

[文章编号] 1007-385X(2006)05-0329-03

· 专家论坛 ·

## 实时、动态和四维化的免疫学——评 2006 年全美免疫学家大会

### Real-time/dynamic imaging and four-dimensional dataset of immunology: A review of 2006 conference of American immunologists

魏海明<sup>1</sup>, 张 建<sup>2</sup>, 田志刚<sup>1</sup>(1. 中国科技大学 免疫学研究所, 合肥 230027; 2. 山东大学 免疫药理与免疫治疗研究所, 济南 250012)



[作者简介] 魏海明, 免疫学专业博士, 中国科学技术大学生命科学学院教授, 中国科学技术大学生命科学实验中心常务副主任, 中国科学技术大学免疫学研究所副所长, 中国免疫学会英文会刊 *Cellular & Molecular Immunology* 编辑部主任。中国免疫学会终身会员, 中国免疫学会青年学术委员会委员, 中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会委员, 主要从事分子免疫学和分子生物学研究。近 5 年来承担国家 863 课题、973 课题、国家自然科学基金项目、国家杰出青年科学基金 B 类项目(国内负责人)等多项科研, 在 *J Allergy Clin Immunol*, *Molecular Immunology*, *Peptides* 等 SCI 刊物上发表论文 36 篇。E-mail: ustcwhm@ustc.edu.cn

2006 年全美免疫学家年会于 5 月 12~16 日在波士顿举行, 来自全美及世界各地的数千名免疫学工作者参加了会议。会议以主席报告、重要演讲、主要论坛、获奖演说等多种形式向与会者展示了近 1 年来免疫学的研究成果, 加拿大和墨西哥的国家免疫学会分别举办和主持了自己的分会场。与往届会议一样, 本次会议分会场较多, 壁报内容丰富, 很难把握会议的全部内容。总体感觉是通过各种电子媒介能实时了解研究进展, 通过各种成像技术能动态观察免疫细胞的变化, 通过各种生物定量技术能精确得到数字化的实验结果。笔者 3 人作为唯一参会的中方小组有幸与会, 感触颇多, 选择以下几个侧面反映近 1 年来免疫学的某些主要进展。

#### 1 免疫细胞亚群的划分更为精确

功能性 T 细胞被划分为 Th1、Th2、Th17 和 Treg 四类, 功能范围更为清晰。其中 Th1 介导抗胞内病原体免疫, Th2 介导抗寄生虫感染、变态反应及哮喘, Th17 介导抗胞外菌、自身免疫和肿瘤, Treg 介导免疫抑制。其中 Th17 的研究更令人关注, 设有专门的分会场, 同时间发行的《Nature》杂志有 2 篇论文和 1 篇评论介绍了 Th17 的研究工作<sup>[1]</sup>。Treg 的研究较集中于 TGF- $\beta$  介导的 Smad 依赖和非依赖的信号途径的研究, TGF- $\beta$  对 FoxP3、Smad3/4、SCOS1/3、SHIP1 有正向调节作用, 对 T-bet、stat4、GATA3、NFAT、c-myc、Cyclin、NF $\kappa$ B 有负向调节作用。因此, TGF- $\beta$  的调节功能涉及到各种免疫细

胞<sup>[2]</sup>。

在淋巴结中存在两大类 DCs。一类是组织来源的 DCs(通过输入淋巴管进入淋巴结), 包括来源于表皮的郎格汉斯细胞和来源于真皮的间质 DCs; 另一类是血液来源的 DCs(通过 HEV 进入淋巴结), 包括血液来源的 CD11b<sup>+</sup> DCs、CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> DCs 和浆细胞样 DCs。CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> DCs 定位在皮质中央, 其他 DCs 定位在皮质外层、HEV 或淋巴滤泡周围<sup>[3]</sup>。上述 DCs 的迁移与定位通过活体动态成像技术清晰地展现出来, 与体外培养的髓样 DC 和淋巴样 DC 相比, 更直观地反映体内实际情况。进入引流淋巴结的 DCs 可诱导 Th1 应答, 在原位处于动态静止、自身平衡的 DCs 仅诱导 Th2 或 Th3 反应。

NKT 细胞根据其 CD1d 依赖性、 $\alpha$ -Galcer 反应性和 NK1.1(CD161)表达与否分为 I 型 NKT 细胞、II 型 NKT 细胞和 NKT 样细胞。I 型 NKT 细胞为经典 NKT 细胞, 可同时存在上述 3 项指标且有 TCR 基因偏向性取用; II 型 NKT 细胞为非经典 NKT 细胞, 对  $\alpha$ -Galcer 无反应性, TCR 基因取用为多样性, 其他同 I 型细胞; NKT 样细胞又称 CD1d 非依赖性 NK1.1 + T 细胞<sup>[4]</sup>。

#### 2 免疫识别依赖于新识别分子的发现

天然免疫细胞的识别仍然是研究的热点。由于新发现 RIG-I、Siglec-H、Nod 等新识别分子, 单核吞噬细胞和树突状细胞至少有以下儿种识别方式:

##### 2.1 依赖于 TLRs 分子的识别

分为表面 TLRs 分子识别 (胞膜) 和胞内 TLRs 分子识别 (内体)。通过对 TLR<sub>3</sub> 的结构分析,发现该受体为带状结构,有富含亮氨酸的重复序列 LRR,单体 TLR3 在结合 dsRNA 病毒时形成二聚体 (也可能有预先形成的二聚体),之后发生能量转换,通过荧光共振能量转移技术 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 能清楚地显示这种结合作用<sup>[5]</sup>,继而通过 MyD88 依赖和非依赖途径进行信号转导。MyD88 非依赖途径是指 TLR3 或 TLR4 通过 TRIF 分子转导,TLR4 还可能通过 TRAM 分子进行转导。各类细胞 TLRs 分子表达和识别的对象见表 1。

表 1 各类细胞 TLRs 分子的表达和识别

细胞类型	表面表达受体	胞内表达受体	识别对象	效应分子
单核细胞	TLR1,2,4,5,6	TLR8	G <sup>+</sup> 菌,G <sup>-</sup> 菌,真菌,ssRNA 病毒	
髓样 DC	TLR1,2,5,6	TLR3,8	G <sup>+</sup> 菌,G <sup>-</sup> 菌,真菌,ssRNA 病毒,dsRNA 病毒	IL-6,-12,TNF
淋巴样 DC		TLR7,9	ssRNA 病毒,DNA 病毒	I 型 IFN
CD8 $\alpha$ + DC	TLR1,2,6	TLR3,9	G <sup>+</sup> 菌,G <sup>-</sup> 菌,真菌,DNA 病毒,dsRNA 病毒	IL-12
CD11b + DC	TLR1,2,5,6	TLR3,7,9	G <sup>+</sup> 菌,G <sup>-</sup> 菌,真菌,ssRNA 病毒,dsRNA 病毒,DNA 病毒	IL-10

### 2.3 依赖于 Siglec-H 分子的识别

小鼠 pDCs 还表达 Siglec-H 分子,该分子可介导对病原体的识别,并转运至内体中的 TLR 区室,在此处被胞内 TLR9 等识别,最终由 MHC 分子提呈出去。通常 pDCs 可通过 TLR9-MyD88 途径刺激 I 型 IFN 的分泌,但该途径能被 Siglec-H-DAP12 信号所抑制。当低亲和力配体与 Siglec-H-DAP12 结合后,后者出现非正常簇化,抑制 I 型 IFN 的分泌,出现负调节功能;当高亲和力配体与 Siglec-H-DAP12 结合后,后者出现多聚簇化,促进 I 型 IFN 的分泌。病原体是一种良好的高亲和力配体,Siglec-H 与之结合后内化并传递至 TLR 区室,在此处 DAP12 协同 TLR9 信号,促使 IFN- $\alpha$  的分泌。人 pDCs 表达 C 型凝集素 BDCA-2,可能有类似 Siglec-H 的功能<sup>[7]</sup>。

### 2.4 依赖于 Nod 分子的识别

TLR 作为细胞表面受体通过其 LRR 结构域可识别 LPS 和 PG (肽聚糖),当 PG 内化后,可被存在与胞内的 Nod 分子所识别,与 TLR 信号一样可活化 NF $\kappa$ B 通路,进而活化 T、B 细胞,分泌细胞因子甚至防御素分子。在 G<sup>-</sup>菌细胞壁的 N-乙酰胞壁酸上

### 2.2 依赖于 RIG-I 分子的识别

大多数外源性的 dsRNA 病毒除了通过内体中的 TLR3 传递信号外,还有一部分病毒可通过 RIG-I 分子传递信号,后者通过其 C 端的螺旋酶结构域结合 dsRNA,通过 N 端的 CARD 将信号下传,并与定位在线粒体膜上的 IPS-1 分子的 N 端 CARD 相互作用,介导信号的进一步级联传递。HCV 的 NS3-4A 蛋白可灭活 IPS-1 的活性,因而具有抗天然免疫作用。已知 RIG-I 分子可识别副黏病毒、流感病毒和日本脑炎病毒,与 RIG-I 分子同源的 MDA5 分子可识别小 RNA 病毒以及人工合成的双链 RNA 病毒类似物 poly(I:C)<sup>[6]</sup>。

连接有 DAP 型四肽链,可被 Nod1 分子识别,而 G<sup>+</sup>菌既有 DAP 型四肽链,也有 LYS 型四肽链,均可被 Nod2 所识别。果蝇没有 Nod 分子,其 DAP 型四肽链和 LYS 型四肽链分别在胞外被 PGRP-LC 和 PGRP-SA 识别<sup>[8]</sup>。

## 3 研究模型更倾向于自然状态

本届会议主席 Allen 教授展示了上世纪 60 年代和现在的小鼠脾脏的 2 张照片。60 年代 1 只小鼠的脾脏可获得  $200 \times 10^7$  个淋巴细胞,现在的小鼠仅仅获得  $(5 \sim 10) \times 10^7$  个淋巴细胞。原因是现在的小鼠长期在 SPF 环境中生存,免疫细胞的生成也在下降;加之现在大量使用基因敲除鼠,我们获得的免疫学数据有多少更接近于人体的自然状态,值得我们思考。一个导向性的意见是在进行免疫学研究的时候,应尽可能采用临床资料,或是用细菌、病毒感染、荷瘤小鼠等更接近自然状态的模型进行研究。本次会议的 6 个主要论坛中有 3 个涉及此类研究:一是细菌的天然识别和获得性识别;二是人类免疫研究进展;三是胃肠免疫反应与微生物共生。可见,选择更倾向于自然状态的研究模型日益受到人们的

重视, 此类研究成果在发表论文时, 更可能被杂志优先录用。

#### 4 实时动态成像技术展示更清晰的形态结果

一系列新的研究方法在免疫学的研究中得到应用, 包括 PET 技术、MRI 技术、显微切割技术、激光共聚焦显微镜技术、活细胞工作站技术等。一个重要的进步是出现了几种增强的荧光分子, 如 ECFP (蓝绿色)、EGFP (绿色)、EYFP (黄色) 和量子点 (可通过调整纳米颗粒的大小产生红色)。较之 CFSE 之类的标记技术, 上述分子能和靶分子在细胞内共表达或具有较高的光化学稳定性, 可以保证其在体内存留数天乃至数月, 因而对不同组织或细胞内的靶分子标记以特定种类的“点”, 通过不同的颜色达到同时检测体内不同靶细胞或靶分子的目的<sup>[9]</sup>。

通过双光子成像技术可以得到 X-Y 二维平面图像, 改变显微镜的聚焦点, 可以将平面图像扩展; 收集 Z 层图像, 得到三维数据; 在不同的时间点重复收集三维数据, 可以得到动态的四维数据。上述双光子方法可以观察到 200 ~ 300  $\mu\text{m}$  厚度的淋巴结组织中的免疫信息。利用活体成像技术和离体移植技术均能进行四维研究。例如通过离体移植技术将淋巴结从动物体内取出包埋到琼脂中, 或胶合到盖片上放置于预热、灌流的成像盒内, 可以观察到 DCs 每分钟移动 60  $\mu\text{m}$ 。通过活体成像技术还可以观察到在正常血流和淋巴流情况下, DCs 和幼稚淋巴细胞在 T/B 细胞区的迁移和结合, 甚至还观察到 DCs 能特异性地向 B 细胞提呈抗原<sup>[10]</sup>。一些可以自发荧光的细胞如肝细胞可以不用标记直接进行活体动态观察。

2007 年的全美免疫学家大会将于 2007 年 5 月 18 ~ 22 日在迈阿密举行, 接任 Paul M. Allen 而担任 2006 ~ 2007 年度 AAI (The American Association of

Immunologists) 主席的是来自加州大学旧金山分校的 Lewis L. Lanier 教授, 他是知名的天然免疫学家 (尤其对 NK 细胞的研究), 期待下次大会将有更大的收获!

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Tato CM, O'Shea JJ. Immunology: What does it mean to be just 17[ J ]? *Nature*, 2006, 441( 7090 ): 166-168.
- [ 2 ] Li MO, Wan YY, Sanjabi S, *et al.* Transforming growth factor-beta regulation of immune responses[ J ]. *Annu Rev Immunol*, 2006, 24: 99-146.
- [ 3 ] Colonna M, Pulendran B, Iwasaki A. Dendritic cells at the host-pathogen interface[ J ]. *Nat Immunol*, 2006, 7( 2 ): 117- 120.
- [ 4 ] Kronenberg M. Toward an understanding of NKT cell biology: Progress and paradoxes[ J ]. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23: 877-900.
- [ 5 ] Choe J, Kelker MS, Wilson IA. Crystal structure of human toll-like receptor 3 ( TLR3 ) ectodomain[ J ]. *Science*, 2005, 309 ( 5734 ): 581-585.
- [ 6 ] Kato H, Takeuchi O, Sato S, *et al.* Differential roles of MDA5 and RIG - I helicases in the recognition of RNA viruses[ J ]. *Nature*, 2006, 441( 7089 ): 101-105.
- [ 7 ] Blasius AL, Colonna M. Sampling and signaling in plasmacytoid dendritic cells: The potential roles of Siglec-H[ J ]. *Trends Immunol*, 2006, 27( 6 ): 255-260.
- [ 8 ] Strober W, Murray PJ, Kitani A, *et al.* Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2[ J ]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6( 1 ): 9-20.
- [ 9 ] Germain RN, Miller MJ, Dustin ML, *et al.* Dynamic imaging of the immune system: Progress, pitfalls and promise[ J ]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6( 7 ): 497-507.
- [ 10 ] Qi H, Egen JG, Huang A, *et al.* Extrafollicular activation of lymph node B cells by antigen-bearing dendritic cells[ J ]. *Science*, 2006, 312 ( 5780 ): 1672-1676.

[ 收稿日期 ] 2006 - 07 - 09

[ 修回日期 ] 2006 - 09 - 18

[ 本文编辑 ] 韩 丹

· 读 者 · 作 者 · 编 者 ·

## 文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》, 文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方, 均应使用阿拉伯数字。(1) 公历世纪、年代、年、月、日和时、分、秒必须使用阿拉伯数字, 如 20 世纪 90 年代、2006 - 02 - 15、5 h、30 min、30 s、14:36:08 等; 年份不能用简称, “1998 年”不能写作“98 年”。(2) 物理量量值必须使用阿拉伯数字。(3) 非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字, 如 3 支、5 根等。(4) 数值范围的表达要求: 5 万至 10 万应写成 5 万 ~ 10 万, 不能写成 5 ~ 10 万;  $3 \times 10^9$  至  $5 \times 10^9$  应写成  $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ , 或  $(3 \sim 5) \times 10^9$ , 不能写成  $3 \sim 5 \times 10^9$ ; 60% 至 70% 不能写成 60 ~ 70%, 应写成 60% ~ 70%;  $25.5 \pm 0.5 \text{ mg}$  应写成  $(25.5 \pm 0.5) \text{ mg}$ 。(5) 带单位的量值相乘时, 每个数值后单位不能省略, 如  $4 \text{ mm} \times 2 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ , 不能写成  $4 \times 2 \times 3 \text{ mm}$  或  $4 \times 2 \times 3 \text{ mm}^3$ 。

(本刊编辑部)