

正常人末梢血淋巴细胞的电泳组分

陈 敏 徐迎辉 许华林

(北京铁路总医院)

正常人末梢血淋巴细胞是一不均一的群体。它主要由 T 淋巴细胞及 B 淋巴细胞等亚群组成。目前已有多种识别 T、B 淋巴细胞的方法,如 E 玫瑰花试验、酸性酯酶染色试验,以及检测细胞表面免疫球蛋白、Fc 受体及补体受体等技术,但均因易受多种因素影响而不够完善。

用细胞电泳技术分析淋巴细胞亚群国外已研究多年,但国内报道甚少。我们对 50 例正常人末梢血淋巴细胞进行了电泳研究,重点分析了淋巴细胞的电泳组分及其与 T、B 淋巴细胞亚群之间的关系。我们认为用这一方法识别淋巴细胞亚群是可行的。

一、材料与 方法

(一) 正常人末梢血淋巴细胞

取献血员肝素抗凝静脉血 3 毫升,加等量 pH 7.2 的 Hank's 液稀释,加在 3 毫升比重为 1.077 的 Ficoll-Isopaque 梯度液上,离心 1800 转/分,30 分钟。然后吸出淋巴细胞,用 Hank's 液洗一次,再用 0.83% 氯化铵溶液破坏红细胞,用 0.9% NaCl 溶液洗 4 次,调至合适浓度,备细胞电泳用。

(二) T、B 淋巴细胞悬液

1. 用 E-RFC_(AET) 法制备 T、B 淋巴细胞悬液^[1] 取献血员肝素抗凝静脉血 30 毫升,按方法(一)提取淋巴细胞。然后制备 E-RFC。将 E-RFC 悬液置于比重为 1.077 的 Ficoll-Isopaque 梯度液上,在 4℃ 下离心 1800 转/分,30 分钟。收集界面细胞(主要含 B 淋巴细胞)及管底细胞(主要含 T 淋巴细胞及羊红细胞);破坏红细胞后用 0.9% NaCl 溶液洗 4 次,调至合适浓度,备细胞电泳用。

2. 用尼龙柱法制备 T、B 淋巴细胞悬液。将含 5% 小牛血清的 199 培养基置于 56℃ 水浴锅中预热 30 分钟,然后用该培养基平衡预先装好的尼龙柱。从 20 毫升静脉血中提取淋巴细胞,将其置于尼龙柱中,在 37℃ 下温育 30 分钟,用 5 毫升培养基洗尼龙柱,并收集洗脱液(内含大量 T 淋巴细胞。E-RFC 结合率 89%),继续用 15 毫升培养基洗该柱,弃去洗脱液。然后挤捏尼龙柱,再用 5 毫升培养基洗脱并收集之(内含大量 B 淋巴细胞。E-RFC 结合率 < 30%)。将收集的两种细胞悬液中的红细胞分别破坏后,再用 0.9% NaCl 溶液洗 4 次,调至合适浓度,备细胞电泳用。

(三) 淋巴细胞电泳率的测量

用自动分析细胞电泳仪 Parmoquant II 型 (Zeiss Jena GDR) 在标准条件下进行。每份标本以自动方式测量 250 个细胞,数据经电子计算机处理,自动输出结果及组织图。在每次测量前均用同一正常人红细胞为标准粒子校正仪器。

二、结 果

图 1 为一正常人典型的淋巴细胞电泳组织图。电泳率为 0.98 ± 0.17 (微米·厘米·伏特⁻¹·秒⁻¹)。其电泳率分布呈双峰形。将其转换为积分曲线,则显示它是呈非高斯分布的(图 2 中·—·)。概率分析的结果提示了淋巴细胞主要是由三个电泳率不同的组分组成的,即高电泳率群体 (High Mobility Cell Population——HMC. 见图 1,2); 低电泳率群体 (Low Mobility Cell Population——LMC. 见图 1,2); 及中间电泳率群体 (Intermediate Mobility Cell Population

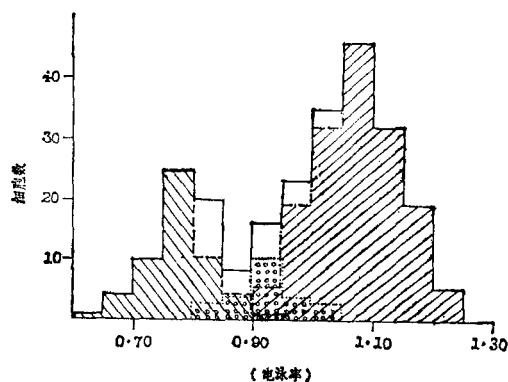


图1 正常人末梢血淋巴细胞电泳组织图

整个图形为总淋巴细胞电泳组织图,呈双峰形。用概率分析得到三个电泳率不同的群体。

▨ 高电泳率群体 (HMC)。

▨ 低电泳率群体 (LMC)。

○ 中间电泳率群体 (IMC)。

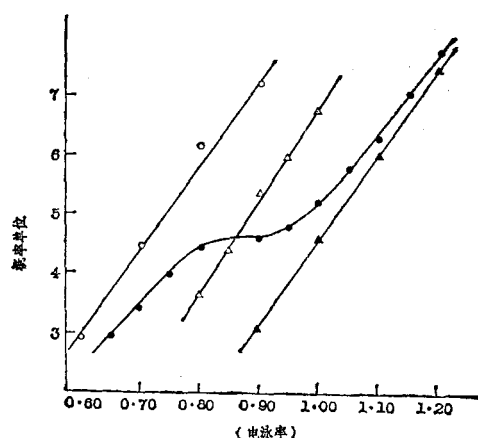


图2 由图1转换的积分曲线

- · · 总淋巴细胞电泳组织图的积分曲线。示末梢血淋巴细胞是不均一的群体。
- ▲—▲ 图1中 HMC 群体的积分曲线。
- 图1中 LMC 群体的积分曲线。
- △—△ 图1中 IMC 群体的积分曲线。

——IMC 见图1,2)。它们的电泳率分别为1.05、0.75及0.90。用积分法计算各组分在组织图中所占面积的比率,分别为60.4%、24.4%及15.2%。

本文50例正常人淋巴细胞平均电泳率为 0.96 ± 0.03 。三个组分的平均百分率为 $59.0 \pm 7.2\%$ 、 $28.0 \pm 8.3\%$ 及 $13.0 \pm 4.8\%$ 。用E-RFC_(AET)法提取的T淋巴细胞在与正常人淋

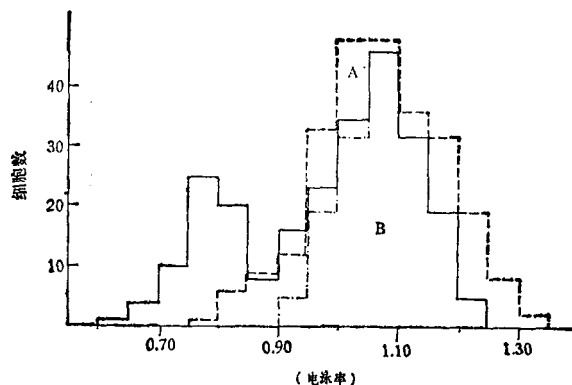


图3 T淋巴细胞与末梢血总淋巴细胞电泳的对比组织图

A T淋巴细胞电泳组织图。

B 总淋巴细胞电泳组织图中的 HMC。

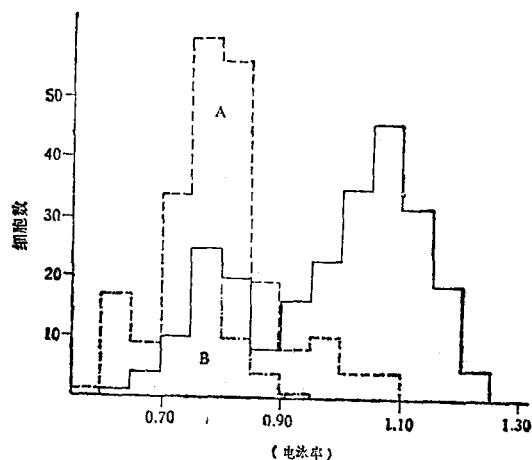


图4 B淋巴细胞与末梢血总淋巴细胞电泳的对比组织图

A B淋巴细胞电泳组织图。

B 总淋巴细胞电泳组织图中的 LMC。

巴细胞电泳的对比组织图中与高电泳率峰重叠(图3)。而用尼龙柱法制备的B淋巴细胞主要与低电泳率峰重叠(图4)。

三、讨 论

由于T、B淋巴细胞膜结构不同而各自具有不同的细胞化学的、物理学的和生物学的特性和功能。人们曾采用多种技术来识别它们。1971年以来用制备细胞电泳技术(Free flow electrophoresis)从淋巴细胞中分出了不同的功能群体^[4-6],因此淋巴细胞电泳的研究日益受到

重视。我们的正常人末梢血淋巴细胞电泳组织图呈双峰形,与多数作者的结果一致^[8-12]。由于我们的 T、B 淋巴细胞电泳组织图分别与总淋巴细胞的 HMC 及 LMC 峰重叠,这一事实证明了淋巴细胞电泳的 HMC 和 LMC 分别与 T、B 淋巴细胞密切相关。Bona 亦曾用细胞化学技术证实了它们之间的关系^[3]。Hanjan 曾进一步证明了淋巴细胞电泳不仅可以准确地定量末梢血的 T、B 淋巴细胞,而且也能定量 T 细胞亚类^[19]。他认为 HMC 中又可分为电泳率不同的两个组分,其中电泳率较高的部分与早期玫瑰花相关,电泳率较低部分与晚期玫瑰花相关。Uzgiris 等用 Laser Doppler Spectrometer 测量淋巴细胞电泳率,证明了 T 细胞两个电泳组分与 E-RFC 的亲合力相关^[13]。

关于第三个群体 (IMC) 的意义,目前看法不一。Brown 等证明了它与 HMC 同属于 T 细胞群体^[14]。而 Chollet 等证明这第三个群体既无 T 细胞标志,又无 B 细胞标志。

目前许多作者已将淋巴细胞电泳技术用于多种疾病的研究,如传染性单核细胞增多症^[16]。类风湿性关节炎^[14,17]、先天性免疫缺陷^[18]及淋巴细胞性白血病的免疫学分型^[11,15]等。这些研究表明了这一技术对于某些疾病的诊断、治疗监视以及发病机理的研究具有一定的意义。

(上接第 77 页)

($S_1 + S_2 + S_3$)。最后,把所有的 y_i ($i = 1, 2, 3$) 存入软盘。GENE 2 的框图与 GENE 1 的框图类似,就不再给出。

程序 PLOT 2 它的功能与 PLOT 1 类似,不同之处仅是: PLOT 2 是从 GENE 2 得到数据 y_i ($i = 1, 2, 3$), 数据转换公式不同于 PLOT 1, 这里是: $Z_i = y_i \times 5000 - 1500$ 。图 4 是由 GENE 2 计算,经 PLOT 2 绘制的大肠杆菌 unc 操纵子靠近启动子的部分蛋白质基因分布图。PLOT 2 的框图与 PLOT 1 的框图大同小异,也不再给出了。

参 考 文 献

- [1] Kaplan, M. E. et al.: *J. Immunol. Methods*, 5: 131, 1974.
- [2] Saxon, A.: *J. Immunol. Methods*, 12: 285, 1976.
- [3] Bona, C.: *Biomedecine*, 22: 97, 1975.
- [4] Zeiller, K. et al.: *Physiol. Chem.*, 352: 1168, 1971.
- [5] Andersson, L. C. et al.: *J. Immunology*, 114: 1226, 1975.
- [6] Dumout, F. et al.: *J. Immunol. Methods*, 53: 233, 1982.
- [7] Bubenik, J. et al.: *J. Neoplas ma*, 28: 517, 1981.
- [8] Sabolovic, D. et al.: *Lancet*, 28: 927, 1972.
- [9] Wiig, J. N. et al.: *Clin. Exp. Immunol.*, 15: 497, 1973.
- [10] Donald, D.: *J. Immunol. Methods*, 6: 151, 1974.
- [11] Goldstone, A. H. et al.: *Clin. Exp. Immunol.*, 17: 113, 1974.
- [12] Chollet, ph. et al.: *J. Immunol. Methods*, 11: 25, 1976.
- [13] Uzgiris, E. E. et al.: *Eur. J. Cancer*, 15: 1275, 1979.
- [14] Brown, K. A. et al.: *Clin. Exp. Immunol.*, 36: 272, 1979.
- [15] Müller, M. et al. (eds): *Modern Trends in Cell Electrophoresis*, Dresden. GDR, 1978.
- [16] Donald, D. C. et al.: *Clin. Exp. Immunol.*, 40: 197, 1980.
- [17] Brown, K. A. et al.: *Lancet*, 15: 114, 1977.
- [18] Durandy, A. et al.: *Clin. Exp. Immunol. Immunophathol.*, 4: 440, 1975.
- [19] Hanjan, S. N. S. et al.: *J. Immunol.*, 118: 253, 1977.

[本文于 1985 年 3 月 25 日收到]

用 PLOT 1 或 PLOT 2 来绘制基因图各有其优缺点。如用 PLOT 1, 所绘制的图案较清晰准确,但需用户已掌握一个标准基因的位置,而 PLOT 2 则不需。

本工作得到了洪国藩教授的指导,在此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] Staden, R. and McLachan, A. D.: *Nuc. Acids Res.*, 10, 141, 1982.
- [2] Staden, R.: *Nuc. Acids Res.*, 12, 551, 1984.
- [3] Grantham, R., Gautier, C. and Gouy, M.: *Nuc. Acids Res.*, 8, 1893, 1980.
- [4] Gay, N. J. and Walker, J. E.: *Nuc. Acids Res.*, 9, 3919, 1981.

[本文于 1984 年 6 月 30 日收到]