

【专题报告】

通信作者:王 辉(1965-),男,河南汝南人,博士,教授,研究方向:
抗感染免疫;E-mail:wanghui@xxmu.edu.cn。

点能有效地感知细胞内营养和能量是否缺乏,当细胞内营养物质缺乏,mTOR的功能会受到抑制,从而启动自噬途径^[10]。mTOR是一个蛋白复合体,由mTORC1和mTORC2组成,其中mTORC1主要参与脂质、蛋白合成和细胞生长的调节,而mTORC2调节细胞骨架组织的生成^[11]。在氨基酸缺乏、低氧和能量产生减少的情况下,细胞内单磷酸腺苷/三磷酸腺苷的比率升高,从而激活腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)通过使Ser317和Ser777磷酸化,激活ULK1,启动自噬^[12]。另外低氧和饥饿可以导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)的增加,进一步使AMPK增加,最终抑制mTORC1的活性,诱导自噬的产生。此外,Atg、LC3、Beclin-1蛋白的合成和激活也可以刺激自噬的产生^[13]。mTORC2通过与mTORC1相互作用也参与自噬的调节,但其具体调节机制目前尚不太清楚。磷脂酰肌醇-3-羟激酶-蛋白激酶B-mTOR信号通路是调节自噬的又一条关键调节途径^[14],磷脂酰肌醇-3-羟激酶可以由胰岛素生长因子等因素激活,蛋白和激素可以刺激细胞生长、增殖和分化,随后激活蛋白激酶B,激活的蛋白激酶B可以抑制Tsc2,最终导致mTORC1激活,从而抑制自噬^[15]。另外,诱导凋亡的细胞内组分也可以参与自噬的调节;同样,自噬的激活也可以抑制参与凋亡途径的成分活化,例如,自噬活化后,caspase-8受到抑制。研究表明,自噬关键蛋白p62可以和caspase-8、肿瘤坏死因子受体作用因子(TNF receptor associated factors, TRAFs)、细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)相互作用;Beclin-1可以和Bcl-2、caspase-3相互作用^[16]。自噬途径的缺失与一系列疾病的发生、发展相关,如神经变性疾病、心脏病、感染性疾病、自身免疫性疾病和肿瘤等。自噬的研究目前聚焦于线粒体自噬、自噬复合体如何启动以及自噬体膜的来源。

2 Tax蛋白与自噬

HTLV-1可以引起淋巴组织的恶性增生,也可以引起慢性炎症性疾病,包括HTLV-1相关的脊髓病、热带痉挛性下肢瘫痪等。该病毒在人群中主要通过性传播和母婴传播,在体外主要通过未感染细胞与感染HTLV-1病毒的细胞接触传播,可以感染人类CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、B细胞、巨噬细胞和成纤维细胞。但是研究发现,HTLV-1主要感染CD4⁺T细胞^[17]。HTLV-1病毒基因组pX区域编码的Tax蛋白在HTLV-1病毒复制和T细胞的恶性转化过程中发挥重要的促进作用^[10]。

HTLV-1的病毒蛋白Tax也是一种重要的反式激活因子,但是其单独结合DNA的能力极弱,通常与活化转录因子(activating transcription factor, ATF)/CREB相互作用,结合HTLV-1 5'末端长重复序列,激活病毒转录复制。另外,Tax可以与多种细胞蛋白结合,调节其稳定性和活性,并调节100多种细胞基因的表达^[18]。Tax通过经典和非经典途径引起NF- κ B的持续活化不仅是T细胞恶性转化所必需的,同时也使细胞对凋亡的诱导因子发生抵抗^[19]。Tang等^[20]研究发现,HTLV-1感染之后,病毒蛋白Tax抑制自噬体和溶酶体的融合,自噬体聚积促进自噬发生。通过引入Tax突变体M22、M47和V89A,发现Tax是通过激活NF- κ B信号通路,诱导自噬的发生。Wang等^[21]研究发现,I κ B激酶(inhibitor of NF- κ B kinase, IKK)在Tax诱导的自噬过程中发挥重要作用,在U251细胞中,Tax蛋白的表达使IKK α / β 和AMPK α 磷酸化抑制mTOR的活化,表明IKK-AMPK α -mTOR信号通路参与Tax诱导的自噬发生,自噬促进HTLV-1转化的T细胞的存活和淋巴瘤形成。也有报道发现I κ B激酶在Tax诱导的自噬过程中发挥着更重要的作用,HTLV-1的Tax蛋白可以与自噬分子复合物(包括Beclin1, PI3KC3和Bif1)相互作用,以IKK β 依赖的信号通路将这些自噬关键分子转移到脂质筏进而诱导自噬的发生,基因敲除Beclin-1之后,HTLV-1转化的T细胞自噬受到抑制,而且细胞的活力降低^[19]。是I κ B家族的一员,本实验室的研究也表明,Tax可以通过促进Bcl-3的高表达,抑制NF- κ B的活性,诱导HTLV-1感染的MT2细胞发生自噬^[20],这表明Tax通过多种信号通路参与细胞自噬的调节,细胞自噬在促进HTLV-1转化的T细胞存活、增殖以及HTLV-1复制中起着关键作用,这也表明抑制自噬可能是治疗HTLV-1感染的有效途径。

3 Tax蛋白与HMGB1

HMGB1是存在于所有真核细胞中的一种核蛋白,当细胞受到外界信号刺激时,HMGB1可以释放到细胞外,参与感染和自身免疫等急、慢性炎症反应。在多种癌症中出现HMGB1蛋白水平的高表达,例如:结肠癌、乳腺癌、肺癌、胃癌、宫颈癌、前列腺癌、肝细胞癌及白血病^[22]。在HTLV-1病毒感染时,通过比较HTLV-1感染T细胞与HTLV-1未感染T细胞的HMGB1蛋白表达水平及mRNA表达水平发现,前者HMGB1蛋白及mRNA表达水平均明显高于后者,HTLV-1病毒促进其感染T细胞中HMGB1蛋白及mRNA表达;用氯化铬(CdCl₂)刺激

JPX-9 细胞(携带 Tax 基因的 JK 细胞)可快速诱导 Tax 的表达,通过酶联免疫吸附试验检测 HMGB1 水平发现,在 CdCl₂ 刺激 JPX-9 细胞 24 h 后, HMGB1 释放明显增加^[23]。这表明 Tax 蛋白促进 HMGB1 在 T 淋巴细胞中的表达及释放。研究进一步表明 Tax 蛋白富集在 -1 163 ~ -975 HMGB1 的基因区段促进 HMGB1 的转录^[24]。Tax 通过转录因子 CCAAT/增强子结合蛋白(CCAAT/enhancer binding proteins, C/EBP)影响 HTLV-1 长重复末端的转录, Tax 和转录因子 C/EBP 相互作用也可以上调 HMGB1 基因的表达^[25]。有文献报道, HMGB1 的特异性中和抗体可以明显抑制 HTLV-1 编码的结构基因转录,病毒感染后细胞自分泌的 HMGB1 可以促进病毒的复制^[4],但 Tax 蛋白与 HMGB1 协调作用机制还有待进一步研究。

4 HMGB1 与自噬

在营养缺失、氧化应激、DNA 损伤时,自噬可以调节肿瘤细胞的存活,而 HMGB1 则激活肿瘤细胞自噬^[26]。研究表明, HMGB1 是首个被发现的可以与 Beclin-1 结合的蛋白, Beclin-1-PI3KC 复合物是调节自噬的一条关键信号通路, Beclin-1 与多种辅酶因子相互作用对于自噬启动发挥关键作用,自噬刺激 HMGB1 从细胞核转移到细胞质,与 Beclin-1 结合,导致 Beclin-1 与 Bcl-2 解离,最后诱导自噬的发生^[26-27]。有报道表明,在小鼠心肌细胞缺氧和氧化损伤时, HMGB1 可以调节 Beclin-1 和 LC3 II 水平^[28];在 Schwann 细胞中, HMGB1 通过激活 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 和自噬经典途径诱导细胞自噬,敲除 Schwann 细胞 TLR4 和 Beclin-1 表达之后, HMGB1 失去诱导自噬的功能^[29];在饥饿条件下, Lewis 细胞中 HMGB1 表达升高,从细胞核转移到细胞质与其糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation endproducts, RAGE)结合,通过 RAGE-HMGB1-ERK1/2 途径促进细胞自噬的发生,敲除 HMGB1 表达之后 Lewis 细胞凋亡增加,自噬途径受到抑制^[30]。在 HTLV-1 感染 T 细胞中, Tax 蛋白促进 HMGB1 的表达及转录,那么 HMGB1 对 HTLV-1 感染的 T 细胞自噬是否有影响?如果有影响那么其分子机制是什么还有待进一步研究。

5 小结

自噬现在被认为是控制病原体感染的重要细胞内机制,维持细胞稳态,参与病原体的清除,一些参与自噬调节的小分子物质逐渐被人们发现。

HMGB1 作为一种促炎因子在 HTLV-1 感染的 T 细胞中是如何扮演众多角色仍是一个疑惑,但是可以肯定的是 HMGB1 参与了 HTLV-1 病毒的复制和转移。HMGB1 和自噬与疾病的研究已成为生命医学中十分重要的领域之一。Tax 作为 HTLV-1 的关键调节蛋白,在病毒的复制及 ATL 的发病过程中起着至关重要的作用。因此,进一步解释 Tax、HMGB1 的功能以及 HTLV-1 感染 T 细胞自噬的发生机制,对于改善 HTLV-1 病毒感染及 ATL 治疗措施具有十分重要的理论价值和临床意义。

参考文献:

- [1] Kang R, Zhang Q, Zeh H J, et al. HMGB1 in cancer: good, bad, or both[J]. *Clin Cancer*, 2013, 19(15): 4046-4057.
- [2] Guerrero-Plata A. Dendritic cells in human Pneumovirus and Metapneumovirus infections[J]. *Viruses*, 2013, 5(6): 1553-1570.
- [3] Mukai R, Ohshima T. HTLV-1 HBZ positively regulates the mTOR signaling pathway via inhibition of GADD34 activity in the cytoplasm[J]. *Oncogene*, 2014, 33(18): 2317-2328.
- [4] 王霞, 牛志国, 高彩, 等. 胞外高迁移率组蛋白 1 对 HTLV-1 感染的 T 细胞中病毒复制的影响[J]. *中华微生物学和免疫学*, 2013, 32(12): 1039-1042.
- [5] Romao S, Gasser N, Becker A C, et al. Autophagy proteins stabilize pathogen-containing phagosomes for prolonged MHC II antigen processing[J]. *J Cell Biol*, 2013, 203(5): 757-766.
- [6] Sun Y, Yu S, Ding N, et al. Autophagy benefits the replication of Newcastle disease virus in chicken cells and tissues[J]. *J Virol*, 2014, 88(1): 525-537.
- [7] Cortes C J, Qin K, Norstrom E M, et al. Early delivery of misfolded PrP from ER to lysosomes by autophagy[J]. *Int J Cell Biol*, 2013, 2013: 560421.
- [8] Kanninen T T, de Andrade Ramos B R, Witkin S S. The role of autophagy in reproduction from gametogenesis to parturition[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2013, 171(1): 3-8.
- [9] Pei J, Zhao M, Ye Z, et al. Autophagy enhances the replication of classical swine fever virus *in vitro*[J]. *Autophagy*, 2014, 10(1): 93-110.
- [10] Roy B, Pattanaik A K, Das J, et al. Role of PI3K/Akt/mTOR and MEK/ERK pathway in Concanavalin A induced autophagy in HeLa cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 210: 96-102.
- [11] Cheng H, Ren T, Sun S C. New insight into the oncogenic mechanism of the retroviral oncoprotein Tax[J]. *Protein Cell*, 2012, 3(8): 581-589.
- [12] Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(2): 132-141.
- [13] Johansen T, Lamark T. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins[J]. *Autophagy*, 2011, 7(3): 279-296.
- [14] Shelly S, Lukinova N, Bambina S, et al. Autophagy is an essential component of Drosophila immunity against vesicular stomatitis virus[J]. *Immunity*, 2009, 30(4): 588-598.
- [15] Zoncu R, Efeyan A, Sabatini D M. mTOR: from growth signal inte-

gration to cancer, diabetes and ageing[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12(1):21-35.

[16] Ghavami S, Shojaei S, Yeganeh B, et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders[J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 112:24-49.

[17] Wang W, Zhou J, Shi J, et al. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax-deregulated autophagy pathway and c-FLIP expression contribute to resistance against death receptor-mediated apoptosis[J]. *J Virol*, 2014, 88(5):2786-2798.

[18] Espert L, Biard-Piechaczyk M. Autophagy in HIV-induced T cell death[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2009, 335:307-321.

[19] Ren T, Takahashi Y, Liu X, et al. HTLV-1 Tax deregulates autophagy by recruiting autophagic molecules into lipid raft microdomains[J]. *Oncogene*, 2015, 34(3):334-345.

[20] Tang S W, Chen C Y, Klase Z, et al. The cellular autophagy pathway modulates human T-cell leukemia virus type 1 replication[J]. *J Virol*, 2013, 87(3):1699-1707.

[21] Wang W, Zhou J, Shi J, et al. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax-deregulated autophagy pathway and c-FLIP expression contribute to resistance against death receptor-mediated apoptosis[J]. *J Virol*, 2014, 88(5):2786-2798.

[22] Smolarczyk R, Cichoń T, Jarosz M, et al. HMGB1-its role in tumor progression and anticancer therapy[J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2012, 66:913-920.

[23] Kimura R, Mori N. Abundant expression of HMGB1 in human T-cell lymphotropic virus type I-infected T-cell lines and high plasma levels of HMGB1 in patients with adult T-cell leukemia[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(4):1239-1242.

[24] 张晨光,牛志国,王辉,等. HTLV-1 Tax 蛋白对 T 细胞中 HMGB1 调控的影响[J]. *中华微生物学和免疫学*, 2013, 33(7):501-506.

[25] Zhang C G, Wang H, Niu Z G, et al. Tax is involved in up-regulation of HMGB1 expression levels by interaction with C/EBP[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(1):359-365.

[26] Zhang Q Y, Wu L Q, Zhang T, et al. Autophagy-mediated HMGB1 release promotes gastric cancer cell survival via RAGE activation of extracellular signal-regulated kinases 1/2[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(4):1630-1638.

[27] Song J X, Lu J H, Liu L F, et al. HMGB1 is involved in autophagy inhibition caused by SNCA/alpha-synuclein overexpression; a process modulated by the natural autophagy inducer corynoxine B[J]. *Autophagy*, 2014, 10(1):144-154.

[28] Xu W, Jiang H, Hu X, et al. Effects of high-mobility group box 1 on the expression of Beclin-1 and LC3 proteins following hypoxia and reoxygenation injury in rat cardiomyocytes[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(12):5353-5357.

[29] Liu Y, Song L. HMGB1-induced autophagy in Schwann cells promotes neuroblastoma proliferation[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(1):504-510.

[30] Su Z, Wang T, Zhu H, et al. HMGB1 modulates Lewis cell autophagy and promotes cell survival via RAGE-HMGB1-Erk1/2 positive feedback during nutrient depletion[J]. *Immunobiology*, 2015, 220(5):539-544.

(本文编辑:杨 博)

(上接第 486 页)

[7] Dassouki Z, Sahin U, El Hajj H, et al. ATL response to arsenic/interferon therapy is triggered by sumo/pml/rnf4-dependent tax degradation[J]. *Blood*, 2015, 125(3):474-482.

[8] 夏云,石瑛,高琰,等. Tax 基因表达细胞系的建立及其生物学作用的初步研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2008, 16(6):1425-1429.

[9] Wang J, Niu Z, Shi Y, et al. Bcl-3, induced by tax and HTLV-1, inhibits NF-κB activation and promotes autophagy[J]. *Cell Signal*, 2013, 25(12):2797-2804.

[10] Wang J, Li J, Huang Y, et al. Bcl-3 suppresses tax-induced NF-κB activation through p65 nuclear translocation blockage in HTLV-1-infected cells[J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(1):269-276.

[11] Gao C, Wang X, Chen L, et al. Knockdown of bcl-3 inhibits cell growth and induces DNA damage in HTLV-1-infected cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(1):405-408.

[12] 李俊英,张文,高琰,等. 成人 T 细胞白血病细胞中 bcl-3 过表达达对 NF-κB 通路的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(8):669-671.

[13] 吕壮伟,牛志国,陈丽媛,等. HTLV-1 病毒 Tax 蛋白对 T 淋巴细胞 DcR3 基因表达的影响[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2011, 31(9):803-807.

[14] Jabbour M, Tuncer H, Castillo J, et al. Hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma; a review[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2011, 46(8):1039-1044.

[15] Qayyum S, Choi J K. Adult T-cell leukemia/lymphoma[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2014, 138(2):282-286.

[16] Bazarbachi A, Suarez F, Fields P, et al. How I treat adult T-cell leukemia/lymphoma[J]. *Blood*, 2011, 118(7):1736-1745.

[17] Tanosaki R, Tobinai K. Adult T-cell leukemia-lymphoma; current treatment strategies and novel immunological approaches[J]. *Expert Rev Hematol*, 2010, 3(6):743-753.

(本文编辑:王 燕)