

超抗原及其应用前景

郑镇西 综述, 陈廷祚 审校

(成都生物制品研究所, 成都 610063)

摘 要: 本文对超抗原的研究现状及其应用前景作了概要的介绍, 可供有关工作者参考。

关键词: 超抗原; 金黄色葡萄球菌肠毒素; 应用

中图分类号: R392-11

文献标识码: A

文章编号: 1005-5673(2002)-02-0082-04

1998 年在巴黎召开的疫苗国际会议中, 就指出 T 细胞在免疫反应中的重要性, 它赋予 CTL_s (Cytotoxic T cells), 调节抗体产生、是免疫记忆的根基。上百万个不同的 T 细胞有各种各样的受体, 从而使 T 细胞在免疫反应中具有十分重要地位, 十几年前^[9] Fleisches 和 Schrezenmeies 就指出 SE 是有丝分裂原 (Mitagen)、对人和鼠淋巴细胞有效刺激浓度 $< 10^{-9}$ mol/L 能导致 T 细胞活化, 相反有丝分裂原外源凝集素 (lectins) 也能结合到许多 T 淋巴细胞和辅助细胞的结构上, 但至少比前者要高出 1000 倍的浓度, 并且证明 SE_s 是功能的二价有丝分裂原, 能高度选择性结合到 HLA-11 类分子和 TCR^[9]。

能活化 T 细胞的超抗原 (Superantigens-sAg), 源于葡萄状球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和链球菌 (*Streptococcus pyogenes*) 所产的热原性的外毒素, 现在还报告许多细菌、病毒、原生动物的蛋白质是超抗原, 但多不确定。原因有实验条件控制不严和污染所致。没有疑义的超抗原 SE_s (A、B、C、D、E、FH、TSST-1) 和 SPE A、C (22-30kDa)。关于 TSST-1 以及非细菌性超抗原本文涉及很少, 容另行讨论。

超抗原 (Superantigens-SAGs) 是一组异源性蛋白质, 它对于淋巴细胞具有非常强大而又很有效的刺激, 它能经由 Zn²⁺ 作桥^[3] 结合到 MHC-11 分子上 (Major histocompatibility complex class 11 molecules-MHC-11) 和 T 细胞受体的可变部份 (Variable parts of the T cells receptor-TCRV β) 导致 T 细胞活化、产生大量有生物学活性的细胞因子, 和药性效应。

为了避免出现认识上的混乱, 有以下几条规定可以对超抗原作出正确的判断。一是其活性量应在 nanomolar 浓度; 二是能特异结合到 11 类分子—应

用重组体鉴定其活性; 三对 T 细胞 TCRV β 有不同程度刺激。在排除任何干扰的情况下刺激辅助细胞。现在比较公认的超抗原计有: 葡萄状球菌肠毒素 (SE_s): A-H, TSST-1; 链球菌肠毒素 (SPE): A、B、C 和 SSA, 病毒性有 MAM、MLS-1。致于所以称谓“超”抗原, 正是因为它们能够活化 $\geq 25\%$ T 细胞而又与 T 细胞抗原特异性不相关, 超抗原涉及到自家免疫机制。首先: 超抗原能直接活化自反应性 T 细胞 (Autoreactive T cells), 它能游走到组织, 通过释放细胞因子或细胞毒性机制而介导自家免疫紊乱; 其次超抗原能活化自反应性 B 细胞, 并且能通过 B 细胞上 MHC-11 与 T 细胞受体交联。T 细胞不需识别特异的自家抗原, 第三, 超抗原能活化抗原呈递细胞 (APC), 像巨噬细胞, 导致细胞因子释放, 像过氧化氢酶或炎症的其它介体。由于巨噬细胞活化也能改变抗原处理、自家抗原和封闭的决定基产生自反应性或交叉反应性 T 细胞^[10]。在人, 超抗原也涉及到一些疾病, 像 Kawasaki 病和免疫紊乱等, 该病是急性, 以发烧、皮疹、腺病、冠状动脉瘤、关节炎、无菌性脑膜炎和尿道炎等为特点, 可能是免疫机制起中心作用^[10]。

金黄色葡萄球菌肠毒素 (*Staphylococcus enterotoxins-SE_s*) 是原型超抗原 (Prototypic superantigens), 它是有丝分裂原、其分子量 25-30 kD, 高亲水性、低 α 螺旋、高 β 褶叠样, 很易受影响的结 构。其受体是在抗原呈递细胞 MHC-11 分子的 α -螺旋区、它与 SE_s 的 NH₂ 末端区作用, 这样一个复合物 (SE_sMHC-11) 是结合到 TCRV β 区所需要^[11]。具有生物学活性的肠毒素, 依其氨基酸的不同, 在免疫学上可分为 SEA、B、C、D、E、F 和 TSST-1 血清型, 但

它们都具有超抗原的活性,这些肠毒素一般说:对热和水解酶的变性,都有很高的耐性,它们都是由 230 ± 个氨基酸组成的、可溶性蛋白质、中央有二硫键、但 TSST-1 例外、它只有 194 氨基酸、没有半胱氨酸,这些毒素只有很少(<8)的氨基酸是保守性的,它位于 194 位,结晶体的分析证明:SEB 由两个区段组成的分子,它们能以适度亲合性结合到 MHC-11 分子上,超抗原毒素是在 β 链可变区等位基因,以选择方式,被 T 细胞受体所识别,对 SEB 结晶体的分析证明,它有 2 个区段。优势区段是 β 折叠结构;有两个开裂在相对位置:一面在 C 末端、以 α4 螺旋型、分子相对一面在 α5 螺旋^[5]。随后,Swaminathan 等进一步证明:这些部位具体是指 43-47,65-78,92-96 和 211-215 氨基酸残基^[5],在临近 44 位的 Phenylalanine,它是 MHC 的作用部位^[4],超抗原能直接对人的 CTL 作用,能介导有强烈作用的抗 MHC-11⁺ 靶细胞,即谓之超抗原依赖的细胞介导的细胞毒性(Cytotoxicity)。因此,SDCC(超抗原依赖的细胞介导的细胞毒性)能直接应用于 MHC-11 肿瘤细胞,使后者与 mAb-SE_s(体外结合),有利于 SE_s 作用、杀灭癌细胞。

就细菌超抗原而言,依其氨基酸序列区分为 4 个组:一是由 SEA、SED 和 SEE 为一组;二是 SEB 和 SEC₁₋₃;三是 SpeA,它与 SEB、SEC_s 的关系较与 SEA、SPE-C 和 TSST-1 更为密切;四是其氨基酸序列同源性在 < 15% (对前三组而言)的 TSST-1 和 SPEC^[8]。它们的抗原关系,在动物实验中,也显示出差异性,互相之间不能保护,只有多价的,包括 SEA、SEB、SEC₁ 和 TSST-1 苗,才能保护不同型毒素的攻击^[12]。就它们的超抗原性质,同样也显示出差异性,都与结构相关。

如前述具有超抗原活性的肠毒素,一般说对热和水解酶的作用都较稳定,有较高的耐性,这与其结构相关;它们多是由 230 氨基酸组成的可溶性蛋白质、中央有二硫环,但 TSST-1 例外,它只有 194 个氨基酸、其中没有半胱氨酸。这些毒素只有很少(<8)的氨基酸是保守性的,它位于 194 位。对结晶体的分析证明:SEB 是由两个区段组成的分子,它们以适度亲合性结合到 MHC-11 分子,毒素能在 β 链可变区以等位基因选择方式被 T 细胞受体所识别,在对 SEB 结晶体的分析,该分子由 2 个区段组成;优势区段是 β 折叠结构;有两个开裂,分别在相对位置:一在 C 末端以 α4 螺旋型、分子的相对一面在 α5 螺旋^[5]。Swaminathan 等进一步证明,超抗原与通

常抗原主要不同之处是它与 MHC-11 和 TCR 分子的作用,普通抗原是处理到 13-17 残基长度,它是结合到 MHC-11 表面的开裂,供呈递到 TCR。与普通抗原相反,超抗原是未经触动的蛋白,结合到 MHC-11 分子上。超抗原是结合到 MHC-11 分子的不同位置再与 TCRVβ 结合形成三聚体、抗原片段与可变成份(V)和 TCRα 和 β 链作用^[5],超抗原与 TCR Vβ 区表面氨基酸残基接触,刺激所有 TCR 衍生的、相应的 Vβ、并不涉及其它^[5],SEB 的 N 末端有三个区段影响到 MHC-11 结合和/或 T 细胞活化,每个区段有特定的氨基酸,其中一些影响 MHC-11 结合和 T 细胞活化。有的只影响 MHC-11 结合而其它则只影响活化,实际凡影响 MHC-11 结合,必影响 T 细胞活化。像 1 区由 9~23 残基,它影响到 TCR 和 MHC-11 结合区,2 区是 40-53 残基,在 SE_s 中介导结合 MHC-11 分子。区间发生突变影响 MHC-11 结合和随后的 TCR 活化。实际上半数的突变是在这个区,涉及到保守的 F₄₄ 残基,其它突变涉及到 41、45、46、48、52 和 53。这些变化都影响到 MHC-11 结合以及随后的 TCR 活化,这个区对 MHC 结合是特异的。3 区涉及 2 个 60~61 残基,任何一个突变影响到 TCR 活化,但不影响 MHC-11 结合它两个在环中连接 β₂ 和 β₃^[5]超抗原的结构,保障了它在 T 细胞活化过程中的独特作用。

超抗原能结合到人白细胞的不同部位,发挥不同作用,也表现了它们之间关系,以标记的实验证明:SEA、SEB 和 SEC₁ 结合到 HLA-DR1 的部位并不矛盾,它们对同一个位点的结合亲合性明显的不同,SEB 和 TSST-1 之间则有 30%~50% 的竞争性,SED 和 SEE 与 SEA、SEB 和 TSST-1 竞争结合 HLA-DR1,因为 SEE 和 SEA 氨基酸组成有 90% 同源性。SED 与 SEE 和 SEA 也有类似的同源关系,都有结合的竞争性^[8]。Kapper 证明 SEB 的 9-23 和 60-61 与 β 链等位基因作用部位,这些研究还证实 SEC₂ 和 SEC₃ 的 19-26,60,90-91,102-106,176 和 210 肠毒素残基是和 TCR 接触部位,这些研究虽对氨基酸序列在超抗原的活动中有重要意义,但完整的毒素更具超抗原活性。

在人,已经知道超抗原能结合到 HLA-DR 和 DQ 但不结合-DP、SE_s 结合到抗原呈递细胞,其亲合性(kD)在 10⁻⁶ 和 10⁻⁷ mol/l。SEA 亲合性比 SEB 亲合性高。SE_s 结合人 MHC 分子比结合鼠 MHC 分子有更高的亲合性,以 MHC-11 和 SE_s 进行实验证明:在 30~60,50~70,65~85 和 80~100 的

MHC-11 抗原 β 链(鼠),它能抑制 SEA 结合到鼠 B 细胞淋巴瘤 Apc 和人 Bunkitts 淋巴瘤 Raji(HLA-DR)^[11],SEA 是和 11 MHC β 链 α 螺旋反应,这就是 72 和 79 或 80- α 螺旋 β 链,有一结合开裂,这对于 SEA 的生物学功能是很重要的^[11]。

在抗原呈递上 I α (MHC-11)分子是毒素受体,TSST-1 对于人 11 分子 DR 和 DP 也有不同的亲合性,DR 的 NH₂ 末端(α 1 区)是 TSST-1 高亲合结合区。SE_s 是与 MHC-11 分子外侧的抗原结合沟槽发生作用^[11],SE_s 呈递不是严格限制于 MHC;如果预先处理(水解)到肽片断不需要对其呈递。在人肠毒素是典型的结合到人白细胞 HLA-DR 和 DQ 抗原上,但不与 -DP 结合,SE_s 结合到 Apc 的亲合性(Kd)在 10⁻⁶-10⁻⁷ mol/L。其中 SEA 的亲合性高于 SEB。SE_s 对人 MHC 分子的亲合性高于对鼠 MHC 分子的亲合性,负责与鼠 MHC-11 反应的区段是 30~60,50~70,65~85 和 80~100。

此外还有一些分子也掺入分子间的粘附,像介导 T 细胞活化的 LFA-1/ICAM-1CD₂/LFA-3 和 CD₂₈/B7。也介入到 MHC-11 依赖的 SAgs 活化 T 细胞过程。CD₂₈能被 80% 的 T 细胞表达,它在活化 B 细胞和单核细胞中起刺激作用,致使 IL-2 表达增加,从而影响转录和 mRNA 的稳定,CD₂₈和 B7 能导致 Cyclosporin A 耐性蛋白激酶路线的活化、CD₂₈也介入 IL-2 表达增加、从这里不难看出机体在超抗原作用下,将会导致机体一系列功能性变化,活化 T 细胞,不难想象,将对机体总体免疫功能增强,实现机体免疫。

随着时间的推移,对超抗原研究的深入,也发现了一些急待解决的问题,首先是超抗原进入机体后,随即来的是超抗原呈递问题,需要足够的 MHC-11 分子,方能使其发挥超抗原作用,没有足够的 MHC-11 分子是难以完成的,应当考虑增加 MHC-11 的表答,使 SA_g 不仅能活化 T 细胞也能同时考虑其他随后的呈递问题,这样,就应当考虑在 SA_g 制剂中加入表达 MHC-11 呈递分子的成份,以活化 T 细胞。已经有这方面的报导,这是需要考虑的,其次是进入机体的途径问题。

超抗原虽然已有若干报导,但为时尚短,需要进一步研究,除了其本能、作用机理之外,尚有合理应用,充分发挥其“超抗原”作用,都是值得深入研究的问题。

最关键的是充分发挥超抗原活性,前面已经提到 MHC-11 呈递问题,有报告说,尽管超抗原能活

化 T 细胞,由于缺乏 MHC-11 分子呈递,仍不能充分发挥活化 T 细胞的功能,因此充分诱导 APC 高效表达 MHC-11 成为当务之急,我们已知道分枝杆菌具有这种功能,它能激活该基因表达 MHC-11 分子,满足超抗原呈递的需要,以充分发挥超抗原诱导细胞因子、介导 T 细胞活化在防治恶性肿瘤疾病中,起到应有的作用。此外,J. Schifferbaue 等指出由于超抗原 SE_s 能活化众多的 T 细胞也可能导致机体免疫的紊乱,或者个体免疫异常^[10]。这很可能是由于超抗原能直接活化自反应性 T 细胞(Autoreactive T cells)、它游走到相应组织、通过细胞因子释放或通过细胞毒性机制的作用;其次,超抗原能活化自反应性 B 细胞;也可能由于超抗原能活化抗原呈递细胞、像巨噬细胞,导致其细胞因子释放、超氧化物(Superoxides)或其它炎症介体的释放,都能导致机体自家免疫紊乱^[10],这些可能性都是在应用超抗原时应当注意的。

参考文献:

- [1] Fleischei B. Gestech D. Fuhsman, A. et al. Superantigens and pseudosuperantigens of Gram-positive cocci[J]. Med. Microbiol. Immunol 184:1-8 1995
- [2] P. A. Iandolo. M. Dohlsten, G. Hedlund, et al. Co-stimulation with B7 and target superantigen is required for MHC 11 independent T-cell Proliferation but not cytotoxicity[J]. Immunol. 1993, 80: 236-
- [3] U. Holzei, T. Oslkowsky, C. Zehses: et al. T-Cell stimulation and cytokine release induced by staphylococcal enterotoxin A (SEA) and the SEAD227A mutant[J]. Immunol 1997 90:74-80
- [4] J. W. Kapples, Hesnan, A., Clements, J. et al. Mutations defining functional regions of the superantigen staphylococcal enterotoxin B. [J]. J. Exp. Med. 1992 75:387-396.
- [5] S. Swaminathan., W. Fousey, J. Pletches, et al. Crystal structure of staphylococcal enterotoxin B. a superantigen. [J]. Nature 1992 359:801-806
- [6] Hedlund, G., M. Dohlsten, T. Hessmann, et al. A recombinant c-Terminal fragment of staphylococcal enterotoxin A binds to human MHC class 11 products but does not activate T cells. [J]. J. Immunol 1991 147:4082.
- [7] Cailsson R, H. Fisches H. O. Sjönen. Binding of staphylococcal enterotoxin A to accessory cells A requirement for its ability to activate human T cells. [J]. J. Immunol 140:2484-2488, 1988
- [8] T. Sutes, u. Malipiesc, L. Otten, et al. Sendritic cells and differential usage of the MHC class 11 transactivator promoters in the central nervous system in experimental autoimmune encephalitis [J]. Eys, H, Gnybol 2000 30:794-802
- [9] Y. Choi A, Heiman, D. Digiusto, et al. Residues of the variable region of the T-cell-receptor β -chain that interact with S. aureus toxin superantigens [J]. Nature 1990 346:471-473.
- [10] M. Dohlsten, A. Sundtedt. Superantigen-induced cytokines

- growth of human coloncarcinoma cells[J]. *Int. J. cancers* 1993 54:482-488
- [11] H.M. Johnson. Staphylococcal enterotoxin microbial superantigens[J]. *FASEB H* 1991, 5:2706-2712
- [12] C. Gascia, C. Bsiggs, L. Zhang, et al. Molecular characterization of the putative T-cell receptor earity of the superantigen staphylococcal enterotoxin B[J]. *Immunology* 1997. 94:160-166
- [13] H. Sato. Cytoplasmic membrane-Associated protein (CAP) isolated from stseptococcus pyogenes: As a New Bacterial superantigen *Miesozool. gmmunol* 1994 38(2)139-147
- [14] D. Ockest, M. Schmits. Advances in cancer immanothesepey[J]. *Immunol. Today* 1999 20(2):63
(收稿 2001-12-10 修回 2002-02-25)

《单克隆抗体荟萃》征稿

由著名微生物学家和免疫学家汪美先教授、金伯泉教授主编的《单克隆抗体手册》一书,自 20 世纪 90 年代初出版以来,得到了国内同行的大力支持和有关公司好评。该书的出版对于免疫学及生命科学中单克隆抗体的深入研究,对于交流信息、加强协作和促进开发应用起到较好的甚至不可替代的作用。

鉴于单克隆抗体及其基因工程抗体的研究仍在蓬勃发展,其基础和临床的应用更加深入和广泛,并根据不少研究单位、公司及同道们的要求,现由《细胞与分子免疫学杂志》编辑部继续收集国内有重要价值的单克隆抗体杂交瘤细胞系和基因工程抗体有关内容,拟继续出版该书的续集。该续集暂定名为《单克隆抗体荟萃》,并开始向全国各有关实验室征稿。热切欢迎从事单克隆抗体和基因工程抗体研制者现在就投稿! 一律免收版面费,录用稿件出版后赠该书一册。撰稿格式和原《单克隆抗体手册》中格式基本一致,亦可向四医大免疫编辑部索要固定格式表。

联系地址和方式: 陕西西安第四军医大学校内《细胞与分子免疫学杂志》编辑部

咨询联系人: 董邦权

邮编: 710032

电 话: (029)3374550;

Fax: (029)3253816

Email: immuedit@fmmu.edu.cn