

的上调<sup>[20]</sup>。

Laihia 等人<sup>[21]</sup>用荧光激活细胞分选仪 (FACS)检测 UV 辐射后体内 LC 数量和表面共刺激分子的表达,发现上皮 LC 有二个连续反应阶段:首先是 2~6 小时暂时下调阶段,LC 数量和表面标志减少,可能是由于快速释放原炎性细胞因子(如 TNF- $\alpha$ )导致体内 LC 树突的截断和数量的减少而引起的形态学变化;在第二阶段导致上皮 CD1a<sup>+</sup> LC 细胞在 12 和 24 小时出现显著增高,每个细胞 DR (HLA 的结构基因), CD1a 及共刺激信号分子 (B7-1, B7-2)的染色强度平行增强;照后 48 小时各项指标回降至对照水平。与体内不同,体外 UV 照射后培养 48 小时,抑制 LC 的 B7-1 B7-2 分子上调<sup>[22]</sup>,但照射培养的皮肤移植物或上皮细胞悬液未必能揭示辐射对在体皮肤诱导的细胞反应的相关机制,可能由于失去了细胞因子、神经肽或细胞与细胞联系的网络而造成的。

#### 参考文献

- 1 Ardavin C et al. Nature, 1993; 362 761
- 2 Banchereau J et al. Nature, 1998; 392 245

- 3 Shortman J et al. Stem Cells, 1997; 15 409
- 4 Chapuis F et al. Eur J Immunol, 1997; 27 431
- 5 Sozzani S et al. J Immunol, 1998; 161: 1038
- 6 Sallusto F et al. J Exp Med, 1995; 182 389
- 7 Mukherjee S et al. Phys Rev, 1997; 77 759
- 8 Jan W et al. Nature, 1995; 375 151
- 9 Matsuno K et al. J Exp Med, 1996; 183 1865
- 10 Pieters J et al. Curr Opin Immunol, 1997; 9 89
- 11 Pierre P et al. Nature, 1997; 388 787
- 12 Michell DA et al. Curr Opin Immunol, 1997; 9 462
- 13 Sozzani S et al. J Immunol, 1998; 161 1083
- 14 Lu L et al. J Immunol, 1997; 158 5676
- 15 Simon JC et al. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 1994; 10 206
- 16 Schumachers G et al. J Invest Dermatol, 1996; 106 1023
- 17 El-Ghorr AA et al. Immunology, 1997; 92 26
- 18 Caceres DG et al. Photochem Photobiol, 1995; 62 176
- 19 Yokozeeki H et al. J Invest Dermatol, 1996; 106 147
- 20 Richters CD et al. Exp Immunol, 1996 104 191
- 21 Laihia JK et al. Eur J Immunol, 1997; 27 984
- 22 Richters CD et al. Eur J Immunol, 1996 26 449

(收稿日期: 1999-05-14)

## 角质细胞生长因子及其辐射防护作用

第三军医大学全军复合伤研究所(重庆, 400038) 王小华综述 余争平 程天民审校

**摘要:**角质细胞生长因子(KGF)是具有肝素结合特性的成纤维细胞生长因子(FGF)家族中的一员,又称为 FGF-7 尽管 KGF 来源于不同的组织, KGF 仅特异性地作用于上皮细胞。KGF 可提高辐射后小鼠肠干细胞的存活率,并对辐射引起气道上皮细胞的通透性升高具有拮抗作用。KGF 可以加速辐射诱导的 DNA 损伤的修复,并对维持细胞骨架蛋白 F 肌纤蛋白的稳定和保护细胞间连接具有重要作用,其信号转导是通过蛋白激酶 C(PKC)途径完成的。因此,不少作者认为, KGF 很有希望成为临床上用于胸部、腹部肿瘤放化疗防护的细胞因子。

**关键词:**角质细胞生长因子 辐射 信号转导 蛋白激酶 C

角质细胞生长因子(KGF)是具有肝素结合特性的成纤维细胞生长因子(FGF)家族中的一员,因此又称为 FGF-7 近来研究表明, KGF 具有广泛的生物学活性,尤其是其拮抗辐射损伤作用引人注目,不少作者认为,

KGF 有希望成为临床上用于胸部、腹部肿瘤放化疗防护的细胞因子。

### 1 KGF 及其受体的生物学特性

#### 1.1 KGF 的生化特性与来源

KGF是从培养的成纤维细胞中纯化得到的一种单链多肽, KGF的 cDNA 编码 194 个氨基酸残基的蛋白, 包括一个分泌的信号肽和 N 端的糖基化位点。在乳腺细胞中合成的 KGF 不需经翻译后修饰即具有生物活性, 蛋白肽链结构分析表明, KGF 与 FGF 家族中的其它 8 个成员在多肽链的 C 端有 30% ~ 45% 的同源性

在人胚胎成纤维细胞和其它组织来源的基质细胞中都有 KGF 的表达, 目前已发现能表达 KGF 的细胞包括成人肺、皮肤、乳腺、胃、膀胱和前列腺, 而在上皮细胞、内皮细胞和色素细胞中不表达。KGF 能刺激 BLAB/MK 大鼠角质细胞、肝细胞、肺泡 II 型细胞、眼角膜上皮细胞增殖与分化<sup>[1,2]</sup>, 但对成纤维细胞、成肌纤维细胞无刺激作用。

### 1.2 KGF 受体 (KGR) 的结构特点

和其他成纤维细胞因子受体一样, KGR 的胞膜外部是含有约 50 个氨基酸残基的 Ig 样结构。第一个克隆出来的 KGR 含有两个 Ig 样结构, 以后从人乳腺上皮细胞或小鼠乳腺上皮细胞克隆分离出来的 KGR 含有三个 Ig 样结构。含有两个或三个 Ig 样结构对 KGF 都具有较高的亲和性<sup>[3]</sup>。KGR 的两个激酶区与 BEK 基因或 FGFR-2 基因产物相同。KGR 与 BEK/FGFR-2 在第三个 Ig 样结构中有一突出, 这一结构域中 KGR 与 BEK/FGFR-2 只有 4% 的同源, 其差异可能是 KGR 与 BEK/FGFR-2 是相同的基因在转录过程中剪切不同的外显子形成的。KGR 对 KGF 和 aFGF 亲和力高, 而对 bFGF 结合弱; BEK/FGFR-2 对 aFGF 和 bFGF 亲和力强, 而对 KGF 亲和力弱。这种亲和性的不同是由于转录过程中剪切不同的外显子形成的, 在细胞膜外的第三个 Ig 样环状结构的特点和相邻柄区的不同氨基酸顺序决定了受体对不同细胞因子的亲和特性<sup>[4]</sup>。KGR 上的糖蛋白是 KGR 与 KGF 结合的必需的基因。

## 2 KGF 的辐射防护作用

### 2.1 KGF 拮抗辐射损伤效应

KGF 可提高辐射后小鼠肠干细胞的存活率。Khan 等人<sup>[5]</sup>应用离体微集落测定法发现, KGF 能显著降低辐射引起的胃肠道损伤: 在一次性全身大剂量照射的实验中, C3H/SPF 小鼠受 X 射线一次性全身 10~16Gy 照射, 照前 2 天、1 天及照后 2 小时静脉或皮下注射 KGF 0.1mg/kg 或 KGF 与干细胞因子 (SCF) 联合注射 (SCF 在照前 8 小时腹腔注射 100ug/kg), 照后 4 天取十二指肠、空肠及回肠制作病理切片, 光镜下计数 10 个细胞以上的隐窝记作存活隐窝; 在分次照射实验中, 小鼠受 X 射线腹部局部照射 4.6~6.3Gy/d, 连续 5 天, 首次照前 2 天与照后连续 7 天皮下注射 KGF 1.0mg/kg, 观察照后 10 天小鼠的存活率与肠道病理变化。结果发现, KGF 静脉或皮下注射能显著增加肠隐窝的存活率, 显著提高 D<sub>0</sub> 值, 其 DMF (剂量减低系数) 在十二指肠、空肠及回肠中, 10~16Gy 单次全身照射时分别为 2.6、2.7 及 2.4, D<sub>0</sub> 值分别为 1.28、1.16、1.24; KGF 处理组的腹部分次照射的 LD<sub>50/10</sub> 由对照组的 5.5Gy/d 增加到 5.90Gy/d; KGF 和 SCF 联合或单独应用无显著差异。

KGF 对辐射引起气道上皮细胞的通透性增高有拮抗作用。Waters 和 Savla 等人<sup>[6,7]</sup>用测定荧光素异硫氰酸盐标记的牛血清白蛋白 (FITC-BSA) 的外渗来反映培养的 Calu-3 和 16HBE140 单层细胞的通透性, 结果发现在同样剂量的辐照条件下, KGF (50ng/ml) 预处理的培养单层细胞的通透性对 FITC-BSA 的通透性明显降低, 而 KGF 对未辐照的单层培养细胞的通透性无影响。

Yi 等人<sup>[1]</sup>给大鼠气管滴注 rhKGF (5mg/kg), 48 小时后, 胸部局部行 18Gy 的 γ 射线照射, 其存活率虽未增加, 但组织学检查发现局灶性肺炎和肺纤维化程度却降低,

其 3 周存活率由对照组的 40% 增加到 100% , 组织学检查滴注 KGF 处理组的大鼠没有明显的肺组织纤维化, 而对照组肺组织纤维化明显, 并有严重的呼吸功能障碍, 表明 KGF 对  $\gamma$  射线诱发的肺损伤有保护作用。

## 2.2 KGF 的辐射防护作用机制

KGF 的辐射防护作用机制尚未阐明。Takeokat 等人<sup>[8]</sup>报道, 在培养的 A549 细胞中, 室温条件下, 细胞内 DNA 处于正常合成状态, 预先用 KGF 处理的细胞对辐射诱导的 DNA 损伤有明显的剂量依赖保护作用, 最低有效浓度为 10ng/ml, 高于 100mg/ml 的作用无明显增强; 在 0°C 时, 细胞内 DNA 合成受抑, 此时用 KGF 对减少辐射诱导的 DNA 损伤无作用。结果表明, KGF 拮抗辐射诱导 DNA 损伤的作用是 KGF 促进 DNA 的合成修复, 而不是阻止 DNA 的断裂。

KGF 的辐射防护作用的信号转导是通过蛋白激酶 C (PKC) 的激活来完成的。Waters 等人<sup>[6]</sup>用 PKC 的阻断剂 Calphostin 或 Staurosporine 与培养的 Calu-3 单层细胞作用, 发现 KGF 并不能阻断  $H_2O_2$  诱导的 Calu-3 单层培养细胞的通透性增高。Savla 等人<sup>[7]</sup>在培养的 Calu-3 或 16HBE140 单层细胞中用 PKC 的抑制剂 Calphostin, 在辐射前 24 小时和加入抑制剂后 4 小时检测单层细胞通透性, 发现对 PKC 的抑制并不增加单层培养细胞的通透性, 在 10Gy 照射也不增加其培养细胞的通透性, 但在抑制剂 Calphostin C 的存在下, KGF 不能拮抗辐射诱导的细胞通透性增高。上述结果表明, KGF 对  $H_2O_2$  或辐射诱导气道的损伤的保护作用依赖 PKC 的激活。Savla 等人<sup>[7]</sup>在辐射前 24 小时和辐射后 4 小时加入酪氨酸激酶的抑制剂 Genistein, 发现在 Genistein 条件下, KGF 对降低辐照引起的单层培养细胞的通透性无效果。这些结果表明, KGF 的辐射

防护作用的信号转导是通过依赖 PKC 的激活来完成的。KGF 与其受体结合后, 受体亚基聚集, 蛋白酪氨酸激酶激活, 使受体亚基相互磷酸化, 然后磷脂酶 C (PLC)  $\gamma$  激活, PLC  $\gamma$  进而激活 PKC, 这与其它生长因子作用的信号转导机制类似。

KGF 对维持细胞骨架蛋白的主要成份 F-肌纤蛋白的稳定和保护细胞与细胞间连结起重要作用。Waters 等人<sup>[6]</sup>用电子显微镜观察发现,  $H_2O_2$  引起培养的 Calu-3 单层细胞通透性发生改变时, 细胞内的 F-肌纤蛋白丝排列紊乱, 肌丝断裂, 细胞连接中的 F-肌纤蛋白丝杂乱且不连续; 当损伤后的细胞用 KGF 处理后, 观察染色的 F-肌纤蛋白丝增多增长, 排列整齐, 细胞在  $H_2O_2$  作用前用 KGF 预处理, 也显示相同的作用; 在 PKC 抑制剂 Calphostin C 存在下, KGF 丢失了这种保护作用。KGF 结合受体相继激活 PKC, 阻止了 F-肌纤蛋白的断裂, 并使胞内的 G-肌纤蛋白向 F-肌纤蛋白转变, 保持了细胞结构的完整性; 同时 KGF 通过促进细胞内的粘分子表达维持细胞结构完整, 使细胞通过整合素粘住细胞内基质, 保持细胞结构的完整<sup>[7]</sup>。

总之, 尽管 KGF 的辐射防护作用的分子机制还不很清楚, 但已观察到 KGF 能促进损伤后 DNA 的修复, 维持细胞内骨架稳定和保持细胞间的连接完整。

## 参 考 文 献

- 1 Yi ES et al. Am J Pathol, 1996; 149: 1963
- 2 Strain AJ et al. Exp Cell Res, 1994; 210: 253
- 3 Jeffrey S et al. Cell Bio Int, 1995; 19: 399-411
- 4 Werner S et al. Science, 1994; 266: 819-822
- 5 Khan BW et al. Radiat Res, 1997; 148: 248
- 6 Waters CM et al. Am J Physiol, 1997; 272: L681- L689
- 7 Savla U et al. Radiat Res, 1998; 150: 195-203
- 8 Takeoka M et al. Am J Physiol, 1997; 272: L1174- L1180

(收稿日期: 1999-03-10)