

国外农业科技资料

(39)

— 兽医免疫

882154
沈阳农学院科技情报室编译

1983 · 6

目 录

一、T、B淋巴细胞的标志及其在各种动物中的应用.....	1
二、鸡免疫系统的早期发育.....	28
三、单克隆抗体技术及其在兽医科学中的应用前景.....	38
四、兽医微生物学中的免疫诊断技术.....	43

T、B 淋巴细胞的标志及其 对各种动物的应用

D. A. HIGGINS

引 言

参与免疫应答的细胞多种多样。它们包括巨噬细胞、粒细胞和淋巴细胞。现在人们已经承认,在免疫系统的成分不影响个体应答时,淋巴细胞构成了免疫应答的基础。它带有各种信息及能够识别各种各样的外来物质,并做出应答的细胞体系,这正是淋巴细胞。它具有两种免疫应答的根本特性:特异性和记忆。有关其特征和功能的知识,象获得的大多数的生物学资料,已经从一些简单的概念中前进了一步,已知淋巴细胞是高度分化,构成不同种类而又相互依赖的细胞群。读者若想进一步了解有关淋巴细胞生物学的知识,请参阅Greaves等(1973),Katz(1977)和Loor及Roetants(1977)的教科书。

在人和小白鼠中,淋巴细胞的生活史和淋巴细胞的功能知识,通过对这些重要的细胞群和亚群的标志的认识,已经得到发展。但在兽医学上具有重要意义的动物免疫学仍是空白,在很大程度上是由于对淋巴细胞分类缺乏完善的鉴定系统所造成的。本文的目的是对应用于人和实验动物中最普通的淋巴细胞鉴别系统以及它们在各种动物中的应用现状概括地加以介绍。

淋巴细胞种类的起源

本世纪五十年代末和六十年代初,观察到两项似乎独立的,毫无联系的事实,后来

就成为对淋巴细胞亚群日益引人注目的基础。第一个发现表明,法氏囊——鸡的腔上囊在鸡的体液免疫正常发育中是必需的(Glick等,1965)。后来的研究表明,法氏囊在细胞免疫中所起的作用不大(Cooper等,1966)。鸡的细胞免疫和体液免疫的基础分别是胸腺和法氏囊(Warner等,1962)。第二个是Good和他的同事们对免疫缺陷病人所做的观察,这已在实验室通过外科手术摘除适当的器官而证实(Good等,1962、1963)。低丙种球蛋白血症的儿童不能产生抗体,但对皮肤移植却起正常排斥反应;相反地,患有何杰金氏病的病人和胸腺切除的动物能产生正常水平的抗体,但它们的细胞反应(包括迟发型超敏感性和移植物排斥)均受到抑制。后来Di George(1968)发现,与胸腺摘除的动物极其相近的人的先天性胸腺缺陷。

这些早期的观察,曾激起对淋巴细胞的起源和发育的研究,从而导致现在对淋巴细胞的鉴别和二分法的两种组成概念,以及现在广泛应用的T(胸腺依赖性)、B(法氏囊或类法氏囊器官依赖性)淋巴细胞的命名法(Claman及Chaperon 1969; Miller及Mitchell 1969; Roitt等1969)。这个概念认为淋巴细胞的祖先起源于卵黄囊或胎儿肝脏或成年人骨髓中的干细胞(Owen,1972)。在鸡中,干细胞经由血液到达胸腺,在胸腺处变成T细胞,或到达法氏囊变成B细胞。

在这些器官的上皮细胞所产生的可溶性因子影响下,干细胞得以成熟(Bach 1976; Brand 1976)。这一模式在哺乳动物是相似的,除非B细胞分化的器官还不能明确地鉴定出来。一些早期理论认为,哺乳动物的法氏囊类似器官是肠管,更确切地说,是肠道的淋巴结组织(GALT)。参看附录和Peyer的补充。但是,只在兔中具有说服力的证据表明,GALT在免疫活性细胞的发育上起着重大作用(Cooper等,1968; Sell等,1980)。现在认为骨髓是哺乳动物B细胞分化的适宜场所(Gowans 1975),但有些证据表明B细胞是多种起源的(Owen等,1975)。通过胸腺或法氏囊(囊类似结构)微环境并不能立即导致完全成熟的T细胞或B细胞的出现。最终的成熟常常是在其它器官内完成。这些细胞前体的最重要的,也是一个难以证明的改变,是它们成为发育系中定型的细胞。一个免疫应答的继发诱导需要复杂的一系列T细胞和B细胞之间的相互作用(Kunin等,1971; Playfair, 1971; Donnert及Lennon 1972; Brittle及Playfair 1980),并需要一个人人们确信的协同作用以及巨噬细胞起着启动和调节两个作用(Pieice, 1980; Veresio等, 1980)。

T和B淋巴细胞及其它们的亚型在胸腺和法氏囊中占据不同的部位。脾脏和淋巴结含有混合的结构严密的细胞群,这些细胞的严密结构容许成熟的,但在功能上还相互作用的各类淋巴细胞分离开(Gutman及weissman, 1972; Press等, 1977)。在淋巴细胞从前体细胞到T细胞或B细胞的成熟期间,以及在它们后来与抗原和其它细胞发生功能相互作用时,它们都是游动的,从血液进入到器官、组织和淋巴中(Gowans 1957, 1959; Gowans及Knight, 1964)。淋巴细胞再循环的模型已经建立,这绝非偶然。已经鉴定出再循环细胞的两个主要细胞池:一个是循环于血液和外周淋巴结之间;另一个

是循环于血液、肠淋巴结、肠系膜淋巴结,或许还有乳腺之间(Perey及Milne, 1975; Cahill等1977; Hall等, 1977; Roux等1977; Husband及Gowans 1978)。这种迁移和再循环模型已经在胎儿中建立(Pearson等, 1976),因此,就不能把其归因于和抗原的接触。然而,抗原改变了淋巴细胞流通的模型,随后淋巴细胞再循环在抗原转移和诱导主动免疫应答上无疑地起着重要作用(Sprent 1977)。

对分化刺激之后,B细胞前体开始合成免疫球蛋白分子。这些免疫球蛋白分子最初可在细胞浆中检出。这种细胞就称为前B细胞,在此期间主要的免疫球蛋白类型是IgM(Owen等1977a, 1977b)。免疫球蛋白一经出现在细胞膜上,这种细胞就变成具有免疫学活性、被人们认为的B细胞。大多数具有膜表面免疫球蛋白(Sm Ig)的血液淋巴细胞都带有IgM或IgD(Rowe等1973; Abney及Parkhouse, 1974; Melcher等, 1974)。A和G个体型中的膜表面免疫球蛋白的早期报告(Grey等1971; Rabellino等1971),可能由于存在着被动结合的蛋白质,而不是分泌的蛋白质。IgD的免疫学功能仍是不明确的。在脐带血液中具有高水平的载有IgD的细胞,使一些人认为IgD是胎儿的免疫球蛋白。对它们个体发育的研究表明,带有IgM的细胞比带有IgD的细胞出现的早。看来IgD在B细胞分化上是较为重要的,包括参与从IgM到IgG产生的控制和B—T细胞相互作用,调节着T细胞的反应性(Coffman及Cohn 1977; Layton等, 1978; Leslie及Martin 1978; Kermani—Arab及Leslie 1980; Sjoberg 1980)。有兴趣的是观察到(Singer等, 1980)膜IgM和分泌性IgM的重链具有不同的结构,是由不同的mRNA分子所编码的。B细胞发育的末期——浆细胞产生抗体。对于免疫特异性问题,最重要的是细胞克隆的概念。克隆,是产生单一个基因型的免

疫球蛋白,并且只同单一的抗原决定簇相作用的细胞群(Burnet1955; Wigzell及Andersson 1969; Askonas等1972)。在大多数的哺乳动物中,抗体应答的潜在组成如此之大,以致于B细胞克隆的最小功能单位数量在 10^5-10^6 之间(Edelman及Gall1969; Jerne 1972)。做为一种抗原受体,SmIg的功能是不容置疑的(Warner1974, Rarkhouse及Abney 1977评论),可是这种相互作用的结果或许必然地诱导某种应答。

除免疫球蛋白产物中的抗原决定簇以外,B细胞还带有其它的表面抗原。对小白鼠的这些特征的阐述比其它动物更为详细(Mckenzie及Potter1979)。在B细胞上发现被称做Ly-4、Ly-7和Ly-8(Ly即淋巴细胞)的抗原,而在T细胞上没有。Ly-6抗原存在于B细胞上,但对B细胞系却不是专一的,它也存在于抑制型T细胞和细胞毒型T细胞,以及许多正常和肿瘤非淋巴细胞(Halloran等,1978; Fainboim等1980; Kimura等1980)。小白鼠B细胞还带有小白鼠专一性的浆细胞抗原(MSPCA)和小白鼠特异性的B淋巴细胞抗原(MBLA)。一个叫做I_a(与I区相关的)的抗原组,它们是免疫应答[I_r]基因的产物,并与动物增强免疫应答的能力以及主要组织相容性复合体密切相关曾经一度被认为主要是存在于这些细胞上(Hammerling等1974; Chess及Schlossman1977)。但是,I_a抗原存在于许多具有免疫学活性的细胞,包括巨噬细胞和一些T淋巴细胞。在细胞毒型T细胞上没有发现过I_a抗原(Reinherz等1980a),但却发现在与植物血凝素(PHA)作用后的T淋巴细胞(Fainboim等,1980)。I_a抗原在抗原诱导细胞的协同作用上是非常重要的(Katz及Benacerraf1976; Schwartz等,1976; Yamashita及Shevach, 1977; Benacerraf1978; Burger及Shevach, 1980)。

T细胞的成熟是经一种或多种激素诱导

的,这些激素有胸腺素、促胸腺生成素以及存在于血清中低分子量的物质(Bach1973; 1976; Ikehara等1975; Leino等1977; Dardenne等1978)。这些细胞在胸腺中大约存留72小时(Michalk等,1969),在此期间它们分裂为大约5-7倍(Sainte-Marie及Leblond1964),而且体积变得更小(Oraer及Waksman1969),最后经髓质转移出。在成熟期内,这些细胞逐渐具有T细胞的功能特性,包括能够引起迟发型超敏反应、移植物抗宿主反应和组织移植物排斥反应。在细胞成熟时期,T细胞呈不同倍数出现各种各样的特异性表面抗原。小白鼠这些抗原中包括 θ 抗原(从前称为Thy-1),TL(胸腺白血病抗原),MSLA(小白鼠特异性淋巴细胞抗原)和Ly-1, Ly-2, Ly-3及Ly-5抗原(Katz, 1977)。这一组表面抗原已经被证明在研究T细胞生物学上具有重要价值。T细胞可以分成四个功能群:(1)T辅助细胞(T_H),它与巨噬细胞和B细胞在体液反应中共同协作;(2)T抑制细胞(T_s),它调节和限制免疫应答;(3)细胞毒T细胞(T_c),它在直接杀死细胞性抗原如肿瘤细胞、病毒感染细胞中是非常重要的;(4)T前体细胞(T_E),它可以增强免疫应答,或做为其他T细胞亚群的前体作用(Beverley1977; Simpson及Beverley1977)。一般说来,一个T细胞可根据其Ly的表现型而归入一个功能群中。这里一个主要的问题是T_s和T_c细胞具有相同的表现型(Ly-23)。胸腺细胞的生活史及其功能、T细胞的亚群生活史及其功能已经由Canter和Werssman(1976)详细地阐述。

一个引起争论的问题是:T细胞表面结构就是抗原受体。T细胞,不容置疑地是具有抗原特异性的(Binz及Wigzell1977)。但是,抗原受体的性质却没有清楚地证明。这个受体似乎对相同抗原具有特异免疫球蛋白的个体基因型结构(Binz等,1976)。由

于不可能同时发生两套分子,故每一个都能具有识别抗体系统固有的独特差异性。因此,就使得人们推测T细胞抗原受体就是免疫球蛋白。许多早期进行的想证实这一点的研究结果,后来都认为是由于嗜细胞血清免疫球蛋白存在于T细胞表面所造成的。此外,由于已经表明腔上囊依赖性血清IgM在雏鸡的T细胞接受抗原上是必需的,因此,非T细胞起源的受体得到了一些作者的赞成(Webb及Cooper 1973)。使用敏感性较高的生化和免疫化学分析,以及使用免疫球蛋白重链的特异抗血清,才使人们认识到:T细胞受体是由T细胞合成的,它含有一个与IgM重链具有抗原性相关的70,000道尔顿的分子(Marchalonis等,1980a,1980b)。T细胞的基因物质可能包括有IgM重链恒定区的信息密码,因为这一物质曾经发现存在于RNA上(Kemp等,1980)。然而,究竟这个RNA是否被翻译成蛋白质仍是争论的实质。Putnam等(1980)认为是,而Walker和Harris(1980)认为不是。T细胞受体不易鉴定的可能原因有:(1)它是一种不存在于血清中的新的免疫球蛋白;(2)它以极低的浓度存在于细胞表面上;(3)它比血清免疫球蛋白分子小,可能紧附于一个多肽链上或附于一个抗原结合点上;(4)它与细胞膜结构紧紧地连接成一体(Cone 1977)。单克隆抗体将有助于鉴别T细胞抗原受体的性质。已知有一种血清包围住抗原,不让T细胞识别,但不影响以后对刺激的反应活性。这种血清有可能对T细胞抗原受体是特异的,或是细胞相互作用所需要的分子(Rieberz等,1980b)。T细胞受体与相同细胞上的MHC成分紧密相关(Braun,1976)。为了同细胞抗原反应,细胞毒T细胞必须同时识别抗原,并占有MHC决定簇。解释这一称为MHC抑制的现象,是T细胞受体需要两个或多个的,各自独立地但在功能上又相互作用的编码(Janeway等,1980;Larson等

1980;Marchalonis,1980;Williamson,1980)。

淋巴细胞的标志

从70年代开始,人们就对淋巴细胞的表面标志概念极感兴趣。这一广泛的描述当然涉及到以上所提的抗原,人们很感兴趣的膜构造几乎象受体一样已很好的描述。这样,就能在各种淋巴细胞上发现同源及异源红细胞(RBCs)受体、免疫球蛋白、补体、病毒和外源血凝素受体,并发现一些淋巴细胞粘附于尼龙纤维。已有几篇很好的综述和委员会报告,关于普遍应用于人淋巴细胞的标志以及应用时容易出现的技术错误(Aiuti等,1975;Bloom等1976;Chess及Schlossman 1977;Hayward及Greaves,1977)。

淋巴细胞免疫学需要深入研究的,是某些淋巴细胞特性与各群淋巴细胞及其亚群之间的紧密关系。在许多免疫学反应中,已经鉴定起重要作用的各群淋巴细胞,并在淋巴样系统恶变中也起一份作用。已经确定各群淋巴细胞在各器官的解剖学分布和相对的比例,并观察到这些细胞还存在于胎儿中。受体的识别有助于分离各群淋巴细胞并在试管内研究分离的T细胞或B细胞。但是,必须注意到,在任一群淋巴细胞中,有些细胞将会表现出对T细胞或B细胞毫无一点识别特征。这是第三群细胞,数量较少,称为无标志细胞(又叫裸体细胞)(Brown及Greaves 1974)。无标志细胞的鉴定和潜能仍处于争论之中。根据其对SmIg的敏感试验,这些细胞被认为是B细胞的一个亚群(Warr等1978;Heagart,1980),但是根据这些细胞带有IgG受体,又被认为是T细胞的一个亚群(Ferrarini等1980)。

直接(E)玫瑰花形成

许多人类淋巴细胞能与绵羊红细胞(SRBCs)粘附,在这种情况下,绵羊红细胞就形成了一个玫瑰花环包裹在细胞膜周围。这一反应是为了排除带有SmIg细胞(即

B 细胞)而设计的,它是不依赖于抗红细胞抗体,预料是T细胞在进入器官并在胎儿体内暂时发育后而发生的(Brain等1970;Lay等1971;Wybran等1972;Brain及Marston 1973)。

对E玫瑰花环形成的技术要求已给予了极大注意,玫瑰花环对热不稳定,SRBCs和淋巴细胞要求最适比例。在玫瑰花环形成时,要求特殊的温度和离心条件(Lay等, 1971; Bach 1973; Hoffman及Kunkel 1976)。RBCs的选择至关重要。当用人类的T细胞和来自其他几种动物的红细胞做玫瑰花环时,所形成的玫瑰花环数量最多,豚鼠的T细胞最适和家兔的红细胞形成玫瑰花环(Wilson及Coombs, 1973)。家兔红细胞玫瑰花环对豚鼠就是T细胞标志,这一点已由其组织分布(Stadecker等1973;Sandberg等1976),胎儿个体发育(Jappy及Soloman 1980)以及胸腺切除术对其发生的影响(Sandberg 1977)而证明。小白鼠与家兔红细胞形成玫瑰花环,据说是T细胞一个小亚群的标志(Selvan等1980)。另一方面,自身红细胞的玫瑰花环形成已见于小白鼠的T细胞和B细胞(Steele及Cunneigham 1980)。在解释红细胞而不是SRBCs所形成的玫瑰花环时,应特别谨慎,例如人类淋巴细胞和猪红细胞(自身的或同种的红细胞)之间形成的玫瑰花环是T细胞亚群的标志(Sandlands等, 1975; Lambert等, 1978),与小白鼠红细胞形成的玫瑰花环与B细胞有关(Dobazy等, 1976, Potter及Moore 1978)。

对玫瑰花环形成技术曾进行多次改进,其中包括SRBCs经神经氨酸酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、葡聚糖、2-氨基乙基异硫脲溴化物(AET)处理等(Chapel, 1973; Weiner等, 1973; Galili及Schlesinger, 1974; Brown等, 1975; Wilson等1975; Kaplan等1976; Moore及Zusman, 1978)。几乎所有的人类T细胞,现在都可以用玫瑰花环形

成试验检出。神经氨酸酶处理淋巴细胞后所形成的玫瑰花环数量增加(Bentwich等1973; Galili及Schlesinger, 1974; Han及Minowada 1976)。在这些报告中,关于E玫瑰花环的增加是否是,至少部分是神经氨酸酶处理B细胞有关,仍然存在争议。尽管并不是所有的作者都同意血清的作用是有利的(Jodal等1972; Ross等1973; Wilson及Coombs, 1973),但血清仍普遍用来提供和增加E玫瑰花环的形成(Brain等1970; Gluckman及Montambault, 1975; Sasaki等1975; Woody和Sell 1975)。有可能在某些情况下,血清因子在淋巴细胞和红细胞之间可以形成桥,而不是增加红细胞对E受体点的吸附力(Elfenbein及Winkelstein, 1978)。既使是在最合适的条件下,也没有弄清是否所有的T细胞都形成玫瑰花环(Hayward及Greaves 1977)。

SRBCs玫瑰花环的形成,曾报道有各种性质上的差异:包括玫瑰花环的早期形成(快速形成)与晚期形成(需18个小时)(Taniguchi等1977; Ashman等1980);对温度的稳定性(4℃或37℃)(Galili及Schlesinger, 1976; Katoh及Charoensiri, 1977);吸附在每个淋巴细胞上的红细胞数(Moore及Zusman, 1978)。关于这些性质,一些正常的细胞群也表现不同,如大多数来自人乳的淋巴细胞形成玫瑰花环在37℃稳定,而大多数血液淋巴细胞却不是如此(Richie等1980)。这些差异有可能是玫瑰花环形成的亲合力的表现,或许是T细胞各亚型及各发育阶段的表现。在各自实验室和检查中,E玫瑰花环在疾病的鉴别诊断和预后上是有用处的。淋巴细胞的成熟与E玫瑰花环形成的关系,曾用一些免疫强化剂诸如左旋咪唑、胸腺素、血清胸腺因子,以及转移因子作用于免疫缺陷状态下未成熟T细胞或白血病的T细胞而加以阐明(Wybran等1972; 1973; Moutsopoulos等1976; Frorilli等1977; Ke-

nady等1977; Verhaegen等1977; Dardenne等, 1978; Shoham等1980)。淋巴细胞产生的可溶性因子, 对抗原或有丝分裂原的应答中形成稳固的玫瑰花环可能是重要的(Holzman及Lawrence 1977; Agbata及Kirkpatrick 1979, 1980; Morrison 及 Halliday 1980)。

RBCs受体的性质, 对于理解T细胞的功能和应答具有重要作用。T细胞载有SRBCs表面受体, 已被解释成为是一种生物学现象。但SRBCs受体不是仅限于T淋巴细胞, 也曾在纤维母细胞上检出(Elliott等1974; Papamichail等1976)。这种受体和其他T细胞的表面结构、特别是和抗原受体之间的可能关系, 均有待确定。SRBCs粘连于一个特殊部位——可能含有唾液酸、半乳糖或N—乙酰氨基葡萄糖的糖肽(Boldt及Armstrong 1976)。玫瑰花环的形成依赖于T细胞和RBCs之间钙离子桥的形成, 此桥的形成可被EDTA所抑制, 而且对培养液中NaCl浓度敏感(Pang等, 1976)。ZnCl₂能增加钙离子桥的形成(McMahon等, 1976), FeCl₃和柠檬酸铁盐离子能抑制钙离子桥的形成(de Sousa及Nishiya 1978)。许多其他物质和抗血清也能抑制玫瑰花环的形成(Bash 1973), 如抗淋巴细胞血清和叠氮化钠这样的化学物质等(叠氮化钠对淋巴细胞是有毒性的)。根据某些报告, 抗免疫球蛋白血清能抑制玫瑰花环的形成, 但这些发现可能与血清的特异性不相适应有关。Owen和Fanger (1974)发现, 对T细胞特异的抗血清, 或它的F(ab')₂和F(ab'), 也抑制玫瑰花环的形成。分子量为35—75,000道尔顿的淋巴细胞膜糖肽浸出物, 能够吸收血清的抑制玫瑰花环效应。他们推断, 由血清识别的抗原和E玫瑰花环受体是同样的结构。Gattringer和Wick(1977), Galili等(1977)使用一种与Owen和Fanger用过的具有相同特异性和活性的血清断定, 当E受体和某

些对T细胞特异的膜抗原非常紧密地相接时, 它们实际上还是两个分离的实体。Chisuri等继续这些研究, 他们通过蛋白水解消化, 从母细胞化T淋巴细胞和血淋巴细胞分离出SRBCs受体, 并证实SRBCs粘附于细胞膜上的一个特殊位点。现已生产出杂交瘤单克隆抗体, 这种抗体似乎对人淋巴细胞E受体是特异的(Kamoun等1981)。这些成果在研究E受体和其它T细胞表面结构的关系上, 无疑地将会具有重大作用。

E受体在免疫应答中的机制, 仍没有解释清楚。E受体以溶解的形式存在于正常人的血清、血清透析液、含有转移因子的白细胞浸出物和正常尿中。抑制淋巴细胞转化, 是由外源血凝素或同种基因细胞引起的。这一点表明免疫调节作用的部位与免疫调节功能具有密切亲合性(Musatti等1980)。已经发现在某些疾病中, E受体存在于抑制T细胞上, 例如在γ球蛋白缺乏症中(Dorch及Gelfand, 1978), 但是还不清楚这些受体与此型T细胞的关系。

免疫球蛋白受体(FC受体):

许多细胞, 包括某些淋巴细胞, 均具有免疫球蛋白Fc段的表面受体。证明这些受体主要技术有: (1)凝聚免疫球蛋白粘附, 通常用荧光标志观察(Dickler及Kunkel, 1972; Arbeit等1976); (2)用稀释的抗RBCs抗体CEA玫瑰花环致敏异体红细胞的粘附(Hallberg等1973); (3)其他抗原——抗体复合物的粘附(Arbeit等1976; Dickler 1976a)。免疫球蛋白通过Fc段发生粘连, 已由F(ab')和F(ab')₂段缺少粘连能力而证实(Dickler 1974)。

究竟天然免疫球蛋白, 凝聚免疫球蛋白和抗原——抗体复合物是否粘连在相同位点, 究竟这些技术是否能识别出某些细胞群, 已做为难题被提出来。EA玫瑰花环试验的技术是不尽相同的, 各种试验技术能够识别不同的细胞群(Froland及Wisloff,

1976)。结合象E A这样大复合物的受体，可能与结合天然IgG受体具有不同的性质。这种不同有可能是接合部位的亲合力或密度的不同表示，还可能在细胞群之内或各细胞群之间是不同的(Beckett等1978)。在小白鼠白血病淋巴细胞上鉴定出的独立的受体位点，天然IgG和IgG—抗原复合物的位点(Cooper等，1977)。Stout(1981)报道，做为一种抗原—抗体复合物，天然IgG的粘附表现出了一种特异的约束，而热凝聚免疫球蛋白却不是如此。现在最大的争论集中在Fc受体是否为B细胞的可靠标志这一问题上。许多报告指出，Fc受体存在于所有的B细胞上(Basten等，1972; Dickler及Kunkel, 1972; Brain及Marston, 1973; Dickler 1974; Sandilands等1976)。但是，凝聚的免疫球蛋白的粘结，通常被认为是B细胞的可靠标志(Froland等1974a; Kumick及Grey 1975; Labo及Horwitz 1976)，纵使有些应用E A玫瑰花环技术的作者曾经报道，带Fc受体细胞的器官分布和B细胞的估计分布之间具有良好的相关(Samarut等，1976; Bast等，1980)。但只有很小比例的，具有SmIg的细胞，通常形成E A玫瑰花环(Froland等，1974b; Gergely等1977)。在有关人淋巴细胞的分层分离研究中，Froland等(1974a)提出，凝聚IgG的粘结是B细胞的一个标志，但它不一定依赖于Fc片段。E A的粘结依赖于Fc，而且能识别B或T淋巴细胞以外的细胞群(Froland及Wisloff 1976)。Brown和Greaves(1974)发现大多数带有SmIg的细胞粘附凝聚IgG，而有些T淋巴母细胞也粘附凝聚的IgG，于是他们指出，T细胞的Fc受体是在T细胞活化后出现的。

所以，似乎由于对两个具有内在联系，但又独立的概念不够清楚而产生混乱。也就是哪种细胞具有本身的Fc受体，以及哪种带有Fc受体的细胞，能用E A技术检测出(E

A技术本身具有许多物理的限制因素)。现在看来，无疑的大多数带有Fc受体的细胞是B细胞(Brown及Greaves)，但相反的并不一定真是如此，例如，只有一半左右的兔B细胞具有IgG的Fc受体(Bast等1980)。其他具有Fc受体的细胞包括T淋巴细胞的一个亚群(Revillard等1975; Stout及Herzenberg 1975a)、无标志细胞(Froland等1974b, Dickler 1976a, Bast等1980)、异嗜细胞、巨噬细胞及嗜酸性粒细胞。检出T细胞的Fc受体通常需要比检出B细胞的Fc受体更为敏感的技术(Arbeit等1976)。带有Fc受体的T细胞，具有低亲合力的E玫瑰花环受体(West等1977)，而且它们对有丝分裂原刀豆素A(Con A)比没有此受体的T细胞具有更强的反应性，尽管二者都能对植物血凝素(PHA)产生应答反应(Stout及Herzenberg 1975b)。带有IgM受体的T细胞是小、或中等大小的淋巴细胞，具有一个或两个非特异酸性酯酶活性点。而带有IgG受体的T细胞是大淋巴细胞，具有更为复杂的细胞质细胞器、很多表面绒毛突和具有鉴别意义的细胞质囊泡(Grossi等1978)。这两类细胞对于PHA和Con A的应答也不相同，在一个正常的应答模型中，需要这两类细胞参与(Moretta等1976; Fauci等1980; Victorino和Hodgson 1980)。一般说来，带有IgM受体的T细胞在这些应答中是需要的，说明它们是活性细胞或具有辅助作用细胞。

Fc受体的功能仍不十分清楚。一个很引人注意的理论就是，Fc受体指导参与抗体依赖性细胞介导性细胞毒反应(ADCC)的细胞，对于被抗原致敏的细胞来说，这些细胞有时称为杀伤细胞(K细胞)。凝聚的或复合的IgG，能够抑制ADCC的能力这样一些早期研究支持上述理论(Dickler, 1974)。Perlmann等(1975)在淋巴细胞的亚群——K细胞上，证明有高亲合力的Fc受体。Ne-

vill (1980) 提出, 这种K细胞比正常的K细胞具有更高亲合力的Fc受体, 并且在ADCC中通过它们的Fc受体而被激活。其他作者未能证明ADCC和Fc受体之间的相互依赖关系。Kay等 (1977) 发现有ADCC能力的细胞和直接的细胞毒反应之间存在某种巧合, 而且发现这两种功能对Fc受体的某些依赖关系。带有Fc受体的淋巴细胞能直接参与细胞毒反应, 但有几份报告未能证明Fc受体的基本作用 (Herberman等 1977; Leclerc等 1977; Takabayashi等 1980)。Rubin和Hertel-wulff (1975) 断定, 带有Fc受体的淋巴细胞世代主要依赖于其生理状态, 其次是其免疫状态, 而Fc受体与T细胞的功能毫无相关。所以, 似乎在Fc受体和效应细胞功能之间可能有一种联系, 然而搞清这一点是困难的。通过Fc受体而参与细胞和抗原相互反应的免疫球蛋白种类, 也需进一步的研究。Shaw等人 (1979) 发现, 具有IgM受体的T细胞或其子在直接细胞毒反应中具有活性, 而在ADCC中则否; 具有IgG受体的T细胞在ADCC中发生效应, 而在直接细胞毒反应中则否。对于嗜嗜性细胞和巨噬细胞上出现Fc受体, 当然, 目前最有可能被接受的解释, 就是它们在ADCC中做为效应细胞。嗜酸性粒细胞也具有Fc受体, 研究这种受体是因为它们在抗体介导性杀伤各种寄生虫中具有重要作用 (Mackenzie等 1978; Tai及Spry 1980)。IgA、IgE和IgG亚型的同型特异性受体的精确功能, 还需要精密地检查。这些受体可能是高度特异的, 它们做为一个整体说来, 或在传导、强化以及控制B细胞特殊种类免疫球蛋白的应答时, 可能起到一种特殊的作用 (Lum等, 1980; Ricardo 1980; Stofford及Fanger 1980; Suemura等 1980)。

人们还认为, Fc受体参与免疫应答的调节。Fc片段在体内或体外, 都是有效的佐剂成份: 这是由于多克隆B细胞通过其Fc段直

接粘附而引起活化 (Berman及Weigle 1977); 或由于对脾脏T淋巴细胞的影响 (Morgan等 1980a; Morgan及Weigle 1980)。带有Fc受体的T细胞, 在抗体应答中能发挥辅助作用或抑制作用, 这种区别有可能取决受体的免疫球蛋白同型特异性。具有IgG Fc受体的T细胞比具IgM Fc受体的T细胞更容易被认为是抑制性细胞 (Moretta等 1977), 虽然有些作者发现, 抑制性细胞主要的是带有Fc受体, 而辅助性细胞却不是 (Fridman等, 1977; Miyama等, 1978; Yodo等, 1978)。在混合淋巴细胞反应 (MLR) 中, 载Fc受体的淋巴细胞具有刺激 (Kuribayashi及Masuda 1978) 或抑制 (Gebel等, 1981) 作用。具有IgG受体的淋巴细胞在T细胞有丝分裂原应答中, 能做为抑制因子而发生作用 (Dillner—Centerlind等 1980b), 而可溶性IgG Fc受体, 能够抑制B细胞对细胞分裂原的应答 (Lethibichthuy等, 1980)。涉及到Fc片段的免疫应答调节有可能是抗体介导反馈抑制机制的一部分 (Sinclair及Chan 1971)。以酶除去粘附在T细胞上的Fc片段, 在体外可增强T细胞对SRBCs的蚀斑形成细胞反应。如果处理过的细胞用抗SRBCs抗体孵育, 而不是用抗体的F(ab')₂片, 就不会发生增强作用 (Setcavage及Kim 1980)。在异常条件下和白血病时, Fc受体出现在异常数量的细胞上, 或者同型特异性Fc受体出现异常的比例 (Spiegelberg等, 1979; Gupta等, 1980; Platsoucas等, 1980)。在这些疾病中观察到的免疫调节机制紊乱和Fc受体之间有无联系仍不清楚。值得注意的是, 在人和鼠的骨髓瘤中, T细胞主要是具有同型的骨髓瘤蛋白的免疫球蛋白 (Gebel等, 1979; Hoover等, 1981)。

关于Fc受体的物理和化学性质, 一些报告相互矛盾。Wernet和Kunkel (1975) 从B细胞膜上分离出分子量为35—70,000道尔顿的蛋白质, 据认为这个细胞膜就是Fc受

体。但在不久前, Cunningham—Rundles (1980) 从正常的 T 细胞中提纯出未经降解, 分子量为 120,000 道尔顿的 IgG 受体, 以及降解的 60,000 道尔顿的 IgG 受体。封闭 E A 玫瑰花环形成的分子, 对于花环起了一种特异性抗血清的作用。这个分子或它的抗血清不能封闭 T 细胞的 IgM 受体或其他非 T 细胞上的 Fc 受体, 这就暗示出标记的特异性。对母细胞化淋巴细胞的 IgG Fc 受体所做的同样研究 (Takacs, 1980), 却得到完全不同的结果。此受体是一个多聚糖蛋白, 其亚单位多肽的分子量为 46,000 道尔顿。这个受体的抗血清与正常人的和鼠的外周血液淋巴细胞亚型, 与所有带 Fc 受体的细胞发生反应, 但不与 Fc 受体阴性的细胞反应。Suzuki 等 (1981) 从慢性淋巴细胞白血病患者的细胞中提纯出 IgG 受体。这个受体的分子量为 30,000 道尔顿, 是由一条多肽链组成, 缺少糖蛋白葡萄糖胺和氨基乳酸, 但含有磷脂和游离脂肪酸。这些研究表明, 各种不同类型细胞 Fc 受体的性质和特异性或许是完全不同的。不管怎样, 此种 Fc 受体与补体受体和鼠的 H—2 M HC 位点的 K 区和 D 区是有区别的 (Kickler, 1974, 1976b)。在小白鼠和家兔 B 细胞上覆盖有 Sm Ig, 而引起 B 细胞被 Sm Ig 及 Fc 受体双重分布和共同覆盖。此点表明在这两种表面结构之间, 有一种亲合力或者结构近似 (Abbas 及 Unanue 1975; Forni 及 Pernis, 1975; Bast 等 1980)。曾报道 Fc 受体和 B 细胞 Ia 抗原之间具有密切的关系, 这就说明 Fc 受体可能发挥着免疫应答基因调节作用 (Dickler 及 Stachs 1974; Dickler 等, 1977)。Fc 受体的生物学, 曾由 Kickler (1976a) 全面地阐述。

补体受体:

Uhr 和 Phillips 曾经观察抗原——抗体——补体复合物粘附在某些淋巴细胞表面上 (Uhr, 1965; Uhr 及 Phillips 1966)。后来就发明了一种方法, 利用致敏的红细胞和

玫瑰花环系统中的补体结合抗体 (EAC), 来测定载有补体受体的淋巴细胞 (CRLs) (Bianco 等, 1970)。Ehlenberger 和 Nussenzweig (1976) 及 Ross 和 Polley (1976a) 曾经详述 EAC 玫瑰花环技术的方法学。补体受体也可以用间接荧光技术测定 (Ross 及 Polley 1976b)。间接荧光技术有可能变成愈来愈广泛地用来大量生产补体受体和杂交瘤抗血清的方法 (Ross 1980)。补体受体的研究仍是混乱不清的, 主要是因为它们存在于许多类型细胞中。

存在于淋巴细胞 (包括淋巴细胞前体和淋母细胞) 上的补体受体可以测定补体成份, 补体的组成成分是补体依次激活后的降解产物。因为补体反应顺序的中心反应是 C_3 的激活作用, 所以, C_3 产物的受体是非常重要的。实际上这些受体是被论述为 C_3a (Parish, 1975), 而这个产物不是通常结合细胞的 C_3b (Sobel 及 Bokisch 1975; McConnell 及 Lachmann, 1977)、 C_3c (Hayward 及 Greaves 1977), 也不是通常能结合细胞的 C_3d (Hayward 及 Greaves 1977; McConnell 及 Lachmann 1977) 和 C_3e (Ross 1980)。 C_4b 受体 (Parish 1975; Sobel 及 Bokisch 1975) 可能和 C_3b 受体是相同的。次要的受体是 C_1q (Sobel 及 Bokisch 1975; McConnell 及 Lachmann 1977) 和 C_8 受体 (McConnell 及 Lachmann 1977)。在补体受体研究中, 另外一个复杂的问题就是有一些细胞, 主要是有活性的 B 细胞和母细胞化淋巴细胞, 能够通过细胞表面的 B 因子样物质直接激活具有产生 C_3 , 随后就遮蔽了 C_3 受体的效应。对比补体受体复合相嵌体, 淋巴细胞受体的生物学, 通过其在 C_3 碎片产物上的位点而变得明瞭 (Bianco 等, 1970; McConnell 及 Lachmann, 1977)。其中 C_3b 是最重要的。检测淋巴细胞上的补体受体, 需要严格的技术条件 (Aiuti 等 1975; Ehlenberger 及 Nussenzweig, 1976; Ross

及 Polley 1976a, 1976b)。

通过补体受体分析所识别的细胞, 还仍然没有清楚地确定。一般认为, 带有补体受体的细胞是B细胞, 这主要是因为补体受体很少存在于胸腺细胞上, 或者很少存在于那些不吸附在尼龙纤维上的细胞 (Bianco等, 1970; Jonclal等, 1973)。Parish (1975) 及 Greaves和 Fanger (1976a) 发现, 补体受体可存在于具有或没有 Sm Ig 的细胞上, 以及具有或没有 Fc受体的细胞上。McConnell 和 Lachmann 1977年报道, 在所有的结合抗原的细胞上均有 C_3b 受体, 但不存在于某些粘附免疫球蛋白细胞中, 后者包括大多数产生抗体的细胞、IgM和IgG产生细胞。Ross于1980年明确地指出: “ $CR_2(=C_3d$ 受体) 单独存在于B淋巴细胞上……”

人们认为, 补体受体在淋巴细胞膜上的出现, 是这些细胞成熟的一个标志。Sidman和 Unanue (1975) 报告, 补体受体的出现在生后发育的最后期; 而 Hammerling 等 (1976) 报告说补体受体是个体发生时期, 继 Sm Ig 和 Ia 抗原出现后才出现在B细胞上的。Feldbush (1980) 应用单位重力沉淀法通过胎儿犊牛血清 (FCS), 分离出淋巴结细胞。较大的、未成熟细胞主要是非载有补体的淋巴细胞 (non-CRLs), 而较成熟的、中等的和小淋巴细胞群中, 有许多细胞具有补体受体。

现已应用一项更富有成效的方法, 以检测CRLs和免疫应答性之间的关系。Parish (1975) 发现, 对连接于单体鞭毛蛋白 (一种T——依赖性抗原) 的二硝基苯半抗原 (DNP) 产生应答的B细胞, 有98% 具有补体受体。对连接于多聚鞭毛蛋白 (T——不依赖性抗原) 的二硝基苯产生应答的细胞, 只有20—40% 具有补体受体成份。一般说来, 人们发现所有的抗原均能激活载有补体受体的细胞, 但只有多聚体能够激活缺乏补体受体的B细胞。早些时候, 曾有一种说法认为,

补体受体的作用是把抗原固定在淋巴组织, 此外还吸引CRLs到抗原存在的部位 (Bionc 等, 1970; Dukor等, 1970)。家兔注射钼孔螯血兰素部位的淋巴结引流液证明, 细胞数增加到正常的8倍, 而且具有 Sm Ig 的淋巴细胞和CRLs平行地增加, 从大约20% 增加到大约40%; 这种早期现象导致细胞数量迅速增加, 致使大多数淋巴细胞从外周血液中被吸引过来 (Green及 Fanger, 1976b)。补体成分结合于淋巴细胞是必需的, 它在抗原识别和抗体产生两个方面都是不可缺少的一个步骤。人们提出了各种理论来证实补体受体在T、B细胞应答中的重要意义 (Parish 1975)。对补体缺乏现象的研究表明, 它对T——不依赖性抗原是不发生影响的 (Dukor及 Hartmann 1973; Janossy 等, 1973; Pepys 1974; Parish 1975; Pryjina 及 Humphrey, 1975)。然而, T——依赖性体液应答在补体缺乏的情况下减弱。这表明补体是参与各类淋巴细胞之间的反应 (Feldmann及 Pepys 1974)。在体内, 酶和补体成分可能是相互激活, 包括偶联作用和细胞相互作用 (Dierich及 Landen, 1977)。最近, Feldbush (1980) 大白鼠足垫受抗原刺激的过程中, 检查其淋巴结引流液的记忆细胞群。在应答的早期 (2—4周), 记忆功能与不带补体受体的细胞有关, 但是后期 (6—8月) 大约有一半记忆细胞带有补体受体。这些受体由EAC玫瑰花环测定。究竟这些受体是参与记忆功能的, 或仅是不同细胞型的标志, 仍没有研究。

C_3 受体不同于Fc受体和 Sm Ig, 它们独立地复盖于细胞并对于酶降解具有不同的敏感性 (McConnell 及 Lachmann, 1977)。但是, 这些受体与组织相容性抗原 (HLA) 分子有密切的联系 (Arnaiz—Villena及 Festenstein 1975)。补体水平的基因控制是通过MHC基因的这种意见仍有待确定 (Ferreira 及 Nussenzweig, 1975)。最初的

生化分析表明, C_3 受体是一个分子量为35,000道尔顿蛋白成分的脂蛋白复合物(Dierich 1976)。不久之前, Fearon (1979)利用去污剂溶解细胞膜并以吸附层析, 从人RBCs中提纯糖蛋白, 分子量为205,000道尔顿。这种糖蛋白对 C_3b 具有很强的亲和力。随后用家兔制备出抗此种成份的抗血清用于受体抑制、膜标记和膜成分鉴定等研究(Fearon 1980)。已经完成做为 C_3b 的膜受体的成份鉴定。而且证实B细胞、单核细胞和多形核粒细胞膜上, 存在有 C_3b 受体和相同分子量的抗原结构。

表面膜免疫球蛋白:

产生免疫球蛋白是B细胞的一个特性。所测定的细胞质免疫球蛋白(CIg)是前B细胞的象征, 而细胞质免疫球蛋白的积极制造和分泌都是发生在浆细胞。免疫学家们都注重于B细胞的识别, 也就是表面膜免疫球蛋白(SmIg)的测定。常用来进行这种识别的技术是直接荧光抗体试验。这个方法已经成为最广泛应用的淋巴细胞标志试验, 这是因为它具有优良特性, 它对B细胞的特异性被普遍地承认, 而且又比较简便。

免疫球蛋白甚至遍布于整个B细胞的表面。正确的荧光染色, 可检测出围绕细胞一个薄层的标记。死亡的细胞, 整个细胞质全部着染。在此试验中, 容易出现以下几个技术错误(Seligmann等 1973; Preed'homme及Labaume, 1976; Winchester及Fu 1976; Hayward及Greaves 1977):

(1) 帽形成。免疫球蛋白在细胞的一点上做侧向运动, 这个错误由于抗血清的交叉联接引起。在 $0-4^{\circ}\text{C}$ 染色或者加入一个代谢抑制剂如叠氮化物而加以克服; (2) 非B——细胞表面免疫球蛋白的染色, 通常为IgG。这些免疫球蛋白不是由细胞分泌的, 而是通过Fc受体结合的。这种结合可在 37°C 下予先冲洗细胞, 或通过细胞表面蛋白质的轻度消化而消除; (3) 通过Fc片段, 使结

合的抗体和细胞表面结合, 这种结合可利用结合的抗体F(ab')₂碎片加以消除;

(4) 由于使用特异性不相适应的血清而引起的许多问题。即便使用特异性最适的血清, 由于亲和力、活性和标记的差异, 在染色上仍可出现数量上和质量上的差别。

尽管使用的是标准技术, 但从测量B淋巴细胞群(PBLs)中所取得的结果仍是参差不齐。健康成年人的PBLs, 根据报道大约有5% (Abo和Kumagai 1978), 3-22%

(Froland及Natvig 1973), 5-25% (Seligmann等, 1973), 以及28% (Grey等 1971)的具有SmIg细胞着染。一致的比较高的结果($>25\%$)是值得怀疑的, 可能是附着于单核细胞或T细胞Fc受体的免疫球蛋白被染所造成的。在这里, 很值得详细地说明一下同型的SmIg。大多数真B细胞载有IgM和IgD, 在真B细胞中可能有1-2%与IgA是同一个体基因型(Fu等 1975; Winchester 1976)。IgG常常通过Fc受体而被吸附到细胞上(Pettersson等, 1978)。如果 37°C 温孵或用酸洗涤, 可除去IgG, 通常它就不能重新合成(Grey等 1975)。IgG的各个亚型, 在结合淋巴细胞的趋向性上不尽相同。IgG₂可能是一种细胞产物(Froland及Natvig 1973), 但是, IgG₁和IgG₃一般地是结合Fc受体(Horwitz及Lobo 1975)。具有IgG型SmIg的细胞只占人PBLs的1.16%, 其中IgG₂亚型的百分比为0.5%, IgG₄为0.4%, IgG₁为0.33%, IgG₃为0.14% (Yount等 1980)。

说明分泌的SmIg对于B细胞是特异的证据比较广泛, 其中包括有一些对于载有SmIg细胞群的研究。这些研究表明, 载SmIg细胞不形成E玫瑰花环, 对有丝分裂原诸如PHA和Con A等不产生应答反应。

对有丝分裂原的应答

从全血中分离的淋巴细胞通常很小, 带

有一个致密的核和少量的细胞质RNA。它们在此时是以无活性的方式存在,不繁殖也不分泌细胞产物。但是,某种物质刺激后所产生的现象,则出现各种称呼,如母细胞化,有丝分裂,转化或活化。能够刺激淋巴细胞的物质是多种多样的。抗原能够刺激具有相应受体的淋巴细胞。当然,抗原是特异性的而且一开始就限定那些与抗原相适应的克隆定型细胞接受刺激而活化(Benezra等1967; Marshall等,1969; Diener等1973)。许多称为有丝分裂原的物质,可以非特异地活化细胞。许多有丝分裂原是植物源的外源凝集素。淋巴细胞转化的首次观察,曾涉及PHA的作用,PHA是一种红肾豆(*Phaseolus vulgaris*)的浸出物(Nowell 1960)。除PHA被认为是一种T细胞特异性有丝分裂原外,最常使用的外源凝集素包括:ConA,一种杰克豆,洋刀豆(*Jack bean Canavalia ensiformis*)的提取物—它也被认为是一种T细胞有丝分裂原;美洲商陆有丝分裂原(PWM),来源于十蕊商陆(*Phytolacca americana*),它刺激T细胞和B细胞,以及一种从Snail *Helix Pomatia*中提取的T细胞有丝分裂原。

另一群能够刺激淋巴细胞转化的物质是细菌产物。许多革兰氏阴性细菌的脂多糖内毒素是B细胞的有丝分裂原,通常使用的是埃希氏大肠杆菌提取物(Andersson等,1972)。结核杆菌纯化蛋白衍生物(PPD),也能够起到一个有丝分裂原的作用,但关于应答细胞的性质,有一些仍不明了。在接种过的,或致敏过的个体,对迟发型超敏感皮肤试验的应答和体外转化试验之间,具有某些相互关系。因为这种转化是抗原特异性的,PPD是一种高度胸腺依赖抗原,毫无疑问,这种应答归因于T细胞。然而,在皮肤试验反应阴性的个体和对照小白鼠,PPD还似乎刺激B细胞(Sultzer及Nilsson 1972; Sultzer等1977)。这可能是由于通过受刺

激的T细胞释放的有丝分裂原因子,使B细胞复原,因为纯化的B细胞不产生应答(Blomgren 1975)。

除了特异性抗原,外源凝集素和细菌内毒素以外,还有另外的两种重要的母细胞化刺激物质。第一个是同种基因细胞。如果在体外将来自基因型不同的供体淋巴细胞混合在一起,就会发生两种细胞相互反应。这个反应的初期就是母细胞化。如果其中一类细胞予先用X射线照射使其灭活的话,那么就只有未灭活的细胞产生应答。这就是应用于组织定型的MLR的基础,在组织定型中刺激抗原属于MHC(Bain等,1964; Adler等1970; Sorenson, 1972),应答的淋巴细胞是T细胞(Potter及Moore, 1977a)。另外一种重要的母细胞化刺激物质是抗血清。这种抗血清能够特异地对应细胞膜抗原(如 θ 或组织相容性抗原这样的T细胞特异性抗原);或特异对应抗免疫球蛋白血清。在这种情况下,被刺激的细胞带有SmIg,这种细胞也就是B细胞(Sieckmann, 1980)。抗血清的特异性是极其重要的。抗体也可以通过Fc片段和Fc受体结合在细胞表面,可以导致母细胞化。所以,可建议使用抗体的F(ab')片段(Hayward及Greaves 1979)。

淋巴细胞成功的转化,至少需要两种表面现象。第一是有丝分裂原的攻击。大多数的外源血凝素首先侵袭一些糖类物质,如N-乙酰基-D-氨基半乳糖、N-乙酰基-D-氨基葡萄糖以及D-甘露糖。这些物质存在于细胞膜糖蛋白中(Henkart及Fisher, 1975; Sharon 1976)。第二步就是触发。在这一步骤中经刺激后,可以检测到一系列复杂的细胞表面变化,这一变化与穿过胞膜进行信息传递有关(Crumpton等1976)。这种攻击本质上不一定引起触发。有些外源凝集素缺少有丝分裂原作用,简单的原因就是它们不结合细胞表面糖肽。但是,目前对某些外源凝集素既结合表面糖肽,而又无刺激

作用的原因仍不清楚。Skoog等(1980)发现有丝分裂原和非有丝分裂原的外源凝集素结合于同一部位,而其他的研究(Dilleer-Centerlind等1980a)却认为,有5个糖肽是由有丝分裂原外源凝集素结合的,而不能被非有丝分裂原外源凝集素结合。受体部位的交联可能起着重要作用(Fanger等,1970;Fanger 1972)。有一个理论(Dillner—Centerlind等1980a),通过研究支持下述这种说法:有丝分裂原外源凝集素比非有丝分裂原外源凝集素结合更多的表面糖肽。

刺激后24小时,许多细胞增大,随着细胞的增大,特别是细胞质的体积增加。48小时以后,可见许多细胞处于有丝分裂期。扫描电子显微镜下显示,绒毛突和尾足的数量均有增加(Polliac等,1976)。如果刺激物是外源凝集素,这些细胞就会继续分裂,常常聚集在一起。伴随这个浆母细胞形成和细胞分裂的过程,代谢活力和蛋白质合成增强,反映出氨基酸的吸收增加(Epstein及Stohlman,1964)。后者就构成了淋巴细胞转化试验中测试的基础。将放射性同位素标记的氨基酸加入培养物中,测定这一标记物的量,结合直接测定应答细胞的数量,即可获得转化的结果。做为其活化的最终结果,淋巴细胞分泌大量的可溶性产物。在B细胞受PWM、LPS(脂多糖)或抗免疫球蛋白刺激后,其产物通常是免疫球蛋白(Cooper等,1980;Ilfeld等1981)。活化的T细胞产生淋巴因子,对同一培养物中的靶细胞具有非特异性的细胞毒作用(Hughes—Law等1978)。

淋巴细胞转化试验,是很费时间的,而且存在多种潜在的差异性,在此处不详细叙述。前十年中,由于引进微量培养技术和半自动细胞收获仪,而简化了淋巴细胞转化试验(Penhale等1974;Pees及Pappas,1975;Brown,1977)。必须强调,一定的抗原或有丝分裂原对某一细胞群的确切效应,

其中依赖于有丝分裂原的浓度、细胞的种属起源、细胞成熟的状态和器官的来源、细胞群的纯度以及培养条件,如培养时间和温度以及培养基的组成和成份(Faguet 1974;Potter及Moore 1975;deJong等1977;Prees及Rosse 1977)。在淋巴细胞转化试验中,可测量到的应答,通常被理解为在培养物中存在着免疫学上与一定特异性相适应的细胞。但是,淋巴细胞活化的机制非常复杂,因而这种解释被人们认为是再简单不过了。例如,众所周知在刺激的开始只需要少量的巨噬细胞,它们只是参与抗原或外源凝集素吸附在淋巴细胞这一过程(Rosenstreich,1976)。高度纯化的淋巴细胞悬液基本上不含有巨噬细胞,可能不产生应答(Hedfors等1975;Potter及Moore 1975,1977b)。这样看来,阴性结果可能归因于几个因素:巨噬细胞的缺乏;巨噬细胞的机能障碍;或者是巨噬细胞—淋巴细胞相互作用障碍,以及淋巴细胞本身可能就是无应答能力的细胞。同样地,血清中也含有许多物质。关于这些物质有不同的报道。有的认为,它可增强淋巴细胞的转化,有的认为它可抑制转化,特别是在某些疾病中(Nelson及Shneider 1974;Nelson 1975;Hsu 1976)。因为血清是培养基中最普通成份,则宿主血清的微量元素等必定几乎全部存在于培养物中,因此,为了正确地阐明淋巴细胞转化试验,非常重要的就是适当地控制血清量。

淋巴细胞转化试验,已经提供群体总的和个体的特殊免疫应答状况很有价值的资料。然而对于体外母细胞化试验与迟发型超敏感皮肤反应之间的精确关系仍有争论。看来,毫不怀疑,T依赖性抗原阳性的淋巴细胞转化试验,标志着存在细胞介导型应答。然而,具有抗体的个体也能够发生淋巴细胞转化反应,这就标志着母细胞化不只是细胞介导免疫(CMI)的指标(Benezera等,1969)。以上所讨论的阴性反应,可以有许多解释,

但通常认为是缺乏对抗原的细胞介导免疫。关于对外源血凝素的非特异性反应,人们设想,这种反应是与免疫成熟细胞的存在有关。一种可以被接受的说法是,不同的外源凝集素可以刺激不同亚型的细胞,或处于不同发育阶段的细胞(Stobo, 1972)。淋巴细胞对T细胞有丝分裂原应答的个体发生,是与各种胸腺激素诱导淋巴细胞成熟相平行的。非应答性骨髓前体细胞和原始胎儿细胞,在含有PHA及ConA的试管中孵育后,可以获得对这些物质的应答力(Leino等 1977, 1978; Soppi等 1979; Incefy等 1980)。关于这样因子在免疫缺陷的动物中对有丝分裂原发生应答的体内效应还知道的很少(Ikehara等 1975)。应该清楚,不同的生理状态和疾病,对有丝分裂原的应答可发生变化。在严重的免疫缺陷、肿瘤病以及某些传染病(如麻风、结核和梅毒)时,可发生应答减弱甚至消失(Hayward及Greaves 1977)。免疫抑制药物也能减弱免疫应答,如皮质类固醇、环磷酰胺等(Mansour及Nelson 1977; Webel及Ritts 1977)。在妊娠期对T细胞有丝分裂原的应答力减弱,这可能是由于妊娠激素对胸腺或T细胞活性的影响而造成的(Strelkauskas等, 1978; Birkeland及Kristofferson 1980)。

关于对淋巴细胞刺激方面的广泛文献中,已详细地阐述了几个题目(Ling及Kay 1975; Oppenheim及Rosenstraich, 1976; Wedner及Parker, 1976)。

柱层析(柱分级分离)

近几年来已经知道,许多细胞在37℃有血清存在时能吸附玻璃、塑料、尼龙或聚苯乙烯。据推测这些细胞是巨噬细胞和粒细胞(Shortman 1975)。但是,1973年Julius等报道,小白鼠组织悬液中的B细胞可以通过尼龙纤维柱加以除去,剩下的洗脱液中含有比较纯的T细胞。后来Greaves建立了这种提纯的最适条件(Greaves及Brown 1974;

Greaves等 1976)。他还报道洗脱过细胞的某些特性,细胞的收获量通常是很低的(大约50% T细胞不能通过此柱)。尽管没有理由使人相信,这些损失对T细胞的某种亚型是有选择性的,但这种可能性还不能排除。然而,非粘附的细胞群几乎全是T细胞(>95%)。这些吸附的细胞群,吸附后还可机械地洗脱下来,但它不是一个纯的B细胞悬液。仍不清楚为什么B细胞能优先地吸附,这种吸附的机制需要叠氮化物抑制代谢过程和钙离子的参与。这项技术目前已为许多实验室所采用。并应用于几种动物中,可能是由于方法不同而出现不同的结果。

柱层析法在分离细胞群中的另一个应用,是亲合层析法(Chess及Schlossman 1977)。这个方法中,抗原、抗体或其他蛋白质物质,都交联在一个惰性载体上。载体可以是玻璃,或是葡聚糖小珠。通常将有待层析的液体或者悬液与载体在一个柱内混合,这样,具有适当粘附部位那种成份与载体结合,已经与载体结合的成份,通过洗脱手续洗脱下来,剩下的则是游离的其他成份,包括加过量的抗原或抗体,低PH的缓冲液和高浓度的某些离子(如硫氰酸盐)。这种方法已经用来分离各型细胞。含有抗免疫球蛋白抗体或葡萄球菌蛋白A的柱,能够用来选择性地吸收B细胞,并允许浓厚的T细胞流过(Chess及Schlossman, 1976; Wigzell 1976; Kondo-roshi等 1977)。也有可能通过其他的细胞标志,如Fc受体,补体受体,植物外源凝集素和各种抗原层析细胞群(Wigzell及Andersson 1969; Wigzell等, 1972; Jondal等 1973; Boldt及Lyons 1979a, 1979b)。应用高度特异的抗血清,对杂交瘤技术所产生的各种细胞型及其亚型的亲合力,将使更加精确地层析各种细胞群成为可能。已有报道(de Kretser等 1980),用琼脂糖珠与单克隆抗血清连接,分离出属于HLA—DR组织相容性表现型的细胞。

淋巴细胞群和亚群的抗血清

很长时间以来,免疫学家们就已经认识到,他们所研究的免疫应答,还能提供出重要的试剂。用它鉴别不同的抗原。现在已经广泛地试图制备特异性抗哺乳动物T细胞、B细胞及其亚型的抗血清,但只限于几例的成功报道。在禽类由法氏囊和胸腺提供免疫和交叉吸收用的B细胞和T细胞的来源。哺乳动物缺乏良好的B细胞来源,但有现成的SmIg做为B细胞的标志,所以大多数试图直接生产抗T细胞的抗血清。通过一组对T细胞亚群特异的试剂,已经很清楚地了解小白鼠系统的特性(Mckenzie及Potter, 1979)。人的T细胞血清制备基础是用胎儿胸腺(Greaves及Janossy 1976)、大脑(和T细胞存在共同抗原)(Brown及Greaves 1974; Stratton及Byfield, 1977; Grabar及Loisillier, 1978)和猴的胸腺细胞(Balsh等1976a)进行免疫。带有IgG受体的T细胞亚群,曾用EA玫瑰花环试验从脐带血液中分离出来,并做为一种抗原而应用(Williams及Kilpatrick 1981)。一些患有自身免疫病(如幼稚型类风湿性关节炎)的病人,具有抗T细胞亚型的循环抗体(Strelkauskas等1977)。患有T、B细胞白血病患者的血液淋巴细胞和细胞系,已经被用来做为一种免疫抗原或吸收抗原(Greaves及Janossy, 1976; Williams及Kilpatrick 1981),尽管这和小白鼠细胞系统非常相近。在这种情况下,抗原将会表现在处于免疫状态的白血病细胞上,随之抗血清可能发生反应性,但却很少表现在正常的细胞群。已有不同的免疫程序用于几种动物产生抗血清(Godfrey等, 1976; Greaves及Janossy, 1976; Mears等1976)。必须强调,免疫动物的种类和接种程序将影响血清的能力和特异性。这种血清通常含有抗几种细胞型的抗体,并含有对细胞接种物特异的抗体。前者可用红细胞,肝

和肾吸收排除。抗B细胞血清需用免疫球蛋白吸收。有一篇报道生产兔抗豚鼠B细胞血清指出,这种吸收并不是必需的(Ota等, 1980)。所有的抗细胞血清,最好是用相应的细胞群加以吸收,尽管可利用的细胞数量非常之少。吸收是需要精确的检查,因为特异性的相应抗体常常同非特异性抗体一道经吸收除掉(Reif及Robinson 1975)。一种令人满意的适当方法是应用吸收技术与临界稀释相结合,剩下的主要是特异的反应物,仅含有极少量的非特异性反应物,从而达到增强特异性的目的。血清的效价可用各种方法包括直接或间接荧光技术,细胞毒试验和玫瑰花环抑制试验加以鉴定。目前已经有了评价血清特异性的初步标准(Aiuti等1975)。

抗T、B细胞及其亚型血清有多种用途。主要用于细胞的鉴定和计数(通过免疫荧光技术),通过荧光激活细胞分类器,将这项应用扩展到细胞的分离。抗胸腺细胞血清在间接玫瑰花环试验中已用于鉴定T细胞(strelkauskas等1975)。在体外当有补体存在下,使用类似于组织分型技术,用抗血清能够破坏某些细胞群和亚群(Amos 1974)。这些血清在体内做为免疫反应抑制剂,主要用于移植方面(Kerman等1980)。使用加有血清的亲和层析柱,能够达到浓集和纯化细胞群的目的(Kondorosi等1977)。

随着杂交瘤技术的进展(应用此技术可生产高特异和高效价的抗血清)(Goding 1980),希望进一步弄清T细胞、B细胞及其亚型的抗原结构。对某些血清来说,情况正是如此。已经生产出一些试剂,能与那些以前已经识别的,具有迄今所知的更高特异性的抗原发生反应。对于成熟程度和功能上不同的T细胞亚群,在血清识别的精确性方面已经有所改进(Bhan等, 1980; Burger及Shevach 1980; Hogarth 1980; Kimura等1980; Reinherz等1980c; 1980d; Thomas等1980; Zarling及Kung, 1980; Poppema