



# 关于特定蛋白的免疫测定及临床意义



# 特定蛋白的免疫测定方法

---

- 基本原理：免疫沉淀反应
  - 免疫透射比浊
  - 免疫散射比浊

# 免疫沉淀反应的发展历史

- 1897年，Kraus发现细菌培养液与其相应抗血清混合后出现肉眼可见的沉淀反应
- 1902年Ascoli建立了环状沉淀试验。
- 1905年Bechhold将抗体混溶在明胶中，然后再将相应特异抗原加于其上，抗原抗体的特异结合可在明胶中出现沉淀。
- 1946年Oudin报道了试管单向免疫扩散试验。（1965年Mancini又提出了平板单向免疫扩散试验。）
- Grabar和Williams在1953年报道了免疫电泳。（对流免疫电泳、火箭免疫电泳和免疫固定电泳）
- 上述为经典免疫沉淀试验发展阶段，测定范围窄（10 ~ 100  $\mu\text{g/ml}$ ）、灵敏度低，繁琐费时，不能自动化。

# 免疫沉淀反应的发展历史

- 1959年，Schultze等报道了透射比浊法（Transmission turbidimetry）。
- 1967年，Ritchie等报道了散射比浊法（nephelometry）。
- 1977年，Sternberg等进一步发展建立了速率散射比浊法（Rate nephelometry）。
- 免疫比浊测定方法与免疫沉淀方法相比，灵敏度高，重复性好，测定范围宽，已用于临床体液特定蛋白含量的测定，现已有多种自动化检测仪器应用于临床检验，尤其是免疫散射比浊测定。

# 免疫透射比浊

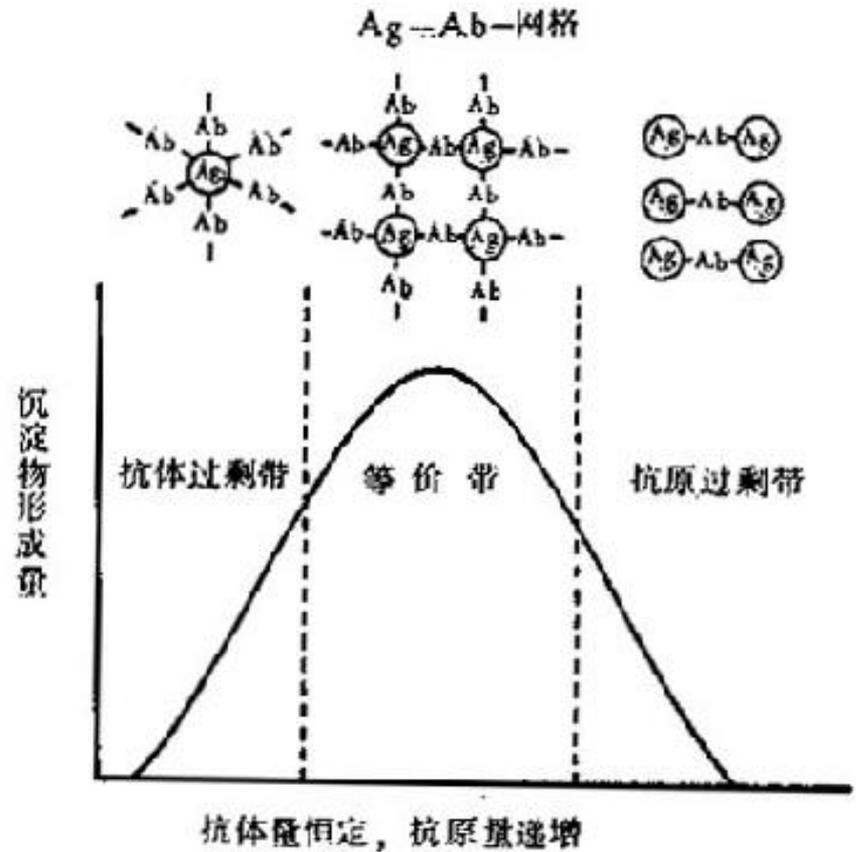
- 基本原理：一定波长光线通过抗原抗体反应混合液时，被其中的免疫复合物（IC）反射或遮挡、吸收而减弱。在一定范围内，透射光被吸收的量与免疫复合物的量呈正比，后者又与相应抗原和抗体的量呈函数关系。抗体量一定，即可从标准曲线获知抗原的量。
- 由于要求抗原抗体复合物的数量足够，并且颗粒要足够大（35~100nm），本法的测定灵敏度和准确度相对较低。

# 免疫散射比浊

- 基本原理：光线通过检测溶液时，被其中所含的抗原抗体复合物折射而部分偏转，产生散射光。根据雷利散射公式，在一定条件下，透射光与微粒浓度成正比，散射光与微粒浓度成反比。
- 散射比浊可分为**终点**和**速率**散射比浊两种。
- **光源**
  - 荧光：高压汞灯发射，入射光波长 ( $\lambda$ ) 355nm，散射夹角 ( $\theta$ ) 为 $90^\circ$
  - 激光：氦氖灯， $\lambda=663\text{nm}$ ， $\theta=15\sim35^\circ$
  - 碘钨光：碘钨灯， $\lambda=400\sim500\text{nm}$ ， $\theta=70^\circ$

# 影响免疫比浊测定的主要因素

- 抗原、抗体比例与浊度关系：抗原过量，出现“带现象”，IC分子小，且可发生再解离，浊度下降，光散射减少。抗体过量，IC形成随抗原量增加到抗原抗体最适比例时达高峰。抗体须过量但又必须适量，抗体浓度是测定关键。



# 影响免疫比浊测定的主要因素

- 抗体质量：特异性、效价、亲和力、R型抗体  
高亲和性抗体的抗原结合点与抗原表位的空间构型上非常适合，两者结合牢固，不容易解离。反之，低亲和性抗体与抗原形成的复合物较易解离。

R型抗体以家兔免疫血清为代表，具有较宽的抗原抗体合适比例范围，只在抗原过量时，才易出现溶性免疫复合物，大多数动物的免疫血清均属此型。H型抗体以马免疫血清为代表，其抗原与抗体的合适比例范围较窄，抗原或抗体过量，均可形成可溶性免疫复合物。人和许多大动物的抗血清皆属H型。

# 影响免疫比浊测定的主要因素

- 反应溶液：pH6.5~8.5，适当浓度电解质（中和抗原抗体复合物表面电荷，促进凝聚）、离子强度（大，IC形成快）；一般常用磷酸盐缓冲液。
- 增浊剂：非离子型亲水剂如聚乙二醇（PEG）、吐温-20等，以PEG6000最好，浓度一般为3%~4%。浓度过高可致非特异沉淀。

# 特定蛋白测定的质量控制

---

- 室内质量控制

- 室间质量评价

# 特定蛋白质测定的临床意义

- 血液中含有多种功能蛋白，如载体蛋白、免疫球蛋白（抗体）、酶、凝血因子等，其含量变化通常与多种疾病有密切关系。
- C反应蛋白 (CRP)、免疫球蛋白及亚类、补体C3和C4、抗链球菌溶血素O (ASO)、类风湿因子 (RF)、前白蛋白 (Prealbumin)、白蛋白 (Albumin)、微白蛋白 (Microalbumin)  $\beta_2$ 微球蛋白 ( $\beta_2$ Microglobulin)、 $\alpha_1$ 抗胰蛋白酶 ( $\alpha_1$ AT)、铜蓝蛋白 (Ceruloplasmin)、结合珠蛋白 (Haptoglobin)、转铁蛋白 (Transferrin)、载脂蛋白A (APO-A1)、载脂蛋白B (APO-B) 等。

# C反应蛋白 (CRP)

- 是一种由肝细胞合成的急性时相反应蛋白，是在炎症和组织坏死疾病的急性期出现于病人血清中的一种糖蛋白，它能与肺炎双球菌的荚膜成分C-多糖蛋白质起反应，故称为C-反应蛋白。具有激活补体和促进粒细胞及巨噬细胞吞噬作用。
- 正常值为：800-8000 $\mu\text{g/L}$ 。
- CRP是急性时相反应的一个极为灵敏的指标，血浆中CRP浓度在急性心肌梗死、创伤、感染、炎症、外科手术、肿瘤浸润时迅速显著地增高，可达正常水平的2000倍。结合临床病史，有助于随访病程。
- 特别在炎症过程中，CRP可作为风湿病、系统性红斑狼疮、白血病等的随访指标。
- 细菌和病毒感染鉴别，细菌感染急性期一般均增高，病毒感染多数不变。
- 国外有研究认为，CRP是引发心脏病的最强烈的危险因素，其危险程度是血液中过量胆固醇的2倍。CRP含量高的人患高血压的危险率比胆固醇高的人大1倍。如果炎症和过高的胆固醇同时出现的话，那么患心脏病和中风的危险率比正常的人要高出9倍。由此可见，CRP含量高和患心脏病呈正相关。
- 此外，最近一项研究发现，血中高浓度的CRP是结肠癌发病的危险因素，并认为CRP可能是结肠癌的一个早期标志物。

# 免疫球蛋白及亚类

- 其浓度在不同年龄段有所差异，在某些疾病情况下，这些指标的浓度将出现升高或降低，从而具有疾病诊断价值。
- **IgG:** 正常情况下，脐血7.6~17g / L， 新生儿7.0~14.8g / L， 0.5~6月3~10.0g / L， 6月~2岁5~12g / L， 2~6岁5~13g / L， 6~12岁7~16.5g / L， 12~16岁7~15.5g / L， 成人6~16g / L。
- 在慢性肝病，亚急性或慢性感染，结缔组织疾病，I g G骨髓瘤，无症状性单克隆I g G病等，出现增高；在遗传性或获得性抗体缺乏症，混合性免疫缺陷综合症，选择性I g G缺乏症，蛋白丢失性肠病，肾病综合症，强直性肌营养不良，免疫抑制剂治疗等降低。

# 免疫球蛋白及亚类

- **IgA:** 正常情况下，脐血0~50mg / L，新生儿0~22mg / L，0.5~6月3~820mg / L，7月~2岁140~1080mg / L，2~6岁230~1900mg / L，6~12岁290~2700mg / L，12~16岁810~2320mg / L，成人760~3900mg / L。
- 在慢性肝病，亚急性或慢性感染性疾病（如结核、真菌感染等），自身免疫性疾病（如S L E、类风湿性关节炎），囊性纤维化，家族性嗜中性粒细胞减少症，乳腺癌，I g A肾病，I g A骨髓瘤等情况下增高；在遗传性或获得性抗体缺乏症，免疫缺陷病，选择性I g A缺乏症，无 $\gamma$ -球蛋白血症，蛋白丢失性肠病，烧伤等。抗I g A抗体现象，免疫抑制剂治疗，妊娠后期等情况下降低。

# 免疫球蛋白及亚类

- **IgM:** 正常情况下，脐血40~240mg / L，新生儿50~300mg / L，0.5~6月150~1090mg / L，6月~2岁430~2390mg / L，2~6岁500~1990mg / L，6~12岁500~2600mg / L，12~16岁450~2400mg / L，成人400~3450mg / L。
- 在胎儿宫内感染，新生儿TORCH症群，慢性或亚急性感染，疟疾，传染性单核细胞增多症，支原体肺炎，肝病，结缔组织疾病，巨球蛋白血症，无症状性单克隆IgM病等情况下增高。在遗传性或获得性抗体缺乏症，混合性免疫缺陷综合症，选择性IgM缺乏症，蛋白丢失性肠病，烧伤，抗Ig抗体综合症（混合性冷球蛋白血症），免疫抑制剂治疗等情况下降低。

# IgG和IgA亚类

- IgG有四种不同的亚类，IgA有两种不同的亚类。每种亚类具有不同的功能，其含量过低或过高或者缺陷会导致相应的免疫功能低下，造成相应的疾病的发生。  
儿童常见的反复呼吸道感染、经常腹泻、发育迟缓等症状以及经常发生的许多呼吸道疾病如中耳炎、鼻窦炎、肺炎、气管炎、慢性阻塞性肺疾病、支气管扩张以及哮喘等疾病，往往都与IgG或IgA亚类缺陷有关。

# 补体C3和C4

- 正常情况下，C3( $\beta$ 1C-球蛋白) 800~1550mg / L，C4( $\beta$ 1E-球蛋白) 130~370mg / L，血液补体含量与活度在许多病理情况下都会发生变化。所以，临床上应动态观察补体水平的变化。
- 补体含量下降并不一定代表免疫功能障碍或免疫缺陷，因为在缺血、凝固性坏死和中毒性坏死时，组织能释放较多的蛋白分解酶，导致补体溶血活度和补体组分的下降。
- 血补体浓度升高：见于各种炎症性疾病及阻塞性黄疸，急性心肌梗塞，溃疡性结肠炎，糖尿病，急性痛风，急性和急性甲状腺炎，急性风湿热，皮炎，多发性肌炎，混合性结缔组织病，结节性动脉周围炎等。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/286150002141011011>