

·综述·

## 肌球蛋白磷酸化的研究进展

郝丽娟,康志琼,马上上,吕 鹏,姚 勤,陈克平\*

(江苏大学 生命科学研究院 中国江苏 镇江 212013)

**摘要:**肌球蛋白是肌原纤维粗丝的组成单位,由多条重链与多条轻链组成,被视为一种分子马达。在肌肉收缩、趋化性胞质分裂、胞引作用、膜泡运输以及信号传导等生理过程中起重要作用。目前肌球蛋白磷酸化是研究的一个热点,它对细胞的迁移、收缩、胞质分裂以及其他未知功能都有着至关重要的作用。肌球蛋白磷酸化分为重链的磷酸化与轻链的磷酸化。根据国内外的最新相关研究报告,分别从肌球蛋白的结构与功能、磷酸化的作用机制、磷酸化的生物学功能以及最新研究成果等方面,对肌球蛋白的磷酸化研究进展进行阐述。

**关键词:**肌球蛋白; $\beta$ -抑制蛋白;肌球蛋白重链磷酸化;肌球蛋白轻链磷酸化

中图分类号:Q71

文献标识码:A

文章编号:1007-7847(2015)02-0154-06

## Progresses on Myosin Phosphorylation

HAO Li-juan, KANG Zhi-qiong, MA Shang-shang,  
LÜ Peng, YAO Qin, CHEN Ke-ping\*

(Life Sciences Institute, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu, China)

**Abstract:** Myosin is the unit of myofibril raw silk, composed of multiple heavy chains and light chains, is regarded as a kind of molecular motors. It mainly works on muscle contraction, chemotaxis cytoplasmic division, cell function, vesicular transport and signal transduction. Recently myosin phosphorylation is a hot topic, as it plays an important role in cell migration, contraction, cytokinesis and other unknown functions. Myosin phosphorylation is divided into heavy chain and light chain phosphorylation. According to the latest reports, it mainly elaborates the research progress on the phosphorylation of myosin on the structures and functions, the action mechanism of phosphorylation, the biological function of phosphorylation and the latest research results.

**Key words:** myosin;  $\beta$ -Arrestin; phosphorylation of myosin heavy chain; phosphorylation of myosin light chain  
(*Life Science Research*, 2015, 19(2): 154~159)

### 1 肌球蛋白的结构与功能

肌球蛋白主要存在于平滑肌中,它是肌原纤维粗丝的组成单位。其分子形状如豆芽状,由多条重链与多条轻链组成。肌球蛋白的家族较大,目前发现的肌球蛋白有 24 种,但依据其来源又可分为传统的肌球蛋白和非传统的肌球蛋白,如传统的肌球蛋白为肌肉的肌球蛋白,即肌球蛋白 II,

但非肌肉细胞也存在肌球蛋白 II,为非肌肉肌球蛋白 II;非传统的肌球蛋白是指肌肉中不含有的肌球蛋白,如肌球蛋白 I、III、IV、V,只存在于非肌肉细胞中;肌球蛋白 VIII、XI 和 XII 只存在于植物当中。此外,肌球蛋白 I 在生物体内的作用是细胞运动,胞引作用和泡液收缩;骨骼肌肌球蛋白 II 的作用是使骨骼肌肌肉收缩;肌球蛋白 V 主要功能是靶向小包运输和 mRNA 的靶向运输<sup>[1]</sup>。

收稿日期:2014-06-30;修回日期:2014-08-01

基金项目:国家重点基础研究发展计划“973 项目”(2012CB1146-04)

作者简介:郝丽娟(1989-),女,山西阳泉人,硕士研究生,主要从事分子生物学研究;\*通讯作者:陈克平(1960-),男,安徽无为,江苏大学生命科学研究院研究员,博士生导师,博士,主要从事蛋白质组功能解析,病毒与宿主的相互博弈以及转基因生物安全性评估的研究, Tel:0511-88791923, E-mail:kpchen@ujs.edu.cn。

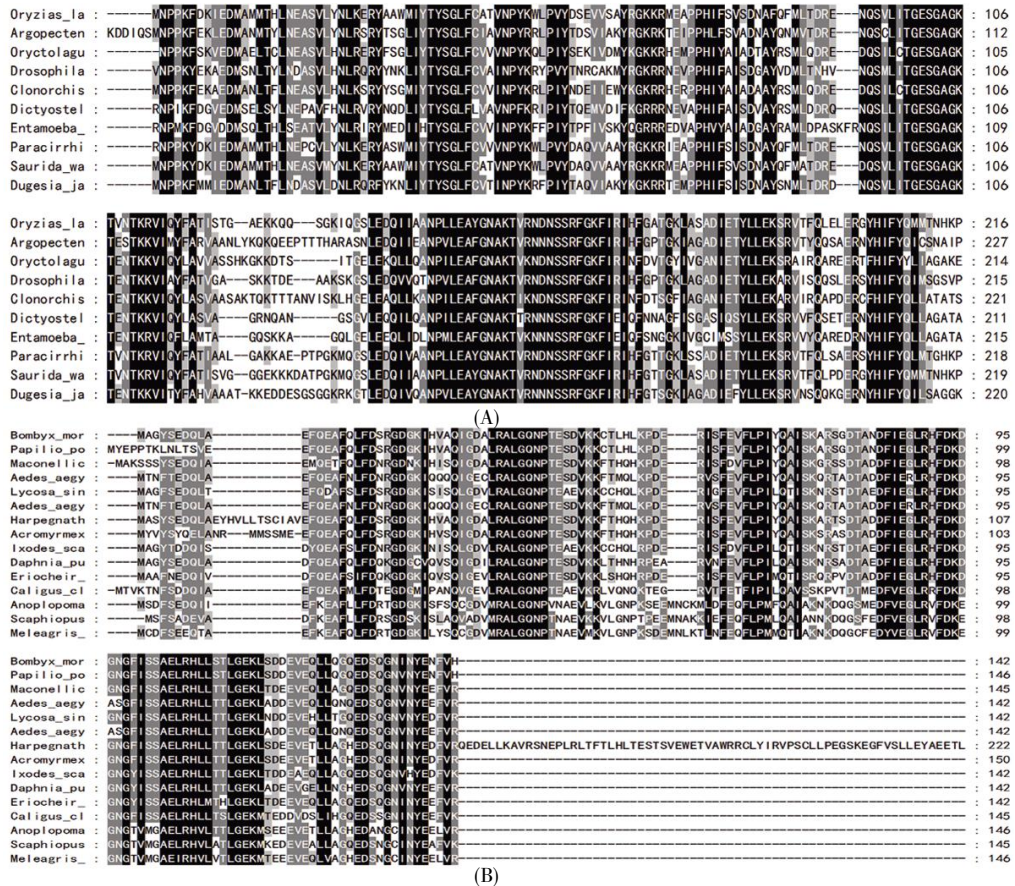


图 1 肌球蛋白氨基酸序列同源性分析  
 (A) 肌球蛋白重链氨基酸序列比对; (B) 肌球蛋白轻链氨基酸序列比对

Fig.1 Amino acid homology analysis of myosin

(A) Myosin heavy chain amino acid sequence alignment; (B) Myosin light chain amino acid sequence alignment

在生物有机界中,利用化学能/化学势能进行机械做功的生物大分子,称为分子马达。而肌球蛋白作为一种分子马达<sup>[2]</sup>,参与了肌肉收缩、趋化性胞质分裂、胞引作用、膜泡运输以及信号传导等活动<sup>[1]</sup>。

目前研究得较多的是肌球蛋白 II, 其最早发现于动物细胞的肌肉组织和细胞质中, 形状如“Y”型, 是一个六聚体的大分子蛋白质, 包括两条相对分子质量约为 220 kD 的重链、两条约 17 kD 的必须轻链和两条约 20 kD 的调节性轻链<sup>[3]</sup>。根据重链在细胞内所起的作用, 按照结构和功能不同可划分为 3 个区域: 1) 位于重链的 N 末端形成一个球状的头部, 含有一个肌动蛋白 (actin) 结合位点和 ATP 结合位点的催化区域, 负责释放化学能; 2) 重链的 C 末端则形成一个细长的  $\alpha$ -螺旋状的尾部, 尾部结构域含有决定尾部是同膜结合还是同其他的尾部结合的位点; 3) 连接头尾的是  $\alpha$ -螺旋状的颈部, 其与必须轻链、调钙素或类似钙调素的调节轻链相连, 颈部是起到水平臂作用的区

域, 在这个区域中通过 ATP 水解将产生动力冲程, 实现将化学能转化为机械能<sup>[4]</sup>。

通过对各个物种的肌球蛋白重链, 轻链序列的功能结构域分别进行氨基酸水平上的多序列比对, 结果发现肌球蛋白较为保守, 只是个别氨基酸序列存在差异, 这表明各个物种肌球蛋白磷酸化的作用机制与功能大体一致 (图 1)。

## 2 肌球蛋白轻链的磷酸化

由肌动蛋白-肌球蛋白 (actin-myosin) 相互作用介导的细胞收缩, 对肌肉与非肌肉细胞的一些生理活动起着至关重要的作用, 包括细胞分裂、粘连、趋化性和胞质分裂<sup>[5]</sup>, 其动力学活性会调控细胞收缩, 调节血管渗透性, 控制平滑肌细胞中的血压<sup>[6]</sup>。

### 2.1 肌球蛋白轻链磷酸化的作用机制

肌球蛋白 (平滑肌与非肌肉蛋白) 受肌球蛋白轻链 (MLC) 磷酸化调控<sup>[7]</sup>。磷酸化的肌球蛋白是维持细胞骨架活性及细胞功能的重要效应因子<sup>[8, 9]</sup>。

肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)和 ROCK/ROK/Rho 激酶(Rho kinase, ROCK)是在体内和体外使 MLC 磷酸化的两种重要激酶<sup>[10]</sup>。通常认为,当  $Ca^{2+}$ 与钙调蛋白复合体(Calmodulin complexes, CaM)结合后,会激活 MLCK,进而 MLCK 使肌球蛋白轻链 20 (myosin light chain 20, MLC20)上第 19 位的丝氨酸(Ser19)磷酸化,导致激活肌球蛋白头部的  $Mg^{2+}$ -ATP 酶(简称 ATP 酶)<sup>[11]</sup>,该酶水解 ATP 产生能量会使其构象发生转变,这种构象会使肌球蛋白去结合肌动蛋白(actin),利用 ATP 形成一种细胞收缩的压力<sup>[12]</sup>。相反地,用肌球蛋白轻链磷酸酶((myosin light chain phosphatase, MLCP)使 MLC 去磷酸化后会使其构象弯曲,结合肌动蛋白的能力下降。MLCP 是一个异源三聚体蛋白,由磷酸酶(PP1C)、肌动蛋白结合区和调节区域(MYPT)以及一个 20 kD 的小亚基(ML20)组成,但 ML20 的功能尚不清楚。MLC 的这种周期性的磷酸化与去磷酸化的状态,是细胞发生运动和收缩的必备条件<sup>[13]</sup>。

RhoA 的效应分子 ROCK<sup>[14]</sup>是肌球蛋白磷酸化和调节肌球蛋白功能的另一个重要调节因子,它使肌球蛋白结合肌球蛋白磷酸酶(MLCP)的位点(MBS)磷酸化<sup>[15]</sup>,抑制 MLCP 活性,从而增加了肌球蛋白的磷酸化水平,诱导 RhoA 介导的应力纤维和粘着斑装配。在平滑肌和非肌细胞中,ROCK 还能直接磷酸化 MLC 刺激肌球蛋白收缩<sup>[16]</sup>。

对于所有的肌球蛋白,大体机制都可以解释为当肌动蛋白结合到马达区域时,马达运动由于在活性位点 ATP 诱导的构象发生变化引起 RD (一种调控区域可以使必须轻链、调节轻链以及重链结合)旋转<sup>[17]</sup>。RD 包含着重链(heavy chain, HC)的一段较长的螺旋,可以使调节轻链(regulate light chain, RLC)和必须轻链(essential light chain, ELC)以反向平行的方式结合。轻链可以稳定 HC 螺旋,然后作为一个较为自由的转换器,由一种构象转换为另一种构象去产生工作的动力。

## 2.2 肌球蛋白轻链磷酸化的主要生物学功能

### 2.2.1 磷酸化对细胞迁移的调节

Totsukawa 等在 2004 年将成纤维细胞作为研究材料发现,MLCK 与 ROCK 在调节 MLC 磷酸化时,在 MLC 所处的不同空间分布中起着不同的作用。在细胞迁移中 MLCK 诱导细胞周边和前端肌球蛋白轻链磷酸化,ROCK 诱导细胞中心肌球蛋白轻链磷酸化。肌球蛋白 II 在细胞周边的磷酸化

有两种功能:第一,阻止由肌动蛋白多聚化产生的突触,以便于细胞迁移;第二,位于细胞周边的肌球蛋白 II 磷酸化对在运动细胞的前端装配成熟的粘附结构是必需的<sup>[16]</sup>。

### 2.2.2 磷酸化对细胞收缩行为的影响

肌球蛋白 II 产生的收缩力不仅为细胞的迁移提供动力,在维持细胞形态,促进伤口愈合,介导胞外基质和细胞信号转导中也起着重要的作用<sup>[16]</sup>。Beningo 等使用特异性抑制剂 blebbistain 处理后,发现抑制了肌球蛋白 II 的收缩活动,同时抑制 ROCK 也会很大程度减少肌球蛋白 II 的收缩<sup>[18]</sup>。

### 2.2.3 磷酸化对细胞形态与凋亡的影响

肌球蛋白 II 的活性对于应力纤维粘着斑的形成是必需的。ROCK 使肌球蛋白结合肌球蛋白磷酸酶(MLCP)的位点(MBS)磷酸化,抑制肌球蛋白磷酸酶活性,从而增加了肌球蛋白的磷酸化水平,诱导 RhoA 介导的应力纤维和粘着斑装配。而且它还整合素介导的一些信号通路相关<sup>[16]</sup>(表 1)。p114RhoGEF 是一种 RhoA 激活剂,能结合到肌球蛋白 IIA 上,并起到一定的调控作用<sup>[19, 20]</sup>,有数据显示, p114RhoGEF 能驱动上皮细胞的迁移,变形虫的运动以及肿瘤细胞的入侵<sup>[21]</sup>。

表 1 肌球蛋白轻链磷酸化的主要生物学功能  
Table 1 The main function of myosin light chain phosphorylation

Acting site	Function	Dependent factor
MLC	Cell migration	MLCK and ROCK
MLC	Cell contraction	ROCK
MLC	Cell morphology and apoptosis	MLCK and ROCK

## 2.3 肌球蛋白轻链磷酸化的最新研究成果

### 2.3.1 $\beta$ -抑制蛋白调控的磷酸化

2013 年 Elie Simard 等通过利用兔子的骨骼肌,发现  $\beta$ -抑制蛋白可以调控由血管紧张肽 II 型 1a 受体(AT1aR)刺激的肌球蛋白 MLC 的磷酸化。 $\beta$ -抑制蛋白属于抑制蛋白家族,包括  $\beta$ -抑制蛋白-1 和  $\beta$ -抑制蛋白-2,它可以在哺乳动物组织中广泛表达<sup>[9]</sup>。 $\beta$ -抑制蛋白介导 G 蛋白耦联受体和其他一些受体的信号通路的调控,在细胞的生长、凋亡及免疫功能中都发挥了重要作用,并且与一些疾病的发病密切相关。一些研究表明, $\beta$ -抑制蛋白-1 对于激活 RhoA/ROCK 以及迫使形成肌纤维是不可缺失的。一些 G 蛋白偶联受体(GPCRs),如血管紧张肽 II 型 1a 受体(AT1aR),参与调控细胞收缩<sup>[12]</sup>。而 AT1aR 的拮抗剂 II (Ang II)能够很好地防治血管收缩类的疾病<sup>[22]</sup>。另外,Elie

Simard 等利用酵母双杂交系统研究发现,由于 $\beta$ -抑制蛋白-1 的 163-253 位氨基酸包含 MYPT-1 的结合区域,所以 $\beta$ -抑制蛋白-1 1-418 位氨基酸和 1-253 位氨基酸会与 MYPT-1 的 643-943 位氨基酸相互作用。当受到 AT1aR 的刺激时, $\beta$ -抑制蛋白-2 也会与 MYPT-1 (肌球蛋白调控区域) 相结合。通过 $\beta$ -抑制蛋白诱导会激活 AT1aR 的信号通路,促进 MLC 的磷酸化,而 $\beta$ -抑制蛋白-2/MYPT-1 复合体会阻断到 MLCP 亚基的入口,亲和性降低,所以 $\beta$ -抑制蛋白-2 会使 MLC 去磷酸化。周期性的 MLC 磷酸化会加速细胞收缩<sup>[23]</sup>。此研究表明, $\beta$ -抑制蛋白对于 MLC 的磷酸化与去磷酸化是不可缺失的,当肌肉细胞中缺失 $\beta$ -抑制蛋白-1,在应对 AT1aR 的刺激下,MLC 的磷酸化水平会下降。经实验发现,这可能是基于两方面的原因:其一是 MYPT-1 远离了 MLCP 的复合体;其二是依赖 $\beta$ -抑制蛋白-1 的 RhoA 因子水平下降<sup>[24]</sup>,随后 ROCK 活性损失,MLCP 活性增强;但当肌肉细胞中缺失 $\beta$ -抑制蛋白-2,在 AT1aR 的拮抗剂 Agonist 的刺激下,会使 MLC 磷酸化水平升高。有趣的是,两种 $\beta$ -抑制蛋白会相互调控 MLC 的磷酸化,缺失 $\beta$ -抑制蛋白-1 或者 $\beta$ -抑制蛋白-2 对细胞收缩和运动都会有相似的效果。因此,MLC 的磷酸化对细胞收缩和驱动细胞运动起着关键性作用(图 2)。

### 2.3.2 ELC 与 RLC 相互作用对磷酸化的影响

上文提到,肌球蛋白由重链与轻链组成,而轻链又是由必须轻链(ELC)与调节轻链(RLC)构成。对于所有的肌肉组织,收缩与释放都是由细胞内的  $Ca^{2+}$  含量变化调控的。在横纹肌中, $Ca^{2+}$  结合到

细肌丝的肌钙蛋白的复合体上激活肌动蛋白-肌球蛋白(actin-myosin)ATP 酶,因而发生肌肉收缩。相比较而言,在软体动物与脊椎动物的平滑肌和非肌肉细胞中,收缩的方式有两种:其一直接由  $Ca^{2+}$  结合到肌球蛋白 II ELC<sup>2</sup> 上;其二是由 RLC 的 N-端区域磷酸化,这种磷酸化由  $Ca^{2+}$  依赖的 MLCK 调控的。

肌球蛋白调控的结构机制首次以原子级的分辨力揭示,扇贝肌球蛋白 II 的 RD 构造包含着 ELC 和 RLC,以及可以结合一部分轻链的 HC<sup>[25, 26]</sup>。在扇贝肌球蛋白中, $Ca^{2+}$  会结合到 ELC-N 端结构域 I 中的 EF 臂的上。2012 年 Shaowei Ni 等通过用鸡的平滑肌 HMM 在 Sf9 细胞中表达后得到 HC、RLC 与 ELC 的全长。研究发现,必须轻链(ELC)与调节轻链(RLC)交界处的修饰会阻断激活平滑肌肌球蛋白依赖的磷酸化。他们表达了 16 个平滑肌水解重酶解肌球蛋白(SmHMM),两条 MLC 与周围的 HC 的衔接处发生突变。结果发现:1)RLC 被 MLCK 磷酸化;2)亚基组成是正常的,突变并不会降低 ELC 或者 RLC 结合到 HC 的能力;3)依赖肌动蛋白激活的 ATPase 的动力学以及在体外运动的机械性能在去磷酸化的状态下与 WT HMM 相一致;4)对于磷酸化的水解重酶解肌球蛋白(HMM),缺失肌动蛋白(actin)状态下其 ATPase 活性会被抑制。另外,当阻断 RLC 与 ELC 的相互作用时,磷酸化不再有激活 HMM 捕捉肌动蛋白的能力。经研究发现,这种现象与 RLC 的 M129Q 与 G130C 的突变有关。M129Q 和 G130C 对于稳定结构,激活捕捉 actin 的能力起着关键作用。同时研究发现,与 Asp-131 相互作用的 HC 突变体

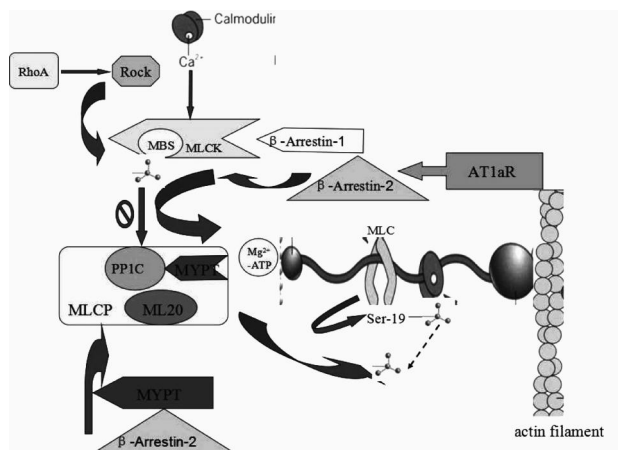


图 2 肌球蛋白轻链磷酸化作用机制  
Fig.2 The mechanism of the myosin light chain phosphorylation

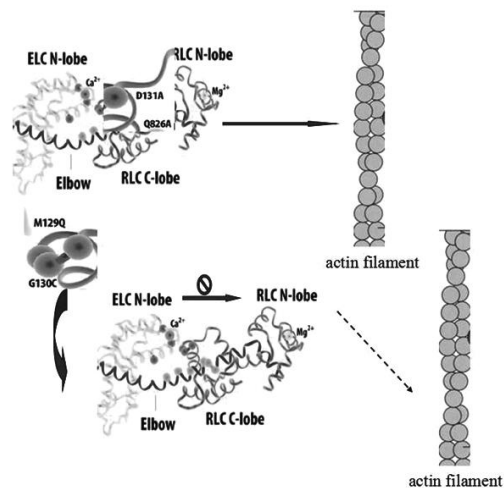


图 3 ELC 与 RLC 相互作用对磷酸化的影响  
Fig.3 ELC interact with RLC effects on phosphorylation

Q826A,也可以起稳定 RLC/ELC 的相互作用(图 3)。通过突变 HC、RLC 以及 ELC 去破坏三者之间的相互作用,若不发生磷酸化,所有的突变体都与野生型(wt)的现象相似,相反,肌球蛋白会运动缓慢,ATPase 活性下降。分子动力学研究表明,阻断 RLC/ELC 的相互作用会导致肌球蛋白弹性增加,很可能会阻碍磷酸化的激活。因此作者猜想,RLC 磷酸化重要的功能就是去维持 RLC 与 ELC 相互作用的完整性。一旦 RLC/ELC 相互作用阻断,结构破坏,就不会再受到磷酸化的调控的影响<sup>[27]</sup>。

### 3 肌球蛋白重链的磷酸化

非肌肉肌球蛋白 II 是一个六聚体复合物,由两条重链(NMHC-II)、两条必须轻链、两条调节轻链组成。在脊椎动物中,NMHC-II 有 3 种异构体,分别是 NMHC-II A(MYH9)、NMHC-II B(MYH10)以及 NMHC-II C(MYH14)<sup>[28]</sup>,在组织和细胞形态中都会表现出不同的模式<sup>[29]</sup>。虽然 NMHC-II 的异构体会有很高的保守性,但是一些酶的活性还是有些差异的<sup>[30]</sup>。另外,NMHC-II 在细胞中的定位也不一样<sup>[31]</sup>,也会与不同的蛋白结合<sup>[32]</sup>。

#### 3.1 重链磷酸化的作用机制

在哺乳动物细胞中,肌球蛋白 II 调节轻链的丝氨酸 19(Ser-19)的磷酸化普遍地参与了体内装配的调控<sup>[33]</sup>,但是,存在一种证据证明非肌肉肌球蛋白 II 装配的调控是可以通过重链的磷酸化来实现的,特别是蛋白激酶 C(PKC)与酪蛋白激酶 2(CK2)对肌球蛋白 II-A 与 II-B 有着至关重要的作用,PKC 会使 NMHC-II A 的 Ser1916 磷酸化<sup>[34]</sup>。通过 PKC 或者 CK2 使重链磷酸化会减少肌球蛋白 II 异构体装配成肌丝<sup>[35]</sup>。涉及到磷酸化作用,肌球蛋白 II-A 装配可以通过结合转移因子 mts1 或者钙结合蛋白 S100A4 来调控<sup>[36]</sup>。S100A4 会优先地结合到非肌肉肌球蛋白 II-A<sup>[37]</sup>,然后促进单体的、未装配的肌球蛋白 II-A 装配<sup>[38]</sup>。CK2 使 NMHC-II A 的 Ser1943 磷酸化会抑制钙结合蛋白 S100A4 结合以及 S100A4 诱导的单纤维的装配,S100A4 介导的肌球蛋白 II-A 肌纤维的去磷酸化<sup>[39]</sup>。因此,重链的磷酸化以及  $Ca^{2+}$  的结合会调控 S100A4 与肌球蛋白 II-A 的相互作用。

#### 3.2 肌球蛋白重链磷酸化的生物学功能及最新研究成果

##### 3.2.1 重链磷酸化对癌细胞迁移的调控

2007 年 Natalya G. Dulyaninova 等研究发现,

肌球蛋白 II-A 重链磷酸化可以调控 MDA-MB-231 癌细胞的迁移。研究中选取了人类胸腺癌细胞肌球蛋白 II-A 重链,其磷酸化会依赖表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)。EGF 通过刺激 MDA-MB-231 细胞会导致装配与重链磷酸化的瞬时增加。细胞经过 EGF 刺激,肌球蛋白 II-A 重链会在酪氨酸激酶 2 位点(S1943)磷酸化,肌球蛋白 II-A 重链 S1943E 与 S1943D 突变体会迁移到创伤位点。相比较而言,细胞表达的 S1943A 突变体迁移变慢,充分证明肌球蛋白 II-A 重链磷酸化会介导癌细胞的迁移<sup>[40]</sup>。

##### 3.2.2 棘阿米巴原虫肌球蛋白 II 重链磷酸化对 MgATPase 活性的调控

2012 年 Liu 等通过研究发现了棘阿米巴原虫肌球蛋白 II 受肌动蛋白激活的 MgATPase 活性是受肌球蛋白马达区域丝氨酸 639 磷酸化调控的,至今为止并未发现还有其他的肌球蛋白会受这种方式来调控<sup>[41]</sup>。先前推测棘阿米巴原虫肌球蛋白 II 有 MgATPase 活性,这种活性可以通过两条重链 C-端非螺旋区域的重复序列中 4 个 Ser 残基磷酸化来抑制,研究者利用重组的 WT 与突变的肌球蛋白重新进行了研究,得到了相反的结论。HMM 与亚片段 1 有受肌动蛋白激活的 MgATPase 的活性,通过磷酸化作用活性衰减。通过质谱分析,鉴定了重链上的 5 种 Ser 可以发生磷酸化,4 种 Ser 存在于非螺旋结构中,Ser639 存在于马达区域的环 2 中。通过将 Ser639A 突变,仍然检测到肌球蛋白有 MgATPase 活性,并不会因 Ser 磷酸化而受到抑制。相反,亚片段 1 与全长的肌球蛋白的 Ser639D 突变失活,与 Ser 磷酸化无关。

### 4 小结与展望

肌球蛋白是肌原纤维粗丝的组成单位,存在于平滑肌中,在肌肉运动中起重要作用。用蛋白酶处理可以将其分割为头部(H-酶解肌球蛋白)和尾部(L-酶解肌球蛋白)。肌球蛋白作为其重要功能如肌肉收缩、迁移、胞质分裂、细胞凋亡等机制中主要的调节结构域,其磷酸化与去磷酸化在功能调控方面起着重要的作用。研究肌球蛋白轻链与重链的磷酸化,为寻求一些肌肉收缩以及其他疾病如慢性阻塞性肺病、充血性心力衰竭<sup>[42]</sup>等方面提供了重要的参考依据。更值得一提的是,近年来随着肿瘤细胞研究越来越热,进而发现了肌球蛋白磷酸化可以介导癌细胞的迁移,还有一些

调控因子可以促进肿瘤细胞的入侵, 这为以后更好地研究癌细胞的运动提供了佐证。但其调控机制并未见过多的文章对其进行阐述, 因此, 肿瘤运动与迁移很可能成为未来的一个研究方向。另外最近几年更多的研究发现, 肌球蛋白不仅可以发生磷酸化, 其被病毒侵袭或者在激素水平(如皮质醇)下, 肌球蛋白被自身泛素化的报道也屡见不鲜, 但其一些作用机制与功能尚不清楚, 因此, 肌球蛋白泛素化有可能会成为未来继磷酸化之后的又一研究热点。

### 参考文献 (References):

- [1] ANDRUCHOV O, ANDRUCHOVA O, WANG Y, *et al.* Dependence of cross-bridge kinetics on myosin light chain isoforms in rabbit and rat skeletal muscle fibres[J]. *Journal of Physiology*, 2006, 571(Pt 1):231-242.
- [2] SWEENEY H L, HOUDUSSE A. Structural and functional insights into the Myosin motor mechanism[J]. *Annual Review of Biophysics*, 2010, 39(10):539-557.
- [3] SANTOS M, MOURA R S, GONZAGA S, *et al.* Embryonic essential myosin light chain regulates fetal lung development in rats[J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2007, 37(3):330-338.
- [4] 朱道立, 陈佩林, 王康乐. 骨骼肌肌球蛋白 II 的研究进展[J]. *生物学教学* (ZHU Dao-li, CHEN Pei-lin, WANG Kang-le. The research progress of skeletal muscle myosin II[J]. *Biology Teaching*), 2010(11):8-10.
- [5] KOLODNEY M S, THIMGAN M S, HONDA H M, *et al.* Ca<sup>2+</sup>-independent myosin II phosphorylation and contraction in chicken embryo fibroblasts[J]. *The Journal of Physiology*, 1999, 515 ( Pt 1):87-92.
- [6] TANG D D, ANFINOGEENOVA Y. Physiologic properties and regulation of the actin cytoskeleton in vascular smooth muscle[J]. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 2008, 13(2):130-140.
- [7] IKEBE R, REARDON S, MITSUI T, *et al.* Role of the N-terminal region of the regulatory light chain in the dephosphorylation of myosin by myosin light chain phosphatase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(42):30122-30126.
- [8] NAKAMURA A, XIE C, ZHANG Y, *et al.* Role of non-kinase activity of myosin light-chain kinase in regulating smooth muscle contraction, a review dedicated to Dr. Setsuro Ebashi[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 369(1):135-143.
- [9] CHARDIN P. GTPase regulation: getting aRnd Rock and Rho inhibition[J]. *Current Biology*, 2003, 13(18):R702-R704.
- [10] KANEKO-KAWANO T, TAKASU F, NAOKI H, *et al.* Dynamic regulation of myosin light chain phosphorylation by Rho-kinase[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e39269.
- [11] 梁明丽, 崔颖, 吕广艳, 等. 肌球蛋白轻链激酶非激酶活性调节磷酸化肌球蛋白 ATP 酶活性及肌丝运动[J]. *生物化学与生物物理进展* (LIANG Ming-li, CUI Ying, LÜ Guang-yan. MLCK with its non-kinase activity regulates phosphorylated myosin ATPase activity and velocity of actin filament *in vitro* motility assay [J]. *Biochemistry and Biophysics*), 2008(01):91-96.
- [12] SIMARD E, KOVACS J J, MILLER W E, *et al.* Beta-Arrestin regulation of myosin light chain phosphorylation promotes AT1aR-mediated cell contraction and migration[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e80532.
- [13] MATSUMURA F, HARTSHORNE D J. Myosin phosphatase target subunit: Many roles in cell function[J]. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 2008, 369(1):149-156.
- [14] MCKENZIE J A, RIDLEY A J. Roles of Rho/ROCK and MLCK in TNF- $\alpha$ -induced changes in endothelial morphology and permeability[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2007, 213(1):221-228.
- [15] KANEKO-KAWANO T, TAKASU F, NAOKI H, *et al.* Dynamic regulation of myosin light chain phosphorylation by Rho-kinase[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e39269.
- [16] 王红兵, 杨力. MLCK 和 ROCK 对细胞骨架和细胞行为的影响[J]. *细胞生物学杂志* (WANG Hong-bing, YANG Li. MCLK and ROCK influence on cytoskeleton and cell behaviors[J]. *Journal of Cell Biology*), 2009, 31(4):469-475.
- [17] HOLMES K C, GEEVES M A. *Philosophical transactions of the royal society of London*[J]. Series B: Biological Sciences, 2000, 355(1396):419-431.
- [18] BENINGO K A, HAMAOKA K, DEMBO M, *et al.* Traction forces of fibroblasts are regulated by the Rho-dependent kinase but not by the myosin light chain kinase[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2006, 456(2):224-231.
- [19] TERRY S J, ZIHNI C, ELBEDIWY A, *et al.* Spatially restricted activation of RhoA signalling at epithelial junctions by p114RhoGEF drives junction formation and morphogenesis[J]. *Nature Cell Biology*, 2011, 13(2):159-166.
- [20] NAKAJIMA H, TANOUE T. Lulu2 regulates the circumferential actomyosin tensile system in epithelial cells through p114RhoGEF[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2011, 195(2):245-261.
- [21] TERRY S J, ELBEDIWY A, ZIHNI C, *et al.* Stimulation of cortical myosin phosphorylation by p114RhoGEF drives cell migration and tumor cell invasion[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11):e50188.
- [22] KIM S, IWAOKI H. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases[J]. *Pharmacological Reviews*, 2000, 52(1):11-34.
- [23] VICENTE-MANZANAES M, MA X, ADELSTEIN R S, *et al.* Non-muscle myosin II takes centre stage in cell adhesion and migration[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2009, 10(11):778-790.
- [24] XIAO K, MCCLATCHY D B, SHUKLA A K, *et al.* Functional specialization of beta-arrestin interactions revealed by proteomic analysis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(29):12011-12016.
- [25] XIE X, HARRISON D H, SCHLICHTING I, *et al.* Structure of the regulatory domain of scallop myosin at 2.8 Å resolution[J]. *Nature*, 1994, 368(6469):306-312.
- [26] HOUDUSSE A, COHEN C. Structure of the regulatory domain of scallop myosin at 2 Å resolution: implications for regulation[J]. *Structure*, 1996, 4(1):21-32.
- [27] NI S, HONG F, HALDEMAN B D, *et al.* Modification of interface between regulatory and essential light chains hampers phosphorylation-dependent activation of smooth muscle myosin[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(26):22068-22079.
- [28] HUANG Y, WANG X, *et al.* Nonmuscle myosin II-B (myh10) expression analysis during zebrafish embryonic development[J]. *Gene Expression Patterns*, 2013, 13(7):265-270.
- [29] GOLOMB E, MA X, JANA S S, *et al.* Identification and characterization of nonmuscle myosin II-C, a new member of the myosin II family[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(4):2800-2808.
- [30] KOVACS M, WANG F, HU A, *et al.* Functional divergence of human cytoplasmic myosin II kinetic characterization of the non-muscle IIA isoform [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(40):38132-38140.
- [31] MAUPIN P, PHILLIPS C L, ADELSTEIN R S, *et al.* Differential localization of myosin-II isozymes in human cultured cells and blood cells[J]. *Journal of Cell Science*, 1994, 107(11):3077-3090.
- [32] CLARK K, LANGESLAG M, VAN L B, *et al.* TRPM7, a novel regulator of actomyosin contractility and cell adhesion[J]. *The EMBO Journal*, 2006, 25(2):290-301.
- [33] SCHOLEY J M, TAYLOR K A, KENDRICK-JONES J. Regulation of non-muscle myosin assembly by calmodulin-dependent light chain kinase[J]. *Nature*, 1980, 287(5779):233-235.
- [34] MURAKAMI N, CHAUHAN V P, ELZINGA M. Two nonmuscle myosin II heavy chain isoforms expressed in rabbit brains: filament forming properties, the effects of phosphorylation by protein kinase C and casein kinase II, and location of the phosphorylation sites[J]. *Biochemistry*, 1998, 37(7):1989-2003.

- [14] LOPEZ-NOVOA J M, NIETO M A. Inflammation and EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression[J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2009,1(6-7):303-314.
- [15] KANG Yi-bin, MASSAGUE J. Epithelial-mesenchymal transitions: twist in development and metastasis[J]. *Cell*, 2004,118(3): 277-279.
- [16] WU Ya-di, DENG Jiong, RYCHAHOU P G, *et al.* Stabilization of snail by NF- $\kappa$ B is required for inflammation-induced cell migration and invasion[J]. *Cancer Cell*, 2009,15(5): 416-428.
- [17] MAIER H J, SCHMIDT-STRABBURGER U, HUBER M A, *et al.* NF- $\kappa$ B promotes epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion of pancreatic carcinoma cells[J]. *Cancer Letters*, 2010,295(2): 214-228.
- [18] YU Hua, PARDOLL D, JOVE R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2009,9(11): 798-809.
- [19] SULLIVAN N J, SASSER A K, AXEL A E, *et al.* Interleukin-6 induces an epithelial-mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2009,28(33):2940-2947.
- [20] LIN E Y, GOUON-EVANS V, NGUYEN A V, *et al.* The macrophage growth factor CSF-1 in mammary gland development and tumor progression[J]. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2002,7(2): 147-162.
- [21] WYCKOFF J B, WANG Ya-rong, LIN E Y, *et al.* Direct visualization of macrophage-assisted tumor cell intravasation in mammary tumors[J]. *Cancer Research*, 2007,67(6): 2649-2656.
- [22] KELLERMANN M G, SOBRAL L M, SILVA S D, *et al.* Mutual paracrine effects of oral squamous cell carcinoma cells and normal oral fibroblasts: induction of fibroblast to myofibroblast transdifferentiation and modulation of tumor cell proliferation[J]. *Oral Oncology*, 2008,44(1): 509-517.
- [23] XING Fei, SAIDOU J, WATABE K. Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2011,15(1):166-179.
- [24] FRIDLENDER Z G, ALBELDA S M. Tumor-associated neutrophils: friend or foe?[J]. *Carcinogenesis*, 2012,33(5):945-955.
- [25] SCHAIDER H, OKA M, BOGENRIEDER T, *et al.* Differential response of primary and metastatic melanomas to neutrophils attracted by IL-8[J]. *International Journal of Cancer*, 2003,103(3):335-343.
- [26] SATO T, TAKAHASHI S, MIZUMOTO T, *et al.* Neutrophil elastase and cancer[J]. *Surgical Oncology*, 2006,15(3): 217-222.
- [27] HUH Sung-jin, LIANG Shi-le, SHARMA A, *et al.* Transiently entrapped circulating tumor cells interact with neutrophils to facilitate lung metastasis development[J]. *Cancer Research*, 2010,70(14): 6071-6082.
- [28] MARIGO I, DOLCETTI L, SERAFINI P, *et al.* Tumor-induced tolerance and immune suppression by myeloid derived suppressor cells[J]. *Immunological Reviews*, 1997,222(1): 162-179.
- [29] LEIVONEN S K, KAHARI V M. Transforming growth factor- $\beta$  signaling in cancer invasion and metastasis[J]. *International Journal of Cancer*, 2007,121(10): 2119-2124.
- [30] GORSCH S M, MEMOLI V A, STUKEL T A, *et al.* Immunohistochemical staining for transforming growth factor  $\beta_1$  associates with disease progression in human breast cancer[J]. *Cancer Research*, 1992,52(24): 6949-6952.
- [31] NETH P, RIES C, KAROW M, *et al.* The Wnt signal transduction pathway in stem cells and cancer cells: influence on cellular invasion[J]. *Stem Cell Reviews*, 2007,3(1): 18-29.
- [32] WU Ya-di, ZHOU Bin-hua. TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/snail pathway in cancer cell migration and invasion[J]. *British Journal of Cancer*, 2010,102(4): 639-644.
- [33] MUTHUKUMARAN N, MILETTI-GONZALEZ K E, RAVIN-DRANATH A K, *et al.* Tumor necrosis factor- $\alpha$  differentially modulates CD44 expression in ovarian cancer cells[J]. *Molecular Cancer Research*, 2006,4(8): 511-520.
- [34] ARA T, DECLERCK Y A. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression[J]. *European Journal of Cancer*, 2010,46(7): 1223-1231.
- [35] LIN Wan-wan, KARIN M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2007,117(5): 1175-1183.
- [36] MUMM J B, OFT M. Cytokine-based transformation of immune surveillance into tumor-promoting inflammation[J]. *Oncogene*, 2008,27(45): 5913-5919.
- [37] DIDONATO J A, MERCURIO F, KARIN M. NF- $\kappa$ B and the link between inflammation and cancer[J]. *Immunological Reviews*, 2012, 246(1): 379-400.
- [38] HELBIG G, CHRISTOPHERSON K W, BHAT-NAKSHATRI P, *et al.* NF- $\kappa$ B promotes breast cancer cell migration and metastasis by inducing the expression of the chemokine receptor CXCR4[J]. *The Journal of Biology Chemistry*, 2003,278(24): 21631-21638.
- [39] WANG Xiao-bo, BELGUISE K, KERSUAL N, *et al.* Oestrogen signalling inhibits invasive phenotype by repressing RelB and its target BCL2[J]. *Nature Cell Biology*, 2007,9(4): 470-478.
- [40] FAN Yi-hui, MAO Ren-fang, YANG Jian-hua. NF- $\kappa$ B and STAT3 signaling pathways collaboratively link inflammation to cancer[J]. *Protein Cell*, 2013,4(3): 176-185.
- [41] VINCENTI M P, BRINCKERHOFF C E. Signal transduction and cell-type specific regulation of matrix metalloproteinase gene expression: can MMPs be good for you?[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2007,213(2): 355-364.
- [42] SUBRAMANIAM M, SHANMUGAM M K, PERUMAL E, *et al.* Potential role of signal transducer and activator of transcription (STAT)3 signaling pathway in inflammation, survival, proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013,1835(1): 46-60.
- [43] AVALLE L, PENSA S, REGIS G, *et al.* STAT1 and STAT3 in tumorigenesis: a matter of balance[J]. *Landes Bioscience*, 2012,1(2): 65-72.
- [44] SIVEEN K S, SIKKA S, SURANA R, *et al.* Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: role of synthetic and natural inhibitors[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014,1845(2): 136-154.
- [45] LI Ning, GRIVENNIKOV S I, KARIN M. The unholy trinity: inflammation, cytokines and STAT3 shape the cancer microenvironment[J]. *Cancer Cell*, 2011,19(4): 429-431.

## (上接第 159 页)

- [35] DULYANINOVA N G, MALASHKEVICH V N, ALMO S C, *et al.* Regulation of myosin-IIA assembly and Mts1 binding by heavy chain phosphorylation[J]. *Biochemistry*, 2005,44(18): 6867-6876.
- [36] GARRETT S C, VARNEY K M, WEBER D J, *et al.* S100A4, a mediator of metastasis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(2): 677-680.
- [37] BADYAL S K, BASRN J, BHANJI N, *et al.* Mechanism of the Ca<sup>2+</sup>-dependent interaction between S100A4 and tail fragments of nonmuscle myosin heavy chain IIA[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2011, 405(4):1004-1026.
- [38] LI Z H, SPEKTOR A, VARLAMOVA O, *et al.* Mts1 regulates the assembly of nonmuscle myosin-IIA[J]. *Biochemistry*, 2003,42(48):14258-14266.
- [39] DULYANINOVA N G, MALASHKEVICH V N, ALMO S C, *et al.* Regulation of myosin-IIA assembly and Mts1 binding by heavy chain phosphorylation[J]. *Biochemistry*, 2005,44(18):6867-6876.
- [40] DULYANINOVA N G, HOUSE R P, BETAPUDI V, *et al.* Myosin-IIA heavy-chain phosphorylation regulates the motility of MDA-MB-231 carcinoma cells[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2007, 18(8): 3144-3155.
- [41] LIU X, LEE D Y, CAI S, *et al.* Regulation of the actin-activated MgATPase activity of Acanthamoeba myosin II by phosphorylation of serine 639 in motor domain loop 2[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(1): E23-E32.
- [42] CLARKE B A, DRUJAN D, WILLIS M S, *et al.* The E3 Ligase MuRF1 degrades myosin heavy chain protein in dexamethasone-treated skeletal muscle[J]. *Cell Metabolism*, 2007, 6(5):376-385.