



# 第9章 细胞免疫功能的测定

# 一、免疫细胞分离技术

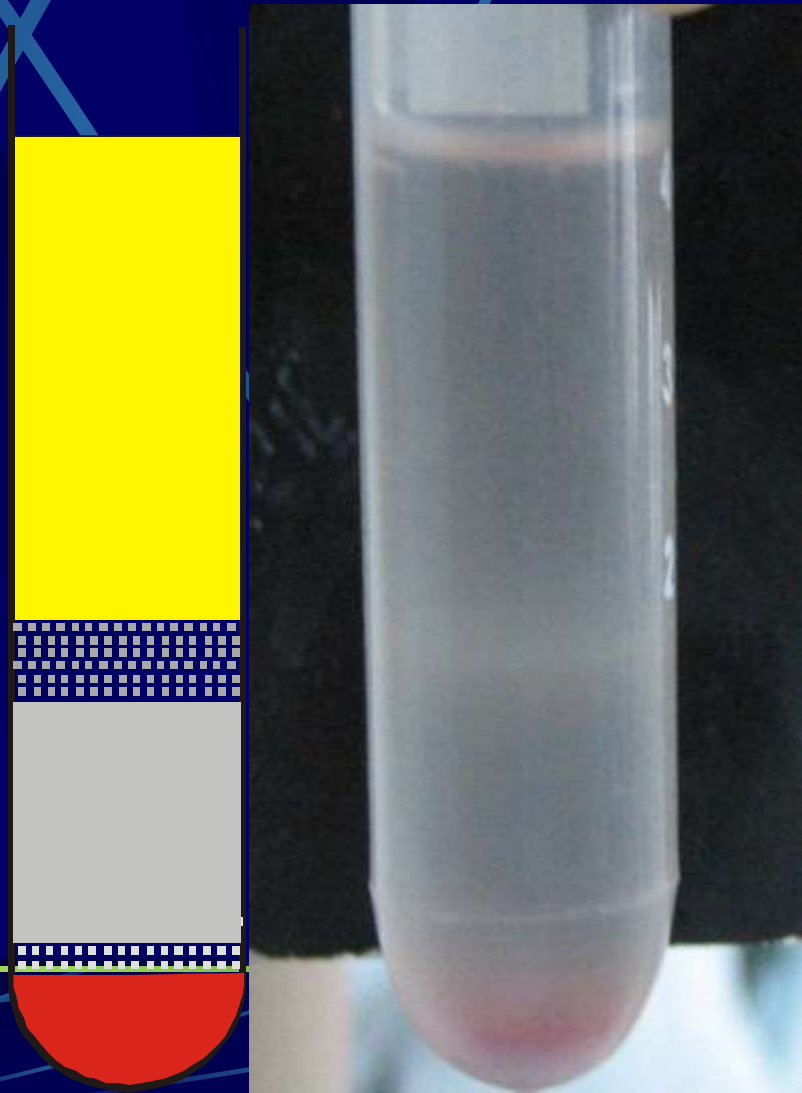
1. 制备抗凝血：用  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  或肝素

2. **离心法** 分离免疫细胞：用淋巴细胞分离液（Ficoll—聚蔗糖+泛影葡胺）或 Percoll（硅溶胶）作密度梯度离心。比重  $1.077 \pm 0.002$ 。上层为血浆及缓冲液，中层为分层液，中上层间的云雾层为单核细胞及淋巴细胞，下层为红细胞，中下层交界处为白细胞

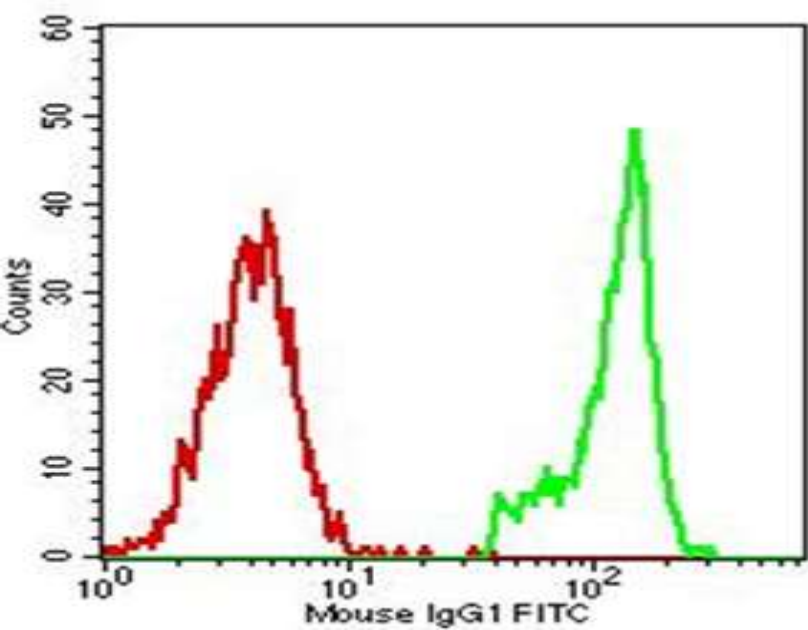
单个核细胞

分离液  
粒细胞  
红细胞

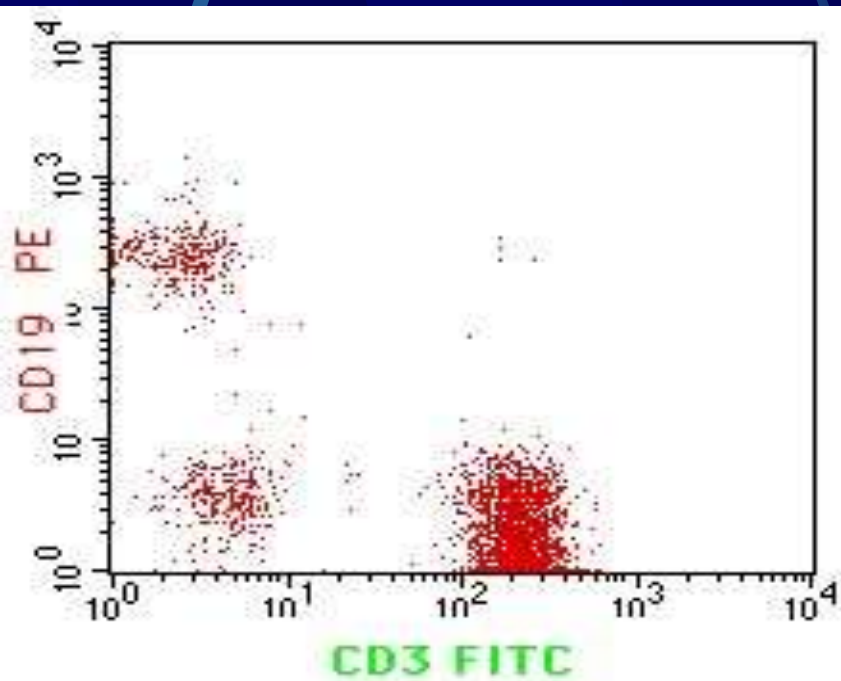
血浆



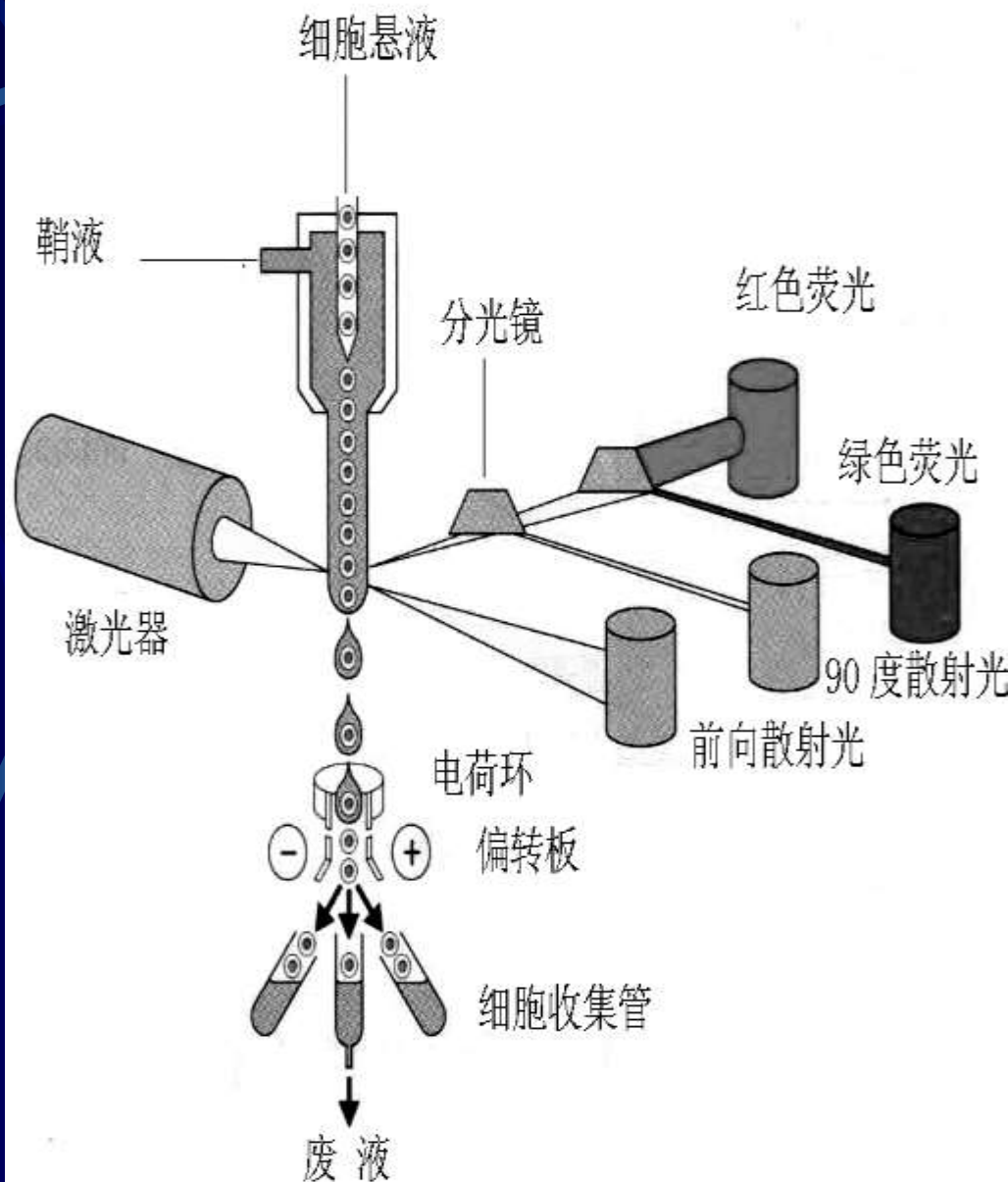
- 3. **贴壁法**分离单核细胞，上清液中为淋巴细胞
- 4. 尼龙棉（聚酰胺纤维）**黏附法**：B 细胞能黏附于纤维表面，而 T 细胞则不能
- 5. **流式细胞仪法**：最佳最新的细胞分离法，还可分离组织细胞、肿瘤细胞，但相当昂贵



单参数直方图



双参数散点图



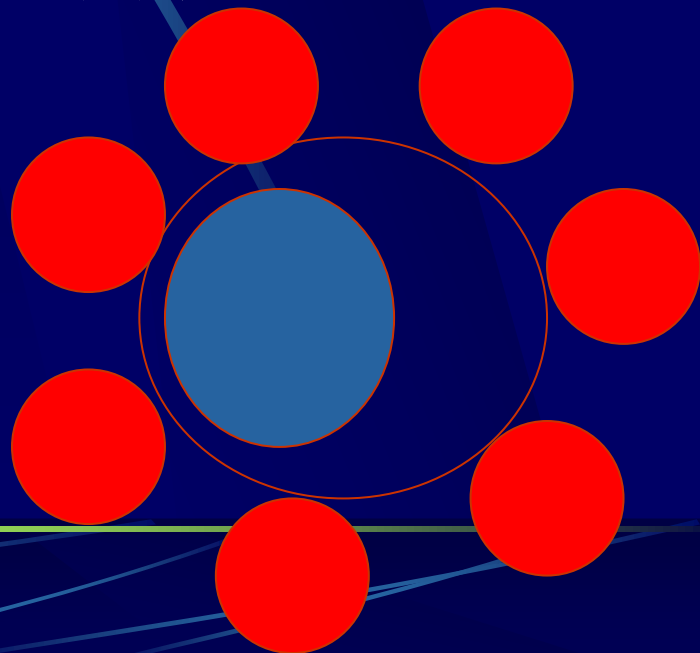
## 二、细胞标志的测定

### ● 1. T 细胞标志

- (1) E 受体的检测: E 玫瑰花结试验 (E rozettes assay) ——总 E (Et) 玫瑰花结试验、活性 E (Ea) 玫瑰花结试验
- (2) CD 抗原: 单抗免疫细胞化学法, CD4/CD8 正常  $1.48 \pm 0.51$ , 男略低于女, 艾滋病患者倒置

### ● 2. B 细胞标志

- (1) mIg 的检测: 荧光抗体染色法
- (2) CD抗原: 同 T 细胞



# 三、细胞功能的测定

## ● 1. 细胞增殖（转化试验）：

- （1）原理：淋巴细胞在体外受有丝分裂原的非特异性刺激或特异性抗原的刺激后可转化为淋巴母细胞。分别反映总体和特异细胞免疫情况

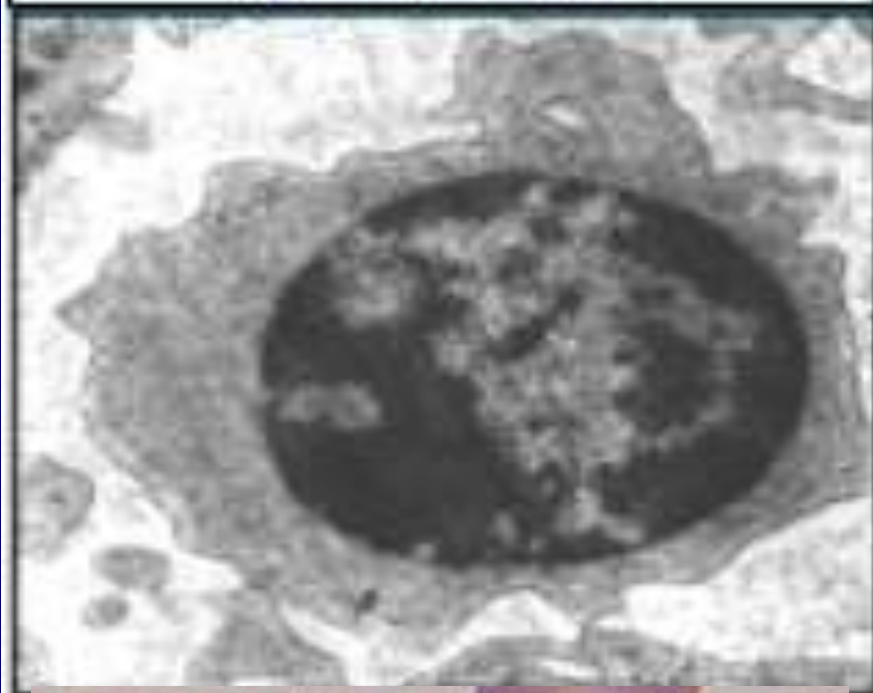
- 常用的有丝分裂原有：植物血凝素（PHA）——最常用、刀豆蛋白（Con A）、美洲商陆丝裂原（PWM）——B 细胞也可

## ● （2）方法：

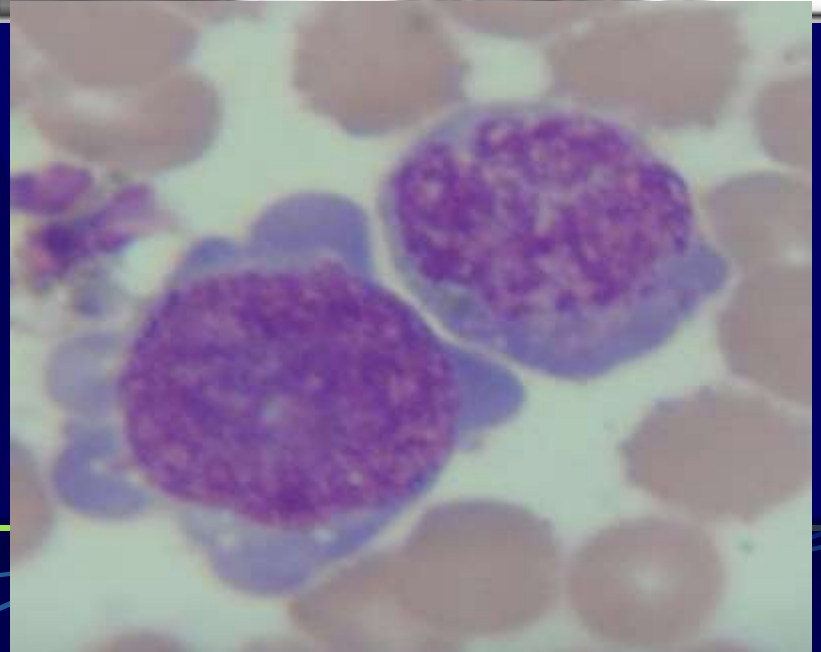
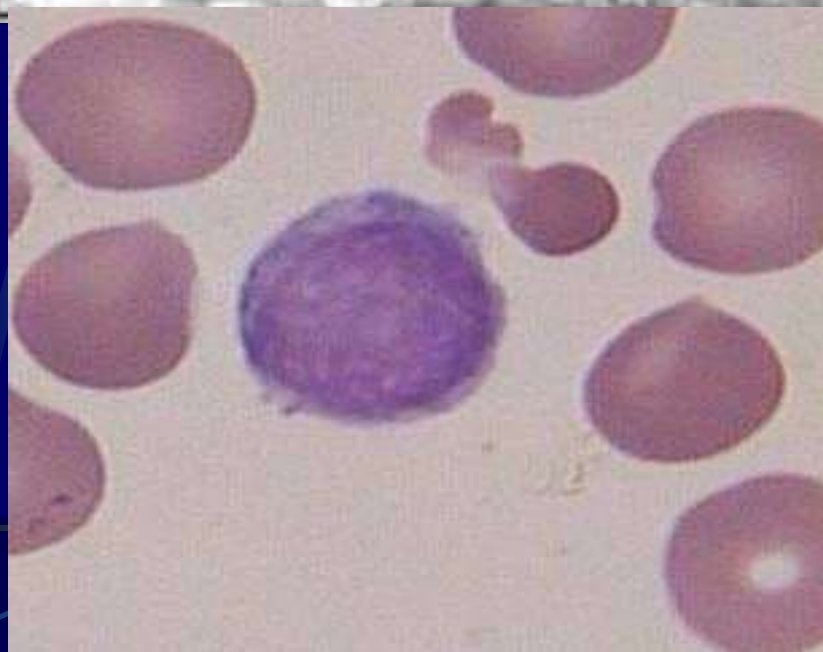
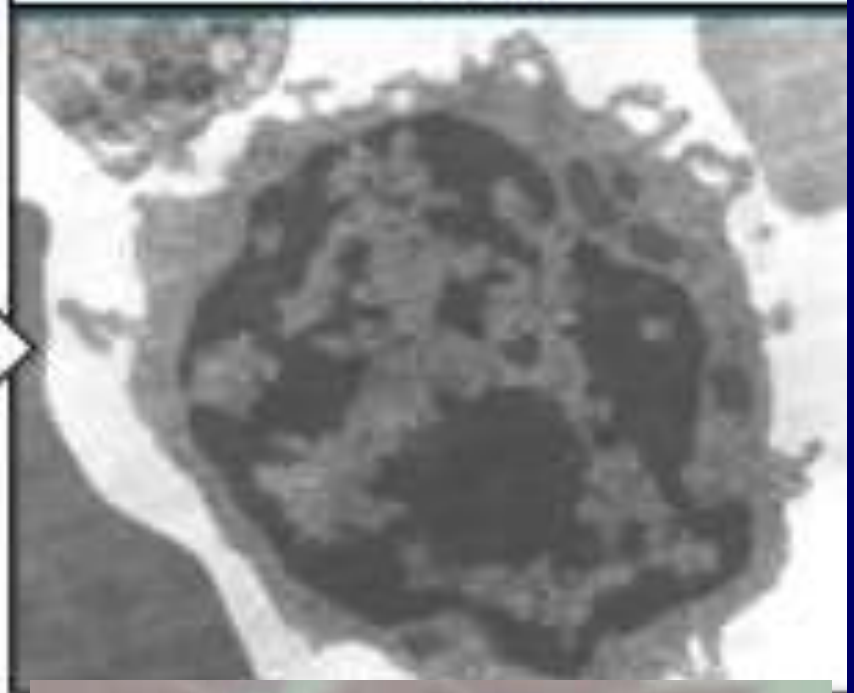
- a. 形态学检查法：光镜下观察，结果误差较大
- b.  $^3\text{H}$ -TdR（胸腺嘧啶核苷）掺入（同位素法）：测细胞内摄入的同位素量，较精确
- Th 细胞摄入量增加，Ts 细胞摄入量减少——以 Con A 诱导为佳



静止淋巴细胞



淋巴母细胞



# 未转化和转化淋巴细胞的形态特征

	转化的淋巴细胞		未转化的淋巴细胞
	淋巴母细胞	过渡型	
细胞大小(直径 $\mu\text{m}$ )	12~20	12~16	6~8
核大小、染色质	增大、疏松	增大、疏松	不增大、密集
核仁	清晰、1~4个	有或无	无
有丝分裂	有或无	无	无
胞质、着色	增多、嗜碱	增多、嗜碱	极少、天青色
浆内空泡	有或无	有或无	无
伪足	有或无	有或无	无



## 2. 细胞毒试验:

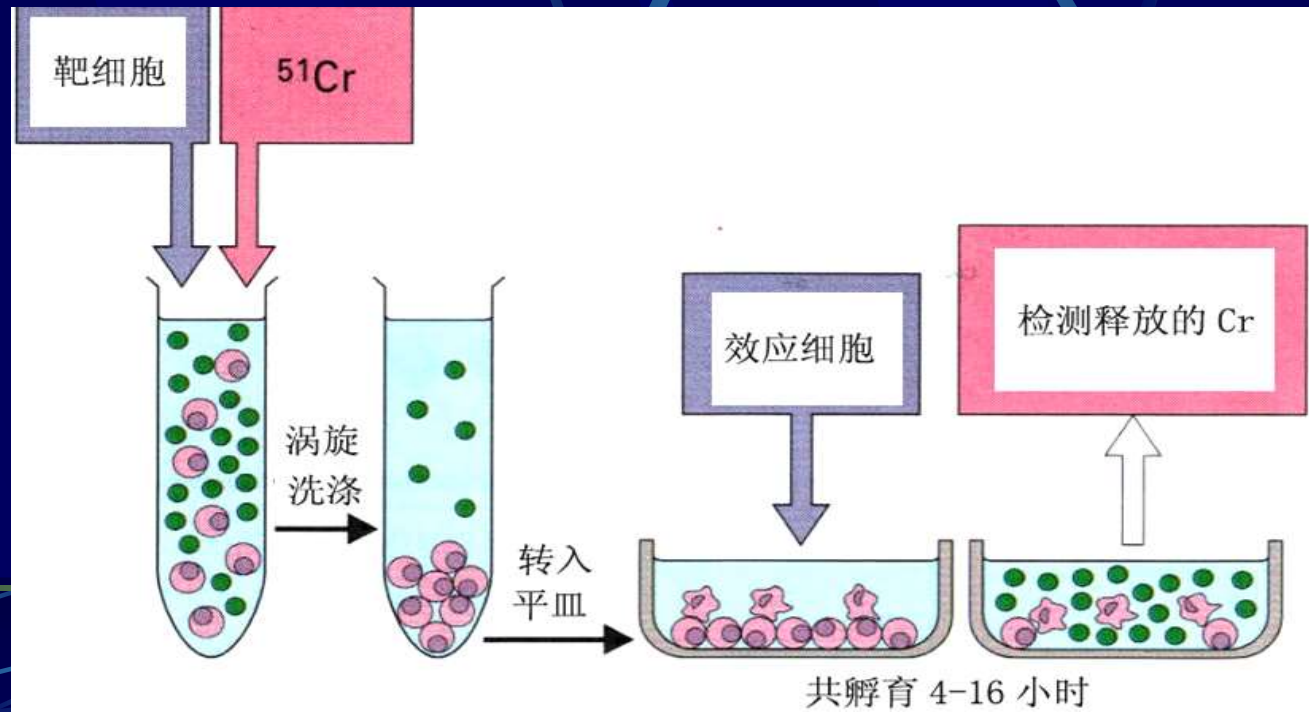
- (1)  $^{125}\text{I}$ -UdR (尿嘧啶核苷) 掺入法:

- (2)  $^{51}\text{Cr}$  释放法:

- 均观察靶 (肿瘤) 细胞破坏后释放入培养上清液中同位素的含量

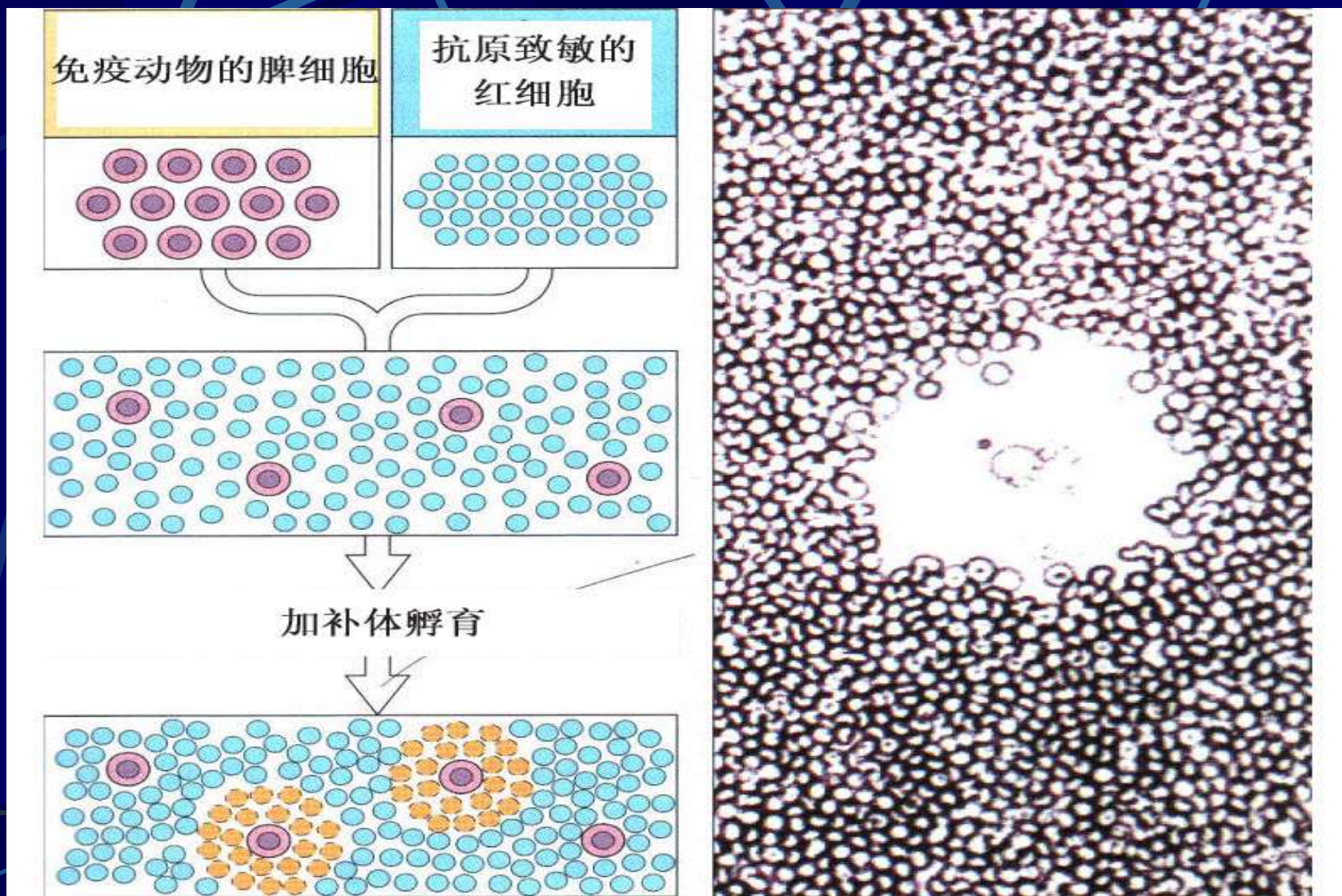
- $^{125}\text{I}$ -UdR 不会再被活细胞利用

- NK 细胞毒试验的方法与原理同



### 3. 溶血空斑试验

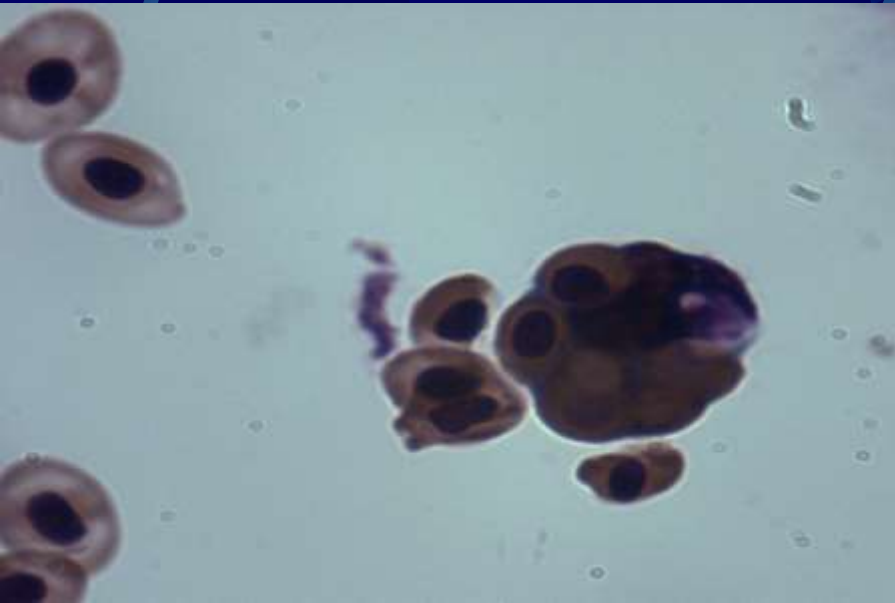
- 反应 B 细胞产生抗体的能力





## 4. 吞噬细胞功能测定

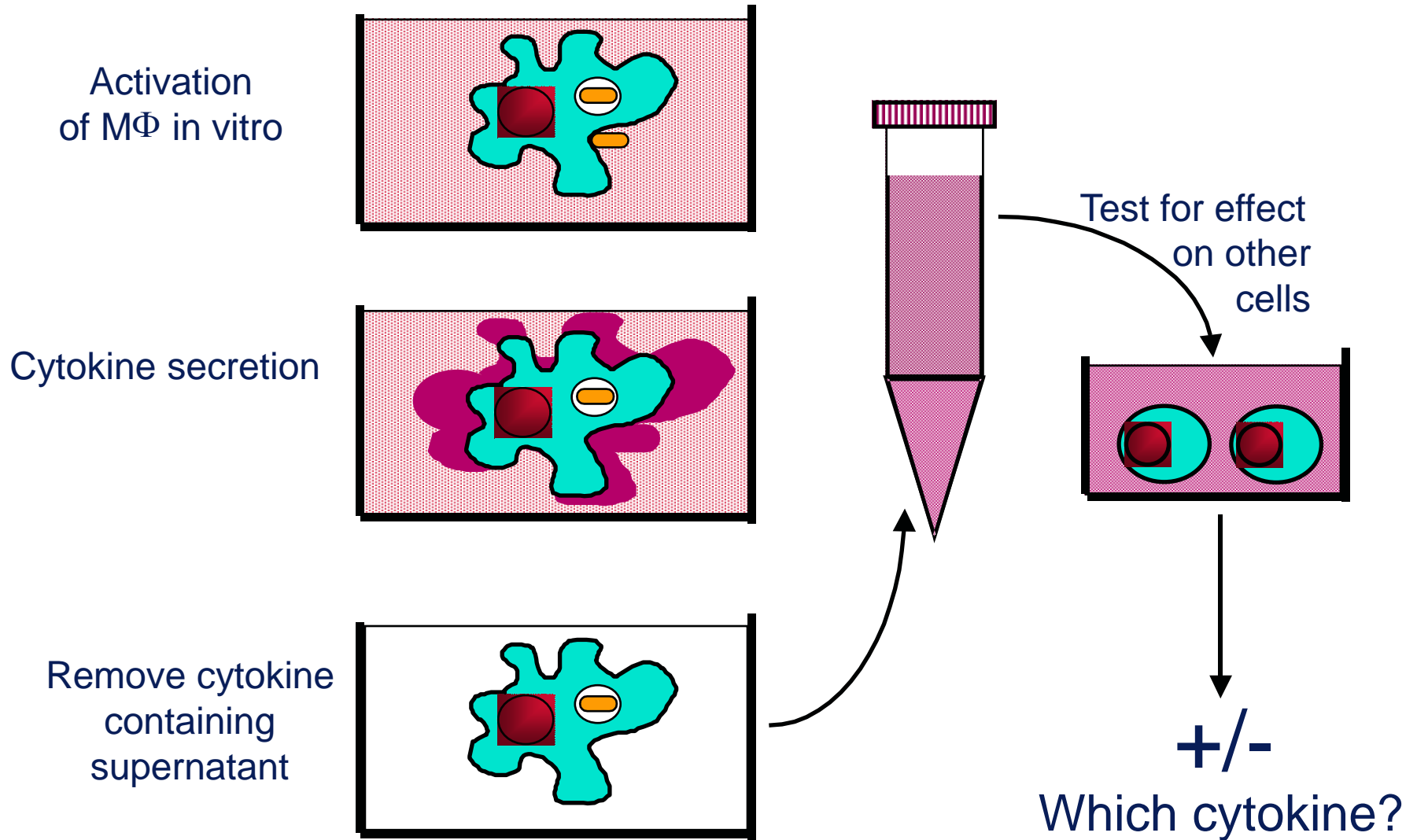
- (1) 巨噬细胞吞噬功能的检测：鸡红细胞吞噬试验
- (2) 小吞噬细胞吞噬功能的检测：葡萄球菌吞噬试验
- 吞噬指数、吞噬率
- (3) 移动抑制试验：致敏淋巴细胞再次接触抗原或非特异有丝分裂原刺激淋巴细胞时，产生细胞因子可抑制巨噬细胞或白细胞的移动



## 四、细胞受体的测定

- 1. 单克隆抗体封闭法:
- 2. 放射受体分析法 (**RRA**):

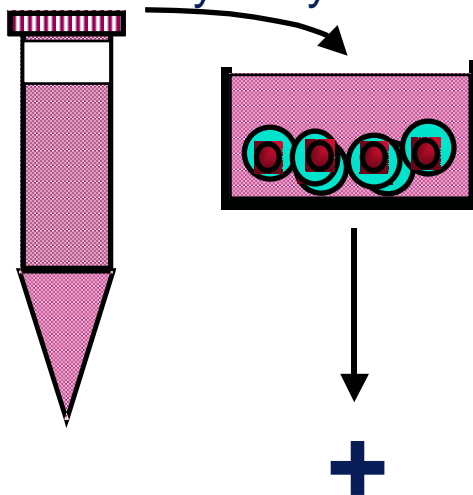
# Bio-assay of cytokines in vitro



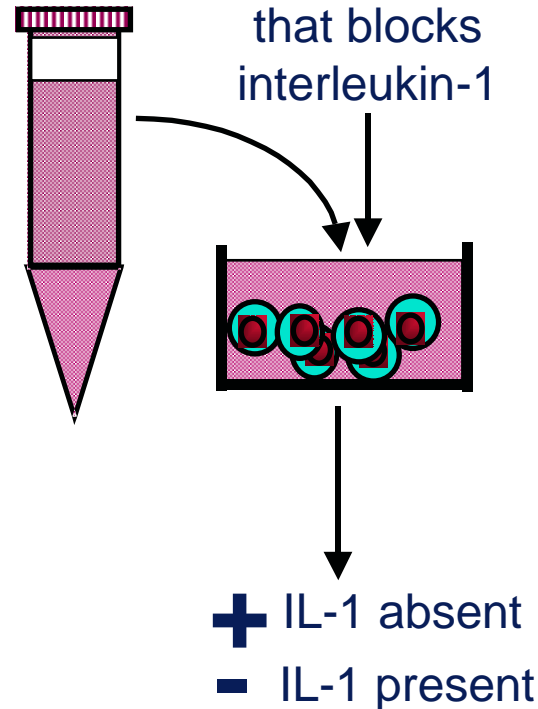


# Specificity of cytokine bioassays

Test for a characteristic  
effect on other cells  
e.g. interleukin-1  
Induces proliferation in  
thymocytes



Include an antibody  
that blocks  
interleukin-1



## 五、细胞因子的测定

- 1. 功能法（生物学法）：较麻烦，但能直接反映生物学活性
- 2. 含量测定（免疫学法）：相对简单，但只反映化学定量，不能反映生物学活性

## 六、体内细胞免疫功能的测定

- 最简单、最常用的是皮肤试验
- 1. OT（旧结核菌素）试验：属皮内试验，变应原试验同，分别反映 IV、I 型变态反应
- 2. 斑贴试验：属表皮试验
- 青霉素皮试方法类似，但测定的是 I 型超敏反应