

# 鸡淋巴细胞与鹌鹑红细胞的花环形成\*

杨吉明

(兰州生物制品研究所)

人T淋巴细胞与绵羊红细胞花环形成的特性已广泛用为分离淋巴细胞的重要手段。也曾有人报道数种哺乳动物淋巴细胞可与异种动物

红细胞形成花环，但对鸟类的淋巴细胞尚少研

---

\* 此项工作是作者在日本进修期间于1981年在尾藤行雄教授指导下完成的，特此致谢。

究。

由于鸟类具有 B 淋巴细胞分化和成熟的独特场所——腔上囊，往往是研究免疫生物学的理想模型。然而鸟类的免疫系统除与哺乳类有共同属性外，尚有其个性。本文就鸡淋巴细胞与鹌鹑红细胞形成花环的某些特性进行初步的探讨。

## 材料和方 法

**(一) 材料** 实验用鸡为白色来杭种 Anthon 系。主要组织相容性复合体的基因型为  $B^{11}B^{11}$ 、 $B^{11}B^{13}$  或  $B^{13}B^{13}$ 。

实验用鹌鹑为日本产鹌鹑。

**(二) E 花环形成试验** 将鸡脾脏剪碎，在孔径 100 微米的细金属纱上压迫过滤，使细胞游离。反复洗涤，用塑料平皿附着法去除巨噬细胞，然后用密度梯度离心法纯化淋巴细胞。用台盼兰检测细胞活力在 95% 以上。用灭菌汉克斯 (Hank's) 液洗涤 3 次，末次洗涤后的沉淀部分用灭菌 RPMI 1640 培养液稀释为  $5 \times 10^6$  细胞/毫升，以其 0.5 毫升与等量的  $1 \times 10^8$  细胞/毫升鹌鹑红细胞 (QRBC) 混合。置  $37^\circ\text{C}$  15 分钟使之活化，1000 转离心 5 分钟，再于  $37^\circ\text{C}$  放置 30 分钟，除去上清液的 1 部分，用吸管缓慢悬浮细胞，计数 200 个淋巴细胞，结合 4 个以上 QRBC 的为花环。

**(三) QRBC 的神经氨酸酶处理法** 鹌鹑心脏无菌采血，红细胞经反复洗涤后制成  $1 \times 10^9$  细胞/毫升的 QRBC 悬浮液，在 1 毫升中加入神经氨酸酶 0.2 毫升 (1 单位/毫升)， $37^\circ\text{C}$  反应 30 分钟，用磷酸缓冲液洗涤 3 次，然后制成  $1 \times 10^8$  细胞/毫升的 QRBC 悬浮液，无菌保存于  $4^\circ\text{C}$ 。在一星期内使用，使用前洗涤 3 次。

**(四) 分离 T 细胞的尼龙纤维柱法** 以 0.1 克/毫升的松紧度将约 9 厘米长的尼龙纤维 (经脱脂和灭菌) 充塞于小注射器中，以  $1 \times 10^8$  细胞/毫升的淋巴细胞悬浮液充分浸透纤维，在  $37^\circ\text{C}$  垂直状态静置 45 分钟，然后在加入  $37^\circ\text{C}$  Hank's 液的同时由注射器口缓慢滴下，收集 T 细胞悬浮液。

**(五) B 细胞的抗血清分离法** 用一周龄雏鸡胸腺细胞免疫家兔，所得抗血清经鸡红细胞及一周龄雏鸡腔上囊细胞充分吸收后，便得抗 T 细胞特异性抗血清。 $1 \times 10^7$  细胞/毫升淋巴细胞与抗血清及补体充分混合后置  $37^\circ\text{C}$  45 分钟。洗涤 3 次得 B 细胞液。

**(六) 鸡淋巴细胞的免疫球蛋白 G (IgG) Fc 受体和免疫球蛋白 M (IgM) Fc 受体的测定** 先制备纯化的鸡抗绵羊红细胞 (SRBC)、IgG 抗体和 IgM 抗体。分别测定凝集价，取不发生凝集的最高稀释倍数的抗体液与等量  $1 \times 10^8$  细胞/毫升的 SRBC 悬浮液混合，置  $37^\circ\text{C}$  60 分钟，以使 IgG 或 IgM 与 SRBC 附着。以  $1 \times 10^8$  细胞/毫升的浓度保存于冰箱。

将上述 IgG-SRBC 悬浮液 (或 IgM-SRBC 悬浮液) 与  $5 \times 10^6$  细胞/毫升的淋巴细胞等量混合。1000 转离心 5 分钟，室温静置 60 分钟。计数 200 个淋巴细胞，结合 3 个以上 SRBC 的淋巴细胞为 Fc 受体阳性。

**(七) IgG Fc 受体阳性细胞的 E 花环测定法** IgG-SRBC 与淋巴细胞混合，室温静置 60 分钟后，用密度梯度离心法使与 SRBC 结合的淋巴细胞和游离的淋巴细胞分离。用 0.83% 氯化铵水溶液溶解离心管底层混杂的大量 SRBC，经 3 次洗涤后获得存活率良好的原先与 SRBC 结合的淋巴细胞，用之进行 E 花环试验。

**(八) 鸡血清抗 QRBC 自然抗体的测定法** 用微量凝集法测定鸡血清抗 QRBC 总抗体价和二巯基乙醇非抵抗性抗体 (IgM) 价。

## 结 果

E 花环率在预先用神经氨酸酶处理的较未处理的多 1.58 倍；用神经氨酸酶处理之后在  $37^\circ\text{C}$  放置 30 分钟较在  $4^\circ\text{C}$  放置 2 小时多 0.55 倍 (见表 1)。故以后的实验均预先用神经氨酸酶处理，最后置  $37^\circ\text{C}$  30 分钟后测定。

比较鸡脾脏、胸腺、腔上囊和末梢血 4 个部位的淋巴细胞。腔上囊 E 花环率最高，末梢血最低，脾脏和胸腺近似 (见图 1)。

一周龄鸡的胸腺中不混杂 B 细胞，腔上囊

表 1 温度及神经氨酸酶处理对 E 花环率的影响

标本编号	温度(神经氨酸酶处理后)		用神经氨酸酶处理(37°C)	
	4°C	37°C	-	+
1	15.9%	31.3%	11.2%	31.3%
2	25.4%	31.7%	2.1%	31.7%
3	40.2%	70.0%	31.8%	70.0%
4	25.0%	32.4%	21.0%	37.5%
(均值)	26.6±4%	41.4±8%	16.5±5%	42.6±8%

表 2 E 花环阳性细胞在 T 细胞和 B 细胞中的分布

12—15 周龄鸡的淋巴细胞			一周龄鸡的淋巴细胞		
标本编号	脾 T 细胞	脾 B 细胞	标本编号	胸腺细胞	腔上囊细胞
1	48.1%	56.2%	10	51.8%	57.0%
2	0	0	11	60.7%	70.9%
3	9.3%	10.0%	12	30.8%	47.1%
4	30.2%	36.6%	13	31.0%	52.2%
5	0	<1%	/		
6	30.0%	47.8%	/		
7	34.4%	36.1%	/		
8	37.9%	56.2%	/		
9	0	<1%	/		
(均值)	21.1±6%	26.8±8%	(均值)	43.6±4%	56.7±5%
(T/B)	21.1/26.8=0.787		(T/B)	43.6/56.7=0.769	

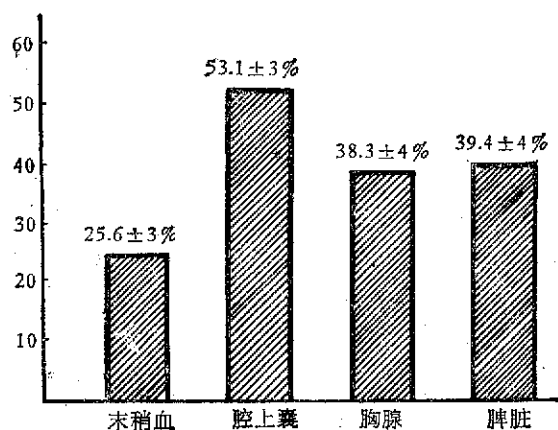


图 1 不同器官淋巴细胞的 E 花环百分率

中不混杂 T 细胞, 故可用其直接检测 T 细胞和 B 细胞的花环率。其 T、B 细胞花环率之比与

三月龄鸡脾脏的 T、B 细胞花环率之比相近; 平均为 0.78。即 B 细胞的花环率比 T 细胞为高, E 花环率的个体差相当悬殊(见表 2)。

经检 56 只鸡脾脏淋巴细胞的结果提示不同个体 E 花环率差异很大, 由 1% 以下到 90% 以上不等。该差别与组织相容性抗原无关。若分为几个区段, 则 30% 以下的最多, 占 33.9%, 其中大部分小于 1%, 其次为 51—70% 者, 占 30.4%。71% 以上的最少(8.9%)。

鸡脾脏淋巴细胞中 IgG Fc 受体阳性者平均为 16.4±1.4%, 与哺乳动物相似。其中大部分为 B 细胞, T 细胞仅占阳性总数的 30% 左右, 而具 IgM Fc 受体者一般不超过 1%。

具有 IgG Fc 受体和 QRBC 受体两者的淋

表3 花环形成率与抗 QRBC IgM 自然抗体的关系

标本编号	脾细胞花环形成率 (%)	IgM 自然抗体价					非 IgM 自然抗体价	
		2×	4×	8×	16×	32×	2×	4×
1	54.1	+++	++	+	-	-	-	-
2	45.0	++++	++++	++	+	-	-	-
3	3.1	-	-	-	-	-	-	-
4	21.9	++	+	-	-	-	-	-
5	78.8	++++	++++	+++	++	-	-	-
6	< 1	+	-	-	-	-	-	-
7	64.0	++++	+++	+	-	-	-	-
8	< 1	++	-	-	-	-	-	-

巴细胞仅占 IgG Fc 受体阳性细胞和 E 花环形成细胞的一部分。淋巴细胞与 IgG-SRBC 及 QRBC 同时混合,或 IgG Fc 受体阳性细胞经密度梯度离心纯化后再与 QRBC 混合,其结果相近。

鸡血清中无抗 QRBC IgG 自然抗体,但存在多少不等的抗 QRBC IgM 自然抗体,其抗体量与 E 花环率存在一定的平行关系(见表 3)。

### 讨 论

鸡淋巴细胞可与鹌鹑及鸭的红细胞形成 E 花环。全部红细胞都以其一端与鸡淋巴细胞结合而形成菊花状花环。但如果鸡预先用 QRBC 免疫,则其淋巴细胞尚与横位的 QRBC 结合。说明正常情况下的鸡淋巴细胞仅存在与分布于鹌鹑和鸭的红细胞端部的某种抗原结合的受体。当用 QRBC 免疫后,便出现产生对分布于 QRBC 侧表面抗原的特异性抗体的淋巴细胞。

人类和哺乳动物的淋巴细胞在 4℃ 时最易形成 E 花环,且随加温一部分花环逐渐解离。而在鸡,高温(37℃)较低温(4℃)时 E 花环率高。提示两者的相应受体性质相异。

鸡淋巴细胞的另一特点是 E 花环百分率因个体而异,且波动范围很大。已知百分率与组织相容性抗原无关,而与鸡的什么生理特性相关?有待进一步研究。

不管 E 花环形成百分率如何, B 细胞的百分率总较 T 细胞的稍高。就脏器而言,腔上囊

细胞的百分率较胸腺细胞为高,而 T、B 细胞各半的脾细胞与胸腺相当,可能与脾脏细胞较成熟有关。T 细胞约占淋巴细胞总数 70% 的末梢血淋巴细胞的 E 花环百分率最低。从另一方面看,幼稚型细胞占优势的初生雏的 E 花环率较一月龄以上者为高。

鸡淋巴细胞 Fc 受体与哺乳动物相似。IgG Fc 受体阳性细胞占淋巴细胞总数的 16.4 ± 1.4%,其中 B 细胞约占 2/3 强。IgG Fc 受体和 QRBC 受体分别独立存在,淋巴细胞可两者兼具,或兼无,或只具其一。

有趣的是鸡淋巴细胞的 E 花环百分率与抗 QRBC IgM 自然抗体价之间存在一定的平行关系。细胞的 Fc 受体主要与和相应抗原结合的抗体或热凝集抗体相结合,但人和哺乳动物的一部分 IgG 在游离状态下也能与巨噬细胞和淋巴细胞的 Fc 受体结合,谓嗜细胞性抗体。上述两者存在一定的平行关系的首选解释是鸡的 IgM 有嗜细胞性,而 QRBC 受体可能就是与细胞 IgM Fc 受体结合的 IgM 抗体。这便从另一个角度验证了 Susan 等人的结果<sup>[5]</sup>,然而与其矛盾的是鸡经 QRBC 免疫后只改变 E 花环的形状,并不增加 E 花环的百分率,故有待进一步验证。

### 参 考 文 献

- [1] 小出勝也。1971。ヒツジ血球免疫ニフツリノ Rosette-

(下转第13页)

(上接第 40 页)

- Forming cell に関する研究。日本細菌学雑誌。26 (5.6): 205。
- [2] 尾上薫。1978. 免疫反応系にすけるしセプタ—の化学。代謝。15: 臨時増刊号。免疫, 78。
- [3] 佐藤孝二 1974 ニワトリにすける抗原結合性細胞の存在とファブリシウス囊摘出の影響。日本免疫学会記録。4: 7。
- [4] 佐藤孝二 1975 ニワトリにすける抗原結合性細胞の存在と胸腺摘出の影響日本免疫学会記録。5: 135。
- [5] Koji Sato, 1977. Rosette Formation in chicks, Avian Immunology 88: 121.
- [6] Moretta L, S. R. Webb, C. E. Grossi, P. M. Ly-

(下转第 60 页)