

細胞訊號傳遞的新途徑一 (PTK) Protein Tyrosine Kinase

撰文：吳明強

生

物不論是單細胞或多細胞，常會因外界的變化，而作進一步的調節和適應。多細胞生物體如人類，每個細胞常需要接受來自分泌、神經傳導物質或其它細胞外物質的刺激，產生反應（例如：神經傳導，細胞生長，分化等）。這些刺激物質常無法直接穿透具有半透膜特性的細胞膜，而需經由細胞表面上具有特異性的接受器(specific receptor)蛋白質進行訊號傳遞作用。

一旦細胞表面接受器和特定物質結合後（見圖(-)），就在細胞質中產生第二訊號傳遞物質。

最近發現的 protein tyrosine kinase(PTK)在細胞分化、生長方面具有甚為重要的地位，也同時開闢出另外一條令人驚奇的訊號傳遞途徑，讓我們對細胞分化、細胞生長的分子層面有深入的瞭解。

PTK 的基本性質：

生長因子(growth factors)調節細胞生長與分化的機制主要經由具有 protein tyrosine kinase 的細胞表面生長因子接受器(growth factor receptor)來達成。

目前分子生物知識、技術的進步，利用分子特性，將分子歸類成一族一族(family)地，然後再研究同族分子的作用方式已不再是難題，以 PTK 而言，PTK 族皆具有 PTK 作用區段(domain)，而具 PTK 作用區段之 PTK 可分為接受器及非接受器兩類。

接受器 PTK 包括：上皮生長因子接受器，血小板衍生生長因子接受器，結締組織細胞生長因子接受器(fibroblast growth factor [FGF]

receptor)，神經生長因子接受器(neural growth factor [NGF] receptor)，及聚落刺激因子接受器(CSF-1 receptor)等，皆具有細胞外結合特定因子的 domain，以及細胞內 PTK 的 domain。接受器一旦和特定因子結合後，便活化細胞內 PTK domain，活化的 PTK domain 進行自我磷酸化(autophosphorylation)將分子本身特定 tyrosine 部位磷酸化形成 phosphotyrosine，接受器 PTK 上形成的 phosphotyrosine 會吸引細胞質中含有 SH2 domain(SH2: src homology region 2)的蛋白質（見圖(二)）。

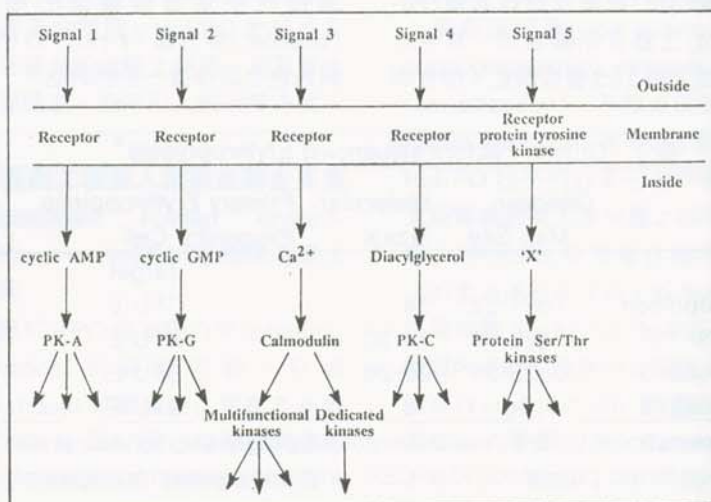
此外，非接受器 PTK 則包括：Src, Fps, Abl, Lck, Fyn, Yes, Crk 等數個分子，這類大都具有 SH2 domain 用來抑制本身 kinase 活性或其它受質結合。目前對於這類 PTK 的活化方式並不是十分明瞭，例如，具 CD4 或 CD8 表面分子的 T 細胞，Src-like tyrosine kinase P56^{lck} 與 CD4 或 CD8 的細胞質部份結合，若

使用抗體結合 CD4 或 CD8 的細胞外部份，將使 P56^{lck} 活化，作用的機制可能因抗體結合後的 CD4 或 CD8 使 P56^{lck} N 端形狀改變導致 C 端的 phosphotyrosine 和本身 SH2 結合減弱，讓 P56^{lck} 活化。c-Src 與 P56^{lck} 活化方式有許多共同的地方：Src 的 SH2 domain 具有抑制 kinase 活性的功能，在靜止狀態，SH2 和磷酸化的 Tyr 527 結合，若是 Tyr 527 去磷酸化，Src 便活化而釋放出 SH2 domain 和其它受質結合。

由上面所知的分子作用方式 SH2 domain 在 PTK 的傳遞途徑中伴演重要角色。後面將對 SH2 作進一步探討。

SH2 domain 的結構及功能：

非接受器 PTK 及由接受器 PTK 活化之分子（如：PLC- α , PI3K etc.）含有約一百個胺基酸構成的 SH2 domain 及約四十五個胺基酸形成的 SH3 domain。SH2 與 SH3 並不具催化作用(catalytic activity)，卻具



圖(-)

有結合 phosphotyrosine 的能力，以下將 SH2 domain 的結構和功能進行分析。

(一)結構分析：

目前已知 3 個 SH2 domain 的結構分析，分別為 v-Src，c-Abl，及 PI3K，p85 α subunit 的 SH2。其中 v-Src 的 SH2 domain 構造因還結合來自 PGEF 及 EGF receptor 的部份 phosphotyrosine ★鍵，所得結果較多。

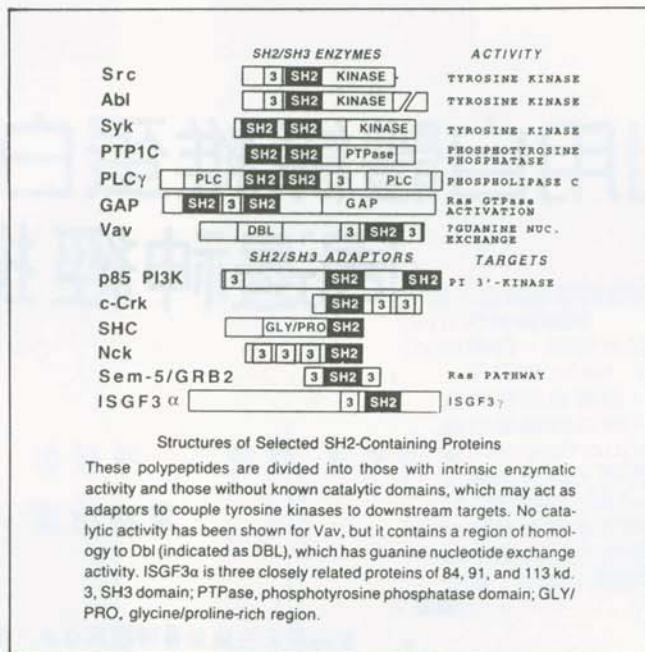
v-Src 的 SH2，整體形狀類似扁平的半球，半球的截面具有淺溝，能特異而穩固地結合肽鏈上的 phosphotyrosine，截面本身可能提供有效地分子結合力量，用以穩定已結合的分子。由所得的分子模型，phosphoserine 或 phosphothreonine 無法在淺溝中形成強力結合，此可解釋 SH2 對 phosphotyrosine 的特異性。

結構分析還透露其它訊息：SH2 的 N 端和 C 端彼此很接近且位於上述截面的反側，這使得 SH2 和其它 domain 作用的機會變得很小，猶如自我獨立的小單位，這說明一個有趣的可能：SH2 domain 可插進蛋白質的不同區域而不會影響本身摺曲 (folding) 成具功能的構造。

(二)功能分析

具有 SH2 的蛋白質如 PLC- α ，GAP，或 Src 可與活化的生長因子接受器結合，尤其是在接受器進一步自我磷酸化 (autophosphorylation) 時。SH2 結合於活化的接受器 PTK 的位置通常位於 kinase domain 中的一段胺基酸插入 (insert)，這段胺基酸並不會影響 kinase domain 的功能，故此段胺基酸可能形成 loop 的構造而不參與 kinase domain 的作用，另一方面 insert 所含的 tyrosine 可經由接受器自我磷酸化形成 phosphotyrosine，而與 SH2 結合。

不同蛋白質的 SH2 可辨識 PTK 上不同的 phosphotyrosine，例如 PDGF β -receptor 細胞質部份不同部位的 phosphotyrosine 可和不同



圖(二)

蛋白質結合：PI3¹K 結合 Tyr 740，Tyr 751；GAP 結合於 Tyr 771；PLC- α 結合於 Tyr 1009，Tyr 1021。藉由這樣的方式，使同一接受器能發揮最大的作用（見圖(三)）：活化 PLC- α 可產生 IP₃ 和 diacylglycerol，IP₃ 將 Ca²⁺ 釋入細胞質，活化 Ca²⁺ - dependent protein kinase，而 diacylglycerol 活化 PKC；GAP 的活化可調節 Ras 的活性；另外活化具轉錄因子 (transcription factor) motif 的 Vav 可直接影響基因轉錄的發生。

除了含 SH2 domain，由圖(二)可看出許多分子具有 SH3 domain，SH3 domain 的作用目前尚未定案，但有證據顯示 SH3 參與 small Ras-like guanine nucleotide-binding (G) proteins 的控制，以 Abl 的 SH3 domain 為例：SH3 可和細胞內的 3BP1 結合，而 3BP1 和 small G proteins 的 Rho/Rac GAP family 相似，而 Rho/Rac 在細胞內主要控制 membrane ruffling 及 actin stress fiber 和 focal contacts 的形成，這可說明為何許多細胞骨架蛋白 (cytoskeletal protein) 具有 SH3（例如：tensin, spectrin, etc.），可能和細胞結構功能有關。

PTK 的調節

討論到這裏，對於 PTK 將 tyrosine 變成 phosphotyrosine 的目的能夠了解，但是活化的 phosphotyrosine 如何回復靜止狀態 (inactive form)。目前發現的 PTP (protein tyrosine phosphatase) 可將 phosphotyrosine 去磷酸化 (dephosphorylation) 恢復成 tyrosine，或許 PTP 真的在細胞內具有去磷酸化的功能使 PTK 回復靜止狀態。

結論

PTK 訊號傳遞方式有別於其它利用第二傳訊物質 (secondary messenger) 者。

生長因子經由接受器 PTK 傳訊。當 PTK 活化後，開始自我磷酸化，形成的 phosphotyrosine 與具 SH2 的蛋白質結合（如：GAP, PI3K, PLC- α 等），使含 SH2 之分子所帶酵素活性增加，藉由瀑布效應活化其它分子，終而引起細胞反應（生長，分化等）。

目前對於 PTK 的調節方式並不是十分明瞭，或許 PTP 可提供這方面的功能，不論如何，這方面的研究將可幫助我們瞭解更多重要的細胞生理。