

# 感染免疫学

主编·章晓联

 人民卫生出版社

# 感 染 免 疫 学

主 编 章晓联

编 者 (按姓氏笔画排序)

武汉大学医学部

|     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|
| 马运峰 | 王其龙 | 冯 勇 | 刘 俊 | 刘 敏 |
| 刘 静 | 刘松梅 | 孙 平 | 孙 慧 | 李冬青 |
| 汪付兵 | 陈 芳 | 陈 明 | 陈海丹 | 何瑞芬 |
| 周 菁 | 周从良 | 罗凤铃 | 唐 洁 | 曹忠平 |
| 章晓联 | 喻 晶 | 彭晓龙 | 潘 勤 |     |

福建省医学科学研究所 王 坤

武汉科技大学医学院 王育斌

恩施市中心医院 向 田

北京协和医学院 李小燕

湖北大学生命科学院 陈 凡

三峡大学医学院 吴红艳

湖北中医学院 徐 菁

咸宁学院医学院 曾 洁 廖纪元

学术秘书 潘 勤 (兼)

人 民 卫 生 出 版 社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

感染免疫学/章晓联主编. —北京: 人民卫生出版社,  
2008.6

ISBN 978 - 7 - 117 - 10183 - 7

I. 感… II. 章… III. 传染病 - 免疫学

IV. R510.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 060081 号

## 感染免疫学

主 编: 章晓联

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 北京智力达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 20.5 插页: 4

字 数: 492 千字

版 次: 2008 年 6 月第 1 版 2008 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 10183 - 7/R · 10184

定 价: 42.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

# 主编简介

---



**章晓联博士**，女，武汉大学珞珈学者特聘教授，博士生导师。主要从事胞内病原微生物的分子致病机制和感染免疫研究，在分子及感染免疫、糖基化和免疫治疗方面取得了突出成绩。

章晓联于 1997 年获得香港科技大学生物化学博士学位，1997~2001 年在美国 University of Maryland at college Park 做博士后和研究专家，2001 年底作为武汉大学引进人才回到武汉大学医学院工作，聘为教授、博士生导师、2004 年赴日本福岛医科大学做访问研究学者，从事感染免疫与分子生物学研究。任武汉大学基础医学院免疫系主任，武汉大学过敏及免疫相关疾病湖北省重点实验室免疫研究室主任、武汉大学病毒学国家重点实验室教授、博士生导师。并担任中华医学会武汉市微生物及免疫学会副理事长，武汉市免疫学会副理事长，中国生物化学与分子生物学学会糖复合物专业委员会委员，中华医学会微生物及免疫学会青年委员和《中国病毒学》等杂志编委。

章晓联教授曾获得第二届“中国青年女科学家提名奖”(全国共 5 名)；获教育部新世纪优秀人才支持计划；获得教育部优秀青年教师资助计划；湖北省杰出青年基金获得者；武汉大学十大杰出青年等荣誉；培养博士后、博士和硕士 30 余名。

章晓联教授是国家教育部《医学免疫学》双语教学示范课程负责人。主编了《诊断免疫学》和“十一五”规划教材《医学免疫学》等多部教材和学术著作。

她发表了核心期刊以上学术论文 70 余篇，发表在国际 SCI 收录的研究论文 40 余篇，如以第一作者或通讯作者在 J. Immunol、Infect. Immun 等杂志发表文章，被国际权威杂志 Nature、Nature Reviews Microbiology 等引用 240 余次。章教授主持和参与了国家 973、国家自然科学基金和省部级科研项目等多项基金项目。申请了发明专利 19 项，已获得授权发明专利 6 项。

# 前 言

---

《感染免疫学》一书主要介绍感染免疫学的最新理论知识和研究所采用的最新技术手段及其应用。20 世纪以来,医学微生物学发展不断融合了免疫学、分子遗传学和细胞生物学的研究方法,对进一步理解宿主细胞和微生物致病机制间的分子联系起到了极其重要作用,尤其是将免疫学的研究范围拓宽到了微生物防御,并且在研究哺乳动物器官的自身调节和致病机制中发挥了积极作用。如今,免疫学技术的发展突飞猛进,如单克隆抗体技术、ELISA 和 ELISPOT;流式细胞术的荧光活性细胞分选系统、细胞分离检测、细胞因子的细胞计数分析;运用四聚体技术对抗原特异性 T 细胞应答的定量分析等技术。免疫学的发展进程相当迅速,因此免疫学技术方法的改进和更新以及前沿技术的学习都是很有必要的。

《感染免疫学》是一本系统介绍当代医学和生命科学的前沿学科感染免疫学的为数不多的专业参考书。当前传染性疾病研究是纳入我国“十一五”重大研究计划的重要内容,而感染免疫是传染性疾病的重要研究内容,该书介绍了感染性病原体(细菌、病毒和真菌等)导致的固有免疫和适应免疫机制,详细介绍主要检测原理、方法和手段,还介绍了当前国际这一领域的最前沿进展,是一本既有理论、又有研究方法的实用性书籍,可作为研究生教材,也适合广大科学研究人员使用。

《感染免疫学》一书介绍的理论和运用之间交互连贯,结合感染免疫学基础理论和技术的最新发展动态,为在微生物学、病毒学、真菌学、寄生虫学、免疫学和医学等领域研究的学者提供了很好的平台。本书内容深入浅出,图文并茂。全书内容包括:①感染性病原体(细菌、病毒和真菌等)导致的固有免疫和适应免疫机制;②感染性疾病免疫应答的主要检测原理及方法;③感染动物模型;④人类感染性疾病的免疫学检测手段等。

希望这本书可以成为免疫学和微生物学之间关联的纽带,并且能够使这两门学科建立更紧密的联系。毕竟,感染是原核生物和真核细胞间相互联系的结果,在哺乳动物中,免疫系统发挥重要作用。

参加此书编写的人员在微生物学、病毒学、真菌学、寄生虫学和免疫学等领域都具有丰富的经验和国内外感染免疫方面的多年研究经历。我们感谢全体编写人员对此书的倾心付出。我们感谢参与此书编写的所有参编者,让我们共同来分享此成果。

希望这本书的出版会使您的研究受益,我们同时也期待读者对这本书提出宝贵的反馈意见。

章晓联

2007 年 12 月

# 目 录

|                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------|-----|
| 第一章 感染性病原体的免疫应答机制.....                                       | 1   |
| 第一节 感染性病原体的固有免疫机制.....                                       | 1   |
| 第二节 感染性病原体的适应免疫应答机制.....                                     | 9   |
| 第三节 炎症反应及细胞因子在感染中的作用机制 .....                                 | 20  |
| 第二章 感染性病原体免疫应答的检测原理及方法 .....                                 | 33  |
| 第一节 感染性疾病中白细胞的分离和检测原理及方法 .....                               | 33  |
| 第二节 分泌细胞因子的 T 细胞的检测及分离 .....                                 | 47  |
| 第三节 人树突状细胞的分离和增殖 .....                                       | 65  |
| 第四节 使用生物信息学方法预测 MHC 配体和抗原的 T 细胞表<br>位: 抗原表位疫苗的应用 .....       | 76  |
| 第五节 T 细胞免疫反应定量分析中四聚体技术的应用 .....                              | 84  |
| 第六节 应用 ELISA、ELISPOT、流式细胞术及 RT-PCR 定量<br>检测 T 细胞反应细胞因子 ..... | 88  |
| 第七节 应用微点阵技术研究病原体感染后宿主基因转录变化.....                             | 101 |
| 第八节 鼠吞噬细胞的分离及功能检测.....                                       | 105 |
| 第九节 细菌感染小鼠的免疫反应.....                                         | 116 |
| 第十节 免疫应答的体内检测.....                                           | 135 |
| 第十一节 鼠 T 淋巴细胞杂交瘤单克隆细胞系的建立和发展 .....                           | 148 |
| 第三章 感染动物模型.....                                              | 170 |
| 第一节 鼠的结核杆菌模型.....                                            | 170 |
| 第二节 利什曼病模型.....                                              | 187 |
| 第三节 鼠类巨细胞病毒动物模型.....                                         | 195 |
| 第四节 啮齿类动物模型.....                                             | 211 |
| 第五节 DNA 疫苗接种方法 .....                                         | 227 |
| 第六节 佐剂的应用和制备.....                                            | 235 |
| 第七节 免疫细胞体外分析.....                                            | 246 |
| 第四章 人类感染性疾病的检测手段.....                                        | 254 |
| 第一节 T 细胞的分离及 T 细胞系的建立和克隆 .....                               | 254 |

|             |                              |     |
|-------------|------------------------------|-----|
| 第二节         | 人 T 细胞的生长转化 .....            | 267 |
| 第三节         | 人杀伤细胞的产生和特征 .....            | 278 |
| 第四节         | 人类细胞因子的测定 .....              | 285 |
| 第五节         | 原位免疫反应的检测: 免疫荧光和免疫酶联技术 ..... | 308 |
| 第六节         | 人单核细胞和巨噬细胞的分离、纯化和培养 .....    | 314 |
| 中英文索引 ..... |                              | 323 |

# 1

## 第一章

# 感染性病原体的免疫应答机制

---

免疫系统的任务主要是保护宿主免受入侵的感染因素的攻击，由此防止感染性疾病的发生。病原微生物（病毒、细菌、真菌、寄生虫等）应用各种机制来逃避免疫系统的攻击，而免疫系统也会通过非特异性（固有性、先天性）或特异性（适应性，后天获得性）免疫反应形成相应的防御机制。通常情况下，感染引起的免疫反应需要固有性和适应性免疫系统的共同参与。

各种微生物通过不同的机制侵袭宿主。病毒可在宿主细胞内自主复制，故其属于胞内病原体；而蠕虫无法在宿主细胞内存活，属于胞外病原体。此外还有细菌、真菌和原生物。细菌也可分为胞内菌和胞外菌。

入侵的病原体是否致病很大程度上取决于宿主的免疫反应。要对宿主和入侵的病原体之间的反应进行分析，需要用到多种免疫学方法。本书归纳了一些免疫学方法，特别适于鼠和人对感染因素免疫反应的体内外分析。本篇是对抗感染免疫防御机制的简要回顾，为读者在后续章节中的学习提供导向作用。

## 第一节 感染性病原体的固有免疫机制

### 一、概述

固有免疫或非特异性免疫（先天性免疫系统）是一种不需要对抗原特异性识别的保护机制，但是它可以增强特异性免疫的保护作用。非特异性免疫机制包括吞噬作用、急性炎症反应、I型干扰素和肿瘤坏死因子等。

机体内存在一些防御机制，能够随时抵抗那些入侵的病原体而无需预先激活或诱导，它们预先存在于所有个体但不存在于抗原特异性免疫反应中。巨噬细胞、肥大细胞及其相关成分是先天性免疫系统的重要组成部分，尤其是在免疫反应的早期。人体皮肤

表面上皮构成了一道天然的屏障,防止感染性物质的侵袭,除了作为生理性屏障,皮肤上皮还具备化学性特征,可以用于帮助抑制微生物的入侵,这些化学因素包括脂酸(皮肤)、低 pH 值(胃)、抗菌多肽(肠)以及酶(溶菌酶酵素、唾液)。一旦病原体通过了保护性的上皮屏障,细胞反应机制就会被激活。

入侵的病原微生物上的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)由相应细胞中或体液中的受体识别。在 PAMP 的受体中,Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)尤为重要。TLR 可识别病原微生物并将信号转导到宿主细胞内,促使宿主防御机制激活。粒细胞由中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞组成,它们都具有高度的抗感染活性。中性粒细胞可吞噬细菌并最终杀死它们;嗜酸和嗜碱性粒细胞最初通过释放毒性效应分子来攻击胞外病原体,尤其是寄生虫。嗜酸性粒细胞的成熟和分化是由 IL-5 调控的,而嗜碱性粒细胞则由 IL-4 调控。这些类型的细胞表达 Fc 受体以便 IgE 识别, IgE 是宿主受体与寄生虫之间的桥梁。

1. 单核-巨噬细胞系统 单核吞噬细胞包括组织中的吞噬细胞和血液中的单核细胞。在受到细胞因子,尤其是 IFN- $\gamma$  刺激后,单核吞噬细胞就具有杀死吞噬的微生物的能力。然而,在吞噬细胞的静息阶段,其抵抗微生物的潜能很低,故常被当作许多病原微生物的滋生地,活化的吞噬细胞可通过不同的机制杀死并降解这些胞内病原体。其中最主要的机制为:

(1) 活化的巨噬细胞会产生毒性效应分子,尤其是反应性氧中间物(ROI)和反应性氮中间物(RNI)。鼠类巨噬细胞的 RNI 产物是最有效的抗菌物质,也有研究数据表明在感染性疾病中人类巨噬细胞也产生 RNI 产物的存在。

(2) 在微生物被巨噬细胞吞噬后,在胞内形成吞噬体,吞噬体与溶酶体融合形成吞噬溶酶体。在吞噬溶酶体内,溶菌酶呈酸性且具有较高的活性,这些溶菌酶在细菌降解的最初反应中起作用。

(3) 胞内菌和宿主细胞都需要铁离子,因此对各种病原体来说,吞噬溶酶体内铁离子的损耗可降低其在胞内的存活机会。

(4) 对一些胞内病原体来说,色氨酸是一种重要的氨基酸,如刚地弓形虫。因此,这种氨基酸的快速降解会使那些敏感病原体的胞内复制受到影响。

胞内的病原体通过各种逃避机制来延长它们在巨噬细胞内的存活时间。有些病原体虽然处在很低的活性水平,但在活化的巨噬细胞体内仍可持续存在,如结核杆菌可长期存在于巨噬细胞体。为了竞争胞内的铁离子,一些病原体可以通过有效的获铁机制来避免被 ROI 或 RNI 杀死。一些微生物产生解毒酶,例如过氧化氢酶和超氧化酶可直接使 ROI 失活,从而间接地损害 ROI 效应。

总之,体内的巨噬细胞尽职尽责,它可使机体免受胞内病原体的侵袭。因此,一旦巨噬细胞被激活,它便具有杀死胞内病原体和抑制病原体生长的能力。但一些病原体也可以存活很长一段时期,因此可造成慢性感染和慢性病。

除了在非特异性抗感染宿主反应中发挥作用,巨噬细胞在特异性免疫反应也发挥一定的作用。因此,用于评估鼠与人巨噬细胞功能的方法将分别在后面有关章节中描述。巨噬细胞内的微生物的降解产物为抗原肽,它可以导致细胞表面“异源性”细菌抗原的表达,从而与相应的主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)

作用。这些由 MHC-I 类或 MHC-II 类分子递呈的抗原多肽可以激活特异性 T 淋巴细胞。

2. 补体系统 在先天性免疫系统的体液机制中,补体的活化通路是最为重要的。补体激活的经典途径需要特异性抗体的出现,因此微生物的感染会激活该途径。补体活化旁路途径的启动是由抗体缺乏所引起的。C3b 一般是通过表达于胞浆的 C3 自发分裂形成,可连接于细菌表面。补体旁路活化途径的 B 因子以非共价键连于 C3b,可被血清蛋白酶因子 D 剪切,形成一个较大的片段 Bb 和一个较小的片段 Ba。细胞溶解素通路的触发是通过裂解素(也称为 D 因子)与 C3bBb 复合物相连接。与宿主细胞相比,细菌缺乏补体控制膜蛋白,如促衰变因子(decay accelerating factor, DAF)、同源限制因子(homologous restriction factor, HRF)以及膜辅蛋白(membrane cofactor protein, MCP)。通过 C3bBb 复合物激活 C3/C5 转换酶,更多的 C3 分子分裂,导致大量 C3b 形成,这些产物可连接到细菌表面并启动细胞溶解素途径。另外,微生物表面的 C3b 通过补体受体可增强微生物的摄取能力。最后,补体的裂解产物 C4a 和 C5a 对巨噬细胞来说是化学诱导剂,因此可造成中毒反应。近几年发现第三条补体活化通路:MBL 凝集素补体活化途径。该途径也在宿主抵抗感染性病原体中发挥重要作用。

3. 其他防御机制 我们之所以有能力抵抗每天侵入我们身体的众多微生物,依靠的是非特异性和特异性免疫机制。一些非特异性免疫机制可以在微生物侵入人体时将其杀死或阻止其蔓延。例如皮肤表面的汗腺分泌乳酸,可以形成较低的 pH 环境,杀死皮肤表面的细菌;细菌还可以被黏液腺的分泌物如泪液和唾液杀死,因为黏液中含有溶菌酶,这种酶可以破坏革兰氏阳性细菌的细胞壁导致细菌的死亡。

一旦微生物侵入人体之后,就由其他非特异性免疫机制进一步发挥作用。吞噬作用是指中性粒细胞和巨噬细胞可以吞噬黏附在细胞表面的微生物,并利用细胞内的溶酶体将微生物降解。在细胞内,被吞入的微生物可以被超氧阴离子、过氧化氢或者溶酶体内的低 pH 环境破坏,溶酶体还可以通过含有的多种酶类降解微生物。一些个体对慢性感染特别易感,例如患有慢性肉芽肿疾病的患者,因为他们体内的巨噬细胞不能产生超氧阴离子。另外,微生物侵入机体可导致急性炎症反应的发生,包括产生一系列的血浆蛋白帮助抵抗感染。这些血浆蛋白包括 C 反应蛋白和补体,当它们非特异性地包裹细菌的表面时,能够增强中性粒细胞和巨噬细胞的吞噬作用。

通过接触、消化和摄入等途径,人类每天接触到亿万潜在病原体。机体抵抗感染的能力一部分有赖于适应性免疫系统(adaptive immune responses),该系统记忆早期所遇到的特异性病原体,并可在再次遇到时摧毁该病原体。然而,适应性免疫反应对新病原体的第一次接触反应相当迟钝,这是由于 T 细胞和 B 细胞的特异克隆需要激活和扩增;因此需要约一周的时间使该反应激活。与此对应的是,细菌以对数生长,可在一个小时内产生两千万个后代。所以,在与新病原体接触的最初至关重要的时刻,机体依赖固有免疫系统以保护我们免受感染。

固有免疫反应并不是跟适应性免疫反应一样针对特异的抗原。它们依靠一群可识别病原体的保守序列并很快被激活以摧毁吞噬细胞和侵入者的细胞和蛋白。适应性免疫系统最早出现在 50 亿年前的进化过程中,并主要存在于脊椎动物。而固有免疫反应在脊椎和非脊椎动物上都可见到,并且它们最基本的调节机制是相似的。

## 二、人体免疫特点

1. 上皮细胞和组织 在脊椎动物中,皮肤和其他上皮细胞,包括肺和肠道,提供了一个在机体内部和外界的物理屏障。邻近细胞组成的致密连接有效的阻挡了病原体侵入体内。内部的上皮细胞组织也覆盖有一个黏液层以保护机体抵抗微生物的、机械的、化学的损伤;许多两栖和鱼类也有一层黏膜覆盖在它们皮肤表面。这种黏液质的覆盖物主要由分泌型的黏蛋白和其他糖蛋白组成。上皮组织细胞也利用上皮纤毛的定向摆动以清除病原体。

黏液层亦包含可杀伤或抑制病原体生长的成分。在许多动物和植物体内,都可发现一种含量丰富的抗微生物蛋白,我们称之为防御素/内源性抗菌肽,它们的片段一般很短(12~50个氨基酸),疏水,在折叠结构有两性区域。它们构成了一个多样的体系,有广谱的抗微生物活性,包括可以杀死或灭活革兰氏阳性和阴性菌、真菌(包括酵母菌)、寄生虫及包膜病毒。在中性粒细胞中也有大量的防御素,它们可以杀死被吞噬的病原体。

目前防御素是如何杀死病原体的机制还不是很清楚。有一种可能性就是防御素利用它的疏水性或两性区域插入到病原体的膜上,破坏了膜的完整性。在抵抗感染中防御素可能是最有用的治疗措施,既可单独作用,又可联用许多传统药物。

2. 人类细胞识别病原体的相关特征 微生物偶尔会突破上皮屏障,直到固有免疫和适应性免疫系统识别并摧毁它们。因此,免疫系统必须能够区分自我和非我。我们将在以后章节讨论适应性免疫如何激活。固有免疫系统依靠在病原体中很普遍但在宿主中不存在的特殊分子形态来识别病原体的。这些病原体中的特殊分子被称作病原相关分子(pathogen-associated molecules, PAM),可以刺激固有免疫反应-炎性反应中的中性粒细胞和吞噬细胞的吞噬作用。即使宿主以前并未接触过这种特殊病原体,这些反应出现的时间也会很早。

病原相关免疫刺激因子有很多形式。原核生物的翻译启动子与真核生物的不同,它的启动氨基酸是甲酰甲硫氨酸而不是甲硫氨酸。因此,任何在N末端含甲酰甲硫氨酸的肽链都可以作为细菌的启动子。对中性粒细胞来说,含甲酰甲硫氨酸的肽链可作为一个非常有潜力的化学诱导物,因为中性粒细胞可以非常迅速地识别可产生这种肽的细菌。

另外,许多微生物的外表面是由一些并不能在多细胞宿主体内出现的分子组成,这些分子也扮演着免疫刺激物的角色。它们包括细胞壁肽聚糖和鞭毛,例如革兰氏阳性菌上的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和革兰氏阴性菌上的磷壁酸。它们也包括真菌细胞壁上的一些分子,如酵母聚糖、葡聚糖和壳多糖。许多寄生虫亦含有特有的胞膜分子,这些胞膜分子也可以做免疫刺激物,如疟原虫上的糖基磷脂酰肌醇(glycosyl phosphatidyl inositol, GPI)。细菌DNA上的短序列也可作为免疫刺激物:其罪魁祸首就是“CpG基序”,该基序由去甲基烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的CpG组成,其侧面还挂有2个5'嘌呤和2个3'嘧啶基团。这种短序列在细菌DNA中比脊椎动物DNA至少多20倍,它可以激活巨噬细胞,刺激产生感染反应,增加B细胞产生的抗体数量。

各种层次的病原相关免疫刺激物通常出现在病原体表面可重复区域。它们由宿主体内几个专属受体识别，该受体统称为模式识别受体。这些受体包括：血液中的可溶解受体（补体系统成员）和宿主细胞表面的膜结合受体（Toll 样受体家族成员）。细胞表面受体有两种功能：启动吞噬病原体和激发宿主细胞上的刺激固有免疫反应的基因表达。在某些情况下，可溶性受体也可辅助吞噬作用而直接杀灭病原体。

3. 补体激活针对病原体的吞噬或溶解作用 补体系统由 30 多个相互作用的可溶性蛋白组成，它们主要在肝脏中生成而在血液和外周组织液中循环。它们最初的定义是因其具有放大和补充抗体作用的功能，但是有些补体成分也可以成为直接被病原相关免疫刺激物激活的模式识别受体。

补体成分反应前需要激活。依据补体激活的起始顺序不同，可以分为三种途径：经典途径、凝集素途径和旁路途径。所有的途径最终都要经过 C3 的激活途径，它是补体的中枢成分。个体缺少 C3 易受细菌感染。早期的补体成分都是以酶原形式存在，它们被蛋白水解酶水解而逐步激活。这一系列中酶原的分解都可以成为活化的蛋白酶，它可以水解下一个成分的酶原。在这个链式反应中每个激活酶都水解下一个酶原分子，由此形成了一系列放大的级联反应。

这些水解酶释生物激活小肽片段以及与膜结合的较大片段。膜结合的大片段通常是在病原体表面，有助于实现该片段的下一个反应。按这种途径，补体激活被极大地限制在它开始作用的细胞表面。C3 的大片段叫做 C3b，共价结合在病原体表面，它与已水解的 C2 形成一个蛋白水解复合物。C3b 同时也被病原体上的特异性受体识别，它可增强吞噬细胞对该病原体的吞噬作用。C3 的小片段被称为 C3a，同 C4、C5 片段一样，作为一个独立可激发炎症反应的可溶分子，该分子是吞噬细胞和淋巴细胞在炎症部位发挥作用的补充信号。

经典途径是由结合在微生物表面的 IgG 或 IgM 抗体分子激活。甘露糖凝集素（mannan-binding lectin, MBL）是第二种补体激活途径的起始蛋白，它是一种血清蛋白，由六个碳水化合物的头环绕一个胶原样的柄构成。这种组装结构可特异性结合病原微生物表面的甘露糖和岩藻糖残基。MBL 与病原微生物的糖类结合后，构象发生改变，激活了与之相连的 MBL 相关蛋白酶反应。在旁路途径中，C3 小剂量自发激活，产生的 C3b 共价连接宿主细胞和病原体。宿主细胞产生一系列补体抑制蛋白阻止补体反应递呈在它们的细胞表面，而病原体缺乏这些蛋白而被消化降解。经典或者凝集素途径也可以通过一个正反馈环而激活旁路途径，并放大它们的反应。

由三种途径产生的膜化的 C3b 激发更进一步的级联反应，该反应可导致晚期补体成分组合形成膜攻击复合物。这些复合物在病原体上靠近 C3 激活的部位，在病原体膜上形成了一个水孔。因为它使水分子自由通过胞膜，而蛋白质等大分子难以进入胞浆，最终导致膜内外渗透压差变大、细胞溶解、微生物细胞死亡。

补体的抑制、在完成清除病原体后，机体必须能够迅速灭活被激活的补体，而使其不能播散到旁边的宿主细胞。灭活激活的补体至少需要两个条件：首先，在血液中或宿主细胞表面特异性抑制蛋白一旦被蛋白水解酶激活，就通过结合或者水解某些补体分子终止级联反应。第二，许多在级联反应中激活的补体是不稳定的，它们必须立即结合级联反应中适当的补体分子，否则就会到达旁边的细胞膜上而很快

被灭活。

4. Toll 样蛋白是古老的模式识别受体家族 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 是模式识别受体家族的成员。果蝇 Toll 是一个跨膜蛋白, 它有一个很大的由一系列富含亮氨酸重复序列组成的胞外区。它最初被认为是一种影响形成果蝇胚胎过程中背侧极性建立的蛋白。可是在成年果蝇抵御真核感染中也有涉及。膜内信号易位传导途径使 Toll 下调, 当果蝇接触到病原性真菌感染时, 会导致 NF- $\kappa$ B 蛋白进入核内, 在核内它激活包括编码抗真菌防御素在内的多种基因。在果蝇中 Toll 家族的另一成员被病原体细菌激活, 导致抗细菌防御素的生成。

人类至少有 10 个 Toll 样受体家族成员, 其中有些 TLR 在病原相关刺激的固有免疫识别中起着相当重要的作用, 包括 LPS、肽聚糖、酵母多糖、细菌鞭毛, 以及甲基化的胞嘧啶-鸟嘌呤二核苷酸 (CpG DNA)。虽然许多人类的 TLRs 利用 NF- $\kappa$ B 信号途径, 与果蝇 Toll 家族一样, 不同的人类 TLRs 被不同的配体激活。在哺乳动物中, TLR 激活刺激分子的表达不仅启动炎症反应, 而且辅助诱导适应性免疫反应。TLRs 在巨噬细胞和中性粒细胞表面表达丰富。它们作为一种预警系统以警告固有免疫和适应性免疫系统即将发生的感染反应。

与 Toll 和 TLRs 有关的分子似乎跟所有多细胞器官的固有免疫相关。在植物体内, 富含亮氨酸重复序列和 TLRs 的胞质部分同源区域的蛋白被认为能抵抗真菌、细菌和病毒的入侵。因此, 至少固有免疫系统中的两个部分: 防御素和 TLRs——在进化学上是非常古老的。它们在进化过程中的保守性显示了这些固有免疫在抵御微生物病原体入侵的重要性。

5. 吞噬细胞识别、摄取和清除病原体 在所有动物中, 无脊椎动物跟脊椎动物一样, 侵入的微生物被识别, 随之很快会被吞噬细胞所摄取。可是植物缺乏这种固有免疫反应。在脊椎动物体内, 巨噬细胞广泛定居于机体组织上, 尤其在感染出现部位含量丰富。它们也大量出现在结缔组织、肝脏和肾脏。这种长寿命细胞在机体组织里巡视, 是入侵微生物最早遇到的细胞。脊椎动物体内, 吞噬细胞家族第二个重要的成员是中性粒细胞, 它是一种短寿命细胞, 只在血液中大量存在而并不出现在正常、健康的组织中。在激活的巨噬细胞和微生物自己释放的含甲酰甲硫氨酸蛋白的刺激下, 中性粒细胞迅速对感染部位进行清除。

巨噬细胞和中性粒细胞有多种细胞表面受体, 使它们能够识别和吞噬病原体, 包括表面模式识别受体如 TLRs。而且, 它们有可识别适应性免疫系统表达的抗体 Fc 段的细胞表面识别受体。连接在病原体上的任何部位的识别受体, 都可以使吞噬细胞的原生质膜包裹病原体, 并以吞噬体的形式吞噬病原体。

一旦病原体被吞噬, 巨噬细胞或中性粒细胞就会立即清除并杀死它。吞噬细胞能够被酸化以及和溶酶体融合, 含有溶酶体酶和酸性水解酶的吞噬细胞可以减弱细菌细胞壁和蛋白的保护作用。溶酶体酶亦含有防御素, 约占中性粒细胞中整个蛋白的 15%。另外, 装配在吞噬细胞膜表面上的 NADPH 氧化酶复合体可以催化一系列毒性高的氧化衍生复合产物, 包括有过氧化物 ( $O_2^-$ ), 次氯酸盐 ( $HClO$ )、过氧化氢、氢氧基团以及一氧化氮 (NO)。这些毒素化合物伴随氧消耗而急剧增加, 称之为呼吸爆发 (respiratory burst)。巨噬细胞在清除病原体后一般能够继续存活并执行巡游功能, 而中性粒细胞

将死亡。已死亡和将死亡的中性粒细胞是急性感染伤口脓状物的主要成分。脓的特征是绿色粘稠状物，它是由于中性粒细胞中还有大量的含铜酶——绿过氧化物酶（myeloperoxidase，髓过氧化物酶），该酶也是激活呼吸爆发的成分之一。

如果病原体太大而无法被吞噬（大型的寄生虫如线虫），一群巨噬细胞、嗜中性粒细胞，或者嗜酸性粒细胞将聚集在侵入者周围。它们通过胞吐作用分泌防御素和其他溶酶性产物，同时也释放呼吸爆发的毒化产物。这种猛烈的攻击足以摧毁病原体。

许多病原体发展到可以避免被吞噬细胞消化。有些革兰氏阳性菌包裹有一层非常厚、黏液质的多糖覆盖物，称为荚膜，这些物质无法被补体或其他吞噬细胞受体识别。另外一些病原体可以被吞噬但是无法被杀灭，如结核分枝杆菌（mycobacterium tuberculosis）吞噬小体因此而得以存活。有些病原体逃避吞噬小体，而且其分泌性酶可以消除呼吸爆发产物的毒性。对于这种“狡猾”的病原体，这些第一线防御不足以清除感染，因而需要适应性免疫来应对它们。

6. 激活的吞噬细胞更新感染部位的吞噬细胞 当病原体侵入组织时，它通常也引发炎症反应。这种反应的典型特征是感染部位出现红、肿、热、痛，这是由感染部位的血管改变引起的。血管膨胀可允许血管内液体和蛋白通过，导致感染部位肿胀以及益于防卫的血红蛋白的聚集，也激活补体成分级联反应。同时，损伤血管附近的内皮细胞受到刺激而表达细胞黏附蛋白，有益于白细胞的黏附和血管再造，包括由中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞（巨噬细胞的前体）。

炎症反应由大量的信号分子介导。TLRs 的激活导致脂质信号分子如前列腺素和蛋白（多肽）信号分子如细胞因子激活，所有这些信号分子都参与炎症反应。补体的蛋白水解片段也参与炎症反应。有些激活的巨噬细胞生成的细胞因子有化学趋向性称为趋化因子（chemokine）。有些信号分子诱导中性粒细胞，而中性粒细胞是感染部位第一个被更新的细胞。其他较晚的有单核细胞和树突状细胞（dendritic cells, DC）。树突状细胞摄取病原体的抗原并携带它们到邻近的淋巴结处，在那里树突状细胞提呈抗原到淋巴细胞进入适应性免疫反应。其他细胞因子激发热反应升高体温。与此同时，发热有助于免疫反应抵抗感染，因为许多细菌和病毒等病原体在较低温度下更易生长，而适应性免疫反应在较高温度下，对病原体产生更强的杀伤作用。

有些炎症前信号分子刺激内皮细胞表达蛋白，这种蛋白可以激发血液在该处的小血管中凝固。通过堵塞血管和切断血液流动，有助于阻止病原体进入血流并播散到宿主的其他部位而产生感染。

然而，同一个炎症反应，在感染已控制部位是局限性的，却可在血流中扩散并产生毒素入血产生严重的后果，这种情况叫做败血症（septicemia）。全身性的炎症前信号分子释放进入血液可导致血管扩张、血容量减少、弥散性凝血，这种致命的情况称为感染性休克（septic shock）。不适当的或者过分激烈的炎症反应与有些慢性疾病有关，如哮喘。

随着吞噬作用的影响，有些病原体发展到可以抑制炎症反应或利用炎症反应传播感染。例如，许多病毒编码有效的细胞因子拮抗物以抑制炎症反应的发生。有些病原体则仅仅改变细胞因子受体的形态，所获得的编码基因来自于宿主。它们以高亲和力与细胞因子结合而阻断细胞因子的活性。有些细菌如伤寒杆菌，在肠道感染起始部位有炎症反

应，通过与细胞因子结合而阻断细胞因子的活性限制了炎症反应的进一步发展。

7. 病毒感染细胞采取强有力方式阻止病毒复制 对刺激适应性免疫反应至关重要的细菌和寄生虫表面的病原相关的免疫刺激物，却并不存在于病毒表面。病毒蛋白是由宿主细胞核酸编码的，组装病毒的包膜由宿主脂质体组成。双链 RNA (dsRNA) 是许多病毒循环复制过程中的媒介物。宿主细胞可以侦测到 dsRNA 的表达，并尝试清除病毒。

该过程包括两个步骤：第一，细胞将 dsRNA 降解成小片段（约 21 ~ 25 个核苷酸）。这些片段绑定宿主细胞中有相似序列的单链 RNA (ssRNA)，导致 ssRNA 被破坏。这种 dsRNA 介导的 ssRNA 损坏是 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 技术的基础。该技术被研究者用于阻断特异性基因的表达。第二，dsRNA 诱导宿主细胞生成和分泌两种细胞因子——干扰素- $\alpha$  和干扰素- $\beta$ ，它们可在感染细胞中以自分泌或在邻近未感染细胞中以旁分泌方式表达。干扰素与细胞表面受体的连接刺激了由 Jak/STAT 膜内信号途径介导的特异性基因转录子，导致非特异性降解 ssRNA 的核糖核酸酶激活。它也导致了蛋白酶的激活，该蛋白酶磷酸化并灭活真核翻译起始因子 2 (eukaryotic initiation factor 2, eIF-2) 关闭了将侵袭细胞的主要蛋白复合物。很明显，通过毁坏大部分病原体所含的 RNA 并瞬时中止主要蛋白复合物表达，细胞阻止病毒复制而不杀伤自身。然而，在很多病例中，病毒感染的细胞被白细胞杀伤以防止病毒复制。

8. 自然杀伤细胞 干扰素辅助脊椎动物自身抵抗病毒的方式是同时刺激固有免疫和适应性细胞免疫反应。我们将讨论干扰素如何增强自然杀伤细胞 (natural killer cells, NK cells) 活性。该细胞属于固有免疫系统，就像细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 一样，NK 细胞摧毁病毒感染细胞是通过诱导感染细胞自身凋亡实现的。但是，与 T 细胞不同的是，NK 细胞不能表达抗原特异性受体。那么，它是如何区分病毒感染细胞和未感染细胞的呢？

NK 细胞监视 MHC-I 类抗原的水平，MHC-I 类抗原表达在大部分脊椎动物体内细胞表面。这种抗原高水平出现会抑制 NK 细胞的杀伤活性，所以 NK 细胞会有选择性地杀伤低表达水平的细胞，包括病毒感染细胞和有些肿瘤细胞。许多病毒抑制 MHC-I 类抗原在被感染细胞表面的表达，为了避免被细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 识别。例如，腺病毒和 HIV 包膜蛋白以阻断 MHC-I 类基因转录。单纯疱疹病毒和巨细胞病毒阻断内质网膜上的蛋白翻译，该蛋白是转移蛋白酶体衍生物多肽从胞质进入内质网的通道；这种蛋白依赖最新的 MHC-I 类蛋白在内质网膜上包装并通过高尔基体转移到细胞表面。巨细胞病毒导致来自内质网膜上的 MHC-I 抗原转移到胞质中，在胞质中该抗原被蛋白酶迅速降解。由静止的其他基因编码的蛋白阻止来自内质网的 MHC-I 类抗原的转移到高尔基体上，或从高尔基体到胞质膜上。尽管可以通过这些途径避免 CTL 细胞的识别，病毒还要受到 NK 细胞的攻击。自分泌的产物 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$  激活 NK 细胞的杀伤能力，并且增加了非感染细胞的 MHC-I 类抗原表达，但被病毒感染的细胞却阻止了 MHC-I 类抗原的表达而被暴露，并且被激活的 NK 细胞杀伤。因此，病毒几乎不可能同时躲避固有免疫和适应性免疫的攻击。

NK 细胞和 CTL 细胞都通过诱导感染的靶细胞凋亡而杀伤它们，这一过程发生于病毒复制之前。但是，在感染早期有许多病毒获得了能够抑制凋亡的能力。前面有所描

述, 凋亡有赖于胞内蛋白酶水解级联反应, CTL 可以激发细胞表面凋亡受体的激活或者插入一个蛋白水解酶到靶细胞上。病毒蛋白能干扰这些途径的最初步骤。可是, 在一些病例中, 病毒编码的蛋白在它们的复制循环晚期发挥作用, 诱导宿主细胞凋亡, 这样被释放的病毒子代能够感染邻近细胞。

病原体与宿主防卫之间的战斗处于势均力敌状态。目前, 人类已取得初步的成绩。人们通过公共卫生措施、疫苗以及增强我们自身固有或适应性免疫系统的药物与病原体抗争。然而, 感染性和寄生虫性疾病依然是导致全世界死亡的主要因素, 新的流行病如 AIDS 也持续出现。病原体的迅速发展和它们无限制入侵人类机体以及逃避免疫应答的方式, 使我们无法完全赢得这场战争。

### 三、总 结

固有免疫反应是抵抗病原体侵入机体的第一道防线。它们也是特异的适应性免疫反应所必经的起始过程。固有免疫反应依赖于其对病原体保守的特征区的识别能力, 这些特征区不会在未受感染的宿主细胞上表达。这些特征区包括很多微生物表面抗原和某些病毒双链 RNA 分子上的核苷酸序列。很多特异性病原体抗原被 Toll 样受体蛋白质所识别, 这些抗原存在与植物、无脊椎动物以及脊椎动物中。在脊椎动物中, 细菌表面分子也是其生物学特性的补充成分, 一组血液蛋白一起作用使微生物的糖及其复合物成分分解的, 巨噬细胞和嗜中性粒细胞的吞噬作用, 同时会产生炎症反应。吞噬性的细胞分解的代谢酶类、抗微生物药物、活性氧用于杀灭侵入的病原微生物。另外, 它们释放信号分子, 启动刺激素 (stimulator), 产生炎症反应, 并且开始调整免疫系统产生相应的免疫能力。被病毒感染的细胞产生干扰素, 诱发一系列的细胞反应来阻止病毒复制并激活自然杀伤细胞和细胞毒性 T 淋巴细胞的抗菌活性。

(徐菁 孙平 章晓联 刘静)

## 第二节 感染性病原体的适应免疫应答机制

适应免疫应答 (或特异性免疫) 是对抗原特异性识别的保护机制。特异性免疫机制主要包括体液免疫和细胞免疫。

### 一、适应性免疫系统

如果说先天性免疫系统的各种成分是人体的第一道防线, 那么当入侵的微生物无法被非特异性免疫系统消除时, 适应性 (或特异性) 免疫系统就会被激活。适应性免疫系统有两个重要特性。第一, 免疫反应是抗原特异性的, 通过免疫细胞表面特异性抗原识别受体得以实现。例如, 免疫球蛋白在产生抗体的 B 淋巴细胞 (浆细胞) 表面, 而 T 细胞受体 (TCR) 在 T 淋巴细胞表面。第二, 特异性免疫系统具有记忆性这就允许抗原特异性效应细胞在第二次遇到相关抗原时能够快速反应。

B 细胞识别抗原的方式与 T 细胞完全不同。B 细胞表面表达的抗体 (随后由浆细胞分泌) 可直接与天然的可溶性抗原结合, 但是大多数情况下 B 细胞抗原只有在与其抗

原提呈细胞（APC）表面适当的 MHC 分子结合后才能最终活化 B 细胞产生抗体。而 T 细胞通过表面表达的 TCR 与 CD3 多肽复合物以非共价键相连，CD3 可向 T 细胞内转导活化信号，从而导致细胞因子基因转录，促使 T 细胞活化。

在对抗感染因素的特异性细胞免疫反应中，有两种定义明确的和一些定义不甚确切的 T 细胞亚类。细胞表面相关分子的表达，可通过特异性的单克隆抗体对它们进行鉴别并显示其表型特征。另外，在流式细胞仪（flow cytometer）或磁珠分选细胞中，单克隆抗体还可用于分离细胞亚型。

成熟 T 细胞的亚型可分为 CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞。CD4<sup>+</sup> T 细胞可识别与 MHC-II 类分子相结合的抗原，它们能够产生各种细胞因子并有效地激活白细胞——尤其是 B 细胞和巨噬细胞，这些 CD4<sup>+</sup> T 细胞又被称为 Th 细胞。相对地，CD8<sup>+</sup> T 细胞可识别与 MHC-I 类分子相结合的抗原，它们的主要任务之一是裂解被病毒感染的靶细胞。因此，它们被称为细胞毒性 T 淋巴细胞。目前的技术可以对抗原特异性 T 细胞反应进行定量评估。也可以用 MHC-I 类分子的重链、β2 微球蛋白和相关抗原多肽组成的四聚体来分析 T 细胞反应。

T 细胞的活化需要两个信号。信号一的调控是在抗原识别后通过 CD3/TCR 分子复合物来实现的。信号二是共刺激信号，它的传递是通过受体-配体反应来实现的。在抗原提呈细胞上，主要的共刺激分子有 CD80（B7.1）和 CD86（B7.2），这两种分子都可以与 T 细胞上的 CD28 结合，由此发挥共刺激作用。另外，CTLA4（CD152）也可与配体结合 CD80/CD86 分子。CD28/CD152 与 CD80/CD86 的反应复杂，目前的证据表明 CD28 分子与其配体结合后向 T 细胞内传导正向的共刺激信号使 T 细胞活化；而 CD152 与其配体结合后向活化的 T 细胞内传递负向调节信号，抑制 T 细胞的进一步活化。表 1-1 是对一些与抗感染免疫有关的重要细胞表面分子所作的小结。

表 1-1 与抗感染免疫有关的细胞表面分子

| 细胞表面分子       | 在抗感染免疫中的作用                                |
|--------------|-------------------------------------------|
| TCRαβ        | αβT 细胞识别 MHC/多肽                           |
| TCRγδ        | γδT 细胞识别配体                                |
| CD1          | αβT 细胞识别脂质和糖脂                             |
| CD3          | 所有 T 细胞的标记，T 细胞中的信号转导                     |
| CD4          | MHC-II 类分子特异性的共受体，Th 细胞的标记分子              |
| CD8          | MHC-I 类分子特异性的共受体，CTL 的标记分子                |
| CD14         | 巨噬细胞上的结构识别受体，如可与 G <sup>-</sup> 菌的 LPS 结合 |
| CD40         | B 细胞和抗原提呈细胞表面的共刺激分子                       |
| CD154（CD40L） | T 细胞共刺激物（CD40 配体）                         |
| CD28         | 共刺激 T 细胞分子（正信号）                           |
| CD152（CTLA4） | 共刺激 T 细胞分子（负信号）                           |
| CD80（B7·1）   | CD28，CD152 的配体                            |
| CD86（B7·2）   | CD28，CD152 的配体                            |
| CD95         | Fas（Apo-1），调控凋亡信号的受体                      |