

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2008.04.021

翻译起始的调控与肿瘤靶向基因治疗

Regulation of translation initiation and targeted gene therapy of tumor

方煜翔, 薛京伦, 田 聆* (复旦大学生命科学学院 遗传学研究所, 遗传工程国家重点实验室, 上海 200433)

[摘要] 真核细胞主要通过高度结构化的5'端非翻译区(5' untranslated region, 5'UTR)实现 mRNA 翻译起始的调控,其主要作用方式有3种,即通过本身高度复杂的二级结构在空间上阻碍翻译起始、通过其包含的上游 AUG 密码子(uAUG)和上游开放阅读框(uORF)元件来抑制翻译起始,以及通过其包含的内部核糖体进入位点(IRES)元件的“非帽依赖”(cap-independent)起始途径来抑制翻译起始。肿瘤细胞通常会过表达真核起始因子4E(eukaryotic initiation factor 4E, eIF4E)、eIF4A、eIF4G等,这些因子可以通过解开5'UTR的复杂结构特异性地解除5'UTR的翻译抑制作用。目前应用5'UTR进行肿瘤靶向性基因治疗的思路是把肿瘤杀伤基因置于5'UTR调控之下,利用肿瘤细胞过表达翻译起始因子来发挥5'UTR在肿瘤细胞中的翻译竞争优势,实现治疗基因在肿瘤细胞中的特异性表达,从而达到靶向杀伤肿瘤的目的。

[关键词] 翻译调控;5'UTR;肿瘤;基因治疗;靶向调控

[中图分类号] R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2008)04-0396-05

肿瘤基因治疗是目前肿瘤生物治疗技术的研究热点,进展很快,但也面临很多挑战,其中核心问题之一就是:如何在肿瘤细胞中特异地适度表达治疗用目的基因而不对正常组织细胞造成不良反应,这就要求对目的基因在其表达的不同阶段进行调控^[1]。

真核细胞基因表达的调控在各个阶段均存在,包括转录、转录后剪接、转录物稳定性的调节、翻译、翻译后修饰、蛋白产物稳定性的调节等。近十多年来,利用真核细胞本身翻译调控的特点,实现治疗基因在肿瘤细胞中特异表达,已逐渐发展成为一个重要的研究方向。而翻译水平上的调控涉及到翻译的起始、延长、终止等各阶段,但主要发生在起始阶段^[2]。本文将重点对5'端非翻译区(5'untranslated region, 5'UTR)在翻译起始过程中的调控作用,以及它们在肿瘤靶向基因治疗中的应用作一综述。

1 5'UTR在真核细胞中对翻译起始的调控作用

真核细胞翻译起始的调控主要是通过5'UTR对下游基因表达的抑制来实现特定时空条件下的表达^[2]。高表达的基因,如管家基因的5'UTR,通常较短且结构简单;而那些表达需要严格调控的基因,如生长因子以及与细胞增殖、分化、凋亡相关的各种调控蛋白,通常都具有长的5'UTR,且结构复杂^[3]。这些5'UTR通过多种途径严格调控下游基因表达,主要通过:(1)高度复杂的5'UTR二级结构的空间阻碍作用;(2)上游AUG密码子(upstream AUG, uAUG)和(或)上游开放阅读框(upstream open reading frame, uORF);(3)内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)的

“非帽依赖”(cap-independent)起始途径等进行调控。

1.1 5'UTR二级结构对翻译起始的调控作用

复杂的5'UTR中,GC的量占相当高的比例,且趋向于形成稳定的茎环结构^[2],其调控能力的大小取决于自身的稳定度、在5'UTR中的位置以及结合调控蛋白的能力。当茎环结构定位于5'帽子附近时,由于干扰了预起始复合物装配而妨碍了核糖体扫描的推进,导致翻译效能急剧下降。例如一个拥有-126 kJ/mol自由能的临近于5'帽子的发夹结构会封闭43S预起始复合物与mRNA连接的通路,当发夹结构离5'帽子稍远一些但自由能在-210 kJ/mol以下时同样能够抑制核糖体扫描的推进^[4]。这些茎环结构非常稳定,足以抵抗真核起始因子4F(eukaryotic initiation factor 4F, eIF4F)中解旋酶成分eIF4A的解螺旋作用^[5]。

这种调控方式在多种细胞因子的调控中均有发现,如转化生长因子 β 家族(transformation growth factor- β family, TGF- β)。TGF- β 的异构体中,包括TGF- β 1、TGF- β 2和TGF- β 3,其共同的特征是都具有一段长的高度结构化的5'UTR。在TGF- β 1的5'UTR中存在一个稳定的茎环结构,其抑制翻译的能力与去除这一茎环结构的突变体相比,较后者强22倍^[6]。

此外,近几年的研究又发现了一类新的二级结构:

[基金项目] 国家高技术研究发展(863)计划资助项目(No. 2077AA021010)。Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (No. 2007AA021010)

[作者简介] 方煜翔(1984-),男,浙江省慈溪市人,硕士生,主要从事肿瘤基因治疗的研究

* Corresponding author. E-mail: tianling@fudan.edu.cn

在富含 G 的序列中形成“G-四重配对”[guanine (G)-quadruplex]的非经典的四股(four-stranded)二级结构。在人类的原癌基因 n-Ras 中,其 5'帽子下游 14 nt 起有一段 254 nt 长的 5'UTR, 包含有 n-Ras 的 RNA“G-四重配对”(NRQ)基序:5'-GGGAGGGGCGGCUCUGG-3', 这一基序在人类、黑猩猩、小鼠等生物中有高度的保守性,若将这一 5'UTR 截短或进行点突变会使其翻译抑制功能下降至原功能的 1/4 ~ 1/3^[7]。

1.2 uAUG 和 uORF 元件对翻译起始的调控作用

在许多 mRNA 中,在上游 5'UTR 中还有其他的 AUG 和 ORF 存在,分别称为上游 AUG 密码子(uAUG)和上游开放阅读框(uORF)。当有多个 uAUG 和 uORF 存在时,参与翻译的核糖体会出现两种情况:(1)“漏扫描”(leaky scanning):uAUG 密码子并非被扫描起始复合物 100% 识别,部分核糖体会跳过这些 uAUG,并在起始 AUG 处起始翻译;(2)“再起始”(reinitiation):当上游包含数量不同的 uORF 时,核糖体可依次对其进行扫描之后再次起始主要 ORF 的翻译。已有研究表明:即使拥有 4 个 uORF,其主要 ORF 仍然有相当水平的起始,因为将近 10% 的核糖体有能力重复起始 5 次^[8]。

在漏扫描机制中,翻译的起始存在一个有效起始序列即 Kozak 序列(GCCA/GCCAUGG),这个序列中的 -3 和 +4 位(以 AUG 的 A 为 +1)在决定起始密码子的强弱时是最重要的。当 -3 和 +4 位中,有一处或者两处与 Kozak 序列吻合时,该密码子被认为是最佳的^[9],并且绝大多数核糖体会在该处起始翻译。生物信息学分析显示:95% 的主要 ORF 拥有这一最佳起始翻译序列,相比之下在 uAUG 中只占 63%^[10]。小鼠的 μ 阿片样受体(mu opioid receptor, MOR)便是通过漏扫描机制来抑制翻译的,其 5'UTR 有 3 个 uAUG: uAUG1 的起始能力最弱(CCAUGC), uAUG2(GCGAUGC)和 uAUG3(AGGAUGC)的起始能力较强,而 MOR 编码基因的 AUG 起始能力最强(ACCAUGC),这样 uAUG2、uAUG3 在一定程度上会同起始 AUG 竞争核糖体的结合,而在有些条件下会“漏扫描” uAUG 直接翻译 MOR^[11]。

在再起始机制中,核糖体的 40S 亚基具有连续扫描能力,这与 uORF 本身的大小、uORF 之间以及 uORF 与下游 AUG 密码子的距离有关。此外,uORF 终止密码子周围的序列也能调节终止效率并启动核糖体的分离,这样便削弱了再起始过程,进一步抑制下游基因的表达^[12]。如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)GCN4 基因的 mRNA,其 5'UTR 长 590 nt, 包含 4 个 uORF, 每个 uORF 都有独立的抑制翻译起始的作用,其中 uORF1 抑制下游翻译的能力最弱,而 uORF4 几乎能抑

制下游所有的翻译。核糖体主要是在 uORF1 处结合,随着 uORF1 的翻译,GCN4 的编码基因也能顺利的通过“再起始”得到翻译;而从 uORF4 处开始的翻译则抑制 GCN4 的“再起始”翻译;在 eIF2 存在的情况下,能增加在 uORF3 及 uORF4 处的“再起始”,从而抑制 GCN4 的翻译^[13]。

1.3 IRES 途径对翻译起始的调控作用

内部核糖体进入位点(IRES)是一段不依赖于 mRNA 的 5'端帽结构的能促进核糖体募集的 RNA 元件。虽然内部起始的过程和帽依赖的扫描有很大的不同,但所需的翻译起始因子却是与经典翻译途径相似的,如 eIF4A、eIF4B、eIF4F、eIF3 等。Pestova 等^[14]的研究显示,IRES 介导的起始并不需要 eIF4E,但是极其依赖 eIF4A 及 eIF4G。不过也有研究表明,过表达 eIF4E 也能上调 IRES 介导的翻译起始,这是因为:(1)eIF4E 能够改变 eIF4G 的构象,促进 eIF4G 与 eIF3 的装配及与 40S 亚基的相互作用;(2)有些 IRES 在空间结构上与 5'帽子的位置非常接近,eIF4E 仍然与 5'帽子结合并启动 eIFs 复合物的形成,从而把 40S 亚基从 5'帽子处引领到 IRES 上。通过对已知的 IRES 进行比对分析发现,IRES 包含一个共有的 Y 型的茎环结构,紧随其后的是 AUG 三联体密码子或者是另一个茎环结构再紧跟一个 AUG。同时,IRES 中还存在与 18S 核糖体 RNA 互补的区域,与潜在的反式作用因子相互作用的区域等,它们都能参与 IRES 功能的发挥^[15]。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)就是通过其 5'UTR 中的 2 个 IRES(IRES A 和 IRES B)对 VEGF 翻译进行“非帽依赖”途径的调控。IRES A 位于 mRNA 5'帽子起 745 ~ 1 083 nt, 其发挥调控效应必须有两个顺式元件,即 5'端 745 ~ 864 nt 之间的片段和 D4 区(858 ~ 907 nt),此外还有一个 100 kD 的蛋白与 D4 区结合。IRES B 位于 5'帽子起 91 ~ 483 nt 区域的 392 nt 片段内,其中 91 ~ 134 位的区域及 379 ~ 483 位的区域在发挥调控作用的过程中极为重要,这两个 IRES 通过与不同的因子相互作用来实现对 VEGF 表达的调控^[16]。

2 翻译起始因子的过表达与肿瘤细胞翻译起始调控的异常

绝大多数肿瘤细胞中的翻译起始因子如 eIF4E、eIF4G、eIF2 α 等往往呈现出过表达状态,使得 5'UTR 对翻译起始的抑制作用被削弱甚至解除,从而使原本需要严格调控翻译的 mRNA 有更多的机会得到翻译,如各种生长因子、细胞周期相关调控因子、原癌基因产物等,这些 mRNA 的翻译失控导致细胞恶性转化,造成肿瘤发生。

研究^[17]表明 eIF4E 与肿瘤的发生发展有关, 在膀胱癌、子宫颈癌、肝癌、乳腺癌、结肠癌等多种肿瘤细胞中均发现 eIF4E 的表达量显著增加。在这些肿瘤中, eIF4E 的表达量增加和功能增强会优先且不相称地增加某些 mRNA 的翻译, 这主要表现为: (1) 选择性地使某些潜在的生长调控蛋白诸如 cyclinD1 等的核质转运成为可能; (2) 增强核糖体在编码与恶性转化相关的生长因子和存活因子的 mRNA 上锚定, 如: c-myc、ODC、VEGF 等; (3) 增强与细胞转化、肿瘤发生、浸润、转移相关的 mRNA 的翻译; (4) 启动自分泌刺激回路的建立; (5) 造成癌症的高发生率, 尤其是淋巴瘤、肺部腺癌、肝癌和血管肉瘤。此外, 增加磷酸化的 eIF4E 的量同样会提高解除富含 GC 的 5'UTR 的二级结构的效率^[18]。Graff 等^[19]用与 eIF4E 特异结合的反义寡聚核苷酸(antisense oligonucleotides, ASOs)抑制 eIF4E 在肿瘤细胞中的表达, 从而抑制肿瘤细胞的生长、增殖和转移。McClusky 等^[20]发现在乳腺癌病人中高度过表达 eIF4E, 其癌症复发的风险会增加 2.4 倍, 且 I ~ III 期乳腺癌患者的复发率与 eIF4E 过表达的程度密切相关: 当 eIF4E 的量为正常值的 15 倍以上时, 其复发风险率为高于正常值 7 倍以下患者的 7.2 倍; 同时 I ~ III 期乳腺癌过表达 eIF4E 也与 VEGF 表达量的增加及肿瘤微血管密度(MVD)变化密切相关, 并因此导致癌症复发及癌症相关死亡^[21]。

Chung^[22]发现在肝细胞癌(HCC)中, eIF4A 的表达量上升了 1.2 ~ 1.7 倍。eIF4A 作为 eIF4F 复合物中的解旋酶成分, 可直接行使解开 5'UTR 二级结构功能并导致多种具有复杂二级结构的 5'UTR 的调控蛋白表达量的上升, 如 FGFR-1、FGFR-2 和 FGFR-4 等, 从而产生癌变表型。

eIF4G 作为 eIF4F 的核心支架蛋白, 其过表达会影响 eIF4F 的装配频率, 导致翻译调控异常。Bauer^[23]的研究显示, eIF4G 在肺鳞癌中过表达并且诱导患者的免疫应答, 因此可以作为一个诊断标记和潜在的治疗靶位。

eIF2 α 作为翻译起始过程中的关键元件之一的 [eIF2 · GTP · Met-tRNA] 三元复合物中 eIF2 的重要亚基, 其过表达会导致翻译调控异常。eIF2 α 的磷酸化会阻止该三元复合物的形成, 进而通过阻止 eIF2 的循环来封闭蛋白质的合成。Ramya^[24]用具有肿瘤杀伤作用的免疫抑制剂 DSG(15-deoxyspergualin) 来磷酸化 eIF2 α , 从而治疗过表达 eIF2 α 导致的肿瘤。

3 5'UTR 与肿瘤靶向基因治疗

如同任何其他治疗方法一样, 安全性和有效性是肿瘤基因治疗的两个基本原则, 如何使导入到体内的

治疗基因特异地在肿瘤细胞中发挥作用而对其他正常组织不产生毒性作用, 一直是肿瘤基因治疗所追求的目标。常见的方法就是对治疗用目的基因的表达进行调控, 使之特异地表达于肿瘤细胞, 而在正常组织中不表达。上文已述, 5'UTR 对于翻译起始的调控为肿瘤基因治疗提供了一种潜在的靶向性治疗策略: 利用肿瘤细胞过表达翻译起始因子这一特点来发挥高度结构化 5'UTR 的翻译竞争优势, 实现在肿瘤中的靶向性表达。

eIF4E 在多种肿瘤细胞中呈现过表达状态, 因而在肿瘤细胞中可解开 5'UTR 的二级结构而削弱其抑制翻译的能力。这样, 把肿瘤杀伤基因置于长的含有复杂二级结构的 5'UTR 调控之下, 就可以使其在肿瘤细胞中特异性表达; 这是因为在正常细胞中 eIF4E 维持在一定水平量上, 故而基本上不会翻译处于富含 GC 的高度结构化及含有调控元件(uAUG、uORF)的 5'UTR 下游的编码基因; 而在肿瘤细胞中, 由于过表达 eIF4E 解除了这种翻译抑制, 使得下游的编码基因得以翻译。

Defatta^[25]构建了一个 FGF-2 5'UTR 调控 HSV1TK 的表达质粒, 在多种过表达 eIF4E 的乳腺癌细胞中实现了 HSV1TK 的特异性表达。他们发现 FGF-2 5'UTR 调控的 HSV1TK 能特异地引发被转染细胞对 GCV(ganciclovir)的敏感作用, 进而杀伤肿瘤细胞。移植瘤实验也证实, FGF-2 5'UTR 调控的 HSV1TK 在活体水平上对乳腺癌具有杀伤作用, 而对正常组织及内脏器官无毒性^[26]。

Mathis^[27]构建了一个 FGF-2 5'UTR 调控 HSV1TK 的重组腺病毒基因治疗载体系统, 通过 Western blotting 分析、RT-PCR 分析及正电子断层扫描(PET)小鼠活体分析, 结果发现该系统在过表达 eIF4E 的乳腺癌中能够有效地实现特异性表达。

Stoff-Khalili^[28]则把 FGF-2 5'UTR 应用于调控腺病毒的 E1A 基因的翻译调控, 并置于 CXCR4 基因启动子之后, 构建了一个转录、翻译双调控 E1A 的条件复制型腺病毒。体内、体外研究均表明, 该条件复制型腺病毒在肿瘤细胞中能特异地自主复制, 而在正常组织中不复制, 显示了良好的溶瘤能力和更好的肿瘤选择性。

Byrnes^[29]把 FGF-2 5'UTR 调控 HSV1 TK 的腺病毒用于治疗腹膜癌扩散的模型大鼠, 他们先对网膜上的肿瘤进行外科手术切除, 然后注射该重组病毒, 同时用 GCV 进行诱导, 结果表明治疗的大鼠其存活中值(median survival)为 18 d, 高于仅做手术切除(11 d)和非治疗对照组(9 d)。另外, 他们还用该重组腺病毒感染过表达 eIF4E 的大鼠 MatB III 乳腺癌细胞, 通过 Western blotting、MTT 分析、细胞凋亡检测及原位分析等研究发

现, 5'UTR 调控的下 HSV1 TK 所表现出来的细胞毒性比无此调控机制的对照组小 100 倍。在用 GCV 处理后, 在感染了重组病毒的 MatB III 细胞中检测到了凋亡现象^[30]。

近年来的研究^[31]还发现, 不同的 5'UTR 及其所含元件在不同来源的组织、细胞中表现出很大的差异, 即特定的 5'UTR 只有在特定的组织或细胞中才能发挥最优大的调控效率。Cre'ancier 等^[31]用双顺反子表达系统在转基因小鼠中对人 FGF-2 5'UTR IRES 元件的活性进行研究, 发现在发育到 11 d 的胚胎及发育到 16 d 的胚胎的心脏和大脑中, FGF-2 的 IRES 有很高的活性。成体小鼠的大部分器官中虽不具活性, 但在大脑中却有极高的活性。另外, 在人成神经细胞瘤及 p53 缺陷的骨肉瘤细胞中也观察到了较高的 IRES 活性。这些现象显示, 较之种属特异性, 人 FGF-2 5'UTR 的 IRES 活性更依赖组织的特异性^[31]。

4 结 语

利用肿瘤细胞过表达翻译起始因子这一特点来发挥高度结构化 5'UTR 的翻译竞争优势, 是肿瘤基因治疗中一种新的靶向治疗策略, 并已在多项研究中得到证实和应用。

5'UTR 对翻译起始的调控有多种途径, 存在多种机制。但到目前为止, 应用于靶向基因治疗的 5'UTR 主要是高度结构化的茎环结构和经典“帽依赖”途径, 而 uAUG、uORF 以及 IRES 介导的“非帽依赖”途径的应用则几乎未见报道。相信随着研究的不断深入, 利用高度结构化 5'UTR 在翻译水平上对治疗用目的基因进行特异性调控, 有望在肿瘤的靶向基因治疗中发挥更重要的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Scholl SM, Michaelis S, McDermott R. Gene therapy applications to cancer treatment [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2003, 2003 (1): 35-47.
- [2] Pickering BM, Willis AE. The implications of structured 5' untranslated regions on translation and disease [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2005, 16 (1): 39-47.
- [3] Hughes TA. Regulation of gene expression by alternative untranslated regions [J]. *Trends Genet*, 2006, 22 (3): 119-122.
- [4] Gray NK, Hentze MW. Regulation of protein synthesis by mRNA structure [J]. *Mol Biol Rep*, 1994, 19 (3): 195-200.
- [5] Svitkin YV, Pause A, Haghighat A, *et al*. The requirement for eukaryotic initiation factor 4A (eIF4A) in translation is in direct proportion to the degree of mRNA 5' secondary structure [J]. *RNA*, 2001, 7 (3): 382-394.
- [6] Morrissey K, Evans RA, Wakefield L, *et al*. Translational regulation of renal proximal tubular epithelial cell transforming growth factor-beta1 generation by insulin [J]. *Am J Pathol*, 2001, 159 (5): 1905-1915.
- [7] Kumari S, Bugaut A, Huppert JL, *et al*. An RNA G-quadruplex in the 5'UTR of the NRAS proto-oncogene modulates translation [J]. *Nat Chem Biol*, 2007, 3 (4): 218-221.
- [8] Wang XQ, Rothnagel JA. 5'-Untranslated regions with multiple upstream AUG codons can support low-level translation via leaky scanning and reinitiation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32 (4): 1382-1391.
- [9] Kozak M. How do eukaryotic ribosomes select initiation regions in messenger RNA [J]? *Cell*, 1978, 15 (4): 1109-1123.
- [10] Suzuki Y, Ishihara D, Sasaki M, *et al*. Statistical analysis of the 5'-untranslated region of human mRNA using 'oligo-capped' cDNA libraries [J]. *Genomics*, 2000, 64 (3): 286-297.
- [11] Song KY, Hwang CK, Kim CS, *et al*. Translational repression of mouse mu opioid receptor expression via leaky scanning [J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35 (5): 1501-1513.
- [12] Neafsey DE, Galagan JE. Dual modes of natural selection on upstream open reading frames [J]. *Mol Biol Evol*, 2007, 24 (8): 1744-1751.
- [13] Gaba A, Wang Z, Krishnamoorthy T, *et al*. Physical evidence for distinct mechanisms of translational control by upstream open reading frames [J]. *EMBO J*, 2001, 20 (22): 6453-6463.
- [14] Pestova TV, Shatsky IN, Hellen CU. Functional dissection of eukaryotic initiation factor 4F: the 4A subunit and the central domain of the 4G subunit are sufficient to mediate internal entry of 43S preinitiation complexes [J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16 (12): 6870-6878.
- [15] Cobbold LC, Spriggs KA, Haines SJ, *et al*. Identification of internal ribosome entry segment (IRES)-trans-acting factors for the Myc family of IRESs [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28 (1): 40-49.
- [16] Bornes S, Prado-Lourenco L, Bastide A, *et al*. Translational induction of VEGF internal ribosome entry site elements during the early response to ischemic stress [J]. *Circ Res*, 2007, 100 (3): 305-308.
- [17] Graff JR, Konicek BW, Carter JH, *et al*. Targeting the eukaryotic translation initiation factor 4E for cancer therapy [J]. *Cancer Res*, 2008, 68 (3): 631-634.
- [18] Tuxworth WJ Jr, Saghir AN, Spruill LS, *et al*. Regulation of protein synthesis by eIF4E phosphorylation in adult cardiocytes: the consequence of secondary structure in the 5' untranslated region of mRNA [J]. *Biochem J*, 2004, 378 (Pt 1): 73-82.
- [19] Graff JR, Konicek BW, Vincent TM, *et al*. Therapeutic suppression of translation initiation factor eIF4E expression reduces tumor growth without toxicity [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117 (9): 2638-2648.
- [20] McClusky DR, Chu Q, Yu H, *et al*. A prospective trial on initiation factor 4E (eIF4E) overexpression and cancer recurrence in node-positive breast cancer [J]. *Ann Surg*, 2005, 242 (4): 584-592.
- [21] Byrnes K, White S, Chu Q, *et al*. High eIF4E, VEGF, and microvessel density in stage I to III breast cancer [J]. *Ann Surg*, 2006, 243 (5): 684-692.

- [22] Chung EJ, Sung YK, Farooq M, *et al.* Gene expression profile analysis in human hepatocellular carcinoma by cDNA microarray [J]. *Mol Cells*, 2002, 14 (3): 382-387.
- [23] Bauer C, Diesinger I, Brass N, *et al.* Translation initiation factor eIF-4G is immunogenic, overexpressed, and amplified in patients with squamous cell lung carcinoma [J]. *Cancer*, 2001, 92(4): 822-829.
- [24] Ramya TN, Surolia N, Surolia A. 15-Deoxyspergualin inhibits eukaryotic protein synthesis through eIF2 alpha phosphorylation [J]. *Biochem J*, 2007, 401 (2): 411-420.
- [25] DeFatta BJ, Li Y, De Benedetti A. Selective killing of cancer cells based on translational control of a suicide gene [J]. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9 (7): 573-578.
- [26] DeFatta RJ, Chervenak RP, De Benedetti A. A cancer gene therapy approach through translational control of a suicide gene [J]. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9 (6): 505-512.
- [27] Mathis JM, Williams BJ, Sibley DA, *et al.* Cancer-specific targeting of an adenovirus delivered herpes simplex virus thymidine kinase suicide gene using translational control [J]. *J Gene Med*, 2006, 8 (9): 1105-1120.
- [28] Stoff-Khalili MA, Rivera AA, Nedeljkovic-Kurepa A, *et al.* Cancer-specific targeting of a conditionally replicative adenovirus using mRNA translational control [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 108 (1): 43-55.
- [29] Byrnes K, Li BD, Holm N, *et al.* A novel suicide gene therapy targeting the overexpression of eukaryotic initiation factor 4E improves survival in a rat peritoneal carcinomatosis model [J]. *Surgery*, 2007, 142 (2): 270-275.
- [30] Chu QD, Sun L, Li J, *et al.* Rat adenocarcinoma cell line infected with an adenovirus carrying a novel herpes-simplex virus-thymidine kinase suicide gene construct dies by apoptosis upon treatment with ganciclovir [J]. *J Surg Res*, 2007, 143 (1): 189-194.
- [31] Cre'ancier L, Morello D, Mercier P, *et al.* Fibroblast growth factor 2 internal ribosome entry site (IRES) activity *ex vivo* and in transgenic mice reveals a stringent tissue-specific regulation [J]. *J Cell Biol*, 2000, 150 (1): 275-281.

[收稿日期] 2008 - 06 - 03

[修回日期] 2008 - 07 - 20

[本文编辑] 韩 丹

· 科技动态 ·

嗜碱性粒细胞增强记忆性免疫应答

近年来,人们对嗜碱性粒细胞免疫功能的认识逐渐加深。来自德国雷根斯堡大学医院的 Mack 等学者在 2008 年 7 月的 *Nature Immunology* 杂志上发表的文章表明,再次免疫应答过程中的嗜碱性粒细胞能通过表面 IgE 结合抗原并通过分泌 IL-4 和 IL-6 等细胞因子增强记忆性 B 细胞免疫应答。

嗜碱性粒细胞是一种数量很少的粒细胞,在人和小鼠的外周血白细胞中的比例为 1% 以下。以往对该细胞的研究主要集中在致敏原和某些寄生虫感染引发的过敏反应,对其免疫调节功能了解很少。现有研究表明,嗜碱性粒细胞可通过表面高亲和力的 IgE 受体 FcεR1 结合初次应答中产生的抗原特异性 IgE,当相同抗原再次进入机体后,结合了 IgE 的嗜碱性粒细胞就能通过表面结合的 IgE 迅速结合抗原并活化,产生大量 IL-4 和 IL-6。上述两种细胞因子具有促进体液免疫应答的作用。因此,作者推测嗜碱性粒细胞在再次免疫应答中的活化可能促进记忆性 B 细胞体液免疫应答的作用。

实验首先采用了别藻蓝蛋白(APC)作为抗原免疫小鼠,数周后用 APC 进行再刺激,发现免疫后的小鼠体内长期存在能够通过表面 IgE 结合 APC 的嗜碱性粒细胞。再次应答中该群嗜碱性粒细胞结合 APC 抗原后能够迅速活化并成为脾脏和骨髓细胞中 IL-4 和 IL-6 的主要分泌细胞,嗜碱性粒细胞的这一活化过程依赖 Fc 受体 γ 链。再次应答前采用抗体腹腔注射清除体内嗜碱性粒细胞后,再次应答所产生的抗原特异性 IgG1 和 IgG2a 分别减少 50% 和 60% ~ 80%,同时抗原特异性 B 细胞和浆细胞数也显著下降。如果将经过免疫的小鼠脾脏或骨髓细胞去除浆细胞后过继到未经免疫的小鼠体内,该受体小鼠在 APC 抗原刺激下可产生一定水平的特异性抗体;如果将脾脏或骨髓细胞中的嗜碱性粒细胞清除后再进行过继,则受体小鼠在 APC 刺激下产生的特异性抗体显著减少。作者通过体外实验发现,在活化的 CD4T 细胞存在下,活化的嗜碱性粒细胞能够促进 B 细胞增殖,并分泌 IgG 和 IgM 抗体。此外,嗜碱性粒细胞通过分泌 IL-6 促进活化的 CD4T 细胞分泌 IL-4、IL-5、IL-10、IL-13,促进其表达 Gata3,下调 IFN-γ 和 IL-2 表达,成为促进体液免疫应答的 Th2。

该研究表明,嗜碱性粒细胞除了在某些过敏反应中发挥重要作用外,还可能具有很多以前没有认识到的功能,有待进一步的探索。

[姚雨石 摘译,郭振红 审阅. Denzel A, Maus UA, Rodriguez Gomez M, *et al.* *Nat Immunol*, 2008, 9(7): 733-742]