

结合视黄醇之前可结合溶剂分子, 当视黄醇存在时, 则视黄醇很易取代溶剂分子而结合到结合位点上<sup>[7]</sup>.

## 参 考 文 献

- 1 Goodman D S. In: Sporn M B eds. The retinoids. Orlando: Academic Press, 1984; 41
- 2 Sivaprasadarao A, Findlay J B C. Biochem J, 1988; 255: 571
- 3 Sivaprasadarao A, Boudjelal M, Findlay J B C. Biochem Socie Transa, 1993; 21: 619
- 4 Newcomer M, Liljas A, Sundelin J *et al.* J Biol Chem, 1984; 259: 5230
- 5 Kaji E H, Lodish H F. J Biol Chem, 1993; 268: 22188
- 6 Zauoti G, Ottonello S, Berni R *et al.* J Mol Biol, 1993; 230: 613
- 7 Zanotti G, Berni R, Monaco H L. J Biol Chem, 1993; 268: 10728
- 8 Zanotti G, Malpeli G, Berni R. J Biol Chem, 1993; 268: 24873

**Retinol-binding Protein: Structure and Function.** Jin Hong (*Institute of Hygiene and Environmental Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Tianjin 300050, China*).

**Abstract** Retinol-binding protein (RBP) is a carrier transporting retinol (vitamin A), and is an important member of lipocalin family which can bind small hydrophobic substances. The studies of structure and function of RBP are given much attention by scientists. The progress in properties and structure of RBP is summarized, and the binding sites and structural feature of the interaction of RBP with transthyretin and receptor are discussed.

**Key words** retinol-binding protein (RBP), structure, retinol

# 白细胞介素-2 受体 $\gamma$ 链研究新进展

蔡铀庆

(军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

**摘要** 白细胞介素-2 受体  $\gamma$  链 (interleukin-2 receptor  $\gamma$  chain, IL-2R $\gamma$ c) 是约 3 年前发现的 IL-2 受体亚单位之一, 它不但参与高、中亲和力 IL-2R 的形成, 而且作为细胞因子受体超家族成员参与 IL-4、IL-7、IL-9 和 IL-15 受体以及可能的 IL-13 受体功能性复合物的形成. IL-2R $\gamma$ c 基因结构与功能和蛋白质分子结构以及染色体定位已阐明. IL-2R $\gamma$ c 及信号传导的异常导致人类 X 染色体连锁重度联合免疫缺陷病 (X-linked severe combined immunodeficiency, XSCID). 因此, 阐明 IL-2R $\gamma$ c 在生理及病理状态下的生物学作用, 对了解淋巴细胞的生长发育和分化成熟、免疫应答及其调控等问题都有重要的指导意义.

**关键词** 白细胞介素-2 受体  $\gamma$  链, 基因结构与功能, 染色体定位, 信号传导, X 染色体连锁重度联合免疫缺陷病

白细胞介素-2 (IL-2) 等细胞因子与其相关受体相互作用后, 影响 T 细胞、B 细胞和 NK 等细胞的生长发育和分化成熟及生物学功能, 在  $\gamma$  链发现之前认为 IL-2 受体由  $\alpha$  和  $\beta$  链组成, 并由它们形成高、中、低三种不同亲和力的受体, 与 IL-2 作用后产生不同的生物学效应, 但许多现象表明 IL-2 受体尚存在第

三种成分参与其功能性复合物的组成.

## 1 人 IL-2R $\gamma$ 链的发现

种种现象表明高、中亲和力 IL-2R 的形成需要淋巴细胞特异的第三种成分: a. 表达在

淋巴细胞上而不是纤维母细胞系上的  $\beta$  链能够结合 IL-2 并传递生长信号; b. 表达在淋巴细胞表面的  $\beta$  链分子数并不决定结合 IL-2 的中亲和力位点数; c.  $\alpha$  链和  $\beta$  链在纤维母细胞系中的共同表达产生比中亲和力受体具有更大亲和力的受体, 但这些较高亲和力受体并不能对 IL-2 产生功能性反应<sup>[1,2]</sup>. Takeshita 等<sup>[2]</sup> 用对 IL-2R $\beta$  链特异的单抗 TU11 在  $\beta$  链免疫沉淀物中发现一种 p64 成分, 它以 IL-2 依赖方式与  $\beta$  链相联系; 作者纯化了 p64 并测定其氨基酸 (aa) 序列, 根据所获人 p64 N 端 22 个 aa 序列, 合成一对 PCR 引物, 从 MOLT $\beta$  细胞制备 mRNA 并反转录成 cDNA, 经 PCR 获 54 bp 片段并将其构建到 puc19 载体上进行 DNA 序列分析, 从该 54 bp 片段核苷酸序列推导出的 aa 序列含有用纯化的 p64 直接测定的 aa 序列; 经用以 54 bp 片段为探针筛选获得的阳性克隆 PIL-2R $\gamma$ 1 插入子为探针筛选由寡聚 dT 指导合成的 cDNA 文库, 获 3 个阳性重组子 cDNA 克隆, 并对其中 PIL-2R $\gamma$ 2 克隆进行序列测定, 此克隆含有完整的开放阅读框, 而且其核苷酸序列与任何其他公布的核苷酸序列未见有完全的同源性, PIL-2R $\gamma$ 1 和 PIL-2R $\gamma$ 2 两克隆具有一致的重叠序列, 两者核苷酸拼接在一起包括 369 个 aa 残基的开放阅读框, 围绕起始密码 ATG 的核苷酸具有翻译启动的一致序列. 这种以 IL-2 依赖方式与  $\beta$  链相联系的 p64 成分被命名为 IL-2R $\gamma$  链.

## 2 IL-2R $\gamma$ c 基因结构功能和染色体定位

Noguchi 等<sup>[3]</sup> 研究发现人 IL-2R $\gamma$ c 基因由 8 个外显子和 7 个内含子组成, 每一个内含子以 GT 开头、AG 结尾, 内含子的大小从 220 bp 到 730 bp 不等, 人 IL-2R $\gamma$ c 基因全长约 4.2 kb, 所有外显子的 DNA 序列除编码第 33 位 Leu 的密码子为 CTA 而不是 CTG 外与 IL-2R $\gamma$  链 cDNA 序列一致. 与 IL-2R $\beta$  链基因类似, 两对细胞因子受体超家族典型的 Cys 位于相邻的第 2 第 3 外显子中, 保守的 WSXWS 重复结构位于第 5 外显子中,  $\gamma$  链胞外结构域由

1 至 6 外显子编码, 跨膜区由第 6 外显子编码, 第 7 至 8 外显子编码胞浆结构域, 第 1 外显子包括 5' 非翻译区和信号肽、N 端 16 个 aa 编码区, 6 个潜在的 N-连接糖基化位点位于 1、2、4 和 5 外显子中, 推测的 Leu 拉链结构由第 4 外显子编码. DNA 印迹分析表明人 IL-2R $\gamma$ c 基因为单拷贝基因, 且与许多哺乳类动物如兔、牛、狗、小鼠、大鼠和猴等物种的基因组 DNA 存在交叉杂交顺序. 引物延伸分析及 RNase 保护试验提示, 人 IL-2R $\gamma$ c 基因三个主要的转录起始位点离翻译起始密码子 AUG 5' 端 32 至 38 个核苷酸, 这些位点均位于其 cDNA 序列 5' 端上游, 且  $\gamma$  链基因 5' 侧翼序列 (-606 至 +35 片段) 被亚克隆到 pLuco 中的荧光酶 (luciferase) 报告基因上游后, 转染 Jurkat 细胞时, 荧光酶活性提高 4.5 倍, 提示该区域存在启动子活性; 有趣的是该启动子缺乏经典的 TATA 结构, 而是富含 GC, 同时缺乏 IL-2R $\alpha$  链基因中发现的 KB 和 CArG 结构, 表明  $\gamma$  链在淋巴细胞系上为组成型表达.

小鼠 IL-2R $\gamma$  链 cDNA 则是用人 IL-2R $\gamma$  链 cDNA 为探针从 ConA 活化的小鼠脾脏细胞 cDNA 文库中筛选出来的<sup>[4,5]</sup>. 尽管报道的 cDNA 长度存在差异 (1165 bp<sup>[4]</sup> 和 1608 bp<sup>[5]</sup>), 但两者编码  $\gamma$  链的开放阅读框却完全相同, 同样编码 369 个 aa 残基的  $\gamma$  链, 小鼠 IL-2R $\gamma$  链 cDNA 由 5' 非翻译区、开放阅读框和 3' 非翻译区组成, 与人 IL-2R $\gamma$  链 cDNA 相比核苷酸存在 69% 的一致性, 两者编码区核苷酸 80% 相一致. 小鼠 IL-2R $\gamma$ c 基因包含于单一的 4.0 kb 的 EcoR I 片段中, 而且为单拷贝基因<sup>[5]</sup>, 位于 X 染色体 Rsvp 和 Plp 之间, 而人  $\gamma$  链基因则位于 X 染色体 Xq13.1 区<sup>[6,7]</sup>.

IL-2R $\gamma$ c 基因组成除与  $\beta$  链基因组成相似外, 与许多其他细胞因子受体超家族成员如 IL-3、IL-4、IL-7、生长激素和 EPO 受体的基因组成相似, 它们都有两对细胞因子受体超家族典型的保守 Cys、WSXWS 重复结构<sup>[3]</sup>, 相反与 IL-2R $\alpha$  链基因 (尽管也由 8 个外显子和

7个内含子组成)组成相似性较小。

### 3 IL-2R $\gamma$ c 的分子结构

人 IL-2R $\gamma$  链 cDNA 前体由 369 个 aa 残基组成, N 端起始的 22 个 aa 残基为疏水性信号肽, 成熟形式由 347 个 aa 残基构成 (图 1), 理论计算分子量为 39 918。疏水性位置标定显示从第 255 位至第 283 位 aa 残基为单一跨膜区。预测的细胞外结构域包括位于跨膜区附近的 6 个潜在 N-连接糖基化位点和细胞因子受体超家族的一致序列——4 个保守 Cys (第 62、72、102 和 115 位 aa 残基) 以及 WSXWS 重复结构 (第 237 至 241 位 aa 残基, X 为不保守 aa 残基, W 为 Trp, S 为 Ser)<sup>[8]</sup>。计算机搜寻表明,  $\gamma$  链在富含 Cys 区和 WSXWS 重复结构中, 与细胞因子受体超家族成员如 IL-4、IL-5、GM-CSF 等白介素受体亚单位的顺序有部分同源性。分别由 6 个 aa 残基间隔的 4 个 Leu 残基 (位于第 165 位至 186 位 aa 残基) 出现在富含 Cys 区和 WSXWS 重复结构之间, 此构象为 Leu 拉链结构; 根据 Garnier 的方法, 计算机模拟预示, 对于在推认的 Leu 拉链结构域内的两个区 (位于第 163 至 172 位 aa 残基和第 179 至 189 位 aa 残基) 内有  $\alpha$  螺旋结构, 此区事实上构成 Leu 拉链结构。

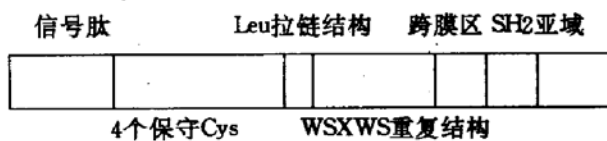


图 1 人 IL-2 受体  $\gamma$  链示意图

由 86 个 aa 残基构成的人 IL-2R $\gamma$ c 胞浆结构域大大短于  $\beta$  链胞浆结构域, 然而, 由于从第 288 至 321 位 aa 残基的序列似乎同源于能与一些磷酸蛋白的磷酸酪氨酸残基结合的 Src 同源区 2 (SH2)。因此, 此结构域可能在信号转导中起作用。在 5 个高度保守的 SH2 结构亚域中<sup>[9]</sup>, 最后两个结构亚域经确定位于 IL-2R $\gamma$ c 的序列中。然而, 未在胞浆结构域中见有 Tyr 激酶的一致序列。

小鼠 IL-2R $\gamma$ c 与人  $\gamma$  链相似, 同样由 369 个 aa 残基组成, 包括 N 端 22 个 aa 残基的疏水性信号肽、胞外结构域、4 个保守的 Cys、WSXWS 重复结构、跨膜区、SH2 亚域及胞浆内结构域, 也具有 6 个潜在的 N-连接糖基化位点, 两者 aa 组成有 70% 的一致性<sup>[4,5]</sup>。

### 4 IL-2R $\gamma$ c 的细胞分布

RNA 印迹分析表明, 人 T 淋巴细胞系 MOLT $\beta$ 、MOLT4、Jurkat、MT-1 和 MT-2 和 Raji 细胞 (B 细胞系) 表达 IL-2R $\gamma$  链 mRNA, 而非淋巴细胞系如原单核细胞 THP-1、类上皮细胞 HeLa 和肝细胞 HepG-2 不表达 IL-2R $\gamma$ c mRNA, IL-2R $\gamma$ c 为淋巴细胞特异性分布<sup>[2]</sup>。

小鼠 IL-2R $\gamma$ c 分布与人的类似, 而且具有显著的组织特异性, 在小鼠脾脏和胸腺中尤其高水平表达, 在单阳性 (CD4<sup>+</sup>8<sup>-</sup> 或 CD4<sup>-</sup>8<sup>+</sup>) 富集的胸腺细胞中比双阴性 (CD4<sup>-</sup>8<sup>-</sup>) 胸腺细胞表达水平更高<sup>[5]</sup>, 表明  $\gamma$  链与淋巴细胞的发育成熟有关。

### 5 IL-2R $\gamma$ c 的功能

IL-2R $\gamma$ c 的功能包括两个方面: 一是参与不同亲和力 IL-2R 及其他细胞因子受体的形成; 二是在受体介导的信号传递中的作用。Takeshita 等<sup>[2]</sup>研究证明,  $\gamma$  链参与 IL-2R 功能性复合物的形成, 中亲和力 IL-2R 由  $\beta$  和  $\gamma$  链两亚单位构成。高亲和力 IL-2R 由  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  链 3 个亚单位构成,  $\gamma$  链对仅由  $\alpha$  链构成的低亲和力 IL-2R 无影响; 而且  $\gamma$  链为受体介导的 IL-2 内部化所必需, IL-2R 介导的 IL-2 内部化在淋巴细胞活化信号转导中起着重要的作用。

IL-2R $\gamma$ c 作为细胞因子受体超家族成员参与 IL-4、IL-7、IL-9 和 IL-15 以及可能的 IL-13 等细胞因子受体功能性复合物的组成<sup>[10~16]</sup>, 这些细胞因子具有相似的生物学活性如 T 细胞和 B 细胞生长因子活性, 其机制除与这些细胞因子具有类似的空间构象外<sup>[17]</sup>, 而且跟这些细胞因子受体享有共同的受体亚单

位有关。IL-2、IL-4、IL-7、IL-9 和 IL-15 与其相应的受体结合后诱导 Janus 家族酪氨酸激酶 Jak1 和 Jak3 的酪氨酸磷酸化及活化, Jak1 与 IL-2R $\beta$  链丝氨酸富集区相联系, Jak3 与 IL-2R $\gamma$  羧基端区相联系, 两区为 IL-2 信号传导所必需,  $\gamma$  链截短和点突变引起 X 染色体连锁联合免疫缺陷病 (XCID) 和  $\gamma$  链-Jak3 联系减少, 并至少在一些 XSCID 和 XCID 患者中阻碍正常的 Jak3 活化, 提示 Jak3 突变可导致 XSCID 样表型及 Jak3 为上述细胞因子受体信号传导所必需<sup>[14, 18, 19]</sup>。活化的 Jak3 使受体和属于转录因子家族的胞浆蛋白——信号转导及转录激活因子 (signal transducers and activators of transcription, STATs) 磷酸化, 磷酸化的 STATs 导致与生长相关基因的转录, 此路径为细胞因子受体超家族所有成员所享有的独特信号传导路径; 磷酸化的受体为含有 SH2 结构域的蛋白, 包括 HCP3-磷酸肌醇激酶 85 ku 亚单位和 SHC 提供了结合位点, SHC 的结合及磷酸化启动了 Ras 途径的信号传导而最终影响基因转录<sup>[20]</sup>。

## 6 IL-2 受体 $\gamma$ c 突变与人类 XSCID

人类 XSCID 是 X 染色体隐性遗传性疾病, 该病以细胞免疫和体液免疫严重联合缺陷为特征, 新生儿发病率约十万至百万分之一, 患儿常因严重持续性感染而幼年 (1 至 2 岁) 夭折, 因而又被俗称为“泡泡” (bubble) 男孩。患者 T 淋巴细胞显著减少或缺乏, T 细胞及 NK 细胞发育受阻, 虽然 B 细胞能够发育, 但患者淋巴细胞缺乏对有丝分裂原及抗原的增殖反应, 不能产生特异性抗体, 患者胸腺缩小, 上皮异常分化。在非散发性 XSCID 病例中, 患儿母亲不仅在循环 T 细胞中, 而且在 B 细胞和 NK 细胞中存在非随机的异常 X 染色体失活<sup>[21, 22]</sup>, 这些发现为 X 染色体上携带的基因突变与 XSCID 的发病机制有关提供了间接依据。

Noguchi 等<sup>[6]</sup>的研究直接证明 IL-2 受体  $\gamma$  链的突变导致人类 XSCID, 作者在进行人 IL-

2R $\gamma$ c 基因染色体定位时吃惊地发现, 人 IL-2R $\gamma$ c 基因的染色体位置 (Xq13) 与采用连锁分析确定的 XSCID 位点处在相同的区域; 遗传连锁分析进一步表明 IL-2R $\gamma$ c 基因位点与 XSCID 紧密连锁, 提示 IL-2R $\gamma$ c 基因即 XSCID 致病基因; 为寻找更直接的实验依据, Noguchi 等从来自 3 例 XSCID 患者 EB 病毒转化的 B 细胞系中分离制备 DNA, 经多酶基因组 DNA 印迹分析, 所有患者对每一种酶都具有正常大小的片段, 而且 PCR 扩增 IL-2R $\gamma$ c 基因 8 个外显子的片段大小都正常, 未发现 IL-2R $\gamma$ c 基因大的缺失或插入; 继续测定所有患者 IL-2R $\gamma$ c 基因的每一个外显子和外显子-内含子拼接处的核苷酸序列则发现 3 例患者 IL-2R $\gamma$ c 基因都具有不同的点突变, 从而产生导致早熟的终止密码, 即 3 例不同患者 Lys-97、Arg-627 和 Ser-286 密码子突变为终止密码, 使得  $\gamma$  链在合成成熟前提前终止成为无活性的蛋白。Disanto 等<sup>[23]</sup>在鉴定 6 例 XSCID 患者 IL-2R $\gamma$ c 基因的分子缺陷时, 发现 IL-2R $\gamma$ c 突变表现出异源性。在所研究的 6 例患者中, 1 例通过 RNA 印迹未发现 IL-2R $\gamma$ c 转录子表达, DNA 印迹分析也未发现有基因异常, 在启动子区域可能存在细微的变化或突变导致缺乏转录, 另一种可能是存在严重影响 IL-2R $\gamma$ c 转录子稳定性的突变; 另 1 例在 IL-2R $\gamma$ c 跨膜区发现 4 bp 片段的缺乏, 从而导致阅读框改变和未成熟 268aa 残基的蛋白质, 此蛋白不能正确地锚泊于细胞膜中; 另外 4 例患者为胞外结构域的点突变, 4 例点突变位于 IL-2R $\gamma$ c 细胞因子受体超家族的保守结构中 (4 个 Cys 和 WSXWS 重复结构)。

IL-2R $\gamma$ c 作为细胞因子受体超家族成员参与多个细胞因子如 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9 和 IL-15 等受体功能性复合物的组成, 并可能参与尚未鉴定的 IL-13 受体功能性复合物的组成。IL-2R $\gamma$  链的异常必然导致这些细胞因子靶细胞, 如 T 细胞、B 细胞、NK 细胞等相应细胞因子受体功能性复合物的障碍, 势必引起 T、B、NK 等细胞的生长、发育、成熟和分化

障碍, 从而导致细胞和体液免疫的功能异常. 不难想象, XSCID 发病的分子机制: IL-2R $\gamma$ c 基因结构、表达调控、转录、转录后加工、翻译及翻译后加工、运输锚泊至细胞膜上任何一个环节出现故障以及信号传导路径的异常都有可能引起 IL-2R $\gamma$ c 功能的异常. 因此, 利用  $\gamma$  链做为受体功能性复合物亚单位的 T、B、NK 等细胞前体不能接受和/传递胞外的生长、发育和分化成熟信号至胞内细胞核, 导致与生长、发育、分化成熟有关基因不能正常开启或关闭, 相关蛋白得不到正常表达, 进而引发 T、B、NK 等细胞生长、发育、分化成熟障碍, 导致重复联合免疫缺陷. IL-2R $\gamma$ c 及相关信号传导异常能够比较圆满地解释人类 XSCID 的发病机制, 对此病发病机制的阐明, 将对该病胎前及产后早期诊断及采用基因治疗根治 XSCID 有着重要临床意义.

**致谢** 承蒙沈倍奋教授审阅, 在此表示衷心感谢!

### 参 考 文 献

- 1 Takeshita T, Ohtani K, Asao H *et al.* J Immunol, 1992; **148**: 2157
- 2 Takeshita T, Asao H, Ohtani K *et al.* Science, 1992; **257**: 379
- 3 Noguchi M, Adelstein S, Cao X Q *et al.* J Biochem, 1993; **268**: 13601
- 4 Kobayashi N, Nakagawa S, Mianami Y *et al.* Gene, 1993; **130**: 303
- 5 Cao X Q, Kozak C A, Liu Y J *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; **90**: 8464
- 6 Noguchi M, Yi H, Rosenblatt H M *et al.* Cell, 1993; **73**: 147
- 7 Puck J M. Hum Mol Genet, 1993; **2**: 1099
- 8 Bazan F J. Proc Natl Acad Sci USA, 1990; **87**: 6934
- 9 Koch C A, Anderson D, Moran M F *et al.* Science, 1991; **252**: 668
- 10 Kondo M, Takeshita T, Ishii N *et al.* Science, 1993; **262**: 1874
- 11 Russell S M, Keegan A D, Harada N *et al.* Science, 1993; **262**: 1880
- 12 Noguchi M, Nakamura Y, Russell S M *et al.* Science, 1993; **262**: 1877
- 13 Kondo M, Takashita T, Higuchi M *et al.* Science, 1994;

**263**: 1453

- 14 Russell S M, Johnston J A, Noguchi M *et al.* Science, 1994; **266**: 1042
- 15 Zurawski G, Vries L E D. Immunology Today, 1994; **15**: 19
- 16 Giri J G, Ahdieh M, Eisenman J *et al.* EMBO J, 1994; **13**: 2822
- 17 Wlodawer A. Protein Sci, 1993; **2**: 1373
- 18 Boussiotis V A, Barber D L, Nakarai T *et al.* Science, 1994; **266**: 1039
- 19 Miyazaki T, Kawahara A, Fujii H *et al.* Science, 1994; **266**: 1045
- 20 Ihle J N, Witthuhn B A, Quelle F W *et al.* TIBS, 1994; **19**: 222
- 21 Conley M E. Proc Natl Acad Sci USA, 1988; **85**: 3090
- 22 Wengler G S. J Immunol, 1993; **150**: 700
- 23 Disanto J P, Varsat A D, Certain S *et al.* Eur J Immunol, 1994; **24**: 475

**Recent Advances in Interleukin-2 Receptor  $\gamma$  Chain Research.** Cai Youqing (*Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*).

**Abstract** Interleukin-2 receptor  $\gamma$  chain (IL-2R $\gamma$ c) is one of IL-2R subunits discovered about three years ago. It not only participates in the formation of high and medium affinity IL-2R complex, but also join in the formation of functional complexes of IL-4R, IL-7R, IL-9R and IL-15R, possibly IL-13R, serving as a member of cytokine receptor superfamily. IL-2R $\gamma$ c gene's structure and function, the molecule structure and chromosome mapping have been elucidated. Abnormalities of IL-2R $\gamma$ c and its signaling result in human X-linked severe combined immunodeficiency (XSCID). It is significant to explain the biological properties of IL-2R $\gamma$ c in physiological and pathological conditions to understand the development, maturation and differentiation of lymphocytes and immunoresponse etc.

**Key words** IL-2 receptor  $\gamma$  chain, gene structure and function, chromosome mapping, signaling, X-linked severe combined immunodeficiency