

DNA 的免疫激活作用

——II. 应用基础研究进展

胡振林 孙树汉

(第二军医大学医学遗传学教研室 上海 200433)

摘要 综述免疫激活序列 (ISS) 应用基础方面的研究进展。ISS-DNA 不仅有望成为新一代高效低毒的免疫佐剂,而且在抗肿瘤、抗感染、促进造血、治疗免疫缺陷以及防治哮喘等方面均有非常乐观的应用前景。

关键词 免疫激活序列 DNA 免疫

随着对 ISS 免疫激活作用机理研究不断深入,对 ISS-DNA 在肿瘤、过敏反应、传染性疾病等的预防和治疗方面的应用潜力也引起了越来越广泛的兴趣。研究表明:ISS-DNA 不仅有望成为新一代高效低毒的免疫佐剂,而且在抗肿瘤、抗感染、促进造血、治疗免疫缺陷以及防治哮喘等方面均有非常乐观的应用前景。1999 年 4 月,由 Krieg 等人创建的 CpG 免疫医药公司(CpG Immuno Pharmaceutical)进行的一项 CpG 寡核苷酸作为乙肝亚单位疫苗佐剂的研究已进入临床试用,说明有关 ISS 的应用研究已非常深入。

1 ISS-DNA 免疫佐剂作用

目前已对 ISS-DNA 佐剂作用已进行了相当充分的研究,普遍认为 ISS-DNA 具有很多其他传统佐剂无可比拟的优点,是当前最具发展前途的疫苗佐剂之一。以下对 ISS-DNA 作为疫苗佐剂的作用特点进行详细讨论。

首先,ISS-DNA 能同时增强抗原特异性的体液免疫应答和细胞免疫应答,尤其是对细胞免疫应答具有更突出的增强作用^[1]。ISS-DNA 对体液免疫应答的增强作用主要是由于其对 B 细胞的直接激活作用及其与抗原协同激活 B 细胞的作用。ISS-DNA 极强的 Th1 倾向性免疫增强作用则是由于其对 DC 抗原呈递功能的增强作用及其诱导 APC 分泌的大量 Th1 型细胞因子(IL-12、IL-18、IFN- γ 等),而 ISS-DNA 诱导的 IL-4、IL-5 等 Th2 型细胞因子水平极低。当然,ISS-DNA 对 T 细胞的协同激活作用可能亦与此有关。据报道 CpG-ODN 是比包括完全佛氏佐剂(CFA)在内的很多其他佐剂作用更强的 Th1 型

佐剂^[2,3]。ISS-DNA 这一特点使其在乙肝、丙肝、HIV、结核等需要 CTL 应答的细胞内感染以及肿瘤等疾病的防治中更具优势。

第二,CpG-DNA 几乎对所有类型的抗原均具佐剂作用。已报道的包括:减毒的麻疹病毒^[4]、灭活的流感病毒^[5]、乙肝 S 抗原^[6]、破伤风毒素多肽片段^[4]、卵白蛋白^[7]、鸡蛋溶酶^[2]、 β -半乳糖苷酶^[8]、禽 γ -球蛋白^[9],以及肿瘤抗原如 38C13 小鼠淋巴细胞表面 IgM 等等^[3,10]。在上述的几乎所有研究中,CpG-ODN 可使抗体滴度增高 2~3 Log;在某些研究^[2,3]中,CpG-ODN 表现出与 CFA 相当甚至更强的佐剂作用而无明显毒副作用。与 CpG-ODN 的广泛适用性相比,目前在大多数国家普遍使用的铝盐则适应范围较窄,如它不能用于减毒的活疫苗,对其他的如含有灭活流感病毒的疫苗也无作用。

值得注意的是须将 CpG-ODN 与免疫原混合后同时接种方能发挥其最佳的佐剂效能,如果将 CpG-ODN 分开注射(如对侧注射或提前,推后一天注射),将使其佐剂作用大幅度降低。最近的研究还发现将 CpG-ODN 与蛋白抗原共价交联后接种则进一步大幅度增强其佐剂效能,如 Tighe H (2000 年)报道:ISS-ODN 交联于蛋白质所构成的疫苗诱生 IFN- γ 的能力较 DNA 疫苗高出数倍,诱生 IgG_{2a} 更快,而且在任何时间点,交联疫苗组的 IgG_{2a} 水平均高于核酸疫苗组和蛋白与 ISS-ODN 混合接种组。接种 2 周时,交联疫苗组的 IgG_{2a} 水平为核酸疫苗组的 50 倍,为蛋白与 ISS-ODN 混合接种组的 5 倍。交联疫苗单次接种即可产生与核酸疫苗 3 次接种相当水平的 CTL 应答^[11]。

第三,ISS 在幼年机体内的佐剂作用优于铝盐。

新生幼儿由于免疫机能未成熟常常不能产生适宜的免疫应答,因此许多疫苗必须推迟接种。尤其是幼儿往往产生 Th2 型的免疫应答,细胞免疫应答水平很低,这样往往增加了幼儿感染的危险。

以幼鼠进行的试验表明: CpG ODN 可增强幼鼠针对 HBsAg、减毒麻疹病毒、破伤风毒素多肽片段的抗体和 CTL 应答水平,作用明显优于铝盐,且具更明显的 Th1 倾向性,表明 ISS DNA 对幼儿的免疫接种有更大的潜在应用价值^[4,12]。

第四、ISS DNA 具极强的粘膜免疫佐剂作用而毒性低于霍乱毒素(CT)。

粘膜外接种能诱导系统性免疫应答但几乎不能诱导粘膜免疫应答,而粘膜接种可同时诱导粘膜免疫和系统性免疫应答,但只有减毒活疫苗效果较好,亚单位疫苗无效,除非使用粘膜免疫佐剂。CT 及其结构类似物大肠杆菌热敏感肠毒素(LT)是实验研究中有效的粘膜免疫佐剂,可惜毒性太大,无法用于人体^[13]。现发现 CpG-ODN 具高效的粘膜免疫佐剂作用,灭活流感疫苗与 CpG-ODN 滴鼻接种小鼠可诱导显著增高的 IgG 和 IgA^[15]。HBsAg 与 CpG-ODN 滴鼻接种能诱导 HBsAb 和 CTL 应答,而 HBsAg 单独滴鼻接种无效^[14]。在这些研究中, CpG ODN 显示与 CT 同样的效力,并与 CT 有很强的协同作用,而且与 CT 诱导 Th2 型应答不同, CpG-ODN 诱导 Th1 型应答。

CpG-ODN 经鼻给药的有效剂量(1~10 μ g)比粘膜外途径有效剂量(10~50 μ g)低。CpG-ODN 具有很好的安全性和耐受性,小鼠一次吸入高达 500 μ g 的 CpG-ODN 并不显示急性和长期毒性,相反,给予 CT 超过 10 μ g 即有毒性,表现竖毛和腹泻。在人体 CT 毒性更大,低至 1~5 μ g 即可引起腹泻^[15]。

第五、质粒骨架中 ISS 序列的佐剂作用是核酸疫苗所必须的^[16]。

核酸疫苗是近年来发展迅速的一类新型疫苗,它通过将抗原或表位的编码序列克隆入真核表达质粒载体后导入机体,使抗原在体内表达进而刺激机体的特异性免疫应答。研究表明除抗原表达单元外,质粒骨架上的 CpG 基序提供的佐剂作用是核酸疫苗所不可缺少的,去除或甲基化这些 CpG 序列将减弱乃至消除其诱导的免疫应答并使这些质粒诱导的细胞因子水平大幅度降低^[17,18]。向质粒骨架中增加 CpG 序列的拷贝数亦能增加核酸疫苗的免疫原性,如 Klinman 等发现增加多个 AACGTT 拷贝后虽不能明显增加最适剂量下疫苗诱导的免疫应答水平,

但在亚适剂量下,能显著增强疫苗的免疫效能。说明 ISS 拷贝数的增加可以减少疫苗的用量^[16]。值得注意的是增加过多的 ISS 拷贝并不能使疫苗的免疫效能进一步增强,反而使其下降。如 Krieg 等的研究发现增加 16 拷贝的 ISS 序列能显著增强 DNA 疫苗诱导的抗体水平而增加 50 拷贝后,免疫应答水平反而降低^[19]。

除 CpG 激活序列(CpG-S)外, CpG 中和序列(CpG-N)亦影响 DNA 疫苗的作用,因为 CpG-N 能拮抗 CpG-S 与免疫激活作用。如 Krieg 等通过点突变去除 DNA 疫苗上的 27 个 CpG-N,或使其转变为 CpG-S,所得的新疫苗具更强的免疫效能。

为更好地利用 ISS 的 DNA 疫苗佐剂效能,最好将 ISS 克隆于疫苗的质粒内架上,因为 Weeratna 等 1998 年发现 DNA 疫苗与 CpG ODNs 混合后给药,将使抗原的体内表达水平降低,其机制可能与 CpG-ODN 与 DNA 疫苗竞争结合在靶细胞上的结合位点,从而降低了 DNA 疫苗的转染效率有关。但他们进一步发现将 CpG-ODNs 与 DNA 分开注射(不同时间和部位)亦不能增强 DNA 疫苗的免疫效能^[20]。这方面的研究报道并不一致,如 Kinman 及 Davis 等发现使用 DNA 疫苗的亚适剂量则能观察到 CpG-ODN 的佐剂作用^[8,9]。

第六、ISS 的佐剂作用具有种属特异性

ISS 具有一定程度的种属特异性,如有些对小鼠作用最强的 CpG 序列在人体则很弱。一般来说小鼠对更广泛范围的不同 CpG 序列具有应答,而人类对序列的要求更严格,而且一些 CpG-ODN 对人和黑猩猩的作用亦有区别,因此,我们不能从小鼠的体内实验结果推测其在人体的作用,甚至不能从黑猩猩推测到人^[21]。

2 ISS 在肿瘤免疫治疗中的应用

早在 19 世纪,人们已注意到细菌感染能抑制某些肿瘤生长。至 1980s,细菌的抗肿瘤作用被认为与内毒诱生的多种细胞因子有关,随即进行了多种重组细胞因子抗肿瘤的临床评价。虽然一些细胞因子在临床试验中显示明确的抗肿瘤作用,但距当时人们的期望相去甚远。随着对机体免疫应答机制研究的不断深入,现已认识到免疫应答的产生需要各种不同的细胞因子及免疫细胞在局部及整个系统内的协调和整合。因此继希望于单一的细胞因子产生显著的抗癌效果显然是幼稚的。ISS DNA 作为感染的危险信号,可诱生多种具抗肿作用的细胞因子(IL-

12、TNF、IFN- γ), 对多种在抗癌免疫中具有重要作用的免疫细胞如 NK、M ϕ 、B 细胞具有直接的激活作用。ISS-DNA 对机体免疫系统的一系列影响, 提示其有可能增强机体的抗肿瘤免疫应答水平, 因而吸引了众多研究者探讨其在肿瘤免疫治疗中的作用。

Carpentier AF 等(1999 年)以接种神经纤维细胞瘤的 A/J 小鼠为模型, 试验瘤旁注射 CpG-ODN 的抗癌效果, 发现日注射 10 μ g CpG-ODN 15 天, 可产生显著的抑肿效果, 与对照组相比, 给药组瘤体体积下降 88%, 半数动物体内 5 mm 直径的实体瘤被完全清除, 而且 CpG-ODN 治疗过的小鼠能抗御癌细胞的再次接种^[22]。以颅内接种 CNS-1 胶质细胞的 lewis 大鼠为模型, Carpentier 等(2000 年)发现接种肿瘤 5 天后于瘤旁组织单次注射 CpG-ODN, 使动物生存期明显延长, 88% 治疗动物生存超过 90 天, 而对照组所有动物于 23 天内死亡。CpG-ODN 使瘤组织内 M ϕ 、CD8⁺ 和 NK 细胞浸润显著增加, 而在裸鼠体内 CpG-ODN 无效, 表明 CpG-ODN 无直接细胞毒作用, 其抗癌效果由其免疫激活作用介导^[23]。上述研究表明 CpG-ODN 单独使用即有显著抗肿作用。

抗癌单克隆抗体(mAb)具有一定的抗癌效果, 据信由 NK、M ϕ 、单个核细胞介导的抗体依赖的细胞毒作用(ADCC)是其主要作用机制, 因此能增强 NK 活性的一些细胞因子可通过增加 ADCC 而提高 mAb 的疗效。目前以 IL-2 增强 mAb 抗肿瘤作用的治疗方案正在进行临床评价。由于 CpG-ODN 具有极强的激活 NK、M ϕ 和单个核细胞的作用, 因此 CpG-ODN 应能提高 mAb 的抗肿瘤疗效, 动物实验已证明 CpG-ODN 能显著增强抗癌 mAb 的疗效, 而且单剂 CpG-ODN 即可显示比多剂 IL-2 更强的增强效果^[24]。目前国外正在计划进行临床研究以评价 CpG-ODN 增强 mAb 疗效的治疗方案。

鉴定分离肿瘤相关抗原并制成治疗型肿瘤疫苗是肿瘤免疫治疗的另一重要领域, 但蛋白疫苗难以诱导足够强的免疫应答尤其是 CTL 应答, 因而寻找高效安全的疫苗佐剂是关键之一。目前普通商业化使用的铝盐仅增强体液免疫应答, 对 CTL 应答反而抑制^[25], 因此不适用于肿瘤疫苗。正在进行临床前及临床研究的 Th-1 型佐剂包括 Threonylmuramyl 二肽、多种减毒或灭活的细菌或其组分、BCG 以及 Quilaja Saponaria 21 等。这些佐剂具有一定效果, 但均有明显毒性(包括系统毒性及局部炎症)。CpG-ODN 是一种高效的 Th-1 型佐剂, Weiner 等以 38C13 小鼠淋巴瘤抗原比较了 CpG-ODN 与传统的 Th-1 型佐剂

CFA 的效果, 发现 CFA 组 IgG2a/IgG1 比为 0.3, 而 CpG-ODN 组可达 0.95, 接种疫苗后以 B 细胞瘤攻击, 未治疗对照组 35 天全部死亡, CFA 组存活 20%, CpG-ODN 组 40% 存活, 而且 CpG-ODN 的毒性远低于 CFA, 说明 CpG-ODN 的佐剂作用与 CFA 相当, 甚至强于 CFA, 而毒性较低^[3]。Davila E 等亦发现多次注射 CpG-ODN 可使多种多肽 T 细胞表位疫苗诱导的 CTL 应答增强 10~100 倍, 并产生显著的抗癌效果(生存期延长, 肿瘤减小)^[26]。Liu 等观察到 CpG-ODN 与 GM-CSF 有协同的佐剂作用, 尤其当 CpG-ODN 多次注射时效果更佳。Lim 等发现用 CpG-ODN 与肿瘤抗原/GM-CSF 融和蛋白于接种肿瘤 3 天前单次免疫接种能阻止肿瘤生长, 而其他方法无效^[27]。综上可见, 多种实验系统均证明 CpG-ODN 为一种高效、低毒的新型肿瘤佐剂, 当然其对人体的作用尚需进一步的临床试验评价。

免疫细胞过继疗法是肿瘤免疫治疗的另一领域, 风靡一时的 LAK 细胞和 TIL 细胞由于缺乏特异性和不能有效向肿瘤组织迁移等问题而风光不再。近年来, 研究者的目光转向 DC, 因其在诱导细胞免疫应答方面具有独特的重要作用, 研究表明以肿瘤抗原体外冲击(pulsed)的 DC 能在体内产生保护效果, 由于 CpG-ODN 具有极强的 DC 激活作用, ISS-DNA 在肿瘤的细胞免疫治疗方面亦会有所做为, 但目前尚缺乏这方面的实验及临床研究资料。

综上所述, ISS-DNA 不仅单独使用即有显著的抗癌作用, 而且在肿瘤的单抗治疗、肿瘤疫苗免疫和过继免疫疗法等方面均可具有乐观的应用前景。

3 ISS-DNA 对造血前体细胞的影响

机体遭受病原体的侵袭时一般可迅速通过激活非特异免疫系统的 M ϕ 、DC 等细胞分泌各种细胞因子, 上调其激活分子等增强 APC 的抗原呈递功能, 进而启动并指导特异性免疫系统产生保护性免疫应答。另一方面, 机体的造血系统亦被动员, 产生更多的免疫细胞, 提供更长期的第二线的防御。病原微生物刺激的造血动员据信主要由于其各种组分如 LPS、胞壁肽等刺激产生的细胞因子如 CSFs、TNF、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12 等介导, 因为这些细胞因子均具有极强的影响造血功能的活性。

人们早已注意到注射某些 ODN 能引起小鼠非常显著的脾肿大^[28]。Sparwasser 等 1999 年研究发现注射 CpG-ODN 6 天后小鼠脾脏增大至原来的 6 倍, 12~14 天后渐渐恢复正常。组织学分析表明, 脾肿

大伴随着脾脏结构的变化,髓内未成熟细胞增多。除 B 细胞增殖外,非 B/非 T 细胞亦有十倍以上的扩增。克隆形成单位检测发现:随脾细胞数增加,粒系-巨噬细胞克隆形成单位(GM-CFU_s)增多,说明脾脏内髓系前体细胞增多,同时能明确检测到骨髓内 GM-CFS 的增多,表明骨髓的造血前体细胞被动员至脾脏。单剂 CpG-ODN(60 μ g)即可产生比 LPS 更强的造血刺激,而且转输 CpG-ODN 处理鼠的脾细胞到致死剂量射线照射的小鼠体内可产生保护作用^[29]。上述研究表明,CpG-ODN 具有刺激骨髓外造血的功能。

ISS-DNA 造血刺激作用的机制尚不清楚,ISS-DNA 诱生的 TNF、IL-1、IL-6 等多种细胞因子显然与此有关,但不能排除 CpG-DNA 直接作用于骨髓基质细胞,通过其产生造血活性生长因子、细胞因子和趋化因子起作用。因此,可以认为 ISS-DNA 具有双重功能,一方面迅速激活 M ϕ 、DC 等非特异性免疫细胞,进而启动并促进特异性免疫应答;另一方面通过造血动员,改变免疫细胞的组成为机体提供更长期的保护^[30]。

4 ISS-DNA 对免疫抑制的保护作用

促进造血前体细胞增殖和分化对各种免疫抑制病症具有重要的治疗意义。CpG-ODN 具有比 LPS 更强的刺激造血的活性,提示其在这方面具有应用潜力。研究发现,CpG-ODN 能减轻辐射引起的造血损伤^[29],亚致死剂量照射的小鼠于辐射后 30min 内单剂注射 CpG-ODN,可使 2 周后脾脏的 GM-CFU_s 增加 4 倍,并显著增强其对卵白蛋白特异的 CTL 应答。与此相一致,小鼠于照射后 14 天感染李斯特菌,以 CpG-ODN 治疗可以提供致死剂量病原体的攻击。上述研究表明:单次注射 CpG-ODN 即能对亚致死剂量辐射造成的免疫损伤提供足够的保护,提示 CpG-ODN 对肿瘤放疗、化疗及其他造血功能异常导致的免疫抑制具有潜在的应用价值。

5 ISS-DNA 在哮喘治疗与预防中的应用基础研究

Th₂ 型细胞因子 IL-4、IL-5 等可诱导 IgE 分泌,刺激嗜酸性细胞的增殖和活化,进而通过分泌多种促炎介质引起呼吸道炎症,引起支气管的高反应性和支气管痉挛。因此目前对哮喘治疗的重点已从抗呼吸道痉挛转向抗炎治疗。但现有的抗炎药物缺乏特异性,疗效并不可靠。ISS-DNA 是极强的 Th₁ 型免疫应答增强剂,因而对 Th₂ 型免疫应答有抑制作

用。研究表明:ISS-DNA 不仅能防治 Th₂ 型免疫应答的启动,而且能使正在发展的 Th₂ 型免疫应答转向 Th₁ 型。这种 Th₁ 转向作用提示 ISS-DNA 可能在哮喘的预防及治疗中均有应用潜力。以多种哮喘的动物模型实验发现 ISS-DNA 几乎能完全阻止过敏原引起的呼吸道嗜酸性粒细胞增多,降低支气管反应性,抑制肺部及全身的 Th₂ 型免疫应答(降低过敏原诱生的 IL-4 水平或 IgE 合成)。在某些实验中,CpG-ODN 几乎完全阻止过敏原引起的嗜酸性粒细胞增多,并使吸收道反应性降到基础水平。对已经致敏的动物,CpG-ODN 依然显示抗哮喘作用(3f-34)。更有意义的是,CpG-ODN 提供的保护作用能持续相当长的时间,如 Kline 等的研究发现单剂 CpG-ODN 与致敏原同时注射后,不仅可提供迅速的抗哮喘作用,而且对长至 4 周后的过敏原重复刺激具有保护作用^[35]。上述研究提示,CpG-ODN 有可能发展为防治哮喘的新一代理想药物。

在现代社会尤其是西方发达国家,哮喘发病率呈明显增高趋势,流行病学调查发现这与卫生条件改善后幼儿感染机会大减,尤其是增强 Th₁ 应答的细胞内病原体感染机率大为减少有关。目前幼儿普遍接受的疫苗中绝大多数为诱发 Th₂ 型免疫应答,这亦可能为机体 Th₁/Th₂ 平衡的紊乱起到推波助澜的作用,从这个意义上说,ISS-DNA 治疗更具合理性。

6 ISS-DNA 的抗感染作用

ISS-DNA 的 Th₁ 型应答增强作用使其具有很强的抗感染尤其是抗细胞内病原体感染的作用。利什曼原虫为细胞内感染病原体,在 Balb/c 小鼠体内诱导 Th₂ 型免疫应答,故不能被有效清除而引起致死性感染。而以 CpG-ODN 治疗的小鼠能抵御致死剂量病原体的攻击,而且保护作用可持续 20 天^[36]。CpG-ODN 对土拉伦丝杆菌、利斯特单胞菌等其他细胞内感染的病原体侵袭亦能提供同样迅速而持久的保护作用。ISS-DNA 的抗感染作用可能与在诱生的 IL-12、IFN- γ 等细胞因子有关^[37]。

最近的一项研究表明,CpG-ODN 对多种微生物引起的脓毒症提供有效的保护,而且发现 CpG-ODN 治疗的小鼠在感染最初部位中性粒细胞的聚集明显增多,细胞的吞噬受体上调,吞噬功能增强,活性氧代谢增加,提示 ISS 可通过激活先天性免疫系统的效应细胞提供对脓毒症相关疾病的治疗作用^[38]。

7 结束语

从 20 世纪 40 年代确证遗传物质是 DNA 以来, DNA 分子中的蛋白质编码序列——基因以及控制基因表达的调控序列一直是 DNA 研究的主要内容。近十年来对 DNA 免疫活性的研究使我们认识到 DNA 除具有编码蛋白序列及调控基因表达的基因功能之外, 尚能作为信号分子产生对机体重要生理功能的调控作用。从而使我们对 DNA 的生物学功能的认识前进了一步。DNA 分子中的特定序列——ISS 可通过对 B 细胞、M ϕ DC、NK 细胞、T 细胞及造血前体细胞的直接和间接作用产生对机体免疫系统的广泛影响。对 ISS-DNA 的应用基础研究已较充分地揭示出其在免疫佐剂、抗肿瘤、抗感染、促进造血、治疗免疫缺陷以及防治哮喘等方面的应用前景。对 ISS 免疫激活作用机制的进一步研究必将使我们对 ISS-DNA 的生物学活性有更深入和全面的了解, 从而为 ISS-DNA 的临床应用奠定更扎实的基础。

参考文献

- [1] Davis HL. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000, 247: 170– 182.
- [2] Chu RS, Targoni OS, Krieg AM, et al. *J Exp Med* 1997, 186: 1623 – 1631.
- [3] Weiner GJ, Liu HM, Wooldridge JE, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94: 10833– 10837.
- [4] Kovarik J, Bozzotti P, Love-Homan L, et al. *J Immunol* 1999.
- [5] Moldoveanu Z, Love-Homan L, Huang WQ, et al. *Vaccine* 1998, 16: 1216– 1224.
- [6] Davis HL, Weeratna R, Waldschmidt TJ, et al. *J Immunol* 1998, 160: 870– 876.
- [7] Lipford GB, Bayer M, Blank C, et al. *Eur J Immunol* 1997, 27: 2340– 2344.
- [8] Roman M, Martinorzeo E, Goodman S, et al. *Nature Med* 1997, 3: 849– 854.
- [9] Sun S, Kishimoto H, Sprent J. *J Exp Med* 1998, 187: 1145– 1150.
- [10] Liu SJ, Sher YP, Ting CC, et al. *Blood* 1998, 92: 2103– 2112.
- [11] Tighe H, Takabayashi K, Schwartz D, et al. *Eur J Immunol* 2000, 30: 1939– 1947.
- [12] Brazolot Millan CL, Weeratna R, Krieg AM, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998.
- [13] Spangler BD. *Microbiological Rev* 1992, 56: 622– 647.
- [14] McCluskie MJ, Davis HL. *J Immunol* 1998, 161: 4463– 4466.
- [15] Jetborn M, Svennerholm AM, Holmgren J. *Vaccine* 1992, 10: 130 – 132.
- [16] Klinman DM, Ishii KJ, Verthelyi D. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000, 247: 131– 142.
- [17] Sato Y, Roman M, Tighe H, et al. *Science* 1996, 173: 352– 354.
- [18] Klinman DM, Yamshchikov G, Ishigatsubo Y. *J Immunol* 1997, 158: 3635– 3639.
- [19] Krieg AM, Wu T, Weeratna R, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95(21): 12631– 12636.
- [20] Weeratna R, CL Bm, Krieg AM, et al. *Antisense Nucleic Acid Drug Devel* 1998, 8: 351– 356.
- [21] Hamann G, Weeratna RD, Ballas ZK, et al. *J Immunol* 2000, 164 (3): 1617– 1624.
- [22] Carpentier AF, Chen L, Maltonti F, et al. *Cancer Res* 1999, 59(21): 5429– 5432.
- [23] Carpentier AF, Xie J, Mokhtari K, et al. *Clin Cancer Res* 2000, (696): 2469– 2473.
- [24] Wooldridge JE, Ballas Z, Krieg AM, et al. *Blood* 1997, 89: 2994 – 2998.
- [25] Schimbeck R, Melber K, Kuhrober A, et al. *J Immunol* 1994, 152: 1110– 1119.
- [26] Davila E, Celis E. *J Immunol* 2000, 165(!): 539– 547.
- [27] Liu HM, Newbrough SE, Bhatia SK, et al. *Blood* 1998, 92: 3730– 3736.
- [28] Branda RF, Moore AL, Mathews L, et al. *Biochem Pharmacol* 1993, 45: 2037– 2043.
- [29] Sparwasser T, Hultner L, Koch ES, et al. *J Immunol* 1999, 162: 2368– 2374.
- [30] Lipford GB, Sparwasser T, et al. 2000, 247: 119– 129.
- [31] Broide D, Schwarze J, Tighe H, et al. *J Immunol* 1998, 161(12): 7054– 7062.
- [32] Kline JN, Waldschmidt TJ, Businga TR, et al. *J Immunol* 1998, 160: 2555– 2559.
- [33] Broide D, Raz E. *Int Arch Allergy Immunol* 1999, 118(2– 4): 453 – 456.
- [34] Sur S, Wild JS, Choudhury BK, et al. *J Immunol* 1999, 162: 6284 – 6293.
- [35] Kline JN. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000, 247: 210– 225.
- [36] Egeter O, Hausmann S, Lipford GB, et al. *J Immunol* 1998, 160: 3627– 3630.
- [37] Elkins KL, Rhinehart– Jones TR, Stibitz S, et al. *J Immunol* 1999, 162: 2291– 2298.
- [38] Weighardt H, Feterowski C, Veit M, et al. *J Immunol* 2000, 165 (8): 4537– 4543.

Immunostimulatory Effects of DNA II. Application

Hu Zhenlin Sun Shuhan

(Department of Medical Genetics, The Second Military Medical University, Shanghai 200433)

Abstract The development on the investigation of the pharmacological applications of ISS-DNA were reviewed. ISS-DNA show promise as Th1-promoting adjuvants and immunotherapeutic agents in treatment of cancers, infection, hematopoietic damage, immunosuppression, and asthma.

Key words Immunostimulatory Sequence, DNA, Immunity

“新一代生物技术药物: 单克隆抗体、疫苗类药物”国际论坛

从 1982 年第一个基因工程药物重组人胰岛素问世以来, 新的生物技术药物相继被开发和投入市场。自 80 年代末, 利用基因工程手段构建嵌合抗体或人源化抗体为发展治疗性单抗药物带来突破。90 年代中, 美国 Genetech、IDEC、Ortho Biotech、Centocor 公司、德国 Roche 公司的多个治疗性单抗药物获批准后仅两三年便创下几十亿美金的销售额, 且每年增长近 50%, 预计到 2003 年可达 500 亿美元, 100 种以上的单抗正在进行临床实验, 占整个生物药品数量的一半。显而易见, 单抗药物已代替重组蛋白药物, 成为生物技术药品的主导产品。另一方面, 基因工程技术也为开发新一代疫苗类药物带来突破。葛兰素史克的多个重组蛋白疫苗、联合疫苗、多家制药公司针对艾滋病的核酸疫苗也已被批准上市或进入后期临床。“9·11”事件后, 各国政府更投入了庞大的资金购买及开发新疫苗作为国防储备。在我国, 生物技术已列入“十五”计划发展重点, 全国各地也开始筹建单抗药物研究及产业化平台。

为交流国内外在基因工程抗体及疫苗方面的新技术, 提高我国在这一领域的整体技术水平, 促进研究成果产业化, 我们特邀美洲、欧洲、东南亚及国内具有领先水平的单抗与疫苗药物生产商、科研单位的有关专家、学术带头人、药审官员与 2002 年 9 月在北京举办以“新一代生物技术药物: 单克隆抗体、疫苗类药物”为主题的国际论坛, 以使更多同行了解这一领域的前沿工作并进行深入的探讨与交流。此次会议的有关事项通知如下:

会议内容:

1. 新一代单克隆抗体、疫苗类药物的国际、国内市场状况、最新进展与前景展望;
2. 新一代单克隆抗体、疫苗类药物生产的新工艺和新技术: 包括上游表达技术、细胞培养技术、抗体嵌合技术、抗体人源化技术、下游纯化技术、单抗及疫苗类药物新的制剂方法等。
3. 新一代单克隆抗体、疫苗类药物的产业化配套技术, 检测手段, 病毒、朊病毒灭活, 工艺认证等。
4. 与单克隆抗体检测试剂有关的新技术: 如抗体的筛选、试纸的制造等。
5. 与病毒疫苗、重组蛋白疫苗、核酸疫苗、毒素疫苗(Toxiod)有关的最新研究与发展。

参会单位如有有关抗体、疫苗的项目希望转让或寻求合作、投资, 会议可安排项目发布活动, 为与会代表寻求产业化合作伙伴。

为加强此领域的学术交流, 会议还将进行征文活动, 与会代表可就上述主题撰写有关学术论文摘要(每篇文摘不超过 1500 字, 尽量不要使用图表), 会议将从中选择安排大会发言。

会议由安玛西亚中国有限公司协办, 安玛西亚中国有限公司的每个 Ä KTA 会籍可获得一个免费名额(按 Ä KTA 仪器序号, 每个序号可获一位免费名额)。

会议日期: 2002 年 9 月下旬, 地点: 北京。

正式会议通知请向本刊编辑部索取。