

细胞程序死亡与 bcl-2 基因

鱼咏涛 贺福初

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

摘要 细胞程序死亡(PCD),是有别于细胞坏死的另一种重要的衰老、死亡形式,它在胚胎发育、肿瘤发生、免疫系统的克隆选择中起重要作用。bcl-2 是调控 PCD 的基因,但不能抑制所有类型的 PCD。最近发现, bcl-X 基因编码大小不同的两种蛋白,分别具有刺激和抑制 PCD 的功能。bcl-2 通过抑制 PCD 可导致细胞癌变,因而 bcl-2 被看作第三类癌基因。

关键词 细胞程序死亡, bcl-2 基因, bcl-X 基因, 癌基因

细胞死亡是细胞生命过程中的一种常见现象,通常所说的细胞死亡则主要指细胞的坏死(necrosis)。它是细胞由于氧不足或者接触了特定的毒素后造成的,主要特征是细胞膜通透性增加、细胞膨胀并破裂^[1]。近年来,一种新的细胞死亡途径引起人们关注,这就是细胞程序死亡(programmed cell death, PCD; 又称 apoptosis)。PCD 有着与细胞坏死不同的细胞形态学特征:细胞膜出现囊泡,细胞体积缩小,核固缩, DNA 被非随机地降解成小片段。这些细胞往往在破裂以前便被机体识别并吞噬,这与细胞坏死有明显区别^[2]。PCD 是一种主动过程,从某种意义上讲是“细胞自杀”,是细胞针对所处环境的某种特定改变产生的应答。这种环境因素的改变可能是由于某一种细胞信号物质的出现激活了细胞相应的受体,产生一系列细胞生化反应,导致 PCD,如某些化疗药物对于癌细胞的作用;也可能是由于细胞赖以生存的某些因子的消失而导致这种死亡,如成熟的 B 细胞失去白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)的刺激而死亡;此外,还存在一些其它的因素,如热刺激等。

与细胞生长一样,细胞死亡在机体中承担重要的调控作用。在胚胎发育过程中,一些特定的细胞会死亡;在成熟组织中,PCD 调控着组织的细胞数;在免疫系统的克隆选择过程中 PCD 也起着十分重要的作用^[3]。因此,尽管细

胞程序死亡过程中的分子生物学机制还不十分清楚,但可以肯定的是,PCD 在机体中是一个极其重要的调控环节,弄清其细胞学和分子生物学机制将对一些相关的领域,如造血系统的发育、胚胎发育、细胞分化以及癌变、衰老机制的研究,产生重大的影响。

细胞程序死亡有一个明显的特点,即可以受到多种因素调控。bcl-2 便是目前研究最多的具有这一作用的基因。

bcl-2 基因是在人囊泡淋巴瘤细胞中染色体易位 t(14; 18)(q32; q21) 的断点上被发现的。它有三个外显子(其中一个编码非翻译区)和两个潜在的启动子。由于易位过程中未破坏 bcl-2 基因的编码区,因此易位后的 bcl-2 基因与正常的 bcl-2 基因编码同样一个分子量为 25 000 的蛋白质^[3]。bcl-2 蛋白没有典型的信号肽,但其 C 端有一个疏水区域,这也许是与膜结构整合的部位^[4]。单抗检测、细胞荧光染色、亚细胞分离等观察表明, bcl-2 蛋白整合于线粒体内膜上,从而提示 bcl-2 蛋白可能与细胞呼吸链有关^[4]。然而, Jacobson 的研究则表明 PCD 以及 bcl-2 对 PCD 的抑制作用与线粒体的呼吸链无关,但 bcl-2 的过量表达则与核膜、内质网以及线粒体等膜结构有关^[5]。

bcl-2 可以抑制 PCD。其分子机制的研究

可以说才刚刚开始. 实际上, 发现 *bcl-2* 基因之初, 人们便猜想 *bcl-2* 可能具有原癌基因的作用^[3]. 1988 年 Vaux 的转基因实验有力地支持了这一观点. 实验显示, 骨髓祖细胞和前 B 细胞一旦失去生长因子的刺激, 仅 *bcl-2* 的表达便可使这些细胞生存下来^[6]. 1990 年 Williams^[7]证实, 骨髓祖细胞通常是程序死亡, 而 *bcl-2* 有抑制 PCD 的作用. 此结果再次支持了上述观点.

随着研究的深入, 人们相继发现 *bcl-2* 可抑制许多因素引起的 PCD, 如血清和生长因子的缺失、葡萄糖的缺失、质膜的过氧化反应、钙离子通道 A23187 等因素诱导的中枢神经细胞的 PCD^[8]. 若以含 *bcl-2* 基因的逆转录病毒感染人的原 B 细胞可使这些细胞表达大量 *bcl-2* 蛋白, 进而使细胞对一些化疗药物的毒性产生明显抗性^[1]. Itoh 则报道了 *bcl-2* 可抑制在 IL-3 缺失的情况下, Fas 抗原 (属于肿瘤坏死因子受体家族的一类膜蛋白) 的抗体介导的细胞程序死亡^[9]. 所有这些结果都显示引起 PCD 的众多因素产生同样的细胞应答, 并经过相同的系列细胞生化反应 (亦即细胞内的信号传递过程) 产生 PCD, 而在这一系列应答过程中存在一个 *bcl-2* 调控位点.

然而, 并非所有的 PCD 都能被 *bcl-2* 抑制, *bcl-2* 对 PCD 的调控作用是有选择性的. 例如, 依赖 IL-3、IL-4 或粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 的造血细胞的 PCD 可被 *bcl-2* 抑制, 但另一些细胞系由于失去 IL-2 和 IL-6 后产生的 PCD 则对 *bcl-2* 有抗性^[10]; *bcl-2* 的过量表达同样不能抑制 B 细胞中抗原-受体诱导的 PCD^[11]; 虽然在淋巴细胞^[12]和神经细胞^[13]发育过程中, *bcl-2* 可抑制许多细胞的程序死亡, 如依赖神经生长因子的神经细胞的 PCD 能被 *bcl-2* 过量表达所抑制, 但是依赖睫状神经营养因子 (ciliary neurotrophic factor) 的神经细胞的 PCD 却不受 *bcl-2* 的影响.

这些现象显示, 细胞程序死亡存在多种互

相独立的细胞、分子机制, 有的可被 *bcl-2* 抑制, 而另一些则可能涉及到其它的蛋白质. 1993 年 Boise 分离了 *bcl-X* 蛋白并克隆了其 cDNA. *bcl-X* 存在两种大小的 mRNA: *bcl-X_L* 和 *bcl-X_S*. *bcl-X_L* 编码的蛋白能抑制由于生长因子缺失引起的 PCD, 这一点与 *bcl-2* 相同. 令人吃惊的是 *bcl-X_S* 的作用正相反, 它能阻止 *bcl-2* 对 PCD 的抑制作用, 使细胞在生长因子缺失时正常地死亡. 与其功能相应, *bcl-X_S* mRNA 大量存在于分化程度低、正在发育的淋巴细胞中; 而 *bcl-X_L* mRNA 大量存在于长期存活的细胞, 如成熟的脑细胞中. *bcl-X* 的发现似乎可以解释为什么 *bcl-2* 对有些 PCD 无抑制作用. 有关 *bcl-X* 的作用机制正在研究中, 一种假说认为 *bcl-X* 通过与 *bcl-2* 蛋白直接作用而作用于 PCD; 另一种假说则认为 *bcl-X* 蛋白与 *bcl-2* 蛋白竞争同一个调控位点^[14].

bcl-2 基因与癌症产生的关系也是该领域的一个研究重点. 成熟的组织中新生的细胞与死亡的细胞数大致相当, 形成动态平衡. 当细胞增殖失控时便可导致癌症. 刺激细胞增殖的基因 (即第一类癌基因, 如 *myc*、*ras*、*abl*) 被激活或抑制细胞增殖的基因 (第二类癌基因, 即抑癌基因, 如 *Rb*, *p53*) 被抑制或突变失活都将使细胞的生长速度超过死亡速度, 导致癌变. 随着 *bcl-2* 基因的发现, 一个新的癌症发生机理被提出: 在细胞正常增长的情况下, 如果 *bcl-2* 的过量表达抑制了细胞的程序死亡过程, 同样会破坏细胞数的动态平衡, 产生癌变. 因此, 细胞程序死亡的抑制因子 *bcl-2* 被视为第三类癌基因.

综上所述, 有关细胞程序死亡和 *bcl-2* 基因的研究正方兴未艾. 这一领域正成为胚胎发育、细胞癌变、神经系统的发育、免疫造血的调控和机体衰老等众多领域的研究热点.

参 考 文 献

- 1 Miyashita T, Reed J C. Blood, 1993; **81** (1): 151
- 2 Williams G T. Cell, 1991; **65**: 1097
- 3 Korsmeyer S J. Blood, 1992; **80** (4): 879

- 4 Hockenbery D, Nunez G, Milliman C *et al.* Nature, 1990; **348** (22): 334
- 5 Jacobson M D, Burne J F, King M P *et al.* Nature, 1993; **361** (28): 365
- 6 Vaux D L, Cory S, Adams J M. Nature, 1988; **335** (29): 440
- 7 Williams G T, Smith C A, Spooner E *et al.* Nature, 1990; **343**: 76
- 8 Zhong L-T, Sarafian T, Kane D J *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; **90**: 4533
- 9 Itoh N, Tsujimoto Y, Nagata S. J Immunol, 1993; **151** (2): 621
- 10 Nunez G, London L, Hockenbery D *et al.* J Immunol, 1990; **144** (9): 3602
- 11 Cuende E, Ales-Martinez J E, Ding L-Y *et al.* EMBO, 1993; **12** (4): 1555
- 12 Sentman C L, Shutter J R, Hockenbery D *et al.* Cell, 1991; **67**: 879
- 13 Allsopp T E, Wyatt S, Paterson H F *et al.* Cell, 1993; **73**: 295
- 14 Boise L H, Gonzalez-Garcia M, Postema C E *et al.* Cell, 1993; **74**: 597
- 15 Korsmeyer S J. Immunol Today, 1992; **13** (8): 285

hGM-CSF 基因及其调控研究进展

申葆荷 郭冬林 孙乃恩

(南京大学医药生物技术重点实验室, 南京 210008)

摘要 人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (hGM-CSF) 基因表达受到转录调控与转录后调控。5' 非转译区的一些顺式调控成分, 如 CATT (A/T) 重复序列, 富含 GC 序列, CK-1、CK-2、 κ B 特异序列与可诱导的 CsA 敏感增强子成分等在转录水平上调控 hGM-CSF 的表达。3' 非翻译区有一 62bp 富含 AU 序列, 它与 mRNA 的稳定性相关, 在翻译水平调控 hGM-CSF 的表达。细胞因子与一些刺激因子通过不同的机制作用于 hGM-CSF 基因, 从而影响 hGM-CSF 的产生与分泌。

关键词 人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子基因, 转录调控, 转录后调控

集落刺激因子 (CSF) 是一类由多种细胞分泌并影响多种细胞的生长、分化、生理功能的糖蛋白, 包括 G-CSF、GM-CSF、M-CSF 和 multi-CSF (IL-3)。在半固体琼脂中, 它们分别刺激骨髓细胞生成不同的集落。1973 年 Sheridan 与 Metcalf 在小鼠肺组织的条件化培养液中发现了粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)。人 GM-CSF (hGM-CSF) 可以刺激骨髓细胞生成粒细胞和巨噬细胞。关于 hGM-CSF 基因调控的研究, 有助于我们深入理解 hGM-CSF 在造血系统和免疫系统中的作用。

hGM-CSF 基因位于第 5 号染色体长臂 5q21—5q32。基因长 2.5kb, 有 3 个内含子, 4 个外显子^[1]。5' 非转译区含有一系列能调节转录的顺式成分, mRNA 的 3' 非翻译区有一段

62bp 的富含 AU 序列^[2]。

1 hGM-CSF 转录调控的顺式作用成分

hGM-CSF 基因编码区为 483bp, 包含起始密码子 ATG, 终止密码 TGA。5' 非编码区有帽子位点, TATA 盒, CATT (A/T) 重复序列, 富含 GC 区段, NF- κ B 结合序列, 细胞因子特异序列 CK-1, CK-2, 以及在 hGM-CSF 基因上游 3kb 左右环胞霉素 A 敏感的转录增强子序列, 这些基因上游的调控成分对 hGM-CSF 基因的转录起调控作用。

1.1 帽子位点

帽子位点是真核生物转录起始位点, 也是翻译起始复合物组装位点, 一致序列是 5' YY-

The Regulation of Immunoglobulin Gene Transcription. Zhang Wenfa. (*Department of Biology, University of Science and Technology of China, Hefei 230027*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; **21** (6): 482—486

Immunoglobulin (Ig) gene expression is a B-cell-specific and developmental-stage-specific event. Several factors are involved in Ig gene transcription, including Oct 2, NF- κ B and helix-loop-helix (HLH) proteins. The regulation of Ig gene transcription by these three kinds of protein factors are focused.

Key words immunoglobulin gene, Oct 2, NF- κ B, HLH proteins

Research Advances on Zinc Participating in Genetic Regulation. Wang Yingjie, Xu Abing. (*Department of Biological Science and Biotechnology, Hangzhou University, Hangzhou 310012*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; **21** (6): 486—491

The effects of zinc on genetic regulation are extensive and conspicuous. It was shown that zinc participates in genetic regulation mainly through affecting the regulation of gene expression, the structure and function of chromatin, the conformation of DNA and the biosynthesis of nucleic acid. The mechanisms of zinc acting in these processes were discussed as well.

Key words zinc, chromatin, nucleic acid, gene expression

Protein Splicing and a New Kind of Mobile Genetic Element. Lu Baisong, Huang Peitang. (*Molecular Genetic Center Academic of Military Medicine Sciences, Beijing 100850*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; **21** (6): 491—494

Several cases of protein splicing have been found recently which is different from so called RNA splicing. The peptides which are excluded from premature proteins are called "protein intron". Some of the protein introns have endonuclease activity and the DNA fragments coding for protein introns have defined a new kind of mobile genetic element. The discovery, mechanism and evolution of protein introns are focused.

Key words protein splicing, protein intron, mobile genetic element

Programmed Cell Death and bcl-2 Gene. Yu Yongtao, He Fuchu. (*Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; **21** (6): 495—497

Programmed cell death (PCD), unlike the other form of cell death (necrosis), is an active process of cellular suicide. It plays an important role in embryogenesis, tumorigenesis and clonal selection in the immune system. bcl-2, a potential physiological regulator of PCD, can not block all kinds of programmed cell death mediated by various stimuli. bcl-X, a recently found gene which encodes two different proteins, takes an important part in both positive and negative regulation of PCD. bcl-2 is regarded as a member of the third category oncogenes because its blocking of PCD results in tumorigenesis.

Key words programmed cell death (PCD), bcl-2 gene, bcl-X gene, oncogene

Advance in Current Research of Human GM-CSF Gene and the Regulation of Its Expression. Shen Baohe, Guo Donglin, Sun Naien. (*Department of Biochemistry, National Labo-*