

序列测定、cDNA 克隆、基因合成与表达及生物学功能等方面的研究概况,并介绍了其基因组序列、细胞受体及构象方面的最新进展。

参 考 文 献

- [1] Balkwill, F. R. & Burke, F., 1989, *Immunol. Today*, 10: 299.
- [2] Yoshimura, T. et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 9233.
- [3] Peveri, P. et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 167: 1547.
- [4] Van Damme, J. et al., 1989, *Eur. J. Biochem.*, 181: 337.
- [5] Gregory, H. et al., 1988, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 151: 883.
- [6] Larsen, C. G. et al., 1989, *Science*, 243: 1464.
- [7] Furuta, R. et al., 1989, *J. Biochem.*, 106: 436.
- [8] Walz, A. et al., 1987, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 149: 755.
- [9] Yoshimura, T. et al., 1989, *Mol. Immunol.*, 26: 87.
- [10] Matsushima, K. et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 167: 1883.
- [11] Wolpe, S. D. & Creami, A., 1989, *FASEB J.*, 3: 2565.
- [12] Gronenborn, A. M. & Clore, G. M., 1991, *Protein Engineering*, 4: 263.
- [13] Lindley, I. et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 9199.
- [14] Tanaka, S. et al., 1988, *FEBS Letters*, 236: 467.
- [15] 金冬雁等, 1992, *中国科学*, 9: 951.
- [16] Sticherling, M. et al., 1989, *J. Immunol.*, 143: 1628.
- [17] Ji Ming Wang, et al., 1990, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 169: 165.
- [18] Baggolini, M., et al., 1989, *J. Clin. Invest.*, 84: 1045.
- [19] Wymann, M. P. et al., 1987, *J. Biol. Chem.*, 262: 12048.
- [20] Dahinden, C. A. et al., 1989, *J. Exp. Med.*, 170: 1787.
- [21] Djeu, J. Y. et al., 1990, *J. Immunol.*, 144: 2205.
- [22] van Damme, J. et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 167: 1364.
- [23] Strieter, R. M. et al., 1989, *Science*, 243: 1467.
- [24] Mukaida, N. et al., 1989, *J. Immunol.*, 143: 1366.
- [25] Samanta, A. K., 1990, et al., *J. Biol. Chem.*, 265: 183.
- [26] Holmes, W. E. et al., 1991, *Science*, 253: 1278.
- [27] Murphy, P. M. et al., 1991, *Science*, 252: 1280.
- [28] Clore, G. M. et al., 1989, *J. Biol. Chem.*, 264: 18907.
- [29] Clore, G. M. et al., 1990, *Biochemistry*, 29: 1689.
- [30] Baldwin, E. T. et al., 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 502.

Ly-1 B 淋 巴 细 胞

丛 英 姿

(山东大学生物系, 济南, 250100)

自 Lanier 等^[1]发现鼠类 B 淋巴瘤表达 ly-1 抗原和 Manohar 等^[2]在正常鼠类脾脏中发现携带 Ly-1 抗原分子的 B 细胞后, 对 Ly-1 B 细胞及其人类相当的细胞——CD 5 细胞的研究引起了广泛的关注和兴趣。本文报道了近年来对 Ly-1 B 细胞的研究进展。

一、ly-1 B 细胞的发现

Cantor 和 Boyse^[3]于 1975 年首次确定 Ly-1 是鼠类淋巴细胞表面糖蛋白。最初认为它主要在 T 辅助细胞上表达, 后来发现所有 T 细胞都表达 Ly-1^[4], 因而认为 Ly-1 是 T 细胞

的特异性标志抗原。1981年, Lanier等^[1]令人惊奇地发现一些鼠类B细胞瘤表达Ly-1, 并且在人类大多数慢性B淋巴细胞白血病(B CLL)细胞上也测到了Ly-1相当的分子——CB5的表达^[6]。随之在自身免疫品系小鼠(NZB)和正常小鼠中也发现了带有ly-1的B细胞^[2], 并且一小部分正常人B细胞带有CD5^[6]。至此, 早期一系列的发现表明在鼠类和人类B细胞中存在一类Ly-1 B细胞。

二、Ly-1 B细胞的特征

Ly-1 B细胞具有独特的细胞表型, 除具有Ly-1抗原分子外, 它们还表达B细胞所特有的全部表面抗原分子, 如SIgM、SIgD、B220等, 但不表达其他T细胞表面抗原, 如Thy-1、CD4、CD8。然而, Ly-1 B细胞表面抗原的表达程度与大多数脾脏或淋巴结B细胞不同, 如SIgM的表达是普通B细胞的3—5倍, 而SIgD的表达则低于普通B细胞的5—10倍。这种差别在脾脏Ly-1 B细胞中较为明显。Ia、ThB、B220和某些与未成熟或活化B细胞相关的抗原, 如BLA-1、BLA-2等在Ly-1 B细胞上表达较低, 而Ly-24高度表达, 并且表达J11d, 但缺少CD23的表达^[7]。有些Ly-1 B细胞带有Mac-1。Ly-1 B细胞形态上略大于普通B细胞。但迄今为止尚无任何一种标志单独就足以确定Ly-1 B细胞, 只有运用流式细胞计(FACS)采用双染或三染, 将几种标志联系在一起, 才能清楚地区分Ly-1 B细胞, 以进行分析或分离研究。

Ly-1 B细胞在正常和免疫缺陷品系小鼠中出现的机率不同。正常和免疫缺陷品系个体具有其特定的、受遗传控制的Ly-1 B细胞比率。一般来说, 免疫上正常品系的小鼠中其Ly-1 B细胞数量大致相同, 而免疫缺陷小鼠中Ly-1 B细胞比率则趋于显著升高(如NZB和MeV小鼠)或明显降低(如CBA/N和其他Xid品系小鼠)^[8]。用单克隆抗Ig抗体处理正常品系的新生小鼠, 在成体时即可得到与上述

相似的异常Ly-1 B细胞比率。这样处理所导致Ly-1 B细胞选择性地存活或缺失则依赖于试剂的特异性^[9]。

三、Ly-1 B细胞在体内的分布

Ly-1 B细胞在体内不同淋巴器官中出现的比率与普通B细胞不同, 在脾脏和外周血出现的比率相当低, 但大量存在于腹腔细胞中, 约占全部腹腔细胞的10—40%。相反, 正常情况下在骨髓、淋巴结、Peyer's斑和胸腺中测不到Ly-1 B细胞的存在。总起来讲, Ly-1 B细胞仅占正常成体小鼠全部B细胞的1%左右。

Ly-1 B细胞在个体发育过程中的变化是其最显著的特征之一。新生鼠中, 超过50%的B细胞是Ly-1 B细胞, 这种相对较高的比率一直持续到2—3周龄^[8]。这种现象不仅限于腹腔细胞, 在NZB小鼠脾脏也是类似的。幼年NZB小鼠脾脏中约30%的 μ^+ 细胞为Ly-1 B细胞。随着动物的成熟, Ly-1⁻ B细胞迅速增多, Ly-1⁺ B细胞的相对比率降低到成年鼠水平, 即正常品系小鼠占脾脏B细胞的1—2%, 在NZB小鼠占5—10%。但腹腔中仍具有相对较多的Ly-1⁺ B细胞。腹腔中含大量Ly-1 B细胞的机制尚不清楚, 可能与Ly-1 B细胞的“定居”(Homing)有关。

四、Ly-1 B细胞的重建与Ly-1 B细胞前体

一般认为, 成体骨髓细胞移植可以重建致死性照射的受体鼠所有B细胞群, 但是Hayakawa等^[10]发现尽管骨髓细胞移植可重建脾脏和淋巴结中主要B细胞群, 但通常不能重建即使是微小数目的Ly-1 B细胞。若移植新生脾或新生肝的Ig⁺或Ig⁻细胞或成体腹腔Ly-1 B细胞则能使Ly-1 B细胞得以重建。纯化的腹腔SIgM Ly-1⁺ B细胞几乎可以使腹腔和脾脏Ly-1⁺ B细胞自身完全重建, 并且所重建的Ly-1 B细胞可以维持一相当长的时间(至少6

个月)^[11]。

骨髓细胞不能重建 Ly-1 B 细胞似乎是由于骨髓中缺少 Ly-1 B 细胞前体, 因为将同种异型的原始细胞移植或同基因型骨髓及其他来源如新生肝、腹腔等细胞进行组合后共同移植时, 不同的组合对重建的选择性没有任何调控性影响, 所重建的细胞群在质和量上都相同, 并且在受体中至少以正常比例存在 6 个月以上, Ha-yakawa 等在做骨髓移植实验时偶尔也发现有 Ly-1 B 细胞的重建, 但他们没有找到能重复的条件, 这可能是由于骨髓中 Ly-1 B 细胞原始细胞比率不同的缘故。

最近我们发现^[7], Ly-1⁺B 细胞来源于 Ly-1⁻B 细胞; Ly-1⁻B 细胞在非胸腺依赖-2 型抗原及抗免疫球蛋白抗体等膜交联试剂的刺激下活化而表达 Ly-1 抗原分子, 成为 Ly-1⁺B 细胞, 并且推测只有来源于胚肝的 B 细胞具有这种性质。

五、Ly-1 B 细胞与自身抗体

由于 Ly-1 B 细胞最初是在自身免疫品系小鼠 NZB 中所发现的, 因而首先就考虑到其与自身免疫疾病的关系。NZB 脾脏细胞体外培养时分泌大量的包括自身抗体在内的 IgM。这种“自发性”分泌常常只来自 Ly-1 B 细胞, 在 Ly-1 B 细胞所产生的 IgM 中, 自身抗体总是占很高的比例^[12]。由于较年轻的 NZB 小鼠的血清中总 IgM 的量和脾脏 Ly-1 B 细胞的数量大致相关, 因而 NZB 小鼠中 Ly-1 B 细胞含 IgM 分泌细胞的比率可能高于普通 B 细胞中的比率, 并且分泌的 IgM 主要为自身抗体。

对 MeV 小鼠的研究也显示了 Ly-1 B 细胞与自身抗体分泌之间的关系。由于 MeV 小鼠中几乎所有的 B 细胞都是 Ly-1 B 细胞, 因而 MeV 小鼠异常高水平的自身抗体肯定与 Ly-1 B 细胞紧密相关^[13]。

对正常小鼠的研究也发现了上述相关性, 特别是发现一组与用菠萝蛋白酶处理过的小鼠红细胞(BrMRBC)相作用的自身抗体与 Ly-1 B

细胞密切相关。Bussard 等^[14]在未经免疫的小鼠腹腔中测到了抗-BrMRBC 抗体分泌细胞。分离实验表明, 在腹腔中至少 80% 的抗-BrMRBC 的溶血空斑生成细胞来源于 Ly-1 B 细胞。正常情况下, 在脾脏也能测到一定比率的抗-BrMRBC 生成细胞。小鼠品系差异也表明 Ly-1 B 细胞比率与抗-BrMRBC 的量相平行。含大量 Ly-1 B 细胞的 NZB 小鼠的血清中含有大量的抗-BrMRBC 抗体, 将 Xid 突变基因引入 NZB 小鼠, 抗-BrMRBC 分泌细胞和 Ly-1 B 细胞都急剧减少^[8, 15]。

最近, Mercolino 等^[16]发现, 抗共同膜磷脂, 磷脂酰胆碱的抗体是由 Ly-1 B 细胞产生的, 在正常未经免疫的小鼠中它们由 10—15% 的 Ly-1⁺ B 细胞所生成, 而与 Ly-1⁻B 细胞无关。这就进一步说明, Ly-1 B 细胞为自身抗体的主要生产者。

六、Ly-1 B 细胞与肿瘤发生

许多证据表明, 相当多的鼠类 B 细胞瘤都表达 Ly-1。许多 B 淋巴瘤, 无论是自发性地或由病毒所诱发的, 都表达 Ly-1^[1, 17]。

Haughton 等^[18]对 CH B 细胞淋巴瘤进行了很多研究, 发现所有 27 种 CH B 淋巴瘤都表达 IgM, 同时不同程度地表达 Ly-1, 这充分显示了 Ly-1 B 细胞与 B 淋巴瘤之间的相关性。

CH 淋巴瘤的抗体特异性表明它们是一组与磷脂或存在于 SRBC、BrNRBC 或 E. Coli 上的相应决定簇反应的抗体。Bishop 等^[19]用一种抗个体独特型抗体确定了正常脾脏中相应的 B 细胞, 并且发现分泌与 SRBC 和 BrMRBC 反应的抗体的细胞为 Ly-1⁺。Davidson 等^[17]发现在 NFS/NV 同系小鼠(易于发生非胸腺淋巴瘤和骨髓起源的白血病)中所产生的所有 B 淋巴瘤几乎都表达 Ly-1。

尽管 Ly-1 B 细胞和相关的细胞株尚未明确地表明其具有特征性的癌基因表达, 大部分由 Abelson 小鼠白血病病毒转化所产生的 B 细

胞株表达 Ly-1 的并不多,但大部分由不同反转录病毒(具 *fos*、*ras*、*src* 癌基因)所转化的细胞株都表达 Ly-1,并且表现 *c-myc* 基因扩增和过量表达^[20]。

七、Ly-1 B 细胞免疫球蛋白基因的表达

表达 λ 轻链的 B 细胞的比例在腹腔 Ly-1 B 细胞比在普通 B 细胞中要高得多,一般可高达 10—20%^[13],不同的 Ly-1 B 细胞瘤及体外细胞株都表达 λ 链而不表达 κ 链。有趣的是,其中一株细胞瘤(NFS-5)随着细菌脂多糖(LPS)的缺乏或存在,其细胞表面上 κ 和 λ 的表达也有所改变。在有 LPS 存在的情况下,可以诱发其以与前 B 细胞淋巴瘤 70 N/3 相似的方式表达 κ 轻链。与已被广泛接受的准则相反,当用 LPS 继续培养时,这些 κ^+ 细胞株则发生原先种系(*germ-line*)基因 λ 轻链位点的重排和 λ 轻链在细胞表面上的表达^[21]。撤除 LPS 后 κ 轻链重新表达,表明这种细胞株中原已表达的 κ 等位基因仍然存在。一般所公认的轻链重排模式为:只有在两个 κ 等位基因都不能产生有效重排时, λ 轻链位点才可以重排并表达,但上述 NFS-5 的行为却明显与该模式相冲突。这种轻链表达转换(*switch*)的情况在重建的受体小鼠腹腔 Ly-1 B 细胞中并不常见。移植用 FACS 分离的 κ^+ 细胞后,受致死性照射的受体所产生的几乎全是 κ^+ Ly-1 B 细胞,而用 FACS 分离的 κ^- 细胞则几乎全部产生 λ^+ Ly-1 B 细胞^[11]。不过, λ 轻链在正常腹腔 Ly-1 B 细胞中表达增多也显示了 Ly-1 B 细胞分化中独特的基因调控。

与 B 细胞分化正常模式相矛盾的另一点是, NFS-5 细胞株免疫球蛋白重链在缺乏轻链表达的情况下可以在细胞表面上表达^[21]。Herzenberg 等^[22]在研究 IgM 重链转基因鼠时发现,等位基因排斥规律在 Ly-1 B 细胞中明显失灵。我们的实验也得到了类似的结果。

尽管杂交瘤、骨髓瘤和正常脾脏及淋巴结 B 细胞趋于自 J 558 V_H 基因家族表达 V_H 基因,

但有些实验表明从富含 Ly-1 B 细胞的淋巴组织所产生的杂交瘤常常表达属于 7183、Q 52 和 S-107 V_H 基因家族的 V_H 基因,它们位于比 J 558 家族更靠近 IgCH 区的部位。Hardy 等^[23]发现由纯化的 Ly-1 B 细胞所产生的抗 -BrMRBC 杂交瘤主要表达 V_H 11 基因家族。

最近一些实验室对 Ly-1 B 细胞杂交瘤所编码的产生自身抗体的基因进行了研究,发现自然或与红斑狼疮相关联的抗 DNA 抗体是由种系(*germline*) V_H 基因所编码,因而 Ly-1 B 细胞可以利用种系 V_H 基因而不需要体细胞突变的任何修饰^[24]。

对 Ly-1 B 细胞瘤的研究还揭示了 V_H 基因取代现象的存在,即在已发生功能性 VDJ 重排并开始产生该重排所特异地 Ig 重链的细胞中, V_H 基因可以被取代,并在这些细胞中表达利用新替代的 V_H 基因的 Ig 重链。

八、结束语

尽管近 10 年来对 Ly-1 B 细胞展开了很多研究,但对 Ly-1 B 细胞的了解仍处于初步阶段。目前研究重点主要在对 Ly-1 B 细胞的性质、功能, Ly-1 B 细胞的分化及 Ly-1 B 细胞与 B CLL 和自身免疫疾病发生之间的关系等方面的研究,预计在不远的将来对 Ly-1 B 细胞的了解将会有有一个大的飞跃。

摘 要

Ly-1 B 细胞是近年来发现的一种淋巴细胞,它们既带有典型的 B 淋巴细胞表面抗原,又表达 T 淋巴细胞抗原——Ly-1 分子与普通 B 细胞相比, Ly-1 B 细胞具有其独特的性质,参与自身抗体的分泌,并与慢性 B 淋巴细胞白血病的发病有关。本文报道了近年来对 Ly-1 B 细胞的研究进展。

参 考 文 献

- [1] Lanier, L. L., et al., 1981, *J. Exp. Med.* 153: 998.
- [2] Manohar, V., et al., 1982, *J. Immunol.*

- 129: 532.
- [3] Cantor, H., & E. A. Boyes, 1975, *J. Exp. Med.* 141: 1376.
- [4] Ledbetter, J. A. et al., 1980, *J. Exp. Med.* 152: 280.
- [5] Wang, G. Y., et al., 1980, *J. Exp. Med.* 151: 1539.
- [6] Caligaris-Cappio, F., et al., 1982, *J. Exp. Med.* 155: 623.
- [7] Cong, Y., et al., 1991, *Int. Immunol.* 3: 467.
- [8] Hayakawa, K., & R. R. Hardy, 1986, *Eur. J. Immunol.* 16: 450.
- [9] Lalor, P. A., et al., 1989, *Eur. J. Immunol.* 19: 501.
- [10] Hayakawa, K., et al., 1986, *Eur. J. Immunol.* 16: 1313.
- [11] Hayakawa, K., et al., 1985, *J. Exp. Med.* 161: 1554.
- [12] Hayakawa, K., et al., 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 2494.
- [13] Sidman, C. L., et al., 1986, *Science*, 232: 1423.
- [14] Bussard, A. E., 1986, *Science*, 153: 887.
- [15] Rosenbery, Y. J., 1979, *J. Exp. Med.* 150: 1561.
- [16] Mercolino, T. J., et al., 1989, *J. Exp. Med.* 168: 687.
- [17] Davidson, W. F., et al., 1984, *J. Immunol.* 133: 744.
- [18] Haughton, G., 1986, *Immunol. Rev.* 93: 35.
- [19] Bishop, G. A., & G. Haughton, 1985, *Immunogenetics*, 21: 335.
- [20] Holmes, K. L., et al., 1986, *J. Exp. Med.* 164: 443.
- [21] Hardy, R. R., et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83: 1483.
- [22] Herzenberg, L. A., et al., 1987, *Nature*, 329: 71.
- [23] Hardy, R. R., et al., 1989, *J. Immunol.* 142: 3643.
- [24] Cairns, E., et al., 1989, *J. Immunol.* 143: 685.

果蝇胚胎背腹图式的早期形成*

赵德标

(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

果蝇的卵和胚胎具有前后体节图式和背腹组织图式,二者明显地不同,分别由前后和背腹图式基因控制。关于前后图式的决定和形成见前文^[1,2]。

果蝇胚胎背腹图式指不同组织(包括中胚层,腹方上皮和神经束,背方上皮和羊浆膜等)在背腹方向的分布图式。遗传学,胚胎学和近来的分子生物学研究资料表明,背腹图式形成的途径是由背腹图式基因在转录和转译水平的调控,以及通过细胞间相互作用等共同组成的^[3]。在这些基因的作用下,位于背腹轴上不同水平的囊胚细胞分别分化为不同的组织。

一、果蝇背腹图式

野生型果蝇卵一旦成熟,就已明显具有前

后和背腹轴性。一般背面较平,前部背方具有卵孔,而腹面呈弯曲状(图2c)。

受精后的卵经过9次快速核分裂,产生的核向卵表面迁移,分布在周缘细胞质层内。这些卵核再分裂4次,在卵表面层共形成约6000个核。这个时期的胚胎称合胞体囊胚。然后细胞膜从卵表面在细胞核之间向下延伸,每个核连同一部分细胞质各自形成一个细胞,成为细胞囊胚。

合胞体囊胚时,周缘的细胞核各自处在胚胎前后轴和背腹轴的不同位置上。这种位置的不同决定了每个细胞的发育命运^[4]。前后位置

庄孝德教授曾对本文提出宝贵的意见,特表谢意。