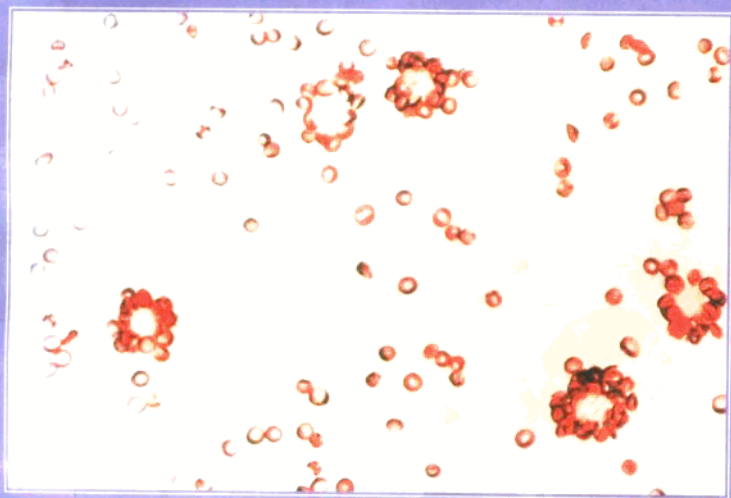


血液免疫学 研究

RESEARCH ON BLOOD IMMUNOLOGY

主编 郭峰 钱宝华 闵碧荷



第二军医大学出版社

序

1996年初,在中国免疫学会常务理事扩大会议上,学会副理事长兼秘书长陈慰峰院士建议在红细胞免疫专业学组的基础上筹组“血液免疫学专业委员会”,并指出“血液免疫学的范围,应包括血液细胞生成、血液细胞在免疫应答中的作用、血液细胞功能异常与免疫性疾患、血液细胞及其产物在免疫学及增强免疫功能中的应用”。

红细胞免疫专业学组经2年多的筹备,在学术上扩大了研究范畴,注重红细胞与其他血细胞免疫功能协同作用及其机制的研究。从细胞水平研究发展到分子、基因水平的纵深研究,丰富了血液免疫学的研究内容,形成了我国血液免疫学的研究特色,为广泛开展血液免疫学的研究打下了基础。

遵照学术交流与促进为先导,后筹组学术团体的思路,在中国免疫学会直接领导下,在长海医院有关领导的大力支持下,红细胞免疫专业学组联合长海医院实验诊断科、血库、血液科承办“首届全国血液免疫学研讨会”。中国免疫学杂志、中华微生物和免疫学杂志、中华血液学杂志、免疫学杂志等编辑部积极支持此项学术活动,刊登征文通知。我们收到的论文与综述已超过100篇。在第二

军医大学出版社协助下,我们将其中质量好的论文、综述按内容系统编辑、公开出版;并且相信该书的出版对促进我国血液免疫学的迅速发展将会起到积极的作用,为临床免疫性疾病的诊治提供新的思路与依据。最后,借《血液免疫学研究》出版之机,我们谨代表红细胞免疫专业组,对所有支持此项工作的广大医学科技工作者表示衷心的感谢。

中国免疫学会基础免疫专业委员会 郭 峰
红 细 胞 免 疫 专 业 学 组 组 长
中国免疫学会秘书处副秘书长 王虹峥

1998年5月18日

前 言

首届全国血液免疫学研讨会,于1998年6月24日至6月29日在黄山市屯溪区举办。现将精选优秀的征文汇编成书。

骨髓造血器官是机体主要的免疫器官,从整体观点研究血循环中各种血液细胞及其产物在免疫反应中的作用是很重要的。血液免疫学是现代免疫学的分支,主要研究血液细胞(包括红细胞、粒细胞、淋巴细胞、单核/巨噬细胞、NK细胞、树突状细胞、血小板等)的生成及其在免疫应答中的作用,血液细胞功能异常与免疫性疾患的关系,以及血液细胞及其产物的免疫作用在临床上的应用。血液免疫学不仅与输血科、血液科有关,而且与临床各科及中医药都有密切的关系。

本书共分:①红细胞免疫研究;②淋巴细胞免疫研究;③血小板免疫研究;④细胞因子及其他免疫研究;⑤输血免疫研究;⑥神经内分泌血液免疫研究共六个部分。基本反映了国内血液免疫学研究概况。本书主要介绍了国内有关研究进展,同时综述了国际上有关前沿性研究成果;特别是红细胞免疫和输血免疫方面的突破性研究成果,如红细胞胞浆内NK细胞增强因子的基因重组及

其性能研究给人以新颖好奇心感。该研究的成果打破了人们认为成熟红细胞是终末细胞的旧观念,更新了人们对红细胞免疫功能的认识。反复输血引起机体复杂的免疫反应及其机制研究,使人们对输血技术改进充满了希望和要求。神经内分泌对血细胞免疫功能调控的研究也令人关注,其成果使人们认识到心理因素在调控血液细胞免疫功能方面的重要性。

国内红细胞免疫研究已进入分子水平,发现癌症患者人群中红细胞CRI基因组密度多态性分布与正常人有明显的不同,这是一大发现。中医药对血液免疫的作用研究也取得了可喜的成果,如在“恐伤肾”中医理论研究中发现金匱肾气丸不仅可纠正NK细胞免疫失平衡性,而且也可使红细胞免疫功能失平衡状态得到纠正。在输血技术研究方面国内也取得了显著进展,如异基因干细胞输注技术的成功应用,给血液肿瘤患者带来了福音。

血液免疫学研究将会得到医学界和社会上广泛重视。在市场经济体制下,新的血液免疫制剂将会不断涌现,新的验证制度也将会得到完善。

本书的出版将能起到促进国内血液免疫学理论与应用研究迅速发展的作用。由于时间紧迫,错误之处,望各位同仁批评指正。

郭 峰 钱宝华 闵碧荷

目 录

第一部分 红细胞免疫学研究

红细胞在免疫反应中的作用和意义	3
红细胞参与细胞因子调控的研究进展	12
红细胞产生的 NKEF 及其生物学作用	19
红细胞免疫功能相关影响因素研究进展	29
✓ 肿瘤患者红细胞和白细胞免疫粘附肿瘤细胞能力 的相关性研究	37
正常人红细胞 CR1 密度相关基因组多态性分布分析	43
正常老年人红细胞 CR1 基因组密度多态性分析	49
红细胞 CR1 基因组密度多态性与红细胞免疫粘附肿瘤 细胞能力之间相关性研究	53
茶多酚对飞行员自由基脂质过氧化物清除的研究	59
当归补血汤对化疗小鼠红细胞粘附功能及 IL-2 免疫调节 作用的影响	65
红细胞 CR1 密度相关基因多态性 PCR-RFLP 方法 的建立及应用	69
利用 FCM 和 FAT 技术测定红细胞膜 CR1 和 C3b 结合率 ...	77
肿瘤患者红细胞 CR1 基因组密度多态性变化	81
不同年龄肝癌患者红细胞 CR1 基因组多态性变化分析	88
老年肿瘤患者红细胞 CR1 基因组密度多态性分析	92
✓ 多发性骨髓瘤患者肿瘤坏死因子和红细胞免疫功能的研究 ...	95
SLE 患者红细胞 CR1 基因组密度多态性分布变化	99
SLE 患者红细胞 CR1 基因组密度多态性对 T 淋巴细胞 免疫功能的影响	103

肝硬化患者红细胞 CR1 基因组密度多态性与 CR1 活性相关性研究	108
乙型肝炎患者红细胞 CR1 基因组密度多态性与 CR1 活性相关性研究	113
无症状乙型肝炎病毒携带者红细胞免疫功能状态研究	118
慢性肝炎患者红细胞免疫粘附功能与 SOD、LPO 相关性研究	123
肾病综合征患者红细胞免疫功能的变化	126
胆囊结石患者手术前后红细胞免疫功能的动态研究	129
不同海拔地区高原红细胞增多症患者红细胞免疫功能测定	134

第二部分 淋巴细胞免疫学研究

CD43 分子的研究现状	141
细胞凋亡与白血病研究进展	153
LAK 细胞培养上清液及其冻融液诱导 Raji 细胞凋亡的实验研究	158
HTLV 感染与 ATL 免疫异常	163
脐带血和成人外周血淋巴细胞亚群对 PDB 刺激反应性差异的研究	168
✓ 流式细胞仪检测脐血 CD34 ⁺ 细胞的影响因素	173
小剂量灭活卡介苗治疗慢性阻塞性肺病时患者细胞免疫功能观察	179
✓ 108 例急性白血病患者免疫学与形态学诊断分型比较	183
噬血细胞综合征免疫表型的分析	187
中药多糖增强淋巴细胞免疫效应及其机制研究	190

第三部分 血小板免疫学研究

乙型肝炎患者的红细胞与血小板免疫粘附功能变化初探	195
--------------------------	-----

大剂量胸腺肽治疗原发性血小板减少性紫癜的临床研究·····	198
益气填精法治疗难治性特发性血小板减少性紫癜 的临床研究·····	202

第四部分 细胞因子及其他免疫学研究

细胞因子在慢性病贫血发病机制中的作用·····	209
哮喘大鼠细胞间粘附分子-1(ICAM-1)表达的变化·····	213
不同造血因子对脐血有核细胞增殖及NK细胞活性 的影响及意义·····	217
rhTPO 对人红白细胞白血病细胞株的作用·····	221
克山病患者血清 IL-6、IL-8 水平测定及其意义·····	225
人血免疫球蛋白治疗血液系统疾病临床观察·····	228
恶性血液病患者血清免疫抑制酸性蛋白的测定·····	230
白血病患者感染时的血清触珠蛋白变化·····	234

第五部分 输血免疫学研究

HLA 不全相合外周血造血干细胞移植成功治疗 急性淋巴细胞白血病 1 例·····	243
输血治疗与免疫调节·····	250
√ 人类白细胞抗原与疾病相关性探讨·····	254
简论红细胞免疫与输血·····	260
√ 造血相关细胞因子与临床输血·····	263
我国 Kidd 血型系统的群体调查与病例报道·····	267
ABO 血型系统抗原减弱 2 例报告·····	273
急性粒细胞白血病血型抗原减弱 1 例报告·····	275
Bm 亚型一例报告·····	278
Bx 型 1 例报告·····	280

输新鲜全血诱发补体型溶血性贫血	
(附急性溶血一例报告).....	283
溶血性贫血的抗球蛋白试验及免疫分型和自身抗体	
鉴定的临床意义.....	286
自身免疫溶血性贫血 12 例实验与临床分析	290
产前抗体水平预报及临床意义.....	294
交叉配血发现天然抗-M 抗体 1 例报告	297
HLA-B ₂₇ 强直性脊柱炎相关抗原检查	
在诊断中的意义.....	302
白细胞抗体检查在临床输血中的应用.....	305
HLA 与儿童郎汉斯巨细胞组织细胞增生症关联的研究	308
输入供者特有骨髓细胞进行同种异体肾移植患者外周血	
CD ₃ ⁺ 、CD ₄ ⁺ 、CD ₈ ⁺ T 细胞观察	313
PCR-SSCP 和异二聚体构象多态性联合分析在异基因	
造血干细胞移植相关供体选择中的应用.....	317
第六部分 神经内分泌血液免疫学研究	
应激对红细胞免疫粘附活性的影响及其机制探讨.....	325
心理性应激与自然杀伤细胞及白细胞介素-2	336
胃癌患者红细胞免疫功能变化与神经内分泌变化	
的相关性研究.....	348
“恐伤肾”对亲子两代小鼠红细胞免疫粘附功能	
影响的研究.....	355
惊恐孕鼠对子代鼠 NKC 和 IL-2 活性的影响	373
糖皮质激素受体及其 mRNA 在淋巴瘤性白血病与淋巴细胞	
白血病鉴别诊断中的意义.....	386

第一部分

红细胞免疫学研究

托福 > 630
GRE > 2100
} $\Rightarrow$ united states of america?

红细胞在免疫反应中的作用和意义

郭 峰

(第二军医大学长海医院免疫室 上海 200433)

摘要 本文系统介绍红细胞 CR1 等多种免疫物质在机体特异性和非特异性免疫反应中的作用机制、影响因素、检测方法及临床应用概况。结论是红细胞免疫系统是机体免疫防御系统中很重要的子系统。

关键词 红细胞; 免疫物质; CR1; 免疫反应

自从 1981 年美国学者提出“红细胞免疫系统”新概念后,国内、外对红细胞的免疫物质研究不断深入,发现红细胞具有 CR1、CD58、CD59、DAF、HRF、PIF、NKEF、SOD 酶、过氧化物酶等多种与免疫有关的物质。红细胞还有 β -内啡肽受体、肾上腺素 β 受体等,它们在神经内分泌的调控下,在体内广泛参与非特异性和特异性免疫反应;在抗感染、抗肿瘤及自身稳定的免疫反应及调控中都具有重要作用^[1]。现将有关研究进展概述如下。

1 红细胞在免疫反应中的作用

1.1 红细胞参与非特异性免疫反应

红细胞通过多种免疫物质多层次地参与机体的非特异性免疫反应。由于红细胞数量大,所以它在非特异性免疫反应中的作用非常重要。

1.1.1 红细胞通过 CR1、CD59、DAF、HRF 参与补体系统活化的调控 红细胞补体受体 I 型(CR1、CD35)是 C3b、C4b 受体,在 I

因子的协助下可将 C3b 降解为 iC3b、C3dg、C3d,而衰变加速因子(DAF、CD55)可抑制 C3 转化酶形成,补体的膜攻击复合物(MAC)抑制物(CD59)和同种限制因子(HRF)有阻止补体介导的细胞损伤作用^[1,2]。以上免疫物质都是补体系统的调节蛋白,对血细胞、上皮细胞有保护作用。

1.1.2 红细胞通过 CR1、EKR 参与调控炎症反应 红细胞通过释放游离的 CR1 可将抗原上的 C3b 降解为 C3d、C3dg,使不同病因受损细胞释放抗原旁路激活补体产生的 C3b 降解而失去致炎性,有阻断继发的组织炎性损伤作用。红细胞膜上的趋化因子受体(EKR)可吸附血循环中游离的 IL-8 等趋化因子,使血循环中的中性粒细胞等吞噬细胞更易向有致病原(如肿瘤细胞、病毒)处趋化,产生炎症反应,可及时清除病灶局部的致病原。红细胞对炎症反应有正负调节作用^[3]。

1.1.3 红细胞通过 CR1 和过氧化物酶等可起效应细胞样作用 有许多抗原(如某些细菌、肿瘤细胞)可旁路激活和粘附补体 C3b,而红细胞 CR1 通过 C3b 粘附这些致病原,红细胞 CR1 粘附处过氧化物酶活化可杀伤致病原^[4]。Siegel 等已证明红细胞 CR1 处粘附的细菌有被杀伤的现象。我们通过电镜观察也发现红细胞粘附处肿瘤细胞膜有断裂现象^[5]。

1.1.4 红细胞通过 CR1、SOD 酶和 PIF 对吞噬功能有正负调节作用 红细胞通过 CR1 将抗原上 C3b 降解为 iC3b、C3dg,从而可加强单核细胞、中性粒细胞通过 CR1、CR2、CR3 对抗原的免疫粘附和吞噬作用^[6],而红细胞 SOD 酶的释放可消除吞噬过程中产生的阴离子对吞噬细胞的氧化作用,增强吞噬细胞的免疫功能^[7]。近来还发现红细胞有小分子量的吞噬功能抑制因子(PIF)可抑制中性粒细胞等吞噬细胞的吞噬功能^[6]。红细胞对吞噬细胞系统起正负调控作用。

1.1.5 红细胞通过 NK 细胞增强因子参与 NK 细胞活性调控 1988 年 Shau 发现,完整的红细胞可明显增强 NK 细胞杀伤活性。

1993 年 Shau^[8]进一步证明红细胞浆内有 NK 细胞增强因子 (NKEF)。1994 年 Shau^[9]克隆 NKEF 基因,并重组产生了 NKEF,该因子具有治疗作用。红细胞对 NK 细胞增殖和杀伤活性起着重要的调节作用。

1.2 红细胞参与 T、B 淋巴细胞免疫反应过程

1.2.1 红细胞通过 CR1、CD58、CD59 和 HRF 调控 T 淋巴细胞免疫功能 红细胞 CR1 可粘附已通过旁路激活和粘附有 C3b 的抗原。携带抗原的红细胞又可通过 CD58、CD59 粘附 T 淋巴细胞 CD2。这种双重粘附机制可增强 T 淋巴细胞干扰素等细胞因子,增强 T 辅助细胞上的 IL-2R 的活性。人红细胞上 HRF 能抑制 C9 相关蛋白(C9RP)介导的人大颗粒淋巴细胞对红细胞的 ADCC 作用,还可能与淋巴细胞杀伤靶细胞时的同种限制性有关^[1]。

1.2.2 红细胞通过 CR1 和 Er 抑制细胞调控 B 淋巴细胞免疫功能 红细胞通过 CR1 降解抗原上的 C3b 为 iC3b、C3dg、C3d,加强 B 淋巴细胞 CR2 对抗原的免疫反应。当 CR1 被多个配体(含有多个 C3b 抗原)交联时可激活 B 淋巴细胞;反之,则产生抑制效应。现已知外周血和淋巴管中还存在一种未成熟的红细胞,其外形类似白细胞,可用单克隆抗体鉴别。这种细胞对 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白起负调节作用,被称为 Er 抑制细胞^[10,11]。

1.2.3 红细胞通过 CR1 携带和清除循环免疫复合物对免疫网络起调节作用 机体免疫系统在细菌、病毒、肿瘤抗原及细胞释放的自身抗原作用后产生抗原抗体补体免疫复合物(IC),可与红细胞 CR1 相结合,将循环免疫复合物(CIC)携带至肝脾网状内皮系统,由吞噬细胞膜上 FC 受体强吸附作用,将红细胞上 IC 卸下吞噬销毁^[1,12]。红细胞在血循环中 I 因子协助下,对粘附 IC 的释放速度可因 IC 中 Ig 独特型的不同而有差别。红细胞对 IgG1、IgA、IgM、IgG 3 型 IC 的释放速度依次减慢。红细胞通过对不同独特型 Ig IC 的释放速度变化,而参与体液免疫调控。

1.2.4 红细胞通过 CD58、CD59 增强 LAK 细胞活性 红细胞通

过 CD58、CD59 还可增强 LAK 细胞的增殖和杀伤活性。1988 年 Yannelli 等观察了红细胞对 LAK 细胞杀伤活性的影响,用⁵¹Cr 释放微量细胞毒法检测了 12 例癌症患者 LAK 细胞对 Daudi 肿瘤细胞的杀伤活性,发现在培养时未除去红细胞者 LAK 细胞杀伤活性比除去红细胞者强 1~3 倍。并证明红细胞是通过 CD58 与淋巴细胞 CD2 粘附而增强 LAK 细胞毒活性^[1]。

1.3 影响红细胞免疫功能的因素

1.3.1 红细胞免疫功能通过 β -内啡肽受体、肾上腺素 β 受体、胰岛素受体接受神经内分泌的调控 国内通过大量研究证明红细胞 CR1 活性高低与神经内分泌有关。 β -内啡肽高浓度对红细胞 CR1 活性起负调控,低浓度对红细胞 CR1 活性起正调控。肾上腺和胰岛素过高对红细胞 CR1 活性起抑制作用^[7]。

1.3.2 血清中存在调节红细胞免疫的因子 Siegel 等^[13]发现血清中存在抑制红细胞免疫因子。这是一种大分子糖蛋白,在 58℃ 持续 30 min 可灭活。我们还发现血清中存在一种耐热的红细胞免疫促进因子,58℃ 30 min 不能灭活。这两种因子对红细胞 CR1 活性起正负调节作用。肿瘤患者中发现血清中抑制因子活性上升而促进因子活性下降,往往是红细胞免疫功能紊乱与低下的重要因素之一。

1.3.3 红细胞免疫和淋巴细胞免疫互为调控 红细胞通过 CR1、CD58 等多种免疫分子参与淋巴细胞免疫功能正负调控。国内研究发现,淋巴细胞也参与红细胞免疫调控^[7],如胸腺素在体内对外对红细胞 CR1 活性都有促进作用。干扰素治疗也可提高红细胞 CR1 免疫功能,其具体机制有待深入研究。

1.3.4 衰老使红细胞免疫功能下降 在同一个人血循环中年轻的红细胞 CR1 活性比衰老的红细胞 CR1 活性强^[13]。老年人的红细胞 CR1 活性明显减弱。我们研究结果证明老年人红细胞免疫粘附肿瘤细胞的能力明显低于年轻人。老年人红细胞 SOD 酶含量和活性也明显下降。

1.3.5 免疫遗传缺陷对红细胞免疫功能的影响 红细胞 CR1 密度相关基因决定了成熟红细胞 CR1 的密度有高、中、低三个类型。红细胞 CR1 密度相关基因有多态性^[15],其结构基因内含子若发生一个点突变为中表达(HL);二个点突变为低表达(LL);没有点突变为高表达(HH)。正常人群中红细胞 CR1 密度相关基因高表达率占 80%以上,低表达只占 3%左右。而肿瘤患者中红细胞 CR1 密度相关基因突变率可达 50%~75%,说明肿瘤患者中有不少人红细胞免疫功能低下,与遗传缺陷密切相关。

1.3.6 疾病对红细胞免疫功能的影响 肿瘤细胞增殖过程中释放抑制物质影响患者造血功能,外周血和淋巴结中出现 Er 抑制细胞^[11]。HIV 病毒感染引起红细胞 CR1 蛋白水解^[11],疟原虫感染对红细胞膜受体的破坏,在自身免疫性疾病中产生抗红细胞膜自身抗体对 CR1 的破坏,以及疾病中新陈代谢的紊乱,红细胞带氧率的变化都会影响红细胞免疫功能的正常发挥。

2 红细胞免疫功能的检测

2.1 红细胞-红细胞花环试验

这是 Siegel 首次提出的方法。利用绵羊红细胞作载体,加上相应抗绵羊红细胞抗体。用新鲜人脐血混合血清作为补体来源。致敏绵羊红细胞,再与人红细胞作用,观察人红细胞粘附绵羊红细胞的百分率,以此来判断人红细胞 CR1 的粘附活性高低。

2.2 红细胞酵母菌花环

这是国内最常用的方法,由作者最早建立使用^[7]。根据酵母菌可旁路激活和粘附补体 C3b 直接与红细胞 CR1 结合而设计。根据目的不同分别设计了测定红细胞 CR1 活性和粘附 IC 含量的两种方法,命名为红细胞 C3b 受体花环和红细胞免疫复合物花环。Siegel 花环法是经典途径激活的原理,而我们建立的花环法是旁路激活补体的原理。用酵母菌代替绵羊红细胞的优点:①结果更易观察,由于人红细胞经染色为红色,而酵母菌为蓝色,改变红细胞-

红细胞花环试验均为红色的不足之处。②此方法不仅可用于人而且可用于动物试验。

2.3 肿瘤红细胞花环法

这是国内最常用于肿瘤患者红细胞免疫功能状态的测定方法^[7],由作者建立。其主要原理是利用各种肿瘤细胞都可旁路激活和粘附补体 C3b 而与红细胞 CR1 结合的特点。目前可根据测定红细胞 CR1 活性、血清中辅助 CR1 活性因子量、红细胞与淋巴细胞或粒细胞共同粘附肿瘤细胞能力高低,测定方法有直向肿瘤红细胞花环、促肿瘤细胞花环,协同肿瘤红细胞花环、肿瘤红细胞淋巴细胞混合花环、肿瘤红细胞粒细胞混合花环。

2.4 其他红细胞 CR1 活性测定方法

由 Siegel 方法和作者方法演变而发展成有 HG 血凝法、酵母多糖血凝法、肿瘤细胞血凝法以及酶联免疫吸附试验(包括 AHG 竞争法和抗 CR1 单抗法)。

2.5 红细胞 CR1 数量测定方法

利用抗 CR1 单克隆抗体标记法。采用荧光标记单抗和抗 CR1 单抗测定红细胞 CR1 数量的流式细胞仪法,也可用同位素标记抗 CR1 单抗测定红细胞 CR1 数量的放射免疫竞争测定法^[7]。

2.6 测定红细胞 CR1 基因缺陷 PCR 和 Hind 酶切技术

根据红细胞 CR1 密度相关基因中结构基因的内含子点突变分析,用特定引物对血细胞 DNA 进行 PCR 扩增加 Hind 点酶切可将红细胞 CR1 密度相关基因分为三种^[15]。PCR 扩增后酶切电泳没有点突变是一条带,这为高表达(HH);有一个点突变,为三条带的杂合子,是中表达(HL);有二个点突变有二条带,是低表达(LL)。这种基因水平的测定技术,长海医院免疫室已从国外引进并建立简易的测定方法,正在逐步推广中。

2.7 有关红细胞免疫调控的测定方法

根据测定目的不同有不同的测定方法^[7]。对血清中红细胞免疫抑制因子和促进因子活性变化可采用红细胞 C3b 受体花环抑