

人类 T 淋巴细胞的分化和功能

E. L. Reinherz 和 S. F. Schlossman

T 细胞的分化

从好几个种属的动物里已经证实, 胸腺微环境在 T 细胞的分化和功能性成熟中的重要性。看来是骨髓前体细胞(前胸腺细胞)迁移至胸腺, 经过加工变成功能性完全的细胞, 然后输入到包括脾脏和淋巴结的周围淋巴样组织和血液。T 细胞表面抗原的深刻变化标志着细胞个体发生的不同阶段。在小鼠系统里, 由于细胞至胸腺细胞的最初分化阶段就与获得 TL, Thy1 和 Ly1、2、3 表面抗原相关。小鼠胸腺内的绝大多数淋巴细胞是 Ly1,2,3⁺, TL⁺ 和 Thy1⁺。随着进一步成熟, 胸腺淋巴细胞变成 TL⁻, 并伴随有 Thy1 抗原减少和 H2 抗原的增加。后者实际上是所有周围 T 细胞的表型特征。此外, 一定数量的 Ly1, 2, 3⁺ 细胞分成功能性不同的 Ly1⁺ 和 Ly2, 3⁺ 两种亚群的 T 细胞。

最近应用异种抗血清或单克隆抗体的研究证实了人胸腺细胞也表现一种与小鼠 TL 相似的抗原, 称为 HTL。不过 HTL 只存在于胸腺细胞, 而在正常外周血 T 细胞上并未发现。因此随着胸腺细胞迁移到血液循环中时, HTL 抗原就丢失了。此外, HTL⁻ 外周血 T 细胞能与称为抗 T1 的抗体起反应, 因此它是 T1⁺。抗 T1 是一种与 100% 外周血 T 细胞起反应的单克隆抗体, 而对胸腺细胞只有 10% 的反应。这些胸腺细胞在胸腺里是功能最成熟的类群, 也许是准备向外周血输出的类群。例如, T1⁺ 胸腺细胞是唯一能在混合淋巴细胞培养 (MLC) 中识别同种异体抗原和增殖的胸腺细胞, 而占大多数的 T1⁻ 胸腺细胞是不起反应的。

现在已经获得了许多能同胸腺细胞和/或外周血 T 淋巴细胞表面抗原起反应的单克隆抗体(表 1)。应用荧光激活的细胞分类器, 按间接免疫荧光法已经能测定一定细胞类群的反应百分率。把胸腺细胞悬液同这些单克隆抗体和荧光素标记的山羊抗小鼠免疫球蛋白起反应后可以显示出典型的荧光图谱。图谱表明, 每种单克隆抗体在反应百分率和荧光强度都存在明显

的差异。绝大多数的人胸腺细胞(70—90%)能与很多种单克隆抗体(抗-T4, -T5, -T6, -T8 和-T10)起反应, 提示大部分相当多的胸腺细胞带有多重抗原(表 1)。要对其作直接的验证, 就用单克隆抗体和补体处理胸腺细胞, 然后再分析一系列单克隆抗体。用这种方法可以测定胸腺细胞的亚群是否一起表现出几种抗原。

表 1 人类 T 细胞表面抗原的多克隆抗体

多克隆抗体	细胞表达		
	胸腺	外周血	
		E ⁺	E ⁻
抗-T1(总的)	10%	100%	0%
抗-T3(总的)	10%	100%	0%
抗-T4(诱导细胞)	75%	60%	0%
抗-T5(细胞毒/抑制细胞)	80%	20%	0%
抗-T8(细胞毒/抑制细胞)	80%	30%	0%
抗-T6(THY)	70%	0%	0%
抗-T9(THY)	10%	0%	0%
抗-T10(THY)	95%	<5%	10%

这些实验结果提示胸腺细胞存在三种主要亚群的观点。虽然所有的胸腺细胞实际上都带有 T10 标志, 可是在胸腺发育各个阶段中, 胸腺细胞却存在着主要的抗原差异(图 1)。最早期的胸腺细胞看来都带有 T9 和 T10 或只有 T10 抗原, 并且这个阶段所明确的少数胸腺细胞约占总的胸腺细胞的 10%(表 1, 图 1)。随着进一步成熟, 人类胸腺细胞获得了胸腺细胞所特有的明确为 T6 抗原, 并同时还表现出 T4, T5 和 T8(Thy4)。这后一种亚群代表大多数的胸腺细胞, 占其中的 70% 以上。再继续成熟, 胸腺细胞就丢失了 T6 反应性, 获得了 T3(和 T1)反应性, 并分离为 T4⁺(Thy7) 和 T5⁺/T8⁺(Thy8) 亚群。最后, 象是当胸腺细胞输入到外周血 T 细胞的时候, 就丢失了 T10 标志, 因为实际上所有的周围 T 淋巴细胞都缺少这种抗原。被输出的 T1⁺, T3⁺, T4⁺ 和 T1⁺, T3⁺,

T5⁺ 亚群分别代表外周血诱导细胞和 细胞毒/抑制细胞类群。

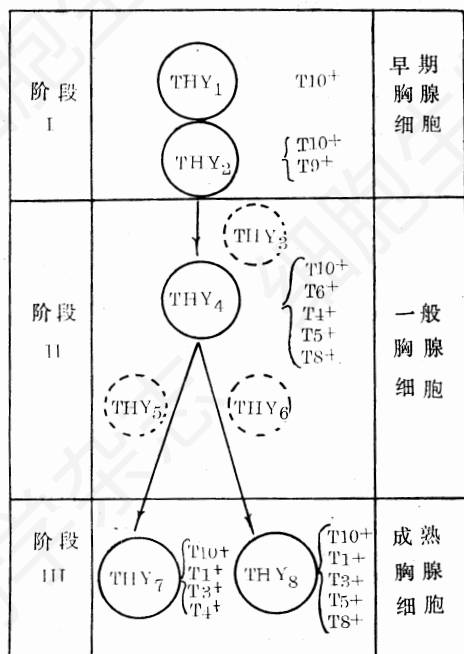


图 1 人体胸腺内细胞分化的阶段

根据同单克隆抗体的反应可以确定胸腺细胞分化的三个独立的阶段。实线圈代表在确定表型的特异阶段内的胸腺细胞，虚线圈代表这些阶段之间的假设的过渡细胞。

成熟外周血 T 细胞亚群的功能性特征

与多数胸腺细胞群缺少 T1 和 T3 抗原不同，外周血 T 细胞 100% 都是 T1⁺ 和 T3⁺。这种成熟细胞可能再继续分成不同的亚群，因而在外周血里 T4⁺ T 细胞约占 60%，而 T5⁺ T 细胞为 20%。这两种亚群分别相当于前所明确的 TH₂ 辅助细胞和 TH₂ 抑制细胞亚群。此外，与胸腺细胞相反，外周血 T 细胞表现出表 2 所列的全部 T 细胞功能。

如果已知外周血 T 细胞存在着不同的亚群和由 T 淋巴细胞产生效应的多种功能性反应，那么确定下述问题就是重要的事，即是否每个 T 淋巴细胞都具有全部这些效应和调节功能，还是在这些单克隆抗体所确定的一种亚群内每个 T 细胞只在其自身有限的全部功能是独特的。一系列外周血 T 细胞亚群功能性的研究已证实，后一种假说是正确的，并且还证明 T 细胞的特异遗传程序（即辅助还是抑制）是与特定细胞表面抗原的表达相联系。

表 2 人类 T 淋巴细胞的体外功能性特征

一、增殖反应

1. 对可溶性抗原（即流行性腮腺炎，纯结核菌素衍生物，破伤风类毒素）
2. 对细胞表面抗原（同种异体抗原）
3. 对多克隆凝集素激活剂（PHA, ConA）

二、细胞毒反应

1. 细胞介导的溶淋巴细胞作用（CML）

三、因子的产生[淋巴细胞移动因子（LMF），巨噬细胞抑制因子（MIF），抗原特异的辅助因子等等]

四、细胞相互作用（辅助和抑制）中的调节功能

1. T-T
2. T-B
3. T-巨噬细胞

表 3 T 细胞亚群的免疫学功能

功 能	诱导性 T 细胞	细胞毒/抑制性 T 细胞
	(T1 ⁺ , T3 ⁺ , T4 ⁺)	(T1 ⁺ , T3 ⁺ , T5 ⁺)
I 增殖反应		
1. 可溶性抗原	+	-
2. MLC	+	+
3. ConA	+	+
4. PHA	+	±
II 细胞毒性(CML)	-	+
III 调节过程		
1. 辅助(诱导)		
(1) T-T	+	-
(2) T-B	+	-
(3) T-巨噬细胞	+	-
2. 抑制		
(1) T-T	-	+
(2) T-B	-	+

表 3 列出了这些 T 细胞亚群的功能性特征。关于对各种特异的和非特异的刺激的增殖反应，T1⁺, T3⁺, T4⁺ 亚群的 T 细胞实际上含有 T 细胞类群对可溶性抗原的全部增殖反应能力，而 T1⁺, T3⁺, T5⁺ T 细胞则对可溶性抗原不起反应。相反，两种亚群细胞对细胞表面（同种异体抗原）都显示最大的反应。

正如上面提到的那样，人类 T 淋巴细胞的主要效应功能之一是能够对外来细胞的 HLA-A, -B, 和 -C 位点基因产物产生特异的致敏，并能够引起特异细胞介导的杀伤作用。如表 3 所见，在混合淋巴细胞培

养物中经同种异体抗原激活之后予以分离时,仅 $T1^+$, $T3^+$, $T5^+$ 亚群含有细胞毒效应细胞群。尽管 $T1^+$, $T3^+$, $T4^+$ 细胞能对同种异体抗原起增殖反应,但致敏后分离开来的上述亚群并不变成细胞毒细胞。

这些为单克隆抗体所确定的T细胞亚群之间最重要的差别,也许从它们对免疫反应有区别的调节作用而显而易见。 $T1^+$, $T3^+$, $T4^+$ 细胞在T-T, T-B和T-巨噬细胞的相互作用中显示提供诱导细胞(辅助细胞)的功能。只有 $T4^+$ T细胞亚群提供有助于自身B细胞增殖和分化成含有免疫球蛋白细胞所必需的诱导信号。而且在美洲商陆致分裂原和一种抗原刺激的系统中也都表明 $T4^+$ T细胞对B细胞产生免疫球蛋白有诱导因子的作用。

以前的研究表明抗原激发的T细胞能产生一种辅助因子,称为淋巴细胞致有丝分裂因子。这种因子能诱导所有的主要淋巴细胞亚群(T细胞, B细胞, null细胞和巨噬细胞)的增殖,也许更重要的是在T细胞不存在的情况下能诱导B细胞合成免疫球蛋白。近来的研究发现只有 $T4^+$ T细胞亚群才能制造这种非特异的辅助因子。这种T细胞亚群对人体这种因子的制约进一步着重表明其在诱导影响人类免疫反应方面的重要性。人体 $T4^+$ 诱导细胞群有着很广泛的生物学作用(见Cline和Golde的综述Nature 277:177—181, 1979)。

相反, $T5^+$ T细胞亚群则含有具主要细胞毒和抑制功能,而不是诱导细胞功能的成熟细胞亚群。用ConA激活后这种亚群抑制了自身T细胞对同种易体抗原的增殖反应。此外,这种相同的 $T5^+$ (TH_2) 类群还抑制B细胞产生免疫球蛋白。在这一点上应该强调的是,尽管 $T4^+$ 和 $T5^+$ 亚群用ConA刺激后增殖完全相等,但是只有 $T5^+$ 亚群成为抑制性细胞。这些结果提示 $T4^+$ 和 $T5^+$ 亚群在各自的辅助细胞和抑制细胞功能的程序上与它们对非特异性多克隆致分裂原或抗原的辨别和反应能力无关。这些结果进一步支持了这种观点,即特异细胞功能程序的安排是与特定的细胞表面的表型表达相关连,以及这种程序安排是发生在细胞激活之前。

不仅在效应细胞和调节功能方面的差别,而且也在对特异激活刺激的易感性以及对1a抗原的表达方面的差别,都已显示这些T细胞亚群是以不同方式安排程序的。人类类-1a抗原首先是用同种异体抗血清,随后又用异种抗血清和单克隆抗体来确定的。这种抗原表现在人的B细胞、多数单核细胞和一类null细

胞的细胞表面,而在静止的T细胞表面上是检测不到的。不过激活的人T细胞就导致重新合成并在细胞表面表达该抗原。从而就把T细胞亚群上1a抗原的出现作为特异T细胞激活的一种标志。在MLC中经同种异体抗原激活或用PHA和ConA刺激后,T细胞的 $T4^+$ 和 $T5^+$ 亚群都表达1a抗原。相反,用可溶性抗原特异地激活T细胞类群时,只有 $T4^+$ 亚群表达1a抗原。因此,人类1a抗原在单一T细胞亚群上的表达要取决于所用的激活刺激物,以及各别亚群对特定刺激物反应的能力。

$T4^+$ 和 $T5^+$ 亚群约占外周血T细胞的80—90%。以前的研究提示,其余的 $T4^-$, $T5^-$ (TH_2) T细胞部分,代表一种可能具有反馈调节功能的重要的免疫调节亚群。至今还未制备出对这种类群细胞的特异单克隆抗体。另外的一种称为抗-T8单克隆抗体可确定外周血T细胞中约占30%包含全部 $T5^+$ 细胞群以及 $T4^-$, $T5^-$ 亚群。这样,后一种抗体可以明确表示出人体里成熟的抑制细胞和反馈调节细胞群。

因此人类免疫系统是由不同亚群的T细胞所组成。这些T细胞在维持免疫自身稳定中起着重要的作用(图2)。正是效应细胞和调节细胞亚群之间的平衡,实际上支配着抗原激发的结果。诱导细胞亚群对于其它T细胞, B细胞和巨噬细胞的激活以及对血细胞生成中的分化起着主要的作用。这种诱导作用又受到抑制性T细胞的调节,这种T细胞具有使诱导细胞亚群或效应细胞群自身失活的功能。至于反馈调节细胞群的确切作用及其调节机制还有待明确。

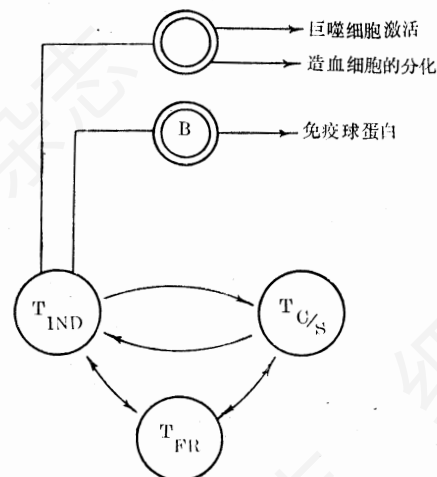


图2 人体的T细胞环行顺序
(T_{IND})诱导性T细胞; ($T_{C/s}$)细胞毒/抑制性T细胞; (T_{FR})反馈调节性T细胞。

临床应用

在本综述里, 我们提供了支持这种理论的证据, 就是根据T淋巴细胞表面抗原成分检测出具有独特生物学功能的T淋巴细胞亚群是可能的, 应用这种技术于人类的免疫诊断正在受到重视。现在有可能确定T细胞肿瘤的异质性: T细胞成熟和/或过早释放的疾病; 与丧失T细胞相关的疾病; 功能受到限制的T细胞亚群间不平衡的相关疾病; 以及与T细胞亚群活化相关的疾病。

T细胞系急性淋巴母细胞白血病被认为是来源于未成熟胸腺细胞。我们研究了21例急性T细胞白血病(T-ALL)患者的肿瘤细胞。大多数T-ALL是来自前胸腺细胞或胸腺细胞, 并且只有早期胸腺细胞抗原(阶段I)(图1)。相反, 20%的T-ALL类群来自更成熟的胸腺细胞群(阶段II)。最后, 其中一个病人的肿瘤来自成熟胸腺细胞群(阶段III)。是否是癌病发生的过程, 出现在个体发生中的一个共同阶段, 而在较分化水平受到阻抑, 还是在胸腺分化的不同阶段对致癌过程有不同的敏感性, 仍是个不清楚的问题。

第二个例子涉及免疫缺乏, 获得性无丙种球蛋白血症是个恰当的实例。患这种疾病的大多数病人在B细胞水平上有缺陷。小部分而意义显著的亚型病人明显地缺乏诱导T细胞或者具有过量的激活抑制细胞。从3例获得性无丙种球蛋白血症个体T淋巴细胞的细

胞分析中显示, T细胞亚群都是正常的, 然而其中1例发现缺少B细胞。相反, 在第二例中没有诱导性T细胞。最后, 在第三个病人中有过量的激活的抑制T细胞。要注意的是, 第三个病人的 T_4^+ 细胞绝对数是正常的, 在激活的抑制性细胞不存在的情况下这些细胞为自体B细胞提供T细胞的辅助作用。

最后, 能够确定T细胞亚群已有助于更好地了解与自体免疫性相关的疾病。通常在效应细胞和调节细胞之间存在着微妙的平衡, 这种平衡为自身免疫稳定所必需。大多数研究表明, 自身应答的破坏不是从属于无性繁殖系的缺失, 而宁可说是与抑制细胞的严格的调节有关。在这一点上, 我们曾发现在别的一些患系统性红斑狼疮, 青少年性类风湿性关节炎, 急性移植物抗宿主疾病, 溶血性贫血和自体免疫嗜中性白细胞减少症等病人中抑制细胞的紊乱。在这组病人中的免疫异常包含了人体全部自体免疫现象。

总之, 能够分析正常淋巴样细胞的分化和确定健康与疾病中淋巴细胞的生物学效能, 将为了解人类免疫反应的紊乱作好准备。除了应用于免疫诊断之外, 本综述中所叙述的一些试剂对于恢复自体免疫病或免疫缺乏状态的患者的正常免疫调节平衡可能是有力的治疗工具。

[王球达 摘译自 1980 *Cell* 19(4):821—

827 姚曾序校]

染色质研究的过去和将来

岩井浩一

第一, 分化的真核细胞中转录基因和不转录基因有什么不同? 基因为正常核小体结构, 该基因不转录。不过正在进行转录的基因(例如卵管的卵清蛋白基因), 已转录的基因(例如红血球的珠蛋白基因)的核小体结构有什么变形呢? 两者用去氧核糖核酸酶I(DNase I)很容易分解, 前者用小球菌核酸酶处理以核小体优先游离出来, 后者和正常核小体同样。这样酶敏感性的不同反映了结构的变形。变形的核小体没有组蛋白 H_1 , 有称为HMG的非组蛋白蛋白质的存在。另外, 已转录的基因也能识别结合该基因的因素, 这种因子恐怕也有蛋白质的存在。

核小体变形是转录的必要条件但不是足够条件。

认为变形的核小体勉强强同原核细胞的基因有同等。因此后来调节也许同原核细胞有类似的机理, 但什么也不清楚。可是真核细胞用特异的类固醇激素诱导转录, 大概是真核细胞调节转录的机理之一。

第二, 染色质以什么样的机理进行复制? 原核细胞以脱氧核糖核酸复制也许就足够了, 可是真核细胞必须复制该细胞原来特有的染色质, 也就是说, 大部分基因复制不转录的正常核小体结构, 一部分基因一定要重现转录的核小体结构, 这样的结构在去氧核糖核酸复制几分钟之后就形成。

核小体结构与去氧核糖核酸的核苷酸顺序无关。

(下转第38页)

人甲胎蛋白抗血清对纯 HBsAg 对流免疫电泳不产生沉淀线。(3) 以免抗 HBsAg 抗血清代替兔抗人甲胎蛋白抗血清作免疫酶定位时, 虽然在癌周肝细胞中也观察到阳性反应, 但两者的分布回异(图 3A、B) 根据上述结果, 可以认为本工作中所观察到的阳性定位结果是甲胎蛋白专一的。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院上海生物化学研究所肿瘤组等: 1975, 生物化学与生物物理学报, 2 (2) 149—155.
[2] 中国科学院上海生物化学研究所肿瘤组等:

1976, 生物化学与生物物理学报, 8 (1) 49—59.

- [3] 上海市肿瘤医院病理科等: 1976, 生物化学与生物物理学报, 8 (3) 271—280.
[4] 张先扬等: 1974, 生物化学与生物物理进展 (2) 36—39.
[5] Stefanini, M., C. De Martino and L. Zamboni, 1967, *Nature* 216: 173—174.
[6] Accinni, L., K. C. Hsu, H. Spiele, and Cesare De Martino 1974 *Histochemie* 42: 257—264.
[7] 中国人民解放军第二军医大学病理教研室等: 中华医学检验杂志, 付印中。
[8] Cochrane, M. and R. Williams 1976, "Hepatocellular Carcinoma" (Okuda, K. and R. L. Petersed) pp. 333—349. John Wiley & sons.

(上接第 26 页)

用组蛋白吸附于去氧核糖核酸的子链上方法区别为正常和变形的两种结构。这种情况, 认为如果识别基因最先存在结合蛋白质的话, HMG 进一步结合形成变形的核小体, 如果不那样仅仅结合组蛋白就形成正常核小体。或许还有别的机理, 不管怎么说, 首先一定要弄清楚复制正常核小体的分子机制。

第三, 阐明细胞分化的分子机理。受精卵经反复细胞分裂的生长发育过程中(染色质复制)细胞分化了。也就是说, 由各种各样细胞所发现的特定基因, 没有发现别的分子机理就成立。如上述说明那样, 决定各基因的正常还是变形的核小体结构。这种决定因子能识别基因的蛋白质在染色质复制过程中是否结合到该基因上, 这样的因子在受精卵中作为蛋白质或信息核糖核酸(mRNA)来自亲本。随着生长发育的进程中必

须自己合成。因此, 它的调节必须先行。也许有别的结构。总而言之, 该细胞中一次转录的基因(红血球的珠蛋白基因), 虽然成为不转录基因也保持其变形的结构, 这种结构大概是不可逆的机理吧!

以上三点是 1980 年代染色质研究的重要课题。真核细胞的分子生物学姑且不论, 在其他方面也是重要课题。特别是真核细胞的去氧核糖核酸的一级结构及其转录产物的加工之间相互关系, 对真核细胞来说作为特有大概也是重要的。另外, 用分子水平来阐明染色质的高级结构及其细胞周期变化也是重要的。

[林斯骏摘译(日本)生物物理 Vol. 20, No 3, 1—2, 1980. 姚鑫、开建伟校]

(上接第 42 页)

应用本文介绍的薄板电泳方法, 可以进行微量 DNA 样品的分子量链长测定。将已知链长的限制性内切酶酶切的标准 DNA 片段与被测样品在同一薄板上电泳, 根据各标准 DNA 片段与溴酚蓝标记染料相对电泳迁移的距离, 可求得相对迁移率与核苷酸碱基对对数的直线斜率关系, 由直线斜率而测知未知样品的碱基对数目。此法缺点在于板小、量程小、误差大。如在样品量微的条件下, 不得不使用此法时, 必须反复测定, 求得重复性一致的数据,

方可定量。

聚丙烯酰胺凝胶薄板电泳已初步应用于微量 DNA 的分析研究, 此法的应用或许有助于生物分子的微量分析。

参 考 文 献

- [1] Felgenhance, K.: 1967 *Biochem. Biophys. Acta*, 133: 165—167.
[2] Maniatis, T. et al.: 1975 *Biochem.*, 14: 3787—3794.
[3] 卫林祥等, 1979 细胞生物学杂志, 2: 24—26.