

子宫珠蛋白的结构与功能*

张 键 段恩奎**

(中国科学院动物研究所生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080)

摘要 子宫珠蛋白 (UG) 是类固醇激素诱导的、进化保守的多功能蛋白, 从其基因结构、蛋白质结构、分布调节、合成的机制及其功能等方面来看, UG 通过其假定受体介导自分泌和旁分泌途径发挥作用, 它可能属于细胞因子/趋化因子家族, 关于 UG 结构、调节和功能的阐明将为揭示人类一般疾病、探索胚胎植入奥秘以及研究肿瘤发生机制提供新的认识。

关键词 子宫珠蛋白, 细胞因子, 胚胎植入, 肿瘤发生

学科分类号 Q492.1, Q516

子宫珠蛋白 (uteroglobin, UG)^[1], 又称胚泡激肽 (blastokinin)^[2], 是一种低分子量分泌蛋白, 最早发现于兔的子宫, 也存在于不同动物 (人^[3]、猪等) 及不同器官 (如肺和前列腺) 中。UG 是一同源二聚体蛋白, 多种动物 UG 的核苷酸及蛋白质序列已被测出。人的 UG 由染色体 11q12.3-13.1 上的单一拷贝基因编码, 这一区域是在许多癌症中被经常重排和删除的区域^[4,5]。尽管 UG 从被发现至今已有 30 余年, 但研究者们对它的研究热情仍在升高。本文拟就 UG 的基因结构、蛋白质结构、UG 的分布调节及其功能等方面的研究进展加以综述。

1 UG 基因结构

UG 前体 mRNA 全长 600 bp, 5' 端有 47 bp 非翻译区, 3' 端有 142 bp 非翻译区。兔 UG 基因全长 3 kb, 由 3 个外显子组成, 分别是 103 nt、188 nt、174 nt, 由 2 个内含子分开, 分别为 2 270 nt 和 332 nt^[6,7]。外显子-内含子连接规范, 而假定的 TATA box 不典型, 序列为 GAATACAAA (- 34 bp → - 24 bp), 其他两个富含 A/T 区域也在上游。

MKLAITLALVTLALLCSPASA

1

GICPRFAHVIENTLLGLTPSSYETSLKEFEPDDTMKDAGMQMKKVLDSLPTTRENIM

58

KLTEKIVKSPLCM

Fig. 1 Amino acid sequences of the pre-UG for rabbit

图 1 兔子子宫珠蛋白前体氨基酸序列

5' 侧翼区的两个片段 (- 2 946 bp → - 2 605 bp 和 - 2 568 bp → - 1 842 bp) 和第一个内含子中 (+ 197 bp → + 1 054 bp) 具有孕酮结合位点。在 UG 基因主要转录起始位点的 2.6 kb 上游, 有 3 个糖皮质激素受体结合位点。在假定受体结合位点与 UG 启动子之间的 2.6kb 区域, 没有足够的读框编码其他蛋白^[8]。UG 基因是单拷贝基因, 每个单倍体基因有 1~ 3 个拷贝。

2 蛋白质结构

1977 年 UG 被纯化为均一的分子, 其蛋白质具有几种不同的晶态形式: C222₁、P2₁2₁2 和假-P2₁2₁2 氧化形式。其多肽链的整体折叠以及四级结构 (3 种晶态形式) 很相似, 但细节上有区别。在 C222₁ 形式中, UG 是二聚体, 由两条相同的反向平行的 70 个氨基酸残基的多肽链组成, 每条链的 Cys3 和 Cys69 形成二硫键 (图 1)。每个单体包含有 4 个 α 螺旋节段和一个 β 折叠 (Lys26 到 Glu29), 部分 N 端被掩盖, 而 C 端暴露于溶剂中。二聚体呈球状, 两条链间的中心有相当大的疏水口袋, 两条链间有氢键, 在二硫键被还原和羧甲基化后, 二聚体仍相当稳定^[8]。

* 国家重点基础研究专项 (G1999055903)、国家“九五”攀登计划 (970211019-3)、中国科学院“百人计划”和知识创新工程经费资助。

** 通讯联系人。 Tel: 010-62631831, E-mail: duane@panda.ioz.ac.cn

收稿日期: 2000-09-18, 接受日期: 2000-11-03

与孕酮及相关化合物结合是UG的特性。类固醇分子的A/B环反式构型、二硫键的还原以及Cys、Tyr和Lys残基对于UG与孕酮结合是必需的。雌激素、雄激素和皮质类固醇不与UG结合。另外,经UG二聚体分子表面的一种直接计算发现,UG与磷脂酶A₂(phospholipase A₂, PLA₂)之间具有结构同源关系,UG还与Ca²⁺结合蛋白家族有关。

3 分布、调节及合成的机制

UG存在于子宫及其他一些器官(如支气管树)。免疫细胞化学结果表明,在产生UG的器官中,只有一些选择性的上皮细胞真正合成这种蛋白质,如子宫内膜无纤毛细胞和支气管克拉拉细胞^[9]。放射免疫分析(radioimmunoassay, RIA)、蛋白质印迹(Western blot)、孕酮结合以及PLA₂抑制法研究显示,UG蛋白还存在于小鼠的血液和尿中。

在不同器官,类固醇对UG合成的调节作用也不同。妊娠早期第3天可在子宫液中检测到UG,之后,子宫分泌物中UG含量不断增加,第4天到5天之间出现高峰,然后下降。第10天,几乎检测不到UG。在子宫内膜中,UG基因表达处于双重激素控制之下,由孕酮和雌二醇通过其各自的受体而发挥作用,并依赖于动物的发育状态和不同的分泌状态(去卵巢和非去卵巢)。单独给予雌二醇或单独使用孕酮,均可增加子宫液内UG mRNA及蛋白质含量。孕酮和雌激素共同处理后,UG得以高效合成^[10]。另外,催乳素能够增强孕酮的作用^[11],雄激素通过孕酮受体也能刺激子宫内膜UG的合成,输卵管内UG的合成只由雌二醇刺激;在肺中,糖皮质激素能刺激UG合成增加3倍。

研究表明,卵巢类固醇可能从3个层次上调节兔UG的产生和分泌:a.通过影响子宫内膜细胞的细胞周期;b.调节子宫上皮细胞的细胞转录活性和/或RNA加工活性;c.修饰UG基因转录率^[12]。

4 UG的功能

4.1 UG可抑制PLA₂的活性

研究表明,UG能够抑制猪胰腺PLA₂的活性,并抑制RAW26.7鼠巨噬细胞的3种PLA₂活性。脂皮质蛋白是PLA₂的抑制剂,结合于PLA₂膜,

使酶失活。UG和脂皮质蛋白具有相似的结构,它们的活性区域的三维结构极具相似性,为此,PLA₂抑制剂(UG和脂皮质蛋白)可能具有相似的作用机制^[13]。

4.2 UG对预防小鼠IgA肾病是必需的

目前,IgA肾病的分子机制仍不清楚,它的病变特征包括:血尿,血循环中高水平的UG-纤粘连蛋白(FN)复合物,以及补体C3, FN,胶原蛋白和IgA在肾小球中的沉积。两组缺乏抗炎蛋白UG的小鼠模型(基因敲除和反义转基因)显示,实验小鼠几乎都表现为人IgA肾病的病理特征。进一步研究证实, FN-UG异质,可预防FN和胶原蛋白沉积,也防止IgA-FN复合物的形成及其与肾小球细胞的结合。除此而外,UG在无UG蛋白的小鼠中可防止肾小球内过多的IgA积聚。这些结果都充分说明了UG预防小鼠IgA肾病的必要性^[14]。

4.3 UG在胚胎植入期的作用

胚胎和子宫同步发育是胚胎植入调节的基础。子宫基质细胞发生蜕膜化的过程类似于炎症反应,一些被看作是介导炎症的调节物,如具有抗炎和免疫抑制作用的PLA₂抑制蛋白——UG,有可能介导植入。UG与孕酮或其类似物结合,作为子宫和胚泡之间的孕酮运载体,从而,使孕酮在围植入期子宫腔内维持较高孕酮浓度。在植入期间,孕酮诱发的UG分泌入子宫腔,UG交联到精子和卵裂球表面,具有一种对这些细胞抵抗母体巨噬细胞的保护性机制。当附睾的精子与卵裂球单独同UG或UG与转谷氨酰胺转移酶(transglutaminase, TG)共同预温育,然后用于竞争母体淋巴细胞时,淋巴细胞反应明显被抑制^[15]。受孕和着床期间, TG和UG在精子和发育中的胚胎上具有生理性抗原隐蔽作用。在植入期间依赖孕酮的分泌物UG分泌到子宫腔中可能具有3个主要功能:a.在子宫内膜植入区域不直接参与抑制前列腺素类的产生;b.在植入位点调节子宫内膜和胚泡前列腺素类的合成;c.阻碍有损植入胚泡的母体炎症和/或免疫反应^[16]。

4.4 UG与肿瘤

研究表明, hUG可通过一种高亲合性细胞表面结合位点抑制细胞侵入^[17]。体外人工基膜观察到hUG显著抑制人滋养层和NIH 3T3细胞的侵入,但对人绒毛膜癌细胞无抑制侵入的作用。在人的滋养层细胞和NIH 3T3细胞中具有高亲合性、

高分子质量 (大约 190 ku) 以及非糖基化的 hUG 结合蛋白, 而在人绒毛膜癌细胞上则没有. 由此推断: a. hUG 在调节细胞侵入中起到非常重要的作用, 至少部分通过未被确认的细胞表面结合位点而发挥作用, b. UG 蛋白家族的大量生物活性可能是通过这个结合位点来调节的.

近来发现, UG 通过正常和癌细胞表达的高亲和性结合蛋白抑制细胞外基质的侵入^[18]. 研究者惊奇地发现, 除了 190 ku 的 UG 结合蛋白之外, 尚有另外一种分子质量为 49 ku 的蛋白可以与还原型 UG 呈高亲和性和特异性结合. 在未转化的 NIH 3T3 和一些小鼠癌细胞 (如肥大细胞瘤, 肉瘤和淋巴瘤) 中可以检测到 49 ku 和 190 ku 蛋白, 而在其他细胞 (如纤维肉瘤) 中则检测不到这两种结合蛋白. 更有趣的是, 用还原型 UG 对表达结合蛋白的细胞进行预处理, 可显著抑制细胞外基质侵入, 而这种处理对缺乏 UG 结合蛋白的纤维肉瘤细胞并无作用. 应用特异的细胞因子 (IL-6) 和其他激动剂 (脂多糖) 处理 NIH 3T3, 引起¹²⁵I-UG 结合的增高, 但是, 用血小板源生长因子、肿瘤坏死因子- α 、干扰素- γ 和佛波醇等处理上述细胞, 则不会改变 UG 的结合.

另有研究发现, 通过超表达子宫珠蛋白基因, 可使癌细胞缺失转化表型^[5]. 尽管人 UG 基因 hUG 的高表达是许多器官粘膜上皮细胞的共同特点, 但在腺癌以及源于同一器官的滤过性毒菌引起的转化上皮细胞中, hUG 的表达急剧下降或完全消失. 同样, UG 基因敲除的小鼠有 100% (16/16) 出现恶性肿瘤, 然而同窝出生的野生型小鼠都很健康. 因此, hUG 通过受体介导、自分泌或旁分泌途径逆转癌细胞的转化表型, 可能具有肿瘤抑制因子样效用.

综上所述, 子宫珠蛋白 (或胚胎激肽) 这种类固醇激素诱导的、进化保守的多功能蛋白, 由所有哺乳动物的粘膜上皮细胞分泌, 存在于血液及包括尿液在内的其他体液中. 因为 UG 通过一种目前还不十分清楚的假定受体介导途径发挥作用, 其受体的分子鉴定及通过受体通路的信号转导均表明这种蛋白质可能属于一种新的细胞因子/趋化因子家族^[19], 但是 UG 的作用机制可能更加复杂, 需要进一步研究. 此外, UG 在植入期间保护胚胎免受母体免疫排斥和炎症反应, 以及高亲和性 UG 结合蛋白能抑制细胞外基质的侵入等最新研究结果, 均为胚胎植入与肿瘤浸润转移具有相似性这一学说提

供了又一有力证据.

参 考 文 献

- 1 Beier H N. Uteroglobin: a hormone sensitive endometrial protein involved in blastocyst development. *Biochim Biophys Acta*, 1968, **160** (2): 289~ 291
- 2 Krishnan R S, Daniel J C. "Blastokinin": inducer and regulator of blastocyst development in the rabbit uterus. *Science*, 1967, **158** (800): 490~ 492
- 3 Muller-Schottle F, Classen-Linke I, Alfer J, *et al.* Expression of uteroglobin in the human endometrium. *Mol Hum Reprod*, 1999, **5** (12): 1155~ 1161
- 4 Stohr H, Marquardt A, Rivera A, *et al.* Refined mapping of the gene encoding the p127 kDa UV-damaged DNA-binding protein (DDB1) within 11q12-q13.1 and its exclusion in Best's vitelliform macular dystrophy. *Eur J Hum Genet*, 1998, **6** (4): 400~ 405
- 5 Zhang Z, Drazen B, Zimonjic Nicholas C, *et al.* Human uteroglobin gene: structure, subchromosomal localization, and polymorphism. *DNA Cell Biol*, 1997, **16** (1): 73~ 83
- 6 Szelestei T, Bahring S, Kovacs T, *et al.* Association of a uteroglobin polymorphism with rate of progression in patients with IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*, 2000, **36** (3): 468~ 473
- 7 Luconi M, Muratori M, Maggi M, *et al.* Uteroglobin and transglutaminase modulate human sperm functions. *J Androl*, 2000, **21** (5): 676~ 688
- 8 Rendon A, Hewetson A, Chilton B S, *et al.* Expression of RUSH transcription factors in developing and adult rabbit gonads. *Biol Reprod*, 2000, **63** (1): 156~ 164
- 9 Stohr H, Marquardt A, White K, *et al.* cDNA cloning and genomic structure of a novel gene (C11orf9) localized to chromosome 11q12-q13.1 which encodes a highly conserved, potential membrane-associated protein. *Cytogenet Cell Genet*, 2000, **88** (3~ 4): 211~ 216
- 10 Mornon J P, Fridlansky F, Bally R, *et al.* Characterization of two new crystal forms of uteroglobin. *J Mol Biol*, 1979, **127** (2): 237~ 239
- 11 Reynolds S D, Mango G W, Gelein R, *et al.* Normal function and lack of fibronectin accumulation in kidneys of Clara cell secretory protein/uteroglobin deficient mice. *Am J Kidney Dis*, 1999, **33** (3): 541~ 551
- 12 Randall G W, Daniel J C, Chilton B S. Prolactin enhances uteroglobin gene expression by uteri of immature rabbits. *J Reprod Fertil*, 1991, **91** (1): 249~ 257
- 13 Levin S W, Butler J D, Schumacher U K, *et al.* Uteroglobin inhibits phospholipase A₂ activity. *Life Sci*, 1986, **38** (20): 1813 ~ 1819
- 14 Zheng F, Kundu G, Zhang Z, *et al.* Uteroglobin is essential in preventing immunoglobulin A nephropathy in mice. *Nat Med*, 1999, **5** (9): 1018~ 1025
- 15 Mukherjee A B, Ulane R E, Agrawal A K. Role of uteroglobin and transglutaminase in masking the antigenicity of implanting rabbit embryos. *Am J Reprod Immunol*, 1982, **2** (3): 135~ 141
- 16 Hsu S I, Ramirez S B, Winn M P, *et al.* Evidence for genetic factors in the development and progression of IgA nephropathy. *Kidney Int*, 2000, **57** (5): 1818~ 1835

- 17 Kundu G C, Mandal A K, Zhang Z, *et al.* Uteroglobin (UG) suppresses extracellular matrix invasion by normal and cancer cells that express the high affinity UG-binding proteins. *J Biol Chem*, 1998, **273** (35): 22819~ 22824
- 18 Zhang Z, Kundu G C, Panda D, *et al.* Loss of transformed phenotype in cancer cells by overexpression of the uteroglobin gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (7): 3963~ 3968
- 19 Mukherjee A B, Kundu G C, Mantile-Selvaggi G, *et al.* Uteroglobin: a novel cytokine? *Cell Mol Life Sci*, 1999, **55** (5): 771~ 787

Uteroglobin: Structure and Function*

ZHANG Jian, DUAN En-Kui**

(The State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology,
The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract Uteroglobin (UG) is a steroid-inducible, evolutionarily conserved, multifunctional protein. In terms of molecular structure, regulation and synthesis mechanism, UG, which mediated autocrine and paracrine via its putative receptor, was surmised to be a member of the novel cytokine/chemokine family. Clarification of the structure, regulation and function of UG would contribute to elucidating human common disease, exploring the mystery of embryo implantation and researching the mechanism of oncogenesis.

Key words uteroglobin, cytokine, embryo implantation, oncogenesis

* This work was supported by grants from the Special Funds for Major State Basic Research Project (G1999055903), The Climbing Project of China (970211019-3) and the 100-Scientist-Program of The Chinese Academy of Sciences.

** Corresponding author. Tel: 86-10-62631831, E-mail: duane@panda.ioz.ac.cn

Received: September 18, 2000 Accepted: November 3, 2000

欢迎订阅 2002 年《微生物学杂志》

《微生物学杂志》是包括工业微生物学、农业微生物学、医学医药微生物学、兽医微生物学、食用菌及生物工程学在内的综合性学术刊物，为我国生物学核心期刊。1987年开始被美国《CA》和《中国生物学文摘》等国内外重要检索刊物摘引和收录。主要任务有开展学术交流，反映国内外微生物领域的进展与方向，提高广大微生物学工作者的业务水平，为科研工作的正确开展，为生产建设的顺利进行，为加速科研成果诞生和立项论证发挥预见性和导向性。

本刊为微机排版、胶版印刷，主要栏目有“研究报告”、“研究简报”、“实验与技术”、“进展与评述”、“开发与应用”、“专题译述”、“论文摘要”、“技术讲座”、“科技信息与服务”及“会议简讯”等。读者对象为本学科的科技工作者、大中专院校师生、企业、厂家及微生物学爱好者。本刊创办于1978年，国内外公开发行，由本刊编辑部征订发行。

《微生物学杂志》为双月刊，大16开本，64页，每期6.50元，邮费1元，全年订费45.00元。订阅单位或个人请由邮局汇款至辽宁省朝阳市文化路二段22号《微生物学杂志》编辑部。亦可银行汇款至中国工商银行朝阳双塔办事处，账号2032490165-69。务必注明联系人姓名。邮编：122000。本刊尚有各年度过刊，欢迎订购。订购电话：0421-2914613，E-mail: lnwsuxh@mail.cyptt.ln.cn