

387041

# 免 疫 学 原 理

Principles of Immunology

主 编 周光炎

上海市研究生教育专项经费资助



上海科学技术文献出版社

## 内 容 提 要

本书是经上海市学位委员会审批,由上海第二医科大学和上海市免疫学研究所会同国内知名的免疫学专家、教授共同编写的研究生免疫学教学用书。该书包括免疫系统、免疫应答和免疫病理三部分共 17 章,内容为基础和进展并重,注意在反复介绍基本概念的同时,引入新的认知和反映新的领域,以体现研究生教材更深、更新和重点更为突出的特点。该书同时具有通用性、系统性和完整性,因而也是体现 20 世纪末免疫学发展水平的一本高级教程和参考书,可供大专院校师生、医务人员、科研人员,以及生物学和畜牧兽医学工作者查阅和参考。

## 《免疫学原理》编著者名单

(姓氏按汉语拼音顺序排列)

- 范丽安 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,研究员,博士研究生导师
- 葛海良 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,教授,硕士研究生导师
- 龚非力 同济医科大学免疫学教研室,教授,博士研究生导师
- 金伯泉 中国人民解放军第四军医大学免疫学教研室,教授,博士研究生导师
- 李宁丽 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,副教授,硕士研究生导师
- 李伟毅 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,教授,硕士研究生导师
- 陆德源 上海第二医科大学微生物学教研室,教授,博士研究生导师
- 陆佩华 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,研究员,博士研究生导师
- 马宝骊 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,教授,博士研究生导师
- 王 易 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,副教授
- 王福庆 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,研究员,硕士研究生导师
- 吴厚生 上海医科大学免疫学教研室,教授,硕士研究生导师
- 谢蜀生 北京医科大学免疫学系,教授,博士研究生导师
- 叶 敏 中国科学院上海细胞生物研究所,研究员,博士研究生导师
- 张冬青 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,副研究员
- 张笑人 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,讲师
- 周光炎 上海第二医科大学,上海市免疫学研究所,研究员,博士研究生导师

## 序 言

免疫学是生命科学发展的前沿领域,是基础医学和临床医学的支撑学科之一。在分子生物学、细胞生物学、遗传学等多学科的渗透下,免疫学的发展日新月异,并显示出和临床疾病的发生、诊断、治疗戚戚相关,和生物技术的发展及产业化紧密联系等一系列特点。这使我们每每感到已有的教材难以适应和反映学科迅速发展的面貌。为此,在历届研究生免疫课授课提纲的基础上,在上海市学位委员会的规划和上海市研究生教育专项经费资助下,以上海第二医科大学和上海市免疫学研究所各位教授和副教授为基本力量,并邀请国内知名的免疫学家共同参与,编写了这本免疫学原理。

作为研究生教材,要求本书的内容比大专学生学的免疫学更深、更新和重点更为突出,但考虑到研究生入学时的知识结构和已有的免疫学基础往往有相当的参差,本书在内容上仍是基础和进展并重。所谓进展,主要侧重概念的更新,注意在反复介绍基本概念的同时,引入新的认知和反映新的领域,因而本书不是系列性的专题讲座。例如编写中注意将信号转导、细胞凋亡、基因表达的调控、受体和表位的分子生物学等前沿性概念和学科相关的生长点融合于各章节之中。

本书编写的另一目标,是同时提供一本和研究生水平相当的参考书即免疫学高级教程,供广大教师和学生、医务人员、科研人员以及生物学和畜牧兽医学工作者查阅和参考,因而又需要注意内容安排上的系统性和全面性。这反映在本书仍由传统的三个部分组成,即免疫系统、免疫应答和免疫病理,各自包括5~6章。在这之前,加上一个扩大了绪论性章节,给出统观全书的一些重要概念。需要指出的是,本书的第三部分虽冠以免疫病理的名称,内容却不是典型的病理学,而只是换一个角度从疾病相关的方面阐述免疫学原理,以强化基本概念并和临床医学相衔接,因而也不同于一般意义上的临床疾病免疫学。这部分内容在教学中的反应是好的,但是,如何具体地加以应用,似应根据教学时数和具体的条件而取舍。

本书的编写得到上海市免疫学研究所两位前任所长陆德源教授和马宝骊教授的热情指导和参与;并有第四军医大学、同济医科大学、上海医科大学、北京医科大学和中科院细胞生物研究所的免疫学教授赐稿,有的还参与讨论和



修改;本所冯荻老师领导的小组参与了本书的电脑作图,在此一并表示感谢。

本书着重参考了下列国际上有影响的免疫学教科书(书名一般不再列入各章的参考文献中):

Janeway CA, Travers P, Walport M and Capra JD. Immunobiology, The Immune System in Health and Disease, 4<sup>th</sup> ed, Current Biol Publ, New York, 1999.

Abbas AK, Lichtman AH and Pober JS: Cellular and Molecular Immunology, 2<sup>nd</sup> ed, WB Saunders, Philadelphia, 1997.

Roitt IM. Essential Immunology, 9<sup>th</sup> ed, Blackwell Sci, Boston, 1997.

Kuby J. Immunology, 3<sup>rd</sup> ed, Freeman, New York, 1997.

Klein J and Horejsi V. Immunology, 2<sup>nd</sup> ed, Blackwell Sci, Oxford, 1997.

希望使用本书的教师和同学们对教材的内容和编排提出宝贵意见,也希望同行专家和广大读者对本书提出批评和建议。

世纪相交又一轮,千年百载两更新。仅以此书和广大读者共迎免疫学发展的新世纪!

周光炎

2000年4月

# 第一章 概 论\*

免疫学(immunology)是阐明机体的抗病机制和免疫应答不良后果的学科,涉及免疫系统的结构和功能。按传统定义,免疫(immune)指免除传染病;免疫性(immunity)指抗感染能力。这和历史上免疫学从人类与传染病的斗争中发展起来不无关系。然而近代免疫学已超越了单纯抗感染的范畴,将免疫定义为对抗原性异物的识别和清除。因而免疫学学科中矛盾运动的主要形式亦被抽象为“分辨自身和非己”(self-nonself discrimination),免疫学成了一门机体识别和清除非己成分的科学。

## 第一节 天花疫苗、预防接种和免疫学的兴起与发展

200多年前,英国医生 Edward Jenner 从牛痘中制备活疫苗用于防治天花获得成功,并于 1798 年发表论文。此后全球推行牛痘接种,逐步控制了天花的流行。其效果可以从 1870 年的普法战争中得到体现。当时正值天花流行,法国军队未种牛痘,23 400 人死于天花;但普鲁士军队进行了预防接种,仅死亡 278 人,不及法军病亡者的尾数,预防免疫的重要性由此可见。经过人类近 180 年的努力,最后一例天花病人于 1976 年在索马里被治愈,其后几年不再有新病例报道,世界卫生组织遂于 1980 年正式宣布全世界消灭天花。这是运用免疫干预手段控制烈性传染病获得成功的典范,是现代医学最辉煌的成就之一。应用疫苗防治天花亦构成了真正意义上的“免疫”,免疫学这一概念由此诞生。

### 一 中国古代关于预防接种的实践

其实,早在明朝隆庆年间(1567 ~ 1572),中国人采用“鼻苗法”预防天花已有确凿的记载。他们从天花痊愈者皮肤痘痂制备干粉,将干粉用银管吹入健康人鼻腔(旱苗法),或将干粉用水调和塞入鼻孔(水苗法),造成预防性轻度感染,达到免疫的效果。图 1-1 是清朝张海鹏在《海藏痲论萃英》一书关于《种痘心法》中水苗法接种的描述。这种采用痘痂粉的人痘接种法(variolation)对防治天花十分有效,被认为是人类历史上进行人工免疫的首次大规模实践。这一技术不仅遍及中国,并很快传入周边国家,于 1721 年被英国驻土耳其大使夫人 Montagu 带入欧洲进行推广,使人痘接种在世界范围得到普及。

但是采用带有天花病毒的人痘直接进行免疫,效果和安全性很不稳定:“苗顺者十无一死,苗凶者十只八存”(张琰:《种痘新书》,1741)。尽管当时有经验的医人采用优质人痘进行接种成功率可高达97%,然而大规模应用难免会在一些个体中出现严重的反应。因而天花

---

\* 本章的论述,将超越一般绪论的范围。这是因为本书是在本科免疫课基础上的深入,既需突出重点和减少不必要的重复,也需考虑系统性和全面性,因而本章将兼对未曾列入专章叙述的一些重要概念,作简要的阐述。

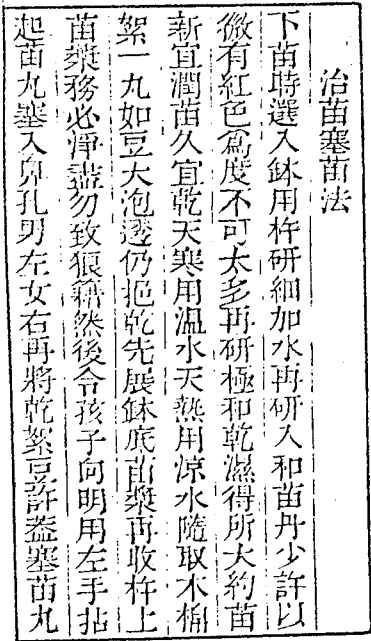


图 1-1 清朝《种痘心法》一书中关于采用水苗法进行人痘接种的记载

的预防最终被更为安全的牛痘接种所取代,但这已是 19 世纪的事了。现认为,我国的人痘接种法推动了其后 Jenner 研制牛痘苗和 Pasteur 研制炭疽减毒疫苗。据考证, Jenner 在提出牛痘接种之前就是一位人痘接种师,他本人在 8 岁时就因种过人痘而获天花免疫力,深知人痘接种的意义和利弊。

应该说,疫苗所包含的病原微生物类型的改变(如从人痘苗发展成为牛痘苗),或是对微生物作减毒处理,可提高接种效果和减低毒性,是极为重要的措施,但其本质属于“工艺上”的改进,因为原理不变,都是基于引入致病的病原微生物或相关的成分使机体致敏而获得特异性抗病能力。显然,重要的是思想。而最早提出“以毒攻毒”思想的可能是中国人,并首先由中国人成功地付诸于实践。18 世纪法国著名思想家 Voltaire (1694 ~ 1778) 在他最有影响的著作《哲学通信》中论及人痘接种(此时牛痘尚未出现):“我听说 100 年来中国人一直有此习惯(指种痘),这是被认为全世界最聪明、最讲礼貌的一个民族作出的伟大先例和榜样。

……倘若我们在法国曾施行种痘,也许会挽救千千万万人的生命。”

Voltaire 死后 12 年, Jenner 提出牛痘接种。有人认为免疫学起源于此,看来是不够确切的。如果把有计划的大规模预防接种和免疫干预(并有确切的文字记载),作为免疫学产生的一个经验性阶段或标志,则应当首推 16 世纪中国人施行的人痘接种。

二 现代免疫学是生命科学的前沿

20 世纪中期,免疫学从微生物学中独立出来,发展极为迅速。随着细胞生物学、分子生物学、遗传学等学科的渗透,现代免疫学已成为生命科学的前沿领域和现代医学的支撑学科之一。表 1-1 列举了 30 年来(1970 ~ 1999)获得 Nobel 医学生理学奖的免疫学家。可以看出,在整个生命科学的获奖项目中,免疫学占了 8 项共 14 人。其比例之高,给人以深刻印象。可见在现代生命科学和医学的发展中,免疫学一直居于前沿,地位突出,显示了强大的生命力。

表 1-1 从 20 世纪 70 年代起获得 Nobel 医学生理学奖的免疫学家

年 份	获 奖 者	主 要 成 就
1972	Porter RR, Edelman GM	抗体的化学结构
1977	Yalow RR	放射免疫测定技术
1980	Snell S, Dausset J, Benacceraf B	主要组织相容性复合体的结构和功能
1984	Milstein C, Kohler GE	单克隆抗体
1984	Jerne NK	免疫网络和免疫调节理论
1987	Tonegawa S	抗体产生中的基因重排
1991	Thomas ED, Murray J	移植免疫学
1996	Doherty PC, Zinkernagel RM	T 细胞免疫中的 MHC 约束性

牛痘苗传入中国在 1804 年,而免疫学在中国的发展则始于 20 世纪 40 年代。近代免疫学在中国的兴起和几位先驱者的努力是分不开的。其中首推谢少文教授(1903~1992)和余赟教授(1903~1988)。在他们和其他老一辈免疫学家的带领下,我国免疫学事业已呈现兴旺发达的局面,教学和研究单位遍布全国,人才辈出。现时正以新的成就和姿态跨入 21 世纪,迎接新的挑战。

## 第二节 抗原、免疫原性和抗原表位

### 一 抗原和免疫原

能使机体产生体液免疫和细胞免疫的物质称为免疫原(immunogen)。因而免疫原可以诱发特异性免疫应答,显示免疫原性(immunogenicity)。能和免疫应答产物(抗体和免疫细胞抗原受体)相结合的物质称为抗原(antigen)。抗原和抗体等免疫应答产物起反应的特性称为抗原性(antigenicity)。

出于习惯,对免疫原和抗原这两个名词在使用中通常不加以区分。严格说来,此处抗原一词仅指完全抗原,即同时能显示抗原性和免疫原性的物质。半抗原(hapten)只具有抗原性而无免疫原性,因而半抗原可以和抗体结合却不能单独诱发免疫应答。在这个意义上,具有免疫原性的分子都显示抗原性;但是具有抗原性的分子不一定有免疫原性。

本书中非经特别指明,抗原一词和免疫原通用。

### 二 决定免疫原性的因素

机体免疫系统在防御性免疫应答中能否对病原体起反应,涉及构成病原体的各种大分子(抗原)及其特性。而抗原进入机体是否诱发有效的免疫应答,还取决于接受抗原的生物学系统的多种特性。因而免疫原性的强弱既由抗原因素决定,也和机体的生物学因素有关。

#### (一) 决定免疫原性的抗原因素

1. 异物性: 后面将会提到,免疫系统具有区分自身和非己的能力。一般说,自身或自身成分指机体胚系基因(germ line)编码的产物。但实际上,免疫系统往往将胚胎期或未成熟免疫细胞发育时所遇到的所有抗原视为自身。这些抗原当然主要是自身成分,但如果此时有任何非胚系基因编码的成分被引入免疫细胞发育的微环境中,免疫系统也可视其为自身。在这个意义上,未成熟免疫细胞发育关键时期未曾接触过的物质,才能真正被机体以非己成分或外源性抗原加以对待。

蛋白质抗原外源性的强弱和物种间胚系基因的差异程度有关。抗原来自系统发育距离越远的物种,其外源性越突出,免疫原性也越强。牛血清白蛋白(BSA)注入牛的体内不显示免疫原性,但引入其他动物体内则具有免疫原性,免疫原性的强弱视接受 BSA 的物种和牛之间的进化距离而异,通常牛与山羊之间小于牛与兔,牛与兔之间小于牛与鸡。这就是说,BSA 作为抗原引入鸡的体内,免疫原性最强。由此推知,进化上高度保守的分子如细胞色素 C 和胶原,不会有强的免疫原性。这是因为编码上述分子的胚系基因的结构在物种之间差异很小。这一点已被实验所证明。

2. 相对分子质量: 理想的免疫原,其相对分子质量(简称分子量)应在 100 000 (100 kD)以上。一般说,分子量低于 5 000~1 000(5~10 kD),免疫原性不佳。

3. 化学组成和异质性: 有关人工合成多肽的研究表明, 由单一氨基酸组成的聚合物, 尽管分子量可以足够大并具外源性, 但免疫原性很弱。如果由不同氨基酸(2 个或 2 个以上)构成共聚物, 由于增加了化学复杂性, 往往显示良好的免疫原性。有意义的是, 如果引入芳香族氨基酸, 如酪氨酸和苯丙氨酸, 免疫原性可大大提高。如以谷氨酸和赖氨酸构建聚合物, 分子量至少要 30 000 ~ 40 000 (30 ~ 40 kD) 方具有免疫原性; 加入酪氨酸, 分子量只需 10 000 ~ 20 000 (10 ~ 20 kD); 若同时加入酪氨酸和苯丙氨酸, 分子量低至 4000 即显示免疫原性。抗原结构的异质性的提高, 还依赖蛋白质形成二级、三级和四级结构。但这一点主要有助于诱发体液免疫即诱导抗体的产生。

4. 可递呈性: 第七章将提到, T 细胞不识别完整的抗原分子, 而是识别被抗原递呈细胞 (APC) 加工过的经由 MHC 分子递交的抗原肽。就 T 细胞介导的免疫应答而言, 抗原分子能否被有效地加工和递呈, 决定了这一分子的免疫原性。抗原加工中涉及溶酶体酶对抗原分子的解离, 如果组成抗原聚合物的氨基酸不是 L 型而是 D 型, 则难以被酶解, 免疫原性降低。再者, 易于被 APC 吞噬的不溶性大分子抗原, 可有较好的免疫原性; 而且, 分子间的化学结合、热凝聚, 以及抗原和不溶性基质的有效交联, 皆有助于 APC 吞噬和提高免疫原性。

## (二) 决定免疫原性的生物学因素

1. 宿主的遗传背景: 不同 MHC 背景的实验动物对同一抗原产生的应答格局可以有明显差异。由此发现了调控特异性免疫应答的免疫应答基因 (Ir gene) (领衔研究者 Benacerraf 因而获 1980 年 Nobel 医学生理学奖), 并确认 Ir 基因产物就是 MHC 分子。其中 T 细胞的激活起关键作用, 而不同宿主带有不同的 MHC 等位基因分子, 所递呈的抗原肽可激活不同的 T 细胞克隆。这一点, 将在后面的章节中详述。

2. 引入抗原的剂量和途径: 抗原剂量必需适当, 过高或过低将导致免疫无反应或免疫耐受 (immune tolerance)。在数周内反复注射同一抗原比一次性注射效果好, 因为可有效地激发抗原特异性淋巴细胞克隆的增殖。另外, 抗原的摄入途径可左右参与免疫应答的器官和细胞的类型。如静脉注射的抗原先进入脾脏; 皮下注射, 抗原首先进入局部淋巴结。这些器官中淋巴样细胞的群体结构不同, 影响随后的免疫应答格局。

3. 佐剂: 佐剂 (adjuvant) 是一类可与抗原混合并共同进行免疫的物质。通常佐剂不改变抗原本身的免疫原性, 而可以提高机体的应答能力, 增强对抗原的免疫应答。当抗原的免疫原性较弱, 或抗原量偏少又需多次免疫时, 加用佐剂可获良好效果。佐剂作用的确切机制未明, 估计和下列因素有关: 延长抗原滞留时间; 增强免疫细胞激活所需要的协同刺激信号; 诱发肉芽肿 (富含巨噬细胞) 的形成促进 T 细胞激活; 刺激淋巴细胞非特异性增殖等。

## 三 T、B 细胞识别不同的抗原表位

免疫细胞通常难以借助其表面受体识别整个抗原分子, 而仅识别抗原大分子上的一个特定的部分, 称为表位 (epitope) 或抗原决定簇 (antigenic determinant)。因而表位代表了抗原分子上的一个免疫活性区, 负责和免疫细胞表面的抗原受体和抗体分子相结合。严格说来, 抗体的特异性是针对表位而不是针对完整的抗原分子。

T、B 细胞对抗原的识别采取不同的方式 (表 1-2)。T 细胞和 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 细胞表位和 B 细胞表位。

表 1-2 T、B 细胞对抗原识别的比较

	B 细 胞	T 细 胞
和抗原相互作用的结构	抗原-BCR 二元体	抗原肽-MHC-TCR 三元体
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 MHC 分子递呈抗原肽
抗原的化学特性	蛋白质、多糖、脂类	主要为蛋白质
表位特性	具易近性,亲水性,可变性;组成肽段的氨基酸可连续也可不连续	属胞内加工过的线性肽段,能与 MHC 分子结合

### (一) B 细胞表位的特性

(1) B 细胞表位的大小由抗体分子的抗原结合部位大小所决定。而且,抗体的抗原结合部位的形状及其氨基酸残基的组成也影响表位的体积。

(2) 蛋白质抗原的 B 细胞表位通常由抗原表面的亲水性氨基酸残基组成,使该表位易于接近 B 细胞抗原受体和游离的抗体分子。

(3) B 细胞表位可由连续的或不连续的氨基酸残基组成。后者系抗原分子折叠后由多个构型性片段组合而成,因而不连续性表位又称构型决定簇(conformational determinant)。蛋白质的变性和抗原分子的分解将破坏构型,此时,能识别天然蛋白质的抗体即不再起作用。另外,组成不连续表位的肽链间如果由二硫键相连,则此键一旦被打断,表位即被破坏。

(4) B 细胞表位通常位于抗原的柔性区,其部位具有可动性。这一特点有利于表位和抗体结合部位呈现最佳的结构互补状态。然而抗体和柔性表位间的结合亲和力比之于抗体和非柔性表位结合的亲和力要低。

(5) 结构复杂的蛋白质抗原可带有多个相互重叠的 B 细胞表位,其中有一些发挥免疫优势(immunodominant)表位的作用。

### (二) T 细胞表位的特性

前已叙及,T 细胞不识别可溶性的天然抗原,而是识别经过加工并由 MHC 分子递交的抗原片段。换言之,完整抗原上的 T 细胞表位,即使仅包括几个氨基酸残基,也不能直接被 T 细胞识别。因而表达 T 细胞表位的抗原必需有可递呈性,而且表位的形成涉及 APC 和靶细胞对抗原的加工处理(详见第七章)。既然 T 细胞识别的是经过酶解、加工和递呈的抗原片段,则原有的抗原分子是否保持其构型并不重要,亦不会影响 T 细胞表位的主要特性。这些特性指的是:

(1) 经抗原加工产生的抗原肽,参与构成 T 细胞识别中的三元体结构即 MHC-抗原肽-TCR,三元体中的肽段参与形成 T 细胞表位。

(2) 三元体中进入 MHC 分子抗原结合凹槽(antigen-combining cleft)中的小肽,通常以其两端的锚着残基(anchor residue)和 MHC 凹槽内壁结合,中间的隆起部分直接供 TCR 识别 (图 1-2)。  
T 细胞表位

(3) 和 B 细胞表位通常显露于抗原表面不同, T 细胞表位往往藏于蛋白质分子之内。表明 B 细胞表位和 T 细胞表位在同一抗原分子上分立。

(4) 特定抗原的 T 细胞免疫优势表位是否表达,取决于是否出现能够识别并递呈这一表位的特定 MHC 等位基因分子,亦即取决于该个体遗传上是否得到相应的 MHC 等位基因。因而带有不同 MHC 等位基因的个体,递呈优势表位能力往往不同,由此可能造成个体间对同一抗原免疫应答能力的差异。

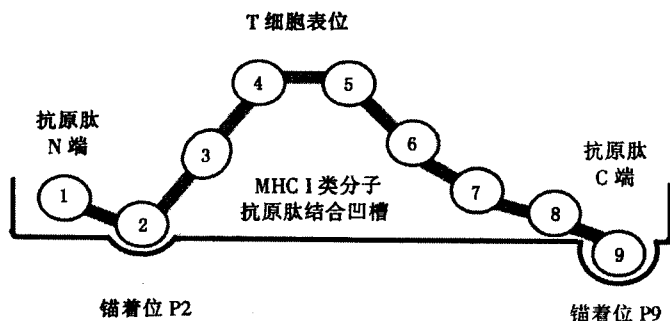


图 1-2 MHC 分子递呈的抗原肽中间隆起部分被 TCR 识别

#### 四 抗原的种类

(一) 根据抗原是否显示免疫原性而区分

1. 完全抗原：具有良好的免疫原性和抗原性。根据抗原的化学特性，免疫原性最强的是蛋白质抗原，多糖次之；脂类和核酸除非和蛋白质及多糖形成复合物，通常本身不显示良好的免疫原性。B 细胞通常识别蛋白质抗原和多糖抗原；T 细胞一般识别蛋白质抗原。

2. 半抗原：因分子量小仅显示抗原性，需和载体蛋白结合后方具有免疫原性。此时，半抗原激活 B 细胞，载体蛋白激活 T 细胞。换言之，对于半抗原-载体系统，B 细胞表位和 T 细胞表位通常分别位于半抗原和载体分子。

(二) 根据 B 细胞产生抗体是否需要 T 细胞参与而区分

1. 胸腺依赖抗原：简称 TD-Ag，主要是蛋白质抗原。此类抗原诱发 B 细胞产生抗体时，需有胸腺衍生的 CD4 Th2 细胞参与。

2. 非胸腺依赖抗原：简称 TI-Ag，主要是多糖和决定簇重复的直线抗原。此类抗原可直接诱发 B 细胞分化，产生以 IgM 为主的抗体。

有关两类抗原的特性及作用机制，将在第九章中详述。

(三) 根据抗原和机体的亲缘关系而区分

1. 异种抗原：包括病原微生物和在异种动物体内产生的抗体等。前者如细菌和病毒抗原；后者如针对人抗原的鼠源性单克隆抗体，此类鼠源性单抗引入人体后，既可作为抗体和相应的抗原分子起作用，也可作为异种抗原诱发产生抗抗体，称人抗小鼠抗体(human anti-mouse antibody, HAMA)反应。

2. 同种异体抗原：典型者如 ABO 血型抗原和组织相容性抗原，后者是引起移植物排斥的主要因素(详见第四章和第十七章)。

3. 自身抗原：正常情况下，免疫系统不对自身抗原产生免疫应答。病理情况下，自身抗原可诱发自身免疫病，引起自身耐受崩溃。其中涉及一系列复杂的免疫生物学现象，将在自身免疫病一章介绍。

4. 嗜异性抗原：嗜异性抗原(heterophilic antigen)指不同物种间共有的抗原。通常指人体某些组织和病原微生物特定成分之间所具有的共同抗原。如肺炎球菌与血型抗原之间、溶血性链球菌胞膜与肾小球基底膜和心肌组织之间、大肠杆菌成分与结肠膜之间可出现交叉反应，表明存在共同的嗜异性抗原。阐明这些抗原的作用，对疾病的诊断和治疗十分重要。

## 五 淋巴细胞的多克隆激活剂

各种抗原可以激活淋巴细胞使之发生克隆扩增,但其中涉及的克隆数极为有限,因而抗原属于一类寡克隆激活剂,诱发高度特异性的免疫应答。与之相对应,还存在一类多克隆激活剂(polyclonal activator),其特点是,可使高比例的淋巴细胞活化。严格说来,这类激活剂不属于抗原,因为它激活大量 T、B 细胞克隆而不涉及这些细胞克隆的抗原特异性。但是多克隆激活剂可引起强烈的免疫病理学效应,在免疫应答的正负调节及其体外应答和临床应用上,有重要的价值。

### (一) 丝裂原

能引起高百分比的 T、B 细胞发生有丝分裂的物质称为丝裂原(mitogen)或有丝分裂原。丝裂原包括多种成分,其中的凝集素(lectin)是一类结合有蔗糖的蛋白质,可以和各种细胞表面的糖蛋白专一性地结合。凝集素分子一旦和这些糖蛋白结合,可通过信号传递引起细胞的活化和增殖。表 1-3 列举了 3 种常见的引起淋巴细胞增殖的凝集素丝裂原。其中 Con A 和 PHA 激活 T 细胞,PWM 同时激活 T 细胞和 B 细胞。

表 1-3 淋巴细胞的多克隆激活剂

	英文缩写	来 源	类 别	靶 细 胞
刀豆素 A	Con A	Jack 豆	凝集素	T 细胞
植物血凝素	PHA	菜 豆	凝集素	T 细胞
美洲商陆	PWM	美洲商陆	凝集素	T、B 细胞
脂 多 糖	LPS	G <sup>-</sup> 菌	内毒素	B 细胞
超抗原*	SAg	G <sup>+</sup> 菌	肠毒素	T 细胞

\* 超抗原种类很多,此处所列为激活人体 T 细胞的一类外源性超抗原

### (二) 脂多糖

革兰阴性菌细胞壁成分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)属细菌内毒素。现已查明, LPS 可以专一性地和细胞表面一类称为 TLR 的受体结合,通过胞内信号传递直接活化转录因子 NF- $\kappa$ B 和 AP-1,引起基因转录和细胞激活。这是一类B 细胞多克隆激活剂。

### (三) 超抗原

超抗原(superantigen, SAg)是另一类强有力的 T、B 细胞多克隆激活剂。激活人体 T 细胞的外源性超抗原,主要是革兰阳性菌产生的肠毒素,如金黄色葡萄球菌肠毒素(staphylococcal enterotoxin, SE)中的 A 型(SEA)和 B 型(SEB),以及毒素休克综合征毒素(TSST-1)。这类超抗原分子一端和 TCR  $\beta$  链的 V 区分子结合,另一端和 APC 表面的 HLA II 类分子的  $\alpha$  螺旋结合,形成另一类“MHC-SAg-TCR”三元体。和经典的三元体“MHC-抗原肽-TCR”不同,此处的抗原(SAg)不是嵌在 MHC 分子的凹槽中,而是附着于凹槽的外侧(详见第八章),因此不需 APC 的加工和递呈。超抗原作用的特点是,可使得表达 TCR  $\beta$  链的某些 T 细胞克隆(其比例可高达 2% ~ 20%)激活,而不涉及这些克隆在抗原识别上的特异性。高比例 T 细胞的激活,引起诸多细胞因子的释放,常导致十分严重的病理性后果,如引起全身性中毒反应和对免疫应答的抑制作用。另外,还存在专门激活 B 细胞的超抗原,以及激活 T 细胞的内源性超抗原,后者主要是病毒产物,已在小鼠中得到确认。



### 第三节 天然免疫、炎症反应和非特异性防御屏障

#### 一 天然免疫和获得性免疫

天然免疫(innate immunity)是机体在种系发育和进化过程中形成的免疫防御功能。其特点是:作用范围广,不针对特定抗原;先天获得,出生后即具备。与此相对应的是获得性免疫(adaptive/acquired immunity),指出生后通过与抗原物质接触后所产生的一系列防御功能,其主要特点将在第四节中详述。表 1-4 对天然免疫和获得性免疫作一初略比较。

表 1-4 天然免疫和获得性免疫若干特性的比较

	产生特点	特异性	多样性	回忆性应答	参与的免疫细胞
天然免疫	生来具有	非抗原特异	有限	无	吞噬细胞*,NK
获得性免疫	后天获得	抗原特异	丰富	有	淋巴细胞

\* 包括巨噬细胞和中性粒细胞等

#### 二 天然免疫中的防御屏障和炎症反应

天然免疫中,机体阻止病原体入侵或及时清除入侵病原体防止其扩散,构成了广义的防御性屏障,既有一般的机械性阻挡和抑菌,也包括通过吞噬作用和炎症反应构筑功能性的防御屏障(表 1-5)。

##### (一) 基本屏障

指防止病原体入侵的物理屏障和解剖学屏障,是机体抗感染的第一道防线。主要由皮肤和粘膜组成。

表 1-5 机体的防御性天然屏障

类 型	机 制
基本屏障	皮肤 防止微生物入侵;酸性环境(pH 3~5)防止微生物生长 粘膜 正常菌丛和微生物竞争,粘液捕获和纤毛运动排除微生物
生理屏障	温度 体温和发热反应抑制某些病原体的生长 低 pH 胃酸杀死大部分摄入的微生物 化学介质 溶菌酶对细菌细胞壁的裂解;干扰素的抗病毒活性;补体的杀伤作用和促吞噬功能
吞噬屏障	各种细胞对外来大分子的胞吞和分解作用;特定细胞(单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞)对完整微生物的吞噬、杀伤和消化
炎症屏障	组织损伤和感染使带有抗菌活性的血清蛋白自血管渗出,吞噬细胞向感染部位聚集

皮肤包括表皮和真皮。表皮外层为已死亡的表皮细胞,带有防水的角蛋白。其下方的真皮层由结缔组织组成,带有血管、毛囊、汗腺和皮脂腺,后者分泌油性的皮脂。皮脂含乳酸和脂肪酸,使皮肤表面形成一个 pH 为 3~5 的酸性环境,抑制大部分微生物的生长。

结膜、消化道、呼吸道、生殖道的粘膜表面由粘膜层及下方的结缔组织层构成。粘膜是病原体进入体内的主要部位。其中起屏障作用的成分,一是唾液、眼泪、粘膜分泌物,它们可洗去入侵物并带有抗菌和抗病毒物质。二是粘膜上皮细胞,这些细胞可分泌粘液,捕获病原体。另外,下呼吸道和肠道的粘膜还覆盖着纤毛,有清除微生物的作用。最后,非致病性微

生物可在粘膜表面上皮细胞形成菌落,以其正常菌丛竞争性地使病原体无定位之地。

## (二) 生理屏障

温度(体温和发热)对病原体生长起抑制作用。胃酸可杀死大部分入侵的微生物。

多种可溶性蛋白质参与非特异的免疫防御。溶菌酶是粘膜分泌物中的一种水解酶,可分解细菌细胞壁的肽糖成分。干扰素则具有抗病毒活性。

另一类参与免疫防御的重要血清蛋白质是补体。有关内容将在本节最后部分讨论。

## (三) 吞噬屏障

吞噬细胞摄入胞外物质主要有两种形式:胞吞和吞噬。

1. 胞吞: 胞吞(endocytosis)指胞外组织液中的大分子被细胞摄入。其方式又有两种,称为胞饮(pinocytosis)和受体介导的胞吞(图 1-3)。前者直接吞入可溶性大分子;后者选择性地吞入受体-大分子复合物。随后,带有大分子的胞吞小泡相互融合而进入内体(endosome)。内体中的酸性内含物使大分子和受体分子解离,后者可再循环至细胞表面,而带有游离大分子的内体则和来自高尔基复合体的初级溶酶体(lysosome)融合成为次级溶酶体。溶酶体内含有蛋白酶、核酸酶、脂酶和其他水解酶,使进入其中的抗原大分子分解成为肽、核苷酸和单糖,并排出体外。

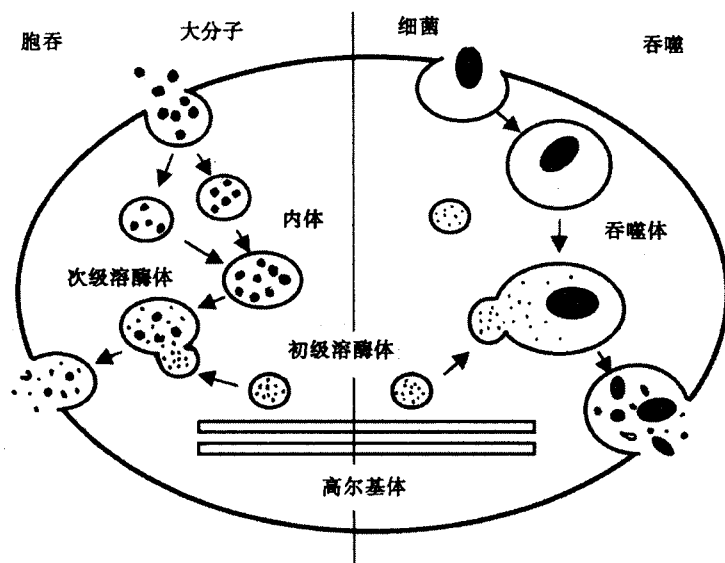


图 1-3 细胞对大分子的胞吞(左)和对细菌的吞噬作用(右)示意图

2. 吞噬: 吞噬(phagocytosis)指细胞摄入颗粒性物质如完整的病原体。吞噬通常只能由专一化的吞噬细胞如血液单核细胞、中性粒细胞和组织巨噬细胞进行。包含颗粒性物质的吞噬小泡比胞吞小泡大 10~20 倍。吞噬小泡随后与溶酶体融合,在溶酶体酶的酶解下,颗粒性物质被细胞摄入的抗原物质分解并排除胞外,其步骤和胞吞途径相似。

## (四) 炎症反应所起的屏障作用

皮肤和组织的损伤造成病原体入侵。病原体被吞噬的同时,吞噬细胞释放各种生物活性物质如细胞因子等。本书第五章将会谈到,细胞因子在功能上是一类可以影响其他细胞行为的蛋白质。吞噬细胞释放的细胞因子引起一系列效应,统称炎症反应(inflammation)。炎症反应的表现通常归结于四个字:红、肿、热、痛,它们代表了细胞因子对局部血管的作用。

图 1-4 表明,炎症发生时,血管扩张,通透性增加,导致血流量增加和液体逸出,引起局部红肿和疼痛。细胞因子和粘附分子,特别是其中的选择素和某些整合素,还能改变细胞的粘附特性,引起循环的白细胞粘着于血管壁内皮细胞,并越过内皮细胞间隙向炎症部位游走(详见第六章),进一步被其他细胞因子吸引到炎症部位,由此引起局部疼痛。大量炎症细胞在病原体入侵部位的聚集,有效地吞噬了病原体,然而细胞所释放的炎症介质和具有裂解活性的酶类,也可损伤正常细胞。

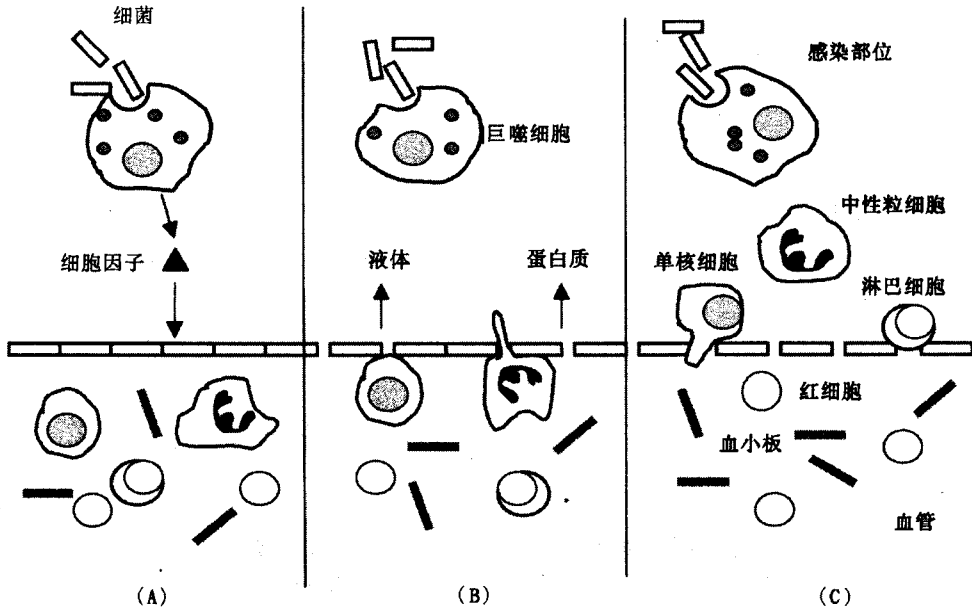


图 1-4 炎症反应的特点及其在抗感染中的屏障作用

(A) 细菌触发巨噬细胞释放细胞因子,细胞因子作用于血管壁;(B) 血管扩张通透性增加使体液和蛋白质逸出血管引起局部红肿和发热;(C) 炎症细胞进入组织并释放炎症介质引起疼痛

参与炎症反应的化学介质很多,还包括 C 反应蛋白、组胺、激肽、纤维蛋白(fibrin)等。参与的细胞,早期是中性粒细胞,随后是巨噬细胞,统称为炎症细胞。事实上,炎症反应的后期还有淋巴细胞的参与,涉及获得性免疫应答。

### 三 补体及其激活途径

补体(complement)是一组血浆蛋白质,约有 20 余种,对热不稳定,可通过 56℃ 处理 30min 而去除其活性。补体可协助抗体清除病原体并由此而得名。自然条件下,补体成分以无活性的酶原形式存在,多种特异性和非特异性免疫学机制可使这些无活性的酶原分解,产生一个有活性的大单位和一个大片段(小单位),这一过程称为激活。所得到的大片段通常停留在病原体和细胞表面,最终使后者裂解或加速其清除;小片段离开细胞表面,介导炎症反应。

#### (一) 补体级联反应中的前期事件

补体的激活由两组紧密相随的事件或两个阶段组成,并由此形成补体激活的级联反应(cascade)。这两个阶段分别称为前期事件和后期事件,其分界线是 C3 转化酶(C3 convertase)的形成和活化。

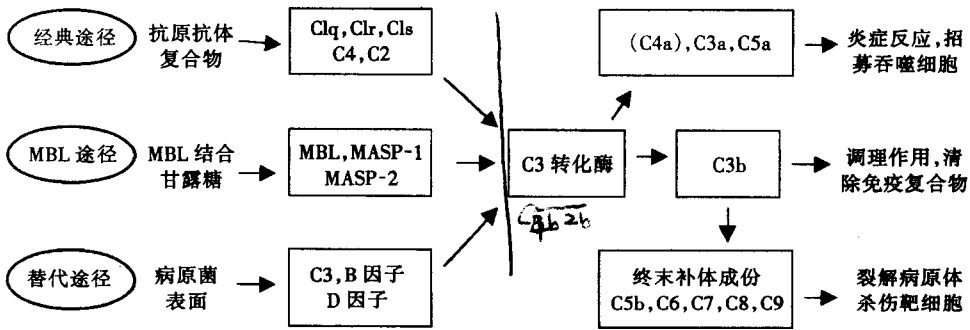


图 1-5 补体激活的三条途径及其效应作用

MBL: 甘露糖(mannose)结合凝集素 MASP: 甘露糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白酶

先期事件涉及三条途径对 C3 转化酶的激活(图 1-5)。

1. 经典途径: 始于抗体(主要是 IgM 和 IgG)对病原体或细胞表面抗原分子的识别及抗原抗体复合物的形成。补体 C1q 分子结合抗体后触发这一经典途径。C1q 和 C1r、C1s 共同组成 C1 复合物,后两者随着 C1q 的活化而依次激活。C1s 被活化后,专一性地使下列两个补体成分分解和活化: C4 分解成 C4a 和 C4b; C2 分解成 C2a 和 C2b。被激活的两个大的分解单位 C4b 和 C2b 迅速沉积到细胞表面,共同构成经典途径中显示酶解活性的 C3 转化酶即 C4b2b(旧称 C4b2a)。

2. MBL 途径: MBL 指的是甘露糖结合凝集素(mannose-binding lectin)。MBL 可以和细菌表面的甘露糖结合,然后此凝集素通过甘露糖凝集素相关丝氨酸蛋白酶(MASP)直接分解 C4 和 C2,由此产生的大单位 C4b2b 构成 C3 转化酶。

3. 替代途径: 上述途径中产生的 C3 转化酶水解 C3 而成为 C3a 和 C3b。沉积于细胞表面的 C3b 可与 B 因子结合,成为易于被血清中 D 因子分解的易感状态, B 因子遂分解成为 Ba 和 Bb,然后由 C3b 和 Bb 构成复合物,成为替代途径中的 C3 转化酶 C3bBb。

由此可见,经典途径和替代途径中的 C3 转化酶都可使底物 C3 分子酶解,但两者结构不同,分别为 C4b2b 和 C3bBb。这里, C3b 既是 C3 转化酶分解 C3 之后出现的产物,又是 C3 转化酶的组成部分,由此形成了经典途径和替代途径相互影响的一种反馈性放大机制。

显然,补体活化经典途径的启动有赖于抗原抗体复合物的出现,因而补体参与了下面将详细讨论的获得性免疫。但是其他两个途径不涉及抗体,属于天然免疫的范畴,表明在天然防御系统中,特别在感染的早期,补体发挥重要作用。

## (二) 补体级联反应中的后期事件和补体的效应功能

1. C4、C3、C5 分解产生的小片段 C4a、C3a 和 C5a 作为一种肽介导物(peptide mediator)参与诱导局部炎症反应(表 1-6),起着招募吞噬细胞的作用。

表 1-6 补体系统蛋白成分的功能性分类

	结合 抗体	结合 甘露糖	激活性 蛋白酶	膜结合性 调理素	炎症反应 肽介导物	攻膜 蛋白	补体 受体
补体蛋白	C1q	MBL	C1r, C1s, C2b Bb, D, MASP	C4b, C3b	C5a, C3a C4a	C5b, C6 C7, C8, C9	CR1, CR2, CR3 CR4, C1qR

(2) C3 是血浆中浓度最高的补体蛋白,含量为 1.2 mg/ml。一个 C3 转化酶可以分解 1 000 个 C3 分子,由此产生大量的 C3b。C3b 凭借其暴露出来的硫酯键(thioester bond)以共价形式结合于病原体表面,否则 C3b 将因水解而失活。因而补体激活的一个重要结果,是使 C3b 大量沉积和覆盖在病原体或靶细胞的表面。另一方面,吞噬细胞带有识别病原体表面 C3b 的受体,有利于吞噬细胞借助配体-受体的结合,增强对覆盖有 C3b 分子病原体的吞噬和清除。补体的这一功能称为调理作用(opsonization)。能起调理作用的补体成分(C3b,还包括 C4b)称为调理素(opsonin)。表 1-6 右侧列出了 5 种补体受体,其中 1 型受体(CR1)专一性识别 C3b 和 C4b,主要表达于巨噬细胞和多型核白细胞。

(3) 经 C3 转化酶分解产生的 C3b,还有一个重要作用,是与 C4 和 C2 的分解产物即 C4b2b 共同构成 C5 转化酶(其组成是 C4b2b3b)。C5 转化酶的功能是将 C5 分解成 C5a 和 C5b。C5a 进入液相,前面提到,可以和 C3a、C4a 一起介导炎症反应;而结合在细胞表面的 C5b,则通过结合 C6,活化补体级联反应的其他终末成分 C7、C8、C9,这 5 种补体成分合在一起称为 C5b678,加上 12~15 个 C9 分子,在病原体或靶细胞表面形成攻膜复合物(membrane-attack complex, MAC)。这是一个插入靶细胞脂双层膜的中空圆桶状结构,内径为 11 nm,可让水和电解质通过却不能让大分子穿行。因而靶细胞表面大量攻膜复合物的出现,造成水分因膜内外渗透压的巨大差异而进入胞内,靶细胞不堪负担,最终胞膜破裂。这一效应称为细胞裂解(cytolysis)。如果攻膜复合物由经典途径的级联反应所造就,由此引起细胞死亡,称为补体依赖的细胞毒性(complement-dependent cytotoxicity, CDC)。因而免疫学上的细胞毒作用通常指细胞裂解。

## 第四节 获得性免疫、抗原特异性应答和基因调控

获得性免疫又称特异性免疫。获得性免疫的启动者和驱动力是抗原,抗原(以及提供抗原的病原体)一旦被清除,相应的应答即被关闭。这是免疫系统进化中形成的高度专一性的防御机制。获得性免疫应答在免疫学研究中居于核心地位。

采用疫苗接种能够控制烈性传染病的流行,主要是因为有效地诱发了获得性免疫应答。

### 一 获得性免疫应答

#### (一) 主要特点

1. 特异性:二次应答时能精细地区分致敏的抗原和其他无关的抗原;因而免疫应答的特异性指的是抗原应答特异性。

2. 多样性:参与获得性免疫应答的淋巴细胞抗原受体和相应分子(如抗体)在结构上显示高度的异质性,赋予机体具有识别数量极大的抗原并与之起反应的能力。多样性是产生特异性的基础。

3. 记忆性:再次遇到同一抗原时,出现增强性应答。

表 1-4 已列出这三个特点及其和获得性免疫的关系。

#### (二) 应答类型和有关的概念

1. 体液免疫和细胞免疫:由抗体一类可溶性分子介导的免疫应答称为体液免疫;由免疫细胞主要是 T 细胞介导的免疫应答称为细胞免疫。

免疫系统启动的是体液免疫还是细胞免疫取决于入侵病原体的种类和入侵途径。对于细胞外病原体,免疫系统可以直接进行清除或直接中和其产物(如毒素),其中抗体起重要作用;对付细胞内病原体,免疫系统往往动员 T 细胞,或者直接杀灭受感染的细胞(细胞毒性);或者通过释放细胞因子激活其他细胞(如巨噬细胞),由后者发挥清除胞内病原体的作用。表 1-7 举例说明了免疫系统对不同类型病原体的应答特点及相关疾病。

表 1-7 免疫系统对各种病原体启动不同类型的免疫应答和效应机制

病原体类型	体液免疫	细胞免疫	举 例	相应疾病
胞外病原体 (细菌, 寄生虫, 真菌)	+++	+	肺炎球菌( <i>Streptococcus pneumoniae</i> ) 破伤风梭菌( <i>Clostridium tetani</i> ) 布氏锥虫( <i>Trypanosoma brucei</i> )	肺炎 破伤风 睡眠病
胞内病原体 (细菌, 寄生虫)	-	+++	麻风杆菌( <i>Mycobacterium laprae</i> ) 杜氏利什曼原虫( <i>Leishmania donovani</i> ) 恶性疟原虫( <i>Plasmodium falciparum</i> )	麻风 利什曼病 疟疾
病毒(胞内)	++	+++	天花病毒( <i>Variola virus</i> ) 流感病毒( <i>Influenza virus</i> ) 水痘病毒( <i>Varicella virus</i> )	天花 流感 水痘
蠕虫	+++	±	蛔虫( <i>Ascaris</i> ) 血吸虫( <i>Schistosoma</i> )	蛔虫病 血吸虫病

需要指出的是,体液免疫中抗体的产生,实际上是 B 细胞激活和分化的结果,往往需要 T 细胞的协助,因而抗体只是免疫细胞被抗原激活之后的一种产物。在这个意义上,体液免疫离不开细胞免疫。或者说,体液免疫和细胞免疫的区分,主要体现在免疫应答的效应相,体现在被动免疫中,因为进行过继性转移的成分对体液免疫和细胞免疫是不同的:一个是血清(抗体),另一个是 T 细胞,特别是其中行使效应功能的细胞毒性 T 细胞(CTL)。

2. 初次应答和二次应答:免疫系统两次接触同一抗原,呈现不同的应答特点。初次应答潜伏期长,应答强度低;二次应答潜伏期短,应答强度大(图 1-6)。这一特点对体液免疫(例如抗体产生)和细胞免疫(例如移植物排斥反应)都是实用的。如果第二次用抗原进行攻击时,同时包含初次致敏的抗原和另一个新的抗原,可以看出,二次增强应答仅针对初次致敏过的抗原,对另一个抗原(图 1-6A 以细线表示;图 1-6B 以黑色横柱表示)仍显示初次应答的特点。这一现象说明,二次应答显示抗原特异性。前面已提到,获得性免疫中的特异性和记忆性,只有通过二次应答才能得到体现。

本书第九章将列表详细比较抗体产生中初次应答和二次应答的特点,并介绍二次应答过程中抗体的转类和亲和力成熟。对细胞免疫,则二次应答涉及效应细胞的增殖分化。这些都是重要的概念。

3. 主动免疫和被动免疫:特异性免疫应答通常指机体接触外来抗原之后,对该抗原产生的主动性应答,亦称主动免疫。把某种抗原人为地引入机体内可诱导主动免疫。

一个个体被抗原特异性地致敏之后,将该个体的免疫细胞或血清过继性地转移到另一个未接触过相同抗原的个体,使之产生对该抗原的特异性应答能力,称为被动免疫。被动免疫可使受者十分迅速地获得免疫力。

被动免疫体现了特异性免疫的另一个特点:可转移性。显然,可转移性是上面提到的获得性免疫三个基本特点的延伸。

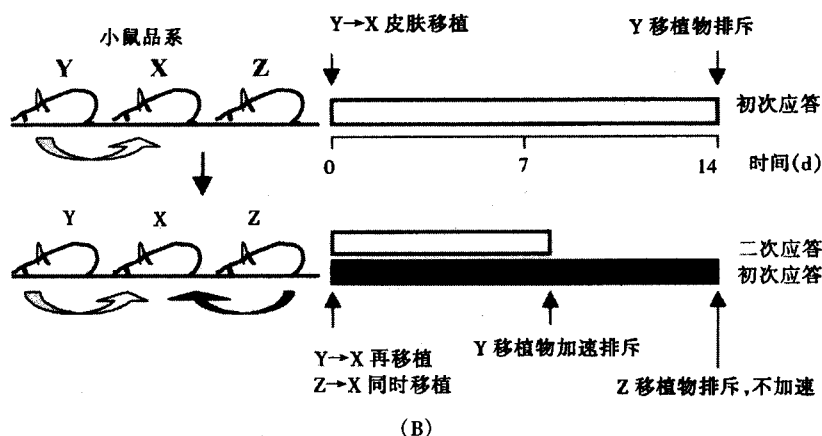
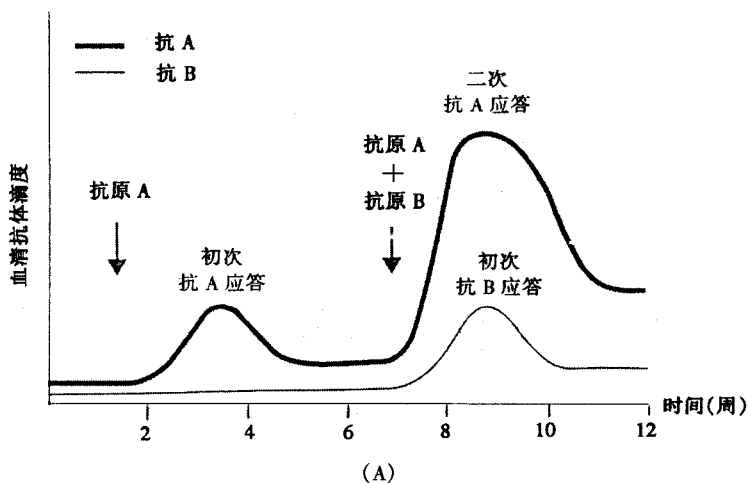


图 1-6 体液免疫(A)和细胞免疫(B)中的初次应答和二次应答

#### 4. 特异性免疫应答的三个时相:

- (1) 识别相: T、B 细胞通过受体 TCR 和 BCR 识别抗原。
- (2) 激活相: 识别抗原的淋巴细胞增殖分化, 产生效应细胞、效应分子和记忆细胞。
- (3) 效应相: 效应细胞和效应分子清除抗原。

本书的第七章到第九章将详述这三个时相的要素和特点。

## 二 获得性免疫应答的基因调控

前面提到, 机体能对数量极大的抗原产生特异性免疫应答, 依赖于免疫细胞和免疫分子的多样性。多样性由基因决定, 而基因的多样性是在系统发育(进化)和个体发育(分化)过程中形成的。

### (一) 参与并调控特异性免疫应答的三个基因系统

1. B 细胞抗原受体(BCR)基因系统: 又称免疫球蛋白(Ig)基因系统。其多样性一部分由胚系基因决定, 大部分由相应基因在个体发育过程中通过基因重排和体细胞高频突变等机制产生(参见第三章)。多样性主要体现在个体(整体)内表达不同 BCR 的 B 细胞克隆水平及相应的抗体分子水平。

2. T 细胞抗原受体(TCR)基因系统:多样性由胚系基因及个体发育过程中基因重排等机制产生。多样性主要体现在个体(整体)内表达不同 TCR 的 T 细胞克隆水平。

3. 主要组织相容性复合体(MHC):多样性包括复合体组成上的多基因性(polygene)和结构上的多态性(polymorphism),全部由胚系基因决定。MHC 多态性指一些基因座位拥有数量很大的复等位基因。因而这一多态性的变化体现在群体水平即个体之间,代表了同一个种群中不同个体复等位基因占有状态的差异。因而 MHC 基因的编码产物可以作为一个稳定的、显示个体性(individuality)的遗传标志。

### (二) 特异性免疫应答基因调控的一般性特点

三个基因系统对特异性免疫应答的调控,首先决定了个体内 T、B 细胞及抗体分子的多样性(对 BCR/TCR 基因系统)和个体间遗传背景的差异性(对 MHC 基因系统)。

没有多样性就没有特异性,也就没有特异性免疫应答。免疫细胞抗原受体结构多样性的整体构成,称为受体谱(repertoire)。因而淋巴细胞通过 BCR/TCR 对免疫应答进行调控之成为可能,在于提供了完整的受体谱供抗原进行克隆选择。抗原驱动下受体谱的偏移(skewing)所形成的特定格局,决定并调节特异性免疫应答。

在另一方面,没有 MHC 多态性就没有个体间对免疫性疾病易感的差异性。因而 MHC 对特异性免疫应答的调控,是以结构不同的等位基因产物(MHC 分子)和抗原肽构成复合物,选择性地作用于 T 细胞抗原受体谱,实现 MHC-抗原肽对 T 细胞的克隆选择。因而不同个体的 MHC 分子可区别性地结合同一抗原的不同抗原肽,进而选择不同的 T 细胞克隆使之发生扩增,在群体水平制约免疫应答的强度及其特异性。

## 三 参与天然免疫的细胞和分子与获得性免疫应答

### (一) 参与天然免疫的细胞和分子为 T 细胞的激活递呈抗原

树突细胞和巨噬细胞属于专职抗原递呈细胞(professional APC),在 T 细胞的激活中起着十分关键的作用。这一作用包括两方面:递呈抗原和提供协同刺激信号。为此,要求两类细胞能有效地表达 MHC 分子和协同刺激分子。这可以是组成性表达(constitutive expression),也可以是诱导性表达(inducible)。后者需由某些细胞因子或抗原进行激发。事实上,B 细胞也属于专职抗原递呈细胞。三种专职抗原递呈细胞除了加工抗原的类型和组织分布有所不同外,主要的差别是,树突状细胞可以组成性地同时表达 MHC 分子和协同刺激分子,因而此类 APC 可最为有效地激活未致敏(naive)T 细胞。详细情况将在本书第七章中介绍。

### (二) 参与天然免疫的细胞和分子为 T 细胞亚群的分化提供指令性信息

在抗原和病原微生物产物(如 LPS)的激发下,树突细胞、巨噬细胞和各种粒细胞可产生多种细胞因子如 IL-1、IL-4、IL-12、干扰素等。IL-12 能对 T 细胞的功能性分化(Th0 向 Th1 分化)提供指令性信息。另外,嗜酸/嗜碱粒细胞分泌的 IL-4,皮肤角朊细胞分泌的 IL-10 有利于 Th2 的分化而抑制 Th1 的出现。近年来还发现,一种介于 NK 和 T 细胞之间的 T 细胞亚群 NK1.1<sup>+</sup> T 细胞可大量分泌 IL-4,而一类表达 V $\gamma$ 9 V $\delta$ 2 TCR 的  $\gamma\delta$  T 细胞亚群则分泌 IFN- $\gamma$ ,它们都能分别参与 Th2 和 Th1 的分化。Th1 和 Th2 细胞各自介导细胞免疫和体液免疫,参与各种临床疾病的发生和发展。这些,将在后面的章节讨论。

### (三) 参与天然免疫的细胞和分子发挥免疫效应功能和参与免疫调节

非淋巴细胞谱系的细胞可参与抗体介导的效应作用。如巨噬细胞和 NK 细胞凭借各自



的 Fc 受体即 FcγRI(CD64)和 FcγRIII(CD16),参与抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity,ADCC)。又如非专职抗原递呈细胞在细胞因子的作用下,可通过调节不同类型淋巴细胞的活性,诱导局部免疫耐受。

#### (四) 补体、细胞因子和粘附分子的作用

补体的激活和各种分化抗原、粘附分子及其受体的表达,参与特异性免疫应答中免疫细胞的成熟、分化和归巢(homing)。前面已提到,补体活化的经典途径在体液免疫中起重要作用,参与抗原抗体复合物诱发的补体介导的细胞毒性(CDC)效应。

免疫细胞分泌各种类型的细胞因子,以网络的形式和非特异性的作用格局参与并调节特异性免疫应答,有时还直接发挥效应功能(如 TNF 对靶细胞的杀伤)。细胞因子还在 T、B 细胞亚群的分化以及 B 细胞发育中抗体的类别转换(class switch)中起重要作用。

从上述几点可以看出,没有天然免疫细胞和分子的介入,就不会出现有效的特异性免疫应答。天然免疫和获得性免疫是完整的免疫系统不可分割的两个方面。把特异性免疫应答机械性的孤立起来是不可取的。

## 第五节 克隆选择、克隆扩增和克隆选择学说 在免疫学发展中的意义

### 一 抗原驱动下的淋巴细胞克隆扩增

#### (一) 适应还是选择

抗体是最先确定的参与特异性免疫应答的效应成分。针对某一抗原产生的特异性抗体,其抗原结合部位和抗原分子的表位往往因结构互补而具有高亲和力,换言之,抗体对抗原的识别显示特异性。

机体针对某一抗原产生特异性抗体的机制,主要涉及两种理论。指令学说认为,浆细胞合成的免疫球蛋白肽链可“适应性”地以进入细胞的抗原分子为模板,折叠成为具有特定结构的分子,然后分泌于细胞外成为抗体。侧链理论认为,抗原仅作为一个选择因素,在已经存在的、结构多样的抗体分子中,把能够与之互补者“挑选”出来,由此获得特异性抗体。

适应还是选择,是 20 世纪生命科学领域中争论最为激烈的问题之一。例如细菌和害虫耐药性的形成,是生物体对日益增加药物剂量的一个适应性改变,还是大剂量的药物选择出了带有抗药基因的个体。实验证明选择学说是正确的。这就是说,在药物施用之前,抗药基因已经存在。或者说,在特定抗原来到之前,能识别这一抗原的抗体及相应的抗体形成细胞已经存在。在这种情况下,抗体谱所包含的大量特异性抗体分子(BCR 分子),有可能在机体的整个生命周期中根本遇不到相应的抗原。然而有备无患,这是机体应付多变内外环境的一种潜在的能力。

侧链理论正确地提出了抗原对抗体的选择,但基于当时免疫学的发展水平,错误地认为一个抗体形成细胞可以表达并分泌各种特异性不同的“侧链”即抗体分子,一旦某一侧链被抗原选中即可使该细胞大量分泌其中某一种抗体。因而这一学说不能解释特异性免疫应答中的记忆性如何产生等问题。

#### (二) 抗原选择表达特定 BCR 的 B 细胞克隆

克隆选择学说的真正确立,有赖于提出被选择的实体不是抗体分子本身,而是分泌这一抗

体并可以发生克隆扩增的免疫细胞,因为抗体是细胞表面抗原受体 BCR 的分泌形式。重要的是,这一克隆已被程序化成为不能产生显示其他特异性的受体和抗体分子。因而抗原和 BCR 的结合,激活了表达此单一特异性受体的免疫细胞,使之发生克隆扩增。其后产生的子细胞在 BCR 的结构即其与抗原结合的专一性上,和当初被选择出来的细胞保持一致,由此才能保证产生大量特异性相同的抗体。这就是说,克隆选择必须伴随着后续的克隆扩增。这是澳大利亚免疫学家 McFarlane Burnet 于 20 世纪 50 年代提出的克隆选择学说的精髓(图1-7)。

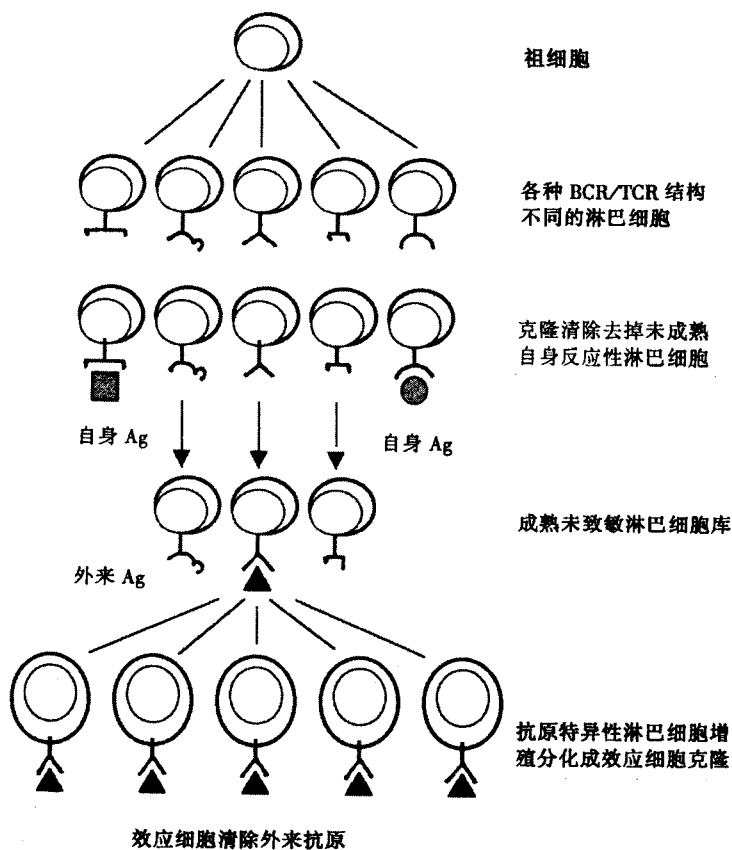


图 1-7 克隆选择学说

### (三) Burnet 的克隆选择学说要点

- (1) 各淋巴细胞带有的受体显示单一的特异性。
- (2) 外来抗原以高亲和力能和与之结合的受体发生相互作用,使带有该受体的淋巴细胞激活并发生克隆扩增。
- (3) 因淋巴细胞激活而分化成熟的效应细胞,其受体的特异性和亲代淋巴细胞相同。
- (4) 带有能识别自身抗原的淋巴细胞在发育早期被清除,在成熟的淋巴细胞库中不复存在。

## 二 克隆选择学说的意义

### (一) 克隆选择和系统发育

前面提到,抗原识别和选择的靶目标,并不是抗体分子本身,而是 BCR。正因为如

此,才有克隆选择和克隆扩增。现知,对于 TCR 即 T 细胞抗原识别多样性的产生,也服从于克隆选择学说。不同的是,体细胞突变作为多样性产生的一种机制,只适用于 BCR 而不适用于 TCR,亦即 TCR 基因多样性的产生中不涉及体细胞突变。由于体细胞突变不构成选择压力,在进化上没有意义,因而关于突变和选择关系的理解,既需要着眼于个体(个体发育),也需要扩展到胚系基因及其多样性的产生(系统发育),以及它们和特异性免疫应答的关系。在这个意义上,克隆选择学说是近代免疫学发展的基石,是理解特异性免疫应答的理论基础。

## (二) 克隆选择和克隆扩增解释了多种重要的免疫生物学现象

1. 关于特异性应答的特点: 前已提及,免疫细胞抗原受体结构的多样性,为克隆选择提供了基础和素材,而克隆扩增后致敏淋巴细胞的长期存活又是免疫记忆产生的细胞学基础。因而没有克隆扩增就没有特异性免疫应答,克隆应答(clonal response)已成为特异性应答的同义词。

淋巴细胞克隆扩增的直接后果,一是特异性细胞的数量多了。如果原先只有少数细胞产生特异性抗体,现在有成倍的细胞参与。这解释了二次应答中应答强度的增加。二是扩增的细胞皆属已被同一抗原致敏者,此类细胞一旦再次接触原先的抗原,激活速度大大增快。这解释了二次应答中潜伏期较短的特点。

2. 克隆清除与自身耐受: 克隆选择学说首次提出识别自身抗原的淋巴细胞可通过克隆清除(clonal deletion)形成自身耐受。至今,这仍然是理解中枢耐受产生的主要理论,这一过程是通过胸腺内阴性选择和细胞凋亡而实现的。

3. 抗体的亲和力成熟: 这是抗体生成二次应答中发生的重要事件。其中涉及两个要素,一是 BCR 编码基因易感部位的高频突变(hypermutation)即体细胞高频突变,这一突变作为一个重要的机制参与构成 BCR 的多样性以及表达这些 BCR 分子细胞克隆的多样性;二是低剂量抗原对突变产生的高亲和力受体分子及相应细胞克隆的选择。这是个体发育中抗原驱动下的一种选择过程,选择的要素是抗体的亲和力(affinity)。亲和力与特异性之间虽有联系但不完全相等。

4. 独特型和独特型网络: 根据抗独特型抗体识别特性所构筑的独特型网络,涉及“抗原表位-抗体”和“抗体-抗抗体”分子间的相互作用,但实质是基于表达这些抗体(或表达相应 BCR)的 B 细胞克隆及其网络间的相互作用。因而依据独特型网络进行免疫干预,必须着眼于构成参与克隆选择的细胞。其中能够选择带有特定 BCR 细胞的成分,可能不只是原先的抗原分子,还会包括发挥抗原作用的抗体分子,甚至是抗抗体分子。有关内容将在十一章详细讨论。

## (三) 克隆选择学说的应用意义

从未受感染的正常机体血清中分离出来的一群免疫球蛋白分子,可以分析它们的同种型(isotype)和同种异型(allotype),却无法分析它们的独特型(idiotype)以及相应的互补决定区(CDR)结构,这是因为这些免疫球蛋白分子是一群抗原识别结构各不相同因而独特型各异的混合体(图 1-8A)。早期的免疫学家能揭示免疫球蛋白分子的序列,是因为巧妙地从小鼠骨髓瘤细胞中获取了相当数量结构均一的免疫球蛋白分子,这些分子来源于发生了扩增的个别 B 细胞(浆细胞)克隆。图 1-8B 中左起第三个浆细胞因恶变而发生无休止的克隆扩增,所产生的免疫球蛋白不仅量大且结构完全相同,因而在图上方可见单克隆丙种球蛋白(以黑

色方块表示)的大量分泌。这为分析相应免疫球蛋白分子的一级结构(包括独特型)提供了可能。可见,只有从克隆选择和克隆扩增的角度去考虑和设计实验,才能揭示参与特异性免疫应答分子的结构和作用规律。

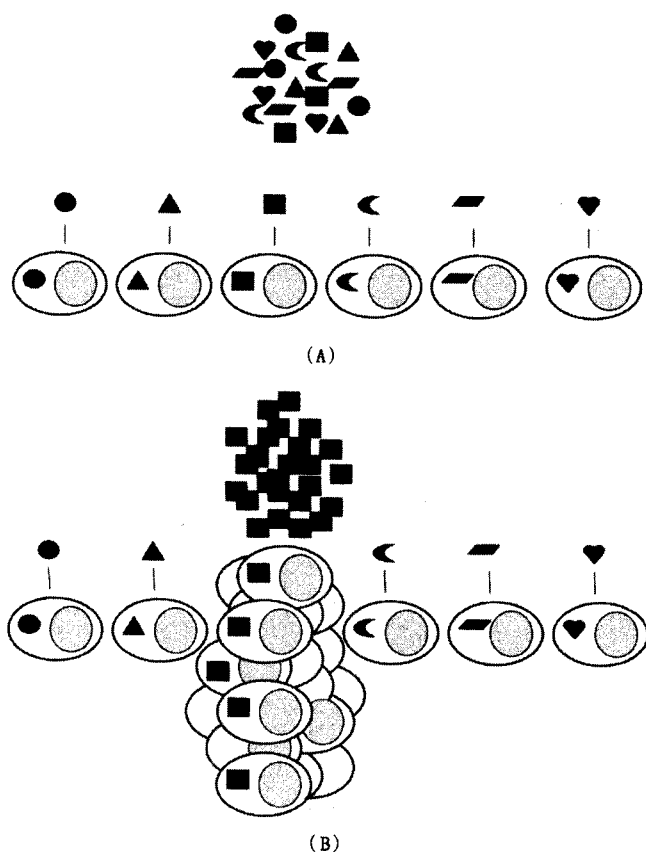


图 1-8 因恶变引起浆细胞克隆扩增产生大量结构均一的免疫球蛋白

因而,要得到大量能显示特定抗原特异性的均一性抗体,最好在体外赋予相应抗体生成细胞以无限的克隆扩增能力。Milstein 和 Kohler 巧妙地提出将抗体生成细胞和肿瘤细胞融合而构建能分泌单克隆抗体的杂交瘤,在人类历史上首次在克隆水平,能够人为地挑选出所感兴趣的淋巴细胞进行研究,并以此获取结构均一的特异性抗体分子。因而两人在 1984 年获 Nobel 医学生理学奖(表 1-1),这是当之无愧的。应该说,没有克隆选择和克隆扩增的学说,不会有单克隆抗体技术的问世。克隆选择学说显示了它在应用中的生命力。

同样的,克隆选择学说也已被用来获取特异性 T 细胞克隆。这方面技术的建立和完善,正有力地推动抗原 T 细胞表位的分析和特异性 T 细胞疫苗的研制,已同时在基础研究和应用研究中展示了诱人的前景。

## 第六节 基础免疫学、临床免疫学和免疫学技术

现代免疫学涉及的领域,主要为基础免疫学、临床免疫学和免疫学技术三个方面。

## 一 基础免疫学和临床免疫学

### (一) 基础免疫学

基础免疫学(basic immunology)主要研究以下内容。

1. 免疫系统: 涉及免疫器官、免疫细胞、免疫分子的结构功能, 以及相应基因的结构和表达特点。可以将这一部分看作是免疫学的一个基本的、结构性的阐述, 在本书中列入第二章到第六章。

2. 免疫应答: 主要包括特异性免疫应答的三个时相: 识别、活化和效应。有时还加上免疫调节的内容。可以将这一部分看作是免疫学的一个动态的、功能性的阐述, 在本书中列入第七章到第十一章。

上述内容, 是免疫生物学(immunobiology)的主要组成部分。有时还采用细胞免疫学(cellular immunology)和分子免疫学(molecular immunology)来突出免疫应答和免疫性产生的细胞基础和分子基础, 并各有侧重地阐明相应的作用机制。

### (二) 临床免疫学

临床免疫学(clinical immunology)通常包括两个方面。

1. 免疫病理: 着重反映免疫系统功能失调或病理条件下的应答特点和对临床疾病进行免疫干预的原理。通常包括感染免疫、变态反应、自身免疫病、免疫缺陷病、肿瘤免疫、移植免疫、免疫药理等。由于这一部分是从疾病相关的角度阐述免疫学基本原理, 和基础免疫学的关系极为密切, 往往被看作是应用性的基础免疫学。因而在本书中作为第三部分收入第十二章到第十七章。

2. 临床疾病免疫学: 研究机体各系统疾病所涉及的免疫学问题和疾病发生的免疫学机制, 以及从免疫学角度提出相应的防治措施。例如神经免疫学、生殖免疫学、血液免疫学、消化疾病免疫学、眼科免疫学等。

兽医免疫学是免疫学和畜牧兽医学之间的交叉学科, 有着广阔的发展前景。

## 二 免疫学技术和诊断免疫学

### (一) 免疫学技术的发展和應用

免疫学技术是现代免疫学的重要组成部分, 是诊断免疫学发展的基础。通过和分子生物学、蛋白质化学、细胞生物学、仪器分析相结合, 免疫学技术的研究、开发和推广进展迅速, 成为免疫学、临床医学及检验学相互渗透的重要而活跃的领域。

推动免疫学发展的实验技术主要涉及以下几个方面。

1. 各种实验动物模型的建立: 包括发展各种近交系、同类系(congenic strain)小鼠; 利用裸鼠和重型联合免疫缺陷病(SCID)小鼠作为“活试管”, 研究人体免疫细胞和分子的在体(in vivo)功能。

2. 免疫生化分析技术: 进行抗原、抗体、补体等免疫分子结构功能的分析。

3. 各种细胞培养系统的建立和应用: 包括淋巴细胞培养、克隆细胞的建系及应用、杂交瘤技术等。

4. 重组 DNA 及相关技术在免疫学中的应用: 涉及 DNA 的限制酶酶解、cDNA 和胚系 DNA 克隆与目的基因的挑选、多聚酶链式反应(PCR), 以及噬菌体展示文库等。

5. 向哺乳动物细胞作基因转移: 将免疫有关基因转入培养细胞和小鼠胚胎、进行实验动物的转基因和基因剔除。

免疫学技术应用的另一个重要方面是诱导免疫应答, 包括激发抗体的产生、诱发对特定抗原的免疫反应、应用佐剂增强蛋白质的免疫原性等。

## (二) 诊断免疫学

诊断免疫学(diagnostic immunology)主要涉及对免疫细胞和免疫分子的检测和评估机体免疫状态两个方面, 以协助疾病的诊断和分析治疗效果。

1. B 细胞应答及抗体的检测: 包括抗原-抗体反应(凝集反应、沉淀反应、补体结合反应)、亲和力测定、应用抗体检测细胞和组织中的抗原等。

2. T 细胞应答和淋巴细胞分析: 淋巴细胞及其亚群的分离纯化和表型分析、淋巴细胞增殖功能和效应功能的测定、细胞因子的检测等。

3. 机体免疫状态的检测: 保护性免疫力的测定、机体免疫状态的评估、特异性免疫的过继性转移、超敏反应的测定、免疫缺陷病的分析等。

## (三) 疫苗研制所面临的挑战

天花的灭绝表明疫苗接种(vaccination)在人类和传染病斗争中起着极为重要的作用。对于脊髓灰质炎、麻疹、白喉、百日咳、破伤风等疾病, 疫苗的推广应用已成常规。但是对于至今仍严重危害人类健康的肿瘤、疟疾、获得性免疫缺陷综合征(艾滋病)等疾病, 目前仍缺少有效的疫苗。卡介苗虽能预防结核病, 但结核杆菌抗药性的形成和结核病的卷土重来, 新疫苗的研制仍面临严重的挑战。

根据近年来全球 200 多个国家的统计, 仅此处提到的 3 个重要传染病的年患病人数就十分惊人(括号中为年死亡人数):

疟 疾: 213 743 000 ( 856 000)

结 核: 6 348 000 (1 960 000)

艾滋病: 411 000 ( 138 000)

有效疫苗的研制任重而道远。理想的疫苗需要具有安全性、保护性、持续性、实用性等特点。减毒活苗(live-attenuated vaccine)的效果早已被肯定。传统的减毒方法是采用人工诱变, 在选择出毒力低但仍保持免疫原性的病原体株来制备疫苗。现时应用分子生物学技术可使这一过程大大加速。图 1-9 表明, 致病性病毒基因组中, 有的基因编码核心蛋白, 有的基因则编码表面抗原而显示免疫原性, 有的基因产物决定病毒的毒性。采用重组 DNA 技术有可能去除毒性基因或使它发生突变而无损病毒的免疫原性, 这一无毒性病毒可以成为理想的疫苗病毒株。

不仅如此, 分子免疫学的进展, 已开始发展多种新一代的疫苗, 包括特异性的细胞疫苗、肽疫苗、核酸疫苗(DNA 疫苗), 以及其他形式的基因工程疫苗。

## (四) 免疫制剂与产业化

免疫学从多方面推动了生物技术的发展。其中大量涌现的免疫制剂, 有的已开始进入市场, 有的则具有产业化前景。其中包括: 各种重组的细胞因子、粘附分子、免疫应答拮抗剂、激活剂; 各种检测试剂盒; 各种临床应用的免疫球蛋白、补体调节蛋白; 经免疫修饰过的细胞制剂、T 细胞疫苗、核酸疫苗及免疫调节性活菌制剂。关于靶向药物的研制, 也成为应用免疫学发展中的一个新的方向。

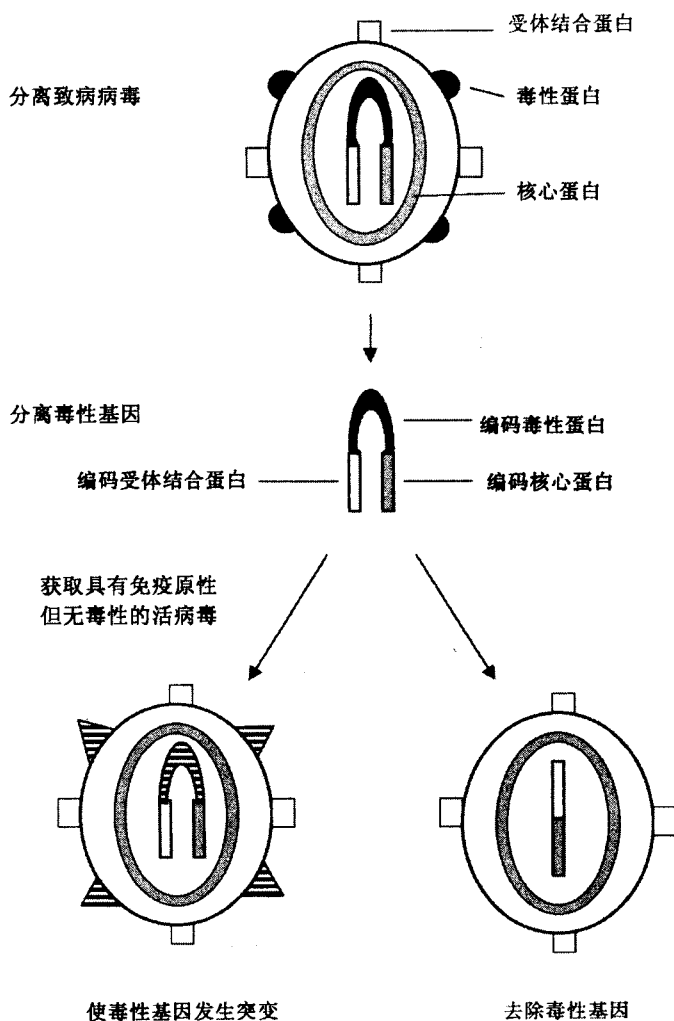


图 1-9 采用重组 DNA 技术获取减毒疫苗

## 本章提要

天然免疫是出生后即具备的非特异性防御功能。机体通过皮肤、粘膜、分泌化学介质、发挥细胞吞噬功能和启动炎症反应,防止或清除病原体的入侵。

抗原是诱发、驱动特异性免疫(获得性免疫)应答的关键因素。具有免疫原性和抗原性的物质称为完全抗原,只显示抗原性而缺少免疫原性的分子为半抗原。抗原主要包括相对分子质量(分子量)在 100 000(100 kD)以上的外源性蛋白质和多糖,脂类和核酸通常和蛋白质、糖类结合以后才能成为抗原。抗原分子被 T、B 细胞表面受体 TCR 和 BCR 识别的特定区段,分别称为 T 细胞表位和 B 细胞表位。

获得性免疫显示抗原特异性。特异性产生的基础,是淋巴细胞受体 TCR 和 BCR 及相应抗体分子具有极为丰富的结构多样性。受体分子结构的多样性由相应编码基因在系统发育和个体发育过程中形成。

抗原分子以其表位选择特异性抗原受体,使表达该受体的淋巴细胞发生克隆扩增并产

生记忆细胞,造成机体再次遇到同一抗原时发生增强性的二次应答。获得性免疫具有的抗原特异性和记忆性只有在二次应答中才能得到体现。

根据被动免疫进行转移的效应成分是抗体还是 T 细胞,特异性免疫应答被分为体液免疫和细胞免疫。机体采用两种应答形式中的哪一种清除病原体,取决于病原体的类型、入侵部位和形式。无论是体液免疫或是细胞免疫,特异性应答的过程都包括抗原识别、淋巴细胞激活和行使效应功能这样三个时相。

免疫学的发展,包括了基础免疫学、临床免疫学和免疫学技术三个主要部分。现代免疫学不仅是生命科学的前沿领域和医学发展的支撑学科,并已在免疫制剂(包括疫苗)的应用和临床疾病的免疫干预方面展示了应用前景。

(周光炎)

### 参考文献

- [1] 甄志亚(主编).中国医学史.北京:人民卫生出版社,1991,309~312
- [2] 张海鹏(校编).海藏痲论萃英(清嘉庆戊辰年版本影印).北京:中华书局,1985,1~26
- [3] Bona CA, Casares S and Brumeanu T-D. Towards development of T-cell vaccines, *Immunol Today*, 1998, 19:126
- [4] Ezekowitz RAB and Hoffman J. Innate immunity. *Curr Opin Immunol*, 1998, 10:9
- [5] Mahler H. Smallpox: never again, *World Health, The Magazine of WHO*, 1987(Aug/Sep), p.3
- [6] Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, et al. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science*, 1999, 284:1313
- [7] Reid KBW, Colomb MG, Loos M, et al. Complement component C1 and the collectins: parallels between routes of acquired and innate immunity. *Immunol Today*, 1998, 19:56



## 第二章 免疫细胞

免疫细胞(immunocyte)泛指所有参与免疫应答或与免疫应答有关的细胞,包括 T、B 细胞、NK 细胞、单核吞噬细胞、树突细胞及其他细胞(如粒细胞等)。免疫细胞是免疫系统的重要组成部分,参与和调节天然免疫及获得性免疫。

免疫细胞中 T、B 细胞表面具有抗原受体,识别抗原后能活化、增殖和分化,介导特异性免疫应答,所以 T、B 细胞又称免疫活性细胞(immune competent cell, ICC)或抗原特异性淋巴细胞,是介导细胞免疫和体液免疫的主要成分。而其他免疫细胞,或者在特异性免疫应答中发挥调节和辅助作用,协助 T、B 细胞完成对抗原的免疫应答;或者参与天然免疫。

免疫细胞和所有血液细胞一样均由骨髓中的多能干细胞(stem cells)发育分化而来(图 2-1)。造血干细胞能分化为各种血液细胞和免疫细胞。各类免疫细胞及同类免疫细胞在不

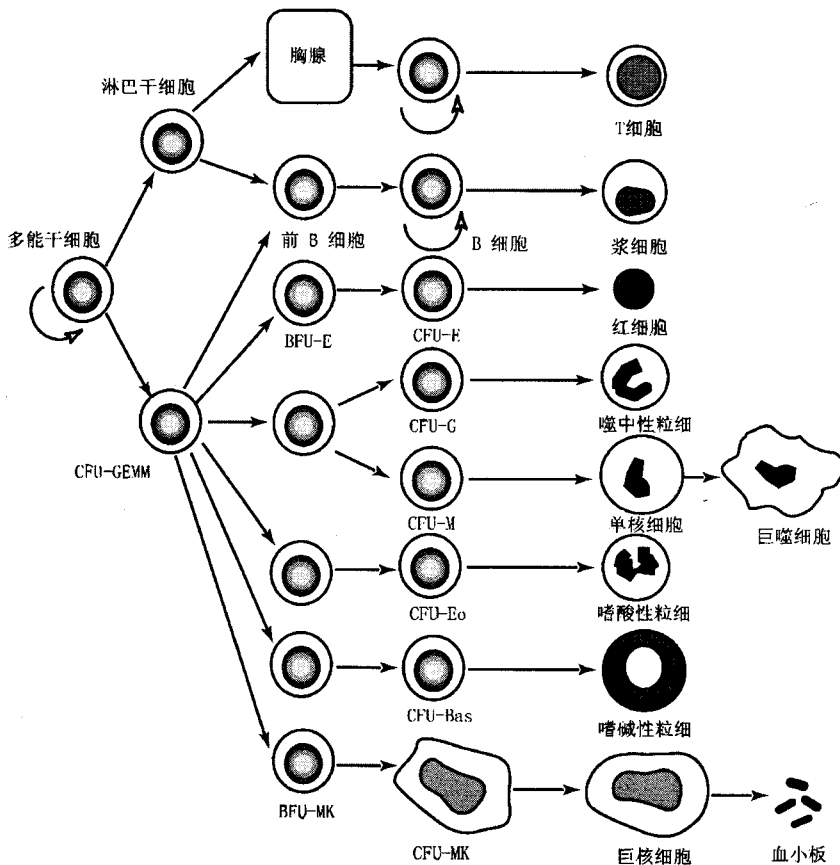


图 2-1 血液细胞(免疫细胞)的分化

注: 图中弯箭头表示该细胞具有自我更新能力

同分化阶段可表达不同种类和数量的表面膜蛋白或分化抗原,它们与免疫细胞的功能发挥密切相关。故分化抗原是鉴定免疫细胞种类、亚型及反映免疫细胞分化成熟和功能状态的重要标志(详见第六章)。

## 第一节 T 细胞

T细胞是T淋巴细胞(T lymphocyte)的简称,因成熟于胸腺(thymus)而得名,是最重要的免疫细胞。T细胞的主要功能是介导细胞免疫、调节机体的免疫功能。T细胞来源于骨髓干细胞(胚胎期则来源于卵黄囊和胚肝),在胸腺中发育和分化(图2-1),成熟后离开胸腺进入外周免疫器官的胸腺依赖区定居,并循血液→组织→淋巴→血液进行淋巴细胞再循环而分布全身。外周血中T细胞占淋巴细胞总数的65%~70%。

### 一 T细胞的分化成熟和胸腺选择

#### (一) T细胞的分化成熟

骨髓干细胞随血液到达胸腺,此时称前T细胞或胸腺细胞(thymocyte)。胸腺基质细胞如胸腺上皮细胞、树突细胞(DC)、巨噬细胞(MΦ)等可分泌胸腺素、胸腺生成素、胸腺激素和IL-7等细胞因子,并表达高水平的MHC I类、II类分子,构成胸腺特定的内环境。前T细胞在这些激素、细胞因子以及DC和MHC分子的作用下分化成熟(图2-2)。T细胞在分化成熟过程中,细胞表面可表达各种膜蛋白,如CD4分子、CD8分子、T细胞抗原受体和CD3分子等,并具有识别抗原、介导特异性免疫应答和免疫调节的功能。T细胞的分化成熟过程分为双阴性、双阳性和单阳性三个时期。

1. 双阴性期:在分化早期,T细胞经历原T细胞(pro-T cell)和前T细胞(pre-T cell)两个阶段,此时,T细胞既不表达CD4分子,也不表达CD8分子,称为双阴性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。

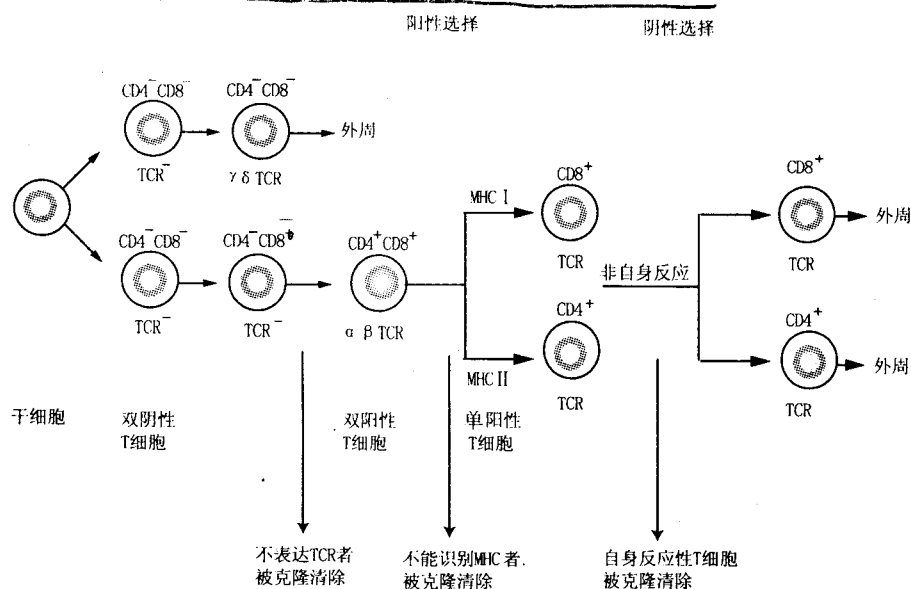


图2-2 T细胞在胸腺中的分化、成熟

2. 双阳性期 随着在胸腺内的分化成熟,双阴性 T 细胞首先表达 TCR 的  $\beta$  链( $\beta$  链基因首先重排),尔后表达 TCR 的  $\alpha$  链前体(pre-T  $\alpha$  chain 或 pT $\alpha$ , gp33),此时的 TCR 也称前 TCR(pre-TCR 或 pTCR,由 pT $\alpha$  和  $\beta$  链组成)。pT $\alpha$  及 pTCR 的表达可促进 T 细胞的进一步分化,并诱导 CD8 分子和 CD4 分子基因的活化。T 细胞首先表达 CD8 分子,CD8 分子的出现促进 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(图 2-2)。双阳性 T 细胞仍不能识别抗原也不具有任何功能。

在分化成熟过程中, $\beta$  链的表达与否是一个决定 T 细胞命运的重大事件,一旦表达  $\beta$  链,T 细胞就得以继续分化成熟;否则分化就停止,最终导致 TCR $\beta^-$  的 T 细胞死亡。因而有人称此现象为 TCR 的  $\beta$  选择( $\beta$  selection)。同样 T 细胞如不能表达 pT $\alpha$  及 pTCR,则 T 细胞的分化就受阻,无法进一步分化成熟,可发生细胞凋亡和克隆清除。同时,CD4 和 CD8 分子的表达,也可进一步促进 TCR 的表达。

3. 单阳性期 双阳性期 T 细胞在胸腺中再经二次选择过程,分化为 CD4 $^+$  T 细胞或 CD8 $^+$  T 细胞,即单阳性 T 细胞。这是一类成熟 T 细胞,同时表达 TCR 和 CD3 分子,能识别抗原、介导免疫应答并参与调节免疫。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) 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,才能最终分化为成熟的具有免疫功能的 T 细胞。其中 DC 及其表达的 MHC I 类、II 类分子起重要作用。

1. 阳性选择: 双阳性 T 细胞(CD4 $^+$  CD8 $^+$ ) 在胸腺皮质、髓质交界处与胸腺基质细胞(DC、 $\Phi$  等)表面的 MHC I 类、II 类分子及其他因子相互作用,其 TCR 能识别 MHC I 类、II 类分子,并能与之结合(无论亲和力高或低)的 T 细胞克隆均被选择,进一步分化为单阳性 T 细胞,此即阳性选择。阳性选择时,双阳性 T 细胞如与 MHC I 类分子作用,其 CD4 分子的表达下调,直至完全抑制,而 CD8 分子表达上调,最终分化为 CD8 $^+$  T 细胞;如与 MHC II 类分子作用,则 CD8 分子的表达下调,直至完全抑制,而 CD4 分子的表达上调,最终分化为 CD4 $^+$  T 细胞;而那些不能识别、结合 MHC I 类分子或 II 类分子的 T 细胞则发生细胞凋亡而被克隆清除(图 2-2)。

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 约束性(MHC restriction)。这是成熟 T 细胞的一个重要生物学特性。T 细胞识别 MHC 分子递呈抗原肽的机制将在第八章中介绍。

2. 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克隆,也包括自身反应性克隆,前者系介导特异性免疫应答和维持机体免疫功能及生理平衡所必需,后者则对机体有害。故经阳性选择的 T 细胞必须在胸腺中经历再次选择。凡是能以其 TCR 识别胸腺基质细胞表面 MHC 分子或 MHC 分子-自身抗原肽并显示高亲和力的 T 细胞克隆,可发生细胞凋亡而导致克隆清除(图 2-2),只有那些与 MHC 分子呈现低或中等亲和力,及那些不能识别自身抗原肽的 T 细胞克隆才能被留下,进一步分化为成熟的 T 细胞,此即阴性选择。

阴性选择的生物学意义在于: 清除了自身反应性 T 细胞克隆。这是成熟 T 细胞的又一重要生物学特性,称中枢耐受,是机体免疫系统不至于和自身组织和自身抗原起反应的一个保护性机制。

## 二 T 细胞抗原受体和 T 细胞抗原受体基因

T 细胞表达 T 细胞抗原受体(T cell receptor, TCR), 以此识别抗原和介导免疫应答。TCR 的抗原识别特异性显示在细胞克隆水平, 即同一克隆 T 细胞具有结构相同的 TCR 分子, 识别同一类抗原或同一类 T 细胞表位。TCR 在同一个体内则组成多样性极为丰富的 TCR 谱或受体谱(repertoire), 赋予个体对环境中数量众多、易于突变的病原体(抗原)进行识别和应答的巨大潜力。

TCR 分子分成两类, 一类称 TCR1, 由  $\gamma$ 、 $\delta$  两条肽链组成, 在 T 细胞分化成熟中首先表达。外周血中约 5% ~ 10% 的 T 细胞表达 TCR1; 另一类称 TCR2, 由  $\alpha$ 、 $\beta$  两条肽链组成, 表达稍晚。外周血中 90% ~ 95% 的 T 细胞表达 TCR2。

CD3 是成熟 T 细胞又一特征性表面标志, 和 TCR 共同表达在 T 细胞表面, 形成 TCR-CD3 复合体。本节以 TCR2 为例讨论 TCR 分子及 TCR 基因。

### (一) T 细胞抗原受体

1. TCR 分子: TCR 为异二聚体, 由  $\alpha$  链 45 000 ~ 60 000 (45 ~ 60 kD)、 $\beta$  链 40 000 ~ 50 000 (40 ~ 50 kD) 组成, 每条链可分为可变区( $V_\alpha$ 、 $V_\beta$ )、恒定区( $C_\alpha$ 、 $C_\beta$ )、跨膜区和胞质区, 其特点为胞质区特别短, 氨基酸残基数分别为 5 个( $\alpha$  链)和 4 个( $\beta$  链)(图 2-3)。在  $\alpha$  链和  $\beta$  链的跨膜区中分别含有 2 个(Lys, Arg)和一个(Lys)带正电荷的氨基酸, 可与 CD3 分子的跨膜区中带负电荷的氨基酸( $\gamma$  链的 Glu 或  $\delta$ 、 $\epsilon$  链的 Asp)非共价结合, 稳定 TCR-CD3 复合体。

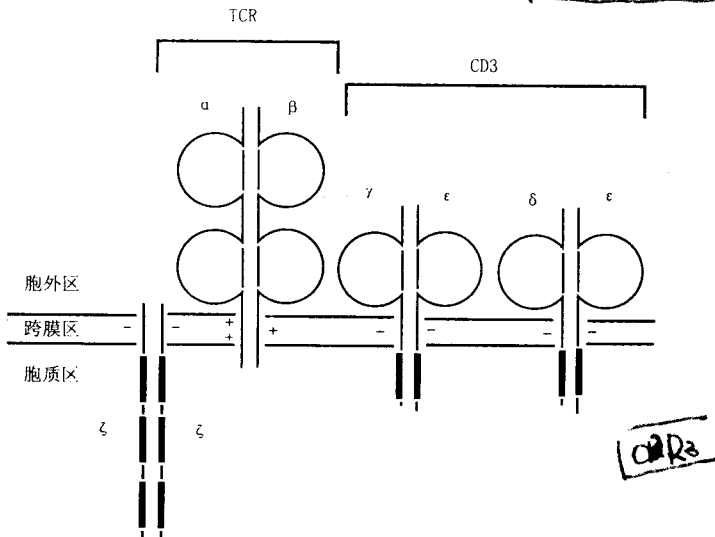


图 2-3 TCR-CD3 结构

CD3 分子胞质区的长形方框代表免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM), 为信号转导所必需

TCR 属免疫球蛋白超家族, 和免疫球蛋白一样其抗原特异性存在于 V 区。V 区的氨基酸序列分析表明,  $V_\alpha$ 、 $V_\beta$  各有 3 个高变区, 也称互补决定区(CDRs), 即 CDR1、CDR2 和 CDR3, 以 CDR3 变异最大, 直接决定了 TCR 的抗原结合特异性。TCR 在识别 MHC-抗原肽复合体时, CDR1 和 CDR2 识别 MHC 分子抗原结合槽中由  $\alpha$  螺旋组成的侧壁, 而 CDR3 则直接与抗原肽发生相互作用。最近有学者报道, CDR1、CDR2 亦参与对抗原肽的识别。此外, TCR  $V_\beta$  链上还存在 CDR4 结构, 是 TCR 识别超抗原的部位。

2. CD3 分子: CD3 分子系异六聚体,由  $\gamma\epsilon$ 、 $\delta\epsilon$  和  $\zeta\zeta$ (少数为  $\zeta\eta$ )6 条肽链组成。每条肽链可分为膜外区、跨膜区和胞质区 3 部分(图 2-3)。CD3 分子的跨膜区带有负电荷,便于和 TCR 的跨膜区(带正电荷)非共价结合、形成 TCR-CD3 复合体。CD3 分子的结构特点为胞质区特别长,尤其是  $\zeta$  和  $\eta$  链的氨基酸残基数分别为 113 个和 155 个。CD3 分子的每条肽链均含有 1~3 保守的共同序列——免疫受体酪氨酸激活基序(immuoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)(图 2-3),为转导抗原刺激信号所必需,尤其是  $\zeta$  链分子 ITAM 的磷酸化对 T 细胞的活化尤为重要(参见第八章)。

少数 T 细胞(约 10%)其 CD3 分子由  $\gamma\epsilon$ 、 $\delta\epsilon$  和  $\zeta\eta$  六条肽链组成。 $\zeta$  和  $\eta$  链为同一基因的两种不同拼接形式; $\zeta$  链由第 1~8 个外显子编码; $\eta$  链缺失第 8 外显子,由第 1~7 个外显子和第 9 个外显子编码;两者在氨基酸水平的差异主要存在于胞质区, $\eta$  链比  $\zeta$  链多 42 个氨基酸残基,而且  $\eta$  链只有 2 个 ITAM(参见图 6-1)。

可以把 TCR-CD3 看作为抗原受体复合系统,其中 TCR 为识别和结合抗原的亚单位;CD3 为信号转导亚单位,能将 TCR 接受的抗原刺激信号通过 6 条肽链的胞质区经 ITAM 转导至细胞内,使 T 细胞活化。

## (二) TCR 基因

TCR  $\alpha$  链和  $\beta$  链的基因及  $\delta$  链和  $\gamma$  链的基因分别位于人的第 14 对和第 7 对染色体(表 2-1)。同免疫球蛋白一样,TCR 各条肽链的合成(TCR 基因的表达)也遵循“二个基因一条肽链”的规则,即每条肽链均由可变区(V 区)基因和恒定区(C 区)基因编码;V 区基因须经过基因重排,才具有转录、表达功能。每个 T 细胞均有 TCR 的  $\alpha$  链、 $\beta$  链、 $\delta$  链和  $\gamma$  链基因,在分化成熟过程, $\delta$  链和  $\gamma$  链的基因首先重排和表达, $\alpha$  链、 $\beta$  链基因表达稍晚。一旦  $\delta$  链、 $\gamma$  链基因重排成功并开始表达;此时, $\alpha$  链、 $\beta$  链基因重排就被抑制。故对于每一特定的 T 细胞,或表达 TCR1( $\delta$  链、 $\gamma$  链)或表达 TCR2( $\alpha$  链、 $\beta$  链)。本节主要讨论 TCR 的  $\alpha$  链、 $\beta$  链基因。

1. 胚系基因:未分化成熟的前 T 细胞中,TCR 基因作为胚系基因(germline gene)存在。此时,TCR 基因由多个分隔的基因片段组成,其中  $V\alpha$  基因由 V 片段和 J 片段(joining segments)组成; $V\beta$  基因由 V 片段、D 片段(diversity segments)和 J 片段组成;无论是 V 片段还是 D 片段或 J 片段本身又包括若干小片段(表 2-1、图 2-4)。胚系基因处于分隔状态,无转录活性,需经基因重排,才具有转录、表达功能。

2. 基因重排:基因重排(gene rearrangement)又称 DNA 重排或体细胞重组(somatic recombination),指 T 细胞在分化成熟过程中,V 区基因由分隔的、无转录活性的基因片段在特异性重组酶的作用下连接成一个完整的、有转录功能的活性基因的过程(图 2-5)。重排

表 2-1 人 TCR 基因家族

基因	染色体	基因片段数			
		V	D	J	C
$\alpha$ 链	14	50		70	1
$\delta$ 链*	14	3	3	3	1
$\beta$ 链	7	57	2	13	2
$\gamma$ 链	7	14		5	2

\*  $\delta$  链基因位于  $V\alpha$  和  $J\alpha$  之间

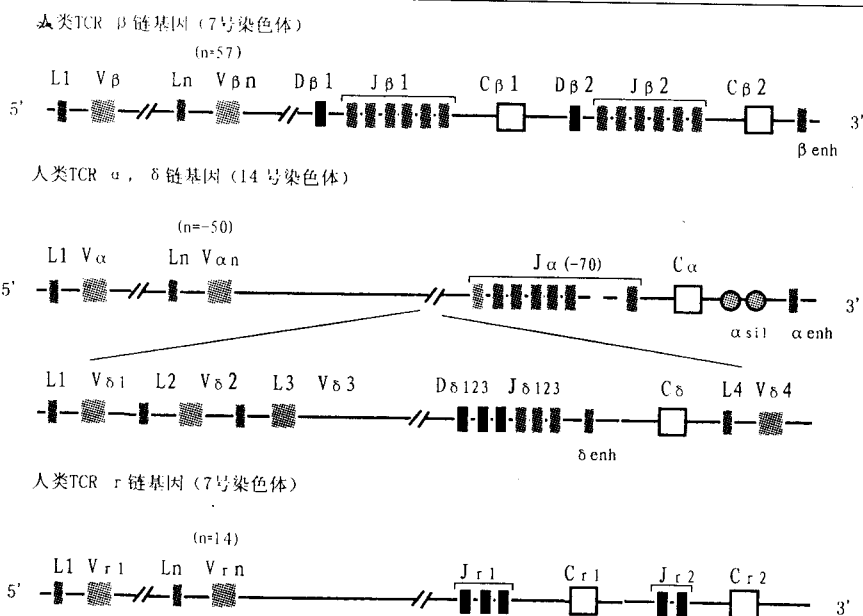
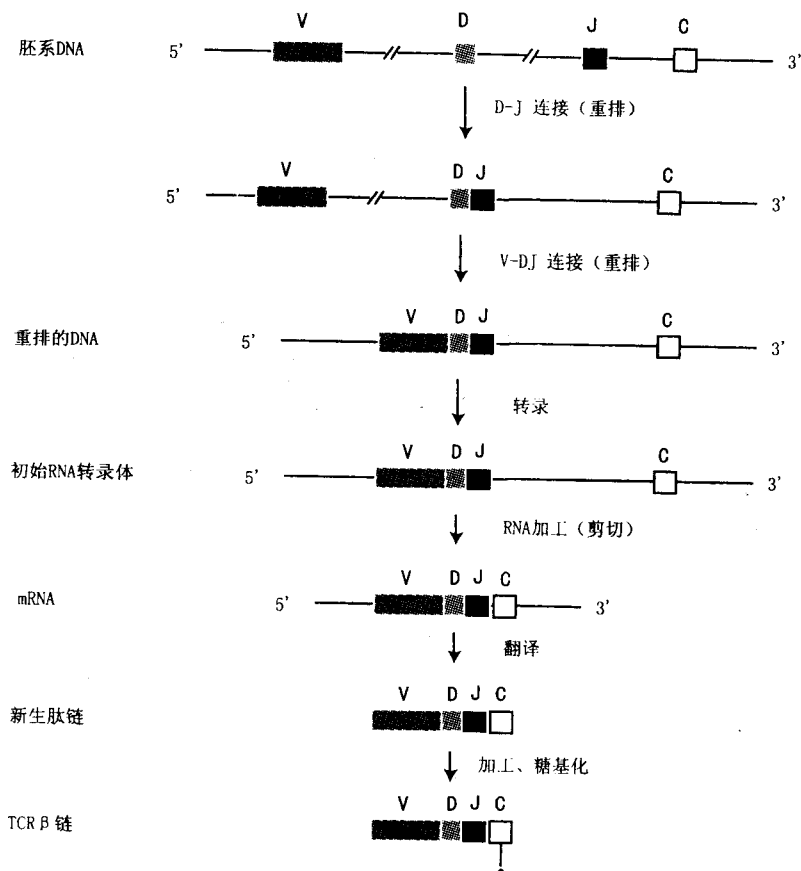


图 2-4 人类 TCR 基因(胚系基因)结构

注: L 前导序列; enh 增强子; sil 沉默子

图 2-5 TCR  $V\beta$  链基因重排

时,  $V\beta$  基因先进行 D、J 连接(某一 D 片段与某一 J 片段相连), 再进行 V、DJ 连接(相连的 DJ 片段与某一 V 片段相连)形成 VDJ 片段。由此产生一个有转录活性的  $V\beta$  基因(VDJ 基因), 后者再与 C 区基因相连, 形成一个完整的  $\beta$  链功能基因(图 2-5)。  $V\beta$  基因的成功重排, 可诱导  $V\alpha$  基因的重排。  $V\alpha$  基因无 D 片段, 直接进行 V、J 连接(某一 V 片段和某一 J 片段相连)形成 VJ 片段。重排后有转录活性的  $V\alpha$  基因(VJ 基因)再与 C 区基因相连, 形成一个完整的  $\alpha$  链功能基因。

一旦完成基因重排, TCR 基因即开始转录和表达, T 细胞继续分化成熟。如果 TCR 基因不能成功地进行重排, 即无法表达 TCR(就 T 细胞本身而言, 不能表达 TCR 就意味着不能识别抗原, 无免疫功能), 该细胞就不能进一步分化成熟, 可发生细胞凋亡而被清除。

TCR 的 V 区基因重排只发生在 T 细胞分化的早期, 因为特异性重组酶的活性只出现在早期, 其活性具有严格的时限性和组织细胞特异性。故 T 细胞在分化成熟过程中只能进行一次有效的基因重排, 保证了一个 T 细胞克隆只能表达一种特异性 TCR, 只显示一种抗原识别特异性。

3. 等位排斥: 同免疫球蛋白基因一样(见第三章), TCR 的  $V\beta$ 、 $V\alpha$  基因重排过程中也存在着等位排斥(allelic exclusion)现象。一条染色体上的 TCR 基因重排时, 可抑制另一条染色体上的 TCR 基因重排。只有当第一条染色体上的 TCR 基因重排出错即无法有效重排时, 第二条染色体上的基因方可进行重排。等位排斥的生物学意义在于保证了一个 T 细胞克隆只能产生一种功能性的 TCR 基因, 表达一种特异性 TCR。如两条染色体上的 TCR 基因均不能有效重排, 该 T 细胞就发生凋亡。

4. TCR 多样性和 CDR3: TCR 基因的重排为一随机过程, 不同 T 细胞经过基因重排, 可表达不同特异性的 TCR, 在克隆水平显示各自的特异性, 在个体水平则呈现丰富的多样性(diversity)。TCR 的多样性由  $\alpha$  链和  $\beta$  链的 V 区决定,  $V\alpha$  和  $V\beta$  各有 3 个 CDR, 但只有 CDR3 直接和抗原相互作用, 故 TCR 的多样性主要由 CDR3 决定。从基因水平分析, CDR1、CDR2 仅由 V 基因片段编码, 而  $V\beta$  的 CDR3 由 V-D-J 3 个基因片段编码,  $V\alpha$  的 CDR3 则由 V-J 两个基因片段编码(表 2-2)。多个基因片段编码增加了 CDR3 的变异, 加之重排过程中的 N 区核苷酸插入和连接机动性也集中在 CDR3 区, 这些都丰富了 CDR3 的多样性。

表 2-2 TCR 多样性和 CDR3

变异来源	CDR1	CDR2	CDR3
编码的基因片段	V	V	V-J, V-D-J
连接机动性	-	-	+
N 区核苷酸插入	-	-	+

5. TCR 多样性的产生机制: TCR 多样性(个体水平)最终可达到  $10^{15} \sim 10^{18}$ , 形成容量庞大的 TCR 谱, 赋予个体几乎是无限的抗原识别和应答能力, 保证个体在多变环境中能和外来抗原(病原体)发生有效的免疫应答。下面简述 TCR 多样性的产生机制。

(1) 多个胚系基因片段的参与: TCR 的胚系基因由多个分隔的基因片段组成(表 2-3), 它们的随机组合为多样性的产生提供了遗传学基础。

(2) VJ 和 VDJ 连接(重排)多样性: 基因重排系一随机过程, 不同的 T 细胞克隆经基因重排、发生不同基因片段的连接, 产生特定的  $V\beta$ (VDJ)基因和  $V\alpha$ (VJ)基因, 表达特异性的

TCR,这是 TCR 多样性产生的主要机制。

(3)连接机动性: 连接机动性(junctional flexibility)或连接不精确性(junctional imprecision)。V 区基因重排时,特定的 V、D 或 J 片段在发生 DJ、V-DJ 或 VJ 连接时,由于读码框的机动性或不精确性,在 V-D-J 连接处可发生一定的变异(偏移),引起核苷酸序列的改变,最后导致 V 区氨基酸组成的变化,从而改变 TCR 的特异性,增加了 TCR 的多样性。

(4) N-区核苷酸插入: N-区核苷酸(non-germline encoded nucleotides)插入发生在 V 区基因重排过程中。N-区核苷酸片段并不存在于 TCR 的胚系基因中。V 区基因重排时,在末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)作用下,N-区核苷酸片段可随机加在  $V\alpha$  的 VJ 连接点及  $V\beta$  的 VDJ 的 D 片段的两侧。N-区核苷酸片段最多可由 6 个核苷酸组成,且富含 G(鸟嘌呤)和 C(胞嘧啶),防止形成终止密码(UAA、UGA 和 UAG 或 TAG)。N-区核苷酸插入亦发生在 CDR3 区。

(5)  $\alpha$  链、 $\beta$  链的组合多样性: TCR 的 V 区由  $V\alpha$  和  $V\beta$  组成,它们的随机配对和组合参与构成 TCR 的多样性。

上述 5 种机制赋予个体产生容量庞大的 TCR 谱,并通过 TCR 的 V 区体现出来,其中 CDR3 产生的多样性最大(表 2-3)。

表 2-3 TCR 多样性的产生机制

多样性机制	$\alpha\beta$ TCR		$\gamma\delta$ TCR	
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$
胚系基因片段组合				
V	50	57	14	3
D		2		3
J	70	13	5	3
VJ,VDJ 连接多样性	$50 \times 70 = 3 \times 10^3$	$57 \times 2 \times 13 = 1 \times 10^3$	$14 \times 5 = 70$	$3 \times 3 \times 3 = 9$
连接机动性	+	+	+	+
N 区核苷酸插入*	V-J	V-D, D-J	V-J	V-D, D-D, D-J
总的多样性	$\sim 10^{15}$		$\sim 10^{18}$	

\*  $V\delta$  基因重排时,可形成 VDDJ 片段

### 三 T 细胞亚群

T 细胞为异质性群体,不同群体细胞往往具有不同的表面标志和功能。前已述及,T 细胞根据 TCR 类型不同分为  $\gamma\delta$  T 细胞(表达 TCR1)和  $\alpha\beta$  T 细胞(表达 TCR2);根据表面标志和分化抗原的不同, $\alpha\beta$  T 分为  $CD4^+$  和  $CD8^+$  T 细胞; $CD4^+$  T 细胞根据其分泌的细胞因子和介导的功能再分为 Th1 细胞和 Th2 细胞; $CD8^+$  T 细胞根据功能不同可分为细胞毒性 T 细胞和抑制性 T 细胞;近来还发现存在一类专一识别脂类抗原、非 MHC 约束的  $NK1.1^+$  T( $NK1.1$   $CD4^+$  T)细胞。

1.  $\gamma\delta$  T 细胞和  $\alpha\beta$  T 细胞:  $\gamma\delta$  T 细胞是调节并启动抗感染免疫应答的亚群,其  $\gamma\delta$  TCR 的配体往往不是触发  $\alpha\beta$  T 细胞的蛋白、脂类和超抗原,而往往是病原菌如分枝杆菌的胞膜成分,激活释放各种促炎症的细胞因子。最近发现,人体外周血中约 80% 的  $\gamma\delta$  T 细胞表达一种叫 CD94/NKG2A 的抑制性受体(详见第十一章),而在  $\alpha\beta$  T 细胞中仅有 4% 左右。这类抑制性受体主要表达于杀伤细胞,表明  $\gamma\delta$  T 细胞所具有的效应功能,且功能的发挥受到精细的调节。 $\gamma\delta$  T 细胞分成两类,一类分布在淋巴样组织和外周血中,其受体结构具有一定的



多样性。例如近年来确认外周血中有一类 T 细胞,表达  $V\gamma 9$   $V\delta 2$  TCR 分子(指这类 T 细胞优势取用  $\gamma$  链 V 基因中的第 9 号片段和  $\delta$  链 V 基因中的第 2 号片段构成 TCR)。该 TCR 直接识别磷酸抗原(phosphoantigen),然后通过 TCR/CD3 分子胞膜内 ITAM 传递活化信号,行使杀伤功能。同时这类细胞还分泌  $\text{TNF-}\alpha$  和  $\text{IFN-}\gamma$ ,参与激活  $\text{Th1}$ 。自然,此类  $\gamma\delta$  T 细胞的活性还受抑制性受体  $\text{CD94/NKG2A}$  的调节。另一类  $\gamma\delta$  T 细胞主要分布在一些上皮组织中,并参与构成部分表皮间淋巴细胞和上皮间淋巴细胞,它们很少进入再循环,而且此类细胞受体分子的多样性极其有限,甚至在某一特定部位出现的  $\gamma\delta$  T 细胞,其抗原识别结构可以呈现高度的均一状态。上皮组织中  $\gamma\delta$  T 细胞 TCR 的配体,可能是受感染激发的某些上皮成分或相关分子,包括热休克蛋白、非经典 MHC I 类分子(参见第四章)、CD1、磷脂等。这类  $\gamma\delta$  T 细胞在抗感染和维护上皮表面的完整性上发挥作用。

$\alpha\beta$  T 细胞是体内最主要的 T 细胞群,占外周血 T 细胞总数的 90%~95%。 $\alpha\beta$  T 细胞识别 MHC 分子递呈的抗原肽,属 MHC 约束性 T 细胞。 $\alpha\beta$  T 细胞的主要功能是介导细胞免疫和参与免疫调节。

2.  $\text{CD4}^+$  T 细胞和  $\text{CD8}^+$  T 细胞:外周血中成熟的 T 细胞分为  $\text{CD4}^+$  和  $\text{CD8}^+$  两大亚群,皆表达  $\alpha\beta$  TCR(TCR2)。其中  $\text{CD4}^+$  T 细胞识别 MHC II 类分子递呈的抗原肽,受 MHC II 类分子的约束; $\text{CD8}^+$  T 细胞识别 MHC I 类分子递呈的抗原肽,受 MHC I 类分子的约束(详见第七章)。在某些情况下, $\text{CD4}^+$  T 细胞和  $\text{CD8}^+$  T 细胞亦可分别识别由 MHC I 类分子和 MHC II 类分子递呈的抗原肽。

$\text{CD4}^+$  T 细胞和  $\text{CD8}^+$  T 细胞的表型与功能间的联系并不是绝对的,少数  $\text{CD4}^+$  T 细胞具有细胞毒性效应(同 CTL);有的  $\text{CD8}^+$  T 细胞具有辅助(调节)功能(同  $\text{Th}$  细胞)。

3.  $\text{Th1}$  细胞和  $\text{Th2}$  细胞:1986 年 Mosman 等发现小鼠  $\text{CD4}^+$   $\text{Th}$  细胞可分为两个亚型: $\text{Th1}$  细胞和  $\text{Th2}$  细胞。 $\text{Th1}$  细胞主要分泌  $\text{IL-2}$ 、 $\text{IFN-}\gamma$ 、 $\text{TNF-}\beta$ ,介导细胞免疫; $\text{Th2}$  细胞主要分泌  $\text{IL-4}$ 、 $\text{IL-5}$ 、 $\text{IL-6}$  和  $\text{IL-10}$ ,介导体液免疫。1991 年 Romagnani 证实人体亦存在  $\text{Th1}$  和  $\text{Th2}$  两个亚型。大量研究证实, $\text{Th1}$  和  $\text{Th2}$  细胞为一对重要的调节细胞,同时, $\text{Th1}$  和  $\text{Th2}$  细胞又互为抑制细胞, $\text{Th1}$  细胞分泌的  $\text{IFN-}\gamma$  可抑制  $\text{Th2}$  细胞的分化和功能, $\text{Th2}$  细胞分泌的  $\text{IL-10}$  和  $\text{TGF-}\beta$  可抑制  $\text{Th1}$  细胞的分化和功能。因此, $\text{Th1}$  细胞和  $\text{Th2}$  细胞的相互平衡与否直接影响机体的免疫功能,且与疾病状态密切相关。对于某些疾病,如寄生虫感染、肿瘤或病毒感染,此时如  $\text{Th1}$  细胞活跃,则机体处于抵抗状态,反之则为易感状态。因而  $\text{Th1}$  和  $\text{Th2}$  细胞的研究,为免疫调节和免疫干预提供了新的思路,有助于阐明疾病的发病机制,并为开展诊断及疗效考核提供了一个客观指标。

$\text{Th1}$  和  $\text{Th2}$  细胞来源于同一前体细胞—— $\text{Th0}$  细胞。在不同的细胞因子、抗原递呈细胞及不同的抗原剂量等环境因素作用下, $\text{Th0}$  细胞可分别向  $\text{Th1}$  或  $\text{Th2}$  细胞分化(图 2-6)。当抗原递呈细胞表面为高密度抗原时,抗原肽和 TCR 紧密结合,未致敏 T 细胞趋向于向  $\text{Th1}$  细胞分化;当抗原递呈细胞为 B 细胞,出现低密度抗原时,未致敏 T 细胞趋向于向  $\text{Th2}$  细胞方向分化。此外,不同的协同刺激分子(表达在抗原递呈细胞表面)也可影响  $\text{Th1}$  或  $\text{Th2}$  细胞分化; $\text{B7.1(} \text{CD80)}$  可促进  $\text{Th0}$  细胞向  $\text{Th1}$  细胞分化; $\text{B7.2(} \text{CD86)}$  可促进  $\text{Th0}$  细胞向  $\text{Th2}$  细胞分化。而细胞因子  $\text{IL-12}$  和  $\text{IL-4}$  则分别是  $\text{Th0}$  细胞向  $\text{Th1}$  细胞和  $\text{Th2}$  细胞分化的主要诱导因子。

近年来有人提出亦存在  $\text{Th3}$  细胞,主要分泌  $\text{TGF-}\beta$ ,对  $\text{Th1}$  和  $\text{Th2}$  细胞都有抑制作用,主

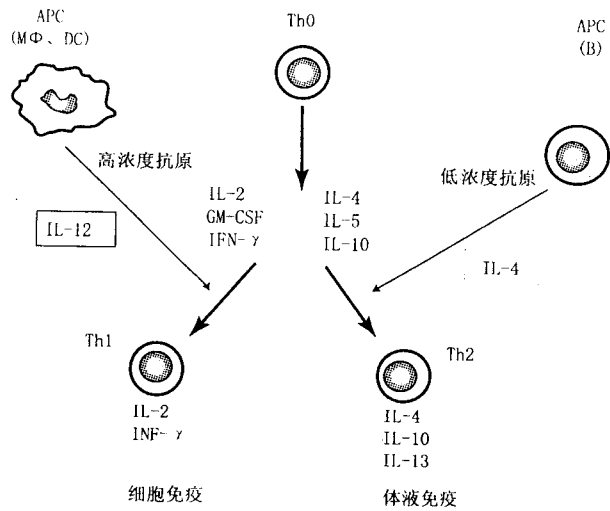


图 2-6 Th1、Th2 细胞的分化途径及其功能

表 2-4 CD4 Th 细胞亚型的特征

	Th1	Th2	Th3
分泌细胞因子			
IL-3	++	++	++
IL-2	+	-	-
IFN-γ	++	-	±
TNF-β	++	-	?
IL-4	-	++	±
IL-5	-	++	-
IL-10	-	++	±
IL-13	-	++	-
TGF-β	±	±	++
亚群生长/分化因子	IL-12	IL-4	IL-4*
主要功能			
细胞免疫, DTH	++	-	?
体液免疫, 过敏反应	+	++	-
粘膜免疫	+	+	++

\* IL-10 和 TGF-β 也可促进 Th3 细胞的分化

要在粘膜免疫对抗原的应答中产生并激活。各 Th 细胞亚型的特征见表 2-4。

4. 细胞毒性 T 细胞：细胞毒性 T 细胞 (cytotoxicity T lymphocyte, CTL/Tc) 为 CD8<sup>+</sup> T 细胞，是免疫应答的主要效应细胞，可特异性杀伤靶细胞，在肿瘤免疫和抗病毒感染的免疫中发挥重要作用。CTL 在识别靶细胞 (抗原) 和攻击靶细胞时都受 MHC I 类分子的约束。

除细胞毒性效应外，CTL 还可分泌 GM-CSF、IL-2、IL-4、IL-5、IL-8、IL-10 和 IL-16 等，调节免疫功能；分泌趋化因子如 IL-8、IP-10 (IFN-inducible protein 10)、MIP-1α (macrophage inflammatory protein) 和 MIP-1β 等，介导炎症反应。近年来有学者提出，CTL 亦可分为不同亚型——Tc1 和 Tc2，分泌不同的细胞因子 (表 2-5)，发挥免疫调节功能。

表 2-5 Tc1 和 Tc2 分泌的细胞因子

	Tc1	Tc2
特征性细胞因子	IL-2、IFN- $\gamma$ 、LT	IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10
共同性细胞因子	GM-CSF、TNF	GM-CSF、TNF

注: LT 淋巴毒素; GM-CSF 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子; TNF 肿瘤坏死因子

5. 抑制性 T 细胞: 抑制性 T 细胞(suppressor T lymphocyte, Ts)作为一个功能性群体的存在,是通过过继转移实验加以确认的。因为被转移的细胞可以抑制受者中组织损伤性 T 细胞的活性,使免疫耐受重新出现,并可遏制已发生的移植物排斥反应。这表明由 T 细胞诱导的免疫抑制对免疫应答所起的负向调节作用是客观存在的。

由于多年来一直未能找到 Ts 特有的表面标志,也难以在体外建立专司免疫抑制的 Ts 细胞克隆,人们怀疑天然的 Ts 细胞实体是否存在。现时倾向于认为,T 细胞的抑制活性可能只是在一定条件下对应于正向应答的一种负向反应。因而,Ts 可以是 CD8 阳性细胞,也可以是 CD4 阳性细胞。一个典型的例子是 CD4 阳性的 Th1 和 Th2 可借助各自分泌的细胞因子而互为抑制细胞。当 Th2 分泌的 IL-10 和 TGF- $\beta$  抑制 Th1 分化时,会导致细胞免疫应答受抑。这一现象说明两个问题:一是 CD4 阳性 T 细胞也可显示抑制活性;二是又不能机械地把 CD4<sup>+</sup>Th2 定为抑制细胞,因为 Th2 在激发抗体产生和诱导过敏反应方面确有显示正向作用的功效,它的抑制功能,只是以 Th1 的存在为前提的,或者说,Th2 只是在特定条件下,对 Th1 及其介导的细胞免疫应答显示拮抗作用。

需要指出的是,在一些关于自身耐受的实验中,确实找到过一些显示抗原特异性的 CD8<sup>+</sup>Ts 细胞,这些细胞有过继性转移抑制效应的能力,其确切机制仍有待阐明。

6. NK1.1<sup>+</sup>T 细胞: 近年来发现存在另一类 T 细胞,其  $\alpha\beta$  TCR 结构单一,通常具有 CD4<sup>+</sup>T 辅助受体分子,还同时表达属于 NK 细胞的表面分子 NK1.1,因而称为 NK1.1<sup>+</sup>T 细胞或 NK1.1<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 细胞。与传统的  $\alpha\beta$  T 细胞(CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>)不同,NK1.1<sup>+</sup>T 细胞识别抗原时不受 MHC 约束,因而不识别蛋白质抗原。人体 NK1.1<sup>+</sup>T 细胞主要识别由 CD1d 分子递呈的脂类抗原(详见第六章)。NK1.1<sup>+</sup>T 细胞的功能特点,是激活后大量分泌 IL-4,因而在 Th0 向 Th2 的分化以及随后的 IgE 类别转换中发挥重要作用,NK1.1<sup>+</sup>T 细胞成了天然免疫和获得性免疫之间的一个承上启下的细胞组分。据报道,小鼠中自发产生的自身免疫病往往有这类细胞的丢失或减少,而输入 NK1.1<sup>+</sup>T 细胞可使相应的小鼠免除自身免疫病,提示这一细胞亚群可能具有免疫调节功能。

## 第二节 B 细胞

B 细胞是 B 淋巴细胞(B lymphocytes)的简称,因来源于鸟类法氏囊(bursa of Fabricius)和哺乳动物骨髓(bone marrow)而得名。B 细胞也是免疫系统重要的免疫细胞,主要功能是介导体液免疫。B 细胞还是重要的抗原递呈细胞,能摄取、加工和递呈抗原,同时还能分泌细胞因子(如 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IFN、TGF- $\beta$ 、TNF、LT 等)调节免疫应答。哺乳动物 B 细胞来源于骨髓干细胞,在骨髓中分化成熟。一旦成熟,B 细胞就离开骨髓,到外周免疫器官的非胸腺依赖区定居,亦参与淋巴细胞的再循环。B 细胞占外周血淋巴细胞总数的 20%~25%。

一 B 细胞的分化成熟

(一) B 细胞在骨髓中的分化成熟

骨髓是 B 细胞的发源地,同时也是哺乳动物 B 细胞分化成熟的中枢免疫器官。在骨髓内环境的作用下,按既定遗传顺序,从骨髓干细胞、前 B 细胞、未成熟 B 细胞,最终分化为成熟 B 细胞。其中经历了免疫球蛋白基因的重排(详见第三章)、基因活化、转录表达等过程,最终出现特有的表面标志——B 细胞抗原受体(B cell receptor, BCR)(图 2-7)。BCR 也称表面膜免疫球蛋白(mIg)。成熟的 B 细胞能识别抗原,介导特异性免疫应答,具有合成、分泌抗体的潜能。

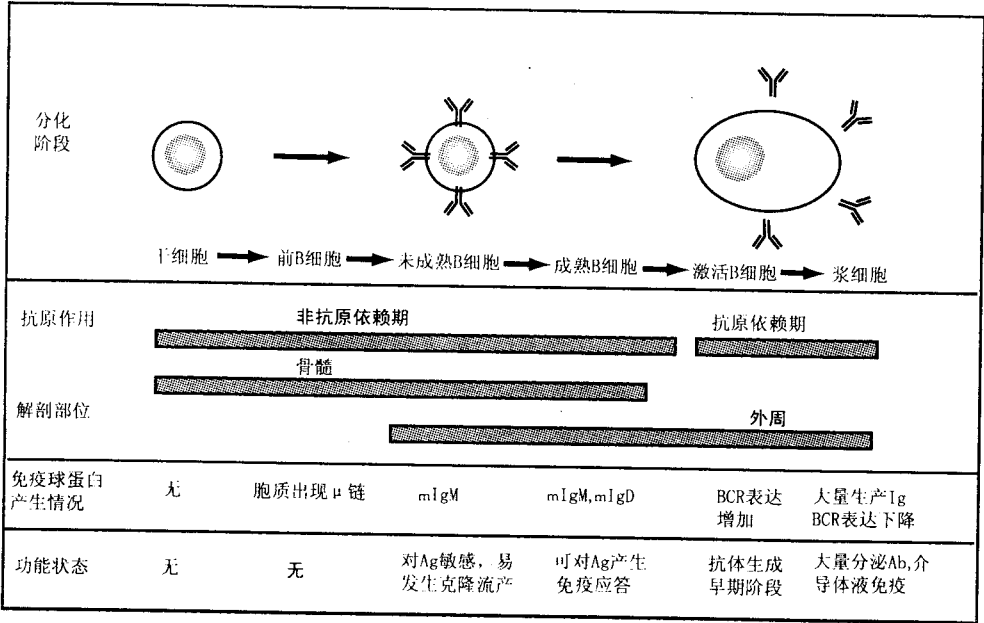


图 2-7 B 细胞分化、成熟和抗原诱导的分化

1. 前 B 细胞: 在分化早期,免疫球蛋白(Ig)的重链(H chain)—— $\mu$  链的 V 区基因首先开始重排,胞质中出现  $\mu$  链,但还不能合成完整的免疫球蛋白分子,不表达 BCR,亦不具有任何功能。 $\mu$  链 V 区基因的成功重排,可诱导免疫球蛋白的轻链(L chain)—— $\kappa$  链或  $\lambda$  链的 V 区基因重排,并促进 B 细胞的进一步分化成熟。

2. 未成熟 B 细胞: 在重排的  $\mu$  链基因的诱导下,免疫球蛋白的轻链—— $\kappa$  链或  $\lambda$  链的 V 区基因开始重排。此时,未成熟 B 细胞首先合成 L 链的替代链(surrogate L chain, SL),细胞表面表达前 BCR(pre-BCR, 由  $H\mu$  和 SL 组成)。前 BCR 的表达可促进 B 细胞的进一步分化成熟。随后,未成熟的 B 细胞能合成成熟的轻链,胞质中出现完整的免疫球蛋白分子 IgM。同时细胞表面表达 B 细胞抗原受体—mIgM。mIgM 是 B 细胞分化成熟中首先出现的 BCR,也是未成熟 B 细胞的表面标志。未成熟 B 细胞尽管已表达 BCR,具有识别抗原的能力,但还不能介导免疫应答。相反,此时未成熟 B 还处于一种对抗原的“敏感”状态,如受抗原刺激,非但不能活化、增殖,产生特异性免疫应答,反而会引起未成熟 B 细胞发生细胞凋亡而导致克隆流产(clonal abortion)。现认为骨髓中出现的自身抗原,可去除对抗原“敏感”的自身反应性 B 细胞克隆,这是 B 细胞自身耐受——中枢耐受产生的重要机制之一。

3. 成熟 B 细胞: 随着进一步分化,  $\mu$  链以外的其他免疫球蛋白的重链也开始表达。此时 B 细胞胞质中可同时出现 IgM 和 IgD, 表面可同时表达两类 BCR: mIgM 和 mIgD。成熟 B 细胞能识别抗原、介导特异性免疫应答。

至此, B 细胞完成在骨髓中的分化和成熟。

4. 活化 B 细胞: 如无抗原刺激, 成熟 B 细胞在外周免疫器官中寿命一般仅 7~10d。而骨髓中成熟 B 细胞则源源不断进入外周, 保持高度的自我更新速率, 以维持数量庞大的多样性的 B 细胞谱。同时, 在抗原刺激下, B 细胞的 Ig 基因(V 区)发生体细胞突变(详见第三章), 进一步丰富了 BCR 的多样性。

一旦受到抗原刺激, B 细胞可被活化, 发生增殖、分化, 进入激活状态。此时, Ig 基因的转录速率加快, B 细胞表面 BCR 的表达增加, 向浆细胞分化。

5. 浆细胞: 浆细胞(plasma cell)又称抗体形成细胞(antibody forming cell, AFC), 是 B 细胞分化的终末细胞。此类细胞胞质中出现大量粗面内质网, 能合成和分泌特异性抗体, 介导体液免疫, 同时表面 BCR 的表达减少。

从骨髓干细胞、前 B 细胞、未成熟 B 细胞到成熟 B 细胞, B 细胞在骨髓特定的内环境中, 按既定的程序分化, 不受抗原影响, 称为 B 细胞分化的非抗原依赖期(图 2-7)。而在外周, 成熟的 B 细胞只有在抗原刺激下才能进一步分化为浆细胞, 分泌抗体, 进入抗原依赖阶段。

## (二) B 细胞成熟过程中的阴性和阳性选择

同 T 细胞一样, B 细胞在分化成熟过程中也须经历选择。不同的是, B 细胞先在中枢免疫器官——骨髓中进行阴性选择, 成熟后(在外周)再进行阳性选择。

前 B 细胞在骨髓中分化为未成熟 B 细胞后, 表面表达 mIgM, 此时能识别自身抗原的 B 克隆以其 BCR(mIgM)与骨髓中出现的自身抗原发生结合, 产生负信号, 诱使未成熟 B 细胞发生细胞凋亡。其生物学意义类似于 T 细胞的阴性选择, 造成自身反应性 B 细胞克隆清除, 产生自身耐受。随后, 在外周, 成熟的 B 细胞受抗原刺激后, 免疫球蛋白基因可发生体细胞高频突变, 再加上抗原的选择, 留下了表达高亲和力 BCR 的细胞克隆。此现象称为亲和力成熟(详见第九章), 有人亦称此为 B 细胞的阳性选择。

## 二 B 细胞抗原受体

B 细胞抗原受体(BCR)具有抗原结合特异性, 在同一个体内, 其多样性高达  $10^9 \sim 10^{12}$ , 构成容量巨大的 BCR 谱, 赋予个体识别各种抗原、产生特异性抗体的巨大潜能。

在成熟 B 细胞表面, Ig  $\alpha$ 、Ig  $\beta$  总是和 BCR 共同表达, 形成 BCR-Ig  $\alpha$ /Ig  $\beta$  复合体, 前者识别抗原, 后者转导 BCR 接受的抗原刺激信号。

1. BCR 分子: BCR 主要包括 mIgM 和 mIgD, 由 2 条重链和 2 条轻链连接而成。每条肽链分为可变区(约 110 个氨基酸残基)、恒定区(约 330 个氨基酸残基)、跨膜区(26 个氨基酸残基)及胞质区(3 个氨基酸残基)(图 2-8)。V 区由 VH 和 VL 两个结构域组成, 各有 3 个超变区即 CDR1、CDR2 和 CDR3。BCR 可直接识别完整的、天然的蛋白质抗原、多糖或脂类抗原, 3 个 CDR 均参与对抗原的识别, 共同决定 BCR 的抗原特异性。

2. Ig  $\alpha$  和 Ig  $\beta$  分子: Ig  $\alpha$ (CD79a)和 Ig  $\beta$ (CD79b)以二聚体形式存在。两条肽链可分为胞外区、跨膜区和胞质区。从图 2-8 可以看出, Ig  $\alpha$  和 Ig  $\beta$  链的胞质区特别长, 其中 Ig  $\alpha$  为 61 个氨基酸残基, Ig  $\beta$  为 48 个氨基酸残基, 各有一个 ITAM 结构, 为信号转导所必需。

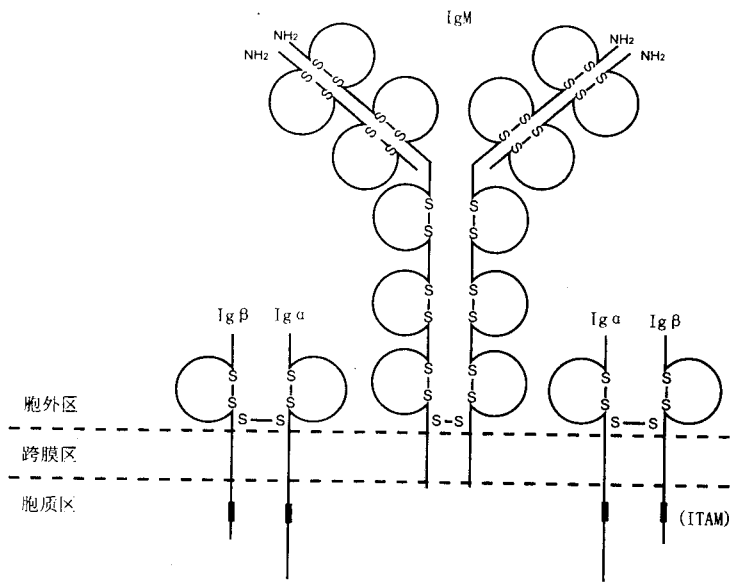


图 2-8 B 细胞抗原受体(BCR - Ig α/Ig β)结构示意图  
BCR 可以是 Ig M 或 Ig D。Ig α 和 Ig β 胞质区各有一个免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM),为信号转导所必需

三 B 细胞亚群

B 细胞也是一异质性群体,显示不同的功能和表面标志。一般根据 CD5 表达与否,将 B 细胞分为 B1 细胞和 B2 细胞两个亚群(表 2-7)。

表 2-7 B1 细胞和 B2 细胞的特征

	B1	B2
表型		
IgM	+++	+
IgD	+	+++
CD5	+	-
CD23	-	+
细胞体积	大	小
抗体产生		
IgM、IgG3	+++	+
IgG1	+	+++
IgG2	+ / +++	++ / ++++
T 细胞依赖	-	++
亲和力成熟	-	++

1. B1 细胞: B1 细胞为 CD5<sup>+</sup> B 细胞,主要识别非蛋白质抗原,如脂多糖。无需 Th 细胞的辅助,B1 细胞可直接介导对非胸腺依赖抗原的免疫应答,产生特异性抗体。B1 细胞介导的免疫应答特点为:一般不发生体细胞突变,无亲和力成熟,产生低亲和力的 IgM 抗体,不产生免疫记忆细胞。

2. B2 细胞: B2 细胞为 CD5<sup>-</sup> B 细胞,主要识别蛋白质抗原。在 Th 细胞的辅助下,B2 细胞才能被完全激活并介导对胸腺依赖抗原的免疫应答,产生特异性抗体。B2 细胞介导的

免疫应答特点为:可发生体细胞突变,有亲和力成熟,产生高亲和力抗体,可产生免疫记忆细胞。

### 第三节 其他免疫细胞

包括自然杀伤细胞、单核吞噬细胞、粒细胞、肥大细胞等。这些细胞参与天然免疫,并在特异性免疫应答中发挥协同作用,辅助 T、B 细胞对抗原的识别和发挥效应功能。

#### 一 自然杀伤细胞

自然杀伤细胞(natural killer cell, NK 细胞)是又一种属于淋巴细胞谱系(lineage)的细胞群。NK 细胞具有细胞毒性效应,无需抗原预先致敏,就能自发地杀伤靶细胞,故名。由于 NK 细胞不表达 T、B 细胞特有的表面标志如 TCR、BCR、CD4 和 CD8 分子,曾被命名为裸细胞(null cell)。在形态上, NK 细胞胞质中可出现大的嗜天青染料颗粒,所以又被称为大颗粒淋巴细胞(large granule lymphocyte, LGL)。

NK 细胞来源于骨髓干细胞,在骨髓或胸腺中分化成熟。NK 细胞主要分布于外周血,占外周血淋巴细胞总数的 5%~10%。它们的主要功能是参与细胞免疫,在肿瘤免疫、抗病毒感染中均起重要作用。人类 NK 细胞表达 CD2、CD16( $F_c\gamma R$  III)、CD56 和 CD69 等各种分化抗原。此外, NK 细胞还表达 CD3 分子的  $\zeta$  链,与活化信号转导有关。

NK 细胞亚型的分类至今尚无定论,有人提出根据其表面标志分为  $CD16^+$  和  $CD56^+$  两型。

##### (一) NK 细胞的分化成熟

NK 细胞来源于骨髓干细胞,与 T、B 细胞有一共同前体细胞。现在认为, NK 细胞存在胸腺和骨髓两条分化途径,详细机制尚不清楚。成熟的 NK 细胞为  $CD16^+ CD4^- CD8^-$ , 同时表达抑制性受体和激活性受体。

##### (二) 抑制性受体

该类受体统称为杀伤细胞抑制性受体(killer-cell inhibitory receptor, KIR),其配体为 MHC I 类分子或 MHC I 类分子与自身抗原肽组成的复合体。这些配体可以是 HLA-A、HLA-B 或 HLA-C 某些等位基因的产物,也可以是非经典的 I 类分子 HLA-G。人类 NK 细胞的 KIR 为 I 型膜蛋白,分为膜外区、跨膜区和胞质区,膜外区分别有 2 个或 3 个 Ig 样结构域,因而属免疫球蛋白超家族。带 2 个 Ig 样结构域的分子称为 KIR2D(p58),带 3 个 Ig 结构域的分子称 KIR3D(p70),两个 KIR3D 可以结合再形成一个同源二聚体(p140)。人类 NK 细胞 KIR 的共同特征是每条肽链的胞质区末端均含有两个免疫受体酪氨酸抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM)。当 KIR 与配体结合时, ITIM 发生酪氨酸磷酸化,产生负调节信号,抑制 NK 细胞的杀伤活性(详见第十一章免疫调节部分)。图 2-9 以 KIR2D 为例(实际上是 KIR2DL,详后),图示 NK 细胞的抑制性受体及其 ITIM 的位置。

CD94/NKG2 为人类 NK 细胞的另一类抑制性受体,配体为非经典的 MHC I 类分子 HLA-E 及其递呈的九肽,后者主要来自经典 MHC I 类分子重链的引导序列。异二聚体分子 CD94 和 NKG2A(gp43)以二硫键连接,两条肽链的膜外区各有一个 C 型凝集素样(C-lectin)结构域。异二聚体中 NKG2A 分子胞质区有两个 ITIM(图 2-9); CD94 无此结构,但起着分子伴

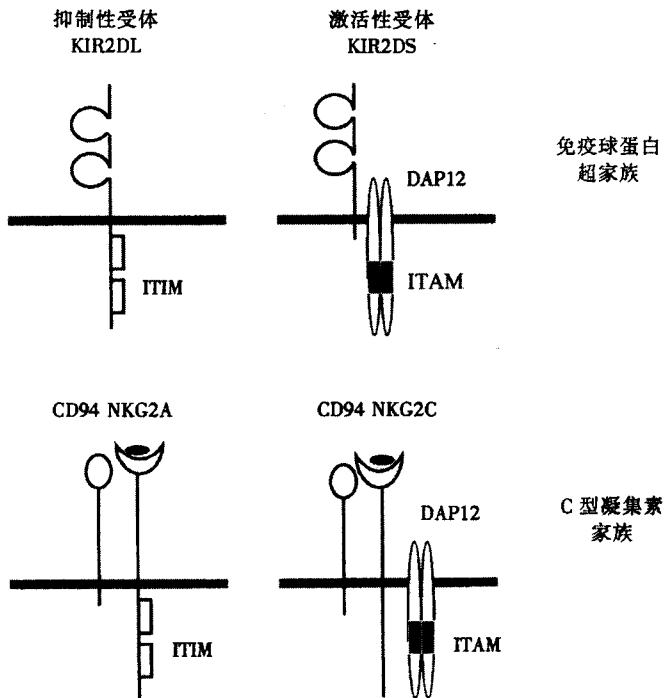


图 2-9 人 NK 细胞的抑制性受体和激活性受体

侣的作用,对 CD94/NKG2A 的表达及功能行使是不可少的。

1986 年 Karre 提出“丧失自我”(missing self)假说,认为 NK 细胞是搜寻、攻击缺乏“自我”的细胞。此处的自我,主要指自身 MHC I 类分子。由于后者在体内绝大多数细胞表达,KIR 的存在,有效地阻止了 NK 细胞对正常自身组织细胞的攻击。而对同种异型或异种细胞(KIR 具个体特异性和种族特异性)的 MHC I 类分子、病毒感染细胞的 MHC I 类分子—病毒多肽复合物,或缺乏 MHC I 类分子的细胞(如肿瘤细胞),KIR 均不能识别,无法转导负调节信号,致使 NK 细胞处于激活状态而杀伤上述靶细胞。所以在肿瘤免疫、抗病毒感染免疫及清除非己细胞中,NK 细胞与 CTL 分别构成了第一道和第二道免疫杀伤防线。

近来发现,某些人类 CTL 表面亦表达 KIR,可下调 CTL 对靶细胞的杀伤活性。研究证实,一些自身免疫病的发生和 CTL 表面 KIR 的表达缺陷有关。同样,由于 KIR 可抑制 CTL 的杀伤活性,也可抑制以 CTL 为主介导的肿瘤免疫和抗病毒感染免疫,削弱机体的免疫功能。

### (三) 激活性受体

人类 NK 细胞还表达另一种受体 KAR(杀伤细胞激活性受体)。KAR 也分成两种,由一个称为 DAP12 的同源二聚体跨膜分子分别和上面提到的两类 KIR 分子结合而成。此时的 KIR 分子已不再包含携带 ITIM 的胞内段,长度减小,分别称为 KIR2DS 和 KIR3DS,因而原先的 KIR 应为 KIR2L 和 KIR3L。由于 DAP12 分子胞内段带有 ITAM(免疫受体酪氨酸激活基序),因而 KIR2L 转变成 KIR2S/DAP12 复合结构之后,即从抑制性受体变为激活性受体,KIR3DS/DAP12 亦然。同样,DAP12 也可和 CD94/~~NKG2~~分子结合成为激活性受体(图 2-9),条件是,NKG2A 分子胞内段的 ITIM 不复存在而转换成另一种变异体 NKG2C 或 NKG2D



(gp39)。当然,NK 细胞还有另一类激活性受体称为  $FC\gamma R$  III(CD16),可和 IgG3 等结合,介导 ADCC,但此类受体不受 KIR 的调节(详见第十章)。

此外,细胞因子也可影响 NK 细胞活性,如 IL-2、IFN- $\gamma$  可促进 NK 细胞的分化,上调其活性;TGF- $\beta$  则通过上调 KIR 的表达而抑制 NK 细胞的杀伤活性。活化的 NK 细胞可分泌 IFN- $\gamma$ (同时有自分泌作用)、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ (LT)和粒酶,介导靶细胞的凋亡。

## 二 单核吞噬细胞

单核吞噬细胞指血液中的单核细胞(monocyte, MC)及组织中的巨噬细胞(macrophage, M $\Phi$ )。单核吞噬细胞具有很强的吞噬能力,特别是 M $\Phi$  在特异性免疫和非特异性免疫中均发挥重要作用。

### (一) 单核吞噬细胞的分化成熟及组织分布

单核吞噬细胞均来源于骨髓干细胞(图 2-1),发育成单核细胞后,进入血流分布于各种器官组织,并有不同的命名(表 2-8)。

表 2-8 单核吞噬细胞的组织分布

组 织	细胞名称
外周血	单核细胞
一般组织	巨噬细胞
结缔组织	组织细胞
肝	肝枯否细胞
肺	肺泡细胞
骨髓	骨形成细胞
皮肤	郎格罕细胞
神经系统	小胶质细胞
腹腔	腹腔巨噬细胞
脾和淋巴结	固定和游走的巨噬细胞

成熟的 M $\Phi$  表达 MHC I 类、II 类分子、协同刺激分子(B7-1、B7-2 和 CD40)。此外,M $\Phi$  还表达 CD1、CD2、CD14、 $FC\gamma R$  I(CD64)、 $FC\gamma R$  II(CD32)、 $FC\gamma R$  III(CD16)、 $FC\epsilon R$  II(CD23)、CR1(C3b 受体,CD35)和 CR3(C3bi 受体)等表面分子。

### (二) 巨噬细胞的生物学功能

巨噬细胞参与非特异性免疫和特异性免疫。在非特异性免疫中,主要通过吞噬作用杀灭和清除病原体及异物,并介导炎症反应;在特异性免疫中主要发挥免疫调节及抗原递呈功能。

1. 吞噬和杀伤作用:可经受体介导吞噬异物,杀伤和清除细菌、病毒及损伤、衰老的组织细胞,故巨噬细胞又有清道夫(scavenger)之称。巨噬细胞也是细胞免疫的重要效应细胞,能有效杀伤胞内寄生菌和肿瘤细胞。此外,巨噬细胞在抗体存在下可发挥 ADCC 作用,参与肿瘤免疫和抗病毒免疫。

2. 介导炎症反应:巨噬细胞是一类重要的炎症细胞,具有趋化作用,可定向转移至炎症部位集中,加强局部炎症反应,杀灭、清除炎症部位的病原体及异物等。同时,巨噬细胞分泌 IL-1(内源性致热源),作用于体温调节中枢,引起发热,进一步加强全身和局部的炎症反应。

3. **免疫调节功能**: 在特异性免疫中, 激活的巨噬细胞可分泌各种细胞因子, 发挥免疫调节功能。

IL-1: 激活血管内皮细胞, 淋巴细胞, 加强局部免疫应答及炎症反应, 引起发热并促进 IL-6 的产生。

IL-8: 趋化作用和激活中性粒细胞, 增强效应细胞功能。

TNF- $\alpha$ : 激活血管内皮细胞, 增加血管通透性, 导致 IgG、补体和细胞进入组织及淋巴结。

IL-6: 激活淋巴细胞, 促进抗体产生, 引起发热。

IL-12: 激活 NK 细胞, 促进 Th1 细胞分化。

IFN- $\gamma$ : 激活 NK 细胞和 CTL, 增强免疫应答。

此外, 巨噬细胞还可分泌 IL-3、PGF<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub> $\alpha$ 、GM-CSF、G-CSF 和 M-CSF 等因子, 发挥免疫调节作用。

4. **加工和递呈抗原**: 作为专职抗原递呈细胞, 巨噬细胞能加工和递呈抗原, 启动免疫应答(详见第七章)。

### 三 树突细胞

树突细胞(dendritic cells, DC)的形态特点是, 表面有许多树状突起, 细胞质内无溶酶体、吞噬体, 其他细胞器也少见。

#### (一) 树突细胞的分化成熟及组织分布

树突细胞主要由骨髓中髓样前体细胞(myeloid precursor)分化而来, 因而 DC 与单核吞噬细胞有共同的祖先。DC 的成熟经历两个阶段。首先通过血流迁徙到外周组织和器官, 作为一种未成熟状态, MHC 和 B7 分子的表达水平很低, 无法行使功能。然而此时它们却可以通过吞噬作用和巨胞饮作用(macropinocytosis)摄取抗原。然后进入第二个阶段, 这些摄取了抗原的 DC 通过输入淋巴管进入局部淋巴结, 分化为成熟 DC, 但不再具有吞噬活性。其中细胞因子 GM-CSF 和 IL-4 有助于动员未成熟的 DC, 而 TNF 和脂多糖 LPS 可促进 DC 的成熟。

#### 1. 根据组织分布特点区分不同的 DC

树突细胞的亚群, 是当今免疫学研究的热点, 尚处于探索阶段。表 2-9 列举了根据组织分布的特点对 DC 作的传统命名。

表 2-9 树突细胞的组织分布和命名

分 布	细胞类型
淋巴样器官	
T 细胞区	并指状树突细胞
B 细胞区	滤泡树突细胞
非淋巴样器官	
皮肤、粘膜	郎罕细胞
器官	间质树突细胞
循环体液	
血液	血液树突细胞
淋巴液	“隐匿性”细胞

并指状树突细胞(interdigitating DC),又称交错树突细胞,分布于次级淋巴组织和胸腺髓质中的 T 细胞区。

滤泡树突细胞(follicular DC),主要分布于淋巴结及粘膜淋巴组织中的淋巴小结生发中心内,即富含 B 细胞的淋巴组织。这是一类起源和功能与其他 DC 不同的细胞(下详)。

郎罕细胞(Langerhans cell)分布于皮肤表皮基底层和棘细胞之间。

间质树突细胞(interstitial DC)广泛分布于多种非淋巴样器官,如心、肺、肝、肾、胃肠道。

循环树突细胞(circulating DC)在血流中仅占白细胞的 0.1%,淋巴液中称为“隐匿性”细胞(veiled cell)。

2. 根据起源区分亚群

晚近在小鼠中发现一类不同于髓样树突细胞(myeloid DC,MDC)的另一种树突细胞称为淋巴样树突细胞(lymphoid DC,LDC),MDC 和 LDC 不仅起源不同(因属于不同的谱系),表面标志、组织分布和功能也有差别(表 2-10)。

表 2-10 表明,MDC 可表达 CD8 分子的  $\alpha$  链和其他分子,LDC 则为阴性;前者组织分布和迁徙规律服从于经典的树突细胞从未成熟向成熟分化的过程,已如前所示;后者不发生对外来抗原的摄取,因为该类 DC 一直居于胸腺和外周淋巴组织的 T 细胞区。现已提出两类 DC 分别诱导未致敏 T 细胞的活化和耐受。MDC 体现了 DC 作为专职 APC 所发挥的功能,而 LDC 诱导自身耐受的机制尚未完全阐明。人体中髓样起源和淋巴样起源的树突细胞分别称为 DC1 和 DC2(详后)。

表 2-10 小鼠中髓样树突细胞和淋巴样树突细胞特点的比较

	髓样树突细胞(MDC)	淋巴样树突细胞(LDC)
相区别的 surface 标志 *	CD8 $\alpha^+$ ,33D1 $^+$ ,DEC-205 $^{-/lo}$	CD8 $\alpha^+$ ,33D1 $^-$ ,DEC-205 $^{hi}$
来自同一前体的其他细胞	巨噬细胞	T、B 细胞
分化依赖的细胞因子	GM-CSF	IL-3
组织分布	未成熟时分布于非造血干细胞组织 及次级淋巴细胞皮质区,摄取抗原 后向 T 细胞区迁徙	分布于胸腺髓质及次级淋巴细胞的 T 细胞区,前体分布于血液、胸腺和 T 细胞区
可能的功能	诱导 Th2 应答	诱导 Th1 应答,可能参与免疫耐受

\* 33D1 和 DEC-205 为 DC 表面的分子和受体

稍加分析不难发现,在起源上树突细胞实际分为三类:MDC(DC1)、LDC(DC2)和 FDC。这是因为 FDC(滤泡树突细胞)的起源又可能有别于 MDC 和 LDC,而且三类树突细胞的主要功能也是不同的。

(二) 树突细胞的生物学功能

1. 向 T 细胞递呈抗原:成熟的 DC 可高水平表达 MHC(I 类、II 类)分子、协同刺激分子(B7-1、B7-2)、粘附分子(ICAM-1、ICAM-2、LFA-1、LFA-3)、CD1 分子、CD40 等,并分泌多种趋化因子和细胞因子。这使得 DC 可以直接活化未致敏 T 细胞(详见第七章)。显然,这一功能的履行需在 T 细胞大量集中的外周淋巴器官中,因而 DC 的抗原递呈功能往往由并指状树突细胞执行。分散在非淋巴器官中的树突细胞需要捕获抗原并进入淋巴器官后,才能显示

其抗原递呈功能。典型的例子是分布于表皮中的郎罕细胞。这是一类未成熟的 DC,它在皮肤表面摄取抗原后转移至局部淋巴结,成为成熟 DC 而大量表达 MHC 分子、B7 分子和粘附分子。显然,行使抗原递呈功能的树突细胞主要为 MDC(DC1)。据称,DC2 也可以递呈抗原,不同的是,此类 DC 可能是通过所表达的 CD1 分子递呈脂类抗原给 T 细胞。

2. 参与天然免疫和 T 细胞亚群的分化: 前面提到,人体 DC 细胞起源和功能上也分成两个亚群 DC1 和 DC2。DC1 为髓样细胞来源,产生 IL-12,诱导 Th1 分化。DC2 为淋巴样细胞来源,其前体 pCD2 为  $CD4^+ CD3^+ CD11c^-$ ,不产生 IL-12 和 IL-4,却能以一种 IL-4 不依赖方式诱导的 Th2 分化。需要注意的是,小鼠中的情况正好相反,髓样 DC 和淋巴样 DC 分别诱导 Th2 和 Th1(表 2-10)。造成这一差异的机制未明。

3. 诱导免疫耐受: 在各种实验条件下,DC 可以诱导免疫耐受和参与调节免疫应答。无论小鼠还是人体都已初步确认这一功能主要由淋巴样树突细胞行使。但 LDC 诱导自身耐受机制尚未完全确定,有人认为和 LDC 专门识别自身而非外来的蛋白酶有关,此类树突细胞有能力清除发育中的自身反应性 T 细胞。

DC 对免疫应答的调节主要是通过抑制 T 细胞增殖而实现,其效果取决于 DC 的引入途径、DC 数量、抗原递呈量和 DC 的类型。这表明调节作用和耐受的诱导并不完全由 LDC 承担。例如多种处理皆可阻断 DC 的抗原递呈作用而诱导免疫无反应性。现知 IL-10 处理郎罕细胞、脾脏 DC 和未成熟 DC,以及采用 UVB 或 CTLA4-Ig 融合蛋白处理 DC,皆可产生免疫抑制,或改变 Th1/Th2 的极化格局,对免疫应答发挥调节作用。

4. 向 B 细胞递呈抗原: DC 中的滤泡树突细胞(FDC)与众不同。它们除了具有树突状形态,和其他 DC 并无共同之处。不仅起源不同,而且 FDC 不表达 MHC II 类分子,不参与 T 细胞的活化。

在初级淋巴滤泡中,发现许多 B 细胞聚积在 FDC 所构成的致密网络中,提示此类 DC 和 B 细胞的活化及体液免疫密切相关。FDC 的特点是大量表达补体受体(CR1、CR2、CR3)和免疫球蛋白 Fc 受体,而且这些 Fc 受体不参与受体介导的胞吞作用而不发生内吞,因而在 FDC 表面可长期停留,时间可以是数周、数月,甚至数年。这样,抗原分子就可以以 Ag-Ab 复合物的形式被保留和浓缩在 FDC 表面,使得聚积在其周围的 B 细胞被有效地激活。因而滤泡树突细胞被称为 B 细胞的抗原递呈细胞(APC)。另外 FDC 还具有吸引和招募 B 细胞至滤泡的功能,并参与抗体亲和力成熟。有关内容可参见第九章。

## 四 粒细胞和肥大细胞

### (一) 粒细胞

粒细胞(granulocyte)亦来源于骨髓干细胞,参与特异性免疫和非特异性免疫,在炎症中发挥作用。

1. 中性粒细胞: 中性粒细胞(neutrophil)具有高度的吞噬能力和游走能力,占血液中粒细胞总数的 90%。中性粒细胞表达  $Fc\gamma R$ ,在异物入侵和炎症早期,可吞噬、杀灭病原体等异物;并可在抗体参与下发挥 ADCC 作用,清除抗原异物,参与特异性免疫。

2. 嗜酸粒细胞: 嗜酸粒细胞(eosinophil)占血液中粒细胞总数的 2%~5%,主要参与寄生虫感染。在 I 型超敏反应中,嗜酸粒细胞可分泌某些酶类等活性物质,发挥负调节作用。

3. 嗜碱粒细胞: 嗜碱粒细胞(basophil)占血液中粒细胞总数的 0.2%。嗜碱粒细胞表达  $F_{c\epsilon}R$ , 主要参与 I 型超敏反应。特应性个体产生的 IgE 抗体和嗜碱粒细胞表面的  $F_{c\epsilon}R$  结合, 可介导细胞脱颗粒, 释放出各种生物活性介质, 引起 I 型超敏反应。

## (二) 肥大细胞

肥大细胞(mast cell)主要分布在粘膜或结缔组织中(血液中即嗜碱粒细胞), 表面表达  $F_{c\epsilon}R$ , 在 IgE 抗体作用下也可发生脱颗粒, 参与 I 型超敏反应。近年来发现, 肥大细胞表达 MHC 分子、协同刺激分子(B7-1 和 B7-2), 功能上可作为 APC, 能加工、递呈抗原, 启动免疫应答。此外, 肥大细胞还表达 CD40 和 CD40L, 促进 T、B 细胞和 APC 的活化。

肥大细胞还能分泌细胞因子, IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13 及 GM-CSF、TNF- $\alpha$  及趋化因子等, 参与免疫调节, 发挥免疫效应功能。

## 本章提要

免疫细胞是免疫系统的重要组成部分。T、B 细胞通过抗原受体 TCR 和 BCR 识别抗原, 介导细胞免疫和体液免疫, 是特异性免疫应答的主要参与者。根据功能和生物学特性, T 细胞分为不同亚群。CD4<sup>+</sup> Th 细胞主要分为 Th1 和 Th2 两个功能性亚群, 是免疫系统重要的效应细胞, 两者数量、功能平衡与否, 直接制约免疫性疾病的发生和发展。CD8<sup>+</sup> T 细胞分为 CTL 和 T<sub>S</sub> 细胞; CTL 能特异杀伤靶细胞, 是第三类重要的效应细胞; T<sub>S</sub> 是抑制性 T 细胞, 可下调免疫应答。近来发现, 存在另一些 T 细胞(如 NK1.1<sup>+</sup> T 细胞), 可识别 CD1 分子及其递呈的脂类抗原。B 细胞是介导体液免疫的主体细胞, 分为 B1 细胞和 B2 细胞两个亚群, 分别介导对非胸腺依赖抗原和胸腺依赖抗原的免疫应答。此外, B 细胞还具有加工递呈抗原的功能, 并能分泌细胞因子, 参与免疫调节。

NK 细胞是细胞免疫的重要效应细胞, 其杀伤活性受其表面的 KIR 和 KAR 调节, 是肿瘤免疫和抗病毒免疫的重要细胞。单核吞噬细胞特别是巨噬细胞是参与特异性免疫和非特异性免疫的重要细胞。树突细胞的主要功能是参与抗原的加工、递呈, 是启动免疫应答的关键细胞。树突细胞的功能及生物学特性的研究已成为当前免疫学研究的热点。其他免疫细胞(如粒细胞和肥大细胞)在特异性免疫和非特异性免疫中均发挥重要作用。

(李伟毅)

## 参考文献

- [1] Fremont DH, Rees WA, Kozono H. Biophysical studies of T cell receptor and their ligand. *Curr Opin Immunol*, 1996, 8:93
- [2] Bäckström BT, Müller U, Hausmann B, et al. Positive selection through motif in the  $\alpha\beta$  T cell receptor. *Science*, 1998, 281:835
- [3] Schofield L, McConville MJ, Hansen D, et al. CD1d-restricted IgG formation to GP1-anchor antigen mediated by NK T cells. *Science*, 1999, 283:225
- [4] Ghiu P, Boekel ET, Rolink AG, et al. B cell development: a comparison between mouse and man. *Immunol Today*, 1998, 19:480
- [5] Moretta A, Moretta L, et al. HLA class I specific inhibitory receptors. *Curr Opin Immunol*, 1997, 9:694
- [6] Lanier LL. Follow the leader: NK cell receptor for classical and non-classical MHC class I. *Cell*, 1998, 92:705

- 
- [ 7 ] Hart D N J. Dendritic cells: unique leukocyte population which control the primary immune response. *Blood*, 1997, 90;3245
  - [ 8 ] Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 1998, 392;245
  - [ 9 ] Mécheri S, David B. Unravelling the mast cell dilemma: culprit or victim of its generosity? *Immunol Today*, 1997, 18;212
  - [10] Poccia F, Gougeon ML, Bonnaville M, et al. Innate T - cell immunity to nonpeptidic antigens. *Immunol Today*, 1998, 19;253

# 第三章 免疫球蛋白、免疫球蛋白基因和基因工程抗体

免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)是血液和组织液中一类糖蛋白,其主体是体液免疫应答的主要效应分子——抗体(antibody, Ab),在血清中以  $\gamma$  球蛋白的形式存在。由于它们能特异结合或识别入侵的病原体,是机体防御系统中的重要组成部分。在自然界中有巨大数量的抗原,相应也有巨大数量的特异抗体以识别这些抗原。而机体所能制造的不同抗体数是十分惊人的。抗体在免疫应答中所占的重要地位,以及在医学上的广泛应用已深为人们所认识,因而需要了解免疫球蛋白的结构和功能,产生巨大多样性的遗传基础,以及随着基因技术发展对抗体分子进行改建的原理和进展。

## 第一节 免疫球蛋白的结构和功能

### 一 基本结构

在结构上抗体可能是所有蛋白质中研究得最多的。其基本结构是一个 Y 型(图 3-1)的四肽链,由两条完全相同的重链(heavy chain, H 链)和两条完全相同的轻链(light chain, L 链)组成。

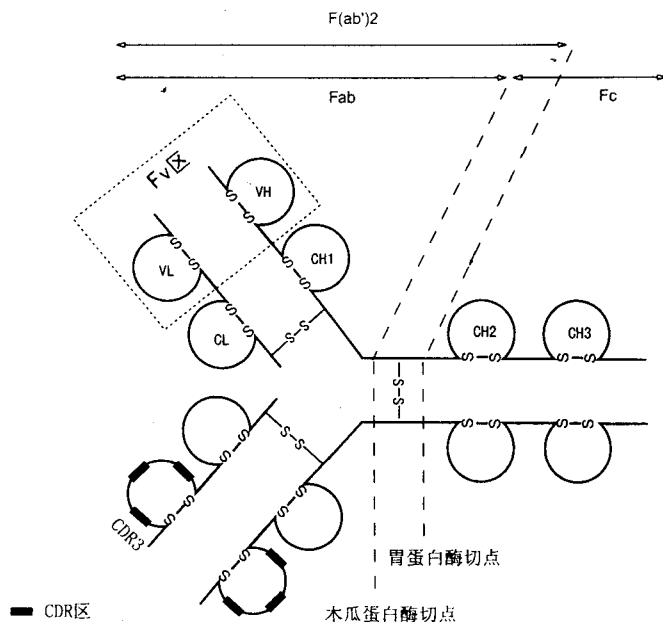


图 3-1 免疫球蛋白(IgG)分子的基本结构及其片段

注: VL, CL 分别代表轻链的 V 区和 C 区; VH, CH1, CH2, CH3 重链的 V 区和 C 区的 3 个结构;  
Fv VH + VL; S—S 二硫键; ..... 虚线代表酶切位置

重链和重链之间、重链和轻链之间以二硫键相联,结合成一个轻重链配对的对称分子。轻链的相对分子质量(分子量)约为 25 000,重链的分子量为 50 000 左右。

### (一) 免疫球蛋白的肽链

1. 轻链和重链:轻链有两种:kappa( $\kappa$ )链和 lamda( $\lambda$ )链。一个免疫球蛋白分子只能具有两种轻链中的一种,但在一个个体内,可存在分别带有  $\kappa$  或  $\lambda$  链的抗体分子。迄今未发现拥有  $\kappa$  链或  $\lambda$  链的抗体分子在功能上有何区别。不同的物种中含有  $\kappa$  或  $\lambda$  链的抗体的比例是不同的,在老鼠  $\kappa$  链和  $\lambda$  链的比例是 20:1,在人的比例为 2:1。

重链分 5 种, $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ 、 $\alpha$ 、 $\epsilon$  链。这 5 种重链决定了免疫球蛋白或抗体的类别(class)或同种型(isotype),即 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE。其中有些类别还再分为亚类,例如人的  $\gamma$  链有 4 种: $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 、 $\gamma 4$ 。小鼠的  $\gamma$  链也有 4 种: $\gamma 1$ 、 $\gamma 2a$ 、 $\gamma 2b$  和  $\gamma 3$ 。人的  $\alpha$  链还分为  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$  两种。因此人类免疫球蛋白的类别包括亚类共有 9 种(表 3-1),小鼠有 8 种。

表 3-1 各类人免疫球蛋白的特性

Ig 类别	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgE
相对分子质量(分子量) $\times 10^3$ (kD)	970	184	146	146	165	146	160	160	188
成人血清水平(mg/ml)	1.5	0.03	9	3	1	0.5	3.0	0.5	$5 \times 10^{-5}$
中和作用	+	-	++	++	++	++	++	++	-
调理作用	-	-	+++	-	++	+	+	+	-
激活补体	+++	-	++	+	++	-	+	-	-
结合吞噬细胞	-	-	+	-	+	-	-	-	+
结合肥大细胞和嗜碱粒细胞	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
通过胎盘	-	-	++	++	++	++	-	-	-
通过血管	+	-	+	+	+	+	+++*	+++*	-

\* 双体分子

2. 可变区和恒定区:研究免疫球蛋白重链和轻链的氨基酸顺序时发现,在氨基端部分的顺序表现了很大的变化,其他部分则相对恒定,从而可将轻链或重链区分为可变区(variable region, V 区)和恒定区(constant region, C 区);可变区和抗原识别有关,决定抗体识别的特异性,而恒定区和效应功能相关。此外在 Y 形分子伸出的两臂和主干之间还有个可弯曲的铰链区(hinge region),能改变两个结合抗原的 Y 形臂之间的距离。两臂之间的角度可有自  $0^\circ$  到  $90^\circ$  的变化,这样有利于两臂同时结合位于抗原上分布于不同位置的表位。Ig 中只有 IgD、IgG、IgA 有铰链区,IgM 和 IgE 没有,但这并不说明它们完全不能弯曲,还有相对的弯曲性,它们在相应于铰链区的部位为其他结构(见下文)。各类抗体的铰链区的长度及氨基酸的顺序也有不同;人 IgD 的可伸展的距离最大,IgG4 和两种 IgA 的弯曲度就没有这么大。

所有的免疫球蛋白分子都是由两条重链和两条轻链组成的基本单位构成,但分泌型的 IgM 和 IgA 可具有多聚体的形式,IgM 分子是五聚体,在粘膜分泌液中的 IgA 是二聚体,它们的单体以二硫键和称为 J 链的多肽链彼此相联。

### (二) 免疫球蛋白的结构域

免疫球蛋白的四条轻重链不管是可变区还是恒定区都由折叠的球状结构域(domain)组成,每个结构域约包含 110 个氨基酸残基组成。其折叠具有典型特点,称为免疫球蛋白折叠(immunoglobulin fold),也即其多肽链反复折叠成多股(strand),相邻的数股集合一起形成两个



片层( $\beta$  sheet),两层之间有二硫键相连使之稳定。可变区型结构域的双层结构由一层4股、一层5股,共9股形成。恒定区型结构域的双层结构由7股形成,一层3股,一层4股(图3-2)。每条多肽链均由多个结构域组成。在轻链V区和C区各由一个结构域构成,VL和CL;重链的V区也只有一个结构域(VH),但C区则包括3~4个结构域, $\gamma$ 、 $\alpha$ 、 $\delta$ 链的C区各有3个结构域,这些结构域分别称为CH1、CH2、CH3(图3-1)。 $\mu$ 、 $\epsilon$ 链的C区有4个结构域,多一个CH,其CH2相应于铰链区的部位,也部分起了铰链区的功能。为标明各Ig类别C区,另作命名,如对IgM,则称为C $\mu$ 1、C $\mu$ 2、C $\mu$ 3、C $\mu$ 4,其他类别依次类推。

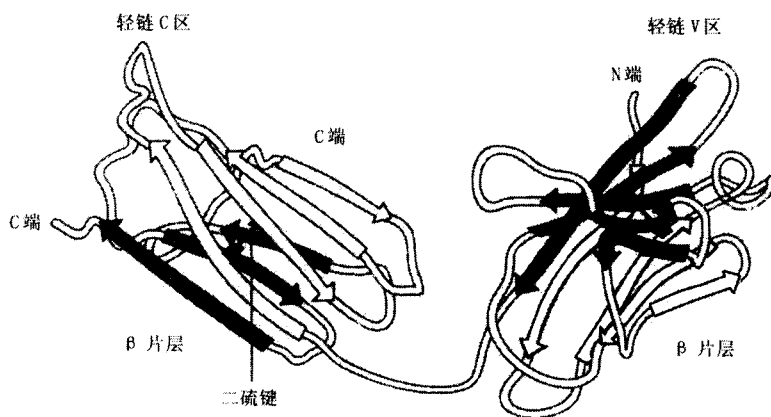


图3-2 免疫球蛋白的结构域

图示轻链V、C结构域的折叠,每个结构域由反复折叠成多股的肽链形成,相邻的数股集合成片层,两者之间有二硫键相连,右侧的V结构域由9股组成,一层4股,一层5股,肽链上3个回折处为3个CDR,左侧C结构域由7股组成,一层4股,一层3股。

免疫球蛋白这种结构域的典型结构,也为某些蛋白分子所具有,它们都归属于免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily, IgSF)。该家族的成员至少有一个免疫球蛋白结构域,如Thy-1抗原。MHC分子,T细胞受体,粘附分子ICAM等都是免疫球蛋白超家族的成员(图3-3)。

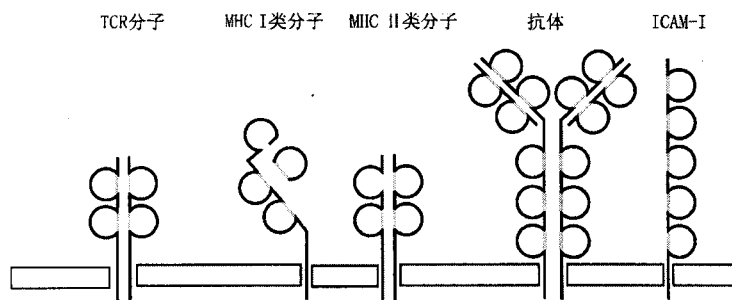


图3-3 免疫球蛋白超家族成员的结构示意图

## 二 功能性抗体片段

免疫球蛋白的分子还有一个特点,即其中有些部分容易酶解,所以在一定条件下,可以解离为各种片段。常用的酶为木瓜蛋白酶(papain)和胃蛋白酶(pepsin)。木瓜蛋白酶能将IgG分子在铰链区部位切断为三个片段:两个完全相同的Fab片段和一个Fc片段,也即Y型

分子上的两个臂和主干部分(图 3-1)。Fab 片段名称的来由,是因为这部分有抗原结合的功能(fragment antigen binding),它由一个轻链和部分重链(VH + CH1)构成。第三个片段称为 Fc,是因为原先发现这片段很快就能结晶(fragment crystalizable),相应于 CH2、CH3、CH4 的部分。这部分介导抗体的效应功能,和细胞或其他效应分子起作用,如结合细胞和补体等。胃蛋白酶可将 Ig 分子在 CH2 区域处切断,产生一个大片段  $F(ab')_2$  和一些小片段。 $F(ab')_2$  不同于 Fab 是在于它是由两个 Fab 和联结的铰链区组成,由于  $F(ab')_2$  是双价的,能同时结合两个表位,因而能起沉淀和凝集反应。

这些酶解的片段大大促进了对 Ig 分子结构和功能的研究。随着科学水平的提高,特别是基因工程手段的介入,产生了更多有功能的 Ig 分子片段,如 Fv、VH 等。Fv 是保留抗体结合能力的最小单位,由 VH + VL 构成,也可以通过酶解获得。它们虽然没有二硫键,然而 VH 和 VL 之间固有的相互作用力使它们在没有抗原存在的情况下也能结合在一起,但是在低浓度下容易解离。单独的 VH 片段在有些情况中,仍保持了抗原结合的功能。

这些片段的获得和研究不但加深了对 Ig 分子的了解,同时也为各种基因工程抗体的构建打下了基础。

### 三 可变区和抗原结合部位

研究轻重链可变区的序列时发现可变区的某些区段变化更大,通过系统分析发现轻重链可变区上各有 3 个区段是高度变化的,称为高变区(hypervariable region, HV),而其余变化较小的部分称为支架区(framework region, FR)。它们间隔相列,4 个支架区中间夹了 3 个高变区。为了便于比较各抗体的 V 区,常采用美国学者 Kabat 对免疫球蛋白分子各区段的编号原则(表 3-2)。编定重链 V 区为 113 个氨基酸残基,轻链 V 区为 107 个氨基酸残基,一些保守的氨基酸残基都有其固定的编号位置,将不同序列和已编号的序列进行对比以后,在某个位置上多出来氨基酸残基编号为 A、B、C 等,如 27A、27B、27C、106A 等。

表 3-2 免疫球蛋白分子轻重链可变区氨基酸顺序的编号(根据 Kabat 资料)

V 区	FR1	HV1/CDR1	FR2	HV2/CDR2	FR3	HV3/CDR3	FR4
H	1 ~ 30	31 ~ 35	36 ~ 49	50 ~ 65	66 ~ 94	95 ~ 102	103 ~ 113
L	1 ~ 23	24 ~ 34	35 ~ 49	50 ~ 56	57 ~ 88	89 ~ 97	98 ~ 107

#### (一) 抗原结合部位

抗体轻重链可变区部分的功能是和抗原分子结合,而高变区就组成了抗原结合部位(antigen binding site)。这一部位包括轻链的 3 个高变区和重链的 3 个高变区。由于抗体就是借着这部分和抗原互补结合,所以这部分也称为互补决定区(complementarity determining region, CDR),它们分别称为 CDR1、CDR2、CDR3,相对应于第一、二、三个高变区。各 CDR 主要位于肽链回折处,位于 Fab 的顶部,共同形成一个抗原结合部位。其中 HCDR3, LCDR3 位于比较中心的位置,其全部残基都有可能和抗原相接触,其他 CDRs 仅有部分接触,支架区的残基有的也参与和抗原的相互作用。

抗原结合部位和抗原表位的结合是空间互补的,结合小型抗原如半抗原或短肽的抗原结合部位大多为袋型或沟槽型,对大型抗原如蛋白质,大多为平面型。抗原结合部位在结合抗原后,其表面形状有时也可能发生少许变化,出现了所谓诱导吻合(induced fit)的现象,说

明抗原结合部位的表面形状可以有某种程度的变化。

## (二) 抗体和抗原的相互作用

抗体结合抗原,主要是在抗原和结合部位的氨基酸之间形成多个非极性的相互作用力或键,如氢键、静电力、范德华力和疏水力等,与极性键相比其作用力都很弱。非极性键的形成取决于相互作用基团之间的距离,相互作用的基团必须十分靠近才能显出作用力,一般均在不到一个纳米(nm)范围内,因此抗原表位和结合部位在结构上必需互补,同时双方必需有可以形成上述相互作用力的基团。

## (三) 亲和力和亲合力

抗体对抗原结合力的大小常用亲和力(affinity)来表示。它是反映抗体的单个结合部位和单价抗原(或表位)的结合力,因此对多克隆抗体,就难于确定其真正的亲和力。由于抗体和抗原的结合是非极性的,结合和解离是处于可逆状态,当两者达到平衡状态时,结合的和游离的反应物的比率,就是抗体的亲和力,常用亲和常数(affinity constant,  $K_a$ )来表示。因此解离率越低,亲和力越高。一般来说抗体的亲和力变化在  $10^5 M^{-1}$  (低亲和力)和  $10^{12} M^{-1}$  (高亲和力)范围内。当抗体有两个或更多的结合部位(如 IgM),而抗原的表位也不止一个时,只有当所有的结合部位都不结合抗原表位时才解离,因此它们的解离率要小得多。这对五聚体的 IgM 来说特别有意义,因为 IgM 抗体是初次免疫应答的抗体,其单个抗原结合部位的结合力常很低,但由于它由 5 个分子联合共有 10 个抗原结合部位,大大提高了其分子的结合能力。反映整分子抗体和抗原之间的总结合力称为亲合力(avidity)。

# 四 免疫球蛋白重链恒定区的效应功能

免疫球蛋白恒定区的序列虽然变化不如 V 区那样大,但 5 类免疫球蛋白在二硫键的位置和数量、附着在其上的寡糖基团数、恒定区的结构域数、以及铰链区的长度上,还是有所不同。免疫球蛋白分子重链的 C 区是实施效应的重要部分,因为只有通过它才能动员免疫细胞或其他免疫效应分子共同来实现免疫应答的种种效应。

## (一) 结合细胞

免疫球蛋白上的 Fc 部分可以和具有免疫球蛋白 Fc 受体(FcR)的细胞结合(表 3-3),如 IgE 的 Fc 段可以结合肥大细胞或嗜碱粒细胞上的 FcεRI,在抗原交联以后,促使它们释出炎性介质,引起速发型超敏反应。IgG1 及 IgG 其他各亚类抗体的 Fc 段可以和巨噬细胞以及中

表 3-3 结合免疫球蛋白 Fc 段的各类 Fc 受体

Fc 受体	FcγRI (CD64)	FcγRII-A (CD32)	FcγRII-B1 (CD32)	FcγRII-B2 (CD32)	FcγRIII (CD16)	FcεRI	FcαRI (CD89)
结合的 Ig 类别 和亲和力	IgG1* $10^8 M^{-1}$	IgG1* $2 \times 10^6 M^{-1}$	IgG1* $2 \times 10^6 M^{-1}$	IgG1* $2 \times 10^6 M^{-1}$	IgG1* $5 \times 10^5 M^{-1}$	IgE $10^{10} M^{-1}$	IgA1, IgA2 $10^7 M^{-1}$
分布的主要 细胞类型	吞噬细胞△	吞噬细胞	B 细胞	吞噬细胞	NK 细胞 吞噬细胞	肥大细胞 嗜碱粒细胞	吞噬细胞
结合后的效应	吞噬,刺激 杀伤	吞噬	抑制*	吞噬 抑制*	杀伤 (NK 细胞)	颗粒释出	吞噬 杀伤

\* 还能结合 IgG2, IgG3, IgG4; + 还能结合 IgG3; △ 吞噬细胞,包括巨噬细胞和中性粒细胞; # 受体分子胞内段带有 ITIM(参见第十一章); M = mol

性粒细胞、嗜酸细胞的  $\text{Fc}\gamma\text{RI}$  (CD64) 结合, 有利于它们吞噬覆盖抗体的病原体, 并对细胞起刺激作用。IgG1 抗体的 Fc 还能和 NK 细胞上的  $\text{Fc}\gamma\text{RIII}$  (CD16) 结合, 诱发 NK 细胞对覆盖抗体的靶细胞的杀伤, 也即抗体依赖细胞介导的细胞毒 (ADCC) 效应 (详见第十章)。

### (二) 固定补体

IgM 和 IgG 抗体和抗原结合形成的抗原-抗体复合物的 Fc 段能和补体系统中的  $\text{C1q}$  相结合, 启动补体的级联反应。IgM 由于是五聚体, 在其 Fc 上有 5 个  $\text{C1q}$  的靶点, 因此激活补体的能力十分强, 一分子 IgM 就能诱发补体激活级联反应。

### (三) 通过胎盘或上皮细胞转运抗体

抗体可以通过 Fc 段被运送到原先不能到达的部位。如母体的各 IgG 亚类可以通过胎盘上转运细胞的 Fc 受体传递给胎儿。IgA 抗体也能通过腺体上皮中转运细胞的 Fc 受体将 IgA 分泌到泪水或乳汁中。

有些微生物所产生的蛋白也能结合在 Ig 的 Fc 段上, 以阻断 Fc 段引发的效应功能, 可以利用这类蛋白作为免疫试剂来检测和分离 Ig。常用的有金黄色葡萄球菌产生的蛋白 A (protein A) 或蛋白 G (protein G), 已发展成为检测试剂, 用于亲和纯化免疫球蛋白或抗体。

## 第二节 免疫球蛋白基因和抗体的多样性

免疫球蛋白不同于其他蛋白在于其肽链由两部分构成, 可变的 V 区和恒定的 C 区, 早就使人设想它们是由两个基因编码的, 以后证明确是如此。但如何会有如此众多的 V 基因, 进一步的研究发现 V 基因实际上是由几个分隔在不同位置的基因片段在 B 细胞发育过程中被带到一起拼接而成, 也就是所谓的 基因重排 (gene rearrangement), 这就涉及到免疫球蛋白的基因结构。编码人和小鼠轻重链的免疫球蛋白基因分别位于不同的染色体上, 总体上可分为编码 V 区和编码 C 区的两大部分。重链的胚系基因中有许多基因片段 (gene segment), 包括众多的 V 基因片段 (variable segment), 多个 D 基因片段 (diversity segment), 和几个 J 基因片段 (joining segment)。接着是一串编码各类 Ig 重链 C 区的 C 基因, 如  $\text{C}\mu$ 、 $\text{C}\delta$ 、 $\text{C}\gamma 3$  等。轻链的胚系基因仅有两种片段, V 基因片段和 J 基因片段, 然后是 C 基因, 但在基因片段排列的格局上  $\kappa$  和  $\lambda$  有所不同。在免疫球蛋白基因的组成方面, 对人的研究要比小鼠更清楚。

由于编码轻重链可变区的基因都有 V、J 片段, 为了分辨起见, 就用链名为下标以示区分, 如  $\text{V}_\text{H}$  及  $\text{V}_\kappa$  就分别代表 H 链及  $\kappa$  链中的 V 基因片段;  $\text{J}_\text{H}$  及  $\text{J}_\kappa$ , 就分别代表 H 链及  $\kappa$  链中的 J 基因片段, 以此类推。

### 一 免疫球蛋白基因

#### (一) 重链基因 (14C9)

人重链可变区基因定位在第 14 条染色体长臂上, 跨度约有 1 100 kb。约包括 95 个  $\text{V}_\text{H}$  基因片段, 在不同的单元型中  $\text{V}_\text{H}$  基因片段的数目可以有些不同, 这主要因为有一些  $\text{V}_\text{H}$  基因片段的插入或缺失。这些  $\text{V}_\text{H}$  基因片段可分为 7 个家族  $\text{V}_\text{H}1 \sim \text{V}_\text{H}7$ , 其中  $\text{V}_\text{H}3$  是最大的家族, 其次为  $\text{V}_\text{H}1$ 、 $\text{V}_\text{H}4$  家族。同一家族中核苷酸序列的同源性至少为 80%, 同一家族的片段并不群集在一起, 而是混杂分布。 $\text{V}_\text{H}$  片段中有些是不表达的非功能性片段, 功能性片段有 65 个 (表 3-4)。

表 3-4 人免疫球蛋白的功能性基因片段数\*

	肽链	所在染色体	V	D	J	C
BCR:	H	14q32.3	65	27	6	9
	$\kappa$	2p11-12	40		5	1
	$\lambda$	22q11.2	30		4	4

\* 上述数据随着研究发展会有所变动

所谓功能性片段是指具有开放阅读框(ORF),并在 B 细胞发生过程中重排过的片段。人的 D 基因片段接在  $V_H$  基因片段之后,约有 27 个功能性片段;其后为 6 个功能性  $J_H$  片段(图 3-4)。但人的  $V_H$  和 D 基因片段,除了在第 14 条染色体外,根据染色体定位和杂交等方法发现在其他染色体上也有,在第 15、16 条染色体共检出 24 个  $V_H$  片段,在第 15 条染色体上还检出 D 片段,然而它们都不属于  $V_H$  功能性基因。

C 区基因群接在 J 片段的 3'端,跨度约 200 kb,依次排列 9 个功能性 C 基因,5'- $C_{\mu}$ -C $\delta$ -C $\gamma$ 3-C $\gamma$ 1-C $\alpha$ 1-C $\gamma$ 2-C $\gamma$ 4-C $\epsilon$ -C $\alpha$ 2-3'。每个 C 基因内包括几个外显子,相应于编码 C 区的各结构域。

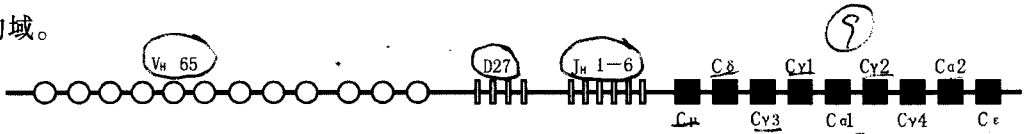
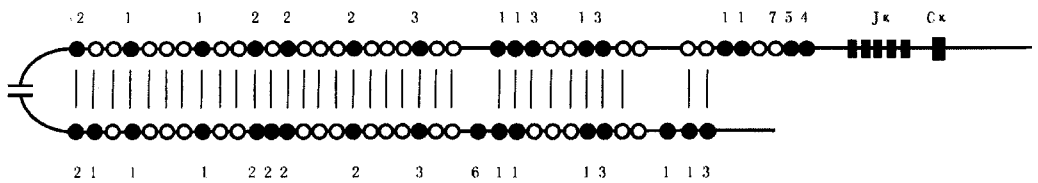


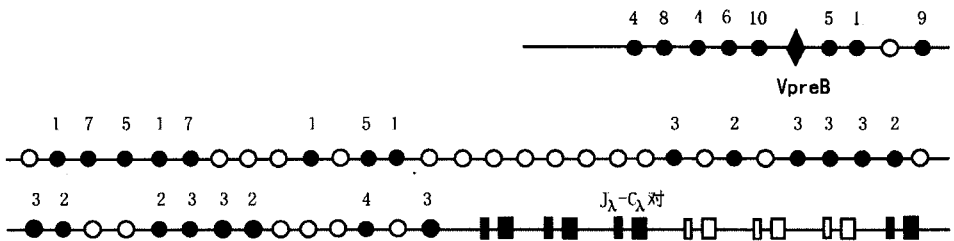
图 3-4 人 H 链基因示意图

小鼠的重链基因位于第 12 条染色体上,其  $V_H$  基因片段数变化很大,从 100 到 1 000 以上,这是随着检测方法和小鼠品系变化而不同,根据同源性可分为 14 个家族,不同于人的是很多家族的片段集群在一起。常见的家族有 J558、Q52、3660、3609、7183、J606、S107 等。其中最大的是 J558 家族。在 V 基因片段群的下流有约 12 个 D 基因片段和 4 个  $J_H$  片段。其 C 基因有 8 个,依次为 5'- $C_{\mu}$ -C $\delta$ -C $\gamma$ 3-C $\gamma$ 1-C $\gamma$ 2b-C $\gamma$ 2a-C $\epsilon$ -C $\alpha$ -3'。

(二)  $\kappa$  链基因



(A)



(B)

图 3-5 人轻链基因示意图

(A)人  $\kappa$  链基因座位 ○为非功能性  $V_{\kappa}$  片段,●为非功能性  $V_{\kappa}$  片段,其上或下所标的数字为家族编号;两个片段之间有连线的表示高度同源(其中个别的功能性片段是和有微弱缺陷的基因片段高度同源。——表示两组高度同源区段之间隔有其他无关的序列。

(B)人  $\lambda$  基因座位 ■■■□表示为功能性和非功能性的  $J_{\lambda}$ - $C_{\lambda}$  对,其余的同前

2CS

人的  $\kappa$  基因位于在第二条染色体的短臂。功能性  $V_{\kappa}$  基因片段约为 40 个。可分为 7 个家族,  $V_{\kappa} I \sim V_{\kappa} VII$ , 其中 I、II、III 家族的片段占大多数。接着是 5 个功能性  $J_{\kappa}$  片段及一个  $C_{\kappa}$  基因。人  $V_{\kappa}$  胚系基因有一个特点就是在它在 50% 左右的个体中含有两套几乎重复的  $V_{\kappa}$  基因片段, 相对应的重复片段同源性极高, 达 95% ~ 100%, 提示这是在进化中基因复制造成的。除了这功能性的  $V_{\kappa}$  基因外, 在第 2 条染色体的其他部位, 以及第 1、22 条染色体上也检出近 24 个  $V_{\kappa}$  基因片段(图 3-5), 它们都是非功能性基因。

小鼠的  $\kappa$  基因位于第 6 条染色体上, 约有 200 个  $V_{\kappa}$  基因片段, 可分为 19 个家族, 有 5 个  $J_{\kappa}$  片段。同样只有一个  $C_{\kappa}$  基因。

### (三) $\lambda$ 链基因 22CS

人的  $\lambda$  基因位于在第 22 条染色体上, 约有 30 个功能性  $V_{\lambda}$  基因片段, 可分 10 个家族  $V_{\lambda} 1 \sim V_{\lambda} 10$ , 其中  $V_{\lambda} 1, 2, 3$  是最主要的家族, 这些家族在以表达  $\lambda$  轻链为主的动物中也是占主导地位, 所以在进化上是比较保守的。其 J 片段和 C 片段的分布不同于 H 链和  $\kappa$  链, 联在一起形成  $J_{\lambda}-C_{\lambda}$  对, 共有 4 个功能性  $J_{\lambda}-C_{\lambda}$  对。此外在第 8 条染色体上也发现有一个非功能性  $V_{\lambda}$  基因片段。

小鼠的  $V_{\lambda}$  基因位于第 16 条染色体上, 有 3 个  $V_{\lambda}$  基因片段, 4 个  $C_{\lambda}$  基因, 同人的  $\lambda$  基因的情况相类似, 其 J、C 片段也都连在一起成为  $J_{\lambda}-C_{\lambda}$  对。

### (四) 替代的轻链基因

有两个和  $\lambda$  相关的基因在 B 细胞早期发生中起重要作用, 称替代轻链基因 (surrogate light chain gene), 在小鼠为  $\lambda 5$  和  $V_{preB}$ , 所以称为  $\lambda 5$  是因为它的编码产物和  $\lambda$  链的结构域有同源性, 而  $V_{preB}$  基因和一般的 V 基因片段很相似。人的替代轻链基因为 14.1 和  $V_{preB}$  基因。这些基因和  $\lambda$  基因位于同一条染色体上。 $\lambda 5$  或 14.1 和  $V_{preB}$  基因产物, 在 B 细胞早期发生时构成替代轻链, 和  $\mu$  重链结合, 一起在 B 细胞表面表达为前 B 细胞受体 (pre-B receptor)。替代轻链及前 B 细胞受体的表达可促进随后 Ig 基因的表达及 B 细胞的分化。

## 二 免疫球蛋白基因重排

RSSC (保守序列) heptamer  
nanomer

上述胚系基因状态的 V、(D)、J 基因片段是如何组合在一起形成轻重链的 V 基因? 经研究这是通过基因片段的重排而实现的。免疫球蛋白基因重排 (Ig gene rearrangement) 时是通过一组 V(D)J 重组酶 (recombinase) 的作用而实现的, 其作用包括识别位于 V、(D)、J 基因片段两侧的保守序列, 切断以及修复 DNA 等。这保守序列称为重组信号序列 (recombination signal sequences, RSS)。

1b) 保守序列 (spacer)  
12bp 23bp

### (一) 重排和重组信号序列

Ig 基因的重排和 RSS 密切相关。RSS 包括一种七核苷酸的七聚体 (heptamer) 和九核苷酸的九聚体 (nanomer), 其序列分别为 [CACAGTG] 和 [ACAAAAACC]。这七聚体和九聚体之间还含有一段非保守序列, 约为 12 bp 或 23 bp, 称为间隔序列 (spacer)。间隔序列的碱基对数目对片段之间的有效重组是十分关键的, 在重组酶识别和作用下带有 12 bp 间隔序列 RSS 的基因片段只能和带有 23 bp 间隔序列的片段相结合, 这现象称为“12-23”规则, 它保证了片段的正确连接。这种七聚体-间隔序列-九聚体 (heptamer-spacer-nanomer) 的结构就称为重组信号序列(图 3-6)。

在重链  $V_H$  片段 3' 端和  $J_H$  片段的 5' 端侧都具有带 23 bp 间隔序列的 RSS, 而 D 片段在

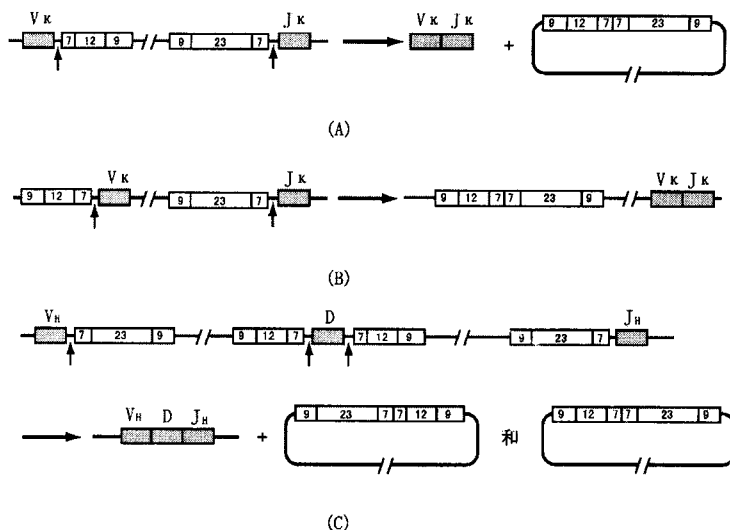


图 3-6 免疫球蛋白基因片段的重排

- (A) 环出 两个片段各一侧的重组信号序列(RSS)相联,连带其间的其他序列一起形成闭环而释出。  
 (B) 倒转 两个片段的 RSS 都在同一侧,要通过导转过程相联。两个 RSS 相联后仍保留在序列中。  
 (C) 双环出 在重链 V 区重组时,由于有三个片相联,因此形成两个闭环释出。

5'和3'端两侧都有带 12 bp 间隔序列的 RSS,因而 D 只能和 J<sub>H</sub> 以及 V<sub>H</sub> 相连。但 V<sub>H</sub> 片段不能和 J<sub>H</sub> 片段相连,因为不符合 12-23 规则,其顺序先为 D-J<sub>H</sub> 相连,然后是 V-DJ<sub>H</sub> 相连。对轻链来说其 V<sub>L</sub> 片段的 3'端和 J 片段的 5'端分别带有 12 或 23 bp 间隔序列的 RSS,从而能造成 V-J 连接。在连接时,基因片段和七聚体之间被切断,从而使两个基因片段能相接。两个连接片段之间多余的序列,如果双方识别序列的位置是相对方向的,中间多余的序列就以七聚体相连形成一个环,被切除出染色体,称为环出(looping out),多数情况下是这种形式;如果双方的识别序列是在同侧,如在人的 κ 基因中就有这种情况,则通过倒转(inversion)的方式相连接,中间多余的顺序就仍然保留在染色体中。

## (二) V(D)J 重组酶

这组重组酶中包括一种识别 RSS 和切断七聚体和编码片段间的酶,由重组激活基因(recombination activating genes, RAG)编码。RAG-1 和 RAG-2 基因只在 T、B 细胞中表达,而且只在未成熟的淋巴细胞中起作用,因此成熟的淋巴细胞不再进行抗原受体基因的重排。此外还有不需模板能将核苷酸加到 DNA 单链断端的末端脱氧核苷酸转移酶(TdT 酶),以及帮助修复 DNA 双链断端的多种酶。Ig 基因重排过程中的重组酶系统和它所识别的 RSS 在进化种中是极端保守的,人的 Ig 可变区基因片段能在小鼠淋巴细胞中准确相连。

通过重排后形成的 V 基因,所表达的重链 V 区,其 CDR3 是三种基因片段 V<sub>H</sub>-D-J<sub>H</sub> 组合的产物,而轻链 V 区的 CDR3 是两种片段 V<sub>K</sub>-J<sub>K</sub> 或 V<sub>λ</sub>-J<sub>λ</sub> 组合的产物。轻、重链的 FR1 到 FR3 (其中包括-CDR1-FR2-CDR2-)以及 FR4 分别由 V 基因片段和 J 基因片段编码。因而 CDR3 区的变化多。

## 三 抗体多样性产生的机制

引起抗体多样性产生(generation of diversity, GOD)的机制主要有 4 种,其中 2 种是源于

组合。

### (一) 组合引起的多样性

两种组合是指众多 V 区基因片段的组合和轻重链之间的组合,统称为组合多样性(combinatorial diversity)。由于有众多的 V, D, J 基因片段,在重排过程中可以有各种组合,在人免疫球蛋白基因的重排中,就  $V_H$  而言有 65 个功能性  $V_H$  基因片段,27 个 D 基因片段,6 个  $J_H$  基因片段,这样就有  $65 \times 27 \times 6 \approx 11\,000$  种  $VH$ ;人的  $\kappa$  轻链约有 40 个功能性  $V\kappa$  基因片段,5 个  $J\kappa$  基因片段,就有 200 种不同的  $VK$ 。对  $\lambda$  轻链而言,约有 30 个  $V_\lambda$  片段和 4 个  $J_\lambda$ ,组合起来有 120 种不同的  $V_\lambda$ ;加起来 VL 共有 320 种。轻重链之间的组合将产生更大的多样性,可达  $3.5 \times 10^6$  不同的抗体特异性。然而实际上这种源自组合的多样性可能比计算出来的要少,因为不是所有的 V 基因片段被使用的概率都一样,而且并非所有的  $VH$  都适合于和所有的 VL 配对。

### (二) 连接引起的多样性

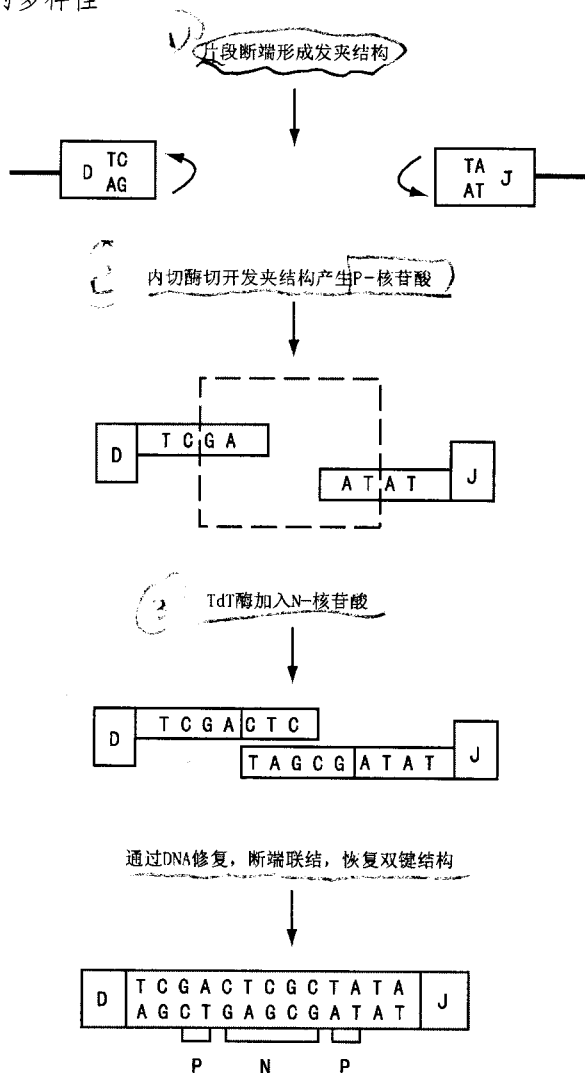


图 3-7 P-核苷酸和 N-核苷酸的加入



各片段之间的连接并不是很准确的,有插入或缺失核苷酸的情况发生,从而造成新的顺序,称为连接多样性(junctional diversity)。这是通过两种方式造成的。首先在重排过程中,在基因片段和七聚体之间切断时,两个片段并未直接相连,片段的断端各自联结形成发夹结构,再被内切酶随机切开,形成单链 DNA 末端。由于原先在双链 DNA 时是互补的,从而形成了回文结构(palindrome)的核苷酸序列,所以称为 P-核苷酸(P-nucleotides)。以后再通过 DNA 修补,恢复双链并将断裂处联接,从而将此回文序列保留在 V 区的编码序列中。在重链基因片段连接时,还有一个方式就是通过 TdT 酶将核苷酸加到发夹切断后的断端,然后再通过 DNA 修复将断端连接。这些加入的核苷酸称为 N-核苷酸(N-nucleotides),因为它们是非模板编码的(non-template encoded),这个 N-核苷酸区称为 N 区(N region)。这些插入的 P-、N-核苷酸是分辨不同 B 细胞克隆时十分有用的标志(图 3-7)。由于加入的核苷酸总数是随机的,有可能破坏原有编码序列的阅读框架而导致无效重排。这种机率还是不低的,据估计大约 2/3 的重排是无效的。

### (三) 体细胞高频突变引起的多样性

这种造成多样性的机制和前面 3 种不同,前 3 种都是作用在胚系基因片段上,而这种是作用在已重排过的 V 基因上,而且频率高,称为体细胞高频突变(somatic hypermutation)。这种突变只发生在抗原刺激以后,而且只在次级淋巴器官的生发中心(germinal center)中,主要的方式是点突变。虽然是点突变,其分布也并非完全随机的,有热点位置。在轻重链 V 区的 3 个 CDR 区大多是替代突变,因而和抗体的特异性及结合能力改变有关;保留原有的氨基酸顺序的静止突变在整个 V 区都可发生。突变后其中有些分子的亲和力会优于原先的分子,因此在抗原免疫后会产生抗体亲和力成熟(affinity maturation)的现象。也即在抗体应答过程中,特别在再次免疫后有亲和力逐渐提高的现象,这是在生发中心中高突变结合了抗原选择的结果,是产生高亲和力抗体的主要因素。

由于上述各种多样性机制的作用造成了巨大数量的不同的抗体,据估计抗体的多样性可达  $10^{14}$ ,足可识别各种各样的抗原。

## 四 免疫球蛋白重链恒定区的变化

上面谈到的 V 区基因有复杂的产生多样性的机制与其识别抗原的功能相适应。重链 C 区基因在 DNA 和转录水平上也有变化以与其效应功能相适应。

### (一) 类别转换

6. 在一个 B 细胞发生过程中,膜上最开始表达的是 IgM,进入外周时表面共表达 IgM 和 IgD,在抗原激活 B 细胞后,膜上表达和分泌的 Ig 类别会转换成 IgG、IgA、IgE 等其他类别或亚类的抗体,后面这种现象就称为类别转换(class switch)或同种型转换(isotype switch)。这现象是和重链 C 区有关,因此不影响抗体的特异性,但效应会随着 Ig 类别的改变而变化。它涉及部位特异的重组过程。在编码 C 基因的 5'端的内含子中,除了 C $\delta$  基因外,都有一段重复性 DNA 序列称为转换区(switch region, S region)。这重复序列在各 C 基因有所不同,但都含有[GAGCT]和[GGGCT]的重复序列,例如 S $\mu$  为 150 个[GAGCT]<sub>n</sub>[GGGCT]的重复片段, n 通常为 3 个,但可多至 7 个。在类别转换为  $\gamma$ 3 时, S $\mu$  和 S $\gamma$ 3 发生重组,位于其间的 C $\mu$ , C $\delta$  基因都被环出,从而转录时即为  $\gamma$ 3 重链转录物。在 B 细胞中这种类别转换可以不止一次,可以转换到下游的其他 C 基因,从而表达另一种 Ig 类别。

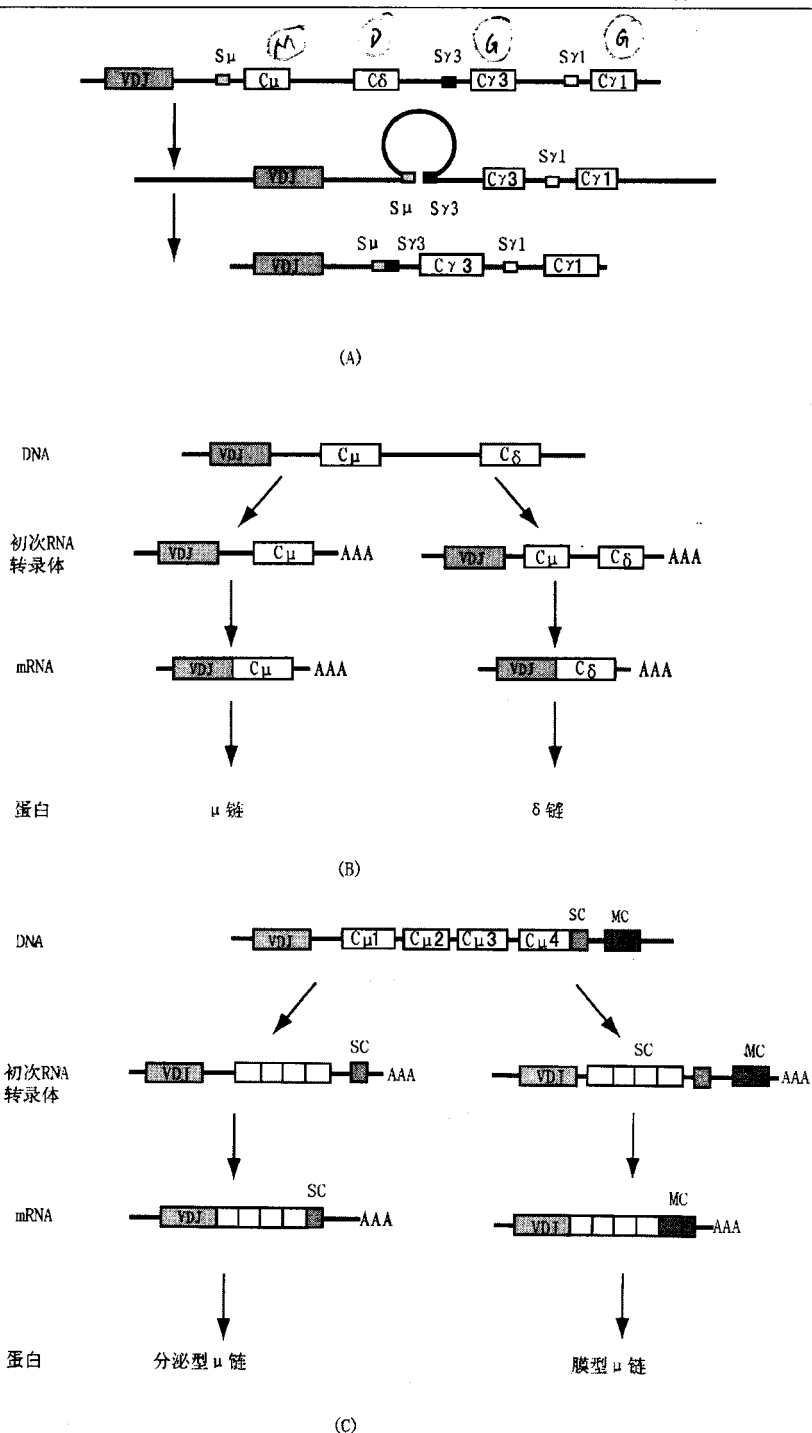


图 3-8 免疫球蛋白 C 区的变化

- (A) 转类  $S\mu$ 、 $S\gamma 3$ 、 $S\gamma 1$  代表各 C 基因上游具有重复序列的转换区(S 区), 在类别转换为  $\gamma 3$  时,  $S\mu$  和  $S\gamma 3$  重组, 其间的序列包括  $C\mu$  和  $C\delta$  都被环出, 从而 Ig 类别转换为  $\gamma 3$
- (B)  $\delta$  链通过转录加工表达 在转录时可以形成长短两种转录体, 如果转录只止于  $C\mu$  基因, 则表达为  $\mu$  链; 如转录止于  $C\delta$  基因, 则通过 RNA 剪切加工, 去除  $C\mu$ , 形成编码  $\delta$  链的 mRNA 而表达  $\delta$  链
- (C) 膜型 Ig 和分泌型 Ig 图示膜型  $\mu$  链和分泌型  $\mu$  链的表达, SC 是分泌型重链羧基端的编码序列, MC 是重链穿膜区和胞内部分的编码序列。同样也是通过两种不同的转录加工形成分泌型或膜型  $\mu$  链

但 B 细胞从单表达 IgM 到共表达 IgM、IgD 并不发生基因水平的重组过程,而是有不同的转录加工方式。一种只转录到  $\mu$  外显子之后,这种短转录物以后将产生  $\mu$  重链;另一种转录终止在  $\delta$  外显子之后,这种长转录物包括  $\mu$  和  $\delta$  的外显子在内,在 RNA 加工时切去  $\mu$  外显子部分,因而只有  $\delta$  链表达。

### (二) 膜型 Ig 和分泌型 Ig

各种类别的 Ig 既可作为分泌型的抗体,也可作为 B 细胞膜上的抗原受体,但表达在膜上的 Ig 都是单体形式,只有分泌型 Ig 才有多聚体形式。膜型免疫球蛋白和分泌型免疫球蛋白也是在转录加工中造成,在编码 C 区的最后一个外显子之后还有两个外显子,SC 和 MC,它们分别编码分泌型 Ig 的羧基端和编码膜型 Ig 的跨膜区和胞内区部分(图 3-8),通过 RNA 水平上的加工可分别表达膜型或分泌型 Ig。

从以上看来免疫球蛋白的 V 基因和 C 基因都有很复杂的变化,了解其基因结构对理解免疫球蛋白庞大的多样性的形成,对设计和构建工程抗体及转 Ig 基因组的小鼠方面均有重要参考意义。

## 第三节 基因工程抗体

自小鼠单克隆抗体问世以来,其在理论和实践上的应用成为解决生物学、医学等诸多重大问题的重要手段,然而仍有问题留待解决,例如在体内应用时,由于是异源蛋白会引起人抗小鼠抗体反应(HAMA 反应)。随着基因工程技术的发展已可以对抗体的基因包括基因组进行种种的拆装改建,发展出种种适合不同需求的基因工程抗体,甚至使小鼠产生人抗体。这方面发展十分迅速,基本上可以分为 3 个方面:①改造已有的鼠源单抗,其着眼点大都在尽量减少抗体中的鼠源成分,但又保留原有的抗原特异性。大体上可分为两类,一类是没有 Fc 的抗体片段,如单链抗体, Fab 等;另一类是完整的抗体分子,如嵌合抗体,重构抗体。②模拟体内系统,在体外构建相应于体内的 B 细胞库的抗体库,用表达抗体片段的噬菌体克隆来取代 B 细胞克隆,并同体内的原则一样,用抗原来选择特异的抗体克隆。③用人的 Ig 基因组取代小鼠的 Ig 基因组,建立能产生人源抗体的小鼠。

### 一 基因工程抗体的表达

#### (一) 在培养系统中的表达

完整的抗体分子由于是四链结构,并需要糖加工,要在动物细胞中表达。最常用的细胞是骨髓瘤细胞(myeloma cells),结合了大规模培养的生物反应器,抗体产量据报道可高达 500 mg/L。也可用其他的动物细胞来表达,包括昆虫细胞在内。

抗体片段常在细菌中表达,细菌系统和动物细胞系统相比有许多明显的优点,特别是大肠杆菌,其遗传背景清楚,转化效率高,繁殖迅速,培养基便宜,而且早已建立的微生物发酵技术已为大量培养积累了宝贵的经验,很容易从实验室规模提升到生产规模,已为生产各种抗体片段所广泛应用。

#### (二) 在动、植物个体内的表达

由于转基因技术的发展,在动、植物个体上表达抗体已成为可能。在动物方面,例如上面提到的转人 Ig 基因组的小鼠,免疫后能产生抗原特异的完整的人源抗体(见下文)。植物

可能是下一代重组蛋白的重要表达系统,从 20 世纪 80 年代末已有转基因植物表达的植物抗体的报道,称之为 plantibody 或 phytoantibody。表达的抗体片段大多为单链抗体 ScFv,但也有产生完整抗体的。有人将小鼠  $\gamma$  链和  $\kappa$  链基因分别克隆入载体,转化培育出能分别表达  $\gamma$  链和  $\kappa$  链的两种植株,有趣的是将这两种植株杂交后产生的子一代 F1 表达了整分子抗体;但在一个植株上表达完整抗体分子的技术也已建立。植物抗体的优点是可以大量获取,在对人和动物的免疫治疗上,特别是局部治疗上,很有应用前景,已有报道可用于防治变异链球菌(*Streptococcus mutans*)引起的龋齿。对于适用于粘膜系统的 IgA 类抗体,如能在食用植物中表达,例如在果实、种子、块茎等表达,甚至还可能省却纯化植物抗体的步骤。目前植物抗体用于生物医学还是一个新领域,尚未进入临床试验,但这是一个值得注意的发展领域。

## 二 嵌合抗体和重构抗体

### (一) 嵌合抗体

嵌合抗体(chimeric antibody)主要特点是完整抗体分子中轻重链的 V 区是鼠源的,而 C 区是人源的,这样整个抗体分子的近 2/3 部分都是人源的,大大降低了原有单抗中鼠源蛋白的免疫原性。一般来说嵌合抗体保留了原来鼠源单抗的特异性和亲和力,HAMA 反应也明显减弱,有些已进入临床试用,显示了疗效,但问题仍在于显示 HAMA 反应。

### (二) 重构抗体

重构抗体(reshaped antibody)也称 CDR 植入抗体(CDR grafting antibody),比嵌合抗体更进了一步。也就是将鼠源的 3 个 CDR 取代人抗体中相应的 3 个 CDR 部位,因此除了构成抗原结合部位的轻重链各 3 个 CDR 是鼠源以外,其余均为入源的,这只占抗体的极小部分,而且由于 CDR 区的顺序本身就是高变的,难于体现是鼠源还是人源的特点,因此可以说这种 CDR 植入抗体几乎是百分之百人源化,所以也称为人化抗体(humanized antibody)。据一些临床数据表明它们是有效的,而且不引起 HAMA 反应。然而抗原虽然主要和抗体的 CDR 接触,但 FR 区也常参与作用,影响 CDR 的空间构型。因此换成人源 FR 区后,这种鼠源 CDR 和人源 FR 相嵌的 V 区,可能改变了单抗原有的 CDR 构型,结合抗原的能力会下降甚至明显下降。虽然目前已能对抗体进行分子设计,在人源 FR 区引入鼠源 FR 区的某些关键残基,如配置得当,其亲和力可与原有小鼠抗体的亲和力相当,但人化抗体常达不到原有鼠源单抗的亲和力。

## 三 抗体片段及其衍生的各种形式

由于抗体结合抗原的能力在于 V 区,如果目的是应用抗体的特异识别能力,就可以减少 C 区的部分,甚至只取用 V 区。从酶解的抗体片段也证明它们仍然保留了特异结合抗原的能力。目前最常用的抗体片段是 Fab 和单链抗体。

### (一) 抗体片段的基本形式

1. Fab: 将杂交瘤单抗的轻链和重链的 VH + CH1 基因克隆入同一载体进行表达,在细菌中表达的 Fab 和酶解获得的 Fab 片段具有同样的亲和力,但其大小只有完整 Ig 分子的 1/3 左右。结合大量培养的生物反应器的应用,其产量可达 1~2 g/L。

2. 单链抗体: 前面已经提到单是抗体的 Fv(VH 和 VL)就有抗原结合能力。在细菌中表达的 VH 和 VL 能结合在一起成 Fv,但不够稳定,因此发展了一些方法使之稳定,其中最成

功最直接的方法就是单链抗体(single chain Fv, ScFv),在  $V_H$  和  $V_L$  间用一条短肽使之相联。这接头(linker)的长短对单链抗体的稳定性、折叠和亲和力都有影响,长些的接头则 Fv 不够稳定,而太短则影响  $V_H$  和  $V_L$  的适切配对以结合抗原。根据计算,15 个氨基酸残基左右的长度比较合适,常用的接头为  $(Gly_4Ser)_3$ 。  $H_2N-V_H$ -linker- $V_L-COOH$  或  $H_2N-V_L$ -linker- $V_H-COOH$  均可。ScFv 较之 Fab 的优点是分子更小,更有利于穿透组织和清除,而且易于构建表达,常被选用作构建融合蛋白,如和毒蛋白相连的免疫毒素可用于导向治疗。单链抗体的亲和力常比相应的 Fab 低,同源自的单抗相比,有一个数量级内的变化,但相近的也有。

(二) 抗体衍生的其他形式

由于基因工程技术的日益发展,使人们能创造各种新形式的抗体以适应需求(图3-9),其中最引人注意的有如下两种。

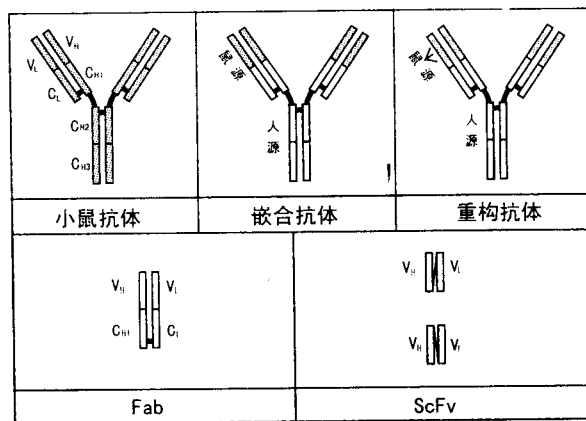


图 3-9 基因工程抗体的几种形式

图上半显示小鼠单抗改建的两种人源化的抗体。白色表示人源部分,暗色表示鼠源部分。嵌合抗体的 V 区是鼠源的,C 区是人源的。重构抗体则除了三个 CDR 外,均为人源的。图下半显示了两种基本的工程抗体形式,Fab 和 ScFv,ScFv 是以短肽相联的

1. 双特异抗体:应用基因工程的方法可以构建一种具有两种抗原特异性的抗体片段,成为双特异抗体(bispecific antibody, BsAb)。BsAb 的原型是两个特异性不同的抗体或抗体片段联在一起的双分子,其中一个针对靶抗原,一个针对效应分子或效应细胞以导向增强抗肿瘤、抗病原体等的效应。在 20 世纪 80 年代大多的 BsAb 是用化学交联或融合两株杂交瘤制备的,但未能获得足够的纯度和数量。以后基因工程技术的介入大大改进了这方面的问题。

目前大多双特异抗体研究集中在抗肿瘤和病原体上的应用,如一端针对肿瘤或病原体抗原,另一端针对毒素,药物或效应细胞(如 T 细胞、NK 细胞、中性粒细胞、树突细胞)的表面抗原。例如抗 CD3 和抗肿瘤抗原的 BsAb 可以加强 T 细胞对肿瘤的杀伤,抗 CD16 和抗肿瘤抗原的 BsAb 可以加强 NK 细胞对肿瘤的杀伤;也可以将抗药物和抗肿瘤抗原的 BsAb 来导向药物治疗肿瘤。此外也有将 BsAb 用在导向溶栓或活化 T 细胞方面。有些 BsAb 已进入临床试用,显示了症状得到改善的结果。

2. 双功能抗体:比双特异抗体更直接起效应作用的方法是将 Ig 的结构域通过基因工程技术和其他蛋白相联,如酶、生长因子、白细胞介素、毒素、信号转导蛋白等,造成的分子有两种功能,特异识别和效应分子的功能,称为双功能抗体(bifunctional antibody)。最常报道的是免疫毒素(immunotoxin),用抗体片段和毒蛋白(如铜绿假单胞菌外毒素 PE40,蓖麻毒蛋白

A 链)相联,以进行直接的导向杀伤。此外,也有的是换去 V 区而非 C 区,如 CD4-Ig 是将 CD4 整分子或前两个结构域和 IgG C 区结构域相接,这种分子称为免疫粘合分子 (immunoadhesin),它既能发挥 CD4 结合 HIV gp120 的功能,又具有 Ig 的效应功能,如介导 ADCC。

随着技术发展,将会有更多、更有效的基因工程抗体形式发展出来。

#### 四 噬菌体抗体库

上述几种基因工程抗体都基于体内免疫后制备的小鼠杂交瘤单抗,异源蛋白的问题也没有解决,20 世纪 90 年代开始建立一种避开体内免疫系统,在体外建立一个相应于体内 B 细胞库的抗体库,具有各种各样的抗体特异性,从中用抗原筛选所需的抗体。该技术的成功主要基于两点:一是构建大容量的组合文库 (combinatorial library),这是通过 PCR 扩增大量 B 细胞轻重链的 V 区基因,随机配对克隆入载体并在细菌中表达各种特异性的抗体片段, ScFv 或 Fab,建立一个体外的抗体库;二是建立了一个高效的筛选系统,这是应用了噬菌体表面展示 (phage surface display) 技术,其基本原理是将抗体片段的编码序列插到噬菌体外壳蛋白的编码基因上,使表达产物 (ScFv 或 Fab) 和外壳蛋白一起融合展示在噬菌体表面,成为噬菌体抗体 (phage antibody)。这样就可以对表面展示 ScFv 或 Fab 的噬菌体直接用固相化的抗原进行筛选,而不用制备成可溶性的抗体片段后再筛选;根据需要也能表达可溶性的 Fab 或 ScFv。这种表面展示的噬菌体抗体库 (surface display phage antibody library) 技术是个突破性进展,它使从巨大的抗体库中筛选所需的抗体克隆成为可能,并且摆脱了体内免疫的限制,缩短了时间,而且可以是全部人源的。

建库时一般采用淋巴细胞固有的 V 基因,另一种策略是使用人工合成的方法,由于抗体的结合能力主要决定于 CDR 区,特别是 CDR3 区,如果应用寡核苷酸随机合成等方法变化部分或全部 CDR 区的序列,就能构成巨大的抗体库。这种合成库的优点是库的形成不受体内克隆选择和耐受机制的限制,因此从中可以筛到针对自身抗原、肿瘤抗原或有毒物质的抗体,但需要建立大容量的库,建库的工作量很大。

#### 五 人 Ig 基因组小鼠的构建和应用

上面种种体外操作的技术虽然有其优点,但毕竟手续繁多。自大片段 DNA 操作开展以来,人们就设想是否能用人 Ig 基因组取代小鼠 Ig 基因组,以后仅需免疫小鼠制作单抗(这方面的技术已十分成熟),但获得的是人抗体而非小鼠抗体,而且是整分子而非抗体片段。设想虽很好,难度却很大,因为导入的片段要大得多,并且要能在小鼠 B 细胞中进行 V(D)J 重排,表达在 B 细胞表面,免疫后能发生高频突变并表现亲和力成熟和 Ig 类别转换。现已有一些成功的报道,Mendez 等应用重链和  $\kappa$  链基因失活的小鼠构建了转人 Ig 基因组小鼠,转入的人重链基因组有 1 020 kb,转入的人  $\kappa$  链基因组有 800 kb,实际上包括了大部分的重链和  $\kappa$  链基因组。通过转基因技术建立的小鼠,经三种人源抗原,IL-8、TNF $\alpha$ 、EGF 受体 (EGFR) 免疫后制备的单抗,达到了高亲和力水平。这些结果标志着人的 Ig 基因组在小鼠 B 细胞内能进行重排、表达 Ig 受体、高频突变和类别转换,而且这些人源抗体都是针对人的细胞表面抗原或细胞因子,在医学应用上是十分有意义的。以上结果标志着基因工程抗体的研制已进入了一个新的高度——基因组水平。

上述工程抗体的构建均为发挥抗体的功能,但也有利用抗体为支架使之起抗原作用的。由于抗体的 CDR 环位于 V 区结构域的顶部,暴露于抗体分子表面,具有相对的独立性,可以用基因工程方法将抗原表位的肽段植入到 CDR 环上,用作抗原,刺激 T、B 细胞应答,所以称为抗原化抗体(antigenized antibody)。

结语:对免疫球蛋白的结构及其基因组成经过多年的研究,特别是近些年来分子生物学、分子遗传学方法的引进,对过去疑惑不解的抗体特异性和巨大多样性的了解有了突破性的进展,这方面的进展不但对免疫学和医学上作出了重要的贡献,同时也大大推进了对蛋白质结构和功能的认识,为改造蛋白质建立了扎实的基础,近几年来种种基因工程抗体乃至基因组工程抗体的崛起便是一个明证。而且由于抗体 V 区巨大的多样性,它不只限于特异性识别,还能模拟外来抗原引起免疫应答,模拟酶起催化作用,对抗体的开发应用还在层出不穷。随着对抗体识别的分子基础、以及 V(D)J 重组、生发中心中 V 基因突变、类别转换等在发生和免疫应答过程中调控机制的进一步深入研究,将会加深对相关疾病的理解和作出对策,并能设计出更多形式的抗体和获取途径,以符合不断出现的各种需求。

## 本章提要

免疫球蛋白或抗体是由两条轻链和两条重链构成,具有典型折叠的结构域。每条链都包括可变区和恒定区。恒定区和效应功能相关,可变区和抗原识别相关。轻重链可变区配对形成抗原结合部位,它们通过非极性键和抗原互补结合。抗体和抗原的结合是特异的,每种抗体的结合部位都只和特定的抗原表位结合。免疫系统通过多种机制产生巨大数量的不同特异性的抗体以应付巨大数量的抗原。这种抗体可变区的多样性源于免疫球蛋白基因组在 B 细胞发生时的重排组合过程以及 B 细胞经抗原刺激后诱发的高频突变。抗体虽有巨大的诊断治疗价值,但异源的动物抗体应用于人体会引起免疫反应,人源抗体的来源又有很大限制,从而导致了基因工程抗体的崛起。现有的基因工程抗体研制的策略是:改造原有的鼠源单抗,建立人源的抗体库,和通过转人 Ig 基因组小鼠制备抗体。

(叶 敏)

## 参考文献

- [1] MacCallum RM, Martin ACR and Thornton JM. Antibody-antigen interactions: contact analysis and binding site topography. *J Mol Biol*, 1996, 262:732
- [2] Rajewsky K. Burnet's unhappy hybrid. *Nature*, 1998, 394:624
- [3] Hoogenboom HR. Mix and match: building manifold binding sites. *Nature Biotech*, 1997, 15:125
- [4] Mendez MJ, Green LL, Corvalan JRE, et al. Functional transplant of megabase human immunoglobulin loci recapitulates human antibody response in mice. *Nature Genetics*, 1997, 15:146

## 第四章 主要组织相容性复合体

主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)是由一组高度多态性基因组成的染色体区域。MHC 基因产物能在不同细胞表面表达,通常称之为 MHC 分子或主要组织相容性抗原,又因这些抗原在器官移植中代表供受体双方的组织相容程度,故而亦称为移植抗原或组织相容性抗原。至今研究过的脊椎动物中,从鱼到人类都存在结构与功能相似的 MHC 遗传区域,如小鼠的 MHC 是 H-2,猪的 MHC 是 SLA,人的 MHC 是 HLA。目前已知 MHC 是多态性最丰富的一个基因系统,拥有极大数量的等位基因,赋予种群巨大潜力以适应多变的内外环境。MHC 分子不但在 T 细胞分化发育中是必需的,而且在免疫应答的启动和调节中发挥重要作用。通俗地说,MHC 的生物学功能与物种的生、老、病、死息息相关,因而成为免疫学及免疫遗传学研究最为活跃的领域之一。

### 第一节 小鼠 H-2 系统

1900 年 Landsteiner 发现人体 ABO 血型,引起了寻找各种动物红细胞抗原的热潮。1939 年 Gorer 在鉴定近交系小鼠血型抗原时发现 4 组血细胞抗原,后证实第 II 组抗原与肿瘤及移植物的排斥密切相关,就将之重新命名为 H-2 即 histocompatibility-2。因而,H-2 就代表了小鼠的 MHC 复合体。

H-2 复合体位于第 17 号染色体的一个狭窄区段上,由彼此独立又紧密连锁的基因座位组成,长约 1 500 kb,与小鼠短尾畸型基因 T/t 相连锁。H-2 复合体由经典的 H-2 和 Tla (thymus leukemia antigen)组成,按 H-2 复合体内基因所编码分子的结构与功能不同,可将其分为三类。

#### 一 H-2 I 类基因

I 类基因编码 I 类分子的重链。轻链为  $\beta_2$  微球蛋白( $\beta_2$ -m),编码基因位于第 2 号染色体。重链与  $\beta_2$ -m 非共价键结合形成异二聚体,表达在细胞膜表面。I 类基因因多态性、产物分布与功能不同又可分为经典与非经典两种类型。

##### (一) 经典 I 类基因

经典 I 类基因为 H-2K、H-2D 和 H-2L,分别相当于人类 HLA 的 A、B、C 基因。具有高度多态性,H-K 和 H-D 的等位基因数均大于 100 个。等位基因所编码的抗原广泛分布于有核细胞表面,与移植物排斥反应密切相关。

##### (二) 非经典 I 类基因

非经典 I 类基因是指小鼠的 H-2Q、H-2T 和 H-2M 基因,相当于人类 HLA-E、F、G,位于 Tla 区域内。与经典 I 类基因不同,非经典 I 类基因不仅等位基因数有限,其编码产物的分



布也十分局限,如肝细胞表达 Q10 抗原,激活的 T 细胞表达 Qa2 抗原。其编码分子在细胞表面表达水平不高,功能尚不清楚。

## 二 H-2 II 类基因

### (一) 经典 II 类基因

经典 II 类基因是指编码 II 类分子的 I(immune)区基因,I 区内主要含有 I-A 和 I-E 两个亚区。I-A 区内有 5 个基因:编码 I-A 分子重链的 Aa 和 Ab 基因和编码 I-A 轻链的 AB、AB2 和 AB3 基因。I-E 内有 Ea、Eb 和 Eb2 共 3 个基因。I-A 和 I-E 分子分别由 I-E 和 I-A 重链基因和轻链基因编码的重、轻链组成。Aa、Ab、Ea 和 Eb 基因均具有高度多态性。

### (二) 非经典 II 类基因

H-2 I 区内尚有 M $\alpha$ 、M $\beta$ 1、M $\beta$ 2 和 O $\alpha$ 、O $\beta$  两组基因,分别编码 I-M 和 I-O 异二聚体分子。这些分子主要在胞质内,不表达在细胞表面。其作用可能是协助抗原肽进入 I-E 和 I-A 分子的抗原结合凹槽。

### (三) 与 I 类分子抗原肽加工递呈有关的基因

(1) LMP1 和 LMP7(low molecular weight peptide)是低分子量多肽编码基因,其产物的主要作用是将内源性蛋白切割为适当大小的多肽以便进入 I 类分子的抗原结合凹槽内。

(2) TAP1 和 TAP2(transporter associated with antigen processing)。TAP1 和 TAP2 基因编码的产物 TAP 分子称为抗原加工相关转运蛋白,主要与运送抗原多肽进入内质网有关。

## 三 H-2 III 类基因

III 类基因位于 S 区内。主要有补体相关的 C4A、C4B、Bf 和 C2 基因,此外尚有 21-羟化酶有关的 CYP21A、CY21PB 基因和 2 个热休克蛋白基因以及 2 个肿瘤坏死因子基因。

## 第二节 人类主要组织相容性复合体

HLA(human leucocyte antigen)基因系统是人类主要组织相容性复合体。人类第一个 HLA 抗原由法国 Dausset 在 1958 年从 3 个多次接受输血病人的血清中检出,当时命名为 MAC,相当于目前正式命名的 HLA-A2 + HLA-A28。HLA 抗原(人类的细胞抗原)的研究工作在临床器官移植配型和国际大协作推动下发展十分迅速,其研究涉及的范围已远远超出了器官移植配型,成为免疫学、遗传学及人类学的一个重要组成部分,并将为许多疾病特别是自身免疫性疾病、肿瘤、感染性疾病的防治与诊断提供帮助。

### 一 HLA 复合体的结构

HLA 复合体是迄今所知人类多态性最丰富的遗传系统,定位于第 6 号染色体短臂 6p21.31 区,长 3 600 kb。HLA 系统是一个由一系列紧密连锁的基因座位所组成的具有高度多态性的遗传复合体,1999 年已完成全部序列分析及基因定位。在 3.6 Mb 区域内共确认了 224 个基因座位,其中 128 个为功能性基因,有产物表达。此区域结构具有以下几个特点:①是免疫功能相关基因最集中、最多的一个区域,128 基因中 39.8% 基因产物均具有免疫功能;②是基因密度最高的一个区域,平均每 16 kb 就有一个基因;③是多态性最丰富的一个

区域;④是与疾病关联最为密切的一个区域。表 4-1 列出正式命名的 HLA 主要基因及等位基因数。

表 4-1 HLA 区域内主要基因及已正式命名的等位基因数(1999 年 8 月)

名 称	等位基因数	名 称	等位基因数	名 称	等位基因数
HLA-A	151	HLA-DRB5	14	TAP2	4
HLA-B	301	HLA-DRB6	—	LMP2	—
HLA-C	83	HLA-DRB7	—	LMP7	—
HLA-E	5	HLA-DRB8	—	MICA	16
HLA-F	1	HLA-DRB9	—	MICB	—
HLA-G	14	HLA-DQA1	20	MICC	—
HLA-H	—	HLA-DQB1	43	MICD	—
HLA-J	—	HLA-DQA2	—	MICE	—
HLA-K	—	HLA-DQB2	—	HFE	—
HLA-L	—	HLA-DQB3	—	CYP21A	—
C2	9	HLA-DOA	—	CYP21B	—
C4A	12	HLA-DOB	—	HSP70-1	—
C4B	16	HLA-DMA	4	HSP70-2	—
Bf	> 20	HLA-DMB	4	HSP70-HOM	—
HLA-DRA	2	HLA-DPA1	18	LTB	—
HLA-DRB1	227	HLA-DPB1	87	TNF	—
HLA-DRB2	—	HLA-DPA2	—	LTA	—
HLA-DRB3	23	HLA-DPB2	—		
HLA-DRB4	9	TAP1	6		

类似于 H-2,HLA 基因根据其编码分子的分布与功能不同也分为 3 个区,即 I 类基因区、II 类基因区及 III 类基因区(图 4-1)。

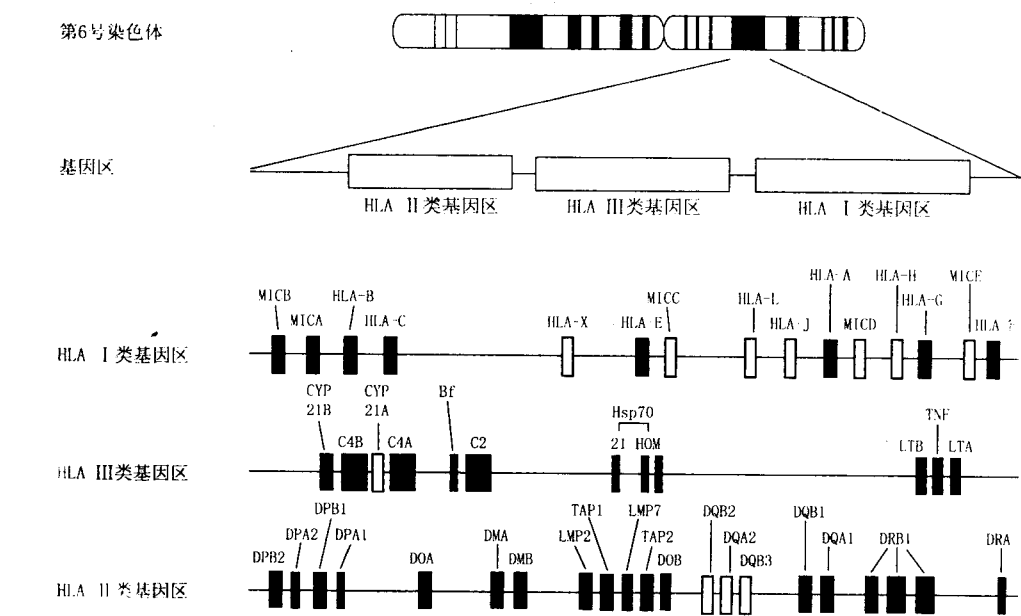


图 4-1 第六号染色体短臂 HLA 区域主要基因排列图

### (一) HLA I类基因区

HLA I类基因区位于复合体的最远端(端粒一侧),根据编码产物分布、功能及多态性不同又可分为经典I类基因和非经典I类基因。

1. 经典 HLA I类基因: 经典 HLA I类基因(classical class I gene)又称 HLA-Ia,是最早发现的 3 个功能基因即 HLA-A、HLA-B 和 HLA-C。HLA-Ia 基因均具有高度多态性,如表 4-1 所示,其中,资料显示,HLA-B 是整个 HLA 区域中等位基因数最多的一个基因座位。每个等位基因均可分别编码 HLA I类分子重链( $\alpha$ 链)。其轻链( $\beta$ 链)为  $\beta_2$  微球蛋白,编码基因位于第 15 号染色体上。

2. 非经典 HLA I类基因: 非经典 HLA I类基因(non-classical class I gene)又称 HLA-Ib,包括 HLA-E、-F、-G 3 个座位。因其等位基因数的有限性、编码产物分布的局限性以及功能独特,而有别于经典 HLA-A、-B、-C 基因。其中的 HLA-E 基因位于 HLA-C 和 HLA-A 座位之间,已正式命名 5 个等位基因。HLA-F 基因位于 HLA-G 基因外侧,目前尚未发现多态性。HLA-G 基因位于 HLA-A 座位远侧,被正式命名的等位基因已有 14 个。

3. MIC 基因: MIC(MHC class I chain-related, MIC)I 类链相关基因是 1994 年新发现的一个基因家族,目前有 5 个成员,分别命名为 MICA、MICB、MICC、MICD 和 MICE。其中 MICA 和 MICB 为功能基因,余为假基因。MICA 基因定位在 HLA-B 基因着丝粒方向 40kb,是 HLA-B 基因最近的邻居,且 MICA 具有高度多态性,与 HLA-B 存在连锁不平衡。

HLA I类区域内还存在很多没有产物表达的假基因,主要位于 HLA-A 位点附近,如 HLA-L、HLA-K 和 HLA-X 等。

### (二) HLA II类基因区

HLA II类基因区位于 HLA 复合体的着丝粒端,至少含有 DR、DQ、DP、DOA、DOB 和 DM 六个亚区。

1. DR 亚区: DR 亚区有一个 DRA 基因及 9 个 DRB 基因。DRA 基因不具多态性,其产物为 DR 分子的重链( $\alpha$ 链)。9 个 DRB 基因分别命名为 DRB1 ~ DRB9。其中 DRB1、DRB3、DRB4 和 DRB5 为功能基因。表 4-1 表明,DRB1 是 II 类区域中多态性最丰富的座位,等位基因数已达 227 个。DRB1 基因编码的 DR 分子  $\beta$  链与 DRA 基因编码的  $\alpha$  链共同组成的 DR 分子,其抗原特异性可由血清学方法检出,命名为 DR1 ~ DR18。DRB5 基因、DRB3 基因及 DRB4 基因编码的  $\beta$  链各自与  $\alpha$  链组成的 DR 分子,分别显示血清学方法检出的抗原特异性 DR51、DR52 和 DR53。因此,DRB 基因的数目随每个个体所具有的单元型的不同而不同,可分为 5 个组(图 4-2)。

2. DQ 亚区: DQ 亚区位于 DRB1 基因和 DOB 基因之间。有 2 个 DQA 基因和 3 个 DQB 基因。其中 DQA1 和 DQB1 为功能基因,分别编码 DQ 分子的 DQ $\alpha$  链和 DQ $\beta$  链。DQA2、DQB2 和 DQB3 是假基因。和 DR 基因不同,DQA1 和 DQB1 基因均具有高度多态性。

3. DP 亚区: DP 亚区位于 DOA 内侧靠近着丝粒方向。有 2 对 DPA 和 DPB 基因。DPA1 和 DPB1 为功能基因,分别编码 DP 分子的  $\alpha$  链和  $\beta$  链,DPA2 和 DPB2 为假基因。

DR、DQ DP 基因因其编码分子的分布及功能相似且均具有高度多态性,亦被称为经典的 HLA II 类基因。

4. DM 亚区: DM 亚区位于 HLA-DOA 和 LMP2 之间,由 2 个座位即 DMA 和 DMB 组成,分别编码 DM 分子的  $\alpha$  链与  $\beta$  链。DM 基因具有多态性。DM 异二聚体分子主要存在于特定

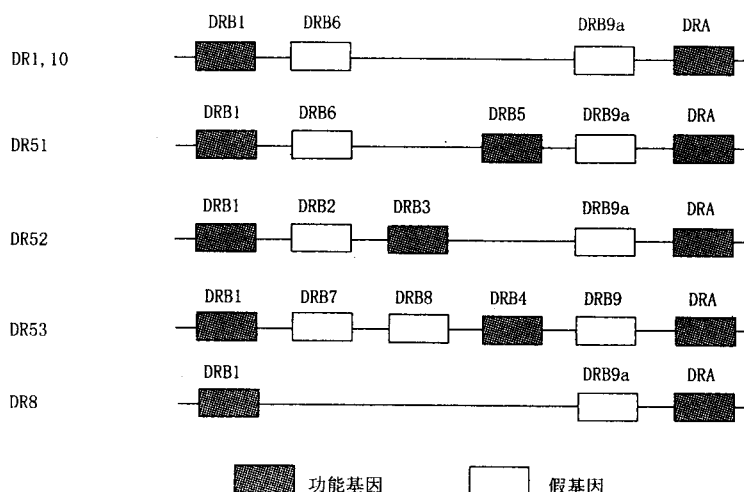


图 4-2 不同单元型中 DR 基因的組合

的细胞器称 **MHC II 类区室 (MIIC)**, 在外源性抗原加工递呈中起重要而独特的作用。

5. **TAP 和 LMP 区域**: DMB 和 DQB2 之间有一对抗原加工相关转运物基因 **TAP1/TAP2** 和一对低分子量多肽编码基因 **LMP2/LMP7**。TAP 产物表达于内质网膜, 负责抗原肽向内质网腔转运。LMP 基因编码细胞胞质溶胶中蛋白酶体成分。蛋白酶体可使内源性抗原酶解成 7~10 个氨基酸的小肽(参见第七章)。

6. **DOA 和 DOB 基因**: DOA 和 DOB 基因分别编码 DO 分子的  $\alpha$  链和  $\beta$  链。DO 分子的确切功能尚不清楚, 可能参与对 DM 功能进行负调节。

### (三) HLA III 类基因区

位于 HLA I 类和 II 类区之间, 亦称中央区。此区主要基因有

1. **补体基因**: 补体基因 C2 与 Bf 基因相距极近, 中间仅隔 421 bp, 且两者有相似的内含子-外显子结构, 可能是由同一组先基因重复而来。C2 与 Bf 均具有多态性。用等电聚焦法至少可检出 9 个型别的 C2 分子, 其中最常见的是 C2C。Bf 在电泳中也具有明显的异质性, 已发现的型别达 20 种以上。C2 与 Bf 表型及其基因频率在人与地区间的差异十分显著。C4 基因包括 C4A 和 C4B 2 个基因, 分别编码补体的 C4A 和 C4B 蛋白, 且两者高度同源(仅在 1101~1106 部位有 4 个氨基酸残基不同)。C4 基因有两个特点: 第一是 C4 长度可有变异; C4A 通常为长基因(22 kb); C4B 基因则有 C4B 长(22 kb)和 C4B 短(16 kb)两种形式。第二是存在高频率的无效基因, 常用 Q0(quantity zero)表示。C4 基因的表达与否可能与自身免疫性疾病的易感性有关。需要指出的另一点是, 不同 HLA 单元型 C4 基因的数目可有不同, 可能是减数分裂中同源染色体之间的不等交换所引起。

2. **21-羟化酶基因**: 2 个 21-羟化酶基因(CYP21A 及 CYP21B)位于 C4A 和 C4B 基因 3' 端 3 kb 处, 与 C4 基因约有 97% 同源性。CYP21B 基因编码肾上腺 21 羟化酶。约 95% 先天性肾上腺增生症(congenital adrenal hyperplasia, CAH)致病的主要原因是由于 CYP21B 基因缺失、突变或蛋白表达减少所致。CYP21A 基因因突变不具有编码功能。

3. **热休克蛋白基因**: 热休克蛋白基因(heat shock protein, HSP)编码 70 000(70kD)热休克蛋白, 该家族共有 3 个基因, 即 HSP70-1、HSP70-2 和 HSP70-HOM, 均位于 HLA III 类区域

内。其产物参与炎症和应急反应,并作为分子伴侣在内源性抗原的加工递呈中起作用。

4. TNF、LTA 和 LTB 基因: TNF 基因编码的产物为 TNF- $\alpha$ ,由单核细胞和巨噬细胞产生。LTA 和 LTB(lymphotoxin, LT)基因编码的产物为淋巴毒素  $\alpha$  及淋巴毒素  $\beta$ ,淋巴毒素  $\alpha$  和淋巴毒素  $\beta$  由 T 细胞产生。

晚近有学者建议将在 III 类区域靠近端粒端的一些基因包括 TNF、LTA、LTB、SHP 等划归 HLA IV 类基因区或炎症基因区,以突出这些基因的功能和各种应急、感染及炎症反应的关系。

## 二 HLA 基因的多态性

### (一) 多态性

丰富的多态性(polymorphism)是 HLA 基因系统的一个最重要特点。表 4-1 表明,HLA 复合体中很多基因座位的 DNA 序列在人群中存在许多变异体,称为等位基因(allele)。大量的等位基因往往为经典 HLA 基因所拥有。如 B 座位的等位基因数高达 301 个。对每一个个体,任何一个座位均有 2 个等位基因,分别来自父母亲,这些等位基因均能得到充分的表达,称为共显性(co-dominance)。由于人类是个随机婚配的杂合群体,一般情况下来自父母的两条第 6 染色体(或单元型)所有 HLA 等位基因完全相同的概率极小,这不仅使 HLA 成为人体中多态性最丰富的系统,也使每一个个体所具有的 HLA 等位基因及其产物成为该个体独特的生物学“身份证”,即个体性(individuality)的标志。HLA 系统的多态性保证了种群能显示对各种病原体合适的免疫应答,以维持群体的稳定性。

HLA 等位基因频率在不同人种、不同民族、不同地域存在明显差异。如 HLA-A2 是世界范围内绝大多数民族常见的抗原,但在巴比亚新几内亚则不存在;又如 HLA-A3,HLA-B7,HLA-DR1 是白人中较为常见的抗原,但在东方人中频率很低;东方人中常见的 HLA-B46、HLA-DR9 在白人中却十分罕见。因此,HLA 系统在人类遗传学上成了一个极好的群体标志,对研究人类起源、迁移、混杂及某些疾病的高发有很高的价值。但是,HLA 高度多态性也为器官移植时寻找合适的供体带来了很大困难。HLA 基因的多态性及其在不同种族中分布差异的原因是自然选择所造成的。

### (二) HLA 抗原和等位基因命名

HLA 抗原/等位基因因检测方法的不同而有相应的命名系统。

1. 用血清学及细胞学技术检测抗原特异性: HLA 抗原的检出最初采用诺贝尔奖获得者法国 Dausset 倡导的白细胞凝集反应,随后由荷兰 van Rood、美国 Terasaki 等建立了血清学分型技术,即补体依赖的微量淋巴细胞毒试验。其通用的标准方法称为 NIH 二步法。HLA-A、-B、-C 抗原及 HLA-DR、-DQ 抗原可用血清学方法分别检出宽特异性。

HLA-Dw 与 HLA-DPw 特异性可分别通过纯合分型细胞(homozygote typing cell, HTC)及预致敏淋巴细胞(primed lymphocyte test, PLT)方法检测。但因分型所需细胞来源困难及细胞表面表达抗原的复杂性,细胞学方法已不再用于常规分型。

2. 用分子生物学方法检测等位基因: 20 世纪 80 年代后期,分子生物学引入 HLA 领域,并进一步在 PCR 基础上发展了各种 DNA 分型技术,常用有 PCR-RFLP(PCR 扩增产物的限制性片段长度多态性分析)、PCR-SSO(PCR 产物的序列特异寡核苷酸探针杂交)、PCR-SSP(序列特异性引物的 PCR 扩增)和 PCR-SBT(序列直接分型)等。进行等位基因分型后,发现

属于同一个血清学特异性的抗原往往可被数个甚至数十个不同的等位基因所编码。如编码 HLA-A2 抗原的等位基因至少有 39 个;编码 HLA-DR4 的等位基因也至少有 36 个。为此,制定了 HLA 的命名原则。要点如下。

(1) 对某一个等位基因,先写出座位名,下接\*号,再用 4 个数字代表这个等位基因的名字。如 B\*2707、DRB1\*0405、DQB1\*0301 等。B、DRB1 和 DQB1 均指 HLA 基因座位,\*号后面的 4 位数中前 2 位是指这个等位基因相应的血清学特异性,如 B\*2707 的血清学特异性是 B27,DRB1\*0405 中血清学特异性是 DR4;后 2 位数则代表该等位基因序号。

(2) 如果一个等位基因在不同个体间仅有极微小差异并属于无义突变,则在等位基因后再加第 5 个数字以示区别,如 B\*51011 和 B\*51012。

(3) 如果由于技术所限不能对等位基因作精细分型时,则可用其宽特异性或低/中度分辨特异性(low or medium resolution)来表示。如不能区别 B\*27051 及 B\*27052 可写成 B\*2705;又如不能鉴别编码 A2 抗原家族的 30 多种等位基因,则可写作 A\*02。分子生物学方法所检测的 HLA 等位基因命名见附表 3-2。

### (三) HLA 系统中的连锁不平衡

连锁不平衡(linkage disequilibrium)是指在某一群体中,不同座位上某两个等位基因出现在同一条单元型上的频率与预期值之间有明显的差异。连锁不平衡的程度可以由连锁不平衡参数 $\Delta$ 来表示。HLA 系统中经典的 I 类区域座位和 II 类区域座位均存在连锁不平衡。如在白人中,HLA-A1 基因频率为 0.275,HLA-B8 基因频率为 0.157。A1 与 B8 在同一条单元型上的预期频率为  $0.043(0.275 \times 0.157)$ ,但在群体中 A1-B8 在同一条单元型上实际频率为 0.098,连锁不平衡参数 $\Delta$ 为  $0.098 - 0.043 = 0.055$ 。II 类区域中 DQ 亚区与 DR 亚区之间存在强连锁不平衡,特别是 DRB1、DQA1、DQB1 三座位某些等位基因之间往往呈现很强的连锁不平衡,可能反映它们之间缺少交换或这些特定等位基因的组合经历了特殊条件下的自然选择。连锁不平衡的存在,造成不同人群中,尤其在隔离群体中,出现 I 类座位和 II 类座位不同等位基因的非随机组合,由此构成的单元型被称为祖先单元型(ancestral haplotype)。这些祖先单元型在一定程度上可作为该群体的遗传标志。

连锁不平衡现象在一定程度上限制了群体中 HLA 单元型的多样性,这给器官移植寻找 HLA 相容供体提供了机会,但却给 HLA 与疾病关联研究中寻找原发性关联成分增添一定麻烦,因为所发现的某个 HLA 易感基因,很可能仅是与该原发性易感基因处于连锁不平衡中,属于次级关联成分。

## 第三节 HLA 分子的分布、结构和功能

经典 HLA I 类分子(HLA-A、B、C)和 II 类分子(HLA-DR、DQ、DP)以糖蛋白形式表达在细胞膜表面,HLA III 类分子则以可溶性形式存在于血浆中。非经典 HLA I 类分子的表达有别于经典 I 类分子。

### 一 HLA 分子的组织分布

一般说来,经典 HLA I 类分子表达在绝大多数有核细胞表面。但不同组织和不同细胞

类型的表达水平不同。I类分子表达量最高的是淋巴细胞,一个细胞可含  $5 \times 10^5$  个分子,约占膜蛋白的 1%。巨噬细胞、树突细胞及中性粒细胞也高表达 HLA I类分子。相反,肺、心、肝细胞、纤维母细胞、肌细胞、神经细胞表达低水平 I类分子。此外,神经元细胞、母-胎表面滋养层细胞均不表达经典 HLA I类分子(HLA-C 分子除外)。HLA I类分子表达尚与细胞发育分化阶段有关,如 B 细胞变成浆细胞时 HLA 分子不表达;某些分化阶段的精细胞也不表达 HLA I类分子。

经典 HLA II 类分子(DR、DQ、DP)的表达则局限在一定细胞群,主要是抗原递呈细胞如巨噬细胞、树突细胞、成熟 B 细胞。此外激活的 T 细胞及激活的单核细胞也表达经典 II 类分子。中性粒细胞、未致敏的 T 细胞、肝、肾、脑及胎儿滋养层细胞等均不表达 HLA II 类分子。

## 二 HLA 分子结构

### (一) HLA I类分子结构

经典 HLA I类分子是由重链( $\alpha$ 链)和轻链( $\beta$ 链)经非共价键连接成的异二聚体(图4-3)。属免疫球蛋白超家属。 $\alpha$ 链由 HLA-A、-B、-C 基因编码,相对分子质量(分子量)约 45 000(45 kD), $\beta$ 链编码基因位于第 15 号染色体,分子量约为 12 000(12 kD)。细胞膜上 HLA I类分子表达需要  $\alpha$ 链和  $\beta$ 链同时存在。

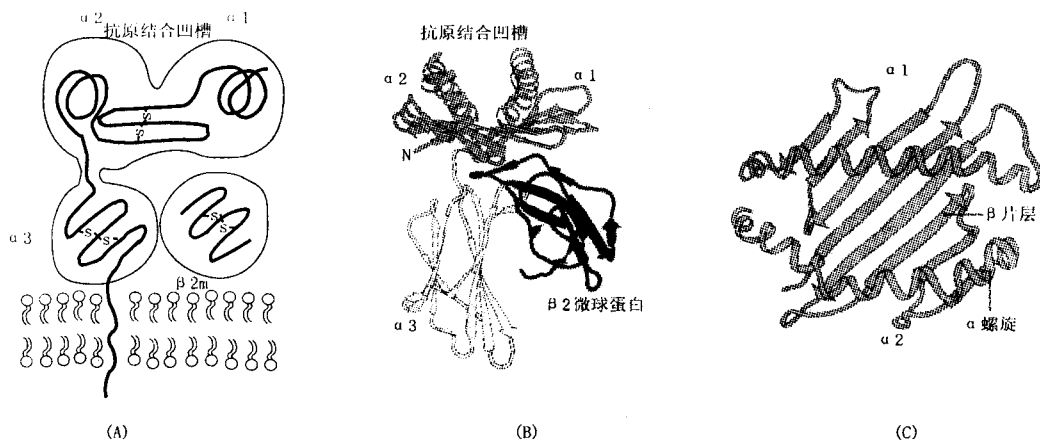


图 4-3 HLA I类分子结构

(A) 模式图; (B) 侧面观; (C) 顶面观

1. I类分子重链的基本结构:  $\alpha$ 链由 3 个细胞外结构域(即  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$  和  $\alpha 3$ )、穿膜区和胞质区三部分组成。 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$  和  $\alpha 3$  结构域分别包含约 90 个氨基酸。 $\alpha 3$  结构域与免疫球蛋白恒定区结构域同源,是与 T 细胞表面 CD8 分子相结合的部位。疏水性的穿膜区由 25 个氨基酸残基组成,以  $\alpha$ 螺旋结构穿过类脂双层。亲水性细胞内结构域由 30~40 个氨基酸残基组成并具有数个磷酸化位置。

2. 抗原结合凹槽: I类分子的抗原结合凹槽由  $\alpha$ 链的  $\alpha 1$  和  $\alpha 2$  结构域互相作用组成,每个结构域折叠成一个  $\alpha$ 螺旋和 4 条  $\beta$ 片层。2 个  $\alpha$ 螺旋组成凹槽的壁而 8 条  $\beta$ 片层构成了凹槽的底。凹槽的二头封闭。进入 HLA I类抗原结合凹槽相的抗原肽有 2 个基本特点:第一个特点是抗原肽一般由 9 个氨基酸残基组成,9 肽与 HLA 分子的结合亲和力要比大于

或小于 9 肽的抗原肽高 100 ~ 1 000 倍;第二个特点是抗原肽一般含有一段与某个特定 HLA 分子结合的部位,称为锚着位,位于该部位上的氨基酸则称为锚着残基(anchor residue)。与 HLA I 类分子相结合的锚着残基从氨基端算起,一般为第 2 和第 9 位。这些锚着残基插入 HLA 分子抗原结合凹槽中的袋(pocket)中,通过氢键与 I 类分子相结合。抗原肽中间部位一般均有一定程度的隆起,可作为 T 细胞表位被 TCR 识别。在正常情况下 I 类分子抗原结合凹槽内结合的往往是自身抗原肽(图 4-4)。

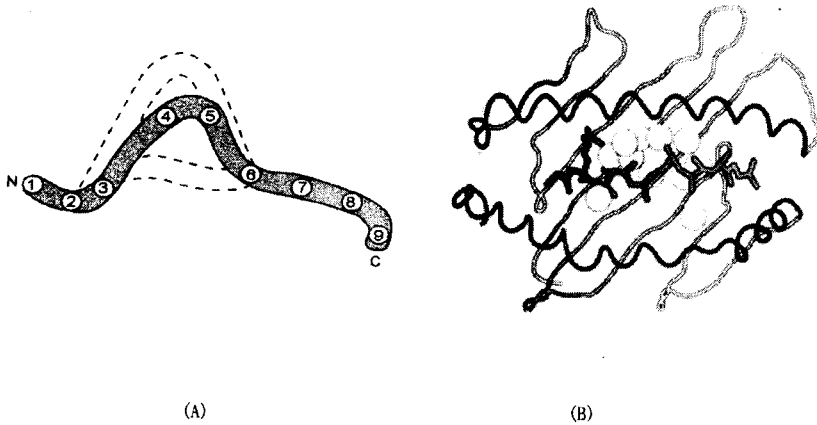


图 4-4 HLA I 类分子与抗原结合构像

- (A) 不同长度抗原肽在 HLA I 类分子抗原结合凹槽中构像不同;  
(B) HLA-B27 分子抗原结合凹槽中结合的抗原肽

3. 轻链( $\beta$ 链): I 类分子的轻链为  $\beta_2$  微球蛋白( $\beta_2$ -m),相对分子质量(分子量)为 12 000 (12 kD)。 $\beta_2$ -m 为可溶性蛋白,不通过细胞膜。 $\beta_2$ -m 氨基酸序列高度保守,在不同物种之间差别极小,可相互替代。 $\beta_2$ -m 的作用主要是稳定 I 类分子并使其能有效地表达于细胞表面(图 4-4)。

## (二) HLA II 类分子

II 类分子是由  $\alpha$  链和  $\beta$  链组成的异二聚体(图 4-5)。 $\alpha$  链相对分子质量为 33 000

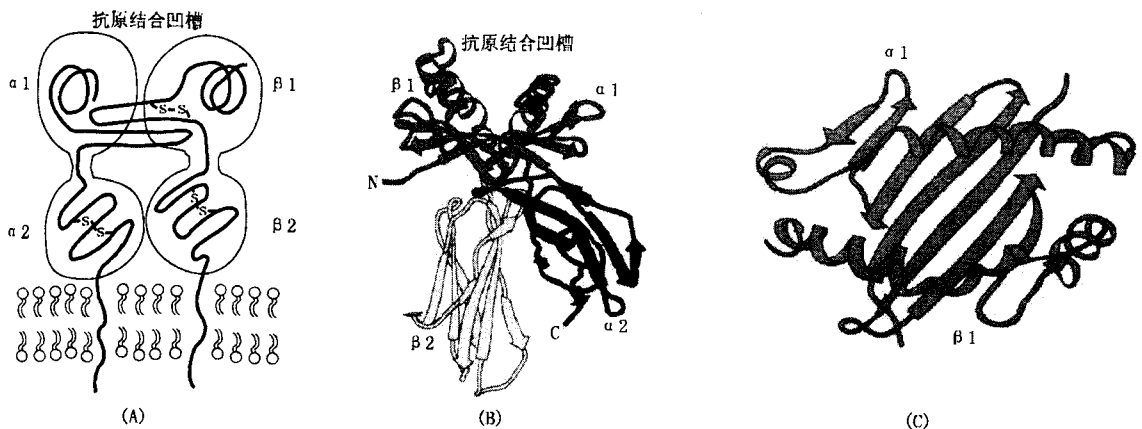


图 4-5 HLA II 类分子结构图

- (A) 模式图; (B) 侧面观; (C) 顶面观



(33 kD),  $\beta$  链相对分子质量为 28 000(28 kD),  $\alpha$  链和  $\beta$  链以非共价键相互连接。与 I 类分子轻链不同,  $\alpha$  链和  $\beta$  链各自均有 2 个胞外结构域( $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$  和  $\beta 1$ 、 $\beta 2$ )、穿膜序列和胞内段。 $\alpha 2/\beta 2$  结构域与 I 类分子的  $\alpha 3$  辅助结构域相似, 能与 T 细胞表面的 CD4 受体结合。与 I 类分子不同, II 类分子的抗原结合凹槽分别由  $\alpha$  链的  $\alpha 1$  结构域和  $\beta$  链的  $\beta 1$  结构域相互结合, 各自构成 2 条  $\alpha$  螺旋和 8 条平行  $\beta$  片层的一半, 凹槽形状与 I 类分子凹槽极相似, 两者几乎可以重叠。HLA II 类分子和抗原肽的结合有其特点: ① 肽长为 13~18 个氨基酸, 因为抗原结合凹槽的两头是开放的; ② 抗原肽通常有一段由 9 个氨基酸组成的九肽核心结合序列(core binding sequence); ③ 以氢键与 HLA II 类分子结合的部位较多, 包括核心结合序列中间的氨基酸残基(详后)。

II 类分子结构的另一个重要特点是  $\alpha/\beta$  异二聚体可相互作用再形成一个双二聚体(dimer of dimers), 其中两个抗原结合凹槽反向相互结合。这种复合分子可能有利于 2 个 TCR/CD3 和 2 个 CD4 分子发生多聚作用, 启动信号传导。

### (三) HLA II 类分子的顺位互补和反位互补

HLA II 类 DR $\alpha$  链、DQ $\alpha$  链和 DP $\alpha$  链一般均优先与它们相应的 DR $\beta$  链、DQ $\beta$  链和 DP $\beta$  链匹配形成 DR、DQ 和 DP 异二聚体分子。但在体内和体外均有证据提示, II 类分子  $\alpha$  链和  $\beta$  链有可能交叉匹配形成杂合 II 类分子。由于编码 DQ 分子  $\alpha\beta$  链及 DP 分子  $\alpha\beta$  链的 DQA、DQB、DPA 和 DPB 基因都是高度多态性的, 因此, 在形成 DQ 分子及 DP 分子时就有 2 种可能, 一种是顺位互补(cis-complementation)即 DQ 或 DP 分子的  $\alpha$  链和  $\beta$  链是由同一条单元型上的 DQA1-DQB1 或 DPA1-DPB1 等位基因所编码; 另一种是反位互补(trans-complementation)即 DQ 或 DP 分子的  $\alpha$  链和  $\beta$  链是分别来自父亲及母亲的 2 条单元型上的等位基因编码而成。这种反位互补现象在纯合状态下是不显露的, I 类分子及 DR 分子由于  $\beta_2$ -m 及 DRA 基因无多态性, 不存在反位互补现象。这种现象不仅使细胞表面表达的 HLA 分子类型增加, 而且与某些自身免疫病的易感性有关。

### (四) 可溶性 HLA 分子

HLA 分子主要以穿膜蛋白的形式表达在细胞表面, 但有少量分子则以可溶性形式(sHLA)检出。现已知, sHLA-I 类分子在不同情况下以不同浓度存在于血液、汗液、泪液、脑脊液和尿液中; 在多种细胞培养上清液也可检测到 sHLA-I 类分子的存在。目前用 western 印迹法已发现 sHLA-I 类分子有 3 种形式, 其重链的分子量分别为 44 000(44 kD)、39 000(39 kD)和 35 000~37 000(35~37 kD)。44 000(44 kD)的 sHLA-I 类分子与膜 HLA(mHLA)分子结构相同, 由 mHLA-I 类分子脱落产生; 39 000(39 kD) sHLA 分子有胞内段但缺乏跨膜区为分泌型 HLA-I 类分子, 而 35 000~37 000(35~37 kD)的分子则缺乏跨膜区也没有胞内段, 可能由 mHLA 分子或 44 000(44 kD)的 sHLA 分子经酶切脱落形成。一些研究已提示, sHLA 分子可通过多种机制发挥免疫调节作用, 并在感染性疾病、癌症及器官移植排斥反应中可作为病理变化的指标。

## 三 HLA 分子的功能

### (一) 作为抗原肽受体结合和递呈抗原肽

经典 HLA 分子的最基本功能是与内源性抗原肽(HLA I 类分子)和外源性抗原肽(HLA II 类分子)结合(表 4-2), 表达在抗原递呈细胞和靶细胞表面, 被 CD4 或 CD8 阳性 T 细胞识别后产生免疫应答(参见第七章)。

表 4-2 被加工过的各种天然抗原肽借助特定锚着残基和 HLA 分子结合\*

HLA 等位基因	抗原肽氨基酸残基组成									肽长	抗原肽来源		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9				
A * 0201	x	L/M	x	x	x	x	x	X	L/V		共用基序		
	S	L	L	P	A	I	V	E	L	9	蛋白磷酸酶,389 ~ 397		
	T	L	W	V	D	P	Y	E	V	9	BCTI 蛋白,103 ~ 111		
	L	L	D	V	P	I	A	A	V	10	IP-30 信号肽,27 ~ 35		
	Y	M	N	G	T	M	S	Q	V	9	酪氨酸酶,369 ~ 377		
	M	L	L	A	L	L	Y	C	L	9	酪氨酸酶,1 ~ 9		
	A	L	W	L	F	F	G	V	L	9	黑色素瘤抗原		
B * 2705	x	R	x	x	x	x	x	x	L/F		共用基序		
	G	R	L	T	K	H	T	K	F	9	核糖体蛋白 L,36 ~ 44		
	R	R	F	G	D	K	L	N	F	9	即时性早基因,87 ~ 95		
	R	R	L	P	I	F	S	R	L	9	TIS 118 蛋白,325 ~ 333		
	R	R	Y	Q	K	S	T	E	L	9	组蛋白 H3.3,52 ~ 60		
DRB1 * 0405	KELK	I	D	I	I	P	N	P	Q	E	R	14	HSP 90,68 ~ 81
	APNT	F	K	T	L	D	S	W	R	D		13	ras 相关蛋白-7,86 ~ 98
	YLL	Y	Y	T	E	F	T	P	T	E	KD	14	β <sub>2m</sub> ,83 ~ 96
	DPIL	Y	R	P	V	A	V	A	L	D	TKGP	17	PKM2,101 ~ 117
	KK	V	V	V	Y	L	Q	K	L	D	TAYD	15	组织蛋白酶 C,62 ~ 76

\* 方框内为锚着残基

与 HLA I 类分子结合的抗原肽一般均为经加工处理过的内源性抗原,包括来自细胞内的自身抗原、肿瘤抗原、病毒抗原等。这些抗原肽一般均含有 2 个锚着位,即羧基末端的锚着位(即九肽中的 P9),位于这个锚着位的氨基酸残基一般均为疏水残基如亮氨酸、异亮氨酸。另一个锚着位位于九肽氨基端的第 2 位或第 3 位(P2、P3)。能与 HLA II 类分子相结合的抗原肽一般均为经加工处理的外源性抗原。这些抗原肽含有一段核心序列,核心序列的氨基端除有一个疏水氨基酸锚着残基外,中间与末端也有 3 个疏水残基。

HLA 分子对抗原肽的识别既有特异性也有混杂性(promiscuous)。特异性指能与 I 类分子结合的抗原肽两端的锚着位以及 II 类分子相结合的 4~5 个位于核心序列中的锚着位,及相应的氨基酸残基组成相对恒定。由此,能够与同一类 HLA 分子相结合的抗原肽,其锚着位和锚着残基相同或相似,构成特有的共用基序(consensus motif)。表 4-2 举例说明和 HLA I 类分子 A\*0201 和 B\*0705 抗原结合凹槽所需的共用基序及其结合的各种天然抗原肽,对 II 类分子 DRB1\*0405 还指出了其核心激活序列和 4 个锚着位。

混杂性指 HLA 分子与抗原肽之间的结合并不完全像抗原-抗体结合那样要有高度专一性。因为,不同的锚着位所要求的锚着残基的组成可以有变化的,凡符合共用基序的抗原肽均可被同一类 HLA 分子所结合。例如表 4-2 中 DRB1\*0405 分子可结合的抗原肽数量是相当大的。外源性抗原加工递呈中 II 链能为几乎所有的 HLA II 类分子凹槽所接纳也是一个例证(参见第七章)。这一特性为应用肽疫苗进行免疫预防和免疫治疗提供了便利。

(二) 参与免疫调节

无论是经典 HLA I 类、II 类分子及非经典 HLA I 类分子(HLA-Ib)均在免疫调节中发挥

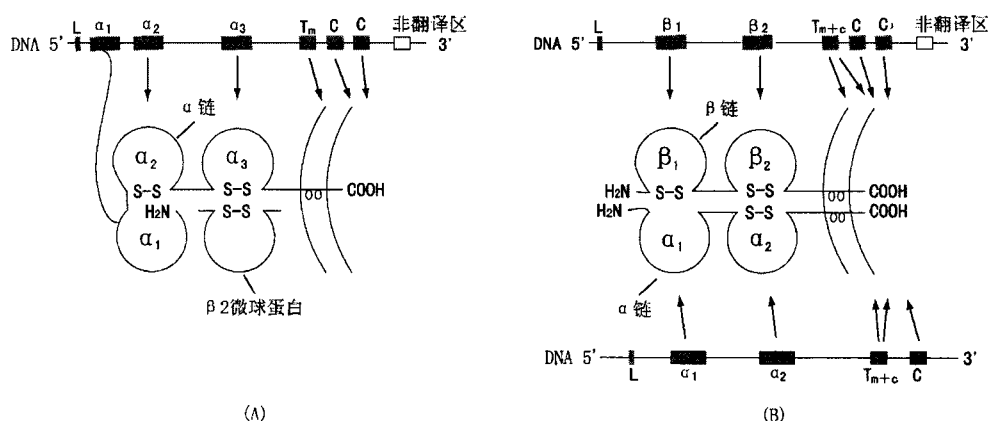


图 4-6 经典 HLA I 类、II 类基因结构及其编码产物

(A) HLA I 类基因结构及其编码产物 (B) HLA II 类基因结构及其编码产物

重要作用(图 4-6),但 HLA-Ib 的免疫调节功能更引人注目。

1. HLA-E 在所有非经典 HLA 分子中,HLA-E 分子是迄今所知能递呈肽段的分子。已知其抗原结合凹槽中的九肽为 HLA-Ia 和 HLA-G 分子的先导序列。HLA 分子的先导序列一般无多态性,换言之,HLA-A、B、C 和 HLA-G 分子的先导序列均可与 HLA-E 结合而被 HLA-E 分子递呈在细胞表面,并和相应的受体 CD94/NKG2 结合。CD94/NKG2 是 NK 细胞表面杀伤细胞抑制性受体的一种,HLA-E 分子-先导序列复合体作为配体与 CD94/NKG2 受体发生相互作用后,通过跨膜分子 NKG2 胞内段上的 ITIM 传递抑制性信号,抑制 NK 细胞的杀伤活性(详见第二章和第十一章)。由于表达抑制性 CD94/NKG2 受体的免疫细胞还有某些 CD8 CTL 和具有杀伤活性的  $\gamma\delta$  T 细胞亚群(参见第二章),因而 HLA-E 分子也参与调节 T 细胞功能。

需要特别指出的是,胎盘滋养层细胞上有 HLA-E 分子表达,而母体蜕膜 NK 细胞表面存在 CD94/NKG2 受体,这样,HLA-E 分子在胎母免疫中可能有十分重要的作用。

2. HLA-G HLA-G 分子主要表达在胎儿的滋养细胞上,而此处恰恰不表达经典的 HLA-A、B 分子及 DR、DQ、DP 分子。HLA-G 分子的这种独特分布使人联想到它可能和 HLA-E 一样,在母-胎耐受中发挥作用。母体蜕膜中含有大量 CD16<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> 的子宫 NK 细胞(uNK),uNK 细胞表面同样表达抑制性受体。后者与 HLA-G 分子互作用后抑制 uNK 对滋养层细胞的杀伤从而保护了胎儿。但 HLA-G 如何与 uNK 作用及引起母-胎耐受的确切机制仍不清楚,HLA-G 可能通过改变抗原递呈行为或改变细胞因子产生的格局,来控制母-胎界面蜕膜巨噬细胞的作用。

### (三) HLA 与 T 细胞发育

经典 HLA I 类分子及 II 类分子通过胸腺中的阳性选择及阴性选择参与 T 细胞谱发育,已如第二章所述。HLA-G 分子及 MICA 分子均可分别表达在胸腺树突细胞及胸腺上皮细胞表面,可能参与 T 细胞受体谱的发育。

### (四) HLA 与粘膜免疫

MICA 分子与胃肠上皮细胞  $\gamma\delta$  T 细胞相互作用 MICA 和 MICB 分子主要分布在胃肠道上皮细胞及纤维母细胞表面。MICA 和 MICB 分子能与小肠上皮细胞上带有 V $\delta$ 1 的  $\gamma\delta$  TCR 相互作用。V $\delta$ 1<sup>+</sup>  $\gamma\delta$  T 细胞在小肠上皮细胞中极为丰富,约占 70% ~ 90%。MIC 分子的表达

可以通过应急反应而上调,因而 MIC 分子可能在粘膜免疫和保持胃肠上皮的完整性上起重要作用。

#### (五) 其他非免疫学功能

**HFE 基因与遗传性血红蛋白沉着症** HFE 基因位于 HLA-A 基因端粒端约 4 000 kb,它的产物与 HLA I 类分子相似。现已清楚,HFE 基因的突变可引起遗传性血红蛋白沉着症(hereditary hemochromatosis, HH)。遗传性血红蛋白沉着症在白人中较常见,尤其在北欧群体,发病率可达 1/200 ~ 1/400。此病特点是铁在人体各器官中过度的沉积而导致器官衰竭。HFE 基因有 2 个部位的突变与 HH 病相关联。一个是第 282 位上的半胱氨酸突变成酪氨酸(C282Y),这个突变与 70% ~ 90% 的 HH 病相关联。另一个突变是第 63 位的组氨酸变成天冬氨酸(H63D),这个突变与 C282Y 为杂合的 HH 病有关。这个发现有力提示位于第 6 号染色体短臂上的 HFE 基因在控制铁的摄取及铁的代谢中起重要作用。

### 第四节 HLA 基因表达的调控

HLA 基因编码的 HLA 分子在各种细胞膜上的正常表达,是保证免疫系统识别自身与非己、维持机体内环境稳定的必需条件。HLA 分子在细胞表面的表达受到多种因子在不同水平上的调控,其中以转录水平的调控最为重要。

#### 一 HLA 基因的结构

##### (一) I 类基因结构

经典的 I 类基因由 8 个外显子和 7 个内含子组成。位于 5'端的第 1 个外显子编码一短的信号肽,第 2、3、4 外显子分别编码  $\alpha$  链胞外段的  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$  结构域,第 5 个外显子编码穿膜区蛋白,第 6、7 两个外显子编码  $\alpha$  链的胞内段,第 8 外显子则编码 3'非翻译区(图 4-6)。

非经典 I 类基因外显子和内含子结构与经典 I 类基因相似但各有一些特点,如 HLA-E 基因结构与 HLA-Ia 相同也是由 8 个外显子和 7 个内含子组成,同源性和 50% ~ 90%,但在外显子 7 中有 5 个核苷酸丢失产生一框内终止密码子,使其产物分子量较 HLA Ia 为小。HLA-G 基因也有 8 个外显子组成,但其中的第 6 个外显子的第 2 个密码子是终止密码子,使 HLA-G 基因产物胞质部分要比 HLA Ia 基因产物胞浆部分短。又如 MICA 和 MICB 基因均有 6 个外显子,这 2 个基因的前导序列和  $\alpha 1$  外显子之间有一个大内含子隔开,分别长 6 840 bp 和 7 352 bp。

##### (二) II 类基因结构

与经典的 I 类基因相似,II 类基因也由外显子和内含子组成。编码  $\alpha$  链  $\beta$  链和的 A 基因和 B 基因皆由 6 个外显子和 5 个内含子组成。位于 5'端第 1 外显子编码信号肽,第 2、3 外显子分别编码  $\alpha$  链胞外的  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$  结构域和  $\beta$  链的胞外结构域  $\beta 1$ 、 $\beta 2$  结构域,第 4、5 外显子分别编码穿膜区蛋白和胞内段序列,第 6 外显子编码 3'端非翻译区。

#### 二 HLA 分子表达及其调控

经典 HLA I 类分子在有核细胞表面的表达和 II 类分子在专职抗原递呈细胞表面的表达皆属组成性表达。原来低表达或不表达 HLA 分子的细胞,可发生诱导性表达,诱导剂包括

某些细胞因子或细菌、病毒的刺激。其中最强的诱导剂是 IFN- $\gamma$ 。

I 类和 II 类分子的表达,依赖于起始编码子 ATG 上游约 250 bp 启动子区域内一系列调节基序(顺式作用元件)及相应转录因子之间的相互作用,实现 HLA 基因转录调节。

#### (一) HLA I 类基因转录调节

启动子区域中除 TATA 和 CCAAT 元件外,尚有数个作用元件参与 I 类基因转录,它们因结构基因座位与等位基因的不同而呈现差异。

1. 增强子 A 元件(enh A): 由 2 个 NF- $\kappa$ B 结合部位( $\kappa$ B1 和  $\kappa$ B2)组成,结合转录因子 NF- $\kappa$ B/rel 和 锌指蛋白。HLA 不同的 I 类基因的 enh A 与 NF- $\kappa$ B 结合的能力可以不同。

2. 干扰素激发效应元件: 干扰素激发效应元件(interferon-stimulated response element, ISRE)包括 IRF-1、IRF-2、ICSBP 和 ISGF3。IRF 为干扰素调节因子的简称,其中 IRF-1 起上调作用(激活),而 IRF-2 和 ICSBP 起下调作用(抑制)。IFN- $\gamma$  和细胞表面的相应受体结合以后,以 JAK/STAT 信号转导途径(参见第五章和第八章),通过和 ISRE 元件结合调控 MHC 基因的表达。不同 I 类基因座位和不同等位基因的 ISRE 序列不同,其与 IRF-1 结合亲和力也有差别。

3. Site  $\alpha$ : 与 enh A 和 ISRE 一样,Site  $\alpha$  也具有座位和等位基因特异性差别。近来发现 IFN- $\gamma$  诱导性激活中 Site  $\alpha$  和 ISRE 可显示协同效应。

4. 增强子 B: 增强子 B(enh B)序列是 CCAAT 筐的倒转(ATTGG)。在 I 类转录中的作用尚未肯定。

#### (二) HLA II 类基因转录调节

HLA II 类启动子区顺式作用元件主要包括下列几种,皆呈现座位和等位基因特异性。

1. TATA 筐: 仅存在于 DRA、DRB、DPB1 和 DPB2 基因启动子区域。

2. CCAAT 筐: 编码  $\alpha$  链的 A 基因均缺乏 CCAAT 筐,而编码  $\beta$  链的 B 基因的 CCAAT 筐位置恒定。

3. Y 筐: 以 ATTGG 序列与 NF-Y 复合型转录因子结合。NF-Y 包括 CBF、CP1 和 YEBP,属于 CCAAT 筐结合蛋白家族,由至少 2 个亚单位组成,发挥正调节作用。另一类 Y 筐结合蛋白 YB-1 则降低 IFN- $\gamma$  参与的 HLA II 类基因诱导性表达。

4. X 筐: 由 X1 和 X2 两个筐组成,各自和转录因子 RFX 家族及转录因子 X2BP、Fos/Jun 和 ATF/CREB 结合。RFX 有 5 个成员(RFX1 ~ RFX5),其中相对分子质量(分子量)为 75 000(75 kD)的 RFX5 在 II 类基因的转录中起重要作用,该因子的缺失可致组成性和诱导性表达失效。与 X2 筐结合的 X2BP 也与 X1 筐有微弱的结合,并导致 RFX 和 X2BP 互相起协同作用,可使蛋白质-DNA 复合物稳定性增加 10 倍以上。DRA 的转录活性取决于另一个转录因子 NF-X2 和 X2 筐的相互作用,其中 NF-X2 含有 c-fos 起十分重要的作用。

5. W/S 筐: 包含小的 Z 和 S 元件。由于 W/S 筐与其下游的 X1 筐有相似的序列,因而也能与 RFX 结合,这一结合又可被 Y 筐和 NF-Y 所增强,再次证明 II 类调节区域中多个 RFX 结合因子之间可发生互相作用。

HLA I 类和 II 类基因启动子区顺式作用元件的排列十分相似,提示它们在进化过程中的保守性(图 4-7)。现知 I 类启动子的 site  $\alpha$  相当于 II 类中的 X2 筐,其上游也是 X1 筐;II 类基因中的 W/S 筐与 Y 筐在 I 类基因中同样存在。这些保守的顺式作用元件构成了 MHC 抗原调节性组件(MHC antigen regulatory module, MARM)。

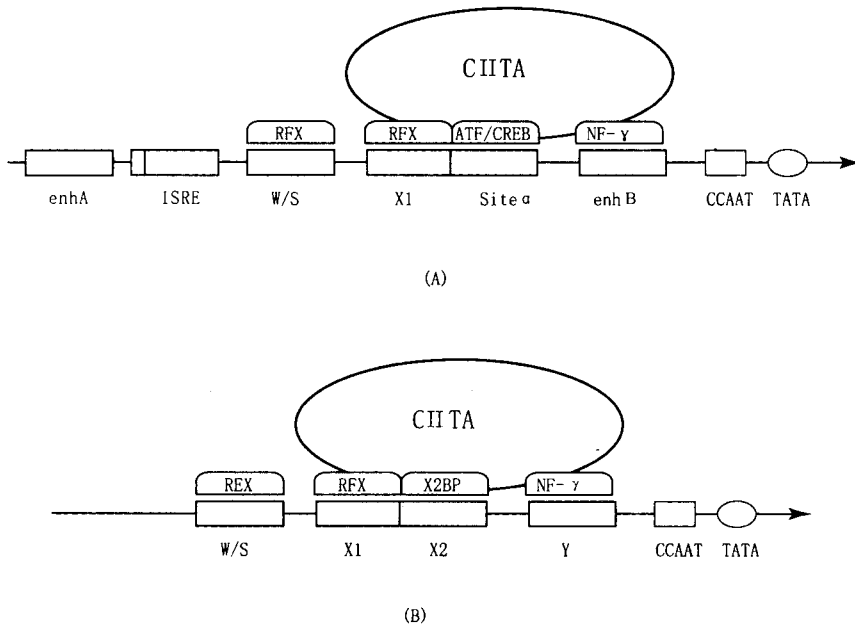


图 4-7 HLA I类和 II类基因启动子区的转录调节及其作用蛋白

(A) HLA I类; (B) HLA II类

### 三 HLA 基因表达中的非 DNA 结合蛋白——CIITA

II 类反式激活蛋白(class II trans-activator, CIITA)为非 DNA 结合蛋白,在 IFN- $\gamma$  诱导后的 HLA 表达中是一个主导开关(master switch)。CIITA 分子含有几个在转录激活中起重要作用的三类结构域。氨基端的酸性结构域;富含脯氨酸和丝氨酸/苏氨酸的结构域;以及羧基端由磷酸、 $Mg^{2+}$ 、鸟嘌呤组成的 GTP 结合结构域。

对 I 类基因,CIITA 通过与 site  $\alpha$  相结合的 ATF/CREB 转录蛋白家族发挥作用;对 II 类基因,CIITA 通过与 W/S、X1、X2 和 Y 元件相结合的 RFX - X2BP - NF-Y 复合体而进行转录调节。当 IFN- $\gamma$  和细胞表面 IFN- $\gamma$  受体结合后,激活胞膜内侧 JAK1/JAK2,引起 STAT1 磷酸化,磷酸化的 STAT1 进入细胞核与 CIITA 基因启动子区中的 IFN- $\gamma$  反应元件结合使基因激活(图 4-8), CIITA 基因产物随后再通过与 I 类、II 类相应转录复合物相互作用而使 HLA 基因活化。

许多细胞因子能增加或减低 HLA 分子的表达。IFN- $\gamma$  是最强的诱导剂, IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$  和 TNF 也能增强 I 类分子表达, IL-4 增加静止 B 细胞 II 类分子的表达。而 IFN- $\beta$ 、TGF- $\beta$  和 IL-10 则下调某些细胞 II 类分子的表达。另外,巨细胞病毒(CMV),乙肝病毒(HBV)和腺病毒 12(Ad12),皆能减少 HLA I 类基因的表达。

在第十五章中将讨论一种称为裸淋巴细胞综合征(bare lymphocyte syndrome, BLS)的免疫缺陷病。这类病人 HLA I 类分子表达良好, CD8<sup>+</sup>T 细胞发育正常,但 II 分子类表达缺陷,仅少量 CD4<sup>+</sup>T 细胞发育但不能被抗原激活。BLS 的发生是由于 MHC II 类基因启动子区转录蛋白和/(或)CIITA 编码基因产生了突变。研究 BLS 为阐明 HLA 基因表达的机制提供了重要信息。

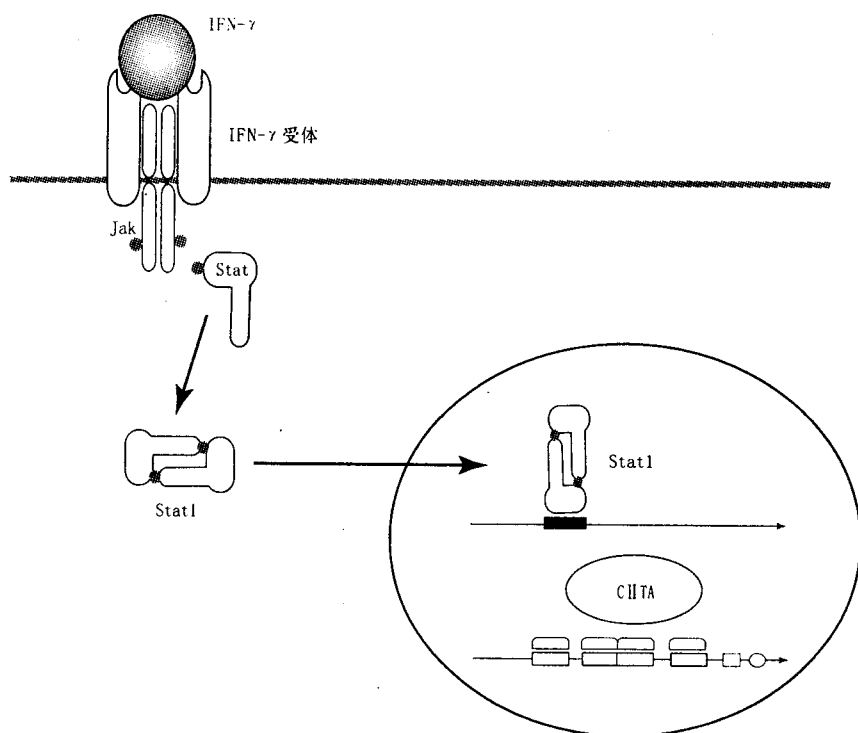


图 4-8 IFN- $\gamma$  诱导 HLAII 类反式转录活性

## 第五节 HLA 和临床医学

HLA 抗原系统不仅因其丰富的多态性而成为极好的遗传标志,而且 HLA 分子又是非常重要的效应分子与调节分子,在医学上具有潜在的诊断与治疗价值。

### 一 HLA 分型的临床应用

HLA 分型是确定受检个体拥有的全部抗原特异性或等位基因。主要用于下列两个方面:

#### (一) 器官移植中供受对的选择

器官移植成功的最大障碍是组织不相容性引起的排斥反应。避免或减少急性和慢性排斥的有效措施是选择遗传学上相容的供受对。因此,HLA 配型对几乎所有器官移植均是必要的。据美国加州大学移植中心统计,尸肾移植 10 年存活期与供受对 HLA 相容性之间关系密切(以血清学方法对 HLA-A、B、DR 等 3 个座位抗原进行分型)。发现供受体之间 3 个座位 6 个抗原均无 HLA 错配(mismatch)即完全相同时,10 年存活率为 62%,一个抗原错配为 47%,2 个抗原错配为 45%,3 个抗原错配为 40%,6 个抗原全部错配即供受体在所检测的 HLA 抗原上无一相同时为 33%。充分说明 HLA 配型在器官移植中的重要地位。

#### (二) 亲子鉴定与法医学的应用

因为服从共显性的规律,一个个体的 HLA 抗原能完整地表达在细胞表面并终身不变,

使 HLA 抗原检测成为亲子鉴定中的一个有力工具。近年来采用 PCR 为基础的 HLA DNA 分型,不仅可以直接确定待检者拥有的等位基因从而提高了鉴定的科学性和准确性,并可从死亡者极少量的组织标本中进行 DNA 分型,为法医学上“验明正身”提供了证据。

## 二 HLA 与疾病关联

HLA 与疾病关联研究始于 1967 年,至今已研究过的疾病超过 500 种。关联指的是疾病与不同抗原或等位基因之间的联系,关联程度用相对危险比(relative risk, RR)表示,可以以此估计某个体带有某一抗原时患某病或不易患某病的机会与不带此抗原的个体之间的差别。因而疾病关联基因被分为易感(susceptibility)或抵抗(resistant)两类,因为这些基因的存在,反映了个体易感或抵抗某些疾病的倾向,而这些基因不一定是直接引起疾病的遗传因素。

### (一) 与 HLA I 类抗原关联的疾病

HLA I 类抗原关联的疾病主要有与 HLA-B27 抗原关联的血清阴性脊柱关节病及急性前葡萄膜炎,与 HLA-B35 关联的亚急性性甲状腺炎,与 HLA-B51 关联的白塞病(Behcet's disease)及与 HLA-Cw6 关联的寻常性牛皮癣。

血清阴性脊柱关节病(seronegative spondylarthropathies, SpA)是一类以骶髂关节、脊柱和周围关节的炎症及类风湿阴性为特征的慢性关节病,包括强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)、Reiter 综合征、反应性关节炎、肠炎性关节炎、牛皮癣关节炎以及未分化脊椎关节病等。SpA 一类疾病均与 HLA-B27 抗原有强关联,RR 值可达 40~300,尤以强直性脊柱炎最为典型,使 B27 抗原的检查成为 AS 的辅助诊断方法之一。1973 年 Brewerton 首先报道 HLA-B27 与 AS 呈强关联,以后确定这种强关联存在于全球绝大多数群体内。编码 B27 抗原的等位基因已达 16 个,但仍未发现其中任何一个单独地与 AS 呈现强关联。近年来大量家系调查及基因组扫描工作,特别是双生子患病一致率的研究,强烈提示强直性脊柱炎是一个基因病,遗传因素作用约为 98%,同卵双生患病一致率与异卵双生患病一致率之比为 5.4,提示除 B27 以外尚有 HLA 区域内及 HLA 区域外的其他基因参与。

### (二) 与 HLA II 类抗原关联的疾病

主要有与 DQ6 相关联的发作性睡眠病(narcolepsy),与 HLA-DR3 关联的突眼性甲状腺肿(Grave's disease)、重症肌无力和爱狄森病(Addison's disease),与 DR4 关联的类风湿关节炎,与 DQ2 关联的乳糜泻,与 DR2、DQ6 关联的多发性硬化症及与 DR-DQ 某些单元型组合关联的 I 型糖尿病。其中 I 型糖尿病与 HLA 关联研究较为深入与全面。

I 型糖尿病是 T 细胞参与的胰岛  $\beta$  细胞被破坏的自身免疫性多基因遗传病。I 型糖尿病发病有明显种族差异;同卵双生子患病一致率为 5%~50%;反映多基因遗传病的家族聚集程度的患者同胞与群体风险比( $\lambda_s$ )为 15。这些都说明 I 型糖尿病是一个遗传病。目前已发现的 I 型糖尿病易感基因至少有 15 个,分别命名为 IDDM1~IDDM15。此外尚有数个未正式命名的后补易感基因。现已证实 IDDM1 是 I 型糖尿病关联的主基因。这里所说的 IDDM1 并非指单一位点,它包含 HLA 区域内一组与 I 型糖尿病关联的连锁位点,主要是 DRB1、DQA1 和 DQB1。组成 IDDM1 的 DRB1、DQA1 和 DQB1 基因的易感或保护效应显示强弱的等级之差。这种等级差异在 DRB1\*04 的等位基因中最为突出,即在 DRB1 等位基因中易感性按 0405>0402>0401 排列;保护效应按 0403<0406<0408 排列。此外,尚发现 DR $\beta$  链或 DQ $\beta$



链第 57 位氨基酸为天冬氨酸时则具有一定的保护效应如 DRB1\*0602、0402、0401、0301 等。第 57 位氨基酸为丙氨酸时则所有人种群中均为高度易感,如 DQB1\*0201 和 0302。事实上,HLA 关联的 I 型糖尿病风险性是由 DR 和 DQ 分子之间复杂的相互作用决定的。一般地说,如果一个个体带有易感基因型,则他的全部或大多数 DR、DQ 分子将会是易感因子;如果一个个体带有一个高度保护的 DR 或 DQ 分子,就足以克服所有易感 DR、DQ 分子的效应,这现象提示保护作用对易感性为显性。

世界范围内人类基因组研究的一个重点就是致病基因或易感基因的定位。如 HLA 全长测序后发现与牛皮癣发病有关的基因主要集中在包括 S、PG3、SC1 和 OTF3 在内的一个狭窄区域内。此外,为数众多、分布广泛的单核苷酸多态性 SNP 的应用,及 DNA 芯片或 DNA 矩阵(array)方法的建立和应用,将有力地推动突变的大规模检测并有助于从基因水平确定 HLA 和疾病关联的机制。

## 本章提要

人类主要组织相容性复合体(HLA)定位于第六号染色体短臂 6p21.31 区,全长 3 600 kb。224 个基因座位中 128 个为功能性基因,其中 39.8%和免疫功能相关。

HLA I 类基因区由经典 I 类基因(HLA-Ia)即 A、B、C 和非经典 I 类基因(HLA-Ib)即 E、F、G 等组成。II 类基因由经典的 DR、DQ、DP 和参与抗原加工递呈的 DM、TAP 和 LMP 等基因组成。III 类基因区包括补体基因 C2、Bf、C4 及参与炎症反应的基因 TNF、LTA、LTB 和 HSP。经典 HLA 基因具有丰富的多态性,等位基因总数已在 1 000 个以上。

HLA 分子为跨膜糖蛋白。I 类分子由重链和  $\beta_2m$  组成异二聚体,分布在几乎所有有核细胞表面,主要功能是递呈内源性抗原肽给 CD8<sup>+</sup>T 细胞。II 类分子是由 A 基因编码的  $\alpha$  链和 B 基因编码的  $\beta$  链组成的双跨膜分子,主要分布在树突细胞、巨噬细胞、激活的 T 细胞表面,功能是递呈外源性抗原肽,激活 CD4<sup>+</sup>T 细胞。HLA 分子对抗原肽的结合既有特异性也有混杂性。

HLA 基因的表达在转录水平受到精确的调控。HLA 基因启动子区域内存在一组特定的顺式作用元件及相应的转录因子,这些元件因 HLA 基因座位的不同和等位基因的差异而发生改变。其中 II 类反式激活因子在 IFN- $\gamma$  诱导后的 HLA 表达中起主导作用。

HLA 和临床医学存在广泛的联系。HLA 分型为器官移植前的供受对选择和开展亲子鉴定提供有效的手段。HLA 几乎和所有自身免疫病均有不同程度的关联,进一步的研究有利于阐明这些疾病的发病机制。

(范丽安)

## 参考文献

- [1] Browning M and McMichael A (eds). HLA and MHC: Genes, Molecules and Functions. Oxford: BIOS Sci Pub, 1996, 23~28
- [2] The MHC sequencing consortium: Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. Nature, 1999, 401:921
- [3] Brown JH et al: Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. Nature, 1993, 364:33
- [4] van den Elsen PJ, Gobin SJP van Eggermond MCJA et al. Regulation of MHC class I and II gene transcription:

differences and similarities. Immunogenetics. 1998,48:208

- [ 5 ] Moss DJ and Khanna R. Major histocompatibility complex: from gene to function. Immunol Today, 1999, 20: 165
- [ 6 ] Braud VM, Allan DSJ and McMichael AJ. Functions of nonclassical MHC and non-MHC-encoded class I molecules. Curr Opin Immunol 1999, 11: 100
- [ 7 ] Thorsby E. HLA associated diseases. Hum Immunol, 1997, 53: 1

## 第五章 细胞因子

免疫细胞之间的信息传递方式有两种:通过细胞表面的受体与配体的相互作用和通过细胞产生的可溶性分子促进细胞间的联系。这些作用于白细胞间的可溶性蛋白称为白细胞介素(interleukin, IL)。通常又将其单核细胞产生的分子称为单核因子(monokine),将淋巴细胞产生的分子称为淋巴因子(lymphokine)。后来发现,这些分子不仅白细胞可产生,而且其他细胞如内皮细胞、成纤维细胞和角朊细胞都能产生,便将这些分子统称为细胞因子(cytokine, Ck)。因而细胞因子是由细胞产生的小分子可溶性蛋白质,能影响这些细胞及其他细胞的行为和特征。

### 第一节 细胞因子的特性、结构与分类

#### 一 细胞因子的共同特性

细胞因子种类虽然很多,但有一些共同特性。归纳起来主要有以下几点。

(1) 多为糖蛋白,相对分子质量(分子量)一般在 10 000 ~ 25 000(10 ~ 25 kD),有的为 8 000 ~ 10 000(8 ~ 10 kD)。

(2) 通过与受体特异性地结合启动其效应作用。这类结合的亲和力很高即解离常数( $K_d$ )极低,为  $10^{-10} \sim 10^{-12}$  mol。由于 Ag-Ab 结合的解离常数为  $10^{-7} \sim 10^{-11}$  mol,而 MHC 分子-抗原肽结合的解离常数高达  $10^{-6}$  mol,表明在 pmol 级( $10^{-12}$  mol/L)的低浓度下,细胞因子即能显示生物学活性。

(3) 细胞因子一般在局部显示效应功能,可以针对产生该细胞因子并表达相应受体的细胞,称为自分泌(autocrine)作用;也可针对邻近的细胞,称为旁分泌(paracrine)作用。

(4) 细胞分泌细胞因子仅能持续几天,且细胞因子半寿期很短。

(5) 一种细胞因子可作用于多种细胞,并显示多种生物学功能,称为多效性(pleiotropy);同时,多种细胞因子可以对同一种细胞发挥相似的生物学作用。

(6) 一种细胞因子可影响其他细胞因子的合成和发挥生物作用。其方式可以是协同(synergism),也可以是拮抗(antagonism)。前者指两种细胞因子同时存在时的效应比两者单独效应之和还要大;后者指一种细胞因子可抑制或削弱另一种细胞因子的作用。因而,细胞因子的功能体现在复杂的网络中。

#### 二 细胞因子的结构和分类

细胞因子按其结构主要分为 4 个大家族。同一家族中每个成员分子的三维结构相似,与之结合的一组受体结构也相关。4 个家族是:造血因子家族、干扰素家族、趋化因子家族、肿瘤坏死因子家族(表 5-1 及附录二)。除此之外,还有表皮生长因子、IL-1、转化生长因

子家族等。需要指出的是,名称上相似的细胞因子功能上不一定有关。如白细胞介素系列,到目前为止已命名的有 18 种,即 IL-1 ~ IL-18,其中大部分在结构和功能上并无关联。

下面简述细胞因子家族的结构特点。

表 5-1 免疫相关的细胞因子家族

家 族	成 员	受 体 类 型
造血因子	IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-11、IL-12(p35)、IL-15、G-CSF、GM-CSF、OSM、LIF、CLIF	I 型细胞因子受体
干扰素	IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-10	II 型细胞因子受体
趋化因子	IL-8、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、MIP-2、PF-4、PBP、I-309/TCA-3、MCP-1、MCP-2、MCP-3、 $\gamma$ IP-10、RANTES	7 次跨膜受体
肿瘤坏死因子	TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、LT- $\beta$ 、CD30L、CD40L、FasL、CD70、OX-40L、4-1BBL	TNF 受体
转化生长因子 $\beta$	TGF- $\beta$	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶受体
白细胞介素-1	IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-1R $\alpha$ 、IL-18	Ig 受体
其他	IL-12(p40)、IL-14、IL-17、MIF、SCF IL-16	Ig/酪氨酸激酶受体 Ig 受体

### (一) 造血因子家族

造血因子(hematopoietin)家族中的成员主要参与造血细胞的生长和分化,多种白细胞介素和集落刺激因子(CSF)属于这一家族,如 IL-2 和 GM-CSF。结构上,各种造血因子的氨基酸序列可以差异很大,但都含有 4 个  $\alpha$  螺旋(A ~ D),且两两相平行,螺旋间由 3 条肽链链接。图 5-1 以 IL-4 的结构为代表加以说明,因为造血因子家族中各成员的结构基本与 IL-4 相似。

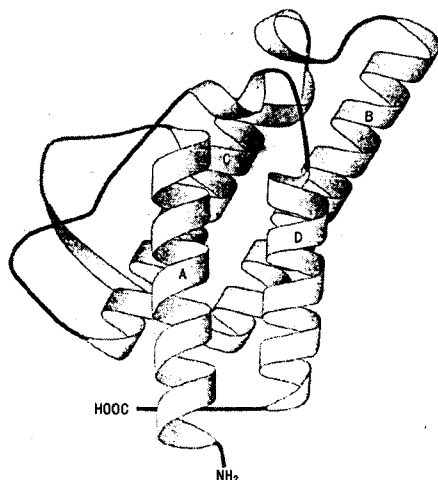


图 5-1 人 IL-4 分子结构图

注: A、D 为  $\alpha$  螺旋, AB、BC 和 CD 间有肽环

### (二) 干扰素家族

$\alpha$ 、 $\beta$  干扰素(interferon, IFN)称为 I 型干扰素,是血清学上完全不同的两组蛋白。IFN- $\alpha$  包括大约 20 种结构相关的多肽,每一种多肽由不同的基因编码。也有人根据氨基酸序列的相关性

将 IFN- $\alpha$  家族分为 IFN- $\alpha 1$  和 IFN- $\alpha 2$ /IFN- $\omega$ 。天然 IFN- $\alpha$  常常是这些分子的混合物。IFN- $\alpha$  主要由单核巨噬细胞产生,又称之为白细胞干扰素。IFN- $\beta$  可从培养的成纤维细胞中提取,原称为成纤维细胞干扰素。IFN- $\beta$  的空间结构与 IL-4 相似。多肽链折叠成 5 个  $\alpha$ -螺旋(A ~ E), $\alpha$ -螺旋进一步由二硫键连在一起,5 个螺旋间由 4 个环(AB、BC、CD、DE)连接。IFN- $\alpha$  的一级结构可能与 IFN- $\beta$  相似。IFN- $\gamma$  则称为免疫干扰素或 II 型干扰素。IFN- $\gamma$  分子中的 62% 区域形成  $\alpha$  螺旋,IFN- $\gamma$  分子是同源二聚体,由两个亚单位结合而成,每个亚单位有 6 个  $\alpha$  螺旋,长度为 9~21 个氨基酸残基不等。螺旋间由短链连接,分子中没有二硫键(图 5-2)。

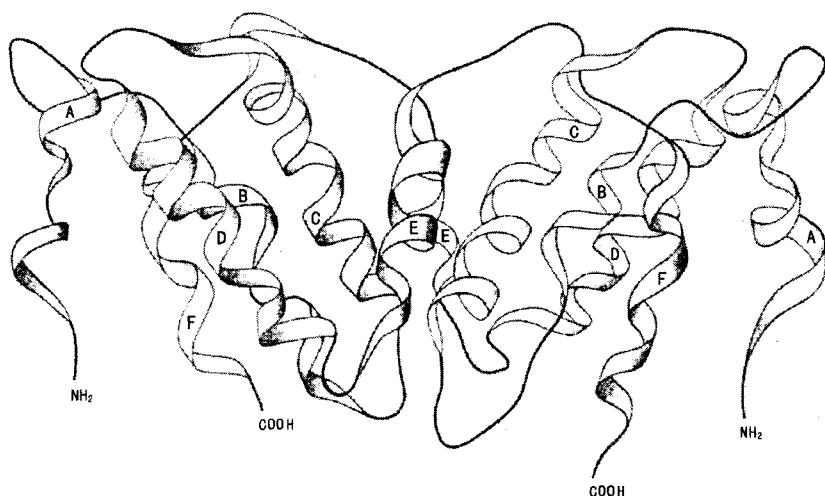


图 5-2 IFN- $\gamma$  二聚体结构

### (三) 趋化因子家族(后述)

### (四) 肿瘤坏死因子家族

肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)家族成员,有的是整合于膜上的糖蛋白,如淋巴毒素(lymphotoxin, LT) $\beta$ 、FasL(L 指配体,下同)、CD70L、CD30L、CD40L、4-1BBL、OX-40L 和 TRAIL(TNF related apoptosis-inducing ligand);有的是分泌型糖蛋白如 LT- $\alpha$ (也称 TNF- $\beta$ )。单核巨噬细胞产生的 TNF 是非糖基化的跨膜蛋白,相对分子质量(分子量)约 25 000 (25 kD)。膜 TNF 分子的排列方向和 II 型膜蛋白相同,即氨基端在胞内,跨膜区在氨基端附近,大部分羧基端在胞外。膜 TNF 是同源三聚体,胞外羧基端两亚单位通过二硫键连接。每个亚单位的 17 000(17 kD)片段(包括羧基端)可被金属蛋白酶(metalloproteinase)酶解后从单核巨噬细胞膜上脱落下来,形成相对分子质量(分子量)为 51 000(51 kD)的稳定三聚体形式,即分泌型 TNF。大多数膜结合型蛋白与其对应的受体(都属于 TNF 受体家族)结合,可对靶细胞产生类似于细胞因子的激活和抑制效应。LT 是 21 000~24 000(21~24 kD)的糖蛋白,和 TNF 的相似性达 30%,并能和 TNF 竞争性结合细胞表面的同一受体。人类 LT 含有 1 个或 2 个 N-连接的寡糖。LT 和 TNF 的三级结构相似,皆属同源三聚体。

### (五) 其他细胞因子家族

1. 转化生长因子- $\beta$  家族: 人的转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor, TGF- $\beta$ )分子包括 5 种密切相关的分子,TGF- $\beta 1$  ~ TGF- $\beta 5$ ,分别由不同染色体上的不同基因编码,序列相似性达 66%~80%。分泌型 sTGF- $\beta$  是二硫键连接的同源二聚体,相对分子质量(分子量)约为 28 000(28 kD),无活性,经蛋白酶裂解后被激活,但依然保持二聚体形式。

2. 白细胞介素-1家族:该家族中有 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-1R $\alpha$  和 IL-18。人成熟的 IL-1 $\beta$  分子折叠成四面体,每一个三角面由 3 条反向平行  $\beta$  链构成,每一条边由 2 条反向平行  $\beta$  链构成,每一个相邻的侧面上有一条,这样共有 12 条  $\beta$  链,之间以环相连。四面体内充满疏水侧链。IL-1 $\alpha$  分子结构与 IL-1 $\beta$  相似。

3. 表皮生长因子家族:表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)家族包括 EGF 和 TGF- $\alpha$ ,仅在外周参与免疫应答,属于丝裂原分子,可控制细胞生长,因而也参与伤口修复和炎症反应。TGF- $\alpha$  分子的 22% 区域形成  $\beta$  链,分子中没有  $\alpha$  螺旋,4 条  $\beta$  链构成 2 个反向平行的  $\beta$  片层。整个分子结构由 3 个二硫键结合在一起。

4. 其他:一些新发现的细胞因子因结构未明,不能确定其归属,但其中很多具有重要的生物学功能。如 IL-12、IL-14、IL-16、IL-17、干细胞因子(stem cell factor, SCF)、迁移抑制因子(migration inhibitor factor, MIF)等。

## 第二节 细胞因子功能

作为细胞间的信使分子,细胞因子的功能是通过和靶细胞上的受体相结合,产生特定的生物学效应。虽然很多种细胞均可以分泌细胞因子,但其中主要有两种细胞,即在免疫应答中起关键性作用的 T 细胞和巨噬细胞,它们释放的细胞因子参与细胞免疫、体液免疫、炎症反应、造血调控、细胞增殖和分化、损伤修复等重要生理和病理学过程。

归纳起来细胞因子的功能主要表现在以下三个方面:

### 一 介导和调节天然免疫

#### (一) 细胞因子介导机体的天然抗感染作用

天然免疫中机体通过以下机制识别外源性病毒和其他微生物。

1. 被病毒感染的细胞识别病毒双链 RNA:细胞内的一些蛋白激酶结合双链 RNA 后被激活,启动下游信号,引起 I 型 IFN(IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$ )的转录和分泌。

2. NK 细胞杀伤病毒感染的细胞:正常情况下自身肽分子与细胞表面 MHC I 类分子结合,激活 NK 细胞上的抑制性受体。而病毒来源的肽分子与细胞表面 MHC I 类分子不能结合,因此抑制性受体无法发挥作用使 NK 细胞激活。激活的 NK 细胞能合成和分泌 IFN- $\gamma$  和 TNF,这些细胞因子再激活单核巨噬细胞、血管内皮细胞和中性粒细胞,产生局部炎症反应。

3. 细菌的脂质和真核细胞的脂质因结构不同而被识别:单核巨噬细胞表达一种受体能识别外源性的脂质,特别是来自革兰阴性细菌的内毒素或脂多糖(LPS)。LPS 和 LPS 结合蛋白(LBP)形成复合体,单核巨噬细胞上表面蛋白 CD14 是该复合体的受体,三者交联后激活下游信号,引起单核巨噬细胞合成细胞因子,如 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10、IL-12 和 IL-15 等,同时也分泌一些趋化因子。

通过这些途径产生的细胞因子,一方面激活和驱使 NK 细胞、单核细胞和吞噬细胞进入炎症局部,参与炎症反应,发挥保护作用;另一方面,这些细胞因子可启动和调节特异性免疫应答。如天然免疫中产生的 IL-12 和 IL-10,通过影响 T 细胞的生长和分化,能直接或间接调控细胞介导的免疫应答。

#### (二) 活跃在天然免疫中的几种主要细胞因子

1. I型干扰素: I型干扰素的生物学功能包括以下四方面:

(1) 抑制病毒复制: IFN 刺激细胞合成多种酶如 2'-5'寡聚腺苷酸合成酶, 干扰病毒 RNA 或 DNA 复制。这种抗病毒作用往往通过旁分泌方式, 即由感染病毒的细胞分泌 IFN, 保护邻近细胞免受感染, 使其处于抗病毒状态。

(2) 增强 NK 细胞的杀伤功能。

(3) 调节 MHC 分子表达: 一般来说, I 型 IFN 增加 MHC I 类分子表达, 抑制 II 类分子表达。所以 I 型 IFN 增强 CTL 杀伤功能, 抑制 MHC II 类分子限制的 Th 细胞的激活。

(4) 抑制细胞的增殖: 其机制可能由于产生某些酶类, 在抑制病毒复制的同时阻遏了氨基酸特别是必需氨基酸的合成。可见 I 型 IFN 能激发细胞的抗病毒状态、激活 NK 细胞的杀伤功能和增强 MHC I 类分子的表达, 这些都有助于机体清除病毒感染。临床上已用 IFN- $\alpha$  治疗某些病毒性肝炎。

2. IL-12: 激活形式的 IL-12 是 p35 和 p40 两个亚单位通过二硫键连接而成的异二聚体。很多细胞能合成 p35, 但只有激活的单核巨噬细胞才能合成 p40。IL-12 作用的靶细胞主要是 T 细胞和 NK 细胞。生物学功能包括: ①刺激 T 细胞和 NK 细胞分泌 IFN- $\gamma$ ; ②促进 CD4<sup>+</sup>T 细胞向 Th1 细胞分化, 有利于提高吞噬细胞的活性; ③增强 NK 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞的杀伤功能。可见 IL-12 是连接天然免疫和获得性免疫的一个重要的纽带, 能有效地提高机体的细胞免疫防御功能。但 IL-12 提供的是分化信号, 因而对静止细胞群体不起作用。

3. IL-15: 病毒感染、LPS 或一些启动天然免疫的信号能刺激单核巨噬细胞和某些组织细胞释放 IL-15。IL-15 的功能是促进 NK 细胞增殖。由于 IL-15 可以和低亲和力的 IL-2 受体结合, 因而也可能具有 T 细胞生长因子的作用。

4. 肿瘤坏死因子: 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)是天然免疫中的主要细胞因子。虽然抗原激活后 T 细胞、NK 细胞和肥大细胞也分泌 TNF, 但产生 TNF 的主要细胞是 LPS 激活的单核巨噬细胞, IFN- $\gamma$  能增强 TNF 的合成效率。TNF 同时参与天然免疫和获得性免疫, 是特异性免疫应答和炎症反应间的重要连接纽带。生理剂量的 TNF 主要发挥下列生物学功能:

(1) 刺激血管内皮细胞表达新的表面受体(如对粘附分子), 使白细胞相继粘附于内皮细胞表面, 开始是中性粒细胞, 随后是单核细胞和淋巴细胞。

(2) 刺激单核巨噬细胞和其他细胞分泌趋化因子, 招募白细胞至炎症部位。

(3) 激活炎症细胞杀灭病原体。其中起作用的主要是中性粒细胞, 也包括嗜酸粒细胞和单核巨噬细胞。

(4) 参与组织修复, 诱导血管和结缔组织形成。

(5) 刺激单核巨噬细胞和血管内皮细胞分泌 IL-1 和 IL-6。

其他功能还包括增加肝细胞合成血清蛋白、激活血凝系统、抑制骨髓干细胞分裂等。

5. 其他细胞因子: 其他介导天然免疫并具有代表性的细胞因子有 IL-1、IL-6、IL-10、趋化因子等。IL-1 来自激活的单核巨噬细胞和上皮与内皮细胞, 为炎症反应的介质, 参与机体的防御。IL-1 有两种形式: IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ , 由不同基因编码, 结构同源性不足 30%, 但都使用同一受体分子, 并发挥同样的生物学活性。两种 IL-1 分子皆可形成 17 000(17 kD)的多肽, 系从 33 000(33 kD)的前体分子酶解后产生。此酶称为白细胞介素 1 $\beta$  转换酶(interleukin 1 $\beta$  converting enzyme, ICE), 在 ICE 作用下, IL-1 $\beta$  成为有生物活性的形式。ICE 是一种半胱氨酸

蛋白酶,因其结构和线虫(*C. elegans*)凋亡基因产物 CED-3 结构同源,曾认为参与凋亡并命名为 caspase 1(参见第十章),但现已确定 ICE 主要介导炎症反应。

## 二 介导和调节特异性免疫

### (一) 细胞因子和特异性免疫应答

参与的细胞因子主要由 T 细胞等分泌。其中的 IL-2、IL-4 和 TGF- $\beta$ ,可通过自分泌方式调节分泌细胞的反应性,也可通过旁分泌方式作用于邻近的 T 细胞、B 细胞和其他细胞。而其他的细胞因子 IFN- $\gamma$ 、LT、IL-5 和 IL-13 主要调节效应细胞,如巨噬细胞、嗜酸粒细胞和内皮细胞的作用。因而细胞因子在 T 细胞依赖性免疫应答中起重要作用,此过程产生的细胞因子往往决定了免疫应答的性质。一个典型的例子是,T 细胞识别抗原后产生的细胞因子,决定未致敏 CD4<sup>+</sup> T 细胞成为 Th0 之后,向 Th1 细胞还是向 Th2 细胞极化,而且一旦极化为某一亚群,其产生的细胞因子又可以遏止 Th0 细胞向另一亚群极化。

Th1 细胞产生的最为重要的细胞因子是 IFN- $\gamma$ ,主要效应功能是增强吞噬细胞介导的抗感染作用。Th1 细胞也分泌 IL-2,可刺激 CD8 T 细胞增殖和分化。因而 Th1 细胞主要介导细胞免疫。Th1 细胞产生的 LT(TNF- $\alpha$ )能促进中性粒细胞激活。Th2 细胞产生的特征性细胞因子有 IL-4 和 IL-5 等,因此 Th2 细胞介导过敏反应和参与抗寄生虫感染。Th2 细胞还产生一些细胞因子如 IL-6、IL-13 和 IL-10, IL-10 能拮抗 IFN- $\gamma$  的作用,抑制巨噬细胞激活。有关 Th1 和 Th2 的分化、功能及调节请参见第二章、第八章和第十一章中有关内容。

### (二) 和特异性免疫有关的几种主要细胞因子

1. IL-2: IL-2 最早称为 T 细胞生长因子(T cell growth factor, TCGF),是引起 T 细胞增殖的主要细胞因子。IL-2 由 CD4 T 细胞(Th1)产生,CD8 T 细胞也产生少量 IL-2。IL-2 既是自分泌生长因子,也是旁分泌生长因子。IL-2 是使 T 细胞激活并进入细胞分裂的关键成分,而 T 细胞的活化又制约着整个特异性免疫应答(包括细胞免疫和体液免疫)。因而 IL-2 编码基因的转录激活和信号转导成了 T 细胞激活中的主要事件,将在第八章中作为 T 细胞活化的核心内容加以讨论。除了 T 细胞,IL-2 还刺激 NK 细胞的生长和增强它们的杀伤功能,并激发 B 细胞生长及抗体产生,但不引起类别转换。

2. IL-4: IL-4 的生理功能是调节 IgE 和肥大细胞或嗜酸粒细胞介导的免疫应答。IL-4 主要由 CD4 T 细胞(Th2)产生。事实上,能否分泌 IL-4 已作为区分 CD4 T 细胞亚群的指标之一。激活的肥大细胞和嗜碱粒细胞也能产生 IL-4。第二章中提到,外周血中有一种表达 V $\gamma$ 9 V $\delta$ 2 TCR 的  $\gamma\delta$  T 细胞亚群也可分泌 IL-4。IL-4 的生物学功能主要包括:

(1) 诱导 Th2 细胞的生长和分化。

(2) 诱导 B 细胞发生抗体类别转换产生 IgE,但抑制向 IgG2a 和 IgG3 发生类别转换。

(3) 刺激内皮细胞表达粘附分子如 VCAM-1 等,增加淋巴细胞、单核细胞、特别是嗜酸粒细胞与之结合的能力。IL-4 还刺激内皮细胞分泌 CC 家族的趋化因子如单核细胞趋化蛋白 MCP-1,其结果是局部 IL-4 浓度增高,诱导大量单核细胞和嗜酸粒细胞参与炎症反应(详后)。

(4) IL-4 是肥大细胞的生长因子并与 IL-3 协同作用,刺激肥大细胞增殖。

3. TGF- $\beta$ : 转化生长因子- $\beta$  家族有多个成员,但免疫细胞主要产生 TGF- $\beta$ 1。抗原激活的 T 细胞和 LPS 激活的单核巨噬细胞分泌具有生物学活性的 TGF- $\beta$ 1。TGF- $\beta$ 1 的作用显示



多功能性,表现为可抑制很多类型细胞的生长,刺激另一些细胞的生长;而且在不同的培养条件下,对于同一类型细胞,TGF- $\beta$ 既能表现抑制作用也能表现刺激作用。TGF- $\beta$ 能刺激胞外基质蛋白(如胶原)、基质蛋白受体(如整合素)和基质修饰酶(如基质金属蛋白酶)的合成。功能上,TGF- $\beta$ 还拮抗淋巴细胞反应,抑制淋巴细胞增殖,抑制 CTL 成熟,抑制巨噬细胞的激活,抑制促炎症反应性细胞因子的作用,并作为一种信号可关闭免疫应答及炎症反应。因而能产生 TGF- $\beta$ 的细胞(现认为属于 Th3,参见第二章)被视为抑制性细胞。据称某些肿瘤可通过分泌大量 TGF- $\beta$ 来逃避免疫系统的作用。

4. IFN- $\gamma$ :  $\gamma$ 干扰素由激活的 CD4 T 细胞、CD8 T 细胞和 NK 细胞产生。这些细胞经抗原刺激后,直接启动 IFN- $\gamma$  基因的转录激活。IL-2 和 IL-12 可增强这一转录。IFN- $\gamma$  的免疫调节作用与 I 型 IFN 不同,主要表现在以下几个方面。

(1) 激活单核巨噬细胞: IFN- $\gamma$  直接诱导参与呼吸爆发的酶合成,增强巨噬细胞杀伤吞噬小泡中的微生物,上调巨噬细胞等表面 IgG 高亲和力激活性受体 Fc $\gamma$ R1 表达。IFN- $\gamma$  又是主要的巨噬细胞活化因子(macrophage-activating factor, MAF),T 细胞通过 IFN- $\gamma$  激活巨噬细胞,使之杀伤被吞噬的微生物。

(2) 诱导和增加 MHC 分子表达: IFN- $\gamma$  通过诱导多种细胞表达 MHC I 类和 II 类分子,增强免疫应答(其机制参见第四章 MHC 基因的转录调节)。

(3) 促进 T 细胞分化: 首先是促进 Th0 向 Th1 的分化;CD8 CTL 细胞的成熟可能也部分地依赖 IFN- $\gamma$ 。

(4) IFN- $\gamma$  促进 IgG2a 和 IgG3 类别转换而抑制 IgG1 和 IgE 转类。IFN- $\gamma$  诱导产生的 IgG 亚类能与吞噬细胞和 NK 细胞上的 Fc $\gamma$ R 结合,这些 IgG 亚类分子显示很强的补体激活能力。因而 IFN- $\gamma$  促进巨噬细胞的炎症反应,抑制 IgE 依赖性嗜酸粒细胞的活性。

(5) 其他功能: IFN- $\gamma$  刺激 NK 细胞的杀伤作用,效果强于 I 型 IFN;并能激活中性粒细胞,上调它们的呼吸爆发,但效果弱于 TNF 或 LT;IFN- $\gamma$  还是血管内皮细胞的激活因子,促进 CD4 T 细胞粘附和形态改变,有利于淋巴细胞穿过血管。

5. IL-5: IL-5 由 Th2 细胞和激活的肥大细胞产生。主要功能是刺激嗜酸粒细胞生长和分化,激活成熟嗜酸粒细胞,增强其杀伤寄生虫的能力。IL-4 和 IL-5 的功能相互补充,促进 Th2 细胞介导的过敏反应,和其他细胞因子如 IL-2 和 IL-4 在刺激 B 细胞生长和分化时有协同作用,增强成熟 B 细胞合成 Ig,特别是 IgA。

### 三 刺激造血细胞生成和分化

免疫应答和炎症反应需要白细胞不断更新。天然免疫和特异性免疫应答中的一些细胞因子对骨髓祖细胞的生长和分化有较强刺激作用。

刺激骨髓祖细胞扩增和分化的细胞因子统称为集落刺激因子(colony-stimulating factor, CSF)。这一名词的由来,是由于这些细胞因子可在体外骨髓培养中刺激形成细胞集落,后者可显示特定细胞谱系(lineage)的特征。不同的 CSF 在不同的分化成熟时期作用于骨髓细胞,因而所产生的 CSF,是属于不同谱系的细胞集落。由此区分出粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)等。CSF 的作用受其他细胞因子调控。如 TNF、IFN- $\gamma$  和 TGF- $\beta$  抑制骨髓祖细胞的生长;相反,IL-1 和 IL-6 则增强 CSF 的作用。

IL-3 也称多系集落刺激因子, Th1 细胞和 Th2 细胞都能产生 IL-3。IL-3 能促进不成熟的骨髓祖细胞扩增, 并分化为各系成熟细胞。IL-3 促进骨髓祖细胞生长分化为肥大细胞, 是嗜碱粒细胞的激活因子, 并在过敏性炎症反应后期促进它们进入炎症部位。

IL-7 是骨髓基质细胞产生的细胞因子, 促使造血祖细胞向 B 细胞和 T 细胞分化。IL-7 的另一个重要作用是刺激胸腺内未成熟单阳性 CD4 T 细胞和 CD8 T 细胞的生长与成熟。

### 第三节 细胞因子受体

细胞因子发挥生物学功能需先与靶细胞上特异性受体相结合。细胞因子所能显示的作用范围和生物学效应, 取决于细胞表面细胞因子受体的表达和相应细胞的分布。

#### 一 细胞因子受体的结构

##### (一) 细胞因子受体的共同特点

结构上, 细胞因子受体分子由胞外区、跨膜区和胞内区三部分构成。多数受体分子的胞外区含有若干功能区或不同基序组成的重复单位, 有些受体就是不同功能区或重复单位的组合。细胞因子受体往往由一条以上的多肽链结合起来共同行使功能, 其中有一条多肽链负责与细胞因子结合, 称为结合链; 其他多肽链用于传递信号。细胞因子受体的  $\alpha$  链往往是显示特异性的结合链, 但  $\beta$  链(信号转导链)结构变化较小, 它们是一些细胞因子有相似生物学活性的结构基础。

各种细胞因子受体的结构差异很大, 根据胞外区的类型将细胞因子受体分为不同的家族。同一家族成员的氨基酸序列相似程度从 15% 到大于 50% 不等。细胞因子受体的胞外区主要由 3 种不同类型的功能区组成。①细胞因子(Ck)型功能区: 含有 Cys-x-Trp 基序和另外 3 个保守的半胱氨酸残基; ② III 型纤连蛋白(FNIII)型功能区: 含有 Trp-Ser-x-Trp-Ser(WSXWS)的保守序列, 是结合配体和信号转导的基础; ③免疫球蛋白 C2 型样(Ig 样)功能区。每一个功能区大约有 100 个氨基酸残基。Ck 和 FNIII 功能区与 Ig 样功能区的空间结构相似。

##### (二) 几种重要的细胞因子受体家族

1. 细胞因子受体家族: 细胞因子受体家族(cytokine receptor family, CkR-F)又称 I 型细胞因子受体家族或造血因子受体家族, 是造血因子家族细胞因子的受体(表 5-1), 属于最大的细胞因子受体家族。该家族受体分子的胞外区有 Ck 功能区、FNIII 功能区和/或 Ig 样功能区。受体包括 1~3 条糖基化多肽链, 分属两种类型: 结合链(低亲和力结合)和信号转导链(表 5-2)。上面提到转导链不具细胞因子特异性, 能向胞内传递信号, 而且该链和结合链同时出现可构成高亲和力受体, 为结合细胞因子所必需。

在这个家族中, 几种不同的  $\alpha$  链(结合链)可以启用结构相同的信号转导链。表 5-2 列出了分别和  $\alpha$  链结合的 3 种转导链, 包括  $\beta$  链 KH97、gp130 和  $\gamma$  链。以 IL-2R 为例, 这是由三条多肽链结合在一起的复合体, 其中 IL-2R $\alpha$  链属低亲和力结合链, 由两个 Ig 样结构域组成(因而属于下面要提到的免疫球蛋白受体家族), 胞内段很短, 不能传递信号, 需经诱导后才能表达在激活的 T 细胞表面。属于组成性表达的 IL-2R $\beta$  和  $\gamma$  链为 CkR-F 成员, 胞膜外区各有一个 Ck 结构域和 FNIII 结构域(图 5-3A)。3 链共同构成高亲和力的 IL-2R, 由  $\beta$  链和  $\gamma$

表 5-2 细胞因子受体家族中不同结合链和转导链的组合

转 导 链	结 合 链
β 链 KH97	IL-3R、IL-5R、GM-CSFR
β 链 gp130	IL-6R、IL-11R、LIFR、OSMR、CNTFR
γ 链	IL-2R、IL-4R、IL-7R、IL-9R、IL-15R

链参与信号转导。IL-4R、IL-7R、IL-9R 和 IL-15R 的 γ 链结构和功能相似。

2. 干扰素受体家族：干扰素受体家族(IFNR-F)也称 II 型细胞因子受体家族,包括 IFN-αBR、IFN-α/βR、IFN-γR 和 IL-10R。该家族受体分子的胞膜外区含有 2~4 个 FNIII 功能区(图 5-3B)。IFN-αBR 只能结合 IFN-α 的 IFN-α8,IFN-α/βR 能结合 IFN-α 和 IFN-β。这两种受体至少含有 1 条多肽链,人类 IFN-α/βR 是 1 个二硫键连接的同源二聚体。有生物学活性的 IFN-γR 至少含有 α 和 β 链两条多肽链,每条链含有两个 FNIII 功能区。

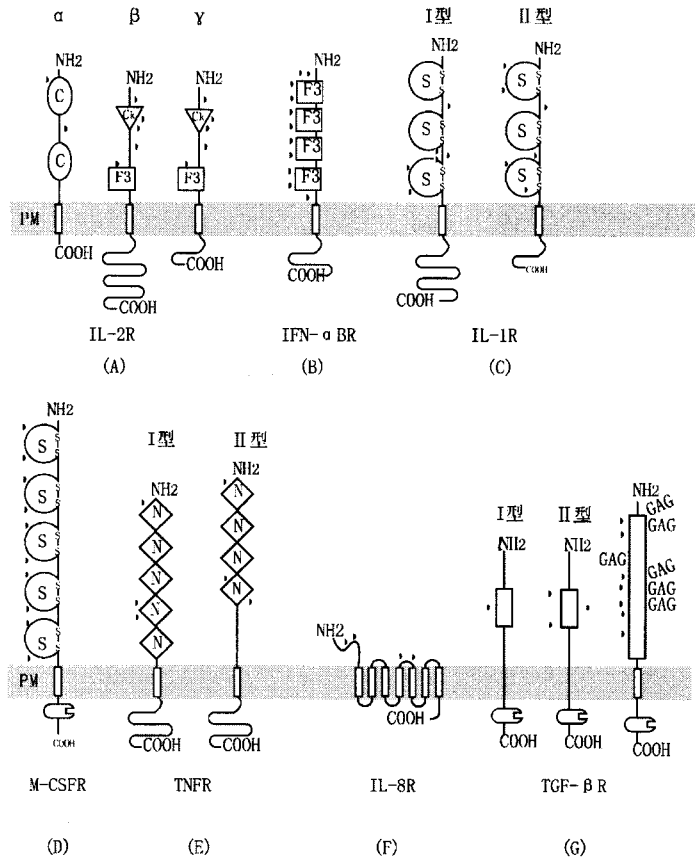


图 5-3 细胞因子受体超家族结构图

(A) 细胞因子受体超家族;(B) 干扰素受体家族;(C) 免疫球蛋白受体超家族;(D) 蛋白酪氨酸激酶受体超家族;(E) 肿瘤坏死因子受体超家族;(F) 7 次跨膜受体超家族;(G) 转化生长因子 β 受体家族。PM: 浆膜;F3: 纤维粘连素 III 型功能区;S: s(C<sub>2</sub>)型 Ig 样功能区;N: 神经生长因子受体功能区;GAG: glycosaminoglycan;C: 补体控制蛋白;Ck: 细胞因子功能区;L<sub>2</sub>: 亮氨酸拉链;V: V 型 Ig 样功能区

3. 免疫球蛋白受体家族：免疫球蛋白受体家族(IgR-F)分子的胞外区由免疫球蛋白样功能区或与其他功能区共同组成。前者包括 IL-1R(图 5-3C)、M-CSFR、SCFR、IL-16R；后者包括 IL-6Rα 链和 β 链、LIFR 的 α 链和 β 链、IL-3Rα 链、IL-5Rα 链、IL-7Rα 链和 GM-CSFRα 链，每条多肽链含有免疫球蛋白样功能区 and Ck 功能区及 FNIII 功能区。

4. 蛋白酪氨酸激酶受体家族：蛋白酪氨酸激酶受体家族(protein tyrosine kinase receptor family, PTKR-F)的特点是在多肽链的胞内区有酪氨酸蛋白激酶功能区。有一些受体按胞外区分类属于 Ig-F,但按胞内区分类属于 PTKR-F,如 M-CSFR、SCFR、VEGFR、FGFR 和 EGFR(图 5-3D)。

5. 肿瘤坏死因子受体家族：肿瘤坏死因子受体家族(tumor necrosis factor receptor family, TNFR-F)包括 TNFR、CD27、CD30、CD40、CD95、OX-40 和 4-1BB 等。TNFR 有 TNFR-I 型和 TNFR-II 型。前者也称 p55 或 CD120a,后者也称 p75 或 CD120b。两者都是单链受体，胞外区有 4 个富含半胱氨酸的重复亚单位，每个约 40 个氨基酸残基。TNFR-II 型有一段富含脯氨酸、丝氨酸和苏氨酸形成的绞链区，也是糖基化位点。两者的序列相似性低于 25%，但都能结合 TNF 和 LT。两者的胞内区不相同，显示两者选用不同的信号转导途径。大多数细胞有 TNFR-I 型，而仅在造血细胞上有 TNFR-II 型(见图 5-3E)。

6. 7 次跨膜受体家族：7 次跨膜受体家族(seven transmembrane-spanning receptor family, STSR-F)包括 IL-8R 和巨噬细胞炎症蛋白-1α 链受体(MIP-1αR)等。该受体是单链分子，有短的 N 端胞外区、长的跨膜区和短的 C 端胞内区。跨膜区较长且来回 7 次穿膜，形成 3 个短的胞外环和 3 个胞内环。膜内侧受体与 GTP 结合蛋白相连，能启动信号转导(图5-3F)。

二 细胞因子受体介导的信号转导

细胞因子与受体专一性结合后启动胞内的一系列生化反应，将胞外信号转导到胞内，引起细胞的正反应或负反应。不同受体分子通过不同的途径转导信号。

(一) 受体相关性蛋白酪氨酸激酶介导的信号途径

大部分细胞因子胞内区不带有启动信号转导的蛋白酪氨酸激酶(PTK)结构域，但可通过相应受体分子胞内区连接的 PTK 起作用。CkR-F 和 IFNR-F 的受体分子胞内区都结合有 Janus 家族的 PTK 称为 Jak1、Jak2、Jak3 和 Tyk2。细胞因子各种受体的亚单位往往连接 Jak 蛋白家族中的一个或几个特定成员(表 5-3)。如 G-CSFR 与 Jak2 连接，IL-2Rβ 链与 Jak1、IL-2Rγ 链与 Jak3 连接，IL-10R 的 α 链与 Tyk2 连接。

表 5-3 和细胞因子受体相关的蛋白酪氨酸激酶 Jak 及其激活的转录因子 Stat(举例)

Ck 受 体	结 合 的 Jak	激 活 的 Stat
IL-2R	Jak1, Jak3	Stat5
IL-4R	Jak1, Jak3	Stat6
IL-5R	Jak2	Stat1, Stat3, Stat5
IL-6R	Jak1, Jak2, Tyk2	Stat1, Stat3, Stat5
IL-10R	Jak1, Tyk2	Stat3
IL-12R	Jak2, Tyk2	Stat4
IFN-γR	Jak1, Jak2	Stat1
G-CSFR	Jak2	Stat1, Stat3, Stat5
GM-CSFR	Jak2	Stat3

细胞因子和受体结合后受体分子即发生聚合,造成与之相连的 Jak 蛋白激酶相互靠拢,彼此发生磷酸化而激活。激活的 Jak 蛋白启动多条信号转导途径。最短的也是最重要的一条途径是先使得受体分子胞内区上的酪氨酸残基(P)发生磷酸化,磷酸化的酪氨酸(pY)通过和 SH2 结构域结合,使带有 SH2 结构域的转录因子 Stat 从胞质中被招募到胞膜内侧并发生磷酸化。磷酸化的 Stat 形成二聚体,转位至核内,与细胞因子基因的调控序列结合,使基因激活。表 5-3 表明,Stat 也是一个家族,不同的 Jak 激酶激活不同的 Stat 家族成员,进而活化不同的细胞因子基因。例如 Stat5 活化 IL-2R, Stat6 活化 IL-4R。事实上,细胞因子受体借助 Jak 传递的活化信号不仅经由转录因子 Stat 启动基因转录,还可通过其他的信号转导途径参与免疫细胞的激活,有关内容将在第八章中讨论。

前面提到 IFN- $\gamma$  是一种重要的具有多功能的细胞因子,并可使许多参与特异性免疫的表面分子发生诱导性表达。这涉及 IFN- $\gamma$ R 介导的信号转导。下面再以此深入阐述细胞因子信号转导中的 Jak-Stat 通路。IFN- $\gamma$ R 相关的信号转导至少有 5 种成分参与,它们是受体分子的 IFN $\gamma$ R1( $\alpha$  链)、IFN $\gamma$ R2( $\beta$  链)、Jak1、Jak2 和 Stat1(表 5-3)。 $\alpha$  链以 266~269 位置的 LPKS 氨基酸序列与 Jak1 结合; $\beta$  链通过胞内区 263~274 一段富含脯氨酸的序列(PPSIPLQIEEYL)与 Jak2 结合。当 IFN- $\gamma$ R 与配体结合后,受体亚单位的胞内区靠近,如上所述,Jak2 和 Jak1 可因相互磷酸化而被激活。激活的 Jak 使  $\alpha$  链近 C 端 440~444 位 YDKPH 序列中的酪氨酸(Y)发生磷酸化,为 Stat1 提供了结合部位。Stat1 借助分子上的 SH2 结构域向这一发生酪氨酸磷酸化的酪氨酸残基靠拢,引起 Stat1 上 701 位的酪氨酸发生磷酸化。随后磷酸化的 Stat1 从受体分子胞内区脱落下来形成同源二聚体(各自借助 SH2 结构域识别对方分子上发生了磷酸化的酪氨酸),并转位至细胞核内,和一种称为 GAS( $\gamma$ -activating sequence)的元件结合,刺激基因的转录。

需要指出的是,IFN- $\gamma$ R 诱导的基因转录受控于一种称为干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF)的成分,并有基因转录启动子区 ISRE 元件的参与。这方面的内容可参考第四章中的图 4-5。

## (二) 细胞因子受体酪氨酸激酶介导的信号途径

一些细胞因子受体如 M-CSFR 和 SCFR 等胞质部分有具有显示 PTK 活性的功能区,直接起着受体型 PTK 的作用,可激活多条信号转导途径。这些途径的中下游部分都是共同的,可参见第八章 T 细胞活化信号转导内容。其中 PLC $\gamma$ 、Ras 蛋白、PI-3K、MAP 等都是重要的信号蛋白或激酶,最终通过转录因子启动和调控细胞因子基因的表达。

## (三) G 蛋白结合受体介导的信号途径

G 蛋白结合受体属于 7 次跨膜受体家族,主要的配体为趋化因子。此类受体与三聚体 G 蛋白连接。G 蛋白有 3 个亚单位: $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ 。 $\alpha$  和  $\gamma$  亚单位将 G 蛋白锚着于胞膜上, $\alpha$  亚单位上有 GDP 和 GTP 结合部位,G 蛋白处于静止状态时  $\alpha$  亚单位与 GDP 结合,激活状态时与 GTP 结合。受体信号转导时,先是细胞因子和受体结合引起受体分子胞内区构像改变;然后  $\alpha$  亚单位与 G 蛋白  $\beta\gamma$  二聚体分离,游离的  $G\alpha$  亚单位将结合型 GDP 快速转化为 GTP, $G\alpha$ -GTP 复合体与效应分子如酶和膜上离子通道结合,并激活效应分子;最后  $G\alpha$  亚单位通过自身 GTPase 活性水解 GTP 为 GDP, $G\alpha$ -GDP 复合体从效应分子上解离下来,与  $G\beta\gamma$  结合,G 蛋白三聚体重新回到静止状态,直到下一次激活。受 G 蛋白调控的最为重要的酶有腺苷酸环化酶和磷脂酶 C(PLC)家族成员。

## 第四节 趋化性细胞因子及其受体

趋化性细胞因子(chemokine)又叫趋化因子或趋化蛋白,专指一组小分子量 8 000 ~ 10 000(8 ~ 10 kD)的细胞因子。它们参与白细胞特别是吞噬细胞和淋巴细胞的游走和活化,在炎症反应中起核心作用。

### 一 趋化性细胞因子的结构、分类和功能

人的趋化性细胞因子约有 50 种,在一级结构上具有相似性,分子内皆由二硫键连接形成特定的三级结构。根据二硫键两端半胱氨酸的分布与连接类型,可将趋化性细胞因子分为 4 类,其中 CXC 和 CC 为两种主要类别。

#### (一) 趋化性细胞因子的结构

图 5-4 显示两类主要趋化性细胞因子的结构特点。首先,它们都是单链蛋白;其次,分子中都有 4 个半胱氨酸残基(图中以深色点表示),而且从 N 端算起,第 1、第 3 个半胱氨酸之间和第 2、第 4 个半胱氨酸之间各形成一个二硫键;第三,第 1 和第 2 个半胱氨酸的排列对两类趋化性细胞因子略有不同:左边(以巨噬细胞炎性蛋白 MIP-1 $\beta$  为代表)两者相连,右边(以黑色素瘤生长刺激素 MGSA 为代表)两者间隔开一个非半胱氨酸残基。如果用 C(cystein)代表半胱氨酸,x 代表其他氨基酸,这两种情况可分别表示为 CC 和 CxC。这正是两类趋化性细胞因子之间主要的结构差异。从结构上理解了这些特点,不难对趋化性细胞因子进行分类。

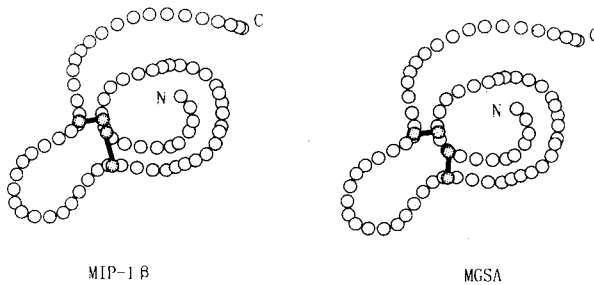


图 5-4 MIP-1 $\beta$ (CC 类)和 MGSA(CxC 类)趋化性细胞因子的二级结构示意图

注:深色点代表半胱氨酸

#### (二) 趋化性细胞因子分类

1. CxC 型:又称为  $\alpha$  趋化性细胞因子,特征为第 1 和第 2 个半胱氨酸残基之间隔有一个其他氨基酸。CxC 趋化性细胞因子由一粘蛋白茎状结构支持而表达于细胞表面。此类趋化性细胞因子的功能主要是促进中性粒细胞的游走和趋化。

人的 CxC 趋化性细胞因子构成一个亚家族,大多数成员的编码基因位于染色体 4q12-21,一般有 3 个内含子和 4 个外显子。该亚家族根据第一个半胱氨酸残基前有谷氨酸-亮氨酸-精氨酸(ELR<sup>+</sup>)和没有这 3 个氨基酸(ELR<sup>-</sup>)再分两类,功能上两者分别参与中性粒细胞和淋巴细胞的趋化作用(参见附录三)。其中 IL-8 是典型的 CxC 类趋化性细胞因子,它专门吸引中性粒细胞离开血流而游走到周围组织。IL-8 还能促进血管生成。这一作用估计与 IL-8 的 4~6 位氨基酸残基为 ELR 三联体有关,因为缺乏 ELR 结构的干扰素诱导蛋白(IP-10)和血小板因子

4(PF-4)则具有拮抗血管生成的功能(表 5-4)。另外,各种 CXC 成员还可就其来源而加以区分:有的来源于血小板  $\alpha$  颗粒,如血小板碱性蛋白、结缔组织活化肽、 $\beta$  血栓环蛋白、中性粒细胞活化蛋白 2、PF-4 等;有的为非血小板来源,包括上面提到的 IL-8 和 IP-10、干扰素诱导单核蛋白(MIG)、黑色素细胞生长刺激蛋白(MGSA/GRO)、上皮细胞来源的中性粒细胞趋化物 78、基质细胞来源的蛋白 1(SDF-1)和粒细胞趋化性细胞因子 2(GCP-2)等(参见附表)。

表 5-4 趋化性细胞因子的分类及其代表性成员

类 型	代表成员	细胞来源	染色体	受 体	趋化对象	主 要 作 用
CxC						
ELR <sup>+</sup>	IL-8	M、Fi、En、Ke	4	CXCR1,2	N、未致敏 T	动员、激活、脱颗粒、嗜中性、血管生成
ELR <sup>-</sup>	干扰素诱导蛋白 (IP-10)	Ke、M、T、Fi、En	4	CXCR3	静止 T NK、M	免疫刺激、抗血管生成 提高 Th1 活性
	基质衍生因子 (SDF-1)	基质细胞	10	CXCR4	未致敏 T、CD34 <sup>+</sup> 前 B	B 发育、淋巴细胞归巢、 抗 HIV-1 感染
CC	巨噬细胞炎性蛋白 (MIP-1 $\beta$ )	M、T、Fi、肥大细胞	17	CCR1,3,5	M、NK、T、Ba、Dc	抗 HIV1 感染、抗病毒、 提高 Th1 活性
	巨噬细胞趋化蛋白 (MCP-1)	M、Fi、Ke	17	CCR2B	M、NK、T、Ba、Dc	激活 M $\Phi$ 、促 Ba 释放 组胺、提高 Th2 活性
	嗜酸性细胞趋化蛋白 (eotaxin)	En、M、Ep、T	17	CCR3	Eo、Mo、T	参与变态反应
C	淋巴细胞趋化素 (lymphotactin)	T (CD8 > CD4)	1	?	胸腺细胞、Dc、NK	淋巴细胞迁移和发育
Cx <sub>3</sub> C	不规则趋化蛋白 (fractalkine)	M、En、小神经胶质细胞	16	CX <sub>3</sub> CR1	M、T	白细胞-上皮细胞粘附、 脑炎症反应

\* T、B、M 代表 T、B、单核/巨噬细胞;N、Eo、Ba 为中性、嗜酸、嗜碱粒细胞;Ke、Fi、En、Ep、Dc 代表角朊细胞、成纤维细胞、内皮细胞、上皮细胞和树突细胞。

2. CC 型: 又称  $\beta$  趋化性细胞因子亚家族, 结构特征为第 1 和第 2 半胱氨酸残基酸紧密相连。该亚家族的基因大多数位于人染色体 17q11-32 或小鼠第 11 染色体, 含有 2 个内含子和 3 个外显子。CC 趋化性细胞因子主要作用于单核细胞, 这和 CXC 型亚家族成员主要作用于中性粒细胞不同。CC 趋化性细胞因子还促进其他类型细胞的游走趋化, 如淋巴细胞、树突细胞、NK 细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞等。该亚家族的代表成员是单核细胞趋化蛋白 (MCP-1, 表 5-4), 功能是使单核细胞离开血流而分化成为分布于组织中的巨噬细胞。其他成员还包括巨噬细胞炎性蛋白 (MIP)、RANTES、6C 蛋白 (6 ckine)、胸腺活化调节趋化性细胞因子 (TARC)、胸腺表达的趋化性细胞因子 (TECK)、巨噬细胞来源的趋化性细胞因子 (MDC)、嗜酸性细胞趋化蛋白、LD78、ACT2 和 I-309 等。

其中有一些是新近发现的趋化性细胞因子, 它们往往对某些免疫细胞有较为专一的趋化作用。例如嗜酸性细胞趋化蛋白 (eotaxin) 是过敏性炎症中针对嗜酸粒细胞的一个主要趋化性细胞因子。该蛋白在过敏性炎症中能发挥重要作用, 除了因为这一趋化因子的表达受过敏因素的调控, 还由于嗜酸粒细胞表面大量表达 eotaxin 受体。特别引人注目的是, 近年来发现了对艾滋病毒入侵人体细胞显示抑制作用的趋化蛋白, 如上面提到的巨噬细胞炎性

蛋白(MIP-1a 和 MIP-1b)和 RANTES,它们通过结合特定的 CCR-5 受体发挥作用(详后)。另外还有一些由病毒基因编码的趋化性细胞因子,如卡波氏肉瘤疱疹病毒(KSHV)基因编码的 3 个趋化性细胞因子,其中第二个可拮抗许多趋化性细胞因子与受体的结合。这可能是某些病毒逃避宿主免疫细胞攻击的一种机制。

3. C 型: 为  $\gamma$  趋化性细胞因子,此蛋白只有两个半胱氨酸残基,形成一条二硫键。淋巴细胞趋化素(lymphotactin, Ltn)属于此类趋化性细胞因子,由胸腺细胞和活化的 CD8 T 细胞产生,可诱导 T 细胞和骨髓细胞趋化,对单核细胞无作用。SCM-1 也是 C 趋化性细胞因子,由人 T 细胞和脾脏产生,PHA 可诱导 PBMC 和 Jarkat 细胞产生 SCM-1。其基因位于人第 1 对染色体,前体含 114 个氨基酸,与 Ltn 有 60.5% 同源。

4.  $C_{X3}C$  型: 又称为  $\delta$  趋化性细胞因子,分子中第 1 个和第 2 个半胱氨酸之间隔着 3 个其他氨基酸。主要成员为不规则趋化蛋白(fractalkine)(表 5-4),亦称为神经趋化素(neurotactin)。人不规则趋化代表基因位于染色体 16q,其 cDNA 编码 397 个氨基酸残基,包括信号肽、功能区、含有 17 个粘蛋白样的重复单位、穿膜区和胞质区。该蛋白多在脾和心脏表达,在其他组织低表达,外周血细胞中不表达,炎症时,小胶质细胞、内皮细胞和成纤维细胞表达增加。此类趋化蛋白可介导单核细胞/T 细胞与其他表达该蛋白的细胞间的粘附。

### (三) 趋化性细胞因子与白细胞的游走

根据上述,可见趋化性细胞因子可以通过趋化作用在炎症部位招募各种白细胞。其中包括两个步骤。首先是把白细胞在血管内皮细胞表面的初始性滚动(rolling)转换成稳定性结合;然后,引导这些细胞向感染部位游走(migration),游走的方向是向着顺序递增的趋化性细胞因子浓度。而这一浓度梯度,又是由胞外基质表面和内皮细胞表面能结合趋化性细胞因子的粘蛋白含量所决定的。也就是说,白细胞一旦穿越内皮细胞和基底膜进入组织,它们就沿着基质所结合的递增性趋化性细胞因子浓度向炎症部位游走(详见第六章图 6-5)。

## 二 趋化性细胞因子受体

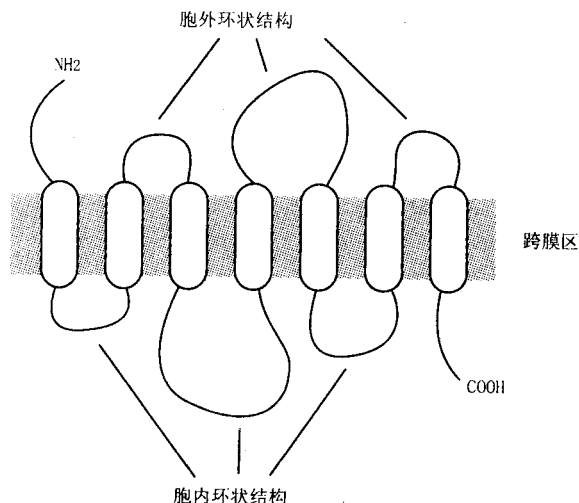


图 5-5 趋化性细胞因子受体结构模式图



趋化性细胞因子受体属 7 次跨膜受体家族(STSR-F)，含有 7 个跨膜片段,相互由长短不一的肽链环接,组成由氨基端在外羧基端在内的迂回状表面受体(图 5-5)。其信号转导取 G 蛋白结合受体介导的途径。结构上,趋化性细胞因子受体胞膜外区的氨基端决定受体特异性,胞膜外的环状结构为受体-配体结合所必需;胞内环状结构与 G 蛋白偶联,羧基端含丝氨酸/苏氨酸磷酸化部位,与 G 蛋白相互作用介导信号转导(图 5-6)。有关途径参见本章第二部分。趋化性细胞因子受体因配体的种类不同而有相应的分组,主要分为 CxCR 趋化性细胞因子受体(CxCR)和 CC 趋化性细胞因子受体(CCR)两大类(表 5-6)。此外还有来自病毒的趋化性细胞因子受体和一些功能未明的趋化性细胞因子受体相关受体。

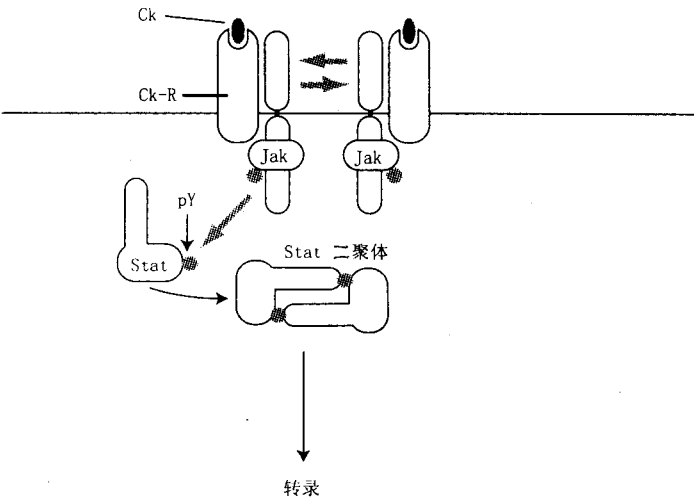


图 5-6 细胞因子受体通过 JAK-STAT 途径转导活化信息

表 5-6 两类主要的趋化性细胞因子受体、配体及其分布

受 体	配 体	组 织 分 布*
CxCR1	IL-8	N、M、T(NK)
CxCR2	IL-8, GRO, NAP-1, ENA-78	N, M, 黑素瘤细胞, T (NK)
CxCR3	IP-10, MIG	活化的 T
CxCR4	SDF-1、PHSP	N, M, PBL, HL-60
CCR1	MIP-1a, RANTES, MCP-3	M, N, T
CCR2	MCP-1, MCP-3, MCP-4	M, Ba, T
CCR3	eotaxin, RANTES, MCP-2, MCP-3, MCP-4	Eo, Ea
CCR4	MIP-1α, RANTES, MCP-1	Ba, t
CCR5	MIP-1α, MIP-1β, RANTES	M, T(CD4)
CCR6	LARC(MIP-3α, exodus-1)	脾, 淋巴结, 阑尾, 胎肝, T, B
CCR7	ELC(MIP-3β, exodus-3)	B(EBV), T(疱疹病毒 6,7)
CCR8	1-309	M, T HL-60
CCR9/10	MCP-1, MIP-1β	胎盘, 肝脏

\* T、B、M、N、Eo、Ba 分别代表 T、B 细胞,单核细胞和中性粒细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞

### (一) CxCR 趋化性细胞因子受体

共有 4 种, CxCR1 和 IL-8 结合, CxCR2 可与多种配体结合, CxCR3 表达于激活的 T 细胞, CxCR4 含 352 个氨基酸, 编码基因位于人染色体 2q21, 主要表达于单核细胞、中性粒细胞、淋巴细胞和激活的 T 细胞, 后来发现它是 HIV 感染 T 细胞的一种协同受体。

### (二) CC 趋化性细胞因子受体

CCR1 基因位于人染色体 3p21, 成熟分子共 355 个氨基酸, 配体为 MIP-1a 和 RANTES。CCR1 主要表达于单核细胞、中性粒细胞、T 细胞、B 细胞和嗜酸粒细胞, 以及肺、肝等组织, 类风湿关节炎病人的外周血和关节滑液中也检出 CCR1。CCR2 主要与 MCP-1 和 MCP-3 结合。基因转录时因拼接的不同产生 CCR2A(374 个氨基酸)和 CCR2B(360 个氨基酸)。CCR2 主要表达于单核细胞和肾、心、骨髓、肺、肝和胰等组织, 诱导单核细胞趋化。CCR3 含 355 个氨基酸, 主要表达于嗜酸粒细胞。RANTES 和 eotaxin 可结合 CCR3, 诱导嗜酸粒细胞趋化。CCR4 含 360 个氨基酸, 主要表达于嗜酸粒细胞和各种淋巴组织。其配体包括多种趋化性细胞因子。CCR5 是 CC 型趋化性细胞因子 RANTES、MIP-1a 和 MIP-1b 的受体, 而且还是人类免疫缺陷病毒(HIV-1)感染 CD4 T 细胞的辅助受体。

### (三) 趋化性细胞因子受体、HIV 感染和变态反应

现知人类免疫缺陷病毒(HIV)胞膜上的糖蛋白 gp120 在感染 CD4 T 细胞中起关键作用。gp120 和受体 CD4 分子结合时, 必须同时和辅助受体(co-receptor)结合方能进入细胞。此辅助受体中的一种主要类型是此处的 CCR5, 另一个是上面提到的 CxCR4。因而有先天性 CCR5 结构缺损的人, 对于 HIV-1 感染具有相当的抵抗力。对这些人的淋巴细胞和巨噬细胞进行培养, 证实这些细胞不受 HIV 感染, 且能分泌高水平的 RANTES、MIP-1 $\alpha$  和 MIP-1 $\beta$ 。而且, 实验证明趋化性细胞因子 RANTES、MIP-1 $\alpha$  和 MIP-1 $\beta$  能竞争性结合 CCR5, 起着阻断 HIV-1 感染的作用。现已确认这些对 HIV 有抵抗能力的少数个体是 CCR5 编码基因一种突变等位基因的纯合子, 该等位基因在编码区有一个 32 bp 的缺失, 由此表达出一个无功能的 CCR5 变异体, 就是说, HIV 不能有效地利用这一辅助受体, 使感染失效。经调查, 这一突变的等位基因在白种人中的频率相当高, 达到 9%, 幸运地使一部分人成为获得性免疫缺陷综合征(艾滋病)的抵抗者(或部分抵抗者)。趋化性细胞因子受体参与 HIV 感染这一事实说明两个问题: 一是细胞因子(包括趋化因子)受体能否正常地表达, 不是一件可有可无的事, 有时甚至可决定一个个体是否会感染致命性的疾病; 第二, 是否能有效地和受体结合, 是趋化性细胞因子发挥作用的关键。

还有一个例子是关于过敏性疾病。近来有资料表明, Th1/Tc1 和 Th2/Tc2 亚群分别表达 CxCR3 和 CCR3/4, 因而可吸引不同的趋化性细胞因子, 前者包括 IFN 诱导蛋白(IP-10)、IFN 诱导性 T 细胞趋化蛋白(ITAC),  $\gamma$  干扰素诱生单核因子(MIG); 而后者包括嗜酸性细胞趋化蛋白(eotaxin)等(表 5-6)。现知细胞因子 IL-4 促进 Th2 分化, 第九章中还将提到 IL-4 能促进 IgE 类别转换, 而且 IL-4(以及 IL-13)还可诱导多种细胞包括单核细胞和树突细胞产生趋化性细胞因子。结果是, 这些趋化性细胞因子受体可专一性地吸引表达 CCR3 和 CCR4 的 Th2/Tc2 细胞, 以及表达 CCR3 以及 IgE 受体的嗜碱粒细胞与肥大细胞。这样, 细胞因子、趋化蛋白受体、抗体(IgE)和 T 细胞亚群(Th2)几种参与免疫应答的不同要素就结合在一起, 既涉及天然免疫又有获得性免疫, 各要素相互协调互相促进, 共同参与和调节机体的免疫应答以及相应的病理性反应。

## 第五节 细胞因子及其受体在疾病治疗中的意义

随着分子生物学和免疫学技术的发展,生产高纯度高活性的基因工程产品已成为可能,已有越来越多的细胞因子及其受体相关制剂用于临床治疗,并显示广阔的应用前景。

### 一 在器官移植、自身免疫病和过敏反应方面的应用

各种与细胞因子相关的方法和制剂已开始用来延长移植物的生存时间。例如:①用缺少跨膜区和胞内区的可溶性 IL-1R 的基因工程蛋白来阻断同种异体抗原激活 Th 细胞的反应,结果能延长移植心脏的生存时间。用保持结合能力而丧失生物学活性的 IL-2 突变体产品也获得相似的结果。②用抗高亲和力 IL-2R $\alpha$  链的抗体(抗 TAC)能封阻激活的 Th 细胞增殖和 T<sub>C</sub> 细胞的激活。给心脏移植的大鼠注射抗-TAC 抗体能延长移植物的生存时间。③用交联各种毒素的细胞因子也能延长移植的心脏或肾脏的生存时间。如交连白喉毒素的  $\beta$  链的 IL-2 能选择性结合并杀伤激活的 Th 细胞。在治疗自身免疫病的实验中,以上方法能抑制过高的自身反应性免疫应答。④IFN- $\gamma$  和抗 IL-4 抗体能选择性降低 IgE 产生,从而抑制过敏反应。

### 二 在免疫缺陷病和肿瘤治疗方面的应用

对免疫缺陷病、病毒感染和肿瘤患者,需要增强机体的免疫力。已获批准用于临床治疗的细胞因子种类越来越多。如用肝炎疫苗和 IFN 合用治疗病毒性肝炎。体外激活免疫效应细胞,再与细胞因子一同输注。其中重组的 IL-2、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  等细胞因子已成功地用于临床治疗。高剂量 IL-2 可激活 NK 细胞和 T 细胞,产生具有抗肿瘤活性的 LAK 细胞和 TIL 细胞,治疗时同时加用细胞因子,在临床肿瘤治疗中有一定的疗效。另外,肿瘤化疗或骨髓移植后,可用集落刺激因子治疗白细胞减少。

### 本章提要

细胞因子是一类可溶性的蛋白质,由多种细胞产生并能作用于多种不同免疫细胞和造血细胞。细胞因子的作用有多功能性和通用性,之间可相互协同或拮抗。细胞因子往往通过细胞因子网络和细胞网络发挥作用。

细胞因子主要包括四个部分:造血因子家族、干扰素家族、趋化因子家族和肿瘤坏死因子家族等。功能上分别参与天然免疫(涉及抗病毒因子、炎性因子和调节因子)、特异性免疫和造血细胞的生长分化。趋化性细胞因子作为一种小分子量的细胞因子,在炎症反应中发挥重要作用。

细胞因子选择性地和相应的受体结合,并通过共同性转导链传递激活信号。细胞因子受体因结构功能不同而分为细胞因子受体家族、干扰素受体家族、Ig 受体家族、蛋白酪氨酸激酶受体家族、肿瘤坏死因子受体家族和 7 次跨膜受体家族等,并启用下列信号转导途径:细胞因子受体的信号途径、酪氨酸蛋白激酶启动的受体信号途径和 G 蛋白结合受体介导的信号途径。

趋化性细胞因子受体参与 HIV 对 CD4 T 细胞的感染。细胞因子可用于抗肿瘤治疗,增

强免疫缺陷病和病毒感染等患者的免疫功能,并可下调自身免疫反应、移植物排斥反应和过敏反应。

(张笑人 张冬青)

### 参考文献

- [ 1 ] 叶德全. 白细胞趋化因子及其受体. 上海免疫学杂志, 1998, 18: 3
- [ 2 ] Lefkovits I, Immunology Methods Manual, The Comprehensive Sourcebook of Techniques, Academic Press, San Diego, 1998, 426
- [ 3 ] Stark GR, Kerr IM, Williamms BRG, et al. How cells respond to interferons. Annu Rev Biochem, 1998, 67: 227
- [ 4 ] Deng H-K(邓宏魁), Liu R, Ellmeier W, et al. Identification of the major co-receptor for primary isolates of HIV-1. Nature, 1996, 381: 661
- [ 5 ] Mantavani A. The chemokine system: redundancy for robust outputs. Immunol Today, 1999, 20: 254

## 第六章 白细胞分化抗原和粘附分子

免疫细胞间的相互作用包括直接接触和释放细胞因子或其他介质。其相互识别的物质基础是细胞膜分子,包括多种表面抗原、受体等,主要有 T 细胞和 B 细胞抗原受体、MHC 分子、分化抗原、粘附分子、细胞因子受体、免疫球蛋白 Fc 受体、补体受体以及其他受体和分子。

白细胞分化抗原是白细胞分化成熟为不同谱系(lineage)后,以及处于不同分化阶段和活化过程中,出现或消失的细胞表面标记。白细胞分化抗原除表达在白细胞外,还表达在不同分化阶段的红系和巨核细胞/血小板谱系,并广泛分布于非造血细胞如血管内皮细胞、成纤维细胞、上皮细胞、神经内分泌细胞等。应用聚类分析,可将来自不同实验室单克隆抗体识别的同一种分化抗原归为一个分化群。分化群简称 CD(cluster of differentiation),人的 CD 已从 CD1 命名至 CD166(参见附录一),大致划分为 T 细胞、B 细胞、髓样细胞、NK 细胞、血小板、粘附分子、内皮细胞、细胞因子受体和非谱系等 9 个组。

细胞粘附分子(CAM)是指由细胞产生、介导细胞与细胞间或细胞与基质间相互接触和结合的分子。粘附分子大多为糖蛋白,分布于细胞表面。粘附分子以配体-受体相结合的形式发挥作用,导致细胞与细胞间、细胞与基质间或细胞-基质-细胞之间的粘附,参与细胞的信号转导与活化、细胞的伸展和移动、细胞的生长及分化。因而粘附分子在炎症、血栓形成、肿瘤转移、创伤愈合等重要生理和病理过程中发挥重要作用。目前克隆成功的粘附分子基因有近百种,形成一个庞大的粘附分子大家族。粘附分子已被单独列为一组 CD 抗原,其中相当多成员已有 CD 的编号。为了便于叙述,本章仍分别介绍白细胞分化抗原、细胞粘附分子的概念,及某些重要分子的结构和功能。

### 第一节 白细胞分化抗原和粘附分子的结构

#### 一 整膜蛋白的分型

白细胞分化抗原和粘附分子属于整膜蛋白。整膜蛋白(integral membrane protein)作为膜结合蛋白,需有全部或部分分子与细胞膜脂双层的疏水核心部分相连,只有经去污剂处理才能使其脱离细胞膜。大部分整膜蛋白为跨膜蛋白(transmembrane protein),该蛋白能穿越脂双层并有结构域向膜两侧伸展。根据 Singer 分类法,整膜蛋白有以下 6 种类型:

I 型:一次跨膜,多肽链的 N 端在胞膜外,C 端在胞内。如免疫球蛋白超家族(IgSF)成员。

II 型:一次跨膜,多肽链的 C 端在胞膜外,N 端在胞内。如肿瘤坏死因子超家族成员分子。

III 型:一条多肽链多次跨膜,跨膜次数有 2、3、4、5、6 或 7 次等,其中 4 次跨膜超家族

(TM4-SF)和7次跨膜受体超家族(STM-SF)分子较为常见。

IV型:由多个跨膜亚单位组成。

V型:多肽链以糖基磷脂酰肌醇(GPI)连接于细胞膜的脂质双层中,如 GPI 连接的 CD16、CD55 和 CD58 等。

VI型:一条多肽链的一端以 GPI 形式连接于胞质膜,另一端是一次或多次跨膜,如膜桥蛋白(ponticulin)。

## 二 白细胞分化抗原和粘附分子的基本结构

### (一) 胞膜外区结构

白细胞分化抗原和粘附分子胞膜外区往往由不同的结构域组成,结构域相同的一类分子可构成超家族(superfamily, SF)。

1. 免疫球蛋白结构域和免疫球蛋白超家族:在白细胞分化抗原中,具有免疫球蛋白超家族(IgSF)结构域的分子占 1/3。IgSF 结构域约由 90 ~ 110 个氨基酸残基组成,可分为 V 样、C1 和 C2 结构域。

2. III型纤连蛋白结构域:III型纤连蛋白(fibronectin type III, Fn3)结构域约由 100 个氨基酸残基组成, $\beta$ 片层的折叠与 IgSF 和细胞因子受体结构域相似,但在序列上并无明显同源性。Fn3 通常有一个 WSxWS 基序。

3. 细胞因子受体结构域:细胞因子受体结构域由 100 个左右氨基酸残基组成,常与 Fn3 结构域相连,其 $\beta$ 折叠同 Fn3 和 IgSF C2 结构域的折叠相似。

4. 整合素家族:整合素(integrin)家族成员是由 $\alpha$ 、 $\beta$ 两条链组成的异源二聚体,某些 $\alpha$ 链中有一个插入序列,或称 I 结构域。

5. C型凝集素结构域:C型凝集素结构域常以二聚体形式(如 CD69、CD72、CD94/NKG2、CD161)或三聚体形式(CD23)存在;在 selectin 分子中,C型凝集素结构域与 EGF 和 CCP 结构域相连。

6. 补体调节蛋白结构域:补体调节蛋白(complement control protein, CCP)结构域又称短共有重复序列(short consensus repeat, SCR),约由 60 个氨基酸残基组成。CCP 结构域数目在不同分子中相差悬殊,如在 L-selectin 分子胞膜外区中只有 2 个,在 CD35(CR1)中有 30 个。

7. 表皮生长因子结构域:表皮生长因子(EGF)结构域约由 40 个氨基酸残基组成,EGF 结构域常与其他结构域相连,如在 selectin 分子中,EGF 结构域是在 C 型凝集素结构域和 CCP 结构域之间。

8. 肿瘤坏死因子超家族:肿瘤坏死因子超家族(TNFSF)为 II 型膜分子,约由 40 个氨基酸残基组成,经蛋白酶水解脱落可形成可溶性、具有生物活性的分子,如 TNF、LT 和 FasL。这个家族大多数成员的分子可形成三聚体,同 3 个相应膜受体结合。

9. 肿瘤坏死因子受体超家族:肿瘤坏死因子受体超家族(TNFRSF)结构域由 40 个左右氨基酸残基组成,富含半胱氨酸。TNFRSF 大多成员胞膜外区含有 3 个或 4 个 TNFRSF 结构域。

其他还包括富含半胱氨酸清除剂受体(SRCR)结构域、富含亮氨酸重复序列(LRR)和 Link 结构域等。

## (二) 跨膜区结构

白细胞分化抗原和粘附分子中以 I 型整膜分子居多, II 型也较为常见, III 型分子中跨膜次数有二、三、四、五和七次等, V 型分子占 8% 左右。

1. 二次跨膜分子: CD36 分子的 N 端和 C 端都位于胞质区, 均较短, 胞膜外区形成一个环, 且高度糖基化。

2. 三次跨膜分子: 成熟的 CD39 分子有三个疏水区域, 推测是三个跨膜区, 但其确切的结构尚不清楚。

3. 四次跨膜分子: 组成四次跨膜超家族(TM4-SF), 又称 tetraspan 超家族, TM4 分子的 N 端和 C 端都位于胞质区, 胞膜外形成两个环, 其中第二个环在 TM4-SF 不同分子中长短不一, 并有糖基化部位。不同种属间 TM4 分子有较高同源性。TM4 分子(如 CD81)常与其他膜分子形成复合物(详后), 介导多种生物学功能。CD20、Fc $\epsilon$ RI $\beta$  和 HTm4 亦为 TM4 分子, 但与 TM4 SF 其他成员在序列上无同源性, 它们单独组成了 Fc $\epsilon$ RI $\beta$ /CD20 超家族。

4. 五次跨膜分子: CD47 为五次跨膜分子, 又称整合素相关蛋白, 胞膜外区 N 端有一个 IgSF V 样结构域。

5. 七次跨膜分子: 七次跨膜分子组成七次跨膜超家族(seven-transmembrane superfamily, STM-SF), 又称 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor)超家族。STM-SF 分子的跨膜区序列有很高的保守性, 但 N 端、C 端和胞内第三环差别较大, 大部分 STM-SF 分子同 G 蛋白偶联, 胞内第三环是与 G 蛋白结合的位置, 不同分子可结合不同的 G 蛋白。趋化性细胞因子受体 IL-8R、C5aR 以及 CD97 分子属 STM-SF。

6. GPI 连接膜分子: 糖基磷脂酰肌醇(GPI)骨架上的乙醇胺通过酰胺键可连接多肽的羧基端, 使蛋白分子定位于细胞膜。此连接可被磷脂酰肌醇磷脂酶 C(PI-PLC)所切断, 使蛋白分子从细胞表面释放出来。一般认为, GPI 连接膜分子要比一般跨膜分子有更大的活动度, 可能有利于同配体更快结合, 并增强粘附强度。有的 GPI 连接分子是 mRNA 不同剪接后的翻译产物, 可同时有跨膜形式的分子, 如 CD16、CD58 等。GPI 连接分子的胞膜外区结构大多为 IgSF。

## (三) 胞质区结构

多数白细胞分化抗原和粘附分子胞质区参与信号转导, 或同某些胞质蛋白和细胞骨架蛋白相连, 因此胞质区存在着与此功能相适应的结构域或基序。

1. 蛋白酪氨酸激酶结构域: 蛋白酪氨酸激酶(PTK)有非受体型和受体型两类, 受体型酪氨酸激酶是某些跨膜分子胞质区固有的结构, 当配体与受体结合后, 受体发生二聚化或寡聚化, 胞质区 PTK 随即活化。含有受体型 PTK 结构域的膜分子多为生长因子受体。

2. 蛋白酪氨酸磷酸酶结构域: 蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)结构域约由 250 个氨基酸残基组成, CD45 是最早发现有 PTP 的膜分子, 胞质区有 2 个 PTP 结构域。

3. 死亡结构域: 死亡结构域(DD)约由 80 个氨基酸残基组成, 介导凋亡信号的传递。TNFRI 和 Fas 等分子的胞质区皆有 DD, 组成死亡受体家族。

4. ITAM/ITIM 基序: 它们各自具有特定的氨基酸序列, 是免疫受体(immunoreceptor)传递活化性信号或抑制性信号的分子基础(详见第十章)。

## 第二节 白细胞分化抗原及其功能

### 一 主要的 CD 分子

CD 分子编号已从 CD1 ~ CD166, 分为 9 组, 参与功能也十分广泛。本节仅介绍最为常见的与 T 细胞和 B 细胞识别、粘附、活化有关的 CD 分子, 以及有 CD 编号的免疫球蛋白 Fc 段受体。

#### (一) 与 T 细胞识别、粘附、活化有关的 CD 分子

1. CD3: CD3 分子由  $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$  和  $\zeta$  4 种链或  $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\zeta$  和  $\eta$  5 种链组成, 80% ~ 90%  $\alpha\beta$ T 细胞是以 TCR  $\alpha\beta$ /CD3 $\gamma\epsilon\delta\zeta$  形式存在, 还有 10% ~ 20% T 细胞则以 TCR  $\alpha\beta$ /CD3 $\gamma\epsilon\delta\zeta\eta$  形式表达。①CD3 $\gamma$ 、 $\delta$  和  $\epsilon$  链均属 IgSF 成员, 胞膜外区有 1 个高度同源的 C2 样结构域。CD3 $\gamma$ 、 $\delta$  和  $\epsilon$  链跨膜区通过带负电的谷氨酸或天冬氨酸与 TCR  $\alpha\beta$  或 TCR  $\gamma\delta$  链跨膜区带正电赖氨酸或精氨酸形成盐桥, 使之稳定形成 TCR/CD3 复合物, 胞质区各有一个 ITAM (图 6-1)。②CD3 $\zeta$  和  $\eta$  链结构相似, 与 CD3  $\gamma$ 、 $\delta$  和  $\epsilon$  链无同源性, 胞膜外区通过二硫键组成  $\zeta\zeta$  同源二聚体或  $\zeta\eta$  异源二聚体, 跨膜区都有 1 个带负电的天冬氨酸。 $\zeta$  链和  $\eta$  链胞质区分别有 3 个和 2 个 ITAM 基序。CD3 分子分布于 T 细胞和胸腺细胞。CD3  $\zeta$  链可表达于部分 NK 细胞。CD3 与 TCR  $\alpha\beta$  或  $\gamma\delta$  组成 TCR/CD3 复合体, CD3  $\zeta$  链胞质区磷酸化的 ITAM 可通过和 SH2 结构域结合, 招募 ZAP-70 等信号分子, 传递 TCR/CD3 途径的信号。详见第七章。

2. CD4: CD4 为单链跨膜糖蛋白, 胞膜外区共有 4 个 IgSF 结构域, 其中 D1、D3 为 V 样区, D2、D4 为 C2 样区 (图 6-1)。胞质区 3 个丝氨酸残基 (Ser 408、Ser 415 和 Ser 431) 可能是蛋白激酶 PKC 底物。CD4 分子胞质区 CxCP 基序是与 PTK p56<sup>lck</sup> 结合的部位。小鼠 CD4 分子常称为 L3T4。在外周血和外周淋巴器官中, CD4<sup>+</sup> T 细胞为辅助性 T 细胞, 包括 Th1 和 Th2 亚群等。在胸腺中, CD4<sup>+</sup> 细胞包括 CD4<sup>+</sup> 单阳性细胞 (Th) 以及 CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> 双阳性的不成熟 T

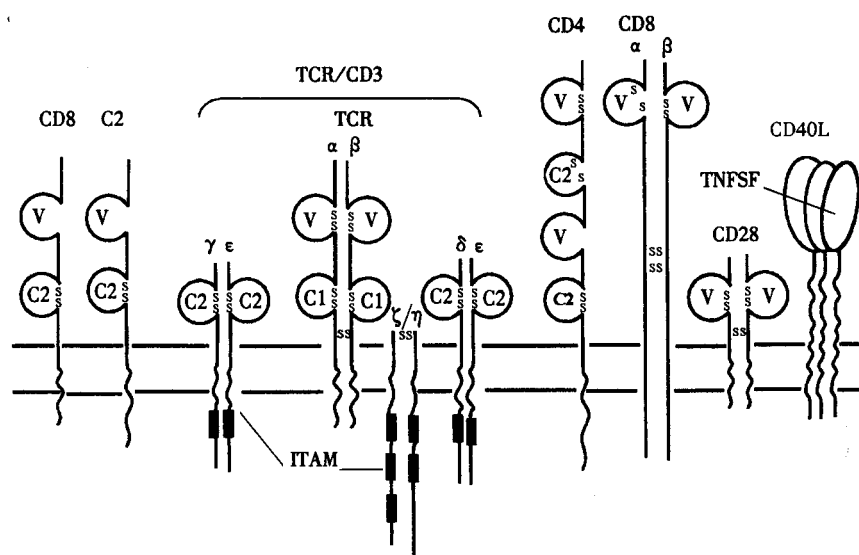


图 6-1 与 T 细胞识别、粘附和活化有关 CD 分子的结构



细胞。此外,CD4还表达于某些B细胞、EBV转化的B细胞、脑细胞等,在人和大鼠CD4还表达于单核细胞。CD4分子是MHCII类限制性T细胞识别抗原的辅助受体(co-receptor),通过胞膜外第一、第二个结构域与MHCII类分子的非多态区结合,通过胞质区CxCp基序与p56<sup>lck</sup>相结合,参与信号转导。

3. CD8: CD8分子是由 $\alpha$ 、 $\beta$ 链借二硫键连接的异源二聚体。 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链胞膜外区结构均属IgSF,各有一个V样区。V样区与胞膜间是富含脯氨基、丝氨酸和苏氨酸的铰链区或称连接肽(图6-1)。有时CD8分子由 $\alpha/\alpha$ 组成同源二聚体。小鼠CD8分子 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链分别称为Lyt-2和Lyt-3。CD8分子分布于部分T细胞和胸腺细胞。CD8<sup>+</sup>T细胞是细胞毒性T细胞(CTL)。在胸腺中CD8单阳性细胞为成熟T细胞亚群,CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>双阳性细胞是不成熟的T细胞。CD8 $\alpha/\alpha$ 形式的分子可表达于 $\alpha\beta$ T和 $\gamma\delta$ T以及部分NK细胞。通过mRNA的不同剪接机制,血清中存在着可溶性CD8 $\alpha$ 或 $\beta$ 链(sCD8)。CD8分子是MHCI类限制性T细胞识别抗原的辅助受体,该分子通过 $\alpha$ 链V样区与MHCI类分子重链非多态的 $\alpha 3$ 结合,不仅可稳定CTL对靶细胞的识别或与APC的结合,而且在CD8阳性细胞的胸腺选择中也起着重要作用。 $\alpha$ 链胞质区CxCp与PTK p56<sup>lck</sup>相连,参与T细胞活化信号传递。

4. CD2: CD2又称淋巴细胞功能相关抗原2(LFA-2)。CD2家族还包括CD48、CD58、2B4、Ly-9以及CD150等分子。CD2分子胞膜外N端有1个IgSF V样区,近膜区有1个C2样区(图6-1),胞质区富含碱性氨基酸和脯氨酸。CD2分子表达于胸腺细胞、T细胞和NK细胞。人CD2分子以其V样结构域和配体CD58(LFA-3)结合。CD2同配体的相互识别具有进化上的保守性和交叉反应性,如人CD2可与羊红细胞CD58结合,因此,人T细胞和NK细胞与羊红细胞一起孵育,可形成羊红细胞花环。CD2分子胞质区两个富含脯氨酸的区域是与Lck激酶分子SH3结构域结合的部位。CD2与配体结合以及CD2分子所介导的信号转导,不仅增强T细胞与APC或靶细胞之间的粘附,并促进T细胞对抗原的识别和激活。CD2阳性胸腺细胞可与LFA-3阳性的胸腺上皮细胞结合,可能为早期胸腺细胞的活化和分化提供信号。

5. CD58: CD58分子又称淋巴细胞功能相关抗原3(LFA-3),既是CD2的配体又属CD2家族成员,因而胞膜外区各有一个IgSF的V样区和C2样区(图6-1)。CD58分子有跨膜以及GPI连接两种形式。其分布较为广泛,包括T细胞、B细胞、单核细胞、树突细胞、中性粒细胞、血小板和红细胞。在非造血细胞中如上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞也表达CD58。表达CD58的APC或靶细胞可与表达CD2分子T细胞相互粘附,有利于TCR识别抗原并参与T细胞信号的传导。缺乏CD58表达的肿瘤细胞可抵抗CTL的杀伤而逃逸机体的免疫监视。

6. CD28: CD28分子由两条44 000(44 kD)多肽链通过二硫键组成同源二聚体,胞膜外区有1个IgSF的V样区(图6-1)。在外周血淋巴细胞中,CD28<sup>+</sup>细胞占54%~86%,包括几乎所有的CD4<sup>+</sup>T细胞和约50%的CD8<sup>+</sup>T细胞。此外,浆细胞和部分活化B细胞也可表达CD28。CD28分子的配体是B7家族,包括B7-1(CD80)和B7-2(CD86)。CD28分子V样区中高度保守的MYPPPY基序是与B7分子结合的部位。CD28分子的胞质区带有ITAM,参与传递T细胞活化的第二信号(参见第七章)。

7. CTLA-4: CTLA-4为细胞毒性T细胞相关分子,又称CD152,为同源二聚体,胞膜外区也有1个IgSF的V样区(图6-1)。CD152分子结构保守,人和小鼠的胞质区完全相同。

CD152 与 CD28 分子有 31% 同源性, 因此被统称为 CD28 家族分子。CD152 不表达于静止 T 细胞, T 细胞活化 24 小时 CD152 表达达到高峰, 但表达水平明显低于 CD28。CD152 也能以 V 样区高度保守的 MYPPPY 基序与 B7-1/B7-2 结合。已采用 CTLA-4/Ig 融合蛋白来封闭 B7-1 和 B7-2 提供的协同刺激信号阻止 T 细胞活化。CD152 分子胞质区带有 ITIM, 可通过和 SH2 结构域的结合招募蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP-2, 传递抑制信号, 对 T 细胞活化发挥负调节作用(参见第十章)。

8. CD40L: CD40L 即 CD154 分子, 属于 TNF 超家族成员, 为 II 型膜蛋白。人 CD154 主要表达在活化的 CD4<sup>+</sup> T 细胞以及部分 CD8<sup>+</sup> T 细胞和  $\gamma\delta$  T 细胞。此外, CD154 还表达于活化的嗜碱粒细胞、肥大细胞、NK 细胞、某些单核细胞以及活化 B 细胞。静止淋巴细胞不表达 CD154。CD154 往往以三聚体形式结合三聚体的 CD40 分子(TNFR 超家族成员)发挥生物学作用(图 6-1), 即传递 B 细胞活化的第二信号(参见第八章)。缺少第二信号, B 细胞不能充分活化, 不发生 Ig 类别转化, 因而 CD40L 基因突变可引起高 IgM 综合征(参见第十五章)。

## (二) 与 B 细胞识别、粘附、活化有关的 CD 分子

1. Ig $\alpha$ /Ig $\beta$ : Ig $\alpha$ /Ig $\beta$  又称 CD79a/CD79b, 胞膜外区结构属 IgSF, 分别有 1 个 C2 样区和 1 个 V 样结构域, 跨膜区皆有一个谷氨酸。两个 CD79a/CD79b 异二聚体与一个膜表面免疫球蛋白(mIg)即 BCR 构成 B 细胞抗原识别结构(图 6-2)。CD79a 和 CD79b 跨膜区带负电的谷氨酸或谷氨酰胺与 mIgM 重链跨膜区带正电的氨基酸可形成盐桥, 稳定 BCR 复合物。两种 CD79 分子的胞质区均有一个 ITAM 基序, 介导由 BCR 途径的信号转导(参见第八章)。该类 CD 分子表达于除浆细胞外 B 细胞发育的各个阶段, 是 B 细胞特征性标记。

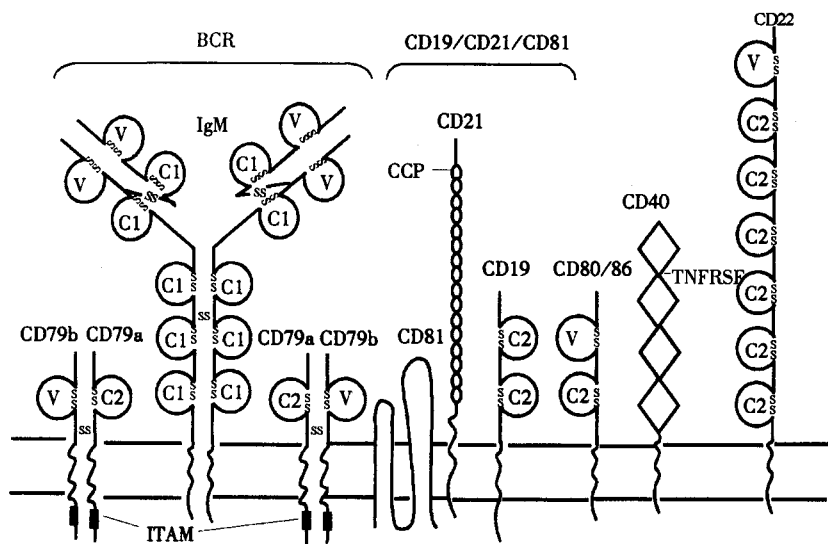


图 6-2 与 B 细胞识别、粘附和活化有关的 CD 分子的结构

2. CD19: CD19 分子胞膜外区结构属 IgSF, 包括 2 个 C2 样区(图 6-2), 胞质区较长, 不同种属间有很高的同源性, 含有可发生磷酸化的丝/苏氨酸和酪氨酸残基。CD19 分子分布于除浆细胞外的 B 细胞谱系发育的各个阶段, 也是 B 细胞的重要标记。此外 CD19 还表达于生发中心滤泡树突细胞(FDC), 以及某些急性髓系白血病细胞。CD19 是 CD19/CD21/CD81 信号复合物(signaling complex)中一个重要成分, 共同促进 B 细胞激活。

3. CD21: CD21 又称补体受体 2(CR2)。胞膜外区有 16 个 CCP 结构域和 15 个 CCP 结构域两种形式。胞膜外区每个 CCP 含 4 个半胱氨酸(Cys),其中 Cys1 - Cys4 和 Cys2 - Cys3 间形成两个二硫键,构成 SCR 球状结构(图 6-2)。胞质区具有多个 PKC 和 PTK 磷酸化部位。CD21 分子表达于成熟 B 细胞、滤泡树突细胞,以及咽部和宫颈的上皮细胞,是 B 细胞重要的标记。

CD21 是补体片段 C3d 的受体,结合部位在胞膜外区第 1、2 个 CCP 结构域。CD21 与抗原-抗体复合结构上的 C3d 结合,而复合结构上的抗原分子则与 BCR 结合,这以交联作用使得 BCR、信号复合体 CD19/CD21/CD81 以及受体相关的 PTK 分子发生聚合,引起 PTK 活化。激活的 PTK 再使 CD19 分子胞质区上的酪氨酸磷酸化,后者进一步结合包括 Src 和 PI 3-K 等多种激酶,启动 B 细胞活化信号转导中鸟苷酸置换因子(GEF)参与的 MAP 激酶途径(参见第八章)。CD21 还与 CD23 结合,包括膜型的 CD23(Fc $\epsilon$ RII)和可溶性 CD23(sCD23),前者对于 IgE 产生具有调节作用,而 sCD23 具有 B 细胞生长因子(BCGF)样作用,刺激 B 细胞增殖。另外,当病原微生物或蛋白质抗原上覆盖有 C3dg 时,可与淋巴滤泡内树突细胞表面 CD21 结合,可浓缩和持续地提供抗原刺激,在诱导免疫记忆中发挥重要作用。

CD21 也是 EB 病毒受体,因此 B 细胞是 EB 病毒易感的靶细胞。EB 病毒与 CD21 结合后通过信号转导及表达病毒编码的反式激活蛋白 EBNA2,激活 CD21 和 CD23 基因,导致 B 细胞持续表达 CD21 和 CD23。CD23 从膜上脱落后形成 sCD23 作为自分泌的 BCGF 与 CD21 结合,使与 CD21 相连的 CD19 分子胞质区酪氨酸发生磷酸化,导致 B 细胞的转化和增殖。这可能是 EB 病毒引起传染性单个核细胞增多征(infectious mononucleosis)的机制。

4. CD81: CD81 分子又称增殖抗体靶抗原 1(TAPA-1),属于 4 次跨膜超家族,胞质区 N 端和 C 端均较短(图 6-2)。其分布十分广泛,包括造血细胞中的 B 细胞、T 细胞、巨噬细胞、树突细胞、NK 细胞和嗜酸粒细胞。但中性粒细胞、血小板和红细胞不表达 CD81。CD81 是上述 B 细胞信号复合物的组成成分,但 CD81 胞膜外区的相应配体还不清楚。新近发现 CD81 可能是丙型肝炎病毒(HCV)的受体。

5. B7-1/B7-2: B7-1/B7-2 又称 CD80/CD86。胞膜外区结构属 IgSF 成员,各有 1 个 V 样区和 C2 区,两者在氨基酸水平上有 25% 同源性。CD80 胞质区较短,富含精氨酸,有 1 个 RRES 序列,为钙调蛋白依赖的磷酸化部位;CD86 胞质区含有 3 个 PKC 磷酸化部位。外周血单核细胞和树突细胞 CD80 表达水平较低但 CD86 有高水平表达,两者在活化的 T 细胞、B 细胞和单核细胞表达水平明显增加。IL-4 和 INF- $\gamma$  分别上调 B 细胞和单核细胞 CD86 表达,IL-10 则下调 PBMC 中树突细胞 CD86 的表达。CD80/CD86 皆通过其胞膜外区 V 样结构域结合受体 CD28 和 CD152 (CTLA-4),但与 CD152 结合的亲和力皆略高于同 CD28 结合的亲和力。功能参见 CD28/CD152 部分。

6. CD40: CD40 分子属于 TNFR-SF,胞膜外区有 4 个富含半胱氨酸重复序列(图 6-2),表达于 APC 细胞,以及某些上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、淋巴样并指细胞、滤泡树突细胞以及活化的单核细胞。浆细胞不表达 CD40 分子。CD40 结合 CD40L(CD154),胞质区 Thr234 是 CD40 介导信号转导关键的氨基酸残基。CD40-CD40L 相互作用是 B 细胞活化中第二信号的主要来源(第九章),而且对于 T 细胞应答和 APC 功能的发挥也十分重要。

7. CD22: CD22 分子又称 BL-CAM,属于 IgSF 中唾液酸粘附素家族(sialoadhesin family),该家族各成员均可结合唾液酸。CD22 可结合 N-连接糖基上的唾液酸糖缀合物(sialoglycoprotein),例如 CD45RO、CD75 等。CD22 有 CD22 $\alpha$  和 CD22 $\beta$  两种异型。胞膜外区由 N 末端 1

个 V 样区和 6 个 C2 样区组成。膜型 CD22 表达于大部分成熟的  $mIgM^+$ 、 $mIgD^+$  静止 B 细胞, B 细胞活化可上调 CD22 表达,但浆细胞不表达 CD22。CD22 胞质区有 6 个酪氨酸残基,其中 3 个组成 ITIM(IxYxxL 基序),可结合带有 SH2 结构域的蛋白酪氨酸磷酸酶如 SHP-1,因而 CD22 是 B 细胞活化中的抑制性受体(第十一章)。

### (三) 免疫球蛋白 Fc 段受体

许多细胞表面表达不同类或亚类免疫球蛋白 Fc 受体,各种 Ig 分子 Fc 段通过与 Fc 受体结合介导 Ig 重要的生理功能或参与病理损伤过程。属于 CD 分子的 Fc 受体有  $Fc\gamma R$ 、 $Fc\alpha R$  和  $Fc\epsilon R$ 。其中  $Fc\gamma R$  分为  $Fc\gamma RI$ 、 $Fc\gamma RII$  和  $Fc\gamma R III$  三种类型,分别为 CD64、CD32 和 CD16; $Fc\alpha R$  为 CD89; $Fc\epsilon R$  分为  $Fc\epsilon RI$  和  $Fc\epsilon R II$  两种类型, $Fc\epsilon R II$  为 CD23, $Fc\epsilon RI$  尚无 CD 编号。

1.  $Fc\gamma RI$ :  $Fc\gamma RI$  即 CD64,属 IgSF 成员,胞膜外区有 3 个 C2 样结构域(图 6-3)。CD64 组成性表达于单核细胞、巨噬细胞以及树突细胞,IFN- $\gamma$  可明显上调单核细胞 CD64 的表达,并可诱导中性粒细胞和嗜酸粒细胞 CD64 的表达。CD64 是高亲和力 IgG Fc 受体,与人单体 IgG1、IgG3 结合力强,与 IgG4 结合的亲和力较低,与 IgG2 无结合能力。CD64 可与 FcR 同源  $\gamma\gamma$  链二聚体结合。CD64 可介导 ADCC,通过 IgG 的调理促进对颗粒性抗原的吞噬作用,增加吞噬细胞释放 IL-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等细胞因子。CD64 结合 IgG Fc 段后参与信号的传递,如促进 Hck 和 Lyn 激酶的活性。

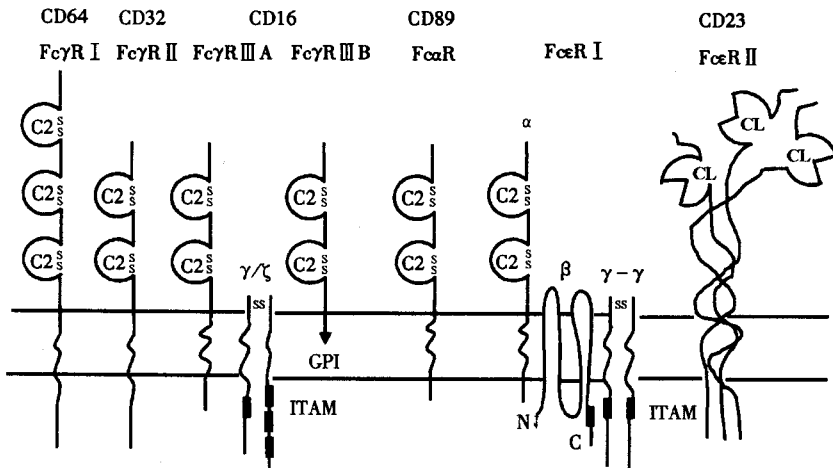


图 6-3 各类 Ig Fc 受体的结构

2.  $Fc\gamma RII$ :  $Fc\gamma RII$  为 CD32,属 IgSF 成员,有 A、B1、B2、B3 和 C 几种不同异型,胞膜外区有 2 个 C2 样结构域(图 6-3)。CD32 分布广泛,包括单核细胞、巨噬细胞、郎罕细胞、粒细胞、B 细胞和血小板。胎盘内皮细胞也表达 CD32。CD32 为低亲和力  $Fc\gamma$  受体,只能结合多聚的或凝聚的 IgG,对人 IgG,亲和力大小依次为  $IgG3 > IgG1 > IgG2 = IgG4$ 。IgG 结合 CD32 可介导中性粒细胞和单核细胞的吞噬作用和氧化性爆发(oxidative burst),GM-CSF 可明显上调 CD32 表达,促进中性粒细胞和嗜酸粒细胞的杀伤。B1 和 B2 型的 CD32(称  $Fc\gamma RII-B1$  和  $Fc\gamma RII-B2$ )对膜表面 Ig 介导的信号转导则具有抑制作用,因为这些 B1 分子胞质区带有 ITIM,其中的 Tyr24 磷酸化后与 SHP-1 和 SHIP 结合,分别阻遏未致敏 B 细胞/肥大细胞和巨噬细胞/中性粒细胞的活化。

3. Fc $\gamma$ RIII: Fc $\gamma$ RIII 即 CD16,存在着跨膜型(Fc $\gamma$ RIIIA)和 GPI 连接(Fc $\gamma$ RIIIB)型两种形式,胞膜外区均有 2 个 C2 样结构域(图 6-3)。CD16 在结构上与 CD64、CD32 和 Fc $\epsilon$ R I $\alpha$  有相似性。人跨膜型 CD16 表达于 NK 细胞、巨噬细胞和肥大细胞,而 GPI 连接的 CD16 表达于中性粒细胞。血液中可溶性 Fc $\gamma$ RIII 主要来自 GPI 形式的 CD16,CD16 是 IgG Fc 段低亲和力受体,主要结合人 IgG1、IgG3。跨膜型 CD16 与 Fc $\epsilon$ R I $\gamma$  链或与 CD3 $\zeta$  链以非共价键相连。在肥大细胞上 CD16 还与 Fc $\epsilon$ R I $\beta$  链相连。跨膜型 CD16 可促进吞噬和介导 NK 细胞的杀伤(ADCC)。

4. Fc $\alpha$ R: Fc $\alpha$ R 即 CD89 分子,包括 a1、a2 和 a3 等不同的异型,其中 a1 是跨膜形式,胞膜外区有 2 个 IgSF C2 样结构域(图 6-3)。CD89 分布于外周血和粘膜组织中绝大部分吞噬细胞,某些 T 细胞和 B 细胞亚群也表达 CD89。a1 异型表达于单核细胞和中性粒细胞,a2 异型表达于肺泡巨噬细胞。CD89 可与 IgA1 和 IgA2 Fc 段结合,CD89 为 IgA 中亲和力受体,能结合血清型或分泌型 IgA1 和 IgA2,介导吞噬细胞的吞噬作用、超氧产生、释放炎症介质以及发挥 ADCC,上述作用需要 Fc $\gamma$ R 链参与。

5. Fc $\epsilon$ RI: Fc $\epsilon$ RI 由 1 条  $\alpha$  链、1 条  $\beta$  链和  $\gamma\gamma$  二聚体所组成( $\alpha\beta\gamma_2$ )。Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  链属 IgSF 成员,胞膜外区有 2 个 C2 样结构域,跨膜区与 CD16 跨膜区同源性很高。 $\beta$  链是 CD20/Fc $\epsilon$ RI $\beta$  超家族成员。 $\gamma$  链则与 CD16  $\gamma$  亚单位完全相同,并与 CD3 $\zeta$  和  $\eta$  链结构相似(图 6-3)。Fc $\epsilon$ RI $\gamma$  链胞质区含有 ITAM。Fc $\epsilon$ RI 是 IgE 高亲和力受体,结合的部位是 Fc $\epsilon$ R $\alpha$  第一个 IgSF 结构域与 IgE 重链第三个恒定区 C $\epsilon$ 3。Fc $\epsilon$ R I  $\gamma$  链胞质区可分别与非受体型酪氨酸激酶相连。当多价变应原与肥大细胞、嗜碱粒细胞膜表面 IgE/ Fc $\epsilon$ R I 复合物上的 IgE 结合后,使 Fc $\epsilon$ RI 发生交联,传递信号,介导 I 型超敏反应,引起细胞脱颗粒,释放组胺、白细胞三烯、PAF 等多种介质,分泌促炎因子(参见第十二章)。Fc $\epsilon$ R I 中  $\alpha$  链识别配体, $\beta$  链放大信号, $\gamma\gamma$  链介导信号的转导。特应性个体单核细胞和郎罕细胞  $\alpha\gamma_2$  形式的 Fc $\epsilon$ RI 表达水平高于正常人,但其与发病机制的确切关系还不清楚。血小板及嗜酸性粒细胞上的 Fc $\epsilon$ RI 可能介导对某些寄生虫的免疫应答。

6. Fc $\epsilon$ RII: Fc $\epsilon$ RII 即 CD23,又称 BLAST-2,II 型膜蛋白,胞膜外区 C 端含有 1 个 C 型凝集素样结构域,并形成三聚体(图 6-3)。Fc $\epsilon$ RII(CD23)与 Fc $\epsilon$ RI 无任何同源性。已发现有 Fc $\epsilon$ RIIa 和 Fc $\epsilon$ RIIb 两种异型。A 型仅表达于 B 细胞,而 b 型可表达于其他多种细胞。CD23 分子通过蛋白酶水解可形成 37 kD 可溶性 CD23,并可进一步水解为 33 kD、29 kD、25 kD 和 16 kD 片段,所有这些片段均保留了 C 端的外源凝集素“头”样结构域,并具有与 IgE 结合的能力,故称 IgE 结合因子(IgE-binding factor, IgE-BF)。CD23 表达于 B 细胞和单核细胞,而在其他的造血细胞如 T 细胞、滤泡树突细胞、嗜酸性粒细胞、NK 细胞、郎罕细胞以及血小板表达较弱。在 B 细胞,CD23 只表达于 mIgM<sup>+</sup> mIgD<sup>+</sup> 表型的 B 细胞,分化为浆细胞时消失。CD23 是 IgE 低亲和力受体;而可溶性 CD23 分子(sCD23)可促进 IgE 合成,其机制可能是通过与膜 IgE 或 CD21 结合发挥正调节作用。CD23 还可与 CD21 发生相互作用,这对 B 细胞之间相互粘附,避免生发中心 B 细胞发生凋亡起着重要作用。

## 二 CD 分子的免疫功能

CD 分子及其相应的单克隆抗体已作为一种重要的手段和方法,用于基础理论研究,发病机制的探讨,以及临床多种免疫性疾病的诊断、预防和治疗。有关内容已在本章和本书其他章节叙述,此处仅以表 6-2 作一总结和比较。

表 6-2 与免疫功能有关的 CD 分子(举例)

免疫功能	CD 分子
细胞受体	
T 细胞受体(TCR)识别辅助分子	CD3、CD4、CD8
B 细胞受体(BCR) 识别辅助分子	CD79a、CD79b
NK 细胞受体	CD94、CD158 - CD161
补体受体(CR)	CR1 - CR4(CD35、CD21、CD11b/CD18、 CD11c/CD18)、CD88
IgFc 受体(FcR)	CD64、CD32、CD16、CD89、CD23
细胞因子受体(CKR)	CD25、CD115-CDw137
转铁蛋白受体(TfR)	CD71
细胞间、细胞与基质相互识别	
白细胞粘附分子-内皮细胞粘附分子	如 CD11/CD18-CD54
淋巴细胞归位受体-血管内皮细胞地址素	如 CD49/CD29-CD106
白细胞粘附分子-细胞外基质	如 CD49/CD29 -细胞外基质
免疫细胞相互识别	如 CD2-CD58, CD28/CD152-CD80/CD86
参加免疫细胞信号转导	
参与 T 细胞活化和信号转导	如 CD3、CD4、CD8、CD28
参与 B 细胞活化和信号转导	如 CD19、CD20、CD21、CD23、CD40
参与 NK 细胞活化和信号转导	如 CD2、CD16、CD94、CD158 - CD161
参与髓样细胞活化和信号转导	如 CD14
与细胞膜表面酶有关	
CD10(中性肽链内切酶)、CD13(氨基酶)、CD26(二肽酰肽酶 IV)、CD38(ADP 核糖基环化酶)、 CD39(外腺苷三磷酸双磷酸酶)、CD45(酪氨酸磷酸酶)、CD73(5'核苷酸外切酶)、 CD115(蛋白酪氨酸激酶)、CD117(蛋白酪氨酸激酶)、CD148(酪氨酸磷酸酶)	
病毒及原虫受体*	
CD21(EBVR)、CD4(HIVR)、CD36(恶性疟原虫抗原受体)、CD54(鼻病毒受体,恶性疟原虫抗原受体)、 CD49b/CD29(埃可病毒受体)、CD81(HCVR)、CD155(脊髓灰质炎病毒受体)	

\* 不属直接行使参与免疫功能

第三节 细胞粘附分子的种类、结构和功能

一 粘附分子的种类和结构

按粘附分子的结构特点分为四类:整合素家族;免疫球蛋白超家族;选择素家族;钙粘蛋白家族,又称 cadherin 家族。此外还有一些尚未归类的粘附分子。

(一) 整合素家族

整合素家族(integrin family)的粘附分子都是由  $\alpha$ 、 $\beta$  两条链由非共价键连接组成的异源双体(heterodimer),  $\alpha$ 、 $\beta$  链均为 I 型膜蛋白。 $\alpha$  链的相对分子质量(分子量)为 150 000 ~ 210 000(150 ~ 210 kD),  $\beta$  链的相对分子质量(分子量)为 90 000 ~ 110 000(90 ~ 110 kD),个别  $\beta$  链(如  $\beta 4$ )相对分子质量(分子量)为 210 000(210 kD)。整合素的功能是和细胞粘附分子及细胞外基质相结合,增强细胞间的粘附。

已知整合素家族中至少有 14 种  $\alpha$  亚单位和 8 种  $\beta$  亚单位。多数  $\alpha$  亚单位只能与 1 种  $\beta$  亚单位结合组成异源双体;而大部分  $\beta$  亚单位则可以结合数种不同的  $\alpha$  亚单位。目前按  $\beta$  亚单位的不同可将整合素家族分为 8 个不同的组,在同一组中的整合素分子  $\beta$  链相同,  $\alpha$  链不同(图 6-4)。表 6-3 列举了整合素家族中的 8 个组 及其中的主要成员。下面择主要者

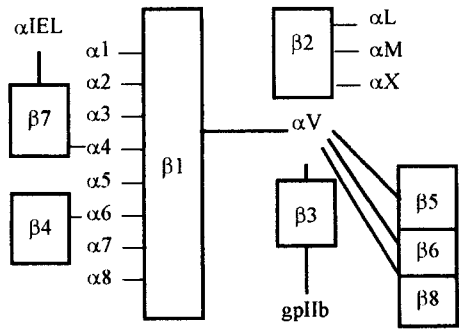


图 6-4 整合素家族的组成

作简要介绍。

1. 迟现抗原组(β1组): β1(CD29)又称gpIIa, 该整合素亚单位可与 CD49a ~ f (α1 ~ α6)、CD51 (αV) 以及 α7 ~ α9 分别组成 VLA1 ~ VLA6, αVβ1 (VNR-β10), α7β1、α8β1 和 α9β1 整合素分子。由于最早发现的 VLA-1 和 VLA-2 分子是在用同种异体抗原或外源凝集素活化淋巴细胞后数周才出现, 因此习惯称为迟现抗原 (very late appearing antigen, VLA)。CD29 表达十分广泛, 包括所有的白细胞。CD29 在记忆 T 细胞上的表达水平高于未

致敏 T 细胞。CD29 胞质区与细胞骨架相互结合导致 T 细胞的活化, 并可调节 CD29 的粘附功能。

表 6-3 整合素家族中的一些主要成员

组别	名	称	组 织 分 布	配 体*
β1	α1β1	VLA-1, CD49a/CD29	单核细胞,活化 T 细胞	LN,CO
	α2β1	VLA-2, CD49b/CD29	单核细胞,血小板, B,T, NK 等	LN,CO
	α3β1	VLA-3, CD49c/CD29	单核细胞, T,B	FN,CA,LM
	α4β1	VLA-4, CD49d/CD29	胸腺细胞,单核,T,B,NK,等	VCAM-1,FN
	α5β1	VLA-5, CD49e/CD29	胸腺细胞,T,单核,血小板	FN
	α6β1	VLA-6, CD49f/CD29	胸腺细胞, T,单核,血小板	LN
	αVβ1	CD51/CD29		
	α7β1	VLA-7, CD49g/CD29	肿瘤细胞	LN
β2	αLβ2	LFA-1, CD11a/CD18	淋巴,单核,巨噬,粒细胞	ICAM-1,-2,-3
	αMβ2	Mac-1, CD11b/CD18	髓样细胞,NK	iC3b,ICAM-1,Fg
	αXβ2	p150.95, CD11c/CD18	髓样细胞	iC3b,ICAM-1,Fg,LPS
β3	αIIbβ3	GPIIb/IIIa, CD41/CD61	血小板,单核,巨噬,内皮细胞	Fg,vWF,FN,VN,TSP
	αVβ3	VN 受体, CD51/CD61	内皮细胞,血小板, NK,巨噬等	VN,Fg, vWF,LM,TSP
β4	α6β4	CD49f/CD104	复层表皮细胞	LN
β5	αVβ5		肿瘤细胞,成纤维细胞	VN
β6	αVβ6		某些肿瘤细胞系	FN
β7	α4β7		粘膜淋巴细胞,NK,嗜酸粒细胞	VCAM-1,FN
	αEβ7	HML-1 抗原	粘膜淋巴细胞	
β8	αVβ8			

\* LN 层粘连蛋白, FN 纤连蛋白, CO 胶原, Fg 血纤蛋白原, VN 玻连蛋白, TSP 血小板反应蛋白

2. 白细胞粘附受体组(β2组): β2 亚单位为 CD18, 分子量 95 000(95 kD)。CD18 可分别与 CD11a ~ c (αL、αM 和 αX) 亚单位和 αD 亚单位组成不同的整合素二聚体 LFA-1(αLβ2, CD11a/CD18)、Mac-1(αMβ2, CD11b/CD28)、p150, 95(αXβ2, CD11c/CD18)和 αDβ2。CD18 表达于所有的白细胞。CD18 胞质区可与多种细胞骨架蛋白相互作用, 如 α 辅肌动蛋白和细丝蛋白以及胞质调节分子 cytohesin - 1。

其中的淋巴细胞功能相关抗原 1(LFA-1)即 αLβ2(CD11a/CD18), 是重要的细胞间粘附分子。在炎症过程中 LFA-1 主要通过 ICAM-1 结合, 对白细胞和内皮细胞的粘附起着关键的作用。LFA-1 参与 T 细胞应答, 如 CTL 对靶细胞的识别和杀伤、混合淋巴细胞反应、抗原或丝裂原诱导的 T 细胞增殖, 以及 T-B 细胞的相互作用。LFA-1 还参与 T 细胞依赖的抗体应

答。另一个重要的  $\beta 2$  成员是 Mac-1, 即  $\alpha M\beta 1$  (CD11b/CD18), 又称 Mo-1 或 CR3。作为补体受体, Mac-1 通过与 iC3b 结合可调理吞噬, 在单核细胞和中性粒细胞穿过内皮细胞层迁移到炎症部位时起重要作用。Mac-1 参与 PMA 诱导的中性粒细胞相互粘附以及趋化作用。表 6-3 中列举的第三个  $\beta 2$  成员是 CD11c 与 CD18 组成的 p150.95 二聚体 ( $\alpha X\beta 3$ ), 又称 CR4。p150.95 在 CTL 杀伤以及中性粒细胞和单核细胞粘附到内皮细胞的过程中起着重要作用, 并参与粒细胞的呼吸爆发和 B 细胞的活化。炎症刺激剂可诱导贮存于胞内颗粒中的 p150.95 迅速转移到细胞表面。

3. 血小板糖蛋白组 ( $\beta 3$  组):  $\beta 3$  亚单位为 CD61, 相对分子质量(分子量)105 000 (105 kD), 表达于血小板、巨核细胞、单核细胞、巨噬细胞和内皮细胞。CD61 可与 CD41 和 CD51 分别组成血小板糖蛋白 IIb/IIIa (GPIIb/IIIa,  $\alpha IIb\beta 3$ ) 和 VN 受体 ( $\alpha V\beta 3$ )。其中的 GPIIb/IIIa (CD61/CD41) 在血小板受到凝血酶、腺苷二磷酸 (ADP) 和胶原等刺激活化后, 即可与相应配体结合。而 CD51/CD61 是玻连蛋白受体 (VNR), 介导血小板粘附于固相化的玻连蛋白。CD51/CD61 和 CD41/CD61 还与称为整合素相关蛋白 (integrin-associated protein, IAP) CD47 分子相连, 后者发挥整合素功能。

4.  $\beta 7$  组:  $\beta 7$  亚单位分子量为 110 000 (110 kD)。  $\beta 7$  可与  $\alpha 4$  亚单位 (CD49d) 组成  $\alpha 4\beta 7$ 。  $\alpha 4\beta 7$  整合素表达于粘膜淋巴细胞、NK 细胞和嗜酸粒细胞, 其配体为 VCAM-1 (CD106) 和纤连蛋白 (FN)。  $\alpha 4\beta 7$  结合高内皮静脉 (HEV) 粘膜地址素 MAdCAM-1, 使淋巴细胞归巢到 Peyer 小结和肠道粘膜固有层。  $\beta 7$  与  $\alpha E$  亚单位 (CD103) 组成  $\alpha E\beta 7$ , 大量表达于粘膜淋巴细胞, 如肠道上皮内淋巴细胞 (intraepithelial lymphocyte, IEL) 中 95% 为  $\alpha E\beta 7$  阳性。  $\alpha E\beta 7$  结合上皮细胞的 E-cadherin, 对淋巴细胞归巢并滞留在肠道上皮细胞可能有重要作用。

整合素分子在体内分布很广泛, 多数整合素分子可以表达于多种组织细胞。如 VLA 组的整合素分子在体内广泛分布于各种组织细胞; 而多数细胞可同时表达数种不同的整合素分子, 但不同类型的细胞表达整合素分子的种类是不同的。某些整合素分子的表达具有明显的细胞类型特异性, 如 gpIIb/IIIa ( $\alpha IIb\beta 3$ ) 主要表达在巨核细胞和血小板; LAF-1、Mac-1、p150.95 表达在白细胞表面。每一种细胞整合素分子的表达可随其分化与生长状态的改变而变化。

## (二) 免疫球蛋白超家族

许多粘附分子具有与免疫球蛋白超家族 (IgSF) V 样、C1 或 C2 样区相似的折叠结构, 其氨基酸组成也有一定的同源性。有关 CD2、CD4、CD8、CD22、CD28 和 CD58 等分子的结构和功能参见本章第二节, 本节将简要介绍同整合素家族结合的 ICAM、VCAM-1、MAdCAM-1 以及同型粘附的 PECAM-1、NCAM-1 和 NCAM1 家族。

1. 细胞间粘附分子: 细胞间粘附分子 (intercellular adhesion molecule, ICAM) 是整合素  $\beta 2$  组的配体。

(1) ICAM-1 (CD54): 分子量 85 000 ~ 110 000 (85 ~ 110 kD), 胞膜外区有 5 个 IgSF C2 样结构域, 在细胞表面可能以二聚体形式存在。ICAM-1 分布十分广泛, 包括造血和非造血细胞, 活化的 T 细胞、B 细胞、胸腺细胞和树突细胞等 ICAM-1 的表达明显上调。炎症介质也能明显上调内皮细胞和其他非造血细胞 ICAM-1 的表达。ICAM-1 和整合素  $\beta 2$  组的 3 个成员 LFA-1、Mac-1 和 p150.95 结合。内皮细胞上 ICAM-1 参与白细胞穿越毛细血管壁到达炎症部位的过程。ICAM-1 可通过增强 APC 与 T 细胞的相互作用, 并作为协同刺激分子而参与 T 细



胞的活化。此外 ICAM-1 是鼻病毒受体, 内皮细胞上的 ICAM-1 是恶性疟原虫感染红细胞的受体。

(2) ICAM-2(CD102): 相对分子质量(分子量)55 000 ~ 65 000(55 ~ 65 kD), 胞膜外区有 2 个 IgSF C2 样结构域, 广泛分布于除中性粒细胞外的所有白细胞, 血管内皮细胞组成性表达高水平 ICAM-2。ICAM-2 是 LFA-1 和 Mac-1 的配体, 可能在淋巴细胞再循环中发挥作用。

(3) ICAM-3(CD50): 在中性粒细胞上的相对分子质量(分子量)120 000 ~ 160 000(120 ~ 160 kD), 在 T 细胞上的分子量 110 ~ 130 kD。胞膜外区有 5 个 IgSF C2 样结构域。ICAM-3 组成性地高水平表达于白细胞和郎罕细胞。血液中可检测到从活化淋巴细胞和中性粒细胞脱落下来的可溶性 ICAM-3。ICAM-3 是 LFA-1(CD11a/CD18)的配体。ICAM-3 主要介导白细胞之间以及 T 细胞与 APC 细胞之间的粘附, 参与树突细胞与 T 细胞相互作用, 诱导 T 细胞早期活化、粘附和增殖。

## 2. $\alpha 4 \beta 1$ 和 $\alpha 4 \beta 7$ 识别的 IgSF 分子

(1) VCAM-1(CD106): VCAM 是血管细胞粘附分子(vascular CAM)的缩写, 胞膜外区有 7 个 IgSF C2 样结构域, 主要表达于 血管内皮细胞, 还表达在滤泡树突细胞, 某些巨噬细胞、骨髓基质细胞以及多种器官中的非血管内皮细胞。炎症因子和细胞因子如 IL-1 $\beta$ 、IL-4、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  等可上调血管内皮细胞和其他细胞 VCAM-1 表达。VCAM-1 结合整合素  $\alpha 4 \beta 7$ (表 6-3), 参与淋巴细胞、单核细胞、嗜碱粒细胞和嗜酸粒细胞穿出血管壁到达炎症部位的过程, 包括淋巴细胞在内皮细胞上最初的滞留和滚动, 以及随后的紧密粘附(详后)。非血管内皮细胞表达的 VCAM-1 参与了骨髓基质细胞与造血祖细胞、B 细胞与树突细胞的相互作用, T 细胞的协同刺激以及胚胎的发育。

(2) MAdCAM-1: MAdCAM-1 是粘膜地址素细胞粘附分子 1(mucosal addressin cell adhesion molecule 1)的缩写。该分子胞膜外区靠近 N 端有 2 个 IgSF C2 样结构域, 在 Peyer 小结和肠系膜淋巴结中的高内皮静脉(HEV)以及肠粘膜固有层扁壁静脉有高水平的表达。MAdCAM-1 通过胞膜外区 IgSF C2 样结构域结合  $\alpha 4 \beta 7$  和  $\alpha 4 \beta 1$ , 某些 MAdCAM-1 分子通过粘蛋白样区上的唾液酸糖缀合物(sialoglycoconjugate)可与 L-selectin(CD62L)结合。MAdCAM 还可同 CD44 分子结合。MAdCAM-1 分子引导未致敏淋巴细胞到达 Peyer 小结和肠系膜淋巴结, 并参与某些活化和记忆淋巴细胞归巢到肠粘膜固有层。MAdCAM-1 通过与 L-selectin 和  $\alpha 4 \beta 7$  结合不仅参与淋巴细胞与内皮细胞最初的滚动, 而且还参与这些被活化淋巴细胞穿出血管壁前的滞留过程。

3. 同型粘附 IgSF 分子: 指 IgSF 中具有同型粘附(homotypic adhesion)或嗜同性相互作用(homophilic interaction)特性的分子。

(1) PECAM-1(CD31): PECAM-1 是血小板内皮细胞粘附分子-1(platelet endothelial cell adhesion molecule-1)的缩写, 分子胞膜外区有 6 个 IgSF C2 样结构域, 分布于单核细胞、血小板和粒细胞。PECAM-1 表达于约 50% 的外周血淋巴细胞, 并高水平表达于内皮细胞, 尤在内皮细胞连接处。PECAM 是一种同型粘附分子, 还可与整合素  $\alpha \nu \beta 3$  结合, 参与单核细胞、中性粒细胞、NK 细胞和活化 T 细胞穿出毛细血管壁的过程。

(2) NCAM-1(CD56): NCAM-1 是神经细胞粘附分子(neural CAM-1)的缩写, 分子胞膜外区有 5 个 IgSF C2 样结构域, 近膜区有 2 个 III 型纤连蛋白(Fn3)结构域。NCAM-1 表达于人 NK 细胞和某些 T 细胞, 以及神经、肌肉和多种胚胎组织, 甚至多种肿瘤细胞。NCAM-1 是同

型粘附分子,并可与硫酸软骨素蛋白聚糖结合,从而抑制轴突的生长。尽管 NCAM-1 是 NK 细胞的标记,但 NCAM-1 分子的免疫功能尚不清楚,也未发现参与 NK 细胞的杀伤。

(3) NCAM L1: NCAM L1 作为一种同型粘附分子也可同整合素分子  $\alpha\beta 3$  结合。其胞膜外区靠近 N 端远膜侧有 6 个 IgSF C2 样结构域。NCAML1 分布于神经元和雪旺细胞,骨髓中淋巴样和粒细胞前体细胞,胸腺中成熟 T 细胞,脾脏中 B 细胞和 T 细胞,外周血单核细胞、B 细胞和 CD4<sup>+</sup>T 细胞。

### (三) 选择素家族

选择素(selectin)最初称为外源凝集素细胞粘附分子(lectin cell adhesion molecule, LEC-CAM),为 I 型膜分子,胞膜外区均由 3 种结构域构成。①氨基端约 120 个氨基酸残基为钙离子依赖的 C 型外源凝集素样结构域,是 selectin 分子与配体的结合部位;②表皮生长因子样结构域(EGF-like domain),约含 35 个氨基酸残基,此结构域对维持 selectin 分子的构象是必需的;③近膜部分是数个约 60 个氨基酸残基构成的 CCP 结构域,其作用还不甚清楚。选择素家族有 3 个成员:L-selectin、P-selectin 和 E-selectin, L、P 和 E 分别表示 leukocyte、platelet 和 endothelium,是最初发现相应 selectin 分子的 3 种细胞。

(1) E-selectin(CD62E): E-selectin 又称内皮细胞白细胞粘附分子-1(ELAM-1),胞膜外区由 1 个 C 型凝集素样结构域、1 个 EGF 样结构域和 6 个 CCP 组成,表达于炎症部位的内皮细胞。E-selectin 通过其 C 型凝集素结构域同白细胞糖脂和糖蛋白上的唾液酸化路易糖(sialyl-Lewis x sLe<sup>x</sup>),以及唾液酸化的 Lewis<sup>a</sup> 和相关的岩藻糖基化的 N-乙酰乳糖胺结合。E-selectin 另一种糖蛋白配体是表达于髓样细胞的 ESL-1 蛋白(E-selectin ligand-1 protein),E-selectin 还结合 CD62P 配体 CD162(PSGL-1),后者表达于淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞。皮肤淋巴细胞相关抗原(cutaneous lymphocyte associated antigen, CLA)归巢受体是慢性炎症皮肤部位表达的 E-selectin 的受体。CD62E 主要介导白细胞(中性粒细胞、单核细胞和 CD4<sup>+</sup>记忆性 T 细胞)在内皮细胞表面最初的滞留和滚动,以及随后迁移到炎症的组织。

(2) L-selectin(CD62L): L-selectin 又称白细胞内皮细胞粘附分子-1(LECAM-1)、淋巴结归巢受体和 MEL-14。L-selectin 胞膜外区 N 端有 1 个 C 型凝集素样结构域,1 个 EGF 样结构域、2 个 CCP 结构域以及 1 个 15 个氨基酸间隔区。CD62L 表达于造血细胞某些分化阶段,包括大多数 B 细胞和未致敏 T 细胞、以及大多数单核细胞、中性粒细胞和嗜酸粒细胞。PMA、细胞因子或趋化剂刺激淋巴细胞和中性粒细胞后,由于蛋白酶的酶解作用使 CD62L 迅速脱落,而使血浆中可有很高水平的可溶性 CD62L。CD62L 通过 N 端 C 型凝集素样结构,同与唾液酸化路易糖 X(sLe<sup>x</sup>)相关的阴离子寡糖序列结合,也可结合硫酸肝素和硫苷脂。CD62L 与 CD34、GlyCAM-1 和 MAdCAM-1 分子上发生岩藻糖化、唾液酸化和硫酸盐化的糖类(碳水化合物)结合。CD62L 介导白细胞与内皮细胞最初的滞留和滚动,尤其重要的是,CD62L 对于未致敏淋巴细胞经高内皮静脉归巢到外周淋巴结和 Peyer 小结过程中起着重要作用。CD62L 还介导白细胞迁移到炎症部位,介导中性粒细胞相互之间的作用。相应配体与 CD62L 的结合刺激蛋白酶裂解 CD62L,这可能对于维持较高速度的滚动起着重要作用。GlyCAM-1 是糖基化依赖的细胞粘附分子 1(glycosylation-dependent CAM1),又称 Sgp50,是高度糖基化的、分泌形式的粘蛋白,主要由外周淋巴结和肠系膜淋巴结高内皮静脉(HEV)以及慢性炎症部位 HEV 样血管内皮细胞所分泌,在血液或乳汁中可测得 GlyCAM-1。

(3) P-selectin(CD62P): 又称 PADGEM、LECAM-3 或颗粒膜蛋白 140(GMP-140)。胞膜外

区 N 端有 1 个 C 型凝集素结构域,接着有 1 个 EGF 样结构域和 9 个 CCP 结构域。P-selectin 表达于巨核细胞、活化血小板和活化的内皮细胞。P-selectin 贮存于血小板  $\alpha$  颗粒和内皮细胞 Weibel-Palade 小体中,当凝血酶、组胺、PMA 或过氧化物活化细胞后,从颗粒中迅速与胞膜融合,而表达于细胞膜上,由于膜上的 P-selectin 很快被内化并在溶酶体中降解,所以 P-selectin 的膜表达是瞬时的。可溶性 P-selectin 在血浆中水平约  $0.1 \sim 1 \mu\text{g/ml}$ 。P-selectin 分子通过 N 端 C 型凝集素结构域同与唾液酸化的路易糖(sLe<sup>x</sup>, CD15s)相关的阴离子寡糖序列有低亲和力的结合,还可与肝素硫酸盐和硫苷脂结合。中性粒细胞上 P-selectin 的配体是粘蛋白样细胞表面糖蛋白 CD162(PSGL-1)。P-selectin 介导中性粒细胞在活化内皮细胞上的滚动,尤其在炎症过程的早期(数分钟)甚为重要,在炎症晚期同其他 selectin 协同发挥作用。P-selectin 还参与血小板和某些 T 细胞亚群的沿血管壁的滚动的过程。活化血小板可贴附在淋巴细胞上,通过血小板表面 P-selectin 同内皮细胞外周淋巴结地址素相互作用,而间接的介导淋巴细胞沿管壁的滚动和 T 细胞归巢到 HEV。

#### (四) 钙粘着素超家族

钙粘着素( $\text{Ca}^{2+}$  dependent cell adhesion molecule)又称 cadherin,指  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的细胞粘附分子,是一个拥有 20 多个成员的家族,由两个亚家族组成:①经典的 cadherin:特点是具有  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的同型粘附,介导细胞与细胞之间的粘附作用,胞质区同  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  连环蛋白(catenin)相连,形成多种蛋白的复合体,是 cadherin 发挥细胞间粘附作用的分子基础。经典 cadherin 不仅为维持实体组织之必须,也是胚胎时期细胞发生重排的重要分子条件。②非经典的 cadherin:分子胞质区不与连环蛋白相连,主要包括原钙粘着素(protocadherin)、钙粘着素相关神经受体(CNR)以及桥粒钙粘着素(desmosomal cadherin)。此处主要介绍经典 cadherin 亚家族中的 E-cadherin、N-cadherin 和 P-cadherin, E、N 和 P 分别表示上皮、神经和胎盘。

cadherin 为 I 型膜蛋白,约由 723 ~ 748 个氨基酸构成,分子胞膜外区包含 5 个(EC1 ~ EC5)约由 110 个氨基酸残基组成的重复结构域,含有两个 LDRExxYxL 基序,近膜区 EC5 有 4 个保守的半胱氨酸。EC1-EC3 中 DxNDN 或 DxN 基序是钙离子结合的部位。N 端 113 个氨基酸残基构成 cadherin 分子的配体结合部位,其中 His-Ala-Val(HAV)基序介导同型粘附作用。胞质区较短,且高度保守,并与细胞骨架蛋白包括连环蛋白、皮质肌动蛋白束相连,在发挥 cadherin 细胞粘附中起着重要作用。在细胞表面, cadherin 分子倾向于集中分布于细胞与细胞的连接处。

(1) 上皮钙粘着素(E-cadherin)主要分布在非神经上皮组织,通过和  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  连环蛋白与细胞骨架肌动蛋白相连而聚积,这种复合体的形成对于 E-cadherin 调节细胞的粘附作用以及把 E-cadherin 连接到其他内在膜蛋白起着关键作用。E-cadherin 主要参与胚胎发育以及正常组织中上皮细胞层的形成和维持。来自小肠、乳腺和肺上皮细胞 E-cadherin 还同表达于 IEL 上的  $\alpha\text{E}\beta 7$  整合素分子粘附。

(2) 神经钙粘着素(N-cadherin)主要分布于神经组织、晶状体、心肌和骨骼肌,也属同型粘附分子,胞质区与  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  连环蛋白相连。N-cadherin 主要介导  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的神经细胞粘附。

(3) 胎盘钙粘着素(P-cadherin)主要分布于人胚胎的某些上皮组织和胎盘。同其他的经典 cadherin 分子相似,胞膜外区 N 端 HAV 序列介导同型粘附作用。P-cadherin 的功能可能参与胚胎与子宫的结合。

### (五) 其他粘附分子

除了整合素、IgSF、选择素和钙粘着素外,还有许多尚未归类粘附分子,包括某些血小板糖蛋白、属于连接(Link)组件结构的 CD44 以及其他属于 TNFSF、TNFRSF、C 型凝集素样结构的粘附分子。此处主要对 CD44 的结构和功能作一简要介绍。

CD44 又称吞噬细胞糖蛋白 1(phagocytic glycoprotein 1, Pgp-1)、III 型细胞外基质受体(ECMR III)。胞膜外区靠近 N 端约 100 个氨基酸范围内有 6 个半胱氨酸,组成 3 个二硫键,形成一个球形结构,称连接组件(link module),胞膜外区的近膜侧是粘蛋白样区。CD44 编码基因转录时可取用不同的外显子,使 mRNA 水平上出现不同的拼接方式,导致成熟的 CD44 分子有几十种变构体,相对分子质量(分子量)从 80 000 ~ 95 000(80 ~ 95 kD)至 180 000 ~ 250 000(180 ~ 250 kD)不等。人 CD44 基因含有两类外显子:10 个组成性外显子(C1 ~ C10),转录片段存在于所有 CD44 转录产物中,此类分子称为标准 CD44 或 CD44H;9 个变异性拼接外显子(V 外显子, V2 ~ V10),介于第 5 和第 6 个组成性外显子之间。V 外显子可以多种不同的方式进行拼接,从而产生不同大小的转录产物称为 CD44V,如 CD44E(V8 ~ V10)、CD44M(V4 ~ V7)、CD44R(V9)、CD44V6、V7、CD44V6 等。

CD44 分子是一种高度糖基化的蛋白,其组成性外显子和 V 外显子的编码氨基酸序列均含有糖基化部位和硫酸软骨素侧链的连接部位。CD44H 广泛分布于造血细胞和非造血细胞,是淋巴样细胞、髓样细胞以及红样细胞上表达的一种最主要 CD44 类型。CD44H 还表达于上皮细胞、内皮细胞、间皮细胞、间质细胞和神经系统。CD44V 则广泛表达于上皮细胞,除了骨髓中的某些浆细胞外,白细胞表达 CD44V 水平较低,淋巴细胞和单核细胞活化后 CD44V 表达增强。

CD44 分子胞膜外区远膜区的连接组件可结合透明质酸(HA)及多种 ECM,如胶原(CO)、纤连蛋白(FN)和层粘连蛋白(LN),此外,还可结合硫酸软骨素(CS)。CD44 分子通过硫酸肝素可同碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、MIP-1 $\beta$  以及骨桥蛋白以及 MAdCAM-1 结合。胞质区通过同锚蛋白(ankyrin)和 ERM(埃兹蛋白、根蛋白和膜突蛋白)家族成员结合,与细胞骨架肌动蛋白相连。CD44 分子的胞质区还可与 Lck 激酶相连。

功能上 CD44 介导白细胞与内皮细胞、基质细胞和 ECM 的粘附,其机制可能主要是通过细胞表面和 ECM 上的透明质酸相结合,使活化的和记忆/效应淋巴细胞穿出血管壁到达炎症部位。CD44 作为淋巴细胞上的淋巴细胞归巢受体,能同肠道淋巴组织及粘附血管内皮细胞的地址素 MAdCAM-1 结合,参与多种淋巴细胞的归巢过程。CD44 分子还参与 NK 细胞的活化以及造血细胞的分化。

## 二 粘附分子表达的调节

细胞因子、炎症介质以及其他因素可以改变细胞粘附分子的表达水平和构象,导致细胞粘附能力的变化。对粘附分子表达的调节主要有构象调节和表达数量调节两种方式。

### (一) 粘附分子构象改变影响细胞的粘附作用

改变粘附分子的构象可影响与配体结合的亲和力,从而改变细胞的粘附能力。例如,静止淋巴细胞表达一定水平的 LFA-1 和 ICAM-1,而 NK 细胞和某些 CTL 细胞系表达较高,但它们并不发生凝集作用。淋巴细胞活化引起粘附分子构象变化并在细胞表面重新分布,提高了 LFA-1/ICAM 相互作用的亲和力,从而使活化淋巴细胞的粘附能力增强。其中构象变化

不仅引起两种分子间亲和力(affinity)改变,由于 LFA-1 二聚体化及其在膜表面成簇排列(clustering),也导致 LFA-1 和二聚体化的 ICAM-1 之间亲合力(avidity)提高。

$Mg^{2+}$  和  $Ca^{2+}$  分别参与了构象和排列的变化。其机制是,在  $Mg^{2+}$  参与下,整合素  $\alpha L$  (CD11a)亚单位上  $Mg^{2+}$  依赖的 24 表位(被 24 mAb 所识别)表达增加,提高了 LFA-1 的亲和力。而且在  $Ca^{2+}$  参与下 LFA-1 可发生二聚体化,造成分子在细胞表面成簇分布,提高 LFA-1 同配体结合的亲合力,并引起  $\alpha L$  亚单位上表达  $Ca^{2+}$  依赖的 L16 表位(为 L16 mAb 所识别)。

## (二) 粘附分子表达数量改变对粘附作用的调节

1. 细胞表面粘附分子表达量的调节:主要有两种方式:①诱导贮存在细胞内的粘附分子转移到细胞表面。其过程发生迅速,只需数秒钟,但维持时间短暂。如凝血酶和组胺作用于内皮细胞,可以诱导内皮细胞内贮存的 CD62P 分子迅速转移到细胞表面,然后又很快因内吞而消失;又如 CD11b/CD18、CD11c/CD18 贮存在中性粒细胞的胞质颗粒内,在 PMA、TNF、IL-1 刺激后可迅速转移到细胞表面。②重新合成。这种形式发生过程较为迟缓,一般需数小时,但维持时间较长。IL-1、TNF- $\alpha$  作用于血管内皮细胞诱导 E-selectin、VCAM-1 分子的合成与表达属于这种方式,诱导后 4 小时达到高峰,并可维持 24 小时以上。

2. 细胞因子、炎症介质的作用:细胞因子 IL-1、IL-3、IL-4、IL-8、PAF、GM-CSF、TNF- $\alpha$ 、LT- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$ ,以及炎症介质白三烯、组胺和凝血酶等可调节白细胞和血管内皮细胞粘附分子表达的数量。

3. 细胞的生长、发育状态对粘附分子表达的影响:胚胎发育过程中,组织细胞粘附分子的表达按一定的规律发生改变,使得不同细胞得以按一定的规律组合在一起,形成不同的组织或器官。肿瘤细胞与其起源的正常组织细胞相比,表达的粘附分子可有很大差异,造成某些肿瘤细胞易于发生浸润、转移。此外,处于不同分化和发育状态的淋巴细胞所表达的粘附分子也有明显改变。如与未致敏 T 细胞相比,记忆性 T 细胞表达更多的 CD2、LFA-1、CD44、VLA-4 等粘附分子,而 L-selectin 在未致敏 T 细胞表达水平要明显高于记忆 T 细胞。单核细胞和髓样单核细胞系在成熟过程中 Mac-1 分子表达增加。当血液中单核细胞穿出毛细血管壁进入组织成为巨噬细胞时, p150.95 表达上调,而 Mac-1 表达下降。

## 三 粘附分子的功能

### (一) 炎症过程中白细胞与血管内皮细胞的粘附

炎症过程的一个重要特征就是白细胞通过粘附和穿越血管内皮细胞,向炎症部位渗出。其分子基础是白细胞与血管内皮细胞粘附分子的相互作用。不同白细胞的渗出过程或渗出过程的不同阶段所涉及的粘附分子不尽相同。

1. 不同粘附分子在粘附过程不同阶段所起的作用:在体内,白细胞与血管内皮细胞的粘附作用是在血液流动产生的切力作用下进行的,因此白细胞与血管内皮细胞的粘附作用有其特殊性。其中包括白细胞沿血管壁滚动的最初粘附作用,随后的紧密粘附和穿越内皮细胞。L-selectin 分子与其配体 E-selectin 的结合对于中性粒细胞与血管内皮细胞的最初粘附发挥重要的作用。在随后发生的加强粘附和穿越血管内皮细胞的过程中,  $\beta 2$  整合素

(CD11/CD18)与其配体的相互作用上升到关键地位。此时,已经粘附于血管内皮的中性粒细胞 L-selectin 分子表达水平显著下降,在趋化性细胞因子(如膜结合 IL-8)的诱导下,CD11/CD18 表达水平则明显上调。事实上,L-selectin 分子表达下降可减少对已粘附中性粒细胞的牵拉作用,有利于 CD11/CD18 介导的中性粒细胞穿越血管内皮细胞。

2. 膜结合细胞因子在白细胞与血管内皮细胞粘附过程中所起作用: 调节上述白细胞粘附分子表达的细胞因子,有血管内皮细胞(En)膜表面结合的 IL-8、GM-CSF、PAF 等对中性粒细胞具有趋化作用的细胞因子。中性粒细胞与血管内皮细胞的粘附是在血管内皮细胞膜结合的细胞因子调节下,多种粘附分子按顺序协调作用的复杂过程(图 6-5)。

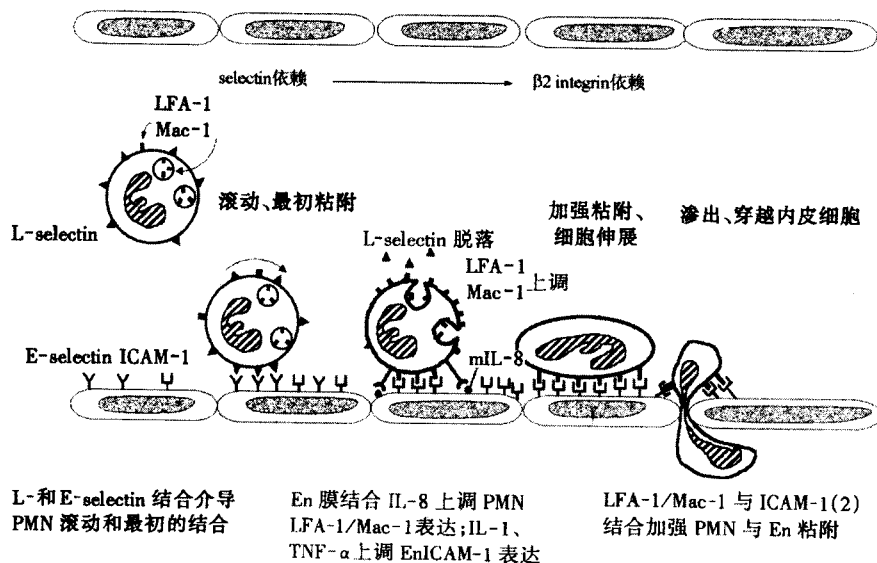


图 6-5 中性粒细胞粘附、穿越血管内皮细胞过程的模式图

粘附分子在白细胞渗出过程中的重要作用在先天性白细胞粘附缺陷症(LAD)发病机制中得到了证实。该病的临床特征是反复发生难以治愈的感染。LAD 可分为 LAD-1 和 LAD-2 两型。LAD-1 型患者由于 CD11/CD18 分子表达缺陷,因此不能与 FN 和 iC3b 结合,丧失非特异的调理作用;此外,虽然白细胞可以沿血管壁滚动,由于不能与血管内皮细胞表面粘附分子 ICAM-1 结合,白细胞不能渗出到炎症部位。LAD-2 型患者由岩藻糖化的缺陷,导致白细胞 S-Lewis<sup>x</sup>(CD15s)和 CD15 表达缺陷,不能有效的与血管内皮细胞表面 E-selectin 分子结合,白细胞沿血管壁的滚动能力显著低于正常人,同样也不能向炎症部位渗出。

3. 细胞因子在白细胞选择性渗出过程中的作用: 不同炎症反应具有不同类型的炎症细胞浸润,如急性炎症以中性粒细胞渗出和浸润为主,慢性炎症往往以淋巴细胞浸润为主,I 型超敏反应的变态反应性炎症以嗜碱粒细胞的渗出为主,迟发型超敏反应性炎症则以单核细胞、T 细胞浸润为特征。虽然目前对白细胞选择性渗出的机制还不完全明了,但已有的证据显示,其中涉及粘附分子在不同类型白细胞表达的差异、细胞因子对粘附分子表达的不同调节,以及局部组织产生不同的趋化性细胞因子等因素。如 IL-4 和 IFN- $\gamma$  作用于血管内皮细胞可以选择性地诱导粘附分子 VCAM-1 的表达,而 VCAM-1 的配体 VLA-4 只在淋巴细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞表达,在中性粒细胞不表达,因此 IL-4 和 IFN- $\gamma$  可以选择性地促进除中性粒细胞以外的白细胞的粘附作用。IL-4 和 IFN- $\gamma$  是由活化 T 细胞产生的细胞因子,

因此 IL-4 和 IFN- $\gamma$  可能在免疫介导的炎症性疾病中发挥重要作用。此外, IL-8、GM-CSF 和 PAF 等膜结合因子也可能是导致白细胞选择性渗出的重要因素。

### (二) 粘附分子与淋巴细胞的归巢

淋巴细胞在中枢淋巴器官发育成熟后,经血流迁移到外周淋巴器官,并在全身各器官、组织以及炎症部位发挥多种生物学功能。淋巴细胞归巢(homing)是淋巴细胞迁移的一种特殊形式,包括:①淋巴干细胞向中枢淋巴器官的归巢;②淋巴细胞向外周淋巴器官的归巢;③淋巴细胞再循环,即外周淋巴器官的淋巴细胞通过毛细血管后静脉进入淋巴循环以接触外来抗原,然后再回到血循环;④淋巴细胞向炎症部位的渗出。淋巴细胞是一个不均一的群体,淋巴细胞归巢过程的一个显著特点是不同群、亚群的淋巴细胞,以及静止淋巴细胞、活化淋巴细胞和记忆淋巴细胞在上述迁移过程中各具选择性,即某一特定的淋巴细胞群或亚群定向归巢到相应的组织或器官。淋巴细胞归巢的分子基础是淋巴细胞与各组织、器官血管内皮细胞粘附分子的相互作用。一般将淋巴细胞所表达的粘附分子称为淋巴细胞归巢受体(lymphocyte homing receptor, LHR),而将其对应的血管内皮细胞的粘附分子称为地址素(addressin)。参与不同群或亚群淋巴细胞归巢过程的粘附分子及其表达动态有所不同,决定淋巴细胞归巢的选择性。

一般来说,未致敏的淋巴细胞再循环主要需流经淋巴结、Peyer 小结、扁桃体和脾脏等,因为大部分进入机体的抗原存在上述淋巴器官中,淋巴细胞通过再循环可最大限度地接触和识别这些抗原。在 T 细胞或 B 细胞同一淋巴细胞群中,它们的再循环大致是相同的。而记忆淋巴细胞和效应淋巴细胞,除了参与同未致敏淋巴细胞相同的再循环外,还可选择性地到达一些淋巴器官以外的某些发生免疫效应的场所,如肠粘膜固有层、肺间质、发生炎症的皮肤以及关节等部位。

### (三) 粘附分子与免疫细胞的识别作用

免疫细胞的相互作用及杀伤细胞识别靶细胞的过程中,除了需要对特异性抗原的识别作用外,还需要粘附分子的相互作用。某些粘附分子的抗体可以阻断免疫细胞的相互作用及杀伤细胞对靶细胞的杀伤作用。有关 T 细胞、B 细胞、NK 细胞参与识别和粘附的分子及其相应的配体可参考本书相关章节。

### (四) 粘附分子与细胞发育、分化、附着及移动

在胚胎发育过程中,不同类型的细胞按着既定的规律形成细胞与细胞之间及细胞与细胞外基质的附着,有序地组合在一起构成不同的组织和器官。在这一过程中,粘附分子发挥着重要作用。

1. 粘附分子参与细胞间的附着:参与细胞与细胞间附着的粘附分子主要是钙粘着素家族的成员,以及属于 IgSF 的粘附分子 NCAM (CD56)及 PECAM(CD31)。

2. 粘附分子参与细胞与基质的附着:细胞与细胞间基质的附着是细胞生存与增殖所必需的,这种附着主要由表达于各种组织细胞表面的整合素家族粘附分子来介导。除了  $\beta_2$  组外,整合素分子识别的配体大多是细胞外基质的成分,包括纤连蛋白(FN)、层粘连蛋白(LN)、玻连蛋白(VN)和胶原(CO)等。细胞与基质的附着主要有以下两种情况:①间质细胞(以成纤维细胞为代表)的周围均与细胞外基质附着;②上皮细胞的周围仅部分与细胞外基质附着,而细胞侧面则与细胞发生附着,在这种情况下细胞粘附分子的分布存在着极性。细胞癌变过程往往伴随着这种极性的丧失。

3. 粘附分子参与细胞的移动: 在细胞发育、分化以及创伤修复过程中都需要细胞的移动, E-cadherin、N-cadherin、NCAM、CD31 及 FN 和 FN 受体是这一过程的重要参与者, 而且在细胞移动过程中不同的粘附分子的表达得到精细的调控。

#### (五) 粘附分子与肿瘤

粘附分子与肿瘤的关系主要包括对肿瘤浸润和转移的影响, 对杀伤细胞杀伤肿瘤的调节, 以及临床上提供肿瘤诊断的辅助手段。

1. 粘附分子与肿瘤的浸润: 恶性肿瘤一个重要生物学特征是其对邻近正常组织的浸润及远处转移, 目前已知肿瘤的浸润与转移与其粘附分子表达的改变有关。一方面肿瘤细胞某些粘附分子表达的减少可以使细胞间的附着减弱, 肿瘤细胞脱离与邻近细胞的附着, 这是肿瘤浸润及转移的第一步; 另一方面, 肿瘤细胞表达的某些粘附分子使已入血的肿瘤细胞得以和血管内皮细胞粘附, 造成血行转移。

(1) E-cadherin 与肿瘤浸润: 包括大肠癌、乳腺癌等在内的多种肿瘤细胞 E-cadherin 分子表达明显减少或缺失, 该分子表达水平降低与肿瘤细胞的恶性程度显著相关。

(2) 整合素家族与肿瘤浸润和转移: 该家族粘附分子在肿瘤细胞的表达水平也明显改变, 包括表达减少、缺失和表达升高, 分布的极性亦可能不同于正常细胞。整合素分子在肿瘤细胞表达变化的不一致性可能与这些分子的不同作用有关。同一种粘附分子可以在转移和附着两个不同的过程中发挥作用, 因此整合素分子表达的增加或减少都可能参与肿瘤细胞浸润及转移。

(3) CD44 和其他粘附分子对肿瘤转移的影响: 肿瘤细胞表达的某些粘附分子可使已进入血流的肿瘤细胞粘附于血管内皮细胞或基质, 促进肿瘤细胞形成转移灶。而体内慢性炎症部位往往是肿瘤转移灶的好发部位, 可能与炎症产物、细胞因子作用于局部血管内皮细胞促进其粘附分子表达有关。某些 CD44V 异型与肿瘤转移有一定关系, 如在大鼠动物实验中, CD44(V6) 表达与肿瘤细胞系获得转移能力有关。人 CD44(V3) 增加 B 淋巴瘤细胞的转移能力, CD44(V8 ~ V10) 可能赋予消化道癌症转移的活性。

2. 粘附分子对杀伤细胞杀伤肿瘤细胞的影响: 杀伤细胞与肿瘤细胞的接触主要由 LFA-1/ICAM-1 的相互作用来介导。多种肿瘤细胞表达 ICAM-1 分子, 肿瘤细胞 ICAM-1 分子的表达可能与肿瘤组织内淋巴细胞的浸润有关。细胞因子如 IFN- $\gamma$ 、IFN- $\alpha$ 、IL-4、TNF- $\alpha$  可促进某些肿瘤细胞 ICAM-1 分子的表达, 从而增加其对杀伤细胞作用的敏感性。毛细胞白血病细胞不表达 LFA-1 分子, ICAM-1 分子表达水平也很低, IFN- $\alpha$  和 IL-4 可诱导毛细胞白血病细胞表达 LFA-1 和 ICAM-1 分子, 使其对 CTL 的杀伤作用更为敏感。肿瘤患者血清中可溶性 ICAM-1 水平往往高于正常人, 可能抑制了 NK 对肿瘤细胞的杀伤作用。

3. 粘附分子与肿瘤的诊断: 正常的肝细胞表达整合素  $\alpha 1\beta 1$ , 而胆管上皮细胞表达整合素  $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 6$  和  $\beta 4$ 。由于肝细胞癌不表达  $\beta 4$ , 而胆管癌细胞不表达  $\alpha 1$ ; 因此上述两种整合素分子可以作为区分两型肝癌的标志。结肠癌发展时 CD44(V6) 表达增加; 胰腺癌亦可表达 CD44(V5V6)。

#### (六) 粘附分子与血栓形成

血栓形成是一个十分复杂的过程, 其影响因素包括血管因素、血流动力学参数、血小板的数量和功能、凝血因子的水平和结构异常, 以及纤溶系统等。粘附分子与动脉凝血及静脉凝血的关系和作用机制在本章中不作深入介绍。



四 可溶性粘附分子

白细胞、血管内皮细胞或其他细胞表面的粘附分子可以被内吞进入细胞,也可以脱落下来,进入血液成为可溶性粘附分子(sAM)。此外,某些粘附分子的 mRNA 存在着不同的剪接形式,其中有的 mRNA 翻译后的产物直接分泌进入血液,成为可溶性粘附分子的另一个重要来源。除血清外,某些可溶性粘附分子还可在脑脊液、肺泡灌洗液、尿、滑膜液及腹水中出现,反映了局部粘附分子的表达和代谢状况。在结构上,可溶性粘附分子一般与跨膜型粘附分子胞膜外区部分相同,仍显示粘附分子的结合活性,因此可作为调节细胞粘附作用的一个途径。在疾病状态下,粘附分子的表达往往增加,可致血清中可溶性粘附分子的水平显著升高,因此检测可溶性粘附分子的水平已成为监测某些疾病状态的手段。

多数粘附分子都有其对应的可溶性粘附分子存在,目前研究较多的可溶性粘附分子有可溶性 E-selectin、P-selectin、L-selectin、VCAM-1、ICAM-1、CD44 和 NCAM 分子等,有关血浆中可溶性粘附分子水平与疾病的关系参见表 6-5。

表 6-5 血浆中可溶性粘附分子水平及其与疾病的关系

粘附分子	细胞来源	正常人水平	下列疾病时升高(举例)
L-selectin	白细胞	1.6 ~ 1.9 $\mu$ g/ml	败血症、HIV 感染、白血病、糖尿病、类风湿性关节炎
P-selectin	血小板、内皮细胞	98 ~ 262ng/ml	肝病、疟疾、心脏病、血红蛋白尿、血栓性血小板减少性紫癜
E-selectin	内皮细胞	9 ~ 75ng/ml	糖尿病、败血症、疟疾、全身性红斑狼疮、哮喘、血透、高血压、肿瘤、类风湿性关节炎
VCAM-1	内皮细胞、上皮细胞、巨噬细胞、树突细胞	230 ~ 1 400 ng/ml	肾癌、膀胱癌、肾功不全、血管炎、类风湿性关节炎、败血症、肾移植后、疟疾、糖尿病、血透、高血压、全身性红斑狼疮、子痫
ICAM-1	白细胞、内皮细胞、上皮细胞、肝细胞、平滑肌细胞	102 ~ 450 ng/ml	肾移植后、败血症、肾功不全、疟疾、糖尿病、肿瘤转移、白细胞粘附缺陷综合征、溃疡性结肠炎、血透、高血压、肺纤维化、心脏移植排斥、黑素瘤、类风湿性关节炎、多发性硬化病
CD44			胃癌、结肠癌
ICAM-3			全身性红斑狼疮、类风湿性关节炎

本章提要

本章概述了分化抗原和粘附分子两类重要膜分子的概念、分型和基本结构。在白细胞分化抗原中,以最为常见的同 T 细胞和 B 细胞识别、粘附、活化有关的 CD 分子以及 IgFc 段受体为代表,重点介绍了这些分子的结构、表达、膜相关分子和功能;粘附分子则根据结构特点的不同分类进行介绍,并对粘附分子表达的调节和生理功能进行了概括。此外,适当联系和阐述了这些分子在临床相关疾病的发病机制、诊断、预防和治疗中的意义。

(金伯泉)

参考文献

[ 1 ] Barklay AN, et al. The leukocyte antigen, Facts Book. Academic Press, 2<sup>nd</sup> ed. London, UK, 1997

- 
- [ 2 ] Binnerts MS and van Kocyk Y. How LFA-1 binds to different ligand. *Immunol Today*, 1999. 20:240
  - [ 3 ] Knapp W, et al. Towards a better definition of human leukocyte surface molecules. *Immunol Today*, 1998, 10: 253
  - [ 4 ] Pigott R and Power C. The adhesion molecule, *Facts Book*, Academic Press, 1<sup>st</sup> ed, London, UK, 1993
  - [ 5 ] Picker LJ. Physiological and molecular mechanisms of lymphocyte homing. *Ann Rev Immunol*, 1992, 10:561
  - [ 6 ] Uemura T. The cadherin superfamily at the synapse: more members, more mission. *Cell*, 1998, 93:1045

## 第七章 抗原的加工递呈和 T 细胞对抗原的识别

1973 年, Zinkernagel 和 Doherty 报道, 小鼠感染了淋巴细胞性脉络膜脑膜炎病毒后, 特异性 CTL 对靶细胞的杀伤作用受靶细胞表达的 MHC I 类单元型的限制。这就是著名的 MHC 约束现象(MHC restriction)。他们在以后的研究中进一步证明, 抗原与 MHC 分子不是分别被 TCR 识别的, 而是以 MHC 分子-肽复合物的形式被 TCR 识别的。Zinkernagel 和 Doherty 的研究成果是 T 细胞识别抗原认识上的飞跃, 为此, 他们荣膺 1996 年诺贝尔医学和生理学奖。

T 细胞不能识别天然的抗原分子, 而只能识别与 MHC 分子结合在一起的肽, 这就要求抗原分子必须在细胞内降解成肽, 并被 MHC 分子递送到细胞表面被 T 细胞识别。这两个过程分别称为抗原加工(antigen processing)和抗原递呈(antigen presentation)。

近年来发现 T 细胞也能识别脂类抗原。与蛋白质抗原一样, 脂类抗原也必须经过加工和递呈才能为 T 细胞所识别。与蛋白质抗原不同的是, 脂类抗原是由 CD1 分子, 而不是 MHC 分子递呈的。

本章主要介绍蛋白质和脂类抗原的加工和递呈过程、抗原递呈的意义以及 T 细胞对抗原的识别。

### 第一节 抗原递呈细胞和递呈分子

#### 一 抗原递呈细胞

抗原递呈细胞(APC)就是具有加工和递呈抗原能力的细胞。因为所有的有核细胞都具有降解胞质内蛋白的能力, 而且都表达 MHC I 类分子, 所以, 有核细胞一旦表达非己抗原时, 例如病毒感染细胞和肿瘤细胞等, 都能成为 APC, 向  $CD8^+$  T 细胞递呈抗原。但通常把通过 MHC I 类向  $CD8^+$  T 细胞递呈抗原的细胞称为靶细胞, 而只把表达 MHC II 类分子并能向  $CD4^+$  T 细胞递呈抗原的细胞称为 APC。

专职 APC 一词专指一类特化的细胞, 它们具有摄入、加工、递呈胞外抗原, 激活  $CD4^+$  T 细胞, 诱导免疫应答的能力。为此, 专职 APC 必须表达 MHC II 类、协同刺激信号分子和各种粘附分子。满足这些条件的细胞主要有三类, 即巨噬细胞、树突细胞和 B 细胞。胸腺上皮细胞也属 APC, 它们组成性表达 MHC II 类, 向未成熟 T 细胞递呈抗原, 在 T 细胞胸腺内成熟过程中的阳性和阴性选择中发挥特殊的作用。在慢性炎症应答过程中, 有些细胞, 如皮肤成纤维细胞、脑小胶质细胞、血管内皮细胞以及自身免疫病中的甲状腺上皮细胞和胰岛  $\beta$  细胞等, 在细胞因子作用下, 可诱导性表达 MHC II 类分子、协同刺激分子和各种粘附分子而成为 APC。由于这类细胞在通常情况下执行其专有的功能, 不具备递呈抗原的能力, 所以称为非专职 APC。

通常情况下, 如不加说明, APC 指的是专职 APC, 不包括非专职 APC。

下面分别介绍三类 APC 的特点。

### (一) 巨噬细胞

巨噬细胞(MΦ)属单核吞噬细胞系统,是 APC 中具有强大吞噬能力的细胞。它能够吞噬大的颗粒性抗原,因此在加工和递呈胞外病原体 and 颗粒性抗原中起重要作用。静止的 MΦ 只表达少量的 MHC II 类,而且完全不表达协同刺激分子。MΦ 在吞噬病原体后,或在 CD4<sup>+</sup>T 细胞分泌的 IFN-γ 和 TNF-β 的作用下,诱导性表达 MHC II 类分子、协同刺激分子 B7 (CD80 和 CD86)和粘附分子。MΦ 表面表达多种受体,如甘露糖受体、LPS 受体、葡聚糖受体等,它们通过与病原体表面相应配体的结合而促进 MΦ 摄入病原体。而 MΦ 表面的补体受体 CR1 和 Fc 受体则促进 MΦ 摄入经补体和抗体调理的抗原。大多数病毒以及非病原体抗原常常不能诱导 MΦ 表达 MHC II 类和协同刺激分子。

### (二) 树突细胞

树突细胞(DC)起源于骨髓干细胞,分属两个不同的谱系。一个来自髓样前体细胞,和单核吞噬细胞谱系有关,称为 DC1,如间质树突细胞和郎罕细胞;另一种来自淋巴样前体细胞,称为 DC2。不同 DC 在组织分布、表型和功能上有所区别(参见第二章)。

未成熟的 DC 分布于各种组织中,成熟 DC 存在于脾脏和淋巴结等二级淋巴器官中。组织中的 DC 有两个特点。首先,它们具有摄入抗原和加工抗原的能力。DC 能通过巨胞饮(macropinocytosis)和受体介导的内吞作用摄入抗原。近来认为 DC 也具有吞噬作用。第二,MHC II 类分子和协同刺激分子积累在内体和溶酶体中,而不在细胞表面表达,所以不能激活未致敏 T 细胞。DC 在外周摄取抗原后被激活,运动能力增强,经淋巴管进入引流淋巴结。DC 从外周进入淋巴结的过程中分化成成熟 DC,并发生一系列表型的改变:①它们失去主动摄入抗原的能力,只能被动摄入病毒抗原和细菌毒素;②细胞表面 MHC II 类和 MHC I 类分子表达水平依次增高;③高表达协同刺激分子。外周 DC 在免疫应答中的作用可能是将感染部位的抗原运送到淋巴组织,在淋巴组织中激活再循环的 T 细胞。

淋巴结中的 DC 主要集中在 T 细胞区,这些 DC 高表达 MHC I 类和 II 类分子、协同刺激分子(B7-1, B7-2, CD40)和粘附分子(ICAM-1, ICAM-3 和 LFA-3),所以具有很强的激活未致敏 T 细胞的能力。但淋巴结中的 DC 不具有吞噬能力,不能从胞外液中摄取抗原。这就意味着它们可能专门用来递呈病毒肽,也可能包括细菌毒素,因为病毒和细菌毒素本身具有进入细胞的能力。DC 递呈的病毒谱很广。DC 可通过 MHC I 类和 II 类分子递呈病毒肽,激活 CD8<sup>+</sup>和 CD4<sup>+</sup>T 细胞。

近来的研究显示 DC1 和 DC2 可分别激活 Th1 和 Th2。

### (三) B 细胞

B 细胞不具吞噬能力,但它们能通过抗原受体即细胞膜表面 IgM 特异性地摄取可溶性抗原。B 细胞高表达 MHC II 类分子,但不能组成性表达 B7。许多微生物成分,如 LPS 可诱导 B 细胞表达 B7。所以细菌佐剂可诱导机体对可溶性蛋白质抗原产生应答。B 细胞的抗原递呈功能在胸腺依赖抗原诱导的抗体产生中起重要作用。

三类 APC 在组织分布、摄入抗原的方式、MHC II 类分子和协同刺激分子的表达、递呈抗原的种类等方面有一定的区别(表 7-1)。三类 APC 加工、递呈抗原的能力互相补充,使免疫系统能对所有的抗原产生应答。

表 7-1 三类专职抗原递呈细胞的特点

	B 细胞	MΦ	组织 DC	淋巴器官 DC
摄取抗原方式	抗原特异,受体介导	吞噬,受体介导	吞噬,巨胞饮,受体介导	病毒感染
摄取抗原能力	++++	+++	+++	++++*
MHC II 类分子表达	组成性,激活后增高	诱导性,受细菌和细胞因子诱导	诱导性	组成性
协同刺激分子表达	诱导性	诱导性	诱导性	组成性
递呈的抗原种类	毒素,病毒,细菌	胞外菌和胞内感染菌	病毒,移植抗原,凋亡细胞	病毒、毒素
分布	淋巴组织,外周血	淋巴组织,结缔组织,体腔	上皮,结缔组织	淋巴组织

\* 指摄取病毒和细菌毒素的能力

二 抗原递呈分子

(一) MHC I 类和 MHC II 类分子

主要组织相容性复合体 MHC I 类和 II 类分子构成两种蛋白质抗原递呈系统,它们分别向 CD8<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup> T 细胞递呈抗原肽。关于 MHC 分子与肽的相互作用参见第四章。下面主要介绍 CD1 分子参与的第 3 类抗原递呈系统。

(二) CD1 分子

近年来在抗原递呈研究中发现,分化抗原 CD1 分子能够递呈脂类抗原,供一些具有特殊表型的 T 细胞亚群识别。

CD1 分子是细胞表面的糖蛋白。在结构上和进化起源上,CD1 分子与 MHC 基因编码的抗原递呈分子有关。在细胞膜上,CD1 分子也与  $\beta_2$ -m 非共价结合,构成异二聚体。CD1 分子膜外结构域与 MHC I 类和 II 类的氨基酸同源性约 30%。这些结构上的特点提示,CD1 与 MHC I 类和 II 类基因起源于同一祖先,它们在哺乳动物进化早期过程中的某一个时刻分成了两个独立的谱系。

1. CD1 分类: 根据氨基酸同源性,CD1 分子分成两组,分别具有不同的组织分布和功能。人 CD1a、CD1b 和 CD1c 属于第 1 组,CD1d 属于第 2 组。CD1e 的归属未定。小鼠中未发现与人第 1 组 CD1 对应的分子,其 CD1d 则包括 CD1d1 和 CD1d2。

2. CD1 分子结构: 从近年来获得的小鼠 CD1d 分子晶体的 X 线衍射图可以看出,CD1 分子的三维结构在总体上与 MHC I 类和 II 类分子是十分相似的。CD1 分子膜外的第 3 个结构域 ( $\alpha 3$ ) 也具有 Ig 样折叠,并与一个  $\beta_2$ -m 非共价结合。与 MHC 分子一样,CD1 分子的  $\alpha 1$  和  $\alpha 2$  结构域构成抗原结合部位。把 CD1d1 分子与 H-2K<sup>b</sup> 分子的晶体结构图以  $\beta_2$ m 分子为基准重叠在一起,可以看出两者在结构上,特别是在  $\alpha 1$  和  $\alpha 2$  结构上存在一些重要的差别:①CD1d 分子  $\alpha 3$  不能与 CD8 或 CD4 分子结合。②CD1d 分子的抗原结合槽比 MHC I 类的更深、更狭但容量更大;③MHC I 类分子抗原结合槽中的一些保守残基在 CD1d 分子中为一些较小的残基所取代,并且构成一个大袋(A'袋)和一个 F 袋。CD1d 分子的 A'袋壁由疏水残基组成,因而不能与肽分子形成氢键网。F 袋壁也大多由疏水残基组成。④CD1d 抗原结合槽的两端似乎是闭合的,而且在纵长上互相靠近,只留下从槽中央至 F 袋这一段槽口是开放的。

上述 CD1d 分子抗原结合槽的结构特点提示, CD1 分子的抗原结合槽不大可能容纳蛋

白质抗原肽,而是适合于结合双链脂肪酸。所以 CD1 分子可能是与脂类分子中的脂肪酸相结合,而脂类分子头部的极性基团,即亲水性酰基和糖基则暴露于 CD1 分子抗原结合槽外,或位于抗原结合槽入口处。脂类抗原在 CD1 分子中的这样一种定位,使得其亲水的头部和 CD1 $\alpha$  螺旋表面的一些残基一起构成供 TCR 识别的部位。最近的研究结果确认, T 细胞对 CD1b 递呈的糖脂如葡萄糖单霉菌酸酯 (glucose monomycolate, GMM) 的识别是针对其糖基而不是针对脂肪链的。

3. CD1 分子的分布:第 1 组 CD1 高表达于胸腺上皮细胞和各种 APC 表面,如 CD1a 和 CD1c 高表达于郎罕细胞上,CD1b 与 CD1e 表达在皮肤、肝、肺和淋巴器官 DC 的表面,而脾脏、血液和扁桃体的 B 细胞中 20% ~ 50% 表达 CD1e。GM-CSF 和 INF- $\gamma$  可诱导上述细胞表达 CD1a, CD1b 和 CD1e。

第 2 组 CD1 分子(人 CD1d,小鼠 CD1d1 和 CD1d2)的组织分布尚不明确。在人和小鼠胃肠道上皮、B 细胞以及小鼠的造血细胞中存在第 2 组 CD1 分子。

### (二) 其他抗原递呈分子

包括非经典的 I 类抗原 HLA-E 和 HLA-G。这些抗原的等位基因数十分有限。HLA-E 主要递呈经典 I 类分子和 HLA-G 分子引导序列中的一个九肽,参与激活 NK 细胞的抑制性受体,在免疫调节和非特异免疫中起重要作用。最近发现 HLA-E 也能够像其他经典 I 类分子一样递呈蛋白质抗原。HLA-G 分子的分布比较局限,主要存在于人类母-胎交界面、胸腺髓质和包膜下上皮细胞中。HLA-G 分子可直接活化 NK 细胞的另一类抑制性受体 KIR(参见第二章)。新近有研究揭示,HLA-G 可能也具有递呈蛋白质抗原的能力。

## 第二节 两条主要的抗原加工递呈途径

这里所叙述的两条途径分别加工递呈外源性抗原(exogenous antigens)和内生性抗原(endogenous antigens)。外源性抗原和内生性抗原专指蛋白质抗原,不包括脂类抗原。

### 一 外源性抗原和内生性抗原

首先需要指出的是,内生性抗原并非自身抗原的同义词,外源性抗原也不等于非己抗原。内生性抗原和外源性抗原的区分是根据它们在进入加工途径前所处的位置,即位于细胞内还是位于细胞外来确定的。任何抗原,无论是自己的,还是非己的,如在胞质内加工,都称为内生性抗原,而进入内体加工的都称为外源性抗原。因此,自身的蛋白质,如可溶性 MHC 分子,或细胞膜结合的蛋白质分子,如被 APC 摄入后进入内体加工,则虽为自身蛋白,也称为外源性抗原。反之,在宿主细胞中复制的病毒在宿主细胞质中产生的病毒蛋白和胞内感染的病原体等虽属非自身蛋白,但由于存在于胞质内,也称为内生性抗原。

外源性抗原和内生性抗原在细胞内加工的部位、所结合的 MHC 分子种类以及 MHC 分子发生结合的区室是截然不同的,加工过程中涉及的酶、细胞内转运过程中所需的信号或伴随蛋白等也是不同的。下面详细叙述这两条不同的抗原加工和递呈途径。

## 二 外源性抗原加工递呈途径

### (一) 抗原来源

外源性抗原主要来自通过各种途径进入机体的非己抗原,包括非己蛋白和病原体及其产生的毒素。病原体包括各种胞外感染的细菌、真菌、原虫和肠道寄生虫等。寄生虫有弓形虫和血吸虫等。非己蛋白包括细菌外毒素、各种用于免疫防治的类毒素等。自身蛋白经 APC 摄入后也进入外源性抗原加工递呈途径。事实上,体外培养的 MΦ 表面 MHC II 类分子所递呈的肽中 99% 以上来自自身蛋白。当然,在正常情况下,这些自身肽是会被免疫系统当成抗原来识别的。

### (二) 抗原的加工递呈

各种 APC 可通过其特有的方式摄入外源性抗原,其方式及特点参见本章第一节。

1. 抗原加工区室: 外源性抗原被 APC 摄取后,质膜将抗原包围,在胞质中形成空泡,称为内体(endosomes)。内体的功能是运输和降解被摄入的外源性抗原,并且是 MHC II 类分子荷肽的场所。初形成的内体逐渐向胞质深部移动。移动过程中,内体逐渐成熟,最终成为溶酶体。在从初形成的内体到成为溶酶体的过程中,存在一系列连续变化的、结构不同的内体,如早期内体、中期内体和晚期内体等。这些不同的内体在密度、pH、所含有的酶的种类、MHC II 类分子浓度、HLA-DM 分子(下述)浓度等方面是不同的,它们的超微结构也不一样。内体/溶酶体中均为酸性环境,含有各种能降解蛋白、糖类、脂类和核酸的酶。从早期内体向溶酶体演化的过程中,各种内体中的 pH 值逐渐降低,至溶酶体时达最低点。内体/溶酶体内的酸性环境为各种酶类提供了适宜的作用条件,也有利于 HLA-DM 与 II 类分子的相互作用。II 类分子与肽的结合可在各种不同的抗原加工区室(compartments for antigen processing)内发生,但主要在含有丰富的 MHC II 类、HLA-DM 和外源性抗原肽的内体中进行。这类区室有以下两种。在 MΦ 内,有一种介于内体与溶酶体之间的晚期区室,称为 MHC II 类区室(MHC class II compartment, MIIC)。在 B 细胞中存在另一种称为 CIIV 的区室(CIIV: MHC class II-containing vesicles)。CIIV 可能是由早期和晚期内体产生的。

2. 蛋白质抗原降解: 在 APC 的内体/溶酶体中含有大量的在酸性环境下作用的酶,例如存在于溶酶体中的酶多达 40 余种,包括蛋白酶、核酸酶、糖苷酶、脂酶和磷酸酶等。内体/溶酶体中的蛋白酶按照作用方式的不同分为两类。第一类是内切酶,主要包括四种组织蛋白酶(cathepsins, 以下简称 Cath): Cath D, Cath E, Cath L 和 Cath S。在外源性抗原加工中起重要作用的是 Cath L 和 Cath S。第二类是外切肽酶,外切肽酶中又分为两类,一类是组织蛋白酶,另一类是肽基二肽酶。IFN- $\gamma$  对 Cath S 的活性有很强的上调作用。

内体/溶酶体中蛋白酶的特异性不是很严格的,各种蛋白酶可组成一个多重催化单位(multi-catalytic unit)。这意味着,只要有足够的时间,大多数蛋白质和肽都将在内体中被彻底降解,这一点对于 MHC II 类分子荷肽是十分重要的。MHC II 类分子须在蛋白质已部分降解而未被彻底降解之前,即表位产生之时,出现在适当的部位,即同时含有外源性抗原和 HLA-DM 分子的内体/溶酶体中,才能递呈外源性抗原肽。

外源性抗原在内体/溶酶体中降解产生肽,其中一些长度为 13~18 个甚至长到 30 个氨基酸的肽可以与适当的 MHC II 类分子结合。这些肽经 II 类分子递呈后供 CD4<sup>+</sup> T 细胞识别。

3. MHC II 类分子从内质网向内体转运: 在内质网(ER)腔中,新合成的 II 类分子的  $\alpha$  和  $\beta$  链

经过部分糖化后,配对、折叠,形成异二聚体,通过  $\alpha$  和  $\beta$  链中疏水的跨膜段插入 ER 膜。

$\alpha$  和  $\beta$  链装配成 MHC II 类分子的过程需有 2 种非多态性蛋白参与。第一种是钙联素 (calnexin),其主要作用是保证  $\alpha$  和  $\beta$  链在装配成 II 类分子的过程中适当地折叠。第二种蛋白是 Ia 相关的不变链 (Ia-associated invariant chain),简称 Ii 链。人 Ii 基因定位于第 5 号染色体,含 8 个外显子。Ii 链是一种 II 型膜蛋白,表达于 ER 膜上。其 N 端位于胞质内,C 端位于 ER 腔中。因拼接方式不同和翻译起点不同,人 Ii 链有 4 种异构体。

Ii 链分子中有 4 个序列与 II 类分子递呈抗原有关(图 7-1A)。第一个序列位于第 81 ~ 104 位,共包含 24 个氨基酸残基。这一序列的特别之处是它能与所有 MHC II 类分子的抗原结合槽以不同程度的亲和力结合。所以称为与 II 类结合的不变链肽段(class II-associated invariant chain peptide),简称 CLIP。第二个序列位于胞质内的 N 端,其中的一个双亮氨酸结构与 Ii 链引导 II 类分子进入内体有关。第三个序列位于 153 ~ 183 位,Ii 分子通过这一序列聚合成 3 聚体。在 ER 中,Ii 链即以 3 聚体形式存在。最后一个序列只存在于 p41 分子中,即由 Ii 基因的第 6 个外显子编码的结构域。这一序列位于 p41 分子的第 193 ~ 256 位,它对 Cath L 具有强大的抑制作用,能促进内体中外源性抗原肽的产生,从而促进 II 类分子的抗原递呈作用。

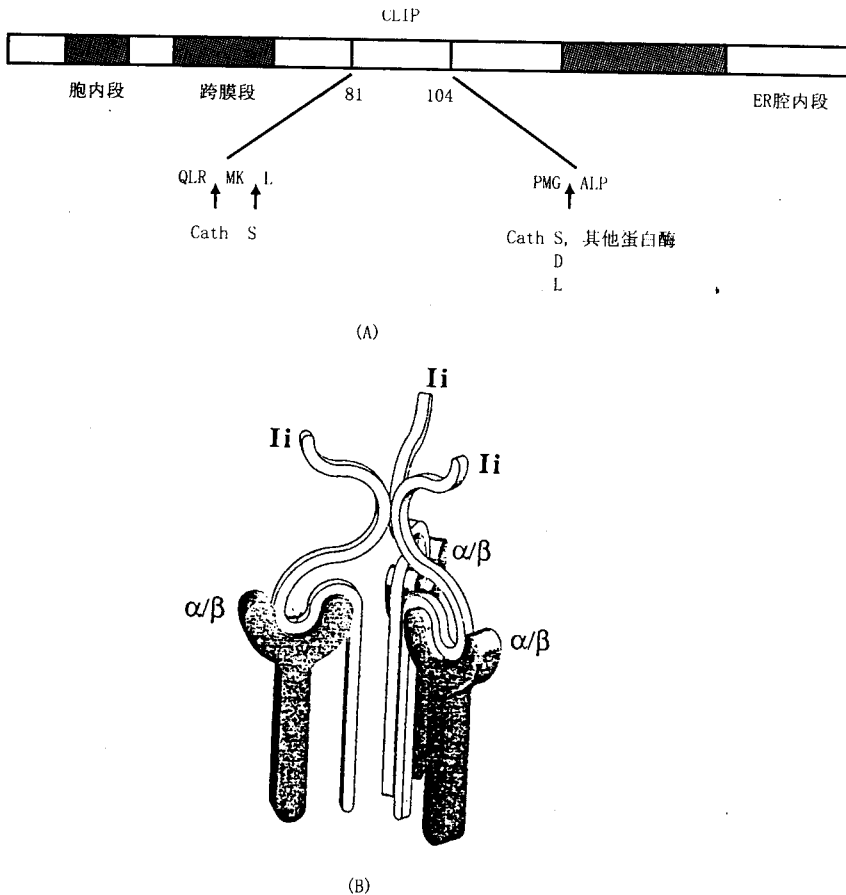


图 7-1 Ii 链示意图

(A) Ii 链一级结构示意图,示 CLIP; (B) Ii 链/II 类九聚体示意图



CLIP 几乎能与所有 II 类分子的抗原结合槽结合,这是因为其锚着残基是甲硫氨酸和丙氨酸。甲硫氨酸能自由伸曲,而丙氨酸可以使 CLIP 与槽的不利接触减小到最低程度。CLIP 的这一特点使它在结合各种 II 类分子时避免发生空间上的不协调,因而能与特异性各不相同的 II 分子结合的同时,又能与 II 类分子保持一定程度的亲和力。II 类分子的  $\alpha$  和  $\beta$  链在内质网中装配成 II 类分子后, Ii 链即通过 CLIP 与 II 类分子结合,从而阻止 II 类分子与 ER 中的内源性肽结合。在内质网中 Ii 链以 3 聚体形式存在,3 聚体中的每一个 Ii 链各自通过 CLIP 与一个  $\alpha\beta$  二聚体结合,组成一个 9 聚体(Ii<sub>3</sub> $\alpha$ 3 $\beta$ 3)(图 7-1B)。9 聚体在 Ii 链 N 端胞质内序列的引导下,离开 ER,经高尔基体外侧网络(trans-Golgi network)进入内体。

4. Ii 链在内体中降解: Ii-II 类 9 聚体进入内体后,在内体中蛋白水解酶 Cath L 和 Cath S,特别是后者的作用下,逐步降解。降解过程从 Ii 链的 C 端开始。经 3 步降解后,剩下 CLIP 仍与 II 类分子抗原结合槽相连。

5. II 类分子荷肽: CLIP 占据了 II 类分子的抗原结合槽,阻碍后者与内体中的外源性抗原肽结合。因此,只有使 CLIP 与 II 类分子解离,II 类分子才能荷肽。CLIP 与 II 类分子的解离由内体中的 HLA-DM 分子执行。

(1) HLA-DM 及其功能: HLA-DM 是一种非经典 II 类分子,存在于内体/溶酶体,即外源性抗原加工和 II 类分子荷肽的区室中,以 CIIV 和 MIIC 中含量最高。DM 分子由一条  $\alpha$  链和一条  $\beta$  链组成。 $\alpha$  链和  $\beta$  链的第 1 个结构域  $\alpha 1$  和  $\beta 1$  不形成抗原结合槽,所以不能与肽结合。DM 作用的最适 pH 是 4.5~5.5,在 pH 6~7 时仍有作用,所以在早期内体中也能行使功能。

在 CLIP 与 II 类分子解离之前,HLA-DM 与 II 类分子先发生物理性结合。这一结合引起 II 类分子构象改变,使抗原结合槽中两条  $\alpha$  螺旋略微分离,破坏了 CLIP 与抗原结合槽形成的非共价键,CLIP 因而从抗原结合槽解离。DM 分子则继续保持与 II 类分子结合,以维持 II 类分子的稳定性,直到有适当的外源性抗原肽进入抗原结合槽,DM 分子始与 II 类分子脱离。一个 DM 分子每分钟可转换 10~12 个 DR 分子。

HLA-DM 除了帮助 II 分子荷肽外,还能与 II 类分子/抗原肽结合,促使对 II 类分子亲和力低的肽从 II 类分子中解离,保证了 II 类分子与亲和力较高的肽结合。DM 对肽的这种选择作用称为“编选”(editing)。现知,另一种位于 II 类基因亚区中的 HLA-DO 分子对 DM 介导的肽交换有下调作用。

(2) II 类分子荷肽的其他方式: 在内体中,II 类分子除了与已经降解的、具有适当长度的肽结合外,可能还存在另一种荷肽方式,即一个蛋白质或一个长的多肽在与一个或数个 II 类分子的抗原结合槽结合后再在酶的作用下降解。这种荷肽方式有利于保护某些对酶敏感的决定簇不被破坏,并且使得 II 类荷肽可在早期内体中进行,从而扩大了被递呈的决定簇的范围。

6. 外源性抗原递呈: 至此,II 类分子荷肽过程结束。最后通过胞吐空泡(exocytic vesicles)膜与细胞膜融合,II 类分子/抗原肽表达于 APC 表面,供 CD4<sup>+</sup>T 细胞识别。在细胞表面的中性环境下,II 类分子/抗原肽复合物形成一种更为紧密和稳定的状态,细胞外液中的肽很难置换 II 类中的肽。

### (三) II 类荷肽的调节

在外源性抗原加工和递呈途径中,有 4 个因素可影响 II 类分子对肽的选择:①Ii 链加工

成 CLIP 的效率,这一效率与 Cath S 的表达水平有关。②HLA-DM 表达水平。③肽在具有大量蛋白酶的体内持续存在的能力。④MHC II 类对肽和 CLIP 的相对亲和力。以上 4 种因素中任何一种发生改变,都会明显影响 II 类对肽的选择。

II 类分子与 Ii 的亲和力受 MHC 单元型影响。用 Cath S 特异性抑制剂阻断 CLIP 形成的实验证明了 II 类分子/Ii 相互作用的强弱能影响 II 类分子荷肽。在对 Ii 具有高亲和力的小鼠品系(I-A<sup>b</sup>)中,体内 II 类荷肽显著减少。在对 Ii 亲和力低的 I-A<sup>s</sup> 小鼠中,即使缺乏 Cath S 也不影响 II 类荷肽。人类中发现 HLA-DR3 与 Ii 亲和力低而 HLA-DR1 与 Ii 亲和力高。

外源性抗原本身的性质也影响其在体内中的加工及与 II 类分子的结合。虾与花生中的某些蛋白质具有明显的抗热、抗化学和抗酶的特性。屋尘螨中几种变应原本身就是消化酶,能抵抗酶解而持续存在,因而容易被 II 类分子俘获和递呈。

最后,HLA-DO 分子也可以通过影响 DM 分子的活性而参与调节,这一点上面已经提到。

### 三 内源性抗原加工递呈途径

内源性抗原来源已在叙述外源性抗原来源时提及。简言之,一切出现在胞质内的抗原均属内源性抗原。在自身免疫病中,某些自身蛋白也成为内源性抗原。

#### (一) 内源性抗原肽的产生

内源性抗原肽在胞质中产生。内源性抗原在细胞内的降解过程与胞内其他蛋白质的降解并无本质区别。在真核细胞中,蛋白质的合成是受严密调节的。每一种蛋白都处在不断转换和新陈代谢中。陈旧的蛋白不断地降解,被新产生的蛋白更新。内源性抗原在胞质内的降解过程所利用的,实际上就是正常细胞内蛋白质转换的降解机制。

内源性抗原的降解过程可分为内源性抗原泛生物素化(polyubiquitination)和泛生物素化内源性抗原在蛋白酶体中降解两个步骤。下面分别叙述。

1. 内源性抗原泛生物素化:泛生素(ubiquitin)是一种小分子多肽。蛋白质在多种酶和 ATP 的作用下与泛生素结合。泛生素的作用是引导与之结合的蛋白质进入蛋白酶体。但并非所有的内源性抗原都必须泛生物素化后才能进入内源性抗原加工途径。有些蛋白质可能是在 ER 中,而不是在蛋白酶体中降解的。

2. 内源性抗原在蛋白酶体中降解:蛋白酶体(proteasome)是存在于细胞中的一种大分子蛋白质水解酶复合体,具有广泛的蛋白水解活性。动物细胞中蛋白酶体由 20 S 的蛋白酶体和调节复合物(regulatory complex)组成。调节复合物有 2 种,一种为 19 S,另一种为 11S (PA28/REG),后者由 INF- $\gamma$  诱导产生。11 S 调节复合物与蛋白酶体组成免疫蛋白酶体,与 ER 相连,其产生的肽经 TAP(后述)转运进入 ER 与 MHC I 类分子结合。

20 S 蛋白酶体的结构像一个中空的圆柱体,由 4 个圆环串接而成。圆环中央是一个贯穿纵长直径为 1~2 nm 的孔道。每个圆环含有 7 个球形亚单位。圆柱体两端的两个圆环均含  $\alpha$  单位,中间 2 个圆环均含  $\beta$  亚单位。真核细胞的蛋白酶体的每个  $\beta$  环各含 3 个催化亚单位(X,Y,Z)。泛生物素化的内源性抗原进入孔道后,在蛋白水解酶的作用下降解。蛋白酶体中的蛋白水解酶能裂解 3~4 种不同类型的肽键。蛋白水解作用之所以在蛋白酶体的中央孔道中进行,并要求蛋白质在泛生物素化后才能进入中央孔道,可能是为了避免对胞质中各种蛋白质产生旁观者降解效应。

在 IFN- $\gamma$  诱导下, X、Y 和 Z 三个亚单位分别被三个同源的亚单位替代, 它们是 LMP7、LMP2 和 MECL-1, 这时的蛋白酶体就称为免疫蛋白酶体。LMP 是低分子量多肽 (low molecular weight peptide) 的缩写。LMP2 和 LMP7 分别由位于 MHC II 类区中的同名基因编码, 这两种基因都只有非常有限的多态性。LMP2 和 LMP7 分子能影响蛋白酶体产生的肽的特性。LMP2 和 LMP7 使蛋白酶体对碱性和(或)疏水性残基下游肽键的水解作用增强。因为 MHC I 类分子结合的肽末端均为疏水性或碱性残基, 所以 LMP2 和 LMP7 有利于蛋白酶体产生能与 MHC I 类结合的肽。IFN- $\gamma$  对 LMP2 和 LMP7 的表达有上调作用。

IFN- $\gamma$  诱导的另一个产物是 PA28 (proteasome activator 28), 即上面提到的 11 S 调节复合物。PA28 与免疫蛋白酶体结合后影响蛋白酶体的切割特性, 也使得所产生的肽更适合与 MHC I 类分子结合。

ATP 酶与蛋白酶体(图 7-2)的结合使得蛋白酶体能识别泛素化的蛋白质。ATP 酶还可能起到解叠酶的作用。蛋白酶体不是胞质中唯一的蛋白酶, 胞质中还存在另一种大分子量蛋白酶, 在内源性抗原降解中发挥作用。

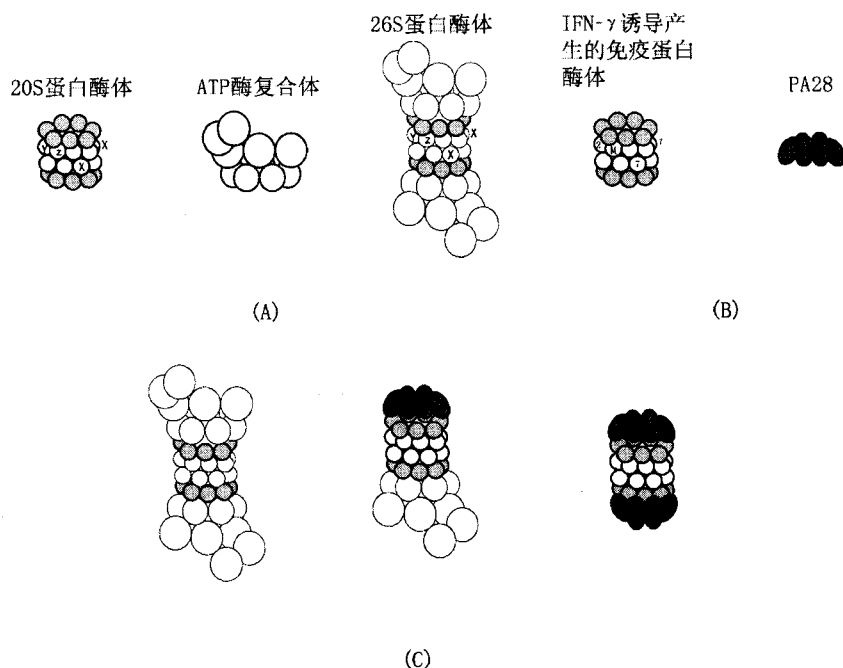


图 7-2 蛋白酶体结构示意图

(A) 20S 蛋白酶体和 26S 蛋白酶体; (B) IFN- $\gamma$  诱导产生的免疫蛋白酶体与 PA28;

(C) 20S 蛋白酶体和免疫蛋白酶体可以与 ATP 酶和 PA28 组成各种复合体

## (二) 内源性抗原肽的转运

I 类分子是在内质网腔中荷肽的, 因此, 经蛋白酶体降解产生的内源性抗原肽必须进入 ER 才能与 I 类分子结合。这一转运过程是在一种称为 TAP 的转运蛋白的帮助下实现的。

TAP 即抗原加工相关转运蛋白 (transporter associated with antigen processing), 由两个亚单位 TAP1 和 TAP2 组成, 是一种位于 ER 膜上的跨膜蛋白, 属 ABC 转运蛋白家族。每个亚单位反复穿越 ER 膜 6 次。TAP1 的两个穿膜段和 TAP2 的两个穿膜段在 ER 膜上围成一个孔道,

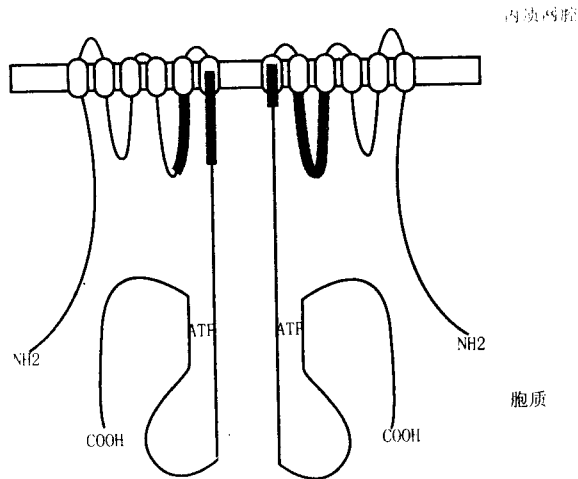


图 7-3  TAP 结构示意图  
粗线段代表与肽结合的区域

胞质内的内源性抗原肽即通过这一孔道进入 ER 腔。TAP1 和 TAP2 近 C 端各有一个 ATP 结合部位,它能催化 ATP 降解,为 TAP 转运内源性抗原肽提供能量。

内源性抗原肽在进入 ER 前,先与 TAP 结合,结合部位是在 TAP 穿膜段围成的孔道的胞质侧。在 TAP 胞内段中 ATP 结合结构域作用下,ATP 降解,孔道的胞质侧开放,内源性抗原肽进入孔道(图 7-3)。

TAP 对它所转运的肽的长度和肽的末端残基的性质有一定的要求。它选择性地转运 8~12 肽,这种长度正是 MHC I 类分子抗原结合槽所能容纳的最适长度。TAP 优势选择 C 端为碱性、极性或疏水性残基的肽,而这些残基也是与 I 类分子结合肽的锚着残基。由此可见,TAP 特别适合于运输能与 I 类分子结合的肽。在有 TAP 突变的大鼠 RMA-S 细胞株和人 721 细胞株中,细胞表面 MHC I 类分子表达减少或不表达。在人类的某些肿瘤细胞株中也发现,TAP2 表达缺陷与肿瘤细胞表面 MHC I 类分子表达减少有关,由此造成的肿瘤抗原递呈的缺陷可能是肿瘤逃逸免疫监视的原因之一。

需要指出的是,非经典性 I 类分子 HLA-E 发挥递呈作用时,在 ER 中与其他 HLA 分子引导序列的结合不依赖 TAP。

内源性和外源性抗原加工途径特点比较如表 7-2 所示。

表 7-2  内源性和外源性抗原加工途径特点比较

特    点	内源性抗原加工途径	外源性抗原加工途径
递呈抗原肽的 MHC 分子	I 类分子	II 类分子
应答的 T 细胞	CD8 <sup>+</sup> T 细胞	CD4 <sup>+</sup> T 细胞
抗原来源	内源性	外源性
抗原肽产生部位	胞质蛋白酶体	内体、溶酶体
MHC 荷肽部位	内质网腔	CIIV 或 MIIC
伴随蛋白	钙联素, TAP, tapasin	钙联素, Ii 链
递呈细胞	所有有核细胞	专职 APC

(三) MHC I 类分子荷肽

MHC I 类分子的 α 链和 β 链(即 β 2m)在粗面内质网中合成后被转运到光面内质网。α 链

在到达 ER 后必须立即与伴随蛋白结合。参与 I 类分子加工的伴随蛋白有多种,其中主要的有钙联蛋白(calnexin)、tapasin 和钙网蛋白(calreticulin)。这些伴随蛋白的作用有三:一是帮助  $\alpha$  链正确折叠,以与  $\beta_2$ -m 装配成 I 类分子;二是保护  $\alpha$  链不被降解;三是帮助 I 类分子与 TAP 分子结合。TAP 与 I 类分子的结合一方面促使  $\alpha$  链和  $\beta_2$ -m 进一步折叠,另一方面使通过肽转运孔道的内源性肽直接与 I 类分子结合。大部分 MHC I 类分子是以这种方式荷肽的。

至此,I 类分子荷肽过程结束。荷肽后的 I 类分子结构稳定,从 ER 进入高尔基体经糖化修饰后,通过胞吐空泡被转运到细胞表面,供  $CD8^+$  T 细胞识别。

外源性和内源性加工递呈途径如图 7-4 所示。

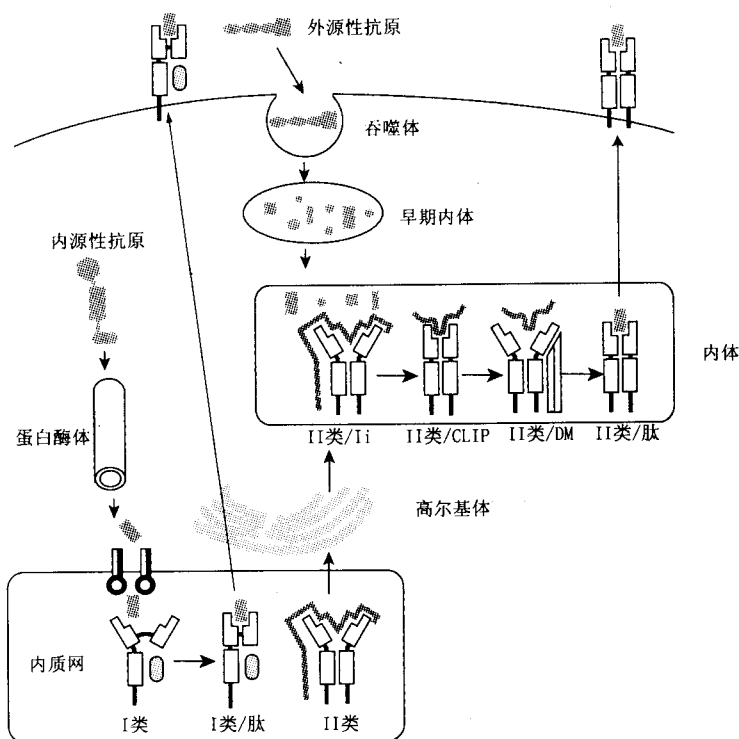


图 7-4 外源性和内源性抗原加工和递呈途径示意图

#### 四 抗原加工递呈的非经典途径

除了上述两条抗原加工递呈途径外,还存在其他的途径,这里我们把它们称为非经典抗原加工递呈途径。这些非经典途径并非为非生理途径,它们与经典途径并存,使一种抗原可通过不同的途径被加工递呈,扩大了免疫应答的范围。事实上,某些非经典途径在免疫耐受、抗体内感染和抗肿瘤免疫中具有极其重要的作用。参与非经典途径的 APC 主要是 DC 和  $M\Phi$ 。

##### (一) 非经典外源性抗原加工递呈途径

这一途径又称非经典 I 类途径,其中,外源性抗原肽最终被 MHC I 类分子递呈。涉及的机制包括:

1. 吞噬体-胞质溶胶(phagosome-cytosol)方式: 外源性抗原或抗原肽从内体中逸出,进入胞质,进入内源性抗原加工递呈途径。例如,分枝杆菌抗原和肿瘤抗原可以通过这一途径

被 HLA I 类分子递呈, 激发  $CD8^+$  CTL 的产生。

2. MHC I 类分子经 ER 和高尔基体直接进入内体, 与外源性抗原肽结合并将其递呈到细胞表面。

3. 某些外源性蛋白可直接穿透细胞膜进入胞质。

4. 溶酶体中的外源性抗原肽经胞吐作用被释放到胞外, 与细胞表面的 MHC I 类分子结合。

在上述的第一、第三种方式里, 外源性抗原完全以内源性抗原加工和递呈, 依赖蛋白酶体和 TAP。而在第二、第四种方式里, 外源性抗原的加工方式不变, 但是被 MHC I 类递呈(图 7-5)。

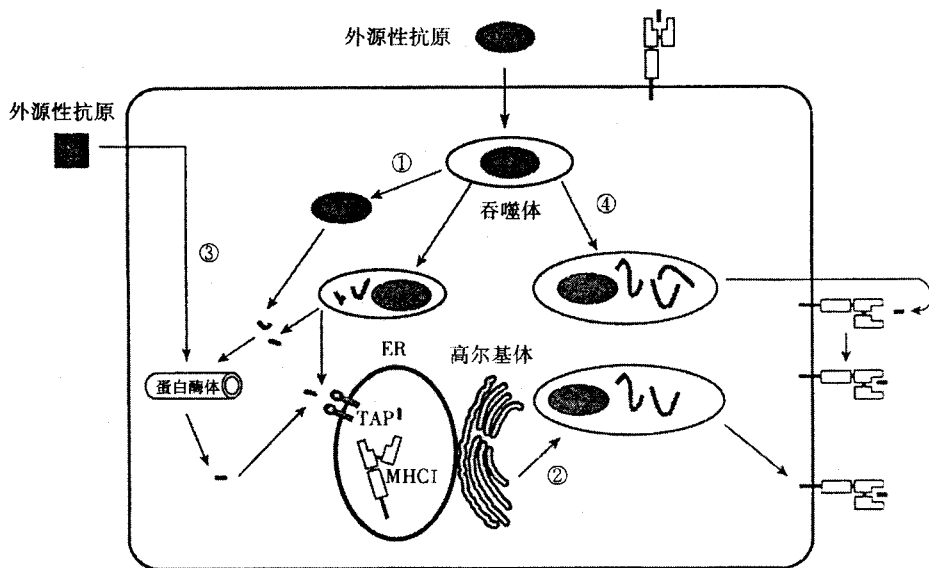


图 7-5 非经典 I 类递呈途径

## (二) 非经典内源性抗原加工递呈途径

或称非经典 II 类途径, 指内源性抗原经由 II 类分子递呈。可能的机制包括:

1. 自吞小泡形成: 在应激情况下, 胞质内出现自吞现象, 产生包含蛋白质抗原的自吞小泡 (autophagosomes)。自吞小泡与内体/溶酶体融合, 使胞质蛋白进入外源性抗原加工和递呈途径。在这一途径中, 内源性抗原完全以外源性抗原方式加工和递呈。

2. II 类分子在内质网腔中与内源性抗原肽结合: 有些 II 类分子可以在 ER 中与肽结合, 这可能是因为这些 II 类分子与  $I_i$  的亲合力低所造成的, 使得  $I_i$  链不能覆盖 II 类分子抗原结合槽, 而将它暴露于内源性抗原肽。例如, 有人报道, HLA-DQA1\*0501-DQB1\*0301 分子因为与  $I_i$  的亲合力低而在 ER 中与自身抗原结合。这种非经典途径可能导致自身免疫病的产生。其中内源性抗原的加工方式与经典途径没有什么区别。

## 第三节 脂类抗原的加工与递呈

### 一 脂类抗原及其加工区室

#### (一) 脂类抗原来源

CD1b 和 CD1c 递呈的脂类抗原主要来自于分枝杆菌胞壁成分, 包括糖脂和磷脂等(图

7-6)。从 CD1b 和 CD1c 分子和脂类抗原复合物洗脱成分中,已鉴定的脂类抗原有霉菌酸(mycolic acid)、葡萄糖单霉菌酸酯(glucose monomycolate, GMM) 和脂阿糖甘露聚糖(lipoarabinomannan, LAM) 等。

CD1d 分子能递呈疏水肽。近来发现 CD1d 分子也能递呈脂类抗原,例如酰基鞘氨醇(ceramide)。

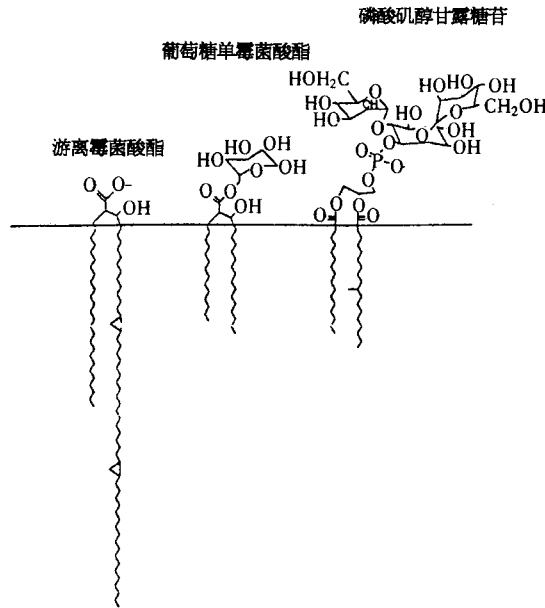


图 7-6 CD1b 递呈的分枝杆菌胞壁抗原

注: 示亲水性头部和疏水性尾部

## (二) 脂类抗原细胞内加工区室

在人类, CD1b 分子存在于许多酸性的内体区室中, 其中某些区室即为 MHC II 类分子肽区室(MIIC/CIIV), 这些区室富含脂类。但最近的研究表明 CD1a 分子不进入 MIIC, 可能在其他区室中与脂类抗原结合。

由于 MIIC 中含有丰富的脂类, 所以它们可能是 CD1 分子与外源性脂类抗原结合的理想部位。现已证明 CD1b 及其所递呈的 LAM 均存在于 MIIC 中。MIIC 中的酸性环境促使 CD1b 分子构象发生变化, 疏水性抗原结合槽的暴露有利于与脂类配体结合。另外, MIIC 中含有的一些作用广泛的降解酶可裂解某些脂类抗原中大的糖链。

## 二 CD1 限制性 T 细胞的特点

CD1 分子递呈的脂类抗原往往由特定的 T 细胞识别。有人称此为 CD1 限制性 T 细胞。此类细胞识别抗原的方式有两种。第一种直接识别其他细胞表面的 CD1 分子; 第二种类似于 T 细胞对 MHC 分子-抗原肽的识别, 即 T 细胞识别 CD1 分子与脂类抗原复合物。

### (一) 直接识别 CD1 分子的 T 细胞

这种类型的 T 细胞能特异性地识别 CD1d 分子。最近发现小鼠 MIIC 内 CD1d 分子中含有糖磷脂酰肌醇(glycophosphatidylinositol), 它可能是 CD1d 的天然配体。这一类 T 细胞的表

型为  $CD4^-CD8^-$  双阴性(DN), 也有  $CD4^+$  T 细胞和只表达低水平的  $CD8\alpha$  亚单位的  $CD8^+$  T 细胞。T 细胞的受体可以是  $\alpha\beta$  型或  $\gamma\delta$  型。小鼠  $CD1d$  反应性 T 细胞中有一个亚群, 它具有 NK 细胞的标记 NK1.1, 所以称为  $NK1.1^+$  T 细胞。这种 NK T 细胞的  $\alpha$  链是恒定的, 由  $V\alpha14J\alpha281$  组成, 而其  $\beta$  链的取用也非常局限, 一般只有 2~3 种( $V\beta2$ ,  $V\beta8$  和  $V\beta7$ )。人类  $CD1d$  反应性 T 细胞的 TCR 组成与小鼠 NK T 细胞十分相似, 其  $\alpha$  链均为  $V\alpha24$ , 其  $\beta$  链为  $V\beta2$ 、 $V\beta8$ 、 $V\beta11$  和  $V\beta13$ 。

这类 T 细胞在识别  $CD1$  后分泌 IL-4, 指令  $Th0$  进一步增殖分化, 具有免疫调节作用, 在自身免疫病的发生和肿瘤的排斥中起重要作用。

#### (二) 识别 $CD1$ 分子-脂类抗原复合物的 T 细胞

最初发现结核病患者体内存在受  $CD1b$  限制、结核杆菌胞壁成分霉菌酸(mycolic acid)特异性 DN T 细胞。以后的研究扩展了这一发现。从一个麻风病患者的皮损中分离到 LAM 特异性的、 $CD1b$  限制性 T 细胞。LAM 是麻风杆菌胞壁中的一种重要成分。在体外, 这种  $CD1b$  限制性 T 细胞对 LAM 的识别需要麻风杆菌胞壁在  $CD1b^+$  APC 中加工。麻风杆菌胞壁在 APC 内体中酸化, 产生 LAM, 最后被  $CD1b$  递呈。目前除了 LAM 和霉菌酸外, 已纯化的由  $CD1b$  递呈的分支杆菌胞壁成分还有磷酸肌醇甘露糖苷(phosphoinositide mannosides, PIMS), mycolyl glycolipids 和上面提到的 GMM 等。须指出的是,  $CD1$  限制性 T 细胞识别的是脂类抗原的亲水性头部和  $CD1\alpha$  螺旋上的氨基酸残基, 而不是脂肪链。

最近的研究证明, 第 2 组  $CD1$  分子, 即  $CD1d1$  分子也能递呈脂类抗原。Kawano 等证明, 小鼠  $CD1d$  分子能够递呈人工合成的糖脂抗原( $\alpha$ -galactosylceranide,  $\alpha$ -Galcer)。此外, 在哺乳类细胞系中,  $CD1d$  分子与糖基磷酸肌醇结合在一起。

### 第四节 抗原递呈的生理意义

T 细胞只能识别 MHC 分子递呈的蛋白质抗原肽和  $CD1$  分子递呈的脂类抗原, 这一事实决定了 T 细胞介导的免疫应答所具有的一些基本特性。下面介绍抗原递呈在 T 细胞对非己抗原的监视和 T 细胞对免疫应答调节中的作用。

#### 一 抗原递呈与 T 细胞对非己抗原的监视

由于 T 细胞只能识别经过加工并被 MHC 分子递呈的肽, 所以抗原加工和递呈是 T 细胞识别和监视非己抗原的前提。从某种意义上来说, 只有能被递呈的抗原才有可能被 T 细胞识别。

非己抗原通过加工后被 MHC I 类和 II 类递呈到 APC 或靶细胞表面, 被  $CD4^+$  和  $CD8^+$  T 细胞识别。T 细胞对 MHC/肽复合物的特异性识别是极其灵敏的。一个特异性 T 细胞能够识别 APC 表面由 100~200 个特定 MHC 分子递呈的特定非己抗原肽, 这一数量不到 APC 表面 MHC/肽复合物总量的 1%。所以在体内不断循环的 T 细胞通过其特异性的 TCR 识别 MHC 分子递呈的非己蛋白的灵敏度是相当高的, 由此而实现免疫监视作用。

#### 二 免疫调节作用

前面说过, 只有能够被 MHC 分子递呈的抗原才有可能被 T 细胞识别并启动免疫应答。



MHC 是高度多态性的,不同个体表达不同的等位基因产物。而一种特定的 MHC 分子只能选择性地结合一组具有相似锚着残基的肽,因此造成不同个体对蛋白质抗原免疫应答的差异。所以,一个个体对抗原的免疫应答在很大程度上是由该个体的 MHC 基因型决定的。因此,MHC 等位基因产物通过抗原递呈参与免疫调节。应该说,这一调节发生在群体水平(参见第十一章)。

HLA-E 可被 NK 细胞表面带有 C 型凝集素样结构的抑制性受体 CD94/NKG2A 所识别,HLA-E 的抗原递呈作用有助于 NK 细胞区分靶细胞表面是否表达 MHC I 类分子,以及这些分子是否为自身 MHC,由此调节 NK 的杀伤活性,使之区别性地杀伤不表达 I 类分子的恶变细胞和病毒感染的靶细胞。

脂类抗原的加工和递呈代表了另一个特殊的抗原加工递呈途径。从本质上来说,脂类抗原的加工和递呈的生理意义与上述的蛋白质抗原的加工递呈是一样的。由于 MHC 分子只能递呈蛋白质抗原,所以 CD1 分子递呈脂类抗原是对 MHC 抗原递呈系统的补充,扩大了 T 细胞应答的抗原范围,为 T 细胞提供了另一个监视目标。

CD1d 反应性 T 细胞在免疫调节中,特别是在自身免疫中具有重要作用。有证据表明,CD1d 反应性 T 细胞在肿瘤排斥中也有一定的作用。

## 第五节 T 细胞对抗原的识别

### 一 T 细胞对蛋白质抗原的识别

#### (一) TCR 与 MHC 分子-肽复合物的相互作用

经过加工的抗原被 MHC 分子递呈到细胞表面后,在适当的条件下被具有特异性受体的 T 细胞识别。未致敏 T 细胞在外周淋巴器官中与 APC 相遇并被激活,而已致敏的 T 细胞则离开外周淋巴器官经血液循环进入抗原入侵部位发挥效应。

无论是  $CD4^+$  T 细胞还是  $CD8^+$  T 细胞表面都具有特异性 T 细胞抗原受体,即 TCR。 $\alpha\beta$  TCR 和  $\gamma\delta$  TCR 识别抗原的方式是相同的,下面以  $\alpha\beta$  TCR 为例叙述 T 细胞对抗原的识别。

$\alpha\beta$  TCR 是由 2 条跨膜糖蛋白,即  $\alpha$  链和  $\beta$  链,通过二硫键连接而形成的异二聚体。 $\alpha$  链和  $\beta$  链的膜外部分各含有 2 个 Ig 样结构域,一个为膜近端的恒定区,另一个为膜远端的可变区。 $\alpha$  链和  $\beta$  链的可变区共同组成 TCR 的抗原结合部位。TCR 的膜内段很短,不具备传递信号的条件。TCR 识别抗原的信号主要是通过 CD3 复合体传导的(参见第二章)。

与 Ig 一样,TCR 的抗原结合部位也是由  $\alpha$  链和  $\beta$  链的 CDR1、CDR2 和 CDR3 组成的。在空间构象上,CDR3 位于抗原结合部位中央,而 CDR1 和 CDR2 组成抗原结合部位外侧。MHC I 类分子-肽-TCR 复合物晶体结构分析显示,MHC I 类分子抗原结合槽与 TCR  $V\alpha$ 、 $V\beta$  结构域之间以斜交的方式结合。CDR1 $\alpha$  位于肽的 N 端上方,CDR1 $\beta$  位于肽的 C 端上方,CDR2 $\alpha$  和 CDR2 $\beta$  分别位于 I 类的  $\alpha 2$  和  $\alpha 1$  螺旋上方。这种斜交方式的相互作用有利于 TCR 的中央部位,即 CDR3 与肽密切接触。

TCR 的 CDR1 和 CDR2 由 TCR 基因的 V 区编码,CDR3 由 VJ 区(对  $\alpha$  链)或 VDJ 区(对  $\beta$  链)编码。TCR V 区的基因片段数量大大少于 Ig 基因 V 区基因片段,因此 TCR 中 CDR1 和 CDR2 多态性也相应地大大低于 Ig。相反,TCR 基因具有高出 Ig 数倍至十数倍的 J 基因片段,其 N 核苷酸数目也高于 Ig 基因,因此 TCR 中 CDR3 的多样性大大高于 Ig。TCR 中 CDR

的特点是与配体即 MHC/肽的特点相适应的(下述)。

对细胞表面 MHC 分子中洗脱的肽的氨基酸序列的分析以及体外 MHC 分子与人工合成肽的亲和力测定证明,某种特定的 MHC 分子可以与多种肽结合,这些肽除了锚着残基是相同或相似以外,其余部位的氨基酸组成和序列是不同的,有时肽的长度也有变化。如与 I 类分子结合的肽可为 8~11 肽,与 II 类分子结合的肽的长度范围一般从 13~30 个氨基酸。MHC 分子-肽复合物的晶体结构图显示,在 MHC 分子抗原结合槽内的肽,其两端(包括锚定残基及其附近的残基)是深埋于槽内的,只有中央的几个残基暴露于槽的表面,这些暴露的残基与其两侧的 MHC 分子  $\alpha$  螺旋表面的某些氨基酸残基共同组成了 TCR 识别的配体。

虽然 MHC 是高度多态性的,但每一个个体只能具有为数有限的几种 MHC 分子。所以,就每一个特定的个体而言,TCR 中  $\alpha$  螺旋的多样性是有限的。然而同一种 MHC 分子因为可以与许多序列不同的肽结合,形成许多不同的 TCR 配体,所以 TCR 配体的多样性主要是由其中的肽决定的。TCR 识别配体时,多样性程度较低的 CDR1 和 CDR2 是与配体两侧的  $\alpha$  螺旋接触的,而多样性最丰富的 CDR3 是与配体中央的 DR 接触的。由于  $\alpha$  螺旋的多态性是有限的,而肽的种类是无限的,所以 TCR 的多样性主要集中在它识别抗原肽的 CDR3 部分。

TCR 与其配体的结合是低亲和力的,在一定的时间里,一个 MHC 分子/肽复合物可连续激活几十至 200 个 TCR/CD3 复合体。TCR/CD3 信号积累,激活 T 细胞。这一作用方式使得 APC 或靶细胞表面只要有少量配体就可激活特异性 T 细胞。

最近的研究提示,TCR 是以二聚体形式识别配体的。

### (二) 参与 T 细胞-APC, T 细胞-靶细胞相互作用的粘附分子

T 细胞识别抗原时要求 T 细胞与 APC 或靶细胞发生短暂的接触,这段短暂的时间对于 T 细胞从 APC 或靶细胞表面大量的 MHC 分子中筛选出一种为数极少的特定的 MHC/肽复合物并传导激活信号来说是必不可少的。

前面提到,体外培养的 MΦ 表面 MHC 分子中绝大多数含有自身肽,只有不到 0.1% 的 MHC 分子含有非己抗原。由于 TCR 与 MHC 分子-肽配体的结合是低亲和力的,单独依靠这种低亲和力的结合不能保证 T 细胞的激活,因而需要辅助受体分子 CD4、CD8 和一系列其他粘附分子的参与,以加强 TCR 与配体的结合。

CD4 和 CD8 分子在 T 细胞对 MHC II 类和 I 类分子的区别性结合中起着关键性作用。这两类分子的结构可参见第六章。在 T 细胞识别抗原的过程中,CD4 分子通过膜远端的结构域与 MHC II 类分子  $\beta 2$  结构域中一个保守部位结合。因此 CD4<sup>+</sup> T 细胞识别 APC 表面的 II 类分子-肽复合物。CD8 分子则与 MHC I 类分子重链  $\alpha 3$  结构域中一个保守部位结合,因此 CD8<sup>+</sup> T 细胞识别靶细胞表面的 MHC I 类分子。据估计,CD4 和 CD8 分子的参与可使 T 细胞激活所必需的抗原剂量降低 100 倍,即 CD4 和 CD8 分子提高了 T 细胞识别抗原的敏感性。

除了 CD4 和 CD8 分子外,一系列表达于 T 细胞、APC 或靶细胞表面的粘附分子在加强 T 细胞与其他细胞之间的牢固结合中也发挥重要作用。这些粘附分子中包括 T 细胞表面的 CD2 和 LFA-1,以及 APC 表面的 ICAM-1,2,3 和 LFA-3 等。T 细胞一旦致敏,其表面的 LFA-1 构象发生改变,使 LFA-1 对 ICAM-1,2,3 的亲和力大大提高。粘附分子间的相互作用是可逆

的,若 T 细胞不能识别 APC 或靶细胞上的 MHC/肽复合物,或 T 细胞在完成对靶细胞的杀伤后,T 细胞即与相结合的细胞分离。

需要指出的是,CD4、CD8 和多种粘附分子除了参与 T 细胞与 APC 或靶细胞相互结合外,还参与抗原识别信号以及协同刺激信号的转导,详情将在第八章介绍。

$\gamma\delta$  TCR 也与 CD3 组成复体,其识别抗原的方式与  $\alpha\beta$  TCR 相同。

### (三) MHC 约束性

T 细胞对蛋白质抗原进行识别时的一个重要特点,是必须同时识别 MHC 分子,称为抗原识别中的 MHC 约束性或限制性(MHC restriction)。这就是上面反复讨论的一个重要现象: T 细胞的双重识别。应该说,MHC 约束性是一个在二次应答中才能得到体现的免疫生物学现象。这指的是,二次应答的出现,不仅需要初次进行致敏的抗原,并要求相应抗原肽由原先的 MHC 等位基因产物进行递呈,因而 T 细胞的回忆性应答同时受抗原特异性和 MHC 等位基因特异性的约束。在远交种群随机个体之间,由于 MHC 分子往往不同(多态性),T 细胞通常只能以其 TCR 识别由自身 MHC 分子提交的抗原肽,这是 MHC 约束现象中的一种特例。

图 7-4 表明,CD4<sup>+</sup> T 细胞对抗原的识别受 MHC II 类分子的约束;CD8<sup>+</sup> T 细胞对抗原的识别受 MHC I 类分子的约束。

## 二 TCR 与脂类抗原配体的相互作用

比较 CD1b 分子递呈的各种脂类抗原的结构,发现它们都包含一个亲水的头部和一个疏水的尾部。疏水部分由两条直链或分枝脂肪酸链组成,亲水部分由酰基或糖组成。这些抗原的疏水的尾部与 CD1b 分子抗原结合槽内的 A' 袋和 F 袋结合,它们埋藏在抗原结合槽内,不与 TCR 接触。亲水的头部暴露在抗原结合槽表面,与 CD1 分子的两条  $\alpha$  螺旋中的某些残基共同构成 TCR 的配体。T 细胞对脂类抗原的识别是特异性的,实验显示,脂类抗原头部一个己糖中一个—OH 基构型的改变就足以使特异性 T 细胞不能识别。

识别脂类抗原的 T 细胞可表达  $\alpha\beta$  TCR 或  $\gamma\delta$  TCR。

抗原特异性 T 细胞在识别 APC 或靶细胞表面的 MHC 分子/肽或 CD1/脂类抗原配体后,通过 CD3 复体传入 T 细胞激活的第一信号。

至此,T 细胞完成对抗原的识别。T 细胞在进一步接受协同刺激信号后,通过激活、增殖,最终分化成效应细胞和记忆细胞(详见第八章)。

## 本章提要

T 细胞只能识别由抗原递呈分子提交的肽或脂类,因此对蛋白质和脂类抗原来说,抗原加工和递呈是激发特异性免疫应答必不可少的环节。

内源性蛋白质抗原的加工可在所有有核细胞胞质中进行,需要蛋白酶体、TAP 和多种伴随蛋白的参与,所产生的肽由 MHC I 类分子递呈,供 CD8<sup>+</sup> T 细胞识别。外源性蛋白质抗原在 APC 内体中加工,需要蛋白水解酶以及 Ii 和 HLA-DM 的参与,经 MHC II 类分子递呈给 CD4<sup>+</sup> T 细胞识别。

不同谱系的 APC 处理抗原的能力是不同的,它们互相补充,使机体能对广泛范围的非己抗原产生应答。同一谱系的 APC 处理抗原的能力也受所处部位、分化阶段、抗原进入加

工区室的途径和细胞因子环境等因素的影响。T 细胞通过分泌细胞因子诱导或促进 APC 表达 MHC 分子、共刺激分子和粘附分子,使 APC 递呈抗原的能力增强。

脂类抗原的加工和递呈途径与外源性蛋白质抗原相似。脂类抗原由 CD1 分子递呈后激活 CD1 限制性 T 细胞。APC 加工和递呈脂类抗原不但扩大了免疫应答的范围,而且在 T 细胞对蛋白质抗原的免疫应答中有调节作用。

抗原加工和递呈的主要生理学意义,从中枢水平上来说,决定了个体 T 细胞受体谱的形成,从外周水平上来说,具有免疫监视和免疫调节作用。

(王福庆)

### 参考文献

- [ 1 ] Porcelli SA, Segelke BW, Sugita M et al. The CD1 family of lipid antigen-presenting molecules. *Immunol Today*, 1998, 19:362
- [ 2 ] Bertollino P and Rabourdin - Combe C. The MHC class II-associated invariant chain: A molecule with multiple roles in MHC class II biosynthesis and antigen presentation to CD4<sup>+</sup> T cells. *Critical Rev in Immunol*, 1996, 16:359
- [ 3 ] Reed AM, Collins EJ, Shock LP, et al. Diminished class II-associated li peptide binding to the juvenile dermatomyositis HLA-DQ $\alpha$ 1 \* 0501/DQ $\beta$ 1 \* 0301 molecule. *J Immunol*, 1997, 159:6260
- [ 4 ] Vogt AB, Hammerling GJ and Kropshofer H, et al. A chaperone and its modulator influencing the peptide repertoire seen by T cells. *Immunologists*, 1998, 6:186
- [ 5 ] Harding CV. Class I MHC presentation of exogenous antigens. *Clin Immunol*. 1996, 16:90

## 第八章 T 细胞激活

T 细胞识别抗原之后,出现一系列和激活有关的事件:信号的跨膜传递、胞内的信号转导、转录因子的活化和转位、基因的转录激活、新分子的表达、细胞因子的分泌、进入细胞周期、细胞亚群的分化和免疫记忆的形成等。

未致敏 T 细胞的激活需要双重信号。通常,T 细胞借助 TCR 识别由 MHC 分子递交的抗原肽之后,通过 TCR-CD3 复合体传递抗原特异性识别信号(第一信号);以 CD28 为主的 T 细胞表面辅佐分子,识别相应配体 B7,传递非特异性协同刺激信号(第二信号)。

信号转导是免疫细胞激活的重要步骤。

### 第一节 信号转导的一般性原理

信号转导(signal transduction)指一种信号形式转换成另一种形式。通过信号转导,细胞外信号被转换成胞内的生化事件,使信号进入细胞核,引起基因的转录激活和表达。

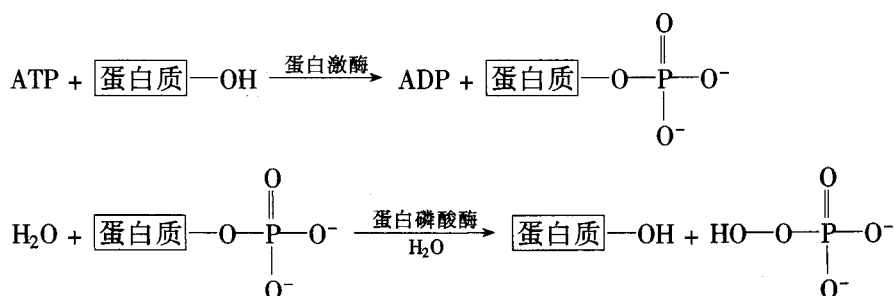
信号转导涉及蛋白质的磷酸化和脱磷酸化,有多种激酶和磷酸酶的参与。

#### 一 蛋白激酶和蛋白磷酸酶

##### (一) 蛋白质的磷酸化和脱磷酸化

蛋白质肽链某些氨基酸残基上的氢原子可以被 ATP 释放的磷酸根取代而发生磷酸化。如果因磷酸化而被修饰的蛋白质属于酶,即可使其处于激活状态;如果被修饰的是信号转导中的转接蛋白和信使分子,则可启动后续的信号转导级联反应。

磷酸化和脱磷酸化是一个可以相互转化的过程,分别由蛋白激酶(protein kinase)和蛋白磷酸酶(protein phosphatase)所促成。



##### (二) 两类蛋白激酶

能够发生磷酸化的氨基酸残基主要有三类:酪氨酸、丝氨酸/苏氨酸和组氨酸,各自有不同的蛋白激酶参与催化。免疫细胞中的信号转导只涉及前面两类氨基酸残基的磷酸化。

1. 蛋白酪氨酸激酶: 蛋白酪氨酸激酶(protein-tyrosine kinase, PTK)是一类专一性地使蛋

白质上的酪氨酸残基发生磷酸化的蛋白酶。PTK 主要活跃在信号转导的起始阶段和上游阶段。PTK 分成受体型(跨膜型)和非受体型(胞内型)两大类。免疫细胞激活一般涉及非受体型 PTK。其中有 4 个家族参与 T 细胞激活的信号转导(图 8-1A):

(1) Src(读音 sark)家族(PTK Src):成员如 Lck 蛋白(p56<sup>lck</sup>)和 Fyn 蛋白(p59<sup>fyn</sup>),皆为细胞原癌基因产物;

(2) Csk 家族:Csk 即 p50<sup>csk</sup>,系专一性地使 Src 分子 C 端酪氨酸残基发生磷酸化的 C 末端 src 激酶(C-terminal src kinase);

(3) Syk 家族:ZAP-70(zeta chain-associated protein)是该家族中参与 T 细胞激活重要激酶;

(4) Jak 家族:Jak(Janus kinase)分子因带有两个对称性的激酶类结构域而酷似希腊神话中的双头门神 Janus 而得名。Jak 在启动细胞因子受体介导的信号转导中发挥重要作用。

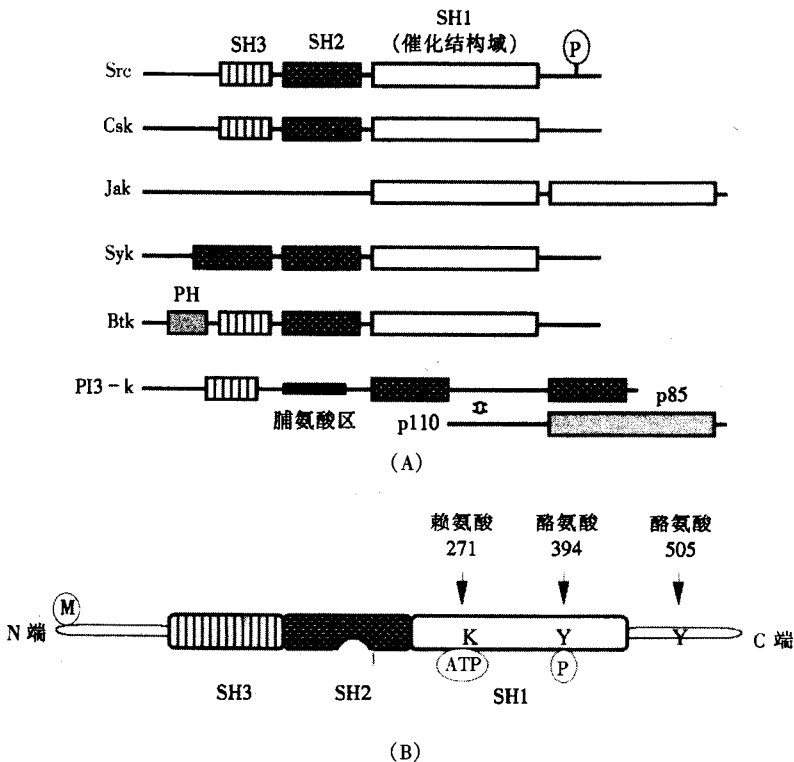


图 8-1 参与 T、B 细胞激活信号转导的一些蛋白激酶家族(A)和 PTK Src 分子结构示意图(B)

PTK Src 家族各成员的分子皆由三种不同的结构域组成,称为 SH1、SH2 和 SH3(图 8-1B)。三者中 SH1 为 PTK 活性中心,又称催化结构域,因其中赖氨酸结合的 ATP 可使底物上的酪氨酸残基发生磷酸化。图 8-1B 表明,以 Lck 和 Fyn 为代表的 Src 分子 N 端和胞膜结合(以 M 表示),C 端 505 位置则有一个已经发生了磷酸化的酪氨酸,发挥 PTK 活性调节作用(详后)。此处的 SH 指 Src 同源结构域(src-homologous domain),因为类似的结构也会在非 Src 的 PTK 中出现。例如, Csk、Syk 和 Jak PTK 家族皆带有 SH1,这是蛋白酪氨酸激酶的共同特征。和 T 细胞激活有关的 4 个 PTK 家族结构上的差异主要在于,除了 SH1 之外,Src 和 Csk 各带有一个 SH2 和 SH3, Syk 带有两个 SH2 结构域;而 Jak 没有 SH2 和 SH3 结构域(图 8-1A)。

2. 丝氨酸/苏氨酸激酶：功能特点是使蛋白质上的丝氨酸和苏氨酸残基发生磷酸化。这类激酶一般在信号转导的中下游发挥作用，并参与协同刺激信号的传递。和 T 细胞活化有关的丝氨酸/苏氨酸激酶主要有以下几种：

(1) 蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)：参与转录因子的激活。

(2) 丝裂原活化蛋白激酶，或称 MAP 激酶 (mitogen-activation protein kinase, MAPK)：是信号转导途径中 MAP 激酶相关级联反应(后述)中的重要成分，直接激活转录因子。

(3) 磷酸肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI 3-K)：该蛋白同时兼有丝氨酸/苏氨酸激酶和类脂激酶的活性。图 8-1A 下方显示 PI 3-K 由双链组成，其中的 p85 链有 SH2 结构域，还带有一段富含脯氨酸的片段，可以和 Src 分子的 SH3 相结合，参与 T、B 细胞的抗原识别信号的转导。PI 3-K 的另一条链 (p110) 虽含催化结构域 SH1，但它作用的靶目标不是酪氨酸而是丝氨酸/苏氨酸。关于 PI 3-K 的功能，将在本章协同刺激信号转导部分讨论。

### (三) 两类蛋白磷酸酶

根据脱磷酸化的氨基酸残基的不同，蛋白磷酸酶也分成不同类型。

1. 蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein-tyrosine phosphatase, PTP, PTPase)：PTP 作用于磷酸化的酪氨酸 (pY)。CD45 分子胞内段上的两个结构域可发挥 PTP 的作用，因而 CD45 属于受体型蛋白酪氨酸磷酸酶。在免疫调节一章中还会提到，由抑制性受体分子介导的信号转导有非跨膜型 PTP 的参与。

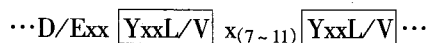
2. 丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 (serine/threonine phosphatase)：信号转导磷脂酰肌醇途径中激活的钙调磷酸酶 (calcineurin) 属此，其底物是丝氨酸/苏氨酸残基已发生磷酸化的转录因子 NF-ATp，后者脱磷酸化后发生激活和转位(详后)。

## 二 免疫受体酪氨酸激活基序及转接蛋白

信号转导中另一个重要的生物学现象，涉及各种游离于胞质中的激酶和信号分子被招募到胞膜内侧和受体分子近旁，为蛋白激酶提供磷酸化底物，并为信号转导的级联反应创造条件。在招募中发挥关键作用的结构和分子，主要有 CD3 分子胞内段上特定的氨基酸基序、识别这些基序的 SH2 结构域，以及带有 SH2 结构域的激酶和转接蛋白。

### (一) 免疫受体酪氨酸激活基序及其磷酸化

免疫受体酪氨酸激活基序 (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM) 是一个以 4 个氨基酸残基为基本结构的序列，四残基由一个酪氨酸 (Y) 和一个亮氨酸 (L) 或缬氨酸 (V)，加上两个任意氨基酸 (以 x 表示) 组成。此处突出免疫受体，是因为不仅 T 细胞抗原受体带有 ITAM，而且 B 细胞、NK 细胞、肥大细胞受体的相应分子也带有 ITAM。只是不同的免疫细胞在 YxxL 四残基基序之外的组成不一定相同。已知 T 细胞的 ITAM 为：



上式中两个 YxxL/V (以方框标出) 之间隔了 7~11 个任意氨基酸残基，而且左侧两个任意氨基酸之前需要有天冬氨酸 (D) 或谷氨酸 (E) 的参与。

ITAM 中的酪氨酸一旦发生磷酸化，意味着 Y 变成 pY (p 代表磷酸根)，pYxxL 即能够和 SH2 结构域相结合。因而 ITAM 本身的磷酸化，成了募集胞质中各种分子的重要步骤。而且，胞质中的各种游离的激酶和信号分子是否能参与信号转导的级联反应，往往取决于它们是否带有 SH2 结构域并通过 ITAM 被招募至胞膜内侧。

## (二) T 细胞激活信号转导中的转接蛋白

信号分子中的转接蛋白(adapter)本身不具有酶的功能,可参与介导蛋白与蛋白间的反应。转接蛋白往往带有多个酪氨酸残基,可被 PTK 活化,多数又配备有 SH2 结构域,因而可以与磷酸化的 ITAM 结合而聚积。然后,再通过分子上的 SH3 或其他结构结合各种蛋白,发挥进一步的招募作用,保证信号能够有效地传递。和 T 细胞激活有关的转接蛋白,最重要的是新近确认的 T 细胞活化连接蛋白(linker for activation of T cell, LAT),其他还有 76kD 带 SH2 结构域的白细胞磷酸化蛋白(SH2-containing leukocyte phosphoprotein of 76 kD, SLP-76)、生长因子受体结合蛋白 2(Grb-2)等。带有 SH2 结构域的转接蛋白往往又称为 SH2 携带蛋白(SH2-containing protein),即 SHC。

## 第二节 T 细胞激活中抗原识别信号的转导

### 一 信号的跨膜传递和转导通路的启动

#### (一) 抗原作用下跨膜分子及信号转导成分的多聚化

抗原和细胞表面受体分子的结合,引起细胞膜上相关分子的一个重要物理变化——多聚作用(multimerization)。对 T 细胞,指的是参与 T 细胞激活的各种跨膜分子如 TCR/CD3、辅助受体(co-receptor)CD4(或 CD8)、CD45 等相互靠拢成簇(clustering)。在 B 细胞激活中观察到,成簇是受体及相关分子被抗 BCR 抗体交联的结果。因为加入抗体的 Fab 片段(只有一个结合部位)和加入  $F(ab')_2$ (有两个结合部位)的效果不同:前者无作用;后者引起多个 BCR 分子聚合并传递激活信号。抗原和 TCR 结合后发生多聚作用的详尽机制未明,估计和 APC 表面存在不止一个抗原肽-MHC 复合物有关,因为这有利于 T 细胞跨膜分子发生相互交联。

重要的是,这一多聚作用引起了受体关联性酪氨酸激酶,即前面提到的非受体型 PTK 的相互靠近。对 T 细胞而言,是细胞内分别和受体 TCR/CD3(主要是 CD3 $\zeta$  链和 CD3 $\epsilon$  链)相连接的 p59<sup>lck</sup> 分子,以及和辅助受体 CD4(或 CD8)分子相连接的 p56<sup>lck</sup> 分子(皆属 PTK Src)。它们借助多聚化彼此靠拢后,各 Src 分子以 SH1 结合的 ATP 使相邻 Src 分子 SH1 结构域 394 位置上的酪氨酸残基获得磷酸根(参见图 8-1B),构成一种称为相互磷酸化或反式磷酸化(trans-phosphorylation)的格局。胞内 Src 成功地发生磷酸化,表明 PTK 开始激活,胞外受体对抗原的识别有效。

在这里,除了抗原,任何能交联免疫细胞表面识别结构并使之发生聚合的成分(如抗 CD3 抗体对 TCR-CD3 的交联),都能引发激活信号的跨膜传递。说明激活信号转导本身并不显示抗原特异性。

#### (二) CD45 对 PTK Src 的去抑制作用

然而事实上,上述过程并不产生。因为图 8-1B 表明,Src 分子上有两个酪氨酸残基座位,一个位于催化结构域即 SH1 内,称为 394 位激活性酪氨酸,是激酶显示活性的关键部位,上面提到,这正是相互磷酸化中 Src 分子间磷酸根转移的靶目标。另一个酪氨酸残基在 PTK Src 分子 C 端 505 位,称抑制性酪氨酸。在未激活的 T 细胞中有一种特定的酪氨酸激酶可以组成性地表达,这就是上面提到的 PTK Csk, Csk 专以 C 端 505 的酪氨酸为靶目标。在 Csk 的作用下,该酪氨酸残基一直处于和磷酸根相结合的状态。由此形成了 Src 的 SH2 结构域和



同一个分子上 C 端 pY 相结合的条件,这一结合使分子的 C 端卷曲起来,遮掩了 PTK Src 活性中心即催化结构域上的激活性酪氨酸残基 Y394,使之不能发生磷酸化(图 8-2)。因而,在未致敏 T 细胞中,PTK Src 是没有活性的。

这时有待分化抗原 CD45 发挥作用。上面提到,CD45 分子胞内段上有两个结构域行使蛋白酪氨酸磷酸酶的功能。它们可使底物上的 pY 变成 Y,条件是,CD45 需要紧靠其底物。显然上面提到的多聚作用为此提供了条件,使 PTK Src 和跨膜分子 CD45 相聚。于是 CD45 迅速作用于 Src(主要是 Fyn 和 Lck)分子 C 端的 pY505,后者脱磷酸化后,Src 分子的 SH2 即不再作用于 pY505,‘放开’C 端,将 PTK 的活性中心暴露出来,为 Fyn 和 Lck 分子有效地发生相互磷酸化创造了条件(图 8-2)。

这里,使得 Src 分子 C 端酪氨酸残基发生磷酸化和脱磷酸化的 Csk 激酶和 CD45 磷酸酶在功能上的对抗和平衡,调节了信号转导中起关键作用的 PTK Src 活性。换言之,CD45 分子以特有的方式解除 Src 的抑制状态,直接参与 T 细胞激活信号通路的启动。

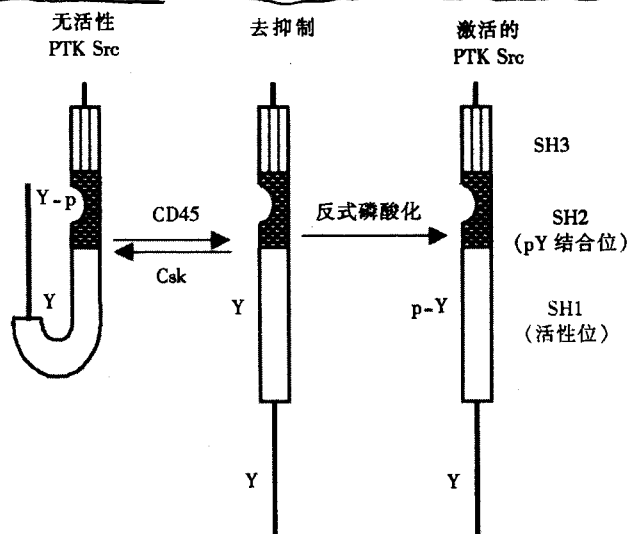


图 8-2 PTK Src 分子 C 端酪氨酸残基的磷酸化和脱磷酸化对受体关联性酪氨酸激酶活性的调节

### (三) T 细胞识别信号转导的起始步骤

图 8-3 显示,这些起始步骤包括:

(1) 抗原作用下信号转导相关分子发生多聚化,PTP CD45 解除 PTK Src 分子 C 端对激酶活性的抑制作用。

(2) 胞内 PTK Src 分子(fyn, lck)因相互磷酸化而被激活。

(3) 激活的 PTK Src 使 CD3 分子(主要是 CD3  $\zeta$  链)胞内段上 ITAM 中的酪氨酸发生磷酸化;磷酸化的 ITAM 借助和 SH2 结合,招募 PTK syk 家族中的重要成员 ZAP-70;然后,已活化的 Src 使得招募至 CD3  $\zeta$  链附近的 ZAP-70 分子发生磷酸化。

(4) 蛋白激酶 ZAP-70 因磷酸化而激活,引起跨膜的转接蛋白 LAT 胞内段上多个酪氨酸残基发生磷酸化(以 Yp 或 pY 表示)。

(5) 磷酸化的 LAT(有可能还通过另一转接蛋白 SLP-76)把各种带有 SH2 结构域的信号蛋白招募至 TCR/CD3 附近,其中包括胞膜内侧的磷脂酶 C(PLC- $\gamma$ )和转接蛋白 Grb-2。

(6) 后两者启动(或参与启动)两条不同的信号转导途径。

由此可见,在 T 细胞信号转导起始阶段发挥作用的成分主要有四种:Lck / Fyn(属 PTK Src)、CD3  $\zeta$  链、ZAP-70(属 PTK syk)和转接蛋白 LAT。需要指出的是 ZAP-70 不同于 PTK Src,系游离于胞质中的蛋白酪氨酸激酶而不属于受体关联性蛋白激酶,因而跨膜分子的多聚作用无助于它的活化。它的激活是 Src 使其发生磷酸化的结果。而 ZAP-70 凭借分子上带有两个 SH2 结构域,又成为能够和  $\zeta$  链上磷酸化 ITAM 相结合的首选蛋白,其作用是保证本身被 Src 激活,并通过转接蛋白有效地传递信号。

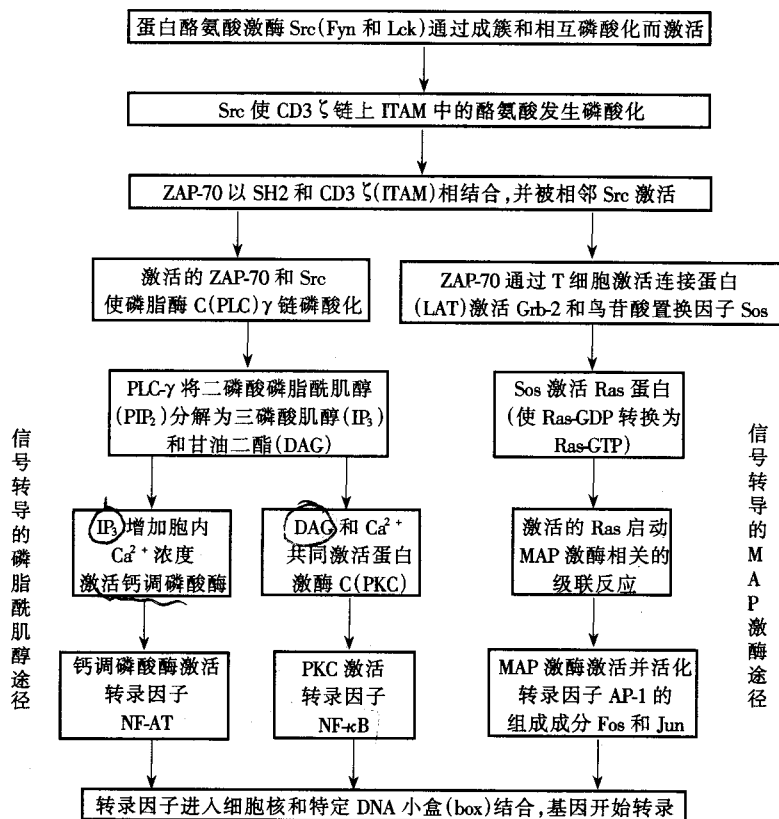


图 8-3 T 细胞抗原识别信号转导的两条主要途径

## 二 抗原激活信号胞内转导的主要途径

### (一) 磷脂酰肌醇途径

级联反应涉及的第一条通路称磷脂酰肌醇途径(phosphatidylinositol pathway, PI 途径)。首先由激活的 ZAP-70 和 PTK Src 使膜结合的磷脂酶 C(PLC)分子  $\gamma$  链上的酪氨酸残基发生磷酸化。磷酸化的 PLC- $\gamma$  发挥酶活性,使底物二磷酸磷脂酰肌醇( $\text{PIP}_2$ )水解成两个成分:三磷酸肌醇( $\text{IP}_3$ )和甘油二酯(DAG)。 $\text{IP}_3$  可迅速地从膜内侧向胞质中扩散,一方面打开细胞膜上的钙通道使钙离子进入细胞内,同时开启细胞内钙池(内质网)增加钙离子的释放,协同提高胞内游离钙的浓度。胞质钙离子含量的上升,激活一种叫钙调素(calmodulin)的  $\text{Ca}^{2+}$  结合蛋白,后者可调节其他酶类的活性,并最终导致钙调磷酸酶的激活。本章一开始提到,这是

一种丝氨酸/苏氨酸磷酸酶。另一方面,和膜内侧相结合的 DAG 则直接激活 PKC。后面将会提到,钙调磷酸酶和 PKC 主要分别活化两种重要的转录因子 NF-AT 和 NF- $\kappa$ B。因而在这一条信号转导的下游通路中,实际上再一分为二,形成钙调磷酸酶参与的途径,和 PKC 介导的途径(图 8-4)。由于一个 PLC- $\gamma$  分子可以产生很多的 IP<sub>3</sub> 和 DAG,这就放大了传入的抗原识别信号,并保证其转导的有效性。

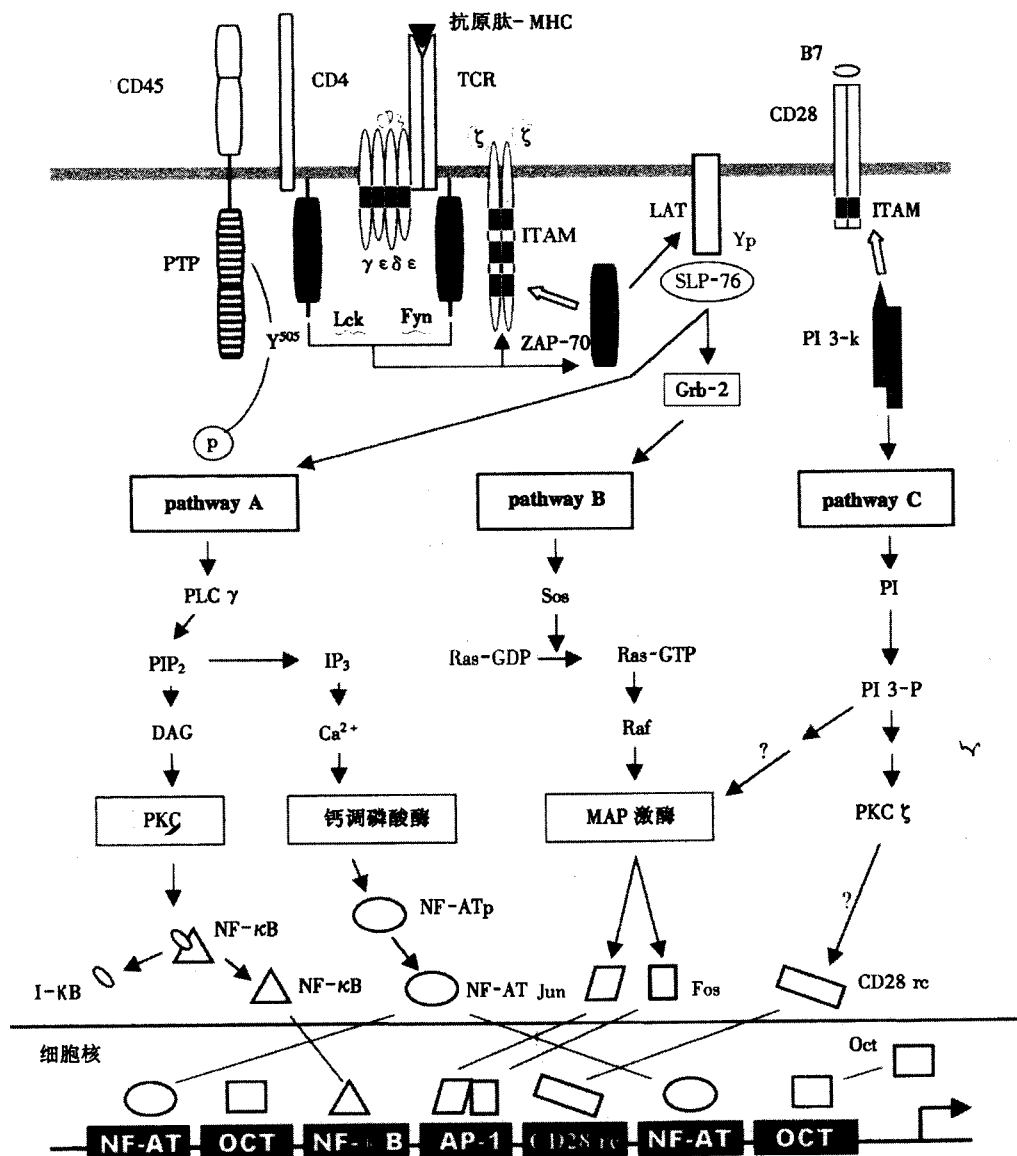


图 8-4 T 细胞激活相关信号转导主要途径示意图

## (二) MAP 激酶相关途径

1. Ras 的激活: 激活的 ZAP-70 使转接蛋白 LAT 和 SLP-76 发生磷酸化,后者募集和激活其他的转接蛋白如上面提到的 Grb-2 和鸟苷酸置换因子 Sos,启动 T 细胞活化信号转导的第二条途径。其中有原癌基因产物 p21<sup>ras</sup> 的参与。p21<sup>ras</sup> (简称 ras 蛋白)相对分子质量 21 000

(21kD),属鸟苷酸结合蛋白,是小 G 蛋白(small GTP-binding protein)家族中的一个重要成员。G 蛋白分两类,除了此处的小 G 蛋白外,另一类为异三聚体 G 蛋白(heterotrimeric G protein)。异三聚体 G 蛋白相关受体为 7 次跨膜型结构,是一个有 100 多个成员的大家族(参见第六章),但不参与抗原诱导的 T 细胞识别信号转导。

2. Ras 活性的调节: Ras 蛋白和鸟苷酸的结合取两种形式:和三磷酸鸟苷(GTP)结合的形式(Ras 处于激活状态),以及和二磷酸鸟苷(GDP)结合的形式(Ras 不显示活性)。通常 Ras 处于和 GDP 结合的无活性状态,因而使 Ras-GDP 转变成 Ras-GTP 是信号转导中的一个重要步骤,这依赖于鸟苷酸置换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)发挥作用。Sos 为 T 细胞中的一种 GEF,可使结合于 Ras 的 GDP 解离,重新置换上 GTP,令 Ras 蛋白激活(图 8-5)。激活的 Ras 先结合丝氨酸/苏氨酸激酶 Raf(又称为 MAPKKK,详见表 8-1),再由 Raf 顺序激活 MAP 激酶。后者引起另一个重要的转录因子 AP-1 的组成成分 Fos 和 Jun 磷酸化,并发生转位。但实际上,癌基因产物 Fos 和 Jun 是在细胞核内被激活的,因而 MAP 激酶具有进入细胞核,使底物发生磷酸化的作用。这在图 8-4 中并未明示。

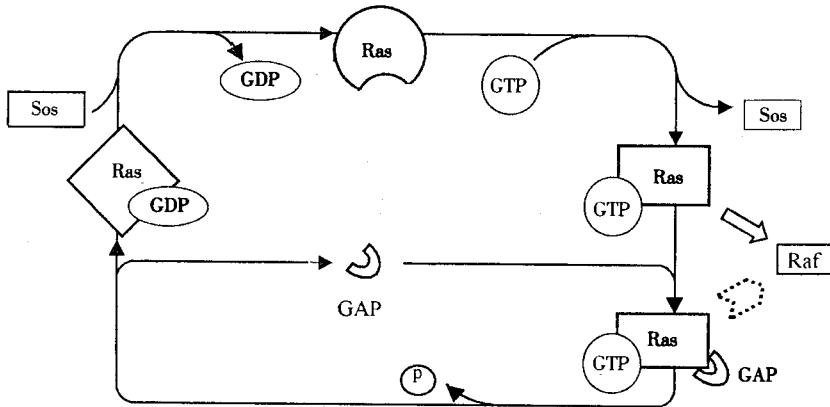


图 8-5 T 细胞信号转导 MAP 激酶相关途径中 Ras 蛋白的激活及其调节

注: GDP 二磷酸鸟苷, GTP 三磷酸鸟苷, GAP: GTP 酶激活蛋白

Sos 鸟苷酸置换因子, Ras 小 G 蛋白, p 磷酸根

值得注意的是, Ras-GTP 的活性还受另一个重要因子的调节,称为 GTP 酶激活蛋白(GTPase-activating protein, GAP),其功能是使结合于 Ras 蛋白的 GTP 脱去一个磷酸根,让 Ras-GTP 及时地转换成 Ras-GDP 这样一种无活性状态。尽管这一转换可以自发地产生,但是, GAP 的参与将大大地加速这一过程。否则,处于活化状态的 Ras 蛋白有可能持续地传递激活信号(图 8-5 右下方虚线箭头),使细胞处于无节制的分裂状态,引起癌变。

3. MAP 激酶级联反应: MAP 激酶(MAPK)在小 G 蛋白参与的信号转导中极具重要性,而 MAPK 的激活又依赖于另一个激酶叫 MAPKK,即 MAP 激酶的激酶,而且,前面还有一个 MAPKKK 起作用。图 8-5 右侧标出的 Raf 即为一种 MAP 激酶激酶的激酶(MAPKKK)。所以 MAP 激酶的活化经历了以下的级联反应:



现已查明, MAP 激酶参与的信号级联反应包括多种相似的通路,因抗原和 TCR 配接引发信号转导中 Ras 参与的途径只是其中之一。在应激反应(射线、炎症因子作用)时,小 G 蛋白家族中的其他成员如 Rac 和 cdc42,也可启动相似的级联反应形成活化 MAP 的 Rac 途径

或称 Jnk 途径,因为该途径激活的终末产物称为 Jun 蛋白 N 端激酶(Jun N-terminal kinase, Jnk)。下一章将要提到,B 细胞激活中 MAP 激酶的活化是通过 Rac 途径而不是 Ras 途径。

表 8-1 列出了两种 MAPK 途径中的相应成分。对 MAPKKK,Ras 途径为 Raf;JNK 途径为 Mekk。这样,MAP 激酶途径应该是一个统称,因为对 Ras 启动的通路,MAP 激酶是 Erk (extra-cellular signal-regulated protein kinase),激活底物 fos;对 Rac 启动途径,MAP 激酶为 Jnk,激活底物 Jun。需要指出的是,MAP 激酶相关的信号途径间往往发生信息交叉(crosstalk),由此造成 Ras 和 Rac 通路间的相互作用,因而 T 细胞激活中构成于转录因子 AP-1 的 fos 和 Jun 都可发生磷酸化。

表 8-1 MAPK 相关级联反应和相应的信号途径

信号途径	GTP 结合蛋白	→	MAPKKKK	→	MAPKKK	→	MAPKK	→	MAPK	激酶作用底物
Ras 途径	Ras		?		Raf		Mek		Erk	Fos, Myc
Rac 途径	Rac, cdc42		PAK		Mekk		Jnkk		Jnk	Jun

三 T 细胞信号转导抑制剂

几种重要 T 细胞抑制剂的作用皆涉及对活化信号转导的干扰。

T 细胞内有一类专门和抑制剂起作用的蛋白质称为免疫嗜素(immunophilin),它们可以和信号转导途径中的一些成分竞争性结合而阻断信号的传递。

表 8-2 所列的三种 T 细胞抑制剂已被应用于抗移植排斥。环孢霉素 A (cyclosporin A,CsA) 是一种自挪威土壤真菌中分离出来的十肽,它进入胞质之后和一种称为嗜环蛋白(CyP)的成分相结合。CyP 是免疫嗜素家族中的一个成员。CsA-CyP 复合物可以和信号转导磷脂酰肌醇途径中的钙调磷酸酶结合,使其不能脱去底物 NF-ATp 分子上的磷酸根,造成 NF-AT 的激活和转位失效。FK506 为一种大环内酯物,自日本的一种丝状菌中分离。细胞内能与 FK506 相结合的免疫嗜素家族成员为 FK 结合蛋白(FKBP)。FK506-FKBP 复合物起着和 AsA-CyP 相同的作用,即阻遏钙调磷酸酶的功能而抑制信号转导。CsA 和 FK506 除了阻遏 T 细胞激活,还可以抑制 Ca<sup>2+</sup> 依赖的丝氨酸酯酶(粒酶)的分泌和阻断抗原驱动的 T 细胞凋亡(详见第十章)。第三种很有应用前景的 T 细胞抑制剂雷帕霉素(Rapamycin)来自复活节岛上的另一种丝状菌。雷帕霉素阻断 IL-2、IL-4 和 IL-6 受体启动的信号转导通路,而不影响钙调磷酸酶的活性。它和相应的免疫嗜素构成复合物后,可结合一种称为 mTOR 的激酶,使后者不能通过磷酸化对底物 PHAS-1 发挥阻遏作用,PHAS-1 遂行使其本身的蛋白质转录抑制功能,使 T 细胞生长受阻。

表 8-2 三种 T 细胞抑制剂对信号转导的阻遏作用

抑制剂	来源	被结合的免疫嗜素	被竞争的信号蛋白	靶成分
环孢霉素(CsA)	土壤真菌 ( <i>T. Inflatum</i> )	嗜环蛋白(cyclophilin)	钙调磷酸酶	转录因子 NF-AT
FK506	丝状菌 ( <i>S. tsukabaensis</i> )	FK 结合蛋白(FKBP)	钙调磷酸酶	转录因子 NF-AT
雷帕霉素(rapamycin)	丝状菌 ( <i>S. hygroscopicus</i> )	雷帕霉素结合蛋白	蛋白激酶 mTOR*	PHAS-1

\* mTOR: mammalian Target Of Rapamycin, 包括 FRAP, RAFT1, RAP1

### 第三节 T 细胞激活的第二信号

#### 一 未致敏 T 细胞的激活需要第二信号

前面提到,未致敏 T 细胞通过“抗原肽-MHC-TCR”三元体得到抗原识别信号(第一信号)之后,需要有激活信号(第二信号)的出现方能活化,后者称为协同刺激(co-stimulation)。第二信号可有多方面来源,主要来自 APC 表面的 B7 分子(配体)和 T 细胞表面 CD28 分子(受体)的结合。第二信号不具有抗原特异性,但是,没有第二信号,很多基因(如编码 IL-2 的基因)不发生转录激活,因而获得了抗原识别信号的 T 细胞不能进入增殖分化阶段,呈现无能(anergy)状态。缺乏第二信号的 T 细胞,还可发生凋亡。

和 T 细胞相互作用的各种免疫细胞中,只有专职抗原递呈细胞(特别是其中的 DC)可以组成性或诱导性地提供第一和第二信号而使 T 细胞激活。T 细胞如果识别其他细胞(如属于非专职 APC 的上皮细胞)提供的抗原肽和 MHC 分子,往往因第二信号的缺如而进入无能状态,此后,即使再有来自其他专职 APC 提交第二信号,亦无法诱致 IL-2 基因的表达, T 细胞不再激活。其实,这并不完全是坏事,因为这种情况下 T 细胞识别的往往是自身抗原。虽说能与自身抗原起反应的 T 细胞克隆已在胸腺中通过阴性选择而被清除(参见第二章),但是由于某些自身抗原仅表达在特定组织的细胞表面而不表达于胸腺基质细胞,因而相应 T 细胞克隆仍可存在,它们离开胸腺并分化成熟,这些 T 细胞克隆一旦激活有可能危及自身组织。因而,令这些 T 细胞进入无能状态或使其发生凋亡,有利于自身耐受的维持。

#### 二 第二信号的转导和相应转录因子的激活

##### (一) CD28 分子介导的信号转导

第二信号属于激活信号,因而有 ITAM 的参与。已确认出现在 CD28 跨膜分子胞内段上的 ITAM,其基序不是 YxxL,而是 YxxM 或 YMxM,在酪氨酸的近旁出现甲硫氨酸(M)。由于这一基序中起关键作用的仍然是酪氨酸,它的磷酸化除了依赖于 CD28 与 B7 分子的配接(ligation),还需要 CD4 和 TCR/CD3 分子内侧 PTK Src 的激活,这些激活的 Src 也可使 CD28 分子的 YxxM 中的酪氨酸发生磷酸化。在这个意义上,抗原启动第一信号的出现,也为第二信号的发送创造了条件。这里,识别磷酸化 ITAM 的不是 ZAP-70,而是上面提到的另一类激酶——PI 3 激酶。

PI 3 激酶在磷酸肌醇(phosphoinositide)的磷酸化和代谢中十分活跃。磷酸肌醇代谢主要涉及磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI),该分子中有一个肌醇环,环中的第 3、第 4、第 5 位置羟基可以发生磷酸化。其中,使第 3 第 4 位羟基发生磷酸化的酶,分别称为 PI 3 激酶(PI 3-K)和 PI 4 激酶(PI 4-K)。先从图 8-6 左侧了解 PI 4-K 的作用。可以看出,PI 4-K 使 PI 在第 4 位置发生磷酸化成为 PI 4-P,然后磷酸化的 PI 即 PI 4-P 在另一个激酶(PI 4,5-K)的作用下,4,5 两个位置的羟基都可接上磷酸根,成为 PI 4,5-P<sub>2</sub>,此即为前面提到的二磷酸磷脂酰肌醇(PIP<sub>2</sub>)。图 8-3、图 8-4 表明,在已发生磷酸化的 PLC-γ 酶解下,PIP<sub>2</sub> 分解为三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>)和甘油二酯(DAG),各自在信号传递的磷脂酰肌醇途径中介导不同的终末性通路。

然后分析图 8-6 右侧的代谢特点。该处 PI 不是在肌醇环的第 4 位而是在第 3 位发生磷酸化,因而需要参与的蛋白酶就不是 PI 4-K 而是 PI 3-K。于是回到本节的中心问题: PI 3

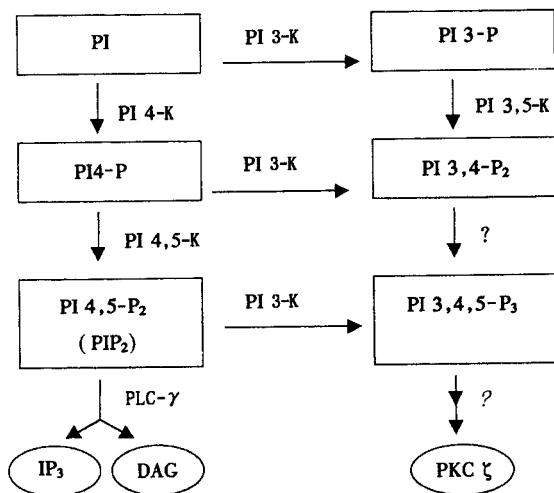


图 8-6 磷酸肌醇代谢途径和信号转导

注:PI 磷脂酰肌醇; P 磷酸根; K 激酶; PI 3-K 磷酸肌醇 3 激酶

激酶的作用。前面(包括图 8-1)提到,PI 3 激酶 p85 链上的 SH2 结构域识别的 ITAM 属 CD28 分子上已发生磷酸化的 YMxM,而且 PI 3 激酶是通过 p110 链使底物(此处是 PI)发生磷酸化。图 8-6 右侧显示,PI 3 激酶实际上参与形成三种磷酸化的磷脂酰肌醇(PI 3-P、PI 3,4-P<sub>2</sub>、PI 3,4,5-P<sub>3</sub>),它们分别第 3 位,第 3、4 位和第 3、4、5 位获得磷酸根。随后的信号转导途径尚不完全清楚,现已提出两种可能的通路:一是通过蛋白激酶 PKC ζ 而激活一种特定的转录因子 CD28-re(rc, reaction complex)(图 8-4),通过 DNA 结合蛋白 CD28-re(re; reaction element)参与 IL-2 基因的转录;另一条是作用于 MAP 激酶级联反应上游阶段的某一环节,参与 MAP 激酶相关的信号转导。

应该指出,PI 3 激酶也可介导抗原激活第一信号以及细胞因子受体介导的信号传递,因为 PI 3 激酶 p85 链带有 SH3 结构域,可以通过动员富含脯氨酸的转接蛋白和信号成分发挥作用。但现时普遍认为,对 T 细胞的激活,PI 3 激酶主要在协同刺激信号的转导中发挥作用。PI 3 激酶活性不佳,可导致 T 细胞进入无能状态证实了这一点。

### (二) CD28 相关信号促进 IL-2 mRNA 的稳定性表达

据文献,CD28 转导的第二信号还可在 mRNA 水平发挥作用。胞质中的 IL-2 mRNA 因其 3'端非转译区带有不稳定序列而短寿,因而这一细胞因子难以持续性地合成与释放。CD28 传递的信号可使 IL-2 mRNA 趋于稳定。据称,CD28 信号对特定转录因子的激活和对 mRNA 的致稳作用这两个方面加在一起,可使 T 细胞分泌 IL-2 的数量提高 100 倍。

### (三) CTLA-4 对第二信号的负向调节

CTLA-4(CD152)因最早检出于 CTL 细胞表面而得名。该跨膜分子结构与 CD28 高度同源,皆带有两个胞外结构域,但在功能和表达特点上不同于 CD28 分子。第一,CTLA-4 只表达于激活的 T 细胞,通常在 CTL 识别抗原后 12 h 才能检出于细胞表面;第二,CTLA-4 和 CD28 虽接纳相似的配体分子 B7,但 CTLA-4 和 B7 结合的能力比 CD28 强 20 倍;第三,CTLA-4 和 B7 配接后传递的是抑制信号,因而 CTLA-4 跨膜分子胞内段上携带的不是 ITAM 而是 ITIM,即免疫受体酪氨酸抑制基序。这样,T 细胞接收双信号发生激活后不久,即有 CTLA-4 和 CD28 分子竞争,

作为一个反馈因素,从第二信号的角度进行负向调节。详情可参见第十一章。

## 第四节 基因的转录激活和产物表达

接受第一和第二信号并完成信号转导的 T 细胞开始进入基因的转录激活和表达阶段。基因的转录激活涉及启动子区域中的顺式作用元件(cis-acting element)和反式作用蛋白(trans-acting protein)之间的有效结合,然后引起 RNA 聚合酶活化,基因开始转录。反式作用蛋白又称 DNA 结合蛋白或核因子,即是上面提到的转录因子(transcription factor, TF)。

### 一 转录因子的活化和转位

活化和转位(translocation)指的是胞质中的转录因子接受来自细胞膜并逐级传递进来的信号之后,通过磷酸化或脱磷酸化等作用而被活化,然后从胞质进入细胞核,和相应 DNA 小盒(顺式作用元件)结合。

IL-2 基因的激活和表达在 T 细胞活化中发挥关键作用。因而此处主要列举在 IL-2 基因转录中比较重要的、具有特征性的转录因子。它们主要有以下几种:

1. **NF-AT**: NF 为核因子,AT 为 T 细胞激活。表明 NF-AT 专门参与 T 细胞的活化。胞质中无活性状态的 NF-AT 以磷酸化的形式存在,称为 NF-ATp,钙调磷酸酶作用后使其脱磷酸化而被激活并发生转位。前面提到,钙调磷酸酶能发挥作用是信号转导的结果。

2. **NF- $\kappa$ B**: NF 含义同上。 $\kappa$ B 指 B 细胞  $\kappa$  链,因为最初 NF- $\kappa$ B 的发现和定名是参与 B 细胞活化。现知它是一种分布广泛和十分重要的转录因子。通常, NF- $\kappa$ B 在胞质中和抑制因子 I- $\kappa$ B 以复合物的形式存在。PKC 可使 I- $\kappa$ B 发生磷酸化造成该复合物解离,从而解除了 I- $\kappa$ B 对 NF- $\kappa$ B 的抑制(图 8-4),后者得以激活并进入细胞核。

3. **AP-1**: 由两个原癌基因产物 Jun 和 Fos 或是两个 Jun 共同组成,它们的激活依赖于 Ras 蛋白参与的 MAP 激酶相关途径。前面提到,活化的 MAP 激酶可直接进入细胞核,使表达于核中的 Jun/Fos 磷酸化,由它们共同构成完整的 AP-1,和相应的 DNA 小盒结合。实际上,参与激活 Jun 和 Fos 的 MAP 激酶既有 Erk 也有 Jnk,两者来自不同的 MAPK 激活途径(参见表 8-1)。

4. **CD28-re**: 前面已提到,这是第二信号转导后激活的转录因子。一旦发生磷酸化,即注入细胞核。与顺式作用元件 CD28-re 结合。

5. **Stat**: Stat 为信号转导和转录激活蛋白(signal transducer and activator of transcription),激活后以同源二聚体的形式进入细胞核,在细胞因子受体启动的信号转导中发挥重要作用(详后)。

表 8-3 总结了 IL-2 基因相关的转录因子被激活的四种主要方式。

表 8-3 T 细胞活化中膜受体传递的信号通过各种蛋白酶激活转录因子

转录因子	激 活 方 式	蛋 白 酶	信号来源
Stat	转录因子的酪氨酸发生磷酸化	Jak 激酶	白细胞介素受体
NF- $\kappa$ B	使转录因子抑制成分因磷酸化而解离	PKC	TCR
AP-1, CD28-re	转录因子的丝氨酸/苏氨酸发生磷酸化	MAP 激酶, PKC $\zeta$	TCR, CD28
NF-AT	转录因子的丝氨酸/苏氨酸发生脱磷酸化	钙调磷酸酶	TCR



图 8-4 下方以 IL-2 基因转录激活为例,列出启动子区中各种顺式作用元件的排列顺序和相应转录因子的激活转位情况。可以看出,居于中间的顺式作用元件 CD28-re 需有第二信号激活的 CD28-rc 与之结合,否则,纵然有其他转录因子的参与,IL-2 基因的转录仍将受阻。

二 基因的激活和表达

T 细胞激活中参与表达的基因大约 70 种。功能上分为三类:细胞原癌基因、细胞因子/细胞因子受体基因、其他表面分子基因。根据激活所需的时间或表达的顺序也分为三种:即时基因(细胞接受刺激后 15~30 min 表达)、早基因(0.5~24h)和晚基因(数天)。其中一些代表性的基因及其产物的特性列于表 8-4。

表 8-4 T 细胞激活中被活化的一些代表性基因及其产物

基 因	表 达 时 间	产 物 分 类	产 物 表 达 部 位
c-fos, c-jun, c-myc	即时型(15~30min)	原癌基因产物	细胞核
NF-AT, NF-κB	即时型(20~30min)	转录因子	细胞核
IL-2	早型(45min)	细胞因子	胞外分泌
IL-3, IL-4, IL-5, IL-6	早型(1~6h)	细胞因子	胞外分泌
IFN-γ, TGF-β, GM-CSF	早型(0.5~20h)	细胞因子	胞外分泌
IL-2R (p55)	早型(2h)	细胞因子受体	细胞膜
转铁蛋白受体	早型(14h)	受体	细胞膜
CTLA-4	早型(12h)	第二信号抑制受体	细胞膜
FasL	?	Fas 配体	细胞膜/分泌
CD40L	?	CD40 配体	细胞膜
HLA-DR	晚型(3~5d)	MHC 分子	细胞膜
VLA-1(迟现抗原)	晚型(7~14d)	粘附分子	细胞膜

稍加注意即可看到,上表中属即时基因者,其产物皆为转录因子。然而,没有事先存在的转录因子这些基因如何得到表达?因而在此之前,必然有些预存的转录因子能参与启动基因转录。因而,新转录因子的大量产生,属于基因表达的“第二次浪潮”,并引起早基因和晚基因的相继激活。

第五节 细胞因子受体启动的信号转导在 T 细胞激活中的作用

从表 8-4 可以看出,T 细胞激活后 45 min IL-2 开始分泌,与激活前相比,其含量可增加 1 000 倍以上。同时,IL-2 受体 α 链(p55)于 2 h 后开始表达。由于构成 IL-2 受体的 β 链和 γ 链已经存在(属组成性表达),三条链同时出现,具备了形成 IL-2 高亲和力和异源三聚体(heterotrimer)的条件。IL-2 分子和异源三聚体的有效结合,启动由 IL-2 受体 β 链和 γ 链介导的信号转导通路。其结果,不仅 T 细胞能持续地激活,并把 T 细胞推入分裂周期,使之增殖分化。

各种细胞因子的受体在结构上并不相同,但在信号转导中有其共同点,那就是往往活化一类特定的蛋白酪氨酸激酶,多数属 Jak 家族。图 8-1 显示,Jak 分子只有催化结构域而没有 SH2。Jak 的活化是细胞因子与其受体配接后引起受体亚单位(对 IL-2R 为 β 链和 γ 链)二

聚化的结果。这指的是,和 $\beta$ 、 $\gamma$ 链结合的各种 Jak 分子彼此发生相互磷酸化而激活,其原理和前面论及因 TCR/CD3 和 CD4 交联引发的 lck 和 fyn 相互磷酸化相同。然而,这一信号转导的后续通路和前面介绍的三条 T 细胞激活的通路(第一信号两条,第二信号一条)并不一样。图8-7表明,激活的 Jak 首先使受体 $\beta$ 单位 $\beta$ 、 $\gamma$ 链胞内段上的酪氨酸残基磷酸化,其作用类似抗原识别信号转导中激活的 lck 和 fyn 使 CD3  $\zeta$  链上的 ITAM 磷酸化。所不同的是, $\zeta$  链上酪氨酸磷酸化后招募 PTK ZAP-70 分子,而细胞因子亚单位上磷酸化的酪氨酸所招募的是转录因子 Stat,因为 Stat 也带有识别 pY 的 SH2 结构域。Stat 分子一旦被招募进入 Jak 附近,即因酪氨酸残基被磷酸化而被激活。

应该指出,不同细胞因子受体往往用 Jak 和 Stat 家族中的不同成员(参见第五章)。对 IL-2R,被激活的是 Jak1 和 Jak3,随之活化 Stat 5。此时,两个磷酸化的 Stat 5 分子借助彼此间 pY 和 SH2 的结合而构成二聚体,随后发生转位,进入细胞核,和 IL-2 基因启动子区中的一个特定顺式作用元件 gas 结合(gas: gamma activating sequence),直接使 IL-2 基因发生转录激活。

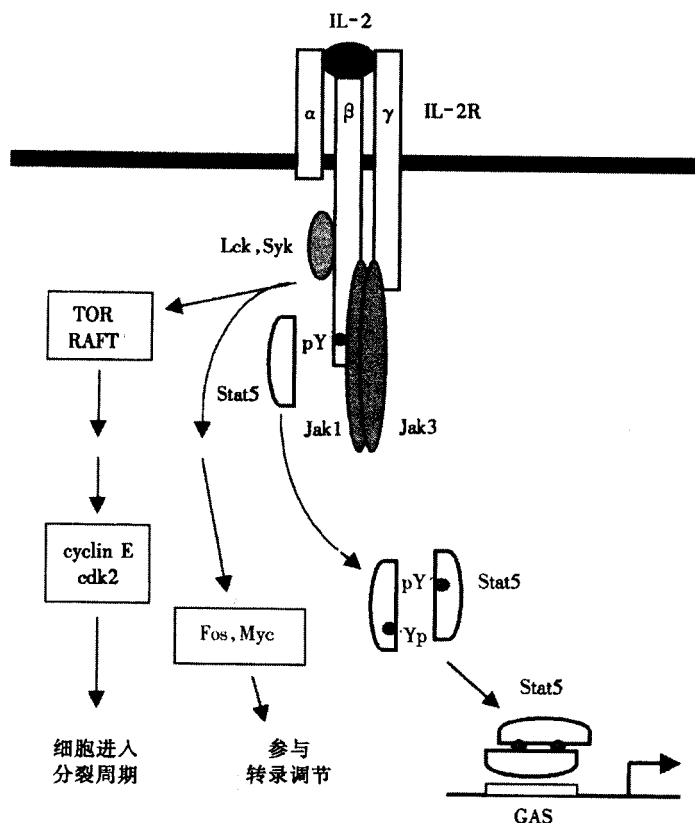


图 8-7 IL-2 受体传递 T 细胞扩增的生长信号

这只是 IL-2 受体介导的信号转导的一部分。事实上,除了激活 Stat 5 之外,IL-2R 还通过多种 PTK 参与的通路,启动其他一些激酶,包括本章第二节关于信号转导抑制剂部分提到的雷帕霉素作用的底物 TOR 激酶和与 FK506 相结合的 FK 结合蛋白(FKBP)。通过这些激酶,最终使周期素依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, Cdk)中的 Cdk2 活化,并激活周期素

E(cyclin E)。周期素是使细胞进入分裂周期并从 G1 期向 S 期转化的重要调节蛋白。这一信号通路的细节尚未全部弄清,但知道,正是由于 Cdk2 和周期素 E 的活化,T 细胞开始分裂,进入细胞周期。激活的 T 细胞一天可以分裂 2~3 次,由此产生大量的子代细胞。

显然,T 细胞没有进入激活状态,就不会有各种基因的表达,包括 IL-2 和 IL-2R $\alpha$  编码基因的表达,因而无法启动由细胞因子受体介导的信号转导。换言之,细胞因子 IL-2 一般不能有效地作用于未致敏和未被激活的 CD4 T 细胞,因为这些细胞表面不出现由  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  三链组成的高亲和力 IL-2 受体。

## 第六节 T 细胞功能性亚群的分化

### 一 T 细胞的三个功能性亚群

T 细胞激活的后期事件涉及各种功能性亚群的分化。

CD4 T 细胞和 CD8 T 细胞的分化在胸腺中已经完成。CD4 T 细胞进入外周免疫器官之后,经抗原肽和 MHC II 类分子复合结构激活,发挥协助功能,称辅助性 T 细胞(Th);CD8 T 细胞则被抗原肽和 MHC I 类分子复合结构激活,行使杀伤功能,称为细胞毒性 T 细胞(CTL 或 Tc)。

作为功能性 T 细胞,抗原激活后需经历进一步的成熟和分化。舍此,这些细胞不能表达各种行使功能的表面分子和分泌特定的细胞因子,无法有效地发挥效应作用。表 8-5 显示,这一成熟分化,对 CD4 Th 细胞,至少再分成两个亚群:Th1 和 Th2,分别作用于巨噬细胞和 B 细胞,使后两者能够分别杀伤胞内寄生菌和产生抗体。CD8 CTL 则主要行使对靶细胞的特异性杀伤,这些靶细胞可以是病毒感染、恶变者(肿瘤细胞),也可以是表达非己 MHC 分子的异体细胞。有关内容将在本书第十章中详细介绍,此处着重讨论三种细胞亚群的分化。

表 8-5 三种完成分化的功能性 T 细胞亚群

亚群	TCR 配体	主要靶目标	表面效应分子	分泌性效应分子	应答类型
CD4 Th1	抗原肽- II 类分子	感染胞内菌的巨噬细胞	CD40L, FasL	IFN- $\gamma$ , GM-CSF, TNF- $\alpha$ IL-3, TNF- $\beta$ , (IL-2)	细胞免疫
CD4 Th2	抗原肽- II 类分子	抗原特异性 B 细胞	CD40L	IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 GM-CSF, TGF- $\beta$	体液免疫
CD8 CTL	抗原肽- I 类分子	感染病毒的靶细胞	FasL	穿孔素, 粒酶 IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , TNF- $\alpha$	细胞免疫

### 二 Th1 和 Th2 亚群的分化

#### (一) 不同的细胞因子参与 Th1/Th2 分化

未致敏 T 细胞是一类处于静止状态的细胞,可以在体内长期存在。形态特征是:个小小、染色质浓缩、胞质少,几乎没有 RNA 和蛋白质合成。一旦激活,它们可以重新进入细胞周期,迅速分裂而产生大量子代细胞,并向效应细胞分化。前面提到,未致敏 T 细胞需接受双重信号才能被激活,并引起大量基因的转录和活化,表达各种表面受体分子和分泌细胞因子(表 8-4)。然而,就 CD4 T 细胞来说,此时仍处于一种向亚群进行分化的分化前状态,称为 Th0。随后发生 Th0 向 Th1 和 Th2 的分化。这一分化由多因素控制(参见第十一章),但主要

依赖于细胞因子 IL-12 和 IL-4。显然,在 T 细胞未曾完成分化之前,这两种细胞因子只能由非淋巴细胞提供。图 8-8 表明,IL-12 通常由树突细胞(人体中为 DC1)产生,IL-4 则由一类称为 NK1.1<sup>+</sup> T 细胞所分泌并由淋巴样树突细胞 DC2 所促成(参见第二章)。本书第一章提到,这属于参与天然免疫的细胞为 T 亚群的分化提供指令。

### (二) IL-12 受体 $\beta 2$ 亚单位及其介导的信号转导和 Th1/Th2 分化的关系

Th0 向 Th1/Th2 分化的关键事件,是 IL-12 受体  $\beta$  链第二亚单位(IL-12R  $\beta 2$ )的表达,以及由 IL-12R  $\beta 2$  受体分子启动的胞内信号转导。能结合 IL-12 分子的高亲和力受体由两条跨膜肽链(亚单位)组成,分别称为 IL-12R  $\beta 1$  和 IL-12R  $\beta 2$ ,同属造血细胞因子受体超家族(参见第五章)。其中的  $\beta 2$  亚单位胞内段带有 3 个酪氨酸残基可发生磷酸化,然后通过 Jak-Stat 途径传递激活信号。此处 Jak 激酶家族成员为 Jak2 和 Tyk2,转录因子为 Stat 4,后者以二聚体形式进入细胞核。CD4<sup>+</sup> T 细胞经抗原致敏成为 Th0,即开始表达 IL-12 受体  $\beta$  链的两个亚单位,此时,如果出现 IL-12,IL-12 即和高亲和力的  $\beta 1\beta 2$  异二聚体结合,通过激活 Stat 4,完成 Th1 的分化。然而 IL-12R  $\beta 2$  的表达受 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的正负调节。如果 IL-4 出现, $\beta 2$  亚单位表达受阻,剩下的  $\beta 1$  亚单位不足以和 IL-12 结合而不能启动由 Tyk2/Jak2 和 Stat 4 参与的信号转导通路,而转为由 IL-4 借助相应的受体,通过另一条由 Jak1 和 Stat 6 等成分参与的通路转导激活信号,结果引起 Th2 的分化。图 8-8 显示,在 Th2 分化的早期阶段,IFN- $\gamma$  可对抗 IL-4 的作用,使  $\beta 2$  亚单位趋于表达,引起 Stat 4 信号途径的重新启动,Th1 遂向 Th2 发生逆转。

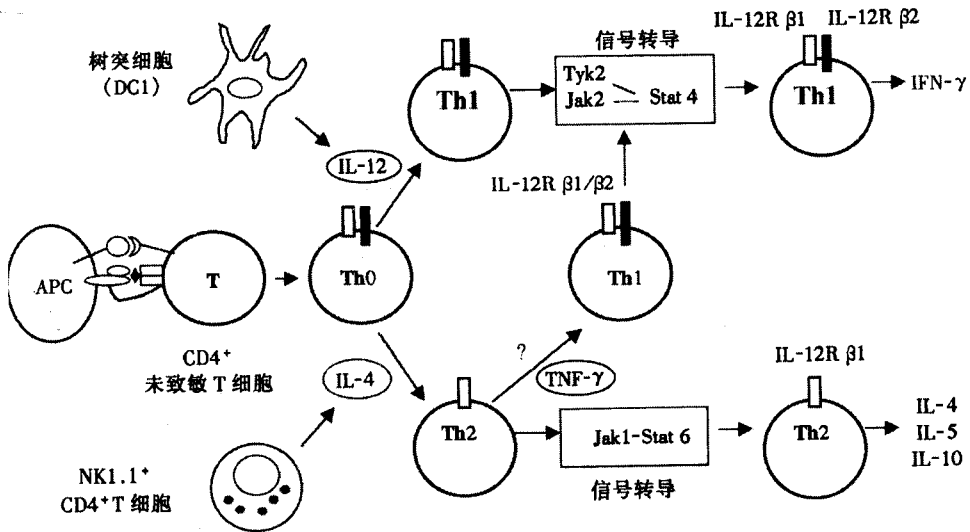


图 8-8 CD4<sup>+</sup> T 细胞激活后 IL-12 受体  $\beta 2$  亚单位(IL-12R $\beta 2$ )的表达在 Th1/Th2 分化中的作用

1996 年首次报道了 IL-12 受体  $\beta 2$  亚单位编码基因的克隆结果,为相应的功能研究和 Th1/Th2 极化(polarization)机制的探索开辟了新的前景。

## 三 细胞毒性 T 细胞的分化

### (一) CTL 前体细胞激活分化的双重信号

CD8 阳性的细胞毒性 T 细胞(CD8 CTL)成熟分化由抗原驱动。和未致敏 CD4 T 细胞一样,CTL 前体亦即未致敏 CD8 T 细胞的激活和分化,也需要两个信号。第一信号来自 TCR 对抗原肽-MHC I 类分子复合结构的识别,递呈这一结构的细胞往往是 CTL 的作用目标——靶细胞;第二信号的来源有两种途径。一是由活化 CD4 T 细胞释放的细胞因子作用于靶细胞后,使其表达协同刺激分子(如 B7);二是直接由活化的 CD4 T 细胞提供 IL-2,后者与 CTL 前体表面的 IL-2 受体结合,促进其增殖分化(图 8-9)。

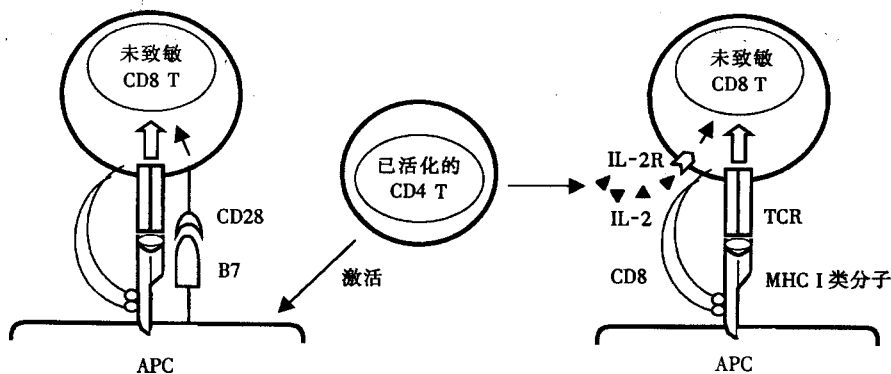


图 8-9 未致敏 CD8 T 细胞激活分化为成熟 CTL 的第一和第二信号

有几点值得注意。

第一是 CTL 前体的激活具有抗原特异性,引起 CTL 的克隆扩增。因而成熟 CTL 执行对靶细胞的杀伤具有二次应答的特点,即要求后者提供相同的抗原肽和等位特异性相同的 MHC I 类分子,或者说,要求激活 CTL 前体的成分和被 CTL 杀伤的成分为同一类细胞。显然,成熟 CTL 属于已致敏 T 细胞,因而在二次应答识别靶细胞和行使杀伤功能时,一般不再需要协同刺激信号。这一点,和未致敏 CD8 T 细胞激活分化时不同。

第二,这里提到的靶细胞,往往来源于上皮细胞或内皮细胞,它们同时作为靶目标并起着递呈抗原的作用,后一作用指的是向 CTL 前体和成熟 CTL 提交抗原肽和 MHC I 类分子。因而在 CTL 的分化和功能发挥中,靶细胞发挥双重功效。然而这些细胞属于非专职 APC,通常只有经过诱导后才能有效地表达 MHC II 类分子和 B7 分子。诱导者可以是病原体,也可以是细胞因子,如 IFN- $\gamma$ 。因而上面提到 CD4 T 细胞释放的细胞因子可以在提供第二信号方面起重要作用,原因即在于此。但是,一旦这些细胞发生病理性变化(如癌变),则不能保证细胞因子诱导的有效性,亦即不能保证它们能够充分地表达 MHC 和 B7 分子和行使 APC 功能。其结果,CTL 的分化成熟(以及随后的杀伤)可能受阻。现已查明,在肿瘤逃脱免疫监视中这种情况是存在的:肿瘤细胞有关抗原递呈的功能缺陷(如不表达或弱表达 I 类分子和 B7 分子),可造成 CTL 对肿瘤细胞的特异性杀伤无效。

第三,未致敏的 CD8 T 细胞和未致敏的 CD4 T 细胞一样,获得双信号后,细胞才能分泌 IL-2 和充分表达 IL-2 受体的  $\alpha$  链。但实际上,IL-2 受体基因的诱导性表达对第二信号的需求远低于 IL-2 基因。这意味着,一时未能充分得到第二信号的 CD8 T 细胞也能表达 IL-2 受体。因而未致敏 CD8 T 细胞从 CD4 T 细胞得到 IL-2 之后即有可能进入活化状态,引起自泌性生长和分化。

## (二) 成熟 CTL 的主要免疫学特性

作为一类已被激活的淋巴细胞,成熟 CTL 会有多种表面分子的表达和可溶性因子的分泌。表 8-5 表明,其重要者如 Fas 配体(FasL)和一些能直接发挥效应功能的细胞因子 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\beta$  和 TNF- $\alpha$  等。FasL 的表达和分泌,对 CTL 诱导靶细胞凋亡至关重要。不仅如此,成熟 CTL 胞质中会出现大量的裂解性颗粒(lytic granule),这是一种专业化的溶酶体,内含穿孔素(perforin)和粒酶(granzyme)等裂解因子。在二次应答的效应过程中,CTL 通过三元体和靶细胞发生相互作用后,这些 CTL 胞质中的颗粒会聚集到靶细胞一侧。这是因为 CTL 的皮质肌动蛋白细胞骨架(cortical actin cytoskeleton)在靶细胞接触面发生局部重组,使微管组织中心(MTOC,microtubule-organizing center)重新定向,改变了蛋白质分泌作用的取向。随后,CTL 发生颗粒胞吐(granule exocytosis),以分泌性杀伤的形式释放裂解因子,置靶细胞于死地。详情可参见第十章。

## 第七节 记忆性 T 细胞

免疫记忆状态的建立是获得性免疫应答产生的重要结果,体现在免疫系统对已接触过的病原体能作出更为迅速和更为有效的反应。因而免疫记忆是二次应答的体现,它的产生,表明存在着一群已发生了克隆扩增的抗原特异性淋巴细胞。

### 一 免疫记忆产生的机制

受到感染和接受了疫苗接种之后,免疫记忆可以在机体中长期存在,这是疫苗接种能够成功地预防烈性传染病并取得成功的原因。免疫记忆能够长期存在的机制尚未完全明了,但认为和两方面因素有关。

#### (一)记忆细胞的长寿性及其表型特征

被抗原致敏之后,机体中能识别该抗原的 T 细胞数量迅速增加,大部分分化成特异性效应细胞。随着抗原的清除,效应细胞可发生凋亡而显示短寿性。但有一小部分细胞可长期存在成为记忆细胞,甚至维持在机体整个生命过程中。

和未致敏 T 细胞相比,记忆 T 细胞在表面分子的表达上有其特点。如果把未致敏 T 细胞的分子表达量设定为 1,则表 8-6 列出记忆细胞表面相应分子的表达量。

表 8-6 细胞表面分子在记忆细胞上的表达

	LFA-3	CD2	LFA-1	$\alpha$ 1 整合素	CD44	CD45RO	CD45RA	L-选择素	CD3
未致敏 T 细胞	1	1	1	1	1	1	1	高	1
记忆 T 细胞	>8	3	3	4	2	30	0.1	低,有时高	1

可以看出,两类细胞相比,差异最大的是 CD45RO 和 CD45RA 分子的表达。前者大量地出现于记忆细胞(表达增强 30 倍),而后者主要表达于未致敏 T 细胞。第六章提到,CD45 属白细胞分化共同抗原,胞外段有三个多变结构域称为 A、B、C,分别由三个外显子 A、B、C 编码。在 CD45 基因发生转录拼接时,三者可分别丢失,也可一起被排除,最后形成多种 CD45 分子的变构体(isoform)。A 结构域(或 ABC 结构域同时)存在时称为 CD45RA(高分子量),三者全部丢失则构成 CD45RO(低分子量)。在功能上,CD45RA 和 T 细胞表面 TCR 及辅助受体分子结合的能力较低,CD45RO 则不然,在抗原识别时可与 TCR 及 CD4/CD8 分子结合,发生

多聚作用,参与抗原识别信号的转导(见本章第二节)。因而 CD45RO 在记忆 T 细胞表面大量表达,可作为它特有的标志。

需要指出的是,本章信号转导部分谈到 CD45 分子作为蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)在启动抗原识别信号胞内传递中的重要作用。该处涉及 CD45 分子胞内段两个具有 PTP 活性的结构域,而此处讨论的是 CD45 胞外结构域组成的变化对 T 细胞抗原识别结构多聚化的影响,及其在记忆细胞形成中的作用,两者不是一回事。但至少说明,CD45 在 T 细胞(以及下一章要谈到的 B 细胞)激活中的作用十分重要。

## (二) 致敏抗原对淋巴细胞的持续性刺激

1. 诱发免疫应答的少量残余抗原的持续存在可反复刺激已激活的淋巴细胞;某些抗原(包括完整的病毒颗粒)可以以免疫复合物的形式在免疫组织的特定部位长期停留。其中起主要作用者为滤泡树突细胞(FDC)。该类细胞可借助表面的 Fc 受体与抗原抗体复合物结合,在其树突部分形成成串的颗粒状“小珠”,称为免疫复合物覆盖体(immune complex-coated body, iccosome)。这些带有抗原成分的小珠可以被 B 细胞结合或被摄入,并反复刺激该抗原特异性的 T 细胞。以这种形式,抗原可在体内滞留数月甚至数年,参予记忆细胞的构成。

2. 交叉反应抗原和细胞因子对已激活淋巴细胞的作用:只要有抗原存在,不论能否诱发未致敏 T 细胞发生克隆扩增,皆有可能因抗原结构的相似性,为已成为记忆细胞的 T 克隆提供新的刺激。

同样,机体内各种免疫应答所产生的细胞因子,不管诱生细胞因子的抗原和诱导记忆细胞产生的抗原之间有无交叉反应,细胞因子也可以以非特异的方式不断地刺激记忆细胞,使其能在体内长期存在。

## 二 效应性 T 细胞和记忆 T 细胞

两类细胞表面分子的表达有相似的格局。主要的区别在于,致敏的效应细胞(如成熟的 CTL)行使功能时不再需要第二信号,然而记忆细胞的再次激活和未致敏细胞一样,通常仍需要两个信号,即抗原识别信号和协同刺激信号。因而 CTL 杀伤靶细胞只需 5 min,然而要动员特异性的 CD8 记忆细胞履行杀伤功能所需的时间要长得多。

长命的记忆细胞可在未致敏 T 细胞激活后直接形成;也可以是抗原清除后效应细胞(如特异性 CD8 细胞)数量回落后所保存下来的一部分已发生克隆扩增的细胞,其数量明显低于履行效应功能的 T 细胞。

## 第八节 超抗原对 T 细胞的激活

本书第一章中,超抗原被列为多克隆激活剂,可以刺激机体 2% ~ 20% 的 T 细胞发生增殖。如此高比例的 T 细胞被激活,可激发十分强烈的免疫效应作用。

超抗原是多种病原体的产物,包括细菌、支原体和病毒。大部分外源性超抗原属细菌性,如金黄色葡萄球菌肠毒素(staphylococcal enterotoxin, SE)和毒性休克综合征毒素(toxic shock syndrome toxin-1, TSST-1)。病毒性超抗原为内源性,小鼠中较为常见,如小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)。人体中 T 细胞对狂犬病毒和 EB 病毒的反应认为也由内源性超抗原所引起,但相应编码基因尚未被确认。

## 一 超抗原作用的特点和对 T 细胞的激活

### (一) 超抗原与 TCR 和 MHC 分子的结合

蛋白质抗原必须经过加工和递呈才能被 T 细胞识别,然而超抗原在激活 T 细胞之前无需加工和处理,因而呈现两个不同点:一是激活 T 细胞的超抗原为完整的抗原分子而不是抗原肽;二是超抗原一般不进入 MHC 分子的抗原结合凹槽。这两点决定了超抗原和 TCR/MHC 发生相互作用时构成的三元体,和经典形式的三元体不同。图 8-10 表明,超抗原分子位于 TCR 和 MHC 分子的外侧,一端和 TCR  $\beta$  链相连,另一端和 APC 表面的 II 类分子相连。图中 MHC 分子的传统性抗原结合凹槽中仍画了一个肽段,这一抗原肽在 T 细胞对 SAg 的识别中可能发挥作用,但目前尚无定论。细菌性超抗原(如 SE、TSST-1)主要和 TCR  $\beta$  链的第二互补决定区(CDR2)结合,部分结合 CDR1 和 CDR4 两个区段;病毒性超抗原(如 MMLV)主要结合 CDR4。这样,在蛋白质抗原肽识别中占重要地位的 TCR  $\alpha$  链和  $\beta$  链的 CDR3 通常不参与超抗原的激活。

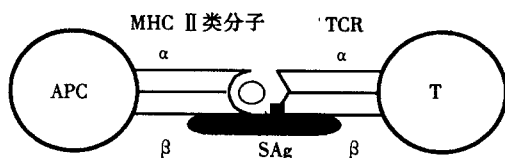


图 8-10 细菌性超抗原和 TCR  $\beta$  链及 MHC II 类分子的结合

### (二) 不同的超抗原取用 TCR $\beta$ 链的不同片段

人体 TCR BV 基因(又称  $V\beta$  基因)共有 60 余个片段并分成 22 个结构不同的家族。有意义的是,超抗原往往专一性地和某些家族的片段结合,即选择性地激活带有某些 TCR  $\beta$  链片段的 T 细胞,由此构成超抗原对 TCR BV 基因片段取用(usage)的非随机性。表 8-7 列举了一些常见的细菌性超抗原对 22 个 TCR  $\beta$  链家族的识别和取用特点。可以看出,B 型和 C2 型金黄色葡萄球菌肠毒素(SEB 和 SEC-2)取用 6 种不同的  $V\beta$  片断,其他肠毒素的取用格局相对集中,如 TSST-1 专门取用  $V\beta 2$ ,SE 专门取用  $V\beta 12$ 。

表 8-7 细菌肠毒素超抗原取用人体 TCR  $\beta$  链的不同片段

超抗原	取用的 TCR $\beta$ 链片段
SEB	3,12,14,15,17,20
SED	12
SEC-2	12,13,14,15,17,20
SEC-3	5,12
SEE	5,6,8,18
TSST-1	2
EXFT	2

## 二 超抗原诱发的免疫病理学效应

超抗原作用的特点是,不激发特异性免疫应答,而是通过高比例 CD4 T 细胞的激活而大量产生细胞因子。高浓度细胞因子的出现引发两种效应:一是全身性毒性反应;二是对获得性免疫应答显示抑制作用。这实际上是产生超抗原的病原体显示致病效应的一个体现。



超抗原引起免疫抑制的确切机制未明,有可能大量 T 细胞被激活之后会因为激活诱发的细胞死亡(AICD)而被迅速清除(参见第十一章),造成外周大量 T 细胞的丢失。

## 本章提要

T 细胞激活涉及信号转导、基因转录表达、进入细胞周期和增殖分化等步骤。包括以下主要事件。

1. 三对配体和受体的结合,并由此提供三种信号:

—抗原肽-MHC 复合物和 TCR 的结合:提供抗原识别信号(第一信号);

—B7 分子和 CD28 的结合:提供激活信号(第二信号);

—IL-2 和 IL-2R 的结合:提供生长信号。

2. 四条主要的信号转导途径:

—PLC- $\gamma$  磷酸化启动的磷脂酰肌醇途径:下游分别通过 PKC 和 钙调磷酸酶 激活转录因子 NF- $\kappa$ B 和 NF-AT;

—MAP 激酶相关途径:在 Ras 蛋白的参与下,通过 MAP 激酶中的 Erk 和 Jnk 激活 Jun 和 Fos,构成转录因子 AP-1;

—CD28 介导的途径:激活 CD28rc;

—IL-2R 介导的途径:通过 Jak1/Jak3 激酶等激活 Stat5,并活化周期素 E 和 Cdk2。

3. 四个主要结果:

—细胞因子的合成与分泌,各种表面分子和受体的表达;

—进入细胞周期,T 细胞发生抗原特异性克隆扩增;

—发生细胞因子依赖的 T 细胞亚群分化;

—免疫记忆的形成。

(周光炎)

## 参考文献

- [1] Cambell PM & Halloran PF. T cell activation, in Tilney NL, Strom TB & Paul LC (ed): Transplantation Biology: Cellular and Molecular Aspects. Lippincot-Raven Pub. Philadelphia, 1997, 411 ~ 433
- [2] Chen EH, Gadina M, Galon J, et al. The coming of age of JAKs and STATs. Immunol Today, 1998, 19:338
- [3] Ghosh S. Antigen receptor signaling in lymphocytes. Immunologist, 1999, 7:6
- [4] van Leeuwen JEM and Samelson L. T cell antigen-receptor signal transduction. Curr Opin Immunol, 1999, 11:242
- [5] Palucka K and Banchereau J. Linking innate and adaptive immunity. Nature Med, 1999, 5:868
- [6] Rogge L & Sinigaglia F. Regulation of IL-12 receptor expression in developing T helper cell subsets. Immunologist 1998, 6:142
- [7] Schraven B, Marie-Cardine A, Hunbener C, et al. Integration of receptor-mediated signals in T cells by trans-membrane adaptor proteins. Immunol Today, 1999, 20:431
- [8] Swain SL. Helper T cell differentiation, Curr Opin Immunol 1999, 11:180
- [9] Szabo SJ, Dighe A, Gubler U, et al. Regulation of the interleukin (IL)-12R  $\beta$ 2 subunit expression in developing T helper 1 (Th1) and Th2 cells, J Exp Med, 1997, 185:817

# 第九章 B 细胞激活

成熟的 B 细胞从骨髓进入外周免疫器官,大多是处于休止期的未接触过抗原的未致敏 (naive)细胞。它们受抗原刺激后,分化发育为分泌抗体的浆细胞,行使特异性体液免疫的功能。受抗原激活的 B 细胞,可有三种归宿:一是增殖和分化成浆细胞,发挥分泌抗体的正向免疫应答功能;二是成为无抗体生成的无能状态;三是因活化诱导而发生细胞凋亡。本章介绍 B 细胞的正向免疫应答。

B 细胞对胸腺非依赖(TI)抗原和胸腺依赖(TD)抗原均可产生应答,但机制不同。只有对 TD 抗原的应答才形成生发中心,其中 B 细胞经历体细胞突变、亲和力成熟、抗原选择、抗体类别转换以及记忆细胞生成等过程。因此对 TD 抗原的特异性体液免疫应答,在机体防御外界抗原侵入方面发挥重要作用。

## 第一节 B 细胞对抗原的识别

### 一 B 细胞激活中的抗原递呈细胞

虽然循环中未致敏 B 细胞也可以直接与游离的抗原结合,但激活 B 细胞的抗原主要通过淋巴引流或血路被淋巴结中的 APC 所捕获,通过表面多种受体(如 CR1、CR2、FcγR)固定和浓缩抗原,把未加工处理的天然抗原递呈给 B 细胞。其中主要的 APC 是滤泡树突细胞 (follicle dendritic cell, FDC)。表 9-1 表明, FDC 没有吞噬功能,因而其表面的补体受体和 Fc 受体能使抗原或抗体复合物长期滞留在细胞表面,持续刺激 B 细胞。而且, FDC 与生发中心和记忆 B 细胞生成密切相关(详后)。显然, FDC 的这一功能不同于向 T 细胞递呈抗原的 APC,因为不发生对抗原分子的加工,亦无 MHC 分子的参与,但就提交和浓缩抗原这一点而言, FDC 也是一种抗原递呈细胞。

表 9-1 淋巴结中参与 B 细胞激活的 APC 及其特性

部 位	抗原递呈细胞	吞噬作用	Fc/C3 受体	MHC II 类表达	应答细胞
被膜下边缘区	移行带 MΦ	+	+	-	B
B 细胞区	滤泡树突细胞 (FDC)	-	+	-	B
髓质区	单核-巨噬细胞	+	+	+	T 和 B

### 二 B 细胞的抗原识别结构

B 细胞对抗原识别是由 B 细胞抗原受体(B cell receptor, BCR)和相关分子 Ig α 和 Ig β 组成的复合物完成的。BCR 识别抗原, Ig α 和 Ig β 则传递抗原识别信号。它们类似于 T 细胞的 TCR-CD3 复合物。

### (一) B 细胞抗原受体

BCR 即膜型免疫球蛋白(mIg)。未经抗原刺激的 B 细胞表面表达 mIgM 和 mIgD,而活化和记忆 B 细胞则丢失 mIgD,只有单一的一种膜免疫球蛋白,如 mIgG、mIgA、mIgE、mIgM。一个 B 细胞可表达  $10^4 \sim 10^5$  个 mIg 分子。膜型 Ig 与分泌型 Ig 在结构上稍有区别(详见第三章)。人 mIg 的跨膜区均有两个高度保守的序列,即 TAST 和 YSTTVT。前者与 Ig 从内质网运送到膜表面并锚定在胞膜上有关;后者与抗原信号传递和  $\text{Ca}^{2+}$  流动有关。mIgM 的跨膜区除有疏水性氨基酸外,也有极性氨基酸(Thr、Ser),它与抗原识别相关分子之间形成盐桥,以稳定 BCR 复合物。mIgM 的胞内区仅有 KVK 三个氨基酸,但仍为抗原信号传递所必需,因为用 RIR 替代 KVK 时,能阻断所有功能。虽然 mIgA 分子胞质尾部有 14 个氨基酸,mIgG 和 mIgE 各有 28 个氨基酸,但是它们在胞内区仍然是短的,不能与细胞内信号分子相联。因而早就推测 mIg 是通过其他分子把信号传入胞内。

### (二) Ig $\alpha$ 和 Ig $\beta$

Ig  $\alpha$ (CD79a)和 Ig  $\beta$ (CD79b)为 I 型跨膜蛋白,相对分子质量(分子量)分别为 33 000 (33 kD)和 37 000(37 kD),两者以二硫键连接成为异源二聚体。Ig  $\alpha$  和 Ig  $\beta$  的胞内区均有与 B 细胞活化有关的免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM)结构。ITAM 是 PTK 的底物,一旦 ITAM 中的酪氨酸发生磷酸化,可激活一组含 SH2 结构的蛋白酪氨酸激酶(特别是其中的 Syk)和转接蛋白。因此 ITAM 磷酸化是 B 细胞活化早期的重要事件。Ig  $\alpha$ 、Ig  $\beta$  表达缺陷的 B 细胞也不能诱导 mIg 的表达,表明 BCR-Ig  $\alpha$ /Ig  $\beta$  复合物共存的重要性。

## 三 参与 B 细胞活化的膜辅助分子

### (一) II 型补体受体复合物

与 BCR 复合物相邻的 II 型补体受体(complement receptor 2, CR2)复合物,是由 CD21、CD19、CD81 三个分子以非共价键结合而成的。CD21 接受信号,CD19 传递信号。因此 B 细胞活化通过 BCR 复合物外,还同时需要 CR2 复合体参与信号传递。它们所起的作用相似于

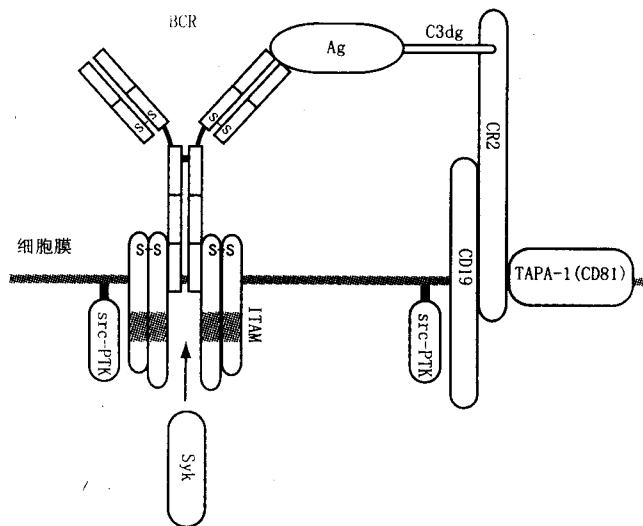


图 9-1 B 细胞抗原识别结构及其膜辅助分子

T 细胞激活中的辅助受体 CD4 或 CD8。CR2 复合体参与信号传递可显著降低 B 细胞激活的阈值。例如,与 C3dg 分子偶联的鸡卵溶菌酶(HEL)的免疫原性比单纯 HEL 提高 1 000 ~ 10 000 倍,因为偶联的 HEL 及 C3dg 复合物可以分别和 BCR 及 CD21 结合(图 9-1),引起 B 细胞抗原识别结构的多聚化(详后),共同启动活化信号的胞内转导。

1. CD21: CD21 是 II 型补体受体,配体是补体 C3 裂解片段 C3d、C3dg 和 iC3b。CD21 也是 EB 病毒受体。CD21 为单链 I 型跨膜糖蛋白,相对分子质量(分子量)140 000(140 kD),胞膜外区由 15 个短同源重复序列(SCR)组成(图 9-2A)。CD21 分布在成熟 B 细胞和 FDC 上,部分 T 细胞和鼻咽癌上皮细胞也有表达。CD21 有二种主要功能:

(1) 促进 B 细胞增殖 CD21 是 CD23(Fc  $\epsilon$  RII)的配体,而可溶性 CD23 是 B 细胞生长因子,这可能是 CD21 引起 B 细胞增殖的又一个原因。

(2) 参与亲和力成熟和记忆 B 细胞生成 因为 FDC 通过 CD21 固定抗原并发挥持续刺激 B 细胞的作用,参与生成记忆 B 细胞。

另外,CD21 作为 EB 病毒受体,参与转化 B 细胞,与 B 细胞淋巴瘤和鼻咽癌发生有关。

敲除 CD21 基因小鼠,对 TD 抗原不应答,没有生发中心生成,而且 CD5<sup>+</sup> B 细胞明显减少。

2. CD19: 分子量为 90 000(90 kD)的糖蛋白(图 9-2B),仅分布在 B 细胞和 FDC。CD19 胞质区有 6 个酪氨酸残基(Y),是相邻的 Src 激酶家族 Lyn 激酶的底物,一旦胞质 Y 被磷酸化,则启动酶级联反应。CD19 与 PTK Src 家族的 Lyn 激酶相连,类似于 CD4/CD8 同 Lck 的关系。因而 CD19 在 B 细胞信号转导中起着极为重要的作用。敲除 CD19 基因小鼠不仅对 TD 抗原应答受损,且无生发中心生成,也无抗体亲和力成熟。

3. CD81: 它也是复合物的一部分。CD81 属 4 次跨膜蛋白超家族(TM4-SF)成员(图 9-2C)。因抗 CD81 单抗有显著抑制淋巴细胞增殖作用,故 CD81 又名 TAPA-1(target of antiproliferative antibody)。

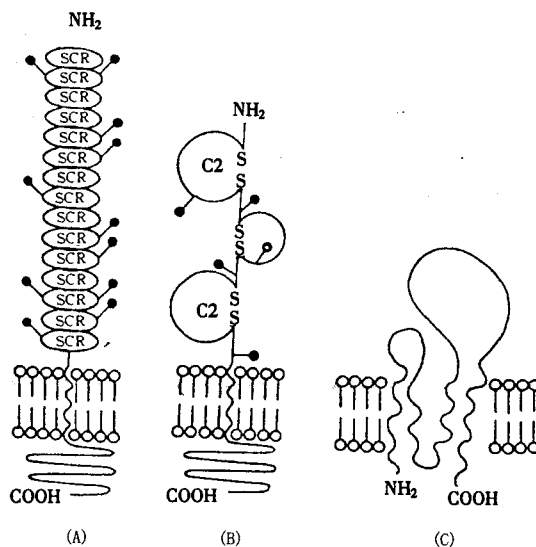


图 9-2 B 细胞抗原识别结构中的辅助受体分子结构示意图

(A) CD21; (B) CD19; (C) CD81

## (二) CD45

CD45 分布广泛,为白细胞共同抗原(LCA)。在人类,它至少有 3 种异构体——CD45RA、CD45RB 和 CD45RO,由 mRNA 水平发生不同组合的拼接而形成。三种 CD45 皆为单链 I 型跨膜蛋白,胞质内区为蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP),后者对 B 细胞活化起重要的调节作用。在 T 细胞激活一章中已指出,该 PTP 的功能是使 PTK Src 分子 C 端调节区已发生磷酸化的酪氨酸脱磷酸化,解除其抑制作用,从而活化 PTK 激酶,启动 B 细胞活化;但对已活化的 B 细胞,CD45 又可通过脱磷酸化作用,下调活化信号的转导,发挥抑制作用。

## (三) CD40

它主要表达在 B 细胞、单核细胞和树突细胞表面,属 TNF 受体超家族,它的配体 CD40L 主要表达于活化的 T 细胞和 FDC 表面。CD40-CD40L 之间的结合提供协同刺激信号,在 B 细胞对 TD 抗原的应答、生发中心生成、Ig 类别转换、亲和力成熟以及记忆 B 细胞生成等过程中起重要作用。CD40L 突变或抗 CD40 单抗均能显著抑制 B 细胞对 TD 抗原的应答。

另外,B 细胞表面还表达另一类发挥抑制作用的受体,如  $Fc\gamma RIIb$ (CD32)、CD22、CD72,它们含有免疫受体酪氨酸抑制基序(ITIM),遏制抗体的生成(详见第十一章)。

# 第二节 B 细胞活化的信号转导

## 一 抗原识别信号通路的激活

### (一) 抗原对 B 细胞识别结构的交联

BCR 对抗原的识别中往往发生抗原和对 BCR 交联,这是因为 B 细胞识别的是完整的、具有多个表位的抗原分子而不是抗原片段。这一交联,对 B 细胞活化十分重要。以抗 IgM 抗体为例,它能直接活化 B 细胞,而且,如果此抗 IgM 抗体本身是 IgM,其作用要比 IgG 类型抗体的作用要显著增强,而单价抗 IgM 抗体则丧失活化作用,表明 mIg 的交联是抗体直接活化 B 细胞的前提。TI 抗原能直接活化 B 细胞正是因 TI 抗原具有很强的交联 BCR 的能力。重复表位愈多,交联的 BCR 分子愈多,越易活化 B 细胞。一般说 TD 抗原不能交联 BCR,但是经天然抗体或补体聚合的 TD 抗原可成多价复合物,故也可交联 BCR。前面提到,抗原与 C3dg 结合后通过 CD21(CR2),完成 BCR-Ag-C3dg-CD21 的交联(图 9-1),可有效地启动 B 细胞活化。

丝裂原是 T、B 细胞强有力的多克隆激活剂。已知它们是多价的,而单价丝裂原,虽可与受体结合,但不引起淋巴细胞活化。小鼠 B 细胞有 LPS 的受体,推测其引起多克隆 B 细胞活化也和受体发生交联有关。

交联的结果,使多种参与抗原识别和信号转导的跨膜分子发生多聚作用,包括 BCR-Ig  $\alpha/\beta$  和辅助受体 CD21、CD19、CD81 以及 CD45 分子的聚合。这一点,和 T 细胞识别抗原时发生 TCR-CD3、辅助受体(CD4/CD8)和 CD45 的多聚作用十分相似。多聚化产生两个结果:一是 CD45 分子胞内段上的 PTP 解除 PTK Src 各分子 C 端对 PTK 分子活性中心的抑制;第二个结果是使得相应的受体相关性蛋白酪氨酸激酶即 Src 家族的成员彼此成簇,使之发生相互磷酸化,PTK Src 因而激活。B 细胞中参与这一重要步骤的 Src 家族成员有 Lyn、Fyn、Blk 和 Lck,它们比参与 T 细胞激活的 Src 家族多了两个成员(表 9-2)。

表 9-2 T、B 细胞激活信号转导中主要成分的比较

主要成分		T 细 胞	B 细 胞
跨膜分子	抗原受体	TCR	BCR
	带有 ITAM 的辅佐分子	CD 3 $\zeta$ 链, $\gamma \delta \epsilon$ 链	Ig $\alpha$ , Ig $\beta$
	辅助受体	CD4/CD8	CD21, CD19, CD81
	蛋白酪氨酸磷酸酶	CD45	CD45
蛋白酪氨酸激酶	受体相关性(Src 家族)	Lck, Fyn	Lyn, Fyn, Blk, Lck
	游离性(Syk 家族)	ZAP-70	Syk
MAP 激酶途径	起始连接蛋白	LAT	BLNK
	小 G 蛋白	Ras(为主) $\gamma$ -GTP	Rac(为主)
	鸟苷酸置换因子 $G_{EF}$	Sos $\uparrow$	Vav
	MAPKKK	Raf	MeKK
	MAPKK	MEK	Jnk
	MAPK(MAP 激酶)	Erk	Jnk, p38
第二信号	受体	CD28	CD40
	配体	B7	CD40L

## (二) 蛋白酪氨酸激酶 Syk 的活化

首先被激活的是蛋白酪氨酸磷酸酶和受体相关联的 PTK Src, 然后启动其他游离于胞质溶胶中的信号分子。已激活的 Src 作用靶目标主要有两个: Ig $\alpha$ /Ig $\beta$  分子胞内段的 ITAM 和 Syk 中的酪氨酸残基, Src 使其发生磷酸化。磷酸化的 ITAM 可以和 SH2 结构域相结合, 从而把胞内各种带有 SH2 结构域的激酶和转接蛋白(adapter)招募到细胞内侧, 其中最重要的是 Syk。Syk 和 T 细胞激活中的 ZAP-70 属于同一个 PTK 家族, 特点是, 它们除了有激酶活性中心即 SH1 之外, 还有两个 SH2 结构域(参见图 8-1A), 因而成为磷酸化 ITAM 招募的首选对象。被招募的 Syk 立即成为 Src 作用的第二个靶目标。因而 PTK Syk 的磷酸化和活化, 是 B 细胞激活信号转导中的一个关键事件。

## (三) 抗原识别信号转导的主要途径

激活的 Syk 作用的靶分子是含 SH2 结构的蛋白激酶和转接蛋白。前者为磷脂酶 C (PLC) 和磷脂肌醇 3 激酶(PI 3-K); 后者为 B 细胞连接蛋白(B cell linker protein, BLNK), 它类似于 T 细胞活化中的连接蛋白(LAT)。由此, 开始启动三条信号转导途径。

1. 磷脂酰肌醇途径: 两类 PTK(Src 和 Syk) 皆可直接或通过 BLNK 使膜结合的磷脂酶 C (PLC) 的  $\gamma$  链发生磷酸化而使其激活, 在 PLC $\gamma$  作用下, 底物二磷酸磷脂酰肌醇(PIP<sub>2</sub>) 随即酶解成两个部分: 三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>) 和甘油二酯(DAG)。两者各自介导钙调磷酸酶(cal-cineurin) 和蛋白激酶 C(PKC) 参与的通路, 使相应的转录因子激活(图 9-3)。这些信号转导的下游途径与 T 细胞相似。

2. MAP 激酶相关途径: MAP 指丝裂原活化蛋白(mitogen-activating protein)。B 细胞中 MAP 激酶途径主要由 Rac 蛋白介导, 对应于 T 细胞激活中 Ras 蛋白介导的 MAP 激酶途径。Ras 和 Rac 都属于小 G 蛋白家族, 它们是一类和三磷酸鸟苷(GTP) 结合的癌基因产物。这条通路源于转接蛋白 BLNK, 它与另一个转接蛋白 Grb2 相结合后, 使鸟核苷酸置换因子(GEF) Vav 游离出来, 然后 Vav 激活 Rac, 引发 MAP 激酶相关的级联反应, 活化 Jnk 和 p38, 进而激活

转录因子 AP-1。AP-1 是 Jun-Fos 蛋白或 Jun-Jun 蛋白的复合物。

3. 磷酸肌醇 3 激酶途径。Syk 和 BLNK 都能激活 PI-3 激酶,最终活化 PKC,使 NF- $\kappa$ B(B 细胞  $\kappa$  链转录因子)活化。

三条途径列于图 9-3。可以和图 8-4 中 T 细胞激活信号转导途径相比较。

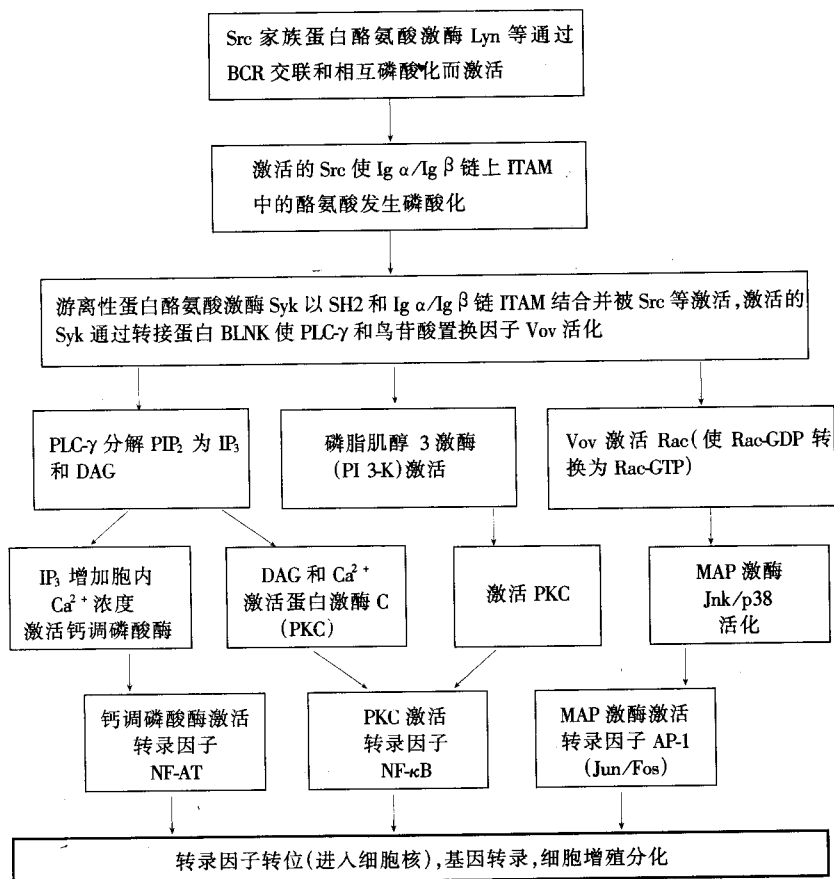


图 9-3 B 细胞抗原识别信号(第一信号)转导的主要途径

#### (四) 转录因子和基因的激活

三条途径最终激活各种转录因子,后者进入细胞核称为转位。转录因子具有和基因启动子区域中各种顺式作用元件或 DNA 小盒(box)结合的能力,进而使相应的基因发生转录激活和产物表达,在这一点上,T、B 细胞没有两样,虽然参与的转录因子和被激活的具体基因不完全相同(参见第八章)。

## 二 Bruton 酪氨酸激酶和 B 细胞的发育

Bruton 酪氨酸激酶(Btk)是 B 细胞特有的 PTK。Btk 的结构可参见图 8-1A,它属于 Tec 激酶家族。Btk 的缺陷与人的 X 性联无丙球蛋白血症(XLA)相关。图 9-4 表明,B 细胞从原 B 向前 B 分化后,出现一种称为前 B 细胞受体(pre-BCR)的结构,小鼠中由  $\mu$  重链和替代轻链  $\lambda$  5 和 V pre B 三种分子组成(参见第三章),此类前 B 细胞介导的信号转导由 Btk 介导,使前 B 发育成未成熟 B 细胞,开始表达膜表面 IgM,并进入成熟 B 细胞的分化。X 染色体上的 Btk

基因一旦突变,前 B 细胞发育中信号转导受阻,不能正常地产生免疫球蛋白,成为 X 性联无丙球蛋白血症(参见第十五章)。有报道称,敲除 Btk 基因的小鼠 B 细胞,体外抗 IgM 抗体仍有交联作用,并出现 CD69 和 CD25 分子的表达,但 DNA 合成明显低下。

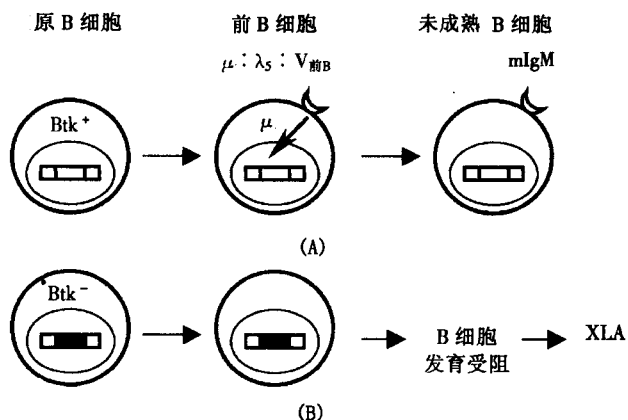


图 9-4 蛋白酪氨酸激酶 Btk 参与前 BCR 启动的信号转导  
(A) Btk 基因正常表达, B 细胞分化, 表达 mIgM; (B) Btk 基因突变, B 细胞发育受阻, 产生 X 性联无丙球蛋白血症(XLA)

### 第三节 B 细胞的活化、增殖和抗体的类别转换

#### 一 胸腺依赖抗原对 B 细胞的活化

绝大多数蛋白质抗原属胸腺依赖抗原(TD-Ag),对 TD 抗原的应答涉及到一系列复杂的过程,包括 APC 细胞捕获和递呈抗原,特定的 CD4 T 细胞被活化后辅助 B 细胞,以及细胞因子作用下 B 细胞增殖分化成抗体生成细胞,发生亲和力成熟和免疫球蛋白类别转换,记忆细胞生成等。

##### (一) B 细胞活化的第一和第二信号

BCR 可直接结合游离的抗原,但主要是从 APC 表面获得天然 TD 抗原。上一节已介绍, B 细胞通过 BCR 和辅助受体交联抗原后启动抗原识别信号的传递,此第一信号能诱导 CD40 分子表达增加。仅仅获得第一信号的 B 细胞将进入无能状态,其机制可能由于 TD 抗原与 BCR 复合物交联数量不足,未能超过 B 细胞激活阈值。

B 细胞活化的第二信号往往有 T 细胞提供。其中涉及 T、B 细胞的相互作用。

1. B 细胞的抗原递呈作用: B 细胞是专职抗原递呈细胞,通过 BCR 结合抗原并发生胞吞作用(endocytosis),摄入 BCR-Ag 复合物,在内体和特定的抗原加工区室 CIIV 中(参见第七章),抗原被解离成肽段,然后抗原肽与进入内体的 MHC II 类分子结合,抗原肽被递呈给 CD4 T 细胞。需要指出的是, B 细胞以其 BCR 识别的抗原表位不同于它递呈的供 T 细胞识别的表位,尽管两者可来自同一抗原分子。而且,作为抗原递呈细胞, B 细胞与其他 APC 相比,有以下特点: ①对抗原的识别和结合显示特异性。这保证了 B 细胞激活后最终产生的抗体能与相应的抗原发生专一性结合。其他 APC 摄取外源性抗原并无特异性;②可递呈低剂量抗原。经计算, B 细胞用以激活 T 细胞的抗原浓度仅为  $1 \sim 100 \mu\text{g/L}$ ,为巨噬细胞所需



浓度的  $10^{-4} \sim 10^{-6}$ ; ③在再次免疫时起重要作用, 因为活化或记忆 B 细胞表达高亲和力 BCR, 并兼有 MHC II 类分子高表达, 故有很强的抗原递呈活性。

2. T、B 细胞间相互作用: B 细胞激活需要 T、B 细胞间发生相互作用。其中 B 细胞既是 Th 细胞辅助的对象, 又是 T 细胞活化的抗原递呈细胞。图 9-5 表明, 这一相互合作包括一系列过程: ①抗原与 BCR 结合传递 B 细胞活化的第一信号; ②B 细胞作为 APC 把多肽递呈给 CD4 T 细胞, 为 T 细胞活化提供第一信号; ③活化 T 细胞表达 CD40L, 后者与 CD40 结合成为 B 细胞活化的第二信号; ④活化 B 细胞表达 B7 分子与 CD28 结合为 T 细胞提供第二信号; ⑤活化 T 细胞分泌的细胞因子尤其是其中的 IL-4, 与 B 细胞表面的 IL-4R 结合, 也为 B 细胞活化提供第二信号。严格说来, 上述相互作用中, T 细胞可能只有同时得到第一和第二信号之后才能表达 CD40L, 亦即 T 细胞表达 CD40L 是在得到第二信号之后, 但由于上述相互作用是反复发生的, 效应不仅可累积, 并可以放大, 而完成相互作用中的一系列事件。

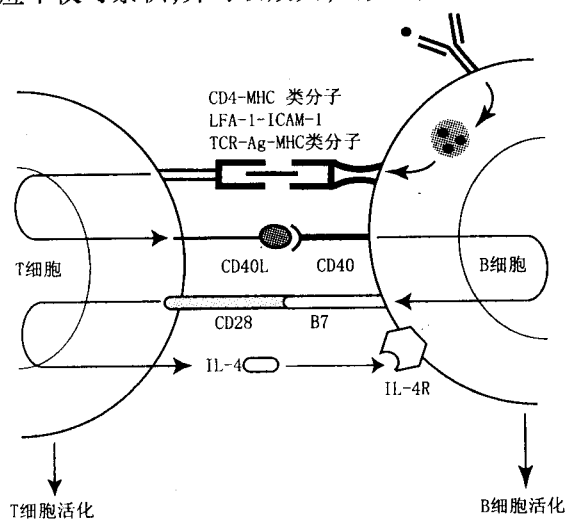


图 9-5 B 细胞和 T 细胞之间相互作用的示意图

在电镜下, 可以看到发生相互作用的 T、B 靠得很近。这除了有利于细胞间多种表面分子 (TCR-MHC、CD28-B7、CD40-CD40L 和其他粘附分子) 的结合, 还有一个重要的作用, 是促使细胞因子高效分泌。Th2 一旦靠拢 B 细胞并获得激活信号之后, 胞浆中的细胞骨架 (cytoskeleton) 蛋白和专司分泌功能的细胞器 (高尔基器) 可通过微管组织中心 (MTOC) 重新排列, 集中到 B 细胞一侧, 然后这些细胞器和胞膜融合, 使细胞因子 (主要是 IL-4) 释放到 Th2 和 B 细胞接触点附近, 有力地提高了细胞间信号传递的效率, 最终使 B 细胞发生有效的激活, 从 G0 期进入 G1 期, 开始增殖分化。

需要指出的是, B 细胞活化所需的两个信号中, 第一信号具有抗原特异性, 第二信号却是抗原非特异的。在这个意义上, 任何一种活化的 T 细胞 (主要是 Th2) 都可以为 B 细胞提供第二信号。换言之, 起辅助作用的 T 细胞, 它的激活并不一定以 B 细胞作 APC 为先决条件。但是, 如果 T、B 细胞同时识别同一种抗原 (如病毒), B 细胞获得抗原识别信号和提供 MHC II 类分子-抗原肽的效率大大提高, 可最有效地使该抗原特异性 Th2 获得必要的信号, 后者反过来作用于该 B 细胞 (包括采用上面提到的 IL-4 分泌机制), 这样的 T-B 合作对 B 细胞活化应当是最有效的。

二 非胸腺依赖抗原对 B 细胞的活化

非胸腺依赖抗原(TI-Ag)是指能诱导无胸腺裸鼠或无 T 细胞动物产生抗体的一类抗原。虽然无 T 细胞辅助,B 细胞可直接对 TI 抗原应答并产生抗体,但是 T 细胞、NK 细胞和单核巨噬细胞能增强 B 细胞对 TI 抗原的应答。

(一) TI 抗原的分类与主要特性

TI 抗原因结构和作用机制不同,分为 1 型和 2 型。主要区别在于:①1 型 TI 抗原为脂多糖(LPS),是小鼠 B 细胞的多克隆激活剂;而 2 型是多糖类或多聚糖,一般无丝裂原活性;②1 型 TI 抗原作用于成熟与未成熟 B1 和 B2 细胞,而 2 型仅作用于成熟 B1 细胞。TD 抗原、TI-1 抗原和 TI-2 抗原之间的主要区别见表 9-3。

需要指出的是,裸鼠外周血缺乏  $\alpha\beta^+$  T 细胞但有  $\gamma\delta^+$  T 细胞,后者能间接辅助 B1 细胞对 TI 抗原发生应答。婴儿或新生动物对 TI-2 抗原低应答与 B1 细胞发育尚不成熟有关,而 X 性联 B 细胞免疫缺陷病(X-linked immune B cell defect, Xid)时,B1 细胞数量显著低下,故对 TI-2 的抗原应答低下,可招致反复细菌感染。

表 9-3 TD、TI-1 和 TI-2 抗原主要特性的比较

特 性	TD 抗 原	TI-1 抗 原	TI-2 抗 原
抗体应答			
活化的 B 细胞克隆	B2 为主,寡克隆	B1 和 B2,多克隆	B1,寡克隆
无胸腺鼠	不应答	应答	应答
无 T 细胞鼠	不应答	应答	不应答
新生鼠/婴儿	应答	应答	不应答
对 T 细胞致敏作用	有	无	无
类别转换和亲和力成熟	有	无	少数有
记忆 B 细胞	有	无	个别有
抗原特性			
化学性质	蛋白质	脂多糖	多糖,葡聚糖
抗原表位	T、B 表位	重复 B 表位	大量重复 B 表位
多克隆激活作用	无	有	无(个别除外)
DTH 反应	有	无	无

(二) B 细胞对 TI-1 抗原的应答

由于 TI-1 抗原具有丝裂原活性并能活化巨噬细胞、粒细胞和血管内皮细胞,所以脂多糖可引起严重的全身性炎症反应综合征(SIRS)。在抗体应答上有两种不同的机制(图 9-6):

1. 多克隆 B 细胞被非特异性激活:见于高浓度抗原时,LPS 与 B 细胞上的 LPS 受体交联,也可能 LPS 先与血清中 LPS 结合蛋白结合,其复合物再与 B 细胞受体结合,使多克隆 B 细胞被激活,产生低亲和力 IgM 类抗体;

2. 特异性 B 细胞克隆被活化:见于 LPS 低浓度时,LPS 的多糖类对特异性 BCR 的交叉结合,产生的抗 LPS 抗体亦为低亲和力的 IgM。

(三) B 细胞对 TI-2 抗原的应答

表 9-3 表明,TI-2 抗原结构上主要是多糖类的大分子,有重复抗原表位,功能上能激活补体旁路途径和凝集素途径,在体内不易被降解,可持久存在,仅刺激成熟 B1 细胞。

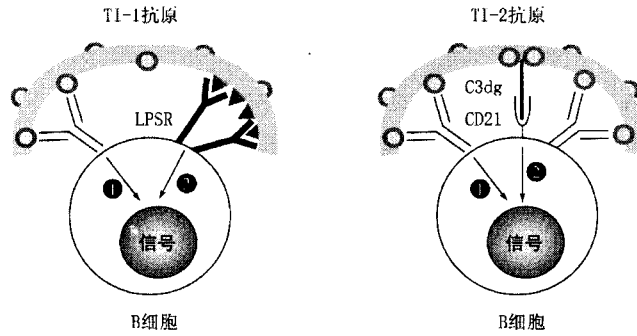


图 9-6 TI 抗原激活 B 细胞的机制

B1 细胞对 TI-2 抗原的应答有下述特点：被 TI-2 抗原活化的 B1 细胞主要位于淋巴滤泡边缘带；其中的 FDC 可捕捉和长久保存 TI-2 抗原；没有或很少有生发中心生成；除极个别抗原有 IgG2(人)或 IgG3(小鼠)抗体产生外，一般是 IgM 抗体，不发生 Ig 类别转换，也没有记忆 B 细胞生成。

### 三 与 B 细胞的活化、增殖和分化有关的细胞因子

B 细胞接受足够强度的双信号后从 G0 期进入 G1 期。此时 B 细胞发生体积变大、胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度增高、蛋白磷酸化增强、蛋白质和 RNA 合成活跃、新的分子(如 CD69)和细胞因子受体(如 CD25)表达、细胞因子分泌增加等一系列变化。B 细胞从 G1 期→S 期→G2 期→M 期，每一阶段均依赖细胞因子的作用。

与 TD 抗原活化 B 细胞有关的细胞因子，主要是 IL-1、IL-7 和 IL-4；与增殖有关的因子，主要是 IL-2、IL-4、IL-5、IL-7；与分化有关的细胞因子，主要是 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$ (图 9-7)。上述因子主要由 Th 细胞分泌，其次由 APC 分泌。

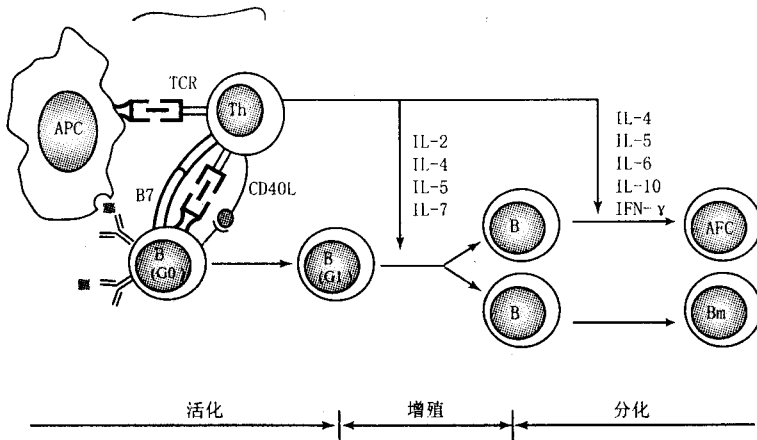


图 9-7 B 细胞活化、增殖和分化

对 TI 抗原，活化 B 细胞可产生各种细胞因子，对 B 细胞增殖和分化起重要作用。已知 B 细胞可分泌 IL-1、IL-2、IL-4 ~ IL-7、IL-10、IL-12、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、GM-CSF 等系列因子。

不同刺激信号启动 B 细胞产生不同的细胞因子。如 LPS 刺激时，B 细胞分泌 IL-6 和 IL-10 显著增高，而 IL-2 不高；用抗 Ig 抗体或右旋糖酐刺激时，B 细胞中 IL-2 显著增高，而 IL-6

不高。产生这一差异的机制,可能涉及 Ig 的类别转换。

#### 四 抗体的类别转换及其影响因素

通常, TI 抗原免疫时 B 细胞产生 IgM 抗体,但对某些 TI 抗原也可产生 IgG 抗体。TD 抗原初次免疫时, B 细胞产生的是以 IgM 为主的抗体,而再次免疫时,则以 IgG 抗体为主。抗体类别转换又称同种型转换,转换的发生与抗原性质、细胞因子类型和 CD40L 的作用有关。

##### (一) 影响类别转换的因素

1. 抗原的性质决定抗体的类别:一般说可溶性蛋白抗原主要诱导人和小鼠的 IgG1 产生;多糖类抗原易诱导 IgM 产生,但某些多糖对成年人还可诱导 IgG2 产生,对小鼠诱导 IgG3 的产生;蠕虫类抗原易诱导 IgE 生成,这可能与这些抗原易活化 NK1.1<sup>+</sup> T 细胞分泌大量 IL-4,诱导 IgE 生成有关。

2. CD40L-CD40 的作用:已知 T-B 细胞直接接触,不仅影响 TD 抗原的抗体应答,也与 Ig 类别转换有关。例如 X 性联高 IgM 综合征患者因 CD40L 突变造成 IgG、IgA、IgE 含量低下,表明缺少配体和 CD40 作用,阻碍 IgM 转向 IgG、IgA 和 IgE。CD40L 结合 CD40 后可进一步激活 NF- $\kappa$ B 转录因子,诱导 Ig 类别转换。敲除 CD40-CD40L 基因的小鼠,也显示类别转换严重受阻,同时伴有亲和力成熟障碍和记忆 B 细胞生成不良。

3. 免疫途径、免疫佐剂与类别转换的关系:抗原免疫途径不同,产生的抗体类别也不相同。如口服抗原涉及粘膜免疫,产生的是 IgA 为主抗体;而皮内、皮下免疫则以 IgG 为主。用 Freund 佐剂进行免疫以产生 IgG 为主,而用铝佐剂,则易诱导 IgE 产生。

##### (二) 细胞因子调控抗体类别转换

细胞因子与 B 细胞活化、增殖、分化的关系一如上述。事实上,细胞因子是影响抗体类别转换最关键的因素。如表 9-4 所示,单纯 LPS 在体外可引起小鼠 B 细胞增生并产生浆细胞。应用抗体空斑形成细胞(PFC)分析技术,可知其中大量出现的是 IgM 生成细胞;当 LPS 分别与 IL-4、IFN- $\gamma$  或者 IL-5 加 TGF- $\beta$  共同刺激 B 细胞时,则发现 IgG1, IgG1、IgE, IgG2a 和 IgA 的分泌分别被提高。

表 9-4 细胞因子促进受 LPS 刺激的抗体类别转换

刺 激 组 别	抗 体 形 成 细 胞 (%)				
	IgM	IgG1	IgG2a	IgE	IgA
LPS	>90	2	<1	<1	<1
LPS + IL-4	70	20	<1	5	<1
LPS + IFN- $\gamma$	80	2	10	<1	<1
LPS + IL-5 + TGF- $\beta$	75	2	<1	<1	15

细胞因子的作用主要是影响重链 5'端 S 区和 C 区基因的转录。例如 IL-4 作用在 S $\epsilon$ -C $\epsilon$  之间,引起  $\epsilon$  链转录(参见第三章)。

另外,细胞因子和抗体类别转换关系研究揭示,特定的细胞因子往往促进某些类型的类别转换而抑制其他类型的类别转换。表 9-5 所列小鼠中的分析结果。一般说,小鼠 IgG1 相当于人的 IgG4,均受 IL-4 的调节,参与 I 型变态反应;小鼠 IgG2a 相当于人的 IgG1,均受 IFN- $\gamma$  的调控;小鼠 IgG3 相当于人的 IgG2。

表 9-5 细胞因子对抗体类别转换的影响

细 胞 因 子	IgM	IgG3	IgG1	IgG2b	IgG2a	IgE	IgA
IL-4	-	-	+		-	+	
IL-5							+
IFN-γ	-	+	-		+	-	
TGF-β	-	-		+			+

注 + 促进转换;- 抑制转换

还需要指出的是,增加一些细胞因子有时并不影响抗体类别的转换,但不能缺少,缺少则改变抗体类别。例如敲除 IL-2 基因小鼠,IgE 生成显著增高,敲除 IL-6 基因则 IgA 生成显著缺乏。提示 IL-2 可抑制 IgE 生成,IL-6 则是 IgA 生成不可缺少的因子。

第四节 生发中心在 TD 抗原应答中的作用

一 TD 抗原诱发的初次应答和再次应答

B 细胞对 TI-1 抗原的应答发生在外周淋巴器官的胸腺依赖区,对 TI-2 抗原的应答发生在淋巴滤泡的边缘。B 细胞对 TD 抗原的初次应答,主要发生在胸腺依赖区,对 TD 抗原再次免疫应答发生在生发中心。由于应答场所不同,对 TD 抗原的初次与再次免疫应答会有很大的影响(表 9-6)。再次免疫应答,是机体提高清除抗原能力的重要免疫生物学现象,具有重要的意义。

表 9-6 B 细胞对 TD 抗原初次应答与再次免疫应答的区别

	初 次 免 疫 应 答	再 次 免 疫 应 答
免疫应答场所	胸腺依赖区	生发中心
抗体生成潜伏期	5~10d	1~3d
抗体峰值(生成量)	低	高
持续时间	短	长
抗体类别	IgM>IgG	IgG↑IgE↑IgA↑
抗体亲和力	低	高
免疫剂量	高	低
记忆 B 细胞	很少	多
抗体生成场所	淋巴结髓质,脾脏红髓	骨髓,粘膜淋巴组织
浆细胞寿命	短	长
B 细胞库	正常,同中枢免疫	易发生高频突变

二 生发中心的形成

(一) 生发中心的结构与主要功能

生发中心(germinal center, GC)是 B 细胞对 TD 抗原发生二次应答的重要场所。

在光镜下,生发中心的结构由内向外依次为暗区(dark zone)、亮区(light zone)和边缘区(marginal zone),亮区又分基底亮区和顶亮区。各区段中的细胞组成特点及主要功能见表 9-7。

表 9-7 生发中心的组成、特点与主要功能

分 区	特征性细胞	特 点	主 要 功 能
暗 区	中央母细胞	胞体大、核大、深染;mIg 低表达或缺如	分裂快,突变率高,与 Bm 细胞形成有关
亮 区	中央细胞	胞体略小,分裂少,凋亡多;mIg <sup>+</sup> FerR <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> LFA-1 <sup>+</sup> , ICAM-1 <sup>+</sup>	亲和力选择,类别转换,吞噬凋亡细胞,促进高亲和力 B 细胞增殖,促进 B 细胞分化成 AFC 和 Bm 细胞,记忆 B 细胞维持
	滤泡树突细胞	CR1 <sup>+</sup> , CR2 <sup>+</sup> , Fc $\gamma$ R <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> MHC II <sup>+</sup> 同一般 M $\Phi$	
	着色小体巨噬细胞		
边缘区	小淋巴细胞	Bcl-2 <sup>+</sup> 细胞	储存长寿命 Bm 细胞

## (二) 生发中心生成的过程及其影响因素

### 1. 生发中心的形成:可分为 3 个阶段(图 9-8):

(1) 中央母细胞阶段:在胸腺依赖区,B 细胞在 Th 细胞辅助下对抗原产生初次免疫应答,一部分分化为能分泌抗体的浆细胞,仅少数已活化的特异 B 细胞迁移到初级淋巴滤泡内转化为 B 淋巴母细胞(平均为 3 个克隆),以指数方式呈现克隆性扩增,3~4d 即可达  $10^4$  个细胞,并将初级淋巴滤泡中的小淋巴细胞挤成月牙状的边缘区。所以,生发中心中的 B 细胞具有寡克隆性的特点。第 4 天,B 细胞迁移到滤泡内侧,失去 mIg,转变为中央母细胞(centroblast),形成生发中心的暗区。

(2) 中央细胞阶段:来自中央母细胞增殖后成为中央细胞(centrocyte),再度表达 mIg(属已经发生类别转换的 Ig)。该细胞体积小,不再分裂,并向 FDC 丰富的外侧区移动形成亮区。此区中绝大多数中央细胞发生凋亡,并为该区的巨噬细胞所吞噬。该阶段是抗原选择和亲和力成熟阶段。

### (3) 记忆性/效应性 B 细胞阶段:少

数经体细胞突变和抗原选择后免于凋亡的中央细胞进入顶亮区,在 FDC 和 Th 细胞的协同下分化为次级母细胞,再分化为记忆性 B 细胞或寿命较长的浆细胞,离开生发中心进入外周循环。

### 2. 影响生发中心形成的因素

(1) B 细胞趋化因子受体 1(BLR1):活化的 B 细胞受趋化因子吸引,从 T 细胞区迁移到滤泡区,条件是必须表达 BLR1 受体。缺失 BLR1 的小鼠,其活化 B 细胞只能停留在胸腺依赖区和边缘区,故没有 GC 形成。记忆性 B 细胞、部分活化 CD4<sup>+</sup> T 细胞和记忆性 CD4<sup>+</sup> T 细胞也表达 BLR1,它们能进入 GC。

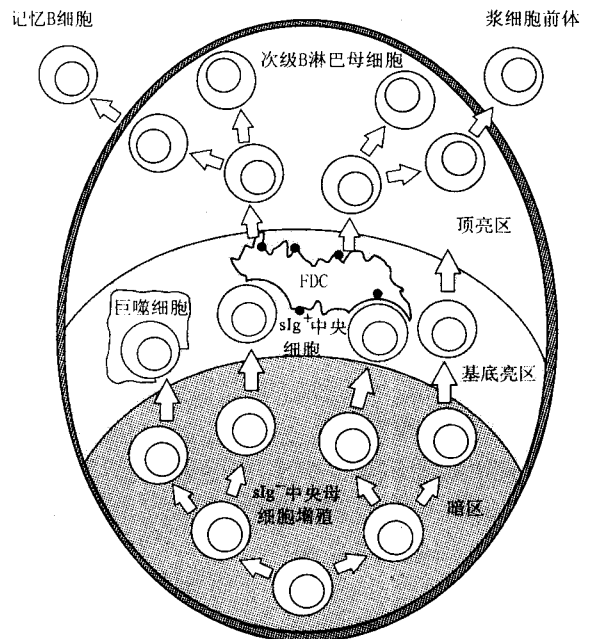


图 9-8 生发中心的形成及记忆和效应 B 细胞的产生

(2) TNF 及 TNF 受体: 已知 TNF- $\alpha$ 、淋巴毒素  $\alpha/\beta$ (LT- $\alpha$ /LT- $\beta$ )及其 TNFR1 均与初级滤泡和 GC 形成有关。因为敲除 TNF 或 LT- $\alpha$ /LT- $\beta$  或 TNFR 基因的小鼠,均影响滤泡发育和 GC 形成。

(3) CD21(CR2)和 CD35(CR1): CR1 和 CR2 表达在 FDC 和 B 细胞上,对长期保留抗原和 B 细胞活化有关。缺少 CR1 或 CR2 的小鼠 GC 生成受阻。

(4) CD40L/CD40: CD40L 表达在活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 FDC 上,对长期保留抗原和 B 细胞活化有关。给敲除 CD40L/CD40 基因小鼠用抗原免疫时,也不能诱导 GC 生成。

### 三 体细胞高频突变、抗原选择和亲和力成熟

在生发中心暗区的中央母细胞在发生大量增殖同时,伴有体细胞高频突变(somatic hypermutation), VD 和 VDJ 基因外显子可发生高频率的点突变。突变后产生的各种 B 细胞克隆,其 BCR 亲和力各不相同,在中央细胞阶段经抗原的选择,使表达高亲和力的 B 细胞免于凋亡,并分化为记忆 B 细胞或长寿浆细胞。因而经抗原选择后所分泌的抗体可更为有效地保护机体免受外来抗原的再次侵袭。

#### (一) 体细胞高频超突变

在生发中心的高频突变有如下特点:

1. 发生在特定的解剖部位: 生发中心内有抗原刺激,有 CD4<sup>+</sup>T 细胞辅助,还有大量重组酶(RAG-1 和 RAG-2)的存在,促使 B 细胞发生超突变;
2. 突变率很高: 比在 T 细胞区经抗原刺激的 B 细胞的突变频率要高得多;
3. 突变只发生于重排过的 V 基因,包括 V<sub>H</sub>、V<sub>K</sub>、V <sub>$\lambda$</sub>  基因及其 5'和 3'端的旁侧区,不发生在 C 区基因上;
4. 主要是点突变,偶见发生基因缺失和重复;
5. 逐步产生的突变显示累积效应,通过抗原选择逐步达到亲和力成熟;
6. 体细胞突变与 Ig 类别转换无关。

#### (二) 抗原的选择

高度增殖和超突变的中央母细胞迁移到基底亮区,由 FDC 上固定的抗原进行选择。只有与抗原以中等及高亲和力相结合的 B 细胞才能免于死亡。而与抗原不结合或低亲和力结合的 B 细胞则发生凋亡。经抗原阳性选择免于凋亡的 B 细胞是 Bcl-2<sup>+</sup> 的细胞。这是由于 FDC-B-T 三种细胞之间相互作用后,B 细胞接受足够强的第一、第二信号,才表达 Bcl-2 而免遭凋亡。相反的话,不能诱导 Bcl-2 表达的 B 细胞,则发生凋亡。

### 四 记忆性 B 细胞

经体细胞突变和抗原选择的 B 细胞中,有一部分停止向浆细胞分化而转变为记忆性 B 细胞(memory B cell, Bm)。Bm 的表型和功能与静止的 B 细胞有明显的区别。Bm 高表达 IgM 和热稳定抗原 HAS,静止 B 细胞则高表达 IgD 和 CD21 分子。Bm 长寿,激活的抗原剂量可以很低,不易诱导耐受。和静止 B 细胞主要定居于周围淋巴组织的非胸腺依赖区不同,多数 Bm 参与再循环,少数定居在骨髓、粘膜淋巴组织和脾淋巴结。

#### 本章提要

- (1) TI 抗原对 B 细胞的活化,可通过抗原分子直接与 BCR 交联,或通过 LPS 受体及

CD21 补体受体起作用。MΦ 细胞分泌的细胞因子可辅助 B 细胞活化和增殖。

(2) TD 抗原引起 B 细胞活化的第一信号由 BCR-Ig  $\alpha$ /Ig  $\beta$  复合物和辅助受体 CD21-CD19-CD81 等共同提供,第二信号来自 CD40 分子和 CD40L 的结合以及 Th2 分泌的 IL-4。其中 B 细胞作为特异性 APC 把 TD 抗原中的 T 细胞表位递呈给 Th2 并使之活化,可提高 T-B 相互作用效率,加速 B 细胞激活。

(3) B 细胞活化的信号转导途径类似于 T 细胞。PTK Src 和 PTK Syk 激酶的活化起关键作用。信号经磷脂酰肌醇途径、MAP 激酶途径和 PI-3 激酶途径引起各种转录因子激活,并活化有关基因,使 B 细胞从  $G_0$  期进入  $G_1$  期。

(4) 蛋白质抗原诱发的二次免疫应答形成生发中心。生发中心的形成促进 B 细胞增殖、V 区基因突变、抗体亲和力成熟、类别转换及记忆 B 细胞生成。

(5) 细胞因子参与 B 细胞的增殖分化和抗体类别转换。TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$  及其受体 TNFR1 在生发中心的生成中发挥作用。

(吴厚生)

## 参考文献

- [1] 何球藻,吴厚生,曹雪涛.细胞与分子免疫学.上海:上海科学技术文献出版社,1997,155
- [2] Camacho SA, Kosco-Vilbois MH, Berck C. The dynamic structure of germinal center. Immunol Today, 1998, 19:511
- [3] Mond JJ, Lees A, Snapper CM. T cell-independent antigen type 2. Ann Rev Immunol, 1995, 13:655
- [4] Peterson EJ, Clements JL, Fang N, et al. Adaptor proteins in lymphocyte antigen-receptor signaling. Curr Opin Immunol, 1998, 10:337
- [5] Cambell KS. Signal transduction from the B cell antigen receptor. Curr Opin Immunol, 1999, 11:256



## 第十章 免疫应答的效应机制

免疫应答通过效应机制保护机体免受抗原异物的侵害,其中涉及多种免疫效应分子和效应细胞。在某些情况下免疫效应作用也可导致自身组织损伤,有关内容将在第十二章中介绍。

### 第一节 抗体的效应功能

B细胞介导的体液免疫应答,可被 TI 抗原或 TD 抗原诱导,但大多数是由 TD 抗原引起。上一章提到,B细胞接受第一和第二信号后,激活分化成为浆细胞,产生以 IgG 为主的抗体分子。因此,所谓体液免疫效应,主要是指抗体所发挥的效应功能。其目标主要是清除细胞外的病原菌及其产生的毒素等抗原异物。

#### 一 IgG 和 IgM 介导的效应

##### (一) 对抗原的中和作用

抗体通过 Fab 段与抗原结合形成抗原抗体复合物,使抗原失去生物学活性或易于被吞噬细胞所吞噬。具有中和作用的抗体主要是血循环中的 IgG,作用对象主要包括两类:一类是针对细菌外毒素,可通过阻断外毒素与敏感宿主细胞表面的受体结合,或封闭毒素的活性部位,使其不能发挥毒性作用;另一类是针对病毒,可阻止病毒吸附于易感靶细胞,而降低病毒的传染性。

##### (二) 免疫调理作用

IgG 类抗体与颗粒性抗原(如细菌)结合后,其 Fc 段与吞噬细胞表面的 IgG Fc 受体(FcγR)结合,促进吞噬细胞对颗粒性抗原的吞噬作用。IgG (IgG3、IgG1 和 IgG2) 或 IgM 类抗体与相应抗原结合后,可激活补体,再与补体活化的裂介片段 C3b 形成抗原-抗体- C3b 复合物。此复合物中的 C3b 与吞噬细胞表面的 C3b 受体结合,也可促进吞噬细胞的吞噬作用。

##### (三) 补体依赖的细胞毒作用

补体依赖的细胞毒性(complement dependent cytotoxicity, CDC)是指抗体(IgG1、IgG2、IgG3 或 IgM)识别和结合靶细胞表面的抗原后激活补体经典途径,通过补体级联反应形成攻膜复合物(MAC),使该靶细胞被迅速裂解。

##### (四) 抗体依赖细胞介导的细胞毒作用

抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)是指多种效应细胞,主要是巨噬细胞和 NK 细胞、中性粒细胞等细胞膜上带有 FcγR(如 NK 细胞带有 FcγRIII,巨噬细胞带有 FcγRI),当 IgG 的 Fab 与靶细胞膜上的抗原发生特异性结合后,其 Fc 段发生构型改变,可与上述细胞表面的 FcγR 结合,由后者传递激活信号,通过这些激

活的细胞释放 TNF、 $\text{IFN-}\gamma$  等细胞因子,并促使其发生颗粒胞吐(详后),而使靶细胞致死。其中 IgG 发挥双重功能:一是识别抗原,二是结合 Fc 受体。由于  $\text{Fc}\gamma\text{RIII}$  属低亲和力受体,靶细胞表面结合的 IgG 若集合起来,更有利于和受体的结合。换言之,血浆中游离的单体 IgG 分子往往不能有效的地激发 ADCC,除非靶细胞表面已结合和覆盖有抗体分子。

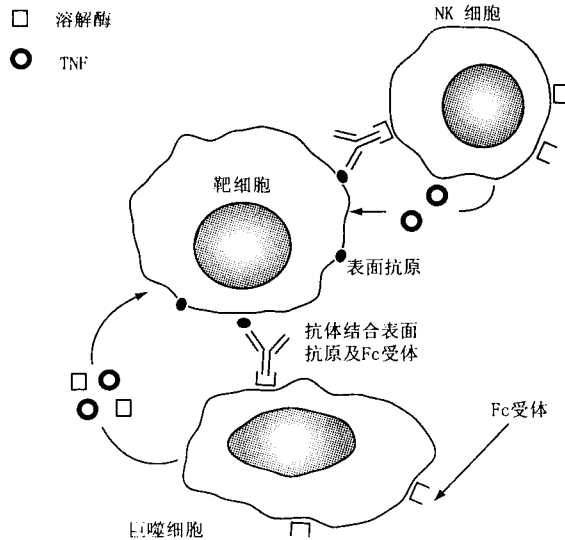


图 10-1 ADCC 杀伤靶细胞效应机制

## 二 分泌型 IgA 的局部抗感染作用

胃肠道和呼吸道是微生物侵入的门户,分泌型 IgA (sIgA) 抗体在粘膜免疫防御中十分重要。抗原直接刺激可导致局部粘膜处 B 细胞合成并分泌 sIgA。但也有实验证明,抗原刺激某一特定部位粘膜(如胃肠道)后,可在未受抗原刺激的部位(如呼吸道)检出 sIgA。这种游走性保护作用,可能是由于免疫细胞在粘膜免疫网中移动的结果。肠道、呼吸道粘膜以及乳腺、唾液腺和宫颈腺的上皮细胞共同构成了这种粘膜免疫网。目前认为,sIgA 的主要功能是与异物、抗原和微生物结合,阻断它们与粘膜上皮间的粘附。

## 三 IgE 介导的效应机制

肥大细胞和嗜碱粒细胞受刺激后介导的免疫反应依赖于 IgE,后者介导免疫系统的一种极其重要的效应机制。肥大细胞和嗜碱粒细胞表面表达 IgE 高亲和力的受体( $\text{Fc}\epsilon\text{R}$ ),因而即使没有抗原,这一受体也往往结合有 IgE 分子,这点和 ADCC 中的  $\text{Fc}\gamma\text{RIII}$  不同。抗原一旦出现并和 IgE 分子结合,可导致 IgE 及相应的  $\text{Fc}\epsilon\text{R}$  的聚集,使跨膜的  $\text{Fc}\epsilon\text{R}$  出现成簇(clustering)现象,由此激活多种蛋白激酶,并通过受体分子胞内段上的 ITAM 传递活化信号,使肥大细胞和嗜碱粒细胞迅速激活,释放出多种化学介质。这些化学介质可增加血管通透性、引起支气管与血管平滑肌收缩、并引起局部炎症反应。这种反应也被称为速发型超敏反应(图 10-2)。在这种速发型超敏反应中,肥大细胞与嗜碱粒细胞所释放的介质包括趋化剂(吸引中性粒细胞和嗜酸粒细胞至肥大细胞活化部位)、活化剂(包括组胺、血小板活化因子等,引起血管舒张、水肿与组织损伤);致痉剂(包括组胺,慢反应物质等,引起支气管平滑肌痉挛)。

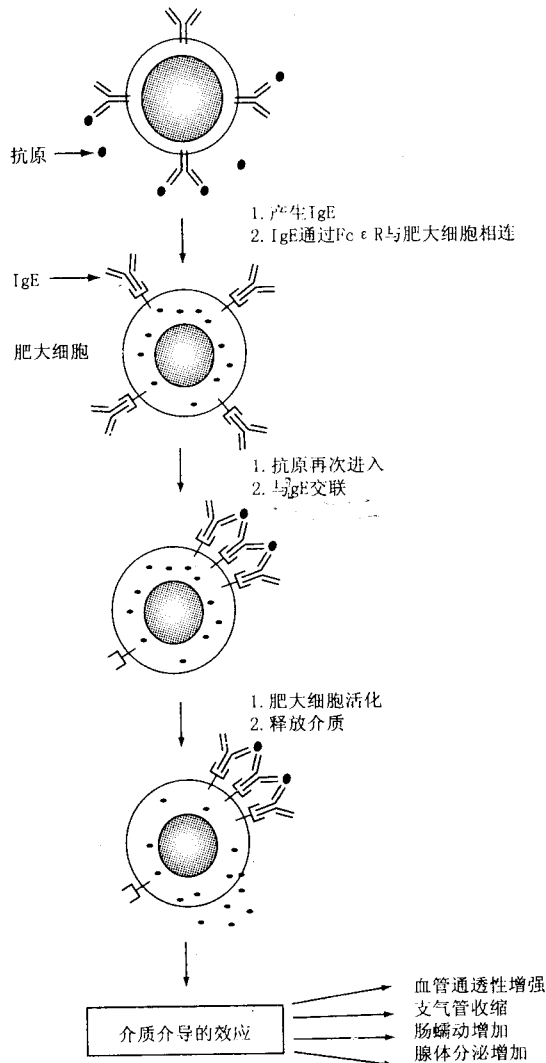


图 10-2 IgE 介导的免疫效应机制示意图

抗原初次进入机体后导致 B 细胞合成特异性 IgE。所合成分泌的 IgE 通过与肥大细胞和嗜碱粒细胞表面结合。当再次接触抗原时,抗原与 IgE 分子的交联即可触发速发型变态反应

由于这些介质的作用,发生局部组织损伤(详见第十二章)。

肥大细胞与嗜碱粒细胞所释放的趋化因子可使嗜酸粒细胞趋化至局部,而嗜酸粒细胞所释放的碱性蛋白和嗜酸粒细胞阳离子蛋白对肠蠕虫有毒性,因此,嗜酸粒细胞是介导抗蠕虫感染的 ADCC 作用的主要效应细胞,因为 IgE 分子也可通过 FcεR 介导 ADCC 行使其效应功能。

FcεR 分为 FcεRI 和 FcεRII 两类。FcεRI 为高亲和力受体,由四条链组成,分布于肥大细胞和嗜碱粒细胞表面;FcεRII (CD23) 为低亲和力受体,相对分子质量(分子量)为 45 000 (45 kD),为单链穿膜糖蛋白。FcεRI 主要参与 I 型变态反应,而 FcεRII 主要介导 IgE 依赖的 ADCC 作用。嗜酸粒细胞的这种活性是在 Th2 细胞调节下进行的。Th2 细胞调节 IgE 合成,通过分泌 IL-5,协同 GM-CSF、TNF 在 ADCC 效应中发挥活性激活剂作用,使休止期的嗜酸粒细胞转换成具有介导 ADCC 功能的效应细胞,并增加抗体产生,促进肥大细胞与嗜碱粒细胞

的增殖与分化。

## 第二节 T细胞介导的效应功能

T细胞介导的效应有两种基本形式：一种是由细胞毒性T细胞(CTL)介导的特异性细胞裂解作用；另一种为超敏反应T细胞(主要是Th1)介导的、以单个核细胞浸润为主的炎症反应。

### 一 CTL对靶细胞的杀伤

#### (一) CTL的分化成熟

CD8<sup>+</sup> CTL在体内以非活化的前体细胞(CTL-P)形式存在,它必须经过抗原激活并在Th协同作用下才能分化发育为效应CTL。CTL的活化需要双信号。第一信号来自TCR特异性识别靶细胞膜上MHC-I类分子-抗原肽复合物,并通过CD3分子参与抗原识别信号的传递。第二信号来自CTL细胞膜表面各种辅佐分子如CD28、CD2、LFA-1和靶细胞表明相应配体分子(如B7)的结合。此外,活化的CTL还需在活化的CD4 T细胞分泌的IL-2等细胞因子的作用下,才能分化为效应性CTL(参见第八章)。在IL-2基因敲除小鼠中,由于缺乏IL-2的表达,CTL介导的细胞毒性往往不能有效地产生。

Th1协助CTL-P转化为CTL,有可能发生在局部淋巴组织如淋巴结中。例如,在对病毒感染的初次反应中,休止期T细胞只有在局部淋巴结中才能起反应。可能是在局部的淋巴组织中,Th1和CTL-P可与共同的抗原递呈细胞(如并指状树突细胞)相互作用。这些APC将病毒抗原肽递呈给CD4与CD8 T细胞,并被这两种细胞识别。另外一种可能就是局部淋巴组织形成了一个具有丰富细胞因子的微环境,从而为CTL-P活化提供了一个理想的场所。

#### (二) CTL杀伤靶细胞的两个阶段

1. 效-靶细胞结合阶段：首先是CTL表面的TCR识别靶细胞表面的MHC I类分子与抗原肽,然后CTL上的淋巴细胞功能相关抗原LFA-1从低亲和力转向高亲和力状态,与靶细胞膜表面的细胞间粘附分子(ICAM)结合,从而在两类细胞间进行配接。当效-靶细胞藉此而相互靠近后,通过受体介导的信号转导等过程,使CTL活化并释放细胞介质。该过程历时数分钟,需在37℃下进行,是一个耗能过程,并依赖Mg<sup>2+</sup>存在。

LFA的高亲和力状态在CTL活化后仅能维持5~10min,然后又转为低亲和力。随着LFA-1与靶细胞膜表面ICAM亲和力降低,CTL即与靶细胞分开,再作用于下一个靶细胞。

2. 靶细胞裂解阶段：在此阶段,CTL对靶细胞造成不可逆损伤,使靶细胞裂解或凋亡。一般此过程历时约1h或更长时间,是Ca<sup>2+</sup>依赖性的。

#### (三) CTL杀伤靶细胞的两种主要机制

CTL杀伤靶细胞主要有两种机制：即分泌型杀伤和非分泌型杀伤。前者指CTL分泌诸如穿孔素一类的介质使靶细胞裂解；后者指CTL通过表面FasL与靶细胞表面的Fas结合后诱导细胞凋亡。

1. 分泌型杀伤：CTL与靶细胞接触后,可释放一系列颗粒物质,从而发挥杀伤作用。

(1) 穿孔素：电镜下发现培养的CTL克隆在细胞内有电子致密物质。将这些颗粒分离

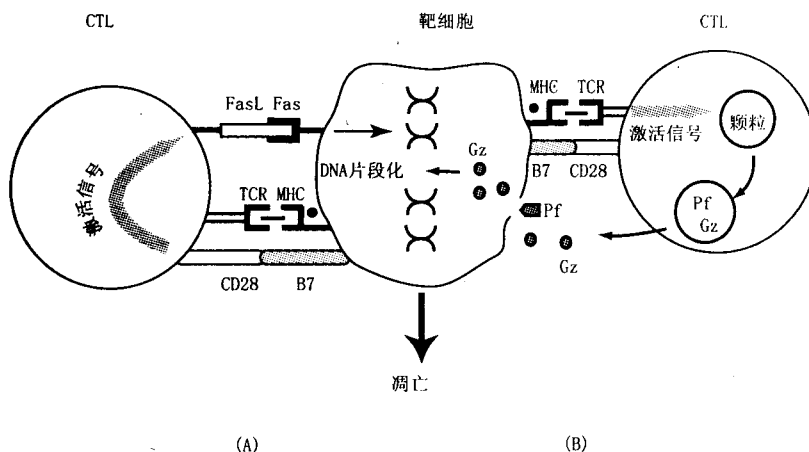


图 10-3 CTL 杀伤靶细胞两种主要途径

(A) 非分泌型配体诱发受体介导的杀伤;(B) 分泌型穿孔素(Pf)和粒酶(Gz)介导的杀伤

出来后其本身就可介导靶细胞损伤。对这些颗粒进行分析后发现,其中含有高分子量的糖蛋白,包括各种毒性细胞因子,如  $\text{TNF-}\beta$ 、穿孔素(perforin, Pf)及一些蛋白酶如颗粒酶(granzyme, Gz)或片断酶(fragmentin)。这些酶都具有丝氨酸酯酶的活性。CTL-P 通常缺乏胞质颗粒和穿孔素,但被活化后即可产生这些胞质颗粒,并在与靶细胞相接触的地方聚集,通过颗粒胞吐(granule exocytosis)以单体形式分泌于细胞外。进入靶细胞连接空隙处的穿孔素单体与靶细胞膜相接触,其构型就发生改变,两侧区域暴露,使穿孔素单体可插入靶细胞膜中,在  $\text{Ca}^{2+}$  存在下,单体聚集为多聚体,形成许多直径为 5 ~ 20 nm 的圆柱形孔(图10-4)。胞膜内外渗透压的差异,使  $\text{Na}^{+}$ 、水分子经由通道进入靶细胞内,导致细胞裂解。此过程与补体激活后通过攻膜复合物裂解靶细胞机制相似。在这一过程中,由于 CTL 细胞本身可表达并释放 A 型硫酸软骨素蛋白聚糖,后者和同源限制因子等保护性调节因子,可避免穿孔素对 CTL 自身的攻击。

事实上,CTL 所分泌的颗粒酶可经由穿孔素在靶细胞膜上所构筑的小孔,进入靶细胞。在穿孔素的作用下,颗粒酶在靶细胞内重新分布,聚集在裂解的靶细胞部位。

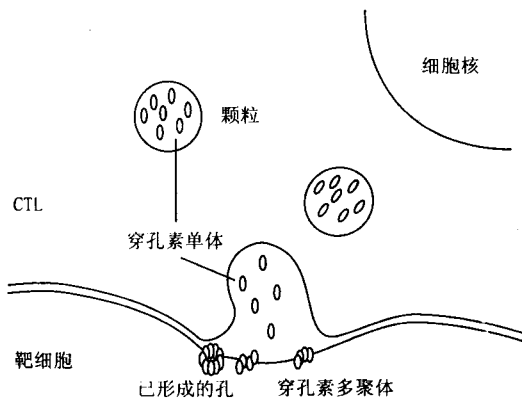


图 10-4 CTL 的颗粒胞吐杀伤靶细胞的机制

CTL 以穿孔素单体形式释放至与靶细胞相连的间隙中。与靶细胞接触后,单体插入靶细胞膜中形成多聚体,从而在膜上形成圆柱形孔

(2) 颗粒酶: CTL 可产生 4 种颗粒酶: 颗粒酶 B (Gz-B)、胰酶-2、Gz-A, Gz-H。其中 Gz-H 的功能尚不明了, 而 Gz-B 是活力最强的诱发细胞凋亡的酶。Gz-B 诱发细胞凋亡主要是通过嗜细胞性粒酶(cytophili Gz-B)诱导 Caspase 10 和 Caspase 7 活化而激活凋亡途径的。同时 Gz-B 还可通过活化多聚 ADP 核糖体蛋白酶以及 DNA 依赖性蛋白激酶等直接引发细胞凋亡。胰酶-2、Gz-A 也可通过间接活化 Caspase 的方式而诱发细胞凋亡。颗粒酶的这种作用可被病毒产物 CrmA 所抑制。

除了上述作用机制外, 穿孔素和颗粒酶还可通过胞质内非 Caspase 依赖性途径而诱发细胞凋亡。但这种作用不被病毒产物 CrmA 所抑制。

(3) 其他丝氨酸酯酶(serine esterase): 活化的 CTL 可释放多种丝氨酸酯酶, 如 CTLA-1, CTLA-3 等, 它们的作用可能类似于参与补体激活的酯酶样成分, 通过活化穿孔素而促进杀伤靶细胞的效应。

(4) Leulalexin: 又称 TNF 相关蛋白, 可分为分泌型和膜结合型。分泌型 Leulalexin 存在于 CTL 颗粒中, 其作用依赖穿孔素, 可介导靶细胞凋亡。

CTL 与靶细胞接触并释放穿孔素或粒酶后, 便迅速与靶细胞分开, 去杀伤下一个靶细胞。在这种效应中, 颗粒酶发挥作用需要通过 Caspase 级联反应, 可被 Bcl-2 样蛋白所抑制。

## 2. 非分泌型杀伤

(1) FasL 途径: CTL 的细胞毒性作用也可以通过靶细胞膜表面 Fas 分子启动的死亡信号转导而完成。CTL 可表达与 Fas 相结合的细胞表面蛋白, 其序列与 TNF 同源, 称为 Fas 配体(FasL)。当 FasL 与靶细胞上的 Fas 相互作用, 可通过死亡信号转导而活化凋亡途径。

Fas 配体通常只表达在效应 T 细胞而在未致敏 T 细胞上不表达。CTL 上 FasL 表达的水平要高于 Th1 和 Th2 细胞。有关 Fas 与 FasL 介导的细胞凋亡机制及相应的信号转导, 在第三节中详细介绍。

(2) TNF 途径: CTL 分泌的 TNF- $\alpha$  可通过与靶细胞表面相应受体结合而显示细胞毒活性。其中分泌型 TNF- $\alpha$  主要介导靶细胞坏死; 膜型 TNF- $\alpha$  主要介导靶细胞凋亡, 主要参与 CTL 的慢时相细胞毒作用。

此外, 激活的 CTL 可分泌淋巴毒素(lymphotoxin, LT), 也称 TNF- $\beta$ 。LT 与靶细胞表面相应受体结合后, 向细胞内移, 继而被靶细胞溶酶体摄取, 导致溶酶体稳定性降低, 各种溶酶体酶外逸, 直接引起细胞溶解。LT 也可与靶细胞表面 Fas 结合, 诱导靶细胞发生凋亡。

3. CTL 杀伤的特异性与高效性: 综上所述, CTL 可通过各种机制杀伤靶细胞, 且各种机制间相互协作, 共同发挥作用。CTL 的杀伤作用具有抗原特异性并受 MHC I 类分子的限制, 即要求初次致敏与再次致敏时的 MHC 等位基因产物相同或具有相同的抗原肽结合基序(参见第四章); 一个 CTL 可连续杀伤多个靶细胞, 具有高效性。这些特点在机体细胞免疫效应中, 尤其是对抗肿瘤与抗细胞内病毒感染具有重要的意义。

## 二 迟发型超敏反应中 Th1 细胞介导的效应机制

参与迟发型超敏反应(DTH)的效应细胞, 包括 Th1、Th2 和 CTL(第十二章)。其中起作用的主要为 Th1 细胞。在抗原的激发下, Th1 可分泌许多细胞因子和可溶性介质而引起 DTH, 引起以单核巨噬细胞浸润为主的局部性炎症。前面提到, 受 APC 上的 MHC II 类分子与抗原肽活化后 Th1 发生特异性克隆扩增。许多 APC 如巨噬细胞、郎罕细胞、树突细胞及血管内

皮细胞均可参与 Th1 活化。一般来说,在致敏阶段,最初活化的为 CD4 Th1 细胞,但在有些情况下也有 CD8 CTL 的激活和参与。进入效应相的 Th1 细胞通过分泌多种细胞因子(如 IFN- $\gamma$ 、IL-3、GM-CSF),使巨噬细胞和其他非特异性炎症细胞富集与活化。迟发型超敏反应一般在再次接触抗原 24 小时后发生,常在 48 ~ 72h 达到高峰。

活化的 Th1 细胞除了产生细胞因子,还能分泌细胞毒素和促进趋化性细胞因子的分泌。各种趋化性细胞因子使血流中的单核细胞先粘附于血管的内皮细胞上,然后从血管内迁移到周围组织中。在这一过程中,单核细胞分化为 M $\Phi$  并被激活。活化的 M $\Phi$  吞噬与杀伤病原菌,并增强 MHC II 类分子与粘附分子的表达,成为更有效的 APC。巨噬细胞的浸润和活化是机体抵御细胞内病原菌的有效途径。但在某些情况下,如果抗原不易被清除,免疫反应持续时间过长则会导致组织肉芽肿的产生。

### 第三节 Fas 相关的死亡信号转导与凋亡

Fas(又称 APO-1 或 CD95),是由 325 个氨基酸组成的 I 型膜蛋白,相对分子质量(分子量)为 48 000(48 kD),属于 TNF 受体(TNFR)家族。该家族成员的胞外段含有 2 ~ 6 个富含半胱氨酸的结构域。Fas 的胞内区有一个约由 70 个氨基酸组成的保守区域,为凋亡信号转导所必需,称为死亡结构域(death domain, DD)。Fas 在许多组织表达,尤其是小鼠的胸腺、肝脏、心脏、肺、肾、卵巢等。前面提到, Fas 的配体称 FasL,由 281 个氨基酸组成,为 II 型膜蛋白,属于肿瘤坏死因子家族。其 N 端在胞内,约包括 80 个氨基酸,胞外段约 150 个氨基酸,其中保守序列达 20% ~ 25%。与 TNF 一样, FasL 也可被膜上的金属蛋白酶加工成可溶性 FasL(sFasL)。人的 sFasL 可以以三聚体的形式存在,并具备 FasL 功能。FasL 主要表达于活化的 T 细胞与 NK 细胞。

Fas 与 FasL 所激发的细胞凋亡参与了几项重要的效应作用,全部和免疫应答有关。①介导 CTL 和 NK 杀伤病毒感染的靶细胞或肿瘤细胞;②通过激活诱导的细胞死亡调节淋巴细胞介导的特异性免疫应答(参见第十一章);③诱导免疫豁免。免疫豁免(immune privilege)指机体中某些特定部位的基质细胞如眼球角膜上皮细胞和睾丸 Sertoli 细胞也能表达和分泌 FasL,结果是,刚进入这些细胞和相应组织周围的免疫细胞和炎症细胞,因为尚未充分激活,无 FasL 分泌却可有效地表达 Fas 分子,成为基质细胞分泌 FasL 作用的靶目标而不能存活,造成这些组织器官可免受免疫系统的攻击。这些作用都涉及 Fas 介导的死亡信号转导。

#### 一 Fas 分子启动的死亡信号转导

Fas 与 FasL 结合后即活化凋亡的信号转导途径。现知参与这一信号途径上游阶段的成分分别为转接蛋白 FADD 和 Caspase 8。

##### (一) 带有死亡结构域的 Fas 结合蛋白

带有死亡结构域的 Fas 相关蛋白简称 FADD(Fas-associating protein with death domain),是相对分子质量(分子量)为 23 000(23 kD)的胞质蛋白质。人类 FADD 基因编码区长约 2.6 kb,有 2 个外显子,其间被一长约 2 kb 的内含子分隔。外显子 1 长 286 bp,编码 N 端诱导细胞凋亡所必须的死亡效应结构域(death effect domain, DED);外显子 2 长 341 bp,编码死亡结构域(DD),此 DD 基因与 Fas 以及 TNFR-1 的 DD 编码基因相比,有 25% ~ 30% 的同源性。

因此, FADD 蛋白实质上可分为两部分, C 端(DD 结构域)负责和 Fas 分子胞内段上的 DD 结构域相结合, 而 N 端(DED)部分则负责将死亡信号进一步向下传递。

人类 FADD 基因定位于 11 号染色体 11q13.3。上面提到, FADD 蛋白可以以其 C 端 DD 和 Fas 分子的 DD 结合, 由此引起 N 端的 DED 随即与无活性的半胱氨酸蛋白酶 caspase8(又称 FLICE/MACH-1)酶原发生同嗜性交联(homophilic interaction)。Caspase 8 遂由单链酶原转成有活性的双链蛋白, 进而引起随后的 caspase 级联反应, 细胞发生凋亡。因而 FADD 属于信号转导中的转接蛋白(adapter), 它的过度表达可直接引起细胞凋亡。而下列情况则抑制凋亡信号转导: ①Fas 分子 DD 结构域编码基因突变和缺失, 以及 FADD 中的 DD 基因点突变, 两种情况皆影响了 FADD 与 Fas 的结合; ②FADD 的 N 端基因因为缺失而构成显性负向突变(dominant-negative mutation), 其 DED 即因结构改变而不能与下游的 caspase 8 结合, 也可以阻断凋亡信号的下传。

与 FADD 同类的蛋白质还包括能够与 TNF 受体 p55-R 分子胞内段相结合的 TRADD(详见第四节)。

## (二) Caspase 8 及其介导的级联反应

Caspase 中的“C”代表半胱氨酸(cysteine), “asp”指天冬氨酸(aspartic acid)。因而 caspase 可以称为半胱天冬蛋白酶, 或天冬氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶, 因为其专一性地在天冬氨酸之后切断与另一氨基酸残基的连接使底物解离。目前已发现的 Caspase 至少有 13 种, 按其发现的先后, 在 Caspase 后面冠以阿拉伯数字表示(表 10-2)。

表 10-2 半胱天冬蛋白酶家族成员及其功能

命 名	曾 用 名	功 能
Caspase 1	ICE*	诱导凋亡, 炎症反应
2	ICE-1	诱导凋亡, 启动酶/效应酶?
3	Cpp32, Yama, apopain	诱导凋亡, 效应酶
4	ICErel-II, TX, ICF-2	
5	ICErel-III, TY	
6	Mch 2	诱导凋亡, 效应酶
7	Mch 3, ICE-LAP3, CMH-1	诱导凋亡, 效应酶
8	MACH, FLICE, MCH5	诱导凋亡, 启动酶
9	ICELAP6, Mch 6	诱导凋亡, 启动酶
10	Mch 4	诱导凋亡, 启动酶?
11	Mch 4	炎症反应
12	Mch 4	
13	Mch 4	

\* ICE: interleukin 1 $\beta$ -converting enzyme

Caspase 家族一般具有如下特征: ①C 端同源区存在半胱氨酸激活位点, 此激活位点结构域为 QACR/QG。②通常以酶原的形式存在, 相对分子质量(分子量)29 000 ~ 49 000(29 ~ 49 kD), 在受到激活后其内部保守的天冬氨酸残基经水解形成大(p20)、小(p10)两个单位, 并进而形成两两组成的有活性的四聚体(图 10-5A)。其中, 每个 P20/P10 异二聚体可来源于同一前体分子也可来源于两个不同的前体分子。③N 末端具有一个小的或大的原结构域(prodomain)。Caspase 8 作为酶原在接受了由 FADD 转导的凋亡信号后, 形成活化的 Caspase。而激活的 Caspase 又可作用于其自身和其他 Caspase 酶原, 由此形成信号转导级联反应。



表 10-2 表明, Caspase 主要行使两类功能: 诱导凋亡和参与炎症反应。目前已知 Caspase 2、3、6、7、8、9 和 10 参与凋亡信号传导, 而其他的一些 Caspase 主要参与细胞因子的激活和炎症反应。而且, 参与诱导凋亡的 Caspase 分成两大类: 启动酶 (initiator) 和效应酶 (effector), 它们分别在死亡信号转导的上游和下游发挥作用。表 10-2 表明, 经 FADD 激活的 Caspase 8 属于启动酶。其他的启动酶还有 Caspase 9 (参与线粒体介导的凋亡) 和 Caspase 10 (可能和颗粒酶诱导的凋亡有关)。如前述, Caspase 的活性受 CrmA, 及杆状病毒蛋白 p35, 在人体中还受 XIAP 蛋白及特异抑制性多肽 DEVD-CHO 等调节。

### (三) 和凋亡相关的几种主要 Caspase

1. Caspase 1: Caspase 1 基因位于人类染色体 11q22.2~22.3, 其产物为 404 个氨基酸组成的酶原 (P45)。在某些蛋白酶 (可能包括 ICE 本身) 的作用下, 酶原被水解, 形成分别由 120~297 位和 317~404 位氨基酸构成的 P20 和 P10 亚基。P20 亚基的 C 端与 P10 亚基的 N 端相互作用形成稳定的异二聚体 (P20/P10)。然后由两个对称的异二聚体构成具有活性的四聚体 (P20/P10)<sub>2</sub> (参见图 10-5A)。该分子的活性中心横跨 P10 和 P20 两个亚单位。分子中的羧基侧链部可构成“结合袋”, 参与识别并结合底物分子。

Caspase 1 旧称 ICE, 即白细胞介素 1 $\beta$  转换酶, 在 Fas 和 TNFR1 介导的细胞凋亡中发挥作用。Fas 和 TNFR1 信号可活化 ICE 前酶。此外, ICE 样蛋白酶还参与其他多种因素诱导的凋亡, 如细胞外基质丧失以及化疗药物如顺铂等诱导的凋亡。

CrmA 是 ICE 的特异性抑制物。p35 也可通过与 ICE 形成 p35-ICE 复合物而抑制细胞凋亡。此外, 一些根据 ICE 作用底物设计的小肽如乙酰-Tyr-Val-Ala-Asp-氯甲基酮、乙酰-Tyr-Val-Ala-Asp-CHO 等也能特异性地抑制 ICE 活性, 进而阻止细胞凋亡。

2. Caspase 3: 所有 ICE 家族成员中, Caspase 3 与线虫的 CED-3 同源性最高 (35%), 它可能是 CED-3 基因在哺乳动物细胞中的对应物。Caspase 3 是细胞凋亡信号传导中的关键性效应酶, 它不仅参与 Fas-FasL 诱导的凋亡途径, 而且与 CTL 的颗粒酶 B 介导的杀伤靶细胞有关。Caspase 3 酶原有 2 个酶切位点, 即 Asp28-Ser29 和 Asp175-Ser176。它必须在 Caspase 家族其他成员如 Caspase 8 的作用下才能被活化。有活性的 Caspase 3 由 P18 和 P12 两个亚基组成。

3. Caspase 5: Caspase 5 由 418 个氨基酸残基组成, 相对分子质量 (分子量) 为 47 000 (47 kD)。被活化后产生具有活性的异二聚体, 可诱导凋亡。

4. Caspase 6: Caspase 6 基因经不同剪接后可编码两种蛋白亚型: Caspase 6 $\alpha$ , 由 293 个氨基酸组成, 相对分子质量 (分子量) 34 000 (34 kD); Caspase 6 $\beta$  由 204 个氨基酸残基所组成, 相对分子质量 (分子量) 为 23 000 (23 kD)。Caspase 6 $\alpha$  与 CPP32 高度同源, 经活化后可裂解多聚腺苷酸聚合酶 (PARP) 诱发凋亡, 而 Caspase 6 $\beta$  则可与 Caspase 6 $\alpha$  结合后抑制其活性。

5. Caspase 8: 在 Fas 启动的死亡信号传导中, Caspase 8 可能为处于最上游的启动酶, 能接受从 FADD 来的凋亡信号并向下游传递 (图 10-5B)。Caspase 8 分为 MACH $\alpha$ 1-3 与 MACH $\alpha$ 1-4。MACH $\alpha$  的 C 端与 ICE/CED-3 相似, 而 MACH $\beta$  则与之不同。不同的 MACH 所诱导的细胞发生凋亡的种类不同, 如 MACH $\alpha$ 1 与 MACH $\alpha$ 2 均可使乳腺癌细胞 MCF7 凋亡, 而 MACH $\beta$  则主要诱导 Hela 细胞凋亡。MACH $\alpha$ 1 可降解 PARP 而不降解 IL-1 $\beta$  前体。目前认为 Caspase 8 在 Fas 和 TNFR 诱导的细胞凋亡信号途径中皆发挥重要作用。

6. Caspase 9: Caspase 9 参与线粒体启动的凋亡。线粒体在射线、氧化剂、高浓度 Ca<sup>2+</sup>

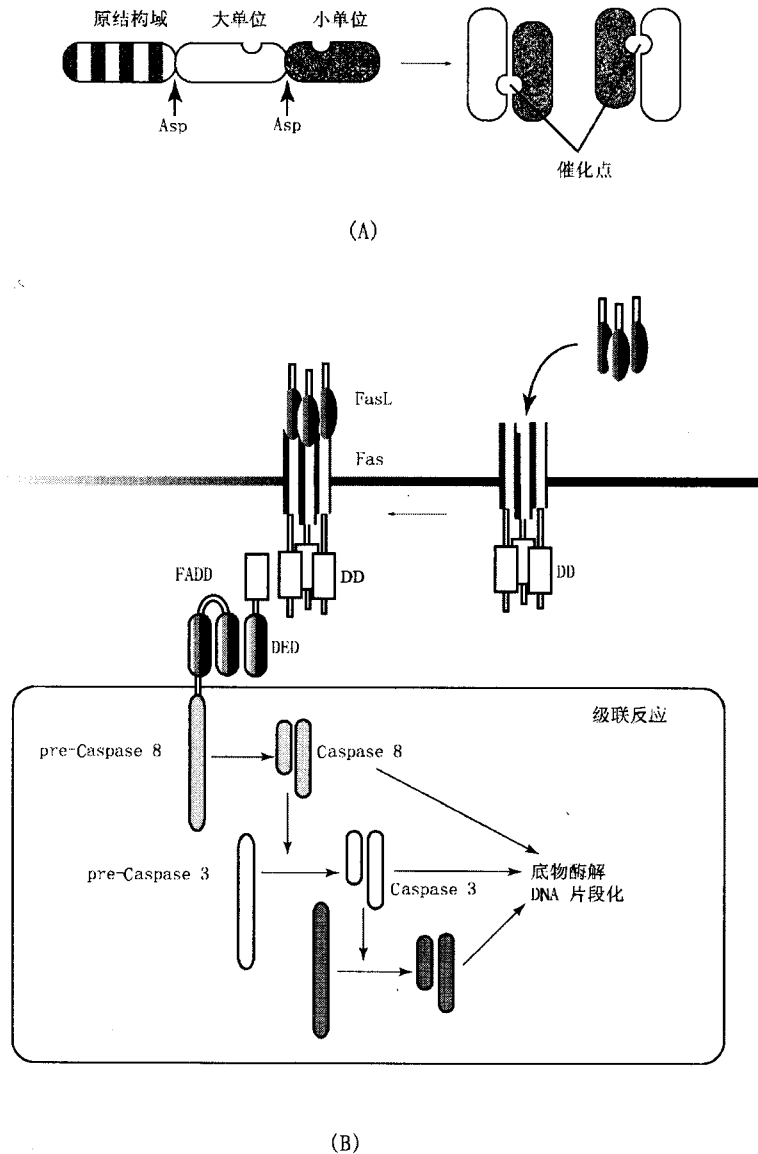


图 10-5 Fas 分子通过 Caspase 介导细胞凋亡

(A) 死亡信号传递中 Caspase 从前酶向活性蛋白酶转换；(B) 由 Fas 介导的死亡信号传递途径

及 Bax 等作用下,因渗透压失衡基质发生肿胀等原因可引起外膜损伤,释放细胞色素 C(Cyto C)等 Caspase 激活蛋白。Cyto C 和一种称为凋亡蛋白酶激活因子(apoptotic protease activating factor, Apaf-1)结合并使之活化,活化的 Apaf-1 再和 Caspase 9 前酶结合,使后者显示蛋白酶活性而触发 Caspase 级联反应,引发细胞凋亡。

细胞因子通过和受体的结合,可引起免疫细胞增殖,细胞因子一旦撤离,这些细胞会因受体“饥饿”而发生凋亡。这也是一种十分重要的反馈调节机制,使得细胞因子依赖性细胞的增殖不致于失控。现知受体饥饿相关的细胞凋亡可能通过线粒体即 Caspase 9 介导的途

径,因而 Caspase 9 在免疫调节中也是一个重要的启动酶。

## 二 Caspase 的效应机制

凋亡细胞的特征性表现,包括 DNA 裂解为 200 bp 左右的片段、染色质浓缩、细胞膜泡化、细胞皱缩,最后形成由细胞膜包裹的凋亡小体,然后,这些凋亡小体被其他细胞所吞噬。这一过程大约经历 30 ~ 60min。Caspase 引起上述细胞凋亡相关变化的全过程尚不完全清楚,但至少包括以下三种机制(图 10-6)。

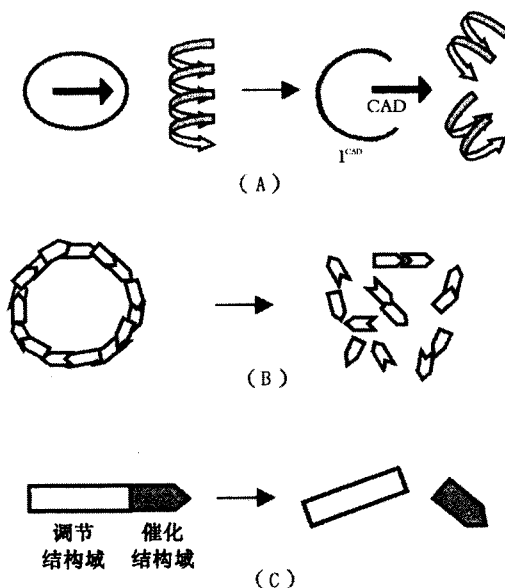


图 10-6 Caspase 的效应机制

(A) 使凋亡抑制物失活(如灭活  $I^{CAD}$  激活 CAD); (B) 分解细胞结构(如破坏核纤层);  
(C) 使蛋白活性失调(分开蛋白的调节结构域和催化结构域,改变蛋白功能)

### (一) 灭活凋亡抑制物

正常活细胞因为核酸酶处于无活性状态而不出现 DNA 断裂,这是因为核酸酶和抑制物结合在一起。如果抑制物被破坏,核酸酶即可激活,引起 DNA 发生片断化(fragmentation)。现知 Caspase 可以裂解这种抑制物而激活核酸酶,因而把这种酶称为 Caspase 激活的脱氧核糖核酸酶(caspase-activated deoxyribonuclease, CAD)而把它的抑制物称为  $I^{CAD}$ 。因而,在正常情况下,CAD 不显示活性是因为 CAD- $I^{CAD}$  以一种无活性的复合物形式存在。 $I^{CAD}$  一旦被 Caspase 水解,即赋予 CAD 以核酸酶活性,DNA 片断化随即产生。有意义的是 CAD 只在  $I^{CAD}$  存在时才能合成并显示活性,提示 CAD- $I^{CAD}$  以一种共转录方式存在,因而  $I^{CAD}$  对 CAD 的活化与抑制都是必需的。

Caspase 家族还与 Bcl-2 家族成员相互作用,调节凋亡发生。Bcl-2 是一个大家族,分成抗凋亡成员(如 Bcl-2、Bcl-X<sub>L</sub>、Bcl-w、A1、Mcl-1 和 E1B19KD 等)和促凋亡成员(如 Bad、Bax、Bcl-X<sub>s</sub>、Bak、Bik、Bid 等)两大类。Bad 和 Bax 通过与 Bcl-2 或 Bcl-X<sub>L</sub> 结合形成无功能的异二聚体干扰后两者抗凋亡活性。Bcl-2 又能通过 Bag-1 使 Bad 发生磷酸化,造成 Bad 与 Bcl-X<sub>L</sub> 脱离,恢复 Bcl-2 抑制凋亡的活性。Caspase 通过灭活 Bcl-2 蛋白和产生促凋亡的片段,诱导凋亡。

### (二) 破坏细胞结构

Caspase 可直接破坏细胞结构,如裂介核纤层。核纤层(lamina)是由核纤层蛋白通过聚合作用而连成头尾相接的多聚体,由此形成核膜的骨架结构,使染色质(chromatin)得以形成并进行正常的排列。在细胞发生凋亡时,核纤层蛋白作为底物被 Caspase 在一个近中部的固定部位所裂解,从而使核纤层蛋白崩解,导致细胞染色质固缩。

### (三) 使调节蛋白丧失功能

Caspase 可作用于几种与细胞骨架调节有关的酶或蛋白,改变细胞结构。其中包括,凝胶原蛋白(gelatin)、聚合粘附激酶(focal adhesion kinase, FAK)、P21 活化激酶 2(PAK2)等。这些蛋白的裂解导致其活性下调。如 Caspase 可裂解凝胶原蛋白而产生片段,使之不能通过肌动蛋白(actin)纤维来调节细胞骨架。

除此以外,Caspase 还能灭活或下调与 DNA 修复有关的酶(如 DNA-PK $\epsilon$ )、mRNA 剪切蛋白(如 U1-70K)和 DNA 交联蛋白(如复制因子 C)。由于 Caspase 的作用,这些蛋白功能被抑制,使细胞的增殖与复制受阻,并发生凋亡。

所有这些都表明 Caspase 以一种有条不紊的方式进行“破坏”:它们切断细胞与周围的联系、拆散细胞骨架、阻断细胞 DNA 复制和修复、干扰 mRNA 剪切、损伤 DNA 与核结构、诱导细胞表达可被其他细胞吞噬的信号、并进一步使之降解为凋亡小体。随着对 Caspase 作用底物的深入分析,它们参与诱导细胞凋亡的机制将被进一步阐明。

## 第四节 NK 细胞、巨噬细胞和细胞因子的效应功能

### 一 NK 细胞的效应机制

#### (一) NK 细胞的活化

静止的 NK 细胞通过下列途径活化,发挥杀伤作用。

1. CD3  $\zeta$  链活化途径: NK 细胞虽不表达 TCR-CD3 复合物,但部分 NK 细胞表达  $\zeta$  链。 $\zeta$  链和 NK 表面的 IgG Fc 受体 Fc $\gamma$ III(CD16)形成复合体。Ig 分子和 Fc $\gamma$ III 结合时,CD3  $\zeta$  链胞内段上的 ITAM 即可发生酪氨酸磷酸化,通过信号转导通路引起胞质内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度和  $\text{IP}_3$  水平升高,促进细胞因子合成和产生 ADCC 效应。外周血中的 NK 细胞几乎均可通过此途径活化。部分 NK 细胞表达 CD2 分子,有可能通过 CD2 与 CD58 相互作用使 CD3 $\zeta$  链发生酪氨酸磷酸化,使 NK 细胞活化。

2. IL-2R 激活途径: NK 细胞表面表达 IL-2R  $\beta\gamma$  链,在 IL-2 的诱导下,NK 细胞开始大量表达 IL-2R $\alpha$  链, $\beta$ 、 $\gamma$  链和  $\alpha$  链的结合有利于形成高亲和力 IL-2 受体,从而使 NK 细胞在 IL-2 的刺激下进一步发生增殖。在 IL-2 刺激下 NK 细胞表达粘附分子,使 NK 胞质中的颗粒增加并促进丝氨酸酯酶 mRNA 的表达,从而提高 NK 细胞的细胞毒性。此外,IL-12、IFN- $\alpha$ 、TNF- $\alpha$  以及白细胞调节素(leukoregulin, LR)等,对 NK 细胞的活化和分化有正调节作用。有人将它们(包括 IL-2)统称为 NK 刺激因子(NKSF)。前列腺素 E1、E2、D2 和肾上腺皮质激素等则对 NK 细胞活性有抑制作用。

#### (二) NK 细胞杀伤机制

##### 1. 释放杀伤介质杀伤靶细胞

(1) NK 细胞毒因子: NK 细胞可释放可溶性 NK 细胞毒因子(NK cytotoxic factors, NKCF),与靶细胞表面 NKCF 受体结合,选择性杀伤靶细胞。

(2) 肿瘤坏死因子：活化的 NK 细胞可释放  $\text{TNF-}\alpha$  和  $\text{TNF-}\beta$ (LT),  $\text{TNF}$  通过各种机制杀伤靶细胞：例如, 改变靶细胞溶酶体的稳定性, 导致各种水解酶外漏; 影响细胞膜磷脂代谢; 改变靶细胞糖代谢, 使组织中 pH 值降低。TNF 和 FasL 一样, 也可激活靶细胞凋亡途径(图 10-7)。

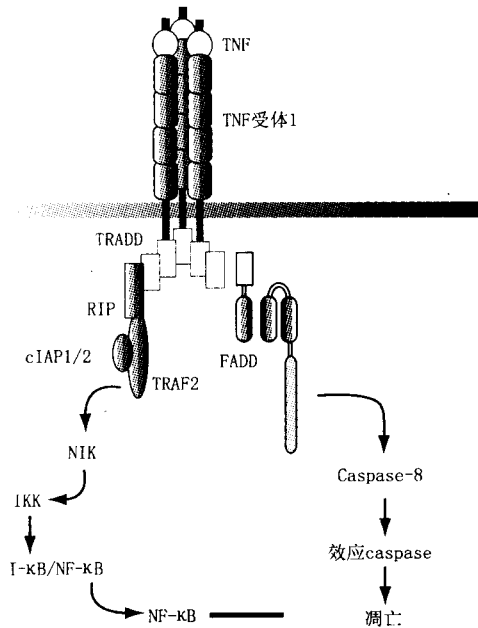


图 10-7 TNF 介导的细胞死亡信号传导途径

注: TRADD TNF 受体相关死亡区域; RIP 受体相互作用蛋白; TRAF2 TNF 受体相关因子 2; NIK NF- $\kappa$ B 诱导激酶; IKK  $\kappa$ B 激酶复合体抑制因子

2. 通过颗粒胞吐杀伤靶细胞：这一杀伤机制与 CTL 相似。因为在 NK 细胞的胞质内同样含有大量颗粒, 这些颗粒中含有穿孔素与粒酶。但与 CTL 不同的是, NK 细胞胞质内总是含有这些颗粒, 当 NK 细胞与靶细胞粘附时, 即发生脱颗粒, 在与靶细胞相接处释放出穿孔素与粒酶。穿孔素在靶细胞膜上成孔并使之裂解; 颗粒酶(至少包括 Gz-B、胰酶-2、Gz-A、Gz-H 和 Gz-M)则进入胞浆通过裂解甲硫氨酸、亮氨酸等活化细胞凋亡途径。其中 Gz-M 是 NK 细胞所特有的颗粒酶。此外, NK 细胞产生的许多毒性分子(如  $\text{TNF-}\alpha$ )也与 NK 介导的靶细胞凋亡有关。但与 CTL 不同, NK 细胞不表达抗原特异性 TCR 与 CD3 分子。多数情况下, NK 识别靶细胞不受 MHC 限制, 所产生的免疫效应无免疫记忆反应。

3. ADCC 作用: NK 细胞表达 Fc $\gamma$ RIII, 能与 IgG1、IgG3 的 Fc 段结合, 在靶细胞特异性 IgG 抗体介导下杀伤相应靶细胞。IL-2 和 IFN- $\gamma$  可明显增强 NK 细胞介导的 ADCC 作用。

## 二 细胞因子和巨噬细胞的效应作用

### (一) 细胞因子的效应功能

细胞因子参与效应细胞的分化成熟, 增强效应细胞杀伤中的多种分子的表达。如 IL-1 能刺激 T、B 细胞的增殖与分化, 刺激造血细胞、参与炎症反应。IL-2 促进 T、B 细胞的分化成熟, 诱导 CTL、NK 等效应细胞表面粘附分子(如 LFA, CTLA 等)表达增多, 使 CTL、NK 细胞、

单核细胞的杀伤活性增强。IL-4 诱导 IgE、IgG1 产生;IL-5 诱导 IgA 产生。IL-12 能促进 CTL、NK 细胞的杀伤功能,并诱导细胞免疫。

IFN 作为一种细胞因子,不仅具有抗病毒复制作用,还有抗肿瘤、控制细胞增殖等效应作用。上面提到,TNF 可通过多种途径杀伤靶细胞,另外,尚可通过 TNFR1 启动细胞凋亡途径,其相应的信号转导与 Fas-FasL 介导的途径既有相似性又有不同(图 10-7)。

## (二) 巨噬细胞的激活与杀伤作用

单核巨噬细胞系统具有重要的生物学作用。不仅参与非特异性免疫防御如在抗感染中行使吞噬功能,而且在特异性免疫应答中作为抗原递呈细胞发挥关键作用。事实上,巨噬细胞还是一类重要的效应细胞。

1. 巨噬细胞的激活:巨噬细胞在某些细胞因子的作用下而活化。其活化的途径主要有:①CD4 Th1 细胞释放 IFN- $\gamma$  活化巨噬细胞;②通过细胞表面 CD40 与 T 细胞表面 CD40L 的相互作用而活化;③在小鼠,巨噬细胞还可被 LPS、TNF 及 IL-1 所活化。活化巨噬细胞的溶酶体形成增加,氧化代谢能力增加,杀伤靶细胞能力增加。

## 2. 巨噬细胞杀伤靶细胞机制

(1) ADCC 作用 与 NK 细胞一样,巨噬细胞表面也有 Fc 受体(Fc $\gamma$ RI),能识别 IgG Fc 段。通过 IgG 介导对靶细胞杀伤。

(2) 直接杀伤作用 巨噬细胞可通过释放溶酶体酶、NO、过氧化物酶等物质产生对靶细胞的损伤。

(3) 释放炎症介质刺激急性炎症反应 巨噬细胞可产生一些炎症介质,如血小板活化因子(PAF)、前列腺素和 leukatriene 及组织因子。这些因子可活化凝血系统,使局部凝血而造成局部组织缺血,加重组织损伤。

(4) 分泌细胞因子参与靶细胞如肿瘤细胞的杀伤与慢性炎症反应 当某些细菌如分枝杆菌感染时,如巨噬细胞不能立刻将其清除,某些细菌产物如 LPS 就可刺激巨噬细胞合成细胞因子如 IFN- $\gamma$ 、TNF、IL-1、TGF- $\beta$ 、纤维母细胞生长因子,增强巨噬细胞的杀伤能力,并且在局部促进血凝,增加局部组织损伤,并可刺激局部血管内皮细胞移行与新血管形成。

## 本章提要

免疫应答的效应机制指通过效应分子和效应细胞清除病原体和非己成分。

抗体发挥的效应功能包括:IgG/IgM 介导的抗原中和作用和 CDC、ADCC 等细胞毒性效应;分泌型 IgA 的局部抗感染作用与 IgE 介导的免疫反应。

T 细胞介导的效应功能有两种基本形式:一种由 CD8 CTL 介导的特异性细胞毒作用;另一种是由 CD4 Th1 介导的、以单个核细胞浸润为主的炎症反应。

NK 细胞通过和 CTL 相似的方式非特异性地杀伤靶细胞,并介导 ADCC 作用。而细胞因子通过参与效应细胞的分化成熟,和直接发挥效应功能(如 TNF),参与对靶细胞杀伤。巨噬细胞杀伤靶细胞的机制包括:ADCC、直接杀伤、释放炎症介质导致急性炎症反应,以及分泌细胞因子等。

CTL 和 NK 细胞对靶细胞的直接杀伤主要有两种方式:颗粒胞吐和靶细胞凋亡。前者涉及穿孔素和粒酶的释放,引起靶细胞损伤;后者通过表达 FasL,启动 Fas 介导的死亡信号转导诱发凋亡。其中半胱氨酸蛋白酶 Caspase 起重要作用。

### 参考文献

- [ 1 ] 王振义,陈 竺.肿瘤的诱导分化和细胞凋亡疗法.上海:上海科学技术出版社,1998
- [ 2 ] Abbas AK, Lichtman AH and Pober JS. Effector mechanisms of T cell-mediated immune reactions, In Cellular and Molecular Immunology, 2nd ed, W.B.Sauders, New York, 1997
- [ 3 ] Froelich CJ, Dixit VM and Yang XH. Lymphocyte granule-mediated apoptosis: matters of viral mimicry and deadly proteases. Immunol Today, 1998, 10:30
- [ 4 ] Green DR and Reed JC. Mitochondria and apoptosis. Science, 1998, 281:1309
- [ 5 ] Nagata S. Apoptosis by death factor, Cell, 1997, 88:355
- [ 6 ] Thornberry NA and Lazebnik Y. Caspases: enemies within. Science, 1998, 281: 1312
- [ 7 ] Trapani JA, Sutton VR and Smyth MJ. CTL granules: evolution of visicles essential for combating virus infections. Immunol Today, 1999, 20:351

# 第十一章 免疫调节

免疫应答是机体重要的防御功能。但不适当的免疫应答,如对自身抗原产生免疫应答、对外来致病原产生免疫耐受或应答过强等,都会对机体造成严重损伤。为了维持机体内环境的平衡,在免疫系统进化过程中,机体形成了多方位、多层次的免疫调控机制,用以制约免疫应答的质和量。免疫应答质的调控包括免疫应答类型的调控(细胞免疫或体液免疫),以及免疫应答和免疫耐受之间的调控。免疫应答量的调控包括免疫效应的放大和免疫应答的反馈性抑制。了解和掌握机体固有的免疫调节机理,就能利用这些机制,人为地进行干预,使机体避免产生不适当的免疫应答,或使已产生的异常免疫应答得以逆转。

免疫调节是一种精细、复杂、在不同水平由多因子参与的免疫生物学现象,各种因素相互影响,互为因果,很难把它们截然分开。如细胞因子的调节作用,本书很多章节都提到,为避免重复,此处不再把它们列为专题。

## 第一节 抗原和抗体对免疫应答的调节

### 一 抗原的调节

#### (一) 抗原特性对免疫应答的影响

1. 化学性质:抗原的化学性质影响免疫应答的类型。一般认为蛋白质抗原既可诱导体液免疫又可诱导细胞免疫,而多糖和脂类抗原一般不能诱导出 MHC 限制性 T 细胞介导的免疫应答,它们诱导的体液免疫也不依赖 T 细胞,产生的抗体大多为 IgM 类型。由于蛋白质抗原能刺激 T 细胞,因此蛋白质抗原诱导的抗体在 Th 的辅助下能经历 Ig 类别转换和亲和力成熟,成为高亲和力抗体,并产生记忆 B 细胞。所以一些胞壁成分主要为多糖的细菌往往只刺激出低亲和力的 IgM 抗体和少量 IgG 抗体,而抗原性质主要为蛋白质的病毒能刺激出强的体液免疫和细胞免疫,并形成记忆细胞。这是为什么一些病毒感染或病毒疫苗的接种可以使机体产生长久的免疫力,有的甚至终身免疫。

2. 抗原剂量:通常大剂量或小剂量抗原容易引起抗原特异性 T 细胞产生免疫耐受,而适中的抗原剂量才能有效地刺激出免疫应答。但不同的抗原其要求的适中剂量是不同的。抗原剂量影响免疫应答的机制还不清楚,但已有的实验表明,大剂量蛋白质抗原在没有佐剂的情况下,诱导免疫耐受,而加入佐剂后可诱导出正常的免疫应答。实验表明,没有佐剂时抗原递呈细胞不能被充分激活,不能表达高水平的协同刺激分子, T 细胞因缺乏第二信号而难以合成和分泌 IL-2,成为无能细胞。因此这种因缺乏佐剂而引起的免疫耐受,可以通过给予高浓度的 IL-2 而得到逆转。这一原理提示在某些疫苗和抗血清制备中,应特别注意选择合适的佐剂。

3. 抗原进入机体的方式:蛋白质抗原通过皮内或皮下进入机体往往能有效地激发免疫



应答,因为表皮内有很多郎罕细胞,它们能有效地摄取抗原,并把抗原转送至相应的淋巴结。相反,如果大剂量的蛋白质抗原通过静脉或口服进入机体,往往诱导出免疫耐受。

## (二) 抗原之间的竞争性抑制

实验表明两种不同的抗原如果在相隔 1~2d 内先后进入机体,则机体对后进入的抗原反应下降。如表 11-1 所示,马红细胞(HRBC)可以刺激小鼠产生高水平的抗体,但如在给予小鼠 HRBC 前 2 天先给予绵羊红细胞(SRBC),则小鼠对 HRBC 的反应大大下降。同样,如先给予 HRBC,后给予 SRBC,则小鼠对 SRBC 的反应也大大下降。这表明结构相似的抗原之间有竞争性抑制。原因可能来自两方面:一方面 APC 递呈先进入机体的抗原后,妨碍了它递呈紧随其后的另一种抗原;另一方面 Th 细胞受先进入的抗原刺激后,会产生很多细胞因子,这些细胞因子可能会抑制对后者的反应。

表 11-1 抗原之间的竞争性抑制

抗原和免疫时间		溶血空斑试验(第 8 天)	
第 1 天	第 3 天	抗原	PFC/ $10^6$ 脾细胞
—	HRBC	HRBC	205
SRBC	HRBC	HRBC	13
—	SRBC	SRBC	626
HRBC	SRBC	SRBC	76

抗原肽结构改变抑制相应 T 细胞克隆的增殖,是另一种形式的抗原竞争。研究表明某一特定肽段中的氨基酸稍加改变,就能使针对该肽段的 T 细胞成为无能细胞。这是因为改变了的肽段对原特异性 TCR 的亲和力下降,无法启动 TCR 介导的信号转导,因此即使获得了第二信号的 T 细胞也不能被激活(图 11-1)。这一原理可用来预防和治疗自身免疫病,对那些已明确能引起疾病的自身抗原,在结构上稍加改变,引入体内,通过数量优势,竞争结合自身反应性 T 细胞,就可以使自身反应性 T 细胞克隆成为无能 T 细胞,从而达到预防和治疗自身免疫病的目的。髓鞘碱性蛋白(MBP)是引起多发性硬化症(MS)的靶抗原,根据 MBP 抗原肽合成的、结构上稍作改变的肽已作为一种药物用于治疗 MS。

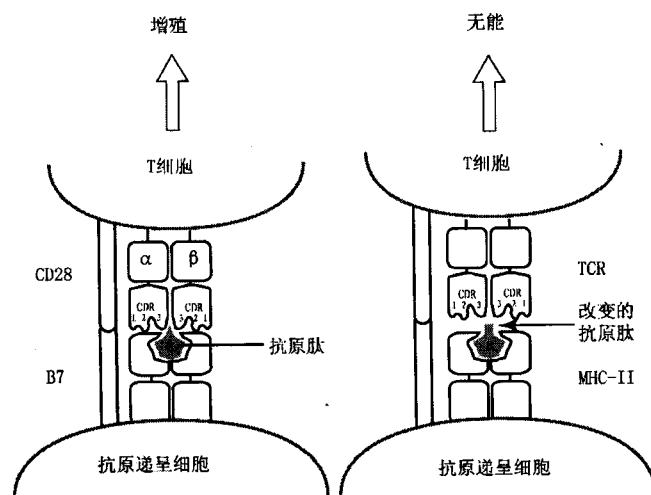


图 11-1 抗原结构改变诱导的免疫抑制

有些微生物能通过突变产生抗原突变体,因此它们能以同样的机制逃脱免疫系统的攻击,这在感染免疫的研究中也是值得注意的一种情况。

## 二 抗体对免疫应答的调节

### (一) 抗体的反馈调节

如果在用抗原免疫动物前或免疫初给动物输入针对该抗原的抗体,则动物针对该抗原产生的抗体量大大下降,这一现象称为抗体的反馈调节。反馈调节的机制可能有以下几种。

1. 中和抗原:抗体中和清除了相应的抗原,从而减少了抗原对免疫系统的刺激。

2. BCR 与 Fc 受体交联:抗体形成的抗原抗体复合物可以通过其抗原部分与 B 细胞上的抗原受体结合,同时通过抗体部分与 B 细胞上的 Fc 受体结合,造成 B 细胞表面 BCR 和 Fc 受体的交联(图 11-2)。抗体与 Fc 受体(Fc $\gamma$ RII-B)结合后,能激活胞内的一种磷酸酶,使与 BCR 关联的胞内分子脱磷酸化,由此阻止信号转导(详后),从而抑制 B 细胞增殖。

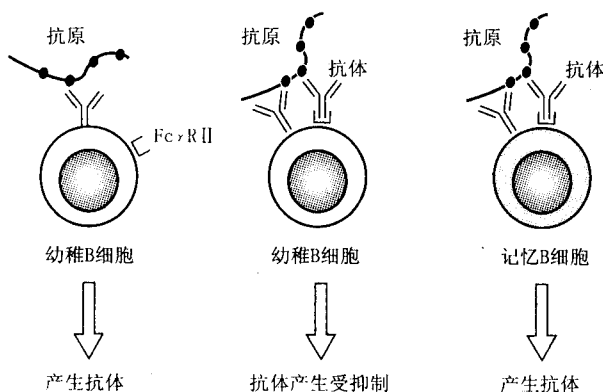


图 11-2 抗体的反馈调节

应该指出的是免疫复合物中的抗原必须为多决定簇或成凝集状态,否则无法使 BCR 与 Fc 受体交联。由于蛋白质抗原往往拥有众多不同的抗原决定簇,因此免疫复合物中的抗原决定簇可与众多特异性不同的 BCR 结合,结果抗体的反馈调节不仅抑制了产生该抗体的 B 细胞,而且抑制了具有其他特异性的 B 细胞,即免疫复合物中其他抗原决定簇针对的 B 细胞。这一现象在病毒感染中经常看到。抗体接触第一种病毒时,会对所有的抗原决定簇产生抗体,但以后再接触另一种病毒时,只要这种病毒带有与第一种病毒相同的抗原决定簇,那么这种病毒即使带有其他免疫原性很强的抗原决定簇也不能刺激相应的 B 细胞克隆增殖,而只能产生与第一种病毒相同的决定簇针对的抗体。只有当抗体再次接触的病毒与第一种病毒完全没有相同的决定簇时,机体才会对这种病毒上新的决定簇产生抗体(图 11-3)。这种现象被称作“抗原的原罪”(original antigenic sin)。这一机制可能是一种经济高效的调节手段,对机体有利,因为机体只需用第一种病毒刺激出的记忆 B 细胞,就能快速有效地清除各种不同的病毒,而且在一定程度上可以避免过多激活 B 细胞,因交叉反应而引起自身免疫病。

### (二) 抗体反馈调节的意义和应用

抗体的反馈调节在机体对免疫应答的自我限制中起重要作用,它避免了因免疫应答过

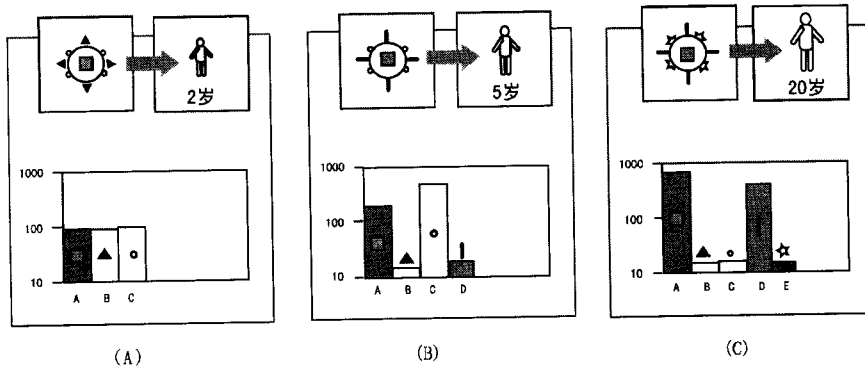


图 11-3 抗原的“原罪”现象

(A) 一个个体在 2 岁时感染某种流感病毒,他对病毒上所有的抗原决定簇都产生抗体;(B) 该个体在 5 岁时感染一种变异的流感病毒,他仅对该病毒上与第一次感染的病毒相同的决定簇产生抗体;(C) 该个体在 20 岁时感染一种新的变异流感病毒,他仅对该病毒上与 5 岁时感染的病毒相同的决定簇产生抗体

度而造成的机体损伤。抗体反馈调节的原理已被用来治疗一些临床疾病,如新生儿 Rh 溶血症。在 Rh<sup>-</sup> 母亲产下第一个 Rh<sup>+</sup> 婴儿后立即注射大剂量抗 Rh 抗体可以抑制胎儿 Rh 抗原对母体的刺激,避免母体产生抗 Rh 抗体,从而使下一个胎儿不发生 Rh 溶血症,但输入抗体不能阻止记忆 B 细胞的反应,因此,已产生 Rh 抗体的母亲难以用这种方法预防。临床上还采用静脉输注大剂量混合(不同个体)的免疫球蛋白(IVIg)治疗血小板减少性紫癜等自身免疫病。临床结果表明,输入大量免疫球蛋白后,自身抗体的产生受到抑制。抗体反馈调节的原理对预防接种也有指导作用。由于母体的 IgG 抗体能通过胎盘到达胎儿,因此婴儿出生后 6 个月内体内有高水平的来自母体的 IgG,这些抗体会通过反馈调节,抑制胎儿免疫应答,这时如接种麻疹或腮腺炎疫苗,婴儿产生的相应抗体很少,记忆细胞量也很少,难以维持长久的免疫力。因此这类疫苗必须在一岁后接种。

抗体反馈调节机制缺陷或受阻,可能诱发自身免疫病。有研究者发现,类风湿患者中存在抗 Fc 抗体,该抗体封闭了 IgG 分子的 Fc 段,使免疫复合物中的抗体不能与 B 细胞膜 Fc 受体结合,导致 BCR 与 Fc 受体不能交联,抑制信号不能转导,反馈调节机制失效,从而产生大量自身抗体。

## 第二节 免疫细胞对免疫应答的调节

### 一 APC 的调节作用

抗原递呈细胞(APC)是启动特异性免疫应答的关键,而 APC 表面 MHC 分子和协同刺激分子的表达是 APC 递呈抗原的关键。现已知道未激活的巨噬细胞和未受刺激的 B 细胞都不表达协同刺激分子,它们不能激活 T 细胞,相反可能引起 T 细胞的耐受。树突细胞(DC)、激活的巨噬细胞和 B 细胞都表达协同刺激分子以及高水平的 MHC 分子,因此它们可以有效地递呈抗原。

实验证明,蛋白质抗原要诱发足够强的免疫应答往往需要加入佐剂,其机制可能是佐剂能引起局部炎症反应,这种炎症反应可使 APC 释放一些细胞因子(如 IL-12),进一步促使 APC 表达协同刺激分子。此外,佐剂一般都能诱导出强的细胞免疫应答,T 细胞激活后释放

的 IFN- $\gamma$  可以促进巨噬细胞表达 MHC II 类分子和协同刺激分子,增强它们递呈抗原的能力。因此疫苗中加入佐剂,并作皮内或皮下注射可以获得较强的免疫效果。

APC 的这些特性表明佐剂诱导的局部炎症反应往往是免疫系统产生特异性免疫应答的重要条件,且佐剂成分的不同引起的免疫应答的类型和强度也不同,因而不能引起局部炎症的微生物往往会逃脱免疫系统的攻击。

## 二 Th1 和 Th2 的调节

通常免疫系统通过体液免疫清除胞外菌,而清除胞内菌、病毒及肿瘤等则需要细胞免疫应答的参与。不适当的免疫应答不能达到清除致病微生物的目的。现已知道调节体液免疫和细胞免疫的关键成分是 CD4 T 辅助细胞, Th1 介导细胞免疫,而 Th2 辅助 B 细胞产生抗体。一种抗原进入机体,最终激发 Th1 还是 Th2 受到很多因素制约,了解其中的调节机理,可以帮助我们了解某些疾病的病因,并采取措施干预免疫应答类型,达到防病治病的目的。

### (一) Th1 和 Th2 细胞因子的拮抗作用

目前区别 Th1 和 Th2 的方法主要是检测它们释放的细胞因子, Th1 主要分泌 IL-2、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$ ,而 Th2 主要分泌 IL-4 和 IL-10。IFN- $\gamma$  对 Th2 有抑制作用,而 IL-4 和 IL-10 能抑制 Th1。因此, Th1 和 Th2 两者中一方占了优势,另一方势必受到抑制,从而使免疫应答表现为以细胞免疫为主或以体液免疫为主的状态。在这个意义上, Th1 和 Th2 可以互为抑制细胞。

### (二) B 细胞在 Th2 分化中的作用

现已知道, B 细胞的抗原受体 (BCR) 或 CD40 分子受激发后,会表达 OX40 配体 (OX40L),由于 OX40 分子表达在激活的 T 细胞上,因此 OX40L 和 OX40 的配接是 T 细胞辅助 B 细胞的关键之一。体内实验表明, OX40L 可以诱导激活的 T 细胞表达 IL-4 并抑制 CD4 T 细胞表达 IFN- $\gamma$ ,因此 OX40L 被认为是 CD4 T 细胞向 Th2 转换的开关。

OX40L 还能诱导 Th2 表达 Brl-1 分子, Brl-1 是一种趋化因子受体,它的配体表达在淋巴滤泡内,因此表达 Brl-1 的 Th2 能被吸引至淋巴滤泡,在那里辅助 B 细胞进一步分化为浆细胞。

### (三) DC 在 Th1 和 Th2 分化中的作用

通常,进入机体组织的微生物首先被 DC 摄取,微生物的刺激使 DC 上调 IL-12 的表达,摄取了抗原的 DC 迁移到相关淋巴组织的 T 细胞区,成为表达 IL-12 的 DC, DC 释放的 IL-12 能诱导 CD4 T 细胞分化成 Th1 (图 11-4A)。由于 IL-12 缺失的小鼠和人都不能有效地产生 IFN- $\gamma$  并清除胞内菌感染,因此 IL-12 被认为是 CD4 T 细胞向 Th1 转换的关键。

研究发现, DC 激活后也能表达 OX40L,因此也能像 B 细胞一样作用于 CD4 T 细胞,使其表达 IL-4,转化为 Th2,并抑制 IFN- $\gamma$  的表达,因此 B 细胞缺失的小鼠同样能产生表达 IL-4 的 Th2 (图 11-4B)。

鉴于 DC 的双重作用,现认为 DC 可能分成两类,一类表达 IL-12,诱导 Th1 细胞,另一类表达 OX40L,诱导 Th2 细胞。实验发现, LPS 诱导 DC 表达 IL-12,而通过 CD40 激活的 DC 表达 OX40L。但这两类 DC 是抗原诱导的结果,还是本身存在两种类型的 DC 尚不清楚。有可能分别从髓样前体和淋巴样前体分化来的 DC,作为两个亚群分别参与 Th1 和 Th2 的分化 (参见第二章),这些都是近年来免疫学研究的热点。

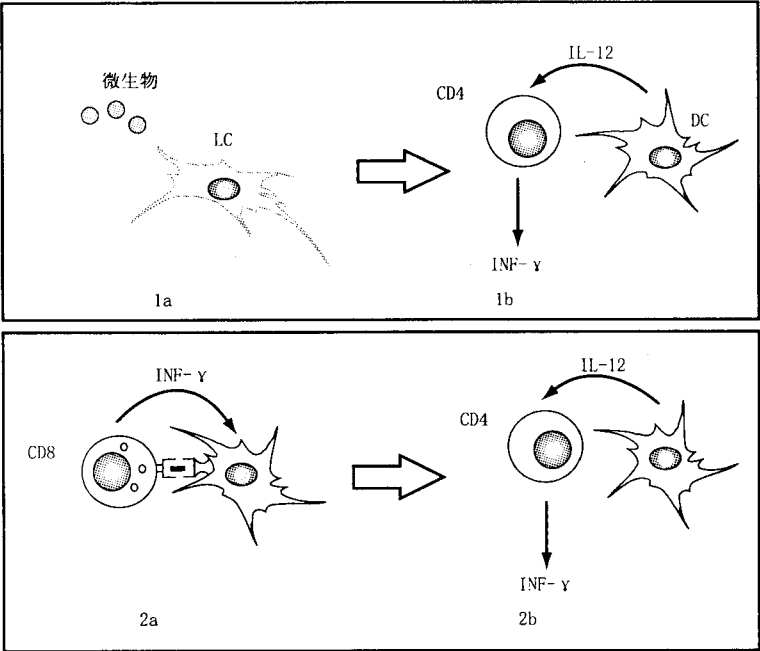


图 11-4(A) 诱导 Th1 细胞的两条途径

- 1a. 组织中的郎罕细胞受微生物刺激后,上调 IL-12 的表达;
- 1b. 郎罕细胞迁移至淋巴结的 T 细胞区,分化成表达 IL-12 的 DC,IL-12 诱导 CD4<sup>+</sup>T 细胞分化为 Th1;
- 2a. 未致敏的 CD8<sup>+</sup>T 细胞识别 MHC I 类分子递呈的抗原肽,通过释放 IFN-γ,促使 DC 分泌 IL-12;
- 2b. CD4<sup>+</sup>T 细胞在 IL-12 刺激下分化为 Th1,并成为 CD8<sup>+</sup>T 细胞的辅助细胞

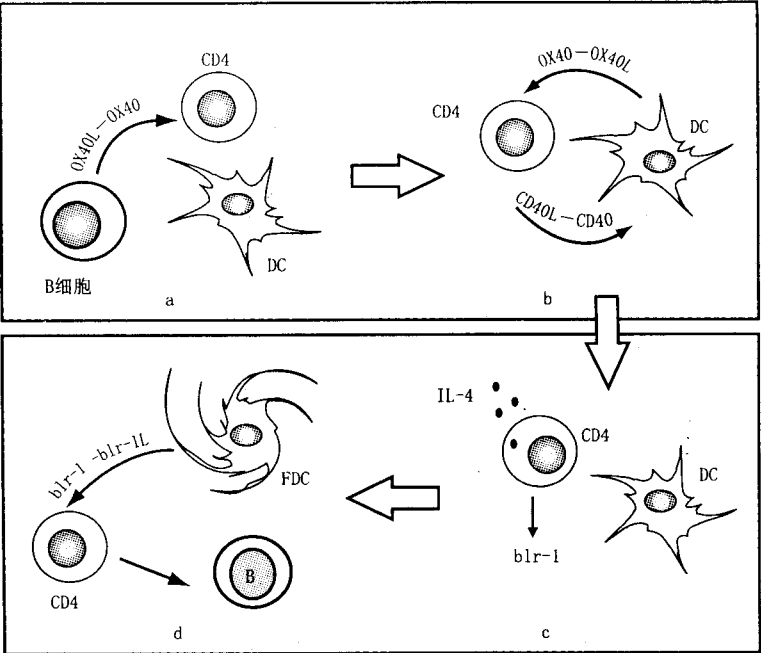


图 11-4(B) Th2 细胞的诱导

- a. B 细胞被抗原激活后迁移至 T 细胞区,通过其 OX40L 作用于 CD4<sup>+</sup>T 细胞;
- b. DC 在接受 CD40 信号后,不需要其他信号,即能上调 OX40L 的表达;
- c. CD4<sup>+</sup>T 细胞上调 IL-4 的表达,并表达 blr-1;
- d. 淋巴滤泡 DC 表达 blr-1 配体,吸引表达 blr-1 的 CD4<sup>+</sup>T 细胞进入 B 细胞滤泡

#### (四) T 细胞在 Th1、Th2 分化中的作用

T 细胞接受抗原刺激后,经 CD28 和 B7 分子结合,传入协同刺激信号,CD4 T 细胞开始增殖,并开始上调 CTLA-4 分子的表达。尽管 CTLA-4 对 T 细胞的增殖是一种负信号,但它可能与某些细胞因子的表达有关,因为在 CD28 缺失的小鼠中 CD4 T 细胞不能上调 CTLA-4 (CTLA4 的上调依赖 CD28),结果 CD4 T 细胞难以分化为 Th2。表明 CTLA-4 的表达与 Th2 的分化有关,事实上在淋巴组织生发中心的 T 细胞都有 CTLA-4 的表达。

IL-12 能诱导 CD4 T 细胞转化为 Th1,因此 CD4 T 细胞是否能表达 IL-12R 是决定 Th 能否分化为 Th1 的关键。IL-12R 有两个亚单位  $\beta 1$  和  $\beta 2$ ,IL-12R  $\beta 1$  在 Th1 和 Th2 上都有表达,但 IL-12R  $\beta 2$  仅表达在 Th1 细胞上。研究表明, $\beta 2$  亚单位表达的及其启动的信号转导在 Th1 和 Th2 的分化上起重要作用(详见第八章),而且,IL-12R  $\beta 2$  亚单位有可能成为除细胞因子以外能鉴定 Th1 的细胞表面标志。

尽管 DC 能直接表达 IL-12,因而能诱导 CD4 T 细胞分化成 Th1,但 DC 似乎不可能对所有的胞内病原体都有相应受体,因此一些研究者认为,CD8 T 细胞在 Th1 的分化中也起着十分重要的作用。他们认为 CD8 T 细胞激活后,分泌的 IFN- $\gamma$  可以使已接受 CD40 信号(来自 CD4 T 的 CD40L)的 DC 上调 IL-12 的表达,进而使 CD4 T 细胞分化为 Th1(图 11-4A)。

#### (五) MHC 分子对 Th1 和 Th2 的调节

1. MHC 特异性和抗原肽亲和力:现在已有很多例子证明,MHC-抗原肽-TCR 三者的结合,不仅诱导免疫应答,而且控制免疫应答的类型。实验表明,对一个特定的 MHC II 类分子,与亲和力高的肽结合可诱导出 Th1,而与亲和力低的肽结合则诱导出 Th2(表 11-2)。这可能能够解释为什么在糖尿病、疟疾和麻风病人中,MHC 分子特异性不同的个体对同一种抗原,会产生不同的免疫应答类型,有的以 Th1 为主,有的以 Th2 为主,因为结构不同的 MHC 分子与同一抗原的亲和力是不同的。

表 11-2 抗原肽与 MHC II 类分子的亲和力对 Th1、Th2 亚型分化的影响

小鼠 MHC 基因型	肽 段	与 II 类分子亲和力	Th 亚群
A.SW(H-2 <sup>S</sup> )	WT: EAIQPGCIGGPK	高	Th1
	APL: EAIQPGCIGGP	低	Th2
B10.PL(H-2 <sup>U</sup> )	WT: Ac-ASQMRPSQR	高	Th1
	APL: Ac-ASQRRPSQR	低	Th2
A.SW(H-2 <sup>S</sup> )	WT: EAIQPGCIGGPK	高	Th1
	APL: EAIQPGCIGGAK	低	Th2

2. 抗原肽密度的影响:研究表明,免疫应答的类型也取决于抗原递呈细胞表面与 MHC 分子结合的抗原肽的密度。一般情况下高密度的肽诱导出 Th1,而低密度的肽则诱导出 Th2 样反应。例如,用同样剂量的人 IV 型胶原(collagen hCL-IV)免疫 H-2<sup>S</sup> 和 H-2<sup>b</sup> 两种小鼠,结果发现 H-2<sup>S</sup> 小鼠对抗原产生的是 Th1 样反应,而 H-2<sup>b</sup> 小鼠产生的是 Th2 样反应。检测表明在 H-2<sup>S</sup> 小鼠中,表面表达抗原肽的细胞占单个核细胞的 30%,而在 H-2<sup>b</sup> 小鼠中表达抗原肽的细胞仅占 3%。双色荧光分析表明,这些表达抗原肽的细胞都为表达 B7-2 分子的 B 细胞,因此是一些激活的 B 细胞。实验表明,通过降低抗原的剂量,可以使 H-2<sup>S</sup> 小鼠表达抗原肽的密度下降,此时,该抗原在 H-2<sup>S</sup> 小鼠中诱导出的不是 Th1 而是 Th2。这进一步证明,抗原密度对免疫应答类型的影响。但是在 H-2<sup>b</sup> 小鼠中即使增加抗原肽表达的密度,也不能使其改变免疫应答的类型。

型,因此在 H-2<sup>b</sup> 小鼠中不管高密度还是低密度的抗原都只能诱导出 Th2 样反应。这一现象可用 TCR 的亲合力来解释。研究表明,分别分离 H-2<sup>S</sup> 和 H-2<sup>b</sup> 小鼠的针对该抗原肽的 Th 克隆,发现对于同样浓度的抗原肽, H-2<sup>S</sup> 的 T 克隆反应可达最大值,而 H-2<sup>b</sup> 的 T 克隆反应非常低,这表明, H-2<sup>b</sup> 的 TCR 对这一抗原肽与 MHC 分子的复合物亲和力很低。这种低亲和力可能是由 H-2<sup>b</sup> 这一特定 MHC 决定的,因为 T 细胞的成熟依赖于自身 MHC 分子。

在实验中,抗原肽的密度可以通过人为调节抗原剂量来控制。而在实际生理条件下,抗原进入机体后,抗原递呈细胞表面抗原肽的密度可能主要与抗原肽的亲合力有关,亲和力高的,表达密度高;亲和力低的,表达密度低,因此抗原肽的亲合力和密度对免疫应答类型的影响是一致的。

#### (六) Th1 和 Th2 的调节与疾病

性质不同的外来抗原往往需要不同的免疫应答类型加以清除,因此如果机体对外来抗原作出不适当的免疫应答,会妨碍机体对抗原的清除,最终导致疾病。有一些疾病的发生和发展往往与 Th1、Th2 的失调有关,如瘤型麻风病。因为麻风杆菌是胞内菌,能诱导 Th1 的患者往往病情容易控制,预后较好,但有些患者却出现 Th2 型的反应,这些患者则病情容易恶化,预后也差。这种个体差异可能是由 MHC 的多态性导致的。

胎儿对于母体是半同种异体移植物,母体对胎儿的非己抗原会产生免疫应答。现已知道,若这一免疫应答是 Th2 为主的,则母体会产生封闭抗体,保护胎儿不被排斥;如果母体产生的是 Th1 为主的免疫应答,则胎儿容易被排斥,造成流产。目前临床上广泛应用的主动免疫疗法,其机制之一可能是使母体对胎儿的反应由 Th1 转变为 Th2。研究表明,细胞毒抗体阴性的患者,用其丈夫淋巴细胞作主动免疫治疗后,可以转变为抗体阳性。

疫苗的制备也往往需要考虑 Th1 和 Th2 的调节。有一些疾病如艾滋病、肝炎等,需要诱导出 Th1 的反应,如果制备的疫苗仅诱导出 Th2 反应,则疫苗不能起保护和预防作用。目前 DNA 疫苗的研制就面临着这样的难题, DNA 疫苗往往容易诱导出 Th2,而难以诱导出 Th1。因此如何通过使用佐剂等办法保证疫苗诱导出 Th1 是目前疫苗研制的热点之一。

### 第三节 免疫细胞抑制性受体的反馈调节

#### 一 免疫细胞的活化信号和抑制信号

##### (一) 信号转导中的蛋白激酶和蛋白磷酸酶

免疫细胞受体参与的调节通过信号转导实现,其中涉及蛋白质磷酸化和脱磷酸化,分别由蛋白激酶(protein kinase)和蛋白磷酸酶(phosphatase)所促成。蛋白质中能够发生磷酸化的氨基酸残基主要有两类:酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸。作用于这些残基的激酶和磷酸酶有不同的功能和名称,例如引起酪氨酸残基发生磷酸化和脱磷酸化的两种酶,分别称为蛋白酪氨酸激酶(PTK)和蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)。一般说来,免疫细胞激活性信号的传递,依赖于各种激酶或信号分子的磷酸化,而抑制作用的产生,则与已发生磷酸化的激酶或信号分子脱磷酸化作用有关。因而 PTK 和 PTP 在免疫细胞激活信号的正负调节中发挥重要作用。

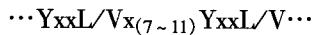
需要指出的是,大量的 PTK 和 PTP 是游离于胞浆中的,经由受体分子传递的信号要借助 PTK 和 PTP 在各种底物上发挥作用,必须先被招募到胞膜内侧并靠近受体跨膜分子的胞内段。这一过程的完成借助两种结构,一种在受体分子胞内段上,是一类序列特定的氨基酸

基序(motif),另一类在被招募的酶或信号分子上,称为 SH2 结构域。这就是说,游离于胞质中的 PTK 和 PTP 可借助各自分子上的 SH2 结构域和受体分子上的特定基序的结合而聚积在胞膜内侧,行使功能。

由于 PTK 和 PTP 的作用相反,招募它们的基序是不相同的,分别称为 ITAM 和 ITIM,它们分别存在于免疫细胞激活性受体和抑制性受体分子的胞内段。

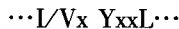
## (二) 免疫细胞表达两类功能相反的受体

### 1. 激活性受体:其相关分子胞内段带有 ITAM,即免疫受体酪氨酸激活基序:



基序中的关键结构是两个  $Y_{xx}L/V$ 。其中 Y 为酪氨酸, L/V 为亮氨酸或缬氨酸, x 代表任意氨基酸。 $Y_{xx}L/V$  中的酪氨酸在 PTK 的作用下发生磷酸化后,可被带有 SH2 结构域的其他 PTK(例如 ZAP-70)和信号分子所识别,启动激活信号转导。

### 2. 抑制性受体:其相关分子胞内段所带有的 ITIM 为免疫受体酪氨酸抑制基序:



ITIM 中供 SH2 识别的  $Y_{xx}L$  虽然可以和 ITAM 中的  $Y_{xx}L/V$  相同,但其酪氨酸残基一侧相隔一个任意氨基酸之后必需是异亮氨酸(I)或缬氨酸(V)等疏水性氨基酸。由此造成带有 SH2 结构域的 PTP(而不是 PTK)对 ITIM 中发生磷酸化的 Y 进行识别,结果,PTP 被招募并进一步活化,由 PTK 参与的激活信号转导通路即被截断。

## (三) 抑制性受体通过 PTP 阻断激活信号的胞内传递

图 11-5 表明,抑制性受体要发挥负向调节作用需要和激活性受体同时被交联,这是因

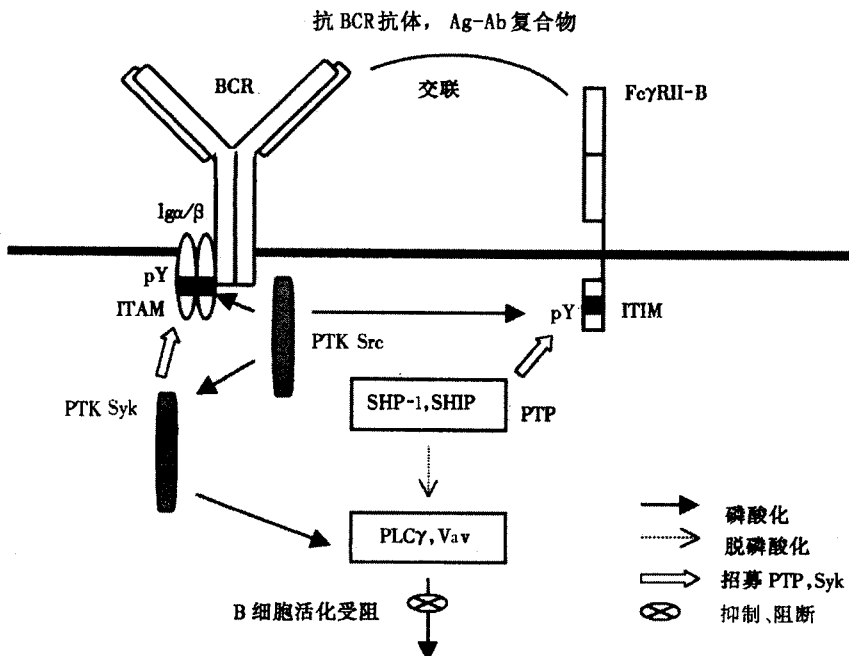


图 11-5 ITIM 抑制 B 细胞激活信号的转导

抑制性受体  $Fc\gamma RII-B$  分子胞内段 ITIM 上磷酸化的酪氨酸(pY)招募和激活带有 SH2 结构域的信号分子酪氨酸磷酸酶 SHP-1/SHIP 抑制 B 细胞活化信号的转导



为,能够启动 PTP 的 ITIM 必需先要发生磷酸化,使其中的酪氨酸从 Y 成为  $Y_p$  (p 指磷酸根),这有赖于激活性受体相关联的 PTK(称为 Src)活化后,为 Y 提供磷酸根;而且,激活信号通路中的酪氨酸没有发生磷酸化,PTP 即丧失靶目标,无从发挥脱磷酸化的功能。图 11-5 以 B 细胞的 Fc 受体行使的抑制作用为例加以说明,这正是本章第一节所提到的反馈抑制。该处 ITIM 中的酪氨酸残基 Y 先从已激活的 PTK Src 得到磷酸根成为  $Y_p$ ,然后激活带有 SH2 结构域的 PTP 家族中两个成员 SHP-1 和 SHIP,一方面通过三磷酸肌醇( $IP_3$ )的脱磷酸化而关闭钙通道,另一方面直接使得因磷酸化而被激活的多种信号蛋白(如磷脂酶 C、Vav)失活,终止由 BCR 启动的活化信号传递。关于免疫细胞激活信号途径及其中的各种分子,可参见第八章和第九章。

## 二 各种免疫细胞的抑制性受体及其对免疫应答的反馈调节

### (一) T 细胞:CTLA-4

CTLA-4 是一种糖蛋白,属于免疫球蛋白超家族,它与 CD28 同源,而且和 CD28 有共同的配体 CD80/CD86,但 CTLA-4 与 CD80/CD86 的亲和力远远超过 CD28。CD28 为 T 细胞的激活提供协同刺激信号,而 CTLA-4 的作用则相反,它们对 T 细胞的激活起负向调节作用,因为其分子胞内段带有 ITIM。研究表明无论体内还是体外,加入抗 CTLA-4 的抗体,都会增强 T 细胞的反应。CTLA-4 缺陷的小鼠可发生淋巴细胞增生性疾病,导致脾脏和淋巴结肿大,一般于 3~4 周死去。在这些小鼠中,大部分外周 T 细胞都处于激活状态,而且自发地产生细胞因子。这些现象都说明 CTLA-4 在外周 T 细胞的免疫应答中起重要的负向调节作用。

在静止的 T 细胞上很难检测到 CTLA-4 的表达,因此曾认为 CTLA-4 的负向调节发生在 T 细胞激活的后期。但近来的研究表明,这种调节可以发生在 T 细胞激活的早期(12 小时内)。CTLA-4 可以抑制很多早期发生的事件,如早期激活抗原 CD69 的诱导、IL-2 的产生以及激活诱导的细胞周期的启动。因此,当 T 细胞通过 TCR 和 CD28 接受的刺激不十分恰当时,CTLA-4 便可能成为早期 T 细胞激活的抑制因子,诱导外周性耐受。

### (二) B 细胞:FcγRII-B

B 细胞以其抗原受体 BCR 接受第一信号,以表面分化抗原 CD40 和 IL-4 受体接受第二信号,随后,B 细胞开始激活并分化成浆细胞,产生特异性抗体。前面提到,大量抗体的出现,除了清除抗原外,还产生抗原抗体复合物以及抗抗体。它们可以起交联作用,一侧和 BCR 结合,另一侧和 B 细胞表面的 Fc 受体结合。能结合 IgG Fc 段的受体叫 FcγRII-B,该受体 γ 链的胞内段带有 ITIM,传递抑制信号(图 11-5),结果 B 细胞的分化受遏制,特异性体液免疫强度迅速下降。

### (三) 杀伤细胞(NK,CTL):KIR 和 CD94/NKG2

天然杀伤细胞(NK)和某些细胞毒性 T 细胞(CTL)的抑制性受体分成两种类型。I 型称杀伤细胞抑制性受体(KIR),属免疫球蛋白超家族,受体分子的胞外段带有 2~3 个 Ig 样结构域,它们的配体是一些特定的 HLA I 类抗原分子和非经典的 HLA-G;II 型属 C 型凝集素受体,人体中称 CD94/NKG2A,专门识别由 I 类分子 HLA-E 递交的肽段。这一肽段来自 HLA I 类分子(包括经典的 I 类分子和非经典 I 类分子 HLA-G)前导序列中一个结构保守的九肽

(参见第二章)。抑制性受体一旦被激活,由杀伤性(激活性)受体转导的信号失效,NK 细胞遂难以行使细胞毒性作用。

生理条件下,胎盘滋养层细胞高表达 HLA-G/HLA-E,从而使抑制性受体激活,有利于保护胎儿在分娩前不因杀伤细胞的作用而被母体排斥。在病理性条件下,抑制性受体的过度激活,可能造成受病毒感染的细胞和恶变的细胞不被杀伤,从而逃脱免疫监视。同样,如果用抗体封阻 CTL 的 KIR 受体,可以增强 CTL 的杀伤功能。例如一个能识别黑色素瘤抗原的 CTL,当 CTL 上的 KIR 与黑色素瘤细胞上的 MHC 等位基因相匹配时,CTL 不能杀伤黑色素瘤细胞,而当 CTL 上的 KIR 与黑色素瘤细胞上的 MHC 等位基因不匹配时,CTL 就能杀伤黑色素瘤细胞,表明 KIR 对 CTL 的杀伤功能确实有抑制作用。

#### (四) 肥大细胞:FcγRII-B

肥大细胞的抑制性受体为 FcγRII-B,和 B 细胞抑制性受体为同一分子。该受体通过和肥大细胞激活性受体 IgεRI 交联,发挥负向调节作用。IgεRI 指 IgE 分子的 I 型 Fc 受体。

表11-3总结了各种免疫细胞的激活性受体和抑制性受体以及相应 ITIM 的结构。另外,表中还列出了另一种 NK 细胞激活性受体,即 DAP12 分别和 KIR 及 CD94/NKG2 相结合的形式,以及肥大细胞的第二种抑制性受体 gp49B1,有关内容可参见第二章,此处不予深入。

表 11-3 免疫细胞的激活性受体和抑制性受体

免疫细胞	激活性受体	抑制性受体@
B 细胞	BCR	FcγRIIB
T 细胞	TCR	CTLA-4, KIR*
NK 细胞	CD16, DAP12 #	KIR, CD94/NKG2
肥大细胞	FcεRI	FcγRIIB, gp49B1

\* 表达于 CD8<sup>+</sup> CTL 等。

# DAP12 分别和 KIR 及 CD94/NKG2 结合后构成 NK 细胞的激活性受体。

@ 对不同的细胞及受体类型 ITIM 结构可有差异:

FcγRIIB: L/VxYxxL; CTLA-4: GxYxxM; KIR: YxxL(x)<sub>26</sub>YxxL; CD94/NKG2A: YxxL(x)<sub>28</sub>YxxL

## 第四节 独特型网络及其调节

### 一 独特型的概念

机体对抗原进行特异应答的基础是 T、B 细胞表面具有高度特异性的抗原受体。一个淋巴细胞克隆与另一个淋巴细胞克隆的差别主要存在于抗原受体的可变区,因此一个特定的克隆,其抗原受体上肯定存在一些结构或决定簇与该个体其他淋巴细胞克隆的抗原受体都不同,这些结构或决定簇称为独特位(idiotope)。一个抗原受体分子上的独特位集合在一起,称为该抗原受体的独特型(idiotypic)。针对独特型的抗体称为抗独特型抗体(anti-idiotypic antibody, AId),针对独特型的特异性免疫应答称为抗独特型(anti-idiotypic)应答。

在结构上,独特型主要存在于抗原受体的可变区,即抗原结合部位,但也有一些分布在抗体分子的支架部分。因此,抗独特型有两种,一种为针对支架部分的独特型称 α 型,另一种是针对抗原结合部位的独特型称 β 型(图 11-6)。

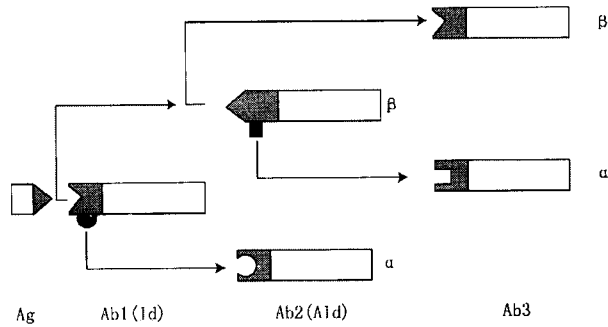


图 11-6 独特网络示意图和抗原内影像—Ab2 $\beta$

## 二 独特型网络和抗原内影像

### (一) 独特型网络

根据独特型和抗独特型的原理, Jerne 于 1974 年提出了独特型网络学说。该学说认为体内的淋巴细胞(T 细胞或 B 细胞)通过独特型和抗独特型相互识别, 形成潜在的网络。当一个抗原进入机体后, 针对抗原的淋巴细胞克隆增殖, 网络的平衡被打破, 由此产生的特异性抗体或淋巴细胞克隆通过其抗原受体上的独特型, 刺激体内具有相应受体的淋巴细胞(针对独特型)增殖。由此产生的抗独特型抗体或抗独特型细胞克隆, 可作为一种反馈力量, 调节抗原特异性淋巴细胞的应答。有的抑制其增殖, 有的则放大其效应。因此独特型网络在免疫应答中起着非常重要的调节作用。目前这一网络学说已被大量实验证实, 其原理已被用于免疫干预。

### (二) 抗原内影像及其应用

抗独特型抗体 Ab2 $\beta$ (图 11-5)是针对 Ab1 抗原结合部位的, 因此它的结构与 Ab1 针对的抗原决定簇相似, 故能与抗原竞争结合 Ab1。这种  $\beta$  型的抗独特型抗体被称为体内的抗原内影像, 它可以模拟抗原激发相应的淋巴细胞增殖。研究表明, 这种模拟并不需要结构上完全一致, 而只需要部分结构能模拟出类似的抗原抗体相互作用, 如氢键和 Van der Waals 力的相互作用。因此抗独特型抗体甚至能模拟非蛋白抗原。

抗原内影像的这一特点提示可以用抗独特型抗体代替抗原制备 Ab1。例如用人源抗 HBV 的抗体免疫家兔制备的 Ab2 $\beta$  已作为 HBV 的疫苗用于黑猩猩。结果表明该 Ab2 $\beta$  能诱发黑猩猩产生特异抗体, 在 HBV 病毒攻击后, 不发生肝炎。有些有害细菌难以获得或纯化其抗原, 如对铜绿假单胞菌的感染, 迄今尚缺乏较好的疫苗, 而用模拟这种细菌脂多糖侧链的 A1d 抗体免疫中性粒细胞减少的小鼠, 可以使小鼠不发生致死性假单胞菌败血症。此外 A1d 抗体还能模拟寄生虫和真菌毒素抗原, 用于免疫预防。

用 A1d 抗体模拟肿瘤抗原是抗原内影像的另一个值得探索的方面。因为肿瘤相关抗原量少且难以分离, 而 A1d 抗体很容易大量获得。此外 A1d 抗体模拟的抗原与原先的肿瘤抗原不完全相同, 因此有利于打破对原有抗原的耐受。小鼠 A1d 抗体 MK-2-23 能模拟人黑色素瘤细胞的抗原, 将这种 A1d 抗体注射到黑色素瘤患者体内, 在 60% 的病人中诱发了针对肿瘤抗原的特异抗体, 其中有些病人得到部分缓解。在结、直肠肿瘤的研究中也有类似的报道, 用小鼠抗人结、直肠癌单抗(Ab1)制备的 A1d 抗体治疗结、直肠癌, 有些病人临床症状有

所缓解,有的甚至肿瘤消退。但是肿瘤抗原,特别是人体肿瘤特异性抗原的研究虽已在黑色素瘤中获得重要进展,但总体上仍处在初始阶段(参见第十六章),要采用独特型网络作有效的免疫干预,可能还需要进行大量的探索。

### (三) 利用网络原理诱导免疫抑制

根据独特型网络的原理,如果人为地向体内输入 Ab1,就可诱导出抗独特型抗体 Ab2, Ab2 作用于 Ab1 可以减弱或去除体内原有的 Ab1 对相应抗原的特异性应答,从而起到免疫抑制效果。如果把 Ab1 理解为自身反应性 T 细胞克隆,则根据网络原理,还可以把该克隆灭活后作体内输注(T 细胞疫苗),诱发出一组相当于 Ab2 的调节性 T 细胞克隆,由后者清除体内的自身反应性 T 细胞。这些策略已成功地用于防治自身免疫病。

## 第五节 细胞凋亡与免疫调节

### 一 激活诱导的细胞死亡和特异性免疫调节

由抗原或多克隆激活剂激活的 T 细胞,可以自行发生凋亡,称为激活诱导的细胞死亡(activation-induced cell death, AICD)或激活诱导的凋亡。这一现象主要由 Fas(CD95)和 Fas 的配体(FasL)这一对分子介导。

#### (一) Fas 分子启动的凋亡和 FasL 的表达

Fas 为 TNF 受体家族的成员, FasL 在结构上与 TNF 同源。T 细胞被激活后分泌大量的 IL-2, IL-2 促使激活的 T 细胞大量表达 Fas。人 FasL 常以三聚体的形式作为可溶性 FasL 进入细胞外环境,并保留和细胞表面 Fas 配接的能力。由于 T、B 细胞活化后都表达 Fas 受体,因此 T 细胞被激活大量发生克隆扩增并发挥效应后,可借助自身 FasL 和 Fas 的配接而发生凋亡(自杀),也可杀死其他的 T 细胞(自相残杀),还可以杀死激活的 B 细胞(他杀),结果使抗原诱导的细胞免疫和体液免疫都受到遏制(图 11-7)。因此激活诱发的细胞死亡是机体控制特异性免疫应答强度,避免免疫应答过强造成损伤的一种重要的反馈调节机制。

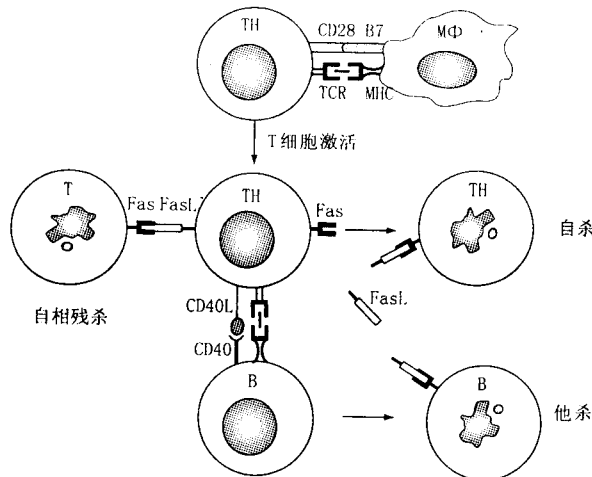


图 11-7 FasL-Fas 诱导的细胞凋亡和 AICD

#### (二) Fas、FasL 突变与自身免疫病

Fas 和 FasL 一旦发生突变丧失功能,可使受抗原刺激的 T、B 细胞增殖失控,造成机体损

伤。由于在正常条件下,体内只有识别自身抗原的淋巴细胞克隆有增殖的倾向,激活诱导的细胞死亡使得这些克隆不会转化成病理性的致病性 T 细胞。然而,Fas 和 FasL 突变解除了这一反馈作用,引起自身免疫病。例如 lpr 和 gld 小鼠分别由于 Fas 和 FasL 发生突变而出现 SLE 样的病变。在 SLE 病人中也已检测到 Fas 基因突变,且这种突变可以遗传。此外人类自身免疫性淋巴细胞增生综合征(ALPS),也和 Fas-FasL 不能正常行使功能有关。

近年来研究表明,炎症反应中巨噬细胞释放的 NO 和 IL-1 $\beta$  往往会使一些本来不表达 Fas 的组织 and 细胞大量表达 Fas,如胰岛  $\beta$  细胞、中枢神经系统的少突胶质细胞、甲状腺滤泡上皮细胞等,结果在 T 细胞和其他细胞产生 FasL 的作用下,这些组织细胞也可以大量凋亡,导致 I 型糖尿病、多发性硬化症和自身免疫性甲状腺炎等器官特异的自身免疫病。

## 二 细胞凋亡和免疫豁免

体内有一些特定的区域如角膜、睾丸可以不受免疫系统的影响,称为免疫豁免(immune privilege)。以往一直认为这些区域在解剖结构上与免疫系统隔离,因此不受免疫细胞的作用。现发现,角膜上皮细胞和睾丸 Sertoli 细胞能大量表达 FasL,因此在它们周围表达 Fas 分子的免疫细胞不能存活,从而使这些组织免受免疫应答的干扰。这是对免疫豁免现象的一种新的认识。根据这一原理,如果设法使移植物表达 FasL,有希望使移植物避免受到移植物受者免疫系统的排斥。

## 第六节 神经、内分泌系统对免疫应答的调节

免疫系统是机体主要的防御和自稳系统,但机体是一个有机的整体,免疫系统在行使功能时,必然受到其他系统的影响和调节,其中影响最大的是神经和内分泌系统。几百年的临床实践早已发现紧张和精神压力与疾病之间的联系,同时也了解到内分泌失调对疾病发生和发展的影响。随着内分泌,尤其是神经系统研究的迅速发展,近年来对神经、内分泌与免疫系统之间相互作用的物质基础有了较多了解,对三个系统相互联系的途径和机制的研究也日益引起人们的兴趣和重视。

### 一 神经、内分泌系统对免疫系统调控的物质基础

#### (一) 免疫系统的神经支配

现已知道,免疫器官都有神经支配,其来源主要为交感神经链和大血管的交感神经丛,也有副交感神经。神经纤维是经血管进入免疫器官的。胸腺、骨髓、脾脏和淋巴结都有神经支配。在动脉周围淋巴鞘中神经纤维与淋巴细胞和并指状细胞有着紧密的联系。新生期去除脾脏的神经支配,可以增强免疫应答,促进抗体生成。胸腺交感神经可抑制 T 细胞成熟过程中的增殖反应,并影响 T 细胞表面标志的表达,而副交感神经则起相反作用。

#### (二) 免疫细胞上的神经递质受体和激素受体

用各种测定受体的方法都证实免疫细胞表面和细胞内都存在神经递质和激素受体。神经递质受体包括肾上腺素能受体、多巴胺受体、胆碱能受体、5-羟色胺受体等。激素受体包括胰岛素、生长激素、雌激素、睾丸素、糖皮质激素、ACTH、内啡肽、脑啡肽等几乎所有激素的受体。神经系统和内分泌系统正是通过这些受体作用于免疫细胞,从而对免疫应答进行正

向调节或负向调节。研究表明这些受体有些是专职的,有些是“兼职”的,后者指有些受体是通过分子模拟从构象上与激素相互作用的,就像抗原内影像作用于 Ab1 一样,只要两种分子间具有一定数量的氢键或 Van der Waals 力的相互作用即可。现认为淋巴细胞上的激素受体可能大部分都是模拟受体。

## 二 神经、内分泌系统对免疫应答的调节

体外研究表明,儿茶酚胺、糖皮质激素、前列腺素对免疫应答都有抑制作用。而生长激素、甲状腺激素、胰岛素和雌激素能促进免疫应答。乙酰胆碱、肾上腺素、去甲肾上腺素、多巴胺、内啡肽以及 5-羟色胺等神经递质对免疫应答的影响,因免疫细胞的种类不同而作用各异(表 11-4)。

表 11-4 神经-内分泌因子及其免疫调节特性

神经-内分泌因子	效 应	受到影响的免疫反应
糖皮质激素(氢化可的松)	抑制	抗体产生、NK 细胞活化、细胞因子产生
儿茶酚胺(肾上腺素)	抑制	丝裂原刺激淋巴细胞的增殖反应
乙酰胆碱	增强	骨髓中淋巴细胞和巨噬细胞数目
$\beta$ -内啡肽	增强/抑制	抗体产生、巨噬细胞和 T 细胞活化
脑啡肽	增强/抑制	T 细胞活化(低剂量增强;高剂量抑制)
催乳素	增强	巨噬细胞活化、IL-12 产生
生长激素	增强	抗体产生、巨噬细胞活化、IL-12 调节
血管活性肠多肽	抑制/增强	细胞因子产生
褪黑激素	增强	混合淋巴细胞反应、抗体产生
促肾上腺皮质激素	增强/抑制	细胞因子产生、NK 细胞活化、抗体产生、巨噬细胞活化
生长激素释放抑制因子	抑制/增强	空斑形成数目、对丝裂原的反应性
性激素	抑制/增强	淋巴细胞转化、混合淋巴细胞反应

糖皮质激素是一种研究较多的免疫抑制剂,且已广泛用于临床自身免疫病的治疗。一般认为糖皮质激素主要抑制 Th1,因此实际上它起了放大 Th2 的作用。如在 EAE 动物模型中能够自然痊愈的动物,大多因为在这些个体中诱发的是以 Th2 为主的体液免疫,如果事先切除这类实验动物的肾上腺,这些 EAE 动物就不能自然痊愈,因为缺乏糖皮质激素,Th1 得不到抑制,Th2 的作用也就不能放大。再如一种用 MBP 加弗氏佐剂诱导的伴有进行性瘫痪的脱髓鞘病,是以细胞免疫为主的。在这样的动物模型中,如果事先给予糖皮质激素,就可以阻止抗原对疾病的诱导。这些例子都表明糖皮质激素主要对 Th1 有抑制作用,因此一些有遗传性糖皮质激素水平增高的个体,往往对胞内菌感染比较敏感,因为这些个体 Th1 受到抑制,而胞内菌主要由 Th1 清除。

糖皮质激素对细胞免疫抑制的机制不十分清楚,可能的机制之一是因为它能抑制 APC 表达 MHC II 类分子,抑制巨噬细胞表达 IL-1 和 TNF- $\alpha$ 。此外它能抑制 T 细胞表达 IL-2 及 IL-2 受体。

一般认为雌激素对免疫应答有促进作用,因此女性往往有较高的血清 Ig 和分泌型 IgA,她们对非胸腺依赖抗原能产生较高的抗体反应,对 T 细胞耐受有较高的抗性,因此女性对感染的抵抗力也更强一些。但正由于这些特点,女性,尤其是育龄期妇女也往往容易得自身免疫病,临床发现口服避孕药可诱发 SLE。

除了通过神经递质和激素直接作用于免疫系统外,神经和内分泌系统还能直接产生免

疫应答中常见的细胞因子,如 IL-1、IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IFN 等,作用于免疫系统,对免疫应答起调节作用。

### 三 免疫系统对神经、内分泌系统的调节

神经和内分泌系统不能直接感知抗原物质的刺激,但免疫系统能识别抗原,免疫系统通过免疫应答产生的各种生物活性分子,可以向神经、内分泌系统传递信息;神经、内分泌系统感受到这些信息后,会作出反应,并通过释放递质和分泌激素,反过来作用于免疫系统,引起各种免疫功能的改变。因此有人将淋巴细胞称为“巡逻的神经细胞”。

免疫系统作用于神经、内分泌系统的生物活性物质主要是细胞因子。这方面的研究吸引了很多研究者,近几年有大量文章报道这方面的研究结果,研究主要集中在 IL-1、IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IFN 的作用上。

研究表明,细胞因子可以影响神经递质和神经肽的释放,如 IL-2 能抑制 Ach 释放, TNF- $\alpha$  可以促进星形胶质细胞表达脑啡肽。此外细胞因子能影响神经生长因子的表达,并影响神经元的生长和分化。细胞因子对激素的分泌也产生各种影响,有的促进激素的合成和分泌,有的则起抑制作用。

细胞因子之所以能作用于神经、内分泌系统,是因为神经、内分泌组织上都有细胞因子

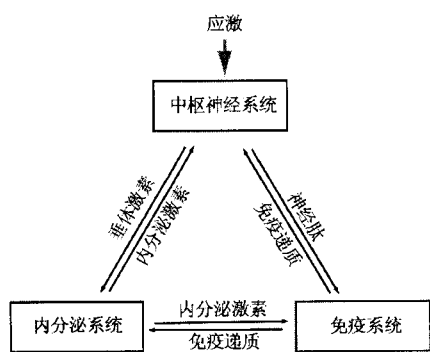


图 11-8 神经、内分泌和免疫系统的相互调节

受体,且分布广泛。如中枢神经系统的皮质、脉络膜丛、嗅球、海马、脑桥、小脑及下丘脑等区域都有 IL-1 受体的表达;同时胰岛细胞、睾丸的附睾细胞、卵巢的初级和次级卵细胞中都有 IL-1 受体的 mRNA 表达。

神经、内分泌系统和免疫系统的相互作用十分复杂,它们相互影响,互为因果,形成一个网络(图 11-8)。网络中任何一个环节的变化,都会引发连锁反应。体外研究一般无法模拟整体效应,因此目前这一领域的研究结果,很多还是非常初步的,而且由于采用方法不同,又受体外实验限制,很多实验结果

相互矛盾、结论不一。相信在今后几十年内这一领域的研究会有很大发展,对很多问题的认识也会逐步得到较为明确的结论。

### 本章提要

免疫调节是机体为了维护自身内环境的稳定,在进化过程中形成的制约免疫应答质和量的机制,它存在于免疫应答的不同阶段和不同水平。抗原的性质、剂量、引入方式以及和 MHC 分子的亲和力,都会影响免疫应答的性质。Th1 和 Th2 的调节在免疫应答中起重要作用,它们的分化受抗原递呈细胞、T、B 细胞的调节。

免疫细胞表达两类功能相反的受体,受体分子胞内段分别带有酪氨酸激活基序和抑制基序。T、B、NK、肥大细胞各自以相应的抑制性受体阻断激活信号的传递,调节免疫细胞的激活和功能。

激活诱导的细胞死亡主要由 Fas-FasL 介导,参与特异性免疫应答的反馈性抑制。

独特型网络在免疫应答中起着非常重要的调节和平衡作用,抗原内影像具有潜在应用价值。

神经、内分泌和免疫系统三者之间有着广泛的联系,其物质基础主要是某些神经递质、激素、细胞因子以及相应的受体。

(陆佩华)

### 参考文献

- [1] 余传霖,等.现代医学免疫学.上海:上海医科大学出版社,1998,371
- [2] 时玉舫,张莉英,王若翔.Fas和FasL:免疫细胞的自杀和谋杀.上海免疫学杂志,1997,17:197
- [3] Daeron M. ITIM-bearing negative co-receptors. Immunologist, 1997, 5:79
- [4] Lane P, Flynn S, Walker L, et al. CD4 cytokine differentiation: who or what decides? Immunologist, 1998, 6: 182
- [5] Murray JS. How the MHC selects Th1/Th2 immunity. Immunol Today, 1998, 19:157
- [6] Saito T. Negative regulation of T cell activation. Curr Opin Immunol, 1998, 10:313



## 第十二章 超 敏 反 应

免疫应答不仅是一种防御机制,在一定条件下也是引起疾病发生的一种病理机制。由免疫效应引起的病理改变称为免疫损伤(immunologic injury),而以免疫损伤为主要表现的免疫应答形式称为超敏反应(hypersensitivity)。传统上把获得性免疫应答造成的免疫损伤列入超敏反应的范畴,近年来,则倾向于将天然免疫应答造成的损伤也列入这一范畴,发展了超敏反应的内涵及其分类。

事实上,无论是获得性免疫应答还是天然免疫应答,都可造成同一类型的免疫损伤,其中间环节与病理效应,以及最终出现的临床表现往往相似或十分接近。其中包括过敏反应、抗体介导的细胞毒反应、免疫复合物反应、迟发型超敏反应、细胞介导的细胞毒反应、肉芽肿反应等。现时通用的分类系统来自 Coombs 和 Gell,他们把免疫损伤分为四种类型(表12-1)。

表 12-1 超敏反应的分型和引起组织损伤的免疫学机制

分型	参与成分	抗原类型	效应机制	免疫损伤类型	临床疾病举例
I 型	IgE	可溶性抗原	肥大细胞激活	过敏反应	哮喘
II 型	IgG	细胞或基质相关抗原 原细胞表面受体	补体和 $\text{FcR}^+$ 细胞参与 与抗体改变信号转导	抗体介导的细胞毒反应	药物过敏 慢性荨麻疹
III 型	IgG	可溶性抗原	免疫复合物	免疫复合物反应	血清病
IV 型	Th1	可溶性抗原	激活巨噬细胞	迟发型超敏反应	接触性皮炎
	Th2	可溶性抗原	激活嗜酸粒细胞		慢性过敏性鼻炎
	CTL	细胞相关抗原	细胞裂解	细胞介导的细胞毒反应	接触性皮炎

### 第一节 I 型：过敏反应

过敏反应(anaphylaxis),指由肥大细胞、嗜碱粒细胞释放大量过敏介质而造成的一组临床症状候群。其主要表现为局部血管扩张、血管通透性增高;器官平滑肌收缩;及腺体分泌增强。这类反应的始动因素是 IgE 类型的抗体。其作用机制是肥大细胞膜上的  $\text{Fc}\epsilon$  受体结合 IgE 类抗体,经过抗原的交联作用,激活了肥大细胞,促使其脱颗粒,释放出多种类型的过敏介质(参见第十章中的图 10-2)。过敏反应的特征是自肥大细胞激活到出现由过敏介质诱发的临床表现的时间极短暂,故也称为“速发型”超敏反应。

随着对肥大细胞激活机制研究的深入,发现除了 IgE 之外,还存在着多种促使肥大细胞脱颗粒的生物、化学乃至物理因素。这类并非由免疫应答所引起的肥大细胞脱颗粒反应被称为类过敏反应(anaphylactoid reaction)。

## 一 IgE 和肥大细胞的活化

### (一) IgE 及其类别转换

在各种类别(class, isotype)的抗体中, IgE 分子的免疫生物学特性是十分特别的。它往往通过其高亲和力受体  $\text{Fc}\epsilon\text{R1}$  首先和细胞及组织结合, 然后再识别和结合抗原。表达  $\text{Fc}\epsilon\text{R1}$  的细胞主要有三种: 肥大细胞(Ma)、嗜碱粒细胞(Ba)和活化的嗜酸粒细胞(Eo)。这意味着, 这三种细胞在其表面可以有膜结合的 IgE 分子。

IgE 的产生通过类别转换, 这一过程受控于多种细胞因子和膜蛋白。研究发现, 在浆细胞合成 IgE 的过程中, 其中最重要的细胞因子为 IL-4 和 IL-13, 他们主要由 Th2 细胞产生。因而 Th2 的分化和辅助作用在 IgE 的形成及过敏反应的发生中占有举足轻重的地位。驱动 Th0 分别向 Th1 或 Th2 分的因素, 主要是不同的细胞因子, 即 IL-12 和 IL-4。第二章和第八章中提到, 最初能够为 Th2 分化提供 IL-4 的, 是一些特别的 T 亚群, 称为  $\text{NK1.1}^+\text{CD4}^+\text{T}$  细胞, 可能还包括一类称为 DC2 的树突细胞(参见图 8-8)。除此而外, 抗原浓度也是一个制约 Th1/Th2 发挥的因素。低浓度抗原的往往诱使 Th2 分化, 而应变原的作用特点之一即是浓度极低, 有利于 Th2 驱动的 IgE 抗体应答。

### (二) IgE 介导的信号转导

IgE 的高亲和力受体分子  $\text{Fc}\epsilon\text{R1}$  由四条肽链组成:  $\alpha$  链、 $\beta$  链和两条  $\gamma$  链。图 12-1 表明,  $\alpha$  链的胞膜外区带有两个 IgSF 结构域, 具有识别 IgE Fc 段的特异性。 $\beta$  链为一个四次跨膜的结构, 分子的 N 端和 C 端皆在胞膜内, 两条  $\gamma$  链则以同源二聚体的形式存在。值得注意的是,  $\beta$  链与  $\gamma$  链的胞内段上都带有免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM), 因而每一个  $\text{Fc}\epsilon\text{R1}$  分子有三个 ITAM。 $\gamma$  链的 ITAM 结构为:



和 TCR  $\zeta$  链上的 ITAM 相比较(第十一章), 可以看出, 两类细胞每一个 ITAM 都有两个相互隔开的基本结构 YxxL。这些都提示  $\text{Fc}\epsilon\text{R1}$  的  $\beta$  链和  $\gamma$  链(主要是  $\gamma$  链)参与细胞活化信号的胞内转导。

前面提到活化信号转导的启动, 是因为已和抗原发生特异性结合的 IgE 抗体分子, 分别和两个以上的  $\text{Fc}\epsilon\text{R1}$  分子的  $\alpha$  链发生交联的结果。前面关于 T、B 细胞活化的章节中提到, 免疫细胞受体分子的交联会引起这些受体及其相关跨膜分子的聚合, 导致受体关联性酪氨酸蛋白激酶即 Src 家族 PTK 的成员, 因相互磷酸化而激活。对肥大细胞, 参与激活的 Src 家族成员是 Lyn。图 12-1 表明, 活化的 Lyn 一方面使  $\gamma$  链上的 ITAM 发生磷酸化, 使之能够通过 SH2 结构域招募各种信号蛋白; 另一方面, Lyn 激活另一个重要的 PTK 即 Syk, 使之发生磷酸化。然后由激活的 Syk 通过一种称为 LAT 的转接蛋白启动信号转导的两条主要通路, 一条是由 PLC  $\gamma$  开始的磷脂酰肌醇途径, 另一条是 Ras 蛋白参与的 MAP 激酶途径。这些信号转导的中下游事件, 对肥大细胞、T、B 细胞都是相似的(参见第八章)。

略有不同的是, 肥大细胞的活化中有蛋白酪氨酸激酶 Btk 的参与。第九章提到, Btk 和 B 细胞早期分化阶段的信号转导和无丙球蛋白血症的产生有关, 现知它也是肥大细胞活化中的一个信号蛋白。图 12-1 表明, 它的激活有磷酸肌醇 3 激酶(IP 3-K)的参与。

活化信号的有效传递, 不仅激活各种转录因子, 最终使肥大细胞激活和增殖, 同时还激发两起重要的事件, 即启动脂类介质的代谢分泌, 和通过肌球蛋白细胞骨架(actin cytoskele-

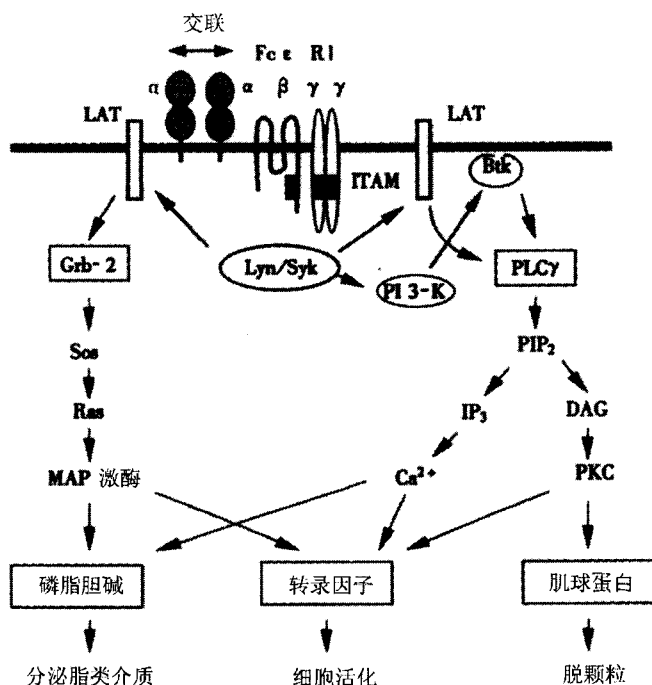


图 12-1 FcεR1 诱发的信号转导及其效应

ton)结构的重排,使细胞发生颗粒胞吐(granule exocytosis)或脱颗粒。

### (三) 肥大细胞活化的调节

CD23 也是 IgE 受体,称 FcεRII,它和 IgE 结合的亲和力比 FcεRI 低 100~1 000 倍,称为低亲和力 IgE 受体。CD23 不直接参与 I 型超敏反应,主要对 IgE 的合成进行负向调节,特别在血清 IgE 含量很高的时候,表达在 B 细胞表面的 CD23 可产生抑制信号,减少 IgE 的合成。但在某些条件下,如超敏反应的中期阶段 IgE 分泌量不是足够高时,也可通过 Th2 加大 IL-4 和 IL-13 的表达,促进 IgE 的产生。

据称,对 B 细胞抗体产生发挥负反馈调节作用的 FcγRII-B 也可在肥大细胞中发挥抑制作用(参见表 11-3),确切机制未明。另有两种 T 细胞衍生的 IgE 结合因子参与调节,其功能相反,分别称为糖基化抑制因子(GIF)和糖基化增强因子(GEF),有希望以此来调控一些过敏性疾病。

尽管 IgE 被视作是过敏反应的始作俑者,但在临床上还是有部分过敏反应患者,并无血清 IgE 的明显改变。最近的报道显示,在动物实验中,只要阻断 IL-13 与其受体的结合,即使存在大量的 IgE,仍可阻断过敏性哮喘的发病。这些迹象似乎都显示,过敏反应的发生,除了 IgE 之外,还存在其他的始动因素。

## 二 肥大细胞与过敏介质

### (一) 肥大细胞及其亚群

引起过敏反应的肥大细胞分为两群,其解剖位置、颗粒内含物和所释放的过敏介质各不相同(表 12-2)。一群称为粘膜肥大细胞,其颗粒内主要含类胰蛋白酶(trypsinase)。另一群称

为结缔组织肥大细胞,其颗粒内除类胰蛋白酶外,还有类胰凝乳蛋白酶(chymotryptase)。它们释放的过敏介质也有差别:前者白三烯占优势,后者则以前列腺素为主。这种差别可能是不同组织器官发生的过敏反应具有不同临床表现之原因。

表 12-2 肥大细胞的类型与特征

特 征	粘 膜 肥 大 细 胞	结 缔 组 织 肥 大 细 胞
组织分布	肺、肠道粘膜	皮肤、肠道粘膜下层
T细胞依赖	+	-
颗粒超微结构	旋涡形	格栅/网格形
Fc $\epsilon$ 受体	+++	+
胞质内 IgE	+	-
蛋白酶	类胰蛋白酶	类胰蛋白酶、类胰凝乳蛋白酶
组胺	+	++
LTC <sub>4</sub> : PGD <sub>2</sub>	25:1	1:40
主要蛋白多糖	硫酸软骨素	肝素

## (二) 肥大细胞释放的过敏介质

1. 血管活性胺: 其中的重要成分是组胺和血清素。组胺通过两类受体发挥功能。I型受体(H1)主要介导呼吸道、消化道、泌尿生殖道等中空管腔平滑肌的收缩和血管内皮细胞的收缩。II型受体(H2)主要介导血管平滑肌的扩张(表 12-3)。组胺通过其受体所发挥的生物活性往往引起一系列临床症状,如休克、哮喘、呕吐、水肿。这些效应主要出现在过敏反应的最初阶段,其延续时间不长,因这类物质可被其他炎症细胞产生的组胺酶分解。

表 12-3 组胺受体的分布与作用

受 体 类 型	作 用 组 织	作 用 类 型	临 床 表 现
H2	血管平滑肌	舒张	休克
H1	呼吸道平滑肌	收缩	哮喘
	消化道平滑肌	收缩	呕吐、腹泻
	血管内皮细胞	收缩	水肿

2. 花生四烯酸衍生物: 花生四烯酸(arachidonic acid)是细胞膜磷脂胆碱(PC)经磷脂酶水解后释放的代谢产物。在体内,花生四烯酸可在多种脂类代谢酶的作用下,形成一系列衍生物。其中最具病理生理意义的是前列腺素、血栓素和白三烯(leuktriene)。而每一类衍生物,因其结构上的变化,都具有多种组分。如前列腺素分为 PGA~PGI。白三烯可分为 LTA<sub>4</sub>、LTB<sub>4</sub>、LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub> 及 LTE<sub>4</sub> 等。由于各类组织中花生四烯酸代谢酶的构成不尽一致,因而不同的组织、不同的细胞在磷脂酶激活后,可选择性地合成其中几种衍生物。而且这些衍生物的生物作用也大相径庭,由此造成了不同的临床表现。例如:PGF 具有强烈的平滑肌收缩作用,而 PGE 则具有促使平滑肌扩张的效应。LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub> 和 LTE<sub>4</sub> 合称为慢反应物质(slow reacting substance of anaphylaxis, SRS-A),三者都具有极强的促使平滑肌收缩和血管扩张的作用。而 LTB<sub>4</sub> 则是中性粒细胞的主要趋化物之一。与组胺相比,花生四烯酸衍生物的生物效应出现较晚,维持时间也较长,是持续性过敏反应(也称为过敏反应迟发相)的主要病理学基础。

3. 炎性蛋白和多肽: 如血小板活化因子、激肽原酶、嗜酸粒细胞趋化因子等,是持续性

过敏反应阶段引起炎症反应的因素。其中多种趋化物质可导致嗜酸粒细胞与中性粒细胞的浸润。由血浆蛋白系统反应产生的激肽类物质和炎症细胞产生的蛋白水解酶类,可进一步加剧反应区域的炎症进程,同时促进平滑肌的痉挛与血管通透性的增高。

4. 其他:包括蛋白多糖(硫酸软骨素、肝素)和细胞因子。细胞因子包括 IL-1 直至 IL-6,其中最受关注的是 IL-4。由肥大细胞产生的 IL-4,和 IgE 一起,可反复招募 Th2、嗜碱粒细胞、嗜酸粒细胞和其他肥大细胞,构成过敏反应中的正反馈。

### 三 变应原

能够选择性地激发 Th2 并驱动 IgE 应答的抗原称为变应原(allergen)。因而变应原是引起过敏反应的原因。变应原多由呼吸道或消化道进入机体,其特点是,诱发过敏性应答的剂量极小。例如,豚草花粉变应原,虽可引起某些个体严重的、危及生命的 IgE 抗体应答,但这种变应原每人每年所能接触到的最大剂量,估计不超过  $1\mu\text{g}$ 。分析豚草这一花粉类变应原,发现其中含有六种不同的可引起过敏反应的多肽片段,相对分子质量(分子量)从 5 000 (5kD)至 38 000(38kD)不等。这些片段很少或几乎不与其他植物花粉发生交叉反应,但能产生跨物种的交叉反应。可被 IgE 识别的抗原决定簇绝大多数属构象决定簇,而非线型决定簇(参见第一章),因而烹调可能是一种消除变应原性的重要措施。分析 T 细胞识别的变应原性抗原肽,未见存在特征性的多肽序列。在使用药物等半抗原诱导 IgE 类抗体产生的实验中发现,这类诱导实验所需的载体必须含有大量的抗原决定簇(每个载体蛋白表面的抗原决定簇数目至少在三十个以上)。此外,如用甲醛、戊二醛、聚乙二醇等化学试剂修饰变应原,在啮齿类动物中可诱导出大量的 IgG 类型的抗体及少量的 IgE 类型的抗体。这种经处理的变应原称为类变应原(allergoids),但类变应原用于临床却未获成功。上述事实提示,变应原之所以能诱导产生 IgE 类型的免疫球蛋白,很大程度上取决于抗原进入机体时所出现的各种修饰条件,以及机体中 Th1/Th2 细胞亚群之间的极化格局。

### 四 I 型超敏反应相关疾病

过敏反应性临床疾病分为两种。一种叫特应征(atopic allergy),指天然抗原引起的慢性过敏反应性疾病,如哮喘、枯草热、过敏性鼻炎、荨麻疹、浆液性中耳炎、湿疹、结膜炎以及食物过敏等。另一种称为过敏反应,专指急性发作的水肿、充血症状。这种反应可能位于局部(如皮肤过敏反应),也可能发生于全身(如过敏性休克)。按其解剖位置,则主要分为下列三种。

#### (一) 表现于粘膜的过敏反应性疾病

呼吸、消化道等开放性管腔表面被粘膜覆盖,这些组织器官过敏反应性疾病的主要病理改变是:①粘膜上皮细胞的基膜增厚;②粘膜腺体增大;③粘膜组织内肥大细胞数量增高,并伴有慢性炎症细胞的浸润;④粘膜内出现大量嗜酸粒细胞。因解剖位置不同,相应疾病分成哮喘(asthma)、过敏性鼻炎和食物过敏症等多种类型。

1. 哮喘:哮喘的发生与多种易感因素有着密切的联系,其中遗传因素和婴儿期的体内环境变化被认为是主要因素。此外,哮喘发生的职业化倾向,也成为令人关注的问题。临床上把具有明确变应原引起的哮喘称为外源性哮喘,把无明确变应原存在的哮喘称为内源性哮喘。前者常常表现为季节性发作和爆发性发作,后者则无此特点。有人认为内源性

哮喘的变应原是体内引起呼吸道慢性感染的病原微生物,但更多的资料倾向于把这类哮喘的发生归因于非免疫性因素,可能涉及呼吸道粘膜及平滑肌生理活动有关的某些因素。事实上,支气管哮喘确实可由化学刺激、温度变化、生理活动和情绪改变等因素引起。这类哮喘中,往往找不到外源性变应原,也无 IgE 的增高。例如,阿司匹林哮喘就是因此类非甾醇类消炎药阻断了环氧化酶途径的花生四烯酸代谢,从而提高了白三烯的合成,引起慢性气道炎症。

2. 过敏性鼻炎:当变应原颗粒较小( $<1\sim2\mu\text{m}$ )时可被吸入而进入气管造成哮喘,颗粒较大时( $>10\mu\text{m}$ )则受到鼻粘膜的阻挡,停留于鼻腔,造成过敏性鼻炎。其中由季节性变应原(如花粉等)造成的过敏性鼻炎,又称枯草热(hey fever)。常年性的过敏性鼻炎则多由动物皮屑、屋尘、尘螨以及霉菌等变应原引起。形成过敏性鼻炎的病理机制,是由鼻粘膜中的肥大细胞释放过敏介质所引起。这些过敏介质导致血管扩张、粘膜水肿、腺体分泌、痒觉受体受激而降低喷嚏的阈值。

3. 食物过敏症:由于变应原的摄入而造成的胃肠道反应称为食物过敏症。但是特异性的过敏反应引起胃肠道反应的具体病理机制至今并未明了。许多食物过敏症患者可伴有对相应变应原的皮肤反应,但也有些患者虽然对某些食物表现出摄食后的呕吐、腹泻等消化道症状,却并不出现皮肤反应。食物性变应原绝大多数为一些可抵抗消化酶作用的多肽或蛋白质,或者是食品防腐剂类的药品。例如,引起婴幼儿食物过敏的牛奶就含有至少 16 种以上的变应原性蛋白成分。这些蛋白成分可能更容易透过儿童的肠道,激发免疫反应。此外,作为牛饲料添加物的青霉素等药品,也是引起奶制品过敏的重要原因。

### (二) 表现于皮肤的过敏反应性疾病

1. 特应性湿疹:所谓特应性湿疹是指临床以渗出为主的早期皮损,而特应性皮炎则是指那种以慢性、干燥、过度角质化为表现的皮损。在儿童中典型的皮损好发于颈部、腕部、膝盖部。其病理改变与接触性皮炎相类似,聚集于血管末梢的单个核细胞,向表皮下及皮肤海绵层浸润,引起红斑、丘疹、水疱并伴有奇痒。病变区域随着时间的延长而逐渐增厚。虽然特应性皮炎在临床表现上与迟发型超敏反应所发生的皮肤反应极为相似,但这些患者在接触变应原后,常常出现风团反应(wheel-and-flare),这一反应被认为是由 IgE 所介导。然而,单以过敏反应解释湿疹的起因,显然是不够的,在严重联合免疫缺陷患儿身上也会发生典型的湿疹。除了变应原外,类湿疹样皮损的发生,还可缘于花生四烯酸代谢途径的异常。

2. 荨麻疹:以皮肤的发红或发白、发痒、水肿为表现的荨麻疹,以及血管性水肿——一种更为广泛的皮下或粘膜下水肿,可能具有十分相似的病理机制。通常是由于肥大细胞所释放的介质引起。造成肥大细胞脱颗粒的原因,却并不能都归咎于 IgE。像冷、热、光照等物理刺激和运动,以及皮肤划痕征试验都可能成为荨麻疹与血管性水肿的起因,其发生可能与体内某些生理活动异常有关。

### (三) 表现于血管的全身性过敏反应性疾病

累及全身血管的过敏反应称为过敏性休克(anaphylatic shock)。下面是 1921 年 Pransnitz 和 Kustner 关于受试者接触鱼类变应原后出现过敏性休克的记录:

“半小时后,患者头皮、颈部、下腹部发痒,喉发干,迅急出现结膜充血、肿胀和严重的呼吸道粘膜充血及分泌物增加,剧烈的喷嚏、刺激性咳嗽、嗓音嘶哑以至失音。有明显的吸气性呼吸困难。全身皮肤,尤其是脸部,高度充血,到处都出现  $1\sim2\text{cm}$  大小、非常痒的风团,并

显示出明显的融合趋势。出汗是否明显增加没有被认真注意。大约 2h 后,出现呕吐并伴有大量流涎。此后,症状逐渐减轻。体温及心、肾功能始终正常,大约 10h 至 12h 后,所有症状消失。”

显然,上述症状是与血压下降及循环衰竭相伴随的。眩晕和昏厥是休克常有的症状,而虚脱、意识丧失及死亡则可能出现在 16min ~ 2h 之间。此外,尚可出现喉头水肿,以及肝、脾血窦内嗜酸粒细胞增高等病理改变。临床发生的过敏性休克,通常由医源性因素(如注射药物与生物制剂)和昆虫叮咬(如蜜蜂、黄蜂等的叮咬)引起。

## 第二节 II 型:抗体介导的细胞毒反应

抗体介导的细胞毒反应列入 II 型超敏反应。一般由细胞膜表面抗原或者与细胞膜密切结合的抗原成分所引起。抗体识别抗原以后,通过经典的补体激活途径,形成攻膜复合体而直接裂解靶细胞,以及借助 ADCC 杀伤靶细胞。另外,借助抗体的调理作用,使得被抗体覆盖的靶细胞更容易为吞噬细胞所吞噬,是靶细胞被清除的又一种机制。

### 一 II 型超敏反应涉及的机制

#### (一) 抗细胞膜相关抗原的抗体

在人类,参与细胞毒反应的抗体以 IgG 为主。按其所针对的抗原,可以分为自身抗体、抗同种异型抗体以及抗药物抗体三大类。

临床上,该型反应造成的病理损害相对集中于血液系统的疾病,通常称为免疫性血液病。引起这类疾病的抗体主要有抗红细胞抗体或称溶血性抗体(hemolytic antibody)、抗白细胞抗体和抗血小板抗体。其中溶血性抗体,因其免疫球蛋白类型的不同及与抗原结合的最佳温度的差别,再可分成温抗体(warm antibody)和冷抗体(cold antibody)。前者为 IgG 型,后者为 IgM 型。

除了抗血液成分的循环抗体外,一些抗皮肤基底层抗原的抗体、抗肾小球基底膜抗原的抗体、以及抗造血干细胞的抗体都是造成细胞毒反应的重要自身抗体。另外,在临床治疗过程中,产生的抗药物的抗体也可通过半抗原吸附与抗原抗体复合物吸附等形式,引起细胞毒反应。后者往往发生于一些易感性个体。

#### (二) 抗体参与的细胞毒机制

抗体主要通过 CDC 和 ADCC 两种途径杀伤靶细胞,详细的机制已在第十一章介绍。抗体识别膜结合的抗原分子之后,通过补体经典途径最终形成攻膜复合体,导致靶细胞裂解。这种裂解如果针对红细胞即引起溶血。而抗体依赖细胞介导的细胞毒反应(ADCC),主要针对表达移植抗原和肿瘤抗原的靶细胞,但目前临床上尚未确认以此机制为主导的超敏反应性疾病。

上面提到,通过巨噬细胞清除覆盖有抗体分子的靶细胞,是 II 型超敏反应的又一机制。可以通过两条途径。一条是被抗体覆盖的靶细胞,由抗体的 Fc 段与吞噬细胞上的 Fc 受体相互作用,促使巨噬细胞对靶细胞的吞噬,通常由 IgG 类型的抗体所介导。另一条是被抗体覆盖的靶细胞,在由抗体激活补体后,其表面再结合补体 C3b 分子,通过吞噬细胞的 C3b 受体,同样促进对靶细胞的吞噬。这一机制可由 IgG、IgM 两种类型的抗体介导,

但以后者更为重要。

## 二 II型超敏反应相关疾病

### (一) 抗同种异型抗体介导的细胞毒反应

此类疾病在临床上主要包括:输血反应、新生儿血小板减少症、输血后血小板减少性紫癜、以及移植物超急排斥反应等。

1. 输血反应:通常见于抗体针对红细胞膜抗原引起的溶血反应。常见溶血反应涉及的抗原,主要包括两大系统。

(1) ABO 血型系统:主要由红细胞膜上的 H 物质构成,在不同的糖基转移酶作用下, H 物质分别形成 A 抗原与 B 抗原。仅具有 N-乙酰氨基半乳糖转移酶的个体形成 A 抗原;而仅具有 D-半乳糖转移酶的个体则形成 B 抗原;如同一个体具有这两种糖基转移酶就可同时具有 A、B 两种抗原;反之,如缺乏这两种糖基转移酶,其血型就为 O 型。由于人类肠道菌群中含有丰富的 A、B 型抗原决定簇,个体可对所缺少的某一种或两种抗原决定簇形成相应的抗体。所以具有 A 型抗原者总是携带抗 B 抗体,反之亦然。而具有 O 型血型者,则同时携有抗 A、抗 B 两种抗体。

(2) Rh 血型系统(Rhesus blood groups):临床上引起溶血反应的抗原绝大多数为 D 抗原,习惯将表达 D 抗原的个体称为 Rh 阳性,而将未表达 D 抗原的个体唤作 Rh 阴性。怀孕及分娩过程中,胎儿的红细胞常可通过胎盘进入母体血循环之中。因此,如果母子间 Rh 血型不合(通常是母亲为 Rh 阴性、胎儿为 Rh 阳性),往往因母体产生抗 Rh 抗体引起新生儿溶血症。从临床观察中发现,与胎儿 ABO 血型不合的 Rh 阴性母亲,一般较少产生针对胎儿的抗 Rh 抗体。这是因为母体中针对 ABO 血型抗原的“天然抗体”已“封杀”了进入母体血循环的胎儿红血球,使得母亲的免疫系统无暇顾及胎儿的 Rh 抗原。受此启发,目前临床上采用给怀孕母亲与分娩后产妇注射抗 Rh 血清的方法,来防止 Rh 血型不合引起的新生儿溶血症。比较 ABO 血型抗原与 Rh 血型抗原所引起的溶血反应,发现前者诱导的抗体为 IgM 型,而后者则是 IgG 型。因此后者往往可顺利跨越血胎屏障,进入胎儿体内,造成严重的病理后果。而前者所引起的新生儿溶血较为少见且临床症状较轻。

(3) 新生儿白细胞缺乏症与新生儿血小板减少症:发生机制类似于 Rh 血型不合的新生儿溶血症,皆由于母体产生了针对父亲白细胞或血小板抗原的抗体。这些抗体又都属 IgG 类型,能通过胎盘进入胎儿体内,并通过激活补体或 ADCC 作用造成病理损伤。在新生儿白细胞缺乏症中,至少已确定了八种不同的膜抗原成分。其中的 NA-1 和 NA-2 属次要组织相容性抗原(参见第十七章),可表达于中性粒细胞膜 Fc 受体(Fc $\gamma$ RIII)。患儿母亲的中性粒细胞往往缺少 Fc $\gamma$ RIII 受体,因此将 NA-1 和 NA-2 视作外来抗原,并产生反应。而在新生儿血小板减少症中,大约 50%~90%的病例是由一种称为 P1<sup>AI</sup>的血小板抗原所引起。这些患儿可能由于严重的颅内出血而损害神经系统。所以每周用 P1<sup>AI</sup>抗原阴性血小板作小剂量输血,是一种较好的治疗方法。同样的情况,如果发生于成人,则属于输血后血小板减少性紫癜。

### (二) 抗药物抗体介导的细胞毒反应

1. 药物性的溶血反应:抗药物抗体的形成及对红细胞膜造成损伤的方式有多种。

(1) 半抗原粘附型:许多分子量不大的药物分子,一般以半抗原形式和红细胞膜粘附结合后,形成完全抗原,诱导产生溶血反应。较为典型的是由青霉素引起的溶血反应。



(2) 免疫复合物吸附型：使用奎尼丁后，可形成药物与抗药抗体复合物，这种免疫复合物如果吸附在红细胞表面，则红细胞成为“无辜旁立者”而被裂解。这一类型的反应，即使在细胞膜上不能检测到相应抗体的情况下，仍可发现补体成分的存在。

(3) 补体转运型：当大量的抗药物抗体形成的免疫复合物激活补体后，补体 C3b 片段可直接吸附至红细胞表面，引起这些红细胞被吞噬或溶血。

(4) 自身免疫损伤型：某些药物的表面，具有与红细胞膜上的一些自身抗原相同或类似的抗原决定簇，可能激活抗自身红细胞膜抗原的自身抗体，造成药物性溶血。如由  $\alpha$ -甲基多巴可诱导抗 Rh 抗体，产生溶血反应(图12-2)。

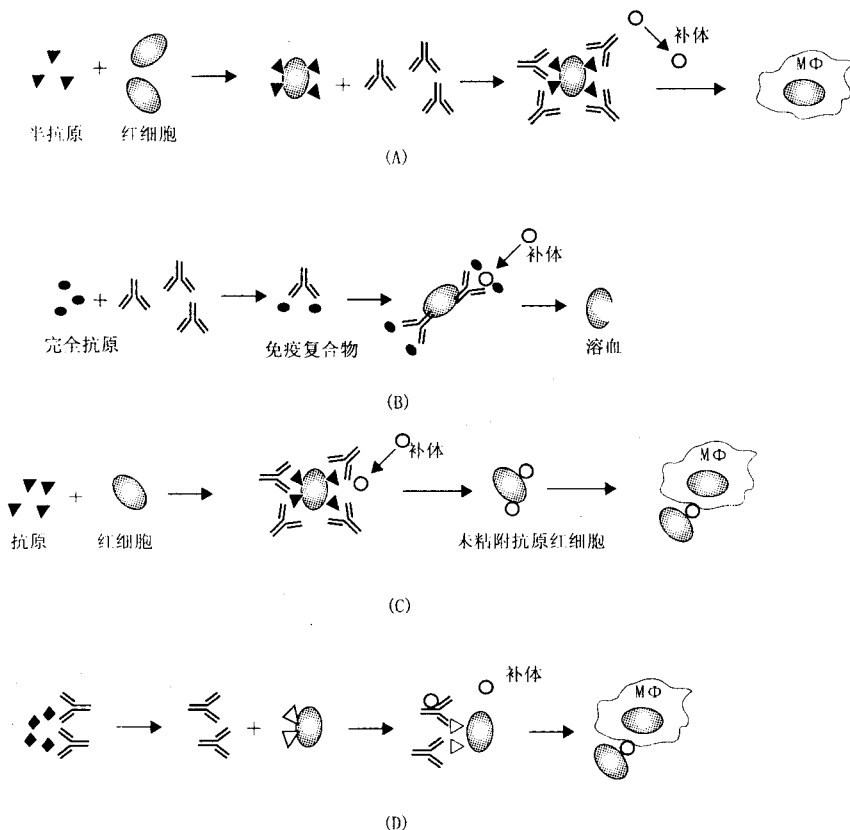


图 12-2 抗药物抗体造成的红细胞破坏机制

(A) 半抗原吸附型；(B) 免疫复合物吸附型；(C) 补体转运型；(D) 免疫损伤型

### (三) 自身抗体介导的细胞毒反应

此类细胞毒反应主要涉及血液病，也包括其他疾病，如发疱性皮肤病(由抗皮肤基底层抗体造成)、免疫不育(由抗精子抗体造成)、变态反应性甲状腺炎以及变态反应性无精症等。涉及的血液病主要有以下几种。

1. 自身免疫性溶血性贫血：由温抗体介导者，2/3 针对 Rh 血型抗原，而且较少有特发性者，大多数伴有其他疾病，如胶原性疾病或免疫增殖病。而由冷抗体介导的溶血反应，则主要分为两种形式。一种称为冷凝集病，是由针对血型抗原 I 的 IgM 抗体所引起，往往与支原体感染及免疫增殖病相关。另一种称为阵发性冷性血红蛋白尿，抗体为针对血型抗原 P

的 IgG 型抗体,也叫做 Donath-Landsteiner 抗体(DL-Ab)。这一类型的溶血反应可以是特异性的,也可以与某些病毒感染有关。

2. 自身免疫性白细胞缺乏症:分原发性与继发性两种类型。前者多见于 3 岁以下的儿童,后者则在 40 至 60 岁年龄组人群中较高的发病率,并常伴有特发性血小板缺乏性紫癜、结缔组织病和淋巴瘤等其他疾病。

3. 特发性血小板减少性紫癜:急性患者,大多见于儿童,且多数有明显的感染史(如风疹等),其血细胞的破坏往往是由于免疫复合物的粘附所致。而慢性患者则是由抗血细胞的自身抗体所造成,且多伴有系统性红斑狼疮、白血病、骨髓瘤等疾病。

### 第三节 III 型:免疫复合物反应

免疫复合物反应归于 III 型超敏反应,是抗原抗体复合物沉积于组织内,通过激活补体而引起的一种炎症性免疫损伤。参与该反应的抗体通常属可固定补体的免疫球蛋白类型。在这类反应中,免疫复合物在组织中沉积是导致免疫损伤的关键。

#### 一 免疫复合物的形成、清除与沉积

免疫复合物的形成,通常是机体持续接触过量抗原的结果。例如持续性的病原微生物感染、自身抗原成分的长期存在、以及反复接触环境中的同一类抗原性物质等。

免疫复合物一般分成不溶性与可溶性两大类。前者如血管基底膜抗原和抗体形成的复合物,一般固定于抗体诱发的部位,可因活化补体级联反应而引起急性炎症。后者则是游离性抗原与相应抗体结合所形成的凝聚物,他们的归宿往往取决于形成时抗原、抗体的含量和比例、抗原和抗体的生物学性质、以及复合物相对分子质量(分子量)大小等多种因素。在抗原过量或抗体过量时,所形成的免疫复合物分子量较小,一般不易发生沉积,这些免疫复合物可随血液的滤过作用和免疫粘附作用而被清除。但当抗原与抗体比例接近时,所形成的免疫复合物就极易沉积。在正常情况下,这些免疫复合物因可激活补体,借助于后者的免疫粘附作用,迅速被转运或吞噬。如果补体含量不足,清除将会受到影响,并可使沉积的免疫复合物转变成不可溶性的。此时,沉积的免疫复合物会因激活补体而引起免疫损伤。图

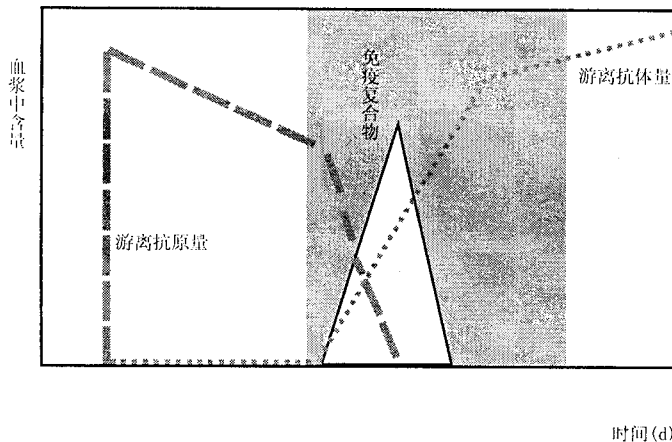


图 12-3 免疫复合物形成与组织损伤

12-3以血清病为例,显示免疫复合物形成与组织损伤的关系。

可溶性循环免疫复合物的沉积,还受到血流流速、血管壁结构等许多因素的影响。可溶性免疫复合物通常较易沉积于血流相对缓慢的组织区域中。

## 二 免疫复合物的致炎作用

免疫复合物激活的补体裂解片段为一类有效的炎症介质。如 C3a 和 C5a,它们作为过敏毒素,可引起肥大细胞脱颗粒和释放组织胺等血管活性物质,造成血管通透性的改变;它们作为趋化物,可使大量中性粒细胞聚集于免疫复合物沉积区域。这类中性粒细胞并不能以吞噬的方式有效地清除沉积的免疫复合物(称为无效吞噬 *frustrated phagocytosis*),却可大量释放溶酶体酶,包括蛋白水解酶、激肽原酶、阳离子蛋白等等,介导氧化反应和释放一氧化氮,从而造成组织损伤和加强炎症反应。

免疫复合物还可直接与间接地促使血小板凝集与活化。由血小板产生的血管活性介质可参与炎症反应,而凝血酶原的活化,则可导致血栓的形成及局部的缺血,这都将更进一步加剧局部组织的损伤。

沉积的免疫复合物还可通过 C3b 受体而活化巨噬细胞。再由巨噬细胞释放多种细胞因子,如 IL-1、TNF 等等,对免疫复合物沉积区域的炎症起到推波助澜的作用。同时,这些细胞因子在炎症修复阶段所引起的促增生作用,也可能是产生永久性病理损伤的原因(图 12-4)。

## 三 III 型超敏反应相关疾病

免疫复合物造成的临床疾病,可分成局部免疫复合物引起的炎症损伤和循环免疫复合物形成的炎症损伤两大类型。

### (一) 局部免疫复合物引起的炎症

阿瑟斯反应(Arthus reaction)是此类损伤的典型代表。如果将可溶性抗原注入已产生高水平抗体的家兔皮下,可迅速形成免疫复合物并激活补体,引起肥大细胞脱颗粒,释放过敏介质,造成局部的充血、水肿。3~8h 后反应达到高峰。同时,免疫复合物促成的血小板凝集、活化,可形成局部血栓与缺血性坏死。而中性粒细胞释放的溶酶体酶,则可使血管壁的纤维蛋白损坏,引起出血。这类反应,在临床上可出现于狂犬病疫苗和胰岛素制剂的注射区域,该局部往往出现免疫复合物的沉积。

类似阿瑟斯反应的现象,也常见于吸入性抗原引起的呼吸道疾病中。如吸入霉烂的干草粉尘引起的“农民肺”(farmer's lung)。另外,吸入动物皮毛屑、吸入干鸽粪、吸入霉菌孢子和隐霉菌孢子,皆可引起相应的疾病,统称为外源性变态反应性肺炎(*extrinsic allergic alveolitis*)。在对曲霉菌引起的变态反应性支气管肺炎的研究中,发现患者除了有高水平 IgE 抗体外,还存在着针对曲霉菌的沉淀性 IgG。这提示在外源性变态反应性肺炎中,除了 I 型超敏反应外,阿瑟斯反应也是一个重要的致病原因。

同样,病原微生物、寄生虫在局部释放的抗原也可以引起类似的阿瑟斯反应。包括丝虫感染后死亡成虫引起的炎症反应(常可导致淋巴回流障碍引起橡皮肿)、麻风患者经氨苯砒治疗后产生的皮肤结节性红斑、以及梅毒感染者经青霉素治疗后出现的雅-赫氏反应。

有些免疫复合物病,往往不是先形成免疫复合物然后沉积于血管内皮间隙中,而是反过

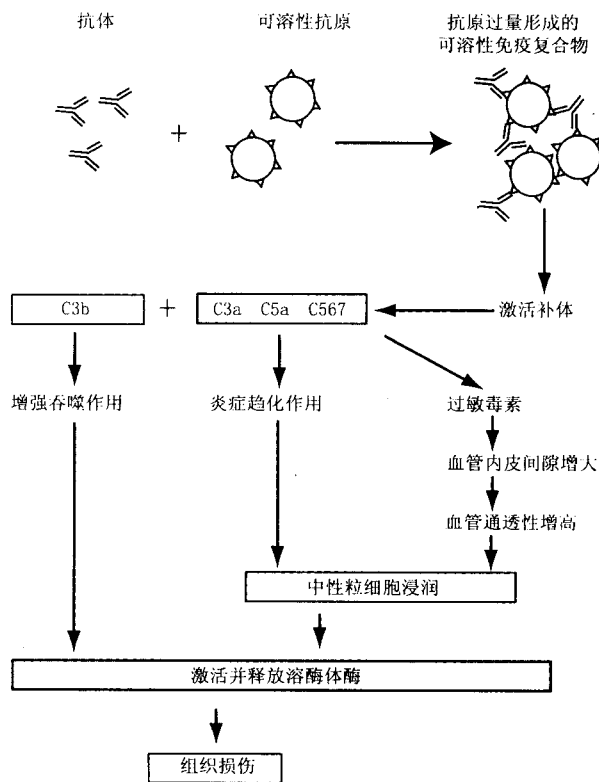


图 12-4 免疫复合物反应

来,首先由抗原沉积于血管内皮间隙或肾小球基底膜上,尔后才同相应的抗体构成免疫复合物。例如,在动物实验中发现,当小鼠注射细菌内毒素后,其体内释放的 DNA 便可通过循环,选择性地吸附于肾小球基底膜的胶原上,引起免疫复合物性肾小球肾炎。临床上,这种情况多见于自身免疫性疾病。

(二) 循环免疫复合物引起的炎症

1. 血清病: 这类损伤的代表是血清病(serum sickness)。最早发现,人体注射了抗毒素(马血清)10~14d 后出现发热、关节炎、肾小球肾炎和血管炎等的临床表现。这是由于过量抗原(高效价的免疫马血清)的存在,产生抗体并形成了大量的可溶性循环免疫复合物,当这些免疫复合物沉积到相应的组织器官上时,激活补体引起炎症反应。这种情况可见于使用白喉抗毒素、破伤风抗毒素、抗蛇毒血清等的治疗过程之中。由于马血清含有不同抗原成分,因而由其刺激而产生的抗体也具有不同的特异性,这使得机体可出现抗体过量和抗原过量并存的局面。各类抗原还可引发产生不同类型的抗体(如 IgE),也可引起迟发性超敏反应。因而血清病中蕴涵着十分复杂的病理机制。

在慢性感染性疾病中,也存在类似血清病的抗原过剩状态。例如,在乙型肝炎患者中,可以发现由于乙肝表面抗原(HBsAg)与相应抗体形成的免疫复合物沉积所引起的血管炎、肾小球肾炎、关节炎和皮肤损害;在细菌性心内膜炎患者中,也会表现出免疫复合物病的症状;在绿脓杆菌引起的囊性纤维化病例中,不仅有肺部的损害,还可同时出现血清病样的表现。在这些疾病中引起免疫复合物型损伤的原因,往往与网状内皮系统的功能障碍有一定

的联系。

2. 免疫复合物性肾小球肾炎：其损伤可由三个因素造成。第一，免疫复合物的沉积直接改变基底膜的静电性质，继而引起血浆蛋白的渗漏。第二，由免疫复合物活化补体，形成中性粒细胞浸润，释放蛋白酶造成损伤。第三，长期的免疫复合物沉积，使基底膜变薄，其脏层上皮细胞融合，丧失肾小球的滤过作用，形成蛋白尿、血尿及肾病综合征症状，最终导致尿毒症。

肾小球基底膜含有大量唾液酸，带有极强的负电荷，故可以保持相对稳定的通透性，一旦这一负电荷被阳离子型蛋白中和，使基底膜通透性提高，出现蛋白尿。动物研究中发现，阳离子型的抗原形成的免疫复合物趋向于沉积在基底膜的上皮细胞一侧，而阴离子型的抗原则沉积于内皮细胞一侧。同样，参与构成沉积于基底膜上的免疫复合物中的抗体，绝大多数属于阳离子型蛋白。由此可见在免疫复合物的初次沉积中，其电荷属性具有十分重要的意义。除电荷外，免疫复合物的大小与可溶解程度也决定免疫复合物类型。其中的 I 型为穿膜型或弥散型，多为小分子、溶解性的阳离子型的凝聚物，主要沉积在基底膜的上皮细胞间隙及上皮细胞下层空间内。II 型属内皮下层型或系膜型，为相对分子质量大的不溶性阴离子型凝聚物，较多凝集于内皮细胞下层及系膜细胞间。

3. 其他疾病：血管壁是循环免疫复合物沉积的另一个重要部位，可引起血管炎。循环免疫复合物在肺部的沉积，引起细胞间质性肺炎；在关节腔内的沉积，可引起关节炎；在眼基底膜的沉积，可造成葡萄膜炎；在脑脉络丛的沉积，则见于系统性红斑狼疮(SLE)等疾病中。因为与其他部位的脑血管相比，脑脉络丛缺少致密的血脑屏障结构。这一解剖学特点，使得免疫复合物较容易在此穿过内皮细胞而沉积。结果可引起患者的神经系统症状。

## 第四节 IV 型：迟发型超敏反应

迟发型超敏反应(delayed-type hypersensitivity, DTH)是 IV 型超敏反应的总称，特点是有 T 细胞介导。迟发一词，指抗原注射后，出现皮肤炎症反应的时间较长，一般在几天后才会发展到顶点。与之相比，皮肤过敏反应的达峰时间仅为几分钟，而阿瑟斯反应也只有几小时。迟发的主要原因，是因为参与反应的特异性 T 细胞数量很少，开始时有无炎症反应吸引 T 细胞到相应的部位。其中涉及抗原的加工递呈、T 细胞的激活、细胞因子的分泌、炎症反应激活血管内皮细胞，并有细胞间粘附分子相互作用，这些都需要较长的时间。

效应性 T 细胞主要有三种：Th1、Th2 和 CTL(参见第二章和第八章)。各自皆可以不同的机制介导迟发性超敏反应。其中主要包括三种不同的病理损伤机制，即迟发型超敏反应性炎症、细胞介导的细胞毒反应和肉芽肿反应。

### 一 迟发型超敏反应性炎症机制

#### (一) Th1 的激活及其效应功能

迟发型超敏反应是由 T 细胞介导的免疫损伤。Th1 是细胞免疫的参与者，自然也介导 DTH，因此相应的 T 细胞亚群曾被称为迟发型超敏反应 T 细胞( $T_{DTH}$ )。T 细胞的激活必须依赖 APC 和抗原的加工递呈，DTH 中的 Th1 亦不例外。Th1 活化后，通过其表面的粘附分子如 L-选择素、迟现抗原-4(VLA-4)、LFA-1、以及 CD44 等分子，与活化血管内皮细胞表达的粘附

分子,如 E-选择素、VCAM-1、ICAM-1 等结合,完成其趋化、游出过程,到达炎症区域。致敏 Th1 同时释放大量和 DTH 有关的介质,包括趋化因子、细胞因子和细胞毒素(表12-5),功能是招募巨噬细胞及发挥效应作用。同时,巨噬细胞对炎症区域的细胞和组织碎片的吞噬以及消化过程,也参与迟发型超敏反应的病理损伤。

表 12-5 抗原活化的 Th1 细胞分泌细胞因子介导迟发型超敏反应

介 质 类 型	成 分	效 应 作 用
趋化性细胞因子		招募 MΦ 至抗原入侵部位
细胞因子	IFN-γ, IL-3, GM-CSF	激活 MΦ, 增加释放炎症介质, 刺激产生单核细胞
细胞毒素	TNF-α, TNF-β	引起组织损伤, 增强局部血管粘附分子的表达

(二) 超抗原对 Th1 的激活及其发挥的 DTH 效应

Th1 还能被超抗原(SAg)激活,机制可参见第八章。由于超抗原是以完整的分子分别结合 APC 上的 MHC II 类分子和 T 细胞的 TCR Vβ 区,因而激活的 Th1 并无抗原特异性,但其大量释放的细胞因子同样可造成严重的临床症状,如中毒性休克等。目前认为,引起 DTH 的超抗原皆属外源性,主要为细菌肠毒素和支原体(表12-6)。

表 12-6 临床常见的由超抗原引起的疾病

超 抗 原	来 源	疾 病
葡萄球菌肠毒素(SE)	金黄色葡萄球菌	食物中毒、休克
中毒性休克综合征毒素(TSST)	金黄色葡萄球菌	中毒性休克综合征
表皮剥落毒素	金黄色葡萄球菌	烫伤皮肤综合征
致热源性内毒素	化脓性葡萄球菌	风湿热、猩红热
支原体	关节炎支原体	关节炎、休克

二 IV 型超敏反应相关疾病

(一) 以迟发型超敏反应性炎症为主要特征的感染性疾病与自身免疫病

1. 梅毒：临床上梅毒分为四期。下疳是 I 期梅毒最早出现的临床症状,属典型的皮肤迟发型超敏反应。这一症状在 T 细胞与抗原接触后,可持续一至五周,最后以病原体被巨噬细胞吞噬和消化而告终。尽管,针对再感染的保护作用可能来自抗体的中和作用,但 Th1 激活的巨噬细胞对病原体的吞噬与消化,仍然是消灭梅毒螺旋体的最有效方式。I 期梅毒发生后两周至半年中出现的皮肤与粘膜损害称为 II 期梅毒,同样也是在梅毒螺旋体的增殖与播散部位出现的迟发型超敏反应,可使 II 期梅毒的损害自发地痊愈,也可使患者转入潜伏性梅毒期。III 期梅毒中具有破坏性的病理损伤是肉芽肿反应,这通常发生于梅毒螺旋体持续存在的场所,如脑、皮肤、骨骼、内脏等处。

2. 实验性变态反应脑脊髓炎：实验性变态反应脑脊髓炎(experimental allergic encephalomyelitis, EAE)属迟发型超敏反应引起的自身免疫病。给动物注射加有福氏完全佐剂的中枢神经组织或髓鞘碱性蛋白(MBP)2~3 周后引起疾病,实验动物出现后腿麻痹,伴有血管末梢炎症细胞聚集的弥散性病灶。在静脉血管壁和血管末梢间隙中聚集的炎症细胞,主要为单个核细胞。脱髓鞘作用发生于局灶性血管炎产生以后,是致敏 Th1 通过释放细胞因子激活巨噬细胞的后果。已找到抗原 MBP 的优势表位并确定其一级结构,而且发现,识别这些表位和 MHC 分子复合物的 T 细胞克隆,其 TCR 基因的取用格局显示高度的限制性,以

致采用抗 TCRV $\beta$ 8 片段的单克隆抗体可以阻断 T 细胞对此抗原的反应。

与 EAE 相类似的人类疾病有三种形式,一种称为急性出血性脑脊髓炎,是一种以血管壁的坏死和纤维素沉积、出血、中性粒细胞浸润为主要表现的病理损伤,其脱髓鞘的位置位于中性粒细胞浸润的场所。其病理进程完全类似于 EAE 的急性阶段。第二种是急性弥漫性脑脊髓炎,一是因接种狂犬病疫苗引起。发生的原因是疫苗的制备过程中使用了脑组织。二是由接种牛痘或感染风疹、水痘、天花所引起,其病理机制尚不十分清楚。部分病例可以观察到由急性出血性脑脊髓炎转为急性弥漫性脑脊髓炎,又发展为多发性硬化症的疾病转归方式。多发性硬化症(multiple sclerosis MS)可以视作脑脊髓炎的终末阶段或慢性形式。虽然多发性硬化症与 EAE 在病因学上有相似之处,但在实验动物中,EAE 并不产生典型的 MS 病理改变。类似的由迟发型超敏反应引起的外周神经系统疾病,还有实验性变态反应性神经炎和实验性变态反应性交感神经炎。在临床上,相应的疾病则是由病毒感染引起的格林-巴利综合征(Guillain-Barré syndrome)。

## (二) 皮肤嗜碱粒细胞超敏反应

皮肤嗜碱粒细胞超敏反应(cutaneous basophil hypersensitivity CBH)是迟发型超敏反应中由 Th2 参与的一种非经典形式。早在 1934 年, Jones 与 Mote 就在患者身上发现了一种在阿瑟斯反应消退后出现的、由血清蛋白引起的迟发型皮肤超敏反应。称为 Jones-Mote 反应,是已产生抗体的蛋白质抗原引起的一种短暂的迟发型皮肤超敏反应,具有嗜碱粒细胞浸润的病理特点。

皮肤嗜碱粒细胞超敏反应可出现于多种类型的病理过程中,包括皮肤的移植排斥反应、病毒感染与接触性变态反应等。这类反应的出现,一般总是稍晚于特异性致敏淋巴细胞的浸润。例如,在接触性皮炎中,当淋巴细胞浸润出现 12h 后,可检出嗜碱粒细胞,推测这是由于淋巴细胞释放的细胞因子所致。有资料证实,皮肤中肥大细胞的存在是迟发型超敏反应产生机制的一个环节(因肥大细胞可引起血管扩张与提高血管通透性)。

## (三) 细胞介导的细胞毒反应

细胞介导的细胞毒反应涉及到 CTL 和 NK 细胞。在机体内,这些细胞毒性细胞所攻击的靶目标,主要是病毒和其他病原体感染的细胞、恶变细胞和同种移植物。其中 CTL 的分化成熟、激活和杀伤靶细胞的效应机制已在第八章和第十章中详细介绍。

NK 细胞对靶细胞的杀伤,除了和 CTL 一样,采用颗粒胞吐和诱发凋亡两种机制直接杀伤靶细胞,还启用上面提到的 ADCC 的机制。第二章中提到,靶细胞表面 MHC I 类分子的表达可通过抑制性受体的激活调节 NK 细胞的活性。这样,NK 细胞对靶细胞的识别和杀伤,正好与 CTL 形成一种互补,即当正常细胞遭到感染或恶变后,不能正常表达 MHC I 类分子或 I 类分子缺失,就会成为 NK 细胞的靶子。

1. 接触性皮炎:接触性皮炎由细胞介导的细胞毒反应引起。1907 年, von Pirquet 发现在牛痘接种后的局部损伤中,存在两个不同阶段的反应。早期反应(接种 8h 内)中形成的小泡状病损,是由病毒的繁殖所造成。而后期反应(接种后 8~12d)所出现的红肿表现,则是与细胞介导的细胞毒作用相联系的,是一种由 CTL 介导的抗病毒的免疫保护作用。类似的反应也同样表现于其他病毒引起的出疹性疾病,如麻疹、水痘、天花等等。那些散发性皮疹出现的部位即是病毒的感染部位。虽然病毒性的出疹也存在着由抗原抗体复合物形成的阿瑟斯样反应以及迟发型超敏反应性炎症等病理基础,但细胞介导的细胞毒作用仍是一种最

主要、最基本的病理机制。

2. 桥本甲状腺炎: 桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)是一种自身免疫性疾病。在其动物模型, 实验性变态反应性甲状腺炎(EAT)中, 以伴有福氏完全佐剂的甲状腺提取物或甲状腺球蛋白免疫实验动物, 6~14d后可形成由CTL介导的甲状腺炎。其病理起始于血管末梢的淋巴细胞浸润, 并可观察到甲状腺滤泡上皮的破坏。其病理改变类同于接触性皮炎, 是典型的细胞介导的细胞毒反应。在桥本甲状腺炎中, 除了CTL介导的损伤外, 还可检测到抗甲状腺球蛋白抗体和抗其他甲状腺抗原的抗体。这些抗体的存在及免疫复合物的形成与沉积, 可能参与疾病的病理过程。

## 第五节 其他类型的超敏反应

由于传统的超敏反应概念与经典的分型方法的限制, 有许多类型的免疫损伤及其病理机制未能被合理的阐释。本节将这些内容单独列出予以讨论。

### 一 抗体介导的活化与去活化作用

抗体介导的活化作用可表现为: ①增强亲和力作用; 例如, 体外实验中抗表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)抗体的  $F(ab')_2$  可以提高EGF与其受体的亲和力, 而单价Fab则无此作用。②受体选择作用; 例如, 人生长因子(hGH)在体内至少有四种不同类型的受体。如果用单克隆抗体阻断其中一种, 就可使其他类型受体的结合程度大大提高。③受体活化作用; 例如, 在毒性甲状腺症(Graves disease)中, 抗体可直接模拟激素与受体结合, 从而激活激素受体。前两种作用形式, 目前尚无引起临床病理损害的报道, 而第三种作用形式已经被确定作为一种经典的免疫损伤类型。

抗体介导的去活化作用是另一种形式的细胞刺激作用; 通过受体修饰作用, 即抗体与受体相结合阻断受体与配体间的结合, 引起受体的变构、内吞等一系列变化, 并通过信号转导制约细胞的活化。最为典型的是在重症肌无力中, 抗乙酰胆碱受体的抗体在运动神经终板上所造成的受体改变。由此也可引起免疫损伤。

### 二 肉芽肿反应

#### (一) 产生机制

肉芽肿(granuloma)是一种占位性的慢性炎症性病理损伤。其特征是组织内聚集着一些单个核细胞构成的团块。在典型的病理损伤中, 含有类似上皮细胞的大单个核细胞(称为上皮样细胞)、淋巴细胞、浆细胞以及带有多个细胞核的朗罕氏巨细胞。肉芽肿反应可由各种不溶性抗原引起的迟发型超敏反应所造成, 也可以由血管炎(由免疫复合物引起)或对非抗原性异物的吞噬所引起。引起肉芽肿反应的机制尚不十分清楚, 但倾向于认为是巨噬细胞缺乏对抗原的消化能力所致。这种病理损伤的形式, 一方面对隔离病原体产生了一定的积极作用, 另一方面则因为正常组织被肉芽肿及其修复时的纤维化所替代, 可能有损器官、组织的正常功能。

肉芽肿反应是一种针对刺激性、残留性、难溶性物质的细胞反应。这种反应常常发生于那些既能引起T细胞致敏, 又形成局部持续存在的免疫复合物的免疫应答中。除了不溶性



的、难分解的免疫复合物外,不溶性的抗原物质本身也是引起肉芽肿反应的原因。某些由 T 细胞产生的细胞因子对肉芽肿性超敏反应的形成具有调节作用。IL-4 可促使巨噬细胞的聚集与融合;IFN- $\gamma$  可抑制巨噬细胞的游走与单核细胞的融合。在动物模型中,发现 T 细胞可产生一种阻止肉芽肿形成的抑制因子,而巨噬细胞衍生的细胞因子如 IL-1 等,则可激活纤维化过程使肉芽肿疤痕化。在某些肉芽肿性疾病中,往往同时存在多种免疫损伤机制,使得许多临床疾病既表现血管炎的症状,又同时具有肉芽肿反应。如魏格纳肉芽肿、风湿热等。

## (二) 临床分类

1. 感染性肉芽肿: 结核结节是感染引起肉芽肿反应的一个典型。对结核菌的免疫应答涉及诸多因素,其中细胞介导的免疫应答是产生特异性保护的最主要因素。结核感染的关键问题是结核杆菌在细胞内的复制。大约 90% 以上的被感染者,结核杆菌不能在巨噬细胞内复制,这是由于  $\gamma\delta$  T 细胞可有效地杀灭受染巨噬细胞。感染持续时,致敏的 Th1 可释放 IL-2、TNF 和 IFN- $\gamma$  等细胞因子,活化巨噬细胞,通过溶酶体酶杀伤摄入的结核杆菌。同时,CTL 也攻击与破坏被感染的巨噬细胞。在这些免疫作用的影响下,结核感染可能有四种不同的临床结局,即完全痊愈、痊愈并带有损伤(如钙化灶)、形成保护作用的肉芽肿和形成传染性的肉芽肿。

2. 非感染性肉芽肿: 临床上多见于某些金属元素接触引起的职业病,如使用含有铅盐的除腋臭剂 6 个月以上,有些人会产生腋部肉芽肿。以铅盐作皮下注射,在许多患者身上产生典型的上皮样细胞构成的肉芽肿。铅盐是引起这类肉芽肿反应的病因,因为当停止使用含有铅盐的制剂后,皮损即不再发生。类似的情况也发生于接触金属铍的患者身上。1946 年,首先报道了荧光灯制造业工人因吸入金属铍而产生的肺部疾患。其中,大量吸入者出现急性化学损伤性炎症,而长期低剂量吸入者,则可以产生多发性的、以非干酪样肉芽肿为典型病理表现的慢性进行性肺部病变。在这些病例中,铍与铅可能都是作为半抗原与血清蛋白结合,引起接触性的超敏反应。

## 本章提要

本章概述了免疫损伤的七种病理类型,对过敏反应、抗体介导的细胞毒反应、免疫复合物反应和迟发型超敏反应作了比较详细的讨论。对其他类型的超敏反应机制也作了一定的探讨,力求通过对某些具有代表性的临床疾病病理机制的分析,获得一个对免疫损伤及超敏反应概念的较为全面的认识。

(王 易)

## 参考文献

- [1] Allen I, Brankin B. Pathogenesis of multiple sclerosis: the immune diathesis and the role of viruses. *J Neuropath Exp Neurol*, 1993, 52: 95
- [2] Berke G, Rosen D. Mechanism of lymphocyte-mediated cytotoxicity: functional cytotoxic T cells lacking perforin and granzymes. *Immunol*, 1993, 78: 105
- [3] Corry DB and Kheradmand F. Induction and regulation of the IgE response, *Nature*, 1999, 402 (supp): B18
- [4] DeJarnatt AC, Grant JA. Basic mechanisms of anaphylaxis and anaphylactoid reactions. *Immunol Allergy Clin N Am*, 1992, 12: 501
- [5] Drazen JM, Arm JP and Austen KF. Sorting out the cytokines of asthma. *J Exp Med*, 1996, 183: 1

- 
- [ 6 ] Kreiss K, Miller F, Newman LS, et al. Chronic beryllium disease: from the workplace to cellular immunology, molecular biology and back. Clin Immunol Immunopathol, 1994, 71:123
  - [ 7 ] Metzger H. Initiation of signal transduction by multi-chain immune response receptors. Immunologist, 1995, 3:129
  - [ 8 ] Sell S(ed). Immunology, Immunopathology & Immunity. 5th ed. Appleton & Lange, 1996
  - [ 9 ] Turner H and Kinet JP. Signalling through the high-affinity IgE receptor Fc  $\epsilon$  R1, Nature, 1999, 402(supp): B25
  - [10] Will-Karp M, Luyimbazi J, Xu XY, et al. Interleukin13: central mediator of allergic asthma. Science, 1998, 282: 2258

## 第十三章 自身免疫与自身免疫病

机体对各种抗原物质作出应答是免疫系统的最基本的生物学功能,称之为获得性免疫应答(adaptive immune response)。从临床医学的角度看,获得性免疫应答对机体造成的后果,视具体情况而定,或是有利的(免疫防御或免疫自稳),或是有害的(免疫性疾病)。本章则着重讨论机体对自身抗原进行免疫应答的特定条件,自身免疫应答的生理及病理意义,自身免疫病发生、发展的一般规律等问题。为理解临床的具体自身免疫病的发病机制奠定基础。

### 第一节 名词的由来与认识的演变

#### 一 自身免疫与自身耐受的经典概念

20 世纪初著名免疫学家 Ehrlich 首先提出“horror autotoxicus”(可怕的自身中毒)一词。他根据动物只对异种动物红细胞产生抗体而对动物自身红细胞不产生抗体的实验结果推断机体在正常情况下不会产生自身抗体,即无自身免疫发生;而一旦出现自身抗体,将对机体造成可怕的疾病。

20 世纪 60 年代医学诺贝尔奖获得者 Burnet 继承和发展了 Ehrlich 上述观点,根据当时胚胎期输注异种抗原可建立实验性免疫耐受的研究成果,提出了机体在正常情况下对自身抗原处于无应答状态,即呈自身耐受的经典概念。他的克隆选择学说认为抗原进入机体后通过对相应免疫细胞进行克隆选择活化而诱生相应抗体,而能识别自身抗原的免疫细胞(forbidden clone, 禁株)在动物胚胎发育阶段因接触相应自身抗原而被杀灭清除,即阴性选择,从而使机体在出生后不会再产生自身免疫应答,即处于自身耐受的状态。一旦禁株突变,自身耐受崩溃,自身免疫产生,将会导致疾病。

#### 二 生理与病理性自身免疫

自身免疫的现代概念泛指机体免疫系统产生针对自身抗原的自身抗体和(或)自身致敏淋巴细胞的现象。它既可能是病理的,也可能是生理的。只有当自身抗体或自身致敏淋巴细胞攻击自身靶抗原(可溶性自身抗原、细胞和组织),使其产生病理改变和功能障碍时形成自身免疫病。

##### (一) 天然自身抗体与病理性自身抗体

由于测定技术的进步,近 20 年来获资料证明正常健康者体内可测出多种天然自身抗体。这些抗体所针对的自身抗原包括细胞内、细胞膜或分泌成分,诸如:肌动蛋白、肌球蛋白、角蛋白、DNA、细胞色素 C、胶原、髓鞘碱性蛋白、 $\beta_2$  微球蛋白、白蛋白、铁蛋白、IgG、各种细胞因子、激素及其他小分子物质等。

这种天然自身抗体的产生并不依赖于外源性抗原的刺激;多为 IgM 类,偶见 IgG、IgA

类;具有广泛的交叉反应性;与自身抗原的亲合力低。这些特点均有别于病理性自身抗体,它们是受抗原刺激生成的、多为 IgG、特异性强,与自身抗原的亲合力高。天然自身抗体被认为在清除降解的自身抗原及衰老的细胞等从而维持自稳中起重要作用;后者则引起自身免疫病。

## (二) 自身反应性 B 细胞与 T 细胞

与 Burnet 经典观点不同,现代免疫学证明正常人或动物体内依然存在着大量自身反应性 B 细胞和自身反应性 T 细胞,它们并未被全部清除。

通过基因分析及抗体生成试验等研究,现已肯定,正常人或动物免疫系统中存在无数能产生自身抗体的 B 细胞。未成熟 B 细胞种系基因片段可编码天然自身抗体的重链、轻链可变区。CD5<sup>+</sup> B 细胞的亚群,占人胎儿 B 细胞总数的 40% ~ 60%,占成人淋巴结 B 细胞的 2% ~ 3%。这群 B 细胞能分泌 IgM 类天然自身抗体,亦参与某些自身免疫病。

新近著名自身免疫学专家 Rose 等提出观点,认为关键性自身表位(critical self-epitope, CSE)是理解自身耐受和自身免疫的要害。CSE 是指那些广泛分布于个体组织,并代表个体特异的关键性多态性决定簇(critical polymorphic determinant),如 ABO 或 Rh(D)血型抗原,它们不仅分布红细胞表面,并分布于其他组织,机体 B 细胞库对这些 CSE 已发生严格的克隆清除。与此相反,机体 B 细胞库中却依然保存着对非 CSE 的克隆。所谓非 CSE 是指那些个体间、甚至种系间的共有决定簇(public determinant),或称单态决定簇(monomorphic determinant),如 ABO 血型抗原的共有前体 H 抗原和 Rh 系统的 Ii 抗原等,它们是物种进化中极为保守的抗原。在自身免疫性溶血性贫血者体内从未测出抗 ABO 或 Rh(D)等 CSE 的抗体,而经常测出抗非 CSE 血型抗原的抗体可作为此观点的例证。

已知大量能与自身抗原反应的 T 细胞在胸腺分化成熟过程中因阴性选择而死亡,发生克隆清除,但从胸腺中迁移到外周血的成熟 T 细胞中依然存在着一些能对自身抗原发生免疫应答的群体,在体外实验系统中,它们能对髓鞘碱性蛋白、乙酰胆碱受体、血清白蛋白等自身抗原起增殖反应。这类细胞在体内生理条件下不会被大量激活,多处于静止状态,如在某些病理条件下(见下节)被大量激活可导致自身免疫病。

## 三 自身耐受的机制

20 世纪 70 年代之后,由于自身抗体的测出、自身反应性 T、B 细胞的存在,必须对自身免疫耐受的机制重新研究。至今,除了业已公认的“克隆清除”机制之外,尚有多种途径。下面分别简述 T、B 细胞自身抗原耐受的机制。

### (一) T 细胞对自身抗原耐受的机制

1. 中枢耐受(central tolerance): 中枢耐受指未成熟 T 细胞在胸腺内发育过程中识别胸腺基质细胞(APCs)上的 MHC-自身抗原复合物后,通过凋亡机制被清除,即被阴性选择而不复存在,称之为克隆清除(clonal deletion)。

2. 外周耐受(peripheral tolerance): 外周耐受指一些自身反应性 T 细胞可逃避胸腺阴性选择,并在胸腺内成熟后进入外周血 T 细胞库。通常它们仍保持无反应即耐受状态。主要通过以下途径:①自身抗原缺乏协同刺激(costimulation)不能有效激活自身反应性 T 细胞,而致克隆无能(clonal anergy)。组织中静止状态的 APC 通常仅表达低水平的协同刺激分子(costimulator)及细胞因子。组织损伤或炎症时 APC 激活而协同刺激分子及细胞因子分泌增

高,导致自身耐受破坏而自身免疫产生。②激活细胞凋亡又称激活诱导的细胞死亡(activation-induced cell death)。特异性 T 细胞受高浓度自身抗原反复刺激激活后,被 Fas 介导的凋亡而清除。③自身反应性 T 细胞受调节因子抑制:如调节性 T 细胞分泌的抑制性细胞因子白细胞介素 10 (IL-10)、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、活化 T 细胞表面表达的 CTLA-4 等。④免疫不识别(immune ignorance)是免疫耐受的一种被动形式。由于某些组织的解剖特殊,使免疫系统不能接触该组织的抗原,称为隐蔽抗原(sequestered antigen)。如中枢神经系统、甲状腺、精子及晶状体等组织中的抗原。正常情况下,免疫细胞对这些抗原不识别。

## (二) B 细胞对自身抗原耐受的机制

1. 中枢耐受:未成熟 B 细胞在骨髓中与自身抗原相遇后的命运很大程度上取决于抗原的价数及浓度。一般地讲,多价抗原(如膜关联蛋白质 membrane-associated protein)或高浓度抗原均可导致 B 细胞死亡即克隆清除,而较低剂量抗原则导致细胞功能的无能。两者的生物化学机制尚不清楚。细胞无能的可能机制是:①无能细胞膜表面 Ig 受体表达减少。②该细胞表面抗原受体不能转导结合抗原后的活化信号。

2. 外周耐受:周围组织中的成熟 B 细胞对自身抗原呈无反应性机制有:①缺乏特异性 Th 细胞的辅助:见于 T 细胞克隆清除或无能化等情况。例如 T、B 细胞接触同一耐受原后,低剂量抗原即足以使 T 细胞产生耐受(低区节耐受),而 B 细胞此时不会形成耐受,但因失去 Th 的辅助,亦不能活化。在大剂量(10~100 倍的低区节耐受剂量)抗原作用下, T、B 细胞均产生耐受,但 T 细胞呈现耐受的时间大大长于 B 细胞, B 细胞虽恢复其反应性,但因 T 细胞仍处耐受状态,得不到 Th 的协助,仍不能活化。②克隆无能:因 B 细胞整个表面受体给单价可溶抗原占据或高剂量多价抗原使细胞表面抗原受体广泛交联致细胞膜不能流动(膜受体呈“冻结”状态)所引起。③抑制性细胞的主动抑制作用:如抑制性 T 细胞(Ts)、自然抑制细胞(natural suppressor)、抑制性单核巨噬细胞等。④抗独特型网络对免疫应答的自限作用。

## 第二节 病理性自身免疫

### 一 诱因

#### (一) 自身抗原与其他激活剂

1. 释放的隐蔽抗原:隐蔽抗原是指体内某些与免疫系统在解剖位置上处于隔绝部位的抗原成分。按 Burnet 学说,由于这些抗原在胚胎期未曾与免疫系统发生过接触,故体内能与这些抗原起反应的免疫活性细胞未消失。在手术、外伤或感染等情况下,隐蔽抗原释入血流或淋巴道与免疫系统接触,从而发生自身免疫。精子、眼晶状体、神经髓鞘磷脂碱性蛋白,某些器官、细胞(如甲状腺、胃壁细胞等)特异的微粒体抗原属此类型。实验证明,将眼晶状体或精子抗原注入动物自身体内,可诱发自身抗体。人体输精管结扎后可形成抗自身精子的抗体以及眼球损伤后则可发生交感性眼炎。

2. 修饰的自身抗原:一系列生物、物理、化学因子均可使自身抗原成分改变以至引起病理性自身免疫反应。

微生物感染机体,破坏组织细胞造成自身组织抗原改变,使之成为“非己”的物质而产生自身抗体。例如肺炎支原体感染可改变红细胞表面的 I 抗原,产生抗红细胞的冷凝集素。

另在感染过程中,中性粒细胞吞噬细菌后放出溶酶体酶,改变了自身 IgG 分子结构。这种变性的 IgG 可作为“非己”物质刺激机体产生抗 IgG 抗体,这种抗体主要是 IgM 成分,形成 IgG-IgM 凝聚体,即类风湿因子。类风湿因子在少部分正常人(老年人)中以及在很多慢性病患者体内均可发现,如梅毒、瘤型麻风、结核、乙型肝炎以及一些寄生虫感染。此外,溶酶体酶也可改变自身细胞表面抗原,如诱导产生抗粒细胞抗体,引起粒细胞减少。

在病毒感染如乙型肝炎病人中还常发现抗核抗体、抗线粒体、抗平滑肌抗体等多种自身抗体。现已知病毒感染宿主时,在病毒进入细胞复制、繁殖的过程中,病毒抗原 DNA 能整合到宿主细胞,使宿主细胞膜抗原或组织相容性抗原、微丝肌动蛋白等成分发生改变。

化学药物引起自身抗原的改变也并不少见。如长期服用  $\alpha$  甲基多巴的患者中有 10% ~ 15% Coombs 试验阳性,约有 1% 可发生自身溶血性贫血。这种病人在红细胞成熟过程中受药物影响改变了红细胞膜上的 Rh 系统的 e 抗原,产生抗红细胞抗体。又如长期服用胍苯达嗪、普鲁卡因酰胺、异烟肼等药物可引起红斑狼疮样综合征,常可测得抗核抗体。这些药物能与细胞内组蛋白或 DNA 结合,改变自身免疫反应。亦可能是由于组织自身抗原受到部分酶解,使天然分子中原处于隐匿部位的抗原决定簇暴露,被机体作为新抗原加以识别。这种看法有一定的实验根据,例如兔甲状腺球蛋白经胰酶消化处理后可使兔产生免疫反应,经白细胞蛋白酶消化的兔甲状腺球蛋白也能引起兔的甲状腺炎。

3. 交叉抗原:某些微生物的抗原与自身组织成分有共同抗原性。因此在感染这些微生物后,机体所产生的抗体和致敏淋巴细胞对有关的自身组织也可产生免疫反应。如 A 组溶血性链球菌某些型别的胞壁抗原和胞质膜抗原与人肾脏基底膜及心肌瓣膜成分相同,也与人心肌、骨骼肌、小动脉平滑肌相同,因此溶血性链球菌感染与风湿病和肾小球肾炎有密切关系。又如大肠杆菌 O14 与结肠粘膜有类似的抗原性,它与溃疡性结肠炎的发生有关。除此之外,尚有许多其他交叉抗原发现(表 13-1a、1b)。

4. 非特异免疫细胞刺激剂:上述自身抗原只激活相应抗原特异的淋巴细胞克隆。而非特异免疫细胞刺激剂,如佐剂, T、B 细胞多克隆激活剂,近年来发现的超抗原,通过多克隆激活静止的自身反应性 T、B 细胞,促进自身免疫应答甚至自身免疫病的形成。福氏完全佐剂联合自身组织匀浆或已知纯化自身抗原,被广泛用来诱发实验性自身免疫病并获满意结果。

## (二) 机体因素

1. 遗传因素:临床上早就发现自身免疫性疾病的发生有家族史倾向。实验研究中陆续发现了几种自身免疫性疾病的高发株(NZB、NZB/NZW F1 小鼠、OS 来亨鸡等),这进一步提示遗传与自身免疫病的关系。20 世纪 70 年代以来,对人白细胞抗原(HLA)的研究有了很大进展。以此作为重要的遗传标志研究发现 HLA 与某些疾病,特别是某些自身免疫性疾病的发生密切相关。如强直性脊椎炎的病人中有 90% 以上带有 HLA-B27 抗原。凡带有 HLA-B8、Dw3、DRw3 单元型的人发生多种自身免疫病的危险性比带有其他型的人高得多。爱迪森氏病(Addison disease)与 B8、DR3、DR4、DR3/4 有关。新近人们对 MHC 与疾病关联的研究深入到了分子序列水平。糖尿病抵抗者 DQ $\beta$  链第 57 位是天冬氨酸,而易感染者常出现丝氨酸、缬氨酸或丙氨酸。

近年来,对于自身免疫病易感基因的研究正迅速向广度发展。发现免疫球蛋白(Ig)同种异型及独特型基因、T 细胞抗原受体(TCR)基因、细胞因子基因、细胞凋亡(apoptosis)基因

表 13-1

(a) 交叉抗原举例

微生物抗原	自身抗原
链球菌 M 蛋白	心肌球蛋白
Yersinia 菌氮化酶	HLA-B27
逆转录病毒 P30 GAG	U <sub>1</sub> RNA
EB 病毒 GP110	HLA-Dw4
EBV EBNA-1	类风关滑液细胞
EBV BBLF1 蛋白	HLA-DQw8
乙肝病毒多聚酶	髓鞘碱性蛋白
结核菌热休克蛋白(HSP)	人 HSP
细胞磷脂	DNA

(b) 病源体 HSP60 与人自身抗原相似性

HSP60 区域	已知自身抗原	自身抗原区域	相似程度(%)	有关疾病
1~17	髓过氧化物酶	594~610	60	肾小球肾炎
7~21	细胞色素 P450	359~372	64	慢性活动性肝炎
65~75	甲状腺球蛋白	393~403	58	慢性甲状腺炎
86~100	肌凝蛋白重链	516~530	62	柯萨基心肌炎
101~123	细胞角蛋白	83~105	58	类风湿性关节炎
108~117	DNA-结合蛋白	73~82	58	SLE
468~480	乙酰胆碱受体	133~145	63	重症肌无力

等有不同程度的关联性。例如在类风湿性关节炎与 SLE 病人中发现 Ig<sub>VH</sub>基因缺失。细胞因子及其受体的基因结构、转录及其功能的缺陷在多种自身免疫综合征中发现。凋亡是一种由基因引导的细胞死亡过程,是程序性死亡的主要形式,被 bax、bcl-Xs、ICE、Fas/APO-1、c-myc、nur 77、ich-1<sub>L</sub>、p53 等基因激活,bcl-2、bcl-X<sub>L</sub>、ich-1s 等基因抑制。Fas(APO-1,CD95)基因的缺陷导致 SLE 样变化。并且发现某一自身免疫病的易感性与多基因有关。如人类 IDDM 与 GAPI、MHC、SODZ、GAD2、INS 等有关。

2. 机体免疫系统功能失常:统计数字表明体液或细胞免疫缺陷者自身免疫病的发生率高于正常随机人群。先天性或后天获得性低丙球蛋白血症者自身免疫病的发生率可高达 14%,而正常人群(指无免疫缺陷)中的发生率仅 0.001%~0.01%。细胞免疫缺陷常同时伴有肿瘤与自身免疫病的高发现象。

胸腺功能不全、慢病毒感染、增生性变化等与自身免疫病的发生有关。SLE 患者血清中胸腺激素含量下降、胸腺萎缩,试用胸腺素治疗曾观察到症状缓解。摘除胸腺对重症肌无力者有显著疗效。

3. 性别与内分泌:临床观察发现一些自身免疫病好发于妇女(表 13-2)。

动物实验证实了性激素在自身免疫发展中的作用,将雄性 NZB 小鼠进行阉割,可加速病变,病情加剧,寿命缩短。而雄性病鼠接受雄激素治疗则可延长寿命。

20 世纪 50 年代之前,现知的自身免疫病被分类列入“原因不明性疾病”。几十年来,科学虽有进步,但对每一位自身免疫病患者确诊其具体诱因仍为难题。

表 13-2 自身免疫病发生率的性别差异

疾 病	女性:男性
慢性甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)	50:1
SLE	9:1
干燥综合征	9:1
甲状腺毒症	8:1
I型糖尿病	5:1
类风湿性关节炎	4:1
重症肌无力症	2:1

二 发生机制

总的来说,病理性自身免疫的发生机制是通过种种途径使体内自身反应性 T、B 细胞异常激活所致。前已述及,正常机体通过识别自身抗原的 T 细胞在胸腺中发育分化时被阴性选择而克隆清除;未被清除的克隆也因缺乏刺激信号或受复杂的免疫抑制、抗独特型网络的调控等因素而处于静止状态。在各种机体内、外诱因作用下,这些自身反应 T、B 细胞可通过以下主要机制被病理性地激活。

(一) 出现自身抗原与自身反应 T、B 细胞接触机会

释放的隐蔽抗原一旦有机会与自身反应 T、B 细胞接触,它们就会像异种抗原那样刺激后两者活化而有效地产生自身免疫应答。

(二) 辅助活化信号出现或增多

一些器官特异的自身抗原,它们表达在体细胞表面,有机会与自身反应性 T、B 细胞接触,但由于这些细胞表面(如胰岛  $\beta$  细胞、甲状腺细胞等)平时不表达 MHC II 类抗原递呈而不被识别。一旦这些器官局部受感染因子、细胞因子如干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 等作用而使其细胞表面出现或增多 MHC II 类抗原时,便具备了活化 T、B 细胞的必要信号。近年来研究证明,APC 活化 T 细胞必须同时传递两个信号,第一信号为 MHC-抗原,第二信号为共刺激分子,如 B7-1、B7-2 等。静止 APC 表面缺乏共刺激信号,损伤、炎症、佐剂等可活化 APC,使其表面共刺激分子表达增加,导致阳性免疫应答,免疫耐受状态崩溃。

(三) Th 细胞旁路激活

所有自身免疫应答(包括 T、B 效应细胞)几乎都是 T 细胞(Th)依赖的。通常 T 细胞较 B 细胞易于被小量抗原作用而出现快速并长时期的耐受状态,使相应免疫应答潜能的 B 细胞因失去 Th 的辅助作用而无力活化。而修饰的自身抗原、交叉抗原可能提供激活新的 Th 克隆的活性基因,取代了已耐受的 Th 克隆,即通过旁路,对特异性 B 细胞克隆提供了有效的辅助活化信号,从而产生有效自身免疫应答。

(四) 激活诱导的细胞死亡机制障碍

前文已指出激活诱导的细胞死亡是外周耐受的重要机制之一。动物实验观察到 Fas 或 Fas 配体缺陷小鼠易产生自身免疫。两种纯合子纯系小鼠 lpr/lpr (lymphoproliferation) 及 gld/gld (generalized lymphoproliferative disease) 均有类似于人类系统性红斑狼疮的动物模型,6 月龄时死于严重的系统性自身免疫病,lpr 小鼠有 Fas 基因缺陷,而 gld 小鼠则 Fas 配体由于点突变而失去信号传导能力。反之,Fas、FasL 的异常高表达造成 Fas-FasL 介导的细胞凋亡可能是多种器官特异自身免疫病的共同发病机制。如原不表达 Fas 的胰岛  $\beta$  细胞受炎症介质,如 IL-1 $\beta$  和 NO 诱导而表达 Fas,该细胞接触表达 FasL 的 T 细胞时,便发生 Fas-FasL 相互



作用所致的凋亡。这可能是 IDDM 重要发病机制之一。多发性硬化症、自身免疫性甲状腺炎亦可能有类似发病机制参与。

#### (五) 多克隆激活

B 细胞和(或)T 细胞多克隆激活均有可能参与自身免疫病的发生机制。许多微生物抗原是 T、B 细胞多克隆激活剂。动物实验最好的例子是注射 B 细胞多克隆激活剂 LPS 后可诱导生成多种多样特异性的抗体,其中包括多克隆自身抗体。系统性免疫性疾病常测出多种自身抗体可能与此有关。细菌、病毒的超抗原多克隆激活的 T 细胞可与 B 细胞表面的 MHC II 抗原-超抗原复合物反应,使 B 细胞呈多克隆激活而生成多克隆自身抗体。大剂量 IL-2 治疗肿瘤病人后出现自身免疫性甲状腺炎及抗红细胞自身抗体可能与 IL-2 对 T 细胞多克隆激活有关。

#### (六) 免疫调节紊乱

免疫调节功能紊乱参与自身免疫病的发生机制也屡有证明。具有不同调节功能的 T 细胞亚群或参与诱导或参与抑制自身免疫病的发生。例如若去除糖尿病抵抗型大鼠(BB 亚系)的  $RT6.1^+$  T 细胞可使动物转变为对疾病易感;反之,对疾病易感动物输入  $CD4^+ CD45RC^{LO}$  T 细胞可抑制疾病。给实验变态反应性脑炎(EAE)动物去除  $CD8^+$  细胞(通过去掉基因或用抗 CD8 抗体)后使病情发生明显变化:死亡率显著降低。 $T_s$  细胞能抑制自身反应细胞的激活,若  $T_s$  细胞数量或功能降低, $T_h$  和(或) $T_{cs}$ (反抑制 T 细胞)细胞数量增多或活跃,致使自身反应细胞发生脱抑制而功能亢进,都可导致自身免疫的发生。

早期系统的实验资料主要从研究 SLE 样综合征自发品系 NZB 鼠获得。对 NZB 及 NZB/NZW 小鼠自出生后逐月进行免疫功能检测。从时间顺序看,这种动物体内最早出现的是 T 细胞调节功能紊乱。约在出生后 1 个月,动物血清中胸腺激素活性下降、 $T_s$  细胞功能减退。T 细胞对诱导免疫耐受呈抵抗,然后再出现 B 细胞功能亢进。接近 3 月龄时,血清中才出现抗核抗体、抗淋巴细胞表面抗原抗体、其他抗血细胞抗体等多种自身抗体。

受动物实验启示,临床免疫工作者测定各种自身免疫病患者外周血 T 细胞亚群,也发现类似变化。应用抗 T 细胞分化抗原单克隆抗体测定时,发现 SLE 和类风湿关节炎患者在病情活动时, $T_s$  细胞比例下降,用 Con A 在体外刺激病人淋巴细胞不能诱发非特异性的  $T_s$  细胞。

$CD4^+$  T 细胞起着重要的免疫调节功能。近年发现, $CD4^+$  T 细胞可分为  $Th1$ 、 $Th2$  两类。 $Th1$  参与器官特异性自身免疫病的发病; $Th2$   $CD4^+$  T 细胞则能防止这些疾病。应用  $Th1$  抑制物(如抗 IL-2 受体、抗 IFN- $\gamma$  或 IL-12 的单抗)或  $Th2$  的细胞因子(如 IL-4、IL-10)等可抑制疾病;反之, $Th1$  刺激剂(IFN- $\gamma$ 、IL-12)或  $Th2$  抑制物(如 IFN- $\gamma$ 、抗 IL-4)可加速疾病。

T 细胞抑制性受体缺陷,如将小鼠编码针对协同刺激分子的 T 细胞抑制性受体 CTLA-4 基因敲除,则导致动物产生致死性的自身免疫病,表现为心、胰脏、其他脏器 T 细胞浸润及组织损伤。

### 第三节 自身免疫性疾病及其治疗原则

#### 一 自身免疫性疾病的基本特征与分类

##### (一) 基本特征

自身免疫性疾病往往同时具有以下特点:①患者血液中可测得高效价自身抗体和(或)

自身组织成分起反应的致敏淋巴细胞。②自身抗体和(或)自身致敏淋巴细胞作用于靶抗原所在的组织细胞造成相应组织器官的病理性损伤和功能障碍。换句话说,患者组织器官损伤的范围取决于自身抗体或致敏淋巴细胞所针对的自身抗原分布。③在动物实验中可复制出相似的病理模型,并能通过病理动物的血清或淋巴细胞使疾病被动转移。④病情转归与自身免疫反应强度密切相关。⑤除一些病因明了的继发性自身免疫性疾病可随原发疾病的治愈而消退外,多数原因尚不明的自身免疫病常呈反复发作和慢性迁延趋势。⑥疾病的发生有一定的遗传倾向。

(二) 分类

至今,已有数十种疾病被认定为自身免疫病。

1. 按受累的系统分类:如表 13-3 所示。

表 13-3 按受累的系统分类

不同系统疾病	自 身 免 疫 病 举 例
结缔组织疾病	类风湿性关节炎,系统性红斑狼疮,皮肌炎,硬皮病
神经肌肉疾病	多发性硬化症,重症肌无力,脱髓鞘疾病
内分泌性疾病	原发性肾上腺皮质萎缩,慢性甲状腺炎,青少年型糖尿病
消化系统疾病	慢性非特异性溃疡性结肠炎,慢性活动性肝炎,恶性贫血,萎缩性胃炎
泌尿系统疾病	自身免疫性肾小球肾炎,肺肾出血性综合征
血液系统疾病	自身免疫性溶血性贫血,特发性血小板减少性紫癜,特发性血小板减少症

2. 按器官特异或非特异区分:如表 13-4 所示。

表 13-4 自身免疫病按器官特异与非特异区分

类 型	疾 病
器官特异	慢性甲状腺炎(Hashimoto's 甲状腺炎)
	原发性粘液性水肿
	甲状腺毒症
	恶性贫血
	自身免疫性萎缩性胃炎
	原发性肾上腺皮质萎缩(Addison's 病)
	过早停经(少数病例)
	男性不育(少数病例)
	重症肌无力症
	青少年型糖尿病
	肺肾综合征(Goodpasture's 综合征)
	寻常天疱疮
	类天疱疮
	交感性眼炎
	晶状体葡萄膜炎(phacogenic uveitis)
	多发性硬化症
	特发性血小板减少性紫癜
	特发性白细胞减少症
	活动性慢性肝炎(乙型肝炎)
	溃疡性结肠炎
非器官特异	干燥综合征(Sjogren's 综合征)
	类风湿性关节炎
	硬皮病
	多发性肌炎
	系统性红斑狼疮(SLE)

表 13-4 的上端例举的器官特异性疾病伴有器官特异性自身抗体,病理损伤局限在相应靶组织。例如慢性甲状腺炎患者血清中仅有甲状腺球蛋白特异的自身抗体,病理损伤亦局限于甲状腺局部。从该表由上向中看,这些疾病的病理损伤仍局限于单个器官,但检出的抗体已呈非器官特异性。如原发性胆汁性硬化症时,病变主要表现为小胆管炎性细胞浸润,但血清中抗体主要针对线粒体,并非肝脏特异。在表格的下端则为非器官特异的,病变和抗体均广泛。此外同一名自身免疫病患者可能同时患有表 13-4 某一谱区中的几个疾病。如慢性甲状腺炎患者较同龄同性随机人群中恶性贫血的发病率明显增高(10%对 0.2%)。与此同时,恶性贫血者中自身免疫性甲状腺炎发病率亦高于期望值。自身免疫病患者血清抗体谱的交叠(overlap)现象更为明显。如 30% 自身免疫性甲状腺病患者血清中可查出抗胃壁细胞抗体,而高至 50% 恶性贫血患者中可查得抗甲状腺抗体。并业已证明,这些抗体并非交叉反应抗体,甲状腺特异抗体并不与胃组织起反应,反之亦然。

二 自身抗体与自身免疫病

(一) 已知自身抗体所针对的自身抗原

表 13-5 所示人类自身免疫病的自身抗体所针对的自身抗原。

表 13-5 人类自身免疫病中的自身抗体

疾 病 名 称	自 身 抗 原
慢性甲状腺炎	甲状腺球蛋白
原发性水肿	第二胶质抗原(CAZ),甲状腺过氧化酶;胞质、胞膜表面的
甲状腺毒症	甲状腺细胞表面 TSH 受体
恶性贫血	内因子壁细胞胃泌素受体
原发性肾上腺皮质萎缩	肾上腺细胞胞质(17 $\alpha$ /21-hydroxylase)
过早停经	胞质皮质激素生成细胞
部分男性不育	精子
青少年型胰岛素依赖型糖尿病	胰岛细胞胞质及胞膜胰岛素,GAD 及 ICA512
伴共济失调-毛细血管扩张的胰岛素抵抗型糖尿病	胰岛素受体
重症肌无力症	乙酰胆碱受体
多发性硬化症	神经末梢钙(Ca <sup>2+</sup> )通道,脑
肺肾综合征	肺、肾小球基底膜Ⅳ型胶原
自身溶血性贫血	红细胞膜蛋白
特发性血小板紫癜	血小板膜蛋白(如 gp11b/111a)
原发性胆汁硬化	线粒体(焦葡萄糖酸盐脱氢酶)
溃疡性结肠炎	直肠“脂蛋白”,直肠上皮细胞表面蛋白
干燥综合征	SS-A(Ro),SS-B(La)导管/线粒体/细胞核/甲状腺
类风湿性关节炎	IgG
系统性红斑狼疮	DNA,核蛋白,血液有形成分的抗原,凝血因子,IgG,心磷脂

(二) 自身抗体造成病理损伤的机制

1. 抗体介导的细胞毒作用: 自身抗体(主要是 IgG 类)与细胞膜表面自身抗原相结合,然后通过下列不同途径杀伤靶细胞:①固定并激活补体,C1q 是可溶性的 Fc 受体,能与 IgG 或 IgM 的 Fc 段结合,导致补体系统级联反应的作用,最后使细胞发生不可逆性破坏,膜表面发现 100 nm 孔洞,细胞内容物漏出,细胞溶解。②通过免疫调理,靶细胞粘附于吞噬细胞(巨噬细胞、中性粒细胞)表面,然后被吞噬裂解。

2. 抗体刺激靶细胞：其特点是自身抗体与细胞膜表面的靶抗原结合后,不结合补体,细胞不受损伤,反而受刺激而致功能亢进。某些甲状腺功能亢进症患者血清中含有长作用甲状腺刺激素(LATS)是一种抗甲状腺组织抗原的 IgG 型抗体,能通过胎盘进入胎儿体内发挥同样作用。电镜查见 LATS 与甲状腺细胞表面抗原结合,细胞内蛋白合成增加,高尔基复合体增大,LATS 促进甲状腺分泌增加,造成甲状腺功能亢进症。近年来进一步发现,促甲状腺激素抗体在甲状腺功能亢进症的发病中较 LATS 的作用更重要,它在甲状腺功能亢进患者中检出率更高。

3. 抗体中和作用：抗体与体内有重要生理活性的抗原物质或受体结合,使其灭活、丧失功能,从而出现相应病症。临床已经证实的有:抗血凝物质抗体使抗凝物质失活;重症肌无力症患者出现的抗乙酰胆碱受体抗体;青年型糖尿病时抗胰岛素受体的抗体均使相应细胞受体的生物效应丧失。

4. 与抗原形成免疫复合物后的损伤作用：自身抗体与游离于细胞外的抗原相结合形成抗原抗体免疫复合物,在一定条件下可沉积于全身或局部血管壁基底膜或滑液囊、组织间隙。免疫复合物在局部激活补体,释放 C3a、C5a、C567。后者可趋化中性粒细胞造成局部细胞浸润、局部组织分解坏死;激活内源性凝血系统造成微血栓,而使局部缺血出血;使嗜碱粒细胞、肥大细胞脱颗粒、血小板激活而释放血管活性肽类,使毛细血管通透性增加,局部水肿。

促进免疫复合物沉积于组织间隙的因素有:①循环中不断有免疫复合物形成,这与自身抗原的不断刺激,自身抗体不断形成有关;②清除免疫复合物的功能减退或促沉着因素增强。

抗原呈单价或双价、抗体亲和力低,抗原量略高于抗体时形成中等分子量(8.5~19s)可溶性免疫复合物、单核巨噬细胞功能低下、血管通透性增加等因素均使免疫复合物清除不良。SLE 时的肾小球肾炎、类风湿关节炎、血管炎与本机制有关。

### 三 自身致敏 T 细胞与自身免疫病

自身致敏淋巴细胞是由自身反应性 T 细胞受自身抗原刺激后经活化、转化、增殖和分化而成,能识别并攻击带有相应特异自身抗原靶细胞。

#### (一) 致敏 T 细胞参与自身免疫病的证据

1. 输注自身抗原特异性 T 细胞转移疾病：疾病转移试验可以提供 T 细胞是否具有致病作用最可靠而直接的证据(表 13-6)。

表 13-6 抗原特异性 T 细胞参与自身免疫病的证据

疾 病	T 细胞克隆/系所 针对的特异抗原	自病损局部或血液取得		在动物模型中转移 疾病的能力
		病人	动物模型	
实验变态反应性脑脊髓炎	髓鞘碱性蛋白	否	是	是
实验变态反应性神经炎	外周神经髓鞘 P2 蛋白	否	是	是
重症肌无力症	乙酰胆碱受体	是	是	是
某些甲状腺功能亢进、自身 免疫性甲状腺炎	甲状腺滤泡上皮细胞	是	是	是
病毒性心肌炎	病毒(如柯萨基)	否	是*	是

\* CD8<sup>+</sup> T 细胞克隆;表中所列的其他 T 细胞克隆均属 CD4<sup>+</sup>

2. 一些器官特异性自身免疫病局部  $CD4^+$ 、 $CD8^+$  T 细胞浸润并见由此引起的周边效应: 胰岛素依赖型糖尿病(IDDM)又称青少年型或 I 型糖尿病。病人缺乏胰岛素的病理基础在于胰腺朗罕氏岛  $\beta$  细胞的破坏。这种病理损伤虽有抗胰岛细胞自身抗体的参与,但从早期活动期典型胰岛病变局部可检出大量  $CD4^+$ 、 $CD8^+$  T 细胞浸润,存活胰岛细胞表面常异常表达 MHC II 类分子,局部尚有大量巨噬细胞浸润,推测这些变化都后继于局部 T 细胞释放的各种淋巴因子的作用。

类风湿性关节炎患者炎症滑膜局部的浸润细胞中除了激活的 B 细胞、浆细胞外,尚有  $CD4^+$  T 细胞,巨噬细胞。后两类细胞释放的淋巴因子(IL-1、TNF 等)可刺激滑液细胞产生水解酶、降解胶原、破坏软骨、筋膜等。现有资料提示类风关炎症局部致敏 T 细胞大多能在体外试验中对保守的热休克蛋白(HSP)出现增殖反应,外源性的 HSP 与自身 HSP 或其他抗原常有交叉反应。

尚有慢性甲状腺炎、甲状腺功能亢进者局部、多发性硬化症患者脑脊液及血液中、重症肌无力患者血液中、牛皮癣皮损局部等均能查见自身抗原特异性的 T 细胞。

3. 去除或阻断自身致敏 T 细胞可消除或减轻病症: 小鼠、大鼠、豚鼠实验性变态反应性脑炎是迄今为止最好的 T 细胞介导的器官特异性自身免疫病模型,所针对的自身抗原分子已明确为髓鞘碱性蛋白(MBP)。已知介导 EAE 的 T 细胞是  $V\beta 8$  或  $V\beta 13$   $CD4^+$ ,受 MHC II 类分子约束。已知 MBP 分子的氨基酸序列动物接受 MBP 致病剂量 10~100 剂量的 MBP 变构体与致病剂量的 MBP 混合注射后,EAE 的发病率显著降低。提示抗原相互竞争阻止了 MBP 特异性 T 细胞激活从而防止了疾病。这不但证明了 T 细胞的致病作用,而且对疾病的防治有很好启示。

在实验性 IDDM 模型的研究中发现,若预先使动物特异性 T 细胞获得耐受性,则原来 IDDM 典型的胰岛炎的病变不再出现。

## (二) 自身致敏 T 细胞造成自身免疫病理损伤的机制

$CD4^+$ 、 $CD8^+$  自身致敏 T 细胞作为效应细胞识别与攻击带有特异自身抗原靶细胞的机制是与这两种细胞针对带有异种抗原靶细胞时的作用相同的。

1.  $CD4^+$  T 细胞的作用机制:  $CD4^+$  T 细胞受抗原递呈细胞表面的抗原肽段-MHC II 类复合物刺激后经一系列过程而分化为致敏  $CD4^+$  T 细胞。这些细胞再次与特异抗原结合可释放多种多样的具有不同效应功能的淋巴因子,从而辅助体液(抗体生成)免疫或介导细胞免疫。现知不同效应是由不同  $CD4^+$  T 细胞亚群完成的。 $Th2$   $CD4^+$  T 细胞主要分泌白细胞介素 3、4、5、6(IL-3,4,5,6)等而辅助特异性抗体的产生。而  $Th1$   $CD4^+$  T 细胞主要分泌白细胞介素 2(IL-2)、 $IFN-\gamma$ 、淋巴毒素(LT)即(TNF  $\beta$ )等诱导局部迟发性炎症反应。前述的各种自身免疫病的炎症变化主要由这类细胞介导的。细胞因子 TNF 使血管内皮细胞表达内皮白细胞粘附分子-1(ELAM-1)、ICAM-1 及 VCAM-1。这些分子的相应配体位于多形核白细胞、淋巴细胞与单核细胞,故高表达上述分子的血管内皮表面依此与上述细胞粘附。TNF 促使内皮细胞分泌低分子量炎性细胞因子如 IL-8、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)增加白细胞移动,促使这些细胞向血管外移动,而向炎症局部聚集,是为炎症浸润细胞。有一些细胞因子使炎性细胞活动性增加,如  $IFN-\gamma$  使静止巨噬细胞转为活化巨噬细胞,具有更强的吞噬能力,并更多地释放出炎性介质如血小板活化因子(PAF)、前列腺素、白三烯、脂类等加重炎症。此外活化巨噬细胞还释放一些破坏组织细胞而代之以结缔组织增生的细胞因子,如转

化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )有助胶原合成。导致局部组织形态多样性的炎症变化。

2. CD8<sup>+</sup>T 细胞的作用: CD8<sup>+</sup>细胞毒 T 细胞(CTL)的前体细胞经 MHC I 类抗原-抗原肽复合物及 CD4<sup>+</sup>细胞分泌的淋巴因子(IL-2、IFN、IL-6)两种信号激活分化成有杀伤活性的 CTL。CD8<sup>+</sup>CTL 功能就是识别、杀伤溶解带有相应 MHC I 类抗原-特异抗原肽复合物的靶细胞。这个过程主要经以下步骤:①CTL 识别靶细胞表面抗原,并相互结合;②CTL 活化;③CTL 给靶细胞传递致死性攻击信息,如穿孔素、颗粒蛋白酶等可使靶细胞膜出现直径约 20 nm 孔洞,促进靶细胞核 DNA 碎裂成段;④CTL 离开靶细胞;⑤受攻击靶细胞发生程序性死亡,造成组织损伤。而 CTL 本身并不受损,尚能进而以同样方式杀伤一连串其他靶细胞。

前文已述,自身免疫病的病理损伤均由自身免疫应答的效应物质,抗体或致敏 T 细胞所介导的。而某一个具体疾病则可能由其中之一或多种复合因素参与所致。表 13-7 举例说明。

表 13-7 自身免疫应答产物造成病理损伤的机制

自身免疫病	自身免疫应答产物	超敏反应类型	病损特征
肺肾综合征 (Goodpasture 综合征)	抗肾小球、肺泡基底膜 IV 胶原抗体	II	肾小球肾炎,伴蛋白尿、肺 出血
自身免疫性溶血性贫血	抗红细胞膜蛋白抗体	II	溶血
自身免疫性血小板减少性 紫癜	抗血小板膜蛋白抗体,如 gpII b/IIIa 抗体	II	血小板破坏,减少
重症肌无力	抗神经肌接头处乙酰胆碱 受体的抗体和自身致敏淋 巴细胞	II、IV	乙酰胆碱受体破坏,神经 冲动传递低下,肌无力
类风湿性关节炎	抗 IgG 抗体(类风湿因子) 抗 HSP 致敏淋巴细胞(?)	II、IV(?)	关节炎症
系统性红斑狼疮	抗 DNA、核蛋白、各种血 细胞膜抗原等抗体	II、III	血细胞减数,多部位(肾、 关节、血管)炎症
实验性变态反应性脑炎	抗髓鞘碱性蛋白之自身致 敏 T 细胞	IV	脑脊髓炎症
实验性变态反应性神经炎	抗外周神经髓鞘 P2 蛋白 致敏 T 细胞	IV	神经炎
某些自身免疫性甲状腺炎	抗甲状腺滤泡上皮细胞之 致敏 T 细胞	IV	甲状腺炎
甲状腺功能亢进	抗 TSH 受体抗体	其他	甲状腺细胞分泌甲状腺素 增加

#### 四 自身免疫病治疗原则

自身免疫病的治疗尚缺乏理想的方法。通常针对疾病的病理变化和组织损伤所致的后果进行治疗,也可通过调节免疫应答的各个环节阻断疾病进程来达到治疗的目的。

##### (一) 抗炎药物

大剂量皮质激素的应用可有效地抑制一些重症自身免疫病所致的炎症反应。其他抗炎药物如水杨酸制剂、各种合成的前列腺素抑制剂等也被广泛采用。淋巴因子和补体的拮抗剂亦有利于抑制炎症反应。

##### (二) 免疫抑制剂

环孢素 A(cyclosporin A)是目前一种广为推荐的免疫抑制剂,它是一种不溶性的真菌代

谢产物,能有效地抑制 T 细胞介导的细胞免疫反应。对 T 细胞的作用主要是抑制某些基因特别是 IL-2 基因的转录,从而阻断 IL-2 合成和分泌,使 T 细胞的扩增和分化受阻。它还能抑制 c-myc 和 IFN- $\gamma$  基因的转录,后者对于 T 细胞的活化和扩增也有影响。环孢素 A 是一种兼有抗有丝分裂和抗炎效应的免疫抑制剂。已证实它对眼色素层炎、早期 I 型糖尿病、肾病综合征、牛皮癣等有较好的疗效,对特发性血小板减少性紫癜、系统性红斑狼疮、多发性肌炎、Crohn 病、原发性胆汁性肝硬化、重症肌无力症、类风湿性关节炎均有一定的治疗效果。FK-506 是继环孢素 A 后发现的另一种真菌代谢物,其结构与环孢素 A 不同,但它的作用与环孢素 A 极为相似。FK506 应用剂量较低,故其不良反应较小。其他的抗有丝分裂的非特异性免疫抑制剂如硫唑嘌呤、环磷酰胺、甲氨蝶呤常与皮质激素联合应用作为常规免疫抑制剂治疗一些自身免疫病。

### (三) 免疫调控

它是根据调节免疫应答规律以达到阻断自身免疫过程提出的一种治疗设想。包括下列的一些措施,多在实验性研究阶段。

1. 清除或使某些免疫活性细胞失活: 实验研究发现,体内应用抗 MHC II 分子与抗 CD4 单克隆抗体,可减轻系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎的发展。

2. 独特型抑制

- (1) 抗体的调控: 抗独特型抗体在调节外来抗原诱发的抗体生成起重要作用,它可能对自身抗体的生成起抑制作用。

- (2) T 细胞免疫: 给动物注射髓鞘碱性蛋白特异的减活 T 细胞克隆(亚致病剂量),能有效地预防实验性变态反应性脑脊髓炎的发生。这可能是通过诱导生成针对效应 T 细胞受体独特型的抑制性 T 细胞所致。

- (3) 抗原封阻或清除相应的自身反应性淋巴细胞: 已有实验证明,设计与自身抗原类似的多肽片段,同自身抗原竞争性地结合到抗原递呈细胞的 MHC 分子上,阻断自身抗原诱发的 T 细胞应答,达到治疗自身免疫性变态反应性脑脊髓炎的效果。也有使用导向技术,将各种毒素或放射性物质偶联到自身抗原上,以此偶联物选择性地杀灭特异的自身反应性淋巴细胞。此外,有人致力于研究出针对自身抗原特异的抑制因子提供临床使用。

3. 口服耐受(oral tolerance): 早在 20 世纪初有实验观察到豚鼠口饲鸡蛋白后对该蛋白再次激发有抵抗,不出现过敏反应。其后,陆续有实验支持口服耐受现象的存在,即机体对曾口服过的蛋白质的再次免疫呈低反应性(hyporesponsiveness)状态。近年来口服耐受已在多种动物模型成功地治疗多种自身免疫病,并于临床试用,对其形成机制亦已初步探讨。已经试验过的模型有实验性变态反应性脑炎(EAE)、关节炎、葡萄膜炎(uveitis)、重症肌无力、糖尿病(diabetes, NOD mouse)、甲状腺炎、结肠炎等。人类疾病临床试验的病种有多发性硬化症、类风湿性关节炎、葡萄膜炎、I 型糖尿病等。以类风湿性关节炎为例,口服 II 型胶原可抑制几种不同关节炎动物模型(胶原诱导的、佐剂诱导的、抗原诱导的等)的发病。在 280 例类风关病人进行 II 期临床试验,病人口服鸡 II 型胶原 20 ~ 2 500 ug,发现最低剂量组获统计学显著阳性结果。机制研究提示口服高剂量抗原主要导致 Th1 及 Th2 细胞的清除或无能,而低剂量抗原则通过诱导 Th2(分泌 IL-4/IL-10 等)及 Th3(分泌 TGF- $\beta$ )等调节细胞发挥主动抑制而产生口服耐受。

#### (四) 血浆置换

此疗法的目的在于降低自身免疫病人血浆中的免疫复合物的含量,减轻免疫复合物在组织中的沉积。对于治疗有生命威胁的免疫复合物所致的血管炎、系统红斑狼疮、肺肾出血性综合征等有一定的治疗效果。若与抗有丝分裂的药物联合应用,疗效更佳。

#### (五) 对症治疗

通常在治疗某些器官特异性自身免疫病时,只需调整器官损伤所造成的代谢障碍,即可达到控制病情的效果。如自身免疫性甲状腺炎的粘液性水肿患者可采用甲状腺素替代疗法,青年型糖尿病患者用胰岛素控制血糖,恶性贫血患者用维生素 B<sub>12</sub>,甲状腺功能亢进者用抗甲状腺素药物等。

### 本章提要

正常机体对自身抗原通常呈自身耐受状态。自身耐受形成与维持的机制除克隆清除外,尚有克隆无能、缺乏足够活化信号、抑制性调节等。在一定条件下,机体对自身抗原出现免疫应答,最终产生自身抗体或自身致敏淋巴细胞,此现象统称自身免疫。自身免疫对机体或有利、或有害,前者起免疫自稳作用而后者则引起自身免疫病。这些疾病的发病机制分别与 II 至 IV 型超敏反应有关,由自身抗体或自身反应性 T 细胞介导。20 世纪 60 年代起逐渐将一系列先前列入原因不明性疾病的数十种疾病认定为自身免疫病以来,虽然取得了历史性的进展,但至今,有关于确切的自身免疫病的病因、病机、防治手段尚有待深入研究。

(马宝驹)

### 参考文献

- [ 1 ] Dighiero G and Rose NR. Critical self-epitopes are key to the understanding of self - tolerance and autoimmunity, *Immunol Today*, 1999, 20: 423
- [ 2 ] Libiau RS, Singer SM and McDevitt HO. Th1 and Th2 CD4<sup>+</sup> T cells in the pathogenesis of organ-specific Autoimmune Diseases, *Immunology Today*, 1995, 16:34
- [ 3 ] Maria RD and Testi. Fas-FasL interactions: a common pathogenetic mechanism in organ-specific autoimmunity. *Immunol Today*, 1998, 19: 121
- [ 4 ] Roitt Ivan M. Autoimmune diseases 1-scope and etiology, Autoimmune diseases 2-pathogenesis, diagnosis and treatment, in "Essential Immunology" 9th ed, Blackwell Scientific Publications, 1997, 399 ~ 421; 423 ~ 448
- [ 5 ] Theofilopoulos AN. The basis of autoimmunity: part I, II. *Immunol Today*, 1995, 16: 90, 16: 150
- [ 6 ] Weiner HL. Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol Today*, 1997, 18: 335



# 第十四章 感 染 免 疫

## 第一节 概 述

感染免疫是宿主体免疫系统识别和清除病原体的一系列生理性防御机制。人体有一个完善的免疫系统。一旦当病原体从周围环境侵入机体,在形成感染过程的同时,免疫系统就受到触发产生一系列免疫防御应答。其发展过程和最终结局将根据病原体和宿主体两方面因素而定,可以是感染不形成;感染形成但逐渐消退,患者康复;或感染扩散,患者死亡。

### 一 病原体

引起感染的病原体是一大群小的和甚至肉眼直接看不见的微小病原生物,可划分成微生物和寄生虫两大类。

1. 微生物: 根据大小、结构、组成等不同,微生物又分病毒、细菌和真菌三类。

(1) 病毒: 为非细胞型微生物。没有典型的细胞结构,无产生能量的酶系统,必须在活细胞内生长繁殖。有的感染因子只有 RNA 分子,无蛋白质组分,称为亚病毒(subvirus)。亚病毒比最小病毒还要小 20 倍,它们的复制需宿主细胞的 DNA 依赖 RNA 多聚酶,致病机制可能是其 RNA 分子直接干扰了宿主细胞的核酸代谢。亚病毒主要引起马铃薯、柑橘、椰子、啤酒花等多种经济植物的严重病害,与人类疾病的关系尚不清楚。另有一类比病毒小的感染因子,其组成只有蛋白质,没有核酸,称为 prion。prion 引起的疾病潜伏期长(可长达 30 年),病变特征是海绵样脑病,是一种慢性进行性致死性中枢神经系统疾病。人类库鲁病(kuru)、克雅病(CJD)、格斯综合征(GSS)、致死性家族失眠症(FFI)和动物的羊瘙痒症(scrapie)和牛海绵样脑病(疯牛病)等属之。prion 感染后不诱发免疫应答。prion 曾译为朊病毒,但有学者认为根据其生物学性状与寻常病毒差异太大,不宜列入病毒范畴。故确切中文译名待定。

(2) 细菌: 为原核细胞型微生物。原始核呈环状裸 DNA 团块结构,细胞器不完善。这类微生物种类繁多,有细菌、支原体、衣原体、立克次体、螺旋体和放线菌。由于放线菌、支原体、衣原体、立克次体和螺旋体的生物学性状与细菌接近,故从分类学观点,将它们归属于广义的细菌范畴内。

(3) 真菌: 为真核细胞型微生物。有典型的细胞核和完整的细胞器。分为单细胞真菌和多细胞真菌两类,后者又称霉菌。卡氏肺孢菌(*Pneumocystis carinii*,或译卡氏肺囊菌;过去译卡氏肺囊虫)是 AIDS 患者常见并发肺炎的病原体。原认为是一种寄生性原虫,现经形态学和分子遗传学分析,发现其 16S rRNA 保守区与子囊菌纲、5S rRNA 与接合菌纲、蛋白合成延长因子 3(EF-3)与酿酒酵母菌均高度同源,故现已将它划归至真菌范畴。

2. 寄生虫: 主要分原虫和蠕虫。

(1) 原虫: 为单细胞真核动物。与医学有关的有锥虫、内阿米巴、疟原虫和弓形虫等。

(2) 蠕虫：为多细胞无脊椎动物。与医学有关的有吸虫、绦虫和线虫等。

二 宿主体

人体的免疫系统包括免疫器官、免疫细胞和免疫分子,它们在感染过程的不同阶段发挥着独自或协同作用,共同完成复杂的免疫防御功能(图 14-1)。

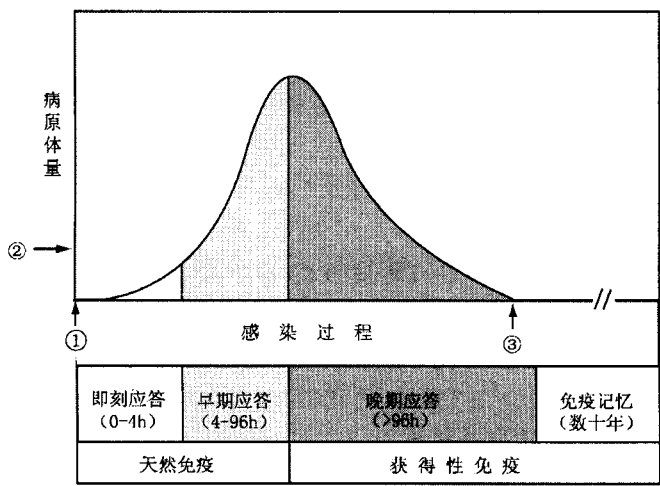


图 14-1 感染过程中不同阶段的免疫防御功能

注：① 病原体侵入；② 诱发早期免疫应答的病原体数量阈；  
③ 病原体被清除

1. 天然免疫(innate immunity)：病原体突破人体皮肤和粘膜屏障进入体内后,就立即受到生来就有、先天遗传的补体和吞噬细胞的杀伤、吞噬,是为第一阶段的即刻免疫应答。若病原体未被消灭,则巨噬细胞等被病原体刺激产生多种细胞因子;或诱生 IFN- $\alpha/\beta$ ;或激活 NK、CD5B 和  $\gamma\delta$ T 细胞等与病原体作用,以进一步消灭病原体。这第二阶段的早期免疫应答,虽并不预存在宿主体,需经病原体激发才产生,但产生后的效应细胞和分子的作用是非特异性的。早期免疫应答和获得性免疫的晚期免疫应答的最根本性区别是:早期应答中病原体与免疫细胞间的识别是非专一的,形成的免疫应答不具免疫记忆性;而晚期应答中的识别专一,并有免疫记忆存在。

2. 获得性免疫(acquired immunity)：未被天然免疫机制杀灭的病原体,其抗原物质与 T、B 细胞的特异受体结合后,使这些免疫细胞活化、增殖、分化为相应的效应细胞,产生特异性细胞免疫/体液免疫应答,最终使病原体清除,感染终止。获得性免疫能防御相同病原体的再感染,并具有免疫记忆应答。

第二节 天然防御机制

一 上皮屏障

人体表面和与外界相通的腔道都有皮肤和粘膜覆盖,完整的上皮屏障有抵御病原体入侵的功能。其机制不仅是机械性阻挡,尚能分泌多种化学杀死/抑制性物质如皮肤的脂肪

酸,粘膜的胃酸、溶菌酶、防御素(defensin)等。上皮屏障多处有正常微生物等定植,它们可同病原体竞争营养和接触位点;有的如大肠杆菌还分泌大肠菌素(colicin)抑杀病原性肠道杆菌。因而,在临床上可因应用抗菌药物不当,将大量正常微生物群杀死引起耐药的病原体繁殖造成二重感染。有报道谓口腔舌部定植的非致病性硝酸盐还原菌,可将食物中的硝酸盐还原并酸化形成杀菌力强大的一氧化氮(NO),NO可杀死摄入食物中的病原菌。又副鼻窦上皮细胞可产生大量NO,对呼吸进的空气有消毒作用。

## 二 补体替代途径

突破上皮屏障进入宿主体内的病原体,首遇的天然免疫体液因素是补体。补体替代途径的激活不需抗体的存在,故其杀伤病原体效应至少要比补体经典途径早5~7d。

人类血清中C3补体含量最高,能经常自发裂解成C3b。C3b若不与宿主细胞或病原体表面通过其硫酯键共价结合,则将进一步水解失活。结合至病原体表面的C3b,受血清中B因子非共价结合后又遇血清中具蛋白酶活性的D因子作用裂解为Bb。C3b与Bb形成C3bBb复合物,其稳定性受血清中备解素P因子的结合而增强。C3bBb复合物是补体替代途径中的C3转化酶,相当于经典途径中的C4b2b,使更多的C3分子裂解成C3b沉积于病原体,调理病原体促进吞噬效应。由C3bBb活化的后续补体替代途径级联反应,最后形成的C5b~9攻膜复合物(MAC)使病原体溶解或死亡。宿主细胞表面虽也可与C3b结合,但其表面表达补体调节蛋白CR1、DAF和MCP。其中CR1、DAF和血清中的H因子可取代C3bBb中的Bb;且H因子与CR1、DAF催化I因子(血清中的一种丝氨酸酶)裂解C3b至无活性的iC3b和C3dg,从而阻止补体级联反应的继续,宿主细胞因而也就免受损伤。

## 三 吞噬细胞

1. 中性粒细胞:血液中有大量中性粒细胞,正常组织中则不存在。当有病原体入侵,其组分具有化学趋化作用,很快招引血液中的中性粒细胞逸出并集中至炎症部位,成为最早的吞噬细胞。

炎症的早期阶段,特异性抗体尚未产生,中性粒细胞可与病原体的细胞壁组分直接结合、吞入。若为革兰阴性菌,亦可间接地通过其胞壁LPS先和血清中的脂多糖结合蛋白(LBP)作用,再同中性粒细胞上CD14分子结合、吞入。中性粒细胞也能将在补体替代途径中沉积有C3b及其灭活衍生物iC3b的病原体进行吞噬。

中性粒细胞吞噬病原体后,表达多种毒性产物能迅速杀死多数革兰阳性和革兰阴性细菌、真菌,甚至某些包膜病毒。中性粒细胞的毒性物质有毒性氧代谢产物、蛋白酶、磷脂酶和防御素等。

2. 巨噬细胞:血流中的单核细胞逸出至组织继续发育分化成巨噬细胞。巨噬细胞分布于宿主整个机体,尤其是结缔组织和肝、脾的一些血管周围。这些大吞噬细胞在宿主防御机制的任一阶段都具有重要作用。

病原体突破上皮屏障进入宿主体组织后,首遇的天然免疫细胞因素是巨噬细胞。巨噬细胞除有Fc和补体受体外,尚有多种能直接与某些病原体结合的表面受体。

(1) 甘露糖受体(mannose receptor, MR):存在于所有组织巨噬细胞上,血中单核细胞无。通过多糖识别区与病原体表面含甘露糖或岩藻糖结构相结合,随后吞入。MR在消除

细菌、酵母菌和某些原虫中有重要作用。

(2) “清道夫”受体(scavenger receptor, SR): 分 SR-A、SR-B 和 SR-C 三类。SR-A 的 I、II 型可结合、去除血浆中细菌内毒素 LPS 中的脂质 A, I 型尚可与革兰阳性细菌全菌或其胞壁脂磷壁酸(LTA)结合。新近发现 SR-A 中一种新的 MARCO 型受体, 它能与大肠杆菌和金黄色葡萄球菌结合, 这类受体主要存在于脾和淋巴结的巨噬细胞上。SR-B 通过 CD36 分子介导, 可消除恶性疟原虫感染的红细胞、细胞凋亡的中性粒细胞。SR-B 亦可作为鼻病毒的受体。

(3) 其他: CD14 通过血清中 LBP 与细菌 LPS 结合; 白细胞整合素 CD11b/CD18(亦称 CR3 或 Mac-1)能识别许多病原体组分, 包括细菌 LPS、利什曼原虫脂磷酸聚糖、百日咳杆菌丝血凝素、念珠菌和组织胞浆菌结构组分等。

当病原体通过上皮屏障在上皮下组织为巨噬细胞识别后, 可能有 3 种不同结局: ①病原体被组织中巨噬细胞捕获、吞噬和破坏, 感染不形成。②病原体若克服或逃避天然免疫中的即刻免疫应答, 巨噬细胞受病原体刺激后分泌多种细胞因子, 它们在天然免疫的早期免疫应答中是重要组成部分。③病原体如仍未被消灭, 则巨噬细胞摄入的病原体经处理、加工和递呈给特异性 T/B 细胞, 诱发特异的获得性免疫。

#### 四 细胞因子

天然免疫应答的重要功能之一是产生一组细胞因子和其他炎症介质, 招引更多的吞噬细胞和效应分子集中至感染部位, 以增强和加速对病原体的杀灭。

1. 单核因子: 主要有单核-巨噬细胞系细胞识别病原体组分后激发合成分泌的细胞因子, 其中主要有 IL-1、IL-6、IL-8、IL-12 和 TNF- $\alpha$  等, 它们均具有重要的局部和全身性效应。病原体引发单核吞噬细胞产生单核因子的受体, 与导致摄入、吞噬的那些受体是相同的。

TNF- $\alpha$ 、IL-1 和 IL-6 作用于肝脏, 使产生急性期蛋白, 其中以 C 反应蛋白(CRP)和甘露糖结合蛋白(MBP)最为重要。CRP 与一些细菌和真菌细胞壁多糖中的磷酰胆碱结合, 起调理素作用; 并激活补体经典途径, 溶解某些病原体。磷酰胆碱亦存在于哺乳动物细胞膜的磷脂中, 但其结构类型与病原体的不同, 故不与 CRP 结合。MBP 在正常宿主体血清中含量很低, 炎症急性期则大幅度增加。MBP 是一种钙依赖糖结合蛋白, 其结构类似 C1q, 但两者在氨基酸序列上无同源性。MBP 可与病原体表面的甘露糖残基结合并活化似 C1rs 的一种丝氨酸酯酶, 继而依次激活 C4 和 C2 等的补体经典途径。因之, CRP 和 MBP 能像 IgM 抗体那样导致病原体廓清。但不同于抗体的是这两种急性期蛋白不存在结构多样性, 又其产生只要是能触发 TNF- $\alpha$ 、IL-1 和 IL-6 释放的任何刺激均可, 且其作用都不具有特异性。CRP 和 MBP, 一般在病原体侵入宿主体后的 1~2h 内形成。

TNF- $\alpha$ 、IL-1 和 IL-6 是一组“内源性致热原”(endogenous pyrogens), 能直接刺激宿主体下丘脑体温调节中枢促使体温升高发热。病原体一般在较低温度下生长繁殖较好, 而宿主体的免疫应答在较高温度时增强。故发热反应有利于宿主体防御功能的发挥, 不利于病原体的生存。

TNF- $\alpha$  主要作用于血管, 尤其是小静脉。能增加血流量, 对液体、蛋白质和血细胞通透性, 以及白细胞和血小板的粘附性。局部感染时, 产生的 TNF- $\alpha$  可使参与防御机制的 IgG 抗体、补体和免疫细胞等经血管壁集中至感染部位。小血管随后阻塞, 防止感染扩散。同时,

感染部位带病原体或含病原体吞噬细胞的液体引流至局部淋巴结启动获得性免疫应答。在全身感染时则绝然相反。肝、脾等处巨噬细胞产生的大量  $\text{TNF-}\alpha$  作用全身小血管,导致全身性小血管扩张和血管通透性增加,大量血浆丧失,最终休克、DIC、多器官衰竭而死亡。这种  $\text{TNF-}\alpha$  在局部感染中对宿主有保护作用,全身感染反而不利的双相效应在实验动物中也得到证实。接种小量病原菌于家兔造成局部感染后,该感染常控制在接种部位,并不扩散。但若给以  $\text{TNF-}\alpha$  抗体,则感染可经血扩散至其他脏器。又  $\text{TNF-}\alpha$  基因突变小鼠能抵抗感染性休克,但不能控制局部感染病原体的蔓延。

$\text{IL-8}$  是一种白细胞趋化性细胞因子,在招引中性粒细胞移行至感染部位中特别重要。

$\text{IL-12}$  能激活 NK 细胞,并诱导 CD4 T 细胞分化至 Th1 细胞。

2. 趋化性细胞因子:是一组相对分子质量为 8 000 ~ 10 000 (8 ~ 10 kD) 小分子多肽,能招引多类型白细胞至炎症部位的细胞因子。产生的细胞除巨噬细胞外,尚有内皮细胞、皮肤角质细胞,结缔组织的成纤维细胞和平滑肌细胞等。诱生趋化性细胞因子的物质有细菌、病毒等病原体,甚至引起物理性损伤的二氧化硅或痛风中的尿酸盐也能刺激宿主细胞产生趋化性细胞因子。

3.  $\text{IFN-}\alpha/\beta$ :  $\text{IFN}$  分  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  三类。 $\text{IFN-}\alpha/\beta$  主要是宿主细胞受病毒感染后产生; $\text{IFN-}\gamma$  主要由效应 T 细胞产生,且大多发生在获得性免疫应答阶段。 $\text{IFN-}\alpha/\beta$  能干扰病毒的复制,阻断病毒扩散至感染周围的正常细胞。

$\text{IFN-}\alpha/\beta$  的抗病毒作用,主要通过它诱生的由宿主细胞编码的抗病毒蛋白来实现。 $\text{IFN-}\alpha/\beta$  与其受体结合后,启动酪氨酸激酶(Jak),磷酸化信号传递转录因子(STAT);磷酸化 STAT 与有关基因的启动子结合诱导宿主细胞合成抑制病毒的蛋白。

$\text{IFN-}\alpha/\beta$  的另一作用是增强宿主细胞表面 MHC I 类分子、TAP 转运蛋白和蛋白酶体 Lmp2、Lmp7 组分的表达,促进病毒肽抗原递呈给 CD8 T 细胞的能力。同时,MHC I 类分子加强表达后可以保护未感染宿主细胞免受经  $\text{IFN-}\alpha/\beta$  强烈激活的 NK 细胞的攻击,而这些高活性 NK 细胞都可选择性杀伤病毒感染细胞,这在早期宿主细胞防御应答中颇为重要。

在早期免疫应答阶段除上述主要的细胞因子外,尚有与炎症等有关的其他介质。例如病原体刺激巨噬细胞可释放 PG、NO、LBT4 和 PAF;病原体激活补体系统可产生 C5a、C3a、C4a,以 C5a 最强,C4a 最弱。C5a 还可活化肥大细胞,促进释放组胺、5-羟色胺和 LTB4 等活性物质。

## 五 受体多样性有限的淋巴细胞

淋巴细胞中的 T 细胞和 B 细胞,它们表面的 TCR 和 BCR 呈高度多样性,因而与之结合的病原体抗原分子就要求非常特异专一。在宿主的早期免疫应答阶段,受体多样性有限的淋巴细胞除 NK 细胞外,尚有较特殊的  $\gamma\delta$  T 细胞和 CD5B 细胞。

1. NK 细胞: NK 细胞在对获得性免疫形成之前的病原体,尤其是某些病毒和其他胞内病原体感染的早期,有重要的防御作用。

正常宿主细胞的 NK 细胞也有杀伤某些病原体的活性,但当受  $\text{IFN-}\alpha/\beta$  或 NK 细胞激活因子  $\text{IL-12}$  刺激后,其作用将增强 20 ~ 100 倍。 $\text{IL-12}$  与  $\text{TNF-}\alpha$  协同作用时,NK 细胞可产生大量  $\text{IFN-}\gamma$ ,这在 T 细胞尚未活化能产生此细胞因子之前控制某些感染至关重要。例如 T 或 B 细胞缺陷小鼠对胞内菌产单核细胞李斯特菌感染仍有较强的抵抗力,但除去 NK 细胞或

TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  及其受体的基因发生突变的小鼠则对该菌易感,并常在感染后数天内获得性免疫尚未建立之前死亡。

NK 细胞的表面有两种受体。一种是 NKR-P1,与巨噬细胞的 MR 相似,能识别广泛的多糖配体。NKR-P1 受体结合后,启动 NK 细胞的杀伤活性。另一种是 Ly-49(小鼠),识别宿主细胞的自身 MHC I 类分子,两者结合后抑制 NK 细胞的活性。正常宿主细胞可与 NK 细胞的 NKR-P1 受体结合,但正常宿主细胞表面有足量的 MHC I 类分子表达,因而与 Ly-49 受体结合后产生的抑制信号可阻断 NKR-P1 引发的活化信号,故 NK 细胞不会杀伤正常宿主细胞。当细胞被病毒或其他胞内病原体感染后,其自身 MHC I 类分子的合成、转运等受到影响,致使在细胞表面不表达或低表达。与 Ly-49 受体不形成有效结合,就不能产生抑制信号,病原体感染细胞才被活化 NK 细胞所杀死。

2.  $\gamma\delta$  T 细胞:  $\gamma\delta$  T 细胞是一群较特殊的 T 细胞,人外周血中约占 T 细胞总数的 5% ~ 10%,皮肤、肠道粘膜中较多,其杀伤靶细胞作用不受 MHC 限制。大部分  $\gamma\delta$  T 细胞为 CD4、CD8 双阴性细胞。因其编码 TCR  $\gamma$  链和  $\delta$  链 V 区的基因少,故能结合的抗原特异性种类有限,这在表面上皮结构中尤为明显。在任何一种上皮中, $\gamma\delta$  T 细胞的 TCR 基本相同;又肠道粘膜上皮内  $\gamma\delta$  T 细胞表面受体序列呈多样性,但均可与相同抗原分子结合。这些特殊现象尚难解释。

$\gamma\delta$  T 细胞常存在于胞内病原体的炎症区。小鼠感染产单核细胞李斯特菌或牛分枝杆菌后, $\gamma\delta$  T 细胞迅速汇集于病菌繁殖处。在麻风病人,有大量  $\gamma\delta$  T 细胞聚集于病变部位。结核性淋巴结炎的坏死中心亦有  $\gamma\delta$  T 细胞聚集。

以特异抗体去除  $\gamma\delta$  T 细胞,可暂时性加重小鼠李斯特菌感染。 $\alpha\beta$  T 细胞基因剔除(knockout, KO)小鼠初次感染该菌的抵抗力虽与正常鼠相仿,但加用抗  $\gamma\delta$  T 细胞抗体后则病情加重。提示在小鼠李斯特菌感染中, $\gamma\delta$  T 细胞有一定的辅助作用,但并非主要免疫效应细胞。在完全缺失  $\alpha\beta$  T 细胞时, $\gamma\delta$  T 细胞有较大的代偿能力,以替代部分  $\alpha\beta$  T 细胞的功能。

$\gamma\delta$  T 细胞的活化早于  $\alpha\beta$  T 细胞,因而具有填补早期 NK 细胞及吞噬细胞介导的非特异抵抗力和晚期  $\alpha\beta$  T 细胞介导的特异免疫应答间的“空隙”(gap)作用。此外, $\gamma\delta$  T 细胞还可能参与巨噬细胞的早期活化直至  $\alpha\beta$  T 细胞的出现,并似与调节趋化,继而与活化病变中的  $\alpha\beta$  T 细胞亦有关。

3. CD5 B 细胞:CD5 B 细胞是一类不同于寻常的 B 细胞,它们同  $\gamma\delta$  T 细胞却有不少类似之处。例如 CD5 B 细胞发生较早;编码其 BCR 的 V 基因有限;在外周能“自我更新”(self renewing);在腹腔这一特殊微环境中是主宰淋巴细胞等。

CD5 B 细胞主要对 TI-2 型的多糖抗原起抗体应答。产生的抗体只有 IgM 类型,重复接触相同 TI-2 型抗原与初次相同,无免疫记忆形成。这种应答常在接触抗原后 48h 出现,虽形成过程需涉及 B 细胞的受体重排,似将之纳入天然免疫较获得性免疫为妥。

如同  $\gamma\delta$  T 细胞,CD5 B 细胞在宿主防御中的确切功能尚未肯定。缺乏 CD5 B 细胞的小鼠对肺炎链球菌感染特别敏感,此因该种动物丧失产生对菌有保护的缩醛磷脂酰胆碱特异抗体之故。在人体是否同样情况,未明。

有兴趣的是  $\gamma\delta$  T 细胞和 CD5 B 细胞这两类特异性有限的细胞分别集中分布在体表和体腔。从进化角度,体表和体腔是原始动物的两大主要组成部分;到了高等动物,这两类特殊的细胞成为发展至获得性免疫应答的过渡性免疫细胞似亦可理解。

### 第三节 获得性免疫机制

#### 一 CD4 T 细胞的功能性分化

未致敏 CD4 T 细胞在外周淋巴组织中接触到病原体抗原,分化成 Th1 和 Th2 两大类 CD4 效应 T 细胞。Th1 细胞与 DTH 反应、CTL 成熟、巨噬细胞活化、NK 细胞激活、抗病毒和胞内病原体感染有关。Th2 细胞与抗体形成、I 型超敏反应、抗胞外菌和寄生虫感染、嗜酸粒细胞生长等有关,并参与免疫耐受的形成。

宿主早期应答阶段由巨噬细胞等受病原体刺激后产生的细胞因子类型,对未致敏 CD4 T 细胞功能性分化成 Th1 或 Th2 细胞影响极大。病毒和胞内菌常刺激巨噬细胞、NK 细胞产生 IL-12 和 IFN- $\gamma$ ,这些细胞因子可导致分化为 Th1 细胞。寄生虫和胞外菌则引起 IL-4、IL-10 产生,促使 CD4 T 细胞分化成 Th2 细胞。关于 IL-4 的来源,因该阶段的 IL-4 分泌 Th 细胞尚未发育成熟,一说来自位于皮肤、粘膜上皮下和外周淋巴组织中的肥大细胞,当它们经 Fc $\epsilon$  受体刺激或 C5a 作用后释放 IL-4。另说谓 IL-4 产自一类特殊 CD4 T 细胞,它们表面具有 NK 细胞的 NK1.1 标志。这些 T 细胞能识别称 CD1 的 MHC Ib 类分子,小鼠有 2 个 CD1 基因(CD1.1 和 CD1.2),人类则有 5 个(CD1a~e)。已知 CD1b 可递呈细菌脂类、分枝菌酸给  $\alpha\beta$  T 细胞,而其他 CD1 分子可为  $\gamma\delta$  T 细胞识别。NK1.1CD4 T 细胞激活后可产生大量 IL-4,促进 Th2 细胞分化。一般言,Th1 细胞在细胞免疫应答中占优势,而 Th2 细胞则是体液免疫中的优势细胞。

影响 Th1 或 Th2 细胞分化的尚有病原体抗原肽的数量和性质。抗原肽量大,在 APC 表面呈高密度的趋向形成 Th1 细胞;量小密度低的则发展为 Th2 细胞。抗原肽与 TCR 作用强烈者刺激 Th1 细胞样应答,两者结合低弱者则趋向形成 Th2 细胞应答。

病原体蛋白抗原可由多种不同抗原肽组成,因而常引发 Th1 和 Th2 细胞都形成,但往往以一种为主。例如结核杆菌感染中,参与免疫防御应答的 CD4 T 细胞主要是 Th1 细胞;链球菌感染中,则 Th2 型 CD4 T 细胞参与其免疫应答过程。

#### 二 特异性细胞免疫应答

是由 T 细胞为主介导的免疫应答。未致敏 T 细胞在淋巴结等外周淋巴组织中受病原体抗原致敏后 4~5d 才逐步成熟为效应 T 细胞,并伴随其表面分子的改变。原来致敏 T 细胞归巢至淋巴结通过其表面的 L 选择素与 HEV 上 CD34 和 GlyCAM-1 的结合。当效应 T 细胞遇到与致敏的病原体抗原相同,就可产生 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等细胞因子,引发系列细胞免疫应答,进一步杀死病原体。

T 细胞介导的免疫应答效应主要有:①迟发型超敏反应(DTH)。主要是 Th1 细胞释放 IFN- $\gamma$ 、IL-2、TNF- $\alpha$ 、GM-CSF 等,引起 DTH。②CTL 的特异性免疫杀伤。包括分泌穿孔素和粒酶的分泌型杀伤和 FasL-Fas 配接导致细胞凋亡的非分泌型杀伤。③巨噬细胞和 NK 细胞活性增强。Th1 细胞产生的 IFN- $\gamma$  等可高度增强这两类免疫细胞的活性,发挥其杀伤效应。

宿主体的所有血管内皮细胞表面都有 ICAM-2 表达,效应 T 细胞的 LFA-1 通过与 ICAM-2 的结合就可遍及全身。任何一处如有与效应 T 细胞致敏相同的病原体抗原存在,就可触发

局部炎症反应,招引更多的效应 T 细胞和许多辅助细胞聚集在感染部位。但分布各处未遇上病原体的大多数效应 T 细胞,它们或进入输入淋巴管回至血循环,或在组织中凋亡而死。

### 三 特异性体液免疫应答

是由 B 细胞或抗体介导的免疫应答。参与体液免疫应答的 B 细胞有两个亚群。B1 细胞对 TI-Ag 应答,不需巨噬细胞和 Th2 细胞的协助。TI-Ag 的结构中具有大量相同抗原表位的重复排列,可同时与 B1 细胞表面的多个 BCR 高亲和稳定结合,触发 B1 细胞活化、增殖、分化至浆细胞,产生 IgM 类抗体。TI-Ag 应答过程中不形成记忆细胞,故无再次应答反应。细菌的脂多糖、鞭毛蛋白、荚膜多糖等属于 TI-Ag。B2 细胞对 TD-Ag 应答,需巨噬细胞和 Th2 细胞的协助。产生以 IgG 为主的多种类别抗体。应答过程中有记忆细胞形成,能发生再次应答。大多数病原体的蛋白抗原属之。

B1 细胞对 TI-Ag 的应答发生在外周免疫器官的胸腺依赖区和边缘区。B2 细胞(即通常 B 细胞)对 TD-Ag 的应答分初次应答和再次应答。初次应答主要在胸腺依赖区进行。在 Th2 细胞辅助下,B 细胞活化、增殖为寿命较短的浆细胞。分泌抗体的类别主要为 IgM。少数活化 B 细胞移行至非胸腺依赖区,在形成的生发中心大量增殖,并经体细胞突变、亲和力成熟、Ig 同型转换等,分化为寿命较长的浆细胞或记忆 B 细胞(Bm)。Bm 细胞可进入再循环,当再次接触到与初次应答相同的病原体抗原迅速发生再次应答,产生以 IgG 类为主的大量抗体。

淋巴组织中分化的抗体形成浆细胞将继续留在淋巴结的髓索和脾红髓中。其他 B 细胞在分化至成浆细胞(前浆细胞)时离开生发中心,迁移至骨髓并完成分化为浆细胞。体内约 90% 的所有抗体是由这些留驻在骨髓的浆细胞分泌的。IgA 分泌成浆细胞的迁移途径不同,它们自集合淋巴结开始,经输出淋巴管、肠系膜淋巴结入血,再通过血循环分布至肠道、汗腺、泪腺、唾液腺,以及乳母乳腺的粘膜固有层。在该处,SIgA 合成并通过上皮层分泌至粘膜表面。

体液免疫主要通过特异性抗体发挥作用。其效应有免疫调理、增强吞噬病原体活性;中和细菌外毒素等毒性;激活补体,引起杀菌、溶细胞等;结合病原体,阻止与宿主细胞粘附;介导 ADCC 等。

### 四 免疫记忆

初次病原体感染后,大多患者通过获得性免疫应答得到康复。当再次感染相同病原体,多数感染性疾病可避免,因有保护性免疫(protective immunity)存在。再感染时,近期的保护性免疫是由于宿主体内尚留存初感获得性免疫应答产生的特异细胞/体液免疫效应物质。因而,再感染入侵的病原体立即受到这些已存在的特异性 CTL 或抗体的攻击。再感染发生在初感痊愈后一个较长时间,数年甚至数十年,宿主体内已查不出有关的效应物质,宿主体却仍能不发生感染。这种远期的保护性免疫主要依赖免疫记忆应答。免疫记忆是 TD-Ag 获得性免疫中的一个重要特性。当宿主体再次接触与初感相同病原体时,其免疫系统产生的特异性免疫应答要比初次快速、强烈和持久。这种免疫记忆应答与记忆性 T 细胞(Tm)和记忆性 B 细胞(Bm)的存在密切相关。



初次获得性体液免疫应答的特点是抗体形成潜伏期长,颗粒性强抗原需 3~5d,可溶性抗原长达 1~2 周;抗体效价低;早期为 IgM 类抗体,亲和力低,随后为 IgG 类;抗体持续时间短等。再次应答特点是潜伏期短,一般 1~2d,甚至数小时;效价高,为初次的数倍至数十倍;主要是亲和力强的 IgG 类,尚有 IgA 和 IgE;维持时间长久。原因是以免疫记忆为基础的再次体液免疫应答中的关键细胞——Bm 细胞,是经多次同一抗原分子优选出来的体细胞高突变和亲和力成熟的 B 细胞。

获得性细胞免疫应答中的 Tm,其表型标志是 CD45RO。CD45 分子有多种变构体(isoforms),其中相对分子质量较高(高分子量)205 000~200 000(205~200 kD)的 CD45 RA(CD45<sup>hi</sup>)为未致敏 T 细胞,相对分子质量较低(低分子量)180 000(180 kD)的 CD45 RO(CD45<sup>lo</sup>)即 Tm 细胞。Tm 细胞主要在获得性细胞免疫应答过程中起作用。由于 Tm 细胞表面 CD2、LFA、ICAM 等粘附分子和 CD25、MHC II 类分子等激活有关分子表达增加,使细胞间粘附能力增强,信号传递和与细胞因子的应答加速,从而使再次的细胞免疫应答大为加剧。

免疫记忆的现象比较清楚,医学实践中已用脊髓灰质炎病毒、麻疹病毒等疫苗预防接种取得成功的保护性免疫。但其确切机制尚未完全阐明。例如这些 Tm、Bm 细胞如何能长期存在?是它们真正的长寿,还是初次感染后仍有少量的病原体或其组分残留?又在什么条件下,部分 T 细胞不分化为效应 T 细胞而向 Tm 分化?等等。

## 第四节 各类病原体的感染免疫

### 一 细菌的感染免疫

根据致病菌与宿主细胞的相互关系,可分为胞外菌(extracellular bacteria)和胞内菌(intracellular bacteria)。人类致病菌大多是胞外菌,它们寄居在宿主细胞外的组织间隙和血液、淋巴液、组织液等体液中。胞内菌又分兼性(facultative)胞内菌和专性(obligate)胞内菌。前者在宿主体内,主要寄居在细胞内生长繁殖;在体外,亦可在无活细胞的适宜环境中生存和繁殖。专性胞内菌则不论在宿主体内或体外,都只能在细胞内生存和繁殖。

1. 胞外菌的感染免疫:对人致病的胞外菌主要有革兰阳性球菌中的葡萄球菌、链球菌,革兰阴性球菌中的脑膜炎球菌和淋球菌,革兰阴性杆菌如肠道细菌中的志贺菌、霍乱弧菌、致病性大肠杆菌和某些革兰阳性杆菌如白喉杆菌、破伤风梭菌等。

胞外菌致病机制主要有二:①产生毒性物质。在细菌代谢过程中合成、分泌至菌体外的毒性蛋白为外毒素。外毒素毒性强,不同菌的外毒素作用机制不一。例如白喉毒素抑制宿主细胞蛋白质合成;破伤风梭菌阻断上下神经元间正常抑制性神经冲动传递;霍乱弧菌肠毒素激活肠粘膜腺苷环化酶,增高细胞内 cAMP 水平等。内毒素是革兰阴性菌胞壁中的 LPS,螺旋体、衣原体、立克次体亦有 LPS。脂质 A 是内毒素的主要毒性组分。不同菌 LPS 的脂质 A 结构较相似,故它们感染时引起的毒性作用大致类同,有发热、白细胞数增多,严重时内毒素血症、内毒素休克、DIC 等。②引起炎症反应。此由于病菌在感染部位造成的组织破坏所致。

(1) 天然免疫:侵入体内的胞外菌,若毒力低、数量少,将很快被中性粒细胞、单核细胞和组织巨噬细胞吞噬、杀死。在无抗体存在时,革兰阳性菌的胞壁肽聚糖或革兰阴性菌的 LPS 均可激活补体替代途径;能表达甘露糖受体的细菌还能同血清中的 MBP 结合,激活补

体经典途径。结果激活过程产生的 C3b,能调理病菌增强吞噬效应;MAC 复合物可溶解奈瑟菌等病菌;C5a、C3a 等参与炎症反应中对免疫细胞的招引和活化。

LPS 能刺激巨噬细胞、血管内皮细胞等产生  $\text{TNF-}\alpha$ 、IL-1、IL-6 及趋化因子,诱发局部急性炎症。炎性细胞可以清除病菌,但这种防御机制的病理性不良反应常损害邻近正常组织。细胞因子也引起发热和刺激急性期蛋白的合成。细胞因子中的 IL-12,更能导向 Th1 细胞分化和活化 CTL 及 NK 细胞,从而在天然免疫和获得性免疫应答间架起重要联系。

(2) 获得性免疫:体液免疫是对抗胞外菌的主要保护性特异免疫应答(图 14-2)。胞外菌的胞壁组分、荚膜等多糖是 TI-Ag,能直接刺激相应 B 细胞产生强烈的特异 IgM 应答。胞外菌多数蛋白抗原是 TD-Ag,需 APC 和 CD4<sup>+</sup> Th2 细胞的辅助。产生的抗体类型先是 IgM,后转换以 IgG 为主,并有 IgA 或 IgE。

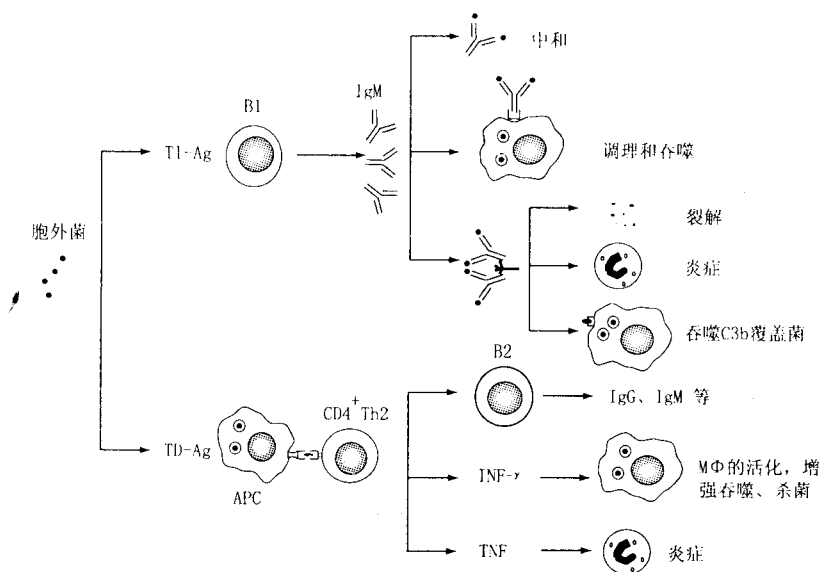


图 14-2 抗胞外菌感染的特异性免疫机制

特异抗体的作用有:①IgG 抗体调理细菌促进吞噬。IgG 与中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞的结合是通过这些吞噬细胞上的  $\text{Fc}\gamma$  受体。IgM 和 IgG 抗体均能活化补体,形成 C3b 和  $\text{iC3b}$ ,它们分别与吞噬细胞上的 CR1 和 CR3 结合而进一步促进吞噬作用。有 C3 缺陷的患者对化脓性感染高度易感。②抗体中和细菌外毒素。外毒素被其抗体(抗毒素)结合后形成抗原抗体复合物,这种无毒复合物最终为吞噬细胞吞噬清除。③分泌型 IgA(sIgA)阻挡病原菌定植。sIgA 抗体存在于各种分泌液中。例如胃肠道和呼吸道的可防止相应的病原菌的定植;乳汁中 sIgA 可将有关抗体传递给乳儿等。④IgM 和 IgG 抗体可激活补体系统。终末的 MAC 有杀菌效应,奈瑟菌对之最易感。激活过程中副产品能介导急性炎症反应。

有些胞外菌与人体某些组织存在着交叉抗原,这些病菌诱发的抗体有可能与宿主有关组织发生超敏反应而致病。具代表性的疾病是溶血性链球菌感染后的风湿热和肾小球肾炎。风湿热发生于乙型溶血性链球菌某些血清型咽部感染后数周,该时产生的抗菌胞壁 M 蛋白抗体与患者心肌纤维膜的肌浆球蛋白(有 M 蛋白交叉抗原)结合,引发 II 型超敏反应而致病。链球菌感染后肾小球肾炎由皮肤或咽部感染另一些乙型溶血性链球菌血清型后引

起。链球菌抗原与其抗体形成的免疫复合物沉积于患者肾小球基底膜引发 III 型超敏反应所致。

参与胞外菌免疫应答的 T 细胞是 CD4 Th2 细胞。它们除与巨噬细胞、B 细胞协同产生特异性抗体外,还能受胞外菌刺激后产生一些细胞因子,引起局部炎症,促进巨噬细胞的吞噬和杀伤,招引和活化中性粒细胞等。

近来发现葡萄球菌的肠毒素、链球菌的致热外毒素等超抗原,能激活凡具有相同 TCRV $\beta$  的 CD4 T 细胞。这样,少量超抗原能激活较多 T 细胞释放足量细胞因子,有利于去除病原菌。若超抗原量多,则产生的细胞因子过量,可导致细菌 LPS 样的败血症性休克,反而对机体不利。细菌内毒素和超抗原这些多克隆淋巴细胞激活剂,对自身免疫病的发生也有一定关系。因在它们激活的淋巴细胞中,可能含有正常时对自身抗原不起应答的自身反应克隆。

(3) 逃避免疫的机制:胞外菌通过形成特殊结构荚膜、表面抗原突变等逃避宿主免疫机制的杀灭。

许多胞外菌的胞壁外尚有荚膜等结构。例如肺炎链球菌荚膜含有的唾液酸可抑制补体替代途径的激活;荚膜尚有抵抗吞噬作用,故有荚膜菌比同种无荚膜菌的毒力要高得多。以肺炎链球菌为例,无荚膜株感染小鼠使之 24h 内死亡需数亿个,若用荚膜株则数十个菌即可。抗吞噬作用的结构还有链球菌的 M 蛋白;伤寒杆菌的 Vi 抗原等。金黄色葡萄球菌分泌的凝固酶,可使宿主血浆中的纤维蛋白原转变为固态纤维蛋白,包绕在菌体周围,起着间接的抗吞噬作用。

细菌菌毛对宿主细胞有粘附作用,不发生粘附就不可能入侵。淋球菌的致病,其第一步就是通过菌毛粘附至泌尿生殖道等粘膜表面的相应受体。淋球菌的菌毛极易发生变异,且变异频率极高,可产生多达  $10^6$  个不同的菌毛抗原蛋白分子。因而,淋球菌可躲避原先菌毛抗原引发的特异性抗体的攻击。同时,通过这种菌毛抗原的不断转换,可选择出对菌生存有利的粘附力亦即毒力越来越大的菌株。通过遗传突变的还有如流感嗜血杆菌。它们突变糖基合成酶,使该菌的主要保护性抗原表面 LPS 和其他多糖发生变化,使原形成的特异性抗体不能发挥免疫效应。

此外,脑膜炎球菌、流感杆菌等产生 IgA 蛋白酶,降解 SIgA;福氏志贺菌引起巨噬细胞凋亡;绿脓杆菌分泌弹性蛋白酶,灭活 C3a 和 C5a 等。

2. 胞内菌的感染免疫:对医学重要的兼性胞内菌有结核杆菌、牛分枝杆菌、麻风杆菌、伤寒杆菌、副伤寒杆菌、布鲁杆菌、肺炎军团菌、产单核细胞李斯特菌等。它们主要寄居在单核吞噬细胞中,其他宿主细胞亦可寄居。例如麻风杆菌寄居细胞的范围很广,包括神经鞘细胞(Schwann's cell);产单核细胞李氏菌常以肝细胞作为重要的储存细胞;结核杆菌在体外可感染多种哺乳动物细胞,但在体内只寄居在巨噬细胞内。专性胞内菌有引起斑疹伤寒、恙虫病的立克次体,Q 热的柯克斯体,沙眼、性病淋巴肉芽肿的衣原体等。它们主要寄居在宿主的内皮细胞、上皮细胞等非职业吞噬细胞内,有时亦可在单核吞噬细胞内发现。

(1) 天然免疫:吞噬细胞对胞内菌能吞噬,但一般不能杀死它们,因此反而造成这些病菌的扩散。胞内菌亦能活化 NK 细胞,可以是直接亦可通过菌先刺激巨噬细胞产生强 NK 细胞激活细胞因子 IL-12 而间接引起。因此,在产生特异性免疫应答中的抗体前,NK 细胞担负着早期的防御功能。实验中发现,T 和 B 细胞均缺失的 SCID 小鼠,至少可控制产单核细胞李氏菌感染一个时期,表明 NK 细胞发挥一定的抗菌作用。活化的 NK 细胞产生的 IFN- $\gamma$ ,

又可激活巨噬细胞使之杀灭吞入的胞内菌。

(2) 特异性免疫：胞内菌的保护性免疫应答主要是细胞免疫，因特异性抗体不能进入胞内菌寄居的宿主细胞内与之作用(图 14-3)。特异性细胞免疫应答包括两种类型的反应：一为 T 细胞衍生的细胞因子，特别是  $\text{IFN-}\gamma$  活化巨噬细胞后杀灭吞入的病菌；另一为 CD8 CTL 破坏胞内菌感染的细胞，释放出病菌，再由抗体等调理后由吞噬细胞吞噬消灭。由 CD4 Th1 细胞产生的细胞因子在对抗胞内菌感染中起重要作用。结核杆菌或产单核细胞李氏菌小鼠感染模型中证明，加用  $\text{IFN-}\gamma$  或 TNF 抑制剂使上述感染更为恶化；又  $\text{IFN-}\gamma$  或 TNF-RI 基因剔除小鼠对这两病菌感染呈现极度易感。

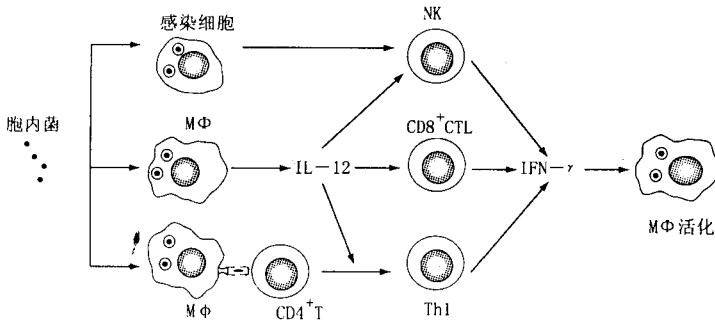


图 14-3 抗胞内菌感染的特异性免疫机制

在对胞内菌免疫应答中，巨噬细胞活化、细胞因子产生亦可导致宿主组织损伤，其表现是 DTH 反应，结果形成肉芽肿。肉芽肿能使炎症反应局限化，并阻挡病菌的扩散；但因有组织坏死和纤维化，使功能严重损害。结核杆菌、麻风杆菌等感染中常有肉芽肿形成。

(3) 逃避免疫的机制：主要的是胞内菌能抵抗吞噬细胞的杀伤作用，方式有多种。

1) 躲避或破坏活性氧(氮)物质的杀伤。吞噬细胞杀伤吞入病菌的毒性效应分子有氧依赖和非依赖杀伤性介质两类。氧依赖杀伤性介质包括活性氧物质( $\text{ROI}$ :  $\text{O}_2^-$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{HOCl}$ 、 $\text{NH}_2\text{Cl}$  等)和活性氮物质( $\text{RNI}$ :  $\text{NO}$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  等)，非氧依赖杀伤性介质有防御素、溶菌酶等。一般病菌进入吞噬细胞时触发细胞的呼吸爆发导致 ROI 产生而将病菌杀死。肺炎军团菌通过不寻常的进入吞噬细胞途径，即与细胞上的 CR1/CR3 结合，这条安全通道不会引起呼吸爆发和 ROI 的产生。有些胞内菌能产生超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶，可分别对  $\text{O}_2^-$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  解毒。胞内菌干扰 RNI 杀菌的机制研究不多，但发现过氧化氢酶能间接抑制 RNI 的产生。

2) 阻止吞噬体和溶酶体的融合。溶酶体中含有多种杀菌和降解物质。肺炎军团菌、结核杆菌、伤寒杆菌、鼠伤寒杆菌、衣原体能阻碍吞噬体与溶酶体的融合，使在吞噬体中的病菌避免与溶酶体酶类接触而勿受伤害。

3) 躲避至吞噬细胞的细胞质。巨噬细胞的细胞质不含杀菌物质，因而是胞内菌的安全场所。产单核细胞李氏菌产生李斯特菌溶素(listeriolysin)，破坏吞噬体膜后逸入细胞质中。立克次体产生磷脂酶降解吞噬体膜而进入细胞质。

4) 此外，尚有胞内菌直接在细胞与细胞间扩散(产单核细胞李氏菌)；入侵非职业吞噬细胞(麻风杆菌入侵神经鞘细胞、产单核细胞李氏菌入侵肝细胞)；抗溶酶体酶作用(柯克斯体)等。

## 二 病毒的感染免疫

病毒是严格的胞内寄居病原体,它们利用宿主细胞的核酸和蛋白质装置来增殖。病毒通过与宿主细胞表面正常分子作为受体的结合,可感染众多的靶细胞。典型的例子有三:①人 HIV-1 与人 T 细胞的 CD4 分子结合,并利用趋化因子受体(CC-CKR5, CXCR5)作为协同受体;②EB 病毒与人 B 细胞的 CR2(CD21)结合;③作为普通感冒病原体的鼻病毒,与包括气道上皮在内的多种细胞表达的 ICAM-1(CD54)结合。病毒感染靶细胞后,有两种不同结局。杀细胞病毒的复制可干扰宿主细胞的蛋白合成和功能,导致细胞损伤,最终感染细胞死亡,非杀细胞病毒在宿主细胞内寄居造成一定损害,但不杀死靶细胞;产生的蛋白质可刺激宿主形成特异性免疫。杀和非杀细胞病毒引发的特异性免疫应答是不同的。

1. 天然免疫:主要有两种机制。

(1) 病毒感染直接刺激感染细胞产生 IFN- $\alpha/\beta$ : IFN- $\alpha/\beta$  有抑制病毒复制作用。

(2) NK 细胞溶解多种感染细胞:在特异性免疫应答形成前,NK 细胞是感染早期的主要抗病毒机制。IFN- $\alpha/\beta$  能增强 NK 细胞溶解病毒感染细胞的能力。

2. 获得性免疫:体液免疫和细胞免疫在对抗病毒感染中各有特定作用。一般是特异性抗体与宿主细胞外存在的病毒结合发挥效应,特异性 CTL 主要破坏、裂解感染靶细胞,使病毒失去复制环境;同时,随靶细胞崩解释放的游离病毒将受到特异抗体的作用而失去活性,最终为吞噬细胞等清除。

特异抗体在病毒感染早期和从感染靶细胞释放出杀细胞病毒时期是重要的防御机制,因这些期间的病毒处于细胞之外,抗体可以与之结合。抗体的作用有:①中和抗体与病毒包膜或衣壳蛋白结合,阻挡病毒与靶细胞的接触从而不可能入侵细胞;②调理抗体和病毒结合后,可促进对病毒颗粒的吞噬性廓清(phagocytic clearance);③SIgA 类抗体对经消化道或呼吸道入侵的病毒有重要的中和作用,口服脊髓灰质炎减毒活疫苗的目的就在于此;④有补体存在时,抗体可增强吞噬作用,对具有脂质包膜的病毒尚可有直接溶解作用等。

一旦病毒感染建立,尤其是非杀伤病毒感染,特异性免疫的主要机制是 CTL。多数病毒特异 CTL 是 CD8 T 细胞,CTL 的成熟和活化需有 CD4 Th1 分泌的细胞因子和(或)感染细胞表达的共刺激分子。CTL 的抗病毒效应是将穿孔素、粒酶等介入感染细胞,破坏其完整性,并降解病毒基因组;或通过 FasL 介导感染细胞凋亡。同时,还能分泌 IFN- $\gamma$  等细胞因子。

在某些非杀伤细胞病毒感染中,CTL 有可能造成宿主组织损伤。以淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)感染正常小鼠,能引起脑膜炎。LCMV 入侵靶细胞后并不直接破坏细胞,只是刺激机体使产生特异性 CTL。是这些 CTL 发挥免疫防御功能,因清除病毒感染而将脑膜细胞损伤致病。若将 LCMV 感染 T 细胞缺失小鼠,则只成为慢性病毒携带鼠,不产生病变。在人类中亦有类似情况。免疫低下个体感染乙型肝炎病毒后,除血清中可检出病毒标志外,无任何症状和体征,患者呈长期带毒状态。从急性和慢活肝患者肝脏标本中,可观察到大量的 CD8 T 细胞存在,这些分离自肝活检材料中的乙肝病毒特异、MHC I 类分子制约的 CTL 可在体外培养增殖。

抗病毒感染的免疫应答可能产生的疾病有:①某些病毒如乙型肝炎病毒,持续感染后形成的循环免疫复合物可导致 III 型超敏反应。若沉积于血管,则发生全身性血管炎。②某些病毒与宿主组织间有共同氨基酸序列存在,则当这些病毒感染后产生免疫效应物质,有可能

攻击有共同抗原的宿主自身组织。

3. 逃避免疫的机制：尽管病毒基因组大小有限,不少病毒仍能编码多种蛋白从不同水平干扰宿主的天然和获得性免疫防御机制。

(1) 病毒经常改变其抗原以避免宿主的免疫攻击：流感病毒包膜的血凝素和神经氨酸酶两种糖蛋白极易突变,从而造成多次世界性大流行和连续不断的地区性小流行。HIV 病毒亦易变,据推测其突变速度要比流感病毒快 65 倍左右。

(2) 破坏  $\text{IFN-}\alpha/\beta$  的作用：腺病毒、EB 病毒等能封闭和抑制  $\text{IFN-}\alpha/\beta$  诱生的抗病毒蛋白,使入侵病毒照样复制增殖。

(3) 中断补体级联反应,避免补体介导的杀伤：痘苗病毒产生能与 C4b 结合的蛋白,抑制补体经典途径的进行。单纯疱疹病毒的一种糖蛋白,与 C3b 结合后可同时抑制补体经典和替代两激活途径。

(4) 造成宿主广泛性免疫抑制：麻疹病毒、腮腺炎病毒、EB 病毒、巨细胞病毒、HIV 等直接感染 T 细胞、B 细胞或巨噬细胞等免疫细胞,导致裂解或功能改变。免疫抑制也可是细胞因子不平衡的结果。例如 EB 病毒产生一种类似 IL-10 的 BCRF1,它能抑制 Th1 细胞产生的 IL-2、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$ ,因而这些细胞因子的水平就下降。另些病毒抑制免疫应答通过 MHC I 类的表达抑制途径。例如巨细胞病毒产生一种蛋白质,与  $\beta 2$  微球蛋白结合后阻止膜表面 MHC I 类分子表达;腺病毒合成一种整合膜蛋白,与内质网中的 MHC I 类分子结合后阻止该分子转位到细胞膜表面。

### 三 真菌的感染免疫

近年来,真菌感染的发病率和病死率有所上升,原因与滥用广谱抗生素引起菌群失调和应用激素、抗癌药物等导致免疫低下有关。有些真菌感染是地方性的。这类真菌常是二相性(dimorphic)真菌,例如荚膜组织胞浆菌、皮炎芽生菌、粗球孢子菌等。它们存在泥土等环境中呈丝状菌相,有孢子和菌丝;当孢子吸入免疫低下个体时,宿主体的 37℃ 温度等条件使变为酵母相而致病。另有一类是条件致病性真菌,如念珠菌、曲霉、新生隐球菌等,其感染主要发生在 AIDS、糖尿病以及放疗、化疗、使用免疫抑制药物等患者。

1. 天然免疫：完整的皮肤、粘膜是一个有效的抗真菌屏障,皮肤分泌的脂肪酸有杀真菌作用。真菌组分是补体替代途径的强激活剂,但真菌能抵抗 MAC 的杀伤;而补体活化过程中产生的 C5a、C3a,可招引炎性细胞至感染区。中性粒细胞是吞杀真菌最有效的吞噬细胞。体外实验表明中性粒细胞可杀死白念珠菌和烟曲霉,杀伤机制是吞噬过程触发呼吸爆发,形成  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、HClO 等 ROI,以及释放颗粒中的防御素等。在中性粒细胞缺失患者,常见播散性念珠菌病和侵袭性烟曲霉病;若给以外源性 IFN- $\gamma$ ,有一定疗效。巨噬细胞在抗真菌防御中也有一定作用,但不如中性粒细胞。NK 细胞有抑制新生隐球菌和巴西副球孢子菌生长作用;对感染小鼠中的隐球菌有杀伤效应;但 NK 细胞对荚膜组织胞浆菌感染小鼠无效。

2. 获得性免疫：真菌感染中,细胞免疫是主要的。荚膜组织胞浆菌是一种兼性胞内病原菌,寄居在巨噬细胞内。要清除该菌的免疫机制与消灭胞内菌的基本相同。新生隐球菌常定植在免疫低弱宿主的肺和脑,需 CD4 和 CD8 T 细胞协作消灭之。白念珠菌感染常始于粘膜表面,细胞介导的免疫可阻止其扩散至组织内。在真菌感染中,一般是 Th1 应答对宿主有保护作用,Th2 应答可造成损害。

真菌感染常有特异性抗体产生,对血清学诊断有一定用处,但抗真菌作用不大。

3. 逃避免疫的机制:了解很少。有报道白念珠菌产生一种蛋白酶能降解人免疫球蛋白;粗球孢子菌胞外糖蛋白层可阻碍中性粒细胞与菌的接触;念珠菌的甘露聚糖有抑制中性粒细胞髓过氧化物酶的作用等。

#### 四 寄生虫的感染免疫

多数寄生虫有较复杂的生活史,其中有的在人类或其他脊椎动物,有的在蝇、蝉、螺等中间宿主。感染人类通过中间宿主叮咬,如疟疾、锥虫病等。亦可因与中间宿主处于同一环境中而受染,如接触有感染钉螺的疫水染上日本血吸虫病。

1. 天然免疫:由于寄生虫与人类宿主在进化过程中长期适应,原虫和蠕虫进入血流或组织后常能对抗宿主的防御功能而在其中生长繁殖。许多寄生虫在无脊椎动物期,可活化非人类中间宿主的补体替代途径,最后被 MAC 溶解。但在人类宿主,寄生虫常抵抗补体的破坏,其因可能是失去与补体结合的表面分子,或获得宿主调节蛋白如 DAF 等。巨噬细胞能吞噬原虫,但多数抗杀伤甚至在细胞内繁殖。蠕虫表面形成的外层结构,常能抵抗中性粒细胞和巨噬细胞对它们的杀伤作用。

2. 获得性免疫:不同原虫和蠕虫的结构、生化特性、生活史和致病机制差异很大,因而它们的特异性免疫应答颇不一致。一般言,原虫生存在宿主细胞内,其保护性免疫机制与胞内寄生的细菌和病毒类似。蠕虫寄生在细胞外的组织中,去除它们依靠抗体应答中的一种特殊形式。

(1) CMI 是对存在于巨噬细胞内原虫的主要防御机制:在小鼠感染利什曼原虫模型中,小鼠的品系影响其结局很大。在对该原虫抵抗的小鼠品系,原虫进入巨噬细胞的体内,并刺激 CD4 Th1 细胞产生 IFN- $\gamma$ ;IFN- $\gamma$  活化巨噬细胞,促进对胞内利什曼原虫的杀灭。加用抗 IFN- $\gamma$  抗体,则使小鼠对原虫的易感性增加。若采用对利什曼原虫易感的小鼠品系,则产生以 Th2 细胞衍生的 IL-4 为主的细胞因子。IL-4 可促进特异性抗体生成,但无保护作用,动物最终死亡。若在实验过程中,注射抗 IL-4 抗体则可减轻病程。有关控制对原虫感染的抵抗或易感基因尚未确定,但现在已有多个实验室在试验选用一些细胞因子或其拮抗物以增强疗效;其中 IL-12 最受人注目,它甚至在易感小鼠品系中亦能诱导具有免疫保护的 Th1 细胞应答。

(2) CTL 应答主要针对在宿主细胞内繁殖和使细胞裂解的原虫:这一应答与杀细胞病毒的防御机制相同。以疟原虫为例,过去误认为疟疾的免疫主要是抗体的体液免疫,现认为 CMI 中的 CD8 CTL 在疟原虫感染的红细胞外期起重要作用。若注射抗 CD8 抗体去除经孢子免疫小鼠中的 CD8 CTL,则小鼠不能抵抗疟原虫的攻击。CTL 的作用可以是直接裂解孢子感染的肝细胞,或间接分泌 IFN- $\gamma$  和活化肝细胞使产生 NO 等杀原虫物质。IL-12 能增强对孢子攻击的抵抗力,可能是由于刺激产生 IFN- $\gamma$  之故。

(3) IgE 抗体和嗜酸粒细胞介导抗多种蠕虫感染: IgE 抗体先结合至蠕虫表面,嗜酸粒细胞经 Fc $\epsilon$  受体与 IgE 抗体再结合。细胞被激活,脱颗粒放出主要碱性蛋白(MBP)杀死寄生虫。这种特殊形式的 ADCC 对成虫作用不显著,主要针对在宿主体内发育中的幼虫阶段,例如血吸虫童虫、丝虫微丝蚴、旋毛虫早期幼虫等。这些应答是由于蠕虫刺激 CD4 Th2 细胞使分泌 IL-4 和 IL-5。IL-4 诱发产生 IgE 抗体,IL-5 促进嗜酸粒细胞的发育和活化。嗜酸粒细胞

和 IgE 抗体组合的 ADCC 杀虫效应比其他组合要大,主要是嗜酸粒细胞活化后产生 BMP 比中性粒细胞、巨噬细胞的蛋白分解酶、ROI 毒性更强。

特异性免疫应答亦可造成宿主损伤。例如日本血吸虫的虫卵沉积于宿主肝脏,刺激 CD4 T 细胞继而活化巨噬细胞和导致 DTH。结果是虫卵部位有肉芽肿形成,随后严重纤维化,导致肝脏静脉回流障碍、门静脉高压和肝硬化。丝虫寄生在淋巴管内,引起慢性细胞免疫应答形成纤维化,结果淋巴管栓塞,造成腿部橡皮肿等。慢性和持续性寄生虫感染常伴有特异性抗原抗体复合物形成。这种免疫复合物能沉积于血管或肾小球基底膜,发展成血管炎或肾小球肾炎等 III 型超敏反应疾病。血吸虫病和疟疾可产生这类疾病。疟疾和非洲锥虫病还能产生与宿主多种组织反应的自身抗体。

3. 逃避免疫的机制: 寄生虫能在有免疫力的宿主体内繁殖和长期存活,因其具有多种免疫逃避机制。

(1) 寄生部位与免疫效应物质隔离: 疟原虫、弓形虫等在靶细胞内生存和繁殖;内阿米巴形成抗免疫物质的包囊;某些蠕虫寄居在免疫机制难以影响的肠腔等。

(2) 以宿主物质伪装: 曼氏血吸虫经皮肤进入肺时,将宿主的 ABO 血型糖脂组分和 MHC 分子等包装在其外层,使宿主免疫细胞误认为自身组织,幼虫得以免被杀伤。

(3) 抗御免疫效应机制的杀伤: 血吸虫幼虫在肺内期,其表面结构发生改变,能抵抗补体、抗体或 CTL 的破坏;枯氏锥虫合成类似 DAF 的膜糖蛋白,抑制补体的活化;利什曼原虫前鞭毛体破坏补体 MAC,减弱补体介导的溶解作用;刚地弓形虫抑制吞噬体与溶酶体的融合,枯氏锥虫溶解吞噬体膜逸入胞质等均可逃避巨噬细胞的杀灭作用。还有,某些蠕虫分泌胞外酶降解结合在虫体膜表面的抗体,使原对抗体依赖的效应机制从敏感变为抵抗。

(4) 表面抗原性改变: 一种是生活史的不同期,虫体表面抗原各异。例如疟原虫孢子期的抗原性与裂殖子期不同。另一种是程序性抗原突变,主要见于布氏锥虫和东非锥虫。编码这种主要表面抗原的是可变表面糖蛋白(VSG)基因,其数量多达 1 000 种以上。该基因转换与特异性抗体的存在无关。寄生虫表面抗原性的改变,给疫苗研制带来高度困难。

(5) 虫体表面抗原的脱落: 溶组织内阿米巴、血吸虫幼虫和锥虫等,能不断更换其表面膜,失去其原有表面抗原;有时连同已结合的特异性抗体一并脱落。这样,使寄生虫免受免疫效应机制的攻击。

## 本章提要

感染免疫包括天然免疫和获得性免疫;后者又分体液免疫和细胞免疫,天然免疫由屏障结构、吞噬细胞、补体等组成,作用范围广,不针对某一特定病原体。获得性免疫系宿主体受病原体诱发产生的特异性免疫应答,效应产物主要为抗体的属体液免疫,以 T 细胞为主的细胞免疫。天然免疫在个体出生时就存在,作用快,但力度小。获得性免疫形成需一定时间,但强度高。入侵病原体若数量少、毒力低,天然免疫就能及时将之消灭,不引起感染。反之,需待特异性免疫产生,再两者相辅相成,协同配合,将病原体和(或)其毒性物质清除。一般情况下,感染免疫对宿主体是有益的;但有时感染免疫亦可同时出现不利的一面,造成机体损伤。病原体种类多,入侵宿主体后诱发的感染免疫不尽一致。

(陆德源)



## 参考文献

- [ 1 ] Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, et al. Medical Microbiology, 3rd ed. Mosby, St Louis, 1998
- [ 2 ] Delves PJ & Roitt IM. Encyclopedia of Immunology, 2nd ed. Vol 1 ~ 4. Acad Press, San Diego, 1998
- [ 3 ] Price DA, Klenerman P, Booth BL, et al. CTL, chemokines and antiviral immunity. Immunol Today, 1999, 20: 212
- [ 4 ] Dietrich G, Gentscher I, Hess J, et al. Delivery of DNA vaccines by attenuated intracellular bacteria. Immunol Today, 1999, 20: 251
- [ 5 ] Manca C, Paul S, Barry III CE, et al. M. tuberculosis; catalase and peroxidase activities and resistance to oxidative killing in human monocytes in vitro. Infect Immun, 1999, 67: 74
- [ 6 ] Neujahr DC, Reich CF & Pisetsky DS. Immunostimulatory peptides of genomic DNA from different bacterial species. Immunobiology, 1999, 200: 106
- [ 7 ] Taylor - Robinsen AW & Smith EC. A dichotomous role for nitric oxide in protective against blood stage malaria infection. Immunol Lett, 1999, 67: 1
- [ 8 ] Astarie - Dequeker C, N' diaye EN, Cabec VL, et al. The mannose receptor mediates uptake of pathogenic and nonpathogenic mycobacteria and bypasses bactericidal responses in human macrophages. Infect Immun, 1999, 67: 469
- [ 9 ] Cosaro D, Venditti D, Padula M, et al. Intracellular life. Crit Rev Microbiol, 1999, 25: 39
- [ 10 ] Lehrer RI & Ganz T. Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defense. Curr Opin Immunol, 1999, 11: 23

# 第十五章 免疫缺陷病

免疫系统的完整性是机体抵御微生物及其产物侵袭的重要保证。组成免疫系统的任何一个成分,无论是参与特异性免疫的还是参与非特异性免疫的,其缺损都会使机体对病原体易感性增高,而产生各种感染,严重时威胁生命。又因为免疫系统的免疫监视作用在阻止由病毒引起的肿瘤中具有重要的作用,所以某些免疫缺陷可导致肿瘤发生率异常升高。因免疫系统一个或几个组分的缺损而引起的疾病通称为免疫缺陷病。自 1951 年 Bruton 报道首例 X 性联无丙球蛋白血症以来,目前已发现的免疫缺陷病种类已达数十种之多。免疫缺陷病已成为临床上,尤其是儿科和内科的一组重要的疾病。

本章在介绍免疫缺陷病一般性特点的基础上,首先阐述常见的原发性免疫缺陷病,其中包括影响特异性免疫应答的体液性免疫缺陷病和细胞免疫缺陷病,然后介绍影响非特异性免疫应答的补体缺乏病和吞噬细胞功能缺陷病。在获得性免疫缺陷病中主要介绍获得性免疫缺陷综合征(AIDS)。

## 第一节 免疫缺陷病的特点

### (一) 概述

大多数免疫缺陷病是遗传的,称为原发性或先天性免疫缺陷病。其他的免疫缺陷病则是继发于营养不良、感染、恶性肿瘤或免疫抑制剂的使用,通称为继发性或获得性免疫缺陷病。在后一类免疫缺陷病中,由 HIV 感染引起的获得性免疫缺陷综合征(AIDS)因其传播速度迅猛、病情严重、几乎百分之百的死亡率以及缺乏有效的预防和治疗方法而成为全球关注的焦点。

研究原发性免疫缺陷病的目的之一,是为了确定引起疾病的突变基因及其遗传方式,为临床诊断、遗传咨询和治疗提供有用的信息。在对原发性免疫缺陷病的研究中,有时会发现一些未知的基因在免疫应答中的作用,也会揭示一些已知的基因在免疫应答中的未知的功能,丰富我们对免疫应答分子基础的认识。事实上,我们关于某些基因和分子的功能的认识是通过对免疫缺陷病的研究获得的。

目前已知的免疫缺陷病绝大多数是特异性免疫缺陷引起的。特异性免疫缺陷由 T、B 细胞的发育、活化或功能异常所造成。非特异性免疫缺陷常由吞噬细胞功能缺陷或补体系统成分缺乏引起的。

### (二) 临床表现

1. 感染:免疫缺陷病最主要的特点是反复和持续的感染。感染的病因学因具体受损的免疫应答类型而异。一般来说,体液免疫缺陷者常对细菌,特别是化脓菌易感。这是因为化脓菌的荚膜能抵抗吞噬细胞的吞噬作用,须有抗体和补体调理作用的协助才能被吞噬细

胞吞噬和杀灭。抗体具有中和病毒的作用,所以体液免疫缺陷患者也对病毒易感。细胞免疫在抵抗胞内感染病原体的侵袭中发挥作用,因此细胞免疫缺陷患者对分枝杆菌、病毒、原虫等病原体易感。机会性感染是严重的免疫缺陷病的特点,常见于严重的 T 细胞免疫缺陷病或 T、B 细胞联合型免疫缺陷病。患者不但对所有的病原体易感,还对寄生于体内的或环境中的一些无致病力或致病力很弱的微生物易感,例如大肠杆菌、绿脓杆菌、真菌、弓形虫和卡氏肺孢菌等所谓的条件性致病菌。感染是免疫缺陷病的首要死因。抗生素和免疫球蛋白制剂(如丙种球蛋白)可使部分患者的感染得到暂时控制,但抗生素对某些吞噬细胞功能缺陷的患者治疗无效。

感染起病的年龄随疾病种类而异。原发性免疫缺陷病患者约有 50% 从婴幼儿期起病,严重的 DiGeorge 综合征甚至可在出生后 24 ~ 48h 内起病。体液免疫缺陷病常在出生 6 个月后起病,因为此前婴儿血循环内尚有来自母体的抗体。

2. 临床表现和病理学多变:免疫系统任何一个组分的缺损都可引起免疫缺陷病。少数例子中某些不同组分的缺损可产生相同的症状,如补体攻膜复体中任何一个成分的缺乏都使患者对脑膜炎球菌和淋球菌易感。但通常不同组分的缺乏引起不同的疾病,例如 IgA 缺乏症主要引起呼吸道和消化道感染。有时即使是同一种免疫缺陷病,在不同患者中的表现也不相同。产生这种多变性的原因不明。免疫缺陷病侵犯的部位几乎遍及全身所有的系统,并产生相应功能障碍的症状。

3. 伴发恶性肿瘤:原发性免疫缺陷病中恶性肿瘤发病率比同龄正常人群高 100 ~ 300 倍。这些肿瘤大多数是由肿瘤病毒引起的,主要发生在细胞免疫缺陷患者。AIDS 患者常伴发皮肤恶性肿瘤卡波氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)。

4. 伴发自身免疫病:原发性免疫缺陷病中自身免疫样疾病发病率增高,从正常人群的 0.001% ~ 0.01% 升高至 14%。以 SLE、类风关和恶性贫血较为常见。

5. 遗传倾向性:原发性免疫缺陷病大多数有遗传倾向,其中 1/3 左右为常染色体隐性遗传,1/5 为 X 性联隐性遗传。

## 第二节 原发性免疫缺陷病

原发性免疫缺陷包括特异性免疫缺陷和非特异性免疫缺陷,本节择要叙述一些常见的免疫缺陷病,同时介绍几种新近确定的罕见的免疫缺陷病。

### 一 特异性免疫缺陷病

特异性免疫缺陷分体液免疫缺陷病和细胞免疫缺陷病两部分叙述。

#### (一) 体液性免疫缺陷病

原发性体液免疫缺乏病是最早认识的免疫缺陷病,这是因为从 20 世纪 50 年代起抗体测定就已成为临床常规检验方法。

先天性 B 细胞发育障碍和功能异常是造成抗体产生缺陷的主要原因。在不同的抗体缺陷病中,原发性异常既可发生在 B 细胞发育的各个不同阶段,也可发生在成熟 B 细胞对抗原刺激应答的各个阶段。在后一种情况下,B 细胞本身往往是完全正常的,缺陷在于 T 细胞不能提供适当的辅助,或是 CD8<sup>+</sup> T 细胞功能异常抑制 B 细胞产生抗体。由于这类疾病的

细胞免疫表现正常,所以归在体液免疫缺陷病中叙述。而 T、B 细胞联合缺陷病则归在重症联合型免疫缺陷病中叙述。

抗体缺乏病的突出和严重的并发症是反复化脓性感染,常见的化脓菌包括肺炎球菌、链球菌、脑膜炎球菌和流感嗜血杆菌等。临床上,这些病原体常引起中耳炎、鼻窦炎、肺炎、脑膜炎、骨肌炎、化脓性关节炎和全身性败血症。因为抗体有中和病毒的作用,所以抗体缺乏者也对某些病毒易感。易感病毒包括 ECHO 病毒、肠道病毒、脊髓灰质炎病毒和乙肝病毒等,患者可发生中枢神经系统感染和严重的乙肝。抗体缺乏患者中,某些肠道寄生虫,例如贾第虫感染也不少见。

1. X 性联无丙球蛋白血症(X-linked agammaglobulinemia, XLA): XLA 是临床上首次确定的体液免疫缺陷病。由于本病由 Bruton 于 1952 年首次报道,故又称 Bruton 病。本病是最常见的原发性免疫缺陷病之一。

XLA 的特点是血清中各类免疫球蛋白缺乏,或只能测得微量的抗体。外周血和淋巴组织中 B 细胞减少或完全缺乏,淋巴结中无生发中心和浆细胞。

本病起病早,在出生数月后当患者体内母源性抗体水平下降时开始发病。临床表现为反复化脓性感染,患者细胞免疫完全正常,能有效应付各种细胞内感染病原体。

大多数 XLA 是因染色体上一个基因的突变引起的。该基因位于 X 染色体的长臂(q21-22.3 区带),其编码产物是胞质内的一个酪氨酸激酶。因本病由 Bruton 发现,所以该基因称为 Bruton 酪氨酸激酶(Bruton tyrosine kinase, btk)基因,又因为该基因缺损影响 B 细胞的发育,btk 中的 b 也可以代表 B 细胞。btk 基因突变方式可以为点突变,也可以为 DNA 片段缺失。

btk 编码产物在结构上与胞质内其他各种参与淋巴细胞激活过程的激酶相似。btk 在 B 细胞发育过程中传递膜抗原受体传入的信号。btk 基因突变导致 B 细胞在骨髓中发育障碍, B 细胞的发育停滞在从原 B(pro B)到前 B(pre B)或从前 B 到成熟 B 细胞的各个不同发育阶段,表明 btk 在 B 细胞分化的各个阶段的信号转递中都是重要的。因为女性有两条 X 染色体,而 X 染色体的灭活是随机的,因此有半数的 B 细胞因其 X 染色体携带正常的 btk 而发育成熟,所以有 btk 基因缺陷的女性不发病而成为携带者。如携带者将有缺陷的 X 染色体传给男孩,病孩的全部 B 细胞都将含有有缺陷的 X 染色体,因此出现无丙球蛋白血症。

近 20% 的 XLA 患者伴有自身免疫病,其原因不明。某些 XLA 患者中激活的 T 细胞数量减少,这可能是因为 B 细胞不能充当有效的 APC 造成的。

2. 选择性 Ig 同种型缺乏病:在许多体液免疫缺陷病患者中,抗体产生缺陷只限于某一种或少数几种同种型的 Ig。已发现的这类疾病有选择性 IgA 缺乏病、选择性 IgG 亚类缺乏病和伴高 IgM 血症的 IgG、IgA 和 IgE 缺乏病。此外还发现两个家庭具有  $\kappa$  链缺乏症。这类疾病可以由相应的重链结构基因缺失引起,也可以是由 T 细胞缺陷引起的。临床上,选择性 Ig 同种型缺乏病患者对病原体易感性通常与正常人无明显差别。

(1) 选择性 IgA 缺乏病:选择性 IgA 缺乏病是最常见的体液免疫缺陷病,它在白人中的发病率高达 1/700 ~ 1/800。本病多为散发,也有不少患者有家族史。有家族史者呈常染色体显性或隐性遗传。群体研究显示本病与 HLA-A1B8BfFC4AQOC4BDR3 超单元型关联,在白人这一单元型与许多自身免疫病关联。

本病特征是血清 IgA 水平异常低下(常  $< 50\mu\text{g/ml}$ ),仅为正常人 IgA 水平的 1/40 ~ 1/80。

血清 IgM 和 IgG 水平正常或略升高。本病 IgA 水平降低原因是具有 IgA 受体的 B 细胞发育停滞,不能分化成为分泌 IgA 的浆细胞。IgA $\alpha$  链基因结构正常。目前尚不清楚具有 IgA 受体 B 细胞的分化障碍是由于 B 细胞内在缺陷引起的,还是由于缺乏 IgA 转类所需的细胞因子 TGF- $\beta$  和 IL-5,或是由于 B 细胞不能对这些细胞因子产生反应引起的。

选择性 IgA 缺乏病临床表现多变,大多数患者无临床表现。有些患者偶发呼吸道和消化道感染。少数患者可因反复严重感染产生永久性消化道和呼吸道损害,并伴发自身免疫病。

(2) 选择性 IgG 亚类缺乏病:选择性 IgG 亚类缺乏病患者血清中总 IgG 水平正常,但某一种或几种 IgG 亚类水平选择性下降。选择性 IgG 亚类缺乏病中最常见的一种类型是成人 IgG3 亚类缺乏病。这类患者大多无临床表现,少数患者可发生反复化脓性感染。

本病通常由 B 细胞分化异常所致。在极少见情况下由各种 C $\gamma$  基因纯合子性缺失引起。

(3) 伴高 IgM 血症的 IgG、IgA 和 IgE 缺乏病:本病又称高 IgM 综合征(hyper IgM syndrome),其特征是血清 IgM 水平增高,而其他类别 Ig 水平减低或缺乏。患者 B 细胞发育正常,但患者对 T 细胞依赖性抗原刺激只能产生 IgM 类抗体。本病缺陷在于 T 细胞中 CD40L 基因发生点突变或缺失,致使 T 细胞不能表达 CD40L。B 细胞在接受抗原刺激时因不能获得通过 CD40 传导的信号,而不能有效地增殖和发生抗体转类,结果只能产生 IgM 类抗体。在阐明本病发病机制之前已经知道 CD40-CD40L 相互作用在 B 细胞激活中的作用,通过本病进一步认识了它们在抗体转类中的作用(参见第九章)。这是免疫缺陷病研究使我们认识已知基因在正常免疫应答中所具有的新的功能的一个例子。本病的发病机制表明,CD40-CD40L 相互作用不仅在 B 细胞激活中是重要的,而且在抗体的转类中起着决定性的作用。

高 IgM 综合征患者因缺乏 IgG 和 IgA 而对细菌易感,而且常常发生肺孢菌性肺炎(pneumocystis pneumonia)。患者对肺孢菌易感这一点提示患者存在 T 细胞免疫缺陷。高 IgM 综合征通常以 X 性联方式遗传,但也存在非 X 性联的高 IgM 综合征。

(4) 常见变异型免疫缺陷病(common variable immunodeficiency, CVID):CVID 是于 1953 年继 Bruton 报道 XLA 不久之后发现的。CVID 是最常见的产生症状的原发性抗体缺陷病。CVID 临床表现多变,患者可从幼年起病,也可以在成年后起病。大多数患者表现为反复发作的细菌感染,主要受累部位为呼吸道和消化道。有的患者常伴发慢性肉芽肿病和自身免疫病,例如恶性贫血、溶血性贫血和类风关。自身免疫病表现可以非常显著。虽然对 CVID 的认识已逾 40 年,但 CVID 临床和免疫学表现的多变性长期阻碍了研究的进展。

20 世纪 90 年代初发展的一种分型系统使得对本病的分类有了改进。根据这一测试方法,现可将 CVID 分为 4 种类型:①本组患者无 B 细胞,体液应答完全缺如;②A 组:血循环中 B 细胞数减少,B 细胞既不能产生 IgM,也不能产生 IgG;③B 组:B 细胞只能产生 IgM,不能产生 IgG;④C 组:B 细胞数量正常,能产生 IgG 和 IgM。

CVID 中低丙球蛋白血症可由许多原因引起,包括 B 细胞内在缺陷,缺乏 T 细胞辅助和抑制性 T 细胞活性等。在大多数患者中,抗体应答异常可能是由于 B 细胞不能分化成抗体分泌细胞造成的,这些患者淋巴组织的 B 细胞区中 B 细胞是增生的,但不能分化成浆细胞。在另一些患者中,B 细胞在体外经 EB 病毒转化后能产生 IgM,但常常不能产生 IgG 和 IgA。

研究表明,所有 CVID 患者均存在 T 细胞功能缺陷,表现为 T 细胞对抗原应答降低。约 30% 患者对 PHA 反应下降。T 细胞的这种缺陷与 CVID 的类型无关,如 C 组患者虽然外周血 T、B 细胞数量正常,但其 T 细胞对抗原应答能力降低。一小部分患者外周血中存在一种  $CD8^+ MHC II^+$  的 T 细胞,这种 T 细胞对 B 细胞具有明显的抑制活性。

CVID 的遗传学不明。本病可为散发性,也可为家族性。在有家族史的患者中,其遗传方式有常染色体显性的,也有常染色体隐性的。

CVID 与选择性 IgA 缺乏症之间有明显的关系。在有些家庭中,CVID 与 IgA 缺乏病并存。这些家庭中的 IgA 缺乏病患者常常是无症状的。英国和瑞典的一项联合研究表明,15% CVID 患者的一级亲中有 IgA 缺陷病患者,提示这是一种显性遗传,但表现型可以不同。此外,已有关于 IgA 缺乏病偶尔可发展成 CVID 的报道。与 IgA 缺乏相似的另一个证据是,CVID 也与 HLA-A1B8BfC4AQOC4BDR3 单元型关联。

表 15-1 总结了常见的原发性 B 细胞免疫缺陷症。

表 15-1 原发性 B 细胞免疫缺陷症举例

疾 病	功 能 缺 陷	产生缺陷的可能机制
X-性联无丙球血症	各类 Ig 缺乏,B 细胞数减少	B 细胞酪氨酸激酶突变,B 细胞成熟停滞在发育早期
选择性 IgG 亚类缺乏症	一种或几种 IgG 亚类水平降低	同种型转换缺陷或 B 细胞不能分化成相应浆细胞
高 IgM 血症	IgM 水平升高,IgD 水平正常或降低,IgG、IgA、IgE 水平降低	T 细胞 CD40L 基因突变
Ig 重链缺乏症	IgG1、IgG2 或 IgG4 缺乏,有时伴 IgA 或 IgE 缺乏	14 号染色体长臂 32 区带(14q32)缺失
常见变异型免疫缺陷症(CVID)	多种 Ig 同种型水平降低,抗体减少可涉及多种 Ig 同种型,涉及的具体同种型因病人而异。B 细胞正常或减少	B 细胞成熟障碍,通常由 B 细胞内在缺陷引起
婴幼儿暂时性低丙球血症	IgG 和 IgA 水平降低,血清中可测得抗菌抗体,B 细胞正常	不明,某些患者可能由于 $T_H$ 细胞成熟迟缓引起

## (二) 原发性 T 细胞缺陷病

单纯 B 细胞缺陷病患者仍具有足够的能力抵抗大多数病原体感染,具有 T 细胞缺陷病的患者则对广泛的传染因子易感。这一现象明确地显示 T 细胞实际上在所有的获得性免疫应答中占有主导地位。

大多数原发性 T 细胞缺陷病患者的细胞免疫应答能力降低,临床上表现为对胞内感染病原体的易感性增高。这些病原体能在包括吞噬细胞在内的各种细胞中生存,甚至繁殖。这些感染往往是严重的,难以控制的,因而是致命的。T 细胞缺陷患者中某些类型肿瘤的发病率异常升高。此外,如果 T 细胞不能辅助 B 细胞激活,则患者的体液免疫也受到损害,产生联合型免疫缺陷病。在这种情况下,患者对一切病原体,甚至条件致病菌易感。联合型免疫缺陷可由 T 细胞缺陷引起,也可由 T、B 细胞两者共同缺陷引起。如 PNP 缺乏病(下述)中同时有 T 细胞和 B 细胞数量减少,这类免疫缺陷病也归在原发性 T 细胞缺陷病中叙述。相反,有的体液免疫病的原发性缺陷源于 T 细胞,如高 IgM 综合征、某些 CVID 和婴幼儿暂时性低丙球蛋白血症等,但这类免疫缺陷病主要影响体液免疫而无明显的细胞免疫缺陷表现,故均已归在体液免疫缺陷一节中叙述。

1. DiGeorge 综合征: 胚胎期第 3 和第 4 咽囊发育畸形导致胸腺、甲状腺、主动脉和面部器官的缺损和畸形。不同患者中, 胸腺和其他器官缺损或畸形的程度可有很大的不同, 因此, DiGeorge 综合征中免疫缺陷程度和临床表现的差别也很大。

胸腺是 T 细胞发育和分化的中枢淋巴器官。胸腺缺损严重者, 骨髓产生的原 T 细胞不能发育成成熟的 T 细胞, 外周淋巴组织中 T 细胞区内细胞稀少, 甚至 B 细胞区也发育不良。外周血 T 细胞数量重度减少甚至缺乏, T 细胞对有丝分裂原和同种异型淋巴细胞不发生应答。细胞免疫严重受损, 如果不慎接种卡介苗或感染麻疹, 可引起死亡。外周血 B 细胞数可正常, 体液免疫功能降低, 但能应付常见的细菌感染。

胸腺完全缺如者少见, 这些患者需要用胸腺或骨髓移植治疗。大多数患者具有部分胸腺组织, 这些患儿 T 细胞免疫缺陷可随着年龄的增长(轻者 1 岁末, 重者 5 岁)而逐渐改善, 外周血 T 细胞数量增加, 体液免疫功能也同时恢复, 由此推测人体内存在胸腺外 T 细胞发育部位, 或是随着年龄增长, 典型的胸腺组织在异位发育。

2. 共济失调毛细血管扩张症(ataxia telangiectasia): 共济失调毛细血管扩张症是一种常染色体隐性遗传的疾病。其临床表现除免疫缺陷外, 还包括进行性小脑共济失调、毛细血管扩张和各种神经学缺损。此外, 患者的各种类型的细胞均对电离辐射极其敏感。

本病中最常见的体液性免疫缺陷是 IgA 和 IgG2 缺乏。T 细胞缺陷通常不明显, 与胸腺发育不良有关。患者发生鼻窦和肺部细菌性感染。多发生自身免疫现象, 且随年龄增长肿瘤发生率增高。

由于患者细胞对电离辐射敏感, 推测患者存在一种 DNA 修复缺陷, 患者中肿瘤发病率增高的事实支持这一假设。现在发现大多数共济失调毛细血管扩张症患者有 ATM 基因突变。ATM 蛋白可能与 DNA 修复有关。

某些有 T 细胞缺陷患者的血清中存在一种对 T 细胞具有选择性细胞毒性的抗体。从有粘膜炎念珠菌感染的患者中分离的 T 细胞在体外对念珠菌刺激不能产生 MΦ 移动抑制因子(MIF)。这些患者中还可能还存在其他细胞因子合成的缺陷。

3. MHC I 类缺乏症: MHC I 类缺乏症以常染色体隐性方式遗传。由于 MHC I 类表达缺陷, 胸腺内 CD8<sup>+</sup> T 细胞的阳性选择不能进行, 导致外周血中 CD8<sup>+</sup> T 细胞数量下降和功能减退。某些患者的 I 类表达缺陷为 TAP2 基因突变所致(TAP 参见第七章)。TAP2 亚单位的缺乏使内源性抗原肽不能有效地转运入内质网, MHC I 类分子不能荷肽, 最终造成细胞表面 I 类分子表达减少。I 类分子表达的减少理应引起对病毒易感性增高和肿瘤发生率的增高, 令人惊奇的是, I 类缺乏症患者主要发生呼吸道细菌感染而非病毒感染, 推测在这些患者中, NK 细胞发挥了抗病毒感染作用。

4. Wiskott-Aldrich 综合征: 本病特征是湿疹、血小板减少和 IgM 水平降低。Wiskott-Aldrich 综合征早期表现为对多糖抗原产生 IgM 抗体能力降低, 因此对有荚膜的化脓菌易感。淋巴细胞数量正常, 但体积减小。后期淋巴细胞数量减少, 产生较为严重的免疫缺陷。患者幼年死于感染或淋巴网状组织恶性肿瘤。

本病为 X 性联隐性遗传, 是由位于 X 染色体短臂上(Xp11.22)的一个基因的突变引起的。该基因正常产物的功能与细胞骨架的重新排列有关, 其突变可能影响了淋巴细胞的激活和移动。

另一个与本病有关的基因是 CD43 基因。患者 T、B 细胞、MΦ、中性粒细胞和血小板表

面 CD43 表达减少。CD43 表达减少是否与患者对多糖抗原应答能力下降有关还有待证明。

### (三) 重症联合型免疫缺陷综合征(severe combined immunodeficiency syndrome, SCID)

SCID 包括一群临床表现和发病机制各异的疾病。它们可由 T、B 细胞两者发育缺陷产生,也可以因为原发性 T 细胞发育缺陷伴继发性 B 细胞功能障碍引起。SCID 为常染色体隐性或 X 性联隐性遗传。常染色体隐性遗传的 SCID 中,腺苷脱氨酶缺乏症患者约占 50%,而嘌呤核苷脱氨酶缺乏症少见。

1. 腺苷脱氨酶(ADA)缺乏症: ADA 缺乏症为常染色体隐性遗传病,约占 SCID 总数的 20%左右。ADA 的作用是在嘌呤代谢的补救途径(salvage pathway of purine metabolism)中不可逆地催化腺苷和 2'-脱氧腺苷(2'dA 腺苷)分别成为肌苷和 2'-脱氧肌苷。ADA 基因定位于第 2 号染色体,该基因的突变或缺失导致 ADA 缺乏,使 2'-脱氧腺苷、S-腺苷同型半胱氨酸和脱氧 ATP(dATP)在细胞中堆积。这些产物对细胞具有多种毒性作用,其中尤以 dATP 的作用为最强,因为 dATP 能抑制脱氧核苷的合成,从而抑制 DNA 的合成。由于大多数体细胞能有效地把 dATP 降解为 2'-脱氧肌苷,所以 ADA 缺乏对这些细胞的毒性作用不明显,而正在发育中的淋巴细胞缺乏降解 dATP 的能力,所以非成熟的淋巴细胞对 ADA 缺乏特别敏感。ADA 缺乏导致 T 细胞和 B 细胞数量减少,产生联合型免疫缺陷病。有些患者的 T 细胞数接近正常,但对抗原刺激无应答能力。

2. 嘌呤核苷磷酸化酶(PNP)缺乏症: PNP 缺乏症是位于第 9 号染色体上 PNP 基因突变或缺失造成的 SCID,也以常染色体隐性方式遗传。PNP 缺乏时,鸟苷转化为鸟嘌呤以及肌苷转化为次黄嘌呤的通路受阻,致使鸟苷、脱氧鸟苷和 dGTP 堆积, DNA 合成受到抑制。dGTP 对 T 细胞的毒性作用大于 B 细胞,故患者 B 细胞功能正常。本病中不同患者 T 细胞免疫缺陷严重程度不同, B 细胞功能正常,患者对各种感染的易感性增高。

3. 细胞因子受体  $\gamma$  链基因突变引起的 SCID: 在同时有 T 细胞和 B 细胞缺损的 SCID 患者中,约有半数是由于 IL-2、4、7、9 和 15 受体共有的  $\gamma$  链( $\gamma_c$ )的突变引起的。因为 IL-7R 在淋巴细胞发育中具有极其重要的作用,它刺激不成熟的胸腺细胞生长,所以  $\gamma_c$  的突变导致 T 细胞分化障碍。患者 B 细胞数量正常或增高,但由于 B 细胞不能获得 T 细胞的辅助,患者同时有体液免疫缺陷。本病为 X 性联遗传。

4. T 细胞信号传导途径中断引起的 SCID: 另一种染色体隐性免疫缺陷症由 Jak-3 激酶突变引起。与  $\gamma_c$  突变引起的免疫缺陷病一样,在该病中仅有 T 细胞分化障碍, B 细胞发育是正常的。含  $\gamma_c$  的细胞因子受体均通过 Jak-3 激酶和 STAT 传递信号,因此有可能,凡是这些受体所利用的信号传递通道中任何一个成分的突变都可能引起常染色体隐性的 SCID。

5. 裸淋巴细胞综合征(bare lymphocyte syndrome): 本病是一种常染色体隐性遗传的疾病,其表型是 APC 表面不表达 MHC II 类分子。现已确定 RFX5 和 CIITA 基因的突变与本病有关。RFX5 蛋白是 II 类基因转录因子的一个亚单位,它与 II 类基因 5'上游启动子区的调节元件 X 盒结合。CIITA 是 II 类反式激活因子(class II transactivator), CIITA 通过与其他转录因子的结合,促进 II 类基因的转录。RFX5 和 CIITA 都是 II 类基因表达所必需的,因此,这两种基因的突变都能使胸腺和外周血 APC 不表达 II 类分子。

最近发现 CIITA 与 I 类基因的表达也有关,所以,某些患者中 HLA I 类表达水平也略有下降。因为 IFN- $\gamma$  是通过上调 CIITA 诱导 II 类基因表达的,所以在有 CIITA 突变的患者,



IFN- $\gamma$  刺激不能诱导 II 类基因的表达。

由于胸腺内抗原递呈细胞不表达 MHC II 类,影响 CD4<sup>+</sup>T 细胞的阳性选择,致使外周血中成熟 CD4<sup>+</sup>T 细胞数量显著减少。而且因为外周血 APC 缺乏 II 类,不能向这些少量的 CD4<sup>+</sup>T 细胞递呈抗原,从而造成细胞免疫和体液免疫联合缺陷。患者对各类病原体易感。除非以骨髓移植治疗,患者常于 1 岁内死亡。

6. RAG 基因突变导致的 SCID: RAG 是重组激活基因(recombination activating gene)的简称。RAG-1 和 RAG-2 参与 Ig 和 TCR 基因的 V-D-J 重排,在 T、B 细胞抗原受体的形成中起着极其重要的作用(参见第三章)。RAG-1 和 RAG-2 基因剔除小鼠因不能形成抗原受体,T、B 细胞在骨髓中发育的早期即遭停滞,小鼠无 T、B 细胞,发生 SCID。最近在某些缺乏 T、B 细胞的 SCID 患者中发现有 RAG-1 和 RAG-2 基因突变。

本病以常染色体隐性方式遗传。

图 15-1 总结了先天性特异性免疫缺陷的发生机制。

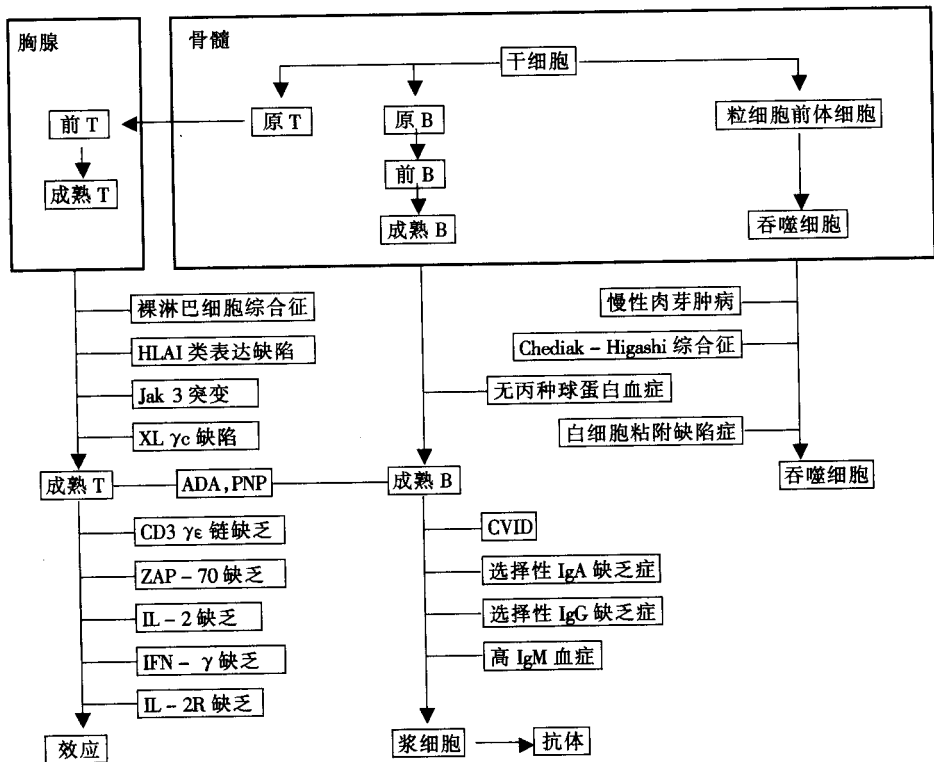


图 15-1 先天性免疫缺陷发生机制

二 非特异性免疫缺陷病

构成免疫防御第一条防线的非特异性免疫主要是由吞噬细胞和补体组成的。由于吞噬细胞和补体还在特异性免疫的效应阶段发挥作用,所以它们的缺陷可同时影响特异性和非特异性免疫,引起程度不同的反复发作的感染。

(一) 吞噬细胞缺陷病

1. 慢性肉芽肿病(chronic granulomatous disease, CGD): CGD 是吞噬细胞(包括中性粒细

胞和 MΦ)在摄入细菌后不能产生呼吸爆发,不能杀灭细菌而产生的一种非特异性免疫缺陷病。持续的慢性感染引起活化 MΦ 在炎症部位聚集,形成肉芽肿(granuloma)。本病由编码 NADPH 氧化酶成分的基因突变引起。

CGD 患者的易感菌范围局限于过氧化氢酶阳性的细菌,其中最常见的为金黄色葡萄球菌。患者也对某些革兰氏阴性杆菌和霉菌易感。

70% 的 CGD 患者为 X 性联隐性遗传,其余 30% 的 CGD 患者大多为常染色体隐性遗传。

## 2. 白细胞粘附缺陷病(leukocyte adhesion deficiency, LAD)

(1) LAD-1: LAD-1 是由  $\beta 2$  整合素缺陷引起的。 $\beta 2$  整合素包括 LFA-1(CD11a/CD18)、Mac-1(CD11b/CD18)和 P150,95(CD11c/CD18)3 种糖蛋白。这些蛋白的缺陷均因 CD18 基因突变或转录缺陷造成。这些粘附分子广泛表达在 T 细胞、MΦ 和中性粒细胞表面,通过与血管内皮、细胞基质或其他细胞表面分子的相互作用介导 T 细胞的移动、激活、中性粒细胞的集聚和趋化作用以及吞噬细胞的吞噬作用,而且介导中性粒细胞、NK 和 T 细胞的细胞毒性。LAD-1 患者因中性粒细胞和 MΦ 表面白细胞粘附分子表达缺陷,对胞外菌和真菌抵抗力严重受损,伤口愈合延迟。

本病为常染色体隐性遗传。

(2) LAD-2: LAD-2 临床表现与 LAD-1 相似,但是是由中性粒细胞表面缺乏 Sialyl-Lewis X 引起的。Sialyl-Lewis X 是中性粒细胞与 E-选择素结合所必需的糖基配体,它也可能与激活的血管内皮细胞上的 P-选择素结合。Sialyl-Lewis X 的缺乏使中性粒细胞趋化作用消失,患者对胞外菌易感。本病的遗传缺陷为一种岩藻糖转移酶基因突变,岩藻糖转移酶参与 E-选择素配体中糖类(碳水化合物)的合成。

本病也为常染色体隐性遗传。

(3) Chediak-Higashi 综合征: 本病为常染色体隐性遗传,是由位于第 1 号染色体上(1q42-q43)的一个基因的突变引起的,该基因编码的一种蛋白质调节蛋白质在细胞内的移动。其临床特征是反复化脓菌感染,肝、脾肿大、全血细胞减少和眼睑皮肤部分白化(partial oculocutaneous albinism)。患者单核细胞、中性粒细胞和淋巴细胞中有巨大颗粒,空泡运入、运出溶酶体或内体障碍,吞噬小体不能与溶酶体融合,同时溶酶体中缺乏消化细菌所必需的弹力蛋白酶(elastase)和组织蛋白酶 G。中性粒细胞的吞噬能力和趋化能力下降, NK 细胞的细胞毒性也下降。

## (二) 补体系统成分缺乏病

1. 参与经典和旁路途径成分的缺乏引起的免疫缺陷病: 补体经典途径的早期成分 C1, C4, C2 缺乏和旁路途径早期成分 D 因子, P 因子和 C3 的缺乏均可导致对化脓菌易感,但临床表现不如体液免疫缺陷者严重。旁路途径成分的缺乏者对脑膜炎球菌和淋球菌特别易感。膜攻击成分(C5-C8)的缺乏者也主要对脑膜炎球菌易感。C9 缺乏者无临床症状。

正常情况下,补体的免疫粘附作用在清除循环免疫复合物中起重要作用。经典途径早期成分缺乏者中由于 C3 激活障碍,使得可溶性免疫复合物不能有效地被清除,沉积在组织中,引起中性粒细胞激活,造成炎症和局部组织损伤, SLE 样综合征发病率增高。

## 2. 补体调节成分缺乏引起的免疫缺陷病

(1) 阵发性夜间血红蛋白尿病(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH) 在生理情况

下,血清中有少量的 C3 会发生自发性裂解,所产生的 C3b 通过其硫酯键与红细胞表面的一OH或—NH<sub>2</sub> 结合。C3b 与自身红细胞的结合不会进一步激活补体旁路途径,这是因为红细胞表面和血清中存在的一些补体调节因子能够阻止激活级联反应,并使 C3b 灭活。这些调节因子包括红细胞表面的 C4 结合蛋白(C4BP),膜辅因子蛋白(membrane cofactor protein, MCP)、CR1、衰变加速因子(decay accelerating factor, DAF)和血清中的 H 因子。DAF 和 CR1 可使 C3 转换酶 C3bBb 分解,在 CR1、MCP 或 H 因子协助下 C3b 被 I 因子灭活。此外,红细胞膜上还存在两种攻膜复合物抑制物:同源限制因子(homologous restriction factor, HRF)和 CD59,它们通过与 C8 结合阻止 C9 插入细胞膜。DAF、HRF 和 CD59 是通过其分子中的磷酸肌醇糖锚(glycosyl phosphatidylinositol anchors)与细胞膜结合的,PNH 患者因不能合成磷酸肌醇糖锚,红细胞失去这些调节因子的保护而发生严重的溶血。

(2) 遗传性血管性水肿(hereditary angioneurotic edema): 血清中存在一种称为 C1 抑制物(C1 inhibitor, C1INH)的蛋白,它能使已与抗原抗体复合物结合的 C1 分子中的 C1r、C1s 与 C1q 分离。C1INH 也能使血浆中自发激活的 C1 灭活。由于 C1INH 的存在,活化的 C1s 只能在几分钟的时间内发挥作用,避免了补体级联反应无限制进行。在有 C1INH 缺乏的患者中,自发性激活的 C1 不能被灭活,激活产物中的 C2b 的血管活性作用导致血管水肿。如气管粘膜水肿可引起窒息。

### 第三节 获得性免疫缺陷综合征

获得性免疫缺陷病是指非先天性、继发于某些疾病或使用某些药物后产生的免疫缺陷病。常见的引起继发性免疫缺陷病的疾病有营养不良、肿瘤和感染。

本节仅介绍获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)。

1981 年 5 月,美国洛杉矶市在收治第一例后来被命名为 AIDS 疾病的患者后,在短短的两个半月内,在洛杉矶和其他地方接连发现 34 例相同的患者。这些患者的特点是他们都以卡氏肺孢菌肺炎收治入院,而且都是男性同性恋者。由于卡氏肺孢菌肺炎是一种反映免疫系统功能严重缺陷的机会性感染,这一小群病人立刻引起了美国疾病控制中心的注意。当年 12 月底在尚未明确其病因学之前,根据临床特征把这一疾病命名为获得性免疫缺陷综合征,即 AIDS。1983 年确定了 AIDS 病因为一种逆转录病毒。

AIDS 的蔓延十分迅猛,1981 年全世界 HIV 感染人数仅为 152 人,至 1985 年上升为 1.35 万人。以后感染人数逐年急剧攀升,至 1999 年底,全球感染人数已达 5 000 万,其中仅 1998 年一年新感染人数就达 580 万。至 1999 年底,全球因 AIDS 死亡总人数已达 1 600 万。自 20 世纪 90 年代中期起,西欧、北美和澳大利亚、新西兰等经济发达或较发达国家 HIV 携带者人数呈下降趋势,而世界其余地区,特别是经济落后、人口密集地区,扩散速度有增无减。在我国, HIV 传播也呈倍增趋势。

AIDS 对于生命威胁极大,感染 HIV 后 12 年内,患者几乎都死于肿瘤或感染。大量患者丧失劳动力,加上昂贵的治疗费用,对社会造成巨大经济损失。目前尚缺乏有效的免疫学预防方法和治疗措施,所以 AIDS 成为世界各国政府和科学家共同关注的焦点。本节将介绍 AIDS 的病因学, HIV 传播途径, AIDS 引起的免疫缺陷及其发生机制,宿主抗 HIV 免疫应答和 HIV 疫苗预防研究近况。

## 一 病 因 学

目前已鉴定的引起人类 AIDS 的病毒有两种,即人类免疫缺陷病毒 HIV-1 和 HIV-2。这两种病毒所引起的疾病的临床症状相似,但两者的基因组结构和抗原性不同,地理分布也不同,HIV-1 遍布全球,而 HIV-2 常见于西非和印度。

### (一) HIV 结构与基因

1. HIV 结构: HIV 由病毒核心和外膜组成。外膜为类脂双分子层,镶嵌有病毒编码的蛋白质,其中包括与病毒进入宿主细胞有关的 gp120 和 gp41。病毒核心由核心蛋白、酶和病毒基因组组成,其中的逆转录酶能把病毒 RNA 转录成 DNA,核心蛋白 p24 能引起细胞免疫。

2. HIV 基因: HIV 基因组包含两条长度各为 9.2kb 的 RNA 链。与所有已知的逆转录病毒一样,HIV 病毒含有 4 种元件:①2 个长末端重复序列(LTR),其作用是调节病毒基因组整合入宿主基因组、病毒基因的表达和病毒复制;②gag 序列:编码核心蛋白,其中包括 p24, p17 和 p15,这 3 种蛋白都与传染性病毒颗粒的装配有关;③env 序列:编码外壳蛋白 gp120 和 gp41。这两种蛋白是病毒侵入宿主细胞所必不可少的,也是 HIV 引起体液免疫的主要抗原;④pol 序列:编码逆转录酶、内切酶以及病毒复制所需的各种蛋白酶。除上述 4 种逆转录病毒共有元件外,HIV 基因组还含有 6 种调节基因,其产物以不同的方式调节病毒的繁殖。

### (二) HIV 感染宿主细胞的过程

HIV 的感染过程包含两个步骤,第一步是病毒表面糖蛋白与宿主细胞表面受体的结合,第二步是病毒外膜与靶细胞膜融合,病毒核心进入细胞。这一整个过程涉及病毒外膜的 gp120 与靶细胞表面的 CD4 分子和趋化因子受体 CCR5/或 CXCR4 之间的相互作用,并需要 gp41 的参与。 $T_H$  细胞高表达 CD4 分子,所以是 HIV 的主要靶细胞。因为 MΦ、DC 和脑小胶质细胞也低表达 CD4 分子,所以这些细胞也对 HIV 易感。淋巴结内 MΦ 和滤泡 DC(FDC)是 AIDS 潜伏期 HIV 繁殖的主要场所,是 HIV 的储藏库,也是感染  $CD4^+$  T 细胞的 HIV 源泉。FDC 的大量死亡造成外周淋巴组织的毁坏。

一旦病毒外膜与靶细胞膜融合,病毒颗粒进入胞质,病毒核心蛋白复合物中的多种酶激活,启动病毒复制周期。在病毒逆转录酶作用下,HIV 基因组的 RNA 转录成双链 DNA。双链 DNA 与病毒的整合酶进入细胞核,并在后者催化下,整合入宿主细胞基因组内,这种被整合的 DNA 称为原病毒。T 细胞在抗原或超抗原刺激下激活时可促进病毒 DNA 的整合。原病毒可潜伏数月甚至很多年不复制,这也是就 AIDS 潜伏期长的原因。

### (三) HIV 病毒的复制

受 HIV 感染的 T 细胞和 MΦ 在受到抗原或植物种子凝集素刺激时,或在细胞因子作用下,激发 HIV 转录。

原病毒基因的转录受病毒结构基因上游 LTR 的调节。LTR 中含有多聚腺苷化信号序列、TATA 盒和宿主细胞转录因子 NF- $\kappa$ B 和 SP1 的结合部位。在抗原或细胞因子刺激下,细胞内转录因子 NF- $\kappa$ B 浓度增高。NF- $\kappa$ B 与病毒 LTR 中 NF- $\kappa$ B 结合部位结合,促进了病毒基因的表达和病毒复制。

TNF 和 LT 能刺激 HIV 基因在 T 细胞中的表达,而 IL-1, IL-3, IL-6, TNF, LT, IFN- $\gamma$  和 GM-

CSF 等能促进  $M\Phi$  和单核细胞中 HIV 基因的表达和复制。

HIV 基因的表达可分为早期和晚期两个阶段。在早期阶段,病毒的调节基因表达。在晚期阶段中,病毒的结构基因表达,并且病毒基因全长包装成病毒。病毒粒子通过出芽方式获得靶细胞的膜, gp120 和 gp41 表达在外膜表面,最后形成有感染力的病毒。

## 二 HIV 感染的临床分期及免疫学

HIV 感染的整个临床过程可分为急性期、无症状潜伏期、症状期和 AIDS 发作期等 4 个阶段。整个感染过程是 HIV 对免疫系统的抑制和损伤与免疫系统对 HIV 杀伤和抑制的相互斗争过程。绝大多数 HIV 感染者在感染后 10~12 年内因免疫功能极度衰竭而死于恶性肿瘤或机会性感染。下面叙述 AIDS 临床各个阶段中病毒复制和宿主抗 HIV 特异性免疫的特点以及 HIV 导致获得性免疫缺陷的可能机制。

### (一) 急性期

1. 急性期临床表现:患者在感染 HIV 后 2~6 周内产生一种症状类似于流感的急性 HIV 综合征。因它与一般流感无明显区别,常常容易被患者和医务人员忽视从而给鉴别诊断带来困难。急性期患者血浆中出现一过性高病毒血症,同时外周血  $CD4^+$ T 细胞数量有急剧而明显的下降。至急性期末,血浆中几乎测不到 HIV,而  $CD4^+$ T 细胞数量也几乎恢复至正常水平。

2. 急性期抗感染免疫:急性期血浆中可测到抗病毒外膜蛋白 gp41、gp120 和抗病毒核心蛋白 p24 的抗体,并可检测到 p24 特异性  $CD8^+$ CTL。这些特异性免疫应答在急性期清除 HIV 病毒以及在最终发展成 AIDS 之前的许多年内对感染的控制中起着重要作用。近来的研究证明,CTL 在控制 HIV 的复制和清除 HIV 中的作用更为重要。但尽管早期特异性免疫应答清除了大多数入侵的 HIV,但不足以彻底消灭 HIV。急性期血浆中 HIV 水平迅速下降的部分原因是病毒转移至外周淋巴组织内。

### (二) 无症状期

无症状期也称潜伏期。患者从急性期恢复后,在相当长的时间内无任何临床表现。这段时间的范围在不同的患者中从 10~12 年不等。虽然临床上无明显表现,这一阶段却是 HIV 与免疫系统暗中斗争的重要阶段。一方面,特异性免疫抑制了 HIV 的繁殖,在一定程度上控制了感染。另一方面,免疫细胞,特别是  $CD4^+$ T 细胞,和外周免疫器官逐步遭受损伤。但是二者抗衡的天平始终朝着免疫系统失败的方向倾斜,最终导致严重免疫缺陷和无症状期的结束。所以,无症状期实际上是免疫功能衰竭的发展时期。

HIV 对免疫系统的损害主要表现在 3 个方面:① $CD4^+$ T 细胞的大量死亡;②外周淋巴组织的毁灭;③免疫功能降低。

1.  $CD4^+$ T 细胞的丧失:急性期中外周血  $CD4^+$ T 细胞有一过性减少,随后迅即恢复。在漫长的无症状期中, $CD4^+$ T 细胞数量逐步而稳定地下降。据估计,每天丢失的  $CD4^+$ T 细胞的数量约为  $2 \times 10^9$ 。机体产生的新的细胞数抵不上丢失的细胞数, $CD4^+$ T 细胞终于逐渐降低。

目前已提出的关于 HIV 引起  $CD4^+$ T 细胞减少的机制已达 10 数种,但有些机制是根据病毒在体外的表现提出的,与体内实际情况不尽相符。HIV 可以通过直接细胞毒作用杀伤  $CD4^+$ T 细胞,也可以通过间接的作用杀伤  $CD4^+$ T 细胞。

HIV 直接杀伤 T 细胞的机制包括:

(1) 病毒在靶细胞内产生的过程中, gp41 在细胞膜上的表达以及病毒颗粒出芽时获取细胞膜, 这两个事件都对靶细胞膜造成严重的损伤, 细胞膜通透性的增高导致致死量  $\text{Ca}^{2+}$  的内流, 或引起渗透性裂解而致细胞死亡。

(2) 胞质内的 gp120 与新合成的或通过再循环重新回到胞质内的 CD4 分子结合对细胞产生毒性作用。

(3) 存在于胞质内的未整合的病毒 DNA 和大量的无功能的病毒 RNA 对细胞有毒性作用。

(4) 病毒的复制干扰细胞蛋白质的合成和表达。

(5) 有几种 HIV 基因产物可通过影响胞内信号传导途径使  $\text{CD4}^+$  和  $\text{CD8}^+$  T 细胞凋亡或功能失常。

HIV 对 T 细胞的直接杀伤是造成  $\text{CD4}^+$  T 细胞减少的主要原因, 但另一些间接杀伤机制也与  $\text{CD4}^+$  T 细胞的减少有关。这些机制包括:

(1) HIV 特异性  $\text{CD8}^+$  CTL 对  $\text{CD4}^+$  T 细胞的杀伤作用。

(2) 抗 HIV 外膜糖蛋白抗体与  $\text{CD4}^+$  T 细胞表面的靶抗原结合后,  $\text{CD4}^+$  T 细胞被 ADCC 作用杀伤。

(3) 可溶性 gp120 或 HIV 感染的 DC 表面的 gp120 与 T 细胞表面 CD4 分子交联, 导致  $\text{CD4}^+$  T 细胞凋亡。

(4) HIV 编码的超抗原引起具有某些 TCR  $\text{V}\beta$  链的  $\text{CD4}^+$  T 细胞死亡。

由于  $\text{CD8}^+$  T 细胞数量相对不变, 所以随着  $\text{CD4}^+$  T 细胞数量的不断减少, 外周血中  $\text{CD4}:\text{CD8}$  比例从 2:1 逐渐减小为  $<1$ 。

2. 外周淋巴组织的损毁 在长期的无症状期中, 外周淋巴组织, 包括淋巴结和脾脏是 HIV 不断复制、免疫细胞和淋巴组织不断破坏和 AIDS 不断进展的场所。

除了  $\text{CD4}^+$  T 细胞外,  $\text{M}\Phi$  和滤泡 DC (FDC) 在 HIV 感染和免疫抑制的不断进展中起重要作用。 $\text{M}\Phi$  同时表达 CD4 分子和趋化因子受体, 所以它们能被 HIV 感染。 $\text{M}\Phi$  还可能通过其他途径感染 HIV。其中一条是通过吞噬其他已感染了的细胞, 另一条是通过 Fc 受体介导吞入病毒-抗体复合物。但与  $\text{CD4}^+$  T 细胞不同,  $\text{M}\Phi$  对 HIV 的细胞毒作用有相当大的抵抗力, 这可能是由于病毒的细胞毒作用要求细胞表达高水平的 CD4 分子。由于  $\text{M}\Phi$  能被 HIV 感染而又不被 HIV 杀死, 所以  $\text{M}\Phi$  成了体内 HIV 的贮存库。感染了 HIV 的  $\text{M}\Phi$  的各种功能, 如递呈抗原和分泌细胞因子均受到损害。淋巴结和脾脏中的 FDC 通过其 Fc 受体结合病毒-抗体复合物, 其表面成为 HIV 的贮存库, 不断地感染淋巴结和脾脏内的  $\text{M}\Phi$  和  $\text{CD4}^+$  T 细胞。HIV 以某种未知的机制杀死 FDC, 脾脏和淋巴结的 FDC 遭到破坏, 外周淋巴器官的功能结构毁坏。

由于脾脏和淋巴结含有大量的  $\text{CD4}^+$  T 细胞、 $\text{M}\Phi$  和 FDC, 所以它们是无症状期 HIV 持续不断地大量复制、T 细胞不断地感染和减少以及使疾病逐渐恶化的部位。淋巴组织中的  $\text{CD4}^+$  T 细胞遭到破坏, 不能有效地为外周血补充  $\text{CD4}^+$  T 细胞。

3. 免疫功能降低  $\text{CD4}^+$  细胞的不断减少、淋巴组织结构的逐渐破坏, 最终导致严重的细胞免疫和体液免疫缺陷。患者对常见抗原的回忆反应丧失, 皮肤迟发型超敏反应消失, 对抗原的特异性免疫应答减退。同时, 患者血液中 Ig 和细胞因子水平增高。

### (三) 症状期

1. 临床表现: 当免疫功能受到严重损伤后, 患者开始出现症状。有些患者产生一种 AIDS 相关症候群(AIDS related complex, ARC), 表现为发热、盗汗、消瘦、腹泻、炎症性皮肤病和全身淋巴结肿大。ARC 可持续数月至数年。此时外周血  $CD4^+$  T 细胞降低至  $200 \sim 300$  个/ $\mu$ l, 并开始出现病毒血症。

2.  $CD4^+$  T 细胞数量继续下降, 免疫功能极度减退。

### (四) AIDS 期

AIDS 是疾病的终末期。当  $CD4^+$  T 细胞数量降到 50 个/ $\mu$ l 时, 血浆病毒滴度升高至急性期水平。由于  $CD4^+$  T 细胞、DC 和  $M\Phi$  均消耗殆尽, 患者出现严重的免疫缺陷, 特异性免疫完全消失, 对包括非致病性微生物在内的所有微生物易感, 常发生机会性感染, 70% 患者死于感染。最常见的引起机会性感染的微生物是卡氏肺孢菌, 其次是巨细胞病毒、EB 病毒、单纯疱疹病毒、各种真菌以及弓形虫。AIDS 患者特别容易发生淋巴细胞和皮肤恶性肿瘤, 皮肤肿瘤中以 Kaposi 肉瘤最为常见。此外, 患者还有神经系统症状。

## 三 HIV 的传播

急性 HIV 感染因缺乏特殊的症状而常被患者和医生所忽视。在急性期后长达 10 年左右的无症状期中, 患者可以没有任何临床表现, 难以引起本人或他人警惕, 但其血液和其他体液以及一些细胞中含有具有感染力的病毒, 能通过适当的途径传染给健康人。AIDS 这一长期潜伏的临床特点是促进 HIV 在人群中的广泛传播和流行的主要原因。

HIV 主要通过下列 3 条途径传染:

1. 性行为: 这是 HIV 传播的最主要的途径。男性感染者的精液以及生殖道细胞中的病毒可通过损伤的阴道或直肠粘膜进入未感染者体内。女性阴道分泌液中的病毒也可通过男性尿道侵入体内。

2. 血液途径: 静脉输注 HIV 感染者捐献的血液或用 HIV 感染者血液制备的血制品是 HIV 传播的第二条主要途径。静脉毒瘾者共用不经消毒的注射器也是血液传播的重要途径。

3. 母胎传染: 胎儿可在感染 HIV 的母亲的宫内或在出生时被感染。因为感染的母亲的乳汁中含有 HIV, 因此哺乳也是母胎传染的可能途径。据联合国 AIDS 联合计划署估计, 发展中国家每天有 800 名刚出生的婴儿感染上 HIV。在撒哈拉以南的一些非洲地区, 高达 30% 的孕妇感染 HIV, 25% ~ 30% 刚出生的婴儿感染 HIV。

AIDS 的高危人群包括同性恋或两性恋男子、静脉毒瘾者、高危男性人群的女性性伴侣、HIV 感染母亲的婴儿和医务工作者。在不同的国家和地区, 因经济发达程度和文化背景的差异, 上述各种传播途径在 AIDS 流行中的重要性也随之而异。

## 四 AIDS 的治疗

由于病毒利用宿主的细胞机制繁殖, 所以抗 HIV 治疗必须使用在抑制病毒繁殖的同时不引起严重毒性的药物。目前使用的抗 HIV 药物主要有两类。其中一类是核苷同类物, 针对病毒特有的逆转录酶, 包括 AZT。另一类是针对病毒蛋白成熟所必需的蛋白酶, 当这类酶受到抑制时, 蛋白质前身物不能成熟为衣壳(capsid)和核心蛋白, 病毒核酸就不能装配成病

毒。这两类药物相对来说是病毒特异性的。

由华裔学者 David Ho 倡用的三药联用法 (highly active retroviral therapy, HART) 是把 2 种核苷同类物与一种蛋白酶抑制剂联用。大多数患者在经过一年治疗后, 其血浆 HIV RNA 降低到不能检出的水平, 但要达到治愈须用 7 年左右的时间。这种疗法的给药方案十分复杂, 费用极其昂贵, 难以在经济不发达地区使用和推广。

## 五 AIDS 的预防

虽然目前的抗 HIV 药物标志着 AIDS 治疗取得了重大的胜利, 但是由于价格昂贵, 在 AIDS 流行最为集中的经济不发达地区的患者无法受惠。此外, 由于抗药病毒株的产生, 抗病毒药物并不能取得长期而稳固的疗效。即使表面上抗病毒药物奏效, 事实上具有复制能力的病毒仍然长期潜伏在患者的淋巴组织中。要成功地阻遏 AIDS 的流行最终还必须依靠个人保护和疫苗接种的免疫预防策略。

普及 HIV 传播方式的知识、改变性行为、严格筛查献血员、加强孕妇 HIV 检查等措施能有效地降低 HIV 的传播。

免疫预防则是利用抗 HIV 疫苗预防 AIDS。抗 HIV 疫苗的研制必须以宿主抗 HIV 的体液性和细胞性应答的认识为基础。现有的研究表明, 虽然在整个感染过程中, 患者血清中都存在高滴度的抗 HIV-1 外膜蛋白的抗体, 但是这些抗体在限制病毒的复制中不起关键作用。现在知道, 单独抗 gp120 的抗体对于 HIV 是没有或只有很弱的中和作用的, 只有抗 gp120-gp41 复合物的抗体才有中和作用, 在筛选抗体的时候应该考虑到这一点。

许多事实提示, 感染者的 CD8<sup>+</sup>T 细胞在限制 HIV 的复制中似乎起着重要的作用。无论在感染 HIV 的人体中还是在感染 SIV 的非人类灵长类动物中, 在各种解剖部位中都发现有抗病毒 CTL 的存在, 这些部位包括外周血、支气管肺泡、淋巴结、脾、皮肤、脑脊液和阴道粘膜组织等。这些 CTL 能够抑制自身 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 HIV 的复制。

感染早期 HIV 受到控制之时, 正是抗病毒的特异性 CTL 出现之时。此外, 在慢性感染者中, 高频率的 CTL 应答是与患者保持在一种低病毒负荷和稳定的临床状态相一致的。这些事实表明, 一种有效的 HIV 疫苗应该能刺激 HIV 特异性 CTL 的产生。这对疫苗制备是一种重大的挑战, 因为目前用以预防其他传染病的疫苗大多是不需要诱导细胞免疫的。

美国麻省总医院的 Walker 等报道, 那些仍然具有能够识别 HIV 的 CD4<sup>+</sup>T 细胞的患者似乎能控制他们的感染。对于 HIV 的 p24 能产生强烈的 CD4<sup>+</sup> 应答的患者具有高水平的抗 HIV CTL, 他们血液中病毒的滴度也最低。

## 本章提要

免疫系统结构的完整性是履行其正常功能的基本保证。免疫系统任何一个组分的缺损必将引起免疫功能障碍, 严重时导致免疫缺陷病。免疫缺陷病的三大临床特征, 即感染、肿瘤和自身免疫病就是免疫系统三大基本功能——免疫防御、免疫监视和免疫自稳受损的反映。

原发性免疫缺陷病大多由基因突变引起, 其中大部分基因产物的功能涉及特异性免疫应答的各个方面, 包括抗原加工和递呈、T 和 B 细胞受体的重排、TCR 复合物的组成、抗原受体介导的信号传导、细胞因子及其受体的组成等; 另一部分基因产物的功能主要涉及由吞噬



细胞和补体参与的非特异性免疫防御。原发性免疫缺陷病发病机制的阐明有利于疾病的预防和治疗。由于免疫细胞起源于骨髓干细胞,基因疗法在原发性免疫缺陷病的治疗中有广阔的应用前景。

获得性免疫缺陷病继发于其他疾病或免疫系统的医源性抑制。由 HIV 感染引起的获得性免疫缺陷综合征遍及全球,它在经济不发达地区的蔓延势头仍有增无减。人体抗 HIV 免疫疫苗的研制,由于 HIV 不断的突变,短期内恐难有突破性进展。普及 HIV 传播方式的知识和加强个人防护,是简单、经济而又有效的预防方法。

(王福庆)

### 参考文献

- [ 1 ] Spickett GP, Farrant J, North ME et al. Common variable immunodeficiency: how many diseases? Immunol Today, 1997, 18:325 ~ 328
- [ 2 ] Perrin L and Telenti A. HIV treatment failure: testing for HIV resistance in clinical practice. Science, 1998, 280:1871 ~ 1872
- [ 3 ] Letvin NL. Progress in the development of an HIV vaccine. Science, 1998, 280:1875 ~ 1879.
- [ 4 ] Phoolcharoen W. HIV/AIDS prevention in Thailand: Success and challenges. Science, 1998, 280:1873 ~ 1874
- [ 5 ] Steimle V, Reith W and Mach B. Major histocompatibility complex class II deficiency: a disease of gene regulation. Adv in Immunol, 1996, 61:327 ~ 340

# 第十六章 肿 瘤 免 疫

肿瘤是一群失去正常生长调控机制、发生恶性转化的自身细胞。肿瘤免疫学(tumor immunology)是研究肿瘤的免疫原性、机体的免疫功能与肿瘤发生、发展的相互关系,机体对肿瘤的免疫应答和抗肿瘤的效应机制,以及肿瘤的免疫诊断和防治的科学。

20 世纪 50 年代初,在近交系小鼠移植瘤实验研究中,初次证明了由化学致癌剂和病毒诱发的肿瘤具有肿瘤特异性移植抗原。随后又发现多种化学、物理和生物致癌因素所诱发的动物肿瘤均存在着肿瘤相关抗原以及机体针对肿瘤抗原的特异性免疫反应。20 世纪 60 年代,提出了免疫监视理论。70 年代,单克隆抗体在生物学领域中广泛应用,大大推动了肿瘤免疫的诊断和肿瘤治疗的发展。特别是近 20 年来,分子生物学和免疫学技术的迅速发展和交叉渗透,在肿瘤抗原的特性分析、MHC 分子结构和功能、T 细胞对 MHC 分子递呈肿瘤抗原肽的识别、肿瘤特异性 T 细胞的 TCR 谱等方面的研究相继取得进展,深入阐述了机体抗肿瘤的细胞分子免疫学机制。同时,基因工程抗体和抗独特型抗体的制备应用、抗体偶联物的导向治疗、构建肿瘤细胞 cDNA 文库寻找肿瘤抗原基因、采用自身血清筛选肿瘤抗原 (serological analysis of recombinantly expressed clones, SEREX)等一系列新技术的应用,使对机体体液免疫的抗肿瘤作用有了更深入的认识。此外,多种细胞因子对机体免疫功能的调节和抗肿瘤效应的增强作用,也从不同的角度推动了肿瘤免疫的发展,把肿瘤的免疫诊断和免疫防治提高到一个新的水平。

## 第一节 肿 瘤 抗 原

肿瘤抗原是细胞恶性转化过程中出现的蛋白和多肽分子的总称。按肿瘤抗原与肿瘤的关系,可把肿瘤抗原分为肿瘤特异性抗原(tumor-specific antigens, TSA)和肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAA)两大类(表 16-1)。TSA 是指肿瘤细胞所特有的,不存在于正常组织细胞上的抗原。TSA 可在近交系小鼠通过肿瘤移植排斥反应实验而证实,故又被称

表 16-1 肿瘤抗原分类

类 别	抗 原 的 来 源 或 特 性
肿瘤特异抗原	化学和物理致癌因素诱发肿瘤表达的蛋白
	病毒诱发肿瘤表达的蛋白
	癌基因和突变型抑癌基因编码的异常蛋白
	静止基因激活后表达的蛋白
肿瘤相关抗原	胚胎性蛋白
	分化蛋白
	高表达的癌基因编码蛋白
	过量或异常表达的糖脂和糖蛋白

为肿瘤特异性移植抗原(tumor-specific transplantation antigens, TSTA)或肿瘤排斥抗原(tumor rejection antigens, TRA)。TAA 是指并非肿瘤细胞所特有,也可存在于正常组织细胞特别是胚胎组织上的抗原。因而在肿瘤细胞和正常组织之间,TAA 只显示量的变化。

一 肿瘤特异性抗原

(一)化学和物理致癌因素诱发的肿瘤抗原

化学致癌剂(如甲基胆蒽、氨基偶氮染料和二乙基亚硝胺等)或物理因素(如紫外线和 X 线等)均可造成正常基因突变或使潜伏的致癌病毒激活,在实验动物中诱发肿瘤。这类肿瘤抗原显示下列特点:

- 1. 突变或激活的基因所表达的编码蛋白,可以是整合到细胞膜双层类脂中的糖蛋白,但大多数为细胞内蛋白,它们在胞质内经处理后成为抗原肽,由 MHC I 类分子递呈于细胞膜表面,被 CD8 T 细胞所识别,激发特异性 CTL 反应,一般难以诱导 B 细胞产生抗体;
- 2. 常表现出明显的个体特异性,即同一化学致癌剂或物理致癌因素在不同宿主体内,甚至在同一宿主的不同部位所诱发的肿瘤都具有互不相同的免疫原性。

(二)病毒诱发的肿瘤抗原

大量的动物实验和对人类肿瘤的研究证明病毒可诱发肿瘤。例如属于 DNA 肿瘤病毒的 EB 病毒与 Burkitt 淋巴瘤和鼻咽癌的发生有关;人乳头状病毒(HPV)与人宫颈癌有关;多瘤病毒(PV)、猿猴 40 病毒(SV40)和腺病毒(Ad)可诱发实验动物多种肿瘤。而属于 RNA 肿瘤病毒或逆转录病毒的人类 T 细胞淋巴性病毒 I(HTLV-1)与成人 T 细胞淋巴瘤和白血病有关。在上述一系列病毒诱发的肿瘤细胞中分别可以从细胞核、胞质和膜表面检测出病毒相关肿瘤转化基因或病毒癌基因(v-oncogenes)以及相应的蛋白。已发现某些编码蛋白经胞质溶胶途径被加工处理成抗原肽(参见第七章),通过 MHC I 类分子递呈于细胞膜表面,被 T 细胞所识别,激发特异性 CTL 反应。病毒致癌和机体存在对病毒肿瘤抗原的免疫应答已被人工重组的病毒抗原诱导实验性动物肿瘤而加以证实。

和理化致癌因素诱发的肿瘤抗原不同,病毒诱发的肿瘤抗原有以下特点:

- 1. 病毒主要通过其 DNA 或 RNA 整合到宿主细胞 DNA 中使细胞发生恶性转化并表达肿瘤抗原,理化因素主要是直接作用于细胞染色体 DNA,使其发生突变,造成恶性转化的肿瘤表达突变基因产物。
- 2. 由同一病毒诱发的肿瘤,不论其动物种属及组织来源如何,均表达相同的肿瘤抗原。因此,当小鼠接种某一病毒诱发的已灭活的肿瘤细胞后,就能抵抗所有由该病毒诱发产生

表 16-2 甲基胆蒽(MCA)和多瘤病毒(PV)诱发肿瘤的免疫学特异性

初次接种的死肿瘤细胞	再次接种的活肿瘤细胞	肿瘤生长
化学致癌剂诱发的肿瘤		
MCA 诱发的肉瘤 A	MCA 诱发的肉瘤 A	-
MCA 诱发的肉瘤 A	MCA 诱发的肉瘤 B	+
病毒诱发的肿瘤		
PV 诱发的肉瘤 A	PV 诱发的肉瘤 A	-
PV 诱发的肉瘤 A	PV 诱发的肉瘤 B	-
PV 诱发的肉瘤 A	SV40 诱发的肉瘤 C	+

的肿瘤(表 16-2)。同样,将免疫小鼠的淋巴细胞移至同品系(同基因)的另一个小鼠体内,后者可排斥任何一种由该病毒诱发的肿瘤。

### (三) 癌基因和突变型抑癌基因表达的肿瘤抗原

在不同致癌因素和特定条件下,原癌基因可被激活,抑癌基因可发生突变,由此出现的异常表达产物可导致正常细胞癌变。现已发现人类肿瘤中存在着癌基因或突变型抑癌基因,并检测到相应的编码蛋白。这类蛋白在胞内经处理分解为不同小肽,通过 MHC I 类分子递呈可作为肿瘤特异性抗原肽被 T 细胞所识别,激活 CTL 反应。

1. 突变的 Ras 基因编码蛋白: Ras 基因编码一种 189 氨基酸残基的蛋白质,称为 p21,人类许多肿瘤中存在着突变的 Ras 基因,错义突变常发生在第 12、13 和 16 密码子,其编码蛋白显示肿瘤抗原性,与恶性肿瘤的发展有密切关系,具有明显的 CTL 杀伤靶向性。

2. 突变的抑癌基因编码蛋白: 如抑癌基因 p53 编码一种含有 393 氨基酸残基的蛋白质,相对分子质量(分子量)为 53 000(53kD),故称为 p53,在人类许多肿瘤中均能检测到 p53 基因的多种突变及其产物,这类异常的 p53 蛋白不仅被机体 T 细胞所识别,也可激活 B 细胞产生 IgG 抗体。根据突变的 p53 蛋白序列合成不同肽分子,可诱导出识别野生型和突变型 p53 蛋白的 CTL 克隆,特异性裂解相应靶细胞。

3. 染色体易位产生的融合蛋白: 机体中某些染色体易位形成新的癌基因,现已发现 9 号染色体上的原癌基因 c-abl (ABL)的一部分易位到 22 号染色体上的断点集中区 bcr (BCR),与 bcr 的一部分形成一个新的融合基因 BCR-ABL,编码一种 210 kD 的融合蛋白(p210),该蛋白由于融合点上出现新的氨基酸顺序和形成新的空间构象,仅在恶性细胞中表达,并与细胞的恶性转化密切相关,是 T 细胞识别的特异性肿瘤抗原。已证实,p210 中某些多肽经 MHC II 类分子递呈后,被 CD4 T 细胞所识别;某些多肽经 I 类分子 HLA-A3 递呈于肿瘤细胞表面被 CD8 T 细胞所识别。人工合成的这类融合蛋白能激发机体的免疫应答。

### (四) 正常静止基因表达的肿瘤抗原

肿瘤细胞中某些被 T 细胞所识别的抗原往往由正常状态下的静止基因(silent genes)所表达,除人的正常睾丸细胞外,这些基因一般只在恶性细胞中被激活而呈异常表达。

从人黑色素瘤、肺癌和乳腺癌等肿瘤已发现多种这类基因,例如黑色素瘤抗原编码基因(melanoma antigen-encoding gene, MAGE),后来又命名了 BAGE 和 GAGE 等,它们是拥有多个成员的基因家族。已知 MAGE 家族至少有 12 个成员(MAGE-1 ~ MAGE-12),之间同源性达 80% ~ 90%。MAGE 家族成员在不同肿瘤中有不同程度的表达,多个成员也可在同一肿瘤中表达。

此外,同一肿瘤中可测出多种静止基因的表达(表 16-3)。这类基因的编码蛋白经胞质溶胶途径被处理成小肽,通过 MHC I 类分子递呈于肿瘤细胞表面,被 CD8 T 细胞所识别。目前研究较清楚的包括 MAGE-1 蛋白中的一段九肽可被 HLA-A1 递呈,另一段九肽则被 HLA-Cw\* 1601 分子所递呈(图 16-1);其次,MAGE-3 蛋白中的九肽(EVDPIGHLY)及 MAGE-6 蛋白中的九肽(EVDPIGHVY)亦可被 HLA-A1 所递呈;另外,BAGE 蛋白中的九肽(AARAVFLAL)和 GAGE 蛋白中的八肽(YRPRPRRY)分别被 HLA-Cw\* 1601 所递呈。由于这类基因的编码蛋白以及被 MHC I 类分子所递呈的抗原肽仅在肿瘤细胞中出现,能激发机体产生免疫应答,所以被称为肿瘤特异性共同抗原(tumor-specific shared antigens)。这些肽经人工合成并经相应 HLA I 类分子递呈后,能诱导荷瘤动物产生抗肿瘤免疫应答,已尝试作为疫苗,用于肿瘤

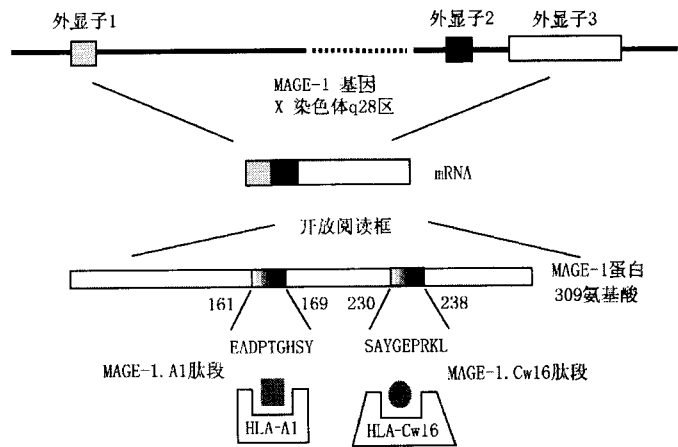


图 16-1 MAGE-1 基因、编码蛋白和抗原肽

表 16-3 不同的人体肿瘤中 MAGE、BAGE 和 GAGE 基因产物的表达率

	阳 性 百 分 率 (%)						
	MAGE-1-1	MAGE-1	MAGE-2	MAGE-3	MAGE-4	BAGE	GAGE
黑色素瘤	75	36	63	64	23	22	35
头颈部癌	68	25	29	48	50	8	28
肺癌	53	36	33	31	36	7	30
膀胱癌	42	19	29	33	31	14	12
乳腺癌	26	19	18	11	11	10	13
肉瘤	50	10	11	19	22	8	30
前列腺癌	20	15	15	15	15	0	15
结、直肠癌	25	0	9	16	16	0	0
肾癌	0	0	0	0	0	0	0

防治。

二 肿瘤相关抗原

(一) 胚胎性抗原

胚胎抗原(fetal antigen)在正常情况下仅出现在胚胎组织中,胎儿出生后逐渐减少或消失。当细胞发生恶性转化时相应编码基因可被激活呈异常表达,出现在细胞质、膜表面或分泌在血流中,其含量与细胞的恶性程度往往呈正相关。此类抗原一般难以激发机体产生抗体,但发现某些抗原可经胞质溶胶途径处理成抗原肽由 MHC I 类分子递呈于细胞膜表面,被 T 细胞识别。由于机体中某些组织炎症时也可引起这类抗原在血清中含量轻度增高,造成针对胚胎抗原的异种抗体在识别肿瘤细胞的同时,也与某些正常细胞或其分泌性糖蛋白发生轻度的交叉反应,因而胚胎抗原属于肿瘤相关抗原。目前在人类肿瘤中已发现多种胚胎性抗原,例如甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)和癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA),它们已作为肿瘤标志物。因为在实验动物中用胚胎抗原制备的异种抗体,可定量检测患者血清中的胚胎抗原,其含量的上升可作为肿瘤鉴别诊断、复发和预后判断的辅助性指标。

(二) 分化抗原

分化抗原是细胞在分化成熟不同阶段出现的抗原,不同来源、不同分化阶段的细胞可表达不同的分化抗原。利用人黑色素瘤特异的 CTL 克隆已鉴定出多种黑色素细胞分化抗原,这是因为这些抗原在多种黑色素瘤细胞呈异常表达,但在正常黑色素细胞仅呈轻微表达。现已发现的 Pmel17/gp100、酪氨酸酶和 Melan-A<sup>MART-1</sup> 等分化抗原在黑色素瘤细胞中呈高表达,而且不同患者的黑色素瘤这些分化抗原的结构高度同源,即很少显示个体差异,其机制可能涉及黑色素瘤细胞在生长发育的特定阶段,发生基因的异常激活或调节基因发生突变,引起编码蛋白异常表达和细胞恶性转化。这些异常表达的分化抗原可经胞内途径处理成为抗原肽,通过 MHC I 类分子递呈于细胞表面,被 CD8 T 细胞所识别(表 16-4)。某些分化抗原(如酪氨酸酶)也可通过 MHC II 类分子递呈于细胞表面,被 CD4 T 细胞所识别,并激活 B 细胞产生相应的抗体。

表 16-4 黑色素瘤特异性 CTL 识别的黑色素细胞分化抗原肽

分化抗原	抗原肽结构	肽位置	递呈分子
酪氨酸酶	MLLAVLYCL	1 - 9	HLA-A2
	YMNGTMSQV	369 - 377	HLA-A2
	AFLPWHRLF(L)	-	HLA-A24
	SEIWRDIDF	192 - 200	HLA-B44
Pmel 17/gp100	KTWGQYWQV	154 - 162	HLA-A2
	ITDQVQGSV	209 - 217	HLA-A2
	YLEPGPVTA	280 - 288	HLA-A2
	LLGDTATLRL	457 - 466	HLA-A2
Melan-A <sup>MART-1</sup>	VLYRYGSFSY	476 - 485	HLA-A2
	(E)AAGIGILT	26(7) - 35	HLA-A2
	ILTVILGVL	32 - 40	HLA-A2
gp75 <sup>TRP1</sup>	-	-	HLA-A31

### (三) 癌基因高表达的抗原

某些肿瘤细胞癌基因表达产物与原癌基因表达产物之间不一定存在质的变化而仅有量的差别。现已知,这些过度表达的肿瘤抗原中某些抗原肽经 MHC I 类分子递呈于细胞表面可被机体 CD8 T 细胞所识别,同时在患者体内可测出相应的抗体。例如,HER-2/neu 为一种原癌基因编码的受体样跨膜蛋白,与上皮生长因子受体有高度的同源性,具有激活酪氨酸激酶的作用,相对分子质量(分子量)为 185 000(185 kD)左右而被称为 p185。在人类乳腺癌和卵巢癌等肿瘤中 HER-2/neu 基因被大量激活造成其产物 p185 的过度表达,导致细胞的恶性生长。p185 已作为肿瘤的恶性程度、复发和预后判断指标。同时,依据 MHC I 类分子递呈的肿瘤抗原肽的序列,可设计并人工合成相应的肽段,发现能诱导受 MHC 约束的 CTL 扩增,提示应用这一合成的肿瘤相关肽,有希望用于诱导 CTL 作肿瘤的过继性免疫治疗。另外,在人乳腺癌、肺癌和卵巢癌等多种肿瘤中检测出抑癌基因高表达产物 p53 蛋白和相应抗体,而在健康人中难以测出,这些过度表达的 p53 蛋白和抗体也已作为肿瘤诊断的手段之一。

### (四) 过量或异常表达的糖脂和糖蛋白抗原

在人类肿瘤和实验性肿瘤中,某些肿瘤细胞可出现膜结构改变,表达过量或结构异常的糖脂和糖蛋白,其中包括神经节苷脂、血型抗原和粘蛋白(mucin)等。结构改变主要表现为核心蛋白和脂类表面糖基成分的变化、O-糖苷键连接的糖类(碳水化合物)分子侧链异常增多,以及某些隐蔽性多肽和脂类的暴露,现认为这些结构的异常有助于肿瘤的侵袭和转移。例如检测

到人类脑肿瘤和黑色素瘤中的神经节苷脂  $\text{GM}_2$  和  $\text{GD}_2$ 、卵巢癌中的 CA-125、CA-129 等糖蛋白、以及乳腺癌中的 MUC-1 呈现异常表达,这类异常的糖脂和糖蛋白可诱发 B 细胞产生抗体和激发 CTL 反应。应用相应单抗检测其含量,可为肿瘤的诊断和预后判断提供参考。

## 第二节 抗肿瘤免疫效应机制

机体免疫系统识别肿瘤细胞表面表达的肿瘤抗原产生免疫应答,引起效应细胞的激活和释放一系列效应分子,攻击和清除肿瘤细胞、抑制肿瘤生长。这一应答能否有效地产生,取决于肿瘤细胞抗原性的强弱和宿主的免疫功能是否健全。

抗肿瘤免疫效应机制包括特异性和非特异性免疫两方面。前者包括体液免疫和细胞免疫,其中细胞免疫发挥着抗肿瘤的主导作用,并与体液免疫相互协同,杀伤肿瘤细胞(图 16-2)。后者包括巨噬细胞、NK 细胞、多形核白细胞和多种细胞因子的参与。本节将巨噬细胞和 NK 细胞发挥的抗肿瘤效应列入细胞免疫部分一并讨论。

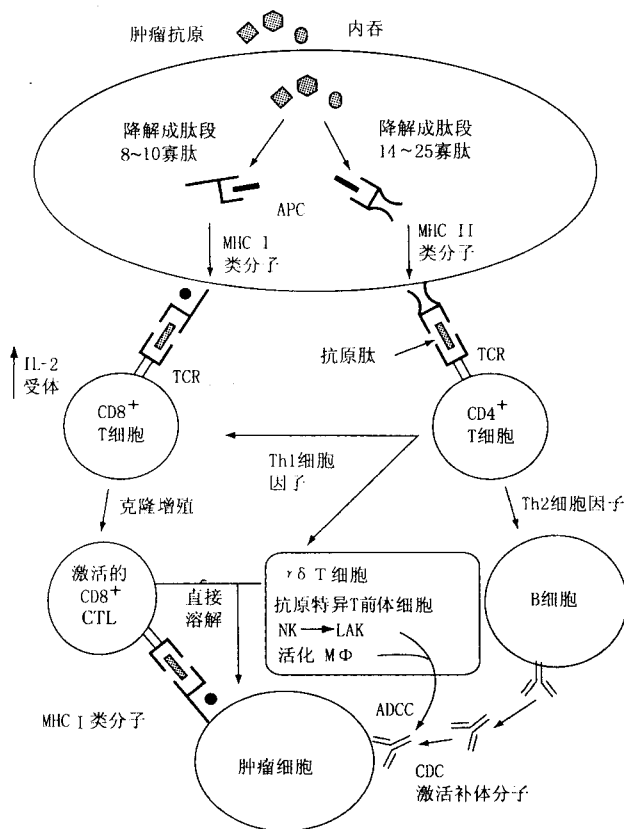


图 16-2 特异性抗肿瘤免疫效应机制

### 一 体液免疫效应机制

#### (一) CDC 和 ADCC

补体依赖的细胞毒作用(CDC)和抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(ADCC)所涉及的机

制参见第十章。抗肿瘤免疫中参与 CDC 的抗体主要为 IgM 和某些 IgG 亚类 (IgG1 和 IgG3)。抗体特异性结合肿瘤细胞表面抗原后,抗体变构并暴露补体结合部位,活化补体级联反应导致肿瘤细胞裂解。不同的肿瘤细胞对 CDC 敏感性不同,白血病细胞较敏感,而大多数实体瘤如黑色素瘤、肉瘤等均不敏感;CDC 主要杀伤分散状态的悬浮肿瘤细胞或少量经体液转移的实体瘤细胞,对防止肿瘤转移起一定作用。

通过 ADCC 杀伤肿瘤的抗体主要为 IgG,抗体的 Fab 段特异结合肿瘤细胞表面抗原,而 Fc 段与巨噬细胞、NK 细胞和中性粒细胞等 Fc 受体结合,刺激这些细胞释放多种效应分子(如 TNF 等)杀伤肿瘤细胞。在实验中发现,ADCC 对肿瘤细胞的杀伤仅需较少的抗体分子,其效应强于 CDC。制备这类抗体进行被动免疫可阻止肿瘤的生长,因此 ADCC 在抗肿瘤中起重要作用。

## (二) 抗体的其他效应功能

1. 调理作用:体内吞噬细胞可通过表面 Fc 受体增强吞噬结合了抗体的肿瘤细胞,具有这种调理作用的抗体主要为 IgG。肿瘤细胞进入吞噬细胞胞质吞噬体内,在溶酶体酶作用下被溶解和破坏。血清中被激活的补体成分 C3b 和 C5a 通过和吞噬细胞表面 CR1 的结合,也可提高吞噬细胞的活性,增强对肿瘤细胞的作用。

2. 抗体抑制肿瘤细胞增殖作用:某些肿瘤抗原是与肿瘤细胞的恶性转化、增殖和转移密切相关的蛋白质,抗体与肿瘤抗原结合后,发挥阻遏作用。如某些肿瘤细胞中 HER-2/neu 基因激活异常表达 p185,应用抗 p185 抗体与膜表面 p185 结合,可阻断其生物学活性,抑制肿瘤细胞的增殖。抗体还可封闭某些肿瘤细胞转铁蛋白受体,抑制肿瘤生长。此外,抗体与肿瘤细胞膜抗原结合后,干扰肿瘤细胞粘附特性,阻止其克隆形成和与血管内皮细胞的粘附,这对于防止肿瘤转移具有重要意义。

## 二 细胞免疫效应机制

### (一) T 细胞

机体 T 细胞参与的免疫应答在杀伤肿瘤细胞、控制肿瘤生长中起重要作用。T 细胞的两个主要亚群分别表达 CD4 和 CD8 分子,在抗原识别中,两个亚群分别受不同的 MHC 分子约束:CD4 T 细胞主要识别 MHC II 类分子递呈的外源性抗原肽;而 CD8 T 细胞(CTL)主要识别 MHC I 类分子递呈的内源性抗原肽。

1. CD8 CTL 对肿瘤细胞行使效应功能显示高度的特异性:这指的是,CTL 被激活并分化为成熟的效应细胞后,只能识别由特定 I 类分子递呈的抗原肽并杀伤相应的肿瘤细胞。而且,CTL 完成了对一个肿瘤细胞的杀伤后,可立即特异性地作用于下一个靶目标。

2. CD4 T 细胞的效应功能:前面提到,有些肿瘤抗原肽可以被 MHC II 类分子递呈并激活 CD4 T 细胞。一般认为,此类细胞主要通过下列几方面发挥效应作用:

(1) 释放多种细胞因子如 IL-2 等,激活 CD8 T 细胞、NK 细胞和巨噬细胞,增强效应细胞杀伤能力;

(2) 释放 IFN- $\gamma$ 、TNF 等作用于肿瘤细胞促进 MHC I 类分子表达,提高靶细胞对 CTL 的敏感性;TNF 还有直接破坏肿瘤细胞的功能;

(3) 促进 B 细胞增殖、分化产生抗体,通过体液免疫途径杀伤肿瘤细胞。

(4) 少数 CD4 T 细胞可识别某些肿瘤细胞 MHC II 类分子递呈的抗原肽直接杀伤肿瘤



细胞。

3. CTL杀伤肿瘤细胞的机制: CTL抗肿瘤作用机制主要通过分泌型杀伤(颗粒胞吐释放效应分子如穿孔素、粒酶、释放淋巴毒素、TNF等)和非分泌型杀伤(诱导凋亡)。后者指通过CTL表面FasL分子结合肿瘤细胞表面Fas分子,启动肿瘤细胞的死亡信号转导途径加以杀伤。有关机制参见第十章。

### (三) NK细胞和巨噬细胞

1. NK细胞: 这类细胞在抗肿瘤的天然免疫和特异性免疫中发挥效应作用,是淋巴细胞分化谱系中的一个特殊亚群,它不表达TCR、BCR和CD3抗原。人类的NK细胞表达CD16和CD56抗原。NK细胞能够杀伤各种肿瘤细胞和病毒感染细胞,也可裂解同种异体细胞,作为效应细胞不需要预先致敏。NK细胞的识别和杀伤主要通过膜表面两种受体,即激活性受体和抑制性受体(KIR和CD94/NKG2A)之间的作用 and 平衡(参见第二章和第十一章)。新近的研究表明,NK的激活和靶细胞表达MHC I类分子密切相关,因为I类分子是KIR的配体,两者相互作用产生的抑制性信号可抑制NK细胞激活。由于肿瘤细胞MHC I类分子表达低下或异常,缺乏抑制信号,导致NK细胞激活,发挥杀伤效应。经转基因技术使这类细胞恢复MHC I类分子的正常表达,可抵抗NK细胞的杀伤作用,证明了这一点。

某些细胞因子如IFN- $\gamma$ 、TNF和IL-2等可有效地促进NK细胞低亲和力Fc受体(Fc $\gamma$ RIII)的表达,增强其ADCC作用。在高浓度IL-2作用下,NK细胞可转化成为LAK细胞(详后),大大增强其非特异性抗肿瘤作用,用于被动免疫治疗。NK细胞具有广谱的抗肿瘤作用,不显示杀肿瘤特异性和MHC约束性,在机体T、B细胞功能低下时,NK细胞的作用尤为重要。NK细胞激活后可发生颗粒胞吐并表达FasL分子,因而可以发挥类似CTL的效应机制杀伤肿瘤细胞,并通过ADCC释放可溶性介质和某些细胞因子发挥细胞毒性作用。

2. 巨噬细胞: 巨噬细胞也是参与杀伤肿瘤的效应细胞。实验动物和临床病理活检发现,肿瘤灶中浸润巨噬细胞数量与肿瘤转移呈负相关;在荷瘤动物模型中,应用卡介苗或短小棒状杆菌等激活巨噬细胞,则肿瘤生长受到抑制。巨噬细胞杀伤肿瘤机制可能为:

- (1) 通过其表达Fc $\gamma$ 受体(高亲和力的Fc $\gamma$ RI和Fc $\gamma$ RIII)发挥ADCC作用;
- (2) 分泌某些细胞因子(TNF)直接杀伤作用;
- (3) 吞噬肿瘤细胞,通过胞内产生自由基和溶酶体中多种酶释放,溶解肿瘤细胞。

此外,激活的巨噬细胞可释放细胞因子(如IL-1),刺激T细胞增殖分化,增强NK细胞活性,杀伤肿瘤细胞。

## 第三节 肿瘤的免疫监视及免疫逃逸

### 一 机体的免疫监视功能

免疫监视概念早在1909年由Ehrlich最先提出,认为机体中经常会出现的肿瘤细胞可被免疫系统所识别,作为异物而加以清除。50年后,Thomas通过对机体细胞免疫的进化机制的研究,提出了肿瘤细胞抗原表达低下或机体细胞免疫功能受损是发生肿瘤的重要因素。随后,Burnet丰富了这一观点,创立了免疫监视理论(imune surveillance theory),认为机体的

免疫系统可以发挥监视作用,识别并消灭任何表达新抗原的“异己”成份或突变细胞,以保持机体内环境的稳定。当机体免疫监视功能低下,无法有效清除“异己”成份或突变细胞时,就可能发生肿瘤。许多研究结果支持了这一理论。如器官移植中,药物抑制机体排斥反应而造成免疫功能低下,可使肿瘤的发生率增高。CD4 T细胞缺陷的 AIDS 病人易患肉瘤和淋巴瘤。另外,被肿瘤抗原致敏的 T 细胞具有特异性杀伤靶细胞功能、某些肿瘤在体内自行消退,以及原发性肿瘤切除后,转移瘤的消失,都间接支持了机体免疫监视功能的存在。但这一理论还存在着局限性,还难以解释某些肿瘤发生、发展与机体免疫系统的相互关系,仍有许多问题有待于进一步研究和解决。

## 二 肿瘤的免疫逃逸机制

虽然机体的免疫系统能对肿瘤细胞产生免疫应答,并消除肿瘤,但是仍有一定比例的原发性肿瘤在宿主体内生长,并易于转移和复发。也就是说,某些肿瘤能逃避机体免疫系统的攻击,这就是所谓的肿瘤免疫逃逸。下列因素可能与肿瘤逃逸免疫监视有关。

### (一) 肿瘤细胞免疫原性低下

肿瘤细胞抗原表达显示异质性和遗传不稳定性。如肿瘤抗原编码基因往往发生突变或丢失,导致不能有效地表达与正常细胞有质或量差别的抗原;某些肿瘤细胞表达的抗原即使正常细胞不存在,由于其免疫原性极弱,而无法诱导特异性的免疫应答;或者某些弱抗原反复刺激宿主免疫系统,使之产生免疫耐受。而且肿瘤细胞往往比正常细胞表达更多的粘蛋白和多糖分子,造成肿瘤抗原被多糖 (glycocalyx) 所覆盖成为隐蔽性抗原;有些肿瘤细胞可分泌刺激因子活化宿主凝血系统,造成肿瘤细胞外形成纤维蛋白外壳 (fibrin cocoon),隔离了肿瘤抗原。这些都会使免疫活性细胞无法有效地识别肿瘤抗原,从而使肿瘤细胞逃避机体免疫攻击。除此之外,下列重要因素参与决定肿瘤细胞显示不良的免疫原性。

1. MHC I 类分子减少或缺乏: 实验发现,用抗 MHC I 类分子单抗可阻断 CTL 对肿瘤细胞的攻击;各种组织类型的肿瘤中 MHC I 类分子表达减少或缺乏,可造成肿瘤在宿主体内持续性生长、转移性增强和预后不良(表 16-5)。已知人类肿瘤细胞中 MHC I 类分子表型改变至少有下列四种形式: ①全部丢失,包括 HLA-A、B、C; ②HLA 一条单元型丢失,即 HLA-A、B、C 三位点等位基因均丢失一半; ③某一个位点丢失; ④某一个等位基因丢失(图 16-3)。

表 16-5 肿瘤细胞 MHC I 类分子表达异常与肿瘤生物学特征改变

肿瘤类型		MHC I 类分子表达改变	生物学特性
小鼠	AKR 小鼠白血病	H-2K 不表达	致癌性增强
	DI22Lewis 肺癌	H-2K/H-2D 比例降低	转移性增强
	MCA 诱导的 T10 肉瘤	H-2K 减少, H-2D 增加	转移性增强
	SV40 诱导的小鼠细胞	H-2K 不表达	致癌性增强
	2 型疱疹病毒感染细胞	I 类分子减少	抵抗 CTL 裂解作用
人	Burkitt 淋巴瘤	I 类分子不表达	抵抗 CTL 裂解作用
	小细胞肺癌	I 类分子缺乏	致癌性增强, 早期转移
	神经母细胞瘤	I 类分子缺乏	N-myc 表达增高
	粘液性结肠癌	I 类分子表达减少	预后不良
	黑色素瘤	I 类分子表达减少	侵犯性增高

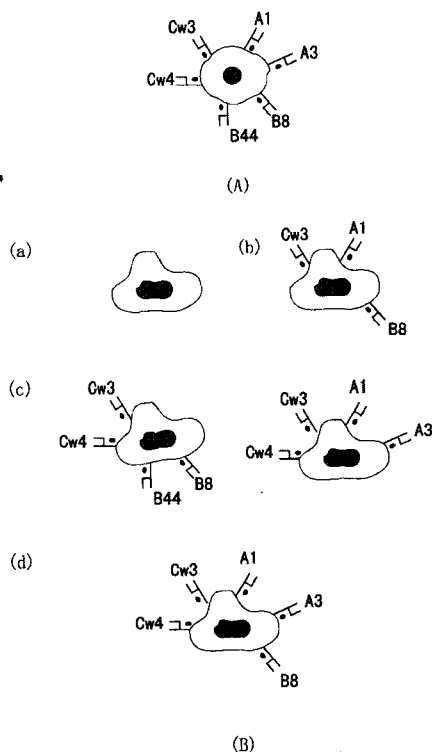


图 16-3 肿瘤细胞异常的 HLA 表型

(A) 正常细胞 HLA I 类分子表型(举例) (B) 肿瘤细胞 HLA I 类分子表型  
 (a) 全部丢失, 包括 HLA-A、B、C; (b) HLA 一条单元型丢失, 即 HLA-A、B、C 三位点等位基因均丢失一半; (c) 某一位点丢失(此处为 HLA-A/B); (d) 某一等位基因丢失(此处为 HLA-B44)

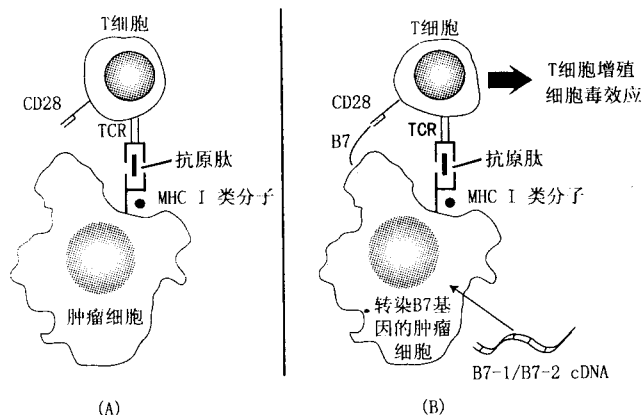


图 16-4 协同刺激信号与 T 细胞增殖、活化

(A) 肿瘤细胞缺乏 B7 分子; (B) 转染 B7 基因、表达 B7 分子的肿瘤细胞

2. 抗原加工处理缺陷: LMP 和 TAP 是肿瘤抗原加工过程中的重要成分, 肿瘤细胞遗传的不稳定可能造成 LMP 和 TAP 基因的突变、丢失。某些病毒产物(HSV-ICP47)在胞内还可结合 TAP 蛋白阻止其转运抗原肽进入内质网, 影响 MHC I 类分子和抗原肽的结合及其在肿瘤细胞膜上的表达。现发现, 在体外培养的某些人体肿瘤细胞系中 LMP-2、LMP-7 和 TAP1、

TAP2 在 mRNA 和蛋白水平上均有不同程度下降(表 16-6)。同样对手术切除标本中的黑色素瘤、乳腺癌和宫颈癌进行测定,也显示有不同程度的 TAP 蛋白和 MHC I 类分子的丢失。在恶性转移性肿瘤中,TAP 蛋白和 MHC I 类分子丢失频率比原发性肿瘤明显升高。应用 TAP 基因转染至其缺陷的肿瘤细胞或  $\text{INF-}\gamma$  诱导肿瘤细胞 TAP 蛋白表达,可恢复或促进 MHC I 类分子递呈的抗原肽在肿瘤细胞表达,增强 CTL 杀伤靶细胞的敏感性。

表 16-6 不同组织来源的人肿瘤细胞系中 TAP 和 LMP  
mRNA 或蛋白含量低下者频率

肿 瘤 细 胞	LMP-2	LMP-7	TAP1	TAP2
小细胞性肺癌*	3/3	3/3	3/3	3/3
Burkitt's 淋巴瘤*	1/4	0/4	-	-
肝细胞癌*	-	-	2/7	1/7
黑色素瘤*、#	-	-	-	2/5
前列腺癌*	-	-	-	2/5
肾细胞*	12/12	12/12	12/12	12/12

\* Northern blot 分析和 RT-PCR 检测; # Western blot 分析

3. 缺乏协同刺激信号: T 细胞激活除了需要通过 TCR 识别 MHC 分子递呈抗原肽产生的第一信号外,还需协同刺激信号,如通过 CD28 与 B7 分子和某些粘附分子相互作用。许多肿瘤细胞往往缺乏 B7 分子或其他粘附分子无法为 T 细胞激活提供第二信号。现发现,某些淋巴瘤细胞表面不表达或低表达粘附分子 ICAM-1 或 LFA-1,导致自体 and 同种异体 T 细胞应答能力降低,在无足量的 APC 存在下,人黑色素瘤细胞多次刺激 T 细胞反而造成 T 细胞无能(anergy)。而通过转基因技术,将 B7 基因转染黑色素瘤细胞,发现 B7 阳性的瘤细胞具有直接激活 CTL 的能力,产生抗肿瘤免疫应答(图 16-4)。

## (二) 免疫增强

在实验中发现,给荷瘤动物输入抗肿瘤免疫血清可促进肿瘤细胞的生长,称之为免疫增强(immunologic enhancement)。因而此处增强一词是指削弱机体的抗肿瘤能力,从而有利于肿瘤细胞逃避效应细胞的识别和攻击。现认为,免疫增强是由于血清中存在封闭因子(blocking factor),后者遮盖了肿瘤细胞表面的抗原决定簇。封闭因子的种类可以有三种:①封闭性抗体,封闭肿瘤细胞表面抗原决定簇;②抗原抗体复合物,既能封闭肿瘤抗原,又能与效应细胞受体或 FC 受体结合;③可溶性肿瘤抗原,竞争性结合效应细胞表面的抗原受体,封阻抗体介导的反应。三者中以抗体和可溶性肿瘤抗原的免疫复合物居多,应用体外细胞介导的淋巴细胞毒试验(CML),证明这种复合物可抑制 CTL 对肿瘤细胞的杀伤作用。肿瘤的免疫增强不仅与封闭因子有关,也可能涉及某些淋巴细胞。在过继性免疫治疗中发现,某些致敏淋巴细胞过继性注入带瘤宿主,对肿瘤细胞出现刺激而非抑制其生长。这些淋巴细胞有可能属于抑制性细胞。

## (三) 信号转导缺陷

T 细胞通过 TCR 识别 MHC 递呈的抗原肽,启动下游的信号转导系统,激发 T 细胞的增殖分化,产生特异性免疫应答。参与 T 细胞信号转导的重要成分,包括 TCR  $\zeta$  链、Src 家族 PTK (Lck 和 Fyn)、Syk 家族 PTK(ZAP-70)。近来发现,肿瘤患者瘤灶和外周血中的肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)以及荷瘤动物脾脏中的 T 细胞信号转导分子表型往往发生

改变或表达水平下降(表 16-7)。尽管这些分子异常并非肿瘤细胞所特有的,但直接引起 T 细胞成熟障碍和免疫功能低下,使肿瘤抗原特异性 T 细胞激活受阻,IL-2 受体和 IL-2 表达明显下降,而且,缺陷的 T 细胞极易受到破坏,最终造成机体细胞免疫和体液免疫无法发挥有效抗肿瘤作用。

表 16-7 肿瘤中 T 细胞信号转导缺陷涉及的信号分子

肿瘤类型	信号缺陷
鼠结肠癌、肾癌	脾 T 细胞中 $\zeta$ 链、Lck 和 Fyn 水平降低
人肾细胞癌	TIL 中 $\zeta$ 链和 Lck 水平降低
人结肠癌	TIL 和 NK 细胞中 $\zeta$ 链水平降低
鼠纤维肉瘤	脾 T 细胞中 $\zeta$ 链、Lck 和 Fyn 水平降低
人肾癌、肝癌、结肠癌	PBL 中 $\zeta$ 链水平降低
鼠肾细胞癌	脾 T 细胞中转录因子 NF- $\kappa$ B 水平降低和异常
人肾细胞癌	TIL 和外周淋巴细胞中 NF- $\kappa$ B 的 DNA 结合活性异常
鼠纤维肉瘤	TCR 相关的 PTK 活性降低且不能与 ZAP-70 结合

#### (四) 肿瘤细胞分泌免疫抑制因子

肿瘤细胞可分泌多种免疫抑制因子和表达某些蛋白分子,抑制调节性细胞因子的分泌,下调免疫效应细胞的活性,保护肿瘤细胞免受特异性 CTL 的杀伤。例如肿瘤细胞分泌的 TGF- $\beta$ 、IL-10 和血管表皮生长因子(vessel epidermal growth factor, VEGF),具有负调节机体对肿瘤的免疫应答(表 16-8)和促进肿瘤生长的作用。TNF 是效应细胞分泌的杀伤肿瘤细胞的重要细胞因子,某些肿瘤细胞表达可溶性 TNF 结合蛋白(sTNF-BP),通过与 TNF 结合,阻止其与肿瘤细胞的 TNF 受体结合,抑制对肿瘤细胞的杀伤作用。

近年来发现,某些肿瘤细胞表面不仅 Fas 表达明显低下,而且,这些肿瘤细胞呈现 FasL 高表达,其结果,进入肿瘤组织周围的免疫细胞,因其表达 Fas 分子,通过肿瘤细胞分泌 FasL 并与 Fas 结合,激活免疫细胞的凋亡信号途径,反过来被肿瘤细胞所破坏(图 16-5)。可见某些肿瘤细胞也可通过营造局部免疫豁免(immune privilege)来逃脱免疫监视。

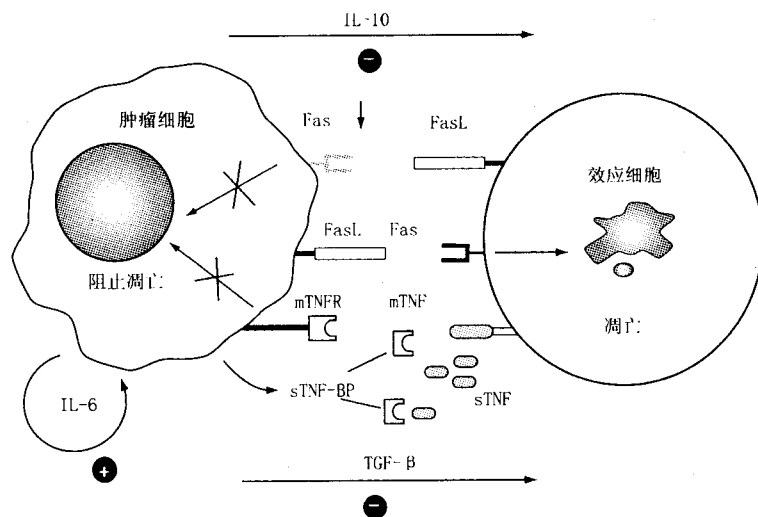


图 16-5 肿瘤细胞产生的免疫抑制因子和表达蛋白对效应细胞的作用

表 16-8 肿瘤细胞分泌免疫抑制因子对 T 细胞功能影响

免疫效应	TGF- $\beta$	IL-10	VEGF
抑制 T 细胞增殖	+	-	+
抑制 CTL 的分化	+	+	+
抑制细胞因子产生	+	+	-
诱导 T 细胞无能	+	-	-
下调细胞毒活性	+	+	-
促使 Th1/Th2 平衡移向 Th2	+	+	-
下调粘附分子表达和共刺激信号	+	+	-
抵抗 CTL 介导的细胞裂解作用	-	+	-

注：+ 表示有作用；- 表示无作用

## 第四节 肿瘤的免疫治疗

肿瘤免疫治疗是应用免疫学原理和方法,提高肿瘤细胞的免疫原性和对效应细胞杀伤的敏感性,激发和增强机体抗肿瘤免疫应答,并应用免疫细胞和效应分子输注宿主体内,协同机体免疫系统杀伤肿瘤、抑制肿瘤生长。

免疫治疗分为主动免疫疗法(active immunotherapy)和被动免疫疗法(passive immunotherapy)两大类(表 16-9)。前者着重激发机体抗肿瘤免疫应答能力;后者向宿主转移有抗肿瘤活性的治疗因子或细胞,抑制肿瘤生长。基因治疗被视为一种攻克肿瘤的有希望的治疗方法,方案繁多,其中涉及原理与免疫疗法密切相关。

表 16-9 免疫疗法的分类及常用的治疗因子和细胞

分 类		用于治疗的因子和细胞
主动免疫疗法	特 异 性	减毒或灭活的瘤苗、基因修饰的瘤苗、肿瘤抗原肽疫苗
	非特异性	卡介苗、左旋咪唑、IFN、IL-2
被动免疫疗法	特 异 性	单克隆抗体、抗体偶联物、肿瘤浸润淋巴细胞
	非特异性	TNF、LAK 细胞

### 一 肿瘤的主动免疫疗法

#### (一) 非特异性主动免疫疗法

1. 非特异性刺激因子:应用具有免疫调节作用的刺激因子通过非特异性地激发机体的免疫系统,增强抗肿瘤免疫应答能力,而达到杀伤肿瘤细胞的目的。目前常用的非特异性刺激因子有卡介苗(BCG)、短小棒状杆菌(PV)和左旋咪唑(Levamisole, LMS)等。在临床研究发现,这类刺激因子结合其他抗肿瘤疗法,具有促进特异性免疫、增强被动免疫疗效、提高杀伤肿瘤细胞作用。

2. 细胞因子:细胞因子具有广泛的生物学作用,参与调节体内许多生理和病理过程的发生和发展(参见第六章)。有的细胞因子具有间接和直接的杀伤肿瘤细胞能力。目前在抗肿瘤免疫治疗中常用的细胞因子有 IL-2、IL-4、IL-12、INF- $\gamma$  和 TNF 等,主要通过下列机制发挥其杀瘤效应:①上调免疫细胞的表面分子和受体的表达和分泌;②增强机体的免疫监视功能,促进 T 细胞的增殖分化和 CTL 的成熟,刺激 B 细胞产生抗体,提高 NK 细胞活性,激发巨噬细胞等产生抗肿瘤免疫应答;③促进免疫效应细胞释放淋巴毒素和效应分子杀伤肿瘤;④

促进肿瘤细胞表达 MHC 分子,增强肿瘤细胞的免疫原性和对效应细胞的敏感性;⑤某些细胞因子具有直接破坏肿瘤细胞和促使其发生凋亡的作用,如 TNF。

## (二) 特异性主动免疫疗法

2. 肿瘤疫苗: 肿瘤疫苗包括灭活的自体肿瘤细胞、提取的肿瘤抗原和人工合成的肿瘤肽抗原,通过给患者免疫接种,激发患者自身对肿瘤细胞的特异性免疫应答,清除肿瘤而不损伤周围正常细胞。肿瘤疫苗还可诱发免疫记忆细胞,产生长期的免疫效应,防止肿瘤的转移和复发。是一种理想的特异性主动免疫治疗(图 16-6)。

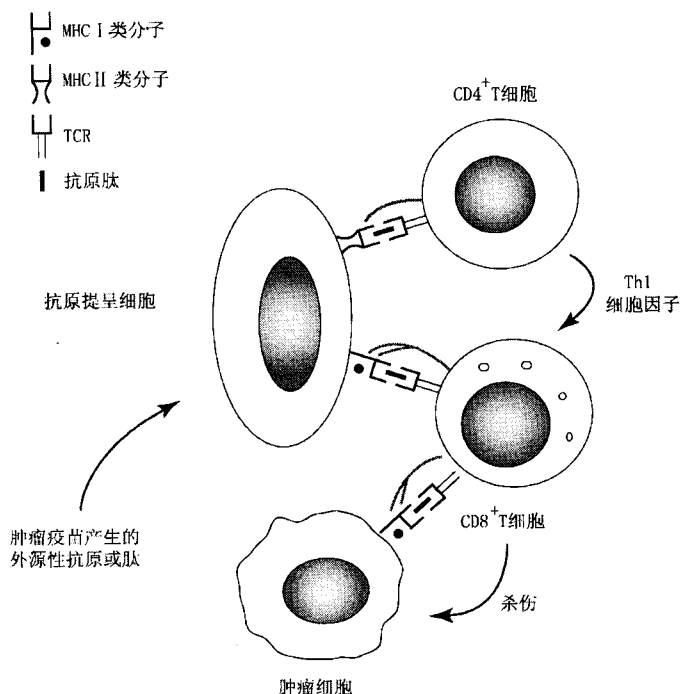


图 16-6 肿瘤疫苗激活 T 细胞作用机制

(1) 处理的瘤细胞作为疫苗: 应用化学、物理和生物学等方法(如加热、冻融、放射线照射、神经氨酸酶处理等)制备灭活的瘤细胞和细胞滤液、膜粗提品等,使成为丧失致癌作用,保留抗原性的瘤苗,以非特异性刺激因子作为佐剂,联合注射于患者体内进行主动免疫治疗。在对黑色素瘤、肾癌和结肠癌的主动免疫治疗中已取得一定效果,但对多数肿瘤患者疗效并不明显。

(2) 肿瘤抗原(肽)和人工合成肽抗原作为疫苗: 通过免疫、生化技术分离纯化瘤细胞膜中的抗原(肽)成分,或依据肽序列人工合成肽抗原,结合特定的 MHC I 类分子作为疫苗。此类疫苗可通过体外激发肿瘤特异性 CTL 后作过继性免疫治疗,也可直接用于体内进行主动免疫治疗。肿瘤肽疫苗在消除人类肿瘤的转移灶和预防肿瘤复发方面,目前已取得了一定疗效(图 16-7)。

(3) 癌基因产物作为抗原制备肽疫苗: 癌基因编码蛋白也是一类肿瘤抗原,不论是癌基因过量表达的产物或是突变产物,皆能以抗原肽的形式经 MHC I 类分子递呈后被 T 细胞所识别,激发 CTL 反应。对确定的癌基因产物,还可根据蛋白质一级结构,以 MHC 特定分

子的共用基序(consensus motif, 参见第四章)选择出特定的肿瘤抗原肽,这些抗原肽和 MHC 分子复合物在体外具有激发特异性 CTL 发生克隆扩增的能力,表明它们具有诱导特异性抗肿瘤免疫应答的能力。由于人类的 MHC 即 HLA 具有极为丰富的多态性,加之不同的肿瘤其癌基因谱的差异甚大,单纯使用某一 HLA 分子结合的肿瘤抗原肽作为疫苗,根据 MHC 约束性原理,使用上必然有局限性甚至是盲目性。因此,近年来已应用基因工程技术,通过构建编码多种肿瘤抗原肽的小基因(minigene),通过载体表达,可产生互不干扰的多表位重组体,以激发相对应的 CTL 克隆,进行过继性免疫治疗。另一方式是依据多个抗原肽序列合成对应的 DNA 片段,筛选出编码多表位的 DNA 疫苗进行免疫接种,可望产生广谱的肿瘤预防和治疗效果。

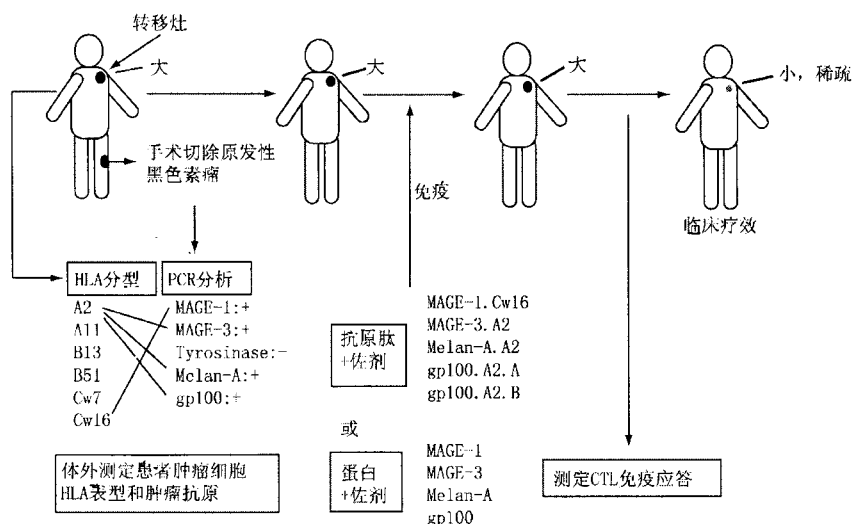


图 16-7 肿瘤抗原(肽)激发机体特异性抗肿瘤免疫治疗

2. 抗独特型抗体作为疫苗: 根据独特型-抗独特型网络的原理,以人的抗肿瘤抗原抗体(Ab1)免疫动物,抗体的独特型决定簇可作为抗原表位刺激动物机体产生抗独特型抗体(Ab2),其中的 Ab2 $\beta$  结构上和肿瘤抗原相似,可作为肿瘤抗原的内影像进行免疫接种(参见第十一章图 11-5)。机体由此产生抗 Ab2 的抗体(Ab3),会具有特异性识别肿瘤抗原的能力,或介导体内的效应细胞杀伤靶细胞。图 16-8 举了一个十分特殊的例子。该处患者得的是 B 细胞淋巴瘤,淋巴瘤属于一类恶变的单克隆性的抗体产生细胞,可分泌结构均一抗体分子(图中称为 Ab1)。其实此处的 Ab1 代表的是肿瘤抗原,由此产生的抗体(或如图中所示为 Ab2)注入体内后,可作用于表达该肿瘤抗原(或如图中所示为 Ab1 分子)的 B 淋巴瘤。显然,此处的 Ab1/Ab2 和独特型网络中通常描绘的 Ab1/Ab2(图 11-5)不完全一样。

抗独特型抗体疫苗与传统肿瘤抗原疫苗和基因工程疫苗不同,并非天然和人工合成的抗原,而是抗原的模拟物,它克服了肿瘤抗原来源困难和肿瘤抗原蛋白上某些抗原决定簇与正常细胞交叉反应等问题。然而,肿瘤的抗独特型抗体疫苗是否有效,关键仍在于抗原内影像所模拟的肿瘤抗原本身是否有足够强的免疫原性,或抗原内影像是否模拟到了关键性的抗原优势表位。人类 B 淋巴瘤由于其单克隆起源,抗独特型抗体的应用已证明有效,但对大多数肿瘤,抗独特型抗体要真正成为有效的特异性治疗手段,还需要作大量的探索。



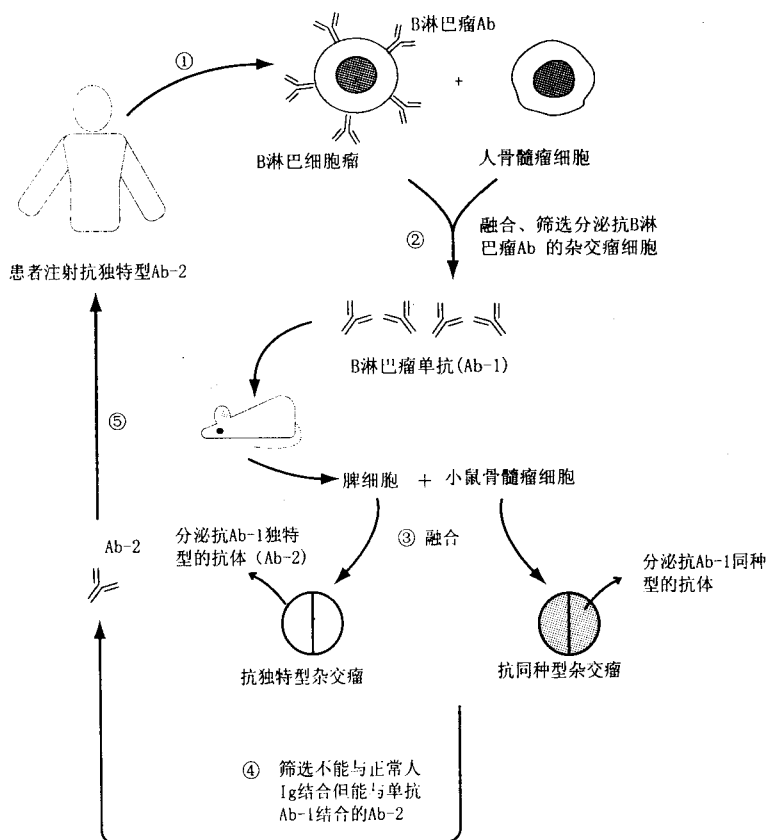


图 16-8 抗 B 淋巴瘤细胞独特型抗体的制备和应用

## 二 肿瘤的被动免疫疗法

### (一) 过继性免疫疗法

过继性免疫疗法(adoptive immunotherapy)是指把自身或异体的具有抗肿瘤活性的免疫血清或免疫细胞转输到免疫功能低下的肿瘤患者,在体内发挥抗肿瘤作用,以此达到治疗肿瘤的目的。

1. 淋巴因子激活的杀伤细胞:小鼠脾脏细胞或人外周血淋巴细胞在体外培养中,经高浓度的细胞因子(主要为 IL-2)诱导后发生扩增,产生一类能非特异性地杀伤自身和异体肿瘤细胞的效应细胞,称为淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine-activated killer cell),简称 LAK 细胞。LAK 细胞是一群异质性的细胞群,主要来源于外周血淋巴细胞,其表型既可是 CD3<sup>+</sup> 细胞,也可能是 CD3<sup>-</sup> 细胞,往往具有 NK 细胞样标记(CD16 和 CD56),其杀伤肿瘤细胞不需要抗原致敏,亦无 MHC 约束性,故认为 LAK 细胞的前体细胞是 NK,但与 NK 细胞不同的是其生长和效应功能依赖于 IL-2。临床实验证明,单独应用 LAK 细胞治疗肿瘤效果不佳,而与大剂量 IL-2 联合应用,可有效地维持 LAK 细胞活性,增强机体的免疫功能,对黑色素瘤、肾癌、结肠癌和淋巴瘤等具有一定疗效。

2. 肿瘤浸润性淋巴细胞:这是浸润于实体瘤内和周围淋巴结中,往往已被肿瘤抗原致敏而具有特异性抗肿瘤作用的一类细胞,被称为肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor-infiltration

lymphocytes, TIL)。TIL 一般是从外科手术切除的瘤块和淋巴结中分离取得,也可从患者的胸、腹腔渗出液中获得。TIL 是一群异质性细胞,主要有 T 细胞组成,其次是 NK 细胞和 B 细胞,大多数表达 IL-2R、HLA-DR 和粘附分子。TIL 比 LAK 细胞具有更佳的增殖活性,对肿瘤细胞的杀伤特异性强、效率高。目前在抗肝癌、黑色素瘤、肾癌、卵巢癌和肺癌等研究中发现,TIL 对肿瘤细胞的杀伤机制,除了有特异性的裂解作用外,主要依赖其释放的效应分子如 IL-2、穿孔素、TNF 等,并通过这些效应分子进一步激活机体免疫功能发挥抗肿瘤作用。据估计,小鼠实验中 TIL 的杀瘤效应比 LAK 细胞强 50~100 倍,是一种具有较大潜力和应用前景的肿瘤治疗手段。

## (二) 抗体导向疗法

目前利用杂交瘤技术制备的多种针对肿瘤抗原的单抗,在体外具有介导免疫细胞杀伤肿瘤细胞能力。然而大量临床试验结果表明,这种动物体内产生的异种单抗如果单独使用,体内对肿瘤细胞无明显杀伤作用。首先,抗肿瘤免疫主要由效应细胞介导;其次,抗体本身不能发挥应有的作用。其原因在于:①异种抗体与人补体成分结合能力低;②与参与 ADCC 的免疫细胞表面 Fc 受体亲和力弱;③输入的抗体在血循环中半衰期短;④宿主易针对异种抗体产生抗抗体,形成人抗鼠抗体(human anti-mouse antibody)反应,简称 HAMA 反应,阻碍其发挥作用。因此,在肿瘤免疫治疗中,正在寻找各种对策解决上述问题。如根据抗体特异性识别肿瘤抗原的特点,制备多种免疫偶联物(immunoconjugates),即以抗体为载体,以效应分子为“弹头”进行偶联,依赖于抗体的特异性将效应分子送达肿瘤部位选择性地杀伤肿瘤。其次,采用基因工程技术制备人源性单抗、嵌合抗体(鼠源性 Fab 段和人源性 Fc 段)和双特异性抗体,克服抗体异源性,增强机体与免疫活性细胞结合能力,达到有效杀伤肿瘤目的。

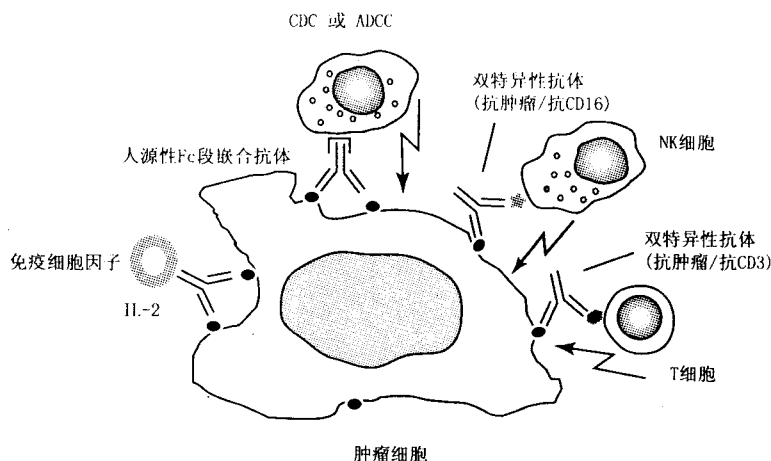


图 16-9 双特异性抗体的抗肿瘤作用机制

1. 抗体偶联物: 抗肿瘤抗体通过化学修饰与效应分子偶联,这些偶联物既有特异性识别肿瘤抗原的能力,也保留了效应分子杀伤肿瘤细胞的毒性,注射于肿瘤患者体内,可定向地浓聚到肿瘤部位,选择性杀伤肿瘤细胞。目前常用的抗体仍以鼠源性单抗为多,效应分子主要选用毒蛋白单链、放射性核素和抗癌药物等。抗体偶联物在荷瘤动物中显示明显的抗肿瘤效果,可减轻效应分子的毒副作用,延长动物生存期。在人类肿瘤治疗中,对白血病和淋巴瘤有一定疗效,但因涉及 HAMA 反应,影响治疗效果。

2. 双特异性抗体: 双特异性抗体(bispecific antibody, heteroconjugate antibody)是一类具有双功能的抗体杂交分子, 两价抗体中的 Fab 段具有不同特异性, 能与不同的配体结合。抗肿瘤和抗免疫活性细胞 CD16 或 CD3 的双特异性抗体, 不仅具有激活 NK 细胞或 T 细胞作用, 而且可以通过抗肿瘤的 Fab 段特异性结合肿瘤细胞发挥作用, 提高局部 NK 细胞或 T 细胞浓度, 增强效应分子杀伤肿瘤能力。也可通过抗体与某些细胞因子融合制备免疫细胞因子(immunocytokine), 加强肿瘤细胞附近细胞因子浓度, 激发机体免疫功能, 有效地杀伤肿瘤, 减少毒副作用。另外, 也可以应用人源性抗肿瘤单抗或人源性 Fc 段和鼠源性 Fab 段的嵌和性抗体, 克服鼠源性抗体免疫原性, 增强抗体介导细胞毒作用, 达到杀伤肿瘤作用(图 16-9)。

### 三 肿瘤的基因治疗

#### (一) 原理

基因治疗(gene therapy)是应用理化方法或病毒介导的 DNA 转移技术, 将功能正常的基因去置换或增补缺陷基因, 或将新的基因转移至靶细胞内使其安全、有效地发挥作用, 达到治疗目的。基因转移主要有两种方式, 一种是离体法(ex vivo), 即在体外将目的基因导入细胞内, 再将修饰过的细胞回输患者体内, 使外源性基因在体内表达; 另一种是体内法(in vivo), 即将目的基因直接导入或通过病毒作为载体导入体内组织器官, 使其进入靶细胞并充分表达, 发挥作用。肿瘤基因治疗中常用的靶细胞有肿瘤细胞、TIL、纤维母细胞和骨髓干细胞等。而目的基因的导入, 根据基因的作用机制分为四大类: ①引入抑癌基因和抗体基因, 阻止癌基因表达; ②导入酶基因和耐药基因, 提高抗肿瘤药物的疗效; ③导入信号缺陷的血管上皮生长因子受体基因, 抑制肿瘤旁血管生成; ④导入某些细胞因子基因、膜表面分子和抗原识别基因等, 增强肿瘤细胞的免疫原性, 激发机体免疫功能, 产生抗肿瘤免疫应答。

#### (二) 途径和机制

##### 1. 抑制癌基因表达

(1) 向癌细胞导入反义 ras 或 myc 等基因, 用反义核苷酸序列特异互补结合癌基因 DNA 和 mRNA, 阻止其转录、翻译和表达(图 16-10A)。

(2) 向癌细胞导入抑癌基因如 p53 和 RB 等, 利用其产物抑制癌基因表达, 使丧失致癌性, 诱导癌细胞凋亡。

(3) 向癌细胞导入抗生长因子、抗癌基因产物的抗体编码基因, 阻止相应的因子和蛋白在癌细胞膜上表达, 抑制其恶性生长(图 16-10B)。

##### 2. 增强抗肿瘤药物的活性

(1) 向肿瘤局部注射前药转换酶基因, 如单纯性疱疹病毒胸腺嘧啶激酶(HSV-tK)基因。HSV-tK 能使非毒性核苷酸类似物 ganciclovir 转变成毒性的三磷酸形式, 从而杀伤癌细胞。HSV-tK 基因只能整合至分裂相癌细胞的染色体, 不整合至正常细胞, 而哺乳动物细胞内源性 tK 酶对 ganciclovir 不敏感, 因此该抗肿瘤作用具有有效性和安全性(图 16-10C)。

(2) 向癌细胞导入药物敏感基因如 CD 基因, 提高前药 5-FC 的敏感性, 增强杀瘤效果。

(3) 将多药耐受基因如 MDR-1 等导入造血干细胞, 使机体在抗肿瘤化疗中受到保护, 从而提高患者对大剂量药物的耐药性, 减少毒副作用和并发症。

3. 抑制肿瘤局部血管生成: 向肿瘤局部导入信号缺陷的血管上皮生长因子(VEGF)受体基因, 其产物仍能结合肿瘤细胞分泌的血管上皮生长因子, 但却阻止局部的血管形成, 使

肿瘤缺乏血供而生长受抑。

#### 4. 增强肿瘤细胞免疫原性, 激发机体抗肿瘤免疫应答

(1) 向癌细胞导入 MHC I 类、TAP 和 B7 等基因, 促进肿瘤抗原表达, 增强肿瘤细胞的免疫原性, 激活 CTL 而杀伤靶细胞。

(2) 向癌细胞或 TIL 导入细胞因子如 IL-2、 $\text{INF}\gamma$  等基因, 使细胞大量分泌细胞因子, 激活肿瘤局部免疫活性细胞, 促进 T、B 细胞的分化、增殖, 提高机体抗肿瘤能力(图 16-10D)。

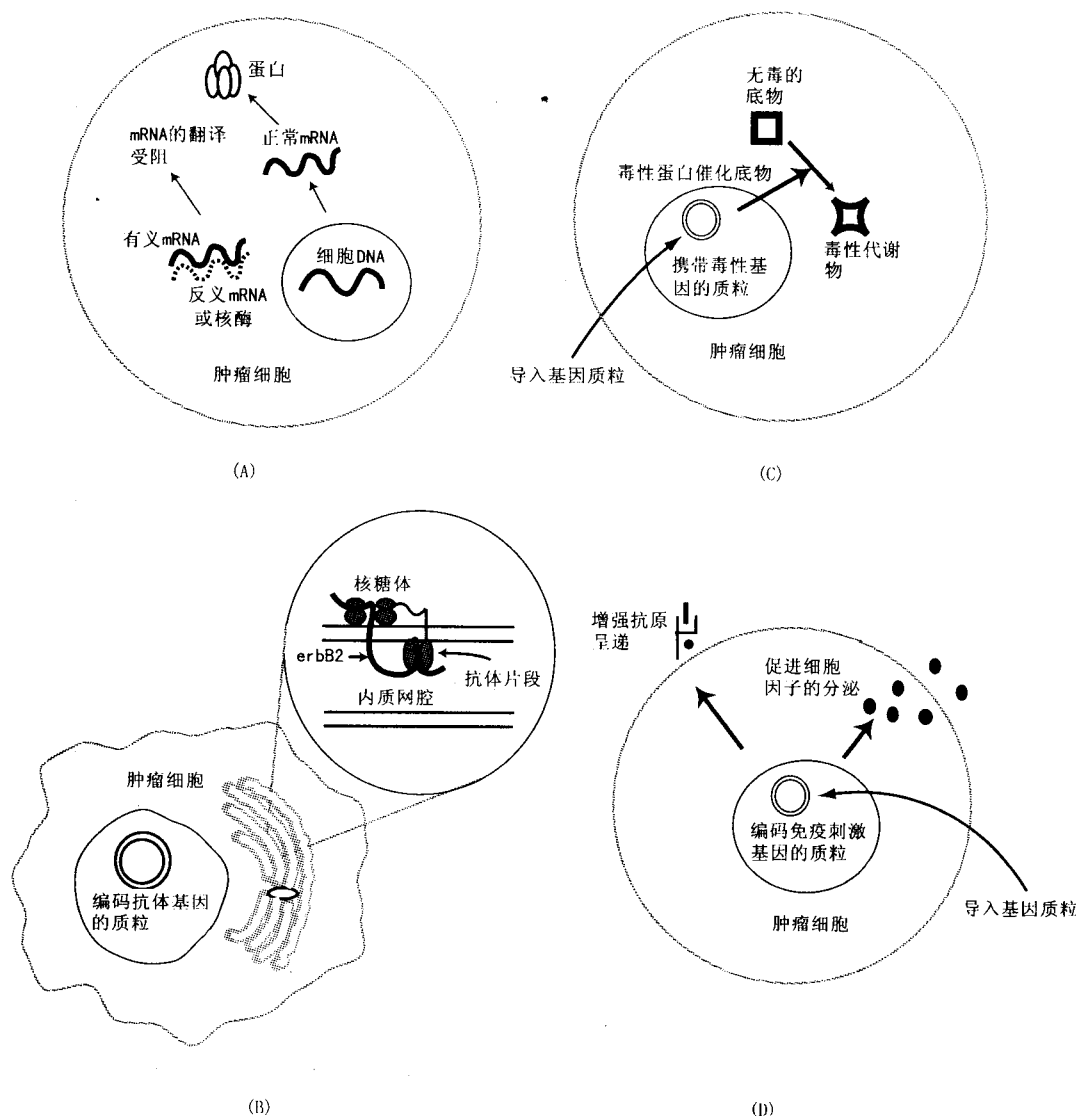


图 16-10 肿瘤基因治疗的四种主要途径

(A) 导入反义 mRNA 基因阻止癌基因 mRNA 的翻译; (B) 导入前药转换酶增强抗癌药物的活性; (C) 导入抗体基因阻止癌基因生长因子表达; (D) 导入免疫刺激因子基因, 促进细胞因子表达和分泌

### 本章提要

肿瘤细胞表达肿瘤抗原是诱发有效肿瘤免疫应答的关键。肿瘤抗原需由 MHC 分子递

呈,并被 T 细胞所识别。机体通过肿瘤抗原激活 CTL 直接杀伤肿瘤细胞,或激活 B 细胞分泌抗体产生特异性免疫应答。

机体抗肿瘤免疫应答以细胞免疫为主,依赖于激活的 T 细胞、NK 细胞和巨噬细胞对靶细胞的直接杀伤并释放效应分子,同时也涉及抗体、补体、细胞因子和粘附分子等多种免疫分子。它们的参与和相互调节,在机体对肿瘤的杀伤中起重要作用。肿瘤细胞免疫原性低下和机体免疫功能缺陷是肿瘤逃避免疫监视的主要原因。

寻找肿瘤抗原基因、确认肿瘤特异性抗原、阐明机体抗肿瘤的作用机制、发展和制备有效、广谱的肿瘤疫苗、提高肿瘤免疫治疗和基因治疗的效果,是当前肿瘤免疫学迫切需要研究和加以解决的主要问题。

(葛海良)

### 参考文献

- [1] Hemmer B, vergli M, Pinilla C, et al. Probing degeneracy in T-cell recognition using peptide combinatorial libraries. *Immunol Today* 1998,19: 163
- [2] Old LJ, Chen YT. New path in human cancer serology. *J Exp Med*, 1998, 187: 1163
- [3] Kuby J. *Immunology*, 3rd Ed, Freeman, New York, 1997, 573 ~ 597
- [4] Dalgleish AG and Browning M. *Tumor Immunology*, Cambridge Univ Press, London, 1996, 95 ~ 125
- [5] Rivoltin L, Loftus DJ, Squarcina P, et al. Recognition of melanoma-derived antigens by CTL: Possible mechanisms involved in down-regulating anti-tumor T-cell reactivity. *Critical Rev Immunol*, 1998, 18: 55
- [6] Ockert D, Schmitz M, Hampl M, et al. Advances in cancer immunotherapy. *Immunol Today*, 1999, 20: 63
- [7] Velders MP, Nieland JD, Rudolf MP, et al. Identification of peptides for immunotherapy of cancer. It is still worth the effort. *Critical Rev Immunol*, 1998, 18:7
- [8] Foon KA, Yannelli J, Malaya BC. Colorectal cancer as a model for immunotherapy. *Clin Cancer Res*, 1999, 5: 225

## 第十七章 移 植 免 疫

在医学上应用自体或异体的正常细胞、组织或器官,置换病变的或功能缺损的细胞、组织或器官,以维持和重建机体的生理功能,这种治疗方法称为细胞移植、组织移植或器官移植。经移植后,移植物抗原既可刺激受者的免疫系统,受者组织抗原也可能刺激移植物中的免疫细胞,从而诱发免疫应答,此为移植排斥反应。

近代,随着免疫生物学和免疫遗传学的发展,阐明了移植排斥反应的免疫学本质及其遗传学基础,使器官移植学研究获得了真正突破,并为临床开展人类同种异型移植奠定了基础。数十年来,由于组织配型技术、器官保存技术和外科手术方法的不断改进,以及高效免疫抑制剂的陆续问世,器官移植的应用范围日趋扩大,移植物存活率不断提高,器官移植已成为治疗多种疾病的有效手段。

根据移植物的来源及其遗传背景不同,可将移植分为四类。

1. 自体移植: 自体移植(*autologous transplantation*)是指移植物取自受者自身。这种移植不会发生移植排斥反应,如无感染,均能成功。

2. 同系移植: 同系移植(*syngeneic transplantation*)是指遗传基因型完全相同(*isogenic*)或基本近似(*syngeneic*)的个体间的移植,例如单卵孪生之间的移植,或同种动物多次交配而形成的近交系(*inbred strain*)内动物间的移植。这种移植如同自体移植,一般不会发生排斥反应。

3. 同种移植: 同种移植或同种异型移植(*allogeneic transplantation*)是指同种内遗传基因不同的个体间的移植,临床移植大多属此类型。这种移植常出现排斥反应。其反应强弱取决于供、受者间遗传背景差异的程度,差异越大,排斥反应越强。

4. 异种移植: 异种移植(*xenogeneic transplantation* 或 *xeno-transplantation*)是指不同种属个体间的移植。由于异种动物间遗传背景差异甚大,尤其在非协调性(*discordant*)的动物种属间,体内可能存在抗对方组织细胞成分的天然抗体,移植后可能产生严重的排斥反应,包括超急性排斥反应,故此类移植目前尚无长期存活的报道。

### 第一节 同种器官移植排斥机制

在不使用免疫抑制药物的情况下,同种异型间的器官移植一般均会发生排斥反应。排斥反应本质上属于一种特殊类型的免疫应答。

#### 一 同种移植排斥反应的一般概念

在进行同种移植后,由于供、受者之间的组织相容性抗原不同,故移植物可刺激受者的免疫系统产生免疫应答,导致排斥反应。移植排斥反应发生与否及其强弱,取决于供、

受者间组织相容性抗原的差异程度、受者的免疫状态、移植物种类以及排斥反应防治措施是否得当等因素。

(一) 引起同种移植排斥反应的抗原

引起移植排斥反应的抗原称为移植抗原或组织相容性抗原，它存在于机体所有细胞的膜表面。组织相容性抗原主要有主要和次要之分，能引起强烈排斥反应者称为主要组织相容性抗原(major histocompatibility antigen, MHC 抗原)，引起较弱排斥反应者则称为次要组织相容性抗原(minor histocompatibility antigen, mH 抗原)，它们分别由不同的基因系统编码。

1. 人类主要组织相容性抗原：HLA 抗原是最重要的人类主要组织相容性抗原。供、受者间 HLA 型别的差异是发生移植排斥反应的主要原因(详见第四章)。

2. 次要组织相容性抗原：大量实验研究和临床资料均证明，即使主要组织相容性抗原完全一致，仍可能发生排斥反应，但其强度较轻，速度较慢，从而提示还存在其他可诱导排斥反应的抗原。此类抗原被称为次要组织相容性抗原，它们表达于机体组织细胞表面，相应的抗原肽具有同种异型决定簇，可被 MHC 分子所递呈。

(1) 与性别相关的 mH 抗原：1955 年 Eichward 和 Silmsen 即已发现，某些近交系小鼠或大鼠中，来源于雄性供者的移植物可被同系雌性受者排斥，而来源于雌性供者的移植物则可被同系雄性受者所接受。由于近交系雌性与雄性动物间遗传背景的唯一差别是雄性携带 Y 染色体，故二者不相容的最合理解释是 Y 染色体基因编码的某些产物和组织相容性有关。例如，雄性小鼠的 H-Y 抗原即属于 mH 抗原，主要表达于精子、表皮细胞及脑细胞表面。

(2) 人类中非 Y 染色体连锁的 mH 抗原：包括 HA-1 ~ HA-5 等(图 17-1)。各类 mH 抗原的组织分布不同，某些可表达于机体所有组织细胞，某些仅表达于造血细胞和白血病细胞(表 17-1)。

表 17-1 人类次要组织相容性抗原 H-Y 和 HA-1 ~ HA-5 的特点

mHAg	限制分子	表型频率(%)	组织分布	TCR 谱
H-Y	HLA-A1, A2.1, B7, B60	50	所有造血及非造血细胞	可变
HA-1	HLA-A2	69	造血细胞及白血病细胞	Vβ6,9
HA-2	HLA-A2	95	同上	可变
HA-3	HLA-A1	88	所有造血及非造血细胞	未知
HA-4	HLA-A2	16	同上	未知
HA-5	HLA-A2	7	造血细胞及白血病细胞	未知

(3) mH 抗原诱导同种异型排斥反应的特点：①mH 抗原以 MHC 限制性的方式被 CTL 和 Th 细胞所识别；②不同类型 mH 抗原可被不同的 HLA 分子递呈，HLA-A2 抗原为其中最重要的递呈分子；③mH 抗原可在体内致敏 T 细胞，继而在体外检测到 T 细胞的再次应答；④不同 mH 抗原分子结构不同，其与特定 MHC 抗原的结合能力亦各异，故在具体的供、受者之间进行移植，参与排斥反应的优势 mH 抗原种类可能不同；⑤mH 抗原一般引起迟发的排斥反应，但也可能引起类似于 MHC 不相符所致的快速排斥反应。在 HLA 全相同的供、受者之间进行移植而发生的排斥反应(尤其是 GVHR)，主要由 mH 抗原所致。

3. 其他参与排斥反应发生的抗原

(1) 人类 ABO 血型抗原：ABO 血型抗原不仅分布在红细胞表面，也存在于肝、肾等组织细胞和血管内皮细胞表面，尤其是血管内皮细胞表面的 ABO 血型抗原在诱导排斥反应

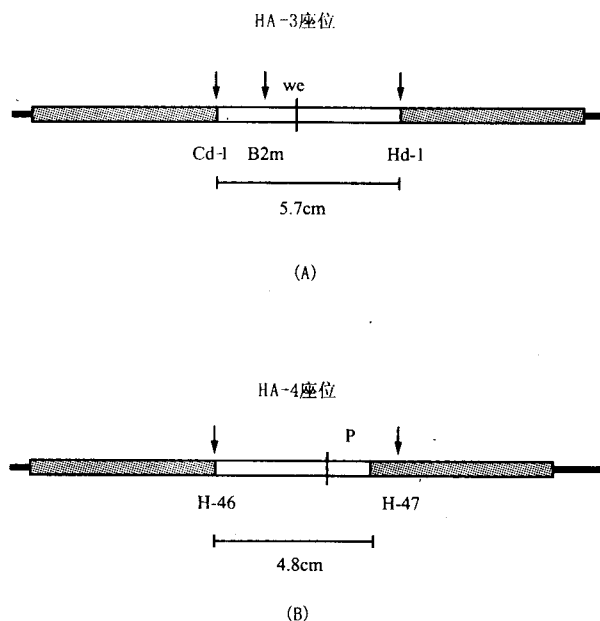


图 17-1 次要组织相容性抗原的基因结构示意图

(A) 第二号染色体。HA-3 座位由 Hd-1、Cd-1 基因组成, Hd-1 产物被 Th 细胞识别, Cd-1 产物被 CTL 识别; (B) 第七号染色体。HA-4 座位由 H-46 和 H-47 基因组成, H-46 产物被 Th 细胞识别, H-47 产物被 CTL 识别

中起重要作用。因此,供、受者的 ABO 血型不合也可引起移植排斥反应,特别是受者血清中的血型抗体可与供者移植物血管表面 ABO 抗原结合,通过激活补体而引起血管内皮细胞损伤和血管内凝血,导致超急性排斥反应的发生。

(2) 组织特异性抗原:组织特异性抗原是指特异性地表达于某一器官、组织或细胞表面的抗原,属独立于 HLA 抗原和 ABO 血型抗原之外的一类抗原系统。

目前已获得如下初步认识:同种异型间不同组织器官移植后发生排斥反应的强度各异,依次为皮肤、肾、心、胰、肝,其机制之一可能是不同组织特异性抗原的免疫原性不同。免疫学和形态学研究还显示,移植器官的微血管床是排斥反应的主要靶目标。

在诸多种类的组织特异性抗原中,对内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)特异性抗原和皮肤的 SK 抗原进行了较深入的研究。

VEC 可表达细胞特异性的 VEC 抗原。有资料显示,VEC 抗原的编码基因与 MHC 紧密相连,或即为一种新的 MHC I 类基因。VEC 抗原亦可视为主要组织相容性抗原,可诱导受者产生强的细胞免疫应答,从而在急性和慢性排斥反应中起关键作用。此外,VEC 抗原还可表达于单核细胞表面。

SK 抗原属于一种皮肤蛋白多肽抗原。与一般次要组织相容性抗原不同,SK 抗原并不显示同种差异性。但是,SK 抗原往往与 MHC 抗原结合,以复合物的形式存在,故皮肤移植后可通过直接递呈方式被受者免疫细胞识别,并导致排斥反应的发生。

## (二) 移植排斥反应的免疫学机制

1. 针对移植物的细胞免疫应答机制:同种异型移植所致的排斥反应,尤其是急性排斥反应的早期,在病变组织中常见以单个核细胞(其中主要是 T 细胞)为主的细胞浸润,表



明 T 细胞介导的细胞免疫在此类反应中起主要作用。

器官移植后,通过对移植物抗原的特异性识别,受者 CD4 T 细胞(尤其是 Th1 细胞)被激活,活化的 T 细胞释放多种炎性细胞因子(如 IFN- $\gamma$ 、IL-2 等),一方面直接引起迟发型超敏反应性炎症,另一方面可活化 CD8 T 细胞,产生细胞毒效应。

2. 针对移植物的体液免疫应答机制:在移植排斥反应中,体液免疫与细胞免疫协同发挥作用,尤其是受者体内的预存抗体在超急性排斥反应中起重要作用。

如前所述,移植抗原特异性的 CD4 Th 细胞,活化后可辅助 B 细胞分化成浆细胞,后者分泌针对同种异型组织抗原的特异性抗体。抗体可通过调理作用、免疫粘附、ADCC 和 CDC 等途径对移植物造成损伤,引起排斥反应。

在某些情况下,抗体可与移植物释放的大量可溶性抗原结合,形成免疫复合物,从而封闭移植物抗原,阻止受者免疫效应细胞对移植抗原的识别和对移植物的攻击。此即所谓免疫增强(促进)作用,由此可能防止或延缓排斥反应的发生。

一般而言,除超急性排斥反应外,抗体在移植排斥反应中不起重要作用。

3. NK 细胞参与排斥反应的机制:除上述特异性细胞免疫应答外,非特异性的 NK 细胞也可参与排斥反应。已发现,人 NK 细胞表达一种杀伤细胞抑制性受体(KIR)。正常情况下,此类受体与自身组织细胞所表达的 MHC I 类分子或抗原肽-MHC I 类分子复合物结合,可产生并传入负调节信号,从而抑制 NK 细胞的杀伤活性。在同种器官移植后,受者 NK 细胞的 KIR 不能识别表达在移植物细胞表面的非己 MHC 抗原,抑制信号传入受阻,NK 即可被激活,并对靶细胞发动攻击,从而参与排斥反应。此外,被过路细胞激活的 T 细胞可产生多种细胞因子,如 IL-2、IFN- $\gamma$  等,它们可使 NK 细胞活化,从而增强其细胞毒作用,参与对移植物的排斥。

## 二 单向移植排斥

传统观点认为,宿主 T 细胞可识别移植物的异型 MHC 抗原并被激活,从而产生针对移植物的排斥反应,此为宿主抗移植物反应(host versus graft reaction, HVGR);若植入含有大量免疫活性细胞的同种组织器官,在宿主免疫功能低下的情况下,无力排斥移植物,而移植物中的免疫活性细胞可被宿主的组织相容性抗原激活,导致针对宿主组织器官的免疫损伤,此为移植物抗宿主反应(graft versus host reaction, GVHR)。上述有关器官移植排斥反应机制的经典理论被称为“单向移植排斥模式(one-way paradigm)”。

长期以来,有关宿主对同种移植物的识别和效应机制存在诸多令人困惑的问题:首先,移植物组织细胞一般仅表达 MHC I 类抗原,而不表达 MHC II 类抗原,亦不表达 B7 等协同刺激分子,它们如何激活宿主的 CD4 T 细胞(须识别 MHC II 类分子-抗原肽复合物)和 CD8 T 细胞(须 B7 分子等提供第二活化信号);其次,无关个体间的同种移植中,宿主的 MHC 抗原与移植物的 MHC 抗原不一致,移植排斥反应是如何跨越 MHC 约束性而得以实现?

近年对上述问题的认识获得了进展,并形成了初步的解释。本节主要以肾移植为例进行介绍。

### (一) 直接同种异型识别

1. 直接识别的证据与特点:导致 HVGR 发生的抗原主要来自移植物中残留的白细胞,称为过路细胞(passage cell)。其中,参与引发排斥反应最重要的过路细胞是成熟的树突细

胞(DC)和巨噬细胞(MΦ),二者均高表达 MHC II 类分子和包括 B7 在内的多种粘附分子。移植后,移植物血管与受者血管接通,受者的白细胞可进入移植物,移植物内的过路细胞也可进入受者血循环或淋巴组织。所谓直接识别(direct allo-recognition),是指受者 T 细胞可识别完整的同种异基因 MHC 分子,而无须经受者 APC 对同种 MHC 分子进行处理,也无须自身 MHC 分子参与递呈。换言之,过路细胞表面的 MHC II 类分子或抗原肽-MHC II 类分子复合物可直接被受者的 CD4 T 细胞识别,而无须经过受者 APC 处理。

已有大量实验证明,直接同种识别是发生移植排斥的重要机制。供、受者淋巴细胞在体外培养体系中可发生混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction, MLR),导致 CD4 T 细胞增殖,继而 CD8 T 细胞活化,这是上述直接识别模式的最直接证据。由直接同种识别而导致的排斥反应具有两个特点:①速度快,因为省略了抗原的摄取、处理和加工;②强度大,因为每一个体中,有同种抗原反应性的 T 细胞占 T 细胞总数的 2% 左右,而针对一般异源性抗原的特异性 T 细胞仅占总数的 1/10 000。

研究还发现,通过直接识别而被激活的 T 细胞,易于被免疫抑制药物(如 CsA 等)所控制。目前认为,直接识别机制在移植早期的急性排斥反应中起重要作用。由于移植物内的 APC 数量有限,同时过路 APC 进入受者血循环后即分布于全身,并随时间推移而逐步消失,故在急性排斥反应的中晚期或慢性排斥反应中直接识别所起的作用不大。

2. 直接识别的机制:根据 MHC 约束性理论,同种移植中由于供者 APC 与受者 T 细胞之间 MHC 型别不同,两者不能相互作用。解释受者对同种异型 MHC 直接识别模式的一种观点认为,供者抗原肽-异型 MHC II 类分子可能模拟受者抗原肽-MHC II 类分子的结构。换言之,具有直接识别能力的同种抗原反应性 T 细胞并非一个独立的亚群,它们实际上与识别异源性抗原的 T 细胞存在交叉。

如上所述,受者体内具有同种抗原反应性的 T 细胞数量较大,即参与直接识别的 T 细胞克隆谱较广。有关异型 MHC 分子或异型抗原肽-MHC 分子复合物可刺激多克隆 T 细胞激活的机制,目前尚未完全阐明。已提出若干可能的解释:①异型 MHC 分子或异型抗原肽-MHC 分子复合物可模拟受者 MHC 分子,或抗原肽-MHC 分子复合物缺乏高度精确性,故每一模拟结构可被不同的 T 细胞克隆所识别,导致受者多克隆 T 细胞活化,而且,表达不同 TCR 的 T 细胞可能与模拟结构具有不同的亲合力;②供者 APC 表面的 MHC 分子通常与各种不同的自身肽结合为复合物,众多的供者抗原肽表位可刺激受者体内众多的特异性 T 细胞克隆;③供者 APC 表面的每一个 MHC 分子均可被递呈给受者 T 细胞,其数量远大于 APC 表面所递呈的一般外源性抗原肽。

迄今,上述理论仅部分解释了异型 MHC 直接识别与免疫应答中 MHC 约束性的矛盾。另外,有关活化的 CD8 T 细胞如何杀伤表达异型 MHC 的移植物靶细胞,仍有待进一步阐明。

## (二) 间接同种异型识别

间接识别(indirect allo-recognition)乃指供者移植物脱落的细胞或 MHC 抗原经受者 APC 加工和处理后,以受者 MHC II 类分子-抗原肽(即供者 MHC 分子凹槽中所容纳的免疫原性肽段)复合物的形式递呈给受者的 CD4 T 细胞,使之活化。

间接识别也是移植排斥反应的重要机制,它在急性排斥反应的早期与直接识别机制协同发挥作用,并在急性排斥反应的中晚期和慢性排斥反应中起更为重要的作用。

直接和间接同种识别的机制见图 17-2。

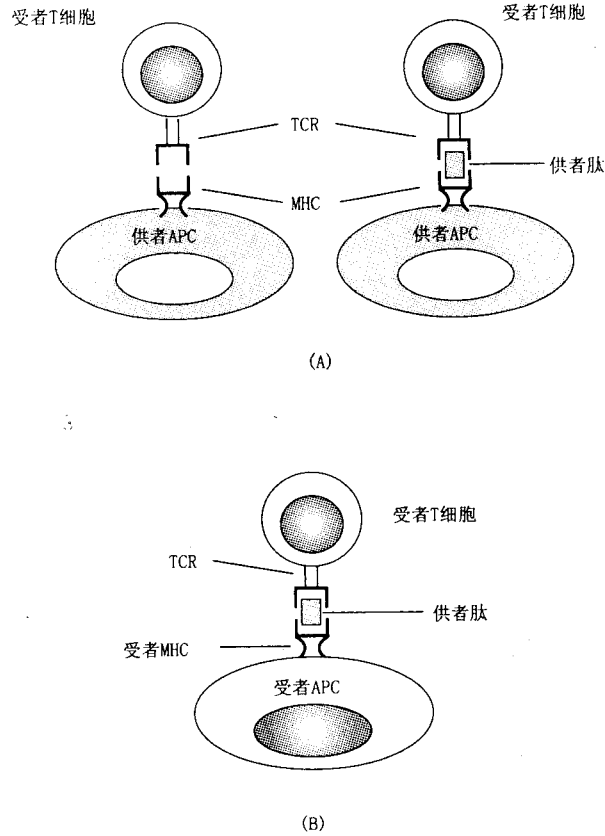


图 17-2 受者 T 细胞对同种异体移植抗原的识别机制

(A) 直接识别机制:(左)受者 T 细胞的 TCR 特异性识别供者 APC 所递呈的同种异型 MHC 分子天然结构;(右)受者 T 细胞的 TCR 特异性识别供者 APC 所递呈的同种异型 MHC 分子-抗原肽复合物;(B) 间接识别机制:受者 APC 摄取、加工、处理供者的同种异型 MHC 分子;受者 TCR 特异性识别由受者 APC 所递呈的同种异型 MHC 分子相关肽

近年来对间接识别过程进行了较深入的研究,发现同种异型 MHC 分子含有某些称为优势肽 (predominant peptide)的关键性肽段,它们在引发受者 T 细胞活化的过程中具有重要作用。优势肽在受者 APC 内可很好地与 MHC II 类分子结合成复合物,并被递呈给受者 T 细胞。目前,已成功分析了某些优势肽的氨基酸序列。在间接识别中,由于受者 T 细胞主要是识别供者 MHC 分子上的某些肽段,故可通过人工合成的肽段来干扰间接识别过程,从而达到诱导移植耐受的目的。这为应用 MHC 肽段防治移植排斥反应提供了理论依据。

### 三 微嵌合状态与双向移植排斥

#### (一) 微嵌合状态的发现

Starzl 于 1992 年报道,在某些肝、肾移植而长期存活患者的皮肤、淋巴结、胸腺等组织中,发现存在供者来源的遗传物质或供者来源的白细胞。取这些患者淋巴细胞与相应供者淋巴细胞在体外进行混合淋巴细胞培养,结果均不发生增殖反应,提示这些肾移植患者已对供肾者组织抗原产生耐受。Starzl 将这种现象称为微嵌合状态 (microchimerism)。

按传统的单向移植排斥理论, 存在于受者体内实质脏器中的供者白细胞应通过排斥反应而被消灭。微嵌合现象的发现则对上述理论提出了挑战: 为何在移植 20 余年后, 受者体内仍存在供者的白细胞? 这些长期存在于受者体内的供者白细胞与移植器官的长期存活有何关系?

## (二) 双向移植排斥模式

由于临床所见的移植排斥均在持续应用免疫抑制剂的情况下发生, 有其自身特点, 而不同于未经处理的自然状态下的排斥现象。据此, Starzl 于 1993 年提出了双向移植排斥模式(two-way paradigm)理论。其要点为:

1. 双向排斥与微嵌合的形成: 移植早期, 移植物中的过路细胞进入供者血循环后即分布于全身, 刺激受者免疫细胞, 使之激活、增殖, 发生 HVGR。另一方面, 受者的白细胞也会进入移植物内, 刺激移植物中的免疫细胞, 使之激活、增殖, 发生 GVHR。但是, 在临床上持续应用强效免疫抑制药物的情况下, 受者免疫系统无力排斥移植物, 也不能完全消灭由移植物移出的过路细胞, 即 HVGR 被抑制。同样, 移植物中的过路细胞也不能介导强的 GVHR。因此, 在免疫抑制状态持续存在的情况下, 受者体内同时存在不完全的 GVH 和 HVG 双向排斥, 两者的相互作用最终达到一种无反应的平衡状态, 形成供、受者白细胞共存的微嵌合体(图 17-3)。

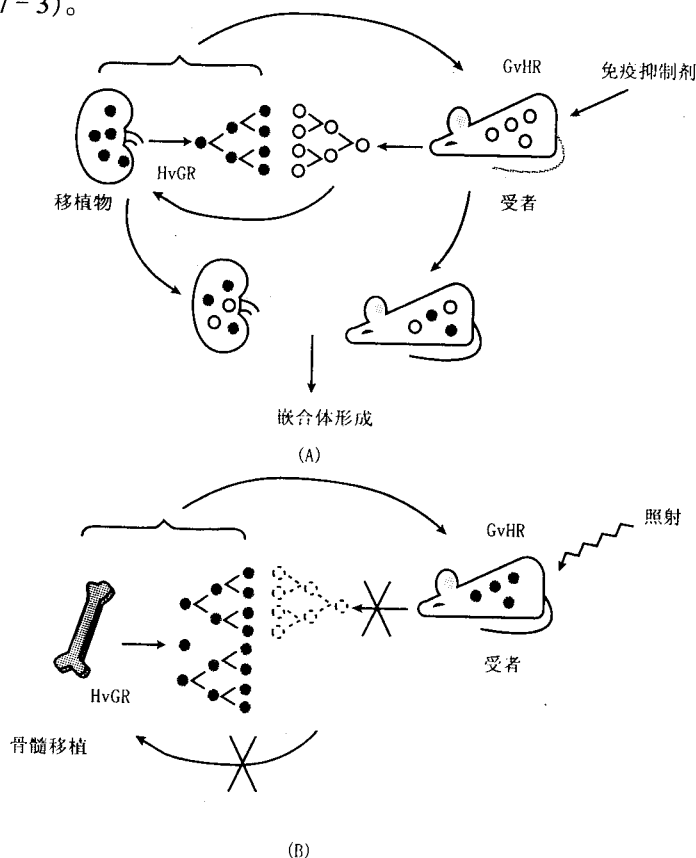


图 17-3 嵌合体形成示意图

(A) 实体器官移植中形成的微嵌合体; (B) 骨髓移植中形成的完全造血嵌合体

● 供者免疫(骨髓)细胞; ○ 受者免疫细胞

2. 微嵌合与移植耐受: Starzl 发现, 某些移植后长期存活的患者自动停药或遵医嘱停药后, 其移植的脏器并未被排斥且功能正常, 嵌合体检查均为阳性。据此他认为, 长期的微嵌合状态可能导致对移植器官的耐受。

在微嵌合及移植耐受形成中, 长期存在于受者体内的供者白细胞(主要是不成熟的 DC)起着关键作用。DC 是体内一类重要的抗原递呈细胞, 按其成熟程度可分为三类:

(1) DC 祖细胞 (DC progenitor): 表达极微量的 MHC I 和 II 类分子, 不表达 B7 等协同刺激分子。DC 祖细胞不仅存在于骨髓, 也可进入血液, 并分布于各种淋巴组织(如胸腺、脾、淋巴结)和肝、肾等非淋巴组织中, 它们的主要功能是进一步分化为不成熟的 DC。

(2) 不成熟 DC (immature DC): 表达低水平的 MHC 分子和 FcR, 但缺乏 B7 等协同刺激分子。此类 DC 具有极强的摄取、处理抗原的能力, 也有一定的抗原递呈能力, 但由于缺乏 B7 分子, 故在抗原递呈过程中非但不能激活 T 细胞, 反而可能导致抗原特异性 T 细胞变为无能。不成熟 DC 主要分布于非淋巴组织中。肝、肾、心等脏器中的过路细胞多为不成熟 DC。

(3) 成熟 DC: 表达高水平的 MHC 分子、FcR、B7 分子等。此类 DC 吞噬和处理抗原的能力较弱, 但具有极强的抗原递呈能力和协同刺激能力, 是激发免疫应答的主要 APC。成熟 DC 主要分布在淋巴组织, 如脾和淋巴结中。

在上述三类成熟程度各异的 DC 中, 不成熟 DC 主要参与免疫耐受的诱导, 而成熟 DC 参与诱发免疫应答。全身各组织器官均存在这三类 DC, 但数量和比例不同。肝脏中 DC 最丰富, 且多为不成熟 DC 和 DC 祖细胞, 故肝移植后发生的排斥反应最弱。临床已发现, 含有过路细胞越多的器官(如肝脏), 其移出的细胞越多, 更容易形成供-受者嵌合状态, 也因此更容易形成移植耐受, 从而长期存活。现已证实, 实质脏器移植前输入骨髓细胞(内含造血干细胞、DC 前体细胞和不成熟 DC 等), 或增加供体过路细胞的数量(如肝肾联合移植), 可明显减缓排斥反应, 促进移植物的存活。

对微嵌合现象和“双向移植排斥”理论, 目前还存在若干不同观点。例如: ①已发现, 某些发生移植排斥的患者也可能出现微嵌合状态, 而某些长期存活的移植患者并不一定能检出微嵌合体。因此, 尚不能简单地将微嵌合体形成等同于移植耐受, 或作为移植后可以停止使用免疫抑制剂的指标。②尚不清楚, 微嵌合究竟是移植耐受的“果”抑或“因”。③诸多其他问题有待阐明, 例如, 长期免疫抑制状态下移植排斥反应的规律性变化; 微嵌合状态形成的确切机制; 其与移植物长期存活的关系, 等等。

## 第二节 移植排斥反应的类型

移植排斥反应包括宿主抗移植物反应(HVGR)和移植物抗宿主反应(GVHR)两大类。前者见于一般器官移植, 后者主要发生在骨髓移植或其他免疫细胞移植。

### 一 宿主抗移植物反应

HVGR 乃宿主体内致敏的效应细胞和抗体对移植物进行攻击, 导致移植物被排斥。各类器官移植排斥反应发生的免疫效应机制基本相同, 根据排斥反应发生的时间和强度, 以及发生机制和病理表现, 大致分为三种类型, 即超急性排斥反应、急性排斥反应、慢性排斥

反应。现以肾移植为例进行介绍。

### (一) 超急性排斥反应

超急性排斥反应(hyperacute rejection)指移植器官与受者的血管接通后数分钟至1~2d内发生的排斥反应。可见于反复输血、多次怀孕、长期血液透析或再次移植的个体。该反应是由于受者体内预先存在抗供者组织抗原的抗体,包括抗供者 ABO 血型抗原、血小板、HLA 抗原及血管内皮细胞和单核细胞上 VEC 抗原的抗体。这些天然抗体多为 IgM 类,在肾移植中,它们可与供者肾组织抗原结合,通过激活补体直接破坏靶细胞,或通过补体激活所产生的活性片段引起血管通透性增高和嗜中性粒细胞浸润,导致毛细血管和小血管内皮细胞损伤、纤维蛋白沉积和大量血小板聚集,并形成血栓,从而使移植器官发生不可逆性缺血、变性和坏死。应用免疫抑制药物对抗此类排斥反应效果不佳。

除免疫学机制外,供体器官灌流不畅或缺血时间过长等非免疫学机制,也可能导致超急性排斥反应的发生。

### (二) 急性排斥反应

急性排斥反应(acute rejection)是同种异型器官移植中最常见的一种排斥反应,一般在移植后数天至2周左右出现,80%~90%发生于移植后一个月内。肾移植受者临床表现为移植区胀痛、少尿或无尿,血液中尿素氮升高、补体水平下降、血小板减少。如果及早给予适当的免疫抑制剂治疗,此型排斥反应大多可获缓解。

细胞免疫应答在急性排斥反应中发挥主要作用。其中 CD4 Th1 细胞介导的迟发型超敏反应是造成损伤的主要机制。CD8 CTL 和 CD4 CTL 可直接杀伤表达异型抗原的移植物细胞。此外,激活的巨噬细胞和 NK 细胞也参与急性排斥反应的组织损伤。

在急性排斥反应中,可出现特征性的急性血管排斥反应(acute vascular rejection),其发生机制为:①激活的 T 细胞直接杀伤血管内皮细胞,或通过分泌淋巴因子激活炎性细胞,引起内皮细胞坏死;②受者体内产生针对血管内皮细胞同种抗原的 IgG 类抗体,通过补体依赖的细胞毒作用,导致移植物血管坏死(图 17-4)。

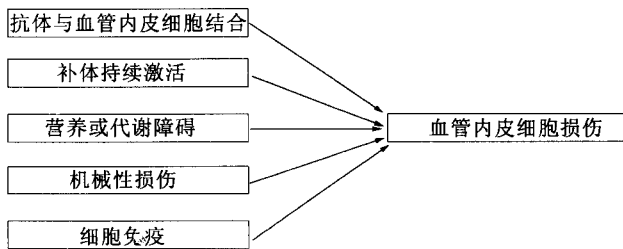


图 17-4 急性血管排斥反应机制示意图

急性排斥反应的发生率极高,其临床表现取决于供、受者之间组织相容性程度、移植后免疫抑制药物的应用方案以及诱发因素(如感染等)。一般而言,急性排斥反应发生越早,其临床表现亦越严重;移植后期发生的急性排斥大多进展缓慢,临床症状较轻。

### (三) 慢性排斥反应

慢性排斥反应(chronic rejection)发生于移植后数周、数月、甚至数年,其病变与慢性肾炎相似,肾脏正常器官组织结构消失,肾功能进行性减退,甚至完全丧失。多种细胞(如多形核白细胞、单核细胞、血小板等)趋向于附着在血管内皮受损部位,这些激活的血细胞和内

皮细胞所释放的血小板源生长因子(PDGF)及细胞表面的粘附分子是介导细胞粘附的主要因素。受损的内皮被血小板和纤维蛋白所覆盖,最后导致血管内增生性损伤或纤维化,造成器官组织结构破坏及功能丧失。慢性排斥反应的另一病理特征是血管平滑肌细胞增生,导致移植物血管破坏。这可能是由于移植物血管壁表达的同种抗原激活淋巴细胞,进而诱导巨噬细胞分泌平滑肌细胞生长因子所致。

慢性排斥反应中移植脏器的功能衰退可能由免疫和非免疫两种机制造成。

1. 免疫损伤机制:慢性排斥反应是反复发作的急性排斥反应的结果,且常与供、受者间组织不相容有关。血管慢性排斥(chronic vascular rejection, CVR)是其主要形式,表现为血管内皮细胞(VEC)损伤。

(1) CD4 T细胞的间断活化可能发挥主要作用。慢性排斥过程中,受者CD4 T细胞通过间接识别VEC表面的MHC抗原而被激活,继而Th1细胞和巨噬细胞介导慢性迟发型超敏反应炎症;另外, Th2细胞辅助B细胞产生抗体,通过激活补体和ADCC作用,损伤移植器官的血管内皮细胞。

(2) 反复发作的急性排斥反应引起移植物血管内皮细胞持续性轻微损伤,并持续分泌多种生长因子,如胰岛素样生长因子、血小板源生长因子、转化生长因子等,继而导致血管平滑肌细胞增生、动脉硬化、血管壁炎性细胞(T细胞、巨噬细胞)浸润等病理改变。

2. 非免疫学机制:慢性排斥与组织器官的退行性变有关。其诱发因素包括:供者的年龄(过大或过小)、某些并发症(高血压、高脂血症、糖尿病、巨细胞病毒感染等)、移植物缺血时间过长、肾单位减少、肾血流动力学改变、免疫抑制剂的毒副作用等。

慢性排斥反应的机制迄今尚未完全清楚,且其对免疫抑制疗法不敏感,从而成为目前移植物不能长期存活的主要原因。

## 二 移植物抗宿主反应

### (一) 发生GVHR的条件

移植物抗宿主反应(GVHR)是由移植物中的抗原特异性淋巴细胞识别宿主组织抗原而发生的一种排斥反应。GVHR一旦发生,一般均难以逆转,不仅导致移植失败,而且还能给受者造成严重后果。GVHR的发生依赖于下列条件:①宿主与移植物间组织相容性抗原不符;②移植物中含有足够数量的免疫细胞,尤其是T细胞;③移植受者处于免疫无能或免疫功能极度低下的状态。

临床上, GVHR主要见于骨髓移植后,此外胸腺、脾脏移植,以及新生儿接受大量输血时也可能发生。

### (二) 移植物抗宿主病及其发生机制

理论上,骨髓移植中供、受者间遗传背景的差异可同时导致HVGR和GVHR。但由于接受骨髓移植患者多伴有严重的免疫缺陷,故实际上很少发生明显的HVGR。

1. 诱导GVHD发生的抗原:移植物抗宿主病(GVHD)的发生程度和发生率与供、受者间HLA型别匹配的程度密切相关。最近的研究资料显示,次要组织相容性抗原不相符也参与GVHD的形成,尤其HA-1相容对GVHD的发生起重要作用。

2. GVHD的损伤机制:GVHR的发生,主要是骨髓移植中供者来源的成熟T细胞,

被宿主的异型组织相容性抗原(包括主要与次要相容性抗原)所激活,增殖分化为效应 T 细胞。这些激活的效应细胞在受者体内移动,对宿主的组织或器官发动免疫攻击,从而导致 GVHD。

近年文献报道,细胞因子网络的失衡可能是造成 GVHD 组织损伤的重要原因。骨髓移植后受者体内异常增多的细胞因子主要有两个来源:①对骨髓移植进行预处理而产生的毒性、受者被感染和受者患有原发疾病,皆可引起细胞因子分泌失调;②供者骨髓中识别受者同种抗原的 T 细胞被激活,分泌细胞因子并表达细胞因子受体,后两者进一步激活供者 T 细胞,通过正反馈调节环路,产生更多的细胞因子。这些过量产生的细胞因子,有的本身即具有强烈的细胞毒性,有的还可激活 NK 细胞和 CTL 等效应细胞,使之发挥对靶细胞的胞毒作用。激活 T 细胞所产生的多种细胞因子均参与 GVHD 损伤机制,其中 IL-2、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等的作用尤为重要。

GVHD 可分为急性和慢性两种:急性 GVHD 一般以 Th1 反应为主;慢性 GVHD 一般以 Th2 反应为主。

### (三) 移植抗白血病反应

1. 移植抗白血病反应的概念:在对白血病患者进行异基因骨髓移植治疗时,所面临的一个严重问题是白血病复发。已发现,在同卵孪生的同胞间进行骨髓移植,由于不存在主要和次要组织相容性抗原的差异,GVHD 得以避免,但白血病的复发率高达 46%;自体骨髓移植患者白血病的复发率也很高;而 HLA 相同的异基因骨髓移植后白血病复发率明显较低。这一临床现象提示:次要组织相容性抗原的差异在诱导 GVHD 的同时,可能也有助于引发移植抗白血病反应(graft versus leukemia reaction, GVL),即骨髓移植中的免疫细胞可向残留的白血病细胞发动攻击,从而防止白血病的复发。

从一定意义上讲,GVL 也可被视为一种特殊类型的 GVHR,但两者的发生并无必然联系。由于临床异基因骨髓移植一般均在 HLA 一致的供、受者间进行,故刺激 GVL 产生的白血病抗原主要是:①广泛分布的次要组织相容性抗原,如 HA-3、HA-4、HA-6、H-Y 等;②相对特异性的血细胞抗原,如 HA-1、HA-2(淋巴细胞或髓细胞系)、CD19(淋巴细胞)、CD45(淋巴细胞或髓细胞);③白血病特异性抗原,如 BCR-ABLp210、p190(慢性髓细胞性白血病)、PML/RARA(急性髓细胞性白血病)、突变的 Ras 蛋白(髓性白血病)等;④某些在白血病时表达增高的正常蛋白。

2. GVL 的诱导及其机制:对骨髓移植受者术后输注供者淋巴细胞(donor lymphocyte infusion, DLI),可在一定程度上诱导受者体内的 GVL。Datta 等发现,骨髓移植后复发慢性髓细胞白血病(CML)的患者接受 DLI 治疗后,体内可出现特异性识别 CML 细胞的供者 T 细胞克隆。

DLI 效应细胞往往优先杀伤白血病细胞,其可能的机制是:①正常造血干细胞对刺激性细胞因子较为敏感,而 CML 细胞对胞毒性细胞因子(如 IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  等)更为敏感;② CD34 造血干细胞一般不表达 Fas 抗原,而 CML 细胞在某些细胞因子刺激下可高表达 Fas 抗原,从而可通过 Fas/FasL 途径发生凋亡。

## 三 排斥反应和免疫豁免

机体的某些解剖部位易于接受同种乃至异种组织器官的移植,而不发生或仅发生轻微



的排斥反应,这些部位称为免疫豁免区,如角膜、眼前房、软骨、脑、胎盘滋养层、内分泌腺

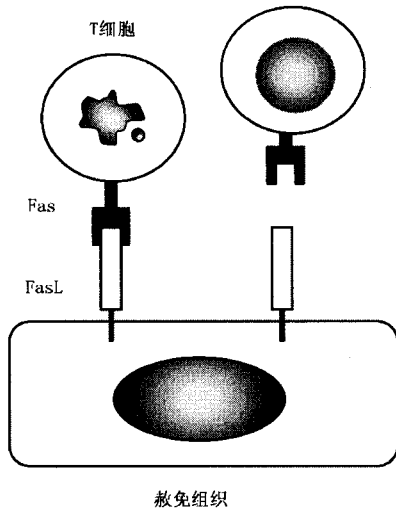


图 17-5 免疫豁免机制

机体 T 细胞进入豁免区,被豁免组织激活而高表达 Fas,与豁免组织高表达的 FasL 结合,诱导激活 T 细胞凋亡

等。造成免疫豁免(immune privilege)的机制可能为:①这些部位缺少输入血管和淋巴管,例如血循环中的淋巴细胞不易到达角膜,因而不接触角膜移植物中的抗原,故不易发生免疫排斥反应;②特殊屏障(如血-脑屏障、血-睾屏障)的存在。如脑内组织移植易于成功,是因为血-脑屏障能阻止抗体和免疫活性细胞进入脑组织;③某些组织如软骨组织的免疫原性较弱,故软骨移植一般不易引起免疫排斥反应。令人感兴趣的是,胸腺也是一个免疫豁免器官,在胸腺中进行异基因胰岛移植不被排斥。

近年来随着对细胞凋亡现象认识的深入,发现所谓的免疫豁免可能与凋亡有关。现知,某些免疫豁免区中的基质细胞(如眼球角膜和睾丸 Sertoli 细胞)高表达 FasL。因此,同种移植后,可组成性表达 Fas 分子的受者免疫细胞(如 T 细胞和 NK 细胞)即使突破组织结构屏障进入豁免区,在其未曾识别同种异型组织抗原而被激活之前,局部环境中受者基质细胞表面的 FasL,即可通过 Fas/FasL 途径使免疫细胞发生凋亡,导致对移植物的局部免疫耐受(图 17-5)。

### 第三节 移植排斥反应的防治原理

器官移植的成败在很大程度上取决于是否能有效地防止移植排斥反应,其主要措施是组织配型、严格选择供者、抑制受者的免疫应答、诱导移植耐受以及加强移植后的免疫监测等。

#### 一 供者的选择和移植物预处理

大量临床资料已证明,器官移植的成败主要取决于供受者间的组织相容性。因此,必须进行一系列的检测,尽量选择较理想的供者。

##### (一) 超急排斥相关因素的检查

1. 红细胞血型:人红细胞血型抗原是一种引起超急排斥的重要抗原,故供者的 ABO、Rh 血型抗原必须与受者相同,或至少符合输血原则。

2. 受者血清中细胞毒性预存抗体测定:取供者的淋巴细胞和受者的血清做交叉细胞毒试验,可检出受者血清中是否含有针对供者淋巴细胞的细胞毒抗体,以防止超急性排斥反应的发生。

##### (二) HLA 分型

HLA 等位基因匹配程度是决定供受者间组织是否相容的关键因素。20 世纪 80 年代以来,环孢霉素(CsA)等有效免疫抑制剂的广泛应用,大大改善了实质脏器移植的存活率,HLA 相符的重要性曾一度受到怀疑。但通过对大样本的回顾性和前瞻性研究,已重新肯定

了 HLA 配型在尸体供肾的肾移植中的重要性。

不同的 HLA 基因座位的产物对移植排斥的影响各异。在同种肾移植中, HLA-DR 座位对移植排斥最为重要, 其次为 HLA-B 和 HLA-A 座位。临床资料还显示: 供、受者间 HLA II 类等位基因相一致对防止慢性排斥反应尤为重要; HLA-DP1 错配(mis-match)是再次移植后影响移植物存活的重要因素。

不同的器官移植中, 排斥反应与供、受者间 HLA 配合程度的相关性各不相同。对实质脏器移植, 移植物中的过路细胞是诱导 HVGR 发生的主要因素。如果过路细胞的数量相对较少, 即使 HLA 型别不完全相配, HVGR 仍比较容易被免疫抑制剂所控制。肝脏移植物中的过路细胞含有大量不成熟 DC, 是诱导移植耐受的重要细胞, 故移植后发生的排斥反应较弱, 一般认为, 在应用有效免疫抑制剂的前提下, 肝移植时进行 HLA 配型的意义不大。相比之下, 在骨髓移植中, 由于移植物中含有大量免疫细胞, 若 HLA 不相配, 所致的 GVHR 特别强烈, 且不易被免疫抑制剂所控制, 故对 HLA 配型的要求也特别高。

### (三) 次要组织相容性抗原型别鉴定

在 HLA 尽量相近的大前提下, 对有些器官和组织移植尤其是骨髓移植, 应适当考虑次要组织相容性抗原的匹配。

1. 供者的性别选择: 在 MHC 型别相符的情况下, 雌性受者(其性染色体为 XX)可能排斥雄性供者(其性染色体为 XY)的移植物, 但同性别个体之间的移植一般不会发生排斥。

2. 其他次要组织相容性抗原分型: 次要组织相容性抗原参与诱发 GVHD 和 GVL, 在分子水平对次要组织相容性抗原进行分型, 对选择骨髓移植供者具有肯定的意义。

### (四) 交叉配型

为了避免组织相容性抗原配型中的遗漏, 或由于某些同种异型间的差异应用目前的 HLA 分型技术尚难以检出, 故有必要进行交叉配型, 这在骨髓移植中尤为重要。交叉配型的经典方法为: 将供者和受者的淋巴细胞互为应答细胞, 进行两组单向混合淋巴细胞培养, 两组中任一组反应过强, 均提示供者选择不当。

### (五) 移植物预处理

实质脏器移植时, 尽可能清除移植物中过路细胞将有助于减轻或防止 HVGD 的发生。在同种骨髓移植中, 为预防可能出现的 GVHD, 可对骨髓移植进行预处理, 其原理乃基于清除骨髓移植物中的 T 细胞。但应用去除 T 细胞的异基因骨髓进行移植, GVL 效应也随之消失, 可能导致白血病复发率增高, 和骨髓移植的植活率下降。

## 二 对受者的处理

### (一) 受者预处理

在实质脏器移植中, 供受者间 ABO 血型不符可导致发生强的移植排斥反应。在某些情况下, 为逾越 ABO 屏障而进行实质脏器移植, 有必要对受者进行预处理。其方法包括: 术前给受者输注供者特异性血小板; 借助血浆置换术去除受者体内的天然抗 A 或抗 B 凝集素; 受者脾切除; 实施免疫抑制疗法等。

### (二) 抑制受者的免疫应答

由于 HLA 具有高度多态性, 同种移植后的免疫排斥反应仍难以避免。因此, 临床移植的成功在很大程度上有赖于合理的免疫抑制疗法, 后者已成为防治排斥反应的常规手段。

1. 免疫抑制药物的应用: 在诸多克服移植排斥反应的方案中, 疗效最为确切的仍属应用免疫抑制剂。目前, 临床上常用的免疫抑制药物有如下几类:

(1) 化学类免疫抑制剂: 其中糖皮质激素、环孢霉素 A (cyclosporin A, CsA)、环磷酰胺、硫唑嘌呤、FK506 等, 是目前临床上得到最广泛应用的一大类免疫抑制剂。

(2) 生物制剂: 目前已用于临床的主要是针对免疫细胞膜抗原的抗体, 如抗淋巴细胞球蛋白(ALG)、抗胸腺细胞球蛋白(ATG)、抗 CD3、CD4 和 CD8 单抗、抗高亲和力 IL-2R 单抗、抗 TCR 单抗、抗粘附分子(ICAM-1、LAF-1)抗体等。这些抗体通过与相应膜抗原结合, 借助补体依赖的细胞毒作用, 分别清除体内的 T 细胞或胸腺细胞。某些细胞因子与毒素组成的融合蛋白、抗细胞因子抗体、某些受体分子与免疫球蛋白组成的融合蛋白(如 CTLA-4/Ig)等也显示出抗排斥反应的作用。另外, 应用反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide)阻断某些细胞因子或粘附分子基因的表达, 也具有抑制同种排斥反应的作用。

(3) 中草药类免疫抑制剂: 某些中草药具有明显的免疫调节或免疫抑制作用。已见文献报道的有雷公藤、冬虫夏草等, 它们可用于器官移植后排斥反应的治疗。

2. 清除预存抗体: 移植前进行血浆置换, 可除去受者血液内预存的特异性抗体, 防止超急性排斥反应。

3. 其他免疫抑制方法: 临床应用脾切除、对移植物或受者淋巴结进行放射照射、血浆置换、血浆淋巴细胞置换等技术, 均取得一定的疗效。在骨髓移植中, 为使受者完全丧失对骨髓移植物的免疫应答能力, 术前常使用大剂量放射线照射或化学药物, 以摧毁患者体内的造血组织。

### 三 移植后的免疫监测

移植后对受者进行免疫监测, 有助于早期诊断和监测排斥危象的出现, 以便及时采取措施, 防止排斥反应的发生和发展。另外, 免疫监测对选择免疫抑制剂的种类、剂量和疗程等也有一定的参考价值。

目前已建立多种免疫监测实验方法, 但一般需结合多项指标及临床表现进行综合分析。临床上常用的免疫学检测技术包括: ①淋巴细胞亚群的百分比和功能测定; ②免疫分子水平测定(如血清中细胞因子、抗体、补体、可溶性 HLA 分子水平; 细胞表面粘附分子、细胞因子受体表达与密度等)。此外, 与移植脏器功能有关的临床监测也是重要的指标。

## 第四节 移植免疫学实验研究进展概述

### 一 诱导同种异型移植耐受的研究

在非同卵双生子间进行同种移植, 几乎必然发生移植排斥反应。临床上常规使用的各种免疫抑制剂均有多种毒副作用; 另外, 对慢性移植排斥反应迄今尚无有效的控制方法。因此, 彻底克服器官移植排斥反应最理想的措施, 是诱导受者产生针对移植物的免疫耐受。目前, 建立同种异型移植耐受已成为移植免疫学研究最富挑战性的领域之一。

诱导移植耐受的关键, 是建立对供者移植物组织相容性抗原(骨髓移植中是对宿主组织相容性抗原)的特异性无反应性。本节简介实验研究中诱导同种移植耐受的主要原理。

(一) 阻断针对移植物(或宿主)的特异性免疫应答

阻断针对同种异型抗原的特异性免疫应答,理论上可有效而直接地诱导移植耐受。

1. 阻断 TCR 对同种异型抗原的特异性识别: 已证实, 间接递呈途径中, APC 所递呈的同种 MHC 肽段较为单一, 即受者的同种抗原特异性 T 细胞仅识别少数几个主要的 MHC 分子表位。因此, 人工合成含 MHC 分子关键性基序或称超基序(supermotif)的短肽, 可用于封闭受者同种抗原特异性 T 细胞的 TCR 对配体的识别, 达到阻断排斥反应的目的。目前已将 HLA I 类分子归纳为 4 个超基序家族(A3、A2、B7、B44), 并据此筛选出若干 HLA I 类分子超基序。文献报道, 模仿超基序的氨基酸序列人工合成无等位特异性的 MHC 肽段, 并应用于大鼠心脏移植, 可明显延长移植植物存活时间(图 17-6)。

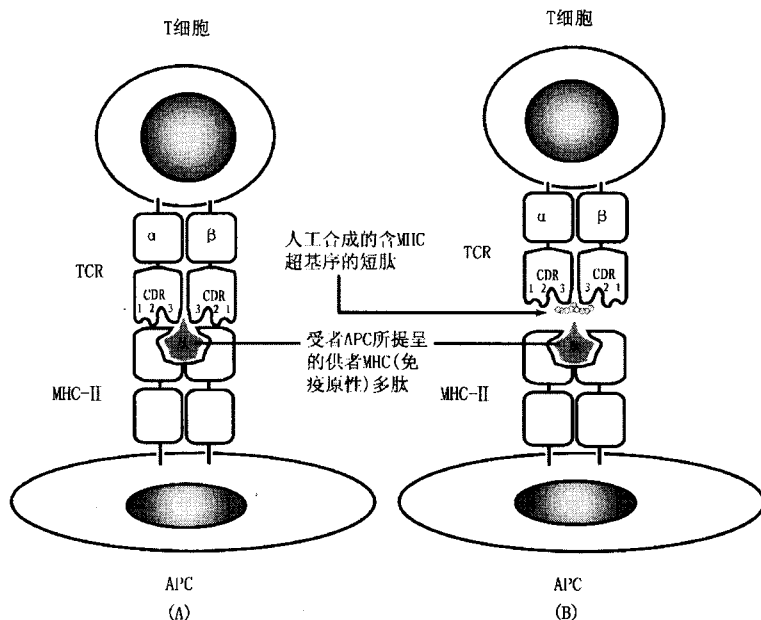


图 17-6 人工合成的 MHC 抗原多肽阻断 TCR 对同种异体抗原的特异性识别  
(A) 受体 TCR 的 CDR3 特异性识别 APC 递呈的同种异体抗原肽; CDR1 和 CDR2 识别受体自身 MHC II 类分子; (B) 人工合成的含 MHC 分子超基序的短肽, 可用于封闭 TCR 对同种异体抗原肽的特异性识别

根据类似的原理, 人工合成次要组织相容性抗原(如 HA-1)多肽, 将其用于骨髓移植物的预处理, 可封闭或干扰 HA-1 阴性供者特异性 TCR 的识别, 建立供者免疫细胞对受者 HA-1 抗原的耐受, 从而防治异基因骨髓移植后的 GVHD。

此外, 应用针对同种抗原特异性 T 细胞 TCR 的单克隆抗体或抗 TCR 独特型抗体, 有可能封闭或清除同种抗原特异性 T 细胞, 建立同种移植耐受。

2. 阻断协同刺激信号: 通过干扰同种异型移植抗原特异性 T 细胞或 APC 表面某些粘附分子(或其配体)的表达, 或应用抗粘附分子抗体及可溶性配体, 封闭相应的粘附分子, 有可能阻断受者体内同种移植抗原特异性 T 细胞的协同刺激信号, 通过诱导相应 T 细胞无能而建立移植耐受。在诸多提供 T 细胞活化协同刺激信号的成分中, B7-CD28/CTLA-4 和 CD40-CD40L 分子对的结合是参与 T、B 细胞活化的最重要协同刺激通路。阻断上述分子间的相互作用, 可能是诱导移植耐受的有效途径。

(二) 定向调控 Th 细胞亚群分化——诱导免疫偏离

Th1 和 Th2 细胞均由 Th0 细胞分化而来。在 Th0 细胞分化的初始阶段若加入 IL-4, 可促使 Th0 细胞分化为 Th2; 加入 IL-12, 则分化为 Th1。反之, 若应用抗 IL-4 和抗 IL-12 抗体, 则可使 Th0 分别向 Th1 或 Th2 细胞分化。

在移植免疫应答中, 一般认为 Th1 型细胞因子(主要是 IL-2 和 IFN- $\gamma$  等)参与介导排斥反应, 而 Th2 型细胞因子(如 IL-4、IL-10 等)可拮抗 Th1 细胞并抑制 CTL 细胞的功能, 从而诱导移植耐受。因此, 阻断 Th1 细胞及其所分泌细胞因子的效应, 或增强 Th2 细胞及其所分泌细胞因子的效应, 有利于建立移植耐受。

近期研究发现, 应用某些非细胞毒性的抗 CD4 单抗(non-deleting anti-CD4 mAb)也可获得良好的诱导耐受的效果。其机制之一, 可能涉及此类抗体通过调节 Th1/Th2 的平衡和极化格局, 促使 IL-4、IL-10 等 Th2 型细胞因子的产生, 抑制 Th1 细胞活化, 从而抑制移植排斥的发生。研究表明, 小鼠抗 CD4 单抗所诱导的耐受具有可过继性, 即耐受的 T 细胞可将其耐受性传递给未致敏 T 细胞(naive T cell), 从而维持长久的外周耐受, 称“传染性”耐受(infectious tolerance)(图 17-7)。

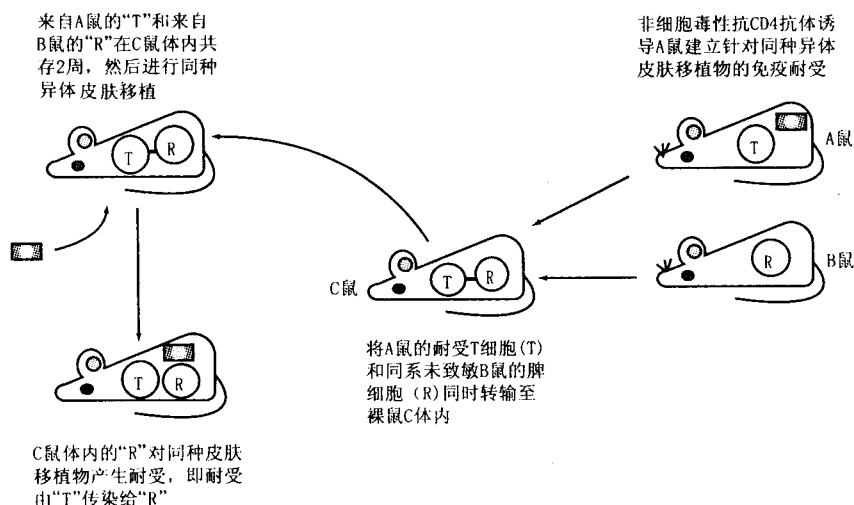


图 17-7 非细胞毒性抗 CD4 抗体诱导传染性移植耐受示意图

注: T: 对同种移植抗原产生耐受的免疫细胞

R: 未被同种移植抗原致敏的脾细胞

### (三) 主动免疫诱导同种移植耐受

1. T 细胞疫苗: 前面第十一章提到, 独特型网络同样适用于 T 细胞抗原受体(TCR)。因而 TCR 分子可通过其独特型决定簇(又称克隆型决定簇), 形成一个相互识别和相互制约的调节网络, 在维持自身耐受中发挥重要作用。当体外利用供者抗原刺激, 使受者特异性 T 细胞发生克隆活化和扩增后, 可应用这种移植抗原特异性的 T 细胞疫苗(T cell vaccine, TCV) 进行接种, 诱导机体产生针对移植物的免疫耐受。其中可能涉及下列机制: 降低受者体内针对移植抗原的特异性 T 细胞的应答能力; 促进受者 B 细胞产生抗 TCV 特异性抗体; 上调受者体内抗 TCV 独特型 T 细胞。

2. 移植术前给受者注入供者移植抗原: 移植前接受供者特异性输血(donor-specific transfusion, DST)可诱导移植耐受, 其机制可能为: ①促进 Th2 活化, 抑制 Th1 功能; ②诱导

受者产生抗供者组织抗原特异性的封闭抗体；③刺激产生抗同种抗原特异性 TCR 的独特型抗体，此类抗体通过与 TCR 结合，阻断 T 细胞对移植物产生移植物抗宿主样反应，并可激活 Ts 细胞，从而抑制 Th 与 Tc 细胞的增殖；④异体淋巴细胞可诱导受者产生移植物抗宿主样反应，从而杀伤受者体内同种反应性 T 细胞。

此外，动物实验已证实，向受者胸腺内或肝脏内注射供者组织成分(如脾细胞)，也可诱导针对同种异型抗原的耐受性。

#### (四) 建立嵌合体

实验研究显示，致死量照射的小鼠在成功地进行异基因骨髓移植后，受者的血细胞(包括淋巴细胞)逐渐由供者造血干细胞来源的血细胞所取代。这种受者血细胞完全来源于供者的嵌合体称为完全造血嵌合体(full hematopoietic chimerism)。完全造血嵌合体小鼠可接受供者的任何组织器官移植而不发生排斥反应。另外，对致死量照射的小鼠植入去除 T 细胞的骨髓和同系小鼠骨髓，可形成混合造血嵌合体(mixed hematopoietic chimerism)。混合造血嵌合体也可接受供者的组织移植物而不发生排斥。

在移植受者体内建立的异基因骨髓嵌合体，又称中枢嵌合体，其诱导移植耐受的机制是：使供者与受者的造血细胞共存于受者体内，经过胸腺(和骨髓)的选择过程，共同组成受者的免疫系统，使受者将供者的组织抗原视为自身成分，从而可以接受供者的组织器官而不发生排斥。由于供者干细胞可以不断更新，故这种嵌合体将是永久性的。无疑，建立这种稳定的异基因骨髓嵌合体可能是诱导移植耐受的途径，目前临床上成功的异基因骨髓移植造成的骨髓嵌合体即属此类。

上述诱导同种异型移植耐受的技术，多数(除 DST 外)还处于实验研究阶段，离临床应用尚有相当距离。另外，目前正在尝试通过细胞工程或组织工程手段培育出符合需要的移植物，从而开拓器官移植物来源的新途径。其原理是，脏器的实质细胞均由相应的多能干细胞分化而来，而血管内皮细胞则来自中胚层。将人多脏器的干细胞于动物的三胚层形成期进行嵌合，可使新生动物具有人的某一个或几个脏器，并可携带与特定受者相同的 HLA 型别，从而使受者产生对移植物的耐受。

## 二 异种移植的实验研究

随着同种器官移植在临床上的广泛开展，器官来源短缺的矛盾日益突出。异种器官移植重新引起人们的兴趣。生物学技术的飞速发展，也为异种器官移植的研究提供了可能。例如，借助于分子生物学技术和动物育种技术，已有可能培育出适合于人类使用的转基因动物。当前，异种移植的基础和临床研究已成为器官移植学的新领域。

#### (一) 异种移植供者动物的选择

理论上，选择与人亲缘关系最近的灵长目动物作为供者，是最理想的方案。但存在下列问题，如灵长目动物数量稀少，饲养与繁殖不易，价格昂贵，其脏器(与成年人相比)体积偏小，存在逆转录病毒感染的危险，可能引发伦理学争论等。因此，一般均不考虑将此类动物作为提供异种移植物的候选者。

猪由于数量众多，饲养与繁殖方便，其脏器(尤其是心脏)的主要解剖学和生理学指标与人类接近，且一般不致引起伦理学方面的争议，现公认为是为人类提供异种移植物的最理想动物。

## (二) 异种移植排斥机制

异种移植排斥反应比同种移植更为强烈,其机制也远为复杂。

1. 超急性排斥反应:异种移植中超急性排斥反应(HAR)的发生,主要是因为受者体内存在针对异种动物组织抗原成分的天然抗体(nature antibody)。如部分灵长目动物血清中存在一种天然抗体,其针对的靶分子是猪血管内皮细胞表面的 $\alpha$ -半乳糖成分(gal  $\alpha$  1-3gal)。因此异种器官移植后,受者血流流经异种移植物血管,即可出现由天然抗体介导的、补体依赖的细胞毒效应,引起移植物血管内皮细胞裂解、血栓形成以及炎症反应,导致超急性排斥反应的发生。其临床表现与同种移植所致的超急性排斥反应相同。

此外,供者(猪)组织细胞表面的补体调节蛋白(如膜反应性溶解抑制物 CD59)与受者(人)补体成分不协同,不能抑制人补体的激活及其对异种细胞的裂解作用,这也是发生异种移植超急性排斥反应的原因之一。

2. 迟发型异种移植排斥反应:迟发型异种移植排斥反应(delayed xeno-transplantation rejection, DXR)与天然抗体和补体激活无关。其机制乃由于移植前受者体内仅有较低水平的天然抗体(例如在预先清除受者天然抗体的情况下),但异种抗原可刺激受者免疫系统,产生诱生抗体,继而导致补体依赖的细胞毒作用。因而 DXR 的免疫学特征是出现 II 型内皮细胞激活,这一激活依赖细胞内基因转录和蛋白质合成。

DXR 的特点是移植物局部出现单核细胞和 NK 细胞浸润和活化,导致释放多种细胞因子和表达多种粘附分子,出现移植物血管内皮细胞活化、血小板活化、血栓形成等一系列病理变化,最终导致移植物在移植后数日内被排斥。

3. 急性及慢性异种排斥反应:主要由 T 细胞介导。由于异种供者和受者间 MHC 分子差异较大,且异种间细胞因子及其受体不匹配,往往难以通过直接递呈激发免疫应答。因此,异种排斥反应需要启用间接识别和间接递呈的机制。与同种排斥相比,其反应更强烈,且不易被同种移植中有效的免疫抑制剂所抑制。

## (三) 异种移植排斥的防治

### 1. 对 HAR

(1) 清除受者体内的天然抗体:受者体内的天然抗体主要是 IgM 类,少量为 IgG 和 IgA 类。动物实验已证明,通过层析技术或应用抗  $\mu$  链单克隆抗体可清除人血清内的抗半乳糖天然抗体,有可能克服异种移植超急性排斥反应。

(2) 清除移植物的半乳糖抗原:方法为:①应用纯化的  $\alpha$  半乳糖酶预处理异种移植物,清除其组织细胞表面的半乳糖抗原;②通过反义技术抑制异种移植物细胞表达  $\alpha$  半乳糖;③敲除(knockout)猪的半乳糖转移酶基因,使之不表达可与人天然抗体结合的  $\alpha$  半乳糖(但目前对猪进行基因敲除的技术尚未过关);④通过转基因技术,使猪细胞高表达结构和半乳糖转移酶十分相似的岩藻糖转移酶,以拮抗  $\alpha$  1-3-半乳糖转移酶,减少 gal  $\alpha$  1-3gal 的表达。

(3) 阻断受者补体激活途径:方法为:①将人补体调节蛋白基因导入猪受精卵,培育其组织器官表达相应蛋白产物的转基因猪,从而阻断人补体的活化。可供选择作为转基因的调节蛋白,包括衰变加速因子(DAF)、膜辅因子蛋白(MCP)、膜反应性溶解抑制物(CD59)等;②给受者注入 C1 抑制剂(C1INH)或可溶性补体受体 1(sCR1)等,抑制补体活性。

2. 对 DXR:由于 DXR 中涉及炎症反应相关蛋白的合成和炎症细胞的激活,主要的防

治措施是:

(1) 阻止有关蛋白质编码基因的转录激活:如导入转录因子 NF- $\kappa$ B 的抑制蛋白 I- $\kappa$ B 基因,通过 I- $\kappa$ B 大量合成可阻止 NF- $\kappa$ B 发生转位(参见第八章),使多种基因表达受阻。

(2) 阻止炎症细胞活化:参与 DXR 最重要的细胞是 NK 细胞和 M $\Phi$ 。前面提到,NK 的激活主要取决于抑制性受体(KIR/CD94-NKG2A)是否被有效地激活,这些受体识别的配体,是表达在靶细胞表面的 MHC I 类分子。在猪-人器官移植中,人 NK 细胞的 KIR 的配体成了猪血管内皮细胞上的 SLA 抗原,种间的差异,使这类受体-配体相互作用不能有效地发生,KIR 无法传递抑制信号,导致 NK 细胞被大量激活,加速异种移植物排斥。解决的办法,是向猪导入人的 HLA I 类基因,通过重建人 KIR 和 HLA 分子的相互作用而遏制 NK 细胞活化。这表明,DXR 中存在许多不同于同种移植的新问题有待解决。

3. 对细胞性急性和慢性排斥:在克服了超急性排斥和迟发型异种移植排斥反应后,尚须防治以 T 细胞效应为主的急、慢性排斥反应,其策略类似于同种移植。例如,在同种移植中用之有效的 CTLA-4/Ig 融合蛋白也可用于防治异种移植物的排斥。由于异种移植的细胞性排斥主要通过间接识别机制,其防治对策亦有别于同种异型器官移植。

#### (四) 异种移植存在的问题

目前,异种移植仍存在许多尚待逾越的难题,诸如:①异种移植排斥对免疫抑制药物不敏感;②畜类微生物感染的潜在威胁;③异种器官与宿主的分子不相容性;④异种移植研究的动物模型有待建立和完善,等等。

综上所述,异种移植为开拓移植脏器来源提供了一个现实的可能性,但同时也面临诸多挑战。一般认为,异种移植的研究有必要进一步深入,但其临床应用尚有待时日。

### 本章提要

器官移植是临床上治疗多种脏器功能衰竭终末阶段的有效手段。由于供受者组织相容性(由于 MHC 和 mHC 分子所决定)存在差异,器官移植后可发生排斥反应,其本质上属于一种免疫应答。移植排斥反应可分为宿主抗移植物反应(HVGR)和移植物抗宿主反应(GVHR)两类,前者又分为超急、急性和慢性排斥反应等。排斥反应的发生涉及细胞免疫和体液免疫应答,其机制包括单向移植排斥(又分为直接识别和间接识别)和双向移植排斥(微嵌合状态)。为防止移植排斥反应以延长移植物存活时间,临床上可采取的主要措施包括:在组织配型的基础上慎重选择供者;使用有效的免疫抑制疗法;严格的免疫监测手段。

目前,移植免疫学的基础研究集中于两个领域:①诱导机体建立移植耐受,其途径包括阻断针对移植物的特异性免疫应答;定向调控 T 细胞亚群分化;主动免疫诱导同种耐受;建立嵌合体,等等;②开展异种移植或组织工程的实验研究,以扩大移植物来源。

(龚非力 谢蜀生)

### 参考文献

- [1] Aradhye S. et al. Will tolerance become a clinical reality. *Am J Med Sci*, 1997, 313:310
- [2] Bach FH, Auchincloss H. *Transplantation Immunology*. Wiley & Sons, New York, 1995
- [3] Barrett AJ. Mechanisms of the graft-versus-leukemia-reaction. *Stem Cells*, 1997, 15:252



- 
- [ 4 ] Charlton B, et al. Mechanisms of transplantation tolerance. *Ann Rev Immunol*, 1994, 12:707
  - [ 5 ] Griffith TS, et al. The role of Fas-induced apoptosis in immune privilege. *Immunology Today*, 1997, 18:240
  - [ 6 ] Noessner E, Goldberg JE, et al. HLA-derived peptides inhibit T cell function bind to members of the heat shock protein 70 family. *J Exp Med*, 1996, 185:339
  - [ 7 ] Rogers NJ, et al. Xenotransplantation: steps towards a clinical ready. *Immunol Today*, 1998, 19:206
  - [ 8 ] Wood K, et al. Chimerism and transplantation tolerance: cause and effect. *Immunol Today*, 1996, 27:584

## 附录一 分化抗原

CD 抗原	表达细胞 *	相对分子质量 (分子量) kD	功 能	其他名称	所属家族
CD1a, b, c, d	皮质胸腺细胞, Lh, Dc, B, 肠 道上皮细胞, 平滑肌细胞, 血 管壁 (CD1d)	43 ~ 49	MHC I 类样分子, 与 $\beta_2$ 微 球蛋白结合, 参与脂类抗 原的递呈		Ig
CD2	T, 胸腺细胞, NK	45 ~ 48	粘附分子, 与 CD58 结合, 在 胞内与 Lck 相结合, 激活 T	T11, LFA-2	Ig
CD3	胸腺细胞, T	$\gamma$ : 25 ~ 28 $\delta$ : 20, $\epsilon$ : 20	与 TCR 相结合, 参与 TCR 的表达及其介导的信号转 导	T3	Ig
CD4	胸腺细胞亚群, Th1 和 Th2 细胞 (约占外周 T 的三分之 二), M 和 M $\Phi$	55	MHC II 类分子辅助受体, 在胞膜内侧与 Lck 相结 合, HIV-1 和 HIV-2 gp120	T4, L3T4	Ig
CD5	胸腺细胞, T, B 亚群	67		T1, Ly1	清道夫受体
CD6	胸腺细胞, T, 慢性淋巴性白 血病患者 B 细胞	100 ~ 130	与 CD166 相结合	T12	清道夫受体
CD7	多能造血干细胞, 胸腺细胞, T	40	未明。交联后胞浆结构 域与 PI-3 激酶结合。急 性淋巴性白血病和多能 干细胞白血病中 T 细胞 的标志		Ig
CD8	胸腺细胞亚群, 杀伤性 T (约 占外周 T 三分之一)	$\alpha$ : 32 ~ 34 $\beta$ : 32 ~ 34	MHC I 类分子辅助受体, 胞膜内侧与 Lck 相结合	T8, Lyt2, 3	Ig
CD9	前 B, M, Eo, Ba, 血小板, 激活 的 T, 脑和外周神经, 血管平 滑肌细胞	24	通过 Fc $\gamma$ RIIa 介导血小板 凝集和活化, 可能参与细 胞迁移		4 次跨膜蛋 白 (TM4)
CD10	B 前体和 T 前体, 骨髓基质 细胞	100	锌类金属蛋白酶, 前 B 急 性淋巴细胞性白血病 (ALL) 标志	中性内肽酶, 急性淋巴细 胞性白血病 共同抗原 (CALLA)	
CD11a	淋巴细胞, 粒细胞, M, M $\Phi$	180	整合素的 $\alpha$ L 亚单位 (与 CD18 联结), 与 CD54、 CD102 和 CD50 相结合	LFA-1	整合素 $\alpha$
CD11b	髓样细胞和 NK	170	整合素 CR3 的 $\alpha$ M 亚单位 (与 CD18 联结), 与 CD54、 补体成分 iC3b、胞外基质 蛋白相结合	Mac-1	整合素 $\alpha$
CD11c	髓样细胞	150	整合素 CR4 的 $\alpha$ X 亚单位 (与 CD18 联接), 与纤维 蛋白原相结合	CR4, p150, 95	整合素 $\alpha$
CD11d	白细胞	125	整合素的 $\alpha$ D 亚单位 (与 CD18 联接), 与 CD50 相结 合		整合素 $\alpha$

\* 本附录中采用的略语符号: T、B、M、M $\Phi$ 、Dc、Lh 分别代表 T、B 淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突细胞和郎罕细胞;  
N、Eo、Ba 分别代表中性、嗜酸性和嗜碱性粒细胞; NK 代表 NK 细胞; Ig 和 Ck 为免疫球蛋白和细胞因子

(续表)

CD 抗原	表达细胞	相对分子质量 (分子量) kD	功 能	其他名称	所属家族
CDw12	M, 粒细胞, 血小板	90 ~ 120	未明		
CD13	髓性单核细胞	150 ~ 170	锌类金属蛋白酶	氨肽酶 N	
CD14	髓性单核细胞	53 ~ 55	脂多糖和脂多糖结合蛋白 (LBP)复合物的受体		
CD15	N, Eo, M		表达于糖脂和许多细胞表 面糖蛋白上的末端三糖	Lewis X (Le <sup>x</sup> )	
CD15s	白细胞, 内皮		CD62E、P 的配体	唾液酸化路 易糖 X(sLe <sup>x</sup> ) FcγRIII	多聚-N-乙酰 乳糖胺  Ig
CD16	N, NK, MΦ	50 ~ 80	低亲和力 Fc 受体 FcγIII 成 分, 介导吞噬作用和 ADCC		
CDw17	N, M, 血小板		乳糖神经酰胺, 一种细胞 表面鞘糖脂		
CD18	白细胞	95	整合素 β2 亚单位, 与 CD11a, b, c, d 组合		整合素 β
CD19	B	95	与 CD21 和 CD81 形成复 合物, B 辅助受体, 其胞浆 内结构域结合酪氨酸激酶 和 PI-3 激酶		Ig
CD20	B	33 ~ 37	CD20 的寡聚体可以形成钙 离子通道, 可能对 B 的激活 有调节作用		包括四个跨 膜片段
CD21	成熟 B, 滤泡 Dc	145	补体成分 C3d 和 EB 病毒的 受体, 与 CD19, CD81 共同形 成 B 辅助受体	CR2	补体调控蛋 白(CCP)
CD22	成熟 B	α:130 β:140	与唾液酸共轭物相结合	BL-CAM	Ig
CD23	成熟 B, 激活的 MΦ, Eo, 滤泡 Dc, 血小板	45	IgE 低亲和力受体, 调节 IgE 合成; CD19, CD21, CD81 三者 构成的辅助受体的配体	EoεR II	C 型凝集集
CD24	B, 粒细胞	35 ~ 45	未明		
CD25	激活的 T, B 和 M	55	IL-2 受体 α 链	Tac	CCP
CD26	激活的 T, 激活的 B 和 MΦ	110	外肽酶, 从多肽上切割下 X- Pro 或 X-Ala 两肽	2 肽基 肽酶 IV	II 型跨膜糖蛋 白
CD27	髓质胸腺细胞, T, NK, 部分 B	55	与 CD70 相结合, 可作为 T、B 激活的协同刺激因子		TNF 受体
CD28	T 亚群, 激活的 B	44	激活未致敏 T, 协同刺激信 号受体, 与 CD80 和 CD86 结 合	Tp44	Ig 和 CD86 (B7.2)
CD29	白细胞	130	整合素 β1 亚单位, 与 CD49a 整合素和 VLA-1 整合素组合		整合素 β
CD30	激活的 T, B, NK, M	120	与 CD30L(CD153)结合; 交联 的 CD30 促进 T, B 增殖	Ki-1	TNF 受体
CD31	M, 血小板, 粒细胞, T 亚群, 内 皮细胞	130 ~ 140	粘附分子, 介导白细胞和内 皮细胞以及内皮细胞与内皮 细胞之间的相互作用	PECAM-1	Ig

(续表)

CD 抗原	表达细胞	相对分子量 (分子量) kD	功 能	其他名称	所属家族
CD32	M,粒细胞,B,Eo	40	聚合的 Ig 和免疫复合物的低亲和力 Fc 受体	FcγR II	Ig
CD33	髓样祖细胞,M	67	与唾液酸共轭物相结合		Ig
CD34	造血细胞前体,毛细血管内皮	105 ~ 120	CD62L(L-选择素)的配体		粘蛋白
CD35	红细胞,B,单核,N,Eo,滤泡 Dc	250	补体受体 1,与 C3b 和 C4b 结合,介导吞噬作用	CR1	CCP
CD36	血小板,M,内皮细胞	88	血小板粘附分子;参与对凋亡细胞的识别和吞噬	血小板 GPIV, GPIIb	
CD37	成熟 B,成熟 T,髓样细胞	40 ~ 52	未明。可能参与信号转导,与 CD53, CD81, CD82 和 MHC II 类分子形成复合物		4 次跨膜蛋白
CD38	早期的 T,B,激活的 T,生发中心 B,浆细胞	45	NAD 糖基羟化酶,促进 B 增殖	T10	
CD39	激活的 B,激活的 .NK, MΦ,	78	未明。可能介导 B 的粘附		TNF 受体
CD40	BcMΦ,Dc,基底层上皮细胞	48	结合 CD154;为 B 协同刺激信号受体,促进 B 生长、分化和转类,促进 Ma 和 Dc 产生 Ck		
CD41	血小板,巨核细胞	二聚体 GPIIba; 125 GPIIbb; 22	αIIb 整合素,与 CD61 结合形成 GPIIb,结合纤维蛋白原、纤维粘连蛋白、von Willebrand 因子和 thrombospondin	GPIIb	整合素 α
CD42a, b, c, d	血小板,巨核细胞	a; 23 b; 135, 23 c; 22 d; 85	与 Willebrand 因子和 thrombospondin 结合;为创口处血小板的粘附作用所必须	a; GPIX b; GPIIbα c; GPIIbβ d; GPV	富含亮氨酸重复序列
CD43	除静息 B 的所有白细胞	115 ~ 135 (N) 95 ~ 115(T)	可舒展成为长度约 45nm 的结构,可能有抗粘附作用	Leukosialin, sialophorin	粘蛋白
CD44	白细胞,红细胞	80 ~ 95	结合透明质酸,介导白细胞粘附	Hermes 抗原 Pap-1	连接蛋白
CD45	所有造血细胞	180 ~ 240 (有多种变构体)	酪氨酸磷酸酶,通过 B, T 抗原受体增强信号传递,可因差异性剪切形成多种变构体	白细胞共同抗原 (LCA), T200, B220	III 型纤连蛋白
CD45 RO	T 亚群,B 亚群,M, MΦ	180	不含 A、B、C 外显子的 CD45 变构体,		II 型纤连蛋白
CD45 RA	B, T 亚群(静息 T), M	205 ~ 220	含外显子 A 的 CD45 变构体		II 型纤连蛋白
CD45 RB	T 亚群,B, M, MΦ, 粒细胞	190 ~ 220	含外显子 B 的 CD45 变构体	T200	II 型纤连蛋白
CD46	造血细胞和非造血有核细胞	56/66(剪接变体)	与 C3b 和 C4b 相结合,使之被 I 因子降解	膜辅助因子蛋白(MCP)	CCP

(续表)

CD 抗原	表达细胞	相对分子质量 (分子量) kD	功 能	其他名称	所属家族
CD47	所有细胞	47 ~ 52	未明。与 Rh 血型关联		
CD48	白细胞	40 ~ 47	未明	Blast-1	Ig
CD49a	激活的 T,M,神经元细胞,平滑肌	200	$\alpha 1$ 整合素,与 CD29 联结,结合胶原和 laminin-1	VLA-1	整合素 $\alpha$
CD49b	B,M,血小板,巨核细胞,神经元细胞,表皮细胞,内皮细胞,破骨细胞	160	$\alpha 2$ 整合素,与 CD29 联结,结合胶原和 laminin	VLA-2, 血小板 CPla	整合素 $\alpha$
CD49c	B,多种粘附细胞	125,30	$\alpha 3$ 整合素,与 CD29 联结,结合 laminin-5、纤连蛋白、胶原、entactin invasin	VLA-3	整合素 $\alpha$
CD49d	分布广泛,包括 B,胸腺细胞,M,粒细胞,Dc	150	$\alpha 4$ 整合素,与 CD29 联结,结合胶原、纤连蛋白 MAD-CAM-1、VCAM-1	VLA-4	整合素 $\alpha$
CD49e	分布广泛,包括记忆性 T,M,血小板	135,25	$\alpha 5$ 整合素,与 CD29 联结,结合纤连蛋白、invasin	VLA-5	整合素 $\alpha$
CD49f	T、M、血小板,巨核细胞,滋养层细胞	125,25	$\alpha 6$ 整合素,与 CD29 联结,结合 laminin、invasin、merosin	VLA-6	整合素 $\alpha$
CD50	胸腺细胞,T,B,M,粒细胞	130	结合整合素 CD11a/CD18	ICAM-3	Ig
CD51	血小板,巨核细胞	125,24	$\alpha V$ 整合素,与 CD61 联结,结合 vitronectin、von Willebrand 因子、纤连蛋白、thrombospondin; 可能是凋亡细胞的受体	Vitronectin 受体	整合素 $\alpha$
CD52	胸腺细胞,T,B(不包括浆细胞),M,粒细胞,精子	25	未明。治疗上常用作为抗体的靶分子,从骨髓中去除 T	CAMPAT-H-1, HE5	
CD53	白细胞	35 ~ 42	未明	MRC OX44	4 次跨膜蛋白
CD54	造血细胞和非造血细胞	75 ~ 115	胞间粘附分子-1,结合整合素 CD11a/CD18 和 CD11b/CD18,鼻病毒受体	ICAM-1	Ig
CD55	造血细胞和非造血细胞	60 ~ 70	衰变加速因子(DAF),与 C3b 结合,解聚 C3/C5 转化酶	DAF	CCP
CD56	NK	135 ~ 220	神经细胞粘附分子(NCAM)的变构体,粘附分子	NKH-1	Ig
CD57	NK,T 亚群,B,M		寡糖,检出于多种细胞表面的糖蛋白	HNK-1, Leu-7	
CD58	造血细胞和非造血细胞	55 ~ 70	白细胞功能相关抗原 3,结合 CD2,粘附分子	LFA-3	Ig
CD59	造血细胞和非造血细胞	19	结合补体成分 C8 和 C8,阻断攻膜复合物的装配	保护素, Mac 抑制物	Ly-6
CDw60	T 亚群,血小板,M		神经节苷脂(主要是 D3)中的 9- $\alpha$ -乙酰化 disialyl 基团		
CD61	血小板,巨核细胞,M $\Phi$	110	整合素 $\beta 3$ 亚单位,与 CD41 或 CD51 联结		整合素 $\beta$

(续表)

CD 抗原	表达细胞	相对分子质量 (分子量) kD	功 能	其他名称	所属家族
CD62E	内皮细胞	140	内皮白细胞粘附分子,结合唾液酸化路易糖 X,介导 N 在内皮细胞表面的滚动	ELAM-1, E 选择素	C 型凝集素, EGF 和 CCP
CD62L	B, T, M, NK	150	白细胞粘附分子 (LAM), 结合 CD34, 与内皮细胞相互作用, 介导白细胞滚动	LAM-1, L 选择素, LECAM-1	C 型凝集素, EGF 和 CCP
CD62P	血小板, 内皮细胞, 巨核细胞	140	粘附分子, 结合 CD162, 介导血小板与内皮细胞及 M 的相互作用, 介导白细胞在内皮细胞上的滚动	P 选择素, PADGEM	C 型凝集素, EGF 和 CCP
CD63	激活的血小板, M, MΦ	53	未明。溶酶体膜蛋白, 激活后转位到细胞表面	血小板激活抗原	4 次跨膜蛋白
CD64	M, MΦ	72	IgG 高亲和力受体, 介导吞噬、抗原捕获和 ADCC	FcγRI	Ig
CD65	髓样细胞		酰基鞘氨醇十二糖的寡糖成分		
CD66a	N	160 ~ 180	未明。癌胚抗原 (CEA) 家族成员	胆汁糖蛋白 (BGP-1)	Ig
CD66b	粒细胞	95 ~ 100	未明。癌胚抗原家族成员	旧称 CD67	Ig
CD66c	N, 结肠癌	90	未明。癌胚抗原家族成员	非特异性交叉反应抗原 (NCA)	Ig
CD66d	N	30	未明。癌胚抗原家族成员		Ig
CD66e	成人结肠上皮, 结肠癌	180 ~ 200	未明。癌胚抗原家族成员	CEA	Ig
CD66f	未明		未明。癌胚抗原家族成员	妊娠特异性糖蛋白	Ig
CD68	M, MΦ, N, Ba, 大淋巴细胞	110	未明	Macrosialin	粘蛋白
CD69	激活的 T 和 B, 激活的 MΦ 和 NK	28, 32 (同源二聚体)	未明。早期激活性抗原	活化诱导分子 (AIM)	C 型凝集素
CD70	激活的 T 和 B, MΦ	75, 95, 170	CD27 的配体, 为 B、T 提供协同刺激作用	Ki-24	TNF
CD71	所有增殖细胞, 包括激活的白细胞	95 同源二聚体	转铁蛋白受体	T9	
CD72	B (不包括浆细胞)	42 同源二聚体	未明	Lyb-2	C 型凝集素
CD73	B 亚群, T 亚群	69	Ecto-5'-核苷酸酶, 使核苷酸去磷酸, 以便核苷的摄入		
CD74	B, MΦ, M, MHC II 类阳性细胞	33, 35, 41, 43 (不同剪切体)	MHC II 类分子相关不变链	Ii, Iy	
CD75	成熟的 B, T 亚群		Sialoglycan 分子组成部分, CD22 配体, 介导 B 间粘附		
CD76	成熟的 B, T 亚群		表达于糖鞘脂和糖蛋白上的 sialylated polyactosamine		
CD77	生发中心 B		神经糖鞘脂, 结合 Shiga 毒素, 交联后诱发凋亡	Gb3, Pk 血型	

(续表)

CD 抗原	表达细胞	相对分子质量 (分子量) (kD)	功 能	其他名称	所属家族
CD79 $\alpha, \beta$	B	$\alpha: 40 \sim 45$ $\beta: 37$	类似于 CD3 的 B 抗原受体成员, 为细胞表面表达和信号转导所必需	Ig $\alpha$ , Ig $\beta$	Ig
CD80	B 亚群	60	协同刺激分子, CD28 和 CTLA-4 的配体	B7(现称 B7.1)、BB1	Ig
CD81	淋巴细胞	26	与 CD19 和 CD21 共同组成 B 辅助受体	TAPA-1	4 次跨膜蛋白
CD82	白细胞	50 ~ 53	未明	R2	4 次跨膜蛋白
CD83	Dc, B, Lh	43	未明	HB15	Ig
CDw84	M, 血小板, 循环 B	73	未明	GR6	Ig
CD85	M, 循环 B	120, 83	未明	GR4	
CD86	M, 激活 B, Dc	80	CD28 和 CTLA-4 的配体	B7.2	Ig
CD87	粒细胞, M, M $\Phi$ , T, NK, 广泛的非造血细胞	35 ~ 59	尿激酶 plasminogen 激活剂受体	uPAR	Ly-6
CD88	多形核白细胞, M $\Phi$ , 肥大细胞	43	补体成份 C5a 受体	C5aR	G 蛋白偶联受体
CD89	M, M $\Phi$ , 粒细胞, N, B 亚群, T 亚群	50 ~ 70	IgA 受体	Fc $\alpha$ R	Ig
CD90	CD34 阳性前胸腺细胞(人), 胸腺细胞, T(鼠)	18	未明	Thy-1	Ig
CD91	M, 多种非造血细胞	515, 85	$\alpha 2$ 巨球蛋白受体		EGF, LDL 受体
CDw92	N, M, 血小板, 内皮	70	未明	GR9	
CD93	N, M, 内皮	120	未明	GR11	
CD94	T 亚群, NK	43	未明	KP43	C 型凝集素
CD95	多种细胞系, 体内分布不详	45	与 FasL 结合, 诱导凋亡	Apo-1, Fas	TNF 受体
CD96	激活的 T, NK	160	未明	TACTILE	Ig
CD97	激活的 B 和 T, M, 粒细胞	75 ~ 85	结合 CD55	GR1	EGF, G 蛋白偶联受体
CD98	T, B, NK, 粒细胞, 人细胞系	80, 45 异二聚体	可能是氨基酸转运体	4F2, FRP-1	
CD99	外周血淋巴细胞, 胸腺细胞	32	未明	MIC2, E2	
CD100	造血细胞	150(同源二聚体)	未明	GR3	Semaphorin
CD101	M, 粒细胞, Dc, 激活的 T	120(同源二聚体)	未明	BPC # 4	Ig
CD102	静息期淋巴细胞, M, 血管内皮细胞	55 ~ 65	与 CD11a/CD18(LFA-1)但不与 CD11b/CD18(Mac-1)联结	ICAM-2	Ig
CD103	表皮内淋巴细胞, 2 ~ 6% 的外周血淋巴细胞	150, 25	$\alpha E$ 整合素	HML-1, $\alpha 6$ 和 $\alpha E$ 整合素	整合素 $\alpha$
CD104	DN 胸腺细胞, 神经细胞, 上皮细胞, 一些内皮细胞, 雪旺氏细胞, 滋养层细胞	220	和 CD49f 联结的整合素 $\beta 4$ , 结合 laminins	$\beta 4$ 整合素	整合素 $\beta$

(续表)

CD 抗原	表达细胞	相对分子质量 (分子量) kD	功 能	其他名称	所属家族
CD105	内皮细胞, 激活的 M 和 MΦ, 骨髓细胞亚群	90 (同源二聚体)	结合 TGF-β	Endoglin	
CD106	内皮细胞	100 ~ 110	粘附分子, VLA-4 的配体	VCAM-1	Ig
CD107a	激活的血小板, 激活的 T, 激活的 N, 激活的内皮细胞	110	未明。溶酶体膜蛋白, 激活后转位到细胞表面	LAMP-1	
CD107b	激活的血小板, 激活的 T, 激活的 N, 激活的内皮细胞	120	未明。溶酶体膜蛋白, 激活后转位到细胞表面	LAMP-2	
CDw108	红细胞, 循环淋巴细胞, 淋巴细胞	80	未明	GR2, 血型抗原	
CD109	激活的 T, 激活的血小板, 血管内皮细胞	170	未明	血小板激活因子, GR56	
CD110—113	未确定				
CD114	粒细胞, M	150	粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 受体		Ig, III 型纤连蛋白
CD115	M, MΦ	150	MΦ 集落刺激因子 (M-CSF) 受体	M-CSFR, c-fms	Ig, 酪氨酸激酶
CD116	M, N, Eo, 内皮	70 ~ 85	GM-CSF 受体 α 链	GM-CSFRα	Ck 受体, III 型纤连蛋白
CD117	造血祖细胞	145	干细胞因子 (SCF) 受体	c-KIT	Ig, 酪氨酸激酶
CD118	广泛表达于各种细胞		α、β 干扰素受体	IFN-α, βR	
CD119	MΦ, M, B, 内皮	90 ~ 100	γ 干扰素受体	IFN-γR	III 型纤连蛋白
CD120a	造血细胞和非造血细胞, 表皮细胞表达最高	50 ~ 60	TNF 受体, 结合 TNF-α 和 TNF-β	TNFR-I	TNF 受体
CD120b	造血细胞和非造血细胞, 髓样细胞表达最高	75 ~ 85	TNF 受体, 结合 TNF-α 和 TNF-β	TNFR-II	TNF 受体
CD121a	胸腺细胞, T	80	I 型 IL-1 受体, 结合 IL-1α 和 IL-1β	I 型 IL-1 受体	Ig
CDw121b	B, MΦ, M	60 ~ 70	II 型 IL-1 受体, 结合 IL-1α 和 IL-1β	II 型 IL-1 受体	Ig
CD122	NK, 静息 T 亚群, 某些 B 细胞系	75	IL-2 受体 β 链	IL-2Rβ	Ck 受体, III 型纤连蛋白
CD123	骨髓干细胞, 粒细胞, M, 巨核细胞	70	IL-3 受体 α 链	IL-3Rα	Ck 受体, III 型纤连蛋白
CD124	成熟的 T 和 B, 造血细胞前体	130 ~ 150	IL-4 受体	IL-4R	Ck 受体, III 型纤连蛋白
CD125	Eo, Ba, 激活的 B	55 ~ 60	IL-5 受体	IL-5R	Ck 受体, III 型纤连蛋白
CD126	激活的 B, 浆细胞 (强表达), 大多数白细胞 (弱表达)	80	IL-6 受体 α 链	IL-6Rα	Ig, Ck 受体, III 型纤连蛋白
CD127	骨髓淋巴样细胞前体, 祖 B, 成熟 T, M	68 ~ 79 (可能形成同源二聚体)	IL-7 受体	IL-7R	III 型纤连蛋白
CDw128	N, Ba, T 亚群	58 ~ 67	IL-8 受体	IL-8R	G 蛋白偶联受体



(续表)

CD 抗原	表达细胞	相对分子质量 (分子量) kD	功 能	其他名称	所属家族
CD129	未确定				
CD130	大多数细胞类型,强表达于 激活的 B 和浆细胞	130	IL-6、IL-11、OSM 和白血病 抑制因子受体的共有亚单 位	IL-6R $\beta$ , IL-11R $\beta$ , OSMR $\beta$ , IFR $\beta$	Ig, Ck 受体, III 型纤连蛋 白
CDw131	髓样祖细胞,粒细胞	140	IL-3、IL-5 和 GM-CSF 受体 的共同 $\beta$ 亚单位	IL-3R $\beta$ , IL-5R $\beta$ , GM- CSFR $\beta$	Ck 受体, III 型纤连蛋白
CD132	B, T, NK, 肥大细胞, N	64	IL-2 受体 $\gamma$ 链, II-4、IL-7、 IL-9 和 IL-15 受体的共有 亚单位		Ck 受体
CD134	激活的 T	50	可能作为粘附分子性协同 刺激因子	OX40	TNF 受体
CD135	多能前体细胞,髓性单核细 胞和 B 前体	130, 155	生长因子受体	FLK2, STK-1	Ig, 酪氨酸激 酶
CDw136	M, 表皮细胞, 中枢和外周神 经系统	180	趋化作用, 吞噬作用, 细胞 生长和分化	MSP-R, RON	酪氨酸激酶
CDw137	T, B, M, 某些表皮细胞		T 增殖的协同刺激因子	ILA, 4-IBB	TNF 受体
CD138	B		结合 I 型胶原的硫酸肝素 蛋白多糖	Sydecan-1	
CD139	B	209, 228	未明		
CD140	基质细胞, 某些内皮细胞	a: 180 b: 180	血小板衍生生长因子 (PDGF)受体 $\alpha\beta$ 链		
CD141	血管内皮细胞	105	抗凝剂, 结合凝血酶, 所形 成的复合物活化 C 蛋白	Thrombo -modulin, feto- modulin	C 型凝集素, ECF
CD142	表皮角质细胞, 各种上皮细 胞, 星状细胞, 雪旺氏细胞	45 ~ 47	是血凝的主要起始因子, 结合 VIIa 因子, 此复合物 激活 VII、IX 和 X 因子	组织因子	III 型纤连蛋 白
CD143	内皮细胞(除了大血管和肾 脏), 某些上皮细胞, 神经元, 激活的 M $\Phi$ 和一些 T	170 ~ 180	锌金属肽酶二肽酶, 从前 体裂解出血管紧张素 I 和 缓激肽	血管紧张素转 化酶(ACE)	
CD144	内皮细胞	130	参与内皮细胞之间粘附	Cadherin-5, VE-钙粘着素	钙粘着素
CD145	内皮细胞, 某些基质细胞	25, 90,	未明		
CD146	内皮	130	细胞连接处的潜在粘附分 子	MCAM, MUC18, S-ENDO	Ig
CD147	白细胞, 红细胞, 血小板, 内 皮细胞	55 ~ 65	潜在的粘附分子	M6 neurothelin, EMMPRIN, OX-47	Ig
CD148	粒细胞, M, Dc, T, 成纤维细 胞, 神经细胞	240 ~ 260	细胞生长的接触抑制	HPTP $\eta$	III 型纤连蛋 白, 蛋白酪 氨酸磷酸酶
CD150	胸腺细胞, 激活的淋巴细胞	75 ~ 95	未明	SLAM	Ig

(续表)

CD 抗原	表达细胞	相对分子质量 (分子量) kD	功 能	其他名称	所属家族
CD151	血小板, 巨核细胞, 内皮细胞, 上皮细胞	32	与 $\beta 1$ 整合素联结	PETA-3, SFA-1	4 次跨膜蛋白
CD152	激活的 T	33	B7-1 和 B7-2 的受体; T 激活的负调节因子	CTLA-4	Ig
CD153	激活的 T, 激活的 M $\Phi$ , N, B	38 ~ 40	CD30 配体, 可协同刺激 T	CD30L	TNF
CD154	激活的 CD4 T 细胞	30 (三聚体)	CD40 配体, 诱导 B 增殖和激活	CD40L, 等	TNF 受体
CD155	M, M $\Phi$ , 胸腺细胞, 中枢神经系统神经元	80 ~ 90	正常功能未明。脊髓灰质炎病毒受体	脊髓灰质炎病毒受体	Ig
CD156	N, M	69	未明。可能和白细胞外渗有关	MS2, ADAM8	
CD157	粒细胞, M, 骨髓基质细胞, 血管内皮细胞, 滤泡 Dc	42 ~ 45 (M 为 50)	ADP-核糖基环化酶, 环 ADP-核糖水解酶	BST-1	
CD158a	NK 亚群	50 或 58	结合 MHC I 类分子后抑制 NK 细胞毒活性	p50.1, p58.1	Ig
CD158b	NK 亚群	50 ~ 58	结合 HLA-CW3 及相关等位基因分子后抑制 NK 细胞毒活性	p50.2, p58.2	Ig
CD161	NK, T	44	调节 NK 的细胞毒性	NKRP1	C 型凝集素
CD162	N, 淋巴细胞, M	120 (同源二聚体)	CD62P 的配体	PSGL-1	粘蛋白
CD163	M, M $\Phi$	130	未明	M130	
CD164	上皮细胞, M, 骨髓基质细胞	80	未明	MUC-24	粘蛋白
CD165	胸腺细胞, 胸腺上皮细胞, 中枢神经元, 胰岛包曼囊, 等	37	参与胸腺细胞和胸腺上皮细胞间粘附	Gp37, AD2	
CD166	激活的 T, 胸腺上皮, 成纤维细胞, 神经元	100 ~ 105	CD6 配体, 参与整合素轴突伸展	ALCAM, BEN, 等	Ig
TCR $\zeta$	T, NK	12 (同源二聚物)	TCR 组成成分, 每条链含 3 个 ITAM	CD3 $\zeta$	$\zeta$ 链

附录二 细胞因子和细胞因子受体

家 族	细胞因子	其他名称	氨基酸数和分子形式	受体 (c; 共同亚单位)	产生细胞*	作 用
造血因子	Epo	红细胞生成素	165, 单体	EpoR	肾细胞, 肝细胞	刺激红细胞系祖细胞
	IL-2	T 生长因子	133, 单体	CD25( $\alpha$ ) CD122( $\beta$ ) CD132( $\gamma_c$ )	T	T 增殖
	IL-3	多集落刺激因子	133, 单体	CD123( $\beta_c$ )	T, 胸腺上皮细胞	早期造血阶段起协同作用
	IL-4	BCGF-1, BSF-1	129, 单体	CD124, CD132( $\gamma_c$ )	T, 肥大细胞	活化 B, IgE 转类, 抑制 Th1 细胞
	IL-5	BCGF-2	115, 同源二聚体	CD125, $\beta_c$	T, 肥大细胞	促进 Eo 生长, 分化
	IL-6	IFN- $\beta$ 2, BSF-2, BCDF	184, 单体	CD126, CD130	T, M $\Phi$ , 内皮细胞	T、B 生长和分化, 急性期蛋白产生, 发热
	IL-7		152, 单体	CD127, CD132( $\gamma_c$ )	非 T	促进前 B 和前 T 生长
	IL-9		125, 单体	IL-9R, CD132( $\gamma_c$ )	T	增强肥大细胞活性
	IL-11		178, 单体	IL-11R, CD130	基质成纤维细胞	在造血过程中与 IL-3 和 IL-4 协同作用
	IL-13	P600	132, 单体	IL-13R, CD132( $\gamma_c$ ) (可能还包括 CD24)	T	促 B 生长分化, 抑制 M $\Phi$ 产生炎症细胞因子, 抑制 Th1
	G-CSF		?, 单体 (可能以二聚体行使功能)	G-CSFR	成纤维细胞和 M	刺激 N 发育和分化
	IL-15	T 细胞生长因子	114, 单体	IL-15R, CD122 (IL-R $\beta$ ), CD132( $\gamma_c$ )	T	类似 IL-2, 刺激肠上皮细胞、T 和 NK 生长
	GM-CSF		127, 单体	CD116, $\beta_c$	M $\Phi$ , T	促进髓样单核细胞谱系生长分化
	OSM	OM, oncostatin M	195, 单体	OSMR, LIFR, CD130	T, M $\Phi$	刺激 Kaposi 肉瘤细胞生长, 抑制黑色素瘤生长
	LIF	白血病抑制因子	179, 单体	LIFR, CD130	骨髓, 基质, 成纤维细胞	维持胚胎干细胞生长, 类似 IL-6, IL-11 和 OSM
干扰素	IFN- $\gamma$		143, 同源二聚体	CD119, IFNGR2	T, NK	活化 M $\Phi$ , 提高 MHC 分子和抗原加工成分的表达, 参与 Ig 转类
	IFN- $\alpha$		166, 单体	CD118, IFNAR2	白细胞	抗病毒, 促进 MHC I 类表达
	IFN- $\beta$		166, 单体	CD118, IFNAR2	成纤维细胞	抗病毒, 促进 MHC I 类表达

\* 本附录中采用的细胞省略语同附录一

(续表)

家 族	细胞因子	其他名称	氨基酸数和分子形式	受体 (c; 共同亚单位)	产生细胞	作 用
Ig 超家族	B7.1	CD80	262, 二聚体	CD28, CTLA-4	APC	T 应答的协同刺激因子
	B7.2	B70, CD86		CD28, CTLA-4	APC	T 应答的协同刺激因子
TNF 家族	TNF- $\alpha$	恶病素 (cachectin)	157, 三聚体	p55, p75, CD120a, CD120b	M $\Phi$ , NK, T	局部炎症, 内皮细胞活化
	TNF- $\beta$	淋巴毒素, LT, LT- $\alpha$	171, 三聚体	p55, p75, CD120a, CD120b	T, B	杀伤作用, 内皮细胞活化
	LT- $\beta$		与 TNF $\beta$ 组成跨膜三聚体	LT $\beta$ R 或 HVEM	T, B	淋巴结发育
	CD40 配体	CD40L	三聚体	CD40	T, 肥大细胞	活化 B, 转类
	Fas 配体	FasL	三聚体	CD95 (Fas)	T, 基质细胞?	诱导凋亡, 钙离子非依赖性细胞毒性
	CD27 配体	CD27L	三聚体(?)	CD27	T	刺激 T 增殖
	CD30 配体	CD30L	三聚体(?)	CD30	T	刺激 T、B 增殖
	4-1BBL		三聚体(?)	4-1BB	T	协同刺激 T、B
待定类	TGF- $\beta$		112, 同源和异源三聚体	TGF- $\beta$ R	软骨细胞, M, T	抑制细胞生长, 抗炎症
	IL-1 $\alpha$		159, 单体	CD121a (IL-1RI), CD121b (IL-1RII)	M $\Phi$ , 上皮细胞	发热, 活化 T 和 M $\Phi$
	IL-1 $\beta$		153, 单体	CD121a (IL-1RI), CD121b (IL-1RII)	M $\Phi$ , 内皮细胞	发热, 活化 T 和 M $\Phi$
	IL-1RA		?, 单体	CD121a	M, M $\Phi$ , N, 肝细胞	与 IL-1 受体结合, 但不能激发之, IL-1 功能的天然拮抗剂
	IL-10	细胞因子合成抑制因子 F	160, 同源二聚体	IL-10R $\alpha$ , CRF2-4 (IL-10R $\beta$ )	T, M $\Phi$ , EB 病毒转化的 B	强烈抑制 M $\Phi$ 功能
	IL-12	NK 刺激因子	197 和 306, 异二聚体	IL-12R $\beta$ 1, IL-12R $\beta$ 2	B, M $\Phi$	活化 NK, 诱导 CD4 T 分化成 Th1
	MIF		115, 单体		T, 垂体细胞	抑制 M $\Phi$ 移动, 刺激其活化
	IL-16		130, 同源四聚体	CD4	T, 肥大细胞, Eo	CD4 T, M 和 Eo 的化学趋化因子, 对受 IL-2 刺激的 T 有抗凋亡作用

(续表)

家 族	细胞因子	其他名称	氨基酸数和分子形式	受体 (c:共同亚单位)	产生细胞	作 用
待定类	IL-17	mCtLA-8	150, 单体		CD4 记忆细胞	诱导上皮细胞、内皮细胞和成纤维细胞产生细胞因子
	IL-18	IGIF( $\gamma$ 干扰素诱导因子)	157, 单体	IL-1R $\alpha$ (IL-1R 相关蛋白)	活化 M $\Phi$ 和 Kupffer 细胞	诱导 T 和 NK 产生 IFN- $\gamma$ , 有利于诱导 Th1 产生

### 附录三 趋化性细胞因子和趋化性细胞因子受体

趋化性细胞因子	染色体	靶 细 胞*	特异受体
<b>ELR<sup>+</sup> Cx<sub>3</sub>C 家族*</b>			
IL-8	4	N, Ba, T	CXCR1, 2
GRO $\alpha$	4	N	CXCR2 $\gg$ 1
GRO $\beta$	4	N	CXCR2
GRO $\gamma$	4	N	CXCR2
ENA-78	4	N	CXCR2
LDGE-PBP	4	成纤维细胞, N	CXCR2
GCP-2	4	N	CXCR2
<b>ELR<sup>-</sup> Cx<sub>3</sub>C 家族</b>			
PF4	4	成纤维细胞	未明
Mig	4	活化的 T	CXCR3
IP-10	4	活化的 T(Th1 > Th2)	CXCR3
SDF-1 $\alpha/\beta$	10	CD34 <sup>+</sup> 骨髓细胞, T, Dc	CXCR4
<b>CC 家族</b>			
MIP-1 $\alpha$	17	M/M $\Phi$ , T(Th1 > Th2), NK, Ba, Dc, 骨髓细胞, B	CCR1, 5, 9
MIP-1 $\beta$	17	M/M $\Phi$ , T(Th1 > Th2), NK, Ba, Dc, 骨髓细胞	CCR1, 5, 9
MDC	16	M(?), Dc, IA NK, T(Th1 > Th2)	CCR4
TECK	?	M, 胸腺细胞, Dc	未明
TARC	16	T 细胞系	CCR4
RANTES	17	M/M $\Phi$ , T(记忆 T > T; Th1 > Th2), NK, Ba, Dc, Eo	CCR1, 3, 4, 5
HCC-1	17	M	CCR9
HCC-4	17	M	未明
DC-CK1	17	未致敏 T > T	未明
MIP-3 $\alpha$	2	T(记忆 T > T), 外周血单个核细胞, 骨髓细胞-Dc	CCR6
MIP-3 $\beta$	9	未致敏 T	CCR7
MCP-1	17	T, M, Ba	CCR2, 9
MCP-2	17	T, M, Eo, Ba	CCR2, 9
MCP-3	17	T, M, Eo, Ba, Dc	CCR2, 9
MCP-4	17	T, M, Eo, Ba, Dc	CCR2, 3, 9
未定名	(11)	Eo, M, T	CCR2
Eotaxin	17	Eo	CCR3, 9
Eotaxin-2/MPIF-2	?	T(?), Eo, Ba	CCR3
<b>6-半胱氨酸 CC</b>			
I-309	17	N(限 TCA-3), T	CCR8
未定名	?	M, T	未明
未定名	(11)	T, N(?)	未明
MIP-5/HCC-2	17	T, M, N(?), Dc	CCR1, 3
MPIF-1	17(?)	M, T(静息), N(?)	未明
6Ckine	9(?)	未致敏 T, B, 肾小球膜细胞	未明
<b>C 和 Cx<sub>3</sub>C</b>			
Lymphotactin	1(1)	T, NK,	未明
Fractalkine	16	T, M, N(?)	CX3CR1

\* ELR 代表 Cx<sub>3</sub>C 基序中第一个半胱氨酸残基之前的三个氨基酸：谷氨酸—亮氨酸—精氨酸。若为 ELR<sup>+</sup> 这类趋化性细胞因子对中性粒细胞有趋化作用；若为 ELR<sup>-</sup>，则对淋巴细胞具有趋化作用

# 本附录中采用的细胞略语同附录一

## 索引 词

本书尝试将英汉名词对照和名词索引合并。如“CD”一词,可在“C”部分先找到该词的中文译名“分化群”,然后在“F”部分找到“分化群”所在的页码 100。从该页中不仅可了解 CD 的含义及其背景,并得到 CD 的英文全称:cluster of differentiation.

### A

Ab(见:抗体)		白细胞分化抗原	100
ABO 血型	215	白细胞介素	82
ADA(见:腺苷脱氨酶缺乏症)		白细胞介素 $1\beta$ 转换酶	86,184
ADCC(见:抗体依赖细胞介导的细胞毒性)		白细胞粘附缺陷病	265
AFP(见:甲胎蛋白)		半胱天冬蛋白酶(天冬氨酸特异半胱氨酸蛋白酶)	183
AICD(见:激活诱导的细胞死亡)			
AId(见:抗独特型抗体)		半抗原	3
AIDS(见:获得性免疫缺陷综合征)		伴高 IgM 血症的 IgG、IgA 和 IgE 缺乏病	260
ALPS(见:自身免疫性淋巴细胞增生综合征)		胞壁脂磷壁酸	243
AP-1(转录因子)	151,166	胞内菌感染免疫	250
APC(见:抗原递呈细胞)		胞吞	9
阿瑟斯反应	218	胞外菌感染免疫	248
癌胚抗原	276	胞饮	9
爱迪森氏病	229	保护性免疫	247
		被动免疫	13
		变应原	212
		表皮生长因子	85,101
		表位	4
		并指状树突细胞	42
		病原体	240
		补体	10
		补体调节蛋白	101
		补体基因	67
		补体系统成分缺乏病	265
		补体依赖的微量淋巴细胞毒试验	68
		补体依赖的细胞毒性(作用)	12,16,176,278,301

### B

B1 细胞	37,169
B2 细胞	37,169
B7-1/B7-2	106
Bcl-2	186,174
BCR(见:B 细胞抗原受体)	
BLS(见:裸淋巴细胞综合症)	
Bruton 酪氨酸激酶	166
Bm(见:记忆性 B 细胞)	
Btk(见:Bruton 酪氨酸激酶)	
$\beta_2$ 微球蛋白( $\beta_2$ -m)	64,71
B 淋巴细胞(B 细胞)	34,161
B 细胞表位	4
B 细胞抗原受体	35,161
B 细胞淋巴瘤	287
白三烯	211

### C

CAD(见:Caspase 激活的脱氧核糖核酸酶)	
Cadherin(见:钙粘着素)	
calcineurin(见:钙调磷酸酶)	
calmodulin(见:钙调素)	
calnexin(见:钙联素)	
Caspase(见:半胱天冬蛋白酶)	

- |                        |          |                              |               |
|------------------------|----------|------------------------------|---------------|
| Cath(见:组织蛋白酶)          |          | CSF(见:集落刺激因子)                |               |
| CBH(见:皮肤嗜碱性粒细胞超敏反应)    |          | CTL(见:细胞毒性 T 细胞)             |               |
| CD(见:分化群)              |          | CTLA-4                       | 104, 150, 200 |
| CD1                    | 124      | CVID(见:常见变异型免疫缺陷病)           |               |
| CD2                    | 104      | C3 转化酶                       | 10            |
| CD3                    | 28, 103  | Caspase 激活的脱氧核糖核酸酶           | 186           |
| CD4                    | 103, 137 | CD1 限制性 T 细胞                 | 134           |
| CD4 <sup>+</sup> T 细胞  | 32       | CD40 配体                      | 105           |
| CD8                    | 104, 137 | Chediak-Higashi 综合征          | 265           |
| CD8 <sup>+</sup> T 细胞  | 32       | CsA(见:环孢霉素)                  |               |
| CD11b/CD18             | 111      | Cx <sub>3</sub> C 型(趋化性细胞因子) | 95            |
| CD16(见:FcγRIII)        |          | Cx <sub>3</sub> C 型(趋化性细胞因子) | 93            |
| CD19                   | 105, 162 | C 反应蛋白                       | 243           |
| CD21                   | 106, 162 | C 型(趋化性细胞因子)                 | 95            |
| CD22                   | 106      | CC 型(趋化性细胞因子)                | 94            |
| CD23                   | 108      | C 型凝集素结构域                    | 101           |
| CD28                   | 104, 149 | 肠道上皮内淋巴细胞                    | 111           |
| CD29                   | 110      | 肠毒素                          | 7             |
| CD32                   | 107      | 常见变异型免疫缺陷病                   | 260           |
| CD40                   | 106, 168 | 超急性排斥反应                      | 301           |
| CD44                   | 115      | 超家族                          | 101           |
| CD45                   | 144, 164 | 超抗原                          | 7, 158        |
| CD58                   | 104      | 超敏反应                         | 208           |
| CD64                   | 107      | 超氧化物歧化酶                      | 251           |
| CD79a/CD79b(见:Igα/Igβ) |          | 迟发型超敏反应                      | 181, 220, 246 |
| CD80/CD86(见:B7-1/B7-2) |          | 迟发型超敏反应 T 细胞                 | 220           |
| CD81                   | 106, 162 | 迟发型异种移植排斥反应                  | 310           |
| CD89                   | 108      | 迟现抗原                         | 110           |
| CD154                  | 105      | 重构抗体                         | 59            |
| CDC(见:补体依赖的细胞毒性)       |          | 重组激活基因                       | 54, 174, 264  |
| Cdk(见:周期素依赖性激酶)        |          | 重组酶                          | 53            |
| CDR(见:互补决定区)           |          | 重组信号序列                       | 53            |
| CEA(见:癌胚抗原)            |          | 初次应答                         | 13            |
| CGD(见:慢性肉芽肿病)          |          | 穿孔素                          | 157, 180      |
| CIITA(见:II 类反式激活蛋白)    |          | 次要组织相容性抗原                    | 215, 294      |
| Ck(见:细胞因子)             |          |                              |               |
| CKR-F(见:细胞因子受体家族)      |          |                              |               |
| CLIP(见:II 类结合的不变链肽段)   |          |                              |               |
| Con A                  | 7        | DAF(见:衰变加速因子)                |               |
| CR2(见:II 型补体受体)        |          | DC(见:树突细胞)                   |               |
| CR3                    | 111      | DD(见:死亡结构域)                  |               |
| CR4                    | 111      | DED(见:死亡效应结构域)               |               |
| CRP(见:C 反应蛋白)          |          | DM(HLA)                      | 66, 128       |
|                        |          | DP(HLA)                      | 66            |

## D



DQ(HLA)	66	F		
DR(HLA)	66			
DTH(见:迟发型超敏反应)			FADD(见:带死亡结构域的 Fas 相关蛋白)	
DXR(见:迟发型异种移植排斥反应)			Fas	181,203
DiGeorge 综合征	262		FasL(见:Fas 配体)	
大肠菌素	242		FcγR I	107
大颗粒淋巴细胞	38		FcγR II	107
带死亡结构域的 Fas 相关蛋白	182		FcγRII-B	143,200
单核因子	82		FcγRIII	38,108
单链抗体	60		FcεRI	108,178,209
单态决定簇	227		FDC(见:滤泡树突细胞)	
单阳性 T 细胞	26		FK506	148
蛋白激酶	140		FR(见:支架区)	
蛋白激酶 C	142		Fas 配体	182
蛋白酪氨酸激酶	102,140,198		反位互补	72
蛋白酪氨酸激酶受体家族(细胞因子)	91		非经典 HLA I 类基因	66,125
蛋白酪氨酸磷酸酶	102,142,198		非胸腺依赖抗原	169
蛋白磷酸酶	140		肥大细胞	44,177,209,210
蛋白酶体	129		分化群	100
等位基因	68		分泌型 IgA	177
等位排斥	30		分泌型免疫球蛋白	58
低分子量多肽	64,130		分泌型杀伤	179
低区带耐受	228		分子免疫学	20
地址素	118		辅助性 T 细胞	154
凋亡	179,186,203,230		辅助受体	137,143,164
凋亡蛋白酶激活因子	185	G		
独特型	18,201			
独特型网络	202		γδ T 细胞	31,74
毒性休克综合征毒素	158		GC(见:生发中心)	
多发性硬化症	222		G-CSF(见:粒细胞集落刺激因子)	
多基因性	15		GlyCAM-1(见:糖基化依赖的细胞粘附分子)	
多克隆激活剂	7		GM-CSF(见:粒细胞巨噬细胞集落刺激因子)	
多态性	15,68		GOD(见:多样性产生)	
多态性决定簇	227		GPIIb III a(整合素家族成员)	111
多效性(细胞因子)	82		GVHD(见:移植物抗宿主病)	
多样性	30,55		GVHR(见:移植物抗宿主反应)	
多样性产生(抗体)	54		GVLr(见:移植物抗白血病反应)	
E			G 蛋白结合受体	92
			钙调磷酸酶	145
EAE(见:实验变态反应性脑脊髓炎)			钙调素	145
EGF(见:表皮生长因子)			钙联素/钙联蛋白	127
E-selectin	113		钙粘着素	114
二次应答	13,172			

干扰素	9,88	花生四烯酸	211
干扰素家族	83	环孢霉素	148
干扰素激发效应元件	76	回文结构	56
干扰素受体家族(细胞因子)	90	混合淋巴细胞反应	297
干细胞	24	混合造血嵌合体	309
甘露糖结合凝集素途径(补体)	11	获得性免疫	8,241
甘露糖受体	242	获得性免疫缺陷综合征	266
感染免疫	240		
高变区	49	<b>I</b>	
个体发育	14	Ia 相关不变链	127
个体性	15,68	ICAM(见:细胞间粘附分子)	
攻膜复合物	12	ICE(见:白细胞介素 1 $\beta$ 转换酶)	
共济失调毛细血管扩张症	262	IEL(见:肠道上皮内淋巴细胞)	
共显性	68	IFN(见:干扰素)	
共用基序	73,287	IFNR-F(见:干扰素受体家族)	
共有决定簇	227	Ig $\alpha$ /Ig $\beta$	36,105
构型决定簇	5	Ig(见:免疫球蛋白)	
骨髓瘤细胞	18,58	Ig-SF(见:免疫球蛋白超家族)	
归巢	16,118	Ii 链(见:Ia 相关不变链)	
过敏反应	208	IL(见:白细胞介素)	
过敏性休克	213	IL-2	87
		IL-3	89
<b>H</b>		IL-4	87
H-2 复合体	63	IL-5	88
HAMA 反应(见:人抗小鼠抗体反应)		IL-7	89
HER-2/neu	277	IL-8	244
HLA 抗原(见:人类白细胞抗原)		IL-12	86
HRF(见:同源限制因子)		IL-12 受体 $\beta$ 2 亚单位	155
HSP(见:热休克蛋白)		ITAM(见:免疫受体酪氨酸激活基序)	
HVGR(见:宿主抗移植反应)		ITIM(见:免疫受体酪氨酸抑制基序)	
HVR(见:高变区)			
HLA 错配	78	<b>J</b>	
HLA 基因转录调节	76	Jak	141
HLA I 类分子	66	Jnk(见:Jun 蛋白 N 端激酶)	
HLA II 类分子	71	Jun 蛋白 N 端激酶	147
HLA 复合体(人类主要组织相容性基因系统)	64	极化(Th 亚型)	155
HLA 相容性	78	肌动蛋白	187
H-Y 抗原	294	基础免疫学	20
核纤层	187	基因重排	14,28,51
(九肽)核心结合序列	72	激活诱导的细胞死亡	203,231
黑色素瘤抗原编码基因	275	激素受体	204
恒定区(C 区)	47	级联反应(补体)	10
互补决定区	18,27,49		

急性排斥反应	301	抗原结合凹槽	5,70
疾病关联(HLA)	79	抗原结合部位	49
集落刺激因子	88	抗原竞争	192
记忆 B 细胞	174	抗原决定簇	4
记忆 T 细胞	157	抗原内影象	202
甲胎蛋白	276	抗原性	3
甲状腺刺激素	235	颗粒胞吐	157,180,210
间接识别	294	颗粒酶	180
间质树突细胞	42	可变区(V 区)	47
减毒活苗	21	克隆流产	35
浆细胞	36	克隆清除	18,227
接触性皮炎	222	克隆无能	228
结构域	47	克隆应答	18
金黄色葡萄球菌肠毒素	7,158	克隆选择学说	17
金属蛋白酶	84	口服耐受	238
经典 HLA I 类分子	70	枯草热	213
经典 HLA I 类基因	66,75	跨膜蛋白	100
经典途径(补体)	11	溃疡性结肠炎	229
静止基因	275		
巨胞饮(作用)	41,123	<b>L</b>	
巨噬细胞	123,297	LAD(见:白细胞粘附缺陷病)	
巨噬细胞集落刺激因子	88	LAK(见:淋巴因子激活的杀伤细胞)	
聚合粘附激酶	187	LAT(见:T 细胞激活连接蛋白)	
<b>K</b>		LFA-1(见:淋巴细胞功能相关抗原 1)	
KAR(见:杀伤细胞激活性受体)		LHR(见:淋巴细胞归巢受体)	
KIR(见:杀伤细胞抑制性受体)		LK(见:淋巴因子)	
卡氏肺炎菌	240	LMP(见:低分子量多肽)	
抗独特型抗体	201	L-selectin	113
抗体	46	LT(见:淋巴毒素)	
抗体类别转换	16,56,171,209	LTA(见:胞壁脂磷壁酸)	
抗体偶联物	289	II 类反式激活蛋白	77,263
抗体形成细胞	36	II 类结合的不变链肽段	127
抗体依赖细胞介导的细胞毒性(作用)	16,176,214,278	郎罕细胞	42
抗原	3	类别转换(见:抗体类别转换)	
抗原的原罪	193	类风湿性关节炎	232,236
抗原递呈	122	类过敏反应	208
抗原递呈细胞	4,122	雷帕霉素	148
抗原化抗体	62	(颗)粒酶	157
抗原加工	122	粒细胞集落刺激因子	88
抗原加工区室	126	粒细胞巨噬细胞集落刺激因子	88
抗原加工相关转运蛋白	64,130	连接多样性	56
		连锁不平衡	69
		临床免疫学	20

淋巴毒素	84,181	免疫不识别	228
淋巴细胞功能相关抗原 1	110	免疫调节	191
淋巴细胞归巢受体	118	免疫毒素	60
淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒	252	免疫复合物	217
淋巴样树突细胞	42	免疫复合物覆盖体	158
淋巴因子	82	免疫豁免	182,204,284,304
淋巴因子激活的杀伤细胞	288	免疫活性细胞	24
磷酸肌醇 3 激酶	142,166,209	免疫记忆	247
磷脂酰肌醇途径(信号转导)	145,165,209	免疫监视理论	280
滤泡树突细胞	42,158,161	免疫耐受	4,227
裸淋巴细胞综合征	77,263	免疫球蛋白	46
<b>M</b>		免疫球蛋白 Fc 受体	50,107
		免疫球蛋白超家族	48,101,111
MΦ(见:巨噬细胞)		免疫球蛋白基因	51
MIIC(见:MHC II 类区室)		免疫球蛋白基因重排	53
MAC(见:攻膜复合物)		免疫球蛋白受体家族(细胞因子)	91
Mac-1	111	免疫球蛋白折叠	47
MAdCAM(见:粘膜地址素细胞粘附分子)		免疫生物学	20
MAGE(见:黑色素瘤抗原编码基因)		免疫嗜素	148
MAPK(见:丝裂原活化蛋白激酶)		免疫受体酪氨酸激活基序	28,142,162,199,209
MAP 激酶途径(信号转导)	146,165,209	免疫受体酪氨酸抑制基序	38,199
MARM(见:MHC 抗原调节性组件)		免疫细胞	24
MBL 途径(见:甘露糖结合凝集素途径)		免疫性	1
MBP(见:髓鞘碱性蛋白)		免疫学	1
MCP(见:膜辅因子蛋白)		免疫应答	12
M-CSF(见:巨噬细胞集落刺激因子)		免疫应答基因	4
mH(见:次要组织相容性抗原)		免疫优势表位	5
MHC(见:主要组织相容性复合体)		免疫原	3
MIC(MHC I 类链相关基因)	66	免疫原性	3
mIg(见:膜免疫球蛋白)		膜辅因子蛋白	266
MLR(见:混合淋巴细胞反应)		膜型免疫球蛋白	58,162
MR(见:甘露糖受体)		母-胎耐受	74
MS(见:多发性硬化症)		<b>N</b>	
MHC I 类缺乏症	262	NCAM-1(见:神经细胞粘附分子)	
MHC II 类区室	126	NCAM L1	113
MHC 抗原调节性组件	76	NF-AT(转录因子)	151
MHC-抗原肽-TCR	5	NF-κB(转录因子)	151,166
MHC 约束性(现象)	122,138,297	NKCF(见:NK 细胞毒因子)	
慢反应物质	211	NKSF(见:NK 刺激因子)	
慢性排斥反应	301	NK 刺激因子	187
慢性肉芽肿病	264	NK 细胞(见:自然杀伤细胞)	
锚着残基	5,71,137	NK1.1 <sup>+</sup> T 细胞	34,135,155
免疫	1		

NK 细胞毒因子	187		
内皮细胞特异性抗原	295		<b>Q</b>
内体	9,126	21-羟化酶基因	67
粘附分子	109	七次跨膜超家族(CD 分子)	102
粘膜地址素细胞粘附分子	112	七次跨膜受体家族(细胞因子)	91
鸟苷酸置换因子	147	嵌合抗体	59
凝集素	7	前列腺素	211
凝胶蛋白	187	强直性脊柱炎	79
牛皮癣	79,80	桥本甲状腺炎	223
		亲合力	50
<b>O</b>		亲和常数	50
OX40	195	亲和力	18,50
		亲和力成熟	56,174
<b>P</b>		亲子鉴定	79
p150.95	111	轻链(L 链)	46
p53	275	清道夫受体	243
p21 <sup>ras</sup>	146	趋化性细胞因子	93
PAF(见:血小板活化因子)		趋化性细胞因子受体	96
PCR-RFLP(见:PCR 扩增产物的限制性片段长度多态性分析)			<b>R</b>
PCR-SBT(见:PCR 扩增产物的序列直接分型)		RAG(见:重组激活基因)	
PCR-SSO(见:PCR 扩增产物的序列特异寡核苷酸探针杂交)		Rapamycin(见:雷帕霉素)	
PCR-SSP(见:序列特异性引物的 PCR 扩增)		RSS(见:重组信号序列)	
PECAM-1(见:血小板内皮细胞粘附分子)		Rh 抗体	194
PHA	7	Rh 血型系统	215
PI 3-K(见:磷酸肌醇 3 激酶)		热休克蛋白	236
PKC(见:蛋白激酶 C)		热休克蛋白基因	67
PNH(见:阵发性夜间血红蛋白尿病)		人痘接种(法)	1
PNP(见:嘌呤核苷磷酸化酶缺乏症)		人化抗体	59
PTK(见:蛋白酪氨酸激酶)		人抗小鼠抗体反应	6,58,287
PTP/PTPase(见:蛋白酪氨酸磷酸酶)		人类白细胞抗原	64
PTKR-F(见:蛋白酪氨酸激酶受体家族)		溶菌酶	9
PCR 扩增产物的序列特异寡核苷酸探针杂交	68	溶酶体	9,126
PCR 扩增产物的限制性片段长度多态性分析	68	溶血反应	215
PWM	7	肉芽肿	223
旁分泌	82		<b>S</b>
胚胎抗原	276	SCID(见:重症联合型免疫缺陷综合征)	
胚系基因	3,28	SE(见:金黄色葡萄球菌肠毒素)	
皮肤嗜碱性粒细胞超敏反应	222	SH(见:Src 同源结构域)	
片段酶	180	SK 抗原	295
嘌呤核苷磷酸化酶缺乏症	263	sLe <sup>x</sup> (见:唾液酸化路昌糖)	

- SLE(见:系统性红斑狼疮)  
 SOD(见:超氧化物歧化酶)  
 SR(见:清道夫受体)  
 SRS-A(见:慢反应物质)  
 Stat(转录因子) 151  
 STMR-F(见:七次跨膜受体家族)  
 SH2 结构域 199  
 sHLA 分子 72  
 Src 同源结构域 141  
 杀伤细胞激活性受体 39  
 杀伤细胞抑制性受体 38,74  
 生发中心 56,172  
 神经细胞粘附分子 112  
 实验变态反应性脑脊髓炎 221,232  
 嗜碱粒细胞 44,177,209  
 嗜酸粒细胞 43,209  
 嗜异性抗原 6  
 噬菌体表面展示 61  
 噬菌体抗体库 61  
 受体谱 15,27  
 树突细胞 41,296  
 衰变加速因子 266,310  
 双功能抗体 60  
 双特异性抗体 60,290  
 双向移植排斥模式 299  
 顺位互补 72  
 丝氨酸/苏氨酸激酶 142  
 丝氨酸/苏氨酸磷酸酶 142  
 丝氨酸酯酶 181  
 丝裂原 7  
 丝裂原活化蛋白激酶 142,165  
 死亡结构域 102,182  
 死亡效应结构域 182  
 四次跨膜超家族 102  
 速发型超敏反应 177  
 宿主抗移植反应 296  
 髓鞘碱性蛋白 221,236  
 髓样树突细胞 42
- T**
- TAA(见:肿瘤相关抗原)  
 TAP(见:抗原加工相关转运蛋白)  
 TCR(见:T细胞抗原受体)  
 TD-Ag(见:胸腺依赖抗原)  
 T<sub>DTH</sub>(见:迟发型超敏反应 T 细胞)  
 TF(见:转录因子)  
 TGF- $\beta$ (见:转化生长因子- $\beta$ )  
 TI-Ag(见:非胸腺依赖抗原)  
 TIL(见:肿瘤浸润性淋巴细胞)  
 7TM-SF/STM-SF(见:七次跨膜超家族)  
 TNF(见:肿瘤坏死因子)  
 TNFR-F(见:肿瘤坏死因子受体家族)  
 TNFSF(见:肿瘤坏死因子超家族)  
 TRA(见:肿瘤排斥抗原)  
 TSA(见:肿瘤特异性抗原)  
 TCR-CD3 复合体 27,140  
 TSST(见:毒性休克综合征毒素)  
 TCR 基因 28  
 Th1 细胞 32,154,195,220,232  
 Th2 细胞 32,154,195,209,232  
 Th3 细胞 32  
 TNF 基因 68  
 T 淋巴细胞(T 细胞) 25,140  
 T 细胞表位 4  
 T 细胞活化连接蛋白 143  
 T 细胞抗原受体 27,136  
 T 细胞生长因子 87  
 T 细胞疫苗 203,308  
 糖基化依赖的细胞粘附分子-1 113  
 糖尿病 232,236,238  
 特征征 212  
 体细胞高频突变 14,18,56,174  
 体细胞重组 28  
 体液免疫 12  
 替代轻链基因 53  
 替代途径(补体) 11  
 天然免疫 8,241  
 天然自身抗体 226  
 调理素 12  
 调理作用 12  
 同系移植 293  
 同种型转换 56  
 同源限制因子 266  
 同种型 18,47  
 同种异型 18  
 同种异型移植 293

唾液酸化路昌糖	113	胸腺基质细胞	25
吞噬	9	胸腺细胞	25
吞噬细胞	242	胸腺依赖抗原	167
吞噬性廓清	252	序列特异性引物的 PCR 扩增(HLA 分型)	68
脱颗粒	210	PCR 扩增产物的序列直接分型	68
<b>V</b>		选择素	113
VCAM(见:血管细胞粘附分子)		选择性 IgA 缺乏病	259
VEC 抗原(见:内皮细胞特异性抗原)		选择性 IgG 亚类缺乏病	260
VLA(见:迟现抗原)		选择性 Ig 同种型缺乏病	259
<b>W</b>		血管细胞粘附分子	112
Wiskott-Aldrich 综合征	262	血清病	219
外源性变态反应性肺炎	218	血清阴性脊柱关节病	79
外周耐受	227	血小板内皮细胞粘附分子	112
完全造血嵌合体	309	血小板活化因子	236
微嵌合状态	298	循环树突细胞	42
未致敏(细胞)	15	<b>Y</b>	
无能	149, 161	炎症反应	9
<b>X</b>		阳性选择	26
X 性联无丙球蛋白血症	166, 259	移植物抗白血病病反应	303
I 型干扰素	83, 86	移植物抗宿主病	302
I 型糖尿病	79	移植物抗宿主反应	296
II 型补体受体	162	遗传性血管性水肿	266
III 型纤连蛋白	101	遗传性血红蛋白沉着症	75
系统发育	14	异种移植	293
系统性红斑狼疮	230	抑癌基因	275
细胞毒性 T 细胞	33, 154, 179	抑制性 T 细胞	34
细胞间粘附分子	111, 179	易感基因型	80
细胞裂解	12	疫苗接种	21
细胞免疫	12	阴性选择	26, 227
细胞免疫学	20	隐蔽抗原	228
细胞因子	82	原发性关联成分	69
细胞因子受体家族	89	<b>Z</b>	
细胞粘附分子	100	ZAP-70	141, 144
先导序列	74	载体	6
腺苷脱氨酶缺乏症	263	造血因子家族(细胞因子)	83
相对危险比	79	诊断免疫学	21
协同刺激	149, 227	阵发性夜间血红蛋白尿病	265
信号转导	96, 140, 164, 182, 209	整合素	101
胸腺	25	整合素家族(粘附分子)	109
		整膜蛋白	100

支架区(免疫球蛋白)	49	周期素	154
脂多糖	7,85	周期素依赖性激酶	153,154
脂类抗原	133	主动免疫	13
中和作用	176	主要组织相容性复合体	63,124
中枢耐受	26,227	主要组织相容性抗原	63,294
中性粒细胞	43	专职抗原递呈细胞	15,122
中央母细胞	173	转化生长因子- $\beta$	84,87,237
中央细胞	173	转接蛋白	143,165,183
肿瘤坏死因子	86	转录因子	151
肿瘤坏死因子超家族	101	自分泌	82
肿瘤坏死因子受体家族	91,101	自然杀伤细胞	38
肿瘤浸润性淋巴细胞	288	自身表位	227
肿瘤免疫学	273	自身反应性 B 细胞	227
肿瘤排斥抗原	274	自身反应性 T 细胞	227
肿瘤特异性共同抗原	275	自身免疫	226
肿瘤特异性抗原	273	自身免疫病	226
肿瘤特异性移植抗原	274	自身免疫性淋巴细胞增生综合征	204
肿瘤相关抗原	273	自体移植	293
肿瘤疫苗	286	组合多样性	55
重链(H 链)	46	组织蛋白酶	126
重症肌无力	230,238	祖先单元型	69
重症联合型免疫缺陷综合征	263	佐剂	4



**图书在版编目(CIP)数据**

免疫学原理 / 周光炎主编. —上海:上海科学技术文献出版社, 2000. 8

ISBN 7-5439-1574-X

I. 免… I. 周… III. 医药学:免疫学-高等学校-教材 N. R392

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 25583 号

责任编辑:方金善

封面设计:何永平

**免 疫 学 原 理**

主编 周光炎

\*

上海科学技术文献出版社出版发行

(上海市武康路 2 号 邮政编码 200031)

全国新华书店经销

上海科技文献出版社昆山联营厂印刷

\*

开本 787×1092 1/16 印张 22 字数 562 000

2000 年 8 月第 1 版 2000 年 8 月第 1 次印刷

印数:1-2 100

ISBN 7-5439-1574-X/R·410

定价:42.80 元