

前 B 细胞受体及转录因子在 B 细胞发育中的作用

孙 剑*

(天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

摘要 B 细胞在骨髓中, 由造血干细胞发育、成熟是一复杂、分阶段的过程。这一过程是受到高度调控的。PU.1、E2A、EBF 和 Pax5 等转录因子分级控制 B 细胞系基因的表达, 决定了 B 细胞的定型和进入 B 细胞发育途径。而重链重排完成后形成的前 B 细胞受体, 传递分化信号, 促进 B 细胞进一步的发育。未完成重链重排的前 B 细胞不能组成前 B 细胞受体, 通过凋亡被清除, 保证了成熟 B 细胞的功能。

关键词 B 细胞; 转录因子; 发育; 前 B 细胞受体

B 细胞是免疫系统的重要组成细胞。它合成、分泌抗原特异结合分子免疫球蛋白(Ig), 介导体液免疫。编码免疫球蛋白重链和轻链的基因片段彼此分开, 以胚系方式存在。在 B 细胞发育过程中, 通过重排相互连接, 形成有转录活性的单位。其中, 编码重链的基因片段先后进行 D_H-J_H 重排和 $V_H-D_H-J_H$ 重排, 而轻链只有 V_H-J_H 重排。V(D)J 重排的顺序和时期受严格的控制, 是 B 细胞不同发育期的重要标志。只有成功完成 V(D)J 重排的 B 细胞才能发育为成熟 B 细胞。众多调控分子参与了 B 细胞的发育过程。现就前 B 细胞受体(pre-B cell receptor, pre-BCR)和转录因子在 B 细胞的成熟过程中的作用进行综述。

1 B 细胞发育分期

根据细胞表面的标记分子, 特别是免疫球蛋白 V(D)J 重排的不同阶段, 提出了不同的 B 细胞的发育分期模型。Melchers-Rolink 的模型将 B 细胞发育时期分为: 原 B 细胞(pro-B)、前 B 细胞-I(pre-B-I)、前 B 细胞-II(pre-B-II)、未成熟 B 细胞(imature B), 以及成熟 B 细胞(mature B)。在骨髓中, $CD43^+$ 的原 B 细胞 Ig 基因仍是胚系。首先, 免疫球蛋白重链(IgH)基因位点进行 D_H-J_H 重排, 进入 pre-B I 期。进一步, V_H 与 D_H-J_H 重排, 形成有转录活性的 IgH 基因单位, 合成膜型 μ 重链。此时, B 细胞发育为 pre-B II 期。免疫球蛋白轻链重排, 合成的轻链。与重链结合, 形成抗原特异识别受体膜型 IgM。分化为未成熟 B 细胞, 离开骨髓。随着膜型 IgM 和

IgD 的表达, 细胞分化为成熟 B 细胞。pre-B II 细胞又分为大前 B 细胞和小前 B 细胞。大前 B 细胞下调 CD43 的表达、上调 CD25 和 CD2 基因表达。同时, 细胞分裂、扩增。随后, 停止分裂、分化为小前 B 细胞。从原 B 细胞分化为小前 B 细胞的过程, 称为前 B 细胞过渡(pre-B cell transition), 是 B 细胞发育过程中的重要校验点^[1]。

2 pre-BCR 的作用

2.1 pre-BCR

pre-BCR 是由膜型重链 μ 与替代轻链(surrogate light chain, SLCs)VpreB、 $\lambda 5$, 以及 $Ig\alpha/Ig\beta$ 异二聚体组成的受体复合物。重链成功重排后, 大前 B 细胞表达 pre-BCR, 在细胞表面由 $Ig\alpha/Ig\beta$ 传递信号。pre-BCR 信号包括: (1)暂时下调 V(D)J 重排酶重组激活基因(recombination activating gene, RAG)1/2 的表达。因而, 阻止另一条重链重排, 即等位基因排斥(allelic exclusion)。(2)刺激细胞分裂, 经过 4~5 轮的细胞增殖, 使表达重链的细胞数扩增。(3)下调包括 VpreB、 $\lambda 5$ 在内的基因表达, 负反馈抑制 pre-BCR 的信号。随后, 细胞分裂停止, 发育为小前 B 细胞。启动轻链重排, 分化为未成熟 B 细胞。由于 IgH 重排过程中, 有可能产生移码突变而造成无重链表达。在此类未成功完成重链重排的前 B 细胞, 不能形成 pre-BCR, 细胞凋亡而被清除。因

收稿日期: 2004-01-09 接受日期: 2004-03-19

* 通讯作者。Tel: 022-87401830, Fax: 022-27892025, E-mail: jsun@public3.bta.net.cn

此,重链重排的完成,pre-BCR在pre-B细胞的瞬表达,是B细胞发育过程中的一个重要的校验点。如果将参与组成pre-BCR的替代轻链或 $Ig\alpha/Ig\beta$ 突变,B细胞发育阻止在前B细胞过渡^[2,3]。证明了pre-BCR在B细胞发育中起重要作用。

2.2 pre-BCR 信号途径

pre-BCR 信号途径复杂。至今还不清楚pre-BCR的配体。最新研究发现,在没有外在配体的条件下,pre-BCR的组份(VpreB、 $\lambda 5$)互相作用,诱导受体的聚集,能够自动传递信号^[4]。pre-BCR的信号途径与B细胞受体(B cell receptor, BCR)类似,由 $Ig\alpha/Ig\beta$ 起pre-BCR信号传递分子的作用。 $Ig\alpha/Ig\beta$ 属跨膜蛋白,其胞浆尾区有免疫受体酪氨酸基础激活模体(immune receptor tyrosine-based activation motif, ITAM)。pre-BCR聚集后, $Ig\alpha/Ig\beta$ 的ITAM酪氨酸残基磷酸化,结合蛋白酪氨酸激酶Syk。激活的Syk与SLP-65(又称为BLNK)结合,将SLP-65磷酸化。磷酸化的SLP-65作为Syk与下游信号传递分子的连接点,结合、征募含SH-2模体的PLC $\gamma 2$ 、Btk、Vav、Grb2和Nck,形成信号复合物,激活包括MAP激酶、钙通路等不同的信号途径^[5]。Syk是早期pre-B分裂、增殖所必须的。而SLP-65介导pre-BCR的负反馈信号,终止pre-B细胞的分裂,促进晚期pre-B的发育^[6]。

基因剔除实验证实,pre-BCR信号传递分子在B细胞发育过程中起重要作用。在剔除Syk的小鼠体内,B细胞发育停止在早期pre-B^[7],但仍有部分B细胞发育成熟,提示尚存在Syk非依赖信号途径。将Syk与Syk家族成员ZAP-70同时剔除,B细胞发育完全阻止前B细胞转变^[8]。剔除SLP-65的小鼠,pre-B细胞发育障碍,但也不能完全阻止^[9]。这是因为LAT(linker for activation of T cells)部分代偿了SLP-65的功能。如果将SLP-65和LAT同时剔除,B细胞发育完全阻止在pre-B细胞期^[10]。

3 转录因子的调控作用

目前已发现参与B发育的转录因子包括PU.1、E2A、EBF和Pax5等。

PU.1属ets族转录因子。它在造血前体细胞的分化、定型为髓系(包括巨噬细胞、中性粒细胞)或淋巴系(包括T、B细胞)起重要作用,特别是对B细胞和巨噬细胞的产生更为重要。因此,剔除PU.1的小鼠,B细胞和巨噬细胞发育受阻^[11]。PU.1通过表

达量的高、低决定前体细胞的分化方向。在低表达条件下,PU.1上调IL-7受体的表达,启动B细胞系特异基因的表达,有利于B细胞的产生。而高表达的PU.1诱导巨噬细胞集落刺激因子的表达,促进前体细胞向髓系细胞发育^[12]。因此,PU.1是决定造血前体细胞进入B细胞系发育的转录因子。

E2A基因表达产物是E12和E47。它们同属碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录激活因子。E12/E47可形成同源或异源二聚体、结合免疫球蛋白增强子中E模体DNA序列(CACCTGC)。因此,又称为E蛋白。尽管E12/E47广泛分布在于各类细胞,在缺失该基因的小鼠中,只影响B细胞发育。在此类小鼠体内,RAG-1、mb1、CD19、 $\lambda 5$ 和Pax-5转录消失,Ig重链V(D)J重排完全阻止,细胞发育停止在原B细胞^[13]。根据剔除E2A后,无Pax5的表达推测,E2A位于Pax5的上游,调节其表达。

早期B细胞因子(early B-cell factor, EBF)是含HLH模体的转录因子,但不含bHLH族转录因子的碱性区。它以同源二聚体的形式结合DNA,上调包括 $Ig\alpha$ 在内的B细胞基因表达。剔除EBF的小鼠体内,完全缺失成熟B细胞。B细胞的发育中断在免疫球蛋白D_H-J_H重排前的原B细胞。在EBF^{-/-}原B细胞中,PU.1和E2A基因表达,但检测不到Pax5的转录。提示EBF受E2A的调控,先于Pax5,在B细胞发育早期发挥作用^[14]。

Pax-5基因编码转录激活因子B细胞特异激活蛋白(B-cell-specific activator protein, BSAP)。BSAP在B细胞发育过程中起重要作用。它上调B细胞系特异基因BLNK、 $Ig\alpha$ 的表达,启动B细胞发育程序^[15]。同时,BSAP还抑制向其他细胞系发育所需基因的表达。例如,Pax5能抑制T细胞定型关键基因Notch1的表达,抑制T细胞发育程序^[16]。因此,在剔除Pax5基因的小鼠体内,B细胞发育停止在前B细胞I期,血清中缺乏任何形式的免疫球蛋白^[17]。并且,Pax5^{-/-}的前B细胞能够回转、分化为T细胞,显示Pax5在B细胞定型过程中起关键作用^[18]。

参考文献 (References)

- [1] Osmond DG *et al. Immunol Today*, 1998, 19: 65
- [2] Shimizu T *et al. J Immunol*, 2002, 168: 6286
- [3] Krause M *et al. J Exp Med*, 2001, 194: 455
- [4] Ohnishi K *et al. Nat Immunol*, 2003, 4: 849

- [5] Guo B *et al. Immunity*, 2000, **13**: 243
[6] Flemming A *et al. Nat Immunol*, 2003, **4**: 38
[7] Turner M *et al. Nature*, 1995, **378**: 298
[8] Schweighoffer E *et al. Immunity*, 2003, **18**: 523
[9] Minegishi Y *et al. Science*, 1999, **286**: 1954
[10] Su YW *et al. Immunity*, 2003, **19**: 295
[11] Scott E W *et al. Science*, 1994, **265**: 1573
[12] DeKoter RP *et al. Science*, 2000, **288**: 1439
[13] Bain G *et al. Cell*, 1994, **79**: 885
[14] Lin H *et al. Nature*, 1995, **376**: 263
[15] Schebesta M *et al. Immunity*, 2002, **17**: 473
[16] Souabni A *et al. Immunity*, 2002, **17**: 781
[17] Urbanek P *et al. Cell*, 1994, **79**: 901
[18] Mikkola I *et al. Science*, 2002, **297**: 110

The Roles of pre-B Cell Receptor and Transcription Factors in B Cell Development

Jian Sun*

(College of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract B cell development from hematopoietic stem cell is a complex and multi-steps process in bone marrow. This process is highly controlled. Transcription factors, like PU.1, EBF and Pax5 function in a hierarchal way, upregulate B-lineage specific gene expression and play important roles in B cell commitment and development. After successful Ig heavy chain recombination in pre-B cells, μ chain is expressed and forms pre-B cell receptor (pre-BCR) with surrogate light chains and Ig α/β heterodimer. pre-BCR induces differentiation signal and promotes further B cell development. Pre-B cells cannot assembly pre-BCR and will die by apoptosis if Ig heavy chain recombination is not succeeded. Therefore, pre-BCR transient expression in pre-B transition stage is an important checkpoint in B cell development.

Key words B cell; transcription factors; development; pre-B cell receptor

Received: January 9, 2004 Accepted: March 19, 2004

*Corresponding author. Tel: 86-22-87401830, Fax: 86-22-27892025, E-mail: jsun@public3.bta.net.cn