

Toll样受体的发现者——布特勒

郭晓强¹ 冯志霞²

(1 解放军白求恩军医学院生化教研室 河北石家庄 050081 2 柯棣华医学院英语教研室 河北石家庄 050081)

摘要 先天性免疫是高等动物感知外界感染后迅速启动机体防御反应的一种方式, 对该过程机制的理解在临床方面具有非常广泛的应用。布特勒先后发现了介导多种炎症反应的肿瘤坏死因子、感知脂多糖的 Toll 样受体 4 等物质, 这些进展拓宽了人们对先天免疫分子机制认识同时也得到广泛临床应用, 布特勒也被认为是近几年诺贝尔生理与医学奖的热门人选之一。

关键词 布特勒 Toll 样受体 先天性免疫

中国图书分类号: Q10 文献标识码: E

高等动物拥有 2 种既相互独立又密切联系的免疫系统——先天性免疫 (innate immunity) 和获得性免疫 (adaptive immunity), 它们通过调节机体内环境的相对稳定而维持机体平衡。人们对获得性免疫系统拥有了较深入的理解, 它们主要由 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞协助完成, 通过特异性配体-受体识别模式而激活体液免疫和细胞免疫, 这些研究成果已得到广泛应用, 如开发成功的麻疹病毒、脊髓灰质炎病毒和流感病毒等的有效疫苗。先天性免疫则缺乏特异性, 一般由巨噬细胞等介导完成, 人们对该机制的详细分子机制了解较少, 直到 20 世纪 90 年代 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 家族的发现及功能理解才使人们对此过程有了深入的认识, 而第 1 个参与先天免疫系统的 TLR 基因是 1998 年由布鲁斯·艾伦·布特勒 (Bruce Alan Beutler) 首次克隆成功。

1 肿瘤坏死因子的发现



1957年12月29日, 布特勒出生于美国的芝加哥市, 父亲是著名的血液学家、医学遗传学家和美国科学院院士厄尼斯特·布特勒 (Ernest Beutler), 在这样一个具有浓厚学术背景的家庭成长为布特勒将来从事科学研究奠定了坚实基础。

布特勒在南加州长大, 在儿童和少年期间就对生物学充满了极大的兴趣, 而父亲科研背景为他提供了极大的便利, 他可以在父亲的实验室进行血液学方面的研究, 后来还跟随著名的哺乳动物

进化遗传学家大野乾 (Susumu Ohno) 研究染色体的结构特征, 这些经验为他将来科学方面的巨大成功奠定了坚实的基础。布特勒学习成绩非常优秀, 在加州帕萨迪纳 (Pasadena) 的工艺学校完成初等教育后进入加州大学圣地亚哥分校学习, 并于 1976 年毕业并获得理学学士学位, 当时年仅 18 岁。毕业后, 布特勒进入芝加哥大学医学院继续学习, 并于 1981 年获得医学博士学位 (当时才 23 岁), 随后在得克萨斯大学达拉斯西南医学中心完成了 2 年的医学临床训练过程。

1983 年, 布特勒来到美国东海岸的纽约洛克菲勒大学, 进入塞拉米 (Anthony Cerami) 实验室开始博士后研究, 重点在于先天性免疫的分子机制。其实早在儿童时期, 布特勒就对免疫系统和感染性疾病产生了浓厚的兴趣。在阅读了著名的科普著作《微生物猎手》后, 布特勒被书中介绍的细菌的发现过程及它们在感染性疾病中的作用所深深吸引, 在芝加哥大学期间, 布特勒认识了脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 研究领域方面的专家布拉迪 (Abraham Braude) 和单纯疱疹病毒研究方面的权威斯皮尔 (Patricia Spear), 并在这 2 个实验室进行了一段时间的研究, 获得了相关研究的大量基础知识和实验技能。在临床实习期间, 布特勒又接触到大量伴发严重感染的患者, 微生物所产生的巨大破坏力为他留下了深刻的印象, 同时也被机体免疫系统所展现出的错综复杂魅力深深吸引, 因此决定从事该方面的研究。

脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 是细菌产生的一种内毒素, 对昆虫和大多数脊椎动物没有毒害作用, 然而对几乎所有哺乳动物包括人和小鼠则毒性

强烈,甚至可导致死亡。当时已知道 LPS 的毒性由巨噬细胞介导,而巨噬细胞感知 LPS 后再通过生成特定细胞因子来启动炎症反应。1985 年,布特勒与同事首次从小鼠中分离得到了 LPS 诱导生成的细胞因子——肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF),并证明 TNF 在 LPS 诱导的炎症反应(如小鼠休克反应)中发挥着至关重要的辅助作用^[1]。随后,布特勒又开发了针对 TNF 的特异性抑制剂,通过将 TNF 受体蛋白的结合部位与免疫球蛋白分子的重链相融合,使其可与受体形成二聚体而阻断 TNF 的信号转导,从而减少机体炎症的发生^[2]。

TNF 生理功能的发现及特异抑制剂的开发成功具有非常巨大的应用价值。在布特勒研究的基础上开发成功了 TNF 的抑制剂——Etanercept (Enbrel),该药物在治疗风湿性关节炎、银屑病、克罗恩病(Crohn's disease)、强直性脊柱炎、幼年型类风湿性关节炎和其他多种自身免疫性疾病方面都显示出较好的效果。

2 TLR4 基因的克隆

对布特勒而言,发现 TNF 的更大意义在于可以将其作为研究 LPS 生理作用的重要指标。早在 20 世纪 60 年代,2 个研究小组就发现对 LPS 具有高度抗性的 C3H/HeJ 品系小鼠,20 世纪 70 年代又发现 C57BL/10ScCr 品系小鼠对 LPS 也有高度抗性^[3],模式小鼠的存在为后期基因定位奠定了基础。进入 20 世纪 80 年代,多家实验室开始使用传统的生物化学方法来寻找 LPS 受体,然而一直未取得较为满意的结果。由于当时小鼠基因组测序尚未完成,因此寻找特定基因是一件较为困难和繁琐的工作,然而当时刚构建成功的细菌人工染色体(bacterial artificial chromosome, BAC)和酵母人工染色体(yeast artificial chromosome, YAC)则为基因克隆带来了极大的便利,并且表达序列标签(expressed sequence tag, EST)数据库的建立和基因数据计算方法的改进也在 LPS 受体研究过程中发挥了关键性的作用。

1993 年,布特勒实验室开始了寻找 LPS 受体的工作,在随后 5 年的时间内,他们进行了成千上万次的 DNA 测序,在 EST 数据库中搜索具有同源结构的基因家族以确定候选基因,并将多种基因进行功能筛选,最终于 1998 年发现 C3H/HeJ 小鼠的 *TLR4* 基因在细胞质侧存在一个单碱基的点突

变,而正是这个突变造成小鼠对 LPS 丧失了敏感性,从而说明了 *TLR4* 为 LPS 发挥生理功能的细胞膜受体^[4]。*TLR* 基因最早在果蝇中鉴定成功,它们主要参与了发育过程,后来发现部分成员还参与机体防御。在哺乳动物中共鉴定出 13 种的 *TLR* 基因,它们构成了一个大的家族,均参与了先天免疫的信号感知过程,每一种 *TLR* 都有自己特定的配体,除 *TLR4* 识别 LPS 外,*TLR2* 可识别细菌的脂蛋白和糖脂,*TLR5* 识别细菌鞭毛素,*TLR3*、*TLR7*、*TLR8* 和 *TLR9* 构成复合物共同识别核酸。*TLR* 家族作为先天免疫系统识别受体的发现在感染性疾病发病机制理解和治疗方面有十分重要的意义,可根据需要抑制或增强机体对外界微生物感染的反应能力,以减少感染后的损伤反应。

3 正向遗传学的巨大贡献

正向遗传学(forward genetics)是指利用表型缺陷来寻找突变基因的过程,为了获得尽可能多的缺陷动物,常常用诱变剂对动物进行处理,这是当前分子遗传学家研究基因功能最常用的方法之一。布特勒使用烷化剂 N-乙基-N-亚硝基脲(N-ethyl-N-nitrosourea,ENU)来处理小鼠,从而造成小鼠 DNA 出现大量的错义、无义或拼接错误,基因突变小鼠可表现出多种生理功能异常,多种表型缺陷小鼠还因此建立起了小鼠突变库,从中可筛选感兴趣的基因。

随后,布特勒实验室使用正向筛选的方法鉴定出参与先天免疫系统的更多分子,如介导 *TLR4* 信号转导的中介分子 TRIF、TRAM 等,这些重大进展帮助揭示了先天免疫发生的生物化学过程,也为治疗提供了更多的药物靶点。ENU 突变小鼠还被布特勒和同事应用于全面研究特定感染后的机体反应,通过对小鼠细胞巨病毒(mouse cytomegalovirus, MCMV)敏感的突变小鼠筛选获得了病毒感染过程中决定细胞生死的一系列基因,并将其蛋白产物总称为抗性体(resistome),这些蛋白产物根据功能被分为“感受”、“信号”、“效应”、“内稳态”和“发育”等亚类^[5]。布特勒还利用正向遗传学开展了更为广泛的研究,发现了参与多种生物学过程如铁代谢、听力和胚胎发育等的关键基因,从而对这些过程也有了较为深入的理解。

4 重大科学意义和奖励

1986-2000 年,布特勒在得克萨斯大学西南

医学中心先后担任助理教授、副教授和教授,此外还是霍化德休斯研究所(HHMI)的研究员(1996年),2000年布特勒回到南加州,担任位于拉霍亚(La Jolla)的 Scripps 研究所的免疫学教授,2007年成为了遗传系的主任。布特勒在免疫学领域取得了巨大的科学贡献,因此也获得了许多重大荣誉,他是美国科学院院士、医学科学院院士、美国内科医生协会会员和美国临床研究协会会员,先后获得包括科赫奖(2004年)、威廉姆科里奖(William B.Coley Award)(2006年)、Balzan奖(2007年)和美国科学界最高奖 Albany 医学中心奖(2009年)等在内的多项科学大奖。

从2001年,布特勒被科学信息研究所列为科学高引用率的研究人员之一,也被看作免疫学领域最有影响科学家之一,并被认为是近几年诺贝尔生理学或医学奖的热门人选。由于自1996年免

疫学领域颁奖以来已有10余年时间,因此该领域取得巨大进展的科学家必将在未来几年荣获诺贝尔奖,而布特勒则拥有最大可能。

主要参考文献

- 1 Beutler B., Greenwald D., Hulmes J.D. *et al.* Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature*, 1985, 316(6028): 552—554.
- 2 Beutler B., Milsark I.W., Cerami A. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science*, 1985, 229(4716): 869—871.
- 3 Beutler B.A. TLRs and innate immunity. *Blood*, 2009, 113(7): 1399—1407.
- 4 Poltorak A., He X., Smirnova I. *et al.* Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*, 1998, 282(5396): 2085—2088.
- 5 Beutler B., Du X., Xia Y. Precise on forward genetics in mice. *Nat Immunol*, 2007, 8(7): 659—664.
(E-mail: xiaoqianguo123@163.com)

探究番茄汁的洗涤效果

茹彩臣 (抚宁县茶棚乡曹东庄小学 河北秦皇岛 066304)

中国图书分类号: G633.91 文献标识码: C

秦皇岛市抚宁县茶棚乡是河北省优质西红柿的主要产地。家里面有一个番茄温室大棚,生活中发现:在给番茄掐尖、打叉和采摘时,手上和衣服上总会沾有番茄秧子上的绿色汁液(内含鞣酸),氧化后迅速变黑,这些黑的鞣酸很难用常规洗涤剂洗掉。怎样才能洗掉番茄茎中的鞣酸呢?

番茄茎内汁液的鞣酸属于典型的葡萄糖酚基化合物,其多酚羟基的结构赋予了它一系列独特的化学特性和生理活性,但能与蛋白质、生物碱、多糖结合。而番茄里面含有较多的蛋白质、脂肪、碳水化合物、钙、磷、铁、镁、胡萝卜素、核黄素、尼克酸、维生素和饱和脂肪酸等物质。于是设想:用番茄的汁液是否可以除去氧化后的鞣酸呢?设计了如下对比实验:

实验名称:研究去除手和布上番茄茎中氧化鞣酸的方法。

实验目的:探究用番茄汁液能否洗去手和布上番茄茎内汁液氧化鞣酸的最佳方法。

实验用具:番茄果实、新采摘的番茄茎、肥皂、洗衣粉、洗洁精、4块大小和质地相同的布、水、脸盆。

实验步骤:

- 1)用番茄茎的汁液把自己的手和4块大小和质地相同的布染黑;
- 2)用肥皂分别洗手和第1块布;用洗衣粉分别洗手和第2块布;用洗洁精分别洗手和第3块布;把成熟的番茄果实捣碎取汁,分别洗手和第4块布;
- 3)相同时间后,观察手和布颜色褪去的情况。

结果分析:用肥皂、洗衣粉、洗洁精这些常规洗涤剂不能使手和布上颜色褪去,而用捣碎的番茄汁液可以使手和布上的颜色褪去。

通过以上实验可以得出:番茄果实中的蛋白质可以和氧化后的鞣酸反应,从而能有效去除手上和衣服上总会沾有番茄秧子上氧化后变黑的鞣酸。

主要参考文献

- 1 曾昭琼.有机化学.第3版.北京:高等教育出版社,1993:625—631.
(E-mail: rucaichen88@163.com)