

DOI: 10.13376/j.cblls/2021072

文章编号: 1004-0374(2021)06-0687-09

# 高尔基体基质蛋白GM130的生物学功能研究进展

庞潜潜

(济宁医学院, 济宁 272067)

**摘要:** GM130 是第一个被报道的能够调控高尔基体结构维持的基质蛋白, 其相关生物学功能研究已经积累了大量的成果, 证实了 GM130 在细胞中涉及多种生物学功能, 包括囊泡运输、糖基化修饰、微管发生、有丝分裂、细胞凋亡、自噬、细胞极性和定向迁移以及溶酶体功能维持等等。目前对 GM130 的生物学功能的研究多数是在细胞水平进行的, 得到验证的生理功能还较少。该文旨在总结以往对 GM130 生物学功能的研究, 为 GM130 功能异常相关的疾病检测和治疗提供理论依据。

**关键词:** 高尔基体基质蛋白; GM130; 高尔基体带状结构; 囊泡运输

**中图分类号:** Q51; Q71 **文献标志码:** A

## Research progress on the biological functions of Golgi matrix protein GM130

PANG Qian-Qian

(Jining Medical University, Jining 272067, China)

**Abstract:** GM130 is the first reported Golgi matrix protein with the capability of regulation of the structural maintenance of the Golgi apparatus. The researches on the biological functions of GM130 have accumulated a lot of results, confirming that GM130 is involved in a variety of biological functions, such as the vesicular transport, microtubule generation, cell mitosis, cell apoptosis and autophagy, cell polarity and directional migration, and lysosomal function maintenance, etc. At present, most studies of GM130 are carried out at the cellular level, and the evidence of verified physiological functions is limited. This article aims to summarize the previous researches on the biological functions of GM130 and analyze the involvement of GM130 in the life process to provide theoretical basis for the detection and treatment of diseases related to abnormal GM130 functions.

**Key words:** Golgi matrix protein; GM130; Golgi ribbon structure; vesicular transport;

GM130 最初是在 1993 年被作为人类自身抗原鉴定出来的<sup>[1]</sup>, 是第一个报道的能够调控高尔基体结构的基质蛋白<sup>[2]</sup>。GM130 定位于高尔基体顺式面, 是迄今为止研究最多的 golgin 蛋白之一。大量的体外和体内研究证实 GM130 在细胞中具有多种生物学功能。

### 1 GM130的基本结构

GM130 包含 6 个 coiled-coil 结构域, 分布在 GM130 分子的中间区段, 从而使得 GM130 能够具有绳索样的三维结构, 便于囊泡的捕获以及高尔基体膜囊之间的连接。GM130 的 C 端可以与高尔基体 GRASP 蛋白 GRASP65 的 PDZ 结构域结合, 从

而通过 GRASP65 锚定在高尔基体顺式面上。GM130 的 N 端带有正电荷, 可以和高尔基体另一基质蛋白 p115 结合, 用于捕获运输中的囊泡<sup>[3]</sup>。

### 2 GM130在细胞中的表达与翻译后修饰

在高等动物包括线虫和果蝇中均可以找到 GM130 的同源蛋白, 但是在酵母中没有发现其同源蛋白。在小鼠细胞中, GM130 的 mRNA 共有 11 种

收稿日期: 2021-02-03; 修回日期: 2021-02-23

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2019PH076);

济宁医学院青年教师科研扶持基金项目(JY2017FY002)

通信作者: E-mail: pangqianqian@mail.jnmc.edu.cn;

Tel: 0537-3616507

不同的剪切形式, 其中有7种能够翻译成蛋白质, 但是这7个剪切形式中有4个蛋白质的相对分子质量非常小, 只有2个GM130的蛋白质亚型具有生物学功能。在人类细胞中, GM130的mRNA的可变剪接形式达13种, 有8种剪接形式能够翻译, 只有2种较大的蛋白质亚型具有生物学功能。

有丝分裂时, GM130第25位的Ser能被细胞周期依赖激酶1(cyclin dependent kinase 1, Cdk1)磷酸化, 磷酸化修饰会抑制其N末端与p115之间的相互作用; 有丝分裂末期, PP2A将GM130去磷酸化, 这时GM130在高尔基体结构维持中的作用就会恢复<sup>[3]</sup>。另外, GM130也能够被蛋白质精氨酸甲基转移酶PRMT5进行甲基化修饰, 如果利用siRNA下调PRMT5, GM130的甲基化程度也会随之下降<sup>[4]</sup>。

### 3 GM130的结合蛋白

GM130通过与定位在高尔基体上的其他蛋白质结合参与高尔基体结构的维持, 其相互作用的蛋白主要包括GRASP65、p115、giantin和Rab GTPases。

GM130的C端能够和GRASP65的盘状同源区域(PSD-95-DLG4-ZO1, PDZ)结构域PDZ1和PDZ2相互作用<sup>[5]</sup>。这两个蛋白质之间的相互作用对GM130在高尔基体顺式面的正确定位非常重要。同时, GM130能够通过结合p115进而与高尔基体上的其他golgin, 如giantin相互作用, 进而参与高尔基体形态的维持和蛋白质货物的运输<sup>[6]</sup>。

另外, GM130在参与不同的细胞生命过程中还可以与多种蛋白质发生相互作用(表1)。

## 4 GM130的生物学功能

### 4.1 GM130在高尔基体结构维持中的功能

高尔基体普遍存在于真核细胞中, 基本结构是规律排列的多层膜囊堆(stack)。在哺乳动物细胞中, 高尔基体会形成特有的高级结构: 膜囊堆之间连接成为一个整体, 形成带状(ribbon)结构。这种特殊的结构对哺乳动物个体具有重要的意义。作为高尔基体的基质蛋白, GM130最受关注的功能就是维持高尔基体的高级结构, 也就是ribbon结构<sup>[21-22]</sup>。GM130的C端与GRASP65结合进而锚定在高尔基

表1 GM130的相互作用蛋白

名称	说明	参与生命过程	文献
GRASP65	高尔基体基质蛋白	高尔基体结构维持、囊泡运输	[7]
p115	高尔基体基质蛋白	高尔基体结构维持、囊泡运输	[8]
giantin	高尔基体基质蛋白	高尔基体结构维持、囊泡运输	[2]
Rab1	小GTPases	囊泡运输	[9]
Rab2	小GTPases	囊泡运输	[10]
Rab33b	小GTPases	GA内物质运输、糖基转移酶循环	[11]
YSK1	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	细胞定向迁移	[12]
Ste20	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	细胞定向迁移	[12]
Cdc42	GTPases	微管发生	[13]
tuba	Cdc42鸟苷酸交换因子	中心体发生	[14]
Ras GRF	Ras鸟嘌呤核苷酸释放因子	微管发生	[58]
syntaxin 5	t-SNARE	囊泡捕获	[14]
AKAP450	激酶锚定蛋白450	微管成核	[15]
MEK1/2	中心体蛋白	纺锤体形成	[49]
importin $\alpha$	importin家族运输因子	纺锤体形成	[46]
RAB2	Ras癌基因家族成员	细胞自噬	[54]
WAC	包含coiled-coil适配器的WW结构域	细胞自噬	[55]
GABARAP	$\gamma$ 氨基丁酸A型受体相关蛋白	细胞自噬	[55]
iporin	rab1结合蛋白	不确定	[16]
HERG	人类Ether-à-go-go-相关基因	囊泡分选和运输	[17]
ZFPL1	锌指蛋白	ER-GA囊泡运输	[18]
PRMT5	蛋白质精氨酸甲基化转移酶	GM130甲基化	[5]
Cdk1	磷酸化酶	GM130磷酸化	[19]
PP2A	去磷酸化酶	GM130去磷酸化	[20]

体上, N端与 p115 结合并通过 p115 与定位在囊泡膜上的 giantin 结合, 参与高尔基体顺式面 ribbon 结构的维持<sup>[23-25]</sup>。

Brefeldin A (BFA) 处理细胞可直观地演示 GM130 参与高尔基体高级结构的重建过程<sup>[26]</sup>。干扰 GM130 之后, 细胞中的高尔基体失去 ribbon 结构, 此时许多本应该定位在高尔基体上的蛋白, 如 Rab1 等都散在分布, 高尔基体整体囊泡化<sup>[21]</sup>。将 GM130 的 N 端微注射入细胞, 会破坏 GM130 与 p115 之间的结合, 打破正常的内质网 (ER) 和高尔基体之间的囊泡循环<sup>[27]</sup>。

在冬眠动物体内, 只有 GM130 含量处于特定范围的时候高尔基体才能维持特有的 ribbon 结构, GM130 蛋白含量过高和过低都会导致高尔基体 ribbon 结构解体, 形成大量不连续的、聚集的 stack 结构<sup>[28-29]</sup>。

GM130 的翻译后修饰作用对高尔基体的结构维持也十分重要。GM130 在细胞分裂期被 Cdk1 磷酸化后不能与 p115 结合, 进而阻断了高尔基体顺式面 stack 的结合作用, 使高尔基体 ribbon 结构解体进而呈现囊泡化<sup>[4,14]</sup>。有丝分裂末期, GM130 被 PP2A 去磷酸化后高尔基体就会重新装配形成 ribbon 结构<sup>[30]</sup>。PRMT5 甲基化 GM130 也会影响高尔基体结构的维持<sup>[5]</sup>。

在 GM130 敲除小鼠模型中, 小鼠各类细胞中 GM130 缺失都会造成高尔基体囊泡化, 基本形态破坏, 呈现杂乱的小的囊泡聚集, 同时也能发现高尔基体 stack, 但是这些 stack 往往又小又短<sup>[31]</sup>。

#### 4.2 GM130在物质运输中的功能

在内质网向高尔基体的囊泡的捕获和融合过程中 GM130 发挥着极其重要的作用。GM130 的 coiled-coil 结构以及与 p115 的结合可以实现囊泡捕获并参与囊泡运输。p115、GM130 和 giantin 复合体负责介导 COPII 囊泡到高尔基体的顺式面上<sup>[32]</sup>。GM130-p115 所在囊泡在小 GTPase Rab1 的帮助下, 与内质网出芽的 COPII 囊泡结合, 调节内质网到高尔基体顺式面的运输<sup>[33-35]</sup>。

Krieger 实验室发现, 39.5℃ 处理无 GM130 表达的 CHO 细胞引起高尔基体的结构破坏, 内质网到高尔基体的运输受到了明显的影响<sup>[21,36]</sup>。在半完整的细胞体系中, GM130 的缺失会导致内质网到高尔基体 COPII 囊泡运输的停滞<sup>[16,37]</sup>。如果破坏 GM130 和 p115 之间的相互作用或者是加入 GM130 的抗体, 疱疹性口腔炎病毒糖蛋白 G (VSVG) 的运输也会受

到抑制<sup>[27]</sup>。在细胞内抑制 p115 与 GM130 的结合后, 能够减缓内质网到高尔基体以及高尔基体与细胞膜之间的物质运输<sup>[38-39]</sup>。在线粒体中异位表达 GM130 会改变物质运输的方向, 将从内质网运来的小泡招募到线粒体<sup>[40]</sup>。有的研究也表明, GM130 可能只参与具有特定结构 (C-terminal valine motif) 的膜蛋白 (如 CD8 和 Frizzled4 receptor) 在细胞内的运输<sup>[41-42]</sup>。

在 GM130 敲除小鼠模型中, 通过 VSVG 运输实验发现 GM130 敲除后 MEF 细胞中内质网到高尔基体的运输被延迟, 尤其是早期分泌过程。在分离的 GM130 缺失的原代小鼠神经元中也观察到了 VSVG 运输的延迟与阻滞, 并且突触后膜的 GluR1 和 GluR2 以及 NMDA 受体的支架蛋白 PSD95 的表达量有明显下降<sup>[31]</sup>。同时, GM130 失活引起高尔基体相关的囊泡分选和包被的异常, 进而引发精子顶体畸形<sup>[43]</sup>。

#### 4.3 GM130在微管发生中的功能研究

GM130 还参与调控微管发生过程<sup>[39]</sup>, 它通过与 Cdc42 相互作用参与调控中心粒发生的微管形成, 降低 GM130 表达会导致中心体形态异常, 细胞在进入有丝分裂时会产生多极纺锤体并停滞在中期<sup>[13,44]</sup>。此外, GM130 将 AKAP450 (A kinase anchoring protein 450) 蛋白招募到高尔基体后与  $\gamma$ -Tubulin 蛋白复合体相互作用, 促进高尔基体上的微管的成核过程 (nucleation)<sup>[45]</sup>。Wei 等<sup>[46]</sup> 通过向细胞内注射 GM130 的抗体发现, GM130 参与调控微管的形成。在前列腺癌 (PCa) 细胞中, 二酰基甘油酰基转移酶 1 (DGAT1) 可以通过 GM130 调控前列腺癌细胞中的微管组织中心的数目<sup>[47]</sup>。

#### 4.4 GM130在细胞有丝分裂中的功能

纺锤体的组装需要多个细胞结构的协同作用, 以精确的时空方式成核并组织微管。研究发现, GM130 能够与 Cdc42 的鸟苷酸交换因子 Tuba 结合来控制中心体的组装过程, 阻断 Tuba 或 Cdc42 的活性可以恢复 GM130 敲除导致的非功能性中心体复制异常<sup>[13]</sup>。将 GM130 敲除后或者是向细胞内注射 GM130 抗体, 会造成细胞中心体的不正常复制以及多极纺锤体的形成, 进而导致细胞有丝分裂异常<sup>[48]</sup>。另外, 在小鼠卵母细胞中干扰 GM130 会造成纺锤体形成异常, 导致减数分裂失败<sup>[49]</sup>, 并且 GRASP65 与 GM130 的结合也会影响细胞进入有丝分裂<sup>[50]</sup>。

#### 4.5 GM130在细胞凋亡中的功能

单纯疱疹病毒 1 (HSV-1) 感染小鼠脑内皮细胞

(Bend.3) 会引起 GM130 蛋白表达降低, 进而诱导细胞凋亡。在未感染的 Bend.3 细胞中干扰 *GM130* 也会出现类似的结果。而在 HSV-1 感染的 Bend.3 细胞中过表达 GM130 能够减轻由 HSV-1 感染引起的损伤<sup>[51]</sup>。在高尔基体相关降解 (GARD) 和高尔基体应激被激活的状态下, GM130 降解增加会导致高尔基体的 ribbon 结构解体, CCAAT- 增强子结合蛋白同源蛋白 (CHOP) 上调并引起细胞死亡<sup>[52-53]</sup>。

在 *GM130* 中枢神经系统特异性敲除小鼠的小脑中, 可检测到 GFAP (神经胶质细胞的标记物) 阳性细胞明显的 Tunnel 染色阳性信号, 细胞数目明确减少。同时, *GM130* 的缺失会引起突触后膜 GluR1、GluR2 和 NMDA 受体的支架蛋白 PSD95 的表达量下降, 对 Purkinje 细胞产生毒性, 最终导致细胞凋亡<sup>[31]</sup>。

#### 4.6 GM130在细胞自噬中的功能

存在自噬诱导信号时, Ras 癌基因家族成员 RAB2 会与 GM130 分离, 与 ULK1 复合物结合, RAB2 可以调节 ULK1 激酶活性, 传递自噬信号<sup>[54]</sup>。WAC (WW domain containing adaptor with coiled-coil) 可以抑制 GM130 与 GABARAP( $\gamma$ -aminobutyric-acid-type-A-receptor-associated protein) 的结合, GABARAP 通过与 GM130 的相互作用促进 ULK1 活化, 调控自噬过程<sup>[55]</sup>。*GM130* 基因敲除小鼠肺组织切片显示 *GM130* 缺失会导致肺组织中自噬明显增加, 并伴随纤维化现象<sup>[56]</sup>。

#### 4.7 GM130在细胞极性建立和定向迁移中的功能

GM130 和信号分子激酶 YSK1 相互作用, 能够调节细胞的迁移和极性。YSK1 在哺乳动物中的同源物是 Ste20 激酶, GM130 可以将该蛋白靶向高尔基体并激活其激酶活性, 促进细胞的运动和向胶原基质侵入的信号转导过程<sup>[12]</sup>。

沉默 *GM130* 会导致 Ras GRF 特异性抑制高尔基体上的小 GTPase Cdc42 的活性, 同时活化 Ras GRF 依赖性的 Ras-ERK 途径, 诱导细胞极性消失。缺失 *GM130* 时, Cdc42 和 Ras 信号转导之间的平衡被打破, 细胞定向迁移能力下降<sup>[57-58]</sup>。通过 GM130 锚定在高尔基体上的 AKAP450 所产生的微管组织对细胞的迁移是必需的<sup>[38]</sup>。Stk25 是 Reelin-Dab1 信号的调节剂, GM130 可以协助两者调控神经元的极化<sup>[59]</sup>。丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 LKB1 可以通过改变 GM130 的表达进而调控神经细胞极性形态建立<sup>[39,60]</sup>。

Zhou 等<sup>[61]</sup>发现在果蝇神经元中, GM130 对

于维持树突中高尔基体 outposts 的极性分布有一定作用, 在神经元中干扰 *GM130* 造成高尔基体的极性分布改变, 树突异常分布和生长。*GM130* 敲除小鼠出生 14 天后中心体与高尔基体脱离, 高尔基体的极性分布发生改变<sup>[31]</sup>。

#### 4.8 GM130在蛋白质翻译后修饰过程中的功能

GM130 可能参与提供合适的糖基化环境, 下调 GM130 会干扰膜蛋白及分泌蛋白的糖基化修饰酶在高尔基体上的正常分布<sup>[62-63]</sup>。*GM130* 缺失导致的囊泡捕获缺陷可能会影响到某些蛋白质和脂类的糖基化。p115-GM130 与 COG 复合体协同作用调控糖基化机器的正确装配<sup>[64]</sup>。

在雄激素非依赖性前列腺癌细胞中, giantin 缺失会使得  $\alpha$ -甘露糖苷酶 IA 转而结合 GM130-GRASP65 复合体, GM130-GRASP65 位点的糖基化环境失调会导致下游的糖基化修饰途径被完全改变<sup>[65]</sup>。

GM130 表达降低会导致 IgA1 的糖基化修饰障碍, GM130 通过负调节  $\beta$ -1,3-半乳糖转移酶 (C1GALT1) 的表达参与 IgA 肾病患者体内 IgA1 的 O-糖基化修饰的调控过程<sup>[66]</sup>。

#### 4.9 GM130其他生物学功能

GM130 的表达降低可以缓解缺乏 a-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (NAGLU) 的 HeLa 细胞中异常的溶酶体形成, 而过表达 GM130 会导致细胞中溶酶体形成异常并伴有功能缺陷<sup>[67]</sup>。在正常细胞中, RAS 癌基因家族成员 RAB2 可与 GM130 相互作用, 如果有自噬信号, RAB2 就会与 GM130 分离, 介导溶酶体的形成<sup>[54]</sup>。

在骨骼肌 (SKM) 分化过程中, GM130 的表达降低会严重影响高尔基体极性分布和内质网出口位点 (ERES) 的重组, 从而影响骨骼肌分化过程<sup>[68]</sup>。

GM130 在神经系统和肌肉的发育过程中发挥着不可替代的重要作用。*GM130* 敲除小鼠表现出明显的运动障碍, 部分小鼠表现出瘫痪的症状, 并且这种运动障碍具有退行性<sup>[31]</sup>。在斑马鱼中, *GM130* 突变失活会产生严重的骨骼肌发育紊乱和进行性的小头畸形。具有相同 *GM130* 纯合子突变的患者表现为小头畸形、肌纤维萎缩、肌张力低伴有发育迟缓, 各类症状均表现出明显的退行性<sup>[69]</sup>。

## 5 GM130与人类疾病的关系

哺乳动物的高尔基体是一种高度动态的细胞器, 在调节细胞内稳态中起着至关重要的作用。但高尔基体的 ribbon 结构的维持主要依赖于具有卷曲

螺旋结构的基质蛋白的协同作用, 其中 GM130 是最为独特的, 主要负责从内质网运送货物到高尔基体。与内质网到高尔基体或高尔基体内部转运有关的许多疾病, 包括癌症、各类神经系统疾病、酒精性肝损伤、缺血性应激、病毒感染等都表现出严重的高尔基体结构和功能的紊乱<sup>[70-75]</sup>。

肿瘤抑制因子 PTEN 与剪接体的相互作用, 能够调节 pre-mRNA 剪接, 缺失 PTEN 会以一种磷酸酶非依赖性的方式改变 mRNA 的选择性剪接过程, 并且这些剪接的改变与癌症患者的预后显著的相关性。研究 GM130 的转录物发现了一个新的外显子 2b, 它的剪切可以通过调控高尔基体结构和分泌过程参与调控 PTEN 相关的肿瘤发生过程<sup>[76]</sup>。

上皮到间质转化 (EMT) 是上皮肿瘤侵袭和转移的关键过程。GM130 的表达与胃癌的病理分化和肿瘤转移 (TNM) 分期呈正相关。GM130 高表达也预示着胃癌患者的总体生存期较短。抑制 GM130 会增加胃癌细胞中的上皮标记 (E-cadherin) 和间充质标记 (N-cadherin、vimentin) 的表达, 并抑制细胞侵袭和肿瘤形成。此外, GM130 还能够调控关键 EMT 调节剂 Snail(SNAI1) 的表达, 介导 EMT 激活和肿瘤细胞侵袭<sup>[77]</sup>。

在大肠癌和乳腺癌等癌症患者中也会出现 GM130 表达的缺失<sup>[78]</sup>。GM130 通过调控 Cdc42 和 Ras 信号之间的平衡来改变细胞原有的极性, 并改变细胞迁移持久性进而影响乳腺癌细胞的侵袭性<sup>[58]</sup>。蛋白酶体与高尔基体膜组成性结合或者高尔基体应激被激活时会诱导 GM130 降解, 进而引起高尔基体结构分散, 体内和体外实验均证实高尔基体内稳态的改变会在多发性骨髓瘤中诱导细胞死亡<sup>[52]</sup>。在雄激素非依赖性前列腺癌细胞中, 缺失 *giantin* 会引起糖基转移酶和  $\alpha$ -甘露糖苷酶 IA 在高尔基体膜上由靶向 *giantin* 变成靶向 GM130-GRASP65, 反式高尔基酶和细胞表面糖蛋白会积累大量的甘露糖 N-聚糖<sup>[66]</sup>。作为非中心体 MTOC 蛋白的相关蛋白, GM130 的缺失导致前列腺癌细胞的增殖和迁移能力降低。在前列腺癌细胞中, DGAT1 靶向的下游分子可能具有抑制肿瘤活性。在用 DGAT1 抑制剂处理的肿瘤细胞中, 脂质滴、MTOC 和微管调节蛋白减少。体内和体外的实验显示, 抑制 DGAT1 会降低肿瘤生长, 并且在 DGAT1、PEDF 和 GM130 之间形成了负反馈回路。所以, DGAT1 能够通过调节 GM130、MTOC 的数量和破坏微管完整性来抑制前列腺癌的生长<sup>[47]</sup>。

柯萨奇病毒 B3 (CVB3) 是人类病毒性心肌炎、胰腺炎和脑膜炎的病原体。病毒蛋白 VP1 与能够 GM130 相互作用, 破坏 GM130-GRASP65 的结合, 引起 GM130 的降解, 导致高尔基体 ribbon 结构破坏, 进而引发小鼠急性胰腺炎; 并且, 干扰 GM130 能够显著抑制 CVB3 的复制<sup>[79]</sup>。单纯疱疹病毒 1 (HSV-1) 感染可破坏血脑屏障进而引起单纯疱疹性脑炎 (HSE), 产生严重的神经系统后遗症或导致死亡。实验显示, 小鼠脑内皮细胞 (Bend.3) 感染 HSV-1 后, 会引起 GM130 蛋白表达的下调并伴随高尔基体 ribbon 结构解体, 进而导致细胞凋亡, 这可能是 HSV-1 感染过程中血脑屏障被破坏的机制<sup>[51]</sup>。

IIIB 型黏多糖贮积病 (MPSIIIB) 是一种遗传缺陷导致的未消化的硫酸乙酰肝素 (HS) 片段积聚的疾病。通过四环素处理 HeLa 细胞诱导  $\alpha$ -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (NAGLU) 表达降低可以构建 MPSIIIB 缺陷细胞模型; 在缺乏 NAGLU 的细胞中发现 GM130 表达增加、高尔基体结构膨大拉长、异常溶酶体积累, 而抑制 GM130 的表达可恢复缺乏 NAGLU 的病理表型<sup>[67]</sup>。

全身敲除 GM130 的小鼠正常出生, 出生后生长迟缓、体重较轻并且生存能力下降, 这说明 GM130 在调控个体正常生理活动过程中有重要作用。GM130 失活会引起精子发生障碍, 导致精子缺少顶体、精子头部呈圆形、线粒体鞘组装异常, 进而引起雄性小鼠不育, 这与人类一种常见的由于顶体畸形或丢失引起的男性不育疾病——小精子症非常类似<sup>[41]</sup>。但是卵母细胞中特异性敲除 GM130 后, 卵子的成熟和形态并没有明显的变化, 小鼠的繁殖能力与正常小鼠类似, 表明 GM130 在卵子成熟过程中发挥作用并不是关键的<sup>[80-81]</sup>。这提示 GM130 对精子发生过程有特殊的作用, 可能与男性不育症有一定关系。神经系统中敲除 GM130 会导致小脑 Purkinje 细胞的进行性死亡, 小鼠表现出明显的运动障碍、运动平衡能力下降、站立不稳; 悬尾实验时小鼠会猛烈旋转, 随后发生勾手反射, 部分小鼠表现出类似小脑共济失调的症状, 严重者会出现瘫痪症状, 并且这些症状具有退行性的特征<sup>[31]</sup>。

2018 年, 研究人员发现一例 GM130 纯合子突变的女性患者, 4 月龄时出现明显的小头畸形、肌张力低并伴有发育迟缓, 6 月龄出现婴儿痉挛, 并且各类症状均表现出随着年龄增加逐渐加重的趋势。MRI 显示非特异性脑容量减少、髓鞘延迟和髓鞘变薄。脑电图显示心律失常。肌肉活检显示非特

异性轻度肌纤维萎缩。临床三重外显子组测序未发现可能的致病变异。分子核型分析大部分显示正常,除了一小部分母体遗传的重复与患者的疾病无关。全外显子测序结果显示 *GM130* 有 4 bp 的缺失导致蛋白质翻译提前终止。在 *GM130* 敲除的斑马鱼中引入相同突变的 *GM130* 形式会产生与该患者类似的症状,也就是严重的骨骼肌发育紊乱和进行性小头畸形<sup>[69]</sup>。

## 6 展望

多年来,大量研究证实了 *GM130* 对于哺乳动物细胞中高尔基体维持典型的 ribbon 结构是非常关键的。近几年在小鼠体内的研究也显示 *GM130* 对高尔基体 ribbon 结构的维持是必需的。*GM130* 的生物学功能涉及到生命过程的方方面面,包括细胞内部的,如蛋白质和脂类的运输、糖基化修饰、微管发生和组装、溶酶体功能维持等,以及细胞水平的,如有丝分裂、细胞凋亡、自噬、细胞极性建立和定向迁移等行为。基因敲除小鼠模型的研究也逐步在生理水平上证实了 *GM130* 能够维持高尔基体结构,调控细胞内物质运输,参与调控细胞极性建立以及细胞自噬和凋亡发生。这为靶向 *GM130* 的新型药物开发和包括糖基化缺陷、免疫疾病和癌症在内的各种疾病的治疗创造了潜力。

在很多不同疾病的患者基因中也检测到 *GM130* 的突变失活或者表达缺失,提示 *GM130* 在多种人类疾病中也发挥重要的作用。并且, *GM130* 突变导致的疾病可以通过基因手段在模式生物中进行相应的研究,对症状进行相互印证,如在小鼠神经系统中缺失 *GM130* 引起的细胞凋亡和运动能力障碍,在人类中 *GM130* 突变失活也会出现神经系统和肌肉的发育障碍。另外,很多小鼠体内的表型缺陷和人类疾病的发生机制在细胞水平的研究中也找到明显的线索,如 *GM130* 纯合突变失活导致的神经肌肉发育障碍,与 *GM130* 敲除后小鼠出现的运动障碍可能是同一种发病机制,与 *GM130* 在骨骼肌分化过程中参与的调控作用有极大的关系。这也进一步说明了 *GM130* 的生理功能在不同物种间的保守性。

但是高尔基体上除 *GM130* 外,还有很多种基质蛋白,各自有不同的定位和功能。其中, *GMAP210* 也定位于高尔基体顺式面,在功能上与 *GM130* 具有相似之处:参与高尔基体结构的维持和捕获内质网来源的囊泡以协助蛋白质的运输。研究表明,两

者可能具有不同的分工,分别负责不同类型的蛋白质运输和加工,但是两类蛋白质分类依据以及相应分选过程发生的分子机制并不清楚<sup>[41]</sup>。

另外,由于 *GM130* 生理功能的多样化,其参与调节多种生命过程,在个体水平上研究 *GM130* 的生理功能还有很大的局限性。目前基因敲除小鼠多以全身敲除或者是器官特异性敲除为主,在小鼠体内的研究结果已经显示 *GM130* 的功能具有一定的器官或者细胞类型特异性,这需要大量的特异性敲除小鼠模型进行广泛的研究,但是细胞种类特异性敲除小鼠构建较为复杂,困难较多,不能在短期内进行大量的研究,因此,对 *GM130* 在个体水平的生理功能目前还处于研究的初期阶段,并没有形成系统的研究和体系。并且,在人体中关于 *GM130* 突变或者缺失以及相关疾病的研究资料较少,目前较难对 *GM130* 缺失导致的疾病和 *GM130* 的生理功能进行相互对照并进行相关的分子机制研究。

由于 *GM130* 的生理功能在物种间具有高度保守性,在已有的细胞水平的研究基础上,对动物模型展开深入和广泛的研究,能够更加细致地研究和揭示 *GM130* 在个体水平上的生理功能,研究成果可以有效应用于相应疾病的检测和治疗以及特异性靶向治疗方案的开发。

## [参 考 文 献]

- [1] Fritzler MJ, Hamel JC, Ochs RL, et al. Molecular characterization of two human autoantigens: unique cDNAs encoding 95- and 160-kD proteins of a putative family in the Golgi complex. *J Exp Med*, 1993, 178: 49-62
- [2] Nakamura N, Rabouille C, Watson R, et al. Characterization of a cis-Golgi matrix protein, GM130. *J Cell Biol*, 1995, 131: 1715-26
- [3] Lowe M, Rabouille C, Nakamura N, Watson R, et al. Cdc2 kinase directly phosphorylates the cis-Golgi matrix protein GM130 and is required for Golgi fragmentation in mitosis. *Cell*, 1998, 94: 783-93
- [4] Zhou Z, Sun X, Zou Z, et al. PRMT5 regulates Golgi apparatus structure through methylation of the golgin GM130. *Cell Res*, 2010, 20: 1023-33
- [5] Linstedt AD, Jesch SA, Mehta A, et al. Binding relationships of membrane tethering components. The giantin N terminus and the GM130 N terminus compete for binding to the p115 C terminus. *J Biol Chem*, 2000, 275: 10196-201
- [6] Zhao JF, Li BW, Huang XC, et al. Structural basis for the interaction between Golgi reassembly-stacking protein GRASP55 and golgin45. *J Biol Chem*, 2017, 292: 2956-65

- [7] Barr FA, Nakamura N, Warren G. Mapping the interaction between GRASP65 and GM130, components of a protein complex involved in the stacking of Golgi cisternae. *EMBO J*, 1998, 17: 3258-68
- [8] Nakamura N, Lowe M, Levine TP, et al. The vesicle docking protein p115 binds GM130, a cis-Golgi matrix protein, in a mitotically regulated manner. *Cell*, 1997, 89: 445-55
- [9] Moyer BD, Allan BB, Balch WE. Rab1 interaction with a GM130 effector complex regulates COPII vesicle cis-Golgi tethering. *Traffic*, 2001, 2: 268-76
- [10] Short B, Preisinger C, Korner R, et al. A GRASP55-rab2 effector complex linking Golgi structure to membrane traffic. *J Cell Biol*, 2001, 155: 877-83
- [11] Valsdottir R, Hashimoto H, Ashman K, et al. Identification of Rabaptin-5, Rabex-5, and GM130 as putative effectors of Rab33b, a regulator of retrograde traffic between the Golgi apparatus and ER. *FEBS Lett*, 2001, 508: 201-9
- [12] Preisinger C, Short B, De Corte V, et al. YSK1 is activated by the Golgi matrix protein GM130 and plays a role in cell migration through its substrate 14-3-3 $\zeta$ . *J Cell Biol*, 2004, 164: 1009-20
- [13] Kodani A, Kristensen I, Huang L, et al. GM130-dependent control of Cdc42 activity at the Golgi regulates centrosome organization. *Mol Biol Cell*, 2009, 20: 1192-200
- [14] Diao A, Frost L, Morohashi Y, et al. Coordination of golgin tethering and SNARE assembly: GM130 binds syntaxin 5 in a p115-regulated manner. *J Biol Chem*, 2008, 283: 6957-67
- [15] Rivero S, Cardenas J, Bornens M, et al. Microtubule nucleation at the cis-side of the Golgi apparatus requires AKAP450 and GM130. *EMBO J*, 2009, 28: 1016-28
- [16] Bayer M, Fischer J, Kremerskothen J, et al. Identification and characterization of iporin as a novel interaction partner for rab1. *BMC Cell Biol*, 2005, 6: 15
- [17] Roti ECR, Myers CD, Ayers RA, et al. Interaction with GM130 during HERG ion channel trafficking. *J Biol Chem*, 2002, 277: 47779-85
- [18] Chiu CF, Ghanekar Y, Frost L, et al. ZFPL1, a novel ring finger protein required for cis-Golgi integrity and efficient ER-to-Golgi transport. *EMBO J*, 2008, 27: 934-47
- [19] Sundaramoorthy S, Goh JB, Rafee S, et al. Mitotic Golgi vesiculation involves mechanisms independent of Ser25 phosphorylation of GM130. *Cell Cycle*, 2010, 9: 3100-5
- [20] Lowe M, Gonatas NK, Warren G. Mitotic Golgi vesiculation involves mechanisms independent of Ser25 phosphorylation of GM130. *J Cell Biol*, 2000, 149: 341-56
- [21] Marra P, Salvatore L, Mironov A Jr, et al. The biogenesis of the Golgi ribbon: the roles of membrane input from the ER and of GM130. *Mol Biol Cell*, 2007, 18: 1595-608
- [22] Mitchell SB, Iwabuchi S, Kawano H, et al. Structure of the Golgi apparatus is not influenced by a GAG deletion mutation in the dystonia-associated gene *Tor1a*. *PLoS One*, 2018, 13: e0206123
- [23] Alvarez C, Garcia-Mata R, Hauri HP, et al. The p115-interactive proteins GM130 and giantin participate in Endoplasmic Reticulum-Golgi traffic. *J Biol Chem*, 2001, 276: 2693-700
- [24] Zhang Y, Seemann J. Rapid degradation of GRASP55 and GRASP65 reveals their immediate impact on the Golgi structure. *J Cell Biol*, 2021, 220: e202007052
- [25] Katayama K, Kuriki M, Kamiya T, et al. Giantin is required for coordinated production of aggrecan, link protein and type XI collagen during chondrogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 499: 459-65
- [26] Seeman J, Jokitalo E, Pypaert M. Matrix proteins can generate the higher order architecture of the Golgi apparatus. *Nature*, 2000, 407: 1022-6
- [27] Seemann J, Jokitalo EJ, Warren G. The role of the tethering proteins p115 and GM130 in transport through the Golgi apparatus *in vivo*. *Mol Biol Cell*, 2000, 11: 635-45
- [28] Anton-Fernandez A, Leon-Espinosa G, DeFelipe J, et al. Changes in the Golgi apparatus of neocortical and hippocampal neurons in the hibernating hamster. *Front Neuroanat*, 2015, 9: 157
- [29] León-Espinosa G, DeFelipe J, Muñoz A. The Golgi apparatus of neocortical glial cells during hibernation in the syrian hamster. *Front Neuroanat*, 2019, 13: 92
- [30] Lowe M, Gonatas NK, Warren G. The mitotic phosphorylation cycle of the cis-Golgi matrix protein GM130. *J Cell Biol*, 2000, 149: 341-56
- [31] Liu C, Mei M, Li Q, et al. Loss of the golgin GM130 causes Golgi disruption, purkinje neuron loss, and ataxia in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 346-51
- [32] Alvarez C, Fujita H, Hubbard A, et al. ER to Golgi transport: requirement for p115 at a pre-Golgi VTC stage. *J Cell Biol*, 1999, 147: 1225-61
- [33] Sinka R, Gillingham AK, Kondylis V, et al. Golgi coiled-coil proteins contain multiple binding sites for rab family G proteins. *J Cell Biol*, 2008, 183: 607-15
- [34] Baba R, Hiramatsu R, Suradej B, et al. Asiatic acid, corosolic acid, and maslinic acid interfere with intracellular trafficking and N-linked glycosylation of intercellular adhesion molecule-1. *Biol Pharm Bull*, 2018, 41: 1757-68
- [35] Kostenko S, Heu CC, Yaron JR, et al. c-Src regulates cargo transit via the Golgi in pancreatic acinar cells. *Sci Rep*, 2018, 8: 11903
- [36] Vasile E, Perez T, Nakamura N, et al. Structural integrity of the Golgi is temperature sensitive in conditional-lethal mutants with no detectable GM130-traffic. *Traffic*, 2003, 4: 254-72
- [37] Allan BB, Moyer BD, Balch WE. Rab1 recruitment of p115 into a cis-SNARE complex: programming budding COPII vesicles for fusion. *Science*, 2000, 289: 444-8
- [38] Seeman J, Jokitalo E, Pypaert M, et al. Matrix proteins can generate the higher order architecture of the Golgi apparatus. *Nature*, 2000, 407: 1022-6
- [39] Mencarelli C, Nitarska J, Kroecker T, et al. RanBP1 couples nuclear export and Golgi regulation through LKB1 to promote cortical neuron polarity. *Cell Rep*, 2018, 24: 2529-39

- [40] Wong M, Munro S. Membrane trafficking. The specificity of vesicle traffic to the Golgi is encoded in the Golgin coiled-coil proteins. *Science*, 2014, 346: 1256898
- [41] D'Angelo G, Prencipe L, Iodice L, et al. GRASP65 and GRASP55 sequentially promote the transport of C-terminal valine-bearing cargos to and through the Golgi complex. *J Biol Chem*, 2009, 284: 34849-60
- [42] Camus SM, Camus MD, Figueras-Novoa C, et al. CHC22 clathrin mediates traffic from early secretory compartments for human GLUT4 pathway biogenesis. *J Cell Biol*, 2020, 2019: e201812135
- [43] Han F, Liu C, Zhang L, et al. Globozoospermia and lack of acrosome formation in GM130-deficient mice. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2532
- [44] Kodani A, Sütterlin C, Malhotra V, The Golgi protein GM130 regulates centrosome morphology and function. *Mol Biol Cell*, 2008, 19: 745-53
- [45] Miller PM, Folkmann AW, Maia ARR, et al. Golgi-derived CLASP-dependent microtubules control Golgi organization and polarized trafficking in motile cells. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 1069-80
- [46] Wei JH, Zhang ZC, Wynn RM, et al. GM130 regulates Golgi-derived spindle assembly by activating TPX2 and capturing microtubules. *Cell*, 2015, 162: 287-99
- [47] Nardi F, Franco OE, Fitchev P, et al. DGAT1 inhibitor suppresses prostate tumor growth and migration by regulating intracellular lipids and non-centrosomal MTOC protein GM130. *Sci Rep*, 2019, 9: 3035
- [48] Chang CC, Chen CJ, Grauffel C, et al. Ran pathway-independent regulation of mitotic Golgi disassembly by importin- $\alpha$ . *Nat Commun*, 2019, 10: 4307
- [49] Zhang CH, Wang ZB, Quan S, et al. GM130, a cis-Golgi protein, regulates meiotic spindle assembly and asymmetric division in mouse oocyte. *Cell Cycle*, 2011, 10: 1861-70
- [50] Sutterlin C, Hsu P, Mallabiabarrena A, et al. Fragmentation and dispersal of the pericentriolar Golgi complex is required for entry into mitosis in mammalian cells. *Cell*, 2002, 109: 359-69
- [51] He Q, Liu H, Huang C, et al. Herpes Simplex virus 1-induced blood-brain barrier damage involves apoptosis associated with GM130-mediated Golgi stress. *Front Mol Neurosci*, 2020, 13: 2
- [52] Eisenberg-Lerner A, Benyair R, Hizkiahou N, et al. Golgi organization is regulated by proteasomal degradation. *Nat Commun*, 2020, 11: 409
- [53] Li X, Yu J, Gong L, et al. Heme oxygenase-1 (HO-1) regulates Golgi stress and attenuates endotoxin-induced acute lung injury through hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )/HO-1 signaling pathway. *Free Radic Biol Med*, 2021, 165: 243-53
- [54] Ding X, Jiang X, Tian R, et al. RAB2 regulates the formation of autophagosome and autolysosome in mammalian cells. *Autophagy*, 2019, 15: 1774-86
- [55] Joachim J, Jefferies HBJ, Razi M, et al. Activation of ULK kinase and autophagy by GABARAP trafficking from the centrosome is regulated by WAC and GM130. *Mol Cell*, 2015, 60: 899-913
- [56] Park S, Kim S, Kim MJ, et al. GOLGA2 loss causes fibrosis with autophagy in the mouse lung and liver. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495: 594-600
- [57] Baschieri F, Confalonieri S, Bertalot G, et al. Spatial control of Cdc42 signalling by a GM130-RasGRF complex regulates polarity and tumorigenesis. *Nat Commun*, 2014, 5: 4839
- [58] Baschieri F, Uetz-von Allmen E, Legler DF, et al. Loss of GM130 in breast cancer cells and its effects on cell migration, invasion and polarity. *Cell Cycle*, 2015, 14: 1139-47
- [59] Matsuki T, Matthews RT, Cooper JA, et al. Reelin and Stk25 have opposing roles in neuronal polarization and dendritic Golgi deployment. *Cell*, 2010, 143: 826-36
- [60] Huang W, She L, Chang XY, et al. Protein kinase LKB1 regulates polarized dendrite formation of adult hippocampal newborn neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 469-74
- [61] Zhou W, Chang J, Wang X, et al. GM130 is required for compartmental organization of dendritic Golgi outposts. *Curr Biol*, 2014, 24: 1227-33
- [62] Nanbo A, Noda T, Ohba Y. Epstein-barr virus acquires its final envelope on intracellular compartments with Golgi markers. *Front Microbiol*, 2018, 9: 454
- [63] Puthenveedu MA, Bachert C, Puri S, et al. GM130 and GRASP65-dependent lateral cisternal fusion allows uniform Golgi-enzyme distribution. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 238-48
- [64] Zolov SN, Lupashin VV. Cog3p depletion blocks vesicle-mediated Golgi retrograde trafficking in HeLa cells. *J Cell Biol*, 2005, 168: 747-59
- [65] Bhat G, Hothpet VR, Lin MF, et al. Shifted Golgi targeting of glycosyltransferases and  $\alpha$ -mannosidase IA from giantin to GM130-GRASP65 results in formation of high mannose N-glycans in aggressive prostate cancer cells. *Biochim Biophys Acta Gen Subjects*, 2017, 1861: 2891-901
- [66] Wang C, Ye M, Zhao Q, et al. Loss of the Golgi matrix protein 130 causes aberrant IgA1 glycosylation in IgA nephropathy. *Am J Nephrol*, 2019, 49: 307-16
- [67] Roy E, Bruyere J, Flamant P, et al. GM130 gain-of-function induces cell pathology in a model of lysosomal storage disease. *Hum Mol Genet*, 2012, 21: 1481-95
- [68] Giacomello E, Ronchi P, Pepperkok R. GM130 and p115 play a key role in the organisation of the early secretory pathway during skeletal muscle differentiation. *J Cell Sci*, 2019, 132: jcs222083
- [69] Shamseldin HE, Bennett AH, Alfadhel MS, et al. GOLGA2, encoding a master regulator of Golgi apparatus, is mutated in a patient with a neuromuscular disorder. *Hum Genet*, 2016, 135: 245-51
- [70] Petrosyan A. Unlocking Golgi: why does morphology matter? *Biochemistry (Moscow)*, 2019, 84: 1490-501
- [71] Cardoso R, Wang J, Müller J, et al. Modulation of cis- and trans-Golgi and the Rab9A-GTPase during infection by *besnoitia besnoiti*, *toxoplasma gondii* and *neospora caninum*. *Exp Parasitol*, 2018, 187: 75-85

- [72] Jungk L, Franke H, Salameh A, et al. Golgi fragmentation in human patients with chronic atrial fibrillation: a new aspect of remodeling. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 67: 98-106
- [73] Iwamoto M, Okazaki A, Murata S, et al. Peritoneal dialysis fluid-induced fragmentation of Golgi apparatus as a biocompatibility marker. *Artif Organs*, 2018, 42: E90-101
- [74] Peng XM, Gao S, Deng HT, et al. Perturbation of epithelial apicobasal polarity by rhomboid family-1 gene overexpression. *FASEB J*, 2018, 32: 5577-86
- [75] Gitai DLG, dos Santos YDR, Upadhy R, et al. Extracellular vesicles in the forebrain display reduced mir-346 and mir-331-3p in a rat model of chronic temporal lobe epilepsy. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1116
- [76] Shen SM, Ji Y, Zhang C, et al. Nuclear PTEN safeguards pre-mRNA splicing to link Golgi apparatus for its tumor suppressive role. *Nat Commun*, 2018, 9: 2392
- [77] Zhao J, Yang C, Guo S, et al. GM130 regulates epithelial-to-mesenchymal transition and invasion of gastric cancer cells via snail. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 10784-91
- [78] Kalimuthu S, Gangadaran P, Rajendran RL, et al. A new approach for loading anticancer drugs into mesenchymal stem cell-derived exosome mimetics for cancer therapy. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1116
- [79] Li X, Xia Y, Huang S, et al. Identification of the interaction of VP1 with GM130 which may implicate in the pathogenesis of CVB3-induced acute pancreatitis. *Sci Rep*, 2015, 5: 13324
- [80] Jiang Y, Liu Y, Han F, et al. Loss of GM130 does not impair oocyte meiosis and embryo development in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 532: 336-40
- [81] Zou YJ, Shan MM, Pan ZN, Loss of Arf guanine nucleotide exchange factor GBF1 activity disturbs organelle dynamics in mouse oocytes. *PLoS One*, 2018, 13: e0206123