

临床免疫技术

余 瀟 谢少文 杨贵贞 许以平

上海科学技术出版社

责任编辑 蒋维强

临床免疫技术

余 渤 谢少文 杨贵贞 许以平

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 巢湖地区印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 28.5 字数 871,000

1982年2月第1版 1982年2月第1次印刷

印数: 1—19,200

统一书号: 14119·1491 定价: (科四) 2.65元

前 言

免疫学是现代医学的一个重要组成部分,近廿年来的飞跃发展,不仅改变了许多旧的传统观念,而且由于免疫学的知识已渗透到医学科学的各个领域,形成了多种新兴的学科,因而使免疫学的理论和实践均得到了进一步的充实和提高。

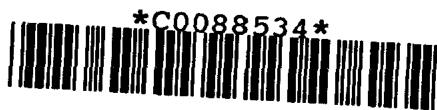
免疫学的飞跃发展,与免疫新技术的应用和推广是分不开的。五十年代以来,由于抗原、抗体的纯化,细胞膜抗原与受体的结构与功能的研究,以及敏感度高的检验技术的应用,对于免疫学的基础理论和临床实践的研究、发展起着十分重要的作用。

因此,目前国内、外对于免疫技术的研究以及推广应用都十分重视,免疫新技术的发展也是日新月异。

为了适应国内的需要,我们总结了近年来实践中的一些体会,参阅了国内外最新的资料,整理成文。本书着重介绍临床免疫技术的应用,并结合具体的技术操作,阐明一些基本原理。由于编者学识水平有限,本书的编著,可能有很多不足之处,恳切希望读者批评、指正。

在编写、校阅、绘图过程中,承蒙罗振辉医师,薛德义、戴舜英、沈耕华等同志大力协助,为本书的编辑,做了细致的工作,在此一并致谢。

余 滨



目 录

第一章 免疫学基础	1
第一节 免疫系统的主要功能	1
(一) 正常的免疫反应	1
(二) 异常的免疫反应	1
第二节 免疫系统的组成	2
(一) 中枢免疫器官	2
(二) 外周免疫组织	3
第三节 非特异性免疫	3
(一) 个体的组织屏障	3
(二) 非特异性细胞免疫	3
(三) 非特异性体液免疫	5
第四节 特异性免疫和抗原	5
(一) 特异性免疫	5
(二) 抗原	6
第五节 免疫活性细胞	7
(一) 免疫活性细胞的来源和分化	7
(二) T淋巴细胞和B淋巴细胞的亚群	7
(三) T淋巴细胞和B淋巴细胞的表面标志	8
(四) T淋巴细胞和B淋巴细胞的免疫功能	9
(五) T淋巴细胞和B淋巴细胞的区别	10
(六) K细胞	10
第六节 淋巴因子和抗体	10
(一) 淋巴因子	10
(二) 抗体	10
第七节 变态反应	15
(一) 变态反应的分型	15
(二) 第I型变态反应(速发型变态反应)	15
(三) 第II型变态反应(细胞毒型变态反应)	16
(四) 第III型变态反应(免疫复合物型变态反应)	16
(五) 第IV型变态反应(迟发型变态反应)	17
第二章 免疫沉淀反应测定血浆和体液中蛋白质	18
第一节 抗原与抗体的反应	18
(一) 抗原抗体反应的原理	18
(二) 抗原抗体反应的特性	19
(三) 抗原抗体结合的影响因素	22
第二节 沉淀反应的特性和种类	22

(一) 絮状沉淀反应	22
(二) 环状沉淀反应——毛细管内沉淀试验	22
(三) 凝胶中沉淀反应	23
第三节 单向免疫扩散试验	23
(一) 单向免疫扩散试验测定血清中 IgG、IgA 和 IgM	23
(二) 单向免疫扩散试验测定血和尿中的转铁蛋白和 IgM, 从蛋白尿的 选择性研究观察肾脏病变	29
第四节 双向免疫扩散试验	32
(一) 双向免疫扩散试验测定血清中甲胎蛋白(α -FG)	33
(二) 双向免疫扩散试验测定血清中乙型肝炎 e 抗原、e 抗体	35
附: 聚丙烯酰胺凝胶颗粒的制备	38
(三) 改良双向免疫扩散试验测定血清中细菌抗体	39
第五节 对流免疫电泳试验	40
(一) 对流免疫电泳的基本概念	40
(二) 对流免疫电泳试验测定血清中甲胎蛋白	42
(三) 对流免疫电泳试验(不连续性)测定血清中乙型肝炎表面抗原(HBsAg)	44
第六节 单向火箭免疫电泳	44
附: 标准曲线的绘制	47
第七节 双向火箭免疫电泳	48
第八节 免疫电泳试验	49
(一) 免疫电泳试验的步骤	50
(二) 微量免疫电泳试验	50
(三) 免疫电泳的分析	52
附: 标本的染色和保存	52
流程图 1. 单向免疫扩散试验	54
第三章 异常免疫球蛋白的研究	57
第一节 醋酸纤维薄膜电泳	57
第二节 光密度计分析	60
第三节 免疫球蛋白定量测定	61
第四节 异常免疫球蛋白的免疫电泳	61
(一) 免疫电泳分析异常免疫球蛋白	61
(二) 免疫电泳的注意点	63
第五节 Sephadex G 200 凝胶过滤	63
第六节 冷球蛋白的测定	66
第七节 尿本周氏蛋白的分析	68
(一) 尿液的浓缩	68
(二) 醋酸纤维薄膜电泳分析尿本周氏蛋白	68
(三) 免疫电泳分析尿本周氏蛋白	69
流程图 2. 醋酸纤维薄膜电泳	70
第四章 凝集和凝集抑制反应	74
第一节 凝集反应的概述	74

(一) 凝集反应的特点	74
(二) 凝集反应的种类	74
(三) 凝集反应常用的测定方法	76
(四) 凝集反应的应用	76
第二节 间接血凝试验	77
(一) 新鲜红细胞间接血凝试验测定青霉素抗体	78
(二) 醛化红细胞间接血凝试验测定血清中类风湿因子	79
附: 醛化红细胞的制备	82
(三) 醛化红细胞间接血凝试验测定抗 DNA 抗体	84
第三节 反相间接血凝试验测定乙型肝炎表面抗原	89
附: HBsAg 抗血清的纯化	92
第四节 胶乳凝集反应	93
流程图 3. 新鲜红细胞间接血凝试验测定青霉素抗体	95
流程图 4. 抗 DNA 抗体的测定	97
流程图 5. 反向间接血凝试验测定乙型肝炎表面抗原	102
流程图 6. 胶乳凝集反应测定血清中类风湿因子	106
第五章 补体和补体结合试验	109
第一节 补体的生理	109
(一) 补体系统的组成及其基本生物学特点	109
(二) 补体系统的激活	111
(三) 补体激活反应的生理性控制机制	116
(四) 补体的生物学作用	116
第二节 补体的病理反应	117
(一) 补体病理性损害作用的动物实验证据	117
(二) 补体损伤性作用在人类疾病中的表现	117
第三节 50%溶血试验(简称 CH ₅₀)测定血清中总补体活性	118
(一) 甲法	118
(二) 乙法	121
附:	
(一) 兔抗绵羊红细胞溶血素的制备	123
(二) 溶血素效价滴定	124
第四节 补体 C ₃ 组分的提取和测定	125
(一) C ₃ 抗血清的制备原理	126
(二) TEAE 纤维素连续及分步洗脱法制备 C ₃ 抗血清	126
(三) 酵母多糖-C ₃ 复合体法制备 C ₃ 抗血清	129
(四) 单向琼脂扩散试验测定 C ₃ 含量	131
第五节 补体结合试验	136
(一) 补体结合试验的原理和方法	136
(二) 小量法补体结合试验	137
(三) 微量法补体结合试验	143
流程图 7. 50%溶血试验测定血清中总补体活性	149
流程图 8. 补体 C ₃ 组分的提取和测定	152

流程图 9. 补体结合试验(小量法).....	156
第六章 免疫荧光技术	161
第一节 免疫荧光的原理和方法.....	161
第二节 抗血清的制备.....	162
第三节 抗体的纯化.....	162
第四节 荧光标记抗体的制备.....	163
(一) 荧光素的选择.....	163
(二) 透析法标记荧光抗体.....	165
(三) 搅拌法标记荧光抗体.....	166
(四) 去除游离色素.....	168
第五节 标记抗体的纯化和特性.....	168
(一) 标记抗体的纯化.....	168
(二) 荧光抗体的特性.....	170
附: F/P 克分子比值的测定.....	170
第六节 免疫荧光染色技术.....	172
(一) 材料的收集和保存.....	172
(二) 玻片和盖玻片的处理.....	173
(三) 标本的制备.....	173
(四) 标本的固定和保存.....	174
(五) 荧光抗体染色法.....	175
(六) 标本的非特异性荧光染色.....	179
第七节 荧光显微镜术.....	181
(一) 荧光显微镜基本结构简介.....	181
(二) 标本观察.....	183
第八节 免疫荧光技术的应用.....	183
(一) 直接荧光法对肾切片的观察.....	183
(二) 间接荧光法测定抗核抗体.....	184
(三) 间接荧光法测定抗平滑肌抗体.....	188
(四) 间接荧光法测定抗线粒体抗体.....	189
(五) 间接荧光法测定抗胃壁细胞抗体.....	190
流程图 10. 免疫荧光技术.....	192
第七章 免疫酶技术	201
第一节 酶联免疫吸附试验(简称 ELISA) 概述.....	201
(一) ELISA 的原理.....	201
(二) ELISA 的种类.....	201
第二节 酶标记物的制备.....	203
(一) 抗体的选择.....	203
(二) 酶的选择.....	203
(三) 结合剂的选择和结合法.....	204
(四) 戊二醛标记“一步法”.....	205
(五) 戊二醛标记“二步法”.....	206

(六) 过碘酸盐氧化结合法	206
(七) 结合物的纯化和保存	207
第三节 ELISA 实验条件的选择	208
(一) 固相载体的选择	208
(二) 酶结合物浓度的选择	208
(三) 抗原的选择	209
(四) 标本的处理	209
(五) 底物的选择	209
(六) 终点测定	210
第四节 ELISA 的应用	210
(一) ELISA 测定抗原	210
(二) ELISA 测定抗体	211
(三) ELISA 间接法测定抗体(微量法)	211
(四) ELISA 间接法测定抗体(试管法)	212
第五节 免疫过氧化物酶法	214
(一) 免疫过氧化物酶法的原理	214
(二) 免疫过氧化物酶法的分类	214
第六节 免疫过氧化物酶法的应用	215
(一) 间接过氧化物酶结合法测定抗核抗体	215
(二) 抗过氧化物酶的抗体法测定肾组织的沉淀性抗体	216
流程图 11. 戊二醛标记法	219
流程图 12. ELISA 间接法测定抗体(微量法)	224
第八章 放射免疫技术	227
第一节 放射免疫的原理	227
第二节 放射免疫测定技术	229
(一) 放射免疫测定的抗原制备	229
(二) 放射免疫测定的抗体制备	230
(三) 抗原或抗体的标记	232
(四) 分离 B、F 的方法	236
(五) 放射免疫分析法的评价	237
第三节 放射免疫技术的应用	238
(一) 人血清免疫球蛋白 E(IgE)的测定	238
(二) 系统性红斑狼疮(SLE)患者血清中抗双链 DNA 抗体的测定	240
第九章 循环中免疫复合物的测定	243
第一节 循环中免疫复合物的概述	243
(一) 循环中免疫复合物的特性	243
(二) 测定循环中免疫复合物的方法分类	244
第二节 免疫复合物试验的标准化	245
第三节 应用 C_{1q} 测定血清中免疫复合物	246
(一) C_{1q} 的制备	248
(二) C_{1q} 沉淀试验	247

(三) 同位素碘标记 C_{1q} 的放射免疫试验	248
第四节 抗补体试验测定血清中免疫复合物	250
(一) 试管法抗补体试验	250
附: 豚鼠补体的滴定	252
(二) 微量板法抗补体试验	252
第五节 类风湿因子沉淀试验测定血清中免疫复合物	255
(一) 类风湿因子的制备	255
(二) 类风湿因子沉淀试验	256
第六节 血小板聚集试验测定血清中免疫复合物	257
(一) 血小板的制备	257
(二) 血小板聚集试验	258
第七节 Raji 细胞的放射免疫试验测定血清中免疫复合物	259
附: 标准曲线的绘制	260
流程图 13. 应用 C_{1q} 测定血清中免疫复合物	263
流程图 14. 抗补体试验测定血清中免疫复合物(试管法)	269
第十章 组织相容性抗原(HLA)分型	272
第一节 HLA 的概述	272
(一) HLA 的性质及检出情况	272
(二) HLA 的分布	273
(三) HLA 的结构	274
(四) HLA 的检测方法	274
第二节 HLA 血清学测定——微量淋巴细胞毒试验	277
(一) HLA-A、B、C 抗原测定	277
(二) HLA-DR 抗原测定	281
第三节 HLA 细胞学测定——半微量混合淋巴细胞培养试验	283
第四节 HLA 分型的临床应用	287
(一) 选择器官移植的供受体	287
(二) HLA 分型与疾病的关联	289
(三) HLA 分型在人类进化及法医中的意义	291
(四) HLA 抗体与输血的关系	291
流程图 15. 微量细胞毒试验(HLA)	292
流程图 16. 半微量混合淋巴细胞培养试验	294
第十一章 淋巴细胞功能试验	297
第一节 T 淋巴细胞功能体内测定法——迟发型皮肤变态反应试验	297
(一) 传染性皮肤变态反应	298
(二) 二硝基氯苯(DNCB)皮肤试验	299
(三) 植物血凝素(PHA)皮肤试验	301
第二节 T 淋巴细胞E花环形成试验	302
(一) 全量法E花环形成试验	303
(二) 全量法活性花环形成试验	306
(三) 微量法E花环和活性花环形成试验	308

第三节 淋巴细胞转化试验	309
(一) 外周血分离淋巴细胞培养法	310
(二) 微量全血培养法	314
(三) ^3H -胸腺嘧啶核苷掺入试验	314
附: PHA 的提纯和效价测定	317
附: pH标准管的配置	317
第四节 移动抑制试验	318
(一) 毛细管法移动抑制试验	319
(二) 定量滴注法白细胞移动抑制试验	323
第五节 B淋巴细胞花环形成试验	326
(一) B淋巴细胞-鸡 EAC 花环形成试验	326
(二) B淋巴细胞-鸡 EA 花环形成试验	328
(三) E、EA、EAC 的联合操作试验	328
第六节 溶血空斑试验	329
(一) 琼脂溶血空斑试验	330
附: Gey's 溶液配制	332
(二) 液相单层玻片溶血空斑试验	332
流程图 17. T 淋巴细胞 E 花环形成试验	334
流程图 18. 淋巴细胞转化试验	341
流程图 19. ^3H -胸腺嘧啶核苷掺入试验	346
流程图 20. 巨噬细胞移动抑制试验	348
流程图 21. 定量滴注法白细胞移动抑制试验	353
流程图 22. B 淋巴细胞-鸡 EAC 花环形成试验	355
流程图 23. 琼脂溶血空斑试验	365
第十二章 吞噬细胞的功能测定	371
第一节 吞噬细胞的概述	371
(一) 吞噬细胞的种类和分布	371
(二) 吞噬和杀菌作用的过程	371
(三) 吞噬作用的后果	372
第二节 巨噬细胞吞噬功能检查法	372
第三节 硝基蓝四氮唑还原试验(简称 NBT 试验)	374
(一) 试管法 NBT 试验	374
(二) 毛细玻璃管法(微量法) NBT 试验	375
(三) 内毒素激发 NBT 试验	376
第四节 中性白细胞体外吞噬试验	377
流程图 24. 巨噬细胞吞噬功能检查法	380
流程图 25. 硝基蓝四氮唑还原试验(简称 NBT 试验)	381
流程图 26. 中性白细胞体外吞噬试验	385
第十三章 溶菌酶测定法	388
第一节 光学测定法	388
第二节 琼脂平板打孔测定法	389

流程图 27. 溶菌酶测定法	391
第十四章 临床免疫的标准化和质量控制	395
第一节 临床免疫技术的标准化	395
(一) 生物物质标准品和参考制品的制备和特点	395
(二) 几种常用标准品的标准化	397
第二节 临床免疫技术的质量控制	400
第十五章 蛋白质纯化、鉴定、定量测定和抗血清的制备	404
第一节 蛋白质的纯化	404
(一) 盐析法纯化蛋白质抗原	404
(二) 盐析法纯化心肌的肌红蛋白	406
第二节 凝胶过滤法	406
(一) 凝胶过滤法的基本原理	407
(二) 常用凝胶的种类和性质	407
(三) 凝胶过滤法的使用	410
第三节 离子交换层析法	413
(一) 离子交换层析法的基本原理	414
(二) 常用离子交换剂的种类和性质	415
(三) 离子交换层析法的使用	416
第四节 免疫吸附剂	419
(一) 免疫吸附剂的原理	420
(二) 免疫吸附剂的种类	420
(三) 载体与蛋白联结方式	421
(四) 免疫吸附剂的优缺点	421
(五) 应用活化的 Sepharose 4B 纯化抗 IgG 抗体	422
(六) 戊二醛交联法纯化 α_2M	424
第五节 聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定蛋白质抗原	425
(一) 聚丙烯酰胺凝胶电泳概述	426
(二) 盘状聚丙烯酰胺凝胶电泳	429
第六节 蛋白质含量的测定	434
(一) 蛋白质含量测定的分类	434
(二) 紫外吸收法定量蛋白质	434
(三) 双缩脲法定量蛋白质	435
(四) 福林-酚法定量蛋白质	437
第七节 抗血清的制备	437
(一) 抗原的制备和动物的选择	437
(二) 抗原的注射途径和剂量	437
(三) 佐剂的作用原理和种类	438
(四) 免疫动物的方法	438
(五) 动物放血法	440

第一章 免疫学基础

余 溃

免疫学是人类与疾病作斗争中发展起来的重要学科,过去在一个相当长的时期内,认为免疫就是抗感染,免疫一定对人有利,免疫的研究也侧重于抗传染免疫。近十年来免疫学研究的进展非常迅速,不但改变了许多旧的传统观念,而且免疫学的知识已渗透到各个不同的学科中,形成了多种新兴学科,如免疫生化学、免疫病理学、免疫遗传学、肿瘤免疫学、移植免疫学和临床免疫学等,并充实和更新了临床各学科有关的免疫理论和技术,阐明了不少疾病的发病原因。

第一节 免疫系统的主要功能

免疫是机体的一种保护性反应,其作用是识别和消除“异物”,以维护机体内部的平衡和稳定。其结果在正常情况下是有利的,但对少数反应特殊的人可能是有害的。

免疫系统的主要功能有三种,防御、自身稳定和免疫监视(见表1)。在一般情况下可表现为正常的免疫反应,而在某些特殊的情况下可表现为异常的免疫反应,引起免疫性疾病及损害。

表1 正常与异常的免疫反应

功 能	正常反应(功能正常)	异常反应(功能失常)	
		反应过高	反应过低
防御功能(抗传染免疫)	抗各种感染	变态反应	免疫缺陷病
自身稳定功能	消除衰老或损伤的细胞	自身免疫性疾病	—
免疫监视作用	消除癌变细胞	—	肿 瘤

(一) 正常的免疫反应

1. 免疫防御功能: 即防御各种微生物侵袭的功能,消灭和清除侵入机体的各种微生物等病原体。

2. 自身稳定功能: 即保证机体正常的组织和细胞代谢活动的功能。清除衰老和破坏的细胞,去除代谢和损伤所产生的废物,使机体内部的细胞保持均一性。

3. 免疫监视功能: 机体内由于突变或病毒、理化因素的作用,经常会产生非正常型的突变细胞,免疫监视功能主要是发现和处理这种突变的细胞。

(二) 异常的免疫反应

1. 抗传染功能的异常：表现为机体对于入侵的病原微生物或其它物质发生强烈的反应，造成机体的损害，这就是所谓的变态反应。相反当机体呈反应低下或缺乏时，可造成病原微生物反复感染，这就是免疫缺陷病。

2. 自身稳定功能的异常：机体在消除衰老、破坏细胞等过程中的功能失调，可导致自身免疫性疾病的发生。

3. 免疫监视作用的异常：若机体发现和消除突变细胞的正常免疫功能失调，则可导致突变细胞的异常增生，目前认为这是肿瘤发生的主要原因。

第二节 免疫系统的组成

人的免疫系统是随着种系进化过程逐渐发展起来的，无脊椎动物只有固定的或游走的吞噬细胞，到软骨鱼，有了胸腺才有淋巴细胞的特异性细胞免疫反应，可排斥异体组织的移植；到了爬行类，才开始出现特异性抗体（见图1）。

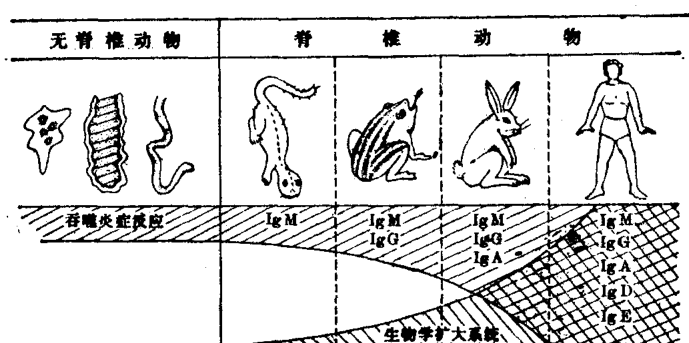


图1 免疫系统种系进化过程图

从人及哺乳动物的个体发生过程来看，个体免疫的发生过程，也是先有细胞免疫而后产生抗体。人在胚胎八周即开始出现吞噬细胞与淋巴细胞，直到二十周，当细胞免疫发育成熟后，才出现免疫球蛋白M，正好是系统发生的重演。

（一）中枢免疫器官

1. 骨髓：骨髓中的多能干细胞，具有很大的分化潜力，能分化为原血细胞或淋巴干细胞，前者发育形成红细胞系，粒细胞系和巨核细胞系统的细胞，后者发育成为淋巴细胞。骨髓产生的淋巴细胞尚不具有免疫能力，当它们分别迁移到胸腺和腔上囊或腔上囊类似组织，在那里受到诱导后，才进化成有免疫能力的免疫活性细胞（Immunocompetent cell），然后再由此迁移到外周淋巴组织。近年来，有人认为骨髓可能也是人和哺乳动物B淋巴细胞成熟的场所。

2. 胸腺：胸腺位于胸腔纵隔上部，胸骨后方。胸腺在胚胎期及出生后2岁内生长很快，体积较大，2岁后到青春期仍继续发育，但青春期后开始萎缩，逐渐由脂肪组织所代替。

胸腺在机体免疫功能的建立上占有重要地位。目前认为在个体发育早期，骨髓内有部分淋巴细胞迁移到胸腺内，在胸腺素影响下，大量繁殖分化构成具有免疫活性功能的T细胞，再经血流输送到淋巴结和脾等外周淋巴器官，在这些器官内定居并继续繁殖。初生期去胸腺的动物，机体细胞免疫能力很差，每因感染而死亡。

3. 腔上囊：也叫法氏囊，是鸟类中位于泄殖腔上方的一个囊状物，囊内充满着淋巴组织，其中的淋巴细胞不断受到腔上囊内分泌的激素影响，而成为B淋巴细胞。若出生后即摘除，则体液抗体的形成将受到影响，而细胞免疫功能仍正常。在哺乳动物或人体内尚未发现与之相同的组织，一般认为人的骨髓可能具有类似腔上囊的作用。

(二) 外周免疫组织

1. 淋巴结：淋巴结表面有被膜。分两个主要部分，外部为皮质，内部为髓质。皮质中有大量淋巴细胞组成的淋巴小结，小结的中心为生发中心，其中有分裂活跃的B淋巴细胞。被膜下为皮质浅区，主要是B淋巴细胞聚集之处。深皮质区(或称副皮质区)范围较广，系指小结与小结间以及由小结到皮质边缘间一片弥散的淋巴细胞区域，此区主要是T淋巴细胞聚集区。髓质中有能合成抗体的浆细胞，属B淋巴细胞聚集区。

2. 脾：是体内最大的、也是滤过血液主要的淋巴组织。脾表面有被膜，内部是质软而脆的脾髓，分白髓和红髓。白髓由致密的淋巴组织构成，呈球形或粗索状。球形的白髓称脾小体，其中可有生发中心，是B淋巴细胞的聚集区，纵行于白髓内的小动脉称为中央动脉，其周围是T淋巴细胞聚集区。在红髓的髓索中，亦充满着B淋巴细胞。

有人切除猴的脾脏来研究脾的免疫功能，证明在成年猴中，去脾后大大减少凝集抗体，且不形成补体结合抗体，相反地对于细胞免疫的影响不大。

在人类，脾脏的特殊功能表现在婴儿产生IgM的能力。IgM的杀菌作用比IgG高250倍，到出生后一岁左右，全身淋巴结也具备这种功能，脾在免疫上的作用就不那样重要了。再则，脾的巨噬细胞的吞噬作用活跃，比肝内巨噬细胞的吞噬能力还强，这在应用同位素标记的细菌实验中，已经反复证明了。

第三节 非特异性免疫

非特异性免疫是机体整体对多种抗原物质的生理性排斥反应。这种功能是在生物进化中获得的，一般比较稳定，可传给下一代。当再次遇到同一抗原时，一般并不增加或减低。在抗感染过程中，非特异性免疫发挥作用快，牵涉范围广，起第一道防线的作用。随着特异性免疫的形成，非特异性免疫可协同配合发挥作用。在非抗感染性免疫中(如肿瘤免疫、变态反应等)，非特异性免疫的某些因素(如巨噬细胞、补体)也起相当重要的作用。

(一) 个体的组织屏障 皮肤、粘膜、淋巴系统、血脑屏障、胎盘等。

人与外界接触的表面，被一层完整的皮肤及粘膜所包围。还有一套分泌系统象汗腺、唾液、泪液、胃酸、肠液等，都有一定的杀菌作用，也具有保护机体的能力。

当病原微生物通过皮肤或粘膜而进入人体组织后，又遇到了第二道防线，即淋巴结系统及单核吞噬细胞系统，这些系统中的细胞具有吞噬微生物的能力，并可阻拦及消灭大多数病原菌。体内还有各种阻碍微生物侵入到各种脏器的屏障，如血脑之间的屏障，母体和胎儿之间的屏障，很多微生物是通不过的，因而亦具保护作用。

(二) 非特异性细胞免疫 游走的与固定的吞噬细胞，如中性白细胞与单核吞噬细胞及其分化的巨噬细胞。游走的吞噬细胞，经常不断地将血液及组织液内对机体有害的物质清除，并可以集中到异物入侵部位，进行吞噬，引起炎症反应。

嗜中性白细胞在骨髓中成熟时已有较多溶酶体颗粒。现根据这些颗粒的形成顺序，内所

含酶作用的酸碱度(pH)范围不同,可分为两类。一类称原始颗粒(Primary granules),其中含有各种典型的溶酶体酶, pH 作用范围属酸性,髓过氧化物酶(Myeloperoxidase)亦存在于这类颗粒中。另一类称次发颗粒(Secondary granules),含有碱性磷酸酶及大部分乳铁蛋白,这些颗粒是在细胞成熟的后期形成的。巨噬细胞自骨髓释放到周围血中则为单核细胞,进入组织后,可以粘附于血管边缘。巨噬细胞的溶酶体是在吞噬和对胞内菌杀死过程中形成的,与嗜中性白细胞不同。

在急性炎症时,骨髓形成单核细胞的反应能力可增加60%,且新形成的单核细胞到周围血液中,比平时要快1.5倍。这些巨噬细胞与病原体作用后或可被淋巴管或血流带走,或可在局部病灶中死亡。慢性炎症时,组织浸润的巨噬细胞不断来自血流中的单核细胞,它们以后被血流带走,或形成类上皮细胞,并融合成多核巨噬细胞。

吞噬细胞可受多种因子激活,如胶体、性激素、小剂量内毒素、某些细菌的蛋白成分、炎性渗出物及移植片等。被激活的吞噬细胞,形态与功能均有变化。被激活的嗜中性白细胞表现为嗜中性颗粒减少,而被激活的巨噬细胞表现为细胞膜电位差改变,细胞突起伸展趋势增加,胞内含有更多的线粒体和溶酶体,溶酶体可逐渐由细胞边缘向中心移动,形成消化异物的空泡。

吞噬细胞的杀菌、抑菌物质有:

1. 髓过氧化物酶系统(MPO系统):是一组过氧化物酶系统,存在于嗜中性白细胞和大单核细胞的嗜苯胺颗粒中。这些颗粒同时也含有酸性水解酶。提纯的MPO若与过氧化氢和辅助因子,如卤族元素(氯化物等)同时存在,则有强烈的杀灭细菌、真菌、病毒和支原体的作用。在人体内细胞吞噬过程中可形成过氧化氢,胞内也有大量氯化物,MPO得以发挥作用。因此,MPO系统是白细胞中杀菌的一个主要部分。但除MPO系统外,过氧化氢本身也有杀微生物作用。

2. 乳酸:嗜中性白细胞、巨噬细胞中均存在。在吞噬过程中,由于利用糖酵解获得能量,乳酸量增加,使pH降低。实验证明,吞噬空泡中的pH较胞浆中其他部位低。pH降低对某些微生物如肺炎球菌有杀菌作用,而对另一些微生物有抑菌作用。乳酸形成的酸性环境有利于其他杀微生物系统的活跃,如MPO和吞噬细胞杀菌素系统均要在偏酸条件下起作用。溶酶体颗粒的消化作用也以酸性条件为宜。在巨噬细胞中,乳酸的杀菌作用占主要地位。

3. 溶菌酶:是一种碱性蛋白,可与嗜中性颗粒融合,裂解而释放到吞噬空泡中。但多数非致病菌并不能被溶菌酶所裂解,除非预先已受抗体加补体或枸橼酸加过氧化氢以及络合剂等因子的作用。因此在白细胞内可能与其他抗菌物质协同作用。溶菌酶可能主要起的是消化作用,而不是杀微生物作用。

4. 吞噬细胞杀菌素:是一种球蛋白,对革兰氏阴性杆菌作用强,对葡萄球菌也有作用,在家兔吞噬细胞中多见,在人仅存在于嗜中性白细胞内,其作用较弱。

5. 乳铁蛋白:主要延缓某些微生物在吞噬空泡中的生长繁殖。

吞噬后的微生物不都被杀死,有的甚至在细胞内继续增殖而引起不良后果。除伤寒杆菌、结核杆菌、布氏杆菌等细菌外,不少病毒(痘类、麻疹、灰髓炎等)也可在嗜中性白细胞或巨噬细胞内存活或增殖,这些吞噬细胞被认为是病毒的携带者。有些病毒小体如被特异抗体作用后,可被局限于吞噬细胞的溶酶体内,病毒核酸和蛋白则很快可被水解。有人曾在对

病毒易感性不同的纯种小白鼠中进行研究,发现在对病毒敏感的小白鼠吞噬细胞中,病毒可以增殖,而在不易感小白鼠的巨噬细胞中,病毒不能增殖。因此,巨噬细胞的易感性在一定程度上可反映动物整体的易感性。

另外,吞噬细胞在吞噬过程中,有时不仅不能消灭病原体,反而可将溶酶体中的各种酶释放出来,造成组织细胞损伤,形成免疫病理反应。

(三) 非特异性体液免疫

1. 补体:是一组存在于人和动物血清中的具有酶活性的球蛋白成分,不耐热,加热 56°C ,经30分钟即被灭活。补体具有杀菌作用,并参与多种抗原抗体反应导致细菌、红细胞等溶解,此种作用不具特异性,即能与任何抗原抗体复合物结合而发生反应。补体系统由9个血清蛋白成分组成,按其发现的先后次序,分别命名为 $\text{C}_1, \text{C}_2, \text{C}_3, \text{C}_4, \text{C}_5, \text{C}_6, \text{C}_7, \text{C}_8, \text{C}_9$ 。其中 C_1 又由3个亚单位即 $\text{C}_{1q}, \text{C}_{1r}, \text{C}_{1s}$ 所组成。补体各成分均为大分子物质,除 C_{1q} 外,皆以不活动形式存在于血清中。补体系统的反应,有 C_1 激活系统与 C_3 激活系统两种途径。

补体的作用:补体参与多种免疫反应,具有杀菌灭毒保卫机体的作用。在变态反应与自身免疫性疾病中,补体也参与组织损伤与炎症反应。补体的11种蛋白质共占血清蛋白总量约10%左右,在有些疾病中补体含量可有较大变动。

2. 干扰素:是一种蛋白质,由活的或灭活的病毒作用于易感细胞后所产生的抗病毒物质。除病毒外,其它微生物如细菌、立克次氏体、真菌提出物、原虫、植物血凝素和某些人工合成的多聚核苷酸,都能诱发干扰素。这些能诱导机体产生干扰素的物质,统称为干扰素诱导剂,有关干扰素的物理、化学、生物学特性见表2。

表2 干扰素的理化等特性

物 理 特 性	化 学 特 性	生 物 学 特 性
1. 不能透析 2. 对热相对稳定 3. $\text{pH}2\sim11$ 稳定 4. $100,000\text{g}$ 离心不沉淀 5. 对紫外线不敏感 6. 乙醚、氯仿可灭活 7. 容易吸附到玻璃、淀粉醋酸纤维膜、琼脂和纸上	1. 含碳水化合物的蛋白质 2. 非球蛋白 3. 对蛋白分解酶敏感,对肽酶、脂酶、核酸酶不敏感 4. 分子量2万~10万	1. 有种特异性(但非绝对) 2. 作用范围广,无特异性 3. 对细胞无毒性 4. 抗原性弱 5. 通过细胞起作用 6. 不凝集动物红细胞

干扰素与特异性抗体的主要区别,在于干扰素不具特异性。其次是干扰素有种属特异性,即一种动物产生的干扰素仅对本种属动物细胞有保护作用。

第四节 特异性免疫和抗原

(一) 特异性免疫 特异性免疫是在进化过程中所获得的,是一个进化的精炼。其特点为①是个体在生活过程中与某种抗原异物接触后产生;②具有特异性,即受某一种抗原刺激后所产生的免疫力,只针对同种抗原,对其它抗原则不起作用;③它不能遗传给下一代。

特异性免疫包括特异的体液免疫和细胞免疫两大类,它们相互协调,发挥巨大的免疫作用。构成这两类免疫反应的先决条件是机体需事先与抗原异物接触,辨认它是异物,与之起

作用而作出反应；当异物再次进入机体即产生第二次反应，因此它包括以下 3 个反应阶段（见图 2）。

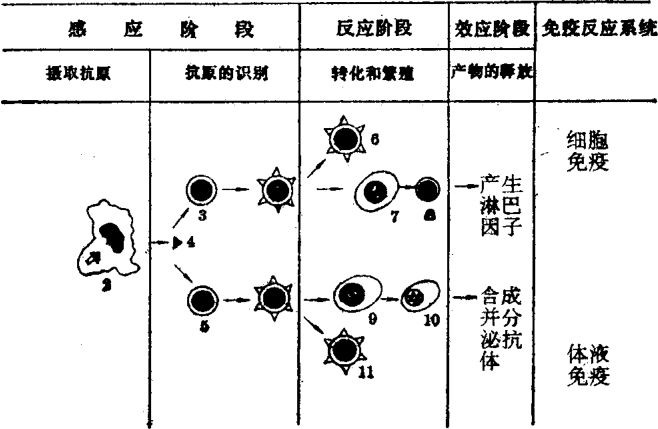


图 2 特异性免疫反应过程示意图
1.抗原;2.巨噬细胞;3.T细胞;4.被处理后的抗原;5.B细胞;6.记忆细胞;
7.淋巴母细胞;8.致敏T细胞;9.浆母细胞;10.浆细胞;11.记忆细胞。

第一阶段——感应阶段：指抗原第一次进入体内,抗原被处理的阶段。抗原进入机体后,通常被巨噬细胞所吞噬,并经消化、降解、浓缩处理,将抗原的决定基团与巨噬细胞内的信息核糖核酸(m-RNA)结合成为信息 RNA 与抗原的复合物,再传递给免疫活性细胞(T 或 B 淋巴细胞)。

第二阶段——反应阶段：指免疫活性细胞在抗原信息的刺激下进行分化繁殖的阶段。由于抗原性质不同,有的刺激 T 淋巴细胞,使其分化为致敏 T 淋巴细胞,有的刺激 B 淋巴细胞使之转化为浆细胞。另有一部分细胞中途停止分化,成为记忆细胞,能保持抗原信息达数月甚至数年。

第三阶段——效应阶段：指已致敏的淋巴细胞再次受到相应抗原的刺激时,产生各种活性物质(淋巴因子)和抗体的阶段。其中致敏 T 淋巴细胞能产生多种具有生物活性的淋巴因子,而浆细胞则可形成各种免疫球蛋白类型的抗体。

(二) 抗原 抗原是免疫学中的一个特有的术语。指能引起免疫反应,并能与抗体在体内或体外发生特异性结合的物质。

1. 抗原的种类:

抗原有二种性能,即免疫原性与反应原性。根据抗原的性能特点可分为两大类。

(1) **完全抗原：**也可称为免疫原。它完全具备上述二个性能,即能刺激机体产生抗体或致敏淋巴细胞,并能与这些产物在体内、体外发生特异性结合反应。大多数异种蛋白质是良好的完全抗原。

(2) **不完全抗原：**也可称为半抗原。它单独没有免疫原性,仅有反应原性。即单独不能刺激机体产生抗体或致敏淋巴细胞,但能与相应的抗体或致敏淋巴细胞起特异性的结合反应。半抗原与蛋白质结合后就具有完全抗原的特性,并可保持这种半抗原物质的特异性。大多数多糖和所有的类脂均属半抗原。

2. 抗原的性质: