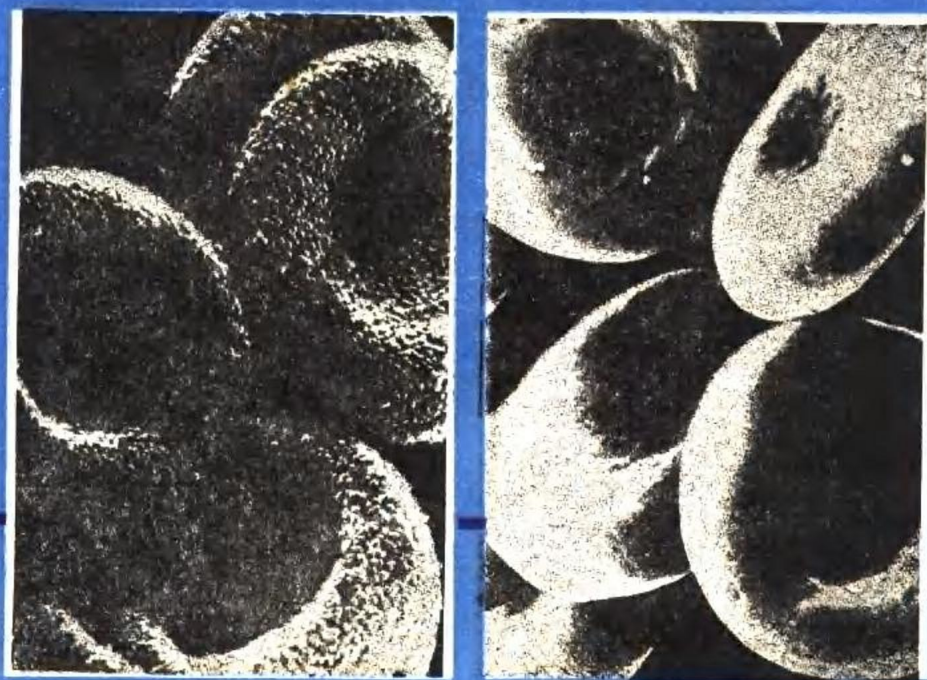


M.Z. 阿塔西
C.J. 范奥斯 主编
D.R. 阿勃索洛姆

分子免疫学

(上册)



科学出版社

内 容 简 介

由著名免疫化学家M. Z. 阿塔西等三人主编的《分子免疫学》是目前世界上最新的和内容最丰富的一本免疫学和免疫化学教科书和参考书。本书由免疫学各领域的40多位专家共同撰写而成。全书共32章, 中译本分上、下两册出版。上册主要是理论部分, 包括免疫原性和抗原性的分子结构基础、各类抗原(细菌抗原、病毒抗原、组织抗原、肿瘤抗原等)的免疫化学、抗体的结构与功能、抗体的多型性起源、同种异型、个体遗传型、单克隆抗体、免疫网络学说及外源凝集素等。

本书可供医学院校和综合大学生物系的学生、硕士生和免疫学博士生以及从事免疫学教学和研究的有关人员参考。

M. Zouhair Atassi Carel J. van Oss Darryl R. Absolom
MOLECULAR IMMUNOLOGY
A TEXTBOOK
Marcel Dekker, Inc.

分 子 免 疫 学 (上册)

M. Z. 阿塔西
C. J. 范奥司 主编
D. R. 阿勃索洛姆
郑昌学 吴安然 等译
责任编辑: 吴铁双
科学出版社出版
北京朝阳门内大街137号
中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1988年8月第一版 开本: 787×1092 1/16
1988年8月第一次印刷 印张: 17
印数: 0001—2,870 字数: 390,000
ISBN 7-03-000292-X/Q.56
定价: 7.00元

译者前言

近年来,分子免疫学作为分子生物学的一个分支发展十分迅速。许多重大的理论问题相继得到了阐明或有了新的突破,如抗体分子的结构与功能,抗原性的分子基础,蛋白质抗原决定簇的结构和性质,HMC系统的分子结构,补体的结构和功能等;最近几年,利用基因工程技术已揭示了T细胞抗原受体的结构和一些淋巴因子(如 $1L_1$, $1L_2$ 等)的结构;一些新的理论正在形成,如抗体的个体基因型和免疫网络学说,免疫反应的基因调控理论等。另外,免疫化学技术,尤其是单克隆抗体技术的发展,为分子生物学和免疫学本身提供了一系列高度特异和灵敏的研究方法,这些方法在生物学、医学、农学和生物工程学等领域发挥着巨大的作用。分子免疫学已成为当前分子生物学研究的热点之一,并成为生物学和医学的一门重要基础学科。

由M. Z. 阿塔西等主编的《分子免疫学》是目前世界上最新的一本比较好的教科书,它不仅包括了分子免疫学的理论,还介绍了免疫学的方法学及其应用;它既反映了分子免疫学各领域的新成就,也指出了存在的问题和今后的研究方向。本书的作者大都是免疫学各领域的专家,因此保证了本书内容新颖,可靠,本书称得上是免疫化学和免疫学的现代教程。为此,我们认为有必要及早将本书介绍给我国从事免疫学研究和教学的同事们,为促进我国分子免疫学的发展做些贡献。

本书(上、下册)翻译工作由清华大学生物科学与技术系郑昌学和中国医学科学院基础医学研究所吴安然主持。参加翻译的有清华大学生物科学与技术系郑昌学、曾耀辉,蔡国平,张仁培,高奋标和中国医学科学院基础医学研究所吴安然、陈绍先、周彤、缪时英、郑珊珊、沈琍璠、刘扬、严仪昭、吴宁华、张蒲及解放军海军总医院刘建欣等同志。在本书的出版过程中,得到东风制药厂的资助,特此表示感谢。

由于本书内容很广泛,有许多新的理论和术语,译者的水平又很有限,不妥之处在所难免,请读者提出宝贵意见。

译者

1986年11月于北京

前 言

本书的编写完全是由我们的出版者M.德克尔博士的一个电话引起的，他读了我们当中一个人的一篇书评。这篇评论间接地提到需要一本能跟上时代的免疫化学教科书。M. Dekker博士问到：“你自己为什么不写一本？”回答很简单：“这办不到，没有一个免疫学家能单独做到这一点，或者说需要更多的人来做这个工作。”近年来的进展使这一领域扩展得如此之大，以至任何一个人几乎不可能写一本这类题材的现代教科书，只有许多专家的共同合作才能实现这一目标。

一个人的确不可能写一本这样的教科书，但是，对于我们这些经常教授研究生基础免疫化学课程的人来说，一本好的现代教科书确实是手头必备之物，这是客观事实。因此，我们中的一些人联合起来，着手组织和编辑这本书。有40多位免疫学各个领域的专家参加了本教材的编写，这自然保证了每一课题内容的权威性和可靠性；当然亦可能带来风格和结构上的不统一，不过重复和前后矛盾等情况还算不多。

这本分子免疫学可作为高年级研究生和从事分子免疫学研究的博士后生的教科书。本书内容涉及当前分子免疫学的各个前沿课题。

作为一本教材（不是一本手册）有一个限制，那就是要让学生买得起它。这就要求书不能太厚，每章的页数不能太多，因此，在满足内容要求的前提下，尽量压缩每章的篇幅和参考文献的数量。

为了在处理材料时有较大的自由度，我们决定将这本教科书称为《分子免疫学》在这一点上还要感谢《分子免疫学》杂志的主编。

M. Z. 阿 塔 西

C. J. 范 奥 斯

D. R. 阿勃索洛姆

目 录

译者前言

前言

第1章	免疫原性和抗原性的结构要求.....	1
第2章	蛋白质的免疫识别.....	11
第3章	多糖和血型抗原的免疫化学.....	38
第4章	组织特异抗原和肿瘤抗原的免疫化学.....	50
第5章	细菌抗原的免疫化学.....	64
第6章	病毒抗原的免疫化学.....	81
第7章	免疫球蛋白的结构和功能.....	98
第8章	单克隆抗体, 骨髓瘤和杂交瘤.....	126
第9章	β_2 微球蛋白.....	145
第10章	免疫球蛋白的种系发生.....	155
第11章	免疫球蛋白的同种异型.....	167
第12章	功能免疫网络.....	186
第13章	免疫球蛋白的分离和鉴定.....	206
第14章	免疫球蛋白多样性的起源.....	224
第15章	外源凝集素.....	234

第 1 章 免疫原性和抗原性的结构要求

Colin R. Young

I. 引言

A. 定义

一些年以前 (Sela, 1969), 对抗原的主要免疫学功能提出了如下的定义:

1. 免疫原性 (immunogenicity): 引起免疫反应的能力。这可以用特异免疫球蛋白的形成和 (或) 特异效应淋巴细胞的产生来衡量。

2. 抗原性 (antigenicity): 与特异免疫球蛋白和 (或) 细胞受体的结合和反应的能力。

3. 变应原性 (allergenicity): 引起具有特异抗体和 (或) 效应淋巴细胞的敏感动物产生各种变态反应和组织损伤的能力。

4. 耐受性 (tolerogenicity): 引起特异免疫无反应性的能力, 包括抗体形成和 (或) 细胞免疫。

由于过去20多年来积累了许多有关抗原决定簇的数目、大小、分布、化学性质和特异性的知识, 我们对免疫的分子基础有了进一步的理解。大量的证据表明, 体液免疫和 (或) 细胞免疫的诱导, 在一定程度上决定于分子的结构, 以及免疫原性对结构的要求不同于抗原性对结构的要求。例如, 变性蛋白质比起相应的天然蛋白质, 其免疫原性要小。又如细菌蛋白质比起血清蛋白质是更好的免疫原, 但它们的抗原行为却没有多大差别, 因为蛋白质的自我聚合引起抗原性的改变是微不足道的, 而免疫原性却有显著的增加。

通过抗原片段抑制完整抗原与其相应抗体反应能力的研究, 我们已获得了有关多糖、核酸和合成多肽等抗原的决定簇大小和结构的知识。合成抗原为抗原结构与淋巴细胞激活之间的直接关系提供了丰富的信息, 因为有可能根据特殊的需要, 设计并合成特殊的抗原。蛋白质分子的结构与抗原性的关系比较复杂, 它在很大程度上决定于分子的总的立体构型。纤维蛋白抗原的情况介于直链多糖和球蛋白之间, 这与它们的多肽链上有重复的氨基酸序列相关。研究球蛋白的抗原性就要复杂得多了, 因为它们没有重复的氨基酸序列。

本章将分三部分来讨论抗原性和免疫原性。第一部分扼要讨论可作为抗原的一些物质, 如蛋白质、多糖、合成多肽、核酸、化学修饰的抗原以及低分子物质。第二部分着重讨论分子的免疫原性, 包括免疫原性的标准和影响免疫原性的因素。第三部分将分析抗原化学结构, 免疫原性和淋巴细胞功能间的相互关系, 包括半抗原与载体的关系, 细胞协调和淋巴细胞活化对抗原结构的要求, 以及产生免疫反应和免疫抑制与化学结构的关系。我们打算在本章详细讨论蛋白质、多肽、多糖、血型抗原、细菌抗原, 病毒抗

原和肿瘤抗原等的免疫原性和抗原性对结构要求的所有问题，因为书中还有专门章节讨论每一种特殊抗原。本章只涉及有关抗原性和免疫原性的一般概念。

II. 抗 原

我们应当考虑哪些物质能够作为抗原，即哪些物质能够引起抗体的生成并与这些抗体进行反应。通常从下列三个方面，获得有关这个大量信息：一是对兔子的研究，兔子是首选实验动物；二是人类为了预防传染病而进行广泛的免疫接种；三是对产生抗体的病人的临床观察。

A. 蛋白质

早期研究清楚地表明，蛋白质是一类好的抗原。只要将蛋白质注射到与其来源动物不同种的动物身上，例如将牛血清清蛋白给兔子免疫，它就是一个好的抗原。当用同源蛋白质 (homologous) 免疫动物时，要使它具有抗原性，通常要求这些蛋白质是外源性的，也就是说抗体形成体系能够识别自己的蛋白质不是外来蛋白质，因此不对它们产生反应。但是近来用兔血清清蛋白和小鼠肌球蛋白所得到的实验数据说明，当用这些自身蛋白质免疫宿主时，能够很快地引起抗自身抗体反应 (见第 2 章)。

B. 多糖

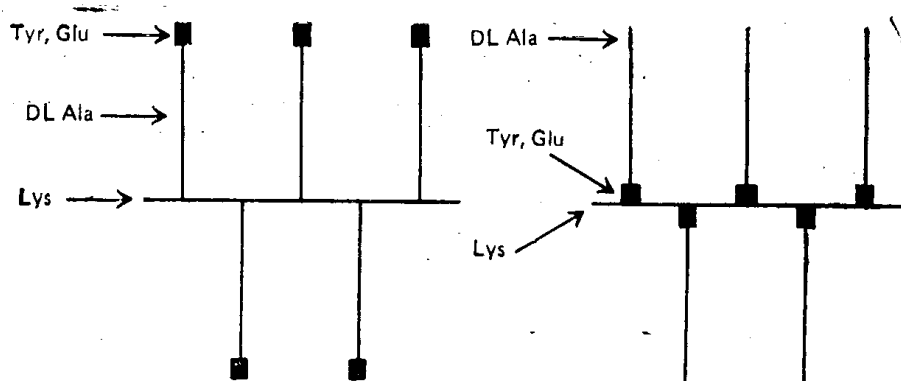
多糖在免疫化学研究中是十分有用的抗原。它们的结构比较简单。用多糖抗原已经阐明了许多抗原决定簇和抗体结合位点的详细结构。葡聚糖和果聚糖是常用的多糖抗原。多糖抗原一般不易纯化，它们还往往只能激活某些动物，使之产生抗体，对另一些动物则不能激活 (见第 3 章)。

C. 合成多肽

多肽能提供一系列已知特性的抗原，用于研究抗原性对结构的要求。现在可以用化学合成法制备各种类型的多聚 α -氨基酸：第一类为某一种氨基酸的均一聚合物；第二类是由已知序列的小肽连接起来的共聚物；第三类是多种氨基酸的随意聚合物；第四类是多链共聚物；第五类是以一定间隔重复出现某种小肽的多肽链。

利用合成的多肽已发现了一个十分重要的规律，即抗原分子中对抗原性重要的区域必须能被抗体形成系统所接近。这可以用以下的实验证明：合成两个多链共聚物，每一个都含有赖氨酸、丙氨酸多聚物和一个由谷氨酸与酪氨酸组成的肽，两者都以多聚L-赖氨酸为骨架。其中一个设计成 (T.G) — A...L，另一个将侧枝附加部分颠倒过来，如图 1 所示 (Sela, 1969)。

这两个共聚物中，只有谷氨酸和酪氨酸残基在外面的共聚物对兔子具有抗原性。如果多肽骨架由赖氨酸和丙氨酸组成，则在赖氨酸的 ϵ 氨基之间有较大空间 (注意 ϵ 氨基是侧链连接部位)，此时虽将谷氨酸和酪氨酸共聚物直接连到赖氨酸上，丙氨酸残基朝外，它仍然是一个强抗原。因此所谓可接近的位置并不一定要在链的末端。



1 图两个合成的多肽共聚物聚 (Tyr·Glu) —聚DL—Ala 聚Lys和聚DL—Ala 聚 (Tyr·Glu) 聚Lys的示意图。

D. 核酸

化的核酸很难诱导体形成，如果将变性的DNA偶联到甲基化牛血清清蛋白上，并同时注射佐剂，就很容易获得抗DNA抗体。患有红斑狼疮的病人和NZB/NZW小鼠，能天然地产生抗DNA抗体。有些血清抗体只与变性DNA反应，有些能与天然DNA反应，还有一些能与天然和变性DNA的抗原决定簇产生明显的反应。关于红斑狼疮病人产生这类抗体的机制，至今还不甚了解。

E. 化学修饰抗原

大部分有关抗原决定簇相互关系的知识是从这样一些实验来的，即将已知结构用共价键偶联到蛋白质抗原上，从而获得直接抗这些引入结构的抗体。Landsteiner是这项工作的先驱者，在40年代，他将低分子物质通过重氮盐的方法偶联到蛋白质上。那些在游离状态下没有抗原性的小分子物质称为半抗原 (hapten)，偶联到蛋白质上的基团称为半抗原基团 (haptenic group)。实验中将这类基团引入蛋白质的主要常规反应有：碘化，重氮化和偶联，异氰酸和异硫氰酸反应，二硝基苯衍生物，混合酸酐反应，与羰二亚胺反应，与青霉素反应，以及将核苷和核苷酸连接到蛋白质上的反应等。但是，所有这些技术都有一些缺点：首先会产生只与蛋白质上的决定簇反应而不与引入基团反应的抗体；其次，引入的基团能影响蛋白质的构象，这可能是更严重的问题。

F. 低分子物质

许多新近的研究表明，低分子物质也能作为完全抗原，不管它是游离的（即没有偶联到大蛋白质分子上）或吸附到碳粒上的。前一种类型的例子是人工合成的天然分子的小肽段，如肌红蛋白和流感病毒分子的小肽段，后一种类型的例子是激素，如血管紧张素II酰胺，这是一个八肽：天冬·精·缬·酪·异亮·组·脯·苯丙。另外，抗生素中的枯草杆菌肽、短杆菌肽S和氧四环素、都有抗原性。

III. 免疫原性

A. 免疫原性的标准

目前已确定了抗原免疫原性的二个标准：产生特异抗体和建立细胞免疫反应。但有

一些低分子抗原,如DNP-寡聚赖氨酸,它们自身没有免疫原性,当与完全弗氏佐剂一起给动物免疫时,却能诱导体抗体的形成,而不引起迟发型超敏反应性。最近的一些资料表明,含有6—8个氨基酸的人工合成的游离小分子多肽,能够诱导体抗体的形成,同时能够(或不能)诱导细胞免疫反应。鉴于有许多因素影响对某一抗原的免疫反应,因此确定一种物质是免疫原或非免疫原是有条件的。

抗体的形成

抗体形成的细胞过程要求有巨噬细胞、来自骨髓的淋巴细胞(B细胞)和来自胸腺的淋巴细胞(T细胞)参加。对许多抗原来说,T细胞是辅助细胞。但对少数抗原,B细胞的激活不需要T细胞。这类抗原称为非胸腺依赖性抗原(Thymus-independent antigen),例如细菌多糖和一些聚合蛋白质是非胸腺依赖性抗原。它们的作用机制还不十分清楚。这类抗原的免疫反应不同于胸腺依赖性抗原的免疫反应,如形成的抗体主要是IgM类,没有免疫记忆或是记忆很弱。

确定抗原的初级和次级免疫反应一般包括下列过程:与抗原的首次接触,引起免疫记忆和抗原致敏细胞的增殖,第二次接触抗原导致B细胞分化为抗体分泌性浆细胞。并非一切抗原引起的抗体反应均需通过这个总过程,特别是多决定簇抗原。在免疫过程中,对这些抗原的不同决定簇的抗体是不会同时出现的(见第24章)。

细胞免疫

细胞免疫反应和迟发型超敏反应是T细胞的主要功能。特异抗原与抗原致敏T细胞反应,导致T细胞增殖并释放一些可溶性介质。这些介质会引起以迟发型超敏反应为特征的组织损伤。导致淋巴细胞增殖的抗原结构决定簇与导致释放淋巴介质的抗原结构决定簇是否为相同的决定簇目前还不清楚。看来,它们可能要求抗原分子上具有不同性质的结构成分。

B. 影响免疫原性的因子

大小

一般来说,抗原的免疫原性直接与它们分子的大小有关。巨大分子,如马脾转铁蛋白和海蜃血蓝蛋白,以及象病毒和细菌这样一些特殊抗原,是强免疫原。但是谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸的聚合物,虽然分子量相差三倍以上,却引起相同的抗体反应。由重复结构单位组成的不同大小的聚合抗原,其分子量大小与引起抗体反应的能力之间存在着平行的相关性。已经发现,Ⅲ型肺炎球菌多糖的组分随着分子量的减小,其免疫原性和耐受原性亦不断地减小。新近又发现,抹香鲸的由7—21个氨基酸组成的小肽片段,是有效的免疫原和致耐受原。总之,高分子抗原免疫原性强。但也有高分子无免疫原性的例子,如高分子的全取代聚赖氨酸、聚谷氨酸和各种纤维素无免疫原性。

通常低分子抗原不是好的免疫原。一些分子量低于5,000的化合物具有免疫原性,如表1所示。这里有一个重要的问题,即免疫原性要求的最低分子量是多少?Schlossman等(1965)用一系列分子量不断增加的N端被DNP取代的聚赖氨酸做实验,结果清楚地表明,少于七个赖氨酸的单- α -DNP寡聚赖氨酸不能引起抗DNP抗体的形成,也

表1 一些低分子量免疫原的例子

免疫原	分子量	免疫反应
人工和合成多肽		
氨基酸共聚物 如GAT, GL, GL Φ	4,000—5,000	抗体
双功能半抗原	600—1,000	抗体和迟发超敏反应
DNP-氨基酸	≥ 300	抗体和迟发超敏反应
合成的脑肽	≥ 700	迟发超敏反应
合成的肌红蛋白多肽	900—3,000	抗体和淋巴细胞增殖
天然多肽		
胰岛素和肽链	$\leq 6,000$	抗体
胃泌素	2,000	抗体
血管紧张素 I	1,000	抗体和迟发超敏反应
加压素	1,007	抗体

不能诱导细胞超敏反应性。但是这种七肽规律亦有例外，如酪氨酸和组氨酸的对-偶氮苯磺酸衍生物和硝基苯氨基酸。最近用逐渐增大的游离人工合成多肽进行实验，发现只含有6个氨基酸的游离抗原位点就能有效地引起体液免疫和细胞免疫反应 (Young 和 Atassi, 1982b)。

用不同长度的DNP-寡聚赖氨酸进行的实验发现，迟发型超敏反应要求多肽分子不得小于七个氨基酸残基。但更小的取代寡聚赖氨酸能引起抗体的合成。这种情况只有在免疫原与含有分枝菌的完全弗氏佐剂一起注射时才能发生。如果没有佐剂，则会发生相反的现象，小分子更容易诱导迟发型超敏反应，而不产生循环抗体。这可能由于含有单一抗原决定簇的小分子倾向于诱导迟发型超敏反应而不是体液免疫反应。一般来说，弱免疫原有利于建立迟发超敏反应状态。

构象

大分子抗原的抗原决定簇往往暴露在分子的表面或分子的突出部位，例如抹香鲸肌红蛋白的抗原位点处于多肽构象的敏感部分，即在分子的表面。有时称这个部分为“肘部”。多链的氨基酸共聚物的三级和四级结构能引起抗构象决定簇的免疫反应，例如连接在DL-丙氨酸和赖氨酸分枝共聚物上的三肽酪·丙·谷能诱导抗体的形成，这种抗体的结合反应能被这个三肽抑制。当这个三肽的高分子聚合物形成 α 螺旋时，它能诱导抗构象决定簇抗体，而这种构象是三肽本身没有的。

有人提出， α 螺旋有利于免疫原性，而且只有当寡聚肽大到足以形成 α 螺旋构象时才有免疫原性。L-丙氨酸构成的寡肽和L-丙氨酸与 γ -甲酰-L-谷氨酸组成的共聚物，在三氟乙酸和二氯乙酸中具有任意卷曲的构象，但在三氟乙醇中，五聚体或更大的寡聚体就成螺旋型。在非水溶剂中形成 α 螺旋的最低聚合物是 γ -甲酰谷氨酸八肽（无丙氨酸）或 β -甲酰天冬氨酸十一肽。总之，在研究寡肽的免疫原性时，不仅需要了解它们的

一级结构，而且要知道它们的立体化学构象。

球蛋白的抗原决定簇可分为两类，一类称为连续决定簇，另一类为非连续决定簇。所谓连续抗原决定簇是指肽链上顺序连续的氨基酸组成的决定簇，例如抹香鲸肌红蛋白抗原位点1，存在于顺序为15—21的氨基酸。不连续抗原决定簇是由那些空间邻近的但顺序上不连续的氨基酸组成的，例如溶菌酶的抗原位点。有关连续的和不连续的抗原位点的详细讨论请见第2章。

构象改变对抗原性的影响：从40年代起就知道加热或化学修饰引起的变性作用会降低免疫原性和改变抗原性。已经用各种不同的但性质明确的方法详细地研究了抗原性和免疫原性对结构的要求。

蛋白质分子内二硫键的断裂，多肽链非共价键的破坏和多肽链的去折叠等都会导致

天然蛋白质。（如核糖核酸酶，木瓜蛋白酶，胰酶，溶菌酶和牛血清清蛋白）诱导体形成活性的锐减。如果只破坏核糖核酸酶分子的四个二硫键中的二个，其免疫原性与天然蛋白质没有什么差别。这一结果和其它部分还原蛋白质的研究结果都说明，二硫键本身对抗原性的决定不起主要作用。还可以用以下事实来说明，即二硫键并非直接引起多肽链的折叠，其作用是稳定大多数热力学稳定的构象。

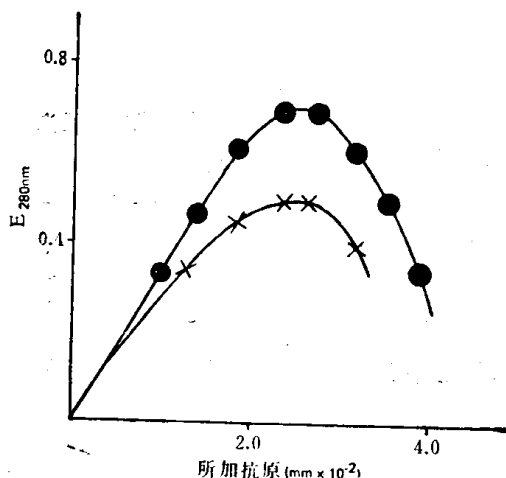


图2 在抗肌红蛋白血清中加入抹香鲸肌红蛋白(●—●)和原肌红蛋白(×—×)后形成的沉淀量。

由于构象与抗原性紧密相关，因此构象的微小变化就会导致抗原反应性的改变。显示这一作用的最好系统是移去血红素辅基的抹香鲸肌红蛋白。在失去血红素辅基的原肌红蛋白中，螺旋的含量降低，分子的不对称性增加，

因而原肌红蛋白的折叠多肽链具有更大的柔性。肌红蛋白（带有血红素辅基）和原肌红蛋白的抗原反应性有明显的差别（Crumpton和Wilkinson, 1965）。图2表明，在等价的情况下，肌红蛋白比原肌红蛋白与抗肌红蛋白血清形成更多的沉淀。

电荷

关于电荷的作用，有两个问题需要讨论。第一，免疫原是否一定要带电才能引起免疫反应？第二，免疫原上的净电荷是否影响由它引起的免疫球蛋白的性质？

看来，免疫原上的净电荷并不一定需要。因为溶于水的非解离的合成多肽抗原（在中性pH下）是有免疫原性的。但是带有正电荷氨基酸残基的碱性肽和碱性蛋白质是极好的免疫原，例如髓鞘质的碱性蛋白质。由于淋巴细胞和巨噬细胞的表面带有负电荷，因此带正电荷的抗原可能会非特异地吸附到这些细胞的细胞膜上，从而有利于抗原的提供。

现已清楚地表明，免疫原的净电荷与由它引起的免疫球蛋白的净电荷有相反的关系，这可以由抗酸性白喉毒素抗体和抗带负电的合成的氨基酸共聚物抗体得到明确的证明。有趣的是，将对偶氮苯砷酸基团偶联在碱性的多聚赖氨酸核糖核酸酶上，或偶联到

酸性的兔血清清蛋白上，结果由此产生的抗体的电荷与整个抗原分子的净电荷相反，而不是与偶氮苯磺酸决定簇中局部电荷相反。对于大分子球蛋白来说，带电基团可能会强烈影响抗原反应性决定簇的特异性（见第16章）。

佐剂

许多物质能增加抗原的免疫原性，如油乳浊液和氢氧化铝，这些物质称为佐剂。我们应当强调，佐剂有各种不同的作用：首先，它能增强一种物质的免疫原性，这种物质单独给动物免疫时具有免疫原性；第二，它能使一些物质获得免疫原性，这些物质单独给动物免疫时没有免疫原性；第三，它能改变对一种免疫原的免疫反应类型（体液免疫反应或细胞免疫反应）。佐剂的增强作用对大分子和多肽抗原表现得十分明显。如完全弗氏佐剂(Freund's adjuvant)和不完全弗氏佐剂。然而，并非所有的抗原对佐剂的作用同样敏感，例如多糖抗原，当它与完全弗氏佐剂一起给动物免疫时，没有发现这种增强作用。完全弗氏佐剂和分枝杆菌能改变大分子抗原引起的免疫反应的类型，例如在豚鼠身上，完全弗氏佐剂能增加 γ_2 免疫球蛋白的形成和增强迟发型超敏反应。

许多种佐剂含有分枝杆菌或百日咳杆菌，这些细菌能激活巨噬细胞，增加巨噬细胞对免疫原的消化作用，结果形成含有单个抗原位点的活性小肽，并激活抗原致敏的淋巴细胞。另外，大小和疏水性都与分枝杆菌相似的情性聚苯乙烯乳液颗粒也是优良的佐剂，至少能促进兔产生抗人IgG抗体(van Oss等, 1976)。这种作用可能简单地归功于这些颗粒的疏水性，它促进对抗原的吸附作用，并使抗原有规律地分布在不溶颗粒的表面，从而有利于提供抗原。

抗原剂量和注射途径

这两个因素对免疫反应的发展和反应类型的确定都有明显的作用。无论对大分子抗原和小分子抗原，这两个因素都是十分重要的。因为大分子抗原可能含有很低摩尔浓度的某种抗原位点，这类抗原位点与小分子抗原有相同的作用。对合成的八肽——血管紧张素II的免疫反应就是一个最好的例子。当将它与完全弗氏佐剂一起给动物注射时，引起迟发型超敏反应，皮内免疫则引起抗体反应。在我们研究高分子或低分子抗原的免疫原性时，必须观察不同免疫途径的作用，并对每一种免疫途径作出完全的剂量-反应曲线，因此定义一个物质为免疫原或非免疫原是有条件的。

遗传因素

对免疫反应的遗传因素，特别是对免疫反应基因(Ir)，已经有了详细的综述(McDevitt和Landy, 1972)。通过对带有一定数量抗原决定簇的(T·G)—A…L合成多肽的研究，获得了明确的免疫反应基因的概念(见图1)。(H·G)—A…L是一种与上述抗原相关的抗原，它是由组氨酸代替上述抗原决定簇中的酪氨酸而成的，在确定(T·G)—A…L和(H·G)—A…L的免疫原性时，清楚地表明，所用研究动物的遗传背景是十分重要的。CBA小鼠是(T·G)—A…L的低反应系，而是(H·G)—A…L的高反应系；与此相反，C₅₇小鼠对(T·G)—A…L是高反应系，对(H·G)—A…L却是低反应系。说明每一种这类物质的免疫反应，都受不同的Ir基因控制。自

从发现了上述免疫反应的遗传基础后，已证明许多抗原都受遗传控制，不仅是小鼠，而且在豚鼠、大鼠、鸡、猴子和人也是如此。免疫反应受遗传控制的抗原有关键酶，卵清蛋白、卵粘蛋白、核糖核酸酶、链球菌核酸酶。牛 γ 球蛋白和肌红蛋白等。

对一些复杂抗原（如抹香鲸肌红蛋白）的免疫反应遗传调控的研究，揭示了许多十分有趣的分子免疫原性结构识别的特点。例如，肌红蛋白的五个抗原位点，都受其相应的独立的Ir基因控制。另外，对肌红蛋白有高反应性的不同小鼠品系，对分子的同一抗原位点有不同的反应。同时还发现，在对抗原位点的遗传识别中，免疫时所用的抗原剂量有明显的影响。例如，当抗原剂量为50 μ g时，有些品系小鼠对肌红蛋白或其任一抗原位点都没有反应；但改为高剂量免疫时，则无论对肌红蛋白或是它的所有抗原位点都产生良好的反应（见第25章）。

IV. 化学结构、免疫原性和淋巴细胞功能间相互关系的分析

A. 半抗原-载体相互关系

许多关于抗原-抗体反应的性质和特异性的知识，来源于Land steiner早期开创性的研究工作。他用一些小分子物质进行研究，这些物质本身不是免疫原，但能够与具有适当特异性的抗体进行反应。这些小分子称为半抗原。为了诱导抗半抗原决定簇的抗体，将半抗原偶联到蛋白质上。这种结合蛋白质能引起抗半抗原的特异抗体的形成，半抗原与抗体的结合能力证明了这一点。结合蛋白质中的蛋白质部分称为载体，它既含有本身的天然决定簇，同时通过引入偶联的半抗原而获得了新的决定簇，如图3所示。

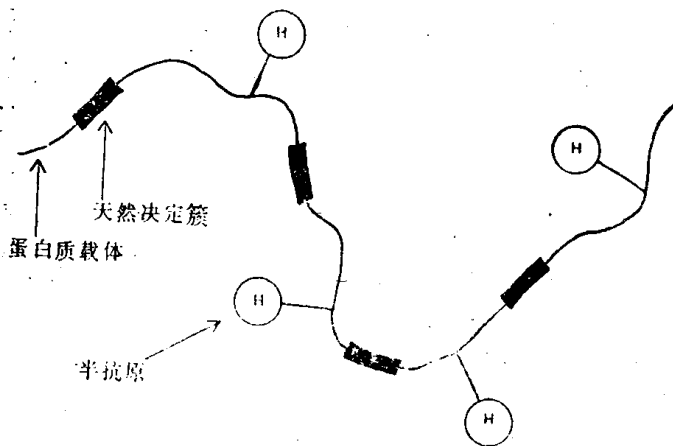


图3 半抗原-蛋白质结合物示意图。

Mitchison的研究（1971）清楚地指出，对载体和半抗原决定簇产生反应的淋巴细胞是不同的，而且为了产生抗半抗原抗体，这二类反应都是必需的。小鼠实验明确显示，载体敏感细胞是T淋巴细胞（见第24章）。

在半抗原和载体决定簇间插入一些间隔分子不影响结合物的免疫原性，这说明半抗原和载体并不共同构成某一决定簇。用不同大小的间隔分子，将载体决定簇和多功能分子的半抗原决定簇分开，能够确定抗半抗原免疫反应对半抗原与载体的空间排布的要

早已发现，抗半抗原决定簇抗体的形成要求载体分子有一定的结构。从下面的实验可以看出载体分子的重要性：当将半抗原DNP偶联到一个没有免疫原性的载体上时，动物不产生抗DNP抗体；而将它偶联到一个有免疫原性的载体上时，就产生免疫反应。这表明对免疫原性载体的抗原决定簇的识别是诱导和识别半抗原决定簇的先决条件。Mit-

求。以DNP作为半抗原，以L-酪氨酸-P-偶氮苯磺酸作为载体和6-氨基己酸作为间隔分子的实验表明，只要半抗原和载体间的间隔小于8 Å，半抗原和载体间的协同作用就能实现。

当然，半抗原-载体概念也有一些例外，例如一些由重复单位组成的多聚抗原，象内毒素脂多糖、肺炎球菌多糖和聚合鞭毛，不需要T细胞和载体特异细胞参加反应。最近的研究还表明，由六个氨基酸组成的只含一个抗原决定簇的游离多肽分子，当与完全弗氏佐剂一起给动物免疫时，能引起抗体的形成。但是大多数多价半抗原-蛋白质结合物，在回忆性抗体反应中，显示出强的载体特异性。

B. 细胞协同作用和淋巴细胞的激活对抗原结构的要求

利用一系列带有不同间隔的双功能抗原，研究了抗原分子上相同决定簇在细胞协同效应中的作用（Goodman等，1974）。对称双功能抗原的研究，发现辅助细胞活性和决定簇的空间有效性密切相关。这个事实为下面这一概念提供了依据，即为了引起抗体反应，至少要有二个可以接近的决定簇，这两个决定簇可能是相同的。这个发现还为细胞协同作用的抗原桥模型提供了证据。图4是抗原桥模型的示意图。

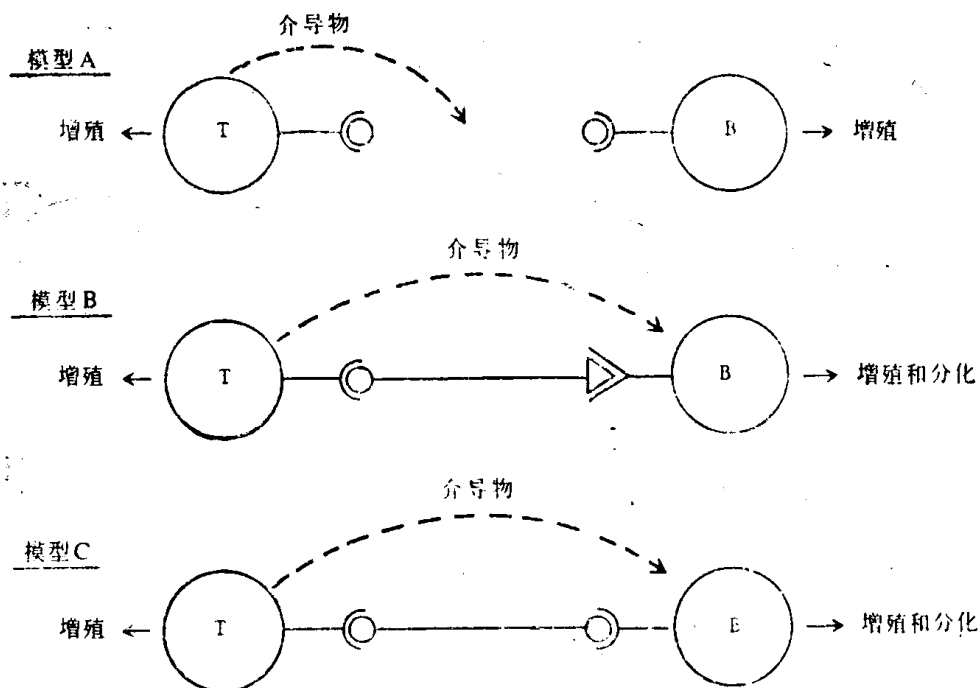


图4 T和B细胞间协同作用的不同模型。A. 对单抗原决定簇的单功能抗原的反应；
B. 对含有一个免疫原决定簇和一个半抗原决定簇的不对称双功能抗原的反应；
C. 对含有二个免疫原决定簇的对称双功能抗原的反应。○. 免疫原决定簇；△. 半抗原决定簇。

这些双功能抗原还被用来比较单点和双点结合抗原在激活淋巴细胞增殖反应中的有效性。用这些抗原进行的实验表明，带有坚硬间隔的双功能抗原是抗原诱导的增殖反应的弱激活剂，但它们能产生良好的细胞协同作用。因此，细胞的激发和细胞协同作用对抗原结构有明显不同的要求。

C. 诱导免疫反应和免疫抑制对结构的要求

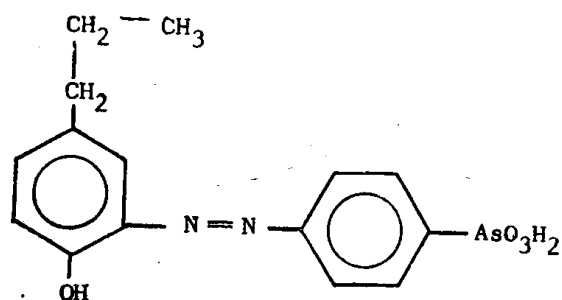


图5 (对-羟基苯)丙基-偶氮苯-对-砷酸 (RAN)。

L-酪氨酸-对-偶氮苯砷酸 (RAT) 抗原体系是显示这类结构要求的一个最好的例子。已经合成了二个系列RAT类似物，其中一个的取代基位于砷酸部位，另一个将酪氨酸侧链进行了修饰。结果发现，用其他带电的侧链取代砷酸，不影响免疫原性；但如果移去酪氨酸的两个带电基团，则免疫原性完全消失。这个无免疫原性的带有丙烷基侧链的RAT衍生物，被称为RAN或对-羟基-苯丙基-偶氮苯-对-

砷酸)，见图5。

因为RAN是RAT的十分相近的类似物，而且它没有可觉察的免疫原性，因此常被用来研究免疫耐受原性对结构的要求。当将RAN和RAT与不完全佐剂一起给动物免疫时，常能诱导对RAT的特异性免疫无反应性。可以通过测定迟发型超敏反应和抗原诱导的DNA合成来确定这种无反应性。因此一种没有免疫原性的化合物能使T细胞变成耐受细胞。看来这一现象是由抑制性T细胞引起的，虽然目前还没有完全被证实。

(郑昌学 译)

第2章 蛋白质的免疫识别

M. Zouhair Atassi

I. 引言

免疫反应在很大程度上依赖于蛋白质参与的分子间的相互作用。不管抗原分子是蛋白质还是非蛋白质，也不管是自身的还是非自身的，抗原分子的识别发生在分子的和细胞的界面，并通过膜上的蛋白质受体分子来实现。识别的第一步是激活一系列复杂的细胞过程，这需要有细胞-细胞间的相互反应和联系，最终导致抗体的生成。这一生物学的连锁反应是在反应过程的许多位点为蛋白质分子所控制，这些蛋白质分子可能是游离的，也可能是活性细胞的膜受体。因此要想正确理解免疫体系中的细胞反应，在极大程度上将依赖于搞清包括蛋白质反应在内的分子过程。显然，细胞的作用通过分子，分子的作用通过细胞。在功能水平上，分子免疫学和细胞免疫学将相互融合，它们的主要任务是解决功能与参与反应的蛋白质的结构间的相互关系。

绝大多数与免疫疾病和外源性致病因子（细菌、病毒、变态原等）相关的抗原是蛋白质分子。显而易见，对决定天然蛋白质分子抗原性的分子特征的认识是以在分子水平上理解免疫反应细胞过程为基础的。因此，确定蛋白质抗原的抗原位点和制订实现这一任务的战略，对从分子水平上阐明并最终控制免疫功能是至关重要的。病原因子（即病毒、细菌、变态原、毒素等）抗原位点的定位和合成将使我们有可能制成人工疫苗，从原则上讲，它们没有或很少有副作用。

这一领域的进展是很缓慢的。由于蛋白质的整个抗原结构没有阐明，使我们的许多尝试失败。大量化学和技术上的因素是导致这一领域进展缓慢的原因。这些问题的讨论已有综述（Atassi, 1975, 1977b）。最近几年，在蛋白质抗原位点的研究中，有了一些大的进展，对两个蛋白质分子的整个抗原位点的确定已经完成。这两个蛋白质是抹香鲸肌红蛋白（Mb, Atassi, 1975）和鸡卵清溶菌酶（Atassi, 1978）。另外，成人血红蛋白（Hb） α 链的全部抗原位点已经确定并进行了合成（Kazim和Atassi, 1980a, 1982），人血清清蛋白主要抗原位点也已确定和合成（Atassi等, 1979; Sakata和Atassi, 1980a, b; Atassi, 1982）。Mb和溶菌酶抗原结构的测定，极准确地回答了许多有关天然蛋白质的免疫分子识别的问题（Atassi, 1975）。从最初Mb研究工作中得到的一些发现和观察结果，使我们能够确立许多概念，它们都被后来的其它蛋白质的研究结果所证实。但是，我们必须小心，因为这是一个十分复杂的领域。要理解蛋白质分子的免疫化学，必须阐明几个天然蛋白质的全部抗原结构（Atassi, 1972, 1975）。溶菌酶全抗原结构的正确测定（Atassi, 1978），指出了这两个蛋白质间的差异是何等的巨大。正如本章将要简要地提到的。

本章将集中讨论一些蛋白质的免疫学，这些蛋白质的抗原位点全部（Mb和溶菌酶）

或大部（血清清蛋白和血红蛋白）已经化学定位并用化学合成法证实。其它一些蛋白质的抗原位点正在研究之中。烟草花叶病毒蛋白质的一个抗原位点已经确定并已用化学合成法证实（Bengamini, 1977, Bengamini等, 1978）。已经研究了神经鞘碱性蛋白质的免疫原性位点和致病位点，并已用合成法仔细地分析了邻近115位色氨酸残基的一个位点（见Eylar的评述, 1978）。

II. 测定和合成抗原位点的化学战略

A. 一般的化学战略

蛋白质抗原位点的测定不可能只用一种途径。目前，已形成一种依赖五条途径的战略（Atassi, 1972），这一战略使得我们成功地测定了Mb的全抗原结构（Atassi, 1975），后又成功地应用于溶菌酶并获得了类似结果（Atassi, 1978），这些途径是：①研究构象的改变对蛋白质免疫化学性质的影响；②研究蛋白质的化学衍生物，特别是研究在适当氨基酸部位进行了修饰的蛋白质的免疫化学和构象；③分离和测定免疫化学反应片段，并定量计算它们占天然蛋白质总反应的比例；④研究特定部位氨基酸的化学修饰对免疫反应多肽的免疫化学性质和构象的影响；⑤当利用上述四种途径将每一个抗原位点缩小到较小的范围后，再研究合成的这一区域中相互重叠的多肽的免疫化学，最终确定氨基酸顺序。应当指出，这些化学途径都有各自的优点和缺点。Atassi已经详细讨论了这些化学方法在蛋白质免疫化学研究中的应用，以及它们的优缺点（Atassi, 1975, 1977a, b）。这里要强调的是，这些方法中没有一种能单独解决全抗原结构问题。我们往往用一种方法的结果去证实或修改另一个方法所获得的结果。最终完成的结构应当是所有信息的综合和逻辑协调的结果。

应当注意，虽然上述途径最初只用于确定蛋白质的抗原位点，但只要作适当的修改，它们也能用于精确确定和化学合成蛋白质其它类型的结合位点。表面相似合成概念（Atassi等, 1976b; Lee和Atassi, 1976）给我们提供了一种方法学，即在精确的化学分析后，任何一种蛋白质结合位点原则上都是可以进行相似合成的。

B. 连续抗原位点的综合合成途径

在确定蛋白质抗原结构序列中，研究重叠肽段是一个关键的途径（Atassi, 1972），系统地利用这一途径，将会得到抗原位点的数目、位置以及它们在蛋白质的总活性中所占的比例等有价值的材料。实际上这一途径也有许多缺点（见Atassi的综述, 1977a），这些缺点包括重复性好的断裂蛋白质的方法的数目有限；一个抗原位点内的切割不注意时常会产生没有活性或活性很低的肽段；在化学断裂的肽段中，往往会产生内部位点的化学修饰以及在分离的肽段中有少量的杂质等。另外，蛋白质分子中易受酶断裂的基团是随机分布的，因此不可能获得各种预想的重叠多肽。为了克服这些缺点，我们采用五种不同的化学途径来测定蛋白质抗原位点的战略（Atassi, 1972, 1975）。

虽然每一种化学途径都是相当复杂的，但我们已经用这一战略揭示了Mb和溶菌酶分子的全部抗原位点。这对于我们进一步彻底阐明免疫识别过程是十分有意义的。从以下几节可以看出，Mb和溶菌酶的抗原位点存在于相应天然分子表面的特定部位。每一