

mologous recombination. And it is found that synapsin I plays a vital role in physiological events such as neurotransmitter release and synaptic plasticity, etc.

Key words synapsin I, synaptic vesicles, phosphorylation, neurotransmitter release, synaptic plasticity

白细胞介素 2 免疫毒素研究进展

王 露 马大龙

(北京医科大学免疫系, 北京 100083)

摘要 应用基因工程技术已研制出多种免疫毒素, IL-2免疫毒素是研究最为成功的例子之一, 包括 IL-2与绿脓杆菌外毒素的融合蛋白, IL-2与白喉毒素的融合蛋白等. 这类毒素以 IL-2为导向分子, IL-2受体阳性细胞为靶细胞, 治疗移植排斥反应、自身免疫性疾病、T 细胞淋巴瘤等疾病, 在 I/II 期临床试验中已取得了较好的疗效. 但是这类免疫毒素对人体均有较强的抗原性, 使治疗时间和效果均受限制, 为此研制了人源化的 IL-2免疫毒素, 能在体内外杀伤 IL-2受体阳性细胞.

关键词 白细胞介素 2, 免疫毒素, 人源化毒素

在免疫毒素研究领域, 一个值得注意的研究动向是将细胞因子与毒素偶联制成细胞因子免疫毒素, 用于移植排斥反应、自身免疫病及某些肿瘤特别是白血病的治疗. 其中白细胞介素 2 (IL-2) 免疫毒素是研究最为成功的例子之一, 目前在美国已进入临床 I/II 期试验, 收到较好疗效, 是一种应用前景看好的新一代免疫抑制剂^[1~3]. 本综述主要介绍 IL-2免疫毒素的结构、功能及临床应用的最新进展.

1 IL-2和 IL-2受体

IL-2是在分裂素或特异性抗原刺激下, 主要由辅助性 T 细胞产生的一种淋巴因子. IL-2受体 (IL-2R) 至少是由三种独特的膜成分组成, 分别是 α 链 (IL-2R α)、 β 链 (IL-2R β) 和 γ 链 (IL-2R γ). 绝大多数静止的 T 细胞、LGL 和单核细胞并不表达 IL-2R, 而在一些肿瘤、自身免疫病和移植排斥反应的病人体内有 IL-2R 的异常高表达, 这些表达 IL-2R 的细胞恰好可以成为 IL-2免疫毒素治疗的一个靶子, 使 IL-2免疫毒素可以准确地杀伤这类细胞^[4].

2 基于 PE 的 IL-2免疫毒素

2.1 绿脓杆菌外毒素 (PE)

PE 是绿脓杆菌分泌的单链毒素, 其作用机理主要是通过催化 ADP 的不可逆核糖化, 在 NAD 存在时使延长因子 2 (EF-2) 失活. 肽链不能延长, 蛋白质合成即被抑制, 引起细胞的死亡. PE 有三个主要功能区, 即 I 区 (由 Ia 和 Ib 组成), II 区和 III 区. 缺失掉 Ia 区的 1~252 氨基酸残基后可产生一个分子量为 40 000 的蛋白质, 称为 PE40^[5].

2.2 IL-2-PE40免疫毒素

Lorberbourn-Galski 等^[6]1988 年构建了第一个 PE 与 IL-2 的融合毒素即 IL-2-PE40. 这种融合毒素可以抑制靶细胞蛋白质的合成, 具有细胞毒性作用, 体内试验也证明具有较好的免疫抑制剂作用, 能使小鼠的恶性淋巴瘤消退, 抑制移植排斥反应, 延缓心脏移植鼠的存活期, 抑制一些自身免疫病的发生发展, 如自身免疫性关节炎、葡萄膜炎和脑膜炎等, 但是 IL-2-PE40 对活化的人 T 细胞和成人 T 细胞白血病

没有显著作用. 在上述工作基础上, Lorberboum-Calski 等^[7]又构建了 IL-2-PE664Glu, 据报道这种嵌合毒素与 IL-2-PE40 相比具有更好的与细胞结合的功能和对人活化 T 细胞有更强的毒性作用.

2.3 Anti-Tac(Fv)-PE40

Anti-Tac (Fv)-PE40 是一个重组的单链免疫毒素, 包括抗 Tac 单抗中能与抗原结合的最小抗体片段, 即可变区片段 (Fv). Batra 等^[8]利用这种 Fv 片段与 PE 融合构建了 Anti-Tac (Fv)-PE40 免疫毒素. 这种融合毒素与 IL-2-PE40 和 IL-2-PE664Glu 相比具有更强的作用, 特别是对人源的 IL-2R 阳性细胞作用更强. Anti-Tac (Fv) PE40 在体外非常有效地抑制混合淋巴细胞反应和成人 T 细胞白血病细胞, 有人将 PE40 的 365~380 去除一个二硫键, 构建了 Anti-Tac (Fv)-PE38, 通过实验证明除去 365~380 的结构并不减低毒素的细胞毒作用, 且可增强其细胞毒作用.

3 基于 DT 的 IL-2 免疫毒素

3.1 白喉毒素 (DT)

DT 是由 585 个氨基酸残基组成的单链多肽, 由感染了携带 DT 基因的溶原性噬菌体的白喉棒状杆菌所分泌, 其作用机理与 PE 相同^[9].

3.2 DAB486-IL-2 与 DAB389-IL-2

Williams 等^[10]1987 年构建了白喉毒素和 IL-2 的融合毒素, 称为 DAB486-IL-2; Johanna 等^[13]对 DAB486-IL-2 进行改造, 构建了 DAB389-IL-2 融合毒素, 将 DT 去除了 97 个氨基酸残基, 其细胞毒作用在体内外较 DAB486-IL-2 强 10 倍多.

DAB486-IL-2, DAB389-IL-2 均是良好的免疫抑制剂, 对其生物学作用以 DAB486-IL-2 研究的较多. 它在体外对活化的 T 细胞和带 IL-2R 的各种细胞株均有很强的细胞毒作用; 在小鼠的 DTH 动物模型中, 使用 DAB486-IL-2 6 d 即可完全抑制 DTH 的发生, 在小鼠的同种器官移植中单独使用 DAB486-IL-2, 可

以明显延长移植心脏的存活期; 它也可以延长小鼠胰岛细胞移植的存活期. DAB486-IL-2 还可以抑制一些自身免疫性疾病的发生和发展, 如小鼠自身免疫性糖尿病、系统性红斑狼疮和大鼠的佐剂性关节炎等^[12~14].

4 临床试验

DAB486-IL-2 已在美国进行 I/II 期临床试验, 初步结果是令人鼓舞的. Lemaistre 等^[1,2]用 DAB486-IL-2 治疗 100 例表达 IL-2R 的血液恶性肿瘤如白血病和淋巴瘤, 经过治疗, 30% 的病人肿瘤得到抑制达 4 周以上, 其中 3 例病人当分别治疗 30、20 和 12 个月后, 病情完全缓解. Schwartz 等^[3]用 DAB486-IL-2 治疗 19 例氨甲喋呤难治性的风湿性关节炎, 几乎所有病人临床症状都有明显改善, 后来又对 60 例风湿病人进行临床治疗也收到了明显的效果. 用 DAB486-IL-2 治疗胰岛素依赖性糖尿病, 18 例病人接受 7 d 治疗, 每个病人都有明显症状的改善, 其中 4 位患者, 可基本上或全部不依赖胰岛素补充.

5 IL-2 免疫毒素存在的问题

5.1 外源毒素导致免疫应答

传统免疫毒素如 DAB486-IL-2 等的毒素均是来自细菌或植物, 对人体有较强的抗原性. 在临床试验中大多数病人都产生了可检测到的中和抗体^[1], 这就使治疗时间受到限制, 也影响毒素作用的发挥. 如果应用人来源的载体及毒素或用与产生免疫无关的毒素有可能缓解这一问题 (参见下节).

5.2 毒素和 IL-2 的竞争作用

IL-2 可以促进 IL-2R 阳性细胞的增殖和功能, 若毒素的毒性作用低于 IL-2 刺激作用, 就可能会出现 IL-2 的作用占优势, 此时不仅不能杀死细胞, 反而使细胞增殖. 用抗 IL-2 受体的单抗作载体可以克服这一缺陷. 此外还可使用 IL-2 受体拮抗剂作为载体 (即突变 IL-2, 仅有结合作用而无刺激作用), 与毒素结合成免疫毒素亦可避免 IL-2 的刺激作用.

6 人源性免疫毒素

Rybak 等^[11]构建了一种人源的免疫毒素, 他们选择血管生成素 (angiogenin, Ang) 作为毒素, 这是存在于人体内的正常成分, 因为它有较强的促进新生血管生成作用而得名. 这种因子有 RNaseA 的活性, 在细胞内可裂解 40 S 亚基中的 18 S RNA 而抑制蛋白质的合成, 从而对细胞产生毒性作用. Rybak 等将抗转铁蛋白受体的抗体与 Ang 的基因融合即构建成抗体-Ang 融合毒素, 这种毒素体外试验证明可以杀伤肿瘤细胞 K562.

我们最近在大肠杆菌中成功地表达了 IL-2-Ang 免疫毒素, 其分子结构参见图1. 通过实验证明这种重组的融合蛋白在体外具有免疫毒素的作用, 可以抑制表达 IL-2R 的细胞蛋白质的合成, 最后导致细胞的死亡. 我们实验结果证明, 0.2~2 μ g IL-2-Ang 免疫毒素可明显抑制体外混合淋巴细胞反应, 体内活性测定发现, 腹腔注射 IL-2-Ang 免疫毒素, 对经 ConA 活化的小鼠脾细胞有明显的细胞毒作用, 这种免疫毒素的最大优势在于 IL-2 与 Ang 均是人源的, 对人体抗原性弱, 可长期反复使用, 可能会有良好的应用前景 (待发表).

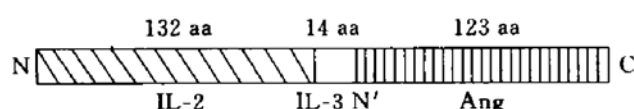


图1 IL-2-Ang 分子结构模式图

7 结 语

IL-2重组融合毒素是近几年才出现的令人瞩目的新课题, 由于这种融合毒素是一种特异的免疫抑制剂, 对某些细胞有特异性杀伤作用, 使这一研究方向极富有应用价值. 虽然还有许多难题有待克服, 但可以肯定重组融合毒素在医学研究中将发挥巨大作用.

参 考 文 献

1 Lemaistre C F, Fiona E, Meneghetti C *et al.* Cancer Research, 1993; **53**: 3930

2 Lemaistre C F, Craig F, Meneghetti C *et al.* Blood, 1991; **78**: 126
 3 Schwartz G, Tepler L, Charcun L *et al.* Blood, 1991; **78**: 175
 4 Taniguchi T, Minami Y. Cell, 1993; **73**: 5
 5 Cley B, Vijay K, David J *et al.* J Biol Chem, 1989; **264**: 14256
 6 Lorberboum-Galski H, Fitz D, Chandhary V *et al.* PNAS, 1988; **85**: 1922
 7 Lorberboum-Galski H, Barrett L V, Kirkmanm R L *et al.* PNAS, 1989; **86**: 1008
 8 Batra J K, Fitz-Gerald D, Gately M *et al.* J Biol Chem, 1990; **265**: 15198
 9 Choe S, Melanie J, Fujii G *et al.* Nature, 1992; **357**: 216
 10 Williams D P, Parker K, Bacha P *et al.* Protein Engineering, 1987; **1**: 493
 11 Rybak S M, Hennie R H, Harry M *et al.* PNAS, 1992; **89**: 3165
 12 Kelly V K, Bacha P, Pankewycz O *et al.* PNAS, 1985; **85**: 3980
 13 Johanna C, Spek V, Joseph A *et al.* J Biol Chem, 1993; **268**: 12077
 14 Walz G, Zanker B, Brand K *et al.* PNAS, 1989; **86**: 9485

Recent Advance in Interleukin-2 Immunotoxin. Wang Lu, Ma Dalong (Department of Immunology, Beijing Medical University, Beijing 100083, China).

Abstract Various kinds of immunotoxin have been prepared with genetic engineering method. The most successful one among them is interleukin-2 (IL-2) immunotoxin, which consists of IL-2 protein fused with pseudomonas exotoxin or diphtheria exotoxin. The IL-2 moiety in this type of immunotoxin acts as a targeting ingredient, so that to kill the target cells positive for IL-2 receptors. The IL-2 immunotoxin is being applied to treat transplantation rejections, autoimmune diseases and T cell lymphomas, etc. So far, a promising therapeutic efficiency has been achieved during the I /II phase clinical trials.

Key words IL-2, immunotoxin, humanized toxin