

# 免疫诊断

---

MIANYI ZHENDUAN

1984

中华流行病学杂志编辑部  
中国预防医学中心流行病学微生物学研究所

# 免疫诊断

---

MIANYI ZHENDUAN

主 编 李 之 桂  
指 导 刘 秉 阳  
编 辑 张 宝 安

中华流行病学杂志编辑部  
中国预防医学中心流行病学微生物学研究所

# 前 言

近年来国内关于免疫学的书刊有所增加，这是由于免疫学研究进展迅猛，尤其临床免疫学方面的研究及应用更为广泛之故。这种新的形势要求提供更多的免疫诊断理论与技术的资料。本书就是为此目的编写的。

该书的内容包括两个部分：第一部分为免疫诊断的基础理论与实验技术，包括：抗原抗体、葡萄球菌甲蛋白、感染症与C反应性蛋白、酶联免疫吸附试验、同位素、新技术、其它；第二部分为一些感染症的免疫诊断，包括：鼠疫、布鲁氏菌病、钩端螺旋体病、流行性脑脊髓膜炎、弯曲菌感染症、大肠杆菌性腹泻、脆弱拟杆菌感染、土拉伦菌病、军团病、肾综合征出血热和登革热、立克次体病、支原体感染、弓形体病、肺吸虫病、炭疽等。全书包括论著、综述、译文等五十多篇文章，约30万字。

由于时间仓促和水平所限，书中难免有些缺点、错误，望广大读者批评、指正。

刘秉阳

1984年12月1日

# 目 录

## 第一部分 理论与技术

### 抗原抗体

- 抗原抗体反应 ..... 李之桂(1)
- 传染病诊断中I<sub>g</sub>制剂的制备和应用 ..... 李之桂(9)
- 单克隆抗体与免疫诊断 ..... 李之桂(14)
- 抗人全血浆抗体的制备和应用 ..... 陈瑞珍等(26)
- 免疫复合物及其检查法 ..... 李之桂(28)

### 葡萄球菌甲蛋白

- 葡萄球菌蛋白A(SpA)及其在免疫测定等方面的应用 ..... 李之桂(35)
- 葡萄球菌甲蛋白的性质及其应用 ..... 李爱芳(42)
- 葡萄球菌蛋白A(SpA)试剂的制备和应用 ..... 李之桂(46)
- 用SpA提纯人I<sub>g</sub>G及制备抗人I<sub>g</sub>G抗体 ..... 李之桂等(50)

### 感染症与C反应性蛋白

- 感染症与C反应性蛋白 ..... 李之桂等(52)
- C反应性蛋白与疾病的关系 ..... 王长鳌(56)
- 感染症鉴别诊断用抗C反应性蛋白抗体试剂的研制和应用 ..... 曾耀辉等(59)
- 应用卵磷脂试剂玻片法快速检查流脑病人C反应性蛋白 ..... 李之桂等(62)

### 酶联免疫吸附试验 同位素技术

- 酶免疫测定的理论和应用 ..... 李之桂(64)
- 酶联免疫吸附试验技术发展趋势 ..... 侯林浦(71)
- 制备酶结合物方法的机理和评价 ..... 侯林浦(73)
- 抗原斑点试验法简介 ..... 侯林浦(78)
- 固相放射免疫分析法的应用 ..... 陈贤辉(79)

### 免疫诊断新技术

- 关于免疫测定新技术 ..... 李之桂(89)
- 光散射测定法 ..... 李之桂(90)
- 化学生物发光在免疫测定上的应用 ..... 李之桂(92)
- 用于检查小分子半抗原不依赖补体的脂质体介导的免疫反应 ..... 张荣珍(94)

### 其 它

- 神经氨酸酶在免疫学方面的应用 ..... 周学良等(99)
- 血清C<sub>1</sub>q提取及其与人I<sub>g</sub>G的反应性 ..... 袁洽助等(103)
- 菌内毒素血症和鲎试剂在检测毒血症等方面的应用 ..... 李爱芳(107)
- 亲和层析原理和试剂制备 ..... 朱 兰(109)
- 常用缓冲液的配制 ..... 王长鳌(112)

## 第二部分 感染症的免疫诊断

### 鼠 疫

鼠疫血清学诊断 ..... 刘云鹏等(117)

### 布鲁氏菌病

布鲁氏菌病免疫诊断研究进展 ..... 尚德秋等(125)

抗布鲁氏菌免疫球蛋白分析及其检测 ..... 鲁齐发(130)

布鲁氏菌内毒素的检查 ..... 王庆禧等(134)

### 钩端螺旋体病

钩端螺旋体病的免疫诊断 ..... 张荣珍(137)

### 流行性脑脊髓膜炎

流行性脑脊髓膜炎的免疫诊断方法 ..... 胡 真(143)

流脑病人A群抗原早期快速检查方法 ..... 王长鳌等(147)

ELISA快速法应用于检查流脑病人A群抗原的研究 ..... 王长鳌等(149)

应用双抗体夹心ELISA快速法检测流脑病人C反应性蛋白的研究 ..... 李之桂等(152)

### 弯曲菌感染症

弯曲菌感染症 ..... 李之桂(155)

弯曲菌肠炎病人血清抗体的研究 ..... 陆 健(160)

### 大肠杆菌性腹泻

大肠杆菌腹泻的流行病学与诊断方法 ..... 万超群(162)

### 脆弱拟杆菌感染

脆弱拟杆菌的免疫反应和血清学分型 ..... 阎旭初(167)

### 土拉伦菌病

土拉伦菌病免疫学诊断 ..... 贾明和(173)

### 军团病

军团病的免疫学诊断方法简述 ..... 万超群(176)

### 肾综合征出血热和登革热

肾综合征出血热的免疫诊断 ..... 孔令雄(180)

登革热的免疫诊断 ..... 李福琛(185)

### 立克次体病 支原体感染 弓形体病

国外立克次体检验研究的新进展 ..... 汪 民(189)

抗立克次体免疫 ..... 温博海(193)

支原体感染症及其免疫诊断 ..... 李之桂(197)

应用酶联免疫吸附试验检查支原体肺炎病人的血清抗体 ..... 郭章溉等(201)

弓形体病免疫学诊断 ..... 王光明(205)

IHA-SpA 法用于弓形体病的诊断研究 ..... 陈永祥等(210)

### 肺吸虫病 炭疽

PEG浓缩血清-对流免疫电泳诊断肺吸虫病的进一步研究 ..... 王思荣等(212)

炭疽的免疫诊断 ..... 过祥豹(216)

# 抗原抗体反应

中国预防医学中心流行病学微生物学研究所 李之桂

## 抗原抗体反应的基本知识<sup>[1]</sup>

自Berson及Yalow利用抗原抗体反应原理开始用放射免疫测定胰岛素以来,现已广泛地应用于各种物质的测定。标记物质也逐渐增加。但其基本的抗原抗体反应知识则必须充分掌握。

1. 抗原的定义及分类: 抗原乃可能诱导抗体形成的物质, 而且是对抗体进行特异反应的物质。可能形成抗体的性质称为机体内抗原性, 同抗体相反应的性质称为试管内抗原性。从血清学性质将抗原分类如表1所示。以机体内有无抗原性区分为完全及不完全抗原, 不完全抗原又可分成呈可见血清反应的不完全抗原(半抗原)和不完全抗原-蛋白结合物同其抗体产生沉淀反应抑制的不完全抗原, 即简单半抗原。简单半抗原与血清抗体反应乃肉眼不可见的半抗原。大分子半抗原在体外能同对应抗体结合发生可见反应; 小分子半抗原能与对应抗体结合而不出现可见反应。简单半抗原例如酒石酸、苯甲酸等。但是这种分类方案并非很理想, 用同一抗原因免疫动物种属不同而有时成为半抗原, 有时则属于完全抗原, 说明抗原性决不是其物质本身的固有性质。

表 1 抗原分类

	机体内		试管内抗原性	
	抗原性	血清反应	血清反应	抑制反应
完全抗原	有	有	有	有
不完全抗原				
半抗原	无	有(大分子)	有	有
		无(小分子)	无	有
简单半抗原	无	无	无	有

一般来说, 蛋白质具有机体内抗原性, 免疫而致机体产生抗体的能力也高, 常常可以用于免疫测定。然而, 为研究抗原-抗体反应, 则可专门利用人工抗原的简单半抗原, 因为它使人易于理解。

机体内抗原, 一般属于分子量1万以上分子, 但分子量一千的肽, 例如由九个氨基酸残基组成的nanopeptide(九肽)也具有抗原性。化学物质的蛋白质、多糖体或者两者复合体, 以及同其它物质的复合物也可成为抗原。精制的脂质本身单独无抗原性, 而与蛋白质、多糖体结合则显示抗原性。核酸单独亦无抗原性。高分子物质具有许多抗原决定簇, 此种抗原决定簇越近于分子表面, 则越易显示其抗原性。有环状氨基酸、无极性氨基酸等的部位, 易于发挥其抗原性。

2. 抗原抗体结合力的性质: 见图1。

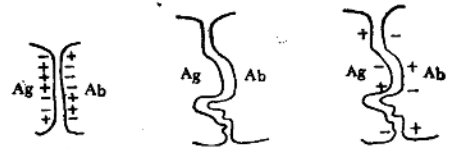


图1 抗原(Ag)抗体(Ab)结合机制

图注: 左. 库伦引力产生的抗原抗体反应, 分子上的电荷正负相辅; 中. 很近距离作用, 可以产生Van der Waals型分散力作用, 抗原抗体各分子得以充分接近的情况; 右. 库伦引力和Van der Waals型分散力组合一起作用的情况。

(据Van Oss等资料: Principles of immunology and ed, Rose NR et al eds, New York Macmillan Publishing co, Inc, 1979, 65~79, 本文稍加修改)。

抗原抗体结合乃与抵触力(energetic)的非共价结合有关, 呈比较弱的结合状态。其结合机理如图1所示。即静电的库伦(电量单位)力同Van der Waals-London型的

数(intrinsic association constant)的值来表示。对于蛋白抗原那样多价抗原,其对应抗体也是多样,单纯以数量表达其反应很困难。实际上以各个抗原决定簇与其相应抗体间的反应称为亲和性,而各个亲和性的平均值则称为avidity,即表现其总的亲和力。据Roitt将亲和性用于指Ig的Fab片段与抗原决定簇之间的反应强度,而指亲和力(avidity)为整个Ig分子与抗原之间反应强度。例如,如果某种抗原同其对应抗体IgG和IgM抗体间的亲和性相同,则其抗原与IgG的亲和力小于同IgM的亲和力。因IgG的抗原结合簇仅有2个,而IgM则有10个。实际计算可用下列公式:

$$\frac{B}{F} = K_a(R_{tot} - LR)$$

B=结合于抗体的抗原浓度

F=未反应的游离抗原浓度

K<sub>a</sub>=结合常数

R<sub>tot</sub>=抗体的总结合能力

LR=结合于抗体的抗原克分子浓度。

7.可溶性多价抗原与抗体间的沉淀反应:实际用于免疫测定的并非不完全抗原,而多是可溶性多价蛋白抗原。多价抗原与抗体的反应系统最终形成不溶性粒子而引起沉淀反应,它是与一价抗原完全不同的反应。

关于沉淀反应的机理:

可溶性多价抗原与抗体间的沉淀反应分两阶段,第一阶段反应与半抗原和抗体的抗原抗体反应同样,即抗原决定基与抗体结合部之间相反应,这种反应在暂短时间内完成。例如:卵清白蛋白与其抗体于0°C条件下,在20秒钟之内即可完全结合。与不完全抗原情况相同,其结合力,分子间非共价结合的分子间结合力,即Van der Waals力、库伦静电引力、氢结合等有关。此第一阶段反应基本不受温度影响。对于形成沉淀最重要的是在反应的第二阶段。从前认为,抗原

抗体结合后抗原物质的电荷降低,抗原抗体复合物之间相互易于结合,或者认为其复合物由于胶体化学条件而非特异地结合成大的沉淀块。然而目前对此第2阶段反应的看法是,抗原-抗体间有特异性,两者间格子形成是引起沉淀的因素。为使抗原-抗体沉淀物形成最大,则需两者的最适比例。抗原过剩或抗体过剩均使沉淀减少。产生沉淀反应的条件有:

①抗体价2价以上,抗原决定簇也需两个以上。

②抗体亲和力较强。

③抗体的亲水性及分子电荷状态影响很大。

抗原分子上在最近距离处存在两个相同抗原性的抗原决定簇,而且与其抗原对应抗体的亲和性还相当强,则既或系多价抗原也不能形成沉淀物。此种条件下的抗体称为非沉淀性抗体。即所谓一对一结合(monogamous binding)。

8.抗原抗体反应的可逆性和不可逆性:

抗原抗体反应一般为可逆反应。也仅仅因为是可逆反应,免疫测定才能考虑做定量测定。确实,做为抗原抗体反应的基本的半抗原-抗体反应系统是一种可逆的,在一定时间后能达到平衡状态。

Danysz在1902年利用白喉毒素-抗毒素(抗体)的实验,提出了抗原抗体反应是不可逆性的反应的报告,即大家熟知的所谓丹尼兹(Danysz)现象(Van Oss等,1979)。即将白喉毒素与抗体同时混合时,毒素完全中和的等量域的量,利用此等量,改变混合方法,将毒素分成三等份,每隔15分钟加到抗体中,则证明混合体中毒素残存量很多。即抗原抗体反应中与抗原结合的抗体分子结合比率因浓度而异,而且其反应是不可逆性的,故而引起这种现象。

为提高免疫测定的敏感度,先将抗体与被检物加在一起孵育,然后加进标记抗原,

进行所谓延迟加入法(delayed addition) (4)。此法有时有效,有时无效。此延迟加入的有效乃由于抗原抗体反应的不可逆性所引起,而且此反应的可逆性或不可逆性取决于分子量大小。如低分子的半抗原则反应是可逆性的,则标记抗原延迟加入法无效;而另一方面,如肽激素等可溶性多价抗原则呈不可逆性,延迟加入法就明确有效。利用抗原抗体反应的可逆性加上标记抗原的竞争原理,开发了免疫测定技术,而且为提高测定敏感度利用不可逆性时延迟加入的效果,是使人感兴趣的现象。

9. 对抗原抗体反应的影响因素: 对于像蛋白抗原那样的可溶性多价抗原,它与抗体间反应分成第一段反应和第二段反应,尤其第二段反应易受各种影响因子的巨大影响。

①pH: 处于高pH及低pH条件下的蛋白抗原,其原有的正或负电荷失掉,同抗体的结合力失去,导致抗原抗体解离。第二段反应沉淀物的形成,因所用抗原抗体而受pH的影响。一般,抗原抗体复合物的等电点相当于抗体IgG的近于中性pH,易于沉淀。但在无盐条件下于pH7.0时不起沉淀反应, pH5.9时有可以沉淀的报告。

②温度: 第一段反应,于4~37°C间,几乎不受温度影响。但是对于像冷凝素等特殊的抗体,则于37°C条件下不起反应。

第二段反应,37°C比低温条件下反应速度更快,而沉淀物则于4°C易于更多产生。抗原抗体反应关系到补体系统时,则37°C可以促进反应。

③盐类: 蛋白抗原-抗体反应系统如无盐类,既或pH为7.0,虽然抗原抗体能结合但不形成沉淀物。反之盐类浓度过高,因离子强度增加,荷电基被破坏而减少静电引力致抗原抗体解离。

④脂质: 从血清中除去脂质,则不发生第二段反应,从而不产生沉淀。这可从马抗血清观察到,但机理未明。

⑤抗原-抗体量的关系: 抗原抗体反应系统中,有种种试验方法,其中以免疫测定用极少量的抗体可能做出定量测定(表2),液相的沉淀反应时最少需要20μg抗体N/ml浓度。沉淀反应中抗原或抗体过剩时,沉淀物形成减少。最终的抗原与抗体浓度既或相同,用可溶性多价抗原时,由于抗原或抗体加入的顺序的不同,产生沉淀物的方式也起变化。Danysz现象即是良好例证,免疫测定中出现延迟加入效果就是这个缘故。

表2 各种抗原抗体反应系统中抗体的最小必需浓度\*(μg抗体N/ml)

液体介质中沉淀	20
胶体中: 单扩散(oudin)	10~100
双扩散(ochterlong)	3~20
放射扩散(Mancini)	3~20
免疫电泳	.50~200
细菌凝集	0.01~0.1
间接血凝	0.5~1
被动血凝	0.001~0.01
溶血	0.001~0.01
补体结合	0.1
毒素中和	0.01
被动皮肤过敏	0.01
噬菌体中和试验	0.001
放射免疫测定	0.001

\* Bach J.F.1982

⑥补体: 结合于抗原的抗体IgG的Fc可以与C<sub>1</sub>q结合,有时由于结合补体妨碍形成大的凝集块。因而血清反应时,原则上应灭活补体,尤其是利用双抗体夹心法时更应注意此点,但在微量免疫测定中有人认为可能没有太大的影响。

10. 抗原的免疫活性及生物活性: 肽激素等具有种种生物活性的物质进行免疫测定时,需要想到其抗原决定基同生物活性基是否做为同一物进行测定。从严格意义上来说,分子上的抗原决定基同生物学活性基常常不同。两者差异较明确的例如促肾上腺皮质激素(adrenocorticotropic hormone (ACTH)),这是良好例证。

ACTH是由39个氨基酸组成的多肽,从



N末端的Serin到第24个氨基酸的多肽 1~24 ACTH部分是各种动物共有的肽结构,是使副肾具有产生类固醇(Steroid)能力的生物学活性部分。然而此部分的免疫学活性很少。ACTH的氨基酸排列的25~33部分,则因动物种类不同而异。以此部分为中心到C末端具有强度免疫活性,特别是22~39的ACTH部分有更强的免疫活性。就是说ACTH肽的生物学活性在N末端一侧,免疫学的活性则存在于C末端一侧。因条件的差异,有时两者完全解离开来。与此相类似有脑下垂体激素中糖蛋白性的激素——LH、FSH、TSH。从胎盘产生的hCG等的肽激素各有 $\alpha$ 、 $\beta$ 亚单位组成,其 $\alpha$ 亚单位基本类似。各个激素特有的生物学活性与免疫学活性一起均存在于 $\beta$ 亚单位,进行特异性的免疫学测定时,应充分注意到除去因 $\alpha$ 亚单位而产生的各激素的交差性,必需创造这样的条件。

免疫测定中利用抗各种Ig的抗体,亦与此相似,常常为了利用其抗体活性而用酶消化去Fc部分,只留下(ab')<sub>2</sub>部分。

### 机体外抗原抗体间相互作用<sup>[5]</sup>

#### 1. 沉淀反应:

①定量沉淀曲线:多价抗原与两价抗体在液体中混合,能结合成三维空间格子(three dimensional lattice),继而聚集和沉淀,其沉淀量随着反应物的比例而变。它们的关系如下:

a. 抗原与抗体处于“当量”(最适)比例时,全部抗原与抗体一同沉淀,在上清里检查不出抗原或抗体。根据沉淀物重量能计算出血清中抗体含量。在最适比例条件下,还可看到沉淀物形成得最快。

b. 在抗体过剩时,抗体和抗原形成的复合物是不溶性的;至少,有多数的家兔抗血清是如此,这样就可能对抗原的结合价进行测定。

c. 抗原过剩时,由于可溶性复合物的形

成,沉淀物趋向溶解。

某些马和人的抗血清,特别是由那些具有很少决定簇的抗原制备的抗血清,它们与上述情况有所不同,即在抗体过剩时也能形成可溶性复合物,其部分原因是形成的复合物小,另外也可能由于马及人的Ig的相对易溶性所致。

②凝胶中沉淀反应:用Ouchterlony的双扩散法,抗原和抗体放入琼脂凝胶中的切口相互扩散,在他们相遇最适比例的地方沉淀成一条不透明的线。含有多种抗原的制剂则产生多条沉淀线。两种抗原间的免疫学关系能以相邻孔形成的沉淀反应来判定;即各个抗原形成的线的完全汇合就说明免疫学的同一性。如有部分相关抗原,则可显示出一个“支线”,如果他们交叉,则表示系不相关抗原。

③单向放射免疫扩散(SRID):当抗原从一个孔扩散到含有适当稀释抗体的琼脂中时,开始浓度相当高,并形成可溶性复合物;当抗原进一步弥散时,其浓度逐渐降低,反应抗原试剂接近于最适比例时,则形成一个沉淀环。抗原的浓度越高则环的直径越大。即把三个已知浓度抗原标准品并入平板中,可划出标准曲线,并用以确定待检样品中抗原量,这个方法可作为临床免疫检查常规,尤其用来确定免疫球蛋白及其某些成分。例如 $\beta_1$ c-球蛋白(补体第三成分),转铁蛋白,C-反应性蛋白及胚胎蛋白,与某些肝脏肿瘤有关的甲胎蛋白。

④免疫电泳:此法原理前已叙述过,这个方法是利用其电泳移动度,来检定抗原的一种有价值的方法,特别是还有其它抗原时。在临床免疫学方面,利用这种技术进行Ig的半定量的测定及骨髓瘤蛋白的检定。

电泳与免疫沉淀相结合的原理已有了巧妙的发展,即在电场中移动使抗原直接趋向与抗体接触。对流电泳可应用于在琼脂中移向阳极的抗原。这种定量方法,比双扩散法

(Ouchterlony)更为敏感,而且这种定量技术已应用于乙型肝炎抗原或抗体的检查,及全身性红斑狼疮抗DNA抗体的检查。火箭电泳是使抗原进入含有抗体的凝胶的电泳定量法。沉淀弧呈火箭样,它的长度与抗原浓度相关。像对流电泳一样,它也是一个快速方法,但是抗原必须在电泳中移向阳极,因此,它适应于如白蛋白、转铁蛋白、雨蛙肽血纤维蛋白溶酶(Caeruloplasmin)等蛋白,但是单向放射免疫扩散用于Ig类的定量更为方便。火箭系统的一种有效的变法,即Laurell的双向免疫电泳法(Two-dimensional immunoelectrophoresis)是对一种混合抗原先行一次电泳分离,然后按垂直方向进行火箭电泳。用这种方法,对一种混合物中的几种抗原可以一并得到定量。一个直接应用例子是本法用来检查活动性全身红斑狼疮病人血清或活动性类风湿关节炎受损害的关节的滑膜液里,补体第三成分(C<sub>3</sub>; β<sub>1c</sub>)变为不活化型β<sub>1a</sub>程度。这不过是举出的两个例子而已。

2.放射活性结合法:通过测定抗血清与具有放射活性的抗原的结合力或者测定结合于一种不溶性抗原制剂的Ig数量,用这些方法确定抗体水平,或许可以断言不可能确定一份已知血清中的抗体绝对浓度。这是因为各血清含有Ig类具有不同的结合亲和性,结合于抗体的抗原量取决于抗体的浓度和亲和性,以及试验方法的性质和敏感性的缘故。即使有附加条件,这种血清抗体含量定量试验仍具有实用价值。

①抗原结合力的测定:考验到的两种方法都是将过剩的放射活性标记抗原加到抗血清中,继而测定同抗体结合成复合物的抗原数量(这就是抗原结合能力)。这可用下述两种方法之一进行测定。

a. Farr氏方法:用50%的硫酸铵沉淀,从游离抗原中将构成复合物的抗原分离出来(仅能用于那些溶于这种盐浓度的抗原)。

b.抗球蛋白协同沉淀法:结合抗体的抗原同其余的Ig一起被抗球蛋白血清所沉淀,于上清液中仅剩下游离的抗原。使用抗不同种类Ig和亚类Ig的抗体做为抗Ig的试剂,来测定抗体活性在各类Ig中的分布。例如加放射活性抗原于人血清中,继之以兔抗人IgA沉淀,将能指出多少抗原已被结合于血清IgA(图2)。

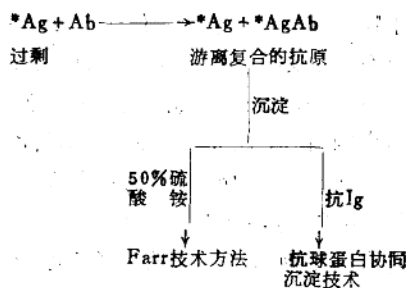


图2 抗原结合能力的测定

图注:加入过剩的放射性抗原(\*Ag)之后,结合于抗体成为复合物的部分,或被硫酸铵(Farr),或被一种抗球蛋白所沉淀(抗球蛋白协同沉淀反应)。

②抗体结合力的测定:血清抗体含量能以其结合抗原的能力来测定,这种抗原是不溶性的。偶联于一种免疫吸附剂,或物理地吸附于塑料管;于是这种结合的Ig就可以用加入一种放射(或酶)标记的、由其它种动物产生的抗Ig来测定。例如,可考虑测定全身性红斑狼疮的DNA自身抗体。当一位病人血清加入于一个复盖有抗原(此例是DNA)的塑料管,则自身抗体将结合于管内,剩余的血清蛋白很容易洗去。这时结合的抗体就能以加入的<sup>125</sup>I-标记的纯化兔抗人IgG来测定;洗去过剩未结合试剂之后,管上的放射性活性,将清楚地指出病人血清的自身抗体含量。用特异抗血清能明显地测定出抗体在不同种类Ig中的分布。用放射变应原吸附试验(RAST),可查过敏病人的IgE抗体。过敏原(例如花粉浸液)是共价地偶联于圆纸片,然后用病人血清处理,于是结合于纸上的特异IgE的量能以加入标记抗IgE进行测定。

③放射免疫测定:放射活性标记的抗原

与一定数量抗体的结合，能部分地被加入的未标记抗原所抑制，并且这种抑制的程度能用于测量加入的未标记物质。原理如图3所示。具体方法是根据从抗原抗体结合物中分离游离抗原所采取的手段而异。有些人用与抗Ig血清形成复合物而发生协同沉淀的办法来分离，另外有些人则是将游离抗原吸附于活性碳等物质上的办法来分离。随着高特异活性标记抗原方法的发展，对浓度低到 $10^{-2}$  g/ml水平的物质还能检出，绝大多数蛋白激素现在已能用此技术方法检查。这些方法有一个缺点，就是不能区别活性蛋白分子和生物学失活，但仍保留着抗原决定簇的片段。其它的应用，包括用于测定IgE的放射免疫吸附试验(RIST)和测定癌胚抗原、乙型肝炎(澳大利亚)抗原及小分子(如甾和吗啡有关)药物(是由联接于一种免疫原载体而产生适当的抗体)。

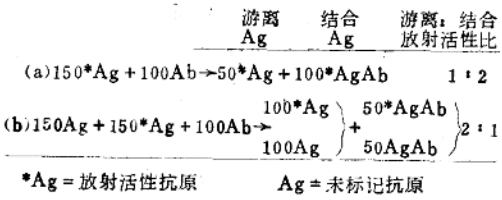


图3 放射免疫测定的原理

图注:

a) 如果我们将150个分子的放射标记抗原 加到100个分子抗体中，则将有50个分子的抗原游离，100个分子与抗体结合，游离与结合的数量比例就是1 : 2;

b) 我们如将150个分子的未标记抗原和150个分子的放射性抗原一同加到抗体中，则抗原总共只有100个分子与之结合，并且因为抗体不能区别抗原的标记与否，所以半数是有放射活性的。剩余的抗原将游离，并且游离的同结合放射活性的比例变成2:1。这个比例将随着加入的未标记抗原量而变化，并能构成一条标准曲线。

3. 免疫荧光法: 荧光染料如荧光黄和蔷薇红能联结于抗体，而抗体特异性不被破坏。Coons指出这种结合物将同存在于组织切片中的抗原相结合，并且用紫外光显微镜通过激发荧光能够看到结合的抗体。用这种方法能够证明整个组织和细胞内的抗原分

布。同时还注意到其它方面，这种方法还能用于检查直接针对抗原的抗体，而这种抗原已知存在于组织或细胞标本里。用于实验的一般有三种方法。

①直接试验法: 该法应用组织基质的抗体同荧光色素结合。例如，假若我们要查明同存在于恶性贫血病人血清中的自身抗体起反应的胃自身抗原在组织中的分布，我们就从病人血清中分离IgG，并用荧光结合，把它放在载有人胃粘膜切片的玻片上，当用紫外显微镜观察时，我们就将能看到膜壁细胞的胞浆有光亮的荧光。

②间接荧光试验法: 将未标记抗体直接应用于组织切片，再以荧光结合抗Ig血清来处理，进行观察。根据上述例子，我们能利用这种试验方法查找出患者血清中是否有胃膜壁细胞的抗体。我们先用患者血清处理胃切片，洗好后再加以荧光标记兔抗人Ig血清，如存在抗体就会有膜壁细胞的着色。

这种技术方法具有某些优点。首先它的荧光比直接法更亮，因为有荧光的抗Ig是结合存在于第一层的各个抗体分子之上。第二，由于制备荧光抗体很费时间，所以当有很多血清需要筛检抗体时，能节省不少时间，因它仅需要制备单一的标记试剂，即抗Ig。而且方法有很大的灵活性。例如，如果使用各个Ig重链的抗血清结合物，则至少能半定量地测定各类Ig及亚类之中的抗体的分布。我们也能用此方法做补体结合试验，即先将抗体加补体的混合物放在组织切片上做为第一层，继而加荧光抗补体试剂做为第二层。如果再加一个第三层就能达到更高的敏感性。现在以抗膜壁细胞抗体做为为一例。胃切片可以按下述程序连续处理: 先加含有抗膜壁细胞抗体的患者血清，然后再加兔抗人IgG,最后加荧光标记的羊抗兔IgG。然而像大多数免疫学技术一样，随着敏感性上升，则特异性也进一步下降，所以设完善的对照是很重要的。

③夹心试验法：这是为查特异抗体的一种双层操作法。例如，如果我们打算看到淋巴组织制片中有多少细胞已在合成抗肺炎球菌多糖体的抗体，我们先用乙醇固定细胞，以防在试验中抗体被洗掉，随后用多糖抗原进行处理。洗后将一种荧光标记的抗多糖抗体加到上面，它就会指示有哪些细胞已特异性地结合了抗原。本试验得名，乃抗原夹心于细胞基质中的抗体和加入的第二层抗体之间。

④其它标记抗体法：代替荧光标记，另外一些工作者已改用酶的方法，诸如用过氧化物酶或磷酸酶偶联于抗体，利用方便的组织化学法、用光学显微镜及电镜进行观察。但铁蛋白-抗体结合物也已被用于抗原的超微结构定位的研究上。抗原的分布可以从它的电子密度和铁骨具有四聚物的特征而很容易地看到。一个有趣的方法，原来是为了在电镜下检查小白鼠的同种抗原，包括先将小白鼠的同种抗体结合于细胞，继之以人工制备的具有对小白鼠和马铁蛋白双重特异性的杂种抗体进行处理。铁蛋白做为最后一层加在上面，这样铁蛋白就可在电镜下观察到。现在对于细胞浆内的抗原的检出还存在一定问题。因为细胞必须受到破坏，才能使标记抗体进入。因此，为了避免细胞结构的形态学变化，固定组织是很必需的。但是固定的程度越大，则抗体通过细胞浆弥散就越困难。因此，这个领域的技术革新是很必要的。

#### 4. 同细胞表面抗原的反应：

①抗体的结合：用标记抗体能检查表面抗原并给以定位。因为抗体除了由细胞吞噬之外是很难进入活细胞的，所以，为使表面上的抗原着色，就要在冷条件下用标记抗体进行处理，在这种条件下细胞内吞作用就可减少到最少。这样的研究已使用荧光、放射碘及过氧化物酶标记的抗体以及前述的间接使用铁蛋白标记的抗体。

②凝集反应：多价蛋白抗原以抗体交联

导致沉淀，而细胞或大粒子被抗表面抗原的抗体所交联导致凝集。几乎所有细胞都持有电荷，一个相当多数量的抗体联结于细胞之间，以克服相互排斥是需要的。这样，仅以少数决定簇的细胞间凝集引起凝集是有困难的。除非利用特殊方法，如用一种抗Ig试剂来处理。同样，与IgG相比高度亲和性的多价IgM抗体是更有效地做为分子与分子间的凝集因子。

凝集反应用于鉴别细菌和红细胞型别，用以检查白细胞、血小板，甚至对某些由于精虫凝集素而引起的男性不孕病的患者，用凝集反应检查精子。由于凝集反应的敏感性和使用方便，本法已被扩展到对可溶性抗原的抗体检定，可溶性抗原被人工地复盖于各型颗粒之上。红细胞是最常用的，先用单宁酸或氯化铬处理血球表面，或直接用双功能交联剂如双重氮联苯胺，然后用蛋白抗原复盖。火鸡红细胞的快速沉淀对此目的是很有利的。此法通常是在塑料凝集盘的孔中进行，在小孔(杯)底部可看到细胞凝集现像。

③调理素(Fc)粘连：由于抗原与IgG抗体相结合，因而增强了对多形核白细胞和吞噬细胞表面上的特异IgG Fc结合部位的粘连能力。如抗体包被细菌成为调理化的，即‘放好桌子’或‘使之易被吞噬’，并粘连于吞噬细胞；随后帮助其吞噬微生物并进而帮助消化。调理粘连及有关的免疫粘连反应，它包括通过补体成分的结合，在预防感染方面是很重要的。这种反应也与淋巴细胞被淋巴细胞血清从循环排除有关，以及红细胞被自身免疫性溶血性贫血的自身抗体的排除有关。抗体包被靶细胞的细胞外杀伤，取决粘连于效应细胞表面的Fc受体。

④刺激：看到一种十分意外的现象，这种现象是抗细胞表面成分的抗体有时并不导致下述的细胞毒反应而引起对细胞的刺激，如果抗体是抗表面受体并当受体与抗体结合而触发时，这种刺激信号就会发生。例如：

a. 小淋巴细胞由抗淋巴细胞血清及抗Ig血清的刺激,于试管内引起转化和有丝分裂。抗Ig血清同细胞表面Ig抗原受体结合,与由活化细胞的抗原所产生的结构变化相似。

b. 人肥大细胞被抗IgE血清所致的脱颗粒。抗IgE引起的变化顺序与特异抗原(如表面结合IgE分子的细胞)相结合时所引起的变化一致。

c. 甲状腺毒症患者血清的自身抗体刺激甲状腺细胞。

d. 抗体可使海胆(Sea-urchin)卵无精生殖分裂。

刺激也可在分子水平上看到,如加入适当的可以使酶结构形态变构的抗体,可引起某些青霉素和半乳糖苷酶变异的酶活性增加。

⑤ 细胞毒性反应:如果针对细胞表面的抗体能固定存在于细胞外液体里统称为补体的某些成分,它可以发生一种细胞毒性反应。历史上, Bordet发现补体的活性,他指出,新鲜兔抗羊红细胞血清对红细胞的溶解活性,加热 $56^{\circ}\text{C}$ ,30分或因陈旧而丧失,但

能在加入新鲜未免疫血清而得到恢复。所以产生溶血,一是需要一种相对热稳定因子——抗体,再加上一个存在于新鲜血清中的热不稳定因子——补体。

5. 补体结合试验(CFT):一定的免疫复合物结合或固定补体成分的能力,用于以一种已知抗原去查抗体,或者反过来用已知抗体去查抗原。为了随后在试验系统中检查补体的消耗,而加入由抗体包被红细胞组成的细胞指示剂。像其它酶系统那样测定补体活性,并根据标准悬液中一定时间内适当包被的羊红细胞的溶解程度来表达其活性。

### 参 考 文 献

1. Nobuyuki A: The Japanese J. of Clinical Pathology. Feb Supplement, 53: 3-17, 1983
2. 石坂公成他,免疫化学(山村雄一、他编),朝仓书店, P733-739, 1973
3. Fudenberg H H et al, eds: Basic & Clinical Immunology, 3rd ed, Lange Medical Publications, 52, 1086
4. Ichihala K et al, Clin. Chim. Acta, 98: 87-101, 1979
5. Ivan M. Roitt: Essential immunology Third Edition Second Printing, P119, 1978

## 传染病诊断中Ig制剂的制备和应用

中国预防医学中心流行病学微生物学研究所 李之桂

各种免疫诊断制剂的研究进展,很多取决于免疫球蛋白(简称Ig)的研究成果。在人类系统发生学、遗传学、人类学等领域中Ig同种异型(Allotype)的研究非常有价值。Ig分类结构的研究进展是近30年来免疫学范畴中,同淋巴细胞一起较为深入广泛的两大方面。它对临床医学的帮助很大。如对单细胞系蛋白血症(Monoclonal Proteinemias)、免疫缺乏综合症(Immunodeficiency syndromes)、免疫学紊乱(Immunological

disorders)等的诊断有极为重要的价值。

Ig研究成果应用于传染病方面的报道很多。多年来某些细菌性、病毒性、钩端螺旋体性传染病的免疫学诊断方法研究亦甚多。其中较为敏感迅速的新技术方法有免疫荧光法、免疫酶测定法及放射免疫测定法等[1,3-3,35]。这些方法对疾病包括对传染病的诊断做出了巨大的贡献。它的核心问题之一是抗原、抗体及抗Ig抗体,后二者均属Ig。由于对Ig生物功能及化学结构的深刻了

## Ig制剂的制备和应用

解,因此,对抗原抗体反应的认识已由过去多从免疫生物学角度去观察过渡到更多地从免疫化学或者结合免疫生物学角度来分析(2.7)。

诊断试剂中,如荧光素、同位素、酶等是标记在抗原、抗体及抗Ig抗体上。抗体是提纯的,免疫用的抗原-Ig也是纯化的。并且是利用骨髓瘤病人血清中均一抗原结构的单克隆蛋白进行免疫而得到各类Ig特异性抗血清。

Ig由重(H)及轻(L)链构成,各自有可变区(V-region)和恒定区(C-region)。而且H-链还分成类及亚类,L-链还分成型及亚型。还有同种异型的差别。可变区则由不同抗体生成细胞产生的各类Ig之间各有不同的氨基酸排列。更确切地说,每类Ig都有成千上万的、在结构上不同的、既相似又有差别的混合物。因此用单克隆蛋白精制的Ig做为免疫原,所得到的抗血清中应包含有:①抗H-链和抗L-链恒定区抗血清(包括H-链的类、亚类的特异抗体,L-链的型及亚型的特异抗体以及同种异型抗体);②对可变区的抗血清(对个体基因型“Idiotype”抗原的抗体);③对H-链及L-链结合而产生的对复杂结构的抗血清(包括对Fab片段、绞链区“hinge region”的抗体等)(8,9)。

为提高各种Ig及抗Ig血清的特异性及敏感性,近年来国外作为商品已有各种Ig的亚成分抗血清。如:兔抗人IgG( $\gamma$ -链特异性)血清,兔抗人IgG(Fab, Fc, Fd片段特异性)血清,兔抗人IgA( $\alpha$ -链特异性)血清,兔抗人IgM( $\mu$ -链特异性)血清,兔抗人Ig(L-链特异性,K“Kappa”或 $\lambda$ “Lambda”)血清等等。还有各种抗动物Ig血清,如羊抗兔、兔抗豚鼠、兔抗马、兔抗小白鼠、兔抗山羊、兔抗狗Ig的血清等。有些也是抗链或抗片段的血清。将各种抗血清制成有荧光、过氧化物酶、铁蛋白等标记的结合物做为商品出售。

1. 利用物理化学特性来提取纯化Ig制剂,为分离血清中含有的各类抗体,一般先以盐析法提取其球蛋白部分,然后利用其分子大小及电荷差别进行组分。为了解持有特定抗体特性的各类抗体,可有沉淀、凝集、血凝等方法测定抗体的活性。如果提取与抗体活性无关的特定类别抗体,则以其免疫异种动物制成的特异抗体与其反应做为手段,边测量边进行组分(10)。

利用凝胶过滤或者密度梯度离心来使 $\gamma$ -球蛋白分成各组分。可分成大分子量19S-IgM和小分子量IgG,以及中等分子量的IgA凝胶过滤材料可用适当能力大小的交联葡聚糖凝胶(Sephadex)琼脂糖(Sepharose)及聚丙烯酰胺凝胶(Polyacrylamidgel),还有蔗糖密度梯度离心法(9,10)。

以电荷差别分离血清或 $\gamma$ -球蛋白,在适宜条件下做电泳,不同种类蛋白其电泳移动度不同。用淀粉、琼脂、凝胶等为支持物可将各种蛋白质分离开来。因各种Ig均包括种种个体基因型,其电荷有差别,所以同类Ig的电泳带不很集中,都有各自的幅度。

使用离子交换层析柱,如DEAE-纤维素(二乙基氨基乙基纤维素)是阴离子交换剂,CMV-纤维素(羧甲基纤维素)是阳离子交换剂,可用做分离各类抗体。

关于抗体分子片段的提取,使用还原剂可将Ig分解成H-链和L-链。如去除还原剂巯基乙醇则两个肽链再度形成-S-S-结合,成为原来IgG和H-链L-链的二量体-H<sub>2</sub>, L<sub>2</sub>, HL等。如果是IgA或IgM,则除L、H链之外还游离出联接L、H链的J链。用木瓜蛋白酶(Papain)加入IgG之中可分成2分子Fab和一分子Fc片段。如将Fab还原则分成Fd片段和L-链,如果用胃蛋白酶(Pepsin)消化IgG,则产生F(ab')<sub>2</sub>片段,而Fc片段消失。将一个分子F(ab')<sub>2</sub>还原,可得到2分

子Fab'(11,12)。

上述这些片段可使用交联葡聚糖凝胶过滤法进行分离。为检定肽链的大小,可通过SDS圆盘电泳(SDS-polyacrylamide gels electrophoresis)法。由木瓜蛋白酶分解产生的Fab及Fc片段,可以再用还原剂及表面活性剂将其分解成肽片段-Fd、L、CH<sub>2</sub>,<sub>3</sub>。能用这些片段来了解同种异型抗原决定簇存在于Ig分子的那部分。在精制成这些片段之后,利用酶使之进一步分解,就可用来研究这些肽链的氨基酸排列。例如用胃蛋白酶作用于Fab'则生成Fv片段。这个片段有吸收个体基因型抗体的能力,所以能了解到有个体基因型抗原的存在。还有,因为它还存在着结合于抗原的能力,证明它是抗体的抗原结合部位(34)。

2. 根据Ig在机体正常或病态下的特点制备Ig制剂:采取骨髓瘤病人血清可提取IgE、IgA、IgM(13)。从一般血清中分离一种Ig较为困难,但从骨髓瘤病人血清分离该病人特定的Ig则较易。这是因为几乎每个骨髓瘤病人的Ig都属于特定种类的个体基因型。使用离子交换层析柱可得到骨髓瘤蛋白的狭窄范围的组分。用它免疫动物制备的抗血清不仅具有抗该类IgH-链的特异性,而且还具有该抗体Fab及F(ab')<sub>2</sub>的特异性。所以为获得纯化的Ig并制备抗血清,可以从人IgA骨髓瘤血清提取抗脂蛋白的IgA抗体。可以从IgG<sub>1</sub>骨髓瘤血清中提取抗链球菌溶血素(Streptolysin)的IgG<sub>1</sub>抗体(14,15)。有时可以从溶血性贫血合并单克隆IgM病例中提取凝集价为10<sup>6</sup>的冷凝集素;其中单克隆蛋白成分占20毫克/毫升(16)。用这些提取的Ig免疫家兔得到的抗血清,再用人全血清吸收,则可得到抗某种Ig的抗体。

人脐带血清中不含有IgM、IgA,所以制备人血清IgG可用脐带血。先用硫酸铵沉淀γ-球蛋白,再以DEAE纤维素过柱,即可得到纯净IgG。

利用产妇初乳中IgA含量高的特点,从初乳中提取S IgA,含量可达10~15毫克/毫升。用脐带血清吸收抗人全血清抗体,并用IgA吸收后可得到抗IgM血清;用抗脐带血清抗体做亲和层析柱吸收人全血清,可得到较纯的IgM。

遗传缺损病人如缺IgG、IgA,用这种病人血清免疫动物制成抗血清,用以吸收正常人血清则可制成IgG或IgA。

3. 利用同Ig的亲性和性关系制备Ig制剂或检查Ig:为获得具有各类特异性的或具有抗体活性的Ig,可用亲和层析法分离Ig或特异抗体。使琼脂糖凝胶(如Sepharose-4B)吸附的抗原或半抗原与相应抗体结合,然后再改用酸性缓冲液,使抗体解离,进而精制或特异抗体,这种抗体再用前述方法分离成较均一的Ig。还可以利用IgG的Fc部分能同葡萄球菌甲蛋白(SpA)相结合的特点分离纯化IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>4</sub>或IgG<sub>8</sub>。也可将Fab和Fc分离开(17,19)。

利用同Ig的亲性和性关系,根据凝聚IgG与补体结合的特性制备加热凝聚IgG用以检查补体(20)。利用凝聚IgG为诊断试剂检查类风湿因子——RF。以人凝聚IgG可查因子I和因子II,用兔凝聚IgG可查出因子I和因子III。利用抗凝聚IgG抗体检查凝聚IgG或抗原抗体复合物(21)。利用抗-抗体(Anti-Ab)来检查抗原抗体复合物,这种抗-抗体不能被RF所抑制。它已被证明只同与抗原结合着的抗体IgG的F(ab')<sub>2</sub>部分结合(22,23),利用Ig与细胞受体间的关系,以细胞如Raji细胞等检查抗原抗体复合物中的Ig(24,25)。RF是一种抗免疫复合物的抗体,是抗凝聚IgG的Fc部分一种IgM抗体,它也可用于检查免疫复合物(IC)(26,27)。

4. 使用Ig制剂或检查Ig时应注意的问题:按应用的目的可研制各种需要的Ig诊断试剂。

①测定人IgG全量,则应以多数个体的

血清合并来精制IgG,以其重链或其Fc片段免疫动物制备抗血清,再以人IgG的L-链及Fab片段来吸收。用这样吸收过的抗Fc特异抗血清来检查人血清中IgG全量,能得到正确的测定结果。它可以排除抗Fab抗体,抗L-链抗体非特异性干扰。

②如测定IgD、IgE及IgA全量则应制备抗IgD、IgE及IgA血清。但由于血清中IgD、IgE及IgA含量较少,不易得到它的Fc片段,所以只好用各类Ig骨髓瘤病人血清单克隆蛋白来精制,再以提纯IgD、IgE及IgA全分子或其Fc片段进行免疫,再加以适当吸收就制成了抗各类Ig的Fc的血清。但应注意,为得到标准曲线,做为竞争抑制剂使用的Ig标准品则必须使用不同个体单克隆蛋白得到的同类分子而结构不同的Ig。用这些Ig制备抗Fc特异性免疫血清。

③检查各类Ig,要用抗H-链特异性血清(抗 $\gamma$ 、抗 $\mu$ 、抗 $\alpha$ 、抗 $\delta$ 、抗 $\epsilon$ 等)。如打算弄清布氏菌病是否新患或近期感染,则应检查血中特异性IgM抗体的含量,风疹病人也需要查IgM抗体。用各类抗Fc血清可以用于检查各类抗体的存在,并可排除Fab部分等的非特异性干扰。

④体外实验中,对同一克隆细胞所产生Ig进行定量时,及用异类Ig对带有相同可变区的不同Ig进行定量之时,反而应该使用抗个体基因型抗体,即由骨髓瘤单克隆蛋白精制出结构均一分子的Ig做为免疫原来免疫动物制成抗血清。

⑤细胞内Ig(H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>)及其中间体Ig(H<sub>2</sub>L、H<sub>2</sub>、HL、L<sub>2</sub>等)的定量则不拘用哪种标准品,其结果也不一致,所以只能以某一种为标准求其相对量。

⑥由特定克隆细胞产生的单一克隆Ig,其成分均一,电泳中可出现锐利的蛋白峰,迄今已证实有IgG、IgA、IgM、IgD、IgE、Bence Jones(本周氏)蛋白、重链、半分子IgG等8种临床上称之为骨髓瘤的疾病<sup>[29,30]</sup>

单克隆蛋白具有各自特有的抗原性,即其个体基因型特异性存在于抗原结合部位,即V<sub>1</sub>、V<sub>h</sub>的超可变区。用它免疫同种或异种动物均能制成抗血清<sup>[28]</sup>。现已证明人及动物的许多单克隆Ig均属于它所对应抗原的抗体。如沙门氏菌,大肠杆菌等的抗体。这是由于肠内细菌变性或老化的机体成分成为抗原,致使机体免疫细胞敏化而发生肿瘤<sup>[15]</sup>。

⑦可以理解,使用某种单克隆Ig免疫动物制备抗血清,并未曾用Fc吸收,故仅能对相应Ig中Fc部位呈免疫反应。因它具有特有的个体基因型,对该种单克隆Ig以外的Ig的F(ab')<sub>2</sub>部位则不发生反应。用这种单克隆Ig的抗血清做为第二抗体,可排除非特异干扰。

⑧为了使得诊断肝癌的抗甲胎蛋白( $\alpha$ -foeto-protein-AFP)致敏的血球敏感度更高,特异性更强,可以将甲胎蛋白抗体IgG降解成F(ab')<sub>2</sub>,用以致敏血球。它可以排除Fc带来的干扰。

⑨用ELISA法查AEP时,为排除待检血清中类风湿因子(RF)带来的干扰,将抗AFP抗体IgG分解成F(ab')<sub>2</sub>,包被聚苯乙烯,做为诊断用品。以避免由于抗体IgG与聚苯乙烯连接而使Fc部分变构,并进而与被检材料中可能存在的RF相结合<sup>[31]</sup>,

ELISA系统中存在的问题之一,就是RF引起的干扰。一般认为RF是与各种被修饰的IgG相反应的一种IgM抗体,在ELISA中以夹心法查AEP抗原时发现RF的干扰。用胃蛋白酶处理之后使用抗体IgG的F(ab')<sub>2</sub>部分做为抗体,则排除了RF的干扰。实际工作中,有人就是使用人 $\gamma$ -球蛋白复盖聚苯乙烯板孔加被检血清,再加抗 $\mu$ -链特异性血清来检查RF<sup>[30]</sup>。

⑩使用放射免疫测定法(RIA)查风疹血清中IgM抗体时也发现有RF的干扰,通过用凝聚人 $\gamma$ -球蛋白将RF吸收去掉的办法可以克服。而且吸收操作不影响真实的风



疹IgM抗体效价,从而取得正确的结果[32]。RF在人群中存在数量不多,但既或是“正常”人也有少数有RF。在一些常见病人中,如慢性支气管炎,某些肝病等均有一定数量的阳性率[33]。只有排除RF干扰才能对所研究结果做出科学的分析。因为在传染病诊断中利用血凝、ELISA及放射免疫法等查抗体或抗原是常见的,所以是值得重视的问题。

上述一些问题,有些虽未以传染病为例,也未指出检查某种疾病,实际上在一些传染病诊断中同样存在。

### 结 语

本文简介了传染病诊断与Ig研究的关系,Ig研究的深入开展促进了传染病等疾病诊断的准确性。谈了Ig制剂提取精制的方法途径及利用同Ig的关系检查Ig。还讨论了使用Ig制剂及检查Ig时应注意的一些问题等。了解Ig的类型,组成的链、片段以及氨基酸组成结构等,尤其对Ig特异性与结构之间关系的了解,对制备更好的传染病诊断用品是非常有利的。

(本文承刘秉阳教授审阅,特此致谢)

### 参 考 文 献

- 1.张金桐等译:免疫诊断方法,136~176页,新疆流病研究所,1977
- 2.水谷昭夫:临床病理,临增28号,63,1976
- 3.濑户淑子他:Solid phase radioimmunoassay Immuno Advance, 3:12-16, 1973
- 4.八仓隆保:RAST (Radio allergosorbent test) Immuno Advance, 5:197-208, 1975
- 5.向岛达:临床トウイルス, 4:38, 1977
- 6.Malvano R: Immunoenzymatic Assay Techniques, P 184-196 Martinus nijhoff publishess, The Hague Boston London, 1980
- 7.Weir DM: Handbook experimental Immunology Vol 1:13, 14, 15, Third edition Reprinted Blackwell scientific publications, Oxford London edinburgh melbourne, 1979

- 8.渡边信一郎:综合临床, 22(8):1580, 1973
- 9.王世中:免疫球蛋白,内部资料,1974
- 10.进藤街二:免疫学アレルギ学实验法,143~209,文光堂,东京,1971
- 11.Onone K et al: J Immunol, 98:303, 1967
- 12.Onone K et al: J Immunol, 100:238, 1968
- 13.Putnam FW et al: J Immunol Chem, 242:2435, 1967.
- 14.Seligman M et al: Nature (London), 220:771, 1968
- 15.坂井俊之助:最新医学, 32(2):551, 1977
- 16.Haimouich J et al: Proc Natl Acad Sci 67:1656, 1970
- 17.臼井美津子:临床检查, 7:703, 1978
- 18.Criep LH et al: Allergy and Clinical Immunology, p 29-37, Grune & Stratton, New York, 1976
- 19.Ceding JW: J Immunol Methods, 26:241, 1978
- 20.稻井真弥:最新医学, 32(3):417, 1977
- 21.横张龙一:最新医学, 33(7):1336, 1978
- 22.Kano K et al: Ted Proc Fed Am Soc exp, 36:1213, 1977
- 23.Kano K et al: Clin Immunol & Immunopath, 9(4):426, 1978
- 24.Theofilopoulus AN et al: J exp Med, 140:877, 1974
- 25.Theofilopoulus AN et al: J Clin Invest, 57:169, 1979
- 26.群柳武雄他:免疫病(最近の进步)新免疫学丛书(8)182~194,医学书院,东京,1979
- 27.Williams CA et al: Methods in Immunology and Immunochemistry, IV 117-121, Academic press New York, 1977
- 28.河合忠:综合临床, 22(8):1629, 1973
- 29.管井进:最新医学, 32(3):543, 1977
- 30.Vejtorp M et al: Scand J Rheumatology, 8:65, 1979
- 31.Malvano R: Immunoenzymatic Assay Techniques, 207-215, Martinus nijhoff publishess, The Hague Boston London, 1980
- 32.Mellrman OH et al: J Clin Path, 31:483, 1978
- 33.中国医学科学院流研所第三室:类风湿因子及其抗原—免疫复合物与慢性气管炎的可能关系,内部资料,1977
- 34.川上正也:免疫应答(细胞カテ分子レベルへ)31-69,讲谈社,东京,1978
- 35.Fritz HB et al: Clin Immunobiology, Vol.3, 1-19, Academic press, New York, 1976

(转载自《中华流行病学杂志》1981年第4期275~278页)