

- [29] Cooper, J. B., 1984, In Dugger, W. M., ed., *Structure & Biosynthesis of Plant Cell Walls*. Rockville, M. D., American Soc. of Plant Physiologists. pp 75—88.
- [30] van Holst, G. J., et al., 1980, *Planta*, 149: 209—212.
- [31] Fry, S. C., 1979, *Planta*, 146:3343—3351.
- [32] Fry, S. C., Street, H. E., 1980, *Pl. Physiol.*, 65:472—477.
- [33] Smith, M. A., 1981, *Pl. Physiol.*, 68: 956—963.
- [34] Basile, D. V., 1980, *Bull. Torrey Bot. Club*, 107:325—338.
- [35] Cooper, J. B., Varner, J. E., 1983, *Pl. Physiol.*, 73:324—328.
- [36] Joldsworth, M. J., Laties, G. G., 1989, *Planta*, 179:17—23.
- [37] Hammerschmidt, R., et al., 1984, *Physiol. Plant.*, 24:43—47.
- [38] Showalter, A. M., et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 82:6551—6555.

内皮细胞的免疫学功能

*吴金莹

**盛民立

(上海医科大学放射医学研究所)

应用体外细胞培养技术和免疫组织化学方法,可在组织细胞原位或离体活细胞表面检测抗原的种类、分布及含量变化,进行细胞表型及生物学功能研究,探讨某些疾病的发生机理。近十几年来,关于内皮细胞表面抗原的研究已有不少报道, Jaffe, E. A. 首先研究证明,体外培养的内皮细胞表面存在针对供体组织的红细胞 ABO 血型抗原^[1]和人类白细胞抗原(HLA 抗原)^[2],以后又发现内皮细胞表面能表达某些内皮细胞特异性抗原,例 E-抗原, EAG-1 抗原等^[3]。近年来,应用抗 leu 系列单克隆抗体检测到内皮细胞表面 T 淋巴细胞分化抗原的表达^[4]。说明,内皮细胞表面多种抗原成分的表达与机体免疫应答和免疫调节有密切联系。

一、内皮细胞表面 HLA 抗原、ABO 血型抗原与移植免疫的关系

移植免疫的中心问题是排斥反应,其结果导致移植器官的早期衰竭,移植失败。有关移植排斥的病理生理机制研究提示血管内皮细胞的作用^[5]。Dvorak 等研究证明^[6],皮肤移植中以广泛内皮细胞损伤为特征的初次排异反应者,早期内皮细胞膜破裂,细胞核缩小,细

胞坏死脱落,同时血管周围出现淋巴细胞和单核细胞浸润为主的损伤性改变,由于内皮细胞损伤引起血管腔狭窄,关闭及血液灌流减少,最终移植物被排斥。因此有人提出^[2],在器官移植排斥反应中,宿主免疫反应攻击的主要靶组织可能是供体移植器官的血管内皮细胞。Högman, C. F 和 Paul, L. C. 等用混合淋巴细胞培养和免疫荧光技术研究血管内皮细胞表面与移植免疫有关的人类主要同种异型抗原表达,结果在多种移植器官,例如肾、肝、脾、心、肺、皮肤等组织切片中,都证明血管内皮细胞表面存在针对供体组织的 ABO 抗原和 HLA 抗原^[7,8],研究结果支持这一假设,并进一步认为^[2],在供体器官几乎不含过路淋巴细胞情况下,引起受体免疫反应早期和主要的“异己”刺激物是移植器官的血管内皮细胞,它可刺激受体淋巴细胞致敏,导致移植器官的排斥。

50 年代末,组织培养技术的应用进入了一个繁盛阶段,为在离体活细胞上进一步研究细胞表面抗原的分布和表达开辟了前景。Jaffe, E. A. 首次成功地在体外长期传代培养

* 研究生, ** 导师

人脐静脉内皮细胞,并通过免疫荧光和透视电镜技术,观察培养细胞含ⅧvWF(Ⅷ-von Willebrand Factor)及特征性胞浆w-p小体(weibel-Palade bodies),证明人脐静脉内皮细胞在体外长期传代培养过程中,无明显变异倾向,保持着原位细胞及原代培养细胞的主要生物学特征,利用这些体外培养细胞作人类主要同种异型抗原分析^[1,2],结果表明,玻片培养生长呈汇合状态的人脐静脉内皮细胞,约1/3细胞用兔抗人H血凝素抗血清处理后,免疫荧光染色见到明亮的荧光颗粒,当抗血清事先用人“O”型红细胞吸收之后,则免疫荧光染色阴性,证明培养的内皮细胞表面有较强的“H”抗原表达,但在细胞上分布不均匀。用相同的方法检测“A”和“B”抗原呈阴性反应,而用混合细胞凝集试验检测到阳性反应^[1]。这种遗传控制的ABH抗原表达的差异性,有人提出与内皮细胞的分化有关^[9],在细胞分化的早期,可能“H”抗原表达为主,不表达或少量表达“A”和“B”抗原,而在细胞分化后期,“A”和“B”抗原的表达量增加。Jaffe, E. A.应用微量细胞毒方法和单克隆抗体检测培养内皮细胞表面HLA抗原分布特点,发现所有被测内皮细胞系中,都存在HLA-I类抗原的表达,其表达的抗原特异性与淋巴细胞HLA抗原特异性完全一致,在体外混合淋巴细胞培养中,能作为“异己”被识别,并刺激异体淋巴细胞发生增殖反应,这可能与体内受到相同的HLA遗传基因控制有关^[2]。内皮细胞表面HLA-II类抗原的表达存在部位特异性^[10],例如人肝血窦内皮细胞、肾小球毛细血管和肾小管周围毛细血管内皮细胞上可测到HLA-DR抗原位点,而人脐静脉内皮细胞、动脉壁内皮细胞表面,在生理情况下,通常缺乏HLA-II类抗原,但通过体外某些物质的诱导作用,能促进表达,现已证明,用 γ -干扰素(γ -IFN)^[11],刀豆球蛋白A(Con-A)^[12]、植物血凝素(PHA)^[13]肿瘤坏死因子(TNF)^[14]、白细胞介素-1(IL-1)^[14]、淋巴毒素(LT)^[11]等物质处理体外培养的内皮

细胞后,出现细胞内HLA-II类抗原基因转录增加,随即有胞浆m-RNA含量升高,这种变化与诱导物存在时间呈正相关,然后HLA-DR、-DP、-DQ位点抗原相继诱导合成,但HLA-DQ表达水平比HLA-DR略为低些^[14]。这种诱导表达的细胞表面HLA-II类抗原,其生物学意义目前有人认为至少有两方面^[15]:1.在同种异体器官移植中,由于内皮细胞受到体内某些因素的作用合成和表达的HLA-DR抗原,可明显地增强内皮细胞的免疫原性,刺激受体淋巴细胞发生增殖,直接产生对移植血管内皮细胞的细胞免疫反应和体液免疫反应,因此具有加速移植器官排出的作用。2.内皮细胞表面携带的HLA-II类抗原,也具有免疫辅助细胞的作用,能维持抗原诱导的淋巴细胞增殖反应,对机体免疫应答可能起调节作用。

内皮细胞表面存在红细胞ABO血型抗原和HLA抗原表达是肯定的。在器官移植免疫中,这些抗原分子与淋巴细胞、单核细胞表面抗原一样,直接影响供体和受体之间的组织相容性程度,是HLA型别不完全相符合的异体移植排斥反应的原因之一。此外,内皮细胞表面表达的内皮细胞/单核细胞抗原,有人认为^[15]是HLA型别完全相同的异体移植排斥反应的主要原因,所以内皮细胞在移植免疫中的作用是不可忽视的。

二、内皮细胞表面淋巴细胞相关抗原表达及在疾病中的意义

70年代末期,随着抗人T淋巴细胞单克隆抗体(McAb)的研制成功,使人类T细胞亚群的基础研究得以广泛开展,并沿用到内皮细胞免疫学特性的研究中。有关研究表明^[4,16],应用抗人T淋巴细胞分化抗原的单克隆抗体leu系列,leu-3a(辅助细胞)、leu-2a(抑制/杀伤细胞),通过ABC免疫酶标方法(Avidin Biotin-Peroxidase Complex),证明人内皮细胞与总T淋巴细胞单克隆抗体、leu-2a、leu-3a均呈阳性反应,分别为总T淋巴细胞单克

隆抗体阳性反应50%；leu-2a为53%；leu-3a为63%。leu-3a/leu-2a为63/53 \gt 1。提示内皮细胞表面存在淋巴细胞相关抗原的表达，但T细胞各亚群抗原含量分布不均^[17]，这种细胞表面分子的存在，可能与内皮细胞-淋巴细胞之间的相互协同作用有关，而这两种细胞表面分子的相互作用，对于T淋巴细胞的激活，增殖反应以及整个机体免疫自稳作用的维持，正常免疫监视功能的发挥都起到重要的调节作用。

Maruyama, N等用抗人淋巴细胞单克隆抗体研究疾病时内皮细胞上淋巴细胞亚群抗原分布的变化，发现赘生性血管内皮细胞瘤(Neoplastic Angioendotheliomatosis)病人，其内皮细胞表面有leu-1、leu-3、leu-10、leu-M3、HLA-DR和HLA-DQ的表达，说明某种致病因素引起原位内皮细胞多个遗传位点或基因点的突变，可使内皮细胞起源的肿瘤获得恶性淋巴瘤组织的遗传特征，细胞表面同时有T淋巴细胞和B淋巴细胞相关抗原的异常表达^[18]。

三、内皮细胞HLA-II类抗原与抗原提呈、淋巴细胞粘附的关系

如前所述，内皮细胞表面HLA-II类抗原(又称主要组织复合物II类抗原——MHC-II类抗原或I₂抗原)不像HLA-I类抗原(又称MHC-I类抗原)几乎普遍存在所有组织中，HLA-II类抗原的组织分布有很大的局限性，通常内皮细胞表面HLA-II类抗原缺乏，在体外 γ -IFN诱导下，能增加HLA-I类抗原表达，同时诱导HLA-II类抗原表达^[19]。70年代初期，在研究正常机体免疫应答反应中发现^[20]，体内免疫活性细胞(T淋巴细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞)之间的相互作用受MHC-II类抗原的约束，即这些细胞之间必须具有相同的MHC-II类抗原才能发挥协同作用。目前已了解到^[12]具有抗原提呈作用的细胞(抗原提呈细胞-APC)都是I₂阳性的巨噬细胞，这些

Ia分子通过细胞间的相互识别机制与外来抗原结合，在APC表面形成抗原-MHC复合物，致敏T淋巴细胞，然后通过激活APC，释放IL-1，进一步促进T淋巴细胞的增殖和分化，维持正常的免疫反应。

脐静脉内皮细胞用人工方法诱导表达的Ia抗原，在淋巴细胞-内皮细胞混合培养中，能刺激异体淋巴细胞发生增殖反应^[12]，当内皮细胞培养基中加入高浓度的抗原，然后再加T淋巴细胞，T淋巴细胞普遍出现明显的增殖反应，并随内皮细胞或巨噬细胞数量增加反应加强。提示引起T细胞致敏的HLA-DR抗原决定簇存在内皮细胞表面，这种HLA-DR抗原无论在体内或体外都具有向致敏T淋巴细胞提呈抗原的作用(APC作用)，或具有辅助细胞的早期刺激作用，这种作用在体外可被特异性的抗HLA-DR抗血清阻断^[21]。内皮细胞与T淋巴细胞之间的相互作用同样受到HLA-DR分子的限制，其最佳抗原诱导反应，证明发生在T细胞和内皮细胞具有共同HLA-DR抗原的结合反应中，而内皮细胞与HLA-DR不相容的T淋巴细胞之间的协同作用非常弱^[12,21]。

淋巴细胞粘附血管内皮细胞机制研究表明^[22]，被淋巴细胞粘附的血管内皮细胞都是HLA-DR抗原阳性，而粘附到HLA-DR阳性细胞上的淋巴细胞是leu-3⁺T淋巴细胞，这两种细胞的结合效应，可被抗HLA-DR抗体完全阻断，抗leu-3a抗体也能有效抑制T细胞粘附内皮细胞作用，但抗HLA-ABC抗体、抗HLA-DP抗体和抗HLA-DQ抗体对其无抑制作用，提示T淋巴细胞leu-3(T4)受体与内皮细胞表面HLA-DR抗原的特异性结合，在leu-3⁺T淋巴细胞选择性粘附内皮细胞反应中起重要的调节作用^[19,22]。

内皮细胞表面HLA-II类抗原的表达，除了在移植免疫中具有重要的生物学意义，还在正常免疫应答及体内某些细胞介导的炎症反应中起提呈异体抗原，致敏T淋巴细胞，促进淋巴细胞选择性粘附的作用。因此有人认为^[21]

内皮细胞具有巨噬细胞样抗原提呈和辅助细胞的功能。

四、内皮细胞表面抗原的异常表达与疾病的关系

内皮细胞表型改变与临床某些疾病的发生之间的关系是近年来研究较多的一个方面,愈来愈多的临床资料证明,某些疾病的病变器官血管内皮细胞表面常有HLA抗原的异常表达,尤其多见于自身免疫性疾病。例如实验性自身免疫性肌炎的骨骼肌血管内皮细胞有MHC-II类抗原的异常表达,并通过CD4⁺T淋巴细胞反应,产生肌肉的病理损伤^[23];牛皮癣病人受损的皮肤血管内皮细胞有IgG-Fc受体和HLA-DR抗原的异常表达^[24];皮肤进行性系统性硬化症病人,皮肤血管内皮细胞HLA-DR抗原有丢失现象,同时伴激活的T淋巴细胞缺乏^[25]。引起内皮细胞表型改变的机制目前还不清楚,是否与某种病理情况下,机体受到局部非特异性感染产生的 γ -IFN诱导作用,或淋巴细胞局部浸润作用,或者是致病病毒直接作用于MHC调节基因,通过基因水平的选择性激活作用,引起病变器官或组织的血管内皮细胞HLA-II类抗原的异常表达,从而产生和加重器官的病理性损伤,成为某些疾病恶化和迁延不愈的重要发病环节之一,此问题有待研究证实^[23-25]。

总之,内皮细胞表面具有多种抗原表达的生物学特性,而这些表面抗原分子的表达又与正常体内的免疫应答反应、移植免疫、自身免疫性疾病及某些细胞介导的炎症反应关系密切。

摘 要

本文通过对血管内皮细胞免疫学特性有关方面的文献综述,证明内皮细胞表面存在ABO血型抗原和HLA抗原的正常表达。同时比较全面地介绍了近年来用ABC-免疫酶标方法检测内皮细胞表面T淋巴细胞分化抗原的研究进展,以及某些疾病时内皮细胞表面抗原异常表

达的研究动向,提示血管内皮细胞的免疫学功能与整个机体免疫应答调节有关,其表型改变与某些疾病发病有关。

参 考 文 献

- [1] Jaffe, E. A. et al., 1973, *J. Clin. Invest.*, 52: 2745—2756.
- [2] Jaffe, E. A. et al., 1975, *J. Immunol.*, 115: 730—733.
- [3] Blankert, J. J. et al., 1987, *Transplantation.*, 43: 736—741.
- [4] 盛民立等, 1988, 第一届全国分子生物物理学术大会。
- [5] Ryan, U. S., 1988, *Endothelial Cell.*, 3: 229—238. CRC Press, Inc. Boca Paton, Florida.
- [6] Dvorak, H. F. et al., 1979, *J. Exp. Med.*, 150: 322.
- [7] Högman, C. F. 1959, *Vox. Sang.*, 4: 319.
- [8] Paul, L. C. et al., 1981, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 19: 206—223.
- [9] Oriol, R. et al., 1984, *Lab. Invest.*, 50: 514—518.
- [10] Neppert, J. et al., 1984, *Tissue Antigens.*, 24: 40—47.
- [11] Lapiere, L. A. et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 167: 794—804.
- [12] Hirschberg, H. et al., 1982, *Immunological Reviews.*, 66: 57—78.
- [13] Pober, J. S. et al., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 79: 6641—6645.
- [14] Ryan, U. S., 1988, *Endothelial Cell.*, 2: 259—267.
- [15] Schook, L. B. et al., 1987, *Transplantation.*, 44: 412—416.
- [16] 盛民立等, 1987, 上海医科大学学报, 14: 71—73.
- [17] 盛民立等, 1988, 全国组织细胞培养技术交流大会。
- [18] Maruyama, N. et al., 1987, *Appl. Pathol.*, 5: 246—252.
- [19] Jaffe, E. A. et al., 1987, *Hum. Pathol.*, 18: 234—239.
- [20] Wanger, C. R. et al., 1984, *Immunology.*, 168: 453.
- [21] Hirschberg, H. et al., 1981, *Scand. J. Immunol.*, 14: 545—553.
- [22] Masuyama, J. I. et al., 1986, *J. Clin. Invest.*, 77: 1590—1605.

[23] Rosenberg, N. L. et al., 1989, *J. Immunol.*, 142: 4289—4294.

[24] Bjerke, J. R. et al., 1988, *Acta. Dermatol.*

Venerol., 68: 306—311.

[25] Andrews, B. S. et al., 1986, *J. Rheumatol.*, 13: 341—348.

果蝇前后图式基因调控的层次性(下)

赵德标

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

四、体节缺口基因的表达调控

在母性效应基因作用下,体节缺口基因对沿着胚胎前后轴的第二分区非常重要。*kr*, *hb* 和 *kni* 三个缺口基因突变可引起胚胎体节相互重叠区域的缺失(图1B1)。*hb* 突变影响第二胸节以前区域,*kr* 突变影响第一胸节和第六腹节之间区域,而 *kni* 突变则影响整个腹节区。另外 *sal*, *til*, *hkb* 和 *fk* 基因分别作用于胚胎的两末端。

这些基因,例如 *kr* 和 *hb*, 在胚胎中表达的区域,以及它们之间的互相作用,证实胚胎

分区的存在。*hb* 和 *kr* 的转录本和蛋白产物主要都出现在这两个基因突变时受影响的体节区,但范围小一些^[29,30]。这样,虽然这两种突变胚胎中体节缺失区相互重叠,但它们的囊胚转录区只显示相互毗邻(图3)。这种差异可能因为一个基因产物在一定范围内抑制了另一个基因的表达。观察不同突变中这两个基因的转录,发现在 *hb* 或 *kni* 突变胚胎中,*kr* 表达分别向前或向后延伸,而在 *kr* 或 *kni* 突变胚胎中,*hb* 表达只在 *kr* 突变时向后延伸(图3)。*Meinhardt*^[31]曾提出在一套相邻体节区中,多个基因可确定其每个体节区的特性。似乎这些

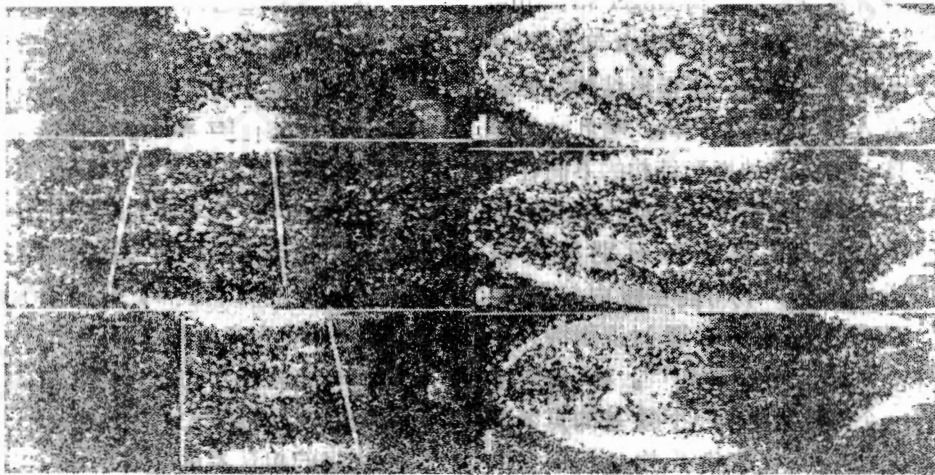


图3 果蝇体节缺口基因之间相互调节

野生型和体节缺口基因突变囊胚期胚胎横切片上,*kr* 和 *hb* 转录子的原位杂交(暗视野)。(a) *kr* 在野生型胚胎中表达,*kr* 表达区(白带)相当于12-14细胞宽的带。(b) *kr* 在 *hb* 和(c)在 *kni* 突变胚胎中的表达。注意:*kr* 表达区扩展入邻近缺口基因区。(d) *hb* 在野生型胚胎中的表达。(e) *hb* 在 *kr* 和(f)在 *kni* 突变胚胎中的表达。注意:*hb* 表达带仅仅在 *kr* 突变胚胎中加宽^[59]。