

- Acad. Sci. USA, 75: 3771—3775.
- [29] Dinsmore, J. H. and R. D. Sloboda, 1988, *Cell*, 53: 769—780.
- [30] Pines, J. and T. Hunt, 1987, *EMBO J.* 6: 2987—2995.
- [31] Newport, J. W. and M. W. Kirschner, 1984, *Cell*, 37: 731—742.
- [32] Reed, S. I. et al., 1985, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 82: 4055—4059.
- [33] Simanis, V. and P. Nurse, 1986, *Cell*, 45: 261—268.
- [34] Draetta, G., et al. 1989, *Cell*, 56: 829—838.
- [35] Mendenhall, M. D. et al., 1987, *Cell*, 50: 929—935.

胸腺 B 细胞的研究

于士广 丛英姿

(山东大学生物学系 济南, 250100)

鸟类法氏囊, 哺乳动物的胚肝、骨髓是人们公认的 B 淋巴细胞中央淋巴器官。而胸腺是 T 淋巴细胞分化的中央淋巴器官, 由胚肝、骨髓来源的前体 T 细胞在此分化成熟为 T 细胞。近年来发现在胸腺内也存在少量 Ig^+B 细胞^[1], 特别是患有自身免疫疾病如重症肌无力(MG)、系统红斑狼疮(SLE)病人的胸腺内存在 B 淋巴滤泡和大量的浆细胞^[2,3]。在一系列自身免疫小鼠如(NZB×NZH) F_1 、MRL/Mp-lpr(MRL/lpr)和 BXSB 等也观察到类似现象。因此, 学术界对胸腺 B 细胞的表型、发生、功能等产生了极大的兴趣, 结合现代细胞分离技术和免疫酶标检测手段, 对胸腺 B 细胞进行了深入研究。本文报道了近几年来对胸腺 B 细胞的研究。

胸腺 B 细胞的表型

Miyama-Inaba 等采用 65% Percoll 密度梯度离心, 收集介质与 Percoll 溶液界面之间低浮力密度胸腺细胞, 再经抗-Thy-1.2, CD 4, CD 8 加补体杀死 T 细胞, 即可获得富含胸腺 B 细胞的类群(也叫低浮力密度胸腺细胞), 约占全部胸腺细胞总数的 1% 左右。

从正常小鼠胸腺分离纯化的 B 细胞, 其中膜表面 Ig 阳性(sJ^+g)细胞占低浮力密度胸腺细

胞总数的 3—90%。免疫酶标检测表明, 大多数胸腺 B 细胞表达 $CD5^+$ 表面抗原, 而脾脏 B 细胞为 $CD5^-$ 用抗-CD 5 单抗加补体能够杀死胸腺 B 细胞, 抗-Thy-1.2, CD 4, CD 8 等抗 T 细胞抗体加补体则对胸腺 B 细胞不产生毒害作用。尽管胸腺 B 细胞和脾脏 B 细胞都有 sIg, 但多数胸腺 B 细胞较弱地表达 B 220、Ia 表面抗原, 相对较多表达 Mac-1 (CD 11 b) 和 $CD5^{[4]}$, 与腹腔 $CD 5^+$ B 细胞特性相似^[5], 而脾脏 B 细胞的表型为 $CD5^-$ 、 $CD 11 b^-$, 对 C 57 BL/6 小鼠、年幼的 NZB 小鼠胸腺 B 细胞的研究也得到相似的实验结果。

近年来对人类 MG 患者胸腺 B 细胞的研究报道较多。MG 患者低浮力密度胸腺 B 细胞占全部胸腺细胞总数的 $0.83 \pm 0.15\%$ ^[6]。Lepri-ncce 等对 MG 患者胸腺进行免疫荧光分析, 发现胸腺内具有生发中心, $IgM^+ IgD^+$ 双阳性细胞位于生发中心边缘, 处于分化过程中的 $IgM^+ IgD^-$ 细胞则位于生发中心中央。CD 21 单抗(抗 CR 2)能使大多数生发中心着色, 中央部位染色最深。这表明 B 细胞活化过程, 促进了 CD 21 的表达。进一步分析低浮力密度胸腺 B 细胞的表型, 结果有 $63 \pm 4\%$ $CD 19^+$ 细胞, $8 \pm 2\%$ $CD 35^+$ 细胞, 并有一部分胸腺 B 细胞表达 CD 71 和 4F 2 表面抗原。用 B 8.7,

CD 23 单抗染色, B 8.7 是 B 细胞活化特异抗原^[7], 虽然 CD 23 在 T 细胞、网状细胞表面也有表达, 但这两种细胞在胸腺 B 细胞分离过程中已被除去, 结果 B 8.7⁺ 细胞占全部胸腺 B 细胞总数的 22±4%, CD 23⁺ 细胞则占 14±5%。以上结果表明 MG 患者胸腺生发中心 B 细胞表达 CD 19, CD 21, IgM, IgD 等 B 细胞标志, 低浮力密度胸腺 B 细胞则不同程度地表达 B 细胞活化标志, 如 CD 71, 4F2, CD 23 和 B 8.7, 即 MG 患者胸腺 B 细胞有一部分为活化的 B 细胞。

胸腺 B 细胞的发生

Nango 等^[8]收集 14 天小鼠胚胎低浮力密度胸腺细胞, 经抗 B 220(6B2)、抗 CD 5 单抗双染色分析, 结果约 3.5% 为 B 220⁺ 细胞, B 220⁺/CD 5⁺ 细胞占 0.5%, 此时 sIg 细胞尚未观察到。16 天胚胎小鼠低浮力密度胸腺细胞含 3—10% 的 CD 5⁺ 细胞, 在 18 天胚胎也观察到类似的数量。14 天、16 天胚胎, B 220⁺/CD 5⁺ 细胞分别占低浮力密度胸腺细胞总数的 0.98% 和 0.64%。Strasser 等证明, B 细胞表面抗原 B 220(14.8) 的表达比 sIgM 的表达要早^[9], 在 14 天胚胎胸腺就存在 B 220⁺/Thy-1⁻ 细胞, 而胚肝在 13 天胚胎才有前体 B 细胞出现, 说明胸腺 B 细胞是在胸腺内分化, 而不同于外周淋巴器官 B 细胞的发育。

18 天胚胎中低浮力密度胸腺细胞含有大量的 B 220⁺ 细胞, 且 70% 的 B 220⁺ 细胞表达 CD 5⁺。值得注意的是, 18 天胚胎胸腺 B 细胞类群中 70% 为 sIgM⁺, 约 95% sIgM⁺ 细胞为 CD 5⁺(占全部胸腺 B 细胞类群的 65%)。新生小鼠, 90% 的胸腺 B 细胞为 sIgM⁺, 且 70—80% 的胸腺 B 细胞为 CD 5⁺。与新生小鼠相比, 18 天胚胎的胸腺不存在 CD 5⁻/IgM⁺ 细胞。CD 5⁻ B 细胞是出生后由外周淋巴器官迁移而来, 还是由胸腺内的 CD 5⁺ 细胞转化形成而来还不清楚。很明显, 18 天以后的胚胎, CD 5⁺ B 细胞是胸腺 B 细胞的主要类群。胚胎

胸腺 CD 5⁺ B 细胞的增殖情况与成体胸腺 B 细胞增殖情况相似。

14 天、18 天小鼠胚胎胸腺中仅有少量的 CD 5⁺ B 细胞, 随后胸腺 CD 5⁺ B 细胞继续增殖到成体水平。从小鼠出生后 3 天到 6 至 8 周, 胸腺 CD 5⁺ B 细胞的百分比保持不变, 说明第 18 天胚胎对于胸腺 B 细胞和胸腺 CD 5⁺ B 细胞的分化和成熟是一个重要时期。

胸腺 B 细胞的生物学特性

正常小鼠胸腺 B 细胞特别是 CD 5⁺ B 细胞对常规 B 细胞有丝分裂原如 LPS、* 或抗-IgM 加 IL-4 不产生免疫应答。即使有 LPS 存在, 胸腺 B 细胞也不分化为抗体产生细胞。然而带 1a 抗原的 T 辅助细胞能够促使 CD 5⁺ B 细胞增殖、分化为抗体产生细胞^[10]。

MG 患者胸腺 B 细胞具有活化 B 细胞的表型。Leprince 等检测 MG 患者胸腺 B 细胞对 BCGF 12 kDa、rIL-2 加抗-IgM 的免疫反应, 发现单独用 BCGF 12 kDa 就能诱导所有胸腺 B 细胞大量增殖。抗 B 8.7 抗体能够完全拮抗 BCGF 12 kDa 所诱导的正常人 B 细胞增殖, 而对 BCGF 12 kDa 所诱导的 MG 患者胸腺 B 细胞的增殖只起部分抑制作用。由 rIL-2 所诱导的 MG 患者胸腺 B 细胞的增殖, 结果差异很大, 但都低于 BCGF 12 kDa 的诱导增殖数量, 表明 rIL-2 还需要其它刺激因子协同诱导胸腺 B 细胞的增殖。不论 BCGF 12 kDa 还是 rIL-2, 在有抗-IgM 单抗存在时, 都能显著促进 MG 患者胸腺 B 细胞的增殖, 表明 MG 患者胸腺 B 细胞有一部分为休止 B 细胞, 在有生长因子存在时, 可以被如抗-IgM 进一步激活、诱导增殖。其它一些因子如 rIL-1, rIL-4, rIFN- α , rIFN- γ 则不能诱导 MG 患者胸腺 B 细胞的增殖, 即使与抗-IgM 一起刺激, 也仅起微弱诱导增殖作用。

胸腺 B 细胞的功能

胸腺对于 T 细胞发育的正向、负向选择

起着重要的作用。在 T 细胞分化过程中获得了对自身 MHC 限制和自身抗原的耐受性。最近研究表明,对自身抗原的耐受性是由于胸腺内带有 TCR V_{β} 的 T 细胞缺失所致^[11],而表达 MIL-1⁺, Mts-9 的小鼠则不含有 V_{β} -3, V_{β} -6, V_{β} -1 T 细胞。Molina 等发现,只有 B 细胞表达 Mls^[12],表明胸腺 B 细胞对于 T 细胞发育的负向选择起着重要作用。

小鼠胸腺 B 细胞主要是 CD 5⁺B 细胞,Hitoshi 等最近发现,小鼠 CD 5⁺B 细胞能够产生 IL-10,从而增强胸腺细胞对 IL-2、IL-4 和 IL-7 的增殖反应,影响胸腺中 T 细胞发育^[13]。另外,自身免疫小鼠的腹腔 CD 5⁺B 细胞能够分泌自身抗体^[14],胸腺 CD 5⁺B 细胞与腹腔 CD 5⁺B 细胞有何关系尚需作进一步研究。

对 MG 患者胸腺 B 细胞表型、功能的研究表明,胸腺 B 细胞的活化状态与自身免疫反应有关。抗-乙酰胆碱受体(AChR)抗体阻断了神经与肌肉之间的信号传递是 MG 疾病机理^[15]。MG 患者胸腺 B 细胞在体外能够自发分泌 Ig,特别是抗-AChR 抗体,与常规 B 细胞相比,所分泌的抗-AChR 抗体具有高度特异性。如将 rIL-2 加入培养的 MG 患者胸腺 B 细胞,则提高 Ig 的分泌量,其中包括抗-AChR 抗体。用 Staph A 和 rIL-2 共同刺激 MG 患者胸腺 B 细胞,只能进一步促进 Ig 分泌量,而对抗-AChR 抗体的产量影响不大。用 IL-2 或 IL-2 加 Staph A 作为刺激因子,研究对与上述相同条件下培养的人正常 B 细胞的影响,结果是单独用 IL-2 或 IL-2 加 Staph A 都能够促进正常人 B 细胞 Ig 分泌量,但不能促进抗-AChR 抗体分泌,培养上清液中也检测不到抗-AChR 抗体。

Staph A 和 IL-2 能够提高 Ig 分泌量,但不能促进 MG 患者胸腺 B 细胞抗-AChR 抗体产生,说明这些抗-AChR 抗体产生细胞在体内早已被激活。MG 患者胸腺 B 细胞的表型、功能与其临床症状也有相关性,具有高滴度(>100 nm)血清抗自身抗体的病人其胸腺内 B

细胞、B 8.7⁺ 细胞和 CD 23⁺ 细胞等的百分比也较高,受 BCGF 12 kDa 刺激,胸腺 B 细胞具有更高的增殖反应^[6]。有研究表明,人类 CD 5⁺B 细胞与类风湿关节炎自身抗体分泌有关^[10],MG 患者胸腺内是否有 CD 5⁺B 细胞尚需作进一步研究。

摘 要

虽然胸腺是 T 细胞分化的中央淋巴器官,但也存在少量 B 细胞,约占全部胸腺细胞总数的 1%。表型分析表明:14 天小鼠胚胎胸腺就存在 B 细胞,CD 5⁺B 细胞是胸腺 B 细胞的主要类群,而人类 MG 患者胸腺 B 细胞则表达 CD 71, CD 23, B 8.7 等 B 细胞活化标志,并分泌抗-AChR 自身抗体。胸腺 B 细胞可能对 T 细胞发育的负向选择起重要作用。

参 考 文 献

- [1] Inaba, K., et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 167: 149.
- [2] Williams, C. L. & Lennon V. A., 1986, *J. Exp. Med.*, 164: 1043.
- [3] Ichikawa, Y., et al., 1992, *Clini. Immunol. Immunopathol.*, 62: 91.
- [4] Inaba, M., et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 168: 811.
- [5] 丛英姿, 1993, 细胞生物学杂志, 15, 11-15.
- [6] Leprince, C., et al., 1990, *J. Immunol.*, 145: 2115.
- [7] Leprince, C. Y., et al., 1988, *J. Immunol.*, 140: 100.
- [8] Nango, K., et al., 1991, *Cellular Immunol.*, 133: 109.
- [9] Strasser, A., 1988, *Eur. J. Immunol.*, 18: 1803.
- [10] Inaba, M., et al., 1990, *J. Exp. Med.*, 171: 321.
- [11] MacDonald, H. R., et al., 1988, *Nature (Londn)*, 332: 40.
- [12] Molina, I. J., et al., 1989, *J. Immunol.*, 143: 39.
- [13] Hitoshi, Y., et al., 1990, *J. Immunol.*, 144: 4218.
- [14] 丛英姿, 1993, 生理科学进展, 待发表.
- [15] Fujii, Y., et al., 1984, *Neurology*, 34: 1182.
- [16] Hardy, R. R., et al., 1987, *Science*, 236: 81.