维普资讯 http://www.cqvip.com

重庆医科大学学报2000年第25卷第4期（Acta Universitatis Scientiae Medicinae Chongqing）

文章编号：0253-3626(2000)04-0432-02

分子免疫学进展与儿科临床

赵晓东　综述；杨锡强　审校

（重庆医科大学儿科学院内科　重庆　400014）

中国图书分类法分类号：R392.725　　文献标识码：B　　收稿日期：1999-03-23

分子生物学的理论与技术促进了免疫学的飞速发展。任何免疫学事件的发生均可找到其分子基础，弄清免疫性疾病的分子发病机制并进行针对性的改善、纠正或阻断是今后该类疾病治疗的发展趋势。原发性免疫缺陷病的分子缺陷、新型疫苗及自身免疫病的发病机制等问题均为近年免疫学研究热点并已取得令人瞩目的成果，本文拟综述上述领域的最新进展并简要分析其在儿科临床的应用前景。

1　性连锁原发性免疫缺陷病的基因突变研究进展

采用单链构象多态性分析（SSCP）及DNA测序方法完成了大量有关原发性免疫缺陷病（Primary Immunodeficiency，PID）基因突变的研究。性连锁PID更因其疾病相关基因仅位于X染色体上尤利于探讨突变基因型与表现型的关系。已建成的数据库包括Wiskott-Aldrich综合征（WAS）、X连锁无丙球血症（XLA）、X连锁高IgM综合征（X-HIM）、X连锁严重联合免疫缺陷病（X-SCID）和X连锁慢性肉芽肿病共1000余例病人的家族情况、基因突变点、突变形式、临床表现、治疗情况等全套资料。通过对各种突变部位、突变方式与相应蛋白质功能改变及表现型的对比、综合研究，将有助于揭示上述疾病的分子发病机制。

1.1　WAS

以血小板减少、容积减小、湿疹、反复感染和对自身免疫性疾病及肿瘤易感性增高为特点。患儿T、B细胞功能异常，对T细胞依赖性抗原刺激反应差。现已发现该病由WAS蛋白（WASP）基因突变所致。此蛋白分子与GTP酶结合，在细胞骨架重组及T、B细胞抗原提呈过程中起关键作用。WASP基因突变主要发生于12个外显子中的第1、2外显子，突变形式按发生率排列依次为：错义点突变、无义点突变、缺失、插入、拼接位点改变及复杂突变。具有同一突变基因型的患儿临床表现迥异，既提示尚有其它因素参与影响表现型，亦为轻症患儿的分子诊断提供了依据。早期对WAS病人进行适当的处理（如骨髓移植）有望大大改善其预后。

1.2　XLA

由B淋巴细胞发育障碍所致。患儿生后6月左右开始反复、严重的化脓性感染，外周血B细胞极少，血清Ig浓度极低。XLA由编码Bruton's酪氨酸激酶的基因突变所致。该酶属胞浆酪氨酸激酶家族，其基因定位于xq21.3-xq22，含19个外显子。基因突变在整个DNA分子上几乎均匀分布，突变形式为：错义点突变、无义点突变、拼接点改变、内含子突变、缺失和双突变。由于Bruton's酪氨酸激酶的空间结构较为清楚，现正致力于弄清基因突变对其分子功能的影响。

1.3　X-SCID

为一组疾病，多为X连锁隐性遗传。患儿细胞及体液免疫功能严重受损，生后即出现严重持久的感染。该病由IL-2受体γ链基因突变所致。IL-4、IL-7、IL-9和IL-15受体亦含此链，导致上述细胞因子信号传入胞内受阻。患儿外周血T细胞和NK细胞数量极少，B细胞数量可正常，但其抗体产生能力明显低下。编码IL-2受体γ链的基因位于xq13.1，含8个外显子，其中第5外显子基因突变频率最高，而第8外显子突变频率最低。突变形式亦以错义点突变常见，其后依次为：无义点突变、拼接点改变、缺失和插入。

1.4　X-HIM

表现为血清IgM正常或增高，而IgG、IgA、IgE明显降低及反复感染，由CD40配体（CD40 ligant，CD40L）基因突变所致。CD40L是属于TNF受体超家族的一种II型跨膜蛋白，主要由活化的CD^{+}_{4}T细胞表达，在T、B细胞的激活过程中起关键作用。其缺陷导致B细胞二次抗体应答无能，机体对细菌易

作者介绍：赵晓东（1970-　），男，讲师，博士

维普资讯 http://www.cqvip.com

感性增高；同时由于抗原提呈细胞产生IL-12功能受影响，患儿亦易受胞内病原体感染。CD40L的基因突变主要发生于TNF同源区编码序列，其突变形式依次为：错义点突变、无义点突变、缺失、插入、拼接点改变和双突变。

1.5 X-CGD

吞噬细胞功能缺陷，不能清除过氧化氢酶阳性的微生物，表现为顽固的皮下组织化脓性感染。X-HIM由细胞色素b558β亚单位突变所致。该蛋白在NADPH的氧化还原反应中起重要作用。其基因定位于xq21.1，含13个外显子，基因突变发生频率几乎与DNA长度成比例，突变形式依次为：无义点突变、错义点突变、缺失、插入及复杂突变，尚有部分病例的突变方式并未明确[1~7]。

2 核酸疫苗

核酸疫苗是近年来广为研究的一种新型疫苗，虽尚未用于临床，但其具有的潜在应用前景已引起免疫学界的广泛关注。

传统疫苗将病原体减毒株或提取成分作为抗原免疫机体，诱导机体建立抵抗感染因子的保护性免疫。而核酸疫苗则通过DNA重组技术，将编码诱导保护性免疫的抗原序列克隆入真核表达载体，在体外大量扩增纯化后制成。质粒DNA在宿主体内表达抗原，从而诱导机体建立保护性免疫反应。动物实验已证实，与传统疫苗相比，核酸疫苗具有诸多优势：①有效诱导婴幼儿保护性免疫应答：新生儿及婴幼儿时期免疫系统尚不成熟，抗体生成和特异性免疫功能远不如成人。常规疫苗与抗原提呈细胞接触时间短，常不能有效诱导保护性免疫应答，而核酸疫苗可在体内长时间表达，为抗原提呈细胞提供持久、稳定的抗原刺激。核酸疫苗亦可直接转染抗原提呈细胞。在核酸疫苗内插入细胞因子基因，补充婴幼儿时期缺乏的细胞因子，亦可为保护性免疫建立提供更为有利的微环境。②有利于促进细胞内病原体清除：宫内环境及生命早期暴露于疫苗抗原常诱导机体建立T_H2优势免疫应答，而T_H1应答减弱。新生儿期NK细胞、CD_+^8CTL功能不足，使其对细胞内病原体易感性增高。已发现采用适当的途径将核酸疫苗导入体内可选择性地诱导机体建立T_H1优势应答，可望促进新生儿及小婴儿的细胞免疫功能，阻止胞内病原体感染，同时亦可能用于变态反应及某些自身免疫性疾病的免疫调节治疗。③防止母体抗体介导的疫苗接种无能反应：经胎盘传授到胎儿体内的抗体是生命早期抵抗感染的重要物质，但同时也干扰疫苗免疫反应建立。婴儿体内残存的母体抗体可消耗接种的抗原而影响免疫效果。而核酸疫苗可在体内持续表达抗原，有理由推测其具有克服母体抗体干扰的能力。

总之，核酸疫苗的研制尚处于临床前期，其安全性尚未明了。它是否会整合到快速分裂的细胞基因组中尚不清楚；对T_H1/T_H2细胞功能的影响会否导致免疫病理应答亦有待明确[8~10]。

3 超抗原致病机理与超抗原疫苗

近年研究发现，自身免疫性疾病、中毒性休克、食物中毒及某些感染性疾病的发病均与超抗原（Superantigen，sAg）有关。①sAg的致病机理：sAg是一类特殊抗原。与普通抗原不同，它不经抗原提呈细胞加工处理而直接与TCR带有Vβ区的T细胞结合，由于sAg的某些区域氨基酸序列与MHC II类抗原具有同源性，sAg在缺乏巨噬细胞—T细胞接触的情况下模拟MHC II类抗原的作用使TCRVβ+T细胞广泛活化，亦可使B细胞多克隆活化。这种激活作用是低特异性的，其激活效率为普通抗原的10^3～10^5倍，极微量的sAg即可诱导机体产生过度亢进的免疫应答，导致组织损伤和炎症反应，引起临床疾病。②超抗原及超抗原疫苗：sAg多为某些细菌和病毒的代谢产物。已发现金黄色葡萄球菌肠毒素（SEA-H）、中毒性休克毒素（TSST-1）、链球菌致热外毒素（SpeA-C）等16种sAg。已发现的病毒超抗原则包括小鼠乳腺癌病毒（MMTV）产生的次要淋巴细胞刺激决定簇等。此外，关节炎支原体亦可产生超抗原。

近年提出超抗原疫苗（Superantigen vaccine，SV）设想，力求从根本上解决超抗原介导疾病的防治。SV是用分子生物学或化学方法修饰或诱变超抗原分子，降低其与TCRVβ区的亲和力，使其失去sAg的毒性作用但保持其免疫原性，以诱导机体产生保护性抗体，中和再次进入体内的超抗原。

目前研究较多的是细菌外毒素超抗原疫苗。有人通过定点诱变法获得一系列与MHC II类抗原结合力减弱的SEA诱变体，其毒性降低数百倍，可在动

（下转第436页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

[8] Simmons DL. The role of ICAM expression in immunity and disease[J] .Cancer Surv 1995;24:141-155.

[9] el Sabban ME.Pauli BU.Adhesion-mediated gap junctional communication between lung-metastatic cancer cells and endothelium[J]. Invasion Metastasis 1994-95;14(1-6)164-176.

[10] 方伟岗. 肿瘤细胞侵袭转移的分子生物学基础[J]. 中华医学杂志, 1994;74(7):447-450.

[11] Zhu DZ.Cheng CF.Pauli BU. Mediation of lung metastasis of murine melanomas by a lung-specific endothelial cell adhesion molecule[J].Proc Natl Acad Sci USA 1991;88(21):9568-9572.

[12] 段德义，高 进. 细胞粘附及其信息传递在肿瘤侵袭转移中的作用[J]. 国外医学生理、病理科学与临床分册, 1996;16(40:209-212.

[13] Weiner TM.Liu ET.Craven RJ.Cance WG. Expression ot focal adhesion kinase gene and invasive cancer[J].Lancet. 1993;342:1024-1025.

[14] Tang DG,Tarrien M,Dobrzynski P, Honn KV.Melanoma cell spreading on fibronectin induced by 12(s)-HETE involves both protein kinase C and protein tyrosine kinase-dependent focal adhesion formation and tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase(pp125FAK) [J].J Cell Physiol 1995 ;165(2):291-306.

[15] Ruoslahti E,Reed JC. Anchorage dependence integrins and opoptosis. Cell 1994;77:477.

[16]Leavesley DL,Schwartz MA,Rosenfeld M,et al. Integrin β1- and β3-mediated endothelial cell migration is triggered through elistinct signaling mechanisms[J]. J Cell Biol 1993;121:163.

[17] Guan JL.Shalloway D. Regulation of focal adhesion associated protein tyrosine kinase by both cellular adhesion and oncogenic transformation [J].Nature 1992;358:690.

[18] Sefter REB,Sefter EA,Stetler-stevenson WG,Hendrix MC. The 72KD type IV collagenase is modulated via differential expression of α3β3 and α5β1 integrins during human melanoma cell invasion[J].Cancer Res 1993 ;53:3411-15.

[19] Matsumoto K,Zioher BL,Yao DC,Kramer RH.Growth factor regulation of integrin-mediated cell motility[J]. Cancer Metastasis Rev 1995;14(3) :205-17.

[20] Honn KV.Tang DC.Adhesion molecules and tumor cell interaction with endothelium and subendothelial matrix [J]. Cancer.

(上接第433页)

物体内诱导产生高水平的保护性抗体、可有效抵抗超抗原的再次攻击。但此疫苗的毒性仍过大，用量加大可致动物死亡。因此，通过大量诱变及动物实验研究，获得毒性更低、免疫原性优良的超抗原疫苗将成为以后的研究方向[11~13]。

近年来分子免疫学所取得的进展远不止这些、随着先进技术及理论进一步应用于儿科免疫学研究，相信在不久的将来会给儿科疾病的发病机制和诊治手段带来巨大的变革。

参 考 文 献

[1] Smith, CI and Vihinen M. Immunodeficiency mutationdatabase-a new research tool [J].Immunology Today 1996;17:495-496.

[2] Sullivan KE, Mullen CA, Blease RM, et al. A multiinstitutional survey of the Wiskott-Aldrich syndrome [J]. J Pediatr 1994;125:876-885.

[3] Symons M, Derry JMJ, Karlak B, et al. Wiskott-Aldrich syndrome protein, a novel effector for the GTPase CD 42Hs, is implicated in actin polymerization [J].Cell 1996;125:723-734.

[4] Villa A, Notarangelo L, Macchi P, et al. X-linked thrombocytopenia and Wiskott-Aldrich syndrome are allelic diseases with mutations in the WASP gene [J].Nat Genet 1995;9:414-417.

[5] Kolluri R, Shehabeldin A, Peacacke M, et al. Identification of WASP mutations in patients with Wiskott-Aldrich syndrome and isolated thrombocytopenic reveals allelic heterogenecity at the WAS locus [J]. Hum Mol Genet 1995;4:1119-1126.

[6] Wengler GS, Notarangelo LD, Berardelli S, et al. High prevalence of nonsense, frame shift, and splice-site mutations in 16 patients with full-blown Wiskott-Aldrich syndrome [J].Blood 1995;86:3648-3654.

[7] Zhu Q, Zhang M, Blease RM, et al. The Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked congenital thrombocytopenia arecaused by mutations of the same gene [J]. Blood 1995;86:3797-3804.

[8] Beverley PCL. Vaccine immunity [J]. Immunology Today 1997;18(9):413-415.

[9] Medd PG and Woodhead VE. Towars a new horizon [J]. Immunology Today 1997;18(11):516-518.

[10] Tighe H, Corr M, Roman M et al. Gene vaccination: plasmid DNA is more than just a blueprint [J]. Immunology Today 1998;19(2):89-97.

[11] Silverman GJ. B-cell superantigens [J]. Immunology Today 1997;18(8):379-386.

[12] Woodland DL, Wen R, Black MA, et al. Why do superantigens care about peptides? [J].Immunology Today 1997;18(1):19-22.

[13] Schiffenbauer J, Soos J, Johnson H. The possible role of bacterial superantigens in the pathogenesis of autoimmune disorders [J]. Immunology Today 1998;19(3):117-120.