

- 70.
5. Taylor GN et al : Health Phys 27 : 285~288, 1974.
6. Morgan RM, et al : Toxicology 2 : 153~163, 1974.
7. Brummett ES, et al : Health Phys 33 : 624~626, 1977.
8. Mays CW, et al : Health Phys 30 : 247~249, 1976.
9. Norwood WD, et al : JOM, August 1960, 371~376.
10. 山根靖弘: 原子力工业 24 : 28~33, 1978.
11. Cohen N, et al : Bioinorganic Chemistry, 5 : 203~210, 1976.
12. КОВАЛЬ ЮФ: 放射性同位素从机体内的加速排出, 白光译, 原子能出版社, 1977, 24、25、143页.
13. Planas-Bohne F, et al : Health Phys 31 : 165~166, 1976.
14. Soobodien MJ, et al : Health Phys 24 : 327~330, 1973.
15. Smith VH, et al : BNWL-1550, Part 1, 101~102.
16. Архипова ОТ и др: Фармакол Токсикол 28 : 92, 1965.
17. Stevens W, et al : Radiat Res 75 : 397~490, 1978.
18. Lloyd RD, et al : Health Phys 31 : 281~284, 1976.
19. Lloyd RD, et al : Health Phys 33 : 92~94, 1977.
20. Smith V, et al : VNWL-1550, Part 1, 97~100.
21. Lloyd RD, et al : Radiat Res 62 : 97~106, 1975.
22. Seidel A, et al : Radiat Res 54 : 304~315, 1973.
23. Gemenetzis E, et al : Health Phys 32 : 489~492, 1977.
24. Taylor GN, et al : Health Phys 35 : 201~210, 1978.
25. Smith VH, et al : BNWL-1500, Part 1, 96~97.
26. Lloyd RD, et al : Health Phys 35 : 217~227, 1978.
27. Seidel A, et al : Health Phys 22 : 779~783, 1972.
28. Volf V, et al : Radiat Res 59 : 638~644, 1974.
29. Fisher DR, et al : Health Phys 30 : 313~315, 1976.
30. Calder SE, et al : Health Phys 35 : 785~790, 1978.
31. Ohlenschlager L Health Phys 30 : 249~250, 1976.
32. Ohlenschlager L Health Phys 35 : 694~699, 1978.

## 放射变应原吸附试验

卫生部药品生物制品检定所付利成综述 上海华山医院林祥通 唐观甜审

放射变应原吸附试验(Radioallergen-sorbent Test简称RAST)的原理是建立在红细胞标记抗原抗体反应(简称RCLAAR)<sup>1</sup>原理的基础上。1967年Wide L等人首次提出诊断速发型变态反应可用测定血清中特异性

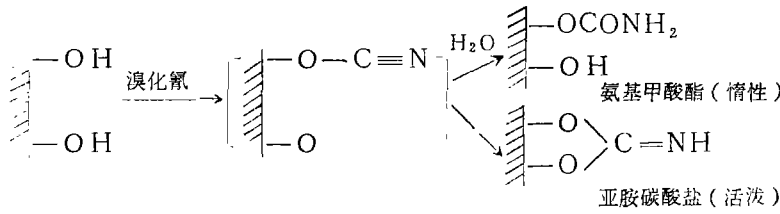
IgE的体外测定方法<sup>2</sup>。他们用了14种能引起临床变态反应的抗原,如动物(狗、猫、马、牛等)头垢、花粉、蘑菇、鳕鱼和尘埃等等,将它们提纯后,取患者血清作体外RAST测定,发现RAST阳性结果与临床诊断一致性

是59%~100%，与皮肤试验的一致性为68%，与刺激试验的一致性达96%。此后，有许多学者对RAST方法作了大量的研究和实践，例如，Fugerberg和Wide<sup>[3]</sup>用RAST方法检查了气管炎患者血清中的抗体，同时用相应的抗原对狗作刺激试验，两种方法阳性结果的一致性达97%。Aas和Lundkvist用RAST方法检查了56名鳕鱼肝油过敏儿童的血清，实验结果均为阳性，与临床诊断100%地相符；另取56名对鳕鱼肝油不过敏的儿童的血清，RAST结果均为阴性。英国Beneden Chest医院实验室<sup>[1]</sup>用RAST方法已作了4000多次实验，其结果均说明RAST用于临床诊断变态反应原是

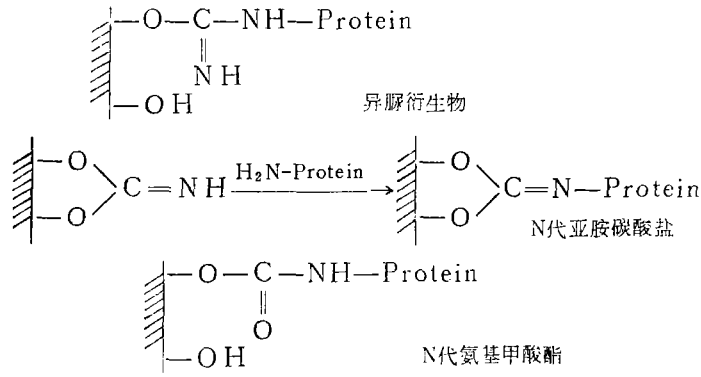
一个灵敏度高、安全可靠、简单易行的有价值的体外测定方法。现在有些国家已由专门的厂家生产制成RAST试验盒发放到临床，用来诊断预测变态反应和防止药物过敏。

RAST方法的原理

1. 将经纯化后的变应原化学结合到一种不溶于水的物质上，如纤维素、交联葡聚糖颗粒或纸片等。为使变应原化学结合到上述吸附物上，常用溴化氰来活化吸附物，使形成一中间物，再结合变应原（一般认为能引起变态反应的变应原高分子蛋白或多肽类物质）。溴化氰活化吸附物的原理如下所示<sup>[4]</sup>：



溴化氰活化后形成的亚胺碳酸盐较活泼，能与蛋白分子（变应原）上的游离氨基结合：



2. 将变态反应患者血清（含对某变应原有特异性IgE抗体）与变应原-吸附物一起孵育，患者血清中的特异性IgE抗体就结合到上述的变应原-吸附物上面（图1）<sup>[5]</sup>。

3. 经洗涤除去未结合的抗体蛋白以后，加入<sup>125</sup>I标记的抗IgE血清，<sup>125</sup>I-抗IgE与已结合在吸附物上的特异性IgE形成抗原抗体复合物，洗涤除去未结合的<sup>125</sup>I-抗IgE。这样，吸附物放射性强度的高低就直接表示了患者血清中特异性IgE抗体水平，两者之间成正比关系。

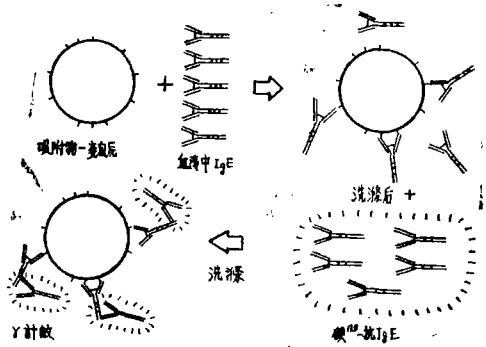


图1 RAST方法原理模式图

## RAST方法所需要的试剂和设备

1. 吸附物：可用葡聚糖凝胶颗粒、纤维素、淀粉、多孔玻璃、树脂、磁铁、塑料、纸片等。其中以纸片较好，因它可省去离心、过滤等操作程序，且保存、取用方便。采用质地均匀的滤纸，制成直径为5~6毫米的小纸片即可供试用。

2. 溴化氰：市售溴化氰配成5%水溶液。应注意安全。

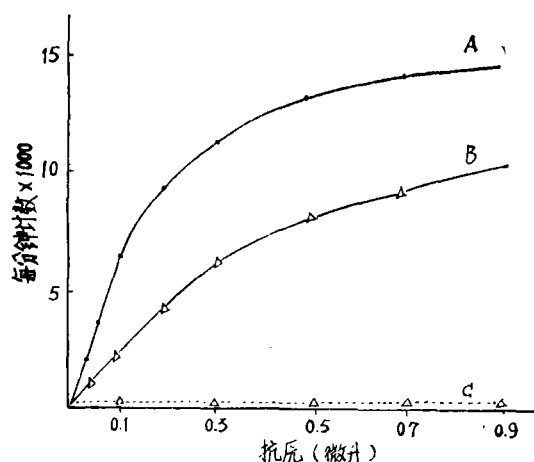


图2 未经纯化变应原的剂量-反应曲线

A、B——天然狗变应原对人血清的RAST结果，可见低浓度部份近似线性直线，而高浓度部份呈饱和型。

C——非过敏患者，呈阴性。

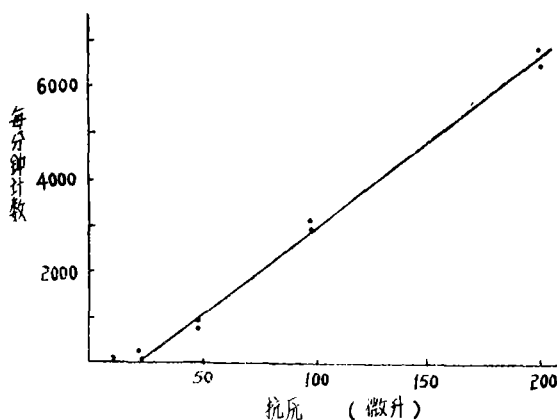


图3 经等电点聚焦法纯化后变应原的剂量-反应曲线

用等电点聚焦法纯化后的半草花粉抗原RAST结果，抗原浓度相当大时仍有较好的线性直线。

3. 变应原：半抗原，全抗原均可供试验，但需提纯。提纯方法有多种，如用有机溶媒提取，用等电点聚焦法精制或用合成抗原等。变应原的纯度要求较高，否则影响RAST实验的结果（图2、图3）。

纯化后变应原冻干，实验时再配成一定浓度供试验。

4. 样本：一般患者50微升血清即可。

5. 标记抗IgE血清：

用马抗人（或羊抗人）IgE血清，经纯化后，用氯氨T法标记上放射性同位素 $^{125}\text{I}$ 。其标记方法概述如下：

用马抗人IgE血清200微克加到含放射性 $^{125}\text{I}$ 化钠1.5毫居里和氯氨T100微克的0.1M磷酸盐缓冲液中（pH7.4），搅拌3~5分钟，加入偏重亚硫酸钠100微克终止反应，反应液过Sephadex G50柱，用pH为7.4的含人血清白蛋白1毫克/毫升的磷酸盐缓冲液洗脱，使标记的抗IgE组成与剩余的 $^{125}\text{I}$ 碘化钠分开，收集第一放射性峰液，混匀后测其放射性浓度供RAST试验用。

6. “保存缓冲液”的配方

含氯化钠0.9%，磷酸盐缓冲液0.05 M，人血清白蛋白0.3%，叠氮钠（ $\text{NaN}_3$ ）0.05%，pH为7.4，此“保存缓冲液”放 $-20^\circ\text{C}$ 保存。也可按下法配制：0.1M磷酸盐缓冲液（pH为7.5，500毫升与0.9%氯化钠等量混合，加入5%叠氮钠10毫升，“吐温-20”5毫升，牛血清白蛋白2克。溶液放 $-20^\circ\text{C}$ 处保存。

7. 仪器设备

吸水装置（水泵或油泵），振荡器，电磁搅拌器， $-20^\circ\text{C}$ 冰箱，碘化钠晶体探头的闪烁计数器。

RAST 实验方法（以纸片作吸附物为例）<sup>[6]</sup>

1. 溴化氰活化纸片

按5%重量比例，把纸片浸泡于蒸馏水中30分钟，然后在电磁搅拌器上边搅拌边加入等量的溴化氰溶液（新鲜配制）。用1M氢氧化

钠溶液调pH值为10~10.5, 3分钟后, 立即加入温度为4℃的0.005M的碳酸氢钠溶液, 迅速通过玻璃滤板漏斗(G2), 抽滤, 将滤纸洗5次, 所用0.005M碳酸氢钠溶液总量至少是溴化氢量的10倍以上。用温度为4℃的冷丙酮500毫升洗涤, 4℃低温干燥1~2小时, 干燥后放-20℃保存, 可保存8个月以上不减活性。

## 2. 用活化纸片吸附抗原

纯化的抗原可用0.1M碳酸氢钠溶液或用0.005M磷酸盐缓冲液来稀释, 稀释度可用每毫升含蛋白氮来计算, 也可用克分子浓度计算。

取一片或两片溴化氰活化的纸片放在含变应原溶液0.2~0.4毫升的塑料管中, 盖好, 在温度为4℃的条件下水平振荡20小时(每分钟100转)。

应该注意的是, 结合到纸片上的抗原量应该是足够的, 这样可保证被测样本中的IgE能充分结合上来, 而且可排除一些其它干扰。

塑料管中的结合物内加进0.1M碳酸氢钠溶液2.5毫升, 振摇几次, 吸去上清液; 加入0.005Mβ-乙醇胺溶液(在0.1M NaHCO<sub>3</sub>中)1毫升, 摇荡3小时, 吸取上清液, 纸片用0.1M碳酸氢钠溶液2.5毫升洗一次, 再用0.1M醋酸缓冲液(pH为4)洗3次, 最后用“保存缓冲液”洗两次, 然后将此纸片保存在此缓冲液中。

## 3. 活化纸片-变应原与血清的孵育(即指与特异性IgE的结合)。

取患者的血清50微升, 用“保存缓冲液”按2:3的比例稀释, 加入纸片一枚, 室温中放置或振荡过液(100转/分), 吸出溶液后, 用“保存缓冲液”(含1%吐温-20)洗3次, 每次2.5毫升, 放置10分钟。

## 4. 活化纸片-变应原-特异性IgE-<sup>125</sup>I抗IgE的结合

取<sup>125</sup>I-抗IgE血清(放射性计数约为40000次/分钟)50微升(用“保存缓冲液”配制), 加到上述有纸片的塑料管中, 室温放置一夜(或振荡一夜), 用0.9%氯化钠溶液(含1%吐温-20)洗3次。

## 5. 在碘化钠晶体闪烁计数器内测纸片放射性强度, 测得计数应减去本底计数。

## RAST方法的结果表示

RAST方法不能定量测定IgE的含量, 这是此方法的不足之处, 但它可与标准抗原和抗血清的RAST结果作比较, 半定量地表示样本中IgE水平。在供临床使用的试验盒中一般配有纯化的桦木花粉作标准抗原, 并配有A、B、C、D四组抗血清<sup>[7]</sup>, 当用RAST方法检查患者血清时, 样品与标准抗原同样条件下操作, 当样品纸片的放射性计数率(即每分钟计数)小于D组血清的计数率时, 表示RAST结果为阴性, 而与A、B、C、D组血清的结果相当时, 则分别用Ⅲ、Ⅱ、Ⅰ、+来表示其RAST为阳性结果的程度。

## RAST方法的应用和评价

RAST方法作为一种体外实验方法, 用来研究血清中特异性IgE水平, 临床诊断变态反应的变应原, 预测患者体内特异性IgE水平, 防止药物过敏等是很有价值的, 有关这方面的报导已越来越多。

RAST方法用来测定特异性IgE有较高的灵敏度, 达10<sup>-9</sup>~10<sup>-12</sup>克/毫升, 至少和P-K试验的灵敏度相同。有人还证明用RAST方法研究破伤风类毒素变态反应要比P-K试验更灵敏。

RAST方法简单、易操作, 采用一吸水装置可使洗涤操作程序很易进行, 若配有一γ自动计数装置, 一天可完成几百份样本的测定。若取患者2.5毫升血清, 用RAST方法可同时测定20~24种变应原的特异性IgE抗体, 这时临床用来诊断患者变态反应的病因显然是有利的。

RAST方法的标准的试验条件容易建立。与P-K试验相比, 由于它是体外测定, 可避免转移肝炎病毒的危险, 还可避免皮试中遇到的可致命的强烈的过敏休克反应(如青霉素皮试有时即可能引起超敏患者过敏休克反应)。因

而, RAST方法对于超敏患者是安全的。

然而RAST方法的不足之处也是显而易见的, 首先它不是一个很好的定量方法, 它只能测定血循环中IgE水平, 对于组织中肥大细胞、嗜硷细胞上结合的反应素还不能测定。另外, RAST方法需要纯化的抗原和纯化的抗IgE血清, 否则由于不纯至使试验结果受到影响。而纯化抗原和纯化抗血清的工作往往不是简易的。再有, 相比之下RAST方法所需费用也较高。

综上所述, RAST方法对于临床应用来诊断变态反应仍然认为是一有价值的很好的筛选方法, 配合询问病史、皮试实验、RAST方法可对变态反应作一明确的诊断。随着RAST方法的普及和RAST试验盒的使用, 在防止和减少药物过敏的课题上, 它将会作出应有的贡献。

## 参考文献

1. Merrett TG: In Radioimmunoassay in Clinical Biochemistry by Pasternak CA, 1975.
2. Wide L, et al: Lancet 2: 1105, 1967.
3. Baldo BA, et al: Med J Aust 2: 871, 1975.
4. Lowe CR, et al: Affinity Chromatography Chapter V, P207.
5. Baldo BA: Med J Aust 2: 859~863, 1975.
6. Ceska M, et al: Radioimmunosorbent assay of Allergens, J Allergy Clin Immunol 49: 1, 1972.
7. Kraft D, et al: In Arch Allergy and Immuno 52: 1~4, 248, 1976.

## “放射事故医疗基础与处理”国际会议内容简介

中国人民解放军307医院 叶根耀

1979年10月18~20日由美国能源部主办, 在橡树岭联合大学召开了“放射事故医疗基础与处理”国际会议, 我应大学放射事故救助及训练中心(REAC/TS)的邀请作为我国代表参加了这次会议, 并作了报告。出席会议的共226人, 来自16个国家, 美国以外的代表有40人。会议报告及讨论共有6个主要内容: 重要全身照射事故复习及随访10篇, 急性局部照射事故复习及随访13篇, 急性照射后(包括体内污染)的医疗处理4篇, 细胞遗传学在生物剂量仪上的应用3篇, 职业受照射人员的长期医学效果观察6篇, 反应堆事件涉及大量人群时的医疗处理5篇, 共计41篇报告论文。现分述如下:

1. 在重要全身照射事故复习及随访项下, 先由大会主席Lushbaugh CC报告了严重放射事故的总复习。统计复习了世界各地自1965年

比利时事故以来, 近14年未再发生临界事故。由各种放射源装置引起的共92起。引起严重局部急性放射烧伤70例。到1977年为止, 严重的内污染事故有15起, 2例死亡。

复习了1945~1946年以来几起大事故, 如美国洛斯阿拉莫斯实验室事故, 1954年比基尼岛日本渔民事故, 橡树岭Y-12车间事故, 南斯拉夫事故。我国在会上报告了1963年三里庵事故4例急性放射病人及14年随访。此外还有1967~1978年世界各地的外照射事故报导。

国外随访工作做得比较好。1945~1946年美国洛斯阿拉莫斯的9例报告, 除急性期2例抢救无效死亡外, 又有4例死亡(再障及细菌性心内膜炎, 朝鲜战场死亡, 急性粒细胞性白血病, 急性心肌梗塞), 另2例至今健康。日本渔民病例每年随访至今已25年, 其中每年10~20例, 目前发现有的睾丸萎缩, 甲状腺 $T_3$ 功