DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.10.001
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)10-0917-02

专家述评

# 免疫识别、分子设计与抗原工程

# Immune recognition, molecular design and antigen engineering

吴玉章 (第三军医大学基础医学部全军免疫学研究所,重庆 400038)

从Jenner开始,疫苗的研制即采用模拟自然感染过程的策略。基于此而研制的减毒活疫苗或亚单位疫苗在脊髓灰质炎、麻疹、腮腺炎、流感、黄热病等病原体进化相对保守、自然感染可引起长时间免疫力、保护性免疫主要依赖于中和抗体的一类疾病获得成功。但是,在自然感染不能引发长时间免疫力而且引起慢性持续性感染的疾病如许多寄生虫感染、分枝杆菌感染及一些病毒性感染,模拟自然感染过程的策略不能制备出高效疫苗。近年来的研究已经表明:这不单归因于细胞免疫比体液免疫更为重要,而且发现:(1)天然病原体的感染会通过其"不合理"的表位组分引起Th1/Th2平衡改变而继发免疫偏差(Immune deviation)、免疫缺陷或通过引发免疫活性细胞之间的"兄弟互相残杀"的机制加重感染过程和病理过程;(2)由于进化的原因,天然病原体或抗原上含有各种不同的细胞因子、补体或化学趋化因子受体等高同源性顺序,从而干扰细胞间通讯,产生免疫颠覆(Immune subvertion)。病原体可通过这些机制逃避机体的免疫清除而成为病原携带状态或持续性感染状态[1~7]。因此,新一代疫苗必须能诱发出在性质和强度上与自然感染过程有所不同的免疫反应,这显然难通过减毒病原体或简单地选择一种天然抗原而实现,必须对天然抗原分子进行设计、修饰和改造。

蛋白质抗原是自然界最为重要的一类抗原,其抗原结构与抗原性(或免疫原性)关系的研究直接推动了分子疫苗的发展。人们认识到,蛋白质抗原并非通过其完整分子发挥功能,而是通过其表位体现其特异性。就某一蛋白质抗原而言,它不但含有B细胞表位、Th细胞表位、细胞毒性T淋巴细胞(Cytotoxic T lymphocyte, CTL)表位、NK细胞表位、MHC限制位等与免疫识别密切相关的结构,而且还同时存在毒性或抑制性表位、优势非中和性表位、病理与自身抗原交叉反应性表位等于保护性免疫不利的因素。如上述及,由于许多天然抗原引发的免疫反应不能满足预防感染或预防发病的需要,为了提高蛋白质抗原的保护性,就必须在表位水平上做出选择,摒除后者,保留、改善前者以得到更理想的疫苗分子。进一步研究提示:(1)同一抗原分子的众多表位中各表位对抗原性的贡献不同:有优势(Dominant)、亚优势(Subdominant)和隐匿性(Cryptic)之分。在天然抗原中有些重要的保护性表位处于"隐匿"状态,而另一些针对外壳蛋白的非优势性表位诱生的大量抗体可通过细胞上的Fc受体或补体受体促进病毒进入细胞内而加重感染。(2)不同的表位有不同的功能:其诱生的保护性抗体在中和病原体、阻止感染或发病、阻止垂直传播等方面作用各不相同。(3)表位间的相对位置、构象特征(可及性、柔性、二级结构等)、表位侧翼顺序也与表位的功能表达密切相关。因此,在表位水平上对抗原性的认识已促成这样一种趋势:基于抗原分子的免疫干预手段已不再停留在病原体或天然抗原整体分子水平而开始向表位水平过渡。而就表位而言,其各氨基酸残基对抗原性的贡献并不相同:有必需和非必需之分。近来抗原呈递机制的研究已经表明:通常用肽探针探得的"抗原决定簇"实际上包括了与T细胞受体(TCR)结合的表位(Epitope)和与MHC结合的MHC限制位(Agreotope),而MHC结构槽内的肽段顺序则还包括间隔性氨基酸残基(FLR)。免疫原中这些结构的相互关系直接影响其免疫优势性表达。这些认识无疑对设计新一代高效、高特异性疫苗或免疫制剂有极为重要的意义,也使用分子设计的方法改进免疫原特性成为可能。

随着免疫原由病原体向蛋白质、表位多肽过渡,其分子量逐渐变小,所诱发的免疫应答针对性增强,并摆脱了抑制性表位和致病性表位的影响,但抗原性和免疫原性也呈现依次降低的规律,从而使得许多重组蛋白或小分子疫苗不能激发满意的保护性免疫应答。这已成为目前分子疫苗研究领域急待突破的主要障碍之一。近年来,国际上诸多著名的实验室围绕着上千种不同抗原进行了大量的免疫识别研究,积累了丰富的表位研究资料。这为找到含优势性表位的肽段提供了方便。问题是由于对表位在病原体或母蛋白上具有的大分子特性多不清楚,蛋白质抗原表位客观上又存在前已述及的种类、功能和结构上的复杂性,加之,许多病原体有多个血清型、多数病原体存在抗原变异或漂移、肿瘤抗原或自身免疫性疾病的靶抗原与自身正常分子十分接近,这些情况下制备疫苗不但需要在表位或更精细水平上考虑,也需参照表位所构建抗原的整体分子特性。简单地采用"通用"中和性表位的策略似乎不能满足客观需要。因此,有必要在以下二个水平上开展更深入的工作:(1)不同的氨基酸残基如何构建成有效的表位?(2)不同的表位如何构建成有效的免疫原?

目前,国际上在该领域主要研究进展有:(10现代保护性免疫理论认为,有效的保护性免疫来源于一组表位的合理组合与

作者简介:吴玉章(1963—),男,山东省潍坊市人,博士,教授,主要从事免疫识别、分子设计与抗原工程方面的研究,发表论文86篇。电话:(023)68752680

收稿日期:2000-09-04;修回日期:2000-09-21

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

搭配。(2)组合化学方法的引入,发现了模拟位(Mimotope)。模拟位的氨基酸顺序可能与病原体上表位截然不同,却可能引发相同特异性而且有时更强的免疫反应。(3)点突变或基因重组方法提示表位的相对位置、表位间的间隔顺序、表位侧翼顺序对表位功能表达至关重要,不适当的结构不但失去原表位的功能而且会产生新表位(Neotope)。(4)在表位功能表达的结构基础方面柔性和可及性可能是重要因素,我室的研究则发现:含表位的抗原多肽可能不一定形成与原蛋白相同的硬性二级结构,但须具备形成某种特定二级结构的趋势。

除了上述抗原性组分的考虑之外,细胞因子、补体或化学趋化因子等受体的高度同源性顺序干扰优势表位的免疫效应而引起免疫偏差,这些顺序还可作为病原体进入宿主细胞的受体,而造成细胞内感染。这一问题近来已引起各国同行的高度重视。另外,天然抗原上含有APC细胞某种受体的配基,可以通过APC特异性抗原辅获机制(APC targeting)而促进抗原的内在化,使得抗原呈递效率提高达1~4个数量级。如何摒除前者利用后者也是构建高效免疫原分子应当解决的重要问题之一。

前已述及,抗原进入体内诱导体液免疫反应已取得成功。基于此制备的预防性疫苗,已有9种列入全球安排计划(EPI)。1979年天花在人类被消灭,脊髓灰质炎在2000年或稍后即将在全球消灭,麻疹也将在某些国家和地区近期内消灭。但抗原进入体内诱生特异性细胞免疫尚未成功。而依赖此类应答的疾病在目前尚未得到有效控制,如细胞内感染、肿瘤等。此类疾病的预防和治疗依赖于其特异性的预防性疫苗和治疗性疫苗。而传统的可溶性抗原(除个别例外)进入体内难以诱导有效的细胞免疫应答。

我们的设想是通过对天然抗原的免疫识别研究弄清抗原的表位图谱及其精细结构-功能关系,通过分子设计的手段以表位图谱为基础设计能诱发理想免疫反应的免疫原,为细胞内感染、肿瘤等主要依赖于细胞免疫的一类疾病提供特异性防治手段。通过10余年的工作,我们已成功描绘出一系列病毒抗原,肿瘤抗原和超抗原的T、B细胞表位图谱,提出了蛋白质抗原免疫识别的新理论——氨基酸密码学说,建立了根据表位设计疫苗(英文译名为Epitope-based vaccine design, EBVD)的全新技术路线[8~20]。我们设计、筛选出了乙肝治疗性疫苗的先导化学结构,目前正进行临床前评价。

细胞免疫和治疗性疫苗的核心问题是细胞毒性T细胞(CTL)的识别、活化、增殖、分化、死亡规律。本专集汇集了近1年来,我所在该领域所完成的部分实验工作及读书心得。望能通过本专集的出版,抛砖引玉,启思求教。

关键词:免疫识别;分子设计;抗原工程
中图法分类号:R392.11 文献标识码:A

## 参考文献:

[1] Farzan M, Mirzabekov T, Kolchinsky P, *et al*. Tyrosine sulfation of the amino terminus of ccR5 facilitritates HIV entry[J]. Cell, 1999, 96(5): 667—676.

[2] Balter M. Can immune systems be trained to fight HIV[J]. Science, 1999, 286(5 446): 1 823—1 825.

[3] Balter M. Molecular methods fire up the hunt for emerging pathogens[J]. Science, 1998, 282(537): 219—221.

[4] Guidotti L G, Rochford R, Chung J, *et al*. Viral clearance without destruction of infected cells during acute infection[J]. Science, 1999, 284(5 415): 825—829.

[5] Cohen J. AIDS research. Novel protein delivers HIV to target cells[J]. Science, 2000, 287(5 458): 1 567.

[6] Morel S, Levy F, Burlet-Schiltz O, *et al*. Processing of some antigens by the standard proteasome but not by the immunoproteasome results in poor presentation by dendritic cells[J]. Immunity, 2000, 12(1): 107—117.

[7] Boon T, Coulie P G, Van den Eynde B. Tumor antigens recognized by T cells[J]. Immunol Today, 1997, 18(6): 267—268.

[8] Hu W G, Zhu X H, Wu Y Z, *et al*. Localization of a T cell epitope of superantigen toxic shock syndrome toxin 1 to residues 125 to 158[J]. Infect Immun, 1988, 66(10): 4 971—4 975.

[9] Wu Y Z, Shi T D. EBVD: an new approach to molecular design of vaccine[J]. Immunologist, 1998, (Suppl): 1 487—1 491.

[10] Wu Y Z, Zhu X H. An new approach for B-cell epitope prediction in viral proteins[J]. Chin Sci Bull, 1995, 40(9): 761—765.

[11] 吴玉章, 朱锡华. 分子设计及其在免疫学中的应用展望[J]. 免疫学杂志, 1993, 9(1): 1—5.

[12] 朱锡华, 吴玉章. 对表位生物学研究的认识和体会[J]. 上海免疫学杂志, 1998, 18(1): 1—3.

[13] 吴玉章. 蛋白质抗原免疫识别的氨基酸密码学说[J]. 科学, 1995, 202: 56—61.

[14] 吴玉章, 朱锡华. 蛋白质抗原表位的研究[J]. 科学, 1994, 185: 93—97.

[15] 吴玉章, 朱锡华. 嗜肝病毒家族成员间进化关系的研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 1994, 20(3): 202—206.

[16] 吴玉章, 朱锡华, 张 凌. 不同亚型Pre-S2蛋白二级结构及抗原表位的预测与比较[J]. 生物化学杂志, 1993, 9(3): 231—235.

[17] 吴玉章, 朱锡华, 张 凌. Pre-S2蛋白抗体结合部位的确定[J]. 免疫学杂志, 1993, 9(1): 8—13.

[18] 吴玉章, 朱锡华, 张 凌. Pre-S2蛋白B细胞表位的精细特异性[J]. 免疫学杂志, 1994, 10(2): 80—84.

[19] 吴玉章, 朱锡华, 张 凌. Pre-S2蛋白T细胞的精细特异性[J]. 免疫学杂志, 1994, 10(2): 75—79.

[20] 吴玉章, 朱锡华. 预测Th细胞表位的一种新方法[J]. 免疫学杂志, 1995, 11(7): 120—124.

(编辑 汪勤俭)

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