

■ 概述

T 淋巴细胞是来自骨髓的始祖 T 细胞在胸腺内微环境作用下分化发育成熟的淋巴细胞，是淋巴细胞中数量最多，功能最复杂的一类细胞。T 细胞发挥细胞免疫及免疫调节等功能。

T 细胞产生的免疫应答是细胞免疫。细胞免疫的效应形式主要有两种：与靶细胞特异性结合，破坏靶细胞膜，直接杀伤靶细胞；另一种是释放淋巴因子，扩大和增强免疫效应。免疫应答包括识别活化、增殖分化和效应三个阶段。细胞表面活化抗原的表达、细胞因子的产生及细胞增殖是 T 淋巴细胞对分裂刺激原和抗原特异性刺激做出反应的标志性细胞事件，也是体外衡量免疫功能的重要内容。

体外刺激 T 细胞活化，结合多参数流式细胞术，可以在一次实验中同时检测表面抗原的表达、细胞因子的产生和细胞增殖。T 细胞分析在基础生物医学和临床研究中有广泛的应用，如艾滋病和癌症发病机理研究、T 细胞亚群对病毒和细菌抗原的反应、机会性感染的细胞免疫应答、药物或疫苗效果评价、化疗免疫状态的评估、免疫调节、免疫重建、移植、毒理学等。

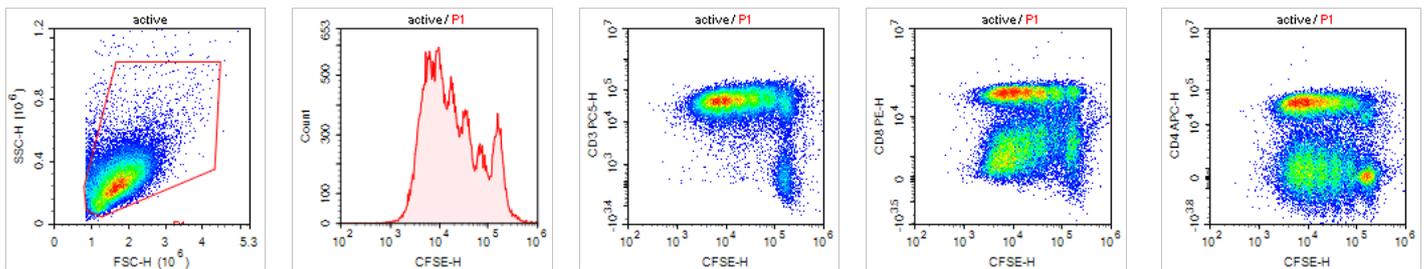
ACEA NovoCyte™ 流式细胞仪的免调增益电压，多检测通道及超强检测信号等特点在 T 细胞分析中凸显其检测及分析优势。

■ T 细胞增殖检测

T 细胞增殖检测使用细胞示踪剂 CFSE (carboxyfluorescein succinimidyl amino ester, 羧基荧光素二醋酸琥珀酰亚胺酯) 对活细胞进行荧光标记。CFSE 在活细胞内与胞内蛋白共价结合，水解后释放出绿色荧光。在细胞分裂增殖过程中，它的荧光强度会随着细胞的分裂而逐级递减，标记荧光可平均分配至子代细胞中。

CFSE 标记体外分离的人外周血单个细胞 (PBMCs)，CD3 和 CD28 抗体协同刺激 T 细胞活化并增殖，体外培养 5 天后，检测 PBMCs 表面 CD3、CD4、CD8 表达和细胞增殖情况。

A



B

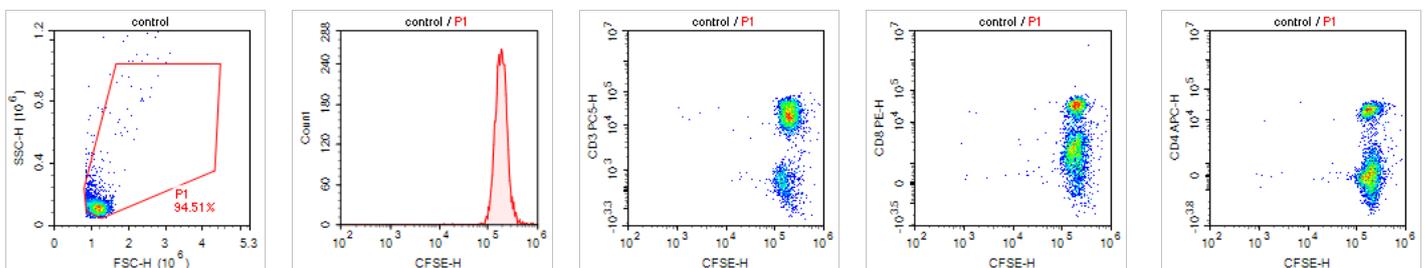


Figure 1. CD3/CD28 协同刺激 PBMCs，培养 5 天后进行细胞表面抗原和细胞增殖的检测。A. CD3/CD28 协同刺激，CD3+ T 细胞大量活化并增殖至少 5 代，活化的 T 细胞包括细胞毒性 T 细胞 (CD8+) 和辅助性 T 细胞 (CD4+) 细胞。B. 未刺激对照，未检测到细胞活化和增殖。

■ T 细胞分泌细胞因子检测

辅助性 T 细胞 (T helper cell, Th) 是 T 淋巴细胞的一个亚群, 在免疫系统的建立以及功能完善中发挥非常重要的作用。在协同信号分子和细胞因子的刺激下, 辅助性 T 细胞分化为 Th1, Th2, Th9, Th17, Tfh 细胞或功能性亚群细胞, 如记忆性 T 细胞。分化的 Th 细胞亚群分泌不同的细胞因子。

多色流式技术是鉴别这些细胞群体的理想方法。由于每种辅助性 T 细胞亚群都有特征的细胞因子, 可以在单分子水平上进行测定。

表 I. 不同效应 T 细胞亚群及其效应分子

	CD4+Th1	CD4+Th2	CD4+Th17
TCR 识别的配体	抗原肽 -MHC II 类分子复合物	抗原肽 -MHC II 类分子复合物	抗原肽 -MHC II 类分子复合物
诱导分化的关键细胞因子	IL-12、IFN- γ	IL-4	IL-1 β (人)、TGF- β (小鼠)、IL-6、IL-23
产生的细胞因子和其他效应分子	IFN- γ 、LTa、TNF- α 、IL-2、IL-3、GM-CSF、CD40L、FasL	IL-4、IL-5、IL-10、IL-13、GM-CSF	IL-17
介导免疫应答类型	细胞免疫	体液免疫	固有免疫、上皮屏障
参与病理应答	EAE、RA 炎症性肠炎	哮喘等变态反应性疾病	早期炎症和局部病理损伤 (银屑病、炎症性肠炎、MS、RA)

EAE: 实验性变态反应性脑脊髓膜炎; RA: 类风湿性关节炎; MS: 多发性硬化症。

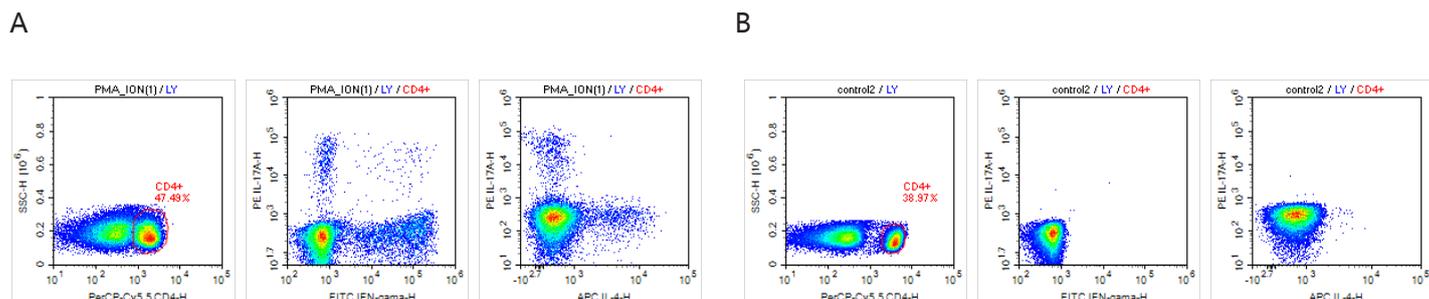


Figure 2. PMA/Ionomycin 协同刺激 PBMCs 活化, 加入 monensin 抑制蛋白转运, 5 小时后检测胞内因子 IFN- γ 、IL4 和 IL-17A 胞内因子表达。左边的图基于淋巴细胞门, 中间和右边的图基于 CD4+ 门。B. 未刺激对照, 几乎没有胞内因子的表达。

■ T 细胞活化检测

T 细胞的活化依赖于双信号和细胞因子的作用。T 细胞活化的第一信号来自 T 细胞对抗原识别; T 细胞活化的第二信号来自协同刺激分子, 即 APC 表达的协同刺激分子与 T 细胞表面的相应受体或配体相互作用介导的信号。在 T 细胞活化研究中, 通常采用 CD3/CD28 组合对 T 细胞协同刺激, CD3 和 CD28 分子分别传递 T 细胞活化的第一信号和第二信号。

T 细胞活化后表达数个膜表面分子, 分化抗原簇 69 (cluster of differentiation 69, CD69) 是其中表达最早的一个。检测 CD69 可以对 T 细胞活化的早期事件进行分析。

