综 述

Merlin:细胞-细胞受体信号的协调者

熊光宜 王瑞琳(审校)

作者单位:300211 天津市,天津医院病理科

科学家们在研究 2 型神经纤维瘤病(neurofibromatosis type-2, NF2)时发现了肿瘤抑制因子 Merlin(即神经膜蛋白)。细胞之间的相互接触,可以抑制细胞无限增殖。Merlin 正是通过"接触-依赖"机制抑制细胞增殖,从而减低肿瘤细胞的增殖能力,降低肿瘤转移能力。

所有肿瘤的发生都是有缺陷的分子无限制的增殖、积累而形成肿块的过程。细胞核的核心功能是控制细胞增殖、凋亡、转移,而肿瘤细胞恰恰缺乏这一功能[1]。细胞增殖的抑制性"接触-依赖"机制,即细胞与其周围的"邻居"细胞相接触可以反应性阻止细胞增殖。细胞增殖的抑制性"接触-依赖"机制的缺失是肿瘤细胞无限增殖的基础,也是所有肿瘤发生、发展的必要条件。这一理论在 20 世纪 60 年代早期被提出,研究人员在培养二倍体细胞时发现,如果不进行干预,细胞最大饱和浓度远远高于预期测算值[2]。因此,研究人员提出,即使有充足的营养和细胞生长因子,细胞之间的相互黏附也可以引导细胞进入并维持在静息阶段。这种情况也存在于人体的实质性组织。要研究高度的分子调节机制需要适宜的条件、明确的细胞间接触机制和促有丝分裂信号。尽管我们对调节细胞间黏附信号的分子机制和细胞增殖尚不清楚,但已经开始研究[3]。

大量证据表明 NF2 肿瘤抑制因子 Merlin 是调节"接触-依赖"机制、抑制细胞增殖的核心。NF2 肿瘤抑制因子基因突变是家族性 NF2 综合症的基础,也是其他神经系统肿瘤,如双侧前庭许旺氏细胞瘤、脑(脊)膜瘤和恶性间皮瘤发展的基础[4]。尽管 NF2 基因缺失的肿瘤较少,但组织模型研究证实 Merlin 存在于多种蛋白中,在不同的细胞中发挥重要作用[5]。

1 Merlin 的发现

细胞膜亚结构域包括皮质膜碎片、突出物、"光标"移动、出芽及结合,经历了一系列的繁衍,使得原核细胞生物转变为早期单细胞真核生物。这一过程使细胞极性更复杂,增加了细胞膜的变形性,形成原始的细胞骨架即内骨架,并产生小分子 GTP 酶,定向跨膜流动性(胞吞-胞吐)和局限的合成细胞骨架[6,7]。在多细胞真核生物出现之前,单细胞生物极性已经衍化出精细的亚结构域,例如纤毛、鞭毛和伪足。领鞭虫是一种结构与多细胞真核生物很接近的物种,它利用黏附机制获取食物、克隆结构,它的跨膜受体可以对环境产生反应。事实上,近期研究发现多种蛋白(血影蛋白、钙黏素、G 蛋白-偶联受体),以及序列(SH2、EGF)类似于领鞭虫,它们的定位和增殖受到受体和非受体性酪氨酸激酶的控制[8,9]。

单细胞生物能够组织细胞膜对细胞外信号做出反应、增殖。单细胞生物演变为多核细胞生物,细胞相互接触的界面必须要有协调因子。协调因子应当和谐地调节多个细胞接触界面的相互作用。它具有骨架蛋白结构,例如 PDZ、LIM 结构域[10]。研究人员在细胞膜上发现了新的蛋白结构域,即 4.1ERM(four-point-one ezrin radixin moesin, FERM)。在蠕虫、蝇类、哺乳动物研究中都发现了 FERM 超家族结构[11]。FERM 具有三叶草样结构域,分别对应不同的功能区域,他的亚群包括 Merlin 和 ERM 蛋白。FERM 与细胞骨架蛋白相连,并引导这些蛋白协调多重信号和细胞膜的接触。生物学、细胞学以及分子生物学的大量研究证实 Merlin 可以下调细胞增殖能力[12]。

2 分子学-细胞学联系

ERM 蛋白对于我们研究 Merlin 的分子功能具有重要意义。所谓"细胞膜:细胞骨架连接子",很贴切的描绘了 Merlin 和 ERM 蛋白的关系。多数研究者有一个比较统一的认识:ERM 蛋白功能存在"活性"、"抑制性"两种状态,活性状态能限定某些细胞膜蛋白连接在细胞骨架上[13]。尽管 Merlin 的研究还不明确,但是很多的实验模型证实 Merlin 具有两种以上的存在状态,具有多种调节模式[14]。Merlin 能够调节细胞黏附、细胞膜转导信号受体、Rho-GTP 酶以及细胞骨架的空间构型。

2.1 Merlin 与细胞膜 Merlin 具有抑制细胞膜生长功能,进而抑制细胞增殖作用。它与多种细胞膜蛋白相关,包括黏附受体、调节细胞增殖的和分化的膜受体。

在正常的细胞,新生细胞的钙黏素复合体刺激 Merlin 聚集,细胞与细胞之间的接触、黏附调节细胞生成。相反,多种类型的 NF2$^{-/-}$细胞不能形成稳定的黏附连接[15]。Merlin 也同其它类型的黏附受体相关联,包括细胞-细胞基质受体 CD44 和

万方数据

β1-整联蛋白[16,17]。Merlin 与 CD44 相连就体现了接触-依赖抑制细胞增殖的性质[18]。

最近的研究[19]发现 Merlin 通过直接控制果蝇属和哺乳动物细胞膜受体的有效性而发挥功能，从而调节细胞增殖和细胞分化。对果蝇的研究[19]发现，Merlin 及相关肿瘤抑制因子的缺失导致某些细胞膜受体，如表皮生长因子受体(epidermal growth factor recepter, EGFR)、Notch、Patched 及 Fat 的浓度升高、选择性分布扩大，这表明正常情况下 Merlin 可以清除细胞膜受体，提高受体的信号输出效能。研究体外培养的哺乳动物细胞发现，Merlin 可以抑制效应器络合；在细胞-细胞接触时，抑制活化的 EGFR 下游信号和切隔 EGFR 进入无信号状态[20,21]。

哺乳动物细胞的 Merlin 与 EGFR 靠接触-依赖性连接，这就需要串联-PDZ 结构域，选择性 Na^+-H^+交换调节因子 1，相对分子质量 50×10^3 的 ERM 连接蛋白(NHE-RF1/EBP50 或 NHE-RF1)[22]。NHE-RF1 也与 ERM 相关，直接或间接地连接多种受体包括 ErbB2、血小板趋化性生长因子受体(platelet-drived growth factor receptor, PDGFR)[23,24]。Merlin 可以负性调节 PDGFR 下游信号[25]。

2.2 Merlin 与肌动蛋白细胞骨架　许多研究学者[26,27]发现 Merlin 与肌动蛋白细胞骨架相关联。ERM 蛋白通过羟基-C-末端与肌动蛋白相连，而 Merlin 则通过 N-末端直接连接在 F-肌动蛋白。Merlin 与肌动蛋白细胞骨架相连需要抑制生长，抑制 EGFR 信号。Merlin 缺失导致某些细胞肌动蛋白核心结构断裂[28,29]。

3 生物学联系

假设 Merlin 能够感知不同的细胞接触类型并调节多种细胞膜受体，它就具有生理性地协调多种信号的能力。在活体研究中，这种协调性调节的结局可能就是依赖性的。在组织形态发展、代谢过程中，精细调节细胞-细胞接触、细胞增殖都离不开 Merlin。

NF2 是果蝇重要的基因，无效的 NF2 基因突变可以造成果蝇胚胎死亡。持续的抗增生作用导致亚效等位基因突变，组织过度生长。使用同源染色体缺失重组技术培养的果蝇成虫细胞不含有 Merlin 和相关肿瘤抑制因子 Expanded(Mer/Ex)。值得关注的是 Mer/Ex 突变使得 EGFR 持续存在，可能对抗正常介导凋亡信号[30]。

Mer/Ex 双突变信号通过经典的 Salvador-Warts-Hippo (SWH)途径发挥作用，并提出假设 Merlin 和 Expanded 上游调节 SWH，抑制 Yki-依赖性 CycE 转导，抑制 DIAP，也抑制 Mer/Ex。

细胞接触培养模型已经取得进展，对于进一步研究 Merlin 的作用机制具有重要意义。我们还需要更详尽地研究 Merlin 和 ERM 蛋白，他们如何调节细胞膜表面相互接触以及接触界面的生理功能等，进而明确肿瘤细胞增殖、转移的机制，为肿瘤研究提供新的思路。

4 参考文献

1 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell, 2010, 144: 646-674.

2 Levine EM, Becker Y, Boone CW, et al. Contact inhibition, macromolecular synthesis, and polyribosomes in cultured human diploid fibroblasts. Proc Natl Acad Sci USA, 1965, 53: 350-356.

3 Brunton VG, Mac Pherson IR, Frame MC. Cell adhesion receptors, tyrosine kinases and actin modulators: a complex three-way circuitry. Biochim Biophys Acta, 2004, 1692: 121-144.

4 Baser ME, Friedman JM, Wallace AJ, et al. Evaluation of clinical diagnostic criteria for neurofibromatosis 2. Neurology, 2002, 59: 1759-1765.

5 Mc Clatchey AI, Giovannini M. Membrane organization and tumorigenesis--the NF2 tumor suppressor, Merlin. Genes Dev, 2005, 19: 2265-2277.

6 Jekely G. Small GTPases and the evolution of the eukaryotic cell. Bioessays, 2003, 25: 1129-1138.

7 Nelson WJ. Adaptation of core mechanisms to generate cell polarity. Nature, 2003, 422: 766-774.

8 King N, Hittinger CT, Carroll SB. Evolution of key cell signaling and adhesion protein families predates animal origins. Science, 2003, 301: 361-363.

9 King N. The unicellular ancestry of animal development. Dev cell, 2004, 7: 313-325.

10 Te Velthuis AJ, Isogai T, Gerrits L, et al. Insights into the molecular evolution of the PDZ/LIM family and identification of a novel conserved protein motif. PLoS One, 2007, 2: e189.

11 Bretscher A, Edwards K, Fehon RG. ERM proteins and merlin: integrators at the cell cortex. Nat Rev Mol Cell Biol, 2002, 3: 586-599.

12 Mc Clatchey AI, Saotome I, Mercer K, et al. Mice heterozygous for a mutation at the Nf2 tumor suppressor locus develop a range of highly metastatic tumors. Genes Dev, 1998, 12: 1121-1133.

13 Curto M, Cole BK, Lallemand D, et al. Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin. J Cell Biol, 2007, 177: 893-903.

14 Morrison H, Sperka T, Manent I, et al. Merlin/neurofibromatosis type 2 suppresses growth by inhibiting the activation of Ras and Rac. Cancer Res, 2007, 67: 520-527.

15 Lallemand D, Curto M, Saotome I, et al. NF2 deficiency promotes tumorigenesis and metastasis by destabilizing adherens junctions. Genes Dev, 2003, 17: 1090-1100.

16 Morrison H, Sherman LS, Legg J, et al. The NF2 tumor suppressor gene product, merlin, mediates contact inhibition of growth through interac-

万方数据

tions with CD44. Genes Dev, 2001, 15: 968-980.

17 Fernandez-Valle C, Tang Y, Ricard I, et al. Paxillin binds schwannomin and regulates its density-dependent localization and effect on cell morphology. Nat Genet, 2002, 31: 354-362.

18 Theisen CS, Wahl JK 3rd, Johnson KR, et al. NHERF links the N-cadherin/catenin complex to the platelet-derived growth factor receptor to modulate the actin cytoskeleton and regulate cell motility. Mol Biol Cell, 2007, 18: 1220-1232.

19 Maitra S, Kulikauskas RM, Gavilan H, et al. The tumor suppressors Merlin and Expanded function cooperatively to modulate receptor endocytosis and signaling. Curr Biol, 2006, 16: 702-709.

20 Dard N, Louvet-Vallee S, Santa-Maria A, et al. Phosphorylation of ezrin on threonine T567 plays a crucial role during compaction in the mouse early embryo. Dev Biol, 2004, 271: 87-97.

21 Manchanda N, Lyubimova A, Ho HY, et al. The NF2 tumor suppressor Merlin and the ERM proteins interact with N-WASP and regulate its actin polymerization function. J Biol Chem, 2005, 280: 12517-12522.

22 Giovannini M, Robanus-Maandag E, van der Valk M, et al. Conditional biallelic Nf2 mutation in the mouse promotes manifestation of human neurofibromatosis type 2. Genes Dev, 2000, 14: 1617-1630.

23 Fievet B, Louvard D, Arpin M. ERM proteins in epithelial cell organization and functions. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773: 653-660.

24 Elliott BE, Meens JA, SenGupta SK, et al. The membrane cytoskeletal crosslinker ezrin is required for metastasis of breast carcinoma cells. Breast Cancer Res, 2005, 7: R365-R373.

25 Elliott BE, Meens JA, SenGupta SK, et al. Co-operative effect of c-Src and ezrin in deregulation of cell-cell contacts and scattering of mammary carcinoma cells. J Cell Biochem, 2004, 92: 16-28.

26 Pelton PD, Sherman LS, Rizvi TA, et al. Ruffling membrane, stress fiber, cell spreading and proliferation abnormalities in human Schwannoma cells. Oncogene, 1998, 17: 2195-2209.

27 Rangwala R, Banine F, Borg JP, et al. Erbin regulates mitogen-activated protein(MAP) kinase activation and MAP kinase-dependent interactions between Merlin and adherens junction protein complexes in Schwann cells. J Biol Chem, 2005, 280: 11790-11797.

28 McLaughlin ME, Kruger GM, Slocum KL, et al. The Nf2 tumor suppressor regulates cell-cell adhesion during tissue fusion. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 3261-3266.

29 Saotome I, Curto M, McClatchey AI. Ezrin is essential for epithelial organization and villus morphogenesis in the developing intestine. Dev Ceu, 2004, 6: 855-864.

30 Yang L, Baker NE. Cell cycle withdrawal, progression, and cell survival regulation by EGFR and its effectors in the differentiating Drosophila eye. Dev Cell, 2003, 4: 359-369.

（收稿日期：2010-02-01）

（本文编辑：杨军）

（上接第 58 页）

漏出增多，是早期 DM 肾损伤的敏感指标[4]。DM 患者由于长期的高血糖使非酶糖酰化速率增加，导致组织缺氧、血液黏稠度增加，同时内皮细胞释放内皮素和 NO 等血管活性物质使肾小球处于高滤过状态而引起肾损害。DN 不仅是肾小球的病变，而且肾小管损害可能早于肾小球损害[5]。本文检测的 91 例 2 型 DM 患者中 U-mAlb 和 NAG 检测水平与健康对照组比较差异均有统计学意义（P 均<0.01），与国内文献报道相符合[6]。DM 患者一旦发生肾脏损害，出现持续性蛋白尿，则病情往往不可逆转，最终发展至终末期肾功能衰竭、尿毒症。因此，DN 已经成为 DM 患者主要的死亡原因。故 DM 患者应定期进行 U-mAlb 和 NAG 的测定，以便对 DM 肾损伤进行早发现、早预防、早诊断、早治疗。

总之，DM 患者尿蛋白排泄率已被公认为诊断肾损害的指标，尿 NAG 和尿白蛋白的检测都是 DN 早期极敏感的实验指标，尿常规检测尿蛋白阴性的 DM 患者，联合检测尿 NAG 和 U-mAlb，对及早发现肾小球和肾小管的病变，及时控制 DN 并发症的发生具有重要意义。

4 参考文献

1 叶任高. 内科学. 第 5 版. 北京：人民卫生出版社，2001，798.

2 程苏琴，朱美财. 尿微量白蛋白在糖尿病肾病早期诊断中的价值. 中华临床检验医学杂志，2005，28：740-741.

3 路亚枫. 尿微量蛋白的预测疾病预后. 中级医刊，2001，36：39.

4 林青，阮诗玮. 尿微量蛋白联合尿酶诊断肾脏早期损伤. 中华医学检验杂志，2003，22：30.

5 郭绪晓，高伟，张慧林. 尿微量蛋白和尿 NAG 联合检测在诊断糖尿病早期肾损伤中的临床价值. 齐鲁医学检验，2005，16：15-16.

6 吕娟，张冬青，唐秀英. 尿微量蛋白联合检测对糖尿病肾脏早期损害的诊断价值. 实用医技杂志，2005，12：3426-3427.

（收稿日期：2010-02-16）

（本文编辑：陈淑莲）

万方数据