

4 Nikolaev L G, Tsevegiyn T, Akopov S B, *et al.* Construction of a chromosome specific library of human MARs and mapping of matrix attachment regions on human chromosome 19. Nucl Acid Res, 1996, **24** (7): 1330~ 1336

5 Huang G M, Miao G-H. The dawn of the post-genome era, seen from the ocean front. Trends in Biotech, 1997, **15** (6): 200~ 202

MAR Library and Its Application in Eukaryotic Genome Mapping. ZHOU Cong-Zhao, QIAN Xin-Guo, LI Zhen-Gang (*School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China*).

Abstract Matrix association region (MAR) is not only a kind of *cis*-acting element for regula-

tion of eukaryotic gene expression and chromosome dynamics, but also a type of fixed and specific DNA marker on the eukaryotic chromosomes. MAR library can be constructed by *in vitro* or *in vivo* association of DNA fragments with the nuclear matrix. *In vitro* MARs can be used in construction of chromosome's physical map, and *in vivo* MARs can be applied in studying the expression, regulation and chromosomal organization of known genes, and analyzing the newly discovered genes.

Key words MAR library, nuclear matrix, genome mapping

趋化因子的研究进展

黄仕和

(卫生部武汉生物制品研究所, 武汉 430060)

摘要 趋化因子家族分为 4 类 (CXC 、 CC 、 C 和 CX3C), 估计有 40~ 50 种人类趋化因子. 趋化因子及其受体的基因定位、结构和功能已逐渐阐明. 它们在正常和非正常生理状态下起着重要的作用.

关键词 趋化因子, 趋化因子受体, 艾滋病

学科分类号 Q75

1992 年, 一次国际研讨会上学者们建议把对白细胞有化学趋化作用的细胞因子 (Chemoattractant cytokines) 简称为趋化因子 (Chemokines), 其功能为: a. 使细胞骨架重排, 引起细胞形态改变; b. 肌动蛋白的聚合与断裂, 引起板层足 (lamellipodia) 的形成和退缩 (retraction); c. 引起整合蛋白的上调和活化, 使白细胞粘附血管壁的内皮细胞; d. 使活化的白细胞内游离钙离子浓度升高; e. 产生杀微生物的活性氧及有生物活性的脂类物质; f. 释放贮存于细胞内颗粒的内容物, 如中性白细胞和单核细胞内的蛋白水解酶、嗜碱性白细胞内的组胺和白三烯、嗜酸性白细胞内的细胞毒性物质^[1]. 而且在非正常生理状态

如慢性炎症、过敏性疾病、艾滋病、自身免疫性疾病和肿瘤里起着重要作用.

趋化因子可来源于不同种属的动物 (人、小鼠、猪、牛和豚鼠) 和多种器官 (胸腺、肺、肝、脾、淋巴结、阑尾、小肠、结肠、胃、心脏、睾丸、肾、气管和胰腺). 根据趋化因子一级结构的半胱氨酸 (Cys) 的排列位置, 1992 年只分为 CXC 类 (α) 和 CC 类 (β) 两类, 它们都有 4 个保守的 Cys, 前者的第一个和第二个 Cys 之间间隔 1 个氨基酸, 后者的第一个和第二个 Cys 相邻. 根据 CXC 类趋化因子的 N 端与第一个 Cys 之间是否存在 ELR

收稿日期: 1998-04-01, 修回日期: 1998-06-22

(谷氨酸-亮氨酸-精氨酸) 将它们分为含 ELR 的 CXC 类趋化因子 (IL-8/NAP-1、GRO- α /MGSa、GRO- β /MIP-2 α 、GRO- γ /MIP-2 β 、ENA-78、GCP-2、PBP 及其 N 端加工产物 CTAP-III、 β TG 和 NAP-2) 和不含 ELR 的 CXC 类趋化因子 (PF4、IP-10 和 MIG)。CC 类趋化因子包含 MCP-1、MCP-2、MCP-3、MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、I-309、小鼠 (m) TCA3、mCCF18 和 mMRP1。1994 年发现了第 3 类趋化因子——C 类趋化因子 (γ)，与 α 和 β 类趋化因子相比较，缺少第一个和第三个 Cys，现在只发现淋巴细胞趋化因子 (lymphotactin) 1 种，基因定位在 1q23 上，主要对 CD8⁺ T 淋巴细胞有趋化作用。1995 年鉴定了 CC 类趋化因子 MIP-5/HCC2、MIP-1 γ 、Eot-1 和 mMRP2。1996 年又克隆了 CXC 类趋化因子 SDF-1/PBSF 以及 CC 类趋化因子 HCC-1/M-CIF 和 TARC^[2]。

1997 年，趋化因子研究达到高峰：a. 发现了第 4 类趋化因子 CX3C 类趋化因子 (δ)，现在只有不规则趋化因子 (fractalkine) 或神经元趋化因子 (neurotactin) 1 种，基因定位在 16 号染色体上，它是 T 细胞、单核细胞和中性白细胞的趋化剂。CX3C 趋化因子受体为 CX3CR1，表达于脑里和 NK 细胞表面；b. 鉴定了 10 余种新型的 CC 类趋化因子：MCP-4/Ck β -10、mMCP-5、MIP-3 α /Ck β -4/LARC/Exodus-1、MIP-3 β /ELC/Exodus-3、MPIF-1/Ck β -8、MPIF-2/Ck β -6/Eot-2、PARC/DG-CK1/AMAG-1、MDC/STCP-1、TECK、Lkr-1、h6Ckine/hSLC/hExodus-2 和 m6Ckine/mTC A-4/mExodus-2。今年发现了 NCC-4/LEC。

除 SDF-1 基因定位在第 10 号染色体上外，其他的 CXC 类趋化因子的基因定位在 4q12~21 上。它们对中性白细胞有很强的趋化作用。含 ELR 的 CXC 类趋化因子在体外对上皮细胞有作用，在体内有血管生成作用；不含 ELR 的 CXC 类趋化因子则抑制趋化因子或生长因子诱导的血管生成作用。现在已鉴定了 CXC 类趋化因子受体 1 (CXCR1) ~ CXC 类

趋化因子受体 5 (CXCR5) 等 5 种 CXCRs，其蛋白为 350~374 氨基酸。1991 年克隆了第一个趋化因子受体 IL-8R，分 CXCR1/IL-8RA/IL-8R1 和 CXCR2/IL-8RB/IL-8R2 两种。1996 年鉴定了 IP-10 和 MIG 的受体 CXCR3/GPR9 以及 SDF-1 (SDF-1 α 和 SDF-1 β) 的受体 CXCR4/Fusin/LESTR，且 CXCR4 有两种替代剪接变异体 A 和 B。1998 年发现 CXCR5/BLR1/MDR15 的配体为 BLC/BCA1，不含 ELR，人和小鼠 BLC 有 64% 氨基酸同源，而与其他 CXC 类趋化因子有 24%~34% 氨基酸同源，它们能强烈地吸引 B 淋巴细胞并促使少量 T 细胞和 M ϕ 迁移。已鉴定了人、小鼠和大鼠 CXCR5、CXCR1、CXCR2 和 CXCR4 的基因定位在 2q21 上。1998 年 Heesen 等鉴定了小鼠孤儿受体 RDC，与人 RDC 和狗 RDC 分别有 32% 和 91% 氨基酸同源，而与兔 CXCR2 和小鼠 CXCR2 分别有 32% 和 43.2% 氨基酸同源，其基因定位在第 1 号染色体上。

除 MIP-3 α 基因定位在 2q33~q37 上，MIP-3 β 、SLC 基因定位在 9p13 上，MDC/STCP-1 基因定位在 16 号染色体上外，其他的 CC 类趋化因子基因定位在 17q11.2~12 上；mMCP-5 和 mEot-1 基因定位在 11 号染色体上。6Ckine、MPIF-1、mMRP-1、mMRP-2、hLkr-1、mTCA3 和 I-309 除有 4 个保守的 Cys 外，还存在另外两个 Cys，这 6 个 Cys 能形成 3 对二硫键。CC 类趋化因子对单核细胞和淋巴细胞有较强的趋化作用。已鉴定了 CC 类趋化因子受体 1 (CCR1) ~ CC 类趋化因子 10 (CCR10) 等 10 余种 CCRs，其蛋白为 352~384 氨基酸。CCR1~CCR5、CCR8 (CY6、TER1、CKR-L1 或 ChemR1) 和 hCCR10 基因定位在 3p21 上；CCR6 (STRL22、CKR-L3 或 GPR-CY4) 和 CCR7 (ELI1/BLR2) 基因分别定位于 6q27 和 17q12~21.2 上。CCR6、CCR7 和 CCR8 为单一配体的受体，其配体分别为 MIP-3 α 、MIP-3 β 和 I-309。1998 年 Fan 等克隆了人趋化因子 HCR，为 345 氨基酸蛋白质，其基因定位在 Xq13 上。

一种趋化因子能结合多种受体, 一种受体也能结合多种配体; 但结合的亲和力不同, 如 MIP-1 α 结合受体的亲和力大小为: CCR9 (D6) > CCR5 > CCR1 > CCR3; mCCR9 结合趋化因子的亲和力大小为: mMIP-1 α > hMIP-1 β 、mMIP-1 β > hRANTES、mMCP-1 > hMCP-3 > hMCP-1. 现已弄清 IL-8、GRO α 、NAP-2、PF4、MCP-1、MCP-3、MIP-1 β 和 RANTES 的三维结构, 其 N 端与 C 端之间至少存在 3 个 β 折叠 (β 1~ β 3), C 端有 α 螺旋结构. 晶体和 NMR 研究表明, 它们的结构呈二聚体或四聚体.

趋化因子受体除 CCRs、CXCRs 两大类外, 还有病毒 (HCMV 和 KSHV) 基因编码的趋化因子受体 (HCMV-US28 和 KSHV GPCR) 以及配体不清楚的孤儿受体 (R2、R12、R20、RDC 和 HCR), 它们都属于 7 跨膜 (TM1~TM7) G 蛋白耦联受体. N 端位于胞膜外, 通常含 N-连结糖基化部位, 能与配体结合; 第二个胞内环的 N 端存在保守的特征性模体 DRY (I/V/L) A (I/V) V (Q/H) A 或 DKYIEIVHA, 参与 G 蛋白的耦联作用; C 端存在多个 Ser/Thr 磷酸化部位, 分子内一般存在的 4 个 Cys 能形成两对二硫键, 稳定受体的结构; CCRs 和 CXCRs 基因一般由 2 个外显子和 1 个内含子组成. IL-2 和 IL-10 能上调趋化因子受体的表达; 趋化因子与受体结合后能引起 G 蛋白活化, 启动信号转导, 使 PLC、PKC、PKB、GTPase、PI-3K 和 Src 相关酪氨酸激酶活化. 第一次发现 CXCR4 或 CCR5 的配体能抑制 HIV-1 诱导的酪氨酸激酶 Pyk2 磷酸化.

受体拮抗剂、趋化因子及其衍生物、受体的阻断抗体以及低分子质量物质都能影响趋化因子与其受体的相互作用, 因而有其广泛的应用前景. 如 CXCR4、CCR5、CCR2b、CCR3、CCR8、CCR9 和 CX3CR1 都能以不同程度作为 HIV 和 SIV 的辅助受体, I-309 能抑制 CCR8 依赖性 HIV-1 和 SIV 胞膜介导的细胞与细胞的融合以及病毒进入宿主细胞; 修饰 SDF-1 的变异体能阻断 HIV 结合 CXCR4, 但不能干扰正常的信号转导, 因而以 CXCR4 为靶子开发新的药物成为可能. 总之, 将来会鉴定出更多种新型的趋化因子及其受体, 对其结构和功能会有更深入的了解.

参 考 文 献

- 1 Baggiolini M. Chemokines and leucocyte traffic. *Nature*, 1998, **392** (6676): 565-568
- 2 Rollins R J. Chemokines. *Blood*, 1997, **90** (3): 909-928

Advances in the Study of Chemokines. HUANG Shi-He (*Wuhan Institute of Biological Products, Ministry of Public Health, Wuhan 430060, China*).

Abstract Chemokines family is divided into four subfamilies (CXC、CC、C&CX3C), it has been estimated that there may be as many as 40 to 50 human chemokines. Structure, gene location and function of chemokines and their receptors have gradually been elucidated. They play important roles in normal and disordered physiological states.

Key words chemokines, chemokine receptors, AIDS