

- 1915.
- [12] Barth, H. and V. Kinzel, 1994, *Exp. Cell Res.*, **212**:383-388.
- [13] Coppock, D. L., et al., 1992, *Cell Growth Differ.*, **3**:485-494.
- [14] Hass, R., et al., 1993, *Cell Growth Differ.*, **4**:159-166.
- [15] Kosaka, C., et al., 1996, *Am. J. Physiol.*, **270**:c170-c178.
- [16] Abe, K., et al., 1991, *Exp. Cell Res.*, **192**:122-127.
- [17] Bruno, S., et al., 1992, *Cancer Res.*, **52**:470-473.
- [18] Kao, JPY, et al., 1990, *J. Cell Biol.* **111**:183-196.
- [19] 王晨光等, 1998, *实验生物学报*, **31**:147-153.
- [20] Eggert, M., et al., 1993, *Eur. J. Biochem.*, **213**:659-671.
- [21] Goss, V. L., et al., 1994, *J. Biol. Chem.*, **269**:19074-19080.
- [22] Livneh, E. and DD Fishman, 1997, *Eur. J. Biochem.*, **248**:1-9.
- [23] Yamamoto, M., et al., 2000, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **279**:c587-595.
- [24] Watanabe, T., et al., 1992, *Proc. Natl. Aca. Sci. USA*, **89**:10159-10163.
- [25] Griffiths, G., et al., 1996, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **222**:802-808.
- [26] Passalacqua, M., et al., 1999, *FEBS Letter*, **453**:249-253.
- [27] Lehrich, E., et al., 1994, *J. Biol. Chem.*, **324**:46-32450.
- [28] Weinberg, R. A., 1995, *Cell*, **81**:323-330.
- [29] Detjen, K. M., et al., 2000, *J. Cell Biol.*, **113**:3025-3035.
- [30] Frey, M. R., et al., 2000, *J. Cell Biol.*, **151**:763-778.
- [31] Delphin, C. and J. Baudier, *J. Biol. Chem.*, 1994, **47**:29579-29587.
- [32] Milne, M., et al., 1996, *Oncogene*, **13**:205-211.
- [33] Slosberg, E. D., et al., 1999, *Oncogene*, **18**:6658-6666.

HTLV-1 Tax 蛋白与 T 细胞的细胞周期调变

周绪斌* 朱学良

(中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所 上海 200031 *中国人民解放军军需大学 长春 130062)

人 1 型 T 细胞白血病病毒 (HTLV-1) 能引发成人急性 T 细胞白血病 (ATL) 以及一种慢性渐进性的中枢神经系统疾病——热性痉挛性下身截瘫/白血病病毒相关脊髓病 (TSP/HAM)。成人 T 细胞白血病 (ATL) 表现为成熟 T 淋巴细胞恶性增生。由于 HTLV-1 Tax 蛋白与 T 细胞增殖调控有重要关系, 本文将主要综述 HTLV-1 Tax 蛋白如何参与调变 T 细胞细胞周期从而探讨 Tax 在 T 淋巴细胞转化中的作用。

一、HTLV-1 基因组的调控序列及调控蛋白

HTLV-1 病毒基因的表达主要与其基因组 3' 区编码的 Rex 和 Tax 蛋白调控。Rex 蛋白分子量为 27kDa, 主要参与转录后水平的调控, 调节病毒 RNA 转运从而促进编码 gag-pol 及 env 基因的翻译^[1], Tax 蛋白分子量为 40kDa, 能够与 ATF/CREB 蛋白家族成员相互作用, 后者通过 HTLV-1 长末端重复序列 (LTR) 中的三个不完全 cAMP 效应元件 (CRE) 而促进病毒基因的转录^[2]。同时 Tax 可以激活不同的信号通路, 上调其他细胞基因, 刺激如血清效应因子 (SRF) 以及 NF- κ B/Rel 等转录因子。此外, Tax 还可以通过碱性 helix-loop-helix 蛋白家族抑制某些

细胞基因的转录^[3]。

从已有的研究结果看来, Tax 不仅是一种转录因子, 还可诱发 ATL。在 ATL 病人的肿瘤细胞中存在缺陷型的包含 HTLV-1 基因组 3' 端的前病毒^[4]。而且, 携带 HTLV-1 3' 端的疱疹病毒可以使原代 T 细胞永生化^[5]。其次, 共表达 Tax 和 Ras 可转化原代鼠胚成纤维细胞^[6]。Tax 转基因鼠可表现出白血病、间质瘤、神经纤维瘤等病理特征^[7]。这一系列研究结果都表明 Tax 在 T 细胞转化中起重要作用。尽管如此, HTLV-1 转化 T 细胞的分子机理仍不十分清楚。

二、Tax 与 T 细胞 G1→S 转换

Tax 通过调节细胞内一系列信号通路使特定基因表达失调来调变 T 细胞的 G1→S 转换。

1. 调节 E2F-1

虽然鼠细胞转化试验表明 NF- κ B 的激活是必需的, 但通过 Tax 突变体对人原代 T 淋巴细胞转化实验又表明 NF- κ B 并非最关键因素, 而 ATF/CREB 通路有可能起重要作用^[8]。ATF/CREB2 蛋白的碱性及亮氨酸拉链结构可与 Tax 结合并协同激活病毒基因的转录。Tax 可通过 ATF/CREB 通路激活 E2F-1 基因转录, 而 E2F 可调控若干参与 DNA 合成、染色体复制、细胞周期调控的基因及细胞原癌基

因的表达。E2F-1的异常表达可诱导静息细胞进入S期,从而引起细胞周期失调。此外,Tax还可增强E2F因子的DNA结合活性从而增强其转录活性^[9]。

2. 调节 CDK 及 Cyclin

细胞周期是受一系列细胞周期素依赖激酶(Cyclin-Dependent Kinase, CDK)的顺序激活来控制的。比如细胞受血清刺激后;CDK4、CDK6首先被激活,控制G1期细胞前行。CDK4、CDK6可与Cyclin D形成复合物。Cyclin D的合成受促细胞分裂剂诱导,激活的CDK/Cyclin D复合物可以磷酸化Rb蛋白。通常非磷酸化的Rb与E2F形成复合物并抑制其转录活性。Rb被磷酸化后释放E2F,从而激活基因转录并促使细胞进入S期。Schmitt等利用四环素诱导表达载体清楚地表明,Tax的表达对于永生T细胞的G1→S转换是必需的^[10]。但Tax不直接与Rb结合,这一点与腺病毒E1A蛋白、猴病毒40大T抗原以及乳头瘤病毒E7等不同。Tax也不能促进CDK4、CDK6以及Cyclin D的表达量。然而,Tax可直接与Cyclin D3形成复合物,影响其磷酸化,磷酸化的Cyclin D3能激活CDK/Cyclin复合物^[11]。因此Tax有可能通过促进CDK4、CDK6的活性从而促进Rb的磷酸化来调变细胞周期^[10]。

3. 结合 CDK4 抑制物 INK4

INK4(inhibitor of CDK4)为CDK4的抑制物,可以与CDK4、CDK6等结合而影响CDK的激酶活性,使细胞静息于G1期。INK4家族包括p16^{INK4A}、p15^{INK4B}、p18^{INK4C}、p19^{INK4D}。Tax可与p16^{INK4A}、p15^{INK4B}直接接合,干扰两者对CDK4的激酶活性的抑制效应。^[12]尽管Tax不能与p18^{INK4C}、p19^{INK4D}结合,但却可结合于p18^{INK4C}启动子的E-box,因而在HTLV-1感染的T细胞中p18^{INK4C}mRNA显著降低^[13]。

三、Tax 与 p⁵³

p53为一种抑癌蛋白,同样参与细胞周期调控,DNA损伤可激活p53,最终导致细胞停止在间期,直至DNA修复完成;p53也可介导受损伤细胞的凋亡^[14]。在约60%的人肿瘤细胞中出现p53变异。然而在ATL病人细胞中,p53变异出现的频率很低,约只有20%^[15]。而且Tax并不像猴病毒40大T抗原、乳头瘤病毒E6蛋白那样直接与p53直接结合,对p53的核定位及DNA结合活性也无影响。

虽然有报道HTLV-1转化T细胞中p53表达水平反而升高,稳定性也增加^[16],但利用p53效应的报告基因转染实验证实,HTLV-1转化的T细胞中p53出现部分失活^[17]。利用Tax突变体所做的实验也表明,Tax对NF-κB的激活与p53活性受抑制密切相关,而与ATF/CREB的激活无关。表达能阻止NF-κB激活的IκBα(S32,36→A)突变体同样能阻止Tax介导的对p53的抑制作用。利用NF-κB的p65亚基敲除的鼠胚成纤维细胞转染实验表明,缺失p65后,Tax不能抑制p53,但能激活IkappaB激酶IKKβ,表明NF-κB的胞质内活性并不足以介导Tax对p53的抑制作用,而NF-κB的转录激活作用是必需的,其中p65亚基起主要作用。同时,p53 Ser15、Ser392磷酸化与Tax介导的抑制作用相关,当p53 Ser15、Ser392突变为丙氨酸后,Tax对p53的抑制作用减弱^[18]。

p53调节细胞周期静息主要是通过刺激CDK抑制物p21^{WAF1/CIP1}来实现的。然而与预想不一致的是,在HTLV-1转化细胞以及ATL、HAM/TSP病人样品中,p21^{WAF1/CIP1}水平反而很高^[19]。这可能是因为Tax可以不依赖于p53激活p21^{WAF1/CIP1}的启动子^[20]。有报道表达乳头瘤病毒原转化蛋白E7的角化细胞同样超表达p21^{WAF1/CIP1},但细胞并不能静息于G1期^[21],由于Tax不能与p21直接作用,因此Tax如何影响p21^{WAF1/CIP1}的静息作用仍有待于进一步研究。

四、Tax 与 细胞凋亡

有实验表明Tax转染的细胞对Fas抗体诱导的细胞凋亡敏感性降低,然而也有另一些报道Tax具有潜在的促凋亡效应^[22]。因而Tax可能随着激活细胞内的不同信号通路从而表现出激活凋亡或抗凋亡的效应,在转化T细胞的过程中Tax激活的抗凋亡信号通路可能起优势作用。

如前所述,Tax可通过使E2F-1过表达,进而诱导p53依赖的细胞凋亡。而同时Tax可通过某种目前未知的途径来抑制p53。由于特异性针对Fas配基与受体作用的抗体仅能部分抑制Tax介导的凋亡,因此,Fas配基与Fas结合并非Tax介导凋亡的主要通路。另一方面,利用白介素1β转化酶(ICE)样蛋白酶的特异抑制剂能完全抑制Tax凋亡效应,因而ICE样蛋白酶可能是Tax凋亡效应必需的^[23]。

最近,在鼠T细胞系CTLL-2中的实验表明,野

生型 Tax 以及能激活 NF- κ B 活性的 Tax 突变体都可阻止 IL-2 缺失所诱发的细胞凋亡。相反,能激活 ATF/CREB 而不能激活 NF- κ B 的 Tax 突变体无论是否存在 IL-2 都能促进凋亡^[24]。这些结果表明 Tax 可通过 NF- κ B 的激活来阻止 T 细胞凋亡。这与原癌蛋白 Ras 类似,Ras 可诱导不依赖于 p53 的凋亡效应,然而激活 NF- κ B 时,凋亡被抑制^[25]。

五、调控 G2-M 转换及 细胞内其他目标

由于 ATL 细胞核型异常,往往出现多型多核巨细胞^[26]。表达 Tax 的细胞跟随出现 DNA 渐进性损伤。过表达 Tax 的细胞出现多核以及微核^[27]。Tax 诱发的多核/微核包含动粒,表明染色体的分离及有丝分裂后核的装配失常,从而暗示 Tax 可能导致有丝分裂检查点失控。有丝分裂(M)纺锤体检查点防止染色体在双极纺锤体间排列正确前进入后期而引发细胞分裂。Tax 可以与人有丝分裂检查点蛋白 MAD1 结合,干扰 MAD1 同源二聚体的形成,导致 M 检查点的丢失,这可能是导致 HTLV-1 诱发的 ATL 细胞出现核型异常的原因之一^[28]。而基因组的不稳定性也是导致癌变的重要因素。卡波氏肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)的潜伏相关抗原 LANA 可在有丝分裂期使 KSHV DNA 整合于染色体^[29]。最近我们发现,mitosin 能与 Tax 的结合蛋白 ATF4/CREB2 结合并影响其 DNA 结合能力,mitosin 为染色体着丝点的组分,在有丝分裂期位于动粒^[30]。由于 mitosin 的表达随着细胞周期的转换而变化,这是否提示 Tax 还可能与 mitosin 竞争 ATF4,从而导致细胞功能的失调。

总之,由于 HTLV-1 基因组较小,因而 Tax 可

做为多功能的调节蛋白参与 HTLV-1 转化 T 细胞的各个过程及通路,使细胞周期调控的关键检查点失控,同时 Tax 还可协调细胞内的各个信号途径,最终使 T 细胞转化。

参 考 文 献

- [1] Hidaka, M. et al., 1988, *EMBO J.*, **7**:519.
- [2] Zhao, L. J. et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**: 7070.
- [3] Lemasson, E., et al., 1997, *J. Virol.*, **71**:1975.
- [4] Korber, B. et al., 1991, *J. Virol.*, **65**:5471.
- [5] Grassmann, R. et al., 1992, *J. Virol.*, **66**:4570.
- [6] Pozzatti, R., et al., 1990, *Mol. Cell. Biol.*, **10**:413.
- [7] Coscoy, L. et al., 1998, *Virology*, **248**:332.
- [8] Rosin, O. et al., 1998, *J. Biol. Chem.*, **273**:6698.
- [9] Lemasson, I. et al., 1998, *J. Biol. Chem.*, **273**:23598.
- [10] Schmitt, I. et al., 1998, *J. Virol.*, **72**:633.
- [11] Neuvent, C. et al., 1998, *Mol. Cell. Biol.*, **18**:3620.
- [12] Suzuki, T. et al., 1996, *EMBO J.*, **15**:1607.
- [13] Suzuki, T. et al., 1999, *Virology*, **259**(2):384.
- [14] Gottlieb, T. M. et al., 1996, *Biochem. Biophys. Acta.*, **1287**:77.
- [15] Nagai, H. et al., 1991, *Jpn. J. Cancer Res*, **82**:1421.
- [16] Reid, R. L., et al., 1993, *Oncogene*, **14**:3029.
- [17] Mulloy, J. C. et al., 1998, *J. Virol.*, **72**:8852.
- [18] Pise-Masison, C. A. et al., 2000, *AIDS Res Hum Retroviruses*, **16**(16):1669.
- [19] Akagi, T., et al., 1996, *Oncogene*, **12**:1645.
- [20] de La Fuente C. et al., 2000, *J. Virol.*, **74**(16):7270.
- [21] Mrozov, A., et al., 1997, *J. Virol.*, **71**:3451.
- [22] Los, M. et al., 1998, *J. Immunol.*, **161**:3050.
- [23] Chlichlia, K. et al., 1997, *J. Gen. Virol.*, **78**:3277.
- [24] wanaga, Y. et al., 1999, *J. Virol.*, **73**(2):1271.
- [25] Mayo, M. W. et al., 1997, *Science*, **278**:1812.
- [26] Taguchi, H. et al., 1993, *Cancer*, **71**:133.
- [27] Semmes, O. J., et al., 1996, *J. Virol.*, **70**:6347.
- [28] Jin, D. Y., et al., 1998, *Cell*, **93**:81.
- [29] Ballestas, M. E., et al., 1999, *Science*, **284**:641.
- [30] Zhu, X., et al., 1995, *Mol. Cell. Biol.*, **15**:5017.

植物液泡的形成及其功能

廖祥儒 陈 彤 刘小丽

(河北大学生命科学学院 保定 071002)

液泡是细胞内除线粒体和质体外的由膜所包围的泡状结构,早在 1844 年 Naegeli 就对植物细胞中的液泡进行了研究。实验证明,植物液泡膜系统由胞内生物合成和内吞作用两条途径共同形成。形成途径包括:(1)定位到液泡的一些蛋白质在分泌途径的早期要与运送到细胞表面的蛋白质分开;(2)由质膜获取原料的内吞作用;(3)液泡形成过程中的自我

吞噬作用;(4)直接由细胞质向液泡传递的过程^[1]。植物液泡的一些基本性质与海藻、酵母细胞的液泡以及动物细胞的溶酶体相同。它们可作为离子和代谢物的贮藏库,对细胞解毒和稳定内环境十分重要;参与细胞对环境及生物因素的应答反应;在植物的营养器官里,它们和细胞壁共同作用产生膨压,为细胞生长提供驱动力;在种子和其他特殊的贮藏组织