

贵州省毕节地区医院 主编

# 单克隆抗体研究和应用

DANKELONG

KANGTI

YANJIU

HE

YINGYONG



贵州省毕节地区卫生局 印

4

99

# 绪 言

自从英国科学家 Kohler和Milstein 于1975年在体细胞杂交技术的基础上发明淋巴细胞杂交瘤技术以来,在短短几年时间里,迅速地发展成为涉及免疫学的医学、细胞学和分子生物学的一场革命。他们将小鼠的骨髓瘤细胞与用绵羊红细胞免疫的小鼠脾细胞杂交,产生的杂交种细胞表现出令人惊异的特性:它即具有亲本脾细胞分泌特异性抗绵羊红细胞单克隆抗体的能力,又具有亲本瘤细胞在体外培养中或作为移植瘤在小鼠体内无限繁衍增殖的特性。目前,除了B淋巴细胞杂交瘤之外,还建立了具有多种功能的T淋巴细胞杂交瘤和T-B细胞杂交瘤,最近还建立了人-人B细胞杂交瘤和T细胞杂交瘤。

单克隆抗体已被用来探测蛋白质的细微结构、激素药物的放射免疫测定、组织相容性检查、肿瘤的定位和分类、利用层析法纯化分子、微生物和寄生虫病、神经化学和胚胎学等。有很大一部分研究工作旨在制作针对人淋巴细胞亚群表面分化抗原的单克隆抗体,来鉴定协助T细胞和细胞毒/抑制T细胞,以探测 T-T和T-B 的相互关系;还用以探测了上述细胞在多种疾病的状态和分布。最引人注目的是,单克隆抗体“自动导航”至肿瘤细胞表面或携带放射性同位素或抗癌药物沉淀在肿瘤细胞部位,以杀死肿瘤细胞,而对健康细胞和组织则没有影响,从而使肿瘤的治疗展示了非常光明的前景。

国内不少作者对本专题作了介绍,有的科研单位已着手开展此项研究,并取得了可喜的成果;但从总体看,我国在这方面的研究工作还处于摸索阶段。本书的目的在于将国外最近几年内的研究成果成批地介绍给广大读者,期望对此项工作的开展有所促进。同志们可以根据自己的兴趣和条件,有选择地开展此项研究工作,突破重点,尽快赶超世界先进水平,为我国的四化建设和医药卫生事业做出贡献。本书共收集了文章30篇,其中理论研究15篇,临床研究7篇,方法学研究5篇,文摘2篇和我们自己的文献综述一篇。由于我们掌握的外文资料有限,在选题方面可能有一定的局限性,希望读者提出宝贵意见。

在本书的译校过程中,尽管我们费了很大的精力,力求反映原著的本来面目,但由于我们的水平有限,时间匆促,不妥和错误之处在所难免,望同志们批评指正。

贵州省毕节地区医院 蒋登洲

一九八二年六月

# 目 录

## 文 献 综 述

1. 人 T 淋巴细胞亚群研究的进展..... (1)

## 理 论 研 究

2. 单克隆抗体鉴定的人 T 细胞亚群功能分析 I. B 细胞分化的免疫调节协同性 T-T 相互关系..... (8)
3. 单克隆抗体鉴定的人 T 细胞亚群功能分析 II. 在 TNP 修饰的自身反应性细胞毒性 T 淋巴细胞发生过程中协同性 T-T 的相互关系..... (17)
4. 单克隆抗体鉴定的人 T 细胞亚群功能分析 III. T 细胞亚群产生的协助因子的调节..... (25)
5. 应用单克隆抗体 (HNK-1) 鉴定人类 NK 和 K 细胞的分化抗原..... (33)
6. 抗胸腺细胞单克隆球蛋白的制备, 特性和对灵长类动物的试验..... (39)
7. 针对啮齿动物 yoelii 疟原虫的期特异性、种特异性和交叉反应性抗原的单克隆抗体..... (46)
8. 单克隆抗体鉴定人黑色素瘤抗原表达的克隆变异..... (53)
9. 单克隆抗人 T 淋巴细胞抗体——T 细胞亚群的计数和特性..... (58)
10. 单克隆抗体 OKT-9 识别的人急性淋巴细胞白血病细胞铁传递蛋白受体..... (62)
11. 封闭 E-玫瑰花形成的单克隆抗体鉴定人类 T 淋巴细胞的分化标记..... (65)
12. 用 OKT4 和相关的单克隆抗体测定人诱导 T 细胞独特的表现型..... (75)
13. 针对表达在人 Ia 样抗原亚型上不同决定簇的四种特异性单克隆抗体的血清学和免疫化学特性..... (79)
14. 单克隆抗体和癌..... (85)
15. 用单克隆抗体检测人自然杀伤细胞群体的表现型..... (88)
16. 单克隆 OKT4 和 OKT8 抗体鉴定人脐带血 T 细胞亚群对 B 细胞分化的调节..... (95)

## 临 床 研 究

17. 用异种抗血清和单克隆抗体鉴定 T-CLL 的抗原特性——一种 Ia 阳性, Fc-IgG 阳性, 抑制细胞亚群的 T 细胞系统的证据..... (99)

- 18. T4<sup>+</sup>诱导T细胞功能丧失所致的免疫缺陷…………… (106)
- 19. 皮肤T细胞性淋巴瘤——单克隆抗体鉴定的特性…………… (112)
- 20. 巨细胞病毒性单核细胞增多症 T 淋巴细胞亚群的分析…………… (116)
- 21. 用单克隆抗体鉴定EBV引起的传染性单核细胞增多症免疫调节  
T细胞的特性…………… (120)
- 22. 用抗T细胞单克隆抗体鉴定重症肌无力症的T细胞亚群…………… (123)
- 23. 对急性骨髓性白血病细胞起反应的单克隆抗体…………… (128)

## 方 法 学 研 究

- 24. 用OKT3, PAN单克隆抗体的酶免疫测定法计数人外周T淋巴细胞…………… (133)
- 25. 蛋白A-酶免疫测定法用于杂交瘤的筛选…………… (135)
- 26. 应用酶联免疫吸附试验(ELISA)筛选针对细胞表面抗原的  
杂交瘤抗体…………… (139)
- 27. 对人甲胎蛋白具有特异的单克隆杂交瘤抗体的制备和特性…………… (141)
- 28. 用无血清培养液制备单克隆抗体…………… (144)

## 文 摘

- 29. 针对人T细胞分化抗原的单克隆抗体对流感病毒特异细胞毒性T  
细胞反应的调节…………… (147)
- 30. 单克隆抗体鉴定的人淋巴瘤相关抗原…………… (148)

## 文献综述

### 人T淋巴细胞亚群研究的进展

蒋登洲 综述

在过去几年里,在正常人T细胞亚群的表现型和功能研究方面取得了很大的进展。应用异种抗血清、自身免疫抗体和单克隆抗体将人T细胞分离为许多个亚群,并且探索了这些亚群之间的相互关系以及这些细胞在某些疾病中的状态和分布。尤其是单克隆抗体的广泛的研究和应用为淋巴细胞亚群的分离和鉴定提供了强有力的工具,并展示了光明的前景。

#### 一、异种抗血清鉴定的 $TH_2^+$ 和 $TH_2^-$ 亚群

人胸腺依赖的 $TH_2$ 分化抗原是由经过适当吸收的兔或马抗人T细胞血清鉴定出来的<sup>(1)</sup>。应用荧光活化细胞分离器(FACS)之间接免疫荧光将纯化的T细胞分离为 $TH_2^+$ 和 $TH_2^-$ 亚群。 $TH_2^+$ 亚群占外周血T细胞的20%, $TH_2^-$ 亚群占80%。 $TH_2^+$ 亚群相当于细胞毒/抑制细胞, $TH_2^-$ 亚群相当于协助细胞。 $TH_2^+$ 亚群包含淋巴细胞的溶细胞反应(CML)的大部份杀伤活性,但在混合淋巴细胞培养(MLC)中只有轻微的反应,对可溶性抗原(腮腺炎抗原、PPD和破伤风类毒素)的反应微弱,而 $TH_2^-$ 亚群在CML中只有轻微的杀伤活性,但协助 $TH_2^+$ 细胞毒性细胞的发生。应当强调指出, $TH_2^-$ 细胞对腮腺炎抗原和破伤风类毒素的反应明显地高于未分离的T细胞,说明这种细胞活性受到 $TH_2^+$ 细胞的抑制。由于 $TH_2^+$ 细胞本身不被这些抗原激活,在 $TH_2^-$ 细胞存在的情况下,与上述抗原一起孵育时发生转化,那末,这可能就是由抗原激活的 $TH_2^-$ 细胞诱导的 $TH_2^+$ 细胞所产生的抑制作用。由这种T-T细胞相互之间所引起的抑制作用在小鼠系统是有先例的,被激活的 $Ly_1$ 细胞不能直接充当抑制细胞,但可以通过 $Ly_2s$ 诱发体液免疫的抑制。

Reinherz等<sup>(2)</sup>研究证明,ConA可以激活人外周淋巴细胞,从而抑制自身淋巴细胞在MLC中的反应。然而,这两种亚群都被掺入氚标记胸腺嘧啶的ConA所激活。据观察, $TH_2^+$ 细胞可以早在ConA激活后24小时激发MLC的抑制,但未分离的T细胞需要48小时,提示 $TH_2^-$ 亚群可以调节 $TH_2^+$ 抑制细胞的功能状态。

据证明,杀伤作用最初只限于 $TH_2^+$ 亚群,但由于 $TH_2^-$ 细胞的存在而出现放大作用。这与小鼠 $Ly_1$ 和 $Ly_{23}$ T细胞相类似; $Ly_1$ 细胞担负迟发型超敏反应和 $Ly_{23}$ 杀伤的放大作用,而 $Ly_{23}$ 则担负MLC中的杀伤作用。由于 $Ly_1$ 细胞在MLC中对按MHC I区编码的同种抗原起反应,而 $Ly_{23}$ 细胞对K和D区的决定簇起反应,这对于确定 $TH_2^+$ 和 $TH_2^-$ T细胞对人MHC亚区成分的反应是很有意义的。

## 二、自身免疫抗体分离的T细胞亚群

### (一) JRA<sup>+</sup>和JRA<sup>-</sup>亚群

Strelkauskas等<sup>(3)</sup>证明,某些严重的类风湿性关节炎(JRA)病人的血清含有对不同生物功能的T细胞亚群具有高度特异性的抗体。他们应用这种抗体将T细胞分离成增强B细胞分泌免疫球蛋白(Ig)的JRA<sup>-</sup>亚群(占70%)和不协助Ig合成的JRA<sup>+</sup>亚群(占30%)。当由正常个体分离出的JRA<sup>+</sup>细胞与同一个体纯化的B细胞混合时,空斑形成的数目与单独的B细胞相比是一样的或略低。但是,JRA<sup>-</sup>细胞与B细胞混合时,空斑形成的数目比纯化B细胞多5倍以上。JRA<sup>-</sup>细胞与PHA和同种细胞发生明显的反应,而JRA<sup>+</sup>细胞则与Con A发生很强的反应,但不与PHA或同种细胞发生反应。JRA<sup>+</sup>细胞是否有效地抑制Ig的合成还在积极的研究之中。此外,JRA<sup>+</sup>细胞还能够担负细胞毒性杀伤细胞的发生。据证明,JRA的T细胞自身抗体是暂时性的,仅存在于活动性病人。

Reinherz等<sup>(4)</sup>首先将T细胞分离为TH<sub>2</sub><sup>+</sup>和TH<sub>2</sub><sup>-</sup>亚群,然后,将这些分离的T细胞亚群与JRA血清反应并用间接玫瑰花形成技术计数JRA<sup>+</sup>T细胞。大约40~45%的TH<sub>2</sub><sup>-</sup>亚群表明为JRA<sup>+</sup>,而<5%的TH<sub>2</sub><sup>+</sup>亚群为JRA<sup>+</sup>。用FACS分析证明,JRA<sup>+</sup>细胞不包含TH<sub>2</sub><sup>+</sup>亚群,而JRA<sup>-</sup>细胞则包含全部TH<sub>2</sub><sup>+</sup>T细胞亚群。

Reinherz等的资料提示,人外周T细胞至少有3种不同亚型的表现型,即TH<sub>2</sub><sup>+</sup>JRA<sup>-</sup>、TH<sub>2</sub><sup>-</sup>JRA<sup>+</sup>和TH<sub>2</sub><sup>-</sup>JRA<sup>-</sup>亚群。Strelkauskas等的研究证明,TH<sub>2</sub><sup>-</sup>TRA<sup>+</sup>细胞对体外B细胞产生Ig的免疫调节是非常重要的,并且对B和T细胞功能起反馈调节作用。TH<sub>2</sub><sup>-</sup>JRA<sup>-</sup>亚群对体外B细胞产生Ig提供特殊的协助功能。

### (二) SLE<sup>+</sup>和SLE<sup>-</sup>亚群

Strelkauskas等<sup>(5)</sup>研究证明,某些系统性红斑狼疮(SLE)病人的血清含有可以用来鉴定不同免疫活性的人外周T细胞亚群的抗体。这种抗体与大约20%的正常人T细胞发生反应。功能研究表明,SLE<sup>+</sup>细胞增强B细胞Ig的分泌,但对多细胞株促分裂素、可溶性抗原和同种细胞的增殖反应不明显。而SLE<sup>-</sup>细胞对后者的增殖反应与未分离的T细胞相比要强得多,但不增强B细胞分泌Ig。

应用一系列的分离方法对JRA和SLE血清的研究证明,这些抗体不能鉴定相同的T细胞亚群。重叠的SLE<sup>+</sup>JRA<sup>-</sup>细胞看来是一种对B细胞具有协助活性的独特的人T细胞亚群。相反,SLE<sup>-</sup>JRA<sup>-</sup>细胞对可溶性抗原和同种抗原具有很强的活性,仅占T细胞5~8%的SLE<sup>+</sup>JRA<sup>+</sup>亚群的功能尚未确定。

综上所述,这些独特的亚群特异性抗原和针对它们的抗体的最后解释,对包括SLE在内的种种疾病可能具有重要的治疗作用,在患这些疾病时,抑制、协助或调节细胞的排除可能变为有利于宿主的宿主反应。

### 三、单克隆抗体鉴定的T细胞亚群

虽然异种抗血清和自身抗体为分析T细胞表面分化抗原提供了强有力的武器,但由于所获得的抗体效价太低及吸收后的量有限等原因,限制了它们在临床和科研上的广泛应用。Kohler和Milstein的杂交瘤技术为这一难题提供了一种新的方法。用人T细胞或胸腺细胞免疫的小鼠脾细胞与小鼠骨髓瘤细胞融合而导致的杂交瘤,制备了一系列针对T细胞表面分化抗原的单克隆抗体。这些抗体均不与正常B细胞、无标记细胞和巨噬细胞起反应。Kung等<sup>(6)</sup>发现,由相同融合技术获得的OKT1和OKT2是两种IgG1亚类,并且具有相同的反应类型。然而,OKT3为具有IgG2亚类的抗体,并且,这种抗体还具有明显的补体结合特性(OKT1阴性,OKT3阳性)。OKT1和OKT3与所有人外周血T细胞和5~10%的胸腺细胞发生反应。最近, Van Wauwe等<sup>(7)</sup>报道,OKT3诱发人外周淋巴细胞培养中DNA的合成,是一种强有力的促有丝分裂因子。本文仅简述OKT1、OKT4和OKT5所鉴定的人T细胞各亚群。

#### (一) OKT1<sup>+</sup>和OKT1<sup>-</sup>细胞亚群

Reinherz等<sup>(8)</sup>描述了一种针对人外周T细胞表面分化抗原的单克隆抗体OKT1的制作和特性。免疫荧光技术分析揭示,OKT1与所有外周T细胞发生反应。这种抗体不与≥90%的胸腺细胞和供试的12例T细胞性急性淋巴细胞白血病(T-ALL)病人的肿瘤细胞发生反应。可是,具有成熟T细胞特征的T细胞性慢性淋巴细胞白血病(T-CLL)的肿瘤细胞则与OKT1发生反应。

功能研究证明,OKT1<sup>+</sup>细胞对同种抗原、可溶性抗原和有丝分裂原PHA、ConA产生增殖反应。此外,当把胸腺细胞分离为OKT1<sup>+</sup>和OKT1<sup>-</sup>亚群时,只有OKT1<sup>+</sup>胸腺细胞对MLC有反应,可是,和外周T细胞不同,OKT1<sup>+</sup>和OKT1<sup>-</sup>胸腺细胞对ConA和PIIA都不发生增殖反应。因此,OKT1<sup>+</sup>胸腺细胞在功能上不同于外周血OKT1<sup>+</sup>细胞。这些观察支持关于胸腺OKT1<sup>+</sup>细胞不是混入的外周T细胞,而是代表胸腺内成熟过程中的不同阶段的概念。这样,人胸腺细胞显示出的MLC反应性其实是它在胸腺内分化的最后阶段而获得了OKT1<sup>+</sup>抗原。这些研究证明,这种杂交瘤抗体可以用来检测出现于胸腺内发育晚期T细胞和存在于外周T细胞上的分化抗原。

#### (二) OKT4<sup>+</sup>和OKT4<sup>-</sup>T细胞亚群

Reinherz等<sup>(9)</sup>描述了一种针对人外周T细胞亚群表面抗原的,称为OKT4的单克隆抗体。通过免疫荧光技术揭示,OKT4与大约55~60%的人外周T细胞发生反应。用FACS将纯化的T细胞分离为OKT4<sup>+</sup>和OKT4<sup>-</sup>亚群,继而测定与TH<sub>2</sub>抗体的反应性。OKT4<sup>-</sup>T细胞相当于TH<sub>2</sub><sup>+</sup>亚群。OKT4<sup>+</sup>和OKT4<sup>-</sup>细胞都对ConA、同种抗原和PIIA产生增殖反应,虽然OKT4<sup>+</sup>细胞对PIIA的反应更为明显。OKT4<sup>+</sup>细胞与可溶性抗原产生最适宜的反应,而OKT4<sup>-</sup>细胞只是在未分离的T细胞用同种抗原致敏之后才具有

细胞毒性。但是,  $OKT4^+$ 和 $OKT4^-$ 细胞在产生最适宜的细胞毒性的致敏期间二者都是需要的。这些资料提示,  $OKT4^+$ 亚群相当于协助细胞,  $OKT4^-$ 亚群相当于细胞毒性效应细胞。在缺乏 $OKT4^+$ 细胞的情况下, 分离的 $OKT4^-$ 细胞在同种抗原激活后只有很小的细胞毒性。这些结果与以前证明的在细胞毒性反应发生时T-T细胞相互关系是一致的。

Reinherz等<sup>(10)</sup>对 $OKT4$ 作了进一步的研究, 探索了 $OKT4^+$ 和 $OKT4^-$ 细胞对T-B细胞分化的诱导能力。结果证实了以前用美洲商陆有丝分裂原(PWM)使B细胞的增殖和分化成浆细胞需要T细胞协助的研究结果。此外, 只有 $OKT4^+$ T细胞对协助自身B细胞的增殖和分化成含有Ig的细胞提供诱导信息。

Reinherz等认为, 借助于自身抗体、异种抗血清和单克隆抗体, 至少可将T细胞离成三个亚群: (1) $TH_2^+$ 亚群, 大约占外周T细胞的20%, 该亚群相当于细胞毒性和抑制细胞; (2) $OKT4^+$ 亚群, 占外周T细胞的一半以上, 相当于T-T相互作用和T-B相互作用的诱导细胞; (3) $JRA^+$ 亚群, 这种亚群不与 $TH_2$ 抗血清发生反应, 是一种反馈调节细胞。 $JRA^+$ 细胞和 $OKT4^+$ 细胞之间的关系尚待确定。

### (三) $OKT5^+$ 和 $OKT5^-$ 亚群

Reinherz等<sup>(11)</sup>描述了一种针对只存在于人少数外周T细胞表面抗原的单克隆抗体 $OKT5$ 的制作和特性。 $OKT5$ 大约与20%的外周T细胞和80%的胸腺细胞起反应。在 $TH_2$ 抗体观察到类似的反应。荧光活化细胞分离技术分析表明,  $OKT5$ 主要与 $TH_2^+$ 亚群起反应, 而不与 $TH_2^-$ 亚群起反应。

功能研究证明,  $OKT5^+$ 亚群对可溶性抗原的反应很弱, 而 $OKT5^-$ 亚群对可溶性抗原引起明显的增殖反应, 其反应性比得上未分离的T细胞。 $OKT5^-$ 细胞对PHA的增殖反应最强, 但 $OKT5^+$ 细胞的反应性低下。 $OKT5^+$ 和 $OKT5^-$ 细胞对ConA和MLC中的同种抗原的反应是相等的。这些研究与以前用 $TH_2$ 异种抗血清研究发现的T细胞的异质性是一致的。

尤其重要的是, 发现大多数细胞毒性和抑制细胞的活性存在于 $OKT5^+$ 亚群。这些资料说明 $TH_2^+$ 和 $OKT5^+$ 亚群的功能是类似的。但应注意如下区别: 第一, 兔抗 $TH_2$ 、马抗 $TH_2$ 和 $OKT5$ 分别与30%、20%和18%的同一个体的外周T细胞发生反应; 第二, 虽然 $OKT5^+$ 和 $TH_2^+$ 细胞在功能上是类似的, 但在 $OKT5^-$ 和 $TH_2^-$ 之间是有区别的。例如, 最小限度的但可再现的抑制受到ConA激活的 $OKT5^-$ 亚群的影响, 但不受激活的 $TH_2^-$ 亚群的影响; 第三, 用兔异种抗血清鉴定的 $TH_2^-$ 亚群对可溶性抗原产生明显的增殖反应, 而马抗血清鉴定的 $TH_2^-$ 和 $OKT5^-$ 增殖反应不强, 但比得上未分离的T细胞。这些研究提示, 不同的抗体分离出相当于细胞毒性/抑制细胞重叠的群体。令人感兴趣的是, 针对人细胞毒、抑制细胞的单克隆抗体可以区别细胞毒性细胞和抑制细胞。

$OKT5$ 单克隆抗体对检测细胞毒性/抑制细胞亚群和对估价人抑制细胞的状态将提供一种有用的方法。



#### 四、人类疾病时免疫调节的畸变

人T细胞包括具有独特功能的不同的亚群。对于自身免疫的稳定来说，效应细胞和调节细胞之间须要保持微妙的平衡。在许多的人类疾病都证明有免疫调节细胞的畸变(aberration)。

##### (一) 人移植物抗宿主病抑制细胞的畸变

Reinherz等<sup>(12)</sup>分析了3例急性和6例慢性骨髓移植后引起的移植物抗宿主病(GVHD)病人。在接受主要组织相容性位点配型相同的同胞兄弟(或姊妹)的骨髓移植的病人,大约50~70%发生GVHD。据认为,次要组织相容性位点的差异(目前分型尚做不到)在人GVHD反应中起决定性作用。同卵双生的同系骨髓移植受者所发生的急性GVHD的资料提示,次要位点(HLA)的不一致尚不能解释急性GVHD的所有病例。据证明,在急性GVHD的初期,TH<sub>2</sub><sup>+</sup>T细胞暂时丧失。这种情况不仅发生在被检查的2例同种异体骨髓移植的病人,而且也发生于同系骨髓移植的受者。因此,急性GVHD可能是特殊的T细胞亚群畸变的一种临床表现,TH<sub>2</sub><sup>+</sup>抑制细胞丧失。在缺乏TH<sub>2</sub><sup>+</sup>细胞的病人,亚群动力学紊乱和调节机能的丧失可能导至自身细胞毒性和自身抗体(或二者兼有之)。

TH<sub>2</sub><sup>+</sup>亚群暂时丧失的机理尚不太了解。业已证明,在小鼠系统抑制细胞是短命的,并且在胸腺滋养的影响下。因此,胸腺摘除后引起抑制细胞的丧失。全身照射,环磷酰胺或其它化疗药物有可能引起胸腺暂时性机能不全。在急性GVHD发作期与这种情况是一致的。因为急性GVHD通常发生在移植后几周,少于一周是罕见的。由供者被动转移的TH<sub>2</sub><sup>+</sup>细胞或宿主体任何残余的TH<sub>2</sub><sup>+</sup>细胞都可在胸腺机能不全时期死亡,只剩下不与之对抗的TH<sub>2</sub><sup>-</sup>亚群。胸腺功能的重建,可引起TH<sub>2</sub><sup>+</sup>T细胞亚群的重建和外周TH<sub>2</sub><sup>+</sup>T细胞抑制库(suppressor pool)的维持,继而急性GVHD便可消除。

6例慢性GVHD病人中有4例不同于急性GVHD病人,其TH<sub>2</sub><sup>+</sup>细胞比正常人还高2~3倍。此外,这4例病人中的2例有TH<sub>2</sub><sup>+</sup>,Ia<sup>+</sup>细胞。Ia抗原存在于B细胞,但在正常人T细胞检测不出来。最近证明,正常T细胞在同种抗原刺激之后,在其表面显示Ia抗原。

慢性GVHD的T细胞更是异质性的,涉及3种不同表现型的T细胞亚群的异常。6例慢性GVHD病人中有2例缺乏TH<sub>2</sub><sup>+</sup>亚群,仅有循环TH<sub>2</sub><sup>-</sup>亚群。这2例曾患过急性GVHD的病人,很快发展到慢性阶段。但可以预期,在急性GVHD发病之后决不会出现TH<sub>2</sub><sup>+</sup>细胞。缺乏抑制细胞的病人多克隆免疫球蛋白明显升高。

##### (二) 自身免疫病的T细胞亚群的异常

Reinherz等<sup>(18)</sup>研究了1例5岁的罹患几种自身免疫紊乱的女孩和1例16岁的自身免疫性无丙种球蛋白血症的男孩。在自身免疫性疾病患者未检出TH<sub>2</sub><sup>+</sup>细胞,她的淋巴细胞不能诱发抑制作用,其循环T细胞为一种激活的协助表现型,即TH<sub>2</sub><sup>-</sup>,Ia<sup>+</sup>。但病人

的B细胞却正常。TH<sub>2</sub><sup>-</sup>细胞相当于诱导(协助)细胞。因此,在无对抗协助细胞的情况下,这种病人就产生多种自身免疫抗体。如上所述,急性GVHD有类似的细胞缺陷。相反,无丙种球蛋白血症患者的T细胞以激活的抑制表现型占优势,即TH<sub>2</sub><sup>+</sup>,Ia<sup>+</sup>。该病人的T细胞曾消除了他自己和其组织配型相同的兄弟的B细胞分泌Ig的功能。因为这种病人激活的TH<sub>2</sub><sup>+</sup>,Ia<sup>+</sup>T细胞抑制其自身TH<sub>2</sub><sup>-</sup>细胞的增殖反应,就会发生低球蛋白血症。此种病人与同种骨髓移植后发生免疫缺陷的慢性GVHD病人相类似。Reinherz等的研究证明了人免疫性疾病T细胞亚群分型的重要性。当有过量的抑制细胞被激活时,可能会引起免疫缺陷,而当抑制细胞丧失时就会发生自发的或骨髓移植后的自身抗体。对这些病人的研究证明,人体免疫调节网是由维持体内平衡的细胞亚群组成的,而这种平衡的失调会引起严重的免疫性疾病。

### (三) 人T-CLL的T细胞亚群的特点

Reinherz等<sup>[15]</sup>分析了4例淋巴细胞增生性疾病患者的外周血肿瘤细胞。每例病人对兔或马抗人T细胞异种抗血清的明显反应性表明这些细胞属于T细胞系统。3例病人有T细胞性慢性淋巴细胞白血病的特点,一例为T细胞性淋巴瘤/白血病。所有4例病人都有特异性T细胞TH<sub>2</sub><sup>-</sup>亚群的恶性增生。利用同型特异性抗血清未检测到表面IgG、IgM和IgA。4例中只有3例的肿瘤细胞与绵羊红细胞形成自然玫瑰花。但是,1例病人的肿瘤细胞虽然与T细胞特异性抗血清发生明显的反应,但不与绵羊红细胞形成玫瑰花,因此,肿瘤细胞多种形式的分析对解释肿瘤细胞的精确来源是很重要的。

几乎所有慢性淋巴细胞白血病( CLL )病例都来源于B细胞恶性细胞的表现型, T-CLL病人在5%以下,到目前为止,已报道大约24例得到证明的 T-CLL 病人。因为TH<sub>2</sub><sup>+</sup>亚群只占外周血T细胞的20%,而实际上这种病例是存在的。

另外,4例病人中有2例的肿瘤细胞为p23,30(Ia)阳性,证明在人类存在着Ia阳性和阴性T-CLL, Ia阳性是否表明这些细胞的激活状态或这些T细胞稀疏部分的表现型的表达尚待确定。

人TH<sub>2</sub><sup>-</sup>亚群是具有种种协助功能的T细胞。在这方面值得注意的是,1例发生Coombs阳性溶血性贫血的病人具有Ia阳性TH<sub>2</sub><sup>-</sup>肿瘤细胞。这些细胞可能为诱发自身B细胞产生具有抗红细胞特性的抗体起辅助作用。此外,其它慢性T细胞性淋巴细胞增生性疾病,尤其是Seozary综合征病人也发生Coombs阳性溶血性贫血。

### (四) 病毒引起的免疫缺陷的细胞基础

Reinherz等<sup>[15]</sup>用针对局限于TH<sub>2</sub><sup>-</sup>协助(T4)细胞和TH<sub>2</sub><sup>+</sup>(T5)抑制细胞亚群抗原以及共同T细胞抗原(T3)和HLA-D相关Ia抗原的单克隆抗体,鉴定了6例急性和恢复期单核细胞增多症(IM)病人的T细胞特性,证明在急性IM时,有抑制性T细胞(T5<sup>+</sup>,Ia<sup>+</sup>表现型)的激活和增多。证明T5<sup>+</sup>,Ia<sup>+</sup>T细胞与慢性GVHD和自发性免疫缺陷状态激活抑制细胞的情形是相同的。病人的淋巴细胞在体外用PWM刺激后不产生Ig。

在IM的急性期缺乏对抗原的增殖反应是由于活化的抑制细胞的作用。同样,在急性期病人,B细胞不分泌Ig继发于细胞介导的抑制。

EB病毒(EBV)感染激活抑制细胞的机理尚不清楚。对小鼠系统的研究证明,激活的B细胞激发抑制细胞。病毒本身是否通过另一种淋巴细胞直接或间接地激活抑制细胞尚未确定。EBV是一种多细胞株B细胞激活剂并驱使B细胞产生多种抗体,包括针对人红细胞、血小板、淋巴细胞、DNA和甲状腺球蛋白的自身抗体。有几个报告提到, $T5^+$ , $Ia^+$ 抑制细胞的出现对于控制B细胞超反应性是一种重要的调节机理。

#### (五) 麻风病人引起抑制作用的T细胞亚群

瘤型麻风病人对麻风杆菌抗原的选择性免疫无反应性为探索人特异性免疫反应调节机理提供了独特的机会<sup>[18]</sup>。Mehra等(1979)曾报告了Pharmentra麻风菌素诱导瘤型和界线类麻风病人的单个核细胞对Con A的有丝分裂反应的抑制,而结核样麻风病人和正常人则无此现象。麻风杆菌在体外诱导的抑制是粘附细胞和E-玫瑰花形成细胞引起的。最近,Mehra报道,将瘤型麻风病人的总T细胞群体、分离的 $TH_2^+$ 和 $TH_1^+$ 亚群与正常人的单个核细胞混合,并用抗原和有丝分裂原进行攻击,以检查麻风杆菌诱导的抑制活性。Pharmentra麻风菌素不影响正常单个核细胞对Con A的有丝分裂反应。但是,在瘤型和界线类麻风病人中,麻风菌素诱导其 $TH_2^+$ 亚群对正常人淋巴细胞发挥明显的抑制作用。有意义的发现是,结核样麻风和正常个体的 $TH_2^+$ 亚群在类似的条件下处理则无明显的抑制现象。抗胸腺细胞球蛋白的使用,提高了治疗瘤型麻风的可能性,对T细胞 $TH_2^+$ 亚群具有特异性的单克隆抗体将使这种治疗方法获得迅速发展。对 $TH_1^+$ 亚群起特异反应的抗血清,在体外可抑制其抑制活性,从而使功能性“协助”T细胞得以发育,进而产生淋巴活素激活巨噬细胞,限制和排除感染病菌。这样就可以使瘤型麻风转变成结核样麻风,这对该病和相关疾病提供了一种新颖的治疗方法。

## 结 语

本文介绍了使用异种抗血清、自身免疫抗体和单克隆抗体鉴定的各种T细胞亚群。对于自身免疫稳定来说,效应细胞和调节细胞之间需要保持微妙的平衡,而这种平衡的失调会引起严重的免疫性疾病。因此,T细胞亚群的检测对探索某些疾病的发病机理、诊断及治疗具有重要意义。单克隆抗体的广泛应用,可能在认识和治疗疾病方面发生一场革命。

(1981年4月完稿)

(本文承蒙重庆市第三人民医院胡永芬医师审校谨此致谢。)

## 主 要 参 考 文 献

- (1) Evans RL et al; J Immunol 120:1423, 1978
- (2) Reinherz EL et al; J Immunol 122:1333, 1979

(下转第24页)

## 理论 研究

### 单克隆抗体鉴定的人T细胞亚群功能分析

#### I. B细胞分化的免疫调节协同性T-T相互关系

Yolene Thomas et al

本文研究了美洲商陆有丝分裂原(PWM)在体外激发的人B细胞分化调节所涉及的T-B和T-T相互关系。应用单克隆抗体OKT4和OKT8的补体介导的细胞溶解来分离功能不同的人T细胞亚群。将分级量的未处理的或照射的T细胞亚群加至自身B细胞之中,培养5~6天后,应用高度敏感的反向溶血空斑试验测定总抗体的合成。这些资料证明: a)只包含在OKT4<sup>+</sup>细胞群体之内的协助活性是放射敏感性的。只有在高T/B比率时,才能克服这种放射敏感性; b)OKT8<sup>+</sup>细胞群体所包含的放射敏感性细胞对抑制B细胞分化是很重要的; c)OKT8<sup>+</sup>细胞所诱导的抑制作用需要放射敏感的OKT4<sup>+</sup>细胞的存在。这样,将OKT8<sup>+</sup>细胞加到含有B细胞和照射的OKT4<sup>+</sup>细胞的培养中时,不能抑制空斑形成细胞(PFC)反应。将未照射的OKT4<sup>+</sup>细胞加到这种培养物中,能使OKT8<sup>+</sup>细胞的抑制作用再次表现出来。据推测,有两种放射敏感的细胞,一种在OKT4<sup>+</sup>细胞群体之内,另一种在OKT8<sup>+</sup>细胞群体之内,它们协作诱导抑制作用。本文讨论了这种抑制作用的相互关系的可能的机理,包括OKT4<sup>+</sup>细胞群体内的抑制性前体细胞的诱导作用或通过OKT8<sup>+</sup>细胞对OKT4<sup>+</sup>协助细胞的抑制作用。

B细胞分化的诱导和自身稳定的调节,大部分是T细胞介导的。最近几年积累的证据证明,除T-B相互作用之外,在功能不同的T细胞亚群之间的精确的相互作用最终确定了T细胞对B细胞免疫调节影响的基本结局。至今,评价这种微妙的T-T相互关系的最权威的方法来自小鼠分离出的功能不同的T细胞亚群的研究。特别是凭借与同种抗体(即Lyt<sub>1</sub>和Qa-1系统)的反应性分离出的T细胞亚群的研究所提供的资料证明了T细胞分化各阶段的特征。从这些研究显示出T-T相互关系的重要例子是诱导T细胞(Lyt<sub>1</sub><sup>+</sup>,Qa-1<sup>+</sup>)与调节T细胞(Lyt<sub>1,2,3</sub><sup>+</sup>,Qa-1<sup>+</sup>)相互作用而产生抑制性T细胞(Lyt<sub>2,3</sub><sup>+</sup>)的能力。

虽然,有证据证明,不同的人T细胞亚群可以协助或抑制B细胞分化,但是,T-T相互作用所涉及的这些免疫调节功能的证据是不够充分的。两种不同类型的实验方法对提出的这个复杂的问题是有益的。第一,以前的研究证明,不同T细胞群体的放射敏感性可以将协助和抑制功能区别开来。这些研究提示,协助功能是放射抗拒性的,抑制功能则是放射敏感性的。第二,按照各种标准,包括与特异性Ig同型的相应的结合,对

外源凝集素的亲和力和与特异性异种抗体的反应性，来分离功能不同的人T细胞亚群。最近，有些研究者制作了针对在功能上不同分化阶段的人T细胞的杂交瘤单克隆抗体，为分离免疫调节T细胞亚群提供了强有力的工具。

本文报告了实验中使用的策略。下文论述不同的人T细胞亚群分离及它们单独或彼此协同起来对B细胞分化作用的定量测定。这种方法部分地取决于包含在这些亚群之内的细胞不同免疫调节功能的相应放射敏感性。为了分离T细胞亚群，作者使用了两种单克隆抗体，这些抗体表明特异地与T细胞发生反应。一种抗体为OKT4，识别50~60%的人T细胞；另一种抗体为OKT8，识别30~40%的人T细胞。这两种抗体都是补体结合性的，但更重要的是，当用这两种抗体鉴定彼此独特的亚群时，未选择的T细胞发生补体介导的溶解。同时，这两种亚群占外周T细胞库的95%以上。以前的研究证明，OKT4<sup>+</sup>细胞群体含有能使B细胞和前细胞毒性T细胞分化的细胞。相应而相反的OKT8<sup>+</sup>细胞群体含有细胞毒效应细胞，但不含协助细胞。这种调节B细胞分化的细胞作用尚未进行权威性的研究。

在本报告中，作者应用高度敏感的反向溶血空斑试验对PWM激发的B细胞分化作了定量测定。由分离的OKT4<sup>+</sup>和OKT8<sup>+</sup>细胞亚群介导的免疫调节功能的放射敏感性研究获得的证据表明，OKT4<sup>+</sup>细胞群体含有强有力的和高度放射敏感的协助细胞和免疫调节细胞。另外，作者发现，放射敏感的OKT4<sup>+</sup>和OKT8<sup>+</sup>细胞之间的相互协作抑制B细胞的分化是需要的。本文讨论了包含在放射敏感的OKT4(注：原文如此，应为OKT4<sup>+</sup>)细胞中的诱导功能和抑制功能之间的关系。

## 材 料 和 方 法

[淋巴细胞的制备和人T、B细胞的分离] 用Ficoll-Hypaque密度梯度沉淀法由健康志愿者分离新鲜外周血淋巴细胞。然后按Chess等描述的方法分离高度浓集的T细胞和B细胞。简言之，用含有5%胎牛血清(FCS)的最低必需培养液(MEM)洗涤人单个核细胞，随后过含有2.5mM EDTA的SephadexG-200兔抗人F(ab)<sub>2</sub>柱。淋巴细胞与免疫吸附剂柱结合，尔后用可溶性Ig洗脱而恢复原状的淋巴细胞，>90%表面SmIg<sup>+</sup>；<10%形成E-玫瑰花。这些高度浓集的B细胞群体，由兔抗人T细胞血清(RoT<sub>11</sub>)或OKT3单克隆抗体的补体介导的细胞溶解进一步纯化，以排除任何残留的T细胞。流出来的细胞<2%的细胞携带表面免疫球蛋白，这些细胞中70~85%与绵羊红细胞形成自然玫瑰花(E-玫瑰花)。通过与绵羊红细胞(SRBC)形成E-玫瑰花和用Ficoll-Hypaque沉淀法进一步分离出高度纯化的T细胞群体。在本研究中，这种细胞代表未分离的T细胞，E-玫瑰花阳性者>95%，表面膜免疫球蛋白阳性者<1%。

[针对人T细胞亚群的单克隆抗体的制备和特性] Kung等详细描述了分泌单克隆抗体OKT3、OKT4和OKT8的杂交瘤的制备、生长和特性。简言之，用2×10<sup>7</sup>人T淋巴细胞PBS，腹腔内免疫8周龄雌性CAF<sub>1</sub>/J小鼠，间隔14天。在第三次免疫后4天切除

脾脏，制备单一的细胞悬液，按照Kohler和Milstein描述的方法进行细胞融合。即  $1 \times 10^8$  脾细胞与  $2 \times 10^7$  骨髓瘤细胞，在含有35%聚乙二醇（PEG）、5%二甲亚砜（DM SO）和RPMI 1640的培养液中进行融合。然后，选择生长的细胞接种在HAT培养液中，于  $37^\circ\text{C}$  含5%  $\text{CO}_2$  的湿润环境中培养。用间接免疫荧光和补体介导的微量细胞毒试验来检测生长杂交瘤细胞的上清液与分离出的T、B和null细胞的反应性。证明单克隆OKT3、OKT4和OKT8抗体对人T细胞群体具有高度的特异性。OKT3抗体与大约85~95%的E-玫瑰花阳性细胞发生反应。OKT4抗体与50~60%的外周血T细胞发生反应，而OKT8抗体与30~40%的人T细胞发生反应。

[应用单克隆抗体OKT4和OKT8的补体介导的细胞溶解分离人T细胞亚群] 为了分离与OKT4起反应或与OKT8起反应的高度浓集的T细胞，将未分离的T细胞再悬浮于含5% FCS的RPMI 1640培养液之中，浓度为  $50 \times 10^6$  个细胞/ml。在0.2ml T细胞中，加入稀释为1:250的OKT3、OKT4或OKT8，然后将细胞置于室温中孵育45分钟。孵育后，加新鲜兔补体，使最终稀释度为1:10，于  $37^\circ\text{C}$  湿润空气中再孵育1小时。为了彻底耗尽称为T细胞亚群的T细胞，将整个操作重复两次。对这些细胞的分析表明，OKT4处理的细胞群体含有 >90% 的OKT3<sup>+</sup>细胞，>90% 的OKT8<sup>+</sup>细胞和 <2% 的OKT4<sup>+</sup>细胞。而OKT8处理的细胞群体含有 >90% 的OKT3<sup>+</sup>细胞，>90% 的OKT4<sup>+</sup>细胞和 <5% 的OKT8<sup>+</sup>细胞。由于这些结果，作者应用符号OKT4<sup>-</sup>细胞表示用OKT8加补体处理后留下的T细胞，以符号OKT8<sup>+</sup>细胞表示用OKT4加补体处理后留下的相应的细胞。

[用于人PBL的PFC反应多细胞株诱导的培养条件] 对所有培养物的最低必需培养液，均由RPMI 1640补以1%青-链霉素、200mM L-谷酰胺、2.5mM HEPES缓冲液，0.05%碳酸氢钠和12%热灭活胎牛血清组成。将  $2 \times 10^6$  B细胞悬于2ml最低必需培养液中，在  $10 \times 25\text{mm}$  组织培养管中进行培养。在这些B细胞培养中，除了加入  $10\mu\text{g}$  PWM之外，再加入分级量的未选择的T细胞、OKT4<sup>+</sup>细胞或OKT8<sup>+</sup>细胞。在这些实验中，以1250R照射T细胞或T细胞亚群。对照培养只含有  $2 \times 10^6$  B细胞，加入PWM而不加入T细胞。所有培养都在  $37^\circ\text{C}$  含有5%  $\text{CO}_2$  的湿润空气中孵育5~6天，然后，用反向溶血空斑试验对产生的抗体进行测定。

[以反向溶血空斑试验计数分泌抗体的细胞] 按照Molinaro等描述的方法制备和纯化兔抗人Ig抗体。以Eby等描述的氯化铬法，由人Ig包被的琼脂糖珠（Sepharcose 4B）柱洗脱出的纯化抗体来包被SRBC。在测定的当天，用RPMI 1640培养液将细胞彻底洗涤并再悬浮之。然后，取50~100 $\mu\text{l}$ 分入到0.9ml 0.5%液体琼脂糖之中，此种液体琼脂糖含有100 $\mu\text{l}$  11%抗体包被的SRBC悬液，将此混合物涂敷在预先用5ml 0.5%琼脂糖包被并继而形成凝胶的  $60 \times 15\text{mm}$  的培养皿之中。把这些培养皿置于  $37^\circ\text{C}$  含5%  $\text{CO}_2$ -95%空气中孵育1小时。随即加入1/100兔抗人IgG抗血清1ml，再孵育1小时。最后，移去抗血清，加入1/10吸收过的豚鼠补体1ml，再孵育1小时。将空斑计数3次，初始的培养结果以平均PFC/ $10^6$  B细胞表示之。平均数的标准差一般 <20%。另外，测定时所有培养细胞都进行细胞计数和活性检查（染料排除试验）。

## 结 果

[人免疫调节T细胞的放射敏感性—未选择T细胞的分析] 在开始的实验

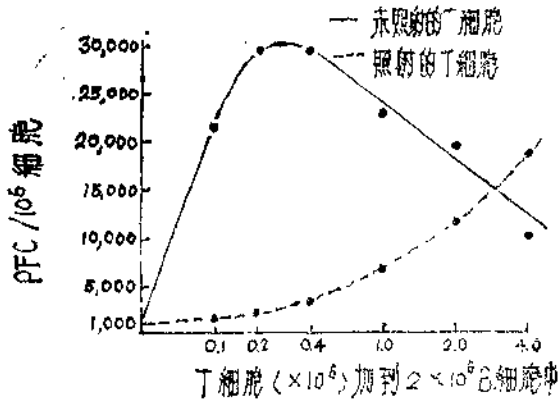


图1 照射对未分离T细胞群体协助活性的影响。  $2 \times 10^6$  B细胞在PWM和分级量未处理的T细胞(——)或照射的T细胞(……)存在的情况下一起培养。5天后,收获培养物并对PFC活性进行检测。

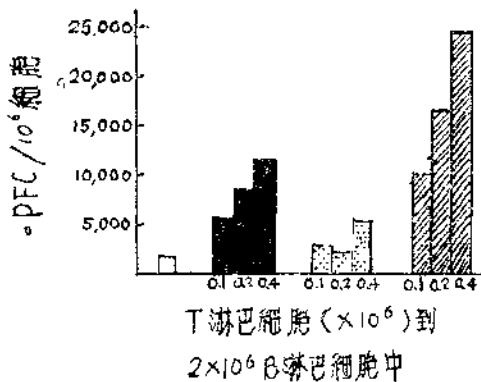


图2 OKT4<sup>+</sup> (而不是OKT8<sup>+</sup>) 浓集的细胞群体诱导的B细胞分化。  $2 \times 10^6$  B细胞在PWM和未分离的T淋巴细胞(实线)、OKT8<sup>+</sup>淋巴细胞(点状线)或OKT4<sup>+</sup> T淋巴细胞(斜线)存在的情况下一起培养。5~6天后,收获培养物并对PFC活性进行检测。

[应用针对T细胞表面分化抗原的单克隆抗体分析免疫调节T细胞亚群]

中,作者发现只有少量( $<1\%$ )的自身T细胞对由PWM激发的高度纯化的B细胞有效的PFC形成是必要的。出乎意料的是,作者观察到此少量T细胞的诱导和协助能力是放射敏感性的。鉴于许多实验室报告了相反的资料,即PWM激发B细胞分化的协助细胞是放射抗拒性的,因此,作者以定量方法分析了诱导T细胞的放射敏感性。将未处理的和照射(1250R)的分级量T细胞加到固定量的自身B细胞之中,把PWM加到此种培养物内,5天后计数PFC的数目。最引人注目的是,在很宽的T细胞浓度范围内,未照射的T细胞诱导B细胞分化的能力明显地高于照射的T细胞(图1)。随着未处理T细胞的进一步增加,PFC的产生达到稳定状态,继而下降。只有在高T/B细胞比率做实验时,才观察到照射的T细胞诱导较多的PFC。作者从这些研究中得出结论,至少有一种T协助细胞群体具有高度的放射敏感性。在高T/B细胞比率时所观察到的协助功能明显的放射抗拒性更难以解释。一种传统的解释是照射排除了抑制性细胞群体的功能。为了探索这个概念,除了在这个系统的T-T细胞相互作用的可能性之外,作者首先应用单克隆抗体OKT4和OKT8浓集了功能不同的T细胞亚群。

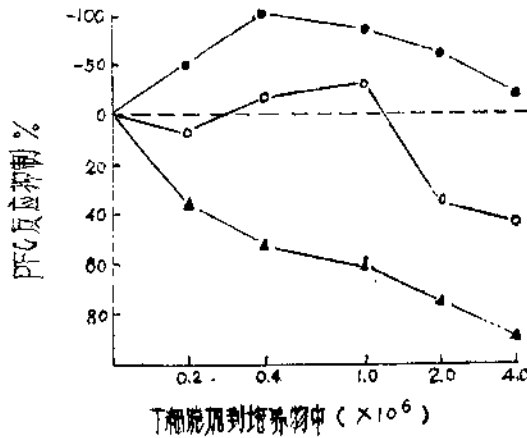


图3 OKT8<sup>+</sup>T细胞对OKT4<sup>+</sup>T细胞诱导B细胞产生Ig的抑制作用。标准培养含有 $0.1 \times 10^6$  OKT4<sup>+</sup>T细胞和 $2.0 \times 10^6$  B细胞加上 $10 \mu\text{g}$  PWM。对此系统加入分级量的未分离的T细胞(○)、OKT4<sup>+</sup>(●)或OKT8<sup>+</sup>T细胞(▲)。5天后,收获培养物并对PFC活性进行检测。抑制作用按下列公式计算:

$$\text{抑制作用}\% = \left( 1 - \frac{\text{PFC (实验培养物)}}{\text{PFC (标准培养物)}} \right) \times 100$$

大量T细胞的存在。为

了帮助回答这个复杂的问题,作者检查了OKT8<sup>+</sup>和OKT4<sup>+</sup>细胞功能的放射敏感性。在第一批实验中,分级量的未处理或照射的OKT8<sup>+</sup>细胞与未照射的OKT4<sup>+</sup>细胞一起培养,来检测其对B细胞的PFC反应的抑制能力(表I)。同所预料的一样,与图3的结果是一致的,加入未照射的OKT8<sup>+</sup>细胞抑制PFC的形成,而这种照射的OKT8<sup>+</sup>细胞(1250R)对各种实验浓度细胞的抑制作用均明显降低。因此,OKT8<sup>+</sup>细胞介导的抑制功能是放射敏感的。

为了研究照射对OKT4<sup>+</sup>细胞介导的协助功能的影响,把分级量的未处理或照射的OKT4<sup>+</sup>细胞加到固定量的B细胞中(图4)。OKT4<sup>+</sup>细胞在很宽的浓度范围( $0.2 \times 10^6 \sim 2.0 \times 10^6$ )之内,协助功能都具有明显的放射敏感性。令人感兴趣的是,在高浓度未照射的OKT4<sup>+</sup>细胞观察到的PFC反应达到稳定状态之后下降,类似于在未分离T细胞所观察到的结果。相反,加入照射的OKT4<sup>+</sup>细胞,只是在高T/B比率时才诱导B细胞的PFC。

在低浓度的OKT4<sup>+</sup>细胞时,协助功能便被照射作用消除,以及在高浓度时对协助

在用PWM培养之前,将分级量的未选择的T细胞、OKT4<sup>+</sup>或OKT8<sup>+</sup>细胞加到固定量的自身B细胞之中(图2)。OKT4<sup>+</sup>细胞明显地增强协助功能。相反,象以前所证明的那样,OKT8<sup>+</sup>细胞则不引起协助活性。

为了进一步评价这些T细胞亚群的免疫调节功能,将分级量的未选择的T细胞、OKT4<sup>+</sup>和OKT8<sup>+</sup>细胞加到含有自身B细胞加OKT4<sup>+</sup>细胞的培养物中(图3)。再加入OKT4<sup>+</sup>细胞就增加B细胞PFC的形成,而加入少量的OKT8<sup>+</sup>细胞则抑制B细胞的分化。增加OKT8<sup>+</sup>细胞的数量就导致抑制作用的增强。总之,这些结果证明,OKT4<sup>+</sup>细胞群体含有诱导细胞,而OKT8<sup>+</sup>细胞则含有起重要抑制作用的T细胞群体。

[分离的OKT4<sup>+</sup>和OKT8<sup>+</sup>细胞功能的放射敏感性分析]列入图1的资料证明,照射对未选择的T细胞群体的免疫调节作用是复合性的,并高度依赖



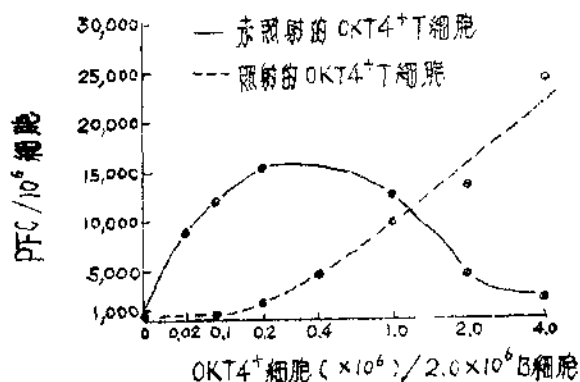


图4 照射对OKT4<sup>+</sup>T细胞亚群协助活性的影响。2×10<sup>6</sup>B细胞在PWM和分级量的未处理的OKT4<sup>+</sup>T细胞(——)或照射的OKT4<sup>+</sup>T细胞(-----)存在的情况下一起培养。5天后,收获培养物并对PFC活性进行检测。

表I 照射的OKT8<sup>+</sup>细胞消除抑制功能

每份培养物的OKT8 <sup>+</sup> T8 <sup>+</sup> 细胞数 <sup>1</sup>	照射的OKT8 <sup>+</sup> 细胞 <sup>2</sup>	PFC/10 <sup>6</sup> 细胞	抑制作用% <sup>3</sup>
0	-	13,550 ± 1,250	0
0.4 × 10 <sup>6</sup>	-	7,350 ± 520	45
	+	11,750 ± 1,030	14
1.0 × 10 <sup>6</sup>	-	3,850 ± 85	72
	+	12,500 ± 1,450	8
2.0 × 10 <sup>6</sup>	-	3,250 ± 101	76
	+	13,000 ± 1,430	4

<sup>1</sup> 分级量的OKT8<sup>+</sup>T细胞加到含有固定数的B细胞(2.0×10<sup>6</sup>)和OKT4<sup>+</sup>(0.1×10<sup>6</sup>)细胞的标准培养物中。

<sup>2</sup> 照射的T细胞是以(+)表示。

<sup>3</sup> 按上述(图3)方法计算抑制作用%。

的明显的放射抗拒性是否反映了OKT4<sup>+</sup>细胞群体之内T细胞亚群不同的放射抗拒性和放射敏感性尚不清楚。然而,在未照射的OKT4<sup>+</sup>细胞群体观察到的协助功能达到稳定状态之后下降与OKT4<sup>+</sup>细胞群体含有不同的放射敏感性免疫调节细胞的概念是一致的。进一步的证据证明,放射敏感的OKT4<sup>+</sup>细胞参与免疫调节功能,而不诱导B细胞分化。

[在抑制作用的发生过程中放射敏感性OKT4<sup>+</sup>和OKT8<sup>+</sup>细胞群体之间的相互关系] 在下述的实验中,作者探讨了OKT8<sup>+</sup>细胞在介导抑制B细胞分化的过程中是否得到OKT4<sup>+</sup>细胞的协助。因此,检查了分级量的OKT8<sup>+</sup>细胞对抑制含有未照射的OKT4<sup>+</sup>细胞(0.1×10<sup>6</sup>细胞)(图5a)或照射的OKT4<sup>+</sup>细胞(1.0×10<sup>6</sup>细胞)(图5b)的B细胞培养中PFC反应的能力。在该实验中,用0.1×10<sup>6</sup>未照射的OKT4<sup>+</sup>细胞所获得的协助活性的水平和用1.0×10<sup>6</sup>照射的OKT4<sup>+</sup>细胞所获得的协助活性是类似的。所预料的结果是一致的。加入未照射的OKT8<sup>+</sup>细胞就抑制PFC的形成,而加入照射的OKT8<sup>+</sup>细胞,这种抑制功能就被消除。

相反(图5b),将未照射的OKT8<sup>+</sup>细胞加到B细胞中与照射的OKT4<sup>+</sup>细胞一起培养,不能抑制PFC的形成。此外,将少量未照射的OKT4<sup>+</sup>细胞加到含有照射的OKT4<sup>+</sup>细胞和未照射的OKT8<sup>+</sup>细胞的培养物中的时候,就引起抑制作用(表II)。此实验证明,用照射的OKT4<sup>+</sup>细胞观察到