

免疫监视中的遗弃分子——天然 IgM 抗体

黄灵芝

(军事医学科学院野战输血研究所, 北京 100850)

摘要: 一直以来由于 IgM 的低亲和性、交叉反应性和五聚体结构等特性,被认为是免疫分子中的无用者,但是对天然免疫的研究发现,天然 IgM 抗体对细胞、病毒、真菌和自体突变成分的识别使其在恶性肿瘤的治疗和诊断中发挥作用。同时对其不利特性有了另一种看法,如低亲和性对其功能有利,且不排除特异性,交叉反应性不再认为是非特异性,而是体现免疫识别的经济性。天然 IgM 抗体糖类表位的发现为肿瘤的诊断和治疗打开了新的领域。

关键词: 天然 IgM 抗体; 人类抗体; 免疫监视; 恶性肿瘤

中图分类号: R392.11; R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2007)03-0213-03

1 免疫监视

在 100 年前, Ehrlich 发现动物可以被白喉毒素所免疫,而且高浓度的动物抗血清可以成功地免疫儿童使其免受白喉毒素感染。因此推测,被感染动物血清中的这种分子可以识别并清除病原体,因此于 1897 年提出了著名的抗体形成的“侧链学说”。今天人们知道这些侧链或遗弃受体代表了抗体分子,这种物质正是 Ehrlich 所说的“神奇的子弹”,能够吸引引起疾病的微生物并消灭他们,防止其对机体产生破坏作用。同时 Ehrlich 也预测免疫系统不仅能消灭微生物入侵者,也可以通过产生针对恶性细胞的抗体抑制肿瘤生长。

在 Ehrlich 数十年后 Burnet 提出免疫监视学说,认为机体在与环境作斗争的过程中,免疫系统具有一个十分完备的监视功能,能精确地分辨“自己”和“非己”成分;它不仅能清除外界侵入的各种微生物,排斥同种异体移植物,而且还能消灭机体内突变的细胞,防止肿瘤的生长,保护机体的健康。为了清除外源病原体的作用,体内存在有效的免疫监视体系,如遗传、迅速应答和二次免疫记忆等。天然免疫并不仅仅是第一条防线,同时也会刺激获得性免疫反应的产生,由自然杀伤(NK)细胞、树突状细胞、肥大细胞、巨噬细胞和天然 IgM 抗体产生 B 细胞。

天然免疫反应是基本不变的,通过胚系基因编码的受体发挥作用。NK 细胞、 $\gamma\delta$ -T 细胞和 CD5⁺B

细胞等有大量不同抗原的细胞表达这些受体,属于最近发现的模式识别受体家族,与果蝇 Toll 蛋白和人 IL-1 受体家族有一定的同源性。这种 Toll 样受体(TLR)并不只识别特异性单一结构,同时识别其他与病原体相关的分子结构,如糖蛋白和糖脂上的糖类以及重复结构(LPS)等。这种识别体系保证了免疫反应的发生基于结构的变化但又不完全依赖于结构的变化,从而维持细胞稳定性和细胞保护机制。

天然 IgM 抗体在基础防御机制中发挥重要作用,它们能够最早识别外源病原体如细菌、病毒、细胞碎片和自身突变体等,同时也可以识别并清除癌前病变和癌症损伤。

2 胚系变异性

天然 IgM 抗体由胚系基因编码,无亲和成熟,超过 80% 的单克隆抗体由 VH3 基因家族的 VH 基因表达。在这个家族中胚系基因 DP47 和 DP49 过表达。胚系基因的表达代表了 70% 全序列的 VH 基因,且其表达强度比文献记载显著升高。通过肿瘤特异性抗体对 VH3 基因家族的应用有助于了解病原体的特异免疫反应,其中一些基因也参与了细菌和病毒的体液免疫机制。

重链基因的遗传限制并不是唯一的,VL 基因也存在遗传限制性。从癌症病人中分离的 90% 的单克隆抗体含有 λ 轻链基因,这与未刺激的 B 细胞群的 λ 轻链不同,两者只有 40% 的轻链属于同型 λ 。单克隆抗体 VL 区和其胚系 VL 基因的一致性达 97%,这与 VH 基因和其同源的胚系基因有相似的一致性。

VH-区,VL-区和胚系基因有高度的同源性,且

收稿日期:2006-11-20

作者简介:黄灵芝,女,在读硕士研究生,研究方向:免疫血液学,
Tel:010-66931904, E-mail:huanglz1982@163.com

R/S 比值较低,提示了抗体的亲和成熟,同时暗示从癌症病人或健康志愿者中分离的抗体并不是由于抗原的结合导致体细胞突变而产生亲和成熟。

抗体库具有遗传限制性,没有或很少有突变。然而可以通过胚系免疫球蛋白基因的组合使天然免疫球蛋白受体具有一定的遗传可变性。对重组体进行进一步的缺失,增加或突变同时保证了受体的遗传性和可变性,进而可以覆盖广谱抗原,从而无需附加突变就可以发挥有效的保护作用。

3 分子大小与抗体穿透性

大约 30% 血液循环中的免疫球蛋白为五聚体 IgM,同时存在于胃肠道、淋巴管、粘膜组织和骨髓中。然而,利用天然 IgM 分子进行癌症治疗的最大问题是五聚体 IgM 分子量达 106 ku,不能通过血管内皮屏障和周围组织。对移植有人肿瘤细胞的小鼠或其他动物进行观察发现,大部分经皮下,随后才能检测到扩散的和穿透型的放射性标记抗体。总的来说,只有小抗体片段才能大量蓄积,而大分子抗体主要存在于血液中。

与小分子相比,完整的抗体分子穿透较慢,但是完整的 IgM 抗体经静脉或腹腔注射之后可以到达小鼠的肿瘤移植部位以及肿瘤病人的原发灶和转移灶。

腹腔注射五聚体 IgM 能够经皮下到达肿瘤组织。基于抗体诱导的凋亡效应,肿瘤体积有所减小,从而表明五聚体分子可以离开腹腔,进入血液循环到达肿瘤组织,在此过程中抗体通过了若干个淋巴内皮屏障或血管。

另一个五聚体 IgM 抗体可以穿过内皮屏障的证据表明,在胃癌病人的临床试验中静脉注射人单克隆 IgM 抗体 SC-1,用药后经胃切除术发现,在原发灶和转移灶能观察到形态学显著的改变和凋亡。

IgM 的穿透速度可能比 HL 单体和免疫球蛋白片段较慢,但不管 IgM 经何种方式给药或需要穿过何种屏障,最终都能达到靶位置。若需抗体的大量积累和快速到达肿瘤组织,需要特定的给药方式如利用抗体作为载体,若它们同时具有诱导凋亡、低穿透性和积累等生物学特性将更加有利。

4 寡反应性抗体的经济性

基于 Burnet 的克隆选择理论,淋巴细胞只能产生单一的特异性抗体。然而杂交瘤技术改变了这种观点,如很多肿瘤敏感性的单克隆抗体并不针对单

一抗原,而可以与数个不同的且不相关的抗原发生反应。起初认为这些寡反应性抗体只能与自身抗原发生反应,但后来发现这些抗体可以同样与外源抗原结合,而且在具有免疫功能的病人中发现,大多数寡反应性抗体属于 IgM,但其中一些为可以结合蛋白、糖类、脂质和核酸的 IgG 和 IgA。从进化的观点来看,寡反应性抗体在亲缘关系较远的物种中都可以发现。现在人们知道天然 IgM 抗体的交叉反应性是典型的,且是其作为清道夫或第一道防线功能所必需的。由于面对大量的非己物质和结构,而受体基因有限,所以必须进化成经济有效的识别系统,从而识别由不同载体携带的保守性结构。

目前对于诱导肿瘤细胞凋亡的 IgM 抗体 SAM-6 的机制还不清楚。肿瘤特异性 IgM 诱导了肿瘤细胞中性脂质的积累,从而诱导肿瘤细胞凋亡,通过扫描电镜分析可以观察到凋亡小体的形成。中性脂质、甘油三酯对每个细胞都很重要,对脂质如 LDL 的结合和吸收进行严格调节,从而保证机体脂质代谢平衡。非生理性细胞内脂肪酸的积累可以打破这种平衡,从而导致细胞凋亡,引起脂质毒性心肌病。但脂质诱导凋亡的机制还不完全清楚。在正常状态下,负反馈机制可以抑制过度吸收,然而在一些心血管疾病中,心肌细胞中脂质的大量积累导致细胞坏死,最终导致组织坏死。

SAM-6 抗体使得脂蛋白在肿瘤细胞中大量积累,从而达到清除外源细胞的目的,也是天然免疫受体经济性的最好实例。

5 低亲和性的优点

研究发现,恶性肿瘤细胞的重要变化是细胞表面糖脂和糖蛋白上糖类残基的转录后修饰,这些变化可能与肿瘤细胞的生长、迁移和粘附有关。

与癌症相关的糖基化改变包括聚糖的低表达或过表达,以及新聚糖的产生。这些与肿瘤相关的糖类抗原是免疫监视和天然 IgM 抗体的主要作用靶标。

衰变加速因子(DAF 或 CD55)是细胞表面分子,通过自身补体防止溶胞作用。在同一组织的不同细胞中可以呈现不同的异构体。在胃癌细胞膜上,天然 IgM 抗体 SC-1 结合特异性修饰的 DAF-B(CD55)异构体,这种修饰的分子(CD55/SC-1)与胃癌细胞表面野生型 CD55 共表达,使得 SC-1 抗体检测到肿瘤特异性的 CD55 糖类表位,从而诱导肿瘤

细胞凋亡。

由于肿瘤细胞的大量快速繁殖需要能量,因此生长因子受体如 EGFR 或 FGFR 也常在肿瘤细胞表面过表达。阻断这些受体可以导致细胞饥饿或死亡,人胚系编码的单克隆 IgM 抗体 PAM-1 与膜受体结合,形成 130 ku 的完整的膜糖蛋白,为富含半胱氨酸的成纤维生长因子受体 CFR-1 的同系物,转录后修饰的 CFR-1/PAM-1 受体几乎在各种类型的上皮肿瘤表达,与抗体 PAM-1 的结合诱导了肿瘤细胞凋亡。IgM 抗体的糖类表位的表达相对稳定,不仅表达在各种肿瘤组织,而且也在原发性肿瘤、淋巴结、肝转移灶中发现。

免疫性不仅仅是肽段的识别和呈现,糖类也可以作为免疫表位。这些糖类表位易于扩大交叉反应,因而可以作为天然 IgM 抗体的优先作用靶标。低亲和性的天然 IgM 抗体可以检测呈现在不同分子上的糖类表位,五聚体的亲和性可以补偿天然 IgM 抗体的低亲和性。

6 IgM 的独特性

体内利用天然 IgM 抗体作为清道夫清除细胞碎

片和错误修饰分子,并作为第一道防线抵抗入侵者和突变细胞,同时天然免疫能够激发二次免疫反应诱导免疫记忆。糖类被认为是 T 细胞非依赖性抗原,不能被完全适应性机制特异性识别以诱导适应性免疫反应。研究表明糖类在免疫识别中发挥重要作用,目前已知一些糖类被 MHC II 分子提呈给 T 细胞。研究表明,蛋白糖基化的不同可能与一些疾病如类风湿性关节炎有关,进而影响了免疫系统对胶原的识别。表明适应性免疫系统对自体抗原糖类识别的重要性。

到目前为止,尚无成熟有效的肿瘤特异性抗体被检测和分离。因此免疫系统对外源细胞的识别局限于天然免疫机制,不能诱导亲和性成熟,在肿瘤细胞内隐藏或重新感染其他组织时,几乎不能发挥作用。所以虽然大部分外源细胞在早期就可被清除,但癌细胞例外。

7 展望

在经 30 多年对异体免疫的研究之后,相信更加有效的抗体已经存在并且即将用于人类疾病的治疗。

(上接第 212 页)

疫苗能产生抗炎症的 Th2 型免疫反应。小鼠白介素-4 融合 A β 42 的 DNA 疫苗可产生增强的 Th2 型免疫反应。编码粒细胞和巨噬细胞集落刺激因子的腺病毒载体和 A β 42 DNA 疫苗联合免疫也倾向 Th2 反应。与肽疫苗比较,基因枪递送的 A β DNA 疫苗具有高效、防自身耐受和引起有益的 Th2 型免疫反应等优点,减少用 A β 42 肽可能引起的 Th1 型反应所致的副作用。

开发基于基因治疗的非炎症清除 A β 的另一途径是应用单链抗体。实验显示,腺病毒介导的从人类单链抗体库分离到的单链抗体的鞘内和肌肉注射,能有效降低脑中 A β 数量,而不激活小胶质细胞和 T 淋巴细胞。因为单链抗体继承了亲代抗体的一些性质,故可开发一种替代的非炎症疫苗,即模拟

主动免疫治疗,而不引起有害的 T 细胞反应和 Fc 介导的炎症。

8 结语

A β 的稳态水平依赖于产生、清除和内流间的平衡。近来,病理学、遗传学和转基因动物研究均提示 A β 受体介导的 BBB 转运和酶介导的降解,在 AD 病人中都受到损害。免疫治疗减少 A β 沉积是有效的,其临床试验因副作用而中止,但疫苗改进后仍有希望成为 AD 的有效治疗方法。已显示有数种可结合 A β 的物质可从脑中清除 A β 。促进受体介导的 A β 从脑中外流,抑制通过 BBB 的 A β 内流,上调酶介导的 A β 降解,克服免疫治疗的副作用和寻找新高亲和力可结合 A β 的药物是未来治疗 AD 的一些有希望的途径。