

# 干扰素的分子遗传学和细胞生物学

杨吉成 郝蕴兰\*

(苏州医学院微生物学教研室)

自1957年Isaacs和Lindenmann发现干扰素(IFN)以来,人们很快地认识到IFN是由脊椎动物有核细胞IFN基因在受到病毒、丝裂原等外源性因子的刺激时所产生的一种蛋白质,现已发现它们有抗病毒,抗肿瘤和免疫调节作用。本文主要论述有关干扰素系统的分子遗传学和细胞生物学的新进展<sup>[1,2]</sup>。

## 一、IFN的遗传学

IFN基因分子克隆技术的发展和IFN基因序列的研究成果,推动了IFN系统遗传学研究的发展<sup>[3]</sup>,人类IFN(HuIFN)根据血清学和理化特性已确定出三种类型,即 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ ,其中IFN- $\gamma$ 只有1个基因位点,IFN- $\beta$ 有1个或2个,但IFN- $\alpha$ 基因至少有23个不同位点,其中有15个是功能基因。大部分IFN- $\alpha$ 基因约有90%的同源核苷酸序列<sup>[1]</sup>。最近发现一个功能性的IFN- $\alpha$ 基因,它与其它IFN- $\alpha$ 基因亲缘关系远,它的基因产物含有较多的氨基酸,该基因与牛的IFN- $\alpha$ 基因密切相关<sup>[1]</sup>。

近年来还创造了按照人们设计需要的自然界中没有的IFN类型,称为新型IFN,它主要包括采用点突变技术使IFN中某个或某几个氨基酸发生改变而被其他氨基酸取代的IFN类似物(analogues)和把来自不同类型(或亚型)的nIFN部分基因拼接而成的“IFN杂合体”(IFNhybrids)如IFN- $\beta$ · $\alpha$ <sub>17</sub>类似物,IFN- $\alpha$ <sub>1</sub>/ $\alpha$ <sub>2</sub>和IFN $\alpha$ <sub>2</sub>/ $\alpha$ <sub>1</sub>杂合体等<sup>[4]</sup>。

HuIFN- $\alpha$ 、 $\beta$ 基因位于第9号染色体上,无内含子,IFN- $\gamma$ 基因位于第12号染色体上,有3个内含子,IFN基因结构是由5'端非编码区,分泌信号肽编码区,IFN多肽编码区和

3'端非编码区组成。HuIFN- $\alpha$ 、 $\beta$ 基因5'端非编码区有4个保守区:TATA序列在-24~-26至-31~-32之间,CTCTGAA保守区在-51~-57之间,Benoist一致区在-85~-90至-93~-98之间,远离转录区的保守区在-105~-114至-114~-125之间,后者与诱导蛋白有关。信号肽在HuIFN- $\alpha$ 有23个氨基酸;HuIFN- $\beta$ 、 $\gamma$ 分别为21个,20个。信号肽能将IFN前体与细胞膜结合,然后被切割,成熟的IFN即可分泌到胞外。HuIFN- $\alpha$ 、 $\gamma$ 的信号肽切割点均在G-C之间,在此切割点前有相同的3个氨基酸长的序列:S-L-G;而HuIFN- $\beta$ 信号肽是在S-M之间切开的。关于结构基因,HuIFN- $\alpha$ 基因编码165~167个氨基酸,为单体,无糖基化, $\beta$ 基因编码166个氨基酸,为二聚体, $\gamma$ 基因编码143个氨基酸为四或三聚体,后二者均被糖基化。在3'端非编码区,多聚(A)前,25~35核苷酸处有AATAAA或ATTAAA序列,这与多聚腺苷酸的形成有关<sup>[5]</sup>。

## 二、IFN基因表达的调控

有人认为IFN基因对于研究真核细胞基因表达及其调节作用是一个有用的工具。理由为:①IFN是一个高活性分子,其基因产物易在生物试验中测出pg量;②可用许多种细胞类型来进行表达;③这种表达往往随细胞种类和诱导剂不同而产生不同类型的IFN。它们的染色体基因已被克隆化了。这个基因族内有广

\* 苏州市妇幼保健院。

本文经苏州医学院微生物教研室徐鸿贞同志审阅,特此致谢。

泛的同源性,因此该族内某个基因的可诱导性或表达的差异可能是来自这些基因内部或侧翼的DNA中的特定核苷酸序列或结构特性<sup>[1,6]</sup>。

IFN基因表达的调节作用可能发生在不同的环节,产生IFN的数量和类型可能是由诱导信号,诱导后基因转录效率,mRNA的稳定性和翻译效率所决定的。合成后的IFN能否分泌到胞外起作用,又可能与成熟的IFN蛋白的加工和在胞内的运输有关<sup>[6]</sup>。人和鼠IFN- $\alpha$ 基因的5'末端开始的200个核苷酸的同源性可达75%,这可能与含有调节及控制基因表达和诱导能力的相同序列有关。

用病毒及双股RNA可诱导IFN- $\alpha$ 和 $\beta$ ,一般来讲,IFN- $\alpha$ 在白细胞中诱导最有效,IFN- $\beta$ 在成纤维细胞和上皮细胞中诱导最有效;丝裂原和特异性抗原能刺激T细胞或NK细胞产生IFN- $\gamma$ <sup>[6,7]</sup>。然而不同的细胞类型产生IFN的量是不同的。通常静止细胞比分裂细胞产生的量多<sup>[6]</sup>。

IFN- $\alpha$ 和IFN- $\beta$ 基因转录速率随细胞类型而各异。若用丁酸钠或5-溴脱氧尿嘧啶核苷Br-du处理细胞可促进这种转录<sup>[6]</sup>。杨吉成等<sup>[8-10]</sup>用刺五加多糖、羧甲基淀粉钠、银耳多糖、羧甲基茯苓多糖等处理细胞也可提高及诱导细胞合成IFN的产量,为理想的干扰素促诱生剂。这些研究提示IFN- $\alpha$ 、 $\beta$ 的诱生是由于转录的活性高于所增加的IFN-mRNA稳定性之故。转录起始于特殊的成帽部位,但可能是由5'端序列或许是117bp(IFN- $\alpha$ )或77bp(IFN- $\beta$ )来完成<sup>[6]</sup>。在成纤维细胞中IFN- $\beta$ 诱生动力学结果表明,IFN- $\beta$ 是在诱导后的几小时内合成的,然后IFN- $\beta$ 水平很快下降。原因是在IFN- $\beta$ 合成过程中,尽管IFN- $\beta$ mRNA转录速率不会降低,但由于IFN- $\beta$ mRNA的降解作用快,故使IFN- $\beta$ 合成水平很快下降<sup>[1,6]</sup>。

### 三、IFN对细胞的作用

#### 1. IFN处理细胞的抗病毒状态

IFN的抗病毒作用是极其有效的,在体外

3pgIFN就能使100万成纤维细胞抵抗病毒感染,IFN对病毒的敏感性随宿主细胞类型、病毒种类及IFN类型的不同而异。

IFN发挥作用首先要与细胞膜上具有高亲和力的受体结合,每个细胞膜上大约有 $10^2 \sim 10^4$ 个受体,IFN- $\alpha$ 、 $\beta$ 共用一个受体,IFN- $\gamma$ 用另一个受体,IFN以 $10^{-10} \sim 10^{-11}$ M的表面结合常数与受体发生结合,由IFN受体复合物经内化作用(internalization)等机理刺激细胞,使细胞内mRNA和蛋白质合成模式发生改变(仅5分钟),至少可增加或新表达12种(有时可达100种)mRNA和蛋白质<sup>[1,11,12]</sup>。

IFN在抗病毒作用中,可诱导细胞产生两种依赖dsRNA的酶,即2',5'寡腺苷酸合成酶(2-5A合成酶)和蛋白激酶<sup>[13-15]</sup>。此蛋白激酶是一个110kDa的复合物,具有能与ATP结合的两个亚基,其中一个亚基为4.8kDa,在dsRNA存在条件下,能使另一个68(p68)kDa亚基蛋白磷酸化,而导致蛋白激酶活化。这种活化的蛋白激酶能使蛋白质合成启动因子eIF-2的 $\alpha$ 亚基或牛胸腺组蛋白磷酸化,可使病毒蛋白质合成受抑。2-5A合成酶可使ATP中的腺苷酸形成2',5'寡腺苷酸,这些寡腺苷酸可激活胞内潜在的核酸内切酶,降解病毒的mRNA和核蛋白体中RNA<sup>[15]</sup>。如在脑心肌炎病毒感染的L细胞或HeLa细胞,呼肠病毒感染的HeLa细胞,牛痘病毒感染的L细胞中,一旦加入2',5'寡腺苷酸,很快就能抑制病毒的复制。

IFN处理细胞的抗病毒状态,除上述机理外,还可作用于病毒繁殖周期中的各阶段,现已证明IFN能影响病毒的吸附和脱壳阶段<sup>[2]</sup>。这可能与IFN能在细胞骨架和抑制胞饮作用上引起明显改变有关。病毒的敏感性,随宿主细胞类型、病毒感染量和IFN类型不同而异<sup>[14]</sup>。

IFN也能抑制早期的病毒转录和整合作用,特别是对SV<sub>40</sub>和某些逆转录病毒能抑制其整合<sup>[14]</sup>。

上述机理表明: IFN 的抗病毒作用是间接的, 而且是广谱的。然而现又发现一个新的由 IFN- $\alpha$ 、 $\beta$  诱导的小鼠  $M_x$  基因<sup>[16]</sup>, 实验证明: 具有  $M_x^+$  基因的细胞或小鼠对 IFN 诱导的 特异抗流感病毒所需的浓度要比  $M_x^-$  细胞或小鼠低得多,  $M_x$  基因编码一种 75 kDa 蛋白,  $M_x$ cDNA 已克隆出来。用  $M_x$ cDNA 转化的  $M_x$  细胞表现出只抗流感病毒作用, 而对其它病毒无作用。这种蛋白质发挥特异抗流感病毒作用, 尽管不依赖于其它诱导蛋白, 但其它类型的 IFN 诱导蛋白是否与特异抗病毒有关,  $M_x$  基因所表现的功能提示这是有可能的。现已证明  $M_x$  和编码 6—16 mRNA 是由 IFN- $\alpha$ 、 $\beta$  特异诱导的, 然而  $M_x$  蛋白抑制流感病毒复制的机理还不清楚<sup>[1,2,16]</sup>。

## 2 IFN 对细胞生长的影响

IFN 被人们称为自然生长抑制因子 (Natural growth inhibitor), 它们能以类似于抗病毒活性那样的种属特异性来抑制细胞生长。与细胞类型和 IFN 类型、剂量和作用的长短有关。一般需要较多的 IFN (50 pg~50 ng/ml) 方能发挥这种效应<sup>[17]</sup>。不仅能抑制转化细胞、肿瘤细胞生长, 而且也能抑制正常细胞生长。可作用于周期中各个时期。有人认为主要作用于  $G_1$  及 S 期。

IFN 能抑制多肽生长因子对细胞生长的协同作用, 可使细胞周期延长, 这可能与延缓细胞 DNA 合成和有丝分裂有关, 其抑制强度与加入生长因子的量成反比<sup>[18]</sup>。

IFN 能抑制某些细胞的 mRNA 转录, 若把 IFN- $\alpha$  加到丝裂源刺激的细胞中 3 小时即可测出对 C-myc, 鸟氨酸脱羧酶 (ODC) 和  $\beta$  肌动蛋白 mRNA 转录的抑制作用, 而 C-fos mRNA 水平在刺激后近 20 分钟就可被 IFN 降低<sup>[12,19]</sup>, 但 IFN- $\gamma$  作用不同, 在 HeLa 细胞中可引起 C-myc RNA 水平显著增加。

IFN 能以自分泌 (autocrine) 的方式来控制细胞的生长和分化。处于终末分化阶段的造血细胞可释放 IFN- $\beta$ <sup>[20]</sup>, 而在鼠成纤维细胞的

S 期内伴有少量 IFN 产生时, 呈现 2—5 A 合成酶升高<sup>[21]</sup>。甚至还认为 2—5 A 合成酶的脱磷酸产物 2—5 A, 在 Balb/C 3 T<sub>3</sub> 细胞中有抗丝裂源作用。该效应可能与 IFN 受体复合物相互作用, 稳定微管蛋白网络, 使细胞骨架产生翻译信号以抑制丝裂原作用有关。

## 3. IFN 对免疫细胞的作用

IFN 特别是 IFN- $\gamma$  属于淋巴因子, 人体的 T 细胞、B 细胞、NK 细胞在存或无单核细胞及巨噬细胞的帮助下, 对抗原、丝裂原和肿瘤细胞等反应均可产生 IFN- $\gamma$  和 IFN- $\alpha$ <sup>[7]</sup>, 如果将外源性 IFN 在体内外加至实验性免疫反应中所产生的变化如表 1 所示, IFN 可在三个主要方面对免疫系统和免疫细胞产生影响: ①改变细胞表面膜结构; ②改变细胞蛋白的产生和分泌; ③促进或抑制效应细胞功能的发挥<sup>[2]</sup>。

表 1 IFN 在体内外对免疫反应的作用

增殖反应(抑制)	分化反应(促进)
初次和再次抗体反应 (如果在致敏前给予)	NK 细胞的活化和靶细胞的溶解
丝裂原和抗原诱导的淋巴细胞转化	T <sub>h</sub> 细胞毒作用
迟发型变态反应 (如果在致敏前给予)	M <sub>0</sub> 的吞噬作用和细胞毒作用及 ADCC
	抗体产生 (如果在致敏后给予)
	IgE 介导的组织胺释放

IFN- $\alpha$ 、 $\beta$  均能诱导和增加 MHC I 类抗原的表达, 能强烈刺激人正常细胞和肿瘤细胞表达 HLA-A、B、C, 但 IFN- $\gamma$  更为有效<sup>[22,23]</sup>。IFN- $\gamma$  还能诱导 MHC II 类抗原的表达<sup>[24]</sup>。如促进 HLA-D 的表达。HLA-D 的表达限制在单核的吞噬细胞系统, 活化的 T 细胞、B 细胞等。此外, 对于非免疫细胞, 可产生将抗原信息提呈给免疫系统的能力。并促进已表达 HLA-D 抗原的细胞发挥这种能力<sup>[24]</sup>, 以增强免疫应答。

IFN- $\gamma$  可诱导控制 T 细胞增殖的 IL-2 受体的表达和促进 IL-2 的产生。现已证明: IFN- $\gamma$  能增加与免疫应答有关的细胞毒素 (如肿瘤坏死因子) 的膜表面受体表达<sup>[2]</sup>。

IFN- $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  处理 T 细胞 4~6 小时就至少

可促8种蛋白质的合成<sup>[25]</sup>,特别是促免疫细胞释放细胞毒素和IL<sub>1</sub><sup>[1]</sup>, IFN还可诱导其它产物如:金属硫因II、胸腺素、GTP结合蛋白、细胞表面蛋白<sup>[11,12,23]</sup>。现已有报告证明重组的IFN- $\gamma$ 和MAF的功能一致性,能增强巨噬细胞的吞噬功能和其膜表面IgG的FC受体表达,强化抗体依赖的细胞毒作用。故IFN为单核巨噬细胞的激活剂<sup>[2]</sup>。

IFN是NK细胞发挥杀伤效应的重要调节剂,NK细胞与靶细胞相互作用通常可释放IFN- $\gamma$ ,而IFN- $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 均有激发NK细胞的活性,不仅能促进前体NK细胞变为成熟的NK细胞和效应NK细胞,而且能增加NK细胞释放自然杀伤细胞毒因子(Natural Killer Cytotoxic Factor NKCF)和增强NKCF的杀伤效应<sup>[26]</sup>。

IFN能抑制或促进抗体的反应,若在B细胞致敏前加入有抑制作用(前B对抑制作用最敏感),而在致敏后加入,则有促进作用,加入的IFN浓度高,一般认为有抑制作用。低浓度有促进作用。这种调节作用主要是对B细胞,同时对M $\phi$ 、T<sub>H</sub>、T<sub>S</sub>细胞也有作用。

由此可见,IFN又是一种具有免疫调节作用的淋巴因子,但不同于IL-1(由单核和噬细胞产生)和IL-2(由T细胞产生)。若给予适当刺激,IFN可由免疫系统中所有的细胞产生。IFN可作为一种较为理想的抗病毒、抗肿瘤和免疫调节剂用于临床,为人类疾病的治疗起重要作用。

### 摘 要

本文着重从基因和分子生物学水平上阐明了干扰素基因结构和调控及基因产物的特性。并详细介绍了干扰素与细胞膜表面受体相互作用后在细胞中所引起的分子变化,它不仅可抑制细胞生长,而且对免疫细胞表面受体特别是MHC的表达以及淋巴因子的产生均有调节作用。并从分子水平上介绍了干扰素抗病毒的作用机理。

### 参 考 文 献

- [1] Balkwill, FR, 1986, *Microbiological Sciences*, 3(7): 212.
- [2] Balkwill, FR, 1986, *Microbiological Sciences*, 3(8): 229.
- [3] Dijkmans, R, et al, 1985, *Interferons*, New York: oxford university press, 1-15.
- [4] 杜平, 1987, 第六次全国IFN学术会议论文集, 中国微生物学会, 14-18.
- [5] 侯云德 1985, 国外医学微生物学分册(6): 241.
- [6] Riordan, ML. et al, 1985, *Interferons*, New York: oxford university press, 19-39.
- [7] Balkwill, FR, 1985, *Interferons*, New York: oxford university press, 62-80.
- [8] 杨吉成等, 1984, 中华微生物学和免疫学杂志, 4(5): 329.
- [9] 杨吉成等, 1986, 中国免疫学杂志, 2(4): 229.
- [10] 杨吉成等, 1986, 中华微生物学和免疫学杂志, 6(3): 157.
- [11] Friedman, RL. et al, 1984, *Cell*, 38: 745.
- [12] Kelly, JM. et al, 1985, *European Journal of Biochemistry*, 153: 367.
- [13] Galabru, J. et al, 1985, *Cell*, 43: 685.
- [14] Williams BRG et al, 1985, *Interferons*, New York: oxford university press, 40-60.
- [15] Benech, P. et al, 1985, *The EMBO Journal*, 4: 2249.
- [16] Stacheli, P. et al, 1986, *Cell*, 44: 147.
- [17] Taylor-Papadimitriou, J. et al, 1985, *Interferons*, New York: oxford university press, 81-98.
- [18] Rozengurt, E. et al, 1983, *Molecular Biology and Medicine*, 1: 169.
- [19] Einat, M, et al, 1985, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 82: 7608-12.
- [20] Yarden, A. et al, 1984, *The EMBO Journal*, 3: 969.
- [21] Wells, V. et al, 1985, *Experimental Cell Research*, 159: 27.
- [22] Rosa, F. et al, 1984, *Immunology Today*, 5: 261.
- [23] Friedman, RL. et al, 1985, *Nature*, 314: 637.
- [24] Londei, M. et al, 1984, *Nature*, 312: 639.
- [25] Cooper, HC. et al, 1982, *Journal of Immunology*, 128: 828.
- [26] 杨吉成, 1985, 苏州医学院国外医学译丛, (1): 1.