

白细胞介素 2 受体 α 链 (IL-2 R $_{\alpha}$): 基因结构及表达调控

朱 迅 田 志 刚

(白求恩医科大学免疫教研室, 长春)

提 要

IL-2 R 基因结构及表达调控是当代免疫学研究的重要课题, 其阐明有助于揭示机体免疫应答及调节的机制。自 1984 年 IL-2 R $_{\alpha}$ 链 cDNA 克隆建立以来, 该领域研究已有很大突破, 本文概要介绍了这方面的进展。

IL-2 R 表达是机体免疫应答及调节的关键信号之一, 但 IL-2 R 的连续或过度表达又与某些疾病相关联。现已证实, 功能性 IL-2 R (即高亲和力 IL-2 R) 是由 α 和 β 两个亚单位构成的。IL-2 R $_{\alpha}$ 原称 IL-2 R、Tac 抗原或 p55 蛋白, 其结构及生物学特性已有很多了解。1987 年以来发现的 IL-2 R $_{\beta}$ 链, 分子量约 70—75 kD, 故又称 p70 或 p75 蛋白^[1-3]。借助分子克隆, 基因转移等生物工程技术, 已将 IL-2 R $_{\alpha}$ 链的 cDNA 克隆化, 并对 IL-2 R 的基因结构和表达调控等问题有了初步了解, 也解决了一些难解之谜。本文拟着重阐述基因水平上 IL-2 R $_{\alpha}$ (以下仍按旧称 IL-2 R) 的研究进展。

一、IL-2 R 的 cDNA 克隆及基因结构

1984 年, 三个实验室分别报道了 IL-2 R

cDNA 克隆的工作^[4,5], 其结果完全吻合。人 IL-2 R cDNA 指导编码合成 272 个氨基酸残基(包括导肽)。经转染 COS 细胞可高效表达 IL-2 R。1985 年, 小鼠 IL-2 R 的 cDNA 克隆成功。人与鼠 IL-2 R 的核苷酸和氨基酸序列同源性分别为 72% 和 61%, 其中转膜区和细胞浆内区域同源程度更高。但值得注意的是, 在细胞外区 14 个半胱氨酸残基中, 仅 147 位一处不同, 提示二硫键对 IL-2 R 的功能有重要意义。

IL-2 R 基因为单拷贝, 位于第 10 号染色体长臂 p14—15 区^[6]。DNA 序列分析证实, IL-2 R 基因由 8 个外显子和 7 个内含子组成, 因第 1 个内含子结构庞大(至今尚未分离到完整的片段), 推测 IL-2 R 基因全长在 25kb 以上。IL-2 R 基因结构如图 1 所示。3' 端不翻译区至少含 3 个功能性 poly A 顺序, 第 2 和

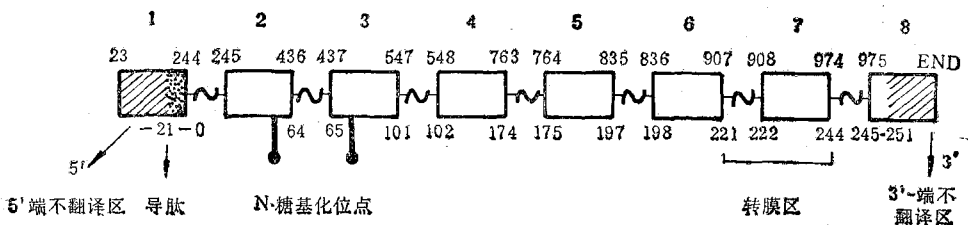


图 1 人 IL-2 R 基因结构

方框代表外显子, 方框上的数字为 pIL-2 R $_{\alpha}$ cDNA 核苷酸顺序号, 方框下的数字表示 IL-2 R 相应氨基酸残基号

第3组 poly A 位点间有多簇 Alu 重复序列。5' 端起始密码上游有 2 个起始位点^[7], 在每个起始位点上游 25—30 bp 处为 TATA 促进子序列, 在正常 T 淋巴母细胞中, 两个促进子的活性相同。最近在 HTLV-I (人类 T 淋巴细胞白血病病毒 1 型) 感染的白血病 T 细胞发现有第 3 个起始位点存在^[8]。IL-2 R 与 IL-2 基因的 TATA 盒上游 50bp 处有 9 个氨基酸同源, 转录起始点附近也有一些短的同源区, 其生理学意义尚待探明。

二、多种类 IL-2 R mRNA 形成的机制

虽然 IL-2 R 由单拷贝基因编码, 但当用 IL-2 R cDNA 探针与人 IL-2 R mRNA 杂交后可出现 3.5kb 和 1.5kb 两种类型的 mRNA^[4,5], 小鼠则至少有 1.4、3.2、3.5、4.5kb 四种类型^[9]。各种 mRNA 在体外翻译中均有功能活性。多种类 IL-2 R mRNA 形成的可能机制包括^[8]: ① 多 poly A 位点学说: IL-2 R 基因含 3 个 poly A 位点, 3' 端不翻译区的异质性可导致 mRNA 长度的差异; ② 外显子调学说: 外显子 2 和 4 顺序极其相似, 由于在切除内含子时的错误识别, 将外显子 4 切掉, 外显子 3 和 5 直接连接, 使 mRNA 变短; ③ 多转录起始位点学说: 使用不同的转录起点可产生不同大小的转录产物。上述机制可能分别发生或互相影响, 若三者结合, 从单一的 IL-2 R 基因可产生 18 种之多的 mRNA 链。现尚不清楚是否某一类型 mRNA 比其它类型更稳定或翻译效率更高, 对 IL-2 R mRNA 异质性的生物学意义也有待于进一步探讨。

三、IL-2 R cDNA 转移研究

DNA 介导的基因转移技术是研究受体与配基相互反应的新工具, 推动了 IL-2 R 研究的深入, 特别是结合特定位点诱变克隆基因后对诱变的基因产物的功能研究, 扩大了人们对 IL-2 R 与 IL-2 相互作用的分子机制的理解。

1. IL-2 R cDNA 转移至 COS 细胞——目的基因克隆的确认 将克隆化的基因转移到

哺乳类细胞系 COS 中, 表达的产物可与 IL-2 及抗 Tac 结合, 但经剪切后缺少外显子 4 的 cDNA 则不能指导合成具有 IL-2 R 活性的产物, 这提示外显子 4 在维持 IL-2 R 对配基结合方面起关键作用。

2. cDNA 转移至非淋巴细胞——表达低亲和力的 IL-2 R 将 IL-2 R cDNA 转移到多种成纤维细胞, 只能表达低亲和力受体, 对 IL-2 不起增殖反应, 介导 IL-2 内在化的速度和效率仅是高亲和力受体的 1/5^[10]。

3. cDNA 转移至淋巴细胞——功能 IL-2 R 的重建 EL-4 (小鼠胸腺瘤细胞系) 不表达 IL-2 R, 将人 IL-2 R cDNA 转入 EL-4 后, 可同时表达高、低两种亲和力的受体, kD 值分别为 160 和 2100 p mol/L。Kondo 等^[11]将人 IL-2 R cDNA 导入小鼠 IL-2 依赖细胞系 CTLL-2, 构建了稳定表达内源性小鼠和外源性人 IL-2 R 的细胞系 CT/hR, 该细胞的人及鼠的 IL-2 R 均具有功能活性, 并可介导信号传递。

4. 人工定点诱变 IL-2 R cDNA 的转移——IL-2 R 结构功能区域的探讨 许多作者利用定点诱变等蛋白质工程技术, 构建了多种突变的 IL-2 R cDNA 片段^[12], 如转膜区及细胞浆内区核苷酸替代或缺失; IL-2 R cDNA 247 位丝氨酸变为甘氨酸 (此丝氨酸被认为是蛋白激酶 C 磷酸化的位点); 在转膜区与细胞外区交界处插入不同长度的寡聚核苷酸 (可鉴定 IL-2 结合区与细胞膜之间距离是否影响受体功能) 等。这些人工诱变基因的转移, 为 IL-2 R 构效关系的确立提供了大量有用的资料。

IL-2 R cDNA 转移工作至少证实了下列问题: (1) 高亲和力受体仅在淋巴类细胞表达, 非淋巴细胞不能表达功能性 IL-2 R; (2) 功能性 IL-2 R 是 Tac 抗原和另外一种仅限于淋巴细胞的成分 (现证实为 IL-2 R β 链) 共同组成的复合体; (3) 胞浆内区, 转膜区及细胞外区的 C 末端部分不直接参与传递 IL-2 介导的生长信号; (4) 胞浆内的磷酸化作用与正常 IL-2 R 功能的关系不大。

四、IL-2 R 基因的表达调控

抗原刺激后, IL-2 R 表达与细胞增殖反应是一致的, 无胸腺裸鼠和人为损伤免疫功能后的小鼠均显示为 IL-2 R 阳性细胞减少及每细胞 IL-2 R 数目降低^[43], 而某些自身免疫病和器官移植排斥反应时均伴有 IL-2 R 的过度表达。可见, IL-2 R 基因的表达调控与免疫反应强度有重要关系。

细胞因子对 IL-2R 表达的影响 多种免疫活性细胞因子均可影响 IL-2 R 的表达。IL-2 本身能上行调节 (upregulation) 自己的受体, 这对已被抗原活化的 T 细胞的增殖有重要意义。通过 IL-2 的自分泌或旁分泌效应, 可使 IL-2 R 表达长时间维持在高峰, 促进特异性 T 细胞的克隆性扩增。另一方面, IL-2 作为一种双功能分子在控制 IL-2 R 使之不过度表达中亦起一定作用。如 IL-2 与低亲和力受体结合后可产生某种负反馈信号^[44]。

IL-1 单独并不能诱导 IL-2R 表达, 但在亚剂量 TPA (乙酰豆蔻佛波醇) 存在时, 可使 IL-2 R 表达量增加 100 多倍^[45], 其作用发生在细胞周期的早期。将重组 IL-3 加入小鼠肥大细胞系 (依赖 IL-3 生长), IL-2 R 基因表达从第 1 小时出现, 而胞浆 IL-2 R mRNA 4 小时方可测出, 膜受体表达高峰在第 24 小时^[46]。造血干细胞可表达 IL-2 R 并且受 IL-3 调节提示 IL-2 R 可能参与造血过程的某些重要代谢事件。

两种新型的白细胞介素 IL-5 (原称 T 细胞替代因子, TRF) 和 IL-6 (原称 B 细胞刺激因子 2, BSF-2) 也可诱导 IL-2 R 基因活化^[47, 48]。重组 IL-5 可使某些 B 细胞 IL-2 R 表达量增加 20 倍以上并具有功能活性。

IFN γ (γ 干扰素) 可增加入外周血单核细胞中 IL-2 R 阳性细胞的比例及每细胞上 IL-2R 的数量, 也能促进单核细胞系 U937 IL-2 R mRNA 的转录和膜受体表达^[49]。由于 IFN γ 并不能诱导 T 细胞 IL-2R 的表达, 提示单核细胞 IL-2R 的表达与 T 细胞不完全一致。单核细胞

IL-2 R 在免疫反应中的功能不很明确。因 T 细胞被激活后可合成分泌 IFN γ , 故推测 IFN γ 可通过扩大单核细胞 IL-2 R 表达增强单核细胞的某些功能并调节单核与 T 细胞间的相互反应。

免疫抑制剂及生物合成抑制剂 地塞米松和环孢霉素 A 均能显著地减少植物血凝素 (PHA) 诱导的 IL-2 分泌和 IL-2 R 表达, 但二者的机制不同。环孢霉素 A 抑制 IL-2 R 基因表达作用于细胞活化的早期, 将细胞激活后 8 小时再加入该药不呈现任何抑制效应。抑制性单克隆抗体 OKT_{11A} 也可有效地抑制 PHA 刺激后 T 细胞 IL-2 R mRNA 的积累及膜受体表达^[20], 其作用可能是通过干扰 IL-2 依赖和非依赖两条途径实现, 前者抑制 IL-2 产生, 后者与抑制细胞内钙离子活性有关。

各种生物合成抑制剂如放线菌素 D (抑制 RNA 合成) 及亚胺环己酮 (抑制蛋白合成) 等均能抑制丝裂原诱导的 IL-2 R 表达, 显示膜 IL-2 R 出现需 RNA 及蛋白质的从头合成, 但可能与有丝分裂无关, 因加入丝裂霉素 C 并不影响 IL-2 R 的表达。

五、HTLV 感染细胞连续表达 IL-2 R 的机制

正常细胞活化后 IL-2 R 只暂时性表达, 但是 HTLV 感染的细胞大多异常地持续表达高水平的 IL-2 R, 这种连续表达的 IL-2 R 与成年 T 细胞白血病 (ATL) 相关。虽然 HTLV-I⁺ 细胞 (如 Hut-102 等) 可在无刺激条件下持续高水平表达 IL-2 R, 当加入 PHA 及 TPA 后, 可迅速导致 IL-2 R 基因转录活性下降。推测丝裂原刺激正常淋巴细胞后 IL-2 R 基因仅暂时性表达可能与同时诱导了某种抑制性物质有关。Hut-102 细胞连续表达 IL-2 R 表明此途径受到阻碍, 而加入丝裂原后解除了这一阻碍, 触发了抑制性物质的合成。

正常与异常表达的 IL-2 R 基因结构及氨基酸顺序均相同, HTLV⁺ 细胞 IL-2 R 的基因无扩增和重排, 此外, 也没发现任何与第 10

号染色体有关的易位,可见 IL-2 R 的异常表达显然与染色体简单的畸变和基因突变无关。因此, HTLV⁺ 细胞持续高水平表达 IL-2 R 的机制是科学家们非常关心的问题。

有学者认为, HTLV 的基因产物可能作为一种 IL-2 R 诱导因子, 象抗原或丝裂原一样在细胞内或细胞外诱导 IL-2 R 表达。Okada^[21] 发现, HTLV-I⁺ 的 ATL 细胞系在连续表达 IL-2 R 的同时,也可持续分泌一种酸性淋巴因子,称之为 ADF (ATL-Derived Factor)。ADF 可分别作用于 HTLV-I⁺ 的 IL-2 依赖和非依赖的细胞系,使二者 IL-2 R mRNA 转录明显增加,但不能诱导 IL-2 产生。这提示 ADF 诱导的 IL-2 R 表达与 IL-2 无关。另外,随着 ADF 产量的增加,可使某些 IL-2 依赖性细胞逐渐转为 IL-2 非依赖性。

近年,一些学者对 HTLV (包括 I 和 II 型) 的基因结构进行了深入的研究。HTLV 可编码一个 40kD 的蛋白,现称为 tat (trans-activator) 1 或 2, 也称 p40^{*}。该类蛋白由 HTLV 3' 端 p^{*} 区的长开放阅读框架编码,可刺激由病毒长末端重复序列控制的其它病毒基因的表达,也影响与 T 细胞生长有关的多种基因的表达。Cross 等^[22] 将 tat-1 基因和 5' 端不同长度缺失的 IL-2 R 基因共转到 Jurkat 细胞,发现 tat-1 可使 IL-2 R 基因的调节发生三种改变: (1) 明显增加 TPA 刺激后 IL-2 R 基因的促进子活性; (2) 在无 TPA 存在时,使 IL-2 R 基因促进子活性达到可检测出的水平 (正常时测不出); (3) IL-2 R 基因的转录促进子区主要在 5' 端上游 -368——265 位碱基的位置,但 -267——265 位只有用 tat-1 基因转染后才具有促进子功能活性。作者认为, tat-1 或 tat-1 诱导的基因产物能与 IL-2 R 基

因促进子或促进子相关蛋白相互反应,以此导致 IL-2 R 基因活化。这一作用位点遗传定位于 -267——265 位碱基,明显与 TPA 作用位点不同。此区域在 HTLV 细胞中的意义尚不清楚。tat-1 介导的 IL-2 R 基因活化与丝裂原诱导的活化所需的促进子区 DNA 序列有明显差异,这可部分解释 HTLV-I 细胞持续表达 IL-2 R 的分子基础。对这一问题的阐明将为治疗与 IL-2 R 持续表达有关的疾病开辟道路。

本文得到杨贵贞教授审阅,特此致谢

参 考 文 献

- [1] Dukovich, M. et al.: *Nature*, 1987, 327, 518.
- [2] Tsudo, M. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 84, 4215.
- [3] Robb, R. J. and Greene, W. C.: *J. Exp. Med.*, 1987, 165, 1201.
- [4] Leonard, W. J. et al.: *Nature*, 1984, 311, 626.
- [5] Nikaido, T. et al.: *Nature*, 1984, 311, 631.
- [6] Leonard, W. J. et al.: *Science*, 1985, 228, 1547.
- [7] Ishida, N. et al.: *Nucleic Acids Res.*, 1986, 13, 7579.
- [8] Greene, W. C. et al.: *Ann. Intern. Med.*, 1986, 105, 560.
- [9] Shimizu, A. et al.: *Immunol. Rev.*, 1986, 92, 103.
- [10] Hatakeyama, M. et al.: *Nature*, 1985, 318, 467.
- [11] Kondo, S. et al.: *Nature*, 1986, 320, 75.
- [12] Kondo, S. et al.: *Nature*, 1987, 327, 64.
- [13] Butler, L. D. et al.: *J. Immunol.*, 1987, 138, 470.
- [14] Kumar, A. et al.: *J. Immunol.*, 1987, 138, 1485.
- [15] Lowenthal, J. W. et al.: *J. Immunol.*, 1986, 137, 1226.
- [16] Birchenall-Sparks, M. C. et al.: *Science*, 1986, 233, 455.
- [17] Noma, T. et al.: *Immunol. Letters*, 1987, 15, 249.
- [18] Loughnan, M. S. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 84, 5399.
- [19] Rambaldi, A. et al.: *Eur. J. Immunol.*, 1987, 17, 153.
- [20] Gauchat, J. F. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83, 6430.
- [21] Okada, M. et al.: *J. Immunol.*, 1985, 135, 3995.
- [22] Cross, S. L. et al.: *Cell*, 1987, 49, 47.

[本文于 1987 年 11 月 25 日收到]