

揭開抗雙股 DNA 抗體的神秘面紗

文／余家利（分子醫學研究所、內科教授）

免疫系統原本是生物體為對抗外界環境中的各種險惡因子，包括病原菌、病毒、黴菌、毒素、過敏原、以及各類污染物而設計。自海綿以上的生物便逐漸形成一個專責的組織系統分布於全身。以相當複雜的調控機制來遂行「認同自己，排除異己」的獨特專一功能。以達維持健康、保護生體的任務。免疫系統不似肝臟或腎臟一樣形成一個固定的實質器官，而是散佈在全身各個器官組織內而形成一個綿密的網路系統。因此，在功能協調及組織調控上比較容易失控。有一大群以前一直被稱為「難病」（意指困難之病或災難之病）的自體免疫疾病，自古以來便無時無刻肆虐著蒼生引起很多的不幸。而其中以「全身性紅斑狼瘡」（Systemic lupus erythematosus，以來簡稱為 SLE 或狼瘡）為本群疾病的原型及代表。

SLE 這個擁有洋洋灑灑二十六個英文字母的複雜疾病名詞，在人類醫療史上有一段相當曖昧牽扯不清的往史。在十九世紀末期本疾病是屬於皮膚病的範疇，因為當時的狼瘡患者常呈慢性癩痕性的皮疹有如「被狼咬傷的痕跡」而得名。本疾病大多發病於青春期的女性至更年期之間。而其最主要的皮膚表現是以鼻樑為中心向兩側臉頰部延伸開來的紅斑，有如蝴蝶的雙翼。患者似乎是在臉部被印記上一隻「蝴蝶」的標緻，成為本疾病最具特色的「蝴蝶斑」。但是蝴蝶斑是可逆性，會因治療而消失不留痕跡。二十世紀之後隨著醫學檢驗技術的進步及病態生理學的逐步解明，SLE 由皮膚疾病逐漸被定位為內科範疇的全身性自體免疫疾病。很不幸在 1940 年代更被劃歸為與「尿毒症」的同義字。因有約 70～75% 的患者腎臟會受侵犯，如果治療不當有惡化為「尿毒症」之虞。1950 年代為血清學與免

疫學研究的大拓荒時代。很多偉大的學者發現狼瘡患者的血清蘊藏著大量的寶藏，足資免疫病理學、細胞生物學、及分子生物學者的長期大量投資開發。在抗核抗體（一群會與哺乳動物的細胞核物質反應的自體免疫抗體）的百寶箱中，1957 年美國的三個研究中心的學者們終於挖到了一顆專屬於狼瘡患者的明珠—抗雙股 DNA 抗體（anti-double stranded DNA antibodies）。

經過五十年的精雕細琢，這一顆明珠終於綻放出閃亮的光芒。伊所呈現給臨床免疫學者的病態生理學的意義是「抗雙股 DNA 抗體僅會在全身性紅斑狼瘡的體內產生，本抗體的效價與狼瘡的疾病活動性，尤其是與狼瘡腎炎呈正相關」。這短短的一句話傳遞著本抗體在免疫病理學上的三個重要信息：（1）本抗體發生於狼瘡病的獨特性。（2）本抗體與狼瘡疾病的活動性呈正相關。（3）本抗體與狼瘡腎炎的發生有相當密切的關係。但是要直接解謎這三個重要信息，似乎在其背後會有更多的謎團湧現。有很多的免疫學者陸續提出了令人迷惑費解的難題，包括：（1）抗雙股 DNA 抗體是否具有生物學及免疫病理學的活性？（2）抗體是否會直接傷害細胞？（3）抗體是否能與細胞膜上的蛋白分子結合？（4）抗體是否能夠進入細胞內而攪亂細胞的生理活性？（5）抗體如何與狼瘡的疾病活動性呈正相關？（6）抗體為何與狼瘡腎炎有關？（7）抗體為何只發生於狼瘡病人？及（8）抗體如何產生？等一連串的問題蜂擁而來，有如上帝隱藏的秘密或是潘朵拉的盒子令免疫學者既愛又恨無法猜透。

但是生物學界的奧秘總會被勤勉的有心人所破解，這是生物學界的基本定律之一不足為奇。

1988 年筆者有幸赴希臘雅典城參加歐洲風濕病醫



學大會。在流連忘懷於古希臘時代宏偉壯觀的神殿遺跡之餘，也認真思考著這個偉大的西方文明締造民族的發跡及思維歷程。但是此次所得到的最大心靈收穫乃是在大會會場上見證了一場歐洲免疫學者辯論有關「抗雙股DNA抗體對細胞黏著」的劇烈攻防戰。緣起於法國學者Jacob氏在1980年初一連發表三篇極具爭議的論文。他大言闡釋抗雙股DNA抗體具有黏著於各種血液細胞、腫瘤細胞，及多種細胞株的膜上蛋白分子的能力。並強烈暗示著本抗體不僅會與細胞核內的雙股DNA結合，而且會藉由免疫學上所稱的「交叉反應性」機制與紅血球、白血球、血小板、纖維母細胞、肝癌細胞等細胞表面的各種不同大小的分子結合。很不幸，這位Jacob先生此次受邀在「自體免疫抗體活性」的研討會上，受到三位歐洲學者猛烈砲火的連環攻擊似乎有點招架不住。時任座長的美國NIH Alfred Steinberg教授一面猛灌礦泉水，一面穿梭會場打圓場以消一消雙方的火氣。當時時值陸月仲夏，濱臨愛琴海的希臘王國大會會場外酷熱異常，再加上場內所引爆宛如原子彈爆炸的連鎖反應，一時氣溫及氣壓高漲到令人窒息。由於雙方人馬火氣旺盛互不退讓，恍如時光倒流到兩千五百年前發生於愛琴海的「特洛伊」屠城之戰的歷史重演。除了多次多元的交戰之外，很多洋式髒話及人身攻擊的技倆也傾巢而出，但仍無休兵之跡象。交戰雙方非至屠城絕不休兵。最後座長被迫主動宣布休會以息戰火。到底雙方的爭議為何？雙方為何而戰？這真是一場精彩絕倫的「大師級論戰」。原來爭戰的焦點在於具有15萬分子量的IgG抗體，在當時的認知上是不可能進入活的細胞內。抗雙股DNA抗體顧名思義是會特異性的與雙股DNA結合，但不可能與細胞膜上DNA以外的分子結合，除非細胞膜上有莫名其妙的雙股DNA附著其上。以當時的觀點看來，三位歐洲學者的論點是對的。但以現今的觀點視之，則Jacob先生的觀察才是正確。因為自體免疫性抗體及其對應抗原至今被發現具有兩個基本的特性：（1）交叉反應性（2）細胞內的抗原，包括細胞

質內及細胞核內分子，在某些環境之下，如紫外線照射、細胞激素的刺激、進入細胞週M膜，成為自體免疫抗體的標的分子。而Jacob先生的觀察顯然觸摸到了上帝所隱藏的秘密，但也勇敢的掀開了自體免疫抗體的神秘面紗。

自1988年的“歐洲大辯論”之後，陸續有些學者撰文支持Jacob先生的新發現。我們也開始探討抗雙股DNA抗體的生物學／免疫病學的意義，並以抗雙股DNA抗體與狼瘡腎炎及疾病活動性之間之相關為兩大研究主軸。承蒙幸運之神的眷顧以及研究生、研究助理們的幫忙。1989年我們首先發表了由SLE患者血清中純化而來的抗雙股DNA抗體與正常淋巴球共同培養3～7天之後，會改變這些細胞的免疫功能，即是T淋巴球執行細胞性免疫的功能低下而B淋巴球產生抗體的功能亢進。這個結果與SLE患者的主要免疫功能異常相吻合【1】。由於本篇論文的發表使我們對於抗雙股DNA抗體具有生物學／免疫學活性的假說信心大增，因而有勇氣持續進行十年左右的研究工作。

隨後，我們以“抗雙股DNA抗體與狼瘡腎炎”之間的關係為主題進行一系列的探討。我們的主要發現是本抗體會直接傷害腎絲球間質細胞（Glomerular mesangial cells）引起細胞凋亡。當注射抗體於動物體內時，本抗體會主動地沉積在腎絲球體而引起動物的腎功能異常【2】。但是在短暫欣喜之餘仍有一個重要的難題待決，即是本抗體在淋巴細胞及腎絲球間質細胞膜上的對應抗原為何？為套解這個難結，我們採取分子生物學的基因選殖技術，由人類腎臟的互補DNA庫中以純化的抗雙股DNA抗體為探針作無數次的DNA選殖。終於天公疼憨人，我們很幸運地選殖出一段0.8kb及一段0.6kb的DNA會轉殖本抗體的對應抗原。經核甘酸系列分析發現是核小體磷酸化蛋白P0、P1及P2的基因【3】。我們也證實這些蛋白質會表現在多種細胞的表面，包括腎絲球間質細胞【4】、脾臟細胞、肝癌細胞、纖維母細胞及腦部星狀細胞……等【5】。經由交叉性反應而成為抗雙股DNA抗體的標的分

子，其結果是引起SLE患者多重器官組織的傷害。成為前面所描述的「抗雙股DNA抗體的效價與狼瘡疾病活動性有相關」的理論根基。

「多重反應性(polyreactivity)」是自體免疫抗體的基本特性之一。我們很幸運地將核小體磷酸化蛋白質P0(分子量38kDa)、P1(分子量19kDa)及P2(分子量17kDa)填加於抗雙股DNA抗體的交叉反應性對應抗原的排行榜單上(表一)。在真核細胞的核小體上約有80種以上的蛋白質，其中只有P0、P1及P2三種分子是磷酸化蛋白質。這些蛋白質的生理功能至今仍不清楚。為何會成為自體免疫抗體的對應抗原更是匪夷所思。或許這三種分子具有與DNA化學結構中共同存有Phosphodiester bond有關，但真正的原因仍有待更進一步的探討與證實。

生物醫學研究的最終目的乃在於將研究成果能夠應用於臨床診療上以造福患者。這三種磷酸化蛋白在其分子的C端有一段17個氨基酸組成的共同氨基酸會被抗核小體磷酸化蛋白P0、P1及P2抗體所認知。我們以這一小氨基酸氨基酸為研究對象，經mutagenesis分析結果，發現在最末端的hydrophobic cluster的二個phenylalanine殘基是與抗雙股DNA抗體結合的關鍵構造【6】。在臨床應用上，能否以這個8個氨基酸的小片斷來阻斷抗雙股DNA抗體在患者體內的多重器官傷害，尤其是防止腎臟的傷害以達治療效果，值得進一步深入探討。表一

表一 會與抗雙股DNA抗體呈交叉反應的各種分子

Heparan sulfate	Cytoskeletal protein
Chondroitin sulfate	Callagen type IV
Hyaluronate	A and D anRNP
Vimentin	Ribosomal protein S1
Phospholipids	Ribosomal phosphoproteins
Bacterial capsular lipopolysaccharide	P0, P1 and P2

參考文獻

1. Yu CL, Chang KL, Chiu CC, Chiang BN, Han SH, Wang SSR, Alteration of mitogenic responses of mononuclear cells by anti-dsDNA antibodies resembling immune disorders in patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 1989;18:165-76.
2. Tsai CY, Wu TH, Sun KH, Yu CL. Effect of antibodies to double stranded DNA, purified from serum samples of patients with active systemic lupus erythematosus, on the glomerular mesangial cells. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:162-7.
3. Sun KH, Liu WT, Tsai CY, Tang SJ, Han SH, Yu CL. Anti-dsDNA antibodies cross-react with the ribosomal P proteins expressed on the surface of glomerular mesangial cells to exert cytostatic effect. *Immunology* 1995; 85:262-8.
4. Sun KH, Liu WT, Tang SJ, Tsai CY, Hsieh SC, Wu TH, Han SH, Yu CL. The expression of acidic ribosomal phosphoproteins on the surface of different tissues in autoimmune and normal mice which are the target molecules for anti-dsDNA antibodies. *Immunology* 1996; 87:362-71.
5. Sun KH, Yu CL, Tang SJ, Sun GH. Monoclonal anti-double stranded-DNA autoantibody stimulates the expression and release of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α from normal human mononuclear cells involving in the lupus pathogenesis. *Immunology* 2000;99: 352-60.
6. Sun KH, Hong CC, Tang SJ, Sun GH, Liu WT, Han SH, Yu CL. Anti-dsDNA autoantibody cross-reacts with the C-terminal hydrophobic cluster region containing phenylalanines in the acidic ribosomal phosphoprotein P1 to exert a cytostatic effect on the cells. *Biochem Biophys Res Commu* 1999; 263:334-9.

台大醫學院藥學系誠徵教師若干名

(一) 應徵資格：

申請者須具開創性、獨立性及團隊合作精神，且需符合下列條件之一：

1. 專長為天然物化學領域(含植物生化、植物組織細胞培養等)，具有博士學位及博士後研究之資歷。
2. 專長為藥劑學領域(含藥物動力學、劑型設計、藥物遞送等)，具有博士學位及博士後研究之資歷。
3. 專長為臨床藥學領域。
4. 專長為藥業經濟學或藥事行政管理領域，具有博士學位及相關研究經驗之資歷。

(二) 起聘日期：九十三年二月一日

(三) 檢具資料：

個人履歷、學經歷證件影本、著作目錄及代表性著作抽印本或影本(最多五篇)、三封推薦函、未來三年教學及研究計畫，上述資料不全者，不予受理。另可提供其他有助於瞭解申請者背景之資料。

(四) 截止日期：

九十二年六月三十日下午五時前送達藥學系系辦公室。

(五) 來函請寄：

台北市仁愛路一段一號一二〇五室

台大醫學院藥學系 陳基旺主任 收

傳真專線:886-2-23919098

E-Mail:chern@jwc.mc.ntu.edu.tw