

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

C12N 5/00



[12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 96193021.7

[43]公开日 1998年4月29日

[11]公开号 CN 1180374A

[22]申请日 96.1.31

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

[30]优先权

代理人 罗宏 温宏艳

[32]95.2.2 [33]GB[31]9502022.8

[86]国际申请 PCT / GB96 / 00208 96.1.31

[87]国际公布 WO96 / 23870 英 96.8.8

[85]进入国家阶段日期 97.9.30

[71]申请人 格兹J·多特

地址 英国伦敦

共同申请人 伊尔哈姆MSS阿布尔贾达耶尔

[72]发明人 伊尔哈姆MSS阿布尔贾达耶尔

权利要求书 3 页 说明书 48 页 附图页数 6 页

[54]发明名称 一种制备未分化细胞的方法

[57]摘要

本发明描述了一种制备未分化细胞的方法。该方法包括将较定型细胞与导致较定型细胞逆分化为未分化细胞的化学剂接触。

权 利 要 求 书

1. 一种制备未分化细胞的方法，该方法包括将较定型细胞与致使较定型细胞逆分化成为未分化细胞的化学剂接触。
2. 根据权利要求 1 的方法，其中较定型细胞能逆分化为 MHC I 类⁺ 和/或 MHC II 类⁻ 未分化细胞。
5
3. 根据权利要求 1 或 2 的方法，其中较定型细胞能逆分化为包含干细胞抗原的未分化细胞。
4. 根据前述任一项权利要求的方法，其中较定型细胞能逆分化为 CD34⁺ 未分化细胞。
10
5. 根据前述任一项权利要求的方法，其中较定型细胞能逆分化为淋巴造血祖细胞。
6. 根据前述任一项权利要求的方法，其中较定型细胞能逆分化为多潜能干细胞。
15
7. 根据前述任一项权利要求的方法，其中未分化细胞为 MHC I 类⁺ 和/或 MHC II 类⁺ 细胞。
8. 根据前述任一项权利要求的方法，其中未分化细胞包含干细胞抗原。
20
9. 根据前述任一项权利要求的方法，其中未分化细胞为 CD34⁺ 未分化细胞。
10. 根据前述任一项权利要求的方法，其中未分化细胞为淋巴造血祖细胞。
25
11. 根据前述任一项权利要求的方法，其中未分化细胞为多潜能干细胞。
12. 根据前述任一项权利要求的方法，其中较定型细胞为 MHC I 类⁺ 和/或 MHC II 类⁺ 细胞。
13. 根据前述任一项权利要求的方法，其中化学剂在较定型细胞的细胞外起作用。
30
14. 根据前述任一项权利要求的方法，其中较定型细胞包含与化学剂可操作性地可结合的受体，其中该化学剂可操作性地与受体结合。
15. 根据权利要求 14 的方法，其中受体为细胞表面受体。
16. 根据权利要求 14 或 15 的方法，其中受体包含α 成分和/或β 成分。
35

- ⋮
17. 根据权利要求 16 的方法，其中受体包含具有同源区的 β 链。
18. 根据权利要求 17 的方法，其中受体包含至少 HLA - DR 的 β 链的同源区。
19. 根据权利要求 16 的方法，其中受体包含具有同源区的 α 链。
- 5 20. 根据权利要求 19 的方法，其中受体包含至少 HLA - DR 的 α 链的同源区。
21. 根据权利要求 14 - 20 的任一项的方法，其中化学剂为受体的抗体。
- 10 22. 根据权利要求 21 的方法，其中化学剂为受体的单克隆抗体。
23. 根据权利要求 18 的方法，其中化学剂为 HLA - DR 的 β 链的同源区的抗体，优选单克隆抗体。
24. 根据权利要求 20 的方法，其中化学剂为 HLA - DR 的 α 链的同源区的抗体，优选单克隆抗体。
- 15 25. 根据前述任一项权利要求的方法，其中化学剂调节 MHC 基因的表达，其中化学剂调节 MHC 基因的表达，优选其中化学剂调节 MHCI 类⁺和/或 MHCII 类⁺的表达。
26. 根据前述任一项权利要求的方法，其中化学剂与生物应答调节物结合使用。
- 20 27. 根据权利要求 25 的方法，其中生物应答调节物为烷化剂，优选其中烷化剂为或包括环磷酰胺。
28. 根据前述任一项权利要求的方法，其中较定型细胞为分化细胞。
29. 根据权利要求 28 的方法，其中较定型细胞为任何一种 B 细胞或 T 细胞。
30. 根据权利要求 1 - 27 任一项的方法，其中较定型细胞为较成熟 25 和未分化细胞。
31. 根据前述任一项权利要求的方法，其中未分化细胞被定型为重定型细胞。
32. 根据权利要求 31 的方法，其中重定型细胞为与逆分化之前的较定型细胞相同的谱系。
- 30 33. 根据权利要求 31 的方法，其中重定型细胞为与逆分化之前的较定型细胞不同的谱系。
34. 根据权利要求 31 - 33 任一项的权利要求，其中重定型细胞为 B

- 细胞，T 细胞或粒细胞之任一。
35. 根据前述任一项权利要求的方法，其中该方法为体内法。
36. 根据权利要求 1 - 35 任一项的方法制备的未分化细胞。
37. 根据权利要求 1 - 35 任一项的方法制备的未分化细胞用作药物
5 或用于制备药物。
38. 根据权利要求 1 - 37 任一项的方法制备的未分化细胞在制备治
疗免疫紊乱或疾病的药物中的应用。
39. 根据权利要求 31 - 35 任一项的方法制备的重定型细胞。
40. 根据权利要求 31 - 35 任一项的方法制备的重定型细胞在药物或
10 在制备药物中的应用。
41. 根据权利要求 31 - 35 任一项的方法制备的重定型细胞在制备治
疗免疫紊乱或疾病的药物中的应用。
42. 与可导致较定型细胞逆分化为未分化细胞的化学剂相连接的较
定型细胞。
- 15 43. CD19⁺和 CD3⁺细胞。
44. 一种基本上如本文前面描述的从较定型细胞制备未分化细胞的
方法。
45. 一种基本上如本文前面描述的从较定型细胞制备的未分化细
胞。
- 20 46. 一种基本上如本文前面描述的由从较定型细胞制备的未分化细
胞而制备的重定型细胞。

说 明 书

一种制备未分化细胞的方法

本发明涉及一种制备未分化细胞的方法。

5 尤其是，本发明涉及一种从较定型细胞（more committed cell）制备未分化细胞的方法。

此外，本发明涉及本发明的未分化细胞在制备一种新的较定型细胞，即重定型细胞中的应用。

10 本发明还涉及使用本发明的未分化细胞或本发明的重定型细胞（recommitted cell）对免疫系统产生作用（通过直接或间接使用从中获得的产物），例如减轻与免疫状况或疾病相关的症状，或部分或完全治愈它们。

15 作为介绍，分化是一个细胞的结构和功能借此逐渐定型，产生更加特定的细胞的过程，例如T细胞或B细胞的形成。因此，随着细胞变得越定型，它们变得越具有特定性。

相反，逆分化（retro-differentiation）是一个细结构和功能逐渐变化导致较小特定性的细胞的过程。

20 未分化细胞能多谱系分化（multilineage differentiation）—即它们能分化成两种或多种类型的特定的细胞。未分化细胞的一个典型的实例为干细胞。

相反，分化细胞不能进行多谱系分化，分化细胞的一个典型的实例为T细胞。

在体内发现存在多种未分化细胞和分化细胞，现有技术中具有很多关于它们的一般性的教导。

25 例如，尤其可参考Levitt和Mertelsman 1995（造血干细胞，Marcel Dekker Inc出版—尤其是45—59页）和Roitt等（免疫学，第4版，编者Roitt, Brostoff和Male 1996，Mosby出版—尤其是第10章）。

然而，简而言之，未分化细胞的实例包括淋巴造血祖细胞（LPCs）。LPCs包括多能性的干细胞（PSCs），淋巴样干细胞（LSCs）和髓样干细胞（MSCs）。LSCs和MSCs均由PSCs分化形成，因此，LSCs和MSCs比PSCs更为定型。

分化细胞的实例包括T细胞、B细胞、嗜曙红细胞、嗜碱细胞、嗜

中性白细胞、巨核细胞、单核细胞、红细胞、粒细胞、肥大细胞和淋巴细胞。

T 细胞和 B 细胞由 LSCs 分化而形成，因此，T 细胞和 B 细胞比 LSCs 更为定型。

5 嗜曙红细胞、嗜碱性细胞、嗜中性白细胞、巨核细胞、单核细胞、红细胞、粒细胞、肥大细胞、NKs 和淋巴细胞通过 MSCs 分化形成。因此，每一种这些细胞比 MSCs 更为定型。

抗原与未分化和分化细胞有关。术语“有关”这里指表达或能够表达，或递呈或能够被诱导递呈，或包含各种抗原的细胞。

10 大多数未分化细胞和分化细胞包含主要组织相容性复合物（MHC）I 类抗原和/或 II 类抗原。如果这些抗原与那些细胞有关，那么它们被称为 I 类⁺和/或 II 类⁺细胞。

每一种与未分化细胞或分化细胞有关的特定的抗原可起标志作用。因此，根据它们相关的特定的抗原或相关抗原的特定结合，可相互识别
15 不同类型的细胞。

这些标志抗原的实例包括抗原 CD34、CD19 和 CD3。如果递呈这些抗原，那么这些特定的细胞分别称为 CD34⁺、CD19⁺和 CD3⁺细胞。如果不递呈这些抗原，那么这些细胞分别称为 CD34⁻、CD19⁻和 CD3⁻细胞。

具体地说，PSCs 为 CD34⁺细胞。LSCs 为 DR⁺、CD34⁺和 TdT⁺细胞。MSCs 为 CD3⁺、DR⁺、CD13⁺、CD33⁺、CD7⁺和 TdT⁺细胞。B 细胞为 CD19⁺、CD21⁺、CD22⁺和 DR⁺细胞。T 细胞为 CD2⁺、CD3⁺和 CD4⁺或 CD8⁺细胞。未成熟的淋巴细胞为 CD4⁺和 CD8⁺细胞。活化的 T 细胞为 DR⁺细胞。天然杀伤细胞（NKs）为 CD56⁺和 CD16⁺细胞。淋巴细胞为 CD7⁺细胞。白细胞为 CD45⁺细胞。粒细胞为 CD13⁺和 CD33⁺细胞。
25 单核巨噬细胞为 CD14⁺和 DR⁺细胞。

因此，通过寻找上面列出的抗原标志的存在，可以识别某些细胞类型（例如，细胞是否为未分化细胞或分化细胞）以及该细胞类型的特定性（例如该细胞是否为 T 细胞或 B 细胞）。

30 逆分化的一般性概念不是新的。实际上，在 1976 Jose Uriel（癌症研究 36，4269 – 4275，1976，11）对此题目发表了综述，其中他说：

“逆分化表现为对各种病原学的有害病因（物理、化学和病毒性的）

保持细胞完整性的一个一般性的适应过程。在保留编码在其基因组中的全部信息的同时，进行逆分化的细胞借助于细胞质结构的自身缺失和转变为较为幼稚的基因表达的类型的方法而丧失形态和功能的复杂性。这导致了原来不同的细胞表型逐渐一致化，并降低对成体细胞中起作用的调节信号的反应。逆分化通常通过一个再次个体发育的过程来平衡，该过程往往在回复突变开始的地方恢复终末表型。这解释了为什么逆分化总是涉及细胞再生和组织修复。”

Uriel（见上）接着继续讨论已报道的逆分化的情况—例如 Gurdon 的有关来自爪蟾（Xenopus tadpoles）的肠上皮细胞核的工作（形态发生进展〔1966〕第4卷，pp 1—43。New York Academic Press，编者 Abercrombie 和 Bracher），和 Bresnick 的有关肝脏再生的工作（癌症研究方法〔1971〕第6卷，pp 347—391）。

Uriel（见上）还报导了有关用于体外培养物的分离肝脏薄壁组织细胞的工作。根据 Uriel：

“与胎儿或新生儿肝细胞的结果相反，用来自再生肝脏，或来自自己形成的肝癌的肝细胞难以获得来自静息成体肝细胞的永久类型的细胞系”。

Uriel（见上）还报导癌症中的明显的逆分化。其中他说：

“许多肿瘤的生化表型显示出趋向类似于不成熟的回复突变的变化—在肝癌发生的肿瘤前期，细胞仍在逆分化”。

最近关于逆分化的发现包括 Minoru Fukunda 的工作（癌症研究〔1981〕41卷，pp 4621—4628）。Fukunda 通过使用促进癌症的佛波醇酯，12-O-十四烷醇-佛波醇 13-乙酸酯（TPA）诱导 K562 人白细胞细胞表面糖蛋白分布型的特定变化。根据 Fukunda TPA 看来诱导 K562 人白细胞进入逆分化阶段。

而且，Hass 等（细胞生长和分化〔1991〕2卷，pp 541—548）报导在不存在佛波醇酯时，将 TPA 分化的 U-937 白血病细胞长时间培养 32—36 天，导致逆分化过程以及逆分化细胞从基底脱离且重新开始增殖。

逆分化的另一种情况是 Curtin 和 Snell 的工作（英国癌症杂志〔1983〕48卷，pp 495—505）。这些工作人员将在二乙基亚硝胺诱导致癌作用以及部分肝切除以后的肝脏再生期间发生的酶促变化与正

常的肝分化进行比较。这些工作人员发现了在致癌作用期间的类似于分化的逐步逆转的酶活性的变化。这些工作人员的结果提示了对于肝脏致癌作用和肝脏再生这两个过程共有潜在的逆分化过程。

最近， Chastre 等 (FEBS Letters [1985] 188 卷, 2 号, pp, 5 2810 - 2811) 报导了人结肠癌亚克隆 HT 29 - 18 的逆分化。

最近， Kobayashi 等 (Leukaemia 研究 [1994] 18 卷, 12 号, pp 929 - 933) 报导了来自单个鼠髓样单核细胞白血病细胞的逆分化细胞系 (RD - 1) 的建立，该细胞系通过用脂多糖 (LPS) 处理，分化成巨噬细胞样细胞。

10 根据目前的理解，以细胞分子生物学 (Garland Publishers Inc. 出版, 1983) 第 911 页中的教导以及最近 Levitt 和 Mertelsman (见上) 为基础，干细胞，例如 PSC，具有下面四个特征：

- i 为未分化细胞，即它没有终末分化；
- ii 它具有无限分裂的能力；
- 15 iii 它具有产生分化的后代的能力，如前面提到的分化细胞；和
- iv 当它分裂时，每个子代具有一种选择：它是它的亲代一样仍为 PSC，还是开始不可逆地导致终末分化的过程。

对于最后的特点应注意，即根据现有技术的一般教导，一旦未分化细胞已分化成较定型的细胞，则它不可能逆分化。这一观点甚至得到了 20 Uriel (见上) ， Fukunda (见上) ， Hass 等 (见上) ， Curtin 和 Snell (见上) ， Chastre 等 (见上) 和 kobayashi 等 (见上) 的教导的支持，因为这些工作人员逆分化了一些类型的分化细胞，但其中那些细胞仍定型为相同的谱系，它们没有逆分化为未分化细胞。

因此，根据本发明之前的现有技术的状态，人们相信不可能从较定型的细胞形成未分化细胞，例如干细胞。然而本发明表明这种观点是不正确的，并且可以从较定型细胞形成未分化细胞。

因此，根据本发明的第一个方面，提供了一种制备未分化细胞的方法，该方法包括将较定型细胞与一种致使该较定型细胞逆分化成为未分化细胞的化学剂接触。

30 根据本发明的第二个方面，提供了一种方法，包括将较定型细胞与一种致使较定型细胞逆分化成为未分化细胞的化学剂接触；并且接着将未分化细胞定型为重定型细胞。

术语“重定型细胞”指来自未分化细胞的细胞，即一种新的较定型细胞。

根据本发明的第三个方面，提供了一种根据本发明方法制备的未分化细胞。

5 根据本发明的第四个方面，提供了一种根据本发明方法制备的作为药物或用于药物制备中的未分化细胞。

根据本发明的第五个方面，提供了根据本发明的方法制备的未分化细胞在制备治疗免疫紊乱或疾病的药物中的应用。

10 根据本发明的第六个方面，提供了根据本发明的方法制备的重定型细胞。

根据本发明的第七个方面，提供了根据本发明的方法制备的作为药物或用于药物制备中的重定型细胞。

根据本发明的第八个方面，提供了根据本发明的方法制备的重定型细胞在制备治疗免疫紊乱或疾病的药物中的应用。

15 根据本发明的第九个方面，提供了一种与可导致较定型细胞逆分化成为未分化细胞的化学剂相连的较定型细胞。

根据本发明的第十个方面，提供了 $CD19^+$ 和 $CD3^+$ 细胞。

因此，广义地说，本发明基于可以从较定型细胞形成未分化细胞这一极其出人意料的发现。

20 本发明极具优越性，因为现在可以从较定型细胞制备未分化细胞，以便在体外或体内或两者结合使用那些未分化细胞作为药物或制备药物用于治疗紊乱。

本发明还具有优点，因为可能为了校正或除去原来较定型细胞或为了校正或除去它的产物，将通过逆分化制备的未分化细胞定型为重定型细胞，例如一种新的分化细胞。

优选地，较定型细胞能逆分化为 MHC I 类⁺和/或 MHC II 类⁺未分化细胞。

优选地，较定型细胞能逆分化为包含干细胞抗原的未分化细胞。

优选地，较定型细胞能逆分化为 $CD34^+$ 未分化细胞。

30 优选地，较定型细胞逆分化为淋巴造血祖细胞。

优选地，较定型细胞能逆分化为多能干细胞。

未分化细胞可包括任何与抗原的存在，捕获和识别有关的成分。优

- 选地，未分化细胞为 MHC I 类⁺和/或 MHC II 类⁺未分化细胞。
优选地，未分化细胞包含干细胞抗原。
优选地，未分化细胞为 CD34⁺未分化细胞。
优选地，未分化细胞为淋巴造血祖细胞。
- 5 优选地，未分化细胞为多能干细胞。
较定型细胞可包括任何与抗原的存在，捕获和识别有关的成分。优选地，较定型细胞为 MHC I 类⁺和/或 MHC II 类⁺细胞。
优选地，化学剂在较定型细胞的细胞之外起作用。
优选地，较定型细胞包含一个可行地与化学剂结合的受体，其中化
10 学剂可行地与受体结合。
优选地，受体为细胞表面受体。
优选地，受体包含α成分和/或β-成分。
优选地，受体包含具有同源区的β-链。
优选地，受体包含至少 HLA - DR 的β-链的同源区。
- 15 优选地，受体包含具有同源区的α-链。
优选地，受体包含至少 HLA - DR 的α-链的同源区。
优选地，化学剂为受体的抗体。
优选地，化学剂为受体的单克隆抗体。
优选地，化学剂为 HLA - DR 的β-链的同源区的抗体，优选单克
20 隆抗体。
优选地，化学剂为 HLA - DR 的α-链的同源区的抗体，优选单克隆抗体。
优选地，化学剂与生物应答调节物一起使用。
优选地，生物应答调节物为烷基化化学剂。
- 25 优选地，烷基化化学剂为或包括环磷酰胺。
在一个优选的实例中，较定型细胞为分化细胞。
优选地，较定型细胞为 B 细胞或 T 细胞之任何一种。
在另一个优选的实例中，较定型细胞为较成熟的未分化细胞。
在一个优选的实例中，当未分化的细胞被定型为重定型细胞时，该
- 30 重定型细胞与逆分化之前的较定型细胞为相同的谱系。
在另一个优选的实例中，当未分化的细胞定型为重定型细胞时，该重定型细胞与逆分化之前的较定型细胞为不同的谱系。

优选地，重定型细胞为 B 细胞或 T 细胞或粒细胞之任何一种。

优选地，该方法为体外方法。

优选地，化学剂调节 MHC 基因表达，优选其中化学剂调节 MHC I 类⁺和/或 MHC II 类⁺表达。

5 化学剂可行地与较定型细胞结合以将该细胞逆分化为未分化细胞。关于这一点，用于将较定型细胞逆分化为未分化细胞的化学剂可能在直接或间接与较定型细胞结合中起作用。

10 直接结合的一个实例是当较定型细胞在其细胞表面具有至少一个细胞表面受体时，例如可在 B 细胞上发现的具有同源区（通常发现具有相同或相似序列的区）的 β - 链，并且其中化学剂与细胞表面受体直接结合。另一个实例是当较定型细胞在其细胞表面具有一个细胞表面受体，例如可在 T 细胞上发现的具有同源区的 α - 链，并且其中化学剂直接与细胞表面受体结合。

15 间接结合的一个实例是当较定型的细胞在其细胞表面具有至少两个细胞表面受体，化学剂与其中一种受体的结合影响了另一诱导较定型细胞的逆分化的受体。

20 将较定型细胞逆分化成未分化细胞的化学剂可为化合物或组合物，然而优选是，该化学剂能结合较定型细胞表面上的细胞表面受体。例如，优选化学剂包括任何一种或多种环腺苷单磷酸（CAMP），CD4 分子，CD8 分子，部分或全部 T 细胞受体，配体（固定或游离的），肽，T 细胞受体（TCR），抗体，交叉反应抗体，单克隆抗体或多克隆抗体。

25 如果化学剂为抗体，交叉反应抗体，单克隆抗体或多克隆抗体，那么化学剂优选为针对下面一种或多种的任一种或多种分子的抗体，交叉反应抗体，单克隆抗体或多克隆抗体：MHC II 类抗原的 β 链，MHC HLA - DR 抗原的 β 链，MHC I 类或 II 类抗原的 α 链，HLA - DR 抗原的 α 链，MHC II 类抗原或 MHC I 类抗原的 α 和 β 链。适宜抗体的一个实例为 CR3/43（Dako 提供）。

较定型细胞为任何来自或可来自未分化细胞的细胞。

30 因此，在一个优选的实例中，较定型细胞还为未分化细胞。因此作为实例，未分化细胞可为淋巴样干细胞和髓样干细胞，未分化细胞为多能干细胞。

在另一个优选实例中，较定型细胞为分化细胞，例如 CFC - T 细胞，

⋮

CFC - B 细胞, CFC - 嗜红细胞, CFC - Bas 细胞, CFC - Bas 细胞, CFC - GM 细胞, CFC - MEG 细胞, BFC - E 细胞, CFC - E 细胞, T 细胞, B 细胞, 嗜嗜红细胞, 嗜碱细胞, 嗜中性细胞, 单核细胞, 巨核细胞或红细胞, 未分化细胞为骨髓干细胞, 淋巴干细胞或多能干细胞。

5 如果较定型细胞为分化细胞, 那么分化细胞优选 B 淋巴细胞 (激活或未激活), T 淋巴细胞 (激活或未激活), 来自巨噬单核细胞系的细胞, 能表达 I 类和 II 类抗原的具核细胞, 可被诱导表达 I 类或 II 类抗原的细胞或去核细胞 (即不含细胞核的细胞, 如红细胞)。

10 在另一个优选的实例中, 分化细胞选自包括大颗粒淋巴细胞, 裸淋巴细胞和天然杀伤细胞的一组细胞中的任一种, 它们每一种表达 CD56 和/或 CD16 细胞表面受体。

分化细胞甚至可通过对去核细胞的成核过程来形成。

化学剂可在较定型细胞的细胞内起作用。然而, 化学剂优选在较定型细胞的细胞外起作用。

15 在一个优选的实例中, 化学剂可行地与存在于较定型细胞表面的受体结合, 该受体可由较定型细胞表达, 例如能由较定型细胞表达的受体。

优选地, 受体为主要组织相容性复合体的 (MHC) I 类或 II 类抗原。在一个优选的实例中, 细胞表面受体为下面任一种: HLA - DR 受体, DM 受体, DP 受体, DQ 受体, HLA - A 受体, HLA - B 受体, 20 HLA - C 受体, HLA - E 受体, HLA - F 受体或 HLA - G 受体。

在一较优选实例中, 细胞表面受体为 HLA - DR 受体。

接触步骤优选包括与下面任一或多种分子结合的化学剂: I 类抗原的 α 链的同源区, II 类抗原的 α - 链的同源区, CD4 细胞表面受体, CD8 细胞表面受体, 在存在淋巴细胞时的 II 类抗原的 β - 链的同源区, 25 在存在淋巴细胞时的 I 类抗原的 α - 链的同源区或在存在淋巴细胞时的 II 类抗原的 α - 链的同源区。

接触步骤优选在存在生物应答调节物时发生。

生物应答调节物优选为一种或多种调节剂, 例如免疫调节剂, 生长因子, 细胞因子, 细胞表面受体, 激素, 核酸, 核苷酸序列, 抗原或肽。

30 在本发明的一个优选的实例中, 未分化细胞被定型为重定型细胞, 例如分化细胞。

重定型细胞可为与人中产生未分化细胞的较定型细胞相同的谱系。

另一方面，重定型细胞可为与从中产未分化细胞的较定型细胞不同的谱系。

此外，本发明还包括本发明用于制备未分化细胞的方法，其中该方法包括将未分化细胞定型为重定型细胞，接着将重定型细胞与骨髓瘤融合，这使得能在体外表达大量所需产物，例如抗体或抗原或激素等。

本发明的其它方面包括：

本发明任一种化学剂在从较定型细胞制备未分化细胞中的应用。

根据本发明的方法制备的未分化细胞在制备来自 B 淋巴细胞或 T 淋巴细胞的单克隆或多克隆或特定抗体之任一中的应用；来自巨噬单核细胞系的细胞；能表达 I 类或 II 类抗原的具核细胞；能被诱导表达 I 类或 II 类抗原的细胞；去核细胞；断裂的细胞，或 apoptic 细胞。

根据本发明方法制备的未分化细胞在从 B 淋巴细胞制备效应 T 淋巴细胞和/或从 T 淋巴细胞制备效应 B 淋巴细胞中的应用。

根据本发明方法制备的未分化细胞在制备以下一种或多种药物中的应用，例如包含或从下列细胞制备的药物：B 淋巴细胞，T 淋巴细胞，来自巨噬单核细胞系的细胞，能表达 I 类或 II 类抗原的具核细胞，能被诱导产生 I 类或 II 类抗原的细胞，或去核细胞。

本发明还包括一种方法，该方法使用上述的用途和用此方法制备的产品或组合物。

本发明还包括包含根据本发明的未分化细胞或与适宜稀释剂，载体或赋形剂混合的由此而获得的产品的药物。

在一个优选的实例中，药物包括从根据本发明的未分化细胞获得的抗原或抗原它，与适宜的稀释剂，载体或赋形剂相混合。

药物优先用于治疗：癌症，自身免疫性疾病；血液病，细胞或组织再生，器官再生，器官或组织移植的处理或先天性代谢紊乱。

在优选的实例中，本发明涉及将基因导入未分化细胞基因组的方法，其中该方法包括将基因插入较定型细胞，接着根据本发明的方法制备未分化细胞，这样基因就存在于未分化细胞中。

在一个较优选的实例中，本发明涉及一种将基因导入未分化细胞基因组的方法，其中该方法包括将基因插入较定型细胞的基因组中，接着根据本发明的方法制备未分化细胞，这样基因就存在于未分化细胞中。

在一个更优选的实例中，本发明涉及一种将基因的基因组导入未分

化细胞中的方法，其中该方法包括将基因插入较定型细胞的基因组中，接着根据本发明的方法制备未分化细胞，这样基因就存在于未分化细胞的基因组中。

本发明包括根据本发明的任一这样一种方法制备的未分化细胞。

5 上面已提到，本发明还包括一种包含由任一种这样的方法制备的未分化细胞与适宜稀释剂，载体或赋形剂相混合的药物。通过这种药物，未分化细胞可被用来制备有效的较定型细胞，例如具有正确基因组结构的那些，从而减轻由具有不正确基因组结构的较定型细胞带来的或与其相关的任何症状或疾病。

10 因此，本发明还提供了一种从较定型细胞移取所获得的突变的方法，其中该方法包括根据本发明的方法产生未分化细胞，将未分化细胞定型为重定型细胞，这样基因组和/或细胞核的排列或重排产生了将要移取的突变。

基因优选插入基因组的免疫球蛋白区或 TCR 区。

15 另一方面，未分化细胞可用于制备较定型细胞，该细胞产生一种治疗任何由具有不正确基因组结构的较定型细胞产生或与其有关的症状的属性。

20 例如，本发明可用于制备由已逆分化为未分化细胞的较定型细胞表达的抗原的抗体或 T 细胞受体。在这方面，抗原可为胎儿特异性抗原或交叉反应性胎儿特异性抗原。

本发明还包括一种控制未分化细胞和较定型细胞水平的方法。例如，本发明包括一种方法，该方法为根据本发明的方法产生未分化细胞，接着激活编程性细胞死亡基因以影响未分化细胞，例如导致它的死亡。

25 在本发明的一个优选实例中，较定型细胞不为癌细胞。在本发明另一个优选实例中，化学剂不为致癌性的，不能促进癌的生长。

本发明还包括一种治疗患有由缺陷性细胞或不需要细胞产生的疾病或紊乱的病人的方法，该方法包括通过将较定型细胞与导致较定型细胞逆分化为未分化细胞的化学剂接触来制备未分化细胞，接着任选将未分化细胞定型为重定型细胞；其中未分化细胞或重定型细胞对缺陷性细胞或不需要细胞起作用以减轻疾病或紊乱的症状或治疗病人的疾病或紊乱。

总之，本发明涉及从较定型细胞制备未分化细胞。

本发明将通过实施例来说明，其中将参考下面附图：

图 1 为在本发明方法之前的细胞的显微镜图；

图 2 为根据本发明方法制备的细胞的显微镜图；

图 3 为低放大倍数时的根据本发明方法制备的细胞的显微镜图；

5 图 4 为在本发明方法之前的细胞的显微镜图；

图 5 为根据本发明方法制备的细胞的显微镜图；

图 6 为根据本发明方法制备的细胞的显微镜图。

A. 材料和方法

病人

10 从下列病人获得血液样品，放入淡紫色锥形管中： B 细胞慢性淋巴细胞白血病，抗体缺乏病人（包括 IgA 缺乏和 X - 连锁小儿血内丙种球蛋白过少），具 HIV 感染和 AIDS 症状的病人， CMV 感染的病人，何杰金氏淋巴瘤病人，急性 T 细胞白血病病人，患有何杰金氏淋巴瘤的 6 天婴儿，急性 T 细胞白血病病人，患有 blastcytosis 的 6 天婴儿，患有各种 15 感染和临床疾病病人，脐带血，骨髓和健康的血液捐献者的富集 BG 淋巴细胞制备物。

临床和实验条件

对病人临床和实验处理条件，包括对他们血样采用的各种类型的处理，描述在表 1 中。使用 Coulter 计数器得到分化的白细胞（ WBC ）的 20 计数，这些均包括在同一表中。

血液的处理

一旦得到血样，即用 HLA - DR 抗原的 β - 链的同源区的纯的单克隆抗体处理，在室温下，让其在头碰头旋转器上放置最多 24 小时。一些 25 样品首先在头碰头旋转器上放置 15 分钟，接着在 22 °C 下，让它们在培养箱中保温。加至血样中的单克隆抗体的浓度变化范围为 10 - 50 μ l/ml 血。

此外，在相同浓度下进行另外的处理，这包括加入 HLA - DR 抗原的 α - 链的同源区的单克隆抗体， I 类抗原的同源区的单克隆抗体， CD4 的单克隆抗体， CD8 的单克隆抗体和 HLA - DR 抗原的 β - 链的同 30 源区的 PE 结合单克隆抗体。

其它处理包括将 HLA - DR 抗原的 α 和 β - 链的同源区的单克隆抗体同时加至血样中。

而且，将烷基化化学剂，例如环磷酰胺与 HLA - DR 抗原的 β - 链的同源区的纯的单克隆抗体一起加至血样中。

这些处理后，将血样用一组如制造商说明书中所指示标记的单克隆抗体染色，接着使用流式细胞光度术进行分析。

5 与单克隆抗体的保温阶段从 2 小时， 4 小时， 6 小时， 12 小时变化至 24 小时间隔。

标记的抗体

下列单克隆抗体用于通过流式细胞光度术检测细胞上的下列标记：

CD19 和 CD3， CD4 和 C8， DR 和 CD3， CD56 & CD16 和 CD3， CD45
10 和 CD14， CD8 和 CD3， CD8 和 CD28， 模拟试验对照物 (IgG 1 FITC
+ IgG 2a PE)， CD34 和 CD2， CD7 和 CD13 & 33， CD10 和 CD25，
CD5 和 CD10， CD5 和 CD21， CD7 和 CD5， CD13 和 CD20， CD23
和 CD57 和 CD25 和 CD45RA (Becton & dickenson 和 DAKO)。

为了解释伴随没类型处理的免疫表型的变化，使用多数上面的组对
15 处理和未处理的每一种病人的血样进行分析，这些用相同血样的不同等分试样来分别进行。同时对未处理样品和其它对照处理进行染色和分析。

流式细胞光度术

根据制造商的说明将全部血样染色并进行溶胞作用。在带有模拟试验或包括阴性对照后跟踪的 RAINT A GATE 软件 (BDIS) 的
20 FACScan@上进行流式细胞光度术分析。获得 10,000 - 20,000 次，并贮存在目录形式的文件中。

形态学

使用显微镜和赖特氏染色进行形态学分析。

25 B. 结果

CD19 和 CD3 组

将血样用 HLA - DR 抗原的 β - 链的同源区的单克隆抗体处理通常降低 CD19⁺ 细胞的相对数量。标志为盘状 B 细胞抗原 (见表)。该抗原在所有成熟阶段存在于所有 B 淋巴细胞中，但在终未分化的浆细胞中
30 消失。因此，这说明 B 细胞逆分化成未分化细胞。

相同处理导致了尤其在患有 B - CLL 病人的血液中 CD3⁺ 细胞的相对数目剧烈增加，且通常伴随 CD3⁻CD19⁻ 细胞的相对数目的增加。 CD13

存在于所有成熟 T 淋巴细胞和 65 - 85 % 胸腺细胞中。这一标志常常被发现与 $\alpha - \beta$ - 或 γ / δ T 细胞受体 (TCR) 相关，同时这些复合体在将信号转导至细胞内部的过程中非常重要。因此，这说明 B 细胞逆分化为未分化细胞，接着被定型为新的分化细胞，即 T 细胞。

5 在共表达 CD19 和 CD3 标志的 B - CLL 病人的处理的血液中出现了新的细胞克隆，即 CD19⁺ 和 CD3⁺ 细胞（见图 1，开始处理 2 小时，6 小时和 24 小时的病人 2，3 和 4）。患有不同疾病的其它病人显示出这些细胞克隆的相对数目的增加。这些细胞出乎意料地大且颗粒重，在它们的细胞膜上表达极其高水平的 CD19。在这些细胞上 CD3 标志看来以与 10 在正常成熟淋巴细胞上表达的那些相似的水平表达。

在表 2 中，病人第 2，3，4 号为代表相同病人的实际序号，对它们的描述仅仅表明对血液的处理随时间变化的效果（见表 1 中的该病人的实验和临床情况）。

15 处理样品 CD19⁺CD3⁺ 克隆看来随时间而减少，使最初水平达到未处理样品在 2 小时，6 小时和 24 小时处测定的水平。

在处理样品中检测出相同大小和颗粒度的另一类细胞，这些细胞在它们的表面具有高水平的 CD19 表达，但为 CD3 标志阴性并富集 FC 受体。然而，这些细胞的相对数目看来最后仍减少，令人感兴趣的是，在 20 对血样进行 24 小时处理时（2，3，4），在处理血样 2 和 6 小时后开始观察到增加的一组细胞中，CD19⁻CD3⁻ 细胞的相对数目减少。然而，在用 HLA - DR 抗原的 β 一链的同源区的单克隆抗体对血液进行处理时，WBC 群体的 Coulter 计数减少。这一发现表明这种处理产生了不能通过 Coulter 检测的非典型的细胞（表 1），但不能被用来解释当通过根据表面标志，大小和颗粒来计数细胞的流式细胞光度术来进行测量时， 25 而且，通过在显微镜下使用赖特氏染色进行形态学分析来解释这些非典型细胞。这些现象的流式细胞光度术图列于图（1，2，3 和 4），血样处理中获得的免疫表型的变化看来表明 CD19⁺ 和 CD3⁺ 淋巴细胞为一类互连细胞，但与干细胞相比，在 CD19 和 CD13 相对表达上仍保持不同。

30 在表 2 中，病人第 5 和 6 号代表相同病人，但对处理和未处理血样的分析随时间变化以及同时进行监测（见表 1）。

没有 B 细胞恶性肿瘤的病人的血液当与 B - CLL 病人血液比较时，显示出相似的免疫表型变化的趋势，但变化程度不相同。然而，与在 B

- CLL 病人血液中发现的相比, 在这些病人的血液中的 B 淋巴细胞和 MHCII 类阳性细胞的相对和绝对数目极其低。

均患有 X - 连锁的小儿血丙种球蛋白过少, 为 B 细胞缺乏的两个兄弟在对他们血液进行处理时, 在相对数目的 CD3⁺ 细胞中显示出不同的免疫表型变化。弟弟为两个月大, 没有病, 在处理他的血液时, CD3⁺ 细胞的相对数目显示出少量增加, 且伴随有 CD3⁻CD19⁻ 细胞相对数目的减少。另一方面, 另一个哥哥, 为 2 岁, 患重病, 并且其有相对多数量的表达 DR 抗原的 D 活化 T 细胞, 在处理他的血液时, 显示出 CD3⁺ 细胞数目的减少。没有用其它标志来测定可能发生的其它免疫表型的变化, 因 10 为从这两个病人获得的血样极少 (表 2, ID43/BD 和 04/BD)。

在处理血液后, 表 2 中病人 91 显示出 CD3⁺ 细胞的相对数目减少, 它伴随着 CD3⁻CD19⁻ 细胞的相对数目的增加。然而, 在分析其它表面标志, 例如 CD4 和 CD8 时 (见表 3), 病人在它的血液中观察到具有高的相对数目的 CD4⁺CD8⁺ 细胞, 这一现象在用 DR 抗原的 β 一链的单克隆抗体处理样品之前被记录到, 在处理血液之后, 可观察到这些双重阳性细胞减少。而且, 当分析其它标志时, CD3⁺ 细胞的相对数目被发现已增多 (见表 4)。

当用 DR 抗原的 β - 链的单克隆抗体处理时, 从健康的血液捐献者获得的 B 淋巴细胞富集制备物显示出 CD3⁺ 细胞数目的剧烈增加, 并伴随 20 有 CD19⁺ 细胞的相对数目的减少和 CD3⁻CD19⁻ 细胞相对数目的增加。使用标志, 例如 CD4 和 CD8 的另一分析表明了这些标志的相对数目的伴随增加。然而, 当用相同单克隆抗体处理时, 相同捐献者的 T 淋巴细胞的富集制备物没有显示出相同的变化。

CD4 和 CD8 组

25 CD4 抗原为人免疫缺陷病毒的受体。CD4 分子在 B2 区结合 MHCII 类抗原, 该区类似于 I 类抗原上的 CD8 结合位点。CD4 与 II 类抗原的结合增强了 T 细胞对抗原的应答, CD8 与 I 类抗原的结合也是如此。CD8 抗原存在于人抑制剂/细胞毒素的 T 淋巴细胞亚组以及天然杀伤 (NK) 淋巴细胞和多数正常胸腺细胞的亚组上。CD4 和 CD8 抗原在胸腺细胞 30 上共表达, 随着它们成熟为 T 淋巴细胞时, 而失去任一个标志。

在对来自示于表 2 中多数血样进行 CD4 和 CD8 标志进行分析时, 参见下面, 出现了支持存在一个将 B 淋巴细胞逆分化成未分化细胞, 并且

接着分化成 T 淋巴细胞的过程的染色图谱。

在用 β - 链的同源区的单克隆抗体处理血样后，通常出现为双阳性的 $CD4^+CD8^+$ 细胞，并且在患有 B - CLL 的病人的被处理样品中，这些细胞明显增加，在未处理样品中它们都不存在（见表 3 和图 1，2，3 和 4）。在相同的样品中，还注意到单一阳性细胞，例如 $CD8^+$ 和 $CD4^+$ 细胞的相对数目同时增加。而且，当与随时间而测定的保持在相同水平的未处理样品比较时，在处理样品中注意到至少在 B - CLL 情况下相当于 B 细胞的 $CD4^-CD8^-$ 细胞的相对数目明显降低。然而，在处理样品中，随时间对 $CD4^+CD8^+$ 细胞的相对数目的测定表明存在单一阳性细胞的相对数目的伴随增加以及双阳性细胞的相对数目的减少。这种类型的免疫表型变化是胸腺的 T 淋巴细胞系的前体细胞的胸腺发生所特有的（病人序号 2，3 和 4）。 $CD4$ 抗原存在于辅助/诱导 T 淋巴细胞亚组（ $CD4^+CD3^+$ ）和大多数正常胸腺细胞中。然而，该抗原以低密度存在于单核细胞的表面以及单核细胞和巨噬细胞的细胞质中（ $CD3^-CD4^+$ ）。

处理后，在不同的血样中， $CD4^+$ 低细胞的相对数目受到不同的影响，当与未处理样品比较时，处理后患有 B - CLL 的病人的血样中，这种类型的细胞的相对数目似乎未受影响。在单核细胞和非常早期的胸腺细胞中发现了如此低水平的 $CD4$ 表达。

处理的 HIV^+ 病人在同时表达 $CD4$ 和 $CD8$ 的双阳性细胞的数目上显示出本质的增加。另一方面，处理的病人 91 在这种亚类的细胞上显示出减少，这种现象的观察依赖于时间。当随时间变化而测定时，在患有 B - CLL 的病人的未处理血样中观察到 $CD8^+$ 细胞的相对数目增加，而同时观察到 $CD4^+$ 和 $CD4^+$ 低细胞的相对数目减少（表 3 病人 2，3 和 4）。

DR 和 CD3 组

DR 标志存在于单核细胞，树突细胞，B 细胞和激活的 T 淋巴细胞中。

用该组分析的处理和未处理样品显示出与用 $CD19$ 和 $CD3$ 标志分析血样时获得的那些相似的免疫表型变化（见表 2），前面提到的这些抗原分别为盘状 B 和 T 细胞标志。

用单克隆抗体处理血液来看来影响 DR^+ B 淋巴细胞的相对数目，这样降低了 DR^+ 细胞的水平。相反， $CD3^+$ （T 细胞）细胞的相对数目显著增加（见表 4 和图表）。

而且，在大多数患有 B - CLL 的病人的处理血样中活化的 T 细胞的相对数目增加，在患有其它疾病的病人的处理样品中这些细胞的类型受到可变化的影响。而且，在患有 B - CLL 的病人和具有增加的 DR⁺CD34⁺的 6 天婴儿的处理样品中的大量数目中出现 DR 高阳性细胞的相对数目在其血液中剧增。然而应该注意到在处理前后存在于该病人血液中的剧增为 T 和 B 细胞标志阴性，但处理后变为骨髓细胞系抗原强阳性。在大多数处理的血样中，CD3⁻DR⁻细胞的相对数目增加，并与 CD83⁺细胞（T 细胞）的相对数目的增加成正比，并与 DR⁺细胞（B 细胞）的相对数目的减少成反比。

10 CD56 & 16 和 CD3 组

在一组杂细胞，通常已知为大颗粒淋巴细胞的淋巴细胞亚组以及天然杀伤淋巴细胞（NK）上找到了 CD56 & CD16 标志。CD16 抗原实际上在所有静息 NK 淋巴细胞中表达，在来自某些个体的一些 CD3⁺T 淋巴细胞中表达微弱。该抗原在粒细胞中发现有少量，并与含有大嗜苯胺蓝 15 粒的淋巴细胞相关。CD16 抗原为 IgG FC 受体 III。

可变数目的 CD16⁺ 淋巴细胞共表达 CD57 抗原或低密度 CD8 抗原或两者。在大多数个体中，实际上不存在与其它 T 淋巴细胞抗原的重叠，例如 CD5，CD4 或 CD3 抗原。CD56 抗原基本上存在于所有静息和活化的 CD16⁺ NK 淋巴细胞中，这些亚组的细胞具有非主要组织相容性复合限制性细胞毒素。

B - CLL 和一些患有其它疾病的其它病人的处理和未处理血样的免疫表型表明了共表达 CD56 & CD16 抗原的细胞的相对数量增加，该 CD56 & CD16 抗原为密度大的颗粒，并具中等大小（见表 5 和图 1，2，3 和 4）。这些观察还伴随有仅表达 CD3 抗原（不表达 CD56 和 CD16 标志） 25 的细胞和一起共表达 CD56 & CD16 和 CD3 标志的细胞的相对数量增加。

在表 5 中，病人序号 2，3 和 4 表示相同的血样，但分别在 2 小时，6 小时和 24 小时进行分析（处理前和后）。样品表明用 DR 抗原的 β - 链的同源区的单克隆抗体处理血液看来导致 CD56⁺ 和 CD16⁺ 细胞，CD3⁺ 细胞和 CD56⁺ 和 CD16⁺ CD3⁺ 细胞的自发产生，这些观察通常伴有 B 细胞 30 标志的消失（CD19，DR，CD56，CD16⁻ CD3⁺）。

处理前后对血样的进一步分析表明 CD56⁺ 和 CD16⁺ 的水平随时间而

降低，CD3⁺细胞的水平随时间而增加。

当患有 B - CLL 的病人 7 的血样与在处理和未处理样品中观察到的免疫表型变化相比较时，其未显示出在多数表达 CD56，CD16 和 CD3 抗原的细胞中的任何变化，这是因为相对于 B 淋巴细胞的数量而言，加入的单克隆抗体的量是极低的，然而用适宜量的单克隆抗体对病人血样的处理的情况下显示出 CD3⁺，CD56⁺ & CD16⁺ 和 CD16⁺CD3⁺ 细胞相对数量的增加。

患有其它疾病的其它病人的血样在这些细胞水平上显示出不同的变化，这看来取决于在处理前和处理期间存在于血液中的 B 淋巴细胞的数量以及病人可能的临床状况。

CD45 和 CD14 组

CD45 抗原存在于所有人白细胞中，包括外周血液，胸腺，脾和扁桃体中的淋巴细胞，单核细胞，多形核细胞，嗜曙红细胞和嗜碱细胞，以及骨髓中的白细胞前体。

CD14 存在于 70 - 93 % 的正常外周血液的单核细胞，77 % - 90 % 胸膜或腹膜液的吞噬细胞中。该抗原在粒细胞中表达微弱，并且不存在于未刺激的淋巴细胞，促分裂原活化的 T 淋巴细胞，红细胞或血小板中。

CD45 抗原代表一族蛋白质酪氨酸磷酸酶，该分子与外来刺激（抗原）发生作用，借助于导致调节细胞生长和分化的 Scr 族成员影响信号的转换。

在处理血样，尤其是从患有 B - CLL 的病人获得的那些中的 DR 抗原的 β 链的参与提示这种处理影响 B 淋巴细胞上的 CD45 抗原的水平。刺激 DR 抗原的 β 链时发生的所有的免疫表型的变化看来导致了不同类型的细胞，这些细胞可根据 CD45 和 CD14 的表达水平以及通过正向扩散和侧向扩散（分别是大小和粒度）确定的形态学来进行区分，这些结果示于表 6 和图（1，2，3，4 和 5 中）。

处理中，CD45 低细胞的相对数目（当与未处理样品比较时）明显增加，共表达的 CD45 和 CD14 抗原的相对数目也是如此。免疫表型的这类变化与 CD45 高细胞的相对数目（当与未处理样品比较时）的减少一致。然而，根据 CD45 表达的形态学和水平可将后者细胞群进一步划分。一种类型极大，并与图中（见图 1，2，3 和 4）出现的其它细胞相比具有极高水平的 CD45 抗原。在对随时间处理后的组的分析中（见表病

人 2, 3 和 4 和图表), CD45⁺细胞的相对数目开始随时间急剧下降, 产生 CD45 低细胞。然而, 24 小时后的血液分析显示出相反的情况。

样品 5 和 7 显示出与用来自其它 B - CLL 病人的其它样品获得的结果相反的免疫学表型变化, 这是因为是在较早保温期间, 用单克隆抗体 5 进行样品分析的结果。事实上, 在处理后的对血样进行的序列分析表明 B 淋巴细胞发生的免疫表型的变化是时间依赖性的, 因为它代表发育的阶段, 在时间 X 测得的免疫表型变化将与在时间 X + (一旦产生, 它不固定) 时的不相同。然而, 这种类型的变化必须在体内以较严格的方式来进行, 否则结果将产生免疫病理学。对来自患有非 B 细胞恶性肿瘤的 10 其它病人的血样的处理结果显示不同的细胞免疫表型的变化, 这是因为 B 淋巴细胞以较少的量存在。然而, 对从健康捐血者获得的 B 淋巴细胞的富集部分的处理显示出与从患有高 B 淋巴细胞计数的 B - CLL 病人获得的那些类似的免疫学表型变化。

CD8 和 CD3 组

15 CD8 抗原决定簇与 I 类 MHC 分子发生作用导致了增加的 CD8⁺ 细胞 T 淋巴细胞和靶细胞之间的粘附。这种类型的相互作用增强了静止淋巴细胞的活化, CD8 抗原与蛋白质酪氨酸激酶 (p56ick) 偶联, 反过来 CD8/p56ick 复合物可能在 T 淋巴细胞活化中起作用。

用 β 链的单克隆抗体对从患有 B - CLL 病人获得的血样进行处理导致了 CD3CD8 和 CD3 (极有可能为 CD4CD3) 阳性细胞的相对数目显著增加从而较清楚地表明开始产生的双阳性细胞发育成为成熟 T 淋巴细胞。这是一个可直接通过 CD19 和 DR, 间接通过 CD8⁻CD3⁻ 抗原来测定的过程。对相同病人的处理血样随时间的系列分析看来与等同于胸腺细胞发育的过程一致 (见表 7, 病人 2, 3 和 4 以及图 1)。

25 在处理和未处理样品中, CD8⁺ 细胞的相对数目随时间而增加, 但在未处理样品中程度更高。另一方面, 在未处理样品中, CD8⁺CD3⁺ 细胞的相对数目随时间而减少。然而, 当随时间测量时, 处理血样中的 CD3⁺ 细胞的相对数目增加, 这类细胞高度相当于 CD4⁺CD3⁺ 单阳性细胞, 即成熟形式的胸腺细胞。此外, 由于这些样品还用其它组 (上面表 3, 4, 30 5 和 6 中提到) 来进行免疫表型测定, 所有变化极端将 B 细胞牵连于 T 淋巴细胞前体和后代产生。

将来自患有 B - CLL 的病人的血样 (号 2, 3 和 4, 表 1, 2, 3,

4, 5, 6, 7) 的各等分试样分别不处理, 用 PE 结合的 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体, 以及未结合形式的相同的单克隆抗体处理。对 PE 结合的处理的比较清楚地说明 CD3 阳性细胞和相关的标志, 例如 CD4 的相对数目没有变化, 其中相关标志在用未结合形式的抗体处理相
5 同血样时的显著的水平被观察到。然而, 当随时间测量时, 注意到无 DR 抗原在其表面表达的 CD45 阳性细胞的数目增加(见表 8)。该发现类似于在随时间进行免疫表型测定时在未处理样品中观察到的(表 6)。而且, 表达 CD45 的细胞的相对数目最终有所降低, 这一现象在相同病人(见图 1A)的未处理样品中(随时间测定时)也观察到。

10 C. 具有不同特异性的其它单克隆抗体对 T 淋巴细胞生成的作用的比较
CD19 和 CD3 组

用 DR 抗原的 α 链的同源区和 MHC I 类抗原的同源区的单克隆抗体对血样的处理减少了 CD3 $^+$ 细胞的数目, 增加了 CD19 $^+$ 细胞的数目。用 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体对相同血样的处理减少了 CD19 $^+$ 细胞
15 的数目, 增加了 CD3 $^+$ 细胞的数目, 用环磷酰胺和后一个单克隆抗体的处理显示出相同的结果(表 14 中的处理 2 小时的患有 B - CLL 的病人 5/6)。

对相同样品中的 CD19 $^+$ 和 CD3 $^+$ 细胞的进一步分析还显示出仅在用 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理的血样中 CD3 $^+$ 细胞的相对数
20 目增加(表 14 中的处理后 24 小时的病人 5/6)。然而, 用环磷酰胺加上 DR 抗原的 β 链的单克隆抗体处理血样进行进一步分析(表 14 中的病人 5/6, 24 小时后)表明当与在几乎相同的条件下在 2 小时保温时间内观
察到的比较时, CD19 $^+$ 和 CD3 $^+$ 细胞的相对数目显示出相反的变化。

通常, 当与未处理样品比较时, 用 DR 抗原的 α 链的同源区的单克隆
25 抗体或 I 类抗原的 α 链的同源区的单克隆抗体处理相同的病人的血样显
示出 CD19 $^+$ 细胞(盘 B 标志)的相对数目增加。在用 DR 抗原的 α 链的单
克隆抗体处理或用 I 类抗原的单克隆抗体处理的血样中, CD19 $^-$ CD3 $^-$ 细胞的相
30 对数目稍有减少(见表 14 和图 2, 3 和 4)。用 I 类抗原的单克隆抗体处理病人 09 的血样增加了 CD3 $^+$ 细胞的相对数目, 稍略减少了 CD19 $^+$ 和 CD19 $^-$ CD3 $^-$ 细胞的相
对数目。然而, 用 DR 抗原的 β 链或 α 链的单克隆抗体处理从健康捐血者获得的 B 淋巴细胞的富集制备物显示出与从患有 B - CLL 的病人获得的血样相似的免疫表型变化。

用 DR 抗原的 β 链的单克隆抗体处理 HIV^+ 和 IgA 缺陷病人增加了 CD3 $^+$ 细胞的相对数目，减少了 CD19 $^+$ 细胞的相对数目。然而，用 I 类抗原的同源区的单克隆抗体对相同血样的处理没有产生相同的效果。当用 DR 抗原的 β 链， I 类抗原和 CD4 抗原的单克隆抗体处理从患有 B 细胞缺乏的病人（ 34/BD 和 04/BD ）获得的血样，则显示出不同的免疫表型变化。
5

CD4 和 CD8 组

将使用 CD19 和 CD3 盘进行分析的血样（表 14 ）还用 CD4 和 CD8 组进行免疫表型测定（表 15 ）。所有组看来相互一致。用 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体或该单克隆抗体加上环磷酰胺和患有 B - CLL 的病人的血样一起保温 2 小时（表 15 ，病人 5/6 和 10 ，图 2 ， 3 和 4 ）增加了 CD8 $^+$ 和 CD4 $^+$ 细胞以及共表达两个标志的细胞的相对数目。另一方面，用 DR 抗原的 α 链的同源区或 I 类抗原的 α 链的同源区的单克隆抗体处理相同样品没有产生相同结果。
10

15 比较与 DR 抗原的 β 链的单克隆抗体中上环磷酰胺一起保温 2 小时和 24 小时期间获得的免疫表型趋向，发现了 CD4 和 CD8 阳性细胞的相对数目的相反的变化（表 15 ， 2 小时和 24 小时处的患有 B - CLL 的病人 5/6 ），这些变化与用 CD19 和 CD3 组分析的相同血样所获得的结果一致（表 14 ，相同病人），后来的发现表明因为未分化细胞可分化为 T 淋巴细胞或 B 淋巴细胞，所以后来的分化是可逆的。
20

DR 和 CD3 组

用 DR 和 CD3 （表 16 ）组获得的免疫表型变化证实了在用 DR 抗原的 β 或 α 侧链的同源区的单克隆抗体或 I 类抗原的单克隆抗体或 DR 抗原的 β 链的单克隆抗体加上环磷酰胺处理相同血样的 2 小时分析之后，用 CD19 和 CD13 组以及 CD4 和 CD8 组获得的结果（表 14 和 15 以及图 2 ， 3 和 4 ）。
25

从这一结果中，可以看出 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体非常能够促使从 DR $^+$ 细胞产生 CD3 阳性细胞。

而且，例如包括 DR 抗原 α 链的参与或其 β 链的参与以及与环磷酰胺的结合使用（延长保温时间）的处理促使了 CD19 $^+$ 细胞或 DR $^+$ 细胞的相对数目的增加。
30

CD56 & 16 和 CD3 组

用 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体对血样，尤其是患有高 B 淋巴细胞计数的 B - CLL 的病人的血样的处理增加了 CD56 & 16 阳性细胞的相对数目。

5 在这些病人中，在用 β 链的单克隆抗体处理血样后， $CD3^+$ 和 $CD56^+$ 和 $CD16^+CD3^+$ 细胞的相对数目也增多。这证实了早期在用 CD3 和 CD19 和 DR 和 CD 组对相同血样进行分析时的相同处理中所观察到的结果。

CD45 和 CD14 组

10 用 DR 抗原 β 或 α 链的单克隆抗体，或 β 链的单克隆抗体加上环磷酰胺或 I 类抗原的单克隆抗体处理的血样也被用 CD45 和 CD14 组进行分析（表 18）。CD45 低，CD45 高和 CD45 中等的描述是任意的，用 DR 抗原的 β 链的单克隆抗体或用该抗体加上环磷酰胺处血样 5/6（2 小时处）的处理产生了 $CD45^+$ 低细胞并增加了 $CD45^+$ 中等细胞的相对数目，这些变化表现为时间依赖性的。

15 用 I 类抗原的单克隆抗体对病人 5/6 和 10（B - CLL）的血样的处理显示出 $CD45^+$ 中等细胞的相对数目的减少，当与未处理样品比较时，在相同处理后，在血样 09 和 HIV⁺ 中观察到类似的结果。当与未比较样品或用 DR 抗原的 β 链的单克隆抗体处理的样品比较时，用 I 类抗原的单克隆抗体处理 HIV⁺ 和 IgA/G 病人的血样增加了 $CD45^+$ 低细胞的相对数目。然而，在用 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理时，这些病人的血样显示出 $CD45^+$ 中等细胞的相对数目降低。在用 I 类抗原的单克隆抗体处理后，IgA/D 病人的血样中的中等 $CD45^+$ 细胞增加。在用 MHCII 类抗原的 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样时，观察到非常大，深度粒状并表达高水平 CD45 抗原的细胞（见图 1，2，3，4 和 5）。

25 CD8 和 CD28 组

CD28 抗原存在于约 60 - 80 % 的外周血 T ($CD3^+$) 淋巴细胞，50 % 的 $CD8^+T$ 淋巴细胞和 5 % 未成熟的 CD3 胸腺细胞中。在胸腺细胞成熟过程中，CD28 抗原的表达从大多数 $CD4^+CD8^+$ 未成熟胸腺细胞中的低密度增加至最终所有成熟 $CD3^+$ ， $CD4^+$ 或 $CD8^+$ 胸腺细胞中的较高密度。30 细胞活化进一步增大了 CD28 抗原密度。CD28 的表达还将 $CD8^+$ 淋巴细胞划分为两个功能组。 $CD8^+CD28^+$ 淋巴细胞介导同种抗原特异性的细胞毒性，该毒性为主要的组织相容性复合物（MHC）I 类限制性的。细胞

增殖的抑制通过 CD8⁺CD28⁻亚组来介导。 CD28 抗原为细胞粘附分子，起存在于活化的 B 淋巴细胞上的 B7/β - 1 抗原的配体的作用。

用 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体对患有 B - CLL 的病人(表 19, 病人 5/6 和 8)的血样进行处理增加了 CD8⁺, CD28⁺ 和 CD8⁺CD28⁺ 细胞的相对数目，而没有其它类型的细胞没有。

CD34 和 CD2 组

CD34 抗原存在于骨髓中未成熟造血前体细胞以及造血集落形成细胞中，包括单能 (CFU - GM, BFU - E) 和多能先祖 (CFU - GEMN, CFU - Mix 和 CFU - 未成熟细胞) 。 CD34 也在基质细胞前体中表达。

正常骨中的末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)⁺B 和 T 淋巴细胞前体为 CD34⁻, CD34 抗原存在于表达 CD33 抗原但缺乏 CD14 和 CD15 抗原的早期髓样细胞以及表达 CD71 抗原，不清楚地表达 CD45 抗原的早期红细胞中。

CD34 还在毛细管内皮细胞和约 1 % 的人胸腺细胞中发现。正常的外周血淋巴细胞，单核细胞，粒细胞和血小板不表达 CD34 抗原。在早期造血先祖细胞中 CD34 抗原密度最大，随着细胞成熟而减小。在完全分化的造血细胞中不存在该抗原。

未定型的 CD34⁺ 先祖细胞为 CD8⁺ 细胞 CD38⁻, DR⁻，并缺乏谱系特异性的抗原，例如 CD71, CD33, CD10 和 CD15，而为谱系定型的 CD34⁺ 细胞表达高密度的 CD38 抗原。

大多数 CD38⁻ 细胞相互表达 CD45RO 或 CD45RA 抗原。约 60 % 的急性 B 淋巴细胞性白血病和急性髓样白血病表达 CD34 抗原。该抗原在慢性淋巴细胞性白血病 (B 或 T 族) 或淋巴瘤中不表达。 CD2 抗原存在于 T 淋巴细胞以及天然杀伤淋巴细胞 (NK) 的一个亚组中。

结果示于图 2, 3 和 5 中。

在用 DR 抗原的 β 链的单克隆抗体或相同抗原的 α 链的单克隆抗体处理后，对患有 B - CAL 的病人 (表 20, 病人 5/6, 2 小时) 的血样分析表明用前一个抗体处理后 CD34⁺ 和 CD34⁻ CD2⁺ 的相对数目明显增加，由于对于其它标志使用上述组 (见表 14 - 19) 对相同血样进行免疫表型测定，这里观察到的 CD34⁺ 和 CD34⁺CD2⁺ 细胞的相对数目的增加与 CD4⁺CD8⁺, CD8⁺CD3⁺ 和 CD4⁺CD3⁺ 单阳性 (SP) 细胞的相对数目的增加一致。而且，看来仅限于 HLA - DR 抗原的 β 链参与的这些发现直接支持了该过程借助于 B 淋巴细胞的退化产生 T 淋巴细胞。

在分析 24 小时后的样品时， $CD34^+$ 细胞看来水平降低以导致 T 淋巴细胞的相对数目的进一步增加。开始导致 T 淋巴细胞生成的逆分化过程可被反转为导致 B 淋巴细胞生成。前一现象在与 HLA - DR 的 β 链的单克隆抗体加上环磷酰胺的保温 2 小时处观察到，而后一过程在相同样品
5 相同处理 24 小时保温处观察到（图 2）。

用 HLA - DR 抗原的 β 链的单克隆抗体对 HIV⁺ 病人（表 20，病人 HIV⁺）的血样的处理明显增加了 $CD34^+$ 和 $CD2^+CD34^+$ 细胞的相对数目，并且当同时加入 HLA - DR 抗原的 β 链的单克隆和相同抗原的 α 链的单克隆抗体对相同血样进行处理时也是如此。然而，用 HLA - DR 抗原的
10 α 链的单克隆抗体对血样的处理不影响 $CD34^+$ 细胞的水平。用 HLA - DR 抗原的 β 链的单克隆抗体或相同抗原的 α 链的单克隆抗体或一起加入两种单克隆抗体处理从 6 天婴儿（BB/ST，表 20）获得的血样导致了下面的免疫表型变化，其中该 6 天婴儿此时已被诊断为淋巴癌，并在其血液中具有非常大数量的非典型性细胞（未成熟细胞）。

15 分析未处理血样时， $CD34^+$ 和 DR^+ 细胞的相对数目进一步增加，但用 HLA - DR 抗原的 α 链的单克隆抗体处理该分子的 α 和 β 链的单克隆抗体一起加入来处理时，观察到其减少。然而，后一种处理增加了 $CD34^+CD2^+$ 细胞的相对数目，并且当仅用 HLA - DR 抗原的 β 链的单克隆抗体处理相同样品时发生了相反的情况。24 小时后对相同病人的处理和未处理血样的等分试样进行分析，在进行上面提到的所有处理时
20 $CD34^+$ 的相对数目减少，除开用 HLA - DR 抗原的 β 链的单克隆抗体进行处理时它仍保持在一个较高水平。24 小时后，后一处理继续降低 $CD34^+CD2^+$ 细胞的相对数目。

这些结果表明 HLA - DR 抗原借助于 β 链的参与促使了从
25 $CD2^+CD34^-$ 库中或从较成熟类型的细胞，例如患有 B - CLL 的病人的 B 淋巴细胞产生较多的 $CD34^+$ 细胞，这些结果说明这种类型的处理促进逆分化，然而，24 小时后的血样的免疫表型测定表明这些类型的细胞看来与另一族一起存在，在这种情况下，细胞似乎存在或将它们本身定型为在用 CD7 和 CD13 & 33 组对处理的血样进行分析时观察到的髓样液。

30 在用 MHCII 类抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理时，形态学改变了 B - CLL 和健康个体（使用 CD19 颗粒）的富集部分的免疫表型特征。这些伴随有 B 淋巴细胞形态学的变化。在未处理血液涂层的定居玻

片上观察到的 B 淋巴细胞被粒细胞、单核细胞，大量原始寻找细胞（ primitive Looking cells ）和具核红血细胞所取代。在处理或未处理的血涂片中未观察到有丝分裂的特征或明显的细胞死亡。

表 20 的结果也证实了另一个重要发现，即根据本发明的方法可以通
5 过一个较成熟的未分化细胞的逆分化制备未分化细胞。

D. 显微镜图

除了上面提到的抗原检测方法，本发明的方法使用显微镜肉眼进行
观察。

在这方面，图 1 为本发明方法之前的分化 B 细胞的显微镜图。图 2
10 为通过根据本发明的 B 细胞的逆分化而形成的未分化细胞的显微镜图，
其中化学剂为 HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体。未分化细
胞为具黑色染色块的细胞。图 3 为相同的未分化细胞，但在较低放大倍
数下的显微镜图。

图 1 - 3 因此可视地证实了通过本发明的方法将 B 细胞逆分化为未
15 分化干细胞。

图 4 为本发明方法之前的分化 B 细胞的显微镜图。图 5 为通过根据
本发明的 B 细胞的逆分化而形成的未分化细胞的显微镜图，其中采用的
化学剂为 HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体，而且，未分化
20 细胞为具黑色染色块的细胞。图 6 为从图 5 的相同的未分化细胞形成的
分化的粒细胞的显微镜图。

图 4 至图 6 从而可视地证实了通过本发明的方法将 B 细胞逆分化为
未分化的干细胞，接着将未分化细胞定型为与初始分化细胞不同系的新
的分化细胞。

通过本发明的方法将 T 细胞逆分化为未分化干细胞，接着将未分化
25 细胞定型为与初始分化细胞不同系的新的分化细胞也用显微镜进行观
察。

E. 总结

总之，实施例描述了揭示有关个体发生和可用于干细胞增殖从而随
时间影响外周血样中的淋巴造血细胞生成的 T 和 B 淋巴细胞的发育的极
30 其令人感兴趣的发现。

用 II 类抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理从患有 B 细胞慢性淋
巴细胞白血病（ B - CLL ），具有高 B 淋巴细胞计数的病人获得的外周

血样导致了单阳性 (SP) T 淋巴细胞和它们的先祖的相对数目明显增加，其中它们的先祖为胸腺细胞标志 CD4 和 CD8 抗原双阳性，并且这些被同时共表达。然而，这些现象通常伴随有 B 淋巴细胞相对数目的明显减少。当用 II 类抗原的 α 链的同源区或 I 类抗原的同源区的克隆抗体处理相同血样时，没有观察到这些结果。

用 HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理从患有 B 细胞慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 的病人获得的全血导致 T 淋巴细胞生成，这一现象以出现共表达 CD4 和 CD8 标志的双阳性细胞，出现表达 CD34 的细胞以及单阳性 $CD4^+CD3^+$ 和 $CD8^+CD3^+$ 淋巴细胞的数目的伴随增加为标志。而且，在这些细胞的增殖中发生的免疫表型变化与胸腺细胞发育中提到的那些相同，尤其是当随时间而测定时。

在将全血与 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体一起保温 2 小时中产生的双阳性细胞 (DP) 的百分数随时间而降低，这些现象伴随着同时和随后时间的单阳性 $CD4^+CD3^+$ 和 $CD8^+CD3^+$ 细胞的百分数的增加。
15 TCR α 和 β 还在这些类型的细胞中表达。

B 淋巴细胞被经常观察到失去标志，如 CD19，CD21，CD23，IgM 和 DR，这与 $CD34^+$ 和 $CD34^+CD2^+$ 细胞的出现， $CD7^+$ 细胞中的增加， $CD8^+CD28^-$ 和 $CD28^-$ 细胞中的增加， $CD25^+$ 细胞中的增加， $CD10^-$ 和 $CD34^+$ 细胞和 $CD34^-$ 和 $CD19^+$ 细胞的出现， $CD5^+$ 细胞中的增加，以及表达低水平的 CD45 抗原的细胞一致。这些变化是由于用 HLA - DR 抗原的同源区的单克隆抗体处理的血液的结果。

与这种处理相关的免疫表型变化与 B 淋巴细胞的逆分化和后来的定型（即重定型）一致，因为在处理前在患有 B - CLL 的病人的血液中的大多数白血细胞为 B 淋巴细胞。而且，在用环磷酰胺和 HLA - DR 抗原的 β 链的单克隆抗体处理后，诱变为 T 淋巴细胞的患有 B - CLL 的病人的 B 淋巴细胞能在与这种处理一起延长保温之后为 B 淋巴细胞。

在用 HLA - DR 抗原的 β 链的单克隆抗体，用 CD16 & 56 和 CD3 以及 CD8 和 CD3 组对处理样品进行分析时，表达这些标志的细胞的相对数目以与用，例如 CD19 和 CD3 以及 DR 和 CD3 组确定的那些一致的增加量稳定地增加，使用比浊法和免疫电泳对患有 HIV 感染的病人的处理和未处理样品的上清液的检测揭示出增加水平的 IgG，这说明 B 细胞必已通过浆细胞阶段。所有上述细胞的相对数目的增加也伴随有以极大量表

达 CD56 & 16 抗原的中等大小的具深度颗粒细胞的出现。可瞬时观察到极大的具深度颗粒的其它细胞，这些为 CD34 阳性和 CD4CD8 标志双阳性，还观察到其它瞬时细胞，这些为大的颗粒状，为 CD3 和 CD19 受体阳性。失去在大多数 B 淋巴细胞中存在的 CD25，并由通常被观察到数量增加的新形成的 T 淋巴细胞表达。

在用 DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理患有 B - CLL 的病人的全血后，出现 $CD28^+CD8^+$ 和 $CD28^+$ 细胞。这些结果是由于用 HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理的结果。

在健康捐血者的外周血，患有各种感染的病人，包括 HIV^+ 个体和 AIDS 病人的脐带血和骨髓，从健康捐血者 IgA 缺陷病人和患有其它各种疾病的其它病人的血样获得的 B 淋巴细胞的富集部分也观察到以这种方式产生的 T 淋巴细胞生成。而且，用 HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体对患有 B - CLL 的两个病人的处理样品中的髓样标志的分析显示出表达髓样标志，例如 CD13 和 CD33 的细胞的相对数目的相对增加。这些标志与 CD56 & 16 或 CD7 抗原一起共表达。然而，在各群细胞中观察到具有 T 淋巴细胞标志和无髓样抗原的相对数目的 $CD7^+$ 细胞。这一特殊观察结果在未处理的样品或用 I 类抗原或 HLA - DR 抗原的 α 链的同源区的单克隆抗体处理的样品中未被观察到（见图 2 和 3）。这些最终的结果表明 B 淋巴细胞一旦借助于 HLA - DR 抗原的 β 链被触发，其不仅能回复为 T 淋巴细胞祖细胞，而且还能以髓和红细胞系存在。

应该理解用本发明方法制备的干细胞可为任何组织的干细胞，而不必限于淋巴造血祖细胞。

对于本领域技术人员来讲对本发明其它的修改将是显而易见的。

表 1

病人的临床诊断和血样的实验条件，包括用各种单克隆抗体和其它化学剂处理血样之后和之前的 Coulter 计数(WBC)

病人号	诊断	实验条件	WBC/L		% 淋巴细胞		# 淋巴细胞		化学剂 ML/mL
			X10 - 9 B	A	B	A	10X - 9 B	A	
1	B-CLL	12HR AT 22C	100	ND	86.1	ND	86.1	ND	抗 - B 50
2	B-CLL	2HR AT 22C	39.1	9.6	74.4	63.3	29.9		抗 - B 50
		2HR AT 22C	39.1	37.7	74.4	75.1	29.9	28.3	抗 - B PE 50
3	B-CLL	6HR AT 22C	39.5	9.3	71.9	67.2	28.3		抗 - B 50
		6 HR AT 22c	39.5	37.7	71.9	72.5	28.3	27.4	抗 - B PE 50
4	B-CLL	24HR AT 22C	39	9.3	73	66.5	28.4		抗 - B 50
		24HR AT 22C	39	36.2	73	70.4	28.4	25.5	抗 - B PE 50
5	B-CLL	2HR AT 22C							抗 - B 50 抗 - B 50 抗 - B 50 抗 - B & 毒性化学剂 25 + 25

病人号	诊断	实验条件	WBC/L X10 ⁻⁹		% 淋巴细胞		# 淋巴细胞 10X ⁻⁹		化学剂 ML/mL
			B	A	B	A	B	A	
6	B-CLL	24HR AT 22C							抗 - B 50
7	B-CLL	2HR AT 22C	170 178 130		95.4 94.2 90.4	91.1 16.9 11.6	16.9 16.8 11.9	11.6	抗 - B 10 抗 - I 10 抗 - B & 毒性化学剂 10 + 20
8	B-CLL	24HR AT 22C	16	7	81.9	51.2	14	3.0	抗 - B 20
9	B-CLL	12HR AT 22C	+++ +++ +++ +++ 95.4	89.5 85.4 89.4 84.9	87 85.4 89.4 84.9	85.1	+++ +++ +++ +++	76.2	抗 - B 30 抗 - I 30 抗 - 4 30 抗 I+II+4 10+10+10
10	B-CLL	2HR AT 22C	19.3	ND	86	ND	16.7	ND	抗 - B 30 抗 - I 30
92	OUT PATIENT	2HR AT 22C	5.4	ND	74.5	ND		ND	抗 - B 20
87	OUT PATIENT	2HR AT 22C	4.8	ND	59.3	ND		ND	抗 - B 20
91	OUT PATIENT	2HR AT 22C	4.2	ND	54.0	ND		ND	抗 - B 20
21	OUT PATIENT	2HR AT 22C	3.9	ND	47.4	ND		ND	抗 - B 20

病人号	诊断	实验条件	WBC/L X10 ⁻⁹ B A	% 淋巴细胞 B A	# 淋巴细胞 10X ⁻⁹ B A	化学剂 ML/mL
34	OUT PATIENT	2HR AT 22C	7.2 ND	20.0 ND	ND	抗 - B 20
36	CMV 婴儿	4HR AT 22C	13.4 ND	7.3 ND	ND	抗 - B 20
93	HIV + 婴儿	4HR AT 22C	5.6 ND	43.4 ND	ND	抗 - B 20
BB/ST	血液中 40 % 未 成熟细 胞 6 天 龄	2HR AT 22C 24HR AT 22C	60.5 ND	20.2 ND	12.2 ND	抗 - B 50 抗 - A 50 抗 - AB 25 + 25
HIV25	爱滋病	2HR AT 22C	7.5 ND	34.8 ND	2.6 ND	抗 - B 50 抗 - A 50 抗 - AB 25 + 25
43/BD	B 细胞 缺陷	4HR AT 22C				抗 - B 20 抗 - I 20 抗 - 4 20
DB/BD	B 细胞 缺陷	4HR AT 22C				抗 - B 20 抗 - I 20 抗 - 4 20
HIV ⁺	爱滋病	6HR AT 22C				抗 - B 20 抗 - I
IgAD	IgA 缺陷	6HR AT 22C				抗 - B 20 抗 - I 20

实验条件:

B: 之前

A: 之后

抗 B: HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体

5 抗 A: HLA - DR 抗原的 α 链的同源区的单克隆抗体

抗 I: I 类抗原的同源区的单克隆抗体

抗 AB: 同时加入抗 B 和抗 A

抗 4: CD 抗原的单克隆抗体

抗 I + II + 4: 同时加入抗 I、抗 B 和抗 4

10 细胞毒性化学剂: 环磷酰胺

ML/ml: 每 ml 的微升数

L: 升

15

20

25

30

表 2

患有 B - CLL 的病人的免疫表型以及用 HLA - DR
的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之前和之后，
用 CD19 和 CD3 的单克隆抗体测得的其它情况

5

10

15

20

25

病人	\times CD19+	\times CD3+	\times CD19+CD3+	\times CD3 - CD19 -	\times CD19+HGCD 3 - FC +		
	B	A	B	A	B	A	B
1	88	40	5	19	1	2	6
2	73	15	10	33	2	7	15
3	73	11	11	33	2	2	14
4	71	13	11	37	2	2	16
5	85	40	5	16	1	1	6
6	85	43	5	18	1	1	6
7	90	72	2	4	0	2	7
8	62	25	7	13	0	1	29
9	90	85	2	3	0	0	2
10	78	50	7	14	0	0	14
92	12	10	38	49	0	1	49
91	7	3	35	29	0	1	59
87	5	3	32	38	1	1	63
21	1	1	27	29	1	0	71
34	1	1	13	13	0	2	86
39	10	6	23	25	0	0	67
93	6	3	26	27	1	1	68
BB/ST	1	1	12	13	0	0	87
HIV25	7	2	26	27	0	0	68
43/BD	0	0	40	42	0	1	58
04/BD	0	0	49	41	0	3	43
HIV+	1	1	10	14	0	0	89
IgA/D	10	1	21	25	2	3	67

B： 处理之前

A： 处理之后

表 3

患有 B - CLL 的病人的免疫表型以及用 HLA - DR
的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之前和之后，
用 CD4 和 CD8 的单克隆抗体测得的其它情况

5

病人	%CD8+		%CD4+		%CD4+CD8+		%CD4-CD8-		CD4+低	
	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A
1	2.8	16	2.9	11.4	0	3.2	93.1	67.5	0	0
2	6.2	13.2	9.1	24.3	0	9.4	78.7	46	5.8	6.3
3	7.2	13.1	7.4	23.9	0	8.2	78.8	48.1	6.3	6.6
4	10.1	24.2	7.6	24.9	0.3	2.8	77.5	42	4.6	5
5	2.9	16.2	1.8	7.6	0	2	95	62.3	0	0
6	ND	12	ND	8.1	ND	1.7	ND	75.7	ND	0
7	1.9	2.6	1.9	2.8	0	0	95.8	94.3	0	0
8	3.2	7	3.9	6.9	0.1	2	87.3	79.8	4.3	6
9	2.8	2.9	3	3	0	0	94	94.1	0	0
10	5.7	9.4	4.7	9.1	0.6	0.8	88.7	79.2	0	0
92	21	19	21.6	21	0.8	1.9	50.5	52.5	5.3	4.8
91	15.4	18.1	13.6	17.9	6.2	2.6	57	57.3	7.3	3.5
87	16.8	21.8	13.4	20.4	2.9	2.6	59.5	48.9	7	5.6
21	16	24.1	9.1	15.2	1	2.6	69.6	53.2	3.7	4.2
34	9.4	11.9	5.7	4.9	2	3.3	67.6	65.3	14.4	14.5
39	12.1	12.6	13.1	14.6	0.4	1.3	62.3	66.7	11.9	4.3
93	18.9	20.3	9.7	10.3	1.8	1.4	65.5	65.9	3.4	1.8
BB/ST	6.3	13	5.7	7.3	2.2	1.1	34.7	70.3	50.3	7.6
HIV25	24.1	24.9	0.8	1.1	1.3	5	70.2	69.3	2.9	3.8

10

15

20

25

30

表 4

患有 B - CLL 的病人的免疫表型以及用 HLA - DR
的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之前和之后，
用 CD3 和 DR 的单克隆抗体测得的其它情况

5

10

15

20

25

30

病人	DR+		CD+		CD+DR+		DR-CD3-		DR+HCD3-	
	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A
1	87	45.5	3.5	20.8	2.5	4.2	6.9	21.6	0	7.6
2	76.2	19.4	9.6	29.2	3.9	8.7	10.3	36.8	0	5.5
3	77.7	18.3	8.4	29.4	4.1	8.8	9.6	38.1	0	4.7
4	76.8	19.2	7.6	29.5	6.2	10.5	9.1	37.2	0	3.3
5	ND	47.1	ND	11.5	ND	9.9	ND	22.4	ND	7.3
6	ND									
7	91.4	85.8	2.4	2.5	0.7	0.7	5.1	4.2	0	6.3
8	61.8	28.9	6.5	11.2	2	3.3	28.6	54.6	0	1.5
9	ND									
10	82.6	44.7	4.3	9.8	3.3	5	9.8	22.2	0	17.9
92	23.8	14.1	39.3	41.9	4.5	3.5	32.4	40.5	0	0
91	13.3	7.9	29.6	32.5	3.4	2.9	53.4	56.5	0	0
87	14.8	12.2	28.4	34.1	5.5	6.6	51.1	46.5	0	0
21	ND									
34	11.9	12.9	10.4	13.7	0.8	0.6	76.7	72.8	0	0
39	25.5	13.7	24.6	25.2	3	2.8	46.5	25.2	0	0
93	13.3	8.9	18.4	18.9	9.9	10.1	56.2	61.7	0	0
38/ST	44.2	32.5	11.7	12.2	0.8	0.8	43	49.4	0	4.6

表 5

患有 B - CLL 的病人的免疫表型以及用 HLA - DR
的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之前和之后，
用 CD16 + 56 和 CD3 的单克隆抗体测得的其它情况

病人	CD56+&16		CD3+		CD56+&16+CD3+		CD56+&16-CD3-	
	B	A	B	A	B	A	B	A
1	2	4.3	5.7	19.7	0.7	1.7	91.3	73
2	11.5	38.9	12.4	32.6	1	6.6	74.5	21
3	12	36.2	12.1	34.5	0.7	6	75.5	23
4	12.2	32.6	12.4	39.6	0.5	5	74.7	22.2
5	ND	13.1	ND	9.4	ND	2.6	ND	73.5
6	ND							
7	0.8	0.8	2.8	2.4	0.3	0.2	96.2	96.4
8	24.8	52	5.4	12.4	0.9	4.1	68.3	31.1
9	ND							
10	1.1	1.3	6.1	13.7	2.1	2.5	90.5	82.4
92	23.8	34.5	44.3	44.8	2	1.5	29.2	18.6
91	4.6	3.9	28.8	29.4	3	3.2	63.3	63.3
87	47.9	46.4	28.8	36.5	5.8	3.7	16.9	13
21	9.4	9.4	19.7	23.6	4.2	6.7	66	59.5
34	21.5	12.8	11.4	13.7	1.8	0.6	64.6	72.8
39	7	2.7	23.4	26.1	1.1	0.1	68.2	71
93	55.8	54.9	26.2	26.3	1.7	2	16.1	16.8
BB/ST	28.8	29.9	12	14.3	0.8	1.8	49.4	53.6

表 6

患有 B - CLL 的病人的免疫表型以及用 HLA - DR
的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之前和之后,
用 CD45 和 CD14 的单克隆抗体测得的其它情况

5

10

15

20

25

30

病人	CD45+H		CD45+L		CD45+CD14+	
	B	A	B	A	B	A
1	90.5	70.1	7.5	21.9	0.8	3.3
2	85.8	52.2	8.8	38.3	5.3	9.5
3	84.3	52.2	9.9	33.8	5.1	13.2
4	91.5	79.2	2.1	7	5.7	10.8
5	63.1	84.6	34.9	9.4	0.5	3.6
6	ND					
7	52.8	85.2	45.6	13.9	0.5	0.6
8	71.1	55	71.1	34.5	5.3	8.7
9	SEE					
10	79.7	47.3	16.3	48	2.1	1.9
92	61.7	64.7	27.4	26.6	5.9	3.6
91	49.4	49.2	40.4	44.3	6.5	3.2
87	52.4	61.5	36.1	28.7	7	6.5
21	45.9	43.3	44.3	47.6	6.2	3.3
34	24.4	24.6	54.8	59.6	13.3	9.7
39	46.7	46.3	30.5	42.1	14.5	8.8
93	SEE					
HIV+	22.6	26.9	66.8	63.5	6.8	6.7
IgA/D	47.4	59.8	41.9	33.3	5.9	4.1

表 7

患有 B - CLL 的病人的免疫表型以及用 HLA - DR
的 β 链的同源区的单克隆抗体，用 CD8 和 CD3
的单克隆抗体处理血样之前和之后的其它情况

5

10

15

20

25

30

病人	CD8+		CD3+		CD8+CD3+		CD8-CD3-	
	B	A	B	A	B	A	B	A
2	0.6	1.3	7.5	19.3	4.2	19.3	37.7	63.8
3	1.1	1.4	8.3	20.3	5.6	18.4	84.8	59.8
4	3.5	2.9	8.3	27	3.9	16.6	84.2	53.1
92	3.5	1.9	27.6	25.2	18.4	19	50.3	52.8
91	4	3.1	18.2	19	14.1	12.6	63.6	65.3
87	5.7	3.9	19.9	23.6	15.4	17.4	58.8	55
21	4.8	7.4	16.3	17.3	13.7	13	65.2	62
34	3	3.6	5.2	6.7	7.6	7.5	84.1	82.3

表 8

在用 PE 结合的 HLA - DR 的 β 链的同源区的单
克隆抗体处理血样之后，用 CD45 和 CD14 测得的
随时间而变化的患有 B - CLL 的病人的免疫表型

时间	DR+CD45+CD14+r	CD45+L	CD45+H
2HR	81.7	8.2	8.2
6HR	80.7	8.1	10.6
24HR	79	1.1	18.4

表 9

在用 PE 结合的 HLA - DR 的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之后，用 CD19 和 CD3 测得的随时间而变化的患有 B - CLL 的病人的免疫表型

5

时间	CD19+DR+r	CD3+	CD3+DR+	CD19·CD3·DR-
2HR	87.4	10.1	1.8	10.7
6HR	75.5	10.4	3.1	10.7
24HR	74	11.7	2.9	11

10

表 10

在用 PE 结合的 HLA - DR 的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之后，用 CD4 和 CD8 单克隆抗体测得的随时间而变化的患有 B - CLL 的病人的免疫表型

15

时间	CD8+& DR+r	CD4+	CD4+&CD8+&DR+r	CD4+DR+	CD4·CD8·DR-
2HR	77.6	6.8	5.4	1.3	8.8
6HR	75.8	6.7	6.4	1.8	9.3
24HR	77	6.4	4.8	1.9	11

20

表 11

在用 PE 结合的 HLA - DR 的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之后，用 CD3 和 DR 单克隆抗体测得的随时间而变化的患有 B - CLL 的病人的免疫表型

25

时间	DR+	CD3+	CD3+DR+	CD3+DR-
2HR	75	9.5	4.2	10.9
6HR	74.8	8.8	4.8	10.9
24HR	ND	NO	ND	ND

30

表 12

在用 PE 结合的 HLA - DR 的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之后，用 CD16 & 56 和 CD3 单克隆抗体测得的随时间而变化的患有 B - CLL 的病人的免疫表型

5

时间	CD56+&16+DR+r	CD3+	CD56+CD16+&CD3+DR+r	CD56-CD16-&CD16-DR-
2HR	82.5	9.5	4.1	3.5
6HR	84.3	7.5	4.1	3.3
24HR	ND	ND	ND	ND

10

表 13

在用 PE 结合的 HLA - DR 的 β 链的同源区的单克隆抗体处理血样之后，用 CD8 和 CD3 单克隆抗体测得的随时间而变化的患有 B - CLL 的病人的免疫表型

15

时间	CD8+DR+	CD3+	CD8+CD+3&DR+r	CD8-CD3-DR-
2HR	76.2	6.6	6.7	10.6
6HR	76.5	6.2	6.2	10.3

20

25

30

表 14

在用 HLA - DR 的 α 链的同源区, HLA - DR 的 β 链的同源区的单克隆抗体, 两种抗体一起, β 链的同源区的单克隆抗体加上环磷酰胺和I类抗原的同源区的单克隆抗体处理血样之前和之后, 随时间变化而测得的患有B - CLL的病人的免疫表型

	CD19+					CD3+					CD19+CD3+					CD19-CD3-				
ID	B	A	AB	A	AI	B	A	AB	A	AI	B	A	AB	A	AI	B	A	AB	A	AI
	A	BC	A	BC		A	BC	A	BC		A	BC	A	BC		A	BC	A	BC	
5/6																				
2H	86	91	54	40	89	5	4	16	23	5	1	1	3	2	1	6	4	27	33	5
24	N	88	51	60	86	N	4	18	10	4	N	2	1	2	3	N	4	29	28	7
10																				
2H	77	N	59	N	80	7	N	13	N	7	1	N	1	N	0	14	N	26	N	12
09																				
24	8	N	N	N	6	32	N	N	N	38	1	N	N	N	1	59	N	N	N	56
43/B/D																				
6H	0	N	0	0	0	40	N	42	43	49	0	N	1	0	1	58	N	54	54	47
04/B/D																				
6H	0	N	0	0	0	49	N	41	45	46	0	N	3	1	3	43	N	42	44	41
HIV+																				
6H	1	N	0	N	1	10	N	14	N	12	0	N	0	N	0	89	N	86	N	87
IgA/D																				
6H	10	N	1	N	12	21	N	25	N	20	2	N	1	N	3	67	N	71	N	66

B = 之前; A = 之后; AB = 加入 β 链抗体之后; AA = 加入 α 链抗体之后, ABC = 加入 α 或 β 链抗体和环磷酰胺之后; AI = 加入I类的抗体之后。

表 15

CD8 AND CD4

ID	CD8+					CD4+					CD4+CD8+					CD4-CD8-				
	B A A B C	A B C	AB A B	A B C	AI	B A A	A B C	AB A B	A B C	AI	B A A	A B C	AB A B	A B C	AI	B A A	A B C	AB A B	A B C	AI
5/ 6																				
2H	3	2	14	10	4	2	2	8	8	3	0	0	3	2	1	95	94	74	79	93
24	N	3	9	4	4	N	3	8	4	3	N	0	2	2	0	N	94	81	90	93
10																				
2H	3	N	7	N	4	4	N	7	N	3	1	N	2	N	1	91	N	93	N	92
09																				
24	10	N	N	N	15	21	N	N	N	38	2	N	N	N	2	61	N	N	N	53

表 16

CD3 AND DR

ID	DR+					CD3+					CD3+DR+					CD3-DR-				
	B A A B C	A B C	AB A B	A B C	AI	B A A	A B C	AB A B	A B C	AI	B A A	A B C	AB A B	A B C	AI	B A A	A B C	AB A B	A B C	AI
5/ 6																				
2H	N	90	54	N	87	N	4	12	N	4	N	2	10	N	3	N	5	22	N	5
10																				
2H	83	N	63	N	81	4	N	8	N	4	4	N	7	N	4	9	N	23	N	12
09																				
24	14	N	N	N	13	30	N	N	N	36	3	N	N	N	3	51	N	N	N	47

表 17

CD16&56 和 CD3

	CD56+&16+					CD3+					CD56+&16+CD3+					CD56-&16-CD3-				
ID	B A A AB A AI A BC	A	AB	A BC	AI	B A A AB A BC	A	AB	A BC	AI	B A A AB A BC	A	AB	A BC	AI	B A A AB A BC	A	AB	A BC	AI
5 5/ 6																				
2H	N 0 13 N 4					N 5 9 N 5					N 1 3 N 1					N 94 74 N 90				
10 10 2H	0 N 1 N 1					6 N 14 N 6					1 N 2 N 1					92 N 65 N 92				
09 24	42 N N N 41					36 N N N 38					2 N N N 2					20 N N N 19				

表 18

CD45 和 CD14

	CD45+L					CD45+M					CD45+H					CD45+CD14+				
ID	B A A AB A BC	A	AB	A BC	AI	B A A AB A BC	A	AB	A BC	AI	B A A AB A BC	A	AB	A BC	AI	B A A AB A BC	A	AB	A BC	AI
20 24	0 0 5 10 0					44 43 50 50 32					55 43 50 31 67					1 1 1 2 0				
10 2H	0 N 0 N 0					43 N 54 N 35					54 N 42 N 62					1 N 1 N 0				
25 24	2 N N N 1					18 N N N 16					71 N N N 76					7 N N N 5				
H ₂ V ₊ 5H	4 N 3 N 6					63 N 61 N 41					23 N 27 N 40					7 N 7 N 7				
Ig A/ D 6H	2 N 2 N 4					40 N 31 N 44					47 N 60 N 44					6 N 4 N 6				

表 19

CD8 和 CD28

ID	CD8+					CD28+					CD8+CD28+					CD8-CD28-				
	B A AB A AI A BC	A A	AB BC	A BC	AI	B A AB A AI A BC	A A	AB BC	A BC	AI	B A AB A AI A BC	A A	AB BC	A BC	AI	B A AB A AI A BC	A A	AB BC	A BC	AI
5/ 6																				
2H	N 3 6 N 3	N 1 4 N 2	N 1 4 N 1	N 95 86 N 94																
8																				
2H	4 N 6 N N	3 N 5 N N	1 N 3 N N	9 N 86 N N	2															

表 20

CD34 和 CD2

ID	CD34+					CD2+					CD34+CD2+					CD34-CD2-				
	B A AB A AI A BC	A A	AB BC	A BC	AI	B A AB A AI A BC	A A	AB BC	A BC	AI	B A AB A AI A BC	A A	AB BC	A BC	AI	B A AB A AI A BC	A A	AB BC	A BC	AI
5/ 6																				
2H	N 1 34 N N	N 6 13 N N	N 3 30 N N	N 90 21 N N																
24	N 1 6 9 N	N 7 23 4 N	N 3 33 43 N	N 87 34 34 N																
HIV+																				
2H	2 1 12 13 N	20 21 21 12 N	4 5 9 14 N	7 73 64 60 N	3															
BB/S/T																				
2H	26 23 33 14 N	15 14 15 15 N	3 30 23 36 N	2 32 28 35 N	1															
24	N 11 29 11 N	N 13 12 9 N	N 27 9 18 N	N 48 49 61 N																

30

图表 1

随时间变化而测得的未处理的和用 HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体处理的病人（2, 3 和 4）的血样的免疫表型变化

5

	没有	有	FL1	FL2	时间
10	NOTHING001	WITH002	CD45	CD14	2HR
	N0001	WE002	CD45	CD14	6HR
	001001	002002	CD45	CD14	24HR
	NOTHING003	WITH004	CD3	CD19	2HR
	N0003	WE004	CD3	CD19	6HR
	001003	002004	CD3	CD19	24HR
	NOTHING004	WITH005	CD4	CD8	2HR
	N0004	WE005	CD4	CD8	6HR
	001004	002005	CD4	CD8	24HR
	NOTHING005	WITH006	CD3	DR	2HR
15	N0005	WE006	CD3	DR	6HR
	001005	002006	CD3	DR	24HR
	NOTHING006	WITH007	CD3	CD56&16	2HR
	N0006	WE007	CD3	CD56&16	6HR
	001006	002007	CD3	CD56&16	24HR
	N003	W004	CD3	CD8	2HR
20	N0007	WE008	CD3	CD8	6HR
	001007	002008	CD3	CD8	24HR

25

30

图表 2A

随时间变化而测得的未处理的和用与用 PE 结合的 HLA - DR 的 β 链的同源区的单克隆抗体处理的病人（2, 3 和 4）的血样的免疫表型变化

5

	ID	FL1	FL2	时间
	WL003	CD45	CD14	2HR
	WEL003	CD45	CD14	6HR
	003003	CD45	CD14	24HR
	WL005	CD3	CD19	2HR
10	WEL005	CD3	CD19	6HR
	003005	CD3	CD19	24HR
	WL006	CD4	CD8	2HR
	WEL006	CD4	CD8	6HR
	003006	CD4	CD8	24HR
	WL007	CD3	DR	2HR
15	WEL 007	CD3	DR	6HR
	WL008	CD3	CD65&16	2HR
	WEL 008	CD3	CD56&16	6HR
	WL009	CD3	CD8	2HR
	WEL009	CD3	CD8	6HR

20

25

30

图表 2

随时间而测得的未处理的和用 HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体，该抗体和环磷酰胺，HLA - DR 的 α 链的同源区的单克隆抗体和 I 类抗原的同源区的单克隆抗体处理的病人（1）血样的免疫表型变化

	有	没有	FL1	FL2	时间
5	NA001		CD45	CD14	2HR
	A2B001: AB		CD45	CD14	2HR
	A2A : AA		CD45	CD14	2HR
	DNAA001:ABC		CD45	CD14	2HR
	A1001: AI		CD45	CD14	2HR
		NC001	CD3	CD19	2HR
	C2B001:AB		CD3	CD19	2HR
	C2A001:AA		CD3	CD19	2HR
	DNAC001:A8C		CD3	CD19	2HR
	C1001: AI		CD3	CD19	2HR
10	A124H001:AI		CD3	CD19	24HR
	A2B24H001: A8		CD3	CD19	24HR
	A2A24H001:AA		CD3	CD19	24HR
	A2BX24H001:AB		CD3	CD19	24HR
	C		NC001	CD4	2HR
15	D2B001: AB		CD4	CD8	2HR
	D2A001: AA		CD4	CD8	2HR
	DNAD001:ABC		CD4	CD8	2HR
	D1001: AI		CD4	CD8	2HR
	D124H001:AI		CD4	CD8	24HR
	D2BX24H001:AB		CD4	CD8	24HR
20	C		NC001	CD4	2HR
	D2B001: AB		CD4	CD8	2HR
	D2A001: AA		CD4	CD8	2HR
	DNAD001:ABC		CD4	CD8	2HR
	D1001: AI		CD4	CD8	2HR
	D124H001:AI		CD4	CD8	24HR
25	D2BX24H001:AB		CD4	CD8	24HR
	C		NC001	CD4	24HR
	D2B001: AB		CD4	CD8	24HR
	D2A001: AA		CD4	CD8	24HR
	E1001: AI		CD3	DR	2HR
	E2B001: A8		CD3	DR	2HR
30	E2A001: AA		CD3	DR	2HR
	F1001: AI		CD3	CD56&16	2HR
	F2B001: AB		CD3	CD56&16	2HR
	F2A001: AA		CD3	CD56&16	2HR

	G1001: AI	CD28	CD8	2HR
	G2A001: AA	CD28	CD8	2HR
5	G2B001: AB	CD28	CD8	2HR
	H1001: AI	CD7	CD33&13	2HR
	H2A001: AA	CD7	CD33&13	2HR
	有	没有	FL1	时间
10	H2B001: AB	CD7	CD33&13	2HR
	I2A001: AA	CD21	CD5	2HR
	I2B001: AB	CD21	CD5	2HR
	J2A001: AA	CD34	CD2	2HR
	J2B001: AB	CD34	CD2	2HR
	B2A24H001: AA	CD34	CD2	24HR
	B2B24H001: AB	CD34	CD2	24HR
15	B2BX24H001: ABC	CD34	CD2	24HR
	K2B001: AB	CD10	CD25	2HR
	K2AC01: AA	CD10	CD25	2HR

20

25

30

图表 3
 未处理的和用 HLA - DR 抗原的 β 链
 的同源区的单克隆抗体处理的病人
 (8) 的血样的免疫学表型变化

	有	没有	FL1	FL2	时间
		AN001	CD45	CD14	2HR
5	A2001		CD45	CD14	2HR
		CN001	CD3	CD19	2HR
10	C2001		CD3	CD19	2HR
		DN001	CD4	CD8	2HR
	D2001		CD4	CD8	2HR
		EN001	CD3	DR	2HR
	E2001		CD3	DR	2HR
		FN001	CD3	CD56&16	2HR
15	F2001		CD3	CD56&16	2HR
		GN001	CD28	CD8	2HR
	G2001		CD28	CD8	2HR
		HN001	CD7	CD5	2HR
	H2001		CD7	CD5	2HR
		IN001	CD13	CD20	2HR
	I2001		CD13	CD20	2HR
		JN001	CD45RA	CD25	2HR
20	J2001		CD45RA	CD25	2HR
		KN001	CD57	CD23	2HR
	K2001		CD57	CD23	2HR

25

30

图表 4

未处理的和用 HLA - DR 抗原的 β 链的同源区的单克隆抗体和 I 类抗原的同源区的单克隆抗体处理的病人 (10) 的血样的免疫表型变化

5

	有	没有	FL1	FL2	时间
		CLL0001	CD45	CD14	2HR
10	CLL1001		CD45	CD14	2HR
	CLL2001		CD45	CD14	2HR
		CLL0003	CD3	CD19	2HR
			CD3	CD19	2HR
	CLL1003		CD3	CD19	2HR
	CLL2003		CD3	CD19	2HR
		CLL0004	CD4	CD8	2HR
	CLL1004		CD4	CD8	2HR
	CLL2004		CD4	CD8	2HR
15		CLL005	CD3	DR	2HR
	CLL1005		CD3	DR	2HR
	CLL2005		CD3	DR	2HR
		CLL0006	CD3	CD56&16	2HR
	CLL1006		CD3	CD56&16	2HR
	CLL2006		CD3	CD56&16	2HR

说 明 书 附 图

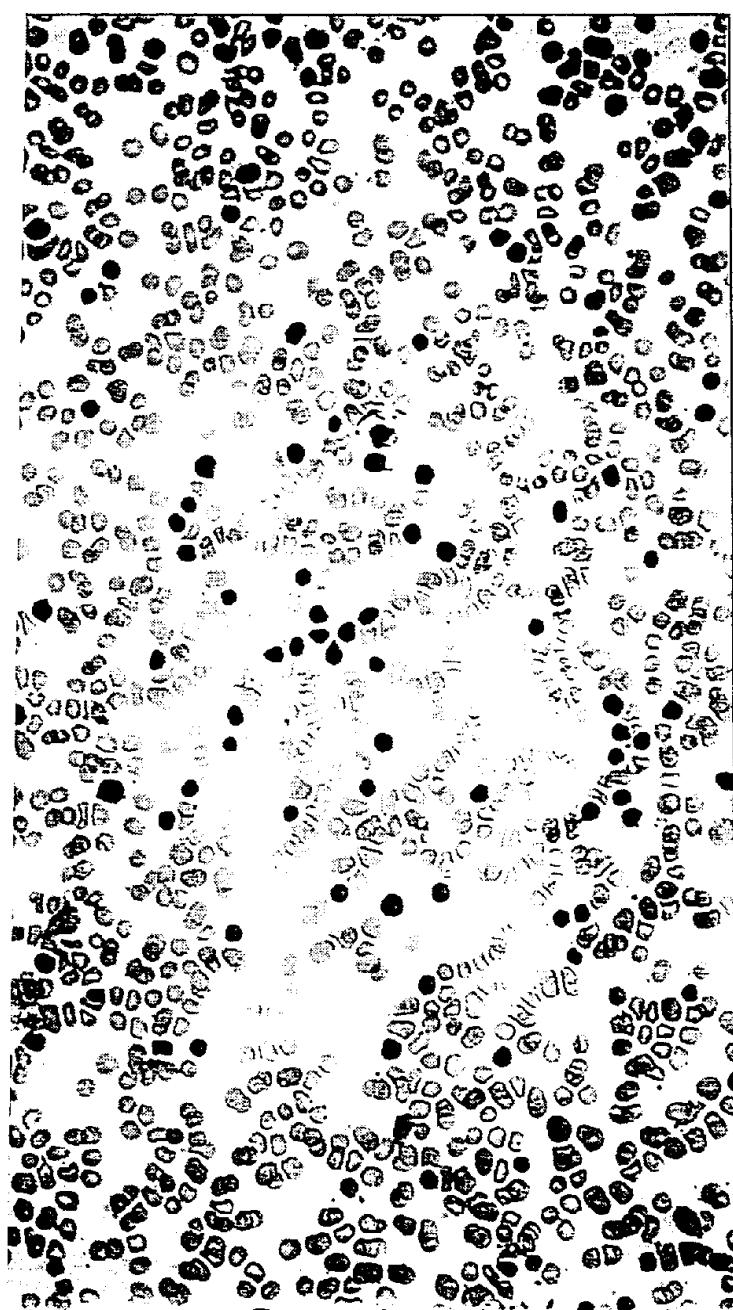


图 2

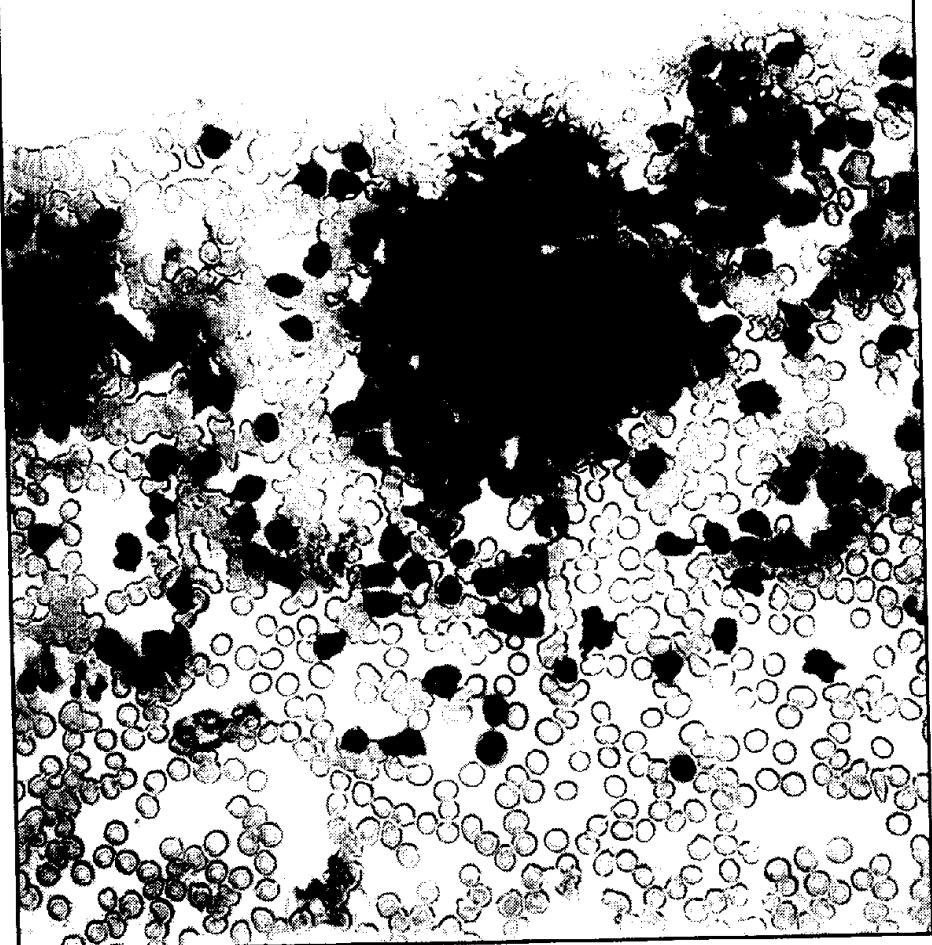




图 3

〇





图 5

图 6

