

移植免疫耐受

YIZHI MIANYI NAISHOU

主编 赵勇

中国医药科技出版社

移植免疫耐受

赵 勇 主编

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书系统、全面地阐述了移植免疫耐受的基础理论,最新研究成果及各种移植免疫耐受诱导方案,该书既介绍移植免疫耐受的理论,又涉及一些小动物、大动物乃至人类临床移植免疫耐受领域的最新研究成果。为临床工作者及相关科研人员提供了较新、较全面的理论基础和学术观点。

图书在版编目(CIP)数据

移植免疫耐受/赵勇主编. —北京:中国医药科技出版社, 2005. 1

ISBN 7-5067-3119-3

I. 移… II. 赵… III. 移植免疫学—耐受性—研究 IV. R392.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 127996 号

美术编辑 陈君杞

责任校对 张学军

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100088

电话 010-62244206

网址 www.mpsky.com.cn

规格 787×1092mm¹/₁₆

印张 19¹/₂

字数 426 千字

印数 1—3000

版次 2005 年 4 月第 1 版

印次 2005 年 4 月第 1 次印刷

印刷 北京友谊印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 7-5067-3119-3/R·2594

定价 42.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

主 编 赵 勇
副主编 徐 琪 刘雪松 龚守良
编 者 (按姓氏笔画顺序排列)

丰美福 中国科学院动物研究所
王弘瑭 中国科学院动物研究所
冯 彪 美国康奈尔大学医学院
田生理 美国纽约大学西奈山医学院
刘成洋 美国宾西法尼亚大学医学院
刘雪飞 美国内布拉斯加大学医学院
刘雪松 中国第四军医大学
曲艳燕 中国科学院动物研究所
孙丽光 中国吉林大学白求恩医学部
孙义敏 美国内布拉斯加大学医学院
孙祖珣 中国科学院动物研究所
闫景波 美国田纳西大学
李 静 美国内布拉斯加大学药学院
邵 兰 中国科学院动物研究所
张佳林 美国内布拉斯加大学医学院
段子渊 中国科学院遗传与发育生物学研究所
段恩奎 中国科学院动物研究所
赵 勇 中国科学院动物研究所/美国内布拉斯加大学医学院
徐 琪 日本秋田大学医学部
龚守良 中国吉林大学白求恩医学部
葛宝生 美国内布拉斯加大学医学院
詹 勇 美国哈佛大学麻州总医院
熊婉芬 美国内布拉斯加大学医学院

前 言

器官移植作为 20 世纪临床医学的重大成就之一，已成为终末期器官衰竭患者的有效、首选治疗手段。迄今，许多患者通过移植同种异体器官获得新生。然而，目前两个主要因素明显地限制临床移植术的广泛应用：其一，同种组织与器官的供者数量有限；其二，长期应用免疫抑制剂的不良反应。为了解决供者组织与器官的短缺问题，人们探讨应用其他种属动物（如猪等）作为人类器官移植供者（即异种移植）的可行性。有关这方面的理论和实践，我们曾在编著的《异种移植免疫学》（中国医药科技出版社，2003）中做了较为详细的介绍。为了克服长期应用免疫抑制剂的不良反应，生命科学工作者一直在寻求更为理想的治疗方案，其中有效的诱导受者对供者抗原特异免疫耐受是人们努力的主要方向。成功的建立对供者抗原的特异免疫耐受，将使机体保持正常的免疫力以抵抗微生物等病原体感染及肿瘤的发生，同时又可避免机体对供者器官免疫排斥反应的发生。建立临床可接受的移植免疫耐受诱导方案，研究其发生规律及分子机制，已成为当今移植免疫学研究领域的中心课题之一。

本书较系统、全面地叙述移植免疫耐受的基础理论、最新研究成果及各种移植免疫耐受诱导方案。该书既介绍移植免疫耐受的理論，又涉及一些小动物、大动物乃至人类临床移植免疫耐受领域的最新研究成果。在真实的反映目前该学科的研究现状、尽可能对各种观点进行概述的同时，作者的一些研究成果及观点也融入本书。希望通过此书为我国移植免疫耐受领域的研究与应用有所助益，为相关学科的发展尽微薄之力。

借此，感谢中国科学院动物研究所生物膜与膜生物工程国家重点实验室移植生物学研究组全体工作人员及在校博士后、研究生对本书稿所付出的劳动。

由于作者水平有限，本书难免存有疏漏与不妥之处，恳请广大读者和同道们批评指正。

赵 勇

2004 年 1 月于北京中科院动物研究所

目 录

第一章 免疫应答与免疫耐受基础理论.....	(1)
第一节 免疫应答.....	(1)
第二节 免疫调节.....	(11)
第三节 免疫耐受.....	(16)
第二章 T 细胞死亡与移植免疫耐受	(37)
第一节 T 细胞死亡类型	(37)
第二节 IL-2 与 T 细胞死亡敏感性	(40)
第三节 T 细胞死亡机制	(41)
第四节 T 细胞凋亡与免疫耐受	(41)
第三章 调节性 T 细胞与移植免疫耐受	(48)
第一节 移植免疫耐受中的免疫调节.....	(49)
第二节 移植免疫耐受中的调节性 CD4 ⁺ T 细胞	(49)
第三节 调节性 CD4 ⁺ T 细胞在体内存在的假说	(53)
第四节 体内 T-reg 细胞的来源	(54)
第五节 调节性 CD4 ⁺ T 细胞的免疫抑制机制	(56)
第六节 FoxP3 与 T-reg 细胞	(60)
第七节 诱导调节性 CD4 ⁺ T 细胞的方法	(62)
第八节 抑制性 CD8 ⁺ T 细胞	(63)
第九节 KIR ⁺ T 细胞在免疫耐受中的作用	(64)
第十节 NKT 细胞在免疫耐受中的作用.....	(64)
第四章 胸腺依赖的移植免疫耐受—非克隆删除及不反应性机制.....	(70)
第一节 胸腺和腔上囊的发育生物学.....	(70)
第二节 胚胎移植后出生后的免疫耐受.....	(71)
第三节 胸腺上皮细胞在小鼠免疫耐受诱导中的作用.....	(72)
第五章 感染性 T 细胞移植免疫耐受	(78)
第一节 感染性 T 细胞免疫耐受的发生	(79)
第二节 感染性 T 细胞免疫耐受的发生机制	(80)
第六章 树突状细胞诱导移植免疫耐受.....	(85)
第一节 DC 的体内分布及分化发育	(85)

第二节	DC 的生物学特性	(86)
第三节	DC 的体外分离和扩增	(90)
第四节	DC 与免疫应答	(92)
第五节	DC 与免疫耐受的诱导	(94)
第六节	DC 诱导免疫耐受的分子基础	(95)
第七节	imDC 的体外诱导方案及其诱导免疫耐受的机制	(98)
第八节	基因修饰 DC 诱导移植免疫耐受	(99)
第七章	胸腺内接种异体抗原诱导 T 细胞移植免疫耐受	(105)
第一节	胸腺内移植异体胰岛诱导 T 细胞移植免疫耐受	(106)
第二节	胸腺内接种造血干细胞诱导 T 细胞移植免疫耐受	(107)
第三节	胸腺内接种异体肽或可溶性异体抗原诱导 T 细胞免疫耐受	(108)
第四节	基因治疗在胸腺内诱导 T 细胞移植免疫耐受中的应用	(108)
第五节	胸腺内接种供者异体抗原诱导 T 细胞免疫耐受的机制	(109)
第八章	胸腺移植诱导 T 细胞移植免疫耐受	(114)
第一节	T 细胞在胸腺中的分化与选择	(115)
第二节	异种猪胸腺移植的小鼠实验模型	(117)
第三节	异种猪胸腺移植小鼠的免疫力重建	(118)
第四节	移植异种供者胸腺诱导特异移植免疫耐受	(121)
第五节	小鼠胸腺细胞在猪胸腺移植植物中的阴性及阳性选择	(121)
第六节	异种胸腺移植的大动物模型	(123)
第七节	猪胸腺诱导的人 T 细胞对异种抗原的免疫耐受	(124)
第八节	异种胸腺移植后的自身免疫性疾病	(124)
第九章	骨髓嵌合体诱导移植免疫耐受	(130)
第一节	无毒性的受者预处理方案诱导混合同种异体骨髓嵌合体	(130)
第二节	低毒性的受者预处理方案诱导混合异种骨髓嵌合体	(133)
第三节	在免疫耐受小鼠中异种嵌合体的消失	(134)
第十章	MHC 及其肽类物质诱导移植免疫耐受	(140)
第一节	应用转染的异体 MHC 分子诱导移植免疫耐受	(141)
第二节	应用 MHC - I 类分子及其合成肽诱导移植免疫耐受	(142)
第三节	组织特异表达异体 MHC - I 类分子转基因动物与外周免疫耐受	(146)
第四节	MHC - II 类肽诱导移植免疫耐受	(146)
第五节	MHC - II 基因转染诱导同种异体猪器官移植免疫耐受	(148)
第十一章	抗 CD4 和 CD8 单克隆抗体诱导移植免疫耐受	(151)
第一节	自身免疫耐受	(151)

第二节	抗 CD4 和 CD8 单克隆抗体诱导移植免疫耐受	(152)
第三节	抗 CD4 和 CD8 单克隆抗体诱导移植免疫耐受的机制	(153)
第四节	交叉免疫诱导免疫耐受	(159)
第五节	T 细胞竞争机制与免疫耐受	(160)
第十二章	阻断协同刺激信号诱导 T 细胞移植免疫耐受	(165)
第一节	协同刺激信号在 T 细胞活化中的作用	(166)
第二节	阻断 CD28 协同刺激信号诱导 T 细胞移植免疫耐受	(168)
第三节	阻断 CD40/CD40L 途径诱导 T 细胞移植免疫耐受	(174)
第四节	阻断 LFA-1/ICAM-1 通路诱导移植免疫耐受	(178)
第五节	阻断 CD2/CD58 通路诱导移植免疫耐受	(179)
第六节	激活 PD-1 抑制性信号诱导 T 细胞免疫耐受	(180)
第七节	BTLA 免疫抑制信号在免疫应答与免疫耐受中的作用	(184)
第十三章	免疫抑制药物诱导移植免疫耐受	(191)
第一节	免疫抑制药物	(191)
第二节	移植免疫耐受	(196)
第三节	免疫抑制药物在诱导移植免疫耐受中的作用	(197)
第十四章	输血诱导移植免疫耐受	(201)
第一节	输血诱导移植免疫耐受的动物实验及其发生机制	(201)
第二节	输血对临床器官移植免疫排斥反应的影响	(202)
第十五章	口服抗原诱导移植免疫耐受	(205)
第一节	口服抗原所致免疫耐受的可能机制	(205)
第二节	口服抗原的代谢与递呈	(207)
第三节	抗原剂量免疫反应的影响	(210)
第四节	口服抗原诱导的移植免疫耐受	(211)
第十六章	基因工程在克服移植免疫排斥及诱导免疫耐受中的应用	(214)
第一节	应用于基因治疗的载体	(214)
第二节	用于基因治疗的靶分子	(216)
第三节	适宜基因治疗诱导免疫耐受的靶器官或组织	(219)
第四节	基因治疗克服移植免疫排斥反应的优点	(220)
第十七章	超敏受者的移植免疫排斥与 B 细胞免疫耐受	(225)
第一节	抗体在器官移植免疫排斥中的作用	(225)
第二节	体液排斥反应的治疗方法	(226)
第三节	诱导 B 细胞免疫耐受克服体液排斥反应	(227)

第十八章	NK 细胞免疫耐受的诱导	(231)
第一节	NK 细胞的表型及功能特性	(231)
第二节	NK 细胞的“自身缺失”假说	(233)
第三节	NK 细胞在实质性异种器官移植中的排斥作用	(234)
第四节	诱导受者 NK 细胞对供者抗原的特异免疫耐受	(236)
第十九章	肝脏移植与移植免疫耐受	(240)
第一节	肝脏移植免疫耐受现象	(240)
第二节	肝脏移植免疫耐受发生的机制	(240)
第三节	免疫抑制剂对移植免疫耐受的抑制作用	(243)
第二十章	诱导胰岛移植免疫耐受	(247)
第二十一章	母亲与胎儿同种移植免疫耐受成功的例证	(253)
第一节	胎儿母体免疫耐受的假说	(253)
第二节	与母胎免疫耐受有关的分子与细胞因子	(254)
第三节	子宫 NK 细胞在母体对胎儿免疫耐受中的作用	(259)
第四节	NKT 细胞与胚胎流产	(260)
第五节	抑制性巨噬细胞与妊娠免疫耐受	(260)
第二十二章	非人类的灵长类动物及大动物的移植免疫耐受	(264)
第一节	毒素结合的抗 CD3 单克隆抗体诱导的移植免疫耐受	(264)
第二节	阻断共刺激信号对移植免疫排斥反应的抑制作用	(266)
第三节	嵌合体与移植免疫耐受的诱导	(267)
第四节	短期高剂量环孢霉素 A 治疗与移植免疫耐受的诱导	(268)
第二十三章	临床移植免疫耐受尝试	(273)
第一节	临床输注供者骨髓细胞诱导移植免疫耐受	(273)
第二节	临床应用 HLA - B2702. 75 - 84 肽诱导移植免疫耐受的初步尝试	(274)
第三节	美国免疫耐受网络与临床移植免疫耐受诱导试验	(275)
第四节	移植免疫耐受临床应用的主要障碍	(275)
附录 (一)	CD 分子汇总	(280)
附录 (二)	常用移植免疫英文缩写	(295)

第一章 免疫应答与免疫耐受基础理论

为了有助于理解以后各章介绍的移植免疫耐受诱导方案及免疫耐受发生的机制,本章将简要地叙述免疫应答与免疫耐受发展的一般过程及免疫调节机制。

第一节 免疫应答

免疫系统最基本的生物学功能是识别自身与非自身的抗原分子,并对其产生相应的应答,以维持机体内环境的相对稳定及免遭外源性抗原的侵害。其主要包括以下三方面基本功能:①免疫防御 (immunologic defence):是针对外来抗原异物的一种免疫保护作用,在抗感染免疫中起重要作用。②免疫自稳 (immunologic homeostasis):是免疫系统内部自控调节以维持免疫功能在生理范围内相对稳定的机制。③免疫监视 (immunologic surveillance):是识别、清除体内不断发生突变、畸变细胞的功能,在正常生理条件下,以此维系体内环境的相对稳定性,对机体起保护作用。

免疫应答 (immune response, IR)是指机体的免疫细胞对抗原分子的识别、活化、增殖、分化、失去活性潜能及细胞死亡,并表现出一定生物学效应的全过程。免疫细胞在免疫应答过程中将发生一系列的形态、生化及功能等方面的变化。

一、免疫应答类型

(一) 特异性与非特异性免疫应答

根据免疫应答生物效应是否具有特异性,免疫应答分为特异性 (specific) 与非特异性 (nonspecific) 免疫应答。

1. 特异性免疫应答 指抗原刺激相应的 T 细胞、B 细胞而发生的免疫反应。它具有以下特点:免疫应答的发生需经历诱导期、活化增殖期及效应期,该类应答具有针对某一抗原的特异性、记忆性、耐受性、转移性和极其敏感性。

特异性免疫应答分体液免疫 (humoral immunity) 及细胞免疫 (cellular immunity) 两类反应。前者指抗原刺激 B 细胞产生抗体而发生的生物效应;后者指抗原刺激 T 细胞产生细胞因子及细胞毒作用的免疫反应。

2. 非特异性免疫应答 指由吞噬细胞和杀伤细胞通过非抗原受体 [如 Fc 受体 Fc receptor (FcR)、complement receptor (CR)] 识别、杀伤和吞噬异物的过程,是先天具有的。其表现为局部炎症反应及全身性反应,如发热、急性时相蛋白和热休克蛋白升高等,特点包括:①无选择性地清除各种病原体或异物;②应答迅速,在炎症早期即迅速达到反应高峰,不需要致敏即可发挥功能;③参与启动和协同特异性免疫应答。

单核-吞噬细胞系统和淋巴细胞系统的相互协同作用是特异性免疫应答产生的物质基础,而外周淋巴器官,特别是淋巴结和脾脏则是免疫应答产生的主要场所。抗原进入体内通过淋巴循环进入引流的淋巴结,被巨噬细胞、树突细胞捕获,通过表面受体 [如 FcR、

complement 3 Receptor (C3R)] 将抗原直接呈递给 B 细胞, 或者经过加工处理后提呈给 T 细胞。进入血流的抗原主要被脾脏抗原提呈细胞所捕捉而引发免疫应答。

(二) 正应答、负应答与活化性细胞死亡

按免疫细胞的应答结果, 免疫应答可分为正应答 (即通常的免疫应答)、负应答 (即无能应答) 及活化性细胞死亡。

1. 正应答 指 T 细胞或 B 细胞接受抗原 (antigen, Ag) 刺激后活化、增殖、分化成为效应细胞或记忆细胞的过程, 即我们通常所说的免疫应答。

2. 负应答 又称无能应答 (anergy), 指受到抗原刺激的免疫活性细胞只停止在活化阶段, 不发生增殖、分化, 不产生效应细胞或免疫分子的过程。其特点表现为: 无能应答的免疫活性细胞在 IL-2 和其他细胞因子存在的情况下, 能恢复对抗原的正应答。

3. 活化性细胞死亡 (activated cell death) 其又称为细胞凋亡 (apoptosis), 指免疫细胞经活化后发生程序性死亡的过程。该细胞凋亡与抗原的不适度刺激、细胞因子的缺乏或辅助因子 (分子) 的有无等因素有关。

(三) 生理性和病理性免疫应答

根据免疫反应对机体的影响, 免疫应答又分为生理性和病理性免疫应答。前者指免疫效应有利于机体的正常运行, 如抗肿瘤、抗感染免疫; 后者则有损于机体, 如自身免疫反应。但是, 有时二者是混在一起、同时发生的, 如由于抗感染免疫应答引起的肾炎。

二、免疫应答过程

免疫应答是由多免疫细胞与分子参与的、多步骤的、连续的复杂过程, 分为 B 细胞介导的体液免疫应答和 T 细胞介导的细胞免疫应答。为了便于理解, 人们通常将免疫应答分为 3 个阶段: ①免疫应答启动阶段 (initial stage): 即抗原呈递和识别阶段 (antigen presenting and recognition stage), 指 T 细胞或 B 细胞与抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 相互作用及识别抗原的过程。②诱导阶段 (induce stage): 即免疫细胞活化、增殖和分化阶段 (activation, proliferation and differentiation stage), 指抗原特异性淋巴细胞的增殖分化等活化诱导过程。③效应阶段 (effective stage): 是效应性免疫细胞和免疫分子发挥实际生物效能的过程。

(一) 免疫应答起始阶段

免疫应答起始阶段包括抗原在体内的分布、定位; 被抗原提呈细胞捕获、加工以及提呈给抗原特异性淋巴细胞的过程。

1. 抗原在体内的分布和定位 抗原是启动免疫应答的“引火器”, 没有抗原, 免疫应答就不会发生。因此, 抗原在体内的动向和作用对免疫应答的发生和发展具有决定性的作用。

抗原进入体内经淋巴管和血管迅速运行至全身, 其中绝大部分被吞噬细胞分解清除, 只有少部分存留于淋巴组织中诱导免疫应答。静脉注入的抗原局限在骨髓、肝和脾的淋巴组织中; 经腹腔注入的抗原局限在大网膜的淋巴组织中; 皮下注入的抗原则局限在局部引流的淋巴结中。抗原在淋巴结中主要存留于髓质和淋巴滤泡, 在脾脏中主要位于边缘区和淋巴滤泡。

2. 抗原的提呈 抗原提呈细胞对抗原无特异性识别能力, 除随机捕获接触到的抗原

外,也可通过胞膜上的受体($\text{Fc}\gamma\text{R}$ 、 C3bR)捕捉抗原并摄入细胞内。树突细胞和巨噬细胞在抗原处理、提呈方面具有重要的意义。例如巨噬细胞(macrophage, $\text{M}\phi$)具有提呈抗原、分泌细胞因子、抗肿瘤、抗微生物感染的效应,在免疫应答中起中心环节的作用(图1-1)。

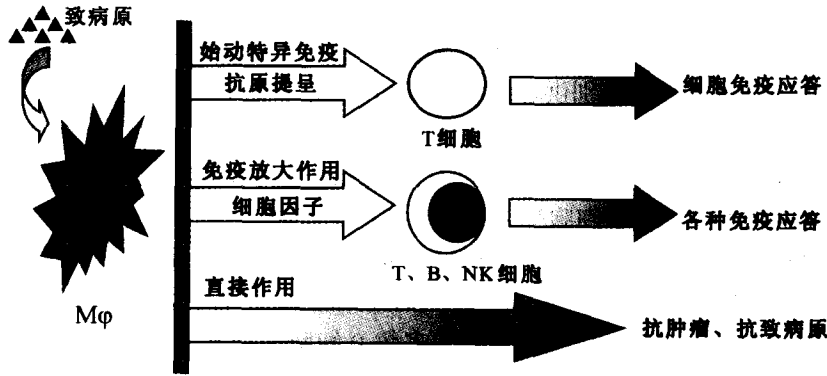


图1-1 巨噬细胞在免疫反应中的作用

(1) 抗原提呈给 CD4^+ T细胞: CD4^+ T细胞不能直接识别游离抗原,只能识别主要组织相容性抗原(major histocompatibility complex II, $\text{MHC}-\text{II}$) II类分子结合的抗原多肽。外源性抗原经抗原提呈细胞吞噬(phagocytosis)、内吞(endocytosis)或胞饮(pinocytosis)进入胞内,使抗原内化形成吞噬体(phagosome),后者与溶酶体融合为吞噬溶酶体(phagolysosome)。抗原在酸性囊泡内被酶不断水解成多肽片段,其中仅一部分多肽可选择性地与内质网合成的 $\text{MHC}-\text{II}$ 类分子结合,其复合物运输到高尔基体膜表面;未与 $\text{MHC}-\text{II}$ 类分子结合的多肽,则进一步水解成无抗原性的小分子。

B细胞表面通过其抗原受体结合抗原,然后细胞膜将抗原和受体内存入细胞内,经降解后与其胞内 $\text{MHC}-\text{II}$ 类分子结合,并转运到细胞表面,以便更有效刺激 CD4^+ T细胞。在抗原低浓度时,因B细胞有浓集特异抗原的能力;再次免疫应答时因记忆B细胞有高亲和力的B细胞受体(B cell receptor, BCR)和丰富的 $\text{MHC}-\text{II}$ 类分子表达,故其在抗原低浓度及记忆免疫过程中的抗原提呈能力均明显强于巨噬细胞。

(2) 内源性抗原提呈:内源性抗原提呈指细胞内自身合成的抗原,如自身抗原、肿瘤抗原、病毒等,与 $\text{MHC}-\text{I}$ 类分子结合、呈递给 CD8^+ T细胞的过程。

内源性抗原被蛋白酶体(proteasome)摄取并酶解成多肽。该多肽与内质网中合成的 $\text{MHC}-\text{I}$ 类分子结合,所形成的多肽- $\text{MHC}-\text{I}$ 类分子复合物被高尔基体转运至细胞表面,供 CD8^+ T细胞的T细胞受体(T cell receptor, TCR)识别。

(3) T细胞对抗原的识别及其MHC限制性:不同的T细胞亚群对MHC的限制性不同。

① $\text{TCR}\alpha\beta^+$ T细胞对抗原的识别及其MHC的限制性: CD4^+ $\text{TCR}\alpha\beta^+$ T细胞在识别MHC沟槽中12~20个氨基酸多肽抗原的同时,还要识别自身 $\text{MHC}-\text{II}$ 类分子的 α 螺旋结构,即同种异型抗原表位部分; CD8^+ T细胞识别 $\text{MHC}-\text{I}$ 类分子抗原沟槽中8~10个氨基酸多肽抗原以及边缘的 α 螺旋结构,此为T细胞的双识别。 $\text{TCR}\alpha\beta^+$ T细胞对抗原及其相应MHC的双识别,即 CD4^+ T细胞识别抗原多肽- $\text{MHC}-\text{II}$ 类分子复合物及 CD8^+ T细胞识别抗

原多肽-MHC-I类分子复合物,称为T细胞识别抗原的MHC限制性。T细胞只能识别自身MHC而非异己MHC分子提呈的抗原。②TCR $\gamma\delta^+$ T细胞对抗原的识别及其MHC-I类分子的限制性:该类细胞有两种类型,即CD4 $^-$ CD8 $^-$ T细胞及CD4 $^-$ CD8 $^+$ T细胞。其中,至少CD8 $^+$ 类型的T细胞在识别简单多肽、多糖和类脂抗原时,受MHC-I类样分子(包括CD1分子)的限制。

这里需指出,T细胞识别抗原的MHC限制性是一个相对的概念。在同种异体移植免疫中,受者T细胞可以直接识别供者抗原提呈细胞MHC分子提呈的抗原。该抗原识别途径在器官移植免疫排斥中起十分重要的作用。

(4)外源性抗原提呈给B细胞:抗原提呈细胞通过其表面非抗原受体(Fc受体、C3受体等)捕捉和浓缩抗原。B细胞受体则识别抗原决定簇。

B细胞识别的抗原可分为:①I型胸腺非依赖性抗原(thymus-independent antigen, TI-Ag 1):细菌的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和多聚鞭毛素属于TI-1抗原。这类抗原在高浓度时与丝裂原受体结合,可激活大多数B细胞,是B细胞的多克隆激活剂,与B细胞上Smig超变区的特异性无关。在低浓度情况下,TI-1抗原则无多克隆激活作用,但可被B细胞表面抗原受体所识别,并将它们被动聚集在B细胞的表面而激活B细胞。②II型胸腺非依赖性抗原(TI-Ag 2):肺炎球菌多糖及D-氨基酸聚合物等属于T-2I抗原,具有呈线状排列的高度重复的决定簇。其在体内不易被降解,能持续吸附于巨噬细胞表面,并能与B细胞抗原受体交联,形成“帽状”,从而触发活化信号,使B细胞活化。③胸腺依赖性抗原(thymus-dependent antigen, TD-Ag):B细胞对TD抗原的识别需要巨噬细胞和辅助性T细胞(helper T cell, Th)参与。经过巨噬细胞对抗原的摄取、处理,所提呈的抗原片段既有载体决定簇,又有半抗原决定簇。Th细胞识别载体,B细胞识别半抗原,形成所谓的“抗原桥”。巨噬细胞和Th细胞与B细胞相互作用,将抗原信息传递给B细胞。

(5)免疫细胞活化的复合信号刺激:特异的免疫活性细胞需要两个或两个以上的信号刺激才能使其活化并发挥生物效应。该刺激信号包括以下三类:①T细胞或B细胞受体提供第一信号,该信号使T细胞、B细胞应答表现特异性。②抗原提呈细胞与T细胞、B细胞与T细胞之间协同刺激分子的配对作用为第二信号,如MHC-II类与CD4、MHC-I类与CD8、B7(CD80、CD86)与CD28或CTLA-4和LFA-3(CD58)与LFA-2(CD2)、ICAM-1(CD54)与LFA-1(CD11a/CD18)、CD40与CD40配体(表1-1)。③细胞因子与表达于T细胞、B细胞表面的受体之间的作用提供第三信号。

表1-1 部分T细胞与抗原提呈细胞的辅助分子

T 细胞	APC
TCR/CD3 与 CD4 或 CD8	MHC-II 或 I
CD28/CTLA4	B7-1、-2 (CD80、CD86)
LAF-1 (CD18)	ICAM-1 (CD54)
CD40L	CD40

在三类信号协同作用下,T细胞和B细胞才能完全被活化进入细胞增殖和分化阶段。

如果只有第一信号, T 细胞虽也发生 Ca^{2+} 增高、表达 IL-2 受体等变化, 但不发生增殖反应, 也不产生细胞因子, 反而诱导 T 细胞特异性无能应答状态, 即免疫耐受。因此, 有人提出淋巴细胞活化的双信号 (dual signals) 学说来强调第一信号和第二信号的重要性。

(二) 免疫应答的诱导阶段

免疫应答的诱导阶段主要包括淋巴细胞识别抗原后所发生的活化、增殖和分化为效应细胞的过程。T 细胞增殖、分化为淋巴母细胞, 最终成为致敏的效应 T 细胞; B 细胞增殖、分化为浆细胞, 合成和分泌抗体; 其中部分 T 细胞与 B 细胞分化为记忆细胞。该阶段是由多细胞及多细胞因子共同参与相互协作来完成的, 是免疫应答的一个放大过程。

1. T 细胞的活化、增殖及分化 抗原、协同刺激分子和巨噬细胞分泌的细胞因子 (如白细胞介素-1, interleukin-1, IL-1), 与 T 细胞膜上的相应受体和配体结合。表达于 T 细胞表面的 CD3 ϵ 链、CD4 或 CD8 分子、CD28 分子等与其配体结合后, 将分别激活与它们偶联的不同家族的蛋白酪氨酸激酶 (protein tyrosine kinases, PTK), 如 ZAP-70 (与 CD3 ϵ 链相邻)、fyn (与 CD3 γ 、 ϵ 链相邻) 和 LCK (与 CD4 或 CD8 相邻), 进而启动细胞内的酶联反应, 依次激活磷脂酶 C (phospholipidase C, PLC)、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)、JNK 蛋白激酶以及 Ca^{2+} 流入, 产生进入细胞核的转录因子, 促进相应的基因转录及表达而使 T 细胞活化。

位于胞膜的磷脂酰肌醇二磷酸 (phosphatidylinositol diphosphate, PIP₂) 在 PLC 的作用下, 分解为二酰基甘油 (diacylglycerol, DAG) 和三磷酸肌醇 (inositol triphosphate, IP₃), 两者即为脂膜的第二信使。DAG 引起 PKC 激活, IP₃ 引起膜 Ca^{2+} 通道开放和内质网钙释放, 导致胞质内 Ca^{2+} 增高。PKC 激活和 Ca^{2+} 的升高则为胞内第二信使。

转录因子 (又称核因子, DNA 激活蛋白) 主要包括活化 T 细胞的核因子 (nuclear factor of activated T cells, NF-AT) 和激活蛋白 1 (activator protein 1, AP1)。它们能启动 IL-2 基因的转录, 而 IL-2 细胞因子是促进 T 细胞增殖中最为重要的细胞因子。

CD8⁺ T 细胞除了需要抗原刺激信号外, 还必须有 CD4⁺ T 细胞提供的细胞因子 (如 IL-2、IL-4、IL-12 和 IFN- γ) 和巨噬细胞分泌的 IL-1、IL-6 和 IL-7 等细胞因子参与。这些细胞因子信号相互协同作用的结果使 CD8⁺ T 细胞增殖、分化和成熟为杀伤性效应 T 细胞。

静止的 Th 细胞 (G_0 期) 在识别抗原提呈细胞提呈的抗原后, 其细胞表面即表达 IL-1 受体 (IL-1R), 成为诱导性 T 细胞 (inducer T, Ti), 并接受巨噬细胞产生的 IL-1 信号而活化, 继之表达白细胞介素-2 受体 (IL-2 receptor, IL-2R), 成为活化的 Th 细胞。当 IL-2R 与 IL-2 相结合, T 细胞即进入 DNA 合成期并母细胞化, 表现为胞体变大, 胞浆增多, 染色质疏松, 出现明显的核仁、微管和多聚核糖体形成; 大分子物质合成与分泌增加, 并增殖、分化成效应性 Th 细胞, 分泌一系列细胞因子, 包括 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9 以及 IFN- γ 等, 进而发挥 Th 细胞的辅助效应。其中 IL-2 最为重要, 是促进 T 细胞增殖分化的重要介质。在 IL-2 作用下, 增殖的 T 细胞大多数最终分化为致敏的 T 细胞或效应 T 细胞, 如细胞毒性 T 细胞 (cytotoxic T cell, Tc) 和 Th 细胞, 并产生细胞免疫效应。其中部分 T 细胞中途停止增殖, 成为记忆性 T 细胞 (T memory cell, Tm)。

2. 胸腺依赖性抗原对 B 细胞的活化 胸腺依赖性抗原诱导 B 细胞的活化也需要双信号刺激。第一信号为连接 T 细胞、B 细胞的“抗原桥”, 即 Th 细胞识别抗原提呈细胞提呈

的抗原载体决定簇和 B 细胞识别半抗原决定簇；第二信号由辅助刺激分子（如 CD40 等）以及活化的 Th 细胞释放的 IL-4 或巨噬细胞释放的 IL-1、细胞因子受体等提供。在双信号作用下，抗原与 B 细胞表面 SmIg 交联，使膜 PIP₂ 水解，产生作为第二信使的 DAG 和 IP₃，前者活化蛋白激酶 C，后者增加胞内游离 Ca²⁺ 浓度，继而活化相应蛋白激酶。蛋白激酶的持续活化是引起 B 细胞内多种蛋白质和酶发生磷酸化的必要条件，由此增加 DNA 复制，使 B 细胞由 G₀ 期进入 G₁ 期。活化的 B 细胞表面依次表达 IL-2、IL-5 和 IL-6 受体，分别与活化 T 细胞释放的相应配体结合，继而 B 细胞进入 S 期，开始增殖。B 细胞经过约 6~10 个细胞分裂周期，便分化成熟为浆细胞，合成并分泌免疫球蛋白。部分 B 细胞分化为记忆性 B 细胞（B memory cell, Bm）。

（三）免疫应答的效应阶段

免疫应答的效应阶段为免疫应答的实际实施阶段，主要包括致敏的效应细胞及效应分子对靶细胞或抗原的作用，分为 T 细胞介导的细胞免疫应答及 B 细胞介导的体液免疫应答过程。

三、细胞免疫应答效应

活化成熟的 T 细胞对靶细胞或抗原的生物效应主要由两类 T 细胞亚群共同或单独来实现。一类为迟发型超敏反应（delayed type hypersensitivity, DTH）T 细胞（TDTH），通过释放多种不同细胞因子，引起以单核细胞浸润为主的炎症反应。另一类为由细胞毒性 T 细胞（主要为 CD8⁺ T 细胞，少部分为 CD4⁺ T 细胞）介导的特异性杀伤靶细胞的作用。

（一）TDTH 细胞介导的炎症反应

TDTH 主要属于 CD4⁺ T 细胞亚群，少部分为 CD8⁺ T 细胞，在体内以非活化的前体细胞（pTD）形式存在。当其表面抗原受体与靶细胞的抗原结合，并在 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-9 作用下分化为效应性 TDTH 细胞。TDTH 的免疫效应是通过释放多种具有不同生物活性的细胞因子来实现的，主要引起以单核细胞浸润为主的局部炎症反应。此炎症反应出现在抗原刺激后 2~3 天。TDTH 细胞识别靶细胞受 MHC-II 类分子的限制，具有特异性。由于细胞因子作用的广谱性及多功能性，淋巴因子介导的效应多为非特异的。以下介绍激活的 TDTH 细胞在应答过程中释放的主要细胞因子：

（1）皮肤反应因子（skin reactive factor, SRF）：又称炎症因子（inflammatory factor），可增强血管通透性，使炎症细胞浸润。

（2）巨噬细胞趋化因子（macrophage chemotactic factor, MCF）：可吸引巨噬细胞向有抗原的部位移动，有利于巨噬细胞发挥其功能。

（3）巨噬细胞移动抑制因子（macrophage migration inhibition factor, MIF）：属于糖蛋白，分子量 20~40kDa。在炎症反应或迟发型超敏反应时，MIF 可使局部巨噬细胞停留或聚集在炎症发生的部位，从而增强吞噬杀菌的作用。

（4）巨噬细胞活化因子（macrophage activating factor, MAF）：能激活巨噬细胞内的酶系统，增加溶酶体的形成，促进巨噬细胞的氧化代谢，增强对诱发迟发型超敏反应的致病因子的杀伤能力。

（5）趋化因子（chemotactic factor）：这是一类作用于粒细胞的淋巴因子，分子量约 4~60kDa，包括作用于中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的白细胞趋化因子

(LCF), 以及白细胞移动抑制因子 (LIF) 等。

(6) 淋巴细胞生长因子 (lymphocyte growth factor): 泛指能诱导淋巴细胞 DNA 合成的生长因子, 如 IL-2 可促进 Th 和 Tc 细胞亚群增殖、分化和成熟, IL-4 和 IL-5 可作用于 B 细胞使之分裂增殖。

(7) 淋巴毒素 (lymphotoxin, LT): 又称肿瘤坏死因子- β (tumor necrosis factor- β , TNF- β), 分子量为 80~90kDa。LT 对除淋巴细胞以外的其他靶细胞具有缓慢的细胞毒作用。体外试验证明, 淋巴毒素可以杀伤某些肿瘤细胞, 抑制细胞分裂, 还能使之变性坏死。

(8) 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ): 有较强的免疫调节功能, 具有抗病毒和抗细胞分裂的作用。

(9) 转移因子 (transfer factor, TF): 是存在于免疫淋巴细胞内的一种可透析物质, 可用裂解细胞的方法提取。其可将供者的特异性细胞免疫转移给受者, 使后者也表现出相同的特异免疫。

除上述细胞因子外, 活化的 T 细胞还可分泌集落刺激因子 (clonal stimulating factor, CSF)、组胺释放因子、促有丝分裂因子 (mitogenic factor, MF) 等。但是, 在 T 细胞释放的众多因子中, 尤以作用于巨噬细胞的因子如巨噬细胞趋化因子 (MCF)、巨噬细胞激活因子 (MAF) 等更为重要, 它们能使巨噬细胞大量聚集、激活并不断吸引血液中的单核细胞和其他细胞 (如多形核白细胞等) 移动至反应局部, 其他因子则起着提高免疫效应的放大作用。

(二) CTL 介导的细胞毒作用

除少部分 CD8⁺ T 细胞分泌淋巴因子介导免疫应答外, 大部分 CD8⁺ T 细胞以细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxicity T lymphocyte, CTL) 的形式直接杀伤靶细胞, 发挥免疫效应。

CTL 通常在体内以非活化的前体细胞 (pTc) 形式存在。只有当表面的抗原受体与靶细胞的抗原结合, 并在 IL-2、IL-4 和 IL-5 等细胞因子作用下, pTc 才能分化为具有杀伤活性的效应性 Tc 细胞。Tc 细胞和靶细胞之间的相互作用具有 MHC-I 类分子的限制性。

活化的 Tc 细胞首先通过 T 细胞抗原受体与靶细胞上抗原-MHC-I 类复合体结合, 同时在细胞粘附分子配对的参与下, Tc 细胞粘附在靶细胞上, 此过程只需作用数分钟。其后, CTL 的胞质嗜天青蓝颗粒向靶细胞方向集中, 释放于细胞外, 靶细胞膜被打成许多小孔而发生不可逆死亡过程。

穿孔素 (perforin) 是导致靶细胞溶解的重要介质。穿孔素以其前体形式 (单体) 存在于 Tc 的胞浆颗粒中。当 Tc 受靶细胞上的抗原刺激和 IL-2 等细胞因子的作用后, 导致细胞内 Ca^{2+} 浓度升高, 促使颗粒降解而释放单体形式的穿孔素于细胞间隙。穿孔素在 Ca^{2+} 的存在下迅速附着于靶细胞膜, 嵌入细胞膜的双层磷脂中, 不断形成不同孔径的跨膜孔道, 从而导致靶细胞膜去极化, 使细胞内水和电解质失衡而致靶细胞溶解。

此外, CTL 诱导靶细胞表达 Fas 抗原。Fas 抗原与 CTL 表面的 Fas-配体 (Fas-ligand, FasL) 结合, 可引起靶细胞内源性 DNA 内切酶活化, 使核小体断裂, 最终致细胞死亡, 即为细胞凋亡 (apoptosis), 又称程序性细胞死亡 (programmed cell death, PCD)。其特点为: 在形态上可见胞膜起泡, 胞质紧缩, 核染色质凝聚, 细胞碎裂或膜包绕的凋亡小体 (apoptotic body); 细胞凋亡的生化变化表现为 DNA 在核小体之间断裂成以 180~200bp 为最

小单位的多重 DNA 片段,其 DNA 电泳呈“梯状”形式分布。

(三) 细胞免疫应答的特点及生物学意义

1. 细胞免疫应答的特点 其包括:①发生较缓慢,一般需 1~3 天。②局限于抗原所在部位。③组织学变化表现为以单核细胞浸润为主的炎症反应,其中浸润细胞以 T 细胞为主,但巨噬细胞、NK 细胞以及抗体介导的 K 细胞也参与协同作用。④致敏的淋巴细胞和巨噬细胞能被动转移给无免疫力受者,使其获得免疫力,此即为过继免疫 (adoptive immunity)。该过程主要由记忆性 T 细胞介导。

2. T 细胞介导的细胞免疫应答的生物学意义 T 细胞介导的免疫应答反应具有多种生物学效应,除辅助 B 细胞产生体液免疫反应外,在抗感染、抗肿瘤及急性移植免疫排斥反应中均起十分重要的作用。细胞免疫反应异常可导致临床上的迟发型超敏反应、自身免疫性疾病、肿瘤及免疫缺陷性疾病。

(1) 抗感染: Tc 和 TDTH 细胞介导的抗感染免疫主要是针对胞内感染的病原体,包括:①抗细菌感染 (如结核杆菌、麻风杆菌、布鲁菌以及沙门菌感染等);②抗病毒感染;③抗真菌感染 (如白色念珠菌、新型隐球菌、孢子菌及组织胞浆菌等);④抗寄生虫感染 (如原虫感染等)。

(2) 抗肿瘤: 免疫机制包括:①Tc 细胞的特异性杀伤肿瘤;②巨噬细胞、K 细胞、NK 细胞的 ADCC 杀伤肿瘤;③淋巴因子 (如 LT 等) 溶解杀伤肿瘤细胞。

(3) 免疫病理损伤: T 细胞介导的免疫效应引起迟发型超敏反应,即 IV 型超敏反应及某些自身免疫病等。在同种异体骨髓移植中,据 HLA 配型的差异, T 细胞介导的细胞免疫可引起不同程度的移植物抗宿主反应。

(4) 急性移植免疫排斥反应: T 细胞介导的细胞免疫反应在同种异体及异种器官移植排斥反应中起十分重要的作用。T 细胞缺陷的小鼠通常缺乏急性排斥同种异体移植物的能力。

四、体液免疫应答效应

如上所述,胸腺非依赖性抗原引起的体液免疫应答不需要 Th 细胞参与,绝大多数也不需要巨噬细胞参与,且产生 IgM 型抗体。此体液免疫无免疫记忆性,但该胸腺非依赖性 (TI) 抗原在体内代谢慢,可较长时间刺激机体产生抗体应答。下面介绍 TD 抗原引起的体液免疫应答的特点。

1. 胸腺依赖性抗原引起的体液免疫应答 胸腺依赖性抗原引起的体液免疫应答反应需要巨噬细胞和 T 细胞的直接与间接参与。当抗原与 B 细胞受体结合后,在巨噬细胞和 T 细胞分泌的细胞因子及其表面与 B 细胞辅助分子结合的配体等共同作用下,大部分 B 细胞活化为浆细胞,产生 IgM,继而产生 IgG 或其他类型免疫球蛋白 (Ig)。部分 B 细胞在活化过程中则变为记忆性 B 细胞。记忆性 B 细胞具有高亲和性的抗原受体,当相同抗原再次刺激可出现加速的、高强度的回忆性体液免疫应答反应。

2. 抗体产生在个体发育中的规律 免疫球蛋白在个体发育中最先出现的是 IgM,在胚胎晚期胎儿已有 IgM 合成。IgG 可通过胎盘,由母体提供给胎儿,所以新生儿 IgG 含量最高。出生后 3 个月才开始自己合成 IgG, IgA 则于出生 4~6 月后才能合成。

3. 初次免疫应答与再次免疫应答