

Jak-STAT 信号传递途径

杨开勇 赵新燕 李昌本 赵寿元
(复旦大学遗传学研究所 上海 200433)

细胞因子是一类具有重要生物学功能的蛋白因子。它们是通过细胞表面的受体介导其生物学效应的。配体和受体蛋白结合，迅速导致与受体蛋白结合着的 Janus 酪氨酸激酶(Jak)的活化，同时触发信号传导和转录激活因子(Signal Transducer and Activator of Tran-

scription, STAT)的磷酸化。活化了的 STAT 自发地形成二聚体，转移入细胞核中，与目的基因的启动子结合，直接激活目的基因的表达(图 1)。许多细胞因子，如 IFN α/γ 、Epo、G-CSF、IL-6、CNTF 等均是该途径诱导细胞分裂、分化的。

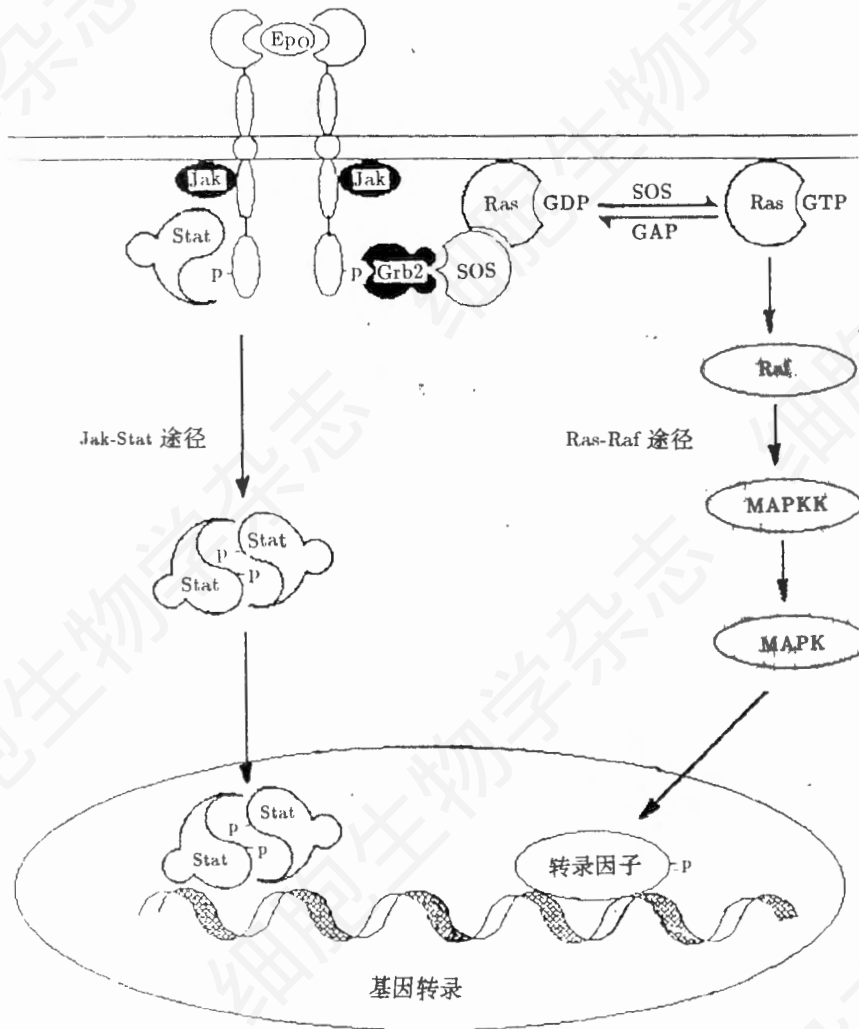


图 1 Jak-Stat 信号传递途径

一、细胞因子受体超家族

细胞因子受体是介导细胞因子生物学功能的第一个效应体。它们均从属于细胞因子受体超家族。该家族可分为 I 型、II 型两类：I 型受体包括 IL-2、IL-3、Epo、G-CSF、GM-CSF 等受体。受体的胞外部分含有四个保守的半胱氨酸和一个位于 C 端的 WSXWS 单元；II 型受体包括 IFN α/γ 、Tissue factor、Fibronectin type III 等受体。受体胞外部分 N 端、C 端各有数对半胱氨酸。两类受体的胞质区都无酪氨酸激酶催化活性，也无明显的同源性，只在近膜区有两段区域有一定的保守性，分别被命名为 Box 1、Box 2 单元。此外，受体的胞质区还含有非常重要的正、负调控区，控制信号传递的抑制和专一性。



图 2 Janus 蛋白酪氨酸激酶结构(引自 Ihle 等^[11])

*Domain 1、2 表示两个酪氨酸激酶结构域。A-E 为 N 端保守区域。

Jak 之间却有明显的同源性，估计它与不同受体介导的信号传递过程中蛋白质-蛋白质相互作用有关(图 2)。

在哺乳动物细胞中，已发现四种 Jak：Tyk 2、Jak 1、Jak 2、Jak 3，并已精确定位。其中 Tyk 2、Jak 1、Jak 2 几乎在所有的组织中表达，而 Jak 3 仅在髓样组织和淋巴样组织中表达。果蝇中仅发现一种 Jak 对应物：基因 hop 所编码的产物。Tumorous-lethal 是 hop 基因座位的一个显性致死突变。带有该突变的果蝇幼虫造血系统不能正常地扩增和分化，常在幼虫晚期或蛹阶段死亡。

人突变细胞系 11, 1 缺乏对 IFN α 的反应性。Velazquez 等^[9]将正常人基因组和标志基因 neo^r 导入 11, 1 细胞，获得一个带有 neo^r 的回复突变 D 3-1。构建 D 3-1 的 Cosmid 库，筛选 neo^r 邻近顺序，获得克隆 Cosmid 3 D，该克隆可逆转 11, 1 对 IFN α 的不敏感性。顺

二、Janus 激酶(Jak)：胞质蛋白酪氨酸激酶

细胞因子受体超家族本身并没有酪氨酸激酶活性。那么，它们又是怎样传递外界环境的刺激信号呢？近年来的研究表明一类被称为 Janus 激酶(Jak)的酪氨酸激酶参与了细胞因子受体超家族的信号传递过程。

Jak 非常奇特在于它含有两个激酶结构域：C 端结构域是完整的，含有所有与酪氨酸蛋白激酶相关的结构，并有催化活性；N 端结构域缺少几个与催化磷酸化反应密切相关的氨基酸，并丧失了酪氨酸激酶活性，该结构域的功能目前尚不清楚。Jak 的 N 端虽然与 scr 的 SH 2、SH 3 等结构域无相似之处，但不同的

序测定、数据库检索发现 Cosmid 3 D 包含蛋白酪氨酸激酶 Tyk 2 基因顺序。首次证实 Jak 介导了细胞因子结合信号和蛋白酪氨酸磷酸化。更多的事例来自对 Epo、GH、IL-3 等受体的研究。结果表明 Jak 在配基和受体结合后，诱导性地磷酸化和激活，随后又将受体和 STAT 磷酸化，将刺激信号传递到细胞核内。

Jak 在细胞内主要集中分布在细胞膜的内表面，多与各种细胞因子受体相结合。对单链受体，如 Epo、GH、G-CSF 等受体的缺失突变分析表明受体的胞质近膜区，包括 Box 1、Box 2 单元，是信号传递的正调控区，介导受体-Jak 的结合。该区的缺失将导致受体正常功能的丧失。IL-2、IL-3、IFN α/γ 等受体结构复杂，含有多个亚基，其中 gp 130 亚基是与 Jak 的结合所必须的，但 Jak 与受体的结合位点尚不明确。

Jak 的激活是信号传递的一个重要环节。

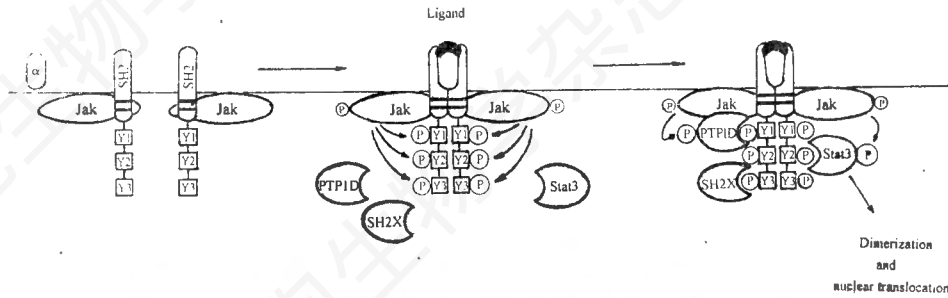


图3 IL-6刺激下细胞膜内表面发生的精细事件(引自 Stahl 等^[6])

(Jak 是通过受体胞质近膜区结合在受体上的。IL-6 和受体结合, 迅速导致受体胞质近膜区同源或异源二聚化, Jak 被牵引到足够近的距离, 相互磷酸化, 激活自身的蛋白酪氨酸激酶活性。活化了的 Jak 立刻将受体上某些特殊的酪氨酸磷酸化, 为 Stat 3、PTP 1 D 等含有 SH 2 的底物提供结合位点, 吸引它们结合到受体-Jak 复合物上来。活化了的 Stat 3 从受体-Jak 复合物上解离下来、二聚化, 转移入细胞核中, 激活目的基因的表达。)

配基结合导致受体胞质区聚集, Jak 被牵引到足够近的距离而相互磷酸化, 激活酪氨酸激酶活性(图 3)。该模型与受体酪氨酸激酶的活化相类似。

不同细胞因子所激活的 Jak 不尽相同(表 1)。在 Epo 刺激下, 细胞仅简单地激活 Jak 2; 而在 IFN α 刺激下, Jak 1、Tyk 2 同时被激活。当 Jak 1 缺失后, IFN α 刺激不能激活 Tyk 2。同样, 当 Tyk 2 缺失后, IFN α 刺激也不激活 Jak 1, 信号传递无法继续。暗示在 IFN α 刺激中, 两种 Jak 是必需的, Jak 1、Tyk 2 可能是以异源二聚体方式发挥作用。细胞因子的多样性以及 Jak 作用形式的多样性, 反映了该途径功能的多样性。

三、STAT: 信号传递和 转录激活因子

在 IFN α/β 刺激细胞后可诱导蛋白复合物 ISGF 3 (Interferon-stimulated gene factor 3) 形成, 移入细胞核, 与 ISRE (Interferon-stimulated response element) 结合, 并激活基因表达。复合物 ISGF 3 包含一个 48 KD 的 DNA 结合蛋白(p 48), 一个 113 KD 的蛋白(p 113)和一个 84/91 KD 的蛋白(p 84/91)。顺序分析表明 p 84/91 和 p 113 的氨基酸顺序

高度同源, 因此它们被归为一个新的蛋白家族: STAT。p 84/91 分别被命名为 STAT 1 α / β , 而 p 113 被命名为 STAT 2。它们介导了细胞因子信号传递过程中 Jak 的下游事件。

APRF(Acute phase response factor)是一种与 IL-6 反应元件(IL-6 response element)结合的转录因子。APRE (Acute phase response element) 与 GAS (Interferon γ activated site)极相似, 推测 APRF 与 STAT 结构和功能上有相似之处。1994 年, Akira 等^[16]从鼠肝、人胎盘 cDNA 库中分离到 APRF 的 cDNA 克隆, 序列分析发现 APRF 与 STAT 1 有 52.5% 的同源性。另外, APRF 的磷酸化、核转移行为与 STAT 1 类似, 故又称 STAT 3。

STAT 4 是 Yamamoto 等^[17]用 PCR 方法克隆的。它与 STAT 1 有 52% 的同源性。虽然正常生理状态下活化 STAT 4 的细胞因子尚未阐明, 但已证实 IL-12 可活化 STAT 4。与其他 STAT 不同的是, STAT 4 仅在髓样组织细胞、活化了的 T 细胞和精原细胞中表达。在精原细胞中, STAT 4 的表达与 jsd 基因相关, 猜测 STAT 4 和 jsd 基因是同一基因座位。但遗憾的是, 在 jsd 二倍体缺陷的小鼠中未见 STAT 4 的遗传缺陷。

STAT 1-4 高度同源。它们的重要结构参见图 4。STAT 的 C 端 SH 2 结构域最为保守,

表 1 不同细胞因子激活的 Jak 和 Stat—览表

配基		Jak				Stat			
		Tyr 2	Jak 1	Jak 2	Jak 3	Stat 1	Stat 2	Stat 3	Stat 4
IFN 家族	IFN α/β	+	+	-	-	+	+	+	-
	IFN γ	+	+	+	-	+	-	-	-
	IL-10	+	?	?	-	+	-	+	-
gp 130 家族	IL-6	+	+	+	?	+/-	-	+	-
	LIF	?	+	+	?	+/-	-	+	-
	G-CSF	?	+	?	?	+/-	-	+	-
	CNTF	+/-	+	+	?	+/-	-	+	-
	IL-12	+		+	?			+	+
gp 140 家族	IL-5	-	-	+	-				
	GM-CSF	-	-	+	-				
GH 家族	EPO	?	-	+	-	-	-	-	-
	GH	?	-	+	-	+/-	-	+	-
	PRL	?	-	+	-	+/-	-	+	-
受体酪氨酸激酶	EGF	?	+	+	?	+	-	+	-
	PDGF	?	+	+	?	+	-	+	-
	CSF-1	?	+	+	?	+	-	+	-

图 4 信号传递和转录激活因子(Stat)的结构(引自 Ihle 等^[1], 说明见正文)

核心顺序 GTFLLRFS-S 存在于所有的 STAT 中, 与 src 的 SH 2 完全一致, 并含有与磷酸酪氨酸直接相互作用的精氨酸残基。STAT 的另一区域类似 SH 3 结构域, 该区保守性较弱, 而且缺少几个形成脯氨酸结合口袋 (proline-binding pocket) 必需的氨基酸。在 STAT 上没有明显的 DNA 结合单元, 但 Qureshi 等^[4]用蛋白复合物 ISGF 3 γ 和 ISRE 所做的 UV 交联实验表明, p 48 和 ISRE 结合很强, 几乎和整个 ISRE 核心顺序都发生相互作用, 而 STAT 1、2 和 DNA 结合能力弱, 仅和核心顺序的部分核苷酸发生交联反应。

STAT 的转录活性是通过 Jak 磷酸化某些特殊的酪氨酸残基而被激活的。蛋白酪氨酸磷酸化是 STAT 和 DNA 形成复合物所必须的。

酪氨酸 Y⁷⁰¹ 是 STAT 1 的磷酸化位点, 酪氨酸 Y⁶⁹⁰ 是 STAT 2 的磷酸化位点。非磷酸化的 STAT 主要以单体形式存在, 磷酸化的 STAT 则以二聚体形式存在。酪氨酸 Y⁷⁰¹ (或酪氨酸 Y⁶⁹⁰)、SH 2 结构域的突变都会阻碍活性二聚体的形成。

除了酪氨酸磷酸化外, STAT 上还有许多丝氨酸、苏氨酸磷酸化位点, *in vivo* 和 *in vitro* 实验^[6]表明丝氨酸、苏氨酸磷酸化是 STAT-DNA 复合物的形成必不可少的, 抑制丝氨酸、苏氨酸磷酸化会消除 STAT-DNA 复合物的形成。Wen 等^[22,23]证实, STAT 1 727 位丝氨酸的磷酸化是维持 STAT 1 最大转录活性所必须的。细胞因子和膜表面的受体结合, 受体胞质部分远膜端以某种未知的方式激活 MAP kin-

ase, MAP Kinase 激活在诱导和保持 Ser⁷²⁷ 磷酸化起了重要作用,抑制 MAP kinase 活力同时抑制 IFN 的诱导效应。

四、Jak-STAT 途径 的专一性

不同的细胞因子刺激细胞,产生的反应是不同的。这种专一性取决于:(1)配体与受体专一性相互作用。(2)受体-Jak复合物的形成和 STAT 的专一性激活。(3)不同的细胞内,STAT 所激活的目的基因不同。

起初人们普遍认为 Jak 对底物 STAT 选择性激活是该途径专一性决定步骤,但事实否定了这一观点,在 COS 细胞(或昆虫细胞)中表达 Jak 和不同种的 STAT,结果说明 Jak 可激活任何一种 STAT。Jak 对底物无选择性。

相反,尽管通过不同的 Jak, CNTF 相关的细胞因子最终总是激活 STAT 3。另外,在 IFN γ 刺激下,STAT 1 的激活有赖于 IFN γ 受体上一个特殊的酪氨酸的磷酸化,带有这个酪氨酸及其周围顺序的磷酸化短肽可特异地抑制 STAT 1 的激活。这些事实暗示我们细胞因子受体的胞质区不仅含有 Jak 结合位点,还能选择性地结合 STAT,介导它们的激活。

当重组受体 EG(EGF 受体胞外、穿膜区与 gp 130 胞质区组成的杂合受体)缺失胞质第二个 Tyrosine-based motif 时,尽管 Jak 被激活,但 STAT 3 却无法磷酸化。将 gp 130 第五个 Tyrosine-based motif 加载到重组受体 TE (TrkC 受体胞外、穿膜区与 Epo 受体胞质区组成的杂合受体)的 C 末端,NT-3 刺激后,重组受体 TE 介导的是 STAT 3 的磷酸化,而不是正常的 STAT 1 的磷酸化。Stahl 等^[6]的结果充分说明了 STAT 只有在结合到受体-Jak 复合物上,方可活化,而且,受体胞质区的 Tyrosine-based motif 决定了 STAT 磷酸化的种类。

Heim 等^[5]将 STAT 1、STAT 2 的酪氨酸

磷酸化位点周围顺序互换,发现重组后的 STAT 的功能并不受到影响。当他们将 STAT 1、STAT 2 的 SH 2 结构域互换时,发现 STAT 2-(SH) 1 可被 IFN α 、 β/γ 激活,而 STAT 1-(SH) 2 只能被 IFN α 激活。表明 STAT 上的 SH 2 结构域在受体-Jak-STAT 复合物的形成以及随后的 STAT 的二聚化中起重要的选择作用。

总之,受体-Jak 复合物对底物 STAT 的选择激活是该途径专一性的主要来源。

五、磷酸脂酶—Jak-STAT 途径的负调控?

细胞的激活是受精密的调控的。当环境刺激信号消失,细胞激活状态受到抑制,逐渐恢复到刺激前的状况。

人们对 Jak-STAT 途径的负调控认识主要来自对血液因子 Epo、IL-3 等的研究。1993 年, Yi 等^[12]首先报道在 IL-3 刺激后,造血细胞磷酸脂酶 Hcp 与 IL-3 受体的 β 链结合,特异地将受体上的磷酸基团水解掉,抑制受体的活化。1995 年, Klingmuller 等^[11]以 Epo 受体为模型, Western blot 证实 SH-PTP 1(又称磷酸脂酶 Hcp) 是通过其自身的 SH 2 结构域与 Epo 受体的胞质区结合的。受刺激后 Epo 受体 Y⁴²⁹ 的磷酸化为 SH-PTP 1 提供了结合位点(图 5)。缺失了 Y⁴²⁹ 的 Epo 受体不能结合 SH-PTP 1,带有这种突变的细胞表现出 Epo 高度敏感性。Epo 刺激诱导的 Jak 2 的磷酸化程度大大增强,半衰期延长,细胞在低浓度的 Epo 中即可大量扩增。

信号传递过程的失控,对生物体往往是有害的,甚至是致命的。me、me^v 是鼠 Hcp 基因座位上的两个隐性突变, me/me、me^v/me^v 纯合个体的肺、脾等器官受到大量巨噬细胞、粒细胞的浸润,并患有严重的自身免疫病,常于出生后 3—9 周内死亡。

自 60 年代以来,芬兰血液学家一直为 Ma-

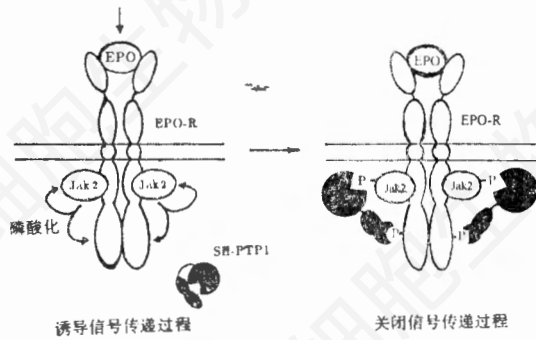


图5 SH-PTP1关闭Epo信号传递途径

(引自Klingmuller等^[11])

(Epo与受体结合,导致Jak2自身的磷酸化和激活。活化了的Jak2再将Epo受体上某些特殊的酪氨酸磷酸化。其中,磷酸化的Tyr 429为SH-PTP1提供结合位点,吸引SH-PTP1结合到受体复合物上,并诱导其磷酸脂酶活力。激活了的SH-PTP1再迅速将Jak2的磷酸基团水解,使其恢复到Epo刺激前的水平。)

entyranta 家族感到困惑。该家族患有常染色体显性良性红细胞增多症(Autosomal Dominant Benign Erythrocytosis),主要表现是血液中含有高浓度的红细胞。患者精力过于充沛。该家族最杰出的成员 Eero Maentyranta 在1964年冬季奥运会上连获三枚金牌。尽管 de la Chapelle 等^[10]于1993年便报道他们的研究,但是,直到今年Klingmuller等^[11]发表他们的研究成果,此谜才得以揭开。Maentyranta 家族患者的Epo受体基因6002位核苷酸发生一个突变G→A,导致Epo-R翻译时被截短了70个氨基酸,刚好缺失了SH-PTP1的结合位点,细胞负调控失效,患者造血机能大大高于正常人。这是第一例经透彻阐明的有助于体育运动的突变。

六、展 望

尽管我们已经绘制了Jak-STAT介导的信号传导途径的轮廓,但还有许多问题有待于进一步的阐明。

细胞内有多条信号传递途径。Ras-raf途径是其中之一,它介导受体酪氨酸激酶的信号传递。许多细胞因子刺激反应与ras-raf途径

的激活相关,包括SHC的酪氨酸磷酸化等,这需要Epo、IL-3受体β链的远膜端。暗示了Jak对受体的磷酸化可能为SHC提供了结合位点。但随后的SHC的磷酸化是否由Jak介导仍是个问题。

除了前述几种细胞因子外,EGF、PDGF、CSF等均有报道能激活STAT3、STAT2、EGF受体是一种受体酪氨酸激酶,STAT1等直接和它们结合,在EGF与EGF受体结合过程中被磷酸化而激活。目前还不清楚这种STAT激活在生理上的作用。希望在不久的将来能得到答案。

参 考 文 献

- [1] Ihle, J. N. et al., 1995, *TIG*, 11: 69—74.
- [2] Darnell, J. E. et al., 1994, *Science*, 264: 1415—1421.
- [3] Velazquez, L. et al., 1992, *Cell*, 70: 313—322.
- [4] Quershi, S. A. et al., 1995, *P. N. A. S.*, 92: 3829—3833.
- [5] Heim, M. H. et al., 1995, *Science*, 267: 1347—1349.
- [6] Stahl, N. et al., 1995, *Science*, 267: 1349—1353.
- [7] Bazan, J. F. 1990, *Cell*, 61: 753—754.
- [8] Bazan, J. F. 1990, *P. N. A. S.*, 87: 6934—6938.
- [9] Zhang, X. et al., 1995, *Science*, 267: 1990—1994.
- [10] de la chapelle, A. et al., 1993, *P.N.A. S.*, 90: 4495—4499.
- [11] Klingmuller, U. et al., 1995, *Cell*, 80: 729—738.
- [12] Shultz, L. et al., 1993, *Cell*, 73: 1145—1154.
- [13] Yi, T et al., 1993, *Mol. & Cell. Bio.*, 13: 7577—7586.
- [14] D'Andrea, A. D. et al., 1991, *Mol. & Cell. Bio.*, 11: 1980—1987.
- [15] Witthuhn, B. A. et al., 1993, *Cell*, 74: 227—236.
- [16] Akir, S. et al., 1994, *Cell*, 77: 63—71.
- [17] Yamamoto, K. et al., 1994, *Mol. & Cell. Bio.*, 14: 4342—4349.
- [18] Greenland, A. C. et al., 1994, *EMBO. J.*, 13: 1591,

- [19] Wakao, H. et al., 1994, *EMBO J*, 13: 2182—2191.
- [20] Hou, J. et al., 1994, *Science*, 265: 1701—1706.
- [21] Schindler, C. et al., 1995, *Annu. Rev. Biochem.*, 64: 621—659.
- [22] David, M. et al., 1995, *Science*, 269: 1721—1723.
- [23] Wen, Z. et al., 1995, *Cell*, 82: 241—250.

果蝇体细胞的性别决定

俞慧 赵德标

(中国科学院上海细胞生物研究所 200031)

对两性生物体而言,一个基本的发育分化是对性别的决定,或成为雌性,或成为雄性。这不仅是个体正常发育、生存不可缺少的一环,也是种族繁衍得以延续的物质基础。雌性和雄性在形态、生理和行为的许多特征及基因产物上都有很大的差异,然而它们的遗传信息的绝大部分却是一致的。因此性别发育是一个有关分化的基因调控事件,是对两套可轮换的遗传程序之一的精确决定和执行。近年来,随着不同的果蝇性别决定基因相继被发现,果蝇性别分化的调控机制也逐渐被揭示^[1-5]。

本世纪初,一系列遗传学实验的结果导致了“果蝇的性别由X染色体和常染色体套数的比率(X:A)决定”这一重要概念的确立^[6]。果蝇的Y染色体在性别决定中没有作用,仅凭X染色体的绝对数量也不意味着性别模式的确定。X:A的比值才形成了最初的个体性别决定信号,即 $X:A \geq 1.0$ 是雌性, $X:A \leq 0.5$ 为雄性,而 $0.5 < X:A < 1.0$ 则成间性。

由X:A信号启动的果蝇性别决定包括三个不同的性别特化过程:(1)体细胞的性别分化;(2)生殖细胞的性别决定;(3)剂量补偿,平衡雌雄两性的X-连锁基因产物的数量。这三个过程有着各自的调控体系。

在体细胞性别决定体系中,X:A比例信号是通过sexlethal(简称Sxl)基因起作用的。Sxl基因有早期和晚期两个启动子。早期启动子P_E仅在胚胎发育极早期的瞬间转录过程中

起作用,此阶段的调控是在转录水平^[7];只在雌性胚胎中P_E才被激活,而雄性中的P_E处于非活性状态,不能形成早期的SXL蛋白,所以Sxl基因早期的转录和表达图式均为雌性专一。当来自P_E的转录停止后,晚期启动子P_L就被激活。晚期的转录子产生后,Sxl就进入RNA剪切水平的调控。P_L位于P_E上游5Kb处,在两种性别中均被激活,并贯穿于其后的发育过程,呈组成型的转录图式。但SXL蛋白的表达图式却始终始终是雌性专一的,只在雌性中,P_L的转录物才被剪切成可编码有功能的SXL蛋白的mRNA,由一个包括SXL蛋白(早期或晚期)的正反馈作用在内的自动调节机制所控制^[8]。故Sxl基因在雌性模式中处于功能状态,而在雄性模式中则是非功能状态。

X:A信号首先直接作用于Sxl基因的P_E启动子,在雌性胚胎中启动Sxl的早期转录。对体细胞及其相应的剂量补偿过程来说,一旦这个遗传开关被确定,就不可逆地进入雌性或雄性发育模式,不再依赖于X:A比值的存在。

一、Sxl的激活

受精后果蝇的合子核通过12—13次快速的核分裂,而细胞质不分裂,形成了一个合胞体囊胚。开始的7次分裂发生在卵内部,随分裂的进行,产生的核沿卵中心向两极的区域内均匀分布。第九次分裂以后,其中一部分核迁移到卵表层,另外一部分留在卵黄区,成为