

403 这种突变使头尾无法连接; Sam 100 是我们已知的,它跟 Sam 一样,使细胞不裂解,从而不释放出噬菌体。W和E的琥珀型突变可以被几种削正基因削正(包括 SupE),但S突变用 SupE 则无效,需要专一的削正基因 SupF 才能削正。因此这种载体可以用 SupE 菌株大量繁殖。

另外,正如前面说过的, λ gt- λ C 是带有专一性重组基因的。在引入外来 DNA 时,为了安全起见,一般需把头尾两段单独分出,然后去跟外来 DNA 重组。如果我们把 λ gtWES- λ C 中的 λ C 用 λ B 代替,即可直接进行重组实验而符合安全条例。

结 束 语

多年来,尤其是近十几年来,在遗传、突变的分子机理,核酸与蛋白质的相互作用,基因的表现与阻遏以及结构与功能的研究等分子生物学各领域中, λ 噬菌体已普遍成为选材和研究的对象。 λ 噬菌体遗传学的基础研究也日益深入。同时由于 λ 噬菌体的各种突变体和转导体较易于诱导和构成,在基因工程中是一个很好

的运载工具,从而有利于增殖和研究其它生物来源(原核或真核)的特定基因的结构和表现。所以无论是 λ 噬菌体本身,或是作为一个运载体所涉及的问题都相当广泛,本文只略涉其一面。成文后又见有不少很好的研究工作报告和文献综述,特别是某些基因或识别位点的结构与功能等方面的研究又有新的进展,这也可见分子生物学发展之迅速。

主要参考文献

- [1] Hershey, A. D.: The Bacteriophage Lambda, Cold Spring Harbor Laboratory, 1971.
- [2] Watson, J. D. et al.: Molecular Biology of the Gene, 3rd edition, 1976.
- [3] Mathews, C. K.: Bacteriophage Biochemistry, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1971.
- [4] Maniatis, T. et al.: Cell, 5, 109, 1975.
- [5] Humayun, Z. et al.: Nucleic Acids Res., 4 (5), 1595, 1977.
- [6] Ranbach, A. et al.: Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 71(10), 3927, 1974.
- [7] Thomas, M. et al.: Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 71(11), 4579, 1974.
- [8] Blattner, F. R. et al.: Science, 196, 161, 1977.

[全文完。本文于1977年10月7日收到]

免 疫 核 糖 核 酸

——转移免疫信息的物质

陈 诗 书 等

(上海第二医学院生化教研组)

致敏淋巴细胞含有两类转移免疫信息的物质,一类为可透析的转移因子(Transfer factor, TF);另一类为不可透析的免疫核糖核酸(Immune RNA, iRNA),这是两类具有重要潜能的免疫触发剂和免疫调节剂。本文介绍 iRNA 的性质、作用原理及实际应用,并讨论 iRNA 与 TF 的关系。

一、免疫核糖核酸的发现与进展

早在1940年, Landsteine 和 Chase 发现致敏

豚鼠的淋巴样细胞能将迟发型变态反应转移给非致敏豚鼠,这是人们首次发现细胞免疫的转移现象。H. S. Lawrence (1949)将结核菌素阳性反应人(供体)的活白细胞,皮下注射于反应阴性人(受体)的身上,能使受体迅速出现结核菌素的阳性反应,说明人的白细胞能转移迟发型变态反应。接着他进一步发现,这种转移免疫信息的物质是一种可透析的小分子物质,称为TF,它可能具有多核苷酸和/或多肽的组成,对脱氧核糖核酸酶(DNase)、胰核糖核酸酶(RNase)

及胰蛋白酶都有抵抗力(H. S. Lawrence, 1969)。

继 TF 的研究开始之后不久,人们开始研究致敏淋巴样细胞中的 RNA 在转移免疫信息中的作用。1955—1956 年 Sterzl 和 Hrubesova 用沙门氏副伤寒杆菌免疫成年兔子,然后提取其脾脏的核蛋白,将此核蛋白注射于合成抗体机能尚未成熟的新生 5 天兔的腹腔内,此新生兔很快出现沙门氏副伤寒杆菌的特异抗体。60 年代初 M. Fishman (1961) 报道,正常大鼠巨噬细胞在体外与 T-2 噬菌体温育 30 分钟,然后将此巨噬细胞制成无细胞滤液,此滤液能使非致敏大鼠淋巴细胞合成对 T-2 噬菌体特异的抗体。该滤液若经 RNase 处理则丧失活性,用其他酶类如蛋白酶、DNase 处理,对活性无影响。由致敏细胞提取的 RNA,具有同样的效应(M. Fishman 和 F. L. Adler 1963, F. L. Adler 等 1966),说明转移免疫信息的物质是 RNA。J. A. Mannick 和 Egdahl (1964) 成功地应用 iRNA 完成了转移组织移植抗原的免疫反应,以加速动物对同种异体移植皮片的排斥。P. Al-erander 等人(1967)首先应用抗肿瘤 iRNA 治疗动物肿瘤,由此引起肿瘤研究工作者的重视。目前,国内外已开始试用抗肿瘤 iRNA 作为恶性肿瘤的一种免疫治疗措施。

二、免疫核糖核酸的种类

一般认为,淋巴样细胞在抗原的作用下产生的免疫核糖核酸可以两种形式被提取出来。一类是含有抗原的抗原-核糖核酸(RNA-Ag)复合物,另一类是不含抗原的免疫核糖核酸(iRNA)。

1. RNA-Ag 复合物

抗原经巨噬细胞吞噬后,被细胞内容酶体的酶作用而降解成抗原的碎片,这种碎片和某种 RNA 结合而成 RNA-Ag 复合物。B. A. Askones 和 Rhodes (1965), L. J. Duke 和 S. Harshman (1971) 等人先后用同位素标记的抗原免疫动物,证明从致敏动物淋巴样细胞中提取的免疫核糖核酸含有放射性同位素的抗原碎片。A. A. Gottlieb 和 R. H. Schwartz (1972)

指出:这种 RNA-Ag 复合物在硫酸铯(Cs_2SO_4)中的梯度密度(ρ)为 1.58 克/毫升,介于 RNA ($\rho = 1.66—1.68$) 和蛋白质 ($\rho = 1.28—1.40$) 之间,分子量为 12,000—24,000。分子中所含抗原碎片的最大限度为 36 个氨基酸残基。RNA 是此复合物起免疫反应所不可缺少的部分,可能是抗原或抗原决定簇的载体,但不起传递免疫信息的作用。RNA-Ag 复合物的免疫活性比原来的抗原强得多,因此有“超抗原”之称,主要促使淋巴细胞产生 7S 抗体,对抗体的持续产生、维持免疫回忆有关。

2. 不含抗原的免疫核糖核酸

S. I. Schlager 等(1974)用低分子(486)的单-(对偶氮苯肿酸盐)-N-氯乙酰-L-酪氨酸(ARS-NAT)免疫豚鼠,然后抽提致敏豚鼠脾脏和淋巴结的 iRNA,此 iRNA 能将 ARS-NAT 的免疫信息转移给正常淋巴细胞。S. I. Schlager 等用测定 As 灵敏度为 0.1 毫微克的原子吸收光谱仪来分析 iRNA 制剂中是否含有抗原碎片,结果测不出抗原分子中的 As 原子。说明这种 iRNA 不含抗原的碎片。这种 iRNA 能将供体细胞的体液免疫和细胞免疫的信息传递给受体细胞,因此有免疫信息 RNA 之称。下文介绍的主要是这种不含抗原的 iRNA。

三、免疫核糖核酸的生物化学性质

1. iRNA 的细胞来源和定位

iRNA 主要存在于致敏淋巴细胞和巨噬细胞中。D. H. Kern 和 Y. H. Pilch (1976) 用聚蔗糖-泛影葡胺梯度分离致敏淋巴样细胞的亚群,发现 T-淋巴细胞中的 iRNA 活性最强。但有人认为 iRNA 可来源于致敏动物的肝细胞(L. J. Duke 和 S. Harshman 1971, Linker-Israel 等 1973)。因此,可利用致敏动物的脾脏、淋巴结、外周血白细胞、淋巴液中的淋巴细胞、腹腔渗出细胞和肝脏来抽提 iRNA。

D. H. Kern 等(1976)将肿瘤细胞与完全 Freund 氏佐剂混合注射于豚鼠四肢足背,14

天后用热酚方法分别抽提脾细胞核和细胞浆的RNA, 他们发现抗肿瘤 iRNA 只存在于细胞浆, 细胞核的RNA无活性。P. Bilello 等(1976)用 pH 9 的十二烷基磺酸钠-酚方法抽提致敏家兔腹腔渗出细胞多聚核糖体的RNA, 并证实此多聚核糖体的RNA能转移免疫信息。有人从浆细胞瘤的富有A型颗粒的亚细胞成分中获得转移个体基因型标记的iRNA (B. Bhoopalram 等1976)。

2. 抗原刺激后 iRNA 的合成

在抗原的刺激下淋巴结合成RNA的能力增加, 非抗原物质无此现象。E. P. Cohen (1967)用羊红细胞免疫小鼠, 然后注射 ^{32}P 于小鼠体内以标记新合成的RNA。

分子杂交实验发现, iRNA 与DNA杂交的数量较非免疫RNA多, iRNA合成是由于某些基因优先转录或者由于某些基因优先复制以扩大拷贝数。N. Moav 等(1976)将羊红细胞注射于小鼠腹腔内, 隔8—12周再注射一次, 于第二次注射后48及72小时抽提小鼠脾脏的iRNA。用三种分子杂交方法观察iRNA或非致敏正常RNA与致敏动物及非致敏动物DNA分子杂交的动力学。在DNA过剩1,000倍情况下, RNA/DNA杂交结果表明iRNA和正常RNA与致敏动物脾或非致敏动物脾DNA和肝DNA杂交的动力学相同, 说明淋巴细胞中DNA与iRNA或正常RNA相适应的拷贝数在免疫前后无显著的变化。在RNA过剩情况下, 有3—4% DNA与正常RNA杂交, 却有8—9% DNA与iRNA杂交, 说明免疫后较多DNA程序被转录。同时发现iRNA被DNA的消耗率比正常RNA慢, 说明免疫后某些RNA种类合成的频率较高。上述实验结果证明, 淋巴组织在抗原刺激下, 不发生基因的扩大, 而是改变某些RNA种类的转录速度, 使之处于优先高频率合成。

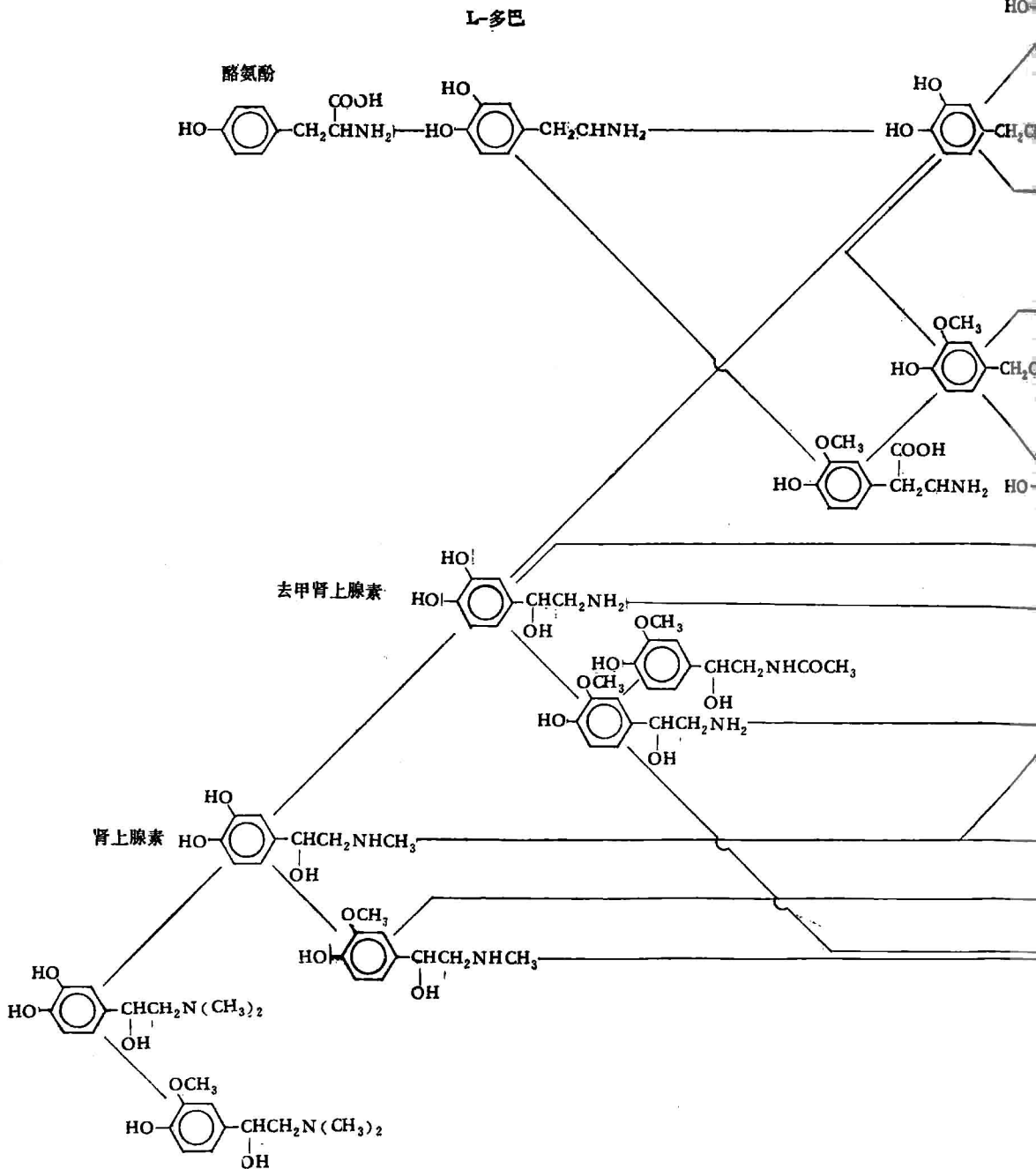
D. H. Kern 等(1976)研究了致敏动物抗肿瘤iRNA的合成动力学, 他们将甲基胆蒽诱发小鼠纤维肉瘤的瘤细胞与完全 Freund 佐剂混合注射于豚鼠四肢足背; 另将甲基胆蒽诱发大鼠的活纤维肉瘤细胞接种于纯系同基因大

鼠。在免疫注射或接种后不同天数, 抽提淋巴结和脾脏的iRNA, 并用微量细胞毒方法测定其抗肿瘤活力。结果发现从豚鼠得到的异种 (Xenogeneic) iRNA 以免疫注射后14天的活力最大, 而从同一纯系大鼠得到的同纯系 (Syngeneic) iRNA 则以接种后21—28天的活力最大。但上述 N. Moav 等的实验发现, 在第二次免疫注射后48小时新合成的iRNA较72小时为多。此外, 有人认为在免疫3—5天后提取iRNA最合适, 其他的一些报道则认为在免疫后7—35天提取淋巴组织的iRNA最合适。这种差别, 说明iRNA合成的动力学和提取iRNA的合适时间与下列因素有关: 免疫原的性质、注射途径、是否与完全佐剂合并、注射的次数、iRNA转移的免疫反应(细胞免疫或体液免疫)和分析的方法等。

3. iRNA 的活性成分

一般实验用的iRNA多数是采用去垢剂-酚方法抽提致敏动物淋巴细胞的总RNA。例如, 我们用人体肝癌细胞免疫绵羊后, 然后用热酚方法提取淋巴组织和肝脏的iRNA, 经聚丙烯酰胺电泳分析表明, 它有许多区带, 而转移免疫活性的物质仅是其中某些成分。D. E. Thor 和 S. Dray (1973)用体外实验测定人或豚鼠淋巴结转移细胞免疫反应的iRNA, 活性部分的蔗糖梯度沉降常数为8—12S。M. C. Dodd 等(1973)用葡聚糖凝胶G-200对小鼠抗肿瘤iRNA进行层析, 结果发现免疫活性主要存在于第三个峰, 沉降常数为6—12S, 分子量约为135,000, 占细胞内RNA总量的4.9%。D. H. Kern 等(1976)用微量细胞毒方法分析抗肿瘤iRNA, 发现12—16S部分活性最强, 占细胞内RNA总量的5—7%。P. Bilello 等(1976)测得转移IgM信息的iRNA为16—18S, 分子量相当于 $4-7.5 \times 10^5$ 。E. P. Cohen (1967)发现9—12S的iRNA与DNA分子杂交最明显。可见iRNA有效成分的沉降常数介于6—18S之间, 反映了iRNA分子的不均一性, 这也可能是由于各个实验室分析方法不同造成的。

Jachertz (1973)指出: 在100℃下放置5分钟, iRNA活性不消失。酶处理实验指出:



氧化 (醛脱氢酶)

还原 (醛还原酶)

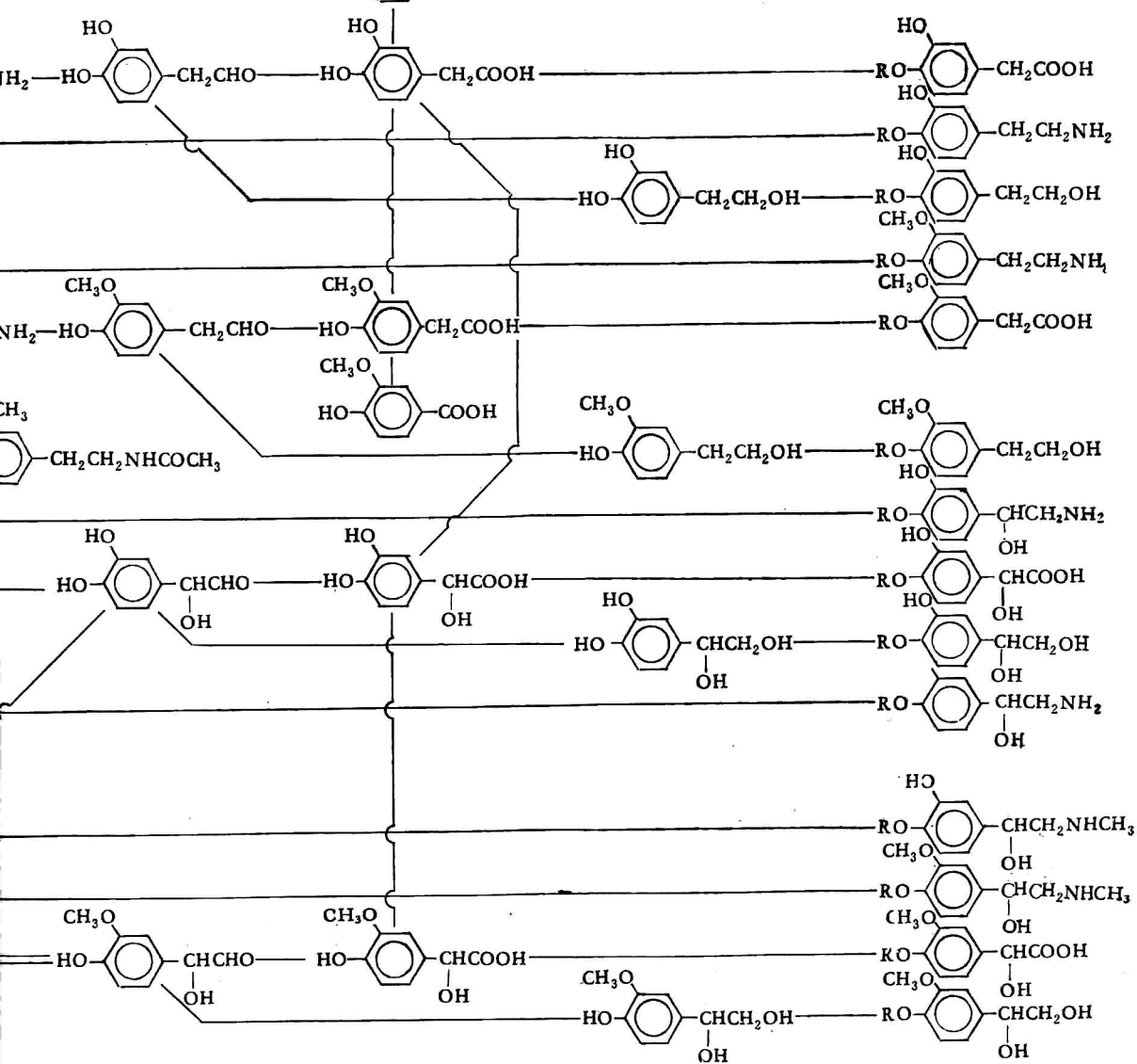
$$\text{---CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOCH}_3$$
O=C(O)c1cc(O)c(O)cc1

图 8 儿茶酚胺的分解代谢

iRNA 对 DNase、胰蛋白酶、胃蛋白酶和链球菌蛋白酶都有抵抗力。但对 RNase 极度敏感,当每毫升 RNA 溶液经 10^{-3} 微克 RNase 处理 5 分钟后,生物活性可丧失 75%,说明转移免疫信息要求完整的 iRNA。

四、免疫核糖核酸的生物学性质和效应

1. iRNA 的转移体液免疫的效应

获得 iRNA 的方式一般有二种:一种是淋巴样细胞在体外与抗原接触致敏,例如上述 M. Fishman 等的实验就是用体外致敏的 iRNA,但有人对此抱怀疑态度;另一种是用抗原注射于动物,然后抽提致敏动物淋巴组织的 iRNA。较多的实验室采用后一种方式。观察 iRNA 转移体液免疫信息的方法也有二种,一种是体外实验,例如用淋巴细胞与 iRNA 保温后再观察其抗体生成情况,近年来发展到利用无细胞体系来研究 iRNA 的效应;另一种为体内注射 iRNA,再分析动物抗体合成的情况。从生化角度来看,以无细胞体系实验模型较理想,因素较单纯,更能说明 iRNA 的分子生物学功能。

(1) 转移特异抗体合成的信息 C. Bell 和 S. Dray (1969, 1970, 1973) 将羊红细胞静脉注射于家兔并提取致敏家兔淋巴结或腹腔渗出细胞的 iRNA,然后用溶血空斑技术分析 iRNA 转移体液免疫的情况。他们发现家兔一次静脉注射羊红细胞 5 天后所获得的 iRNA 能在体外使正常兔脾细胞转变成合成 Ig M 抗体(对羊红细胞)的细胞。若多次静脉注射羊红细胞(2—8 次),于 24 天抽提的 iRNA 则能转移合成 Ig G 的信息。正常 RNA 则无此反应。他们指出 iRNA 具有免疫特异性,即用绵羊红细胞免疫所获得的 iRNA 只能转移合成抗绵羊红细胞的特异抗体,对山羊、兔、小鼠或人的红细胞不形成溶血空斑,说明无交叉反应。此外,他们还表明,iRNA 转移合成抗体的作用,不是由于 iRNA 抽提过程中,制剂被兔淋巴结或腹腔渗出细胞中的抗体污染所造成,也不是由于抗原污染造

成的,因 iRNA 制剂经羊红细胞或抗羊红细胞血清处理后,活性不受影响。

(2) 转移同种异型特异性的信息 C. Bell 和 S. Dray 用不同轻链(K 链 b4 或 b5)和重链(Fd 段 a1, a2, a3)同种异型标志的纯合子家兔进行实验。例如,a2 b5 iRNA (指 iRNA 供体轻链和重链的同种异型标志)与 a1 b4 非致敏脾细胞;或 a1 b4 iRNA 与 a3 b5 非致敏脾细胞在体外温育。合成的 IgM,其轻链的 81—90% 为 iRNA 供体的同种异型标志,3—6% 受体脾细胞的同种异型标志;重链的 75—76% 为 iRNA 供体的异型标志,受体细胞的只占 4—10%。合成的 IgG 的重链或轻链的同种异型特异性也主要是由 iRNA 供体决定的。上述实验说明 iRNA 能转移免疫球蛋白同种异型特异性的信息,还提示至少有二种 iRNA 分子,一种是转移轻链的信息,另一种是转移重链的信息。

将 iRNA 与腹腔渗出细胞温育后再注射于兔体内,或将 iRNA (4.9—6.8 毫克)直接静脉注射于家兔。注射后 18—20 小时,3 天或 5 天测出受体脾细胞合成的抗体 30% 具有 iRNA 供体的同种异型特异性。有趣的是,兔在 iRNA 直接注射后,若再多次注射羊红细胞,37 天后仍可测出含有 iRNA 供体的轻链和重链的同种异型标志,说明 iRNA 转移同种异型特异性的效应可长期存在。

Jachertz (1973) 和 P. Bilello (1976) 用无细胞体系进行实验,发现所合成的抗体的同种异型特异性是由 iRNA 供体决定的,有力支持了 iRNA 能转移合成抗体的遗传信息。

(3) 转移个体基因型特异性 每个浆细胞瘤产生的抗体为均一的具有单克隆细胞特异性的抗体(个体基因型特异性)。浆细胞瘤的 RNA 能将个体基因型特异性传递给正常淋巴细胞,使其细胞膜出现浆细胞瘤特异的抗体。由转化的“正常”淋巴细胞抽提出来的 RNA 又能使另一正常淋巴细胞转变成带有浆细胞瘤个体基因型特异性的细胞,如此下去,至少可以相继转移 5 次 (B. Bhoopalani, 1976)。

2. iRNA 的转移细胞免疫的效应

iRNA 不仅在体内外能转移体液免疫,亦能转移细胞免疫反应。

(1) 转移移植免疫 如前所述, J. A. Man-
nick 和 Egdahl 用一种家兔(甲)的皮肤来致敏
另一种家兔。由致敏家兔脾脏和淋巴结抽提出
来的 iRNA, 在体外与兔的脾细胞温育 20 分
钟,再由静脉注射于同兔体内,能加速此兔对兔
(甲)皮片的初次排斥时间,而对同时移植其他
种系兔的皮片则无加速排斥的作用,单独注射
未经 iRNA 处理的脾细胞亦无作用,iRNA 经
RNase 处理后活性丧失。此实验说明组织移植
抗原能使同种异体的动物产生免疫反应,由此
获得的 iRNA 能转移移植免疫。他们的实验
结果得到其他人的证实。

(2) 转移肿瘤免疫 动物实验性肿瘤和多
数人类肿瘤含有肿瘤特异移植抗原或肿瘤相关
抗原,不少从事肿瘤研究的工作者观察到致敏
淋巴样细胞能转移肿瘤免疫,由此而深入研究
抗肿瘤 iRNA。

由于 iRNA 供体和受体的种属和品系的不
同,因此有不同来源的 iRNA。例如,异种 iRNA
系将一种动物的肿瘤细胞免疫于另一种属的动
物,以制备异种动物抗肿瘤 iRNA;同种异体
iRNA 系指这种肿瘤-宿主体系,即 iRNA 供体和
受体都为同种动物,但品系不同;而同系 iRNA
系指这种肿瘤-宿主体系,即 iRNA 供体和受体
全部为同种同系的动物。应用同系 iRNA 的研
究可以排除组织移植抗原在转移肿瘤免疫中的
作用,但实际临床应用主要是异种 iRNA。

抗肿瘤 iRNA 在转移肿瘤免疫效应方面,
除传递细胞免疫外,iRNA 还能在受体中诱导产生
淋巴细胞产生抗肿瘤细胞毒抗体,这种抗体对
肿瘤细胞具有特异性,由不同肿瘤致敏而获得
的 iRNA,所诱导的抗体对不同类型的肿瘤无
交叉作用(Y. H. Pilch 和 D. H. Kern, 1977)。
近年来抗肿瘤 iRNA 的研究,从动物实验性肿
瘤到人类肿瘤;从体外实验到体内实验乃至临
床应用已有不少报道,可参阅《国外医学参考资
料》(肿瘤分册),1976 年,第 6 期。

(3) 转移迟发型变态反应 应用皮肤迟发

型变态反应试验和体外细胞免疫反应的方法
(如巨噬细胞移动抑制试验和淋巴细胞转化试
验等)证明 iRNA 能转移多种生物性和人工合
成抗原的迟发型变态反应。这些抗原如结核菌
素纯化蛋白衍生物(PPD)、链激酶-链道酶
(SK-SD)、球孢子菌素、组织胞浆菌素、乙型肝
炎病毒、腮腺炎病毒、钥孔鲎血兰质、牛丙球蛋
白、 α 或 ϵ -二硝基苯-寡赖氨酸等。

iRNA 只能转移供体阳性反应抗原的细胞
免疫反应,不能转移阴性反应抗原的免疫性,说
明 iRNA 转移细胞免疫既具有一定的普遍性
又具有免疫特异性。

值得重视的是 G. N. Vyas 等(1974)将纯
化乙型肝炎病毒抗原 ad 亚型与完全 Freund 氏
佐剂混合注射于豚鼠以制备 iRNA,以单独注
射完全 Freund 佐剂的 RNA 作为对照组。他们
用放射免疫法及血凝法分别证明 RNA 制剂中
不含乙型肝炎抗原或抗乙型肝炎抗原抗体,但
能将乙型肝炎抗原免疫转移给正常非致敏腹腔
渗出淋巴样细胞,iRNA 经 RNase 处理后失效;
对照组的 RNA 无转移乙型肝炎抗原免疫的效
应。J. Fong 等(1964)报道,卡介苗免疫动物淋
巴样细胞的核糖体及 rRNA 能诱发对其他分枝
杆菌属及布氏菌属的细胞免疫。

以上介绍的 iRNA 是由致敏动物淋巴组
织或细胞抽提出来的。有趣的是,近年来有些
报道从一些微生物本身,如结核杆菌、沙门氏伤
寒杆菌、绿脓杆菌、肺炎球菌、金黄色葡萄球菌
和霍乱弧菌等,抽提出来的核糖体或 RNA 制剂
也能传递细胞免疫。

2. iRNA 在肿瘤免疫中的转移

iRNA 存在于许多种哺乳类动物、灵长类及
人类机体中;而且能在不同种属动物之间交叉
转移免疫信息,例如,猴→豚鼠,豚鼠→小鼠,家
兔→小鼠,羊→大鼠等。近年来已有研究报道,
一些动物如猴、豚鼠、小鼠及羊等的 iRNA 能将
细胞免疫转移给人体,提供临床应用异种 iRNA
的可能性。

4. iRNA 的抗原性问题

纯化 RNA 及其组成成份是非常弱的免疫

原,一般不易产生抗体。用核糖体或 RNA 与异体蛋白(如甲基化牛血清白蛋白)或多肽结合后再免疫动物才能产生抗 RNA 的抗体 (Lacour, 1968)。

我们曾将人体肿瘤细胞免疫的绵羊的淋巴组织 iRNA 和肝 RNA, 分别与完全 Freund 氏佐剂混合注射于家兔,每周强化注射一次。6 周后,用琼脂双扩散方法和对流免疫电泳方法测不出兔血清中有抗羊 iRNA 的抗体。说明 iRNA 本身即使有抗原性,也是很弱。

五、免疫核糖核酸和转移因子的比较

iRNA 和 TF 是目前所知两类转移免疫信息的物质。因 TF 可能具有多核苷酸/多肽的组成,因此有人认为,TF 可能是 iRNA 的活性片段或作为另一种类型的免疫核糖核酸。G. D. Novelli (1976) 用两种不同层析方法(阴离子交换剂 Aminex A-28 和葡聚糖 G-25) 将乳癌特异 TF 进行层析分离,并测定各洗脱峰的抗肿瘤活性,他发现活性广布于洗脱部分。因此他认为,在 TF 制备过程中,由于反复冻融及长时间的透析,造成溶酶体的酶对淋巴细胞内 iRNA 的分解。这些酶解碎片具有共同的特性,既能被淋巴细胞识别,并能在淋巴细胞内重新转变成大分子物质(iRNA),由此使非致敏淋巴细胞变成致敏淋巴细胞。我们在制备正常人 TF 的过程中,也发现由冻融透析方法所得的 TF 与低温乙醇抽提法所得的 TFu,二者的葡聚糖 G-25 层析图谱有明显的差别,差别的原因我们认为是由酶解造成的(参看《生物化学与生物物理学报》,1976 年,第 8 卷,第 283 页)。

最近 H. Friedman (1976) 用福尔马林固定或热灭活的 Friend 白血病病毒免疫小鼠,然后抽提脾脏 iRNA,或者用水将脾脏制成 10% 匀浆,再经 $5,000 \times g$ 离心 10 分钟,以获得水溶抽提物(小鼠“转移因子”)。他发现这两种提取物,iRNA 和“转移因子”都能转移 Friend 白血病病毒的免疫。

表 1 iRNA 和 TF 的比较

项 目	不含抗原 iRNA	RNA-Ag 复合物	TF
受影响的细胞	T-和 B-淋 巴细胞	B-和 T-淋 巴细胞	T-淋巴细胞
体液免疫	IgM IgM	IgM	—
细胞免疫	+	+	+
免疫特异性			
特异	+	+	+
非特异	—	—	+
可透析性	不可透析	不可透析	可透析
分子量	$1-7.5 \times 10^5$	12,000—24,000	$<3,500-5,000$
化学性质	核糖核酸	核糖核酸+多肽	多核苷酸/ 多肽
对酶的敏感性			
DNase	—	—	—
RNase	+(高度)	+	—
胰蛋白酶	—	部分	—
热稳定性	100℃ 5 分钟不 失活 (分子量为 2×10^6 者)	80℃不失活	56℃ 30 分 钟失活
细胞来源	淋巴细胞(外周血、淋巴结、脾) 巨噬细胞、肝细胞		淋巴细胞(外 周血、淋巴 结、脾脏)
存在种属	多种啮齿类动物、羊、猴、人		人、黑猩猩、猴、其他 (?牛、狗、豚 鼠、大鼠、小鼠)
种属间交叉	+	+	+

但是 iRNA 和 TF 的关系至今尚未清楚。特别因目前尚无合适的 TF 动物模型及可靠的体外 TF 活性分析方法,所以多数的研究仍旧在人体上进行,并以皮肤反应的红斑来判断反应的终点,因此给深入的研究造成困难。TF 的有效成份至今不明。原来 Neidhart 等(1973)认为, TF

经葡聚糖 G-25 层析, $1 \frac{1}{4}$ 柱床体积的洗脱部

分为活性峰,但进一步用紫外光吸收分析、红外分析及核磁共振方法分析,证明此峰主要成份为次黄嘌呤。用黄嘌呤氧化酶将次黄嘌呤氧化成尿酸,此峰即消失,但 TF 的活性不受影响,说明次黄嘌呤不是转移细胞免疫的物质(M. S. O'Dorisio 等 1976, C. H. Kirkpatrick 等 1976)。今年 A. A. Vandenbark 等(1977)报道用聚焦电泳及高压逆相层析方法分离一个等电点为 1.6 的组份,具有转移迟发型变态反应的活性,此组份的化学本质未明。现将 iRNA 及 TF 的一些性质列于表 1,以资比较。

六、免疫核糖核酸的作用原理

iRNA 的作用机制尚未清楚,下面介绍几种假设。

1. 直接起模板作用

一些实验资料证明 iRNA 具有 mRNA 的特性。这些证据主要为:(1)用碱性溶液(pH9.0)自致敏淋巴样细胞多聚核糖体抽提出来的 iRNA 具有转移免疫信息的作用;(2) iRNA 含有展伸多腺嘌呤核苷酸的程序;(3)它的沉降常数符合 mRNA 的范围。

直接起模板作用的依据有:(1)转录 RNA 抑制剂争光霉素不影响 iRNA 诱导脾细胞合成特异抗体的作用,但蛋白质合成抑制剂的环己亚胺、嘌呤霉素能影响其作用。说明 iRNA 诱导特异抗体的净合成不需新 RNA 的转录而是以外来 iRNA 为模板的;(2)不相关动物的合成蛋白质无细胞体系加 iRNA 后,合成的抗体具有 iRNA 供体的同种异型特异性,说明抗体分子是由 iRNA 分子的密码翻译而来的。

2. iRNA 的复制及反转录

直接模板假设不能解释 iRNA 供体同种异型抗体在受体动物淋巴细胞中的长期存在,也不能解释多次相继转移的现象。有人报道淋巴细胞内存在着 RNA-依赖的 RNA 复制酶,能使外来的 iRNA 在受体细胞内复制(S. Mitsuhashi 等 1973, Jachertz 1973)。此外,在淋巴细胞中

依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶(反转录酶)的作用下, iRNA 分子中的遗传信息可以反转录至 DNA,后者再作为细胞内 mRNA 的基因,可不断合成 mRNA,在此 mRNA 模板作用下合成特异的抗体或其他有关的蛋白质。通过这二种酶的作用,可以维持和加强 iRNA 的效应。童第周和牛满江(1973, 1975)用鲫鱼成熟卵细胞的 mRNA 注射于受精金鱼卵内,能诱导金鱼由双尾鳍变为与鲫鱼尾鳍型相似的单尾鳍,并发现子一代(F_1)的金鱼中仍然有单尾鳍的出现,由此说明外源性 mRNA 诱导金鱼性状的变异,可能是通过反转录酶的作用。

3. 调控作用

M. C. Dodd 等(1973)从 iRNA 的数量和生存时间的角度来考虑,认为 iRNA 直接起模板作用的可能性不大。他们推测 iRNA 可能作为细胞核的激活剂,当它与基因相对应的部位作用时起选择性的去抑制剂的作用;或在 iRNA 作用下合成一种调控蛋白质,后者再作用于基因(Jachertz, 1973),从而使有关基因活化而转录成相应的 mRNA,进而合成特异抗体和/或细胞膜特异受体。这种看法与 TF 作用原理的假设相似。

七、实际应用

iRNA 能将供体的免疫信息传递给受体细胞,通过对抗体某些遗传标志(如同种异型标志、个体基因型特异性)的研究,说明 iRNA 可能改变淋巴细胞的某些遗传性状,在这方面,基因工程的研究还处于萌芽阶段。目前的一些应用尚处于试探阶段或仅为初步设想,现简述如下。

1. 免疫重建的分子工程

在日常生活中,人经常接触到各种各样的病原体,机体在与病原体的斗争过程中,可获得免疫力,因此在正常健康人的淋巴细胞中,可能含有对一些常见病原体具有免疫性的 iRNA(广谱)。因此正常人的外周血淋巴细胞、割除的扁桃体或脾脏可做为制备 iRNA 的原料,正常人的 iRNA 可望作为免疫缺陷病的一种免疫重建

的措施。我们利用制备 TF 余下的白细胞残渣, 抽提 iRNA 并已在临床试用。

既然 iRNA 在不同种属动物间能交叉转移免疫反应, 同时目前也有些实验报道 iRNA 能够转移一些病毒(乙型肝炎病毒), 细菌(分枝杆菌等)和霉菌的细胞免疫, 因此可望利用动物来制备对某些病原体专一性强的 iRNA。这个问题的研究可以为免疫制剂开辟新的领域。

2. 异种抗肿瘤 iRNA 的应用

正常人的淋巴组织的 iRNA 可能给予肿瘤患者某些免疫力, 但对肿瘤免疫的针对性不强; 手术切除肿瘤邻近的局部淋巴结可能具有特异的抗肿瘤 iRNA, 但来源欠缺, 不能大量应用, 但因 iRNA 无种属障碍, 从而提供了应用异种动物制备抗人肿瘤 iRNA 的可能性。而且由于组织类型相同的人体肿瘤可能含有共同肿瘤相关抗原, 因此用手术切除的肿瘤细胞来免疫动物, 制备出来的抗肿瘤的 iRNA 可供其他患同一类型肿瘤的病人应用。但肿瘤细胞除含有肿瘤抗原外, 还含有正常组织相容性抗原, 因此异种抗肿瘤 iRNA 是否也会传递正常组织相容性抗原的信息, 从而造成对正常细胞的破坏作用, 这是临床应用时必须考虑的问题。最近 Kern 等(1977)用病人的黑色素瘤及正常皮肤分别免疫动物, 以制备抗黑色素瘤 iRNA 及抗正常皮肤 iRNA。他们发现病人自体的淋巴细胞与抗黑色素瘤 iRNA 温育后, 只对黑色素瘤细胞有细胞毒作用, 对自体的纤维母细胞无作用; 自体淋巴细胞与抗皮肤 iRNA 温育后, 对黑色素瘤细胞及自体纤维母细胞均无细胞毒作用。相反, 若异体淋巴细胞与抗黑色素瘤 iRNA 或抗正常皮肤 iRNA 温育后, 都能对同一病人的黑色素瘤细胞或正常纤维母细胞起细胞毒作用。此实验说明了一个重要问题, 即异种 iRNA 是通过病人自体的淋巴细胞而发挥效应, 因此自体淋巴细胞不会对自己的正常组织细胞起破坏作用。

Y. H. Pilch 等(1976)报道了 51 例应用 iRNA 的临床初试的结果: 其中 34 例为晚期患者, 17 例为最小残余病变患者。用手术切除的活肿瘤细胞免疫绵羊。iRNA 的剂量为 1—4 毫克/周, 最后改用 8 毫克/周, 少数病人高达 40 毫克/周。将 iRNA 溶于生理盐水, 上臂内侧及腹股沟周围皮内多部位注射。观察时间为 1—12 个月。无明显局部或全身性毒性反应。在 34 例晚期患者中有 12 例改善或稳定; 在 17 例最小残余病变患者随访 1—21 个月, 有 3 例复发。测定了 21 例病人在 iRNA 治疗前后, 其外周血淋巴细胞对肿瘤细胞的细胞毒作用, 结果 12 例增强, 1 例下降, 8 例不变。另一组资料为 12 例晚期肾癌, 一例恶化死亡, 2 例不确定, 其他的 9 例有不同程度改善或稳定 (D. G. Skimner, 1976)。

最近上海地区对应用异种动物 iRNA 及 TF 来治疗原发性肝癌的情况进行了小结, 共观察了肝癌 52 例、肺癌 22 例及急性白血病 15 例。因肝素有防止 RNA 降解的作用将 iRNA 溶于肝素溶液, 做皮内及皮下注射, 每周注射 2—4 毫克, 观察时间最长达 2 年, 未发现有明显的副反应。用琼脂双扩散法测定 21 例原发性肝癌患者(除 2 例应用时间为 4 个月外, 其余均在半年以上)的血清, 结果测不出有抗 iRNA 或 TF 的抗体存在。52 例肝癌病人中有 6 例甲胎蛋白定量下降或转阴。肺癌症状改善者 14/22。非淋巴性白血病完全缓解或 I 级部分缓解为 6/11。但全部病例都是采用综合性治疗。因此尚难对 iRNA 的疗效作出评价。

在 70 年代, 国内外均已将 iRNA 作为一种有重要潜能的免疫制剂试用于临床, 今后基因工程和分子免疫等学科的基础理论的发展必将为 iRNA 的实际应用提供广阔前景。

[本文于 1977 年 8 月 17 日收到]