

免疫生物学

上海医科大学

前 言

近年来免疫学这门学科仍处于迅猛发展阶级，许多方面已跨入分子水平。我室于1983年为我校硕士研究生编写的基础免疫学讲义，又显得相当陈旧，特别是医学生用的有关免疫学的教材已有很大提高，因此亟待修改。这次修改的要求是尽量避免与医学生用的教材过多重复，加深加新各章内容，主要是有关免疫遗传学、免疫调节和淋巴因子与其他介质的最新发展，并将这本讲义称为免疫生物学。

全讲义共17章，比原讲义增加了3章，在加深内容的基础上，在面的方面有所精简，如删去原11~14章内容。新讲义的内容可分为如下五个部分：(1)免疫系统的细胞（第1—4章），(2)抗体与受体（第5~7章），(3)免疫遗传学（第8~9章）、(4)免疫应答的调节（第10~14章），和(5)免疫的效应机制（第15~17章）。

由于新讲义精简了最基本的免疫学知识，引入了较多新进展，因此比较适用于已学过基础免疫学的硕士研究生，特别是专攻免疫学的硕士研究生。对于一般临床研究生，如尚未学过基础免疫学的知识，最好能先自学医学微生物学的免疫部分，以提高课堂效率。

由于编写人员的水平有限和修改时间急促，内容必然有许多不足之处与错误，希望读者能随时提出宝贵的意见与指正，以利今后改正。

林飞卿 1986年9月

目 录

第一章 B淋巴细胞	
一、B细胞的发育与分化	1
二、B细胞的异质性——表面标志与功能	4
第二章 T淋巴细胞	
一、小鼠T细胞亚群	8
二、小鼠T细胞的个体发育与T细胞亚群的协调布局的克隆分析	9
三、小鼠T细胞克隆产物	10
四、人T细胞亚群的分类法与功能	12
第三章 巨噬细胞及其他协助细胞	
一、巨噬细胞及其他协助(“A”)细胞的生物学特性	15
二、“A”细胞在活化淋巴细胞中的作用	18
三、巨噬细胞加强免疫功能	19
四、巨噬细胞的效应功能	20
第四章 淋巴系统的结构与功能	
一、初级(或中枢)淋巴器官的组成与结构,淋巴细胞的发育过程	23
二、次级(或周围)淋巴组织器官的组成、结构与功能	25
第五章 免疫球蛋白的遗传学	
一、引言与基础知识	30
二、Ig基因结构、功能及其调控	31
三、Ig的同种异型	35
四、Ig的独特型	35
第六章 淋巴细胞的膜受体	
一、B淋巴细胞的膜受体	37
二、T淋巴细胞的膜受体	40
第七章 淋巴细胞的活化	
一、活化淋巴细胞的植物种子血凝素和有丝分裂原	42
二、常用的有丝分裂原	42
三、淋巴细胞的活化	44
第八章 MHC及其遗传学基础	
一、概述及基础知识	46
二、H—2复合物	47
三、HLA复合物	50
第九章 免疫细胞间相互作用的MHC限制	
一、MHC限制的现象	53

二、胸腺微环境在 MHC 限制性中的作用	57
三、MHC 基因产物在 MHC 限制中的作用	59
第十章 辅助性和抑制性 T 细胞在免疫调节中的作用	
一、抗体形成过程中细胞间相作互用	61
二、辅助性 T 细胞	62
三、抑制性 T 细胞	65
四、免疫调节环路	76
第十一章 免疫耐受性	
一、免疫耐受性的特点	72
二、免疫耐受性发生机理	76
第十二章 T 细胞和 B 细胞功能的淋巴因子调节	
一、淋巴因子与 T 细胞免疫应答	78
二、淋巴因子与 B 细胞免疫应答	81
第十三章 独特型网络与免疫调节	
一、独特型网络理论的实验依据	83
二、独特型和抗独特型相互作用对于免疫应答的调节	85
三、独特型调节网络	86
第十四章 补体	
一、补体的成分	88
二、补体的激活途径	89
三、C ₆ —C ₉ 的激活和聚合及膜损伤	92
四、补体系统的调节和自控	93
五、补体的生物学活性	93
第十五章 细胞介导的细胞毒性	
一、T 淋巴细胞介导的 CMC	96
二、自然杀伤细胞	99
三、抗体依赖 CMC 与 K 细胞	100
四、细胞毒细胞的生物学意义	101
第十六章 迟发性变态反应	
一、DTH 的类型与细胞学基础	103
二、微生物感染中的 DTH 应答	104
三、T _{DTH} 在皮片移植排斥中的作用	105
四、Lyt1 ⁺ T _{DTH} 样细胞在抗肿瘤应答中的作用	105
五、过敏性肉芽肿	105
六、DTH 应答的调节	106
第十七章 介质的释放和功能	
一、产生介质的细胞	108
二、介质的特性和功能	111

第一章 B 淋 巴 细 胞

抗体被发现后不久即被证实其为免疫球蛋白(Tiselius, 1937)。继后发现抗体是在免疫过程中由附近淋巴结的浆细胞产生(Fragreus, 1950), 和在无丙球蛋白血症患者淋巴结中没有浆细胞。1955年Coons等用免疫荧光技术直接观察到免疫球蛋白(Immunoglobulin, Ig)在浆细胞中生成, 从而确定抗体来自浆细胞。至于浆细胞系由淋巴细胞转变而来的观点, 是用细胞转移法所证实。该法系将用同位素标记免疫动物的淋巴细胞经静脉转移给辐射处理的小鼠, 结果发现放射性同位素出现在形状类似浆细胞的细胞中(Gowens, 1962)。1965年Gowens和Warner提出了著名观点, 即淋巴细胞的发育有二条分化途径; 一条通过胸腺分化成承担细胞介导免疫的T细胞系统; 另一条通过法氏囊(禽类)或在骨髓中(哺乳类)分化成为承担抗体(体液)免疫的B细胞系统。再以后弄清了浆细胞的前体是在成年鼠的骨髓和胚胎期的胚肝中形成。这样, 来自胸腺的细胞称做T细胞, 来自法氏囊或骨髓的称为B细胞。

一、B细胞的发育与分化

造血干细胞分化成为B细胞和最后成熟为浆细胞, 有二个明显阶段, 即抗原不依赖和抗原依赖阶段(图1-1)。第一阶段又称克隆扩大期。在此期内淋巴细胞分化成为许多克隆, 每一克隆仅对一种和结构极相近的抗原决定簇起作用。第二阶段是抗原选择克隆, 是在胚胎期和出生后逐步形成。这一阶段包括抗原诱导处女(virgin)B细胞, 直至分化成为记忆细胞和浆细胞。在这里, T细胞、巨噬细胞和抗体都起一定作用。

一、B细胞的发育周期: B细胞的前体起源于胚胎期卵黄囊的血岛, 以后移至胚肝, 然后到达骨髓。出生后骨髓是干细胞的唯一来源。在胚胎早期, 干细胞即迁移到初级淋巴器官, 分化成熟为免疫活性细胞, 然后经血流散布至周围淋巴组织器官。支持B细胞成熟的初级器官, 在禽类中是法氏囊, 哺乳类动物的B细胞则在胚肝和骨髓中成熟, 出生后在骨髓中发育, 直至终生。

B细胞的早期发育阶段, 曾在禽类和哺乳类中进行详情研究。La Douarin (1976)用细胞遗传学方法证实禽类的法氏囊, 如同胸腺一样, 于胎令第7~11日特别容易接受由血循环转移来此的干细胞。鸡胚中干细胞于胎令第8日出现在法氏囊的间质。在这里, 少数干细胞沿着红细胞和白细胞途径分化, 另些则转移到法氏囊腔壁的上皮细胞层, 分化与分裂成为上皮层内的B细胞滤泡。新生成的囊细胞含有 μ 链和轻链, 故能合成IgM抗体。编码Ig的重链与轻链基因位于不同染色体上, 说明禽类之所以能同时表达二种多基因家属。不成熟B细胞在法氏囊中增殖很快, 短期内即形成几千个淋巴滤泡, 各含有约1,000个B细胞。每一滤泡中B细胞各具有结合不同种类抗原的特异性。既然每一滤泡中的B细胞来自一个或极少数干细胞, 提示每一干细胞在法氏囊中能分化成为许多B细胞克隆。B细胞成熟后离开法氏囊经血流到达周围淋巴组织。然而在胎令16天(第21日孵出)前很少B细胞外出, 此时若切除法氏囊能阻止B细胞在周围淋巴组织器官中定位。法氏囊持续散布B细胞, 直至孵出后几

周，在性成熟时，随着高水平性激素的出现，法氏囊逐步消失。

哺乳类的B细胞和其他类型造血细胞都在骨髓中发育，但在胚胎早期系在胚肝中开始，以后才移交至骨髓。由于骨髓中其他造血细胞的数量远远多于B细胞，以及成熟B细胞常从血流到达骨髓，所以要研究B细胞在骨髓中的发育过程很难，只能在体外进行。研究方法是取胚肝与骨髓作混合培养，然后定期检测B细胞的分化标志。用此法，结合 $^3\text{H}-\text{TdR}$ 掺入法，证实B细胞在骨髓中增殖极快，例如豚鼠的骨髓估计每天能生成约 10^8 个B细胞。

胚胎期的胚肝是血细胞生成的活跃场所。小鼠（孕期为20天）胚肝的造血功能于胚令11天开始，持续到出生后几天。在胚令16~17日肝中可以看到 SIg^+B 细胞。若在胚令第11或12日取胚肝在体外培养，经5~16天后也可看到B细胞的形成。

二、B细胞的分化阶段：B细胞的分化阶段可以简要地分为抗原不依赖期和抗原依赖期（图1—1）。在抗原不依赖期，B细胞前体尚无抗原受体，细胞的分化、增殖依赖于初级淋巴器官的微环境影响。在哺乳类中，此期包括前B细胞期，此时细胞仅有胞内Ig，无表面Ig（即抗原受体），后者的出现表明前B细胞已进入B细胞期。抗原依赖阶段包括B细胞的活化，增殖和最后分化成为浆细胞。在这里，启动因素是抗原（如微生物）和有丝分裂原（如食物）等刺激；

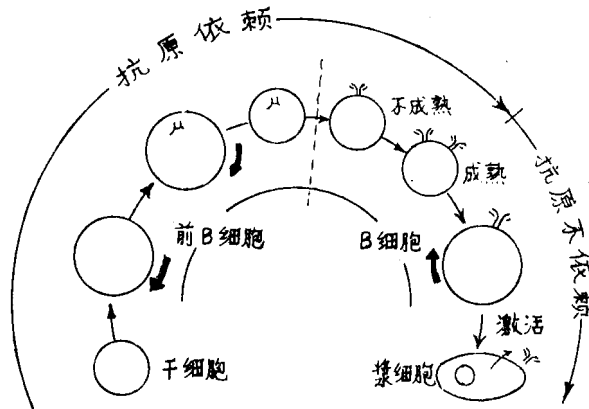


图1—1 B细胞生活史示意图（➡代表增殖活跃期）

1. 前B细胞：前B细胞包括一系列出现在胚肝和骨髓的细胞类型（图1—1），是B细胞发育过程被了解的最早的前体。发育过程如下：（1）最早期前体B细胞无Ig的重链和轻链，形大；（2）分化成形大、胞浆中有 μ 链的前B细胞；（3）进一步分化成为形小，胞浆内可见重链和轻链的前B细胞；（4）最后成为形小不成熟的 SIg^+B 细胞。个体发育的研究结果，提示鼠胚肝中前B细胞阶段为5天，然后进入对数期增殖，直至出生前几天才减缓。在小鼠中从前B细胞转变为不成熟 SIg^+B 细胞始于胚令17天。在人的胚肝中始于妊娠第3月末，持续至妊娠第6月末。在胚令的较晚期，干细胞自胚肝转移到骨髓。

2. B细胞：B细胞的最重要特征是膜Ig(SIg)，即抗原受体。B细胞在胚肝或骨髓中形成后，从血流来到脾脏、淋巴结和其他周围淋巴组织。脾脏是新生成、不成熟B细胞的主要集中场所，而淋巴结则以成熟细胞为主。在未接触相应抗原前它们是短命的，不进入循环池。接触抗原后，细胞分裂增殖，一部分成为形成抗体的浆细胞，一部分成为长命记忆细胞，后者是在再循环池中的主要细胞类型。

B 细胞在成熟过程中发生一系列表面成分与功能的变化。最不成熟 B 细胞 仅有 SIgM，以后出现 SIgD，与其他表面糖蛋白分子，如 Fc-IgG 受体、补体 3b 受体等。不成熟 B 细胞的 SIgM 对交联十分敏感，其结果往往是细胞被消失，而同一刺激剂导致成熟 B 细胞发生母细胞化、增殖和分化。未成熟 B 细胞易被抗原抑制的特征，可能是机体控制 B 细胞对自身抗原产生自身抗体的重要机理。

B 细胞的最早标志为 SIgM，以后有些细胞获得了 SIgD，然后转变为 SIgG、SIgA 或 SIgE（图 1—2）。在重链转变时，B 细胞可以同时有 2—3 种 SIg，如 SIgM、SIgD 和 SIgA，但不影响编码 SIg 抗原结合部位基因表达的改变。

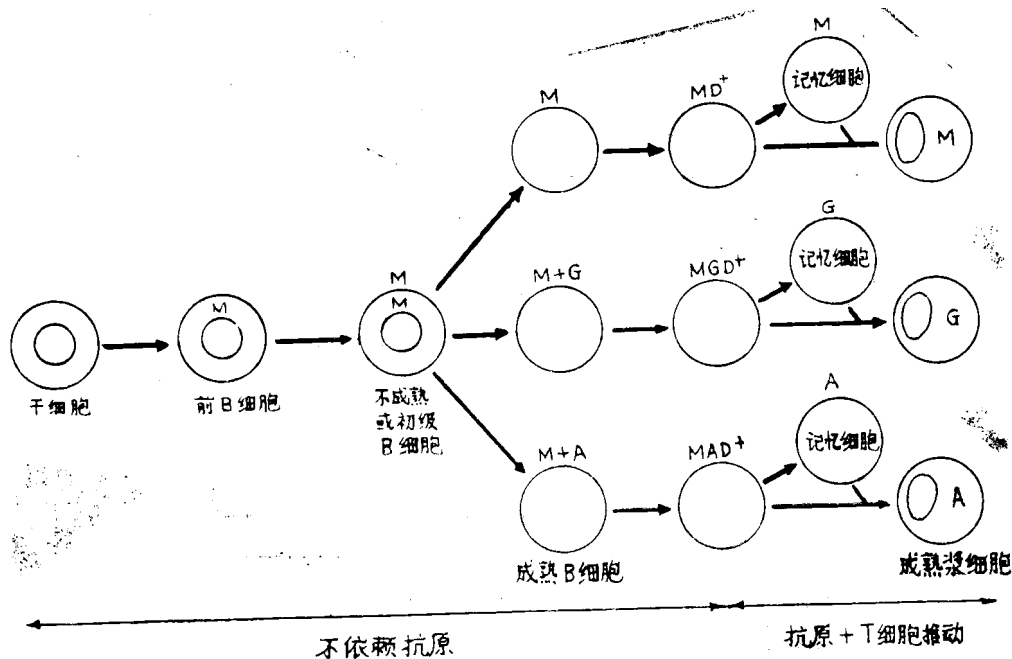


图 1—2 B 细胞个体发育过程中 SIg 的表达模式

Ia 抗原是 B 细胞的最重要表面组成之一。这些遗传上多形性糖蛋白是 B 细胞与活化 T 细胞相互作用中识别结构的组成部分，最后导致 B 细胞活化。在小鼠中，Ia 抗原在 B 细胞成熟时获得，而人类相等的 HLA-DR 分子在前 B 和 B 细胞上均有表达。当 B 细胞分化成浆细胞时消失。补体成分受体也是 B 细胞成熟时生成，和浆细胞时失去。

近年来，用不同品系小鼠的淋巴细胞免疫，发现小鼠的 B 细胞表面有一种同种抗原，叫做 Lyb 抗原。目前已发现有 7 种 Lyb 抗原，其中 1、2、4 与 6 出现在所有小鼠品系的 B 细胞上，功能不详，另 3 种 (Lyb3, Lyb5 与 Lyb7) 仅存在于成熟晚期的 B 细胞。后 3 种抗原的抗血清是用 CBA/N 品系小鼠制备，因为此品系小鼠缺乏成熟或晚期细胞 (Ahmed and Scherj 1979)

3. 记忆细胞：当成熟 B 细胞受到抗原刺激和 TH 细胞的辅助，开始分裂分化，其中部分细胞回复到小淋巴细胞形状，停止增殖。这种细胞是长命细胞。它们与同一抗原再接触时比未接触抗原的 B 细胞容易启动，所以称为记忆细胞。B 和 T 记忆细胞的形成，与机体再次遇到同一抗原对免疫应答加快加强有关。记忆细胞的大小、表面 Ig 类型、Ia 抗原等各不相

同，决定于它们转化成记忆细胞时刻的状态。

4. 浆细胞：B细胞分化的最后阶段是成熟的浆细胞。活性B细胞分化成浆细胞时SIg逐步消失，从原来合成膜Ig转变为分泌Ig。浆细胞的形态很典型，核在偏旁，状如车轮，细胞为椭圆形，高尔基体发育良好，有丰富胞浆内质网，这种结构与浆细胞是一种合成与分泌细胞相符合。据估计，浆细胞每秒钟能分泌几千个Ig分子。这种旺盛分泌功能的代价是减短寿命，它们的平均生存期仅2~3天。

二、B细胞的异质性—表面标志与功能

(一)表面标志（包括表面抗原与受体）的异质性

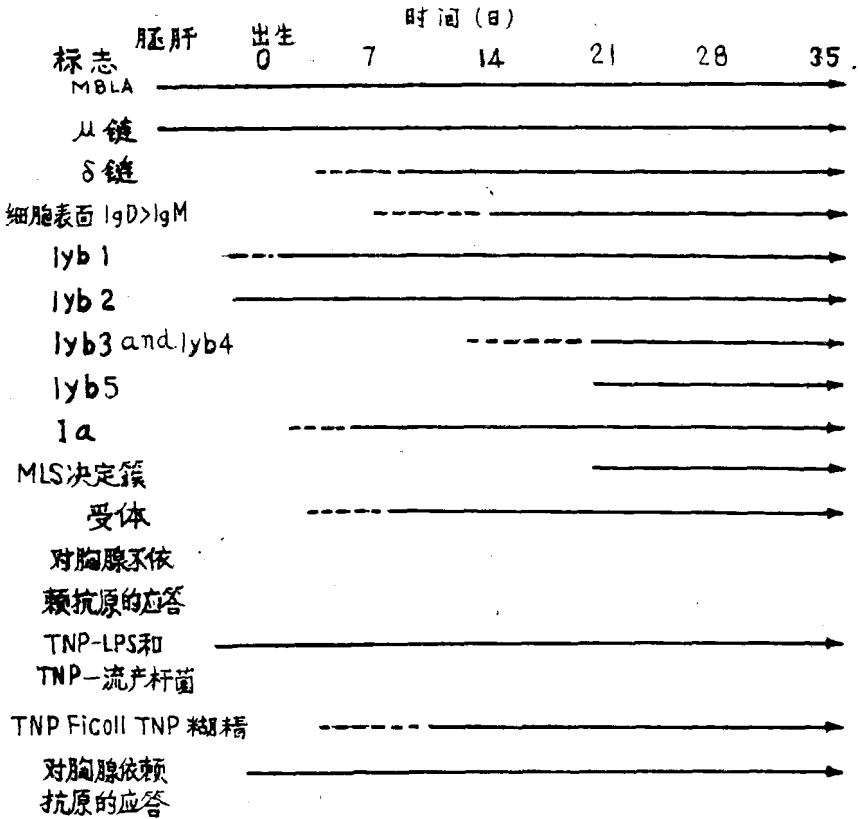


图1—3 小鼠B细胞表面标志发育顺序

1. SIg（表面Ig）：SIg是B细胞所独有，常被作为检测B细胞的标志；它是B细胞结合抗原的受体。用流动微量荧光测量仪(flow microfluometer, FMF)分析柱，证实不成熟小鼠与成熟小鼠不同，前者B细胞上的平均SIg密度较高和均一，嗣后，SIgM密度逐步减少，SIgD则增加。成年鼠中大多数B细胞同时有SIgM和SIgD，但不同细胞上二者的比例不同，大体上可区分为二类，即(1) SIgM>SIgD，和(2) SIgD>SIgM。

在小鼠发育过程中，SIg的出现顺序为SIgM⁺⁺⁺、SIgD⁻细胞→SIgM⁺⁺⁺⁺、SIgD⁺→SIgM⁺、SIgD⁺⁺⁺，即先出现SIgM，后生成SIgD。B细胞从休止状态被活化和转变成成为浆细

胞时, SIgD消失。记忆B细胞无SIgD。

2. Ia抗原: 即小鼠MHC-I区基因的产物, 又称免疫相关抗原。位于B细胞、部分T细胞和巨噬细胞等细胞的膜上, 为糖蛋白, 在T或B细胞与抗原提交细胞相互作用时参与识别抗原。鼠胚肝和骨髓中未成熟B细胞和新生小鼠脾脏B细胞都无此抗原或很少, 以后随年龄的增长开始生成。2周龄小鼠中约90% B细胞为Ia⁺。用抗IgM抗体处理新生小鼠可抑制全部IgM⁺细胞的生成, 抗IgD抗体抑制Ia⁺和IgD⁺B细胞但不抑制IgM⁺、Ia⁻或IgD⁻B细胞。同样, 抗Ia抗体能抑制新生小鼠生成Ia⁺和阻止大部分但不是全部IgD⁺和IgM⁺B细胞的生成。

3. 其他表面标志: 小鼠B细胞抗原(MBLA)和Fc-IgG受体的出现较早, 在胚肝的所有SIg⁺的细胞上都存在。相反, 补体受体(CR)与次要淋巴细胞刺激抗原(MLS)出现较迟。未成熟小鼠和成年鼠的骨髓中, SIgM⁺⁺⁺、Ia⁺、SIgD⁺、CR[±]细胞是主要B细胞。成年鼠脾中这类细胞则很少, 大多数是SIgM⁺、Ia⁺、SIgD⁺⁺⁺和CR⁺⁺细胞。B细胞活化时, CR即失去。

4. B细胞亚群: 按照B细胞某些抗原的有无, 如Lyb3和Lyb5, 可分成亚群。这二种同种抗原在B细胞发育的晚期才出现。用抗Lyb3和Lyb5血清检测, 新生期小鼠为阴性, 于生后2周才开始出现, 15周龄时达高峰。成鼠脾脏中50~60% B细胞为阳性。有一种(CBA/N)小鼠品系缺乏这二种抗原, 其机理是这种小鼠有一种“Xid”基因, 能控制B细胞表面某种抗原的形成和B细胞的功能。“Xid”基因是性联的隐性遗传。对CBA/N小鼠的研究发现其B细胞有如下缺陷: (1) 脾脏中SIg⁺细胞减少, 因而迟出现的SIgM⁺、Ia⁺、SIgD⁺⁺⁺、CR⁺⁺亚群的发育受阻。(2) B细胞的某种功能相当于新生正常小鼠; (3) 对TI抗原(胸腺不依赖抗原, 如肺炎球菌多糖体)的免疫应答缺损; (4) 不能对MLS决定簇有差异的细胞发生混合淋巴细胞反应(MLR); (5) 缺乏Lyb3⁺、Lyb5⁺和Lyb7⁺B细胞。以上说明“Xid”基因控制了一个特殊B细胞亚群的生成, 即Lyb3⁺、Lyb5⁺和Lyb7⁺B细胞, 和CBA/N小鼠有内在性的细胞发育缺陷。

(二) B细胞功能的异质性: 要了解正常B细胞的分化问题, 关键是研究作用于B细胞的信号及其作用机理。不同亚群B细胞对这些信号的应答可能有区别。采用抗Lyb抗体, 抗B细胞的单克隆抗体和物理方法区分B细胞亚群, 并结合有某些遗传缺陷的小鼠, 可用来研究B细胞亚群的功能。例如, “Xid”小鼠缺乏主要B细胞亚群——Lyb5⁺细胞。研究后者对不同刺激的应答, 有利于探讨Lyb5⁺和Lyb5⁻细胞的功能差异。

1. 诱导免疫耐受性的易感性: 成年小鼠与新生小鼠的B细胞对诱导耐受性的难易相差很大。最不成熟B细胞对抗IgM抗体引起的SIgM交联异常敏感, 可使这类细胞变成永久无反应性甚或克隆消失。用半抗原改造蛋白质, 如荧光素—HGG偶联抗原、处理新生小鼠的B细胞, 可使B细胞对一些半抗原结合的TI抗原, 如荧光素—聚合鞭毛素、荧光素—LPS, 的攻击不起反应, 说明TI抗原诱导的免疫耐受性为非T细胞依赖。与新生小鼠相反, 成年鼠B细胞形成免疫耐受性是短暂时, 而“Xid”成鼠B细胞的反应与新生正常小鼠相同。

2. B细胞亚群对有丝分裂原的应答: 人与小鼠的B细胞能对多种有丝分裂原的刺激起反应。这类物质能引起B细胞的多克隆增殖, 与/或分化成为分泌Ig的浆细胞。例如: LPS、PPD(结核菌纯化蛋白质衍生物)均能活化正常小鼠的B细胞亚群, 分化成为抗体分泌细胞。“Xid”小鼠B细胞对有丝分裂原, 特别是LPS, 不发生反应。

不同B细胞亚群对抗IgM抗体的应答不同。小于4周龄小鼠的B细胞对这类抗体的刺激不发生应答, 而4~8周龄小鼠对之有反应。又Lyb5⁻正常成年鼠的B细胞与Xid小鼠的B细胞

对抗IgM抗体的反应为阴性。可见抗IgM抗体和有丝分裂原的作用仅限于Lyb5⁺B细胞。

3. B细胞亚群对TI抗原的应答: TI 抗原有若干种共同特性, 其中最重要的是在浓度高时能诱导 B 细胞的多克隆增殖与分泌抗体; 浓度低时仅能刺激产生特异性抗体的 B 细胞。另一重要特点是TI抗原都是由许多相同重复决定簇聚合而成的多聚体。此外, 许多种TI抗原在体内不易降解, 原因是体内缺乏相应的酶。下表是TI抗原的主要种类及其特性。

表 1—1 几种主要TI抗原及其特性

抗 原	对降解的抗力	多聚体性质	多克隆活化
脂多糖 LPS	+	+	+++
Ficoll	+++	+++	-
聚丙烯酰胺	+++	+++	-
葡 聚 糖	++	++	+
果 聚 糖	++	++	+
多-右旋-氨基酸	+++	+++	-
肺炎球菌多糖	+++	+++	+
聚合鞭毛素	+	++	++

半抗原与TI抗原偶联后, 可用于刺激针对半抗原的胸腺不依赖抗体应答。

多克隆活化剂对 B 细胞的刺激作用与 B 细胞的抗原受体无关。对于这类活化剂的受体问题, 可以用不同纯品系小鼠对特定TI 抗原应答的对比来研究。C₃H/HeJ 小鼠的B细胞对 LPS 不发生应答, 原因是小鼠的B 细胞缺乏相应受体。此突变基因位于第十对染色体上, 同时也编码B细胞表面的另二种抗原, 即Lyb2 和 Lyb4。这种突变小鼠品系对其他 TI 抗原应答都正常, 提示B 细胞表面有许多有丝分裂原的作用部位, 每一部位对不同种类的 TI 抗原具敏感性。

CBA/N 小 鼠 对 某些TI抗原能发生应答, 如TNP - LPS, 但对同一半抗原与Ficoll 或葡聚糖的结合物则无反应。之所以如此是CBA/N小鼠的B 细胞缺乏 Lyb5 抗原。正常新生小鼠对TNP-Ficoll或TNP - 葡聚糖也无反应, 同时缺乏Lyb5⁺细胞; 在出生后 2 周 Lyb5⁺ 细胞开始形成, 伴有对上述二种TI抗原的反应阳转。

4. B细胞亚群对胸腺依赖(TD) 抗原的应答; 一般言之, xid小鼠对TD抗原的初次免疫应答远逊于正常小鼠; 经过反复免疫, 免疫应答有很大改进, 接近正常小鼠。但Xid 小鼠所生成抗体的种类与亲和力与正常小鼠有区别, 如很少产生IgG3和IgG2a类抗体。

5. B细胞亚群与协助(accessory)细胞的T细胞、T细胞产物的相互作用: Xid 成年鼠与新生期正常小鼠对B细胞有丝分裂原、抗Ig抗体, 2 型TI抗原和TD抗原的反应缺陷, 和容易产生耐受性已如上述。在免疫过程中, Xid 小鼠对于接受来自巨噬细胞与/或T细胞的辅助也有一定限制。例如, 由ConA活化小鼠脾脏细胞所产生的T细胞替代因子(TRF) 能重建去除T细胞的正常小鼠脾细胞对TD抗原的应答, 但同一因子对 Xid 小鼠 B 细胞的应答没有影响。此外, Xid 小鼠的B细胞能接受 MHC 限制, 但不能接受非遗传限制的T 细胞辅助, 提示在正常小鼠中非遗传限制的辅助是Lyb5细胞。

总之，携带少量SIgM但大量SIgD和Lyb5抗原的B细胞可以被抗Ig 抗体与 2 型 TI 抗原所激活，这类B细胞不易诱导耐受性，能接受巨噬细胞的辅助，与T细胞的相互作用不受 MHC 限制，和能接受 TRF 介导的辅助。Lyb5⁻细胞的功能与上述相反。在 B 细胞的发育过程中，Lyb5⁺B细胞的出现晚于Lyb5⁻细胞，而在CBA/N Xid免疫缺陷小鼠根本不生成Lyb5⁺ B 细胞。

(林飞卿)

第二章 T 淋 巴 细 胞

50年前对于感染后血液中抗体的来源与形成机理是不了解的。最早试图解释这一现象是Burnet的克隆选择学说。该学说假定哺乳类的淋巴细胞克隆各有特异性抗原受体,后者与侵入体内的相应抗原结合后被激活,继以分化、增殖成为数以千计的效应细胞,并分泌抗体。这一学说还解释了为什么淋巴细胞对自身组织细胞不起免疫反应。但也有许多问题不能解答,其中若干问题是在对T细胞及其亚群深入研究后才逐步阐明的。

目前已知淋巴细胞是免疫活性细胞,有T和B淋巴细胞二个系统。此发现主要在鸡的研究中获得。禽类有一法氏囊,位于泄殖腔的后上方,是B细胞发育成熟的场所,而T细胞与哺乳类相同,是在胸腺中发育成熟。鸡在孵出时切除胸腺,则T细胞介导的免疫功能,如移植排斥、迟缓性变态反应等消失,和抗体的形成功能减弱;切除法氏囊使抗体形成功能严重受损。嗣后又发现T细胞还有调节免疫应答,包括辅助与抑制的功能。

一、小鼠的 T 细胞亚群

一、T细胞亚群的定义: 早期有二个学说: (1) 认为T细胞是均一的,根据不同性质的刺激,表现出不同功能; (2) T细胞有不同亚群,各具不同功能。许多作者曾用多种方法进行分类,但均未成功。1968年Boyse及其同事根据小鼠T淋巴细胞表面的糖蛋白差异制备了抗血清,结果证实T细胞表面有Lyt和TL二种抗原。以后Lyt抗原又被区分为Lyt 1、Lyt 2与Lyt 3。Lyt 1抗原是由第19染色体上一个基因编码, Lyt 2和Lyt 3抗原则由染色体6上二个紧密联系的位点控制,不易分开,故常合并称其为Lyt 23。Lyt抗原也存在于外周血的T细胞上,可用于分类。TL抗原仅见于胸腺细胞,当其成熟为T细胞时即消失。检测膜抗原的方法,常用补体依赖血清细胞毒试验。用此法分析,小鼠外周血中T细胞有3个亚群,称做Lyt 1、Lyt 23和Lyt 123,分别占外周血T细胞30%、10%和50%。进一步研究表明Lyt 1⁺细胞是诱导辅助细胞,能辅助B细胞产生抗体,诱导杀伤性T细胞前体转变为杀伤性T细胞。Lyt 23⁺细胞是杀伤/抑制细胞。Lyt 123⁺细胞是Lyt 1⁺和Lyt 23⁺的共同前体。小鼠T细胞功能亚群的Lyt标志如表2—1。

二、T细胞亚群的双识别: T细胞功能的一个重要特点是与他其细胞相互作用时,必须同时识别对方的表面MHC基因产物和相应抗原,称做联合识别或双识别。MHC基因编码的细胞表面产物可分为I类与II类分子。Lyt 1 (Th) 细胞在识别抗原时,必须识别细胞表面的II类分子(即Ia决定簇)和特异性抗原。B细胞和部分巨噬细胞(抗原提交细胞)都是Ia⁺。Tc(Lyt 23⁺)细胞所识别的是I类分子(即K和D区的基因产物)与特异性抗原。K和D决定簇是全身所有有核细胞所共有,因此Tc细胞能溶解任何带有相同I类分子和特异性抗原的细胞,如病毒感染细胞。

三、免疫调节中T细胞亚群的反馈抑制: 抗原活化的Lyt 1⁺细胞或其可溶性产物能诱导Lyt 123⁺细胞,将其分化成为Lyt 23⁺(Ts)细胞;后者能抑制Lyt 1⁺细胞辅助B细胞产生抗

表 2—1 小鼠T细胞功能群的Lyt标志

T细胞功能群	Lyt1	Lyt23
T-辅助性细胞(抗体产生)	+	-
T-杀伤性细胞(Tc)		
效应(杀伤)细胞前体	-或±	+
效应细胞	-或±	+
T-抑制细胞C(抗体产生)	-	+
TDTH	+	-
T-移植排斥		
初次排斥	+	±
致敏的	+	-
T-有丝分裂原应答细胞		
PHA	+	+
ConA	+	+
PWM	+	+
T-混合淋巴细胞应答		
刺激细胞	-	-
反应细胞	+	-

体,叫做反馈抑制。这就是说,活化的Lyt 1⁺细胞,能刺激B细胞产生抗体,同时也能诱导Lyt 123⁺细胞生成成为Lyt 23⁺细胞。后者反过来能抑制促使其生成的Lyt 1⁺细胞,其结果是B细胞的活化和Lyt 23⁺的生成均受到抑制。可见B细胞分化成为抗体分泌细胞和Lyt 23⁺细胞的生成都不是自发的,而是通过Lyt 1⁺细胞的诱导后形成。

新近研究证明特异性Ts(Lyt 23⁺)细胞是由一种表面带有糖蛋白Qa1抗原的Lyt 1(Lyt1⁺、Qa 1⁺)细胞诱导而成,而诱导B细胞产生抗体的Lyt 1⁺细胞则无Qa 1抗原。虽然Lyt 23⁺细胞尚可被其他因素活化,并表达Ts细胞活性,但抑制效应为时很短,需要比Ts的前体细胞(Lyt 123⁺)分化成Lyt 23⁺细胞更多信号来生成高水平的Ts细胞。最后,受Lyt 1⁺、Qa 1⁺细胞诱导分化成Lyt 23⁺的Lyt 123⁺细胞本身也必须是Qa 1⁺。

反馈抑制对于维持正常免疫应答与防止有害免疫应答的观点已被实验所证实。设法去除小鼠的Lyt123⁺和Lyt23⁺细胞,可促使自身抗体生成并持续很久。这样,当体内缺乏Ts细胞及其前体,可以因环境因子的刺激而出现自身抗体。在几种有自身免疫病倾向的小鼠品系中,也已证实其患有Ts细胞的缺陷。

二、小鼠T细胞的个体发育与T细胞协调布局的克隆分析

一、T细胞是在胸腺中发育的,为什么T细胞能在胸腺中发育成熟?胸腺主要由二种细胞组成,即上皮细胞和淋巴细胞,在小鼠妊娠的第10天,胸腺始基从第三鳃囊中形成,以

后下降到胸腔。妊娠第12日,干细胞从血循环迁入。Fontaine-Perus等(1981)从妊娠第10天胚鼠取胸腺始基在体外培养,如不加入外来细胞,培养物始终是上皮细胞器官。如果将胸腺始基放在小室上层,下层放胚肝,则胚肝干细胞迅速在胸腺始基中立足与增殖,最后发展成为正常胸腺,从而表明胸腺中的淋巴细胞不是从上皮细胞生成,而是由外迁入。

nu/nu突变小鼠(即裸鼠, nude mice)天然缺乏胸腺,仅有胸腺始基,而成年裸鼠的骨髓中含有干细胞。将后者转移给正常小鼠,能在胸腺中定居与发育,以上提出裸鼠的缺陷可能在于不能诱导迁入的干细胞进行分化。这种缺陷的性质又是什么呢?虽然正常新生小鼠的胸腺细胞主要是 TL^+ 、 $Thy\ 1^+$ 、 $Lyt\ 123^+$ 和少数 TL^+ 、 $Lyt\ 1^+$ 细胞,但分析出生前的胸腺细胞,证实 TL^+ 、 $Lyt\ 1^+$ 细胞的出现先于 TL^+ 、 $Lyt\ 123^+$ 细胞。因此很可能是裸鼠的胸腺始基不能刺激 TL^- 、 $Lyt\ 1^-$ 干细胞分化成 TL^- 、 $Lyt\ 1^+2^-$ 诱导细胞,从而刺激其他胸腺细胞和基质细胞的生长和分化。

另一问题是所有T细胞亚群是否必须在胸腺中处理?实验证明来自裸鼠脾脏的 $Thy1^+$ 细胞,可以用Th细胞刺激使之分化成Tc细胞,和可能Ts细胞,后者具有与其功能相符的Lyt标志。由此可见,虽然胸腺对于诱导 $Lyt\ 1^+$ 细胞的分化是必要的,但对于Tc/Ts($Lyt\ 23^+$)细胞从其前体细胞的分化可能不是必要的。有可能一部分 $Lyt\ 2^+$ 细胞与B细胞相似,是从骨髓转移到脾脏,在这里受到来自胸腺诱导细胞($Lyt\ 1^+$)的刺激,得以成熟。

二、个体发育中T细胞协调布局(coordinate programming)的克隆分析:上述资料说明从T细胞的Lyt表型可以预料其功能和MHC的特异性。这是一个有理论和实际意义的问题。为了严格考核表面标志、功能和MHC限制的相关性,最理想方法是细胞克隆的分析研究。在一个大型实验研究中,Roa等(1983)用混合淋巴细胞培养法获得了20多个T细胞克隆,定期进行观察,共18个月。其中16株 $Lyt\ 1^+$ 克隆和6株 $Lyt\ 2^+$ 克隆在体外保持了一年多均未发生变异。全部 $Lyt\ 1^+$ 克隆均表达出诱导功能,即在刺激后均能产生白细胞解素2(IL-2)和T细胞替代因子(TRF)。但不论是否用Con A诱导,都不能溶解细胞。全部 $Lyt\ 2^+$ 克隆能特异地溶解带I类抗原的靶细胞,和无一株能产生IL-2,总之对22个T细胞克隆经过16—18月的研究,发现细胞的表型、功能和MHC的识别完全稳定。目前上述方法已被用于研究人类T细胞克隆的特性和功能,以供探讨正常人和某些慢性病患者体内T细胞的免疫调节作用。

三、小鼠细胞克隆的产物

近10年来免疫学的进展很快,但对Th和Tc/Ts细胞所产生的内源性调节因子的了解仍不多;主要问题是不易获得能在体外连续生长和分泌大量调节因子的均一性T细胞克隆,如同能分泌Ig的多发性骨髓瘤细胞株,以供研究抗体分子的分子结构。目前已建立了少数T细胞克隆。下面将举例说明这种技术在研究T细胞所生成分子的实用意义。

一、由Th细胞克隆合成的调节因子:

1. Th细胞分泌的非特异性多肽:活化Th细胞能通过分泌多种多肽诱导多种其他类型细胞的分裂与/或成熟,包括B细胞、Ts细胞、Tc细胞、巨噬细胞和造血细胞前体。每种多肽只能作用于一种靶细胞,使之活化。

从已被研究的Th克隆,发现均能分泌8—12种多肽,各具不同功能。其中有一个分子量为30,000道尔顿多肽,能刺激Tc和可能Ts细胞的生长。以后发现此因子系由分子量为

16,000和14,000二个亚单位组成。14,000亚单位具有丝分裂原特性,而16,000亚单位能把14,000亚单位集中到T细胞上。

引起B细胞分裂和分泌抗体的辅助因子是一种分子量为45,000,和等电点为6.0的多肽。它能刺激B细胞分泌Ig,但不能使之分裂。在正常情况下,此45,000道尔顿蛋白质与上述的14,000道尔顿有丝分裂原多肽连结在一起,成为一种能刺激B细胞分裂和分泌Ig的完整辅助因子。

2. 抗原特异性辅助因子: Th细胞与含特异性抗原的细胞相互作用需要对特异性抗原和MHC基因编码的Ⅱ类分子产物的双识别。为了探讨Th细胞双识别的机理,拟先复习了解已很透彻的抗体与抗原的相互作用。约十年前已发现多发性骨髓瘤免疫球蛋白和血清抗体一样,能结合简单化学决定簇,如半抗原或简单糖类。原先认为这只是抗体与半抗原或特殊糖残基的简单结合,但很快发现Fab部分的邻近氨基酸或糖对结合的亲和力有很大影响。事实上这种结合可被看作是Ig的可变区与配体之间二种不同类型互相作用的总和,其一是决定性残基的互补作用,另一是Ig可变区的其他部分。暂不考虑可变区轻链的作用,单就可变区的重链而言,是由3个基因(V、D、J)所编码。已知Ig与抗原结合的牢固度是启动淋巴细胞的关键问题。例如在IgE型变态反应中,只有抗原与吸附在肥大细胞表面IgE分子的亲和力相当高,才能使过敏原稳定地占有接合点,从而导致足够量IgE受体发生交联,启动肥大细胞的活化。

目前尚不了解T细胞受体的核苷酸序列,一个值得考虑的问题是Ⅱ类MHC基因产物与抗原结合物中的抗原成分是否必须保持其原有完整性。如果如此,T细胞受体至少要有二个结合部位,如同Ig一样,受二个不同基因的编码。反之,如与Ia结合的抗原结构完整性发生改变或失去,可以看作是一个单一新配体,原则上受一个基因编码。多数人主张前一种看法。

Ⅱ类分子加抗原活化Th的特异性要求保存抗原的完整性的观点,来自对偶氮苯砷(ABA)半抗原特异性Th克隆的研究,ABA活化Th克隆不依赖载体蛋白质,但是有严格特异性。改用偶氮苯磺酸(ABS)与同一载体偶合,并不能激活此克隆,表明激活Th克隆的半抗原配体必须保持半抗原的完整性。因为ABA和ABS的结构虽然很近似,ABS加Ⅱ类分子与Th克隆的结合显然没有达到足够的牢固度足以引起Th克隆的活化。根据Ig类推,Th克隆的抗原受体的一个特殊位置,具有能区别类似化学物质的抗原决定簇功能。

已如上述,Th克隆的活化有高度特异性,问题是Th克隆的可溶性分泌物是否也能区别两种不同组类似抗原,如牛胰岛素和羊胰岛素(二者仅有一个氨基酸不同)?实验表明牛胰岛素特异性Th细胞分泌的多肽,对牛胰岛素的结合力比对羊胰岛素的结合力高出10~100倍,相反亦然。总之,特异性辅助因子结合抗原的特异性,能很好地说明抗原加Ⅱ类分子活化特异性Th细胞。一种最省力的解说是特异性辅助因子是用一种改变了的Th细胞的抗原受体。

二、Ts克隆与抑制因子: 应用Ts克隆进行研究始于Fresno及其同事(1981)。他们选用了一株Lyt2⁺Ts克隆,称为“Cl-ly23.4”,其表面带有对SRBC血型糖的受体。研究表明,在受到来自Th细胞的信号时,此克隆能分泌一种可溶性抑制因子,分子量为70,000道尔顿的蛋白质,能结合特异性抗原和介导免疫抑制。仅几个pg(沙克)纯化的70,000道尔顿Ts蛋白质就能特异地抑制对该抗原的免疫应答。纯化Ts因子对多种蛋白酶敏感,用木瓜蛋白酶处理,可将其裂成二个亚单位,分子量分别为45,000和24,000道尔顿。前者保留抑制活性但无结合力,后者缺乏抑制活性,但保留与抗原结合的特异性。

一个重要现象是20,000道尔顿Ts因子与结合在Th细胞上特异性抗原相遇时,对Th细胞表面蛋白酶的敏感性提高,于是释放出有抑制活性的45,000亚单位。此亚单位能全面抑制与Ts细胞具有共同抗原特异性的Th细胞,从而抑制对异物细胞的复杂免疫应答。此抑制机制的一个重要特点是较少量Ts克隆就能保证对异物细胞或分子的有效免疫抑制。另一有实际意义的作用是对任意选择抗原,通过共价键联结到SRBC上的特异性Th细胞也被抑制。这样,如果对引起自身免疫病的自身抗原特异性Th细胞,对20,000道尔顿Ts因子与SRBC蛋白结合物敏感,就可能有治疗意义。

总之,近年来随着淋巴细胞培养技术的迅速进展,促使大量生产纯一的、并分泌大量调节因子的T细胞克隆的获到成为可能,从而有助于进一步阐明与纯化无毒多肽,用于启动或终止某些特异性免疫应答。例如,诱导细胞所合成的单克隆多肽,各能活化不同种类靶细胞,使之分裂分化。一种多肽能活化干细胞分化成为红细胞和白细胞,另一种能刺激B细胞产生抗体,再有一种能诱导肥大细胞的分裂。从T细胞克隆所获得每种多肽对免疫应答是一种强免疫调节剂。人们期待着于不久后这些免疫调节因子可用于治疗某些慢性病。

此外,纯化的T细胞因子可用于研究调节抗体和细胞介导免疫应答过程中细胞之间相互作用的连锁反应。这就需要采用不同调节性T细胞亚群克隆。补以纯化的B细胞与单核细胞群,以供研究参与各种免疫应答的最小单位,进一步探讨调节这一合成系统的遗传和分子过程。

四、人T细胞的亚群分类法与功能

人T淋巴细胞的亚群分类长期得不到解决,直至1978年才出现了一系列抗人T细胞的单克隆抗体(McAb),使T细胞的分类有了可靠工具,目前常用的有OKT和Leu二个系列。OKT系列有12种,即(OKT1--OKT11和OKT17。Leu系列有Leu1-Leu5 5种,此外尚有数十种单个McAb,而且仍在扩大。应用这些抗体,可供研究T细胞的鉴定、分类及其与功能关系,T细胞的发育过程,T细胞表面抗原的生物学意义等。

一、用抗人T细胞 McAb 鉴定T细胞的亚群:研究方法常用流式细胞光度分析(flow cytometric analysis)。将某种抗体和荧光标记的第二抗体用间接免疫荧光染色法染待检T细胞,随用细胞荧光图象仪(cytofluorograf)或荧光激活细胞分类仪(FACS)对染色细胞进行定量流式细胞光度分析。用此法(Reinherz)将人外周血分为二个亚群,即T1⁺、T3⁺、T4⁺(简称T4⁺)和T1⁺、T3⁺、T5/8⁺(简称T5/8⁺)细胞。T4⁺细胞是辅助性T(Th)细胞,占T细胞总数60%,T5/8⁺细胞是杀伤/抑制性T(Tc/s)细胞,占20~30%。表2—2表示人胸腺与外周血T细胞的表面抗原及其功能。

T4⁺细胞相当于小鼠的Lyt 1⁺细胞亚群,为Th细胞;T5/8⁺细胞相当于小鼠的Lyt 23⁺细胞,为Tc/s细胞;人类中没有与小鼠中Lyt 123⁺细胞相仿的T细胞。T6抗原相当于小鼠的TL抗原,它出现在胸腺细胞上,成熟为T细胞时此抗原丢失。

新近发现T4⁺细胞为异质性。外周血中的T4⁺细胞仅15—30%有辅助功能,其余没有。活化的T4⁺细胞中,不仅有Th细胞,还有Ts细胞,可见仅有单一表面抗原作为鉴定T细胞亚群是不妥的。

需要指出,T细胞于激活后表面标志可增可减,即会出现新抗原与/或丢失旧抗原。新

表 2—2 用单克隆抗体鉴定人T细胞亚群

McAb	胸腺(%)	外周血T细胞(%)	分子量	功能
*OKT4, Leu3	40—100	50—70	40,000~82,000	Th细胞
OKT5/8, Leu2	50—80	20—35	35,000	Tc细胞, Ts细胞
OKT3, Leu4	20—50	100	19,000	全部T细胞
OKT1, Leu1	65—100	100	65,000	全部T细胞
OKT11, Leu5	100	100	48,000	E-花环形成细胞
OKT6	85	0	49,000	相当于小鼠的Tl抗原
OKT9	10	0—5	100,000	铁转递蛋白受体

*OKT4代表抗体名称, 相应抗原是T4⁺细胞, 余类推

抗原可以是T细胞特异的, 如MLR1.4和Tac抗原, 与非特异的, 如Ia; 5E9和4F2抗原。有时T细胞活化后失去某种抗原, 例如T17抗原。T17抗原存在于所有静止状态T细胞上, 活化后Th亚群失去T17抗原, 而T4⁺Ts细胞则可保留。据此, 可以用OKT17来鉴别和分离激活T4⁺细胞中的Th与Ts亚群。

二、正常人T细胞的分化过程和体内分布, Reinherz将胸腺细胞的发育过程分为3个阶段(图2—1), 每一阶段都有旧抗原的丢失与新抗原的获得。到发育的第三阶段已分化为二

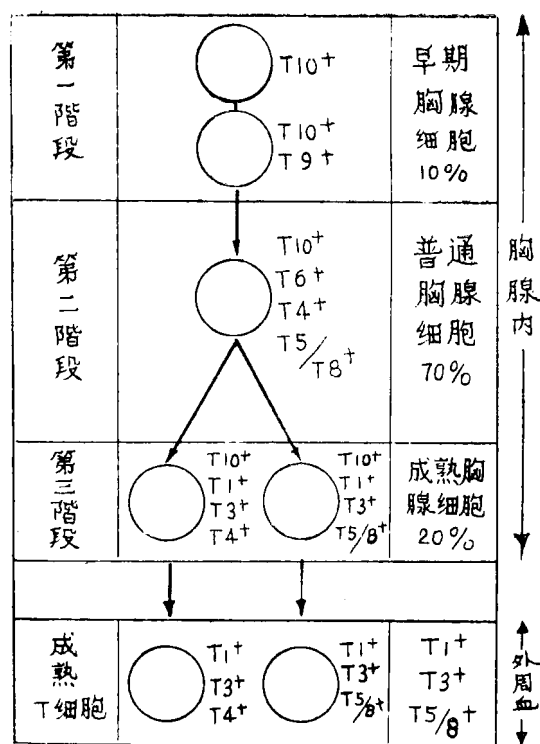


图 2—1 T细胞的发育阶段