

Q2-0
1

HLA分型原理和应用

赵桐茂 主编

上海科学技术出版社

内 容 提 要

研究人类白细胞抗原 (HLA) 是一门新兴的、正在迅速发展的学科。本书系统地介绍了 HLA 的研究进展及其应用。全书分为三篇二十章,主要包括 HLA 基础理论、实际应用和技术操作等三部分。详细地论述了 HLA 的方法学、血清学、遗传学、HLA 结构和生物学功能以及 HLA 在临床输血、器官移植、卵性诊断、亲子鉴定、疾病关联研究等方面的应用;同时总结了作者多年研究 HLA 的实践经验,用较多的实例阐明 HLA 研究中的一些带有普遍性的问题。

本书内容丰富,论述详尽,文字简要,理论联系实际,对 HLA 作比较系统、深入地阐述。可供 HLA 专业人员、临床医生、法医、生物学和免疫遗传学研究人员以及高等医学院校师生参考。

序

1958年 Dausset 发现人类第一个白细胞抗原,开始写下 HLA 的历史。最初 HLA 是作为人类的一种遗传多态性系统而被检出,但是很快就发现它实际上是人类的主要组织相容性复合物。在临床器官移植的推动下,HLA 得到近乎爆炸性的发展,不到 20 年间召开了八次国际组织相容性试验专题讨论会,HLA 的概貌已基本搞清,它在临床医学和基础科学中的重要意义正在日益被显示出来。特别是在从事研究组织相容性的 Snell、Benacerraf 和 Dausset 等人获得 1980 年诺贝尔医学奖金后,这个领域更令人瞩目。当今 HLA 的研究重点,已从临床器官移植转向基础免疫学。通过对 HLA 的生物学功能的研究,不但可阐明人体免疫系统的作用机制,而且有可能找到诱发对移植物免疫耐受的简便方法,还可能为解决癌症等难题提供入门的钥匙,以至建立起一门高度精密的预防医学,造福于人类。

我国从 1974 年开展 HLA 研究工作,现已初具规模,HLA 的应用工作也正在逐步推广。但目前国内尚无一本比较系统地介绍 HLA 的书籍,为此我们尝试撰写此书,希望它能成为 HLA 分型的入门指南。

本书不仅是为 HLA 专业工作者,而且也是为医学、免疫学、遗传学、法医学、人类学以及有关领域中感兴趣的研究人员所作。我们将在这本书中阐明 HLA 的基本概念和 HLA 研究中碰到的一些基本问题。在论述中不可避免地要涉及到一些数学问题,非数学工作者可能会有些困难或感到厌烦,因此我们将着重介绍如何使用这些数学方法,一般不做详细推导。在技术操作中,我们强调实用性,尽量选择目前国内有条件开展而且国际上又普遍采用的标准技术,并结合自己的经验体会进行介绍,力求使读者能够应用。此外,为了使读者了解国外动态,还适当选载了一些国外新技术。

研究 HLA 是一门新兴的、正在迅速发展的学科,正如 Dausset 所说:“路是已经踏出来了,但只是个序曲,还有许多瑰丽的篇章等待着被谱写”。尽管作者希望本书能够把 HLA 的最新知识给读者,但是由于我们水平有限,故未必能够如愿以偿。此外,书中错误之处也在所难免,衷心地希读者批评指正。

赵桐茂

1982 年 6 月於

上海市中心血站 HLA 分型实验室

目 录

第一篇 HLA 分型基础知识

第一章 主要组织相容性复合物	2
1.1 引言	2
1.2 小鼠 H-2 系统	2
1.3 MHC 的生物学功能	5
第二章 HLA 研究简史	9
2.1 研究 HLA 大事记	9
2.2 国际组织相容性试验专题讨论会	12
第三章 HLA 分型方法学	15
3.1 HLA-ABC 分型	15
3.1.1 微量 T 淋巴细胞毒试验	16
3.1.2 影响 T 淋巴细胞毒试验的因素	19
3.1.3 精子 HLA-AB 分型	23
3.1.4 使用吸收试验作 HLA 分型	23
3.1.5 血清 HLA 分型	24
3.2 HLA-DR 分型	24
3.3 HLA-D 分型	27
3.4 PLT 分型	32
3.5 细胞介导的淋巴细胞溶解	34
第四章 已发现的 HLA 特异性	39
4.1 HLA 的国际命名	39
4.2 HLA 系统因子 1980 年命名	40
4.3 历年检出的 HLA 抗原	42
4.4 HLA-A 座位抗原	45
4.5 HLA-B 座位抗原	49
4.6 HLA-C 座位抗原	59
4.7 HLA-DR 座位抗原	60
4.8 MB、MT、TE 系统和 LD 抗原	63
第五章 HLA 血清学	65
5.1 HLA 抗体	65
5.2 交叉反应性	70
5.3 超型和特异性分解	75
5.4 使用单价血清	77
5.5 HLA 抗原的指定	79

5.6 HLA 分型血清	81
第六章 HLA 抗血清特异性鉴定和质量分析	86
6.1 HLA 抗血清集群	86
6.2 使用标准细胞鉴定抗血清特异性	91
6.3 多价抗血清特异性分析	94
6.4 HLA 抗血清质量分析	96
6.5 如何发现新的 HLA 特异性	99
第七章 HLA 的遗传学	103
7.1 一些基本概念	103
7.2 HLA 座位	107
7.3 6号染色体和 HLA 基因图	111
7.4 群体研究	115
7.4.1 HLA 的多态性	115
7.4.2 连锁不平衡	117
7.4.3 基因重复	120
7.4.4 HLA 群体分布	121
7.5 家庭研究	127
7.6 连锁分析	128
7.6.1 连锁、同线与重组率	129
7.6.2 Lods 法	130
7.7 分离分析	135
第八章 HLA 遗传学中的统计分析	141
8.1 基本概念	141
8.1.1 Hardy-Weinberg 定律	141
8.1.2 遗传参数的方差和标准误	142
8.1.3 双座位复等位基因遗传模型	144
8.2 遗传参数的估计	145
8.2.1 抗原频率	145
8.2.2 基因频率	146
8.2.3 单倍型频率	148
8.2.4 连锁不平衡参数	150
8.2.5 三座位单倍型频率和连锁不平衡参数	152
8.2.6 遗传距离	154
8.3 Hardy-Weinberg 吻合度测验	155
8.4 关联分析	157
8.4.1 血液因子关联	157
8.4.2 HLA 抗原关联分析	160
8.5 常用公式和实例运算	166
第九章 多克隆和单克隆异种 HLA 抗体	169
9.1 多克隆异种 HLA 抗体	169
9.2 单克隆异种 HLA 抗体	170
9.3 异种 HLA 抗血清的应用	174

第十章 人体中 HLA 抗原分布及其化学结构	176
10.1 HLA 抗原在人体中的分布	176
10.2 HLA 抗原的化学结构	179
第十一章 HLA 的生物学功能	185

第二篇 HLA 的应用

第十二章 HLA 与输血	189
12.1 发热性输血反应	189
12.2 输白细胞	191
12.3 输血小板	192
第十三章 HLA 与器官移植	195
13.1 肾移植	195
13.2 影响肾移植的非 HLA 因素	199
13.3 肾移植前输血的作用	201
13.4 骨髓移植	204
13.5 HLA 与心、肝、角膜移植	206
13.6 移植效果的表示法	206
第十四章 HLA 与疾病的关联	208
14.1 HLA 与疾病关联的研究方法	209
14.1.1 抗原关联分析	209
14.1.2 HLA 单倍型与疾病关联	215
14.1.3 同胞对分析方法	217
14.1.4 连锁分析	222
14.2 疾病关联研究中的一些问题	223
14.3 疾病遗传模型分析	225
14.4 HLA 与疾病关联的机理	230
14.5 HLA 与疾病关联的临床应用	233
14.6 与 HLA 关联的疾病	235
第十五章 HLA 在双生子卵性诊断中的应用	241
15.1 双生子的类型	241
15.2 卵性诊断	241
第十六章 HLA 在亲子鉴定中的应用	245
16.1 排除亲子关系	245
16.2 不排除亲子关系	248

第三篇 HLA 分型技术

第十七章 淋巴细胞悬液制备和保存	256
17.1 淋巴细胞分离	256
17.1.1 从外周血分离淋巴细胞	256
17.1.2 从淋巴结分离淋巴细胞	260
17.1.3 从脾脏分离淋巴细胞	261

17.2 T、B 淋巴细胞分离	262
17.2.1 绵羊红细胞玫瑰花形成方法	262
17.2.2 尼龙棉柱方法	267
17.3 淋巴细胞保存	271
17.3.1 冰冻保存	271
17.3.2 常温保存	274
第十八章 血清学方法	275
18.1 微量淋巴细胞毒试验	275
18.1.1 T 淋巴细胞毒试验	275
18.1.2 B 淋巴细胞毒试验	276
18.1.3 淋巴细胞毒交叉试验	279
18.2 血清 HLA 分型	279
18.3 血小板补体结合试验	280
18.4 吸收放散试验	282
18.5 从 DR 抗血清中吸收去除 ABC 抗体	282
第十九章 混合淋巴细胞培养方法	285
19.1 双向 MLC 方法	285
19.2 单向 MLC 方法	287
第二十章 组织相容性实验室常用技术	292
20.1 血样的采集和运输	292
20.2 HLA 分型试剂的筛选	292
20.3 HLA 抗血清的采集和保存	294
20.4 补体的选择和制备	295
20.5 抗淋巴血清制备	299
20.6 淋巴细胞活力测定	300
20.7 E 玫瑰花形成试验	300
20.8 FBC 花环形成试验	301
20.9 组织相容性实验室的配备	302
20.10 常用试剂配制	303
20.10.1 淋巴细胞分离液	303
20.10.2 Hanks 液	303
20.10.3 磷酸缓冲盐水溶液	304
20.10.4 RPMI-1640 培养液	304
20.10.5 曙红和锥蓝溶液	304
20.10.6 甲醛溶液	305
20.10.7 欧洲柯林液	305
附表	306
1. 正态分布概率对应数值表	306
2. χ^2 的数值表	307
3. N 次独立比较中达到某概率水平所需 χ^2 临界值	309
4. Lods 表	310
参考文献	314

第一篇 HLA 分型基础知识

虽然人们对白细胞抗原开始认识,可追溯到上个世纪,但是真正取得进展还是近 20 几年的事。通过国际间的协作,现在对 HLA 的基本情况已有所了解。HLA 是迄今所知最为复杂的一个人类遗传多态性系统,HLA 区域里至少已检出 A、B、C、D 和 DR 等几个遗传座位,存在新的座位的证据正在不断增加;该区域还控制人类的某些补体组分、红细胞酶型以及红细胞血型抗原,估计这个区域的各种遗传座位有数百个之多。使用血清学和细胞培养方法,已检出九十多种 HLA 等位基因,各种可能的 HLA 表现型数可达上亿种。可以说除了同卵双生子之外,在地球上找不到 HLA 完全相同的两个人。HLA 在遗传学上还有一个显著特点,就是不同座位上的等位基因之间存在显著的连锁不平衡,这个现象提示了人类进化中的选择作用。HLA 的基因产物至少有两种,HLA-ABC 抗原几乎存在所有的组织细胞膜上;而 HLA-D 和 DR 抗原,主要存在某些免疫活性细胞上。这两类抗原的不同分布,提示它们具有不同的生物学功能。HLA 是一种移植抗原,通过 HLA 配型能改善移植物的存活率。HLA 作为一种遗传标记,不但可用于人类遗传学研究,而且可通过研究它与疾病的关联,阐明疾病病因。一些病因与自身免疫有关的疾病,表现出与 HLA 的关联,提示 HLA 遗传区域存在免疫反应基因。对小鼠主要组织相容性系统 H-2,及其在人类中的对等物 HLA 的生物功能的研究,证明了 HLA 抗原直接参与免疫活性细胞的相互作用,因此已有人预言,HLA 很可能作为人类的主要免疫复合物而被重新命名。此外,HLA 在细胞相互作用中起着自我识别作用,提示它具有更为普遍的生物学意义。近年来,单克隆 HLA 抗体的研制成功,不仅为 HLA 分型血清开拓了一个可能的新来源,而且为研究 HLA 的结构与功能提供了更精密的工具。HLA 的应用,早已超越器官移植的范畴,被普遍地用于临床输血、法医上的亲生子鉴定、某些先天性遗传性疾病的早期诊断以及研究种族差异、人类的起源与进化等方面。

尽管目前已积累了大量有关 HLA 的知识,但是研究 HLA 取得的进展并不意味着它在走向终点,而恰恰相反,它开辟了新的、更为广阔的领域。比如,在器官移植方面,如今已从单纯的 HLA 配型转向研究如何使受体对移植植物产生免疫耐受,而又不影响受体的防御系统;研究 HLA 与疾病的关联,不只是为了诊断和预报的好处,而是希望有朝一日通过基因工程了解 HLA 附近的 DNA 次序,并辨认出不正常的易感性基因;研究 HLA 与免疫反应的关系,不但要阐明免疫活性细胞的相互关系以及相互作用的语言,而且要确定各种基因组合给予一个体的免疫能力是弱的(易感性)、过剩的(自身免疫作用)还是恰到好处(保护作用)的等等。正如 Snell 所说,“主要组织相容性复合物,很象是一本只被辨认出只言片语的天书中的一页”,如今我们所了解的只是一个 HLA 概貌。事实上,随着 HLA 研究进展和碰到的一些新问题,人们对 HLA 的认识以及一些概念仍然在不断发展。本篇将着重介绍 HLA 的基础知识和目前的概念。

第一章 主要组织相容性复合物

1.1 引言

1956 年 Snell 等在研究小鼠的移植排斥反应时,首先引入主要组织相容性基因(Major Histocompatibility Gene)的概念,他们认为这些基因与同种组织移植以及肿瘤移植中的急性排斥反应有关。而对于那些控制同种组织移植中的慢性排斥反应的基因,他们称为次要组织相容性基因(Minor Histocompatibility Gene),因为这些基因一般不造成肿瘤移植中的排斥反应。后来才知道涉及到移植排斥反应的基因不是一个,而是一组,这些基因位于紧密连锁的座位上。这些座位组成的遗传区域被称为主要组织相容性复合物(Major Histocompatibility Complex),简称 MHC,过去也有人称为主要组织相容性系统(MHS)。

由于 MHC 中的基因高度集中,故被认为是一种超基因(supergene)或超超基因(super supergene)。这种提法并不过分,因为在 MHC 中至少有 4 组基因,每一组基因都有各自的产物,这些产物是细胞表面的同种抗原或某些血清蛋白,同时每一组基因在免疫应答中都有各自的作用。

小鼠主要组织相容性复合物是 H-2 系统。对 H-2 系统的研究较为充分,它已成为我们认识 MHC 的一个基础。1958 年 Dausset 发现了人类白细胞抗原,后来证明 HLA 实际上是小鼠 H-2 系统的对等物,提示所有的哺乳动物,甚至可能所有的脊椎动物都有类似 H-2 的 MHC。目前至少在 9 种动物中明确检出 MHC,它们的符号如表 1-1 所示。在鸡中已发现 13 种血型,其中 B 血型系统可能是 MHC。

表 1-1 人和动物中的 MHC 符号

猪	牛	狗	豚鼠	大鼠	小鼠	兔	猕猴	猩猩	人
SL-A	BL-A	DL-A	GPI-A	AgB (RtH-1)	H-2	RI-A (RbH-1)	RhL-A	ChL-A	HLA

虽然 MHC 最初在研究移植排斥反应中被发现,但是它真正的生物学功能并不只限于此。1963 年 Benacerraf 等观察到,豚鼠的一个主要组织相容性座位和免疫应答之间存在关联;McDevitt 等不但发现小鼠中也有类似的关联,而且进一步证明小鼠的免疫反应基因就在 H-2 系统中的 I 区。这些重要的发现,使人们开始认识到 MHC 的确非常复杂。

1.2 小鼠 H-2 系统

H-2 系统位于小鼠第 17 号染色体上,由 K、I、S、G、D 等 5 个主要区域组成。它们产生的抗原,根据在组织细胞上的分布不同以及化学性质的差异,可分为若干类,如表 1-2 所示。I 类抗原与 K、D 区相关,II 类抗原与 I 区相关,III 类抗原与 S 区相关。G 区决定红细胞抗原。K、D、G 区抗原可用血清学方法检出。I 区情况较为复杂,有些产物可用混合淋巴细胞培养(MLC)方法检出;Ia 抗原是用血清学方法检出;而 Ir 基因是根据对特异性抗原的

表 1-2 H-2 抗原的分类和组织分布

区	抗原类型	检出技术*	组织分布
K	I	SD	大多数组织细胞
I	II	LD,SD、免疫反应	局限于某些淋巴细胞、巨噬细胞
S	III	血清蛋白	血清
G	红细胞抗原	SD	红细胞
D	I	SD	与K相同

* SD: 血清学方法; LD: 混合淋巴细胞培养方法; 免疫反应: 见正文

免疫应答差异检出,该差异包括抗体产生水平或细胞免疫的反应强度等。

在 I 区内有 I-A, I-B, I-J, I-E 和 I-C 等 5 个亚区。Ir 和 Ia 标记座位在 I 区。Ir 抗原代表免疫反应抗原 (Immune response antigen), Ia 抗原表示免疫反应基因相关抗原 (Immune response gene associated antigen), 或 I 区相关抗原 (I region associated antigen)。已检出的 Ir 座位基因有 Ir-1A, Ir-1B 和 Ir-1C, 它们分别在 I-A, I-B 和 I-E 区 (图 1-1)。已检出的 Ia 座位基因有 Ia-1, Ia-2, Ia-4, Ia-5 和 Ia-3。Ir-1A 靠近 H-2K 座位, Ia-3 靠近 H-2D 座位。Ia 抗原主要在 B 淋巴细胞上, 但 I-J 亚区中 Ia-4 座位抗原却在 T 抑制细胞上占优势。

小鼠 H-2 遗传区域和人类 HLA 遗传区有一定的对等关系。从图 1-2 可见, H-2D、K

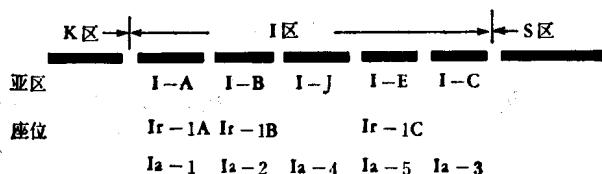


图 1-1 小鼠 I 区图谱

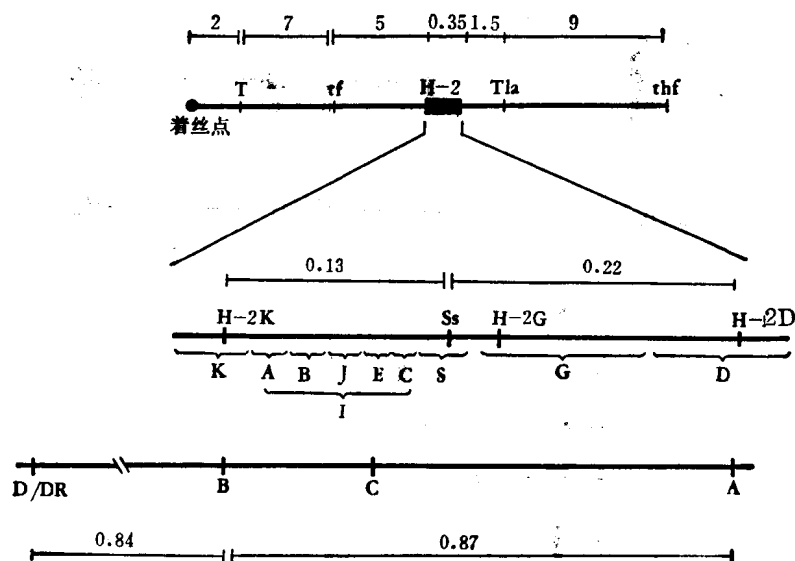
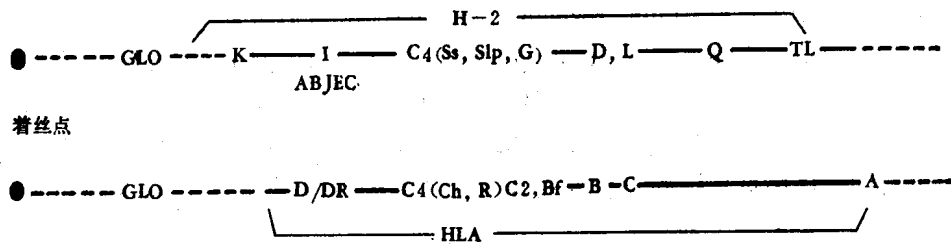


图 1-2 H-2 与 HLA 遗传区比较

距离大致与 HLA-A、D 距离相近。H-2K 和 H-2D 分别是 HLA-B 座位和 HLA-A 座位的对等物,这两个座位的基因产物都是一种移植抗原,在 MLC 中是弱的刺激者,在淋巴细胞毒试验中可作为靶细胞;此外,它们可能还有免疫监督作用。S 区域基因控制补体等血清蛋白的生成,这与人类 MHC 中的 C2, C4, Bf 等补体组分基因相对应。I 区抗原在 MLC 中是个强的刺激者,相当于 HLA 中的 D 座位抗原作用,但 I 位于 D、K 之间,此点与人类不同。I 区内还有一些基因涉及到对胸腺依赖抗原的免疫反应的调节作用以及控制 T 细胞表面决定簇,但在人类中尚未发现相当的座位。

1979 年 Francke 等确定了 H-2 和 HLA 与乙二醛酶基因 GLO 以及着丝点的方位。因为在人类中 MLC 受控于 HLA-D 座位,所以 HLA-D 区域和 H-2 中的 I 区域相对应更为合理。1979 年 Barnstable 等提出 HLA 与 H-2 之间的对应关系如图 1-3 所示。这张图的



Ch, R 为 Chido 和 Rodgers 血型, GLO 为乙二醛酶

图 1-3 H-2 和 HLA 遗传区域图谱

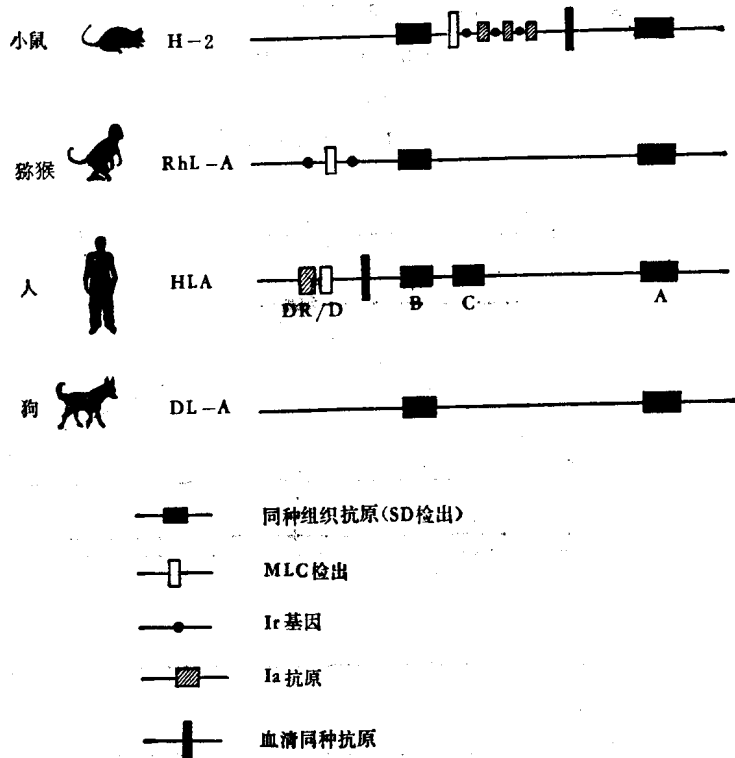


图 1-4 人和几种动物的 MHC 比较

特点是 HLA 中的 D/DR, C4, B, C 分别与 H-2 中的 I, C4, D, L 对应, 只有 H-2K 和 HLA-A 没有对等物。对此现象有两种解释, 一种认为在染色体内的双重交换(double cross-over), 可使 HLA-A 位置和 H-2K 对应; 另一种解释为在小鼠 H-2 中尚未检出 HLA-A 的对等物, 而在 HLA 中尚未检出 H-2K 的对等物, 即 HLA 和 H-2 中对等基因的排列是完全相同的, 但基因产物不同。究竟图 1-2 和 1-3 哪个可靠, 目前尚无定论。

小鼠 H-2 以及人类 HLA 和其它哺乳动物的 MHC 遗传区也有对等关系, 如图 1-4 所示。

1.3 MHC 的生物学功能

MHC 的生物学功能首先在移植免疫研究中被揭示, MHC 控制的细胞表面抗原实际上是一种移植抗原, 在同种异体的移植排斥反应中起主要作用。但是, 在自然界, 动物之间的器官移植不会自行发生, 因此从生物进化的角度考虑, 在几乎所有的哺乳动物中都存在 MHC 的事实提示, MHC 一定有它的更为普遍、更为重要的生物学功能。

近 20 年来, 首先是在豚鼠和小鼠, 而后又在大鼠和猕猴等动物中证明, MHC 不但与免疫反应, 而且与一些非免疫学的生物现象都有密切关系。试验资料表明 MHC 遗传区域包括免疫反应基因(Ir)、免疫抑制基因(Is)和疾病易感性(susceptibility)基因; MHC 的基因产物直接参与抗体的免疫调节作用。此外, 还有大量线索提示 MHC 的生物学功能涉及到胚胎发育、形态发生、个体性的维持、自身完整性的维持以及细胞的相互作用等方面。仅从目前所了解的 MHC 生物学功能来看, 其复杂性已令人咋舌。我们现在所认识的只是个粗浅的轮廓, 对它进行详尽的研究正是当前迅速进展的一个课题。MHC 的主要生物学功能, 大致可概括如下几方面。

一、杂种间的抵抗

本世纪 20 年代前后, Little 等在研究中指出, 小鼠等动物对肿瘤移植的易感性或抵抗现象是受一些孟德尔遗传基因控制的。他们使用纯系小鼠研究发现: (1) 同系(syngenic)之间的肿瘤移植, 移植植物能够被接受; (2) 同种不同系(allogenic)之间的肿瘤移植植物将被排斥; (3) 由两个不同纯系杂交得到的第一代杂种, 可接受来自双亲的肿瘤移植植物, 但相反方向的移植将被排斥。后来注意到不同系小鼠间的抵抗现象, 主要是由于 H-2 的杂合性所决定。1956 年 Cudkiewicz 等使用骨髓移植证明 H-2 系统起主要作用, 一个或几个非 H-2 座位起次要作用, 并进一步观察到 H-2 中的 D 端是活性区域。这是有关 MHC 在免疫过程中可能起作用的初次报告。

二、H-2 的限制作用(restriction)

试验表明, 在细胞免疫应答中, T 杀伤细胞或细胞毒 T 细胞杀死靶细胞的一个必要条件是靶细胞和 T 杀伤细胞具有相同的 H-2 抗原, 也就是说 T 杀伤细胞的作用要受到 H-2 抗原的限制。靶细胞可以是病毒感染细胞, 结合外来抗原的细胞, 也可以是由化学处理或其它方法改变了的细胞。因此, T 杀伤细胞将同时与靶细胞上的外来抗原以及 H-2 抗原作用。现已知道, T 杀伤细胞识别的是 H-2 中 K 和 D 区域产生的 I 类抗原。作为 H-2 限制作用

的必然结果, T 杀伤细胞遇到没有 H-2 抗原的细胞株时, 将不与细胞上的非 H-2 抗原反应; 遇到只有自身 H-2 抗原的细胞时, 也不会发生反应。

在体液免疫应答中, 也有同样的限制作用。病毒、细菌等抗原首先由巨噬细胞吞噬, 然后通过细胞膜将抗原信息传递给 T 辅助细胞, 再由 T 辅助细胞提呈给 B 细胞。对于胸腺(T 细胞)依赖抗原, 它可在 T 辅助细胞的协同下, 直接将抗原信息提呈给 B 细胞。接受到抗原信息的 B 细胞开始分化和增殖, 转变为能产生 Ig 抗体的浆细胞, 同时有一部分细胞转化为记忆细胞。在巨噬细胞把抗原信息提呈给 T 辅助细胞时, 使后者活化并产生 T 杀伤细胞、T 抑制细胞。在这些过程中, 也要求相互作用的细胞之间的 Ia (II 类) 抗原相同。

在细胞和体液免疫应答中, MHC 基因产物都是作为自身的决定簇, 只有在 T 细胞同时识别自身和非自身抗原时, 才能诱发增殖反应, 如图 1-5 所示。

H-2 的限制作用还表现在其它一些生物学现象中, 比如 Degos 等于 1979 年观察到, 把标记的淋巴细胞从静脉注入小鼠, 只有在这些细胞与小鼠毛细血管内皮细胞 H-2D 或 H-2K 相同时, 才能大部分回到淋巴结, 这称为“回归”(homing)现象。这个现象不涉及 H-2I 控制的 Ia(II 类)抗原, 如图 1-6 所示。

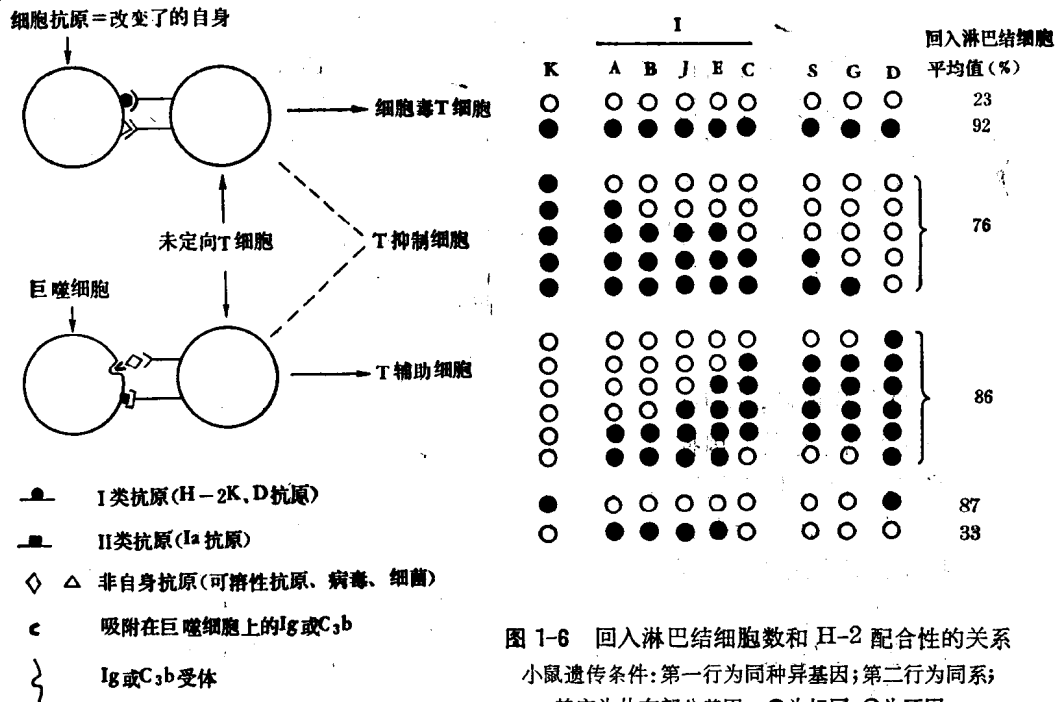


图 1-6 回入淋巴结细胞数和 H-2 配合性的关系
小鼠遗传条件: 第一行为同种异基因; 第二行为同系;
其它为共有部分基因。●为相同; ○为不同。

图 1-5 免疫活性细胞的相互作用

三、免疫反应基因

MHC 涉及到宿主的防御机制, 最早是从 H-2 与疾病易感性的关系得到启发。1954~1956 年, Gross 报告 AKR 或 C58 白血病细胞滤液注射给 H-2K 小鼠, 能造成早期发生白血病。1964 年 Lilly 证明存在一个对这种病毒性白血病易感的基因, 该基因与 H-2 连锁。

1964年 Bain 等发现,来源于两个不同个体的淋巴细胞在体外混合培养时,会发生细胞的增殖和转化,说明细胞之间发生免疫反应。这个反应受控于 MHC 区域内的基因,提示 MHC 与免疫反应有关。但最直接证据是 1963 年 Levine 和 Benacerraf 等在豚鼠的 MHC 中发现了免疫反应基因 Ir。他们使用具有半抗原性质的人工合成多肽进行试验,发现豚鼠对多聚 L-赖氨酸均聚物的共轭物(DNP-PLL)的免疫应答,是受单独的常染色体显性基因控制,他们用“应答者”和“非应答者”分别代表带有和不带有这个基因动物。品系 2 豚鼠对 DNP-PLL 为应答者,品系 13 为非应答者,而它们杂交的子代,即(2×13) F1 为应答者,说明对 DNP-PLL 起免疫反应的基因是显性基因。这个发现很快被扩展到使用其它人工合成多肽以及外来的蛋白质抗原,都得到证实。

1965 年 McDevitt 等证明近交系小鼠对(酪氨酸-谷氨酸)-丙氨酸-赖氨酸、(组氨酸-谷氨酸)-丙氨酸-赖氨酸以及(苯丙氨酸-谷氨酸)-丙氨酸-赖氨酸等多聚物的免疫应答受控于不同的 Ir 基因,这些多聚物的差别只是侧链上的一个氨基酸不同。而后,在大鼠和猕猴中也证明了免疫应答的遗传控制。说明在不同物种中,这是一种普遍现象。

通过对近交系小鼠和豚鼠的研究,很快就绘制出 Ir 基因图,发现它们与 MHC 连锁,在大鼠和猕猴中也是同样情况。McDevitt 等甚至可以根据小鼠 H-2 型来预测对某些多肽的应答性。现在已研究的绝大多数免疫应答是受控于一个单独的座位,只是在少数例子中发现对一定抗原的免疫应答需要 Ir 基因的互补作用(complementation)。比如 1975 年, Dorf 和 Benacerraf 等发现,对 L-谷氨酸、L-赖氨酸和 L-苯丙氨酸三聚物(GLφ)的免疫应答是由两个 Ir 基因决定,这两个基因在顺式(cis)或反式(trans)排列互补而产生对 GLφ 的反应。大部分 Ir 基因在 H-2 系统中的 I-A 亚区,少数 Ir 基因在 I-B 亚区,还有一些免疫应答受控于 I-A 和 I-E 亚区。

现在已有证据表明 Ia 分子就是 Ir 基因的产物,并决定对胸腺依赖抗原的特异性免疫反应:(1)Ia 分子糖蛋白由分子量为 33,000 的 α 链和分子量为 28,000 的 β 链组成,主要分布在巨噬细胞和 B 淋巴细胞表面,它们恰好也是受控于存在 Ir 基因的 I 区;(2)抗 Ia 血清和单克隆抗 I-A 血清在体外的反应,都能特异性地被 Ia 分子所遮断;(3)Ia 分子由 α、β 两条链组成,反映了两个亚单位分子间的互补作用,而对 GLφ 等的免疫应答,也是需要两个 Ir 基因的互补作用,Ia 和 Ir 两者有非常亲近的关系。

使用人工合成多肽等半抗原试验,发现 Ir 基因都在 H-2 的 I 亚区。但是在体外的细胞介导的溶解(CML)试验中,发现 H-2D, H-2K 和 H-2I 的产物都影响免疫应答。进一步研究表明 I 区产物调节 T 辅助细胞和 Ir 的活力;而 K 和 D 区的产物包括 K 和 D 抗原本身,在效应细胞中起相应作用。这和 MHC 的限制作用是一致的。

四、免疫抑制基因

1974 年 Kapp 等发现(谷氨酸-丙氨酸-酪氨酸)三聚物能够在某些近交系小鼠中诱发产生 T 抑制细胞,造成无应答性(unresponsiveness)。后来使用(谷氨酸-酪氨酸)共聚物和溶菌酶等进行试验,也发现类似情况。现在已证明产生特异性的 T 抑制细胞的能力,是受控于一个基因,被称为免疫抑制基因,或 Is (Immune suppressor) 基因。Is 基因也是在 H-2 的 I 区,但是对其基因产物以及意义尚不明了。

小鼠 H-2 的 I 区,除了通过 Is 基因控制免疫应答之外,该区还可通过控制所有 T 抑制

细胞表面特异性影响 T 抑制细胞的应答。1976 年 Murphy 等发现 I 区中的一个新亚区 I-J, 该亚区控制只存在于 T 抑制细胞上的同种抗原, 该抗原座位记为 Ia-4。从抗原特异性 T 抑制细胞上抽提得到的抗原特异性抑制因子, 能够刺激 T 抑制细胞的增殖, 并表现出具有与 I-J 亚区控制的相同的分子决定簇。有关 T 抑制细胞及其对免疫应答的修正等研究, 目前颇受注意。

五、补体系统的活化

补体是存在于血清中的一组蛋白酶, 由近 20 种成分组成, 它除了能够与抗体一起溶解细胞之外, 还参与巨噬细胞的吞噬作用, 灭活病毒以及排斥反应等机体防御机制。补体系统的活性, 要经过各补体成分的活化以及一串连锁反应才能表现出来。现在已知 MHC 与补体组分 C2、C4 以及 Bf (备解素因子 B) 紧密连锁, C2 和 C4 是补体活化经典途径上的 C3 活化酶, 而 Bf 是备解素途径上的 C3 活化酶, 因此 MHC 控制的补体组成实际上涉及到所有的补体活化通路。此外, 在小鼠 MHC 中还发现一个座位控制巨噬细胞和 B 淋巴细胞上的 C3b 受体的表现。

六、其它功能

有关 MHC 在非免疫学方面的功能的证据在逐步增加。比如 1977 年 Boyse 用遗传型为 H-2^b 和 H-2^k 的纯系小鼠试验, 在一个雄鼠遇到两个遗传型不同的发情雌鼠时, 该雄鼠倾向选择与自己遗传型不同的雌鼠。后来证明决定这个性状的基因靠近 H-2D 位点, 从这个现象似乎可以推测小鼠具有嗅出 H-2 产物的能力。另一个有趣的例子是纯系小鼠对可的松(cortisone)诱发裂腭的易感性。1975 年 Banne 报告, 遗传型为 H-2^a 和 H-2^b 的妊娠雌鼠用可的松处理后, 它们子代中裂腭的发生率分别为 81% 和 21%, 一些先天性缺陷在 H-2^a 中也较多, 提示 MHC 可能与胚胎发育有关。

在淋巴细胞表面存在高度复杂的 MHC 系统, 还有重要的进化意义。通过 MHC 控制的特异性免疫应答和特异性免疫抑制, 构成一个有机的多态性防御系统, 使个体同时具有抵抗外界的攻击和维持自身完整性的能力。虽然遇到感染因子时, 可能有一些个体被侵入, 但是其他个体则能有效地抵抗感染, 因此这个多态性防御系统不但能使个体获得存活优势, 而且使免疫系统有更大的可能性去适应进化压力。

本节论述的 MHC 的生物学功能, 主要是从小鼠等动物试验资料中取得, 但是它对于具有类似 MHC 的人类来说, 是一个非常有用的模型。

(赵桐茂)

（此处为模糊不清的印刷文字，疑似为“参考文献”或“致谢”等字样）

第二章 HLA 研究简史

2.1 研究 HLA 大事记

白细胞膜上的抗原可以分为三类：一类是红细胞血型抗原，如 ABH、Tj^a、Le^a、Le^b、I、i、U、Jk^a、Jk^b、K、k、Di^b 等；另一类是白细胞本身特有的抗原，如中性粒细胞上的 NA、NB、NC、ND、NE、9^a 等系统的抗原以及淋巴细胞上的 Gr 系统抗原等；第三类是与其它组织细胞共有的，也是最强的同种抗原，即 HLA 抗原。发现白细胞血型抗原要比发现红细胞血型晚半个世纪，但其进展却非常迅速。

1900 年，Landsteiner 发现人类 ABO 血型，打开了免疫血液学的大门，创建了使用抗体检查相应抗原的血清学方法。不到半个世纪，MNSs、P、Rh、Lutheran、Kell、Lewis、Duffy 等红细胞血型系统相继被发现，可是人们对白细胞血型几乎一无所知。虽然早在 1899 年，Metchnikoff 曾发现把人体白细胞注射到动物体内会产生白细胞抗体，但未引起注意。

鉴定 ABO 血型的抗 A 和抗 B 抗体“天然”存在于人体中，在本世纪 20 年代，人们曾希望能够发现白细胞天然抗体。1926 年 Doan 首次报道在人体中发现对白细胞有细胞毒性的“天然抗体”，他在美国医学会杂志(JAMA)上发表的文章中声称，根据白细胞的配合性对个体进行分类，至少有 27 种可能的组合，并令人吃惊地预言他的发现不仅对输血而且对植皮都有用处。这个在当时证据还不足的预言，没有引起人们的重视，但在 35 年后竟被证实了。

1945 年，Coombs 等建立了著名的 Coombs 试验，即抗人球蛋白试验。这个技术不仅为发现新的血型抗体提供有力的工具，而且证明了某些获得性溶血性贫血是由于自身抗体所造成。这个发现引起了人们探求白细胞减少症和血小板减少症病因的兴趣。1952 年，人们在粒细胞减少症病人血清中发现白细胞凝集素，并认为是一种自身抗体。1954 年 Dausset 取得 60 份含有白细胞凝集素的病人血清，这些血清能凝集 56~100% 的献血员白细胞，85% 的病人是白细胞或粒细胞减少症，90% 的病人多次接受输血。究竟是什么原因产生这些白细胞凝集素，使 Dausset 进退两难。他考虑到输血产生抗体的可能性，但又觉得这些抗体更象是与该疾病有关，他猜想白细胞凝集素“可能是一种同种抗体，但难以理解为什么几乎集中在白细胞或粒细胞减少症病人中”。

1957 年 Payne 报告，带有白细胞凝集素的病人比例，随输血次数增加而提高，提示白细胞凝集素的产生与输血有关。几乎在同一时期，许多研究者都发现带有白细胞凝集素的病人，在输入不含白细胞的血液时，不产生发热性输血反应；但是如输入白细胞，则 1 小时后体温将骤然上升。这个发现进一步表明，白细胞凝集素不是自身抗体，而是免疫产生的同种抗体。从而很快地导致了人类第一个白细胞抗原被发现。

1958 年，Dausset 在多次输血病人中取得 27 份含有白细胞抗体的血清，他把这些血清与一组供体白细胞做凝集试验，结果发现其中 20 份血清几乎与所有的白细胞都反应；其余 7

份血清只与大约 60% 的法国人白细胞反应，而不与提供这些血清的 7 例病人白细胞反应。他把这 7 份血清中的抗体称为抗 Mac。在把 Mac 阳性的血液输给 Mac 阴性病人后，病人能够产生抗 Mac 抗体。家系调查表明 Mac 抗原的遗传，符合孟德尔遗传规律。经过这些试验，人类第一个白细胞抗原 Mac 终于被确立了，它相当于现在的 HLA-A2 抗原。

Mac 抗原的发现，使人们认识白细胞抗原系统迈进了一大步，但是要在多次输血病人中取得足够的抗血清显然是不可能的。1958 年 Payne 和 van Rood 各自发现某些经产妇血清中含有白细胞抗体，而且该抗体的发生率随妊娠次数增多而提高。这个发现为研究白细胞血型奠定了基础，可是又遇到新的障碍。由于白细胞抗原系统的高度复杂性，在白细胞抗体和抗原都没有指定的情况下，根据它们之间错综复杂的反应格局来分型，几乎令人束手无策。如图 2-1 是 van Rood 的一张著名的血清图，它是 34 份经产妇血清与 100 例随机荷兰人白细胞凝集试验结果，其中黑点代表阳性反应，空白处为阴性反应。要直接从这张图上找出相同的血清简直不可能。1962 年 van Rood 在他的博士论文中，成功地解决了这一难题。他使用统计学的方法，对每两份血清用 2×2 偶然性表进行比较，然后借助电子计算机，把反应格局相似的血清集合在一起，这样得到的每一组血清对应一个或数个白细胞抗原。他用这个方法，根据图 2-1 结果，检出白细胞 4a4b 双等位基因系统，即现在的 Bw4 和 Bw6 抗

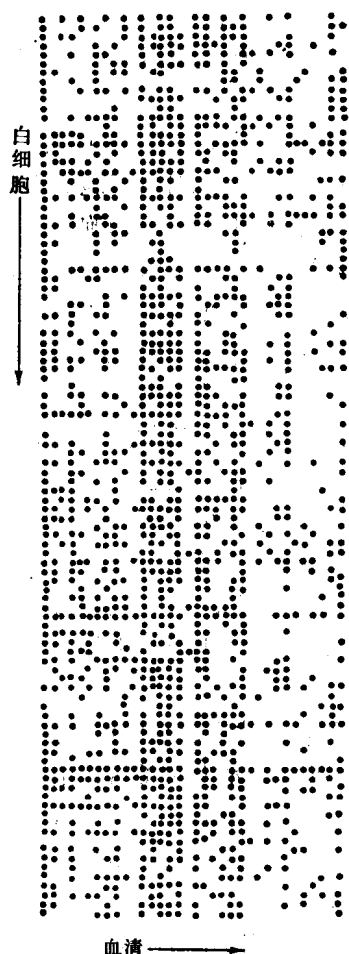


图 2-1 34 份血清与 100 例随机白细胞凝集试验结果

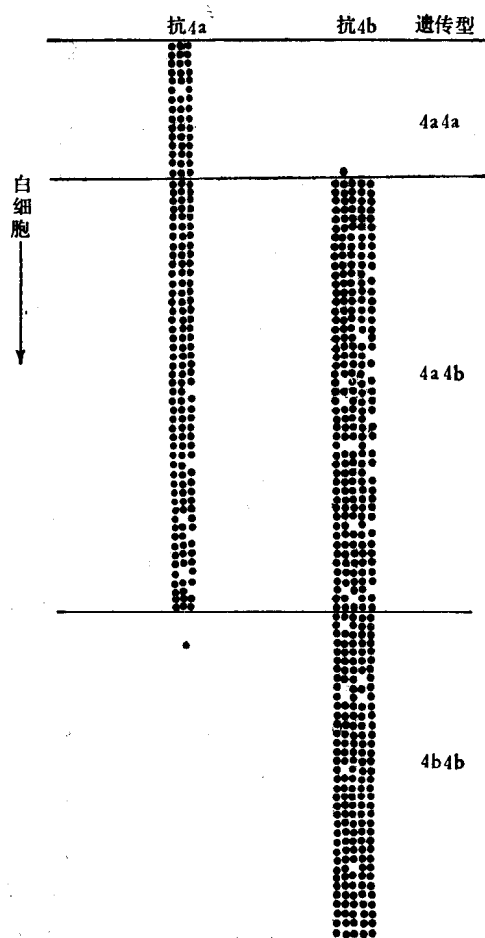


图 2-2 4a4b 系统血清图