

Rho 家族小 GTP 酶在黑素细胞树突形成和黏附中的作用

左付国 综述 项蕾红 审校
(复旦大学附属华山医院皮肤科, 上海 200040)

[摘要] 黑素细胞通过其树突将合成的黑素转运至角质形成细胞,进而发挥生理功能。黑素细胞树突形成是黑素转运过程中的重要环节,黑素转运必须在黑素细胞和角质形成细胞紧密接触后才能实现。黑素细胞形态学改变包括胞体大小和树突变化等细胞骨架的改变,细胞骨架变化主要与肌动蛋白和微管结构的重排有关。Rho 家族小 GTP 酶包括 20 种成员,其中 RhoA, Rac1 和 Cdc42 对黑素细胞细胞骨架的变化和细胞黏附的调节起重要作用。

[关键词] Rho 家族小 GTP 酶; 细胞骨架; 树突形成; 细胞黏附; 黑素细胞

[中图分类号] R329.28 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2008)02-0181-04

Regulation of Rho small GTPases on dendricity and cell adhesion in melanocytes

ZUO Fu-guo, XIANG Lei-hong

(Department of Dermatology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

[Abstract] Dendricity in normal human melanocytes is a fundamental requirement for melanosome transfer to keratinocytes, for which melanocyte-keratinocyte contact and adhesion is a prerequisite. The morphological changes in melanocytes, including the size of melanocytes and elongation and retraction of dendrite tips, are associated with reorganization of actin filaments and microtubules. Rho small GTPases consist of 20 members, of which RhoA, Rac1 and Cdc42 take center stage. Many studies have shown that RhoA, Rac1 and Cdc42 play a critical role in the regulatory mechanism of actin cytoskeletal organization and cell-cell or cell-substratum adhesion.

[Key words] Rho small GTPases; cytoskeleton; dendricity; adhesion; melanocyte

[Int J Pathol Clin Med, 2008, 28(2):0181-04]

黑素细胞分布于表皮基底层,必须通过增加其树突数量和长度才能更有效地向其邻近的角质形成细胞转运黑素。黑素细胞树突的重要功能就是为黑素小体向角质形成细胞转运提供一个管状结构。黑素细胞形态学改变包括胞体的大小及树突的伸长和退缩等细胞骨架的改变,细胞骨架变化主要与肌动蛋白和微管结构的重排有关。细胞黏附(包括细胞-细胞和细胞-基质之间的黏附)也是实现黑素转运的重要一环。Rho 家族小 GTP 酶是联系细胞膜表面受体与肌动蛋白细胞骨架的关键调节分子,并在调控细胞黏附方面起重要作用。

1 Rho 家族小 GTP 酶

Rho(Ras homologue, Ras 同源物)家族小鸟苷三磷酸(GTP)酶属 Ras 超家族成员,是一组分子量在 20~25 kD 的小分子 GTP 结合蛋白,具有 GTP 酶的活性。它有二种存在形式,即有活性的 GTP 结合状态和无活性的鸟苷二磷酸(GDP)结合状态。在鸟嘌呤核苷酸交换因子、GTP 酶激活蛋白以及鸟嘌呤核苷酸释放抑制因子调节下可以在两种状态之间进行转换,其中鸟嘌呤核苷酸交换因子催化 Rho 家族向有活性的 GTP 结合状态转换;GTP 酶激活蛋白使 Rho 家族结合 GDP 失活,负性调节 Rho 家族的活性;Rho 家族通过结合细胞浆内的鸟嘌呤核苷酸释

放抑制因子而呈失活状态。通过在这两种状态之间的转换,Rho 家族小 GTP 酶成员发挥“分子开关”的作用^[1-2]。

目前已发现有 20 种 Rho 家族小 GTP 酶成员,分为 Rho 样、Cdc42 样、Rac 样、Rnd 和 RhoBTB 5 个亚家族。其中 Rho 样包括 RhoA, RhoB 和 RhoC, Cdc42 样包括 Cdc42, TC10, TCL, Wrch1 和 Chp/Wrch2, Rac 样包括 Rac1, Rac2, Rac3 和 RhoG, Rnd 包括 Rnd1, Rnd3/RhoE 和 Rnd2, RhoBTB 包括 RhoBTB1 和 RhoBTB2^[3]。Rho 家族小 GTP 酶参与调控细胞骨架成分,如肌动蛋白纤维丝和微管及细胞树突样结构的形成及细胞内吞、囊泡转运、细胞周期调控、细胞分化、肿瘤发生和基因转录等细胞活动^[1]。

2 细胞骨架的结构

细胞骨架的主要成分包括微丝、微管和中间丝。微丝又称肌动蛋白纤维,是由肌动蛋白组成的直径为 7 nm 的骨架纤维。肌动蛋白的多聚体(F-肌动蛋白)呈纤维状,由肌动蛋白单体(G-肌动蛋白)聚集而成。肌动蛋白骨架的主要成分是张力纤维和黏着斑。张力纤维由平行排列的微丝组成,在细胞形态发生上起重要作用。黏着斑是细胞外基质和细胞骨架附着点。微管是细胞质中的中空管状结构,由微管蛋白和微管关联蛋白组成,具有维持细胞形态的作用。中间丝在不同细胞由不同的蛋白质和多肽组成^[4]。

3 Rho 家族小 GTP 酶与黑素细胞树突形成

黑素细胞树突形成是黑素转运过程中的重要环节。Scott 等^[5]研究发现,Rho 家族小 GTP 酶尤其是 RhoA, Rac1 和 Cdc42 在黑素细胞肌动蛋白细胞骨架和树突形成方面起重要作用。

RhoA 基因位于人染色体 3p21.3,含有 5 个外显子^[6]。Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(ROCK)属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是 Rho 下游的主要效应分子。ROCK 经 Rho 活化后可促进肌动蛋白微丝的聚合,从而诱导树突退缩及促进张力细丝和黏着斑的形成^[7-8]。Busca 等^[9]对 B16F10 鼠黑素瘤细胞的研究发现,抑制 Rho 活化信号会减少肌球蛋白和肌动蛋白的结合,阻止微丝聚合,张力纤维解聚,并依靠微管系统促进树突向外生长。Ito 等^[10]应用矢车菊黄素(centaureidin)处理培养的正常人表皮黑素细

胞,发现黑素细胞树突退缩和张力细丝形成;且在黑素细胞和角质形成细胞共同培养时,应用矢车菊黄素处理后黑素转运也明显减少。在应用矢车菊黄素处理后,黑素细胞 Rho 表达明显增加,而 Rac 和 Cdc42 表达无明显改变,甚至下降;在应用 Rho 抑制剂 C3 胞外酶、ROCK 抑制剂 Y27632 和小 GTP 酶抑制剂毒素 B 处理黑素细胞后,可见黑素细胞树突形成和树突伸长,且这些抑制剂可阻断矢车菊黄素的抑制黑素细胞树突形成的效应。以上结果提示,矢车菊黄素是通过活化 Rho 信号转导途径发挥作用的,并且 Rho 活化后可抑制黑素细胞树突变化。随后 Ito 等^[11]用甲基沿阶草酮(methylphenopogonanone)处理培养的正常人表皮黑素细胞后发现,甲基沿阶草酮具有矢车菊黄素相同的作用。

Rac1 基因位于人染色体 7p22,含有 7 个外显子和 3 个内含子^[12]。Rac1 可以通过激活 c-Jun 氨基端激酶发挥调节基因转录的功能。活化的 Rac1 可以增强 c-Jun 氨基端激酶的磷酸激酶活性^[13-14],介导细胞板状伪足的形成^[15]。敲除 Rac 基因的鼠胚成纤维细胞的胞体皱缩、形体变长,且在板状伪足形成、细胞扩展、细胞-纤连蛋白黏附等方面都存有缺陷,且细胞肌动蛋白张力纤维减少,检测不到 RhoA 活性^[16]。在 B16F1 鼠黑素瘤细胞中,促黑素细胞激素和紫外线可诱导 Rac1 活化,导致黑素瘤细胞的树突形成^[17],在 B16F10, B16F1 黑素瘤细胞和人黑素细胞,通过微注射 Rac 活性突变体蛋白(Rac 活化物)能够促进黑素细胞树突形成^[18]。

Cdc42 基因位于人染色体 1p36.1^[19]。Cdc42 通过下游的效应分子 Neural Wiskott-Aldrich 综合征蛋白(N-WASP)、p21 活化的蛋白激酶(PAK)和 Cdc42 效应蛋白(CEPs)等可诱导肌动蛋白重建,导致细胞形态的改变。N-WASP 通过直接结合肌动蛋白使其改变^[20]。Cdc42 可通过 PAK 途径促进富含细胞肌动蛋白、Rac 依赖的膜表面突起(板状伪足)形成和通过活化 Par6(一种支架蛋白)/aPKC(不典型的蛋白激酶 C)途径导致微管细胞骨架极化^[21]。Cdc42 还可通过 CEPs 诱导肌动蛋白微丝的形成而改变细胞形态,并参与丝状伪足的形成^[15,22]。研究发现^[23],黑素小体内富含 PAK1, N-WASP 和 CEPs 等 Cdc42 下游效应分子。在黑素细胞内,活化的 Cdc42 可诱导黑素细胞形成丝状伪足,促进黑素转运。

黑素细胞树突形成是黑素转运过程中的重要环节。紫外线、 α -促黑素细胞激素和内皮素-1 等因素可促进黑素细胞树突形成。紫外线可通过促进角质形成细胞合成并分泌内皮素-1 和上调黑素细胞黑皮素-1 受体的表达而促进树突形成。 α -促黑素细胞激素和内皮素-1 通过环腺苷酸(cAMP)信号转导途径发挥作用^[24-25]。Scott 等^[18]研究发现,cAMP 对 Rho 和 Rac 具有相反的作用,cAMP 通过促进 Rac 活化和抑制 Rho 活性而促进黑素细胞的树突形成。在 B16F10, B16F1 黑素瘤细胞和人黑素细胞,通过微注射 C3 肉毒胞外酶(一种选择性 Rho 抑制物)或 Rac 活性突变体蛋白(Rac 活化物)均能促进黑素细胞树突形成。Ridley 等^[26]发现,Cdc42 活化后促进丝状伪足形成,随后板状伪足形成;Rac 促进板状伪足的形成,随后可见张力纤维形成,推测活化的 Rac1 在促进黑素细胞树突形成的同时,又可通过激活 RhoA 而抑制树突形成,这也是黑素细胞树突形成的负反馈调节机制之一。

4 Rho 家族小 GTP 酶与细胞黏附

黑素转运必须在黑素细胞和角质形成细胞紧密接触后才能实现,这两种细胞之间的黏附作用也是实现黑素转运的重要一环。钙黏蛋白属跨膜分子,通过与邻近细胞的同型钙黏蛋白结合发挥 Ca^{2+} 依赖的黏附作用,细胞之间的黏附需要钙黏蛋白胞内结构域与细胞骨架之间相互作用。E-钙黏蛋白表达于黑素细胞和角质形成细胞,介导黑素细胞和角质形成细胞之间的黏附作用^[27-28]。研究发现^[29],Rho 家族小 GTP 酶与上皮细胞黏附点的形成有关,RhoA, Rac1 和 Cdc42 诱导的细胞骨架改变均参与以钙黏蛋白为基础的黏附作用。Braga 等^[30]用微注射方法将显性阴性突变体 Rac1 Asn17 (17 位的苏氨酸突变为天冬酰胺,该突变体可竞争抑制鸟嘌呤核苷酸交换因子与 Rac1 和 Cdc42 的作用)注入角质形成细胞,发现内源性 Rac1 的活化被抑制,细胞接触点处 E-钙黏蛋白水平下降,证明 Rac1 参与调节细胞黏附。推测 Rho 家族小 GTP 酶除了调节黑素细胞树突形成之外,还可促进黑素细胞和角质形成细胞的黏附,二者协同作用以实现更有效的黑素转运功能。

参 考 文 献

- [1] Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology[J]. Nature, 2002, 420(12):629-635.
- [2] Hall A, Nobes CD. Rho GTPases: molecular switches that control the organization and dynamics of the actin cytoskeleton[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2000, 355(1399): 965-970.
- [3] Burridge K, Wennerberg K. Rho and Rac take center stage[J]. Cell, 2004, 116(2):167-179.
- [4] Gerald K. Cell and molecular biology: concepts and experiments (B), 3rd ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2002:333-392.
- [5] Scott G. Rac and Rho: The story behind melanocyte dendrite formation[J]. Pigment Cell Res, 2002, 15(5):322-330.
- [6] Lowery D, Clauser K, Hjerrild M, et al. Proteomic screen defines the Polo-box domain interactome and identifies Rock2 as a Plk1 substrate[J]. EMBO J, 2007, 26(9):2262-2273.
- [7] Couvillon AD, Exton JH. Role of heterotrimeric G-proteins in lysophosphatidic acid-mediated neurite retraction by RhoA-dependent and -independent mechanisms in N1E-115 cells[J]. Cell Signal, 2006, 18(5): 715-728.
- [8] Wettschureck N, Offermanns S. Rho/ Rho kinase mediated signaling in physiology and pathophysiology[J]. J Mol Med, 2002, 80(10): 629-638.
- [9] Busca R, Bertolotto C, Abbe P, et al. Inhibition of Rho is required for cAMP-induced melanoma cell differentiation [J]. Mol Biol Cell, 1998, 9(6):1367-1378.
- [10] Ito Y, Kanamaru A, Tada A. Centaureidin promotes dendrite retraction of melanocytes by activating Rho[J]. Biochimica Biophys Acta, 2006, 1760(3): 487-494.
- [11] Ito Y, Kanamaru A, Tada A. A novel agent, methylphosphogonanone B, promotes Rho activation and tubulin depolymerization [J]. Mol Cell Biochem, 2007, 297(1-2):121-129.
- [12] Matos P, Skaug J, Marques B, et al. Small GTPase Rac1: Structure, localization, and expression of the human gene[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 277(3):741-751.
- [13] Jackson TA, Koterwas DM, Morgan MA, et al. Fibroblast growth factors regulate prolactin transcription via an atypical Rac-dependent signaling pathway[J]. Mol. Endocrinol, 2003, 17(10):1921-1930.
- [14] Yamauchi J, Miyamoto Y, Sanbe A, et al. JNK phosphorylation of paxillin, acting through the Rac1 and Cdc42 signaling cascade, mediates neurite extension in N1E-115 cells[J]. Exp Cell Res, 2006, 312(15): 2954-2961.
- [15] Sigal YJ, Quintero OA, Cheney RE, et al. Cdc42 and ARP2/3-independent regulation of filopodia by an integral membrane lipid-phosphatase-related protein[J]. J Cell Sci, 2007, 120(2): 340-352.
- [16] Guo FK, Debidda M, Yang L, et al. Genetic deletion of Rac1 GTPase reveals its critical role in actin stress fiber formation and focal adhesion complex assembly[J]. J Biol Chem, 2006, 281(27): 18652-18659.
- [17] Scott GA, Cassidy L. Rac1 mediates dendrite formation in response to melanocyte stimulating hormone and ultraviolet light in a murine melanoma model[J]. J Invest Dermatol, 1998, 111(2):243-250.

- [18] Scott G, Leopardi S. The cAMP signaling pathway has opposing effects on Rac and Rho in B16F10 cells; implications for dendrite formation in melanocytic cells [J]. *Pigment Cell Res*, 2003, 16 (2):139-148.
- [19] Lerm M, Brodin V, Ruishalme I, et al. Inactivation of Cdc42 is necessary for depolymerization of phagosomal F-actin and subsequent phagosomal maturation [J]. *J Immunol*, 2007, 178 (11): 7357-7365.
- [20] Le Clainche C, Schlaepfer D, Ferrari A, et al. IQGAP1 stimulates actin assembly through the N-WASP-Arp2/3 pathway [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(1): 426-435.
- [21] Cau JL, Hall A. Cdc42 controls the polarity of the actin and microtubule cytoskeletons through two distinct signal transduction pathways [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(12): 2579-2587.
- [22] Hirsch DS, Pirone DM, Burbelo PD. A new family of Cdc42 effector proteins, CEPs, function in fibroblast and epithelial cell shape changes [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(2): 875-883.
- [23] Scott G, Leopardi S, Printup S, et al. Filopodia are conduits for melanosome transfer to keratinocytes [J]. *J Cell Sci*, 2002, 115 (17): 1441-1451.
- [24] Lam CW, Perretti M, Getting SJ. Melanocortin receptor signaling in RAW264.7 macrophage cell line [J]. *Peptides*, 2006, 27(2): 404-412.
- [25] Juan CC, Chuang TY, Chang CL, et al. Endothelin-1 regulates adiponectin gene expression and secretion in 3T3-L1 Adipocytes via distinct signaling pathways [J]. *Endocrinology*, 2007, 148 (4): 1835-1842.
- [26] Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, et al. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling [J]. *Cell*, 1992, 70(3): 401-410.
- [27] Van den Bossche K, Naeyaert JM, Lambert J. The quest for the mechanism of melanin transfer [J]. *TRAFFIC*, 2006, 7 (7): 769-778.
- [28] Haass NK, Smalley KSM, Li L, et al. Adhesion, migration and communication in melanocytes and melanoma [J]. *Pigment Cell Res*, 2005, 18 (3): 150-159.
- [29] Bruewer M, Hopkins AM, Hobert ME, et al. RhoA, Rac1 and Cdc42 exert distinct effects on epithelial barrier via selective structural and biochemical modulation of junctional proteins and F-actin [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(2): 327-335.
- [30] Braga VMM, Del MA, Machesky L, et al. Regulation of cadherin function by Rho and Rac; modulation by junction maturation and cellular Context [J]. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(1): 9-22.