

Chemistry, Peking University, Beijing 100871, China).

Abstract The methods, principles, achievements as well as obstacles of de novo protein

design were reviewed.

Key words protein, de novo design, prediction

细胞因子受体超家族与信号转导

贺平 汤钊猷

(上海医科大学中山医院肝癌研究所, 上海 200032)

摘要 细胞因子受体超家族及其介导信号转导的新途径已引起人们的广泛注意. 主要包括受体结构特征, Janus 激酶 (JAKs) 的作用, 信号转导及转录激活因子 (STAT) 和 Ras 蛋白的激活, 以及细胞因子信号转导的异常与临床疾病的关系等. 有助于人们正确认识细胞因子的生物学效应.

关键词 细胞因子, 细胞因子受体, 信号转导, 酪氨酸激酶

学科分类号 Q73

细胞因子 (cytokine) 是一类具有广泛生物学活性的可溶性多肽, 它与受体结合后可通过多种信号转导途径及激活不同的转录因子, 调节细胞的生长、分化和功能活性. 最近研究发现, 绝大多数细胞因子与其受体结合后, 通过一条共同的信号转导途径调控基因的表达, 即激活 Janus 酪氨酸激酶系统 (JAKs), 活化信号蛋白及转录因子^[1].

1 细胞因子受体超家族

细胞因子受体是一类跨膜的细胞表面受体, 它本身缺乏激酶结构域, 但它与另一类激酶 (JAKs) 密切联系. 细胞因子受体超家族虽然由一个共同的祖先进化而来, 但由于长期的演变, 各成员间同源性并不高. 它们的一个显著特征是绝大多数受体都由几个亚基组成 (EPOR、GHR 等例外), 至少含一条配体结合链和一条信号转导链. 前者又称“私有链”, 可特异地与配体结合; 后者又称“公有链”, 它不与配体结合, 而参与多种受体的信号转导, 是共同的信号传导组分.

根据受体结构特征, 一般将细胞因子受体

分成两大类.

第一类受体至少包括 20 多种, 其配体分别是 IL-2 ~ IL-7、IL-9、IL-11、IL-12、IL-15、EPO、PRL、GH、G-CSF、GM-CSF、LIF (白细胞抑制因子)、CNTF (睫状神经营养因子) 等. 这些受体的共同特征是在受体细胞外区特定位置上有四个保守的半胱氨酸残基和 Trp-Ser-XXX-Trp-Ser (WSXWS) 结构模式 (X 代表任一氨基酸残基), 形成一个与配体结合的结构域. 在受体胞浆区近胞膜处含有 BOX1 和 BOX2 结构域, BOX1 由一簇疏水氨基酸残基和 Pro-XXX-Pro 序列组成, BOX2 由几个疏水氨基酸、一个带负电的氨基酸和一至二个带正电的氨基酸残基组成. BOX1 和 BOX2 是受体发挥有丝分裂活性 (mitogenic activity) 所必需. 这类受体根据其亚基的组成形式、信号转导链的特征及与之关联的 JAK 激酶的不同, 又可分为不同的亚类. 如 EPOR 亚类、IL-3R 亚类、IL-6R 亚类及 IL-2R 亚类等.

第二类受体数量较少, 其配体分别是

IFN- α/β 、IFN- γ 和 IL-10. 这些受体的共同特征是含有一个由 200 个氨基酸残基组成的结构域. 在这个结构域的 N 端有一对半胱氨酸残基, 被 7 个氨基酸残基分隔开; 在其 C 端也有一对半胱氨酸残基, 被 20 个左右氨基酸残基分隔开. 在受体结构中, 还含有几个保守的脯氨酸和酪氨酸. 这类受体由多个亚基组成, 至少有二个亚基参与信号转导. 在 IFN α/β R 中, JAK1 与 β 链关联, 而 TYK2 与 α 链关联^[2]. 在 IFN γ R 中, JAK1 与 α 链关联, JAK2 与 β 链关联.

2 JAK 激酶家族的结构与功能

JAK 激酶家族现已有 4 个成员, JAK1、JAK2、Tyk2 和 JAK3. 它们是分子质量为 120~135 ku 的胞浆内激酶, 有 35%~40% 的同源性, 分子内缺乏 SH2 和 SH3 结构域, 从 C 端到 N 端有 7 个高度保守的区域, 分别命名为 JH1~JH7. 位于 C 端的 JH1 含有与其他酪氨酸激酶相关的一致序列, 因此认为它具有酪氨酸蛋白激酶催化活性; JH2 是另一个激酶样结构域, 它含有其他激酶所有的亚结构单位, 但缺乏激酶活性所必需的几个氨基酸残基 (ATP 结合位点), 因此认为它没有激酶活性, 可能有调节功能. 位于 N 端的一些同源区, 意义尚不清楚, 可能负责 JAK 与细胞因子受体之间的联系.

JAK 主要与细胞因子受体信号转导亚基相连, 激活后在受体信号转导中起重要作用. 许多实验都证实了这一点. 细胞的遗传突变使其缺乏 JAK1、JAK2 或 Tyk2, 这些细胞不能对干扰素起反应, 一旦加入缺乏的 JAK, 又恢复了信号转导功能. JAK1 的激酶活性突变后, 虽然维持 IFN- γ 诱导的基因表达, 但无抗病毒作用^[3]. 有些缺失或突变影响 JAK 与细胞因子受体的结合, 也会导致受体全部功能的失活.

3 细胞因子受体介导的信号转导

细胞因子与受体结合后, 引起受体形成寡

聚体, 并激活 JAKs, JAKs 使受体本身和胞浆内蛋白质磷酸化, 产生二条主要的信号传导路径. 一是受体本身磷酸化后提供蛋白质结合位点, 激活 Ras 蛋白; 二是胞内蛋白如信号转导及转录激活因子 (signal transducer and activators of transcription, STATs) 磷酸化, 进入胞核, 直接调控基因转录.

3.1 JAK-Ras 途径

EPO、IL-3 等因子与受体结合, 激活与受体近膜胞浆区结合的 JAK2, JAK2 又使受体胞浆区远离胞膜的区域酪氨酸磷酸化, 提供一些结合位点, 被含有 SH2 结构域的信号分子如 SHC、Syp 和 HCP 等识别结合^[4]. SHC 与 GRB2 相连, 并与 Ras 激活蛋白因子 MSos1 结合形成稳定的复合物, 使 Ras-GDP 活化为 Ras-GTP. 一旦 Ras 激活, 它又影响胞浆中许多丝氨酸/苏氨酸激酶的效应, 如 Raf-1、MAPKK、MAPK 等. MAPK 可从胞浆迁移到核内, 使转录因子磷酸化, 而最终把信号传到核内. 实验证明, 切除 IL-3 受体 β 亚基 626 位氨基酸以后的羧基端, 受体仅能激活 JAK2, 但不能诱导 Ras 信号途径中的任何反应.

HCP 是蛋白质磷酸酶, 主要在造血细胞中表达. 其羧基端仅有一个酪氨酸磷酸酶的催化结构域, 氨基端含二个 SH2 结构域, 通过 SH2 结构域结合到磷酸化的 IL-3 受体 β 链、EPO 受体及 B 细胞抗原受体上. HCP 常使 JAK2 去磷酸化而失去活性. 在造血细胞无 HCP 表达的突变小鼠体内, 细胞因子的反应增强, 其造血细胞祖系的增生比正常鼠快许多倍, 小鼠出生后 3~6 周即死亡. HCP 的过度表达往往抑制细胞因子反应. 因此, HCP 是一种细胞因子信号传导的负性调控因子.

Syp 也是一个磷酸酶, 但它促进信号传导. Syp 含二个 SH2 结构域, 与 IL-6 等细胞因子受体结合, 本身被 JAK 磷酸化后与 Grb2 结合, 再激活 Ras 途径^[5]. Syp 还可使 Src 激酶羧基端磷酸化的酪氨酸去磷酸化而激活 Src 激酶家族.

JAK 还可使 V_{av} 磷酸化而直接激活 Ras 途径. V_{av} 是造血细胞特异的 GTP 交换蛋白, 在 T、B 淋巴细胞抗原受体信号转导中起重要作用^[6].

3.2 JAK-STAT 途径

STAT 是一类新的蛋白质家族. 现已发现 STAT1 α 、STAT1 β 、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5、STAT6 等成员^[7].

STAT 家族分子结构中典型的特征是在其羧基端含一个 SH2 结构域和 SH3 样的结构域, 在氨基端有几个保守的同源区, 在分子的中部有与 DNA 结合的保守区. 其羧基端有一个保守的酪氨酸残基, 它的磷酸化对 STAT 功能至关重要. STAT 分子通过 SH2 结构域形成同源或异源二聚体, 并引发 STAT 进入核膜和 DNA 结合. 最近还发现 STAT 分子中的丝氨酸/苏氨酸磷酸化对 STAT 的活化也起一定作用, 这种磷酸化作用可能是由 MAP 激酶催化^[8], 说明 STAT 激活与 Ras 激活之间也有某种联系.

STAT 识别的 DNA 元件, 常有回文序列 TTNNNNAA, STAT1 和 STAT3 的最佳识别序列为 TTCC (C/G) GGAA, 其他 STAT 偏爱的识别序列正在鉴定中. 不同 STAT 形成的异源二聚体可能影响到它们的识别序列的特异性.

STAT 家族中不同成员被 JAK 激酶磷酸化后, 直接介导不同细胞因子的信号转导和转录激活^[7]. 如 STAT1 和 STAT2 促进 IFN 调控的基因转录, STAT3 为 IL-6 诱导的基因表达所必需, STAT4 仅在 IL-12 诱导 Th1 辅助细胞发育成熟中起作用, IL-10 可激活 STAT5 和 STAT6 结合到免疫球蛋白基因位点中的一个元件, 促进 IL-4 诱导的 MHC II 类抗原及免疫球蛋白受体等的表达, 促进 Th2 辅助细胞的发育. 尽管 STAT 各成员 (STAT4 例外) 在多种细胞中广泛表达, 但它们在多种细胞类型中调节不同的基因, 这可能因为 STAT 只是多蛋白因子转录复合体中一个成员, 转录复合体还含有其他细胞系特异或分化特异的组

分.

受体突变试验表明, STAT 的激活需要 JAK 的催化, STAT 可能是 JAK 的直接底物. JAKs 在体外可使 STAT 单个酪氨酸磷酸化, 促进 STAT 与 DNA 结合. 随着 STAT 家族成员的越来越多, 人们认为可能所有的细胞因子都激活一个或几个 STAT. 因此, JAK-STAT 是细胞因子间的一条共同的信号传导途径.

4 信号转导异常与疾病的关系

在细胞因子受体介导的信号转导过程中, 各组分之间的协调合作保证信号转导的正常进行. 某一组分的异常, 都会引起信号转导作用的增强或减弱, 从而导致疾病的发生. 如鼠 IL-7R 或 IL-2R γ C 链的缺乏或突变扰乱了 JAK3 与受体的结合, 引起 T、B 淋巴细胞发育障碍, 导致 X-相关的严重联合免疫缺陷症 (XSCID) 的发生^[9,10]. 人体内 JAK3 基因突变, 导致体内 JAK3 水平下降, 也出现了 XSCID^[11]. 在急性淋巴细胞白血病 (ALL) 病人体内, 其前 B 细胞内 JAK2 的表达增高, 而且被磷酸化激活导致这些白血病细胞生长失控, 应用 AG490 特异地阻断 JAK2 可诱导细胞的程序性死亡, 抑制 ALL 的发展^[12]. 但最近有人在费城染色体异常的 ALL 病人 (Ph+ ALL) 体内发现多种 JAK 和 STAT 失活^[13].

5 展望与结语

信号转导一直是生物化学和分子生物学的研究热点. JAK、STAT 等成分在信号转导中的重要性正引起人们的重视. 特别是 JAK 激酶活性的高低及 STAT 结构的完整性直接影响细胞因子的反应性. 因此, 调控 JAK 激酶的活性, 可能成为发展新药的一条思路. 最近发现, JAK 和 STAT 不仅与细胞因子受体信号转导有关, 还参与其他受体的信号转导, 如 Leptin 受体^[14], 与糖尿病和肥胖症的发生密切相关. 这些提示, JAK-STAT 信号转导途径不是孤立的, 而是与其他系统相互联系, 相互影响的, 是体内整个信号转导网络的一部分.

由于多种细胞因子一直广泛应用于临床，人们不仅关心其短期的临床疗效，更关心其在体内因信号转导和转录激活而引起的长期的生物学效应。相信随着信号转导研究的不断深入，进一步阐明细胞因子受体结构与功能以及 JAK、STAT 的作用机制，会对细胞因子临床应用的安全性以及发展新的药物提供依据。

参 考 文 献

- 1 Heim M H. The JAK-STAT pathway: specific signal transduction from the cell membrane to the nucleus. *Eur J Clin Invest*, 1996, **26** (1): 1~ 12
- 2 Yan H, Krishnan K, Lim J T E *et al.* Molecular Characterization of an α -IFN γ subunit domain required for Tyk2 binding and signal transduction. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (5): 2074~ 2082
- 3 Briscoe J, Rogers N C, Witthuhn B A *et al.* Kinase negative mutants of JAK1 can sustain IFN- γ -inducible gene expression but an antiviral state. *EMBO J*, 1996, **15** (4): 799~ 809
- 4 Ravichandran K S, Igras V, Shoelson S E *et al.* Evidence for a role for the phosphotyrosine-binding domain of SHC in IL-2 signalling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (11): 5275~ 5280
- 5 Tang T L, Freeman R M, O'Reilly J A M *et al.* The SH2-containing protein-tyrosine phosphatase SH-PTP2 is required upstream of MAPKinase for early Xenopus development. *Cell*, 1995, **80** (3): 473~ 483
- 6 Tarakhovsky A, Turner M, Schaal S *et al.* Defective antigen receptor-mediated proliferation of B and T cells in the absence of Vav. *Nature*, 1995, **374** (6521): 467~ 470
- 7 Darnell J E. Reflection on STAT3, STAT5 and STAT6 as fat STATs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (13): 6221~ 6224
- 8 Zhang X, Blenis J, Li H L *et al.* Requirement of serine phosphorylation for formation of STAT-promoter complexes. *Science*, 1995, **267** (5206): 1990~ 1994
- 9 Maki K, Sunaga S, Komagata Y *et al.* Interleukin 7 receptor-deficient mice lack $\gamma\delta$ T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (14): 7172~ 7177

- 10 Disanto J P, Guy-Grand D, Fisher A *et al.* Critical role for the common receptor γ chain in intrathymic and peripheral T cell selection. *J Exp Med*, 1996, **183** (3): 1111~ 1118
- 11 Macchi P, Villa A, Gillani S *et al.* Mutation of JAK3 gene in patients with autosomal severe combined immune deficiency (SCID). *Nature*, 1995, **377** (6544): 65~ 68
- 12 Meydan N, Grunberger T, Dadi H *et al.* Inhibition of acute lymphoblastic leukaemia by a JAK2 inhibitor. *Nature*, 1996, **379** (6566): 645~ 648
- 13 Kanwar V S, Witthuhn B, Compana D *et al.* Lack of constitutive activation of JAKs and signal transduction and activation of transcription factors in Philadelphia Chromosome positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 1996, **87** (11): 4911~ 4912
- 14 Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A *et al.* Defective STAT signalling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (13): 6231~ 6235

Cytokine Receptor Superfamily and Its Role in Signal Transduction. HE Ping, TANG Zhaoyou (*Liver Cancer Institute, Zhongshan Hospital, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China*).

Abstract The cytokine receptor superfamily and its role in mediating new pathways of signal transduction become more attractive than ever. The structural properties of cytokine receptors, the effects of Janus kinases, the activation of STAT and Ras protein and the relationship between the abnormality of signal transduction and the clinical diseases have been reviewed. This may help to correctly understand the biological effects of cytokines.

Key words cytokine, cytokine receptor, signal transduction, tyrosin kinase

反相胶束体系中的酶学研究

朱浩 施 甬

(北京大学技术物理系, 北京 100871)

范映辛 周筠梅¹⁾

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 反胶束是新的酶学研究体系，酶在反胶束体系中的性质与在水溶液中相比有较大区别。评述了

¹⁾通讯联系人。 收稿日期: 1997-03-19, 修回日期: 1997-08-01