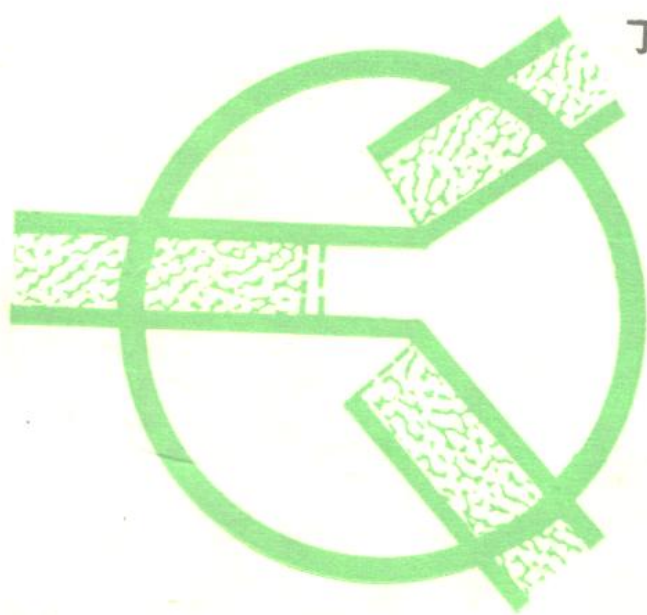


高等医药院校教材

医学免疫学 纲要

丁桂风 马大龙 邓鸿业 编译



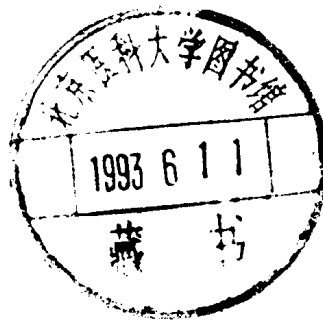
北京医科大学 联合出版社
中国协和医科大学

3

高等医药院校教材

医学免疫学纲要

丁桂凤 马大龙 邓鸿业 编译



北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社



A1C00954820

(京)新登字 147 号

医 学 免 疫 学 纲 要

丁桂凤 马大龙 邓鸿业 编 译
杨四旬 胡国俊 责任编辑

※ ※ ※

北 京 医 科 大 学 联合出版社出版
中国协和医科大学

(社址: 北京医科大学院内)

新华书店总店科技发行所发行 各地新华书店经销

北京医科大学印刷厂印刷

※ ※

开本: 787×1092 1/16 印张: 24 字数: 560 千字

1992年2月第1版 1992年2月第1次印刷 印数: 1—5000 册

ISBN 7-81034-108-1/R·108 定价: 6.55 元

编译校人员：

<u>龙振洲</u>	<u>钱玉昆</u>	马树俊	陈慰峰	<u>丁桂凤</u>	邓鸿业
范少光	<u>白惠卿</u>	<u>马大龙</u>	刘 白	<u>尚红生</u>	田季德
徐德胜	杨四句	胡国俊	陈 非	肖 波	叶建平
周宝宏	曹良铉	孙其岭	赵福生	李 晨	姚 智
陈英玉					

主 审：龙振洲

前 言

免疫学发展迅速,无论是理论还是技术都需要不断更新,因此要求有反映新进展内容的免疫学书籍出版以增进学术交流,提高教学和研究工作水平。本书出版的目的是为了满足医学生免疫学课程学习的需要,也适合临床医务人员及研究生进行自修的参考书。本书以Gabrie Virella编著的“Intvoduction to Medical Immunology”1990年版为基础,增补了若干新的资料编译而成,全书内容简明扼要,共分基础免疫学、诊断免疫学、临床免疫学三部分计32章。本书的特点有二,其一是插图多,便于理解文中内容,其二是各章之后有反映主要内容的问题与答案,能帮助读者自我测验学习效果。因编译者水平有限,仍不免有疏漏、错误之处,衷心欢迎读者与同行专家批评指正。

丁桂凤 马大龙 邓鸿业

1991.9.

医学免疫学纲要 (目录)

第一部分 基础免疫学

第一章	免疫学发展概况	(1)
第二章	免疫应答中的组织和细胞	(13)
第三章	主要组织相容性基因复合体	(23)
第四章	抗原性和免疫识别	(34)
第五章	免疫球蛋白结构	(47)
第六章	免疫球蛋白的生物合成代谢及生物学特性	(57)
第七章	免疫球蛋白的遗传学	(65)
第八章	抗原抗体反应	(74)
第九章	补体系统	(85)
第十章	淋巴细胞的发育和膜标志	(109)
第十一章	细胞介导免疫性	(121)
第十二章	体液免疫应答	(134)
第十三章	早期 T 细胞发育及抗原识别受体表达	(146)
第十四章	神经免疫调节	(164)
第十五章	宿主与寄生物之间相互关系的免疫学问题	(176)

第二部分 诊断免疫学

第十六章	免疫血清学和诊断免疫化学	(186)
第十七章	体液免疫的诊断方法	(200)
第十八章	细胞免疫的诊断方法	(210)
第十九章	吞噬细胞功能的诊断方法	(220)

第三部分 临床免疫学

第二十章	超敏反应	(230)
第二十一章	速发型超敏反应	(239)
第二十二章	免疫血液学	(250)
第二十三章	免疫复合物疾病	(262)
第二十四章	耐受和自身免疫性	(272)
第二十五章	器官特异性自身免疫病	(283)
第二十六章	系统性红斑狼疮	(292)
第二十七章	类风湿性关节炎	(302)
第二十八章	免疫抑制与免疫调节	(311)
第二十九章	移植免疫学	(322)
第三十章	肿瘤免疫学	(330)
第三十一章	免疫系统的恶性病变	(342)
第三十二章	免疫缺损病	(357)

第一章 免疫学发展概况

免疫学的发展概括起来可分为四个时期：1、免疫学的经验时期；2、经典免疫学时期；3、近代免疫学时期；4、现代免疫学时期。

I. 免疫学的经验时期

对人体免疫功能的认识首先是从抗感染免疫开始的。我国医学家通过对天花病长期临床实践过程中，对天花病的防治积累了丰富的经验，并创造性的发明了用人痘苗预防天花的方法。这在天花病毒发现之前，在医学科学尚未发展之时，实是一项伟大贡献，也是现代免疫学的开端。

人痘法始于何时说法不一，但据我国医书考证。认为人痘法的文字记载见于宋真宗时代。即公元11世纪。但大量医书证明我国直到明隆庆年间即公元16世纪人痘法才有重大改进。在《种痘心法》中记载有时苗和种苗之分并认为后者更为安全可靠。在清代即公元17世纪已在我国推广应用。

在17世纪不但我国实行用人痘苗预防天花而且也引起了邻国的注意，并很快传入了俄国、朝鲜、日本、土耳其和英国等国家。无疑人痘法为以后英国医生真纳（Jenner）发明牛痘苗和法国免疫学家巴斯德（Pasteur）发明减毒疫苗都提供了宝贵经验。

II. 经典免疫学时期

这一时期起始于18世纪末至20世纪初。其特点是人们对免疫功能的认识从人体现象的观察进入了科学实验时期。它的发展是与微生物学的发展密切相关的，并成为微生物学的一个分支。这一时期内的重要成就有下述一些方面。

A. 牛痘苗的发明

继人痘苗之后，免疫学的一个重要发展当首推牛痘苗的发明，它不但弥补了人痘苗的不足，并且可在实验室大量生产，于1804年传入我国后很快代替了人痘苗。

牛痘苗的发明应归功于英国医生真纳，他观察到挤奶女工在患过牛痘后不易得天花病的事实后，通过对牛痘苗人体的长期实验，确证牛痘苗可以预防天花，并对人体无害。在1798年发表了他的牛痘苗著作，为人类传染病的预防开创了人工免疫的先声。

B. 减毒疫苗的发明

免疫学的发展自真纳发明牛痘苗之后，停滞了将近一个世纪，进入19世纪后微生物学在法国免疫学家巴斯德和德国细菌学家 郭霍（Koch）等人的努力下得到了迅速发展。在方法学上创造性的解决了细菌的分离培养，从而能获得纯种细菌，为人工菌苗的制备创造了条件。巴斯德更有意识的研究获得减毒菌株的方法，通过系统的科学实验，终于发现了应用物理，化学以及生物学方法可获得减毒菌株。

在 1881 年他应用高温培养法获得炭疽菌的减毒株从而制备了炭疽菌苗。其后他又将狂犬病毒在兔体内经连续传代获得了减毒株。制备了狂犬病疫苗。巴氏减毒菌苗的发明为实验免疫学建立了基础。

C. 抗毒素的发现

德国学者贝琴 (Behring) 和日本学者北里于 1890 年在 Koch 研究所应用白喉外毒素给动物免疫。发现在其血清中有一种能中和外毒素的物质, 称为抗毒素。将这种免疫血清转移给正常动物也有中和外毒素的作用。这种被动免疫法很快应用于临床治疗。贝琴于 1891 年应用来自动物的免疫血清成功的治疗了一个白喉患者, 这是第一个被动免疫治疗的病例。为此, 他在 1901 年获得诺贝尔奖。

D. 补体的发现

19 世纪末, 继抗毒素之后, 很快又发现了免疫溶菌现象。Pfeiffer (1894) 用新鲜免疫血清在豚鼠体内观察到对霍乱弧菌的溶菌现象。Bordet 发现如将新鲜免疫血清加热 60°C 30 分钟可丧失溶菌能力。他认为在新鲜免疫血清内存在二种不同物质与溶菌作用有关。一种对热稳定的物质称为溶菌素即抗体、有特异性, 另一种对热不稳定的物质, 可存在于正常血清中, 为非特异性成分, 称之为补体, 它具有溶菌或溶细胞作用, 但这种作用必需有抗体存在才能实现。

E. 血清学方法的建立

在抗毒素发现以后的十年中, 相继在免疫血清中发现有溶菌素、凝集素、沉淀素等特异性组分, 并能与其相应细胞或细菌发生反应。其后将多种不同的特异性反应物质统称为抗体。将能引起抗体产生的物质统称为抗原, 自此建立了抗原, 抗体的概念。在此期间建立了各种体外检测抗原, 抗体反应的血清学技术如凝集反应, 补体结合反应等方法, 为病原菌的鉴定和血清抗体的检查提供了可靠的方法。从而大大有助于传染病的诊断学和流行病学调查, 而动物免疫血清的制备又开创了被动血清疗法。

F. 免疫化学的研究

抗体发现后一方面对临床医学的诊断, 治疗和预防起到了巨大的推动作用, 另一方面对抗原、抗体的理化性质、抗原和抗体反应特异性的化学基础等问题引起了人们的极大兴趣, 逐渐形成了免疫化学的研究领域。

免疫化学研究初期首先是从 Landsteiner (1910) 等人应用偶氮蛋白的人工结合抗原, 研究抗原、抗体反应特异性的化学基础开始的。Heidelberger 等人用肺炎球菌荚膜多糖抗原进行了抗原和抗体反应的定量研究。Marrack (1934) 提出了关于抗原抗体反应格子学说, 从理论上解释了血清学反应现象, Tiselius 和 Kabat (1938) 建立了血清蛋白电泳技术, 从而证明了抗体活性存在于血清丙种球蛋白部分, 其后建立了分离纯化抗体球蛋白的方法为抗体理化性质的进一步研究建立了基础。此后研究的重点转向对抗体分子的结构与功能的研究。

在 40 年代还建立了对蛋白质抗原性分析的新方法, 如 Elek、Oudin 及 Ouchterlony 等人建立的凝胶扩散法。Grubar (1953) 等人建立的免疫电泳技术促进了对蛋白质抗原性的免疫化学分析, 从而发现了抗体分子的不均一性。抗体的不均一性使纯化遇到了困难, 因而对抗体分子结构与功能的研究进展缓慢。直到免疫生物学的进一步发展, 对抗体分子不均一性有了本质的了解, 改进了研究材料, 才使抗体分子结构与功能研究取

得了重大进展。

G. 抗体生成理论的提出

Ehrlich 在 Behring 工作的基础上创造性的提出了关于抗体产生的学说。在1897年他首先提出了抗体生成的侧链学说，也是受体学说的首创者，他认为抗毒素分子存在于细胞表面上，当外毒素进入体内后与之特异结合，并刺激细胞产生更多的抗毒素分子，自细胞表面脱落入血流即是抗毒素。他的学说在当时未能得到大多数免疫学家的支持，并遭到一些学者的责难，致使他的学说长期淹没无闻。

在 30 年代 Haurowitz 等人认为抗体分子的结构是在抗原直接影响下形成的，并提出了抗体生成的模板学说 (Template theory)。在分子遗传学的影响下 Pauling 等人又进一步对模板学说进行了修正，认为抗原是通过干扰胞核 DNA 而间接影响抗体分子的构型，提出了间接模板学说。总之这一学说承认产生抗体的细胞在其模上具有识别抗原的受体，而是以抗原为主导，决定了抗体的特异结构，这一学说主宰了以后近30年的免疫学进展。它比较片面强调了抗原对机体免疫反应的作用，而忽视了机体免疫反应的生物学过程。回避了机体免疫反应的基本生物学规律“自己”与“非己”的识别作用。从而忽视了对免疫生物学应有的重视与研究，直到细胞系选择学说的提出，才使免疫学有了新的进展。

III. 近代免疫学时期(1945—1960)

由于在免疫学发展的早期形成了牢固的抗感染免疫的概念，以及模板学说的影响。使人们对机体免疫性的认识存在很大片面性，也使免疫学的进一步发展受到很大束缚，把机体免疫反应性视为单纯的化学过程？还是生物学过程？机体免疫反应是对外源抗原的特有反应？还是机体对“自己”与“非己”识别的普遍生物学现象？这是从认识免疫现象开始就存在着的分歧。由于近代免疫生物学的进展和细胞系选择学说的提出，才使这些问题获得比较正确的解答。同时对生物机体的免疫反应性也有了比较全面的认识，这一时期自20世纪30年代至60年代，有下述一些重要发现。

A. 细胞转移迟发型超敏性的成功

Koch 在发现结核杆菌之后，企图用结核杆菌给患者皮下再感染以期达到免疫治疗的目的。结果相反却引起了局部组织坏死，称之为Koch 现象。这一现象具有特异性但与抗体产生无关。直到Chase等人 (1942) 对 Koch 现象进行了深入研究，证明用致敏豚鼠血清转移给正常动物不能引起结核菌素反应，而用细胞转移则能引起阳性反应。首先证明了结核菌素反应不是由抗体引起，而是由致敏细胞引起的，从而证明了机体免疫性除能产生体液免疫外还能形成细胞免疫。

B. 免疫耐受现象的发现

Owen (1945) 发现自异卵双生的二支小牛个体内有二种血型红细胞共存，称之为血型细胞嵌镶现象。这种不同血型细胞，在彼此体内互不引起免疫反应，把这种现象称之为天然耐受。这是一个十分重要的发现，同时也提出了一个耐人深思的问题。为什么在胚胎期接受异种抗原刺激，不引起免疫反应而形成免疫耐受现象？Burnet 从生物学角度提出了一种假说来说明这个现象。他认为宿主淋巴细胞有识别“自己”与“非己”

的能力。在机体免疫功能成熟之前引入异物，可作为“自己”成分加以识别，故在成体后对该异物即不引起免疫反应。其后 Billingham 和 Medawar 等人 (1953) 在小鼠体内成功的进行了人工诱导耐受实验，给予 Burnet 学说以有力支持。自此经典免疫学的观点受到了严重挑战，人们开始注意研究免疫生物学问题了。使免疫学的发展进入了一个新的时期，即免疫生物学时期。

C. 抗体生成克隆（或细胞系）选择学说的提出：

澳大利亚免疫学家 Burnet 以生物学及分子遗传学的发展为基础，在 Ehrlich 侧链学说和 Jerne 等人天然抗体选择学说的影响下，以及人工耐受诱导成功的启发下，于 1958 年提出了关于抗体生成的克隆选择学说。这一学说的基本观点是把机体的免疫现象建立在生物学的基础上，他的基本观点如下：①认为机体内存在有识别多种抗原的细胞系，在其细胞表面有识别抗原的受体；②抗原进入体内后，选择相应受体的免疫细胞使之活化、增殖最后成为抗体产生细胞及免疫记忆细胞；③胎生期免疫细胞与自己抗原相接触则可被破坏、排除或处于抑制状态，因之成体动物失去对抗原的反应性，形成天然自身耐受状态。此种被排除或受抑制的细胞系称为禁忌细胞系；④免疫细胞系可因突变产生与自己抗原发生反应的细胞系因之可形成自身免疫反应。

此学说不仅阐明了抗体产生机制，同时对许多重要免疫生物学现象都做了解答。如对抗原的识别、免疫记忆的形成、自身耐受的建立，以及自身免疫的发生等现象。此学说已被大多数免疫学者所接受，并对现代免疫学的发展占支配地位。

免疫学技术的发展，在此期间改进了血清学技术建立了间接血凝反应，以及免疫标记技术等，大大促进了免疫学基础理论研究和临床应用。

IV. 现代免疫学时期

自天然耐受现象的发现，克隆选择学说的提出为免疫生物学的发展奠定了理论基础，使现代免疫学的发展方向发生了很大变化。使免疫学从抗感染免疫的概念中解脱出来，进而发展为生物机体对“自己”和“非己”的识别，籍以维持机体稳定性的生物学概念。这一发展时期自 60 年代迄今，发现了胸腺的免疫功能，确认了淋巴细胞系是重要的免疫细胞，阐明了免疫球蛋白的分子结构与功能。从器官、细胞和分子水平揭示了机体另一重要生理系统，即免疫系统的存在。30 余年来对免疫系统结构与功能的研究不断取得突破性进展，对生物学和医学的发展都产生了深远的影响。在此阶段有下述一些重要进展。

A. 60 年代的重要发现

Glick (1957) 发现早期摘除鸡的腔上囊组织可影响抗体的产生，首先证明了腔上囊组织的免疫功能。60 年代初 Miller 和 Good 分别在哺乳类动物体内进行早期胸腺摘除，证明了胸腺的免疫功能。Gowan 等 (1965) 首先证明了淋巴细胞的免疫功能。Claman、Mitchell 等人 (1969) 提出了 T 和 B 淋巴细胞亚群的概念。Cooper 等人证明了免疫淋巴细胞在周围淋巴组织的分布。自此建立了在高等动物体内免疫系统的组织学和细胞学基础。在人体内，从先天无胸腺症患者和先天性无丙种球蛋白血症患者也证明了胸腺的免疫功能和存在二类淋巴细胞亚群。

在此期间对抗体分子的结构研究取得了突破性进展。自 40 年代确定了抗体的血清球

蛋白质性质后，便集中精力研究抗体的分子结构与生物功能。50年代 Porter 用木瓜蛋白酶水解免疫抗体分子，获得了具有抗体活性的片段和结晶段。其后 Edelman 用化学还原法证明抗体球蛋白是由多肽链组成，用抗原分析法证明了抗体分子的不均一性。60年代初统一了抗体球蛋白的名称，并建立了免疫球蛋白的分类。即IgG、IgM和IgA三类。Rowe (1965) 自骨髓瘤患者的血清内发现了 IgD、石板 (1966) 自枯草热患者的血清中发现了IgE。自此关于Ig分子的结构和生物活性的研究便成为免疫化学的中心课题。

由于骨髓瘤蛋白具有均一的抗原性。均一的理化性质以及遗传学的均一性，为Ig分子结构的研究提供了最为理想的材料。自此Ig的免疫化学研究有了飞速的进展。在60年代前半期以研究Ig肽链结构为主，并证明了Ig单体的四肽链结构。60年代后半期进入了对Ig分子氨基酸序列分析，随着对Ig氨基酸序列的分析，提出了肽链可变区和稳定区的概念，以及Ig分子同源区的功能学说。目前对Ig分子的结构、序列分析。理化性质及其生物功能已获解决，现正对Ig分子的遗传控制进行研究。

B. 70年代的重要发现

进入70年代Pernis等用免疫荧光法证明了淋巴细胞膜Ig受体存在并认为是B淋巴细胞的特征。Feldman 等用半抗原载体效应证明了T和B淋巴细胞在抗体产生中的协同作用。Unanue 等证明了巨噬细胞在免疫应答中的作用。它是参与机体免疫应答的第三类细胞。从而证明了机体免疫应答的发生是由多细胞相互作用的结果，并初步揭示了B淋巴细胞的识别，活化，分化和效应机制，使免疫学的研究进入了细胞生物学和分子生物学的领域。

T细胞亚类的发现：在70年代还进一步证明在动物和人周围血循环内存在有功能相异的T淋巴细胞亚类。Mitchison等证明了辅助性T细胞的存在，Gershon 等证明了抑制性T细胞的存在，它们对免疫应答的调节起着重要作用。Cantor 等用小鼠细胞膜Ly异型抗原，可将细胞分成不同亚类，并证明它们具有不同生物学功能。这一发现提示用膜抗原分析法可用以鉴定不同T细胞亚类。

MHC 限制性的发现：T细胞表面也具有抗原识别受体，关于其受体化学性质的研究已引起很多学者们的注意，但都未得出明确的结论。在此期间却发现了T细胞识别的MHC限制性，为T细胞受体的性质提供了线索。首先 Rosenthal 等在豚鼠的实验系统中，证明巨噬细胞与淋巴细胞间发生有效的相互作用，二种细胞的主要组织相容性抗原（MHC）必需一致，称此现象为MHC限制性。其后证明在细胞免疫过程中全部T细胞参与的反应均受MHC限制。特别是 Zinkernagel和Doherty (1974) 等证明杀伤T细胞对感染病毒的靶细胞杀伤作用，二者的 MHC 一致时才有杀伤作用，否则无杀伤作用。提示T细胞抗原受体必需同时识别异种抗原分子和自己 MHC 分子时才能被活化，因此提出T细胞受体可能具有二种模式。即双识别假说认为T细胞表面可能有二个抗原识别受体，其中一个受体识别异种抗原，另一个受体识别自己 MHC 抗原。另一受体模式为自身修饰假说，即T细胞表面有一个受体，但能同时识别异种抗原和自己 MHC 抗原。以后的研究证明MHC 限制性不仅表现在细胞毒T细胞对靶细胞的杀伤效应，异种抗原进入机体后，为巨噬细胞所摄取加工处理并与其自己MHC 分子形成表面复合物，只有这种复合物才能被辅助T细胞识别。辅助T细胞和杀伤T细胞所识别的复合物有所不同，辅助T细胞识别异种抗原和MHC II类分子的复合物，而杀伤T细胞则识别异种抗原

和MHC I类分子的复合物。

总之以T细胞为中心的免疫生物学研究,是70年代免疫学研究最活跃的领域之一。对于T淋巴细胞的发生,分化与功能研究,对T细胞亚类的鉴别以及对细胞抗原识别受体的研究都取得了较大的进展。

免疫网络学说的提出:这一学说是Jerne(1972)根据现代免疫学对抗体分子独特型的认识而提出的。这一学说认为在抗原刺激发生之前,机体处于一种相对的免疫稳定状态,当抗原进入机体后打破了这种平衡,导致了特异抗体分子的产生。当达到一定量时将引起抗Ig分子独特型的免疫应答,即抗抗体的产生。因此抗体分子在识别抗原的同时,也能被其抗体分子所识别。这一点无论对血流中的抗体分子或是存在于淋巴细胞表面作为抗原受体的Ig分子都是一样的。在同一动物内一组抗体分子上独特型决定簇可被另一组抗独特型抗体分子所识别。而某一组淋巴细胞表面抗原受体分子亦可被另一组淋巴细胞表面抗独特型抗体分子所识别。这样在体内就形成了淋巴细胞与抗体分子所组成的网络结构。网络学说认为,这种抗抗体的产生在免疫应答的调节中起着重要作用,使受抗原刺激增殖的克隆受到抑制,而不至于无休止的进行增殖,籍以维持免疫应答的稳定平衡。

就淋巴细胞来说,构成这种网络结构的淋巴细胞有四种类型,当抗原进入机体后可与相应的抗原反应细胞相结合,进行增殖,分化并产生抗体分子。这种抗原反应细胞可与另外三种淋巴细胞构成网络。一组是独特型反应细胞,即抗独特型淋巴细胞组,能识别抗原反应淋巴细胞抗原受体的独特型,具有抑制抗原反应淋巴细胞的作用。另一组能增强抗原反应淋巴细胞的作用,它的受体带有与抗原构型相同的独特型,因此也能被抗原反应细胞所识别,Jerne称此组淋巴细胞为内影像组。第三组淋巴细胞为非特异平行组,其抗原识别受体与抗原反应细胞不同,但独特型却与之相同。本组细胞可促进独特型细胞的活性,可加强对网络的抑制作用。同样这三组淋巴细胞也各自通过其独特型的联系和其它淋巴细胞也形成网络,如此不断发展,所以机体对某一特定抗原应答不只表现为抗原反应细胞的应答,而是通过独特型联结起的一个庞大的免疫网络的整体反应。它们通过连续不断的识别过程,产生促进或抑制作用,以维持机体免疫应答的相对稳定状态。

C. 80年代的重要发现

抗体多样性的遗传控制:进入80年代在分子免疫学的研究方面取得了重大进展。首先是在抗体多样性遗传控制的研究取得了突破性进展。

关于Ig合成的遗传学问题早在60年代Dreyer和Bennet等曾提出一种假设,他们认为编码Ig肽链的基因是由二种基因组成,并且胚胎期是彼此分隔的,在B细胞分化发育过程中才彼此拼接在一起。他们是第一个推测真核细胞的基因,可能是彼此分离的,必需在细胞分化过程中发生重排和拼接在一起才能表达。由于抗体生成克隆学说的提出,Ig分子结构的阐明以及Ig分子异型和独特型的遗传学研究,这些成果都为抗体分子多样性的遗传控制研究提供了理论基础和间接实验支持。近年来又发现了限制性内切酶,建立了体外分子杂交技术,以及对Ig分子mRNA分离的成功。为在DNA水平直接研究Ig分子的遗传控制奠定了基础。

日本学者利根川进和Leder等应用分子杂交技术证明并克隆出编码Ig分子V区和C

区基因。同时应用克隆cDNA片段为探针证明了B细胞在分化发育过程中编码Ig基因的结构。阐明了Ig结合部位多样性的起源,以及遗传和体细胞突变在抗体多样性形成中的作用,为此利根川进获得了1987年诺贝尔医学奖。

T细胞抗原受体的证明:关于T细胞抗原受体性质的研究是分子免疫学研究的另一个热点。多年来免疫学家企图沿B细胞抗原受体是Ig分子的模式对T细胞受体进行了研究。曾一度认为T细胞受体也是模Ig分子,或是Ig的VH分子,后经分子遗传学研究证明T细胞并不发生Ig基因重排,从而不可能表达Ig分子,因此T细胞受体与B细胞者并不相同。

Jensenius 和 Miller等于80年代初分别提出了T细胞受体可能是由一组与Ig基因完全不同的基因组所编码的假说,跳出了T细胞受体是Ig类分子的束缚,使人们对T细胞受体性质的认识有了飞跃的发展。

在80年代由于生物技术的发展,已能在体外建立抗原特异性T细胞克隆,以及细胞和分子杂交技术的应用,为在分子水平和基因水平研究T细胞受体的性质创造了良好条件。

首先是应用抗克隆型T细胞单克隆抗体结合免疫化学技术,Meur等人,几乎同时(1983)证实了小鼠和人T细胞表面抗原受体的存在。并分离出这种受体分子,研究其化学性质。证明T细胞受体分子是由异二聚体肽链组成,由 α 和 β 链藉二硫键相连接在一起。通过对不同T克隆受体肽图的比较研究,发现二条肽链均具有与Ig肽链相似的可变区(V)和稳定区(C)结构。Reinherz等应用抗人T克隆型单抗研究人T细胞受体也获得了相似的结果,他将这种被克隆型单抗识别的T细胞表面分子称为Ti分子,并证明它与抗原识别有关。故Ti分子被认为是人T细胞表面的抗原识别受体,据此Reinherz于1984年提出了关于人T细胞抗原受体构型的设想。认为T细胞抗原受体是由异二聚体组成的单一受体,能同时识别异种抗原分子和自己MHC分子。

对T细胞抗原受体研究的另一突破性进展是应用分子杂交技术分离出编码T细胞受体的基因。Davis于1984年首先分离出小鼠T细胞受体的基因,并获得了一个cDNA克隆(TM86)。从其予测的肽图分析与经免疫化学法分离出来的T细胞受体肽图(β 链)相一致,从而认为它是鼠T细胞受体 β 链的基因。Yanagi等几乎同时自人T细胞白血病株获得一个cDNA克隆(YT35),经证明是人T细胞受体 β 链基因。其后经核苷酸序列分析证明T细胞 β 受体基因与Ig重链相似亦由V β 、D β 、J β 及C β 基因片段组成,也存在基因重排现象。但Occia证明人 β 链基因定位于第17对染色体,鼠则定位于第6对染色体上。而编码Ig的基因则定位于其它染色体上,所以编码Ig的基因与T细胞受体基因是二组完全不同的基因。

Chien和Saito于1984年分别从小鼠T细胞中分离出编码T细胞受体的另一组基因,即 α 基因,亦具有多样性和重排现象,其编码肽链也含有V区和C区。不难看出应用抗T克隆型单抗对T细胞受体在蛋白质分子水平的研究结果,与用分子杂交技术在基因水平的研究结果是一致的。

编码T细胞受体的基因除 α 和 β 基因外,还发现有第三组基因存在,即 γ 基因。但其基因产物直到1986年Brenner等才首次报道发现了 γ 基因产物。他们在免疫缺损患者外周血T淋巴细胞以及未成熟的人胸腺细胞上发现与T α β 不同的异二聚体分子,由

60KD 分子与 44KD 分子组成的非共价结合的异二聚体分子。并证明前者为 α 基因产物称为 α 链,而后者不是。Brenner 等将 44KD 肽链称为 δ 链,但其基因尚未发现。Chien 等 (1987) 认为 T 细胞在胸腺内发生 α 基因重排时,可存在第 4 组基因重排,他称之为 X 基因,可能是编码 δ 肽链的基因,尚有待进一步证实。

通过上述研究现已证明 T 细胞受体有二种形式,即 $Ti\alpha\beta$ 型 T 细胞和 $Ti\gamma\delta$ 型 T 细胞, $Ti\gamma\delta$ 受体主要在未成熟双阴性 ($CD4^-CD8^-$) T 细胞上表达,在成体中只少数 T 细胞 (5%—10%) 有此受体。而 $Ti\alpha\beta$ 受体的表达则相反,在胚胎期中只少量 T 细胞表达,在成体中则占优势 (95%) 构成 T 细胞的主体。二型受体 T 细胞的发现,使人们对 T 细胞识别抗原的机制有了更为完整的认识,同时也提出了许多新问题。无疑对 δ 链及其基因的研究,几组基因表达的调节机制的研究,以及不同受体 T 细胞的功能研究,将成为今后 T 细胞受体研究的重要内容。

细胞因子研究进展:在过去的 10 年中对一系列细胞因子的鉴定,及其分子生物学的研究进展,是 30 年代免疫学最为瞩目的成果之一。细胞因子是一组异质性肽类细胞调节因子,可包括淋巴因子、单核因子、白细胞介素、干扰素、肿瘤坏死因子、集落刺激因子和转化生长因子等。它们是由体内各种免疫细胞和非免疫细胞产生。具有多种生理功能,如介导细胞的相互作用,促进和调节细胞的活化,增殖、分化和效应功能。它们也涉及相关疾病的病理生理作用,也具有临床治疗应用的潜在可能性。

仅在数年前,人们还只能从细胞培养液中提取有限数量的细胞因子,进行功能和结构研究。而现在可通过基因工程技术在原核或真核细胞中进行表达,可以获得纯化的重组因子,并可进行批量生产,供实验研究和临床应用。

自 1979 年获得第一种细胞因子干扰素 cDNA 克隆以来,迄今已有数十种细胞因子的 cDNA 克隆成功。为各种因子的氨基酸序列分析,基因探针的制备,以及生产重组细胞因子奠定了基础。

通过对细胞因子基因组 DNA 的克隆研究,促进了对基因结构和表达调控的研究。目前对大部分白细胞介素 (IL) 的基因组已克隆成功。Yokota 等 (1988) 发现 IL 的基因组成具有一些共同特点,如大部分介素的基因是由 4—5 个外显子,和 4—6 个内含子组成。在 5' 和 3' 侧区有同源性,提示它们可能是由一个原始基因进化而来。

Beau 等 (1987) 在研究人 IL 基因定位时发现一些 IL 及其相关细胞因子的基因定位于第 5 对染色体的长臂。这些因子可包括 IL-3、IL-4、IL-5、粒单核集落刺激因子 (GM-CSF),单核集落刺激因子 (M-CSF) 等。并在髓样白血病细胞中,常可观察到此段染色体的缺失现象,提示白血病的发生可能与一些 IL 的基因异常有关。

利用基因工程技术制备重组细胞因子已成为可能。将编码人或动物细胞因子的基因转移到大肠杆菌、酵母菌或哺乳动物细胞中可制备大量纯化重组因子。目前国际上对所有 IL 都已生产出具有活性的重组 IL。

近年来对重组 IL 功能的研究,获得了许多新资料,完全更新了对细胞因子生物学特性的认识。Sporn (1988) Balkill (1989) 等总结了细胞因子的一些共同特性①多效性和网络性,过去认为 IL 的效应是单一的,现已证明它们都是多效的,具有广谱和相互重叠的细胞调节作用。每种 IL 能与多种免疫细胞作用。甚至也能与非免疫细胞作用。而每种免疫细胞也可受多种细胞因子的调节,不同 IL 之间具有相互协同或制约的

作用,由此构成了复杂的细胞因子的免疫调节网络。②它们是一过性产生,并且是在局部产生,较难在血液中测出,具有自分泌和旁分泌的特性,而不似内分泌样的特性。③它们是低分子量($<80\text{KD}$)分泌性蛋白质,多为糖基化,具有高效性,极微量(Picomolar)即可发挥作用。④每种细胞因子,可与其细胞高亲和力受体相结合,但其受体表达量甚少。目前只对5种因子的受体研究有所报道,它们是IL-2受体,IL-1受体,IL-6受体,IFN γ 受体和M-CSF受体。⑤它们的作用可促进免疫细胞和造血干细胞的分化发育。对血管内皮细胞和神经内分泌系统的细胞也有作用,此外也是炎症的重要介质。⑥大多数细胞因子具有生长因子活性,具有上行调节作用,即能促进细胞生长和功能活性。其结果可导致增强免疫功能和炎症反应,只有少数因子有杀伤或抑制细胞生长的作用,如IFN,IL-1,和转化生长因子(TGF- β)具有下行调节作用。后者实质上是一种高效免疫抑制剂,它对T细胞的抑制作用是环孢菌素的一万倍,有广泛临床应用前景。

Rosenberg首先报道了应用重组IL-2和由IL-2活化的淋巴细胞(LAK细胞)治疗肿瘤。证明这种过继免疫疗法对抑制肿瘤细胞生长和转移有一定效果。目前虽然对IL-2,IFN γ ,TNF以及一些CSF的临床实验治疗研究,都有报道,但尚未取得令人满意的结果。这可能是过去对因子的多效性和网络性作用缺乏了解,强调应用单一因子的作用所致。现在趋向是已从探讨某一种因子的作用,发展为探讨多种因子间的协同或拮抗作用。在临床治疗中采取多种因子的正确配伍,可能是提高因子疗效的一个重要途径。

D. 免疫学技术的发展

在80年代开创了许多新的生物学技术用于免疫学研究,大大促进了免疫学发展。

细胞融合技术:1975年Kohler和Milsteir首先报道了应用小鼠骨髓瘤细胞和经绵羊红细胞致敏的小鼠脾细胞融合,结果发现一部分融合的杂交细胞既能继续生长,又能分泌抗羊红细胞抗体,将这种杂交细胞系统称为杂交瘤。这是一项突破性生物技术,应用这种方法,可制备单一抗原决定簇的单克隆抗体,为生物科学的研究提供了广阔的应用前景。

它的基本原则是首先将抗原致敏的淋巴细胞与对选择培养基(HAT)敏感的骨髓瘤细胞株进行融合,然后筛选能产生特异抗体的融合细胞,并进行克隆化,选择单克隆细胞株,可在体外或组织相容性小鼠体内进行传代培养。

应用杂交瘤技术产生的单克隆抗体在免疫学研究中最有意义的应用之一是分离和鉴定免疫细胞膜上的大分子,包括组织相容性抗原,分化抗原和受体分子等。现已制备了鉴定小鼠T细胞分子,如Thy-1,Lyt,L3T4等分化抗原的单抗。Reinherz和Schlossman等在70年代末应用抗人T细胞单抗鉴定了一系列分化抗原。其后美国Ortho公司,生产了OKT系列单抗,Becton-Dickison公司生产了Leu系列单抗,Coltar公司生产了T系列单抗,日本生产了Nu系列单抗的商品试剂。以后又不断增加了有关抗人B细胞、单核细胞、粒细胞、活化T细胞、NK细胞以及血小板等白细胞分化抗原的单抗,为研究人白细胞分化抗原的结构与功能以及临床应用提供了有用的试剂。

由于各种商品试剂以及各实验室所制备的对同一抗原的单抗命名各异,造成名称混乱,不便于学术交流,为了统一各种单抗命名,在国际免疫学会联合会和世界卫生组织

的支持下,自1982年至1989年共举行了四次有关人白细胞分化抗原的国际学术讨论会,统一了有关人白细胞分化抗原的命名法。应用聚类分析法,将来自各实验室命名不同的单抗将对靶细胞分化抗原反应相似的单抗归为一个分化抗体群(Cluster of Differentiation, CD)并以序号表示之,即所谓CD国际命名法。由CD抗体群所鉴定的分化抗原称为CD分子,所以在开始阶段CD命名法是指对单克隆抗体的分类而言。但目前由于主要集中在研究CD分子的结构与功能,因此在无特别注明的情况下,CD主要是指分化抗原而言。

根据1989年在维也纳举行的第四届国际人白细胞分化抗原讨论会,已经确认的抗体群已达78群,即CD1—CD78各群抗体所识别的靶细胞有T细胞、B细胞、粒细胞,单核细胞,血小板,NK细胞和非谱系(non-lineage)细胞等6大类。即目前已能在人白细胞中鉴定出78种CD分子。现各国学者正致力于对这些分子的结构、功能及其编码基因的研究,这将对免疫细胞的分化,活化,信息传递,基因表达调控及细胞癌变机制的阐明有重要意义。

T细胞克隆技术的建立:Morgan等(1976)首先证明了T细胞生长因子。在体外培养条件下可刺激T细胞克隆长期生长。在过去10年中应用T细胞克隆技术,已建立了一系列抗原特异T细胞克隆用以研究T细胞受体,淋巴因子的分泌,以及细胞间协同作用等方面的研究,为细胞免疫发展做出了巨大贡献。

其原则是应用抗原在体外培养条件下,刺激T细胞增殖并加入外源性T细胞生长因子,经克隆化可获得长期稳定生长的抗原特异T细胞克隆用这种均一细胞群可在体外研究其功能特性。

Meuen等(1982)应用抗原特异T细胞克隆为抗原制备了抗T细胞克隆型单抗,用以研究T细胞抗原受体,取得了巨大成功。Boehmer等(1979)Andrew等(1981)建立了具有不同功能的杀伤T细胞克隆。Schreier等(1982)建立了辅助性T细胞克隆,Okuda等(1981)建立了抑制性T杂交瘤细胞克隆,对这些细胞功能的研究提供了理想的模型。上述研究大多为体外功能研究,而对其在体内作用,尚待继续探讨。

转基因技术的应用:转基因技术也是近年来生物技术中一项重大突破性成就,它的建立使动物不必通过有性杂交,即能获得新的基因,开创了一条新途径。它的基本原则是将外源基因导入哺乳类动物的受精卵或其早期胚胎,然后分析胚胎或其后代组织中的基因表达。目前主要以小鼠为模型构建和培育不同性状的转基因鼠已在许多研究领域中得到应用。

转基因技术的主要过程是应用显微注射法将外源基因导入小鼠受精卵,并立即植入假孕小鼠输卵管内,或让其在体外发育至桑椹期,再植入其子宫内。经正常胚胎发育过程,取其幼鼠提取其组织中核酸分子用分子杂交法检测其是否有外源基因存在及其在体内的表达状况。Huxzar等(1985)报道了应用逆转录病毒为载体导入外源基因,这种新的基因导入方法有许多优点,在转基因鼠的研究中很有发展前途。

近年来应用转基因技术研究多种免疫分子的基因表达,已获得了大量有意义的资料。Strob等(1985)和Wearer等(1985)应用转基因鼠研究了重排后的K基因和 μ 基因的表达,均证明可产生导入基因编码的抗体。Rilchie等(1984)Bucchini等(1987)应用导入未重排Ig基因研究了其在淋巴细胞内重排的机制。Frel等(1985)

研究了MHC I类基因的表达及功能, Flood等(1986)研究了MHC对I-J基因表达的影响。此外也报道了应用转基因技术研究了T细胞抗原受体基因, 细胞因子基因, 生长激素基因, 以及癌基因的表达。

转基因技术也大大推动了对自身耐受机制的研究。Hanaham等(1985) Fass等(1987)对表达SV40T抗原的转基因鼠进行了研究, 他们的结果表明并非所有胚胎抗原都可导致克隆排除, 进一步证明了自身耐受的形成并非都由克隆排除所致。Allison等(1988)对表达MHC产物的转基因鼠的研究证明MHC I类分子在细胞的过度表达与糖尿病的发生密切相关, 为糖尿病的发病学提供了一个新学说。Kisielow等(1988)对表达自身抗原识别受体的转基因鼠的研究证明在胸腺中对自身反应性T细胞的负选择作用是发生在双阳性细胞($CD4^+CD8^+$)阶段, 进一步明确了自身耐受在胸腺内形成的细胞阶段。

上述成就不难看出转基因鼠的应用, 使自身耐受的研究进入一个新阶段。长期以来, 免疫耐受的研究都是在个体发育的不同阶段, 注入外来抗原诱导耐受的形成。因而不能完全反映耐受形成的自然过程, 而转基因技术的应用则可弥补上述不足能更为全面的反映耐受形成过程。

分子杂交技术的应用: 自1953年英国学者克利克(Crick)和美国学者华特森(Watson)对核酸分子经X射线衍射分析研究证明了DNA双螺旋结构, 为分子遗传学奠定了基础。60年代建立了中心法则和三联体密码的确立, 对原核生物DNA的复制, 转录以及对蛋白质的生物合成过程都有了基本的了解, 进一步在基因水平研究基因的结构和功能。70年代Smith等发现了细菌的限制性内切酶, Cohel等首次实现了DNA的重组实验, Maxam等发表了对大分子DNA序列的分析技术, 在此期间已成功的进行了人工分离基因和人工合成基因, 建立了分子杂交技术, 并开始形成了基因工程这一新的研究领域。

分子杂交的原则是根据双链核酸分子经高温解链, 可分开为二条互补的单链, 恢复原温度又可使原来的双链结构聚合。二条不同的单链分子, 根据碱基配对的原则, 只要它们的碱基序列同源或部分同源, 即碱基完全互补或部分互补, 就可发生全部或部分复性, 此即核酸杂交。通常二种待杂交的分子之一是已知的, 并可予先用放射性同位素, 或生物素进行标记, 称为分子探针。以此探针来识别或钓出另一种核酸分子中与其同源部分, 即目的基因或靶基因, 它有极高的特异性和敏感性。其实验方法可分为吸印杂交法(Southern blot), 斑点杂交法和原位杂交。这一方法已广泛用于分子生物学和分子遗传学的研究。

分子遗传学的理论和分子杂交技术也大大促进了分子免疫学的发展。目前已开展了对免疫球蛋白分子, T细胞受体分子, 补体分子, 细胞因子, 以及MHC分子等的基因结构, 功能及其表达机制的研究。对一些细胞因子通过基因工程已获得了纯化和有活性的重组分子。为进一步研究免疫分子的结构与功能以及临床诊断和治疗提供了理想的制剂。

V. 免疫学科的形成与其分支科学的发展

现代免疫学经过近30年的发展, 已形成了一个独立的学科, 并建立了许多分支学科。