



分子免疫学 原理与技术

李充璧 主编

*Principle And Technology
Of Molecular
Immunological Methods*



科学技术文献出版社
SCIENTIFIC AND TECHNICAL DOCUMENTATION PRESS

分子免疫学 原理与技术

李充璧 主编



科学技术文献出版社
SCIENTIFIC AND TECHNICAL DOCUMENTATION PRESS

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

分子免疫学原理与技术 / 李充璧主编. —北京: 科学技术文献出版社, 2016.6
ISBN 978-7-5189-1632-0

I. ①分… II. ①李… III. ①分子免疫—医学—免疫学 IV. ①R392.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 141990 号

分子免疫学原理与技术

策划编辑: 李晓玢 责任编辑: 杜新杰 李晓玢 责任校对: 赵 瑗 责任出版: 张志平

出版者 科学技术文献出版社
地 址 北京市复兴路15号 邮编 100038
编 务 部 (010) 58882938, 58882087 (传真)
发 行 部 (010) 58882868, 58882874 (传真)
邮 购 部 (010) 58882873
官方网址 www.stdp.com.cn
发 行 者 科学技术文献出版社发行 全国各地新华书店经销
印 刷 者 北京华正印刷有限公司
版 次 2016年6月第1版 2016年6月第1次印刷
开 本 787×1092 1/16
字 数 445千
印 张 22.75
书 号 ISBN 978-7-5189-1632-0
定 价 48.00元



版权所有 违法必究

购买本社图书, 凡字迹不清、缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责调换

序言

免疫学作为现代生命科学的前沿学科之一，伴随着分子生物学技术的迅猛发展以及基因重组技术的广泛应用，分子免疫学技术也在飞速发展，并逐步渗透到生命科学研究的每一个领域。分子免疫学技术利用其特有的高特异性的优势，结合微量化与高灵敏性检测的特点，从而带动了多学科研究的进步。现今人们几乎可以用分子免疫学方法检测所有的蛋白质。由于分子免疫学技术的快速发展，人们很难在短时间内灵活掌握和应用这些技术，因此研究者急需一本既简单明了又具有指导性的参考书。一本好的免疫学原理与技术书既不能单纯介绍理论知识，也不能仅仅介绍实验操作程序，而应该具有举一反三的实用性及指导性。不仅能让读者知道采用哪些原理和方法解决哪些具体问题，更重要的是知道在免疫学技术中出现了问题如何去解决。为了更好地将分子免疫学技术介绍给每位研究者，本书作为一部研究分子《免疫学原理与技术》教材及参考工具书，试图在前人编写经验的基础上有所突破，使其更具科学性和实用性。因此本书编写宗旨立足于既注重本科生和研究生分子免疫学基本技能培训的需要，又兼顾广大科研工作者研究的需要，力求简明、实用、新颖并富有科学性。本书编者均为工作在科研第一线的、具有多年相关研究经验的免疫学工作者，在实验方法写作时从研究实际出发，提出研究中常见的问题和研究手段。本书以分子免疫学理论与技术为主线，以教学和科研实践为基础，着力于分子免疫学基本技术的同时，融入了近年来出现的新技术、新方法。

全书共分为 10 章，第 1 章重点叙述免疫学方法的应用，第 2 章至第 6 章分别讲述各类细胞因子的分子结构、机制及其免疫学技术，第 7 章至 9 章叙述了细胞免疫和抗体分子免疫的原理与检测技术。本书在讲述实验原理和实验技术的同时，分别列举了各类典型实验，并重点阐述了每种实验技术的具体操作问题及解决方法。本书集理论教学的实用性和科学研究的前瞻性于一体，既适合分子免疫学研究生、本科生教学，也可作为参考书籍供从事免疫学研究的相关人员使用。

由于本书为我国第一分子免疫学原理与技术的专著，编者在书写、语言和见解上都存在一定的差异，问题之处在所难免，希望广大读者在使用实践中，提出宝贵意见，并对不足之处给予批评指正。

李充璧

2015 年 11 月 25 日

目 录

第 1 章 免疫细胞学	01
第一节 淋巴细胞识别抗原	02
第二节 免疫识别的分子基础	04
第 2 章 免疫球蛋白与抗体	11
第一节 免疫球蛋白与抗体的概念	11
第二节 免疫球蛋白的分子结构	12
第三节 免疫球蛋白的种类与抗原决定簇	18
第四节 各类免疫球蛋白的主要特性与免疫学功能	22
第五节 免疫球蛋白超家族	26
第六节 抗体产生的克隆选择学说	27
第七节 抗体的分类	29
第八节 抗体的人工制备	30
第九节 催化抗体	73
第 3 章 白细胞分化抗原	76
第一节 人白细胞分化抗原的概念	76
第二节 白细胞分化抗原的分类	77
第三节 免疫细胞表面功能分子	80
第四节 T 淋巴细胞亚群	96
第 4 章 主要组织相容性复合体 (MHC)	105
第一节 主要组织相容性复合体概念	105
第二节 免疫识别的分子基础	123
第三节 流式细胞术 FCM 对外周白细胞的免疫荧光分析	132
第 5 章 细胞因子 - 白细胞介素	149
第一节 细胞因子的发现	149

第二节	白细胞介素 1 (IL-1)	153
第三节	白细胞介素 2	172
第四节	白细胞介素 3 及其受体	194
第五节	IL-3 的基因结构及表达调控	202
第六节	IL-3 受体及 IL-3 调节细胞增生分化的机制	205
第七节	IL-3 的诱生与检测	209
第八节	其他白细胞介素	214
第 6 章	常见重要的其他细胞因子	225
第一节	干扰素 (INF)	225
第二节	转移因子	236
第三节	转化生长因子 (TGF)	240
第四节	造血生长因子和 TNF	244
第 7 章	免疫化学技术	270
第一节	抗原纯化及制备的基本方法	270
第二节	小分子肽抗原与载体蛋白交联	275
第三节	脂质体的制备	277
第四节	脂质体与多肽的偶联	278
第 8 章	补体系统	285
第一节	补体分子的组分和命名	285
第二节	补体的理化性质	286
第 9 章	免疫学检查	289
第一节	血清学检查	289
第二节	免疫功能检查	293
第 10 章	免疫学检测法	298
	参考文献	312
	附录 1 常用免疫学名词解释	318
	附录 2 免疫常用试剂配置	342

第 1 章 免疫细胞学

免疫系统 (*Immune System*) 是人体内重要的防御性系统, 由免疫细胞、淋巴组织、淋巴器官及单核吞噬细胞系统所组成。其主要成分是免疫细胞中的淋巴细胞, 淋巴细胞经血液和淋巴循环在全身范围内引起免疫作用。

当机体受抗原刺激时, 由淋巴细胞识别抗原 (*Antigen*), 引起淋巴细胞发生一系列反应过程, 对抗原进行杀伤或产生抗体 (*Antibody*) 而出现特异性效应, 称为免疫应答 (*Immune Response*)。

免疫细胞 (*Immune Cell*) 主要是指能识别抗原, 产生特异性免疫应答的淋巴细胞等。淋巴细胞主要包括 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞, T 淋巴细胞根据功能和表面标志的不同又分成 T 辅助细胞 (*TH*) 或 CD4 细胞, 以及 T 杀伤细胞 (*Tc, CTL*) 或 CD8 细胞 (图 1-1)。



图 1-1 淋巴细胞

分类：

1. **B 淋巴细胞** 产生抗体以中和抗原 (如细菌、病毒等)。
2. **CD4 细胞** T 辅助细胞, 能分泌细胞因子以帮助或指挥 B 细胞及杀伤性 T 细胞。
3. **CD8 细胞** T 杀伤细胞 (又称细胞毒性 T 细胞, CTL), 能分泌干扰素等细胞因子以杀伤病毒感染细胞。

简单而形象地讲, 免疫系统就像一个国家的军队, 是抵御外来侵略的防卫系统。对一个机体来讲, 外来侵略指的是细菌、病毒等微生物。免疫系统由许多细胞组成,



其中最主要的,也是最重要的是淋巴细胞,淋巴细胞又有3种:CD4细胞,CD8细胞,B淋巴细胞。其中:

(1) CD8淋巴细胞是“步兵”(特种兵),这些细胞直接或间接地参与杀伤侵略者—细菌及病毒。

(2) B淋巴细胞是“空军轰炸机”,B细胞的分泌物—抗体,则是轰炸机释放的炮弹。

(3) CD4细胞是“司令部”,指挥并协调空军与步兵作战。

第一节 淋巴细胞识别抗原

淋巴细胞通过表面抗原受体 TCR 和 BCR 进行识别。BCR 主要为 IgM,其分泌形式为相应的 IgM。由于类别转换的发生还会产生抗原特异的 IgG、IgA 和 IgE。适应性免疫主要通过淋巴细胞识别蛋白质抗原。T 细胞、B 细胞对抗原的识别采取不同的方式。B 细胞通过 BCR 直接识别完整的抗原分子,该分子可以处于游离状态,也可以表达在细胞表面。而 T 细胞只能凭借 (R 识别 A1) C 表面由 MHC 分子提交的蛋白质抗原片段,称为肽-MHC 复合物,简称 pMHC。再者,T 细胞、B 细胞通常识别同一抗原分子上的不同表位,分别称为该抗原的 T 表位和 B 表位(表 1-1)。

表 1-1 T 细胞、B 细胞对抗原识别特性的比较

区别	B 细胞	T 细胞
和抗原相互作用的结构	抗原-BCR 双分子复合物	抗原肽-MHC-TCR 三分子复合物
可否直接结合可溶性抗原	可	否
对 MHC 分子的依赖性	不依赖	依赖
抗原的化学特性	蛋白质、多糖、脂类	主要是蛋白质
表位特性	识别同一抗原的 B 表位	识别同一抗原的 T 表位

抗体 (Antibody, Ab) 是 B 淋巴细胞识别抗原后增生分化为浆细胞所产生的一种蛋白质,主要存在于血清等体液中,能与相应抗原特异性的结合,具有免疫功能。1968 年和 1972 年的两次国际会议上,将具有抗体活性或化学结构与抗体相似的球蛋白统一命名为免疫球蛋白 (Immunoglobulin, Ig)。抗体是免疫学和功能的概念,具有明显的针对性;免疫球蛋白是结构和化学的概念,一切抗体都是免疫球蛋白。免疫

球蛋白单体分子由两条重链和两条轻链组成，了解单体分子结构模式与功能极为重要。

了解 T 淋巴细胞整个杀伤过程的机制，将有可能提高免疫系统杀灭肿瘤的效率，增加抗肿瘤免疫治疗在临床应用的前景。Curie 研究 INSERM 和 CNRS 的研究员利用双光子显微镜技术，第一次在体内实时地向世人展示了 T 淋巴细胞如何浸入实体瘤组织并与之相互作用。这些防卫者可以很巧妙地在“敌区”四周巡逻，一旦发现它们可识别的肿瘤细胞，它们就会停下来进行清除，完毕又继续它们的巡逻。T 淋巴细胞迁移（巡逻）速度加快，有可能是靶细胞的缺乏，也可能是免疫系统的功能缺陷。实验成果发表在 *Experimental Medicine* 杂志上。T 淋巴细胞是如何清除肿瘤的？Curie 研究所的研究员最近目睹了这一过程。Curie 研究所 CNRS 及物理化学系的一位 INSERM 科学家、双光子显微镜技术专家 Luc Fetler 和 Curie 研究所免疫与肿瘤系著名的免疫学家 Alexandre Boissonnas 通过密切的合作得到了这一过程所有的图像，最终编辑成 12 个视频系列。

我们机体抵御感染和肿瘤靠的是一系列的保护因子，其中有些因子的作用是非特异性，而有些则是高度特异性的。细胞毒性 T 淋巴细胞属于后者，其表面携带的膜受体可与病理细胞上的抗原形成互补，进而识别、清除，从而完成保护机体的使命。抗原可经过递呈而激活 T 淋巴细胞，激活的 T 淋巴细胞可特异地识别感染因子及肿瘤细胞，结合并给予致死剂量的酶。

T 淋巴细胞什么时候浸入肿瘤中？在 Alexandre Boissonnas 和 Luc Fetler 的实验以前，对于激活的 T 淋巴细胞在到达实体肿瘤时会出现什么样的情况？从来没有人会在细胞水平进行观察过。

对肿瘤抗原的识别决定了 T 淋巴细胞的行为。为了证实这个结论，研究者进行了动物实验，观察了 T 淋巴细胞的在两组肿瘤里的迁移轨道，一组是经过修饰为特异性抗原 - 卵白蛋白 (OVA) 阳性肿瘤，另一组则作对照为 OVA 抗原阴性肿瘤。在给动物注入有或无 OVA 抗原的肿瘤细胞 8~10d 后，肿瘤细胞数可达 $500\sim 1000/\text{mm}^3$ ，这时研究者给小鼠注入大剂量的 OVA 抗原特异性的 T 细胞。输入这些 T 细胞后出现什么样的情况？实验结果与预期设想相符，在注入 T 细胞 1 周后只有 OVA 抗原阳性的肿瘤消失了。在这期间，利用双光子显微镜就可在实体瘤表面 $150\ \mu\text{m}$ 内进行原位摄片，每一个片子都可显示出不同细胞群、血管及胶原纤维，如果把这些图像按顺序起来，就可以把一个 T 淋巴细胞的迁移轨道显示出来了。通过这种方法，研究者就可以在不同的两个肿瘤形成阶段显示两种主要细胞间（T 淋巴细胞和肿瘤细胞）的相互作用。在 OVA 抗原阴性肿瘤形成的整个过程中，T 细胞的“巡逻”始终保持着较高的速度（约 $10\ \mu\text{m}/\text{min}$ ）。但在 OVA 抗原阳性肿瘤内 T 细胞的行为就发生了改变，在输入 T 淋巴细胞 3~4d 后，肿瘤开始停止生长，此时可观察到 T 细胞的“巡逻”变慢



(约 $4\mu\text{m}/\text{min}$) 并且经常停顿下来, 这时它们迁移的平均速度基本维持在 $4\mu\text{m}/\text{min}$ 这一水平。稍后, 在肿瘤开始缩小时, 大多数的 T 淋巴细胞迁移速度又会恢复为原来的水平。因此, 总的来说, T 淋巴细胞的迁移轨道在富含活的肿瘤细胞的区域内会显示得很窄, 而在富含死的肿瘤细胞的区域内则会变得宽大且弥漫。Curie 研究所的科学家总结说, 正是特异性抗原逮住了可以识别、杀灭自己的 T 淋巴细胞。

科学家进一步比较了整个过程中 T 淋巴细胞在两种肿瘤内的分布, 结果表明, 在肿瘤的四周总会有 T 细胞的出现, 但特异性抗原的存在是使 T 细胞深入渗透的原因, 这样才能有效地清除肿瘤。实验结果已用由两系癌细胞产生的两类实验性肿瘤证实。

更清楚地了解免疫系统作用机制是进一步优化免疫疗法的关键, 而免疫疗法是未来肿瘤治疗中最有前景的治疗方法之一。

在未来几年, 这个领域内(肿瘤的免疫治疗), Curie 研究所将会继续积极地参与相关策略的创新发展, 目前该研究所已开始了两项临床试验: 脉络膜黑素瘤及子宫颈癌的免疫治疗。

第二节 免疫识别的分子基础

免疫系统对自我与非我的识别机制是免疫学的核心问题。动物的免疫系统对异物的识别有一个漫长的进化过程, 从变形虫简单的非特异性吞噬作用发展到特异性识别; 识别的结构亦从简单的胞饮或吞噬发展到复杂的识别抗原受体。

一、双重识别的遗传限制

过去关于效应杀伤性 T 淋巴细胞对靶细胞的杀伤作用认识比较简单, 认为只要病原体侵入机体内都可以被淋巴细胞杀伤。1974 年有一个很有意义的实验: 以小鼠淋巴细胞性脉络丛脑膜炎(LCM)病毒感染小鼠, 取脾脏淋巴细胞为效应细胞, 以同种病毒感染小鼠的 L 细胞作为靶细胞, 再以标记靶细胞做细胞毒实验, 释放率作为细胞毒效应指标。

从实验结果可以看出效应杀伤 T 淋巴细胞只能杀死被同种病毒感染且 H-2 单倍型与效应淋巴细胞相同的靶细胞, 而不能杀死虽被同种病毒感染, 但 H-2 遗传结构不相同的靶细胞, 这就是免疫识别中的所谓遗传限制亦称为遗传约束。显然, T 淋巴细胞的细胞毒作用受取于两个条件: ①效应细胞要识别非己抗原。如病毒感染细胞后在细胞表面呈现的病毒相关抗原。②效应细胞还要识别自身抗原, 即要识别靶细胞膜上与自身相同的 H-2 抗原。这就是所谓双重识别。双重识别是 T 细胞识别的基本特征。

这是 20 世纪 70 年代免疫识别的重要发现。

二、T 细胞受体及其相关结构

淋巴细胞对靶细胞的识别既要识别 MHC 分子又要识别外来抗原，那么，T 淋巴细胞膜上存在一种什么样的识别抗原的受体？曾经有过多种识别模型的假设，经过实验论证普遍接受这样一种模型，即作为一个整体结构识别 MHC 与复合物。MHC 与复合物之间亦有一个互补结构，即 MHC 与复合物间亦有一个识别关系（图 1-2）。

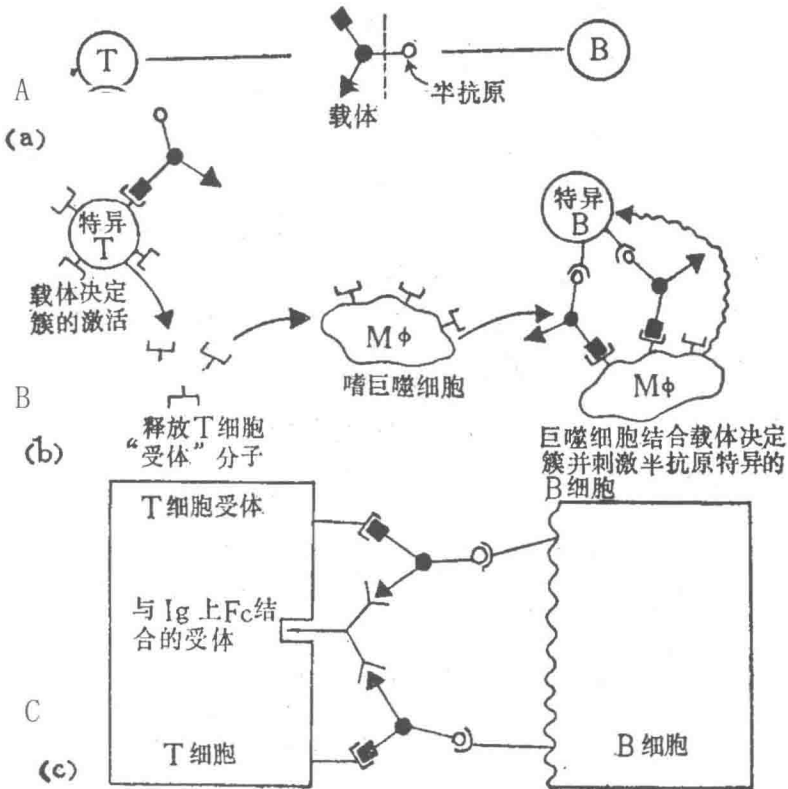


图 1-2 T 细胞与其受体的关系

抗原呈递细胞向 T 细胞呈递的抗原是经过消化、加工、重新表达的抗原，它具有刺激细胞的抗原决定簇，这一决定簇称为表位，与表位互补的结构称为对位。MHC 与它的关系存在遗传限制，反映在结构上即存在匙锁关系。MHC 作用的部位称组织位，与之互补的结构称为限制位。与 MHC 以抗原识别位和决定簇选择位互补。

下面介绍一个实验，说明抗原呈递细胞（APC）和 MHC 分子之间存在某种相互作用的关系。该实验选择了一个 T 细胞克隆，无论对家鸽的细胞色素 C 还是对飞蛾的细胞色素 C 的刺激都有良好的应答能力。但用不同基因型小鼠的抗原呈递细胞（APC）



呈递家鸽或飞蛾的细胞色素 C 给同一 T 细胞克隆的话,可得到完全相反的结果。例如, B10S (9R) 小鼠 APC 呈递相同的抗原, 刺激同一 T 细胞克隆, 却得到强的增生反应。

实验结果表明, 同一种抗原, 但 APC 的 MHC 不同, 对 T 细胞就有不同的刺激。说明 APC 和 MHC 之间存在相互作用, 作用的结果对同一种抗原具有不同的刺激强度。提示 APC 和 MHC 分子之间存在抗原识别位和决定簇选择位。这两者的作用结果对产生不同的刺激强度。

近年斯坦福大学和哈佛大学的学者对抗原和 MHC 的关系作了分子构象的研究, MHC 中央裂口有一轮状结构, 为与 MHC 结合的外来抗原。它的肽链结构及其基因的核苷酸序列于 20 世纪 80 年代中期相继研究清楚。是由两条肽链组成, 以双硫键联结成异质性二聚体。人的重链分子量为 4.4kDa, 轻链为 3.7kDa, 皆为糖蛋白。在结构上与免疫球蛋白的轻链非常相似。同样由可变区 (V) 和恒定区 (C) 组成 (图 1-3)。

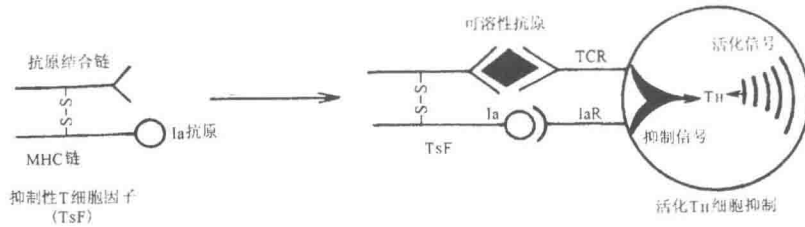


图 1-3 MHC 与抗原结合

TCR 的结构和功能 T 细胞抗原受体 (*T cell antigen receptor, TCR*) 为所有 T 细胞表面的特征性标志, 以非共价键与 CD3 分子结合, 形成 TCR-CD3 复合物。TCR 的作用是识别抗原。与 B 细胞抗原受体不同, TCR 不能直接识别蛋白质抗原表面的表位, 只能特异性识别抗原提呈细胞或靶细胞表面的抗原肽-MHC 分子复合物。而且, TCR 识别抗原肽-MHC 分子复合物时, 具有双重特异性, 即识别抗原肽的表位, 也识别自身 MHC 分子的多态性部位。TCR 识别自身 MHC 分子的多态性部位也是 T 细胞识别抗原具有自身 MHC 限制性的原因。

TCR 的基因结构与 I 的基因结构亦非常相似, 由为数众多的 V 节段、若干个 D 和 J 节段经过基因重排形成一个完整的 V 基因。在 RNA 水平上再实现 V 与 C 基因重排, 编码一个完整的 TR 肽链。TCR 还有若干个附属结构如 CD3、CD2、CD4 或 CD8 等, 共同完成识别与往外传递及细胞激活等功能。CD3 与 TCR 结合形成复合物, CD3 有多个亚基。CD3 与 TCR 通过非共价和盐桥方式彼此盘绕在一起。CD3 尽管被视为激活 T 细胞的旁路, 但种种实验证据认为, CD2 与 TCR-CD3 复合物在结构与功能上有密切关系。TCR 接受 MHC 信息还不足以激活 T 细胞, 还必须要有其他条件的配合。

酪氨酸磷酸化作用在信息传递上是一个关键的因素。蛋白酪氨酸激酶的一家系 ZAP-70 与 CD3 的链结合,使其磷酸化,进而使下游的一个靶标磷脂酶被激活,导致产生第二信使即升高胞内和蛋白激酶 C (PKC) 的活性,从而启动下游的梯级反应,激活致裂原激活蛋白激酶 JNK, JNK 蛋白激酶使转录因子 C-J 磷酸化,从而激活另一转录因子 AP-1,最终激活基因(如 IL-2 基因)。

激活 T 细胞的另一个因素是非特异性共刺激信号。APC 膜上的 B7 蛋白与 T 细胞膜上的 CD28 蛋白作为激活 T 细胞的最重要的共刺激信号,CD28 介导信号包括了磷酸肌醇-3-激酶 (PI-3 激酶),也许还包括了蛋白酪氨酸激酶 (PTK) 对 CD28 肽链的磷酸化,激活 JNK (最终导致和增强基因的启动)。没有 B7-CD28 相互作用只有 MHC-A 与 TR-CD3 相互作用, T 细胞不能获得充分的刺激信号,基因不会被激活(如 IL-2 产生)。CD28 缺陷的小鼠 T 细胞依赖的抗体应答基本消失就是一个证据,说明 CD28 与 B7 相互作用的重要性。

机体内细胞间的相互作用充满了对立统一的现象。CD-28 相互作用增强了刺激信号。APC 细胞膜上的其他 B7 肽链与 T 细胞膜上的 CTLA-4 肽链相互作用却减弱,干扰 CD28-B7 的刺激信号,以平衡 T 细胞的免疫应答水平。CTLA-4 与 CD28 是高度同源,两者基因是连锁的。CTLA-4 与 B7 的亲合力远高于 CD28 与 B7 的亲合力,但 CD28 与 CTLA-4 两者起着相反的作用。

B 细胞受体及其附属结构仍有许多问题未能确定。近年来对其主要结构做了较多的研究,BCR 胞膜外部分与免疫球蛋白的结构是一致的,深入胞质部分较免疫球蛋白要长些,和 BCR 结合在一起的有两对异质性二聚体 I 为基因编码。在 BCR 胞质部分有两个酪氨酸残基,这些酪氨酸残基是蛋白酪氨酸激酶家族或磷酸化的底物,这对激活和传递信息起重要的作用。对 TCR 和 BCR 结构的认识及其与 MHC 的关系,是 20 世纪 80 年代分子免疫学研究的重要成果。

三、识别的专一性

Tr 的基本定义:一类能把在体内的无应答性从一个动物转移给另一个动物,或是在体外从一个动物培养给另一个动物的 T 细胞。Tr 对抗原的识别近年来有重要进展。首先,识别不是对整个原始抗原的识别而只是识别经 APC 处理过的该抗原的一个短肽。而短肽中某些氨基酸又是非常关键的。例如,以家鸽细胞色素 C 部分 C 端氨基酸组成的短肽刺激某一 T 淋巴细胞。短肽不能少于 7 个氨基酸,而 99 位的赖氨酸 (K) 是关键的氨基酸。在 N 端添加 2 个氨基酸,对 T 细胞的刺激强度显著增大。第 95 位异亮氨酸 (I) 如果以别的氨基酸取代会产生不同的效力。这些关键性氨基酸使肽链与 MHC 和 TR 结合形成最佳构型是重要的。



基因型小鼠的 T 细胞抗原受体 (TR) 对同一抗原其识别位置是不同的。以卵清蛋白溶菌酶 (HEL) 为例, H 小鼠的 T 细胞对 HEL 的识别位点在 74~96 位氨基酸区域, 而 H 小鼠的细胞主要识别位点在第 113 位和第 114 位氨基酸。同样, 同一基因型小鼠的 T 细胞和 T 细胞识别同一抗原的不同位置, 被 TR 识别的短肽中个别氨基酸序列在激活 T 细胞起关键作用。

四、TR-MHC 的关系

细胞免疫 (*Cell-Mediated Response*) 是由一类 T 细胞, 被称为细胞毒性 T 细胞所执行的。T 细胞基本的作用是识别抗原, 如图 1-4 所示。细胞免疫通常是由细胞内的寄生物所诱发的, 如病毒的感染。病毒感染后, 外来抗原就暴露在细胞的表面。这些抗原被 T 细胞受体 (*T-cell Receptor, TCR*) 识别, 淋巴因子是由 T 细胞产生的, 相当于 B 细胞产生的抗体。

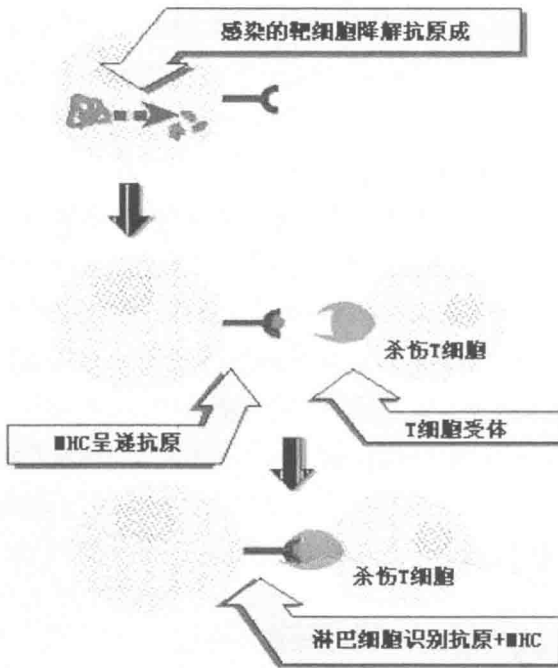


图 1-4 淋巴细胞识别抗原模式

这种识别最重要的特征是, 抗原必须被一种称为主要组织相容性复合物 (*Major Histocompatibility Complex, MHC*) 的蛋白质所标定。主要组织相容性复合物在它的表面上有一个能够结合来自外源抗原的多肽片段。MHC 和多肽片段的复合物被 T 细胞受体所识别。每个个体都有自己的 MHC 蛋白质。它们在器官移植中非常重要,

通常器官移植产生排斥是因为在个体之间的 MHC 蛋白质不同，这在医学上非常重要。T 淋巴细胞能识别外来抗原和 MHC 以保证细胞免疫功能作用在那些被外来抗原感染的宿主细胞（在后面章节中我们将 MHC 分为两大类）。

最新研究表明，在免疫识别的 3 个关键性分子（TR、MHC 和 A），它们的关系不是凝固的、一成不变的吻合，三者最终的拓扑学更多地依赖于外源性抗原短肽的结构。在 TR 识别 MHC 复合体的关系上有所谓肽中心之说。TR 与外源肽接触的部位是 TR 的 V 或 VC 区，该区是高可变区域，相当于免疫球蛋白的 CDR3 区，该区与外源肽相互作用决定最终构型。耶鲁大学教授甚至认为 MHC-I 分子有折叠作用，如同蚌壳里围绕一粒沙子逐渐形成一颗珍珠一样，然后再关到膜外与 T 细胞作用。这种观点与传统的选择学说是区别的。TR 与 MHC 之间亦没有固定结构模式，MHC 的螺旋区一个氨基酸改变可以减弱以致破坏对 TR 的结合或显著增强对 TR 的刺激。这里似乎有一个低亲和力和高亲和力的问题。TR 与抗原肽的相互作用可以显著地影响 TR 与 MHC 的相互作用。TR-MHC-抗原肽三者的相互作用是相对变动的。在细胞免疫中，杀伤 T 细胞利用 T 细胞受体识别被主要组织相容性抗原（MHC）呈递在靶细胞表面的蛋白。

五、淋巴细胞激活

识别的最终结果是淋巴细胞被激活，分泌各种细胞因子（浆细胞分泌抗原），细胞分裂增生。TR、MHC、抗原肽三者处于最佳的结合状态是 T 细胞被激活的最重要、最基本的条件，但这种复合物必须有一定数量。据报道，至少需要 200 个 TR-MHC 这样复合物分子才能激活 T 细胞。在 T 细胞分化过程中 TCR、CD3、CD2、CD4 或 CD8 等分子在细胞膜上的密度的改变都会影响到 T 细胞的活性。事实上，APC 细胞与 T 细胞的接合并激活 T 细胞或 T-B 细胞间的相互作用，不光要求一定数量的分子，并且要求多种类型的分子共同参与才能诱导免疫应答。除 TR 外还要有众多的受体和配体，有些是作为黏附分子如 ICAM-1、LFA-1，有些是作为黏附分子同时也担负信号传导作用，如 CD4、CD8、CD28、CB7 等。在免疫应答中抗原刺激信号比较弱的时候，这种受体与配体之间相互作用的累积是非常重要的。如果抗原刺激信号（第一信号）较强或 TR 与 A-MHC 之间有较高的亲和力，免疫应答的开始，当 APC 表达 B7 分子，作用于 T 细胞表面的 CD28 作为第二刺激信号或称其刺激信号（亦称辅助信号）T 细胞才被激活，分裂增生。T 细胞的激活还要依赖于各种细胞因子，如 IL-2 等。

进入 20 世纪 90 年代，关于识别问题、激活细胞的条件、各种细胞因子及其受体，仍然是热门的话题。值得注意的是，免疫系统与神经内分泌系统之间关系的研究有进一步发展趋势。随着分子生物学和生物技术的发展，免疫学的许多领域特别是基础免



疫，都进入到分子水平，阐明了过去许多不明的问题。20 世纪 70 年代，特别是 20 世纪 80 年代至今，细胞因子的基因克隆、细胞因子在免疫网络的调控作用有重大进展，细胞因子正逐步真诚走向应用阶段、走向市场。人类白细胞分化抗原系列的研究进展亦非常迅速，至 1993 年第五届人类白细胞分化抗原国际研讨会，把分化抗原分为 T 细胞、B 细胞、激活因子、内皮细胞、黏附分子和细胞因子受体等共 130 种。

第2章 免疫球蛋白与抗体

第一节 免疫球蛋白与抗体的概念

一、免疫球蛋白的概念

免疫球蛋白 (Imunoglobulin, Ig) 是指存在于人和动物血液 (血清)、组织液及其他外分泌液中的一类具有相似结构的球蛋白。过去曾称为类球蛋白, 在 1968 年和 1972 年两次国际会议上决定以 Ig 表示。依据化学结构和抗原性差异, 免疫球蛋白可分为 IgG、IgM、IgA、IgE 和 IgD。

二、抗体的概念

动物机体受到抗原物质刺激后, 由 B 淋巴细胞转化为浆细胞产生的, 能与相应抗原发生特异性结合反应的免疫球蛋白, 这类免疫球蛋白称为抗体 (*Antibody, Ab*)。抗体的本质是免疫球蛋白, 它是机体对抗原物质产生免疫应答的重要产物, 具有各种免疫功能, 主要存在于动物的血液 (血清)、淋巴液、组织液及其他外分泌液中, 因此将抗体介导的免疫称为体液免疫 (*Humoralimmunity*)。也有的抗体可与细胞结合, 如 IgG 可与 T、B 淋巴细胞、K 细胞, 巨噬细胞等结合, IgE 可与肥大细胞和嗜碱性粒细胞结合, 这类抗体称为亲细胞性抗体。此外, 在成熟的 B 细胞表面具有抗原受体, 其本质也是免疫球蛋白, 称为膜表面免疫球蛋白 (*Membranesurfaceimmunoglobulin, SmIg*)。

就其本质而言, 抗体与免疫球蛋白是一致的, 但两者在概念上还是有区别的。抗体的化学本质是免疫球蛋白, 它是免疫 (生物) 学和功能上的名词, 是抗原的对立面, 也就是说抗体是有针对性的, 如某种细菌或病毒的抗体; 而免疫球蛋白并不都具有抗体的活性, 如存在于多发性骨髓瘤患者血清中的骨髓瘤蛋白 (*myelomaproteins*) 和尿中的本周蛋白 (*Bence-Jones proteins*) 通常无抗体活性, 但仍属于免疫球蛋白。