

用计算机的蛇毒图谱,分为基线倾斜两个部分。而胰岛素, μ_2 RNA 因使用分段累加、计算机调平基线的办法,图谱成为一整体,看不到断开的地方,亦无需通过描图将其连接起来。

参 考 文 献

- [1] Lord, R. C. et al.: *J. Mol. Biol.*, **50**, 509, 1970.
- [2] Nai-Teng Yu, et al.: *J. Mol. Biol.*, **70**, 117, 1972.
- [3] Gaber, B. P. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **465**, 260, 1977.
- [4] Frushous, B. C. et al.: *Advances in Infrared and*

Raman Spectroscopy, Vol. I, Chap. 2. 35, 1975.

- [5] Lippert, J. L. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 7075, 1976.
- [6] Siamwiza, M. N. et al.: *Biochemistry*, **14**, 4870, 1975.
- [7] Kitagawa, T. et al.: *Biopolymers*, **18**, 451, 1979.
- [8] Sugeta, H. et al.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **46**, 3407, 1973.
- [9] Erburth, S. C. et al.: *Biopolymers*, **14**, 247, 1975.
- [10] Thomas, G. J.: *Vibration. Spectra Struct.*, **3**, 239, 1975.

[本文于1983年12月26日收到]

细胞电泳技术的临床应用

孙 玲

(北京铁路总医院免疫室)

1928年 Abramson 应用细胞电泳技术对血细胞膜结构开始了探讨。后来 Larcan 和 Zeiller 等人^[1]也对各种血液成份以及癌细胞,特别对血小板在凝集、粘附、血栓形成中的作用与表面结构及电荷密度变化的关系等进行了研究。国内有人利用细胞电泳技术,对诊断肿瘤细胞免疫反应,活血化瘀等中医理论的探讨作了一些工作^[2]。目前应用细胞电泳技术,对细胞膜的研究已从细胞水平进入到分子水平。尤其自 Caspary 和 Field 1970 年把这一技术与免疫反应相结合,建立起研究免疫反应的一项新技术,它可检测免疫活性细胞的致敏程度^[3]。这对传染病、自身免疫性疾病,组织配型,以及肿瘤早期和定位的特异性诊断的研究开创了一个新局面。本文简要介绍细胞电泳技术在临床应用方面的进展。

一、淋巴细胞膜标志的研究^[4,5]

通常免疫活性细胞的膜标志,可用生物学、化学,以及物理学等方法进行区分。近年来应用细胞电泳方法研究细胞膜标志,发现当测量

一定数量血淋巴细胞时,就可把两个同质性群体划出两个不同的图相,一个是慢泳动速度的小群体,代表着B淋巴细胞,另一个是快泳动速度的主要群体,代表着T淋巴细胞。

应用细胞电泳检查先天性无胸腺小鼠各免疫器官时,发现只有慢泳动速度的淋巴细胞单一群体。在人类先天性胸腺发育不全综合症(Digeorge Syndrome)患儿的末梢血中,只有一个慢泳动速度的B淋巴细胞群体,而在低 γ 球蛋白血症(Bruton type Hypogammaglobulinemia)患者血中,只有一个快泳动速度的T淋巴细胞群体,这些人和鼠体中均可获得的相同结果,提示细胞电泳可区分淋巴细胞群体,同时通过对动物的研究也有助于对人类免疫现象的了解。

Sabolovic 等测量细胞电泳时,也同时作了其它细胞膜标志的研究^[6]。如表面免疫球蛋白,羊红细胞受体、补体受体以及植物血凝素和刀豆素A反应性等试验,发现这些膜标志的检查结果与细胞电泳测量所得的结果密切相关,证实了细胞电泳技术,可作为免疫活性细胞膜标志研究方法之一,并已应用于临床。

二、患病时淋巴细胞群体变化的意义^[7]

不少作者对健康人和各种疾病患者,如免疫缺损、白血病、何杰金氏病、类风湿、全身性红斑狼疮以及肿瘤等患者的淋巴细胞进行了比较。研究的结论是不论是累及或没有累及淋巴系统的疾患,病人末稍血中,淋巴细胞亚群的变化均有一个有意义的相互关系。正常人淋巴细胞进行电泳检测,反复试验无任何变化。一些临床症状改善的肿瘤术后患者,白血病缓解期患者,淋巴细胞电泳亚群图相的表现也是正常的。重要的一点是未经治疗和经过治疗病人的细胞电泳的淋巴细胞图相有区别。前者是因疾病的反应性和严重程度,出现不同的淋巴细胞亚群图相。后者可由于免疫抑制剂或放射疗法,破坏了不同亚群的淋巴细胞,在淋巴细胞重建过程中形成了细胞群体的变化,而表现出相应的电泳图相。因此淋巴细胞电泳,可对化疗或免疫疗法患者以及各种免疫性疾病患者的淋巴细胞进行观察,根据观察结果的变化,有助于判断患者的预后,探讨免疫性疾病的发病机制。当前淋巴细胞在类风湿性关节炎发病中的作用已引起人们的注意,认为类风湿性关节炎的组织破坏是免疫反应的结果。现已肯定滑囊渗出液中炎症细胞内以淋巴细胞占优势。Gatter 和 Rickmond 进一步提示组织的损坏,除与免疫复合物形成有关外,还可能与淋巴细胞的细胞毒或通过淋巴细胞释放的淋巴因子有直接关系。Statsny 等已证实淋巴因子存在于关节滑囊渗出液中。通过胸导管引流,使体内淋巴细胞数目降低,可导致活动性类风湿性关节炎症状的缓解,这进一步说明淋巴细胞参与了类风湿性关节炎的发病。因此目前有人应用细胞电泳技术对类风湿性关节炎患者末稍血和滑囊液中的淋巴细胞进行了检测,并与正常人淋巴细胞检测结果相比较,发现正常人以快泳动率的淋巴细胞群体占多数,而类风湿患者以中间泳动率的群体占多数,滑囊液中的淋巴细胞中间泳动率的群体更多,并观察到中间速度细胞群体的多少,与病情有相应关系,提示可根据中间速度细

胞群体的比值评价疾病状况和疗效^[8]。

有人研究白细胞增多伴发异型单核细胞综合征 (Sezary's Syndrome), 显示中间速度的淋巴细胞群体明显增高,它们是 T 淋巴细胞,这提示此病为 T 淋巴细胞增殖性疾病。在传染性单核细胞增多症中,也有中间速度淋巴细胞群体增多的现象,而传染性单核细胞增多症的淋巴细胞,大多数是非典型淋巴细胞,这些淋巴细胞是受 Epstein-barr 病毒感染所致敏了的 B 淋巴细胞,因此可认为这些致敏的淋巴细胞,即为中间速度淋巴细胞^[9,10]。

三、血小板电泳变化与血栓形成关系的研究

近年来发现当淋巴细胞参与炎症反应时,所产生的淋巴因子,可导致血栓形成。同时也显示出血小板的聚集活性,前凝血活性以及其它活性机制,均可通过细胞免疫反应中的某些可溶性介质来促成血栓形成。这种表现,如同 IV 型反应。为了证实这一理论^[11], Klimetzek 应用细胞电泳在体外进行实验,结果证明人淋巴细胞受 PHA 激活后,可释放一种淋巴因子,称为血小板致缓因子 (PSF),其分子量为 45,000,它可使血小板电泳泳动率降低,降低的原因是由于这些因子的阴性电荷作用于血小板,引起血小板之间静电排斥力的降低,从而增加它们之间的聚集,而形成血栓。这一现象的探讨为临床研究血栓形成的过程,观察病情以及预兆复发,提供了重要依据。

四、吞噬细胞电泳泳动试验的应用 (MEM-T)

1. 用于组织移植^[12] 自 1964 年 Bach 提出用混合淋巴细胞反应 (MLR) 作为选择供体受体组织配型的一种方法以来,对临床组织移植起到了重要作用。1975 年 Shenton 等又首先应用 MEM-MLR 方法对 36 例活体肾供者和 59 例尸体肾供者的淋巴细胞,与受者的淋巴细胞进行组织移植前配型,结果与 MLR 相似,而又有比 MLR 时间短,方法简单、结果较准确的优

点。试验说明不论肾脏是来自活体供者还是尸体供者,组织移植后,凡无排异反应者,细胞电泳泳动缓慢率平均在 0.9—6.0%,而有排异反应者缓慢率在 4.8—29.9%, ($p < 0.001$)。而急性排异与缓慢率突然急剧上升是同时发生的,甚至在临床排异反应前 1—3 天缓慢率则有逐渐上升的趋势。因此结论是:个体 HLA 抗原的差异程度与缓慢率的高低成正比,与移植存活期的长短成反比。凡缓慢率在 6.0% 以下者可存活 6 年以上,6.0% 以上者则存活 6 年以下。另外还观察到,接受多次输血的受体移植成功率较未接受过输血的受体为高,前者缓慢率多在 4.13% 而后者多在 8.34%。MEM-MLR 试验可监视移植期排异反应,进行早期诊断以指导免疫抑制剂的应用。

2. 用于自身免疫性疾病^[13] 此类疾病均可用 MEM 试验检测患者免疫活性细胞,除用各种组织特异性抗原检测患者淋巴细胞的致敏状态外,也可用致脑炎因子(EF)以及 PPD 和各种微生物抗原来检测淋巴细胞的致敏状态,结果表明 EF 对各种自身免疫性疾病,如重症肌无力、神经性疾病、牛皮癣、肾炎、交感性眼炎等,以及老年健康成人的淋巴细胞均有致敏作用。甚至有些疾病当体内免疫反应增强时,他们的血清和体液中,可直接测得吞噬细胞缓慢因子(MSF)的存在。如多发性硬化症的血清和脑脊液中、肾小球肾炎的尿液中、类风湿性关节炎的滑囊液中,直接加入吞噬细胞时,吞噬细胞的电泳泳动明显减缓。因此应用 MEM 试验可了解病人淋巴细胞致敏程度,提示免疫活性细胞在疾病中发病的作用,评价预后,并可作为一种追踪观察生物衰老过程的方法。

3. 用于肿瘤诊断^[14] Field 发现各种恶性肿瘤病人外周血淋巴细胞在体外被脑源因子(EF)和各种肿瘤相关抗原(TAA)致敏后,可释放出一种淋巴因子,此物质可使豚鼠的巨噬细胞在电泳中移动减缓。这种物质称为巨噬细胞缓慢因子(MSF)。在相同情况下非肿瘤病人和正常人的外周淋巴细胞很少产生致敏作用。因此 Field 提出用这种方法来诊断恶性肿瘤,并把这

种方法称为巨噬细胞电泳泳动试验(MEM)。此实验很快得到 Pritchard 的证实,目前国际上已作了大量工作,提示对肿瘤的早期诊断和定位诊断有了可能。但 MEM 试验以 EF 为抗原尚存在一个假阳性的问题,这主要是由于 EF 抗原的非特异性所致。另外豚鼠巨噬细胞作为指示细胞具有缺点,如豚鼠已被病毒感染;巨噬细胞的不均一性;大小的不一致性等,均可影响实验结果,因此目前 Shenton 报告用鞣酸处理的羊红细胞来代替照射的豚鼠巨噬细胞。

4. 用于评价转移因子等免疫活性质量^[15]

临床应用转移因子(TF)等免疫活性试剂,作为提高细胞免疫功能已较普遍,但如何检测这些试剂的质量,体外方法不多。有人用对结核菌素纯蛋白衍生物(PPD)皮试阴性反应病人的淋巴细胞,在体外与 PPD 进行孵育,其上清液中测不出缓慢因子的存在,用这些上清液作 MEM 试验,结果亦为阴性,如在这些上清液中加入转移因子,再通过交联葡聚糖(Sephadex)分组后,发现在 III—V 组分中有缓慢因子的存在,分子量为 2000 Dalton,用 III—V 组的上清液作 MEM 试验则可出现阳性反应。而在第 I 组分中有抑制缓慢因子的存在,如将第 I 组分上的清液加入到 III—V 组分中,其中的缓慢因子则失去活性,此时再作 MEM 试验由阳性转为阴性,结果提示 MEM 试验可用于对转移因子活性质量的检测,而且在保证 TF 质量的情况下,也可作为观察疗效的指标。

本文承蒙中国医学科学院基础医学研究所吴安然教授审阅,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 尤育初译:《国外医学血液与输血学分册》,1: 22, 1980。
- [2] 梁子钧等:《生化与生物物理进展》,1: 54, 1976。
- [3] Field, E. J. et al.: *Lancet*, 2: 1377, 1970。
- [4] Durandy, A. et al.: *Clin. Immunol. and Immunopathol.*, 4: 440, 1975。
- [5] Wiig, J. N.: *Clin. EPT. Immunol.*, 19: 159, 1975。
- [6] Sabolovic, N., et al.: *Biomedicine*, 21: 86, 1974。
- [7] Sabolovic, D. et al.: *Modern Trends in cell Electrophoresis*, P 204。

- [8] Brown, K. A. et al.: *ibid.*, P219.
 [9] Preudhomme, J. H. et al.: *Blood*, 40: 777, 1972.
 [10] Jondal, M. et al.: *J. EPT Med.*, 138. 1365, 1973.
 [11] Lavelle, K. et al.: *Clin. Immunol. and Immunopath.*, 3: 492, 1975.
 [12] Shonton, B. K. et al.: *Tissue Antigens*, 5: 246, 1975.

- [13] Friemel, H. et al.: *Allergologia Immunopathol.*, 4: 218, 1976.
 [14] Pritchard, J. A. V. et al.: *Lancet*, 2: 627, 1972.
 [15] Friemel, H. et al.: *Modern Trends in cell Electrophoresis*, P142.

[本文于1983年12月5日收到]

仪器设备

介绍一种制备管状梯度凝胶的装置

周德义

(广西医学院生化教研室, 南宁)

梯度凝胶电泳分离生物大分子具有分辨力高、区带清晰的特点, 特别适于分离 γ -谷氨酰转肽酶一类膜结合蛋白。此外还可利用浓度梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳测定分子量。目前这种方法多是用垂直平板凝胶。本文介绍一套自制管状梯度凝胶的装置和制备凝胶的方法。用这种方法, 既节省试剂, 又可以装入任何立式盘电泳槽中, 使用也极方便。

一、梯度发生器和梯度凝胶制备装置

1. 管状梯度发生器与一般梯度发生器相同, 可用有机玻璃制作(见图1)

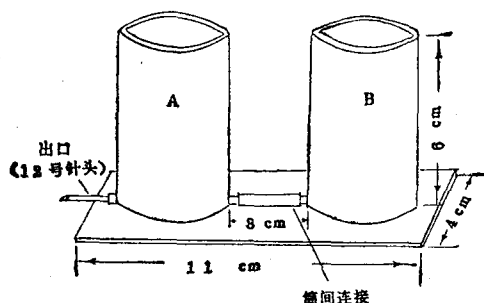


图1 管状梯度发生器

2. 梯度凝胶制备装置 由厚0.5 cm的有机玻璃制成。取两块14×14 cm的有机玻璃板(C板及D板), 用圆规按图2标明的尺寸准确分格(共24格)。将旧钢锯片两段捆在一起, 在砂轮

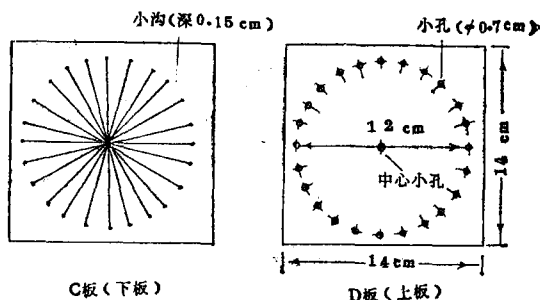


图2 制胶装置底板尺寸图

上磨出一把斜形沟刀, 用它在C板上相对两个分点之间过圆心拉出深为0.15 cm的小沟。D板上用钻在24个分点和圆心上钻直径0.7 cm的小孔。再将C、D两板重叠, 分点准确相对, 在四周滴加氯仿粘合。再取24个链霉素胶瓶塞, 塞

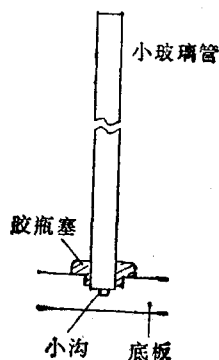


图3 小玻璃管与制胶装置连接示意图