DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.10.008
第22卷第10期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 10
2000年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2000

文章编号:1000-5404(2000)10-0937-03

论著

肿瘤抗原MAGE-3 CTL预测表位的计算机分子模拟研究

贾正才,吴玉章,万 瑛 (第三军医大学基础医学部全军免疫学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 从理论上分析预测表位与HLA-A2分子的结合情况及其为HLA-A2限制性CTL表位的可能性。方法 应用计算机分子模拟的方法,建立MAGE-3 4个CTL预测表位的HLA-A2结合三维结构和各多肽与HLA-A2分子所形成复合物的三维结构。结果 4个预测表位的三维结构完全符合HLA-A2限制性CTL表位的结构要求,且都能与HLA-A2分子结合。结论 4个CTL预测表位为HLA-A2限制性CTL表位的可能性较大。

关键词:肿瘤抗原;MAGE-3;细胞毒性T淋巴细胞表位;分子模拟
中图法分类号:R392.11;R394—33 文献标识码:A

Study of molecular models of predicted CTL epitopes derived from the tumor antigen MAGE-3

JIA Zheng-cai, WU Yu-zhang, WAN Ying (Institute of Immunology PLA, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To analyze the binding of CTL epitope candidates to the HLA-A2 molecule and the possibility of them being HLA-A2-restricted CTL epitopes. Methods The molecular models of CTL epitope candidates bound to the HLA-A2 molecule and of the HLA-A2-peptide complex were established by computer molecular modeling. Results The three-dimensional configurations of four HLA-A2 binding peptides were compatible with those of HLA-A2-restricted CTL epitopes and they could bind to HLA-A2 molecule. Conclusion It is suggested that the four peptides may be the CTL epitopes restricted by HLA-A2 molecule.

Key words: tumor antigen; MAGE-3; cytotoxic T lymphocyte epitope; molecular modeling

基于特异性表达的肿瘤抗原的肿瘤特异性免疫治疗是一种安全、有效的肿瘤治疗方法。目前肿瘤特异性免疫治疗的研究着重于肿瘤抗原及其CTL表位的鉴定。在CTL表位的鉴定中,通常采用的是直接测定侯选多肽与MHC Ⅰ类分子间的亲和力,该方法虽可直接测定侯选多肽与MHC Ⅰ类分子间的结合情况,但对实验室的条件要求较高,实验难度较大。随着多种MHC Ⅰ类分子晶体结构的阐明,大量CTL表位的鉴定MHC Ⅰ及多肽与MHC Ⅰ类分子结合的结构要求资料的积累,基于MHC Ⅰ-肽复合物结构筛选MHC Ⅰ类分子结合肽已成为可能。在以往CTL表位预测研究的基础上,本研究应用计算机分子模拟的方法,研究了各预测表位与HLA-A2的结合情况,对预测表位进行了初步筛选。

1 材料与方法

1.1 多肽序列

多肽序列选用肿瘤特异性抗原MAGE-3的4个预测CTL表位,分别是MAGE-$3_{108-116}$(ALSRKVAEL)、MAGE-$3_{174-182}$(HLYIFATCL)、MAGE-$3_{201-209}$(LLIIVLAII)和MAGE-$3_{271-279}$(FLWGPRALV)[1]。其中,MAGE-$3_{271-279}$(FLWGPRALV)已由Boon等[2]证实为MAGE-3的HLA-A2限制性CTL表位。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39900134)
作者简介:贾正才(1972—),男,四川省彭州市人,博士,助理实验师,主要从事肿瘤抗原的免疫识别研究。电话:(023)68752236
收稿日期:2000-08-04;修回日期:2000-09-29

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2 HLA-A2.1和预测表位多肽分子模型的构建

分子模建使用 Silicon Graphics 工作站及 Insight Ⅱ(Version 2.2.0., Biosym technologics, San Diego, USA)软件。HLA-A2.1 的模型构建来自 Brookhaven 蛋白数据库(Protein data bank, PDB): 3HLA[3] 是由 X-射线衍射数据(X-ray crystallography data)创建。九肽的模型用 Bioploymer 模块, 采用氨基酸替代方法构建。

计算分两步进行。第一步计算为能量最小化(Energy minimization)。用 Discover 3.0 软件(Biosym technologics, San Diego, USA), cutoff 距离为 9Å, 计算 300 步, 以去除不合理的肽-HLA-A2.1 结合。第二步计算为分子动力学(Molecular dynamics, MD)计算。应用 Insight Ⅱ软件, 温度为 300 K, 计算共 20 000 步, 以更优化排布能量。

2 结果

4 个预测 CTL 表位多肽的三维结构见图 1, 左上为 MAGE-$3_{271-279}$, 右上为 MAGE-$3_{201-209}$, 左下为 MAGE-$3_{174-182}$, 右下为 MAGE-$3_{108-116}$。经分子动力学模拟发现, 4 个九肽的羧基末端氨基酸残基侧链都指向 HLA-A2.1 分子肽结合槽的凹槽 F, 第二位氨基酸残基都定位于 HLA-A2.1 分子肽结合槽的凹槽 B 附近, MAGE-$3_{174-182}$、MAGE-$3_{201-209}$和 MAGE-$3_{271-279}$的第一位氨基酸残基定位都相同, 其侧链指向溶液, MAGE-$3_{108-116}$的略为不同, 其第一位氨基酸残基侧链虽指向溶液, 但不如其它三个的明显。从第二位氨基酸残基的 Cα 和羧基末端氨基酸残基的 Cα 之间的距离来看, 4 个多肽的第二位氨基酸残基和羧基末端氨基酸残基间距离分别为: MAGE-$3_{108-116}$ 18.89 Å、MAGE-$3_{174-182}$ 18.70 Å、MAGE-$3_{201-209}$ 18.16 Å 和 MAGE-$3_{271-279}$ 18.50 Å。

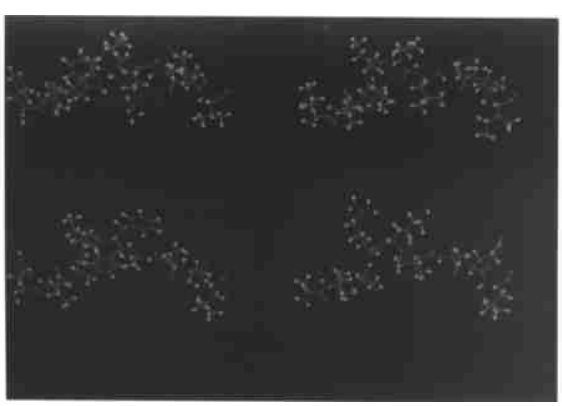


图1 4个多肽的 HLA-A2.1 结合三维结构
绿色代表碳原子, 红色代表氧原子, 蓝色代表氮原子, 白色代表氢原子

Fig 1 The three-dimensional configurations of the HLA-A2.1 binding peptides

Green: Carbon atom; Red: Oxygen atom; Blue: Nitrogen atom; White: Hydrogen atom

当多肽进入 HLA-A2.1 分子肽结合槽后, 4 个多肽都被肽结合槽的中部所容纳。图 2、3 所示为 MAGE-$3_{201-209}$和 MAGE-$3_{271-279}$与 HLA-A2.1 分子所形成复合物的模型。

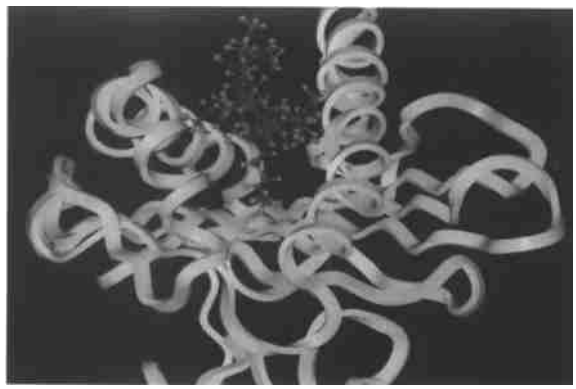


图2 HLA-A2.1-MAGE-$3_{201-209}$复合物模型
黄色条带为 HLA-A2.1 的 α_1 和 α_2 区域, 肽结合槽中的为 MAGE-$3_{201-209}$

Fig 2 The configuration of HLA-A2.1-MAGE-$3_{201-209}$ complex

Yellow ribdon: α_1 and α_2 domains of HLA-A2.1 molecule, molecule in peptide binding groove: MAGE-$3_{201-209}$

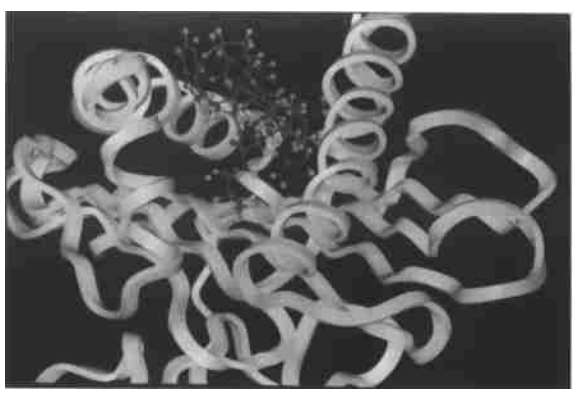


图3 HLA-A2.1-MAGE-$3_{271-279}$复合物模型
黄色条带为 HLA-A2.1 的 α_1 和 α_2 区域, 肽结合槽中的为 MAGE-$3_{271-279}$

Fig 3 The configuration of HLA-A2.1-MAGE-$3_{271-279}$ complex

Yellow ribdon: α_1 and α_2 domains of HLA-A2.1 molecule, molecule in peptide binding groove: MAGE-$3_{271-279}$

3 讨论

表达于细胞表面的 MHCⅠ类分子为一异源二聚体, 由一条重链和一条轻链组成。重链由 MHC 编码, 分子量为 46×10^3, 与细胞膜结合; 轻链非 MHC 编码, 即 β_2-微球蛋白, 它不与细胞膜直接结合, 而是与重链

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

结合, 分子量为 12×10^3。MHC Ⅰ 类分子能结合由 8～10 个氨基酸残基组成的抗原肽, 并以 MHC Ⅰ -肽复合物的形式呈递给 T 细胞。随着对 MHC Ⅰ 类分子的晶体结构及与其所结合的多肽序列认识的不断深入, 一类 MHC Ⅰ 类分子可与大量的、序列各异的多肽结合的机制已为人们清楚地认识。HLA-A2.1、HLA-Aw68、HLA-B27 和小鼠的 H-$2K^b$ 的晶体结构已经研究清楚[4,5], 与 MHC Ⅰ 类分子结合的各种不同的多肽序列已有大量报道[6,7]。随着多肽与 MHC Ⅰ 类分子结合的结构要求资料的积累, 基于 MHC Ⅰ -肽复合物结构筛选 MHC Ⅰ 类分子结合肽已成为可能。

研究发现: 能与 MHC Ⅰ 类分子结合的多肽, 在其特定位置上有着特定的氨基酸残基。对于与某一类 MHC Ⅰ 类分子结合的多肽, 其特定位置主要由一种或与之接近的几种氨基酸残基占据, 这些残基被称为锚残基, 它们与 MHC Ⅰ 类分子多肽结合槽中一定的凹槽结合。各种不同类型 MHC Ⅰ 类分子结合肽的锚残基不同。X-射线晶体学研究显示 HLA-A2 分子的多肽结合槽由 6 个凹槽(即 A, B, C, D, E, F)组成, 其中在与多肽结合中起主要作用的是 B 和 F 两个凹槽, 它们分别与多肽的第二位氨基酸残基和羧基末端氨基酸残基结合[8]。推测特异性的锚残基能特异性地与这两个凹槽结合, 而其它凹槽相对较窄, 对残基的要求不太严格, 因而可容纳不同的氨基酸残基[9]。Lim 等[10] 通过分子动力学模拟, 以已知的 HLA-A2.1 限制性 CTL 表位九肽为基础, 分析了 MHC-肽复合物的可能结构, 构建并分析了 HLA-A2 限制性 CTL 表位多肽的三维模型, 发现大部分 HLA-A2 限制性 CTL 表位多肽的两个锚残基间的距离为 15～19 Å, 第一位氨基酸残基侧链指向溶液, 第二位氨基酸残基定位于 HLA-A2 分子肽结合槽的凹槽 B 附近, 羧基末端氨基酸残基侧链指向 HLA-A2 分子肽结合槽的凹槽 F; 符合这些条件的多肽与 HLA-A2.1 分子间有较好的亲和力。

本研究利用来源于 X-射线衍射数据的 HLA-A2.1 分子计算机模型, 对 4 个预测 CTL 表位多肽与 HLA-A2.1 分子结合进行分子动力学模拟。结果显示, 4 个预测表位多肽的第二位氨基酸残基和羧基末端氨基酸残基间的距离都在 15～19 Å 之间, 而且都相差不大, 介于 18～19 Å 之间。其第一位氨基酸残基侧链均指向溶液, 第二位氨基酸残基定位于凹槽 B 附近, 羧基末端氨基酸残基侧链指向 HLA-A2.1 分子肽结合槽的凹槽 F, 完全符合 HLA-A2 限制性 CTL 表位的要求。研究同时发现, 4 个预测表位多肽均能为 HLA-A2.1 分子接受, 可结合于 HLA-A2.1 分子肽结合槽的中部。Boon 等[2] 通过结合试验发现, HLA-A2 限制性 CTL 表位多肽 MAGE-$3_{271-279}$ 与 HLA-A2 分子间有较高的亲和力。

推测其余 3 个预测表位多肽与 HLA-A2.1 分子间可能有较好的亲和力, 为 HLA-A2 限制性 CTL 表位的可能性较大。

参考文献:

[1] 贾正才, 吴玉章. 肿瘤抗原 MAGE-3 HLA-A2 限制性 CTL 表位的预测[J]. 免疫学杂志, 2000, 16(3): 221—222.

[2] van der Bruggen P, Bastin J, Boon T, *et al*. A peptide encoded by human gene MAGE-3 and presented by HLA-A2 induces cytolytic T lymphocytes that recognize tumor cells expressing MAGE-3[J]. Eur J Immunol, 1994, 24(12): 3 038—3 043.

[3] Saper M A, Bjorkman P J, Willey D C. Refined structure of the human histocompatibility antigen HLA-A2 at 26 Å resolution[J]. J Mol Biol, 1991, 219(2): 277—319.

[4] Madden D R, Gorga J C, Strominger J L, *et al*. The three-dimensional structure of HLA-B27 at 2.1 Å resolusion suggests a general mechanism for tight peptide binding to MHC[J]. Cell, 1992, 70(6): 1 035—1 048.

[5] Zhang W, Young A C, Imarai M, *et al*. Crystal structure of major histocompatibility complex class Ⅰ H-$2K^b$ molecule containing a single viral peptide: implication for peptide binding and T-cell receptor recognition[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89(17): 8 403—8 407.

[6] Visseren M J, van der Burg S H, van der Voort E I, *et al*. Identification of HLA-A*0201-restricted CTL epitopes encoded by the tumor-specific MAGE-2 gene product[J]. Int J Cancer, 1997, 73(1): 125—130.

[7] Oiso M, Eura M, Katsura F, *et al*. A newly identified MAGE-3—derived epitope recognized by HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocytes[J]. Int J Cancer, 1999, 81(3): 387—394.

[8] Latron F, Pazmany L, Morrison J, *et al*. A critical role for conserved residues in the cleft of HLA-A2 in the presentation of a nonapeptide to T cells[J]. Science, 1992, 257(5 072): 964—967.

[9] Matsumura M, Fremont D H, Peterson P A, *et al*. Emerging principles for the recognition of peptide antigens by MHC class I molecules[J]. Science, 1992, 257(5 072): 927—934.

[10] Lim J S, Kim S, Lee H G, *et al*. Selection of peptides that bind to the HLA-A2.1 molecules by molecules modeling[J]. Mol Immunol, 1996, 33(2): 221—230.

(编辑　冷怀明)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net