

Th 类 细胞

邢同京 章廉 主编

ThLEI XIBAO
JIHUA QUNTI
DE JICHU YU
LINCHUANG

极化群体的基础与临床

军事医学科学出版社

Th 类细胞极化群体的基础与临床

Basic and Clinic of Th Genus Cell Polarization Colony

主 编 邢同京 章 廉

军事医学科学出版社

·北京·

内 容 提 要

Th类细胞的极化群体是目前免疫学研究的热点问题之一。该书系从基础和临床论述 Th类细胞的专著。在基础方面阐述了 Th 细胞的活化、增殖、分化、调亡、功能和相关研究新进展;在临床方面论述了 Th 细胞与多种疾病的关系,如感染性疾病、自身免疫性疾病、神经系统疾病、内分泌系统疾病、血液系统疾病,以及肿瘤免疫、生殖免疫和移植免疫等;在检测技术和方法方面较详细介绍了 Th 细胞的分离技术、功能检测技术、细胞内因子检测技术、克隆技术与方法等。内容系统、全面、翔实、实用。

可供从事该领域科研及教学人员、临床医师和医学院校学生参考。

图书在版编目(CIP)数据

Th类细胞极化群体的基础与临床/邢同京,章廖主编

- 北京:军事医学科学出版社,2002.3

ISBN 7-80121-272-X

I. T… II. ①邢… ②章… III. T-淋巴细胞-细胞学:

形态学-研究 IV. R322.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 002010 号

* *

军事医学科学出版社出版

(北京市太平路 27 号 邮政编码:100850)

新化书店北京行所发行

潮河印刷厂印刷 春园装订厂装订

*

开本:787mm×1092mm 1/16 印张:15.5 字数:382 千字

2002 年 10 月第 1 版 2002 年 10 月第 1 次印刷

印数:1-2500 册 定价:23.00 元

(购买本社图书,凡有缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换)

前 言

T 淋巴细胞是高度异质性的群体,根据其在发育过程中出现的分化抗原的不同,将 T 细胞分为 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞两大类,这种分类对于区分 T 细胞的异质性有一定价值。但随着对 T 细胞功能研究的不断深入,人们发现,T 细胞的功能主要是由其所分泌的细胞因子介导的,上述分类没有确切反应出 T 细胞的不同功能群体。因此,1986 年 Mosmann 等首先提出根据小鼠的 $CD4^+$ T 细胞克隆产生细胞因子类型的不同,将 $CD4^+$ T 细胞分为 Th1 和 Th2 两种类型,随后研究证实人体内也存在相应的 Th1 和 Th2 亚群。近年来研究发现小鼠和人的 $CD8^+$ T 细胞也存在与 Th1 和 Th2 细胞相似的 Tc1 和 Tc2 两种类型,目前趋向于将其统称为 Th1 类和 Th2 类细胞。研究表明:根据 T 细胞分泌细胞因子谱进行分类,更有利于反应 T 细胞的功能。

Th1 和 Th2 类细胞理论的提出,使 T 细胞的分类更加确切和合理,这不仅有助于全面的理解免疫反应和炎症反应,而且推动了有关 T 细胞的活化、增殖、分化、效应功能及凋亡等基本生物学特性的研究。上述研究的进展又使我们对于 T 细胞的功能特征和许多疾病的免疫发病机制有了新的认识。大量研究表明:不同的优势应答类型与疾病的发生发展及预后有关,若这种疾病的发生与 Th1 优势应答有关,则疾病发生的模式称 Th1 模式;若与 Th2 优势应答有关,则称 Th2 模式。Th1/Th2 模式首先在鼠模型中发现,在人类的多种疾病中也与之相似。目前已发现微生物感染、肿瘤、自身免疫病、变态反应性疾病等多种疾病有 Th1 和 Th2 漂移现象。研究 Th1 和 Th2 类细胞的变化,对于认识疾病的发生发展规律,指导临床治疗具有重要意义。

当然,有关 Th1 和 Th2 类细胞理论的研究也在不断的进展之中,如近年来研究发现还存在分泌 $TGF-\beta$ 的 Th3 类细胞等。另外尚有许多的问题亟待解决,如遗传背景对于 Th1 或 Th2 优势应答有何影响,怎样改变已存在的或正在发生的 Th1 或 Th2 优势应答的类型等等。上述问题的阐明,必将大大促进人们对于与 Th1/Th2 模式相关的疾病的理解,并通过调节优势应答类型达到预防疾病、治疗疾病的最终目的。

近几年来,我们对 Th 类细胞及其相关因子在慢性乙型肝炎发病机制中的作用作了一些研究,取得了一些成果。在研究过程中,我们深深地感到关于 Th 类细

胞的研究进展较快,且在许多临床疾病的发生和发展中起重要作用;同时,有关 Th 类细胞研究的方法也有较大进步,而目前国内外尚未见到同类书出版。鉴于此,我们参考了近年来国内外有关这方面的文献,结合我们自己的研究,对 Th 类细胞的基础和临床方面的研究进展以及研究 Th 类细胞的相关技术加以总结,编撰成此书,供同行们参考。本书的第六章是由张明霞和文维群硕士撰写,第十章是由胡章勇硕士撰写,第十八章由周最明博士参与编写。

本书在编写过程中,始终在骆抗先和侯金林教授的关心和支持下,得到了第一军医大学基础部、中心实验室、南方医院、珠江医院等单位的许多专家教授赐教,尤其是汪能平教授在百忙之中审阅全稿,提出了大量宝贵的修改意见和建议;同时得到济南军区第 88 医院张光曙副院长的大力支持,在此表示衷心的感谢!另外,本书参考了大量的国内外文献,一并表示诚挚的谢意!

有关 Th1/Th2 类细胞理论的研究发展很快,涉及的方面也很广,但由于编者水平有限,难免存在疏漏和缺点,请广大读者批评指正。

编者

2002 年 1 月

目 录

第一篇 Th 类细胞的基础

第一章 T 淋巴细胞	(1)
第一节 T 细胞个体发育	(1)
一、T 细胞的分化成熟	(1)
二、Notch 信号途径与 T 细胞发育	(2)
三、胸腺中 T 细胞的选择	(3)
第二节 T 细胞主要表面分子	(4)
一、表面受体	(4)
二、表面抗原	(6)
第三节 T 细胞亚群及功能	(8)
一、TCR $\alpha\beta$ 和 TCR $\gamma\delta$ T 细胞	(8)
二、CD4 ⁺ T 细胞	(8)
三、CD8 ⁺ T 细胞	(9)
四、CD45RA 和 CD45RO T 细胞	(9)
五、NK1.1 ⁺ T 细胞	(9)
第四节 T 细胞的功能性分类	(10)
一、Th1 和 Th2 型细胞	(10)
二、Tc1 和 Tc2 型细胞	(13)
三、T 细胞的功能性分类	(13)
四、研究 Th1/Th2 型细胞的意义	(14)
第二章 T 细胞的活化与增殖	(16)
第一节 T 细胞的抗原识别及其活化	(16)
一、T 细胞的抗原识别	(16)
二、T 细胞的活化	(17)
三、免疫突触与 T 细胞的活化	(18)
第二节 T 细胞活化的信号转导及其途径	(19)
一、与 T 细胞信号转导有关的分子	(19)
二、T 细胞活化信号转导的基本途径	(21)
三、T 细胞活化信号转导途径的调节	(23)
第三节 转录活化和 T 细胞基因的表达	(23)
一、转录因子的活化	(23)
二、T 细胞活化基因的表达	(24)
第四节 T 细胞增殖	(25)

一、细胞增殖概述·····	(25)
二、T 细胞的增殖·····	(26)
第三章 T 细胞的分化·····	(28)
第一节 细胞分化·····	(28)
一、细胞分化的概念·····	(28)
二、细胞分化的特点·····	(28)
三、细胞分化的机制·····	(29)
第二节 Th 细胞的分化及其调节机制·····	(30)
一、影响 Th 细胞分化的因素·····	(30)
二、Th 细胞分化的始动因素·····	(34)
第三节 Th 细胞分化的分子机制·····	(35)
一、JAKs/STATs 信号转导途径·····	(35)
二、Th 细胞分化的分子机制·····	(38)
第四章 T 细胞的效应功能·····	(42)
第一节 T 细胞介导的效应功能·····	(42)
一、T _{DTH} 细胞的效应机制·····	(42)
二、T _C 细胞介导的效应机制·····	(44)
第二节 CTL 的非细胞毒性作用机制·····	(45)
一、CTL 介导的非细胞毒性机制·····	(45)
二、细胞因子抗病毒的作用机制·····	(46)
三、CTL 介导的抗病毒作用与宿主的关系·····	(47)
第三节 免疫耐受·····	(48)
一、免疫耐受概述·····	(48)
二、对于免疫耐受的新认识·····	(49)
第五章 T 细胞的凋亡·····	(53)
第一节 参与细胞凋亡信号转导的主要分子·····	(53)
一、细胞凋亡的概述·····	(53)
二、诱导细胞凋亡的主要因子及其特征·····	(54)
第二节 细胞凋亡信号转导的途径及基因调控·····	(56)
一、细胞凋亡信号转导的基本途径·····	(56)
二、细胞凋亡的效应机制·····	(58)
三、细胞凋亡的基因调控·····	(59)
第三节 T 细胞的发育成熟与细胞凋亡·····	(60)
一、胸腺细胞的克隆选择·····	(60)
二、胸腺细胞凋亡的机制·····	(61)
三、胸腺细胞凋亡的意义·····	(62)
第四节 活化诱导的淋巴细胞凋亡·····	(62)

一、抗原诱导的 T 细胞凋亡	(62)
二、淋巴因子撤退性凋亡	(63)
三、CD4 ⁺ T 细胞亚群凋亡的特点	(64)
第五节 记忆性 T 细胞激活、生存与凋亡	(65)
一、记忆性 T 细胞亚群的表型	(65)
二、记忆性 T 细胞的凋亡	(65)
三、记忆性 T 细胞的生存	(66)
第六章 Th 类细胞相关的细胞因子	(68)
第一节 白细胞介素-12	(68)
一、IL-12 的结构与功能	(68)
二、IL-12 与抗病毒及肿瘤的相关研究	(71)
第二节 白细胞介素-18	(74)
一、IL-18 的基本结构与功能	(74)
二、IL-18 与疾病的相关研究	(75)
三、IL-18 的应用前景	(77)
第七章 Th 类细胞相关研究进展	(81)
第一节 Th 细胞的极化	(81)
一、Th 细胞的极化	(81)
二、CD4 ⁺ CTL	(82)
第二节 Th 细胞膜标志物的研究进展	(83)
一、Th1 细胞膜标志物	(83)
二、Th2 细胞膜标志物	(84)
第三节 细胞因子基因多态性的研究进展	(86)
一、基因组序列变异与基因多态性	(86)
二、疾病基因多态性的临床应用研究	(86)
三、细胞因子基因多态性的研究进展	(87)
四、疾病基因多态性研究中应注意的问题	(89)

第二篇 Th 类细胞与临床

第八章 Th 类细胞与感染性疾病	(92)
第一节 Th 类细胞与获得性免疫缺陷综合征	(92)
一、HIV 感染个体的临床分类及免疫学	(92)
二、HIV 造成机体免疫缺陷的机制	(93)
三、Th1/Th2 型应答与 HIV 感染	(95)
第二节 Th 类细胞与乙型病毒性肝炎	(98)
一、Th1/Th2 型应答与肝细胞损伤	(98)
二、Th1/Th2 型应答与乙型肝炎慢性化	(98)

三、Th1/Th2 型应答失衡产生的机制	(99)
四、Th1/Th2 型应答与抗乙肝病毒治疗	(99)
五、Th1/Th2 型细胞与疫苗接种者的免疫应答	(100)
第三节 Th 类细胞与丙型病毒性肝炎	(100)
一、Th1/Th2 型应答与急性自限性丙型肝炎	(101)
二、Th1/Th2 型应答与慢性丙型肝炎	(101)
三、Th1/Th2 型应答与丙型肝炎肝损伤	(101)
四、Th1/Th2 型应答与丙肝的治疗	(102)
第四节 Th 类细胞与细菌感染性疾病	(102)
一、Th1/Th2 型应答与结核杆菌感染	(102)
二、Th1/Th2 型应答与麻风杆菌感染	(103)
三、Th1/Th2 型应答与幽门螺杆菌感染	(103)
第五节 Th 类细胞与寄生虫感染	(104)
一、Th1/Th2 型应答与利什曼原虫感染	(104)
二、Th1/Th2 型应答与疟原虫感染	(104)
三、Th1/Th2 型应答与其他感染	(104)
第六节 Th 类细胞与真菌感染	(105)
第九章 Th 类细胞与自身免疫性疾病	(108)
第一节 自身免疫性疾病概述	(108)
一、自身免疫病的基本特征	(108)
二、自身免疫病的分类	(108)
三、自身免疫病的发病机制	(109)
第二节 Th 类细胞与类风湿性关节炎	(111)
一、Th1/Th2 型应答与类风湿性关节炎	(111)
二、炎症因子与 RA	(112)
三、细胞因子与类风湿性关节炎的治疗	(113)
第三节 Th 类细胞与系统性红斑狼疮	(114)
一、Th1/Th2 型应答失衡与 SLE	(114)
二、影响 Th 细胞分化的因素异常与 SLE	(115)
第十章 Th 类细胞与肿瘤免疫	(119)
第一节 肿瘤免疫	(119)
一、肿瘤免疫概述	(119)
二、抗肿瘤免疫的效应机制	(119)
三、肿瘤免疫逃逸机制	(120)
第二节 Th 细胞在抗肿瘤免疫中的作用	(121)
一、Th 细胞的抗肿瘤作用	(121)
二、Th 细胞抗肿瘤免疫机制	(122)

三、肿瘤对其特异性 CD4 ⁺ Th 细胞的耐受	(123)
第三节 Th1/Th2 漂移与抗肿瘤免疫	(123)
一、Th1 优势与抗肿瘤免疫	(123)
二、不同肿瘤患者的 Th1/Th2 漂移	(123)
三、产生 Th1/Th2 漂移的可能机制	(124)
第四节 Th 细胞及相关因子在抗肿瘤免疫治疗的应用	(125)
一、用 Th1 型细胞及其相关因子进行非特异性免疫治疗	(125)
二、诱导 Th1 型细胞因子应答的基因疫苗	(126)
第十一章 Th 类细胞与神经系统疾病	(129)
第一节 Th 类细胞与急性炎症性脱髓鞘性多神经病	(129)
一、Th1/Th2 型细胞因子与 AIDP	(129)
二、炎症性细胞因子与 AIDP	(130)
三、Th3 型细胞因子及 IL-12 与 AIDP	(131)
第二节 Th 细胞与重症肌无力	(131)
一、Th1 型细胞因子与 MG	(131)
二、Th2 型细胞因子与 MG	(132)
三、Th3 型细胞因子与 MG	(132)
四、共刺激分子与 MG	(133)
第三节 Th 类细胞与多发性硬化	(133)
一、MS 的免疫发病机制	(133)
二、Th1/Th2 型细胞因子与 EAE 及 MS	(134)
三、Th3 型细胞因子与 EAE 及 MS	(135)
四、炎症性细胞因子与 MS	(136)
第十二章 Th 类细胞与内分泌系统疾病	(139)
第一节 Th 类细胞与 I 型糖尿病	(139)
一、I 型糖尿病的发病机制概述	(139)
二、Th1/Th2 型应答与 I 型糖尿病	(140)
三、Th1 免疫损伤/Th2 免疫保护 β 细胞的可能机制	(141)
四、调节 Th1/Th2 型应答与 I 型糖尿病的防治	(141)
第二节 Th 类细胞与甲状腺功能亢进症	(142)
一、Th1/Th2 型应答与 Graves 病	(143)
二、Th1/Th2 型应答与 Graves 病突眼	(143)
三、Th 型细胞因子与 Graves 病诊治	(144)
第三节 Th 类细胞与桥本氏甲状腺炎	(145)
一、Th1/Th2 型细胞因子与桥本氏甲状腺炎	(145)
二、细胞凋亡与桥本氏甲状腺炎	(146)
第十三章 Th 类细胞与血液系统疾病	(149)

第一节 Th 类细胞与自身免疫性溶血性贫血	(149)
一、AIHA 的分类	(149)
二、AIHA 的发病机制	(149)
三、Th1/Th2 型应答与 AIHA	(149)
第二节 Th 类细胞与原发血小板减少性紫癜	(150)
一、ITP 病因与发病机制	(150)
二、Th1/Th2 型应答与 ITP	(151)
三、Th1/Th2 型应答与 ITP 的治疗	(151)
第三节 Th 类细胞与再生障碍性贫血	(152)
一、再障的病因和发病机制	(152)
二、T 细胞功能紊乱在再障发病机制中的作用	(152)
三、再障患者 T 淋巴细胞与造血细胞凋亡	(153)
四、再障的免疫治疗	(154)
第十四章 Th 类细胞与生殖免疫	(156)
第一节 Th 类细胞与正常妊娠	(156)
一、妊娠期母体免疫功能的变化	(156)
二、Th1/Th2 型细胞因子对妊娠的影响	(157)
三、妊娠时 Th1/Th2 型应答失衡的机制	(158)
第二节 Th 类细胞与原因不明的复发性流产	(159)
一、动物模型	(159)
二、临床研究	(160)
三、主动免疫治疗与 URSA	(160)
第十五章 Th 类细胞与移植免疫	(162)
第一节 同种异基因器官移植	(162)
一、同种异基因器官移植概述	(162)
二、单向移植排斥理论	(163)
三、微嵌合现象与双向移植排斥理论	(163)
第二节 Th 类细胞与宿主抗移植反应及耐受	(164)
一、Th1 型细胞因子与排斥反应	(165)
二、Th2 型细胞因子参与介导移植耐受	(165)
三、调节细胞因子网络诱导移植耐受	(166)
四、Th1/Th2 转换诱导移植耐受学说的局限性	(166)
第三节 Th 类细胞与移植抗宿主病	(167)
一、Th1 型细胞因子与 GVHD	(167)
二、Th2 型细胞因子与 GVHD	(168)
三、与 GVHD 有关的其他细胞因子	(168)
第十六章 Th 类细胞与其他疾病	(172)

第一节 Th 类细胞与支气管哮喘	(172)
一、哮喘的发病机制	(172)
二、Th1/Th2 型应答失衡与哮喘	(172)
三、Th1/Th2 型应答与激素抵抗性哮喘	(173)
四、Th1/Th2 型应答失衡与哮喘的治疗	(173)
第二节 Th 类细胞与炎症性肠病	(174)
一、肠粘膜慢性炎症的免疫发病机制	(174)
二、Th1/Th2 型应答与 IBD	(175)
三、炎症性细胞因子与 IBD	(176)
第三节 Th 类细胞与接触过敏	(177)
一、影响接触过敏中 Th1/Th2 型应答失衡的主要因素	(177)
二、Th1/Th2 型应答与 CH 的治疗	(179)
第四节 Th/Th2 细胞与外科应激	(180)
一、外科应激发生免疫紊乱的机制	(180)
二、动物模型	(181)
三、临床研究	(181)

第三篇 Th 类细胞的检测及相关技术

第十七章 T 细胞的分离及功能检测技术	(184)
第一节 T 细胞的分离	(184)
一、外周血单个核细胞的分离	(184)
二、外周血淋巴细胞的分离	(185)
三、从淋巴组织分离制备淋巴细胞	(188)
四、细胞计数、活力测定和细胞的保存	(189)
第二节 外周血 T 细胞的计数	(189)
一、总 T 细胞计数	(189)
二、T 细胞亚群的检测	(190)
第三节 T 细胞功能的检测	(191)
一、T 细胞转化实验	(191)
二、淋巴细胞毒试验	(193)
第四节 HLA I - 肽四聚复合物检测系统及其应用	(195)
一、四聚复合物法的原理	(196)
二、四聚复合物的制备	(196)
三、四聚复合物法的应用	(196)
四、四聚复合物法的应用前景	(198)
第十八章 细胞因子的检测方法	(200)
第一节 细胞因子概述	(200)

一、细胞因子的分类及特点	(200)
二、细胞因子受体	(200)
三、细胞因子的检测方法	(201)
四、细胞因子分析中的质量控制	(201)
第二节 细胞因子的生物学活性检测	(202)
一、细胞增殖法	(202)
二、靶细胞杀伤法	(203)
三、细胞病变抑制法	(204)
第三节 细胞因子的免疫学测定法	(205)
一、试剂与器材	(206)
二、操作方法	(207)
三、注意事项	(207)
第四节 细胞因子的分子生物学检测法	(208)
一、操作步骤	(208)
二、注意事项	(209)
第五节 细胞因子受体的检测方法	(210)
一、基本原理	(210)
二、试剂与器材	(210)
三、操作步骤	(210)
四、注意事项	(211)
第六节 细胞因子检测方法的评价	(211)
一、细胞外因子的检测	(211)
二、细胞内细胞因子的检测	(212)
三、局部组织的细胞因子检测	(212)
四、细胞因子检测结果的使用与评价	(212)
第十九章 细胞内因子的检测技术	(214)
第一节 流式细胞术	(214)
一、测试原理	(214)
二、结果描述	(215)
三、检测细胞内因子的原理与方法	(216)
四、应用流式细胞术检测细胞内因子的研究进展	(219)
第二节 酶联免疫斑点法	(220)
一、基本原理	(220)
二、测定方法	(220)
三、结果评估	(220)
四、注意事项	(220)
第二十章 T 细胞的体外克隆技术	(222)

第一节 T 细胞克隆的基本原则	(222)
一、T 细胞克隆前活化或选择性活化	(222)
二、选择合理的单细胞分离技术	(222)
三、优化 T 细胞克隆生长的条件	(223)
第二节 T 细胞克隆的基本方法	(223)
一、液体微孔有限稀释法	(224)
二、淋巴细胞显微操作克隆法	(226)
三、软琼脂克隆法	(227)
四、其他方法	(228)
第三节 T 细胞克隆的鉴定	(228)
一、T 细胞克隆表面标志的鉴定	(228)
二、T 细胞克隆抗原特异性的鉴定	(228)
三、T 细胞克隆抗原受体 TCR 基因的鉴定	(229)
四、T 细胞克隆的功能鉴定	(229)
第四节 Th 细胞克隆的制备	(230)
一、试剂与器材	(230)
二、克隆方法(图 20-1)	(230)

第一篇 Th 类细胞的基础

第一章 T 淋巴细胞

T 淋巴细胞(T lymphocyte)简称 T 细胞,是一群功能不同的异质性细胞,由于它在胸腺内分化成熟,故称为 T 细胞。成熟 T 细胞由胸腺迁出,移居于周围淋巴组织中淋巴结的副皮质区和脾白髓小动脉的周围。成熟的不同功能的 T 细胞均属小淋巴细胞,在形态学上不能区分,但可借其细胞膜表面分子不同加以鉴别。

在 T 细胞发育的不同阶段以及成熟 T 细胞在静止期和活化期,其细胞膜分子表达的种类和数量均不相同。这些分子为抗原性不同的糖蛋白,它们与 T 细胞对抗原的识别、细胞的活化以及信息的传递、细胞的增殖和分化以及 T 细胞的功能发挥有关,并且与 T 细胞在周围淋巴组织中的定位相关。

第一节 T 细胞个体发育

T 淋巴细胞是由多能造血干细胞(pluripotent hematopoietic stem cell, PHSC)发育分化而来。PHSC 有 2 个主要特征,即具有全能性和自我更新的能力。PHSC 进一步分化为髓样干细胞(myeloid stem cell)和淋巴样干细胞(lymphoid stem cell)。前者最终分化为红细胞、巨噬细胞和粒细胞;而后者分别在胸腺和骨髓发育为成熟的 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞,成熟后进入外周免疫器官定居,并循血液→组织→淋巴→血液进行淋巴细胞再循环而分布于全身,发挥其功能。

一、T 细胞的分化成熟

胚胎胸腺器官培养(fetal thymic organ culture, FTOC)和特定细胞因子诱导试验系统的建立,证实机体内存在淋巴样干细胞和 T/NK 共同前体细胞。淋巴样干细胞进入胸腺之初尚未表达 T 细胞表面标志,但表达末端脱氧核苷转移酶(terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT),被称为前胸腺细胞,它们在胸腺微环境中的胸腺基质细胞及其分泌的细胞因子和胸腺激素的作用下,逐渐分化为成熟的 T 细胞,在此过程中 T 细胞获得功能性 TCR、自身 MHC 限制性及自身耐受。T 细胞的分化成熟过程可分为双阴性(double negative, DN)、双阳性(double positive, DP)和单阳性(single positive, SP)3 个时期。

(一) 双阴性期

胚胎或骨髓干细胞衍生的 T 祖细胞进入胸腺后经前 T 细胞发育为双阴性细胞,为早期 T 细胞发育阶段。原始 T 细胞(Pro-T cell)通过其表面粘附分子与胸腺毛细血管内皮细胞上的配体分子结合,并在上皮细胞分泌的多种趋化因子作用下,穿过血胸屏障进入胸腺。在皮质区进行增殖和分化,经前 T 细胞(Pre-T cell)进一步发育为双阴性 T 细胞。双阴性期的 T 细胞不表达 TCR 和 CD3 分子,不能识别抗原也不具有任何功能。

(二) 双阳性期

随着在胸腺内的分化,双阴性 T 细胞首先表达 TCR 的 β 链(β 链基因首先重排),之后表达 TCR 的 α 链前体(Pre-T α),此时的 TCR 也称为前 TCR(Pre-TCR)。Pre-T α 和 Pre-TCR 的表达可促进 T 细胞的进一步分化,并诱导 CD8 和 CD4 分子基因的活化,T 细胞首先表达 CD8 分子,CD8 分子促进 CD4 分子的表达,CD4 分子和 CD8 分子同时表达形成双阳性 T 细胞。双阳性的 T 细胞仍不能识别抗原,也不具有任何功能。

(三) 单阳性期

双阳性 T 细胞在胸腺内经 2 次选择过程,分化为 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞,即单阳性 T 细胞。此为成熟的 T 细胞,同时表达 TCR 和 CD3 分子,能识别抗原,介导免疫应答。T 细胞一旦成熟,就随血流离开胸腺进入外周免疫器官或外周血。

二、Notch 信号途径与 T 细胞发育

Notch 信号途径是在多种动物体内广泛存在的、在进化过程中中高度保守的一种信号途径,它主要是调控细胞分化的方向,在胚胎发育、肿瘤发生等病理生理过程中起重要作用。目前研究表明:在 Notch 信号作用下,淋巴样干细胞更易于分化为 T 细胞前体,并表达功能性 TCR $\alpha\beta$,而不是 TCR $\gamma\delta$;而且可使 CD4⁺ CD8⁺ T 细胞倾向于向 CD4⁺ CD8⁺ T 细胞分化。

(一) Notch 信号途径概述

1. Notch 分子的基本结构及其配体

(1) Notch 分子的基本结构:Notch 分子是一种由 2 753 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白分子,其胞外膜区含有 36 个表皮生长因子(EGF)样重复序列,其中第 11、12 个重复序列介导与配体的相互作用。胞浆区的 938 个氨基酸形成 6 个锚定蛋白样重复序列,又称 CDC10 结构域。目前在哺乳动物中,已发现了四种 Notch 基因,分别称为 Notch1~4。这些基因的表达非常广泛,遍及胚胎发育期中的各种组织和各种成熟组织中具有增殖能力的细胞层。

(2) Notch 分子的配体:Notch 分子的配体在果蝇中称为 Delta 和 Serrate,在脊椎动物中 Serrate 的同源分子为 Jagged1、2,Delta 的同源分子为 Delta 样分子,都是胞浆区很短的跨膜蛋白,胞膜外区含数目不等的 EGF 样重复序列,N 端含有一个富含半胱氨酸的 DSL 基序,在与 Notch 的结合中起关键作用。

2. Notch 信号的转导方式 当 Notch 分子与其配体结合后,Notch 的胞内段(NICD)可在蛋白酶作用下裂解并转移至核内,与一种称为 CBF1 的 DNA 结合蛋白结合,激活 HES(hairy enhancer of split)等分化拮抗基因的表达,HES 等表达产物相应的分化效应基因的启动子特异性结合,募集 Groucho/TLE(transducin like enhancer of split)等转录共抑制因子,阻碍分化效应基因的表达,最终影响细胞的分化、增殖与凋亡。

3. Notch 信号的基本功能 Notch 信号的基本功能主要有三个方面:①旁侧特化或抑制效

应;②通过某种细胞调控另一种细胞的分化方向;③细胞自主调控,即由细胞自身通过 Notch 信号调控细胞分化的方向。

(二) Notch 信号在 T 细胞发育中的作用

在 T 细胞的发育过程中,Notch 信号与 TCR 协同作用,在多个环节调控 T 细胞的发育和分化。

1. 影响细胞的分化

(1)决定骨髓淋巴样干细胞的分化方向:Notch1 的活化能使骨髓淋巴样干细胞向 T 系分化;而 Notch1 活性被抑制时,T 细胞的早期发育受阻,淋巴样干细胞向 B 系分化。深入研究发现:HES 分子在 T 细胞的发育中起关键作用。HES 基因缺陷的小鼠,T 细胞的发育受阻,出生后不能存活。

(2)影响 TCR 类型的表达:TCR 类别的形成受基因重排和胸腺内微环境两方面的影响,Notch 信号虽不能代替 TCR 基因重排,但可促进 TCR $\alpha\beta$ 型 T 细胞的形成。

2.调控淋巴细胞的凋亡 Notch1 在 T 淋巴细胞中具有抗凋亡活性。组成型活化的 Notch1 可抑制糖皮质激素诱导的 T 细胞凋亡。

3.调控淋巴细胞的增殖 人和小鼠 Notch 分子在 Jagged 的作用下产生的信号对维持原始造血干细胞的自我更新起重要作用,从而保证骨髓前体细胞的扩增。

三、胸腺中 T 细胞的选择

T 细胞在胸腺内由双阳性 T 细胞分化为单阳性 T 细胞要经过 2 次选择过程,即阳性选择(positive selection)和阴性选择(negative selection),才能最终分化为成熟的具有免疫功能的 T 细胞。

(一)阳性选择

DP 细胞在胸腺皮质和髓质交界处与胸腺基质细胞表面的 MHC - I、II 类分子及其他因子相互作用,凡 TCR 能识别自身 MHC - I、II 类分子,并能与之结合的 T 细胞克隆发生增殖,进一步分化为单阳性 T 细胞,而那些不能识别结合 MHC - I、II 类分子的 T 细胞则发生细胞凋亡而被克隆清除,称为阳性选择。在这一选择过程中,DP 细胞如果是与胸腺基质细胞表面 MHC - I 类分子作用,其 CD4 分子的表达下调,直到完全抑制,而 CD8 分子表达则上调,最终分化为 CD8⁺ T 细胞;DP 细胞如果是与 MHC - II 类分子作用,其 CD8 分子的表达下调,直到完全抑制,而 CD4 分子表达则上调,最终分化为 CD4⁺ T 细胞。在此过程中大部分的 DP 细胞死亡,只有小部分 DP 细胞存活并增殖。

阳性选择的生物学意义在于:赋予成熟的 T 细胞具有识别、结合 MHC 的能力,使 T 细胞在识别抗原时显示 MHC 限制性。

(二)阴性选择

经过阳性选择的 CD4⁺ T 细胞或 CD8⁺ T 细胞,既包括识别异己抗原的特异性克隆,也包括自身反应性克隆。前者是机体所需要的,后者对机体是有害的,故必须经过再次选择。胸腺细胞的阴性选择主要发生于 SP 细胞与胸腺内巨噬细胞、树突状细胞或髓质上皮细胞间的相互作用。SP 细胞通过 TCR 与上述细胞表达的自身肽 - MHC - I 或 II 类分子复合物发生高亲和力结合者被消除,称之为克隆排除(clonal deletion)。现已证明克隆排除与细胞凋亡有关。但不在胸腺表达的自身抗原,其自身反应性 T 细胞仍能发育成熟,并漏至周围淋巴组织,可能