

转化因子- β 受体 III

白翠红 王 维 李雨婷

(中国医科大学附属盛京医院 辽宁 沈阳 110004)

摘要 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)受体 III,又称为 β 蛋白聚糖(betaglycan),是一种膜锚定蛋白。TGF- β 受体 III 是表达最为丰富的 TGF- β 受体,曾被认为是 TGF- β 超家族(包括 TGF- β 、激活素和抑制素等)的辅助受体。后来研究表明,它在介导和调节 TGF- β 的信号转导中具有非常重要的、不可替代的作用。它通过与 TGF- β 形成复合体来介导对靶细胞的作用。在没有 TGF配体的情况下,TGF- β 受体 III 可以激活 p38 信号,表明这一受体可能与不依赖 TGF- β 的信号通路相互作用。TGF β 受体 III 还可以结合并调节抑制素的信号转导。TGF β 受体 III 与抑制素 A 结合,形成一个稳定的高亲和复合物。体外研究表明,TGF β 受体 III 还结合抑制素 B 和强化抑制素与 II 型激活素受体的关系。有关报道显示 TGF β 受体 III 在卵巢癌中具有肿瘤抑制的作用。研究表明,在上皮源性卵巢癌中,TGF β 受体 III mRNA 和蛋白质表达降低或丢失,丢失的程度与肿瘤分级相关。有很多因素可以影响并调节该受体的表达,如雌激素、卵泡刺激素(FSH)、TGF- β 1 等,深入开展相关机制的研究,对于癌症的治疗和预防将会起到一定的推动作用。

关键词 :TGF- β 受体 III ;卵巢癌 β 蛋白聚糖

中图分类号 :R730.231, R737.31 文献标识码 :A 文章编号 :1673-6273(2012)02-385-04

Transforming Growth Factor- β Receptor III

BAI Cui-hong, WANG Wei, LI Yu-ting

(Shengjing hospital of China Medical University, Liaoning Shenyang 110004)

ABSTRACT: Transforming growth factor- β (TGF- β) receptor III, also known as betaglycan, is a membrane anchored protein. TGF- β receptor III is the most abundant expression of TGF- β receptor, and was considered to be the coreceptor of TGF- β superfamily (including TGF- β , activin and inhibin, etc.). Later researches show that it has a very important and irreplaceable role in mediating and regulating TGF- β signal transduction. It mediates effects on target cells through forming a complex with TGF- β . TGF- β receptor III can activate the p38 signal in the absence of TGF, which indicates this receptor may not rely on TGF- β signaling pathway interactions. TGF β receptor III can bind to inhibin and regulate inhibin signal transduction. TGF β receptor III combines with inhibin A, which forming a stable high affinity complex. In vitro studies have shown TGF- β receptor III can also combine with inhibin B and strengthen the relationship of inhibin and activin type II receptors. Reports show TGF- β receptor III plays a tumor suppressor role in ovarian cancer. Studies show that TGF- β receptor III mRNA and protein expression decreased or lost in epithelial ovarian cancer, and the degree of loss is associated with tumor grade. There are many factors that can influent and regulate the expression of the receptor, such as estrogen, follicle stimulating hormone (FSH), TGF- β 1, etc. In-depth studying about the related mechanism will play a certain role for the treatment and prevention of cancer.

Key words: Transforming growth factor- β receptor III; Ovarian cancer; Betaglycan

Chinese Library Classification(CLC): R730.231, R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)02-385-04

转化生长因子- β (TGF- β)超家族由 30 多种多肽生长因子组成,它们调节着很多重要的过程,包括:细胞增殖、分化、黏附、血管形成和胚胎发育^[1]。已发现三种 TGF- β 有三种亚型,分别为 TGF- β 1、TGF- β 2 和 TGF- β 3^[2]。它们通过与跨膜的受体(TGF- β 受体 I、TGF- β 受体 II 和 TGF- β 受体 III)形成复合体来介导对靶细胞的作用^[1,2]。其中,TGF- β 受体 III,又称为 β 蛋白聚糖,是表达最为丰富的 TGF- β 受体,在各种组织中都有表达^[1,3]。

TGF- β 受体 III 曾被认为是一种 TGF- β 超家族的辅助受体。后来研究表明,它在介导和调节 TGF- β 的信号转导中具有

非常重要的、不可替代的作用^[1]。TGF- β 受体 III 对 TGF- β 不同亚型具有很高的亲和力,并增加了 TGF- β 与其 I 型、II 型受体之间的相互作用^[4],最终导致经典的 Smad 依赖的 TGF- β 的信号转导的增强^[1]。

最近研究表明,TGF- β 受体 III 为抑制素(分为抑制素 A 和抑制素 B)的重要辅助受体。该受体与抑制素有高度的亲和力,通过 TGF- β 受体 III 的 B 亚基与抑制素结合,形成的抑制素-TGF- β 受体 III 复合物能够与激活素(activin)平等的竞争 II 型激活素受体,增强了抑制素与 II 型激活素受体的结合,使它们形成稳定的复合物,具有更强的激活素阻断作用^[3,5,6]。

1 TGF- β 受体 III 的结构和性质

TGF 通过 3 个高亲和力的膜受体即 TGF- I 型, II 型和 III

作者简介:白翠红(1988-)女,本科,实习医师,电话:13889246856

E-mail: myearth126@126.com

(收稿日期:2011-05-12 接受日期:2011-06-08)

型受体调控细胞生物学功能。TGF- β 受体 III 又称为 β 蛋白聚糖,是一种膜锚定蛋白。它由 853 个氨基酸残基组成,可分为 3 个部分:一个长的胞外域,一个单跨膜域和短的胞内域。胞外域有一些葡萄糖胺聚糖链(包括乙酰肝素和硫酸软骨素)的蛋白结合位点,还有肝素、硫酸糖胺聚糖链和 N-糖基化的结合位点,也可以和 TGF- β 超家族配体结合。胞外域可分为两部分,分别为 C 端的内皮糖蛋白(endoglin)相关域和 N 端的尿调制蛋白(uromodulin)相关域。跨膜域和胞内域与细胞内的识别有关。尽管胞内域可用与 β -抑制蛋白(arrestin)和 PDZ 域蛋白 GIPC 结合,但是胞内域缺失对此受体的功能没有明显的影响^[7-10]。TGF- β 受体 III 可分为膜型和可溶型。膜型为存在细胞膜上,可溶型存在于血清、细胞外基质中。TGF- β 受体 III 的胞外域裂解便可转变为可溶型受体。可溶型受体具有与膜型受体相反的作用,在体外抑制 TGF- β 结合到膜受体。因此,TGF- β 受体 III 可能双重调节 TGF- β 的作用:作为膜蛋白增强 TGF- β 的活性,但作为可溶型蛋白则起着抑制剂的作用^[9]。

TGF- β 受体 III 与 TGF- β 具有高度的亲和力,通过核心蛋白与 TGF- β 结合^[7,9]。TGF- β 受体 III 至少含有 2 个 TGF- β 结合位点。胞外域的两个部分能够独立地与 TGF- β 结合并呈递给 TGF- β 受体 II,因为删除它两个中的任意一部分,对 TGF- β 受体 III 所介导的 TGF- β 2 诱导的 Smad2 的磷酸化没有影响。而抑制素只能结合近膜侧即尿调制蛋白相关域,是抑制素的唯一结合位点,由受体蛋白的 591-700 位氨基酸组成。对 TGF- β 和抑制素在近膜处的研究表明,它们的结合部位有重叠,将受体的 Val614 突变为 Tyr 两者都不能结合此受体也证明这一点^[8,11]。

胞外域的两部分对 TGF- β 2 的亲和力大于对 TGF- β 1 的亲和力。在近膜侧部分,TGF- β 受体 III 的亲和力为:TGF- β 2>抑制素 A>TGF- β 1^[11,12]。

2 TGF- β 受体 III 的生物学作用

2.1 在信号转导通路中的作用

2.1.1 TGF- β 的经典途径 TGF- β 启动细胞信号转导先通过结合 III 型受体,然后再呈递给 II 型受体,或者直接结合 II 型受体^[10,11]。TGF- β 受体 III 对 TGF- β 2 尤为重要,因为 TGF- β 2 不能与 II 型受体直接结合^[13]。TGF- β 受体 III 有利于 TGF- β 2 和 TGF- β 受体 II 的结合,使 TGF- β 2、TGF- β 受体 II 和 TGF- β 受体 III 形成三元复合物。复合物一旦形成,TGF- β 受体 I(ALK5)取代 β 聚糖而与 TGF- β 受体 II 结合。然后 TGF- β 受体 II 将 TGF- β 受体 I 磷酸化^[8],激活的 I 型受体将 Smad2 和 Smad3 蛋白磷酸化,与 Smad4 结合。随后由此产生的 Smad 蛋白复合体转入细胞核,以细胞特异性的方式与许多转录因子相互作用,调节 TGF- β 靶基因的表达^[10,11]。

目前的研究结果表明 III 型受体与 II 型受体的相互作用是通过各自的胞外域发生的,因为去除 III 型受体的胞内域不会改变这些受体相互作用的能力。去除胞内域的 III 型受体能够结合 TGF- β 和 II 型受体,增强 TGF- β 与 II 型受体的结合,但不能增强 TGF- β 2 信号转导。其中 III 型受体选择性增强自身磷酸化的 II 型受体和 I 型受体的激活信号复合体的形成。III 型受体通过其胞内域选择性结合自身磷酸化的 II 型受体,调解自身磷酸化的 II 型受体与 I 型受体的特异性的相互作用,

然后从激活的信号转导复合体中解离。该过程可能涉及 II 型受体介导的 III 型受体的磷酸化^[10]。

由此可见,TGF- β 受体 III 能够增强 TGF- β 介导的生长抑制作用,增强 Smad 依赖的信号转导通路^[14]。

2.1.2 TGF- β 的非经典途径 最近有报道说,在没有 TGF 配体的情况下,TGF- β 受体 III 可以激活 p38 信号,表明这一受体可能与不依赖 TGF- β 的信号通路相互作用^[14,15]。

TGF- β 受体 III 增强 p38 激酶的磷酸化。p38 激酶抑制剂 SB203580 在 L6 成肌细胞和上皮细胞中能够显著地阻止 TGF- β RIII/TGF- β 1 介导的抑制细胞增殖的作用。这些数据表明,TGF- β RIII 有助于通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径加强 TGF- β 介导的生长抑制^[13]。

2.1.3 对抑制素的作用 TGF β 受体 III 可结合并调节抑制素的信号转导^[16]。最近的研究表明,抑制素的作用依赖于 TGF β 受体 III^[14,16]。TGF β 受体 III 与抑制素 A 结合,形成一个稳定的高亲和复合物。体外研究表明,TGF β 受体 III 还结合抑制素 B 和强化抑制素与 II 型激活素受体的关系。抑制素 A 对激活素及相关配体的拮抗是由 TGF- β 受体 III 所介导的。与 TGF- β 受体 III 结合后,抑制素 A 和 II 型激活素结合形成稳定的高亲和力的复合物,使 II 型激活素受体无法与激活素结合。查普曼等人表明,TGF β 受体 III 虽可以结合抑制素 B,但是对 II 型激活素受体的亲和力没有明显的增加^[16]。

在一些不表达内源性 TGF- β 受体 III 的细胞中,不能产生激活素的拮抗作用。通过瞬时转染使 TGF β 受体 III 在这些细胞中表达,抑制素 A 产生了对激活素的拮抗作用。这证明 TGF- β 受体 III 对抑制素的重要作用^[17]。

抑制素-TGF β 受体 III-II 型受体复合物是非常稳定的。由于抑制素不与 I 型受体相互作用,因此复合物不会导致 Smad 磷酸化,也不会产生下游信号。这个复合物将会使 II 型受体隐蔽起来,从而阻止 II 型受体与激活素的相互作用。对于抑制素和激活素来说,TGF β 受体 III 能够通过 Smad 2/3 途径来抑制激活素的信号转导^[8]。

2.2 对卵巢癌的作用

卵巢癌是所有妇科癌症中最致命的,在美国妇女癌症中死亡率为第五。如果没有有效的筛检或早期症状,多数卵巢癌患者被诊断时就有转移。虽然通过有效方法可将没发生转移的病人生存率提高为 69%,但是由于这种疾病侵袭的性质和缺乏有效的治疗,发生转移的癌症病人的 5 年生存率只有 30%。由于缺乏可识别、检测的前期病变,研究卵巢癌的发生和早期分子事件受到限制,所以需要进一步了解、认识卵巢癌的病情发展是非常重要的^[14]。

TGF- β 受体 III 在调节 TGF- β 、抑制素和激活素的信号转导过程中是一种辅助受体^[14]。TGF β 受体 III 的表达是丰富的、广泛的,且在不同组织的表达是不同的,在颗粒细胞瘤(Granulosa cell tumors,GCT)和正常卵巢中的表达是最丰富的^[18]。有报道说,在晚期乳腺癌中有 TGF- β 受体 III 的丢失,提示这个受体可作为肿瘤抑制剂。此外,该受体的丢失与肾细胞癌也有关。有关数据还表明,TGF β 受体 III 存在于绝大多数的卵巢性索间质瘤,这些报道显示 TGF β 受体 III 在卵巢癌中具有肿瘤抑制的作用^[15,19]。研究表明,在上皮源性卵巢癌中,TGF β 受体 III

mRNA 和蛋白质表达降低或丢失,丢失的程度与肿瘤分级相关。从正常卵巢到卵巢癌再到卵巢癌转移,TGF β 受体 III 的表达逐步降低^[14]。

TGF- β 超家族成员主要包括 TGF- β 、激活素和抑制素等,在调节卵巢正常功能过程中都有的作用。TGF- β 受体 II-I/TGF- β 1 在人角质形成细胞、乳腺上皮细胞和卵巢表面上皮细胞中介导增殖和生长抑制^[13]。抑制素抑制卵巢癌细胞通过基底膜转移的研究表明,抑制素可以作为抗转移或抗侵袭因子。基质金属蛋白酶在增加癌细胞转移性和侵袭性的潜能方面有非常重要的作用。最近的研究表明,抑制素负性调节基质金属蛋白酶水平^[14]。

TGF 受体 III 调节细胞对抑制素和 TGF- β 的敏感性。以往的研究表明,TGF- β 受体 III 在一些人上皮癌是肿瘤抑制因子。研究表明,在卵巢 GCTs 中,TGF- β 受体 III 的 mRNA 水平比正常卵巢低两倍($P<0.05$)。两个 GCT 细胞系,KGN 和 COV434,同样表现出低 TGF- β 受体 III 表达和对 TGFs 和抑制素 A 的低应答。TGF- β 受体 III 显著地增加了 COV434 ($P<0.05$) 和 KGN ($P<0.0001$) 细胞的黏附力,减少了细胞通过基底膜的侵袭并抑制伤口的愈合^[20]。对抑制素的内源性反应很弱的卵巢 KK-1 细胞系,经携带 TGF- β 受体 III 的质粒转染后,成为对阻止激活素信号转导的高度敏感性的细胞^[4]。

TGF- β 受体 III 增强了抑制素的抗转移作用和 TGF- β 的生长抑制作用,减少卵巢癌细胞的增殖、运动和侵袭。此外,TGF- β 受体 III 特异性地增强了抑制素抑制基质金属蛋白酶水平的功能^[14]。

3 TGF- β 受体 III 的调节

3.1 GIPC 增加 TGF- β 受体 III 在细胞中的表达

C 端相互作用蛋白 (GAIP-interacting protein, C terminus, GIPC) 是一个含 PDZ 结构域蛋白。GIPC 结合在 III 型受体胞内域的 I 型 PDZ 结合位点,从而调节 III 型受体在细胞表面的表达。GIPC 介导 III 型受体表达的增加,增强了细胞对 TGF- β 的应答。在 Mv1Lu 细胞,III 型受体和 GIPC 的结合导致 III 型受体在细胞表面的加强表达。在通常不表达 III 型受体的 L6 成肌细胞中,GIPC 降低了瞬时表达的 III 型受体的表达,但增加了稳定表达的 III 型受体的表达。缺乏 I 类序列结合位点的 III 型受体,将阻止 III 型受体与 GIPC 的结合,消除了 GIPC 对细胞 III 型受体表达的影响^[11]。

3.2 卵泡刺激素和雌激素调控 TGF- β 受体 III mRNA 的表达

雌激素和卵泡刺激素(FSH)共同存在的情况下,通过增加 mRNA 的稳定性来诱导启动子活性和 TGF- β 受体 III mRNA 的表达水平(使启动子活性增加了 1.5 倍,增加了 TGF- β 受体 III mRNA 的稳定)。如果没有雌激素,TGF- β 受体 III 的表达在起始时间为最大值,随后就连续下降。如果只有雌激素也是同样的结果。与正常情况相比,FSH 和雌激素的联合应用,可使 TGF β 受体 III 的表达增加到正常细胞的到 2 倍多。这一结果表明,FSH 和雌激素协同上调大鼠颗粒细胞中 TGF- β 受体 III mRNA 水平^[21]。

3.3 TGF- β 负性调节 TGF- β 受体 III 的表达

在人类癌症中,TGF- β 1 的水平往往比较高。在卵巢癌

(Ovca420)和乳腺癌(MDA-MB - 231)细胞系中,TGF- β 1 降低 TGF- β 受体 III 信号和蛋白水平具有剂量和时间依赖性。TGF- β 1 通过 I 型 TGF- β 受体 /Smad2/3 通路介导的 TGF- β 受体 III 的抑制作用。SB431542 作为激活素受体样激酶 5(ALK5)的抑制剂,可以消除这种作用。而活化的 ALK5 的表达能够抑制 TGF- β 受体 III 表达。TGF- β 1 并不能影响 TGF- β 受体 III mRNA 的稳定性,而是直接调节 TGF- β 受体 III 基因的启动子。已确定可选择的 TGF β 受体 III 基因启动子有 2 个,一个为近端启动子,另一个为远端启动子。虽然 2 个启动子都具有活性,只有近端启动子对 TGF- β 1 有应答,并受 TGF- β 1 和活化的 ALK5 的负性调节。总的来说,在人类癌细胞中,TGF- β 1 作用于 TGF- β 受体 III 基因的近端启动子,影响 ALK5/Smad2/3 途径,下调 TGF- β 受体 III mRNA 的表达,从而导致 TGF- β 受体 III 表达的降低^[22]。

此外,还有报道说,PGE2 可上调人类颗粒黄体细胞中 TGF- β 受体 III 的基因表达^[19]。

4 结语

TGF- β 受体 III 在 TGF- β 和抑制素的信号转导途径中具有很重要的作用。在癌症的发生和发展中也起着相当重要的作用,调节着癌细胞的增殖、运动和侵袭。与此同时,有很多因素可以影响并调节该受体的表达,深入开展相关机制的研究,对于癌症的治疗和预防将会起到一定的推动作用。

参考文献(References)

- [1] Elizabeth C. Finger, Ryan S. Turley, Mei Dong, et al. T β RIII suppresses non-small cell lung cancer invasiveness and tumorigenicity[J]. Carcinogenesis,2008, 29(3):528-535
- [2] Andreas Evangelou, Sangita K. Jindal, Theodore J. Brown, et al. Down-Regulation of Transforming Growth Factor β Receptors by Androgen in Ovarian Cancer Cells [J].Cancer Research, 2000, 60(4), 929-935
- [3] H. Dixit, K.L. Rao, V.V. Padmalatha, et al. Mutational analysis of the betaglycan gene-coding region in susceptibility for ovarian failure. Human Reproduction[J]. Hum Reprod, 2006,21(8): 2041-2046
- [4] Kathy A. Lewis, Peter C. Gray, Amy L. Blount, et al. Betaglycan binds inhibin and can mediate functional antagonism of activin signalling. Nature[J]. Nature,2000,404(6776): 411-414
- [5] T M Lovell, P G Knight and R T Gladwell. Variation in pituitary expression of mRNAs encoding the putative inhibin co-receptor (betaglycan) and type-I and type-II activin receptors during the chicken ovulatory cycle[J].Journal of Endocrinology,2005,186(3): 447-455
- [6] Sheila A. Sweeney, and Patricia A. Johnson.Messenger RNA and Protein Expression Analysis of Betaglycan in the Pituitary and Ovary of the Domestic Hen[J].Biology of Reproduction, 2005,72(1): 172-178
- [7] Fernando Ló pez-Casillas, Sela Cheifetz, Jacqueline Doody, et al. Structure and expression of the membrane proteoglycan betaglycan, a component of the TGF- β receptor system [J]. Cell, 1991,67 (4), 785-795
- [8] Ezra Wiater, Craig A. Harrison, Kathy A. Lewis, et al. Identification of Distinct Inhibin and Transforming Growth Factor β -binding Sites on Betaglycan[J].J Biol Chem, 2006,281(25): 17011-17022
- [9] Gabriela Velasco-Loyden, Joaquín Arribas, and Fernando

- LÓ pez-Casillas, et al. The Shedding of Betaglycan Is Regulated by Pervanadate and Mediated by Membrane Type Matrix Metalloprotease-1[J]. *J Biol Chem*, 2004,279(9):7721-7733
- [10] Gerard C. Blobe, William P. Schiemann, Marie-Claude Pepin, et al. Functional Roles for the Cytoplasmic Domain of the Type III Transforming Growth Factor β Receptor in Regulating Transforming Growth Factor β Signaling [J]. *J Biol Chem*, 2001,276 (27): 24627-24637
- [11] Gerard C. Blobe, Xuedong Liu, Shijing J. Fang, et al. A Novel Mechanism for Regulating Transforming Growth Factor β (TGF- β) Signaling[J]. *J Biol Chem*, 2001,276(43): 39608-39617
- [12] José Esparza-Ló pez, José Luis Montiel, M. Magdalena Vilchis-Landeros et al. Ligand Binding and Functional Properties of Betaglycan, a Co-receptor of the Transforming Growth Factor- Superfamily[J]. *J Biol Chem*, 2001,276(18):14588-14596
- [13] Hye Jin You, Monique W. Bruinsma, Tam How, et al. The type III TGF- β receptor signals through both Smad3 and the p38 MAP kinase pathways to contribute to inhibition of cell proliferation[J]. *Carcinogenesis*, 2007,28(12):2491-2500
- [14] Nadine Hempel, Tam How, Mei Dong, et al. Loss of Betaglycan Expression in Ovarian Cancer: Role in Motility and Invasion[J]. *Cancer Research*, 2007,67(11):5231-5238
- [15] Tracy L. Criswell and Carlos L. Arteaga. Modulation of NFB Activity and E-cadherin by the Type III Transforming Growth Factor Receptor Regulates Cell Growth and Motility [J]. *J Biol Chem*, 2007,282(44): 32491-32500
- [16] Yogeshwar Makanji, Craig A. Harrison, Peter G. Stanton, et al. Inhibin A and B in Vitro Bioactivities Are Modified by Their Degree of Glycosylation and Their Affinities to Betaglycan[J]. *Endocrinology*, 2007,148(5):2309-2316
- [17] Daniel J. Bernard, Stacey C. Chapman and Teresa K. Woodruff. Minireview: Inhibin Binding Protein (InhBP/p120), Betaglycan, and the Continuing Search for the Inhibin Receptor [J]. *Molecular Endocrinology*, 2002,16(2):207-212
- [18] Peter J. Fuller, Emma T. Zumpe, Simon Chu. Inhibin-Activin Receptor Subunit Gene Expression in Ovarian Tumors [J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2002,87(3):1395-1401
- [19] Jianqi Liu, Tiina Kuulasmaa, Veli-Matti Kosma, et al. Expression of Betaglycan, an Inhibin Coreceptor, in Normal Human Ovaries and Ovarian Sex Cord-Stromal Tumors and Its Regulation in Cultured Human Granulosa-Luteal Cells[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2003,88(10):5002-5008
- [20] Maree Bilandzic, Simon Chu, Paul G. Farnworth. Loss of betaglycan contributes to the malignant properties of human granulosa tumor cells[J]. *Molecular Endocrinology*, 2009,23(4):539-48
- [21] Yuki Omori, Kazuto Nakamura, Soichi Yamashita, et al. Effect of Follicle-Stimulating Hormone and Estrogen on the Expression of Betaglycan Messenger Ribonucleic Acid Levels in Cultured Rat Granulosa Cells[J]. *Endocrinology*, 2005,146(8):3379-3386
- [22] Hempel N, How T, Cooper SJ, et al. Expression of the type III TGF-beta receptor is negatively regulated by TGF-beta[J]. *Carcinogenesis*, 2008,29(5):905-912

(上接第 384 页)

- [34] Shiue Lin Lia, Shih Chiang Kuoa, Jian Sheng Lin, et al. Process performance evaluation of intermittent-continuous stirred tank reactor for anaerobic hydrogen fermentation with kitchen waste [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2008,33:1522-1531
- [35] Zhen-Peng Zhang, Kuan-Yeow Show, Joo-Hwa Tay. Biohydrogen production with anaerobic fluidized bed reactors-A comparison of biofilm-based and granule-based systems [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2008,33:1559-1564
- [36] Jianzheng Li, Baikun Li, Gefu Zhu, et al. Hydrogen production from diluted molasses by anaerobic hydrogen producing bacteria in an anaerobic baffled reactor (ABR)[J]. *International journal of hydrogen energy*, 2007,32:3274-3283
- [37] Xiao Wu, Jun Zhua, Chunying Donga, et al. Continuous biohydrogen production from liquid swine manure supplemented with glucose using an anaerobic sequencing batch reactor [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2009,34:6636-6645
- [38] Dong-Hoon Kim, Sang-Hyoun Kim, In-Beom Ko, et al. Start-up strategy for continuous fermentative hydrogen production: Early switchover from batch to continuous operation[J]. *International journal of hydrogen energy*, 2008,33:1532-1541
- [39] Liliana M. Alzate-Gaviriaa, P.J. Sebastiana, Antonino Pérez-Hernández, et al. Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2007,32:3141-3146
- [40] S. Jayalakshmi, Kurian Joseph, V. Sukumaran. Bio hydrogen generation from kitchen waste in an inclined plug flow reactor [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2009,34:8854-8858
- [41] E. Navarro, A. Montagud, P. Fernández de Córdoba. Metabolic flux analysis of the hydrogen production potential in *Synechocystis* sp. PCC6803 [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2009, 34: 8828-8838
- [42] David B. Levin, Lawrence Pitt, Murray Love. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical[J]. *International journal of hydrogen energy*, 2004, 29: 173-185
- [43] 宋丽, 刘晓风, 袁月祥, 等. 厌氧发酵产氢微生物的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2008,24: 933-939
- Song Li, Liu Xiao-feng, Yuan Yue-xiang, et al. Progress on Hydrogen-production Microorganisms by Anaerobic Fermentation [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2008,24: 933-939
- [44] Zhi Li, Hui Wang, Zongxun Tang, et al. Effects of pH value and substrate concentration on hydrogen production from the anaerobic fermentation of glucose [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2008, 33:7413-7418
- [45] Hu B, Chen S L. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2007,32(15): 3266-3273