

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.02.008

· 专家论坛 ·

非 B 细胞来源的免疫球蛋白促进肿瘤的发生和发展

邱晓彦(北京大学基础医学院免疫学系,北京 100191)



邱晓彦 免疫学教授,博士生导师,北京大学基础医学院免疫学系副主任,中国免疫学会肿瘤免疫学会分会委员。曾分别作为访问学者及访问教授在日本大阪大学微生物研究所及美国德克萨斯大学 MD 安德森癌症中心进行合作研究。主要从事非 B 细胞来源的免疫球蛋白功能研究、肿瘤免疫治疗及炎-癌转化的免疫学机制研究,主要贡献是在国际上首次发现了非 B 细胞可以表达 Ig (non B-Ig),首次报道 non B-Ig 除了具有天然抗体活性、在皮肤黏膜发挥天然免疫功能外,在非 B 细胞谱系中发挥重要的细胞生物学功能,如促进细胞的黏附、增殖、生存及迁移;重要的是,在病理条件下,non B-Ig 促进多种肿瘤的发生及转移;促进炎-癌转化。这些本土研究的创新成果已经在国际权威杂志,如 *Cancer Res*、*Leukemia*、*J Biochem Mol Biol*、*Cell Mol Life Sci*、*Am J Pathol* 等杂志上发表 20 余篇论著。目前有关 non B-Ig 的研究已经形成了一个新的领域,相关研究得到了国家自然科学基金重点项目、重大国际合作项目、国家自然科学基金面上项目等多项国家级基金项目的资助。E-mail: qiuxy@bjmu.edu.cn

[摘要] 免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)是一类最重要的免疫分子,是 B 淋巴细胞的特有产物,分泌型 Ig 通过不同的机制发挥着重要的免疫防御作用,即抗体活性;膜结合型 Ig 是 B 细胞识别抗原受体(B cell antigen receptor, BCR),这是目前仍然写在国内外免疫学教材的经典概念。然而,近年来越来越多的研究证据表明,机体内还存在一类迄今未被关注的、非 B 细胞来源的 Ig 分子(non B-Ig),它们在可变区重排模式、表达调控及功能等方面有别于经典的 Ig 分子。non B-Ig 的突出特点是在恶性转化的细胞中高水平表达,其表达水平与肿瘤的不良分化及不良预后密切相关;功能研究显示,non B-Ig 促进肿瘤细胞的生长及生存,并参与肿瘤的发生及发展。研究提示,non B-Ig 具有原癌基因的潜质,有可能成为多种肿瘤新的治疗靶点。

[关键词] 免疫球蛋白;非 B 细胞;肿瘤发生;肿瘤发展

[中图分类号] R730.54; R392.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2015)02-0183-08

Immunoglobulin of non B cell origin promotes cancer initiation and progression

Qiu Xiaoyan (Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China)

[Abstract] Immunoglobulin (Ig), one of the most important immune molecules, has been considered to be produced only by B lymphocytes. The membrane bound Ig on B cells is responsible for the recognition of antigen, and the secreted Ig (antibody) exerts the immune defense effect *via* several mechanisms. This is the classic concept that can be found in the contemporary textbooks of immunology. However, in recent years, an emerging large body of evidence has confirmed that in addition to the B cell-derived Ig, there is another class of Ig which is of non-B cell origin (non B-Igs). The non B-Igs are different from those of the classical Igs about their VHDJH or VKJK rearrangement pattern, expression regulation and function. Observably, the non B-Igs are frequently over expressed in many cancer cells, and correlated with poor cell differentiation and patients' prognosis. Importantly, the non B-Igs could promote growth of cancer cells, and play important role in the mechanism of tumor progression. These findings suggest that the non B-Ig behaves like potential proto-oncogenes, which may be useful for tumor therapy as novel targets.

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(No. 39830410)资助;国家自然科学基金面上项目(No. 303071609,30572094,30772470,81272237)资助;国家自然科学基金重大研究计划培育项目(No. 91229102)资助;国家自然科学基金重大国际合作项目(No. 81320108020)资助。Project supported by the Key Project of National Natural Science Foundation of China(No. 39830410), the General Program of National Natural Science Foundation of China(No. 303071609,30572094,30772470,81272237), the Breeding Project of the Major Research Plan of National Natural Science Foundation of China(No. 91229102), and the Key Project of International Cooperation of National Natural Science Foundation of China(No. 81320108020)

[**Keywords**] immunoglobulin; non B cells; tumor pathogenesis; tumor progression

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(2): 183-190]

免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)是生物体内最古老、最奇妙且最复杂的蛋白家族,其经历了 5 亿年进化的过程。无颌类脊椎动物七鳃鳗即出现了 IgM 样的分子,有颌类脊椎动物则开始产生 IgM, 继而,硬骨鱼出现 IgD,两栖及爬行类动物出现 IgG,哺乳类动物出现 IgA 及 IgE。由于早在 1890 年 Ig 首先作为抗体分子被发现^[1],故 100 多年来,科学家们主要聚焦于具有抗体活性的 Ig 分子的结构、来源、理化特性、表达调控机制及生物学意义的研究。早在 20 世纪 70~80 年代,抗体分子基本的化学结构、理化特性及重要的免疫学效应等已经逐渐被界定。但由于一些研究发现,多数浆细胞来源的骨髓瘤产生的单克隆性 Ig 却缺少抗体活性。1964 年,WHO 将具有抗体活性以及化学结构上与抗体相似的动物蛋白定义为 Ig。然而长期以来人们并没有发现 Ig 具有其他生物学功能,并且基于抗体分子及循环中各类 Ig 分子的产生主要依赖 B 细胞这一事实,“只有 B 细胞才产生 Ig, Ig 就是抗体”成为半个世纪以来免疫学,乃至生命科学领域勿容置疑的经典概念。长期以来人们并没有关注其他类型的细胞是否也可以产生 Ig 分子,以及经历数亿年进化的各类 Ig 分子除了发挥免疫防御功能外是否还有其他重要生物学意义?直到 20 世纪 90 年代,国内几个课题组^[2-7]分别在工作中偶然发现非 B 细胞可表达 Ig,并且该 Ig 可能具有非抗体活性。通过 20 多年的追踪及探索,一系列证据已经证实,除了 B 细胞,其他谱系的组织细胞也可产生 Ig(暂称为 non B-Ig);而且该 Ig 除了具有天然抗体活性^[8-9]外,还具有维持细胞生长、迁移及生存等^[10]重要的细胞生物学功能。更重要的是,non B-Ig 涉及多种肿瘤的发生和发展。目前这一具有本土创新意义的发现已经得到了国内外同行的印证,并逐渐形成了一个新的研究领域^[11-29]。

1 “只有 B 细胞才产生 Ig”的经典概念主要基于抗体的发现

1890 年, Behring 和 Kitasato 发现用白喉外毒素免疫动物后,被免疫的动物血清中存在一种能够中和外毒素的物质,将其命名为抗毒素,即后来定义的抗体^[1]。抗毒素发现以后,免疫学家对抗体的来源进行了近 1 个世纪的探讨。最初一些科学家推测机体内所有的细胞都具有合成分泌抗体的能力,但没有找到直接的证据。在随后半个世纪的时间里,生物

化学家主宰了这一领域的研究进展,先后提出关于抗体产生的侧链学说、直接模板学说和间接模板学说,其基本思想是:抗原分子作为模板指导抗体分子的生物合成。但后来证明这几个学说都是错误的。直到 1957 年, Glick^[30]在探讨鸡的抗体产生细胞时发现,切除鸡的腔上囊能够导致抗体产生缺陷,提出鸡的腔上囊是抗体生成细胞的中心,并将这类细胞称为 B 细胞。由此人们才开始逐渐认识到高等动物体内存在免疫系统的组织学和细胞学基础,抗体是由免疫细胞产生的。

1958 年,澳大利亚免疫学家 Burnet 提出细胞系选择学说:“抗体是由小淋巴细胞合成分泌的”。Gowans 团队^[31-32]通过实验证实了小淋巴细胞具有产生抗体的能力,他们建立了免疫缺陷的小鼠模型,包括淋巴细胞缺陷小鼠和全身 X 线高辐射处理的免疫缺陷小鼠,研究发现,向这些小鼠体内注射由家兔胸腺导管内获得的小淋巴细胞后,部分供体的小淋巴细胞能够进一步分化发育分裂形成体积较大的嗜派若宁细胞,并能够纠正甚至恢复这些免疫缺陷小鼠的移植物抗宿主反应(免疫排斥反应)以及溶血反应。基于这些实验证据, Gowans 团队^[33]提出小淋巴细胞具有启动抗体合成分泌的功能,并认为小淋巴细胞是抗体形成细胞的前体细胞。20 世纪 60 年代初, Miller^[34]发现,当骨髓功能受损后,抗体产生细胞的明显减少,甚至缺失,由此证明抗体是由骨髓中的小淋巴细胞(称为 B 细胞)生产的。而且,基于多种 B 细胞缺陷小鼠循环中 Ig 水平明显降低,并缺少特异性抗体产生这一事实,“抗体/Ig 是 B 细胞的特有产物”这一经典概念更是毋庸置疑。

Ig 基因重排是 Ig 基因表达的前提条件,这是 1976 年 Tonegawa 等^[35-37]应用 DNA 重组技术获得的里程碑式的发现,1987 年获得诺贝尔生理学奖。值得说明的是,人们在解读 Tonegawa 的伟大发现时又进一步强化了“只有 B 细胞才产生 Ig”这一概念。因为在该研究体系中, Tonegawa 证明了 Ig 基因重排发生于骨髓瘤细胞(B 细胞起源),而作为对照的非 B 细胞(肝细胞及胚胎组织)“没有发现 Ig 基因重排”。但现在分析该结论可以发现其带有很大不确定性。因为回顾 Tonegawa 当年的发现不难看出,当初 Tonegawa 的主要目的是要证实 Ig 基因能够发生重排及其抗体多样性产生的机制,而不是 Ig 的来源。他应用分子杂交联合核苷酸测序技术,以小鼠

骨髓瘤细胞系作为模型,利用骨髓瘤自己产生的重排后 Ig 可变区 mRNA 序列做探针,证明了骨髓瘤细胞基因组中存在与该 mRNA 序列相同的 VJ 重排结构,而在胚系状态,如肝细胞或胚胎组织(他假设这些细胞中 Ig 基因组为胚系状态)不存在这种 VJ 重排结构,其多拷贝的 V、J 或 V、D、J 片段是处于分割状态的。由此,人们很自然地理解:“非 B 细胞之所以不产生 Ig,是因为其 Ig 基因处于未重排状态”。事实上,如果按着现在人们对 Ig 基因重排规律的认识,即不同的 B 细胞具有他们自己的 VDJ 或 VJ 重排模式,如果当初选用任意一个 B 细胞替代其中的肝细胞或胚胎组织,也会由于 B 细胞的 VJ 或 VDJ 重排模式与骨髓瘤细胞不同而得出与肝细胞或胚胎组织同样的结果。并且,没有被选择使用的 V、J 或 V、D、J 片段在 B 细胞也是处于分割状态的。由此看来,这一历史的误读大大地阻碍了人们去认识和发掘机体内存在的另一类重要的 Ig 分子。

2 non B-Ig 的发现

笔者课题组早在 20 世纪 80 年代末意外发现,乳腺癌细胞内存在明显的 IgG 阳性信号,但其周围残存的正常乳腺上皮细胞及良性肿瘤组织中(如乳腺纤维腺瘤)的上皮细胞均未见类似的阳性信号。经反复验证并扩大标本的数量与种类,发现多种上皮恶性肿瘤细胞及与癌变有关的高危细胞群都存在与 IgG 抗原性相同、分子量一致的 Ig 样蛋白。1996 年该结果首次发表于国内核心期刊^[24]。此后又发现多种肿瘤细胞系可以分泌并合成 Ig 样蛋白,并在这些细胞中发现了 Ig 重排后结构^[38-39]。2003 年首次在国际刊物上发表并证实上皮细胞内存在的 Ig 样蛋白就是经典的 Ig 分子,而这种 Ig 分子是上皮性肿瘤细胞自己产生的;而且该 Ig 分子具有生长因子样活性^[10]。由此提出了“非 B 细胞来源的 Ig 分子(non B-Ig)”这一新概念。

几乎同一时期,国内其他几个课题组获得了类似的发现。20 世纪 90 年代初,中国医学科学院肿瘤医院张友会课题组发现在卵巢癌腹水的存在大量的、具有免疫抑制活性的蛋白,经鉴定该蛋白为 IgG(内部交流资料)。意外的是,该 IgG 在腹水中肿瘤细胞高水平存在(而不是浆细胞)。几乎同一时期,中南大学湘雅医学院曹亚^[20,40-41] 课题组利用分子克隆技术从人鼻咽癌细胞系 CNE2 中分离到一基因(命名为 Tx),它具有恶性转化功能,其后发现 Tx 是一个异常的人类 Igk 轻链基因,其后进一步证明 IgA 及 Igk 链表达于上皮来源的肿瘤细胞及癌前病

变的细胞,且与细胞的生长和生存密切相关。几乎在同一时期,浙江大学郑树^[7,20-22] 研究组也发现 IgA 重链及其 RAG1 和 RAG2 在多个大肠癌细胞系中表达,其 IgA 参与细胞周期的演进。此后,多个课题组^[42-44] 相继印证和报道了多种非 B 细胞表达 Ig 的现象,如多种上皮细胞、神经元、生精细胞、血管内皮细胞等。

实际上,一些早期的相关研究报道,已经从不同的角度提示了 Ig 分子有可能在非 B 细胞中表达。可能是对有关 B 细胞产生 Ig 经典理论的笃信不疑,直到现在 non B-Ig 的存在才被逐步正视。如早在 20 年前,国际上有几个研究小组^[45-47] 相继发现在小鼠和兔子的胎脑及成年动物的脑神经元内存在 IgG 分子,并且发现了 IgG 基因重排所必需的基因 RAG1 及 RAG2 在脑神经元中表达,但人们宁愿相信其为神经元内吞了 IgG 所导致。2008 年笔者^[43] 首次证实,这些 IgG 分子不是内吞的,是由神经元自己产生的。1998 年日本学者 Kimoto^[48] 曾报道人乳腺癌细胞系中检测到 Ig 重链恒定区及 T 细胞抗原受体基因转录,但作者认为可能任何一种基因都可在细胞内少量转录,不一定有相应的蛋白表达,故未见其进一步的研究报道。此外,2001 年有报道^[49] 在小鼠卵母细胞及生精细胞存在较强的 IgG 阳性反应,同样对其来源没有合理的解释。2009 年,笔者^[44] 证明了生精细胞能够产生高丰度的 Ig 分子。

3 non B-Ig 的结构特征

自然界的抗原种类繁多,因此也需要机体具有产生如此众多抗体的能力。所以多样性是 B 细胞来源的 Ig 的重要特性。B 细胞来源的 Ig 主要通过以下不同方式产生多样性的 Ig 分子:(1)通过基因重排来实现 Ig 的多样性。在胚胎细胞中,V、J、(D) 和 C 基因是分散排列的,在 B 细胞发育成熟过程中,基因组中组成 Ig 分子的各个基因开始发生重排,V 区基因发生 V-J(轻链)或 V-D-J(重链)重排,与 C 基因连接,转录产生 mRNA。随机重排的结果可以产生 $10^8 \sim 10^{10}$ 种 Ig 分子。(2)通过在 V-J 或 V-D-J 连接处随机插入不确定的核苷酸序列导致了更多的多样性。(3)抗原刺激后会发生 V-J 或 V-D-J 序列体细胞高频突变及类别转换,原 IgM 的可变区序列多处核苷酸被替代,其恒定区由 μ 转换为 γ 或 α 或 ϵ 链,由此由 IgM 转换为 IgG、IgA 或 IgE。

为了明确肿瘤细胞表达的 Ig 分子可变区是否象 B 细胞表达的抗体一样具有多样性,笔者课题组^[19,42-44,50-52] 曾分别分离及分选不同组织类型的人

及小鼠的非 B 细胞, 分析了 2 000 多条 non B-Ig 轻链及重链的可变区序列。结果表明, 这些肿瘤细胞的 Ig 基因都呈现了典型的可变区基因重排及连接特征, 其恒定区序列(包括糖基化位点)与 B 细胞来源的抗体分子也是一致的。而且非 B 细胞具有产生不同类别 Ig 的能力。然而意外的是, 非 B 细胞表达的 Ig 可变区呈现了独特性遗传特征。具体表现为: (1) 同一个体相同谱系来源的细胞(如上皮细胞)之间, 甚至不同个体、相同谱系的细胞之间, 会选择使用某几个特定的 V、D、J 或 V、J 片段, 使其 non B-Ig 可变区序列之间呈现高度保守的特征。如郑杰等^[50]发现 VH5-51/D3-9/JH4 重链重排序列高频率出现于不同类型的上皮性肿瘤细胞中。牛娜等^[19]发现人眼组织中的 Ig γ 主要使用 VH4-61/D5-18/JH4 序列。黄晶等^[42-44]发现小鼠的 κ 型轻链可变区 Vbv9 及 Vcw9 频繁地被小鼠的上皮细胞、神经元、生精细胞使用。(2) 不同细胞、甚至不同个体来源的 Ig 可变区所呈现的保守序列, 不仅表现为 V、D、J 或 V、J 片段的选择一致, 其连接序列也呈现高度一致(即不能用经典概念“随机插入”所解释)^[50]。(3) 一般认为, 在 B 细胞中首先自发表达 IgM, 而其他类别 Ig 分子, 如 IgG、IgA 或 IgE, 是抗原刺激后诱发类别产生的。理论上讲, 类别转换只由 γ 或 α 或 ε 重链恒定区替代 μ 链恒定区, 而不改变 VDJ 或 VJ 的重组模式。然而我们却发现, 相同 non B-IgG 及 IgM 重链可变区其 VDJ 或 VJ 的重组模式却完全不同, 推测在非 B 细胞内不存在经典的类别转换。笔者课题组^[50-52]发现, 上皮性肿瘤细胞中, Ig μ 主要呈现 VH3-15/D3-10/JH4、VH6-1/D6-13/JH4、VH4-30-2/D3-22/JH4 这三种重排模式, 而 Ig γ 则以 VH5-51/D3-9/JH4 重排模式为主; 在分析不同急性髓系白血病(AML)细胞系中 Ig γ 及 μ 链可变区发现, 这些细胞表达的 Ig γ 重组模式都为 VH3-48/D4-7/JH4), 而其 Ig μ 则倾向于使用 VH3-23/D6-19/JH5 重排模式。目前对于这些遗传学特征还没有合理的解释。但这些发现提示, non B-Ig 在重排机制、表达调控机制及生物学活性等方面都不同于经典的 Ig/抗体分子, 其主要活性可能与细胞的谱系发生、分化及其相应的生理功能密切相关。

4 non B-Ig 的表达与肿瘤发生发展密切相关

non B-Ig 首先是从肿瘤细胞内发现的, 越来越多证据显示 non B-Ig 表达可能参与肿瘤发生发展。

4.1 癌症患者血中 Ig 水平升高

很早以前人们就发现, 一些癌症患者, 包括肝

癌、肺癌、大肠癌及乳腺癌患者的 IgG、IgA、IgM 及血浆中的循环免疫复合物(circulating immune complex, CIC)水平明显增高^[52-53], 甚至出现单克隆性免疫球蛋白血症(一般认为, 这种情况只发生在浆细胞来源的骨髓瘤患者)^[54-56]。这些 Ig 可以与正常细胞或肿瘤细胞特异性结合, 故被称为肿瘤反应性抗体。然而, 无法理解的是, 这些抗体水平的升高往往又预示着不好的预后^[57]。故现在推测这些“肿瘤反应性抗体”可能主要来源于肿瘤细胞。

4.2 non B-Ig 在多种肿瘤细胞高水平、高频率表达

non B-Ig 在多种肿瘤细胞高水平、高频率表达, 是 non B-Ig 被发现的源头线索。尽管近年来的研究证明, 机体内的一些正常非 B 细胞也可以产生 Ig 分子, 但越来越多的证据已经证明, 多种肿瘤组织, 特别是一些上皮性肿瘤细胞与其正常的组织相比, 会高水平、高频率表达不同类别的 Ig 分子。如肝癌、乳腺癌、大肠癌、胃癌、皮肤鳞癌等均存在 IgG 分子^[11-14, 22, 24-26, 29]; 大肠癌、肝癌、乳腺癌、胃癌、肺癌、膀胱癌、子宫内膜癌、口腔癌组织中均能检测到 IgA 分子^[17, 20, 22, 41]; 肝癌、乳腺癌、胃癌、肺癌、食管癌、膀胱癌、甲状腺癌、喉癌、胰腺癌中检测到了 IgM 的表达^[7, 24]。而对 Ig 轻链的检测也显示, 多种上皮来源的肿瘤及间叶组织肿瘤中均存在 Ig κ 表达^[18, 21, 27, 30], 胃癌和食管癌组织中能检测到 Ig λ 轻链^[7, 12]。最近, 笔者实验室^[51-52]利用流式分选技术分离了 AML 患者外周血中 CD33⁺ 的肿瘤细胞, 发现这些髓系来源的造血细胞肿瘤同样存在 Ig γ 、Ig μ 基因的重排及表达。值得说明的是, Ig γ 的重排及表达只存在于肿瘤细胞, 而不存在于分化的髓系细胞, 如单核细胞及中性粒细胞。提示 Ig γ 可能涉及细胞的增殖及恶性转化。2009 年 Adamovic 等^[58]在化学药物诱导的大鼠乳腺癌基因组中意外发现, Ig 重链基因拷贝数明显扩增, 推测 Ig 基因参与了乳腺癌的发生。

4.3 non B-Ig 具有生长因子样活性

早在 20 世纪 70 年代末人们就发现, 用亲和层析将患者血浆中 Ig 分子去除后血浆回输给患者或荷瘤动物, 其体内可诱发肿瘤的坏死, 缓解病情^[59-60]。这些事实虽然当初没有合理的解释, 但基于 non B-Ig 的发现及功能研究结果, 笔者推测该效应是由于阻断了 Ig 分子的生长因子样活性引起的。在 2003 年, 笔者课题组^[10]首次提出 non B-Ig 具有生长因子样活性, 体外实验表明, 利用 IgG 的 ASODN(反义寡核苷酸)敲减 IgG 表达或利用抗体封闭 IgG 均能诱导多种肿瘤细胞发生凋亡, 抗 IgG

抗体封闭还能抑制 HeLa 细胞在裸鼠体内的肿瘤形成。Lee 等^[14]早在 30 年前获得了一株单抗,该单抗特异识别多种肿瘤而不识别正常细胞;近年来发现,该单抗所识别的抗原正是肿瘤细胞表达的 IgG。他们^[61]发现,RP215 具有很好的抑制肿瘤生长的活性,进一步提示 non B-IgG 促进肿瘤的生长。此外,国内外多个实验室^[10, 18, 20, 28, 51-52, 62-65]的研究也证实,非 B 细胞来源 IgG、IgA 能够促进肿瘤细胞的增殖。相应的临床资料^[28]也显示,大肠癌、胃癌、皮肤癌组织中 IgG 的表达与 PCNA(增殖细胞核抗原)的表达成正相关,而食管癌组织中 IgG 的表达与另一种增殖细胞核抗原 Ki-67 的表达同样成正相关。

近期,也有一些初步的机制研究。Wen 等^[66]发现,IgG Fab 段能够与肿瘤细胞结合,活化 ERK 通路,从而促进细胞增殖;顾江等^[67]发现,IgG 能够与 RACK1(receptor of activated protein kinase C 1)、RAN(ras-related nuclear protein)及 PRDX1(peroxiredoxin 1)相互作用,诱导肿瘤细胞产生低水平的 ROS(活性氧簇),活化 ERK 通路,促进细胞增殖。但究竟 non B-Ig 通过何种受体与细胞结合发挥作用,如何激活下游信号通路?还有待于进一步探讨。

4.4 non B-IgG 促进肿瘤的发生及转移

肿瘤干细胞是肿瘤发生、转移及复发的根源。此前笔者及其他课题组都相继发现 IgG 的表达与肿瘤的发生发展密切相关,但其机制并不清楚。如顾江等^[68]报道,non B-Ig 的表达与肿瘤转移相关,在乳腺癌转移灶中 IgG 表达高于原发灶。最近,笔者用 non B-IgG 特异性抗体首先发现,non B-IgG 的表达与乳腺癌及肺腺癌转移密切相关,更重要的是,IgG 高表达与患者的不良预后密切相关,针对 non B-IgG 的特异性单抗可用于预测肺腺癌及乳腺癌的转移。机制研究^[68]还发现,non B-IgG 高表达的细胞其迁移、侵袭及转移能力明显增加。当 non B-IgG 被敲减后,vimentin、MMP9 等 EMT 相关分子明显降低,导致癌细胞的迁移、侵袭及转移能力明显减弱或消失。更有意义的是,IgG 在肿瘤干细胞高水平表达,IgG 表达水平与肿瘤干细胞的生物学行为密切相关。如高水平表达 IgG 的癌细胞其非铆钉生长能力、转移能力及少量细胞成瘤能力都明显地增强;IgG 被敲减后,上述这些肿瘤干细胞的生物学行为消失,其详细的作用机制有待于进一步探讨。

4.5 non B-Ig 在肿瘤细胞发生体细胞突变

突变是肿瘤发生发展过程中的重要事件,有些突变直接导致肿瘤的发生,如原癌基因 K-Ras 第 12 位氨基酸突变可以导致 Ras 蛋白持续活性;抑癌基

因 P53 及 Pten 的突变导致 P53 及 Pten 的功能失活,均可以导致肿瘤的发生。Ig 在多种肿瘤细胞高水平表达,其生物学活性涉及肿瘤的生长、生存及转移,显示了原癌基因的潜能。笔者实验室^[42-44]曾分析并比较了正常组织与肿瘤细胞表达的 Ig 轻链及重链可变区突变情况,结果发现,不同正常组织的细胞,包括上皮细胞、神经元及生精细胞等,其表达的 Ig 轻链及重链几乎不发生突变;但所检测的肿瘤细胞表达 Ig 分子却出现高频突变,如鳞状细胞癌,包括肺鳞癌、食管鳞癌及口腔鳞癌,其表达的 IgG 及 IgA 都发生高频突变^[17, 50],但正常的表皮细胞表达的 IgG 及 IgA 却不突变或只呈现低频突变^[9]。近期,笔者实验室又分别分离了急性髓系白血病(AML)肿瘤细胞、正常的单核细胞及中性粒细胞,分析了三种不同细胞表达的 IgM 及 κ 型轻链突变情况,其结果同样显示,几乎所有的 AML 肿瘤细胞表达的 IgM(65/65)及 κ 型轻链(102/105)都发生了显著的突变,而正常的单核细胞及中性粒细胞表达的 IgM(0/45)^[52]及 κ 型轻链(6/86)则不突变或只有少数序列突变(未发表资料)。笔者还分析了肿瘤细胞表达的 Ig 突变模式,并与 B 细胞来源的 Ig 进行比较,其结果意外地发现,在不同肿瘤之间表达的保守 VDJ 或 VJ 重排模式中,不但其 V、D、J 使用一致,其突变的位点也是一致的,而 B 细胞来源的 VDJ 或 VJ 却显示随机突变。此外,一般认为 B 细胞来源的 VDJ 或 VJ 的突变是抗原诱导的,其特点是突变主要集中于互补决定区(CDR),而不是骨架区(FR)^[50]。可是肿瘤细胞表达的 Ig,其突变位点不集中于 CDR,而是随机分布。目前该遗传特性还无法用现有的经典理论解释。但至少提示,不同肿瘤表达的 Ig 呈现相同的突变,有可能贡献于肿瘤的发生和发展的机制研究。

5 展望

5.1 non B-Ig 的发现开启了 Ig 研究的新篇章

有关 Ig 的来源、结构、表达调控及功能早在 20 世纪 70 年代似乎已成定论,成为国内外免疫学教科书经典的内容。然而,non B-Ig 的发现又将唤醒这一沉静近半个世纪的研究领域。人们将用新的视角及最先进的技术手段,重新审视有关 Ig 的经典理论,揭示 Ig 分子尚未人知的生理及病理意义。

5.2 non B-Ig 的发现将为细胞生物学研究增添新的内容

多年来,Ig 分子一直被认为只发挥免疫功能。non B-Ig 的发现及功能研究结果证明,在非 B 细胞

中表达的 Ig 分子参与细胞的生存、增殖、迁移等最基本生命活动,揭示这些 Ig 分子的功能及其详细的机制将对细胞生物学领域的研究起到推动作用。

5.3 non B-Ig 的发现将推动肿瘤生物学的研究

目前,肿瘤细胞高表达 Ig,而且该 Ig 能够促进肿瘤的发生发展已经成为共识,但其详细的作用机制还不清楚。揭示 Ig 在肿瘤发生、侵袭及转移中的作用及其机制将成为本研究领域的重要切入点。

5.4 non B-Ig 有可能成为肿瘤治疗的新靶点

Ig 在多种肿瘤细胞高水平表达,而在正常组织细胞不表达或低水平表达,具有作为肿瘤靶分子的潜质。更重要的是,不同谱系的肿瘤细胞,常常会表达其谱系特有的 Ig 重链或轻链可变区序列,如上皮来源的肿瘤倾向于表达带有 VH5-51/D3-6/JK4 的 IgG 及带有 VK4-1/JK3 的 k 链;AML 细胞倾向于表达带有 VK1-5/JK3 的 k 链。笔者认为,这些序列可以作为治疗靶点。目前已经获得了多株针对上述特有序列的抗体,体内外实验均显示了它们具有明显的抗肿瘤活性(未发表资料)。此外,肿瘤细胞表达

的 Ig,至少 IgG 及 IgA 有异常的糖基化,这些相关的表位同样可以作为治疗靶点。如上皮细胞肿瘤表达的 IgG 常表现为高唾液酸化,目前已经获得相应的单克隆抗体,体内外研究结果显示,该抗体具有较强的抗肿瘤作用^[61]。此外,针对上述特异表位的抗体同样具有肿瘤特异性诊断的应用前景。

致谢:有关非 non B-Ig 研究,经历了漫长而艰辛的历程。这项研究之所以能够从工作中偶然发现后持续追踪至今,主要得益于众多的良师益友的鼎力支持。感谢已故的博士生导师杨贵贞教授及博士后导师唐佩弦教授的悉心培养;特别感谢张友会教授近 20 年的鼓励及一路陪伴、分担风险,如果没有他的鼎力支持,本课题研究不可能走到今天;感谢富宁教授及其课题组整整 10 年的陪伴,她的鼓励和无私帮助给了我们克服阻力的动力和决心。感谢国家自然科学基金委一如既往的大力支持,多次以基金(39830410;303071609;30572094;30772470;81272237;91229102;81320108020)资助,特别感谢叶鑫生教授、董尔丹教授的鼓励及大力支持。感谢北京大学医学部领导及马大龙教授的鼎力支持。感谢多年来邱晓彦课题组的研究生们在该研究领域的贡献。

本刊名誉主编张友会教授点评

值得关注的研究新动向

本期发表邱晓彦的文章,是她从事非 B 细胞来源的免疫球蛋白研究 20 年的阶段性总结,内容丰富、新颖,很值得一读。我关注她的工作是从评阅她的博士论文开始的,她发现肿瘤细胞表达免疫球蛋白(Ig),深深地吸引了我。这是因为创新常常是从自己的科研实践出现“不寻常”结果开始的,及时抓住它,可能开辟全新的研究领域,否则好的苗头稍纵即逝。阅读她的论文使我回想起 20 世纪 80 年代和清华大学生物系合作的一项肿瘤攻关研究,发现从癌性腹水中分离的免疫抑制因子竟然是免疫球蛋白!可惜当年对此未给予足够重视,使刚显露的研究苗头流失。值得庆幸的是,邱晓彦的研究得到国家自然科学基金委的大力支持,获得重点科研项目的资助。经过三年的努力,进一步阐明肿瘤细胞表达免疫球蛋白对肿瘤生长有显著促进作用。论文首次在美国肿瘤专业杂志 *Cancer Res* 发表,为后来的发展奠定了坚实基础。她力排种种非议,克服种种困难,用大量确凿的科学实验资料,确立非 B 细胞来源的免疫球蛋白的存在,并阐明了其促进肿瘤发生、发展的机制。邱晓彦的研究开辟了一个全新的知识领域,已经揭示的还只是冰山一角,其发展前景十分广阔。

[参 考 文 献]

[1] 邱晓彦, 杨贵贞. 恶性肿瘤细胞内呈现 Ig 样物质的特性及其基因结构分析 [J]. 中国免疫学杂志, 1996, 12(5): 295.

[2] 邱晓彦, 杨贵贞. 恶性肿瘤细胞内存在免疫球蛋白样物质 [J]. 白求恩医科大学学报, 1996, 22(6): 572-575.

[3] 邱晓彦, 杨贵贞. 上皮性恶性肿瘤细胞的 Ig 基因分析 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 1997, 4(2): 157-158.

[4] 邱晓彦, 侯春梅, 李秀森, 等. Ig 样蛋白的表达与恶性肿瘤分化及增殖细胞核抗原的相关性分析 [J]. 军事医学科学院院刊, 1999, 23(1): 17-19.

[5] 黎明, 唐敏, 邓锡云, 等. 上皮来源的肿瘤细胞表达免疫球蛋白 A [J]. 中华肿瘤杂志, 2001, 23(6): 15-17.

[6] 汪泱, 张叔人, 何祖根, 等. 免疫球蛋白样物质在上皮来源的恶性肿瘤中的表达 [J]. 中国肿瘤临床, 2001, 28(3): 169-171.

[7] 吴翰桂, 郑树, 张苏展, 等. 大肠癌相关新基因 SNC73 在人上皮肿瘤组织中的表达研究 [J]. 中华消化杂志, 2003, 23(3): 39-41.

[8] Hu F, Zhang L, Zheng J, et al. Spontaneous production of immunoglobulin M in human epithelial cancer cells. [J]. PLoS ONE, 2012, 7(12): e51423.

- [9] Jiang D, Ge J, Liao Q, et al. IgG and IgA with potential microbial-binding activity are expressed by normal human skin epidermal cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(2): 2574-2590.
- [10] Qiu X, Zhu X, Zhang L, et al. Human epithelial cancers secrete immunoglobulin g with unidentified specificity to promote growth and survival of tumor cells [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(19): 6488-6495.
- [11] Babbage G, Ottensmeier CH, Blaydes J, et al. Immunoglobulin heavy chain locus events and expression of activation-induced cytidine deaminase in epithelial breast cancer cell lines. [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(8): 3996-4000.
- [12] Okabe H, Satoh S, Kato T, et al. Genome-wide analysis of gene expression in human hepatocellular carcinomas using cDNA microarray: Identification of genes involved in viral carcinogenesis and tumor progression [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 2129-2137.
- [13] Luo A, Kong J, Hu G, et al. Discovery of Ca^{2+} -relevant and differentiation-associated genes downregulated in esophageal squamous cell carcinoma using cDNA microarray [J]. *Oncogene*, 2004, 23(6): 1291-1299.
- [14] Lee G, Ge B. Cancer cell expressions of immunoglobulin heavy chains with unique carbohydrate-associated biomarker [J]. *Cancer Biomark*, 2009, 5(4): 177-188.
- [15] Chen Z, Gu J. Immunoglobulin G expression in carcinomas and cancer cell lines [J]. *FASEB J*, 2007, 21(11): 2931-2938.
- [16] Zheng H, Li M, Ren W, et al. Expression and secretion of immunoglobulin alpha heavy chain with diverse VDJ recombinations by human epithelial cancer cells [J]. *Mol Immunol*, 2007, 44(9): 2221-2227.
- [17] Zhu X, Li C, Sun X, et al. Immunoglobulin mRNA and protein expression in human oral epithelial tumor cells [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2008, 16(3): 232-238.
- [18] Chen Z, Huang X, Ye J, et al. Immunoglobulin G is present in a wide variety of soft tissue tumors and correlates well with proliferation markers and tumor grades [J]. *Cancer*, 2010, 116(8): 1953-1963.
- [19] Niu N, Zhang J, Sun Y, et al. Expression and distribution of immunoglobulin G and its receptors in an immune privileged site: The eye [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(14): 2481-2492.
- [20] Zheng H, Li M, Liu H, et al. Immunoglobulin alpha heavy chain derived from human epithelial cancer cells promotes the access of S phase and growth of cancer cells [J]. *Cell Biol Int*, 2007, 31(1): 82-87.
- [21] Liu H, Zheng H, Duan Z, et al. LMP1-augmented kappa intron enhancer activity contributes to upregulation expression of Ig kappa light chain via NF-kappaB and AP-1 pathways in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Mol Cancer*, 2009, 8: 92.
- [22] Geng LY, Shi ZZ, Dong Q, et al. Expression of SNC73, a transcript of the immunoglobulin alpha-1 gene, in human epithelial carcinomas [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(16): 2305-2311.
- [23] Kang BY, Hu C, Prayaga S, et al. LOX-1 dependent overexpression of immunoglobulins in cardiomyocytes in response to angiotensin II [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(2): 395-399.
- [24] Wang H, Cao X, Liu EC, et al. Prognostic significance of immunoglobulin M overexpression in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Acta Otolaryngol*, 2013, 133(10): 1080-1087.
- [25] Li X, Ni R, Chen J, et al. The presence of IGHG1 in human pancreatic carcinomas is associated with immune evasion mechanisms [J]. *Pancreas*, 2011, 40(5): 753-761.
- [26] Liu Y, Chen Z, Niu N, et al. IgG gene expression and its possible significance in prostate cancers [J]. *Prostate*, 2012, 72(6): 690-701.
- [27] Qiu Y, Korteweg C, Chen Z, et al. Immunoglobulin G expression and its colocalization with complement proteins in papillary thyroid cancer [J]. *Mod Pathol*, 2012, 25(1): 36-45.
- [28] Zhang L, Hu S, Korteweg C, et al. Expression of immunoglobulin G in esophageal squamous cell carcinomas and its association with tumor grade and Ki67 [J]. *Hum Pathol*, 2012, 43(3): 423-434.
- [29] Liang PY, Li HY, Zhou ZY, et al. Overexpression of immunoglobulin G prompts cell proliferation and inhibits cell apoptosis in human urothelial carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3): 1783-1791.
- [30] Glick B. The immune response of bursaless birds as influenced by antibiotics and age [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1968, 127(4): 1054-1057.
- [31] Mombaerts P, Iacomini J, Johnson RS, et al. RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes [J]. *Cell*, 1992, 68(5): 869-877.
- [32] Shinkai Y, Rathbun G, Lam KP, et al. RAG-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V(D)J rearrangement [J]. *Cell*, 1992, 68(5): 855-867.
- [33] Lin H, Grosschedl R. Failure of B-cell differentiation in mice lacking the transcription factor EBF [J]. *Nature*, 1995, 376(6537): 263-267.
- [34] Miller JF. Immunological function of the thymus [J]. *Lancet*, 1961, 278(7205): 748-749.
- [35] Tonegawa S. Reiteration frequency of immunoglobulin light chain genes: Further evidence for somatic generation of antibody diversity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1976, 73(1): 203-207.
- [36] Tonegawa S, Brack C, Hozumi N, et al. Cloning of an immunoglobulin variable region gene from mouse embryo [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1977, 74(8): 3518-3522.
- [37] Tonegawa S, Maxam AM, Tizard R, et al. Sequence of a mouse germ-line gene for a variable region of an immunoglobulin light chain [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1978, 75(3): 1485-1489.
- [38] 邱晓彦, 侯春梅, 沈继铭, 等. HL-60 细胞 Ig 样蛋白的表达及 IgH V-D-J 序列分析 [J]. *中华血液学杂志*, 1999, 20(6): 38-39.
- [39] 邱晓彦, 侯春梅, 李秀森, 等. 多种肿瘤传代细胞中 Ig 样物质存在与检测 [J]. *癌症*, 1999, 18(2): 180-181.
- [40] Li M, Ren W, Weng XX, et al. Nucleotide sequence analysis of a transforming gene isolated from nasopharyngeal carcinoma cell line CNE2: An aberrant human immunoglobulin kappa light chain which lacks variable region [J]. *DNA Seq*, 2001, 12(5/6): 331-335.
- [41] Hu D, Duan Z, Li M, et al. Heterogeneity of aberrant immunoglobulin expression in cancer cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2011, 8(6): 479-485.

- [42] Zhang S, Mao Y, Huang J, et al. Immunoglobulin gene locus events in epithelial cells of lactating mouse mammary glands [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(6): 985-994.
- [43] Huang J, Sun X, Mao Y, et al. Expression of immunoglobulin gene with classical V-(D)-J rearrangement in mouse brain neurons [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(8): 1604-1615.
- [44] Huang J, Zhang L, Ma T, et al. Expression of immunoglobulin gene with classical V-(D)-J rearrangement in mouse testis and epididymis [J]. *J Histochem Cytochem*, 2009, 57(4): 339-349.
- [45] Uppender MB, Dunn JA, Wilson SM, et al. Immunoglobulin molecules are present in early-generated neuronal populations in the rat cerebral cortex and retina [J]. *J Comp Neurol*, 1997, 384(2): 271-282.
- [46] Yoshimi K, Woo M, Son Y, et al. IgG-immunostaining in the intact rabbit brain: Variable but significant staining of hippocampal and cerebellar neurons with anti-IgG [J]. *Brain Res*, 2002, 956(1): 53-66.
- [47] Chun JJ, Schatz DG, Oettinger MA, et al. The recombination activating gene-1 (RAG-1) transcript is present in the murine central nervous system [J]. *Cell*, 1991, 64(1): 189-200.
- [48] Kimoto Y. Expression of heavy-chain constant region of immunoglobulin and T-cell receptor gene transcripts in human non-hematopoietic tumor cell lines [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 1998, 22(1): 83-86.
- [49] Gurevich A, Ben-Hur H, Moldavsky M, et al. Immunoprotection of gonads and genital tracts in human embryos and fetuses: Immunohistochemical study [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2001, 46(6): 381-385.
- [50] Zheng J, Huang J, Mao Y, et al. Immunoglobulin gene transcripts have distinct VHDJH recombination characteristics in human epithelial cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(20): 13610-13619.
- [51] Qiu X, Sun X, He Z, et al. Immunoglobulin gamma heavy chain gene with somatic hypermutation is frequently expressed in acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2013, 27(1): 92-99.
- [52] Huang J, Sun X, Gong X, et al. Rearrangement and expression of the immunoglobulin mu-chain gene in human myeloid cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2014, 11(1): 94-104.
- [53] Olubuyide IO, Salimonu LS, Adeniran SO. Soluble immune complexes and immunoglobulin (IgG, IgA and IgM) levels in Nigerians with primary liver cell carcinoma [J]. *Afr J Med Med Sci*, 1993, 22(4): 57-62.
- [54] Manjula S, Aroor AR, Raja A, et al. Serum immunoglobulins in brain tumours [J]. *Acta Neurochirurgica*, 1992, 115(3/4): 103-105.
- [55] Tenenbaum N, Meignan S, Vincent JP. Bi- and tri-clonal gammopathies and the elderly [J]. *Ann Med Interne (Paris)*, 1992, 143(2): 89-93.
- [56] Gregersen H, Mellekj A RL, Ibsen JS, et al. The impact of M-component type and immunoglobulin concentration on the risk of malignant transformation in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance [J]. *haematologica*, 2001, 86(11): 1172-1179.
- [57] Taylor DD, Gercel-Taylor C. Tumor-reactive immunoglobulins in ovarian cancer: diagnostic and therapeutic significance? [J]. *Oncol Rep*, 1998, 5(6): 1519-1524.
- [58] Adamovic T, McAllister D, Guryev V, et al. Microalterations of inherently unstable genomic regions in rat mammary carcinomas as revealed by long oligonucleotide array-based comparative genomic hybridization [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(12): 5159-5167.
- [59] Daskal Y, Mattioli CA, Kao-Jen J, et al. Histological and ultrastructural changes in breast adenocarcinoma after treatment with plasma perfused over immobilized protein A [J]. *Cancer Res*, 1984, 44(5): 2225-2235.
- [60] Fennelly DW, Norton L, Sznol M, et al. A phase II trial of extracorporeal plasma immunoadsorption of patient plasma with prosorba columns for treating metastatic breast cancer [J]. *Cancer*, 1995, 75(8): 2099-2102.
- [61] Lee G, Chu RA, Ting HH. Preclinical assessment of anti-cancer drugs by using RP215 monoclonal antibody [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(2): 161-166.
- [62] Wang J, Lin D, Peng H, et al. Cancer-derived immunoglobulin G promotes tumor cell growth and proliferation through inducing production of reactive oxygen species [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e945.
- [63] Pan B, Zheng S, Liu C, et al. Suppression of IGHG1 gene expression by siRNA leads to growth inhibition and apoptosis induction in human prostate cancer cell [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(1): 27-33.
- [64] Li M, Zheng H, Duan Z, et al. Promotion of cell proliferation and inhibition of ADCC by cancerous immunoglobulin expressed in cancer cell lines [J]. *Cell Mol Immunol*, 2012, 9(1): 54-61.
- [65] Lee G, Liu S. Roles of antigen receptors and CA215 in the innate immunity of cancer cells [J]. *Open J Immunol*, 2013, 2013.
- [66] Wen YJ, Mancino A, Pashov A, et al. Antigen binding of human IgG Fabs mediate ERK-associated proliferation of human breast cancer cells [J]. *DNA Cell Biol*, 2005, 24(2): 73-84.
- [67] Wang J, Lin D, Peng H, et al. Cancer-derived immunoglobulin G promotes tumor cell growth and proliferation through inducing production of reactive oxygen species [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e945.
- [68] Ma C, Wang Y, Zhang G, et al. Immunoglobulin G expression and its potential role in primary and metastatic breast cancers [J]. *Curr Mol Med*, 2013, 13(3): 429-437.
- [69] Liu Y, Liu D, Wang C, et al. RP215, a mAb targets metastatic lung adenocarcinomas by binding to IgG and is predictive of poor prognosis [J]. *Histopathology*, 2015, in press.

[收稿日期] 2015 - 03 - 13

[修回日期] 2015 - 03 - 24

[本文编辑] 黄静怡