

综述 ·

Notch 信号与肺发育

张谨慎 综述,常立文 审校

(华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科,湖北 武汉 430030)

[中图分类号] R3 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2004)02-0158-03

Notch 信号是一种进化保守性细胞间的相互作用机制,可影响发育过程中多种细胞的分化、增殖和凋亡,进而决定细胞命运和发育过程,在多种组织和器官的早期发育过程中起中心作用。近年来,有关 Notch 信号通路在胚胎肺发育发生中的作用已成为国际研究热点。本文就 Notch 信号的基因结构及功能、Notch 受/配体在肺发育过程中的表达及其对肺上皮细胞的分化、血管发育的影响情况作一综述。

1 Notch 信号概述

在果蝇发育研究中,人们发现了一条传导细胞间相互作用信号的途径——Notch 信号途径,它通过邻近细胞间相互作用精确调控各谱系细胞分化。有研究表明,Notch 信号广泛存在于脊椎动物的胚胎和成年组织,是多种组织和器官早期发育所必需的细胞间调节信号,在调控细胞发育、增殖、分化中起关键作用。

Notch 信号系统组成包括:Notch 分子、配体及细胞内效应分子。目前已知有 4 种哺乳动物 Notch 基因,即 Notch 1-4。果蝇 Notch 基因编码一种 300 KD 的跨膜蛋白受体,较大的细胞外区包含 36 对上皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)样重复序列和 3 个富含半胱氨酸的 LIN-12/Notch 重复序列(LIN-12/Notch repeat, LNR),后者具有配体结合和 Notch 激活功能。其细胞内区含有 6 个串联的锚蛋白(ankyrin)重复序列,一个富谷氨酰胺域(glutamine-rich domain)及 PEST 序列,此结构域单元为蛋白-蛋白间相互作用所涉及的分子,为 Notch 信号转导所必需。Notch 蛋白不具备任何已知酶的活性,但可通过直接的分子相互作用转导信号^[1]。研究发现,果蝇细胞表面大多数 Notch 蛋白是一种杂

二聚体形式的分裂片段,含有一小段细胞外区、跨膜区及细胞内区,推测杂二聚体是活化的、可与配体结合的受体形式,而全长则是新合成的胞内的非活化分子^[2]。

Notch 的配体是 DSL (Delta-Serrate-Lag-2) 家族的单向跨膜蛋白,在果蝇中是 Delta (Dl) 和 Serrate (Ser),在线虫中是 Lag-2,在脊椎动物中是 Jagged^[1],各配体的细胞外区含数量不等的 EGF 样重复序列,并有一个富含半胱氨酸的 DSL 基因序列,该序列在与 Notch 的相互作用中非常关键。研究发现,受-配体的相互作用是 Notch 受体细胞外区中 11、12 位样 EGF 序列与配体的 DSL 域结合,使受体活化,不同种系此受-配体结合特性高度保守。

Notch 信号转导通路及调节^[1,3]:Notch 途径从结构到功能上无论是果蝇或者人类均是保守的,其配体和下游信号转导分子及核内应答过程已成为近年来的研究热点。现已确知,当受体受到配体的刺激而激活时,其细胞内区受蛋白酶(可能是膜蛋白 presenilin 或 Furin)作用而从近膜处裂解,释放出细胞内区。Notch 受体的细胞内区是 Notch 的活性形式,释放的细胞内区不经过其他信号转导分子的作用而直接进入核,通过其锚蛋白重复序列与 DNA 结合蛋白 Su(H) (suppressor of hairless) 相互作用, Su(H) (在哺乳动物为 CBF1/RB K) 是 Notch 信号的主要转录因子。Notch 信号的靶位点是 E(sp1) (enhancer of split) 基因复合体及哺乳动物的 Hes (hairy and enhancer of split) 家族基因,这些基因编码核碱性螺旋-环螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)蛋白。Su(H) 转位入核结合于 E(sp1) 基因的调控序列,使 E(sp1) 编码的 bHLH 蛋白表达上调, bHLH 蛋白继而又影响下游靶基因的调控。此外,金属蛋白酶 Kuz 和早老素 Presenilin 作为 Notch 信

[收稿日期] 2003-07-18; [修回日期] 2003-11-14
[作者简介] 张谨慎(1971-),男,在读博士,主治医师。主攻方向:新生儿疾病。

号的调节物质可能直接参与生成和/或转运 Notch 和 D1、Ser 片段,Notch 的生理抑制剂 Numb 可以阻断其细胞内区向核内的转移。

2 Notch 信号系统的功能

研究表明,Notch 信号既可通过侧向分化又可通过信号诱导来实现对细胞命运的控制,其介导的细胞间相互作用的本质特征在于相邻细胞受、配体的表达不同^[4]。由相同细胞组成的细胞群中,某些表达 Delta/ Serrate 的细胞可产生定向分化,同时 Delta/ Serrate 可活化其周围细胞 Notch 受体的表达,从而使他们向另一方向分化,或保持未分化状态(即侧向分化或抑制作用);由不同细胞组成的细胞群中,相邻的细胞具有不同的特征,其 Notch 受、配体的表达也不同,某些细胞作为信号发送细胞,某些细胞作为信号接收细胞,在其他内源性或外源性信号的影响下,相邻的细胞受、配体的表达及活性发生变化,从而使细胞进入下一个分化阶段(即信号诱导作用)。Notch 信号介导的细胞间相互作用在外胚层及中胚层组织发育的多种细胞如神经细胞^[5]、淋巴细胞^[6]、上皮细胞^[7]等分化中起中心作用。对果蝇的研究表明,正常发育对于 Notch 和 Delta 的基因剂量异常敏感,提示呈现于细胞表面的受体或配体量是一种非常重要同时可能受精密调节的 Notch 信号参数,因此,能直接或间接影响 Notch 受/配体成熟和转运的基因可能是该信号的有效调节物质。此外,Notch 信号系统受体和配体间存在的反馈机制使 Notch 及其配体表达的差别在发育过程中得到放大,从而决定了细胞的不同分化方向。Notch 信号自身并不传递某种特殊的发育信号,而是调节细胞对特殊发育信号的反应能力。

一系列研究显示,Notch 信号除参与细胞分化外亦可影响细胞的凋亡及增殖。实验证实 Notch 胞膜内结构域可与凋亡活动的核内受体 Nur77 结合,激活的 Notch 信号在 T 杂交瘤细胞过度表达时,T 杂交瘤细胞不易受依赖 Nur77 的凋亡信号影响,凋亡细胞的数目减少^[8]。许多实验结果还显示了 Notch 信号与细胞增殖的关系,活化 Notch 可诱使小细胞肺癌的细胞周期停留在非增殖期,表现为 G1 期阻滞^[9]。这些结果提示 Notch 信号在调节细胞的分化潜能、增殖程度和凋亡细胞死亡中起作用,同时也提示 Notch 信号可能是临床治疗中一个很有希望的新目标。

3 Notch 信号在肺发育中的作用

肺发育是间充质和外胚上皮细胞相互作用的结果,也是研究发育生物学的细胞间信号转导及其分子作用机制的较理想模型。胎肺的发育通常分为 4 个阶段:胚期(3~7 周),假腺体期(7~16 周),小管期(16~24 周)以及原始肺泡期(24 周以后)。孕 36 周至生后 5 个月,囊泡通过分隔、肺泡化进展到肺泡期,如致病因素抑制囊泡分隔、肺泡化,将导致肺发育受阻。作为胚胎期肺内主要干细胞,型肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cell, AEC)可增殖分化为型上皮细胞,参与肺囊泡分裂和肺泡分化形成;并能合成、分泌表面活性物质,维持肺泡膨胀状态;肺损伤的修复亦完全依赖于 AEC 的增生、分化,型细胞无此能力。所以,AEC 在肺发育以及肺损伤后修复和更新过程中有重要意义。阐明引起胚胎肺上皮细胞分化及自我更新的细胞及分子机理是全面理解肺发育过程的关键,尽管此领域的研究已取得了很大进展,但介导上皮细胞分化过程及自我更新的分子机理尚未完全清楚。在证实胎肺组织存在 Notch 受体、配体的表达以后,最近几年已有多篇文献提示 Notch 信号系统在肺发育过程中具有重要作用。

3.1 胎肺上皮细胞的分化

Notch 受/配体表达部位广泛,已有多位学者先后证实了 Notch 1-4 及 Jagged mRNA 和蛋白水平在小鼠肺内的表达^[10-13]。哺乳动物肺上皮组织由多种细胞群构成,最初通过对肺神经内分泌细胞(pulmonary neuroendocrine cells, PNECs)分化的研究,证明了 Notch 信号传导系统在胎肺上皮细胞的分化中具有重要作用。Ito 等^[14]研究发现,PNECs 的发育受 Notch 信号下游转录因子 bHLH 活化剂和抑制剂调控,Mash1 (mammalian homologs of achaete-scute complex)是 PNEC 分化的主要活化剂,Hes1 通过抑制 Mash1 拮抗 PNECs 的分化。Northern 印迹法^[14]结果显示,小鼠胚胎肺上皮组织发育早期即有 Notch 受、配体的表达,Notch 1、Notch 3 分布于 Clara 细胞和型上皮细胞,上皮组织未发现 Notch 4 表达。Notch 1、Notch 3、Notch 4 及 Dll-1 mRNA 的表达随胎龄增加而增强,在成年鼠肺内表达最强。同时对 Hes1 基因敲除小鼠的研究发现 Notch 1 mRNA 表达显著下降。Ito 等^[14]学者推测,Notch 信号可能通过促进或抑制 bHLH 在决定肺内上皮细胞分化中起重要作用。Dang^[7]对活化 Notch

3 转基因小鼠的研究亦支持这一论点:正常胎龄 18.5 d 小鼠肺泡内同时包含 I 型和 II 型上皮细胞, II 型细胞已与相邻毛细血管重叠形成气血屏障, II 型细胞内见糖原及板层体;而转基因小鼠因 Notch 3 的持续异位表达出现肺形态学改变及发育延迟,多数上皮为未成熟立方细胞,胞浆内含糖原,但未见板层体,肺囊泡扩张,肺间质异常增厚。以上研究提示 Notch 信号在肺发育中发挥重要作用,但目前相关研究刚刚起步,Notch 调控 II 型上皮细胞分化增殖的确切机制仍有待进一步研究。

3.2 胎肺血管组织发育

目前对肺血管发育的分子机制仍知之甚少。Taichman 等^[15]最近研究了第 11 天胎龄小鼠至成年期各时间点鼠肺 Notch 信号表达情况,发现 Notch 1 - 4 和 Jagged₁ mRNA 除表达于上皮和间质组织外,内皮细胞亦呈现特异性表达增加。Notch 1 及 Jagged₁ 最初见于胚胎肺芽中已形成的较大血管,随肺内血管网的建立而表达增强。免疫电镜亦证实 Notch 1 及 Jagged₁ 在肺泡微血管内皮细胞膜表面的定位表达。Notch 受、配体在胎肺表达的部位及随胎龄增大表达亦增加的时空模式,为我们提供了其在血管形成和细胞调节中的可能作用。

综上所述,人们已经认识到 Notch 信号在肺发育中的重要性及复杂性,也已初步认识一些细胞间相互作用的机制。动物发育时利用 Notch 信号放大和强化相邻细胞间的分子差异。然而,一部分细胞发育成 I 型上皮细胞,而另一部分细胞发育成 II 型细胞的精确机制还不清楚,而肺发育和肺损伤修复时 Notch 信号对细胞分化增殖的调控机制可能更加复杂,需要看 Notch 信号如何与其他细胞因素整合,这都有待我们进一步研究、探索。研究清楚这些信号作用的机制及其对肺发育的影响将为防治肺部畸形和肺发育阻滞,提高新生儿特别是早产儿的存活率提供理论依据。

[参 考 文 献]

[1] Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development [J]. *Science*, 1999, 284(5415): 770 - 776.
[2] Blaumueller CM, Qi H, Zagouras P, Artavanis-Tsakonas S. In-

tracellular cleavage of Notch lead to a heterodimeric receptor on the plasma membrane [J]. *Cell*, 1997, 90(2): 281 - 291.
[3] Struhl A, Adachi A. Nuclear access and action of notch in vivo [J]. *Cell*, 1998, 93(4): 649 - 660.
[4] Artavanis-Tsakonas S, Matsuno K, Fortini ME. Notch signaling [J]. *Science*, 1995, 268(5208): 225 - 232.
[5] Irvin DK, Zurcher SD, Nguyen T, Weinmaster G, Kornblum HI. Expression patterns of Notch1, Notch2 and Notch3 suggest multiple functional roles for the Notch-DSL signaling system during brain development [J]. *J Comp Neurol*, 2001, 436(2): 167 - 181.
[6] Pui JC, Allman D, Xu L, DeRocco S, Kamell FG, Bakkour S, et al. Notch1 expression in early lymphopoiesis influences B versus T lineage determination [J]. *Immunity*, 1999, 11(3): 299 - 308.
[7] Dang TP, Eichenberger S, Gonzalez A, Olson S, Carbone DP. Constitutive activation of Notch3 inhibits terminal epithelial differentiation in lungs of transgenic mice [J]. *Oncogene*, 2003, 22(13): 1988 - 1997.
[8] Jehn BM, Bielke W, Pear WS, Osborne BA. Cutting edge: protective effects of Notch1 on TCR-induced apoptosis [J]. *J Immunol*, 1999, 162(2): 635 - 638.
[9] Sriuranpong V, Borges MW, Ravi RK, Arnold DR, Nelkin BD, Baylin SB, et al. Notch signaling induces cell cycle arrest in small cell lung cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(7): 3200 - 3205.
[10] Weinmaster G, Roberts V, Lemke G. A homolog of Drosophila Notch expressed during mammalian development [J]. *Development*, 1991, 113(1): 199 - 205.
[11] Weinmaster G, Roberts V, Lemke G. Notch2: a second mammalian Notch gene [J]. *Development*, 1991, 116(4): 931 - 941.
[12] Luo R, Aster JC. Isolation and functional analysis of a cDNA for human Jagged2, a gene encoding a ligand for the Notch1 receptor [J]. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(10): 6057 - 6067.
[13] Post LC, Ternet M, Hogan BL. Notch/Delta expression in the developing mouse lung [J]. *Mech Dev*, 2000, 98(1 - 2): 95 - 98.
[14] Ito T, Udaka N, Yazawa T, Okudela K, Hayashi H, Sudo T, et al. Basic helix-loop-helix transcription regulate the neuroendocrine differentiation of fetal mouse pulmonary epithelium [J]. *Development*, 2000, 127(18): 3913 - 3921.
[15] Taichman DB, Loomes KM, Schachtner SK, Guttentag S, Vu C, Williams P, et al. Notch1 and Jagged1 expression by the developing pulmonary vasculature [J]. *Dev Dyn*, 2002, 225(2): 166 - 175.

(本文编辑:吉耕中)