

血清學之醫學應用

演講時間：1976年12月16日下午6時20分
演講地點：基礎醫學大樓第三特別教室

居小燕教授講

今天要講的是有關血清學方面在醫學的應用，我將分成六個Topic講。

- (一) Agglutination 凝集作用。
- (二) Precipitation reaction 沈澱形成反應。
- (三) Complement fixation 補體結合反應。
- (四) Neutralization 中和反應。
- (五) Fluorescent antibody technique 螢光抗體技術。
- (六) Immunoelectrophoresis 免疫電析。

(一) Agglutination 凝集作用

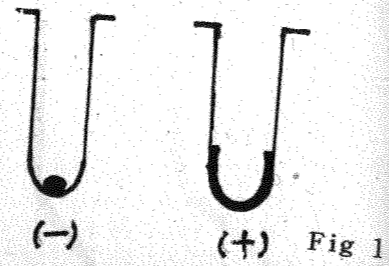
當 Agglutinin 和 Agglutinin 結合在一起時形成 Agglutination，此時 Complement (C') 的有無，不影響反應。但電解質的存在可使反應加速。

1 例將 RBC 外圍以 Antigen 而變成凝集原而再與 Antibody 的結合形成 Hemagglutination。

2 應用 (2-A) Tube method:

Tube 內先盛 RBC 懸浮液，加入 Ag 混合均勻，後去掉上清液，加入 RBC，結果如在管底部形成一點者是“-”形成膜狀物者是“+”。如附圖(1)

但是凝集反應有時不須抗體亦能形成。例(1)：大至抗原加入 RBC 懸浮液中，即可形成凝集反應，此之謂 Hemagglutination Inhibition positive。而如果再加入抗體，中和了抗原，使反應不能形成，結果在管底呈現點狀物質。此之謂 Hemagglutination Inhibition



negative。例(2)感冒病毒加入 RBC 懸浮液中可形成凝集反應，在管底呈膜狀物。而後加入抗感冒病毒抗體，則又只有點狀物出現。所以只憑結果是無法判定是“+”或是“-”者。必須確實知道實驗步驟才可判定。

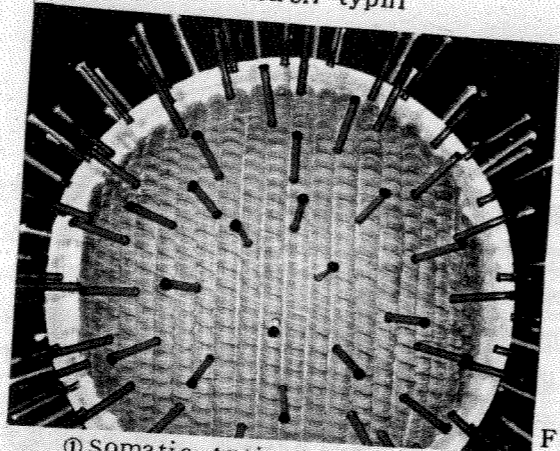
(2-B) microtiter method

是在一個 10 X 2 個 hole 中，將抗原 RBC 懸浮液加入第一排 hole 中，以特製的刷子放入 hole 中攪動，此時刷子頭所吸收的液體恰好是半滴，以此再放入第二排 hole 中攪拌稀釋之，依次 1x3x9x.....，而 hole 中原存有抗體。結果 i 呈點狀一為負反應

- ii 呈膜狀一為正反應
- iii 介於二者之間一可能靜置時間不夠或是土均有。

(2-C) Bacterial agglutination

腸內菌如 Salmonell typhi



- ① Somatic Antigen
- ② Vi Antigen — 與毒性有關，可因加熱而消失。
- ③ Flagella Antigen (H 抗原)

當細菌懸浮液加熱，V 抗原先消失，加熱 1-2 個小時後，H 抗原亦消失了，抽取 serum 於 Tube 中，稀釋數倍，加入上之懸浮液，如有反應，表示 serum 中有抗體的存在，並能測知 titer 的多寡。

(二) Precipitation reaction 沈澱反應

此種抗原必須是 Soluble。

(I) Qudin method 單向擴散沈澱法。如圖(三)

先以 Agr 1.4% 加熱溶解，冷卻到 45°C，加入等量抗體，後在 plate 上挖幾個 hole，加入抗原，看所形成 Ring 的大小而定。現已少用此法，只有在公衛或流

行病時，有多病人才用此法。

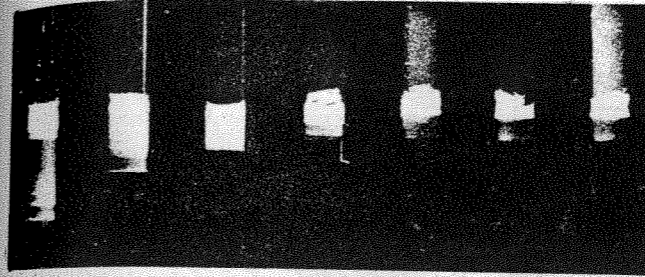


Figure 3. Oudin test showing the effect of recrystallization on the antigenic purity of egg albumin. Antiserum against egg white in agar was overlaid with (left to right) egg white, egg albumin crystallized once, twice, thrice, etc. The number of separately precipitating antigenic fractions decreased with repeated recrystallizations. (From Munoz, 67)

(II) Ouchterlony agar plate 雙向擴散沈澱法

- (1) line of identity.
- (2) line of non-identity.
- (3) line of partial identity.

Figure 4. Ouchterlony gel diffusion precipitation test. Antibodies in an antiserum (AS) against normal γ -globulin diffused from the lower well and produced two lines of precipitate with a urinary γ -globulin preparation (γ); each line represented a protein that was identical with one or the other of two Bence-Jones proteins (BJ I and BJ II). (From Fahey, 13)

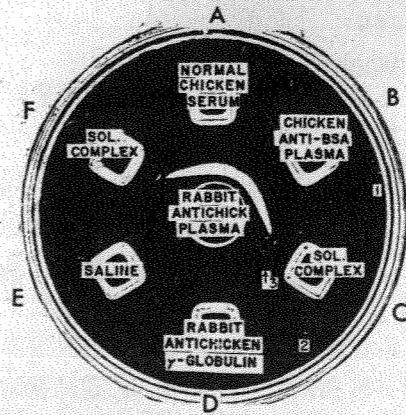
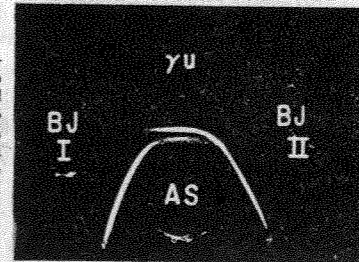
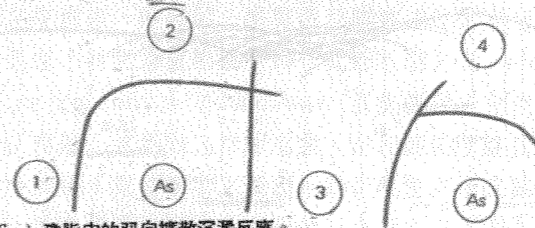


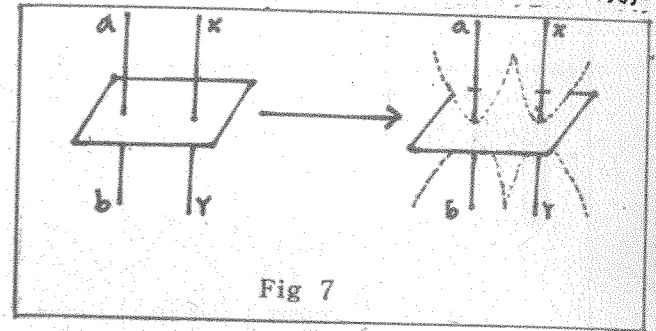
Figure 5. Identification of antigenic proteins by the Ouchterlony gel diffusion method. A precipitate formed by mixing BSA with chicken antiserum against BSA was redissolved in excess BSA. This soluble complex (at C and F) yielded two lines of precipitate when tested against rabbit anti-chicken plasma. Line 2 was shown by a test with rabbit anti-chicken γ -globulin (D) to be due to chicken γ -globulin. Line 3 was attributed to a slowly diffusing macroglobulin, not present in the γ -globulin used to prepare antiserum D. (From Makinodan et al, 29)



(III) 臨床應用有(a) Elek test (白喉)

即是在 Agar plate 中置一泡過抗毒素的濾紙 ab—是 Corynebacterium diphtheriae; xy—被懷疑病人喉嚨取生物。

Culture 48 小時後，看所形成的曲線弧是否相同，而決定 xy 是否白喉桿菌。



(b) Ascoli test (Anthrax)

當牧場的牛羊因病而死後，取出 spleen 磨碎，加食塩水煮後，取出 extracts as Ag，加入已裝有抗體的 agar tube 中，如在接觸面有白環狀物出現，即定“+”即可證明動物是否患 Bacillus anthracis。

(c) Complement 補體結合

當 Sheep RBC 加上兔子 hemoly sin 成為 sensitized RBC 再加上 C'，才成為溶血現象。

應用：當 C' 在 56°C，加熱 30 分後被破壞後，加入淋病菌再加入 sensitized RBC，此時無溶血現象發生，而依生長的混濁程度可定出多個等級。(見圖八)

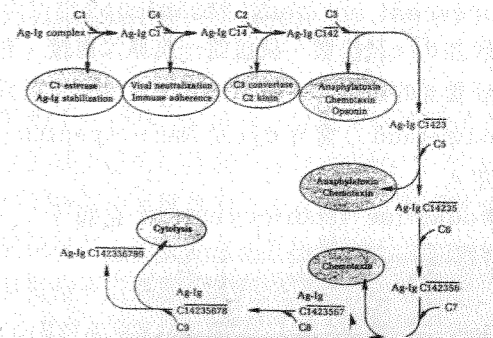


Fig. 8. Classic pathway of complement activation involves nine major components of the complement system. New biologic activities that arise during these activation steps are indicated in the inner portion of the diagram.

(四) Neutralization 中和反應

當細菌毒素作用可以中和。

(I) Danyze 現象

當等量 exotoxin 一次加入抗毒素中，則可以完全中和。而分成二次或多次加入，則有部分 exotoxin 未被中和，此時需更多的抗毒素來中和它，這乃是因大部抗毒素只有二個效價，而 exotoxin 有 8-12 個效價，當第一次加入時，即將大部抗毒素吸住，以致第二次加入時，不能再被中和，此為 Danyze 首次發現。故稱 Danyze 現象。

(II) In vitro

將毒素打入胚胎蛋時，此後孵出的雞可能有畸形或發育不良的情形出現，如果先打入抗體後，再打入毒素則出生的雞健康。(見圖九)

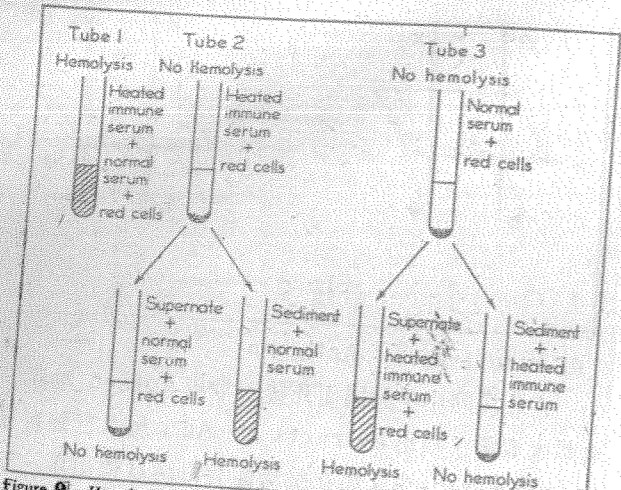


Figure 9. Hemolysis. Both antibody (in heated immune serum) and complement (in normal serum) are necessary. Tubes 2 and 3 and tests on their supernates and sediments demonstrate that antibody first combines with antigen, and then complement causes lysis.

(II) In tissue culture

在 monolayer culture of plate 中培養細菌先使之長滿了，後加入 virus 可形成 plaque，稱為 cytopathologic effect (CPE)，此時如先加入抗體再加入 virus 則無 CPE 的產生。

(iii) Fluorescent antibody technique

一般加 dye 於抗體，使抗體-抗原反應後，在 UV 下可見到螢光的產生。(如果加 dye 在抗原上稱為 Reversed method) 常用 dye 是 Nan-specttic 與蛋白質作用。

(1) Rhodamine isothiocyanate (見圖十)

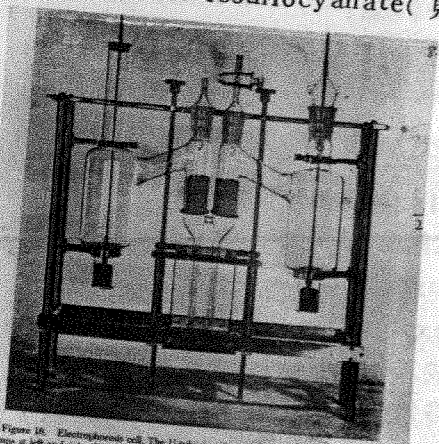


Figure 10. Electrophoresis cell. The U-tube is at bottom-center and electrodes are in glass columns at left and right. (From Gray, by permission of the author and the editors of Scientific American. Photograph by Kenneth Blakely.)

- 在普通光下：紅棕色
- ：鮮玫瑰紅色
- ：亮棕色

(2) Fluorescein isothiocyanate

- 普通光下：黃色
- 加水：亮黃色
- UV：黃綠色

(a) Direct method

將 Antibacteria serum，加入 buffer solution 通過 column，使 labelled 抗體分離出來，然後在 tissue slice 上，後放置在 slide 上一段時間，再用食鹽水洗去，放在 UV 下檢查，如有反應形成 Complex 處則有螢光產生。

(b) Indirect method

將抗體加入 Tissue slice 中，放在 slide 上，使之形成 Ab-Ag complex，再將剩下之抗體以食鹽水洗去後加入 label anti-human serum 的 antiserum，如果 Tissue slice 中有抗原存在與抗體形成 Complex 時，則抗體不會被 label 的 Anti-抗體作用，故在 UV 下可檢出螢光(此法因作用步驟多，不易 control 完全，再且是 Non-specific Reaction，故誤差大)。

(c) Sandwich method

抗原 + 抗體 + C' + Label Anti-C' 出現螢光。

而我在實驗室中常用 Reversed 的方法，即 Ip injection liquid paraffin to immunized rabbit，幾天後剖腹取出 peritoneal exudate cells，然後加上 labelled Ag 使形成 Ag-Ab Complex 如果是 immunized 有螢光。

Non-immunized 無螢光。

(iv) Immune electrophoresis

利用 protein 內有 A.A. 之 surface charge 不同，電泳速度不同而分離出抗原或抗體內的成分。如果和 Agar, diffusion method 聯合使用，則更能精確鑑定蛋白質。

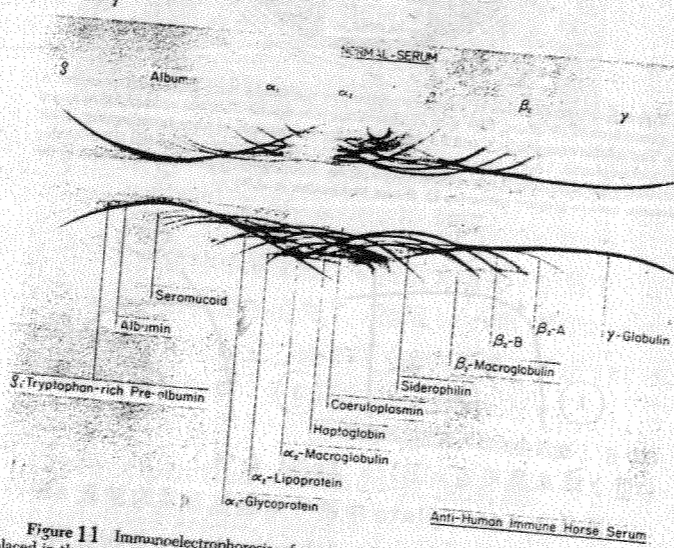
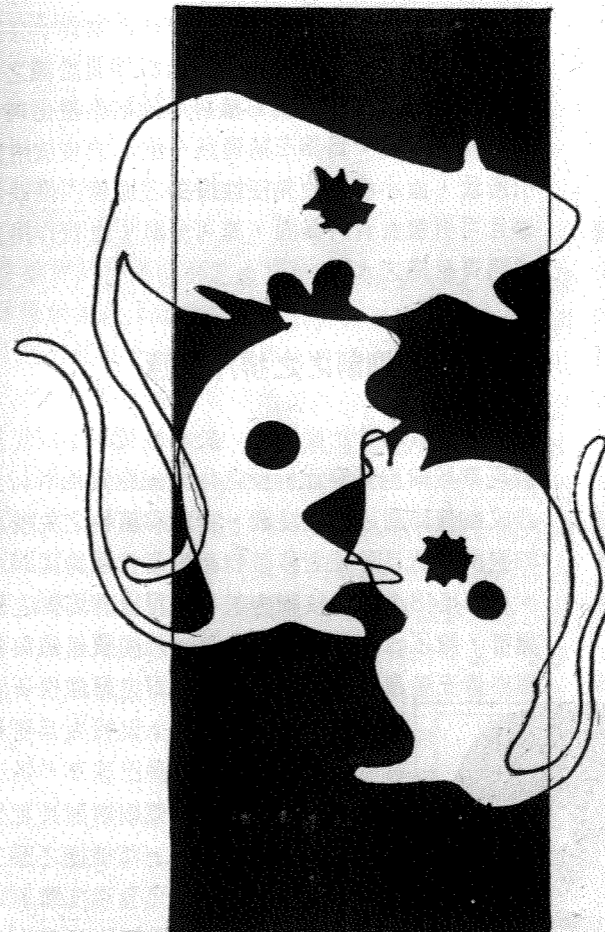


Figure 11 Immune electrophoresis of normal human serum. The serum specimen was placed in the two circular wells, and water electrophoresis the horizontal central trough was filled with horse antihuman serum. Lines of precipitate formed where antibodies, diffusing from the trough, reacted with serologically equivalent concentrations of antigens as they diffused from the spots to which they had migrated during electrophoresis. (By courtesy of National Instrument Laboratories, Inc., Washington, D. C.)



移植免疫學

李治學

著者簡介：

- 1 國立台灣大學醫學院外科副教授
- 2 台大附設醫院外科主治醫師
- 3 美國明尼蘇達大學外科研究員

單卵性雙胞胎與自體組織、器官間之移植不會有「排斥現象」之發生。同種組織器官間之移植則由遺傳基因決定之組織差異而發生大小不同程度之「排斥現象」。而異種組織器官間之移植則毫無疑問地發生比同種移植更迅速更具破壞之排斥現象。

近代免疫學開山祖英人，Medawar 爵士^{1,2}曾於其著名之「典型免疫實驗」中，指出於隨意選擇之雜交家兔行皮膚移植試驗，而於移植後第四或第五天可發現炎症跡象呈現於移植部位，顯微鏡下可觀察到濃密之白血球浸潤，於移植約十天後導致移植皮膚之壞死，此即所謂之「first set rejection」。同時於排斥掉先前移植之皮膚後，再自同一捐與者移植皮膚於此家兔，却意外迅速地將此移植物排斥掉，此即所謂之「second set rejection」。是 Medawar 首先應用「免疫學說」用以解釋上述不同之排斥現象，因而開拓了近代「移植」所依賴「免疫學」之基礎，以近代免疫學之觀點看來，前者實為「急性排斥」現象而後者則為「過急性排斥」現象。

茲分述目前對同種移植排斥現象所了解之知識：

免疫力之誘發

宿主對外來的「免疫原」引發一連串免疫反應之第

一步為對「免疫原」之辨認。以細菌性抗原研究結果顯示宿主對異物之消化吸收之途徑有二^{3,4,5}：(一)以網狀細胞為媒介同時誘使淋巴球與免疫原與之面對面接觸，從緊密接觸過程中，可能發生化學物質之交流，使淋巴球得以了解免疫原之構造。(二)免疫原為吞噬細胞所吞噬，再經由 m-RNA 或類 m-RNA 攜帶免疫原之構造傳遞給淋巴球。已知此類淋巴球屬小淋巴球系之 T 與 B 細胞。小淋巴球經辨認出免疫原後，即在細胞內產生一連串之消化與吸收過程，首先表現在形態者為「小淋巴球」逐漸演變成「大淋巴球」⁶，且細胞核變大變稀，但核仁則益明顯化，而細胞質中可見粒線體(主司能量之供給)與 polyribosome (主司抗體之合成)之增加，在漿細胞上則可見製造抗體之內質網狀質於細胞質內益形明顯，此一形態上之變化指出在細胞內正製造特異抗體與抗原容受器之情況。更精細地分析則為小淋巴球細胞膜上之容受器受到抗原之刺激後，細胞核內二組對稱雙螺旋之 DNA 中負責形成抗體輕、重鏈之基因乃被活化，同時核仁亦被活化而產生負責合成抗體之 ribosome 單位，而 m-RNA 則從 DNA 處得悉抗原之構造且傳遞至細胞質之內質網狀質處，來自核仁之 ribosome 由是幫忙合成對應之抗體或抗原容受器。被免疫化之細胞不管或為能自製抗體之 B 細胞或為具有抗原容受器之 T 細胞則一再的重複增生分裂以增加其數目，部份免疫化細胞