

Phenanthroline-Cu Complex Induced DNA Damage and Its Study as a Chemical Nuclease.

MA Wen-jian, CAO Er-hua (*Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*).

Abstract Phenanthroline-Cu is a complex that have nuclease activity, it can induce several kinds of DNA damage, including base modifications, abasic sites, strand breaks and DNA pro-

tein crosslinks. There is a considerable interest on this complex in recent years in the area of free radical biology and medicine as well as nucleic acids chemistry, for the role of phenanthroline-Cu as a model of generating reactive oxygen species and as a chemical nuclease.

Key words phenanthroline-Cu, chemical nuclease, DNA damage, reactive oxygen species

白细胞与内皮细胞的粘附

林 勇 汪 钟

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005)
(中国协和医科大学)

摘要 白细胞与内皮细胞相互作用由粘附分子介导。整合素、免疫球蛋白及选择素家族的粘附分子在这两种细胞的粘附中起关键作用。粘附的起始阶段由选择素介导, 随后由 CD11/CD18 复合物与 ICAM-1 形成更为紧密的结合。多种细胞因子及炎症反应可诱导粘附。抗粘附分子单抗、药物等可抑制粘附。

关键词 粘附, 白细胞, 内皮细胞, 粘附分子

学科分类号 R36

白细胞与内皮细胞密切地参与机体的防御和炎症反应, 它们间的相互作用对机体各种功能的发挥及各种疾病的发生、发展至关重要。白细胞与内皮细胞的粘附不仅发生在各种病理过程, 而且也发生在淋巴细胞循环的生理过程中。它们间的粘附是一种复杂的细胞表面分子间的相互作用, 虽然早在 150 多年前人们就观察并报道了这种细胞间相互作用, 但直到本世纪 80 年代, 细胞粘附的分子机制才被逐渐阐明。白细胞与内皮细胞的粘附往往通过多对粘附分子共同介导, 不同的粘附分子在粘附的不同阶段起作用, 以一种程序化的方式, 形成一种被称为白细胞-内皮细胞粘附的级联。有三个家族的粘附分子在细胞间粘附中起关键作用, 它们是整合素家族、免疫球蛋白超家族及选择素家族。

1 粘附分子

1.1 整合素家族 (integrin family)

整合素为一族广泛表达的细胞粘附分子, 它由 α 和 β 亚基组成。一般根据其所包含的 β 亚基来分类, 即相同的 β 亚基与不同 α 亚基组成的一系列整合素为同一类型。一级结构已明确的 α 亚基有 11 个, β 亚基有 8 个。基因组分析提示, 至少应有 15 个 β 亚基即至少有 15 种类型的整合素。此族粘附分子可介导三种粘附: a. 细胞-细胞; b. 细胞-基质; c. 细胞-可溶性因子。整合素介导的粘附对温度及阳离子要求较高, 特别是镁离子。

$\beta 1$ 整合素又称为 VLA 抗原 (very late

activation antigen), 由分子质量为 135 ku 的 $\beta 1$ (CD29) 亚基与分子质量为 135~220 ku 的 α 亚基结合而成. $\beta 1$ 整合素包括表达于白细胞及许多非白细胞上的与纤连蛋白、粘连蛋白、玻连蛋白、腱生蛋白 C、RGD 序列及胶原等细胞外基质结合的受体. VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$) 是一个特殊的 $\beta 1$ 整合素, 它既是细胞外基质的受体, 又是细胞与细胞相互作用的受体, 可表达于静息的淋巴细胞、单核细胞, 与淋巴细胞和内皮细胞的粘附关系密切. $\alpha 8\beta 1$ 是新近发现的 $\beta 1$ 整合素^[1], 与肾脏形态发生过程中表皮间叶的相互作用有关.

$\beta 2$ 整合素又称 CD11/CD18 复合物或白细胞整合素, 因为它们只表达于白细胞. 此蛋白质由分子质量为 95 ku 的 $\beta 2$ (CD18) 亚基与分子质量约为 170 ku 的 α (CD11) 亚基组成, 共 3 个. 分别为: 淋巴细胞功能相关抗原 1 (LFA-1, $\alpha 1\beta 2$, CD11a/CD18)、巨噬细胞分化抗原 1 (MAC-1, CR3, $\alpha m\beta 2$, CD11b/CD18) 及糖蛋白 150, 95 (p150, 95, $\alpha x\beta 2$, CD11c/CD18). $\beta 2$ 整合素参与多种与粘附有关的功能, LFA-1 存在于所有白细胞, MAC-1 和 p150, 95 一般只存在于髓系白细胞. LFA-1 与免疫反应关系密切. MAC-1 在白细胞趋化, 与内皮细胞结合及通过 iC3b 偶联的免疫复合物的吞噬中起重要作用. 有关 p150, 95 的报道较少, 因为高度表达 p150, 95 的细胞是组织巨噬细胞, 对其研究较为困难.

$\beta 3$ 整合素又叫细胞粘附素 (cytoadhesins), 包括 2 个, 一个是血小板膜糖蛋白 GP IIb IIIa ($\alpha IIb\beta 3$), 另一个为玻连蛋白受体 ($\alpha V\beta 3$). 其他 β 整合素目前所知甚少.

1.2 免疫球蛋白超家族

免疫球蛋白超家族 (immunoglobulin superfamily) 是一族分子中含有数目不等的 Ig 结构域的蛋白, 此结构域由 90~100 个氨基酸通过反平行 β 折叠形成三明治样结构, 中间形成二硫键使结构更为牢固. 一条链中, 可有 1~6 个 Ig 结构域. 有趣的是: 免疫球蛋白和主要组织相容性复合物 (MHC) 分子中有两

条多肽链, 这两条链形成成对的 Ig 结构域, 而粘附分子只有一条多肽链, 其 Ig 结构域不成对. 免疫球蛋白超家族粘附分子有 ICAM-1、ICAM-2、VCAM-1、LFA-2、LFA-3、NCAM 和 MAG 等, 其中研究比较透彻、与白细胞-内皮细胞相互作用关系密切的为 ICAM-1 和 VCAM-1. ICAM-1 是分子质量为 80~113 ku 的糖蛋白, 细胞外部分有 5 个 Ig 结构域, 紧接着为一个跨膜片段及一段短的细胞质片段. 与其功能相似的 ICAM-2 分子中只有 2 个 Ig 结构域, 它是 LFA-1 的另一个配体, 与 ICAM-1 不同的是: ICAM-2 在静息的内皮细胞已充分表达, 炎症反应及细胞因子刺激不能促进其表达.

VCAM-1 有 6 个 Ig 结构域, 主要表达于内皮细胞, 也存在于非血管细胞包括树枝状滤泡细胞及粥样硬化的血管平滑肌细胞^[2]. VCAM-1 与整合素 VLA-4 互为受体-配体, 炎症及细胞因子的刺激可增加其表达.

1.3 选择素家族

选择素家族 (selectin family) 是一族具有相似氨基酸序列及相同组成形式的粘附分子, 共有三个成员, 分别为: P 选择素, E 选择素及 L 选择素. 这族粘附分子都参与白细胞与内皮细胞的粘附. 每个成员均有独特的镶嵌结构; 氨基端为凝集素样结构域, 随后为表皮生长因子样结构域及数目不等的重复序列. P 选择素、E 选择素和 L 选择素分别有 9 个、6 个和 2 个重复序列. 此序列与补体调节蛋白 (CR) 相似, 每个重复序列大约含 60 个氨基酸残基. 重复序列之后为一个跨膜片段和一个很短的胞质片段. 选择素的配体尚未完全确定, 已知选择素可与唾液酸及岩藻寡糖如 Sialyl Lewins X (SLE X) 结合, 近来发现的被称为 P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) 的糖蛋白, 与 P 选择素有很高的亲和力, 且也与 E-选择素结合^[3].

P 选择素通常称为颗粒膜蛋白 140 (GMP-140) 或 CD62. 存在于内皮细胞的 Weibel Palade 小体及血小板的 α 颗粒中. 在

凝血酶、组织胺等激活下, 此蛋白迅速分布于质膜, 介导细胞粘附。一般认为, E 选择素只分布于内皮细胞。但最新的报道显示^[4], 经环己酰亚胺处理的血管平滑肌细胞也可表达。在静息状态, 内皮细胞表面并无 E 选择素表达, 只有在某些细胞因子或炎症刺激下才表达。与 P 选择素不同, E 选择素的表达需要较长时间, 一般为 2~ 4 h。L 选择素只存在于白细胞, 与目标细胞上的糖缀合物及 PPME (polyphosphomonoester) 结合。EDTA 可抑制其与 PPME 的粘附。

2 白细胞与内皮细胞粘附的研究方法

研究白细胞与内皮细胞粘附有体外实验及体内实验, 体外实验一般用同位素标记白细胞, 然后与培养的内皮细胞孵育, 洗掉未粘附的白细胞, 通过测定放射活性反映粘附的细胞数。还可以通过测定单核细胞及中性粒细胞内所含的髓过氧化酶来代替同位素标记, 比较先进的是流式细胞仪法, 将白细胞及内皮细胞分别染上不同的荧光, 混和后用多聚甲醇固定, 进样。具有双色的细胞团即为发生粘附的细胞。

体内试验一般用肠系膜或横纹肌的毛细血管, 将其放置在手术显微镜下, 投以强光照射使其透明, 即可观察并录像。必要时可注入吖啶橙使白细胞染色, 然后用荧光显微镜观察。在体内, 白细胞与内皮细胞的相互作用可分为两种, 一种是滚动 (rolling), 一种是牢固粘附 (firm adhesion)。当白细胞在血管内的流动速度低于同血管红细胞时, 即为滚动。滚动为粘附的初始阶段。

由于粘附反应的多样性及复杂性, 评价各种粘附分子在不同的粘附反应中所起的作用显得十分重要。大部分有关粘附分子在细胞间相互作用中所扮演角色的知识来自单克隆抗体。通过单抗对粘附的抑制作用可以阐明某种粘附分子是否参与特定的粘附反应及哪些粘附分子互为受体-配体关系。除单抗外, 从细胞膜上提取的可溶性粘附分子也可用于拮抗白细胞与内皮细胞的粘附。这方面研究比较多的是选择

素。体内试验则可用嵌合选择素的 Ig 蛋白 (选择素的胞外部分与 IgG 重链的 CH2、CH3 结构域融合), 这种嵌合体的半衰期比单纯的选择素长。还可通过设计与粘附分子结合位点具有高亲和力的肽链, 来拮抗粘附反应。这方面报道较多的是 P-选择素及 ICAM-1。

粘附分子在整体水平作用的资料还来自先天性粘附分子缺陷的病人或动物。一些最早提示粘附分子临床重要性的线索来源于一种先天性疾病——白细胞粘附缺陷 (LAD)。这种病人或动物因 CD11/CD18 复合物缺陷, 可产生严重的巨噬细胞迁移障碍及粒细胞减少, 常发生反复感染, 且感染部位不化脓。目前通过基因敲除技术可有目的地使动物产生某种粘附分子缺陷。

3 粘附的激活

粘附可分为白细胞依赖性粘附和内皮细胞依赖性粘附, 由刺激白细胞引起的粘附为白细胞依赖性的, 由刺激内皮细胞引起的粘附为内皮细胞依赖性的。白细胞上的粘附分子主要有 $\beta 2$ 整合素、L 选择素及 VLA-4, 其配体主要为内皮细胞上的 ICAM-1。内皮细胞上的粘附分子主要有 P 选择素、E 选择素、ICAM-1 及 VCAM-1。 $\beta 2$ 整合素介导的粘附属非特异性粘附, 因为除介导白细胞与内皮细胞粘附外, $\beta 2$ 整合素还介导白细胞与其他细胞外基质的粘附。选择素介导的粘附则为特异性粘附。

内皮细胞依赖性的粘附至少有两种形式, TNF α 等激活内皮细胞所引起的粘附, 至少需要 30~ 60 min, 4~ 6 h 作用最强, 并可持续 24~ 48 h。而凝血酶或组织胺等引起的内皮细胞激活只需几分钟, 通常 5~ 10 min 作用最强, 并在随后的 30~ 50 min 恢复到激活前水平。凝血酶、组织胺、H₂O₂ 等可导致内皮细胞 Weible palade 内的 P 选择素快速释放, 并表达于内皮细胞膜上。凝血酶还可促进内皮细胞产生血小板激活因子 (PAF), 而 PAF 可增加白细胞 CD11b 的表达。

豆蔻酰佛波醇乙酯 (PMA) 和甲酰甲硫

氨酰-亮氨酸-苯丙氨酸 (fMLP) 是常用的白细胞激活剂. PMA 可在 10~ 15 min 内使白细胞与内皮细胞的粘附增加 43%, 并持续 30 min 以上, fMLP (1 $\mu\text{mol/L}$) 也有相似但较短暂的作用. 抗 CD18 或抗 CD11b 单克隆抗体可阻断上述作用, 表明此粘附率增加由 CD11b/CD18 介导的. 一些报道认为未受刺激的白细胞与内皮细胞的粘附由 CD11a/CD18 介导.

L 选择素可介导淋巴细胞及中性粒细胞与内皮细胞的粘附. 白细胞激活后, L 选择素的表达并未增加, 但激活与未激活的 L 选择素对 PPME 的亲和力却相差 4.5~ 17 倍, 所以 L 选择素所介导的粘附增加很可能是通过改变其构象, 增加对配体的亲和力引起的. L 选择素在激活后迅速脱落. 此外 L 选择素还可介导白细胞与白细胞间的粘附, 白细胞表面既存在 L 选择素, 也存在 L 选择素配体.

有关整体动物白细胞与内皮细胞粘附的报道较少, 已有的报道从不同侧面支持体外研究的结果. 在吲哚美辛引起的慢性 (48 h) 肠粘膜溃疡模型中^[5], 每 100 μm 小静脉的白细胞粘附数从 (3.1 $\pm$ 0.6) 个增加到 (24.0 $\pm$ 1.6) 个. 抗 E 选择素及抗 CD11b 单抗可显著减少白细胞的粘附数, 抗 P 选择素单抗却无作用. 然而在吲哚美辛引起的急性炎症中 (几分钟), 抗 CD18、ICAM-1、P 选择素单抗均可抑制白细胞的粘附, 但抗 E 选择素单抗对其却无影响.

4 粘附的调节及影响粘附的因素

白细胞滚动是白细胞粘附的起始阶段, 滚动由白细胞上的 L 选择素及内皮细胞上的 P 选择素和 E 选择素介导. P 选择素介导的滚动为快速滚动 (30~ 50 $\mu\text{m/s}$), 而 E 选择素介导的滚动为慢速滚动 (3~ 5 $\mu\text{m/s}$)^[6]. 慢速滚动更有利于白细胞的粘附. 若缺乏 L 选择素, E 选择素的作用则降低. 虽然滚动是流动状态的白细胞与内皮细胞粘附的先决条件, 但若没有其他粘附分子参与, 这种选择素依赖性的细胞间相互作用不会导致牢固粘附及随后的白细

胞移行. 牢固粘附需要白细胞上的 $\beta 2$ 整合素介导.

粘附分子具有细胞特异性, ICAM-1 可介导大多数白细胞的粘附, VCAM-1 只介导淋巴细胞及单核细胞的粘附, E 选择素似乎主要在中性粒细胞粘附中起作用. 值得注意的是, IL-1 等细胞因子激活内皮细胞的不同时间, E 选择素及 CD11/CD18 所起的作用也不相同. 激活后 4 h, E 选择素、CD11a/CD18 及 CD11b/CD18 所介导的粘附大约各占 1/3. 激活后 24 h, E 选择素介导的粘附已基本消退, CD11/CD18 复合物介导的粘附却加强. 这与内皮细胞表面的 E 选择素及 ICAM-1 分子的表达相一致. IL-1 激活内皮细胞后 2~ 8 h, E 选择素表达最高, 随后逐渐消退, 而 ICAM-1 的 mRNA 要在激活后 4 h 才开始升高, 到 24 h 达最高点. 更有意思的是在不同的时间点 CD11/CD18 复合物各个亚型所起的作用也不同. 激活后 4 h CD11a/CD18 与 CD11b/CD18 所介导的粘附大至相同, CD11c/CD18 却无作用. 激活后 24 h, CD11b/CD18 所介导的粘附仍基本维持不变, CD11a/CD18 介导的粘附却增加一倍, 且 CD11c/CD18 也介导一定的粘附. 此外, 相互作用的两种细胞又可相互影响, 白细胞可释放介质 (超氧阴离子等) 调节内皮细胞的功能, 激活内皮细胞粘附分子的表达. 内皮细胞也可产生可溶性的白细胞激活因子 (PAF, IL-8 等), 调节白细胞的功能.

最有趣的还是选择素的调节. 三种选择素的调节方式各异, P 选择素贮存于内皮细胞的 Weibel-palade 小体内, 在凝血酶或组织胺等刺激下, 在几分钟内脱颗粒, 转运并表达于内皮细胞膜上, E 选择素在静息的内皮细胞不存在, 某些细胞因子可诱导其转录, 需要 2~ 4 h, 16~ 24 h 后恢复到原来水平. L 选择素则是结构性地表达于白细胞膜上, 激活后, 构象发生变化, 在数分钟内, 与其配体的亲和力即可显著增高, 随后迅速下调及消退. 不同种属的动物, 选择素表达的调控也有所不同, TNF- α 不能增加人内皮细胞 P 选择素的合成

但却能增加小鼠内皮细胞此粘附分子的合成. L 选择素介导的白细胞滚动, 需要一定的剪切力, 当剪切力低于 0.03 N/m^2 时, L 选择素介导的滚动消失, 这与其他所有的粘附分子不同, 一般情况下剪切力越低, 越有利于粘附. L 选择素的这种特性可能起到平衡低剪切力情况下粘附过强的作用.

在病理状况下, 粘附分子的表达可发生改变. 类风湿性关节炎病人的滑液, VLA-4 的水平明显增高. 成年人正常的血管平滑肌细胞不表达 VCAM-1 及 VLA-4, 但在动脉粥样硬化的血管平滑肌表面却有明显的表达^[2]. 不稳定性心绞痛病人冠状窦血白细胞的 CD11b/CD18 表达较主动脉血明显增加. 已经证实, 单核细胞粘附于病变部位的内皮细胞, 在局部聚集并吞噬脂质变成泡沫细胞是动脉粥样硬化的早期病理改变. 白细胞与内皮细胞的粘附还是缺血再灌引起组织损伤的重要原因, 缺血再灌注区血管内皮细胞 ICAM-1 表达明显增加, 心肌有明显的 PMN 聚集. 在培养的人脐带内皮细胞发现: 衰老的内皮细胞与白细胞的粘附率增加, ICAM-1 的过度表达至少与此粘附增加部分相关.

某些药物对粘附有调节作用. 阿斯匹林可抑制 $\text{TNF-}\alpha$ 引起的人脐带内皮细胞 VCAM-1 及 E 选择素 mRNA 的转录, 减少细胞膜上这两种粘附分子的表达, 而对 ICAM-1 的转录及表达没有影响. 其作用机理是抑制转录因子 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 的激活^[7]. 花生四烯酸及其衍生物 15-HETE, 15-HPETE 均可抑制 $\text{TNF-}\alpha$ 诱导的 E 选择素, ICAM-1 及 VCAM-1 的表达^[8], 其作用机理可能与抑制蛋白激酶 C 的易位有关. 酸性成纤维细胞生长因子 (aFGF) 与肝素合用可完全抑制 IL-1 β 引起的 ICAM-1 表达增加, 亦可减少 VCAM-1 和 E 选择素的表达^[9], 其作用机制不明.

参 考 文 献

- 1 Muller U, Wang D, Denda S *et al.* Integrin $\alpha 8 \beta 1$ is critically important for epithelial-mesenchymal interactions during kidney morphogenesis. *Cell*, 1997, **88** (5): 603~

613

- 2 Duplaa C, Couffignal T, Dufoucq P *et al.* The integrin very late antigen-4 is expressed in human smooth muscle cell—Involvement of $\alpha 4$ and vascular cell adhesion molecule-1 during smooth muscle cell differentiation. *Circ Res*, 1997, **80** (2): 159~ 169
- 3 Li F, Wilkins P P, Crawley S *et al.* Post-translational modifications of recombinant P-selectin glycoprotein ligand-1 required for binding to P- and E-selectin. *J Biol Chem*, 1996, **271** (6): 3255~ 3264
- 4 Chen X L, Tummala P E, Olliff L *et al.* E-selectin gene expression in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 1997, **80** (3): 305~ 311
- 5 Arndt H, Palitzsch K-D, Anderson D C *et al.* Leucocyte-endothelial cell adhesion in a model of intestinal inflammation. *Gut*, 1995, **37** (3): 374~ 379
- 6 Kunkel E J, Ley K. Distinct phenotype of E-selectin-deficient mice, E-selectin is required for slow leukocyte rolling *in vivo*. *Circ Res*, 1996, **79** (6): 1196~ 1204
- 7 Weber C, Erl W, Pietsch A *et al.* Aspirin inhibits nuclear factor κB mobilization and monocyte adhesion in stimulated human endothelial cells. *Circulation*, 1995, **91** (7): 1914~ 1917
- 8 Huang Z H, Bates E J, Ferrante J V *et al.* Inhibition of stimulus-induced endothelial cell intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, and vascular cellular adhesion molecule-1 expression by arachidonic acid and its hydroxy and hydroperoxy derivatives. *Circ Res*, 1997, **80** (2): 149~ 158
- 9 Minter A J, Keoshkerian E, Chesterman C N *et al.* Fibroblast growth factor and heparin protect endothelial cells from the effects of interleukin 1. *J Cell Physiol*, 1996, **167** (2): 229~ 237

Leukocyte-endothelial Cell Adhesion. LIN Yong, WANG Zhong (*Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China*).

Abstract The interaction between leukocytes and endothelial cells is mediated by cell adhesion molecules. There are three families of adhesion molecules which play important roles in cell adhesion. They are integrin family, immunoglobulin superfamily and selectin family. The initial stage of adhesion is mediated by selectins and the firm adhesion is formed thereafter by the binding of CD11/CD18 complex with ICAM-1. Certain cytokines and inflammatory factors can induce cell adhesion mentioned

above. The interactions among different adhesion molecules are very complicated. Antibodies directed at adhesion molecules, soluble adhesion molecules, oligopeptides with high affinity for

the binding sides of the adhesion molecules, and some drugs can block the adhesion.

Key words adhesion, leukocyte, endothelial cell, adhesion molecule

Caspase 蛋白酶与细胞凋亡*

童 新 孙志贤

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

摘要 自从发现线虫死亡基因 *ced-3* 编码产物与哺乳动物白细胞介素-1 β 转化酶 (ICE) 结构、功能上的相似性以来, 一系列半胱氨酸蛋白酶基因相继被克隆, 并显示出在细胞凋亡执行阶段中的重要功能. 激活的 ICE/CED-3 家族蛋白酶 (因其为 Asp 特异的半胱氨酸蛋白酶, 又被称为 caspase) 能降解细胞中多个底物, 进而引发随后的细胞学事件.

关键词 ICE/CED-3 蛋白酶, caspase, 细胞凋亡

学科分类号 Q28, Q55

细胞凋亡的研究揭示: 凋亡的进程大致要经历引发、执行及最后死亡特征的出现三个阶段. 凋亡的诱因多种多样, 既有外在因素, 更有生理性改变, 而凋亡启动后的生化改变, 则直接涉及凋亡执行基因的激活、调控, 并作用于相应“底物”, 最终导致细胞形态学的特征性变化. 线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 是一种透明的圆形小虫, 在研究其胚胎发育时, 发现构成其胚胎的 1 090 个细胞中有 131 个细胞最终走向凋亡. 目前已克隆出 15 个参与细胞凋亡各阶段的相关基因, 其中 *ced-9* 与哺乳动物 *bcl-2* 高度同源, 抑制凋亡; 而 *ced-3* 则是凋亡发生所必需的, 因而被称之为“死亡基因”. 研究发现: CED-3 蛋白与哺乳动物白细胞介素-1 β 转化酶 (*interlukin-1 β converting enzyme*, ICE) 功能相似, 揭示后者在哺乳动物细胞凋亡中的重要性^[1]. 本文拟对 ICE 及其家族成员在细胞凋亡中作用作一综述.

1 ICE 及其家族成员参与凋亡执行的证据

最初注意到蛋白酶参与细胞的凋亡过程, 是发现细胞毒 T 细胞 (CTL) 颗粒所释放的

Granzyme B (一种特异性切割 Asp-x (x 为任意氨基酸) 肽键的丝氨酸蛋白酶), 能够诱导细胞凋亡. 但更直接的证据还是来自真核细胞中一种半胱氨酸蛋白酶——白细胞介素-1 β 转化酶 (ICE) 的研究. 研究表明: ICE 与诱导线虫凋亡的 *ced-3* 死亡基因具有广泛的结构同源性, 特别是两者活性功能区氨基酸序列 43% 同源, 它是一种蛋白剪切酶, 分子中有最长的 QACXG 保守基元 (motif), Cys²⁸⁵ 为其催化活性所必需^[1]. ICE 能在 Asp-x 位点切割 31 ku 的无活性的前体 IL-1 β 生成 17.5 ku 大小的活性细胞因子 IL-1 β . 随后, Miura 等^[2] 的研究证实: ICE 不仅在结构上, 而且在功能上都类似于 *ced-3*. 因为在 Rat-1 纤维母细胞中过度表达 ICE 能诱发凋亡, 而编码无活性 ICE 突变体转染的细胞则不能发生凋亡. 但这还不足以说明 ICE 参与了细胞凋亡, 因为过量表达蛋白酶 K 等也能诱发细胞凋亡. 其后, 更令人兴奋的研究发现: ICE 的抑制剂——牛

* 国家自然科学基金资助项目 (39770823).

收稿日期: 1997-05-28, 修回日期: 1997-10-20