

- 6 Tsubaki M, Takeda T, Ogawa N, *et al.* Overexpression of survivin via activation of erk1/2, akt, and nf- κ b plays a central role in vincristine resistance in multiple myeloma cells [J]. *Leukemia Res*, 2015, 39(4):445-452
- 7 Cheetham SW, Gruhl F, Mattick JS, *et al.* Long noncoding rnas and the genetics of cancer [J]. *Bri J Cancer*, 2013, 108(12):2419-2425
- 8 Li X, Wu Z, Fu X, *et al.* Long noncoding rnas: Insights from biological features and functions to diseases [J]. *Med Res Rev*, 2013, 33(3):517-553
- 9 Yang Y, Li H, Hou S, *et al.* The noncoding rna expression profile and the effect of lncrna ak126698 on cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer cell [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e65309
- 10 Shi SJ, Wang LJ, Yu B, *et al.* Lncrna-atb promotes trastuzumab resistance and invasion-metastasis cascade in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(13):11652-11663
- 11 Wang Y, Zhang D, Wu K, *et al.* Long noncoding rna mrul promotes abcb1 expression in multidrug-resistant gastric cancer cell sublines [J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(17):3182-3193
- 12 Hang Q, Sun R, Jiang C, *et al.* Notch 1 promotes cisplatin-resistant gastric cancer formation by upregulating lncrna ak022798 expression [J]. *Anti-cancer Drugs*, 2015, 26(6):632-640
- 13 Wu ZH, Wang XL, Tang HM, *et al.* Long non-coding rna hotair is a powerful predictor of metastasis and poor prognosis and is associated with epithelial-mesenchymal transition in colon cancer [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(1):395-402
- 14 Liu Z, Sun M, Lu K, *et al.* The long noncoding rna hotair contributes to cisplatin resistance of human lung adenocarcinoma cells via downregulation of p21(waf1/cip1) expression [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):e77293
- 15 Li J, Yang S, Su N, *et al.* Erratum to: Overexpression of long non-coding rna hotair leads to chemoresistance by activating the wnt/ β -catenin pathway in human ovarian cancer [J]. *Tumo Biol*, 2015, 36(11):9093-9094
- 16 Xue X, Yang YA, Zhang A, *et al.* Lncrna hotair enhances er signaling and confers tamoxifen resistance in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2016, 35(21):2746-2755
- 17 Naganuma T, Hirose T. Paraspeckle formation during the biogenesis of long non-coding rnas [J]. *RNA Biology*, 2013, 10(3):456-461
- 18 Gao C, Zhang J, Wang Q, *et al.* Overexpression of lncrna neat1 mitigates multidrug resistance by inhibiting abcg2 in leukemia [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(2):1051-1057
- 19 Jiang P, Wu X, Wang X, *et al.* Neat1 upregulates egcg-induced ctrl to enhance cisplatin sensitivity in lung cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(28):43337-43351
- 20 Yu X, Li Z. Long non-coding rna growth arrest-specific transcript 5 in tumor biology [J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(4):1953-1958
- 21 Dong S, Qu X, Li W, *et al.* The long non-coding rna, gas5, enhances gefitinib-induced cell death in innate egfr tyrosine kinase inhibitor-resistant lung adenocarcinoma cells with wide-type egfr via downregulation of the igf-1r expression [J]. *J Hematol oncol*, 2015, 8:43
- 22 Li W, Zhai L, Wang H, *et al.* Downregulation of lncrna gas5 causes trastuzumab resistance in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19):27778-27786
- 23 Zhang N, Yang GQ, Shao XM, *et al.* Gas5 modulated autophagy is a mechanism modulating cisplatin sensitivity in nscic cells [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2016, 20(11):2271-2277
- 24 Bian Z, Jin L, Zhang J, *et al.* Lncrna-uca1 enhances cell proliferation and 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer by inhibiting mir-204-5p [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:23892

(收稿日期:2016-10-09)

(修回日期:2016-10-17)

极性复合体与紧密连接

崔巍 刘沛

摘要 紧密连接功能的损伤参与多种疾病的发生如肿瘤侵袭转移、炎症性肠病、感染性休克等,明确紧密连接的调控因素具有重要意义。既往研究多种因素参与紧密连接的调控,包括 Ca^{2+} , 细胞因子, G 蛋白和小 GTP 结合蛋白等。近年来发现极性复合体与紧密连接的形成和功能密切相关,本文就极性复合体的组成、功能及其相互作用做一综述。

关键词 PAR 复合体 CRB 复合体 紧密连接

中图分类号 R4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.06.003

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(201202248)

作者单位:110001 沈阳,中国医科大学附属第一医院传染科

通讯作者:刘沛,电子信箱:weicuisy@163.com

细胞间或细胞与细胞基质之间存在着细胞连接,根据行使功能的不同可分为 3 种:封闭连接、锚定连接和通讯连接。紧密连接(tight junction, TJ)又称封闭小带,是封闭连接的主要形式,存在于脊椎动物的上皮细胞。主要由跨膜蛋白 claudins、occluding、连接黏附分子(junctional adhesion molecule, JAM)和胞质附着蛋白 ZO(s) (zonula occludens proteins, ZO(s))组成,具有封闭(阻止可溶性物质的扩散)、隔离(将上层表皮细胞的游离端与基底面细胞膜上的膜蛋白相互隔离)和支持功能,并维持上皮细胞极性。紧密连接功能的损伤参与多种疾病的发生如肿瘤侵袭转移、炎症性肠病、感染性休克等^[1-3]。但其损伤的确切机制尚不十分清楚。

既往研究提示 TJ 的调控与多种因素相关:包括 Ca^{2+} 、细胞因子、G 蛋白和小 GTP 结合蛋白等^[4-7]。过去 15 年里 TJ 调控领域的一项重要进展是果蝇体内 3 个极性复合体的发现^[8]: azooka/Dm - Par6/DaPKC、Crumbs/Stardust/Discs Lost 以及 Scribble/Discs Large/Lethal Giant Larvae, 它们在脊椎动物中的同源异构体 PAR3/PAR6/aPKC (atypical protein kinase C, aPKC)、CRUMBS/PALS1 (protein associated with Lin seven 1, PALS1)/PATJ (Pals1 - associated tight junction protein, PATJ) 和 SCRIBBLE /DLG/LGL 具有高度保守性,与 TJ 形成和功能的维持密切相关。目前关于前两个复合体研究较为深入,本文就这两个极性复合体的组成、功能及其相互作用做一综述。

一、哺乳动物 PAR 复合体

PAR 复合体最初在线虫,其后在果蝇中发现。包含 2 个脚手架蛋白 PAR6、PAR3 以及非典型蛋白激酶 C (atypical protein kinase C, aPKC), 命名为 PAR6/PAR3/aPKC 复合体。

1. PAR6: 哺乳动物中根据编码基因的不同,已经鉴定出 PAR6A/C、PAR6B 以及 PAR6D/G 3 种 PAR6 蛋白。分子质量均为 37kDa, 包含 3 种保守结构域与复合体中的其他成分相连: ① PB1 (Phox/Bem 1, PB1) 结构域: 与其他含 PB1 结构域蛋白(如 aPKC)相连; ② CRIB (Cdc42/Rac interaction binding, CRIB): 与 Cdc42 或活性状态的 Rac GTP 酶结合; ③ PDZ 结构域: 与紧密连接蛋白(如 JAM、ZO(s)、occludin)结合。

不同亚型的 PAR6 蛋白在细胞内的定位不同: PAR6A 在紧密连接和细胞骨架上均可发现,而 PAR6B 仅定位在细胞骨架上,PAR6G 在 TJ 形成时,

与紧密连接蛋白共同定位在细胞顶端^[9]。PAR6 蛋白亚型定位的差异,提示其可能存在不同的功能。PAR6 蛋白不含有酶的结构,因此其功能主要是将多种蛋白聚集在特定的区域(如 TJ、轴突的生长端等)。PAR6 的最重要作用是为 aPKC 和其下游因子 PAR3 以及 SCRIBBLE /DLG/LGL 复合体中的 LGL 提供了相互接触的平台^[10]。有研究证实,过表达 PAR6B 蛋白阻碍 TJ 的形成,但不影响黏附连接的形成。并且在已经形成 TJ 的细胞,PAR6B 蛋白过表达可以导致 TJ 破坏^[11]。

2. PAR3: 哺乳动物中已经鉴别出 PAR3A、PAR3B 2 个 PAR3 基因,由于 PAR3B 与 PAR6 及 aPKC 几乎不发生相互作用,所以现在的研究主要集中在 PAR3A。PAR3A 编码 3 种蛋白,分子质量分别为 180kDa、150kDa 和 100kDa。所有的 PAR3 蛋白都含有 3 个 PDZ 结构域,第 1 个与 JAM 的 COOH 端相结合,后两个与 PAR6 以及 aPKC 结合。

在 TJ 形成过程中,PAR3 的作用相当于锚定蛋白。当 2 个细胞相互接触时,JAM 首先定位在细胞间接触点上,然后 PAR3 通过其第 1 个 PDZ 结构域与 JAM 相连,共同定位在细胞顶端。一旦 PAR3 占据了位点,将发挥脚手架蛋白的作用,招募其他蛋白如 PAR6 或 aPKC 共同定位^[11,12]。多项研究发现,PAR3A 蛋白过表达或缺失都将导致 TJ 破坏,同时伴随 PAR6、aPKC 和 TJ 蛋白的错误定位^[11,13]。PAR3 蛋白还可与 LIMK2 (LIM kinase 2, LIMK2)、T 淋巴瘤侵袭转移因子 (T - lymphoma invasion and metastasis factor 1, Tiam1) 等其他蛋白结合,与这些蛋白的结合依赖 aPKC 调节的 PAR3 蛋白磷酸化^[14-17]。PAR3 蛋白的这一功能提示其还参与细胞骨架的动态调节。

3. aPKC: 在哺乳动物中已发现 2 个 aPKC 基因 aPKC λ/ι 和 aPKC ζ , 编码 2 种蛋白 aPKC λ/ι 和 aPKC ζ , 分子质量均为 75kDa。其羧基端含有催化结构,能够使 PAR3 和 LGL 磷酸化^[18]。与其他 PKC 不同,aPKC λ/ι 和 aPKC ζ 在氨基端含有独特的 PB1 结构域能够与 PAR6 结合。

在上皮细胞中,aPKC 与 PAR 复合体中的其他成分共同定位于 TJ,是复合体中唯一具有酶活性的成分。aPKC 的活性对于 TJ 形成是必须的,过表达失活 aPKC 片段可以阻碍 TJ 形成,并引起 PAR6 和 PAR3 的错误定位。许多研究提示 aPKC 与 PAR6 结合是形成 TJ 的基本条件。当细胞与细胞相互接触时,E - 钙黏素活化 Cdc42, Cdc42 - GTP 与 PAR6 结合,通过

PAR6 与 aPKC 形成复合体,促使 aPKC 磷酸化并向细胞顶端 TJ 形成区域移动,调控 TJ 形成。

4. PAR 复合体在 TJ 形成中的作用: PAR3/ PAR6/aPKC 对于建立细胞极性是必需的,他们定位于 TJ 并且调节 TJ 的形成,使其定位在细胞膜的顶端区域。这 3 种蛋白必须联合定位在 TJ 上,互相依赖,任何一种蛋白的缺失都将导致其他两种蛋白不能特异性定位到 TJ。这 3 种蛋白中,aPKC 的活性对于 TJ 的发育形成至关重要^[19]。在胎鼠上皮细胞的分化过程中发现,aPKC ζ 能促进 TJs 的装配,应用 aPKC ζ 抑制剂 Ro-31-8200 及 Go6983 能使 TJ 蛋白装配下降。将 aPKCkn(缺乏 aPKC 活性结构域)转入细胞内发现,aPKCkn 并不阻碍各种 TJs 及 PAR-3 的形成及在膜上定位,但其只能形成点状的结构,而不能形成典型的带状紧密连接,提示 aPKC 能刺激暂时的纤维样结构向上皮细胞特有的紧密连接转化。Par、Par6 的作用需要依赖 aPKC,例如过表达 Par6N 蛋白(缺乏 aPKC 结合位点),可以阻碍 TJ 形成;表达 aPKC 结合域缺失的 PAR3(1~371)也会阻碍 TJ 形成;过表达 PAR3,而不是 aPKC 结合域缺失的 PAR3,可以刺激 TJ 的形成。aPKC 的活性受 PAR6 调节,PAR6 与 aPKC 结合后抑制其活性,但是活化的 Cdc42 与 PAR6 结合后,这种抑制被解除。

二、哺乳动物 CRB 复合体

Crumbs 复合体首先在果蝇中发现。哺乳动物 CRB 复合体为跨膜蛋白,包括 CRUMBS、PALS1 和 PATJ。

1. CRB:哺乳动物中已发现 3 个 CRB 基因 Crb1、Crb2 和 Crb3,编码 3 种蛋白,分子质量分别为 154kDa、134kDa 和 13kDa。果蝇 CRB 有一个大的细胞外区域,是光感受器的形态发生所必需的。Crb1 突变主要参与视网膜疾病,色素性视网膜炎和勒伯尔先天性黑蒙症的发病,认为与细胞间黏附成分的损伤相关^[20]。虽然 CRB2 与 CRB1 在分子结构上有高度的相似性,但 CRB2 并不参与上述疾病的发生,其功能还不十分清楚。

CRB1、CRB2 和 CRB3 有相似的胞质内结构。在其胞质尾中,含有 2 个动点:FERM 蛋白结合区和含有 ERL1 的 PDZ 结构域。FERM 区含有 12 个氨基酸,1 个 GTY 模体,主要作为适配器连接跨膜蛋白和胞质内的细胞骨架蛋白 actin。与 CRB1、CRB2 不同,CRB3 额外含有 SH3(Src homology3,SH3)结合位点,其功能还不十分清楚。CRB 的作用主要是稳定细胞

间紧密连接,此外,还参与细胞膜顶端的分化。CRB 通过其羧基端的 ERL1 基序和 PALS1 的 PDZ 结构域结合^[21]。在 MDCK 细胞中过表达 CRB3 可以阻止 TJ 形成,并且这一作用依赖于最末 4 个 ERL1 的存在。下调 CRB3 表达能够抑制 MDCK 细胞纤毛的形成。

2. PALS1:PALS1,是哺乳动物中果蝇 Stardust 蛋白的同源分子,分子质量 77kDa。在多种器官如脑、心脏和骨骼肌中表达,在胎盘、肾脏中高度表达。PALS1 是一个 MAGUK(membrane-associated guanylate kinase,MAGUK)家族蛋白,具有多个蛋白间结合位点。包括 2 个 L27 结构域,1 个 PDZ 结构域,1 个 SH3 结构域和 1 个 Guk(guanylate kinase,Guk)结构域。SH3 和 Guk 结构域的功能目前还不清楚。

PALS1 和它的同系物 Stardust 都在细胞顶端极性的生成过程中发挥重要作用,作为适配器介导 CRB 和 PATJ 的间接性结合。PALS1 通过其 PDZ 结构域与 CRB1 直接结合;通过它的第 1 个 L27 结构域与 PATJ 结合,通过第 2 个 L27 结构域与 Lin7 结合。在 MDCK 细胞中,敲除 PALS1 可以导致 TJ 和细胞极性的缺失,以及 E-钙黏素错误地定位在细胞膜上。PALS1 的缺失还可以影响 PATJ 的表达,但不影响 CRB3 的表达和分布。目前还不清楚 PALS1 影响 PATJ 表达是通过转录、翻译还是蛋白质修饰?但既然 PALS1 的表达依赖于与 PATJ 间的相互作用,那么翻译后的蛋白质修饰似乎是影响二者表达的关键环节。

3. PATJ/MUPP1:哺乳动物中存在 2 个果蝇 DpatJ 同源分子:PATJ 和 MUPP1(multi-PDZ domain protein,MUPP1)。(1)PATJ:PATJ 分子质量 196kDa,主要分布在小肠、结肠、心脏、胰腺、肾脏、肺、脑、骨骼肌和膀胱等器官的上皮组织。PATJ 含有 10 个 PDZ 结构域,第 6 和第 8 个 PDZ 结构域分别与 ZO3 和 claudin-1 羧基端的 PDZ 结构域相结合,ZO3 通过其胞质尾进一步与 occludin 等跨膜 TJ 蛋白结合。PATJ 还含有 1 个 L27 结构域,可以与 PALS1 的 L27 结构域相互作用。Shin 等的研究得出结论,在哺乳动物上皮细胞中,PATJ 对于正确的上皮细胞极化和促进 TJ 形成是必需的。在非极化细胞中,PATJ 定位于 VAC(vacuolar apical compartment,VAC),在极化过程中以顶端区域和 TJ 为靶目标。过表达或下调 PATJ 在上皮细胞中的表达均可引起 TJ 蛋白 ZO1、ZO3 和 Occludin 错误定位于外侧膜,影响 TJ 结构稳定性^[22]。并且 PATJ 的敲除还会引起 CRB3 和 PALS1 不能在

细胞顶端聚集,妨碍其与 TJ 结合。这些结果提示 PATJ 提供了一个桥梁,将 TJ 结构基底端的 TJ 蛋白如 Occludin、ZO3 与 TJ 顶端的 PALS1 和 CRB3 连接起来,稳定 CRB 复合体。(2)MUPP1:MUPP1 分子量 219kDa,其氨基端含有 1 个 L27 结构域和 13 个 PDZ 结构域。MUPP1 的 PDZ 结构域与 PATJ 具有高度同源性并同相同的蛋白结合:如 MUPP1 的第 10 个 PDZ 结构域与 PATJ 的第 8 个 PDZ 结构域同源性 78%,均同 claudin-1 结合。MUPP1 作为脚手架蛋白与多种紧密连接成分结合,已经发现的有 JAM、CAR (coxsackievirus and adenovirus receptor,CAR)和 Claudins。同 PATJ 一样,MUPP1 可通过其 L27 结构域与 PALS1 相连,进一步与 CRB 连接形成复合体^[23]。

三、PAR3/PAR6/aPKC 复合体与 CRUMBS/PALS1/ PATJ 复合体的相互作用

两种蛋白复合物之间以及每种复合物的组分之间互相作用互相影响,调节 TJ 的形成和细胞极性的确立。Hurd 等通过实验确认了两种复合物间通过 PAR6 和 PALS1 介导的生化以及功能性关联。PAR6 和 PALS1 间的相互作用是直接的,需要 PALS1 的氨基端和 PAR6 的 PDZ 功能区,并受 Cdc42-GTP 调节。跨膜蛋白 CRUMBS 可以向细胞表面补充野生型 PAR6,而非带有变异 PDZ 结构域的 PAR6。在 MDCK 细胞中,非显性 PATJ 的表达导致了 PALS1,PAR3/PAR6/aPKC 复合物成员和紧密连接标志物 ZO1 的错误定位。同样地,MDCK 细胞中 PAR6 过表达,使其与 PALS1 的结合增加,从而抑制 PATJ 与 PALS1 的结合,使两个复合体不能有效的协同作用。

四、展望

综上所述,极性复合体参与调控紧密连接的形成,并且 3 个极性复合体之间相互联系、相互作用。PAR 复合体首先确定细胞的极性区域,明确顶端-基底位置,CRB 和 SCRIB 复合体以相反的作用方式分化参与紧密连接形成的相关分子,建立和稳定细胞间紧密连接,巩固顶端-基底的特性,细胞骨架成分 actin 则作为始动因素参与了这个过程。虽然极性复合体在 TJ 的形成和维持中占据重要作用,但确切机制并不十分清楚。并且陆续又有新的调控分子被发现,如 EHM2 (expressed in high-metastatic cell, EHM2) 和 YMO1/EPB41L5 (erythrocyte protein band 41-like 5, EPB41L5),它们可以与 CRB 通过 FERM 结构域依赖的方式结合。相信未来会发现更多的分

子,其作用机制也会进行更深入的研究。

目前研究主要阐述了极性复合体在正常生理状态下对紧密连接调控的机制,病理状态下,紧密连接的损伤是否与极性复合体相关?新近研究还发现极性复合体参与基因表达、分化、生长代谢等其他细胞活动。今后在这些领域将会进行更深入的研究。

参考文献

- 1 Nagasawa Y, Ishida Y, Yamamoto A. Reversed cellular polarity in primary cutaneous mucinous carcinoma: A study on tight junction protein expression in sweat gland tumors [J]. *J Dermatol*, 2017, 44: 444-448
- 2 Stio M, Retico L, Annese V, *et al.* Vitamin D regulates the tight-junction protein expression in active ulcerative colitis [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2016, 51(10):1193-1199
- 3 Yoseph BP, Klingensmith NJ, Liang Z, *et al.* Mechanisms of intestinal barrier dysfunction in sepsis [J]. *Shock*, 2016, 46(1):52-59
- 4 Metzler Zebeli BU, Mann E, Ertl R, *et al.* Dietary calcium concentration and cereals differentially affect mineral balance and tight junction proteins expression in jejunum of weaned pigs [J]. *Br J Nutr*, 2015, 113(7):1019-1031
- 5 Amoozadeh Y, Dan Q, Xiao J, *et al.* Tumor necrosis factor- α induces a biphasic change in claudin-2 expression in tubular epithelial cells: role in barrier functions [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 309(1):C38-50
- 6 Zihni C, Terry SJ. RhoGTPase signalling at epithelial tight junctions: Bridging the GAP between polarity and cancer [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 64:120-125
- 7 Quiros M, Nusrat A. RhoGTPases, actomyosin signaling and regulation of the epithelial apical junctional complex [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 36:194-203
- 8 Pruyne D, Legesse-Miller A, Gao L, *et al.* Mechanisms of polarized growth and organelle segregation in yeast [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 559-591
- 9 Jin D, Durgan J, Hall A. Functional cross-talk between Cdc42 and two downstream targets, Par6B and PAK4 [J]. *Biochem J*, 2015, 467(2):293-302
- 10 Yamanaka T, Horikoshi Y, Sugiyama Y, *et al.* Mammalian Lgl forms a protein complex with PAR-6 and aPKC independently of PAR-3 to regulate epithelial cell polarity [J]. *Curr Biol*, 2003, 13: 734-743
- 11 Joberty G, Petersen C, Gao L, *et al.* The cell-polarity protein Par6 links Par3 and atypical protein kinase C to Cdc42 [J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2:531-539
- 12 Forteza R, Wald FA, Mashukova A, *et al.* Par-complex aPKC and Par3 cross-talk with innate immunity NF- κ B pathway in epithelial cells [J]. *Biol Open*, 2013, 2(11):1264-1269
- 13 Soriano EV, Ivanova ME, Fletcher G, *et al.* aPKC inhibition by Par3 CR3 flanking regions controls substrate access and underpins Apical-junctional polarization [J]. *Dev Cell*, 2016, 38(4):384-398

(下转第 98 页)

子,但由于其和增强子在不同种属的细胞中活性相差悬殊,所以笔者将启动子 CMV 换成启动子 EF1 α 和 CMV - EF1 α ,成功构建了携带不同启动子的载体,以比较 CD19 - CD3 ζ 融合片段在不同启动子作用下的表达情况。本研究利用慢病毒介导 pHAGE - CMV - EF1 α - CD19、pHAGE - CMV - CD19、pHAGE - EF1 α - CD19,转染 293T 细胞后制得高效价慢病毒后,感染人外周血 T 淋巴细胞,证实 CD3 ζ 成功在 T 细胞中表达嵌合抗原受体,并通过增强启动子的方案,加强了外源目的基因片段在真核细胞中的表达。笔者发现以 293T 为靶细胞时,通过荧光显微镜可以观察到不同驱动器驱动的荧光蛋白表达效果,启动子作用强弱依次为 CMV - EF1 α > CMV > EF1 α ;而以 T 淋巴细胞为靶细胞时,启动子作用强弱为 CMV - EF1 α > EF1 α > CMV。笔者通过重组腺病毒载体感染 T 淋巴细胞,获得了长期较稳定表达靶基因的细胞株,从而为接下来的靶基因研究提供细胞来源;为了提高外源基因在真核细胞中的表达量,在载体构建时,笔者设计了筛选强启动子的方案,研究发现选择正确的启动子以及相应的靶细胞,可提高病毒在感染细胞中的转染率,从而为基因相关研究及临床应用做好理论准备。

参考文献

- Krajinovic M, Labuda D, Sinnett D. Childhood acute lymphoblastic leukemia: genetic determinants of susceptibility and disease outcome. [J]. Rev Environ Health, 2016, 16(4):263 - 279
- Maude SL, Frey N, Shaw PA, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia[J]. New Engl J Med, 2014, 371(16):1507 - 1517
- 徐晓军, 赵海招, 汤永民. 儿童肿瘤免疫治疗的临床研究进展[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(3):423 - 426
- 蔡慧, 赵莲君, 邹征云, 等. 嵌合抗原受体基因修饰 T 淋巴细胞在肿瘤免疫治疗中的研究[J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(11):

2730 - 2734

- 李伟, 于慧杰. 嵌合抗原受体 T 细胞免疫治疗研究进展[J]. 肿瘤研究与临床, 2015, 27(2): 139 - 141
- Sumimoto H, Kawakami Y. Lentiviral vector - mediated RNAi and its use for cancer research[J]. Fut Oncol, 2016, 3(6):655 - 664
- Griffin DO, Goff SP. Restriction of HIV - 1 - based lentiviral vectors in adult primary marrow - derived and peripheral mobilized human CD34⁺ hematopoietic stem and progenitor cells occurs prior to viral DNA integration[J]. Retrovirology, 2016, 13(1):1 - 12
- 王丹丹, 李冬颖, Wang D, 等. 小鼠 β - actin 基因的 RT - PCR 克隆与真核表达[J]. 辽东学院学报:自然科学版, 2016, 23(1):16 - 20
- Chen C, Cai Q, He W, *et al.* An NKX3.1 binding site polymorphism in the l - plastin promoter leads to differential gene expression in human prostate cancer[J]. Int J Cancer, 2016, 138(1):74 - 86
- Fang W, Song R, Zhang X, *et al.* Characterization of a novel β - glucosidase from gongronella sp. W5 and its application in the hydrolysis of soybean isoflavone glycosides[J]. J Agr Food Chem, 2014, 62(48):11688 - 11695
- Hong S, Hwang DY, Yoon S, *et al.* Functional analysis of various promoters in lentiviral vectors at different stages of in vitro differentiation of mouse embryonic stem cells[J]. Mol Ther 2007, 15(9):1630 - 1639
- Chung SM, Andersson T, Sonntag KC, *et al.* Analysis of different promoter systems for efficient transgene expression in mouse embryonic stem cell lines[J]. Stem Cells, 2002, 20(2):139 - 145
- Eo J, Lee HE, Nam GH, *et al.* Association of DNA methylation and monoamine oxidase a gene expression in the brains of different dog breeds. [J]. Gene, 2016, 580(2):177 - 182
- 李欢欢, 朱平. 应用 CD19 修饰的嵌合抗原受体 T 细胞治疗淋巴瘤白血病[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(6): 1753 - 1756
- Wang TY, Zhang QQ, Zhang X, *et al.* The effect of recombinant lentiviral vector encoding miR - 145 on human esophageal cancer cells. [J]. Tumor Biol, 2015, 36(12):1 - 6
- Zhong X, Qin K, Wang D. Regulating effect of recombinant lentivirus silencing rictor gene on mTORC2/SGK1 signal pathway and pulmonary alveolar epithelial sodium ion channel[J]. Chongqing Med, 2015, 23(1):1 - 14
- Snook AE, Waldman SA. Advances in cancer immunotherapy[J]. Ear Nose Throat J, 2016, 83(10):63 - 65

(收稿日期:2016 - 11 - 17)

(修回日期:2016 - 11 - 23)

(上接第 11 页)

- Yu M, Yang S, Qiu Y, *et al.* Par - 3 modulates intestinal epithelial barrier function through regulating intracellular trafficking of occludin and myosin light chain phosphorylation [J]. J Gastroenterol, 2015, 50(11):1103 - 1113
- Chen X, Macara IG. Par - 3 mediates the inhibition of LIM kinase 2 to regulate cofilin phosphorylation and tight junction assembly [J]. J Cell Biol, 2006, 172:671 - 678
- Mack NA, Georgiou M. The interdependence of the Rho GTPases and apicalbasal cell polarity [J]. Small GTPases, 2014, 5(2):10
- Li Z, Liu YH, Liu XB, *et al.* Low - dose endothelial monocyte - activating polypeptide - II increases permeability of blood - tumor barrier via a PKC - ζ /PP2A - dependent signaling mechanism [J]. Exp Cell Res, 2015, 331(2):257 - 266
- Osada S, Minematsu N, Oda F, *et al.* Atypical protein kinase C isoform, aPKC λ , is essential for maintaining hair follicle stem cell quiescence [J]. J Invest Dermatol, 2015, 135(11):2584 - 2592
- Richard M, Roepman R, Aartsen WM, *et al.* Towards understanding

CRUMBS function in retinal dystrophies [J]. Hum Mol Genet, 2006, 15(2):R235 - R243

- Kim JY, Song JY, Karnam S, *et al.* Common and distinctive localization patterns of Crumbs polarity complex proteins in the mammalian eye [J]. Gene Expr Patterns, 2015, 17(1):31 - 37
- Sen A, Sun R, Krahn MP. Localization and function of Pals1 - associated tight junction protein in drosophila is regulated by two distinct apical complexes [J]. J Biol Chem, 2015, 290(21):13224 - 13233
- Assemet E, Crost E, Ponserre M, *et al.* The multi - PDZ domain protein - 1 (MUPP - 1) expression regulates cellular levels of the PALS - 1/PATJ polarity complex [J]. Exp Cell Res, 2013, 319(17):2514 - 2525
- Hurd TW, Gao L, Roh MH, *et al.* Direct interaction of two polarity complexes implicated in epithelial tight junction assembly [J]. Nat Cell Biol, 2003, 5(2):137 - 142

(收稿日期:2016 - 10 - 13)

(修回日期:2016 - 10 - 27)