

重组法氏囊 免疫融合肽的免疫佐剂特性

CHONGZUFASHINANG
MIANYIRONGHETAI DE MIANYIZUOJI TEXING

王 臣 赵战勤 著



中国原子能出版社
China Atomic Energy Press

重组法氏囊 免疫融合肽的免疫佐剂特性

CHONGZUFASHINANG

MIANYIRONGHETAI DE MIANYIZUOJI TEXING

王 臣 赵战勤 著



中国原子能出版社
China Atomic Energy Press

图书在版编目(CIP)数据

重组法氏囊免疫融合肽的免疫佐剂特性/王臣, 赵战勤著. -- 北京: 中国原子能出版社, 2016. 11

ISBN 978-7-5022-7638-6

I. ①重… II. ①王…②赵… III. ①法氏囊—肽—免疫佐剂—研究 IV. ①Q939.91

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 270801 号

重组法氏囊免疫融合肽的免疫佐剂特性

出 版 中国原子能出版社(北京市海淀区阜成路 43 号 100048)
责任编辑 蒋焱兰 邮箱: ylj44@126.com QQ: 419148731
印 刷 河南承创印务有限公司
经 销 全国新华书店
开 本 710mm × 1010mm 1/16
印 张 9
字 数 150 千字
版 次 2016 年 11 月第 1 版 2016 年 11 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5022-7638-6
定 价 36.00 元

出版社网址: <http://www.aep.com.cn> E-mail: atomep123@126.com

发行电话: 010-68452845

版权所有 侵权必究

P 前言 Preface

胸腺是机体免疫系统中重要的中枢免疫器官,是 T 细胞分化成熟的场所,能分泌多种具有激素样活性的多肽。胸腺五肽 TP5 (Thymopentin) 是胸腺生成素 II 第 32 ~ 36 位氨基酸残基片段,能诱导 T 细胞分化,并促进 T 细胞亚群的发育、分化。作为一种免疫增强剂,TP5 在临床上主要用于自身免疫性疾病、慢性肝炎、免疫缺陷病、免疫功能低下、外科手术严重感染及肿瘤等的辅助治疗。胸腺素 $\alpha 1$ (T $\alpha 1$) 是一种高度保守的小分子活性肽,增加 T 细胞在各种抗原或致有丝分裂原激活后产生多种淋巴因子的分泌,增加 T 细胞表面淋巴因子受体的水平。T $\alpha 1$ 同时能调节 NK 细胞的发育分化、成熟以及存活。胸腺肽 $\beta 4$ (T $\beta 4$) 最早是从胸腺中分离出的一种多功能小分子多肽,含 43 个氨基酸,相对分子质量约 5 kD,之后的研究发现其广泛存在于许多组织和细胞中。研究发现 T $\beta 4$ 具有多种生物学功能,不仅可以调节胸腺依赖性淋巴细胞的发育与分化,显著增强胸腺细胞、骨髓细胞末端核苷酰转移酶活性,抑制巨噬细胞游走活性,还可刺激下丘脑促黄体激素释放激素以及黄体激素的分泌,诱导 T 细胞的分型转变,在 CD4 细胞增殖抑制时激活 CD8 细胞。法氏囊 (bursa of fabricus, BF) 是禽类独有的中枢体液免疫器官,相当于哺乳动物的骨髓。BF 中存在许多生物活性物质,尤其是一些具有免疫调节作用的小肽,能促进禽类淋巴细胞的分化发育及免疫器官的成熟。法氏囊活性五肽 BP5 是从法氏囊中分离所得的一种新的活性小肽,氨基酸序列为 Cys-Lys-Asp-Val-Tyr,能促进 T 细胞和 B 细胞的增殖,提

高机体体液和细胞免疫,还能平衡 Th1 和 Th2 类型的免疫反应,且这种免疫平衡作用是一般免疫增强剂所不具备的。免疫胸腺活性因子和法氏囊活性因子 BP5 均能够增强机体的免疫应答,TP5、T α 1 和 T β 4 来源于胸腺,主要调节机体的细胞免疫应答,BP5 则来源于禽类中枢体液免疫器官法氏囊,其主要调节机体的体液免疫应答,关于胸腺活性因子(TP5、T α 1 和 T β 4)和 BP5 生物学功能的报道有很多,然而两者在基因水平上的联合应用目前未见报道,本书围绕重组的胸腺法氏囊免疫融合肽免疫学功能和作用机制等方面进行了深入介绍。包括重组法氏囊免疫融合肽 TP5-BP5、T α 1-BP5 和 T β 4-BP5 基因的设计、表达载体的构建、基因工程菌株的筛选及高效表达等。同时还重点介绍了四种重组法氏囊免疫融合肽的免疫佐剂特性。本书对重组法氏囊免疫融合肽作为新型免疫佐剂的应用前景也进行了简要展望。

本书应用价值在于为重组法氏囊免疫融合肽的进一步临床应用提供了理论基础。当前,对动物疫病的预防主要是通过疫苗的接种实施来完成的,但常规疫苗的免疫保护期往往不长,虽然在整个饲养期内多次进行疫苗的免疫接种,仍有可能感染而发病,造成流行。同时,常规的弱毒苗和中等毒力的灭活苗还可能在动物内进行复制,引起温和的病变,这又增加了细菌继发感染的机会。为了弥补疫苗的不足之处,新型免疫佐剂成为人们研究的热点。因此,重组法氏囊免疫融合肽的成功研制,能够很好地弥补疫苗的不足,并对疫苗具有显著的增强作用,能更好地预防疫病。具有广阔的推广应用前景。

全书共 15 万字,其中赵战勤写了 10 万字,王臣写了 5 万字,希望本书能在法氏囊免疫融合肽免疫生物学功能研究方面起到抛砖引玉的作用。因知识和能力所限,虽然作了最大的努力,本书仍然存在不全面及错误地方。希望专家和广大读者批评指正!

王臣 赵战勤

河南科技大学

2016 年 10 月 15 日



第一章 胸腺和法氏囊研究进展及展望	001
1 胸腺肽研究进展	001
1.1 胸腺五肽	002
1.2 胸腺素 $\alpha 1$	004
1.3 胸腺素 $\beta 4$	006
2 法氏囊活性肽	008
2.1 法氏囊活性肽 BP5	010
参考文献	013
第二章 法氏囊五肽在鸡体内免疫学活性研究	019
1 材料与方法	021
1.1 材料	021
1.2 方法	022
2 结果	025
2.1 HI 抗体动态变化分析	025
2.2 细胞因子分析	025
2.3 淋巴细胞增殖能力分析	026
2.4 免疫保护力分析	027
3 讨论	027
小 结	030
参考文献	031

第三章	法氏囊活性五肽 BP5 免疫调节机理的研究	035
1	材料与方法	036
1.1	材料	036
1.2	方法	037
2	结果	043
2.1	BP5 显著提高了抗原特异性免疫反应	043
2.2	BP5 显著提高了小鼠脾淋巴细胞的增殖能力	047
2.3	BP5 能够直接增加 B 细胞增殖而间接增加 T 细胞的增殖 ...	048
2.4	BP5 诱导 B 细胞增殖是通过活性氧(ROS)介导的	048
2.5	BP5 通过 PKC、p38MAPK 和 NF-kB 诱导 B 细胞增殖	050
3	讨论	050
	小 结	054
	参考文献	055
第四章	重组融合肽 TBP5 的基因克隆、表达及其免疫佐剂特性	061
1	材料与方法	062
1.1	材料	062
1.2	方法	063
2	结果	067
2.1	重组融合肽 TBP5 原核表达载体的构建及表达	067
2.2	重组融合肽 TBP5 的体外活性测定	068
2.3	血清中抗体 HI 效价分析	069
2.4	血清中抗体 HA 效价分析	070
2.5	血清中 IL-4 和 IFN- γ 的测定	071
2.6	动物免疫保护试验结果	071
3	讨论	073
	小 结	077
	参考文献	078

第五章	重组免疫融合肽 T α 1-BP5 的表达及其免疫佐剂特性	080
1	材料和方法	080
1.1	质粒、菌株、病毒株及实验动物	080
1.2	主要试剂	081
1.3	融合肽 T α 1-BP5 基因的合成及原核表达	081
1.4	rT α 1-BP5 的体外活性测定	082
1.5	动物分组与免疫	082
1.6	血清中 HI 抗体效价的测定	083
1.7	血清中抗体 IgG 亚型测定	083
1.8	血清中 IL-4 和 IFN- γ 的测定	083
1.9	小鼠的攻毒保护试验	083
1.10	数据分析	084
2	结果	084
2.1	融合肽 T α 1-BP5 基因的扩增及原核表达	084
2.2	rT α 1-BP5 的体外活性	085
2.3	免疫小鼠血清中的 HI 抗体效价	085
2.4	血清中 IgG 抗体亚型及其效价	086
2.5	免疫小鼠血清中 IL-4 和 IFN- γ	087
2.6	小鼠的攻毒保护试验	088
3	讨论	089
	小 结	091
	参考文献	092
第六章	重组融合肽 T β 4-BP5 基因的克隆、表达及其免疫佐剂特性	094
1	材料与方法	095
1.1	材料	095
1.2	方法	096
2	结果	099

2.1 重组融合肽 T β 4-BP5 基因的克隆与表达	099
2.2 血清中 HI 抗体效价分析	100
2.3 血清中抗原特异性 IgG 抗体效价分析	101
2.4 AIV 中和抗体的检测	102
2.5 血清中 Th1 型和 Th2 型细胞因子的测定	103
2.6 动物免疫保护试验结果	104
3 讨论	105
小 结	107
参考文献	108
第七章 猪口蹄疫重组免疫复合肽的制备及应用	110
1 材料与方法	111
1.1 材料	111
1.2 方法	111
2 结果	115
2.1 猪口蹄疫重组免疫复合肽基因的基因工程菌株构建	115
2.2 猪口蹄疫重组免疫复合肽的可溶性表达纯化	115
2.3 肠激酶酶切猪口蹄疫重组免疫复合肽及纯化	116
2.4 四甲基偶氮唑蓝法 (MTT)	117
2.5 口蹄疫病毒抗体和抗体亚型检测	118
2.6 血清中 IL-4 和 IFN- γ 的测定	118
3 讨论	119
小 结	120
参考文献	121
本书总结	123
附 录	128

第一章

胸腺和法氏囊研究进展及展望

1 胸腺肽研究进展

胸腺是人体重要的中枢免疫器官,也是 T 细胞发育的中心器官^[1]。它除了提供 T 细胞发育所需的微环境外,还可以产生多种胸腺肽类激素。胸腺肽是胸腺组织上皮细胞分泌的多肽激素。1961 年,继 Archer 和 Miller 分别在家兔和小鼠中发现了胸腺对于淋巴细胞的分化、成熟和免疫活性的获得具有重要的作用后,许多学者相继从猪、小牛等血清或胸腺中分离得到胸腺肽混合物。1975 年,Hooper 等报告从小牛胸腺中提取出一种部分纯化的胸腺成分,称为胸腺素组分 5(thymosin fraction 5, TF5),根据其等电点的不同,又分为 α 、 β 、 γ 三类,可分别作用于 T 细胞成熟的不同阶段。各种胸腺激素对 T 细胞亚群的分化、增殖和成熟的促进作用有选择性,胸腺素 β 3 和 β 4 可作用于 T 细胞分化的早期,胸腺素 α 7 促进 Ts 细胞(抑制性 T 细胞)的分化和成熟,胸腺素 α 1 则对 Th 细胞(辅助性 T 细胞)有较强诱导作用。已证明 T 细胞表面有胸腺素受体,胸腺激素与细胞膜受体特异性结合,可激活胞内第二信号系统,如 TF5 即能影响 T 细胞内环磷鸟苷(cGMP)水平,促进 T 细胞的功能。胸腺肽作为一种免疫调节剂,它可以通过很多种途径作用到免疫系统来调节机体免疫功能的相对平衡,在机体的神经内分泌系统、生殖系统、免疫系统中起到非常重要的调节作用。胸腺肽可以提高机体对细菌病毒感染的抵抗力、协调内分泌、改善机体的免疫状况。靳亚平等试验证明,胸腺肽对鸡新城疫病毒和传染性喉气管炎病毒强毒混合感染的小鸡有一定的预防与治疗作用。余斌等对鸡的试验表明,在雏肉鸡日粮中添加



重组法氏囊免疫融合肽的免疫佐剂特性

一定量的胸腺肽可调节鸡之内分泌活动,提高机体免疫功能,促进鸡之生长发育。史秀山对胸腺肽影响狂犬病疫苗免疫效果影响的研究表明,胸腺肽作为人用纯化 Vero-细胞狂犬病疫苗的佐剂可减少免疫次数。

1.1 胸腺五肽

在胸腺分泌的激素混合物中,现已分离出数种单一的多肽激素,如胸腺生成素 II (thymopoietin II) 和胸腺素 $\alpha 1$ (thymosin $\alpha 1$, Ta1), 前者由 49 个,后者由 28 个氨基酸组成。其他尚有血清胸腺因子(STF)、胸腺体液因子(THF)等。其中胸腺生成素 II 对机体免疫功能的调节作用最为明显。Goldstein 等发现胸腺生成素 II 的免疫活性中心是一个五肽片段,位于该单链多肽的第 32 ~ 36 位氨基酸序列(即精 - 赖 - 天冬 - 缬 - 酪氨酸),称之为胸腺五肽(thymopentin, TP5)。

1.1.1 胸腺五肽的结构和特点

胸腺五肽分子式是 $C_{30}H_{49}N_9O_9$, 相对分子质量为 679.77, 基本序列为 H-Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-OH。该胸腺五肽具有与胸腺生成素 II 相同的全部生理功能,即具有双向免疫调节功能。

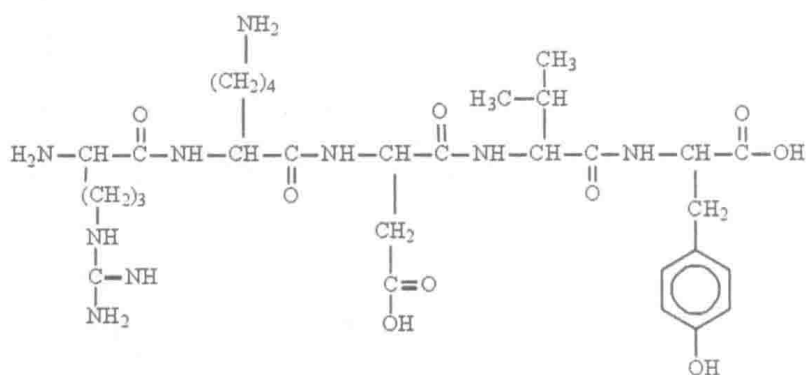


图 1-1 TP5 结构式

TP5 是一种多肽小分子蛋白质类药物,以特定氨基酸组成的单一化学物质,具有确定的分子式及分子量,由两个碱性氨基酸、两个中性氨基酸及一个酸

性氨基酸组成,故 TP5 呈微碱性,溶于水和乙酸,不溶于乙醚和乙酸乙酯等有机溶剂。用紫外分光光度计在波长 90 ~ 400 nm 间扫描,在 214 nm 和 274 nm 处有吸收,吸光度分别为 2.15 和 2.43。

1.1.2 胸腺五肽的生物学作用

(1) 抗衰老作用

TP5 可显著降低脑、胸腺及肝组织中的丙二醛含量,增强血清中的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性,清除体内氧自由基,降低脂质过氧化物水平。这些都表明 TP5 具有延缓衰老的作用。以昆明小鼠实验对象证明腹腔注射 TP5 能显著提高试验组小鼠脾淋巴细胞转化率、E-玫瑰花结形成率,并能增高红细胞的 SOD 活性,提示合成 TP5 可作为一种抗衰老药剂,用于调节老年人的免疫功能衰退及 SOD 水平。王勤等人通过动物实验和对临床病人的观察中发现 TP5 不仅有增强免疫功能,还能明显提高 SOD 活性达 2 ~ 3 倍以上,清除自由基使氧自由基清除率达 20.07%,给药前后对比差异明显($P < 0.05$),降低脂质过氧化物作用,明显降低小鼠肝、脑、胸腺中的 MDA 含量。

(2) 调节免疫功能

TP5 在人及小鼠的作用及作用机理,国内外已有大量报道,胸腺五肽可通过以下途径实现其免疫调节作用:诱导和促进 T 细胞的分化、增殖和成熟;调节 T 细胞亚群的比例,使 $CD4^+/CD8^+$ 趋于正常;增强红细胞的免疫介导功能;增强巨噬细胞的吞噬功能;提高自然杀伤细胞活力;提高白细胞介素-2 的产生水平与受体表达水平;增强外周血单核细胞干扰素- γ 的产生;增强血清中超氧化物歧化酶活性。

(3) 其他生物学活性

Ochoa 等研究发现 TP5 竞争性的直接作用于烟碱型胆碱能受体结合,使烟碱型胆碱能受体不能与乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)或其他拟胆碱药结合,产生神经肌肉阻断作用。通过对小鼠的试验,TP5 可以对影响抗急性和慢性应激引起的胃溃疡,从而对胃产生保护作用。TP5 还可以产生类肾上腺素能作用消



重组法氏囊免疫融合肽的免疫佐剂特性

除了急性应激对胃液分泌的。此外 TP5 对应激引起的 γ -氨基丁酸-苯二氮受体变化有调节作用。

1.2 胸腺素 $\alpha 1$

胸腺素 $\alpha 1$ 是 20 世纪 70 年代末期由 Low 等从牛 TF5 中第一个分离出的具有生物活性的酸性多肽,是动物胸腺素组分 5 (TF5) 多肽混合物中活性最强的多肽之一,比 TF5 的生物活性高 10 ~ 1 000 倍。 $T\alpha 1$ 是由胸腺上皮细胞和胸腺内分泌细胞产生的高度保守的活性肽,广泛存在于机体的胸腺上皮细胞、外周血、大脑、垂体、精液、滤泡液和羊水中;在某些保护细胞及激活的淋巴细胞上清中也存在着 $T\alpha 1$;在某些肿瘤细胞中存在着相当水平的 $T\alpha 1$;甚至在某些昆虫、蟹、原生动物、真菌和细菌中也出现了类似 $T\alpha 1$ 的活性物质。除此以外,培养的胸腺上皮细胞、含有 Pro $T\alpha$ 的人外周血细胞以及微孔小室胎胸腺上皮细胞上清中也含有高水平的 $T\alpha 1$ 。研究表明, $T\alpha 1$ 也存在于 McF-7 细胞的胞浆中和结肠腺细胞的核膜上。

1.2.1 胸腺素 $\alpha 1$ 的结构特征

胸腺素 $\alpha 1$ 是一种高度保守的小分子活性肽,富含酸性氨基酸,由 28 个氨基酸组成,其相对分子质量为 3 108,等电点为 4.2,无二硫键与糖基化,体内 N 末端乙酰化。 $T\alpha 1$ 耐酸、耐碱且耐热,在 80 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$ 较稳定,用 2 mol/L HCl 或 2 mol/L NaOH 或 PBS 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴处理的 $T\alpha 1$ 仍具有活性。胸腺素 $\alpha 1$ 的蛋白序列非常特别,28 个氨基酸残基中含 9 个酸性氨基酸残基(6 个谷氨酸残基、3 个天冬氨酸残基);4 个碱性的赖氨酸残基;7 个亲水性氨基酸残基(3 个丝氨酸残基、3 个苏氨酸残基、1 个天冬酰胺残基);8 个疏水性氨基酸残基;无半胱氨酸残基。序列中存在 6 对重复的氨基酸序列,即: Ala-Ala、Ser-Ser、Thr-Thr、

Lys-Lys、Val-Val、Glu-Glu,占整个分子近一半的位置,这在其他活性多肽中是没有的。由于存在大量疏水性氨基酸残基,胸腺素 $\alpha 1$ 难以形成有效的二级结构,在体内很难产生抗体。其一级结构如下:

Ser-Asp-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys-Asp-Leu-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Aan。

1.2.2 胸腺素 $\alpha 1$ 的生物学作用

T $\alpha 1$ 主要作用于胸腺细胞成熟的早期和晚期,诱导 T 细胞分化成熟,能够增加 T 细胞在各种抗原或致有丝分裂原激活后产生 INF- α (干扰素 α)、INF- γ 、IL-1 (白细胞介素 1)、IL-2、IL-3、IL-6、IL-7 和 CSF (集落刺激因子) 等多种淋巴因子的分泌,增加 T 细胞表面淋巴因子受体的水平。T $\alpha 1$ 能调节 NK 细胞的发育分化、成熟以及存活,还能抑制病毒核酸的复制,抑制白色念珠菌的增殖,缓解化疗药物和放疗的毒副作用。此外,T $\alpha 1$ 还可以作为神经内分泌调节剂,促进伤口愈合以及保持脂质水平的正常化等多种生物功能。T $\alpha 1$ 可促进胸腺内的骨髓干细胞转化为 T 细胞,并进一步分化为 T 细胞不同的功能亚群,这是 T $\alpha 1$ 最基本的调节作用;T $\alpha 1$ 刺激干细胞增殖并增加 NK 细胞、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的产生;在肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 存在或不存在的条件下,T $\alpha 1$ 可促进骨髓来源的树突状细胞 (DC) 成熟分化并增强其功能,而 DC 直接影响 T 细胞的成熟和分化;研究表明,T $\alpha 1$ 不但促进表达 CD4⁺ 的树突状细胞的分化并活化其标志分子,而且能促进 CD4⁺ 的表达并提高由 TNF- α 诱导的成熟标志分子的上调水平。在 CHC 的治疗中,T $\alpha 1$ 可增加病毒阳性患者外周血单个核细胞 (PBMC) 中 Th1 细胞亚群和 IL-2 的产生。

1.2.3 胸腺素 $\alpha 1$ 的临床应用

胸腺素 $\alpha 1$ 作为免疫增强剂,主要用于免疫缺陷和免疫抑制的疾病。当病



重组法氏囊免疫融合肽的免疫佐剂特性

人感染某些病毒如 HIV、HBV 或癌症以及经过化疗和放疗后,其免疫系统会被逐渐抑制乃至破坏而不能发挥对病毒或癌细胞的正常杀伤作用。 $T\alpha 1$ 可以恢复 T 细胞的功能,促进 T 细胞的增殖,促进淋巴细胞在病原组织及癌细胞周围的聚集,促进淋巴因子及其淋巴因子受体的产生。这样就大大增强免疫细胞的调节作用,提高对病毒和癌症的抵抗能力。

1.3 胸腺素 $\beta 4$

胸腺素 $\beta 4$ 是 20 世纪 80 年代从胸腺中分离得到、后来发现在许多组织中都广泛存在的一种小肽类物质。胸腺素 $\beta 4$ 是一种重要的肌动蛋白结合蛋白,含有 43 个氨基酸,相对分子质量约 5 kD,等电点为 5.1。与胸腺素 α 原或类胸腺素不同,胸腺素 $\beta 4$ 是胞浆蛋白而非核蛋白,并且它只含有较少的疏水性氨基酸,不含有 Lys-Lys-Xaa-Lys 结构区域,其氨基酸序列如下:

Ser-Asp-Lys-Pro-Asp-Met-Ala-Glu-Ile-Glu-Lys-Phe-Asp-Lys-Ser-Lys-Leu-Lys-Lys-Thr-Glu-Tilr-Gln-Glu-Lys-Ash-Pro-Leu-Pro-ser-Lys-Glu-Thr-Ile-Glu-Gin-Glu-Lys-Gin-Ah- Gly-Glu-Ser。

1.3.1 胸腺素 $\beta 4$ 的免疫学功能

胸腺素 $\beta 4$ 作为一种小肽类物质,不但在胸腺依赖性淋巴细胞的调节与分化方面具有重要功能,可显著增强胸腺细胞、骨髓细胞末端核苷酰转移酶活性(该酶是一种特异的 DNA 聚合酶,不需要模板即可催化任一脱氧核苷三磷酸在脱氧寡聚或多聚核苷酸引物的 3'-OH 端的聚合反应),抑制巨噬细胞游走活性;胸腺素 $\beta 4$ 还可刺激下丘脑促黄体激素释放激素以及黄体激素的分泌,诱导 T 细胞系分型转变,在 CD4 细胞增殖抑制时激活 CD8 细胞。

氧硫基胸腺素 $\beta 4$ 是单核细胞在糖皮质激素刺激下产生的一种抗炎物质。

它作为一种信号分子抑制炎症反应。在体外氧硫基胸腺素阻抑制中性粒细胞趋化性反应。胸腺素 $\beta 4$ 的这种活性可能与氧化形式增强其细胞外信号功能有关。研究还发现胸腺素阻对白血病细胞系有抑制作用,但只有高浓度时才发挥作用,此时对正常细胞没有影响。胸腺素 $\beta 4$ 可与粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)协同作用促进骨髓祖细胞分化,并且胸腺素 $\beta 4$ 的这种作用与肿瘤坏死因子(TNF)相同,也具有双重性,低剂量刺激骨髓细胞分化增殖,高剂量则起抑制作用。

胸腺素 $\beta 4$ 参与免疫作用的另一个证据是人们在研究 HIV-1 感染的 T 细胞、巨噬细胞时,发现被感染的细胞胸腺素 $\beta 4$ mRNA 量降低 2~3 倍,AIDS 病人淋巴细胞中胸腺 $\beta 4$ 素 mRNA 量减少 5 倍。此外,研究发现成纤维细胞株 NIH3T3 中胸腺素 $\beta 4$ 高表达的细胞,对抗 TNF 或紫外线诱导的细胞凋亡的能力强 2 倍。而有意思的是,在静息期用 TNF 或紫外线处理细胞,其对抗凋亡的能力则丢失。由于在胸腺素 $\beta 4$ 高表达细胞和对照细胞中,bcl-2 含量没有差别,而在胸腺素 $\beta 4$ 高表达细胞中 ppl25FAK(一种激酶,与细胞凋亡相关)表达增加 1.4 倍,同时,该激酶磷酸化程度也较对照高两倍。这些证据表明,胸腺素 $\beta 4$ 可能具有抗损伤诱导型细胞凋亡的功能。当然,对于胸腺素 $\beta 4$ 的免疫作用也有不同意见。如 Bonnet 认为,由胸腺素 $\beta 4$ 具有独特的 N 端结构,与生血抑制因子乙酰四肽序列(Ac-N-Ser-Asp-Lys-Pro)相同,所以胸腺素 $\beta 4$ 抑制正常骨髓祖细胞生长,妨碍粒细胞、巨噬细胞系及红细胞系祖细胞生长,减少它们 S 相的百分数。而 Moscinski 等认为胸腺素 $\beta 4$ 不但不抑制骨髓祖细胞分化,还可在实验后期(第五天)保持 GM-CSF 诱导的分化高峰。但是无 GM-CSF 时,胸腺素 $\beta 4$ 则没有这种作用。Zalvide 等在 NIH3T3 细胞株培养时发现,如无血清或细胞处于静息期,则检测不到胸腺素 $\beta 4$ mRNA;一旦恢复血清供应,细胞开始增殖,细胞处于 G_1/S 转换期,胸腺素 $\beta 4$ mRNA 水平即显著增加。据此他认为胸腺素 $\beta 4$ 阻基因被细胞分化所调节,而不是一个细胞周期调节基因,所以胸腺素 $\beta 4$



重组法氏囊免疫融合肽的免疫佐剂特性

不太可能具有调节 T 细胞分化功能。

1.3.2 胸腺素 $\beta 4$ 在临床中的应用

在细胞内胸腺素 $\beta 4$ 是转谷氨酰胺酶的底物,参与 χ III α 因子的形成。腺素 $\beta 4$ 第六位的 Met 氧化形成腺素 $\beta 4$ 亚砷后具有抗炎症作用;切去腺素 $\beta 4$ 前 6 个氨基酸或前 12 个氨基酸后,第 6 位的 Met 将更容易被氧化。腺素 $\beta 4$ 亚砷失去了对肌动蛋白聚合的调控作用,能有效地防止人体发炎而形成的肿胀,还能避免人体免疫反应失去控制,并可充当信号,显示人体免疫系统已无法完全保护自身组织免受损伤。科研人员以这种蛋白质为基础开发研制出治疗风湿性关节炎等慢性炎症的新药,其副作用小于常用的类固醇消炎药,已开始用于慢性褥疮、糖尿病溃疡、眼部损伤、皮肤老化、败血性休克、化脓性感染等疾病的临床试验治疗。

2 法氏囊活性肽

法氏囊(bursa of fabricus, BF),一个仅存在于禽类体内的重要的免疫器官,是早期的 B 淋巴细胞增殖和分化的场所,在免疫系统中发挥着举足轻重的作用。科学家们对 BF 进行了广泛而深入的研究,通过对 BF 的提取液进行研究发现,其提取液内含有多种免疫活性因子。例如,2~3 月龄的北京鸭的 BF 的提取物能够增加被环磷酰胺处理过的小鼠脾脏中的空斑形成细胞数(PFCs)、促进猪的胸腺细胞的 E-玫瑰花环的形成;高剂量的 BF 提取物还能增强 T 细胞的有丝分裂原转化反应。这些资料表明,BF 中可能存在增强或调节免疫反应的成分。事实上,一些从 BF 中提取出来的可溶性因子,如三肽囊素(BS)和法氏囊抗类固醇生成肽(BASP)等,已被证明其在 B 细胞的增殖和分化中发挥着至关重要的作用。BS 是从鸡法氏囊中分离出的一种三肽物质,可诱导 B 细胞的分化,而