

补体C3d作为分子佐剂的研究进展

尹迪^{1,2}, 徐凤花¹, 戚中田² (1. 东北农业大学 资源与环境学院, 哈尔滨 150030; 2. 上海市第二军医大学基础部微生物教研室, 上海 200433)

补体系统由30余种可溶性蛋白分子组成, 是天然免疫系统的一部分。补体C3分子的裂解片段C3b、iC3b和C3d是连接天然免疫和获得性免疫的重要蛋白质分子^[1]。补体活化的途径有3条即经典途径(classical pathway)、旁路途径(alternative pathway)和甘露聚糖结合凝集素途径(mannan-binding lectin pathway)^[2]。3种途径均能产生C3转化酶, C3分子被C3转化酶裂解为过敏毒素C3a以及具有调理作用的C3b, C3b分子能与糖蛋白表面的胺基或羟基共价连接, 这种共价作用由C3b分子内部的硫酯基所介导^[3]。因而, C3b分子可吸附于侵入体内的微生物表面, 再与I型补体受体(CR1/CD35)结合, 在血清H因子和I因子的作用下可水解形成iC3b, iC3b随后被裂解为C3d。而结合C3d分子的微生物能与II型补体受体(CR2/CD21)结合^[4]。

II型补体受体(CR2)主要分布于滤泡树突状细胞(FDC)、B细胞和一些T细胞表面^[5]。FDC是一类存在于外周淋巴器官生发中心的特殊树突状细胞, 其在抗原提呈方面发挥重要作用, 这种作用不依赖于MHC I和MHC II类分子, 而依赖于FcR和补体受体(CR1、CR2), 可将抗原-抗体复合物和抗原-抗体-补体复合物长期(可达数周~数年)滞留或浓缩于FDC表面供B细胞识别^[6]。活化的B细胞与FDC表面的抗原结合, 而发生体细胞突变是B细胞亲和力成熟的关键步骤, 因此FDC是激发体液免疫应答以及维持免疫记忆的重要细胞。B细胞表面的CR2与免疫复合物的结合对于成熟B细胞的存活以及高亲和力B细胞

的选择起重要作用^[7]。

B细胞表面的CD21、CD19、CD81及CD225(Leu-13)以非共价键相联, 形成B细胞的活化辅助受体。CD21的胞外区与结合于抗原的补体成分C3d结合, 由CD19向胞浆传递刺激信号, 可明显降低抗原激活B细胞的阈值^[8]。因此, 结合有C3d分子的微生物抗原能同时与B细胞表面的IgM(mIgM)和CR2结合, 同时激活B细胞活化的双信号, 增强B细胞对抗原刺激的敏感性, 并阻止细胞凋亡。此外, mIgM-CR2组成的复合物能够促进抗原的摄取和提呈^[9]。

因CR2在B细胞活化过程中的重要作用, 故C3d分子可作为1种新型的免疫佐剂。1996年, Dempsey等^[10]通过基因工程方法将鸡卵溶菌酶(HEL)分别与1~3个拷贝C3d分子串联, 以重组蛋白分别免疫小鼠。结果发现HEL-C3d2和HEL-C3d3的免疫原性分别比天然蛋白HEL高1000和10 000倍。随后有研究者将C3d分子与病毒、细菌、寄生虫和细胞自身抗原相连接进行免疫, 得到了类似的结果。

II型胶原(CII)常被用作自身抗原, 将CII联合完全弗氏佐剂(CFA)免疫小鼠可诱导关节炎, 但单独用CII并不能引起关节炎。CFA能引起局部炎症, 促进抗原提呈和加速TLR-依赖性细胞因子的分泌, 因而, CFA能使动物模型产生自身免疫疾病^[11]。最近有报道, 将CII与C3d分子融合免疫小鼠后可使小鼠发生风湿性关节炎。这提示C3d分子可能打破机体对自身蛋白的天然免疫耐受性, 因此能够使用它诱导针对一些肿瘤性抗原的免疫反应, 或许能够拓宽用C3d分子作为分子佐剂的应用范围。

通讯作者: 戚中田 Email: qizt@smmu.edu.cn

最初报道的C3d分子中与CR2结合的最小位点是成熟C3分子的第1199~1210位氨基酸残基组成的肽段,而包含该区域的第1187~1214位共28个氨基酸残基(p28)合成肽(1187-KFLTAKDKNRWEDPFKQLYNVEATSYA-1214)不仅能结合Raji细胞表面的CR2,还能刺激Raji细胞增殖^[12]。但随后有报道对该区域氨基酸残基进行一系列突变并没有明显降低C3d与CR2的结合^[13]。1种基于静电势能的模型认为P28肽虽然能结合CR2,但自然条件下C3d分子与CR2之间的结合主要依赖于完整的C3d与CR2之间作用的静电作用、范德华力以及氢键。p28肽不仅能结合CR2,还能起类似于C3d分子的免疫佐剂作用,如将HIV-1 gp120基因与4个拷贝的p28基因串联,得到的融合基因gp120-4(p28)表达质粒与gp120-3(C3d)融合基因表达质粒免疫小鼠所诱导的抗gp120抗体滴度相似,均显著高于单纯用gp120基因免疫诱导的抗体滴度。HBV的前-S2/S基因与4个拷贝P28基因串联后免疫小鼠也有类似效果^[14]。

基于对C3d分子与补体受体CR2的结合对活化B细胞所发挥重要作用的理解,在缺乏补体受体CR2的情况下,C3d分子应不能起免疫佐剂的作用。然而事实上并非如此,在CR2基因敲除的小鼠,链亲和素(SA)与C3d偶联的蛋白或HIV gp120与3个拷贝C3d的融合蛋白免疫小鼠均比单独用SA或者gp120免疫诱导更高水平的抗-SA和抗-gp120抗体^[15]。因此,C3d作为1种分子佐剂对CR2表现出依赖性和非依赖性的两种关系,C3d对CR2的非依赖性可能与C3d分子作为载体可延长抗原的半衰期有关,还有可能C3d分子与某种未知的低亲和力受体结合有关,该受体在CR2缺失的情况下能替代其发挥免疫激活作用^[16]。

也有一些报道称C3d分子能抑制免疫应答,如C3d分子与无毒性的白喉毒素片段B、牛轮状病毒VP7和牛I型疱疹病毒糖蛋白D融合后使这些蛋白的免疫原性降低。每种抗原的剂量以及免疫特性与C3d所起的免疫增强或免疫抑制作用有重要关系^[17]。如低剂量的白喉毒素或链亲和素与3拷贝C3d分子的融合蛋白免疫小鼠能增强免疫应答,但

用高剂量的融合蛋白免疫则抑制免疫应答^[18]。又如,疟原虫环子孢子蛋白(CSP)与C3d分子的融合蛋白能抑制抗CSP抗体的产生,原因可能与CSP羧基末端的1个抗原表位被C3d分子隐蔽有关^[19]。

C3d片段是补体C3的不能再酶解的最小片段,作为1种新型的分子佐剂能有效增强体液免疫反应,其作用呈现出补体受体依赖性和非依赖性关系。虽然对C3d分子与其补体受体CR2的相互作用已有着广泛而深入的研究,但在缺失CR2的情况下发生反应的免疫增强机制仍然不很清楚。无论是完整C3d分子或C3d分子中的p28肽(p28),对外源性抗原和自身抗原都具有免疫佐剂作用。基于目前的一系列研究结果,C3d分子作为分子佐剂对于感染性疾病的疫苗研究和开发将发挥重要作用。

参考文献

- [1] Guo RF, Ward PA. Role of C5a in inflammatory responses[J]. *Annu Rev Immunol*, 2005,23:821-852.
- [2] Walport MJ. Complement. Second of two parts[J]. *N Engl J Med*, 2001,344:1140-1144.
- [3] Walport MJ. Complement. First of two parts[J]. *N Engl J Med*, 2001,344:1058-1066.
- [4] Rickert RC. Regulation of B lymphocyte activation by complement C3 and the B cell coreceptor complex[J]. *Curr Opin Immunol*, 2005,17:237-243.
- [5] Zabel MD, Weis JH. Cell-specific regulation of the CD21 gene[J]. *Int Immunopharmacol*, 2001,1:483-493.
- [6] Park CS, Choi YS. How do follicular dendritic cells interact intimately with B cells in the germinal centre[J]. *Immunology*, 2005,114:2-10.
- [7] Tsoukas CD, Lambris JD. Expression of EBV/C3d receptors on T cells: biological significance[J]. *Immunol Today*, 1993,14:56-59.
- [8] Tedder TF, Haas KM, Poe JC. CD19-CD21 complex regulates an intrinsic Src family kinase amplification loop that links innate immunity with B-lymphocyte intracellular intracellular calcium responses[J]. *Biochem Soc Trans*, 2002,30:807-811.
- [9] Cherukuri A, Cheng PC, Pierce SK. The role of the CD19/CD21 complex in B cell processing and presentation of complement-tagged antigens[J]. *J Immunol*, 2001,167:163-172.
- [10] Dempsey PW, Allison ME, Akkaraju S, et al. C3d of complement as a molecular adjuvant: bridging innate and acquired immunity[J]. *Science*, 1996,271:348-350.
- [11] Del Nagro CJ, Kolla RV, Rickert RC. A critical role for complement C3d and the B cell coreceptor (CD19/CD21) complex in the initiation of inflammatory arthritis[J]. *J Immunol*, 2005,175:5379-5389.
- [12] Lambris JD, Ganu VS, Hirani S, et al. Mapping of the C3d

- receptor (CR2)-binding site and a neoantigenic site in the C3d domain of the third component of complement[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1985, 82: 4235-4239.
- [13] Clemenza L, Isenman DE. Structure-guided identification of C3d residues essential for its binding to complement receptor 2 (CD21)[J]. J Immunol, 2000, 165: 3839-3848.
- [14] Wang LX, Xu W, Guan QD, et al. Contribution of C3d-P28 repeats to enhancement of immune responses against HBV-preS2/S induced by gene immunization[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10: 2072-2077.
- [15] Haas KM, Toapanta FR, Oliver JA, et al. Cutting edge: C3d functions as a molecular adjuvant in the absence of CD21/35 expression[J]. J Immunol, 2004, 172: 5833-5837.
- [16] Mitsuyoshi JK, Hu Y, Test ST. Role of complement receptor type 2 and endogenous complement in the humoral immune response to conjugates of complement C3d and pneumococcal serotype 14 capsular polysaccharide[J]. Infect Immun, 2005, 73: 7311-7316.
- [17] Bergmann-Leitner ES, Scheiblhofer S, Weiss R, et al. C3d binding to the circumsporozoite protein carboxyterminus deviates immunity against malaria[J]. Int Immunol, 2005, 17: 245-255.
- [18] Suradhat S, Braun RP, Lewis PJ, et al. Fusion of C3d molecule with bovine rotavirus VP7 or bovine herpesvirus type 1 glycoprotein D inhibits immune responses following DNA immunization[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2001, 83: 79-92.
- [19] Lee Y, Haas KM, Gor DO, et al. Complement component C3d-antigen complexes can either augment or inhibit B lymphocyte activation and humoral immunity in mice depending on the degree of CD21/CD19 complex engagement[J]. J Immunol, 2005, 175: 8011-8023.

收稿日期: 2007-11-22

• 消息 •

全国传染病学防治新技术、新进展专题研讨会征文通知

为了进一步加强传染病防治新技术、新进展的学术交流,促进我国传染病学的基础、临床和公共卫生领域的科学研究,明确我国传染病防治的现在和未来的发展方向和趋势,《中华预防医学杂志》编委会与北京地坛医院拟联合于2009年5月中旬在昆明举办全国传染病学防治新技术、新进展专题研讨会。

本次研讨会大会主席是地坛医院副院长、传染病研究所所长成军教授,会期5天,参加会议者将获国家级继续医学教育学分证书。大会讲座内容丰富,授课教授都是国内著名的传染病学专家,包括斯崇文、贾继东、王贵强、魏来、王豪、成军、李兴旺、陈志海、卢联合、赵红心、谢雯、谢尧、邢卉春、李金明、梁争论、李杰、杨东亮、张福杰、张文宏,等等。

本次会议还面向全国征文,内容包括:乙型肝炎、丙型肝炎、肾综合征出血热、艾滋病病毒/获得性免疫缺陷综合征、流行性脑脊髓膜炎、乙型脑炎、中枢神经系统感染、发热原因待查、皮疹待查、黄疸的鉴别诊断、严重急性呼吸系统综合征、禽流感、猪链球菌病等传染病防治方面的新技术和新进展。优秀论文经组委会挑选将刊登在《中华预防医学杂志》的相关重点号上。欢迎各位专家踊跃投稿或报名参加会议,征文书写格式请参考《中华预防医学杂志》所刊登的论著文章,但只要有中文摘要(包含目的、方法、结果、结论四要素)和全文;所有征文均采用Word文档并发送至如下邮箱:ljw810828@cma.org.cn或xueaihua@cma.org.cn;联系人:李敬文、薛爱华;征文截止日期:2009年4月10日。没有征文但是要参加会议的同志,可以通过上述Email报名,报名截止时间2009年4月20日。

全国传染病学防治新技术、新进展专题研讨会组委会
2008年12月10日