

单克隆抗体
在临床医学
中的应用

32

M

单克隆抗体在 临床医学中的应用

DANKELONGKANGTI ZAI LINCHUANG
YIXUEZHONGDE YINGYONG

〔英〕 A. J. 麦克迈克尔 主编
J. W. 费 伯

白 炎 沈倍奋 程知义 译
陈鸿书 吴 蔚 陈绍先

吴 蔚 程知义 陈鸿书 校

人 民 军 医 出 版 社

1985年 北京

内 容 提 要

本书是由英国单克隆抗体创始人及有关专家集体编写的学术专著,代表了目前国际上单克隆抗体在医学及生物学应用中的水平及动向。内容丰富,题材新颖。全书共含9个部分,24个专题,涉及面较广,收集了大量文献资料,作了系统的综述。内容包括抗T细胞单克隆抗体在测定人类疾病时免疫调节改变,如用来分析肿瘤相关抗原,分析白血病类型,分析病毒、细菌及寄生虫等;用单克隆抗体来研究遗传学问题,研究神经传导介质;以及单克隆抗体在妊娠中的应用 组织化学的研究,抗药物的单克隆抗体等。它是一本既富于知识性又富于启发性的著作。译者主要为军事医学科学院基础医学研究所的专业人员。书中配有大量示意图及照片。以帮助读者理解新的理论、掌握新的技术。

本书读者对象为单克隆抗体专业人员,广大医学科研、教学、临床工作者,以及从事细胞生物学、分子生物学、免疫学、药理学及遗传工程的专业人员。

MONOCLONAL ANTIBODIES IN CLINICAL MEDICINE

Edited by Andrew J. McMichael and John W. Fabre

Academic Press, 1982

单克隆抗体在临床医学中的应用

白 炎 等 译

吴 蔚 等 校

责任编辑 罗 宁

*

人民军医出版社出版

(北京市复兴路22号甲3号)

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经销

国防科工委印刷厂印刷

*

开本: 787×1092毫米1/16 • 印张: 23 • 字数: 558千字

1985年8月第1版 1985年8月(北京)第1次印刷

印数: 1—5,700册

统一书号: 14281·021 定价: 4.50元

前 言

自从G Kohler及C Milstein发表他们关于产生抗羊红细胞小鼠单克隆抗体的著作以来,在短短的7年时间内,单克隆抗体对几乎所有生物学领域都发生了惊人的影响。现正开始将其用于临床实践,无疑在今后几年内,它们对临床工作者的影响就像前几年对实验室的科学家们所产生的影响一样,将是深远和广泛的。正如本书所提供的许许多多例证那样,单克隆抗体的出现大大促进了临床医学的各个方面——诊断,预后,病理生理学的理解和疾病的治疗及预防。

临床应用的硕果将展现在我们面前。然而,很清楚,只有临床工作者了解到单克隆抗体的潜在价值,以及对临床感兴趣的实验室工作者将其应用于有关方面,单克隆抗体的前景才得以全面而迅速的实现。在目前初始阶段,没有直接参与单克隆抗体工作的人,还难以把一些无关联的文章融会贯通,明瞭问题的背景及展望未来。在写本书时特别地考虑到了这一点,我们希望本书能在阐明单克隆抗体今后的临床价值方面作为一个里程碑,从而促使其成为现实。

单克隆抗体的产生意味着细胞融合技术的许多基础生物学研究已达到了高峰。其临床应用将成为一个很好的例证,说明这些最基础的研究如何会获得出乎意外的、深远的临床价值,在本书中对此点加以强调是很有益的。我们全体参与单克隆抗体研究工作的人员都十分感谢C Milstein博士,不仅是由于他和G Kohler博士创造性的工作致使单克隆抗体今天得以成为现实,而且他能在早期便慷慨地将他的骨髓瘤株贡献给这一领域中所有有志于此项工作的人。我们十分荣幸地得到他的同意,为本书写了绪论,这为以后各章提供了最合适和最有裨益的背景情况。

在篇幅这样大小的一部书中,我们不准作全面介绍,而是试图选择一些应用单克隆抗体已经或即将见到临床效益的课题加以陈述。在每个课题中,我们都找到了一些可供说明的章节,如用流感及Epstein-Barr病毒等章节,作为病毒学的代表,而将对不同病毒制成的单克隆抗体从略。本书最后一部分包括4章,专门描述了关于产生和应用单克隆抗体的详细方法学。我们认为详细讲述单克隆抗体的实际问题,对许多读者都将是非常珍贵的,因为这在文献中是极少提及的。显然,无论单克隆抗体怎样有价值,如果不会制备,或不会正确使用,他们的价值也就降低。

我们希望本书将具有广泛的教育意义,适于各方面读者阅读。为此,我们要求各章的作者所写的内容也可供非专业读者阅读,他们确已极好地完成了这个任务。作者们在3个月内脱稿,文章中还包括了许多尚未发表的工作,对此谨表谢意。因而,本书的发行应与任何一种主要期刊发行时间一样及时。我们感谢科学出版社(Academic Press)的Peter Brown,他建议和鼓励我们编写了本书。我们还感谢Jean Broadis, Eunice Berry及Rosemary Bryan在事务性工作上的大力协助,Phyllis Hildreth协助编排索引和附录。

A J McMichael

J W Fabre

1982年6月

(白炎译)

目 录

译者前言

前言

第一篇 绪 论

第一章 自杂交瘤获得的单克隆抗体：某些理论性问题及一般性评述

..... C. Milstein (1)	
第一节 引言..... (1)	第四节 单克隆抗体是否随机体现免疫动物 所产生的抗体..... (5)
第二节 分泌特异性抗体的杂交瘤的由来 和选择..... (2)	第五节 单克隆抗体的特殊血清学性质 (5)
第三节 好的杂交细胞可选择性地表达抗体 分泌功能..... (4)	第六节 结语..... (7)
第二章 人单克隆抗体：具有广泛临床潜力的最新进展..... H.S. Kaplan 等 (9)	
第一节 引言..... (9)	一、一般情况..... (12)
第二节 技术问题..... (9)	二、特殊应用..... (13)
第三节 临床应用的潜力..... (12)	三、副作用..... (17)

第二篇 免疫学问题

第三章 用抗 T 细胞单克隆抗体来检查人类疾病中免疫调节的变化

..... G. Goldstein 等 (19)	
第一节 引言..... (19)	 (24)
一、与疾病有关的免疫改变..... (19)	第六节 单克隆抗体在临床医学中的应用 (24)
二、早期测定免疫系统状态的方法..... (19)	一、循环细胞的测定..... (24)
三、免疫系统是由不同细胞亚群组成 (19)	二、单克隆抗体在诊断中的应用..... (24)
第二节 单克隆抗体的产生..... (20)	第七节 抗人 T 淋巴细胞单克隆抗体的未来 (31)
第三节 外周血淋巴细胞群的功能特性 (21)	一、加深对免疫调节的认识..... (31)
第四节 利用单克隆抗体分析淋巴组织中 淋巴细胞的分化和成熟..... (22)	二、深入研究免疫调节紊乱..... (31)
第五节 临床检测中计数 T 细胞的方法学	三、监测治疗的进展..... (32)
第四章 抗人淋巴细胞单克隆抗体：它们在免疫抑制和骨髓移植中的潜在价值 G. Janossy 等 (37)	四、新的治疗应用..... (32)
第一节 引言..... (37)	第三节 单克隆抗体的标准化..... (42)
第二节 抗胸腺细胞球蛋白 (ATG) 的标 准化..... (37)	一、选择性试剂反应特点的分析..... (42)
一、体内使用 ATG 的制备..... (37)	二、单克隆抗体的效力..... (47)
二、体外用的 ATG 的制备..... (42)	第四节 单克隆抗体的临床应用..... (50)
	一、用于病人的体内治疗..... (50)

二、骨髓细胞的体外处理	(53)	第五节 结语	(55)
第三篇 肿 瘤			
第五章 人肿瘤抗原的定义	ES Lennox 等 (59)		
第一节 引言	(59)	一、一些实际问题	(60)
第二节 抗人肿瘤细胞表面单克隆抗体的产生	(60)	二、应用于特殊肿瘤的结果	(64)
第六章 用单克隆抗体分析白血病细胞	MFGreaves 等 (69)	第三节 单克隆抗体的特异性究竟如何	(67)
第一节 引言	(69)	带Ⅱ特异性的单克隆抗体鉴定红系白血病	(80)
第二节 器材与方法	(70)	四、抗血小板(糖蛋白Ⅰ)单克隆抗体作为探测原巨核细胞白血病的探针	(81)
一、病人与细胞	(70)	五、体外调控白血病细胞表型	(82)
二、单克隆抗体	(70)	六、单克隆抗体 OKT 9 鉴定普遍存在的、与增殖相关的铁传递蛋白受体	(84)
三、免疫荧光、流动细胞荧光测定和细胞分类	(71)	七、抗T单克隆抗体对T细胞有多少特异性?	(86)
四、E-玫瑰花试验	(73)	八、在造血系统癌变中单克隆抗体临床应用的可能性	(87)
五、细胞表面抗原的提取	(73)		
第三节 结果与讨论	(73)		
一、与分化相关的T细胞癌变表型	(73)		
二、非-T ALL 和早期 B 细胞分化	(77)		
三、用红系细胞膜蛋白、血型糖蛋白和区			
第七章 单克隆抗体-毒素结合物:目的作为魔弹	PEThorpe 等 (92)		
第一节 引言	(92)	三、与蓖麻毒素的结合物	(100)
第二节 毒素和其它使核糖核蛋白体损伤的蛋白质	(93)	第五节 抗体与毒素A链或与A链样抑制剂的结合物	(101)
一、白喉毒素	(93)	一、与毒素A链的结合物	(102)
二、相思豆毒素和蓖麻毒素	(94)	二、与 Gelonin 的结合物	(103)
三、具有类似 A 链样特性的无毒性蛋白质	(95)	第六节 抗体-毒素结合物的治疗用途	(104)
第三节 抗体和毒素或毒素 A 链共价连接的化学	(95)	一、破坏骨髓移植中的淋巴细胞或肿瘤细胞	(104)
一、与完整毒素的结合物	(95)	二、免疫抑制作用	(104)
二、与毒素A链的结合物	(96)	三、肿瘤的化疗	(104)
第四节 抗体与完整毒素的结合物	(96)	四、寄生虫病的化疗	(105)
一、与白喉毒素的结合物	(97)	第七节 抗体-毒素结合物作为魔弹的现状	(105)
二、与相思豆毒素的结合物	(99)		
第四篇 血 液 学			
第八章 用单克隆抗体研究正常和疾病状态下的血小板	GTobelem 等 (113)		
第一节 引言	(113)	二、血小板膜	(114)
第二节 在血小板和血管壁相互作用中起作用的诸因子	(114)	三、Von Willebrand 因子	(116)
一、血管壁	(114)	第三节 血小板粘连	(116)
		一、血小板膜的糖蛋白Ⅰ和血小板粘连	

..... (116)	和血小板凝集反应 (125)
二、人抗糖蛋白 I 的同种异体抗体 (119)	二、抗糖蛋白 I b/IIIa 复合物的人同种异体抗体 (127)
三、抗糖蛋白 I 的单克隆抗体 (121)	三、抗糖蛋白 I b/IIIa 复合物的单克隆抗体 (128)
四、Von Willebrand 因子和血小板粘连 (123)	第五节 结语 (129)
第四节 血小板凝集反应 (125)	
一、血小板膜的糖蛋白 I b/IIIa 复合物	
第九章 人类血型的同种异体抗原的特性 DJAnstee (131)	
第一节 引言 (131)	隆抗体 (135)
第二节 方案 (133)	三、单克隆抗体 R ₁ 和 R ₂ (135)
第三节 结果 (133)	四、其它抗体的特异性 (135)
一、对红细胞唾液酸糖蛋白特异的单克隆抗体 (133)	第四节 常规血库中抗红细胞的单克隆抗体 (136)
二、与 Rh 血型系统有关的特异性单克	第五节 结语 (137)
第五篇 微生物学	
第十章 病毒，特别是关于流感病毒的特性表达、结构和变异分析	
..... W Gerhard 等 (139)	
第一节 引言 (139)	第四节 用单克隆抗体检测自然界中的变异及其与病毒流行病学的关系 (144)
第二节 抗原性变异病毒发生率的测定 (140)	第五节 单克隆抗体作病毒诊断和控制的应
第三节 流感变种病毒 HA 分子的结构和抗原特性 (141)	用 (148)
	第六节 结语 (150)
第十一章 Epstein-Barr 病毒抗原的鉴定，与该病毒相关的恶性肿瘤疫苗	
..... MA Epstein 等 (152)	
第一节 引言 (152)	 (156)
第二节 EB 病毒感染的流行病学 (152)	六、感染细胞中抗原的表达 (156)
第三节 EB 病毒与人肿瘤的相关性 (153)	第五节 应用单克隆抗体鉴定抗原 (157)
一、Burkitt 淋巴瘤 (154)	一、EB 病毒诱导抗原的分子复杂性 (157)
二、鼻咽癌 (154)	二、抗 EB 病毒诱导抗原的单克隆抗体 (158)
三、辅助因素 (154)	
第四节 EB 病毒诱导的抗原 (155)	第六节 EB 病毒疫苗的合理性 (159)
一、病毒壳蛋白抗原 (VCA) (155)	一、伦理上的考虑 (159)
二、膜抗原 (MA) (155)	二、实际上的考虑 (160)
三、早期抗原 (EA) (155)	第七节 单克隆抗体在疫苗生产中的作用 (161)
四、EB 病毒核抗原 (EBNA) (156)	 DAMitchison 等 (165)
五、淋巴细胞检出的膜抗原 (LYDMA)	二、单克隆抗体的产生和特点 (166)
第十二章 细菌学中的单克隆抗体 (165)	三、用途 (167)
第一节 临床细菌学中的潜在价值 (165)	第三节 抗其它细菌的单克隆抗体 (170)
第二节 抗结核杆菌的单克隆抗体 (166)	
一、结核杆菌的种类 (166)	
第十三章 单克隆抗体在寄生虫学特别是在疟疾方面的应用	
..... S Cohen (171)	

第一节 引言	(171)	三、抗疟原虫配子的单克隆抗体	(178)
第二节 疟疾	(171)	第三节 单克隆抗体在其它寄生虫感染中的应用	(179)
一、疟原虫孢子的免疫	(172)	第四节 结语	(181)
二、血液期疟原虫的免疫	(174)		

第六篇 遗传学

第十四章 抗组织相容性抗原 (HLA) 的单克隆抗体: 研究结构、遗传和功能的 新途径	AJMcMichael (183)	克隆抗体	(191)
第一节 引言	(183)	一、单型性抗原部位	(191)
第二节 HLA 系统: 结构、遗传和功能; 几个突出的问题	(183)	二、多型性抗原部位	(193)
第三节 抗 HLA 单克隆抗体的制造	(187)	第六节 用单克隆抗体分析 HLA 抗原的功 能	(194)
第四节 抗第 1 类抗原的单克隆抗体	(188)	第七节 HLA 抗原在组织中的表达	(196)
一、单型性抗原部位	(188)	第八节 结论与展望	(197)
二、多型性抗原部位	(189)		
第五节 抗 HLA DR (第 2 类) 抗原的单 第十五章 单克隆抗体和用体细胞遗传学 绘制人 基因图	PGoodfellow 等 (200)		
第一节 引言	(200)	第五节 可溶性蛋白的基因定位	(211)
第二节 体细胞遗传学技术介绍	(202)	第六节 体细胞杂交瘤作为制造单克隆抗体 的工具	(213)
第三节 细胞表面抗原的基因定位	(204)	第七节 选择性实验	(213)
第四节 生长因子细胞表面受体的遗传分析	(209)	第八节 结论	(215)

第七篇 神经学

第十六章 人中枢神经系统的分化抗原: 用单克隆抗体鉴别以及可能的临床价值	JW Fabre (219)	一、引言	(221)
第一节 引言	(219)	二、在脑内的分布	(222)
第二节 生产抗中枢神经系统抗原的单克 隆抗体的问题	(220)	三、生化特性的表述	(223)
一、中枢神经系统亚区的冰冻库	(220)	第四节 可能的临床应用	(225)
二、免疫原的选择	(220)	一、与疾病的关系	(225)
三、试验系统	(221)	二、中枢神经系统肿瘤	(225)
第三节 抗中枢神经系统分化抗原的单克 隆抗体举例	(221)	三、神经母细胞瘤的治疗	(226)
第十七章 神经递质单克隆抗体: 在了解正常和异常神经功能中的潜在价值	ACCuello (228)	四、其它可能性	(227)
第一节 引言	(228)	抗体	(232)
第二节 抗 P 物质单克隆抗体 (NC1/134HL)	(228)	第五节 用内部标记的单克隆抗体作放射免 疫细胞化学研究	(234)
第三节 抗 5-羟色胺单克隆抗体 (YC5/45)	(229)	第六节 单克隆抗体在神经学研究中的应用 前景	(235)
第四节 抗其它神经递质和记标物的单克隆			

第八篇 其它方面

第十八章 抗人的肝脏疾病中的透明体、中间丝和组织相容性 I 类抗原的单克隆抗体

..... J.O'D McGee 等 (237)	
第一节 抗酒精性透明体 (Mallory 氏体)	四、血清中的Mallory 氏体 (246)
和中间丝的单克隆抗体 (237)	第二节 在肝病中抗组织相容性 I 类抗原
一、引言..... (237)	的单克隆抗体 (247)
二、抗 MB 单克隆抗体的生产..... (238)	一、前言..... (247)
三、单克隆抗体与MBI中间丝的反应	二、组织相容性 I 类抗原在正常和患病
..... (239)	肝脏中的分布..... (247)
第十九章 单克隆抗体和人的妊娠: 对人的胎盘特异抗原的鉴定和可能的意义	
..... CASunderland 等 (253)	
第一节 引言 (253)	二、与胎儿同种移植存活有关的其它免
第二节 抗滋养层特异抗原的单克隆抗体	疫学机制..... (259)
..... (253)	第四节 滋养层与肿瘤形成 (260)
一、单克隆抗体的制备..... (253)	一、妊娠滋养层肿瘤..... (261)
二、单克隆抗体的性质..... (254)	二、胚细胞肿瘤..... (261)
第三节 滋养层和母体胎儿间的免疫学相互	三、非滋养层肿瘤..... (261)
作用 (255)	第五节 滋养层和先兆子痫 (262)
一、滋养层和组织相容性抗原..... (255)	第六节 结论 (263)
第二十章 药物的单克隆抗体: 新的诊断和治疗工具EHaber (265)	
第一节 引言 (265)	第四节 用两种单克隆抗体增强免疫测定
第二节 区别由免疫产生的常规抗体和单	法的特异性 (271)
克隆抗体的特征 (265)	第五节 逆转药物中毒的抗体 (273)
第三节 药物的单克隆抗体: 选择性免疫	第六节 作为受体探针的药物抗体 (276)
测定法合乎逻辑的而不是经验的研究	第七节 使用抗体作为药物 (278)
方法 (266)	
第九篇 一些实际问题	
第二十一章 单克隆抗体的产生: 操作指南 JMBastin 等 (280)	
第一节 引言 (280)	第八节 早期杂交瘤细胞培养物 (286)
第二节 计划的制订 (280)	第九节 克隆化 (286)
第三节 筛选试验 (281)	第十节 冻存杂交瘤细胞 (287)
第四节 免疫 (282)	✓ 第十一节 腹水 (287)
第五节 细胞培养技术 (283)	第十二节 存在的问题和解决办法 (287)
第六节 细胞系的生长 (283)	第十三节 结语 (283)
第七节 融合 (284)	
第二十二章 用单克隆抗体亲和柱纯化抗原以及其它研究: 单克隆抗体应用范围的	
补充RDalchau 等 (289)	
第一节 引言 (289)	二、去垢剂溶解的一般方法..... (293)
第二节 单克隆抗体柱的制备 (289)	三、在去污剂存在条件下的试验..... (295)
一、引言..... (289)	四、检测和避免可能出现的困难的实验
二、抗体的生产..... (290)	方案..... (296)
三、单克隆抗体与凝胶的连接..... (291)	五、蛋白水解作用的抑制..... (299)
第三节 抗原的溶解 (292)	第四节 应用单克隆抗体柱进行亲和层析
一、引言..... (292)	 (299)

一、引言及预试验的设计	(299)	一、特异性去除某一成分和纯化的材料 的分析	(306)
二、问题和可能的解决办法	(301)	二、受体-配基的相互作用	(307)
三、分子的大量纯化	(303)	三、抗原特异性靶	(308)
四、用亲和柱测定分子量	(305)	第六节 结束语	(308)
第五节 通过单克隆抗体亲和柱可能做的 实验的例子	(306)		
第二十三章 荧光激活细胞分类器在细胞亚群的鉴定和功能分析中的应用PC L Beverley	(309)		
第一节 引言	(309)	的优点	(315)
一、细胞分类器和单克隆抗体	(309)	二、胚胎白细胞的分析	(315)
二、荧光激活细胞分类器如何工作	(309)	三、成年淋巴细胞亚群的分析	(316)
第二节 数据的显示和分析	(310)	第四节 细胞分类和功能分析	(319)
一、引言	(310)	一、局限性和优点	(319)
二、直方图和选通	(310)	二、骨髓祖细胞	(319)
三、点图和等距离图	(312)	三、外周血 T 细胞	(321)
四、散射分析	(312)	四、从母体循环中分离胚胎细胞	(323)
五、荧光分析	(313)	第五节 展望	(323)
六、细胞和试剂的制备	(314)	一、双标记	(323)
第三节 在临床医学中的分析	(315)	二、混合标记	(323)
一、荧光激活细胞分类器 (FACS) 分析		三、结语	(324)
第二十四章 单克隆抗体在免疫组织学中的应用 DYMason 等	(326)		
第一节 引言	(326)	三、单克隆抗体免疫组织学的实际应用	(342)
第二节 用单克隆抗体进行免疫组织学标 记的技术	(326)	第四节 结语	(352)
一、组织的处理	(327)	[附] 用单克隆抗体作冰冻切片的免疫 组织学标记	(352)
二、免疫组织学标记步骤的选择	(327)	附录一 已提到的单克隆抗体	(354)
第三节 免疫组织学标记的展望	(335)	附录二 已提到的单克隆抗体的特异性	(356)
一、免疫组织学标记的优点	(335)		
二、免疫组织学标记的局限性	(339)		

绪 论

第一章 自杂交瘤获得的单克隆抗体：

某些理论性问题及一般性评述

C Milstein (英国医学研究理事会分子生物学实验室)

第一节 引 言

免疫动物产生抗体的淋巴细胞在体外培养条件下生存时间极短。虽然单个骨髓瘤细胞系在体外可长期培养生长，但其产生的抗体却不具有预先规定的特异性。这两类细胞融合后，所得的杂交细胞却保有二个重要特点：一是可长期培养生长，二是可产生和分泌具有预先规定特异性的抗体。因这些杂交细胞可被克隆化，故有可能对动物的不同的应答进行剖析(图1)。

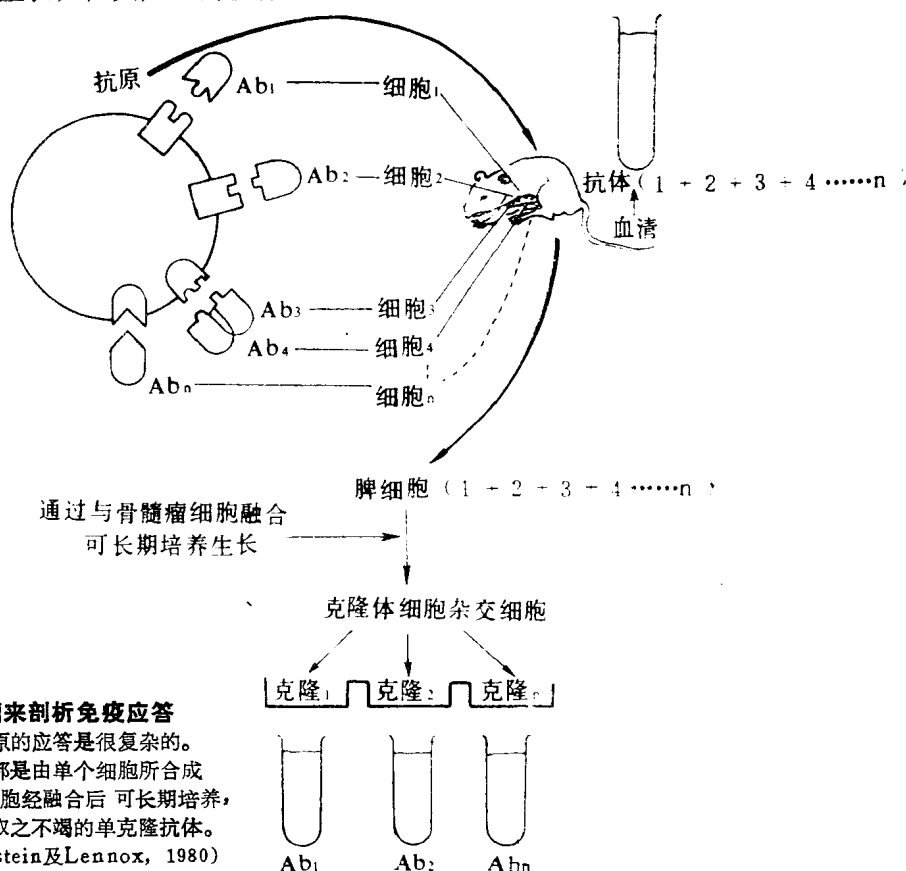


图1 用杂交瘤来剖析免疫应答

动物对抗原的应答是很复杂的。每种抗体都是由单个细胞所合成的。这些细胞经融合后可长期培养，并可提供取之不竭的单克隆抗体。
(采自Milstein及Lennox, 1980)

这样，不论免疫原多么复杂，用这种方法产生的试剂都是针对十分明确的抗原决定簇的，因而为解决许多不同问题提供了新的手段。本书目的便是对它在临床医学中的影响进行讨论。

这个实验体系似乎很简单明确，但此技术却是两个不相关的领域(细胞生物学和免疫学)多年基础研究发展的结果。1960年就已有人发现培养中的两个不同细胞可自发地融合并形成杂交细胞。但其发生率太低，没有什么实际意义。后来由于找到了增加融合效率的途径，又有了选择杂交细胞的方法，这才可能在研究工作中利用细胞融合这一现象(关于此技术发展史的详细综述见Ringertz及Savage, 1976)。在以后的10年中，体细胞杂交技术广泛地应用于两个方面：一是绘制基因图，一是研究基因表达和分化。将一特定的分化功能长期化，并用杂交细胞作为特异产物如单克隆抗体的长久来源，这又为体细胞杂交技术增加一项新用途。

第二节 分泌特异性抗体的杂交瘤的由来和选择

这个方法首先用来产生抗羊红细胞抗体(Kohler及Milstein, 1975)。其示意图见图2。所用骨髓瘤细胞系应具备如下条件：它应能很好地适应体外培养条件，并可长期培养；又要求它是遗传缺陷型，在特定条件下不能生长。最常用的突变系缺乏次黄嘌呤鸟嘌呤核苷转移酶或缺乏胸腺嘧啶核苷激酶。这些突变系通常选自在含偶氮鸟嘌呤或溴脱氧尿苷的培养液中仍可生长的细胞系。由于它们缺乏DNA补救旁路的酶，因而对上述DNA类似物不敏感。同理，他们也不能利用外源性次黄嘌呤或胸腺嘧啶核苷。若用氨基嘌呤阻断DNA前体内源性合成，即便在培养液中含有次黄嘌呤及胸腺嘧啶核苷，细胞仍将死亡。这种含氨基嘌呤、次黄嘌呤及胸腺嘧啶核苷的培养液称HAT培养液(Szybalski等, 1962)。突变系若同含野生型补救旁路酶的脾细胞形成杂交细胞，便能从中挑选出不同于母本细胞、唯一可在HAT液中大量繁殖的杂交细胞。

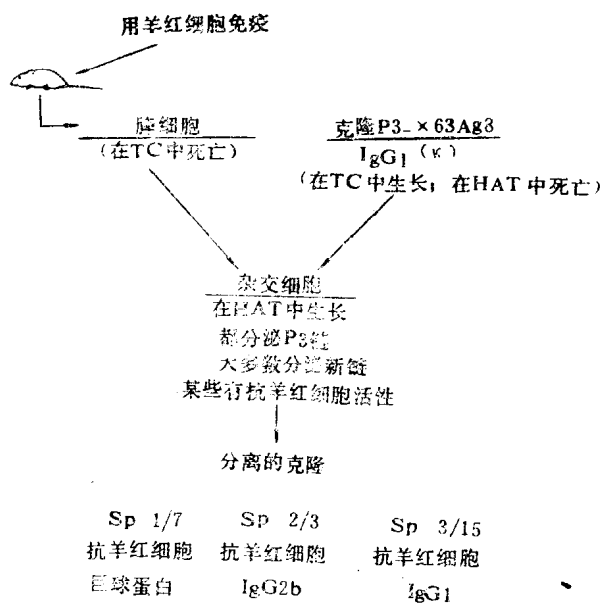


图2 将一产生特异抗体的短寿的脾细胞变为能长期培养的培养细胞系，并继续产生抗体

(摘自Milstein及Kohler, 1977)

生长着的杂交细胞同时表达出两种母本细胞的某些基因型及表型特性。但其中也有一些限制,将在后面讨论。选用某些母本骨髓瘤,可使大多数杂交细胞表达免疫动物淋巴细胞(如脾细胞)的抗体分子。有些杂交细胞还可表达和分泌所需的抗体。这种杂交细胞可单个分离,长成分泌特异性抗体的细胞克隆(图3)。

有关的一些实际问题和重要方案已有详细综述(Galfre及Milstein, 1981; 并见第21章)。由于动物对一给定抗原产生应答,通常刺激相当多的异源细胞群,每群细胞分泌不同抗体分子。而杂交瘤则代表了这个异源性细胞群的一个剖面(图1)。其中某些杂交细胞分泌所需特异的抗体分子。所以想要成功地得到所需杂交系,必需适当地免疫动物,此外也有赖于实验工作者是否有能力在大量随机产生的杂交克隆中选出所需的克隆。

免疫原结构复杂,有时含杂质。但只要能诱发出所需应答,并在有杂质的情况下也能特异地识别有关抗体,则不纯的免疫原也无关紧要(Williams等, 1977)。例如,针对干扰素粗制剂中杂质的抗体,会在测试中和或消除干扰素活性时全部被淘汰(Secher及Burke, 1980)。能特异地识别胸腺细胞的单克隆抗体,因其只与胸腺细胞结合,而不与外周血淋巴细胞结合,

可被挑选出来(McMicheal等, 1979)。但和选择抗干扰素抗体不同,简单的结合试验不能淘汰同时与胸腺细胞及外周血淋巴细胞反应的抗体。这就使筛选过程复杂化了。

此外,在复杂的抗原混合物中可能有优势免疫原成份。它们可以减低对所需抗原的应答。在这种情况下,部分纯化有关抗原便十分重要。用来部分纯化抗原的常用方法,是用单克隆抗体作为免疫吸附剂,将不纯成份去掉(Milstein及Lennox, 1980, 并见第22章)。有的实验室正在探讨其他方法,例如用特殊免疫方案,在体外刺激或诱导对无关抗原性的耐受反应等。假以时日,这些方法将加速分泌特异性抗体的克隆的获取。

然而,所需抗体的性质也不仅限于可特异地识别抗原,对于抗体的其他一些性质也同样需要考虑,如交叉反应性,亲合力,热力学或动力学的一些参数以及细胞毒性和凝集特性等。在选择杂交细胞系时,上述所有性质都很重要,故在实验设计阶段就应给予适当考虑。实际

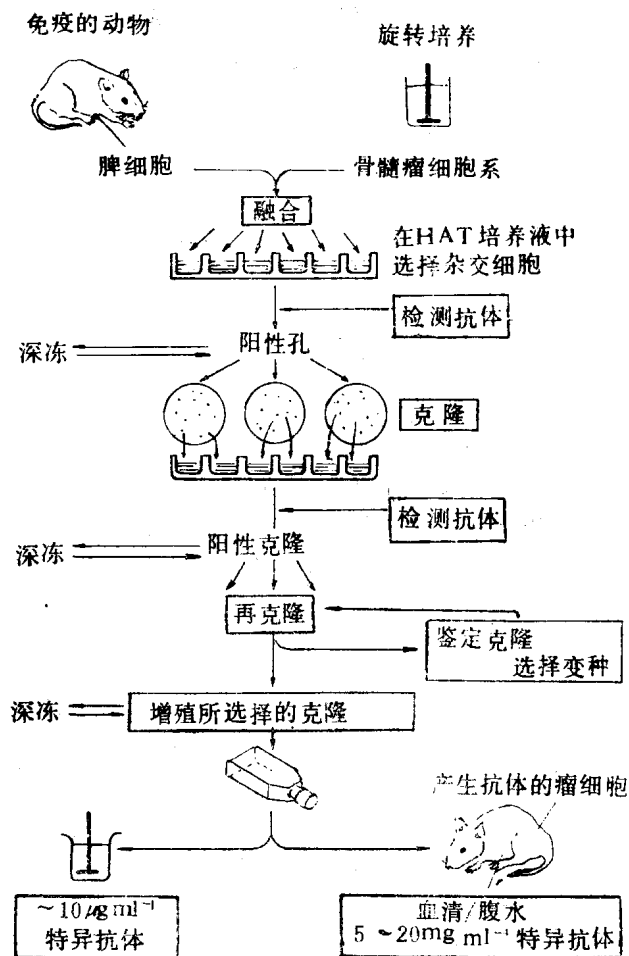


图3 产生及克隆分泌抗体杂交瘤的常规步骤
(摘自Galfre及Milstein, 1981)

上,不少实验室都曾碰到过下述的问题:当他们找到一些分泌所需抗体的杂交系后,却发现这些单克隆抗体不能如愿地用于后来的实验中。如抗体没有足够的亲合力,不能很好地用于放射免疫测定中。有些又不是很好的血凝素等。

为避免这类问题,必须用适当的筛选方法对有苗头的克隆的性质进行测定。不仅要测它对抗原的识别能力,也要测定抗体的其他一些特性。如需要高亲合力的抗体,则应选用适当条件,将低亲合力抗体淘汰。这虽对筛选提出更高要求,但有助于认识正确免疫方案的重要性。将来,人们必然要更多地考虑如何增加或预选表达特异抗体的细胞,从而简化筛选程序。

第三节 好的杂交细胞可选择性地 表达抗体分泌功能

用常规方法制备的杂交细胞系本身便有选择性,因而不需特殊地除去某种细胞,如T细胞(Milstein等,1977)。高度免疫动物的脾细胞通常含有1%的积极分泌抗体的细胞,但在融合后由它们所产生的杂交细胞却有10%可积极地分泌特异抗体。当5%脾细胞能积极分泌某类免疫球蛋白时,则可得到更多的好杂交细胞克隆,这一事实是很有启发性的。如表1所示,在最好的情况下,90%以上的杂交细胞可分泌免疫球蛋白。当大鼠骨髓瘤Y3/Ag1.2.3与小鼠脾细胞融合时,便可得到如此高的百分数。而其他组合都没有得到这样好的结果。因而,在实际工作中决不要忽视骨髓瘤母细胞系的重要性。

表1 可分泌免疫球蛋白的杂交瘤细胞百分数

(摘自 Clark 及 Milstein, 1981)

			分泌的细胞百分数 (%)
脾细胞			
杂交细胞株:			
骨髓瘤×脾细胞			
小鼠NS-1	小鼠		70
小鼠NSO	小鼠		45
小鼠NS-1	大鼠		25
大鼠Y3	大鼠		95
大鼠YB2/0	大鼠		85
大鼠Y3	小鼠		80
大鼠YB2/0	小鼠		50

上述数值近于平均值。NS-1指NS1/1Ag4·1; NSO指非分泌骨髓瘤NSO/u和×63/Ag8·653; Y3指Y3Ag1·2·3, 而YB2/0指非分泌骨髓瘤YB2/3·0Ag20。

抗体分泌表型的增加可能有下述几点原因。其一可能是由于积极分裂的细胞所形成的杂交细胞更易于存活下来。在一受抗原刺激的机体中,积极分裂的细胞中富含为此抗原激发而分泌抗体的细胞。另一可能造成这种增加的因素是表型互补。一个B细胞可以表达但不一定分泌抗体,而积极地筛选骨髓瘤细胞可提供高分泌表型的杂交细胞(Levy及Dilley, 1978; Laskov等, 1978; Raschke, 1980)。在一个高度免疫动物的脾脏中,许多细胞并不积极分泌抗体,但融合成为杂交细胞后则分泌抗体。最后的(在某些方面也可能是最有趣的)选择

性，可能是由与B细胞融合而得到的杂交细胞所决定。至少在用大鼠Y3骨髓瘤系作母本细胞融合时的情况是如此(Clark及Milstein, 1981)。这便意味着在融合前选择性地去除T细胞。可能不是一种有效的预选。

第四节 单克隆抗体是否随机体现免疫动物所产生的抗体？

从作者前面所谈及的情况来看，很显然，杂交细胞并不是脾脏细胞群的随机体现。暂且不论抗体分泌表型增加是否有利，重要的是应了解这种选择作用是否对表达的抗体有倾向性。换言之，这些成系的杂交细胞产生的抗体是否代表了免疫动物所分泌抗体的总体？

一般来说，情况确是如此。正是由于这个原因，因而制备单克隆抗体时，在细胞融合前对动物进行免疫是十分重要的。很清楚，如果动物不具有表达所需抗体的细胞，杂交瘤技术也无从使此抗体的产生永久化。这话似乎是多余的，但常是导致实验失败的原因。

然而在一些特殊场合下，某一细胞所分泌的抗体可使杂交细胞死亡。例如，某个抗体具备直接抗骨髓瘤母细胞的某一结构，在有补体存在的情况下，便可造成细胞溶解。

由动物所产生的抗体和由同一免疫动物而来的各种单克隆抗体总体间的差别在于：经融合而使之永久生存的细胞类型及体内抗体的转换情况。作者上面已经提到，脾脏中某些类型细胞易于形成杂交细胞并可长久存活。但最好的杂交细胞可能并不是与最好的分泌抗体的浆细胞融合后产生的 (Clafflin及Williams, 1978)。由于分泌抗体最好的浆细胞可能不再分裂，因而不能形成活的杂交细胞。

在免疫的任一阶段，动物血清中的抗体，都是由某些类型细胞所分泌的不同抗体所组成。这种抗体混合物所维持的时间有赖于抗体在体内的半衰期。而单克隆抗体则反映某一特定时刻稍许不同类型的细胞所分泌的抗体。

上述问题，从理论角度上看是很有趣的，但并不是说单克隆抗体不如普通抗体。单克隆抗体或其适当的混合物，在理论上当和由同一动物制备的抗血清一样好，实际上应该更好些。

既然如此，为什么由一次筛选而得到的单克隆抗体亲合力常低于普通抗血清呢？第一，其原因可能是多种的或综合的。第二，对任何一种具体情况，都需仔细加以研究。抗血清是根据一定免疫程序而产生，而这个程序是在不同物种或品种动物中多次试验后得来的。如在与大鼠、小鼠、家兔的比较中，发现豚鼠所产生的抗体最好，那末由大鼠或小鼠得到的单克隆抗体就不大可能比得上豚鼠血清中最好的部分。

同样，放射免疫测定中所用的抗体只是所制备抗血清中的一小部分。若高亲合力抗体只是总抗体的5%，如果没有设计一个淘汰低亲合力抗体的筛选方法，那么在20个单克隆抗体中仅出现一个有高亲合力的抗体。就不应使人感到奇怪。

第五节 单克隆抗体的特殊血清学性质

单克隆抗体的某些血清学特性，初看起来很特别。血清学方法是经过多年研究得来的，

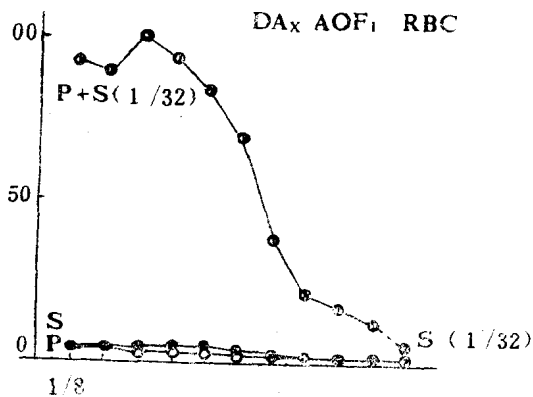
应用时必须与抗体的混合物打交道。一个二价抗体和一个单价抗原只产生无沉淀的抗原抗体反应，是不足为奇的。但血清学家对此并不习惯，这是由于他们习惯于用多克隆抗血清和多价抗原打交道。

单克隆抗体多种意外的特性常是由于上述基本差别所引起。例如，抗血清对冰冻干燥、碘化或其他理化处理都可能是稳定的。但其稳定性可能由于其中的某些稳定抗体分子所致，而另一些抗体分子却并不稳定。若其中50%是稳定的，而其余抗体的滴度全部丧失，也只不过降低一个稀释度，它可能不被察觉地就获得通过。相应的单克隆抗体只有50%的机率是稳定的，而且比抗血清更加稳定，但也有50%的机率是不稳定的。一些对于抗血清的标准处理方法不会使血清明显失活，但对于某些单克隆抗体来说，却是损失重大，预测单克隆抗体的性能和稳定性通常是很困难的。

已观察到标记的单克隆抗体可从Ouchterlony双扩散的沉淀线中扩散（Lachmann等，1980）。这似乎打破了沉淀线可作为扩散障碍的规律。其原因却很简单。这是由于多价抗血清中的标记单克隆抗体可以使抗原部位饱和，而不致溶解沉淀。此为单克隆抗体具有特殊性质的另一例子。这很容易用一个复杂混合物与分离的个别成份间的不同来解释。

单克隆抗体的细胞毒反应和沉淀反应一样需要多个部位。此外，这些部位在细胞表面的分布也可能是很关键的。识别大鼠组织相容抗原的两个不同的单克隆抗体有协同细胞毒作用，是个很好的例子（图4）。若用细胞毒试验来筛选单克隆抗体，它们的单克隆性会妨碍对它们的鉴定，但是单克隆抗体一旦被分离出来，便成为很有用的工具。一个抗大鼠组织相容抗原的单克隆抗体，可用其来致敏大鼠红细胞，只有在另外的抗体存在时，红细胞才溶解。在此基础上已建立了筛选分泌“非溶解性”抗体细胞的 Jerne 空斑试验。在这个试验中需用事先分离出来的有协同作用的单克隆抗体来预处理红细胞（Howard及Corvalan，1979）。

此外，单克隆抗体还有一些特殊性质是难以解释的。例如有3个单克隆抗体，它们是针对单个分子上的不同部位，却不能使之沉淀（Lachmann等，1980）。某一特定的抗羊红细胞单克隆抗体在间接血凝反应中得到阴性结果，也找不出恰当的解释（Galfre等，1979）。其明确的原因可能是结构特点或空间约束，但此结果突出显示了。反应的个体性是预料中的事。复杂的混合物（如一般的抗血清）在某种程度上可以自我调节，因而使各种抗体的特性不突出。



这两个单克隆抗体分别识别同一组织相容抗原的两个不同部位（标记的P和S）。用⁵¹Cr标记红细胞，在加抗体和补体后，细胞的溶解通过释放到培养基中的放射性来测定。每个抗体单独不溶细胞，但两者在一起便使细胞完全解体。抗体是由1/8开始进行两倍稀释。当两个抗体混合时，S自始至终仅用1/32一种稀释度（摘自Howard等，1979）。

图4 通过大鼠红细胞的溶解证明两个单克隆抗体的协同效应

单克隆抗体的特异性是由于它的纯度，但这并不能排除由于识别类似抗原或不同抗原上相同决定簇而造成的交叉反应。这特别联系到一些复杂的情况，像细胞表面抗原的表达，其

共同抗原决定簇可在不同分子上表达出来,例如进化上有关蛋白的一个共同片段,一个糖基等。另一方面,不与单克隆抗体反应并不证明缺乏有关抗原,因为抗原决定簇周围环境变化也可影响反应性。

第六节 结 语

△和混杂的混合物不同,单克隆抗体有明确化学本质,故将逐渐取代标准药箱中的常规抗血清,供临床和其他血清学试验使用。本书不同章节将阐述单克隆抗体在广泛的医学领域中的影响。很多基础生物学领域如细胞的、亚细胞的和分子的结构以及组合、神经系统、分化等研究工作中都开始用这种具有很大优越性的单克隆抗体技术。工业方面也开始注意到用单克隆抗体纯化生物提取物的优点。

这样,单克隆抗体技术正为解决无数医学和其他方面问题提供新手段。为进行认真探索的其他条件也告成熟。下一步无疑是要在大小鼠以外物种中制造单克隆抗体。现已作了相当大的努力去创建体外产生人单克隆抗体的可靠方法,这也是下一章的主题,作者在此不予赘述。这样做的原因是多方面的,因为其他物种如家畜、爱畜的重要性还不能与医学问题相比。

很清楚,对单克隆抗体的化学修饰很可能是十分重要的。为了诊断的目的,使单克隆抗体所要识别的目标变成可见的,其途径之一就是改变单克隆抗体。最常用的方法是将放射活性、荧光或酶标引入抗体分子,以便进行免疫细胞化学或放射免疫及其他种类型结合测定。其他场合也需要对单克隆抗体进行化学改变。目前最令人注目的是将抗体联接于毒性物质,以此作为定向运载细胞毒药物的手段(见第七章)。制备免疫吸附柱也是一种化学改变,单克隆抗体的使用对天然产物或用遗传工程方法所产生的蛋白的纯化会有很大影响。用DNA重组细菌所产生的人的激素或干扰素,需要严格的纯化其最终产物,用单克隆抗体免疫吸附柱可以达到此目的(Secher及Burke, 1980, 并见第22章)。

✓从商业角度出发,为满足工业需要而用动物来产生单克隆抗体并非明智,而且人们还可能从道德角度提出异议。另一种方式便是培养大量细胞,从长远看来,此法更为可行。由于培养基、培养条件及自动化等技术发展,用细胞培养方式比用动物产生更廉价的单克隆抗体的时代可能会出人意料地迅速到来。

●将来也有可能用细菌来制造抗体(Milstein和Kohler, 1977)。但是,从严格的商业角度出发,初看起来这种方法似乎并不比培养杂交瘤更优越。依我看来,除非这个细菌系统像骨髓瘤一样,可将抗体分泌到培养基中,否则细菌方法并无优越性。

如前所述,单克隆抗体的特性既可能使问题复杂化,又有很大优越性。如果为获得良好的碘化物而筛出的单克隆抗体,在制备荧光标记物时的性能很差,是不会令人惊讶的。商业公司在正确选择和单个测试每一单克隆抗体时所需掌握的技术专长,远较研究相应抗血清为高。另一方面,单克隆抗体性质的一致性又促进商业产品的标准化,即便研究工作者的高超技术,也不能同这种适合于工业生产的大规模筛选和标准化方法的优越性相媲美。

体外产生抗体还提供另一种引人入胜的可能性。即利用含 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 等标记的氨基酸来制备具有适当内标记的单克隆抗体,这也是另一种形式的化学改变。其他有关文献已说明了这种内标记蛋白用于免疫细胞化学研究中的优越性(Cuollo等1980, 并见第17章)。另一种内修饰是用氨基酸的同类物使抗体理化性质发生变化。