

63-66

第20卷 第2期
1992年5月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol.20 No.2
May 1992猪血清中游离 CD_2 对红细胞的溶解作用

肖俊杰 陈德坤

(西北农业大学动物病毒研究室, 陕西杨陵·712100)

摘 要 猪血清中加入红细胞(RBC)后观察溶血的结果表明, 正常猪血清对绵羊、山羊、牛、马、家兔、豚鼠及鸡 RBC 的溶血指数分别为 $72.10 \pm 22.84\%$, $84.87 \pm 22.26\%$, $7.66 \pm 4.77\%$, $66.60 \pm 19.56\%$, $16.40 \pm 7.40\%$, $86.59 \pm 15.29\%$, $88.45 \pm 26.76\%$, 对同种 RBC 无溶解作用或具微弱的溶解作用。根据猪血清对 RBC 的溶解作用, 经绵羊红细胞(SRBC)吸收或加入 SRBC CD_{98} (淋巴细胞功能相关抗原-3, LFA-3)竞争结合后即显著降低或消失, 提出了猪血清溶解 RBC 的作用与血清中游离 CD_2 的存在有关的论断。

关键词 溶血, 红细胞, 血清学, 免疫生物学, 猪, 游离 CD_2

中图分类号 S852.51

近年来, 对于 T 细胞膜脱落/分泌的游离 CD_2 的研究受到人们的重视。Mendes 等在人的血清和尿液中首先检测到游离 CD_2 的活性^[1]。Owen 等^[2]和吴蔚等^[3]分别从多发性骨髓瘤合并肾衰病人血清及正常人血清中分离到具有不同分子量的游离 CD_2 。临床研究发现, 血清中游离 CD_2 的存在与某些细胞免疫功能受抑制的疾病有密切关系^[4]。然而目前有关游离 CD_2 的本质、功能及其与膜 CD_2 关系的研究仍进展缓慢。为了探索游离 CD_2 与相应配体结合后可能引起的细胞生物学效应以及寻找一种可观测的指征, 本研究以猪血清加入 RBC 后测定溶血指数的方法, 就猪血清中游离 CD_2 对绵羊等几种动物的 RBC 及同种 RBC 的溶解作用进行了研究。

1 材料与方法

试验猪血清 来自市场购买的 1~3 月龄健康小猪和宰前成年健康猪, 血清分离后置 4℃ 保存, 供 5 d 内使用。

RBC 悬液 采集抗凝血, 经生理盐水洗涤 3 次后配成 5% 的悬液, 4℃ 保存, 供 2 d 内使用。

SRBC LFA-3 的提取 按黄涓等^[5]的方法进行。

猪血清对 RBC 溶解作用的检测 每份猪血清检测时均设四组, 每组设两管, 其中试验组每管加入猪血清和 5% RBC 各 0.4 mL, 血清对照组每管加入猪血清和生理盐水各 0.4 mL, 红细胞对照组每管加入 5% RBC 和生理盐水各 0.4 mL, 全溶组每管加入 5% RBC 和蒸馏水各 0.4 mL, 混匀置室温 3 h 后离心取上清液测定 O.D. 值, 取每组两管的均值计算 RBC 溶解百分率, 即溶血指数。

文稿收到日期: 1991-09-13

$$\text{溶血指数} = \frac{\text{试验组O.D.值} - \text{血清对照组O.D.值} - \text{红细胞对照组O.D.值}}{\text{全溶组O.D.值}} \times 100\%$$

2 结 果

2.1 猪血清对 SRBC 的溶解作用

用于试验的 32 份正常猪血清对于 SRBC 均表现有溶解作用, 其溶血指数最小者为 15.5%, 最大者为 100%, 平均为 $72.10 \pm 22.40\%$ 。

2.2 SRBC 吸收过猪血清对 SRBC 的溶解作用

于试验猪血清中加入等体积 5% SRBC, 混匀后室温振荡吸收 10 min、2000 r/min 离心 15 min, 取上清液与生理盐水 2 倍稀释的同份猪血清分别检测对 RBC 的溶解作用。血清在加入 SRBC 后置室温 1 h 的溶血指数如表 1。表 1 表明, 经 SRBC 吸收过的猪血清对 SRBC 的溶血指数极显著低于未经吸收的同份猪血清($P < 0.01$)。

表 1 SRBC 吸收猪血清对 SRBC 的溶血指数 %

组 别	n	$\bar{X} \pm S.D.$	范 围
经吸收猪血清	20	$6.23 \pm 10.14^*$	0~30.44
未吸收猪血清	20	58.28 ± 25.02	6.80~99.00

* t 检验, $P < 0.01$ 。

2.3 加入 SRBC LFA-3 猪血清对 SRBC 的溶解作用

试验猪血清中加入等量(v/v)人工提取的 SRBC LFA-3, 室温振荡 15 min 后检测对 SRBC 溶解作用, 并以 2 倍生理盐水稀释的未加 SRBC LFA-3 的同份猪血清作为对照, 试验血清在加入 SRBC 后 1 h 的溶血指数如表 2。

表 2 加入 SRBC LFA-3 对

批次	n	SRBC 的溶血指数 %	
		$\bar{X} \pm S.D.$	
		加入 LFA-3	未加入 LFA-3
1	4	$24.61 \pm 16.43^*$	65.78 ± 19.35
2	6	$63.85 \pm 23.77^*$	100.00 ± 0
3	6	$34.15 \pm 12.77^*$	64.05 ± 26.06
4	5	$15.78 \pm 15.02^*$	43.55 ± 30.52
5	8	$11.33 \pm 16.03^{**}$	51.38 ± 25.21

注 * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

表 3 猪血清对山羊等红细胞的溶血指数 %

动物类别	n	$\bar{X} \pm S.D.$	范 围
山羊	18	84.87 ± 22.26	21.05~100.00
牛	18	7.66 ± 4.77	1.64~13.93
马	18	66.60 ± 19.56	7.90~81.48
家兔	18	16.40 ± 7.40	6.38~37.90
豚鼠	18	86.59 ± 15.29	41.00~100.00
鸡	18	88.45 ± 26.76	13.62~100.00

由表 2 可知, 4 批加入 SRBC LFA-3 的猪血清对 SRBC 的溶血指数显著低于未加入 SRBC LFA-3 的同份猪血清($P < 0.05$), 另一批为极显著低于未加入 SRBC LFA-3 的同份猪血清($P < 0.01$)。

2.4 猪血清对山羊等几种动物 RBC 的溶解作用

选取经上述两项试验的 1~18 号猪血清, 分别检测对山羊、牛、马、家兔、豚鼠、鸡 RBC 的溶解作用, 试验血清在加入 RBC 后 3 h 的溶血指数如表 3。

2.5 猪血清对同种 RBC 的溶解作用

选取 1~18 号猪血清, 分别于室温(23℃)、37℃ 和 41℃ 下检测其对同种 RBC 的溶解作用, 猪血清在加入 RBC 后于不同温度下 3 h 的溶血指数如表 4。

猪血清对同种 RBC 无溶解作用或具有微弱的溶解作用。不同温度在猪血清对同种 RBC 的破坏中无显著影响。

表 4 猪血清对同种红细胞的溶血指数 %

溶血温度 (℃)	n	$\bar{X} \pm S D$	范 围
23	18	0.057 ± 0.131	0~0.54
37	18	0.011 ± 0.045	0~0.09
41	18	0.005 ± 0.021	0~0.09

3 讨 论

Fernandez 等最早报道, 在体外条件下人淋巴细胞具有破坏 SRBC 的现象^[6]。石

镜等于 1987 年在猪 PBMC 对 RBC 破坏作用的研究中, 根据木瓜酶或 AET 处理的 SRBC 更易与膜 CD₂ 结合而变得容易被 PBMC 破坏, 经 45℃ 水浴处理 1 h 的 PBMC 因表面 CD₂ 脱落而失去对自身 RBC 的破坏作用, 提出了猪 PBMC 破坏 RBC 的现象与 T 细胞膜上 CD₂ 有关的推测^[6]。但是有关游离 CD₂ 破坏 RBC 的作用, 至今尚未见报道。本文根据 32 份试验猪血清对绵羊等几种动物 RBC 具有不同溶血指数, 证明了猪血清对于绵羊、山羊、牛、马、家兔、豚鼠、鸡 RBC 的溶解作用。根据经 SRBC 吸收过猪血清对 SRBC 的溶血指数极显著低于未经 SRBC 吸收的猪血清($P < 0.01$), 以及加入了 SRBC LFA-3 猪血清对 SRBC 的溶血指数显著低于未加入 SRBC LFA-3 的猪血清($P < 0.05$)两项试验结果, 首次提出了猪血清对绵羊等几种动物 RBC 的溶解作用与血清中游离 CD₂ 的存在有关的推断。

在 2.2、2.3 试验中, 经过定量 SRBC 吸收过的猪血清和加入了定量 SRBC LFA-3 的猪血清溶血指数均明显低于未经 SRBC 吸收和未加入 SRBC LFA-3 同份猪血清的溶血指数, 但是经处理血清不同份的溶血指数与它同份未处理猪血清的溶血指数相比较, 呈现不成比例的降低。提出猪血清对 SRBC 的溶解作用, 除受其血清中游离 CD₂ 存在量以及游离 CD₂ 与 SRBC 表面 LFA-3 结合的多少外, 还可能受其他因素的影响。

试验表明, 猪血清在不同温度条件下对同种 RBC 无溶解作用或具微弱的溶解作用。这一结果与石镜等^[6]的研究结果相比较, 除说明猪血清中游离 CD₂ 对同种 RBC 的破坏作用与猪 PBMC 中的膜 CD₂ 对自身 RBC 的破坏作用不同外, 还将提示猪血清中游离 CD₂ 在结构或组成上可能与膜 CD₂ 存在差异。

根据影响猪血清中游离 CD₂ 溶解 RBC 因素的复杂性, 我们曾在预备试验中对正常猪血清加入 RBC 之后室温放置的时间与溶血的关系进行了探索。结果用 SRBC 吸收过的猪血清和加入了 SRBC LFA-3 的猪血清, 因其中游离 CD₂ 被吸收或被竞争结合而对 SRBC 的溶血指数显著低于同份未经任何处理的猪血清, 并且二者的溶血指数差异在加入 RBC 后 1 h 表现最为明显, 随着室温放置时间的延长, 这种差异将逐渐缩小。因此, 在检测正常猪血清对不同种 RBC 溶血指数试验中, 加入 RBC 后室温放置 3 h; 在比较其经 SRBC 吸收猪血清和加入 SRBC LFA-3 的猪血清与正常猪血清对 SRBC 溶血指数差异性试验中, 加入 RBC 后室温放置 1 h。

本文报道的血清中游离 CD₂ 对于异种动物 RBC 具有破坏作用, 这一现象或作为

机体对异种 RBC 排斥过程中的重要一步, 或作为血液系统排异机理的重要方面, 尚待今后进一步研究。但是, 对于血清中游离 CD_2 与 RBC 结合而引发 RBC 溶解这一现象的阐明, 将为游离 CD_2 与 RBC 表面配体的结合找到一项可观测的指标, 对于进一步深入研究游离 CD_2 在体内的存在、生物学特性以及生理功能等具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Mendes N F *et al.* Restorative effect of normal human serum transfer factor, and thymosin on the ability of heat-killed human lymphocytes to form rosettes with sheep erythrocytes. *Cell Immunology*, 1975; 17:560
- 2 Owen F C, Fanger M W. Studies on the human T-lymphocyte population-V Isolation of T-lymphocyte antigens from human renal failure serum. *Immunochemistry*, 1976; 13:121
- 3 郑德先, 刘士廉. 淋巴细胞表面SRBC受体的研究进展. 国外医学免疫学分册, 1982; 5(6): 281
- 4 田藻生. 可溶性E受体与疾病的关系. 国外医学免疫学分册, 1986; 4:185
- 5 黄溯, 张云, 石镜. E受体配体的提取和鉴定. 中国免疫学杂志, 1989; 5(3):186
- 6 石镜, 张云, 章翰等. E受体功能的探讨——外周血单个核细胞对红细胞的破坏作用. 中国免疫学杂志, 1989; 3(1):7

Effects of Free-Form CD_2 in Pig Serum Upon RBC

Xiao Junjie Chen Dekun

(Virus Disease Research Laboratory of Animals, Northwest Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The observation was made after RBC was added to pig serum. The results showed that the haemolysis index of normal pig serum upon RBC of sheep, goat, cattle, horse, rabbit, guinea-pig and chicken is $72.10 \pm 22.84\%$; $84.87 \pm 22.26\%$; $7.66 \pm 4.77\%$; $66.60 \pm 19.56\%$; $16.40 \pm 7.40\%$; $86.59 \pm 15.29\%$; and $88.45 \pm 26.76\%$ respectively. There is no or only a little destructive effect upon allogenic RBC. This destructive effect of pig serum on RBC will decrease significantly disappearing after serum was absorbed with SRBC or added SRBC, CD_{58} (LFA-3) in it. Thus, the related deduction of destructive effect of pig serum upon RBC and the presence of free- CD_2 in pig serum was made.

Key words hemolysis, erythrocytes, serology, immunobiology, pigs / free CD_2