

上海普通高校“九五”重点教材

现代免疫学检验与临床实践

主编 许以平 郑捷



上海科学技术文献出版社

上海普通高校“九五”重点教材

现代免疫学检验与临床实践

上海市教育委员会 组编

许以平 郑捷 主编

上海科学技术文献出版社

责任编辑：张科意
封面设计：石亦义

上海普通高校“九五”重点教材
现代免疫学检验与临床实践
上海市教育委员会 组编

.....
许以平 郑 捷 主编
.....

*
上海科学技术文献出版社出版发行
(上海市武康路2号 邮政编码 200031)
全 国 新 华 书 店 经 销
江苏常熟人民印刷厂印刷

*
开本 787×1092 1/16 印张 24.75 字数 617 000
1999 年 10 月第 1 版 1999 年 10 月第 1 次印刷
印 数:1-3 100
ISBN 7-5439-1305-4/R·354
定 价:40.00 元
《科技新书目》481-595

《现代检验医学与临床实践》编委会

主 编

王鸿利 朱明德 赵月林

主 审

陶义训 罗邦尧

编 委 (以姓氏笔画为序)

王鸿利	丛玉隆	许以平	朱明德	巫向前
李定国	陈赛娟	沈 霞	金大鸣	罗邦尧
郑 捷	赵月林	洪秀华	姜昌斌	姚 建
胡晓波	胡翊群	陶义训	倪语星	熊立凡
熊树民	樊绮诗			

第 五 分 册

《现代免疫学检验与临床实践》

主 编

许以平 郑 捷

编 写 (以姓氏笔画为序)

王耀平	许以平	陈生弟	张凤如	张欣欣
张 梅	邵 莉	郑 捷	房静远	周曙霞
赵迎春	赵咏桔	洪鹤群	姚 建	徐 晨
喇端端	缪金明			

前 言

《现代免疫学检验与临床实践》是由上海市教育委员会和上海第二医科大学组织编写的上海普通高校“九五”重点教材——《现代检验医学与临床实践》丛书的第五分册,整套丛书共有六个分册。

本册共分十四章,内容包括免疫缺陷病、免疫增殖性疾病、过敏性疾病、结缔组织疾病、器官移植、呼吸系统疾病、消化系统疾病、泌尿系统疾病、心血管系统疾病、神经系统疾病、内分泌系统疾病、皮肤疾病、生殖系统疾病及肿瘤。本书以免疫学检验为中心,以临床常见症状和疾病为主线,并综合了国内外目前对免疫学检验在临床应用中特异性和敏感性的评述。每章分为三个部分,第一部分以免疫学基本理论结合现代免疫学新概念,阐明了有关疾病的免疫发病机制;第二部分介绍了有关免疫检验手段,使临床医师或检验医师能充分认识检验项目的科学性、特异性和敏感性、精确性及可能干扰检测结果的一些因素;第三部分则评价免疫学检验在临床诊断、疗效观察、预后判断中的意义。由此可见,本书从理论基础、检验项目和临床实践三方面展开叙述,突出了“新颖”和“实用”。总之,全书注意反映近年来免疫性疾病检验的新发展、新知识和新成果,强调实用性,以利读者能从现代医学的新高度,开拓应用于临床实践的新视野。

随着基础医学和临床医学的飞速发展,检验医学也有了很大进展,各学科之间的交叉、渗透也不断增多,现代检验以其快速、微量、精确、自动和组合检验为特点,将传统的检验手段提高到现代科学技术的新水平,因而对疾病诊断、疗效监测和预后判断提供的客观资料和信息比以往单一来源的检验结果更为确定、更为科学。临床医师或检验医师,都有必要认识检验的各种手段,了解检验项目的诊断价值,以便有效地选用或组合选用检验项目,这是检验医学和临床医学有机结合的新课题。

本书以全面、系统、新颖和实用为特点,将检验医学和临床医学结合起来,这种编写形式为国内首创,它的创新正是适应医学发展的形势,探索检验医学与临床医学之间有机结合的新途径,架设两者之间的桥梁。本书的检验理论和内容,比一般检验教科书集中、深入,其联系临床实践而更显生动,比一般内科学教科书能更客观地评述各检验项目与临床实践的联系,具有实用价值和新意,有助于读者的理解和参考,适用于教学和临床实践,也是一本新型的教学参考书。

本书在撰写过程中,姚苏杭等作了不少工作,在此顺表感谢。希望本书能够发挥它推动高等医学院校医学检验学、临床医学的学科发展。衷心期望读者、专家提出宝贵意见,以便弥补不足、修订再版,使本书更加符合现代医学和医学教育发展的需要。

编 者

上海第二医科大学

目 录

第一章 免疫缺陷性疾病	(1)
第一节 概述.....	(1)
第二节 性联无丙球蛋白血症.....	(2)
第三节 严重联合免疫缺陷病.....	(5)
第四节 共济失调毛细血管扩张性免疫缺陷症.....	(9)
第五节 性联慢性肉芽肿病	(11)
第六节 补体系统缺陷病	(14)
第七节 获得性免疫缺陷综合征(艾滋病)	(19)
第二章 免疫增殖性疾病	(27)
第一节 概述	(27)
第二节 多发性骨髓瘤	(28)
第三节 巨球蛋白血症	(36)
第四节 重链病	(38)
第五节 良性单克隆丙球蛋白病	(41)
第三章 过敏性疾病	(44)
第一节 概述	(44)
第二节 特应性疾病	(44)
第三节 变应性鼻炎	(53)
第四节 过敏性休克	(57)
第四章 结缔组织疾病	(61)
第一节 概述	(61)
第二节 类风湿关节炎	(61)
第三节 系统性红斑狼疮	(67)
第四节 硬皮病	(75)
第五节 皮炎炎和多发性肌炎	(80)
第六节 混合性结缔组织病	(86)
第七节 干燥综合征	(90)
第八节 抗磷脂抗体综合征	(94)
第九节 韦格纳肉芽肿	(96)
第十节 嗜酸性肉芽肿性血管炎	(99)
第五章 器官移植	(102)
第一节 概述.....	(102)

第二节	骨髓移植	(106)
第三节	外周血和脐血干细胞移植	(110)
第四节	肾脏移植	(112)
第五节	肝脏移植	(120)
第六节	心脏移植	(121)
第七节	肺脏移植	(123)
第八节	胰脏移植	(124)
第九节	小肠移植	(125)
第六章	呼吸系统疾病	(128)
第一节	概述	(128)
第二节	肺结节病	(128)
第三节	支气管哮喘	(132)
第四节	过敏性支气管肺曲霉菌病	(140)
第五节	特发性肺间质纤维化	(142)
第六节	外源性变应性肺泡炎	(144)
第七节	肺嗜酸粒细胞浸润症	(146)
第七章	消化系统疾病	(150)
第一节	概述	(150)
第二节	自身免疫性胃炎	(150)
第三节	炎症性肠病	(154)
第四节	自身免疫性肝炎	(158)
第五节	病毒性肝炎	(160)
第八章	泌尿系统疾病	(166)
第一节	概述	(166)
第二节	IgA 肾病	(166)
第三节	新月体性肾小球肾炎	(172)
第四节	膜性增生性肾小球肾炎	(177)
第五节	肾小管间质疾病	(181)
第九章	心血管系统疾病	(187)
第一节	概述	(187)
第二节	大动脉炎	(188)
第三节	风湿热	(192)
第四节	心肌炎	(196)
第五节	心肌疾病	(200)
第十章	神经系统疾病	(205)
第一节	概述	(205)
第二节	急性炎症性脱髓鞘性多发性神经病	(205)
第三节	多发性硬化	(208)
第四节	重症肌无力	(212)

第十一章	内分泌系统疾病	(216)
第一节	概述	(216)
第二节	格雷夫斯病	(217)
第三节	慢性淋巴细胞性甲状腺炎	(228)
第四节	1 型糖尿病	(234)
第五节	自身免疫多内分泌腺体综合征	(244)
第十二章	皮肤疾病	(258)
第一节	概述	(258)
第二节	药疹	(258)
第三节	荨麻疹与血管性水肿	(261)
第四节	天疱疮	(266)
第五节	表皮下自身免疫性大疱病	(270)
第十三章	生殖系统疾病	(280)
第一节	概述	(280)
第二节	免疫性不育(孕)	(281)
第三节	性腺的自身免疫病	(289)
第四节	计划生育与免疫	(292)
第五节	免疫性流产	(294)
第十四章	肿瘤	(298)
第一节	概述	(298)
第二节	大肠癌	(309)
第三节	原发性肝癌	(314)
第四节	乳腺癌	(323)
第五节	肺癌	(329)
第六节	前列腺癌	(338)
第七节	睾丸癌	(343)
第八节	胰腺癌	(346)
第九节	卵巢癌	(350)
第十节	神经母细胞瘤	(356)
附录一	流式细胞仪的原理及临床应用	(361)
附录二	常用免疫学实验检查参考值	(364)
附录三	常用免疫学英汉缩略语词汇	(367)
索引		(377)

第一章 免疫缺陷病

第一节 概 述

免疫缺陷病是指在某些体内外因素影响下,免疫系统中的一个或几个环节发生故障,导致机体免疫应答和免疫功能低下所引起的疾病。临床特征表现对感染的敏感性增高,继而发生严重的急性、复发性或慢性的疾病。

免疫缺陷病按发生原因分为原发性免疫缺陷病(primary immunodeficiency diseases, PID)和继发性免疫缺陷病(secondary immunodeficiency diseases, SID)两大类。原发性免疫缺陷病是由于免疫系统的组织、器官、细胞受遗传和发育因素的影响所引起的疾病;继发性免疫缺陷病是由于患其他疾病或由于治疗不当而使机体罹病。

自 1952 年 Bruton 等报道了第一例原发性免疫缺陷病以来,迄今所报道的原发性免疫缺陷病已超过 70 种。由于原发性免疫缺陷病的病因和发病机制尚未完全阐明,因此至今无一个比较理想的分类。

世界卫生组织(WHO),自 1967 年以来曾举办过多次原发性免疫缺陷病诊断和分类的国际会议,1988 年的国际会议将原发性免疫缺陷病分为 I、II 和 III 三大类。I 类为原发特异性免疫缺陷为主的原发性免疫缺陷病,与 T 或 B 细胞数量和(或)功能不足有关;II 类为原发性非特异性免疫缺陷为主的原发性免疫缺陷病,与补体或吞噬细胞数量和(或)功能不足有关;III 类是指其他疾病伴发的原发性免疫缺陷病。三类疾病中以 I 类常见,它又分为三组,即抗体为主的免疫缺陷病、联合免疫缺陷病和有其他特征的免疫缺陷病。由于单纯性细胞免疫缺陷病很少见,大多同时影响抗体生成和其他免疫功能,因此 1988 年以后已将过去分类中的 T 细胞免疫缺陷病取消,并入联合免疫缺陷病或有其他特征的免疫缺陷病中。

原发性免疫缺陷病中,以抗体为主的免疫缺陷病发病率占首位。若不包括无症状的 IgA 缺乏症,抗体为主的免疫缺陷病占原发性免疫缺陷病的 55%;T 细胞缺陷病(联合免疫缺陷病和有其他特征的免疫缺陷病)约占 25%;吞噬细胞缺陷病为 18%;补体缺陷病为 2%。在美国,有症状的原发性免疫缺陷病的总发病率估计为 1/1 000,每年出现 400 个新病例。由于许多原发性免疫缺陷病是遗传性和先天性的,因而主要见于儿科患者,20 岁以下的患者约占 80%;又因为许多这类疾病是性连锁的,因而 70%的患者为男性。自 1992 年第 8 届布达佩斯国际免疫会议以来,对原发性免疫缺陷病分子基础的研究有了较快发展,有多种原发性免疫缺陷病的发病机制及其遗传基础已被确定。

(许以平)

第二节 性联无丙球蛋白血症

性联无丙球蛋白血症由 Bruton 最先发现,故又称为 Bruton 综合征。这是一种由女性携带,男性患病的先天性 B 细胞缺陷,也是最主要的抗体为主的原发特异性免疫缺陷病。此病的特点是外周血中 B 细胞极少,淋巴组织中没有浆细胞,故患儿不能制造抗体,血中所有的免疫球蛋白均显著缺乏,因此易反复发化脓性感染。

【理论基础】

免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)或抗体分子的基本结构是由两条相同的重链和两条相同的轻链组成。重链共有五个类型,即 γ 、 α 、 μ 、 δ 、 ϵ ,其中 γ 和 α 还有不同的亚型,轻链则有 κ 和 λ 两个型。免疫球蛋白的产生涉及 B 淋巴细胞从骨髓移行出,成熟的 B 细胞的激活及最后分化为分泌免疫球蛋白的浆细胞。性联无丙球蛋白血症的发生与一种称为 Bruton 蛋白酪氨酸激酶(Bruton tyrosine kinase, Btk)的缺陷有关,此酶是一种激酶,能催化多种蛋白质中的酪氨酸磷酸化,在前 B 细胞,此酶使 ATP 上 γ 磷酸转移到酪氨酸残基上,起着信号传导作用,对 B 细胞的发育有着重要意义。Btk 基因位点在性染色体长臂 2 区 1 带 3 亚带至 2 区 2 带,即 Xq21.3 ~ 22 区段,当此基因位点发生突变,使 Btk 酶活力减低,导致成熟 B 细胞数量明显减少,不能合成免疫球蛋白。

【检验项目】

(一) Ig 定量测定

当怀疑患者存在性联无丙球蛋白血症时应最先考虑进行 Ig 浓度测定。通常测定 IgG、IgA 和 IgM。检测方法有单向辐射免疫扩散法(single radial immunodiffusion, SRID)和免疫浊度法两种。

1. 单向辐射免疫扩散法 将待测标本加至含有适量针对某种免疫球蛋白特异性抗血清的琼脂板小孔中,待测标本中的免疫球蛋白向四周扩散,当标本中的免疫球蛋白量与固定在琼脂板中抗体量比例合适时,会形成清晰的白色沉淀环,环的直径大小与标本中免疫球蛋白含量在一定范围内成线性关系。IgG、IgA 一般扩散 24 ~ 48 小时即可, IgM 扩散慢,需 72 小时。

2. 免疫浊度法 可分为免疫透射浊度测定法和免疫速率散射浊度测定法。前者将一定稀释的待测标本与含聚乙二醇(PEG)的特异性抗血清相混和,经一定时间温育后会形成浊度,当抗体量固定,浊度的强弱与待测标本中的免疫球蛋白量成正比,借助于分光光度计读取光密度值,并按下列公式求得待测标本中 Ig 量。

$$\text{Ig 含量(g/L)} = \frac{\text{测定标本 OD 值}}{\text{标准品 OD 值}} \times \text{标准品含量(g/L)}$$

此法比 SRID 法快速、敏感,但不够稳定,当抗原或抗体量大大过剩时易形成可溶性复合物,使测定值偏低,也易受血脂的影响,尤其在应用低稀释度血清时,其中的脂蛋白小颗粒可

形成浊度,使测定值假性增高。免疫速率散射浊度测定法,是根据抗体与抗原在能促进聚合作用的缓冲液中相接触,会特异地结合形成复合物粒子,再经专门仪器的激光束照射,粒子产生散射光,散射光强度与粒子的浓度呈正相关。此法又分为终点法和速率法两种:终点法是测定粒子形成后的散射光;速率法是检测在极短时间内(如 60 秒)形成复合物的速率峰值。当处于抗体过剩时,在一定抗原浓度的范围内,所形成复合物的速率峰值与抗原含量成正比,以此测得的速率峰值求出抗原含量。此法比免疫透射浊度测定法敏感、快速且简便。

(二) B 细胞表面标志的检测

B 细胞表面具有多种特异性抗原和受体,据此建立了相应的检测方法。

1. B 细胞表面膜免疫球蛋白(SmIg)的检测 SmIg 是 B 细胞最具特征性的表面标志。B 细胞表面的 SmIg 经荧光标记的抗 Ig 抗体染色,细胞膜表面呈现斑点状荧光着色,用荧光显微镜或流式细胞仪测定总淋巴细胞中的着色的细胞,求得 B 细胞的百分数。正常人外周血淋巴细胞中有大约 10% 为 B 细胞。

2. 簇分化抗原(cluster of differentiation, CD)的检测 B 细胞表面存在着 CD10、CD19、CD20、CD22 等抗原。CD10 只出现在 B 前体细胞,CD19、CD20 从原始至成熟的 B 细胞都存在,而 CD22 只在成熟 B 细胞表达,这些 CD 分子都是经常检测 B 细胞的标志。应用相应的荧光或酶标记抗 CD10、CD19、CD20、CD22 单克隆抗体染色,经荧光显微镜、流式细胞仪或光学显微镜计数总淋巴细胞中所含 B 淋巴细胞数,从而求得 B 细胞百分率。

(三) 抗体功能的检测

1. 同种血型凝集素测定 用同种血型凝集素滴度,抗 A 和(或)抗 B,估计 IgM 抗体功能。除婴儿和 AB 血型外,其他所有人均有 1:8(抗 A)或 1:4(抗 B)或更高的天然抗体滴度。同种血型凝集素,即 ABO 血型抗体,是出生后对红细胞 A 物质或 B 物质的抗体应答,因此检测同种血型凝集素滴度,可判断抗体的功能。

2. 特异性抗体产生能力的测定 正常人接种疫苗或菌苗后 5~7 天可产生特异性抗体(IgM),若再次免疫会使抗体效价更高(IgG)。因此在接种疫苗后,检测抗体产生情况也是判断抗体为主免疫缺陷的一种有效方法。常用的抗原为伤寒疫苗和白喉类毒素,对注射前和注射后 2~4 星期所测定的抗体滴度进行比较,可了解抗体的反应性。

(四) 淋巴结和组织活检

1. 淋巴结活检 淋巴结活检是抗体为主的原发特异性免疫缺陷病常用的检查方法,根据淋巴细胞的数量和分布情况,有助于诊断。也可用疫苗作淋巴结局部免疫接种,观察有无局部淋巴细胞的增殖反应,对 B 细胞缺陷的诊断有帮助。

2. 直肠粘膜活检 正常情况下,出生一个月后就可见到直肠粘膜下固有层中有丰富的浆细胞,用荧光抗体检查则见到大量 IgA 类抗体的分泌细胞。在抗体为主的原发特异性免疫缺陷病患者,该区浆细胞显著减少,甚至缺如。

3. 骨髓检查 骨髓检查对分析淋巴细胞、浆细胞等血细胞的增生和发育状况有一定意义。

【临床实践】

(一) 诊断

1. 临床表现 该病患者多见于出生 5~6 个月男婴,当出生 6 个月来自母体的抗体消

失后婴儿对细菌非常易感,可反复发生肺炎、鼻窦和中耳的化脓性炎症,病原菌为肺炎球菌、嗜血杆菌和链球菌。

2. 实验室检查 诊断性联无丙球蛋白血症主要根据血清 Ig 值,总 Ig < 2g/L, IgG < 1g/L, IgA 和 IgM 很低,在抗原刺激下不能制造相应的特异性抗体。淋巴结体积小,难于区分皮质和髓质,缺少滤泡和生发中心,浆细胞减少或缺乏,但 T 细胞数量和功能正常。骨髓或胃肠道粘膜层中也很少见到浆细胞。

(二) 鉴别诊断

性联无丙球蛋白血症需与其他八种抗体为主的原发性免疫缺陷病相鉴别。

1. 伴有生长激素缺乏的无丙球蛋白血症 表现为体液免疫缺陷而细胞免疫正常,伴有生长激素缺乏,患者生长受累,身体矮小。实验室检查的特征是无丙球蛋白血症或低丙球蛋白血症,前者血清总 Ig < 2g/L,后者 < 6g/L。患者的 B 细胞和浆细胞数量不足。

2. 伴 IgM 增高性免疫球蛋白血症 多见于 1、2 岁儿童,男性多于女性,患儿有相当严重的反复化脓感染,常合并血液系统疾病(白细胞减少、再生障碍性贫血和溶血性贫血、血小板减少)和肾脏损害。体检时常发现颈淋巴结肿大和肝脾肿大。实验室检查的特征是 IgM 增高或正常(有时 IgD 也增高),IgG 和 IgA 值降低,外周血存在 B 细胞、淋巴结的滤泡和生发中心数量减少。

3. IgA 缺乏症 这是一种最常见、最轻度的免疫缺陷病。白种人发病率高达 1/800。多数患者并无症状,其缺陷系偶然发现;少数可有反复呼吸道感染、腹泻、支气管哮喘或自身免疫性疾病。实验室检查的特征是血清 IgA 消失或明显降低(< 0.05g/L),其他免疫球蛋白值正常,呼吸道和胃肠道中 IgA 着色的浆细胞数减少,但细胞免疫完好无损。

4. IgG 亚类缺乏症 可有慢性呼吸道感染、中耳炎、慢性肺部疾病和反复发作脑膜炎。实验室检查的特征是 1 或 2 种 IgG 亚类缺乏或明显降低。由于 IgG1 占总 IgG 的 70%,单独 IgG1 缺乏就可导致低球蛋白血症,不属于 IgG 亚类缺乏症。IgG2 或 IgG3 选择性或伴有 IgG4 的联合缺乏是最常见的亚类缺乏。大多数患者总 IgG 值和其他抗体正常或近乎正常,但对某些抗原的反应性降低,例如, IgG2 缺乏的患者(选择性或与其他亚类联合缺乏)通常对多糖类抗原的抗体反应受损。

5. 常见变异型低丙球蛋白血症 又称先天性无性联低丙球蛋白血症、原发性低丙球蛋白血症或异常丙球蛋白血症。这是一种两性发生率相等的遗传性疾病,发病率仅次于 IgA 缺乏症,年龄在 20 ~ 30 岁,易反复发生细菌性感染,部分患者常有自身免疫异常,包括艾迪生病、甲状腺炎和类风湿关节炎等。实验室检查的特征是血清 Ig < 3g/L, IgG < 2.5g/L, IgM 和 IgA 缺乏或偏低,它与性联无丙球蛋白血症不同的是 B 细胞数量正常。细胞免疫通常是正常的,但在部分患者可受损,表现为辅助性 T 细胞活性缺陷,出现抗 B 或抗 T 细胞自身抗体,导致自身免疫异常。

6. 婴儿暂时性低丙球蛋白血症 临床特征是婴儿出生后 3 ~ 6 个月后 IgG 水平仍不回升,并反复感染,早产儿出生时通过胎盘的 IgG 浓度低下易患该病。该病不具家族性,预后良好,1.5 ~ 3 岁可以自愈。实验室检查的特征是血清 Ig < 3.5g/L, IgG < 1g/L, IgM 和 IgA 浓度正常;患者外周 B 细胞正常;淋巴结有正常的滤泡和生发中心,有浆细胞;T 辅助细胞可能减少。

7. 免疫球蛋白重链缺乏症 临床除有时表现易细菌感染外,一般可无临床症状。实验

室检查的特征是 IgG 重链缺乏,导致 IgG1(或 IgG2)和 IgG4 缺乏。

8. κ 链缺乏症 临床上可无症状,实验室检查的特征是患者不能合成 κ 链,故缺乏 κ 型 Ig,但 λ 链合成正常。

(三) 疗效评价和预后监测

性联无丙球蛋白血症需终生注射或输注低浓度免疫球蛋白,才可预防反复的感染。治疗期间定期测定血清 IgG 值,以判定疗效,一般 3 个月后可达到稳定状态,血清 IgG 升至 2g/L,可减少感染机会。

(许以平)

第三节 严重联合免疫缺陷病

严重联合免疫缺陷病(severe combined immunodeficiency diseases, CID),是指细胞和体液免疫先天性缺乏,属性联或常染色体隐性遗传。患儿因淋巴干细胞发育成熟障碍,致使 T 及 B 细胞功能缺如,易罹细菌、病毒和真菌感染,多在一年内死亡。

【理论基础】

该病的病因还未完全阐明,可能与以下两种因素有关。

(一) 淋巴干细胞发育成熟障碍

严重联合免疫缺陷病属性联或常染色体隐性遗传,已阐明与白介素-2 受体(interleukin, IL-2R)的 γ 链突变有关。IL-2R 由 α 、 β 和 γ 链所组成,此 γ 链也是细胞因子 IL-4、IL-7、IL-9 及 IL-15 等白介素受体的 β 链,故称共有 γ 链(γ C)。编码 γ 链的基因位点在性染色体长臂 1 区 3 带 1 亚带,即 Xq13.1 区,当此基因发生突变的位点影响了细胞外的 γ C,使细胞因子的受体失活不能与上述五种细胞因子相结合;当突变影响了胞质内的 γ C,致使信号传导通路失活,可使淋巴干细胞的发育受阻。

(二) 腺苷酸脱氨酶缺乏

腺苷酸脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)是一种嘌呤替代途径酶,能使腺苷和脱氧腺苷分别转化为肌苷和脱氧肌苷。当第 20 号染色体上编码 ADA 的基因在 5'端内缺少核苷酸和存在一个点突变时,使 ADA 缺陷,致使脱氧三磷酸腺苷(deoxy ATP)不能转化为脱氧肌苷而含量增高,可超出正常水平的 50 ~ 100 倍,进而抑制核糖核苷酸还原酶,干扰 DNA 的合成,抑制了淋巴细胞有丝分裂,影响淋巴细胞功能,造成 T、B 细胞联合免疫缺陷。

【检验项目】

严重联合免疫缺陷病可同时表现为细胞免疫缺陷和体液免疫缺陷。有关体液免疫缺陷的检测项目见第二节。以下仅介绍细胞免疫缺陷检测项目。

(一) T 细胞表面标志的检测

可根据 T 细胞表面存在着的特异性的簇分化抗原(CD)和受体定量 T 细胞。

1. 簇分化抗原(CD)的检测 T 细胞表面存在着特异性 CD 抗原,如表 5-1-1 所示。

可通过特异性单克隆抗体进行检测,这是诊断细胞免疫最有价值的试验。

表 5-1-1 T 细胞表面主要 CD 抗原及其特异性

CD 抗原	特 异 性
CD2	全部 T 细胞和部分 NK 细胞
CD3	成熟 T 细胞
CD4	T(辅助/诱导)细胞
CD8	T(抑制/杀伤)细胞、NK 细胞亚型
CD25	活化 T 细胞

应用单克隆抗体检测 T 细胞表面抗原的方法有间接免疫荧光法和酶免疫法两类。

(1) 间接免疫荧光法:通常将肝素抗凝血经相对密度为 1.077 的葡聚糖-泛影葡胺液分离得淋巴细胞,分别与相应的特异性针对 T 细胞膜表面抗原的鼠单克隆抗体(CD3、CD4、CD8)结合,经洗去游离的抗体,继加荧光素标记的羊或兔抗小鼠 IgG 抗体(FITC 呈现黄绿色、R-phycoerotherin 呈现红色)经温育并洗去多余的标记抗体。取样制片,用荧光显微镜观察并计数约 200 个淋巴细胞,以荧光阳性细胞与计数细胞总数之比,求得相应 CD 抗原阳性的 T 细胞百分率。CD3 反映总 T 细胞值,CD4 为 T 辅助/诱导细胞,CD8 为 T 抑制/杀伤细胞。若有条件,上述经荧光标记抗体染色的细胞,可用流式细胞仪计数,快速而准确,但仪器较昂贵。

(2) 酶免疫法:与上述方法操作类同,所不同的是以酶标记的羊或兔抗小鼠 IgG 抗体取代荧光标记抗体,当与相应底物反应可使阳性细胞呈棕黄色。可用一般光学显微镜观察,标本又便于长期保存。此法简便易行,一般实验室均可采用,有时为增强特异性染色,选用抗生物素蛋白——生物素(过氧化物酶)复合物染色。

2. 特异性受体的检测 T 细胞表面有特异性绵羊红细胞(E)受体和 T 细胞抗原识别受体(TCR),其中 E 受体曾广泛用作计数 T 细胞的标志。花环试验操作简便易行,但影响因素较多,操作稍有不同,所得结果差异较大,因此已被检测 CD 抗原方法所取代。

(二) T 细胞功能的检测

T 细胞具有多种生物学功能,如对特异性抗原和促有丝分裂原的应答反应及产生细胞因子、直接杀伤靶细胞、辅助或抑制 B 细胞产生抗体等,据此建立了一系列体内和体外检测方法,其中有些已用作临床检测细胞免疫功能的指标。

1. 淋巴细胞增殖试验 该试验又称 T 细胞转化试验。将能刺激 T 细胞增殖的植物血凝素(phytohemagglutinin, PHA)、伴刀豆蛋白 A(concanavalin A, Con A)或患者过去接触过的抗原与淋巴细胞共同培养,在这些刺激下,T 淋巴细胞的代谢和形态相继发生变化,数小时后细胞内酶活化,RNA 合成增加,接着 DNA 合成也增加,细胞增大,形态变为不规则,胞质增多,染色偏嗜碱性,出现空泡,核仁明显,染色质疏松,这种增殖变化在 48 ~ 72 小时最为明显。淋巴细胞增殖和转化试验是判断 T 细胞功能的一项常用的体外免疫学检测指标,该试验有形态学方法和放射线核素方法两种。

(1) 形态法:将外周血或分离的单个核细胞与适量植物血凝素混和,置 37℃ 培养 72 小

时,取培养细胞作涂片染色镜检。根据淋巴细胞的大小、核和胞质的比例,胞质的染色性和核结构以及有无核仁等特征,区分转化的淋巴细胞和正常淋巴细胞。每份标本计数 200 个细胞,按下列公式计算转化率:

$$\text{转化率} = \frac{\text{转化的淋巴细胞数}}{\text{转化的淋巴细胞数} + \text{未转化的淋巴细胞数}} \times 100\%$$

健康人外周血经 PHA 刺激的淋巴细胞转化率为 60%~80%, <50% 可视为降低。此法简便易行,但判断结果受主观因素影响较大,有些细胞形态难于分辨,因此重复性较差。

(2) 放射线核素法:全血或分离的淋巴细胞受有丝分裂原或特异性抗原在 37℃ 培养 56 小时,受刺激而发生增殖转化时,必然伴有 DNA 的大量合成,此时将³H 胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)加到培养液中,则被作为 DNA 的原料摄入转化的细胞内,继续培养 16 小时后将细胞收集在玻璃纤维膜上,经处理,用液体闪烁器测定放射线核素活性(以脉冲数表示),此法能客观地反映淋巴细胞对刺激物的应答能力。增殖程度通常用刺激指数表示,即受到刺激细胞每分钟脉冲数与等量未受刺激细胞的每分钟脉冲数的比值。采用 PHA 所产生的增殖反应,其刺激指数为 50%~100%,明显高于用抗原或同种细胞作为刺激剂的增殖反应,其刺激指数为 3%~30%。此法较客观,重复性较好,结果也准确,新生儿出生不久即可呈正常反应。T 细胞缺陷患者存在着与免疫受损程度一致的增殖应答低下,甚至消失的现象。

2. 迟发型皮肤过敏反应 是常用的反映机体细胞免疫状态的体内检测方法。其原则为将一定量的抗原注入皮内或涂抹于皮肤上,经 48~72 小时后观察注射或涂抹部位是否出现红肿、硬结浸润。无红肿、硬结或其直径 <5mm 者均为阴性,表示受试者细胞免疫功能低下或有缺陷。可通过以下三种方法作检查:①用致敏机体有关因子的检查,包括旧结核菌素(OT)和纯蛋白衍化物(PPD)、腮腺炎病毒、白色念珠菌、毛发癣菌素、链激酶-链道酶(简称 SK-SD)等;②用无关因子预先致敏机体,然后再检测其迟发型皮肤过敏反应,多用二硝基氯苯(DNCB)或二硝基氟苯(DNFB);③不经致敏,直接检测机体的迟发型皮肤过敏反应,如植物血凝素(PHA)。临床上应用较多的是 OT、PPD 和 PHA 皮试。

(三) 淋巴结和组织活检

1. 淋巴结活检 是免疫缺陷病常规检查项目,联合免疫缺陷病患者淋巴结皮质区和副皮质区界线不清,生发中心消失。

2. 直肠粘膜活检 直肠粘膜下固有层中的浆细胞显著减少甚至缺如。

3. 骨髓检查 患者骨髓中的淋巴细胞及浆细胞均显著减少。

(四) 胸部 X 线检查

胸部 X 线检查是筛查婴幼儿 T 细胞缺陷的方法,侧位胸片若不见胸腺阴影,提示有 T 细胞缺陷。

【临床实践】

(一) 诊断

1. 临床表现 患者因严重的细胞及抗体免疫缺陷,往往于出生后 2 个月起即有生长停滞,3 个月起即有各种严重感染,如呼吸道感染、脓皮病、脑膜炎、败血症、念珠菌口炎、食管炎、肺炎、巨细胞病毒感染、麻疹病毒感染、卡氏肺囊虫病间质肺炎等。患者不能预防接种,否则易致疫苗菌(如卡介苗、灰髓炎病毒)感染,若治疗不及时,则全身日渐衰弱,于 2 岁以内

死亡。患者缺乏排异能力,易发生移植物抗宿主病(GVHD),常在输血或母体免疫活性细胞越过胎盘进入婴儿血循环后发生。GVHD可表现为三种类型:①超急性型,产生迅速扩展的剥脱性皮炎、严重腹泻、金葡菌感染等迅速致死;②急性型,有斑丘疹样红斑,继之有肝脾、淋巴结肿大、黄疸、腹泻、发热、心率失常、中枢神经系统功能紊乱等,患者多死于败血症;③慢性型,慢性皮肤表皮剥脱,肝脾和淋巴结肿大、腹泻、继发感染等。患儿淋巴组织发育障碍,扁桃体小或缺如,即使存在严重感染,患者肝脾和淋巴结也不肿大(伴发GVHD时例外)。

2. 实验室检查 严重联合免疫缺陷病以细胞免疫缺陷为主,首先需选择判断T细胞缺陷的一些检测手段,如T细胞计数、X线胸腺检查。迟发型皮肤过敏反应可作为筛选检查试验,阳性反应可排除细胞免疫缺陷。由于个体差异,接种某种抗原浓度、试剂质量和操作误差,阴性结果尚不能确诊细胞免疫缺陷,还需进一步作淋巴细胞增殖试验。当怀疑存在抗体缺陷或酶缺陷时,可进行有关的检测。

此病的实验室特征是外周血淋巴细胞总数降低,T细胞减少或消失,迟发型皮肤过敏反应消失,对植物血凝素(PHA)刺激缺乏反应。多数患儿还有B细胞和免疫球蛋白缺乏,抗原刺激后缺乏特异性抗体反应,缺乏同种血型凝集素。胸部X线检查未显示胸腺阴影,肠道粘膜活检未见浆细胞。

(二) 鉴别诊断

此病需与其他四种联合免疫缺陷病相鉴别。

1. 腺苷酸脱氨酶缺乏 80%~90%的腺苷酸脱氨酶缺乏患者表现为典型的严重联合免疫缺陷病症状,30%的严重联合免疫缺陷病患者伴有腺苷酸脱氨酶缺乏。该病无性别差异,出生后一星期内就可发病,有的发病较晚,称为迟发型。患者有严重的腹泻、肺炎、中耳炎、败血症、脑膜炎和生长发育障碍。真菌、病毒、细菌和原虫均可引起感染。除淋巴系统外,骨发育畸形,方额、前肋凹陷或突出、扁平胸腰椎,以及短肢侏儒最常见,部分患者表现中枢神经症状,如轻度的舞蹈症和震颤等。实验室检查的特征是患者红细胞腺苷酸脱氨酶含量只有正常红细胞含量的2%~4%,其他组织中腺苷酸脱氨酶含量也下降至正常值的10%~30%;4~6星期患者外周淋巴细胞数量明显减少;IgG缺乏不明显,IgA和IgM缺乏显著,特异性抗体效价降低;细胞免疫降低更显著,对植物血凝素刺激缺乏反应和迟发型皮肤过敏反应降低,胸部X线检查未显示胸腺阴影。

2. 嘌呤核苷酸化酶缺乏 该病发病无性别差异,多发病于出生后6~12个月的婴儿,随着年龄增长,病情逐渐加重,患者反复发生病毒、细菌和真菌感染。有的患者可表现为自身免疫性溶血性贫血、类风湿关节炎等自身免疫病。患者红细胞再生能力低下,疾病后期也可出现B细胞功能障碍。实验室检查的特征是血Ig水平基本正常,B细胞和浆细胞数基本正常;外周血中T细胞数显著减少,抑制性T细胞常低于正常水平;淋巴细胞对植物血凝素刺激的增殖,同种异体混合淋巴细胞反应均极低,迟发型皮肤过敏反应阴性。更有价值的诊断指标是尿中尿酸含量低,尿中出现鸟(脱氧鸟)苷和次黄嘌呤核苷、淋巴细胞中脱氧三磷酸鸟苷显著增高,红细胞中缺乏嘌呤核苷酸化酶可确诊为该病。

3. 主要组织相容性复合物Ⅱ类抗原缺乏症 这是一种不多见的免疫缺陷病。患者外周淋巴细胞数正常,CD4 T细胞减少,抗体产生受影响,细胞免疫功能下降。

4. 网状组织发育不良 此病可发生于男女两性。患者出生几天后出现呕吐、腹泻、局部感染或发育障碍。常见鹅口疮、呼吸道感染、败血症等,有的患者全身斑丘疹分布广泛。体

检未能查及扁桃体和淋巴结。病情恶化迅速,一般3个月之内死于严重感染。实验室检查的特征是患者血白细胞 $<2 \times 10^9/L$,淋巴细胞对植物血凝素反应低下;胸部X线检查未见胸腺影。

(三) 疗效评价和预后监测

严重联合免疫缺陷病若未经治疗,患者多在出生一年内因严重感染死亡。骨髓移植有时可完全纠正免疫缺陷,采用人白细胞抗原(HLA)同型、混合淋巴细胞培养(MLC)匹配的同胞骨髓进行移植,由此获得康复的患者已超过100例。如果不能获得匹配的同胞供者,可取一半同型的父母骨髓作移植,移植前必须去除父母骨髓中会引起移植物抗宿主(GVH)的成熟T淋巴细胞。也可移植胎肝、胎儿胸腺和胸腺上皮,胎肝是造血器官,有丰富的多能干细胞,胎儿在15个星期以下不存在人白细胞抗原相容性问题,因此利用15个星期以下的胎肝、胎儿胸腺和胸腺上皮进行移植不会发生移植物抗宿主反应,在治疗严重联合免疫缺陷病已有成功的报道,可借助于上述检测判断疗效。

(许以平)

第四节 共济失调毛细血管扩张性免疫缺陷症

共济失调毛细血管扩张性免疫缺陷症(ataxiatangiectasia immunodeficiency)最早由 Syllaba 于1926年报道,1957年 Boder 发现该病是一种伴有免疫缺陷的综合征。这是一种常染色体隐性遗传病,其特点除了表现反复鼻窦和肺部感染的细胞和体液免疫缺陷外,还伴有小脑共济失调、眼和皮肤毛细血管扩张。

【理论基础】

共济失调毛细血管扩张性免疫缺陷症累及神经、血管、内分泌和免疫系统,难于用一种病理基础说明。有资料认为该病是由于胸腺异常导致自身免疫性疾病和反复感染,在患者体内发现对内分泌系统、消化系统和肌细胞的自身抗体,中枢神经系统受损,也支持这一观点。另一种观点认为,患者的免疫缺陷是与第11号染色体长臂2区2带至2区3带,即11q22~23区的称之为ATM基因突变有关,此基因编码磷脂酰肌醇-3激酶(PI-3激酶),PI-3激酶与促细胞分裂因子信号传导,减数分裂,重组以及细胞周期控制有关,当ATM突变使PI-3激酶失活,可造成联合免疫缺陷。

【检验项目】

(一) 细胞免疫和体液免疫的检测

共济失调毛细血管扩张性免疫缺陷症可同时呈现细胞免疫和体液免疫缺陷。有关细胞免疫和体液免疫检测的方法可参见第二节、第三节检验项目。

(二) 病理学检测

1. 免疫系统 胸腺活检表现不一,有正常的,有萎缩的,有介于两者之间的。多数患者肠道淋巴组织发育不良,淋巴滤泡和生发中心减少,皮质区和皮质下区的淋巴细胞减少,而