

文章编号: 1004-0374(2012)04-0340-06

ThPOK在T细胞分化发育中的作用

索珊珊, 张 伟, 汪 浏*

(浙江大学医学院免疫学研究所, 杭州 310058)

摘 要: ThPOK (T-helper-inducing POZ/Krueppel-like factor) 又被称为 Zbtb7b、Zfp67、cKrox, 隶属于一个很大的转录因子家族——POK 家族。ThPOK 最初是被认为与 I 型胶原蛋白基因的转录抑制有关, 但近年来的研究发现, ThPOK 在 T 细胞分化过程中至关重要, 特别是对 CD4⁺T 细胞的分化发育起着命运决定的核心作用。该文综述了 ThPOK 在 CD4⁺T 细胞分化过程中的作用特点及其与另外两种重要转录因子 GATA3 和 Runx3 的相互作用关系, 并在此基础上阐述了 ThPOK 在其他 T 细胞, 如 iNKT 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞及效应 CD8⁺T 细胞中的作用功能。

关键词: ThPOK ; CD4⁺T 细胞 ; CD8⁺T 细胞 ; GATA3 ; Runx3 ; iNKT 细胞 ; $\gamma\delta$ T 细胞

中图分类号: Q28

文献标志码: A

The role of ThPOK in T cell differentiation and development

SUO Shan-Shan, ZHANG Wei, WANG Lie*

(Institute of Immunology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

Abstract: ThPOK (T-helper-inducing POZ/Krueppel-like factor) is also called Zbtb7b, Zfp67 or cKrox, which is a member of the transcriptional repressor family of POK(POZ and Kruppel). ThPOK was originally cloned as a negative regulator of collagen gene promoters, while new results indicate that ThPOK plays a central role in T cell development and differentiation, especially in the specification of CD4⁺ T cell lineage fate. This review describes these findings and the interaction between ThPOK and the other two important transcription factors, Runx3 and GATA3. Besides, we state its expanding roles in other T cell subsets such as iNKT cells, $\gamma\delta$ T cells and CD8⁺T cells.

Key words: ThPOK; CD4⁺T cell; CD8⁺T cell; GATA 3; Runx3; iNKT cell; $\gamma\delta$ T cell

1 T细胞的分类及其在胸腺中的分化发育过程

T 淋巴细胞是来自胚肝或骨髓的始祖 T 淋巴细胞 (pro-T) 在胸腺内微环境作用下分化发育成熟的淋巴细胞, 故称胸腺依赖性淋巴细胞 (thymus dependent lymphocyte), 简称 T 细胞。T 细胞表面用于特异性识别和结合抗原的结构称为 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR), 外周 T 细胞功能性 TCR 大多由 α 和 β 两条肽链组成, 称为 $\alpha\beta$ T 细胞。大多数的 $\alpha\beta$ T 细胞表达两种不同的细胞表面糖蛋白 CD4 或 CD8。CD4 与 MHC-II 类分子的结合及相对应的 CD8 与 MHC-I 类分子的结合, 不仅可以稳定 TCR 和 MHC 的复合物结构, 还能够结合膜内相关的信号分子, 从而促进 T 细胞受体信号的转导。因此,

依据 CD4 和 CD8 分子在 TCR $\alpha\beta$ T 细胞上不同的表达及相关的 MHC 特异性差异, 可将成熟 T 细胞分为 CD4⁺ 或 CD8⁺T 细胞。这两群 TCR $\alpha\beta$ T 细胞的功能也不尽相同, 大多数 CD4⁺T 细胞具有 MHC-II 类分子限制性, 又被称为功能辅助性 T(Th) 细胞, 具有辅助体液免疫和增强免疫应答的作用; CD8⁺T 细胞具有 MHC-I 类分子限制性, 又被称为细胞毒性 T

收稿日期: 2011-11-25; 修回日期: 2011-12-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(J20111945); 浙江省自然科学基金项目 (R2110298); 中央高校基本科研业务费专项资金

*通信作者: E-mail: wanglie@zju.edu.cn; Tel: 0571-88981392

(Tc) 细胞, 可以直接杀死表达特异性靶抗原细胞 (如病毒感染细胞)。

CD4⁺ 或 CD8⁺T 细胞的发育分化是个复杂而又受到精细调控的过程, 一直是免疫学中的重点研究领域。对小鼠的研究表明, 首先进入胸腺的前体细胞以 CD4⁻CD8⁻ 的双阴性形式 (DN 细胞) 出现, 在经历了 TCR β 链和 TCR α 链基因的相继重排, 并同时表达 CD4 和 CD8 分子于表面后, 即进入 CD4⁺CD8⁺ 双阳性 T 细胞 (DP T 细胞) 时期。此后 DP T 细胞经过阳性选择, 即接受到体内 MHC-II 限制性信号的细胞下调 CD8 分子的表达, 分化为仅表达 CD4 的单阳性 T 细胞 (CD4 SP T 细胞), 而接受到体内 MHC-I 限制性信号的细胞下调 CD4 分子的表达, 分化为仅表达 CD8 的单阳性 T 细胞 (CD8 SP T 细胞)。最后, 单阳性 T 细胞通过经历阴性选择, 获得对自身抗原的耐受性, 从而发育为成熟的 CD4⁺ 或 CD8⁺T 细胞, 迁出胸腺进入外周淋巴组织发挥功能。

2 ThPOK在T细胞分化发育中的作用

2.1 ThPOK蛋白结构及其发现过程

Thpok (T-helper-inducing POZ/Kruppel-like factor) 基因又被称为 *Zbtb7b* (zinc finger and BTB domain containing 7B)、*Zfp67*、*c-Krox*, 定位于小鼠第 3 号染色体上, 有 3 个外显子。小鼠 Th-POK 是由 *Thpok* 基因编码的具有 544 个氨基酸残基的蛋白, 相对分子质量为 5.87×10^4 , 隶属于一个很大的转录因子家族——POK 家族。POK 家族具有特征性的 N 末端的 BTB/POZ 结构域和 C 末端数个 Kruppel 样锌指结构。BTB (Broad Complex, Tram track and Bric a Brac) 域是一段高度保守的蛋白质-蛋白相互作用模体, 它可以介导形成同源寡聚体、异源寡聚体并参与转录阻遏, 还可以与组蛋白去乙酰化复合物相互作用, 从而参与调节染色质的构象^[1]。C 末端的数个 Kruppel 样锌指结构则是与 DNA 结合的区域。POK 蛋白在胚胎发育、分化和肿瘤形成中有重要作用, 还在人和鼠中高度保守 (锌指蛋白区域 100% 相一致)。ThPOK 最初是被认为与 I 型胶原蛋白基因的转录抑制有关, 并且在皮肤中含量丰富 (所以它又被称为 collagen krox, 即 cKrox)^[2]。然而, cKrox 的研究进展不大, 直到 1998 年, Dietmar J. Kappes 等在小鼠中发现了一种新型的自发突变, ThPOK 才重新得到人们的关注。Dave 等^[3] 研究发现, 具有该种突变型的小鼠由于正常胸腺分化发育

过程被阻断, 导致 MHC-II 限制性的 CD4⁺CD8⁻ 外周 T 细胞数量大为减少, 他们把这种突变基因型所对应的表型称为 HD (help T cell deficient, 辅助 T 细胞缺陷)。此后人们开始着力寻找该突变基因, 2005 年, 同是该小组首先通过绘制 HD 小鼠基因图谱、细菌人工染色体 (BAC) 互补分析等方法, 最终确定导致 HD 表型的突变基因为 *cKrox*。HD 突变小鼠的 cDNA 显示在 *cKrox* 编码区的 1 165 位置处 A 突变为 G, 从而导致氨基酸序列中第 389 位的 Arg 突变为 Gly。由于该突变氨基酸发生在 cKrox 锌指结构域的第 2 个锌指位置处, 而该结构域正是 cKrox 转录因子与 DNA 结合的区域, 所以该突变造成 cKrox 不能与 DNA 有效结合, 从而失去作用, 导致 HD 表型。由于此处该基因与胶原蛋白已完全无关, 结合这一新发现的功能以及其蛋白结构, He 等^[4] 将其命名为 ThPOK。从此 ThPOK 重新进入人们的视野, 并因其重要作用而受到越来越多的关注。

2.2 ThPOK在CD4⁺T细胞分化发育中的作用

由于 *Thpok* 突变可导致小鼠发生 HD 表型, 即外周 CD4⁺T 细胞大量消失。由此可知 *Thpok* 对于 CD4⁺T 细胞的分化发育至关重要。随着研究的深入, 人们逐渐认识, *Thpok* 在 CD4⁺T 细胞分化发育中不仅发挥重要作用, 而且有两个非常鲜明的特点。

首先, 早在人们刚发现 HD 突变小鼠时就注意到, 在胸腺发育过程中, MHC-II 限制性的胸腺细胞并没有因为 *Thpok* 的突变而停止发育, 相反这部分细胞转发育成为 CD8⁺ 谱系的细胞^[5], 同时, 研究表明, 在 ThPOK 转基因小鼠中, 所有的胸腺细胞都分化成为 CD4⁺T 细胞, 包括 MHC-I 限制性胸腺细胞^[4,6]。这就说明 ThPOK 的重要性不仅在于可以促进 CD4⁺ 谱系分化, 而且参与阻断 CD8⁺ 谱系分化过程。MHC-I 限制性胸腺细胞的这种转分化说明, ThPOK 对于 CD4⁺T 细胞的分化, 其条件是充分的。

根据以上实验, 结合胸腺细胞的发育过程, 研究人员推测 ThPOK 是胸腺细胞识别 MHC-II 信号后的一个重要检查点。如果存在 ThPOK, 则细胞向 CD4 方向分化; 如果不存在, 则向 CD8 方向分化。进一步的研究证实了这一假设, 并表明这一检查点发生在胸腺细胞由 DP 向 SP 转变过程之中, 准确地说是在 CD69⁺DP 与 CD4⁺CD8⁰ 两阶段之间, 这是因为在 CD69⁺DP 阶段尚不能检测到 ThPOK 的表达, 而在 CD4⁺CD8⁰ 细胞中已能检测到大量 ThPOK

的表达。同时,很重要的一点,在 $CD4^+CD8^{10}$ 阶段的细胞中, MHC-II 限制性细胞的 ThPOK 表达量已经开始高于 MHC-I 限制性细胞,并且这种差距随细胞继续发育而逐渐拉大,在 CD8 SP (single positive) 细胞中, ThPOK 的表达量已很低^[4,6]。

还值得关注的是在外周 $CD4^+$ T 细胞中, ThPOK 的表达仍然持续存在。这提示 T 细胞发育成熟之后, ThPOK 还有其他重要作用。实验证实,如果在外周 $CD4^+$ T 细胞中终止 ThPOK 表达,则 CD8 分子和颗粒酶等细胞毒性分子都会重新表达^[7-8],这就充分证明 ThPOK 对于外周 $CD4^+$ T 细胞仍然必需。

其次,在胸腺细胞发育过程中, ThPOK 只参与调控谱系分化的过程而不再参与其他过程,如在 *Thpok* 突变的 HD 小鼠中, CD8 谱系细胞的分化过程以及阴性选择过程都不受任何影响,甚至研究人员检测阳性选择过程的标志分子 CD69 和 TCR β ,发现阳性选择的过程都不受影响^[4-5]。这是第一次有证据表明,在 $\alpha\beta$ 胸腺细胞中阳性选择的过程和谱系决定的过程是相互独立的^[5]。同时,由于 HD 表型与 TCR 信号转导缺失的表型大为不同, *Thpok* 突变不会像 *Lck* 和 *Erk* 缺失一样,进一步导致 TCR 转导信号的缺失^[9-10]。

2.3 ThPOK、GATA3与 $CD4^+$ 细胞亚群的分化

近几年来,人们对于 ThPOK 的关注度逐渐提高,但最初被发现与 $CD4^+$ T 细胞分化有关的转录因子是 GATA3。GATA3 在 T 细胞分化的许多阶段都表达并发挥作用^[11]。在阳性选择过程中, GATA3 的表达量在由 DP 向 CD4 SP 分化过程中达到最高;而在由 DP 向 CD8 SP 分化中则降低^[12-13]。同时, Pai 等^[14]研究 DP 阶段的 GATA3 条件敲除小鼠发现,该小鼠中 $CD4^+$ 细胞数量显著降低,而 $CD8^+$ 细胞不受影响,进一步证明 GATA3 对于 $CD4^+$ T 细胞的分化成熟非常重要而不影响 $CD8^+$ T 细胞。与 *ThPOK^{hd}* 突变型不同,破坏 *Gata3* 基因会阻断 MHC-II 限制性胸腺细胞由 DP 向 CD4 SP 转变,但不会导致这些细胞转分化为 $CD8^+$ 谱系^[14-15]。同样地,过表达 GATA3 也不能使 MHC-I 限制性胸腺细胞转分化为 $CD4^+$ 谱系^[13,16]。由此看出,在 $CD4^+$ T 细胞的分化过程中, GATA3 可能是对 $CD4^+$ T 细胞的生存起决定作用,也可能是在谱系分化之前发挥作用,而不像 ThPOK 那样正处在一个分化的检查点上。

2008 年, Wang 等^[17]在排除其他条件的干扰下研究 GATA3 和 ThPOK 的关系,结果发现,敲除

Thpok 基因,小鼠中 GATA3 的表达量会适当上调;但敲除 *Gata3*, ThPOK 则完全没有表达。这说明,在 T 细胞分化的调控通路中, GATA3 位于 ThPOK 的上游。当然,这并不能排除 GATA3 会直接控制 $CD4^+$ 细胞的分化^[14,17]。进一步研究发现,在敲除小鼠的胸腺中过表达 ThPOK, DP 阶段的胸腺细胞仍然不能向 CD4 方向分化,这意味着 ThPOK 也需要 GATA3 协助,以共同调节 $CD4^+$ 细胞分化。综上所述, GATA3 是在 $CD4^+$ T 细胞命运决定前发挥作用,即一方面促进 ThPOK 的表达,另一方面促进其他与 $CD4^+$ 分化有关的转录因子的表达^[17]。

应当指出,虽然 ThPOK 促进 $CD4^+$ T 细胞分化的过程需要 GATA3 的参与,但其抑制 $CD8^+$ T 细胞亚群分化的过程则完全不需要 GATA3,如在 *Gata3* 基因敲除的小鼠中过表达 ThPOK 仍然能阻断细胞向 CD8 方向的分化过程^[17]。即便在成熟 $CD8^+$ T 细胞中,如果转入 ThPOK,则 CD8 分子及杀伤性因子如穿孔素和颗粒酶等的表达都将受到抑制^[7],说明 ThPOK 可独立发挥此项作用。

3 ThPOK和Runx之间的负反馈环路是谱系决定的核心

Runx 家族参与许多分化过程。在哺乳动物中,该家族共有三个成员 (Runx1~3),它们都与 Cbfb 分子形成二聚体而发挥作用^[18]。已有相当多的论据表明 Runx 转录因子,特别是 Runx3,在促进 CD8 谱系特异性基因的表达中起着重要作用。Runx1 在胸腺细胞 DN 阶段抑制 CD4 的表达;而 Runx3 在 $CD8^+$ 细胞分化过程中沉默 *CD4* 基因^[19-21]。Runx3 的破坏不会完全阻断 $CD8^+$ 细胞的分化,但会极大降低 $CD8^+$ T 细胞数量并导致重新表达 CD4 分子的 $CD8^+$ 细胞明显增多。另外,破坏 Runx1 和 Runx3,则 $CD8^+$ T 细胞将完全不存在;并且在 *Runx3* 敲除小鼠中, Runx1 的表达会有一些的上调^[20,22-23]。这些现象也反映出 Runx1 和 Runx3 在功能上存在一定程度的冗余。

ThPOK 和 Runx3 分别在 CD4 谱系和 CD8 谱系细胞中特异表达,并且对于两种谱系细胞的分化分别起着重要作用。研究发现,在血细胞发育及淋巴细胞分化过程中,特异转录因子的相互拮抗是决定谱系特异性的关键,如 Foxp3 与 ROR γ t 的相互拮抗作用在 Th17 细胞分化中的重要性^[24]; Egr-1,2 与 Gfi-1 的相互拮抗作用在中性粒细胞命运决定中的作用^[25]等。研究人员推测,很有可能 ThPOK 和

Runx3 也是相互拮抗彼此的活性,而这种拮抗作用可能正是 CD4⁺、CD8⁺ 细胞分化的关键。近几年来,人们开始着力于此项研究。随着研究深入,这种推测现今已变成了现实。

Setoguchi 等^[23] 研究发现,与 CD4 的表达模式相似, ThPOK 的表达也受到其上游一个抑制性的顺式作用元件的调控,称为沉默子。他们发现该沉默子在处于预分化阶段的 DP 胸腺细胞及杀伤性 T 细胞谱系中处于活化状态。同时,ChIP-on-chip 分析表明,处于活化状态的沉默子可以与 Runx 复合物结合。如果敲除该沉默子,则结果与 ThPOK 转基因现象一致,即 MHC-I 限制性的胸腺细胞转分化为 CD4⁺T 细胞^[23],说明该沉默子可以阻断 ThPOK 的表达。而进一步实验,如果敲除 *Runx1*, ThPOK 的 mRNA 表达量上调;如果同时抑制 Runx1 和 Runx3,则 ThPOK 的上调水平更明显^[22]。综合以上结果,Runx 可以结合在 ThPOK 的沉默子上从而抑制 ThPOK 的表达,进而导致在通过 ThPOK 这个检查点时细胞向 CD8 谱系方向分化。

与之一致,另外一系列数据则证明了 ThPOK 可以抑制 Runx 的表达。在胸腺中,Runx 特异性高表达于 CD8⁺ 细胞并且只有在其启动子激活的状态下才能转录。用 knock-in 等位报告基因分析 Runx3 的表达情况显示,敲除 ThPOK,在 MHC-II 限制性胸腺细胞中,该启动子便转为呈激活状态^[15],说明正常胸腺中 Runx3 在 MHC-II 限制性胸腺细胞中不表达正是受到了 ThPOK 的阻断;但至今尚不清楚 ThPOK 对于 Runx3 的这种阻断作用是否直接。另外,如果降低 MHC-II 限制性胸腺细胞中 ThPOK 的表达,一部分 MHC-II 限制性细胞会发生转分化,而即使在剩下的不发生转分化的细胞中,人们也发现了 Runx3 的表达并且表现出很多杀伤性细胞的属性^[22],这也进一步证明了研究者最初的假设。

至此,我们已经详细了解了 ThPOK 和 Runx3 之间的相互作用,与 Th17 细胞和中性粒细胞相似,T 细胞的分化过程也是主要受两种关键转录因子的相互拮抗作用。虽然还有很多细节有待进一步研究,但明确了这一点,我们对 T 细胞的分化过程便有了更清晰的认知。

4 ThPOK在其他T细胞亚群中的作用

4.1 ThPOK在iNKT细胞分化发育中的作用

ThPOK 在自然杀伤 T 细胞(NKT 细胞)分化和发育过程中也起着重要作用^[26-27]。NKT 细胞是 T

细胞的一个亚群,起源于胸腺中的 DP 前体细胞,它同时表达 T 细胞表面受体(TCR)和 NK 细胞表面标志物 NK1.1(人类为 CD161),能够被非经典 MHC-I 类分子 CD1d 提呈的糖脂抗原所激活,不仅具有 T 细胞的免疫调节作用,也具有 NK 细胞的自然杀伤作用。I 型 NKT 细胞,即 iNKT 细胞是研究得最多和最深入的细胞类型,其表面表达恒定的 TCR Va14(小鼠)或者 Va24(人)和 Ja18,同时共表达 Vβ 链^[28]。

小鼠中相当一部分成熟 iNKT 细胞共表达 CD4 分子,由于之前的研究已经证实 ThPOK 与 CD4⁺ 分子之间存在直接关系(ThPOK 是促进 CD4⁺T 细胞分化的关键转录因子),人们很容易猜想 ThPOK 是否也与 iNKT 细胞有某种关系。2010 年,Wang 等^[26] 在胸腺 iNKT 细胞中检测到 ThPOK 的大量表达。为了检验 ThPOK 对于 iNKT 细胞的发育是否必需,他们在 ThPOK 敲除小鼠中检测 iNKT 细胞。结果显示 ThPOK 缺陷型小鼠的 iNKT 细胞不能表达 CD4 分子,并且其中的一部分转为表达少量 CD8;但无论是在胸腺还是外周免疫器官中,iNKT 细胞数量都没有明显改变。这说明 ThPOK 对于 iNKT 细胞表面 CD4 分子的持续表达至关重要,但与之前报道的转录因子 PLZF^[29] 不同,ThPOK 对于 iNKT 细胞的发育并不是必需的。另外,Wang 等^[26] 检测发现,在 ThPOK 缺陷型小鼠的 iNKT 细胞表面,NK1.1、颗粒酶 B 等与其发挥作用相关的标记分子表达量也降低,这说明 ThPOK 不仅仅影响 iNKT 细胞表面共受体分子 CD4 的表达,同时也影响其功能的正常发挥。进一步研究还发现,在 iNKT 细胞中 GATA3 同样发挥作用,并且与在 MHC-II 限制性 T 细胞中一致,GATA3 对于 ThPOK 的表达是必需的。

4.2 ThPOK在γδT细胞分化发育中的作用

根据 TCR 异源二聚体的不同,T 细胞可以分为 αβT 细胞和 γδT 细胞两大亚群。ThPOK 在 αβT 细胞分化发育中的重要作用,作了较为详细的阐述。而 ThPOK 在胸腺 γδT 细胞中也有表达并且对其发育、分化、增殖都有重要作用。

根据 CD44 和 CD25 在细胞表面的表达情况,胸腺中 γδT 细胞被分为两大亚群,即不成熟的 CD24⁺CD44⁻ 亚群和成熟的 CD24⁻CD44⁺ 亚群。前者可以不断增殖并且可以分泌细胞因子,而后者则不能^[30]。前人利用 RT-PCR 技术并没有检测到在胸腺细胞 DN 阶段有明显的 ThPOK mRNA 转录,但

最近研制的 ThPOK-GFP 报告小鼠使人们有机会对之进行更精确的检测。人们在 DN 阶段 $\gamma\delta$ 胸腺细胞中检测到明显的 GFP 表达。进一步研究表明, 10%~15% 的不成熟 $\gamma\delta$ 胸腺细胞表达低水平的荧光蛋白, 而大部分的成熟 $\gamma\delta$ 胸腺细胞则表达很强的 GFP。从不成熟到成熟, GFP⁺ 细胞所占比例明显上升, 提示 ThPOK 可能在 $\gamma\delta$ 胸腺细胞分化发育中发挥重要作用。Park 等^[31] 在 HD(ThPOK 缺陷型) 小鼠中, 检测到成熟 $\gamma\delta$ T 细胞的数量有显著降低(50%~70%), 这就更充分表明, ThPOK 在 $\gamma\delta$ T 细胞分化成熟过程中发挥重要作用; 但其作用具体是表现在 $\gamma\delta$ T 细胞走向成熟的发育过程中, 还是维持成熟 $\gamma\delta$ T 细胞的稳定存在, 目前尚不甚清楚。

另外, 在成年小鼠中, 成熟 $\gamma\delta$ T 细胞根据其表面标志和分泌物的不同还进一步分为两大亚群。一种表面标记为 NK1.1, 受刺激后分泌 IFN- γ ; 另一种表面标记为 CCR6, 受刺激后分泌 IL-17^[32]。用 ThPOK-GFP 报告小鼠对比, NK1.1⁺ 和 CCR6⁺ 两种 $\gamma\delta$ T 细胞显示, NK1.1⁺ $\gamma\delta$ T 表达更高水平的 GFP, 同时分析 HD 小鼠显示, 其胸腺中 NK1.1⁺ $\gamma\delta$ T 细胞数量大为减少; 而 CCR6⁺ $\gamma\delta$ T 细胞则只有极少数变化。与之一致的是, 过表达 ThPOK 可以导致 NK1.1 细胞数量的激增。综合以上研究结果, ThPOK 不仅在 $\gamma\delta$ T 细胞由不成熟走向成熟的过程中发挥作用, 还可以促进 NK1.1⁺ $\gamma\delta$ T 细胞的分化^[31]。

4.3 ThPOK在外周CD8⁺ $\alpha\beta$ T细胞中的作用

在胸腺中, 转录因子 ThPOK 对 CD4⁺ 辅助 T 细胞的分化起着重要作用, 其表达的适时抑制也是 CD8⁺ 杀伤性 T 细胞得以正常分化的保证。前人一直以为, 在外周 CD8⁺T 细胞中, *Thpok* 基因的沉默是不可逆转的, 因为已有实验证实, 在 CD8⁺T 细胞中过表达 ThPOK 会导致其丧失很多谱系特异性, 并且转而获得很多 CD4⁺ 谱系的特征; 但 Setoguchi 等^[33] 发现, ThPOK 的去抑制对于外周 CD8⁺ 细胞有效响应病毒感染至关重要。他们首先在体外实验中发现 TCR 受刺激后, 外周 CD8⁺ 细胞中会检测到明显的 ThPOK 表达。这一发现促使他们去探究 ThPOK 是否在 CD8⁺ 细胞响应急性病毒感染, 即激活时会发挥特殊的作用。结果显示: 在 ThPOK 功能缺陷型小鼠中, CD8⁺T 细胞分化为效应 T 细胞和抗原特异性记忆 T 细胞的功能不会受到影响; 但无论初级还是次级效应 CD8⁺T 细胞, 当它们受到病毒感染时, 进行快速克隆和扩散的能力都受到极大的限制。在体内持久存在的抗原特异性记忆 CD8⁺T

细胞, 如果缺乏功能性 ThPOK, 则再次受到刺激时将不能有效产生大量的 IL-2 和颗粒酶 B。这些结果充分说明, ThPOK 在外周 CD8⁺T 细胞中存在着完全不同于前人所认识到的功能, 它能在 CD8⁺T 细胞受到外界刺激时有效地促进其增殖扩散并提升 CD8⁺T 细胞的响应能力。

当然, 在效应 CD8⁺T 细胞中, ThPOK 的表达量有所上升, 但其表达量也不会超过正常 CD4⁺ T 细胞的 1/10, 这一低含量保证了 CD8⁺T 细胞即使在激活后也依然保持其 CD8 谱系的特异性, 但究竟是何种机制控制着 ThPOK 的表达量维持在如此合适的水平至今尚不清晰^[33]。

5 总结与展望

最近几年人们对于 CD4-CD8 谱系分化的研究取得了突飞猛进的进展, 特别是几个关键转录因子, 如 ThPOK、GATA3(CD4 分化相关) 和 Runx3(CD8 谱系分化相关) 的发现为人们构建谱系特异性分化中的转录因子调控网络奠定了基础。ThPOK 也从最初被置之研究边缘的小分子变成了如今炙手可热的“大明星”, 被摆在了胸腺细胞分化过程中的核心位置。

虽然, 如今关于 ThPOK 的研究已经非常细致, 但仍有很多问题亟待解决。比如在 CD4⁺T 细胞分化中, ThPOK 最初表达于 DP \rightarrow SP 阶段, 其出现决定了细胞向 CD4 方向分化的命运, 但存在什么信号最初控制并通过什么机制控制了 ThPOK 的出现仍需研究。现在已经有越来越多的证据表明, TCR 信号的强度和长度都是诱发 ThPOK 表达的原因, 但这些信号是通过怎样的分子通路最终调控了 ThPOK 表达以及这其中是否还需要其他因素的协作都不得而知。同时, 人们虽然已经清楚了 ThPOK 对于 CD4⁺T 细胞分化的重要作用, 但其具体的调控机制还不清楚, 比如它的下游调节分子是什么; 它又是如何调控其下游分子来达到最终决定细胞分化命运的结局。另外, 不断有研究发现 ThPOK 在其他 T 细胞发育分化中同样起着重要作用, 如在 iNKT 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、CD8 效应 T 细胞中的作用等, 由于都是刚被发现不久, 这其中还有很多不明确之处等待人们去研究, 特别是 ThPOK 的上游调控分子和下游调控分子及其调控模式在这些不同的细胞群体中是否一致; 抑或不同的细胞群体存在不同的调控网络。这些都亟待我们的思考, 更亟待我们的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Bilic I, Ellmeier W. The role of BTB domain-containing zinc finger proteins in T cell development and function. *Immunol Lett*, 2007, 108(1): 1-9
- [2] Galera P, Musso M, Ducy P, et al. c-Krox, a transcriptional regulator of type I collagen gene expression, is preferentially expressed in skin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(20): 9372-6
- [3] Dave VP, Allman D, Keefe R, et al. HD mice: a novel mouse mutant with a specific defect in the generation of CD4 T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(14): 8187-92
- [4] He X, He X, Dave VP, et al. The zinc finger transcription factor ThPOK regulates CD4 versus CD8 T-cell lineage commitment. *Nature*, 2005, 433(7028): 826-33
- [5] Keefe R, Dave V, Allman D, et al. Regulation of lineage commitment distinct from positive selection. *Science*, 1999, 286(5442): 1149-53
- [6] Sun G, Liu X, Mercado P, et al. The zinc finger protein cKrox directs CD4 lineage differentiation during intrathymic T cell positive selection. *Nat Immunol*, 2005, 6(4): 373-81
- [7] Jenkinson SR, Intlekofer AM, Sun G, et al. Expression of the transcription factor cKrox in peripheral CD8 T cells reveals substantial postthymic plasticity in CD4-CD8 lineage differentiation. *J Exp Med*, 2007, 204(2): 267-72
- [8] Wang L, Wildt KF, Castro E, et al. The zinc finger transcription factor Zbtb7b represses CD8 lineage gene expression in peripheral CD4⁺ T cells. *Immunity*, 2008, 29(6): 876-87
- [9] Hernandez HG, Sohn SJ, Rothenberg EV, et al. Lck activity controls CD4/CD8 T cell lineage commitment. *Immunity*, 2000, 12(3): 313-22
- [10] Fischer AM, Katayama CD, Pages G, et al. The role of erk1 and erk2 in multiple stages of T cell development. *Immunity*, 2005, 23(4): 431-43
- [11] Ho IC, Tai TS, Pai SY, et al. GATA3 and the T-cell lineage: essential functions before and after T-helper-2-cell differentiation. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(2): 125-35
- [12] Hendriks RW, Nawijn MC, Engel JD, et al. Expression of the transcription factor GATA 3 is required for the development of the earliest T cell progenitors and correlates with stages of cellular proliferation in the thymus. *Eur J Immunol*, 1999, 29(6): 1912-8
- [13] Hernandez HG, Anderson MK, Wang C, et al. GATA 3 expression is controlled by TCR signals and regulates CD4/CD8 differentiation. *Immunity*, 2003, 19(1): 83-94
- [14] Pai SY, Truitt ML, Ting CN, et al. Critical roles for transcription factor GATA 3 in thymocyte development. *Immunity*, 2003, 19(6): 863-75
- [15] Zhu J, Min B, Hu-Li J, et al. Conditional deletion of *Gata3* shows its essential function in TH1-TH2 responses. *Nat Immunol*, 2004, 5(11): 1157-65
- [16] Ling KW, van Hamburg JP, de Bruijin MJ, et al. GATA3 controls the expression of CD5 and the T cell receptor during CD4 T cell lineage development. *Eur J Immunol*, 2007, 37(4): 1043-52
- [17] Wang L, Wildt KF, Zhu J, et al. Distinct functions for the transcription factors GATA 3 and ThPOK during intrathymic differentiation of CD4⁺ T cells. *Nat Immunol*, 2008, 9: 1122-30
- [18] Speck NA, Gilliland DG. Core-binding factors in hematopoietic and leukemia. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(7): 502-13
- [19] Taniuchi I, Osato M, Egawa T, et al. Differential requirements for Runx proteins in CD4 repression and epigenetic silencing during T lymphocyte development. *Cell*, 2002, 111(5): 621-33
- [20] Egawa T, Tillman RE, Naoe Y, et al. The role of the Runx transcription factors in thymocyte differentiation and in homeostasis of naive T cells. *J Exp Med*, 2007, 204(8): 1945-57
- [21] Woolf E, Xiao C, Fainaru O, et al. Runx3 and Runx1 are required for CD8 T cell development during thymopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(12): 7731-6
- [22] Egawa T, Littman DR. ThPOK acts late in specification of the helper T cell lineage and suppresses Runx-mediated commitment to the cytotoxic T cell lineage. *Nat Immunol*, 2008, 9(10): 1131-9
- [23] Setoguchi R, Tachibana M, Naoe Y, et al. Repression of the transcription factor ThPOK by Runx complexes in cytotoxic T cell development. *Science*, 2008, 319(5864): 822-5
- [24] Zhou L, Lopes JE, Chong MM, et al. TGF- β -induced Foxp3 inhibits Th17 cell differentiation by antagonizing ROR γ t function. *Nature*, 2008, 453(7192): 236-40
- [25] Laslo P, Spooner CJ, Warmflash A, et al. Multilineage transcriptional priming and determination of alternate hematopoietic cell fates. *Cell*, 2005, 126(4): 755-66
- [26] Wang L, Carr T, Xiong Y, et al. The sequential activity of Gata3 and Thpok is required for the differentiation of CD1d-restricted CD4⁺ NKT cells. *Eur J Immunol*, 2010, 40(9): 2385-90
- [27] Engel I, Hammond K, Sullivan BA, et al. Co-receptor choice by V α 14 iNKT cells is driven by ThPOK expression rather than avoidance of CD8 mediated negative selection. *J Exp Med*, 2010, 207(5): 1015-29
- [28] Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25: 297-336
- [29] Savage AK, Constantinides MG, Han J, et al. The transcription factor PLZF directs the effector program of the NKT cell lineage. *Immunity*, 2008, 29(3): 391-403
- [30] Haks MC, Lefebvre JM, Lauritsen JP, et al. Attenuation of $\gamma\delta$ TCR signaling efficiently diverts thymocytes to the $\alpha\beta$ lineage. *Immunity*, 2005, 22(5): 595-606
- [31] Park K, He X, Lee HO, et al. TCR-mediate ThPOK induction promotes development of mature (CD24) $\gamma\delta$ thymocytes. *EMBO J*, 2010, 29(14): 2329-41
- [32] Haas JD, Gonzalez FH, Schmitz S, et al. CCR6 and NK1.1 distinguish between IL-17A and IFN- γ -producing $\gamma\delta$ effector T cells. *Eur J Immunol*, 2009, 39(12): 3488-97
- [33] Setoguchi R, Taniuchi I, Bevan MJ. ThPOK derepression is required for robust CD8 T cell responses to viral infection. *J Immunol*, 2009, 183(7): 4467-74