

多功能生长因子 PTN 与受体相互作用及跨膜信号传导

孟 坤¹, 马晓海², 张 南³

(1. 北京坤奥基医药科技有限公司, 中国北京 100085; 2. 河南省绿源生物技术研究中心, 中国河南 郑州 451646;
3. 美国 Lexicon 遗传公司, 美国德克萨斯州 伍德兰德市 77381)

摘要: PTN 家族由两个成员组成, PTN(pleiotrophin)和 MK(midkine), PTN 是由136个氨基酸组成的18 kD 分泌型多功能生长因子. MK 与 PTN 有50%的氨基酸同源性. 它们在正常的细胞的生长、分化和迁移过程中起着重要的作用, 也在一些病理过程中, 如肿瘤和老年性痴呆中扮演着重要角色. 最近发现它们与酪氨酸激酶磷酸酶受体 RPTP β/ζ 相互作用, 调节底物 β -Catenin(连环蛋白)的酪氨酸磷酸化水平, 从而加深了对其生物学意义的了解, 也为 *Ptn* 和 *Mk* 异常表达引起的疾病, 如肿瘤和老年性痴呆的治疗提供了新的药物作用靶点.

关键词: 多功能生长因子 PTN; MK; 信号传导

中图分类号: R994

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2007)01-0001-09

Pleiotrophin Interact with it's Receptors and Signal Transduction Pathway

MENG Kun¹, MA Xiao-hai², ZHANG Nan³

(1. Beijing Shenogen Biomedical Co. Ltd, Beijing 100085, China; 2. Greengen Biotech Research Center, Zhengzhou 451646, Henan, China; 3. Lexicon Genetics Incorporated, the Woodlands 7381, TX, USA)

Abstract: The Pleiotrophin(PTN) family consists of only two members, namely heparin-binding growth factors PTN and midkine(MK). PTN is a 136 amino acids secreted heparin-binding that signal's diverse function. PTN and MK have 50 percent homologues in amino acids. Both proteinies play very important role in growth, differentiation and migration of cells. PTN and MK are also found in diseases such as tumors and Alzheimer's disease. recently, receptor-type tyrosine phosphatase β/ζ (RPTP β/ζ) is identified as functionly ligand for PTN. The PTN and MK share same receptors. The PTN bound it's receptors signaling through RPTP β/ζ and substrates β -catenin, adducin 2 β , and GIT-1/cat-1 of the receptor and regulated the tyrosine phosphorylation of the substrates. The functions of PTN and MK in normal cell growth and development and pathogenesis of diseases such as tumors and Alzheimer's diseases are reviewed. The receptors tyrosine phosphatases β/ζ and it 's ligands *Ptn* and *Mk*, making them potentially very good targets for the development of new therapeutics.

Key words: PTN; MK; signal transduction

(Life Science Research, 2007, 11(1): 001 ~ 009)

1 PTN、MK 的来源和蛋白质结构

细胞外信号分子, 例如生长因子, 细胞因子,

激素和细胞外基质蛋白在正常的生长和发育过程和一些病理过程中起着重要的作用. PTN(也叫 HB-GAM) 和 MK 是肝素结合生长因子, 是这个家

收稿日期: 2006-11-23; 修回日期: 2007-02-06

作者简介: 孟坤(1963-), 男, 河南永城人, 博士, MPA, 毕业于中国科学院和哈佛大学, 先后在华盛顿大学医学院和哈佛医学院完成博士后研究, 现任健心药业有限公司技术总监, 北京市海淀区上地信息路 26 号 506, E-mail: kunm88@yahoo.com; 马晓海(1963-), 男, 河南睢县人, 讲师, 先后毕业于郑州牧专和哈尔滨医科大学, 现任河南省绿源生物技术研究中心董事长; 张南(1961-), 男, 湖南长沙人, 博士, 毕业于美国德克萨斯农工大学, 先后在美国华盛顿大学医学院和哈佛医学院完成博士后研究, 现任美国 Lexicon 遗传公司肿瘤部副主任.

族中仅有的两个成员，它们不同于其它的肝素结合生长因子^[1-6]。PTN 是一种 18 kD 的肝素蛋白，最早是从牛的子宫纯化而得，对成纤维细胞具有弱的促有丝分裂作用^[7]，而且同时发现它是一种从新生大鼠脑中提取能够促进神经细胞轴突生长的因子^[8]。现在人、牛、大鼠、小鼠和鸡的 PTN、cDNA 已经克隆和测序^[9,10]，编码一种 168 个氨基酸的蛋白质，包括 32 个氨基酸组成的信号肽，不

同种属的 *Ptn* 基因高度保守，是目前所知的所有生长因子中最保守的一种基因^[9,11,12]。*Mk* 是通过筛选胚胎癌细胞中用维甲酸诱导表达的基因^[13]。从鸡的基底细胞也纯化到同源蛋白。PTN 和 MK 是富含半胱氨酸和碱性氨基酸的蛋白质，在脊椎动物，所有 PTN 和 MK 的 10 个半胱氨酸是保守的（图 1）。

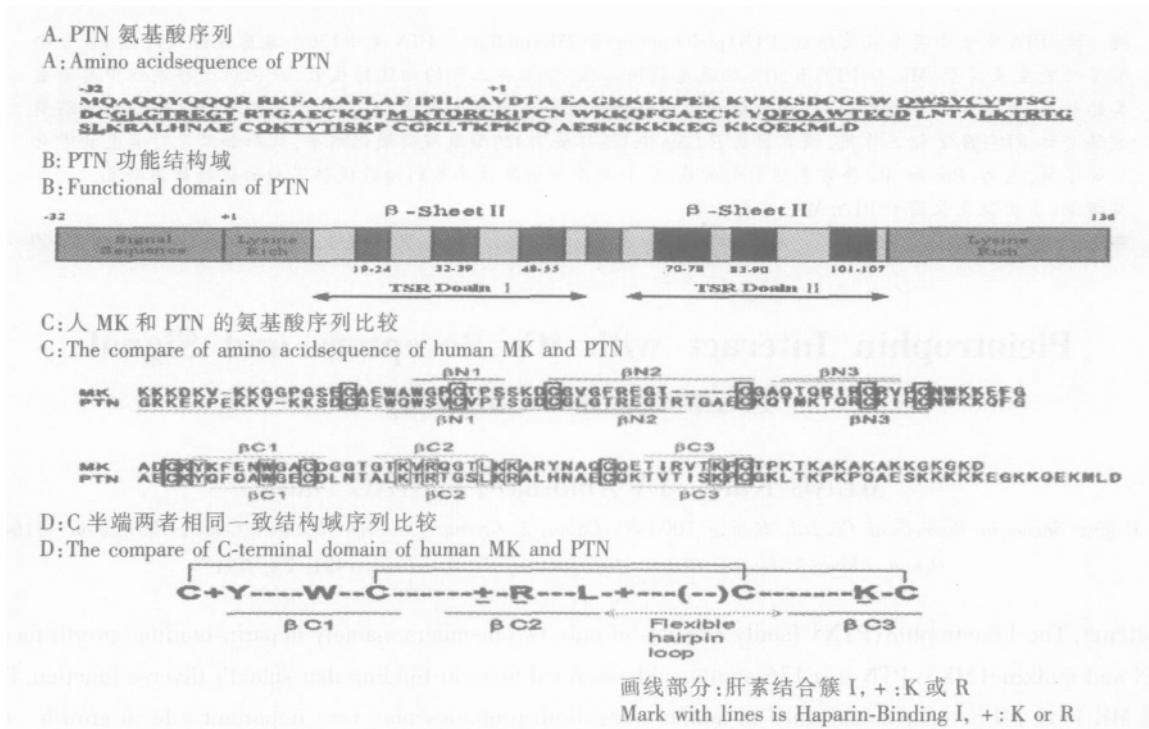


图 1 PTN 和 MK 的氨基酸序列比较
Fig. 1 Amino Acid comparison of PNT and MK protein

这两种蛋白质的氨基酸的同源性约为 50%，两种蛋白由两个结构域组成，C 末端和 N-末端。NMR 结构分析显示，这两种蛋白质的三维结构很相似的^[14,15]（图 2）。

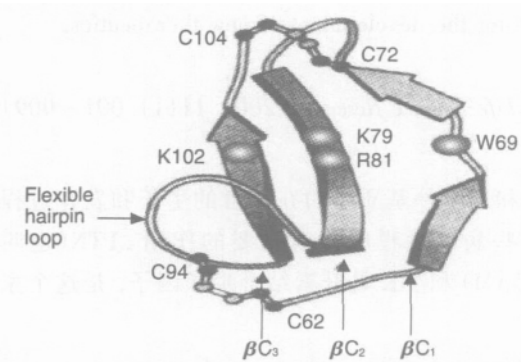


图 2 人 MK C-末端三维结构，PTN C-末端具有相同的三维结构
Fig. 2 Three dimensional structure of MK on c-terminal is same as PTN on c-terminal

每个结构域由 3 个反向平行的 β -片层组成，两个结构域由一个可变的结构区相连，虽然精确的结构和功能关系还有待阐明，有趣的是编码 PTN 的 N-末端和 C-末端 cDNA 至少可以转化 NIH 3T3 细胞^[16]，而 MK 只有 C-末端有生物活性，例如，神经细胞轴突生长，纤维溶解和神经细胞的迁移功能^[17-19]。PTN 和 MK 中的半胱氨酸残基通过二硫键相连显示这类蛋白质在不同 pH、渗透压和有机溶剂中都是很稳定的^[11,20-23]。PTN 和 MK 从果蝇到人都存在，因此，推测其 C-末端的结构是重要的，值得注意的是斑马鱼 PTN 的 N-末端结构域(Mdk2)和人 PTN 的 N-末端的部分结构域分别对神经发生和人乳腺癌细胞的生长具有优势负调控作用^[24,25]，PTN 与肝素具有高亲和力^[7]，在细胞外它与肝素分离后被释放到细胞外基质中^[9]，通过 CD 和 NMR 分析显示肝素可以诱导 PTN 的构象改变，其与肝素的结合

位点也位于 β -片层结构中。在人和鼠 MK 的 C-末端发现两个肝素结合簇, 簇 I(人 MK K79, R81 和 K102) 和簇 II(人 MK K86 K87 和 R89)^[14, 17]。簇 I 识别硫酸肝素和硫酸软骨素蛋白聚糖, 在神经细胞迁移时的相互作用, 以及 MK 和酪氨酸蛋白磷酸酶 RPTP β/ζ 的相互作用时起着重要作用^[17-19]。

2 *Ptn* 和 *Mk* 的基因表达

Ptn 基因在大鼠和小鼠发育的神经外胚层和中胚层的特殊细胞和特定阶段表达^[8, 9, 24, 25], 出生后在脑组织中的表达很快达到高峰, 体内的胶质细胞和神经细胞在表达的时间上有所不同。在成年, *Ptn* 在睾丸子宫和一些胶质和神经细胞中持续表达^[7, 24, 25], 并且 *Ptn* 的表达还受到 PDGF 的上行调节^[26], *Ptn* 是首先从与 PDGF 同源的 *V-sis* 原癌基因转化的 NIH 3T3 细胞中发现的^[27], 随后从牛的子宫也纯化到, 并发现对 NIH 3T3 和 NRK 鼠成纤维细胞具有促生长作用^[7], 在 *V-sis* 转化的细胞中 *Ptn* 的高表达与 PDGF 对 *Ptn* 基因的上行调节相一致^[26], *Ptn* 基因 5'-末端的启动子有一对 PDGF 刺激起上行反应调节的血清反应元件^[26], 相反 *Mk* 基因的表达不受 PDGF 刺激的影响, 但 *Mk* 的表达受到维甲酸的刺激而表达增加, 人 *Mk* 基因的 5'-调控区含有一个维甲酸的反应元件和两个 WT-1 反应元件, 维甲酸通过维甲酸反应元件诱导 *Mk* 基因的表达^[28], WT-1 反应元件中对 WT-1 起反应, 导致 *Mk* 的表达降低^[29]。

在大鼠的脑缺血损伤过程中, *Ptn* 基因表达水平增高^[30], 动物实验结果显示, 在脑缺血损伤

1~3 d 时内皮细胞、巨噬细胞和星状细胞的 *Ptn* 表达增加, 缺血损伤 7~14 d 天仍维持高水平的表达。此外, 动物实验结果还显示, 在创伤愈合过程中, *Ptn* 的表达增加, *Ptn* 可能参与创伤愈合过程中的细胞增殖过程^[1]。

Ptn 的基因表达也受到激素的调控, 在成年的子宫 *Ptn* 的转录受到雌激素的调节, 在妊娠期 *Ptn* 的表达水平最高, 发情期当雌激素水平达到高峰时, *Ptn* 的表达最低, 一种来源于前列腺分泌腺的细胞株, 当细胞经过二氢睾酮、睾酮和雌激素处理后, 再加入特异性的雄性激素抑制剂处理细胞时, *Ptn* 的表达水平则降低^[31]。爪蟾中 *Mk* 是在原肠胚后期的神经基底表达^[32], 从这个阶段到尾芽期, 几乎在所有神经组织中都能检测到 *Mk* 的表达, 例如脑和神经管, 应当注意到鼠的早期神经发育期, *Ptn* 和 *Mk* 的表达不同, *Mk* 的表达开始在 E5.5 的整个胚胎外胚层, 而 *Ptn* 的表达 E8.5 的神经褶处^[33], 在 E11.5 的神经管中, *Mk* 的表达局限在室区的神经干细胞, 而 *Ptn* 的表达到室区的背侧^[33]。这种 *Ptn* 和 *Mk* 表达的不同可能影响神经发育的区域特异性。在神经肌肉接头的发育过程中, 两种蛋白诱导爪蟾乙酰胆碱受体聚集在神经肌肉接头部位^[34, 35], MK 在脊髓的神经细胞而 PTN 存在于肌肉细胞, 两种蛋白都与一种硫酸肝素蛋白聚糖相结合, 这种聚糖蛋白在神经肌肉的发育过程中起着重要作用^[36]。

3 PTN 和 MK 的多功能生物活性

已知 PTN 具有多种功能作用(见图 3)。

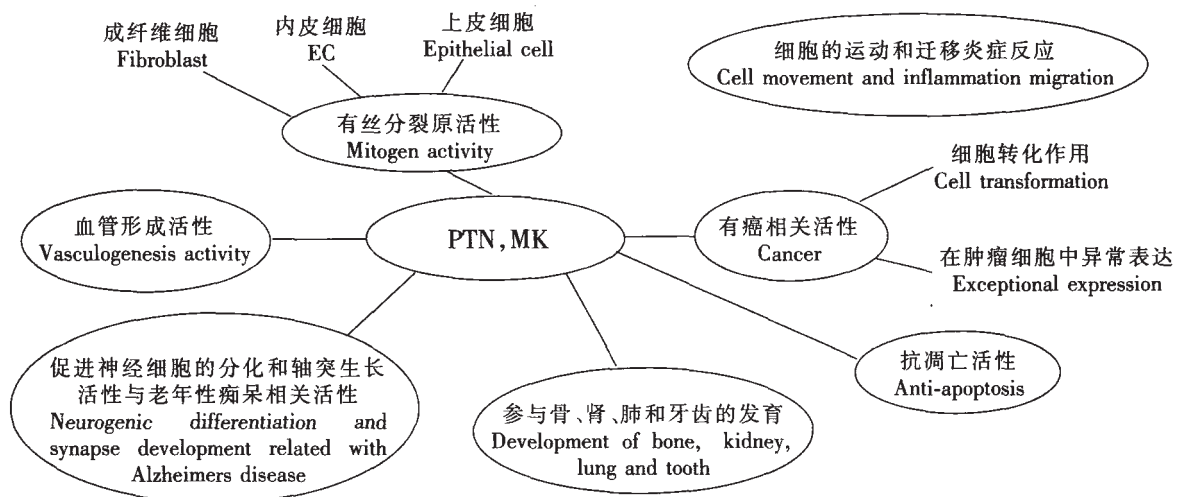


图 3 PTN 和 MK 的多功能生物活性

Fig. 3 Multifunctional bioactivity of PTN and MK

3.1 有丝分裂原作用

PTN 能促进 *V-Sis* 原癌基因转化细胞和牛子宫细胞的 DNA 合成^[7], 对内皮细胞^[30, 37-39], 上皮细胞^[38, 40]和成纤维细胞^[7, 38]具有有丝分裂原作用. 但 PTN 的有丝分裂原作用已受到挑战^[11, 41, 42], 一些研究者用昆虫和细菌表达的重组 PTN 具有促使轴突生长的作用, 但不表现有丝分裂原样作用^[43, 41], 这可能是由于在 PTN 的折叠和加工过程中使其失去刺激细胞增殖的活性^[11], 也可能是因为 PTN 的有丝分裂原作用需要刺激细胞周期后和其它基因表达后使细胞分化到一定阶段后才表现出来^[11], 有结果显示 PTN 的刺激 DNA 合成也是在 PTN 作用细胞 16 h 后才表现出来^[11].

3.2 促进神经细胞轴突生长和参与神经细胞损坏性疾病过程

PTN 能够促进不同神经细胞轴突生长, 包括培养的胚胎细胞、外周皮质细胞、神经细胞瘤和 PC12 细胞^[8, 11, 20, 26]. 在原代细胞培养中, PTN 加入发育中的皮质和脊髓胶质前体细胞也促使轴突生长, 结果表明 PTN 对少突神经胶质细胞的分化特征起着重要作用^[11], 在前体细胞加入抗 PTN 的抗体后, 这些细胞的分化过程减缓, 显示 PTN 对这些前体细胞不仅重要而且是必须的^[11], PTN 刺激少突神经胶质细胞后, 细胞产生一些分化标志物. 综上所述, PTN 可能参与少突胶质细胞的分化以及加速少突胶质细胞前体细胞向少突胶质细胞的分化过程^[43], 在老年性痴呆病人中发现 PTN 存在于老年性痴呆和 Down's 综合症的老年斑中, MK 也存在于老年斑和神经纤维角中, PTN 和 MK 可能与一种低密度脂蛋白受体 (LRP) 相互作用, 后者是老年性痴呆发病过程中淀粉样蛋白前体蛋白 (APP) apoE 和 α -2M 的主要受体. 因此, PTN 和 MK 在老年性痴呆症中可能具有潜在的重要作用^[36].

3.3 促血管形形成作用

PTN 也参与血管形成, 用 1、3 和 7 d 的缺血损伤大鼠试验证实了 PTN 在缺血损伤中起着重要作用. PTN 在损伤皮层新生血管的周围表达^[11], 并且仅在血管内皮细胞, 活化的巨噬细胞和活化的星状细胞出现, PTN 能够促进培养的内皮细胞的增殖和 DNA 的合成^[11]. 牛毛细管内皮细胞在基质胶表面管状结构的形成在缺少 PTN 的情况下, 2~7 d 管状结构的形成较弱而且不能维持管状结构, 在加入外源性 PTN 后管状结构能够维持 7 d,

这表明 PTN 在体外和体内都参与血管形成^[30], 而且发现 PTN 的 69~136 氨基酸残基, 存有一个能够促进血管形成的结构域^[144], 该结构域不能导致 NIH3T3 细胞转化, 但却能促进 SW13 细胞在裸鼠体内肿瘤血管的形成, 这可能与结构域能促进 SW13 细胞释放 bFGF 有关^[11], *Mk* 基因敲除小鼠显示 *Mk* 参与血管的再狭窄过程^[45], *Mk* 基因敲除后血管新内膜的形成减少^[46], 而且 MK 还可以促进吸引炎症反应细胞和小管肌细胞参与血管的形成过程^[47], 有试验表明, MK 还促进成纤维细胞介导的胶原收缩和诱导小平管肌细胞分泌一些细胞因子, 例如 IL-8, 从而对内皮细胞起作用^[48], 这些作用可以改变血管壁的结构和微环境^[36].

3.4 参与骨、肾、肺和牙齿的发育过程

在胚胎发育过程中, *Ptn* 和 *Mk* 在上皮-间质发生作用时表达^[49], 牙齿、肺、肾和一些典型的器官就是通过上皮-间质相互作用而形成的^[50], *Ptn* 在输尿管的周围粘膜组织中表达, PTN 和 GDNF 一起, 在体外能诱导输尿管长出分支^[51], PTN 能刺激鸡肢芽软骨素的形成^[52], *Ptn* 转基因小鼠骨发育异常^[53], 将 *Mk* cDNA 转染到骨前体细胞能够促进前体细胞分化为软骨细胞^[54], *Ptn* 和 *Mk* 能够诱导成骨细胞的迁移^[53, 55]. *Mk* 在胚胎和肺发育的假腺阶段表达, 在小管和束状阶段 (从 E15.5 到出生) 阶段降低, MK 能刺激移植出的胚胎肺的发育^[56, 49], 重要的是 *Mk* 在出生后发育阶段短暂的表达增加^[50, 36]. 在出生后, 糖皮质激素和维甲酸调节出生后的发育, 而 MK 在出生后能够被维甲酸上调. 抗 MK 的抗体, 体外能抑制肾单位和移出的牙胚发育的形成, 这表明 *Mk* 也参与肾和牙齿的发育过程^[57], 实验还表明, MK 可能还参与间质肾炎的病理发生过程^[36].

4 PTN 和 MK 与癌

癌症的发生过程是一系列的分子事件的作用引发的, 包括基因突变, 例如 *ras* 和 *p53* 基因突变, 生长因子和受体的过度表达, 突变后的细胞能够恶性增长和易转移, 并对药物产生抗药性. 激活的 PTN, 可能还通过某种信号转导途径使肿瘤细胞更恶性增长. 因为发现在多种肿瘤中, *Ptn* 和 *Mk* 都是高表达的, *Mk* 在肿瘤组织中的表达比 *Ptn* 更广泛. 但 *Ptn* 在神经细胞瘤、神经胶质瘤、卵巢癌、前列腺癌、Wilms 瘤、绒癌和黑色素瘤中高表达^[38, 58-64], 在上述这些肿瘤组织中内源性的

Ptn 基因持续活化,而在相应的非瘤组织中很难检测到 *Ptn* 的表达.而 *Mk* 在食管癌、胃癌、膀胱癌、胰腺癌、直肠癌、肺癌、Wilms 瘤中高表达^[65-68].两者在乳腺癌细胞都处于高表达状态^[2],*Ptn* 在神经细胞瘤的早期高表达,*Mk* 在神经细胞瘤各个阶段都高表达^[69].PTN 和 MK 能够促进细胞迁移的功能可能与肿瘤的转移有关^[36],在神经母细胞瘤中 PTN 和它的受体 RPTP β/ζ 都表达增加^[70],它们的表达水平与该肿瘤恶性程度有关^[71].更直接的证据来源于将 *Ptn* 转入 NIH3T3 细胞和 *Ptn* 基因的优势负调控结构域转入 NIH3T3 细胞和 MDA-MB-231 乳腺癌细胞中,*Ptn* 能促使 NIH3T3 细胞转化为恶性细胞,而 *Ptn* 的优势负调控区则能减少 MDA-MB-231 细胞软琼脂和裸鼠体内的克隆和肿瘤形成^[72,73],并显示 PTN(1~40 氨基酸残基)做为负调控结构域可以用抑制肿瘤的生长,具有潜在的应用前景.

PTN 和 MK 能提高牛内皮细胞内的尿激酶(PA)的活性,并且是剂量和时间依赖性的,PA 具有纤维溶解活性.另外,也发现 PTN 和 MK 也可以通过下调尿激酶抑制剂(PAI)的水平而增加溶解纤维的活性^[74].由于 *Mk* 和 *Ptn* 在多种肿瘤组织中特异性高表达,它们可与 *p53* 基因突变一样做为肿瘤的标记物,不同的是 MK 和 PTN 是分泌型的,在血液中可能容易检测到^[36].而且发现 100% 的胃癌癌旁组织有 *Ptn* mRNA 表达,PTN 蛋白在癌组织中的表达明显高于癌旁组织,有远处转移明显高于没有转移的病侧,这表明 PTN 蛋白表达与胃癌侵袭性生长有一定关系^[75].

有趣的是,幽门螺旋杆菌分泌的外毒素 VacA 能与 PTN 的受体 RPTP β/ζ 结合,而导致胃溃疡,而幽门螺旋杆菌被认为是诱发胃癌的病因之一^[76].

5 PTN 通过酪氨酸蛋白磷酸酶受体 RPTP β/ζ 介导膜信号传导

PTN 和 MK 为多功能分泌型生长因子需要与细胞膜表面的受体相互作用,通过信息传递实现其多功能生物学功能.自从 PTN 发现以来,虽然发现它与细胞表面的多种蛋白相互作用,但功能上的生物学意义并不清楚^[77,78].

最近,我们发现 PTN 是酪氨酸蛋白磷酸酶受体(RPTP β/ζ)的一种功能性配体^[79],这一发现的重要性在于这是迄今为止所有已知的 30 多种受

体酪氨酸蛋白磷酸酶家族中发现的第一个异源性功能配体^[1,80-82],其重要意义在于我们清楚观察到配体 PTN 与受体 RPTP β/ζ 结合的功能反应,而且能增加受体底物 β -Catenin 的酪氨酸磷酸化水平^[78],这是首次观察到酪氨酸磷酸酶受体与功能性配体结合后引底物酪氨酸磷酸化水平的改变^[1,80-82],而且发现 PTN 处理细胞后, β -Catenin 的酪氨酸磷酸化水平迅速增加.但 β -Catenin 与 E-Cadherin 的结合却迅速减少.这些结果说明,PTN 与 RPTP β/ζ 结合后,能引起受体 RPTP β/ζ 的酶活性迅速降低,从而使 RPTP β/ζ 对底物及 Catenin 的脱磷酸化作用降低,这与 RPTP α 的结晶结构,配体与受体结合区形成的二聚体引起酶活性结构域构象的改变,阻止底物进入 RPTP 的活性部位的结果一致^[83-85],PTN 和 RPTP β/ζ 的相互作用,则为 RPTP 的结构模型提供了最好的体内实验证据^[79].RPTP β/ζ 基因敲除小鼠的研究发现,RPTP β/ζ 在实验性自动免疫脑脊髓炎和多种硬化症的恢复过程中起着关键性的作用^[86],试验还发现它参与神经损伤的修复和轴突生长的作用^[71],这与 PTN 的功能表现相一致.实验结果还显示,PTN 处理 U373MG 能使 E-Cadherin 和 β -Catenin 的结合减少.因为细胞与细胞之间的粘连取决于 E-Cadherin 与 Catenin 家族成员的结合.E-Cadherin 的聚集是通过其相连的 α 、 β 和 γ -Catenin 与细胞骨架肌动蛋白相连,这种复合体的形成对于 E-Cadherin 调节细胞的粘附作用以及把 E-Cadherin 与连接到其它膜本体蛋白(integral membrane protein)起着关键作用^[86-90],PTN 刺激细胞后将减弱细胞间的粘连作用^[11],从而有利于细胞的迁移和肿瘤细胞的转移.由于 β -Catenin 在细胞间的连接细胞骨架结构和正常分化转化方面起着重要作用^[86,90,91],因此,PTN 对 β -Catenin 酪氨酸磷酸化的调节作用具有重要的潜在生物学意义.*Ptn* 在转化细胞中的持续表达使细胞之间失去接触抑制作用,并引起细胞骨架结构的破坏,有利恶性肿瘤细胞的生长和转移^[11],由于在结肠癌中已发现了 *Ptn* 的高表达和 β -Catenin 高水平的酪氨酸磷酸化,因此,PTN 信号转导与 Wnt/Wingless 和 APC-/- 结肠癌信号联系在一起^[92,93].

此外,还发现 Adducin-2 β 和 GIT-1/Cat-1 作为 RPTP β/ζ 的底物,PTN 刺激细胞后,Adducin-2 β 的酪氨酸和 713,726 磷酸化水平增加而

且 Adducin-2 β 在 PTN 刺激 30 min 后, Adducin-2 β 的蛋白水平迅速降低, Adducin-2 β 的结合不稳定, 从而导致细胞骨架不稳定^[94,95], 细胞骨架的不稳定使肿瘤的恶性程度增加, 并且使肿瘤更具侵袭性. 用底物诱捕结合酵母二次杂交技术, 发现 RPTP β/ζ 也可以与 GIT1 相结合, 而且 PTN 可以调节 GIT1/Cat-1 的酪氨酸磷酸化水平, GIT1/Cat-1 是一种 G 蛋白偶联受体激酶反应蛋白^[96], 使得 PTN-RPTP β/ζ -G 蛋白信号传递联系在一起, 其交互作用及生物学意义有待进一步的阐明. 对 PTN-RPTP β/ζ 信号转导途径的研究已应用于神经母细胞的治疗策略中, PTN 和 RPTP β/ζ 胞外区已成为癌症治疗的新靶点^[71], PTN 的核酶和 MK 的反义 RNA 以及 RPTP β/ζ 胞外区的单克隆抗体和 PTN 和 RPTP β/ζ 胞外的优势负调控结构域也成为癌症治疗的分子靶点, 现已将其应用于临床实验, 这将为癌症治疗提供了一种新方法. 最近, 通过应用针对 PTN 特异的 SiRNA, 表明沉默 *Ptn* 基因可抑制 *PTEN* 基因缺失细胞的增殖, 并在裸鼠体内证实沉默 PTN 可使 *PTEN*^{-/-}/MEF241 细胞在裸鼠成瘤率被显著抑制^[97], 因此针对 PTN 及受体可能成为一种新型的肿瘤治疗药物. 另外血液中 MK 和 PTN 可作为肿瘤检测和判断预后的标记物, 为监控肿瘤的发展和评价治疗效果提供有用的信息.

6 结语

PTN 和 MK 是一族参与细胞的生长、分化、发育、损伤修复和多种病理过程 (肿瘤, 老年性痴呆和肾炎) 的多功能生长因子, 它们的表达水平和活性受到严格的调控, 当它们的调控失调时, 可以参与一些疾病的发生和发展. 随着我们对 PTN 和 MK 与受体及底物信号转导途径的深入了解, 将可为一些疾病的治疗提供新的药物作用靶点.

最近, Lu 等人研究发现 PTN 存在以 18 kD 和 15 kD 的两种形式存在. 15 kD 的 PTN 是由 18 kD 的蛋白质 C-末端去掉 12 个氨基酸产生的, 有趣的是这两种形式的 PTN 分别作用于不同的受体, 18 kD 的 PTN 结合 RPTP β/ζ , 而 15 kD 的 PTN 结合 anaplastic lymphoma kinase (ALK). 前者介导的信号传导与细胞的迁移有关, 后者介导的信号传递与 MAP 激酶介导的增殖信号传递有关.

参考文献 (References):

- [1] DEUEL T F, ZHANG N, YEH H J, *et al.* Pleiotrophin: a cytokine with diverse functions and a novel signaling pathway, Arch[J]. Biochem Biophys, 2002, 397: 162-171.
- [2] KURTZ A, SCHULTE A M, WELLSTEIN A. Pleiotrophin and midkine in normal development and tumor biology[J]. Crit Rev Oncog, 1995, 6: 151-177.
- [3] RAUVAL A H, HUTTUNEN H J, FAGE S, *et al.* Heparin-binding proteins HB-GAM (Pleiotrophin) and amphoterin in the regulation of cell motility[J]. Matrix Biol, 2000, 19: 377-387.
- [4] MURAMATSU T. Midkine and pleiotrophin: two related proteins involved in development, survival, inflammation and tumorigenesis[J]. J Biochem, 2002, 132: 359-371.
- [5] MURAMATSU T. Midkine in Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine[M]. New York: John Wiley & Sons Inc, 2002. 2086-2088.
- [6] MURAMATSU T. Pleiotrophin in Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine[M]. New York: John Wiley & Sons Inc, 2002. 2527-2529.
- [7] MILNER P G, LI, Y S, HOFFMAN R M, KODNER C M, *et al.* A novel 17 kD heparin-binding growth factor (HBGF-8) in bovine uterus: purification and N-terminal amino acid sequence [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1989, (5): 165.
- [8] RAUVALA H. An 18 kD heparin-binding protein of developing brain that is distinct from fibroblast growth factors[J]. Embo J, 1989, 8: 2933-2941.
- [9] LI Y S, MILNER P G, CHAUHAN A K, *et al.* Cloning and expression of a developmentally regulated protein that induces mitogenic and neurite outgrowth activity[J]. Science, 1990, 250: 1690-1694.
- [10] MERENMIES J, RAUVALA H. Molecular cloning of the 18 kD a growth-associated protein of developing brain[J]. Biol Chem, 1990, 265: 16721-16724.
- [11] HAMPTON B S, MARSHAK D R, BURGESS W H. Structural and functional characterization of full-length heparin-binding growth associated molecule[J]. Mol Biol Cell, 1992, 3: 85-93.
- [12] LI Y S, HOFFMAN R M, le BEAU M M, *et al.* Characterization of the human pleiotrophin gene. Promoter region and chromosomal localization[J]. Biol Chem, 1992, 267: 26011-26016.
- [13] KADOMATSU K, TOMOMURA M, MURAMATSU T. cDNA cloning and sequencing of a new gene intensely expressed in early differentiation stages of Embryonal carcinoma cells and in mid-gestation period of mouse embryogenesis[J]. Bio Chem Biophys Res Commun, 1988, 151: 1312-1318.
- [14] IWASAKI W, NAGATA K, HATANAKA H, *et al.* Solution structure of midkine, a new heparin-binding growth factor[J]. Embo J, 1997, 16: 6936-6946.
- [15] KILPELAINEN I, KAKSONEN M, AVIKAINEN H, *et al.* Heparin-binding growth-associated molecule contains two heparin-binding beta-sheet domains that are homologous to the Thrombospondin type I repeat [J]. Biol Chem, 2000, 275: 13564-13570.
- [16] ZHANG N, ZHONG R, DEUEL T F. Domain structure of pleiotrophin required for transformation[J]. Biol Chem, 1999, 274: 12959-12962.
- [17] ASAI T, WATANABE K, ICHIHARA-TANAKA K, *et*

- al.* Identification of heparin-binding sites in midkine and their role in neurite-promotion[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 236: 66-70.
- [18] AKHTER S, ICHIHARA-TANAKA K, KOJIMA S, *et al.* Clusters of basic amino acids in Midkine: roles in Neurite-promoting activity and plasminogen activator-enhancing activity[J]. *Biochem*, 1998, 123: 1127-1136.
- [19] MAEDA N, ICHIHARA-TANAKA K, KIMURA T, *et al.* Receptor-like protein-tyrosine phosphatase PTP/RPTPb binds a heparin-binding growth factor midkine. Involvement of arginine 78 of midkine in the high affinity binding to PTP[J]. *Biol Chem*, 1999, 274: 12474-12479.
- [20] KUO M D, ODA Y, HUANG J S, *et al.* Activated thyroglobulin possesses a transforming growth factor- β activity[J]. *J Biol Chem*, 1990, 65: 18749-18752.
- [21] FABRI L, NICE E C, WARD L D, *et al.* Characterization of bovine heparin-binding neurotrophic factor (HBNF) —assignment of disulfide bonds[J]. *Biochem Int*, 1992, 28: 1-9.
- [22] HULMES J D, SEDDON A P, DECKER M M, *et al.* Comparison of the disulfide bond arrangements of human recombinant and bovine brain heparin binding neurite-promoting factors[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 192: 738-746.
- [23] MURAMATSU H, INUI T, KIMURA T, *et al.* Localization of heparin-binding, neurite outgrowth and antigenic regions in midkine molecule[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 203: 1131-1139.
- [24] SILOS-SANTIAGO I, YEH H J, GURRIERI M A, *et al.* Localization of pleiotrophin and its mRNA in subpopulations of neurons and their corresponding axonal tracts suggests important roles in neural-glial interactions during development and in maturity[J]. *Neuro Biol*, 1996, 31: 283-296.
- [25] VANDERWINDEN J M, MAILLEUX P, SCHIFFMAN N, *et al.* Cellular distribution of the new growth factor pleiotrophin (HB-GAM) mRNA in developing and adult rat tissues[J]. *Anat Embryol(Berlin)*, 1992, 186: 387-406.
- [26] LI Y S, GURRIERI M, DEUEL T F. Pleiotrophin gene expression is highly restricted and is regulated by platelet-derived growth factor[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 184: 427-432.
- [27] WATERFIELD M D, SCRACE G T, WHITTLE N, *et al.* Platelet-derived growth factor is structurally related to the putative transforming protein p28(sis) of simian sarcoma virus [J]. *Nature*, 1983, 304: 35-39.
- [28] PEDRAZA C, MATSUBARA S, MURAMATSU U. A retinoic acid-responsive element in human midkine gene[J]. *Biochem*, 1995, 117: 845-849.
- [29] ADACHI Y, MATSUCARA S, PEDRAZA C, *et al.* Midkine as a novel target gene for the Wilms' tumor suppressor gene (WT1)[J]. *Oncogene*, 1996, 13: 2197-2203.
- [30] YEH H J, HE Y Y, XU J, *et al.* Upregulation of pleiotrophin (*PTN*) gene expression in microvasculature, macrophage, and astrocyte on acute ischemic brain injury in the rat[J]. *Neurosci*, 1998, 18: 3699-3707.
- [31] VACHERO T F, LAAROUBI K, CARUELLE D, *et al.* Expression of heparin affinity regulatory peptide is up regulated by androgen[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 1995, 31: 647-648.
- [32] SEKIGUCHI K, YOKOTA C, ASASHIMA M, *et al.* Restricted expression of xenopus midkine gene during early development [J]. *Biochem*, 1995, 11: 94-100.
- [33] FAN Q W, MURAMATSU T, KADOMATSU K. Distinct expression of midkine and pleiotrophin in the spinal cord and placental tissues during early mouse development[J]. *Dev Growth Differ*, 2000, 42: 113-119.
- [34] PENG H B, ALI A A, DAI Z, *et al.* The role of heparin-binding growth-associated molecule (HB-GAM) in the postsynaptic induction in cultured muscle cells[J]. *Neurosci*, 1995, 15: 3027-3038.
- [35] ZHOU H, MURAMATSU T, HALFTER W, *et al.* A role of midkine in the development of the neuromuscular junction[J]. *Mol Cell Neurosci*, 1997, 10: 56-70.
- [36] KADOMATSU K, MURAMATSU T. Midkine and pleiotrophin in neural development and cancer[J]. *Cancer Letters*, 2004, 204: 127-143.
- [37] COURTY J, DAUCHEL M C, CARUELLE D, *et al.* Properties of a new endothelial cell growth factor related to pleiotrophin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 180: 145-151.
- [38] FANG W, HARTMANN N, CHOW D T, *et al.* Pleiotrophin stimulates fibroblasts and endothelial and epithelial cells and is expressed in human cancer[J]. *Biochem*, 1992, 267: 25889-25897.
- [39] LAAROUBI K, DELBE J, VACHEROT F, *et al.* Mitogenic and *in vitro* angiogenic activity of human recombinant heparin affinity regulatory peptide[J]. *Growth Factors*, 1994, 10: 89-98.
- [40] DELBE J, VACHEROT F, LAAROUBI K, *et al.* Effect of heparin on bovine epithelial lens cell proliferation induced by heparin affinity regulatory peptide[J]. *Cell Physiol*, 1995, 164: 47-54.
- [41] RAULO E, JULKUNEN I, MERENMIES J, *et al.* Secretion and biological activities of heparin-binding growth-associated molecule. Neurite outgrowth-promoting and mitogenic actions of the recombinant and tissue-derived protein[J]. *J Biol Chem*, 1992, 267: 11408-11416.
- [42] BOHLEN P, KOVESDI I. Hbnf and *MK* members of a novel gene family of heparin-binding proteins with potential roles in embryogenesis and brain function[J]. *Prog Growth Factor Res*, 1991, 3: 143-157.
- [43] SEDDON A P, HULMES J D, DECKER M M, *et al.* Refolding and characterization of human recombinant heparin-binding neurite-promoting factor[J]. *Protein Expr Purif*, 1994, 5: 14-21.
- [44] ZHANG N, ZHONG R, DEUEL T F. Domain structure of pleiotrophin required for transformation[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 12959-12962.
- [45] SATO W, KADOMATSU K, YUZAWA Y, *et al.* Midkine is involved in neutrophil infiltration into the tubulointerstitium in ischemic renal injury[J]. *Immunol*, 2001, 167: 3463-3469.
- [46] HORIBA M, KADOMATSU K, NAKAMURA E, *et al.* Neointima formation in a restenosis model is suppressed in midkine-deficient mice[J]. *Clin Invest*, 2000, 105: 489-495.
- [47] SUMI Y, MURAMATSU H, HATA K, *et al.* Midkine enhances early stages of collagen gel contraction[J]. *Biochem*, 2000, 127: 247-251.
- [48] SUMI Y, MURAMATSU H, TAKEI Y, *et al.* Midkine, a heparin-binding growth factor, promotes growth and glycosaminoglycan synthesis of endothelial cells through its action on smooth muscle cells in an arterial blood vessel model[J]. *Cell Sci*, 2002, 115: 2659-2667.

- [49] MITSIADIS T, SALMIVIRTA M, MURAMATSU T, *et al.* Expression of the heparin-binding cytokines, midkine (MK) and HBGM (pleiotrophin) is associated with epithelial-mesenchymal interactions during fetal development and organogenesis[J]. *Development*, 1995, 121: 37-51.
- [50] MITSIADIS T A, MURAMATSU T, MURAMATSU H, *et al.* Midkine (MK), a heparin-binding growth/differentiation factor, is regulated by retinoic acid and epithelial-mesenchymal interactions in the developing mouse tooth, and affects cell proliferation and morphogenesis[J]. *Cell Biol*, 1995, 129: 267-281.
- [51] SAKURAI H, BUSH K T, NIGAM S K. Identification of pleiotrophin as a mesenchymal factor involved in ureteric bud branching morphogenesis[J]. *Development*, 2001, 128: 3283-3293.
- [52] DREYFUS J, CARVALHO N, DUPREZ D, *et al.* Pleiotrophin but not RIHB/midkine enhances chondrogenesis in micromass culture[J]. *Exp Cell Res*, 1998, 241: 171-180.
- [53] IMAI S, KAKSONEN M, RAULO E, *et al.* Recruitment and bone formation enhanced by cell matrix-associated heparin-binding growth-associated molecule (HB-GAM)[J]. *Cell Biol*, 1998, 143: 1113-1128.
- [54] OHTA S, MURAMATSU H, SENDA T, *et al.* Midkine is expressed during repair of bone fracture and promotes endrogenesis[J]. *Bone Miner Res*, 1999, 14: 1132-1144.
- [55] QI M, IKEMATSU S, MAEDA N, *et al.* Haptotactic migration induced by midkine involvement of protein tyrosine phosphatase. Mitogen-activated protein kinase, and phosphatidylinositol 3-kinase[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 15868-15875.
- [56] TORIYAMA K, MURAMATSU H, HOSHINO T, *et al.* Evaluation of heparin-binding growth factors in rescuing morphogenesis of heparitinase-treated mouse embryonic lung explants[J]. *Differentiation*, 1997, 61: 161-167.
- [57] MATSUURA O, KADOMATSU K, TAKE I, *et al.* Midkine expression is associated with postnatal development of the lungs [J]. *Cell Struct Funct*, 2002, 27: 109-115.
- [58] WELLSTEIN A, FANG W J, KHATRI A, *et al.* A heparin-binding growth factor secreted from breast cancer cells homologous to a developmentally regulated cytokine[J]. *Biol Chem*, 1992, 267: 2582-2587.
- [59] TSUTSUI J, UEHARA K, KADOMATSU K, *et al.* A new family of heparin-binding factors: strong conservation of midkine (MK) sequences between the human and the mouse[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 176: 792-797.
- [60] GARVER R I Jr, RADFORD D M, DONIS-KELLER H, *et al.* Midkine and pleiotrophin expression in normal and malignant breast tissue[J]. *Cancer*, 1994, 74: 1584-1590.
- [61] KURTZ A, SCHULTE A M, WELLSTEIN A. Pleiotrophin and midkine in normal development and tumor biology[J]. *Crit Rev Oncog*, 1995, 6: 151-177.
- [62] NAKAGAWARA A, MILBRANDT J, MURAMATSU T, *et al.* Differential expression of pleiotrophin and midkine in advanced neuroblastomas[J]. *Cancer Res*, 1995, 55: 1792-1797.
- [63] SCHULTE A M, LAI S, KURTZ A, *et al.* Human trophoblast and choriocarcinoma expression of the growth factor pleiotrophin attributable to germ line insertion of an endogenous retrovirus[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 14759-14764.
- [64] NAKANISHI T, KADOMATSU K, OKAMOTO T, *et al.* Expression of syndecan-1 and -3 during embryogenesis of the central nervous system in relation to binding with midkine [J]. *Biochem (Tokyo)*, 1997, 121: 197-205.
- [65] TSUTSUI J, KADOMATSU K, MATSUBARA S, *et al.* A new family of heparin-binding growth/differentiation factors: increased midkine expression in Wilms' tumor and other human carcinomas[J]. *Cancer Res*, 1993, 53: 1281-1285.
- [66] GARVER C S Jr, CHAN P G M. Reciprocal expression of pleiotrophin and midkine in normal versus malignant lung tissues[J]. *Am Resp Cell Mol Biol*, 1993, 9: 463-466.
- [67] ARIDOME K, TSUTSUI J, TAKAO S, *et al.* Increased midkine gene expression in human gastrointestinal cancers[J]. *Jpn Cancer Res*, 1995, 86: 655-661.
- [68] CARVER J R, RADFORD D M. Midkine and pleiotrophin expression in normal and malignant breast tissue[J]. *Cancer*, 1994, 74: 1584-1590.
- [69] NAKAGAWARA A, MILBRANDT J, MURAMATSU T, *et al.* Differential expression of pleiotrophin and midkine in advanced neuroblastomas[J]. *Cancer Res*, 1995, 55: 1792-1797.
- [70] MULLER S, KUNKEL P, LAMSZUS K E T, *et al.* A role for receptor tyrosine phosphatase ζ in glioma cell migration[J]. *Oncogene*, 2003, 22: 6661-6668.
- [71] MÜLLER S, LAMSZUS K, NIKOLICH K, *et al.* Receptor protein tyrosine phosphatase ζ as a therapeutic target for glioblastoma therapy expert opin[J]. *Ther Targets*, 2004, 8 (3): 211-220.
- [72] CHAUHAN A K, LI Y S, DEUEL T F. Pleiotrophin transforms NIH3T3 cells and induces tumors in nude mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 679-682.
- [73] KADOMATSU K, HAGIHARA M, AKHTER S, *et al.* Midkine induces the transformation of NIH3T3 cells[J]. *Br Cancer*, 1997, 75: 354-359.
- [74] KOJIMA S, MURAMATSU H, AMANUMA H, *et al.* Midkine enhances fibrinolytic activity of bovine endothelial cells[J]. *Biol Chem*, 1995, 270: 9590-9596.
- [75] 高原, 于吉人, 郑树森. 多向生长因子在胃癌转移中的作用 [J]. *中华医学杂志* (GAO Yuan, YU Ji-ren, ZHEN Shu-sen. The role of Pleiotrophin in growth and development of carcinoma of stomach [J]. *Natl Med J China*), 2001, 81: 496-497.
- [76] FUJIKAWA A, SHIRASAKA D. Yamamoto [J]. *Setal Nat Genet*, 2003, 33: 375-381.
- [77] MAEDA N, NISHIWAKI T, SHINTANI T, *et al.* 6B4 proteoglycan/phosphacan, an extracellular variant of receptor-like protein-tyrosine phosphatase zeta/RPTP β , binds pleiotrophin/HB-GAM[J]. *Biol Chem*, 1996, 271: 21446-21452.
- [78] RAULO E, CHERNOUSOV M A, CAREY D J, *et al.* Isolation of a neuronal cell surface receptor of heparin-binding growth-associated molecule (HB-GAM). Identification as N-syndecan (syndecan-3) [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269: 12999-13004.
- [79] MENG K, RODRIGUEZ-PENA A, DIMITROV T, *et al.* Pleiotrophin signals increased tyrosine phosphorylation of beta-catenin through inactivation of the intrinsic catalytic activity of the receptor-type protein tyrosine phosphatase beta/zeta[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2000, 97(6): 2603-2608.
- [80] BIXBY J L. Ligands and signaling through receptor-type tyrosine phosphatases[J]. *Iubmb Life*, 2001, 51: 157-163.
- [81] JOHNSON K G, VACTOR V D. Receptor protein tyrosine

- phosphatases in nervous system development[J]. *Physiol Rev*, 2003, 83: 1-24.
- [82] TONKS N K. Protein tyrosine phosphatases: from genes, to function, to disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(11): 833-846.
- [83] BILWES A M, denHERTOG J, HUNTER T, *et al.* Structural basis for inhibition of receptor protein-tyrosine phosphatase- α by dimerization[J]. *Nature*, 1996, 382: 555-559.
- [84] MAJETI R, BILWES A M, NOEL J P, *et al.* Dimerization-induced inhibition of receptor protein tyrosine phosphatase function through an inhibitory wedge[J]. *Science*, 1998, 279: 88-91.
- [85] WEISS A, SCHLESSINGER J. Switching signals on or off by receptor dimerization[J]. *Cell*, 1998, 94: 277-280.
- [86] KYPTA R M, SU H, REICHARDT L F. Association between a transmembrane protein tyrosine phosphatase and the Cadherin-Catenin complex[J]. *Cell Biol*, 1996, 134: 1519-1529.
- [87] HARROCH S, FURTADO G C, BRUECK W, *et al.* A critical role for the protein tyrosine phosphatase receptor type Z in functional recovery from demyelinating lesions[J]. *Nat Genet*, 2002, 32: 411-414.
- [88] TONKS N K, NEEL B G. From form to function: signaling by protein tyrosine phosphatases[J]. *Cell*, 1996, 87: 365-368.
- [89] MILLER J R, MOON R T. Signal transduction through beta-catenin and specification of cell fate during embryogenesis [J]. *Genes Dev*, 1996, 10: 2527-2537.
- [90] HOSCHUETZKY H, ABERLE H, KEMLER R. Beta-catenin mediates the interaction of the cadherin-catenin complex with epidermal growth factor receptor[J]. *Cell Biol*, 1994, 127: 1375-1380.
- [91] FISCHER E H, CHARBONNEAU H, TONKS N K. Protein tyrosine phosphatases-A diverse family of intracellular and transmembrane enzymes[J]. *Science*, 1991, 253: 401-406.
- [92] GUMBINER B M. Signal transduction of beta-catenin. *Curr Opin*[J]. *Cell Biol*, 1995, 7: 634-640.
- [93] RUBINFELD B, ALBERT I, PORRRI E, *et al.* Binding of GSK-3 β to the APC-b-catenin complex and regulation of complex assembly[J]. *Science*, 1996, 272: 1023-1026.
- [94] PARISER H, HERRADON G, EZQUERRA L, *et al.* Pleiotrophin regulates serine phosphorylation and the cellular distribution of beta-adducin through activation of protein kinase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(35): 12407-12412.
- [95] PARISER H, PEREZ-PINERA P, EZQUERRA L, *et al.* Pleiotrophin stimulates tyrosine phosphorylation of beta-adducin through inactivation of the transmembrane receptor protein tyrosine phosphatase beta/zeta[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 335(1): 232-239.
- [96] KAWACHI H, FUJIKAWA A, MAEDA N, *et al.* Identification of GIT1/Cat-1 as a substrate molecule of protein tyrosine phosphatase ζ/β by the yeast substratetrapping system[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 6593-6598.
- [97] 胡迎春, 刘敏丽, 李刚, 等. RNA 沉默多效生长因子表达及其生物学意义 [J]. *细胞* (HU Ying-chun, LIU Min-li, LI Gang. A pleiotrophin-specific siRNA and its effect on *PTEN*^{-/-} MEF241[J]. *Cells*), 2006, 25(10): 1210-1215.
- [98] LU K V, JONG K A, KIM G Y, *et al.* Differential induction of glioblastoma migration and growth by two forms of pleiotrophin [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 26953-26964.