HIV-1 跨膜蛋白 gp41 的生物学功能

——潜在的 gp41 细胞受体的研究

陈应华 Manfred P. Dierich^④

(清华大学生物科学与技术系, 北京 100084; ④Institute of Hygiene, University of Innsbruck, Austria)

摘要 几年来, HIV-1 跨膜蛋白 gp41 的生物学功能研究又取得了重大进展. 几个研究小组提供的实验证据证实 gp41 有一个潜在的细胞受体. 一个重组的 gp41 胞外区多肽(aa539~ 684) 以及 gp41 的免疫抑制多肽(aa583~ 599) 能够连接人 B 淋巴细胞和单核细胞, 仅能较弱的连接 T 淋巴细胞. 我们发现 gp41 有 2 个细胞结合位点(aa583~ 599 和 aa641~ 675). gp41 能够选择性地抑制人 T, B 淋巴细胞和单核细胞的增殖, 选择性地增强人 MHC iv 和 $\text{CD}4$ 类分子以及 ICAM-1 分子在细胞表面的表达. 针对第一结合位点的单克隆抗体和 gp41 结合蛋白能抑制这种调节作用. gp41 和 iv 型干扰素之间存在氨基酸序列的同源性, 同源区正位于 gp41 的第一结合位点和 iv 型干扰素的受体结合位点. 一些研究结果表明, gp41 的 2 个结合位点与 HIV 病毒感染细胞相关联. 含有 2 个结合位点的多肽分别能够抑制 HIV 病毒感染细胞. 一个识别第二位点的单抗能广泛中和 HIV-1 的实验室病毒株和最新分离的病毒株. 此外, 针对猴免疫缺陷病毒(SIV) 跨膜蛋白 gp32 分子上 2 个同源区的抗体能保护猴免受 SIV 的感染. 这些研究结果提示: gp41 细胞结合位点和细胞受体的研究定会对 HIV 病毒感染机理的研究和疫苗以及抗感染药物的研制产生重大影响.

关键词 HIV-1 gp41 细胞受体 结合位点 生物学功能

人免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1) 通过包膜蛋白 gp120 与其细胞受体分子结合感染易感细胞. CD4 是 HIV-1 的第一受体^[1]. 1996 年, fusin 和 CC-CKR5(趋化因子的受体) 被证明为 HIV-1 感染细胞的共同受体(coreceptor)^[2~4], 即第二受体. 然而, 近几年的研究结果表明, HIV-1 跨膜蛋白 gp41 行使一些重要的生物学功能: (1) 连接细胞(一个潜在的 HIV 受体的存在); (2) 抑制淋巴细胞的增殖; (3) 调节 MHC(主要组织相容性复合体) 和 ICAM-1(细胞间粘附分子 1) 分子的表达; (4) 诱导 HIV 感染的抑制活性. 这些研究成果将为科学家们解答当今 HIV-1 病毒入侵细胞的精细过程和致病机理, 以及寻找有效的疫苗和治疗药物的重大科学难题提供了新思路.

1 gp41 能连接人淋巴细胞和单核细胞

普遍认为, HIV-1 病毒感染细胞时, gp120 首先连接靶细胞表面的 CD4 受体, 然后与细胞膜上的共同受体(fusin 或 CC-CKR5) 相互作用, 从而导致 gp120 分子构象发生变化, 导致跨膜蛋白 gp41 分子上的 N-端疏水融合区(fusogenic domain) 在靶细胞膜附近充分暴露出来并穿透细胞膜, 启动病毒与细胞的融合过程^[4]. 但是现在还不知道 gp41 与靶细胞间的相互作用是否非特异性的, 是否需要“新受体”的参与. 然而, 近几年的研究结果表明, gp41 有一个潜在的细胞受体. 一个重组的、可溶性的、除掉 N-端融合区和跨膜区的 gp41 多肽(rsgp41: 氨基酸序列 539~ 684) 能够连接人的 T, B 淋巴细胞和单核细胞以及它们的细胞系^[5~9]. gp41 主要连接

人外周血单核细胞中的B淋巴细胞和单核细胞,仅能较弱的连接T淋巴细胞^[8, 10]. 这种连接不依赖于CD4分子^[5],因为rsgp41能连接不表达CD4分子的B细胞^[6, 8, 10].

2 gp41 分子含有 2 个细胞结合位点

我们对 gp41 分子上的细胞连接位点进行了定位. 我们发现 HIV Env 60 多肽(aa 591~605)和 Env 66 多肽(aa651~665)可以明显地抑制 rsgp41 与 T, B 细胞和单核细胞的结合,而 Env 65 多肽(aa 641~655)及 Env 67 多肽(aa 661~675)可以较弱地抑制这种结合^[5, 11]. 研究表明, gp41 通过这 2 个位点与细胞结合,并且 T, B 和单核细胞上可能有相同或相似的潜在的 gp41 细胞受体. gp41 分子上存在着一个免疫抑制区(immunosuppressive domain, 氨基酸序列 583~599)^[12]. 一个人工合成的、与 gp41 免疫抑制区对应的多肽(免疫抑制多肽)被证实能连接淋巴细胞和单核细胞^[13, 14]. 根据这些研究结果,我们将 gp41 的细胞结合位点定位在 aa583~599(免疫抑制区)和 aa641~675 区. 第一个位点平时处于被遮掩状态,只有当 gp120 与 CD4 结合而发生构象变化后才暴露出来^[15]. 当 HIV_1 病毒颗粒上的 gp120 发生脱落时,这个位点也会暴露出来,因为这个位点处于 gp41 膜外区的表面. 有趣的是识别第二个位点内的一个表位(aa 669~674)的单抗 2F5 能抑制 gp41 与人 T, B 和单核细胞的结合^[11]并能广泛中和 HIV_1 的实验室病毒株和最新分离的病毒株^[16, 17]. 这提示,第二个位点也是会暴露出来的.

3 gp41 的结合蛋白和受体蛋白

利用 rsgp41 亲和层析柱我们从 T, B 细胞系和单核细胞系的细胞裂解液中分离出分子量分别为 37, 45, 50, 62, 100 ku 的 5 个蛋白,并且用免疫印迹的方法鉴定了 P37, P45, P50 和 P62 为 gp41 结合蛋白^[5~7, 9](蛋白 P100 还不清楚). 进一步研究的结果显示, P45, P62 和 P50 能较强地抑制 gp41 调节 MHC 表达的活性^[18], 这提示: P45, P50 和 P62 可能是 gp41 的受体蛋白. Henderson 以及 Denner 的研究小组利用免疫抑制多肽分离和鉴定了一个分子量为 44 ku 的蛋白为 gp41 的受体蛋白^[13, 14]. Ebenbichler 用免疫沉淀(immune precipitation)的方法也鉴定了一个分子量为 44 ku 的膜蛋白为 gp41 的受体蛋白^[19]. 这些结果证明: gp41 连接的蛋白既不是 CD4 分子(分子量为 55 ku),又不是 fusin 分子(分子量为 40 ku)^[20]; gp41 有它自己的结合蛋白, P45, P50 和 P62 可能是潜在的受体蛋白. 此外, PMA (phorbol myristate acetate) 能选择性的调节 gp41 结合蛋白的表达. PMA 能促进 gp41 结合蛋白在 T 淋巴细胞上的表达,但抑制结合蛋白在 B 淋巴细胞和单核细胞上的表达,而蛋白激酶 C 的抑制剂 staurosporine 能抑制 PMA 的调节作用^[10]. 这提示: gp41 结合蛋白的表达似乎依赖于蛋白激酶 C. PMA 促进 gp41 结合蛋白在 T 淋巴细胞上表达的作用与它抑制 HIV-1 受体蛋白 CD4 在 T 淋巴细胞上表达的作用正好相反^[21], 这再次证明其受体蛋白的不同. 除 PMA 外, 白介素-6、干扰素- γ 等活性蛋白能促进 gp41 受体蛋白在 B 细胞上的表达^[22]. 来自 T, B 细胞和单核细胞的 gp41 结合蛋白的分子量大致相同,它们都有一致的抑制 gp41 连接细胞的活性^[6, 7]; 针对来源于 B 细胞的 P62 的抗血清能识别来源于 T 细胞和单核细胞的 P62^[23]. 从这些结果我们推测: 人 T, B 淋巴细胞和单核细胞上的 gp41 受体蛋白是一致的.

4 gp41 的免疫抑制和调节功能

随着研究的深入, gp41 连接细胞的一些生物学功能已被发现. gp41 能够选择性地抑制人

T, B 和单核细胞的自发增殖以及有丝分裂原诱导的淋巴细胞增殖, 而不能抑制人成纤维细胞系的增殖^[24]. Denner 研究小组检测了免疫抑制多肽的抑制活性. 结果表明: 免疫抑制多肽能够抑制有丝分裂原诱导的和淋巴因子依赖性的 T 淋巴细胞增殖^[25]. 这些结果提示: HIV-1 gp41 对未被感染的免疫细胞分裂有抑制作用; gp41 的免疫抑制作用可能是艾滋病患者免疫功能受到抑制的解释之一. 此外, 免疫抑制多肽还能抑制 HIV-1 诱导的细胞病理性病变^[25]. gp41 的免疫抑制作用主要是由它的第一个细胞结合位点, 即免疫抑制区(aa583~ 599) 行使的. 这 17 个氨基酸残基构成的免疫抑制多肽与载体(BSA) 偶联后具有免疫抑制作用^[25]. 这个免疫抑制多肽与猫科和鼠科白血病病毒 p15E 的一个 17 肽同源^[26]. gp41 具有免疫抑制功能可能是由于它们可以抑制蛋白激酶 C(PKC) 的活性^[27, 28]. 除了免疫抑制功能外, gp41 还具有免疫调节作用. 它能选择性地增强人 MHC II 类和 I 类分子以及 ICAM-1 分子在细胞表面的表达. 抗 gp41 第一结合位点的单克隆抗体和 gp41 结合蛋白 P45, P50 和 P62 能抑制这种调节作用^[18, 29]. 免疫抑制多肽也像 α , β 干扰素一样增强人 MHC II 类和 I 类分子在细胞表面的表达^[30]. 鉴于 HIV-1 gp41 的免疫抑制和免疫调节功能与人 II 型干扰素的功能相似, 我们比较了 gp41 和 II 型干扰素的氨基酸序列, 发现它们之间具有同源性, 而且这一同源区正是 gp41 的免疫抑制区(第一结合位点) 和 II 型干扰素的受体结合位点^[30]. 可以说, 这一同源区是 gp41 具有免疫调节和免疫抑制功能的分子基础.

5 gp41 结合位点与 HIV 病毒感染的关系和展望

尽管到现在为止我们还没有得到潜在的 gp41 受体的 cDNA 克隆, 还不能完全确定 gp41 的受体蛋白是否作为 HIV 的新受体参与 HIV 病毒感染细胞, 但是一些研究成果证明 gp41 的 2 个结合位点与 HIV 病毒感染细胞相关联. 包含 gp41 2 个结合位点的多肽分别能够抑制 HIV 病毒感染细胞^[31]. 免疫抑制多肽能抑制 HIV 诱导的细胞病理性病变^[14]. 一个识别第二个位点内的一个表位(aa669~ 674) 的单抗 2F5 能抑制 gp41 与人 T, B 和单核细胞的结合^[11] 并能广泛中和 HIV-1 的实验室病毒株和最新分离的病毒株^[16, 17]. 此外, 针对 SIV(猴免疫缺陷病毒) 跨膜蛋白 gp32 分子上 2 个同源区的抗体能保护猴免受 SIV 的感染^[32, 33]. 这提示: gp41 分子上 2 个结合位点的研究为制备抗 HIV 感染的有效疫苗提供了新的战略. 可以预料, gp41 的受体蛋白的 cDNA 不久将会克隆, gp41 受体的深入研究定会对 HIV 病毒感染细胞的详细机理的了解和有效疫苗以及抗感染药物的研制产生重大的影响.

致谢 本工作为国家教育部科研重点基金、国家自然科学基金(批准号: 39770696) 以及奥地利 FWF(P_10094-Med) 和 Ludwig Boltzmann Institute 资助项目.

参 考 文 献

- 1 Dalglish A G, Beverley P C L, Clapham P R, et al. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*, 1984, 312: 763~ 767
- 2 Feng Y, Broder C C, Kennedy P E, et al. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*, 1996, 272: 872~ 877
- 3 Dragic T, Litwin V, Allaway G P, et al. HIV-1 entry into CD4⁺ cells is mediated by the chemokine receptor CXCR5. *Nature*, 1996, 381: 667~ 673
- 4 Binley J, Moore J P. The viral mousetrap. *Nature*, 1997, 387: 346~ 348

- 5 Chen Y H, Ebenbichler C, Vornhagen R, et al. HIV_1 gp41 contains two sites for interaction with several proteins on the helper T_lymphoid cell line, H9. *AIDS*, 1992, 6: 533~ 539
- 6 Chen Y H, B^Lck G, Vornhagen R, et al. HIV_1 gp41 binds to several proteins on the human B cell line, Raji. *Mol Immunol*, 1993, 30: 1 159~ 1 163
- 7 Chen Y H, B^Lck G, Vornhagen R, et al. The human monocytes cell line U937 by proteins of 37, 45, 49, 62 and 92 kD binds HIV-1 gp41. *Immunol Lett*, 1993, 37: 41~ 45
- 8 Chen Y H, B^Lck G, Vornhagen R, et al. HIV_1 gp41 binding to human peripheral blood mononuclear cells occurs preferentially to B lymphocytes and monocytes. *Immunobiology*, 1993, 188: 323~ 329
- 9 Chen Y H, Christiansen A, B^Lck G, et al. HIV_2 transmembrane protein gp36 like HIV_1 gp41 binds to human lymphocytes and monocytes. *AIDS*, 1995, 9: 1 193~ 1 194
- 10 Chen Y H, Christiansen A, Dierich M P. HIV_1 gp41 binding to human T and B_lymphocytes and monocytes is modulated by phorbol myristate acetate. *Immunol Lett*, 1996, 50: 161~ 166
- 11 Chen Y H, Dierich M P. Identification of a second site in HIV_1 gp41 mediating binding to cells. *Immunol Lett*, 1996, 52: 153~ 156
- 12 Cheingsong_Popov R, Panagiotidi C, Caun K, et al. Antibodies to a putative HIV gp41 immunosuppressive peptide, pHIVIS (583~ 599), do not correlate significantly with outcome in HIV infection. *AIDS*, 1990, 4: 251~ 253
- 13 Henderson L A, Qureshi M N. A peptide inhibitor of human immunodeficiency virus infection binds to novel human cell surface polypeptides. *J Biol Chem*, 1993, 268: 15 291~ 15 297
- 14 Denner J, Vogel T, Norlet S, et al. The immunosuppressive (ISU_) peptide of HIV_1: Binding proteins on lymphocytes detected by different methods. *J Can Res Clin Oncol*, 1994, 121(S1): S35(11/128)
- 15 Sattentau Q J, Moore J P. Conformational changes induced in human immunodeficiency virus envelope glycoprotein by soluble CD4 bindign. *J Exp Med*, 1991, 174: 407~ 415
- 16 Muster T, Steindl F, Purtscher M, et al. A conserved neutralizing epitope on gp41 of human immunodeficiency virus type iv. *J Virol*, 1993, 67: 6 642~ 6 647
- 17 Purtscher M, Trkola A, Gruber G, et al. A broadly neutralizing human monoclonal antibody against gp41 of human immunodeficiency virus type iv. *AIDS Res Human Retroviruses*, 1994, 10: 1 651~ 1 658
- 18 Chen Y H, B^Lck G, Vornhagen R, et al. HIV_1 gp41 binding proteins and antibodies to gp41 could inhibit enhancement of human Raji cell MHC class iv and $\oplus$ antigen expression by gp41. *Mol Immunol*, 1994, 31: 977~ 982
- 19 Ebenbichler C, Roder C, Vornhagen R, et al. Cell surface proteins binding to recombinant soluble HIV-1 and HIV-2 transmembrane proteins. *AIDS*, 1993, 7: 489~ 495
- 20 Feng Y, Broder C C, Kennedy P E, et al. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven_transmembrane, G protein_coupled receptor. *Science*, 1996, 272: 872~ 877
- 21 Chowdhury I H, Koyanagi Y, Kobayashi S, et al. The phorbol ester TPA strongly inhibits HIV_1_induced syncytia formation but enhances virus production: possible involvement of protein kinase C pathway. *Virology*, 1990, 176: 126~ 132
- 22 Chen Y H, Opitz S, B^Lck G, et al. Enhancement of HIV-1 gp41 binding to Raji cells by PWM, LPS, interferon γ and interleukin 6. *Mol Immunol*, 1993, 30: 1 583~ 1 586
- 23 Chen Y H, Speth C, Wu W, et al. Antigenic characterization of HIV_1 gp41 binding proteins. *Immunology Letter* (in press).
- 24 Chen Y H, Christiansen A, Dierich M P. HIV_1 gp41 selectively inhibits spontaneous cell proliferation of human cell lines and mitogen_ and recall antigen_induced lymphocyte proliferation. *Immunol Lett*, 1995, 48: 39~ 44
- 25 Denner J, Norlet S, Kurth R. The immunosuppressive peptide of HIV_1: functional domains and immune response in AIDS patients. *AIDS*, 1994, 8: 1 063~ 1 072
- 26 Cianciolo G J, Kipnis R J, Snyderman R. Similarity between p15E of murine and feline leukemia viruses and p21 of HTLV. *Nautre*, 1984, 311: 515
- 27 Ruegg C L, Strand M. Inhibition of protein kinase C and anti_CD3_induced Ca^{2+} influx in Jurkat T cells by a synthetic peptide

- with sequence identity to HIV_1 gp41. J Immunol, 1990, 144: 3 928~ 3 935
- 28 Ruegg C L, Strand M. A synthetic peptide with sequence identity to the membrane protein gp41 of HIV_1 inhibits distinct lymphocyte activation pathways dependent on protein kinase C and intracellular calcium influx. Cellular Immunol, 1991, 1137: 1~ 13
- 29 Chen Y H, B^Lck G, Vornhagen R, et al. HIV_1 gp41 like interferons enhances MHC class I and ICAM_1 expression on H9 and U937 cells. Intern Arch Allergy Immunol, 1994, 104: 227~ 231
- 30 Chen Y H, Xiao Y, Wu W, et al. The immunosuppressive peptide of HIV_1 gp4 like human type I interferous up_regulates MHC class I expression on H9 and U937 cells. Immunol Lett, 1997, 59: 93~ 97.
- 31 Jiang S, Lin K, Strick N. HIV_1 inhibition by a peptide. Nature, 1993, 365: 113
- 32 Shafferman A, Jahrling P B, Benveniste R E, et al. protection of macaques with a simian immunodeficiency virus envelope peptide vaccine based on conserved human immunodeficiency virus type 1 sequences. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 7 126~ 7 130
- 33 Lewis M G, Elkins W R, McCutchan F E, et al. Passively transferred antibodies directed against conserved regions of SIV envelope protect macaques from SIV infection. Vaccine, 1993, 11: 1 347~ 1 355

(1998-01-05 收稿, 1998-04-08 收修改稿)

植物转录因子与发育调控

吴乃虎 刁丰秋

(中国科学院发育生物学研究所, 北京 100080)

摘要 近 10 余年来, 已发现了大量的植物转录因子, 主要包括: 茎节转录因子家族, MADS_box 转录因子家族, 诱导花分生组织的转录因子以及控制植物细胞分化的转录因子. 这些转录因子不仅在植物的生长发育、形态建成以及代谢调控等方面起到重要的作用, 而且通过其异位表达还可以对植物形态的发生进行修饰. 因此, 植物转录因子有可能成为一种修饰植物性状的新的生物技术工具.

关键词 植物转录因子 发育调控 形态发生 性状修饰

自从 1987 年 Paz_Ares 等人^[1]首次报道了玉米转录因子的克隆以来, 迄今已发现的编码植物转录因子的基因已达数百种之多. 研究工作表明, 植物中大量的控制主要发育性状和代谢性状的基因, 其编码产物都是转录因子, 它们在发育调控中起到重要的作用. 当前, 有关转录因子的研究, 已成为植物发育调控领域的热门课题^[2, 3].

1 植物转录因子的功能作用

植物的发育是一种非常复杂的过程. 在这个过程中, DNA 与蛋白质起着主要的作用, 通过它们之间的互作, 实现了对基因表达的调控. 生物体的多样性是由蛋白质来实现的, 因此发育调控过程的复杂性, 也必定是与蛋白质的结构与功能的多样性密切相关. 现已知道, 基因表达的调控主要发生在转录水平上, 而在转录水平上与 DNA 发生相互作用的蛋白质分子中, 最具多样性的便是转录因子.

转录因子是一类蛋白质分子, 它们通常是通过同靶基因座位中的调节 DNA 基序(motif)

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb1998-43-20-2129>