维普资讯 http://www.cqvip.com

白细胞介素2的检测

第二医院 何念海综述 张定凤审校

白细胞介素2是Th细胞产生的一种调节机体免疫功能的重要因子，具有多种生物学效应，已被广泛应用于免疫学的基础研究和临床诊断及治疗。

对白细胞介素2(IL-2)的生物学效应进行鉴定、分离纯化和重组IL-2的制备及临床应用研究都需要对其活性进行检测。因此，建立检测IL-2的实验室方法是开展研究的必要前提。

IL-2活性检测总体上有生物学检测法和免疫学检测法两大类。

生物学检测法的基本原理是通过测定IL-2刺激依赖IL-2的细胞增殖反应来确定IL-2的活性。依据所用细胞的不同而具体操作方法有差异。1978年Gillis, S.等[1,2]建立了鼠杀伤性T细胞系(CTLL)^{3}H-TdR掺入法测定IL-2活性。该方法重复性较好，可重复使用对照样本以利于各检测样本间的比较。用CTLL细胞作指示系统，由于CTLL细胞仅仅依赖于IL-2而增殖，不受其他因子的干扰，因而准确性和敏感性高(200pg/ml)。但该方法不足之处为需用同位素检测仪器和实验者接触同位素。1984年Vos, C.D.等[3]建立了一种检测生理基质中IL-2活性的半定量方法。他们发现ConA激活的C_{57}BL/6鼠胸腺细胞的增殖可被氢化可的松(10^{-6}mol/L)完全抑制，加入ConA激活24小时的鼠脾细胞上清液可逆转这种抑制。IL-1无这种逆转能力。IL-2加消炎痛不仅可恢复氢化可的松抑制的增殖反应，而且还能增强胸腺细胞的刺激反应。前列腺素(PG)则抑制细胞的增殖和IL-2产生。据此建立的半定量方法具有快速、操作简单、花费少等优点，可在免疫药理学中应用。Landegren, U.等[4]利用细胞内广泛存在的溶酶体酶—N-乙酰-β-D氨基已糖酶(2-乙酰胺-2-脱氧-β-D-葡萄糖苷乙酰胺脱氧葡萄糖苷氢化酶)与其底物p-氨酚-N-乙酰-β-D葡萄糖胺的显色反应来估计细胞增殖数量，从而创立了一种敏感、简单、快速的能在微孔板上直接进行分光光度计扫描的检测方法。依据IL-2维持细胞增殖的细胞数量而间接估计IL-2的含量。此法可大量检测IL-2和干扰素，由于可把细胞吸附到有包被物的纤维网上，因而花费少量试剂即可完成试验。该法的敏感性与^{3}H-TdR掺入法相当。1983年Mosmann, T.，1985年Heeg, K.等[5,6]用四甲基偶氮唑蓝(MTT)比色分析法检测细胞线粒体的代谢活性。原理是活细胞能裂解MTT，使其氧化后由淡黄色可溶物形成蓝色晶体状甲臜，甲臜经异丙

[16] Allen RF, et al. Am J Psychiat 1983; 140:786
[17] Sachar EJ, et al. Acta Psychiat Scand 1980; 11:201
[18] Loosen PT, et al. Am J Psychiat 1982; 139(4):405
[19] Jay DA, et al. Arch Gen Psychiat 1983; 40:515
[20] Andrew W, et al. Arch Gen Psychiat 1983; 40:525
[21] Asnis GM, et al. Am J Psychiat 1983, 140(6):750
[22] Grogery MA, et al. Am J Psychiat 1983; 140:750

维普资讯 http://www.cqvip.com

醇作用，结晶溶解显色。甲臜生成量与活细胞代谢强弱成正比例，与活细胞数有关，因而可根据显色的深浅反映细胞代谢的强弱和细胞数量，培养基中活细胞数与IL-2量成正比例。该方法快速(2分钟内检测96孔)，敏感性与传统的^{3}H-TdR掺入法相当，且不依赖于放射性物质和检测仪，在没有同位素条件下值得推荐使用。1986年关惠贞等[7]介绍了CTL-L细胞短期培养活细胞计数检测法，此法细胞用量大，显微镜计数容易产生误差；还介绍了胸腺细胞增殖试验，该法灵敏度低，受刺激原PHA和ConA影响明显，所以很少用。1987年Ando,I.等[8]利用连续组织培养基中自发激活并表达IL-2受体的人外周T细胞而建立了一种体外定量IL-2的简单方法。通过与鼠IL-2依赖的克隆杀伤性T细胞系$BD_{2.10}$和人IL-2依赖的CD_4阳性克隆T细胞系No.9及PHA刺激的T淋巴细胞等作为检测细胞的试验进行比较，结果几种细胞都对IL-2敏感，且其产生50%最大增殖的IL-2量相近。该方法敏感且容易操作，克服了CTLL细胞需要长期培养的缺点。作者推荐此法可在获得CLLL细胞有困难或细胞受到支原体污染的情况下使用。1987年Baroja,M.L.等[9]把单克隆抗-Tac加到激活的淋巴细胞培养基中创立了一种更准确的IL-2产生定量法。由于抗原激活T细胞上表达的IL-2受体结合其产生的IL-2，因而测得的IL-2水平总是低于实际的量。抗-Tac可阻断Tac结合IL-2。作者发现抗-Tac加到丝裂原刺激的PBMC中可使上清液中IL-2水平增加2-4倍，且培养时间超过18-24h，IL-2浓度也无减少。没有抗-Tac存在情况下IL-2的消耗早在培养开始后6h就开始了。抗-Tac阻断IL-2自身消耗为IL-2产生动力学研究提供了有价值的工具，且为体外多种病理状态下IL-2产生异常的准确性研究提供了可能性。1987年Antonen,J.等[10]用人类嗜淋巴细胞白血病病毒I型(HTLV-I)感染的人T细胞系即ATH_8作指示细胞创立了IL-2的生物活性分析法。ATH_8表达IL-2受体，仅对外源性IL-2起增殖反应，不对T细胞刺激原发生反应，克服了PHA和ConA刺激的T淋巴母细胞方法需长期培养后才能适合IL-2分析和可能对PHA及ConA起增殖反应的缺陷。该方法具有较好的重复性，敏感性与T淋巴母细胞法相当。

免疫学检测法的基本原理是利用抗原与抗体的特异性结合，然后用不同的标记物进行定量试验。1984年Gehman，L.O.等[11]建立了检测人IL-2的酶联免疫测定法(ELISA)，主要应用夹心ELISA技术。包被抗体是鼠抗IL-2单克隆抗体9B11-1E5，夹心抗体是兔抗IL-2多克隆抗体R-135，碱性磷酸酶标记抗体是羊抗兔Ig，酶底物是p氮酚磷酸(pNPP)。该方法特异性取决于单克隆抗体，不受IL-2分子糖化不同所致的分子变异及样本中其他活性淋巴因子的干扰，不象生物分析法那样受到丝裂原的干扰。虽然敏感性比Gillis，S[1]的生物学方法低50倍左右，但检测线性范围宽，为100ng-100μg。用这两种方法对同一血清样本进行检测其均值相差5%，标准差在ELISA为6.0%，生物学法为3.8%。ELISA具有高度自动、快速(6小时内可得结果，而生物学法需24-48小时)的优点，是用于IL-2分离纯化过程监测和IL-2治疗病人的血清样本检测的有效手段。Ohike，Y.等[12]建立了检测IL-2的夹心放射免疫分析法。用重组IL-2刺激BABL/c小鼠产生的两种单克隆抗体不中和IL-2活性，不抑制IL-2与靶细胞上受体的结合。将IL-2夹在HTLV-I感染的造血细胞上的IL-2受体和放射标记的IL-2单克隆抗体之间而进行放射免疫分析。该方法特异性地检测与IL-2受体结合的IL-2，最低检测限为5ng/ml (相当于15U/ml)，剂量反应线性范围为5ng/ml-100ng/ml。为IL-2的免疫调控作用研究和控制恶性疾病的应用可能性研究提供了简单的方法。1987年，Ferrua,B.等[13]建立了简单的夹心酶免疫分析法可检测PM水平的IL-2。基本原理是先用抗体提取

维普资讯 http://www.cqvip.com

透明细胞肉瘤

病理解剖学教研室 米 泉 综述

透明细胞肉瘤(CCS)是一种罕见的组织起源尚未最后确定的软组织肉瘤。多发生在青年人，生长缓慢但复发转移率高。肿瘤位于深部软组织，与肌腱和腱膜相连。多为结节状或分叶状。组织学特征为瘤细胞多角形或梭形，胞浆透明，核仁突出，组成大小不等的巢状，其周绕以宽窄不等的胶元纤维分隔。1965年Enzinger[1]首次报道21例肌腱和腱膜的CCS，以后陆续有报道[2-13]。除Chung和Enzinger[2]报道AFIP搜集的141例以外，多系个案报告。本文根据这些报道，综述CCS的病理形态、生物学行为、组织发生和鉴别诊断等问题。

临床表现

CCS可见于任何年龄，但多见于15～35岁，最小6岁[3]，最老65岁[5]。女性稍多见。肿瘤从肌腱、腱膜和筋膜处发生。主要位于肌体、尤以下肢常见，头、颈及躯干部极罕见。Chung和Enzinger[2]报告141例中，137例在肢体，而下肢占106例。肿瘤位于深部肌腱处，不侵犯表面皮肤。多数肿瘤早期生长缓慢，但后期可迅速长大。Enzinger[1]报告1例从发病到就诊长达19年。此瘤极易复发，Enzinger[1]报道1例复发高达13次之多。

上清液中的淋巴因子，然后用结合有酶的抗抗体Fab′片段的抗体显露抗体，加入酶底物，通过显色反应定量。该方法快速(8小时内完成)，对各种不同糖化IL-2无特异性，最低检测限为2.38PM(0.04ng/ml、0.52U/ml)，与生物学方法[1]相较，敏感性低3-5倍。ConA仅在10μg/ml以上浓度才干扰本方法的结果。

两大类检测方法各有其优缺点，因而可据各自实验室条件灵活选用各种不同的检测IL-2的实验方法，以利于对IL-2作更深一步的探讨和研究。

参 考 文 献

[1] Gillis S,et al.J Immunol 1978; 120(6): 2027

[2] Gillis S,et al.Immunol Rev 1982; 63: 167

[3] Vos CD,et al.J Immunol Methods 1984; 74:375

[4] Landegren U.J Immunol Methods 1984; 67:379

[6] Heeg K,et al.J Immunol Methods 1985; 77:237

[5] Mosmann T.J Immunol Methods 1983; 55:63

[7] 吴惠贞等. 上海免疫学杂志 1986; 6:298

[8] Ando I,et al.J Immunol Methods 1987; 96:133

[9] Baroja ML,et al.J Immunol Methods 1987; 98:267

[10] Antonen J,et al.J Immunol Methods 1987; 99:271

[11] Gehman LO,et al.J Immunol Methods 1984; 74:39

[12] Ohike Y,et al.J Immunol Methods 1986; 87:245

[13] Ferrua B,et al.J Immunol Methods 1987; 97:215