

Immunology

hanbing Qin

March 2026

hanbing116

目录

1	绪论	4
1.1	自然免疫	4
1.2	获得性免疫	4
1.3	免疫应答	4
1.4	免疫系统	4
1.5	克隆选择理论	5
2	抗原	6
2.1	抗原的分子基础	6
2.2	抗原决定簇	7
2.3	抗原的免疫特性	7
2.4	抗原组学	7
3	抗体	8
3.1	免疫球蛋白的类型	9
3.2	免疫球蛋白基因	12
3.3	免疫球蛋白基因的重排与表达调控	13
3.4	抗体多样性的形成	15
3.5	免疫球蛋白的合成与分泌	16
4	补体系统	18
4.1	组成及理化性质	18
4.2	补体活化	18
4.3	调控与生物学效应	23
4.4	补体的生物合成与补体缺陷	24
5	免疫系统的组织器官与细胞	25
5.1	淋巴组织器官的结构和功能	25
5.2	免疫系统的细胞	28
6	主要组织相容性复合物	34
6.1	主要组织相容性抗原的结构与功能	34
6.2	主要组织相容性抗原基因结构及遗传	37
6.3	MHC 的检测原理及应用	38
7	抗原抗体反应	40
7.1	抗体的制备与应用	40
8	细胞免疫	42
9	免疫调节	43

目录	3
10 感染免疫	44
11 超敏反应	45
12 异常免疫	46
13 免疫进化	47

hanbing116

1 绪论

1.1 自然免疫

又称天然免疫、先天免疫，是机体先天就有的而且始终存在的防御机制。如：

皮肤、黏膜、分泌的脂肪酸等有效物质； α 、 β 、 γ 干扰素、白细胞介素、补体；各种有吞噬作用的自然杀伤作用的细胞、自然淋巴细胞、小胶质细胞等（这些细胞除了直接吞噬病原体外，还可以通过模式识别受体（PRR）等特殊受体介导）。

1.2 获得性免疫

又称**特异性免疫**、适应性免疫，是机体通过抗原诱导获得免疫应答而产生的对非自身物质（包括病原体）的抵抗力。获得免疫应答即：细胞免疫和体液免疫。

获得性免疫具有**记忆性**。

注意：无脊椎动物中仅存在自然免疫，脊椎动物中同时存在自然免疫和特异性免疫。

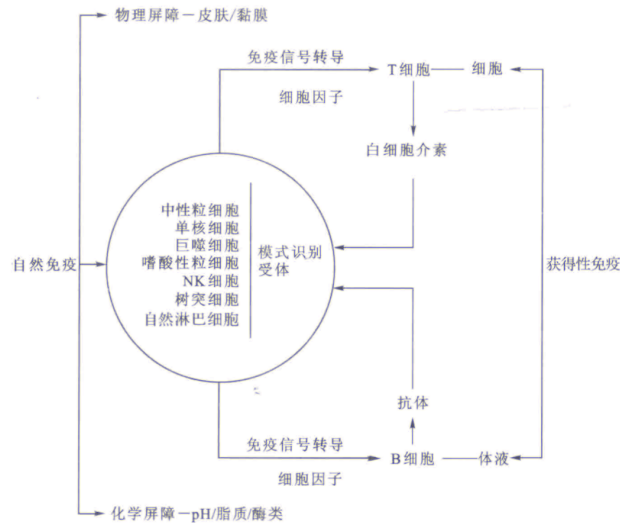


图 1: 自然免疫与获得性免疫相互关系

1.3 免疫应答

免疫应答是机体对侵染的自身防御反应，“侵染”不仅包括病原生物及其产物，还有非生物物质；有外来的也有体内的。

获得性免疫应答特点：**特异性、适应性、区别自身与非自身、记忆性、自我调节性**

1.4 免疫系统

机体的免疫系统由许多**免疫的组织器官**和**免疫细胞**以及**免疫分子**组成

初级淋巴器官（中枢淋巴器官）：骨髓、胸腺

次级淋巴器官（外周淋巴器官）：淋巴结、脾、肝、全身各部的淋巴组织

1.5 克隆选择理论

免疫应答的特异性是基于抗原特异的 T 细胞和 B 细胞识别特殊的抗原分子，实际上是识别更细微的结构：**抗原表位**。Jerne 与 Burnet 对其细胞学基础阐述如下：

1. T 细胞与 B 细胞无数的特异性在与抗原接触前就存在。
2. 参与过免疫应答的淋巴细胞表面有特异性抗原受体。B 细胞的受体与其产生的抗体特异性相同，只是多了一段穿膜肽，因此称为**膜抗体**（膜免疫球蛋白）；T 细胞表面有较复杂的抗原受体（**TCR**）。
3. 一个抗原表位与特异性淋巴细胞受体识别后，活化该细胞，使其分化增殖成熟为一个淋巴细胞克隆，释放物质发挥免疫效应。
4. 能特异识别自身抗原的淋巴细胞在成熟前被杀死清除，称为“克隆流产”。

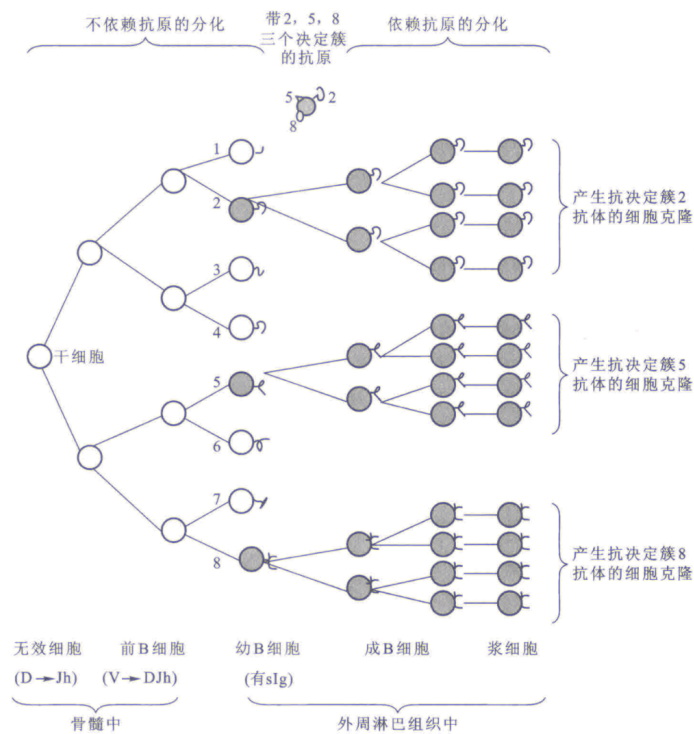


图 2: B 细胞特异性克隆选择理论

2 抗原

抗原：诱导机体免疫应答（抗体、淋巴细胞活化），与相应抗体或 T 细胞受体发生特异反应

- 特性：免疫原性、特异反应性

免疫原性：能诱导产生抗体或激活淋巴细胞产生免疫应答的物质

特异反应性：能与抗体特异性结合的物质

注：两种特性都有的叫做完全抗原；能特异结合但不会诱发抗体形成的叫**半抗原**；而且免疫原性的物质对不同个体是相对的。

半抗原必须与载体偶联才能表现免疫原性，在偶联分子中，半抗原相当于一个抗原决定簇或者是一个免疫优势残基。

- 分类：天然抗原、人工抗原、超抗原

天然抗原：指天然的生物、细胞及天然生物产物：如细菌、病毒；一些生化分子——蛋白、糖类…

人工抗原：经过人工化学改造的天然抗原。一个天然抗原可能有多个**抗原决定簇**，人造抗原用置换的基团相当于单一的抗原决定簇，无免疫原性，属于半抗原。如：三硝基酚（TNP）、二硝基酚（DNP）等。**合成抗原**是化学合成的分子。

超抗原 (SAg)：一般多肽抗原只能被少数抗原特异性 T 细胞识别并激活 T 细胞，最多仅能刺激 1 万个 T 细胞里面的一个活化。而超抗原刺激能力强大，比一般的抗原激活效率高 2000 倍 50000 倍。如食物中毒的葡萄球菌肠毒素（SE），关节炎支原体裂原。

机制：超抗原被 T 细胞识别前**不需要经过抗原呈递细胞处理**。超抗原与 TCR 结合仅通过 $V\beta$ 编码的肽，形成的是“**MHC-超抗原-TCR**”三联体，因此受刺激的 T 细胞比一般抗原刺激多得多。

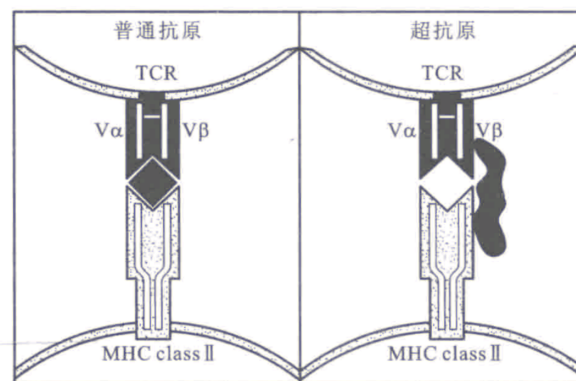


图 3: 超抗原刺激的 T 细胞活化

2.1 抗原的分子基础

1. 分子组成：糖蛋白、脂蛋白、核蛋白等大分子物质；单纯的脂质和核酸几乎无免疫原性。
2. 分子大小：一般而言，大分子比小分子物质的免疫原性强。

3. 分子结构：分子结构中有侧链的物质比类似没有侧链的物质有**更强的免疫原性**；某些特殊氨基酸在肽链中的位置对免疫原性有显著作用；光学构型对免疫原性（D-氨基酸聚合体的免疫原性低于 L-异构体）；物理状态（多电荷的免疫原分子是弱免疫原性）

2.2 抗原决定簇

抗原决定簇又称**抗原表位**，是位于抗原物质分子表面或者其他部位的具有一定组成和结构特殊的化学基团。与免疫系统中淋巴细胞上的受体结合以及与相应抗体分子结合。是免疫原引起免疫应答以及与抗体产生特异反应的基本结构单位。

顺序决定簇：功能基团取决于组成的氨基酸排列顺序，又称为连续性决定簇。

结构决定簇：不相连的氨基酸顺序片段经多肽的折叠卷曲而组合起来的功能基团，一般位于蛋白质的表面，又称为非连续性决定簇。

抗原决定簇大多位于蛋白质的表面，由于空间效应的干扰，仅有少数抗体分子能与抗原结合。还有一些决定簇可能位于蛋白质空间结构的深层，称为**隐蔽决定簇**（蛋白质结构改变或变性时才能显示作用）。

蛋白质的一级结构只有顺序决定簇，二级、三级、四级结构与抗原结构决定簇密切相关。

ps：

B 细胞表位或决定簇：被 BCR 或抗体识别的抗原表位，可与 BCR 或抗体结合，无需 APC 细胞加工提呈，不需与 MHC 结合，一般在抗原表面可以是构象表位，也可以是顺序表位。

T 细胞表位或决定簇：被 TCR 识别的抗原表位，可与 TCR 结合，APC 细胞将抗原加工提呈，多肽与 MHC 结合，常是顺序表位。

2.3 抗原的免疫特性

外源性：对免疫动物而言，需是外源异物被机体免疫系统识别，引起免疫应答。

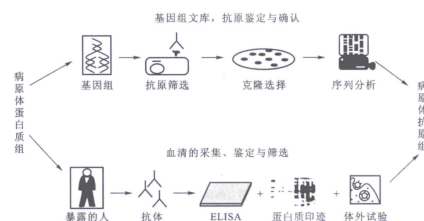
免疫原性与免疫个体及免疫方式的关系：不同物种、同一动物不同品系、不同个体对同一免疫原应答差别很大。与免疫反应基因和 MHC、自身发育与生理状况等相关。

免疫动物所用的抗原剂量视动物和免疫原种类而定，**佐剂**能增强免疫应答（1、使抗原暂存，逐步释放刺激淋巴细胞 2、引起肉芽肿或炎症细胞 3、参与刺激淋巴细胞增殖与分化），**不完全佐剂**：石蜡油、羊毛脂、水；**完全佐剂**：另加结核菌或其细胞壁。

抗原的特异性与免疫优势：不同抗原诱发的免疫应答产生的抗体数量不同，能诱发产生高浓度抗体的决定簇为**免疫优势决定簇**，不能诱发产生抗体叫做**免疫静止决定簇**。

2.4 抗原组学

抗原组是所有编码的病原生物的抗原蛋白阵列，鉴定生物的全部抗原上的抗体结合表位就是抗原组学。是建立在基因组学和蛋白质组学基础上的新领域。



3 抗体

- 生物学效应：
 - 1、对病毒、细菌、毒素产生中和作用，激活 B 细胞
 - 2、通过 Ig 受体介导细胞免疫应答，促进吞噬、T 细胞和 NK 细胞的杀伤作用
 - 3、激活补体（依靠的是**结合抗体的 C_H2** ）介导的溶胞作用（CDC）
- 结构：抗体是免疫球蛋白。

血清是血液或血浆凝固后，析出的黄色液体，血清无纤维蛋白原。血清蛋白含 100 多种蛋白：白蛋白， α 、 β 、 γ 球蛋白。其中 γ 球蛋白主要为 IgG

IgG 分子由两条 **H 链**与两条 **L 链**组成，之间通过二硫键相连。具有抗原结合活性的片段称为 **Fab 片段**，剩下的为 **Fc 片段**。

L 链由可变结构域 (V_L) 和恒定结构域 (C_L) 组成。L 链有 2 型： κ 和 λ (氨基酸序列)，正常人血清 κ : λ 约 2:1，某类抗体而言其 2 条 L 链是相同的。

H 链由一个可变结构域 (V_H) 和 3 或 4 个恒定结构域 ($C_{H1,2,3,4}$) 组成。

免疫球蛋白的二级结构由 β 片层和环状结构组成，无 α 螺旋。

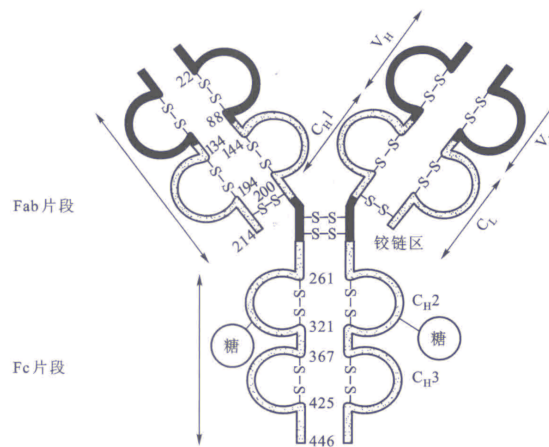


图 4: IgG 结构域

功能区：

V_H 和 V_L 是结合抗原的部位

C_{H1} 为遗传标志所在

C_{H2} (IgA、IgD、IgG) / C_{H3} (IgE、IgM) 补体结合位点，含糖基

C_{H3} (IgA、IgD、IgG) / C_{H3} (IgE、IgM) 与 Fc 受体结合

- 抗体的异质性：指抗体中的免疫球蛋白的不均一性。

抗体的抗原特异性类型：

抗原特异性类型	抗原决定簇的位置	举例
同种型	 C_H, C_L	类 ($\gamma, \mu, \alpha, \epsilon$ 和 δ 链) 亚类 ($\gamma_{1-4}, \alpha_{1-2}, \mu_{1-2}$) 型 (κ, λ) 亚型 [$Oz(+), Oz(-), Kern(+), Kern(-)$]
同种异型	 $C_H \gamma, C_H \alpha, C_L \kappa, C_L \lambda$	γ_{1-4} : Gm 1 ~ 25 α_2 : Am1, Am2 κ : Km1, Km2, Km3
独特型	 V_H, V_L	单克隆抗体的 V 区

图 5: 免疫球蛋白血清特异性

- **免疫球蛋白的可变区**: 不同特异性抗体的 V_L 和 V_H 显示变异仅集中在其中少数区域的氨基酸上, 称为**超变区**, 是抗体的抗原结合位, 与抗原决定簇的结构互补, 又称**互补决定区 (CDRs)**; 其余变化比较小的称为**框架区 (FRs)**。FRs 的保守序列形成 β 片层结构, 而 CDRs 位于环状结构。

抗体的特异性差异取决于 Fab 片段上 H 链和 L 链的 6 个 CDRs 的氨基酸组成及长度, 尤其是 **CDR3** 的变化。

- **免疫球蛋白的恒定区**: 轻链只有 1 个恒定区结构域, 重链恒定区有 3 到 4 个结构域。

3.1 免疫球蛋白的类型

五种抗体是依照重链的氨基酸顺序不同进行划分的

免疫球蛋白的生物学功能有:

V 区:

- 与抗原特异性结合, 中和毒素, 阻断病原感染, 激活 B 细胞

C 区:

- 激活补体
- 与细胞表面 FcR 结合:
 - 1) **调理作用**: 又称调理素作用, 抗体、补体与具有吞噬作用的细胞 (中性粒细胞、巨噬细胞) 表面的 Fc 受体/补体受体结合, 促进吞噬细胞吞噬细菌等颗粒性抗原的作用。
 - 2) **抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用 (ADCC)**: IgG 与靶细胞表面抗原结合, 效应细胞 (NK 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞) 表面受体与靶细胞表面的 Fc 结合, 杀伤靶细胞。
 - 3) 介导 I 型超敏反应
 - 4) 穿过胎盘和黏膜

1. **IgG**: 血清中含量最多的类型, 占人总血清免疫球蛋白的 80% 左右, 分子为单体, 由 2 条 γ 链和 2 条 κ (或 λ) 链组成。IgG 有四种 γ 链亚型: IgG1、IgG2、IgG3、IgG4

特性	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
血清含量/(mg/mL)	6.9	3	1	0.5
半衰期/天	23	23	8	23
相对分子质量 × 10 ³	146	146	170	146
IgG占比/%	60	32	4	4
铰链区长度(残基)	15	12	62	12
重链间二硫键	2	4	11	2
蛋白酶敏感性	++	+/-	+++	+
通过胎盘	++++	++	++	+++
A蛋白亲和性	+++	+++	-	++
G蛋白亲和性	+++	+++	+++	+++
补体C1q结合	++	+	+++	-
Fc γ R I 结合	+++	-	++++	++
Fc γ R II a结合	+++	++	++++	++
Fc γ R II b/c结合	+	-	++	+
Fc γ R III a结合	++/+++	-/+	++++	-/++
Fc γ R III b结合	+++	-	++++	-
FcRn结合	+++	+++	++/+++	+++

图 6: 人 IgG 亚类的结构与生物学特性

如：IgG1、IgG3、IgG4 易于通过胎盘，为胚胎发育及新生儿提供重要的保护作用；IgG3 激活补体的能力最强。

IgG 是机体再次免疫应答后形成的抗体主要成分，在机体防御机制中发挥主要的作用，含量高，分布广，易于透过毛细血管壁进入组织间隙。大多数抗菌性、抗病毒性抗体均属于 IgG 型抗体。

2. **IgM**：占人总血清免疫球蛋白的 5% 到 10%，单体的 **IgM 为膜结合型 (mIgM)**，存在于未成熟的 B 细胞表面。由**成熟浆细胞分泌的 IgM 为五聚体**，单体之间的重链由 2 个二硫键分别将 C_{H4}/C_{H4} 和 C_{H3}/C_{H3} 两个结构域连接起来，每个五聚体中含有一个 J 链（通过二硫键与 2 个 $C_{\mu 4}$ ）链的 C 端连接，IgM 单体聚合成五聚体必须有 J 链的作用。

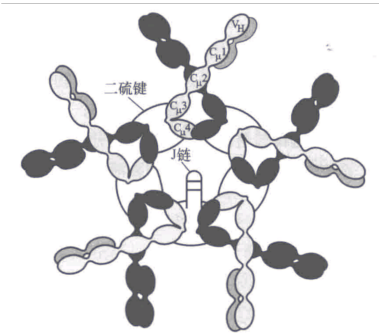


图 7: IgM 五聚体

IgM 是对抗原初次免疫应答产生的抗体类型，也是新生儿最先合成的免疫球蛋白，因此检测 IgM 水平可用于早期诊断。由于五聚体有 10 个抗原结合位，因此比其他种类的免疫球蛋白有更高的效价，易于与有重复决定簇的抗原（如病毒粒子）或血细胞结合。当血细胞和 IgM 特异性抗体一起温育时，会发生凝集作用。此外 IgM 在补体的激活中也十分有效，因为补体的激活要 2 个免疫球蛋白分子，而一个

五聚体 IgM 即可起到活化作用。

IgM 是大分子不易扩散，在胞间组织中浓度很低，J 链使 IgM 能与分泌细胞的受体结合，从而通过上皮细胞层转运分泌到黏膜表层。但 IgM 不是黏膜上最主要的分泌型抗体，只是**辅助分泌抗体**的作用。(IgM 半衰期远短于 IgG，这是其体外难以广泛运用的重要原因。)

3. **IgA**：血清中只占免疫球蛋白的 10% 到 15%，是外分泌型抗体，于机体的外分泌液如乳汁、唾液、泪液、支气管黏液等中广泛存在。在血清中，**主要以单体形式存在**，也有二聚体、三聚体甚至四聚体等。外分泌液中的 IgA 称为**分泌型 IgA (sIgA)**，sIgA 为二聚体或四聚体，由单体通过一条 **J 链**和**分泌片**聚合在一起。分泌片是由黏膜上皮细胞产生的蛋白质，5 个类似免疫球蛋白的结构域组成，与 IgA 二聚体的 Fc 结合。

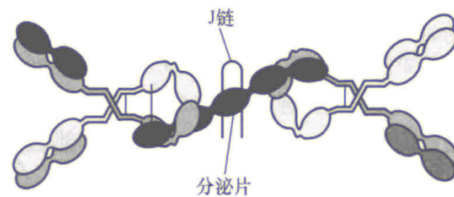


图 8: IgA 二聚体

分泌 IgA 的浆细胞集中排列在黏膜上皮细胞下面，分泌的 IgA 储存在皮下组织中，与**多聚免疫球蛋白受体**紧密结合，然后受体-IgA 复合物通过上皮屏障被转运进入分泌腔。

分泌型 IgA 在黏膜表面有重要效应功能，抗原与 sIgA 结合后易被黏膜捕获，并排出体外。sIgA 是感染性免疫的重要防线，尤其对沙门菌、霍乱弧菌、脊髓灰质炎病毒、流感病毒等的感染。

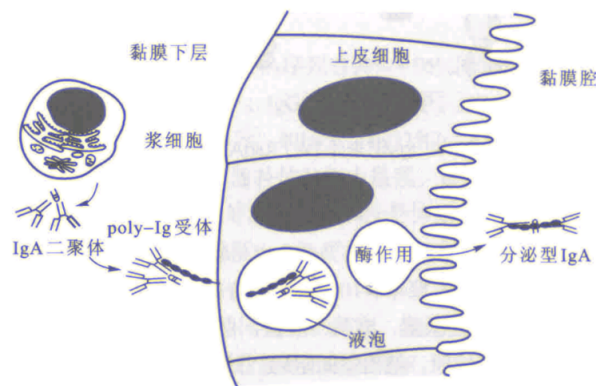


图 9: 外分泌型 IgA 的生长过程

4. **IgE**：血清中含量很低，生物学作用相当明显。IgE 可介导**速发型超敏反应**，如枯草热、哮喘、荨麻疹以及过敏性休克等。IgE 为单体，其 Fc 段比 IgG 多一个结构域 (C_{H4}/C_{H4})，能与血液中的嗜碱性粒细胞和组织中的肥大细胞表面的 IgE Fc 受体结合，由此诱导嗜碱性粒细胞或肥大细胞脱颗粒，释放组胺等活性物质，形成**超敏反应症状**。寄生虫感染、真菌感染等都能诱导 IgE 大量产生。
5. **IgD**：从多发性骨髓瘤患者血清中发现的，占血清总免疫球蛋白的 0.2% 左右，易被胰酶消化降解为 Fab 片段和 Fc 片段。功能不是很清楚，不能通过胎盘，也不能激活补体。**膜 IgD 是 B 细胞成熟的主要标**

志，在 B 细胞分化过程中，先出现 mIgM，后出现 mIgD。当 B 细胞只有 mIgM 时，抗原刺激易表现为耐受；但 IgM 和 IgD 同时存在时，则 B 细胞易被抗原激活。

6. **免疫球蛋白超家族**：免疫球蛋白在进化上有着共同的祖先，编码这些结构域的基因片段逐渐分化形成了不同的免疫球蛋白基因。许多膜蛋白也拥有一个或更多的这种结构域，从而成为**免疫球蛋白超家族**的成员。如：B 细胞受体的组成部分 Ig- α /Ig- β 异源二聚体；T 细胞受体；I 类 II 类主要组织相容性复合物 (MHC) 抗原分子……

3.2 免疫球蛋白基因

免疫球蛋白是指具有与抗原决定簇特异性结合的许许多多球蛋白分子的总称，因此多样性是免疫球蛋白的重要特点，不同免疫球蛋白是由于**基因重排**的结果。

实验证明，编码 V 区和 C 区的基因呈分离状态，并在 B 细胞分化成熟过程中不断进行重排。当淋巴细胞从胚胎期分化为浆细胞时，V 和 C 基因发生重排，将胚胎细胞中相隔较远的两个基因片段连接在一起。

写在前面：简单来说，轻链的基因大体上由 L-V-J-C 基因片段构成；而重链的基因大体上由 L-V-D-J-C 基因片段构成，最终前导的信号肽 L 都会脱落，成熟的轻链和重链都不含 L。只有重链含 D 基因片段，用于增加抗体多样性。但注意：并不是意味着只有重链含 CDR，**CDR 和 FR 均同时存在于 V_H 区和 V_L 区**，V 区是由 VJ 或 VDJ 基因片段构成的。

胚系基因：单倍体生殖细胞和干细胞所有，**未发生重排的全部基因**，如 Ig 和 TCR 基因等。

1. **轻链基因结构**：轻链有两种，即 κ 链和 λ 链

胚系 DNA 的 κ 链基因由 V_κ 、 J_κ 和 C_κ 三类基因片段组成。每个 V 基因上游都有一个 L 基因编码的 V_κ 链先导序列即**信号肽**；J 基因编码的氨基酸也属于 V 区肽段的一部分，称为**连接片段**。

胚系 DNA 的 λ 链基因由 V_λ 、 J_λ 和 C_λ 三类基因片段组成。

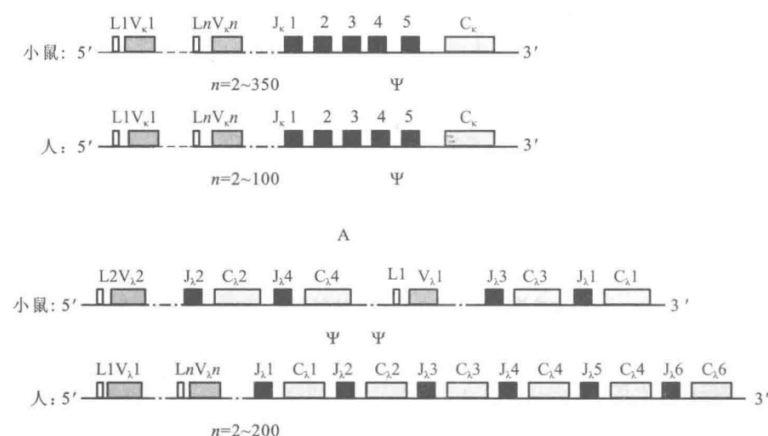


图 10: 免疫球蛋白轻链基因结构

2. **重链基因结构**：重链基因结构与轻链相似，但更为复杂，编码可变区的基因片段除 L、V 和 J 基因片段外，还有 D 基因片段。D 片段位于 V_H 和 J_H 间，编码的氨基酸位于 CDR，与抗体的多样性有关，故

称 D 基因。 C_H 基因片段的排列次序与 B 细胞的发育阶段和免疫应答过程中免疫球蛋白种类的变化有关。

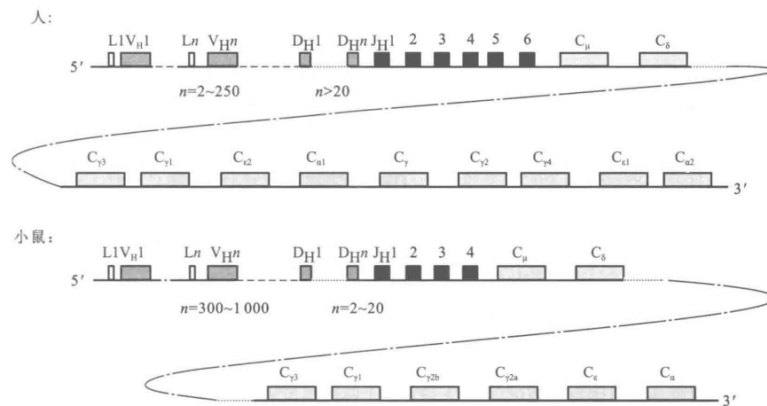


图 11: 免疫球蛋白重链基因结构

3.3 免疫球蛋白基因的重排与表达调控

- 等位基因排斥：一个 B 细胞克隆只表达 Ig（轻链，重链）两个等位基因中的一个，表达一种 BCR，只分泌一种抗体
- 轻链同种型排斥：每个 B 细胞只表达 κ 、 λ 轻链中的一种
- 重链的重排优先进行，重排成功并表达，其产物抑制另一条染色体上等位基因的重排，同时基因产物触发轻链基因重排
- 轻链的重排优先进行 κ 基因的重排
- 如果重排不成功会启动等位基因的重排，都不成功则细胞凋亡

1. **轻链基因重排与表达**：免疫球蛋白基因，是在 B 细胞发育到**小前 B 细胞**才开始发生重排，使分布在胚系 DNA 上不同区域的 V、J 和 C 基因片段中的基因重排组合在一起，成为一个成熟的 Ig 基因，进而转录翻译为成熟的轻链。

κ 基因可以通过 V_κ 区基因片段缺失、倒位的方式与一个相隔一定距离的 J_κ 基因相连接（V 区基因片段可以**随机**与 J_κ 区任何一个基因片段连接），再与 C_κ 连接成完整的 κ 链 DNA。

注： λ 链的 $V_\lambda J_\lambda$ 组合不是随机的，是**严格遵循组合来连接的**。

2. **重链基因重排与表达**：重链基因是通过两次重排形成的。第一次重排是 D 基因片段与 J_H 基因片段的重排连接，得到 DJ_H 基因片段；第二次基因重排是 V_H 基因片段与 DJ_H 片段。重排和连接，得到 V_HDJ_H 的连接片段。两次重排的 DNA 仍由一内含子隔开，转录以后得到的初转录 RNA，再修饰成为成熟的 H 链 mRNA，最终翻译出 H 链蛋白。
3. **免疫球蛋白基因转录的调控**：每个 V_H 和 V_L 基因片段都有一个启动子位于前导序列的上游 200bp 左右，但与 RNA 聚合酶 II 结合能力很弱，因此胚胎细胞中未重排的 V_H 和 V_L 基因**几乎不发生转录**；发生 V (D) J 重排后，因增强子 (EN) 的作用使转录效率大大提升。

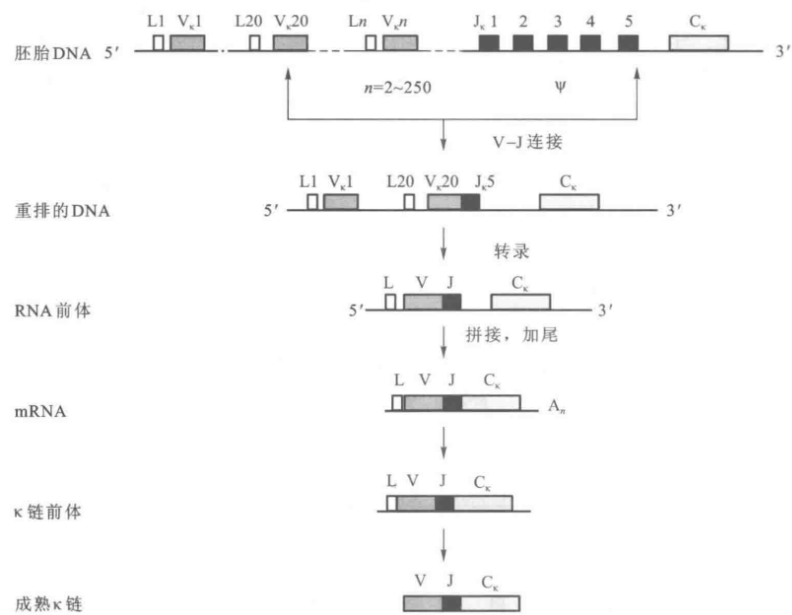


图 12: 小鼠免疫球蛋白轻链基因的重排与表达

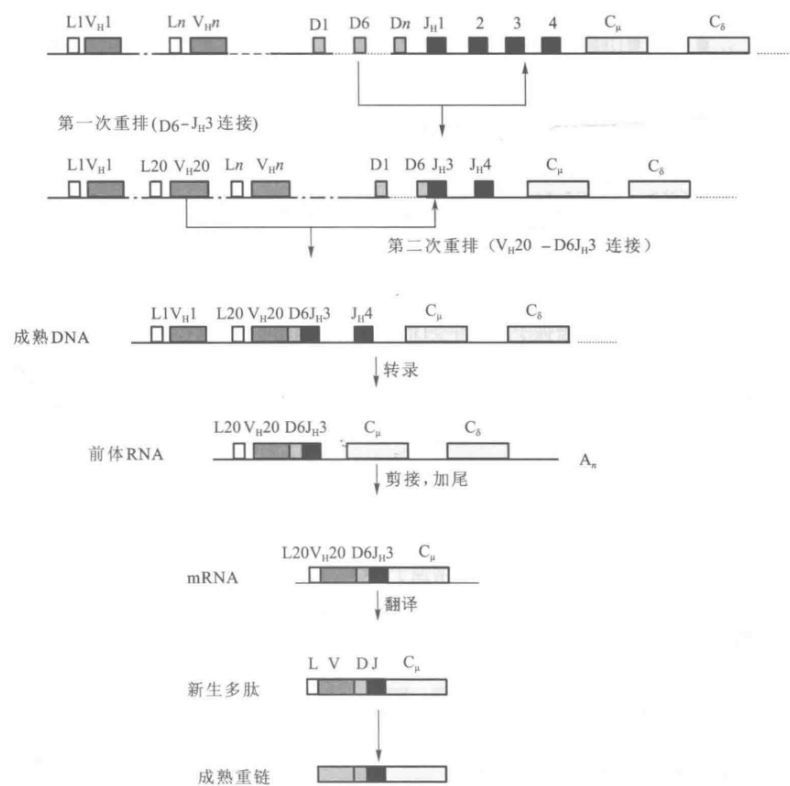


图 13: 免疫球蛋白重链基因的重排和表达

胚胎细胞 DNA 中，可变区的启动子与增强子相隔 250 到 300kb，重排后距离为 2kb！使增强子足以发挥转录调节作用。

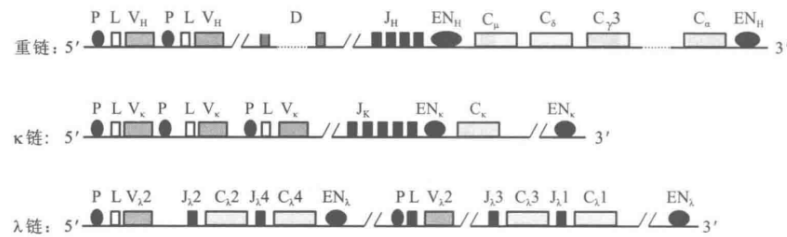


图 14: 免疫球蛋白基因的启动子 (P) 和增强子 (EN)

3.4 抗体多样性的形成

胚胎细胞的 V-J 或 V-D-J 重排：胚系免疫球蛋白基因在 B 细胞发育分化过程中的重排是抗体多样性的主要来源。V_κ 与 J_κ 的重排是随机的且两者的连接是不够精确的，在 V_κ 与 J_κ 上各有一段 DNA 称为识别序列，为七聚体和九聚体。但注意：V_λ 与 J_λ 不是随机连接的，多样性远低于 κ 链！（小鼠的 λ 链只有 3 中同型，人也只能形成 6 种组合！），且 λ 基因上的识别序列也与 κ 链不完全一样

在连接酶进行连接时，两种基因的识别序列都有不同程度的丢失或移位；识别序列切开后、连接前还可能受到外切酶和聚合酶的作用，添加部分核苷酸序列，称为 **N 区**，即**非模板依赖序列**，N 区的长短和组成是随机的，对免疫球蛋白多样性有重要的作用。

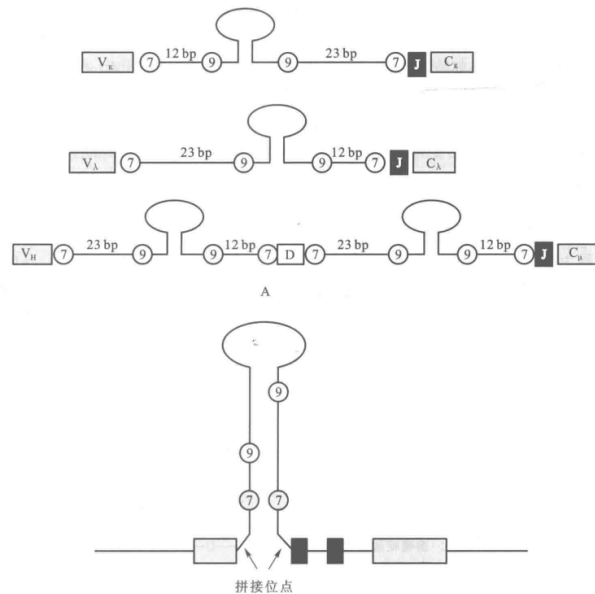


图 15: 轻链与重链基因片段的识别序列与拼接

重组信号序列 (RSS): 由七聚体和九聚体及两者之间的间隔序列 (12bp 或 23bp) 组成

12-23 规则: 在重组酶识别和作用下, 带有 12bp 间隔序列 RSS 的基因片段只能和带有 23bp 间隔序列的片段相结合而发生重排, 保证了基因片段连接的正确性

重组酶: 一组参与 V、D、J 基因片段重组的酶, 包括 RAG 蛋白、末端脱氧核苷酸转移酶 (TdT) 及参与修复 DNA 双链断端的多种酶 (如内切酶、外切酶、DNA 合成酶等)

RAG 蛋白: RAC-1 和 RAC-2 以二聚体方式专一性地识别 RSS 和切断七聚体一侧的基因片段, 介导 V、D、J 重排, 一旦 VDJ 重排并转录和表达, RAG 的表达即受到抑制, VDJ 基因不再发生重排

体细胞突变: V 区基因在重排后仍可发生改变, 这种改变是由体细胞突变产生的; 体细胞突变只改变 VJ 或 VDJ 单个片段的个别核苷酸, 从而导致免疫球蛋白的特异性变化。重链和轻链均可发生体细胞突变, 但**体细胞突变只发生在 IgG 和 IgA, 不发生在 IgM**, 可能与免疫球蛋白的种类转换有关。

体细胞突变还与免疫应答过程有关, 抗原不断刺激, 突变概率变大, 提高抗体亲和力的体细胞突变不断被选择。

3.5 免疫球蛋白的合成与分泌

- 初次应答与再次应答: 初次应答的 B 细胞成熟产生浆细胞和记忆 B 细胞, 记忆 B 细胞能够合成 mIgG、mIgA、mIgE, 但不表达 mIgD, 在收到特异性抗原刺激后激活成为浆细胞。

特征	初次应答	再次应答
抗原刺激后时间	5~10天	1~3天
抗体产生量	较少	较多
抗体类型	IgM > IgG	IgG (或IgA、IgE) > IgM
抗体亲和性	低, 易变化	高, 稳定
抗原	所有抗原	蛋白质抗原
	高剂量+佐剂	低剂量

图 16: 初次与再次免疫应答比较

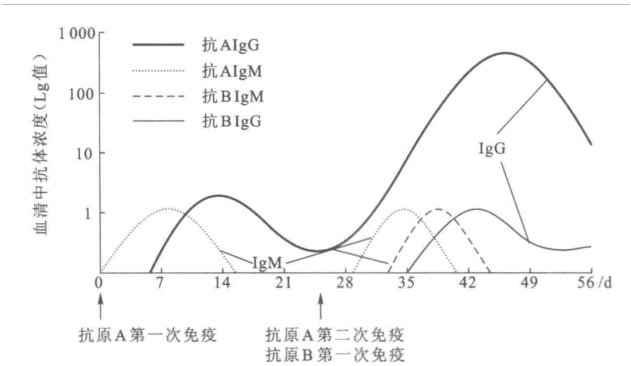


图 17: 免疫过程的抗体产生规律

- Td 和 Ti 抗原的免疫应答: 蛋白质抗原在 T 细胞缺乏时**不诱导抗体产生**, 称为胸腺依赖 (Td) 抗原, 还需 Th 细胞及其分泌的细胞因子作为第二信号。一些非蛋白抗原 (如多糖、脂质、核酸等) 诱导的抗体

反应无需 Th 细胞，因此多糖和脂质也称非胸腺依赖性 (Ti) 抗原。Ti 抗原能诱导初次免疫应答，而无记忆细胞产生。

天然的 Ti 抗原很少，主要有细菌脂多糖、荚膜多糖……

- 抗体形成中抗体种类转换的 (可能) 机制：控制抗体类别转换的核酸序列称为**转换区**，活化后的 B 细胞 DNA 上每一类 C 区基因的上游都有一个转换区。具有免疫球蛋白种类特异性的重组酶分别与这些转换区的序列结合，成为基因重排中产生那种免疫球蛋白同种型及其亚型转换的重要环节，转换信号来自 Th 细胞合成的**白细胞介素**。

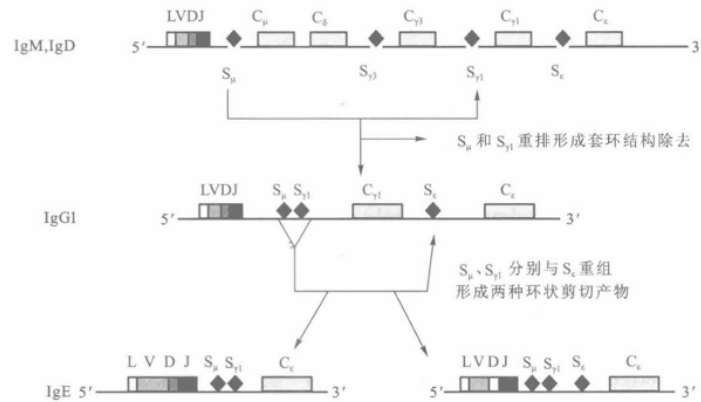


图 18: IL-4 诱导的重链基因重排 (Ig 种类转换)

还有的可能是认为 RNA 可变剪接造成产生不同的 Ig。但无论如何发生的抗体类型转变，始终要明确 V 区是没有变化的，C 区的变化导致抗体类型的转变。

- 影响体液免疫应答的因素：细胞因子与抗体类别转换有关，促进 B 细胞增殖分化。

4 补体系统

补体系统由一系列蛋白质分子组成，它能参与破坏或者清除与抗体结合的抗原，包括与抗体结合的细胞。补体成分占血清中球蛋白总量的 10%，在血清中所占的比例比较稳定。它是正常血清成分，与抗原的刺激没有关系。当机体发生急性炎症反应时，补体能加速合成。

补体功能：抗原-抗体复合物或微生物激活，通过细胞裂解、调理、吞噬、活化炎症反应等，清除免疫复合物。

补体测定：红细胞用于补体活性测定。

4.1 组成及理化性质

1. 成分命名：命名的数字是按照发现的先后顺序，而不是在补体系统中参与反应的先后顺序命名的。

存在形式	表示方法
酶原形式	C3、C4、C2
活化形式	C4b2a、C4b2a3b
片断形式	C3a、C4b、C5b
灭活形式	iC3b、iC5b

表 1: 补体成分的存在形式及表示方法

2. 成分：由许多蛋白质成分组成，大多数为 β 球蛋白，少数为 α 和 γ 球蛋白，最小的分子为 D 因子，最大的分子为 C4b 结合蛋白 C4bp；多数补体成分由多条肽链组成，也有少数补体成分是由一条肽链组成的，补体激活后许多成分裂解产生两个或两个以上的片段。（补体蛋白对热不稳定，当加热到 56℃，10 min 可使补体灭活）

3. 组成分类：

- 根据实际功能分 3 组蛋白：1) 基本成分：9 个成分 11 种蛋白，C1-C9，C1-C1q、C1r、C1s
- 2) 参与旁路途径的血清因子：B (F)、D (F)、P (F)
- 3) 补体活化过程中的调节因子：I (F)、H (F)、C1INH、C4bp

根据活化阶段和功能特点分 3 组蛋白：1) 活化的早期成分：活化的经典途径、凝集素途径和旁路途径中的各种成分；2) 活化的后期成分：两条途径所共有的成分；3) 补体调节成分和补体的受体

4. 产生：许多组织细胞，主要是肝细胞和巨噬细胞。

4.2 补体活化

活化了的补体能表现出其生物学功能，如溶胞作用、调理作用及介导炎症反应等。抗感染初期主要是旁路途径和凝集素途径，后期（特异性抗体产生后）经典途径，这是因为经典途径的激活依赖抗体，特异性更强。

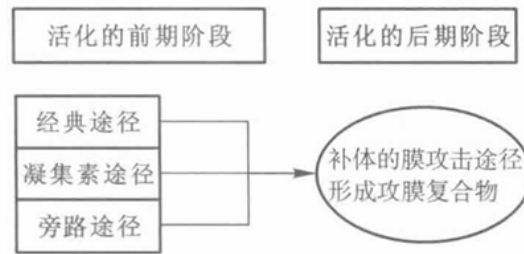


图 19: 补体活化的途径

4.2.1 经典途径

1. 活化物质：游离的抗体不能激活补体，只有抗体（Ab）与抗原（Ag）结合成复合物才成为激活补体的主要物质。1 个 IgM 即可激活补体，而 IgG1、IgG2 和 IgG3 需要至少 2 个分子激活补体，IgG 补体结合位点是 C_H2 区，IgM 是 C_H3 区，此外，IgG4、IgA 和 IgE 不能激活补体。

对 IgG 抗体来说，结合的抗原一定要是**多价的抗原**，即能够结合两个或者多个 IgG 分子的抗原，才能有效地激活补体。如果 IgG 与单价的半抗原结合形成小的复合物或者 IgG 与过量的多价抗原在一起形成的复合物都不能有效地激活补体。（这与 C1q 分子与两个靠近的 IgG 分子的 Fc 段连接启动反应相关）

2. 活化顺序：前期——C1、C4、C2、C3；后期——攻膜途径，C5、C6、C7、C8、C9。

1) C1 成分：一个 C1q 分子、2 个 C1r 分子和 2 个 C1s 分子在 Ca^{2+} 存在下结合而成的大分子。

每个 C1q 分子由 6 个相同的亚基组成，每个亚基 A/B/C 三条不同肽链组成。

C1r 是一种酶蛋白，对 C1s 有高亲和力。它连接着 C1q 和 C1s，C1q 活化后引起 C1r 酶原的活化，活化的 C1r 有 2 个片段，丝氨酸酯酶活性。

C1s 酶原在 C1r 作用下成 2 个片段，具丝氨酸蛋白酶活性（即活化的 C1s），进而催化 C4 和 C2 成分的活化。

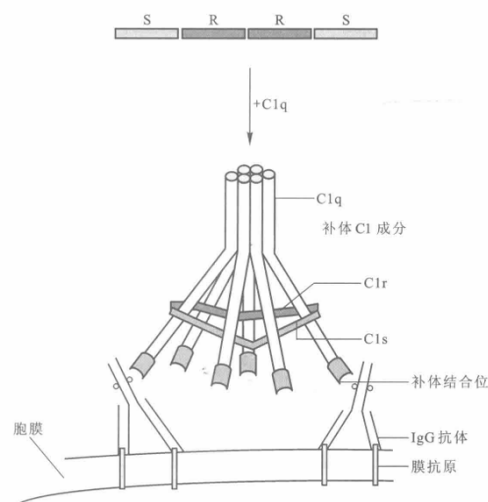


图 20: 补体 C1 与抗原-抗体复合物的结合

2) C4 成分: 由 α 、 β 和 γ 三条肽链组成的三聚体。链间有二硫键相连, 与 C3 蛋白成分有同源性。在 α 链上 Cys 和 Glu 之间有一个内硫酯键, 该键对 C4 成分在细胞膜上的固定起着重要作用。在活化的 C1s 作用下, 裂解成 C4a (过敏毒素, 可释放到液相中) 和 C4b (与膜结合)。

3) C2 成分: 蛋白为单一肽链, 与细胞膜上的 C4b 结合, 然后在 C1s 的作用下裂解成 C2a 和 C2b, C2a 与 C4b 成复合物 (催化作用为 C2a), C2b 小片段扩散到溶液中。如下是经典途径的作用图:

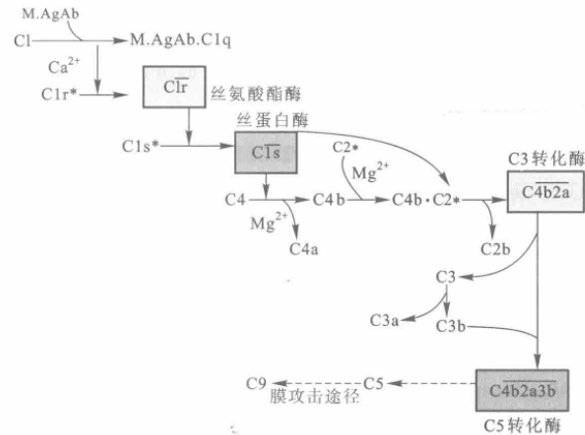


图 21: C1 的活化及 C3、C4 转化酶的形成

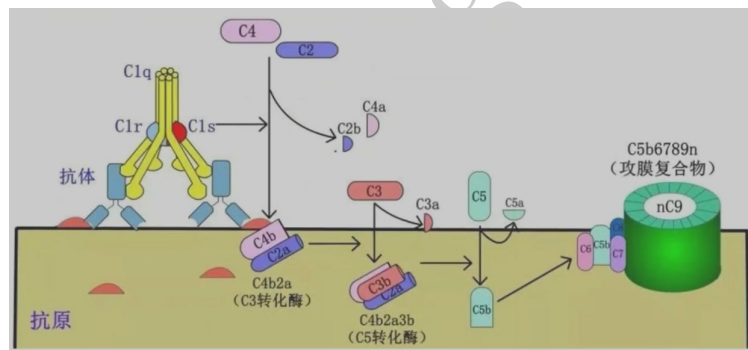


图 22: 补体经典途径

4.2.2 凝集素途径

补体凝集素途径的活化类似于经典途径, 区别是起始成分为 C4, 无 C1 成分参与。

1. 活化物质: 起始于一种血清凝集素——**甘露聚糖结合凝集素 (MBL)**, 又称甘露糖结合蛋白。大量细菌感染后的急性应答期, 会诱导巨噬细胞产生 IL-6 而促使肝细胞合成与分泌急性期蛋白, 包括 MBL。
2. 活化顺序: MBL 与细菌或病毒表面含有甘露糖的蛋白的甘露糖残基结合, 结合后类似于 C1q, 表现出丝氨酸蛋白酶活性, 称为 MBL - 相关丝氨酸蛋白酶 (MASP)。MASP 与活化 C1s 具有同样生物学活性, 水解 C4 和 C2 分子, 形成 C3 转化酶 C4b2a, 其余部分与经典途径相似。

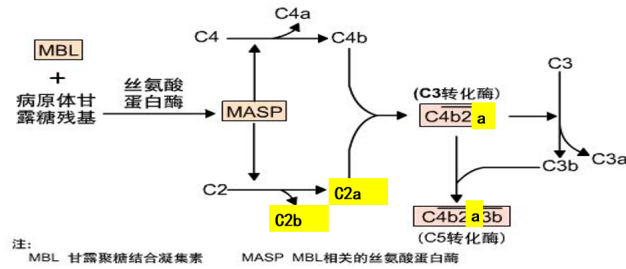


图 23: 补体的凝集素途径

4.2.3 旁路途径

活化不必有抗体的参与，但抗体对旁路途径的活化有重要作用，如 C3b 能与 IgG 等价结合，抵抗 H 和 I 因子对活化的抑制作用。旁路途径不需要经典途径中的 C1、C2、C4 成分参与，活化需要有 Ca^{2+} 的参与。

- 活化物质：1) 各种多糖，特别是菌多糖；2) 各种革兰阳性和阴性细菌；3) 寄生物 4) 经典途径中不能作为激活 C1 的免疫球蛋白分子，如人的 IgA、IgE 和 IgG4 及 $F(ab')_2$ 片段大量聚集也可有效地激活补体的旁路途径
- 活化顺序：1) C3：识别和中心作用；细胞表面有激活物质时，C3b（固相，结合细胞膜）和 C3 (H_2O)（液相）与 B 因子结合，由 D 因子作用后成为 C3 转化酶；C3b 与 IgG 等价结合，可抵抗 H 和 I 的抑制作用。
- 2) B 因子：酶原， Mg^{2+} 存在下，与 C3 结合，表现酶活性。
- 3) D 因子：丝氨酸蛋白酶，水解被结合的 B 因子
- 4) P 因子：4 个相同的亚基组成，与 C3bBb 结合，稳定转化酶

CVF (蛇毒因子)：作用类似于 C3，与 Bb 结合成 CVFBb，可连续活化 C3 产生 C3b，导致补体大量消耗

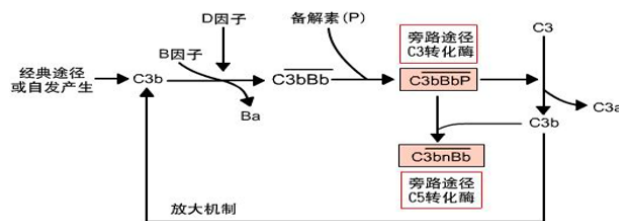


图 24: 补体旁路途径

4.2.4 后期攻膜复合物的形成

攻膜复合物 (MAC) 的形成是补体活化的后期阶段，它是补体活化前期三条途径所共有的活化顺序，因此也称为共同途径。

- 攻膜复合物形成的开始：C5 转化酶是来自三种途径的 $\overline{C4b2a3b}$ (经典途径, MBL 途径), $\overline{C3bBb3b}$ 或 $\overline{C3bnBb}$ (旁路途径)。在 C5 转化酶的作用下，C5 被分解成 C5a (过敏毒素) 和 C5b

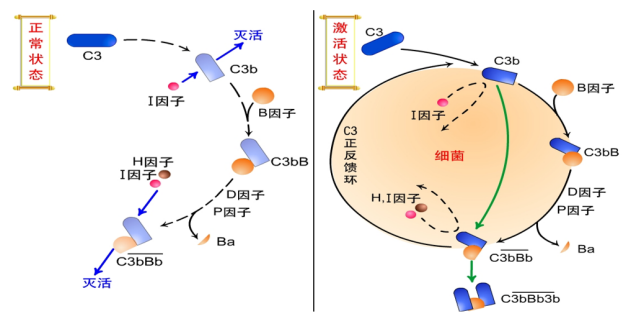


图 25: H 和 I 因子的抑制作用

2. 攻膜复合物的装配: 1) C5b: 溶膜复合物装配的启始。
- 2) C6 和 C7: 单链蛋白 C5b 先结合 C6, 再结合 C7, 形成稳定复合物, 且不损伤细胞膜。
- 3) C8: α, β, γ 异源三聚体, C8 β 先结合 C5b, 随后 C8 α/γ 结合 C8 β , γ 链插入细胞脂膜, 开始形成穿膜孔道, C5b、6、7、8 的结合依赖于 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Zn^{2+}
- 4) C9: C9 在 C5b、6、7、8 复合物上聚合 4 个分子, 发生溶胞; C9 呈环形聚合达 12-16 分子, 称为聚 C9, 聚 C9 是胞膜穿孔的结构, 膜孔改变了膜的通透性。当 C5b, 6, 7 在液相中, 会与抑制物 S 蛋白结合, 从而使 C5b6789 复合物只有 1 个 C9, 无法形成攻膜复合物, 不能溶胞。
3. 溶胞的一击假说: 溶胞与否并不取决于细胞上积累的膜孔数量, 实际上一个细胞上只要有一个膜孔造成的损伤点, 就会引起溶胞。

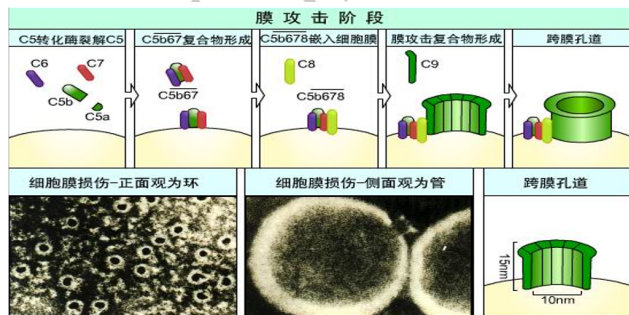


图 26: 攻膜过程图

比较项目	经典途径	凝集素途径	旁路途径
补体激活物质	Ag-Ab复合物 (IgG1、2、3,IgM)	凝集素 ⁺ (MBL)	IgG4,IgA,IgE 及多糖类物质
参与的补体成分	C1-C9	C4,C2-C9	C3, P, B, D因子,C5-C9
所需两价离子	Ca^{2+} 、 Mg^{2+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}
C3转化酶	C4b2a	C4b2a	PC3bBb
C5转化酶	C4b2a3b	C4b2a3b	PC3bBb3b _s
作用效应	参与体液免疫 有特异性	参与体液免疫 无特异性	参与体液免疫 无特异性

图 27: 补体活化三条途径比较

4.3 调控与生物学效应

补体过度的活化会使补体大量消耗，机体抗感染能力下降，还产生大量生物活性物质，使机体发生炎症反应或造成机体损伤。正常机体中，补体的活化通过体内一些**调节蛋白**成分的调节而达到活化与抑制反应的平衡。

4.3.1 血清中的调节蛋白

又称液相调节蛋白，它们是在溶液中起初步的钝化或抑制补体的作用。

1. C1 抑制因子 (C1INH): 血清糖蛋白，丝氨酸蛋白酶抑制剂，能抑制液相中 C1 的活化。在 C1 与 Ag-Ab 复合物结合前，就能与 C1 结合。C1INH 能与 C1r、C1s 结合，被 C1r、C1s 裂解时，能与这些丝氨酸蛋白酶形成稳定的共价酯键，有效地阻止 C1r、C1s 与正常底物 C4 和 C2 结合。
2. S 蛋白: 攻膜复合物抑制因子 (MAC-INH)，单链糖蛋白，结合 C5b67 复合物，阻止其与细胞表面结合，从而阻止 C9 分子多聚体形成。
3. I 因子: C3bINH, C3b 抑制因子，是一种酯酶，具有丝氨酸蛋白酶活性。能裂解和钝化 C3b、C4b，需辅助因子 H、C4bbp、MCP 等。
4. H 因子: I 因子的加速因子，作用于含 C3b 的转化酶，使 C3b 被 I 因子酶解失活。
5. 过敏毒素钝化因子: 血清羧肽酶 N，切下过敏毒素与 C3a、C4a 和 C5a 羧基末端的**精氨酸残基**，使过敏毒素失活。
6. C4bp: 即 C4 结合蛋白，竞争性抑制 C4b 与 C2 结合，阻止 C3 转化酶形成，也可介导 C4b 降解。

4.3.2 细胞膜上的调节蛋白

1. 促衰变因子 (DAF): 单链糖蛋白，抑制 C4b2a、C3bBb 形成，阻断 C3 转化酶的装配。
2. 膜辅助蛋白 (MCP): 膜蛋白，促进 I 因子裂解 C3b、C4b。
3. 同源限制因子 (HRF): 干扰 C5b67 与 C8 结合，从而干扰溶胞。
4. 溶膜抑制剂 (MIRL) (CD59): 可能是补体活化时保护病原细菌附近正常细胞的最重要因子，当溶膜复合物形成时，它通过与 C8 或 C9 结合抑制了 C9 聚合成膜孔。

4.3.3 补体的受体

补体的许多生物学效应是由补体的受体介导的，补体的受体是一些细胞膜整合糖蛋白。

1. 补体受体 1 型 (CR1, CD35, 又称 C3b 受体): 具有补体活性调节剂 (RCA) 家族特性，即存在多个有序排列的重复结构 (短一致重复序列 SCR)。分布于外周血细胞 (血小板除外); 与 C3b、C4b 结合，通过抑制 C3 转化酶调控补体的活化;**调理素作用**，使抗原-抗体-补体 (C3b, C4b) 复合物结合到红细胞上，运往肝和脾，扩大吞噬性白细胞的胞饮作用，吞噬 C3b 或 C4b 包被的颗粒和细菌; 是循环系统中免疫复合物的清除剂。

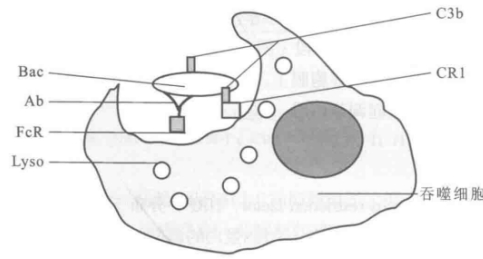


图 28: 补体受体的生物学效应

2. 补体受体 2 型 (CR2, CD21, C3d 受体): 单链膜整合糖蛋白, 主要结合 C3d, 多分布在 B 细胞上 (50%-80%); 也是 EB 病毒的受体, 是人 B 细胞对 EB 病毒敏感的原因; CR2 还分布在滤泡性树突细胞和上皮细胞上, 可能对树突细胞在生发中心捕捉 Ag-Ab 复合物, 导致记忆 B 细胞活化有一定作用。
3. 补体受体 3 型 (CR3, Mac-1, CD11b 和 CD18): 异源二聚体, iC3b (C3b 的最初降解产物) 的受体, 主要分布于巨噬细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、肥大细胞和 NK 细胞等。促进被 iC3b 覆盖的微生物及颗粒的吞噬。此外, CR3 还可以结合糖类, 有凝集素活性, 使带有 CR3 的吞噬细胞吞噬某些不依赖于补体结合的微生物。
4. 补体受体 4 型 (CR4, CD11c, CD18): 由 α 、 β 链组成异源二聚体, 结合 iC3b 和 C3dg, 功能类似于 CR3。
5. 其它补体受体: C5a 的受体: 过敏毒素受体介导吞噬细胞的吞噬作用, 增加血管通透性及趋化性以至于导致炎症应答等。

4.3.4 补体蛋白的生物学功能

- 溶菌、溶胞作用: 溶解各种靶细胞, 如抗微生物 (主要是革兰氏阴性菌); 溶解自身细胞则会导致组织损伤与疾病。
- 炎症介质作用: 过敏毒素作用 (补体活化产生 C3a、C4a、C5a 过敏毒素与肥大细胞、嗜碱性粒细胞表面受体结合, 释放组胺, 血管道透性增加、平滑肌收缩); 激肽样作用 (C2a 具有激肽样作用激肽: 引起血管扩张并改变血管渗透性的小分子肽); 趋化因子作用 (C3a、C5a、C5b67 促进中性粒细胞、巨噬细胞浸润 (吞噬细胞在炎症灶聚集))
- 清除免疫复合物作用: 结合了 Ag-Ab 复合物的 C3b 与表达 CR1 的红细胞黏附, 运送至肝脏、脾脏内被巨噬细胞清除。
- 免疫调节作用: C3b、C4b、iC3b (调理素) 与靶细胞结合, 通过与具有吞噬能力的细胞表面 CR1、CR3、CR4 的结合, 促进吞噬。

4.4 补体的生物合成与补体缺陷

补体基因位于主要组织相容性复合物 (MHC) 上, 又称 MHC 第三类基因。

补体的生物合成: 单核细胞、巨噬细胞: 合成 C1q、C2、C3、C4、C5、B、D 和 P 等, 多在炎症部位合成; 肝细胞: 合成补体的主要细胞; 上皮细胞: 合成 C1。补体缺陷还有一系列疾病相关: 如系统性红斑狼疮、遗传性血管水肿病……

5 免疫系统的组织器官与细胞

5.1 淋巴组织器官的结构和功能

免疫系统的组织器官由许多结构与功能不同的组织与器官构成，根据功能分为**初级淋巴器官**（中枢淋巴器官）和**次级淋巴器官**（外周淋巴器官）两大类。

初级淋巴器官在哺乳动物中有骨髓、胸腺两类器官，在鸟类中有**法氏囊**。

次级淋巴器官有淋巴结、脾、肝及黏膜有关的淋巴组织和皮肤淋巴组织等。

5.1.1 初级淋巴器官的组成与结构

- 骨髓：骨髓是造血器官。淋巴细胞以及其他所有的血细胞都来自于骨髓中的**造血干细胞**。在哺乳动物中，骨髓是各种血细胞产生和成熟的地方。B 细胞的分化发育在骨髓中完成，而 T 细胞前体在胸腺中成熟。骨髓中各种前体细胞的增殖和成熟都受到细胞因子的刺激。

骨髓功能：1) 各种免疫细胞的发源地

2) B 细胞发育、分化、成熟的场所

3) 再次免疫应答产生抗体的场所之一

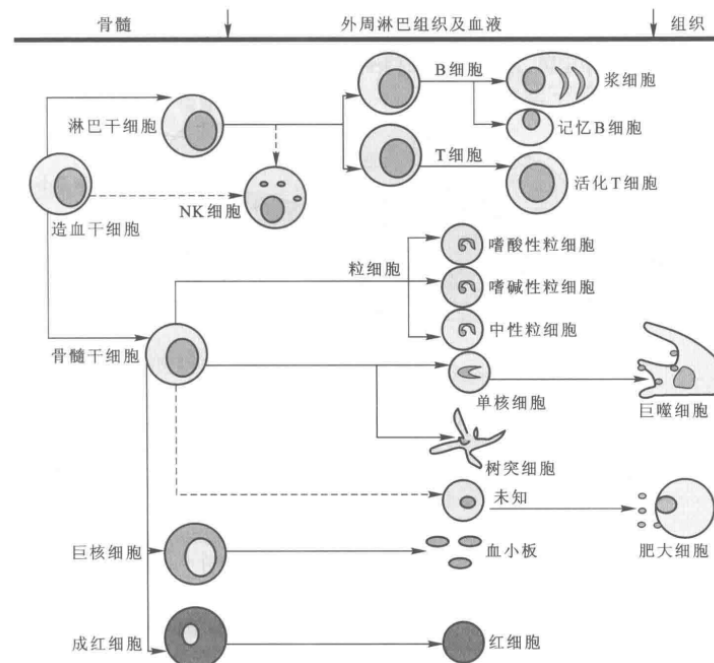


图 29: 淋巴细胞谱系图

- 胸腺：胸腺分左、右两叶，外表有被膜，每一叶中又由隔膜分成许多小叶。每个小叶外层为皮质，皮质的浅部为外皮质，深部为内皮质，小叶的内部为髓质。

胸腺中有大量淋巴细胞和少量上皮细胞以及巨噬细胞和树突细胞等，是胸腺细胞分化成熟的地方。未成熟的前 T 细胞，由骨髓经过血管运往胸腺。在外皮质部，这些未成熟的 T 细胞表面带有 $CD4^-CD8^-$ 双阴性的表面标志；随后进入内皮质部，在胸腺素和胸腺生成素的作用下进行分化增殖成小型 T 细胞，

表面标志变为 $CD4^+CD8^+$ 。(大多数小型 T 细胞不久即死亡,只有 5% 的小型 T 细胞可进入髓部继续分化发育、成熟);髓部大量成熟的 T 细胞表面标志抗原也分化表达为 $CD4^-CD8^+$ 或者 $CD4^+CD8^-$ 等单负的 T 细胞,并表达抗原受体等细胞表面分子。这些 T 细胞具有免疫应答能力,约 5% 成熟的 T 细胞,通过血液、淋巴转移到次级免疫器官(如淋巴结)的胸腺依赖区中定居。

ps: 胸腺中可以识别自身抗原的 T 细胞会发生细胞凋亡,不会存活。

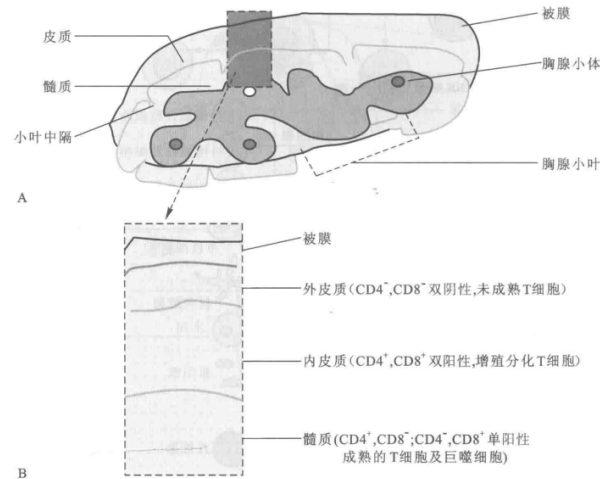


图 30: 胸腺横切面

胸腺的功能:

- 1) T 细胞分化发育的场所: 成熟 T 细胞: 表达 TCR; MHC 限制性; 自身耐受的单阳性 T 细胞 ($CD4^+$ 或 $CD8^+$) 输送到外周淋巴器官
- 2) 分泌胸腺激素和细胞因子, 促进 T 细胞发育成熟, 并分化为亚群
- 3) 建立自身耐受(中枢耐受)和维持免疫自稳功能
- 4) 屏障作用, 避免血液中的抗原物质与胸腺接触

- 法氏囊: 又称腔上囊, 是鸟类所特有的初级淋巴组织, 位于鸟类泄殖腔的上方, 是泄殖腔上皮淋巴器官。它主要由初级滤泡组成, 干细胞可能来源于胚内间质, 少数干细胞发育为淋巴细胞。在法氏囊中, B 细胞由前 B 细胞分化而来, 切除法氏囊后, 不能产生抗体, 是鸟纲动物中体液免疫应答的重要免疫器官。鸟类性成熟以后, 法氏囊便消失。

5.1.2 次级淋巴器官的组成与结构

- 淋巴结: 淋巴通道相互连接的交点, B 细胞**增殖分化**(生发中心)。生发中心: B 细胞呈未分裂的休止状态, 抗原刺激 B 细胞分裂。初级滤泡无生发中心, 次级滤泡才有生发中心。

B 细胞在**皮质区**, T 细胞主要在**副皮质区**。皮质区除 B 细胞与 T 细胞之外, 还有网状细胞、巨噬细胞、树突细胞等。淋巴结的髓质是内部结构疏松的组织, 分为**髓索**和**髓窦**, 前者有 B 细胞、浆细胞、网状细胞及巨噬细胞, 后者有许多巨噬细胞。

淋巴结是淋巴细胞定居和增殖的地方, 在淋巴循环中起着重要的作用。T 细胞与 B 细胞在淋巴结中的数量比为 2.5: 1。淋巴结中的 T 细胞多为 $CD4^+$ 辅助性 T 细胞 (Th 细胞)。

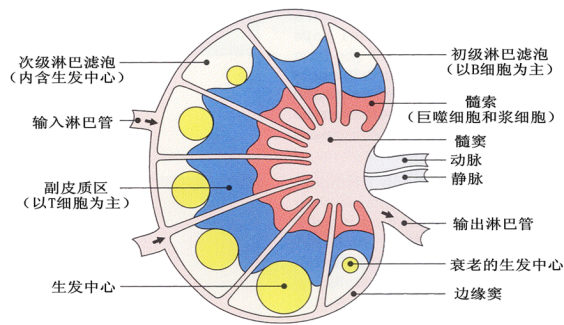


图 31: 淋巴结结构示意图

生发中心内某些 B 细胞的 BCR 能与其它细胞表面的抗原发生反应（识别自身抗原），则这些细胞的成熟被阻滞，被阻滞细胞发生 Ig V (D) J 基因的二次重排，可改变其受体特异性，进行受体编辑识别自身抗原的细胞可导致细胞凋亡，也可通过二次重排机制来进行修正

- 脾脏：最大的免疫淋巴器官，由被膜，皮质部（白髓），髓质部（红髓）组成。**白髓**：外部为 B 细胞，部分 T 细胞；内部围绕血管形成**血管外周淋巴鞘**（T 细胞定居区，2/3 为 Th），淋巴鞘有滤泡，内有 B 细胞、生发中心（充满 B 细胞）、中心动脉。**红髓**：血窦，充满血液；红髓索，含吞噬细胞和浆细胞；白髓之间的部分为红髓。

脾脏主要是应答血液带来的抗原，淋巴结应答淋巴中的抗原。

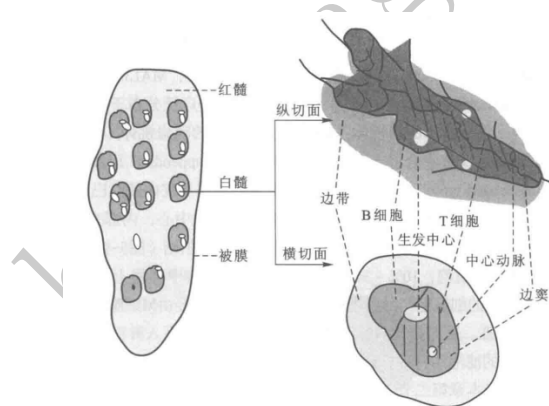
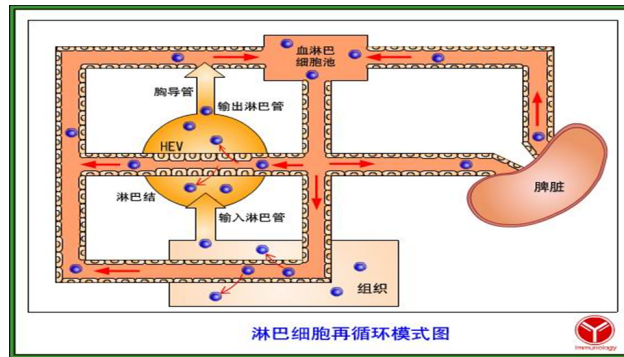


图 32: 脾脏的结构

- 肝及其它外周淋巴组织：肝脏——胚肝是祖 B 细胞的来源之一；结缔组织被膜将肝脏分隔为肝小叶。肝血窦、中央静脉：免疫细胞。
- 皮肤淋巴组织：靠表皮真皮中分布的各种免疫细胞构成的。
- 黏膜免疫系统：是由分布在呼吸道、消化道、泌尿生殖道及与之相关联的外分泌腺的黏膜上皮组织及分泌物、黏膜相关淋巴组织和免疫活性细胞、微生物菌群共同构成的免疫应答网络。抗体：IgM, SIgA。

5.1.3 淋巴细胞的循环

淋巴细胞在淋巴组织之间和血液中反复循环交换。B、T 细胞分别在骨髓和胸腺中成熟，通过血液进入外周淋巴组织，通过细胞表面受体到达皮质、副皮质区，从皮质进入髓质，通过输出淋巴管回到血液。



淋巴细胞循环的意义：1) 增加与抗原接触的机会 2) 能使 B、T 细胞很快分布到全身

5.2 免疫系统的细胞

淋巴细胞：B 细胞，T 细胞，自然杀伤细胞（NK 细胞）

非淋巴细胞：单核-巨噬细胞，粒细胞，肥大细胞，树突状细胞（DC 细胞）

簇分化抗原（CD）：以单克隆抗体鉴定为主，由国际白细胞分化抗原会议将来自不同实验室的单克隆抗体所识别的**同一种分化抗原**归为同一个分化群，简称 CD。

CD 命名方法：

- 1) 识别同一抗原 2 种以上的单克隆抗体作为一个抗体群，每个抗体群后面加上数字来表示，如 CD3、CD20 等
- 2) 相同 CD 上存在着不同的抗原决定簇且可被特定的单克隆抗体识别时，在 CD 数字后面加上小写字母加以区分，如 CD1 可分为 CD1a、CD1b、CD1c 及 CD1d
- 3) 在 CD 数字后带有大写字母“R”时，指该 CD 仅发现于某特定类型的细胞上，如 CD45 是白细胞共同抗原，而 CD45R 是仅发现于单核细胞、巨噬细胞、B 淋巴细胞及部分 T 淋巴细胞的膜抗原

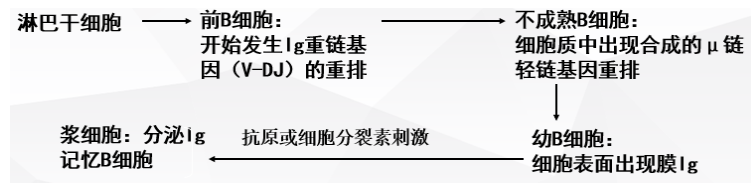
作用：

- 1) 免疫应答过程中免疫细胞的相互识别
- 2) 造血细胞的分化和造血过程的调控
- 3) 炎症发生
- 4) 细胞的迁移，如肿瘤细胞的转移

5.2.1 B 细胞

B 细胞是骨髓依赖的淋巴细胞，细胞膜表面带有自己合成的免疫球蛋白（膜抗体），抗原诱导，分泌与膜抗体相同的 Ig。

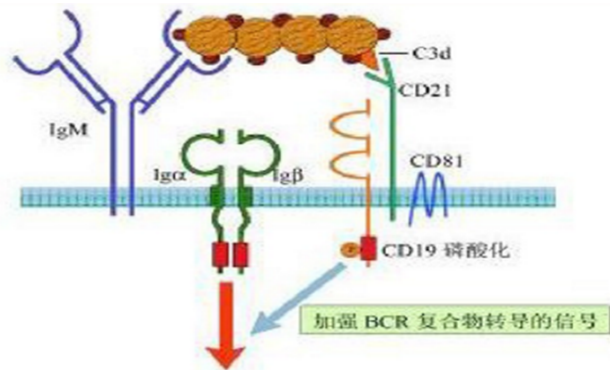
- 来源：哺乳动物 B 细胞在**胚胎期**来源于骨髓、肝脏和脾脏；**成体**来源于骨髓的淋巴干细胞。
- 发育：哺乳动物——骨髓；鸟类——法氏囊。B 细胞在骨髓内发育为成熟 B 细胞，然后释放到周围淋巴组织，构成 B 细胞库，接受抗原刺激。
- 亚系：**B-1 亚系**——T 细胞不依赖亚系，只有初级应答，没有次级应答，主要产生 IgM；
B-2 亚系——T 细胞依赖性亚系，抗体产生须 Th，有次级应答，产生 IgM、IgG 等。



- 表面标记和内部标记：几乎没 2 个 B 细胞是完全一样的。

1) 表面标记：细胞表面的蛋白分子

(a) 抗原受体：复合物—膜抗体 (mIgM 或 mIgG)、 $Ig\alpha/Ig\beta$ (CD79a/b)、共受体



(b) Fc 受体：B 细胞，单核细胞，粒细胞，NK 细胞，T 细胞，血小板

(c) 补体的受体：CR1 (CD35)，CR2 (CD21)；免疫细胞均表达 CR1，CR1 结合 C3b、C4b; CR2 结合 C3dg、C3d; CR1 与 CR2 基因**紧密连锁**

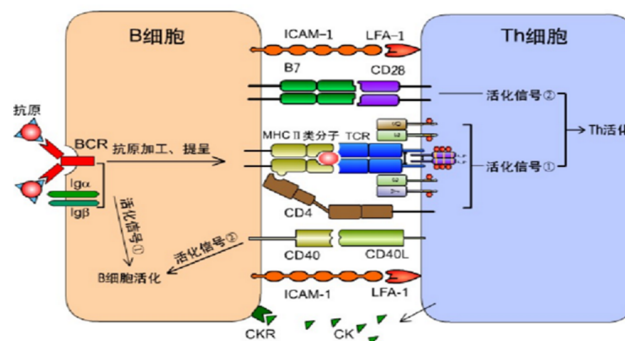
(d) 有丝分裂原受体：促进淋巴细胞有丝分裂

(e) MHC- 抗原：可被 $CD4^+T$ 细胞识别，**外源**抗原递呈

(f) T1 受体 (CD72) 和 MEM 受体：T1 抗原是 T 细胞表面的一种标记，MEM 为鼠红细胞受体，两者可能是未成熟 B 细胞表面标记。

(g) B7 分子：微生物脂多糖诱导 B 细胞表达 B7.1 (CD80，表达于活化的 B 细胞、巨噬细胞和树突细胞等)、B7.2 (CD86，表达于活化的 B 细胞和单核细胞)；**B7 与 T 细胞 CD28 和 CTLA-4 结合：抗原递呈，信号转导**

(h) CD40：B 细胞、巨噬细胞、树突细胞、碱性上皮细胞等，与 $CD4^+T$ 细胞的 CD40L 结合促进 B 细胞活化、生长、分化



2) 内部标记:

(a) 末端脱氧核苷转移酶 (TdT): B、T 细胞的前体细胞的细胞核中, 催化核苷酸结合到 DNA 的外露末端, 在 Ig 基因重排时插入, **影响抗体的多样性**。(无需模板的 DNA 聚合酶, 催化脱氧核苷酸结合到 DNA 分子的 3' 羟基端)

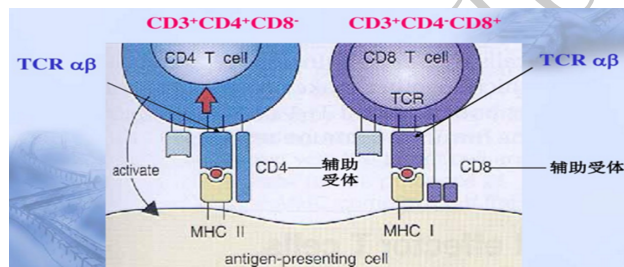
(b) mRNA 的差别: T、B 细胞有 200 种 mRNA 差异

(c) 免疫球蛋白基因增强子: 增强 Ig 基因启动子的活性

5.2.2 T 细胞

又称胸腺依赖性淋巴细胞

- 来源: 胸腺中未成熟 T 细胞称为胸腺细胞
- 发育: T 细胞分化发育涉及到表面抗原发生一系列变化, $CD4^+CD8^-$ 或 $CD4^-CD8^+$ 出现, **MHC 限制** (即 CD4 与 MHC-II 结合, CD8 与 MHC-I 结合); **自身耐受**: 识别自身成分的 T 细胞都死亡 (TCR)



T 细胞在胸腺内发育: 阳性选择使 T 细胞识别具备 MHC 限制, 阴性选择使 T 细胞产生自身耐受

(1) **阳性选择**: CD4、CD8 双阳性 T 细胞在胸腺皮质区与胸腺上皮细胞表达的 MHC I 或 II 分子结合, 分化为 CD4+ 或 CD8+ 细胞, **未与上皮细胞表面 MHC I 或 II 分子结合的双阳性 T 细胞发生凋亡**, 阳性选择产生的单阳性细胞具有自身 MHC 限制性

(2) **阴性选择**: 在胸腺皮质区、皮/髓质交界处和髓质区, 单阳性 T 细胞与胸腺 DC 细胞、巨噬细胞表达的**自身肽-MHC** 分子结合, 从而被清除或失能, 不与自身肽-MHC 分子结合的 T 细胞存活, 通过阴性选择形成的成熟 T 细胞中不含针对自身成分的 T 细胞克隆, 维持中枢**自身耐受**

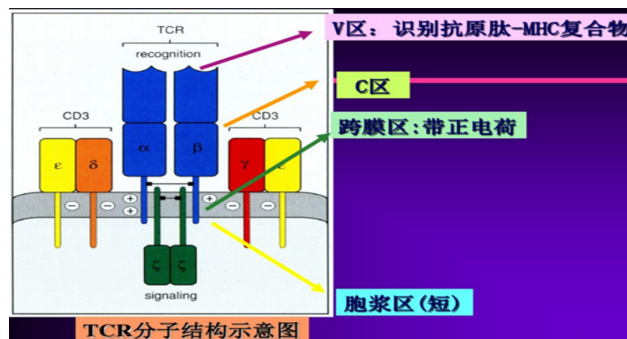
- 表面标记:

1) T 细胞抗原受体 (TCR) 及 CD3: **TCR**——抗原特异识别与结合, 2 条不同的肽链组成; **CD3**——至少有 5 种肽链 (糖基化的 γ 、 δ 链, 非糖基化 ϵ 、 ζ 、 η 链), 与 TCR 以非共价键形成有功能的复合物, 向 T 细胞传递信号

2) CD4 和 CD8 抗原: **CD4**——Th、Treg、Th17 细胞重要表面标记, 单链糖蛋白, 参与识别 MHC-II, HIV 的受体; **CD8**——CTL 细胞重要表面标记, 糖蛋白 (2 条肽链的二聚体), MHC-I 受体。

CD8 通常形成**二聚体**: 1 条 α 链和 1 条 β 链组成异二聚体或 2 条 α 链组成同二聚体

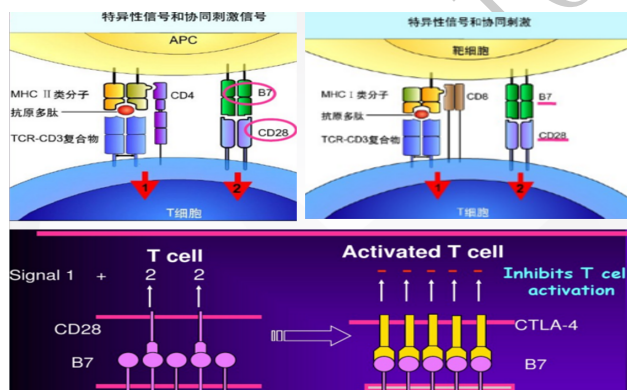
3) 整合素: α/β 链构成二聚体, 分布在 T 细胞、B 细胞、粒细胞和单核细胞, 是细胞粘附分子, 有信号转导作用。



淋巴细胞归巢：以淋巴细胞表面归巢受体（LHR）与血管内皮细胞表面黏附分子——血管地址素互作为基础的定向移动，在淋巴细胞成熟、再循环及向炎症迁移过程中发生。

淋巴细胞归巢受体：淋巴细胞归巢过程中，淋巴细胞表面能与血管内皮细胞表面粘附分子结合，定位淋巴细胞归巢组织的表面分子

4) 协同刺激分子：CD28/CTLA-4、CD40L、LFA（白细胞功能抗原）-1 与相应配体（B7、CD40、ICAM）结合，CD28 与 B7 结合提供 T 细胞活化的第二信号



CD2：白细胞功能相关抗原 2（LFA-2）、LFA-3 的受体，即 E 受体细胞黏附、信号传递

5) CD45 和 CD45R：CD45——白细胞共同抗原，CD45R 是 CD45 的同型分子，在不同的白细胞上表达时所含的外显子不一样

6) CD5：T 细胞共同抗原，分布于所有胸腺细胞及 T 细胞，有的 B 细胞亚系也有 CD5，CD5 的配体是 B 细胞上的 CD72

7) 细胞因子受体：多种细胞因子受体，如 IL-2R、IL-4R、IL-6R 等

- 亚群与功能：

1) 按对抗原应答状态分类：初始 T 细胞，活化 T 细胞，记忆性 T 细胞

2) TCR 二肽链组成分类：

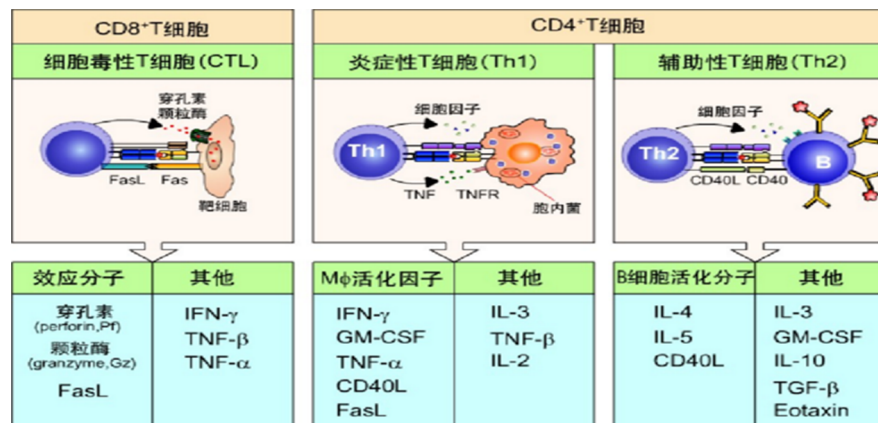
TCR $\alpha\beta$ 型（CD4⁺、CD8⁺）：占总T细胞的95%
 TCR $\gamma\delta$ 型（CD4⁻、CD8⁻）：占总T细胞的1-10%
 TCR $\alpha\beta$ 型T细胞为主要参与免疫应答的T细胞
 α 链：V、J、C基因编码； β 链：V、D、J、C基因编码
 γ 链：V、J、C基因编码； δ 链：V、D、J、C基因编码

3) **CD 抗原不同分类**: CD4+: 占 T 细胞总数的 65%, Th 细胞 (辅助性 T 细胞); CD8+: 占 T 细胞总数的 35%, CTL 或 Tc 细胞 (细胞毒性 T 细胞)

4) 分泌的**细胞因子谱分类**:

Th1细胞: 分泌IFN- γ 、TNF- β 等, 介导细胞免疫应答, 对Th2细胞分化发育与功能有抑制作用
 Th2细胞: 分泌IL-4、IL-10等, 介导体液免疫应答, 对Th1细胞分化发育和功能具有抑制作用
 Th17: 分泌IL-17, 可诱导自身免疫性疾病

几个 T 细胞作用图如下:



5.2.3 先天性淋巴细胞

先天性淋巴细胞 (ILC) 又称自然淋巴细胞, 骨髓来源、表达 Id2 转录因子的共同前体细胞, 形态、功能类似于 T 细胞, 但缺少适应性抗原受体, 因此属于先天淋巴细胞, 分布在肠道粘膜表面。

ILC1: 分泌IFN- γ 等, 与NK、Th1类似; 对胞内病原 (病毒和肿瘤) 产生免疫应答
 ILC2: 分泌IL-4、IL-5、IL-13等, 与Th2类似; 对胞外寄生虫和过敏原发生免疫应答
 ILC3: 是淋巴组织诱导细胞 (lymphoid-tissue inducer, LTi), 分泌IL-17, IL-22等; 两个亚系, 即NCR⁺ILC3、NCR⁻ILC3; 对胞外微生物 (细菌、真菌) 发生免疫应答, 负调控结肠炎, 主要参与形成刺激淋巴结

5.2.4 自然杀伤细胞和自然抑制细胞

1、自然杀伤细胞 (NK): 大颗粒的淋巴细胞, 无 T 细胞受体, 在先天性免疫中起重要作用, 不需抗原刺激和抗体致敏情况下可杀死肿瘤细胞及病毒感染的细胞, 也可在抗体介导下参与细胞的杀伤作用

2、自然杀伤 T 细胞 (NKT): NKT 细胞同时表达 T 细胞抗原受体 (TCR) 及 NK 细胞受体 (NKR-P1), 是联系先天性免疫和获得性免疫的桥梁之一。

3、自然抑制细胞 (NS): 大颗粒低密度的淋巴细胞, 细胞的表面标记为 CD3+CD4-CD8- 能抑制多种免疫反应, 但无抗原特异性, 也无 MHC 限制

5.2.5 单核-巨噬细胞、粒细胞和肥大细胞

- 吞噬细胞：1) 吞噬细胞的特性：有吞噬功能的细胞有单核-巨噬细胞、中性粒细胞……

巨噬细胞表面：补体的受体 CR1、CR3、CR4；MHC-I，MHC-II；Fc 受体；脂多糖受体、糖苷受体、甘露糖受体等

2) 单核-巨噬细胞的功能：吞噬、抗原呈递、分泌生物活性物质参与免疫应答；吞噬、分泌生物活性物质是非特异性的，抗原呈递受 MHC 限制

- 粒细胞：有分节状的细胞核，又称多形核白细胞，在体内寿命很短，不断由骨髓干细胞分化产生新粒细胞，有丰富的胞质颗粒（溶酶体）

1) 中性粒细胞 (neutrophil)

细胞具有高运动性

有较强的吞噬活性

炎症部位，中性粒细胞是集中到该部位的主要细胞群

有补体的受体，吞噬调理外来颗粒

2) 嗜酸性粒细胞 (eosinophil)

吞噬抗原与抗体复合物，同时释放酶类

I型超敏反应中发挥负反馈作用（细胞表面IgE的Fc受体）

3) 嗜碱性粒细胞 (basophil)

颗粒中有肝素、组胺、白三烯等，释放到炎症组织或介导I型超敏反应

有与IgE高亲和力的受体，参与超敏反应

- 肥大细胞：类似于嗜碱性粒细胞，带有很强的嗜碱性细胞质颗粒，颗粒中含组胺、肝素和血清素有 IgE 的 Fc 受体，能释放颗粒中的介质以导致超敏反应

两个亚系：

1) 粘膜肥大细胞亚系：颗粒较少，分布在粘膜上依赖 T 细胞分化

2) 结缔组织肥大细胞亚系：颗粒较多，不依赖于 T 细胞而分化，多存在于超敏反应的部位

5.2.6 树突细胞 (DC)

细胞表面有许多指状的或分枝状的突起，在捕捉抗原并进行加工运转和递呈方面起着重要作用

细胞表面：MHC-I 和 MHC-II 抗原，协同刺激抗原 B7.1 和 B7.2 胞间粘附分子，LFA-1 和 LFA-3

朗格汉斯细胞：分布于皮肤的表皮、粘膜的树突细胞

主要生物学功能：**抗原递呈功能**——主要以吞饮和受体介导的胞吞作用摄取抗原，吞噬作用较弱；**辅佐作用**——激活初始 T 细胞，启动免疫应答；分泌细胞因子，调节免疫细胞分化发育；分泌趋化性细胞因子，趋化 T/B 细胞；利用未成熟 DC 诱导免疫耐受

6 主要组织相容性复合物

MHC 最初发现于免疫移植排斥现象，MHC 抗原在抗原呈递和免疫应答调控方面有极为重要的作用。

主要组织相容性抗原：引起快而强排斥反应的抗原，膜蛋白。

主要组织相容性复合物：紧密连锁的基因群，其编码产物参与抗原提呈。

6.1 主要组织相容性抗原的结构与功能

根据 MHC 分子结构和功能不同可分为 MHC-I、MHC-II。

MHC-I：表达于**所有有核细胞表面**，包括血小板及网织红细胞，淋巴细胞表面 I 类抗原的密度最高。

MHC-II：主要表达于 **APC 细胞**（B 细胞，单核-巨噬细胞，DC 细胞）表面，精子细胞、某些活化 T 细胞、部分内皮细胞等表面。

6.1.1 MHC-I 分子

1. 基本结构：含两条多肽链—— α 链（重链，分 α_1 α_2 α_3 结构域）、 β 链（ β_2 微球蛋白，非 MHC 基因编码）。**肽结合区**——与抗原多肽结合部位，包括 α_1 α_2 结构域；**Ig 样区**——包括 α_3 结构域与 β_2 微球蛋白， α_3 结构域与 CTL 表面 CD8 分子结合的部位；**跨膜区**——固定 MHC-I 类分子于膜上；**胞质区**——参与胞内信号传递。

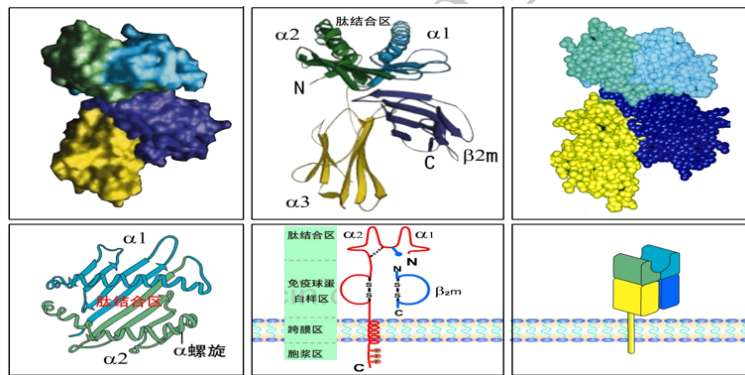
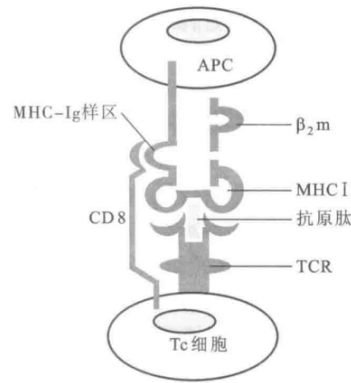


图 33: MHC-I 类分子结构图

2. 空间结构与功能： α_1 , α_2 共同形成一个**寡肽抗原结合槽**，结合 9-11 氨基酸残基的肽段（抗原需要加工成 9-11 氨基酸残基的肽才能与 MHC-I 结合）； α_3 的 Ig 样区与 CTL 细胞的 TCR 共受体 CD8 结合，参与对**靶细胞裂解**； β_2m 分子与 α 链互作，维持 MHC-I 空间构象。
3. MHC-I 生物学功能：
 - 1) 参与内源性抗原呈递，诱导对病毒感染/肿瘤细胞的杀伤；
 - 2) 作为 $CD8^+$ T 细胞的识别分子；
 - 3) 参与胸腺内 $CD8^+$ T 细胞的分化、发育；
 - 4) 正常细胞表达 MHC-I，抑制 NK 细胞杀伤活性；
 - 5) 同种异体 MHC-I 差异，诱导导致移植排斥反应。



6.1.2 MHC-II 分子

1. 基本结构： α 和 β 链组成。**肽结合区**—— α_1 、 β_1 结构域组成，是抗原多肽结合部位，结合 10-33 个氨基酸残基的肽段或更长；Ig 样区—— α_2 、 β_2 结构域组成，是与 Th 细胞表面 CD4 分子结合的部位；跨膜区同样是固定 MHC-II 分子的作用，胞浆区参与胞内信号传递。
2. 空间结构与功能：抗原肽结合槽两端是开放的，可与较长的抗原肽结合；MHC-II 结合抗原肽后，肽表位与 T 细胞受体结合

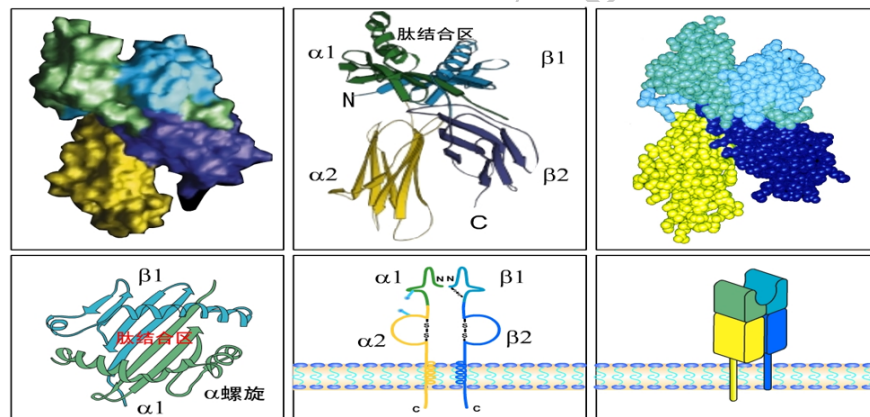


图 34: MHC-II 类分子结构图

3. MHC-II 生物学功能：1) 参与外源性抗原呈递；
- 2) 作为 $CD4^+$ T 细胞的识别分子；
- 3) 参与胸腺内 $CD4^+$ T 细胞的分化、发育；
- 4) 参与免疫应答调节——Ir 基因产物调节；
- 5) 诱导同种移植排斥反应。

6.1.3 肽与 MHC 分子结合的结构基础

肽与 MHC 分子是**非共价键结合**，结合是达到饱和的，且结合速度慢、解离速度更慢，肽与 MHC 的亲合力比抗原抗体间亲和力低得多。每一个 MHC 分子在同一时间只能与一个肽结合，同一 MHC 分子可以

结合的肽是多样的。抗原肽与 MHC 结合的残基叫**锚定残基**，结合一类 MHC 分子的抗原肽锚定残基往往相同或相似。MHC 分子对结合肽也具有**选择性**——同一抗原肽，有的个体产生免疫应答，有的个体不产生。

MHC 的主要功能则是将抗原肽呈递给 TCR，TCR 与抗原肽的结合是**高度特异的**，每种 TCR 只识别特定抗原肽。

6.1.4 抗原加工与肽-MHC 复合物形成

- MHC-I 类分子呈递的抗原来源于胞内，这些内源性抗原**泛素化**后被蛋白酶体降解成寡肽（抗原肽），这些抗原肽在 C 端常为疏水氨基酸和碱性氨基酸残基（适合 MHC-I 类分子呈递）；随后抗原肽经内质网上的**抗原运载体（TAP）**分子传递，消耗 ATP 传递抗原肽到 MHC-I 类分子形成肽 MHC-I 复合物。
- MHC-II 类分子所呈递的抗原主要来源于胞外，通过胞吞形成**内吞小体**进入细胞，内吞小体与形成的含 MHC-II 类分子的囊泡融合，形成**内体**，经内体中水解的抗原肽片段形成肽 MHC-II 复合物。（MHC-II 分子未与抗原肽结合时，肽结合区与 24 残基的 CLIP 片段结合，遇亲和力更强的抗原肽时 CLIP 才会解离出来，期间 **HLA-DM** 分子促进 **CLIP** 的移除与抗原肽的进位替换）

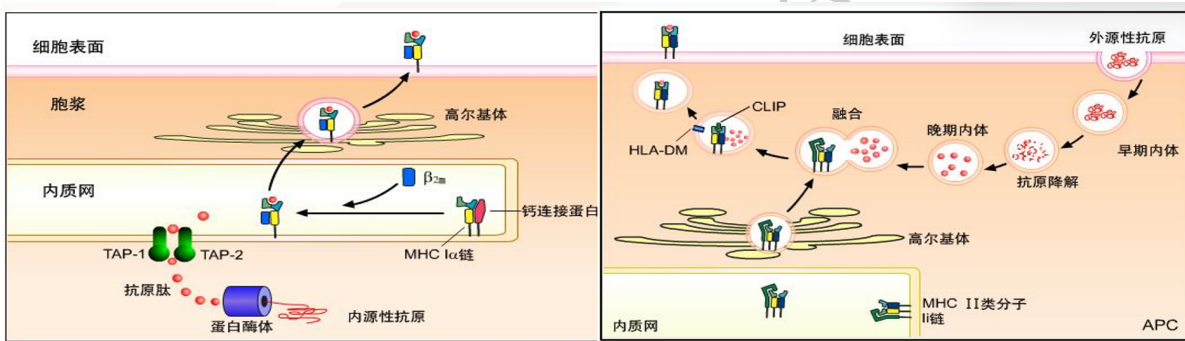
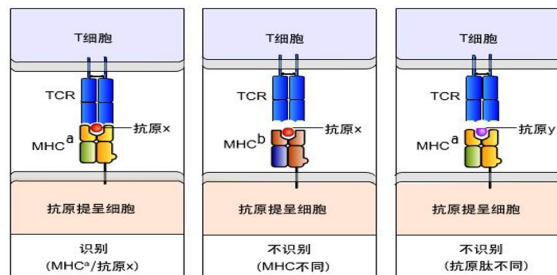
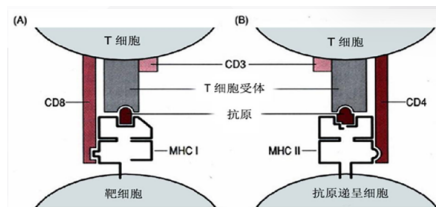


图 35: 肽-MHC 复合物形成过程

- MHC 功能：1) 参与对抗原的处理；
2) 约束免疫细胞间互作，MHC 限制性



- 3) 参与对免疫应答的遗传控制，控制免疫应答的基因位于 MHC 类基因区内
- 4) 诱导自身或同种淋巴细胞反应
- 5) 参与 T 细胞分化过程，T 细胞发育成熟过程中必须与表达 MHC-I 或 MHC-II 的胸腺上皮细胞接触。

6.2 主要组织相容性抗原基因结构及遗传

6.2.1 MHC 的遗传及多态性

每一类 MHC 分子都有多个不同基因座位的基因编码，如 MHC-I 类分子有 A、B、C 几个主要基因座位，MHC-II 类分子有 DR、DQ、DP 等主要几个基因座位。每个座位的基因又有许多等位基因，MHC 基因呈现**共显性表达**。

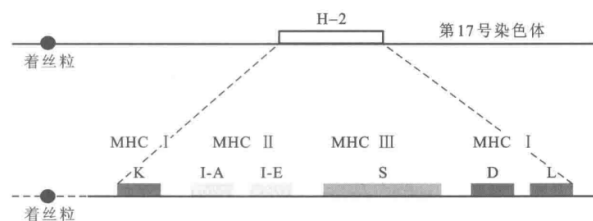
1. 单元型遗传：同一条染色体上紧密连锁的若干等位基因称为**单元型**，MHC 基因便是如此，均位于一条染色体上，其多基因座位上的基因型组合相对稳定，很少发生同源染色体间交换。MHC 成簇地传递给下一代，形成以单元型为特征的遗传。
2. 连锁不平衡：HLA（人的 MHC）各基因也并非完全随机地组成单元型，某些基因常紧密连锁在一起，而另一些基因则不常连锁在一起，呈现连锁不平衡。
3. MHC 多态性：MHC 是目前发现的最具多态性的紧密连锁的基因群，分 MHC-I、MHC-II、MHC-III 三类。其基因型和表型高度多态性源于基因突变、环境中多样性抗原的选择压力和对环境高度适应。

MHC 多态性反映在 **MHC 序列差异**（个体间差异），影响 MHC 与肽结合的特异性及肽-MHC 复合物与 T 细胞结合的特异性

MHC 多态性意义：1) 不同 MHC 分子可以提呈不同的抗原肽，诱导特异性和强度不同的免疫应答，使不同个体对相同抗原肽反应性不同；2) MHC 的多态性赋予物种极大的应变能力，是长期自然选择的结果。

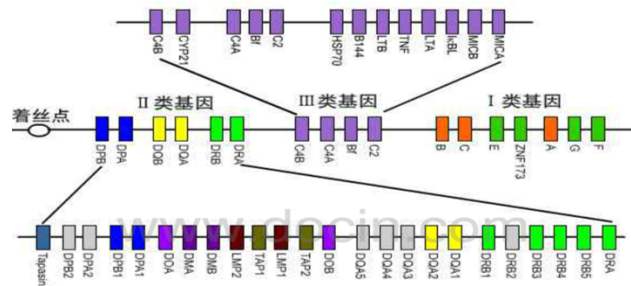
6.2.2 小鼠和人的 MHC

- 小鼠 MHC (H-2) 基因结构：位于 17 号染色体短臂，约 2000kb，由 K、I、S、D 4 个主要区域组成，每个区或亚区有许多基因座位。**H-2 单元型纯种小鼠**是研究 MHC 的重要动物模型。



- 人的 MHC (HLA) 基因结构：位于 6 号染色体短臂上，长约 4000kb，从着丝粒一侧起依次为 II、III、I 类基因区所在位置。

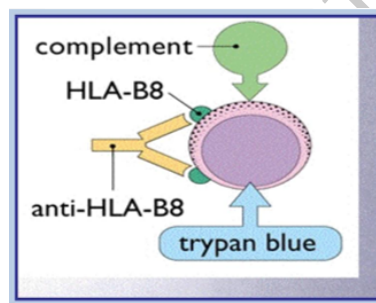
- 1) HLA-I 类基因：主要有 A、B、C 基因座位，编码 α 链，编码的抗原参与递呈**内源性抗原**
- 2) HLA-II 类基因：命名为 HLA - D，分别为 HLA-DP、HLA-DQ、HLA-DR 等基因座位，编码的抗原参与递呈**外源性抗原**



MHC-I 有 HLA-A、HLA-B、HLA-C 基因座，每个基因座可以表达一个 MHC-I，因此一个人的 MHC-I 可能为 6 种，同样地 MHC-II 也为 6 种。

6.3 MHC 的检测原理及应用

- **HLA-I 类抗原的检测：**常规使用补体依赖的微量淋巴细胞毒试验（CDC）。加入抗 HLA 标准抗体，与待检淋巴细胞相应 HLA 结合，加入的补体被活化，使淋巴细胞膜形成孔道而导致细胞死亡，再加入细胞染色液（台盼蓝等），受损或死亡细胞被染色，说明与标准 HLA 一致；否则为阴性，不一致。

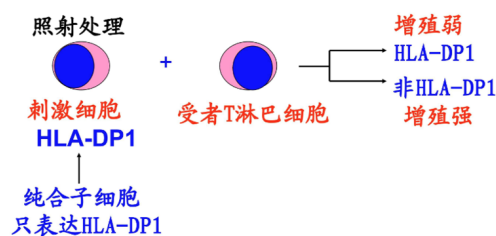


- **HLA-II 类抗原的检测：**II 类抗原的 DR、DQ 分型，选取分离的 B 细胞，除去 I 类抗体，再用标准 II 类 DR、DQ 分型血清，操作同与 I 类一样，也是通过 CDC 来判断。这里不选取 DP 是因为其表达量较低、变异较大，不采用 CDC 检测。

对于 HLA-II 的 DP 分型选取**混合淋巴细胞反应（MLR）**检测——同种异体淋巴细胞的 HLA-DP、Dw 抗原不同时，两种淋巴细胞混合培养，将刺激对方细胞发生分裂增殖反应，通过检测淋巴细胞增殖程度了解两者抗原同源性程度：

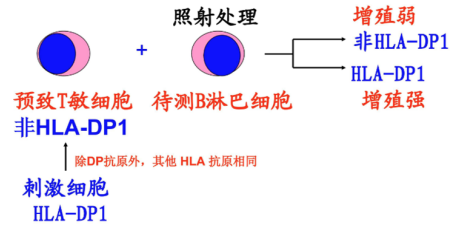
- 1) **单向 MLR（阴性分型）：**标准细胞（纯合子分型细胞 HTC）经处理失去增殖能力，但保持完整细胞形态和抗原性。与受体 T 细胞如果 HLA-DP 类型相同，则 T 细胞不会大量增殖；反之 T 细胞识别为“非己”，增殖强。

（1）阴性分型法



2) **预致敏淋巴细胞分型法 (PLT) (阳性分型)**: 用纯合刺激细胞与不相关个体淋巴细胞单向 MLR 法培养, 出现**小淋巴记忆细胞 (预致敏淋巴细胞)**。此细胞与待检测 B 细胞培养, 快速增殖则说明与纯合刺激细胞分型相同。

(2) 阳性分型法



- **HLA 基因定型法 (分型)**: 1) 限制性内切酶酶切片段长度多态性 (RFLP) 检测法
- 2) PCR-ASO (或 PCR-SSO) 法: PCR 扩增待检片段, 转膜, HLA 基因为探针, 杂交; HLA 探针固定于膜, 待检基因 PCR 并标记, 杂交
- 3) PCR-DNA sequencing (即 PCR 产物直接 DNA 测序) 法: 待检基因 PCR, 测序 (主要采用的方法)
- **HLA 检测的应用**: 1) 器官移植配型: 供、受体间组织相容性主要取决于 HLA 型别相合程度, 供体与受体间 HLA 不同, 会产生排斥反应
- 2) HLA 与疾病的相关性: 多种肿瘤细胞 HLA-I 类抗原表达减少或缺失, 自身免疫病的靶细胞异常表达 HLA-II 类抗原
- 3) 法医学个体识别: 个体识别和亲子鉴定

7 抗原抗体反应

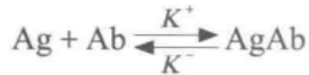
7.1 抗体的制备与应用

7.1.1 抗血清的制备

多克隆抗体 (pAb、多抗): 多个抗原决定簇刺激不同 B 细胞克隆产生;

单克隆抗体 (mAb、单抗): 一个 B 细胞克隆所分泌的抗体。

1. 免疫动物: 1) 抗原可用病毒、细菌或蛋白, 半抗原则需与大分子载体连接成完全抗原;
2) 佐剂及乳化: 佐剂帮助抗原**缓慢释放**, 增加免疫刺激效果。**不完全佐剂**——羊毛脂和石蜡按 1:2-4 混合; **完全佐剂**——另加分枝杆菌或棒状杆菌; **乳化**——佐剂与抗原按 1:1 混合, 放置后**不发生油水分离**。
3) 免疫动物: 豚鼠、家兔、小鼠、大鼠 (少量); 羊、马 (大量)
2. 抗血清的纯化与保存: 1) 采血: 需要抗血清效价测定符合要求后再采血; 可选取耳静脉或眼球 (小鼠), 心脏取血, 动脉放血的采血方式;
2) 纯化与保存: 纯化 IgG 的方法多样——饱和硫酸铵盐析 (33% 饱和度)、分子筛、离子柱纯化、亲和层析 (常用); **低温保存**, 长期保存常用等量甘油置于 -20°C 以下冷藏, 也可冷冻干燥保存, **反复冻融使抗体很快失活**。
3. 抗血清的特性鉴定: 1) **效价 (滴度)**: 结合一定量抗原的抗血清最大稀释倍数, 检测方法——ELISA, 琼脂双扩散, 放射免疫分析;
2) **亲和力**: 抗血清与相应抗原的结合强度常用亲和常数 K 表示;



$$K = [\text{AgAb}] / [\text{Ag}][\text{Ab}]$$

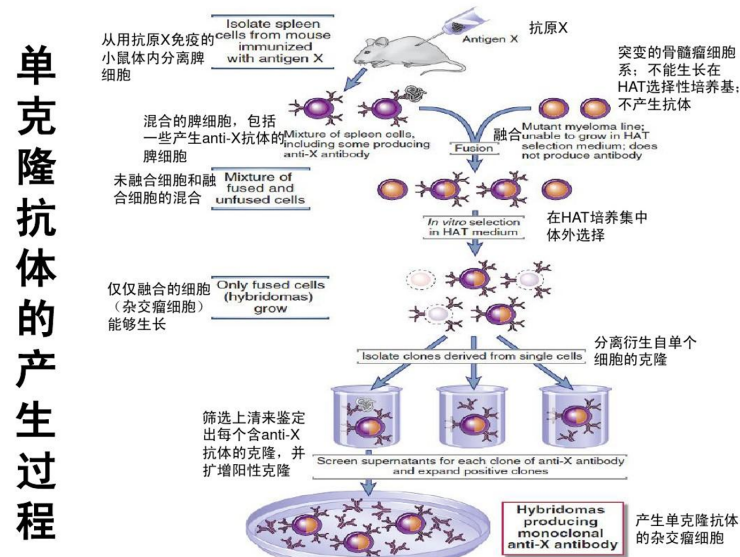
$$K = K^+ / K^-$$

- 3) **抗体特异性**: 只与相应抗原反应。制备的抗体常有非特异性反应, 是抗原不纯造成的。
- 4) **抗体交叉反应**: 抗原间存在共同的抗原决定簇或 2 个抗原决定簇结构类似, 能与同一抗体结合

7.1.2 单克隆抗体的制备

1. **杂交瘤技术**: 用分泌抗体但不能长期培养的 B 细胞与能在体外长期培养的肿瘤细胞进行杂交, 筛选得到的杂交瘤细胞既分泌抗体又有瘤细胞特性。
2. 骨髓瘤细胞筛选标准: 1) 瘤细胞本身不产生抗体或不分泌; 2) 次黄嘌呤鸟嘌呤核苷酸转移酶 (HGPRT) 和胸腺嘧啶激酶 (TK) 缺陷型
3. 杂交瘤选择的原理: HAT 培养基 (H——次黄嘌呤、A——氨基喋呤; 叶酸拮抗物, 阻断 DNA 合成主要途径; T——胸腺嘧啶核苷, 供细胞通过替代途径合成 DNA)。

4. DNA 合成的主要途径是糖和氨基酸合成核苷酸，进而合成 DNA。辅助途径是次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷存在时，经次黄嘌呤磷酸核糖转化酶和胸腺嘧啶核苷激酶的催化合成 DNA。骨髓瘤细胞在 HAT 培养基生长受阻，而淋巴细胞寿命有限，仅杂交瘤细胞能被选择存活下来。



8 细胞免疫

hanbing116

9 免疫调节

hanbing116

10 感染免疫

hanbing116

11 超敏反应

hanbing116

12 异常免疫

hanbing116

13 免疫进化

hanbing116