

配体与膜受体的结合对红细胞变形性的影响,也可能涉及多方面因素:

首先,凝集素与膜受体结合后,其本身可能形成一个较致密的外被(Coat),由此可引起细胞粘弹性降低,变形性减弱。此外,凝集素与受体作用,可能影响膜上蛋白及脂分子的运动,特别是受体分子的运动,从而影响膜的变形性。

另外,配体与膜受体结合对细胞内骨架成份将产生影响,这也会对细胞变形产生很大作用。有文献报道^[5]红细胞骨架带4.1对维持红细胞变形性有很大作用。骨架蛋白常通过膜上内在蛋白与膜相连,例如:ConA的受体带Ⅲ蛋白就是锚蛋白(ankyrin)与膜连结的部位;而WGA的受体血型糖蛋白则与带4.1蛋白相

结合。故凝集素与受体作用后,可能会通过这些连接蛋白的作用引起骨架结构发生变化,从而导致细胞变形性的改变。

本实验是以激光衍射技术研究配体与受体作用引起细胞变形性改变的一次尝试,有关配体对红细胞变形性影响的分子机理尚需进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Bessis, M et al., 1975, *Blood Cells*, 1: 307.
- [2] Bessis, M et al., 1980, *Blood Cells*, 6: 315.
- [3] Heath, B. P. et al., 1982, *Biochim. Biophys. Acta*, 691: 211.
- [4] 文宗耀, 1987, *中华物理医学杂志*, 9:117.
- [5] Takakuwa, Y. et al., 1989, *Biorheology*, 26: 478.

一个抗造血祖细胞单克隆抗体能特异性抑制 IL3 生物活性

陈 璋 沈德诚 杨希峰 白金芬 孙同哲 汤美华 余 鸣 苏月来

(天津,中国医学科学院血液学研究所 300020)

Stephen C. Peiper, Kenneth S. Zuckerman

(美国阿尔巴马大学)

IL3是一种重要的造血调节因子,对多能和定向造血祖细胞及成熟嗜酸、嗜碱和巨噬细胞等都有刺激作用^[1,2]。有报道它在白血病细胞的发生和发展中也有重要作用,例如体外实验证明IL3能够刺激急性髓性白血病细胞增殖^[3],也能促进非造血肿瘤细胞的体外生长^[4]。用IL3基因转染的小鼠干细胞进行造血重建时,可引起髓系增生紊乱,导致髓细胞浸润内脏,4周内动物死亡^[5]。因此,阐明IL3与其受体结合后的信号传递,对我们认识该因子在体内的生物学作用机制具有重要意义。

目前已获得了M-CSF、GM-CSF和白细胞介素(IL1、IL2、IL4及IL6)受体基因的分子克隆^[6-13],但对IL₃受体的分子生物学特征还不

完全清楚。我们曾报道HI 98——一个抗髓细胞单抗能够特异地抑制IL3与KG₁或正常人周血单核细胞的结合^[14,15]。为深入研究上述作用的生物学意义,本文进一步观察了HI 98单抗对IL3刺激人造造血祖细胞增殖分化的影响。

材 料 与 方 法

造血细胞集落培养:取正常人骨髓,经密度梯度离心分离单个核细胞,用含10%胎牛血清Hank's平衡盐液(HBSS)洗3次,然后将 2×10^7 细胞/10 ml接种于100 mm培养皿(含13%大AB血清HBSS)中,37℃过夜,取出非粘附细胞转至另一平皿进行第二次去粘附细胞。再用Leu 1和Leu 56单抗(BD公司)通过Panning法去除T细胞,剩余非T非粘附细胞(经染色检测单核细胞污染率<4%)用于实验。集落培养采

用血浆凝块法^[16], 实验中重组人红细胞生成素(EPO, Amgen Biologicals)用量为1 U/ml, 重组人GM-CSF(rhGM-CSF, Genzyme)为100 U/ml, 重组人IL3(rhIL3)来自基因转染COS细胞培养上清, 最适刺激量为1:10,000, 培养前将上述去T去粘附细胞分别与HI 98(终浓度1:100-1:100,000)或IgM型无关单抗(终浓度1:200)于4℃共孵育一小时, 然后按 1×10^5 细胞/0.3 ml接种于血浆凝块培养基中, 一式3孔, 培养7天计数CFU-E(含8-64个联苯胺染色阳性细胞者为—集落), 12-14天计数BFU-E和CFU-GM(>64个联苯胺阳性细胞和/或>2个小集落者为—BFU-E, >40个中性粒和/或巨噬细胞者为—CFU-GM)。

IL₃免疫吸附清除实验: 将羊抗鼠IgG和IgM抗体包被的蛋白G-Sepharose CL-4B微球(Pharmacia)与HI 98单抗(终浓度1:30)、鼠抗人IL₃单抗(1:6, Genzyme)或IgM型无关抗体(1:30)4℃孵育2小时, 反复洗涤后悬浮于PBS中, 然后加入含rhIL3 COS细胞培养上清(终浓度1:10,000), 4℃轻轻搅拌2小时, 离心后取出上清液, 再重复吸收两次, 将三次吸收后的上清液加入BFU-E培养体系中, 测定其中残余IL₃活性。

结 果

为了证实细胞表面HI 98抗原在IL₃发挥生物学活性中的作用。我们系统地观察了HI 98单抗预处理骨髓细胞对IL₃诱导造血祖细胞生长的抑制作用。

图1、2示用HI 98单抗预处理靶细胞能够明显抑制IL₃诱导BFU-E和CFU-GM集落形成。其抑制作用呈剂量效应, 在1:200稀释时抑制率最大, 分别为55%和49%。但HI 98单抗不影响GM-CSF诱导的BFU-E和CFU-GM集落形成。用IgM型对照抗体(1:200)预处理靶细胞对IL₃或GM-CSF诱导BFU-E和CFU-GM形成的抑率都小于5%。上述结果表明HI 98的抑制作用是特异地针对IL₃。但用HI 98预处理靶细胞对IL₃或GM-CSF诱导的CFU-E形成无影响(图3)。

为研究HI 98单抗的生物学作用是否由于该抗体与IL₃的直接结合所致, 我们用HI 98

进行了免疫吸附清除实验。结果发现, HI 98单抗包被的Sepharose微球与阴性对照抗体包被者一样, 吸收后的上清液仍能支持BFU-E集落生长, BFU-E数分别为吸收前的72%和83%(表1)。相反, 将含rhIL₃的COS细胞培养上清用抗IL₃抗体包被的微球连续吸收三次, 吸收后的上清液支持BFU-E生长的活性仅为原来8%。如果向此上清中再加入IL₃, 可完全恢复其刺激BFU-E的能力(资料未显示)。上述结果说明, HI 98包被的微球不能从上清液中去除IL₃活性, 而抗IL₃单抗则可特异地与IL₃结合。证实HI 98的抑制作用不是由于该抗体与IL₃直接结合所致, 也说明HI 98不是抗IL₃单抗。

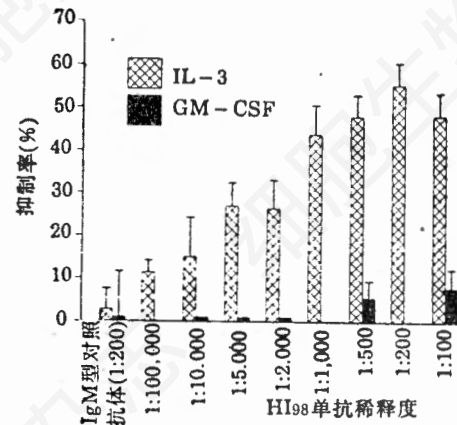


图1 HI 98单抗预处理靶细胞对BFU-E集落形成的抑制作用

注: 未经抗体预处理的靶细胞在IL₃或GM-CSF诱导下BFU-E集落数分别为 70 ± 4 和 $45 \pm 5/5 \times 10^4$ 细胞, 无刺激因子的对照组BFU-E数均少于3个集落(n=7)

表1 IL₃免疫吸附实验

用于免疫 吸附的抗体	BFU-E (均数±标准差)
对照(无抗体)	99±8(100)*
无关抗体	82±11(83)
HI 98单抗	71±5(72)
抗IL ₃ 单抗	8±6(8)

* 括号中的数字为相当于对照的百分率

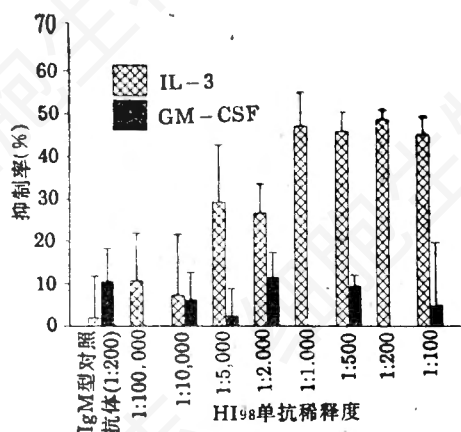


图2 HI 98 单抗预处理靶细胞对 CFU-GM 集落形成的影响

注: 未经抗体预处理的靶细胞在 IL3 或 GM-CSF 诱导下 CFU-GM 数分别为 34 ± 4 和 $38 \pm 3/5 \times 10^4$ 细胞, 无刺激因子的对照组 CFU-GM 数均少于 5 个集落 ($n=7$)

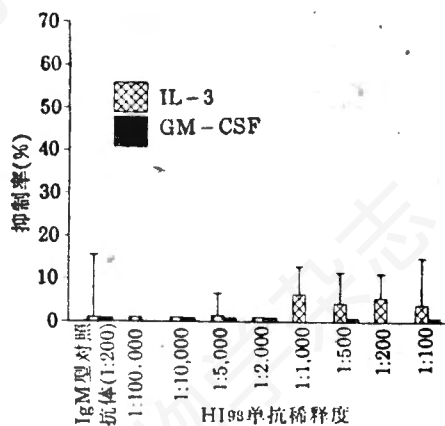


图3 HI 98 单抗预处理靶细胞对 CFU-E 集落形成的影响

注: IL3 和 GM-CSF 诱导未经单抗预处理靶细胞的 CFU-E 集落数分别为 143 ± 12 和 $113 \pm 34/5 \times 10^4$ 细胞, 阴性对照组为 $67 \pm 13/5 \times 10^4$ 细胞 ($n=7$)

讨 论

正常白细胞和白血病细胞表面均具有反映其分化成熟阶段的抗原, 其中大多数是用单抗发现的。目前, 已鉴别出 78 种人类白细胞特异性抗原, 其中近 13 种主要表达在髓系细胞上, 除一种外均为糖蛋白^[17]。但至今尚未发现髓系单抗所识别的膜抗原能参与造血调节的报道。

本实验证明, HI 98 单抗不仅能抑制 IL3

与造血细胞的结合, 还可选择性地抑制 IL₃ 诱导的 CFU-E 和 CFU-GM 集落形成, 最大抑制率分别为 55% 和 49%, 但对 GM-CSF 的刺激活性无影响。我们以前的研究表明, HI 98 单抗与成熟粒细胞呈强阳性反应^[14], 但此类细胞既不与 IL3 结合, 也不能被 IL3 激活^[18,19]。因此, HI 98 抗原似乎不是 IL3 受体本身, 可能是一个辅助分子, 此分子对 IL3 刺激 BFU-E 和 CFU-GM 生长是重要的。我们推测: ①在髓细胞表面至少有两个 IL3 识别分子, IL3 必须与两个(或全部)位点结合后才能对造血祖细胞发挥最适刺激作用; ②HI 98 抗原是一个与 IL3-IL3 受体复合物相关的细胞表面分子, 当此分子与上述复合物结合后, 可进一步促进 IL3 与受体的结合, 从而增强了 IL3 对造血细胞的刺激作用; ③由于 HI 98 抗原与 IL3 受体在结构上相关联, HI 98 单抗与其相应抗原结合后对 IL3 与受体结合具有空间阻碍作用。对于第二种可能性已有许多先例, 已知至少有三种细胞因子受体是由多个亚单位形成的复合体。IL3 只有与 80 kD 结合蛋白相互作用后, 才能与 130 kD 辅助蛋白结合, 从而形成一个活化的受体复合物^[12,13], 推测此 130 kD 辅助蛋白可能是一信号传递亚单位。高亲和力 IL2 受体是由 55 kD 和 70—75 kD 亚单位组成的异二聚体^[10], 这两个多肽分别为低、中等亲和力 IL2 受体。编码 EPO 受体亚单位的基因已被克隆, 其受体也有高、低亲和力两种形式^[20,21]。D'Andrea 等报道 EPO 受体与 IL2 受体的 β 链在结构上有许多共同之处^[22], 推测它们可能属于同一个新的受体家族。

本资料证明, HI 98 抗原是一个参与 IL3 与造血细胞结合后发挥刺激作用的细胞表面分子, 对于 HI 98 抗原的生化和遗传学特点的进一步研究, 将有助于我们了解 IL3 与受体的结合及其信号传递机制。

摘 要

HI 98(又称 HIM₁, IgM)是目前国际上发

现唯一能抑制人 IL_3 与相应靶细胞结合的髓系单克隆抗体(单抗)。本文研究了此单抗对 IL_3 刺激人造血祖细胞增殖分化的作用, 结果发现 HI 98 可抑制 IL_3 诱导的 BFU-E 和 CFU-GM 集落形成, 最大抑制率分别为 55% 和 49%, 但对 CFU-E 的生长无影响。对 GM-CSF 诱导的 BFU-E 和 CFU-GM 也无作用。用 HI 98 单抗包被的 Sepharose 微球进行 IL_3 免疫吸附清除实验证明, 其抑制作用不是抗体与 IL_3 直接结合的结果。本文还对 HI 98 单抗识别的抗原分子与 IL_3 受体的关系进行了讨论。

参 考 文 献

- [1] Ihle, J. N., et al., 1983, *J Immunol.*, 131: 282.
 [2] Schrader, J. W., 1986, *Annu Rev Immunol.*, 4: 205.
 [3] Delwel, R., et al., 1987, *Blood*, 70: 333.
 [4] Berdel, W. E., et al., 1989, *Blood*, 73: 80.
 [5] Chang, J. M., et al., 1989, *Blood*, 73: 1487.
 [6] Sherr, C. J., et al., 1985, *Cell*, 41: 665.
 [7] Gearing, D. P., et al., 1989, *EMBO J.*, 12: 3667.

- [8] Bomsztyk, K., et al., 1989, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 86: 8034.
 [9] Chizzonite, R., et al., 1989, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 86: 8029.
 [10] Hatakeyama, M., et al., 1989, *Science*, 244: 551.
 [11] Mosley, B., et al., 1989, *Cell*, 59: 335.
 [12] Yamasaki, K., et al., 1988, *Science*, 241: 825.
 [13] Taga, T., et al., 1989, *Cell*, 58: 573.
 [14] 沈德诚等, 1989, HI_{98} : 一个抗人粒-单核细胞单克隆抗体制备鉴定和初步应用, *中华血液学杂志*, 10: 350.
 [15] Lewis, A. L., et al., 1989, *Tissue Antigen*, 33: 227.
 [16] Zuckerkman, K. S., et al., 1985, *J Clin Invest.*, 75: 722.
 [17] Knapp, W., 1939, *Leukocyte Typing IV*, Oxford Univ. press, 747.
 [18] Lopez, A. F., et al., 1988, *Blood*, 72: 1979.
 [19] Nicola, N. A., et al., 1986, *J Cell Physiol.*, 128: 180.
 [20] D'Andrea, A. D., et al., 1989, *Cell*, 57: 277.
 [21] Sawyer, S. T., et al., 1989, *Blood*, 74: 103.
 [22] D'Andrea, A. D., et al., 1989, *Cell*, 57: 1023.

伴刀豆球蛋白 A 与巨噬细胞膜受体结合引起 膜蛋白和膜脂分子运动及电荷的变化

魏新华 王文玉* 付士密* 杨正红** 卢景芬** 于桂芬*** 苏雅娴

(北京医科大学细胞生物学教研室 100083)

细胞膜上存在着多种生物活性物质的受体, 细胞膜受体与配体专一性结合后能启动信号的传递, 继而在细胞内产生多种生物学效应。伴刀豆球蛋白 A 特异性地与膜受体结合^[1], 从而导致膜受体蛋白和膜脂分子的电荷分布及运动状态的改变。这些变化是细胞膜受体感受外源性配体刺激后所产生的早期行为,

是启动细胞反应的信号^[2]。用生物物理技术来探讨各种配体与膜受体作用所发生的膜分子动力学变化均有重要生物学意义。

本研究为国家自然科学基金资助项目。

* 中国科学院生物物理研究所。

** 天然与仿生药物国家重点实验室。

*** 生物物理教研室。