

- 11 Kondo M, Takeshita T, Higuchi M *et al.* Science, 1994; **266**: 1453
- 12 Zurawski G, Vries J E D. Immunology Today, 1994; **15** (1): 19
- 13 Noguchi M, Yi H, Rosenblatt H M *et al.* Cell, 1993; **73**: 147
- 14 Disanto J P, Varsat A D, Certein S *et al.* Eur J Immunol, 1994; **24**: 475

#### Recent Advances in Interleukin-15 Research.

Cai Youqing (*Institute of Basic Medical Sciences, Beijing 100850, China*).

**Abstract** Interleukin-15 is a kind of formally recognized new cytokine, its cDNA sequence,

function and molecular structure have been elucidated. IL-15 is similar to IL-2 in biological properties and three-dimensional configuration and its receptor utilizes the  $\beta$  and  $\gamma$  chains of IL-2 receptor. Further investigation should be done on whether other unknown components participate in IL-15 receptor complexes, its detailed signaling pathway and other unknown biological activities etc.

**Key words** interleukin-15, structure and function of gene, molecular structure, receptor, signal transduction

## 生长因子及细胞因子的两条重要信号转导通路

刘永学 贺福初 吴祖泽

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

**摘要** 业已发现的大部分生长因子受体具有酪氨酸激酶活性, 其信号传递以 Ras 通路为主; 而多数细胞因子受体本身缺乏酪氨酸激酶活性, 其信号传递过程通过 JAKs 及 STATs 两个重要的蛋白质家族的介导得以实现. 信号转导通路的研究, 对于认识各种生长因子及细胞因子的作用机制具有重要意义.

**关键词** 生长因子, 细胞因子, 受体, 信号转导

细胞间通讯及细胞内信息的传递是机体实现自我调节及多种生命过程的重要方式. 细胞产生的各种信号蛋白分子 (包括激素、生长因子、细胞因子等) 通过作用于各自靶细胞的相应受体, 引发一系列级联反应, 最终产生生物效应. 信号蛋白分子的多样化决定了信号传递过程的复杂性, 弄清各种信号传递机制对于深入认识生命过程具有重要意义. 因此, 对信号转导过程的研究已成为当今及将来生命科学研究中一个广泛而重要的课题. 随着诸多生长因子及细胞因子的发现及对它们结构、功能的进一步认识, 学者们对它们激活受体后引发最终生物效应的中间环节进行了大量的实验研究, 并取得了较一致的认识. 本文拟对生长因子及细胞因子中的两条主要信号转导通路予以总结.

### 1 Ras 通路

很多生长因子激活受体酪氨酸激酶后, 通过中介分子活化了由癌基因 ras 编码的蛋白, 即 Ras 蛋白, 后者又进一步催化其底物, 逐步实现其功能. 由于 Ras 蛋白为多种生长因子信号传递过程所共有, 因此, 称之为 Ras 通路.

#### 1.1 受体酪氨酸激酶及蛋白质磷酸化

绝大多数生长因子及部分细胞因子受体本身具有酪氨酸激酶活性, 构成所谓的酪氨酸激酶受体家族<sup>[1]</sup>. 该类受体被激活后, 受体蛋白本身的酪氨酸残基发生磷酸化, 同时便具有了催化其他蛋白质磷酸化的性质. 酪氨酸激酶受体

包括胞外段、跨膜区段及胞内段三部分,胞外段含有供生长因子特异结合的位点,而胞内部分则具有酪氨酸激酶活性,当生长因子与胞外部分结合后,导致受体蛋白寡聚化,从而活化胞内区段的酪氨酸激酶,由后者进一步引发有序的级联反应<sup>[2]</sup>.特别指出的是,蛋白质磷酸化是信号传递过程中酶蛋白催化活性的主要表现形式,这已为大量的实验所证实.蛋白质磷酸化是磷酸根与某些氨基酸的羟基发生的反应.除酪氨酸残基外,丝/苏氨酸也是蛋白质发生磷酸化反应的重要位点.

## 1.2 Ras 蛋白及其他信号传递分子

**1.2.1 Ras 蛋白:** 即癌基因 *ras* 的表达产物.目前,已发现几十种不同的 Ras 样蛋白<sup>[3]</sup>.根据其结构特点,可分为以下三个主要家族:  
a. Ras 蛋白.哺乳动物细胞可表达 4 种“真正”的 Ras 蛋白(分别由基因 *H-ras*、*N-ras*、*K-ras A*、*K-ras B* 编码),这类蛋白主要参与了受体酪氨酸激酶的信号传递过程;这已为大量的实验所证实. Schlessinger<sup>[4]</sup>发现,哺乳动物细胞注射微量抗 Ras 抗体,可抑制酪氨酸激酶受体所介导的 DNA 合成;*ras* 基因的定点突变也能阻断表皮生长因子(EGF)、纤维生长因子(FGF)和血小板源生长因子(PDGF)诱发的 DNA 合成等.  
b. Rho/Rac 蛋白.以基因 *rho/rac* 表达产物为代表,主要包括 Rho A、B、C, Rac1、2, CDC42Hs 和 TC10 等,此类蛋白介入了细胞骨架的构建.  
c. Rab 蛋白.系一类以 *rab* 基因产物为代表的蛋白质,种类最多,主要与跨膜运输有关.

Ras 蛋白具有与 GTP 和 GDP 结合的特性. GDP 结合状态的 Ras 蛋白无活性,而与 GTP 结合的 Ras 蛋白有活性. Ras 蛋白的这一结合特性,主要受鸟苷酸交换因子(GEF)及鸟苷酸解离抑制因子(GDI)的调节,而且 Ras 蛋白在细胞膜内侧面上的锚定与否对其活性的实现也是很重要的. GEF 使 Ras 蛋白从无活性的 GDP 结合状态转化为有活性的 GTP 结合状态,而 GDI 则抑制 Ras 功能状态的转化. Ras 蛋白的内在 GTP 酶活性较低, GTP 酶激活蛋

白(GAP)又是将 Ras 蛋白从 GTP 结合状态转化为 GDP 结合状态的重要活性分子. Ras 蛋白的状态转化及其影响因素可归纳为图 1 所示.

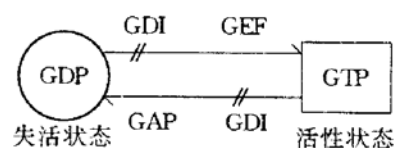


图 1 Ras 蛋白的状态转化及影响因素

GEF 使 Ras 蛋白由失活的 GDP 结合形式转变为 GTP 结合的活性状态; GAP 则使 Ras 蛋白从 GTP 结合状态变成 GDP 失活状态; GDI 抑制 Ras 蛋白状态的转换.

Ras 蛋白的活化继发于受体酪氨酸激酶的激活,但并非后者直接催化的结果,其间还有包含 SH2、SH3 结构域的重要蛋白质分子参与.

**1.2.2 SH2、SH3 蛋白分子:** 因与 Src 癌基因编码的蛋白具有较高的同源序列及结构相似性而得名<sup>[5]</sup>. 生长因子激活相应受体是信号传至胞内、核内的第一步,激活的受体酪氨酸激酶再作用于底物蛋白,这类蛋白的结构特征之一是含有 SH2 或 SH3 结构域,或二者兼有. Wu 等<sup>[6]</sup>以线虫(*C. elegans*)为实验对象研究了 Ras 介导的信号传递过程:信号蛋白分子 Lin-3 (生长因子)与 Let-23 (受体酪氨酸激酶)结合,依次激活了 Sem-5 (生长因子受体结合蛋白)、Let-60 (Ras 蛋白)、Lin-45 (Raf 蛋白)及 Sur-1 (细胞分裂原活化蛋白激酶, MAPK) 等,从而逐级完成了其基因转录调控作用. 其中,生长因子受体结合蛋白(Grb)含有一个或数个 SH2、SH3 结构域. 正是 SH2、SH3 的某些氨基酸残基被磷酸化,才使 Grb 得以活化,并通过 GEF 活化了 Ras 蛋白. 因此, SH2、SH3 蛋白是连接受体酪氨酸激酶与 Ras 蛋白之间信号传递的重要分子.

**1.2.3 细胞分裂原活化蛋白激酶:** 简称 MAPK, 又称胞外信号调节激酶,是将信号由 Ras 蛋白下传的重要信号传递分子<sup>[7]</sup>. 它的激活表现为自身的磷酸化<sup>[8]</sup>. 进一步的研究发现,

MAPK 并非 Ras 的直接作用底物, 而是由 MAPK 激酶 (MEK) 催化的, 后者又是 MEK 激酶 (MEKK) 的作用底物<sup>[9]</sup>. Raf 蛋白作为一种 MEKK, 可能是直接受 Ras 激活的<sup>[10]</sup>. 如此看来, 从 Ras 到 MAPK, 由一组酶兼底物的蛋白分子构成了链状的信号转导通路. 当然, 每种信号蛋白分子并不是单一的, 而是多样的. 例如, 酵母外激素传导通路中的 Ste11 (一种 MEKK) 与 Raf 在结构上相差甚远, 但它们在信号介导中的作用却是相似的. 正是这些蛋白分子的多样性, 才构成了信号转导过程的复杂性. 尚需指出的是, 与受体酪氨酸激酶不同, 另一类 G 蛋白偶联受体 (如某些神经递质及激素受体) 激活后并不通过 Ras 蛋白, 而是由其他第二信使分子介导激活 MAPK 的.

MAPK 具有广泛的催化活性<sup>[11]</sup>. 它除调节花生四烯酸代谢及细胞微管形成外, 更重要的是介导了核内信号的传递过程. MAPK 催化核内许多转录因子的某些氨基酸残基 (Ser、Thr 等) 磷酸化, 活化的转录因子得以调节某些特定基因的转录. 这类转录因子主要有: a. cMyc, 它同 Max 形成二聚体, 与 DNA 的 CACGTG 序列结合; b. NF-IL6, 属亮氨酸拉链转录因子家族; c. P62 TCF/ECK-1, 刺激 c-Fos 蛋白的表达; d. ATF-2, 其磷酸化形式与 DNA 的结合能力明显增强; e. c-Jun, 该蛋白对转录的调控作用随磷酸化位点的不同而异.

Ras 信号转导通路以图 2 表示如下:

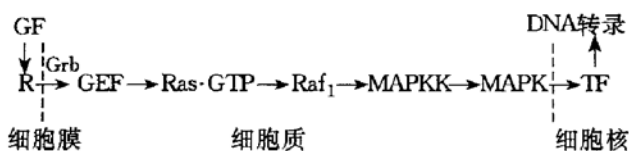


图 2 Ras 通路主要组成分子

GF: 生长因子; R: 受体; TF: 转录因子. 其他简写意义见正文.

## 2 JAKs-STATs 途径

前已述及, 大部分细胞因子受体缺乏内在的酪氨酸激酶活性. 这类受体的信号转导, 是

借助胞内具有酪氨酸激酶活性的另外一类蛋白质分子完成的, 该类蛋白质分子属于 JAKs 家族. JAKs 又通过激活信号转导子和转录激活子 (STATs) 而最终影响到基因的转录调节. 因此, 称之为 JAKs-STATs 信号转导通路.

### 2.1 JAKs 蛋白酪氨酸激酶家族

JAK 是不同于受体酪氨酸激酶的另一类激酶 (just another kinase, JAK); 亦有说该名来源于古希腊门神 Janus, Janus 神具有方向相反的两张面孔, 与此类激酶蛋白 C 端毗邻的两个催化亚基相似, 因此又称 Janus kinase (JAK)<sup>[12]</sup>. JAKs 家族最明显的结构特征是在 C 端具有两个催化功能区段, 靠近 N 端是三个相间的、相对保守的结构区段, 肽链中部又是两个区段, 此 5 个区段无催化活性, 可能在受体蛋白与 JAKs 偶联过程中发挥作用.

迄今, 至少已有 4 个 JAKs 家族成员被发现, 分别命名为 JAK1、JAK2、TYK2 及 JAK3, 并对前 3 个在各种细胞因子信号转导中的作用研究得较为详尽. 表 1 列出了它们参与某些细胞因子信号传递过程的情况<sup>[13]</sup>.

表 1 细胞因子信号转导中的 JAKs 成员

| 细胞因子                | JAK1 | JAK2 | TYK2 |
|---------------------|------|------|------|
| IFN- $\alpha/\beta$ | +    | ?    | +    |
| IFN- $\gamma$       | +    | +    | ?    |
| IL-3                | ?    | +    | ?    |
| GM-CSF              | ?    | +    | ?    |
| EPO                 | ?    | +    | ?    |
| G-CSF               | +    | +    | ?    |
| IL-6                | +    | +    | +    |
| LIF                 | +    | +    | ?    |
| OSM                 | +    | +    | ?    |
| CNTF                | +    | +    | ?    |
| GH                  | ?    | +    | ?    |
| PRL                 | +    | +    | ?    |

注: IFN: 干扰素; IL-3: 白细胞介素 3; GM-CSF: 粒巨噬细胞集落刺激因子; EPO: 红细胞生成素; G-CSF: 粒细胞集落刺激因子; IL-6: 白细胞介素 6; LIF: 白血病抑制因子; OSM: oncostatin M; CNTF: 睫状神经营养因子; GH: 生长激素; PRL: 催乳激素.

JAKs 的作用模式对于单链受体家族成员较简单. 如 EPO、GH 及 G-CSF 等与各自受体结合, 诱发受体蛋白二聚化, 增强了 JAK2 与受体蛋白的亲和力及 JAK2 的进一步聚集, 由此导致 JAK2 自身及相互间的磷酸化<sup>[11]</sup>; 活化的 JAKs 再催化底物蛋白, 得以将受体信号继续传递. 多亚基细胞因子受体的 JAKs 信号传递模式相对复杂. IL-3, IL-5 和 GM-CSF 受体均由特异的  $\alpha$  链及相同的  $\beta$  链构成, 但 JAK2 只与  $\beta$  链偶联. 当上述细胞因子与受体  $\alpha$ -链结合后,  $\alpha$  链与  $\beta$  链结合, 进一步形成二聚化、多聚化复合物, 使受体胞内近膜部分靠近并激活 JAK2<sup>[14]</sup>. 关于这些变化的详细过程还有待深入研究. 以 gp130 为共用信号单位的 IL-6、OSM 及 LIF 等细胞因子的 JAKs 激活模式与此相类似<sup>[15]</sup>.

## 2.2 STATs

细胞因子的重要作用之一表现为调节基因转录过程. 那么, JAKs 被激活后又是怎样实现这一作用的呢? 以 IFN 为例简要说明<sup>[16]</sup>. IFN 作用于靶细胞, 导致胞内形成一种转录复合体——干扰素刺激基因因子 (interferin-stimulated gene factor 3, ISGF3)<sup>[17]</sup>. ISGF3 由 4 种不同分子量的蛋白质组成, 分别称为 P48、P84、P91 和 P113. 其中, P48 为一种 DNA 结合蛋白, P91 和 P84 是同一基因不同剪接形式的翻译产物. ISGF3 复合体的形成及其核内转移, 依赖于 P91/84 和 P113 酪氨酸残基的磷酸化, 后者是 JAKs 直接催化的结果. 由于 ISGF3 复合体在受体激活与基因转录之间起了连接作用, 所以这类新的蛋白质家族被称为信号转导子和转录激活子 (signal transducers and activators of transcription, STATs). 相应地, P91 和 P84 分别被命名为 STAT1a、STAT1b, P113 被称为 STAT2. 从结构特点上看, 它们的近 C 端存在 SH2、SH3 结构域, 而且有一个保守的酪氨酸位点, 该位点的磷酸化是 STAT 活化的基础. 由于 IFN- $\alpha/\beta$  及 IFN- $\gamma$  都能使靶细胞的 STAT1 磷酸化, 可能是 JAK1 催化的结果; 而

STAT2 仅被 IFN- $\alpha/\beta$  活化, 因此, STAT2 只能是 TYK2 的特异底物. 这样, IFN 与相应受体结合, 激活了 JAK1 和 TYK2, 后者又使 STAT1 及 STAT2 发生磷酸化, 活化的 STATs 穿过核膜, 与特定的反应元件结合, 调节 DNA 的转录.

由于多种细胞因子并存, 而且对细胞生长分化的调控作用不尽相同, 因此推测, STATs 家族可能包括更多的成员. 实际上, 实验结果也证实了这一推断<sup>[18]</sup>. 如, IL-6 受体传导通路中的 STAT 就不同于 IFN, 命名为 STAT3; Yamamoto 等的研究结果 (未发表) 证实了一个新的 STAT 家族成员, 命名为 STAT4. 相信, 随着对不同细胞因子信号传递机制的深入研究, 会有越来越多的新的 STAT 成员被发现.

## 3 Ras 通路与 JAKs-STATs 通路的关系

Ras 及 JAKs-STATs 两条转导通路的干线走向已逐渐明朗, 二者关系又如何呢? 根据目前的研究资料尚难以回答. 最近, Quell 等 (尚未发表) 以 IL-3、GM-CSF 为例曾对两条通路的关系进行了初步观察. IL-3 和 GM-CSF 除激活 JAKs-STATs 通路外, 还通过激活 Ras 蛋白实现其更多的生物学功能. 比如, 将此类受体的共用  $\beta$  链在第 626 个氨基酸位点处截断, 则 Ras 蛋白不能再被激活, 即 Ras 通路被阻断, 但细胞的致分裂原反应并不受影响, 而且仍保留了 JAK2 激活特性. 表明, 两条通路具有较高的独立性. JAK 是否激活 Ras 通路以及 Ras 通路能否影响 JAK 途径目前仍无充足的实验证据予以证实.

目前, 人们对两条通路中主要信号分子的结构特点及性质已取得了较多的认识, 并对它们的活化机制、催化活性予以一定程度的阐明, 但仍有很多待阐释的问题. 例如, 细胞因子与相应受体结合后是如何激活 JAKs 的? 胞浆通路中是否还有其他生物分子参与? 而且, 信号由胞浆传至核内的机制以及转录调控机制也都需要进一步的研究. 对各种生长因子及细胞因子信号转导特异性的阐明更具有实际意义和理

论意义.

## 参 考 文 献

- 1 Cadena D L, Gill G N. *FASEB J*, 1992; **6**: 2332
- 2 Hu P, Margolis B, Schlessinger J. *Bioassays*, 1993; **15**: 179
- 3 Boguski M S, McCormic F. *Nature*, 1993; **366**: 643
- 4 Schlessinger J. *TIBS*, 1993; **18**: 273
- 5 Koch C A, Anderson D, Moran M F *et al.* *Mol Cell Biol*, 1991; **11**: 1607
- 6 Wu Y, Han M. *Genes Dev*, 1994; **8**: 147
- 7 Sturgill T W, Ray L B, Erikson E *et al.* *Nature*, 1988; **334**: 715
- 8 Anderson N G, Maller J L, Touks N K *et al.* *Nature*, 1990; **343**: 651
- 9 Seger R, Ahn N G, Posada J *et al.* *J Biol Chem*, 1992; **267**: 14373
- 10 Tsuda L, Inoue Y H, Yao M A *et al.* *Cell*, 1993; **72**: 407
- 11 Davis R J. *J Biol Chem*, 1993; **268**: 14553
- 12 Ihle J N, Witthuhn B A, Qulle F W *et al.* *TIBS*, 1994; **19**: 222
- 13 Ziemiecki A, Harpur A G, Wilks A F. *Trends Cell Biol*, 1994; **4**: 207
- 14 Silvennoinen O, Witthuhn B A, Quell F W *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; **90** (10): 3414
- 15 Stahl N, Boulton T G, Farruggella T *et al.* *Science*, 1994; **263**: 92
- 16 Pearse R N, Feinman R, Shuai K *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; **90** (10): 4314
- 17 Schinder C, Shuai K, Prezioso V R *et al.* *Science*, 1992; **257**: 809

18 Zhong Z, Wen Z, Darnell J E J. *Science*, 1994; **264**: 95

**Two Key Signal Transduction Pathways of Growth Factors and Cytokines.** Liu Yongxue, He Fuchu, Wu Zuze (Wu Chutse) (*Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China*).

**Abstract** The Ras and JAKs-STATs signaling pathways after growth factors and cytokines activating their receptors respectively are briefly reviewed. The signal transduction of most growth factors' receptors with intrinsic tyrosine kinase activities is achieved through Ras protein pathway. Otherwise, members of JAKs and STATs superfamilies mediate the signaling process of cytokines' receptors lacking intrinsic tyrosine kinase activities. Studies on the signal transduction of growth factors and cytokines are becoming the important subjects in researches of life sciences.

**Key words** growth factor, cytokine, receptor, signal transduction

# 腺病毒载体及其在基因治疗研究中的应用

姜传仓 范乐明

(南京医科大学动脉粥样硬化研究中心, 南京 210029)

**摘要** 腺病毒载体在基因治疗研究中初露锋芒, 引起关注. 文章就腺病毒基因组的基本结构、腺病毒载体的类型及构建、重组腺病毒在基因治疗研究中的应用及其主要优、缺点等方面进行了较为全面的综述.

**关键词** 腺病毒, 基因治疗, 表达载体

自 1990 年美国科学家在世界上首次成功地实施了基因治疗以来, 基因治疗技术得到了长足发展, 人们构建了一系列高效的转基因载体, 腺病毒载体就是新近发展起来的一种病毒

载体, 以其简便、高效、安全等显著特点而日益受到人们的青睐.

收稿日期: 1995-01-25, 修回日期: 1995-06-26