

- [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[△]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^[1]。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^[2]。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 α 螺旋、1 个 β 折叠及 5 个 β 型反平行的单链组成。N 端 aa6~22 形成一个规则的 α 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 α 螺旋(81~120, α A 和 α B)、1 个四股反向平行的 β 片层(aa121~186, β A~ β D)以及另外 2 个 α 螺旋

(aa187~203, α C 和 α 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^[3]。

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 55×10^3 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^[4],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^[4]。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^[5]。

Chauduri 等^[2]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^[7]。Nef WL(57~58)和核心区 G95、L97、R10⁶ 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)。 [△] 通讯作者, Tel: 13888788492; E-mail: jingyoukm@

区 Ser408, 导致 CD4 被内吞^[6]。最近有报道称应用酵母三向杂交法显示: Nef 与 AP1、AP3 有相互作用, 而与 AP2 和 AP4 之间没有相互作用^[6]。据观察分析在 Nef 与 AP1 和 AP3 的 μ 亚基之间有很强的相互作用参与反面高尔基网状结构 (TGN) 和内体性溶酶体之间的运输^[6]。最近研究发现, HIV Nef 蛋白在下调细胞表面 CD4 分子过程中除了依赖 AP 外, 同时还依赖于泛素化赖氨酸残基 K144^[7]。在另外一些调节蛋白, 如液泡 ATP 激酶亚基 VIH 对 Nef 介导的细胞表面 CD4 分子的下调也起到一定的作用^[8]。VIH 是 AP 包裹小泡的一部分, 对于体内溶酶体的酸化是必需的。酵母双向杂交显示, Nef 的 C 末端柔韧环与 V1H 结合, 同时 V1H 也具有 AP-2 μ 2 链的结合位点, 通过 AP2 将 CD4 与 AP 连接^[9]。另外也有研究表明, Nef 可以使 CD4 受体分子通过多泡体通路, 将其运输至溶酶体, 从而使 CD4 受体分子在溶酶体内被降解^[10]。

2.2 与 CD28 分子受体的作用 CD28 表达于外周血中几乎所有 CD4 阳性 T 细胞和 50% 的 CD8 阳性 T 细胞表面。此外, 浆细胞和部分活化 B 细胞也表达 CD28。其配体是表达于 B 细胞和抗原呈递细胞 (APC) 表面的 B7 家族分子。CD28 与 B7 家族构成了活化 T 细胞的重要的第二信号。Nef 对 CD28 的下调可以使 T 细胞的激活受到抑制, 但具体对病毒的意义还不十分清楚, 有可能促进感染 HIV-1 的 T 细胞从 APC 释放, 加速感染 HIV-1 的 T 细胞进入循环, 从而加强病毒的传播。目前认为 Nef 对 CD28 的下调主要是靠 AP-2 在 CD28 和 Nef 之间相互作用完成的^[11]。Nef 的这种活性现象存在于多个保守的 HIV-1 和 SIV 病毒株中。165 和 166 位双亮氨酸 (LL165/166) 残基和 194 位组氨酸 (His194) 残基为 Nef 下调 CD28 起了关键作用^[12]。

2.3 与 MHC 分子的作用 MHC 分子即为主要组织相容性复合体, 可以分为 MHC-1 和 MHC-2 两种类型。其主要生物学功能是通过提呈抗原而激活 T 细胞参与适应性免疫应答。Nef 对 MHC 分子的下调可以使被病毒感染的宿主细胞逃脱细胞毒性 T 细胞即 CTL 细胞的攻击, 这对 HIV 感染宿主细胞以及发展成为 AIDS 都具有至关重要的作用。这也是病毒逃逸免疫机制的经典途径之一。但目前 Nef 对 MHC 分子的下调机制仍不十分清楚。

2.3.1 与 MHC-1 分子的作用 Nef 对 MHC-1 分子的作用并不是影响 MHC-1 的合成以及其在细胞内高尔基体和内质网之间的运输, 但可以通过阻碍 MHC-1 分子高尔基体运输至细胞表面从而导致 MHC-1 分子在高尔基体网状结构内的蓄积。也可通过加速细胞膜表面已经表达的成熟 MHC-1 分子的内吞作用和加速对其反向运输至反面高尔基体网状结构而发挥作用。普遍认为, 二磷酸腺苷 (ADP) 糖基化因子 Arf6 可以促进细胞表面 MHC-1 的下调, 其机制可能为 Nef 与酸弗林蛋白酶酸性氨基酸族分选蛋白-1 (PACS-1) 结合启动 ADP 糖基化因子 (Arf6) 的内吞途径, 从而下调细胞表面 MHC-1 分子至反面高尔基网。而 Arf6 介导的内吞作用主要是通过 GTP/GDP 与 Arf6 的结合状态来进行调节的, 在此过程中还受到 Nef 蛋白的 SH3 结构域连接的 PxxP 和 Met20 的控制^[13]。Larsen 等^[14]通过抑制 Arf6 上游活化剂磷酸肌醇三磷酸激酶发现并不能影响细胞表面 MHC-1 分子的内吞过程。但是 Arf6 的活性有助于使内吞的 MHC-1 类分子转运至高尔基网。因此, 认为 Nef 介导 MHC-1 类分子的下调机制明显依赖于 Arf6 是由于其活性的降低可以非特异性干扰细胞内质膜的转运功能。另外, 通过消除 Nef 蛋白 N 末端豆蔻酰化的结构将完全废止 MHC-1 和 CD4 分子的下调, 从而保护 CTL 细胞、T

辅助细胞及 B 细胞表位^[15]。说明 Nef 的豆蔻酰化同样是促进 MHC-1 下调的重要结构。Nef 下调 MHC-1 的机制有助于受感染 CD4 阳性细胞躲避 CTL 裂解的作用^[16], 从而利于促成病毒库和潜伏性感染。Jimmy 和 Jung^[17]通过运用一种小分子抑制剂 2C 干扰 Nef 与 Scr 家族激酶之间相互作用, 成功抑制了被 HIV 感染的 CD4 阳性 T 细胞表面 MHC 分子的下调。这有可能为治疗和控制 AIDS 探索出新的方法。

2.3.2 与 MHC-2 分子的作用 MHC 分子主要通过提呈抗原肽而激活 T 细胞, 参与适应性免疫应答。其中 MHC-2 类分子主要参与 CD4 阳性 Th 细胞的外源性识别。MHC-2 存在于所有能被 HIV 感染的细胞类型当中。

Nef 对 MHC-2 分子抗原提呈的干扰作用主要通过两种不同机制实现的, 其机制包括了下调细胞表面表达的成熟 MHC-2 分子和上调 MHC-2 相关不变侧链在细胞膜上的表达。MHC-2 相关不变侧链是 MHC-2 对抗原处理过程中相关的伴侣蛋白, 其作用是抑制抗原肽与 MHC-2 的结合以及增强 MHC-2 分子的折叠^[18]。因此 Nef 通过增强 MHC-2 的不变链在细胞膜上的表达从而减弱 MHC-2 的抗原提呈作用。在此过程中, Nef 与 AP 连接模体的双氨基酸区域 LL165/166 以及 AP 与 MHC-2 分子细胞质尾部连接区域的部分双亮氨酸残基 DDQRDL1(8) 和 EQLPML(17) 对 Nef 上调细胞表面 MHC-2 分子不变侧链起到了十分关键的作用^[19]。此外, Nef 对 MHC-2 不变侧链的上调依赖 Nef 中等水平量的表达, 因此在长期非进展性患者体内不会使 MHC-2 不变侧链表达的上调^[20]。Nef 除了上调 MHC-2 不变侧链外还可以下调细胞表面成熟的 MHC-2 分子, 其机制目前认为并不是通过通常的内吞途径实现的, 但是其具体机制还不十分明确^[21]。深入研究 Nef 对细胞表面分子的下调机制, 尤其是针对 Nef 与表面分子结合位点的抑制性研究可为治疗 HIV-1 感染提供新的理论依据^[22]。

3 HIV-1NefR 增强病毒的感染性

目前有研究已证实了 HIV-1 的 Nef 可以增加 HIV 的感染性并促进 HIV 的释放^[23]。Nef 可以增强病毒从脂质筏出芽的方式来增强病毒的感染性。有研究发现, HIV 病毒包膜含有丰富的神经节苷脂, 正是胞膜脂质筏的主要组成元件, 其功能与增强 HIV 的感染性有直接的相关性^[24]。另外有研究发现动力蛋白 2 (Dyn2) 是细胞内小泡转运的关键调节因子。它能与 Nef 的辅助蛋白共同作用增加病毒的感染性。用小 RNA 干扰抑制 Dyn2 或者敲除 Dyn2 基因将阻碍 HIV-1 的感染^[25]。说明 Dyn2 在 Nef 增强 HIV 感染的过程中起着关键的调节作用。

Bergonizini 等^[26]通过观察发现在长期的非进展性 HIV-1 感染患者体内 Nef 有自然消除的现象。经进一步的研究证明, 消除 Nef 可以减弱 HIV-1 的感染能力, 但其机制还不是十分清楚。可能与 Nef 参与的信号转导通路以及宿主细胞蛋白激酶的相互作用有关。

目前, 在艾滋病相关性脑病方面的研究表明, HIV Nef 蛋白在其发病机制中也发挥着重要作用^[26]。当外周单核巨噬细胞被 HIV 感染后, 可通过血脑屏障进入脑组织当中, 进而感染脑组织中固有单核巨噬细胞, 从而引起其释放各种炎性因子, 引起相应的临床症状。HIV Nef 能通过促进被感染的单核巨噬细胞释放各种炎性介质及肿瘤坏死因子 (TNF) 的表达^[27], 而在其发病机制中发挥作用。

4 HIV-1NefR 与细胞信号转导之间的作用

机体内的细胞可识别与之接触的细胞所呈递的信号, 或者识别周围环境中存在的各种化学和物理信号, 并通过受体将这

些信号传入细胞内,产生各种信息分子和有规律的级联反应,从而改变细胞内的某些代谢过程,调节细胞的生长速度,甚至诱导细胞死亡。这种针对外源信息所发生的细胞应答反应的全过程称为信号转导。在人体免疫系统中,尤其是 T 细胞在识别外源性抗原并被激活的过程中细胞信号转导起到了至关重要的作用。

与 T 细胞结合抗原及其被激活过程密切相关的信号转导分子主要有 Src 家族、ZAP70 家族和 Tec 家族。其中 Src 家族中 Fyn 主要与 T 细胞抗原受体结合存在,Lck 主要与辅助受体 CD4/CD8 结合存在。当 T 细胞抗原受体接受抗原刺激活化时,两者均可以发生酪氨酸磷酸化并得以活化,再作用于下游底物分子使之磷酸化。ZAP70 可以与 T 淋巴细胞的抗原受体的 ξ 亚单位相结合的 70×10^3 的蛋白。T 细胞受体的酪氨酸被磷酸化后,可以结合 ZAP70 使之活化。Tec 家族也是一类重要的蛋白酪氨酸激酶,它们在细胞的发育和活化过程中是重要的信号转导分子,但具体功能还不十分清楚。

Nef 缺乏任何催化活性,但在宿主细胞内可以起到影响激酶以及其他一些信号转导通路的作用^[29]。分子质量分别为 62×10^3 和 72×10^3 的双磷酸蛋白被称为 Nef 相关激酶(NAKs)。其中一种蛋白是 P21 活性激酶(PAK2),可以直接影响细胞骨架形态和细胞产生的凋亡信号^[30]。Nef 可以影响 PAK2 调节由细胞质向细胞核转运的细胞信号分子以及诱导改变细胞骨架和细胞的转录、反转录中的作用。另外 Nef 还可以通过诱导感染以及未被感染的免疫细胞表达 Fas 及其配体 FasL 从而导致免疫细胞特别是 HIV 特异性细胞毒性 T 细胞(CTLs)的凋亡,从而使 HIV 获得免疫逃逸。

5 HIV-1NefR 在预防和治疗作用中的展望

Nef 通过下调细胞表面 CD4 和 CCR5 等受体分子以及 MHC-1 和成熟的 MHC-2 类分子来逃脱宿主免疫攻击、促进病毒释放、增强病毒感染性等众多生物学功能。其在 AIDS 的发病机制以及从 HIV 感染发展成为 AIDS 的过程中起着重要的作用。正因为其关键作用为人们预防 HIV 感染和治疗 AIDS 找到新的希望。

Balog 和 Minarovits^[31]通过对长期非进展性 HIV 感染者的研究发现 Nef 剔除的 HIV 或者是高度变异后出现基因组缺陷的 HIV(dHIV)能够干扰野生型 HIV 的复制。因此人们可以通过人工处理的 dHIV 注射入 HIV 感染者的体内能够减缓发展成为 AIDS 的进程甚至有可能起到治疗 AIDS 的作用。目前,在疫苗研究方面还没有找到可很好预防 HIV 感染的疫苗,其主要障碍是 HIV 缺乏固有的和获得性的保护性免疫能力^[32]。不过近年针对 Nef 疫苗的研究也有很多成果。Erfle 等^[33]发现,在病毒的 V2 区域删除外膜蛋白后可以抑制 Nef 的产生和释放,由此可能为 Nef 的免疫疫苗找到新的方法。

由于对 Nef 在细胞内的具体作用过程认识还不十分清楚,限制了针对 Nef 这一潜在的靶点治疗和预防手段的发展。随着对 Nef 研究的不断深入,必将为人类预防 HIV 感染,治疗 AIDS 提供更多更好的途径和方法。

参考文献:

[1] McCutchan FE. Global epidemiology of HIV[J]. J Med Virol, 2006, 78 Suppl 1: S7-12.
 [2] Chaudhuri R, Lindwasser OW, Smith WJ, et al. Downregulation of CD4 by human immunodeficiency virus type 1 Nef is dependent on clathrin and involves direct interaction of Nef with the AP2 clathrin adaptor[J]. J Virol,

2007, 81(8): 3877-3890.
 [3] 王淑华, 邢辉. HIV-1NefR 蛋白变异对艾滋病疾病进展影响机制的研究[J]. 国际病毒学杂志, 2007, 14(3): 87-94.
 [4] Lama J. physiological relevance of CD4 receptor down modulation during HIV infection[J]. Curr HIV Res, 2003, 1(2): 167-184.
 [5] Giolo G, Neri F, Casartelli N, et al. Internalization and intracellular retention of CD4 are two separate functions of the human immunodeficiency virus type 1 Nef protein[J]. J Gen Virol, 2007, 88(Pt 11): 3133-3138.
 [6] Jin YJ, Zhang XP, Cai CY. Alkylating HIV-1NefR-apoptical Way of HIV intervention[J]. AIDS Res Ther, 2010, 7(26): 26.
 [7] Janvier K, Craig H, Hitchin D. HIV-1NefR establishes the association of adaptor protein complexes with membranes[J]. J Biol Chem, 2003, 278(10): 8725-8732.
 [8] Yu LX, Liu SH, Brodsky FM, et al. Interactions between HIV-1NefR and vacuolar ATPase facilitate the internalization of CD4[J]. Immunity, 1998, 8(5): 647-656.
 [9] Erdtmann L, Raposo GJ. Two independent regions of HIV-1NefR are required for connection with the endocytic pathway through binding to the mu1 chain of AP1 complex[J]. Traffic, 2000, 1(11): 871-883.
 [10] Silva LL, Sougrat R, Burgos PV, et al. Human immunodeficiency virus type 1 Nef protein target CD4 to the multivesicular body pathway[J]. J Virol, 2009, 83(13): 6578-6590.
 [11] Bell I, Schaefer TM, Triple RP, et al. Down-modulation of the costimulatory molecule CD28 is a conserved activity of multiple SIV Nef and is dependent on histidine 196 of Nef[J]. Virology, 2001, 283(1): 148-158.
 [12] Swigut T, Shohdy N, Skowronski J. Mechanism for down-regulation of CD28 by nef[J]. EMBO, 2001, 20(7): 1593-1604.
 [13] Blagoveshchenskaya AD, Tomas L, Feliciangeli SF, et al. HIV-1NefR downregulates MHC-1 by a PACS-1 and PI3K-regulated ARF6 endocytic pathway[J]. Cell, 2002, 111(6): 853-866.
 [14] Larsen JE, Massol RH, Nieland TJ, et al. HIV Nef-mediated major histocompatibility complex class I down-modulation is independent of Arf6 activity[J]. Mol Biol Cell, 2004, 15(1): 323-331.
 [15] Peng B, Robert-Guroff M. Deletion of N-terminal myristoylation site of HIV Nef abrogates both MHC-1 and CD4 down-regulation[J]. Immunol Lett, 2001, 78(3): 195-200.
 [16] Wick WD, Gilbert PB, Yang OO. Predicting the impact of blocking HIV-1NefR in vivo[J]. J Virol, 2009, 83(5): 2349-2356.
 [17] Jimmy D, Jung K. Small molecule inhibition of HIV-1-induced MHC-1 down-regulation identifies a temporally regulated switch in Nef action[J]. Mol Biol Cell, 2010, 21(19): 3279-3292.
 [18] Walseng E, Bakke O, Roche PA. Major histocompatibility complex class II-peptide complexes internalize using a

- clathrin- and dynamin-independent endocytosis pathway [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(21):14717-14727.
- [19] Mitchell RS, Chaudhuri R, Lindwasser OW, et al. Competition model for up-regulation of the major histocompatibility complex class II-associated invariant chain by human immunodeficiency virus type 1 Nef[J]. *J Virol*, 2008, 82(16):7756-7767.
- [20] Schindler M, Wurfl S, Benaroch P, et al. Down-modulation of mature major histocompatibility complex class II and up-regulation of invariant chain cell surface expression are well-conserved functions of human and simian immunodeficiency virus nef alleles[J]. *J Virol*, 2003, 77(19):10548-10556.
- [21] Stumptner-Cuvelette P, Morchoisne S, Dugaet M, et al. HIV-1NefR impairs MHC class II antigen presentation and surface expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(21):12144-12149.
- [22] 李杰, 吴南屏. HIV-1NefR 下调 MHC-1 分子的研究进展 [J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2009, 36(4):255-258.
- [23] Pizzato M, Popova E, Gottlinger HG. Nef can enhance the infectivity of receptor-pseudotyped human immunodeficiency virus type 1 particles [J]. *J Virol*, 2008, 82(21):10811-10819.
- [24] Zheng YH, Plemenitas A, Linnemann T, et al. Nef increases infectivity of HIV via lipid rafts [J]. *Curr Biol*, 2001, 11(11):875-879.
- [25] Pizzato M, Helander A, Popova E, et al. Dynamin 2 is required for the enhancement of HIV-1 Infectivity by Nef [J]. *Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(16):6812-6817.
- [26] Bergonzini V, Calistri A, Salata C. Nef and cell signaling transduction: a possible involvement in the pathogenesis of human immunodeficiency virus-associated dementia [J]. *J Neurovirol*, 2009, 15(3):238-248.
- [27] Gerlach H, Laumann V, Martens S. HIV-1NefR membrane association depends on charge, curvature, composition and sequence [J]. *Nat Chem Biol*, 2010, 6(1):46-53.
- [28] Saksela K. HIV-1NefR and host cell protein kinases [J]. *Front Biosci*, 1997, 2(5):606-618.
- [29] Stevenson M. HIV-1 pathogenesis [J]. *Nat Med*, 2003, 9(7):853-860.
- [30] Renkema GH, Manninen A, Mann DA, et al. Identification of the Nef-associated kinase as P21-activated kinase 2 [J]. *Curr Biol*, 1999, 9(23):1407-1410.
- [31] Balog K, Minarovits J. Nef: a pleiotropic modulator of primate lentivirus infectivity and pathogenesis [J]. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2006, 53(1):51-57.
- [32] Hoffman D, Seebach J, Cosma A, et al. Therapeutic vaccination reduces HIV sequence variability [J]. *Faseb J*, 2008, 22(2):437-444.
- [33] Erfle V, Goebel FD, Guzman CA, et al. Vaccines based on Nef and on Nef/Delta V2 Env [J]. *Microbes Infect*, 2005, 7(14):1400-1404.

(收稿日期:2011-03-09 修回日期:2011-05-18)

泛素化在人表皮生长因子受体降解中的研究进展

李 焘¹综述, 刘朝奇², 王雄伟¹审校

(三峡大学:1. 神经病学研究所;2. 分子生物研究所, 湖北宜昌 443003)

关键词:泛素化; 人类表皮生长因子受体; 内吞作用; 泛素-蛋白酶系统

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.04.036

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)04-0395-04

人类表皮生长因子受体(EGFR)是原癌基因 c-erbB-1 的表达产物,其编码的蛋白质属 I 型跨膜酪氨酸激酶生长因子受体,由 3 部分组成:胞外区、跨膜区和膜内区,包括 EGFR、C-erbB-2、C-erbB-3、C-erbB-4 4 个成员,EGFR 与配体结合而激活后,胞内区的酪氨酸残基自磷酸化转为活性形式,诱发下游信号传导途径(如 PLC- γ 、Ras、PI3K、JAK2),引起级联反应,促进肿瘤的发生、增殖、转移、化疗抵抗。泛素化介导的 EGFR 降解是下调其活化的一个常见机制^[1]。本文对泛素化在 EGFR 降解中的研究进展综述如下。

1 泛素-蛋白酶系统(UPS)

UPS 是真核生物中必不可少的结构,它可以控制包括蛋白酶在内的多种蛋白。泛素是小分子多肽,可以通过 ATP 依赖途径激活,泛素与基质蛋白的结合需要 3 个酶的参与:Ub 活化酶(E1)、泛素结合酶(E2)、泛素连接酶(E3)。E1 主要活化 Ub, E2 与活化的 Ub 作用后通过 E3 连接酶与酶作用物结合,进而促使了酶作用物的泛素化, E3 连接酶 HECT 结构域和 RING 结构域 2 个独特的类型。具有 HECT 的 E3 连接酶与 Ub 结合形成硫酯键,进而将 E3 连接酶直接转移到酶作用

物,具有 RING 结构域的 E3 连接酶不与 Ub 结合形成硫酯键,它主要是作为适配器来促使 E2 结合酶与酶作用物结合,进而促使泛素与酶作用物的结合^[2]。c-Cbl 是一个新发现的 E3 泛素连接酶,可以通过指环结构域与 E2 泛素结合酶结合,导致底物泛素化和降解。

表皮细胞生长因子(EGF)与受体结合,磷酸化的 c-Cbl 补充到细胞膜表面,并通过 TKB 与活化的 EGFR 的 Y1045 结合,随后共定位于核内体和多泡小体中, E2 泛素结合酶 Ubc4/5 与细胞膜上的 c-Cbl 协同作用,随后进入 Hrs 阳性核内体,提示 EGFR 在内化后被泛素化^[3]。Frey 等^[4]发现,EGFR 的泛素化需要 EGFR 激酶的活化和 Y1045 位点的磷酸化,此外,活化的 P38 也参与了此过程。在人胶质母细胞瘤结构性激活的 EGFRv III 中, Y1045 的突变抑制了 Cbl-b 介导的 EGFRv III 的泛素化和信号下调,因此加强了 EGFRv III 对细胞的转换能力^[5]。

Huang 等^[6]通过质谱分析法发现,EGF 介导了 EGFR 激酶域中亮氨酸富集序列的泛素化,亮氨酸残基在激酶域的突变可以阻止 EGFR 的泛素化和降解, Y1045 的突变可以很大程