

人脾细胞超滤法提取转移因子

李 洸 陈绍辉 祝 森 霍克克

(浙江人民卫生实验院微生物研究所)

转移因子是细胞免疫反应的重要介质,能将供体白细胞免疫功能转移给受体,促使机体重建细胞免疫,增强对致病因子的抵抗^[1]。

目前国内外提取转移因子,采用人体血液的白细胞^[2],或制备血浆时所分离的白细胞^[3]。这些材料来源少,不能满足需求。

我们试用晚期血吸虫病患者摘除的脾脏,用超滤法分离提取转移因子。临床试用治疗某些癌症、类风湿性关节炎、支气管哮喘及病毒性心肌炎等,疗效显著或有缓解。

转移因子的提取和测定

一、材料及方法

取 HBsAg 测定阴性的晚期血吸虫病患者摘除的脾脏,去脂肪和结缔组织,剪成碎块,称重,然后加二倍重量的 0.9% 氯化钠溶液,电动捣碎。—5℃ 离心(2500g, 30 分钟),弃去上层血红素。用生理盐水洗涤二次,最后计算细胞数。用生理盐水稀释至 10^9 细胞/毫升,—30℃ 冰冻,流水溶解。如此反复冰融 10 次以上。然后 —5℃ 离心(2500g, 30 分钟),弃去下沉细胞残渣;上清液继续 —5℃ 高速离心(40,000g, 60 分钟)。取上层清液,用 J₇₈₁₀ G 型超滤器,采用截留分子量 5000 的超滤膜,用 5 个大气压的氮气超滤,所得滤液,即为转移因子。

二、转移因子制剂的测定

1. 蛋白质测定:用磺基水杨酸测定蛋白质为阴性。2. 肽键反应:双缩脲试验(Biuret 反应)为阳性。3. 核苷酸测定:二羟基甲苯试剂显色法,以核糖核酸作标准,测得核苷酸或核苷酸类物质含量为 105 毫克/毫升。4. 凯氏定氮法:

测得总氮量为 199.61 毫克/100 毫升。5. 冷冻干燥:取 100 毫升转移因子经冷冻干燥,成浅黄色粉末,计重 1594 毫克/100 毫升。6. 紫外光吸收光谱测定见图 1 (E_{260}/E_{280} 为 1.8756—2.0814),7. 毒性试验:体重为 20—22 克的小白鼠 10 只分为二组,一组腹腔注射转移因子 1 毫升,另一组注射生理盐水 1 毫升作为对照。分别饲养,观察 3 天,二组鼠活动情况、进食量无差异,内脏解剖观察无异常,表明制剂无毒性。8. 过敏试验:雄性豚鼠 5 只,体重 180—200 克,每周皮下注射转移因子一次,每次 0.5 毫升,共 3 次;最后一次注射后,相隔 14 天,静脉推注 1 毫升,观察 15 分钟,未发现过敏体征。9. 结核菌素 (OT) 试验:对 OT 1:5000 阴性患者注射转移因子后,经 7 天,再皮试,出现强阳性反应。

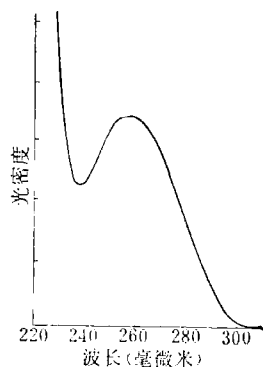


图 1 转移因子紫外光吸收光谱

讨 论

采用脾脏组织提取的转移因子,理化性质与血液白细胞提取的相似^[2],对人体能迅速转移结核菌素等变态反应。动物过敏及毒性试

验,均属阴性。经临床观察,对免疫性疾病,慢性病以及病毒性疾病等有显著疗效,或症状有所改善,且无副作用。

人脾组织属于网状内皮系统,是淋巴器官之一。人体在生活过程中,接触多种致病微生物及致病原,产生多种具有自然免疫力的转移因子,因此摘除的巨脾可能具有多种免疫力的转移因子,能激发患病者淋巴细胞致敏,增强免疫力。

转移因子分子量小于 5000,故通常采用透析法提取。我们发现其干粉、总氮及核苷酸和核苷酸类物质含量均低于超滤法(表 1)。而且透析法需用大量透析液,因而转移因子被稀释。又须再冷冻浓缩,手续烦琐,有效成份又易流失。相比之下,超滤法无此缺点。

用超滤法提取的转移因子,经低温冰冻后有结晶物析出,经真空干燥后,其红外光谱图与标准的 L-酪氨酸的图谱相同,证实为 L-酪氨酸。这是否与转移因子有效成分有关,需进一步研究。

根据我们的分析,从脾细胞提取的转移因子含有多肽类、核苷酸和酪氨酸等物质。我们

表 1 转移因子超滤法及透析法含量比较

制 剂	含量(毫克/100 毫升)		
	干 粉	总 氮	核苷酸及核苷酸类
超 滤 法	1594±31	199.61±15.6	105±3.5
透 析 法	372±8	53.64±5.6	31.2±1.6
	t = 37.8 p<0.001	t = 8.7 0.01<p<0.05	t = 19.4 p<0.001

采用 10%/毫升脾细胞提取物为 1 单位,所得含量与透析法相比,差异较大。

在血吸虫病流行区,巨脾摘除手术较多。以它用超滤法提取转移因子,可以扩大材料来源。

参 考 文 献

- [1] Spitler, T. E., et al.: *Methods in Cancer research*, **8**, 59—106, 1973.
- [2] Goldblum, R. M. et al.: *Cell Immunol.*, **9**, 297, 1973.
- [3] 上海第二医学院正常人体教研组、肿瘤研究组等:《生物化学与生物物理学报》,1976 年,8 卷,4 期,283—292 页。

【本文于 1979 年 6 月 25 日收到】

电离辐射对人及狗周围血淋巴细胞转化能力 (^3H -TdR 掺入) 的影响

魏 康 林增云 刘学员 徐菊芬

(军事医学科学院放射医学研究所)

淋巴细胞在植物血凝素(PHA)刺激下激发 DNA 合成、向母细胞转化是淋巴细胞活力的主要表现之一,它在照射后的变化也是值得注意的一个问题。国内外对照射后淋巴转化力的变化虽有报道,但结果不一。本文着重探讨人及狗的淋巴细胞转化能力的变化与照射剂量的依赖关系、两者的种属差异、离体照射与整体照射效应的异同以及抗放药物对此过程的影响。

一、实 验 方 法

人血及狗血的淋巴细胞转化率测定均采用全血培养、 ^3H -胸腺嘧啶核苷掺入法。

人淋巴细胞转化: 血采自健康献血员,肝素抗凝,4℃ 冷藏约 24 小时。取全血 0.2 毫升,加 RPMI 1640 培养液(自配)2 毫升, pH 7.2。每瓶加入 PHA (广州医药工业研究所出品) 0.2