



细胞因子与粘附分子

授课教师 李擎天

<http://www.shsmu.edu.cn/>



1

细胞因子

2

细胞因子受体

3

黏附分子

4

细胞因子、受体及粘附分子检测技术



上海交通大学医学院



第一节 细胞因子



上海交通大学医学院



Cytokine

- ❖ Cytokines can be defined as small proteins that usually act in an autocrine or paracrine manner.
- ❖ Autocrine: acting on cells that produced them.
- ❖ Paracrine: acting on cells close by ~.



上海交通大学医学院

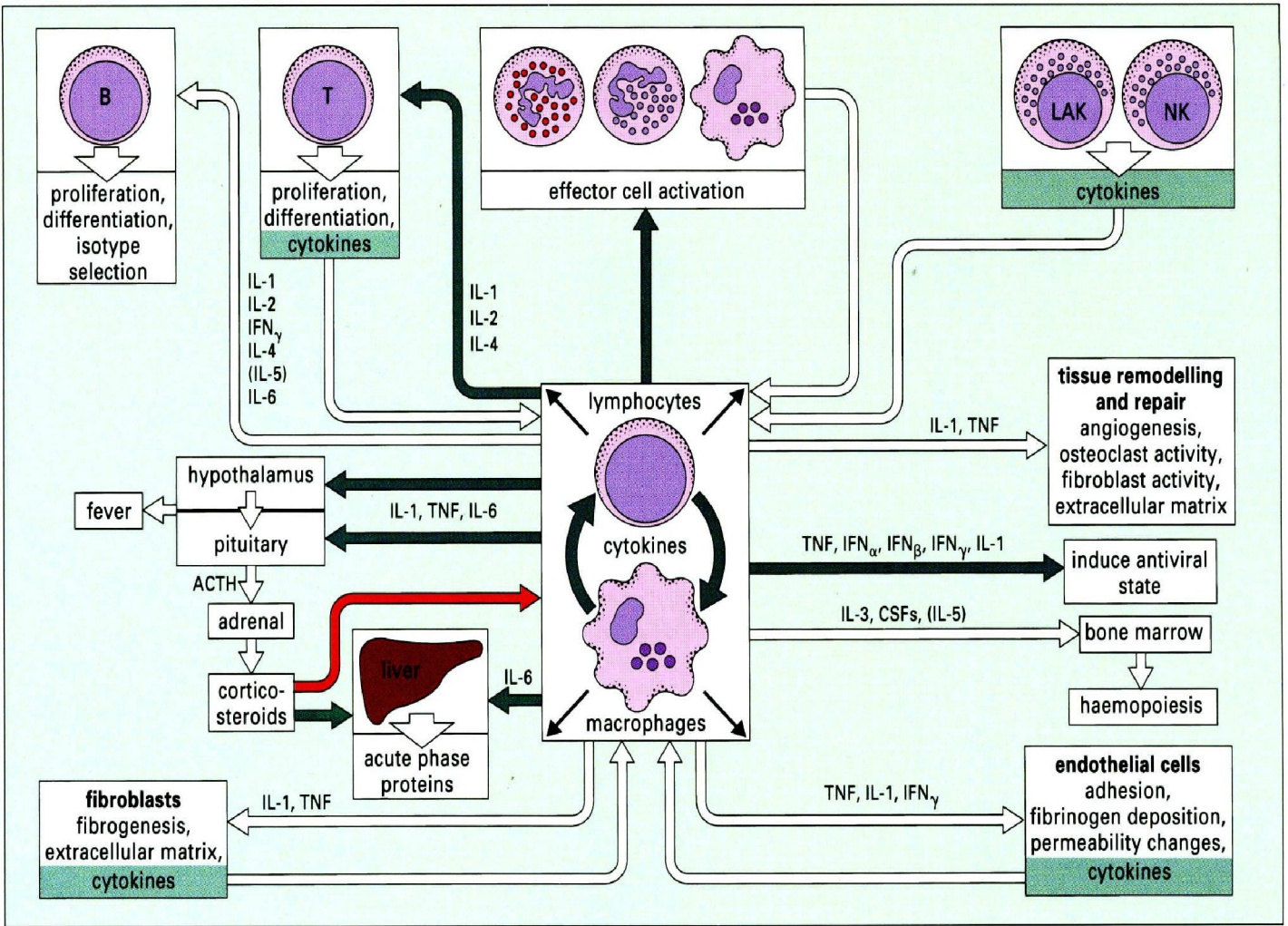


❖ Cytokines are part of an extra-cellular signalling network that controls every function of the innate and specific immune response. including: inflammation, defence against virus infection, proliferation of specific T-and B- cell clones and regulation of their differentiated function.



上海交通大学医学院

The physiological roles of the cytokine network



Role of cytokines in regulating Ig isotype expression

Cytokines	IgM	IgG3	IgG1	IgG2b	IgG2a	IgA	IgE
IL-4	Inhibits	Inhibits	Induces		Inhibits		Induces
IL-5						Augments production	
IFN- γ	Inhibits	Induces	Inhibits		Induces		Inhibits
TGF- β	Inhibits	Inhibits		Induces		Induces	



Classification and Nomenclature of Cytokines

- ❖ Well over 200 different human cytokines have now been indentified.
- ❖ The human genome mapping project is revealing new members of existing cytokine gene families, and indentifying completely new families.
- ❖ Cytokines have a wide variety of names



上海交通大学医学院



Major Classification and Nomenclature of Cytokines

- ❖ Interleukins (IL) : IL-1, IL-2 etc
- ❖ Interferons (IFN) : IFN α , β , γ
- ❖ Tumour necrosis factors (TNF) : TNF α , β
- ❖ Growth factors (GF) : NGF, EGF
- ❖ Colony stimulating factors (CSF) : M-CSF, G-CSF
- ❖ Chemokines: MCP-1, MIP-1 α



上海交通大学医学院



归纳:

(一) 是低分子量 (15~30kD) 的蛋白或糖蛋白; 细胞因子是由抗原、丝裂原或其他刺激物活化的细胞分泌, 无前体状态的储存, 分泌是一个短时自限过程; 多以单体形式存在(二/三聚体少); 通过与受体 (receptor) 结合呈现高效性 (high effect); 以非特异性方式发挥复杂 (complication) 作用。





(二) 细胞因子可以旁分泌(paracrine)、自分泌(autocrine)和内分泌(endocrine)的方式发挥作用。

(三) 一种细胞可产生多种细胞因子，不同类型的细胞也可产生一种或几种相同的细胞因子；一种细胞因子可对多种靶细胞发挥作用，产生多种不同的生物学效应，称多效性(pleiotropy)；



上海交通大学医学院



(四) 几种不同的细胞因子也可同一种靶细胞发生作用，产生相同或相似的生物学效应，称重叠性 (redundancy)；一种细胞因子可以抑制另一种细胞因子的某些生物学作用，表现为拮抗效应 (antagonism)；可以增强另一细胞因子的某些生物学作用表现为协同效应 (synergy)。



上海交通大学医学院



(五) 细胞因子的种类(命名)复杂~

- 1、白介素(IL)： 在白细胞间发挥作用的细胞因子；
- 2、干扰素(IFN)： 具有干扰病毒感染和复制的能力；
- 3、肿瘤坏死因子(TNF)： 一种能使肿瘤发生出血坏死的物质；



上海交通大学医学院



4、集落刺激因子(CSF)：指能刺激多能造血干细胞和不同发育分化阶段的造血干细胞进行增殖分化，并在半固体培养基中形成相应集落的细胞因子；

5、生长因子(GF)：具有刺激细胞生长作用的细胞因子；



上海交通大学医学院



6、趋化性细胞因子(Chemokines): 由白细胞与造血微环境中的基质细胞分泌, 可结合在内皮细胞的表面, 具有对中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的趋化和激活活性。



上海交通大学医学院



注:

(不包括免疫球蛋白、补体以及激素、
神经肽、酶等生理性细胞产物)



上海交通大学医学院



(六)细胞因子的生物学活性

- 1、介导天然免疫
- 2、介导和调节特异性免疫应答
- 3、诱导凋亡 (apoptosis)
- 4、刺激造血功能



上海交通大学医学院



网络(network):

例: CK参与免疫调节

❖ IL-12、IFN- γ 、IL-2等 I 型细胞因子

❖

促进

抑制

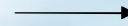
❖

Th0

Th 1;

Th0

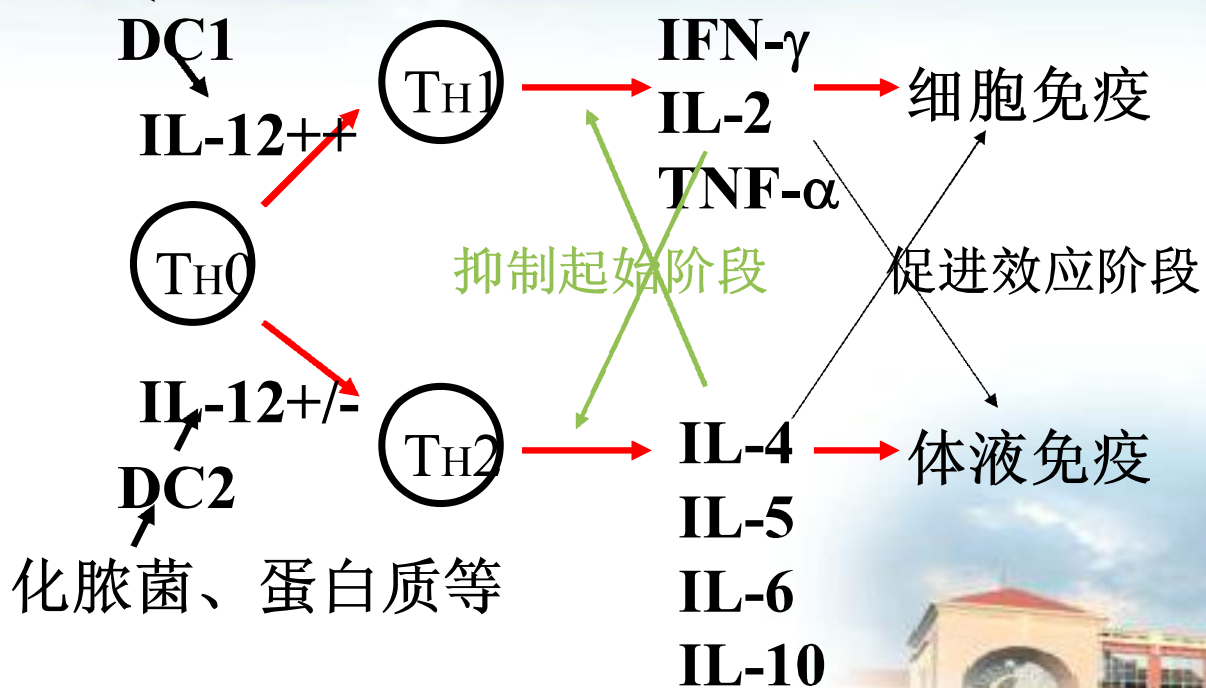
Th2



上海交通大学医学院



细胞内寄生菌、病毒等





1

细胞因子

2

细胞因子受体

3

黏附分子

4

细胞因子、受体及粘附分子检测技术



上海交通大学医学院



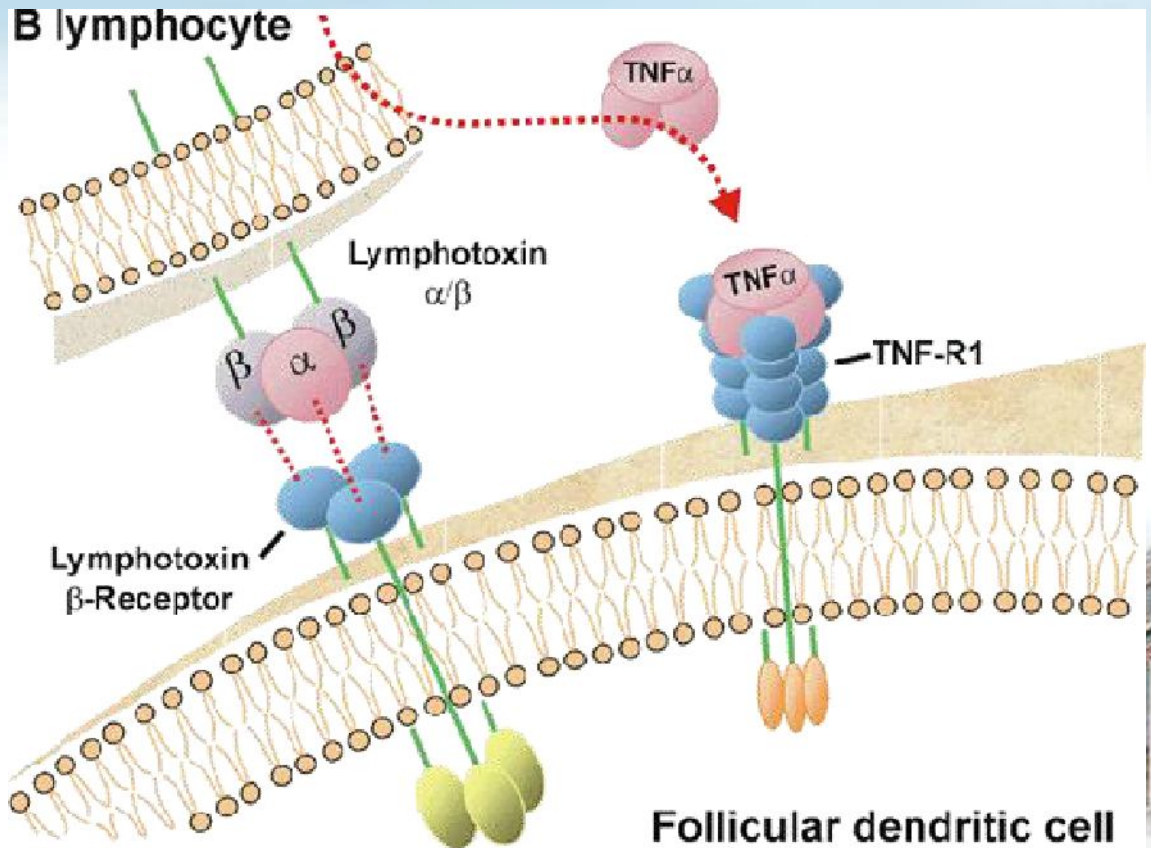
第二节 细胞因子受体



上海交通大学医学院

Cytokine Receptors

● 细胞因子受体 (Receptors) 指跨细胞膜蛋白，包括：胞膜外区、跨膜区和胞浆区组成。





- ❖ 所以：从细胞因子结合其受体开始，到某些基因转录的启动，要经历复杂的细胞内分子间的相互作用，这样的作用过程称为细胞因子的信号转导（signal transducers）。
- ❖ 细胞因子受体游离与体液中的，被称为可溶性细胞因子受体（soluble cytokine receptor, sCKR）。



上海交通大学医学院



Families of cytokine receptors

- ❖ I型细胞因子受体家族：
IL-2R, /3R, 5R, 6R, GM-CSFR, etc
- ❖ II型细胞因子受体家族：
IFN α , β receptor, IL-10R, M-CSFR, etc
- ❖ III型细胞因子受体家族：
TNFR-1/2, CD40L, NGFR, FASL, TRAIL.
- ❖ IV型细胞因子受体家族：
IL-1R1/2





1

细胞因子

2

细胞因子受体

3

黏附分子

4

细胞因子、受体及粘附分子检测技术



上海交通大学医学院



第三节 黏附分子



上海交通大学医学院



Cell-adhesion molecule, CAM

- ❖ 是众多介导细胞间或细胞与细胞外基质 (extra-cellular matrix, ECM) 间相互接触和结合分子的统称。
- ❖ 黏附分子以受体-配体 (mac th) 结合的形式发挥作用，参与细胞的识别、活化和信号转导、增殖和分化、伸展与移动。
- ❖ 大部分CAM也属CD分子。



上海交通大学医学院



❖ CAM的分类(classification):

整合素家族 (integrin family)

选择素家族 (selection family)

免疫球蛋白超家族 (Ig superfamily)

钙粘蛋白家族 (cadherin family)

未归类的黏附分子



上海交通大学医学院



Biological Effects of CAM

- 1、参与淋巴细胞归巢 (lymphocyte homing)
指淋巴细胞经血流向淋巴组织定向迁移作用
- 2、参与炎症 (inflammation) 反应
影响白细胞向炎症区域迁移~
- 3、介导和调节特异性免疫应答
- 4、诱导凋亡 (apoptosis)
- 5、其他



上海交通大学医学院



Leukocyte differentiation antigen; LAD

指:

干细胞分化成熟为不同谱系后，以及处于不同分化阶段和活化过程中，其表面表达的相应的抗原谱（表面标识）。

除在白细胞外，CD还在不同分化阶段的红系、巨核/血小板并广泛分布于非造血细胞表面和细胞浆。



上海交通大学医学院



应用单克隆抗体鉴定的方法，把来自不同实验室的单克隆抗体所识别的同一分化抗原称CD（cluster of differentiation; 分化群）。

CD分子目前可大致分为9组：T细胞、B细胞、髓样细胞、NK、血小板、黏附分子等。



上海交通大学医学院

常用的CD分子

❖ (一) 与T细胞识别、黏附和活化过程有关的CD分子。

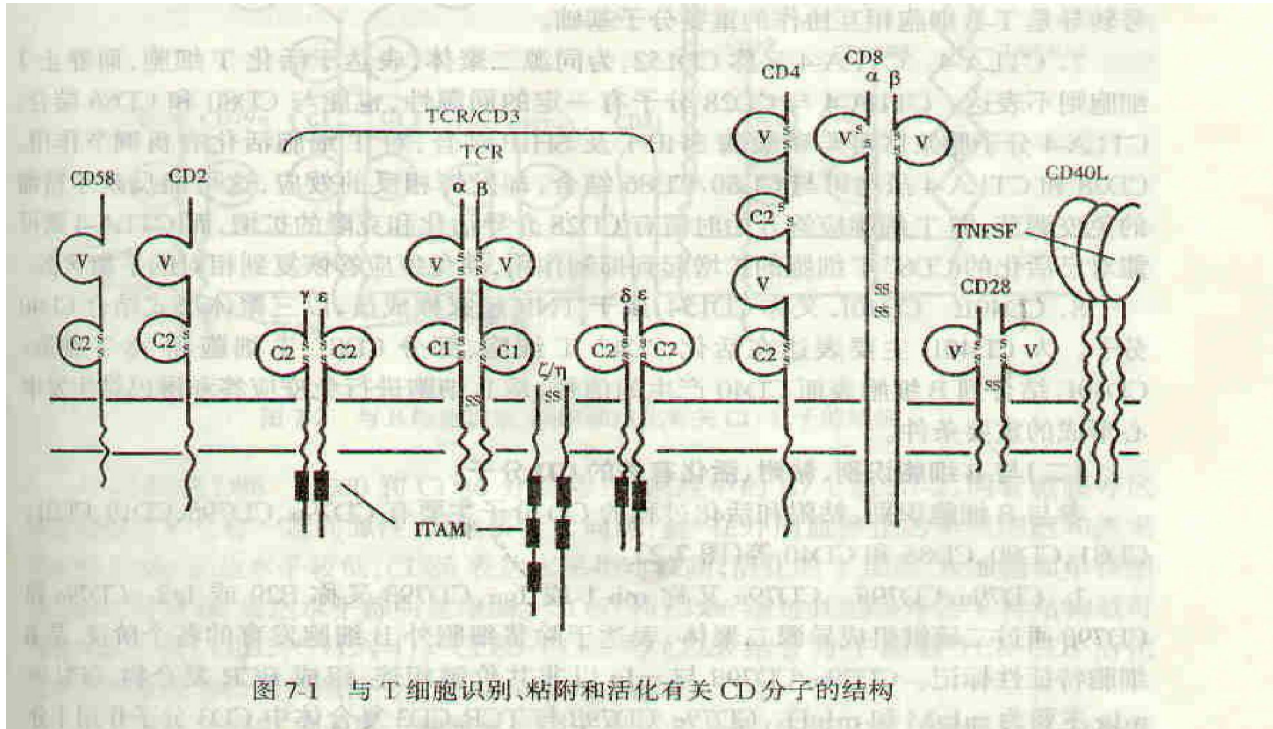
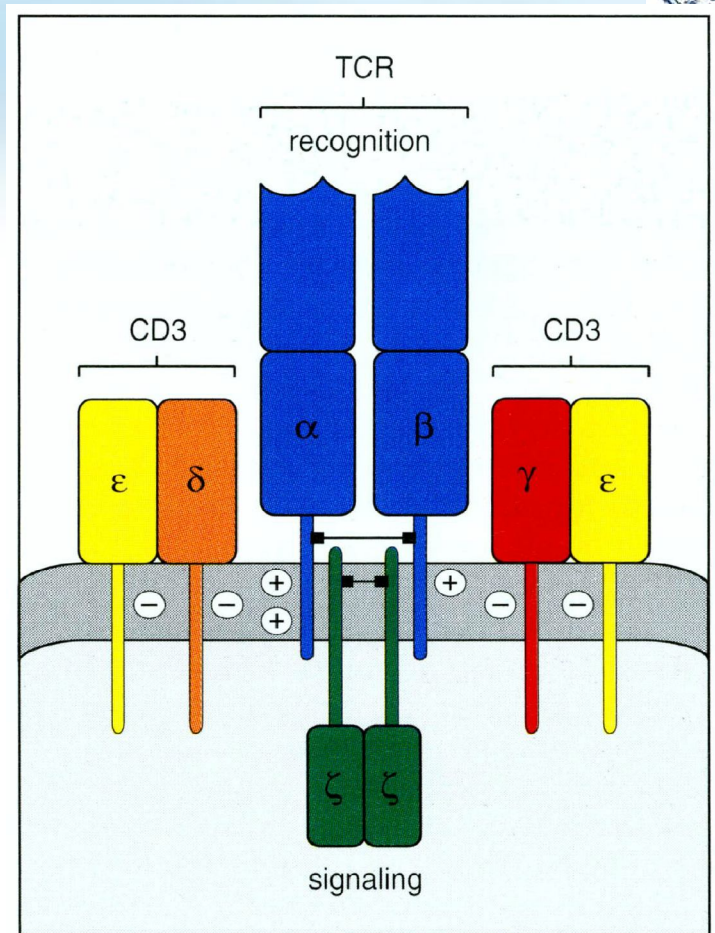


图 7-1 与 T 细胞识别、粘附和活化有关 CD 分子的结构

CD3

CD3与T细胞受体组成
TCR / CD3复合物，分布于
T细胞和部分胸腺细胞
表面，在TCR信号转导过
程中起关键作用





- ☀ CD4 是T细胞TCR-CD3识别抗原的辅助受体，通过胞外区与APC细胞表达的MHCII类分子结合，其胞浆区与p56lck激酶的结合，参与信号转导。分布于**T辅助细胞（Th）**和**部分胸腺细胞**表面，MΦ和脑细胞也表达。



上海交通大学医学院



- ☀ CD8 是由 α β 链借二硫键连接的异源二聚体，胞外区结构均属IgSF。 α 链V样区与MHC I类分子非多态的 α 3区域结合，胞浆区可与p56lck激酶的结合，参与T细胞活化和增殖的信号转导。分布于**细胞毒T细胞（Tc）**和**部分胸腺细胞**表面，NK细胞也可表达。





❖ CD2 又称淋巴细胞功能相关抗原-2 (LFA-2) ;

CD58 又称LFA3是CD2分子的配体;

CD28分布与CD4+T细胞、CD8+ T细胞 (占50%) 和浆细胞及部分活化的B细胞; CTLA-4 又称CD152, 表达于活化的T细胞, 静止的T细胞不表达; CD40L 即CD154等。



上海交通大学医学院



(二) 与B细胞识别、黏附、活化有关的CD分子

- ☀ CD79 α /CD79 β 又称Ig α /Ig β ，表达于除浆细胞外B细胞发育的各个阶段，是B细胞特征性标记。与BCR组成Ig α /Ig β -BCR复合物，介导由BCR途径的信号转导。



上海交通大学医学院



- ☀ CD19分布于除浆细胞外的B细胞谱系发育的各个阶段，是B细胞的重要标记。CD19可与多种激酶结合，促进B细胞激活。
- ☀ CD21又称CR2和EB病毒受体，表达于成熟的B细胞、DC细胞，以及咽部和宫颈上皮细胞，是B细胞的重要标记。与iC3b及C3d结合，增强B细胞对抗原的应答和诱导免疫记忆。



上海交通大学医学院



- ❖ CD80/CD86, 与CD28结合为T细胞的活化提供重要的共刺激信号 (co-stimulating signal) ;
CD40, CD40L-CD40结合诱导B细胞再次免疫应答和生发中心的形成。



上海交通大学医学院



❖ (三) 免疫球蛋白Fc段受体

- ❖ 共有三类： $Fc \gamma R$ 、 $Fc \alpha R$ 、 $Fc \epsilon R$
- ❖ 其分子本质分别是
- ❖ $Fc \gamma R$: CD64、 CD32、 CD16
- ❖ $Fc \alpha R$: CD89
- ❖ $Fc \epsilon R$: CD23



上海交通大学医学院



1

细胞因子

2

细胞因子受体

3

黏附分子

4

细胞因子、受体及粘附分子检测技术



上海交通大学医学院



第四节 细胞因子、受体及粘附分子检测技术



上海交通大学医学院



Assays for Cytokine, Cytokine Receptor and Adhesion Molecule

- ❖ (一) Biological techniques
- ❖ (二) Immunological techniques
- ❖ (三) Molecular biological techniques



上海交通大学医学院



(一) Biological techniques

❖ 1、细胞增殖试验:

利用被测细胞因子具有刺激细胞增生特性
依赖细胞株 + 待测样品 (含细胞因子)
| (共孵育)

用³HTdR掺入、MTT比色检测细胞的增殖
计算:

细胞因子活性 (U/ml) 见教材p192



上海交通大学医学院



❖ MTT (methyl thiazolylte trazolium)

中文名：四甲基偶氮唑盐

MTT— 在细胞线粒体琥珀酸脱氢酶作用下
被还原成蓝黑色的MTT-甲qian结晶
物，其量与细胞增殖程度呈正比。

MTT-甲qian结晶物溶于某些有机溶剂，利
用酶标仪测定溶液的吸光度，判断此结晶
物的量。



上海交通大学医学院



❖ 细胞增殖法所用细胞因子依赖株简介P191

❖ 细胞因子类型	指示细胞	可干扰因素
❖ IL-1	D10.G4.1 (小鼠T细胞)	IL-2, IL-4, IL-7 等
❖	EL-4 (小鼠胸腺瘤)	小鼠 IL-4
❖ IL-2	CTLL (小鼠杀伤性T细胞系)	小鼠 IL-4, IL-15
❖ IL-3	KG1 (髓样白血病细胞)	人 EPO, IL-4,
❖	TF-1 (红白血病细胞)	IL-5, IL-6 等
❖ IL-6	B9 (小鼠杂交瘤细胞)	人 IL-11, IL-13 等
❖	7TD1 (小鼠杂交瘤细胞)	IL-11
❖ IL-7	IXN/2b	
❖ IL-9	MO7e	IL-3, GM-CSF



上海交通大学医学院



❖ 2、靶细胞杀伤或抑制试验：

主要用于TNF的检测～，TNF α / β 能够杀伤靶细胞-L929等

靶细胞-L929 + 待检样品

| (共孵育)

用³HTdR掺入、MTT比色检测细胞的破坏

TNF活性指致50%细胞死亡样品的稀释度

TNF活性单位(U/ml)计算，见教材p192



上海交通大学医学院



❖ 3、细胞病变抑制(inhibition)试验:

主要用于IFN的检测~, IFN可诱导细胞产生抗病毒蛋白, 保护宿主细胞。

[靶细胞 (L929等) + 病毒 (VZV等)]
+ 待检样品
| (共孵育)

检测细胞病变程度 (CPE)

计算IFN活性单位 (U/ml), 教材p192

注: (CPE; cytopathic effect)



上海交通大学医学院



❖ 4、趋化活性测定：

主要用于趋化因子的检测～

以Boyden 小室法最为常用。

上室 指示细胞（白细胞）

下室 待检样品/阳性对照（IL-8）

|

观察指示细胞向下室迁移的情况（数量/种类）

趋化活性以强/弱判定



上海交通大学医学院



❖ Evaluate: advantage

- ①测活性 (activity)
- ②灵敏 (sensitivity)
- ③成本低 (cheapness)

defect

- ①特异性差 (nonspecificity)
- ②操作烦琐 (triviality)
- ③干扰大 (interference)



上海交通大学医学院



(二) Immunological techniques

- ❖ 免疫学检测是建立在抗原-抗体反应的基础上
- ❖ 细胞因子等为蛋白质或多肽，易获得抗体
- ❖ 含量低须选择灵敏方法：

ELISA- a two antibody sandwich method

RIA- a competitive assay

Flow cytometry, FCM

ELISPOT



上海交通大学医学院



❖ Evaluate: advantage

- ①特异 (specificity)
- ②操作简便 (handy)
- ③稳定 (steady/repeat, standard)

❖ defect

- ①非测活性
- ②抗体要求高 (avidity)
- ③较生物学法不灵敏
- ④有干扰



上海交通大学医学院

(三) Molecular biological techniques



- ❖ 检测的对象为细胞因子mRNA/DNA，观察细胞因子的表达与分泌，即基因水平～
- ❖ Northern blot、RT-PCR、Hybridiazation ～
- ❖ Southern blot、PCR、Hybridiazation ～
- ❖ Evaluate: 技术要求高
可反映基因突变、缺失、易位等
揭示病理改变至基因水平



上海交通大学医学院



~Application and Attentions

Application:

❖ 特定疾病的辅助诊断

Inflammation、 Tumour、 Transplantation and autoimmune disease ect

❖ 评估机体的免疫能力、疗效和预后

Attentions:

❖ 标本的适当选取

❖ 方法应联合，检测的细胞因子应组合



上海交通大学医学院



解释：

- ❖ 细胞因子与感染： 感染后诱生的细胞因子既可参与机体抗感染免疫，也能引起发热、参与急性期反应及感染性休克
- ❖ 细胞因子与肿瘤： 细胞因子对肿瘤的作用具有双重性，既能杀伤肿瘤，也能促进肿瘤生长。



上海交通大学医学院



- ❖ 细胞因子与自身免疫病： 某些细胞因子能促进某些自身组织细胞表达**MHC-II**类抗原，从而使这些细胞具有抗原递呈功能，可激活**T**效应细胞导致自身组织的损害
- ❖ 细胞因子与超敏反应： **IL-4**和**IFN**能调节**IgE**的生成和**Fc ε RII**的表达



上海交通大学医学院



- ❖ 细胞因子与移植排斥反应：在排斥反应发生时，局部和全身的某些细胞因子水平升高
- ❖ 细胞因子与其他疾病：**IL-3**、**CSF**产生异常 与造血功能异常的疾病有关。**TNF**可诱发急性肝坏死、恶液质。



上海交通大学医学院



小结:

- ❖ 1、复习并进一步熟悉Cytokine、Cytokine Receptors and Adhesion Molecule。
- ❖ 2、了解并熟悉用于其检测的各类方法及其临床应用价值。
- ❖ 3、掌握各类检测中主要几种方法(原理、技术要点、结果判断和注意事项)。
- ❖ 4、根据细胞因子、及其受体和黏附分子的网络特性,可指导检测对象的选择、组合及分析与应用(双韧箭~)。



上海交通大学医学院



THANK YOU!



上海交通大学医学院