doi:10.11659/jjssx.10E022006

·综 述·

IgY应用于生物感染领域的药理学研究进展

卢 韦[1,2],肖雁冰[2] (1.遵义医科大学研究生院,贵州 遵义 563003;2.遵义医科大学附属妇幼保健院妇科,贵州 遵义 563003)

[摘 要] 卵黄免疫球蛋白(IgY)是一种多克隆抗体,无毒副作用,其能通过特异性地与相应抗原结合,并保持可逆及非共价性地形成抗原-抗体复合体,达到使抗原失活的目的,在机体防御中发挥作用。利用IgY具有结合外来抗原特异性和针对性的优势,将其制备成了卵黄球蛋白,并研制出许多成品药物用于人、牲畜等抗感染治疗,诸如瑞琳他抗类药物,该类药物主要应用于女性人乳头状瘤病毒(HPV)感染治疗。故本文就IgY应用于女性HPV感染领域及其他生物感染领域的药理学研究进展进行综述。

[关键词] 瑞琳他抗;卵黄免疫球蛋白;HPV感染;检测;防治

[中图分类号] R71 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-10-06

Research progress in the pharmacology of IgY in the field of biological infection

LU Wei[1,2], XIAO Yan-bing[2] (1. Graduate School, Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou 563003, China; 2.Department of Gynecology, Maternal and Child Health Hospital Affiliated to Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou 563003, China)

Abstract: Immunoglobulin yolk (IgY) is a kind of polyclonal antibody with no toxic and side effects. It can inactivate antigens by specifically binding with corresponding antigens and forming antigen-antibody complexes reversibly and noncovalently, thus playing a role in body defense. Taking advantage of IgY's specificity and pertinence in binding foreign antigens, it was prepared into yolk globulin, and many finished drugs have been developed for anti-infection treatment of human and livestock, such as relinta antibiotics, which are mainly used for the treatment of female human papillomavirus (HPV) infection. Therefore, the pharmacological research progress of IgY in the field of female HPV infection and other biological infections is reviewed in this paper.

Keywords: relinta antibody; immunoglobulin yolk; HPV infection; detection; prevention

[基金项目] 贵州省卫生健康委员会(gzwkj2023-429)

[通信作者] 肖雁冰,E-mail:273140954@qq.com

[34] Belmonte MK, Allen G, Beckel-Mitchener A, et al. Autism and abnormal development of brain connectivity[J]. J Neurosci, 2004, 24(42): 9228-9231. doi:10.1523/JNEUROSCI.3340-04.2004.

[35] Weng SJ, Wiggins JL, Peltier SJ, et al. Alterations of resting state functional connectivity in the default network in adolescents with autism spectrum disorders[J]. Brain Res, 2010, 1313: 202-214. doi: 10.1016/j.brainres.2009.11.057.

[36] Lehner KR, Yeagle EM, Argyelan M, et al. Validation of corpus callosotomy after laser interstitial thermal therapy: a multimodal approach [J]. J Neurosurg, 2018: 1-11. doi: 10.3171/2018.4.JNS172588.

[37] Andronikou S, Pillay T, Gabuza L, et al. Corpus callosum thickness in children: an MR pattern-recognition approach on the midsagittal image [J]. Pediatr Radiol, 2015, 45(2): 258-272. doi: 10.1007/s00247-014-2998-9.

[38] Boger-Megiddo I, Shaw DW, Friedman SD, et al. Corpus callosum morphometrics in young children with autism spectrum disorder[J]. J Autism Dev Disord, 2006, 36(6): 733-739. doi: 10.1007/s10803-006-0121-2.

[39] Cowan WM, Fawcett JW, O'Leary DD, et al. Regressive events in neurogenesis[J]. Science, 1984, 225(4668): 1258-1265. doi: 10.1126/science.6474175.

[40] Lamantia AS, Rakic P. Axon overproduction and elimination in the corpus callosum of the developing rhesus monkey[J]. J Neurosci, 1990, 10(7): 2156-2175. doi: 10.1523/JNEUROSCI.10-07-02156.1990.

[41] Maximo JO, Keown CL, Nair A, et al. Approaches to local connectivity in autism using resting state functional connectivity MRI[J]. Front Hum Neurosci, 2013, 7: 605. doi: 10.3389/fnhum.2013.00605.

[42] Nair S, Jao KR, Berkebile MM, et al. Local resting state functional connectivity in autism: site and cohort variability and the effect of eye status [J]. Brain Imaging Behav, 2018, 12(1): 168-179. doi: 10.1007/s11682-017-9678-y.

[43] Keown CL, Shih P, Nair A, et al. Local functional overconnectivity in posterior brain regions is associated with symptom severity in autism spectrum disorders [J]. Cell Rep, 2013, 5(3): 567-572. doi: 10.1016/j.celrep.2013.10.003.

[44] Dajani DR, Uddin LQ. Local brain connectivity across development in autism spectrum disorder: a cross-sectional investigation[J]. Autism Res, 2016, 9(1): 43-54. doi: 10.1002/aur.1494.

(编辑:魏 源)

免疫球蛋白(immunoglobulin,Ig)是由机体受到外来抗原物质刺激后,记忆细胞增殖或免疫系统细胞(B细胞)分化而成的浆细胞产生,其可特异性地识别并结合外来抗原,使抗原失活[1]。有研究通过把家禽进行特定抗原免疫,使家禽产生相应的特异性抗体,抗体进入血液循环,当血液流经卵巢时,特异性抗体在卵细胞中慢慢蓄积,并储存于卵黄中,这种抗体被称为卵黄免疫球蛋白(immunoglobulin yolk,IgY),IgY是卵黄中独一无二的免疫球蛋白,是人免疫球蛋白G(IgG)的高度保守同源物,主要应用于人类传染病动物模型研究[2]。IgY又称卵黄抗体,是一种多克隆抗体,这些由动物免疫系统产生的蛋白能够中和包括病毒抗原在内的抗原分子,具有特异性和针对性,无毒副作用,其能通过特异性地与相应抗原结合,并保持可逆及非共价性地形成抗原-抗体复合体,达到使抗原失活的目的,在机体防御中发挥作用[3-4]。IgY作用快,易于生产,成本低,对环境的危害小,可广泛应用于人和动物感染等方面的检测、预防和治疗[5-6]。IgY具有一般免疫球蛋白不具备的高保守蛋白的强反应性,且专门针对哺乳动物,仅需利用少量的抗原刺激就能持续在免疫鸡蛋黄中获得。目前,制备IgY的工艺已成熟并简单化,王旭婷[7]就冻融蛋黄提取IgY的最佳工艺条件进行了深入探索,阐明了冻融-水稀释法分离IgY的原理,为IgY的工业化生产优化和抗幽门螺杆菌IgY的应用提供了研究基础。瑞琳他抗是近年来治疗女性人乳头状瘤病毒(human papillomavirus,HPV)感染的新贵,其主要生物作用成分就是IgY。本文就IgY在女性HPV感染领域的药理学作用展开综述。

1 IgY的分子结构及理化性质

IgY是瑞琳他抗的主要药理成分,是鸡蛋中主要的抗体,包含2条轻链(2L)和2条重链(2H),轻链包括1个稳定区和1个变化区,相对分子质量25 KDa;而重链分为4个稳定区和1个变化区,相对分子质量65 KDa。IgY双链(包括重链和轻链)的特殊结构需要仅有单拷贝的可变基因(V)和功能基因(J)进行基因重组,鸡主要是通过基因转化,将可变基因和功能基因从大量的假基因转移至表达位点,以确保抗体多样性;同时鸡抗体多样性又取决于基因转变,使得在种系功能性基因有限的条件下,生物体能迅速产生大量特异性抗体,而这种抗体是通过同源重组的方式产生的,可针对不同抗原发挥作用效能[8]。IgY与哺乳动物IgG的功能有所区别,IgY不与哺乳动物的Fc受体和补体受体产生作用,更不能激活哺乳动物的补体系统,也不能结合葡萄球菌蛋白A、葡萄球菌蛋白G和相关类风湿因子等[9]。以上这些特性为IgY成功应用于诸多研究领域(如疾病诊断、替代抗生素治疗及异种器官移植等)提供了条件[10]。

IgY性能稳定,其活性在60 ℃巴氏灭菌条件下不会下降,且在pH4.0~11.0时稳定;IgY分子可以在低温条件下(4 ℃)保存较长时间(5~10年),且活性比较稳定,在室温下一般可储存不少于6个月,在37 ℃下可储存至少1个月,在-20 ℃条件下甚至可以长期储存,但在-70 ℃下储存会损失一半活性[11-12]。据研究报道,IgY不仅可抵抗幼龄动物的胃酸屏障,还不会被肠道中胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶消化[13]。由于IgY不仅有针对哺乳动物高保守蛋白的强反应性,同时也具备低交叉反应性,因此许多药物成品以此作为主要成分,替代抗生素预防和控制疾病等[13];甚至还开发出食源性IgY,用于调控炎症、防治疾病、平衡营养和调节稳态,口服微囊化IgY包载体系,有望成为解决如新型冠状病毒肺炎等突发卫生事件的新途径[14]。国外有研究报道,IgY的组合物可以生产为饲料添加剂或药品,口服IgY被认为是安全的,口服IgY研究技术是一种用于预防病毒感染和治疗的创新方法[15],但肠胃外给药IgY的安全性仍有待证明。

2 IgY的药理学作用机制

特定的IgY能黏附于细菌的菌毛上,使细菌不能黏附于黏膜上皮细胞,从而失去感染能力;也能黏附于特定病毒的衣壳上,直接抑制病毒的生长繁殖;同时能够发挥调理作用促进单核巨噬细胞对病毒的吞噬;还能起到中和如细菌、霉菌等毒素的作用;与病毒抗原结合后,可使病毒失去感染宿主细胞的能力,从而达到中和病毒的目的[16]。而IgY的抗病毒(即HPV病毒)机制可能是清除游离的病毒颗粒,同时可以直达受感染的宿主细胞内,清除受感染的宿主细胞,形成体液免疫+细胞免疫+吞噬免疫的“鸡尾酒疗法”,进而达到完全清除HPV病毒的目的[17]。有研究报道,IgY可以通过抑制病毒颗粒的细胞间传播,从而抑制病毒定植[18]。寇海燕等[19]将卵黄粉稀释液与CyHV-2混合后孵育鲤鱼上皮瘤细胞,结果表明CyHV-2病毒解螺旋酶基因表达水平下调60%,与空白对照组和阴性对照组比较差异明显,证明IgY具有较好的病毒中和作用,可显著降低病毒表达量。

HPV包含2种主要的编码蛋白(L1和L2),其均在病毒复制周期的晚期合成,病毒体外壳蛋白包含72个L1蛋白的五聚体,位于二十面晶状体结构的顶角位置[20]。L1蛋白结构能够定位HPV病毒,并具有中和表位和鉴定抗体中和反应的机制。Lowy等[21]推测高危

型L1蛋白的表位多肽有可能作为亚单位疫苗免疫机体并诱导产生特异性抗体。有研究发现,抗HPV抗体所识别的大多数B细胞表位位于L1蛋白上[22]。E7癌蛋白是HPV16型中的主要致瘤蛋白,Di Lonardo等[23]和裴娇[24]制备了抗HPV16 E7蛋白的2种抗体,分别为IgG和IgY,结果发现只有IgY能识别HPV16 E7蛋白,说明IgY诊断HPV16型感染有很好的特异性,裴娇[24]利用5种高危型HPV L1蛋白的共同抗原表位合成多肽免疫并接种海兰母鸡,从而产生了特异性的IgY抗体,将多个抗原表位预测方法结合起来对5种高危型HPV(16、58、18、52、33)的L1蛋白共同抗原表位进行分析和筛选,提高了HPV预测的准确度和可靠性。瑞琳他抗就是基于IgY的以上功能,专门针对HPV感染领域发挥抗病毒作用。刘晓霞等[25]就瑞琳他抗治疗HPV的疗效开展临床研究,治疗组A、治疗组B、对照组C治疗3个月,病毒载量均显著降低,与对照组比较,治疗组A抗HPV转阴率明显高于其他组。综上所述,瑞琳他抗是治疗HR-HPV持续感染有效、安全的药物。

3 IgY在HPV感染领域的应用

HPV16/18是高危型HPV,与宫颈癌、宫颈上皮内高度病变的发生密切相关。多晓玲等[26]把HPV-IgY与宫颈癌Caski细胞共培养后,发现细胞增殖能力显著下降及凋亡速度增加,同时测定HPV18 E6 mRNA表达量下降及p53蛋白表达量上升,在检测Caski细胞中的p53基因变化时,发现宫颈癌Caski细胞抑制作用也相应消失,推测p53基因可能是IgY对HPV的重要作用靶点。众所周知,p53是细胞内重要的抑癌基因,可以通过控制其下游基因p21从而阻滞细胞周期发展,也可通过调控Bax/Bcl2、Fas/Apol、IGF-BP3等蛋白发挥促进细胞凋亡的作用,并兼有维持基因组稳定及抑制肿瘤血管生成的作用。因此,HPV-IgY通过作用于p53及下游相关信号通路,发挥抑制HPV的作用,避免机体进一步发展成宫颈上皮内瘤变及宫颈癌。综上所述,基于微环DNA技术制备的高效价卵黄抗体HPV-IgY能通过p53信号通路抑制宫颈癌细胞的增殖,并诱导其凋亡,有望成为治疗HPV感染和预防宫颈癌的新型成分,而瑞琳他抗就是基于这样的理念,以IgY作为主要成分研制而成的一种新型抗HPV感染药物。但多晓玲等[26]的研究仅探讨了HPV-IgY抗体对HPV18阳性宫颈癌细胞系中E6/p53通路的影响,尚缺乏HPV-IgY抗体对E7/Rb通路及HPV16阳性宫颈癌细胞系的作用及相关机制的研究。

李利霖[27]的研究显示,瑞琳他抗联合目前临床大多数的物理治疗手段(激光、微波、冷冻、电灼、LEEP刀、光动力疗法等)可以显著提升hr-HPV-DHA阴转率(对照组72.46% *vs.* 观察组96.65%),同时显著降低术后相关不良反应的发生率(对照组18.59% *vs.* 观察组3.65%),与传统单一物理治疗方式相比具有更好的临床疗效。不仅如此,在其他抗病毒方面,IgY也有显著效果,如针对小儿轮状病毒,Bentes等[28]利用IgY阻断了MA-104细胞中轮状病毒A的功能活性,证实IgY具有中和病毒的能力,为无特效药治疗的小儿轮状病毒腹泻的治疗带来了希望。IgY不仅抗病毒能力强,还具有抗菌能力。在现代医疗保健领域中,会面临一些棘手的感染问题,如在铜绿假单胞菌引起的尿路感染中,铜绿假单胞菌易对普通抗生素耐药,且长期使用抗生素反而会使患者抵抗力下降。有研究证实,用IgY漱口可降低囊性纤维化患者慢性铜绿假单胞菌肺部感染发作的频率。Schwartz等[29]以此为契机设计实验发现,预防性使用IgY可显著减少铜绿假单胞菌膀胱炎小鼠模型膀胱中的细菌数量,并推测其可作为预防铜绿假单胞菌尿路感染的新型非抗生素方法。

4 小结与展望

近年来IgY已经产业化及商品化,应用于人体口腔、胃肠道方面的疾病及动物疾病领域颇多,而用于妇科领域还屈指可数,其中主要成分为IgY的瑞琳他抗就用于妇科抗HPV感染。虽然瑞琳他抗可起到抗HPV作用,但长期阴道用药会破坏阴道正常微生态环境,故本研究团队将阴道微生态制剂[即阴道用乳杆菌活菌胶囊(定君生)或乳酸菌胶囊(链球菌为主)]联合瑞琳他抗(二线方案)用于妇科抗HPV感染,在抵抗HPV感染的同时发挥调节阴道微生态的作用,相互促进,阴道微生态恢复后可加强阴道自净作用,从而增强抗HPV感染效果;与此同时,乳杆菌活菌胶囊(定君生)或乳酸菌胶囊(链球菌为主)联合干扰素或美妇康(一线方案),乳杆菌活菌胶囊(定君生)或乳酸菌胶囊(链球菌为主)联合干瑞贝生(三线方案)亦有相同作用,只是各种方案应用的HPV感染时间段及治疗阶段有所不同。随着IgY的研究领域愈来愈广,涉及家畜及人类,且技术不断改进革新,尤其基因重组技术的崛起,在多克隆IgY基础上产生了单克隆抗体IgY(mIgY)。mIgY兼有多克隆IgY的生物学优势及抗体专一性,且专一性较多克隆抗体更强。故研究人员可以从组合库中获得mIgY和IgY相似的结构,省去了以往的免疫流程。目前单克隆抗体药物在治疗性药物中占据主导地位[30]。

总之,IgY在诊断和治疗疾病的研究中相对于哺

乳动物IgG而言,具有更大的优势。目前3种关于瑞琳他抗联合用药的方案针对高危型HPV感染的疗效都在临床试验中得到证实。团队正在将宫颈癌Hela细胞作为HPV感染病毒载体,利用三线方案药物继续对Hela细胞进行基础实验,测定细胞形态学变化及HPV18病毒载量表达变化,以进一步从基础实验方面来鉴定评估三线方案的可行性;而二线方案及三线方案的疗效已在部分实验中得到证实,这三线方案为目前比较棘手的持续性高危型HPV感染带来了曙光,为广大持续性高危型HPV感染患者带来了福音。

[参考文献]

[1] 俞晶晶,萧枪枪,郑晨阳,等. 卵黄抗体在水产养殖病害防治中的应用[J]. 水产养殖,2022,43(2):44-50. doi:10.3969/j.issn.1004-2091.2022.02.009.

[2] Lee L,Samardzic K,Wallach M,et al. Immunoglobulin Y for potential diagnostic and therapeutic applications in infectious diseases[J]. Front Immunol,2021,12:696003. doi:10.3389/fimmu.2021.696003.

[3] da Silva MTL,Deodato RM,Villar LM. Exploring the potential usefulness of IgY for antiviral therapy:a current review[J]. Int J Boil Macromol,2021,189:785-791. doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.08.078.

[4] 李 萌,李 杏. 卵黄抗体领域中国专利分析[J]. 中国科技信息,2020(16):25-26. doi:10.3969/j.issn.1001-8972.2020.16.006.

[5] 吕豪杰,严昌国,崔莲花. 鸡卵黄抗体及其在动物疾病防治中的应用[J]. 延边大学农学学报,2019,41(4):99-105. doi:10.13478/j.cnki.jasyu.2019.04.015.

[6] 葛世坤,吴 饶,简思杰,等. IgY抗体技术研究取得系列进展[J]. 中国科技产业,2021(9):74. doi:10.16277/j.cnki.cn11-2502/n.2021.09.035.

[7] 王旭婷. 卵黄免疫球蛋白(IgY)制备条件优化与应用研究[D]. 无锡:江南大学,2021. doi:10.27169/d.cnki.gwqgu.2021.000790.

[8] Dias da Silva W,Tambourgi DV. IgY:a promising antibody for use in immunodiagnostic and in immunotherapy[J]. Vet Immunol Immunopathol,2010,135(3-4):173-180. doi:10.1016/j.vetimm.2009.12.011.

[9] Lee CH,Lee YC,Leu SJ,et al. Production and characterization of neutralizing antibodies against bungarus multicinctus snake venom[J]. Appl Environ Microbiol,2017,82(23):6973-6982. doi:10.1128/AEM.01876-16.

[10] 盛雅洁,肖春兰,赵丽娟,等. 卵黄抗体的特性及其应用研究[J]. 家禽科学,2020(7):56-58. doi:10.3969/j.issn.1673-1085.2020.07.022.

[11] Hatta H,Tsuda K,Akachi S,et al. Productivity and some properties of egg yolk antibody (IgY) against human rotavirus compared with rabbit IgG[J]. Biosci Biotechnol Biochem,1993,57(3):450-454. doi:10.1271/bbb.57.450.

[12] 张 曼,柳 溪,丛日华. 卵黄抗体提取方法的优化[J]. 天津农学院学报,2020,27(2):56-60. doi:10.19640/j.cnki.jtau.2020.02.013.

[13] 彭泽琴. 在动物疾病防治中卵黄抗体应用探究[J]. 中兽医学杂志,2019(6):83-84.

[14] 夏民权,李小萌,柳 聪,等. 禽蛋黄免疫球蛋白促进人体健康作用的研究进展[J]. 食品科学,2022,43(5):346-355. doi:10.7506/spkx1002-6630-20201211-133.

[15] Leiva CL,Gallardo MJ,Casanova N,et al. IgY-technology (egg yolk antibodies) in human medicine:a review of patents and clinical trials[J]. Int Immunopharmacol,2020,81:106269. doi:10.1016/j.intimp.2020.106269.

[16] 王业华,单春乔,冯柳柳,等. 卵黄抗体在病毒性疾病防治中的应用[J]. 动物医学进展,2019,40(7):120-124. doi:10.3969/j.issn.1007-5038.2019.07.024.

[17] 周英敏. Gaea(该亚)研究——瑞琳他抗医用HPV复合功能性凝胶治疗HPV感染合并宫颈炎以及妇科疾病的临床疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志,2018,5(92):72. doi:10.16281/j.cnki.jocml.2018.92.057.

[18] 范贤平,蒋 葛,乔 毅,等. 卵黄抗体在水产疾病防治中的研究应用进展[J]. 安徽农业科学,2022,50(20):5-8. doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.20.002.

[19] 寇海燕,郭培红,田丹阳,等. 抗鲤疱疹Ⅱ型病毒卵黄抗体制备及其功能鉴定[J]. 淡水渔业,2021,51(1):65-71. doi:10.3969/j.issn.1000-6907.2021.01.008.

[20] Trus BL,Roden RB,Greenstone HL,et al. Novel structural features of bovine papillomavirus capsid revealed by a three-dimensional reconstruct-ion to 9 A resolution[J]. Nat Struct Biol,1997,4(5):413-420. doi:10.1038/nsb0597-413.

[21] Lowy DR,Schiller JT. Papillomaviruses:prophylactic vaccine prospects[J]. Biochim Biophys Acta,1999,1423(1):M1-M8. doi:10.1016/s0304-419x(98)00037-7.

[22] Pagliusi SR,Dillner J,Pawlita M,et al. Chapter 23:International Standard reagents for harmonization of HPV serology and DNA assays--an update[J]. Vaccine,2006,24(Suppl 3):S3/193-200. doi:10.1016/j.vaccine.2006.06.016.

[23] Di Lonardo AD,Marcante ML,Poggiali F,et al. Egg yolk antibodies against the E7 oncogenic protein of human papillomavirus type 16[J]. Arch Virol,2001,146(1):117-125. doi:10.1007/s007050170195.

[24] 裴 娇. 高危型HPV共同抗原表位的筛选及IgY新型抗体的制备[D]. 武汉:华中科技大学,2011. doi:10.7666/d.D231064.

[25] 刘晓霞,胡李涛,朱少萍,等. 妇宁膨胀栓联合瑞琳他抗或瑞贝生治疗宫颈HR-HPV持续感染的Ⅳ期临床试验[J]. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊),2020,20(34):153. doi:10.3969/j.issn.1671-3141.2020.34.066.

[26] 多晓玲,侯春丽,殷 民. HPV卵黄抗体抑制HPV18 E6基因表达诱导宫颈癌细胞凋亡的研究[J]. 现代妇产科进展,2019,28(12):939-942. doi:10.13283/j.cnki.xdfckjz.2019.12.014.

[27] 李利霖. 瑞琳他抗IgY多克隆抗体复合植酸铜功能性凝胶联合物理治疗高危HPV感染合并CIN的临床疗效分析[J]. 医药前沿,2019,9(2):123-124. doi:10.3969/j.issn.2095-1752.2019.02.094.

[28] Bentes GA,Lanzarini NM,et al. Production and evaluation of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against human and simian rotaviruses[J]. Viruses,2022,14(9):1995. doi:10.3390/v14091995.

[29] Schwartz FA,Christophersen L,Thomsen K,et al. Chicken IgY reduces the risk of Pseudomonas aeruginosa urinary tract infections in a murine model[J]. Front Microbiol,2022,13:988386. doi:10.3389/fmicb.2022.988386.

[30] Walsh G. Biopharmaceutical benchmarks 2018[J]. Nat Biotechnol,2018,36(12):1136-1145. doi:10.1038/nbt.4305.

(编辑:贺绍梅)