

成纤维细胞生长因子(FGF) 研究进展

韩萨茹拉, 高爱琴*, 李金泉, 张燕军, 梅步俊 (内蒙古农业大学动物科学与医学学院, 内蒙古呼和浩特010018)

摘要 介绍了成纤维细胞生长因子(FGF) 的种类和作用机理。同时, 对国内外对FGF 在胚胎发育、器官形成及毛囊发育过程中的作用等方面的研究进展进行了综述。

关键词 成纤维细胞生长因子(FGF); 研究进展

中图分类号 S813 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)07-03008-03

Review on Fibroblast Growth Factor (FGF)

SA Ru-la et al (Animal Science and Medicine College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018)

Abstract The type and mechanism of fibroblast growth factor (FGF) were recommended in this essay. At the same time, the research of FGF role in the process of embryonic development, organ formation and development of hair follicles were reviewed.

Key words Fibroblast growth factor (FGF); Review

20世纪30年代, 发现大脑和垂体的组织提取物中存在一种能促进成纤维细胞生长的活性物质, 到70年代才被分离提纯。鉴于这种物质的作用, 被命名为成纤维细胞生长因子(Fibroblast growth factor, FGF)。后来, 在多种器官组织中发现这类因子, 因而又被称为眼来源生长因子、脑来源生长因子和肝素结合性生长因子等。FGFs 作为细胞间信号分子在胚胎发生和分化过程中起重要作用。

1 FGF 的种类

迄今共鉴定出23种人或鼠FGFs, 但是人FGF15和小鼠FGF19尚未被证实。FGFs 不仅存在于脊椎动物体内, 也存在于无脊椎动物体内, 其含有2个大的内含子序列, 2个内含子将功能区分为3个外显子区域, 这也是FGF家族因子的特征之一。但FGF11~14的翻译区域是由5个外显子构成的, FGFs 基因翻译区域的大小约5~100 kb^[1]。通过对鱼类、两栖类、鸟类和哺乳动物的FGF 鉴定分析表明, 不同动物之间FGFs 序列具有很高的同源性。FGFs 是由150~200个氨基酸组成的多肽, 相互之间的氨基酸序列有20%~50%是相同的, 其中心区域有大约120个氨基酸序列存在高度的同源性(50%~70%)。人与牛、爪蟾、羊等的FGF2的同源性相当高。人和牛的FGF2只有2个氨基酸不同, 同源性达98.7%; 鸟类和牛的FGF2完全相同。人、牛、大鼠、仓鼠和鸡的FGF1均有很高的同源性^[2]。多数FGFs(FGF3~8、10、15、17~19、21~23)的N末端具有典型的信号序列分泌蛋白。然而FGF19、FGF16和FGF20虽然没有明确的信号序列, 但能高效地分泌到细胞外^[3]。FGF1和FGF2也缺乏信号序列和正常的分泌途径, 却能出现在胞外基质, 推测两者可能来自受伤的细胞, 或者通过与内质网-高尔基体通路不同的细胞脱颗粒机制进行释放。此外, FGF11~14没有信号序列, 认为这些FGFs 被储留在胞内^[4]。在人类的FGFs 中, 能细分出FGF7、FGF10、FGF22和FGF9、FGF16、FGF20等许多亚科(Subfamily)。FGFs 亚科与各染色体定位之间无明显的相关性, 人类FGFs 基因多数散在分布于全基因组中。但也有一些FGFs 基因在基因组上形成群落, 如FGF3、FGF4和FGF19位于染色体

11q13, FGF6、FGF23位于染色体13p13, 而FGF17、FGF20则位于染色体8p21-p22相互邻接的位置上。由此推断, FGFs 基因家族是在进化、复制和易位等复杂过程中形成的。

2 FGFs 作用机理

2.1 靶细胞 对FGFs 在体内的作用还知道的很少, FGFs 能诱发许多细胞产生典型的对生长因子的反应, 如刺激DNA的合成和细胞分裂。但是, 也有很多类型的细胞, 出现非有丝分裂式的效应, 包括刺激或已知特定细胞的蛋白质合成, 诱导细胞的运动和迁移, 改变已经分化的细胞的功能和细胞存活。FGFs 对单一靶细胞群体可引起多种效应, FGFs 对培养细胞的作用具有多样性, 可以是促有丝分裂活性和非促有丝分裂活性, FGFs 能刺激细胞的增殖, 并伴有促细胞分化。FGFs 可使肾上腺皮质细胞显示细胞衰老延缓, 使内皮细胞产生纤溶酶原激活剂, 使软骨细胞增加包外基质的合成, 但有时FGFs 的作用并不引起细胞的增殖, 如刺激小鼠垂体正常细胞和肿瘤细胞分泌催乳素, 刺激突起的生长和维持培养基中神经元存活。

2.2 FGFs 的信号通路 FGFs 与存在于细胞表面的FGFs 受体(FGFRs) 结合, 将信号传递到胞内。FGFs 同其他生长因子一样, 被发现能很快引起fos和myc原癌基因的表达, 而fos和myc原癌基因的表达被认为是细胞对生长因子的早期效应。已经提出了几条FGF致基因激活的信号转道通路^[5]。这包括a 诱导腺苷酸或鸟苷酸循环酶; b 激发磷脂酶降解磷脂酰肌醇产生第二信使二酰基甘油和IP₃, 然后激活蛋白激酶C和引起钙内流; c FGF受体与酪氨酸激酶有关。与多数生长因子受体一样, FGFRs 都是酪氨酸激酶型受体, 在与配体结合后发生二聚体化, 从而激活酪氨酸激酶, 在激活Src/Frs-Raf/MAPKK于K-MAPKK-MAPK通路的基础上, 通过大量释放磷脂酶C(PLC)、蛋白激酶C(PKC)、磷脂酰肌醇3-激酶系统(IP₃K)和Ca²⁺, 向细胞内传递信号。酪氨酸激酶受体有4种, 即FGFR1、FGFR2、FGFR3和FGFR4, 由4种基因编码, 是一种跨膜蛋白质, 分别为细胞外、跨膜部分、胞内近膜区和胞内结构区(酪氨酸激酶区), 为配体的特异性结合提供了受体的分子基础^[6]。FGFR含3个Ig样(Ig-like)的环状结构区, 环、环和环。在环和环之间有一短序列, 称为酸性盒区(Acidic box domain), 核心序列为8个连续酸性残基, 胞外段为配体结合区, 包括2个或3个免疫球蛋白样功能区。细胞

基金项目 国家高技术研究发展计划(863计划)(2007AA10Z151)。

作者简介 韩萨茹拉(1983-), 女, 内蒙古呼伦贝尔人, 硕士研究生, 研究方向: 动物遗传育种与数量遗传学。* 通讯作者, 副教授, E-mail: gaoaiqin999@163.com。

收稿日期 2008-12-17

内区有胞浆近膜区和2个酪氨酸激酶区。胞外基质对FGFs的调节作用:FGFs与肝素和硫酸肝素等酸性多糖结合。这些酸性多糖不仅能提高FGFs的热稳定性和对蛋白酶解(Proteolysis)的抵抗性,也能起到浓集和释放FGFs等作用。最近研究显示,FGFs与酸性多糖结合可提高与FGFRs的亲合力和稳定性。目前已知23种FGFs均分别作用于硫酸乙酰肝素(HSPG)链的不同特异性部位,并通过选择性形成FGFRs-FGFs-HS(硫酸乙酰肝素)复合体以调控生长因子浓度及其信号传递,由此证实酸性多糖是FGFs信号的必需因子。

2.3 FGFs及其受体在胚胎发育和器官形成中的生理功能

FGFs是重要的细胞间信号分子,调控许多胚胎发育和器官形成过程。在胚胎发育和细胞分化中,爪蟾FGFs及其受体集中分布于半球,可作为一种中胚层诱导因子,类似“腹侧—植物极(Ventral-vegetal)”信号诱导中胚层形成。从爪蟾胚胎中分离克隆出3种与哺乳类同源的FGFs:FGF-2、FGF-3和胚性FGF(EmbryonicFGF,eFGF),eFGF的结构近似于FGF-4和FGF-6,这3种FGFs均在早期发育中表达。FGF-2和eFGF存在于卵母细胞和受精卵中,二者均在中胚层形成期间发挥作用。FGF-3(Irt-2)的表达比较复杂,从原肠开始到胚后发育的早期阶段呈动态性变化,推测Irt-2的作用限于动物早期胚胎发育。FGF信号是小鼠胚胎植入细胞增殖和存活所必须的^[7],同时也是原肠胚时期细胞迁移必须的,在原肠胚形成前的胚胎外胚层中FGF-5表达急剧增加,提示FGF-5可能在原肠胚期起重要作用。FGFs在胚胎发育后期调控脑组织、牙齿、肢体、肺、肾和其他器官的发育。许多FGFs成员在脑组织发育的不同阶段表达,FGF-6在小鼠的中枢神经系统和骨骼肌中表达,在胚胎大脑中的表达信号较强。牙齿的形态发生需要上皮—间质的相互作用,其他发育过程的保守信号途径都参与这个过程。在牙齿发育的特定时期FGF信号表达很强^[8],FGF-4是第1个被检测出在牙齿发育中起作用的成员(Nswander),但随后在牙釉质中发现了FGF-9的表达。有研究表明,FGF-8在牙齿发育起始阶段是一个早期上皮信号^[8]。对牙齿发育的研究显示,FGF-3、FGF-7和FGF-10等因子对上皮—间质相互作用的调控信号起作用^[9]。许多生长因子的靶位点已被识别,已发现几个在信号通路中的基因突变会引起牙齿发育缺陷的基因。

已有大量研究检测FGF信号在脊椎动物肢体发育中的作用,发现它们在肢体形成和肢芽的起始生长阶段提供诱导信号,肢发育的起始阶段是体壁间充质增殖变厚,之后,变厚的间充质诱导其外表皮加厚形成顶表皮嵴(Apical epidermal ridge,AER)的特异结构。AER其后的区域称为进展区(Progresszone),AER提供的信号,刺激进展区的细胞增殖,促使肢的发育。在AER中有人分离出FGF-2 mRNA和FGF-2蛋白质,并初步证实在肢芽发育中起重要作用。Nswander等在AER中分离出FGF-4蛋白,FGF-4蛋白刺激AER下方的间充质增殖。FGF-4通过2种方式对肢的发育起作用。一种是直接刺激进展区的细胞增殖,一种是间接使后部的间充质产生发育模式信号。如果去掉鸡胚的AER,FGF-4能取代AER使肢芽有适当的发育和正常模式。过渡表达FGF-2的鼠肢骨变短^[10]。FGF-10(-/-)胚胎肢芽形成正常但肢芽的长出被

抑制^[11]。

体内和体外实验都已验证了FGF信号在肺形态发生的重要性。多种FGF多肽在肺内表达,FGF-1、FGF-2、FGF-7、FGF-9、FGF-10和FGF-18都在发育中的肺内表达^[12]。FGF-7(也称角质化细胞生长因子)在胎儿肺的间叶组织中表达,FGF-7在体内发育的肺中异常表达将阻碍肺分支形态的发生,促进上皮细胞增殖引起囊腺癌^[13]。FGF-10在早期肺发育近端到远端的间叶组织中大量表达^[14],它的表达限于间质组织、诱导细胞形态重排、细胞迁移和近端上皮细胞的增殖。FGF-10(-/-)鼠由于肺发育的缺陷出生后死亡,可见FGF-10在肺和肢体发育中是关键性的调控因子。

FGF信号途径在肾的器官发育中也起关键作用,表达模式研究显示,FGF-1-FGF-10除FGF-6外都在大鼠发育的肾中表达。已有报道肾间质细胞分泌1种或2种FGF家族成员,如FGF-2或FGF-7,以调控输尿管芽的生长^[15]。用原位杂交和免疫组化实验对人胎儿肾组织样的研究显示,FGF-2在分支状输尿管芽上皮中表达,同时在近端小管上皮和肾小球的腔壁上皮中表达,FGF-2还是为数不多的诱导输尿管芽细胞经历形态发生的因子之一,TGF- β 2和FGF-2通过Wnt途径机制共同调控肾单位的发生^[16]。最近研究显示,FGFs成员FGF-1、FGF-2、FGF-7、FGF-10与GDNF和BSN细胞培养基一起影响分离的输尿管芽的生长和分支,但FGF-1和FGF-10似乎对分支和分支状延长作用更大,可能对决定肾单位的数目和发育肾的排列模式起重要作用^[17]。转基因研究显示,受体FGFR-2的多个配体FGF-1、FGF-3、FGF-7和FGF-10均在发育的肾中表达^[18],但目前仅发现FGF-7和FGF-10的无效突变会影响肾的发育^[19],在胚胎发育中FGF-7的无效突变会导致输尿管芽和承接系统发育受阻而使肾明显变小。体内外实验均表明,FGFs在肾发育的不同阶段都有作用。

FGF影响肌细胞分化。在肌纤维和基膜之间有一部分未分化的细胞,称为肌卫星细胞。这些细胞可分化为成肌细胞,在适当的信号到达之前一直保持增殖状态。信号一旦传来,成肌细胞即排列在一起并融合为多核肌细胞。在体外培养时,卫星细胞增殖、排列并能融合成肌小管。通过免疫化学技术,分别对细胞、培养基进行分析,发现在细胞增殖期间,细胞抽提物中的FGF-1含量增加若干倍;而在排列和融合时期,含量很低,在培养液中无FGF-1存在。在细胞和培养液中亦没检测出FGF-2及其mRNA。已证实,FGF-1是大鼠肌卫星细胞的有丝分裂促进剂,可直接刺激卫星细胞的增殖,阻碍成肌细胞的分化。

2.4 FGF5对皮肤毛囊的作用 在鼠中,有70多种基因突变影响被毛形态,许多突变对被毛的长度无影响,有些使被毛变短,到目前为止只有1种突变即angora鼠(最初命名为go基因突变)引起被毛变长,安哥拉鼠于1962年在Jackson实验室中BALB/CJ鼠自然突变而产生,但当时除了发现被毛变长,对突变鼠的其他特点没有深入研究。

2.4.1 安哥拉鼠的发现及特征。1984年Pamela.R等研究了野生型和安哥拉鼠的被毛形态、毛囊周期性活动时间、毛发生长期的长短、毛发生长期毛球的直径大小,以更具体地描述angora鼠的特征。

实验结果表明,青年鼠和成年鼠不同部位突变鼠被毛均比野生型长,不同部位被毛长度增加的比例为40%~55%。突变鼠被毛变长一方面可能是由毛发生长期的延长引起,也有可能是毛发生长的强度增加,为了证实这个假设,实验研究了生长期的持续时间,发现突变鼠的生长期比野生型鼠长近3 d,突变鼠整个毛囊周期也延长。在毛囊生长周期中生长期的长短决定了被毛的长短,动物不同部位被毛的不同也是由毛囊周期中生长期长短的不同引起的。生长期的时间变化可能是毛囊中干细胞数量增加引起,也可能是毛囊进入退行期前干细胞的分裂次数增加而引起,实验测定毛球的直径发现2种鼠无明显差别,得出安哥拉鼠被毛长度的增加不是由于干细胞数目的增加而引起,推测成熟毛发中细胞数目的增多是由于干细胞分裂次数的增加而引起的。

2.4.2 go 基因就是fgf5 基因的突变等位基因的证明。Jean M.Herbert 等1994 年利用基因打靶技术,构建载体,通过胚胎干细胞基因敲除使小鼠的fgf5 基因出现无效突变纯合,在fgf5基因翻译起始位点下游113 bp 第一外显子SmaI 酶切位点处插入载体,使fgf5 基因无效(fgf^{neo}),研究发现,fgf^{neo} 纯合子的后代出生时健康、正常,但出生后3 周时突变纯合鼠被毛明显比杂合子fgf^{neo/+} 和野生型长,在试验期这种表型一直保持。测量被毛长度发现纯合型毛长为1.1~0.1 cm,杂合型为0.74~0.10 cm,被毛长度增加50%,被毛形态正常。

试验证明go 基因就是fgf5 基因的突变等位基因。通过原位杂交fgf5 已被定位于小鼠5 号染色体的E1-F 区域,Bmovic 等通过Interspecific backcross 实验将其定位于距Alb-1 3.6+1.4 cM 的位置,这个位置距go 基因3 cM(Distal),fgf5 和go 基因相对较近的图谱位置及突变鼠相同的表型提示go 基因可能就是fgf5 的突变等位基因。为了证实这个假设,他们做了遗传互补试验,go/go 纯合鼠与neo/+ 杂合鼠交配,如果go 基因是fgf5 基因的等位基因,go/neo 杂合鼠应具有被毛长度增加的表型。试验中10 个后代有6 个具有这种表型,DNA 分析显示具有长毛的小鼠为go/neo 基因型,而被毛正常鼠为go/fgf5 基因型,从而证实了fgf5 与go 是等位基因。

试验还用PCR 和Southern blot 方法分析了go/go 鼠的DNA,显示go/go 突变发生在fgf5 的外显子1,而不是由外显子2 或外显子3 缺失造成的,进一步的研究还显示外显子1 的缺失位点3' 端位于SmaI 酶切位点处,5' 端的缺失包括Hnd 和XhoI 酶切位点,这样go/go 突变DNA 缺失从fgf5 的5' 端翻译起始位点向前延伸至少2 kb 左右的片段,这意味着go/go 鼠中fgf5 基因的启动子也可能缺失,用Northern blot 分析go/go 鼠,fgf^{neo}/fgf^{neo} 纯合鼠和野生型鼠大脑的RNA,用只含fgf5 外显子2 和外显子3 的cDNA 探针杂交显示go/go 鼠无信号,但其他2 种鼠杂交信号很明显,从而证实了go/go 鼠中go 基因突变缺失了fgf5 外显子1 的大部分,至少2 kb 的上游序列,其中包括fgf5 基因的启动子也已缺失。结合外显子1 缺失和go/go 鼠无信号也可得出结论,go 基因是fgf5 的无效等位基因。

2.4.3 FGF5 mRNA 在皮肤组织中的表达。通过原位杂交的方法研究了野生型鼠从出生到24 日龄背中侧皮肤中fgf5mRNA 的表达情况,结果显示0~6 日龄小鼠毛囊处于生长初期时没有检测到fgf5mRNA,到第9 天mRNA 很容易被检测到,表达一直持续到12 日龄,这时毛囊处于生长期,其表达位于毛囊外根鞘,而且仅限于外根鞘的下部1/3 处,fgf5mRNA 在毛囊基部的一小部分细胞中也有表达,有些细胞可能是内根鞘祖细胞,在毛囊的其他部位没有发现fgf5mRNA 的表达;14~16 日龄毛囊从生长期过渡到衰退期,这时fgf5mRNA 表达完全消失,17~24 日龄毛囊从退行期到休止期,也没有发现fgf5mRNA 的表达。

参考文献

- [1] SOULET L,CHEVET E,LEMAITRE G,et al .FGFs and their receptors in vitro and in vivo studies :new FGF receptor in the brain, FGF-1 in muscle ,and the use of functional analogues of low affinity heparin binding growth factor receptors in tissue repair[J] .Mol Reprod Dev,1994,39 :49 .
- [2] GOSPODAROWICZ D.Molecular and developmental biology aspects of fibroblast growth factor[J] .Advan Exp Med Biol ,1988,234 :23 - 39 .
- [3] KLAGSBRUN M.The fibroblast growth factor family :structural and biological properties[J] .Prog Growth Factor Res ,1989,1(4) :207 - 235 .
- [4] GOSPODAROWICZ D,NEUFELD G,SCHWIBGERER L.Fibroblast growth factor :structural and biological properties[J] .J Cell Physiol Suppl ,1987,5 :15 - 26 .
- [5] GALZIE Z,KINSELLA A R,SMITH J A.Fibroblast growth factors and their receptors[J] .Biochem Cell Biol ,1997,75(6) :669 - 685 .
- [6] HAUB O,GOLDFARB M.Expression of the fibroblast growth factor-5 gene in the mouse embryo[J] .Development,1991,112 :397 - 406 .
- [7] BASILICOL,ABBONI M,FUMAGALLI A.Influence of pertussis toxin on thermic responses to morphine and neurtensinin rats[J] .Eur J Pharmacol ,1992,222(2/3) :241 - 245 .
- [8] JERNVALL J,KERANENS V,THESLEFF I.Evolutionary modification of development in mammalian teeth :quantifying gene expression patterns and topography [J] .Proc Natl Acad Sci USA,2000,97(26) :14444 - 14448 .
- [9] KETTUNEN P,LAURIKKALA J,ITARANIA P.Associations of FGF 3 and FGF 10 with signaling networks regulating tooth morphogenesis[J] .Dev Dyn,2000,219(3) :322 - 332 .
- [10] COFHINJ D,FLORKIEWICZ R Z.Abnormal bone growth and selective translational regulation in basic fibroblast growth factor (FGF 2) transgenic mice[J] .Mol Cell Biol ,1995,15 :1861 - 1873 .
- [11] SEKINE K,OHUCHI H,FUJIWARA M.Fgf10 is essential for limb and lung formation[J] .Nat Genet ,1999,21(1) :138 - 141 .
- [12] CLARK J C,TECHELAAR J W.FGF 10 disrupts lung morphogenesis and causes pulmonary adenomas in vivo[J] .Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol ,2001,280(4) :705 - 715 .
- [13] SIMONET WS,DERGSE ML.Pulmonary malformation in transgenic mice expressing human keratinocyte growth factor in the lung[J] .Proc Natl Acad Sci USA,1995,92(26) :12461 - 12465 .
- [14] BELLUSCI S,GRINDLEY J,EMOTO H.Fibroblast growth factor 10 (FGF10) and branching morphogenesis in the embryonic mouse lung[J] .Development,1997,124(23) :4867 - 4878 .
- [15] DRUMMOND I A,MUKHOPADHYAY D.Expression of fetal kidney growth factors in a kidney tumor line :role of FGF2 in kidney development [J] .Exp Nephrol ,1998,6(6) :522 - 533 .
- [16] PILSOV S Y,YOSHINO K.TGF beta 2, IIF and FGF2 cooperate to induce nephrogenesis[J] .Development,2001,128(7) :1045 - 1057 .
- [17] QAO J,BUSH K T,STEER D L.Multiple fibroblast growth factors support growth of the ureteric bud but have different effects on branching morphogenesis [J] .Mech Dev,2001,109(2) :123 - 135 .
- [18] CELLI G.Stable dominant-negative receptor uncovers essential roles for fibroblast growth factors in multi-organ induction and patterning[J] .EMBO J,1998,17(6) :1642 - 1655 .
- [19] OHUCHI H,HORI Y,YAMASAKI M.FGF10 acts as a major ligand for FGF receptor 2 IIIb in mouse multi-organ development[J] .Biochem Biophys Res Commun,2000,277(3) :643 - 649 .