

- [2] Yakovlev S, Medved L. Interaction of fibrin(ogen) with the endothelial cell receptor VE-cadherin; localization of the fibrin-binding site within the third extracellular VE-cadherin domain[J]. *Biochemistry*, 2009, 48(23): 5171-5179.
- [3] Taddei A, Giampietro C, Conti A, et al. Endothelial adherens junctions control tight junctions by VE-cadherin-mediated upregulation of claudin-5. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(8): 923-930.
- [4] Iyer S, Ferrei-DM, Pelouo NC, et al. VE-Cadherin-p120 interactin is required for maintenance of endothelial barrier function[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 286(6): L1143-1153.
- [5] Chiasson CM, Wittich KB, Vincent PA, et al. p120-catenin inhibits VE-cadherin internalization through a Rho-independent mechanism[J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(7): 1970-1980.
- [6] Nottebaum AF, Cagna G, Winderlich M, et al. VE-PTP maintains the endothelial barrier via plakoglobin and becomes dissociated from VE-cadherin by leukocytes and by VEGF[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(12): 2929-2945.
- [7] Bieri M, Oroszlan M, Zuppinger C, et al. Biosynthesis and expression of VE-cadherin is regulated by the PI3K/mTOR signaling pathway[J]. *Mol Immunol*, 2009, 46(5): 866-872.
- [8] Deleuze V, Chalhoub E, El-Hajj R, et al. TAL-1/SCL and its partners E47 and LMO2 up-regulate VE-cadherin expression in endothelial cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(7): 2687-2697.
- [9] Birdsey GM, Dryden NH, Amsellem V, et al. Transcription factor Erg regulates angiogenesis and endothelial apoptosis through VE-cadherin[J]. *Blood*, 2008, 111(7): 3498-3506.
- [10] Martin TA, Goyal A, Watkins G, et al. Expression of the transcription factors snail, slug, and twist and their clinical significance in human breast cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2005, 12(6): 488-496.
- [11] Lopeza DY, Niua GL, Huberb P, et al. Tumor-induced up-regulation of twist, snail, and slug represses the activity of the human VE-cadherin promoter[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2009, 482(1/2): 77-82.
- [12] Sahni A, Arévalo MT, Sahni SK, et al. The VE-cadherin binding domain of fibrinogen induces endothelial barrier permeability and enhances transendothelial migration of malignant breast epithelial cells[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(3): 577-584.
- [13] Akers SM, O'Leary HA, Minnear FL, et al. VE-cadherin and PECAM-1 enhance ALL migration across brain microvascular endothelial cell monolayers[J]. *Exp Hematol*, 2010, 38(9): 733-743.
- [14] Khanna P, Yunkunis T, Muddana HS, et al. p38 MAP kinase is necessary for melanoma-mediated regulation of VE-cadherin disassembly[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 298(5): C1140-1150.
- [15] Abraham S, Yeo M, Montero-Balaguer M, et al. VE-cadherin-mediated cell-cell interaction suppresses sprouting via signaling to MLC2 phosphorylation[J]. *Curr Biol*, 2009, 19(8): 668-674.
- [16] Zhang LZ, Mei J, Qian ZK, et al. The Role of VE-cadherin in osteosarcoma cells[J]. *Pathol Oncol Res*, 2010, 16(1): 111-117.
- [17] Corada M, Zanetta L, Orsenigo F, et al. A monoclonal antibody to vascular endothelial-cadherin inhibits tumor angiogenesis without side effects on endothelial permeability[J]. *Blood*, 2002, 100(3): 905-911.
- [18] Bernard S, Loffroy R, Sérusclat A, et al. Increased levels of endothelial microparticles CD144 (VE-cadherin) positives in type 2 diabetic patients with coronary noncalcified plaques evaluated by multidetector computed tomography (MDCT)[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 203(2): 429-435.
- [19] Wang L, O'Leary H, Fortney J, et al. Ph<sup>+</sup>/VE-cadherin<sup>+</sup> identifies a stem cell like population of acute lymphoblastic leukemia sustained by bone marrow niche cells[J]. *Blood*, 2007, 110(9): 3334-3344.

(收稿日期:2011-05-28 修回日期:2011-07-20)

• 综 述 •

## 雌性激素受体与喉癌关系新进展

郑实兴 综述,徐志文<sup>△</sup> 审校

(广西医科大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科,南宁 530021)

关键词:雌激素类;受体;喉肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.04.034

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)04-0389-04

由于性激素的影响,男、女性在喉的发育上有较大差别,并且女性喉癌发病率显著低于男性,这表明与性别有关的因素如性激素受体信号系统参与了喉癌的进展,雌激素受体(estrogen receptor, ER)作为转录因子在许多人类恶性肿瘤进展中扮演

重要的角色。故 ER 与喉癌的关系备受关注。尽管之前性激素受体是否在喉癌组织中表达存在争议,但近年来国内外学者的许多研究均表明,ER 在喉癌中阳性表达,并且对 ER 与喉癌的关系进行了大量研究,取得了一定进展,在此,本文对 ER 在

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel:(0771)5356511; E-mail: xuzhiwen3@163.com。

喉癌组织中的表达、与喉癌恶性程度的关系以及与对喉癌发展、诊断、治疗的作用做一综述。

### 1 ER 在喉癌中的表达

早在 50 年前就有性激素受体与肿瘤有关的报道了。早期学者们主要用生化法检测 ER,然而由于肿瘤匀浆可能混有患者血清,生化方法不易确定性激素受体的来源,故生化法的检测结果差异很大,存在争议,而免疫化学法和细胞化学法则不存在这一弊端。陈滨等<sup>[1]</sup>应用原位杂交法对 63 例喉癌组织、20 例癌旁正常组织和 20 例喉良性病变组织进行 ER 测定,发现 ER 在癌旁正常组织和喉良性病变组织中的表达均为阴性;在喉癌组织中 ER 的阳性表达率为 69.8%。ER 在喉癌组织中的表达与患者性别、临床分型无关(均  $P > 0.05$ )。Bianchini 等<sup>[2]</sup>对 15 例喉癌组织用免疫组化法检测,特异的 ER 表达率为 53.3%,癌组织性激素受体阳性率高于癌旁组织。杨艳和田鑫<sup>[3]</sup>用免疫组化法对 45 例喉鳞癌、30 例癌旁组织和 30 例喉良性病变组织标本进行性激素检测,结果 ER 在喉癌组织中的阳性,表达率为 73.3%;而在癌旁组织及喉良性肿瘤中呈阴性表达。Lukits 等<sup>[4]</sup>用免疫细胞化学法和 PCR 法在 mRNA 和分子水平证实大约 50%喉癌组织中存在 ERs( $\alpha$  和  $\beta$ )和孕激素受体(progestrogen receptor,PR),并且在喉肿瘤中性激素受体单独表达是很少见的,多数是 ER 和 PR 联合表达。进一步研究发现,正常的喉组织不表达 ER- $\beta$ ,而喉癌组织高表达 ER- $\beta$ (83.8%),并且主要集中在癌细胞核<sup>[5]</sup>。但有些学者却报道喉癌组织中 ER 含量很低。Hagedorn 和 Nerlich<sup>[6]</sup>结合免疫组化法和酶免疫测定,依照乳腺癌和前列腺癌受体阳性标准,在喉癌细胞中没有检测到免疫组化法特殊染色的 ER,生化法也没有测得足量的 ER,故他们认为喉癌患者癌组织缺乏 ER 表达。作者认为以上研究所观察到的受体含量有较大差异可能是参考标准不一样和敏感度不同引起。从报道喉癌组织中表达 ER 的文献中可以推测,由于正常喉组织不表达 ER,而喉癌组织表达 ER 或许是癌变后获得的,ER 在癌变的过程中扮演重要的角色。

### 2 ER 与喉癌恶性程度的关系

一些研究显示 ER 与喉癌的病理分级、临床分期、淋巴结转移及预后的关系密切。陈滨等<sup>[1]</sup>和杨艳等<sup>[3]</sup>研究表明,ER 随喉癌病理分级、临床分期的升高而减少,有淋巴结转移者 ER 的表达率明显低于无淋巴结转移者。Bianchini 等<sup>[2]</sup>用免疫组织化学法实验结果显示,ER- $\alpha$  和 PR 阳性提示无淋巴结转移,喉肿瘤黏膜 ER 阳性率高于癌旁组织。有学者应用免疫组化法检测几种喉病组织中 ER 的分布,发现 ER 在不典型增生组织中仅 20% 阳性,在乳头状瘤中 40% 阳性,在喉癌中 78% 阳性,ER 阴性者易发生颈淋巴结转移,且术后 5 年存活率较 ER 阳性者低。Goulioumis 等<sup>[5]</sup>用免疫组化法研究表明,正常的喉组织不表达 ER- $\beta$ ,而喉癌组织高表达 ER- $\beta$ (83.8%),ER- $\beta$  表达与 TNM 分级呈负相关( $P = 0.021$ )。临床观察在乳腺癌、卵巢癌、结肠癌组织中若存在 ER- $\beta$  表达,预后则较好<sup>[7-8]</sup>。有学者对 30 例喉癌患者进行研究,发现所有 ER 阳性患者存活均在 4 年以上,ER 阴性者有 2 例死于原发肿瘤;晚期声门上型喉癌 ER 为阴性,认为 ER 可作为喉癌预后的指标。

综上所述,ER 的表达水平越高喉癌的病理分级越低、临床分期越早,淋巴结转移可能性越低,预后越好。ER 可作为了解肿瘤的恶性程度和预后的标志。

### 3 ER 与喉癌发生、发展的关系

雌性激素与人类肿瘤的关系存在两面性,即对肿瘤的发

生、发展有促进作用或有抑制作用。这可解释最近的研究发现——ER 存在 ER- $\alpha$  和 ER- $\beta$  两个亚型,其在肿瘤形成中的作用恰恰相反<sup>[9]</sup>。进一步研究发现,在乳腺癌和妇科肿瘤中,活化的 ER- $\alpha$  与肿瘤细胞的增殖、生长密切相关<sup>[10]</sup>,而 ER- $\beta$  的表达则能抑制肿瘤细胞的转化和生长<sup>[11]</sup>。ER 参与喉癌演变与发展的机制目前主要是 ER 信号传导与 Wnt-连环蛋白  $\beta$ ( $\beta$ -catenin)通路中存在交叉点和 ER 调节表皮细胞生长因子(endothelial cell growth,ECGF)的表达进而调控喉癌的发展。

上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)是肿瘤恶化的重要一步,细胞因子类,如 Wnt 和 TGF- $\beta$ <sup>[12]</sup>,在 EMT 中起到重要的诱导作用,这一过程的重要特征就是钙黏蛋白-E 的减少和  $\beta$ -catenin 向核内转移。ERs 在  $\beta$ -catenin 和淋巴细胞增强因子 LEF 的转录过程中起到辅助因子的作用<sup>[13]</sup>,并能调节参与 Wnt 信号通路因子的表达<sup>[14]</sup>。这说明了在 ER 信号传导与 Wnt- $\beta$ -catenin 通路中存在交叉点。Goulioumis 等<sup>[5]</sup>发现 ER- $\beta$  的表达对维持喉癌组织上皮钙黏蛋白-E 和  $\beta$ -catenin 有积极作用,并抑制  $\beta$ -catenin 向核内转移。先前也有学者在研究 ER- $\beta$  与卵巢癌关系时得出相似结论<sup>[15]</sup>。而细胞连接处的钙黏蛋白-E 减少和  $\beta$ -catenin 向核内转移是许多恶性肿瘤发展的关键步骤<sup>[16]</sup>,在喉癌进展的过程中也发挥重要作用<sup>[17-18]</sup>,ER- $\alpha$  能引起肿瘤的钙黏蛋白-E 减少,而 ER- $\beta$  恰能抑制 ER- $\alpha$  这一效应<sup>[19]</sup>。这似乎表明 ER- $\beta$  可通过防止细胞连接处的钙黏蛋白-E 减少和  $\beta$ -catenin 向核内转移进而阻止 EMT 的诱导,从而阻止肿瘤向侵袭阶段发展。

Lukits 等<sup>[4]</sup>报道大约 50%喉癌组织中存在 ERs( $\alpha$  和  $\beta$ )和 PR,并且在喉肿瘤中性激素受体单独表达是很少见的,多数是 ER 和 PR 联合表达。而 ER 和 PR 联合表达被认为是功能性 ER 在癌组织中表达的一种间接征象<sup>[20]</sup>。ER 信号肽与 ECGF 信号肽表达相关<sup>[21]</sup>,ECGF 受体在肿瘤包括喉癌发展中的作用已经被证实<sup>[22]</sup>。由此可见,ECGF 在头颈肿瘤中的持续表达可能控制 ER 和(或)PR 的表达。由此可以推测 ER 的表达可通过调节 ECGF 的表达调控喉癌的发展。

### 4 喉癌的抗雌激素治疗

对于性激素依赖的肿瘤如乳腺癌、卵巢癌、结肠癌等使用内分泌治疗效果较好。喉癌是否为性激素依赖性肿瘤还存在争议,故是否使用内分泌治疗各家保留不同意见。有学者在体外实验中证实 T(tamoxifen,TAM)能抑制 ER 阳性喉癌细胞的增殖,Robbins 等<sup>[23]</sup>证实,ATM 在喉癌的临床治疗中有一定效果,在用裸鼠的实验中还发现雌激素有刺激喉细胞生长的作用,而 ATM 能抑制雌激素这一作用。Raspaglio 等<sup>[24]</sup>研究发现黄酮类槲皮素(flavonoid quercetin,Q)和 TAM 诱导 ECGF 刺激生长的 Hep2 细胞系凋亡作用比无 ECGF 刺激生长的 Hep2 细胞系凋亡作用强。Hep2 细胞系对 ECGF 有特异的高亲和力<sup>[25]</sup>。Hep2 细胞系表达雌激素- $\beta$  结合位点,该位点与 Q 和 TAM 结合后能抑制癌细胞生长<sup>[26]</sup>。Robbins 等<sup>[23]</sup>发现 TAM 即使在 2  $\mu$ mol/L 也有显著的抑制喉癌细胞生长的作用。有学者报道,在乳腺癌 TAM 似乎通过与细胞内的 ER 结合,阻止雌激素进入核内并阻止一系列的高分子合成和增殖。另有学者报道,在乳腺癌细胞,TAM 与雌激素竞争 ER,一些 TAM 的生物学效应也能被雌激素逆转。因此,可以推断雌激素和 TAM 能调节 ER 阳性的喉癌细胞的生长。

雌激素在靶细胞的细胞质内与 ER 结合,形成激素受体复合物,同时激素受体复合物与雌激素反应元件的特异 DNA 序列高亲和力结合,从而引起一系列特异基因表达的改变,起到

对靶细胞的分化发育和调节代谢作用,因此激素受体是激素发挥作用的主要介导体。研究表明,卵巢切除术致雌激素减少 4 周后,Wistar 大鼠喉组织上皮下水肿、膨胀,纤毛和杯状细胞减少<sup>[27]</sup>,这些恰恰是致癌的基础。这表明雌激素或许能防止喉癌的发生,但没有证据表明这些效应是通过黏膜上的 ER 直接起效还是间接起效。Hagedorn 和 Nerlich<sup>[6]</sup>认为,从病理生理的角度用 TAM 治疗喉癌是不科学的,因为他们没有观察到 ER,就不会有抗雌激素的治疗效果。

尽管成功的激素疗法不是完全依赖可探测的激素受体,如, Greene 报道,在乳腺癌中,5%~10%的 ER 阴性的患者同样对抗性激素治疗敏感。并且,在已明确受体阳性时,有研究用动物实验模型来确定这些受体时,发现人在某种生理状态,受体没有功能,不与核染色质结合,若生理状态改变则受体功能恢复。这或许可以解释这些研究的差异。不过,ER- $\beta$ 激动剂,雌激素替代物已经用于多种肿瘤(前列腺癌和乳腺癌)的化疗。

## 5 结 语

ER 与喉癌的关系受到人们越来越多的关注,ER 在喉癌的表达已被很多学者证实,在肿瘤的初期或许可以通过控制 ER- $\beta$  的表达抑制肿瘤向恶性阶段进展。ER 的阳性表达可能与喉癌的恶性程度以及淋巴结转移有关,对喉癌患者进行 ER 检查或许能提示患者预后,以便给予 ER 阳性患者更具针对性的治疗。对 ER 在 ECGF 信号通路、Wnt 信号通路中的作用有待进一步研究,对以上信号通路的阻滞有望成为防治喉癌的新手段。

## 参考文献:

- [1] 陈滨,王吉喆,李巍,等.雄激素受体和雌激素受体在喉癌中的表达[J].临床耳鼻咽喉科杂志,2006,20(14):649-651.
- [2] Bianchini C, Pastore A, Pelucchi S, et al. Sex hormone receptor levels in laryngeal carcinoma: a comparison between protein and RNA evaluations[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2008, 265(9): 1089-1094.
- [3] 杨艳,田鑫.喉癌性激素受体的表达与喉癌转移相关性[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2009,16(6):341-342.
- [4] Lukits J, Remenar E, Raso E, et al. Molecular identification, expression and prognostic role of estrogen and progesterone receptors in head and neck cancer[J]. Int J Oncol, 2007, 30(1): 155-160.
- [5] Goulioumis AK, Fuxe J, Varakis J, et al. Estrogen receptor expression in human laryngeal carcinoma: correlation with the expression of epithelial-mesenchymal transition specific biomarkers[J]. Oncol Rep, 2009, 22(5): 1063-1068.
- [6] Hagedorn HG, Nerlich AG. Analysis of sex-hormone receptor expression in laryngeal carcinoma[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2002, 259(4): 205-210.
- [7] Järvinen TA, Peltö-Huikko M, Holli K, et al. Estrogen receptor beta is coexpressed with ERalpha and PR and associated with nodal status, grade, and proliferation rate in breast cancer[J]. Am J Pathol, 2000, 156(1): 29-35.
- [8] Lazennec G. Estrogen receptor, a possible tumor suppressor involved in ovarian carcinogenesis[J]. Cancer Lett, 2006, 231(2): 151-157.
- [9] Helguero LA, Lindberg K, Gardmo C, et al. Different roles of estrogen receptors A and B in the regulation of E-cadherin protein levels in a mouse mammary epithelial cell line[J]. Cancer Res, 2008, 68(21): 8695-8704.
- [10] Ali S, Coombes RC. Estrogen receptor alpha in human breast cancer: occurrence and significance[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2000, 5(3): 271-281.
- [11] Koehler KF, Helguero LA, Haldosén LA, et al. Reflections on the discovery and significance of estrogen receptor beta[J]. Endocr Rev, 2005, 26(3): 465-478.
- [12] Moustakas A, Heldin CH. Signaling networks guiding epithelial-mesenchymal transitions during embryogenesis and cancer progression[J]. Cancer Sci, 2007, 98(10): 1512-1520.
- [13] Mulholland DJ, Dedhar S, Goetzee GA, et al. Interaction of nuclear receptors with the Wnt/ $\beta$ -catenin/Tcf signaling axis: Wnt You Like to Know[J]. Endocr Rev, 2005, 26(7): 898-915.
- [14] Hou X, Tan Y, Li M, et al. Canonical Wnt signaling is critical to estrogen mediated uterine growth[J]. Mol Endocrinol, 2004, 18(12): 3035-3048.
- [15] Ding JX, Feng YJ, Yao LQ, et al. The reinforcement of invasion in epithelial ovarian cancer cells by 17 beta-Estradiol is associated with up-regulation of snail[J]. Gynecol Oncol, 2006, 103(2): 623-630.
- [16] Schmalhofer O, Brabletz S, Brabletz T. E-cadherin,  $\beta$ -catenin, and ZEB1 in malignant progression of cancer[J]. Cancer Metastasis Rev, 2009, 28(1/2): 151-166.
- [17] Lopez-Gonzalez JS, Cristerna-Sanchez L, Vazquez-Manriquez ME, et al. Localization and level of expression of catenin in human laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2004, 130(1): 89-93.
- [18] Rodrigo JP, Dominguez F, Suárez V, et al. Focal adhesion kinase and E-cadherin as markers for nodal metastasis in laryngeal cancer[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2007, 133(2): 145-150.
- [19] Park SH, Cheung LW, Wong AS, et al. Estrogen regulates Snail and Slug in the downregulation of E-cadherin and induces metastatic potential of ovarian cancer cells through estrogen receptor alpha[J]. Mol Endocrinol, 2008, 22(9): 2085-2098.
- [20] Jensen EV, Jordan VC. The estrogen receptor: a model for molecular medicine[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(6): 1980-1989.
- [21] Schiff R, Massarweh SA, Shou J, et al. Cross-talk between estrogen receptor and growth factor pathways as a molecular target for overcoming endocrine resistance[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10 Suppl 2: S331-336.
- [22] Nagatsuka H, Ishiwari Y, Tsujigiwa H, et al. Quantitation of epidermal growth factor receptor gene amplification by competitive polymerase chain reaction in pre-malignant and malignant oral epithelial lesions[J]. Oral Oncology, 2001, 37(7): 599-604.

- [23] Robbins KT, Vu TP, Diaz A, et al. Growth effects of tamoxifen and estradiol on laryngeal carcinoma cell lines [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1994, 120(11): 1261-1266.
- [24] Raspaglio G, Ferrandina G, Ferlini C, et al. Epidermal growth factor-responsive laryngeal squamous cancer cell line Hep2 is more sensitive than unresponsive CO-K3 one to quercetin and tamoxifen apoptotic effects[J]. Oncol Res, 2003, 14(2): 83-91.
- [25] Ranelletti FO, Almadori G, Rocca B, et al. Prognostic significance of cyclooxygenase-2 in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer, 2001, 95(6): 343-349.
- [26] Ferrandina G, Almadori G, Maggiano N, et al. Growth inhibitory effect of tamoxifen and quercetin and presence of type II estrogen binding sites in human laryngeal cancer cell lines and primary laryngeal tumors[J]. Int J Cancer, 1998, 77(5): 747-754.
- [27] Surmeli M, Habesoglu TE, Habesoglu M, et al. Histopathological effects of estrogen deficiency on larynx mucosa in ovariectomised rats[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2011, 268(2): 261-266.

(收稿日期: 2011-03-15 修回日期: 2011-05-30)

· 综 述 ·

## HIV-1NefR 作用机制的研究进展\*

陈 超, 杨微波, 张宏丽, 李俊敏, 戴 虹, 张 禄 综述, 游 晶<sup>△</sup> 审校

(昆明医学院第一附属医院感染性疾病科 650032)

关键词: 细胞膜受体; 作用机制; 人类免疫缺陷病毒附加蛋白 Nef

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.04.035

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)04-0392-04

人类免疫缺陷病毒(HIV)在病毒学上属于逆转录病毒科,慢病毒属。目前发现两种 HIV,分别为人类免疫缺陷病毒-1(HIV-1)和人类免疫缺陷病毒-2(HIV-2),两者具有相似的病毒结构和传播途径。HIV-2 毒力和传播力都低于 HIV-1,它引起的艾滋病(AIDS)病程也较缓和。HIV-1 是目前引起全世界 AIDS 流行的主要病原,其感染人群占全球 HIV 感染者的 90%以上<sup>[1]</sup>。目前 HIV 的研究也是以 HIV-1 为主进行的。

人类免疫缺陷病毒附加蛋白 Nef(HIV-1Nef)是 HIV 附加基因编码的调节蛋白。HIV-1NefR 在从 HIV 感染发展到 AIDS 的整个进程中起着至关重要的作用<sup>[2]</sup>。目前研究认为 Nef 的功能主要是在下调细胞膜表面受体、干扰细胞内信号转导途径、促进病毒释放、增强 HIV 的转录、增加病毒基因表达等方面发挥重要作用。另外在 Nef 各种形式突变以及对 HIV 的影响方面也有不少的研究报道,在这方面有可能为 HIV 疫苗的设计带来新的希望。

### 1 Nef 概述

**1.1 Nef 的概念** Nef 是 HIV-1 基因组编码的一种多功能的辅助蛋白。它在整个病毒的复制阶段持续性表达,从而在病毒复制周期的各个阶段发挥重要的作用,并对 HIV-1 体内的致病性以及 AIDS 进展都有重要的影响。

**1.2 Nef 的结构** Nef 是由 nef 基因编码的含有 206 个氨基酸、相对分子质量为  $25 \times 10^3 \sim 27 \times 10^3$  的辅助蛋白。人们通过核磁共振和 X 晶体衍射认识到 Nef 蛋白是由 6 个  $\alpha$  螺旋、1 个  $\beta$  折叠及 5 个  $\beta$  型反平行的单链组成。N 端 aa6~22 形成一个规则的  $\alpha$  螺旋;核心区域有折叠完好的结构,aa69~78 为富含脯氨酸的序列,可形成 II 型聚脯氨酸螺旋,其中 SH3 结构域(aa70~77)是酪氨酸蛋白激酶(Src)家族的主要结合位点;SH3 结构域后面是 2 个  $\alpha$  螺旋(81~120,  $\alpha A$  和  $\alpha B$ )、1 个四股反向平行的  $\beta$  片层(aa121~186,  $\beta A \sim \beta D$ )以及另外 2 个  $\alpha$  螺旋

(aa187~203,  $\alpha C$  和  $\alpha D$ );aa60~71 及 aa149~180 形成暴露的,可溶性弹性环状结构;3 个邻近的螺旋(aa70~120)形成一个容易结合药物的空穴,可阻断 Nef 与 Src 激酶家族间相互作用<sup>[3]</sup>。

### 2 HIV-1NefR 与细胞膜表面相关受体的作用

目前研究表明, HIV-1Nef 可以通过对 CD4、人类组织主要相容性复合体-1(MHC-1)类分子等细胞膜表面分子的下调扰乱机体内免疫平衡,降低免疫细胞的功能。

**2.1 与 CD4 分子受体的作用** CD4 分子是由  $55 \times 10^3$  的 I 型细胞表面糖蛋白组成的 MHC-2 限制性细胞表面 T 细胞受体<sup>[4]</sup>,如辅助 T 淋巴细胞、单核巨噬细胞以及可以作为 HIV 或猴免疫缺陷病毒(SIV)的主要细胞受体。

HIV-1 感染细胞的过程首先是 HIV-1 的糖蛋白 120(gp120)与宿主细胞第一受体(CD4 分子)结合,然后与其第二受体(CXCR4 或 CCR5)结合,从而使 gp120 构象改变与糖蛋白 41(gp41)分离, HIV 与宿主细胞膜融合进入细胞。因此, CD4 分子是 HIV 病毒与宿主细胞结合的第一受体,下调宿主细胞 CD4 分子可以预防病毒包膜被宿主细胞 CD4 分子隔离而影响病毒颗粒的装配,从而增加病毒颗粒的释放。下调宿主细胞表面的 CD4 分子还可以预防宿主细胞的双重感染,从而减少宿主细胞的过早死亡<sup>[4]</sup>。目前认为, HIV-1Nef 主要是通过诱导细胞膜表面 CD4 分子的内吞作用和阻碍细胞膜受体的转运来下调细胞表面的 CD4 分子<sup>[5]</sup>。

Chauduri 等<sup>[2]</sup>通过 RNA 干扰技术发现 Nef 下调 CD4 受体过程中需要接头蛋白(AP)或 AP 的相关蛋白参与。CD4 蛋白细胞质尾部近膜区域有双亮氨酸残基,正常情况下该位点与 Src 激酶家族的 p56 Lck 结合后被封闭,阻止 AP 介导的内化<sup>[7]</sup>。Nef WL(57~58)和核心区 G95、L97、R10<sup>6</sup> 及 L110 残基直接结合 CD4 细胞质区双亮氨酸基序,磷酸化其细胞质尾

\* 基金项目:国际合作项目——中国盖茨艾滋病项目基金资助项目(2010-11-G)。 <sup>△</sup> 通讯作者, Tel: 13888788492; E-mail: jingyoukm@