

联臂可能起着一定作用。但这假说的主要缺陷在于不能解释颗粒的双向运动。

2. 用通过微管的履带式运动现象来解释微管传递细胞内颗粒。沿着肌动蛋白纤维有肌动蛋白亚单位的流动, 这是由于肌动蛋白纤维两端的聚合速度不同所引起的。纤维的一端长得快, 另一端长得慢。当纤维没有净的增长时, 必然在肌动蛋白纤维的一端产生聚合, 而同时在另一端解聚。微管的情况也是这样, 假如沿着微管有分子变动的話, 我们可以想象从微管壁上长出的侧臂是由与微管相联结的蛋白组成, 这些蛋白能与细胞内颗粒形成交联, 并由于蛋白质亚单位在微管上进行履带式运动而将颗粒带动。这一假说与颗粒的双向运动不相符合。

3. 微管能产生能量传递颗粒的第三种解释是基于微管的聚合和解聚。假如微管在体内处在高度活跃的聚合和解聚状态下, 当发生解聚时附着在微管末端的颗粒能向一个方向移动, 而当微管聚合时则向相反方向运动。这一假说可用来解释有丝分裂过程中染色体的运动。现已有很好的证据表明微管的聚合和解聚能引起染色体的运动。

综上所述, 微管可能由上面所说的某一种机制将颗粒向一个方向运送, 但不能解释颗粒的双向运动。因此可能还有其它产生能量的系统使颗粒向两个方向运动。

前已提及肌动球蛋白能产生能量, 而且现已有某些证据表明肌动球蛋白在颗粒的运动过程中起着一定作用。例如在一种藻类 (*Characean Algae*) 的结间细胞中发现, 内质颗粒沿着皮质下的肌动蛋白束运动。这种运动依赖于 ATP, 也对细胞松弛素 B 敏感, 表明在这些颗粒表面可能有肌球蛋白样的分子存在。它们可能与在外质中定向排列着的肌动蛋白纤维相互作用而产生运动。

我们实验室正在用一种温和的去垢剂 BRIJ-58 处理黑色素细胞, 使细胞膜部分溶解, 然后以这种处理过的细胞作为模式来研究色素颗粒的运动。假如能在这种细胞模式系统中激发色素颗粒的运动, 就可以观察各种抑制微管或肌动球蛋白产能系统活性的药物对色素颗粒运动的影响, 从而可对这种运动的机制有所了解。

(卫林祥摘译 续完)

## 细胞培养生产人抗体研究的一些进展

卞小庄

(辽宁师范学院生物系)

细胞培养生产抗体的技术, 已广泛地应用在基础研究和实际应用的许多方面<sup>[1,2]</sup>。但这些抗体大多来自动物细胞而缺乏临床治疗价值。近年开始出现了一些细胞培养产生特异性人抗体的报道。本文简介这方面的一些进展。

### 一 产生人抗体的细胞株

已建立的产生人抗体的细胞株包括两类: 淋巴瘤细胞样 B 细胞株和杂交骨髓瘤细胞

株。

#### 1. 淋巴瘤细胞样 B 细胞株

人 B 淋巴细胞表面具有 EB 病毒受体, 人外周血、脾脏和骨髓中的 B 细胞都可由 EB 病毒诱导在体外建株。EB 病毒相关肿瘤细胞或血清呈 EB 病毒抗体阳性的健康人 B 细胞, 也可在体外直接建株。已有上千株这样的细胞株, 其中有的能分泌大量的抗体<sup>[2,3]</sup>。早期建成的细胞株大多只分泌非特异性抗体。人们曾

用SV40病毒诱导Ⅲ型肺炎球菌致敏的兔脾淋巴细胞,建立了分泌兔抗Ⅲ型肺炎球菌特异抗体的细胞株<sup>[4]</sup>。后来又用EB病毒诱导经特异抗原致敏的人外周血淋巴细胞,获得了一些分泌特异性人抗体的细胞株(见表1)<sup>[5-8]</sup>。

## 2. 杂交骨髓瘤细胞株

自从1975年Köhler等首先使骨髓瘤细胞和产生特异性抗体的B细胞融合,得到分泌特异性抗体的永久细胞株以来<sup>[9]</sup>,人们建立了许多分泌专一性抗体的动物细胞株。也有人曾尝试使人B细胞和小鼠骨髓瘤细胞融合,以建立分泌人抗体的杂交细胞株<sup>[10,11]</sup>。但这些细胞株大多不够稳定。要获得稳定地分泌人抗体的细胞株,必须使人B细胞和人骨髓瘤细胞杂交。人骨髓瘤细胞在体外建株较为困难<sup>[1]</sup>。近年来已建立了一些人骨髓瘤细胞株如ARH-77 RPMI-8226, U-266及GM1500等<sup>[12]</sup>。斯坦福大学Olsson等用8-氮鸟嘌呤筛选出一株缺HGPRT的人骨髓瘤细胞,与经二硝氯苯致敏的何杰金氏病患者的脾淋巴细胞融合,建立了分泌抗二硝基氯苯抗体的杂交瘤。他们用体外

致敏的方法进一步试验,获得了两种分别分泌抗绵羊红细胞和抗内毒素抗体的人×人杂交瘤<sup>[13]</sup>。费城威斯塔解剖和生物研究所Croce等用麻疹病毒感染患者的外周血淋巴细胞和缺HGPRT的人骨髓瘤细胞融合,也建立了分泌抗麻疹病毒抗体的杂交瘤<sup>[14]</sup>。

上面介绍的是一些分泌人类专一抗体的细胞株(表1)。但是,要把这些抗体用于临床治疗,还有不少急待解决的问题。

## 二 几个主要问题

### 1. 致敏

要获得针对某种预定抗原的抗体,首先要有足够数量的分泌这种抗体的B细胞。为此,必须以抗原致敏。但要对人体进行这种致敏,却受到很大的限制。无毒抗原诱发的超敏状态即有害于机体,何况我们努力寻求的抗体往往是针对有毒的、难以减毒作为疫苗的抗原。所以,试图对人体进行体内人工致敏来获取分泌专一抗体的B细胞,是不切实际的。

体外致敏则不受上述限制,表1中便列出

表1 产生特异性人抗体的一些细胞株

类别	亲本细胞	抗原	致敏法	筛选法	抗体产品	抗体产量/维持时间	文献
EBV 转化 细胞	人外周血淋巴细胞 *EBV	SRBC	体外	斑点实验	IgM	—/8~9天	[5]
	"	NNP	体内自然	致敏红细胞花环	IgM	—/—	[6]
	"	破伤风 类病毒	体内人工	固相放射免疫实验	IgG	0.1~0.3μg/ml/个月	[7]
杂交 骨髓 瘤细胞	人淋巴结淋巴细胞 *小鼠骨髓瘤细胞	乳腺癌	体内自然	免疫过氧化酶实验	IgG、IgM	0.1~20μg/ml/60~200天	[10]
	人脾细胞* 人骨髓瘤细胞	DNCB	体内人工	固相放射免疫实验	IgG	3~11μg/ml/长期	[13]
	人外周血淋巴细胞 *人骨髓瘤细胞	SRBC	体外	—	Ig	—/—	[13]
	"	麻疹病毒	体内自然	免疫沉淀实验	IgM	—/长期	[14]

注:抗体产量/维持时间只标示同时建立的不同克隆的数值范围。\*示杂交、EBV即EB病毒。NNP为4-羟基3,5-二硝基苯胺。DNCB为2,4-二硝基氯苯。SRBC为绵羊红细胞。

二例。有些资料表明,致敏T细胞较易,而致敏B细胞较难,T<sub>H</sub>细胞明显地抑制体外致敏过程<sup>[15]</sup>。但是,随着人们对淋巴细胞功能亚群及其相互作用机制的深入了解<sup>[16]</sup>,在体外模

拟体内致敏过程终将成为可能。比如,应用纯化抗原,封闭T<sub>H</sub>细胞作用,加强Th细胞作用,利用非特异性促有丝分裂物质等法,均值得进一步试验。

由病原性抗原感染患者提供专一性B细胞,也是一种可行之法。表1中也列有三例。对于那些常见病的病原体,可能较易找到针对它们的B细胞;而对于那些难以提纯或尚未明了的病原体,以及一些个体特异型病原体(某些肿瘤细胞),往往只能用这种方法来获取B细胞。

表2 利用单克隆抗体研究过的一些抗原<sup>[225-2730]</sup>

病原性抗原	黑素瘤 P97 抗原,神经母细胞瘤,乳腺瘤 MMTV,肺癌抗原,肾癌抗原,成骨髓瘤抗原,白血病抗原,CEA,EBV,相关膜抗原 gp350/220,疟原虫裂殖子,SV <sub>40</sub> ,多瘤病毒,流感、副流感病毒,疱疹病毒,麻疹病毒,淋巴性腺丝病毒,Ⅲ型肺炎球菌,破伤风类病毒,蓖麻蛋白,辛德毕斯病毒,登革热病毒。
人自身抗原	HLA 抗原,血型 A <sub>1</sub> ,A <sub>2</sub> ,Rh-D <sup>+</sup> ,膜抗原Th <sub>1</sub> , <sub>2</sub> ,I <sub>a</sub> ,T 淋巴细胞亚群,人滋养层细胞表面抗原,雌激素受体,人绒毛膜促性腺激素,人碱性磷酸酶,补体 C <sub>3</sub> 。

若将体内自然致敏的B细胞再在体外加强致敏,一般可以收到更好的效果<sup>[17]</sup>。另外,提高筛选技术,改善培养条件也同样可提高特异性B细胞的比例<sup>[2]</sup>。总之,只有通过各种手段建立一个多样化的B细胞库,才能得到针对范围广泛的各种抗原的人抗体。

## 2. 转 化

要使体细胞在体外长期传代,就必须将它们诱导为“转化细胞”,即赋予它们在体外苛刻条件下不断生长的能力。如上所述,可采用病毒诱导和杂交瘤这两种方法。

EB病毒诱导得到的B转化细胞,在传代之后成为多克隆细胞,其中大部分非特异性抗体,只有小部分细胞分泌特异性抗体,且其细胞数随传代而递减。如在Zurawski等人的实验中,特异性抗体产量由最初每毫升0.3微克降至后来每毫升仅1毫微克<sup>[7]</sup>。这样便很难建立起长期稳产的细胞株。因而有必要寻求比EB病毒更好的诱导剂。

杂交瘤法可得分泌专一抗体的单克隆细胞

株。但仍有待寻求高效优质、尤其是非分泌型的人骨髓瘤细胞株。以EB病毒相关肿瘤细胞来取代难培养的人骨髓瘤细胞也不无可能。

建株的人骨髓瘤细胞表面存有I<sub>a</sub>抗原,在和淋巴细胞融合时易于激起T<sub>c</sub>细胞的细胞毒作用,而降低建株率<sup>[18]</sup>。Olsson等采用细胞免疫缺陷的何杰金氏病人脾淋巴细胞而避免了这种细胞毒作用。也可采取分离或封闭T<sub>c</sub>细胞的策略<sup>[19]</sup>。

只有在融合细胞亲本双方的表型和遗传型相似时,才能得到稳定的杂交子代。人×鼠杂交瘤往往由于人染色体优先丢失而丧失分泌人抗体的能力。但Milstein等认为,由种间杂交瘤获得稳定杂交子代是可能的。他们正尝试用人×鼠杂交细胞再和人细胞融合,以期建立能分泌特异性人抗体的(鼠×人)×人杂交瘤<sup>[1]</sup>。

此外,还有希望利用人体本身的生长因子在体外诱导细胞建株<sup>[20]</sup>。这不仅可以供给我们细胞产品,还可供给我们正常的人细胞,再输回患者体内。

## 3. 生产抗体

已建株的细胞可在体外培养,从培养液中收集抗体;也可种入动物体内,由动物体液中收集抗体。通常以后法较为简便,抗体产量也高。但人×人杂交瘤接种于动物体内会遭到强烈的种间排斥。克服的手段是将细胞接种到裸鼠或去胸腺的动物体内<sup>[3]</sup>。也可探索用扩散盒直接将杂交瘤细胞置入患者体内培养的可能性。

## 4. 使 用

抗体在使用前必须经过纯化以去除无关蛋白质<sup>[21]</sup>。对于其中可能存在的源于骨髓瘤细胞的病毒可用高剂量照射加以灭活。

同种异型抗体进入人体也会引起一些不良反应。用于静脉注射时,必须将抗体的F<sub>2</sub>段还原或作烷化等处理,以减少其副作用<sup>[22]</sup>。机体的抗个体基因型抗体反应是针对外源性I<sub>g</sub>的F<sub>ab</sub>段,而F<sub>ab</sub>段的加工或去除会严重影响I<sub>g</sub>的活性<sup>[23]</sup>。所以,如何克服受体的抗个体基因型抗体反应,还是一个有待解决的问题。

对于某些人体自身抗原,恐怕很难找到针对它们的人抗体。而这些抗体又往往具有某种治疗价值,如用于免疫避孕时去除某些性腺激素,治疗某些激素失调症等。这时可能只得使用动物抗体。为避免过敏反应,可对动物抗体F<sub>2</sub>段加工以去除种的特异性。

当抗体对细胞性抗原毒性作用很低,并依赖于靶细胞表面抗体分布的浓度时,使用以针对该细胞上多种抗原决定簇的单克隆抗体的混合物为宜<sup>[1]</sup>。

某些人肿瘤细胞抗原,往往由于易脱落或被隐蔽着而使其抗体难以奏效。这时除配合溶解其隐蔽物质之外,还可连结放射元素,溶酶或毒素以加强抗体毒力。其关键在于必须找到短矩、速效的毒剂。Gilliland等用白喉毒素和蓖麻蛋白的A链作为毒剂效果甚佳<sup>[23]</sup>。另外,以BCG等激活人体巨噬网状系统,以同专一抗体形成对病原体的ADCC反应,也具有一定效果<sup>[24]</sup>。

### 三 人抗体应用的前景

#### 1. 多能而无副作用的药物

人抗体对人来说是同种蛋白质,一般不会引起机体过敏反应,也不会遭到机体排斥。这是动物抗体和其它药物均难以比拟的一大优点。人抗体的另一优点则是它抗一切人的异己抗原的潜力即多能性,这便决定了它有几乎无限的用途。表2列举了一些用单克隆抗体研究过的病原性抗原和人自身抗原<sup>[2,25-27,30]</sup>,这些抗原都可能成为人抗体的治疗对象。单克隆抗体技术使我们选择针对特定抗原乃至特定的某一抗原决定簇的克隆细胞,保证其分泌抗体对病原体具有精确的针对性。针对病原体特定抗原决定簇的高度专一的单克隆抗体,可以既杀伤那些和正常细胞有共同抗原决定簇的病原体(如原发性肿瘤细胞),又不至于伤害正常细胞。

人类某些疾病亦可看成是免疫失调现象,即在病原体和人的免疫保护系统之间失去了平

衡,人抗体则为恢复这种平衡提供了手段。

加强免疫系统:用人抗体杀灭病原体,最困难的可能是对肿瘤的治疗。经验表明,用抗体配合其它手段去杀灭少量的血液中转移的癌细胞效果更好,而单独使用其它疗法(手术、化疗、放疗)不当时往往会抑制了机体的免疫反应,造成癌细胞转移<sup>[16]</sup>。因此人抗体治疗有望成为根据癌症的一种重要手段。

调节免疫系统:例如用抗HLA、I<sub>a</sub>抗原的抗体克服机体对器官移植的排斥<sup>[2]</sup>;用“去封闭因子”(抗封闭性抗体F<sub>2</sub>段的抗体)克服肿瘤患者的“免疫促进”状态<sup>[20]</sup>;用抗抗体清除突眼甲状腺肿,重症肌无力症患者体内过多的抗体<sup>[14]</sup>。

#### 2. 更精细的分析手段

单克隆抗体技术提供了分析细胞表面抗原和未知抗原混合物的有效手段<sup>[1,2]</sup>。而人的单克隆抗体为识别人的种内异型和个体型细胞结构提供了更精确的手段。这是由于种内免疫容易产生抗种内异型和个体基因型抗原的抗体,而种间免疫往往产生抗种特异性抗原的抗体。所以,象ABO血型 and HLA抗原系统这样一些较之人的种特异性抗原更精细复杂的细胞结构,都宜于用人抗体或人T淋巴细胞来加以分析<sup>[20]</sup>。有理由认为,人体有比动物更完善、更精细的B细胞识别系统。人体复杂多样的细胞结构可能由人体本身提供的手段来加以识别,其理论和实践的意义是无庸置疑的。

### 结 束 语

目前虽然可以通过基因工程以培养微生物的方法来生产如胰岛素、干扰素等人体内重要的蛋白质,但是还难以生产出抗体这样多样和复杂的产品。而且细胞培养还可以富集、提纯一些未知的微量生命物质作为微生物培养法所必需的原始材料。此外体细胞培养尚可生产可输回体内的细胞。因此,虽然迄今为止有关细胞培养生产人抗体的报道还不多,但它必将成为造福人类的一个重要的、不可替代的手段,

其前景是十分广阔的。

### 参 考 文 献

- [1] Milstein, C., 1981, *Proc. R. Soc. Lond.*, B211: 393—412.
- [2] 史良如等人, 1981, 国外医学生物制品分册, 4:1—4.
- [3] 大星章一人, 1979, 人癌细胞培养, pp 153—154, 197—202, 科学出版社。
- [4] Collins, J., et al., 1974, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 71 (2):260—262.
- [5] Luzzati, A. L., et al., 1977, *Nature*, 269 (29):419.
- [6] Steinitz, M., et al., 1977, *Nature*, 269 (29):420.
- [7] Zurawski, V. R., et al., 1978, *Science*, 199(4336):1439.
- [8] Koskimie, S., et al., 1980, *Scand. Immunol.*, 11(1):73.
- [9] Köhler, C., et al., 1975, *Nature*, 256: 495—497.
- [10] Schlom, J., et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77(11):6841—6845.
- [11] Croce, C. M., et al., 1980, *Fur. J. Immun.*, 10:486—488.
- [12] Burk, K. H., et al., 1978, *Cancer Res.*, 38:2508.
- [13] Olsson, L., et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77 (9):5429—5431.
- [14] Croce, C. M., et al., 1980, *Nature*, 288 (5790):488—489.
- [15] Kreeb, G., et al., 1980, *Immunology*, 43 (1):47.
- [16] 北京医学院主编, 1981, 基础和临床免疫学, pp 136—156, 457—458, 人民卫生出版社。
- [17] Brown, C., 1980, *Immunology*, 42(1):67
- [18] Han, T., et al., 1979, *Immunology*, 38 (1):63.
- [19] Longo, D., et al., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 78 (1):514—518.
- [20] Poiesz, B. J., et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77 (11):6815—6819.
- [21] 黄嘉陵, 1981, 细胞生物学杂志, 3(3): 41—46, 3(4):41—46.
- [22] *Lancet* I (8152), 1979, 国外医学生物制品分册, 1980, 4:175.
- [23] Gilliland, D. G., et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77(8):4539—4543.
- [24] Satto, M., et al., 1978, *Cann*, 69:331—337.
- [25] Accolla, R., et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77(1):563—566.
- [26] Lachwann, P. J., 1980, *Immunology*, 41 (3):1.
- [27] Buchmeier, M. J., et al., *Nature*, 288 (5790):486—487.
- [28] Steward, M. W., 1979, *Immunochemistry*. pp. 38—40.
- [29] Holborow, E. J., et al., 1977, *Immunology in medicine*. pp. 42—1026. Academic Press. London.
- [30] Veda, R., et al., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 78 (8):5122—5126.