表位肽的亲和力实验原理主要是利用T2细胞系的特点:T2细胞表面空载的HLA-A2.1分子表达极不稳定,呈递后很快降解,抗原肽与之结合后稳定了HLA-A2.1分子的表达,抗原肽与HLA-A2.1分子的结合力越强,则T2细胞表面HLA-A2.1分子的表达量就越高,而且因为T2细胞的内源性抗原呈递途径中必需的TAP缺陷,所以T2表面HLA-A2.1分子表达量的增加直观地反映了外来抗原肽与HLA-A2.1分子的结合力。

运用多项式方案、量化基序法和OSAR法初步扫描APLs,进一步在体外验证其与MHC分子的结合亲和力。实验结果提示:改造后的多肽都增强了与MHC分子的结合亲和力。用L、M替换天然肽P2位V,显著提高了多肽与HLA-A2.1分子的结合亲和力($P<0.01$)。有趣的是,进行P2位替换的APLs(SLL、SML多肽)的亲和力,高于P1、P2位同时替换的APLs(YLL、YML多肽),这与软件预测的结果不一致。可能是Y与L或M之间由于构象的变化、电荷排斥或位阻效应影响,减弱其与MHC的亲和力。Terasawa等[10]在筛选前列腺特异性抗原(PSA)的激动剂时也发现这个现象。

多肽与MHC分子、β_2微球蛋白形成的三聚体的结合和解离是一个连续的动态平衡的过程,多肽与MHC分子的解离速率越慢,其复合物也就越稳定,使得肽/MHC复合物与TCR的识别时间就越长,有利于CTL的活化[9]。APLs/MHC复合物稳定性的实验表明:天然肽和APLs与MHC分子结合稳定性均较高,DC50大于6 h。SML多肽在6 h时MHC/多肽复合物仍保持了80%,与另外3条APLs和天然表位相比,MHC结合稳定性最高。而SLL多肽的MHC结合亲和力虽在天然肽和APLs中最高,但其MHC结合稳定性最低(53%)。多肽与MHC分子的结合亲和力和结合稳定性是评价多肽的MHC结合能力及其免疫原性的重要参数。SML多肽与MHC分子的结合亲和力和稳定性均较天然肽高,且较其它APLs的MHC结合能力更强,推测SML多肽可能是TRP-$2_{(180\text{-}188)}$(SVYDFFVWL)的激动剂。

综上所述,本研究采用理论和实验相结合的方法修饰并初步鉴定了TRP-$2_{(180\text{-}188)}$表位APLs与MHC分子结合能力。APLs是否能较天然肽诱发更强的CTL反应,SML多肽是否较其他APLs具有更强的活化CTL的能力,能否逆转低亲和力CTL"无能"的状态,还有待进一步体内、外免疫效应实验证实。

参考文献:

[1] Parkhurst M R, Fitzgerald E B, Southwood S, *et al*. Identification of a shared HLA-A*0201-restricted T-cell epitope from the melanoma antigen tyrosinase-related protein 2 (TRP2)[J]. Cancer Res, 1998, 58(21): 4895-4901.

[2] Liu G, Khong H T, Wheeler C J, *et al*. Molecular and functional analysis of tyrosinase-related protein (TRP)-2 as a cytotoxic T lymphocyte target in patients with malignant glioma[J]. J Immunother, 2003, 26(4): 301-312.

[3] Harada M, Yamada H, Tatsugami K, *et al*. Evidence of the extrathymic development of tyrosinase-related protein-2-recognizing CD8+ T cells with low avidity[J]. Immunology, 2001, 104(1): 67-74.

[4] Rivoltini L, Squarcina P, Loftus D J, *et al*. A superagonist variant of peptide MART1/Melan A27-35 elicits anti-melanoma CD8+ T cells with enhanced functional characteristics: implication for more effective immunotherapy[J]. Cancer Res, 1999, 59(2): 301-306.

[5] Snyder J T, Alexander M A, Miller M A, *et al*. Molecular mechanisms and biological significance of CTL avidity[J]. Curr HIV Res, 2003, 1(3): 287-294.

[6] Madden D R, Garboczi D N, Wiley D C. The antigenic identity of peptide-MHC complexes: a comparison of the conformations of five viral peptides presented by HLA-A2[J]. cell, 1993, 75(4): 693-708.

[7] Tourdot S, Scardino A, Saloustrou E, *et al*. A general strategy to enhance immunogenicity of low-affinity HLA-A2.1-associated peptides: implication in the identification of cryptic tumor epitopes[J]. Eur J Immunol, 2000, 30(12): 3411-3421

[8] van der Burg S H, Visseren M J, Brandt R M, *et al*. Immunogenicity of peptides bound to MHC class I molecules depends on the MHC-peptide complex stability[J]. J Immunol, 1996, 156(7): 3308-3314.

[9] Brinkman J A, Fausch S C, Weber J S, *et al*. Peptide-based vaccines for cancer immunothe rapy[J]. Expert Opin Biol Ther, 2004, 4(2): 181-198.

[10] Terasawa H, Tsang K Y, Gulley J, *et al*. Identification and characterization of a human agonist cytotoxic T-lymphocyte epitopr of human prostate-specific antigen[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(1): 41-53.

(编辑 栗 嘉)

作者书写数字须知

根据《关于出版物上数字用法的规定》,本刊实行三位分节法(即从小数点算起,向左向右每3位分1节,节间留出一定空隙),废除千分撇分节法(如2,431改为2 431)。但年份、页数、部队编号、仪表型号、标准号不用三位分节法。中文出现的数字,凡属计数数值,一律用阿拉伯数字表示。

本刊编辑部