

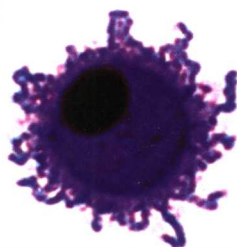
研究生教学用书

教育部学位管理与研究生教育司推荐

Transplantation Immunobiology

移植免疫生物学

● 主编 李幼平



高等教育出版社
Higher Education Press

移植免疫生物学

主 编：李幼平

副主编：程惊秋 步 宏

编者(按姓氏汉语拼音顺序排名)

步 宏	曹雪涛	陈利弘	陈又南	程惊秋	戴 萍	邓绍平	冯 莉	胡振华
黄 强	黄石书	焦志军	柯能文	李璐璐	李奇峻	李胜富	李永胜	李幼平
刘江文	刘 霆	龙 丹	卢实春	卢晓风	卢一平	陆燕蓉	吕 明	麦 刚
庞丽丽	沈倍奋	石毓君	孙玉英	谭卫东	唐 强	唐 勇	田志刚	涂智丹
万 琳	王 佳	王坤杰	王 莉	王全兴	魏海明	武聚山	奚永志	夏仁品
叶 丰	于 萍	张 立	赵 娜	郑树森	周光炎			

主编助理：张 立 涂智丹

高等教育出版社

内容简介

本书为教育部学位管理与研究生教育司推荐的研究生教学用书,是作者在2000年出版国内第一本中外合著的《移植免疫生物学》专著的基础上,结合连续6年开设“移植免疫生物学”研究生课程的第一手经验,针对目前研究生低龄化、以直读为主、大量非医学学生选修、缺乏移植临床和科研经验的生源现实,组织国内外在移植临床、科研和教学第一线工作的一流专家共同撰写的国内第一本《移植免疫生物学》研究生教材。

全书分基础、临床、前沿和技术4个部分,分别阐述移植免疫生物学的基本理论、在目前临床主要移植器官组织中的应用、国内外最新前沿和发展趋势以及基础研究所需的相关技术。力图为读者提供一个适合教学、可作手册、能指导科研、也适合自学的研究生教材,同时也可作为临床移植外科医师、内科医师、检验和临床药学人员、基础免疫学教师、临床免疫学教师和科研人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

移植免疫生物学/李幼平主编. —北京:高等教育出版社,2006.9

ISBN 7-04-020015-5

I. 移... II. 李... III. 移植免疫学-研究生-教材
IV. R392.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 096750 号

策划编辑 安琪 责任编辑 薛玥 封面设计 王凌波 责任绘图 朱静
版式设计 史新薇 责任校对 杨雪莲 责任印制 韩刚

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100011
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 北京汇林印务有限公司

开 本 889×1194 1/16
印 张 28.75
字 数 890 000

购书热线 010-58581118
免费咨询 800-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>

网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 2006 年 9 月第 1 版
印 次 2006 年 9 月第 1 次印刷
定 价 60.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 20015-00

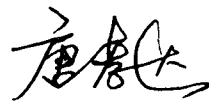
序

外科学技术的发展、移植免疫研究的逐步深入和在此基础上建立起来的免疫抑制治疗的进展,使器官移植由幻想变为现实,目前已成为治疗终末期脏器病变的有效手段。移植免疫,尤其是移植免疫生物学有其特殊性,相关学科间的交叉和结合更多、更复杂,有不少现象还认识不足甚至尚未认识,例如同种免疫应答的免疫学本质尚待进一步揭示。相对于生物医学领域其他学科,移植免疫生物学的兴起和发展明显滞后,已成为当前国内外学者关注的热点和重点。

长期以来,我国缺乏关于移植免疫生物学的教材和参考书。李幼平教授意识到这一点,早在2000年就与国内外专家共同编写了《移植免疫生物学》专著,首次向国内读者系统介绍国内外移植免疫生物学研究的最新成果。当时全书43章中,仅有3章出自国内作者之手。我有幸成为该书的总审校,并见证了该书对推动国内移植免疫学科发展所起的积极作用。

六年后,基于大量一手相关研究成果和培养研究生的经验,李幼平教授进一步组织了国内移植界、免疫学界,尤其是移植免疫学界的知名专家,共同编写了《移植免疫生物学》研究生教材,填补了国内移植免疫生物学教材的空白。

本书内容丰富,既有相关基础理论知识和常用生物学、免疫学及动物实验技术,也涉及重要的应用基础和临床内容,适合于不同专业研究生的教学需要。本书既注重基础知识和技能,也强调当前的研究前沿和问题;既注意到研究生基础的奠定,也给予他们今后进一步发展的空间,体现了有关移植免疫生物学的知识性、科学性、实用性和先进性。本书虽然定位于研究生教材,也不失是一本良好的参考书,适用于各类各级临床医师,基础医学教师和研究人員。我相信本书的出版将促进我国移植免疫学的进一步发展。



上海交通大学附属第一人民医院
上海交通大学器官移植研究所
上海市器官移植临床中心

前言

移植手术能挽救各种终末期疾患病人的生命已经是不争的事实。但在受者体内植入供者器官,不仅要让供器官在受者体内长期存活、正常行使功能,还要受者免疫系统将其视为“自己”,长期和平共处,这是一个违反自然规律、打破受者体内各种平衡、再人为重建一个新平衡的极具挑战性的艰难探索过程的事实,尚未被医学界、甚至移植界的年轻医师和医学生们所深刻理解。因而,这个世界前沿新兴交叉学科领域在 20 世纪 90 年代的中国尚属空白。

2000 年,在著名组织配型专家 Rene J. Duquesnoy 教授的大力帮助下,我们有幸邀请到全球一流并在第一线工作的移植外科和移植免疫学专家,为中国读者奉献了国内第一本中外合著的《移植免疫生物学》专著,并以此为教材,共同培训了国内首批移植免疫学研究生和移植外科医师。正是这些成功的合作激励我们从此将该课程固定下来,成为我校最受欢迎的研究生课程之一。

2003 年,我们获准撰写教育部第一本《移植免疫生物学》研究生教材,在全国移植界、免疫界和移植免疫界一流并在第一线工作的专家通力协助下,于 2006 年 9 月将此书奉献给广大读者。与第一本专著不同,本教材整合了如下资源:

1. 基于 6 年来移植免疫生物学研究生教育和科研实践的第一手经验,尤其面对目前研究生低龄化,缺乏临床移植经验,大量非医学专业学生选修的现实,我们精心设计了本书的构架和内容。

2. 集成国家自然科学基金重大项目“异种移植的基础研究”和国家科技部 973 项目“移植物慢性失功的基础免疫学问题”等,紧跟国际前沿的研究成果和人才优势,优选了本书的作者队伍。

3. 特别邀请了在第一线参与这些前沿研究的优秀博士后、博士研究生、硕士研究生和他们的导师,共同编写这本为他们而写、写他们所需、为他们所用的研究生教材。

4. 本教材的编写指导原则,借鉴了循证医学的证据分类分级、严格评价、与时俱进和指导解决问题的原则,在硬科学研究领域引入软科学研究的最新方法和成果。

希望本书的出版发行,能够推动我国移植人才的培养、移植事业的发展和移植研究的创新,起到了解历史、掌握方法、找准问题、瞄准前沿、以利发展的作用。我和本书的全体作者期待广大读者和同行的后效评价,以帮助我们持续改进。

本书付印之前,特别感谢我室在站博士后唐勇、石毓君、冯莉和在读博士研究生陈又南在协助全书审校中所付出的辛勤劳动,感谢在读硕士研究生赵娜、柯能文和黄石书在书稿最后统稿、校对及编写索引中所付出的大量艰辛细致的劳动。没有他们的无私奉献,本书不可能顺利出版。

最后,仅以此书献给曾为我国临床移植、生物医学工程和移植免疫学学科建设和人才培养指引方向、全力支持、搭建人梯、现已故去的吴和光教授、杨光华教授;献给仍然活跃在移植领域的唐孝达教授和沈文律教授。没有他们的帮助,我们不可能走到今天。

李幼平

于四川大学华西医院

卫生部移植工程与移植免疫重点实验室

2006 年 6 月 8 日

郑 重 声 明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话：(010) 58581897/58581896/58581879

传 真：(010) 82086060

E - mail：dd@hep.com.cn

通信地址：北京市西城区德外大街4号

高等教育出版社打击盗版办公室

邮 编：100011

购书请拨打电话：(010) 58581118

目 录

1 移植免疫生物学导论	1
1.1 移植免疫生物学的早期历史	1
1.1.1 外科技术突破	1
1.1.2 移植规律的早期认识	3
1.1.3 MHC 的发现	3
1.1.4 Peter Medawar 的贡献	4
1.1.5 免疫学的贡献	5
1.2 移植免疫生物学的近代历史	5
1.2.1 移植免疫生物学与免疫学	5
1.2.2 移植免疫生物学与免疫遗传学	9
1.2.3 移植免疫生物学与异种移植	10
1.2.4 移植免疫生物学与组织工程	12
1.3 移植免疫生物学展望	13
1.3.1 移植免疫生物学面临的问题及 研究思路	13
1.3.2 移植免疫生物学的研究方法	13
参考文献	14
2 MHC 结构与功能	15
2.1 概述	16
2.2 小鼠 MHC 系统	16
2.2.1 主要研究方法	17
2.2.2 H-2 抗原和 Ia 抗原	20
2.2.3 H-2 复合体的基因组成	21
2.2.4 小鼠 MHC-I 类和 II 类分子的 结构	22
2.3 人类 MHC 系统的基因结构与 遗传	23
2.3.1 HLA 研究简史	23
2.3.2 人类 MHC 的基因结构与组成	24
2.3.3 HLA 的遗传特点与有关名称 的含义	27
2.3.4 HLA 的群体研究	28
2.3.5 HLA 家庭研究	28
2.4 人类 MHC 结构与功能	29
2.4.1 HLA I、II 类分子的结构	29
2.4.2 HLA 的国际命名	30
2.4.3 人类 MHC 的生物学功能	33
2.4.4 HLA 与医学的关系	35
结语	37
参考文献	38
3 移植抗原	40
3.1 抗原概述	40
3.1.1 抗原及其免疫原性	40
3.1.2 抗原表位	42
3.1.3 抗原分类	43
3.2 经典 MHC 抗原:决定移植物排斥 的关键成分	44
3.2.1 MHC 多态性是造成移植物排斥 的遗传学因素	44
3.2.2 T 细胞对 MHC 抗原的识别	46
3.3 非经典 MHC-I 类抗原:NK 细胞 对 MHC 抗原的识别	51
3.3.1 非经典 MHC-I 类分子	51
3.3.2 MHC-I 类分子作为配体参与 NK 细胞激活	52
3.3.3 其他非经典 MHC 分子和移植物 排斥	54
3.4 糖类抗原:移植受者预存抗体识别 的主要目标	54
3.4.1 非 T 细胞依赖性抗原及其特点	55
3.4.2 ABO 血型抗原	55
3.4.3 异种移植超急性排斥抗原	56
3.4.4 甘露糖抗原	58
3.5 细菌胞壁抗原:启动固有免疫应答 的关键成分	58
3.5.1 病原体相关分子模式和模式识别 受体	58
3.5.2 Toll 样受体启动的信号转导和相 关基因激活	59
3.5.3 脂质抗原、CD1 分子和 NKT 细胞 的激活	60
3.5.4 磷酸抗原对 $\gamma\delta$ T 细胞的激活	60
参考文献	61

4 抗原加工呈递与淋巴细胞激活	64	5.2.2 B 细胞亚群	94
4.1 抗原呈递细胞	64	5.2.3 B 细胞功能	95
4.1.1 专职抗原呈递细胞	64	5.3 自然杀伤细胞	96
4.1.2 非专职抗原呈递细胞	67	5.3.1 NK 细胞来源及组织分布	96
4.2 蛋白质抗原加工呈递的两条主要途径	67	5.3.2 NK 细胞表面标志与分类	96
4.2.1 T 细胞识别抗原的特点	68	5.3.3 NK 细胞受体与识别	98
4.2.2 外源性抗原加工呈递的内体/溶酶体途径	69	5.3.4 NK 细胞生物学功能	101
4.2.3 内源性抗原加工呈递的胞质溶胶途径	71	5.4 NKT 细胞	103
4.3 激活 T 细胞的各种信号和共刺激分子	73	5.4.1 NKT 细胞的主要特征	103
4.3.1 抗原识别信号:由 TCR/CD3 复合体传递的第一信号	73	5.4.2 NKT 细胞的分类与表型	104
4.3.2 激活信号:由共刺激受体传递的第二信号	75	5.4.3 NKT 细胞发育生物学	104
4.3.3 增殖信号:由细胞因子受体传递的第三信号	77	5.4.4 NKT 细胞生物学功能	105
4.4 T 细胞对移植抗原的直接识别和间接识别	78	结语	106
4.4.1 T 细胞对非己 MHC 抗原的直接识别	79	参考文献	106
4.4.2 T 细胞对非己 MHC 抗原的间接识别	79	6 移植排斥类型	108
4.4.3 T-APC 种间辅助分子的不可接近性可改变对异种 MHC 抗原的识别格局	80	6.1 移植排斥概述	108
4.5 B 细胞的激活与抗体产生	80	6.2 同种异基因移植排斥	110
4.5.1 B 细胞对蛋白质抗原的识别	80	6.2.1 宿主抗移植排斥	110
4.5.2 B 细胞活化的第二信号	81	6.2.2 移植物抗宿主排斥	114
4.5.3 抗体亲和力成熟和类别转换	82	6.3 猪→人异种移植排斥类型	114
4.5.4 非蛋白质抗原对 B 细胞的激活及其在移植排斥中的意义	83	6.3.1 超急性排斥	115
4.5.5 不同类别抗体的效应功能	84	6.3.2 延迟性异种移植排斥	115
参考文献	84	6.3.3 急性细胞性排斥	116
5 移植免疫效应细胞	86	6.3.4 慢性排斥	117
5.1 T 淋巴细胞	86	结语	118
5.1.1 T 细胞表面分子及其作用	86	参考文献	119
5.1.2 T 细胞亚群	89	7 移植免疫状态的调节	123
5.1.3 T 细胞功能	90	7.1 抗原抗体的免疫调节	123
5.2 B 淋巴细胞	92	7.1.1 移植抗原的免疫调节作用	123
5.2.1 B 细胞表面分子及其作用	93	7.1.2 抗体的反馈调节	124
		7.2 免疫细胞和细胞因子的免疫调节	124
		7.2.1 发挥调节作用的 T 细胞	124
		7.2.2 抗原呈递细胞对淋巴细胞的调节作用	126
		7.2.3 NK 细胞的免疫调节	127
		7.2.4 细胞因子的免疫调节作用	127
		7.3 分子与信号转导水平的免疫调节	128
		7.3.1 免疫细胞信号转导中蛋白质磷酸化和脱磷酸化的反馈调节作用	129
		7.3.2 免疫细胞抑制性受体的免疫调节作用	129

7.3.3	Fas/FasL 介导的凋亡在免疫负相 反馈调节中的作用	130	9.2.2	手术疗法	159
7.4	独特型与抗独特型网络的免疫 调节	131	9.2.3	血浆置换	160
7.5	嵌合与免疫耐受的调节	132	9.2.4	特异性抗原输注	160
7.5.1	嵌合类型	132	9.2.5	局部免疫抑制	161
7.5.2	嵌合与移植耐受的认识过程	133	9.3	免疫抑制药物的分类及应用	161
7.5.3	嵌合诱导免疫耐受的机制	133	9.3.1	免疫抑制药物分类	162
7.5.4	嵌合的检测方法	134	9.3.2	免疫抑制药物的作用机制及不良 反应	162
参考文献		134	9.3.3	钙调神经蛋白抑制药物	167
8	实体器官移植病理诊断与鉴别诊断	136	9.3.4	mTOR(哺乳类雷帕霉素靶分子) 抑制药物	172
8.1	免疫排斥反应病理诊断标准的 建立	136	9.3.5	生物性免疫抑制药物	174
8.2	肾脏移植病理	136	9.3.6	其他新型免疫抑制药物	177
8.2.1	供肾活检	137	9.4	免疫抑制药物的合理应用	179
8.2.2	移植肾病变评分标准	137	9.4.1	免疫抑制药物使用原则	179
8.2.3	移植肾急性排斥反应诊断与 分级	138	9.4.2	免疫抑制药物临床使用要点	180
8.2.4	慢性移植肾病	141	9.4.3	临床免疫抑制方案	181
8.2.5	鉴别诊断	142	结语		181
8.3	肝脏移植病理	144	参考文献		182
8.3.1	供肝活检	144	10	肾移植免疫生物学基础与临床	183
8.3.2	移植肝排斥反应评分标准	144	10.1	肾移植发展史	183
8.3.3	超急性排斥病理诊断	145	10.1.1	移植手术时代	183
8.3.4	急性细胞性排斥病理诊断	146	10.1.2	免疫抑制药物时代	183
8.3.5	慢性排斥病理诊断	148	10.2	肾移植免疫学	184
8.3.6	鉴别诊断	149	10.2.1	移植免疫学基础	184
8.4	心脏移植病理	150	10.2.2	肾移植排斥反应的种类及 机制	184
8.5	其他实体器官移植病理	151	10.2.3	排斥反应监测和诊断中存在 的问题	185
8.5.1	肺移植病理	151	10.2.4	免疫耐受现象及思考	185
8.5.2	胰腺/胰岛移植病理	152	10.3	组织配型	186
8.5.3	小肠移植病理	152	10.3.1	HLA 分型	186
8.6	移植物抗宿主病	152	10.3.2	HLA 抗体筛选	186
结语		153	10.3.3	新的配型策略——HLA 氨基 酸残基配型	187
参考文献		153	10.3.4	致敏受者的组织配型	187
9	免疫抑制药物机制及应用	157	10.3.5	组织配型中有争议的问题	187
9.1	免疫抑制的概念及其发展历史	157	10.4	免疫抑制药物应用	188
9.1.1	免疫抑制的概念	157	10.4.1	个体化用药原则	188
9.1.2	免疫抑制的历史沿革	157	10.4.2	免疫抑制药物应用中有争论 的问题	189
9.2	免疫抑制非药物治疗	158	10.5	移植肾功能延迟恢复	189
9.2.1	物理疗法	158			

10.5.1	DGF 影响因素	189	13	多器官联合移植免疫生物学基础与临床	217
10.5.2	DGF 处理措施	190	13.1	多器官联合移植的特点及免疫学表现	217
参考文献		190	13.1.1	多器官联合移植的特点	217
11	肝移植免疫生物学基础与临床	192	13.1.2	多器官联合移植的免疫学表现	218
11.1	肝移植排斥反应	192	13.2	部分多器官联合移植类型	218
11.1.1	超急性排斥反应	192	13.2.1	联合肝脏的多器官移植	218
11.1.2	急性排斥反应	193	13.2.2	联合骨髓的多器官移植	220
11.1.3	慢性排斥反应	194	13.2.3	联合肠的多器官移植	220
11.2	异种肝移植免疫排斥反应及病理	194	13.2.4	联合胰腺的多器官移植	220
11.2.1	近缘异种肝移植	194	13.2.5	器官簇移植	221
11.2.2	远缘异种肝移植	194	结语		221
11.3	肝移植耐受现象及机制	195	参考文献		222
11.3.1	供受者间遗传背景的影响	195	14	胰腺/胰岛移植免疫生物学基础与临床	224
11.3.2	肝脏的解剖和生理特点	196	14.1	胰腺移植	224
11.3.3	可溶性 MHC-I 类抗原和(或)MHC-II 类抗原	196	14.1.1	胰腺移植术式	225
11.3.4	高量耐受	196	14.1.2	胰腺移植受者选择	225
11.3.5	移植肝脏浸润性 T 细胞原位凋亡	196	14.1.3	胰腺移植效果	225
11.3.6	微嵌合体形成	197	14.1.4	移植排斥反应早期诊断	226
11.3.7	诱导耐受的临床试验	198	14.2	胰岛移植	226
参考文献		199	14.2.1	胰岛细胞分离与纯化(自动化方法)	226
12	造血干细胞移植免疫生物学基础与临床	202	14.2.2	胰岛植入	227
12.1	造血干细胞移植的历史	202	14.3	胰腺/胰岛移植排斥机制	227
12.1.1	早期探索	202	14.4	防止移植物排斥的策略和方法	228
12.1.2	人类造血干细胞移植的发展	203	14.4.1	免疫抑制药物的应用	228
12.2	造血干细胞移植的宿主抗移植物反应	204	14.4.2	免疫隔离技术	228
12.3	造血干细胞移植的移植物抗宿主病	204	14.4.3	基因治疗途径	229
12.3.1	GVHD 临床表现和病理学特征	205	14.5	异种胰岛移植	229
12.3.2	GVHD 病理生理学机制	206	14.5.1	猪到人异种胰岛移植临床试验	230
12.3.3	GVHD 的细胞因子网络	210	14.5.2	异种胰岛移植免疫耐受诱导	230
12.3.4	GVHD 防治策略	211	14.5.3	异种胰岛移植的潜在问题	231
12.4	移植物抗白血病作用	213	14.5.4	异种胰岛移植的前景	231
12.5	供者淋巴细胞输注	214	结语		231
参考文献		216	参考文献		232

15 移植耐受的诱导	234	CGD	257
15.1 免疫耐受的概念	234	16.2.4 组织抗原与 CGD	257
15.2 免疫耐受相关经典免疫学理论 及其沿革	234	16.3 CGD 相关的供者非特异性免疫 因素	258
15.2.1 免疫耐受现象的早期观察	234	16.3.1 病毒感染与 CGD	258
15.2.2 “自我-非我”理论	235	16.3.2 真菌感染与 CGD	260
15.2.3 “感染性非我和非感染性自我” 假说	236	16.3.3 细菌感染与 CGD	261
15.2.4 “危险信号”模型	236	16.4 CGD 相关的非免疫因素	261
15.2.5 其他与免疫耐受相关的 学说	237	16.4.1 缺血再灌注损伤与 CGD	261
15.3 诱导和维持移植免疫耐受的 免疫学机制	237	16.4.2 免疫抑制剂与 CGD	264
15.3.1 克隆清除	237	16.4.3 心血管疾病及代谢异常与 CGD	265
15.3.2 克隆抑制或克隆无能	237	16.5 CGD 防治策略	266
15.3.3 克隆忽略	237	16.5.1 临床一体化防治策略	266
15.4 诱导和维持移植免疫耐受的基本 方法	238	16.5.2 循证医学、政府决策和基础研究 对 CGD 防治的推动作用	266
15.4.1 给予供者抗原主动诱导移植 免疫耐受	238	结语	267
15.4.2 阻断移植植物或宿主特异性 免疫应答	241	参考文献	267
15.4.3 调控 T 细胞亚群分化、诱导免 疫偏离和发挥 T 细胞的调节 作用	245	17 移植感染及干预	271
15.4.4 其他诱导免疫耐受方法	247	17.1 移植感染的类型及现状	271
结语	251	17.1.1 移植感染类型	271
参考文献	251	17.1.2 病毒感染诊断方法	273
16 慢性移植植物失功机制及干预	253	17.1.3 抗病毒药物	273
16.1 CGD 的临床表现及诊断	254	17.2 移植后 CMV 感染基础与临床	274
16.1.1 慢性移植植物肾病	254	17.2.1 CMV 病毒学基础	274
16.1.2 移植肾小球病	254	17.2.2 CMV 临床研究	275
16.1.3 急性排斥	255	17.3 移植感染干预的新方法的研究	281
16.1.4 慢性钙调神经蛋白抑制剂的 肾毒性	255	17.3.1 转基因策略	281
16.1.5 移植肾动脉狭窄	255	17.3.2 新型疫苗开发	281
16.1.6 复发或新发的肾脏疾病	255	17.3.3 小分子抑制物的研发	281
16.2 CGD 相关的供者特异性免疫 因素	256	结语	282
16.2.1 MHC 配型的意义	256	参考文献	282
16.2.2 MHC-I 相关抗原与 CGD	256	18 移植免疫相关抗体工程	286
16.2.3 次要组织相容性抗原与		18.1 生物免疫抑制剂研究概况	286
		18.1.1 动物来源免疫抑制剂	286
		18.1.2 植物来源免疫抑制剂	286
		18.2 FDA 批准用于抗排斥反应的 抗体	287
		18.2.1 抗 CD3 抗体	287
		18.2.2 抗 IL-2R(CD25)抗体	291
		18.3 抗体作为免疫抑制剂的发展	

趋势	292	免疫反应的探索	325
18.3.1 新靶分子的发现	292	结语	327
18.3.2 抗体人源化和人源抗体的 制备	294	参考文献	327
参考文献	296	21 移植物界面反应的免疫生物学问题	328
19 异种移植的前沿与探索	299	21.1 生物来源材料引起的免疫反应	328
19.1 异种移植临床前及临床探索	300	21.1.1 胶原	328
19.1.1 异种移植临床探索	300	21.1.2 细胞外基质	328
19.1.2 猪→非人灵长类异种移植模型 研究	301	21.2 生物材料引起的慢性炎性反应和 纤维化包裹反应	329
19.2 适合用于异种移植的近交系猪 的选择	303	21.3 生物材料的免疫佐剂作用	329
19.2.1 遗传相似性研究	303	21.4 心血管材料引起的凝血和栓塞	330
19.2.2 肝、肾功能匹配性研究	304	21.5 以移植物为中心的感染	330
19.2.3 免疫学障碍研究	306	21.6 Ca-P 生物陶瓷的界面成骨 反应	331
19.2.4 解剖学匹配性研究	308	结语	332
19.2.5 种间传播疾病风险评估	310	参考文献	332
19.3 异种移植的前沿研究与探索	311	22 移植组织配型原则与方法	335
19.3.1 转基因在预防超急性排斥中 的应用	311	22.1 移植组织配型原则	336
19.3.2 凝血功能紊乱与移植排斥的 关系	312	22.1.1 造血干细胞/骨髓移植 HLA 配型原则	336
19.3.3 适应性反应与保护基因	313	22.1.2 肾移植 HLA 配型原则	338
19.3.4 NK 细胞在异种移植排斥中 的作用	313	22.1.3 心脏移植 HLA 配型原则	338
19.3.5 异种抗原诱导的 T 细胞 免疫	314	22.1.4 肺移植 HLA 配型原则	339
19.3.6 猪到人异种移植中人-兽共 患病的研究	318	22.1.5 肝移植 HLA 配型原则	339
结语	320	22.2 HLA 基因分型技术	340
参考文献	320	22.2.1 HLA 等位基因和 HLA 抗原 特异性的对应关系	340
20 移植免疫双向调节及干预	322	22.2.2 PCR-SSP	341
20.1 下调供者特异性免疫反应	322	22.2.3 PCR-RFLP	341
20.1.1 现有免疫抑制剂的作用部位 和缺点	322	22.2.4 PCR-SSCP	342
20.1.2 供者特异性免疫抑制方面的 探索	323	22.2.5 PCR-SSO	343
20.2 保持或上调抗感染和抗肿瘤免疫 反应	324	22.2.6 DNA 序列测定技术	343
20.2.1 移植感染防治临床常用方法 及缺点	324	22.2.7 PCR-SNP 分型技术	343
20.2.2 保持或上调抗感染和抗肿瘤		22.3 基因芯片技术	344

22.5.1	基本原理	346	24.3.1	IL-1 的检测	375
22.5.2	技术流程	346	24.3.2	IL-4 的检测	376
22.5.3	在 HLA 分型中的应用	347	24.3.3	IL-2 的检测	376
22.5.4	存在的问题	348	24.3.4	细胞毒活性测定法检测 TNF	376
22.5.5	展望	348	24.3.5	抗病毒活性测定法检测 IFN	376
22.6	流式细胞术在 HLA 配型中的 应用	348	24.4	移植免疫相关细胞的分离纯化及 培养	377
22.6.1	原理	349	24.4.1	机械法	377
22.6.2	在 HLA 分型中的优势	349	24.4.2	酶消化法	378
结语		349	24.4.3	梯度离心法	378
参考文献		350	24.4.4	吸附贴壁法	379
23	移植免疫生物学动物模型设计及选择	353	24.4.5	诱导培养法	379
23.1	移植模型外科技术	353	24.4.6	免疫学分离纯化法	379
23.1.1	血管吻合技术	353	24.5	常用移植免疫细胞学实验	382
23.1.2	大鼠器官移植	354	24.5.1	淋巴细胞增殖反应实验	382
23.1.3	小鼠器官移植	357	24.5.2	免疫效应细胞毒实验	384
23.2	移植免疫模型设计及应用	358	24.5.3	微量淋巴细胞毒实验	385
23.2.1	超急性排斥模型	358	24.5.4	T、B 淋巴细胞功能测定	386
23.2.2	急性排斥模型	358	24.6	细胞培养基本技术	386
23.2.3	慢性排斥模型	358	24.6.1	培养细胞的形态	386
23.2.4	移植耐受模型	359	24.6.2	细胞培养的环境	386
23.3	特殊移植免疫生物学动物模型	359	24.6.3	细胞培养基	387
23.3.1	转基因动物	360	24.6.4	培养用品的选择、清洗与 消毒	387
23.3.2	敲基因动物	360	24.6.5	常用的细胞培养用液及其 配制	388
23.3.3	特殊免疫缺陷小鼠模型	360	24.6.6	组织和细胞培养基本技术及 方法	389
结语		361	24.6.7	组织培养的污染、预防和 消除	391
参考文献		361	结语		392
24	常用免疫实验技术及方法	364	参考文献		393
24.1	抗原抗体测定	364	25	常用分子生物学技术	394
24.1.1	免疫酶技术	365	25.1	聚合酶链反应技术	394
24.1.2	免疫荧光技术	367	25.1.1	常规 PCR	394
24.1.3	流式细胞仪及流式细胞术	369	25.1.2	PCR 产物的纯化和鉴定	396
24.1.4	化学发光法	370	25.1.3	RT-PCR	397
24.2	补体测定	371	25.1.4	荧光定量 PCR	397
24.2.1	血清总补体溶血活性(CH50) 测定	371	25.2	DNA 序列测定技术	399
24.2.2	补体旁路途径溶血活性的测定 (ACH50)	371	25.2.1	DNA 序列测定的策略及基本	
24.2.3	补体各成分的测定	372			
24.2.4	补体裂解产物的测定	374			
24.3	细胞因子测定	374			

原理	399	26.4.1 原位 PCR 的基本原理	425
25.2.2 常用核酸序列数据库和序列 比较软件简介	400	26.4.2 原位 PCR 基本操作	426
25.2.3 DNA 序列测定举例:白细胞 抗原分型的基本方法	400	26.4.3 原位 PCR 在移植免疫生物学 中的应用	426
25.3 电泳技术	402	26.5 细胞增殖活性原位检测技术	426
25.3.1 琼脂糖凝胶电泳	403	26.5.1 核分裂象计数	427
25.3.2 聚丙烯酰胺凝胶电泳	404	26.5.2 免疫组织化学技术	427
25.3.3 变性高效液相色谱分析 技术	405	26.5.3 DNA 含量测定	427
25.4 分子杂交技术	407	26.5.4 嗜银核仁组织区法	428
25.4.1 Southern blot 技术	407	26.6 细胞凋亡检测技术	428
25.4.2 Northern blot 技术	408	26.6.1 TUNEL 的基本原理	428
25.4.3 Western blot 技术	409	26.6.2 TUNEL 的基本操作	428
25.4.4 生物芯片技术	409	26.7 组织芯片技术	429
25.5 RNA 干扰技术	410	26.7.1 组织芯片的制作	429
25.5.1 RNAi 技术中涉及的 RNA	410	26.7.2 组织芯片制作过程中可能出现 的问题及对策	429
25.5.2 RNAi 的作用机制和特点	411	26.7.3 组织芯片技术在移植免疫生物 学中的应用	429
25.5.3 RNAi 技术方法	412	26.8 显微切割技术	430
25.5.4 RNAi 在移植免疫生物学研究 中的应用	413	26.8.1 显微切割的方式	430
结语	414	26.8.2 显微切割的材料	430
参考文献	414	26.8.3 显微切割的辅助技术	430
26 分子病理学技术	416	26.8.4 显微切割的影响因素	430
26.1 免疫组织化学技术	416	26.8.5 显微切割技术在移植免疫生物 学中的应用	431
26.1.1 IHC 的基本技术方法	416	26.9 激光共聚焦显微镜及其应用	431
26.1.2 IHC 在移植免疫生物学中的 应用	419	26.9.1 单标样品的观察与分析	431
26.2 石蜡块组织 DNA 的提取	420	26.9.2 双标样品的观察与分析	431
26.2.1 石蜡块组织 DNA 提取 步骤	420	26.9.3 动态观察	432
26.2.2 影响石蜡块组织 DNA 提取 质量的因素	420	26.9.4 荧光光漂白后的光恢复——活 细胞内分子运动的检测	432
26.3 原位杂交技术	421	26.9.5 胞间通讯的检测	432
26.3.1 ISH 基本技术流程	421	26.9.6 免疫荧光的定量检测	432
26.3.2 荧光原位杂交技术及其 应用	423	26.9.7 细胞膜流动性检测	432
26.3.3 电镜原位杂交技术	423	26.9.8 样品的三维重建	432
26.3.4 ISH、FISH 以及电镜原位杂 交技术在移植免疫生物学中 的应用	425	26.9.9 细胞激光显微外科手术	432
26.4 原位 PCR 技术	425	结语	433
		参考文献	433
		英中文对照	434
		作者简介	445

移植免疫生物学导论

移植医学是 20 世纪医学发展的丰碑。作为移植医学的支柱,移植免疫与器官移植相依而生,相伴而行。

移植免疫生物学(transplant immunobiology)是以移植受者为研究对象,运用免疫学、遗传学、生物学、移植学、循证医学等学科的方法和技术,来研究临床移植相关免疫生物学问题、机制及干预的新兴交叉学科,其研究领域包括基础和临床研究,研究方法和结果可被肿瘤免疫、感染免疫、自身免疫、生殖免疫等多个领域借鉴。其研究结果在临床和人群中的应用,还涉及临床经济学、决策与管理、法律与规范等非医学领域。

移植免疫生物学基于移植学、免疫学与移植免疫学,但又与他们有本质的不同。免疫学起源于人类对微生物与人体相互作用的认识,主要探索人体与自然界相互作用的规律,以免疫系统为主要研究对象,探讨其构成及其与自然界作用的机制,为人们认识免疫系统及其对外界的反应机制提供基础知识。移植学则主要通过外科手术,以移植受者为对象,探讨细胞、组织、器官移植的技术及质量,通过其临床操作,达到挽救生命的目的。移植免疫学作为免疫学的一个分支,关注的主要是移植相关免疫学问题,探索移植排斥等的原因和机制,从而为认识上述问题提供基础知识和解决方法、思路。移植免疫生物学源于移植免疫学,但关注的领域更广泛,主要是移植物和受者的相互作用及产生的病理生理效应和干预。不仅解决个体移植受者面临的问题,而且研究移植科学面临的问题,包括扩展供器官的来源,影响受者生存质量和生存期的原因、机制及干预。这些研究,将为提高受者生存质量探索新的措施,揭示科学原理,开发移植应用产品。

1.1 移植免疫生物学的早期历史

移植免疫生物学能在 21 世纪发展成为一门独立的学科,离不开外科学、肿瘤学、遗传学、生物学、免疫学等学科对移植相关问题的早期探索。早期的器官移植是在现实需要的驱动下,在无知中摸索前行的过程。外科学家进行了大量器官移植实验,将移植外科技术发展趋于完美,但移植器官仍然不能长期存活。正当外科学家几乎失去信心的时候,借鉴其他学科的成就和合作研究终于发现,移植器官存活的关键在于免疫因素的影响。随着移植免疫的许多法则在 20 世纪中叶得到确立,器官移植终于从幻想变成了现实。

1.1.1 外科技术突破

外科学家在早期的医疗实践中,对终末期患者常常束手无策。能否用一个好的器官来取代一个丧失功

能或患有致命性疾病的器官以挽救生命,一直激发着外科医生的想像力。这种想像在公元前被作为一种神奇传说而加以记载。

1.1.1.1 神话时代

古埃及的狮身人面像,希腊神话中的人头马身也许是远古人类对器官移植最早的想像,表达了人们对器官移植的向往。有书记载的器官移植见于中国和欧洲。公元前300年,《列子》一书记载了中国古代神医扁鹊为商人互换心脏以治病的故事。一名商人性格刚强但意志薄弱,另一名则相反。扁鹊给两人服毒酒后,两人昏迷3天,剖胸换心,两人痊愈。这是人类历史上关于器官移植最古老的文献。为了纪念这个最早的神医,1987年,在美国华盛顿召开的第二届国际环孢素学术会议以扁鹊像为会徽。欧洲也有类似记载,Jacopo da Varagine在《Leggenda Aura》一书中描述了公元348年的一例尸源同种异体移植例子:圣徒Cosmas和Damian成功地为罗马执事牧师Justinian患坏疽的腿移植上了一只刚下葬的埃塞俄比亚摩尔人的腿。上述故事带有很大的幻想成分,真正有记载的实验性移植源于欧洲文艺复兴时期。

1.1.1.2 实验阶段

15世纪,意大利Gaspere Tagliacozzi尝试用上臂皮肤实施鼻的重建外科手术,1503年,外科医生利用一位奴隶的皮肤重建了主人的鼻子,可以算第一例同种异体移植。18世纪末,皮肤移植已经成为一项广为接受的临床操作。患者们接受来自从猪到青蛙多种动物的供皮。但无人在意移植皮肤是否被“接受”,或仅仅促进了伤口愈合。1804年,意大利G Baronio报道在绵羊及其他动物上进行同种异体皮肤移植获成功。其他人的同种异体和异种皮肤移植则鲜有成功的报道。1869年Raverdin,1874年,Thiers先后发明用小块皮覆盖的颗粒化皮肤技术,开创了治疗性皮肤移植术,但无长期存活证据。在这一时期,皮肤移植成功的报道不多,角膜移植却获得较大成功。1837年,爱尔兰Smuel Bigger为一只小羚羊成功实施全层角膜移植。移植技术的不断改进和动物实验成功率的不断提高,终于使人类第一例角膜移植于1906年获得成功,并逐渐成为眼科治疗的一项常规方法。角膜移植的高成功率与皮肤移植的高失败率形成鲜明对照,但原因不明。

19世纪,人类还进行了多种组织、器官的移植尝试。根据Woodruff综述,19世纪首次进行了肌腱、神经、软骨、肾上腺、甲状腺、甲状旁腺等多种移植。因不吻合血管,而是将其切成薄片或小块埋入体内,从技术上看实际上属于种植范畴。

实体器官移植实验始于19世纪末20世纪初。当时外科缝合技术取得了长足进步,外科医生开始实施带血管吻合的器官移植。1902年3月1日,奥地利的Ulman用血管套接法将犬的一个肾脏移植到其颈部,顺利排出了尿液。此后,他又施行了犬与羊的异种移植,也短暂排出了尿液。1905年,法国的Alexis Carrel采用血管直接缝合吻合法,为犬行同种动脉节段移植,获得9个月有功能存活。这一成果突破了器官移植血管吻合技术的障碍,创立了现代血管吻合技术,为器官移植的发展创造了条件。Carrel因其对早期血管外科和器官移植的贡献,获得1912年诺贝尔生理学医学奖。Carrel还曾在9只猫之间实施双侧肾移植。虽然某些猫术后最长能维持排尿25天,但最终还是无一幸存。由于当时对同种和异种组织器官移植后发生的免疫排斥反应尚无认识,这些实验只对外科技术起到促进作用,无法获得移植物的长期存活。

1.1.1.3 临床移植

最早试用于临床的是异种移植。1906—1923年,在法国、德国等,用猪、羊及非人灵长目为供者,进行动物到人的异种肾移植,存活时间从几小时到9天,无一例长期存活。1936年,俄国Voronov为1例尿毒症患者移植尸体肾,供肾取自一个脑炎死亡者,患者术后48小时死亡。此后Woodruff、Dubost、Hamburger和Hume均有肾移植的报告,同样由于对移植免疫反应缺乏认识,无法进行干预,移植肾难以获得长期存活。

20世纪50年代,外科医生已能熟练进行很多器官移植的手术操作,但移植器官都不能长期存活。这时对高移植失败率的原因仍不明了,器官移植似乎不能应用于临床。于是很多外科学家离开了这一领域。在其他学科取得突破之前,移植外科的发展举步维艰。

1.1.2 移植规律的早期认识

最早发现移植规律的是肿瘤学家。肿瘤学对移植免疫生物学的发展有着特殊贡献。

19 世纪末,人们发现肿瘤可以种植给动物,但最终都会被排斥。肿瘤生物学家由此看到了治疗肿瘤的方法,他们认为如果能解开肿瘤排斥之谜,就能用这种原理来治疗肿瘤。因而在 19 世纪末 20 世纪初开展了许多关于肿瘤排斥机制的研究。

1912 年,Georg Schone 在其专著《Heteroplastic and Homoplastic Transplantation》中总结 20 世纪前 10 年约 500 篇文献,归纳了移植相关的几条规律:异种之间的移植无一例外要失败;同一种系中的移植通常会失败;自体移植几乎常常成功;同种异体移植受者对首次移植物存在延迟排斥反应;对来自同一供者的再次移植物排斥加速;供者和受者的“血缘关系”越近,移植成功率越大;这些规律同样适用正常组织和肿瘤组织。

这些早期发现在 1916 年 E E Tyzzer 发表于 Tumor Immunity 上的综述“肿瘤免疫”中得到了肯定和扩展。Tyzzer 的近交系小鼠研究表明,供者和受者的基因型不相容是排斥的关键因素。形态学证据也证明排斥部位主要是淋巴细胞浸润,且其可以增殖而不仅仅是渗出。

另一个早期揭示移植法则的人是 Clarence C Little。Little 系统研究小鼠近亲繁殖的子代互相间肿瘤易于移植成功的现象后,总结了移植学的五大法则:第一,在近交系内进行的移植可以成功;第二,近交系间进行的移植不能成功;第三,同系母代移植给 F1 子代可以成功,但反方向进行的移植将失败;第四,F2 及后面子代移植给 F1 代可获得成功;第五,同系母代移植给 F2 并不总是失败。Little 的研究进一步证实了 Georg Schone 的理论,同时为发现 MHC 奠定了基础。

1912 年,Murphy 和 Rous 通过实验证实鸡胚不能产生对大鼠肉瘤细胞的排斥反应,肉瘤细胞在鸡胚的发育期间呈无抑制生长。胚胎中植入成熟脾块或接种骨髓细胞则导致早期肿瘤排斥反应。清晰地证明了鸡胚缺乏免疫活性,并可被成熟免疫活性细胞所逆转。Murphy 进一步证明:肿瘤可以在一些像脑一样的特惠区中生长,在那些区域中同时移植淋巴组织也可能引起排斥,而低淋巴细胞血症抑制肿瘤排斥,X 线照射引起低淋巴细胞血症和抑制抗体形成。1926 年,Murphy 在其专著《淋巴细胞在组织移植、恶性疾病及结核感染中的抵抗作用》中阐述了他的上述研究。为后来发现免疫耐受提供了线索。

1929 年,Woglonl 在《移植性肿瘤的免疫》中回顾了 Schone 的专著出版后的 600 篇报道,并补充如下结论:所有活组织均能因免疫致敏而加速排斥;除漂洗后的红细胞外,全血能够免疫、激活白细胞;移植免疫是全身性的,但某些部位(脑)除外;致敏母亲所产新生儿对肿瘤无免疫性;肿瘤免疫的主动传递不能通过血清来实现。

由于肿瘤学家的出色工作加深了对肿瘤移植排斥机制的深入理解,但这些知识没有为治疗肿瘤带来新的希望,却成为移植免疫生物学的基础。正如 Peter Medawar 在演讲中所说:“几乎所有人都认为他在用移植来研究肿瘤,而事实上他是用肿瘤研究移植。”

1.1.3 MHC 的发现

近交系动物为移植排斥研究提供了最佳模型。1902 年,丹麦 Jensen 发现如果将肿瘤移植至连续 19 代近交繁殖的小鼠体内,约 50% 的小鼠移植肿瘤能继续生长;但如果某些小鼠体内移植肿瘤呈先生长后消减的趋势,则该小鼠能获得对该肿瘤的抵抗力;若进一步进行正常组织移植,小鼠对随移植后的肿瘤具有抵抗力。

1.1.3.1 小鼠 H-2 抗原系统的发现

20 世纪 30 年代后期,Gorer 为代表的一组英国生物学家从遗传学角度研究移植排斥现象。Gorer 首先从近交系小鼠的血型抗原着手,他发现血细胞有 2 种抗原系统,其中之一为所有小鼠株共有,区别只是在量上有所不同,这种抗原命名为抗原 I。另一种抗原只在一些纯系小鼠上有,另一些纯系小鼠则没有,称为抗