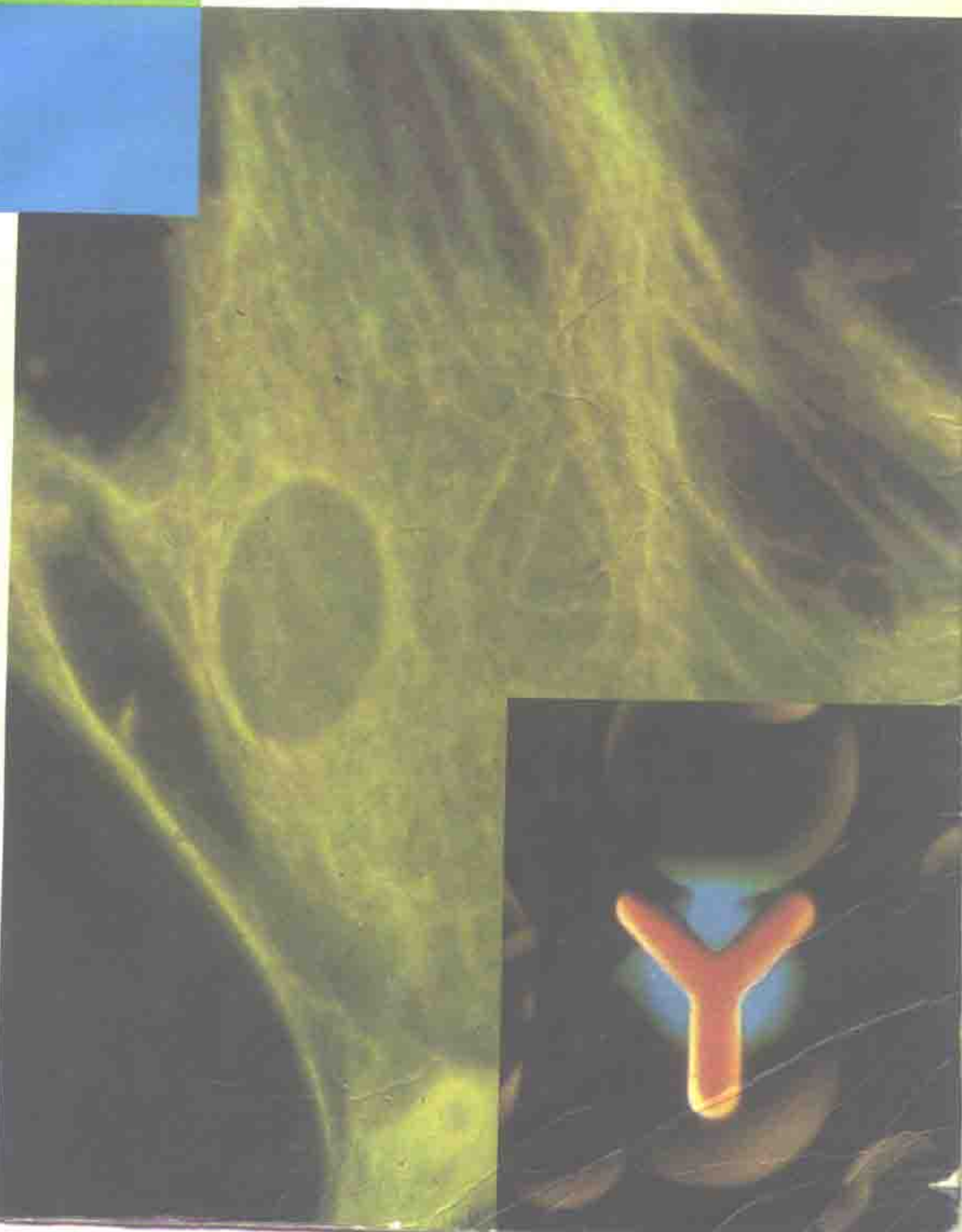


实用临床 免疫学检验

武建国 主编



实用临床免疫学检验

主 编 武建国

主要编著者（按姓氏笔划为序）

方 宇 王艾丽 李芳秋 李保全

武建国 杨毓华 黄宇烽 黄邱朝

江苏科学技术出版社

实用临床免疫学检验

武建国 主编

出版发行：江苏科学技术出版社

经 销：江苏省新华书店

印 刷：句容县印刷厂

开本787×1092毫米 1/16 印张26.5字数631,000

1989年7月第1版 1989年7月第1次印刷

印数1—3,000册

ISBN 7—5345—0668—9

R·98 定价：9.00元

责任编辑 黎 雪

前 言

临床免疫学是免疫学的一个重要分支，它的主要任务是运用免疫学的理论和方法研究疾病的发病机理、诊断和治疗。70年代以来，我国已在免疫功能测定、自身免疫病、寄生虫病、传染病、血液病、肾脏病、肿瘤与移植免疫等临床医学各个学科的研究中取得了显著的成绩。很多有关免疫学理论和方法的专著也已出版，其中一些介绍了国内外的最新研究成果，详尽地阐述了免疫学的基本理论和基本技术，对我国临床免疫学的发展起了重要的推动作用。但免疫学是一门极富生命力的学科，几年以前的结论和理论，不少已被否定和发展；原认为敏感和特异的检测方法，已为新的或更先进的方法所取代。因此，不断地结合实际对一些新的理论和方法进行总结和介绍，无疑是非常必要的。

1982年，我们曾编印了一本供内部交流使用的《临床免疫学手册》，受到很多基层实验室工作同志的欢迎，并被一些大专院校的检验班和研究生班作为教材和参考书使用。我国免疫学的奠基人谢少文教授还为此写了书评并给予热情的鼓励和帮助。读者普遍的反映是实用性强，与临床联系密切，有自己的实践经验。最近，我们根据读者的意见，吸取了原书的精华，结合十几年来实际工作中的经验和体会，参阅了国内外大量新的文献资料，重新编写成《实用临床免疫学检验》这本书。此书仍坚持实用和密切联系临床的原则，其特点是对免疫学的基本技术有翔实而具体的介绍，在自身免疫病、传染病和肿瘤的免疫学检查等部分，内容尤为详尽、新颖。我们希望这本书能在实验技术方面对从事免疫学检验的临床、卫生防疫和实验研究的同志给予帮助；同时，由于深入浅出地介绍了有关免疫学的理论以及各种检查的临床意义和价值，也能给临床医生以参考和启迪。当然，我们的水平和经验都是有限的，虽然主观上力求不辜负前辈的期望和读者的要求，但“纓短汲深”，挂一漏万和错讹之处可能仍然难免，殷切希望能看到此书的同志予以批评指正。

编 者

1989年5月

目 录

第一章 免疫学基础知识 (1)	三、免疫电镜技术..... (128)
一、免疫系统..... (1)	四、免疫胶体金技术..... (130)
二、免疫网络..... (5)	第六章 非特异免疫功能测定 (133)
三、免疫系统与神经、内分泌系统 的关系..... (6)	一、白细胞趋化、吞噬与杀菌功能 测定..... (133)
第二章 免疫学基本技术 (8)	二、溶菌酶测定..... (139)
一、缓冲溶液配制..... (8)	三、C反应蛋白(CRP)测定... (142)
二、盐析..... (13)	四、其他急性时相蛋白..... (144)
三、凝胶过滤..... (21)	五、纤维连接蛋白测定..... (145)
四、离子交换色谱..... (33)	六、 α_2 巨球蛋白测定..... (147)
五、亲和色谱..... (38)	第七章 细胞免疫功能测定 (151)
六、区带电泳..... (46)	一、T淋巴细胞功能的体内试验 法..... (151)
七、免疫电泳及其派生技术..... (54)	二、T细胞花环试验..... (152)
八、免疫扩散..... (63)	三、B细胞测定..... (154)
九、免疫转印技术..... (67)	四、淋巴细胞转化试验..... (155)
十、特异性抗血清的制备..... (70)	五、酸性 α -醋酸酯酶测定..... (157)
十一、红细胞凝集反应..... (78)	六、外周血白细胞促凝血活性测 定..... (158)
十二、葡萄球菌A蛋白..... (82)	七、白细胞介素测定..... (159)
第三章 标记技术 (88)	八、K细胞(抗体依赖的细胞毒细胞) 活性测定..... (161)
一、荧光素标记..... (88)	九、NK细胞活性测定..... (163)
二、酶标记..... (93)	十、有关移植免疫的细胞免疫功能 测定..... (164)
三、同位素标记..... (108)	第八章 免疫球蛋白测定 (167)
第四章 杂交瘤细胞与单克隆抗体技 术 (112)	一、IgG..... (171)
一、小鼠B细胞杂交瘤技术..... (115)	二、IgA..... (177)
二、人-人杂交瘤..... (119)	三、IgM..... (179)
三、T细胞杂交瘤..... (120)	
第五章 其他技术 (122)	
一、化学发光免疫测定法..... (122)	
二、速率散射浊度测定技术..... (126)	

四、IgD与IgE..... (180)	六、抗白蛋白抗体(AAA)..... (248)
五、冷球蛋白(cryoglobulin, CG)..... (182)	七、抗胰岛素自身抗体..... (250)
六、M蛋白..... (184)	八、抗胰岛细胞抗体与抗胰岛素 受体抗体..... (253)
第九章 补体测定 (189)	九、抗骨骼肌抗体与抗乙酰胆碱受 体抗体..... (255)
一、补体总论..... (189)	十、抗平滑肌抗体..... (259)
二、C _{1q} (195)	十一、抗线粒体抗体..... (260)
三、C ₃ (196)	十二、抗胃壁细胞抗体..... (262)
四、C ₄ (198)	十三、抗内因子抗体..... (264)
五、B因子..... (200)	十四、类风湿因子..... (266)
六、C ₃ 裂解产物(C ₃ SP)..... (201)	十五、抗核抗体..... (269)
七、C ₃ 肾炎因子..... (204)	十六、抗DNA抗体..... (273)
八、总的补体溶血活性(CH ₅₀) 测定..... (206)	十七、抗ENA抗体..... (276)
九、旁路活化途径溶血活性(AP- H ₅₀)测定..... (209)	十八、抗组蛋白抗体..... (279)
十、补体对免疫复合物(IC)的溶 解活性及阻止IC沉淀的活性 测定..... (210)	十九、抗SS-A与抗SS-B抗体... (280)
第十章 免疫复合物测定 (214)	二十、其他抗核抗体..... (281)
一、聚乙二醇(PEG)沉淀试 验..... (218)	二十一、抗精子抗体..... (283)
二、抗补体试验..... (219)	第十二章 传染性疾病的免疫学检 查 (290)
三、PEG沉淀补体消耗试验 (PEG-CC)..... (220)	一、甲型病毒性肝炎..... (290)
四、SPA夹心ELISA试验..... (221)	二、乙型病毒性肝炎..... (292)
五、含甲状腺球蛋白免疫复合物 (TG-IC)测定..... (222)	三、肾综合征出血热..... (304)
六、含HBsAg免疫复合物(HBsIC) 测定..... (223)	四、麻疹..... (307)
第十一章 自身抗体的测定 (226)	五、单纯疱疹病毒(HSV)感染... (309)
一、甲状腺自身抗体..... (230)	六、流行性乙型脑炎..... (311)
二、心脏自身抗体..... (236)	七、轮状病毒感染..... (313)
三、抗肾上腺皮质抗体..... (240)	八、腺病毒感染..... (315)
四、抗肾小球基底膜抗体..... (242)	九、获得性免疫缺陷综合征 (AIDS)..... (317)
五、抗肝细胞膜特异性脂蛋白 (LSP)与肝细胞膜抗原 (LM-Ag)自身抗体..... (245)	十、伤寒与副伤寒..... (319)
	十一、布氏杆菌病..... (321)
	十二、脑膜炎球菌感染..... (322)
	十三、军团杆菌病..... (324)
	十四、链球菌感染..... (326)
	十五、结核..... (329)
	十六、常见真菌感染..... (330)
	十七、斑疹伤寒..... (332)

十八、肺炎支原体感染..... (334)	三、ELISA (双抗体夹心法) 检测
十九、钩端螺旋体病..... (335)	尿 α_2 M..... (377)
二十、梅毒..... (336)	四、ELISA (双抗体夹心法) 检测
二十一、血吸虫病..... (338)	尿FDP..... (377)
二十二、其他寄生虫感染..... (340)	五、ELISA (双抗体夹心法) 检测
第十三章 肿瘤的免疫学诊断..... (347)	尿Fn..... (378)
一、甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)..... (347)	六、ELISA (双抗体夹心法) 检测
二、癌胚抗原 (CEA)..... (350)	尿C ₃ 、C ₄ (379)
三、人绒毛膜促性腺激素(HCG)..... (352)	七、ELISA法检测尿TH糖蛋白 (379)
四、甲状腺球蛋白 (TG)..... (354)	八、尿液管型蛋白质成分的酶标抗体染色法..... (380)
五、铁蛋白..... (355)	附录..... (382)
六、碱性胎儿蛋白 (BFP)..... (357)	一、免疫学试验质量控制的基本原则..... (382)
七、其他肿瘤相关抗原..... (358)	二、淋巴细胞的冷冻保存..... (385)
八、EB病毒抗体测定..... (361)	三、短膜虫的液氮或普通低温冻存法..... (386)
第十四章 HLA抗原及其检查方法 (365)	四、蛋白质含量测定..... (386)
一、微量细胞毒试验(测HLA-A、B、C、DR、DQ抗原)..... (368)	五、化学试剂的规格、等级与标志..... (387)
二、混合淋巴细胞培养(测HLA-D、DP抗原)..... (371)	六、离心转速与相对离心力(g)的换算..... (389)
第十五章 尿液微量蛋白的免疫学检查..... (374)	七、国际制与统一公制计量单位对照..... (390)
一、ELISA (双抗体夹心法) 检测尿IgG、IgA、IgM..... (375)	八、希腊字母表..... (391)
二、ELISA (竞争法) 检测尿Alb..... (376)	九、常用缓冲液配法..... (392)
	十、常用元素的原子量表..... (397)
	十一、常用药品表..... (399)

第一章 免疫学基础知识

免疫学是一门古老而又新兴的学科。自1890年发现抗毒素抗体以来,通过不断的科学实践和理论总结,目前免疫学已深入到肿瘤、移植、传染病、自身免疫病、病理、药

理、遗传及临床医学等各个学科,成为当前生物科学中最富于生命力的领域。它的发展已经给基础医学和临床医学带来了巨大的变化。

一、免疫系统

免疫系统主宰机体的免疫功能。免疫功能可概括为免疫防御、自身稳定和免疫监管 (表1-1)。

表1-1 免疫系统的功能

免疫功能	免疫刺激物的性质	举 例	失 调	
			过高	不足
防 御	外 源 性	病 原 物	变态反应	免疫缺陷病
平 衡	内源性或外源性	清除衰败物质	自身免疫病	—
监 管	内源性或外源性	排斥突变细胞	—	发生肿瘤

免疫系统包括免疫器官、免疫细胞和免疫活性物质(抗体、淋巴因子等)。

(一) 免疫器官

按发生与功能,可将免疫器官分为中枢免疫器官和外周免疫器官。前者包括胸腺、骨髓、腔上囊等,后者包括淋巴结和脾脏,是免疫细胞定居、增殖及进行免疫反应的场所。

1. 胸腺 胸腺是T细胞的发源地和贮备库。胸腺髓质网状上皮细胞分泌的胸腺激素,可促进T细胞的分化和成熟。胸腺能消除对自身抗原有受体的禁忌细胞株及产生T抑制细胞,因而防止自身免疫病发生。新生期动物摘除胸腺可引起严重T细胞免疫缺陷病。成年后由于定居于周围免疫器官的T细胞发挥作用,摘除胸腺后果不太严重。

2. 骨髓 骨髓产生各类淋巴细胞的前体细胞、巨噬细胞及各种血细胞,其中多能干

细胞具有强大的分化能力,分化为髓样干细胞后发育成红细胞系、粒细胞系、单核-巨噬细胞系等;分化为淋巴干细胞后发育成T、B、K、NK淋巴细胞等。

3. 腔上囊 腔上囊是鸟类特有的中枢免疫器官,由骨髓来的前B细胞在囊内受激素和微环境的影响成熟并分化成为具有体液免疫功能的B细胞,经血流进入外周免疫器官定居。少数B细胞参与淋巴细胞再循环。人和哺乳动物无腔上囊,其相应结构为类囊器官,可能是骨髓和肠道淋巴组织。

4. 淋巴结 人体约有500~600个淋巴结,它的主要功能是净化血液,也是免疫活性细胞增生、贮备和免疫反应进行的场所。进入淋巴结的微生物、肿瘤细胞等被巨噬细胞吞噬,后者转化为树突状、网状细胞,其胞浆突起膜上有Fc受体及C_{3b}受体,能迅速捕

获抗原并提呈给B细胞,使之转化为浆细胞并产生抗体。

5. 脾脏 脾脏是体内最大的免疫器官。表面为结缔组织被膜,内部髓质分白髓和红髓两部分。白髓呈岛状被红髓包围,是淋巴细胞(多为T细胞)聚集的地方。偶有浆细胞和巨噬细胞。白髓中生发中心主要是B细胞居留区。脾内T、B细胞分布界线不清楚。红髓由脾索和脾窦组成,脾索中以B细胞为主,并含有大量巨噬细胞和浆细胞。脾脏中大约40~50%为T细胞,其中T辅助细胞(T_H)和T抑制细胞(T_S)的比例约为1:4.5。B细胞约占40~50%。其他尚有巨噬细胞、浆细胞、K细胞等。脾脏的主要功能是净化血液、贮存血液、增殖和贮备淋巴细胞及产生抗体等。

其他淋巴组织为扁桃体、阑尾以及消化

道和呼吸道粘膜下层分散的淋巴小结和弥散淋巴组织,由淋巴细胞、浆细胞和巨噬细胞组成,均可发挥免疫功能。其中浆细胞产生分泌型IgA,是机体粘膜局部抵抗微生物感染的重要因素。

(二) 免疫细胞

免疫细胞是指参与免疫应答的细胞。包括造血干细胞、淋巴细胞、单核巨噬细胞、粒细胞、肥大细胞、血小板等。

1. 造血干细胞 造血干细胞又称多能干细胞,是存在于造血组织中的一群原始造血细胞,最大特点是能自身复制和分化,通常处于静止期,当机体需要时,分裂增殖,一部分分化为定向干细胞,其细胞膜上不同受体,受到一定激素刺激后,进一步分化为各系统的血细胞系(表1-2)。

表1-2

造血干细胞与各种血细胞的关系

造血干细胞	定向干细胞	分化的前体细胞	功能细胞
造血干细胞	髓样干细胞	红细胞系·····	红细胞
		巨核细胞系·····	血小板
		粒细胞系·····	粒细胞(嗜中性、嗜碱性、嗜酸性粒细胞)
		单核细胞系·····	单核-巨噬细胞
	淋巴干细胞	前T细胞·····	T细胞
		前B细胞·····	B细胞

由造血干细胞分化出来的淋巴细胞受胸腺作用,发育为T细胞,参与细胞免疫;受骨髓或腔上囊作用发育为B细胞,参与体液免疫。

2. 单核-巨噬细胞 血液中单核细胞和组织中游离及固定的巨噬细胞总称单核-巨噬细胞系统,由骨髓干细胞分化而来。在骨髓内形成单核母细胞,再依次分化为前单核细胞、单核细胞。后者进入血液,在血流中存留数小时至数天,然后通过毛细血管进入肝、脾、淋巴结及全身结缔组织中成为巨噬细胞。

单核-巨噬细胞形态较大,呈圆形、梭形或多角形。胞核呈肾形或马蹄形。具有粘附玻璃或塑料能力及趋化游走等特性。其表面具有多种受体如IgG Fc受体、补体C_{3b}和C_{4b}受体、PHA(植物血凝素)受体、移动抑制因子受体等。巨噬细胞能分泌数十种活性因子如白细胞介素-1(IL-1)、溶菌酶、α₂巨球蛋白、干扰素、酸性水解酶、中性蛋白酶、胶原酶、细胞毒素因子等。

巨噬细胞的免疫功能有非特异性吞噬、销毁多种病原微生物,清除衰老、损伤或死亡组织细胞以及杀伤肿瘤细胞等。这些作用

可由特异抗体及淋巴因子的参与而加强。巨噬细胞能处理及提呈抗原信息给T、B淋巴细胞,并参与免疫调节作用,如调节抗原剂量、贮存抗原、释放活性因子、调节T、B细胞功能等。

3. 淋巴细胞 淋巴细胞是免疫细胞中最重要的细胞,在人体内估计总数有 10^{12} (1万亿)个。根据其表面标志及功能不同,可分为T、B、K及NK细胞等。T细胞参与细胞免疫;B细胞参与体液免疫;K细胞在特异抗体存在情况下具有杀伤靶细胞作用;NK细胞具有自然杀伤靶细胞作用。T、B细胞又分若干亚群,各群细胞及其产生的因子间构成相互调控的免疫网络,以维持机体的免疫平衡。

(1) T淋巴细胞 T细胞起源于多能干细胞,经前T细胞分化,在胸腺成熟,故称胸腺依赖性淋巴细胞。成熟T细胞离开胸腺后,经外周血、淋巴管定居于淋巴结深皮质区、脾脏中央小动脉周围的白髓及其他淋巴组织中,通过淋巴管及外周血再循环。T细胞占外周血淋巴细胞总数的75%左右。

T淋巴细胞有多种表面标志,包括表面

抗原和表面受体。人类T细胞的主要表面抗原为OKT抗原。OKT系统是美国Ortho公司Kung研制的系列T细胞单克隆抗体,用以分析研究T细胞亚群。目前已知有10多种单抗如OKT₁、OKT₂能与外周血中所有T细胞反应;OKT₄与50~60% T细胞反应,一般认为此反应细胞具有T_H功能。约有20~30% T细胞与OKT₅/OKT₈单抗反应,具T_S/T_C功能。近年来人们发现OKT₄⁺、OKT₈⁺细胞的功能具有异质性,即OKT₄⁺细胞不完全具备辅助作用等。此外有人发现OKT₁₁能与具E花环受体T细胞结合。Leu系统(白细胞Leukocyte字首)亦为人淋巴细胞单克隆抗体系列。Leu1、Leu4、Leu5与外周血全T细胞反应。其中Leu5与E受体反应,Leu2⁺细胞代表T_H/T_C亚群,又分Leu2a及2b; Leu3⁺为T_S亚群,亦分Leu3a及3b。最近提出的T细胞表面抗原改用新名以CD(分化群, cluster of differentiation)编号。如CD₃代表全部T细胞;CD₄为辅助T细胞;CD₈具抑制杀伤功能;CD₂主要细胞有E受体和T、NK功能等(表1-3)。

T细胞的表面受体有绵羊红细胞受体

表1-3 人外周血T细胞分化抗原

抗原名称 (McAb)	分子量 (KD)	分 布
CD ₂ (T ₁₁ , Leu5)	49	T细胞和大颗粒淋巴细胞 (E受体阳性细胞)
CD ₃ (T ₃ , Leu4)	19~25	成熟T细胞
CD ₄ (T ₄ , Leu3)	62	60% T细胞, 单核细胞弱表现
CD ₅ (T ₁ , Leu1)	67	T细胞, 某些B细胞
CD ₈ (T ₈ , Leu2)	32, 33	30% T细胞

(SRBC受体), 这是外周血T细胞的重要标志。在一定条件下T细胞与SRBC结合成玫瑰花环故又称E受体。它是一种糖蛋白,对胰蛋白酶、糜蛋白酶和链霉蛋白酶均敏感,能被Leu5单克隆抗体抑制。T细胞经PHA刺激可以不断合成和释放E受体。外周血T细胞悬液加温45℃ 1小时后E受体可由细胞

上脱落下来,成为可溶性E受体。它与膜E受体在功能上尚有不同之处,前者可能参与机体免疫功能的调节,后者则与T细胞活化增殖有关。此外尚有Fc受体、补体受体、抗原受体、丝裂原受体等均有各自的特定功能。

(2) B淋巴细胞 在人类于类囊结构

的骨髓组织中分化、发育、成熟。外周血中约为20%左右。成熟的B细胞在特定外界抗原激发下,某种克隆选择性增殖而分化为浆细胞,它产生特异性抗体,发挥体液免疫功能。B细胞在骨髓、脾及肠道集合淋巴结中比T细胞数量多,在外周血和淋巴结中比T细胞少,很少参加再循环。B细胞所特有的表面重要标志是表面膜免疫球蛋白(SmIg)。此外还有Fc受体,在与抗原抗体复合物结合后可使B细胞活化、增殖、成熟;补体C₃受体则与免疫粘连、形成抗体和免疫调节有关;小鼠红细胞受体与B细胞恶性肿瘤有一定关系;EB病毒受体与B细胞增殖有关;HLA-DR/D抗原(MHCⅡ类抗原,Ⅰa样抗原)与免疫排斥有关。此外尚有独特型决定簇存在于B细胞表面SmIg的可变区。对B细胞亚群的研究仍不多。有人认为有B₁细胞不依赖T细胞产生抗体;B₂依赖T细胞产生抗体等。

(3) K细胞 它是第三类淋巴细胞,占外周血淋巴细胞的5~15%。脾中较多,淋巴结中较少,胸导管淋巴液中没有,不参与淋巴细胞再循环。K细胞由骨髓多能干细胞直接衍生出来。它不是T细胞,因切除胸腺或先天缺乏胸腺的动物仍有K细胞活性。它不是B细胞,因缺乏SmIg,切除腔上囊小鸡仍有K细胞活性。它没有吞噬作用及粘附能力,亦不属单核-巨噬细胞。

K细胞具有抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody dependent cell mediated cytotoxicity,ADCC)。特异性IgG与靶细胞膜上抗原决定簇结合,IgG的Fc段被活化,与K细胞膜上Fc受体结合,触发K细胞活性,促使靶细胞酶对自身造成损伤,胞内K⁺逸出,Na⁺及水进入胞内,导致靶细胞肿胀裂解。K细胞的杀伤作用是非特异的,任何靶细胞与相应IgG结合后均可被其杀伤。

K细胞在抗肿瘤、抗病毒、抗寄生虫感染中具有保护机体作用,但是在自身免疫病时有时对机体产生有害的免疫病理作用。

(4) NK细胞 杀伤靶细胞既不需抗原刺激,也不需特异抗体参与,故称自然杀伤细胞。NK细胞产生于骨髓,直接释放至外周血,外周血中含量约占淋巴细胞总数的5~10%。骨髓及脾中亦有存在。NK细胞无补体受体,无SmIg,无粘附力,无吞噬作用,有IgG的Fc受体。能与OKT₁、OKT₃、OKT₁₀及NK细胞特有的NK-1(Leu7)等单抗反应。NK与绵羊红细胞形成低亲和力花环,故有人认为NK细胞可能是未成熟的前T细胞。目前认为NK细胞是一异质性细胞群。

NK细胞对肿瘤的免疫监管较为重要,一般认为NK细胞是抗肿瘤的第一道防线。此外NK细胞在抗病毒免疫、自身免疫及移植免疫中亦有重要作用。目前认为,NK细胞的杀伤作用系由细胞表面蛋白质构成的受体识别靶细胞上抗原决定簇,在Ca²⁺、Mg²⁺参与下,NK细胞活化,激活靶细胞内溶解酶,胞内渗透压改变,破坏细胞膜而致死。在NK细胞分化成熟过程中,干扰素及诱生剂、白细胞介素2(IL-2)可增强其活性,而前列腺素、考的松、环磷酰胺、氨甲喋呤、放线菌素D则抑制其活性。

(5) Null(裸)细胞 此类细胞既无T细胞也无B细胞标志。其来源和功能尚不清楚。有人认为K和NK细胞属此类。

(6) Double(双标记)细胞 与Null细胞相反,既有T细胞又有B细胞标志。外周血含量极少,约为2%。如此类细胞数量增加可能是恶性的表现。

4. 其他 机体参与免疫功能的细胞还有嗜中性粒细胞,它能吞噬杀灭病原体;嗜酸性粒细胞亦具吞噬作用,在过敏性疾病及寄生虫感染时增加;嗜碱性粒细胞和肥大细胞

项

具有IgE Fc受体,与过敏反应有关。此外红细胞和血小板均参与免疫反应。

(三) 免疫活性物质

机体的免疫系统除上述免疫器官、免疫细胞发挥其各自作用外,尚有各种免疫活性

物质如抗体、补体、细胞因子等参与介导免疫反应。抗体与补体将有专门章节介绍。细胞因子由多种免疫活性细胞分泌。因其种类繁多,命名不统一,列表简介如下(表1-4, 1-5)。

表 1-4 具有细胞免疫效应的细胞因子

名 称	产生细胞	靶细胞	作 用
巨噬细胞移动抑制因子(MIF)	T细胞及某些传代细胞	巨噬细胞	移动抑制
巨噬细胞活化因子(MAF)	同上	同上	活化巨噬细胞增强杀伤作用
巨噬细胞趋化因子(MCF)	T、B细胞	同上	吸引单核巨噬细胞向因子所在局部移动
白细胞移动抑制因子(LIF)	T、B、K细胞	中性粒细胞	移动抑制
多形核白细胞趋化因子(PMN-CF)	淋巴细胞	多形核白细胞	吸引白细胞向因子所在局部移动
淋巴毒素(LT)	T、B细胞	培养细胞	生长抑制或杀伤
I型干扰素(IFN)	淋巴细胞及其他细胞	病毒敏感细胞	抑制病毒增殖

表 1-5 具有免疫调节作用的细胞因子

名 称	产生细胞	靶细胞	作 用
白细胞介素1(IL-1) (淋巴细胞活化因子, LAF)	巨噬细胞	T _H 细胞	促进DNA合成, 使T _H 活化, 产生IL-2
白细胞介素2(IL-2)	T _H 细胞	活化T、NK、前B细胞	增殖、分化、成熟
IL-3	T _H 细胞	肥大细胞	刺激肥大细胞生长
B细胞生长因子或IL-4	T _H 细胞	活化B细胞	分裂、增殖
T细胞替代因子(TRF)或IL-5	T _H 细胞	增殖的B细胞	分化为浆细胞
集落刺激因子(CSF)	T细胞	粒细胞、巨噬细胞	促进细胞集落形成
T细胞抑制因子(TSF)	T _S 细胞	T _H 细胞	抑制T _H 活化使抗体产生减少
II型干扰素(γ-IFN)	淋巴细胞、巨噬细胞	B细胞、NK细胞	调节抗体、产生, 增强NK活性

二、免 疫 网 络

机体具有完整的免疫系统,其中免疫细胞及其活性因子相互促进、制约和调节,发挥免疫自稳作用,以维持机体内外平衡。如果某一方面发生免疫失控,则有可能导致疾病。当某种抗原进入体内,首先由巨噬细胞处理、提呈抗原给T_H细胞。巨噬细胞有调节和贮存抗原作用,保持适度刺激并不

断传递信息给淋巴细胞,同时释放各种因子。如IL-1调节T、B细胞免疫应答,使T_H生成IL-2,进一步发挥免疫作用。IL-1又可直接作用于B细胞,使其表面抗原受体、补体受体、I_a抗原等数量增加,易于接受T_H释放的淋巴因子的作用,分化为浆细胞。巨噬细胞还可以释放可溶性抑制因子,抑制T、

B细胞活性。

T细胞的免疫功能较为复杂,与迟发性超敏反应、对移植物或肿瘤排斥反应、细胞毒作用等有密切关系。其中最主要的作用是由 T_H 和 T_S 细胞相互协调制约,构成免疫调控网络,使机体既可针对某种抗原发生反应,又对反应程度加以控制。细胞间传递调控信息是通过MHC基因编码的膜抗原识别进行。如果某个环节失控或功能缺陷,则调控网络失去平衡。 T_H 细胞可分为 T_{H1} 及 T_{H2} 两亚群, T_{H1} 识别载体与B细胞MHC产物使B细胞激活, T_{H2} 则使那些独特型与它相结合的B细胞进一步增殖,选择性地扩大B细胞激活效应。由抗原或 T_H 反馈激活的 T_S 细胞,起抑制性调节作用。其抑制作用可直接作用于效应细胞,也可间接通过抑制 T_H 细胞来实现。目前已知 T_S 有 T_{S1} 、 T_{S2} 、 T_{S3} 三亚群,它们相互协调作用,由细胞直接接触及相应抑制因子介导,形成一个环路来完成抑制效应。这些 T_S 细胞的顺序激活过程受遗传等多种因素的限制和影响。由于 T_H 及 T_S 细胞功能的多样性和复杂性,从而保证了对免疫反应调节的精细性和准确性,具有十分重要的生物学意义。近年来人们认为免疫反应的基础不在对“非己”的识别而在于对“自己”的认识。免疫系统的各个淋巴细胞

克隆之间不是孤立静止状态,而是通过自我识别,相互刺激或相互制约。淋巴细胞表面具有抗原受体,B细胞表面的抗原受体是免疫球蛋白(Ig),Ig既是抗体又是抗原,既能与抗原结合,又可被抗原受体识别(抗体分子的可变区不仅表现抗体活性,也显示抗原活性,后者即所谓独特型)。Ig的抗原决定簇,有种特异性、同种特异性及独特型三类。同一个体内Ig的种特异性、同种特异型抗原决定簇相同,但独特型抗原决定簇结构则不相同。T细胞抗原受体也有类似的独特型结构。抗原进入体内后遇到许多免疫活性细胞,但只选择地激活具有与抗原相适应受体的淋巴细胞克隆,使其发生抗原特异的克隆扩增。扩增细胞表面具有与亲代细胞相同的抗原受体。其独特型部分又能作为抗原激活另一克隆的细胞,使其转化增殖,分化成浆细胞而产生抗独特型抗体。此抗体对亲代抗原反应细胞起抑制作用。由于体内淋巴细胞抗原受体的贮备量巨大,使机体几乎对任何自然界抗原都能应答。抗原进入机体后,通过独特型识别,可激发另一些具有增强或抑制作用的克隆细胞,对最早活化的克隆起正或负调节。同样原理,相继活化的克隆又可导致其相应两种细胞活化。依此类推,形成一个极为复杂的网络系统。

三、免疫系统与神经、内分泌系统的关系

免疫系统不但内部相互调控,而且与神经内分泌系统相互作用形成免疫-神经-内分泌的调控网络,维持机体的整体平衡。神经系统通过神经纤维及释放神经递质、神经肽支配免疫器官或免疫细胞的反应,有人发现交感神经损伤后,脾中 T_H 细胞下降,由于 T_H 亚群百分率减少,致使体液免疫亢进,淋巴细胞膜表面受体能与神经递质和神经多肽结合,改变细胞内cAMP含量,介导免疫

系统的调节活性。如交感神经元释放的神经递质去甲肾上腺素与淋巴细胞表面的 β -肾上腺能受体结合后可以影响淋巴细胞的成熟、淋巴因子的分泌、表面抗原的表达及增殖活性等。神经多肽中的内啡肽是一组既能调节神经生理功能又能调节免疫反应的鸦片类神经多肽,它和脑啡肽对抗体生成、有丝分裂活性、T细胞活性花环形成以及NK细胞活性等表现出正反两方面特异调节作用。

慢反应物质P (SP) 能促进T细胞摄取胸腺嘧啶核苷, 增强巨噬细胞吞噬活性, 增强5-羟色胺、缓激肽和前列腺素E₁的活性。目前已知PGE (前列腺素) 与免疫调控至关重要, 它的失控与SLE、类风湿关节炎、多发性硬化及肿瘤发生等有关。

另一方面一些免疫反应物质也可以影响神经系统, 如干扰素具有内啡肽样作用, 它与鸦片受体结合可兴奋神经元; 将IL-1注入大鼠侧室可增强慢波睡眠; 胸腺素组分5注入大鼠腹腔可使血浆中可的松、ACTH和 β -内啡肽水平升高。

内分泌系统与免疫系统密切相关。在哺乳动物发育早期, 两系统均处于低水平, 此后则相互影响。如垂体功能低下可伴有胸腺及淋巴组织萎缩、细胞免疫功能缺陷。肾上腺皮质激素可使胸腺萎缩, 从而T细胞对巨噬细胞及B细胞的抑制作用降低。生长激素缺乏亦可使胸腺萎缩。干扰素能促进肾上腺皮质产生类固醇激素, 还能模拟甲状腺刺激因子样作用, 促进甲状腺细胞对碘的摄取。

胸腺素组分5可作用于下丘脑-垂体-肾上腺轴的各个环节, 改变血中可的松水平, 进一步作用于免疫系统, 调节免疫反应。

实际上神经、内分泌系统作用很难分开, 如下丘脑和垂体属神经系统, 但其分泌的神经多肽具有激素功能, 故常称“神经内分泌多肽激素”。这些激素除行使神经、内分泌生理功能外, 还有淋巴因子样作用, 调节免疫反应。免疫系统中的淋巴因子如干扰素既可介导免疫反应, 又可发挥多肽激素的作用。此外如ACTH、内啡肽等为免疫系统和神经内分泌系统所共有。综上所述, 免疫系统和神经、内分泌系统之间的相互联系存在着物质基础。通过这些物质基础相互交流信息、密切协作, 共同维持机体内环境稳定。近年来神经、内分泌系统和免疫系统的整体观念愈来愈受到人们的重视, 它将对疾病的诊治及临床意义的分析带来一些新的概念和措施, 并将成为医学领域中极富生命力的课题。

(杨毓华)

参 考 文 献

1. 谢少文: 细胞免疫的近况. 免疫学快报 1987; 7: 1
2. 黄林: NK细胞的免疫调节功能. 中国免疫学杂志 1986; 2: 315
3. 赵斌华: NK-IL2-IFN系统与免疫调节. 国外医学免疫学分册 1985; 8: 119
4. 赵斌华: 人Null细胞的特征. 国外医学免疫学分册 1982; 5: 328
5. 程一樵: 具有T细胞和B细胞双重表面标志的淋巴细胞—D细胞. 国外医学免疫学分册 1980; 3: 20
6. 杨贵贞: 免疫学基础. 第11版. 中国医科大学白求恩医科大学、哈尔滨医科大学、大连医学院联合编写发行. 46页 1986
7. 竹内勤, 安倍达(许健鹏, 张德山译): 鉴定人类T细胞亚群新的单克隆抗体. 国外医学免疫学分册 1986; 9: 98
8. Arthur MS: History of immunology. Cell Immunol 1985; 91: 263
9. Pierre GD: Basic & Clinical Immunology ed by Daniel PS, Los Altos California Lange Medical Publication, P. 1, 1982
10. David HK: Basic & Clinical Immunology ed by Daniel PS, Los Altos California Lange Medical Publication, P. 13, 1982
11. Cooper MD: Fundamental Immunology 1st ed by Paul WE, Raven Press New York, P. 43, 1984
12. Cantor H: Fundamental Immunology 1st ed, by Paul WE, Raven Press New York, P. 57, 1984
13. Friedman SM, et al: Human helper-T cell function does not require T4 antigen expression. Cell Immunol 1986; 103: 105

第二章 免疫学基本技术

一、缓冲溶液配制

缓冲溶液在医学上的应用很广泛。关于缓冲溶液的配制，常用的几种缓冲对在一般的医学检验书籍中可以找到现成的配方，但有时实际工作中需要的缓冲溶液一般的书本中找不到配方，也许找到配方而没有合适的pH。现就缓冲溶液pH值的计算和配制原则等介绍如下。

(一) 缓冲溶液的pH值计算

1. 由弱酸-弱酸盐组成的缓冲溶液pH值的计算

例如由HAC-NaAC组成的缓冲溶液



在这个缓冲液中，由于NaAC电离生成的 AC^- 所引起的同离子效应，使HAC的电离度减小，因此HAC接近于溶液中原来的弱酸HAC的浓度，用酸表示：

$[\text{HAC}] = \text{酸}$

在缓冲溶液中的 AC^- 主要来自NaAC，所以 AC^- 的浓度接近于溶液中原来的NaAC的浓度，用(盐)表示：

$[\text{AC}^-] = \text{盐}$

当醋酸的电离处于平衡状态时，弱电解质电离生成各离子浓度的乘积与未电离的弱电解质分子浓度之比是一个常数，这个常数叫做弱电解质的电离常数。电离常数通常用K表示，用 K_a 表示弱酸的电离常数， K_b 表示弱碱的电离常数(表2-1)。

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{AC}^-]}{[\text{HAC}]}$$

又因为 $[\text{AC}^-] = (\text{盐})$

$[\text{HAC}] = \text{酸}$ ，代入式中得：

$$K_a = \frac{[\text{H}^+](\text{盐})}{(\text{HAC})} \\ = \frac{[\text{H}^+](\text{盐})}{(\text{酸})}$$

两边同时取对数：

$$\log K_a = \log [\text{H}^+] + \log \frac{(\text{盐})}{(\text{酸})}$$

移项得：

$$-\log [\text{H}^+] = -\log K_a + \log \frac{(\text{盐})}{(\text{酸})}$$

又因为 $-\log [\text{H}^+] = \text{pH}$

$$-\log K_a = \text{p}K_a$$

所以上式为：

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{(\text{盐})}{(\text{酸})} \dots\dots\dots (1)$$

式(1)适用于浓度不太大的弱酸-弱酸盐组成的缓冲溶液。由式(1)可以看出，弱酸-弱酸盐组成的缓冲溶液的pH决定于 $\text{p}K_a$ 及(盐)/(酸)的比值。在一定温度下， $\text{p}K_a$ 是个常数，因此缓冲溶液的pH值就决定于(盐)/(酸)，当比值增加时溶液的pH值也增大，反之则减小。应该注意的是式(1)中的盐和酸是指缓冲液中盐和酸的浓度，而不是用以配制缓冲溶液的盐溶液和酸溶液的浓度。

例题(1) 1L缓冲溶液中含有0.1mol/L的HAC和0.2mol/L的NaAC，计算此溶液的pH(已知25℃时HAC的 $K_a = 1.76$)

$\times 10^{-5}$)

解: 由式(1)

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{盐}]}{[\text{酸}]}$$

$$\therefore \text{pK}_a = -\log K_a$$

$$= -\log (1.76 \times 10^{-5})$$

$$= 5 - 0.25$$

$$= 4.75$$

$$\text{又} \because [\text{盐}] = 0.2 \text{ mol/L}$$

$$[\text{酸}] = 0.1 \text{ mol/L}$$

$$\text{pH} = 4.75 + \log \frac{0.2}{0.1}$$

$$= 4.75 + 0.3$$

$$= 5.05$$

表 2-1

25℃ 时一些弱电解质的电离常数表

名 称	电 离 平 衡 式	电 离 常 数
醋 酸	$\text{HAC} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{AC}^-$	$1.76 \times 10^{-5} (\text{K}_a)$
苯 甲 酸	$\text{HC}_7\text{H}_5\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2^-$	6.46×10^{-5}
甲 酸	$\text{HCHO}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{CHO}_2^-$	$1.77 \times 10^{-4} (20^\circ\text{C})$
氢 氰 酸	$\text{HCN} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{CN}^-$	4.93×10^{-10}
氢 氟 酸	$\text{HF} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{F}^-$	3.53×10^{-4}
碳 酸	$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$	$4.37 \times 10^{-7} (\text{K}_{a1})$
	$\text{HCO}_3^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{CO}_3^{2-}$	$5.61 \times 10^{-11} (\text{K}_{a2})$
氢 硫 酸	$\text{H}_2\text{S} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HS}^-$	$9.1 \times 10^{-8} (\text{K}_{a1} 18^\circ\text{C})$
	$\text{HS}^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{S}^{2-}$	$1.1 \times 10^{-12} (\text{K}_{a2} 18^\circ\text{C})$
草 酸	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HC}_2\text{O}_4^-$	$5.90 \times 10^{-2} (\text{K}_{a1})$
	$\text{HC}_2\text{O}_4^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{C}_2\text{O}_4^{2-}$	$6.4 \times 10^{-5} (\text{K}_{a2})$
磷 酸	$\text{H}_3\text{PO}_4 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{H}_2\text{PO}_4^-$	$7.52 \times 10^{-3} (\text{K}_{a1})$
	$\text{H}_2\text{PO}_4^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HPO}_4^{2-}$	$6.23 \times 10^{-8} (\text{K}_{a2})$
	$\text{HPO}_4^{2-} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{PO}_4^{3-}$	$1.0 \times 10^{-12} (\text{K}_{a3})$
氨	$\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$	1.79×10^{-5}

2. 多元弱酸的两种盐组成的缓冲溶液 pH 值的计算

以常用的缓冲对 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 为例, 这种类型的缓冲液 pH 值的计算与弱酸-弱酸强碱盐的缓冲溶液相似。 NaH_2PO_4 电离成 H_2PO_4^- 可看作是弱酸, Na_2HPO_4 可以看作是它的盐, 即 $[\text{H}_2\text{PO}_4^-] = \text{酸}$ $[\text{HPO}_4^{2-}] = \text{盐}$

$$\text{pH} = \text{pK}_{a2} + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

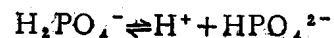
..... (2)

式(2)中 K_{a2} 是磷酸的二级电离常数

(6.23×10^{-8}), $\text{pK}_{a2} = 7.2$ 。 $[\text{HPO}_4^{2-}]$ = 溶液中 Na_2HPO_4 的浓度, $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$ = 溶液中 NaH_2PO_4 的浓度。

例题(2) 100ml 0.1mol/L NaH_2PO_4 溶液与 10ml 0.2mol/L Na_2HPO_4 混合, 求其 pH 值 (H_3PO_4 的 $\text{K}_{a2} = 6.2 \times 10^{-8}$)。

解: 此缓冲液由 H_2PO_4^- 、 HPO_4^{2-} 组成, H_2PO_4^- 为弱酸, HPO_4^{2-} 为对应盐。



这是磷酸的二级电离式, 故计算溶液的 pH 时应用 H_3PO_4 的 pK_{a2} (即 H_2PO_4^- 的二级电离常数的负对数), 由式(2)得:

$$\text{pH} = \text{pK}_{a2} + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

$$\therefore \text{克分子浓度}(C) = \frac{\text{克分子数}(N)}{\text{体积}(V)}$$

$$N = VC$$

$$\text{又} \because \text{pK}_{a2} = -\log K_{a2}$$

$$= -\log 6.2 \times 10^{-8}$$

$$= -\log 6.2 - \log 10^{-8}$$

$$= 8 - 0.79$$

$$= 7.21$$

$$\text{又} \because [\text{盐}] = [\text{HPO}_4^{2-}] = \frac{N_{\text{盐}}}{V}$$

$$[\text{酸}] = [\text{H}_2\text{PO}_4^-] = \frac{N_{\text{酸}}}{V}$$

$$N_{\text{盐}} = V \cdot C = 0.2 \times 10 = 2 \text{ 毫克分子}$$

$$N_{\text{酸}} = V \cdot C = 0.1 \times 100 = 10 \text{ 毫克分子}$$

代入上式:

$$\text{pH} = 7.21 + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

$$= 7.21 + \log \frac{[N_{\text{盐}}]}{[N_{\text{酸}}]}$$

$$= 7.21 + \log \frac{2}{10}$$

$$= 7.21 - 0.70$$

$$= 6.51$$

3. 由弱碱-弱碱强酸盐组成的缓冲溶液pH值的计算

以 $\text{NH}_4\text{OH}-\text{NH}_4\text{Cl}$ 缓冲对为例



当 NH_4OH 的电离处于平衡状态时,则

$$K_b = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_4\text{OH}]}$$

水的电离反应式 $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$

$$K_{(\text{H}_2\text{O})} = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]}$$

$$K_{(\text{H}_2\text{O})} = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$$

$$= 1.0 \times 10^{-14}$$

又 $\because$ 每升 $[\text{H}_2\text{O}]$ 的克分子数是个常数,以 K_w 表示,即 $K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1.0 \times 10^{-14}$

$$[\text{OH}^-] = \frac{K_w}{[\text{H}^+]}$$

$$= \frac{1.0 \times 10^{-14}}{[\text{H}^+]}$$

$$[\text{NH}_4^+] = [\text{盐}]$$

$$[\text{NH}_4\text{OH}] = [\text{碱}]$$

$$\therefore K_b = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_4\text{OH}]}$$

$$= \frac{[\text{盐}]}{[\text{碱}]} \cdot \frac{1.0 \times 10^{-14}}{[\text{H}^+]}$$

两边同时取对数

$$\log K_b = \log \frac{[\text{盐}]}{[\text{碱}]}$$

$$+ \log \frac{1.0 \times 10^{-14}}{[\text{H}^+]}$$

$$\text{又} \because \log K_b = -\text{pK}_b$$

$$-\text{pK}_b = \log \frac{[\text{盐}]}{[\text{碱}]} - (14 + \text{pH})$$

$$\text{pH} = 14 - \text{pK}_b - \log \frac{[\text{盐}]}{[\text{碱}]}$$

..... (3)

例题(3) 配制pH8.6的巴比妥-巴比妥钠缓冲液1000ml($\mu=0.075$)需要用巴比妥及巴比妥钠各多少克?(巴比妥 $\text{pK}_a=7.8$)

解: $\because$ 1克分子巴比妥钠重206.2g, 巴比妥钠电离生成的阳离子及阴离子都是一价的, 故 $\mu=C$, 即巴比妥钠 $=0.075\text{mol/L}$

$$\text{巴比妥钠} = 206.2 \times 0.075 = 15.45(\text{g})$$

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{盐}]}{[\text{酸}]}$$

$$8.6 = 7.8 + \log \frac{[\text{盐}]}{[\text{酸}]}$$

$$0.8 = \log \frac{[0.075]}{[\text{酸}]}$$