

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。

(iv) 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)

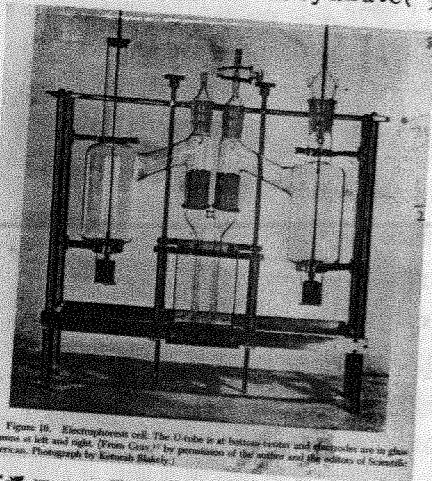


Figure 10. Electrophoresis cell. The U-tube is at bottom center and electrodes are to glass columns at left and right. (From Goss, by permission of the author and the editor of Scientific American. Photograph by Kenneth Blakely.)

- 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。

(vi) 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。

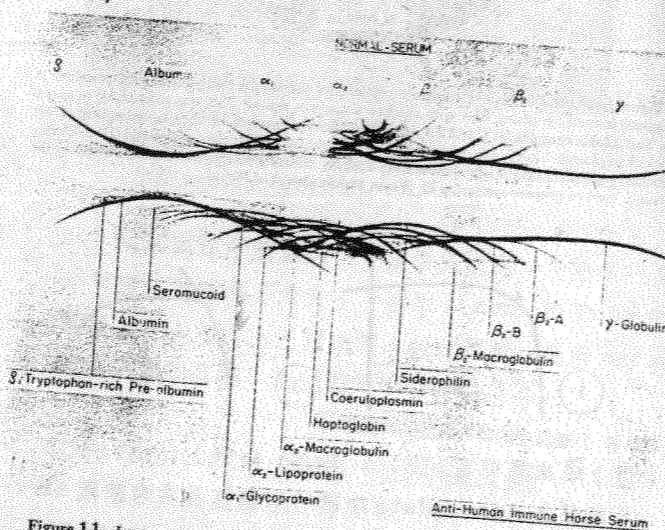
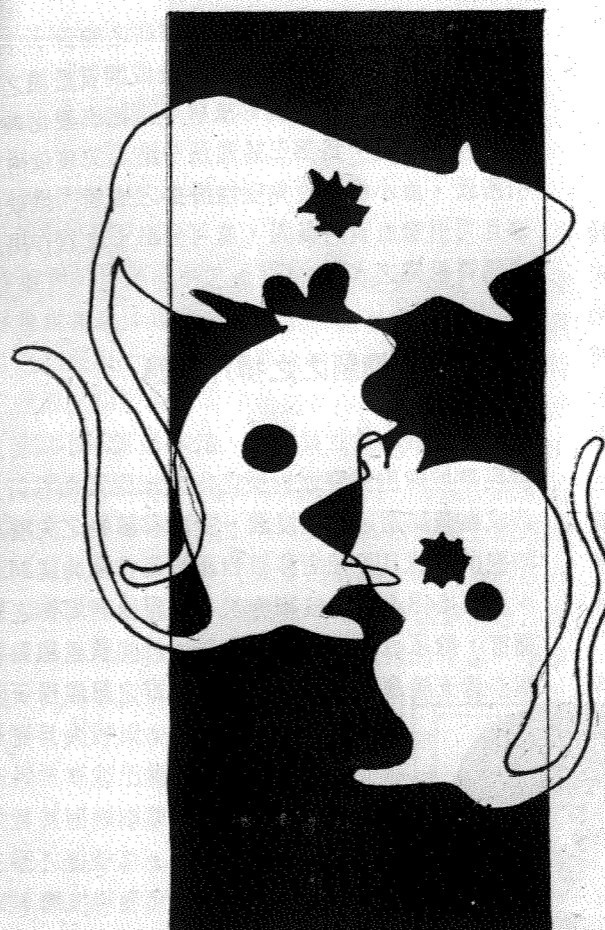


Figure 11 Immunoelectrophoresis of normal human serum. The serum specimen was placed in the two circular wells, and water electrophoresis the horizontal central trough was filled with horse antihuman serum. Lines of precipitate formed where antibodies, diffusing from the trough, reacted with serologically 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 或賴 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

則變成記憶細胞，於下次抗原刺激時可即時之引發免疫反應。

免疫力之表現

成熟而具有抗原容受器之T淋巴球可經由下列四種途徑而再增加其數目：(一)經由m-RNA之傳遞交換使未具抗原容受器之淋巴球亦具抗原容受器；(二)經由轉移因素(分子量約5000左右，可被透析而不具抗原性)將抗原容受器之構造傳遞給新淋巴球；(三)具有抗原容受器之淋巴球重複地增生分裂；(四)分泌細胞依附抗體誘使新淋巴球與之接觸而將抗原受器之構造傳遞之。一旦有足夠此類成熟之免疫化T細胞之存在，則可直接產生「細胞毒性因素」或誘發「抗體系統」之活性化，而使靶器官組織受到損害；同時亦可促進血管滲透性之增加；另一方面，可經由分泌「趨化因素」，「游離抑制因素」，或「細胞依附因素」而招引吞噬細胞或直接轉變成吞噬細胞以增強組織損害之程度。經抗原刺激後之B細胞可演化成漿細胞而產生抗體，此抗體發揮對靶器官組織之殺傷作用則靠下列列之途徑：(一)活性化補體系統^{7,8,9,10}：特異性抗原抗體之結合可活性化一連串之補體成份，自C1_q, C1, C1_s → C4, C2 → C3 → C5, C6, C7 → C8, C9，其最終產物C8, C9則具有溶解細胞膜之能力，而其三種中間產物則有如下之作用：「趨化因素」可誘使多形核白血球與吞噬細胞之聚集；「過敏毒素」則可提高血管滲透性造成間質組織細胞浸潤與水腫之惡化；「免疫依附因素」則可誘使血小板與多形核白血球之聚集，上述諸因素由是可加速組織之損傷。(二)活性化凝固系統¹¹：其最終產物為纖維蛋白之形成，可造成血管腔之阻塞與釋放血管作用因素引起移植器官水腫之惡化。(三)活性化基寧系統¹²：其終產物「基寧」可提高血管之滲透性。免疫化之T細胞與源自B細胞之抗體除了對靶器官組織有如上之損害作用外，在一連串免疫反應中其他非特異性細胞諸如吞噬細胞，多形核白血球與血小板亦參與靶器官之損害。茲分述如下：吞噬細胞除於辨認抗原中擔當一角色外，於移植排斥時因「趨化因素」之存在而聚集於排斥之移植器官中，隨之「游離抑制因素」與「免疫依附因素」之被分泌而使之滯留累積，造成對組織之傷害，並負責清除殘餘之細胞殘渣。於動物腎移植活體切片檢查中，可發現多形核白血球浸潤於急性排斥期之移植腎，排斥之程度愈強則細胞浸潤愈形明顯厲害，而於「過急性排斥」現象中最為明顯，推測多形核白血球於移植排斥時所擔當之角色為(一)分泌消化性酶或蛋白質溶解酶；(二)



分泌促進腎小球基底膜滲透性提高之物質；分泌「過敏毒素」或「基寧活性化因素」造成間質組織之水腫。另外於電子顯微鏡下觀察移植排斥組織學變化時，可發現血小板之聚集，為第三補體所分泌「免疫依附因素」招引所致，血小板可於免疫性損傷之血管內壁缺陷造成堵塞且可引發血管內凝固，並可分泌「血管作用因素」造成間質組織之水腫。

未受抑制之排斥反應

腎移植之動物實驗中，於移植後24小時可於移植腎發現單核細胞貫穿血管壁之內皮細胞質而移行至血管外造成血管周圍之細胞浸潤，提示移植之免疫原為單核細胞所辨認且回頭對移植起損傷作用約需24小時之久。移植後48小時單核細胞於移植腎血管周圍之浸潤更形稠密，除了血管周圍之變化外，於間質組織與腎小球周圍亦皆充滿單核白血球。此細胞群之組成份子主要為小淋巴球(T與B細胞)與較大且變形之淋巴球(受抗原刺激後之淋巴球)，偶而可見及吞噬細胞之存在，而漿細胞則甚稀少。於老鼠同種腎移植實驗中，移植後之第三天在腎小管周圍微血管區域可發現抗體與補體之沈積，且有些浸潤之淋巴細胞可產生免疫球蛋白，因此除了免疫化之細胞外，抗體亦可早期在同種排斥反應中出現。免疫化之淋巴球(T細胞)於接觸移植腎臟後，可分泌引起炎症與細胞損傷之數種媒介物：「細胞毒性因素」可直接損傷鄰近之細胞；「分裂原」則可刺激淋巴球之分裂以增加具有免疫活性淋巴球數目；「趨化因素」與「游離抑制因素」使吞噬細胞越聚越多；促進「血管滲透性因素」之釋放則可加速水腫之惡化。另一方面，補體則被活性化而其終產物C8, C9則可直接對細胞膜產生損害，補體活性化過程中可產生三種中間產物：「趨化因素」，「過敏毒素」與「免疫依附因素」，皆可個別的參與組織損傷的過程。基寧系統被活性化之終產物「基寧」與「過敏毒素」可提高微血管之滲透率造成間質組織水腫之明顯化；而「趨化因素」與「免疫依附因素」則可誘使多形核白血球，除了導致分泌蛋白質溶解酶造成基底膜之損害外，亦可分泌血管作用因素及提高血管滲透性因素。移植後第七天可見纖維蛋白(凝固系統之被活化)之沈積於移植腎，而繼續累積增加之白血球中可見及漿細胞與多形核白血球之存在，同時吞噬細胞益形增加，有時亦可見及正在分裂之細胞。上述之變化使腎臟原有之構造變形，此時腎小球為纖維蛋白與血小板所充滿，而血管內之凝固則造成腎皮質部血流之降低，於移植後7

到12天移植腎終於停止發揮功能。

臨床上移植腎排斥之典型

可區別為三種，分述如下：
「過敏性排斥」

移植腎於接通宿主之血行後數分或數小時內所發生之排斥現象謂之「過急性排斥」。其發生原理為接受移植腎者之血液裏含有對移植腎血管內皮細胞抗原具有特異性之抗體，而於移植腎開始接納宿主之血液時。即刻發生「血行性免疫」反應，活性化補體系統導致C8, C9之產生造成血管內皮細胞之損害，而其中間產物「趨化因素」「過敏毒素」與「免疫依附因素」則可除了造成間質組織之水腫外，並可招引血小板與多形核白血球之聚集。因此在腎小球微血管環內可觀察到血小板與多形核白血球之存在，而多形核白血球則可進一步滲出於間質組織造成水腫與組織之損傷。另外，凝固系統之被活性化則可造成移植腎血管之堵塞。簡言之，移植腎之「過急性排斥」之病理形態之變化主為血管堵塞引起之皮質部缺血性壞死，以電子顯微鏡觀察腎小球微血管腔內則有血小板與纖維蛋白之存在，而微血管內壁之內皮細胞則有破損之跡象，多形核白血球則充滿於微血管腔內與間質組織。與急性或慢性移植腎排斥時所見單核細胞之浸潤迥然相異，因為此類排斥之進行甚速並無足夠之時間讓宿主發展細胞性免疫力之故。以免疫螢光法檢查時於有些病例可發現纖維蛋白，補體(第三補體)與各種免疫球蛋白如IgG, IgM, IgA之沈積於「過急性排斥」之移植腎。臨床上施行同種腎移植術而發生「過急性排斥」之時期或在手術台上或在術後，於前者可發現移植腎堅度之軟化但有明顯之腫脹併移植腎表面多處之鬱血斑，此時如做針刺活體切片檢查則可有如上述之病理變化，而「過急性排斥」之診斷可確立；於後者術後併尿少或無尿時，需與之鑑別診斷者為(一)導尿管為血塊阻塞；(二)輸尿管，膀胱接合處之滲漏；(三)腎動脈或腎靜脈接合處之阻塞；(四)急性腎皮質部壞死(移植腎於移植前已壞死)；(五)急性腎小管壞死等。以生理食鹽水沖洗導尿管或以同位素檢查移植腎之血行與排尿途徑可確立尿少或無尿之原因，其中較難與之區別者為急性腎小管壞死，需施行血管造影術以評估移植之活性，於「過急性排斥」之移植腎其皮質部常無血行之流通；而於急性腎小管壞死則可見血行流通於移植腎之皮質部。針刺活體切片檢查可證實真實之病理變化。會引發移植腎「過急性排斥」之情況，則為(一)A B O血型之不適合，因腎臟血管內皮



細胞之抗原系統中亦有A·B抗原之故，因此為防止抗體反應引發「過急性排斥」現象，捐腎者與受腎者之血型需適合。如「O」型者可為任何血型之給腎者，而「A B」型者則可為任何血型之受腎者，但不能反其道而行。(二)受腎者之血液含有「預先形成」之抗體，且此抗體與移植腎之抗原為特異性之關係，此抗體之形成則為多次輸血，懷孕或移植腎失敗後所產生。為防止腎移植後發生「過急性排斥」現象，捐腎者與受腎者間需遵守A B O血型之可適性；同時需以捐腎者之淋巴球與受腎者之血清於試管中行「細胞致死性」測驗(cytotoxicity test)。如捐腎者之淋巴球一半以上被殺死，則於受腎者血液內可能有預先形成抗體之存在，此時以不施行腎移植為原則，因為到目前為止並無任何有效之方法以控制此類「過急性排斥」現象。

「急性排斥」

腎移植後數天或數星期內發生之排斥現象謂之急性排斥。與前述在動物實驗所觀察到未接受免疫抑制之同種腎移植反應類似。但是由於在人體同種腎移植病例皆接受免疫抑制療法，因此其反應較為溫和。目前臨床上所使用之免疫抑制藥物皆可有效控制「急性排斥」現象。臨床上判斷移植腎急性排斥之依據為每天血清肌酸酐之升高超過0.5 mg %且併有肌酸酐廓清率之下降，而於給予大量抗排斥藥物後腎功能轉好。根據如上之定義，在臺大醫院外科實施人體同種腎移植病例中所觀察之急性排斥現象則有如下之臨床症徵(見附表)。

實驗室檢查可資幫忙診斷者依我們的分析為(一)尿中鈉濃度之降低且常低於50 mEq/L以下，其原理為急性排斥期之移植腎血流降低，導致「留鹽激素」之分泌，造成尿中鈉被重吸收之增加所致；(二)尿與血清尿素氮之比例於排斥前為18.44 ± 2.89 (S.E.)而於排斥時則降低為8.85 ± 0.85 (S.E.)。其他蛋白尿之增減情況於診斷急性排斥時幫助不大。惟偶而可見之尿中含有淋巴球，紅血球圓柱及尿中含有纖維蛋白碎片，溶菌酶(Lysozyme)與乳酸脫氫酶(Lactic Dehydrogenase)之增加可作參考。血中尿素與肌酸酐必定增加而有時可觀察到第三補體之下降與乳酸脫氫酶之增加。於診斷困難時，可行移植腎之血管造影術，同位素掃描，同位素腎照相(Renogram)甚或移植腎之活體切片檢查。血清免疫球蛋白與急性排斥則無關係。

「慢性排斥」

移植後數月或數年所發生之末期現象。慢性排斥之移植腎肉眼觀之其大小可為腫大，正常或減小。移植腎內小動脈內皮細胞之增殖為最具代表性之損害，有些血

管甚或可被完全阻塞。常併發腎小管之萎縮。以螢光抗體染色注檢查時可在許多被損害之血管壁上發現免疫球蛋白與補體之沈積；電子顯微鏡觀察腎小球時可發現微血管環內皮細胞之肥厚與增殖，mesangial細胞之增多，基底膜不規則地肥厚與外皮性突出物之融合。此類腎小

症候	出現頻數	百分比
(1)全身衰弱，無以言狀之不舒服，倦睡，臉部無表情，抑鬱。	14*	67%
(2)體重增加每天超過1公斤	13	62%
(3)移植腎大小之增加	12	57%
(4)移植腎區之壓痛	12	57%
(5)高血壓	9	43%
(6)腿水腫	9	43%
(7)發熱	8	38%
(8)白血球增多	8	38%
(9)尿少(每小時少於30西西長達6小時之久)	7	33%

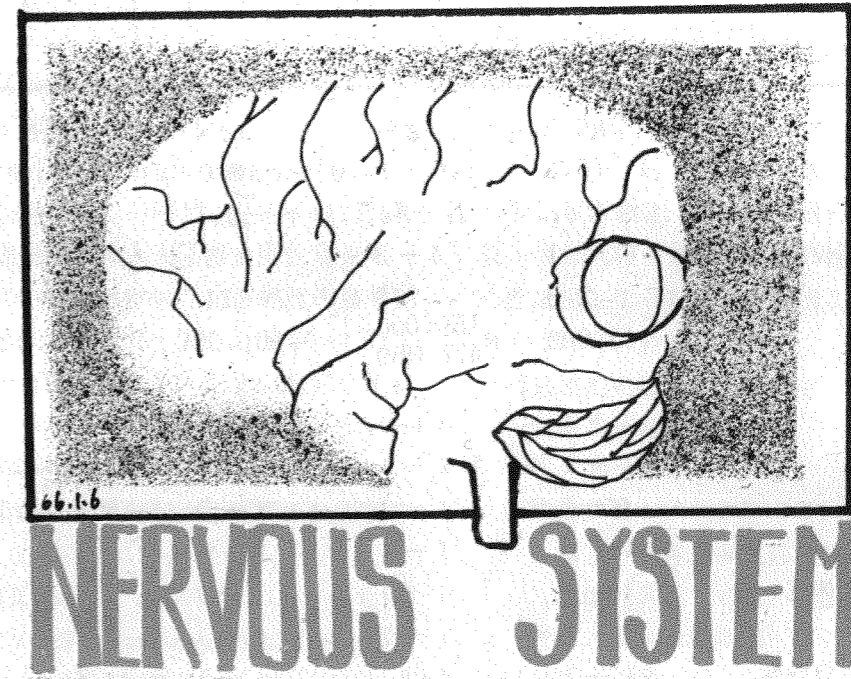
*觀察21次急性腎移植排斥之分析。

重要參考資料

1. Medawar, P.B.: The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J. Anat.* 78:176, 1944.
2. Medawar, P.B.: A second study of the behaviour and fate of skin homografts in rabbits. *J. Anat.* 79:157, 1945.
3. Nossal, G. J. V et al: Antigens in immunity. XV. Ultrastructural features of antigen capture in primary and secondary lymphoid follicles. *J. Exp. Med.* 127:277, 1968.
4. Fishman, M. et al: Antibody formation initiated in vitro: Antibody synthesis in x-irradiated recipients of diffusion chambers containing nucleic acid derived from macrophages incubated with antigen. *J. Exp. Med.* 117:595, 1963.
5. Foker, J. E.: Mechanisms of Leukocyte infiltration of auto-grfts. The separation and early appearance of two components. *Surg.* 66:42, 1969.
6. Scothorne, R. J. et al: Cellular changes in lymph nodes and spleen following skin homografting in the rabbit. *J. Anat.* 89:283, 1955.
7. Holm, G.: Cytotoxic potential of stimulated human lymphocytes. *J. Exp. Med.* 125:721, 1967.
8. Henson, P.M.: the adherence of leukocytes and platelets induced by fixed IgG antibody at complement. *Immunology*, 16:107, 1969.
9. Henson, P.M. et al: Immunological induction of increased vascular permeability. II Two

球之變化是否為排斥之結果或病人原來之致腎小球腎炎因素所致則有甚多之辯論。臨床上可發現到腎功能之衰竭且此類變化為不可逆性，最後還是需要施行移植腎切除術以挽救病人之生病。

- mechanisms of histamine release from rabbit platelets involving complement, *J. Exp. Med.* 129:167, 1969.
10. Ward, P.A. et al: Further studies on the chemotactic factor of complement and its formation in vivo. *Immunology* 11:141, 1966.
11. McKenzie, I. G. C. et al: Deposits of immunoglobulin and fibrin in human allografted kidneys. *Lancet* 2:1313, 1968.
12. Ratnoff, O. D et al: Some relationships among hemostasis, fibrinolytic phenomena, immunity and the inflammatory response. *Adv. Immun.* 10:45, 1969.
13. Horowitz, R. E. et al: Immunologic observations on homografts; The canine kidney. *Transplantation* 3:318, 1965.
14. Lindquist, R. R. et al: Renal transplantation in the inbred rat. An immunohistochemical study of acute allograft rejection. *Amer. J. Path.* 52:531, 1968.
15. Kissmeyer Nielsen, F et al: Hyperacute rejection of kidney homografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells. *Lancet* 2:662, 1966.
16. Williams, G.M. et al: "Hyperacute" renal homograft rejection in man. *New Eng J. Med.* 279:611, 1968.
17. 李治學等：人體同種腎臟移植後急性排斥之臨床表徵——*中華醫藥雜誌* 8卷：10頁—19頁 64年。
18. Williams, G.M. et al: Studies in hyperacute and chronic renal homograft rejection in man. *Surg.* 62:204, 1967.



•陳善蓉•

1、楔子

神經系統因為有 Blood Brain Barrier 與體內的循環系統並不直接交通，故它所表現的免疫與其他器官組織不太相同，且其免疫反應多半侵犯髓鞘 (myelin sheath)，產生脫髓鞘 (demyelination) 的現象，所導致的病變又依其區域不同而表現出複雜的臨床症狀。

2、免疫：抗原與抗體

引起抗體 (Antibody Ab) 產生的抗原 (Antigen Ag)，依其所在部位不同，可分兩種。

2-1 Circulating Antigen 引起的免疫反應

Circulating Anti 引起的第一步免疫反應是被巨噬細胞 (macrophage) 所吞噬，然後便釋放出某些物質，促使某些特異性的淋巴球 (lymphocyte) 分裂，分化成較大的細胞而製造抗體。

這些淋巴球可分為二類，一類是 T lymphocyte (L Thymus dependent cell)，其細胞膜表面光滑與 Ag 結合後，便移行到淋巴結的外區，產生的 Ab 附着於 Ag-lymphocyte molecule 上，即所謂的 cell-mediated immunity 另一類是 B lymphocyte，哺乳類的 B cell 出自骨髓，細胞膜上有許多免疫球蛋白分子與 Ag 結合後，分化成 plasma cell，製造並分泌 Ab，稱為 humoral immunity，有些免疫需要兩者共同作用，故並不是不相關的兩個免疫系統。

2-2 Tissue Antigen 引起免疫反應

移植的組織若置於細胞不能通透的 chamber 內，使宿主的淋巴球不能直接接觸，則沒有免疫現象，表示這些 Ag 是固定於細胞上。所引起的免疫反應如下圖所示，Fig 1

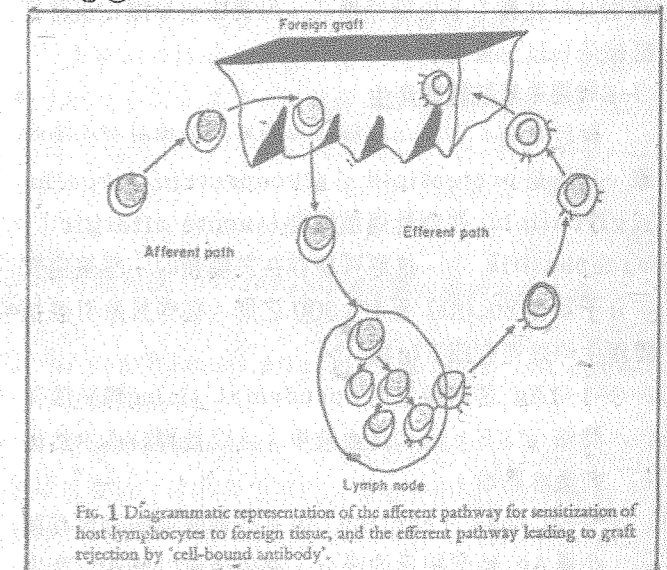


FIG. 1 Diagrammatic representation of the afferent pathway for sensitization of host lymphocytes to foreign tissue, and the efferent pathway leading to graft rejection by 'cell-bound antibody'.

抗體是一種免疫球蛋白，基本構造為兩條重鏈 (H chain)、兩條輕鏈 (L chain)，由雙硫鏈連接。免疫球蛋白可分為五種：IgG、IgA、IgM、IgD 與 IgE，它們的 L chain 都相同，H chain 則分別為 γ 、 α 、 μ 、 δ 與 ϵ 。其中 IgM 是由五個此種 unit 構成，故又稱為 macroglobulin。

3、神經系統與免疫作用