

7 我与非我

免疫学的发展，不仅带来了基本原理的理解，在分子水平揭示了美妙的自然规律，而且建立了对生物学研究和医学实践有用的技术体系，改善了人类健康。

免疫与感染密切相关。但免疫不仅是应对外来病原菌，并且处理其他“非我”，参与监控清除自身变异成分（肿瘤、衰老和死亡细胞）。最先投入战斗的是先天性免疫系统（innate immunity 或 nonspecific immunity）。它在长期进化过程中形成，并具有遗传特性，生来具有的功能免疫，机体依赖此系统对病原感染做出反应和对策。随着生命系统的进化和个体发育出现了获得性免疫（acquired immunity or specific immunity），建立专门的特异性免疫系统，在后天获得针对病原体或其他非我的反应。特异的 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞分别介导体液免疫和细胞免疫，B 淋巴细胞产生抗原相对应的抗体，来达到保护生物体的免疫机制。

免疫学研究源于人类希望抵抗传染病，也与人类对输血的实际需求有关。经过迷信、迷惑、试错等多个阶段，步履艰难、甚至犯过错误，坚持探索的严肃研究者逐渐从现象到本质，到 1898 年确定：抵抗传染病和输血涉及相同的核心问题同为免疫。

免疫学的核心问题之一是如何区分自我和非我。免疫系统针对非我的监控和处理，而不能对自我进行攻击。

7.1 天花的预防

在两千五百年前，古希腊历史学家 Thucydides（公元前 460-400）在记录公元前 430 年流行雅典的瘟疫时，指出患病痊愈者一般不再发病、如果发病一般也不致死。基督教曾把认为第一次就不生病者是无罪者（我们今天知道是天然免疫者），而患病痊愈者当成洗清了罪恶（实际为后天免疫者）。在欧洲所谓中世纪的阶段，阿拉伯世界和伊斯兰地区的科学发展，改变了人类对传染病和免疫的宗教和迷信看法。

天花（variola, small pox）可能有上万年的历史（Riedel, 2005）：在公元前一千年前的埃及木乃伊上留有天花的痕迹，中国也在公元前 1122 年就有天花的记载，欧洲在 5 世纪到 7 世纪间开始有天花的记载。天花曾肆虐世界，死亡率高、不死也留下失明或脸上疤痕等后遗症。18 世纪欧洲天花感染率非常高，接近全部群居人口，占儿童死亡率的三分之一。

人们很早知道已患过天花的人不会再患天花。在世界上多个地区曾出现用天花病人的少量脓液接种给健康人，使后者获得免疫力。这一方法也有人告诉欧洲，但未获推广。英国驻奥斯曼帝国大使蒙太古夫人（Mary Wortley Montague, 1689-1762）于 1717 年在伊斯坦布尔根据当地流传的方法，请使馆医生 Charles Maitland（1668-1748）监督给自己儿子接种少量天花（Downie, 1951）。她们回英国后，她请 Maitland 再给女儿接种，Maitland 要求有六个医生在场。成功后，其中一位医生要求给自己的儿子接种。英国还用犯人和孤儿做过接种，有结果让皇后放心后，她再允许给王子接种，这样逐渐传开。接种少量天花既可能有效，也可能导致天花发病。

1774 年，英国农民 Benjamin Jesty（1737-1816）用挤奶女工的牛痘给自己妻子和两个儿子接种，成功地避免了他们患天花（Peard, 2003），但他没用文字记录相应结果发表文章。

乡村医生 Edward Jenner（1749-1823）有相当的科学基础，因 1787 年确定杜鹃的行为而于 1788 年入选皇家学会。1796 年 5 月 14 日，他从挤奶女工 Sarah Nelmes 手上取得牛痘接种给 8 岁的男孩 James Phipps（1788-1853），六周后接种少量天花，Phipps 完全不被感染，证明牛痘诱导免疫的成功。Jenner 第一位正式发表文章报道牛痘接种的方法。1798 年，Jenner 总结了自己接种病例以及通过访问得到的一些回顾性病例，共 23 例发表专著（Jenner, 1798），1799 再加例子，到 1801 年英国有逾六百例（Jenner, 1801）。Jenner 还区分了真的牛痘和假的牛痘，从假牛痘获得的材料不能有效地引起对天花的免疫，真牛痘才能保证成功地诱发免疫。Jenner 称牛痘为 *Variolae vaccinae*（牛的天花），用牛痘接种导致人体对人源天花的免疫就被称为 vaccine。虽然 Jenner 当时有一个错误，认为牛的天花来自马的炎症，但他对牛痘接种的方法做出了不可磨灭的贡献。



图 7-1 Jenner

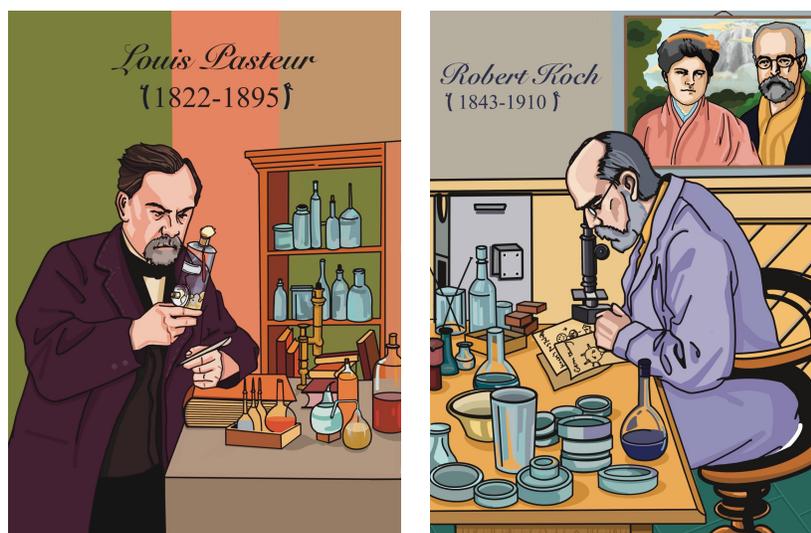


图 7-2 巴斯德与柯赫

免疫学的发展与微生物学相关。十九世纪，法国化学家巴斯德（Louis Pasteur, 1822-1895）和德国医生柯赫（Robert Koch, 1843-1910）为代表的科学家们证明传染病的病原菌学说，建立培养细菌的方法，发现重要的致病菌，发明多种传染病的疫苗（炭疽病和鸡霍乱疫苗等）（Pasteur, 1881），推动了免疫学的发展。巴斯德把原来词根为牛的 vaccine 推广为广义的疫苗（Baxby, 1999）。

接种疫苗后，人获得免疫力的原理是什么？巴斯德曾错误地认为是第一次感染过程中细菌耗尽了体内对细菌生长需要的营养成分，所以细菌不能再感染同一个人，该个体从而产生免疫力。

7.2 抗血清的发现

先天免疫的发现归功于俄国科学家Élie Metchnikoff（1845-1916）在俄国和法国进行的研究。Metchnikoff 最早在其比较病理学研究发现吞噬细胞的作用（Metchnikoff, 1884, 1901, 1905; Tauber, 2003）。

体液免疫研究源于德国。1888年，法国细菌学家 Emile Roux（1853-1933）和旅法瑞士细菌学家 Alexandre Yersin（1863-1943）发现白喉毒素是白喉杆菌致病的原因。1889年柯赫实验室的北里柴三郎（Shibasaburo Kitasato, 1853-1931）发现破伤风毒素是破伤风杆菌致病的原因。在毒素研究风靡一时的情况下，柯赫曾误认为结核菌素（tuberculin）是结核杆菌致病的原因。



图 7-3 Behring 与北里柴三郎

1890年，柯赫研究所的 Emil Adolf Behring（1854-1917）和北里柴三郎发表“动物对白喉和破伤风免疫的机理”一文，报道了白喉毒素的抗毒素和破伤风毒素的抗毒素（Behring and Kitasato, 1890），

是现代免疫学的开创性工作。Behring 和北里证明在不含细胞的血清中有免疫作用的物质：抗毒素。也就是现在生物医学界熟悉的抗体。

Behring 主要做白喉、北里做破伤风的抗毒素，他们获得的含抗毒素的血清（抗血清）既能治疗已感染的动物，也能预防健康动物被感染。在 Behring 和北里之前，除了细胞免疫之外，免疫的原因认为是因为血液有杀菌能力、或动物适应了毒素、或动物在接种后发生了化学变化使其体液和组织不利于微生物生长。Behring 用大鼠进行的白喉研究不支持以上解释，而提出免疫后动物的血液可以中和白喉毒素，这一结论在北里的破伤风毒素研究得到进一步支持和推广。

Behring 和北里报道的破伤风实验既用过破伤风杆菌、也用过破伤风毒素作为免疫原，用低于导致疾病的剂量注射给兔，诱发兔的免疫，被注射后的兔对再感染或破伤风毒素有 20 倍的抵抗力。从有免疫力的兔的颈动脉获取血，注射给小鼠的腹腔，得到的两只小鼠与未被免疫兔血注射的两只小鼠比较。后者在破伤风杆菌注射后分别于 20 小时、36 小时死亡，而免疫兔血注射过的小鼠健康生存。

如果将免疫的兔血凝结，其上清也就是血清。以免疫的兔血清注射 6 只小鼠的腹腔，24 小时后他们再被破伤风杆菌感染不会生病，而对照小鼠 48 小时死亡。以上实验显示免疫的血清可以让正常动物对感染的抵抗力增加，有预防作用。他们还将抗血清与可以感染小鼠的破伤风杆菌同时注射进入动物体内，也提高动物的生存，他们认为这是治疗作用。一旦被注射抗血清，无论预防式、还是治疗式，小鼠都可以获得长期免疫。作为对照，非免疫的兔血清，没有这些作用。Behring 和北里的实验用的抗血清不仅来源于兔，还用过牛、马和羊。

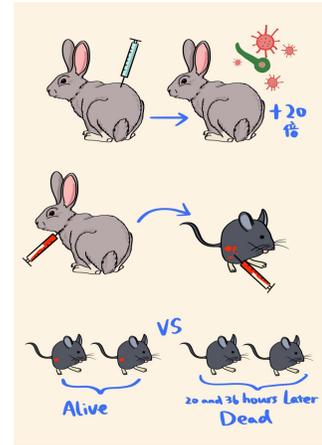


图 7-4 抗破伤风实验

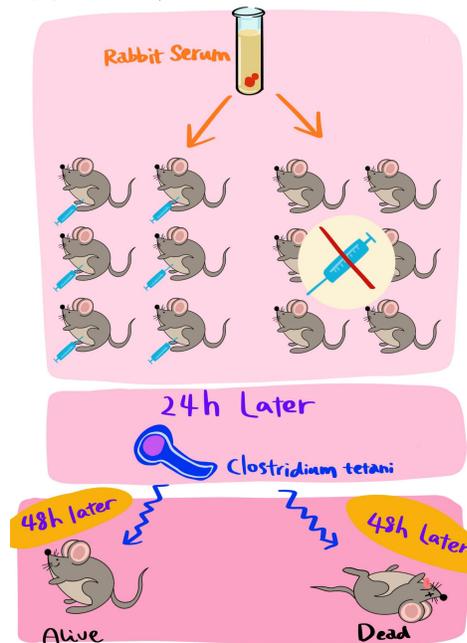


图 7-5 抗血清的预防作用

Behring 和北里的文章清晰地表明血清中含有对抗毒素的物质：破伤风免疫后的兔血可以中和破伤风毒素；这一作用存在于无细胞的血清中；将免疫动物的血清转入其他动物可以继续发挥作用；未经免疫的动物不具有消灭破伤风毒素的能力（Behring and Kitasato, 1890）。这篇文章开创了体液免疫。

一周后在同一刊物，Behring 单独发表了有关动物对白喉免疫力的论文（Behring, 1890），补充他和北里合作发表的破伤风毒素文章。他发现动物的血液也可以产生对白喉毒素的免疫力。Behring

单独的这篇文章未用抗血清一词，理解程度不如两人合作的抗破伤风毒素的文章。

当时也在 Koch 研究所工作的犹太裔德国科学家 Paul Ehrlich (厄立希, 1854-1915) 也研究了抗毒素。Ehrlich 发现了两种植物蛋白质: 蓖麻毒素 (ricin) 和相思子毒素 (abrin) 的抗毒素 (Ehrlich, 1891b)。他先给鼠低剂量的蓖麻毒素, 逐渐增加剂量, 前五天没有变化, 第六天鼠对蓖麻毒素的耐受力大大提高 (蓖麻毒素的致死剂量提高到最初的 13 倍), 其后可以逐渐增加, 但不能超过 1000 倍。主动免疫延续的时间长于 6 个月。与白喉和破伤风抗毒素一样, 产生了抗毒素的动物血液可以输给其他的动物而使其产生被动免疫。被动免疫时间远短于主动免疫, 但他没有确定具体时间。同样, 他发现相思子毒素可以诱导免疫。两种免疫都是特异的, 没有交叉, 他提出不同毒素诱导的抗体是不同的。1892 年, Ehrlich 发表“免疫的遗传和吮乳”一文, 揭示新生鼠含母亲来源的抗体, 提示抗体可以传过胎盘到达胎儿, 而出生后的婴儿还可以通过母乳再得到抗体, 婴儿的消化道不同于成人, 没有破坏抗体, 而可以吸收抗体进血液 (Ehrlich, 1892)。

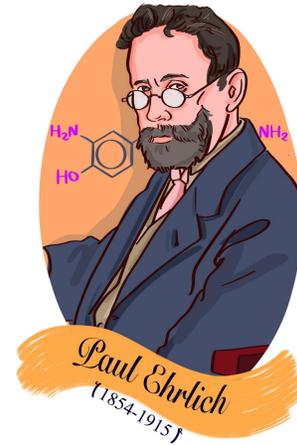


图 7-6 Ehrlich

因为效率不高、变异较大, Behring 的抗白喉血清产量不稳定, 用其方法的工厂 (Hoechst) 难以获得高效价的抗血清。Ehrlich 的抗蓖麻毒素抗血清和抗相思子毒素抗血清有较高效价, 而且 Ehrlich 检测方法的定量化较好。在 Behring 邀请、Koch 支持下, Ehrlich 于 1892 年改进抗白喉抗血清和抗破伤风抗血清的生产。1894 年 Ehrlich 等发表了“白喉抗血清的生产和应用”(Ehrlich, Kossel and Wassermann, 1894)。他们的改进包括: 用山羊和牛产生抗体; 通过先用低剂量后增加剂量获得高效价抗体; 用标准制备的毒素在体外检测抗血清中和毒素的比率, 检测抗血清的效价 (“免疫单位”)。他们制备的抗血清很稳定, 临床治疗效果很好。他们还发现可以用山羊的乳汁获得抗体也有效果。血清含量是乳汁的 20 倍左右, 但一天可获 30 升乳汁, 相当于约 1.5 升的血。1896 年, 普鲁士教育部长请 Ehrlich 建立“血清研究和检测研究所”。Ehrlich 费很大精力标准化白喉抗血清的检测方法。Ehrlich 首先将毒素和抗毒素的作用视为化分子之间的相互作用 (Ehrlich, 1885, 1897): 一个毒素分子与特定的不可改变量的抗体相结合 (Ehrlich, 1897)。Ehrlich 称抗血清中起作用的分子为抗体 (antikörper, antibody) (Ehrlich, 1897)。

对传染病的预防和治疗需求是推动免疫学的一条主线。另一条是对输血的需求。

7.3 输血: 愿望和困境

有关血液, 人类流传很多不同看法、不乏浮想联翩。所谓血型与性格的关系, 长期流传而缺乏证据。所谓放血疗法, 历史上常有人推广而缺乏有效性的证据。

十九世纪, 人类理解血液由细胞和血清两部分组成。细胞如红细胞、白细胞、血小板。血白细胞有粒细胞 (中性、嗜酸性、嗜碱性粒细胞)、淋巴细胞、吞噬细胞、天然杀伤细胞、肥大细胞等多种起防卫机体的作用 (Ehrlich, 1878; Ehrlich, 1891a; Ehrlich and Lazarus, 1898)。缺血、或缺乏血液的特定成分可导致人类疾病。血清中含多种分子。

人类从很早开始希望输血、或补充血液中特定成分, 但不同时期遇到不同的实际困难。在不懂免疫学之前, 输血有很大危险。1901 年, ABO 血型的发现根本地改变了输血的安全性, 在第一次世界大战开始成规模应用, 现在全世界几万所医院每年进行数以百万至千万次输血, 挽救了无数人的生命。

一种传说是教皇无辜八世 (Pope Innocent VIII, 原名 Giovanni Battista Cybo, 1432-1492) 半昏迷后, 医生曾安排他与三位十岁的男孩进行换血, 结果四人都去世。1656 年, 英国建筑家、科学家 Christopher Wren (1632-1723) 给狗注射过红酒和啤酒 (Maluf, 1954), 1663 年他和 Robert Boyle (1627-1691) 给狗进行静脉注射, 虽然他们注射的是诸如酒和鸦片, 但也奠定了输血的基本技术和流程 (Learoyd, 2012a)。1665 年 2 月, 英国医生 Richard Lower (1631-1691) 在两只狗之间输



图 7-7 波义尔

血 (Lower, 1666a, 1666b; Maluf, 1954)。1667 年 6 月 15 日, 法国路易十四的御医 Jean-Baptiste Denys (1643-1704) 把约 340 毫升的羊血输给 15 岁的男孩, 第二例是输给劳工, 两人都活下来了。第三例是瑞典男爵 Gustaf Bonde (1620-1667), 在接受第二次羊血后去世。

当时并不知道血液的功能, 一方面氧气尚未发现, 另一方面还相信血与性格的关系。1667 年 11 月 23 日, Lower 和 Edmund King (1630-1709) 在皇家学会将羊血输给 Arthur Coga (Lower and King, 1667), 目的是为了改善其头脑“太热”, 所以用温顺动物 (绵羊) 的血 (Maluf, 1954)。法国 Denys 医生用的第四例是经常离家出走的疯子 Antoine Mauroy, 其主人和妻子先后要求 Denys 输小牛的血改变他, 后来死亡 (Maluf, 1954)。这些做法以后当然被质疑。

输血的安全性明显有问题, 法国、英国、教皇都禁止输血近 150 年。在不懂血液功能、不懂消毒、不懂免疫的多重无知的情况下, 输血必定难以成功。

虽然十八世纪还有各种传闻和不完备的记载, 包括 Erasmus Darwin (1731-1802) 曾设计过输血的仪器, 但当时非输血的热门时期。不过, 十八世纪的科学奠定了输血的基本知识。英国的 Joseph Priestley (1733-1804) 和法国的 Antoine Lavoisier (1743-1794) 发现氧气及其功能。此后, 人们才理解血液给全身输送氧气的作用。从 1242 年阿拉伯学者 Ibn al-Nafis (1213-1288) 到 1628 年英国的 William Harvey (1578-1657), 人类终于理解了血液循环、心脏与血流的关系、血流的方向 (Harvey, 1628) 等基本的问题, 对此前认为的血液无方向弥散全身等错误观点进行了澄清与修正。

十九世纪, 英国妇产科医生 James Blundell (1790-1878) 进行了第一次有确切记载的人与人之间输血。鉴于产后出血常常导致死亡的发生, 他提出输血可能是有益的解决途径。1818 年, 他先用动物做实验, 让狗放血后, 再注射来自其他动物的血液。他证明不同种动物之间输血导致死亡 (但在狗的血完全放完后, 输入羊血, 狗可以恢复好几天之后再死亡) (Blundell, 1818)。他也发现血液不能在体外保存太长时间 (低于 30 秒)。他还证明给动物输来源于其自体的血是安全的, 而且血液通过他发明的仪器重新回到动物体内是安全的。他实验了输血过程需要防止混入气泡导致的血管阻塞。1818 年 12 月 22 日, 在其他医生要求下, 他给一位濒临死亡的胃癌患者输了来自几位志愿者的血, 状态有好转后两天还是去世了 (Blundell, 1819)。1818 年至 1825 年, 他试过 6 例输血, 都不成功。1825 年, 他与 Charles Waller (1802-1862) 和 Edward Doubleday (1799-1882) 成功地给产后失血昏迷的妇女进行输血, 并挽救她们的生命, 其中第一例的血来自患者的丈夫, 有些来自医护人员 (Doubleday, 1825; Waller, 1825; Dzik, 2018)。他还发明和比较了几种输血仪器 (Blundell, 1824, 1829b)。输血危险性和不确定性仍然很明显。

1869 年, 德国哥廷根大学生理研究所的医学生 Adolf Creite (1847-1921) 发表他的观察和实验结果。法国 Claude Bernard (1859) 发现狗血清注射到兔体内, 会导致兔出现血尿。在此基础上, Creite 给兔分别注射约 8 毫升的小牛、猪、狗、羊、猫、鸡、鸭、或山羊血清, 发现后 5 种血清的注射直接引发兔的尿中出现血、生病、死亡。他猜想是血清中所含蛋白质导致兔的血尿。他进一步实验, 加热处理血清, 出现的蛋白质凝聚物被过滤之后, 再注射给兔, 就不会有血尿和死亡的发生。因此, 他提出血清蛋白质导致接受输血的动物红细胞溶解。体内实验后, 他还进行了体外实验, 将兔血与其他动物的血清混合, 发现红细胞凝集现象。他在体外也观察到了红细胞溶解, 但对其重要性不甚明确 (Creite, 1869; Hughes-Jones and Gardner, 2002)。

德国病理学家 Emile Ponfick (1844-1913) 于 1874 年向波罗的海医生协会报告: 一位 34 岁妇女死于输羊血, 他称病理解剖发现其血含溶解的红细胞。1875 年, Ponfick 通过羊对狗输血证明羊的红细胞溶解、狗的尿液含血红蛋白, 他进一步证明狗的血蛋白尿来自羊, 因为如果只注射羊的血清, 而不是全血, 狗就不会有血红蛋白尿 (Ponfick, 1875)。



图 7-8 Lower



图 7-9 Blundell

1875年，德国生理学家 Leonard Landois (1837-1902) 出版了 358 页的专著《输血》，总结了 1667 年至 1874 年的 478 例输血。其中 129 例输动物血给人，原作者号称 42 例患者有所改善，62 例没有改善，25 例暂时改善但不可靠。347 例人对人输血，150 例“改善”，180 例不佳，12 例不明，3 例结果未知，2 例在输血过程中去世 (Landois, 1875; Maluf, 1954)。他在体外显微镜研究八种动物血清对其他动物红细胞的作用，观察到一种动物的血清导致另一种动物的红细胞溶血和凝集现象 (Landois, 1875; Hughes-Jones and Gardner, 2002)。

1894 年，在 Koch 研究所工作的 Richard Pfeiffer (1858-1945) 发现“Pfeiffer 现象”：将霍乱弧菌注射到对霍乱有免疫力的豚鼠或兔的腹腔，霍乱弧菌会变形然后溶解；如果将霍乱弧菌与少量对霍乱免疫的抗血清注射到对霍乱没有免疫力动物的腹腔，霍乱弧菌也会被溶解 (bacteriolysis) (Pfeiffer, 1894)。当时 Pfeiffer 认为这种现象只能在动物体内发生，而在法国巴斯德研究所的 Metchnikoff 证明在体外也一样发生 (Metchnikoff, 1895)。1895 年，在 Metchnikoff 实验室工作的比利时科学家 Jules Bordet (1870-1961) 发现霍乱弧菌在抗血清作用下出现凝集现象 (Bordet, 1895)。维也纳大学的 Max von Gruber (1853-1927) 发现抗血清对霍乱和伤寒杆菌的凝集作用 (Gruber and Durham, 1896)。

1898 年，Bordet 在体外观察到一种动物血清一般都能导致另外一种动物的红细胞凝集，例如鸡血清可凝集大鼠和兔的红细胞。异种动物血清也可以溶解红细胞 (如兔血清溶解豚鼠红细胞)，导致其内含血红蛋白外泄。55°C 加热处理血清可以灭活其溶血作用，但不影响其凝集作用。血清对红细胞的溶血和凝集作用，与血清对细菌的作用很像，而且这两种作用依赖的血清内物质对热的敏感也类似，所以 Bordet 提出血清中影响红细胞的物质与血清中对抗细菌 (如霍乱菌) 的物质类似。因此，Bordet 的研究不仅明确血清对红细胞的两种作用，而且提出血清抗异种动物红细胞的机理类似于血清抗病原菌的机理 (Bordet, 1898, 1899)。

Bordet 的概念很快被接受。Ehrlich 指出：“很可能溶血的机理与溶菌的机理非常相似。因此溶血的研究就有相当的理论意义” (Ehrlich and Morgenroth, 1899)。Ehrlich 与 Julius Morgenroth (1871-1924) 合作研究溶血，在 1899 年和 1900 年发表六篇“溶血”的研究论文 (如：Ehrlich and Morgenroth, 1899, 1900a, 1900b)。

从古代将输血作为一个特殊问题，到 19 世纪末科学家终于确定输血问题也是免疫问题。

7.4 血型：突破

因为 Creite (1869) 发现体外可以观察血清导致红细胞溶解和凝集，Landois (1875) 进一步使用体外红细胞凝集和溶解的方法，实质上建立了体外血型检验的方法学。Bordet (1898, 1899) 提出血清对细菌和红细胞的作用类似而将红细胞的血型分析明确纳入免疫学。

也就是说，十九世纪末，已经出现大部分有关输血的技术和科学基础，但缺一关键进展：血型及其匹配。也就是一种“万事俱备，只欠东风”。

1900 和 1901 年，奥地利维也纳大学病理解剖研究所的 Karl Landsteiner (1868-1943) 发现了人类的血型。检测血型的方法非常简便而实用。今天我们知道有 26 种主要血型，至少 270 种不同红细胞表型，Landsteiner 发现了对输血影响最大的 ABO 血型和 Rh 血型。



图 7-10 Landsteiner

既然之前无人知道血型，Landsteiner 不可能不是为了发现血型而研究血液，而且他也不是为了输血而研究血型。1900 年，他先用动物研究胰蛋白酶抗体的形成，希望通过抗体来研究当时化学不能区分的蛋白质差异，他也研究了牛血清对豚鼠红细胞的沉淀和凝集作用。他用碳酸或硫酸铵沉淀牛血清，将血清分成被碳酸所沉淀出来的球蛋白部分和其他部分。将溶液的氯化钠浓度调到 0.6% 之后，可以溶解球蛋白。Landsteiner 用豚鼠红细胞来比较牛血清的球蛋白部分和非球蛋白部分的凝集作用，发现球蛋白作用强于其他部分。他也比较了球蛋白部分和非球蛋白部分对红细胞的溶解作用，发现两者没有差别。在此过程中，他有其他观察，他加在论文的注脚中：“健康人的血液可以凝集动物的红细胞，而且人的血液也可以凝集其他人的红细胞。不清楚这样现象是否源于个体差异、还是损伤或细菌感染影响。重病患者的血清这一现象更明显。这一现象也许与 1892 年 Maragliano 发现的血清可以溶解多种疾病患者红细胞的现象有关” (Landsteiner, 1900)。

此注脚成为 1901 年 Landsteiner 研究的起点 (Landsteiner, 1901)。Landsteiner 首先澄清自己的研究与 Maragliano (1892) 不同，最大的差别在于 Maragliano 观察到的溶血在同一个人的体内发生，可能与疾病有关，而 Landsteiner 发现的红细胞凝集和溶血只在不同个体的人之间发生。按 Ehrlich and Morgenroth (1900a) 的定义，Landsteiner 指出自己研究的也是同种异体的凝集素和溶血素 (isoagglutinins 和 isolymins)。他用三张表列出了做体外凝集实验的结果，含 6 位成年男性之间、6 位产后女性之间、5 位产后女性和 6 个胎盘的红细胞之间的结果，另外还做了 10 位成人，其结果与表格显示的一致。

TABLE 1. Concerning the Blood of Six Apparently Healthy Men

Sera	Dr. St.	Dr. Plecn.	Dr. Sturl.	Dr. Erdh.	Zar.	Landst.
Dr. St.	-	+	+	+	+	-
Dr. Plecn.	-	-	+	+	-	-
Dr. Sturl.	-	+	-	-	+	-
Dr. Erdh.	-	+	-	-	+	-
Zar.	-	-	+	+	-	-
Landst.	-	+	+	+	+	-

Rbc's of: Dr. St. Dr. Plecn. Dr. Sturl. Dr. Erdh. Zar. Landst.

图 7-11 Landsteiner 的表一

表一可见，St 和 Landsteiner 本人 (L) 的红细胞不会被其他五位的血清所凝集；Pletsching 和 Z 两位互相不凝集，也不凝集 St 和 L，但凝集 Sturli 和 E；Sturli 和 E 也互相不凝集，不凝集 St 和 L，但凝集 Pletsching 和 Z。也就是说：六位成年男性按红细胞凝集情况可以分成三组。

TABLE 2. Concerning the Blood of Six Apparently Healthy Puerperal Women

Sera	Seil.	Linsm.	Lust.	Mittelb.	Tomsch.	Graupn.
Seil.	-	-	+	-	-	+
Linsm.	+	-	+	+	+	+
Lust.	+	-	-	+	+	-
Mittelb.	-	-	+	-	-	+
Tomsch.	-	-	+	-	-	+
Graupn.	+	-	-	+	+	-

Rbc's of: Seil. Linsm. Lust. Mittelb. Tomsch. Graupn.

图 7-12 Landsteiner 的表二

表二可见，六位产后女性也分成三组：Linsm 不与其他五位发生凝集；Seil、Mittelb 和 Tomsch 三位互相不凝集，也不凝集 Linsm，但凝集 Lust 和 Graupn；Lust 和 Graupn 也互相不凝集，不凝集 Linsm，但凝集 Seil、Mittelb 和 Tomsch。

TABLE 3. Concerning the Blood of Five Puerperal and Six Placentae (Cord Blood)

Sera	Trautm.	Linsm.	Seil.	Freib.	Graupn.	Mittelb.
Lust.	+	+	-	-	-	+
Tomsch.	-	-	+	-	-	-
Mittelb.	-	-	+	-	-	-
Seil.	-	-	+	-	-	-
Linsm.	+	+	+	-	-	+

图 7-13 Landsteiner 的表三

表三可见，产后女性的血清与胎盘的红细胞在凝集反应中，就不如以上这么简单。Landsteiner 提出以前 Halban 就发现婴儿血清在凝集反应也常常阴性。Josef Halban (1870-1937) 是维也纳大学的妇产科医生，他读过 1900 年 Landsteiner 文章的注脚后，用产妇和婴儿的血做过凝集实验 (Halban, 1900)。

Landsteiner 提出不考虑胎盘的红细胞结果，可以看到成人血清和红细胞的凝集反应呈三类：A、B、C。他将对其他不起反应的称为 C，另外两类为 A 和 B。当时所谓的 C 型，他后来改称 O 型。他没有交叉检测六位男性和六位女性，所以并不确切知道男性的三类与女性的三类是否相同。因为他用的人数太少，所以没有发现 AB 型。

文章结尾指出：“最后，不妨提到这些观察可能协助解释治疗性输血的各种后果”。

Landsteiner (1901) 的研究相当简单，但意义重大。基本技术非他发明，他实验设计中应用的均为已有技术，但他有创新性的想法。实验的操作也很简单，不需要实验高手。实验需要的时间也很短，一周做几十人恐怕很容易，一天做几十人也并非难事。说明：在生物学，有时候，想法也比技术、手段、努力要更重要。

当时为什么没有其他人用同样方法研究血型？在他之前，已知不同个体之间输血有问题，在一定程度上等于已经用输血技术从体内角度监测到个体差异，但没有科学家用体外实验检验不同个体来源的血清和红细胞之间的反应。与 Landsteiner 研究最接近的是回到比利时的 Bordet 以及德国的 Ehrlich 和 Morgenroth。Bordet 在 Landsteiner 之前已经做了很多体外血清和红细胞的溶解和凝集反应，而 Ehrlich 和 Morgenroth 接连发表了六篇体外血清和红细胞的溶解和凝集反应，每一篇都比 Landsteiner (1901) 的长。Ehrlich 和 Morgenroth 当时集中探寻免疫的规律，特别是“侧链学说”，可能忽视了从实验设计和操作上都更容易解决的血型分析和匹配问题。在知道 Landsteiner (1901) 结果后，Ehrlich 持反对态度：人为什么有个体间的免疫反应？其他人不是病原菌，一个人用不着通过免疫系统对付其他人。这个问题当然不是 Landsteiner 带来的，因为早就知道人对人输血经常不成功，虽然以前可能有如操作不当、血液保存不妥等多种其他非免疫的原因，但到了 1900 年，应该可以提出个体间的差异导致的免疫反应是输血困难的原因之一。但是，Ehrlich 问题的简化版：为什么一个人在生理上要有机制破坏另一人的红细胞？两个人的血从来不见面，自然界设计这种机理岂非多此一举？这种问题确实不好回答，其答案的提示在 Landsteiner 的表 3 (虽然当时他自己也不知道表 3 的意义) 和本章的第 6 节 (免疫耐受)，即这个问题需要反过来思考：为什么一个人的免疫系统不攻击他自己，只攻击其他外来物？

1900 年 Landsteiner 的课题并非血清与红细胞的关系，他最初试图用血清来检测蛋白质的特征 (包括来自不同动物种属的同一蛋白质的差别)。他在 1900 年的注脚，燃起了自己的兴趣，很快用简单的实验揭示了血型的规律，而且立即提供了可以用于临床实践的方法。但他那时无论血液学还是免疫学的研究并未达到 Bordet、Ehrlich、Morgenroth 等的程度。Landsteiner 的研究虽然简单，但想法明确。他只研究了二十几个人，结论主要依赖 12 人。表 1 的六位成年男性属于三类血型 (两位 O 型、两位 A 型、两位 B 型)，表 2 的六位成年女性也属于三类 (一位 O 型、三位 A 型、两位 B 型)。这种数据在统计上也不典型。当然他说还做了 10 位，结果与此类似。应该做几十例、上百例，才能确定大概多少类。因为实验的简便性，只能推测他实验设计有欠缺，而没有花一、两个月的时间做几百例。

7.5 血型：从基础回应用

Landsteiner 的样本量太少，只发现了 ABO 血型的 A、B 和 O。1902 年，他的学生 Adriano Sturli (1873-1964) 与维也纳大学第二医学诊所的实习医生 Alfred von Decastello (1872-1960) 合作研究了 155 人 (121 位病人、34 位常人)，他们发现其中 4 人很特别，他们的血清和红细胞不互相凝集，其中任意一位的血清不凝集其他 154 人的红细胞，但他们的红细胞被所有这 151 人的血清所凝集 (Decastello and Sturli, 1872-1960)。Decastello 和 Sturli 当时把这 4 人称为没有特别的型 (no particular type)。后人将 AB 血型的发现归功于他们，因为这 4 位应该是 AB 血型。他们还发现凝集素不会被疾病所改变，验证了 6 个月内的新生儿没有血型反应，这样完成了 ABO 血型的发现。

美国医生 Reuben Ottenberg (1882-1959) 从五个家庭的样本注意到同一家的血型相似性更高 (Epstein and Ottenberg, 1908)。在德国海德堡实验癌症研究所工作的医生 Emil von Dungern (1867-1961) 和波兰科学家 Ludwig Hirszfild (1884-1954) 分析了来自 72 个家庭的 348 人 (一般为两代)，证明血型符合孟德尔遗传规律 (von Dungern and Hirszfild, 1910)。von Dungern 和 Hirszfild 指出，对血型来说，虽然血清所含抗体很重要，细胞的抗原也很重要。他们提出 A 和 B 独立遗传，它们为两个独立遗传的基因、分别有两个等位基因 (A 和 a, B 和 b)，A 和 B 共显性而它们都对 O 型显性。德国犹太数学家 Felix Bernstein (1878-1956) 指出 ABO 血型由一个基因决定，A、B 和 O 是同一个基因的三种等位基因，孩子从父母遗传有六种可能性基因型 (A/A, A/O, B/B, B/O, A/B 和 O/O) 和四种表型 (A, B, AB, O) (Bernstein, 1924)。

按红细胞表达抗原的情况，ABO 血型有四类：表达 A 抗原的红细胞，表达 B 抗原的红细胞，表达 A 抗原和 B 抗原的红细胞，既不表达 A、也不表达 B 的 O 型红细胞。O 型的红细胞不会被其他血型的血清所破坏，AB 型的红细胞会被其他三种血型的血清所含的抗 A、抗 B 抗体所识别引起破坏，A 型的红细胞会被 B 型或 O 型血清所含抗 A 抗体所识别而引起破坏、但不会被 AB 或 A 型血所破坏，B 型红细胞会被 A 型或 O 型血清所含抗 B 抗体而引起破坏、但不会被 AB 或 B 型血所破坏。

ABO 血型的确定，应用意义很大，大于其对基础原理的意义。可以通过事先体外试验匹配血型，大大地提高输血的安全。早期还需要克服医生不用配血型，而直接用需要血液的患者作为检测指标的办法：先给需要血液的患者慢速少量输血，问问其反应，如果可以就多输，不行就停止。这种生物鉴定有一定的作用，但不可靠。在多方推动下，体外配血型成为标准步骤。在有了临床简便可靠的检测血型方法 (Ottenberg, 1911)、有了用柠檬酸抗凝血的办法 (Lewinsohn, 1915) 而可以在体外长期保持血液之后，血库才成为可能，大规模输血得以推行。

7.6 免疫的“我”对“它”：免疫耐受

区分自我与非我是免疫学的重要问题之一。免疫系统如果不能区分我与它，就会出现紊乱：免疫系统对自己进行攻击，是自身免疫疾病。免疫系统如果不能有效地发现有害的异己，是免疫缺陷，容易感染疾病、罹患癌症。这些异己既包括外界入侵的病原微生物，也包括体内的变化，如癌细胞。对免疫系统来说，什么是自我？什么是异己？如何解决这一问题？

英国医生、微生物学家 Charles Todd (1869-1957) 因为埃及出现每天死上千头牛的牛瘟而于 1904 年到开罗工作。1910 年 6 月，他在皇家学会宣读论文 (Todd and White, 1910a)，此后发表全文 (Todd and White, 1910b)。他们的研究是基于 Ehrlich and Morgenroth (1900a) 用豚鼠做的实验。Todd 和 White 用 106 头牛的血清和红细胞在体外做研究。发现：与豚鼠一样，每头牛的血清不会对自己的红细胞发生溶血反应，而会溶解一些其他牛的红细胞。但如果事先将一头牛的血清用另外一头牛 (A) 的红细胞进行共育一小时，然后再检测这种血清，它不再溶 A 牛 (和一些牛) 的红细胞，但继续溶解其他一些牛的红细胞。他们称之为“耗竭” (exhaustion)。他们当时着重于牛的个体识别，而实际上给后面实验埋下了伏笔。

1916 年，芝加哥大学的 Frank Lillie (1870-1941) 发现双生子在胚胎期有血液连通。如果双生子一雄、一雌，雌性出生长大后会出现不育现象，因为胎儿期间血液连通导致雄性的雄激素由血液进入雌性胎儿，后者受雄激素影响，以后不能生育，这种母牛称为 freemartin，造成农民的损失，如果早期发现，可以不养大这种以后不能生育的牛。

Lillie 对这一现象的解释，引起农民的孩子 Ray Owen (1915-2014) 读研究生之后进行了实验：如果双生的牛在胚胎时期血液连通，那么对免疫是否有影响。1945 年，在美国威斯康辛大学的 Owen 发表了 80 对牛双生子的血液抗原性的研究结果。他检测了 80 对双生牛的四十多种血液抗原，发现大部分双生牛的血液抗原完全一样 (Owen, 1945)。他推测不可能是因为它们都是基因几乎完全相

同的同卵双生，因为：1) 已知牛双生子同卵双生低于异卵双生的几率；2) 双生牛长大后，一只不能完全将自己的抗原传给后代，说明它本身的抗原性并非都是遗传因素造成；3) 在罕见的来自不同父亲、同一母亲的两只双生牛的情况下，它们还是抗原完全相同，这不可能是遗传所致；4) Owen 发现部分双生牛出生后含两种不同的红细胞。对这些结果的最简单解释是因为胚胎期间血液连通，双生牛有细胞交换，而不仅有 Lillie 提出的激素（分子）交换。交换的细胞可能有红细胞的胚胎前体细胞，这些细胞混入动物的血液发生系统后，可以在一生中不断产生新的红细胞。

Owen 提出其研究的一个应用：可以在早期通过检测血型抗原性知道双生牛是否有血液连通，如果有连通，其抗原就会完全一样，是 freemartin 而不用继续养。如果不一样则说明它们胎儿期间无连通血液，这种小母牛可以继续养。这种早期诊断 freemartins 的方法，可以为农民节省资源。Owen 回馈了类似自己父母的众多农民。

Owen 再观察到一对牛生的 5 胞胎，它们分别来自五个受精卵，但检测其血型 14 种抗原，发现完全一样，而且它们都拥有父母分别拥有的抗原 (Owen *et al.*, 1946)。Davis 加州大学的研究者在羊也观察到类似的结果 (Stormont, Weir and Lane, 1953)。

注意 Owen 研究的科学家不多。澳大利亚的科学家提出：Owen 的实验的重要意义在于，胚胎期间种植的外源细胞可以被宿主永远耐受 (Burnet and Fenner, 1949)。

澳大利亚免疫学家 Frank Macfarlane Burnet (1899-1985) 长期在位于墨尔本的 Walter and Eliza Hall 医学研究所工作。在总结 Owen 研究的意义时 (Burnet and Fenner, 1949)，他们还回顾了多个相关研究结果：大鼠肉瘤种植到成年鸡引起免疫反应，而种植到鸡胚不引起免疫反应 (Murphy, 1913)；白喉类毒素注射到鸡胚不引起免疫反应 (Grasset, 1929)；在兔 (Baumgartner, 1937) 和鸡 (Wolfe and Dilks, 1948) 都呈现越年幼的动物其免疫反应越低；接种到 12 天鸡胚的流感病毒，在第 14 天小鸡检测不到抗体，而在成年鸡接种可以引起抗体反应 (Burnet, 1941)。

我们还记得：Landsteiner 文章表 3 胎盘的红细胞血型就不容易定，他当时决定搁置不考虑胎盘结果 (Landsteiner, 1901)。而这也是动物年龄与免疫反应关系。

南非出生的英国生物学家 Peter Medawar (1915-1987) 和他的同事在研究双生牛的皮肤时发现，如果进行皮肤移植，不仅同卵双生的牛之间没有排斥反应，异卵双生的牛（即使其性别不同）之间皮肤移植也没有排斥反应，而兄弟姐妹之间皮肤移植有排斥反应 (Anderson *et al.*, 1951; Billingham *et al.*, 1952)。Medawar 等认为这与 Owen 的发现一致。他们认为不太可能是移植物的抗原变化而适应宿主，推测是宿主成年产生抗体的免疫系统对胚胎期见过的抗原不再反应。为此，他们进一步实验，发现“主动获得性免疫耐受”。他们较为详细地叙述其中一个实验 (Billingham, Brent, Medawar, 1953)。将来自一种小鼠 (A) 睾丸、肾脏、脾脏等器官组织的成年细胞注射到另一种 (CBA) 孕鼠的胚胎，5 只幼鼠出生 8 周后，将 A 皮肤移植到 CBA 鼠，再等 11 天后，2 只小鼠排斥移植皮肤，而三只小鼠对 A 的皮肤类似其对自己皮肤的移植，完全成功地接受了移植的皮肤。50 天后再移植 A 的皮肤，也完全没有免疫排斥。第 77 和 101 天，研究者从对 A 有强烈免疫性的 CBA 小鼠取得淋巴结，腹腔注射入胚胎期间接受过 A 皮肤移植的小鼠，移植的皮肤两三天内就脱落。接受过移植的 CBA 小鼠产生的后代对 A 皮肤仍然排斥。这一实验说明，移植皮肤的抗原性并未消失，也并非因胚胎期间注射的 A 细胞长期存活，在成年后竞争抗体。免疫耐受不能遗传给后代。

他们还有其他实验表明，主动获得性免疫耐受有抗原特异性，胚胎期注射 A 细胞的 CBA 鼠，对 A 的免疫反应降低，但对另一品种 (AU) 鼠来源的皮肤免疫反应不变。他们给 96 只出生后的新生小鼠注射外源抗原，难以引起免疫耐受。他们还用鸡做了实验，将 11 天的 Rhode Island Red 鸡胚的血细胞注射入同龄的 White Leghorn 鸡胚，孵出 14 天后，Rhode Island Red 的皮肤移植到 White Leghorn 的成功率也显著提高 (Billingham, Brent, Medawar, 1953)。他们后来用了更多种属的动物 (包括兔、大鼠和双胞胎的鸡)、样本量和统计实验来证明了主动获得性免疫耐受 (Billingham, Brent, Medawar, 1956)。Medawar 的基本结论，很快被其他研究者证明 (Simonsen, 1955, 1956, 1957; Hašek and Hřaba, 1955)。

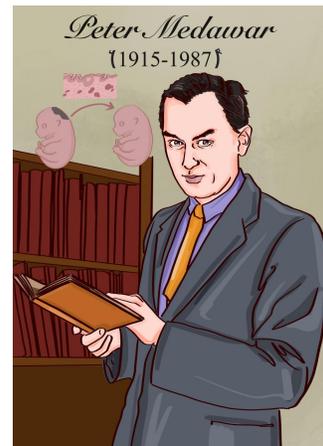


图 7-14 Medawar

1948年, Burnet 提出自我标记物假说 (self markers), 认为个体对自己的细胞不发生免疫反应的原因是每个细胞上都有少数几个自我标记物 (Burnet and Fenner, 1948), 但不清楚自我标记物与胚胎免疫耐受的关系 (Burnet and Fenner, 1949)。他对自我标记的想法持续到 1956 年 (Burnet, 1956)。免疫耐受可以有两种方法发生: 要么身体的抗原都被抗体产生机制所识别为自我, 要么所有外来抗原都被识别是异物 (Burnet, 1959)。Medawar 的主动获得性免疫耐受实验说明免疫系统不需要识别自我, 而只需要在胚胎时期沉默识别自我的免疫机制, 出生后新遇到的都是非我抗原。Burnet 后来也承认自我标记物理论是半神秘色彩的, 并且缺乏吸引力 (Burnet, 1959)。Burnet 在克隆选择学说中提出胚胎期间身体不同组分直接相互作用, 导致出生后不产生对身体可接触部分的抗体 (Burnet, 1957, 1959)。

免疫耐受还有更复杂和有趣的机理。宿主可以对移植物有免疫反应, 还有移植物对宿主的免疫反应。而主要组织相容性复合物 (Major histocompatibility complex, MHC) 的作用更是妙趣横生, 但不在本章范围。

7.7 结语

哺乳动物产生抗体的主力为 B 淋巴细胞, 在发育早期通过各种机制产生庞大的多样性, 在胚胎期间受到“驯化”, 凡是胚胎期接触频繁的已有抗原被认为是自身抗原, 识别自身抗原的新成熟 B 细胞在骨髓中被抑制或被诱导死亡, 剩下的细胞识别外来 (或体内以后异常而产生) 的抗原。这是产生免疫耐受的方式之一。

免疫与疾病有双重的密切关系。免疫过低导致罹患感染、增加癌症的可能, 免疫过强导致过敏反应和自身免疫性疾病。免疫学研究推动了相关疾病的诊断和治疗。

免疫学研究不仅加深了人类对于免疫学原理的理解, 也带来了超出免疫学应用的技术。放射免疫检测 (Radioimmunoassay, RIA) (Yalow and Berson, 1960) 和酶联免疫吸附检测 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) (Engvall and Perlmann, 1971) 用于定量检测微量分子。流式细胞检测 (flow cytometry)、也称荧光激活细胞分离器 (fluorescence-activated cell sorter, FACS) 可以根据表面抗原和其他差异化的分子标记而分离多种细胞。免疫学原理和技术有助于理解和治疗非免疫系统的疾病 (如癌症的诊断和治疗)。

注 1: 1901 年的诺贝尔生理或医学奖为什么只给了 von Behring 而不包括北里, 讨论的文章如: Kantha (1991)。第七章和第八章涉及的免疫学工作获诺奖的: Emil von Behring (1901)、Élie Metchnikoff (1903)、Paul Ehrlich (1909)、Jules Bordet (1919)、Karl Landsteiner (1930)、Frank Macfarlane Burnet (1960)、Peter Medawar (1960)、Rosalyn Yalow (1977)、Niels Jerne (1984)、Rodney Porter (1972)、Gerald Edelman (1972)、Susumu Tonegawa (1987)。微生物学家科霍 (Robert Koch) 因其研究病原菌而获奖 (1905), 分子生物学家 Joshua Lederberg 因研究细菌的遗传学而获奖 (1958), 分子生物学家 David Baltimore 因发现逆转录酶获奖 (1975), César Milstein 因发明单克隆抗体技术获奖 (1984), Oliver Smithies 后来因发明基因敲除技术获奖 (2007), 本庶佑后来因对肿瘤免疫的贡献获奖 (2018)。

注 2: 英国 Richard Lower 的输血实验, 1666 年由他的同学 Robert Boyle (1627-1691) 提交皇家学会, 并有 Boyle 的提问和建议 (Boyle, 1666)。他们都是“牛津实验哲学俱乐部”的成员。

注 3: 在博士论文中, Ehrlich 发现肥大细胞 (Ehrlich, 1878)。在 Charité 医院期间, 他通过染色发现了中性粒细胞、嗜酸性白细胞、嗜碱性白细胞 (Ehrlich, 1891a)。他还研究了贫血和白血病, 并参与主编《贫血》一书。因为 Ehrlich 在血液学的科学发现和技术发明, 科学史家称其为“血液学之父” (Wintrobe, 1985)。

注 4: Pfeiffer 现象有两方面意义, 其二是发现内毒素的起点。他发现加热之后的霍乱弧菌还有毒性, 所以提出细菌的细胞被破坏后, 释放了对热不敏感的毒素。

注 5: Landsteiner 当时有沉重的病理解剖任务, 1897 年至 1907 年他做过 3639 次。在这样的情况下, 他发表了 75 篇论文 (52 篇血液学、12 篇细菌学、11 篇病理解剖学)。他有多项科学发现, 除了血型之外, 他于 1909 年与 Erwin Popper 医生 (1879-1955) 发表他们对脊髓灰质炎的研究, 他们在 1908

年11月到12月的实验成功地将脊髓灰质炎从患者儿童引入猴，对发现脊髓灰质炎病毒起了很大作用。脊髓灰质炎不能感染小鼠、豚鼠、或兔子，但可以感染猴，并且发病类似人。Landsteiner的血型研究，始于1900年文章的注脚，其后他经常引用文章的页码是注脚出现的361页，而不是全文的页码。他移民美国后在洛克菲勒医学研究所工作，还发现了Rh血型(Landsteiner and Wiener, 1940)。

注6：在Belfanti and Carbone (1898)的基础上，Bordet (1899)和Ehrlich and Morgenroth (1900b)提出了补体(complement)的功能及其机理。Bordet称补体为alexin, Ehrlich曾称补体为addiment。抗体一个位点与红细胞结合，另一位点与补体结合。在本章所涉及的实验中，凝集反应无需补体，溶血反应需要补体。

注7：当时所谓凝集红细胞的凝集素，后来知道一般是IgM，人和鼠的IgM有五个亚基，可结合多个红细胞，从而造成凝集。

注8：英国医生、微生物学家Charles Todd (1869-1957)因为埃及出现每天死上千头牛的牛瘟而于1904年到开罗工作。1910年6月，他在皇家学会宣读论文(Todd and White, 1910a)，此后发表全文(Todd and White, 1910b)。他们的研究基于Ehrlich and Morgenroth (1900a)用豚鼠做的实验。Todd和White用106头牛的血清和红细胞在体外做研究。他们发现：与豚鼠一样，每头牛的血清不会对自己的红细胞发生溶血反应，而会溶解一些其他牛的红细胞。但如果事先将一头牛的血清用另外一头牛(A)的红细胞进行共育一小时，然后再检测这种血清，它不再溶A牛(和一些牛)的红细胞，但继续溶解其他一些牛的红细胞。他们称之为“耗竭”(exhaustion)。他们当时着重于牛的个体识别，而实际也给免疫耐受的理解埋下了伏笔。虽然免疫耐受是在细胞水平--而不是抗体分子水平--的去除。

参考文献

- Anderson D, Billingham RE, Lampkin GH and Medawar PB (1951) The use of skin grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle. *Heredity* 5:379-397.
- Baumgartner L (1937) Age and antibody production. III Quantitative studies on the precipitin reaction with antisera produced in young and adult rabbits. *Journal of Immunology* 33:477-488.
- Baxby D (1999) Edward Jenner's inquiry; a bicentenary analysis. *Vaccine* 17:301-307.
- Behring E and Kitasato S (1890) Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Tieren. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 16:1113-1114 (英译版 The mechanism of immunity in animals to diphtheria and tetanus).
- Behring E (1890) Untersuchungen über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität bei Thieren. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 16:1145-1147.
- Belfanti S and Carbone T (1898) Produzione di sostanze tossiche mmcl siero di animale inoculati con sangue eterogeneo. *Giornale della Reale Accademia di Medicina di Torino, Series 4*, 46: 321.
- Berek C and Milstein C (1987) Mutation drift and repertoire shift in the maturation of the immune response. *Immunological Reviews* 96:23-41.
- Bernard C (1859) Leçons Sur les Propriétés Physiologiques et les Altérations Pathologiques Des Liquide de L'organism 2:459-462, Cours de Médecine du Collège de France, J.-B. Baillièere et Fils, Libraires de L'Académie Impériale de Médecine, Paris.
- Bernstein F (1924) Ergebnisse einer Biostatistischen Zusammenfassenden Betrachtung über die erblichen Blutstrukturen des Menschen. *Klinische Wochenschrift Berlin* 3:1495-1497.
- Billingham RE, Lampkin GH, Medawar PB and Williams HLI (1952) Tolerance to homografts, twin diagnosis, and the freemartin condition in cattle. *Heredity* 6:201-212.
- Billingham RE, Brent L and Medawar PB (1953) "Actively acquired tolerance" of foreign cells. *Nature* 172:603-606.
- Billingham RE, Brent L and Medawar PB (1956) Quantitative studies on tissue transplantation immunity. III. Actively acquired tolerance. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 239:357-414.
- Bjørnebow M and Gormsen H (1943) Experimental studies on the role of plasma cells as antibody producers. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica* 20:649-662.
- Blundell J (1818) Experiments on the transfusion of blood by the syringe. *Medico-Chirurgical Transactions*

- 9:56-92.
- Blundell J (1819) Some account of a case of obstinate vomiting, in which an attempt was made to prolog life by the injection of blood into the veins. *Medico-Chirurgical Transactions* 10:296-311.
- Blundell J (1824) *Researches physiological and pathological; instituted principally with a view to the improvement of medical and surgicall practice*. London: E Cox and Son.
- Blundell J (1828) Lectures on the theory and practice of midwifery. *Lancet* 9:513-514.
- Blundell J (1829a) Successful case of transfusion. *Lancet* 11:413-432.
- Blundell J (1829b) Obversations on transfusion of blood—with a description of his gravitator. *Lancet* 12:321-324.
- Bordet J (1895) Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés. *Annales de l'Institut Pasteur* 9:462-506.
- Bordet J (1898) Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. *Annales de l'Institut Pasteur* 12:688-695, translated by Gay FP in Bordet J (1909) *Studies in Immunity*. New York (On the agglutination and dissolution of red blood cells by the serum of animals injected with difibrinated blood).
- Bordet J (1899) Le mechanism de l'agglutination. *Annales de l'Institut Pasteur, Paris*, 13:225-250, translated by Gay FP in Bordet J (1909) *Studies in Immunity*. New York.
- Boyle R (1666) Tryals proposed by Mr. Boyle to Dr. Lower, to be made by him, for the improvement of transfusing blood out of one live animal into another. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 1:385-388.
- Brent L (1997) The discovery of immunologic tolerance. *Human Immunology* 52:75-81.
- Burch PRJ and Burwell RG (1965) Self and not-self clonal induction approach to immunology. *Quarterly Review of Biology* 40:252-279.
- Burnet FM (1941) Growth of influenza virus in the allantoic cavity of the chick embryo. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Sciences* 19:291-295.
- Burnet FM (1956) *Enzyme, Antigen and Virus. A study of macromolecular pattern in action*. Cambridge University Press, London.
- Cooms RRA, Mourant AE and Race RR (1945) A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh agglutinins. *British Journal of Experimental Pathology* 26:255-266.
- Coons AH, Leduc EH and Connolly JM (1955) Studies on antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to study of the hyperimmune rabbit. *Journal of Experimental Medicine* 102:49-60.
- Creite A (1869) Versuche über die Wirkung des Serumeiweisses nach Injection in das Blut (Investigations concerning the properties of serum proteins following intravenous injection). *Zeitschrift für Rationelle Medicin* 36:90-108.
- Doubleday E (1825) Another successful case of transfusion. *Lancet* 5:111-112.
- Downie AW (1951) Jenner's cowpox inoculation. *British Medical Journal* 2:251-256.
- Dzik S (2018) James Blundell, obstetrical hemorrhage, and the origins of transfusion medicine. *Transfusion Medicine Reviews* 32:205-212.
- Ehrlich P (1885) *Das Sauerstoff-Bedürfniss des Organismus. Eine farbenana-lytische Studie*. Habilitation-thesis. Berlin: Hirschwald (Translated as the Requirement of the Organism for Oxygen. An analytical study with the aid of dyes. In *Collected Work of Paul Ehrlich*, pp. 433-496, edited by F Himmelweit, Volume 1, Histologie, Biochemie und Pathoogie. Pergamon Press, London, 1956).
- Ehrlich P (1891b) Experimentelle Untersuchungen über Immunität. II. Über Abrin. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 17:1218-1219.
- Ehrlich P (1892) Über Immunität durch Vererbung und Säugung. *Zeitschrift fuer Hygiene und Infektionskrankheiten, medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Virologie* 12:183-203.
- Ehrlich P, Kossel H, Wassermann (1894) Über Gewinnung und Verwendung des Diphterieheilserums. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 20:353-355.
- Engvall E and Perlmann P (1971) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8:871-874.
- Epstein AA and Ottenberg R (1908) Simple method of performing serum reactions. *Proceedings of the New York Pathology Society* 8:117-123.
- Felton LD (1928) The protective substance in antipneumococcus serum. 4. A separation of phosphorus and some inert protein from the water-insoluble precipitate of antipneumococcus serum. *Journal of Infectious Diseases* 42:248-255.

- Grasset E (1929) Publications of the South African Institute for Medical Research 4:171-190.
- Gruber M and Durham HE (1896) Eine neue Methode zur raschen Erkennung des Cholera vibrio und des Typhus bacillus. *Münchener medizinische Wochenschrift* 43: 285-286.
- Halban J (1900) Agglutinationsversuche mit mütterlichem und kindlichem Blute. *Wiener Klinische Wochenschrift* 24:545-548.
- Hašek M and Hraba T (1955) Immunological effects of experimental embryonal parabiosis. *Nature* 175:764-765.
- Harvey W (1628) Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus (An Anatomical Exercise on the Motion of the Heart and Blood in Living Beings).
- Hughes-Jones NC and Gardner B (2002) Red cell agglutination: the first description by Creite (1869) and further observations made by Landois (1875) and Landsteiner (1901). *British Journal of Haematology* 119:889-893.
- Jenner E (1798) An inquiry into the causes and effects of the Variolae Vaccinae, a disease, discovered in some of Western Countries of England particularly Gloucestershire and known by the name *The Cow Pox*. London: Sampson Low.
- Jenner E (1799) Further Observations on the Variolae Vaccinae or Cow Pox, London: Sampson Low.
- Kantha SS (1991) A centennial review; the 1890 tetanus antitoxin paper of von Behring and Kitasato and the related developments. *Keio Journal of Medicine* 40:35-39.
- Landois L (1875) Die Transfusion des Blutes (Blood Transfusion). Leipzig: Vogel.
- Landsteiner K (1900) Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten* 27:357-362. (Contribution to the knowledge of the antienzymatic, lytic and agglutinating effects of blood serum and lymph). The footnote was on page 361, which later Landsteiner papers referred to.
- Landsteiner K (1901) Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wiener Klinische Wochenschrift* 14:1132-1134.
- Landsteiner K (1936) The Specificity of Serological Reactions. Charles Thomas, Springfield, Illinois.
- Landsteiner K and Reich M (1905) Über Unterschiede zwischen normalen und durch Immunisierung entstandenen Stoffen des Blutserums. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde und Infektionskrankheiten* 39:712.
- Landsteiner K and Popper E (1909) Übertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen. *Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie* 2:377-390.
- Landsteiner K and Wiener AS (1937) On the presence of M agglutinogens in the blood of monkeys. *Journal of Immunology* 33:19-25.
- Landsteiner KS and Wiener AS (1940) An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 43:223.
- Landsteiner K and Wiener AS (1941) Studies on an agglutinogen (Rh) in human blood reacting with anti-Rhesus sera and with human isoantibodies. *Journal of Experimental Medicine* 74:309-320.
- Landsteiner K and Chase MW (1941) Studies on the sensitization of animals with simple chemical compounds. IX skin sensitization induced by injection of conjugates. *Journal of Experimental Medicine* 73:431-438.
- Learoyd P (2012a) The history of blood transfusion prior to the 20th century—part 1. *Transfusion Medicine* 22:308-314.
- Learoyd P (2012b) The history of blood transfusion prior to the 20th century—part 2. *Transfusion Medicine* 22:372-376.
- Levine P and Stetson RE (1939) An unusual case of intragroup agglutination. *Journal of the American Medical Association* 113:126-127.
- Lewinsohn R (1915) Blood transfusion by the citrate method. *Surgical Gynecology and Obstetrics* 21:37-47.
- Lillie FR (1916) The theory of the free-martin. *Science* 43:611-613.
- Lower R (1666a) The success of the experiment of transfusing the blood of one animal into another. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences* 1:352.
- Lower R (1666b) The method observed in transfusing the blood out of one animal into another. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences* 1:353-358.
- Lower R and King E (1667) An account of the experiment of transfusion, practised upon a man in London. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences* 2:557-559.

- Maluf NSR (1954) History of blood transfusion. *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences* 9:59-107.
- Maragliano (1892) Beiträge zur Pathologie des Blutes. *Verhandlung Des Congresses für Innere Medicin, Wiesbaden* 11:152-158.
- Metchnikoff E (1884) Über eine Sprosspilzkrankheit der Daphnien. Beiträge zur Lehre über den Kampf der Phagocyten gegen Krankheitserreger. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin* 96:177-195.
- Metchnikoff E (1891) *Lectures on the Comparative Pathology of Inflammation*. Translated by F. A. Starling and E. H. Starling, Reprinted by Dover, New York, 1968.
- Metchnikoff E (1895) Recherches sur la destruction extracellulaire des bactéries. *Annales de l'Institut Pasteur* 9:433-461.
- Metchnikoff I (1905) *Immunity in the Infectious Diseases*. Macmillan, New York.
- Mohandas N and Narla A (2005) Blood group antigens in health and disease. *Current Opinion in Hematology* 12:135-40.
- Moss WL (1910) Studies on isoagglutinins and isohemolysins. *Bulletin of Johns Hopkins Hospital* 21:63-70.
- Murphy JB (1913) Transplantability of tissues to the embryo of foreign species: its bearing on questions of tissue specificity and tumor immunity. *Journal of Experimental Medicine* 17:482-493.
- Ottenberg R (1911) Studies in Agglutination I. Transfusion and the question of intravascular hemolysis. *Journal of Experimental Medicine* 13:425-438.
- Owen RD (1945) Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* 102:400-401.
- Owen RD (1946) Erythrocyte mosaics among bovine twins and quadruplets. *Genetics* 31:227.
- Owen RD (1983) Ray David Owen (1915-2014) Interviewed by Rachel Prud'homme. Archives of California Institute of Technology, Pasadena, California (http://oralhistories.library.caltech.edu/123/1/Owen_OHO.pdf).
- Owen RD, Davis HP and Morgan RF (1946) Quintuplet calves and erythrocyte mosaicism. *Journal of Heredity* 37:291-297.
- Owen JJ, Cooper MD and Raff MC (1974) In vitro generation of B lymphocytes in mouse foetal liver, a mammalian "bursa equivalent". *Nature* 249:361-363.
- Pasteur L (1881) Address on the germ theory. *Lancet* 118:271-272.
- Peard PJ (2003) Benjamin Jesty: new light in the dawn of vaccination. *Lancet* 362:20-27.
- Pfeiffer R (1894) Die Differentialdiagnose der Vibrionen der Cholera asiatica mit Hilfe der Immunisierung. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Virologie* 19:75-100.
- Ponfick E (1875) Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Transfusion. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin* 62:273-335.
- Renwick JH and Lawler SD (1955) Genetic linkage between ABO and nail patella loci. *Annals of Human Genetics* 19:312-320.
- Riedel S (2005) Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. *Proceedings of Baylor University Medical Center* 18:21-25.
- Rous P (1947) Karl Landsteiner. *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society of London* 5:295-324.
- Roux FA, Sai P and Deschamps JY (2007) Xenotransfusions, past and present. *Xenotransplantation* 14:208-216.
- Rusnock AA (2016) Historical context and the roots of Jenner's discovery. *Human Vaccines and Immunotherapy* 12:2025-2028.
- Simonsen M (1955) Induced tolerance to heterologous cells and induced susceptibility to virus. *Nature* 175:763-764.
- Simonsen M (1956) Actively acquired tolerance to heterologous antigens. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica* 39:21-34.
- Simonsen M (1957) The impact on the developing embryo and newborn animal of adult homologous cells. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica* 40:480-500.
- Stormont C, Weir WC and Lane LL (1953) Erythrocyte mosaics in a pair of sheep twins. *Science* 118:695-696.
- Tauber AI (2003) Metchnikoff and the phagocytosis theory. *Nature Reviews Molecular and Cell Biology*

- 4:897-901.
- Todd C and White RG (1910a) On the recognition of the individual by haemolytic methods. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences* 82:416-421.
- Todd C and White RG (1910b) On the haemolytic immune isolysins of the ox and their relationship to the question of individuality and blood relationship. *Journal of Hygiene* 10:185-195.
- Traub E (1936) The epidemiology of lymphocytic choriomeningitis in white mice. *Journal of Experimental Medicine* 64:183-200.
- Traub E (1939) Epidemiology of lymphocytic choriomeningitis in a mouse stock observed for four years. *Journal of Experimental Medicine* 69:801-817.
- Van Weemen BK and Schuurs AHWM (1971) Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. *Federation of European Biochemical Societies Letts* 15:232-236.
- von Decastello A and Sturli A (1902) Über die Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen (Concerning isoagglutinins in serum of healthy and sick humans). *Münchener medizinische Wochenschrift* 49:1090-1095.
- von Dungern E and Hirszfeld L (1910) Über Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. *Zeitschrift für Immunforsch* 6:284-292.
- von Dungern E and Hirszfeld L (1911) Über gruppenspezifische Strukturen des Blutes III. *Zeitschrift für Immunforsch* 8:526-562.
- Waller C (1825) Case of uterine hemorrhage, successfully treated by the operation of transfusion. *London Medical and Physical Journal* 54:273-277.
- Wintrobe M (1985) *Hematology: The Blossoming of a Science*. Philadelphia, Lea and Febiger.
- Wolfe HR and Dilks E (1948) Precipitin production in chickens III. The variation in the antibody response as correlated with the age of the animal. *Journal of Immunology* 58:245-250.
- Yalow RS and Berson SA (1960) Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *Journal of Clinical Investigation* 39:1157-1175.

阅读

- Behring E and Kitasato S (1890). Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren. *Deutsche medizinische Wochenschrift* 16:1113-1114(英译版 The mechanism of immunity in animals to diphtheria and tetanus).
- Landsteiner K (1901) Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wiener Klinische Wochenschrift* 14:1132-1134(英译版 On the agglutination of normal human blood).