

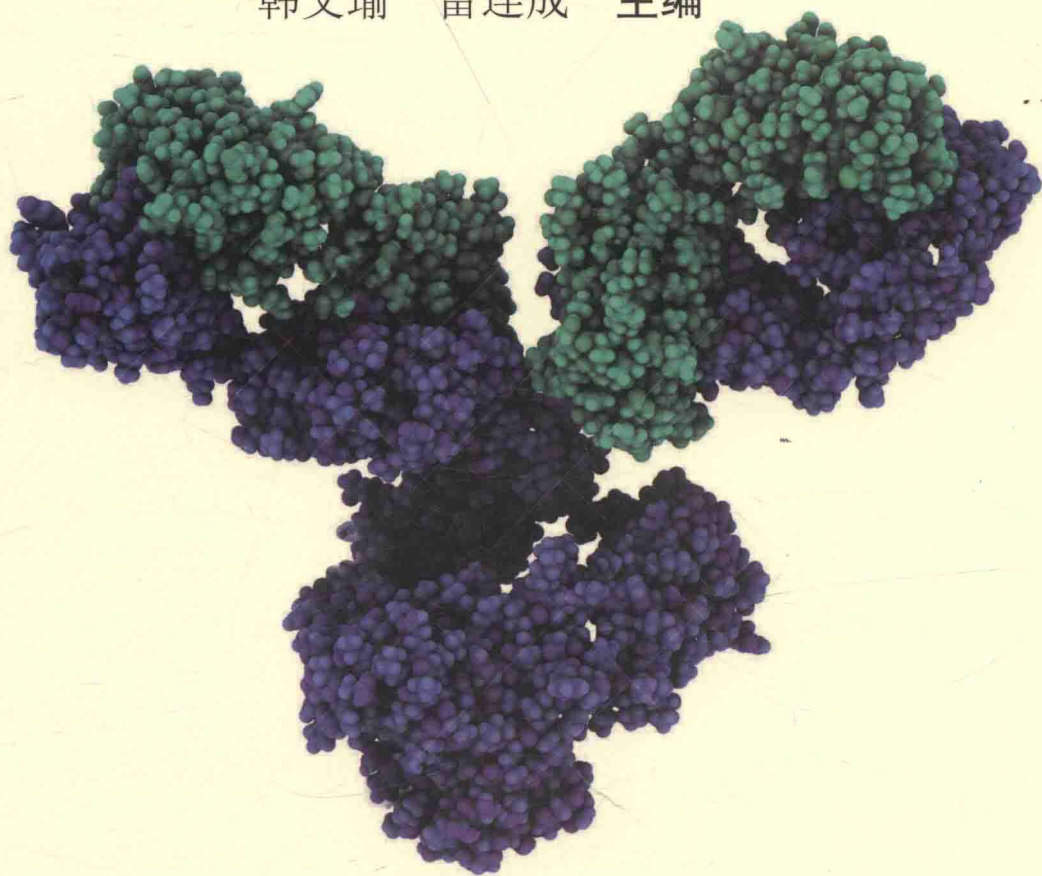


ADVANCED

Veterinary Immunology

高级动物免疫学

韩文瑜 雷连成 主编



科学出版社

高级动物免疫学

韩文瑜 雷连成 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书以专题的方式编写,共 35 章,大体分为两部分。第一部分为基础免疫学专题,为 1~19 章,主要内容有免疫器官、免疫分子、免疫应答、免疫调节、免疫的动力学、细胞凋亡与免疫、细胞自噬、miRNA 与免疫、病原体与免疫系统互作等内容;第二部分为临床动物免疫学专题,为 20~35 章,主要内容有禽类免疫、猪的免疫、反刍动物免疫、鱼类免疫、其他动物的免疫特征、抗肿瘤免疫、红细胞免疫、繁殖免疫、病原性免疫抑制、炎症与免疫、抗细菌免疫、抗病毒免疫、抗寄生虫免疫、新型生物制品与免疫治疗等。

本书可作为高等农业院校和科研院所动物医学相关专业的本科生和研究生教材或教学参考书,也可作为动物医学、动物科学、实验动物学、水产学、经济动物学、比较医学、生物制品学、人兽共患病学和医学等专业研究人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

高级动物免疫学 / 韩文瑜, 雷连成主编. —北京: 科学出版社, 2016
ISBN 978-7-03-049162-6

I. 高… II. ①韩… ②雷… III. 动物学-免疫学 IV. ①S852.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 143368 号

责任编辑: 吴美丽 / 责任校对: 李 影 王 瑞

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 铭轩堂

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

新科印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 6 月第 一 版 开本: 880×1230 1/16

2016 年 6 月第一次印刷 印张: 32 1/2

字数: 917 000

定价: 98.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《高级动物免疫学》 编写委员会

主 编：韩文瑜 雷连成

副主编：王家鑫 许兰菊 周恩民 焦新安

编 委：(以姓氏笔画为序)：

丁 壮 (吉林大学动物医学学院)

刁有祥 (山东农业大学动物科技学院)

马 勋 (石河子大学动物科技学院)

王玉炯 (宁夏大学生命科学学院)

王桂军 (安徽农业大学动物科技学院)

王家鑫 (河北农业大学动物医学院)

石德时 (华中农业大学动物医学院)

冯 新 (吉林大学动物医学学院)

任洪林 (吉林大学人兽共患病研究所)

刘 磊 (甘肃农业大学动物医学院)

刘明远 (吉林大学人兽共患病研究所)

刘胜旺 (中国农业科学院哈尔滨兽医研究所)

许兰菊 (河南农业大学牧医工程学院)

孙长江 (吉林大学动物医学学院)

杜崇涛 (吉林大学动物医学学院)

李子义 (吉林大学转化医学研究院)

李纯锦 (吉林大学动物科学学院)

杨建德 (天津农学院动物科学系)

余兴龙（湖南农业大学动物医学院）

陈丽颖（河南农业大学牧医工程学院）

陈金顶（华南农业大学兽医学院）

范红结（南京农业大学动物医学院）

罗廷荣（广西大学）

周恩民（西北农林科技大学动物医学院）

郝永清（内蒙古农业大学兽医学院）

胡东良（日本北理大学兽医学部）

胡桂学（吉林农业大学动物科技学院）

顾敬敏（吉林大学动物医学学院）

倪宏波（黑龙江八一农垦大学动物科技学院）

高维凡（沈阳农业大学畜牧兽医学院）

郭学军（中国人民解放军军事兽医研究所）

葛俊伟（东北农业大学动物医学院）

韩文瑜（吉林大学动物医学院/江苏省高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心）

景志忠（中国农业科学院兰州兽医研究所）

焦新安（扬州大学/江苏省高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心）

雷连成（吉林大学动物医学学院）

图片制作：王 磊

免疫学是一个古老而又欣欣向荣、蓬勃发展的新兴学科。早在 11 世纪,人痘苗在中国的广泛应用及在邻国的推广验证,是人类认识机体免疫性的开端。自 1901 年贝林(Emil Adolf von Behring)因发现抗毒素获得首届诺贝尔奖到 2011 年诺贝尔生理学或医学奖分别授予了发现树突状细胞的斯坦曼(Ralph M. Steinman)和发现 Toll 样受体的博伊特勒(Bruce A. Beutler)、霍夫曼(Jules A. Hoffmann),一百多年来,免疫学研究领域荣膺的诺贝尔奖已累计 11 次,使近 30 位免疫学家走上了诺贝尔奖的领奖台。1980 年,世界卫生组织宣布“天花已在全世界内被消灭”,这是人类运用免疫学原理和疫苗征服疾病最辉煌的成果。

免疫学是充满无穷活力、魅力和吸引力的学科领域。当前免疫学的研究十分活跃,成果层出不穷。例如,天然免疫的识别、启动、活化及调控机制;T 细胞分化机制及功能调控;B 细胞分化发育与功能;NK 细胞活化及功能调控;固有淋巴细胞(ILC)的分化及功能调控;免疫调节的表观遗传学机制;miRNA 参与免疫应答的调控;感染性疾病、自身免疫性疾病及肿瘤的发病机制和干预策略等方面的研究,代表了当前免疫学的研究水平和发展方向。

动物免疫学是兽医学科的核心学科,旨在认识动物的免疫系统、免疫细胞、免疫分子、形成的免疫应答及其规律。并利用这些知识研究动物病原的免疫特性,研制动物生物制品,用于动物疫病的免疫诊断、免疫预防和免疫治疗。分子生物学的理论和技术用于动物免疫学的理论及实践,为该领域的研究带来了革命性进展,为动物疫病的预防和控制发挥了至关重要的作用。

高级动物免疫学是高等农业院校和相关科研机构相关专业本科生、研究生的必修课程,为满足教学需要,我们组织编写了本书。本书以专题的方式编写,共 35 章,大体分为两部分。第一部分为基础免疫学专题,为 1~19 章,主要内容有免疫器官、免疫分子、免疫应答、免疫调节、免疫的动力学、细胞凋亡与免疫、细胞自噬、小 RNA 与免疫、病原体与免疫系统互作等内容;第二部分为临床动物免疫学专题,为 20~35 章,主要内容有禽类免疫、猪的免疫、反刍动物免疫、鱼类免疫、其他动物的免疫特征、抗肿瘤免疫、红细胞免疫、繁殖免疫、病原性免疫抑制、炎症与免疫、抗细菌免疫、抗病毒免疫、抗寄生虫免疫、新型生物制品与免疫治疗等。

在本书付梓之时,要特别感谢王世若教授,是他首先率领他的弟子和全国兽医免疫学界有关专家出版了《现代动物免疫学》(第一版和第二版),在全国同行中受到普遍好评。本书的编写借鉴了《现代动物免疫学》的编辑思路和风格,借此向王世若教授表示崇高的敬意。同时,也要感谢吉林大学研究生院对本书出版给予的部分资助。另外,冯小丽、安星兰、张志人等博士研究生和江苏省高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心为该书的编写、出版付出了辛勤劳动,在此表示感谢。

本书共邀请了国内外 42 位相关学者参加编写,基本反映了当前动物免疫学的现状和发展趋势。但现在的文献浩如烟海,研究日新月异,加之编者的水平有限和编写出版过程的时滞,感到刚刚出版就已落后。又由于是以专题形式编写,各章之间缺乏紧密的联系,各章作者的编写水平和风格也存在差异。编辑过程中难免存在各种遗漏和不足,敬请读者不吝赐教。

编者
2016 年 5 月

前言	
第一章 免疫器官与免疫细胞 (Immune Organs and Immune Cell)	1
第一节 免疫器官	1
第二节 造血干细胞与淋巴细胞	6
第三节 天然免疫细胞	13
第四节 淋巴细胞的成熟与受体发育	20
参考文献	21
第二章 免疫球蛋白的分子结构与基因结构 (Molecular and Gene Structures of Immunoglobulin)	23
第一节 免疫球蛋白分子的基本结构与功能	23
第二节 免疫球蛋白的多样性及型别	26
第三节 免疫球蛋白分子的编码基因及生物合成	28
第四节 抗体的制备	30
第五节 免疫球蛋白超家族	32
参考文献	36
第三章 白细胞分化抗原 (Leukocyte Differentiation Antigen)	37
第一节 概述	37
第二节 白细胞分化抗原的分类	37
第三节 白细胞分化抗原的基本结构	47
第四节 主要的 CD 分子	48
第五节 白细胞分化抗原的应用	51
参考文献	53
第四章 细胞因子 (Cytokine)	54
第一节 细胞因子和趋化因子的一般特性	55
第二节 细胞因子家族及其相关受体	58
第三节 细胞因子拮抗物	72
第四节 细胞因子与临床	73
参考文献	74
第五章 黏附分子与疾病 (Adhesion Molecules and Diseases)	75
第一节 结构与分类	75
第二节 生物学功能与特征	80
第三节 细胞黏附分子与疾病	84
第四节 可溶型黏附分子	87
第五节 黏附分子的应用	90
参考文献	92
第六章 补体系统 (Complement System)	93
第一节 补体系统概述	93
第二节 补体激活	94
第三节 补体受体	99
第四节 补体的生物学功能	100
第五节 补体与疾病的关系及其在疾病防治中的应用	101
参考文献	102
第七章 主要组织相容性复合体 (Major Histocompatibility Complex)	104
第一节 小鼠 H-2 系统	104
第二节 MHC 分子	106
第三节 HLA 复合物	108
第四节 猪主要组织相容性复合体	109
第五节 其他动物主要组织相容性复合体	112
第六节 MHC 与疾病	114
参考文献	116
第八章 抗原与抗原加工和提呈 (Antigen and Antigen Processing & Presentation)	117
第一节 抗原与模式配体	117
第二节 抗原表位	121
第三节 抗原提呈	122
参考文献	132
第九章 固有免疫应答 (Innate Immunity)	133
第一节 固有免疫系统概述	133
第二节 诱导性固有免疫应答机制	153
第三节 炎症反应	169
第四节 固有免疫应答与适应性免疫应答的相互关系	172
参考文献	174
第十章 T 细胞活化与细胞免疫应答 (T Cell Activation and Cellular Immune Response)	175

第一节 T 细胞对抗原的识别	175	第二节 miRNA 与免疫	271
第二节 T 细胞的活化与信号转导	178	第三节 展望	279
第三节 T 细胞的增殖和分化	184	参考文献	280
第四节 T 细胞介导的效应功能	185	第十七章 适应性免疫动力学 (Dynamics of Adaptive Immunity)	282
参考文献	188	第一节 免疫应答规律	282
第十一章 B 细胞介导的体液免疫应答 (Humoral Immune Response Mediated by B Cell)	189	第二节 T 细胞免疫应答动力学	283
第一节 B 细胞对免疫原的识别	189	第三节 B 细胞免疫应答动力学	287
第二节 B 细胞对 TI 抗原的应答	197	参考文献	289
第三节 B 细胞对 TD 抗原的应答机制	206	第十八章 免疫应答调节 (Immune Regulation)	290
第四节 脾脏 B 细胞的免疫应答	216	第一节 免疫系统内部的调节	290
第五节 不同抗体同种型的生物学作用	217	第二节 免疫系统外部的调节	297
参考文献	219	第三节 免疫-内分泌-神经系统的相互作用和调节	297
第十二章 黏膜免疫 (Mucosal Immunity)	220	第四节 营养对免疫的影响	299
第一节 黏膜免疫系统的组成与结构	220	第五节 免疫干预和疾病防治	300
第二节 IgA 与黏膜免疫	222	参考文献	302
第三节 黏膜免疫系统中其他免疫因素的作用机制	224	第十九章 病原与机体免疫系统的互作 (Interaction of Pathogen and Immune System)	303
第四节 黏膜免疫系统的功能	225	第一节 病原对免疫系统的损害	303
第五节 增强黏膜免疫的方法	225	第二节 免疫系统对病原的清除	305
参考文献	227	第三节 免疫逃避	307
第十三章 自由基与免疫 (Free Radicals and Immunity)	229	第四节 人工免疫干预与疾病防治	310
第一节 概述	229	参考文献	313
第二节 自由基的生理学和病理学作用	230	第二十章 禽类免疫学特点 (Avian Immunological Characteristic)	315
第三节 免疫系统中自由基的产生与清除	232	第一节 免疫系统	315
第四节 自由基的免疫学功能	234	第二节 免疫应答	321
参考文献	239	参考文献	329
第十四章 细胞凋亡与免疫 (Apoptosis and Immunity)	240	第二十一章 猪免疫学特点 (Pig Immunological Characteristics)	330
第一节 细胞凋亡	240	第一节 猪的免疫系统	330
第二节 细胞凋亡与免疫	245	第二节 猪的免疫应答	333
参考文献	255	参考文献	337
第十五章 细胞自噬与免疫 (Autophagy and Immunity)	256	第二十二章 反刍动物免疫学特征 (Peculiarities of Ruminant Immunology)	339
第一节 自噬的生物学性质	256	第一节 反刍动物的免疫系统	339
第二节 免疫信号与自噬	258	第二节 反刍动物的免疫应答	350
第三节 自噬与固有免疫	260	参考文献	357
第四节 自噬与获得性免疫	264	第二十三章 鱼类免疫学 (Fish Immunology)	358
第五节 自噬与炎症	265	第一节 鱼类的免疫防御体系	358
第六节 免疫介质的释放	267	第二节 鱼类免疫系统的特征	359
结语	268	第三节 鱼类的天然免疫	361
参考文献	268	第四节 鱼类的获得性免疫	364
第十六章 miRNA 与免疫 (MicroRNA and Immunity)	269	第五节 鱼类免疫应答的调节	367
第一节 miRNA 概述	269		

第六节 鱼类疫苗与免疫接种	368	参考文献	418
参考文献	369	第二十九章 病原性免疫抑制 (Pathogenic Immune Inhibition)	419
第二十四章 其他动物免疫学特征 (Other Animal Immunological Characteristics)	370	第一节 继发性免疫抑制的原因及特点	419
第一节 马的免疫学特征	370	第二节 禽类病原性免疫抑制	421
第二节 犬的免疫学特征	371	第三节 猪病原性免疫抑制	423
第三节 其他动物免疫学特征	372	第四节 其他动物病原性免疫抑制	427
参考文献	372	参考文献	429
第二十五章 抗肿瘤免疫 (Antitumor Immunology)	374	第三十章 炎症与免疫 (Inflammation and Immunity)	431
第一节 肿瘤的发生原因	374	第一节 炎症的基本特征	431
第二节 肿瘤抗原	377	第二节 参与炎症的细胞与分子	433
第三节 肿瘤的免疫监视和免疫逃逸	378	第三节 炎症的发生机制	441
第四节 肿瘤的转移	381	参考文献	447
第五节 抗肿瘤免疫机制	382	第三十一章 抗细菌免疫 (Antibacterial Immunization)	449
参考文献	384	第一节 抗细菌免疫的特点	449
第二十六章 红细胞免疫 (Red Blood Cell Immunity)	386	第二节 抗重要细菌病感染免疫	453
第一节 参与红细胞免疫的分子	386	参考文献	460
第二节 红细胞的免疫功能	390	第三十二章 抗病毒免疫 (Antiviral Immunity)	461
第三节 红细胞对免疫的调控	392	第一节 抗病毒免疫的特点	461
第四节 红细胞免疫与神经 - 内分泌系统的关系	395	第二节 抗重要病毒病感染免疫	467
第五节 红细胞免疫在疾病诊治与医药研究中的应用	396	参考文献	469
参考文献	397	第三十三章 抗寄生虫免疫 (Anti-parasite Immunity)	471
第二十七章 繁殖免疫 (Immunity of Reproduction)	398	第一节 寄生虫与宿主的相互关系	471
第一节 生殖细胞的免疫学特性	398	第二节 抗重要寄生虫病感染免疫	482
第二节 妊娠期免疫	400	参考文献	485
第三节 免疫性不育	403	第三十四章 免疫载体与佐剂 (Immune Carrier and Adjuvant)	487
第四节 生殖激素与免疫	407	第一节 免疫载体	487
第五节 免疫技术在动物繁殖中的应用	408	第二节 免疫佐剂	491
参考文献	409	参考文献	496
第二十八章 干细胞与免疫 (Stem Cell and Immunity)	410	第三十五章 免疫制品与免疫治疗 (Immune Products and Immunotherapy)	498
第一节 干细胞的概念、分类及特点	410	第一节 免疫制品	498
第二节 干细胞的鉴定和特征分析	411	第二节 免疫治疗	508
第三节 干细胞与免疫	412	参考文献	509
第四节 几种重要的干细胞在免疫学中的应用	412		

第一章 免疫器官与免疫细胞 (Immune Organs and Immune Cell)

动物机体产生免疫应答的物质基础, 主要由免疫器官和免疫细胞组成, 前者有中枢免疫器官和外周免疫器官, 后者包括免疫活性细胞 (T 细胞和 B 细胞) 和免疫辅助细胞等。T 细胞的抗原受体简称

为 TCR, B 细胞的抗原受体简称为 BCR, 它们是识别抗原的物质基础。免疫辅助细胞主要有单核吞噬细胞、树突状细胞, 是主要的抗原提呈细胞。各种粒细胞有相应的功能。

第一节 免疫器官

机体执行免疫功能的组织结构称为免疫器官, 它们是淋巴细胞和其他免疫细胞发生、分化、成熟、定居和增殖及产生免疫应答的场所。根据其功能的不同可分为中枢免疫器官和外周免疫器官。

一、中枢免疫器官

中枢免疫器官 (central immune organ) 又称初级免疫器官 (primary immune organ), 是淋巴细胞等免疫细胞发生、分化和成熟的场所, 包括骨髓、胸腺、法氏囊。它们具有共同的特点: 在胚胎发育的早期出现, 出生之后, 它们中有的 (如胸腺和法氏囊) 在青春期后就逐步退化为淋巴上皮组织; 具有诱导淋巴细胞增殖分化为免疫活性细胞的功能。如果在生长期切除动物的这类器官, 可造成淋巴细胞因不能正常发育、分化而缺乏功能, 出现免疫缺陷, 免疫功能低下, 甚至丧失。

(一) 骨髓

骨髓 (bone marrow) 是动物体最重要的造血器官。出生后所有血细胞均来源于骨髓 (图 1-1)。骨髓中存在的多能干细胞可分化成髓样干细胞和淋巴干细胞, 前者进一步分化成红细胞系、单核细胞系、粒细胞系和巨核细胞系等; 后者则发育成各种淋巴细胞的前体细胞。淋巴干细胞中的一部分在骨髓中分化为 T 细胞的前体细胞, 经血液循环进入胸腺, 被诱导分化为成熟的淋巴细胞, 这类细胞被称为胸腺依赖性淋巴细胞 (T 细胞), 它们是参与细胞免疫的主要成分。还有一部分淋巴干细胞分化为 B 细胞

的前体细胞。在鸟类, 这些前体细胞经血液循环进入法氏囊, 发育为成熟的囊依赖性淋巴细胞 (B 细胞)。B 细胞是参与体液免疫的主要成分。在哺乳动物中, 这些前体细胞则在骨髓内进一步分化发育为成熟的 B 细胞, 因此骨髓也是参与体液免疫的重要部位。抗原再次刺激动物后, 外周免疫器官对该抗原快速免疫应答, 但产生抗体的持续时间短; 而在骨髓内可缓慢、持久地产生抗体, 所以它们是血清抗体的主要来源。骨髓产生抗体的免疫球蛋白主要是 IgG, 其次为 IgA, 由此可见, 骨髓也是再次免疫应答发生的主要场所。大剂量放射线辐射动物, 可因杀伤骨髓干细胞而破坏其骨髓功能, 使机体的造血功能和免疫功能同时丧失, 临床上出现免疫缺陷症, 并因频繁而持久地反复感染导致动物死亡。只有通过骨髓移植, 才能重建造血功能, 并且恢复免疫功能。

(二) 胸腺

胸腺 (thymus) 是胚胎期发生最早的淋巴组织。各种哺乳动物的胸腺结构相似, 人的胸腺位于胸腔前部纵隔内, 呈二叶; 猪、马、牛、犬、鼠等动物的胸腺可伸展至颈部直达甲状腺。鸟类的胸腺沿颈部在颈静脉一侧呈多叶排列。新生动物的胸腺相对体积最大, 而其绝对大小则在育成期最大。之后随着年龄增长, 胸腺的实质萎缩, 淋巴细胞减少, 逐渐被脂肪组织所取代。另外, 动物常处于应激状态时, 可加快胸腺的萎缩。因此, 久病死亡的动物, 胸腺较小。

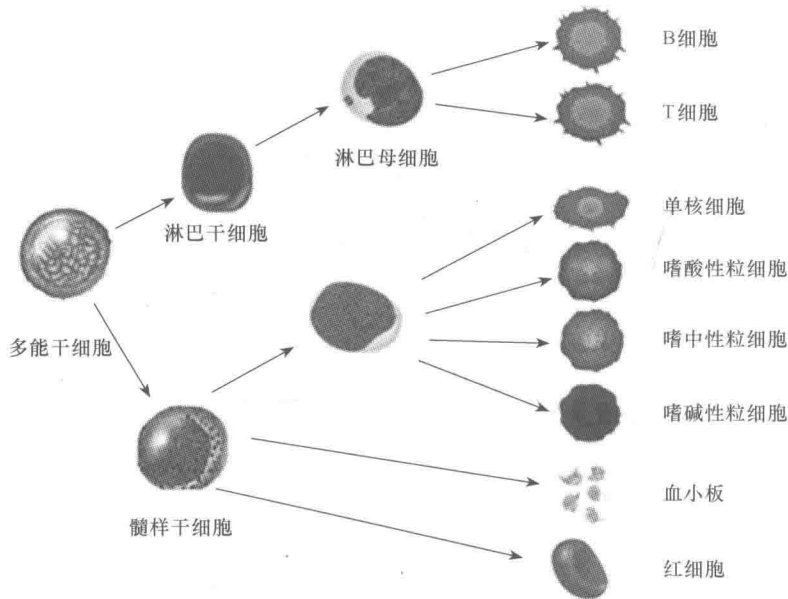


图 1-1 骨髓多能干细胞的分化

胸腺表面裹着由结缔组织构成的被膜，被膜向内伸入形成小梁将胸腺分隔成许多不完全分隔的小叶，形成胸腺的基本结构单位。胸腺小叶的外周是皮质，深部是髓质，皮质不完全包围着髓质(图 1-2)。皮质主要由淋巴细胞和上皮性网状细胞构成，网状细胞间有密集的淋巴细胞。胸腺的淋巴干细胞又称胸腺细胞(thymocyte)，在皮质浅层，细胞较大，其为刚从骨髓迁移来的较原始的淋巴细胞。位于皮质浅层的上皮性网状细胞为胸腺哺育细胞(thymic nurse cell, TNC)。内皮质层中的细胞以小的皮质胸腺细胞为主，也有胸腺上皮细胞和树突状细胞。髓质内有髓质胸腺细胞，它们可进一步发育为成熟的T细胞。在哺乳类的正常胸腺髓质内还可见到一种圆形或椭圆形的环状结构，称为胸腺小体或哈塞尔小体，由髓质上皮细胞、巨噬细胞和细胞碎片组成(图 1-3)。最近研究发现，胸腺小体可产生一些能引导胸腺中树突状细胞诱导T细胞发育的化学信号。在T细胞分化过程中，一些自身反应性T细胞能逃

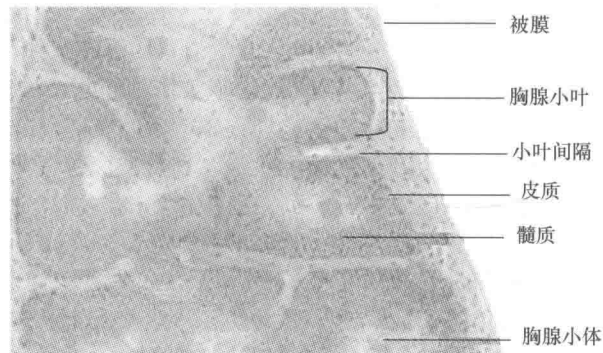


图 1-2 胸腺的组织结构

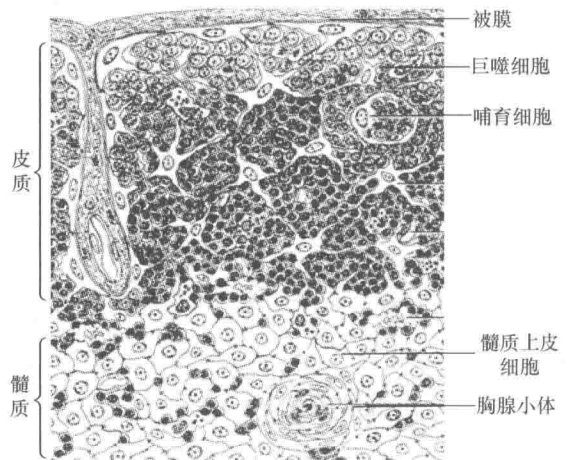


图 1-3 胸腺的结构模式图 (来源: <http://cc.bjmu.edu.cn/G2S/Template/View.aspx?wmz=21971&courseType=1&courseId=26776&topMenuId=71347&menuType=4&curfolid=181552&action=view&type=&name=&linkpageID=258643>)

过胸腺的选择过程并被释放到循环系统中，胸腺小体则产生化学信息，引导某些树突状细胞将自身反应性T细胞变成自身耐受性T细胞。

胸腺是T细胞分化成熟的免疫中枢器官。新生动物胸腺被摘除后，外周血和淋巴器官中的淋巴细胞显著减少，对异物移植物的排斥能力下降。如动物在出生后数周摘除胸腺，则不易发现明显的免疫功能受损，这是因为在生长期前后已有大量成熟的T细胞从胸腺输送到外周免疫器官，建立了细胞免疫功能。胸腺的免疫功能，主要有以下两个方面。

(1) T细胞成熟的场所。骨髓中的前体T细胞经血液循环进入胸腺，首先进入外皮质层，在浅皮

质层的上皮细胞即胸腺哺育细胞诱导下增殖和分化,随后移出浅皮质层,进入深皮质层继续增殖。通过与深皮质层的胸腺基质细胞接触后发生选择性分化过程,只有少于5%的前T细胞可分化成熟为有功能的T细胞亚群,其意义是消除对自体成分起反应的“禁忌细胞克隆”,以防引起自身免疫反应或造成免疫力不足的缺陷。成熟的胸腺细胞,将向髓质迁移,进入髓质的胸腺细胞与髓质部的胸腺上皮细胞和树突细胞等接触后进一步分化成熟,成为具有不同功能的T细胞亚群。最后,成熟的T细胞从髓质经血液循环至全身,这类参与细胞免疫的成熟外周T细胞极少返回胸腺。

(2) 产生胸腺激素。胸腺还有内分泌腺的功能,胸腺上皮细胞可产生多种小分子(分子质量<1kDa)的肽类胸腺激素,如胸腺血清因子(thymulin)、胸腺素(thymosin)、胸腺生成素(thymopoietin)和胸腺体液因子(thymic humoral factor)等,它们对诱导T细胞成熟有重要作用。胸腺素是一种小分子多肽混合物,它使来自动物骨髓的前体T细胞成熟,成为具有某些T细胞特征的细胞。胸腺生成素能诱导前体T细胞的分化,降低其cAMP水平,促进T细胞的成熟。胸腺血清因子是胸腺上皮细胞分泌的肽类,它能部分地恢复胸腺切除动物的T细胞无能。另外,胸腺激素对外周成熟的T细胞也有一定作用,具有调节功能。

(三) 法氏囊

法氏囊(bursa of Fabricius)又称腔上囊(cloacal bursa),为禽类所特有的淋巴器官,位于泄殖腔背侧,并有短管与之相连。法氏囊形似樱桃,鸡为椭圆状囊,鹅、鸭呈圆筒形盲囊;性成熟前达到最大,以后逐渐萎缩退化直到完全消失。法氏囊的内层黏膜形成数条纵褶,突入囊腔内;在黏膜的固有层有大量淋巴小结,排列紧密。淋巴小结可分皮质部和髓质部,两者之间还有一层未分化的上皮细胞。

法氏囊是诱导B细胞分化和成熟的场所。来自骨髓的多能干细胞在法氏囊诱导分化为成熟的B细胞,然后经淋巴和血液循环迁移到外周淋巴器官,参与体液免疫。哺乳动物只有胸腺而没有法氏囊。过去曾认为肠道的派氏集合淋巴结(Peyer氏结)是相当于法氏囊的淋巴组织,肠淋巴滤泡、阑尾和扁桃腺也被认为是法氏囊的类似组织,但它们又不符合中枢淋巴器官的特点。现在普遍认为,哺乳动物并不存在独立的类似法氏囊的器官组织,胚胎时的肝脏、出生后的骨髓均兼有法氏囊功能,是B细胞分化与成熟的场所。

胚胎后期和初孵出壳的雏禽如被切除法氏囊,

则体液免疫应答受到抑制,表现出浆细胞减少或消失,在抗原刺激后不能产生特异性抗体;但是法氏囊对细胞免疫则影响很小,被切除的雏禽仍能排斥皮肤移植。某些病毒感染(如传染性法氏囊病病毒)或者某些化学药物(如注射睾酮等)均可使法氏囊萎缩。如果鸡群感染了传染性法氏囊病病毒,由于法氏囊受到损伤,其免疫功能被破坏,可导致免疫接种的失败(表1-1)。法氏囊除了担负中枢免疫器官任务外,还有外周免疫器官的功能,并且随着法氏囊中淋巴细胞群的成熟及转移,该功能越发重要和明显。

表 1-1 切除新生幼畜(禽)胸腺或法氏囊对免疫细胞的影响

作用	切除胸腺	切除法氏囊
循环淋巴细胞数	↓↓↓	—
胸腺依赖区的淋巴细胞	↓↓↓	—
移植排斥反应	↓↓↓	—
非胸腺依赖区的淋巴细胞和生发中心	↓	↓↓↓
浆细胞	↓	↓↓↓
血清免疫球蛋白	↓	↓↓↓
抗体生成	↓	↓↓↓

注:“↓”表示下降;“—”表示不受影响

二、外周免疫器官

外周免疫器官(peripheral immune organ)又称次级或二级免疫器官(secondary immune organ),是免疫活性细胞栖居、增殖和对抗原刺激产生免疫应答的场所,它们主要是脾脏、淋巴结,以及存在于消化道、呼吸道和泌尿生殖道的淋巴小结等。这类器官或组织富含捕捉和处理抗原的巨噬细胞(macrophage)、树突状细胞(dendritic cell)和朗汉斯细胞(Langerhans cell),这些细胞能迅速捕获和处理抗原,并将处理后的抗原递呈给免疫活性细胞。这些器官与中枢免疫器官的不同之处在于,它们起源于胚胎晚期的中胚层,出现较晚,终身存在。切除部分外周免疫器官对动物免疫功能的影响一般不明显(表1-2)。

表 1-2 中枢免疫器官与外周免疫器官的比较

项目	中枢免疫器官	外周免疫器官
器官名称	骨髓、胸腺、法氏囊	脾脏、淋巴结
起源	内外胚层连接处	中胚层
形成时间	胚胎早期	胎儿晚期
存在时间	青春期后退化	终生
切除后的影响	淋巴细胞缺失、免疫应答缺失	无影响或只有微小影响
对抗原刺激	无反应	有充分反应

(一) 淋巴结

淋巴结 (lymph node) 为网状结构组织, 呈圆形或豆状, 含有大量的淋巴细胞, 遍布于淋巴循环系统的各个部位。淋巴结是哺乳动物和少数水禽特有的外周免疫器官, 不同动物的淋巴结数量相差很大, 人的淋巴结约有 450 个, 牛约有 300 个, 犬约有 60 个。淋巴结外包裹着由结缔组织构成的被膜, 内部则由网状组织构成支架, 其内充满淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞。输入淋巴管 (afferent lymphatic vessel) 通过被膜与被膜下的淋巴窦相通。淋巴内部实质可分为皮质和髓质两部分, 绝大多数动物的淋巴结皮质位于浅层, 髓质位于深层 (图 1-4)。

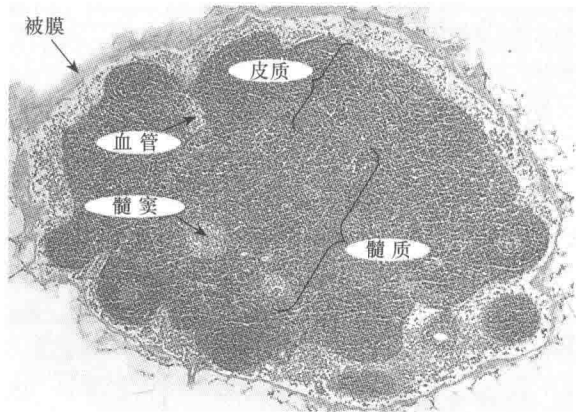


图 1-4 淋巴结的结构模式图 (来源: <http://micro2tele.com/2012/04/30/histoquarterly-lymph-node/>)

皮质由淋巴小结 (lymphatic nodule)、皮质淋巴窦 (cortical lymphatic sinus) 和靠近髓质的副皮质区 (paracortex zone) 组成。淋巴小结主要由 B 细胞聚集而成, 也称淋巴滤泡 (lymphatic follicle) 或初级淋巴小结 (primary lymphatic nodule)。当 B 细胞接触抗原刺激后, B 细胞分裂增殖形成生发中心 (germinal center), 又称二级淋巴小结 (secondary follicle), 这些细胞随后可进入髓质成为产生抗体的浆细胞。在新生动物中没有生发中心。无菌动物淋巴结的生发中心不明显, 切除胸腺一般不影响生发中心。浅皮质区主要由 B 细胞栖居, 故又称非胸腺依赖区 (thymus independent area)。皮质的深层或淋巴滤泡与髓质的交界处有许多弥散的淋巴细胞聚集, 称为副皮质区, 淋巴小结周围和副皮质区是 T 细胞主要集中区, 也称为胸腺依赖区 (thymus dependent area), 在该区也有树突状细胞和巨噬细胞等。副皮质区内的毛细血管相当丰富, 并且其最初汇合所形成的微静脉结构较为特别, 其内皮细胞呈高柱状或立方状, 称为高内皮小静脉 (high endothelial venule, HEV), 这是初始 T 细胞和初始 B 细胞进入淋巴结的门户。

淋巴结的中央部分是髓质 (medulla), 由髓索 (medullary cord) 和髓窦 (medullary sinus) 组成。髓索中含有 B 细胞、浆细胞、肥大细胞和巨噬细胞等。髓窦即髓质淋巴窦, 位于髓索之间, 为淋巴液通道, 与输出淋巴管相通。髓窦内有许多巨噬细胞和树突状细胞, 能吞噬和清除细菌等异物。此外, 淋巴结内免疫应答生成的致敏 T 细胞及特异性抗体可汇集于髓窦中, 随淋巴循环进入血液循环分布到机体全身发挥作用。

猪淋巴结的结构与其他哺乳动物淋巴结的组织学结构不同, 其淋巴小结在淋巴结的中央, 相当于髓质的部分在淋巴结外层。淋巴液由淋巴结门进入淋巴结, 流经中央的皮质和四周的髓质, 最后由输出管流出淋巴结。成年猪淋巴结的皮质和髓质排列很不规则, 淋巴小结常沿淋巴深层的小梁淋巴窦分布。淋巴小结周围主要为松散的未分化的淋巴组织, 其中含有巨噬细胞和浆细胞。猪淋巴结的淋巴循环也与其他哺乳动物不同。

鱼类、两栖类和鸡没有淋巴结, 但淋巴样组织广泛分布于体内, 有的呈弥散性, 如消化道管壁中的淋巴组织; 有的呈淋巴集结, 如盲肠扁桃体; 有的呈小结状等。它们在抗原刺激后都能形成生发中心。鹅、鸭等水禽类, 有两对淋巴结, 即颈胸淋巴结和腰淋巴结。

淋巴结的免疫功能主要包括以下三个方面。

(1) 过滤和清除异物。侵入机体的致病菌、毒素或其他有害异物, 通常随组织淋巴液进入局部淋巴结内, 淋巴窦中的巨噬细胞能有效地吞噬和清除这些细菌等异物, 但对病毒和癌细胞的清除能力较低。

(2) 免疫应答的场所。异物性抗原进入淋巴系统后, 被抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 捕获和处理, 并将抗原递呈给 T 细胞和 B 细胞, 使其活化增殖, 形成致敏 T 细胞和浆细胞。在此过程中, 因淋巴细胞大量增殖而生发中心增大。因此细菌等异物侵入机体后, 局部淋巴结肿大, 与淋巴细胞受抗原刺激后大量增殖有关, 是产生免疫应答的表现。

(3) 淋巴细胞再循环的重要环节。在外周免疫器官的淋巴细胞若未遇到抗原, 可由输出淋巴管经淋巴干、胸导管或右淋巴导管进入血液循环, 然后经血液循环到达外周免疫器官后, 穿越高内皮细胞微静脉 (HEV), 重新分布于全身淋巴器官和组织, 如此周而复始, 这种现象称为淋巴细胞再循环。淋巴细胞再循环增加了与抗原和抗原递呈细胞 (APC) 接触的机会, 有利于识别抗原, 促进细胞间的协作。大部分淋巴细胞均参与再循环, 其中记忆 T 细胞和记忆 B 细胞最为活跃。在淋巴结内活化的 T 细胞通

过再循环分布于感染病灶发挥其效应作用，而淋巴结内分化的浆细胞则经过再循环进入骨髓，并在骨髓内长期生存，产生抗体。

(二) 脾脏

脾脏 (spleen) 是体内最大的外周淋巴器官，是血管通路上的重要过滤器官，其结构特点是淋巴组织围绕着小动脉分布。不同动物的脾脏形态差异很大，禽类脾脏为四面体形，猪、马、牛、羊等动物的脾脏呈长条索状。脾门是血管、输出淋巴管和神经通道。脾脏外部包有被膜，内部的实质分为三部分：一部分称为白髓 (white pulp)，是产生免疫应答的部位；一部分为边缘区 (marginal zone)；另一部分称为红髓 (red pulp)，主要功能是生成红细胞和贮存红细胞，还有捕获抗原的功能。

白髓包括脾小结 (splenic module) 和动脉周围淋巴组织鞘 (periarteriolar lymphoid sheath)，是淋巴细胞聚集地。T 淋巴细胞沿中央小动脉呈鞘状分布，相当于淋巴结的副皮质区，即胸腺依赖区。白髓内还有淋巴小结和生发中心，含大量 B 细胞，为非胸腺依赖区。红髓位于白髓周围，占据大量部位。红髓由脾索和脾窦组成，脾索为彼此吻合的呈网状的淋巴组织索，网眼中含大量 B 细胞、浆细胞、巨噬细胞和树突状细胞等。由脾索围成的脾窦 (图 1-5) 内充满血细胞，脾索中及脾窦壁上的巨噬细胞能吞噬和清除血液中的细菌等有害异物和凋亡的血细胞。中央动脉离开白髓后，其分支通过脾索和脾窦相连，脾窦汇成小静脉，最后形成脾静脉出脾。中央动脉分支从边缘区进入动脉周围淋巴组织鞘，是再循环淋巴细胞入脾之处。边缘区有较多的树突状细胞、巨噬细胞、T 细胞和 B 细胞。禽

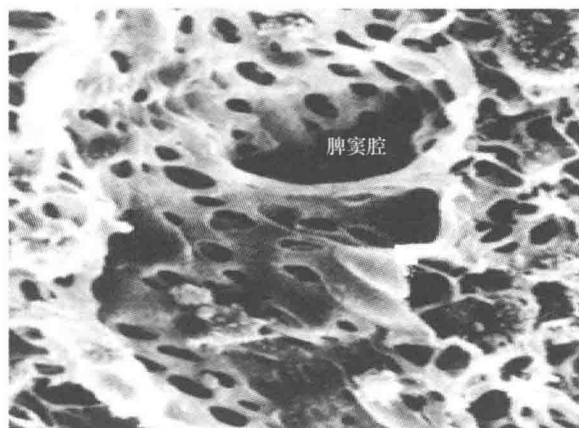


图 1-5 脾脏扫描电镜 (来源: <http://cc.bjmu.edu.cn/G2S/Template/View.aspx?wmz=21973&courseType=1&courseId=26776&topMenuId=71347&menuType=4&curfolid=181554&action=view&type=&name=&linkpageID=258666>)

类的脾较小，白髓与红髓分界不明显，主要参与免疫功能，贮血作用很小。近年来发现，脾内树突状细胞含量丰富，是体内树突状细胞的主要产生器官。

脾脏的免疫功能主要表现在以下几方面。

(1) 滤过血液作用。循环血液通过脾脏时，脾脏中的巨噬细胞可吞噬和清除侵入血液的细菌等异物，以及自身衰老与凋亡的血细胞等物质。

(2) 滞留淋巴细胞的作用。在正常情况下，淋巴细胞经血液循环进入并自由通过脾脏或淋巴结，但是当抗原进入脾脏或淋巴结以后，就会引起淋巴细胞在这些器官中滞留，使抗原敏感细胞集中到抗原集聚的部位附近，增进免疫应答的效应。

(3) 免疫应答的重要场所。脾脏中栖居着大量淋巴细胞和其他免疫细胞，抗原一旦进入脾脏即可诱导 T 细胞和 B 细胞的活化及增殖，产生致敏 T 细胞和浆细胞。边缘区是免疫应答启动的重要部位。细胞免疫应答引起微动脉淋巴鞘明显增大和免疫活性细胞输出的增多。体液免疫应答引起脾小结和脾索中浆细胞的增多，同时在脾脏输出血液中抗体的浓度增加。脾脏还能产生对免疫应答有调节作用的活性物质，如促吞噬素 (tuftsin)。促吞噬素作为一个参与免疫调节的体液因子，能增强巨噬细胞及嗜中性粒细胞的吞噬作用，增强机体细胞免疫功能。此外，脾脏还产生多种其他免疫因子，促进吞噬作用，清除体内外抗原。

(三) 黏膜相关淋巴组织

外周免疫器官除脾脏和淋巴结外，在消化道、呼吸道、泌尿生殖系统、眼结膜及外分泌腺等部位都覆盖着黏膜，由此将机体与外界环境间隔。这些黏膜组织的固有层和上皮细胞下分布有无被膜的淋巴组织及某些带有生发中心的淋巴组织，称为黏膜相关淋巴组织 (mucosa associated lymphoid tissue, MALT)。虽然这些黏膜在形态学方面不具备完整的淋巴结结构，但它们却构成了机体重要的黏膜免疫系统，均含有丰富的 T 细胞和 B 细胞及巨噬细胞等。黏膜下层的淋巴组织中 B 细胞数量比 T 细胞多，而且多是能产生分泌型 IgA (局部抗体) 的 B 细胞，T 细胞则多为具有抗菌作用的 $\gamma\delta$ T 细胞。

1. 肠相关淋巴组织

派氏集合淋巴结位于哺乳动物小肠黏膜下，对哺乳动物及禽的研究表明，派氏集合淋巴结有明显的淋巴上皮，上皮下有淋巴组织，淋巴组织中有许多淋巴滤泡，是肠相关淋巴组织 (gut-associated lymphoid tissue, GALT) 的重要组成部分 (图 1-6)。

覆盖滤泡的上皮细胞是 M 细胞 (microfold cell)。电镜观察 M 细胞有较短的绒毛, 胞质中有大量空泡和极少的溶酶体。淋巴滤泡同脾脏和淋巴结的淋巴滤泡一样, 其中央区为 B 细胞富集区, 其中包含原始生发中心。

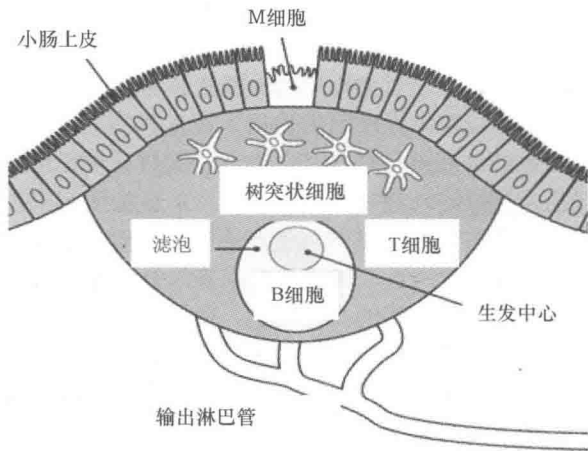


图 1-6 肠相关淋巴组织模式图 (来源: <http://course1.winona.edu/kbates/Immunology/Chapter12009.htm>)

2. 支气管相关淋巴组织

通过对兔、鸡支气管相关淋巴组织 (bronchus-associated lymphoid tissue, BALT) 的研究, 发现 GALT 与 BALT 结构十分相似。BALT 上皮为无纤毛、有不规则微绒毛的扁平上皮细胞, 其表面有深深的

内陷, 顶部胞质有很多空泡, 溶酶体较少; 上皮层内有大量淋巴细胞使上皮增厚。

3. 哈德氏腺

哈德氏腺 (the gland of Harder) 是存在于禽类眼窝内的腺体之一, 又称瞬膜腺。它位于眼窝中腹部, 眼球后中央, 在视神经区呈喙状延伸, 形成不规则的带状。整个腺体由结缔组织分割成许多小叶, 小叶由腺泡、腺管及排泄管组成。腺泡上皮由一层柱状腺上皮排列而成, 上皮基膜下含大量浆细胞和部分淋巴细胞。它除了具有分泌泪液润滑瞬膜, 对眼睛有机械性保护作用外, 还能在抗原刺激下, 产生免疫应答, 分泌特异性抗体。这些抗体通过泪液进入上呼吸道黏膜, 成为口腔、上呼吸道的抗体来源之一, 在上呼吸道免疫中起着非常重要的作用。哈德氏腺不仅在局部形成坚实的屏障, 还激发全身免疫系统, 调节体液免疫。在免疫雏鸡时, 由于它对疫苗能产生应答反应, 不受母源抗体的干扰, 所以对提高免疫效果, 起着非常重要的作用。

4. 其他黏膜相关淋巴组织

除了上述黏膜相关组织外, 在唾液腺、泪腺、胰腺、鼻腔、乳腺、泌尿生殖道等处, 都有黏膜相关淋巴组织。其中, 分布于鼻腔黏膜的称为鼻相关淋巴组织 (nasal-associated lymphoid tissue, NALT), 分布于泌尿生殖道黏膜的称为泌尿生殖道相关淋巴组织 (urogenital-associated lymphoid tissue, UALT)。

第二节 造血干细胞与淋巴细胞

机体内的免疫细胞, 如淋巴细胞、粒细胞、单核细胞、红细胞等都是由骨髓的造血干细胞分化而来的, 因此, 造血干细胞与免疫系统的发生、发展具有密切的关系。

淋巴细胞在免疫应答过程中起核心作用。根据其作用方式及来源不同分为 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和自然杀伤细胞 (NK 细胞)。淋巴细胞在体内分布广、数量多, 除中枢神经系统外, 所有组织均存在。

T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞来源于骨髓的多能干细胞。多能造血干细胞中的淋巴干细胞分化为前体 T 细胞和前体 B 细胞。前体 T 细胞进入胸腺后, 在胸腺素的诱导下发育为成熟的 T 细胞, 称胸腺依赖性淋巴细胞 (thymus dependent lymphocyte), 简称 T 细胞。这些成熟 T 细胞在正常情况下是静止细胞, 一旦被抗原刺激后就被活化, 进一步增殖, 除一部分变为长寿的免疫记忆细胞, 进入淋巴细胞再循环, 其余多数继续分化增殖为具有免疫效应的致敏 T 细

胞, 参与细胞免疫应答。

前体 B 细胞在鸟类的法氏囊或哺乳类动物的骨髓中分化发育为成熟的 B 细胞, 又称骨髓依赖性淋巴细胞 (bone marrow dependent lymphocyte) 或囊依赖性淋巴细胞 (bursa dependent lymphocyte), 简称 B 细胞。B 细胞接受抗原刺激后, 少数 B 细胞成为免疫记忆细胞, 参与淋巴细胞再循环, 多数经过活化、增殖和分化, 最终成为浆细胞, 通过产生特异性抗体, 形成机体的体液免疫。

自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK cell), 简称 NK 细胞, 是一群既不依赖抗体, 也不需 MHC-I 类或 II 类就能杀伤靶细胞的淋巴细胞。

一、造血干细胞

在人和动物周围血液中, 存在形态不同、功能各异的多种血细胞, 它们包括红细胞、白细胞、单核细胞、淋巴细胞及血小板等。这些细胞的寿命各不相同, 如人红细胞生命周期约 120 天, 粒细胞 20~

62h, 血小板为 5~10 天, 单核细胞存在于骨髓者约为 50 天, 存在于外周血者可超过 200 天, 淋巴细胞可存活数月甚至数年, 且可不断死亡与新生, 以维持血细胞的平衡。所以造血是一个动态过程, 即不断地产生髓系、红细胞系和淋巴细胞系细胞。如果这种动态变化发生异常, 可使血细胞数量和质量发生改变, 将会引起多种血液病或免疫性疾病。各种血细胞都起源于造血干细胞, 造血干细胞主要来自骨髓, 由于其具备自我更新和生产所有血细胞系的能力, 因而称之为造血干细胞。在一般情况下, 仅有 5% 的造血干细胞处于细胞周期的 S/G₂/M 期, 另外 20% 处于 G₁ 期, 其余 75% 则停留在 G₀ 期。即使这样, 所有的造血干细胞总是不断地进入细胞周期。

(一) 造血干细胞的起源

造血干细胞是存在于造血组织中的一群原始造血细胞, 它不是组织固定细胞, 可存在于造血组织及血液中。造血干细胞在人胚胎 2 周时可出现于卵黄囊, 第 4 周开始转移至胚肝, 妊娠 5 个月后, 骨髓开始造血, 出生后, 骨髓成为造血干细胞的主要来源, 造血干细胞在造血组织中, 所占比例甚少。例如, 在小鼠骨髓 10⁵ 个有核细胞中有 10 个, 在脾中 10⁵ 个有核细胞中只有 0.2 个。造血干细胞是一种嗜碱性单核细胞, 呈圆形, 其直径约为 8μm, 胞核为圆形或肾形, 胞核较大, 具有 2 个核仁, 染色质分散, 胞质呈浅蓝色不带颗粒, 在形态上与小淋巴细胞极其相似, 但淋巴细胞体积较小, 染色质浓染, 核仁不明显, 且有细胞器。因此很难用形态识别干细胞, 并与其他单核细胞相区别。

(二) 造血干细胞的主要生物学特性

对于动物造血干细胞的生物学特性及功能的分析研究, 长期以来仅限于小鼠干细胞。造血干细胞除具有自我更新和多向分化的特性外, 还具有以下生物学特点: ①绝大多数干细胞处于静止期(G₀期); ②高度表达 CD34 (一种高度糖基化的跨膜蛋白, 是原始造血干细胞的一种重要标志, 成熟血细胞则不表达 CD34) 和 CDw90 抗原; ③缺乏 CD33、CD71 等相关抗原; ④具有人类白细胞抗原 CD45RA 高分子质量形式; ⑤低表达或不表达 HLA-DR; ⑥罗丹明低吸收率。其中 CD34 抗原是造血干细胞分离纯化的主要标志, 其主要存在于幼稚的造血干细胞、部分骨髓基质细胞和少量的内皮细胞表面。

(三) 造血干细胞的分化

造血干细胞可包括三级分化水平, 即多能干细胞(pluripotent stem cell)、定向干细胞(committed

stem cell) 及其成熟的子代细胞。

1. 多能干细胞

多能干细胞是由 Till 和 McCulloch 等在 20 世纪 60 年代初, 应用脾集落形成细胞定量法, 首先在小鼠体内证明的。他们给经射线照射的小鼠输入同系鼠骨髓细胞, 10~14 天后在脾内形成可见的结节, 它是由单一骨髓细胞发育分化而成的细胞集落, 称之为脾集落形成单位(colony forming unit-spleen, CFU-S)。集落数与输入的细胞数成正比, 可分化发育为红细胞、粒细胞及巨核细胞。CFU-S 长期以来用体内集落法进行检测。在 70 年代后, Johnson 和 Metcalf 等应用小鼠胎肝细胞体外培养法, 证明具有 CFU-S 性质的干细胞可在体外培养, 这是在研究干细胞方法学上的重大改进。其后, Haral 等用小鼠骨髓细胞在甲基纤维素中加入红细胞生成素(erythropoietin, EPO) 及脾细胞培养上清, 进行体外培养, 可形成含有红细胞、巨核细胞及巨噬细胞的集落, 称为混合集落形成单位(CFU-Mix)。其后, 小林登等在 80 年代用人骨髓细胞亦报告 CFU-Mix 培养成功。即多能干细胞可进一步分化为定向髓系多能干细胞及淋巴系干细胞。淋巴系干细胞是 T 细胞和 B 细胞的共同祖先细胞, 但目前尚不能用脾集落技术实验证明其存在。

2. 定向干细胞

定向干细胞又称祖细胞(progenitor cell), 是一类具有向特定细胞系分化能力的干细胞。如进行体内移植不能形成脾集落, 但在一定造血因子的存在下, 可在体外培养, 并形成细胞集落, 因此它与多能干细胞不同, 它分化的细胞系有红系干细胞、粒细胞-单核细胞系干细胞及巨核系干细胞, 现简述如下。

(1) 红系干细胞。应用骨髓细胞加甲基纤维素在大量 EPO 存在下, 进行体外培养可产生大型红细胞集落, 可含有 1000 个以上的细胞, 形成如爆发火花样的集落, 称此干细胞为爆式红细胞集落形成单位(burst forming unit-erythroid, BFU-E)。如用小剂量 EPO 则产生小型集落, 由 8~50 个细胞组成, 称此干细胞为红细胞系集落形成细胞(colony forming unit-E, CFU-E)。其中的 BFU-E 是更早期的红系干细胞, 而 CFU-E 则为较晚期的红系干细胞。

(2) 粒细胞-单核细胞系干细胞。该系细胞在功能上与 BFU-E 或 CFU-E 属同级干细胞。应用软琼脂法将骨髓细胞进行体外培养, 在集落刺激因子(CFS) 存在下, 可产生粒细胞和单核细胞集落, 称此集落形成细胞为体外培养集落形成细胞(colony forming unit-culture, CFU-C)。将 CFU-C 进行体内移植不能产生脾集落, 所以 CFU-C 不具有 CFU-S

的特性, 仅具有前驱细胞和前驱单核细胞的特征。

(3) 巨核系干细胞。亦称巨核细胞集落形成单位 (colony forming unit-megakaryocyte, CFU-Meg), 该细胞系对造血干细胞发育分化过程的体外研究有很大局限性, 它不一定能真实反映体内情况, 目前仍有很多关于造血干细胞发育分化的问题有待阐明。

(四) 造血干细胞的表面标志

由于造血组织中造血干细胞在形态学方面无法与其他单核细胞区别, 而且数量极少, 且造血干细胞是不均一的细胞群体, 在细胞大小、比重、形状、行为特征、表面标志、细胞周期、调控机制等方面均存在较大的差异。因此, 各种血细胞群体的复杂性、不均一性及造血干细胞的稀少, 使得其分离纯化难以实现, 这为造血干细胞的分离纯化及功能分析和分化研究造成极大困难。近些年来, 白细胞分化抗原和单克隆抗体技术的进步, 使小鼠和人造血干细胞表面标志的研究, 取得了很大进展, 为造血干细胞的分离纯化及鉴定创造了条件, 使纯化造血干细胞成为现实。现将研究较多的小鼠造血干细胞的表面标志简述如下。

1. 麦胚凝集素

麦胚凝集素 (wheat germ agglutinin, WGA) 是一种识别 *N*-乙酰-D-葡萄糖胺的外源凝集素。Visseer 等发现小鼠骨髓中的造血干细胞对 WGA 有高亲和性, 在体外可与 WGA 结合。利用这一特性, 应用流式细胞术自骨髓中分离造血干细胞等系抗原与 WGA 反应性相结合, 即可自骨髓中 $\text{Lin}^-/\text{WGA}^+$ 细胞群中分离造血干细胞, 可获得良好结果。

2. 胸腺抗原 (Thy-1 抗原)

正常小鼠骨髓造血干细胞, 能表达低密度 Thy-1 抗原, 该标志可用于对造血干细胞的功能分析。

3. 干细胞抗原-1

干细胞抗原-1 (stem cell antigen-1, Sca-1) 是小鼠干细胞抗原, 表达于包括造血干细胞在内的多种细胞。有学者制备一种抗原前 T 细胞杂交瘤的单克隆抗体, 用这种单抗检出了该抗原分子, 称为干细胞抗原-1 (Sca-1)。

4. 原癌基因 (c-kit) 的表达产物——Kit

应用单克隆抗体证明, 此分子几乎存在于所有小鼠造血干细胞膜上。另外, 在人的造血干细胞膜也发现有该标志——Kit, 为 CD117, 它的配体分子是造血干细胞因子 (stem cell factor, SCF), 系信号转导分子, 对造血干细胞的分化具有重要作用。

检测证明, CD34 抗原是人体造血干细胞的表面标志, 应用 CD34 单抗可从人骨髓、胎肝或脐带血中分离、富集造血干细胞。另外, 自人骨髓细胞中应用

流式细胞术可分离纯化 CD34^+ 细胞群, 如与造血因子共同体外培养, 可获得含有各种血细胞的混合集落, 所以认为, CD34^+ 细胞为骨髓中造血干细胞, 由此说明, CD34 抗原也是骨髓造血干细胞的表面标志之一。

(五) 造血干细胞的细胞周期调控和调节

大约 75% 的造血干细胞是处于静止期的静止细胞, 已有的研究发现, 其细胞周期的调控中旁分泌因子和细胞周期调控因子均参与其中, 但对于其细胞周期的复杂调控机制知之尚少。骨髓微环境中多种细胞及细胞因子对造血干细胞的增殖和维持是必需的。

1. 造血干细胞的细胞周期调控

人和小鼠的整个生命期内, 造血干细胞可以自我更新, 并分化成多个血液细胞系。人们对造血干细胞的细胞周期调控机制曾经提出过两种模型假说。一种是克隆演替假说, 这一假说解释了干细胞是如何协调细胞周期事件, 以满足造血需求, 这种模型推想, 动物生命中有大量的造血干细胞补充, 然而仅有极少量的造血干细胞克隆发育为成熟的血细胞, 其余的则停留在静止期, 不参与造血, 直至失去造血干细胞增殖能力。以下实验事实提出的重建模式支持克隆演替模型假说。在射线照射小鼠造血重建的研究中, 采用反转录病毒方法标记造血前体细胞, 通过追踪成熟血细胞的不同整合位点发现了造血干细胞单一克隆对造血重建的作用。结果表明, 仅有一个或少量的长期造血干细胞克隆有助于造血细胞的产生。以后的研究还观察到, 许多克隆参与造血, 移植后很长一段时间伴有克隆变动, 最终仅有少数克隆确定重建。也有人指出, 重建模式测定法不可能支持克隆演替假说, 原因在于它们不代表稳态造血, 而且正因为通常情况下仅有有限数量的造血干细胞进行移植。因此, 在重建动物, 仅有少量移植克隆参与造血就不足为奇, 为了避免重建的影响, Harrison 等制备了胚胎嵌合小鼠, 这种小鼠的造血干细胞来自两种不同基因型的胚胎干细胞, 由于两种不同基因型的细胞参与造血的能力不存在差异, 因此他们认为在鼠体内, 许多干细胞同时参与了造血。就目前的研究结果来看, 仍不能排除动物生命中的某一阶段仅有某些造血干细胞亚群活跃地参与了造血的可能。为了证实这一可能性, 人们直接研究了造血干细胞的增殖过程。通过注射亚毒性剂量的溴尿苷 (BrdU) 来标志分裂期的细胞核, 以分析体内原始造血前体细胞 BrdU 的掺入率。有人分析了造血干细胞及其他髓红细胞系, 并测定了 14 天脾克隆生成能力的前体细胞, 75% 细胞在 32 天的正常造血期内有 BrdU 的掺入。还有另外的实验结果均证实, 大多数的造血干细胞不断地分裂。但也有的发现不支