

* 学科发展 *

免疫学的研究进展及面临的挑战

陈慰峰*

(北京医科大学免疫学系 北京 100083)

摘要 文中就免疫学研究的热点问题,如 T 淋巴细胞对抗原分子特异识别的分子机理,淋巴细胞的活化与信号传导,细胞程序死亡与免疫保护及免疫耐受,T 淋巴细胞的发育及机理,免疫学应用的理论研究等作了论述。

关键词 免疫学,细胞因子,基因治疗,爱滋病,肿瘤

免疫学是由特异防止及治疗传染病而发展起来的一门学科。自 1798 年 Janner 开始应用接种牛痘苗预防天花以来,经过近 200 年的努力,世界卫生组织(WHO)在 1979 年宣布:“天花已在全世界范围内被消灭”。这是人类历史上最为辉煌的成就之一。全世界行将消灭的第二个传染病则是脊髓灰白质炎,自 Salk 及 Sabin 分别于 1954 年及 1956 年研制成功脊髓灰白质炎病毒灭活疫苗及减毒活疫苗以来,全世界广泛接种疫苗,将使此传染病在 50 年内被消灭。

当今免疫学的中心任务仍然是提高机体防卫能力,但其作用已是从消灭病原体预防传染病,扩展至消除体内突变出现的肿瘤细胞及防治自身免疫病;免疫学手段已成为抗移植排斥及控制生育的重要工具;免疫学方法已普遍用于各种疾病的诊断及发病机理的分析,免疫学已深入到临床各个学科,扩展至生命科学的各个领域。

免疫学的研究内容是:揭示免疫细胞识别非己成分(非机体正常的自身组成),对有害的非己成分进行特异的应答,并使之排除的机理;揭示免疫细胞的生成及免疫功能获得的发育机理。

目前免疫学研究的热点是:T 及 B 淋巴细胞对抗原分子特异识别的分子机理;淋巴细胞的活化与信号传导;基因活化与淋巴细胞的增殖、分化及功能表达;T 细胞对靶细胞的杀伤及诱导靶细胞发生程序性死亡;免疫系统的网络调节机制;免疫记忆的细胞及分子基础;免疫细胞的发育及胸腺选择。

1 T 细胞对抗原的识别及抗原肽的拮抗剂

T 细胞抗原识别受体(TCR)只能识别表达于抗原呈递细胞(APC)表面的由组织相容性(MHC)分子呈递的抗原肽段(Antigenic peptide),CD8⁺杀伤 T 细胞(CTL)的 TCR 识别表达

* 中国科学院院士

收稿日期:1996 年 10 月 4 日

于 APC 表面的由 MHC I 类分子呈递的抗原肽;CD4⁺辅助 T 细胞(HTL)的 TCR 识别表达于 APC 表面的由 MHC II 类分子呈递的抗原肽。从细胞表面分离并纯化 MHC 分子至晶体进行 X 光衍射分析显示, MHC I 类分子形成多肽结合沟,可结合长度为 8—18 个氨基酸(aa)的外来多肽。

抗原多肽的类似分子与拮抗分子:抗原多肽结合于 MHC 分子的沟内,形成复合分子呈递给 T 细胞,在结合的肽链中某些位的 aa 与 MHC 分子特异结合,称为 MHC 结合要位(MHC Binding Motif);peptide 中的某些位的 aa 与 TCR 分子特异结合,称为 TCR 结合要位(TCR Binding Motif)。改变 TCR 结合要位的 aa,则不能使 T 细胞活化(Anergy)。

按对抗原肽中 TCR 结合要位的 aa 进行替换,对特异 T 细胞克隆应答的影响,可合成抗原肽的类似物(Agonist),仍保存抗原肽的原有作用而特异活化 T 细胞克隆;反之,可合成抗原肽拮抗剂(Antagonist),能拮抗抗原肽对 T 细胞克隆的特异活化,而抑制其功能表达。

TCR 拮抗剂的研究,可能为防治自身免疫病开辟新的特异的途径,TCR Antagonist 已在试验治疗小鼠实验性自身免疫性脑炎(EAE,此病类似于人类的多发性硬化症)中显示作用。其 TCR Antagonist,能特异阻断天然抗原肽段引起的 EAE。TCR 拮抗剂的免疫抑制作用具有特异性,只抑制对此抗原多肽有特异应答的 T 细胞克隆,而不抑制对此抗原多肽不应答的其它 T 细胞克隆,因而不影响对其它抗原的免疫应答,这不同于目前所用的免疫抑制剂,从而可避免后者因普遍抑制免疫应答,而致免疫功能低下导致机会感染的严重后果。

2 T 细胞的活化及信号传导

T 细胞活化需两类信号:TCR 结合抗原肽—MHC 复合分子产生第一信号(Signal 1),再由 CD28 与 APC 表面的 B7 结合产生的辅助刺激信号(即第二信号),使 IL-2 等细胞因子基因活化。如单纯只有 Signal 1,T 细胞虽可进入 G1 期,但无 IL-2 等 Cytokine 产生及提供,细胞不能进入增殖,而处于无能状态(Anergy),继而发生程序死亡,其后果是不能对外来抗原(Ag)应答。只有两类信号同时产生,IL-2 等 Cytokines 及其 receptors 基因均被活化,Cytokines 产生,被活化的 T 细胞利用,才能使细胞进入增殖。

我们今天对细胞信号传导途径的了解,主要获得于对 T 细胞活化后其信号传导途径的认知,T 细胞的信号传导途径大致分为四个阶段:(1)特定的配基与受体结合后,受体分子发生交联及构型改变,使结合于受体胞浆内部分的激酶活化,启动相当特异的信号传导途径;(2)胞内信号传导途径是为激酶和底物的连续反应(Cascade reaction),即激酶使底物磷酸化,后者再活化下游激酶,再使相应底物磷酸化,使信号下传;(3)活化的下游激酶进而诱导活化多种转录调控因子,包括转录抑制因子,它们进入核内,与相应基因调控区结合,调节基因的活化。(4)基因产物的表达,决定细胞的功能表达类型(如细胞的增殖,细胞因子分泌,杀伤功能等等)及表达程度。

综观细胞传导途径可见:一个基因的充分活化,须受多种转录因子的作用,它们被多条信号传导途径所活化,从而使细胞内基因的活化具有严格的生物控制性;另一方面,不同信号活化途径间的激酶和底物相互作用性,使在一些单一的刺激下(如细胞因子及其受体,或粘附分子及其受体),亦会导致目的基因的不同程度的活化,从而使细胞的功能表达又能灵活地呈现生物适应性。

在 T 细胞活化中至少有 70 多种基因活化。至于哪些基因产物诱导细胞增殖、分化及功能

表达过程,仍不够清楚。

3 细胞程序死亡与免疫保护及免疫耐受

细胞凋亡(Apoptosis)现象早在1972年即被报导,近年来对线虫发育的研究,特别是对能诱导鼠及人细胞发生细胞凋亡的Fas及Fas配基(FasL)的发现,认识到细胞凋亡是细胞内的主动过程,是细胞内导致死亡的编程过程(Programmed Cell Death, PCD)被活化的结果(故细胞凋亡又称细胞程序性死亡),从而掀起研究细胞程序性死亡的机理及生物学作用的热潮。

Fas-FasL与PCD信号的产生:实验证明细胞表面Fas(Apo-1)及FasL的结合,激活细胞PCD过程,早在1989年发现一种抗体(Ab)诱导人类细胞系发生死亡,此Ab识别的抗原被称为Fas。Fas基因在1991年被克隆出来,它编码45kDa蛋白。在氨基酸(aa)序列上,Fas蛋白与肿瘤坏死因子受体(TNF-R)同源,因而Fas为一受体,属TNF-R家族。Fas与TNF-R1在胞浆区均有一约70aa的同源肽段,此肽段与果蝇中发现的长度为65aa的成熟子(Reaper)明显同源,果蝇中表达reaper的细胞,则进入PCD,若将Fas胞浆内的此肽段突变删除,则用抗FasAb不能诱导此Fas突变细胞发生PCD,故此区与Fas信号传导相关,被称为“死亡功能区”(Death Domain)。随后发现杀伤T细胞(CTL)杂交瘤能杀伤Fas⁺靶细胞,而不杀伤Fas⁻细胞,进而于1993年从此细胞的文库中克隆出Fas配基(FasL)cDNA,它编码40Kd分子。FasL⁺T细胞与Fas⁺靶细胞结合,使后者发生PCD过程,引起典型的细胞凋亡。

PCD信号传导途径:这一途径尚处于揭示阶段,但已证明几个基因产物传导PCD信号,并调控PCD信号传导过程。

3.1 PCD信号传导基因

首先在线虫*C. elegans*发现细胞死亡基因Ced3(Cell death, Ced)。它是半胱氨酸蛋白酶(Cysteine proteinase)。Ced4分子增强Ced3作用。Ced9抑制Ced3诱导的死亡过程,故Ced9基因被称为细胞死亡抑制基因(Cell death suppresser gene),表明细胞死亡过程受多种基因编码蛋白调控。

在哺乳动物鼠及人中,发现ICE(IL-1 β converting enzyme)与Ced3同源,亦是Cysteine proteinase。向细胞内注射ICE可致细胞死亡。ICE是一家族,包括ICE、ICErel-I、ICErel-II、Nedd-2/ICH-1及CPP-32。这5个基因分别转染细胞,均可引起Apoptosis。

在PCD过程中,ICE/Ced-3成员CPP-32蛋白酶作用的底物(Substrates)是多聚ADP-核糖聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase(PARP)],此聚合酶的作用是修复DNA损伤,保持基因组的完整性。PARP被裂解发生于PCD起始过程,不能修复被内切酶裂解的核小体间(Internucleosomal)DNA;CPP-32拮抗剂Ac-DEVD-CHO可防止细胞发生凋亡。

3.2 PCD信号传导途径的调控

对PCD信号传导途径的了解知识仍不完善,大致是:Fas/FasL结合 \rightarrow PTK活化 \rightarrow ? \rightarrow CPP32/ICE活化 \rightarrow PARP降解失活 \rightarrow 内切酶活化 \rightarrow DNA断裂 \rightarrow 核小体形成,细胞死亡 \rightarrow M Φ 吞噬清除。

Bcl-2家族成员是PCD的重要调控分子,Bcl-2抑制Ca²⁺依赖的CPP-32/ICE活性,而抑制PCD作用,此分子胞外区近细胞膜端发生剪切,形成不同的分子,分别具有促进或抑制PCD的作用。

杀伤T细胞(CTL)诱导靶细胞发生凋亡:效应CTL细胞表面表达FasL,而病毒感染细胞

及肿瘤细胞等靶细胞表面表达 Fas, 当效应 CTL 经其 TCR 特异识别靶细胞后, CTL 释放穿孔素(perforin), 直接损伤靶细胞膜, CTL 并释放颗粒酶(Granzyme, 为丝氨酸蛋白酶), 活化靶细胞内的 CPP32, 降解 PARP, 使细胞发生程序死亡, 故诱导细胞发生凋亡是 CTL 杀伤靶细胞的重要机理。

3.3 细胞凋亡与免疫耐受

在 B 及 T 细胞发育过程中, 95% 以上的不成熟细胞均发生 PCD 而消除。在小鼠胸腺中占全部胸腺细胞 85% 的 $CD4^+CD8^+$ 不成熟胸腺细胞, 此群细胞绝大部分表达 Fas, 发生 PCD 而被消除。若 Fas 或 FasL 异常, 则这类不成熟细胞不被消除, 易发生自身免疫病。故在 T 细胞发育中, 经 PCD 机制消除自身应答 T 细胞克隆, 形成免疫耐受, 防止或减少自身免疫病。Fas 及 FasL 异常见于自然突变的小鼠品系中, 在 MRL 品系小鼠, 其突变株 lpr 及 gld 分别有 Fas 及 FasL 基因的突变小鼠, 易发生 SLE 样多种自身免疫病。

在人类亦报导因 Fas 基因突变(Death Domain 突变缺失 290bp, 或 Fas 基因发生 2 个 bp 损失), 均致病人发生淋巴细胞增生综合征及发生自身免疫病性溶血性贫血、白血球减少症及血小板减少症。

Fas-FasL 诱导细胞凋亡已开始试用于抗移植物排斥, 将 FasL 基因转染被移植细胞, 诱导对移植物应答 T 细胞发生凋亡, 防止对移植物的免疫排斥应答。

4 T 淋巴细胞的发育及机理

自 80 年代 TCR 基因($\alpha, \beta, \gamma, \delta$)被克隆后, 抗原特异 TCR 转基因小鼠的建立及 MHC 基因在特定类型胸腺基质细胞表达的应用; 90 年代基因灭活(Gene disruption)的应用, 进而揭示胸腺内 T 细胞发育的细胞及分子机理。

4.1 胸腺内 T 细胞发育的主要程序

胸腺内 T 细胞发育可归纳为三个阶段, 即早期的 TCR 基因重排及表达; 中间阶段的胸腺选择, 及后期的功能成熟发育。

从小鼠骨髓进入胸腺的祖细胞(Pro-T)已被分离出来, Pro-T 细胞的 TCR 基因为胚系(GL), 在胸腺内可分化为 T 细胞, 亦有少部分发育成 B 细胞及树突状细胞(DC)。在胸腺微环境作用下, Pro-T 细胞内的 RAG-1 及 RAG-2 重组活化酶活化, 激活 TCR β 基因, 使之重排, 并表达 TCR β 链, 细胞进入 Pre-T 阶段。TCR β 链与 Pre-TCR α 基因编码的 pT α 链结合形成二肽链, 接受信号, 经 CD3 分子传递, 激活 TCR α 基因, 使之重排, 并表达 TCR α 链, 它经二硫键与 TCR β 链相连, 组成功能性 TCR $\alpha\beta$ 链, 表达于细胞表面, 若将 TCR β 基因或 Pre-TCR α 基因灭活, 则不发生 TCR α 基因重排, 无成熟 T 细胞产生。细胞表面亦表达 CD4 及 CD8 分子, 标志着细胞从 Pre-T 阶段发育为不成熟胸腺细胞阶段, 即 TCR $\alpha\beta^+CD3^+CD4^+CD8^+$ (TCR $\alpha\beta^+DP$) 的胸腺皮质型细胞阶段。此阶段细胞表面的功能性 TCR $\alpha\beta$ 识别并结合胸腺基质细胞表面的配基(可能为自身多肽抗原)与 MHC 分子, 导致胸腺选择(Thymic selection)。

在胸腺髓质区, TCR $\alpha\beta^+SP$ 胸腺髓质型细胞经历功能成熟发育, 分化为功能性 TCR $\alpha\beta^+CD4^+$ 辅助细胞及 TCR $\alpha\beta^+CD8^+$ 杀伤细胞, 输出胸腺。

在从 TCR $\alpha\beta^+DP$ 向 TCR $\alpha\beta^+SP$ 胸腺细胞发育过程中, 有一部分对自身抗原应答细胞未被克隆消除, 而是发生免疫无能(Anergy), 仍被输出胸腺, 在生理条件下, 这些存在于末梢淋巴组织中的对自身应答的细胞不被活化, 呈现为末梢免疫耐受状态(Peripheral tolerance), 但

当这些细胞活化条件被满足时,则会被活化,导致自身免疫病。

4.2 胸腺选择与 T 细胞发育

对 Ag 特异应答的 TCR 基因转染受精卵建成的转基因小鼠研究,揭示 TCR 转基因(Tg) Pro-T 细胞在胸腺内发育的命运决定于胸腺基质细胞(TSC)是否表达转基因 TCR (TgTCR)识别的 Ag 及呈递该 Ag 的 MHC 分子,TSC 表达者,则 TgTCR⁺胸腺细胞不能发育成熟,在 CD4⁺CD8⁺阶段发生程序死亡消除,TSC 不表达 TgTCR 识别的 Ag,但表达 TgTCR 识别的 MHC,则 TgTCR⁺胸腺细胞发育为功能成熟的 TgTCR⁺CD8⁺CTL,识别相应 Ag-MHC 复合分子,因而 TSC 表达的自身抗原(Self Antigen 或 Self Peptide)及 MHC 类型对胸腺内 T 细胞的发育有选择作用,阳性选择,T 细胞发育成熟;阴性选择,T 细胞不能发育成熟,被克隆消除或成无能状态,形成克隆耐受。

既往研究胸腺细胞增殖的动力学计算出 95% 的胸腺细胞会在胸腺内死亡,但却无形态学上明显的死亡细胞,自细胞凋亡被发现后,以 DNA 末端标记法(TUNEL)检测 DNA 断裂,发现凋亡细胞分布于胸腺皮质区、皮髓质区及髓质区,皮质区的凋亡细胞可能是那些 TCR 不完全重排的细胞,在未进入胸腺选择前,即发生程序死亡。髓质区亦存在凋亡细胞,提示阴性选择不仅在皮髓质交界处,在胸腺髓质区亦仍进行。

4.3 T 细胞的功能发育与胸腺基质细胞的作用

TCR⁺CD4⁺CD8⁺胸腺皮质型细胞,在经历阳性选择后,发育为表现型成熟的 TCR⁺CD4SP 及 TCR⁺CD8SP 胸腺细胞,这类刚产生的 TCR⁺SP 细胞功能并不成熟,但胸腺髓质区的迁出细胞,则功能几乎完全成熟,表明 SP T 细胞在胸腺髓质区进行功能成熟发育。通常认为 SP 细胞的功能成熟是自发过程,我们的实验证明 TCR⁺CD4SP 胸腺细胞需要胸腺髓质区上皮样细胞的诱导,即须两类细胞相互作用,才能进行功能成熟分化,发育为免疫功能细胞。

4.4 胸腺细胞对胸腺基质细胞的反作用

在胸腺内,不仅 TSC 对胸腺细胞的发育有诱导作用,胸腺细胞对 TSC 的发育及功能表达亦有诱导作用,在严重联合免疫缺陷的 SCID 小鼠,胸腺内 T 细胞发育停滞于 CD4⁻CD8⁻(DN)的早期阶段,其胸腺皮质区基质细胞异常,胸腺髓质区不发育,髓质型上皮样细胞数目显著减少,TCR α 基因灭活小鼠,其髓质区不发育,如将 TCR α 基因转入,则胸腺细胞表达 TCR $\alpha\beta$ 分子,髓质区上皮细胞又恢复发育至正常状态,故 TCR $\alpha\beta$ ⁺胸腺细胞能活化胸腺髓质区上皮细胞的发育,我们在体外试验亦证明胸腺细胞可激活胸腺髓质型上皮细胞,使其增殖能力增加,且分泌 IL-6 亦增加。

5 免疫学应用的理论研究

免疫学应用理论的研究在下列领域内开创了新的境界,即艾滋病的免疫发病机理;细胞因子及其受体的基因克隆及重组细胞因子的开发;分子疫苗等等。

5.1 对 HIV 所致艾滋病(AIDS)研究的进展

HIV 所致 AIDS 是全世界最为关注和倾注财力进行研究的严重传染病。

(1)AIDS 发病机理:HIV 感染的全过程特点是 HIV 的持续复制及 CD4⁺T 细胞的持续破坏,致使细胞数目持续下降。对 HIV 感染导致 CD4⁺T 细胞的破坏机理极为复杂,HIV 虽直接有细胞致病作用,能破坏 CD4⁺细胞,但不能解释 CD4⁺T 细胞的持续下降,因 CD4⁺T 细胞的代偿产生速度快于 HIV 在细胞内复制导致细胞破坏速度,HIV 感染初期患者发生有效免疫

应答,产生强有力的 HIV 抗原特异 CTL,使病毒复制下降,随后 B 细胞产生的中和 Ab,亦有消除残余游离病毒作用,使病毒血症消失,但 HIV 却在淋巴组织的 CD4⁺T 细胞内复制,不能被完全消除,使感染进入潜伏阶段。潜伏期可长达 8—10 年,进而发病。现在揭示 AIDS 的发病是由于人 HIV 诱发自身免疫病,导致免疫力持续下降的结果。其证据有:(1)细胞介导的免疫病理作用:CD8⁺T 细胞的(CTL)的特异免疫应答杀伤 HIV 感染 CD4⁺细胞;(2)异常信号传导,HIV 的 gp120 与 CD4 分子结合,破坏 CD4—p56^{lck}的信号传导,致细胞无能(Anergy),并发生 PCD,且 HIV 的 tat 基因编码蛋白使 CD4⁺T 细胞表达 Fas 增加,HIV 的 gp120 及 nef 有超抗原蛋白作用,促进诱发 PCD 过程;(3)自身免疫应答:HIV 感染患者产生抗 CD4Ab,此 Ab 与 CD4⁺细胞结合后,再与补体结合,而致细胞裂解;(4)破坏淋巴细胞产生。

但我们对 HIV 感染的发病机理及免疫防护机理并不完全了解,尚不能解释下列现象:(1)在频繁接触 HIV 环境中,约 5—10%人群并不能感染 HIV,(2)少数人感染 HIV 后 10—15 年仍存活,病情进展极缓慢或不进展,(3)一母体垂直感染的婴儿在新生期分离出 HIV,但长至 5 岁时,却测不出 HIV,血清 Ab 阴性,无临床症状。

(2)抗 HIV 新型疫苗的研制:既往应用重组 HIV 的 gp120 疫苗在临床试验,已证明无效,美国 NIH 已停止扩大其临床试验。但从非洲冈比亚发现的 HIV—2 感染不发病,却有防止 HIV—1 感染的作用,可能两型 HIV 间有交叉抗原,HIV—2 为弱毒株可能用作疫苗,以防止 HIV—1 较强毒株的感染。另研究感染猩猩的爱滋病毒 SIV,如除去其 nef 基因(nef 蛋白亦调控 LTR 活化),则 SIV 毒力显著下降。提示改造人类 HIV,如删除 nef 基因,亦会获减毒株。

基于对 HIV 基因结构的研究已很详细,HIV 亚单位重组疫苗从三方面进行研制:(1)增强机体保护免疫应答的亚单位疫苗:将有益于激活免疫保护应答抗原的编码基因如 CTL,TH1,及 Neut. Ab 构建于一质粒载体。作为疫苗,可望增强其免疫原性而消除其有害作用(如活化 Ts 及 TH2)。其困难是如何获得适宜载体,使能容纳多种外源基因,又能在真核细胞内大量复制。(2)拮抗 HIV 复制亚单位疫苗:将 Ribozyme 基因(裂解病毒 RNA)及 tat 的反义 RNA 等等构造于一载体,或将人 HIV 的 nef 基因删除,作成分子疫苗,可望阻断病毒的复制。(3)将诱导免疫保护应答的 HIV 抗原分子的基因与抑制 HIV 复制基因构建在一起,作成分子疫苗。

5.2 细胞因子的研究及开发

对 Cytokine 的研究自 1980 年以后才发展起来,每年不断有新型 Cytokine 被克隆出来。在 1994 年克隆出的 Cytokine 基因有:血小板生成素(Thrombopoietin, TPO),白细胞介素 15(IL—15),白细胞介素 16(IL—16),淋巴细胞趋化因子(Lymphotoxin)及人白细胞介素 10 受体 α (IL—10R α);干扰素 γ 受体 β 链(IFN γ R β)及人 IFN γ R 辅佐活化分子;1995 年克隆出的 Cytokine 基因有:人白细胞介素 17(人 IL—17),IFN γ 诱导分子基因。

重组细胞因子的应用已发展成为新的基因工程药物工业,特别是红细胞生成素(EPO)及粒细胞集落刺激因子(G—CSF)的临床应用,已产生巨大的经济效益。既往从克隆出细胞因子编码基因到重组细胞因子被批准应用,一般需要 10 年时间,现在这一过程已加速进行。

人 IL—7 及人 IL—12 编码基因分别于 90 年代初才克隆出来,这两种重组 Cytokine 及其基因现在美国已广泛进行临床试用于肿瘤及艾滋病治疗。我国的重组 Cytokines 的开发及应用亦迅速发展,IFN α 已正式生产,IFN γ 及 IL—2 已试生产,G—CSF 及 GM—CSF 已进入临床试验。IL—3,IL—4 及 IL—6 等已进入中试。我国研制重组 Cytokines 的基础仍薄弱,上述

已开发的重组 Cytokines 的基因,均非自己最初克隆,其规模性生产受专利限制。

5.3 肿瘤排斥抗原与肿瘤多肽疫苗

既往对肿瘤细胞是否表达肿瘤特异抗原难以肯定,在一些患者体内,抗肿瘤免疫的抗体 (Ab) 及杀伤 T 细胞 (CTL) 可以测出,但分析不清引起免疫应答的肿瘤抗原。近年来,分子生物学的发展及对 MHC Class I 分子呈递抗原多肽以活化杀伤 T 细胞 (CTL) 的认识,促使直接基因克隆肿瘤抗原,或生化分析肿瘤抗原。

(1) 肿瘤抗原的基因克隆:此研究起始于分析诱导产生抗黑色素瘤的特异 CTL 的肿瘤抗原编码基因,从肿瘤细胞 cDNA 文库中筛选克隆出黑色素瘤排斥抗原 MAGE-1 的编码基因, MAGE-1 分子除表达于睾丸细胞外,不表达于正常细胞,但在黑色素瘤高表达,后又从黑色素瘤细胞 cDNA 文库中相继克隆出 MAGE-3, BAGE 及 GAGE 基因, MAGE 蛋白除表达于黑色素瘤细胞外,尚表达于非小细胞性肺癌(腺癌或立方上皮癌)、膀胱癌(尤侵袭型)、乳腺癌、肉瘤及胶质母细胞瘤。

鉴于睾丸细胞虽表达 MAGE 分子,但细胞表面不表达 MHC 分子,因而不能呈递 MAGE 抗原肽,不能活化相应 CTL 细胞克隆,黑色素瘤细胞表面既表达 MAGE 分子,又表达 MHC Class I 分子,则可呈递 MAGE 抗原肽,活化相应 CTL 克隆。

(2) 肿瘤抗原多肽洗脱分析:须 CTL 细胞表面的 TCR 识别的是结合在 MHC Class I α 链的抗原结合沟内的抗原肽,将结合于 MHC Class I 分子的抗原肽用酸洗脱下,经 HPLC 层析分析,测定其诱导 CTL 应答,以了解肿瘤抗原肽,再经质谱分析鉴定。

(3) 肿瘤抗原多肽疫苗:经 MHC Class I 分子呈递的抗原肽的长度一般为 8-15 个 aa,易于大量人工合成,而作成肿瘤多肽疫苗,行主动免疫,为防止或减少肿瘤细胞的突变,使疫苗失效,根据肿瘤细胞常表达的由数个基因编码的数种肿瘤排斥抗原,应用多种抗原肽制作肿瘤多肽疫苗,以减少癌细胞的免疫逸脱。

6 结束语

免疫学的新的发现,将为免疫学的应用开创新的局面,将提供更有效的手段去征服人类的多种疾病。Fas 基因及其配基基因克隆,将有可能用于预防同种异体器官的移植排斥;通过诱导自身应答免疫细胞克隆的死亡,以治疗自身免疫病,及促进肿瘤细胞死亡,以治疗肿瘤;使用抗原肽的拮抗剂,将能有选择性地阻断对抗原特异应答的 T 细胞克隆,而不影响其它免疫细胞功能,以特异阻断自身免疫病,但仍保持免疫细胞的正常防卫功能。细胞因子及其基因治疗将会普及化,常规化。但自然界的生物演变从未停止,新的病原体时有出现,如 1981 年后出现的 HIV 所致艾滋病已成为威胁全人类的传染病;肝炎病毒在第三世界的广为传播,导致慢性肝炎及肝癌流行;已行控制的结核病,又因细菌突变,使原有卡介苗预防效率下降,结核病发病上升,使免疫学工作者面临新的严峻挑战。病毒抗原的多样性及易变性,加之发病机理的复杂性,传统方法制作的疫苗缺乏效果,只有对病原体的抗原分子及其基因、发病机理及细胞破坏机理、免疫应答类型及免疫保护机理进行详尽透彻的研究,才有可能研制成功有效的菌疫苗。免疫工作者肩负时代的使命,紧迫而艰巨,任重而道远。