

B 淋巴细胞刺激因子 (BLyS) 研究进展

吴一凡 张双全*

(南京师范大学生命科学学院, 南京 210097)

摘要 B 淋巴细胞刺激因子 (BLyS) 是 1999 年新发现的一种重要的细胞因子, 属于肿瘤坏死因子 (TNF) 超家族成员. 在体液免疫调控中起重要作用. 它能强烈地刺激 B 淋巴细胞的增殖和分化并分泌大量免疫球蛋白 (主要为 IgM); 在体外其过量表达能促进多种 B 系肿瘤细胞的生长. BLyS 转基因小鼠出现严重的红斑狼疮样症状. 对 BLyS 的基因和蛋白质结构、免疫调控功能、受体和信号通路及其在自身免疫性疾病和恶性肿瘤中的作用进行了综述.

关键词 B 淋巴细胞刺激因子 (BLyS), 细胞增殖, 体液免疫, 受体, 自身免疫性疾病

学科分类号 Q7

B 淋巴细胞刺激因子 (B lymphocyte stimulator, BLyS), 又称 TALL-1 (TNF-and ApoL-related leukocyte expressed ligand 1)、BAFF (B cell activating factor belonging to the TNF family)、THANK (TNF homologue that activates apoptosis、NF- κ B and JNK), 属肿瘤坏死因子 (TNF) 家族, 是 Shu 等^[1]于 1999 年首先发现并克隆的一种新的细胞因子. 随后又有几个研究小组相继发表了相关的论文^[2~4]. BLyS 主要由嗜中性粒细胞和巨噬细胞分泌, 活化的 T 细胞和树突状细胞也有少量表达. BLyS 作为一种 B 淋巴细胞的共刺激因子, 在 Anti-IgM 或 IL-4 存在下能专一地刺激 B 细胞增殖和分化, 在体液免疫中有重要的作用; 而其在体内的过量表达又与自身免疫性疾病密切相关. 由于 BLyS 具有调控机体免疫应答等重要功能, 特别是对于维持生发中心 (germinal center GC) B 细胞的增殖和抗原特异性 IgM 的分泌, 目前已经受到广泛的研究^[5].

1 BLyS 的基因和蛋白质结构及组织分布

BLyS 是一个由 285 个氨基酸组成的分子质量为 31.3 ku 的单链糖蛋白, 可能有一个糖基化位点 (N₂₄₂), 无二硫键存在, 人鼠同源率为 93%. 人 BLyS 基因位于染色体 13q32-34, mRNA 长约 2.6 kb^[3]. BLyS 的表达受到严格调控, 但其调控组件及因子仍不太清楚. BLyS 属 TNF 超家族成员, 在转染的细胞株及天然的嗜中性粒细胞和巨噬细胞中以 II 型跨膜蛋白的形式表达在细胞表面, 其

中 L_{47~}Q₇₃ 为疏水跨膜区; 其胞外区部分片段 (C 端 A_{134~}L₂₈₅) 通常在某些特定的蛋白酶 (如弗林蛋白酶) 的作用下发生水解, 形成可溶性功能片段 (sBLyS)^[6]; 胞内 N 端无信号肽. 胞外氨基酸序列与已知的 TNF 家族成员相比, 其同源性是: APRIL 为 28.7%, TNF- α 为 16.2%, FasL 为 16%, LIGHT 为 15%, LT- α 为 14.1%^[3,4] (图 1). 目前对 BLyS 的高级结构尚知之甚少, 仅根据其一级结构初步推断其胞外区可能具有 8 个 β 折叠, 另有一些 α 螺旋存在, 具体的空间构象还有待于进一步深入研究.

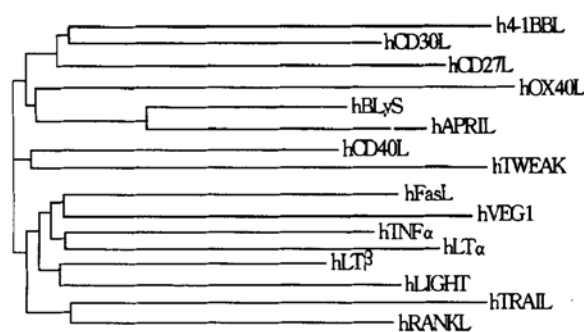


Fig. 1 Dendrograms of TNF superfamily ligands^[3]

图 1 TNF 超家族部分成员的同源性树型图^[3]

Moore^[2] 和 Schneider^[3] 等用 RNA 印迹表明 BLyS mRNA 在人外周血单核细胞、淋巴结、脾脏和骨髓等组织中表达最丰富, 在人胎盘、胸腺、胰

* 通讯联系人.

Tel: 025-3598216, E-mail: goodlk@263.net

收稿日期: 2000-12-19, 接受日期: 2001-02-23

腺、心和肺中也可检出。其蛋白质大量存在于外周血及淋巴组织细胞的培养上清中，主要由嗜中性粒细胞和巨噬细胞分泌，受 IFN- γ 的正调控和佛波酯的负调控，活化的外周血 T 细胞也能少量表达。BLyS mRNA 在体外的来源主要是 K562、HL-60、THP-1 和 U937 等髓质起源的细胞株，不存在于 B 和 T 系淋巴细胞株（如 Raji、RPMI1788、MOLT4、Jurkat 等）。

2 BLyS 的主要生物学功能

2.1 对 B 细胞的作用

BLyS 有很强的 B 细胞趋向性，作为一种淋巴细胞的共刺激因子，BLyS 对活化的 B 细胞有强烈的促进增殖和分化的刺激作用，这与 CD40L 刺激 B 细胞的效应颇为相似。体外实验表明，对正常的 B 细胞，在用 Anti-IgM 预活化后，BLyS 能诱导其大量增殖并分泌各型免疫球蛋白，其中大部分为 IgM 和 IgA，而 BLyS 对静息的细胞效果不明显^[3]。在体内，BLyS 对囊外 B 细胞的活化及抗原特异性 IgM 的分泌；免疫球蛋白的同型转换；脾脏生发中心（GC）的形成有重要作用^[7]。Moore^[2]等用重组的 BLyS 的胞外可溶性部分（sBLyS）注入小鼠体内，小鼠脾脏由于大量的 B220⁺ 细胞生成导致白髓区膨胀而发生肿大，并加速 B 细胞向浆细胞分化，血液中 IgA 和 IgM 含量急剧升高，而 IgG 变化不明显^[2]。另外，BLyS 在体外能促进 B 系淋巴细胞瘤的快速生长，并能部分抑制 FasL-Fas 的促凋亡作用^[5]；BLyS 转染的细胞株（如 Raji 和 COS7 等）亦明显表现出大量增殖趋性，表明 BLyS 可能是一种潜在的细胞凋亡抑制因子^[8]。

2.2 对 T 细胞的作用

一些研究小组认为 BLyS 具有强烈的 B 细胞趋向性，而对 T 细胞不起作用。但 Gross 等^[9]报道指出，在 BLyS 转基因小鼠中，脾脏内 T 细胞的总数虽然没有明显上升，但 CD4⁺ 和 CD8⁺ 亚型的 T 细胞都呈现活化状态；且这些细胞表面 CD44 水平上升，而 LECAM-1 水平下降，另外，流式细胞仪分析表明 BLyS 能与活化的 T 细胞少量结合（亲和力约为 B 细胞的 5%）^[10]，且活化的 T 细胞表面有 BLyS 的受体 TACI 表达。这些都提示 BLyS 能间接地对 T 细胞起作用。

已有的实验结果表明：BLyS 对机体体液免疫的发生有重要作用，与 CD40L 的作用不同的是，BLyS 的正常表达对维持依赖和不依赖 T 细胞抗原

刺激的 B 细胞活化和增殖均至关重要^[8]，且对于维持脾脏生发中心内成熟 B 细胞的数量，和所分泌 IgM 的水平是不可缺少的；而其过量表达则直接促使 B 细胞异常增殖和抗自身抗体的出现，从而诱发一系列自身免疫性疾病。

3 BLyS 的受体和信号通路

同大多数细胞因子一样，BLyS 通过与效应细胞膜表面的相应受体相互作用，向胞内传递信号来发挥功能。Schneider^[3]等对体内各种淋巴细胞和体外多种细胞株进行了 BLyS 受体作用的流式细胞仪分析，结果表明在体内，BLyS 的受体存在于几乎所有的外周血 CD19⁺ B 细胞表面；在体外 BLyS 也仅与 B 系细胞株结合，而不与 T 系、上皮细胞和成纤维细胞系细胞株结合。

多个研究小组最近分别证明了属于 TNF 受体超家族成员的两个“孤儿受体”：B 细胞成熟蛋白（B cell maturation protein, BCMA）和跨膜激活与 CAML 作用因子（transmembrane activator and CAML-interactor, TACI）是 BLyS 的受体^[7, 9~13]。

人 BCMA 是一个全长由 185 个氨基酸组成的非糖基化单链蛋白，BCMA 在免疫组织细胞和成熟的 B 细胞表面少量存在，为 I 型跨膜蛋白，其胞外 N 端有一含 6 个半胱氨酸的保守区。大多数 BCMA 蛋白定位于胞内高尔基体内。BCMA 的基因位于 16p13，mRNA 全长为 1.2 kb。在 HEK293T 细胞中表达的 BCMA 全长蛋白和其胞外可溶性部分都能与 BLyS 特异性结合：在体外 B 细胞增殖抑制试验中，加入可溶性 BCMA 能阻碍 BLyS 与 B 细胞表面受体的结合，从而拮抗了由 BLyS 引起的 B 细胞的大量增殖作用^[12, 13]。

人 TACI 是一个全长为 293 个氨基酸的 III 型膜蛋白，氨基端无信号肽，人鼠同源性为 54%。最早是在研究钙调控因子和亲环素配体（calcium-modulator and cyclophilin ligand, CAML）蛋白介导的 NF-AT 活化机制中发现的^[14]。存在于 B 细胞和活化的 T 细胞表面，其胞外有两个富含半胱氨酸的重复区（S₃₃~C₆₆ 和 C₇₀~C₁₀₄）。这两个保守区和 BCMA 胞外富含半胱氨酸的保守区同源性很高，但与其他 TNF 受体超家族成员相比则不然。TACI mRNA 长约 1.4 kb，在脾脏、小肠、胸腺和外周血中表达。转染的 Raji 细胞表达 TACI 蛋白，并呈现与 BLyS 高度的亲和力。可溶性 TACI 同样能拮抗 BLyS 刺激 B 细胞增殖的作用^[9~11]。

BLyS 刺激 B 细胞所产生的胞内信号通路目前还不很清楚, Labbi^[5]认为: 与其他 TNF 家族成员类似, BLyS 可能以三聚体形式通过与 BCMA 和 TACI 的结合而向胞内传递“生存信号”(BLyS-BCMA 相互作用能通过 TRAF5、TRAF6、NIK 和 IKKs 等激活 NF- κ B^[12]; 而 BLyS-TACI 则通过 TRAF2、TRAF5、TRAF6 等来激活 NF- κ B、JNK 和 NF-AT^[10]等), 上调某些凋亡抑制蛋白如 Bcl-2 的表达, 并抑制某些原凋亡蛋白如 Bim 的表达, 从而阻断了由 B 细胞抗原受体 (BCR) 和/或 TNFR 超家族成员之一 Fas 所诱导的凋亡通路, 促使细胞不断增殖。但也有报道称 BLyS 能激活 U937 细胞内的 caspase-3 而强烈抑制其生长^[4], 表明 BLyS 似乎能通过多条通路向下游传递不同信号。

4 BLyS 与疾病的关系

多个实验小组均发现 BLyS 转基因小鼠呈现严重的红斑狼疮 (SLE) 样症状^[9, 15, 16]: 脾脏、淋巴结和 Peyer's patch 肿大, 充斥了大量异常增殖的 B220⁺ 细胞; 血清中 IgM、IgE、IgA 和 IgG 的浓度急剧增高; 出现类风湿因子和抗核抗体; 肾脏内有大量的免疫复合物沉淀并导致肾功能衰竭等; T 细胞并不发生增殖, 但似乎被部分激活。以重组的 BLyS 胞外可溶性部分注射小鼠出现同样的症状。这可能是由于 BLyS 的过度表达阻断了 BCR 诱导的 B 细胞凋亡, 这与 Bcl-2 转基因小鼠类似^[5]。在体外 sBLyS 能刺激 B 系肿瘤细胞大量增殖, 提示 BLyS 与恶性淋巴瘤的形成密切相关。

由于 BLyS 的人鼠同源性达 97%, 从转基因小鼠的症状推测, 人类红斑狼疮和类风湿性关节炎等自身免疫性疾病的发生可能与 BLyS 的过量表达有密切联系。Gross^[9]和 Thompson 等^[13]通过将 BLyS 的受体 TACI 和 BCMA 的胞外可溶性部分, 与人 IgG1 的 Fc 部分构建融合蛋白 sTACI-Fc 和 sBCMA-Fc, 这种“诱饵受体”(decoy receptor) 注射入 BLyS 转基因小鼠体内能明显减少小鼠蛋白尿的产生并延长其存活时间, 推测 BLyS 的可溶性受体能抑制 BLyS 刺激 B 淋巴细胞专性增殖和向病变状态分化的作用。这与用 TNFR2-Fc 治疗类风湿性关节炎十分相似。另外, 这样的融合受体对 BLyS 刺激的 B 系肿瘤细胞增殖有强烈的抑制作用。因此, 对 BLyS 及其受体的研究有助于阐明 SLE 等自身免疫疾病和部分癌症的发病机理,

BLyS 的可溶性受体和其单克隆抗体还有望开发成为治疗自身免疫综合症和恶性肿瘤的新型药物。

BLyS 作为体内一种重要的免疫调控因子, 对于机体免疫应答, 特别是体液免疫起着重要的平衡作用: BLyS 的缺陷或过量表达均能引起机体的免疫失衡, 从而诱发多种疾病。鉴于 BLyS 的重要作用, 已有数家世界知名的生物技术公司 (包括 HGSi、Genentech、Amgen、ZymoGenetics 等) 着手进行 BLyS 及其受体的研究开发, 其中 HGSi 公司的重组 BLyS 已经获得美国 FDA 批准, 进入 I 期临床试验, 主要针对普通变异免疫缺乏症 (CVID) 患者进行治疗。

参 考 文 献

- 1 Shu H B, Hu W, Johnson H. TALL-1 is a novel member of the TNF family that is down-regulated by mitogens. *J Leukoc Biol*, 1999, **65** (5): 680~683
- 2 Moore P A, Belvedere O, Orr A, *et al.* BLyS: Member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science*, 1999, **285** (5425): 260~263
- 3 Schneider P, Mackay F, Steiner V, *et al.* BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med*, 1999, **189** (11): 1747~1756
- 4 Mukhopadhyay A, Ni J, Zhai Y, *et al.* Identification and characterization of a novel cytokine, THANK, a TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factor- κ B, and c-Jun NH₂-terminal kinase. *J Biol Chem*, 1999, **274** (23): 15978~15981
- 5 Labbi Y, Strasser A. Lymphocyte survival-Ignorance is BLyS. *Science*, 2000, **289** (5481): 883~884
- 6 Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, *et al.* Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood*, 2001, **97** (1): 198~204
- 7 Yan M, Marsters S A, Grewal I S, *et al.* Identification of a receptor for BLyS demonstrates a crucial role in humoral immunity. *Nature Immunology*, 2000, **1** (1): 37~41
- 8 Do R K, Hatada E, Lee H, *et al.* Attenuation of apoptosis underlies B lymphocyte stimulator enhancement of humoral immune response. *J Exp Med*, 2000, **192** (7): 953~964
- 9 Gross J A, Johnston J, Mudri S, *et al.* TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease. *Nature*, 2000, **404** (6781): 995~999
- 10 Wu Y, Bressette D, Carrell J A, *et al.* Tumor necrosis factor (TNF) receptor superfamily member TACI is a high affinity receptor for TNF family members APRIL and BLyS. *J Biol Chem*, 2000, **275** (45): 35478~35485
- 11 Xia X Z, Treanor J, Senaldi G, *et al.* TACI is a TRAF-interacting receptor for TALL-1, a tumor necrosis factor family member involved in B cell regulation. *J Exp Med*, 2000, **192** (1): 134~143
- 12 Shu H B, Johnson H. B cell maturation protein is a receptor for the tumor necrosis factor family member TALL-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (16): 9156~9161
- 13 Thompson J S, Schneider P, Kalled S L, *et al.* BAFF binds to the tumor necrosis factor receptor-like molecule B cell maturation antigen and is important for maintaining the peripheral B cell population. *J Exp Med*, 2000, **192** (1): 129~135

- 14 von Bulow G U, Bram R J. NF-AT activation induced by a CAML-interacting member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Science*, 1997, **278** (5335): 138~ 141
- 15 Khare S D, Sarosi I, Xia X Z, *et al.* Severe B cell hyperplasia and autoimmune disease in TALL-1 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (16): 3370~ 3375
- 16 Mackay F, Woodcock S A, Lawton P, *et al.* Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J Exp Med*, 1999, **190** (11): 1697~ 1710

Progress on B Lymphocyte Stimulator (BLyS)

WU Yi-Fan, ZHANG Shuang-Quan*

(Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract B lymphocyte stimulator (BLyS) is a recently identified member of the tumor necrosis factor (TNF) superfamily that costimulates B lymphocyte proliferation and differentiation. It prominently enhances the humoral responses to both T cell-independent and T cell-dependent antigens. BLyS is required to sustain proliferation of splenic germinal center (GC) B cell *in vivo*. As an antiapoptotic cytokine, BLyS provides survival signals by inducing up-regulation of Bcl-2. Transgenic mice overexpressing BLyS in lymphoid cells develops symptoms characteristic of systemic lupus erythematosis (SLE).

Key words B lymphocyte stimulator (BLyS), cell proliferation, humoral immunity, receptors, autoimmune disease

* Corresponding author. Tel: 86-25-3598216, E-mail: goodlk@263.net

Received: December 19, 2000 Accepted: February 23, 2001

欢迎订阅 2002 年《中国药科大学学报》

《中国药科大学学报》创刊于 1956 年, 是由国家教育部主管、中国药科大学主办的综合性药学学术期刊。本刊主要报道药学创新性科研成果, 刊登合成药物化学、天然药物化学、中药学、药剂学、药物分析学、生物技术、生物制药工程、药理学及相关学科的研究原著与学术动态, 设有药学前沿、论文、简报、技术交流、快报、综述、论坛、医药信息等栏目。新设“药学前沿”栏目约稿于著名医药专家, 刊登当今领先的医药、生物技术领域的前导评述与最新成果, 内容丰富, 质量上乘, 具有前瞻性、权威性、创新性、实用性, 是医药科研院所、制药企业、医院药剂科等单位及相关人士必备的专业读物。

本刊自 1992 年《中文核心期刊要目总览》创刊起连续三个版次被确认为中国自然科学核心期刊, 现名列全国 14 种药类核心期刊第 7 位, 在全国重点医药院校学报排名中被引频次居第 2 位, 影响因子居第 3 位, 被《国际药学文摘》等国内外八大检索数据库列为来源期刊; 现为教育部优秀期刊, 江苏省优秀期刊, 发行量在全国学报类专业刊物中领先, 是经国家权威主管部门确认可刊登处方药品广告的药学专业媒体。本刊为双月刊, 大 16 开 80 页, 进口双胶纸, 封面覆亚膜, 印刷精美, 全国各地邮局均可订阅, 邮发代号: 28-115, 每期定价 10 元, 全年 60 元。地址: 南京童家巷 24 号, 邮编: 210009, 电话: 025-3271566。

欢迎订阅, 欢迎投稿, 欢迎刊登广告。