

猪红细胞与人淋巴细胞形成玫瑰花环的影响因素

陈方荣

(江西省赣南医学专科学校)

Lay 等人曾发现人 T 淋巴细胞与猪红细胞形成花环, 证实人 T 淋巴细胞表面存在猪红细胞受体^[1]。为探讨该种受体的特性, 我们观察了若干因素对人 T 淋巴细胞与猪红细胞花环形成的影响, 现报告如下:

材料与方法

猪红细胞悬液制备

取抗凝猪血, 用 Hanks 液洗涤 3 次, 并以 Hanks 液配成 0.5% 猪红细胞悬液 (约为 8×10^7 个细胞/毫升)。

人淋巴细胞悬液制备

取人抗凝血 1.0 毫升用 Ficoll-Hypaque 密度梯度分离法^[10], 分离淋巴细胞, 并用 Hanks 液洗涤后, 配成 1×10^6 个/毫升细胞悬液。

花环试验

取淋巴细胞悬液 0.1 毫升, 加入等量业经猪红细胞吸收的小牛血清, 3.5% 猪红细胞悬液 0.2 毫升, 置 37℃ 温箱中作用 5 分钟, 再以 1000 转/分, 离心 5 分钟, 置 4℃ 冰箱过夜, 取出后吸去 2/3 上清液, 重悬细胞, 吸取一滴置于洁净载片上, 自然干燥行瑞氏染色镜检, 计数 100 个淋巴细胞, 凡 1 个淋巴细胞粘附 3 个以上的猪红细胞, 为花环形成细胞 (PRFc), 计算 PRFc 的百分率。

微量花环试验^[10]

取抗凝人血 0.1 毫升, 加蒸馏水 6 毫升, 用吸管吹打 30 秒, 即加 4.5% 氯化钠 1.5 毫升, 混匀, 以 2000 转/分离心 10 分钟, 再经 Hanks 液洗涤一次后, 留残液 0.05 毫升, 加等量小牛血清, 0.5% 猪红细胞悬液 0.1 毫升, 按上法进行, 最后计算 PRFc 的百分率。

结果与讨论

一、不同猪的红细胞对 PRFc 值的影响

从表 1 看出, 同一份人血标本与不同猪的红细胞形成的 PRFc, 其最低值和最高值相差

表 1 不同猪的红细胞对 PRFc 值 (%) 的影响

人血标本号	猪数量	$\bar{x} \pm SD$
I	10 只	$51 \pm 13(36 \sim 59)^*$
II	8 只	$46 \pm 7(32 \sim 55)$
III	6 只	$52 \pm 10(42 \sim 71)$
IV	7 只	$53 \pm 14(32 \sim 73)$

* 括弧内数值表示范围。

23—41%, 证明不同猪的红细胞对 PRFc 值的影响较大。Lay 等人指出, 人 T 淋巴细胞仅与少数猪的红细胞结合^[1]。但我们在多次试验中, 曾随意采用 30 几只猪的红细胞进行试验, 均能形成花环。说明人 T 淋巴细胞与猪红细胞结合未必是少数猪。但不同猪的红细胞对同一份淋巴细胞表面受体的亲和力有显著差别。

二、使用 Alsever 红细胞保存液保存猪红细胞的效果

表 2 使用 Alsever 红细胞保存液保存猪红细胞的效果

人血标本号	PRFc 值 (%)	
	加保存液置 4℃ 保存两周	未加保存液置 4℃ 保存两周
I	64	42
II	73	54
III	63	52
IV	64	49
V	40	26

从表可看出, 未加保存液的猪红细胞 PRFc 值比使用保存液保存的猪红细胞 PRFc 值下降 11~22%。说明 Alsever 红细胞保存液也能保护猪红细胞表面特性, 从而保持它与人 T 淋巴细胞受体相结合的能力。

三、淋巴细胞放置时间对 PRFc 值的影响

结果表明, 5 份淋巴细胞存放时间超过 6 小时, 与对照组 (不超过 3 小时) 比较, PRFc 值下降 14—30%。因为只有活的人 T 淋巴细胞才能形成花环^[10]。故猪红细胞花环的形成与淋巴细胞的活力有密切关系。

四、各种介质对 PRFc 值的影响

在 10 份淋巴细胞悬液中, 分别加入等量、未稀释、均经猪红细胞吸收的小牛、兔、鸡、鸭血清和等量的中分子右旋糖苷 (浓度 6%, 平均分子量为 7 万), 再作花环试验。由图看出, 加入各种介质的 PRFc 值明显高于未加介质的 PRFc 值, 其中加小牛血清的 PRFc 值最高。曾报道右旋糖苷能增强猪红细胞的花环形成^[5]。本实验结果与此符合。右旋糖苷的作用原理可能是改变细胞表面性质, 或在淋巴细胞与红细胞间起交链作用, 及降低细胞表面电位而减弱细胞间的排斥力^[11]。

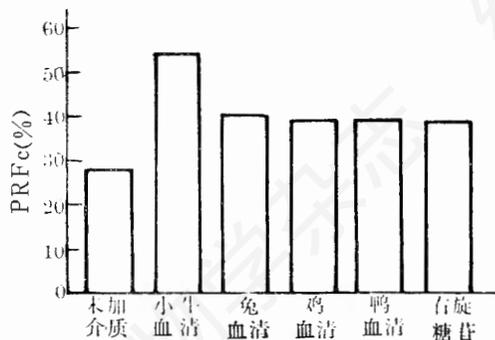


图 各种介质对 PRFc 值的影响

五、4℃不同反应时间 PRFc 值的变化

取 6 份淋巴细胞悬液作花环试验, 分别测定 4℃下作用 30 分钟、60 分钟、2 小时、4 小时、过夜后 PRFc 值。结果表明 PRFc 值随放置时间延长而增加, 2 小时后的 PRFc 值稍有增长, 但相差不明显 ($P > 0.05$)。说明 4℃作用 2 小时, 能使猪红细胞与人 T 淋巴细胞受体充分结合, 不必置 4℃过夜观察结果。

六、经 37℃作用 30 分钟花环解离现象

从表 3 看出, 经 37℃作用 30 分钟后, 各

表 3 猪红细胞花环在 37℃作用 30 分钟的解离情况

人血标本号	PRFc 值 (%)	
	4℃ 过夜	37℃ 作用 30 分钟
I	55	21
II	48	8
III	53	3
IV	61	8
V	56	4
VI	63	7

PRFc 值均显著降低, 表明花环有不同程度解离现象。所以, 猪红细胞与人 T 淋巴细胞受体结合在一定条件下是可逆的。

七、微量花环试验对 PRFc 值的影响

从表 4 看出, 微量法的 PRFc 值均比常量法的 PRFc 值低, 两者差异非常显著 ($P < 0.01$)。微量法降低 PRFc 值的原因可能是蒸馏水破坏 T 淋巴细胞表面受体的特性。

八、猪、绵羊红细胞花环形成百分率的比较

从表 5 看出, 猪、绵羊红细胞花环形成的百分率基本上在同一水平。初步表明, 猪红细胞花环试验还具有一定的实用价值。

关于人 T 淋巴细胞与绵羊红细胞受体结合的影响因素报道较多, 如不同绵羊的红细胞影响花环的形成^[4], 绵羊红细胞用 Alsever 保存液保存较稳定, 失去活力的淋巴细胞花环形成能力也丧失^[10], 4℃作用 2 小时能获得较高的花环百分率^[6], 37℃作用 30 分钟花环解离^[8], 小牛血清等介质能促使花环形成^[2,3,5], 微量法能影响花环形成的百分率^[10]。上述诸因素对猪红细胞花环形成的影响, 均呈现类似的结果。而且, 对同一份人血标本, 猪和绵羊红细胞花环形成的百分率又在同一水平, 故表明人 T 淋巴细胞表面的猪红细胞和绵羊红细胞两受体的特性是类似的, 是否属同一种受体, 尚有待深入研究。

表4 微量花环试验对PRFc值(%)的影响

方 法	人 血 标 本 号										P 值
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
常 量 法	48	50	47	70	60	47	46	58	48	60	P<0.01
微 量 法	43	47	41	61	58	42	43	54	44	54	

表5 猪红细胞和绵羊红细胞花环形成百分率的比较

红细胞种类	人 血 标 本 号										$\bar{x} \pm SD$
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
猪红细胞花环	59	71	79	74	67	65	57	63	62	65	66.2±3.7
绵羊红细胞花环	60	70	81	75	65	68	58	62	63	64	66.6±6.6

参 考 文 献

- [1] 林飞卿、章谷生主编, 细胞免疫学研究进展。人民卫生出版社, 1980。
- [2] Browns., 1975. *Clin Exp Immunol* 20: 505.
- [3] Lambermont M., 1977 *J. Immunol Meth* 15: 157.
- [4] Ross GD., 1973 *J. Clin Invest* 52: 377.
- [5] Binns RH., 1978 *J. Immunol Meth* 21: 1192.
- [6] Ботвини В. В., 1979. *Лабораторное Дело* 1: 5.
- [7] Малыш Л., 1979 *Лабораторное Дело* 1:7.
- [8] 章谷生等。上海第一医学院学报, 1: 9, 1979。
- [9] 谷洪喜等。天津免疫学术会议资料, 1978。
- [10] 北京医学院微生物学教研组。实验免疫学。人民卫生出版社, 1980。
- [11] 陈璋等。输血及血液学, 3: 58, 1979。



检测抗体生成细胞的方法 ——几种溶血空斑试验及其改良法

江 子 卿

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

溶血空斑试验(Plaque-forming cell Assay 简称PFC 试验)是体外检测和计数产生IgM及其他类型Ig的抗体生成细胞的一种方法。由于PFC试验具有特异性高,检测力强、直观等特点,故可作为判断机体免疫功能的指标,藉以观察免疫应答的动力学变化,除适用于免疫学基础理论研究外,也可用以寻找抗肿瘤而不抑制机体免疫功能的新抗癌药。

溶血空斑试验大致有两类,一类为直接空斑,即由产生IgM型的抗体生成细胞形成机体接受免疫时,此类细胞出现最早。3—4日后

即达高峰,此时细胞所分泌的IgM抗体,溶血效应很强,只需很少的抗体分子致敏靶细胞(绵羊红血球)即可活化补体而直接导致溶血。另一类为间接空斑,即由产生其他Ig型抗体生成细胞形成,这类细胞在一次免疫反应的较晚期才出现,8—10日才达高峰,一般是分泌IgG或IgA,其溶血效应较低,单独致敏靶细胞,不足以活化补体,故需在反应系统中再加入高度特异性抗Ig类血清(又称显斑血清,如兔抗鼠IgG),使单体的抗体分子聚合成复合体时,才能活化补体导致溶血。