

人 FGF-1 对免疫系统的影响*

刘华伟^{1,2} 李校¹ 赵勇^{2*}

(1 暨南大学医药研发中心 广州 510632

2 中国科学院动物所生物膜与膜生物工程国家重点实验室移植生物学研究组 北京 100080)

摘要 酸性成纤维细胞生长因子(acid fibroblast growth factor, aFGF 或 FGF-1)是成纤维细胞生长因子家族成员之一,是一种重要的生长因子。人 FGF-1(FGF-1)是一个 17~18kDa 的非糖基化多肽,三胚层来源的细胞都可以表达。FGF-1 的生物学效应非常广泛,在组织和器官发育、血管发生、血细胞生成、肿瘤发生、伤口愈合等方面发挥重要的作用。FGF-1 对人体的免疫系统也有重要的影响,能提高多种刺激诱导的 T 细胞增殖、凋亡及细胞因子的产生。主要概述了 FGF-1 的生物学效应、对免疫系统的影响及其潜在的临床应用价值。

关键词 酸性成纤维细胞生长因子 免疫系统 T 细胞 免疫应答

1 FGF-1 简介

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)是由 Hoftman 等首先在牛脑和垂体的提取物中发现的一种能够促进成纤维细胞生长的物质,为一多基因家族。至今,FGF 超家族共有 23 个成员,每一个成员都包含一个保守的 120 个氨基酸核心区,其中包括 6 个同样的散布氨基酸序列^[1,2]。一般来讲,天然的 FGF 分子量大小从 7kDa(FGF-1)到 38kDa(FGF-5)不等^[3],氨基酸长度也从 60 个氨基酸(FGF-1 的一种可变剪接)到 288 个氨基酸(FGF-2)不等。已知能分泌 FGF-1 的有肠嗜铬细胞、肾近端小管细胞、平滑肌细胞、神经细胞、肝细胞、骨骼肌细胞、内皮细胞和巨噬细胞,以及角质细胞和成纤维细胞。这些氨基酸一般由 3 个外显子编码,所有编码区都是以 AUG(甲硫氨酸)为起始密码子。各成员具有一定的序列同源性和结构相似性,在不同种属间具有高度的保守性,均对肝素具有高度的亲和性,能够诱导成纤维细胞的增殖、内皮细胞、软骨细胞、平滑肌细胞以及黑色素细胞等细胞的增殖^[4],促进脂肪细胞的分化,诱导巨噬细胞和成纤

维细胞产生白细胞介素 6(IL-6),刺激星型胶质细胞的迁移,以及具有延长神经细胞的存活时间等生物学功能。

人 FGF-1(hFGF-1)是一个 17~18kDa 的非糖基化多肽,三胚层来源的细胞都可以表达,等电点呈酸性(PI: 5~6),hFGF-1 由 157 个氨基酸组成。FGF-1 没有信号肽,因此不能通过经典途径分泌,可能通过自分泌或者旁分泌或其他途径分泌。

2 FGF 在免疫系统中的作用

2.1 FGF 受体在 T 细胞中的表达

滴度分析实验结果表明,人的外周血中有 FGF 反应性 T 细胞的存在。这种细胞的平均频率为 1:19780(95%的置信区间:1:15100~1:23000)这种反应性 T 细胞的比例在心脏移植受者外周血中明显升高,出现的平均频率是 1:4210(95%的置信区间:1:3420~1:6781)同时心脏移植病人体内 FGF-1 的产生水平明显升高。近来实验表明,CD4⁺ T 细胞的一个亚群表达 FGFR-1 受体^[5],FGFR-1 是在许多细胞中介导 FGF-1 信号的高亲和力和酪氨酸激酶受体,对于表达 FGFR-1 的 CD4⁺ T 细胞,FGF-1 能够提供一 个共刺激信号联合 anti-CD3 共同诱导 IL-2 的产生^[6]。

2.2 FGF-1 对免疫细胞增殖与凋亡的影响

T 细胞的活化首先是通过其 TCR/CD3 复合物和 APC 上 MHC 抗原肽结合而启动的,同时 T 细胞

收稿日期:2004-05-19 修回日期:2004-08-27

国家重大基础研究规划(973)资助项目(G1999054204),国家 863 计划资助项目(2001AA215030),国家自然科学基金面上与重点资助项目(30170966,30230370)

** 通讯作者,电子邮箱:zhaoy@panda.izs.ac.cn

的活化还需要 T 细胞表面其他信号分子(如 CD4、MHG-I、MHG-II、粘附分子、CD28 等)的辅助作用,即共刺激作用,如果没有辅助作用会导致免疫缺乏或细胞死亡。实验研究发现, FGF-1 单独不能诱导 T 细胞增殖,但明显增强外源刺激因子(如 anti-CD3、PHA、Con A 等)刺激 T 细胞增殖的能力,二者具有协同作用^[6]。

多细胞生物至少在细胞水平每天都需要面对死亡。细胞在分化和选择过程中,细胞通常通过凋亡的机制死亡。所谓凋亡,即由细胞内在机制调控的死亡过程。是细胞在生物体发育中,在一定诱导条件下接受指令而发生的程序化事件,是由基因控制的有序生理过程,细胞内各组分在这一过程中相互协调,组成了精细的调控系统,是导致最终自我消亡的生命活动。

细胞凋亡在多细胞动物的发育、形态建成与维持中扮演至关重要的角色,与细胞增殖、分化和衰老起着互补与平衡的作用。几乎所有的哺乳动物细胞都存在凋亡的一整套因子并可被多种胞内外信号所激活。在一般的生物发育中,细胞凋亡的意义不仅在于形态建成,也有利于形成完善的功能,例如免疫系统和中枢神经系统。因此细胞凋亡的缺陷会导致异常发育。细胞凋亡与细胞增殖的紧密耦联保证了很多组织能够得到稳定、有控制的新生细胞的供给,而这对成体器官的保持和功能的最好发挥是很重要的。FGF-1 不但能够诱导淋巴细胞的增殖,而且付小兵教授等的研究结果表明, FGF-1 能明显地抑制由地塞米松(dexamethasone, DEX)诱导的 Balb/c 小鼠胸腺细胞的凋亡,以上这些都提示 FGF-1 在 T 细胞分化中可能具有重要作用。

2.3 FGF-1 对细胞因子产生的影响

CD28 和 APC 上的配体结合被认为是共刺激诱导 T 细胞活化的重要途径^[7,8], CD28 在同种异体移植免疫排斥、自身免疫、肿瘤免疫中起着重要的作用。CD28 活化的信号机制是由酪氨酸激酶依赖的反应启动的,从而使 IL-2 产生的水平升高^[9,10]。而 FGF 的生物活性就是通过受体酪氨酸激酶催化的酪氨酸磷酸化作用启动的。许多信号传导事件和 T 细胞活化与肝素亲和的 FGF 有关,如胞内底物酪氨酸磷酸化作用、磷脂酶 C 和磷酸肌醇 3-激酶的磷酸化作用^[11]。

Johnson 等报道了 T 细胞与非造血生长因子

(包括 FGF) 之间的直接关系^[12]。实验结果表明, FGF-1 可以明显增强超抗原等刺激因素(如抗 CD3 单克隆抗体)诱导 CD8⁺ T 细胞产生 IFN- γ ,而单独用 FGF-1 刺激则不能产生 IFN- γ 。Victor 等也报道了 FGF-1 能明显增强 T 细胞产生 IL-2 的水平。这些数据表明, FGF-1 可能为 T 细胞产生细胞因子提供了一个共刺激信号。

近来试验表明, CD4⁺ T 细胞的一个亚群表达 FGFR-1 受体^[13,14], FGFR-1 是在许多细胞中介导 FGF-1 信号的高亲和力酪氨酸激酶受体,对于表达 FGFR-1 的 CD4⁺ T 细胞, FGF-1 能够提供一个共刺激信号联合 anti-CD3 共同诱导 IL-2 的产生。

3 FGF-1 与各种免疫疾病的关系

FGF-1 和 FGF-2 是 FGF 家族的原型,是肝素结合生长因子,能够刺激来源于内、中、外胚层细胞的增殖、迁移和分化^[4,15]。其在胚胎发育期间广泛表达,在成人组织损伤部位也有广泛表达。

在许多慢性免疫损伤部位(如风湿性关节炎的滑膜部位、人心脏移植后的心肌炎发生部位、肾移植后的慢性排斥部位等) FGF-1 的表达均明显升高^[16-18]。自身免疫性疾病(如系统性红斑狼疮等)也与 FGF-1 和 FGFR-1 的高表达有密切关系。尽管 FGF-1 在其他损伤部位表达量升高是有益的,但是在慢性免疫损伤部位表达量也明显升高,则与血管内膜增生有关。另外,这些部位也有 T 细胞浸润现象,表明人体免疫系统和 FGF-1 之间存在着某种相互关系。

4 FGF-1 的生物学效应及应用

FGF-1 是已知的 FGFs 家族成员中,惟一一个能与已知的 4 类 FGF 受体(FGFRs)具有高度亲和力的 FGF。中胚层和神经外胚层来源的各种类型的细胞表面都有 FGFRs 及其变异蛋白分布,众多学者对 FGF-1 的生物学效应进行了广泛深入的研究, FGF-1 的生物学功能及临床应用主要有以下几方面: FGF-1 与伤口附近细胞膜上的特异性受体相结合,诱导伤口附近细胞分裂、增殖、促进皮肤和粘膜创面愈合并减少疤痕收缩和皮肤的畸形增生,快速高效修复创伤。作为创伤愈合的组织修复因子,可用于烧伤、慢性溃疡、褥疮等创伤创面的治疗。

研究表明, FGF-1 直接参与新生血管的形成。 FGF-1 对血管内皮细胞有较强的趋化作用和促增

殖作用,并刺激血管内皮细胞产生胶原酶和纤维蛋白溶解酶原激活物,进一步降解基底膜,同时诱导毛细血管内皮细胞形成管腔样结构。Unger 等(1993)研究显示,FGF 1 发挥促微血管生成作用需有组织缺氧的因素存在。当心肌缺氧时,血管内皮细胞膜上的 FGF-1 受体上调,使 FGF-1 的促血管增殖作用明显增强,而 FGF-1 对非缺血的心肌组织则无促血管生成作用。FGF-1 作为血管形成和再生因子,将来可用于慢性心肌缺血(冠心病)、急慢性心肌梗塞、内脏缺血性损伤、脑中风等疾病。

采用免疫组化方法测出 FGF-1 主要分布于某些神经元,如运动神经元、感觉神经元、基底前脑副交感神经元和黑质神经元的胞体、轴突与树突中。在神经组织中含有丰富的肝素硫酸蛋白多糖,这些组织特异的蛋白多糖在介导 FGF-1 的释放、活化和调节 FGF-1 与受体的结合及生物学活性中有重要作用^[19,20]。实验表明,许多神经元受慢性神经退变性疾病的影响,如肌萎缩性脊髓侧索硬化(ALS)影响运动神经元,帕金森疾病影响黑质中的神经元,早老性痴呆影响基底前脑副交感神经元。这些神经元中都有大量的 FGF-1 分布,FGF-1 可作为自分泌神经营养因子,感受细胞质膜哪怕是瞬间的渗漏,并立即启动修复,促进神经细胞的迁移和纤溶酶活剂的释放,增加髓磷脂相关蛋白和类脂的含量,改变神经细胞的膜结构,使神经元免受神经退变性疾病的影响^[21]。

FGF 1 明显延长培养液中多种中枢和外周神经元的存活,使神经元成活时间增加及其轴突延长。Koshinaga 等(1993)研究了脊髓损伤后 FGF-1 的表达情况后,发现前角运动神经元的 FGF-1 含量增加,表明机体自身产生大量 FGF-1,在脊髓损伤的自我修复和再生中起作用,这是机体的一种自我保护机制。

FGF 1 作为神经生长和营养因子,将来在临床上可用于中枢及外周神经损伤、缺血性脑梗、脑外伤及中风后遗症、脊髓外伤术后等的治疗。在神经性疾病如帕金森氏症,阿尔茨海默症等疾病的治疗中会有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Fernig D G, Chen H L, Rahmouni H, et al. Differential regulation of FGF-1 and -2 mitogenic activity is related to their kinetics of binding to heparan sulfate in MDA-MB 231 human breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 267 (3): 770~ 776

- [2] Kirikoshi H, Sagara N, Saitoh T, et al. Molecular cloning and characterization of human FGF-20 on chromosome 8p21. 3~ p22. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 274 (2): 337~ 343
- [3] Yu Y L, Kha H, Golden J A, et al. An acidic fibroblast growth factor protein generated by alternate splicing acts like an antagonist. *J Exp Med*, 1992, 175 (4): 1073~ 1780
- [4] Burgess W H, Friesel R, Winkles J A. Structure-function studies of FGF-1: dissociation and partial reconstitution of certain of its biological activities. *Mol Reprod Dev*, 1994, 39 (1): 56~ 60
- [5] Byrd V M, Zhao X M, Miller G G, et al. Detection of T cells responsive to a vascular growth factor in rheumatoid arthritis. *Immunol Res*, 1994, 13 (2~ 3): 139~ 144
- [6] Zhao X M, Byrd V M, McKeehan W L, et al. Costimulation of human CD4⁺ T cells by fibroblast growth factor 1 (acidic fibroblast growth factor). *J Immunol*, 1995, 155 (8): 3904~ 3911
- [7] Azuma M, Ito D, Yagita H, et al. B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. *Nature*, 1993, 366 (6450): 76~ 79
- [8] Freeman G J, Gribben J G, Boussiotis V A, et al. Cloning of B7-2: a CTLA-4 counter receptor that costimulates human T cell proliferation. *Science*, 1993, 262 (5135): 909~ 911
- [9] Vandenberghe P, Freeman G J, Nadler L M, et al. Antibody and B7/BBI-mediated ligation of the CD28 receptor induces tyrosine phosphorylation in human T cells. *J Exp Med*, 1992, 175 (4): 951~ 960
- [10] Lu Y, Granelli Piperno A, Bjorn Dahl J M, et al. CD28 induced T cell activation. Evidence for a protein tyrosine kinase signal transduction pathway. *J Immunol*, 1992, 149 (1): 24~ 29
- [11] Jaye M, Schlessinger J, Dionne C A. Fibroblast growth factor receptor tyrosine kinases: molecular analysis and signal transduction. *Biochim Biophys Acta*, 1992, 1135 (2): 185~ 199
- [12] Johnson H M, Torres B A. Peptide growth factors PDGF, EGF, and FGF regulate interferon gamma production. *J Immunol*, 1985, 134 (5): 2824~ 2826
- [13] Zhao X M, Yeoh T K, Hiebert M, et al. The expression of acidic fibroblast growth factor (heparin binding growth factor 1) and cytokine genes in human cardiac allografts and T cells. *Transplantation*, 1993, 56(5): 1177~ 1182
- [14] Johnson H, Mossberg K, Arvidsson U, et al. Increase in alpha CGRP and GAP-43 in aged motoneurons: a study of peptides, growth factors, and ChAT mRNA in the lumbar spinal cord of senescent rats with symptoms of hindlimb incapacities. *J Comp Neurol*, 1995, 359(1): 69~ 89
- [15] Gospodarowicz D, Neufeld G, Schweigerer L. Fibroblast growth factor: structural and biological properties. *J Cell Physiol*, 1987, Suppl 5: 15~ 26
- [16] Sano H, Engleka K, Mathern P, et al. Coexpression of phosphotyrosine containing proteins, platelet derived growth factor B, and fibroblast growth factor 1 in situ in synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis and Lewis rats with adjuvant or streptococcal cell wall arthritis. *J Clin Invest*, 1993, 91 (2): 553~ 565
- [17] Zhao X M, Frist W H, Yeoh T K, et al. Modification of alternative messenger RNA splicing of fibroblast growth factor receptors in human cardiac allografts during rejection. *J Clin Invest*, 1994, 94 (3): 992~ 1003
- [18] Miller G G, Davis S F, Atkinson J B, et al. Longitudinal analysis of fibroblast growth factor expression after transplantation and association with severity of cardiac allograft vasculopathy.

Circulation, 1999, 100 (24) : 2396~ 2399

- [19] Hossain M A, Russell J C, Gomez R, et al. Neuroprotection by scatter factor/hepatocyte growth factor and FGF-1 in cerebellar granule neurons is phosphatidylinositol 3 kinase/akt dependent and MAPK/CREB independent. J Neurochem, 2002, 81 (2) : 365~ 378
- [20] Aletsee C, Volter C, Brors D, et al. Effect of fibroblast growth

factor 1 (FGF-1) on spiral ganglion cells of the mammalian cochlea. Hno, 2000, 48(6) : 457~ 461

- [21] Kage M, Yang Q, Sato H, et al. Acidic fibroblast growth factor (FGF-1) in the anterior horn cells of ALS and control cases. Neuroreport, 2001, 12 (17) : 3799~ 3803

The Regulating Roles of Human Acid Fibroblast Growth Factor in the Immune System

LIU Hua^{wei}^{1,2} LI Xia^{kun}¹ ZHAO Yong²

(1 Biopharmaceutical R&D center of Jinan University Guangzhou 510632, China)

(2 Transplantation Biology Research Division, State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences Beijing 100080, China)

Abstract Acid fibroblast growth factor (aFGF or FGF-1) is a 17~ 18kDa nonglycosylated polypeptide that is expressed by a variety of cells from all three germ layers. It is a member of FGFs and has extensive biological functions in organ and tissue development, angiogenesis, hematopoiesis, tumorigenesis and wound healing. FGF-1 also has an important effect in immune system. FGF-1 could significantly enhance the proliferation, apoptosis and cytokine production of T cells caused by antigen stimulation in mice and humans. The effects of human FGF-1 on immune responses, its relationship with chronic immune diseases and the potential clinical application of FGF-1 were summarized.

Key words Acid fibroblast growth factor Immune system T cell Immune response

新型清洗液——迪康(DECON90)

所有实验室都会遇到清洗的问题, 高标准的清洗是必要的。清洗工作给实验室带来了比较困难的问题和繁重的工作。随着科学技术的进步和发展, 对清洗的要求和标准也有了更高的要求。迄今为止, 中国的许多实验室一直是在延续使用铬酸盐混合洗液或类似腐蚀剂如硫酸做清洗液, 或者家用洗衣粉、家用洗涤剂清洗产品。这一过程的缺点是:

a) 酸的价格较高并且需要小心地处理、存放、使用和处置。配制酸的混合物也较危险, 对于不熟练的技术人员和学生来说在操作过程中这一高腐蚀特性的酸形成了特殊的危险性。

b) 长时间的浸泡可以去掉某些污染物, 但其他则完全不能被酸的混合物腐蚀掉。对于有特殊用途的和较昂贵的校准仪器在处理时也容易受到影响。

c) 酸的蒸气和重金属对人的健康造成危害, 也对环境造成污染。洗衣粉和洗涤剂不易被清洗掉, 需要大量的水来冲洗, 否则残留较多, 并且留有水渍。对于我们这样一个缺水的国家来说, 水是十分宝贵的, 特别是水价在不断上涨, 也需要考虑经济方面的因素。

针对上述情况, 实验室迫切需要新型的清洗液, 既能满足清洗的需要, 又可以不对人、设备和环境造成危害, 英国公司生产的迪康(DECON90) 清洗液经过多方的实验和长期使用取得了良好的效果, 并已在英国, 欧洲, 美国等地区得到广泛的认同和使用。

J. R. Bradshaw 先生是英国 British Technical College 学院的高级讲师, 做了相关的实验来比较在实验室清洗实验仪器使用两种表面活性剂和铬酸盐洗液的不同。一种进口的浓缩洗液给出了比铬酸盐洗液更好的结果, 但仍不理想, 而且也做不到免冲洗和达到无菌状态。迪康(DECON90) 清洗液在所有实验中给出了最好的表现。我们预计, 使用浓缩的迪康(DECON 90) 洗液做同样的工作比用酸洗的费用要低 25%。

结论: 使用迪康(DECON 90) 洗液可以替代酸洗。

英国迪康(DECON) 清洗液中国总代理——北京利源诚友科贸公司

北京朝阳区八里庄东里北巷北京纺织器材研究所 101 室, 邮编: 100025

电话: 010 65402756, 13501399312