

γ, δ 链 T 细胞抗原受体的基因结构及其生物学作用

吴 敏
(泸州医学院)

提 要

TCR 有 αβ 或 γδ 两种异二聚体形式, 使 T 细胞可分为 TCR1(γδ) 和 TCR2(αβ) 两种类型。TCR1T 细胞特异识别 MHC-I 类抗原, 在监视上皮细胞以及 TCR2T 细胞的分化过程中有重要作用。

关键词 T 细胞抗原受体, 基因, 上皮细胞, MHC 约束性

T 细胞抗原受体 (TCR) 赋予 T 细胞识别外界抗原的特异性, 因而始终是免疫学中诱人的研究环节。八十年代初阐明的 TCR 有 α, β, γ 三种基因, 但只发现 α, β 基因产物。1986 年又找到 γ 基因, 使对 TCR 结构功能的认识趋向深入。TCR 三种产物都以与 CD3 有关的形式表达, 故发现有 CD3⁺4⁻8⁻TCR1(γδ) 和 CD3⁺4⁺8⁺TCR2(αβ) 两类 T 细胞。Goodman 等^[1]报告, 肠上皮淋巴细胞 (IEL) 表型也为 CD3⁺4⁻8⁺TCR1(γδ)。

一、Tiγδ-CD3 复合体

Brenner 等^[2]在免疫缺陷病人外周血 T 细胞系 IDP₂(CD4⁻CD8⁻) 和未成熟的人胸腺上

表 1 TCR 的分子量及基因定位

TCR 分子	分子量 (KD)	染色体定位
小鼠	α	43
	β	43
	γ	36—40 或 55—60
	X(δ)	40
人	α	45—50
	β	40
	γ	36—40
	X(δ)	40

发现了 γ 基因产物。由 55—60kD 与 44kD 分子以非共价结合方式构成异二聚体, 其中 55—60kD 成分与抗 γ 抗体反应, 而 44kD 成分不能, 前者为 γ 链, 后者为 δ 链 (有人称 TiX)。后来发现 γ 蛋白还有一种类型为 36—40kD^[3], 与 δ 链通过二硫键共价偶联。而 55—60kDγ 蛋白与 δ 链为非共价偶联^[4]。

二、TCRγδ 基因

1. 结构 小鼠 γ 基因位于 13 号染色体 (表 1), 有 4 个 J_γ, C_γ, 7 个 V_γ (图 1)。其中 C_γ3 是假基因。功能性 V_γ-J_γ 重排结合体数目为 6

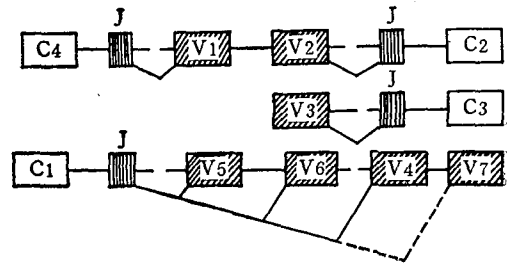


图 1 TCR1γ 基因的结构与重排方式

几个片区连续排列次序还未揭示。实验证实者实线示之; 推想的连接方式虚线示之。C_γ3 是假基因。C 基因更详细结构此处未列出。每一 V 基因领头处外显子也未给出

15 Bos J L et al. Nature, 1987; 327: 293
16 Janssen J W G et al. Nucleic Acids Res, 1987; 15: 5669

17 Lee M S et al. Science, 1987; 237: 175
18 Saiki R K et al. Science, 1988; 239: 487

[本文于 1988 年 12 月 8 日收到]

个,而6个V区的多态性受到VJ连接方式多态性限制。V γ 与J γ 的重排并形成产物的结果形式有多种,不同的 γ 链V区基因表达产生不同产物,一条染色体上就可能有3个V γ 基因重排。且在克隆化T细胞上有编码不同V区 γ 链的mRNA转录体存在。最后,在重排中C γ 1也能与不同V γ 基因连接,早期可分别同V γ 5或V γ 6发生重排,但V γ 4也可能取代前二者(V γ 5, V γ 6)与C γ 1结合。这种V区替代过程与Ig的V_H基因重排相似,TCR属于Ig超基因家族成员^[5]。

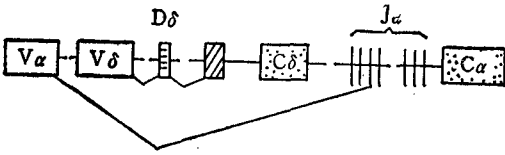


图2 TCR1 δ 链基因位点示意图

δ 基因位于TCR1 α 链V和J基因之间,即任一 α 链基因V, J拼接都伴随 δ 基因缺失发生。V δ 基因数目及与V α 基因的关系还不清楚。

克隆的 δ 基因位于V α 的3'侧(图2)。 δ 位点也存在V, D, J片段重排,形成一个完整的V基因,此类复合物V, D, J和C基因的数目尚不清楚,也不了解V α 基因是否具有V δ 区的功能。因此,对 δ 链的多样性还缺乏认识。cDNA序列分析表明,小鼠与人TCR有很大的相似性,是高度保守的。这些基因组中一部分编码肽链恒定区,编码可变区基因包括V片段、D片段和J片段三大基因群(图2)^[6]。

2. 重排过程 在发育过程中, $\gamma\delta$ 比 $\alpha\beta$ 先发生重排和表达。胚胎胸腺15天时 γ 链表达至高峰,同时(14天)也开始出现 β 基因重排,而 α 基因还要迟两天。后者的生产性重排容易引起C δ 基因缺失。Janeway等提出具有 $\gamma\delta$ 分子的TCR是TCR1,而有 $\alpha\beta$ 分子者为TCR2^[7],此法反映了TCR发育过程中的发生顺序。成熟的DN脾T细胞(L3T4⁻, Lyt2⁻)主要表达V₂J₁C₁蛋白,而引起MLR的活性细胞出现V₂J₂C₂构成的mRNA和蛋白质。提示细胞的活化可致TCR1 γ 链的特异性发生改变。无胸腺的小鼠表达高水平的T γ r,而测不

出T $\gamma\alpha\beta$,故推测T细胞可能沿“非胸腺途径”产生^[8]。由于多数白血病患者T细胞有 γ 基因重排而不出现T γ r表达,但表达T $\gamma\alpha\beta$ 。因此又提出: γ 基因先于一条染色体上重排,然后在另一条染色体上重排,直到形成功能基因才表达T γ r。否则是T $\gamma\alpha\beta$ 表达,形成T $\gamma\alpha\beta$ -CD3复合体。

3. TCR基因多态性的意义 TCR基因重排机制与B细胞Ig基因重排十分相似,具有顺序特征,按“七聚体-九聚体及12/23碱基对间隔”的原则进行^[9]。产生TCR多样性的机制有:V, D, J基因多样性, N区序列多样性,基因种系多样性,基因重排时连接方式多样性, V-D-J的重组性连接以及链间重组结合等^[10]。其意义在于使T细胞获得识别千差万别的外界抗原的能力。在MLR中,与MHC-I类抗原反应的细胞比与II类抗原反应者有更多TCR1 γ mRNA,与此一致,近获得的TCR1的CTL克隆,对未知的I类抗原有特异性。于是认为TCR1细胞专门识别MHC-I类分子或与之有关的抗原结构。从发生发育的角度,此类细胞为确保生物体在各阶段都能适当的识别和处理外界抗原,维持自身稳定,具有重要的生物学意义。

三、TCR1细胞分布特点

TCR1细胞主要分布于胸腺,也可见于免疫缺陷病人外周血,用抗CD3单抗处理可产生溶细胞活性。这种占外周血2%的细胞亚群基本不与抗TCR $\alpha\beta$ 单抗(WT31)反应。现认为它是不同于T细胞、NK细胞的独特的亚群。在正常人PBL(L3T4⁻, Lyt2⁻)、成人DN脾细胞、SCID病人PBL、肿瘤细胞克隆、鼠脾细胞和网状上皮MLR反应细胞中均可克隆出上述CD3⁺4⁻8⁻、WT31⁻细胞。胎牛PBL中也可分离出CD3⁺WT31⁻的细胞。小鼠Thy-1⁺的网状表皮细胞(DEC)占整个小鼠表皮细胞的1%,这些表皮细胞表达TCR1,而不表达TCR2。大多数在上皮寄居的淋巴细胞是Ig⁻和DN的类型,它们最可能属于TCR1细胞^[11]。

四、TCR1 细胞的功能

1. 细胞毒活性 $CD3^+4^-8^-$ 克隆化淋巴细胞可诱导 ADCC (抗体介导的细胞毒), $CD3$ 分子参与了这种溶细胞活动^[42]。最近报道 TCR1 细胞毒性时,观察到高 E:T (效应细胞:靶细胞)比例时 $CD3^+$, $WT31^-$ 克隆呈广泛靶细胞毒性,但在低 E:T 比值时则更能选择性杀伤靶细胞,即与 NK 对靶细胞杀伤表征不一样。 γ 蛋白可能参与特异的识别过程,而且识别方式与 TCR2 细胞、NK 细胞均有所不同^[43]。IDP₂ 和 T 淋巴细胞白血病克隆 PBL-C₁ 细胞均存在自发性细胞毒性,虽然 IDP₂ 细胞并不杀伤大多数 NK 或同种异型 PHA 活化的淋巴母细胞,但能选择性杀伤 Molt-4 细胞^[44],且不依赖 I, II 类抗原,而依赖于 $CD3$ 抗原。另外, IDP₂ 预结合抗 $CD3$ 单抗后可杀伤有 IgG-Fc 受体的细胞 U₉₃₇,凝集性人 IgG 可抑制对 U₉₃₇ 的作用,表明 TCR1 细胞有 ADCC 活性。

2. 参与上皮免疫监视

1) 免疫监视功能 根据 TCR1 细胞分布的研究,现发现:① TCR1 细胞较少出现在正常动物外周淋巴器官,但上皮细胞中含量较多。实际上,体内 TCR1 T 细胞仅占淋巴器官 T 细

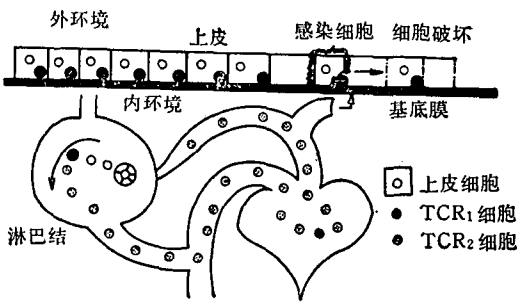


图3 外周 TCR1 细胞和 TCR2 细胞的功能

TCR1 细胞在上皮定居于上皮细胞之间空隙内,若感染上皮表达一种新的 MHC-I 类抗原, TCR1 细胞将活化并杀伤这种上皮细胞。这种活动发生频率不高。与 TCR1 细胞有限特异性细胞库的概念一致。TCR2 细胞则可以循环,处理抗原刺激细胞,每日发生频率高,与高度抗原特异性和 MHC 限制性学说相统一

胞 1—2%。② TCR1 细胞能识别 MHC-I 类抗原并介导细胞毒性,提示在上皮起着免疫监

视作用,以保证分隔内外环境的上皮细胞层结构功能的完整性。TCR2 细胞则是监视内环境的稳定、可经淋巴器官再次循环。受 MHC 限制行使识别抗原作用、随之活化 T 细胞。而 TCR₁ 细胞(上皮)不能再入血循环,且不能自由离开它所居住的上皮层。故要求每个上皮淋巴细胞都能识别改变了的上皮细胞,这些变化主要由各类因素如感染或各种癌基因调变引起的转化。此监视体系能高效率地发现何种是感染或转化型上皮细胞,在其穿越上皮进入内环境之前将其摧毁。这对机体免疫防护功能非常重要(图 3)^[45]。

2) 免疫监视中的配基^[46] TCR1 细胞能识别和清除改变了的上皮细胞,防止感染和肿瘤发生,但它不能自由地从上皮中脱开。应搞清楚上皮细胞上何种变化将受到 TCR1 细胞识别,它可能不能识别高度多态性外界抗原,而是识别感染或转化细胞上呈异常表达的一些(正常也存在或与正常抗原相似)抗原。由于上皮 TCR1 细胞 $\gamma\delta$ 结构在重排中变异性较低,对于研究相对有限性的基因产物表达的变化很有价值。宿主内环境中不能发现 TCR1 细胞识别的分子结构,也不出现在正常上皮细胞(防止正常细胞遭到 TCR1 细胞灭活)。已知 MHC-I 类抗原可活化和识别 TCR1 细胞。故认为 TCR1 细胞识别的靶目标可能主要是一种或多种 MHC 产物,人和小鼠体内均有这种特性不详的结构存在。 γ 基因的多态性与 MHC-I 类分子多态性有关。就一个位点 MHC-I 类抗原而论,这种多态性不能发现,但可能是介于两两位点之间基因型产物具有被 γ 蛋白识别的性质。此类产物产生的直接原因是感染和转化等因素。实质上,TCR1 细胞逐步地识别有上述 I 类分子的细胞并将其摧毁。上皮很快得到更新,缺损细胞及时补充,杀伤改变了的上皮细胞不影响上皮的正常功能。这表明与 TCR1 细胞有关的非 MHC 限制性杀伤是非特异性免疫方式,这种细胞毒并不依赖于 TCR1,但体现了 TCR1 对非多态性 MHC-I 类分子的识别。此外,在 MLR 培养液中发现,各类 TCR1 细胞

与 MHC-I 类抗原反应性有所不同,其中较小的一个亚群 TCR1 细胞的受体能与普通多态性 I 类抗原作用,但它们与新出现的 I 类抗原亲和力更高。

3) 监视体系的其他功能 有关 TCR1 细胞的活化机制尚欠了解,如有无特异的活化辅助因子存在? 活化细胞表面产生了新的 I 类抗原可能是其活化的重要条件。其次一些上皮细胞分泌的因子也有作用,表皮角质细胞经多种刺激皆能产生 IL-1。其他一些上皮细胞产生不同的因子,并均对 TCR1 细胞具有选择性作用。除了监视功能外,上皮 TCR1 细胞还有一些功能: ①在妊娠时免疫系统参与了受精等过程, Wagman 等^[17]发现新的 I 类抗原在滋养层细胞表达,妊娠期还有子宫上皮淋巴细胞浸润。小鼠 I 类基因及 DQ 基因 (II 类基因) 对妊娠均有影响。② 上皮系统发生疾病时, T 细胞大量浸润可能是 TCR1 细胞识别异常大量的 I 类抗原所致,这使上皮完整性遭到破坏并诱发了疾病^[18]。③ TCR1 细胞参与胸腺细胞的发育过程,因为人和小鼠胸腺细胞也出现新的 I 类抗原或其类似的产物, TCR1 可能识别了胸腺

发育初期抗原 TL (小鼠) 或 CD1 (人), 对胸腺细胞分化产生影响^[19-20]。至于胸腺上皮间质瘤产生的一些细胞因子也值得研究。

参 考 文 献

- 1 Goodman T, Lefrançois L. *Nature*, 1988; 330: 855
- 2 Brenner M B *et al.* *Nature*, 1986; 322: 145
- 3 Borst J *et al.* *Nature*, 1987; 325: 683
- 4 Brenner M B *et al.* *Nature*, 1987; 325: 689
- 5 Saito T *et al.* *Nature*, 1987; 325: 125
- 6 Chien Y-H *et al.* *Nature*, 1987; 327: 677
- 7 Janeway C A *et al.* *Immunol Today*, 1988; 9(3): 73
- 8 Yoshikai Y *et al.* *Nature*, 1986; 324: 482
- 9 Kronenberg M *et al.* *Ann Rev Immunol*, 1986; 4: 529
- 10 Fink P J *et al.* *Nature*, 1986; 321: 219
- 11 Klein J R *et al.* *J Exp Med*, 1986; 164: 309
- 12 Gunter K C *et al.* *Nature*, 1987; 326: 505
- 13 Lanier L L, Philips J H. *Immunol Today*, 1986; 7: 132
- 14 Reinherz E L. *Nature*, 1987; 325: 662
- 15 Flavell R A *et al.* *Science*, 1986; 233: 437
- 16 Koning F *et al.* *Science*, 1987; 236: 834
- 17 Warner L M *et al.* *Biol Reprod*, 1987; 6: 611
- 18 吴敏, 生命的化学——生物化学通讯, 1988; 8(5): 29
- 19 Martin L H *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986; 83: 9154
- 20 Garman R O *et al.* *Cell*, 1986; 40: 733

[本文于 1988 年 12 月 16 日收到]

书评

推荐《生物大分子印渍技术和应用》

生物大分子印渍术是近年来生命科学领域出现的革命性的新技术。它具有高分辨率、高灵敏度和简便易行等优点,因此迅速为生物化学、分子生物学、细胞生物学、免疫学、微生物学、生物工程学和医学等学科广泛采用,并取得了日新月异的成果。

由上海华东师范大学范培昌教授编著,上海科技文献出版社出版的《生物大分子印渍技术和应用》一书适时地为实验工作者提供了新颖、实用的读物。作者结合自己多年来从事这一工作的丰富经验,系统地介绍了生物大分子印渍术的概念、原理、进展、应用及其实验技术,使读者能从理论到实践较好地理解和掌握这一新技术。该书理论介绍重点突出,实验技术深入细致,而且通俗易懂,有助于解决实际操作中遇到的种种疑难问题。

鉴于印渍术已广为人们所接受,其发展极其迅速。

在医学领域已应用于免疫学、病理学、病毒学,寄生虫学和临床医学等学科。医学实验研究也涉及分子生物学、基因分析,单克隆抗体等方面。例如各种遗传疾病中功能畸变基因的分析,既是分子遗传学研究的课题,也是实验医学探索的目标,而且更为疾病的诊断和病因治疗开辟了广阔的前景。即使在临床检验方面,印渍术也已成为病原诊断、治疗观察和预后判断提供了有用的工具,特别是某些自身免疫性疾病,如风湿病、自身溶血性贫血、红斑性狼疮和某些感染性疾病等等。我们在读了这一新著后,不仅获得了从事医学实验研究的一些新知识,而且也加深了对发病机理的认识和启发新的诊疗思路。为此,作为医学科学工作者,我们愿意向同行郑重地推荐这一好书,希望《生物大分子印渍技术和应用》有助于医学科学研究手段的进一步革新!

[许阿莲、王振生写于美国波士顿哈佛大学]