

·学科进展·

NK 细胞的定向分化、克隆库建立及其应用

田志刚

(山东省医学科学院基础医学研究所,山东肿瘤生物治疗研究中心,济南 250062)

[摘要] 通过以 γ 射线照射的 K562 细胞及自身 PBMC 作为饲养细胞进行 NK 细胞的克隆化培养,分别建立了 IL-4 和 IL-2 依赖的 NK 细胞克隆,并发现 IL-4 依赖的 NK 克隆代表未成熟的 NK 细胞。探讨了 NK 细胞的分化发育过程及其调控因素。

[关键词] NK 细胞,克隆化,细胞系,分化

1 NK 细胞研究的沿革

70 年代初美国国立癌症研究所(NCI)的研究人员在研究 T 细胞对靶细胞的特异杀伤时发现正常对照小鼠的脾细胞可以像免疫小鼠的脾细胞一样杀伤某些肿瘤细胞,继而发现正常人外周血淋巴细胞也可以天然杀伤某些癌细胞。这些细胞的杀伤功能不需要预先免疫,故取名为天然杀伤细胞(NK Cells)。NK 细胞的发现引起了世界轰动,学者们进而提出了机体的 Innate Immunity 的主要承担者为 NK 细胞,并发现了 NK 细胞不仅对癌细胞,对病毒、胞内寄生菌和老化变异细胞亦具有极强的清除能力。

70 年代中和 80 年代上叶是免疫识别的收获季节。这期间 Ig 重排的起源和 T 细胞受体的多样性均逐渐显露端倪,使人类基本认清了机体主要免疫细胞清除无数抗原的奥秘所在。NK 细胞发现以来的 20 多年中免疫学家从未放弃研究 NK 细胞的识别机制,试图揭开 NK 细胞广谱识别“自我”与“非我”的机制,希望能像描述 TCR 或 BCR 一样描述 NKCR。T 细胞和 B 细胞主要司职“Acquired Immunity”,但这些功能以 Innate Immunity 为基础,NK 细胞的功能和机制的彻底阐明不仅对揭开 Innate Immunity 之迷至关重要,也会对“Acquired Immunity”有全新的补充,从而得以从更高层次上解读免疫系统。

伴随着 80 年代中期细胞因子基因工程产品的问世和 CD 抗原家族及相应单抗商品化,细胞免疫治疗的基础与临床研究掀起新高潮,其中 LAK 细

胞、ATL 细胞、CIK 细胞、CD3-AK 细胞等各种经生物因子活化并扩增的效应细胞走上学术舞台。NK 细胞的研究者们不但从中获得了更多的技术上的储备(NK 细胞纯化,扩增,鉴定),而且对这些广谱的杀伤细胞的功能有了新的见解。认为这些效应细胞是以 NK 为主体的“杀伤现象”,并非为一类新的细胞群。这些广泛的研究为 NK 细胞的深入探索积蓄了大量的资料。

自 80 年代中下叶以来,NK 细胞的研究开始步入蓬勃发展,尤其从 90 年代开始几乎令所有免疫学家应接不暇。学者们已经开始从 NK 细胞的形态特征、起源、识别杀伤机制、调节功能等诸方面全线出击,其中伴随着 NK 细胞的起源和识别两个主题的进展,NK 细胞的传统观念已有了质的更改^[1-5],这些进展均与 NK 细胞克隆化培养技术紧密相连。

2 NK 细胞的克隆化培养

NK 细胞的克隆化培养,多为从健康人外周血分离单个核细胞,或经 IL-2 诱导成 LAK 细胞后,再去除非 NK 细胞,获得纯化的 NK 细胞,经有限稀释,在一定培养条件或刺激因子存在下,培养获得 NK 克隆或 NK 细胞系^[6]。

2.1 NK 细胞纯化的方法

NK 细胞的来源主要是外周血、骨髓、胎肝。也可将外周血单个核细胞经 IL-2 诱导成 LAK 细胞,使 NK 细胞的数量得以扩增后,再进行纯化。无论何种细胞来源,一般均先通过塑料粘附去除部分单核细

本文于 1999 年 1 月 13 日收到。

胞,再用尼龙毛柱去除部分单核细胞和 B 细胞,然后用各种方法去除 T 细胞及其他污染细胞。NK 细胞的纯化可分为物理学方法和免疫学方法。物理学方法多采用不连续 Percoll 密度梯度离心法,获得的细胞含有 70%—90% 的大颗粒淋巴细胞(LGL),分离简单,速度快。但 LGL 仅是细胞形态学上的分类,其中并非全是 CD16 + CD56 + 的 NK 细胞(作者的同类工作显示 CD16 + CD56 + 的 NK 细胞可达约 70%),还混有 Mo/M ϕ 及非单个核细胞等,免疫学方法可分为阳性选择法和阴性选择法。用阳性选择法得到的目的细胞结合有抗体和载体,会影响细胞表面分子的表达,影响细胞的活性。阴性选择法较为常用,主要有补体介导的细胞裂解法, T 细胞 Panning, 绵羊红细胞花环法及免疫磁珠法等,其共同的目的是去除其他非 NK 细胞。多采用 2—3 种方法联合应用,以提高纯化的效果(作者的同类工作显示 CD16 + CD56 + 的 NK 细胞可达约 85%)。免疫磁珠法是近年来兴起的一种分离细胞的新技术,它是利用抗体修饰的磁性颗粒对细胞的亲和结合而进行分离的一种极为方便快捷,高回收,选择性很强的方法。所获细胞的纯度和回收率都很高,但免疫磁珠的制备难度较大,要获得均一、球形、超顺磁性,且易于结合的磁珠很难,国外多为专利产品且价格昂贵。用流式细胞仪进行纯化灵敏度高,所获细胞纯度高,但细胞处理量小,需特殊的设备,不易推广。近几年发展起来的免疫吸附柱法,可获得较高的纯度和回收率,操作简便,可做无菌处理,价格易于接受,应用前景看好(作者的同类工作显示 CD16 + CD56 + 的 NK 细胞可达约 70%)。

2.2 NK 细胞的克隆化培养

NK 细胞仅占外周血 PBMC 的 5%—10%。多年来,其在体外的扩增培养一直是个难题。人们在改善 NK 细胞的培养条件上做了长时间的摸索,发现 NK 细胞的生长扩增需要有可溶性和接触性依赖共刺激信号。可溶性细胞因子包括 IL-2、IL-4、IL-12、IL-7、IL-15 等,其中 IL-2 为 NK 增殖所必需。NK 细胞的体外克隆化培养还需要 PHA 及条件培养基等作为初始刺激剂。接触性依赖则需要有饲养细胞,其作用是在培养过程中释放某些生长刺激因子及为被克隆的细胞提供细胞密度的依赖性。常用的有 γ 射线照射的同种异体或自身的 PBMC、淋巴母细胞系(LCL)或 EB 病毒转化的 B 淋巴母细胞系等。以丝裂原(ConA 或 ConA + PWA)激活的 PBMC 作为饲养细胞,较未激活的新鲜 PBMC 能大大促进 NK 细

胞的优先增殖,而以丝裂原活化的同种异体 CD4 + T 细胞较 CD8 + T 细胞作为饲养细胞,可获得更大的 NK 扩增倍数。照射的 K562 细胞具有刺激 NK 细胞生长的作用。NK 细胞与照射的 K562 细胞共同培养能增强 IL-2 及其他细胞因子或淋巴细胞条件培养基对 NK 细胞的促增殖作用。

NK 细胞体外克隆培养的条件是从 T 细胞克隆培养中延续下来的,但 NK 细胞增殖慢,其克隆有效率远远低于 T 细胞。以 γ 射线照射的 K562 细胞及自身 PBMC 作为饲养细胞进行 NK 细胞的克隆化培养,获得的克隆能存活 40—70 天,克隆有效率为 15%—17.5%。用 H9 白血病细胞系作为饲养细胞,将胸腺前体细胞与 IL-2 共同培养,获得 NK 克隆,认为 H9 细胞能提供若干细胞因子和表面粘附分子,模拟体内 NK 细胞的发育环境。Deniz 分别将人子宫蜕膜组织中的 CD3-白细胞和外周血 CD3 - 淋巴细胞进行克隆化培养,获得 NK 克隆的有效率分别为 5%—10% 和 0.5%—1.0%,此 NK 克隆的获得为研究子宫蜕膜 NK 细胞的功能特点及其与正常、异常妊娠的关系提供了有利工具,已成为生殖免疫学的研究热点。分别建立了 IL-4 和 IL-2 依赖的 NK 细胞克隆,发现 IL-4 依赖的 NK 细胞不表达 NK 活化标志(CD16 和 CD56),无 NK 细胞毒活性,认为 IL-4 依赖的 NK 克隆代表未成熟的 NK 细胞,IL-4 能支持未成熟 NK 细胞的连续增殖,刺激 IFN- γ 的产生,为 IL-4 促进 NK 细胞的生长分化提供了依据。

2.3 NK 细胞系的建立

NK 细胞克隆培养技术的成熟,使 NK 细胞的长期传代培养成为可能。目前已建立起多种 NK 细胞系,主要有来自正常细胞的 NK3.3 和 JT 系列,来自淋巴瘤的 YT 和 NK-92 及来自 LGL 白血病的 TKS-1 等。其中 NK3.3 为混合淋巴细胞培养来源的 PBMC 经软琼脂培养,获得单个克隆,再进行液体培养扩增而得到的 LGL,其在体外能连续培养 10 个月以上,并保持表型和功能不变。此细胞系已广泛用于 NK 细胞生物学特性及其功能和信号传导机制的研究。在外周血 NK 细胞的克隆培养中筛选出一株 JT1 细胞系,可存活 6 个月以上,具有 NK 细胞的表面标志和强烈的 NK 杀伤活性及中等的 ADCC 效应。对 JT1 细胞系进行亚克隆化,已建立了 JT1 的亚系,其表型与功能特点均与 JT1 相同。此后,又建立了 JT3—JT9 等 7 株细胞系,均对 NK 敏感靶细胞 K562 有高水平的杀伤能力,但对其他靶细胞的杀伤谱不尽相同。YT 细胞系来自—15 岁的急性淋巴母细胞

淋巴瘤和胸腺瘤病人的心包液,具有NK细胞的表型和功能特点,其体外培养不需IL-2或条件培养基即可连续增殖12个月以上,YT及其亚系已广泛应用于NK细胞的细胞毒及信号传导机制的相关研究^[7-10]。来自进展期非何杰金氏淋巴瘤的NK-92细胞系,具有活化NK细胞的特征,可作为研究NK细胞生物学活性的有价值的工具,由于其高强度和广谱的细胞毒效应,有学者正试图将NK-92用于体外血液净化自体骨髓移植或造血干细胞移植的体外血液净化,为白血病、淋巴瘤和骨髓瘤的治疗提供新的希望。源于LGL细胞白血病的TKS-1细胞系,能有效杀伤K562、Raji、Daudi等靶细胞,为CD16⁻的NK细胞的未成熟型,此细胞系不仅可用于NK白血病的探讨,还可用于NK杀伤机制等功能研究。

2.4 NK细胞表型的变化

NK细胞的形态为LGL,一般认为其表型为CD3⁻CD56⁺,不表达TCR。CD16的表达不一致,可为CD16^{bright}、CD16^{dim}或CD16⁻。NK细胞克隆的鉴定多通过形态、表型标志及NK细胞毒活性来确定。但在克隆的培养过程中,NK细胞的表型可能会发生变化。研究发现,人类胚胎未成熟NK细胞可表达CD3的所有四条链的基因,成熟NK细胞虽不表达CD3分子,但如受IL-2激活后仍可表达CD3分子,克隆化的NK细胞也可表达CD3分子。胚胎克隆化NK细胞可表达CD3的所有四条链基因,但克隆化的成熟NK细胞仅可表达CD3 γ 、 δ 、 ϵ 三条链基因。故目前倾向于认为NK细胞和T细胞在个体发育关系上十分接近,可能具有共同的前体细胞。用MLC来源的CD3⁻淋巴细胞进行NK细胞的克隆化培养,并对得到的克隆进行Northern blot分析,结果显示不表达表面TCR α/β 或TCR γ/δ 分子,缺少TCR α 链和 β 链mRNA及CD3 γ 和 δ 链mRNA。所检测的4株克隆中有1株可检测到少量TCR γ mRNA,且CD3 ϵ 链mRNA持续存在。由于NK细胞本身是一个异质性群体,其不同克隆间的表型也不一致。文献中报道的NK克隆的表型多为CD2⁺,CD3⁻,CD56⁺,CD16⁺或CD16⁻,HLA-DR⁺。对具NK活性的14株NK克隆进行表型分析,表明所有克隆均为CD3⁻,CD7⁺,CD56⁺,HLA-DR⁺,LFA-1⁺,部分(10/14)为CD2⁺,少部分(4/14)为CD8弱⁺。对从LGL得到的克隆进行表型分析,认为NK克隆的表型存在着异质性,有些克隆具有成熟T细胞的特征(如CD3,CD4,CD8等)。认为人淋巴细胞克隆的表面抗原在培养中并不稳定,可能与细胞活化和增

殖的阶段不同有关。某些LGL与IL-2培养后可获得T细胞抗原。这些克隆后得的NK细胞的细胞毒类型特异性与细胞表型并不一致,具有相同表型的克隆可能具有不同的杀伤谱,而杀伤谱相同的克隆也可能具有不同的表型。关于NK克隆表型的变化尚缺乏详细的资料,有必要对NK细胞克隆化培养过程中表型的变化进行动力学分析。

3 NK细胞的发育生物学

3.1 NK和T、B细胞的共同前体细胞的发现

造血干细胞(HSC)的分化定为2大系列,髓样细胞系决定着血小板、红细胞、单核细胞和粒细胞的产生;淋巴类细胞系决定着T、B和NK细胞的产生。尽管从发现NK开始人们一直尽力寻找这3类淋巴细胞的共同前体细胞,但直至最近才有真正的进展。1994年发现小鼠编码锌指纹蛋白(IKAROS)的基因发生突变后,HSC向淋巴类细胞的分化被中止,其他造血细胞的分化不受影响,推测IKAROS基因的表达涉及HSC向淋巴类细胞的分化,即同时决定了NK、T和B细胞的发育。同时还发现正常小鼠体内除了脑的纹状体外,仅淋巴类细胞有IKAROS基因的高表达。继而他们采用Knockout技术获取了IKAROS基因缺陷鼠,证实该鼠在胚胎发育成型后存在T、B和NK的缺陷,但其他髓样细胞和机体其他各系统的发育并无影响,从而进一步验证了IKAROS基因及其表达是3类淋巴细胞的共同前体细胞的特有功能性标志。

3.2 NK细胞与T细胞分化发育的关系

T细胞与B细胞的关系已较为清楚,二者在免疫反应中互相调控,从而触发机体的各类免疫反应。2类细胞的成熟分化亦较为清楚,其特殊标志及功能均有明确区别。T细胞和B细胞与NK细胞的关系研究则文献较少,至今仍存在许多待开拓的领域。很早就观察到联合重症免疫缺陷综合征(SCID)病人体内缺乏T细胞和NK细胞,但含有B细胞和其他髓样细胞,提示人类T细胞和NK细胞含有共同前体细胞;但是小鼠发生SCID疾病时缺乏T细胞和B细胞,却有正常的数量和质量的NK细胞,又提示小鼠中T细胞和B细胞含有共同前体细胞,而NK细胞则为造血发育中的更早期的前体细胞。这2个结论似乎互相不吻合,也许是由于人与鼠的种系区别所致。近期人们又集中探讨人类中NK细胞与T细胞的发育关系,大量资料表明人类NK和T细胞在早期发育中可能存在共同前体细胞,亦即与B细胞

相比, NK 细胞与 T 细胞在个体发生上更为接近。首先发现人类胚胎未成熟 NK 可表达 CD3 的所有 4 条链的基因, 而且成熟 NK 在不表达 CD3 分子后, 如果受 IL-2 激活仍可再表达 CD3 分子, 提示 NK 细胞在个体发生更接近 T 细胞。未成熟 NK 表达 CD3 的能力强于成熟 NK, 提示 NK 早期发育中更接近于 T 细胞。由于 NK 细胞所承担的细胞毒效应与 CD8⁺ 的 CTL 有相近之处, 以及 NK 细胞分泌细胞因子的种类及数量又与 CD4⁺ Th 细胞相近, 故学者们倾向认为 NK 细胞和 T 细胞为个体发育上关系十分接近的两类细胞。

3.3 胚胎肝脏和胸腺存在 NK 与 T 细胞共同前体细胞

胚胎肝脏是造血前体细胞的发源地, 其中应包含淋巴类细胞的共同祖细胞。当人们倾向认为 NK 细胞和 T 细胞有共同前体后, 学者们继而开始探讨这种 T/NK 共同前体细胞的体外诱分化因素。首先发现胎肝细胞悬液在 PHA + IL-2 存在下可分化出 CD3⁺/TCR⁺ 的 T 细胞; 但如果在同种异体受照细胞系 H9 + IL-2 存在时则分化为 CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺ 的成熟 NK 细胞, 进一步发现胚胎肝脏中可分别分化为 T 细胞或 NK 细胞的共同前体细胞的特有标志为白细胞共同抗原 (CD45)。观察到胚胎期 CD16⁺ CD4⁻ CD8⁻ 的细胞如进入胸腺继续发育则分化为 T 细胞。如果脱离胸腺后移入合适的其他体内环境或体外环境则可分化为 NK 细胞。诱导 NK 或 T 细胞的体外环境与胎肝细胞分化为 NK 和 T 细胞的条件相一致, 此时 CD16 抗原成为胚胎胸腺中 NK/T 细胞共同前体细胞的特有标志。发现新生儿胸腺中 CD7⁺ CD3⁻ CD8⁻ CD4⁻ 细胞可在 PHA + IL-2 作用下分化为成熟的 T 细胞 (CD3⁺/TCR⁺), 或者在 H9 细胞 + IL-2 作用下分化为成熟 NK 细胞 (CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺)。尤为引人注目的是 CD3⁻ CD8⁻ CD4⁻ 的胸腺细胞中, 如果是 CD56⁺, 则将分化为 NK, 而 CD56⁻ 则分化为 T 细胞, 提示 CD56 为早期 NK 前体细胞的特有标志。NK 和 T 细胞的共同前体细胞均可在适合的体外培养环境下分化为相应的成熟 NK 或成熟 T, 为进一步从事基础研究或临床生物治疗奠定了基础。

3.4 骨髓为 NK 细胞分化发育的场所

尽管人们发现胸腺中存在 T/NK 的共同前体细胞并可分化为成熟 T 细胞或 NK 细胞, 但是 NK 前体细胞同样可以存在于胎肝之中, 以及无胸腺鼠体内仍存在足量的 NK 细胞, 故正常人群中 NK 发育分化

的场所出生后仍被认为是骨髓。骨髓中 CD34⁺ CD7⁺ DR⁺ 的前体细胞经长期培养后可分化为 NK 细胞, 其 CD34 抗原在分化为 NK 细胞时, CD34 抗原消失, 代之而来则为 CD2、CD16 和 CD56 的标志。HSC 分化为 NK 细胞时必须要有 IL-2 存在, 但与 IL-7 和干细胞因子 (SCF) 共存时, NK 细胞的发育分化与扩增将大幅度增加。由于 IL-2 缺陷小鼠中 NK 仍可正常发育, 以及骨髓基质细胞并无 IL-2 分泌, 人们开始寻找 NK 分化所必须的调节因子。近期人们发现骨髓基质细胞可表达 IL-15 mRNA, 长期培养的骨髓基质细胞上清中含 IL-15。CD34⁺ 的 HSC 细胞体外培养中单独 IL-15 则可以促发其向 NK 细胞分化。SCF 单独作用无促 HSC 分化为 NK 的效应, 但增加 IL-15 的促 NK 分化效应。由于 IL-2 和 IL-15 可结合于共同的 IL-2R β 链, 从而解释了 IL-2 亦可促进骨髓 NK 分化的原因。也许 IL-2 并非体内骨髓中 NK 发育的调节因子, 仅仅与外周 NK 发挥效应有关。而 IL-15 则极可能是 HSC 分化 NK 的天然调节因子。

4 结 语

探清 NK 细胞分化发育过程及其调控因素, 有利于阐明 NK 细胞的本质以及解释 NK 细胞维持机体自稳的机制, 并用于临床疾病的解释与诊治, 尤其是为应用 NK 进行肿瘤的生物治疗奠定基础。探清 NK 与 T 细胞的关系, 及其促定向分化的机制, 有利于更精确地解释目前所知 T 细胞或 NK 细胞的抗癌过程, 不至于将 2 类相关又不同的细胞混为一谈。兼于胎肝、新生儿胸腺和成年骨髓均可作为 NK 细胞的起源地, 故更为详尽地探讨 NK 的诱分化及促成成熟因素成为可能。由于目前有关 NK 分化的资料尚未采用单细胞技术, 即直接观察从单一 CD34⁺ HSC 分化为 NK 或 T 的全过程, 故目前尚不能确认 CD34⁺ HSC 是否具备 NK/T 的共同前体, 还是 CD34⁺ HSC 中不同群体细胞担任不同定向分化的任务。

参 考 文 献

- [1] 田志刚, 孙内. NK 细胞的发育生物学. 国外医学肿瘤学分册, 1997, 24(3): 131—133.
- [2] 田志刚, 孙内. NK 细胞的识别功能. 国外医学肿瘤学分册, 1997, 24(3): 133—136.
- [3] 田志刚, 孙内. NK 细胞的免疫学调节能. 国外医学肿瘤学分册, 1997, 24(3): 136—138.
- [4] 田志刚. NK 细胞研究的几个热点问题. 中国免疫学杂志, 1999, 15(3): 142—144.
- [5] 田志刚. NK 细胞研究现状的分析. 中国肿瘤生物治疗杂志,

- 1999, 6(1):1-3.
- [6] 田志刚. NK 细胞亚群及其对造血的调节. 上海免疫学杂志, 1999, 19(2):69-74.
- [7] Lang S, Vujanovic N L, Wollenberg B et al. Absence of B7.1-CD28/CTLA-4-mediated co-stimulation in human NK cells. Eur. J. Immunol, 1998, 28:780-787.
- [8] Teng J M, Liu X R, Mills G B et al. CD28-mediated cytotoxicity by the human leukemic NK cell line YT involves tyrosine phosphorylation, activation of phosphatidylinositol 3-kinase, and protein kinase C. J. Immunol, 1996, 156:3222-3229.
- [9] Gong J H, Maki G, Klingemann H G. Characterization of a human cell line (NK-92) with phenotypical and functional characteristics of activated NK cells. Leukemia, 1994, 8:652-658.
- [10] Klingemann H G, Wong E, Maki G. A cytotoxic NK-cell line (NK-92) for ex vivo purging of leukemia from blood. Bio. Blood Marrow. Transplant, 1996, 2:68-78.

CLONING AND DIFFERENTIATION OF NATURAL KILLER CELLS

Tian Zhigang

(Shandong Cancer Biotherapy Center, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062)

Abstract After co-culture with nurses cells, for example, g-ray irradiated K562 cells or autologous PBMC, the IL-2-dependent or IL-4-dependent NK cell clones have been established and found that the IL-4-dependent NK cell clones are immature or precursor NK cells. The differentiation and developing process and their controlling factors are also discussed in this paper.

Key words NK cells, cloning, cell line, differentiation

·资料·信息·

中国土壤系统分类研究跻身国际先进行列

“中国土壤系统分类研究”是为逐步建立我国土壤资源信息系统而开展的一项土壤学基础研究。

该项研究在国家自然科学基金和中国科学院特别支持项目的共同资助下,由中国科学院南京土壤研究所龚子同研究员主持,全国 30 多个研究单位参加,业已取得如下重要进展:

(1)建立了中国土壤系统分类体系,完成了“中国土壤系统分类(修订方案)”。该分类体系以量化的诊断层和诊断特性为基础,既面向世界与国际主流同步,又充分体现我国特色。这一研究成果,改变了长期以来我国土壤分类定性和边界不清的严重缺陷,标志着我国土壤分类领域的进步。

(2)提出了新的诊断层、诊断特性和诊断现象。通过深入研究我国土壤的类型和特点,提出了大量符合我国土壤特点的诊断层、诊断特性和诊断现象。

人为土诊断体系、干旱表层、低活性富铁层、暗沃表层、均腐殖质特性等一系列诊断层和诊断特性的提出,具有国际意义。结合国际上通用的诊断层和诊断特性,构成了完整的诊断体系。保证了分类体系符合我国特色,便于应用,也是对国际土壤分类学研究的补充和发展。

(3)积累了大量基础数据。制定了土壤剖面野外描述规范、土壤环境因子标准和土壤物理、化学及矿物分析的标准方法,实现了工作程序和方法的标准化。在模型开发的基础上,完成了我国土壤温度和水分状况的计算。获取了涉及我国所有土壤类型的大量土体和环境因子数据,建立了铁铝土、富铁土、干旱土和水耕人为土数据库,从而为建立全国性的土壤信息系统打下了良好的基础。

(张甘霖 供稿)