细胞因子拮抗剂与抗肺纤维化治疗·····	(666)
第三节	细胞因子拮抗剂与抗心肌纤维化治疗·····	(670)

第四节	细胞因子拮抗剂与抗肾脏纤维化治疗·····	(671)
第四十九章	干细胞与抗肝纤维化治疗·····	(676)
第一节	肝纤维化·····	(676)
第二节	干细胞与肝纤维化·····	(682)
第三节	间充质干细胞抗肝纤维化的机制·····	(689)
第五十章	扶正化瘀胶囊/片与肝纤维化治疗·····	(696)
第五十一章	安络化纤丸与肝纤维化、肝硬化治疗·····	(713)
第五十二章	安珙特与肝纤维化治疗·····	(723)
索引	·····	(732)
彩图		

第一篇

概 论

第一章 细胞外基质概论

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是指位于上皮或内皮细胞下层、结缔组织细胞周围,为组织、器官甚至整个机体的完整性提供力学支持和物理强度的物质。在简单的多细胞生物系统中,维系各个细胞之间的相互关系的细胞外基质,可能仅仅就是基底膜结构。在更为复杂的动物机体中,细胞外基质可有多种存在形式,如皮肤、骨、肌腱、韧带、软骨以及广泛存在的基底膜等。然而,细胞外基质不应该仅仅视为为组织和机体提供力学支持和物理强度的组织部分,因为目前的研究越来越清楚地表明,这一类型的细胞外基质,对于其所作用的细胞类型中基因表达的方式,细胞的黏附、扩散及移行等表现都有极其深远的影响。

关于判断一种分子是否属于细胞外基质的范畴,应该有一定的依据和标准。作为一种细胞外基质成分,必须是基质结构中的一种成分,起到一定的结构作用。同时,必须是作为一种完整的蛋白质分子在细胞中合成之后,再分泌到细胞外。根据这样的一个标准,插入细胞膜结构中的蛋白聚糖,以及与细胞外基质之间虽然有十分密切的关系,但又不起结构性作用的成分,都不能算是细胞外基质的类型。因为跨膜蛋白的细胞外结构位点虽然与细胞外基质之间有十分密切的关系,但其主要的生物学功能是介导跨膜的信号转导,因而只能将其归属为细胞膜受体类。有些细胞外分子与细胞外基质之间有密切关系,或只是简单地滞留于细胞外基质中,这种蛋白却不是细胞外基质的结构部分,如金属蛋白酶类、生长因子类以及白蛋白等血浆蛋白类等,也不是细胞外基质蛋白的成分。

第一节 细胞外基质的分类

根据目前细胞外基质的定义和标准,所研究的细胞外基质达 40 余种,按照其英文词的字母顺序排列,如表 1-1 所示。

表 1-1 细胞外基质蛋白的种类

聚合素(aggrecan)	VI 型胶原(collagen type VI)
二糖聚糖(biglycan)	VII 型胶原(collagen type VII)
骨涎蛋白(bone sialoprotein)	VIII 型胶原(collagen type VIII)
软骨基质蛋白(cartilage matrix protein)	IX 型胶原(collagen type IX)
软骨低聚基质蛋白(cartilage oligomeric matrix protein)	X 型胶原(collagen type X)
I 型胶原(collagen type I)	XI 型胶原(collagen type XI)
II 型胶原(collagen type II)	XII 型胶原(collagen type XII)
III 型胶原(collagen type III)	XIII 型胶原(collagen type XIII)
IV 型胶原(collagen type IV)	XIV 型胶原(collagen type XIV)
V 型胶原(collagen type V)	XV 型胶原(collagen type XV)

续表

X VI型胶原(collagen type X VI)	基质 gla 蛋白(matrix gla protein)
核心聚糖(decorin)	微原纤维相关糖蛋白(microfibril-associated protein)
弹性蛋白(elastin)	骨钙素(osteocalcin)
巢蛋白(entactin)	骨结合素(osteonectin)
微纤维蛋白(fibrilin)	骨桥蛋白(osteopontin)
纤维蛋白原(fibrinogen)	串珠聚糖(perlecan)
纤维调节素(fibromodulin)	腱生蛋白(tenascin)
纤维连接蛋白(fibronectin)	血栓黏合素(thrombospondin)
层粘连蛋白(laminin)	多能素(versican)
连接蛋白(link protein)	玻连蛋白(vitronectin)
基膜聚醣(lumican)	激活第Ⅶ因子(von Willebrand factor)

结缔组织(connective tissue)将机体其他部位的各种类型的组织结合在一起,承受运动时的冲击、维持机体各部位的形态,其主要组成成分就是不溶性的各种类型的纤维(fibre)以及一些可溶性的多聚体(polymer)蛋白质分子。主要的纤维类型当属于胶原(collagen)及弹性蛋白(elastin);主要的可溶性蛋白质分子则是一些蛋白聚糖(proteoglycan)和糖蛋白(glycoprotein)分子。不同结缔组织其结构与功能的不同,则主要是由于结缔组织中这些细胞外基质蛋白各种成分各自的含量以及所占的比例来决定的。需要承受巨大牵拉力量的结缔组织类型,如肌腱(tendon)等,含有较多的纤维性胶原(fibrillar collagen)成分;而承受巨大压力的结缔组织类型,如软骨(cartilage)等,则含有较多的蛋白聚糖分子。总的说来,细胞外基质蛋白大体上可以分为胶原、蛋白聚糖和糖蛋白三大类,但有时也将蛋白聚糖和糖蛋白分子统称为非胶原蛋白(non-collagenous protein)。

一、胶原

胶原是一个由多种糖蛋白分子组成的家族。到目前为止,至少发现了 30 余种胶原链(collagen chain)的编码基因,这些不同的胶原链,以不同的方式组合,可以形成至少 16 种以上的胶原三聚体糖蛋白分子。新的胶原链以及胶原蛋白分子类型正在不断地被发现。许多类型的胶原蛋白具有非常复杂的结构,以至于鉴定一种蛋白质分子是否属于胶原的难度也越来越大。至少有三种类型的胶原组成蛋白聚糖分子的蛋白核心成分。其他几种类型的蛋白质,如补体 C1q 和乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase)的分子结构中,也含有胶原的基本结构单位,即三螺旋(triple helix)结构形式,但这些并不属于胶原蛋白类型。因为作为一种细胞外基质蛋白的成分,必须是与细胞外基质有关的结构密切相关的成分。

1. 胶原的三螺旋结构 胶原的三螺旋结构是由 3 个 α 链(α chain)多肽组成的。每一条胶原蛋白链都是左手螺旋构型(left-handed helical configuration),三条链又相互缠绕成右手螺旋,即超螺旋(superhelix)状结构。胶原链的一级结构中,每三个氨基酸残基中就有一个是甘氨酸(glycine)残基,即为(Gly-X-Y) $_n$ 的结构形式。因为只有甘氨酸残基的侧链较小,不至于影响三螺旋结构的形成。而 X 和 Y 位点上的氨基酸残基 20~22 是亚氨基氨基

酸(imino acid)残基,即脯氨酸(proline)和羟脯氨酸(hydroproline)残基。羟脯氨酸的羟基基团(hydroxyl group)是三螺旋结构赖以形成的氢键(hydrogen bond)基团。在螺旋和非螺旋结构位点区特定部位的赖氨酸与羟赖氨酸,对于胶原链的链内和链间稳定的共价交联(covalent crosslinking)、形成超分子(supramolecule)的过程具有决定性的作用。羟赖氨酸残基位点还是潜在的糖基化位点,可以发生半乳糖化或葡萄糖半乳糖化。羟赖氨酸/赖氨酸的比例以及羟赖氨酸的糖基化修饰程度,在不同的胶原分子,或是不同组织中同一种胶原分子中都是不同的。不同胶原分子的三螺旋结构的长度不同,或者是连续型结构,或者被非螺旋结构所分割。

2. 胶原的生物合成 胶原 α 链的合成符合其他类型分泌型蛋白合成的一般规律,但有一系列特殊的翻译后加工,包括脯氨酸和赖氨酸残基的羟基化(hydroxylation)等。羟赖氨酸残基的糖基化、酪氨酸(tyrosine)的硫酸化(sulfation)、二硫键(disulphide bond)的形成、链间的结合、分泌及沉积到细胞外基质之前在非胶原位点(non-collagenous domain)区碳水化合物链以及氨基聚糖(glycosaminoglycan)链的加成(addition)等,都是胶原蛋白重要的翻译后加工形式。细胞外基质中不同类型的胶原分子及特殊的超分子结构(supramolecular structure)有不同的修饰形式。

3. 经典的纤维胶原 I、II和III型胶原称为经典的纤维形成胶原(fibril-forming collagen),占体内总胶原的80%~90%。这三种胶原在细胞内以前体形式的前胶原(procollagen)合成,结构中形成三螺旋结构的序列是连续分布的,两端都是非螺旋结构位点,即多肽前体(propeptide)区。在纤维形成(fibrillonesis)过程中,在N-或C-蛋白酶的作用下两端的多肽前体序列被水解掉,形成以三螺旋结构区为主、仅有较短的非螺旋结构区。胶原链的单体分子可以自发地形成纤维结构,每个单体分子中有234个氨基酸残基参与多聚体的形成,使其与相邻的单体分子之间产生最大的静电与疏水作用效果。这一结构方式还使得赖氨酸/羟赖氨酸残基之间,无论是在螺旋结构区还是在非螺旋结构区,相距不到0.4 D(1D相当于67 nm长),使这些氨基酸残基之间形成稳定的共价交联。非螺旋区的 ϵ -NH₂基团在赖氨酸酰氧化酶(lysyl oxidase)的催化作用下发生氧化(oxidation);螺旋区的 ϵ -NH₂与醛基(aldehyde)缩合为希夫碱基(Schiff's base)。双功能交联与另外的赖氨酸羟/赖氨酸或组氨酸(histidine)残基进行缩合,形成更为成熟的三功能交联(trifunctional cross-links)。

V型和VI型胶原虽然也划分为纤维胶原,也只是从其结构序列与I~III型胶原分子结构的同源性角度来划分的。所有其他类型的胶原分子无论是其结构还是在细胞外基质中组织的方式,都有显著的差别。最近的研究表明,或许不存在I、II或III型胶原纤维,因为有些胶原是由不同的胶原链组合而成的异形分子,甚至在I和II型胶原分子中发现有V型和XI型胶原链的掺入。IX、XII和XIV型胶原,只是结合在纤维表面上,对于胶原的反应性质具有修饰作用,因而称为三螺旋结构不连续的纤维相关胶原(fibril-associated collagen with interrupted triple helix, FACIT)。

4. 其他类型的胶原 纤维胶原与其他类型的胶原之间存在着两种类型的相互关系,但其他类型的胶原无论是结合在纤维胶原的表面还是其结构内部,都将改变纤维胶原的反应性质和能力。其他类型的胶原对于纤维胶原的影响,也随着组织类型的不同而有差别,即使是同一种类型的组织中,在不同的发育阶段,其影响也是不同的。另外,还有一些类型的胶原分子形成不同的结构形式,如IV型胶原参与三维网状结构的形成、VI型胶原形成串珠状纤

维结构、Ⅶ型胶原形成反平行二聚体(dimer)形式的锚定纤维结构、Ⅷ型胶原与六边晶格(hexagonal lattice)结构的形成有关。

二、蛋白聚糖

蛋白聚糖(proteoglycan)是由一系列相差很大的蛋白质分子组成的一个家族,其结构特点是一个核心蛋白分子,与一个或多个氨基聚糖(glycosaminoglycan, GAG)侧链(side chain)相结合。这类分子在动物细胞中广泛分布,参与一系列不同的生物学功能。蛋白聚糖分子可以存在于细胞外,与细胞膜呈结合状态,在细胞内则是以颗粒状态贮存。绝大部分的蛋白聚糖分子与细胞外基质之间有着极为密切的关系,但也有些蛋白聚糖分子与细胞外基质无关。

蛋白聚糖分子的结构不同,不仅仅是指其核心蛋白的结构不同,其氨基聚糖分子的类型和大小也不一样。在不同的发育阶段,细胞表达不同类型的蛋白聚糖分子。氨基聚糖复杂的碳水化合物类型主要包括硫酸软骨素(chondroitin sulfate, CS)、硫酸皮肤素(dermatan sulfate)、硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)、硫酸角质素(keratan sulfate)和透明质酸(hyaluronan, HA)。这些分子的共同特点是由两个不同的糖形成的双糖(disaccharide)重复序列,其中一个为己糖(hexuronate),另一个为己糖胺(hexosamine)。由于双糖键(disaccharide bond)以及硫酸化(sulfation)位置的不同,导致这些氨基聚糖链的结构不同。

1. 硫酸软骨素 一分子葡糖醛酸(glucuronic acid)与 *N*-乙酰半乳糖胺(*N*-acetylgalactosamine)之间形成 β_1-3 连接构成基本的重复单位。硫酸化位点可位于氨基团的第 4 或第 6 位置上,分别称为硫酸软骨素-4(chondroitin 4-sulphate)和硫酸软骨素-6(chondroitin 6-sulphate)。在两个位点上都发生硫酸化修饰的软骨素则更为常见。但有时也可见到两个位点都未发生硫酸化修饰或仅一个位点上发生硫酸化修饰的软骨素分子类型。

2. 硫酸皮肤素 硫酸皮肤素这种氨基聚糖分子与硫酸软骨素的分子结构是相似的,只是葡糖醛酸残基变成了艾杜糖酸(iduronic acid)残基。这种氨基聚糖分子一旦形成,可以在不同的两个位点上同时发生硫酸化修饰。糖苷键(glycosidic bond)也随之变为 α_1-3 型。因此,含有一个或多个艾杜糖酸残基的硫酸软骨素链则称为硫酸皮肤素。

3. 硫酸角质素 在硫酸角质素蛋白质的分子结构中,糖醛酸(uronic acid)残基则以半乳糖(galactose)基团所代替。重复序列就是半乳糖基团与 *N*-乙酰葡糖胺之间形成的 β_1-4 连接。每一个残基上的第 6 个位点上则发生硫酸化修饰。

4. 硫酸乙酰肝素 葡糖醛酸与 *N*-乙酰葡糖胺之间形成 β_1-4 连接。两个残基可在 *O*-或 *N*-位点上发生广泛的硫酸化修饰,糖醛酸则出现表异构化(epimerization)。

5. 透明质酸 透明质酸含有为数不定的多聚体型葡糖酸与 *N*-乙酸葡糖胺之间形成的 β_1-3 连接形式。

三、糖蛋白

在细胞外基质中,糖蛋白分子具有多种类型的功能性活性多肽位点结构,除了与细胞膜相应的受体蛋白分子进行结合以外,还与基质中其他类型的分子存在着相互作用。在矿化结缔组织中发现的细胞外基质糖蛋白分子,还与骨及牙质(dentine)中的无机成分存在着相

互作用。一些糖蛋白分子可以借助二硫键(disulphide bond)的形成或非共价结合,形成寡聚体(oligomer)形式。另外,糖蛋白基因的转录表达产物往往存在着剪切加工现象,产生一系列结构与功能十分相似的蛋白质,并组成一个家族。在糖蛋白的分子结构中,碳水化合物(carbohydrate)链与蛋白核心骨架结构共价结合,有时为 N-型,有时为 O-型,或 O-型、N-型共存。其他类型的翻译后修饰加工,还包括丝氨酸(serine)和苏氨酸(threonine)残基的磷酸化(phosphorylation)、酪氨酸(tyrosine)残基的硫酸化(sulphation)等。一些糖蛋白分子具有黏附作用,称为黏附性糖蛋白,其中纤维连接蛋白(fibronectin)就是一个典型的代表。除此之外,还包括玻连蛋白(vitronectin)、层粘连蛋白(laminin)、血栓黏合素(thrombospondin)和冯·威勒布兰德因子(von Willebrand factor)等。在这些黏附性糖蛋白的分子结构中,有一些特殊的功能与结构位点以及一些重复位点结构(repetitive motif),如纤维连接蛋白Ⅲ型位点结构以及表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)样重复序列等,都是这些黏附性糖蛋白分子中共同结构位点。这些具有黏附作用的糖蛋白分子结构中还常常含有天门冬氨酸残基的序列结构,如 RGD 三肽序列,可通过与细胞膜上相应的整合素(integrin)受体蛋白的结合,介导糖蛋白与细胞之间的黏附过程。

除了这些具有黏附作用的细胞外基质糖蛋白之外,在软骨、骨以及牙质等骨骼组织中也含有一些基质糖蛋白分子。骨相关的基质糖蛋白一个突出的特点就是其阴离子性质(anionic nature)。这是由分子结构中富含酸性氨基酸残基所决定的,如天门冬氨酸(aspartic acid)和谷氨酸(glutamic acid)等。在骨桥蛋白(ostepontin)分子结构中,某些序列片段含有连续的天门冬氨酸残基序列,而在骨涎蛋白(bone sialoprotein)中则含有连续的谷氨酸残基序列。

除了这类骨相关的基质糖蛋白分子结构中含有较多的酸性氨基酸残基决定了其带有负电荷的性质之外,其翻译后的一系列修饰过程也与其带有负电荷的性质有关。如丝氨酸残基位点发生磷酸化、苏氨酸残基位点发生磷酸化、酪氨酸残基位点发生硫酸化,这些都与整个糖蛋白所带电荷的性质有关。

第三类糖蛋白分子即弹性蛋白和与弹性蛋白沉积有关的糖蛋白。典型的为微纤维蛋白(fibrillin)和基质相关糖蛋白(matrix-associated glycoprotein, MAGP)。微纤维蛋白的异常是马方综合征(Marfan's syndrome)的一个病因,因而得到了较为广泛的重视。

细胞外基质中的糖蛋白在胚胎发育以及生后的一系列病理发生、发展过程中具有重要作用。黏附性糖蛋白予细胞的黏附及迁移过程有关,骨骼相关性糖蛋白在离子浓度的调节中具有重要作用,微纤维蛋白在弹性蛋白的沉积过程中具有重要影响。

第二节 细胞外基质的结构特点

细胞外基质蛋白是一群具有特殊结构与功能的生物大分子。其基本结构骨架还是蛋白质,是由不同的氨基酸残基组成的特殊的多肽序列。胶原是由不同的胶原链蛋白组成的一系列结构不同的三螺旋蛋白结构形式。蛋白聚糖的核心结构也是蛋白质,不过有氨基聚糖侧链的加成修饰。糖蛋白则是一些分布于不同的亚细胞部位,在 O-、N-或两种氨基酸残基位点上都发生糖基化修饰的分子类型。胶原蛋白赋予细胞外基质抗牵拉张力,蛋白聚糖则结合大量的水分,使组织具有弹性,缓冲碰撞与挤压,糖蛋白既有与细胞之间相互作用的能

力与性质,又通过蛋白-蛋白之间的相互作用,影响细胞外基质组装过程。其中最为突出的特点是有细胞外基质特征性结构位点的存在。

细胞外基质结构的突出特点就是重复序列位点结构以及功能性位点结构。在细胞外基质中存在着一系列的特征性结构位点。

1. 酸性序列结构 由连续的酸性氨基酸残基,如天门冬氨酸或谷氨酸残基组成的序列。这种酸性氨基酸残基组成的序列一般不长,但可使多肽分子带有负电荷的性质,对于离子浓度的调节起到一定的作用。

2. 过敏性毒素结构位点 过敏性毒素(anaphylotoxin)结构位点由 30~40 个氨基酸残基组成,其中包括六个半胱氨酸(cysteine)残基。在补体成分 C3a、C4a 和 C5a,以及白蛋白(albumin)的分子结构中可以发现这种过敏性毒素结构位点的存在。

3. 胶原三螺旋结构 由甘氨酸与另外两种氨基酸残基组成的三肽序列重复排列而成。即每三个氨基酸残基中即有一个甘氨酸残基,或每隔两个氨基酸残基就是甘氨酸残基,即 Gly-X-Y 三体形式的重复序列。其中 20%~22% 的 X 和 Y 位置上的氨基酸残基是脯氨酸(proline)或羟脯氨酸(hydroxyl proline)残基。羟脯氨酸残基中的羟基与三螺旋结构中的氢键(hydrogen bond)形成有关。

4. 弹性蛋白交联位点 由 10~30 个氨基酸残基组成,其中包括两个赖氨酸(lysine)残基,相距 3~4 个氨基酸残基,参与链间的交联(cross linking)。其结构形式不太清楚。

5. 弹性蛋白疏水结构位点 由 10~80 个氨基酸残基组成,其中疏水氨基酸残基所占的比例很高,特别是丙氨酸(alanine)和缬氨酸(valine)残基的比例很高。其结构不清楚。

6. 表皮生长因子结构位点 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)结构位点由 30~80 个氨基酸残基组成,其中含有 6~8 个半胱氨酸(cysteine)残基。在数种细胞外基质的蛋白质分子结构中都有表皮生长因子位点结构。关于表皮生长因子本身的结构以及凝血因子 IX(factor IX)分子结构中的表皮生长因子重复序列(EGF repeat)已得到测定。

7. 纤维蛋白原 β 、 γ 位点 纤维蛋白原(fibrinogen)即凝血因子 I(factor I)的结构位点含有大约 200 个氨基酸残基,其结构不太清楚。

8. 纤维连接蛋白 I 型重复序列 纤维连接蛋白(fibronectin, FN) I 型重复序列(type I repeat)由 40~50 个氨基酸残基组成,重复序列内部有两个二硫键(disulphide bond)。在组织型血纤维蛋白溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator, TPA)和凝血因子 XII(factor XII)的分子结构中都有纤维连接蛋白 I 型重复序列的结构位点。纤维连接蛋白等 7 个 I 型重复序列的结构已得到测定。

9. 纤维连接蛋白 II 型重复序列 纤维连接蛋白 II 型重复序列(type II repeat)又称为 Kringle 位点(Kringle domain),由大约 60 个氨基酸残基组成,重复序列的结构中含有两个二硫键结构。在组织型血纤维蛋白溶酶原激活剂以及血纤维蛋白溶酶原的蛋白质分子结构中,都存在着纤维连接蛋白 II 型重复序列的位点结构。牛精液蛋白(seminal fluid protein)的分子结构中的纤维连接蛋白 II 型重复序列的结构已得到测定。

10. 纤维连接蛋白 III 型重复序列 纤维连接蛋白 III 型重复序列(type III repeat)由 90~100 个氨基酸残基组成,但与 I 型和 II 型纤维连接蛋白的重复序列不同,其结构中并不存在着重复序列结构内的二硫键。纤维连接蛋白以及腱生蛋白(tenascin)分子结构中含有 RGD 三肽序列的两种 III 型位点结构已得到测定。纤维连接蛋白与腱生蛋白分子结构中的 III 型重

复序列位点结构与免疫球蛋白位点(immunoglobulin domain)的结构方式相似,但两种结构位点的一级结构序列的同源性却有限。

11. Gla 位点 Gla 位点是指含有一系列 γ -羧基谷氨酸(γ -carboxylglutamic acid)残基的多肽片段区。

12. 血红素结合蛋白位点 血红素结合蛋白(nemopexin)位点结构由 140~190 个氨基酸残基组成。这一段结构序列中含有三个半胱氨酸残基,其结构还不清楚。

13. X 螺旋状结构位点 与双螺旋或三螺旋结构形成的相关性链状结构位点,称为 X 螺旋(neptad coiled-coil)状结构位点,因为这段多肽序列与螺旋结构的形成有关,而且由 7 个氨基酸残基组成而得名。X 氨基酸重复序列结构中,在第 1 和第 4 个氨基酸残基位点上的氨基酸为非极性氨基酸残基,而位于第 5 和第 7 位上的氨基酸残基则为极性氨基酸残基。

14. 免疫球蛋白位点 免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)位点由 90~100 个氨基酸残基组成。在某些类型的免疫球蛋白折叠结构中,含有重复序列结构内部的二硫键结构。所有的免疫球蛋白结构位点都呈三明治(sandwich)结构,相对的片层由两段 β -链(β -strand)折叠而成。免疫球蛋白位点结构可以分为两种,即 V-型位点结构与 C-型位点结构,而且还可以进行进一步的分类。C-型位点结构中含有 7 β 链结构组成,一面由 3 个 β 链组成,另一面由 4 个 β 链组成。在 V-型位点结构中,在由 3 个 β 链组成的 2 个 β 链上有另外的氨基酸残基序列,其余与 C-型位点结构相同。各个片层之间以长短不同的环状结构相连。

15. Kunitz 蛋白酶抑制剂位点结构 Kunitz 蛋白酶抑制剂(Kunitz proteinase inhibitor)位点结构是由大约 50 个氨基酸残基组成的一段序列。这段序列中包含 6 个半胱氨酸残基,其结构还不十分清楚。

16. 层粘连蛋白 G 位点 层粘连蛋白(larninin)的 G 位点(G domain)结构由 160~230 个氨基酸残基组成,其中有 4 个半胱氨酸残基,结构不清。

17. 低密度脂蛋白受体位点 低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)受体位点结构由 40~50 个氨基酸残基组成。在这一段重复序列结构中不存在二硫键结构,其结构不清楚。

18. 外源凝集素位点 外源凝集素(lectin)位点结构由 120~130 个氨基酸残基组成。这段结构序列内部有 2 个链内二硫键结构。外源凝集素位点又称为 C-型外源凝集素(C-type lectin),因为某些蛋白质分子结构中的外源凝集素位点可以与碳水化合物(carbohydrate, C)分子进行结合,而且是钙依赖性方式。C-型外源凝集素位点的结构已经得到测定,是以大鼠的甘露糖结合蛋白(mannose-binding protein)中外源凝集素的位点进行测定的。X 射线结晶学(X-ray crystallography)分析表明,外源凝集素位点结构由 2 个区域组成,一个区域为非有序结构,而另一个则由 α -螺旋(α -helix)和 β -片层(β -sheet)结构组成的有序结构区。

19. 富含亮氨酸位点 富含亮氨酸位点(leucine-rich domain)是一个较短的多肽片段,其中含有高比例的亮氨酸残基,结构不清楚。

20. 连接蛋白位点 连接蛋白位点(link-protein domain)含有 70~80 个氨基酸残基,其中有 4 个半胱氨酸残基。在 CD44 分子中存在着这种连接蛋白位点结构,其结构还不清楚。

21. 富含赖氨酸/脯氨酸位点 富含赖氨酸/脯氨酸位点(lysine/proline-rich domain)

因其含有高比例的赖氨酸(lysine)残基和脯氨酸(proline)残基而得名。其结构不清楚。

22. 卵黏蛋白位点 卵黏蛋白位点(ovomucoid domain)由 55 个氨基酸残基组成,其中包括 6 个半胱氨酸残基。卵黏蛋白结构位点在几种类型的丝氨酸蛋白酶抑制剂(serine proteinase inhibitor)的分子结构中都有存在,其结构还不清楚。

23. PARP 位点 PARP 位点(PARP domain)是指富含脯氨酸、精氨酸残基蛋白(proline and arginine-rich protein, PARP)的结构位点。这一位点结构由 210 个氨基酸残基组成,其结构不清楚。

24. 备解素位点 备解素位点(properdin domain)含有大约 50 个氨基酸残基,其中 6 个是半胱氨酸残基。在补体成分 C6 和 C9 蛋白质的分子结构中含有这种备解素位点结构序列,其结构不清楚。

25. 转化生长因子 β_1 受体重复序列位点 转化生长因子 β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF- β_1)受体重复序列位点由 70~80 个氨基酸残基组成,其中含有 8 个半胱氨酸残基。其结构不清楚。

26. 血栓黏合素 III 位点 血栓黏合素 III(thrombospondin III, TSP III)位点结构由 20~40 个氨基酸残基组成,其中包括两个半胱氨酸残基。结构不清楚。

27. 甲状腺球蛋白位点 甲状腺球蛋白(thyroglobulin)位点由 30~40 个氨基酸残基组成,含有几个为数不定的半胱氨酸残基。结构不清。

28. 富含硫酸酪氨酸的位点 富含硫酸酪氨酸的位点(tyrosine sulphate-rich domain)因其结构中含有几个硫酸化修饰的酪氨酸残基位点而得名。

29. 冯·威勒布兰德因子 A 位点 冯·威勒布兰德因子 A(von Willebrand factor A, vWFA)位点结构由 190~230 个氨基酸残基组成,但其序列中没有链内二硫键(intra-chain disulfide bond)结构。在许多种类型的蛋白质分子中,都有这种冯·威勒布兰德因子 A 的位点结构。其结构还不十分清楚。

30. 冯·威勒布兰德因子 B 位点 冯·威勒布兰德因子 B 位点由 25~35 个氨基酸残基组成,其中含有几个半胱氨酸残基,结构不清楚。

31. 冯·威勒布兰德因子 C 位点 冯·威勒布兰德因子 C 位点又称为前胶原位点(procollagen domain),大约由 70 个氨基酸残基组成,也含有几个半胱氨酸残基,结构不清楚。

32. 冯·威勒布兰德因子 D 位点 冯·威勒布兰德因子 D 位点结构由 270~290 个氨基酸残基组成,其中含有几个半胱氨酸残基,其结构也不十分清楚。

第三节 细胞外基质的生物学功能

机体是由器官(organ)、组织(tissue)和细胞(cell)组成的。不同的器官、不同的组织,是由不同的细胞来组成的。细胞外基质将这些不同类型的细胞集合在一起,使其构成不同的组织和器官。没有细胞外基质的参与,就不能构成一个机体。因此,细胞外基质也具有十分重要的生物学功能。细胞外基质不仅赋予机体物理性特征,为全身的各种细胞提供附着的支架组织,而且对于维持这些细胞的生物学功能具有深远的影响。

一、细胞外基质的物理学功能

细胞外基质是构成骨(bone)、软骨(cartilage)、韧带(ligaments)、皮肤、头发、各种器官包膜以及各种实质器官的基底膜的主要成分。因此,细胞外基质成分构成的这些类型的组织、器官在维持机体结构的完整性,为机体提供支架结构方面具有十分重要的功能。细胞外基质在维持各种器官的形态以及其物理学特征方面,也有十分重要的作用。如肺中由纤维连接蛋白以及层粘连蛋白等组成的基底膜结构,是肺上皮细胞与内皮细胞附着的支架结构,便于气体交换。同时,其中的弹性纤维结构部分,又赋予肺组织的高度弹性,使其随着呼吸的变化而收缩与舒张,完成呼吸动作,达到气体交换之目的。皮肤及实质脏器周围由细胞外基质蛋白组成的屏障结构,既防止机体在运动过程中造成脏器的过度震荡而受到损伤,又能作为缓冲屏障结构,防止在突然外力的冲击下发生损伤。实际上,机体的运动功能大部分都是由细胞外基质蛋白所构成的组织、器官来完成的。

二、细胞外基质是由细胞分泌表达的

所有的细胞外基质蛋白都是由细胞合成并分泌到细胞外,在经过一系列的加工、修饰,构成特殊类型的组织和器官。绝大部分的细胞外基质蛋白都是作为一种蛋白质前体分子分泌到细胞外。因为这些细胞外基质蛋白都是可分泌型的蛋白质,因而其氨基末端都毫无例外地有一段由 20 个左右氨基酸残基组成的信号肽序列。细胞外基质蛋白的修饰加工包括糖基化(glycosylation)、磷酸化(phosphorylation)、硫酸化(sulphation)、末端肽序列的切除、二硫键(disulphide bond)的形成、链内交联(intrachain cross linking)、链间交联(interchain cross linking)、二聚体(dimer)、三聚体(trimer)、四聚体(tetramer)等多聚体结构的形成等。

三、细胞外基质对于细胞功能的影响

细胞外基质不仅仅为各种类型的细胞提供支架结构与附着位点,而且反过来对于细胞的黏附、迁移、增殖、分化以及基因表达的调控具有重要的作用和显著的影响。一方面,在发育过程中有助于正常组织和器官的形成,而且在病理状态下参与修复过程。同时,细胞外基质与主要脏器的纤维化有关,而且与肿瘤细胞的转移有关。

1. 细胞外基质与细胞的黏附过程 细胞与细胞外基质之间的结合过程,不是被动的,而是主动的;不是随机的,而是一种特异性的过程。细胞与细胞外基质之间的结合,不仅仅为细胞的附着提供一个物理位点,而且还触发跨膜信号转导(signal transduction),对于细胞的基因表达及细胞表型和功能产生显著的影响。细胞外基质蛋白分子结构中具有与细胞结合的位点,称为细胞黏附位点(cell adhesion site)。细胞黏附位点与细胞膜上相应的受体相结合,这是细胞外基质与细胞之间进行结合的一般方式。

骨涎蛋白(bone sialoprotein, BSP)分子结构中的细胞黏附位点位于 286~288 氨基酸残基之间,称为 RGD 位点,这是与细胞黏附过程密切相关的结构位点。在巢蛋白(entactin)、纤维蛋白原(fibrinogen)、纤维连接蛋白、骨桥蛋白(osteopontin)、血栓黏合素-1(thrombospondin 1, TSP1)、玻连蛋白、冯·威勒布兰德因子等结构中都有 RGD 或类似的位点序列。

2. 细胞外基质与细胞的迁移过程 细胞外基质与细胞膜上相应受体之间的相互作用,决定了细胞迁移(migration)过程。与细胞迁移有关的细胞膜上的受体分子,主要是整合素这种细胞表面的黏附性受体蛋白分子。每一种整合素分子都是由 α 和 β 亚单位组成的异二聚体(heterodimer)分子形式,两者之间以1:1的比例共价结合。到目前为止,已鉴定了20余种不同类型的整合素分子,与纤维连接蛋白、层粘连蛋白、玻连蛋白和胶原蛋白之间都存在着结合功能。

在多细胞生物的发育过程中,许多发育过程和步骤都涉及细胞向新的位点迁移的过程。在形态学发生过程中,由纤维连接蛋白以及其他类型的具有黏附作用的生物大分子,构成了细胞黏附与迁移的主要基质结构。尽管各个胚胎之间有所差别,但一般来说,阻断由整合素介导的细胞迁移,会阻断胚胎原肠胚的形成(gastrulation)。含有RGDS序列的合成多肽、抗整合素抗体的Fab片段、抗纤维连接蛋白的抗体,单独情况下都可以抑制细胞迁移过程。如果细胞内注射 β 整合素亚单位胞质位点特异性的单克隆抗体或者抗体的Fab片段,都可以打乱细胞基质的装配。进一步证实整合素在细胞迁移过程中的重要作用。

细胞在纤维连接蛋白上的迁移过程,需要RGD和其他协同的结构位点。针对RGD和协同作用位点的单克隆抗体,都能抑制细胞的移行过程。以能与 β 整合素片段的抗体或含有RGD序列的多肽,都能在体外抑制正常细胞与肿瘤细胞的迁移过程。含有RGD多肽的抑制效应仅仅是部分性的。对于细胞迁移的抑制过程,其作用机制在多数情况下是破坏了整合素与纤维连接蛋白之间的相互作用。

3. 细胞外基质与细胞的增殖过程 细胞外基质蛋白的某些类型具有促有丝分裂素(mitogen)的功能,可以促进细胞的增殖(proliferation)活动。如在神经细胞增殖过程的早期阶段,神经上皮细胞(neuroepithelial cell)对于成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)的作用十分敏感。FGF对于体外培养的神经上皮细胞的作用之一,就是能够促进这种细胞层粘连蛋白(laminin)表达水平的升高。以Northern blotting杂交技术证实,受到FGF刺激作用的细胞中,层粘连蛋白 β_1 和 β_2 链的mRNA表达水平都显著升高。随着前体细胞群具有不同的主要组织相容性I型抗原(major histocompatibility class I antigen)表达,又可分为前体细胞群与胶质细胞群,而只有分化为胶质细胞的细胞亚群,才具有层粘连蛋白的合成能力。因而推测FGF对于神经上皮细胞的主要作用就是促进其层粘连蛋白的合成与释放能力,以旁分泌(paracrine)的方式,进一步刺激神经细胞的分化(differentiation)。在一项研究中还发现,视网膜中的神经前体细胞与其下层的细胞外基质之间保持持续的接触,对于维持神经前体细胞的增殖状态具有十分重要的意义。

4. 细胞外基质与细胞的分化过程 神经系统的发育过程是一个非常复杂的过程。神经细胞的分化,在很大程度上取决于神经细胞与环境中各种活性分子之间的相互作用。利用体外细胞培养系统,鉴定了一系列的可溶性神经营养因子,诸如神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、膜结合型细胞黏附分子(cell adhesion molecule, CAM)以及细胞外基质等。近年来,在神经元周围环境中鉴定发现了对于神经轴突(neurite)生长具有促进作用的细胞外基质蛋白分子及其膜表面的受体蛋白分子。层粘连蛋白、纤维连接蛋白以及胶原蛋白等基质蛋白成分,都具有促进体外培养的神经元的轴突生长的功能。

大鼠的嗜铬细胞瘤(pheochromocytoma)细胞系PC12是研究神经元细胞分化过程的一个重要模型。以NGF进行长时间的刺激之后,PC12细胞发生有丝分裂阻滞(mitotic ar-

rest),从形态学以及生物化学等方面进行分化,表现为交感神经元(sympathetic neuron)的特征。由 NGF 刺激之后,使 PC12 细胞能够在无血清培养基中存活,因而可以对单个的细胞外基质蛋白对于细胞黏附以及轴突生长的影响进行逐一研究。一系列的研究表明,PC12 细胞受到 NGF 的刺激作用之后,PC12 细胞及其生长的轴突可以有效地与层粘连蛋白、I 型和 IV 型胶原以及纤维连接蛋白等进行黏附结合。经 NGF 处理之后,如果在含有血清的培养基中,PC12 细胞的轴突可以在未进行包被的塑料细胞培养皿的表面上伸展,提示血清中即含有能够促进神经元轴突生长的细胞外基质蛋白分子。

目前已积累的研究资料表明,每一种类型的细胞外基质蛋白都可以被一种整合素受体蛋白所识别。在细胞外基质蛋白分子结构中,已鉴定出几种不同的与整合素结合有关的结构位点,其中最为重要的是纤维连接蛋白 III 型重复序列(type III repeat)结构位点。这一与整合素受体结合有关的位点结构,存在于一系列的细胞外基质糖蛋白分子中的序列结构中。纤维连接蛋白的 III 型重复序列含有 RGDS 四肽序列,这是纤维连接蛋白细胞黏附作用有关的主要结构位点。在冯·威勒布兰德因子、血栓黏合素和玻连蛋白的蛋白质分子结构中都有 RGD 三肽序列,这是这些细胞外基质糖蛋白与细胞膜上相应的整合素受体进行结合的重要结构位点。对于 PC12 细胞来说,RGDS 序列结构是纤维连接蛋白与 PC12 细胞进行结合并促进 PC12 细胞轴突生长的主要结构位点。含有这段 RGDS 的合成多肽,可以抑制 NGF 刺激的 PC12 细胞在纤维连接蛋白包被的培养皿上的形态学分化过程。

利用 PC12 细胞系的体外培养模型,证实玻连蛋白是血清中促进 PC12 细胞轴突生长的主要蛋白质成分。在含有 10% 牛血清(fetal calf serum, FCS)培养基中,PC12 细胞受到 NGF 的刺激以后,可以进行分化。对于血清中的混合蛋白质成分进行分离纯化,再研究不同的蛋白质成分对于 PC12 细胞轴突生长的促进作用进行研究比较,证实含有玻连蛋白的蛋白组分对于 PC12 细胞轴突的生长具有促进作用。因此,认为 FCS 中的玻连蛋白是其中促进 PC12 细胞轴突生长的主要蛋白质成分。以层析法从 FCS 中纯化到玻连蛋白以及纤维连接蛋白,只有前者才具有促进 PC12 细胞轴突生长的作用。像其他类型的含有 ROD 的多肽分子一样,玻连蛋白促进 PC12 细胞轴突生长的结构位点也是 RGD 三肽结构序列。

(成 军)

参 考 文 献

- Badylak SF, Weiss DJ, Caplan A, et al. 2012. Engineered whole organs and complex tissues. *Lancet*, 379(9819):943~952.
- Brockbank KG, Rahn E, Wright GJ, et al. 2011. Impact of hypothermia upon chondrocyte viability and cartilage matrix permeability after 1 month of refrigerated storage. *Transfus Med Hemother*, 38(6):387~392.
- Emanuele E, Bertona M, Altabas K, et al. 2012. Anti-inflammatory effects of a topical preparation containing nicotinamide, retinol, and 7-dehydrocholesterol in patients with acne: a gene expression study. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 5: 33~37.
- He W, Qu T, Yu Q, et al. 2012. Lipopolysaccharide enhances decorin expression through the toll-like receptor 4, myeloid differentiating factor 88, nuclear factor-kappa B, and mitogen-activated protein kinase pathways in odontoblast cells. *J Endod*, 38(4):464~469.
- Hirose Y, Saijou E, Sugano Y, et al. 2012. Inhibition of stabilin-2 elevates circulating hyaluronic acid levels and prevents tumor metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109(11):4263~4268.
- Huang P, Rani MR, Ahluwalia MS, et al. 2012. Endothelial expression of TNF receptor-1 generates a proapoptotic signal

- inhibited by integrin $\alpha 6 \beta 1$ in glioblastoma. *Cancer Res*, 72(6):1428~1437.
- Kuo JJ, Wang CY, Lee TF, et al. 2012. Paeoniae radix reduces PDGF-stimulated hepatic stellate cell migration. *Planta Med*, 78(4):341~348.
- Lamers E, Te Riet J, Domanski M, et al. 2012. Dynamic cell adhesion and migration on nanoscale grooved substrates. *Eur Cell Mater*, 23:182~194.
- Lee HK, Park SJ, Oh HJ, et al. 2012. Expression pattern, subcellular localization, and functional implications of ODA M in ameloblasts, odontoblasts, osteoblasts, and various cancer cells. *Gene Expr Patterns*, 12(3~4):102~108.
- Lee SJ, Park SS, Kim WJ, et al. 2012. Gleditsia sinensis thorn extract inhibits proliferation and TNF- α -induced MMP-9 expression in vascular smooth muscle cells. *Am J Chin Med*, 40(2):373~386.
- Loers G, Makhina T, Bork U, et al. 2012. The interaction between cell adhesion molecule L1, matrix metalloproteinase 14, and adenine nucleotide translocator at the plasma membrane regulates L1-mediated neurite outgrowth of murine cerebellar neurons. *J Neurosci*, 32(11):3917~3930.
- Martin A, Quarles LD. 2012. Evidence for FGF23 involvement in a bone-kidney axis regulating bone mineralization and systemic phosphate and vitamin D homeostasis. *Adv Exp Med Biol*, 728:65~83.
- McCarty SM, Cochrane CA, Clegg PD, et al. 2012. The role of endogenous and exogenous enzymes in chronic wounds: A focus on the implications of aberrant levels of both host and bacterial proteases in wound healing. *Wound Repair Regen*, 20(2):125~136.
- Mohar DS, Barseghian A, Haider N, et al. 2012. Atherosclerosis in chronic kidney disease: lessons learned from glycation in diabetes. *Med Clin North Am*, 96(1):57~65.
- Xu X, Jha AK, Harrington DA, et al. 2012. Hyaluronic acid-based hydrogels: from a natural polysaccharide to complex networks. *Soft Matter*, 8(12):3280~3294.
- Yhee JY, Kim SA, Koo H, et al. 2012. Optical imaging of cancer-related proteases using near-infrared fluorescence matrix metalloproteinase-sensitive and cathepsin B-sensitive probes. *Theranostics*, 2(2):179~189.
- Yilmaz A, Gedikbasi A, Sevketoglu E, et al. 2012. Urine endothelin-1 levels as a predictor of renal scarring in children with urinary tract infections. *Clin Nephrol*, 7(3):219~224.
- Zhao W, Li JJ, Cao DY, et al. 2012. Intravenous injection of mesenchymal stem cells is effective in treating liver fibrosis. *World J Gastroenterol*, 18(10):1048~1058.
- Zhao X, Hadjiargyrou M. 2011. Induction of cell migration in vitro by an electrospun PDGF-BB/PLGA/PEG-PLA nanofibrous scaffold. *J Biomed Nanotechnol*, 7(6):823~829.
- Ziane S, Schlaubitz S, Miraux S, et al. 2012. A thermosensitive low molecular weight hydrogel as scaffold for tissue engineering. *Eur Cell Mater*, 23:147~160.

第二篇

细胞外基质 分子生物学基础