

临床免疫学手册



临床免疫学手册

临床免疫室编著

第一章 基础知识	1
第一节 免疫学基础知识	1
第二节 肿瘤免疫	17
第三节 移植免疫	20
第四节 免疫功能的测定方法与临床意义	22
第五节 自身免疫病的血清学检查	34
第二章 基本技术	44
第六节 缓冲溶液的配制	44
第七节 区带电泳与免疫电泳	52
第八节 盐析	63
第九节 凝胶过滤	69
第十节 离子交换色谱	79
第十一节 亲和层析 (溴化氰活化琼脂糖免疫吸附剂)	84
第十二节 特异性抗血清的制备	87
第三章 非特异免疫功能测定	93
第十三节 吞噬与杀菌功能测定	93
第十四节 巨噬细胞吞噬功能 (斑蝥发泡法) 及泡液中免疫活性物质测定	97
第十五节 溶菌酶测定	98
第四章 细胞免疫功能测定	103
第十六节 花环试验	103
第十七节 淋巴细胞转化试验	110
第十八节 K细胞活性测定 (^{51}Cr 释放试验检测K细胞)	112
第五章 体液免疫功能测定	117

✓ 第十九节 免疫球蛋白及其提取	117
✓ 第二十节 免疫球蛋白定量	125
附1 单向(环状)免疫弥散操作方法(Ig、C ₃)	130
附2 免疫比浊测定法(血清IgG、IgA、IgM、C ₃)	132
附3 单向(环状)免疫弥散定量法标准曲线的制备	135
第二十一节 单细胞系免疫球蛋白增多症的实验室检查	139
第二十二节 可溶性免疫复合物测定	144
附1 冷球蛋白测定	151
附2 改良抗补体试验	153
第二十三节 补体	156
第二十四节 补体的检测技术	163
附1 总补体溶血活性(CH ₅₀)测定操作方法	168
附2 用未致敏兔红细胞测定补体旁途径溶血活性	171
附3 血清C ₃ 含量测定	174
第六章 肝炎病人的免疫学检查	175
第二十五节 肝炎病原学	175
第二十六节 乙型肝炎病人肝细胞遭受免疫损伤的可能机制	183
附1 反向间接血凝试验检测HBsAg	191
附2 间接血凝试验检测抗HBs	192
附3 血凝中致敏细胞用的HBsAg与豚鼠(或马)抗HBs IgG组分的简易纯化法	193
附4 检测抗HBc的改良免疫粘附血凝试验	194
附5 检测抗LSP的间接血凝试验	196
✓ 第七章 常用免疫检测技术	198
第二十七节 免疫荧光技术	198
附1 间接免疫荧光法测定抗核因子	215
附2 间接免疫荧光法检测抗胃壁细胞抗体	218
附3 间接免疫荧光法检测抗甲状腺抗体	219
附4 其它自身抗体的免疫荧光检测法及临床意义	219
第二十八节 间接血凝技术	220

附 1	间接血凝试验检测类风湿因子	226
附 2	间接血凝试验检测抗DNA抗体	227
附 3	测定抗心抗体的改良间接血凝技术	228
附 4	抗人肌红蛋白抗体间接血凝试验	231
附 5	间接血凝试验检测抗TM与抗TG及其临床评价	231
附 6	检测人血清胰岛素抗体的间接血凝试验	234
附 7	反向间接血凝技术检测肌红蛋白及其对急性心肌梗塞早期诊断的价值	235
第二十九节	间接血凝试验的质量控制	238
第三十节	免疫酶技术	241
第三十一节	放射免疫分析	253
第三十二节	免疫电泳技术	260
第八章	用免疫化学法检测其他血清蛋白	262
第三十三节	α_2 巨球蛋白的提取与检测	262
第三十四节	血清转铁蛋白测定	263
第三十五节	人肌红蛋白的提取、纯化的技术研究	265
第三十六节	肌红蛋白的检查和临床意义	269
第三十七节	免疫比浊法测定血清白蛋白	272
附 录		
第三十八节	常用缓冲液	278
第三十九节	离心转速与相对离心力 (g) 的换算	283
第四十节	国际制与统一公制计量单位对照	285
第四十一节	希腊字母表	286
第四十二节	常用元素的原子量表	287
第四十三节	常用药品中英文对照表	289
后 记		305

第一章 基础知识

第一节 免疫学基础知识

免疫学是一门古老的医学科学,从免疫学的经验时期开始,至今已有数百年的历史。宋真宗时(公元998~1022年)我国已有人用种人痘预防天花。明隆庆年间(公元16世纪)人痘法在我国广泛开展,创造了通过人体连续传代,使痘苗毒力降低的方法。此法随后传入中东和欧洲,成为近代免疫学的开端。1789年,英国医生琴纳(Jenner)通过长期观察和实验,发表了有关牛痘苗可以预防天花的著作。以后,直到1881年,法国免疫学家巴斯德(Pasteur)提出了“疫苗”这一术语,并制成死疫苗和炭疽杆菌、狂犬病毒等的减毒疫苗。1883年俄国生物学家梅奇尼可夫(Metchnikoff)发现吞噬作用,提出细胞免疫学说,认为吞噬细胞是机体的第一线防卫系统。1890年德国学者贝林(Behring)和日本学者北里用减毒白喉外毒素给动物注射,获得抗毒素,并用以治愈了一名德国女孩。与贝林同在郭霍(Koch)研究所工作的欧立区(Ehrlich)氏据此认为血清抗体是抗感染免疫的主要因素,并提出了抗体生成理论。在其后的年代里,血清中各种杀菌物质如溶菌素、凝集素、补体等被不断发现,推动了免疫化学的研究,渐次阐明了抗体的理化学性质,建立了鉴定抗原的新方法(凝胶弥散、免疫电泳等),同时也发现了与免疫保护反应相对立的免疫病理反应——变态反应与自身免疫现象。1945年欧文(Owen)发现免疫耐受现象。其后,布耐特(Burnet)对此提出了机体淋巴细胞有识

别“自己”与“非己”能力的观点。该氏并于1958年提出了细胞系选择学说。这一学说的基本点是:体内存在有识别各种抗原的免疫细胞系,它们的识别作用是通过细胞表面的受体;抗原选择有相应受体的免疫细胞,使之活化,增殖与分化,最后成为抗体生成细胞及免疫记忆细胞;胎生期免疫细胞与抗原性物质接触后被破坏、排除或失活,处于受抑制状态,对抗原失去反应性,形成所谓天然耐受状态,此种受抑制细胞系,又称为禁忌细胞株;免疫细胞系可因突变而产生能与自身抗原起反应的细胞系,从而引起自身免疫反应。这一学说,尽管存在一些不足之处,但对现代免疫学的发展有重大影响。使免疫学从抗感染免疫的概念中解脱出来,发展成为生物机体对“自己”与“非己”的识别并借以维持机体稳定的生物学概念。近年来通过对免疫器官和免疫活性细胞的研究,建立了高等动物体内免疫系统的组织学和细胞学基础。对淋巴细胞及其亚类的研究,对T淋巴细胞识别机制即其受体性质的研究目前正在深入进行,使免疫学进入了细胞生物学和分子学水平。免疫化学的研究也取得长足的进展,五种免疫球蛋白相继发现,它们的分子结构、理化性质、化学分析及生物学功能均已阐明。目前,运用淋巴细胞杂交瘤产生单克隆(单细胞系)抗体的技术,正日趋成熟,并在免疫学、细胞生物学、分子生物学和医学领域中得到日益广泛的应用。在对各种抗原的研究方面:如对各种微生物抗原

(肝炎病毒抗原等)、肿瘤细胞抗原(AFP、CEA等)、过敏原(豕草抗原E)、细胞抗原(组织相容抗原如鼠的H—2抗原、Ia抗原、人的HLA等)的分离、纯化、化学分析,均已取得很大进步。1971年在美国举行的第一次国际免疫学会上,一致认为免疫学应从微生物学的一个分支发展成包括有免疫化学、免疫生物学、免疫遗传学、免疫病理学、

免疫药理学、分子免疫学、临床免疫学以及肿瘤免疫和移植免疫等边缘学科的独立学科。

一、临床免疫学的任务:

临床免疫学的主要任务,是运用免疫学的基本原理与技术,研究疾病的发生与发展,对疾病进行诊断、治疗和预防。其主要内容见表1。

表1 临床免疫学的主要内容 (谢少文, 1979)

内 容	传 染 病	感 染	寄 生 虫 病	遗 传 病	血 液 病	变 态 反 应 免 疫 病	肿 瘤	移 植
诊 断	+	—	±	+	+	±	— *	— **
预 防	++	—	±	—	—	—	—	—
治 疗	±	±	—	+	+	+	+	+

说明: — ~ ++: 有用程度 ±: 有的有用, 有的无用

*: 肝癌诊断突出 **: 方法不易执行

二、免疫系统的功能:

免疫的定义, 过去认为是抗感染。根据现代免疫学的观点, 则可概括为对“自己”

与“非己”的识别(可以理解为对抗原的识别和排斥)并借此维持机体内环境的稳定。

表2大致可以包括它的主要功能。

表2 免疫功能的主要表现

功 能	免 疫 刺 激	正 常 反 应	过 高 反 应	过 低 反 应
免 疫 防 护	外 源 性	抗拒各种感染	变 态 反 应	免 疫 缺 陷
自 身 稳 定	内 源 性	维持免疫恒常	免 疫 病	免 疫 病
免 疫 监 视	内、外 源 性	防止癌变和感染复发	—	癌变, 持续感染

三、人体的免疫系统:

高等动物机体的免疫功能, 是由一个完整的免疫系统实现的。免疫系统由免疫器官、无被膜淋巴组织、免疫活性细胞以及各种免疫分子(抗体、补体、淋巴因子)组成。

(一) 中枢免疫器官: 包括胸腺、腔上囊(类囊器官)和红骨髓。发生较早, 是造血干细胞增殖分化为T淋巴细胞(T细胞)或

B淋巴细胞(B细胞)的场所, 淋巴细胞在此增殖不需要抗原刺激, 它们向周围免疫器官输送T细胞或B细胞, 决定着周围免疫器官的发育。

1. 胸腺: 胚胎第6周由第3和第4咽囊腹侧上皮增殖、分化形成。胚胎后期和初生期生长迅速, 重约10~15克, 青春期达30~40克左右。以后退化萎缩, 胸腺实质由脂肪组织取代, 至60岁时尚重10~15克左右。但

还残余一定功能。

胸腺分皮质与髓质两部分，皮质主要由淋巴细胞（又称胸腺细胞，Thymocyte）及少量网状细胞组成，髓质内淋巴细胞较少而网状细胞甚多。一般认为胸腺皮质中的淋巴细胞，经网状细胞分泌的胸腺素（胸腺生成素 I、II，Thymopoietin I、II）作用，衍化成胸腺依赖的淋巴细胞即 T 淋巴细胞，发挥细胞免疫功能。新生动物切除胸腺则丧失细胞免疫功能，表现为细胞免疫缺陷。植入胸腺后又可恢复正常。成年后切除胸腺对细胞免疫无显著影响。这是因为 T 细胞已发育成熟并迁移至周围淋巴器官之故。但也发现，成年动物切除胸腺 2 周后在脾脏可见 T 细胞减少，说明这些 T 细胞还是从胸腺来的。

2. 腔上囊：是鸟类在泄殖腔后上方的一个盲囊状结构，300 年前解剖学家 H. Fabricius 曾对其进行研究，故称法氏囊 (Bursa of Fabricius)。呈圆形或梨形。囊壁结构自内向外可分为：上皮、固有膜、肌层和外膜。在固有膜中有大量淋巴滤泡（淋巴小结）沿上皮密集排列，淋巴滤泡分髓质与皮质。髓质由网状细胞和大淋巴细胞构成；皮质主要由小淋巴细胞构成。关于腔上囊如何使造血干细胞分化发育成 B 淋巴细胞（囊依赖的淋巴细胞），众说纷纭，多认为腔上囊分泌囊激素，促进了 B 细胞的分化。新生期切除鸟类腔上囊后则不产生抗体，出现体液免疫缺陷症。人和哺乳动物没有腔上囊，目前许多实验证明，人类的腔上囊类似器官为红骨髓及肠道淋巴组织。腔上囊是 B 淋巴细胞发育成熟的中枢淋巴器官，其主要功能在于使干细胞成熟为 B 细胞并将 B 细胞向周围淋巴器官输送。

3. 红骨髓：是生后最重要的造血器官。含造血多能干细胞，可分化成红细胞、粒细胞、单核细胞、血小板及淋巴细胞。

红骨髓广泛分布在婴儿骨髓腔内。成人则主要分布在长骨骺端、不规则骨及扁骨等

处的骨松质中。红骨髓主要由血管、血窦、不同发育阶段的各系细胞及网状结缔组织组成。

红骨髓的主要功能是产生各种血细胞，清除衰老伤亡细胞，滤过血液，调控血细胞的发生、释放；而且在人类是除 T 细胞以外的各种免疫活性细胞的总来源。

(二) 周围免疫器官：包括淋巴结、脾脏和扁桃体等，发育较迟，其淋巴细胞最初是由中枢免疫器官输送而来，须靠抗原刺激而增殖，继而执行免疫功能，是免疫反应的重要场所。

1. 淋巴结：位于淋巴管通道上，分布于全身。为大小不等，直径 1~25mm 的豆形淋巴器官。其实质部分分为皮质与髓质。在皮质浅层，淋巴组织分化为初级淋巴小结（见于新生动物及生后未受抗原刺激的淋巴结）及次级淋巴小结（又称生发中心，在抗原刺激后出现），均为 B 细胞密集区（其内也有少数 T 细胞）。生发中心则为 B 细胞受抗原刺激后母细胞化并不断增殖而成。在生发中心，每个淋巴细胞是一个细胞株。除淋巴细胞外尚有浆细胞、巨噬细胞。在淋巴小结之间及皮质深层（又称副皮质区）为弥散淋巴组织，主要为 T 淋巴细胞。髓质的淋巴组织呈条索状，称为淋巴索（髓索），主要为 B 淋巴细胞。

淋巴结的功能主要为：1. 过滤清除异物：侵入机体的病毒、细菌和它们的毒素，机体产生的自身抗原物质，肿瘤细胞等经淋巴液进入淋巴结后，可被淋巴结内生成的抗体凝集、调理，被巨噬细胞吞噬，或粘获，从而使进入血循环的淋巴液纯净。2. 为淋巴细胞产生和居留之地：未受抗原刺激时，淋巴结内的淋巴细胞 90% 以上为再循环池来的，只有 4% 左右为淋巴结内产生的。在受抗原刺激时，淋巴结内可产生大量新的淋巴细胞。3. 参与体液免疫反应和细胞免疫反应：B 淋巴细胞受抗原刺激后有的分化为浆细胞并产

生特异性抗体,有的成为记忆B细胞,有的进入再循环池迁到其他淋巴器官,进一步繁殖分化,将免疫反应扩大到全身淋巴组织(信使淋巴细胞)。T细胞受抗原刺激时也分裂繁殖、母细胞化,产生多种淋巴因子,杀伤靶细胞(肿瘤细胞、移植细胞、细胞内寄生虫等)发挥细胞免疫作用。此外,也有部分T细胞分化成记忆T细胞,进入再循环池。

除淋巴结外,兰尾柱状上皮下的固有膜结缔组织中,含有许多淋巴小结和弥散的淋巴组织,其中有B细胞也有T细胞。在消化道、呼吸道、泌尿生殖道的粘膜,还分布有大量的无被膜的淋巴组织,这些弥散的淋巴组织,由B细胞与T细胞组成,B细胞中有很多生产IgA的细胞的前体,在直接受到抗原刺激时,可分化成浆细胞,形成分泌性的IgA,起局部抗感染作用。

2. 脾脏:为体内最大的淋巴器官。其实质由红髓和白髓两部分构成。白髓是包围在中央动脉外的淋巴组织,分为动脉周围淋巴鞘(又称淋巴索)和淋巴小结。前者为T淋巴细胞的主要分布区,后者为B淋巴细胞集中区。红髓中的髓索也密集B细胞。

脾脏的功能主要是通过其内的巨噬细胞捕获清除异物,净化血液;因B细胞含量较多,故为体内产生抗体的重要基地;生成淋巴细胞,也为再循环的淋巴细胞的重要居留处;胚胎期造血,出生后为重要贮血器官,并清除血内衰老损伤的血细胞和血小板。一般认为脾脏在生命早期较为重要,成年人切除脾脏对生命并无重要影响。但也有报告指出,脾切除后,因血清中IgM、IgA减少,滤过作用减弱,败血症的发病率可比正常人高50倍。脾切除后防御和清除废物的功能受到影响,血中衰老、低效的红细胞增多。有人报告脾脏中抑制T细胞远较辅助T细胞为多(45%:10%),脾切除后,抑制T细胞大量减少,不能控制B细胞,故出现高Ig血症。有人发现脾切除术后T细胞转化率降低。

3. 扁桃体:指腭扁桃体。其上皮细胞下有密集淋巴小结及弥散淋巴组织。淋巴小结有生发中心,主要为B细胞。其中分泌IgG的占65.2%,分泌IgA的占30.1%,分泌IgM的3.5%,分泌IgD及IgE的极少。

(三) 免疫活性细胞

参与免疫反应的细胞主要有两大类:

第一类:具有捕获抗原,处理抗原并将处理后之抗原以某种方式提供给淋巴细胞的作用,或参与其他免疫反应。

1. 单核-巨噬细胞:过去将不同脏器内的巨噬细胞加上网状细胞、血窦内皮细胞统称网状内皮系统,近年有许多实验证明,网状细胞和内皮细胞吞噬功能较弱,它们并不能转化为巨噬细胞。体内各处的巨噬细胞由血流中的单核细胞游出血管并转化而来。故近来采用巨噬细胞系统或单核-巨噬细胞系统代替网状内皮系统一词。单核巨噬细胞的演变和分布见表3。

单核巨噬细胞的主要功能为:(1)吞噬并杀灭侵入血流中的各种病原微生物,特别是某些细胞内感染的微生物;(2)吞噬体内衰老、死亡的细胞和血脂;(3)细胞毒作用:巨噬细胞可杀伤靶细胞,如肿瘤细胞。当相应抗体与靶细胞结合,抗体的Fc部分与巨噬细胞表面受体结合,巨噬细胞可能通过胞浆桥(Cytoplasmic bridge)释放溶酶体中的酶到靶细胞,使靶细胞受到破坏;

(4)处理抗原,并将抗原信息传递给T细胞或B细胞。巨噬细胞可将可溶性抗原聚集在它们表面起浓集抗原的作用,可以吞噬颗粒性抗原,并以溶酶体酶将其降解为小分子物质,此小分子物质与胞浆中的RNA组成抗原-RNA复合物,再传送给淋巴细胞;抗原量过多时,巨噬细胞可将抗原较长时间贮存,从而对免疫反应起调节作用。经巨噬细胞处理过的抗原,抗原性可显著提高,如与巨噬细胞结合的清蛋白,其免疫原性较游离的可溶性清蛋白高1,000~10,000倍;(5)辅

表 3

单核巨噬细胞的演变和分布

细 胞	定 位
前单核细胞 (Precursor cells)	骨 髓
幼单核细胞 (Promonocytes)	骨 髓
单 核 细 胞	血、骨髓
巨 噬 细 胞	结缔组织：组织细胞 (Histiocytes)
	肝：枯否氏细胞
	肺：肺泡 (Alveolar) 巨噬细胞
	脾：游离与固定的巨噬细胞
	淋巴结：游离与固定的巨噬细胞
	骨髓：巨噬细胞
	浆膜腔：胸膜和腹膜巨噬细胞
	骨组织：破骨细胞 (Osteoclasts)
	神经系统：小神经胶质 (Microglial) 细胞

助淋巴细胞参与免疫反应：业已发现，出生 2~4 天的大鼠对绵羊红细胞 (SRBC) 不能产生抗体，但如同时注入成年大鼠的腹腔巨噬细胞，便能产生抗 SRBC 抗体；不含巨噬细胞的纯淋巴细胞，母细胞转化率及对特异抗原的反应性均减低，加入巨噬细胞即可达正常水平，淋巴细胞中加入巨噬细胞可使某些淋巴因子如干扰素的产生增加。

2. 嗜中性粒细胞：胞浆中含有初级颗粒 (嗜天青颗粒) 和次级颗粒 (嗜中性颗粒)，目前认为即溶酶体，含有髓过氧化物酶、酸性水解酶、中性蛋白酶、溶菌酶以及乳铁蛋白等。嗜中性粒细胞的主要功能为吞噬侵入体内的病原微生物，特别是化脓性细菌和某些真菌，在抗感染中起重要作用。此外也吞噬衰亡受伤的细胞以及免疫复合物。嗜中性粒细胞还与缓慢反应物质 (SRS-A) 及激肽的产生有关。许多实验证明，中性粒细胞的溶酶体酶及非酶成分可造成急性炎症及免疫性组织损伤。溶酶体酶中，中性蛋白酶的作用基质十分广泛，包括软骨粘多糖、肺结缔组织、血管基底膜和肾小球基底膜、弹性蛋白和胶原等，从而引起血管炎、肾小球肾炎、关节炎和肺气肿等病变。非酶成分中的阳离

子蛋白、超氧化物、单体氧和过氧化物也可能对组织造成损伤。

3. 嗜碱性粒细胞和肥大细胞：嗜碱粒细胞是在骨髓中发生发育的。正常人血液中约占白细胞总数的 0.5~1.0% 左右，每立方毫米血中约 40 个。直径 10~14 μm 。肥大细胞是疏松结缔组织中的一种细胞，常分布在小血管附近，胞体大小不等，直径 5.4~32.4 μm (平均 15.3 μm)。这两种细胞胞浆内均有大量嗜碱性颗粒。颗粒内含有组织胺、肝素、SRS-A、嗜酸性粒细胞趋化因子、血小板活化因子 (PAF)、5-羟色胺等。嗜碱性粒细胞与肥大细胞在 I 型变态反应 (过敏反应) 以及 IV 型变态反应的一个类型——皮肤嗜碱性粒细胞超敏反应 (CBH) 中均起重要作用。

4. 嗜酸性粒细胞：胞浆内含有粗大的嗜酸性颗粒，颗粒中含有多种酶类，如酸性磷酸酶、核糖核酸酶、组织蛋白酶、 β -葡萄糖醛酸酶、过氧化物酶以及碱性蛋白等，与嗜中性粒细胞溶酶体不同，不含有溶菌酶、吞噬素，但过氧化物酶及碱性蛋白含量较多。嗜酸性粒细胞的主要功能是：(1) 吞噬细菌、支原体、酵母菌和各种惰性颗粒以及抗原抗体复合物。吞噬作用较中性粒细胞弱，

吞噬后的杀菌力也弱。(2)吞噬并灭活组织胺等生物活性物质。(3)释放嗜酸性粒细胞衍生的抑制物,抑制肥大细胞、嗜碱粒细胞释放组织胺。(4)释放组织胺酶,使组织胺氧化脱胺而灭活;释放芳香基硫酸酯酶B,灭活SRS-A;释放磷脂酶D,灭活血小板活化因子;释放主要碱性蛋白质,灭活肝素样物质,抑制嗜碱粒细胞、肥大细胞脱颗粒;(5)吞噬并破坏嗜碱粒细胞和肥大细胞脱出的颗粒。

第二类,淋巴细胞,是特异免疫反应的主要细胞。根据功能和表面标志可分为T细胞、B细胞、K细胞和NK细胞。淋巴细胞的分化过程见图1。

淋巴细胞在显微镜下观察,形态上不能

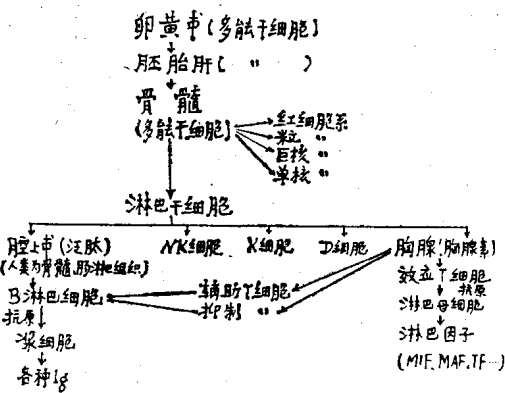


图1 淋巴细胞的分化

区分,但它们在功能和特性上有很大不同。淋巴细胞中两个主要的亚群为T细胞和B细胞,它们的分布和特性见表4,它们的表面标志见表5。

表4 人T细胞、B细胞的分布和特性

分布与特性	T细胞	B细胞
1. 发育微环境	胸腺	骨髓(肠道淋巴组织)
2. 生存寿命	数月~数年,亦有短寿者	数日~数周,少数可达数年
3. 分布: 胸导管	90±%	10±%
胸腺	95~100%	<1%
外周血	70~80%	20~30%
淋巴结	60~85%(淋巴小结间与皮质深层)	15~35%(淋巴小结、髓索)
脾脏	30~50%(白髓的淋巴鞘)	50~65%(白髓的淋巴小结,红髓的髓索)
骨髓	<5%	>95%
4. 再循环	多数再循环,循环较快	少数再循环,循环较慢
5. 组化染色(酸性非特异酯酶)	+	—
6. 物理特性: 表面负电荷	+++	+
比重	稍大	稍小
粘附力(玻璃、尼龙等)	—	+
7. 释放淋巴因子	+	+
8. 免疫监视作用	+	—
9. 合成免疫球蛋白	—	+
10. 药物与射线影响: 电离辐射	+	+++
皮质类固醇	+	++
环磷酰胺	+	+++
抗淋巴细胞血清(ALS)	+++	+

表 5

T 细胞和 B 细胞的表面标志

表 面 标 志	动 物	T	B	其他细胞	备 注
表面Ig (抗原受体)	多 数	—	+	—	D 细胞可能有
表面受体: 羊红细胞	人、猪	+	—	—	D 细胞可能有
兔红细胞	豚 鼠	+	—	—	
豚鼠红细胞	猫	+	—	—	活化 T 细胞、单核巨噬细胞、肥大细胞、嗜酸、碱、中性粒细胞、K 细胞也有 IgG Fc 受体。单核巨噬细胞, 血小板 (非灵长类)、红细胞也有 C3b 受体。
鼠红细胞	人	—	+	—	
IgG 的 Fc 受体	多 数	±	+	+	
补体 C3b 受体	多 数	—	+	+	
麻疹病毒受体	人	+	—	?	
EB 病毒受体	人	—	+	?	
对有丝分裂原反应性: PHA①	多 数	+	—	—	
PWM②	人、鼠	+	+	?	脑组织、皮肤表皮细胞和成纤维细胞也含少量 Thyl
ConA③	人	+	—	?	
脂多糖④	人	—	+	?	T 细胞有 Ly1、2、3、5, B 细胞有 Ly 4
同种异体抗原: ThyI	小 鼠	+	—	+	
Ly	小 鼠	+	—	—	TL 抗原仅在胸腺细胞有, 成熟 T 细胞失去
TL⑤	小 鼠	+	—	—	
异种抗原: T 细胞抗原⑥	人、鼠	+	—	+	多数血清含有抗造血干细胞抗体
B 细胞抗原⑦	人	—	+	?	

说明: ①植物血凝素 ②美洲商陆③刀豆蛋白 A④细菌内毒素⑤Thymic Leukemia

⑥用兔抗脑或抗胸腺血清检查⑦用兔抗慢淋白血病细胞血清检查。

1. T 淋巴细胞: 干细胞进入胸腺后在该处增殖分化, 经胸腺生成素 (Thymopoietin) 作用, 发育成成熟 T 细胞, T 细胞表面有绵羊红细胞 (SRBC) 受体, 可与 SRBC 结合, 形成玫瑰花环样细胞。在体外培养中, 对植物血凝素 (PHA) 的刺激很敏感, 可迅速转化成淋巴母细胞。利用这些试验, 可以测定 T 细胞的数量和功能。

T 细胞有很多亚类, 但分类方法目前很不统一。有按细胞发育阶段或 T 细胞分化抗原进行分类的, 有依靠抗 Ly-1, 2, 3 血清及抗 Ia (Immune associated antigen) 血清进行分类的, 有在此基础上再结合 Fc 及 C₃ 受体进行分类的。最近单克隆抗体的制备为检出细胞表面抗原提供了十分有利的条件, 可使 T 细胞的分类更为精细合理。

(1) 抑制性 T 细胞 (Ts): 抑制体液或细胞免疫反应, 终止正常免疫, 导致免疫耐受性, 在调节免疫反应上有极重要的作用。Ts 数量变化或功能紊乱时, 常能导致系统性红斑狼疮 (SLE)、类风湿关节炎、肾病综合征、慢性活动性肝炎、甲亢、桥本氏甲状腺炎、重症肌无力、Bechet 氏综合症等自身免疫性疾病, 一般 SLE 时 Ts 数量减少, 而上述其他疾病可见 Ts 细胞百分率增高。Ts 细胞数目增多, 功能增强可引起免疫缺陷症 (低丙球蛋白血症、选择性 IgA 缺陷症)。Ts 细胞有抑制肿瘤免疫反应的作用, 何杰金氏病病人 Ts 细胞显著增加。有人认为 I 型变态反应的发生是由于 Ts 细胞功能不足甚至缺陷, 导致 IgE 产生过多之故。脾脏内 Ts 细胞较多。Ts 占外周血 T 细胞的 5~10%。

Ts 细胞对X线, 环磷酸胺等敏感。

(2) 辅助性T细胞(T_H): 在免疫反应中起辅助作用, 促进B细胞分裂并产生抗体; 激活并增强单核巨噬细胞功能; 协助Ts细胞和效应T细胞。 T_H 细胞占外周血T细胞的33%。有人指出 T_H 在功能上还有不同的亚群, 有的辅助细胞毒性细胞(占20~40%), 有的辅助抗体形成细胞(占60~80%)。

(3) 效应T细胞或细胞毒性T细胞(T_E/T_C): 效应T细胞的功能主要是承担细胞免疫。具有杀伤靶细胞(肿瘤细胞)、排斥异体移植物的作用, 而且还参与抗细胞内寄生的病原微生物(结核、麻疯杆菌, 病毒等)的免疫反应。

效应T细胞在抗原刺激时发生母细胞转化, 同时放出各种淋巴因子(Lymphokine), 实施细胞介导免疫。淋巴因子是一些有免疫活性的可溶性物质, 多数是蛋白或多肽。主要的淋巴因子及其活性见表6。但应强调指出, B淋巴细胞经抗原刺激也可产生淋巴因子, 传代淋巴细胞及非淋巴样细胞不经抗原刺激也可产生“淋巴因子样”物质。

2. B淋巴细胞: 人类B细胞, 是多能干细胞在骨髓分化发育的。在其成熟过程中表面Ig、Ia抗原和补体受体依次出现。成熟B细胞定居于脾脏、淋巴结和其他周围免疫器官中。根据B细胞有表面Ig、Fc受体、C3b受体和鼠红细胞受体, 可以利用荧光抗体技术检查表面Ig, 利用EA花环、EAC花环和鼠红细胞花环技术检查相应受体来测定B细胞的数量。

在抗原刺激下, B细胞可分化成浆细胞并产生IgG、IgA、IgM、IgD或IgE等免疫球蛋白, 发挥体液免疫功能, 参与抗感染、抗肿瘤免疫和免疫病理反应。

3. K细胞(Killer cell): 来源于骨髓。最初因它不具有T或B细胞的表面标记, 称为“无标记细胞”(Null cell)。有关K细胞与T、B细胞的比较见表7。

K细胞本身不具有对靶细胞的杀伤能力, 但表面有IgG的Fc受体, 当靶细胞与特异性抗体结合, 抗体的Fc段活化, 与K细胞的Fc受体结合, K细胞即可通过溶酶体酶(溶菌酶?)将靶细胞杀伤。有人用扫描电镜进行研究后指出, 杀伤的机制也可能是通过伸出丝足(filopodia)附着于靶细胞上, 而后丝足收缩, 将靶细胞机械性的裂解。K细胞的这种杀伤机制, 称为抗体依赖的细胞介导的细胞毒反应(ADCC)。K细胞在外周血淋巴细胞总数中约占5~15%。常用检测方法有Ripley花环试验(K细胞与抗Rh不完全抗体致敏的Rh⁺红细胞结合, 形成玫瑰花环)和⁵¹Cr释放试验(用抗鸡红细胞抗体包被⁵¹Cr标记的鸡红细胞, 加入K细胞后鸡红细胞因ADCC反应而破坏, 测定反应液的总放射性和上清的放射性即可判定K细胞的活性)。

K细胞的生物学意义还不完全清楚。有人认为K细胞在桥本氏甲状腺炎、慢性活动性肝炎的发病机制中起重要作用, 也与抗肿瘤细胞机制有密切关系。用卡介苗治疗急性淋巴细胞性白血病时, 可提高K细胞活性或数量。

4. NK细胞(Natural killer cell): 即自然杀伤细胞。在无任何抗原的刺激下, 能在体外杀伤肿瘤细胞、异体细胞、病毒感染细胞等靶细胞。这群细胞似与自身免疫病、骨髓移植物的排斥、对肿瘤的免疫监视、抗病毒与细菌感染等有重要关系。有人发现机体抗肿瘤能力的大小与体内NK细胞活性有密切的平行关系。

NK细胞来自骨髓。外周血中、脾中含量最高, 淋巴结、骨髓中含量较低, 胸腺中无NK细胞。OK-432细胞、卡介苗、干扰素、葡萄球菌A蛋白可使NK细胞活化。

NK细胞对靶细胞的杀伤机制还不太清楚。目前认为NK细胞表面有多种蛋白质构成的受体, 能识别不同的抗原。在钙、镁离

表6

主要淋巴因子的种类与活性

作用对象	淋巴因子名称	活 性
单核巨噬细胞	巨噬细胞游走抑制因子(MIF)	抑制巨噬细胞的游走移动, 聚集于病灶, 并活化与增强其功能 (MIF、MAggF、MAF 有人认为可能是同一种因子) 吸引巨噬细胞向抗原与致敏淋巴细胞相互作用的部位移动 增强巨噬细胞杀伤靶细胞能力
	巨噬细胞集聚因子 (MAggF)	
	巨噬细胞激活因子 (MAF)	
	巨噬细胞趋化因子 (MCF)	
	特异巨噬细胞武装因子(SMAF)	
淋 巴 细 胞	促有丝分裂因子 (LMF)	促使淋巴细胞有丝分裂
	淋巴细胞趋化因子 (LCF)	吸引淋巴细胞至炎症部位
	同种异型效应分子 (AEF)	促进B细胞分裂分化, 增强T细胞功能
	可溶性免疫反应抑制因子 (SIRS)	通过巨噬细胞非特异地抑制B细胞产生抗体。
	辅助因子 (Helper factor)	特异地促进B细胞产生抗体
	抑制因子 (Suppressor factor)	特异地抑制B细胞生产抗体
	转移因子 (TF)	被动转移特异的细胞免疫反应
白 细 胞	白细胞移动抑制因子 (LMIF)	抑制中性粒细胞游走
	嗜中性粒细胞趋化因子 (NCF)	吸引嗜中性粒细胞至病灶
	嗜酸性粒细胞趋化因子 (ECF)	吸引嗜酸性粒细胞至病灶
其 他 细 胞	淋巴毒素或细胞毒因子 (LT)	杀伤靶细胞
	集落抑制因子 (CIF)	抑制体外培养细胞贴附管壁
	破骨活化因子 (OAF)	促进骨质吸收, 增加血钙
	促干细胞分化因子 (CSF)	促进骨髓干细胞分化为其他白细胞
	血小板泳动迟缓因子 (PSF)	影响血小板阴电荷, 降低静电斥力, 使血小板泳动迟缓, 易于凝集
其他	干扰素 (IF)	抑制病毒蛋白质的合成
	皮肤反应因子 (SRF)	增加毛细血管通透性和局部皮肤反应; 引起硬结和红斑性损伤

表7

K 细 胞 与 T、B 细 胞 比 较

比 项 较 目	T 细 胞	B 细 胞	K 细 胞
绵羊红细胞受体	+	—	—
表面Ig	—	+	—
IgG的Fc受体	—	+	+
C3b受体	—	+	+
对玻璃、尼龙的粘附力	—	+	—

子参与下, NK 细胞表面的识别结构可与靶细胞上的抗原结合, NK 细胞活化, 释放能量, 激活细胞内的溶解酶, 破坏靶细胞的细胞膜, 使靶细胞渗透压改变而破坏。

NK 细胞的检测方法为 ^{51}Cr 释放法, 与 K 细胞检测法大致相同, 但不用特异抗体。主要步骤为: (1) 靶细胞: OK-432 ($1 \times 10^4/0.1\text{ml}$) 用 $100\mu\text{Ci Na}^{51}\text{CrO}_4$ 标记。(2) 效应细胞 (NK 细胞): 淋巴细胞 ($1 \times 10^6/\text{ml}$) 加葡萄球菌 A 蛋白 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 予孵育 24 小时, 使 NK 细胞活化。也有人不加 A 蛋白。) (3) 标记靶细胞加效应细胞 $\text{CO}_2, 37^\circ\text{C}$ 5 小时 → 加 PBS 0.7ml , 2000rpm 离心 10 分钟。(4) 用 γ 计数器测上清中释放的 ^{51}Cr , 判定 NK 细胞活性。

5. D 细胞 (Double cell): 即双标志细胞。既有 T 细胞的表面标志 (绵羊红细胞受体), 又有表面 Ig 和/或 Fc 受体与 C_3 受体等 B 细胞的表面标志。无吞噬功能, 不粘附于尼龙丝。正常人外周血淋巴细胞中 D 细胞平均在 5% (0.5~10%) 以下, 对其生物学特性、来源、功能等还不完全了解。有人报告某些低丙球蛋白血症病人, 少数急性或慢性淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病病人, 外周血中 D 细胞百分率较高, 意义不

明。

D 细胞的检查方法常用混合玫瑰花环试验 (同时测定 T、B 细胞的表面标志)。

四、抗原与抗体的基本概念

(一) 抗原:

1. 抗原的基本概念: 能在动物体内引起特异性免疫应答 (体液免疫反应和细胞免疫反应) 的物质, 称为抗原。

2. 抗原具有两种特性: 免疫原性: 可以激发 B 细胞使产生抗体; 激发 T 细胞成为致敏细胞, 并释放各种淋巴因子。反应原性: 能与相应的抗体或致敏淋巴细胞特异性结合与反应。

3. 与免疫原性有关的因素:

(1) 异物性: 正常条件下, 抗原应非自身物质。包括有异种间物质, 如各种微生物及毒素、动物血清 (马血清)、植物蛋白 (花粉); 同种异物物质如人类血型抗原、同种异体皮肤、同种异体器官等; 自体内隔绝成分如眼水晶体、眼葡萄膜色素、精子、中枢神经系统的鞘磷脂等。

(2) 有化学活性的大分子: 分子量一般在 10,000 以上才具有免疫原性。一般说来, 分子量越大抗原性越强。如:

弱 抗 原 (分子量)	强 抗 原 (分子量)
胰高血糖素 (3800)	核糖核酸酶 (10000)
胰 岛 素 (5734)	卵 白 蛋 白 (40000)
鱼 精 蛋 白 (6000)	牛血清白蛋白 (70000)
组 蛋 白 (6000)	IgG (160000)
	甲状腺球蛋白 (669000)

单纯分子量大, 抗原性未必一定强, 还必须具有一定的化学活性, 即有特殊结构的化学活性基团 (抗原决定基), 例如某些带苯环的氨基酸 (酪氨酸、苯丙氨酸等)。

(3) 完整性: 具有上述两个条件的物

质, 还必须完整地进入体内才能成为抗原。一般情况下均须“非经口”进入机体组织内, 即经注射、吸入或经破损伤口进入。经口进入时易被消化道的蛋白酶破坏, 失去抗原性。

当然有无抗原性也与免疫所用的动物种类、动物种属遗传性、动物的个体差异、注射时动物的机体状态、注射的抗原剂量、途径,是否加有佐剂等有关,也与免疫血清学检查方法的敏感性有关。例如,过去一般认为明胶无免疫原性,而现在认为它有一定的免疫原性。

4. 抗原决定基:

抗原分子上与抗体结合的部位,是构成抗原的基本单位,称为抗原决定基(Antigenic determinant)。一个抗原决定基的大小相当于4~6个单糖或氨基酸分子。不同的抗原其抗原决定基的数目和种类都不一致,如卵白蛋白有5个抗原决定基,甲状腺球蛋白约40个抗原决定基。抗原决定基的特异性,决定于其化学组成及空间构型。不同的抗原决定基引起的抗体,在特异性方面有质和量的不同。

5. 全抗原与半抗原:全抗原主要为异种蛋白,包括微生物(疫苗)、异种动物血清(抗毒素)、组织成分、植物花粉等。具有免疫原性和反应原性。半抗原只有反应原性,单独无免疫原性,只有与蛋白质结合才有免疫原性。通常为小分子物质,如有特异结构的多糖体、类脂体、核酸、药物(青霉素、甲基多巴等)。

(二) 抗体

1. 抗体的概念:由抗原引起并能与抗原特异性反应的一种有特异结构的球蛋白,称为免疫球蛋白(immunoglobulin)。存在于血清、体液及粘膜分泌物中。是构成人体体液免疫反应的主要物质。这类球蛋白在碱性缓冲液中电泳时,泳动速度最慢,位于 γ 区,故过去常称为 γ 球蛋白或丙种球蛋白。1972年免疫学会国际联合会统一命名为免疫球蛋白。

2. 抗体的产生:抗体是B细胞在受到抗原刺激后分化成浆细胞产生的。B细胞在接收非胸腺依赖抗原(TI抗原,如细菌脂多

糖、肺炎球菌荚膜多糖、聚合的鞭毛蛋白、某些人工聚合物等,能在无胸腺或无T细胞的动物体内引起抗体的产生,但只能引起IgM)的刺激时可以直接活化,其机制未完全阐明。B细胞在接收胸腺依赖抗原(TD抗原,需巨噬细胞、T细胞及B细胞密切协作才能引起抗体产生。绝大多数抗原物质均为TD抗原)的刺激时,除抗原刺激(第一信号)外,还必须接收由活化T细胞释放的辅助因子(第二信号)才能活化,并转化为浆细胞,产生各类Ig。

抗体产生有初次免疫应答与再次免疫应答之分。抗原初次刺激时,体内产生抗体较慢,水平较低。而当再次受同样抗原刺激时,体内产生抗体较快,滴度较高。这种差别有人归之于初次受抗原刺激时,B细胞分化增殖较慢,而当再次受抗原刺激时,保留有原来抗原刺激信息的免疫记忆细胞迅速分化增殖之故。此即所谓体液免疫的再次反应或回忆反应。受抗原刺激后最先产生的是IgM,一般认为系B细胞分化的前浆细胞产生。随后产生的是IgG,由成熟浆细胞产生。初次抗原刺激后第3日即产生IgM,第4~5日达高峰,第6日开始降低,同时IgG出现。再次受同一抗原刺激时,经1~2日即产生IgM,3~4日后IgM下降随即产生IgG(产生快,产量多)。

3. 免疫球蛋白的基本结构与种类

免疫球蛋白分IgG、IgA、IgM、IgD、IgE五类。其基本结构为四条对称的多肽链,由二硫键联结。两条长链称重链(H链),依化学结构不同分为 γ 、 α 、 μ 、 δ 、 ϵ 五种,并依次构成IgG、IgA、IgM、IgD和IgE。两条短链称轻链(L链),有两种类型,即 κ (Kappa)与 λ (Lambda)。一个Ig分子上或为两条 κ 链,或为两条 λ 链,不会二者共存。

有关免疫球蛋白的详细内容将于后文中详述。

五、变态反应

抗原物质作用于机体后可使机体的反应性改变,当机体再次与同一抗原物质接触时,可出现免疫反应(正常反应,对机体有利)。但有时也可出现变态反应(异常反应,对机体有害)。变态反应(Allergy)一词是从希腊词 allos (变化的) 和 ergon (反应) 衍变而来,意思是“改变了的反应”。是指某个个体受抗原(或半抗原)刺激后,

出现了特殊的致敏状态;当抗原再次进入已致敏的机体,即可与体内形成的特异抗体或致敏淋巴细胞发生一种超越正常的过高反应,导致组织损伤。

变态反应发生的原因和表现十分复杂,对它的分类有一个历史演变过程,目前也还没有完全统一。常用的有四型分类(Gell与Coombs分类)法和在四型分类基础上的六型分类法。有关四型分类见表8。

表8 变 态 反 应 的 分 类

	I 型	II 型	III 型	IV 型
同义词	过敏反应型(速发型)	细胞毒型(与细胞刺激型)	免疫复合物型	T细胞型(迟发型)
免疫球蛋白参与	IgE等	IgG及其它类	IgG、IgM等	无
参与抗原	异种	自身抗原或半抗原	自身抗原或异种抗原	自身抗原或异种抗原
补体参与	不参与	参与	参与	不参与
参与细胞	肥大细胞与嗜碱粒细胞等	WBC、RBC、血小板	宿主组织细胞	T淋巴细胞
化学机制	肥大细胞产物	补体,细胞溶解	免疫复合物沉着于组织或血管	淋巴因子
举 例	过敏反应、枯草热、食物变态反应	输血反应、Rh病、血小板减少症	Arthus反应、血清病、肺炎、(肾小球肾炎)	传染性变态反应,接触性皮炎

(引自Barrett,1976)

(一) I型(速发型)变态反应:

又称反应素型或过敏反应型变态反应。

其发生机理为过敏原刺激机体产生亲细胞抗体(主要为IgE、可能IgG₄也参与),此抗体的Fc段与肥大细胞或嗜碱粒细胞表面的受体相结合。当足够量的过敏原再次进入机体时,与细胞表面相应的特异性IgE抗体形成桥联(一个抗原分子同时与相邻的两个IgE分子结合形成抗原桥),在钙离子参与下细胞内酶活化,胞浆内颗粒融合,并自细胞内脱出,释放出药理学活性介质(组织胺、SRS-A、5-羟色胺、激肽、前列腺素、血小

板活化因子、嗜酸粒细胞趋化因子等)。这些介质达到足够量时即引起平滑肌收缩,腺体分泌增多,毛细血管扩张和通透性增加,从而使机体出现各种过敏反应症状。引起此型反应的过敏原包括异种蛋白及非蛋白质药物,如花粉、昆虫毒液、生物制品(疫苗、抗毒素、抗淋巴细胞血清)、各种食物(牛乳、鸡蛋、鱼虾、贝类等)、各种抗菌素、有机碘、汞剂等。临床表现包括过敏性休克、外源性支气管哮喘、过敏性鼻炎(枯草热)、荨麻疹、食物变态反应、虫咬反应等。