

- 16 Gill R, Willach B, Verma C, *et al.* Engineering the G-region of human insulin-like growth factor I: implications for receptor binding. *Protein Eng.* 1996, **9** (11): 1011~ 1019
- 17 张 新, 唐月华, 冯佑民, 等 (Zhang X, Tang Y H, Feng Y M, *et al.*). “胰岛素-类胰岛素生长因子-I 片段” 杂交分子的促生长活性研究. *生物化学与生物物理学报 (Acta Biochem Biophys Sin)*, 1996, **28** (4): 434~ 437
- 18 Mynarcik D C, Williams P F, Schaffer L, *et al.* Identification of common ligand binding determinants of the insulin and insulin-like growth factor I receptors: insight into mechanisms of ligand binding. *J Biol Chem.* 1997, **272** (30): 18650~ 18655
- 19 Shi M, Feng Y M. Studies on growth-promoting action of insulin: mitogenic activity of insulin and its analogues in mouse mammary tumor cells. *Biochem Mol Bio Int.* 1997, **43** (4): 705~ 711
- 20 Cara J F, Nakagawa S H, Tager H S. Structural determinants of ligand recognition by type I insulin-like growth factor receptors: use of semisynthetic insulin analog probes. *Endocrinology*, 1988, **122** (4): 2881~ 2887
- 21 Cascieri M A, Bayne M L. Analysis of the interaction of IGF- I analogs with the IGF- I receptor and IGF binding protein. In: LeRoith D, Razada M K, eds. *Current Directions in Insulin-like Growth Factor Research*. New York: Plenum Press, 1994. 33~ 40

Structural and Molecular Bases of IGF- I and Insulin for Expressing Their Physiological Function.

WANG Ping, FENG You-Min (State Key

Laboratory of Molecular Biology, Shanghai Institute of Biochemistry, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China).

Abstract Insulin-like growth factor I (IGF- I) and insulin are two important members in the insulin family with highly homologous structure. They bind to the homologous receptor and produce similar physiological function, but the major function is different. The major function of IGF- I is growth-promoting whereas insulin plays a key role in the glucose uptake and metabolism. The bases of the physiological function and its expression of a protein are the molecular structure of the protein and the molecules involved in the expression of the function, such as receptors and signal molecules, etc. The recent progresses in the studies on the structural basis and molecular basis of physiological function of IGF- I and insulin are reviewed.

Key words insulin-like growth factor I, insulin, receptor, signal molecule, signal transduction

EB 病毒潜伏膜蛋白-1 介导的信号传导*

王承兴 曹 亚

(湖南医科大学肿瘤研究所, 长沙 410078)

摘要 EB 病毒编码 LMP-1 介导的信号传导途径已引起人们广泛的注意. 它涉及 TRAF/TRADD 途径, AP-1 途径, JAK/STAT 及其他途径. 就此作一综述, 有助于人们认识 LMP-1 的致癌效应.

关键词 LMP-1, 信号传导, EB 病毒

学科分类号 R77, R372

EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 与人类一些恶性肿瘤紧密相关. 但是, 其致癌机制却不甚清楚. LMP-1 (latent membrane protein-1) 作为 EBV 的重要致癌蛋白, 在 EBV 致癌过程中扮演着重要角色, 多年来, 一直是人们关注的焦点. 最近, Kieff^[1]提出一种新的 LMP-1 作用机制, 引起了广泛的注意. 这种机制假定 LMP-1 的作用类似肿瘤坏死因子受体家族中的 CD40: 通过模拟活化的 CD40, LMP-1 介导信号传导从而参与肿瘤的发生与发展. 目前, 有关此方面的研究日益增多, 对于这一信号传导途径的认识也已初见端倪.

1 LMP-1 的蛋白质结构及生化功能

LMP-1 是一个由 386 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白, 包括三种不同的结构域: a. 由 24 个氨基酸残基所组成的亲水性氨基端胞浆区; b. 5 个短的反转结构分开而形成 6 个不同的疏水性跨膜区; c. 200 个氨基酸残基所构成的亲水性羧基端胞浆区. 这三种不同的结构域具有各自不同的生化功能. 氨基端胞浆区与 LMP-1 在胞膜上的定位有关;

* 国家自然科学基金重点项目 (39830410), CMB (96655).

收稿日期: 1998-09-15, 修回日期: 1999-03-08

六个跨膜区在胞膜上能寡聚化, 启动 LMP-1 信号传导; 羧基端胞浆区直接介导 LMP-1 信号传导, 可被进一步分为三个区域: a. CTAR1 (carboxy-terminal activating region 1), 位于 187 至 231 氨基酸残基, 主要介导 EGFR (epidermal growth factor receptor) 诱导及低水平 NF- κ B (nuclear factor- κ B) 活化; b. CTAR2 (carboxy-terminal activating region 2), 位于 352 至 386 氨基酸残基, 主要介导 AP-1 (active protein 1) 及高水平 NF- κ B 活化; c. 位于两者之间区域即从 232 至 351 氨基酸残基, 其功能尚不清楚。

2 TRAF/ TRADD 途径

2.1 TRAF $\rightarrow$ NF- κ B 依赖性途径

酵母双杂交系统分析证实, CTAR1 通过 TRAF (tumor necrosis factor receptor associated factor) 活化 NF- κ B. LMP-1 表达可使胞浆内 TRAF1、TRAF3 及少量 TRAF2 聚集于 CTAR1 区, 并与 TRAF 特异性结合区域——5 个核心的氨基酸序列 PQQAT 结合, 激活效应分子 I κ B α (inhibitor kappa B alpha) 激酶从而介导 NF- κ B 依赖性信号传导^[2]. TRAF2 可能是 TRAF 活化 NF- κ B 的正性调节因子, 因为 TRAF2 过表达能独立活化 NF- κ B^[3]. 与之相反, TRAF3 则通过与 TRAF1 及 TRAF2 共同竞争结合位点而抑制 NF- κ B 活性^[4,5].

NF- κ B 可激活一些含 κ B 位点的基因表达^[2], 如抗凋亡蛋白 A20, Bcl-2, p53, 以及一些细胞粘附分子 (IFA1, ICAM2, LFA3), 但是, 这种激活并不足以解释 LMP-1 转化特性, 可能涉及其他信号传导通路。

2.2 TRAF $\rightarrow$ NF- κ B 非依赖性途径

最近, Miller 发现 LMP-1 通过 TRAF 诱导 EGFR 表达, 而且这种诱导不依赖于 NF- κ B 活化^[6,7]. TRAF3 虽然是 NF- κ B 活化的负性调节因子, 但是, 它似乎是 LMP-1 诱导 EGFR 活化所必需的. 对 TRAF3 转基因缺失小鼠研究也表明 TRAF3 在 TRAF 介导的 NF- κ B 非依赖性信号传导通路中起着正性调节作用^[8]. TRAF3 对 LMP-1 的上皮细胞促生长效应尤为重要, 这可能在上皮性肿瘤, 如鼻咽癌的发生中起着重要作用。

同时, EBV 基因重组分析表明, 如果 TRAF 结合域缺失, LMP-1 仍能诱导野生型 NF- κ B 表达, 但是不能转化 B 淋巴母细胞, 而 LMP-1 (1~ 231)

(保留 TRAF 结合域) 却足以诱导 B 淋巴母细胞生长转化, 这提示 TRAF 结合域具有完全不同于 NF- κ B 依赖性途径的生物学效应。

2.3 TRADD $\rightarrow$ NF- κ B 途径

LMP-1 可经 TRADD (tumor necrosis factor receptor-associated death domain protein) 结合于 CTAR2 区 384~ 386 位氨基酸而激活高水平 NF- κ B 表达^[9,10]. 迄今为止, 尚未发现任何已知的 TRAF 直接作用于 CTAR2 区. 由于 TRAF2 显性负性突变体阻碍 TRADD 信号传导, TRAF2 似乎是被 TRADD 活化的下游靶分子, 可借助 I κ B 激酶而活化 NF- κ B.

3 AP-1 途径

AP-1 是新近被证实的 LMP-1 信号传导靶基因, 被认为与细胞转化、增殖紧密相关. 其活化主要通过两条信号路径实现. 一条是 SEK $\rightarrow$ JNK $\rightarrow$ c-Jun/AP-1 途径; 另一条是 Ras $\rightarrow$ Raf1 $\rightarrow$ ERK1/2 $\rightarrow$ AP-1 途径。

3.1 SEK $\rightarrow$ JNK $\rightarrow$ c-Jun/AP-1 途径

近来发现, LMP-1 通过 SEK1 (stress-activated protein kinase / extracellular signal regulated kinase 1) 活化 JNK (c-jun N-terminal kinase), JNK 可使 c-Jun 63 和 73 位丝氨酸残基磷酸化, 从而启动 c-Jun 转录^[10]. 对 LMP-1 羧基端胞浆区的突变分析证实整个该区的缺失可阻止 LMP-1 活化 JNK, 仅有 CTAR1 缺失并不消除 JNK 活性, 而阻断 CTAR2 区, JNK 活性则又回到基础水平, 提示 CTAR2 区介导 SEK $\rightarrow$ JNK $\rightarrow$ c-Jun/AP-1 信号传导^[11]. 至于在 LMP-1 和 SEK 之间是否存在中间介质? 尽管有人试图证实, 但迄今为止仍未发现任何分子。

3.2 Ras $\rightarrow$ Raf1 $\rightarrow$ ERK1/2 $\rightarrow$ AP-1 途径

尽管 Kieser 等^[11] 将 LMP-1 和 ERK2 (extracellular signal regulated kinase 2) 共转染人胚肾 293 细胞, 发现 LMP-1 并不激活 ERK2, 但是, Roberts 最近发现 EBV 感染静息性 B 淋巴细胞可活化 ERK1/2, 在 Rat-1 成纤维细胞中, LMP-1 表达可使 ERK1/2 活性增加 3.8 到 5 倍, 而 Ras 显性负性突变体却阻碍这种活化. 可是, 若进一步转染活化的 Raf1, 则又恢复了 ERK1/2 活性, 最终启动 AP-1 转录^[12].

4 JAK/STAT 及其他途径

JAK/STAT (just another kinase/signal

transducer and activator of transcription) 途径是一种较简捷的信息传递方式, 其作用方式为: 活化的受体与 JAK 或 STAT 结合, JAK 激活某种基因因子 (gene factor), STAT 则直接作为受体酪氨酸激酶的底物被磷酸化, 形成二聚体, 并因此而脱离受体, 进入细胞核, 激活转录. Li 等^[13]发现 LMP1 可经 JAK/STAT 而介导信号传导, 具体机制尚不清楚.

另外, Arvanitakis 等^[14]证实 LMP-1 能诱导 Cyclin D2 表达, 表达的 Cyclin D2 与 cdk4 结合, 使 RB 维持在高磷酸化状态, 从而逃避外来负性生长调节信号, 如 TGF- β 介导的生长抑制信号通路, 进而诱发细胞周期失控, 使细胞无限增殖.

5 展望与结语

现已清楚, LMP-1 可经几条不同的信号传导通路发挥其生物学效应. 但是, 目前我们对 LMP-1 理解尚很肤浅, 有许多问题尚待进一步阐明. a. 虽然我们可以假定 LMP-1 类似活化的 CD40, 但是, 两者与信号传导密切相关的胞浆羧基端部仅存在有限的同源性, 相似的信号传导通路却有着截然不同的功能, 原因何在? b. 由于不同地理分布的 EBV 可编码不同序列的 LMP-1, 进一步确定这些变异的 LMP-1 诱导其特异的信号传导通路, 无疑有助于阐明呈局限性地理分布且与该 EBV 相关的疾病的致病机理; c. 进一步探讨上述各条路径涉及的信号靶分子, 是否还存在其他的信号传导通路, 各信号传导通路间的关系以及每条路径在 LMP-1 分子信号传导通路中的作用, 都是对 LMP-1 研究极有意义的课题. 总之, 相信随着 LMP-1 信号传导研究的不断深入, 进一步阐明 LMP-1 介导的复杂的信号网络, 将会为我们正确认识细胞增殖转化及其调控机理提供新的线索.

参 考 文 献

- Kieff E. Epstein-Barr Virus — increasing evidence of a link to carcinoma. *N Eng J Med*, 1995, **333** (11): 724~ 726
- Gilmore T D, Koedood M, Piffat K A, *et al.* Rel/ NF- κ B/ I κ B proteins and cancer. *Oncogene*, 1996, **13** (7): 1367~ 1378
- Eliopoulos A G, Stack M, Dawson C W, *et al.* Epstein-Barr Virus encoded LMP-1 and CD40 mediate IL-6 production in epithelial cells via an NF κ B pathway involving TNF receptor-associated factors. *Oncogene*, 1997, **14** (24): 2899~ 2916
- Miller W E, Cheshire J L, Nancy R T. Interaction of tumor necrosis factor receptor-associated factor signaling proteins with the LMP-1 PXQXT motif is essential for induction of the EGFR expression. *Mol Cell Biol*, 1998, **18** (5): 2835~ 2844
- Devergne O, Hatzivassiliou E, Kenneth M, *et al.* Association of TRAF1, TRAF2, and TRAF3 with an Epstein-Barr Virus LMP-1 domain important for B-lymphocyte transformation: role in NF- κ B activation. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (12): 7098~ 7108
- Miller W E, Mosialos G, Kieff E, *et al.* Epstein-Barr Virus LMP-1 induction of the EGFR is mediated through a TRAF signaling pathway distinct from NF- κ B activation. *J Virol*, 1997, **71** (1): 586~ 594
- Miller W E, Cheshire J L, Nancy R T. The NPC derived C15 LMP-1 protein confers enhanced activation of NF- κ B and induction of the EGFR in epithelial cells. *Oncogene*, 1998, **16** (14): 1869 ~ 1877
- Xu Y, Cheng G, Baltimore D. Targeted disruption of TRAF3 leads to postnatal lethality and defective T-lymphocyte immune responses. *Immunity*, 1996, **5** (2): 407~ 415
- Izumi K M, Kieff E. The Epstein-Barr Virus LMP-1 engages the TRADD to mediate B lymphocyte growth transformation and activate NF- κ B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94** (23): 12592~ 12597
- Eliopoulos A G, Young L S. Activation of the c-Jun N-terminal kinase (JNK) pathway by the Epstein-Barr Virus-encoded latent membrane protein (LMP-1). *Oncogene*, 1998, **16** (13): 1731 ~ 1742
- Kieser A, Kilger E, Olivier G, *et al.* Epstein-Barr Virus LMP-1 triggers AP-1 activity via the c-Jun N-terminal kinase cascade. *EMBO J*, 1997, **16** (21): 6478~ 6485
- Roberts M L, Cooper N R. Activation of a Ras-MAPK-dependent pathway by Epstein-Barr Virus latent membrane protein 1 is essential for cellular transformation. *Virology*, 1998, **240** (1): 93~ 99
- Li F H, Troyanovsky B, Zhang X, *et al.* EBV latent membrane protein 1 signals through JNK/c-Jun pathways as well as the JAK/STAT pathway. In: Kieff E ed. International Symposium Tumor Associated Herpesviruses 8th International Meeting of the EBV Association, Program and Abstracts, Stockholm, 1998. Stockholm: Sant, 1998. 12~ 16
- Arvanitakis L, Yaseen N, Sharma S. Latent membrane protein 1 induces CyclinD2 expression, PRB hyperphosphorylation and loss of TGF- β 1-mediated growth inhibition in EBV-positive B cells. *J Immunol*, 1995, **155** (3): 1047~ 1056

Signal Transduction Mediated by the Epstein-Barr Virus encoded LMP-1. WANG Cheng-Xing, CAO Ya (Tumor Research Institute, Hunan Medical University, Changsha 410078, China).

Abstract The role of the Epstein-Barr Virus-encoded LMP-1 in mediating new signal transduction pathway becomes more attractive than ever. The structural properties, and function of LMP-1, the effects of TRAF/TRADD, the activation of NF- κ B, AP-1, and JAK/STAT were reviewed.

Key words latent membrane protein 1, signal transduction, Epstein-Barr virus