剂盒由上海微银生物技术有限公司提供。

1.3　方法

1.3.1　IMA 检测方法　通过清蛋白钴结合试验利用微量蛋白离心超滤技术以比色法测定 IMA 水平。按照试剂说明书步骤进行操作。以大于 75 U/mL 临界值为阳性结果。

1.3.2　CK-MB 检测方法　严格按 VITROS-250 全自动生化分析仪和试剂说明书进行 CK-MB 检测，以 CK-MB≥24.0 U/L为阳性结果。

1.3.3　cTnT 检测方法　常规方法分离血清后，严格按 Roche 公司仪器和试剂说明书进行 cTnT 检测，以 cTnT≥0.05 ng/mL 为阳性结果。

1.4　统计学处理　采用 χ^2 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义，$P<0.01$ 为非常显著差异。

2　结　　果

129 例患者中男 76 例，女 53 例，平均年龄(65.3±15.4)岁。其中根据 2007 年 ACC/AHA 不稳定性心绞痛和非 ST 段抬高心肌梗死治疗指南[2]，诊断 ACS 76 例(58.9%)非 ACS53 例(41.1%)。ACS 组与非 ACS 组生化标记物检测值比较见表 1。所有研究对象中 ACS 组 IMA、CK-MB 和 cTnT 水平均明显高于非 ACS 组，差异有统计学意义($P<0.01$)。76 例 ACS 患者中，IMA 测值水平超过临界值者 68 例，阳性率达 89.5%，而同步测定 cTnT 阳性者仅 42 例，阳性率仅 55.3%，两者差异有高度统计学意义($\chi^2=22.24$，$P<0.01$)。2～6 h 后 cTnT 转阳性者 21 例，阳性率达 82.9%，21 例 cTnT 转阳性者中 IMA 水平超过临界值者 20 例。

表 1　ACS 组与非 ACS 组生化标记物检测值比较

组别	n	IMA	CK-MB	cTnT
ACS 组	76	90.2±22.9	15.3±28.4	3.11±7.97
非 ACS 组	53	68.4±20.9	2.5±3.4	0.10±0.37
P	—	<0.01	<0.01	<0.01

—：无数据。

3　讨　　论

急性冠状动脉综合征包括不稳定心绞痛(UA)、非 ST 段抬高的心肌梗死(NSTEMI)和 ST 段抬高的心肌梗死(STEMI)，诊断通常是很困难的[3]。在急诊有超过 50%的以胸痛就诊的患者因未能及时诊断 ACS，致使延误治疗发展至心肌梗死。心肌细胞缺血缺氧超过 6 h 将出现不可逆的损伤。因此，对 ACS 早期诊断与鉴别直接影响着 ACS 患者的预后。目前用来诊断心肌缺血的指标存在很大的局限性。常规心肌损伤标记物心肌 cTnT 和 CK-MB 虽然特异性高，但仅在不可逆的细胞损害后才会在血中升高[4]，而且需要 4～6 h 才能在循环中达到被检测浓度，对可逆的心肌缺血多为阴性。心电图对急性冠脉综合征灵敏度较低，对于急诊的 ACS 患者，其中大约有一半心电图是正常的。

缺血修饰清蛋白(IMA)是一个在心肌缺血早期就有变化的敏感生化指标，是一种能早期检测且灵敏度和特异性较高的心肌缺血标志物[5]。结果证明 IMA 具有在临床早期就诊的急性胸痛人群中区分 ACS 与非 ACS 患者的能力。本研究由于采用了微量蛋白离心超滤技术测定 IMA，减少了清蛋白在检测过程中造成的背景干扰，显著提高了 IMA 测定的特异性。但 IMA 在非心源性缺血或其他疾病继发心肌缺血时也可出现 IMA 水平升高。笔者认为应联合应用 IMA、cTnT 及心电图以提高诊断的灵敏度及特异性。但对于有典型胸痛症状，而 cTnT 及 ECG 均无诊断性改变的患者，IMA 可能是确定 ACS 的一个有用的生化指标。若 IMA 阴性则近期发生缺血状况的危险性小，若 IMA 阳性则提示患者发生心肌缺血的危险性大，应注意早期积极治疗。

参考文献

[1]　张宏伟，杨望君. 缺血性修饰白蛋白在急性胸痛患者鉴别诊断中的应用价值[J]. 实用预防医学，2011，18(3)：515-516.

[2]　Anderson JL, Adams CD, Antman EM, et al. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction[J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 50(7): e1-157.

[3]　龙国文，胡佳林. 缺血性修饰白蛋白-新的心肌缺血生化标志物[J]. 国际检验医学杂志，2006，27(1)：77-80.

[4]　李志远，路华清，刘锦，等. 缺血修饰白蛋白在老年急性心肌缺血诊断中的应用价值[J]. 临床荟萃，2011，26(1)：13-16.

[5]　岑运光. 缺血修饰白蛋白(IMA)的研究进展[J]. 海南医学，2010，21(6)：120-124.

(收稿日期：2012-08-09)

·临床免疫学与检验论著(全军检验大会优秀论文)·

MAGE-12 的 HLA-A2 限制性 CTL 表位肽预测及其三维结构构建*

李艳秋[1]，鲍布和[1]，高默杰[1]，倪　兵[2]，吴玉章[2]

(1. 武警后勤学院附属医院检验科，天津 300162；2. 第三军医大学全军免疫学研究所，重庆 400038)

摘　要：目的　从理论上分析、预测黑色素瘤抗原(MAGE)-12 的人类白细胞抗原(HLA)-A2 限制性细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)表位肽，并构建其三维结构。**方法**　以肿瘤特异性抗原 MAGE-12 为研究目标，采用超基序法、量化基序法、多项式法、延展基序法与三维结构构建相结合的 CTL 表位预测方法。**结果**　预测出的 MAGE-12 的表位中有 4 个符合 HLA-A2 限制性 CTL 表位要求。**结论**　预测出的 4 个 HLA-A2 限制性 CTL 表位为 MAGE-12 的表位的可能性较大，经后续实验筛选、鉴定后，可用于基于 MAGE-12 的肿瘤治疗性多肽疫苗的设计研究。

关键词：肿瘤抗原；　黑色素瘤抗原 12；　表位；　人类白细胞抗原 A2

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2012.20.017　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2012)20-2470-05

*　基金项目：国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目，2001CB510001)；武警医学院博士启动金资助项目(WYB201002)；武警医学院附属医院种子基金资助项目(FY200904)。

Prediction of CTL-epitopes of tumor antigen MAGE-12 restricted by HLA-A2 molecules and construction of three dimensional configurations*

Li Yanqiu[1], *Bao Buhe*[1], *Gao Mojie*[1], *Ni Bing*[2], *Wu Yuzhang*[2]

(1. *Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin* 300162, *China*; 2. *Institute of Immunology of PLA/the Third Military Medical University, Chongqing* 400038, *China*)

Abstract: Objective　To predict the human leucocyte antigen (HLA)-A2-restricted cytotoxic T lymphocyte (CTL) epitopes of melanoma antigen-12 (MAGE-12), and the three-dimensional configurations of those of HLA-A2-restricted CTL binding peptides were established. **Methods**　The present study has been carried out using the peptide supermotif prediction combined, quantitative motif, polynomial method, extended motifs, and construction of three dimensional configurations in peptides binding to HLA-A2.1 molecules. **Results**　4 CTL epitope candidates derived from the antigen MAGE-12 were found. **Conclusion**　After identification, they could be used in the designs and studies of tumor therapeutic peptide vaccine.

Key words: tumor antigen;　melanoma antigen 12;　epitope;　human leucocyte antigen-A2

黑色素瘤抗原(MAGE)-12 是 1994 年发现的肿瘤特异性抗原,不仅大量表达于黑色素瘤,还不同程度地表达于多种组织类型的其他肿瘤,除睾丸外正常组织均不表达,与 MAGE-A(即 MAGE-1 至 MAGE-12)家族其他成员一样,基因位于 X 染色体的 q28 区,有大小两个外显子,大外显子编码蛋白 MAGE-12 由 314 氨基酸残基组成,与 MAGE-2(92.7%)、MAGE-3(91.9%)有高度同源性[1-3],且 MAGE-3 黑色素瘤肽疫苗试验已进入临床Ⅲ期。因此,通过 T 细胞表位预测方法找到 MAGE-A 亚家族成员的共同表位,将为肿瘤多价疫苗的设计提供依据[4],这对于选择合适的细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)表位、发展肿瘤治疗性细胞免疫疫苗意义重大。由于人类白细胞抗原(HLA)-A2 阳性人群的比例最高,因而由 HLA-A2 分子呈递的肿瘤抗原 CTL 表位在肿瘤免疫治疗中最具应用价值。而在中国,HLA-A2 阳性人群达到了 50%以上,因此预测并鉴定新的 MAGE-12 HLA-A2 限制性 CTL 表位对发展更有效的肿瘤治疗性多肽疫苗具有重要的意义。本研究采用超基序方法、量化基序方法、多项式方法、延展基序方法与三维结构构建相结合的方案预测了 4 个 MAGE-12 的 HLA-A2 限制性 CTL 表位,经后续试验筛选、鉴定后,可用于基于 MAGE-12 的肿瘤治疗性多肽疫苗的设计研究。

1　材料与方法

1.1　抗原氨基酸顺序　肿瘤特异性抗原 MAGE-12 编码基因位于 X 染色体 q28 区,由 314 个氨基酸残基组成,由 GENBANK 获得的 MAGE-12 的氨基酸序列见图 1。

```
        10         20         30         40         50
MPLEQRSQHC KPEEGLEAQG EALGLVGAQA PATEEQETAS SSSTLVEVTL
REVPAAESPS FPHSPQGAST LPTTINYTLW SQSDEGSSNE EQEGPSTFPD
LETSFQVALS RKMAELVHFL LLKYRAREPF TKAEMLGSVI RNFQDFFPVI
FSKASEYLQL VFGIEVVEVV RIGHLYILVT CLGLSYAGLL GDNQIVPKTG
LLIIVLAIIA KEGDCAPEEK IWEELSVLEA SDGREDSVFA HPRKLLTQDL
VQENYLEYRQ VPGSDPACYE FLWGPRALVE TSYVKVLHHL LKISGGPHIP
YPPLHEWAFR EGEE
```

图 1　MAGE-12 的氨基酸序列

1.2　CTL 表位预测方案

1.2.1　超基序方法　基于同一 HLA 家族,甚至不同家族的 HLA 同种异型分子接纳的抗原肽具有相同或相似的锚定残基构成的肽基序(即超基序),锚定残基即为第 2 位(P2)氨基酸残基和第 9 位(P9)的氨基酸残基,P2 残基为 V、I、L、M、T,P9 与 P2 一致。符合上述条件的多肽与 HLA-A2 有高亲和力,被拟订为候选表位。本研究采用超基序方法预测由 9 个氨基酸残基组成的 CTL 表位,具体方法见参照文献[5]。

1.2.2　量化基序方法　量化基序法的原理是在抗原肽与 HLA-A2 分子的结合中,抗原肽的侧链效应(锚定、抑制或中性)主要依赖与相应的氨基酸残基在肽中所处的位置,而受相邻的氨基酸残基影响较小。假设在一个多肽序列中,每个氨基酸残基相互独立且影响整个肽与 MHC Ⅰ 类分子的结合,而该抗原肽的结合能就是每个位置氨基酸残基结合能的综合。1993 年,有研究者等者用肽结合实验分析 154 个九肽与 HLA-A2 分子的亲和力,并得到一个包含 180 个系数的结合矩阵(见表 1),其中每一个系数反映了相应氨基酸残基在该位置时的相应结合能。对于某测定多肽各位置相应氨基酸残基结合系数相乘再乘标准系数 0.151,即为该肽与 HLA-A2 的结合力,判定为表位的阈值为 5.0。笔者采用 HLA-A2 分子的结合矩阵对超基序法预测出的肿瘤抗原 MAGE-12 的 CTL 表位,进一步采用量化基序进行验证以寻求结合最好的表位。

1.2.3　候选表位限制性抗原肽多项式方法　首先将初步预测得到的 HLA-A2 限制性 CTL 表位抗原肽序列与以往报道 CTL 表位进行比较,然后对抗原肽采用多项式方案进行量化分析。当某残基 R 出现在某肽的第一位时,在不考虑其他肽序列的情况下,残基对于整个肽与 MHC Ⅰ 类分子的结合自由能提供了一个常量 Ri,20 种氨基酸残基分别在 1～9 位的 Ri 值列于表 2。分别将初步预测的九肽氨基酸残基对应的 Ri 值相加,选择分值大于选定阈值的抗原肽作为可能的候选肽。本研究选择阈值为－19.0。

表 1　HLA-A2 分子限制九肽结合系

氨基酸残基	位置								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
C	0.597	0.500	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.010
D	0.041	0.500	0.726	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.010

续表 1　HLA-A2 分子限制九肽结合系

氨基酸残基	位置								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
E	0.578	2.840	0.054	1.000	0.756	3.246	0.820	1.000	0.015
F	1.000	0.500	11.383	0.027	6.004	4.369	6.383	1.000	0.009
G	0.044	0.500	0.088	1.000	0.804	1.060	0.105	1.000	0.009
H	1.000	0.500	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.010
I	3.465	10.151	1.849	0.078	1.000	1.000	1.000	1.000	0.534
K	1.000	20.524	0.024	1.000	2.085	0.239	0.603	1.000	0.015
L	1.000	103.183	3.685	0.046	1.000	1.000	1.000	1.000	2.357
M	1.000	57.920	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.501
N	1.000	0.542	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.009
P	1.000	0.500	1.261	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.010
Q	1.000	10.006	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.010
R	1.000	0.500	0.033	1.000	1.000	1.000	0.277	1.000	0.010
S	1.000	0.500	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.009
T	1.000	6.080	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.009
V	1.000	5.919	2.173	1.000	1.000	2.588	1.120	0.293	4.884
W	1.000	0.500	12.978	1.000	2.680	0.251	5.951	1.000	0.010
Y	1.000	0.500	7.613	1.000	8.002	3.470	1.000	1.000	0.009

表 2　多项式系数(HLA-A2)

氨基酸残基	位置								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	−2.38	−3.22	−2.80	−2.66	−2.89	−2.70	−2.35	−3.07	−2.47
C	−2.94	−15.00	−2.58	−1.96	−3.29	−2.22	−2.97	−2.37	−15.00
D	−3.69	−15.00	−3.46	−2.71	−2.26	−2.63	−3.61	−3.03	−15.00
E	−3.64	−15.00	−3.51	−2.65	−3.39	−3.41	−3.21	−2.63	−15.00
F	−1.89	−15.00	−2.35	−2.50	−1.34	−2.43	−2.18	−1.71	−15.00
G	−2.32	−15.00	−3.04	−2.63	−2.56	−2.30	−3.13	−2.96	−15.00
H	−2.67	−15.00	−2.58	−2.58	−2.05	−3.32	−3.13	−2.16	−15.00
I	−1.65	−2.55	−2.80	−3.44	−2.74	−2.79	−2.20	−2.69	−2.10
K	−2.51	−15.00	−3.65	−2.93	−3.34	−3.77	−2.97	−3.27	−15.00
L	−2.32	−1.70	−2.09	−2.49	−2.71	−2.63	−2.62	−2.01	−2.74
M	−0.39	−1.39	−1.79	−3.01	−3.43	−1.38	−1.33	−0.97	−2.96
N	−3.12	−15.00	−3.31	−2.22	−2.36	−2.30	−3.14	−3.31	−15.00
P	−3.61	−15.00	−2.97	−2.64	−2.42	−2.31	−1.83	−2.42	−15.00
Q	−2.76	−15.00	−2.81	−2.63	−3.06	−2.84	−2.12	−3.05	−15.00
R	−1.92	−15.00	−3.41	−2.61	−3.05	−3.76	−2.43	−3.02	−15.00
S	−2.39	−15.00	−2.04	−2.12	−2.83	−3.04	−2.73	−2.02	−15.00
T	−2.89	−3.58	−2.60	−2.48	−2.17	−2.58	−2.67	−3.14	−3.70
V	−2.44	−2.64	−2.68	−3.29	−2.49	−2.25	−2.68	−2.80	−1.70
W	−0.14	−15.00	−1.01	−2.94	−1.77	−2.77	−2.85	−2.13	−15.00
Y	−1.46	−15.00	−1.67	−2.70	−1.92	−2.39	−1.35	−3.37	−15.00

1.2.4　CTL 表位预测的延展基序方法　多肽与 HLA-A2 分子的有效结合不仅与初级锚点有关，还取决于二级锚点的存在。另外，某些非允许的、不利于结合的氨基酸残基的存在则会阻碍二者的结合，其与初级锚点、二级锚点共同构成了延展

基序[1]。本研究在初步预测得到的九肽氨基酸残基中进一步筛选理想的 HLA-A2 结合的 CTL 表位(即具有高或中等亲和力),筛选原则为候选表位不包含不利于结合的氨基酸残基,或有利于结合的残基多于不利于结合的残基,见图 2。

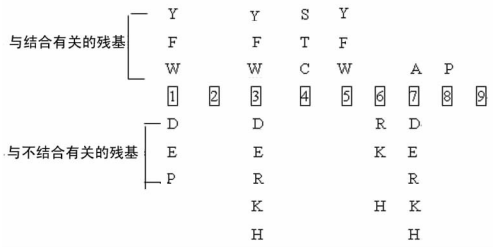


图 2　九肽中与 HLA-A2 分子结合或不结合有关的氨基酸残基

1.2.5　表位肽的三维结构构建　应用 Silicon Graphics 图像工作站及 Insight Ⅱ 软件,分别构建 MAGE-12 的 4 个 CTL 预测表位与 HLA-A2 结合的三维结构。

1.2.6　候选表位获得方案　多肽序列选用超基序方法、量化基序方法、延展基序方法、多项式方法与三维结构构建相结合预测候选表位。

2　结　　果

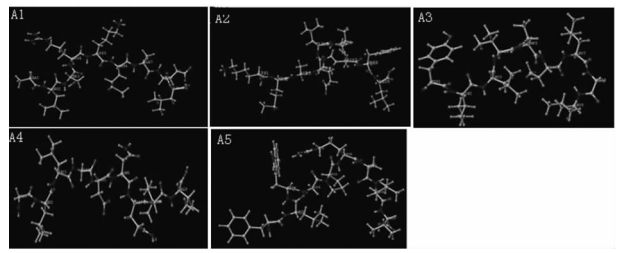
2.1　采用超基序方法与量化基序方法相结合进行 MAGE-12 的 CTL 表位预测　采用超基序方法与量化基序方法相结合进行 MAGE-12 的 CTL 表位预测,初步得到多条可能结合的九肽,根据预测分值排序,选取预测分值最高的 10 条九肽为候选肽,分别为:(1) ALSRKMAEL(108～116)(75.08);(2) KMAELVHFL(112～120)(53.35);(2)KASEYLQLV(153～161)(5.90);(4)HLYILVTCL(174～182)(55.34);(5)YILVTCLGL(176～184)(13.31);(6)GLLGDNQIV(188～196)(12.10);(7)KIWEELSVL(220～228)(10.39);(8)SVFAHPRKL(237～245)(6.64);(9)FLWGPRALV(271～279)(968.43);(10)VTLREVPAA(48～56)(6.62)。

2.2　采用超基序方法与多项式方法相结合进行 MAGE-12 CTL 表位预测　采用超基序方法与多项式方法相结合进行 MAGE-12 的 CTL 表位预测,选择阈值为－19.0,相应肽序列为:(1)ALGLVGAQA(22～30)(－22.27);(2)GLVGAQAPA(24～32)(－22.30);(3)TASSSSTLV(38～46)(－22.52);(4)VTLREVPAA(48～56)(－23.73);(5)GASTLPTTI(67～75)(－22.99);(6)QVALSRKMA(106～114)(－23.69);(7)ALSRKMAEL(108～116)(－21.17);(8)KMAELVHFL(112～120)(－21.89);(9)MAELVHFLL(113～121)(－22.35);(10)KASEYLQLV(153～161)(－20.80);(11)QLVFGIEVV(159～167)(－22.70);(12)RIGHLYILV(171～179)(－21.10);(13)HLYILVTCL(174～182)(－22.22);(14)YILVTCLGL(176～184)(－22.10);(15)CLGLSYAGL(181～189)(－23.44);(16)GLLGDNQIV(188～196)(－19.81);(17)IVPKTGLLI(195～203)(－21.39);(18)GLLIIVLAI(200～208)(－22.33);(19)LLIIVLAII(201～209)(－22.52);(20)LIIVLAIIA(202～210)(－23.73);(21)KIWEELSVL(220～228)(－23.01);(22)SVFAHPRKL(237～245)(－23.84);(23)FLWGPRALV(271～279)(－19.47);(24)LVETSYVKV(278～286)(－23.82);(25)KVLHHLLKI(285～293)(－22.49)。

2.3　采用超基序方法、量化基序方法、多项式方法、延展基序方法与三维结构构建相结合筛选候选表位多肽　HLA-A2 限制性 CTL 表位抗原肽序列与报道的 CTL 表位进行比较,其中 3 条已被证实的抗原肽分别为 MAGE-3201-209(LLIIVLAII),MAGE-3271-279(FLWGPRALV),MAGE-n159-167(QLVFGIEVV),同时发现 MAGE-12 表位 KMAELVHFL(112-120)与 MAGE-2 表位 KMVELVHFL(112-120)相似。对抗原肽采用超基序方法、量化基序方法、多项式方法、延展基序方法与三维结构构建相结合进行量化分析,获得候选表位多肽见表 3,候选表位肽的三维结构图见图 3(A1～5)。

表 3　MAGE-12 表位结预测果

氨基酸位置	序列	得分	系数分
112～120	KMAELVHFL	53.35	－21.89
108～116	ALSRKMAEL	75.08	－21.17
188～196	GLLGDNQIV	12.10	－19.81
176～184	YILVTCLGL	13.31	－22.10
271～279	FLWGPRALV	968.43	－19.47



A1:候选表位肽 ALSRKMAEL(108～116)(75.08);A2:候选表位肽 KMAELVHFL(112～120)(53.35);A3:候选表位肽 YILVTCLGL(176～184)(13.31);A4:候选表位肽 GLLGDNQIV(188～196)(12.10);A5:对照表位肽 FLWGPRALV(271～279)(968.43)

图 3　候选表位肽的三维结构图

3　讨　　论

从 1991 年 Falk 等[6]总结发现了大部分与 HLA-A2 有较高亲和力的九肽第 2 位残基和第 9 位残基的特点构建基序方案,到近期构建的人工神经网络预测方法,越来越多的 CTL 表位预测方法已相继构建,本文采用的超基序法、量化基序法、多项式法、延展基序法与三维结构构建就是其中的几种基本方法。

事实上,简单基序对于抗原肽与 MHC Ⅰ 类分子的结合既非充分也非必要条件,通过多肽结合实验证明,存在简单基序的多肽中仅有约 30% 可与 MHC Ⅰ 类分子发生有效结合。Ruppert 等[7]通过大量多肽与 HLA-A2 分子的多肽结合实验和其中氨基酸残基出现频率的统计分析,证明多肽与 MHC Ⅰ 类分子的有效结合不仅与初级锚点有关,还应取决于二级锚点的存在。另外某些非允许的、不利于结合的氨基酸残基的存在也会阻碍二者的结合[7-10],其与初级锚点、二级锚点共同构成了延展基序。Ruppert 等[7]在其研究中证明:应用该基序预测的多肽中约 70%可与 HLA-A2 分子有效结合,准确率较基于简单的测序方法明显提高。因此,本文研究采用超基序法、量化基序法、多项式法、延展基序法与三维结构构建相结合对 MAGE-12 的 HLA-A2 限制性 CTL 表位进行预测,这一方案大大提高了预测效率。首先采用超基序法和量化基序法对所有可能为 MAGE-12 的 HLA-A2 限制性 CTL 表位进行初步筛选,发现符合 CTL 表位有 10 条,采用超基序法、多项式法对所

有可能为 MAGE-12 的 HLA-A2 限制性 CTL 表位进行初步筛选，发现符合 CTL 表位有 25 条，采用超基序法、量化基序法、多项式法、延展基序法与三维结构构建相结合进行量化分析，获得候选表位多肽分别为：ALSRKMAEL、KMAELVHFL、YILVTCLGL、GLLGDNQIV、FLWGPRALV（对照）。这一结果与张秀敏等[11]预测 CTL 表位结果中有 2 条完全一致，分别为 ALSRKMAEL、GLLGDNQIV，与李艳秋等[12]预测 CTL 表位结果中有 1 条完全一致，为 GLLGDNQIV。MAGE-12 亚家族 CTL 表位远程预测结果[1,11-13]中有 3 条已被不同研究证实为 HLA-A2 限制性 CTL 表位，这一结果证实抗原表位预测方法可靠，与实验方法获得的结果具有平行性，其他候选表位有待进一步体外实验筛选、鉴定。与 MAGE-A 亚家族 HLA-A2 限制性 CTL 表位比较结果[1]，MAGE-12 的 CTL 表位 271～279，201～209，112～120 以及 MAGE-3 的 271～279，201～209，112～120 可作为共有表位。据报道，许多肿瘤在表达黑色素瘤抗原时往往不是单一表达，而是同时表达多种 MAGE-A 亚家族抗原[4]。所以，通过 HLA-A2 限制性 CTL 表位预测结合表位序列同源性分析，有利于在肿瘤治疗性疫苗中选择合适的 CTL 表位，同时利用共有表位制成的肽疫苗可同时杀伤表达不同 MAGE-A 抗原的肿瘤细胞，为进一步研制更具广谱性的肿瘤抗原肽疫苗提供依据。

本研究采用超基序法、量化基序法、多项式法、延展基序法与三维结构构建联合应用的方案极大地提高了试验结果的预见性和成功率，减少确定 CTL 表位实验的盲目性，预测出的 4 个 HLA-A2 限制性 CTL 表位为 MAGE-12 的表位的可能性较大，经后续实验筛选、鉴定后，可用于基于 MAGE-12 的肿瘤治疗性多肽疫苗的设计研究。

参考文献

[1] 李艳秋，吴玉章. MAGE 家族研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志，2003，19(5)：S73-84.

[2] 李艳秋，吴玉章，李建春，等. MAGE-12 的新 B 细胞表位抗原肽免疫原性作用研究[J]. 武警医学，2007，19(6)：457-459.

[3] 李艳秋，董雪梅，李建春，等. MAGE-12 的新 B 细胞表位抗原肽的设计、合成及免疫原性研究[J]. 武警医学院学报，2007，16(3)：216-221.

[4] 龙海霞，万瑾，王远强，等. 肿瘤抗原 MAGE-A 亚家族共同 B 细胞表位预测及分析[J]. 免疫学杂志，2009，25(5)：572-587.

[5] 吴玉章. CTL 表位预测的方法学进展[J]. 第三军医大学学报，2000，22(10)：988-992.

[6] Falk K, Rotzsehke O, Steranovic S, et al. Atlele-specific motifs revealed by sequencing of self peptides eluted from MHC molecules [J]. Nature, 1991, 351(6324): 290-296.

[7] Ruppert J, Sidney J, Celis E, et al. Prominent role of secondary anchor residues in peptide binding to HLA-A2. 1 molecules[J]. Cell, 1993, 74(5): 929-937.

[8] 李艳秋，吴玉章，倪兵，等. MAGE-12 的 B 细胞表位联合应用的免疫原性研究[J]. 免疫学杂志，2009，25(6)：701-703.

[9] 王来，崔晶，王中全，等. 旋毛虫抗原分子克隆及其 T 细胞和 B 胞表位预测[J]. 免疫学杂志，2007，23(1)：30-33.

[10] 贺东亮，崔晓东，赵小珍，等. 过敏蛋白 TBb 的免疫活性鉴定及其表位预测[J]. 免疫学杂志，2009，25(2)：137-144.

[11] 张秀敏，隋延仿，罗二平，等. 肿瘤抗原 MAGE-12 新的 HLA-A2 限制性细胞毒性 T 细胞表位的预测[J]. 现代肿瘤医学 2005，13(2)：149-151.

[12] 李艳秋，吴玉章，贾正才，等. 肿瘤抗原 MAGE-12 表位及二级结构预测[J]. 免疫学杂志，2001，17(4)：268-270.

[13] Marchand M. Immunisation of metastatic cancer patients with MAGE-3 protein combined with adjuvant SBAS-2: a clinical report[J]. Eur J Cancer, 2003, 3(9): 70-74.

（收稿日期：2012-08-09）

· 临床免疫学与检验论著（全军检验大会优秀论文）·

IL-6 在蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛发病机制中作用的研究*

胡晓芳[1]，袁　笑[1,2]，王玉红[1]，苏　晓[1,2]，张英辉[1]，郑　伟[1]

（1. 沈阳军区总医院检验科，辽宁沈阳 110840；2. 辽宁医学院研究生院，辽宁锦州 121001）

摘　要：目的　探讨 IL-6 与蛛网膜下腔出血（SAH）后脑血管痉挛（CVS）之间的相关性。**方法**　分别检测 SAH 患者和健康者外周血和脑脊液（CSF）白细胞（WBC）、白细胞介素-6（IL-6）水平。**结果**　SAH 患者外周血 WBC、中性粒细胞百分比（NE%）和 CSF WBC、多个核细胞数均高于对照组（$P<0.05$）；血清和 CSF IL-6 水平也显著高于对照组（$P<0.05$）。SAH 患者痉挛组外周血 WBC、NE%与未痉挛组比较无统计学意义（$P>0.05$），WBC、多个核细胞数显著高于未痉挛组（$P<0.05$），血清和 CSF IL-6 显著高于未痉挛组（$P<0.05$）。SAH 患者痉挛组外周血 WBC、NE%和 CSF WBC、多个核细胞数在第 1、2、3、5、7 天均显著高于对照组（$P<0.05$）；SAH 患者痉挛组血清和 CSF IL-6 水平在第 1、2、3、5、7 天也均显著高于对照组（$P<0.05$）。**结论**　SAH 后患者机体存在高强度全身和局部炎症，其中局部炎症与 CVS 的发生密切相关。而 CSF 中高水平的 IL-6 可能正是通过诱导局部炎症来介导 CVS 的发生。与此同时，在 CVS 发生后患者血清和 CSF IL-6 水平的持续升高可能正是通过维持高强度的炎症进而参与 CVS 的发生。

关键词：蛛网膜下腔出血；　脑血管痉挛；　炎症；　白细胞；　白细胞介素 6

DOI：10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 20. 018　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2012)20-2474-04

脑血管痉挛（CVS）是蛛网膜下腔出血（SAH）后一种常见并发症，是蛛网膜下腔中脑动脉持续性狭窄的病理状态[1]。CVS 的发生与动脉瘤破裂密切相关，也常见于外伤性脑损伤后[2]。CVS 引起血供中断导致的神经缺失、梗死和不可逆的

* 基金项目：辽宁省自然科学基金资助项目（201102240）。