

临床免疫学 检验技术与操作

赵东◎著

天津出版传媒集团

 天津科学技术出版社

临床免疫学检验 技术与操作

赵东◎著

天津出版传媒集团



天津科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床免疫学检验技术与操作 / 赵东著. -- 天津 :
天津科学技术出版社, 2018.2
ISBN 978-7-5576-4821-3

I. ①临… II. ①赵… III. ①免疫学-医学检验
IV. ①R446.6

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第040787号

责任编辑: 石 崑
责任印制: 兰 毅

天津出版传媒集团

 天津科学技术出版社

出版人: 蔡 颢
天津市西康路35号 邮编 300051
电话(022)23332369(编辑室)
网址: www.tjkjcs.com.cn
新华书店经销
北京虎彩文化传播有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 25 字数 590 000
2018年2月第1版第1次印刷 2018年9月第2次印刷
定价: 125.00元

前 言

近年来,医学检验技术在我国得到了快速发展。医学检验各种新技术在临床疾病诊疗中的作用也越来越重要。根据最新资料表明,随着社会的发展,工作压力增大,行业之间竞争激烈,处于“亚健康”状态的人群比例正在急剧攀升。“亚健康”状态是处于健康与疾病之间的一种边缘状态,大约只有 5%—10% 的人处于健康状态,10% 的人处于疾病状态,而 80%—85% 的人处于亚健康状态,尤以管理干部,企业家,科技工作者,律师,医师等更加突出。因此,动态检测免疫功能可及早发现亚健康状态,并对疾病及早干预,以提高亚健康人群的健康水平,具有特别重要的意义。

全书共二十四章,主要由免疫学技术和临床免疫性疾病与检验两部分组成。免疫学技术侧重介绍当今免疫学常用的检测技术和方法,包括近年发展的新技术;临床免疫性疾病与检测侧重介绍临床常见的免疫性疾病的发生机制及临床检验。内容较为丰富,文字简练,可作为高等医学院校学生参考使用,还可供临床医务工作者和医学研究人员参考。

医学检验学内容广泛,技术发展日新月异,作者虽经努力,但限于知识水平和经验不足,缺点和错误在所难免,望各位同道不吝赐教。

编 者

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 免疫与医学免疫学	(1)
第二节 临床免疫学与临床免疫学检验	(3)
第二章 抗原抗体反应	(8)
第一节 抗原抗体反应的基本原理	(8)
第二节 抗原抗体反应的特点	(10)
第三节 抗原抗体反应的影响因素	(12)
第四节 抗原抗体反应的类型	(14)
第三章 免疫原和抗体的制备	(16)
第一节 免疫原的制备	(16)
第二节 免疫血清的制备	(25)
第三节 单克隆抗体的制备技术	(29)
第四节 基因工程抗体技术	(34)
第四章 凝集反应	(39)
第一节 直接凝集反应	(39)
第二节 间接凝集反应	(40)
第三节 抗球蛋白试验	(44)
第五章 沉淀反应	(46)
第一节 液体内沉淀试验	(46)
第三节 免疫电泳技术	(50)
第四节 沉淀反应在医学检验中的应用	(52)
第六章 荧光免疫技术	(54)
第一节 荧光标记物的制备	(54)
第二节 荧光免疫显微技术	(60)
第三节 荧光免疫测定技术	(63)
第四节 荧光免疫技术在检验医学中的应用	(68)
第七章 放射免疫技术	(71)
第一节 放射性核素标记物的制备	(71)
第二节 放射免疫分析	(76)
第三节 免疫放射技术	(79)

第四节	放射免疫分析技术的应用	(82)
第八章	酶免疫技术	(84)
第一节	酶标记物的制备	(84)
第二节	酶免疫技术的类型	(88)
第三节	酶联免疫吸附试验	(90)
第四节	膜载体的酶免疫技术	(94)
第五节	生物素亲和素系统酶联免疫吸附试验	(95)
第六节	酶免疫技术的应用	(96)
第九章	化学发光免疫技术	(98)
第一节	化学发光与化学发光效率	(98)
第二节	化学发光剂与标记技术	(99)
第三节	化学发光免疫分析的类型	(102)
第四节	化学发光免疫技术的应用	(107)
第十章	胶体金免疫技术	(110)
第一节	胶体金与免疫金的制备	(110)
第二节	金免疫测定技术	(114)
第三节	胶体金标记免疫组织化学技术	(118)
第十一章	免疫组织化学技术	(119)
第一节	免疫组织化学技术要点	(119)
第二节	酶免疫组织化学技术	(123)
第三节	金免疫组织化学技术	(125)
第四节	免疫电镜技术	(127)
第五节	亲和组织化学技术	(129)
第十二章	免疫细胞的分离与功能检测	(133)
第一节	免疫细胞的分离	(133)
第二节	淋巴细胞的数量检测	(138)
第三节	淋巴细胞的功能检测	(142)
第四节	吞噬细胞功能检测	(147)
第十三章	流式细胞术	(150)
第一节	流式细胞术的基本原理	(150)
第二节	流式细胞术的技术要点	(155)
第三节	流式细胞术的质量控制	(164)
第四节	流式细胞术在免疫学检测中的应用	(167)
第十四章	细胞因子及其受体与黏附分子的检测	(171)
第一节	细胞因子及其受体的检测	(171)

第二节	黏附分子的检测	(181)
第十五章	免疫学检验的质量保证	(188)
第一节	概述	(188)
第二节	分析前质量保证	(190)
第三节	分析中质量保证	(191)
第四节	分析后质量保证	(197)
第十六章	超敏反应性疾病及免疫学检验	(199)
第一节	I型超敏反应性疾病与免疫学检验	(199)
第二节	II型超敏反应性疾病与免疫学检验	(207)
第三节	III型超敏反应性疾病与免疫学检验	(210)
第四节	IV型超敏反应性疾病与免疫学检验	(213)
第十七章	自身免疫病与免疫学检验	(217)
第一节	概述	(217)
第二节	自身免疫病发生的相关因素	(218)
第三节	自身免疫病的免疫损伤机制	(220)
第四节	临床常见的自身免疫病	(221)
第五节	自身免疫病的免疫学检验	(224)
第十八章	免疫增殖病与免疫学检验	(232)
第一节	概述	(232)
第二节	免疫增殖病的免疫损伤特点	(234)
第三节	常见的免疫增殖病	(236)
第四节	免疫增殖病的免疫学检验	(240)
第十九章	免疫缺陷病与免疫学检验	(244)
第一节	概述	(244)
第二节	原发性免疫缺陷病	(245)
第三节	继发性免疫缺陷病	(252)
第四节	免疫缺陷病的免疫学检验	(255)
第二十章	感染性疾病与免疫学检验	(261)
第一节	细菌感染性疾病的免疫学检验	(261)
第二节	病毒感染性疾病的免疫学检验	(263)
第三节	其他微生物感染的免疫学检验	(273)
第四节	寄生虫感染的免疫学检验	(276)
第二十一章	肿瘤免疫与免疫学检验	(281)
第一节	肿瘤抗原	(281)
第二节	机体抗肿瘤的免疫机制	(283)

第三节	肿瘤的免疫逃逸机制	(285)
第四节	肿瘤的免疫学检验	(286)
第二十二章	移植免疫与免疫学检测	(296)
第一节	引起排斥反应的靶抗原	(297)
第二节	移植排斥反应的种类和发生机制	(299)
第三节	组织配型	(303)
第四节	移植排斥反应的免疫学防治	(307)
第五节	排斥反应的免疫监测	(308)
第二十三章	其他系统免疫性疾病与免疫学检测	(313)
第一节	神经系统疾病与免疫学检测	(313)
第二节	血液系统疾病与免疫学检测	(316)
第三节	内分泌系统疾病与免疫学检测	(320)
第四节	消化系统疾病与免疫学检测	(322)
第五节	心血管系统疾病与免疫学检测	(324)
第六节	生殖系统疾病与免疫学检验	(326)
第二十四章	红细胞疾病与自身免疫	(330)
第一节	红细胞免疫概述	(330)
第二节	再生障碍性贫血	(341)
第三节	自身免疫性溶血性贫血	(351)
第四节	药物诱发的免疫性溶血性贫血	(365)
第五节	阵发性睡眠性血红蛋白尿	(369)
第六节	新生儿溶血病	(382)

第一章 绪论

第一节 免疫与医学免疫学

一、免疫与医学免疫学的概念

早在 2000 多年前人们就发现,患过某种传染病而康复的人,对该种疾病的再次感染具有抵抗力,称为免疫。“免疫(immunity)”一词是从拉丁文“immunitas”衍生而来的,原意是指免除劳役或赋税,引申为免患疾病。长期以来,传统的免疫概念认为,免疫只是针对病原微生物产生的对机体有利的防御能力,即机体的抗感染能力。20 世纪中期以后,随着免疫学研究的不断深入,免疫的概念也被赋予了新的内涵。现代免疫的概念认为,免疫是机体识别和排斥抗原性异物的一种生理反应,它是免疫系统对“自我信号”和“危险信号”进行识别,并排除“危险信号”,以维持机体内环境的平衡与稳定的过程。

免疫学是人类在与传染病长期作斗争的过程中逐步发展起来的。医学免疫学(medical-immunology)是研究人体免疫系统的组织结构和生理功能的一门学科。通过对免疫系统识别抗原后产生免疫应答及其清除抗原规律的研究,探讨免疫功能异常所致的病理过程和临床疾病,并研制有效的免疫诊断、预防和治疗措施用于临床实践。近年来,临床上发现越来越多的疾病与免疫系统异常有关,用于检测参与免疫病理损伤的免疫细胞、免疫分子的技术和方法也得到快速发展和应用,医学免疫学已成为当今生命科学的前沿学科和现代医学的重要支撑学科之一。

二、免疫系统及其基本功能

机体内存在一个负责执行免疫功能的免疫系统(immune system),它是随着生物种系的发育、进化而逐步建立和完善的。免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫分子所构成(表 1-1)。它与机体内其他系统相互配合,相互制约,共同维持着机体生命活动的生理平衡。

机体的免疫系统除了识别和清除外来入侵抗原外,还可识别机体内发生突变的肿瘤细胞、衰老损伤细胞、自身变性及其他有害成分。概括起来,免疫系统具有以下三大功能。①免疫防御(immunologic defence):机体防御外来病原微生物和抗原性异物侵袭的能力。在反应正常的情况下,可保护机体免受感染。但若防御过强则引起超敏反应;防御过弱或缺如,机体则表现易受感染或发生免疫缺陷病。②免疫稳定(immunologic homeostasis):机体正常情况下对自身组织成分不发生免疫应答,处于自身耐受状态,以及帮助清除体内损伤、衰老、变性的组织成分和抗原抗体复合物的能力。免疫稳定功能失调,则可出现自身免疫病。③免疫监视(im-

munologic surveillance): 机体识别和清除体内异常突变细胞和病毒感染细胞的能力。此功能失调, 可导致肿瘤发生和病毒持续感染。

表 1-1 人体免疫系统的组成

免疫器官		免疫细胞		免疫分子	
中枢	外周	固有免疫细胞	适应免疫细胞	膜型分子	分泌型分子
胸腺	脾脏	吞噬细胞	T 细胞	TCR	抗体
骨髓	淋巴结	树突细胞	B 细胞	BCR	补体
	黏膜相关淋巴组织	NK 细胞		CD 分子	细胞因子
	皮肤相关淋巴组织	NKT 细胞		黏附分子	
		其他细胞		MHC 分子	
				细胞因子受体	

三、免疫应答的类型及其基本过程

免疫应答 (immune response) 是机体免疫系统受到抗原刺激后发生的以排除异物为目的的整个过程。根据免疫应答识别的特点、获得方式、作用特点等的不同, 可将其分为固有免疫 (innate immunity) 和适应性免疫 (adaptive immunity) 两大类。前者在个体出生时即具有, 可通过遗传获得, 是生物体在长期进化过程中逐渐建立起来的, 主要针对入侵病原微生物产生的天然防御反应。其主要特征是反应迅速, 作用范围广, 无针对性, 又称非特异性免疫 (nonspecific immunity)。后者是个体出生后在环境中不同异物抗原的刺激下建立的免疫反应。其主要特征是反应较慢, 针对某个特定异物抗原产生反应, 又称特异性免疫 (specific immunity)。两种类型免疫的主要特征见表 1-2。

表 1-2 两种类型免疫的主要特征

主要特征	固有性免疫(非特异性免疫)	适应性免疫(特异性免疫)
获得方式	先天遗传获得	后天环境中抗原刺激产生
针对异物	范围广, 无针对性	特定抗原, 有针对性
产生时间	迅速, 数分钟至数小时	缓慢, 数天
表现方式	天然防御屏障	特异性细胞和体液免疫
参与物质	吞噬细胞、溶菌酶、补体等	抗原递呈细胞、T 细胞、B 细胞等
作用	感染早期起防御作用	稍后期起作用, 排异效率高

适应性免疫按照参与细胞的不同分为由 T 细胞介导的细胞免疫应答和由 B 细胞介导的体液免疫应答。其免疫应答的基本过程分为三个阶段。①识别阶段 (recognition phase): 抗原递呈细胞对外来或自身抗原进行识别、摄取、加工、处理, 并提呈抗原信息给淋巴细胞, T 细胞和 B 细胞分别通过 TCR 和 BCR 识别抗原。②活化阶段 (activation phase): 淋巴细胞接受抗原

信号后,在一系列免疫分子(协同刺激信号分子、黏附分子、细胞因子信号分子等)的参与下,发生活化、增殖、分化的阶段。其中 T 细胞活化后转化为效应 T 细胞,B 细胞活化后转化为浆细胞。③效应阶段(effect phase):活化后淋巴细胞发挥效应的阶段。T 细胞可通过分泌细胞因子或直接对靶细胞发挥免疫效应;浆细胞可通过分泌特异性抗体发挥免疫效应。另有少量 T 细胞和 B 细胞在增殖分化后不发挥效应,转化为记忆细胞(memory cells),当再次遇到相同抗原时,迅速活化、增殖、分化,发挥再次应答效应。

第二节 临床免疫学与临床免疫学检验

一、临床免疫学的概念与范畴

临床免疫学(clinical immunology)是利用免疫学的基础理论和技术来研究临床疾病的免疫病理机制、诊断和鉴别诊断、治疗效果和预后判断,以及疾病预防等多个分支学科的总称。近年来,随着免疫应答的分子机制、免疫调节与信号的传导、免疫细胞的凋亡途径、多种免疫分子的特性等的深入研究和阐明,以及免疫学检测技术和手段的不断提高,加深了对免疫相关疾病的发病机制、免疫预防与诊断、免疫生物与基因治疗的研究,并促使许多临床免疫学的研究成果应用于临床实践,推动了临床免疫学及相关学科的发展。

(一)感染免疫学

感染免疫学(infection immunology)是研究病原生物与宿主的相互关系,以及机体免疫系统抵抗感染的一门分支学科,是传统免疫学的基础和核心。各种感染性疾病都是由病原体入侵易感者机体引起的,病原体在宿主体内生长、繁殖、扩散或释放毒素导致炎症等病理反应,同时诱发机体免疫系统产生体液和(或)细胞免疫应答。长期以来,传统的临床免疫学仅局限于抗感染免疫的研究,侧重于感染性疾病的诊断与预防,为人类战胜传染病作出了重大贡献。现代感染免疫更加侧重感染性疾病的早期与快速诊断、生物疫苗研制、免疫生物治疗以及感染机制研究。机体固有免疫与适应性免疫参与抗感染免疫过程。固有免疫不仅具有快速反应的能力,而且对随后发生的适应性免疫应答的类型起决定性作用。适应性免疫应答则担负着最终清除大多数病原微生物的重任。病原体致病力与机体免疫力相互抗衡,决定着感染性疾病的转归。人类现已建立了一系列对大多数感染性疾病的诊断方法,其方法的优化与快速诊断,以及生物疫苗在感染性疾病预防中的应用仍是当前感染免疫研究的重点。

(二)免疫性疾病

免疫性疾病(immunologic disease)是各种原因引起机体免疫应答异常所致的临床疾病,包括超敏反应性疾病、自身免疫病、免疫缺陷病、免疫增殖病等。超敏反应性疾病是机体对某些抗原应答过强产生以机体生理功能紊乱或组织细胞损伤为主的异常免疫应答。自身免疫病是机体免疫系统对自身组织成分产生应答,导致自身组织器官损伤或功能障碍所致的疾病。免疫缺陷病和免疫增殖病都是免疫系统成分异常所致:前者是免疫系统成分缺损导致的一种

或多种免疫功能不全所致的临床综合征；后者是淋巴细胞异常增殖所致的临床综合征。通过对临床免疫相关疾病发生、发展过程中免疫细胞、分子的异常及所致免疫病理变化的研究，阐明其发生机制，为临床诊断、治疗、预后评价提供帮助。

（三）肿瘤免疫学

肿瘤免疫学(tumor immunology)是研究机体免疫系统与肿瘤发生发展的相互关系，以及肿瘤的免疫诊断与预防治疗的一门分支学科。肿瘤细胞在恶性转化过程中可表达或分泌一些特征性蛋白质，称为肿瘤标志物，包括肿瘤抗原、一些激素、酶和癌基因产物等，在肿瘤免疫诊断中有重要价值，通过对其进行分析、检测，可帮助肿瘤的临床早期诊断和动态检测治疗效果。机体的免疫功能与肿瘤的发生、发展存在着密切的关系。机体免疫系统具有监视功能，可防止肿瘤的发生；当免疫功能低下或受到抑制时，肿瘤发生率增高。当肿瘤发生时，机体可通过非特异性和特异性免疫发生抗肿瘤效应，其中细胞免疫功能起主导作用。研究机体抗肿瘤涉及的细胞、分子及其抗肿瘤机制，以及肿瘤的免疫生物治疗和基因治疗等是当前肿瘤免疫学研究的热点。

（四）移植免疫学

移植免疫学(transplantation immunology)是研究移植物与宿主组织成分匹配程度，减轻移植排斥反应，延长移植物成活的一门分支学科。临床移植以同种异基因移植为主，影响移植成败的关键因素取决于受者对移植物排斥反应的强弱。选择合适供者、抑制受者免疫应答反应、诱导受者对移植物的耐受、及时监测移植后免疫反应等是防治移植排斥反应的主要措施。因此，移植前 HLA 抗原检测及组织配型、移植后免疫学手段密切监测排斥反应、以及及时采取有效措施防治排斥反应是移植免疫学研究的核心内容。目前，由于 HLA 的准确配型和高效免疫抑制药物的应用，移植的成功率显著提高，已成为治疗多种器官衰竭不可替代的治疗手段。

二、临床免疫学检验的建立及发展

临床免疫学检验是研究免疫学检测的理论、技术、应用，以及临床免疫性疾病发病机制、免疫诊断与防治的一门医学应用性学科，是医学检验专业的一门重要主干课程。随着现代免疫学理论与技术的发展，临床免疫学检验也得到快速发展，新的免疫学技术不断建立，在临床免疫性疾病中的应用也越来越广泛、深入，涉及医学、生物学、分子生物学等多门学科，成为现代医学的重要组成部分。

（一）临床免疫学检验的建立

免疫学检验是随着各种免疫物质的发现而逐步发展起来的，其建立至今已有 100 多年的历史。早在 1883 年，俄国动物学家 E.Metchnikoff 发现了吞噬细胞的吞噬作用，并提出了原始的细胞免疫学说。19 世纪 80 年代，很多学者在传染病患者和免疫动物血清中发现了抗毒素、能与病原体或免疫抗原特异性结合的物质（称为抗体，并将能引起抗体产生的物质称为抗原）。1894 年，波兰细菌学家 R.Pfeiffer 等发现了溶血素，同年比利时血清学家 J.Bordet 发现了补体，由此提出了体液免疫学说。与此同时，人们开始对抗原抗体之间进行的血清学反应进

行研究。1896年 Widal 利用伤寒患者血清与伤寒杆菌发生特异性凝集的现象,有效诊断伤寒,开启了免疫学检验的先河。1897年 R.Kraus 发现了沉淀现象,同年 Ehrlich 建立了中和反应,1908年 J.Bordet 在研究补体溶血机制的基础上建立了补体结合试验,1900年 Landsteiner 发现了人 ABO 血型,此后血型鉴定成为临床检验中的重要检测项目。1945年 Coombs 等建立了用于检测溶血性贫血时红细胞不完全抗体的抗球蛋白试验,1946年 Oudin 报道了试管免疫扩散技术,随后被改进发展为多项凝胶沉淀反应技术。

由于当时制备的特异性抗体都是来源于动物免疫血清,检测的标本也多采用血清,故将这种体外抗原抗体反应称为血清学反应,主要包括凝集反应、沉淀反应、补体参与的反应、中和反应等。这些经典的血清学技术为鉴定病原菌、检测特异性抗体等提供了可靠的方法,被广泛应用于传染病的诊断和流行病学调查。

(二) 临床免疫学检验的发展

随着免疫学理论研究的不断深入以及分子生物学等的发展,临床免疫学检验也得到快速发展,主要体现在免疫检测的微量、快速和自动化。20世纪中叶起,各种免疫标记技术的建立,极大地提高了免疫检测的敏感性。1941年 A.Coons 等首次用异氰酸苝荧光素标记抗体,检测可溶性肺炎球菌荚膜多糖抗原,建立了荧光标记技术。1959年 R.Yalow 和 S.Berson 将放射性核素引入抗原抗体反应,创立了放射免疫标记技术,并首先用于糖尿病患者血浆中胰岛素含量的测定。1971年 Engvall 等用酶代替放射性核素创立了酶免疫技术,目前已广泛用于医学和生物学科各个领域。20世纪70年代以后,胶体金免疫技术、化学发光免疫分析、电化学发光免疫分析等许多新型免疫标记技术的问世,进一步推动了免疫标记技术的进步,使几乎一切具有免疫原性和抗原性的物质均可被测定。

20世纪80年代以后,大量现代自动化免疫分析仪器,如全自动化生物化学分析仪、自动化酶联免疫分析仪、自动化免疫浊度分析仪、自动化发光免疫分析仪、荧光免疫自动化分析仪、流式细胞仪等的投入使用,使临床免疫学检验从主要由人工操作(费时、效率低)转变为计算机控制(快速、简便、准确和自动化),从而更大程度地满足了医学检验的要求,在临床上的应用也更为广泛和深入。

伴随着免疫学研究的不断深入,临床免疫学检验也经历了100余年的发展历程,为人类战胜疾病发挥了重要作用,临床免疫学检验的经典技术见表1-3。

表 1-3 临床免疫学检验的经典技术简表

年份	学者	经典技术
1883	E.Metchnikoff	吞噬试验
1890	E.von Behring,S.Kitasato	抗毒素制备
1894	J.Bordet	补体与溶菌活性
1896	H.Durham,M.von Gruber	特异凝集反应
1896	G.Widal,A.Sicad	肥达反应
1897	R.Kraus	沉淀反应

年份	学者	经典技术
1906	A. Wassermann	梅毒补体结合反应
1921	C. Prausitz, H. Ustner	皮肤反应
1935	M. Heidelberger, F. Kendall	纯化抗体, 定量沉淀反应
1941	A. Coons	免疫荧光标记
1946	J. Oudin	凝胶内沉淀反应
1948	O. Ouchterlony, S. Elek	双扩散沉淀反应
1953	P. Grabar, C. Williams	免疫电泳分析
1959	R. Yallow, S. Berson	放射免疫标记
1966	S. Avames, J. Uriel, et al	酶标免疫技术
1975	G. Kohler, C. Milstein	杂交瘤技术和单克隆抗体
1998	J. Border, O. Gengou	补体结合反应

三、临床免疫学检验的重要作用与地位

临床免疫学检验是医学检验的重要组成部分,它与临床微生物学检验、临床生物化学检验、临床血液学检验、临床寄生虫学检验等学科既广泛联系,又相互交叉,是医学检验专业的重要主干课程之一。在未来医学发展中,它必将成为医学和生命科学发展的关键技术平台。

随着临床免疫学检验的发展,它在临床医学中的应用也越来越广泛。临床免疫学检验分为两个部分,一是利用抗原抗体反应原理和免疫学技术检测免疫活性细胞、抗原、抗体、补体、细胞因子与细胞黏附分子等免疫相关成分;二是利用免疫学检测原理和技术检测体液中微量物质,如激素、酶、血浆微量蛋白、血液药物浓度、微量元素等。临床免疫学检验技术具有特异性高、敏感性高、简便、快速等优点,特别是近年来单克隆抗体技术、免疫转印技术、流式细胞术、免疫 PCR 等新技术的发展,使其在临床疾病诊断、发病机制研究中的应用越来越广泛。

临床免疫学检验不仅是临床医师对免疫相关疾病进行分析和诊断的重要依据,而且对免疫相关疾病的防治、疗效评价、病情判断等均有重要应用价值。采用生物制剂调节免疫功能,增强或抑制机体的免疫应答反应,从而达到治疗疾病的目的,已成为临床治疗的新手段。如过敏反应、自身免疫病、肿瘤、感染性疾病都存在机体免疫功能的亢进或不足,通过特异性抗体、细胞因子、体外扩增效应性免疫细胞、治疗性抗原疫苗等免疫手段,用于控制或治疗疾病的发生与发展,已取得显著进展。

小结

临床免疫学是利用免疫学的基础理论和技术来研究临床疾病的免疫病理机制、诊断和鉴别诊断、治疗效果和预后判断,以及疾病预防等多个分支学科的总称,包括感染免疫学、肿瘤免疫学、移植免疫学和免疫性疾病。临床免疫学检验是研究免疫学检测的理论、技术、应用,以及

临床免疫性疾病发病机制、免疫诊断与防治的一门医学应用性学科。免疫学检验分为两个部分,一是利用抗原抗体反应原理和免疫学技术检测免疫活性细胞、抗原、抗体、补体、细胞因子与细胞黏附分子等免疫相关成分;二是利用免疫学检测原理和技术检测体液中微量物质,如激素、酶、血浆微量蛋白、血液药物浓度、微量元素等。随着免疫学的发展,免疫学检测的范围也在不断扩大,并逐步达到微量、快速和自动化的水平。它已成为医学检验的重要组成部分,在临床医学中的应用也越来越广泛,在临床相关疾病诊断、防治、疗效观测中均有重要价值。

第二章 抗原抗体反应

抗原抗体反应(antigen-antibody reaction)是指抗原与相应抗体在体内或体外发生的特异性结合反应。发生在生物体内的抗原抗体反应是体液免疫应答的效应过程,它通常可介导吞噬、溶解与杀伤病原体,中和毒素与病毒等,有时也可引起免疫病理损伤。如在体外一定条件下,抗原与相应抗体结合可出现肉眼可见或仪器可检测到的反应。据此,在体外可用已知的抗原(或抗体)来检测相应未知的抗体(或抗原)。发生在生物体外的抗原抗体反应,因抗原的物理性状(颗粒性或可溶性)、抗体的类型和参加反应的成分(如电解质、补体、固相载体和标记物)不同,可出现凝集反应、沉淀反应、溶菌与溶血反应、中和反应以及各种标记免疫反应等。由于抗体主要存在于血清中,因此,通常又把体外的抗原抗体反应称为血清学反应(serological reaction)。本章仅介绍体外的抗原抗体反应。

第一节 抗原抗体反应的基本原理

抗原与抗体的特异性结合是基于抗原决定簇(表位)和抗体超变区分子间的结构互补性与亲和性,这种特性是由抗原与抗体分子的空间构型所决定的。它不仅需要抗原与抗体的分子构型高度互补,而且抗原表位与抗体超变区必须密切接触,才有足够的结合力。抗原抗体反应经过由亲水胶体转为疏水胶体的一系列化学和物理变化过程,可分为抗原抗体特异性结合和非特异性促凝聚两个阶段。第一阶段为抗原与抗体发生特异性结合的阶段,此阶段反应快,仅需几秒至几分钟,但不出现可见反应;第二阶段为可见反应阶段,这一阶段为抗原抗体复合物在适宜的环境因素(如温度、pH、电解质等)影响下,进一步交联和聚集,出现肉眼可见的沉淀、凝集、细胞溶解等反应,此阶段反应慢,往往需要数分钟至数小时。实际上这两个阶段难以严格划分,所需的时间往往受多种因素的影响,如反应中抗原抗体的浓度较高,且二者比例合适,则很快就能形成可见反应。

一、抗原抗体的结合力

抗原与抗体之间的结合是非共价键结合,通常情况下,抗原抗体通过静电引力、范德华引力、氢键和疏水作用力等分子间的引力而结合在一起(图 2-1)。

(一) 静电引力

静电引力(electrostatic forces)又称库仑引力(Coulomb forces),是抗原与抗体分子带有相反电荷的氨基与羧基基团之间的相互吸引的能力。例如,抗原(或抗体)分子上带有碱性氨基酸的游离氨基($-\text{NH}_3^+$)可与抗体(或抗原)分子上带有酸性氨基酸的游离羧基($-\text{COO}^-$)

相互吸引,促进抗原抗体的结合。这种引力的大小与两个电荷间距离的平方成反比。两个电荷间距离越近,静电引力就越大。

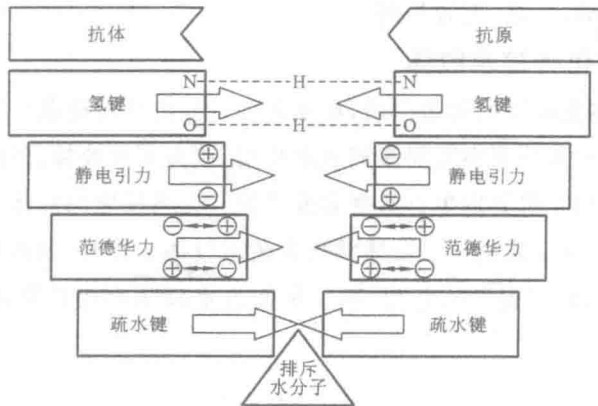


图 2-1 抗原抗体结合力示意图

(二) 范德华引力

范德华引力(Van der Waals forces)是原子与原子、分子与分子相互接近时分子极化作用发生的一种吸引力,引力大小与两个相互作用基团的极化程度的乘积成正比,与它们之间距离的 7 次方成反比。范德华引力小于静电引力。

(三) 氢键结合力

氢键结合力(hydrogen bonding forces)是供氢体上的氢原子与受氢体上氢原子间的引力。如抗原抗体分子中的氢原子和电负性大的氮、氧等原子相互吸引形成的引力。当具有亲水基团(如—OH、—NH₂、—COOH)的抗体与相对应的抗原彼此接近时,相互间即可形成氢键而使抗原与抗体结合。氢键结合力强于范德华引力。

(四) 疏水作用力

疏水作用力(hydrophobic forces)是在水溶液中抗原抗体分子的两个疏水基团相互接触,由于对水分子的排斥而趋向聚集所产生的力。当抗原表位与抗体超变区靠近时,相互间正、负极性消失,周围亲水层也立即失去,从而排斥两者间的水分子,使抗原与抗体进一步相互吸引和结合。疏水作用力是这些结合力中最强的,因而对维系抗原与抗体结合的作用最大。

二、抗原抗体的亲和力与亲合力

(一) 亲和力

亲和性(affinity)是指抗体分子单一抗原结合部位与抗原分子表面一个相应抗原决定簇(表位)之间的结合强度,它是抗原抗体之间固有的结合力。亲和力可用平衡常数 $K(K = K_1 / K_2)$ 来表示, K 值越大,亲和力越高,与抗原结合也越牢固。

(二) 亲合力

亲合力(avidity)是指一个抗体分子与抗原分子表面数个相应抗原决定簇(表位)之间的结合强度。亲合力与抗体结合价相关,所谓多价优势,如 IgG 抗体为 2 价,其亲合力为单价的 103 倍,IgM 抗体为 5~10 价,其亲合力为单价的 107 倍。