维普资讯 http://www.cqvip.com

综述

R392.11

64-67

T细胞识别、激活及杀伤的分子基础研究进展

T淋巴细胞，抗原，识别，激活，杀伤，免疫反应

病理生理教研室 范维珂 综述

中图分类号 R392

近十年来，免疫学中最重要的进展之一是T细胞对抗原识别、激活及杀伤的分子基础研究，它为了解与研究T细胞的正常与病理性免疫反应提供了新资料，兹择要简介于后：

1. T细胞的识别[1,2,3]众所周知，T细胞与B细胞不同，它所识别的抗原需与其相同的主要组织相容性复合物(MHC)相结合，形成抗原－MHC.因之T细胞受体(TCR)比B细胞受体(BCR)要复杂得多。近年发展了一系列新技术，如①体外单克隆T细胞株的建立，使培养中的T细胞具有完全相同的TCR；②采用分子生物学技术，分离上述细胞的TCRmRNA，逆转录成TCRcDNA，与BCRmRNA进行相减杂交，藉以了解TCR基因的特定结构；③制备上述TCR的特异性单抗，用此分离纯化TCR，分析其结构及氨基酸(AA)序列，因之对TCR的结构及功能的认识有了迅速的提高，结果如下：

(1) $TCR_{(\alpha\beta)}$的结构与功能[4]绝大部分TCR由$TCR_{(\alpha\beta)}$组成，α链是40～50KD的酸性糖蛋白，β链是40～45KD的中性或碱性糖蛋白，二者由二硫键联结形成异型二聚体。α、β链均属Ig基因超家族，均含V区及C区。V区多变(102～119AA)，与抗原的多样性相一致，C区含138～179AA．跨膜区含20～24AA．有赖氨酸可与CD_3联接，胞浆内区(5～12AA)短，不起信息传导作用。其基因位于14号染色体。目前已经肯定：抗原－MHC是由完整的TCR所特异地识别，而非以往认为的由二个受体分别识别。其肯定的证据来自转基因实验：将特定T细胞克隆（如对C_{y1}－C）起反应的IE^K小鼠T细胞）的完整TCR基因转染另一未知T细胞，受染细胞能对C_{y1}－C－IE^K起反应；若单独转染TCR。或TCR_β基因均不能与C_{y1}C和／或MHC起反应。因而认为：$TCR_{\alpha\beta}$共同识别抗原－MHC.而不是其中某一单链分别识别抗原或MHC。

(2) $TCR_{\gamma\delta}$的结构与功能[5,6]很小一部分外周血、上皮内及胸腺T细胞的TCR呈$TCR_{\alpha\beta}$阴性及呈$TCR_{(\gamma\delta)}$阳性，可用其相应单抗经免疫组化鉴定或基因克隆分析而确定。γδ链的结构近似α、β链，分子量分别为36～55及40－60KD．其功能尚不清楚。大多数Trδ细胞不表达CD4及CD_8．亦不受MHC限制，能非特异性地溶解肿瘤细胞。

(3)CD_3复合物的结构与功能TCR使T细胞识别抗原－MHC.但其激活T细胞则依赖与之紧密联结的CD_3复合物。人及小鼠的

维普资讯 http://www.cqvip.com

CD_3 包括 r（25～28KD）、δ（20KD）、ε（20KD）、ζ 16（KD）及 η（21KD）五种糖或非糖化蛋白链，形成复合物。并与 TCR 构成 αβ－rδε ζ η（或ζ 2），往往是共同表达或共同不表达。CD_3 可由抗 CD_3 单抗用免疫组化法鉴定，外周血及淋巴组织的成熟 T 细胞的阳性率为 100%。rδε 链的基因属 Ig 基因超家族，位于第 11 号染色体，其特点是没有 V 区，所以不呈多样性，与抗原识别无关。有 C 区，其跨膜区富含带负电荷的天冬氨酸，可与 TCR 的带正电荷的赖氨酸紧密结合，实现共表达。其胞浆内区含 44～81AA，其长度足以向细胞内传导信息。ζ 与 η 链的结构相似（不同于 r、δ、ε），其细胞外区（9AA）短，跨膜区亦含天冬氨酸，而胞浆内区长且差别大（ζ 为 133AA，η 为 155AA），有可进行磷酸化的酪氨酸位点，在信息传导中起重要作用。因此，CD_3 在受到抗 CD_3 抗体作用时，与 TCR 受抗原－MHC 刺激一样，亦能激活 T 细胞或增强该反应，但无抗原特异性。虽然抗原－MHC 通过 TCR 识别，CD_3 传导来激活 T 细胞，但实际上往往是不够的，尚需附加的辅助分子及其激物的协助。

（4）T 细胞辅助分子的特征及功能[7,8]辅助分子为数众多，在 T 细胞膜表面表达，其共同特征为：①能特异地与抗原提呈细胞或靶细胞表面分子配体结合；②该类分子不呈多态性；③在结构上属 Ig 或整合素基因家族；④其作用是增强粘附或协助传导信息；⑤常用其相应抗体进行免疫组化鉴定或分离。其中研究较多的有：A、CD_4 是 55KD 糖蛋白，属 Ig 家族，膜外区含 4 个 V 区，其配体为 MHC Ⅱ型分子，分布于 $TCR\alpha_\beta$MHC Ⅱ限制的 T 细胞上（占外周血 T 淋巴细胞的 65%）及巨噬细胞上，其基因与 CD_8 基因同位于人 2 号染色体，其作用是起粘附与信息传导；B、CD_8 亦属 Ig 家族，含 1 个 V 区，其配体为 MHC－Ⅰ，分布于 $TCR_{\alpha\beta}$MHC－Ⅰ限制的 T 细胞上，占外周血 T 细胞的 35%，亦起粘附与信息传导作用；C、CD_2（羊红细胞受体）亦属 Ig 家族，为－45～50KD 糖蛋白，含二个细胞外球状区可与其配体 LFA－3（CD_{58}）结合，存在于多种血细胞膜上，包括 90%以上的成熟 T 细胞，70%的胸腺细胞及 NK 细胞上，亦起粘附及信息传导作用；D、CD_{28} 为－44KD 的同型二聚体糖蛋白，其配体是 B7／BB1，在 80%的外周血 T 细胞表面有它的表达，起粘附及信息传导作用。近年进一步发现 CD_{28} 的刺激可引起促细胞分裂、促细胞因子分泌、促细胞杀伤作用，是在 T 细胞激活中，除 TCR 以外的另一个十分重要的辅助分子，提供 T 细胞激活的第二信息[9]；E. VLA（very lafe activation）分子是整合素家族中含 β_1 链的一组膜蛋白（VLA 1－6），均为异质二聚体，分布于白细胞及其他细胞上。它与细胞外基质配体（胶原与 VLA 1－3，层蛋白与 VLA 1－3，6，纤维连接蛋白与 VLA 3－5）的结合对 T 细胞起粘附及协同刺激作用；F. 其他 在 T 细胞表面尚有 $CD_{11a}CD_{18}$（LFA－1）、CD45R、CD_5 等传导信息，CD_{44} 等起粘附作用。

众多研究发现，在 TCR：CD_3 介导的 T 细胞激活中需要共激物（costimulators），例如高度纯化的正常 T 细胞对 TCR：CD_3 抗体不起反应或反应弱，而需附加细胞如单核巨噬细胞、树状突细胞及 B 细胞的参与，辅佐剂亦能起此作用，推测这些细胞能产生共激物。细胞因子如 IL－1、TNF、IL－6 都对 T 细胞起共激物作用。共激物可决定 T 细胞是否起免疫反应及其特征。

2. T 细胞的激活[1,10,11] T 细胞识别抗原－MHC 的结果是：①T 细胞增殖产生抗原特异性 T 细胞克隆性增殖及记忆细胞的形成；②T_4 细胞分泌细胞因子及 T_8 细胞产生细胞毒效应，统称之为 T 细胞的激活效应，包括几个相关的步骤：

（1）早期信息传导 TCR 受刺激后，即可出现：①胞膜内肌醇磷脂的水解；②胞浆内 Ca^{+}

维普资讯 http://www.cqvip.com

$^{+}$浓度增高；③胞膜及胞浆蛋白的磷酸化。这些 Ca^{++}及代谢产物起第二信使的作用。具体机制为：TCR 与配体结合后几秒钟之内，CD_3通过胞膜内 GTP 结合蛋白（G 蛋白）将信息传给磷酯酶 C，使其活性增高，水解胞膜内的 PIP_2（二磷酸磷酯酰肌醇）、其产物 DAG（二酰基甘油）及，IP_3（三磷酸肌醇）在胞浆内增高。IP_3刺激内质网释放 Ca^{++}储备，同时使胞膜钙通道摄钙增加，以致胞浆 Ca^{++}浓度急剧升高。由于 DAG 及 Ca^{++}浓度的升高，激活了蛋白激酶 C（PKC），Ca^{++}与钙调蛋白结合激活了钙依赖性蛋白激酶，两者均能使蛋白磷酸化形成磷蛋白，如 CD_3 r、δ 的丝氨酸、CD_3 ε的酪氨酸及 CD_4、CD_8及 CD_{45}的磷酸化，亦可使 DNA 结合蛋白直接磷酸化，因而发生磷酸化诱导的 DNA 结合蛋白抑制亚单位（调节转录的序列即核因子）的释出，导致 T 细胞基因转录的激活。与此同时，T 细胞膜上 Na^{+}/H^{+}交换增加，细胞内 PH 升高，Na^{+}/K^{+} ATP 酶活性亦升高，Na^{+}进入细胞，K^{+}逸出细胞增多，细胞膜对葡萄糖、氨基酸及核苷酸运转增强。

（2）T 细胞基因转录的激活与表达增强 TCR：CD_3与抗原－MHC 结合后，T 细胞可发生 70 个以上的基因转录激活。按其发生的早晚，可分为三类：①立即型，在 30 分钟以内发生，如 C－fos、c－myc 等；②早期型，在 30 分至 20 小时的有 r－IFN、IL2～6、LT、C－myb、TGF－β、GM－CSF 及 IL－2R 基因等；③晚期型，在 3～14 天的有 HLA－DR、VLA－1 基因等。按其表达产物的功能有：①细胞原癌基因 c－fos、C－myc 等的产物，在 15 分至 1h 出现，分别在 1h 及 6h 达高峰，在细胞核内起促进细胞增殖的作用，诱发 DNA 合成，调节 IL－2 基因转录；②多种细胞因子基因产物如 IL－2 及 r－IFN 在 1h 内即可出现。IL－2 基因在其 5′端有一段启动子，在此序列上常有 DNA 结合蛋白与之结合并起调节作用。该序列上可特异地结合一种转录激活蛋白复合物 AP－1。它由 C－jun 及 C－fos 癌基因蛋白产物由亮氨酸残基交叉连接而组成。若用 PHA 刺激 C－fos 转录，IL－2 刺激 C－jun 转录，可生成 AP－1，与 DNA 结合蛋白作用，可使 IL－2 基因转录剧增。推测 IL－1，4，6 通过同样机理起共激物的作用。免疫抑制剂环孢菌素 A 对移植免疫的抑制、亦可能作用于 IL－2 基因的启动子，使 IL－2 表达减少。③细胞因子受体基因如 IL－2R 产物（CD_{25}）表达增加，机制与上类同。

（3）T 细胞分裂活性的诱导，引起细胞的克隆性增殖 当 T 细胞受激后，原癌基因产物及细胞因子迅速增加，作用于细胞核及增多的受体上，在 48－72h 内在体内可见细胞加速分裂、增殖，呈克隆性生长，以增强免疫效应。

3. T 细胞的杀伤 随着 T 细胞克隆技术的发展，有可能深入地研究细胞毒性 T 细胞，其功能是杀伤病毒感染细胞、肿瘤细胞及同种与异种移植细胞。该细胞绝大部分为 $TCR^{-}{}_{(\alpha\beta)}\ {}_{CD+3}$：$CD^{-}{}_{8}$细胞，识别与 I 型 MHC 相结合的抗原。因其在抗病毒、抗肿瘤、及抗移植物中的应用具有重要意义，故而研究特多。现已知道，它不仅在抗原－MHCI 刺激时被激活，而且亦可被多种抗体如抗 TCR、抗 CD_3、抗 CD_8、抗 CD_2等单抗所激活、亦可被植物凝集素所激活。其表面有 IL－2R，可被 IL－2 作用，促进其增殖、成熟及杀伤作用。其杀伤作用可分为三个阶段：

（1）T 细胞对靶细胞的识别与其本身的激活，已如前述；

（2）靶细胞溶解的准备 体外培养研究发现：杀伤细胞（包括 CTL 及 NK）的一个明显特征是胞浆内含有较大颗粒，在电镜下由镍酸染成深黑色，这种颗粒的多少与溶细胞活性成正比。在无溶细胞活性的 T 前期细胞或激活的 T_H细胞中都很少看到。Yanelli 等用电影摄象进行观察，杀伤细胞在接触靶细胞

维普资讯 http://www.cqvip.com

前，通过其宽阔且无颗粒的细胞前缘伸出伪足而运动，在其核后胞浆变狭呈尾巴状，含大量颗粒。当其与含相应抗原－MHCI的靶细胞接触时，1～2m内细胞变园，胞浆颗粒移向接触区，6～10m颗粒与接触区胞膜融合，发生脱颗粒，释放其内含酶，发生靶细胞溶解。Podack及Henkart从各种杀伤细胞分离胞浆颗粒，发现后者能在Ca^{++}存在条件下，非特异地溶解多种靶细胞，而从非杀伤细胞中分离的颗粒地却无此作用。经分析，杀伤细胞的颗粒中含有多种酶及蛋白，如颗粒酶(Granzymes) A～G，占90%，为丝氨酸蛋白酶；溶酶体酶为组织蛋白酶D、芳基硫酸酯酶、β－葡萄糖醛酸酶及β－糖胺酶；以上二类酶在杀伤中的作用不详。目前认为起致死性杀伤作用的颗粒蛋白为穿孔素[12](perforin)。

(3)靶细胞的溶解 将靶细胞与穿孔素在含Ca^{++}溶液中孵育，扫描电镜显示膜上布满空洞，内径5～20nm。现认为是由二种不同大小的穿孔素单体在靶细胞膜聚合所致。在穿孔素P_1的分子量为65～70KD，PI6，44，在靶细胞膜上由18～20个分子形成多聚穿孔素管状复合物，分子量约1000KD，高160Å，其中40Å埋入膜内，120Å暴露在膜外；小穿孔素P_2的化学性质尚不清楚，由NK细胞产生，形成高120Å的多聚体，这些管状复合物穿过靶细胞膜形成非选择性离子通道，使靶细胞膜出现空洞。胞膜被穿孔后，细胞内外离子平衡发生障碍，水分进入胞浆，细胞肿大，线粒体肿胀，染色体凝集，细胞裂解，即发生坏死。一般在人血T淋巴细胞里测不出穿孔素，但用IL－2培养后，即能测得。T细胞表面受其本身分泌的硫酸软骨素A蛋白多糖的保护作用，免受穿孔素的损害。近年研究发现，杀伤时尚可出现程序性细胞死亡(Programmed Cell Death)或凋亡(Apoptosis)，具有其形态特征，其机制正在研究中。

参考文献

1. Altmann A. et al. Adv Immunol 1990; 48: 227
2. Male D. et al. Advanced Immunology. J. B. Lippincott Co. Philadelphia 1987. pp. 7. 1
3. Arnaiz－Villena A. et al. Immunol Today 1992; 13: 259
4. Ashwell JD and Klausner RD. Annu Rev Immunol 1990; 8: 139
5. Raulet DH. Annu Rev Immunol 1989; 7 175
6. Kabelitz D. Crit Rev Immunol 1992. 11: 281
7. Bierer BE. et al. Annu Rev Immunol 1989; 7: 579
8. Parnes JR. Adv Immunol 1989; 44: 265
9. June CH et al. Immunol Today 1990; 11: 211
10. Weiss A and Imboden JB. Adv Immunol 1987. 41: 1
11. Geppert TD. et al. Immunol Rev 1990. 117. 5
12. Krahenbuhl O and Tschopp J. Immunol Today 1991; 12: 399

(收稿日期 1994－03－01)