

LMO2 与 T 细胞白血病

王 娜^{1,2} 赵 勇^{1,2,3*}

(¹ 中国科学院动物研究所生物膜与膜生物工程国家重点实验室移植生物学研究组, 北京 100080;

² 中国科学院研究生院, 北京 100049; ³ 美国内布拉斯加大学医学院外科, 奥马哈 68198)

摘要 *Lmo2* 基因是 LMO(LIM-only)家族的成员之一。作为一个原癌基因, *Lmo2* 的染色体异位 t(11; 14)(p13; q11) 或 t(7; 11)(q35; p13) 与 T 细胞急性淋巴细胞白血病密切相关。LMO2 是细胞中介导转录因子复合物形成的重要接头分子。现对 LMO2 的分子结构及其在正常和白血病细胞中的调控作用机制的差异作重点介绍。在此基础上还讨论了 LMO2 成为逆转录病毒介导的基因治疗 X 染色体连锁的严重联合免疫缺陷综合征过程中成为病毒插入靶位点的可能原因。

关键词 LMO2; LIM 结构域; 白血病; 基因治疗; 免疫缺陷综合征

LMO(LIM-only)家族的发现首先基于对淋巴细胞白血病中染色体易位的研究, 先后已发现了 4 个主要成员: LMO1, LMO2, LMO3 和 LMO4, 其中 LMO2 与 T 淋巴细胞白血病密切相关^[1,2]。LMO2, 又称 RBTN2 或 TTTG2。多年来, 人们已对其分子结构和致病机制进行了深入细致的研究。

1 LIM 结构域

LIM 结构域是锌指结构的一种, 富含半胱氨酸和组氨酸, 在生物体内广泛存在。不同于其他锌指结构的是 LIM 结构域并不与核酸序列结合, 而是识别蛋白质序列, 并与之结合从而发挥作用。该结构域在进化上相当保守, 其特征性保守序列为 CX₂CX₁₇₋₁₉HX₂CX₂CX₂CX₁₆₋₂₀CX₂C/H/D(图 1a), 其中与 Zn²⁺ 结合的半胱氨酸和组氨酸(部分 LIM 结构域中为天冬氨酸)位点十分保守, 但是在不同的 LIM 基因之间或同一 LIM 基因的两个 LIM 结构域之间, 其他氨基酸的保守性并不强, 这可能有利于与不同蛋

白质相互识别, 以介导其相互作用。推测 LIM 结构域的二级结构主要为多个反平行折叠, Zn²⁺ 结合部位位于疏水末端(图 1b)^[3,4]。

2 LMO2 的分子结构与功能

LMO 家族蛋白是 LIM 蛋白的一种^[5], 因其分子中只含有一个或者多个 LIM 结构域, 基本上不含有其他结构域, 而被称为 LIM-only 蛋白, 即单纯 LIM 蛋白。LMO2 是 LMO 家族成员之一, 其基因定位于人 11 号染色体短臂 13 号带(11p13), mRNA 由 6 个外显子转录而来(图 2a), 其中 4、5、6 号外显子编码一个 158 个氨基酸组成的核蛋白, 因为其分子主要由两个 LIM 结构域组成(图 2b), 所以在细胞内常作为接头分子, 介导两个蛋白质分子间的相互结合形成复合物(如转录因子复合体), 在发育过程中起着十分重要的作用。此蛋白质序列高度保守, 虽然人和小鼠中 *Lmo2* 基因分别定位在不同染色体,

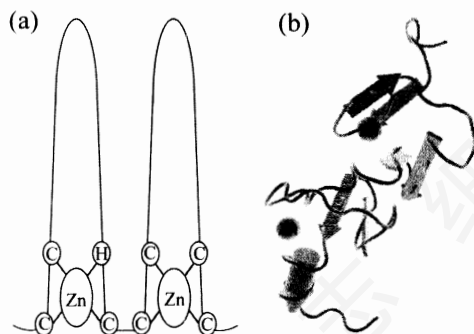


图 1 LIM 结构域结构示意图

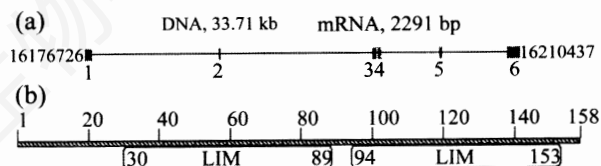


图 2 *Lmo2* 基因及表达产物

收稿日期: 2004-06-02 接受日期: 2005-01-18

中国科学院“百人计划”项目部分资助(No.C2904108), 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目资助(No.A1904139)

* 通讯作者。Tel: 010-62538391, Fax: 010-62659958, E-mail: zhaoy@ioz.ac.cn

但每一个基因在人和小鼠中的外显子结构却极为相似, 其蛋白质序列仅相差 1 个氨基酸^[6], 进化上如此高度的保守性表明, 该分子可能在生物体中具有很基本的重要功能。

进一步的研究表明, LMO2 是一种重要的转录调控因子^[7~10], 可以通过与 TAL1(SCL)、E47、LDB1 和 GATA 等结合形成可与 DNA 结合的转录因子复合物, 在造血细胞形成与分化以及血管新生中发挥重要作用。

3 LMO2 在自发性 T 细胞白血病中的作用

在对急性 T 淋巴细胞白血病(T-ALL)的研究中发现, 原癌基因 *Lmo2* 的特异性染色体易位 t(11; 14)(p13; q11)或 t(7; 11)(q35; p13)导致的该基因的过度表达^[11]与该疾病的发生密切相关。通过建立 *Lmo2* 转基因小鼠动物模型等方法, 人们对 LMO2 的致病机制进行了深入的研究。

LMO2 是一个在造血系统中至关重要的分子, 存在于所有造血细胞系祖细胞中。*Lmo2* 基因剔除小鼠实验证明, *Lmo2* 缺失会造成红细胞生成障碍, 导致胎儿死亡, 因此是造血系统发育成熟所必需的^[12,13]。随着细胞分化的进行, LMO2 的表达会在除红细胞以外的所有细胞系中下调, 这种下调对 T 细胞的分化发育非常重要, 因为研究发现 LMO2 在胸腺中保持本底表达会导致 T 细胞白血病的发生。在对 *Lmo2* 转基因小鼠的研究中发现, 该小鼠会发生克隆性 T 细胞白血病, 主要表现为不成熟的 CD4⁺CD8⁻CD25⁺CD44⁺ 双阴性 T 细胞在转基因胸腺中的累积, 结果提示, *Lmo2* 在机体内的主要作用是引起不成熟双阴性 T 细胞的分化抑制(图 3)^[14]。值得注意的是^[15], 双阴性 T 细胞中有活化的 RAG V(D)J 重组酶, 该酶的主要功能是催化 T 细胞受体(TCR)的重排, 而染色体断裂点测序显示在 *Lmo2* 定位的染色体的 11p13 位点检测到重组酶信号样序列, 而且其在人 14 号染色体上的连接点位于 TCR δ 的位置上, 并精确定位在 TCR 的 D 或者 J 片断的末端, 这就提示人 T-ALL 的形成最初可能是由于重组酶在双阴性 T 细胞中介导 TCR 重排的过程中引起 *Lmo2* 基因的染色体易位, 从而导致该基因的异常活化, 结果造成 T 细胞分化在双阴性期受阻堆积所致。

LMO2 对 T 细胞分化抑制的介导目前认为主要是通过不同的转录复合物对不同基因转录的调控来完成的^[9,16]。如前文所述, LMO2 因其特殊的 LIM

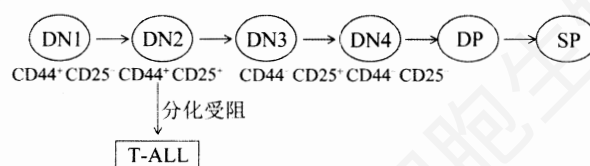


图3 T-ALL 发病机制示意图^[14]

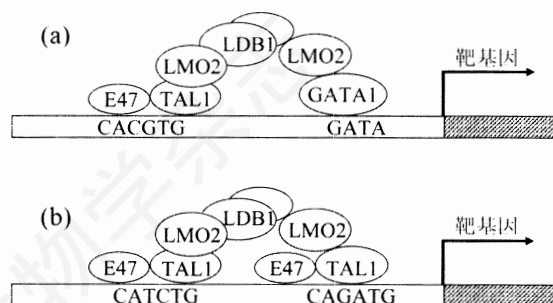
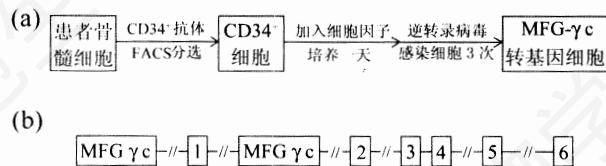


图4 LMO2 在细胞内作用机制示意图^[14]

结构域结构特点可以与 TAL1(SCL)、E47、LDB1 和 GATA 等转录因子结合形成转录复合物识别特定序列, 从而调控特定基因的表达(图 4a)。而高表达的 LMO2, 无论是转基因得到的还是染色体易位造成的, 都会形成异常的转录因子复合物, 识别不同于正常情况下的基因序列(图 4b), 从而导致非正常的基因转录, 可能由此大大改变细胞内原有的信号调节途径, 以至于引发 T 细胞无限增殖, 造成癌变。因此, 人们推测可能就是这种异常复合物的形成及其对下游基因表达的改变影响了 T 细胞系的正常发育。然而, 其具体的分子机制目前还不清楚, 尚有待于进一步的研究来阐明。

4 LMO2在基因治疗引发的白血病中的作用

X 染色体连锁的严重联合免疫缺陷综合征(SCID-X1)是一种严重的遗传疾病^[17]。患者出生时体内没有正常的白细胞介素-2 受体 γ 亚基(IL-2R γ c)。该亚基是 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15 和 IL-21 等细胞因子的信号转导下游受体的组成部分, 它的缺乏导致某些种类的淋巴细胞(主要是 T 细胞以及 B 细胞和自然杀伤细胞)的发育缺陷。病人因缺乏这些细胞而不具有免疫力, 极易引发感染而死, 多在两岁前夭折。几年前, 法国科学家首先根据逆转录病毒可以将自身基因整合进宿主基因组的特点, 在临床上开发出了利用逆转录病毒载体将编码 IL-2R γ c 的基因转入体外培养的患者 CD34⁺造血

图5 逆转录病毒基因治疗示意图^[14, 18]

干细胞(图 5a), 然后再将转基因的 CD34⁺ 造血干细胞回输病人体内的治疗方法, 从而纠正病人的免疫缺陷^[17]。接受治疗的 10 名孩子在几个月内体内均检测到了携带 *IL-2R γ c* 基因的 T 细胞, 并因此重建了免疫力。但不幸的是其中有两例在接受治疗的两年后发生了 T 细胞白血病^[18], 而且实验分析发现, 在他们的体内, 逆转录病毒的整合位点很接近或者就在 T 细胞原癌基因 *Lmo2* 中(图 5b), 增强了 LMO2 的表达^[18]。逆转录病毒的整合如同前文所述的染色体易位一样激活了 *Lmo2* 基因, 导致其蛋白质过度表达, 从而介导异常的转录复合物的形成, 结果导致 T 细胞过度增殖, 并由此引发癌变^[18]。

如果说逆转录病毒整合进基因组不适当的位点导致基因过度表达是人们之前曾经虑及的隐患, 那么为什么在两例病人中逆转录病毒都无一例外的选择 *Lmo2* 基因作为插入位点? 是否 *Lmo2* 是一个逆转录病毒介导的基因治疗中会被优先选择插入的特异性靶位点呢? 而且, *Lmo2* 只是 T 细胞中的众多原癌基因之一, 另外还有很多与 T-ALL 中染色体易位有关的原癌基因(如 *Hox11*、*Hox11L2*、*Lyl1*、*Tal2*、*Lck*, 甚至 *Lmo1*)为什么这些基因没有成为逆转录病毒选择的整合位点呢? 分析认为可能有以下的几种原因^[15]; SCID-X1 的特征是没有 T 细胞, 而其他造血细胞的数量都正常, 回输到病人体内的 CD34⁺ 造血细胞会优先发育成 T 细胞系。在接受治疗的病例中, 新产生的 T 细胞的数量都达到了正常水平且含有逆转录病毒插入的 *IL-2R γ c* 基因, 而检查发现整合 *IL-2R γ c* 基因进其他细胞系细胞的情况一般只有 1% 或者更少, 这是因为移植入的祖细胞如果要发育成 T 细胞以外的细胞系, 需要和体内原有

的祖细胞竞争, 与此同时植入体内的没有整合上 *IL-2R γ c* 基因的祖细胞也可以发育成 T 细胞以外的细胞系, 可是只有插入了 *IL-2R γ c* 基因的祖细胞方可发育成 T 淋巴细胞, 因此最后检查到含有转基因的细胞系主要是由 T 细胞系组成。既然植入的干细胞易于发育成为 T 细胞, 那么如果要发生白血病, T 细胞白血病就会比其他种类的白血病更加易感。此外, 如前文所述, LMO2 主要是在早期的造血系统中表达, 而逆转录病毒易于插入到活化的基因中或者其启动子附近, 所以这可能也是 *Lmo2* 成为插入靶位点的一个原因。

总之, *Lmo2* 是一种 T 细胞原癌基因, 其表达产物作为一种转录因子复合物形成过程中必不可少的接头分子, 是正常造血系统发育所必需的, 而其蛋白质的异常高水平表达(染色体易位或者逆转录病毒插入所造成的)则会导致异常的转录因子复合物的形成, 识别特殊的 DNA 序列, 调控异常的基因表达, 从而导致 T 细胞过度增殖, 引发白血病。虽然围绕 LMO2 在生物体内作用机制的研究已经进行了 10 余年, 但其致病机制的谜团仍未揭开, 有待于进一步的研究^[1, 15, 19]。

参考文献 (References)

- [1] Rabbitts TH et al. *Cancer Res*, 1999, **59**: 1794s
- [2] Davenport J et al. *Leukemia*, 2000, **14**: 1986
- [3] Kadrmas JL et al. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, **5**: 920
- [4] Bach I. *Mech Dev*, 2000, **91**: 5
- [5] Deane JE et al. *EMBO J*, 2003, **22**: 2224
- [6] Foroni L et al. *J Mol Biol*, 1992, **226**: 747
- [7] Osada H et al. *Leukemia*, 1997, **11**: 307
- [8] Visvader JE et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 13707
- [9] Wadman IA et al. *EMBO J*, 1997, **16**: 3145
- [10] Manaia A et al. *Development*, 2000, **127**: 643
- [11] Royer-Pokora B et al. *Oncogene*, 1991, **6**: 1887
- [12] Yamada Y et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 320
- [13] Yamada Y et al. *Oncogene*, 2002, **21**: 1309
- [14] McCormack MP et al. *N Engl J Med*, 2004, **350**: 913
- [15] Rabbitts TH. *Genes Dev*, 1998, **12**: 2651
- [16] Grutz GG et al. *EMBO J*, 1998, **17**: 4594
- [17] Fischer A et al. *Nat Rev Immunol*, 2002, **2**: 615
- [18] Hacein-Bey-Abina S et al. *Science*, 2003, **302**: 415
- [19] Stone BD. *N Engl J Med*, 2004, **350**: 2526

LMO2 and T Cell Leukemia

Na Wang^{1,2}, Yong Zhao^{1,2,3*}

(¹*Transplantation Biology Research Division, State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China;*

²*Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;*

³*Department of Surgery, University of Nebraska College of Medicine, Omaha, NE 68198, USA)*

Abstract *Lmo2*, as an oncogene, is one of the members of the LMO (LIM-only) family. Its aberrant transcription and expression in T cells caused by translocation t(11; 14) (p13; q11) or t(7; 11) (q35; p13) was found to be associated closely with T cell acute lymphoblastic leukemia. LMO2 is an important molecule mediating the formation of transcription factor complex in normal hematopoietic cells. We herein reviewed the molecular structure and the likely mechanisms of LMO2 in the occurrence of leukemia caused by blocking T cell differentiation. Furthermore, the possibility for the development of LMO2-associated leukemia in patients with X-linked severe combined immunodeficiency after retroviral-mediated gene therapy was also discussed.

Key words LMO2; LIM domain; leukemia; gene therapy; SCID-X1

Received: June 2, 2004 Accepted: January 18, 2005

This work was partly supported by the "Bairen" Program of the Chinese Academy of Sciences (No.C2904108) and supported by the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program) (No.A1904139)

*Corresponding author. Tel: 86-10-62538391, Fax: 86-10-62659958, E-mail: zhaoy@ioz.ac.cn