

B 淋巴细胞刺激因子

孙 剑

(天津大学药物科学与技术学院 天津 370002)

摘 要 B 淋巴细胞刺激因子是新发现的属肿瘤坏死因子族的细胞因子。它是由单核细胞和巨噬细胞持续合成、分泌的,具有特异的激活 B 淋巴细胞,诱导 B 淋巴细胞增殖、分化为浆母细胞、分泌抗体,以及促进成熟 B 淋巴细胞在体内的存活等功能。在缺少 B 淋巴细胞刺激因子的情况下,可导致成熟 B 淋巴细胞缺乏。而异常过高表达 B 淋巴细胞刺激因子引起自身免疫性疾病,系统性红斑狼疮样症状。

B 淋巴细胞刺激因子(B lymphocyte stimulator, Blys)是肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor, TNF)族的一员^[1],又称为 B 细胞激活因子(B cell activating factor belonging to the TNF family, BAFF)^[2]。它的表达分布不同于其他 TNF 成员:不是由激活的免疫细胞表达的,而是由单核细胞和巨噬细胞持续合成、分泌的。在体内、外,BLys 具有特异地刺激 B 淋巴细胞的作用。BLys 诱导 B 淋巴细胞分化、增殖无需 T 淋巴细胞的辅助,因此,这是一种不依赖 T 细胞的 B 淋巴细胞激活途径。

一、Blys 的结构

Blys 基因定位在人染色体 13q34。其表达产物为由一个 2.6Kb 的 mRNA 编码、285 个氨基酸所组成的蛋白。它的 N-末端没有信号肽(Signal peptide),因此,与其他肿瘤坏死因子族一样,属于第二类膜结合蛋白。BLys 以膜结合和可溶性两种形式存在。膜结合的 BLys 包括一个 46 氨基酸组成的膜内区、一个 21 氨基酸组成的跨膜区和一个 218 个氨基酸组成的膜外区。蛋白酶水解膜外区 133 - 134 氨基酸残基肽链,可产生 152 个氨基酸组成的可溶性活性多肽。可溶性 BLys 通过旁分泌和内分泌,进入周围组织和血液循环。氨基酸序列同源性分析显示,BLys 与肿瘤坏死因子成员 - 分裂诱导配体(A proliferation inducing ligand, APRIL)有 35% 的同源性(Homology),而与其他肿瘤坏死因子成员 TNF、FasL、TRAIL、淋巴毒素- α 仅有大约 20% 的同源性^[2],说明 BLys 和 APRIL 属于同一亚族。在二级结构上,BLys 是由 12 个 β 片层链(β -strands)和 11 个联接环(loop)组成的骨架进一步折叠成两个反向平行 β 片层(anti-parallel β -sheets),这与其他肿瘤坏死因子成员一样。但不同于其他肿瘤坏死因子成

员,BLys 的 D、E β 片层链之间联接环特别长,由 11 个氨基酸组成。并且,在三级结构中,由 D-E 联接环形成一个 BLys 独有的摆动区(flapp region)^[3,4]。此摆动区在晶体结构中呈现出三种不同的发夹(hairpin)样空间构象^[4],说明它有一定程度的可塑性。如果将这一摆动区删除,突变的 BLys 仍能结合受体 BCMA,但在体外细胞培养实验时,失去了激活 B 淋巴细胞的功能^[3]。

二、Blys 的细胞生物学功能

1. 特异地刺激 B 淋巴细胞

尽管 BLys 和 APRIL 在序列上有很高的相似性,它们的作用却不同。APRIL 对淋巴、结肠及甲状腺系统的肿瘤细胞有刺激其生长的作用,故称为分裂诱导配体^[5]。而 BLys 只特异的激活 B 淋巴细胞。体外细胞培养实验显示,BLys 诱导 B 淋巴细胞增殖、分化为浆母细胞、分泌抗体。而对 T 细胞、自然杀伤细胞、内皮细胞等其他细胞没有作用^[1]。给小鼠注射 BLys,明显刺激 B 淋巴细胞分裂。实验组小鼠脾脏 B 细胞区扩大、B 淋巴细胞数比正常对照增加 10 倍^[1]。同时,血中 IgM 和 IgG 分别增加 5 和 2 倍。在过量表达 BLys 转基因小鼠体内,同样引起成熟 B 淋巴细胞的过量增殖和血清中的 IgM、IgA、IgE、IgG 显著升高^[6]。在 8 周龄时,转基因小鼠脾脏重量增加了 45%,淋巴结的大小也明显地增加。用 B 淋巴细胞特异的抗体分析证实脾脏和淋巴结重量的增加是由于 B 淋巴细胞数量的增加引起。而胸腺和其他器官的组织学和形态学在转基因小鼠和正常对照之间没有区别,说明 BLys 只特异地刺激 B 淋巴细胞。如果敲除小鼠体内 BLys,脾脏和

外周淋巴结中缺乏成熟 B 淋巴细胞,血清免疫球蛋白减少了 10 倍^[7]。这些实验结果反映了 BLys 在诱导 B 细胞成熟、分化,以及成熟 B 细胞在体内的存活等过程中起着关键性的作用^[8]。

2. 与自身免疫性疾病的关系

在 8 周龄左右,过量表达 BLys 的转基因小鼠开始表现出系统性红斑狼疮(Systemic lupus Erythematosus, SLE)样症状^[6]。首先血清中出现抗 DNA IgM、IgG 抗体,而后,在 5 个月龄时,肾小球有免疫复合物沉积,随年龄增加,症状加重。在 8 个月时,出现蛋白尿,进一步发展成肾炎。有趣的是,在 13 个月龄左右,小鼠出现另一种类似于口干干燥综合征(Sjogren's syndrome, SS)样自身免疫性疾病症状^[8]。在此类 BLys 转基因小鼠唾液腺中,正常组织被破坏,并伴有大量 B 淋巴细胞浸润、唾液分泌减少等 Sjogren 综合征样改变。临床实验也发现,在 23% 的 SLE 和 36% 的 Sjogren 综合征病人的血清中,可溶性 BLys 明显高于正常人^[8]。目前还不清楚 BLys 与自身免疫性疾病之间的确切机制。但是,一般认为 BLys 作为 B 淋巴细胞刺激和生存因子,使 B 淋巴细胞异常增殖,影响了正常体内的克隆筛选(clonal selection and deletion)过程,有一些针对自身组织反应的 B 淋巴细胞克隆不能被消除,从而导致对自身组织损伤的自身免疫性疾病。

三、Blys 的作用机制

1. Blys 的受体

BLys 已证实可与三种受体:B 细胞成熟抗原(B cell maturation antigen, BCMA)^[9],跨膜激活物和 CAML 结合物(Transmembrane activator and CAML-interactor, TACI)^[10]和 BAFF 受体(BAFF receptor, BAFF-R)结合^[11]。激活的 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞都表达 TACI,而 BCMA 和 BAFF-R 仅分布在 B 淋巴细胞膜上。用生物素标记的 BLys 检测发现,BLys 只与 B 细胞结合,不与 T 细胞、单核细胞、粒细胞等细胞结合^[1]。因此,BLys 在生物活性和与其受体结合方面都表现出趋 B 淋巴细胞性。BAFF-R 突变的 A/WySnJ 小鼠表现与 BLys 缺陷的小鼠一样^[11]。因此,BAFF-R 是 BLys 起作用的关键受体。

BAFF-R 是第三类膜蛋白。它有膜外区,跨膜区和胞浆区。在膜外区,BAFF-R 只含有一个富半胱氨酸区(Cysteine-rich domain, CRD)。BAFF-R 的 CRD 是由 4 个半胱氨酸构成了的。而 TNF 受体膜

外区一般都含有多个 CRD,每个 CRD 又由 6 个半胱氨酸和 3 个二硫键组成。相对而言,BAFF-R 的 CRD 是 TNF 族受体中最小的。有趣的是,APRIL 也能结合 BCMA 和 TACI,但却不能结合 BAFF-R^[11]。这可以解释为什么 APRIL 和 BLys 功能不同。BAFF-R 的胞浆区没有酪氨酸激酶等已知的功能区。比较人与鼠的 BAFF-R 序列发现,在其 C-端的胞浆区,有一 25 个氨基酸的区域在人鼠是完全同源,并且与 BCMA 在此区上也有很高的同源性。目前还不清楚它的功能。

2. BLys 作用的信号途径

BLys 结合 B 淋巴细胞表面的受体,经过信号传递,最终诱导 B 淋巴细胞的增殖、分化和存活。目前,还不完全清楚整个信号传递过程,但已发现激活转录因子 NF- κ B、阻止细胞凋亡(apoptosis)在 BLys 信号传递过程中起重要作用。在体外,将 BCMA 基因转入细胞并在细胞内表达,可激活 NF- κ B。如果再加 BLys 到表达 BCMA 的细胞培养液中,能增强 BCMA 的作用^[9]。在分离的外周血 B 淋巴细胞培养液中加入 BLys,也同样地激活 NF- κ B,同时 BLys 还诱导 Bcl-2 和 Bcl-xL 的表达,阻止细胞凋亡^[12]。进一步的研究发现,BLys 结合 BAFF-R,激活 NIK(NF- κ B-inducing kinase, NIK)和 IKK α (IKK α kinase alpha, IKK- α),通过一种与其他 TNF 不同的 NF- κ B 激活途径,激活 NF- κ B2^[13]。至于 BAFF-R 结合 BLys 后如何激活 NIK, NF- κ B2 如何诱导 B 淋巴细胞增殖、分化的机制尚不清楚。

四、结束语

BLys 自 1999 年发现以来,其在调节 B 淋巴细胞的功能和在自身免疫疾病等方面的作用逐步受到重视。在理论上,BLys 作为一种新的 B 细胞分化、增殖因子,使我们对体液免疫的调控有了新的认识。在实际应用方面,国外知名生物技术公司正研发重组 BLys,用于治疗免疫缺陷性疾病。目前,处在临床试验阶段。另一方面,动物实验发现,给患系统性红斑狼疮的动物注射具有中和 BLys 作用的 TACI 膜外区,能够有效地控制动物病情的进一步恶化,延长患病动物的存活期^[10]。鉴于 BLys 在 B 细胞相关的自身免疫性疾病中所起着的重要作用以及阻断 BLys 对 B 淋巴细胞的刺激作用能有效地缓解系统性红斑狼疮,深入研究、开发 BLys 的拮抗剂已成为新热点。有望成为治疗系统性红斑狼疮的一种新药。

参 考 文 献

- [1] Moore, P. A., Belvedere, O., Orr, A., et al., 1999, *Science*, **285**:260-263.
- [2] Schneider, P., Mackay, F., Steiner, V., et al., 1999, *J. Exp. Med.*, **189**:1747-1756.
- [3] Liu, Y. F., Xu, L. G., Opalka, N., et al., 2002, *Cell* **108**:383-394.
- [4] Karpusas, M., Cachero, T. G., Qian, F., et al., 2002, *J. Mol. Biol.*, **315**:1145-1154.
- [5] Hahne, M., Kataoka, T., Schroter, M., et al., 1998, *J. Exp. Med.*, **188**:1185-1190.
- [6] Khare, S. D., Sarosi, I., Xia, X. Z., et al., 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**:3370-3375.
- [7] Schiemann, B., Gommerman, J. L., Vora, K., et al., 2001, *Science*, **293**:2111-2114.
- [8] Groom, J., Kalled, S., Cutler, A. H., et al., 2002, *J. Clin. Invest.*, **109**:59-68.
- [9] Shu, H. B., Johnson, H., 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**:9156-9161.
- [10] Gross, J. A., Johnson, J., Mudri, S., et al., 2000, *Nature*, **404**:995-999.
- [11] Thompson, J. S., Bixler, S. A., Qian, F., et al., 2001, *Science*, **293**:2108-2111.
- [12] Do, R. K. G., Hatada, E., Lee, H., et al., 2000, *J. Exp. Med.*, **192**:953-964.
- [13] Claudio, E., Brown, K., Park, S., et al., 2002, *Nat. Immunol.*, **3**:958-965.

B7 分子家族及其配体

陶 箭

(上海第二医科大学 上海市免疫所 上海 200025)

摘 要 新近发现众多 B7 分子家族成员及其受体,其第二信号功能并不单纯表现为 T 淋巴细胞正向激活,对激活 T 细胞效应功能和诱导耐受也有调节作用。这些 B7 分子在非淋巴组织广泛表达,而它们的受体仅在激活的淋巴细胞表面诱导表达。本文对其结构、表达和功能特点作一综述。

共刺激分子概念基于在淋巴细胞激活过程中除需 MHC 限制的抗原特异性第一信号外,还需要如 B7 和 CD28 等一些细胞表面分子或可溶性分子配接而传递的第二信号。现在知道 B7 分子及其同系物与受体结合后,在许多情况下并不单纯表现为激活 T 细胞增殖,而是对 T 细胞功能进行多方面调节,因而涉及整个免疫系统细胞免疫和体液免疫正向和负向调节的诸多方面。新发现的 B7 分子家族成员,广泛表达于非淋巴组织,可由炎症介质上调^[1]。其受体常表达于活化 T 细胞。而 B7-1 和 B7-2 的表达严格局限于淋巴组织,它们的受体 CD28 分子在未活化和活化 T 细胞均有表达。这些在表达上的差异反映了功能的不同: B7-CD28 途径主要与 T 细胞激活有关,新发现的 B7 分子可能在外周,尤其是炎症部位调节效应和记忆 T 细胞反应。B7 分子家族成员及其受体功能的研究对阐明临床移植排斥和耐受、自身免疫性疾病的发病机制及其治疗都有参考价值。

一、B7 分子家族及其配体的结构和表达

包括 B7-1(CD80)和 B7-2(CD86)在内,目前共

发现 6 个 B7 分子家族成员(见表 1)。B7 分子家族基因都属于 IgSF,成熟的 B7 分子皆为单链糖蛋白, I 型跨膜蛋白,有 20%左右的相同氨基酸;集中分布在膜外的 IgV 样和 IgC 样结构域,组成维持该结构域稳定的二硫键的 4 个半胱氨酸残基,在所有 B7 分子中都是保守的。所有 B7 分子细胞外结构具有很大的同源性,而胞内部分则具很大差异。

B7-1 和 B7-2 分子组成性表达于成熟 DCs(dendritic cells, 树突状细胞),在 Mφ、单核细胞、T、B 细胞等激活后上调,上调时相是 B7-2 比 B7-1 更快。B7-H1(B7 homologous protein 1, B7 分子同源性蛋白 1),又被称为 PD-L1^{[2][3][4]}。由 290 个氨基酸组成,是程序化死亡分子(PD-1)的配体^[5]。在心脏、骨骼肌、胎盘和肺组织中,发现丰富 B7-H1 的 mRNA,而在胸腺、脾、肾和肝脏组织中含量较少,在脑、大肠、小肠和 PBMCs(peripheral blood mononuclear cells, 外周血单个核细胞)中未检出 B7-H1 mRNA。新鲜分离的 T、B 细胞表达一定量的 B7-H1 分子。只有 16%的 CD14⁺单核细胞组成性表达 B7-H1 分

感谢周光炎先生对本文的审校。

E-mail: my@shsmu.edu.cn