

- Y Mneural progenitors in vivo and vascular endothelial growth factor triggered neural progenitor migration in vitro [J]. J Neurosci, 2007, 27(17):4716-4724.
- [19] Gong X, He X, Qi L, et al. Stromal cell derived factor-1 acutely promotes neural progenitor cell proliferation in vitro by a mechanism involving the ERK1/2 and PI-3K signal pathways[J]. Cell Biol Int, 2006, 30(5): 466-471.
- [20] Belmadani A, Tran PB, Ren D. Chemokines regulate the migration of neural progenitors to sites of neuroinflammation[J]. J Neurosci, 2006, 26(12): 3182-3191.
- [21] Fansa H, Keilhoff G. Comparison of different biogenic matrices seeded with cultured Schwann cells for bridging peripheral nerve defects[J]. Neurol Res, 2004, 26(2): 167-173.
- [22] Arvidsson A, Collin T, Kirik D, et al. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke[J]. Nat Med, 2002, 8(9): 963-970.
- [23] Tarasenko YI, Yu Y, Jordan PM, et al. Effect of growth factors on proliferation and phenotypic differentiation of human fetal neural stem cells [J]. J Neurosci Res, 2004, 78(5): 625-636.
- [24] Choi Y, Borghesani PR, Chan JA, et al. Migration from a mitogenic niche promotes cell-cycle exit[J]. J Neurosci, 2005, 25(45): 10437-10455.
- [25] 王毓斌, 陈 斌. 成体生殖干细胞研究进展[J]. 医学研究生学报, 2009, 22(4): 438-442.

(收稿日期: 2010-01-15)

(本文编辑: 潘雪飞)

Stomatin 在哺乳动物机械感觉传导中的作用

王 雁¹, 崔宇辉² 综述, 张金涛¹ 审校

[摘要] Stomatin(红细胞膜蛋白 7.2b)最先在遗传性口形红细胞增多症患者的红细胞膜上发现该蛋白缺失。之后的研究表明, stomatin 及其同源物在不同种属的各种组织中广泛表达, 并在胆固醇丰富的微区——脂筏中发挥重要功能, 例如参与调节离子通道、调节细胞骨架等等。大量实验结果证实, 秀丽隐杆线虫 stomatin 同源物 MEC-2 在线虫的机械感觉传导中发挥重要作用, 提示在哺乳动物中 stomatin 可能也发挥相同的作用。最近有关 stomatin 与机械感觉传导的研究也越来越多。本文就 stomatin 及其在哺乳动物机械感觉传导中的作用进行简要介绍。

[关键词] stomatin; 哺乳动物; 神经元; 机械感觉传导; 脂筏蛋白

中图分类号: R339.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-271X(2010)02-0136-04

1982 年, mentzer 的实验室首先在 2 例遗传性口形红细胞增多症患者的红细胞膜上发现一种分子量约 30kd 的蛋白缺失, 将其命名为 stomatin 或红细胞膜蛋白 7.2b。遗传性口形红细胞增多症是一种常见的遗传性红细胞膜先天缺陷疾病, 由于该蛋白的缺失, 患者的红细胞膜表现出对钠、钾一价阳离子的异常通透性, 导致细胞内水容量异常^[1]。因此, stomatin 最初被认为是调节红细胞离子通道的蛋白。随后的研究发现, stomatin 功能极为广泛, 特别是它在哺乳动物机械感觉传导方面的作用也逐渐引起关注。

1 stomatin 的结构与功能调控

1.1 stomatin 的结构与分布 人类 stomatin 基因 EPB72/STOM 位于染色体 9q34.1 上^[1], 共包含 7 个外显子。第一外显子编码 N 末端区域(这里没有信

号序列), 第二外显子编码 N 末端后的疏水区, 之后的 5 个外显子编码 C 端区域。其中, 第七外显子是最大的外显子, 包含大于 2kb 的 3'-非编码区(3'-untranslated region, 3'-UTR)。stomatin 基因的启动子序列是一个管家基因, 这可能是 stomatin 在各种组织中广泛表达的原因。

stomatin 蛋白由 288 个氨基酸组成, 其 C 端和 N 端都朝向胞质, 并具有穿膜蛋白的结构。一级结构显示(图 1), stomatin 蛋白的 N 端由 24 个氨基酸残基组成。紧接着是一个由 29 个氨基酸残基组成的疏水性穿膜区域, 它使蛋白以发夹样结构锚定在细胞膜上^[2]; 疏水区 C 端是一个 CRAC(cholesterol recognition/interaction amino acid consensus) 样的模式, 它可能是 stomatin 结合胆固醇的区域, 并在 stomatin 与细胞膜微区——脂筏(lipid raft)相关联的过程中发挥作用。CRAC 区之后是一个 SPFH/PHB 区, 该区域由于在 stomatin 同源或相关蛋白(stomatin, prohibitin, flotillin, HflC/K/prohibitin) 中结构保守而得名。SPFH/PHB 区对胆固醇膜脂质有亲和力, 可作

作者简介: 王 雁(1981-), 女, 山西介休人, 硕士, 从事神经系统疾病和细胞信号转导方面的研究

作者单位: 1. 271000 山东泰安, 解放军 88 医院神经内科;
2. 200233 上海, 上海市第六人民医院神经外科

为脚手架,在脂筏中发挥功能^[3]。SPFH/PHB 区之后是蛋白的 C 末端。C 末端可能是蛋白相互作用的区域,因为 263 ~ 287 位截短的 stomatin 氨基酸残基失去形成低聚物的能力,也不能与脂筏相关联。stomatin 的另一个重要特征是它含有三个能被棕榈酰化的半胱氨酸残基,分别位于 29、52 和 86 位^[1]。

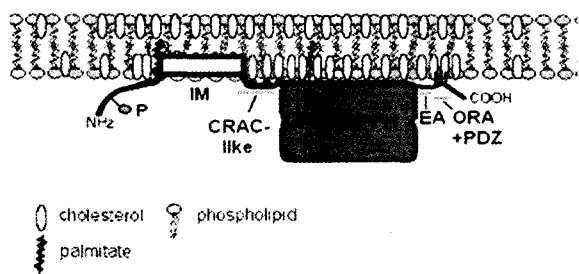


图 1 stomatin 蛋白的结构

stomatin 家族包括 prohibitins、HflK/C、flotillins、mechanoreceptors 以及 plant defense proteins,其同源物和相关蛋白广泛分布在动物、植物和细菌中^[4,5]。他们拥有共同的核心结构——SPFH/PHB 区。秀丽隐杆线虫的 3 种 stomatin 样蛋白分别是 MEC-2、UNC-1 和 UNC-24。哺乳动物 stomatin 家族包括 5 种蛋白,分别是:stomatin、stomatin 样蛋白(stomatin-like protein, SLPs) SLP1、SLP2、SLP3 和 podocin^[4,6]。在人和小鼠中, stoma-tin 在各种组织中广泛表达,但是在秀丽隐杆线虫中,所有 stomatin 样蛋白都只表达在神经元上^[1,7]。

在细胞中, stomatin 定位于细胞膜,特别在微绒毛、内吞膜泡、细胞外囊泡和胞质颗粒,位于胆固醇丰富的区域(细胞的脂筏区),以低聚物的形式存在。从上皮细胞分离出来时,这些低聚物含有大约 300 kDa 的分子,包含 9 ~ 12 个单体;而从红细胞膜上分离的低聚物,大约含 600 kDa 的分子,包含约 20 个单体^[3]。

1.2 stomatin 的功能与调控 最初认为发现遗传性口形红细胞增多症患者红细胞膜上 stomatin 蛋白缺失,但是之后的实验证明, stomatin 基因敲除小鼠的红细胞形态正常^[8],提示 stomatin 与遗传性口形红细胞增多症并不直接相关。目前,遗传性口形红细胞增多症的真正发病机制仍然未知。在正常情况下, stomatin 是重要的脂筏蛋白之一。脂筏(lipid raft)是质膜中富含胆固醇和鞘磷脂的膜的微区,脂筏中聚集着多种蛋白,如离子通道、转运子、细胞骨架蛋白,特定受体及其下游的信号转导蛋白和脂质特异性酶类等。stomatin 在调控葡萄糖转运蛋白 GLUT-1 (glucose transporter protein-1) 的功能^[1]、影

响离子通道^[9-10]、连接细胞骨架^[11]等方面发挥重要作用。尽管目前认为, stomatin 蛋白的成熟前降解可能是导致遗传性口形红细胞增多症 stomatin 蛋白缺失的重要原因,但是对 stomatin 的合成和降解的了解还远远不够。Wang 等^[12]运用基因芯片的方法,发现人工合成的糖皮质激素——地塞米松处理 6 h 后, A549 细胞内 stomatin 的基因表达上调。在对 UAC 细胞(the human amniotic cell line 即人类羊膜细胞系)的研究中发现,单独使用地塞米松、IL-6、或者两者联合使用可以上调该细胞 stomatin 的基因和蛋白水平的表达^[13]。

2 stomatin 家族成员与机械感觉的传导

机械感觉(mechanosensation)是指将机械刺激转换为电信号(机械能转换为电能)而引起的对刺激模式、刺激空间和时间具有分辨能力的多种感觉功能,包括动物和人的触觉、本体觉、听觉、平衡觉,以及细胞为了存活而对细胞体积随时调节的功能等。以下以触觉为例,介绍 stomatin 家族成员在机械感觉方面发挥的作用。

2.1 在秀丽隐杆线虫中 stomatin 同源物的作用 秀丽隐杆线虫是当前研究机械感觉传导最常用也是研究最明确的动物模型。MEC-2 在秀丽隐杆线虫中编码一种具有 stomatin 同源结构的膜内在蛋白。通过对秀丽隐杆线虫触觉回避现象的研究,人们提出了一个机械感觉传导复合物的分子模型(图 2):细胞外, MEC-5 和 MEC-9 的产物是能与细胞外基质的通道相互作用的蛋白。MEC-4 和 MEC-10 编码的蛋白形成机械敏感离子通道,是感觉机械传导的核心,该通道与哺乳动物阿米洛利敏感的上皮 Na⁺ 通道相关联。细胞内 MEC-12 α 和 MEC-7 β 微管蛋白组成 15-微丝微管。MEC-2 则连接机械感觉通道和 15-微管细胞骨架,为机械感受通过微管移位导致通道开放提供了分子基础^[14-15]。

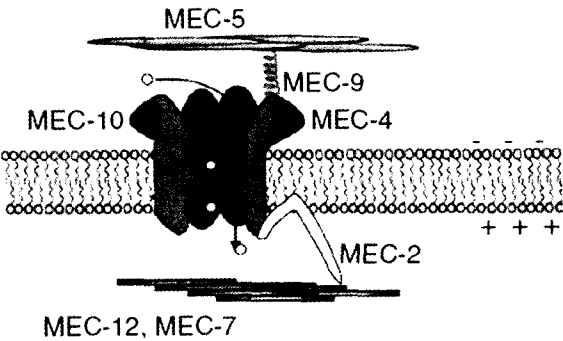


图 2 秀丽隐杆线虫的机械感觉传导分子模型

定点突变技术则进一步证明了 MEC-2 的 stomatin 样区域的重要性。将 MEC-2 的 stomatin 样区域的错义突变,则 MEC-2 与胞内蛋白 MEC-4 间的相互作用、MEC-2 的点状定位和对退化蛋白的调节作用均受到破坏。由此说明 MEC-2 通过它的 stomatin 样区域与蛋白结合,从而使它的非 stomatin 区域可以调控通道的活性^[5]。除了 MEC-2,编码 stomatin 同源物的另一个基因——UNC-1 的突变导致运动的不协调,增加对挥发性麻醉药物的敏感性^[9],提示也参与了机械感觉的传导。

2.2 stomatin 与哺乳动物机械感觉传导 作为与 MEC-2 高度同源的哺乳动物 stomatin 蛋白,在机械感觉传导复合物中的作用也得到了系列实验的证实。背根节的体细胞感觉神经元对我们的大部分机械感受过程都是必须的。stomatin 在小鼠背根节所有的感觉神经元上表达,并且只有在背根节神经元在外周靶向神经调节过程中变得对机械敏感后, stomatin 才以能检测到的浓度表达^[16]。他们也观察到 stomatin 表达在结状神经节中,该神经节含有包括压力感受器在内的机械感受神经元^[16]。三叉神经节传导头面部皮肤和口、鼻腔粘膜触觉。有报道证实 stomatin 和 α -ENaC、 β -ENaC、 γ -ENaC 共表达于三叉神经元的核周体以及少部分位于触须 follicle-sinus 复合物末端位置。该定位符合 stomatin 在机械感觉传导中的可能作用,与 ENaC 通道的共表达则提示两者之间的相互作用^[17]。

2.2.1 stomatin 与 MEC-2 有相似的功能 stomatin 在红细胞的细胞骨架上可以检测到,提示它可能结合在细胞骨架上。Innes 等^[18]用电泳凝胶琼脂糖扩散法证明, stomatin 可以结合在 β 内收蛋白的 C 端部分,而 β 内收蛋白被证实结合在细胞骨架蛋白血影蛋白和肌动蛋白上。Snyers 等^[11]证实 stomatin 与肌动蛋白共定位在上皮细胞的细胞膜上。这些报道都强烈提示 stomatin 可能在神经元中与细胞骨架相互作用。

stomatin 参与调控离子通道,特别是 DEG/ENaC (degenerin / epithelial Na^+ channel) 通道家族成员。最初发现,遗传性口形红细胞增多症患者的红细胞膜缺失 stomatin 蛋白,并对钠、钾离子的通透性增加,所以 stomatin 被认为可能参与调节红细胞的离子通道^[8,19]。如果将人的 stomatin 和秀丽隐杆线虫的 DEG/ENaC 通道蛋白 MEC-4 共表达在爪蟾卵目细胞上,将产生一种微小的但是能检测到的阿米洛利敏感的电位^[9]。另外有实验提示 stomatin 在气道上皮细胞中可能与 ENaC 通道相互作用^[20]。

哺乳动物中, DEG/ENaC 家族的另一个成员——酸敏感离子通道 (ASICs) 被证明能被 stomatin 所调控^[10]。ASIC1a、ASIC2a 和 ASIC3 在细胞膜上形成同源或异源的多聚体,是 H^+ 门控 Na^+ 通道。一些表达在感觉神经元上的 ASICs,在伤害性、味觉、机械刺激感觉的产生过程中发挥作用^[21]。通过将 stomatin 和上述亚单位共表达在卵母细胞中发现,上述亚单位都分别与 stomatin 免疫共定位并免疫共沉淀。而且, stomatin 可大幅减少酸引发的 ASIC3 产生的电流,而不改变 ASIC3 的蛋白水平或细胞表面的表达量。这与秀丽隐杆线虫中 MEC-2 与 DEG/ENaC 通道之间相互作用的方式相同^[9]。同时, stomatin 改变 ASIC2a 同源通道和 ASIC1a + ASIC3、ASIC2a + ASIC3 异源通道的不敏感率,但不改变 ASIC1a + ASIC3、ASIC2a + ASIC3 异源通道的电流幅度。根据以上结果 Price 等^[10]提出, stomatin 与 ASICs 结合,并调节其功能,从而调节伤害性以及机械感受。

2.2.2 stomatin 参与调控哺乳动物机械感觉传导 stomatin 参与哺乳动物机械感觉传导的直接证据不多。通过使用 stomatin 基因缺失突变的小鼠发现,一种快适应的机械感受器的亚型, d-头发受体 (d-hair receptor), 在 stomatin 缺失时,对机械刺激的敏感性下降,而伤害性疼痛 C 纤维则不受影响。这些实验结果表明,在脊椎动物的一部分感觉神经元的正常机械感觉传导中, stomatin 发挥着不可或缺的作用^[22]。另外, stomatin 可能在哺乳动物控制对挥发性麻醉药物的敏感性方面发挥作用。通过测试小鼠的钳尾反应得知, stomatin 基因敲除的小鼠对的乙醚敏感性提高^[23]。在人类气道纤毛细胞中发现 stomatin 沿着纤毛和微绒毛大量分布。提示 stomatin 可能参与了膜相关的机械感觉导体,从而在控制纤毛运动方面发挥作用^[20]。

stomatin 的其他同源物或相关蛋白也在哺乳动物机械感觉传导方面发挥作用。例如,哺乳动物的 SPL-3 也称为 stomatin 相关的嗅觉蛋白,是 stomatin 样蛋白中与 stomatin 最为相似的蛋白。相关研究表明 SPL-3 在嗅觉感觉神经元上表达^[24]。而最近 Wetzel 等^[25]研究显示, SPL-3 基因敲除的小鼠的触觉敏感性明显下降,证实 SPL-3 是哺乳动物机械感觉传导的必要的亚单位。另外有报道认为,两种 stomatin 蛋白在功能上可能有相互依赖性^[26-27]。

3 结 语

stomatin 在感觉神经元中的表达,与离子通道和

细胞骨架相互作用等特性都提示 stomatin 参与了哺乳动物的机械感觉传导过程。stomatin 基因敲除小鼠中 d-头发受体机械刺激的敏感性下降,进一步证明了 stomatin 在机械感觉传导过程中的作用不可或缺。但是 stomatin 到底是通过直接途径还是间接途径发挥作用,以及它调控机械感受的分子机制仍需进一步的研究。作为脂筏蛋白的重要成员, stomatin 通过募集各种膜蛋白到脂筏区,发挥着很多重要功能。这也为 stomatin 调节机械感受离子通道提供了作用平台。总之, stomatin 在相关方面的研究进展,将极大促进揭示哺乳动物机械感觉传导机制的进程。

【参考文献】

- [1] Salzer U, Mairhofer M, Prohaska R. Stomatin: a new paradigm of membrane organization emerges [J]. *Dynamic Cell Biology*, 2007, 1(1): 20-33.
- [2] Huber TB, Schermer B, Muller RU, et al. Podocin and MEC-2 bind cholesterol to regulate the activity of associated ion channels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(46): 17079-17086.
- [3] Umlauf E, Mairhofer M, Prohaska R. Characterization of the stomatin domain involved in homo-oligomerization and lipid raft association [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(33): 23349-23356.
- [4] Da Cruz S, Parone PA, Gonzalo P, et al. SLP-2 interacts with prohibitins in the mitochondrial inner membrane and contributes to their stability [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(5): 904-911.
- [5] Green JB, Young JP. Slipins: ancient origin, duplication and diversification of the stomatin protein family [J]. *BMC Evol Biol*, 2008, 11(8): 44.
- [6] Cui Z, Zhang L, Hua Z, et al. Stomatin-like protein 2 is overexpressed and related to cell growth in human endometrial asenocarcinoma [J]. *Oncology Reports*, 2007, 17(4): 829-833.
- [7] Zhang S, Arnadottir J, Keller C, et al. MEC-2 is recruited to the putative mechanosensory complex in C-elegans touch receptor neurons through its stomatin-like domain [J]. *Curr Biol*, 2004, 14(21): 1888-1896.
- [8] Fricke B, Parsons SF, Knopfle G, et al. Stomatin is mis-trafficked in the erythrocytes of overhydrated hereditary stomatocytosis, and is absent from normal primitive yolk sac-derived erythrocytes [J]. *Br J Haematol*, 2005, 131(2): 265-277.
- [9] Bianchi L. Mechanotransduction: touch and feel at the molecular level as modeled in Caenorhabditis elegans [J]. *Mol Neurobiol*, 2007, 36(3): 254-271.
- [10] Price MP, Thompson RJ, Eshcol JO, et al. Stomatin modulates gating of acid-sensing ion channels [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(51): 53886-53891.
- [11] Snyers L, Thines-Sempoux D, Prohaska R. Colocalization of stomatin (band 7.2b) and actin microfilaments in UAC epithelial cells [J]. *Eur J Cell Biol*, 1997, 73(3): 281-285.
- [12] Wang JC, Derynck MK, Nonaka DF, et al. Chromatin immunoprecipitation (ChIP) scanning identifies primary glucocorticoid receptor target genes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(44): 15603-15608.
- [13] Snyers L, Content J. Induction of metallothionein and stomatin by interleukin-6 and glucocorticoids in a human amniotic cell line [J]. *Eur J Biochem*, 1994, 223(2): 411-418.
- [14] Brown AL, Liao Z, Goodman MB. MEC-2 and MEC-6 in the Caenorhabditis elegans sensory mechanotransduction complex: auxiliary subunits that enable channel activity [J]. *J Gen Physiol*, 2008, 131(6): 605-616.
- [15] Howard J. Mechanical signaling in networks of motor and cytoskeletal proteins [J]. *Annu Rev Biophys*, 2009, 38: 217-234.
- [16] Mannsfeldt AG, Carroll P, Stucky CL, et al. Stomatin, a MEC-2 like protein, is expressed by mammalian sensory neurons [J]. *Mol Cell Neurosci*, 1999, 13(6): 391-404.
- [17] Fricke B, Lints R, Stewart G, et al. Epithelial Na⁺ channels and stomatin are expressed in rat trigeminal mechanosensory neurons [J]. *Cell Tissue Res*, 2000, 299(3): 327-334.
- [18] Innes DS, Sinar JH, Gilligan DM, et al. Exclusion of the stomatin, alpha-adducin and beta-adducin loci in a large kindred with dehydrated hereditary stomatocytosis [J]. *Am J Hematol*, 1999, 60(1): 72-74.
- [19] Wilkinson DK, Turner EJ, Parkin ET, et al. Membrane raft actin deficiency and altered Ca²⁺-induced vesiculation in stomatin-deficient overhydrated hereditary stomatocytosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778(1): 125-132.
- [20] Fricke B, Stewart GW, Treharne KJ, et al. Stomatin immunoreactivity in ciliated cells of the human airway epithelium [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 2003, 207(1): 1-7.
- [21] Kraichely RE, Farrugia G. Mechanosensitive ion channels in interstitial cells of Cajal and smooth muscle of the gastrointestinal tract [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2007, 19(4): 245-252.
- [22] Martinez-Salgado C, Benckendorff AG, Chiang LY, et al. Stomatin and sensory neuron mechanotransduction [J]. *J Neurophysiol*, 2007, 98(6): 3802-3808.
- [23] Sedensky MM, Pujazon MA, Morgan PG. Tail clamp responses in stomatin knockout mice compared with mobility assays in Caenorhabditis elegans during exposure to diethyl ether, halothane, and isoflurane [J]. *Anesthesiology*, 2006, 105(3): 498-502.
- [24] Kobayakawa K, Hayashi R, Morita K, et al. Stomatin-related olfactory protein, SRO, specifically expressed in the murine olfactory sensory neurons [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(14): 5931-5937.
- [25] Wetzel C, Hu J, Riethmacher D, et al. A stomatin-domain protein essential for touch sensation in the mouse [J]. *Nature*, 2007, 445(26): 206-209.
- [26] Huang MX, Ferguson EL, Chalfie M, et al. A stomatin-like protein necessary for mechanosensation in C-elegans [J]. *Nature*, 1995, 378(6554): 292-295.
- [27] Sedensky MM, Siefker JM, Koh, JY, et al. A stomatin and a degenerin interact in lipid rafts of the nervous system of Caenorhabditis elegans [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(2): 468-474.

(收稿日期: 2009-10-26; 修回日期: 2010-01-21)

(本文编辑: 潘雪飞)