

- Current Problem in Germ differentiation (ed. A McLaren and Wylie C C). Cambridge University Press, p 115-135.
- [28] Eddy, E. M., Clack, J. M., Gong, D., et al., 1981, *Gamete Res.*, 4:333-362.
- [29] Dolci, S., Pesce, M. and De Felici, M., 1993, *Mol. Reprod. Dev.*, 35:134-139.
- [30] Wahl, S. M. Hunt, O. A., Wakefield, et al., 1987, *Proc. Natn. Acad. Sci. USA*, 84:5788-5792.
- [31] Postlethwait, A. E., Keshi-Ozaj, Moses, H. L., et al., 1987, *J. Exp. Med.* 165: 251-256.

c-Myc 和细胞凋亡

黄行许 朴英杰 霍霞

(第一军医大学中心实验室 广州 510515)

c-Myc 是细胞原癌基因 c-myc 的转录产物。研究表明,作为一种原癌蛋白,c-Myc 起到推进细胞周期,促使细胞转化,抑制细胞分化的作用^[1]。c-Myc 通常和细胞内其他蛋白质结合,其中最主要的是 Max,c-Myc 和 Max 形成异二聚体后再和 DNA 核心序列结合,控制 DNA 转录,从而发挥 c-Myc 作用^[2]。

细胞凋亡也叫细胞程序性死亡。细胞凋亡时呈现特征性的形态学和生化性状改变,凋亡细胞染色质浓缩,核质裂解,胞体皱缩,胞膜完整,最后形成很多凋亡小体。琼脂糖电泳凋亡细胞的 DNA 呈现梯状条带^[3]。引起细胞凋亡的原因有 T 细胞表面受体激活,可的松类处理,除去细胞生长因子,电离辐射,某些药物作用,一些原癌基因表达增强等^[4-6]。Askew 等人已经证实,细胞内一些常与细胞增殖相关的蛋白质过表达或以其它不当的方式表达时,诱导细胞发生凋亡,c-Myc 即属此类蛋白质^[7-9]。

一、c-Myc 诱导细胞凋亡

Askew 等人在实验中发现,IL-3 依赖的 32D.3 细胞在除去 IL-3 时,细胞负调其 c-Myc 表达,最后通过凋亡的方式死亡^[7]。在正常培养条件且 IL-3 存在时,增强 c-Myc 的表达对细胞生长无影响,然而,在缺乏 IL-3 时,增强 c-Myc 的表达则显著加快细胞死亡。这种 c-Myc 引起的细胞死亡呈现典型的凋亡特征^[7]。随后,E-

van 在成纤维细胞 Rat1^[8],Bissonnette 等人在 CHO 细胞^[9],发现了 c-Myc 诱导细胞凋亡。Wyllie 及其同事也曾经证实转染 c-myc 的成纤维瘤细胞比转染 ras 的成纤维瘤细胞更易发生凋亡^[10]。后来注意到,在其他几种细胞内,c-Myc 表达增强也引起细胞凋亡。如在 BL 细胞的条件培养液中除去异亮氨酸导致 BL 细胞的 c-Myc 表达增强,或通过胸苷的阻断作用使 REFs 细胞的 c-Myc 表达增强^[8],均可最后诱使细胞凋亡。Kimura 等人还发现,运用反义寡聚核苷酸改变 HL-60 细胞内 c-Myc 的表达可增强诱导剂对 HL-60 细胞凋亡的诱导作用^[11]。早期的研究表明,c-Myc 诱导细胞凋亡是由于 c-Myc 的不当表达引起的^[1,9]。

二、c-Myc 诱导细胞凋亡的特点

不当的 c-Myc 表达可诱导细胞凋亡,但 c-Myc 诱导细胞凋亡是条件性的,表现出其特点。

1. c-Myc 诱导细胞凋亡的细胞类型特异性

研究表明,c-Myc 诱导细胞凋亡现象出现于不同种类细胞,Evan 等人在成纤维细胞^[8],Bissonnette 等人在 CHO 细胞^[9],发现 c-Myc 诱导细胞凋亡。而 Green 等人发现 c-Myc 诱导淋巴细胞的凋亡^[12],更多的人报道,瘤细胞常发生 c-Myc 诱导细胞凋亡的现象。

2. 引起 c-Myc 诱导细胞凋亡的刺激的特异性

不但 c-Myc 诱导不同类型的细胞发生凋亡,而且引起不同细胞发生 c-Myc 诱导细胞凋亡现象的因素也是各种各样,造成 BL 细胞被 c-Myc 诱导凋亡的原因是 BL 细胞的条件培养液中缺乏异亮氨酸。胸苷的阻断作用使 REFs 细胞的 c-Myc 表达增强,从而发生凋亡^[8]。糖皮质激素处理淋巴瘤细胞使得瘤细胞的 c-Myc 转录快速下调而引起凋亡^[13]。淋巴细胞 TCR 的配基诱导淋巴细胞 c-Myc 表达增强导致淋巴细胞凋亡^[14]。这些都说明引起 c-Myc 诱导细胞凋亡的刺激存在特异性。

3. 发生 c-Myc 诱导细胞凋亡的细胞生长条件的特异性

Gibson 等人发现在实验中发现,以低细胞密度培养在含低浓度(0.1%)血清的培养基中的 CHO 细胞的内源性 c-myc 表达引起 CHO 细胞凋亡。但是,当这类 CHO 细胞培养在血清浓度更高的培养基中,或者当这类 CHO 细胞以中等或高细胞密度培养在含低浓度(0.1%)血清的培养基时,尽管 CHO 细胞内的 c-Myc 增多,CHO 细胞的凋亡却没有增加,这一研究结果表明了细胞的生长条件影响其发生 c-Myc 诱导细胞凋亡的现象^[15]。

4. c-Myc 诱导的细胞凋亡可发生在细胞周期的不同阶段

c-Myc 是细胞周期的正调物,一些细胞需要 c-Myc 的作用才能完成细胞周期,c-Myc 在细胞周期的不同阶段都有调节作用。White 报道,c-Myc 诱导的细胞凋亡可发生在细胞周期的不同阶段^[16]。Harrington 也观察到 c-Myc 诱导的成纤维细胞凋亡发生在细胞周期的不同时期^[17]。另外,c-Myc 诱导的细胞凋亡和 c-Myc 表达的量相关^[7]。

三、c-Myc 在细胞凋亡中的作用

常理 c-Myc 既能够促进细胞的生长增殖,诱导细胞凋亡,也能在某些刺激作用下诱导细胞凋

亡。Shi 等人利用经 CD3/TCR 激活的 A1.1T 杂交瘤细胞证实了 c-Myc 在细胞凋亡中的一种作用^[18]。成熟和未成熟 T 细胞凋亡时内源性 c-Myc 被诱导表达^[14],CD3/TCR 激活的 A1.1T 杂交瘤细胞的凋亡被 c-Myc 特异性的反义寡聚核苷酸抑制^[18]。这些都说明了在诱导这些细胞凋亡时需要内源性 c-Myc 的表达,从而也说明 c-Myc 介导细胞凋亡。后来,在观察 TNF 诱导的 HeLa 细胞凋亡时也看到了相似的结果^[19]。

然而,并不是各种形式的凋亡都依赖 c-Myc 的作用。例如,地塞米松诱导的 A1.1 细胞的凋亡并不被 c-myc 特异性的反义寡聚核苷酸阻断^[18]。而且,尽管 c-Myc 作用可加速 32D.3 细胞凋亡,但 32D.3 父本细胞的 c-Myc 表达下调后仍发生凋亡^[20]。因而,c-Myc 并不是凋亡必不可少的介导体。Williams 等人也提出,并不是所有凋亡都需要有 c-Myc 存在^[6]。根据推测,c-Myc 或 N-Myc 缺失均可使孕鼠死于胎中。可是,c-Myc 缺失和 N-Myc 缺失的鼠胚分别发育到了 10.5 日龄和 12.5 日龄,这说明在不存在 c-Myc 条件下,发育过程中仍发生细胞凋亡^[21]。但也有人提出这是两种鼠胚缺乏发生 Myc 依赖性细胞凋亡能力的缘故。

c-Myc 在肿瘤细胞的凋亡中的作用也非常显著,最明显的是,c-Myc 量的改变或结构的改变能调节 c-Myc 介导的肿瘤细胞凋亡。已经证实,BL 细胞的 c-myc 基因发生点突变可影响 c-Myc 的作用^[22]。现有的实验结果反映了 c-Myc 在 c-Myc 依赖性细胞凋亡中起介导作用。但有些细胞凋亡时并不都需要 c-Myc,因而,有人认为,与其说 c-Myc 是细胞凋亡的介导体,不如说它是细胞凋亡发生的导火索。

四、c-Myc 诱导细胞凋亡的机制

c-Myc 通常和细胞内 Max 结合形成异二聚体,异二聚体和 DNA 核心序列结合控制 DNA 转录,从而发挥 c-Myc 作用^[7]。Bischoff 发现,异二聚体 c-Myc+Max 作为转录调

控物可能通过控制诱导凋亡所需要的转录而对 c-Myc 诱导的细胞凋亡进行调控^[23]。现在已经知道的由 c-Myc 诱导的基因有一种是 ODC(鸟苷酸脱羧酶)基因。Packham 发现 ODC 基因的表达象 c-Myc 一样诱导凋亡,使用 ODC 活性抑制剂 DFMO 可降低 c-Myc 诱导细胞凋亡的活度。但是,ODC 诱导凋亡的作用没有 c-Myc 大,DFMO 也只是部分地抑制 c-Myc 诱导凋亡的作用,这就表明 c-Myc 诱导凋亡的途径有些是非 ODC 依赖性的^[24]。

近来有报道,c-Myc 诱导的成纤维细胞凋亡需要 p53,并且和 p53 的稳定性相关^[25]。可是这种作用可能是细胞类型特异性的,因为 c-Myc 能加速 M1 白细胞的凋亡,这类细胞过表达和 p53 结合并使之失活的 E1B55K 后,不能改变 c-Myc 诱导成纤维细胞凋亡^[26]。还有人发现,c-Myc 诱导的 32D. 3 髓样细胞凋亡和其增高的 p53 水平不相关。更重要的是,c-Myc 介导的成纤维细胞凋亡过程中发生的 p53 水平升高是通过转录后机制实现的^[25]。所有这些说明 p53 不受 c-Myc 的直接影响。

研究发现,c-Myc 诱导的细胞凋亡,以及其它因素引起的凋亡可被抗氧化剂和 Bcl-2 抑制,而且 Bcl-2 也具有抗氧化特性。因而,ROS(活性氧)或某些活性氧产物可能是许多种凋亡的共同介导者。例如,可能是由于 ROS 损伤细胞的某些关键成分或细胞内可能存在的 ROS 感受器的激活诱发了细胞凋亡。抗氧化剂的作用也可能是通过影响胞内环境氧化还原状态,而不是直接作用于 ROS 实现的。Lennon 等人^[27]的观察结果也表明可能是胞内氧化还原状态的改变,而不是 ROS 本身介导凋亡的发生。以上所述表明,c-Myc 可能进一步促进除去生长因子后,髓细胞中可能已发生的胞内氧化还原环境的改变或 ROS 的增加,从而加速细胞凋亡。

为了进一步阐述 c-Myc 诱导凋亡的机理,我们提出了解释 c-Myc 诱导凋亡的两种模型,即“矛盾模型”(‘Conflict’ model)和“双重信号

模型”(‘Dual signal’ model)^[28]。

“矛盾模型”认为,在生长抑制条件下,不当的 c-Myc 表达使得对正常细胞循环的调控失衡^[7,8]。这样,c-Myc 传导的增殖强化信号和除去配体或加入生长抑制因子传导的负调信号整合,形成细胞生长信号之间的矛盾,细胞对此非常敏感,容易受这种生长信号之间的矛盾影响而发生凋亡。在使生长周期停止的生长抑制因子作用后,c-Myc 诱导成纤维细胞凋亡的现象^[8]和“矛盾模型”相似。

“双重信号模型”认为,细胞凋亡是 c-Myc 表达的正常结果。除去生长因子时 c-Myc 诱导细胞凋亡并非因为生长信号之间出现的矛盾,而是 c-Myc 在除去生长因子的条件下发挥正常作用的表现,c-Myc 诱导细胞凋亡可能通过 c-Myc 促进细胞周期的途径进行,也可能和 c-Myc 促进细胞周期的功能不相关^[28]。Packham 所述的 c-Myc 诱导的凋亡通过 ODC 介导的途径^[25]和“双重信号模型”相等。

利用“矛盾模型”和“双重信号模型”,人们不仅对 c-Myc 诱导凋亡作了解释,还对 c-Myc 存在时生长因子作用的机理作了新的解释。根据“矛盾模型”,生长因子是通过防止 c-Myc 引起的生长信号失衡而发挥作用。而“双重信号模型”认为,生长因子可直接抑制凋亡发生。

五、结 束 语

综上所述,原癌蛋白 c-Myc 既可推进细胞周期,促使细胞转化,抑制细胞分化,又可介导细胞凋亡的发生。了解 c-Myc 所具有的这些相互矛盾的功能有利于我们探讨癌细胞和正常细胞的生长规律。但是,c-Myc 介导的凋亡是否仅仅是 c-Myc 不当表达的偶然结果? 或者是否 c-Myc 介导凋亡的发生是由于机体的自我保护装置失灵,不能除去带有激活 c-Myc 的细胞的缘故? 这些有关 c-Myc 介导细胞凋亡的确切机制问题仍有待于进一步探讨。

c-myc 的表达产物 c-Myc 可诱导细胞调

亡。c-Myc 诱导的细胞凋亡发生在细胞周期的不同时期,并与细胞的种类、细胞的生长条件以及引起 c-Myc 不当表达的原因等相关。c-Myc 起介导凋亡的作用,可能主要影响凋亡的启动。c-Myc 先和 Max 结合形成异二聚体 Myc-Max,再经 Myc-Max 和 DNA 结合控制诱导凋亡所需要的转录而对凋亡进行调控。c-Myc 诱导凋亡的方式有“矛盾模型”和“双重信号模型”。另外,还受 p53 和 ROS 等的影响。

参 考 文 献

- [1] Spencer, C. A. and Groudine, M., 1991, *Adv. Cancer. Res.*, **56**:1.
- [2] Kretzner, L., Blackwood, E. M. and Eisenman, R. N., 1992, *Nature*, **359**:426.
- [3] Cohen, J., 1991, *Adv. Immunol.*, **50**:55.
- [4] Collins, M. K. L. and Rivas, A. L., 1993, *Trends. Biochem. Sci.*, **18**:307.
- [5] Schwartz, L. M. and Osberne, B. A., 1993, *Immunol. Today*, **14**:582.
- [6] Williams, G. T. and Smith, C. A., 1991, *Cell*, **74**:777.
- [7] Askew, D. S., Bossone, S. A. and Patel, A. J., 1992, *Oncogene*, **6**:1915.
- [8] Evan, G. I., Wyllie, A. H., Gilbert, C. S., et al., 1992, *Cell*, **69**:119.
- [9] Bissonnette, R. P., Echeverri, F., Mahboubi, A., et al., 1992, *Nature*, **359**:552.
- [10] Wyllie, A. H., Rose, K. A., Morris, R. G., et al., 1987, *Br. J. Cancer*, **56**:251.
- [11] Kimmura, S., et al., 1995, *Cancer Res.*, **55** (6):1379.
- [12] Green, D. R. and Scott, D. W., 1994, *Curr. Opin. Immunol.*, **6**:476.
- [13] Thompson, E. B., Nazareth, L. V., Thulasi, R., et al., 1992, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **41**:273.
- [14] Reigel, J. S., Richie, E. R. and Allison, J. P., 1990, *J. Immunol.*, **144**:3611.
- [15] Gibson, A. W., Cheng, T. and Johnston, R. N., 1995, *Exp. Cell Res.*, **218**(1):351.
- [16] White, E., 1993, *Genes Dev.*, **7**:2277.
- [17] Harrington, E. A., Bennett, M. R., Fanidi, A., et al., 1994, *EMBO J.*, **14**:3286.
- [18] Shi, Y., Bissonnette, R. P., Glynn, J. M., et al., 1992, *Science*, **257**:212.
- [19] Reiner, V. J., Lee, F. H. H. and Porter, A. G., *Mol. Cell Biol.*, **14**:5661.
- [20] Cleveland, J. L., Askew, D. S. and Packham, G. P., 1994, *Cancer Bul.*, **46**:167.
- [21] Davis, A. C., Wims, M., Spotts, G. D., et al., 1993, *Genes Dev.*, **7**:671.
- [22] Gu, W., Bhatia, K., Magrath, I. T., et al., 1994, *Science*, **264**:251.
- [23] Bissonnette, R. P., McGahon, A., Mahboubi, A., et al., 1994, *J. Exp. Med.*, **180** (6):2413.
- [24] Packham, G., and Cleveland, J. L., 1994, *Mol. Cell. Biol.*, **14**:5741.
- [25] Wagner, A. J., Small, M. B. and Hay, N., 1993, *Mol. Cell. Biol.*, **13**:2432.
- [26] Lotem, J. and Sachs, L., 1994, *Cell Growth Diff.*, **4**:1047.
- [27] Lennon, S. V., Martin, S. J. and Cotter, T. G., 1990, *Cell Prolif.*, **24**:203.
- [28] Evan, G. I. and Littlewood, T. D., 1994, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **3**:44.

促血小板生成素受体——原癌基因 c-Mpl 蛋白的研究进展

赵新燕 杨开勇

(复旦大学遗传学研究所遗传工程国家重点实验室 上海 200433)

促血小板生成素(thrombopoietin, TPO), 或巨核细胞生长发育因子(megakaryocyte growth and development factor, MGDF)是一分子量为 60 KD 左右的糖蛋白。它是促进造血干细胞生长、增殖和分化为巨核细胞和血小板的主要生长因子^[1]。IL-3 或 KL(c-Kit 配体或

称 SCF——干细胞生长因子)可能启动该进程中的早期事件,而 TPO 则促使该进程的最终完成,包括诱导核内有丝分裂、胞质扩展(cytoplasmic expansion)、膜成熟、血小板释放等。小

本文经赵寿元教授和李昌本教授审校,在此谨表谢意。