

病毒基因与细胞凋亡

彭艳华 齐义鹏

(武汉大学病毒研究所, 武汉 430072)

摘要 细胞凋亡(Apoptosis)是受遗传控制的细胞自灭过程,是机体维持稳态的主要机制之一。是一种典型的细胞程序化死亡(programmed cell death),细胞程序化死亡的诱导与调控机制是当今生物学中非常活跃的研究领域,涉及到细胞生物学,病毒学、免疫学、发育生物学、致癌生物学等学科。具有重要的理论与实践意义。引起细胞凋亡的因素很多,本文仅就病毒基因与细胞凋亡的关系,主要以疱疹病毒科,腺病毒科,杆状病毒科和逆转录病毒中某些病毒与细胞凋亡相关的基因及其结构,作用方式和分子机理的研究结果进行综述并对以后研究方向作些展望。

关键词: 病毒基因,细胞凋亡,凋亡机制

真核细胞一方面有细胞分裂增殖的功能,另一方面也具有使细胞主动死亡的机制,即细胞凋亡。细胞凋亡的概念首先由英国的 Kerr 等人^[1]于 1972 年提出,用以描述在形态上有别于细胞坏死(necrosis)的细胞死亡过程。如今,人们对细胞凋亡的认识深入到基因水平,认为细胞凋亡是真核细胞通过启动自身的遗传机制,主要是通过内源 DNA 内切酶的激活,切割染色体 DNA,形成 DNA 碎片(多为 180—200 bp)而发生的细胞死亡过程,它有明显的形态学和生物化学特征,表现为凋亡细胞的染色质凝聚,细胞质浓缩和膜包绕的核质及胞质成分——凋亡小体(apoptotic bodies)形成,这是目前判断细胞凋亡的几项主要生化和形态指标^[2]。

细胞凋亡对机体的影响有以下几个方面:胚胎发育和组织衰老;肿瘤形成与消失;病毒感染之后 T 细胞的直接死亡;病毒感染寄主细胞后能否复制增殖等。目前解释细胞凋亡有一模型^[3]涉及到两方面:1. 细胞凋亡的诱发机制:ced-3 和 ced-4 基因^[4](死亡相关基因)是细胞程序死亡必需的两个基因,对 ced-4 了解很少,ced-3 序列与哺乳动物编码的一种半胱氨酸蛋白酶(interlukin-1 β converging enzyme, ICE)的基因序列相似。ICE 可使无活性的 31Kd IL-1 β (interlukin-1 β)变为有活性的 IL-1 β ,然后由不

明结构的物质与 IL-1 β 作用使细胞分解凋亡,病毒感染,有毒物质的作用,生长因子降低, DNA 损伤, P53 (tumor suppressor) 和某些产物^[5]的激活均可使 ICE 由无活性变为有活性,因而引起细胞凋亡。2. 细胞凋亡的抑制机制:病毒和寄主的某些产物抑制细胞凋亡^[6,7]。ced-9 基因的产物为细胞凋亡抑制物,其作用从人到线虫都是一致的,有致癌作用。bcl-2 与人致癌基因同源,与 ced-9 相似,对人、动物、昆虫、线虫都有相同的功能。有些病毒有与 bcl-2, ced-9 同源的基因,有些病毒的基因产物能使 P53 失活,因此抑制细胞凋亡。

以上是诱发/抑制细胞凋亡的机制,目前关于病毒基因与细胞凋亡的关系报导不少,引人注目,促进了细胞凋亡在基因水平上的研究。疱疹病毒科,腺病毒科,杆状病毒科和逆转录病毒科的某些病毒拥有抑制或刺激寄主细胞凋亡的基因,抑制细胞凋亡也涉及到病毒的潜伏期和持久性。在病毒复制策略中细胞程序化死亡极为重要,这种封锁寄主细胞凋亡的能力有利于病毒的感染复制及寄主细胞的专一性。下面以 4 类病毒的某些基因与细胞凋亡的关系作简要讨论。

一、疱疹病毒科病毒的基因与细胞凋亡

有人报导^[8]本科的两种病毒有两个基因

与细胞凋亡相关,即单纯疱疹病毒的 *rl 34.5* 基因和 Epstein—Barr 病毒的 *lmp-1* 基因。*rl 34.5* 基因有几个不寻常的特点,它缺乏常有的 TATA box 及其相应的元件,是一种无 TATA box 的转录单位。能编码 363 个氨基酸的蛋白质,并积累在胞质中,含有 (Ala-thr-pro) 三联氨基酸的 10 次重复,*rl 34.5* 蛋白靠近 C 端的 63 个氨基酸残基与鼠 *MgD116* 有 83% 的同源性^[9]。通常,在神经细胞中去除某些生长因子,引起蛋白质合成的终止,随后的 DNA 合成也被停止,导致细胞凋亡。*rl 34.5* 蛋白能维持细胞蛋白质合成,可能的机制是防止蛋白合成终止,而不是作为蛋白质合成的因子,由此不难推断 *rl 34.5* 基因具有抑制靶细胞(神经细胞)程序化死亡的功能。但其功能及其作用机制尚待研究。

EB 病毒的靶细胞为 B 淋巴细胞。*bcl-2* 是一原癌基因(protooncogene)能抑制细胞凋亡。EB 病毒携带的 *Lmp-1* 基因的产物诱导寄主的 *bcl-2* 基因表达,能防止淋巴细胞程序化死亡^[10]。近来证明^[11]与细胞增殖和癌变有关的原癌基因及抗癌基因均参与对细胞凋亡的调控,除 *bcl-2* 基因外,还有 *c-myc*、*c-fos*、*P53* 等基因。而 *Lmp-1* 基因通过对 *Bcl-2* 基因表达的调控来抑制细胞凋亡。

二、腺病毒科病毒的基因与细胞凋亡

本科以腺病毒为代表^[12],它既有刺激细胞凋亡的基因又有抑制细胞凋亡的基因。*EIA* 基因可以诱导细胞凋亡,*EIB* 可以抑制细胞凋亡。*EIB* 基因编码两种不同的产物,*EIB55k* 蛋白和 *EIB19k* 蛋白,它们都可以独立地抑制 *EIA* 蛋白诱导的寄主细胞凋亡,尽管 *EIB19k* 蛋白不如 *EIB55k* 蛋白那么有效。*EIB19k* 蛋白的另一功能是在肿瘤坏死因子 α 和 *fas* 抗原介导下抑制细胞凋亡。*EIA* 与 *EIB19* 或与 *BCL-2* 蛋白共同表达时,都能抑制细胞凋亡。*EIA* 诱导侵蚀性细胞的凋亡被抑癌基因 *P35* 诱导。而 *EIB19k* 蛋白和 *Bcl-2* 蛋白可克服依赖于 *P53* 蛋白的细胞凋亡作用。*Bcl-2* 和 *EIB19K* 蛋白的相似功能使人们认为它们具有相似的作用机

理。而且 *Bcl-2* 可以补充在病毒感染过程中对 *EIB19K* 蛋白表达的要求,还发现 *EIB19K* 蛋白氨基酸残基在 44 和 113 之间与 *Bcl-2* 有一定同源性。这点对 *EIB19K* 蛋白的功能非常重要。

另外也有报道^[13],腺病毒的 DNA 甲基化酶高效表达可加速昆虫细胞的凋亡。

三、杆状病毒科病毒的基因与细胞凋亡

杆状病毒基因与细胞凋亡的关系首先是由 Miller 等^[14]进行 *AcNPV* 感染 SF-21, BmN-4 和 TN368 细胞时发现的。*AcNPV* (*Autographa californica Nuclear Polyhedrosis Virus*) *P 35* 基因无论是对寄主幼虫、蛹、成虫以至人神经细胞的抑制凋亡作用都是一致的。后来在 *BmNPV* (*Bombyxmori Nuclear Polyhedrosis Virus*) 中也发现了 *P35* 基因^[15], *BmNPV* 和 *AcNPV* *P35* 基因的核苷酸序列同源性高达 96.7%,氨基酸序列同源性达 89.6%,但是 *BmNPV* *P35* 基因产物虽然对寄主细胞有一定的抑制凋亡作用,但对幼虫、蛹不表现抑制凋亡作用,即使 *P 35* 突变体病毒对寄主细胞也不完全表现凋亡作用,只是生长缓慢罢了。可见 *BmNPV* 中应该还有其它基因参与细胞凋亡作用。

利用 *AcNPV* 的 *P35* 基因与其它杆状病毒基因组 DNA 共转染 SF-21 细胞,寻找其它病毒的抑制细胞凋亡的基因。在 *CpGV* (*Cydia pomonella Granulosis Virus*) 中发现了 *iap* (inhibitor of apoptosis) 基因^[16],它编码 31Kd 蛋白,该基因有锌指一样的 motif 结构,它与人原癌基因和昆虫胚胎发育基因的花式结构非常相似,*iap* 可以抑制细胞凋亡,但与 *AcNPV* 的 *P 35* 基因核苷酸序列无同源性。*P 35* 和 *iap* 对细胞凋亡的抑制都可被放线菌素 D 诱导,由此说明 *P 35* 和 *iap* 都是封锁细胞凋亡而不是防止病毒刺激的凋亡。

除抑制细胞凋亡外,*AcNPV* *P 35* 基因为病毒早期复制所必需。低水平的 *P 35* 蛋白足以抑制细胞凋亡,高水平的 *P 35* 蛋白可调控病毒其它基因的表达。由于 *P 35* 基因与其靶细胞无序列相似性,所以它作用于细胞凋亡的方式不同于 *bcl-2* 和 *EIB19* 等基因。

AcNPV 和 BmNPV P 35 的基因结构非常相似,它们的 ORF 长 897bp,具有极早期基因的调控结构 GC,CGT 和 TATA box,但不具极早期基因典型的 TATA/CAGT 调控元件,亲水分泌和膜固着序列也未发现。

杆状病毒基因与细胞凋亡研究有如下几方面尚待进行:(1)与 AcNPV P35 基因同源或同功的新基因的寻找;(2)AcNPV P35 及其它病毒的同源或同功基因产物在出芽病毒粒子中的精确定位;(3)AcNPV P35 及其同源同功基因对细胞凋亡作用的分子机理及它们与病毒寄主范围相关的基因表达的关系。

四、逆转录病毒和细胞程序化死亡

HIV 感染导致 AIDS,自从 HIV 分离以来,HIV 分子生物学研究取得了不少进展,然而关于病毒感染之后的病理基础和免疫能力下降的机制仍然是未攻克的课题。HIV 感染导致成熟 T 淋巴细胞程序化死亡而形成 AIDS 病症^[17]。有几种假说解释这种程序化死亡。其一,由病毒基因编码的外膜糖蛋白 gp120 导致成熟 T 淋巴细胞程序化死亡。在抗原或超抗原的作用下,导致未感染的 Th 细胞程序化死亡。其二,感染的 Th 细胞,激活未感染的 Th 细胞,导致未感染细胞程序化死亡,但最近资料表明,仅 gp120 不能独立地触发程序化死亡,只有当 gp120 与 CD₄⁺ 在相互作用时才能使 HIV-1 诱导细胞程序化死亡。gp120 与 CD₄ 分子结合,发出信号抑制 T 细胞增殖。对 gp120 与 CD₄ 分子相互作用的解释有几个方面:(1)细胞表面,CD₄ 分子被 gp120 交联,它们之间的互作是通过丝氨酸磷酸化途径进行。(2)gp120 缚附在 CD₄⁺ 细胞表面,直接的传导限制信号导致 T 细胞无反应性,(3)T 细胞无反应性可以建立一种在缺乏免疫识别条件下的 Silent(沉默)感染,此过程有一种蛋白色氨酸酶参与。(4)CD₄ 分子与这种蛋白色氨酸酶复合交联,在 TCR(T 细胞受体)缺乏的情况下显示出诱导程序化死亡。

CD₄ 分子 4 个电荷残基(Lys-29, Lys-35,

Lus-46, Arg-59)和 43 位上一个疏水的苯丙氨酸为 gp120 缚附到 CD₄ 上所必须。这 5 个氨基酸通过 4 个电荷氨基酸绕着一个疏水氨基酸形成一个疏水袋子,这种结构直接涉及到 gp120 的接触,最后导致 gp120 诱发细胞程序化死亡。

总括以上四科病毒基因与细胞凋亡的研究,可以看到,病毒基因之所以与细胞凋亡有关是因为这些基因与 bcl-2 同源,其作用方式与原癌基因一样;有的是通过与 bcl-2 不同的作用方式,影响到病毒复制及其相邻基因的表达。关于病毒与细胞凋亡的分子机理尚有许多问题待研究,如凋亡相关基因是如何触发细胞凋亡的? bcl-2 和 P 53 基因的作用方式怎样? 随着对病毒与寄主关系,特别是病毒基因与细胞程序化死亡的关系的不断认识,将会对病毒疾病,肿瘤尤其是 AIDS 的治疗不仅提供理论依据而且也提供相应的方法和对策。

病毒基因组比起真核动植物基因组简单得多,但细胞凋亡在所有生物中可能其机理相当保守。因此我们可用病毒及其寄主细胞为体系,研究细胞凋亡的分子机理,将对高等动物的胚胎发育,细胞分化,组织衰老等问题会有更清楚的认识,最终有助于延缓人类衰老的真正实现。

参考文献

- [1] J. F. Kerr, et, al. J Cancer 1972, 26:239
- [2] G. T. Williams et, al. Cell 1993, 44:777
- [3] J. Corbeil et al Virology 1995, 76:681
- [4] J. T. Greebery et, al. Cell 1994, 77:551
- [5] C. Caelles et, al. Nature 1994, 1370:220
- [6] Min Gong et, al. Virology 1994, 204:38
- [7] D. D. reumeyer et, al. Cell 1994, 79:353
- [8] J. chou et, al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1992, 89:3266
- [9] M. L. Gougenon et, al. Science 1993, 260:1269
- [10] D. L. Vaux et, al. Cell 1994, 67:777
- [11] 董海东, 国外医学免疫分册. 1995, 2:45
- [12] Siukei Chian et, al. J. Virology 1994, 68(10):6553
- [13] Y. Xia et, al. Virology 1993, 196:817
- [14] R. J. clem et, al. Science 1991, 254:1388
- [15] S. G. Kamite et, al. J. Virology 1993, 67(1):4555
- [16] N. E. Crook et, al. J. Virology 1993, 2:2167
- [17] B. R. Stephaine et, al. Microbiological Reviews 1995 (1):6

Virus Genes and Apoptosis

Peng Yanhua Qi Yipeng

(Institute of Virology Wuhan University, Wuhan, 430072)

Abstract

Apoptosis is a physiological suicide process regulated by genetics. It is a typical programmed cell death. Study on regulation mechanism of apoptosis has been becoming a hot point in modern Biology. Apoptosis study deal with cellular Biology, developmental Biology, Virology, Immunology and Tumorigenology. It is very important on theory and application. Many factors have effect on apoptosis. Here we give a summarization on the relationship between virus genes, their structure, and apoptosis and molecular action mechanism of these genes from some virus in Baculoviridae, Adenoviridae, Herpesviridae and Retroviridae

Key words: Virus genes, Apoptosis, Molecular mechanism of apoptosis

(上接第 22 页)

Sexual Transmitted Diseases Infection Among Family Members

Li Jingpei Wang Minli Shi Baifen, et al

(Department of Microbiology, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract

94 couples of husband and wife and 16 offspring of 15 families are detected for their sexual transmitted diseases(STD). The patients NG, CT, UU, HSV and HPV are assayed by Polymerase Chain Reaction(PCR), syphilis by syphitoxin and monilia albicaus by smear. The results shows that there is statistically significant differences in abuse sexual behavior between male and female patients, 68.15% in male and 4.26% in female but no statistical differences exist between their morbidity rate. CT infection is up to 44.68% NG infection 31.91% and HPV infection 15.91%, however, no syphilis and HSV infections are found among the subjects. Patients with over two kind of pathogen infection are 35.11%, among whom 55.25% infected STD from their parents. It is suggested that whoever infected STD, it is required that both husband and wife be detected systematically and provided sexual health counselling so as to take preventive measures and treat immediately and to avoid crossed infection among family members.

Key words: PCR STD Infection.