维普资讯 http://www.cqvip.com



文章编号：0253-3626(2001)01-0004-03

# 日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗免疫小鼠后IgG抗体反应的动态观察

李文桂[1]，石佑思[2]，韩家俊[2]

（1. 重庆医科大学临床学院传染病寄生虫病研究所　重庆　400016；2. 同济医科大学寄生虫学教研室　武汉　430030）

【摘　要】目的：检测日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗免疫小鼠不同时间后的IgG抗体。方法：将$10^6$CFU疫苗采用皮下和静脉注射分别免疫BABL/C鼠，分别于免疫后0、4、8、10、14和16周各剖杀4只，收集血清，常规ELISA法检测IgG抗体，同时设PBS皮下注射对照组。结果：皮下注射组和静脉注射组IgG抗体水平都于免疫后4周显著增加，免疫后10周达最高水平，并持续在较高水平至免疫后16周。疫苗免疫后10周静脉注射组的抗体水平显著高于皮下注射组。结论：日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗静脉注射免疫效果优于皮下注射。

【关键词】日本血吸虫；重组BCG-Sj26GST疫苗；IgG抗体

【中国图书分类法分类号】R383.2*4；R392.11　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2000-06-05

# Dynamic observation on IgG antibody elicited in mice immunized with recombinant BCG-Sj26GST vaccine of schistosome

*LI Wen-gui, et al*

(Institute for infectious and parasitic diseases, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University, 400016)

【Abstract】 *Objective*: To examine IgG antibody after BALB/C mice were immunized by recombinant BCG-Sj26GST vaccine of schistosoma japonicum at different time. *Methods*:4 mice immunized subcutaneously and intravenously by $10^6$ CFU vaccine respectively were killed to gather sera on 0、4、8、10、14 and 16w of immunization respectively. IgG antibody was detected by routine ELISA and PBS served as control. *Results*: IgG antibody increased remarkably on 4w, reached the highest level on 10w and lasted at a higher level in the end of 16w both in the subcutaneous and intravenous group; IgG antibody in the intravenous group was higher than that in the subcutaneous group on 10w of immunization. *Conclusion*: Intravenous injection is a better route than subcutaneous injection when recombinant BCG-Sj26GST vaccine of schistosoma japonicum is immunized.

【Key words】Schistosoma japonicum; Recombinant BCG-Sj26GST vaccine; IgG antibody

研究发现[1]日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗免疫BALB/C鼠，尾蚴攻击后减虫率为16.64%～27.34%，减卵率为55.75%～60.50%，虫卵肉芽肿显著缩小，抗Sj26GST抗原的IgG抗体明显升高，提示该疫苗可产生较好的保护性免疫反应。我们推测疫苗进入宿主体内繁殖和增殖，表达的Sj26GST抗原分子进入血液循环，宿主针对该抗原分子将产生特异性免疫应答。本文将该疫苗采用皮下和静脉注射两种途径免疫BALB/C鼠，观察免疫后不同时间血清中IgG抗体水平，从而为阐明疫苗的作用机制提供有意义资料。

## 1　材料和方法

### 1.1　材料

1.1.1　实验动物　为雌性12～14周龄的BALB/C鼠，购自湖北省医学科学院动物中心，每只体重20g左右，共72只。

1.1.2　日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗　由同济医科大学分子生物学教研室提供。

1.1.3　主要试剂　辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗小鼠IgG抗体购自华美生物工程公司，批号CMH6170，重组Sj26GST抗原由同济医科大学寄生虫学教研室保存。

### 1.2　方法

1.2.1　实验分组、疫苗注射部位、途径、剂量及次数　实验分三组，每组24只小鼠，第一、二组分别为$10^6$集落形成单位(Colony-forming unit，CFU)皮下(Subcutaneous，SC)和静脉(intravenous，IV)注射免疫组，第三组为PBS皮下注射对照

作者介绍：李文桂（1967-　），男，主治医师，博士

维普资讯 http://www.cqvip.com



组，$10^6$CFU疫苗悬浮于100μl PBS于小鼠后背部皮下或尾静脉行单次注射。

1.2.2 血清收集 疫苗免疫前，疫苗免疫后4、8、10、14和16周各剖杀4只小鼠，眼球取血，室温下静置12h，2000rpm，10min，分离血清，-20℃冰箱冻存待查。

1.2.3 常规ELISA法测IgG抗体 用200μl纯化的重组Sj26GST抗原(5μg/ml于PBS)包被酶标板，4℃过夜，弃去抗原溶液，用PBS-Tween20洗3次，加入100μl 1:40稀释的小鼠血清，37℃孵育30min，用PBS-Tween20洗3次，加入100μl 1:500稀释的HRP标记的羊抗小鼠IgG，37℃孵育30min，用PBS-Tween20洗3次，加入50μl过氧化物酶底物液，37℃孵育30min，用50μl 2M $H_2SO_4$终止反应，492nm处测光密度(optical density，OD)值。

## 2 结 果

### 2.1 PBS皮下注射对照组IgG水平

PBS免疫小鼠不同时间后检测抗体发现各周抗体水平无显著差别(P均大于0.05；表1和图1)。

### 2.2 疫苗皮下注射免疫组IgG水平

IgG抗体水平从免疫后4周开始升高，至免疫后10周 达最高水平，并持续较高水平至免疫后16周。统计学分析发现4、8、10和16周抗体水平分别与0周相比均有极显著差别（$t$值分别为9.18，7.85，13.82，26.5，12.19，$P<0.01$）；10，14和16周 抗体水平分别与4周相比也有极显著差别（$t$值分别为 4.52，7.35，5.27，$P<0.01$）；10周与8周相比抗体水平有显著差别（$t$值为3.53，$P<0.05$），14周 和16周抗体水平与8周相比有极显著差别（$t$值分别为5.39，4.50，$P<0.01$；见表1及图1）。

### 2.3 疫苗静脉注射免疫组IgG水平

IgG抗体水平也从免疫后4周开始升高，至免疫后10周达最高水平，并持续较高水平至免疫后16周，统计学分析发现4，8，10，14和16周抗体水平分别与0周相比有极显著差别（$t$值分别为10.87，13.10，18.95，15.36，20.76，$P<0.01$）；10，14和16周抗体水平与4周相比也有极显著差别（$t$值分别为7.87，6.17，9.36，$P<0.01$）；10，14和16周与8周相比，抗体水平有极显著差别（$t$值分别为 7.87，6.17，9.36，$P<0.01$）；10，14和16周与8周相比，抗体水平有极显著差别（$t$值分别为8.80，6.43，10.64，$P<0.01$；表1及图1）。

### 2.4 同一时间点比较

疫苗免疫后4，8，14和16周，静脉注射组和皮下注射组的抗体水平无明显差别，但在疫苗免疫后10周静脉注射组的抗体水平显著高于皮注射组，统计学分析发现抗体水平有显著差别($t$值为3.35，$P<0.05$)。

**表1 日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗免疫BALB/C鼠后IgG抗体动态观察**

| 检测时间（周） | 血清平均OD值 | | |
|---|---|---|---|
| | 皮下注射 | 静脉注射 | PBS对照 |
| 0 | 0.111±0.021 | 0.110±0.027 | 0.112±0.025 |
| 4 | 0.261±0.031* | 0.298±0.027* | 0.115±0.030 |
| 8 | 0.271±0.044* | 0.306±0.015* | 0.113±0.028 |
| 10 | 0.376±0.040* | 0.462±0.032* | 0.114±0.026 |
| 14 | 0.405±0.024* | 0.464±0.047* | 0.115±0.027 |
| 16 | 0.452±0.065* | 0.489±0.031* | 0.116±0.020 |

*与0周相比 $P<0.01$

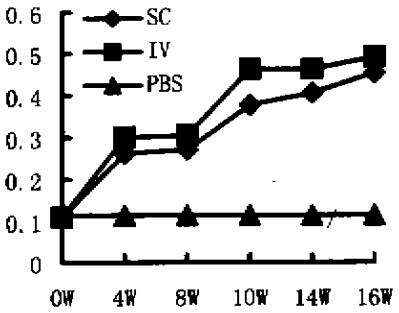



**图1 日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗免疫后小鼠血清IgG平均OD值动态观察**

## 3 讨 论

日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗经各种途径进入宿主体内，被单核巨噬细胞吞噬，并在其中复制，表达的重组Sj26GST抗原分子分泌或释放到吞噬体内，经APC摄取处理后，形成的抗原肽-MHC Ⅱ类分子或抗原肽-MHC Ⅰ类分子复合物被高尔基体运送至APC表面，分别供$CD^4$+和 $CD^8$+T细胞的TCR识别，除了TCR外，许多CD分子和粘附分子也参与抗原提呈和信息传递过程，T细胞活化后增殖分化形成效应性Th细胞，其中Th1分泌IL-2和IFN-γ，介导细胞免疫应答，同时促进IgG2a合成；Th2分泌IL-4，IL-5和IL-10等，在抗体产生中发挥作用，同时促进IgG1，IgE和IgA抗体的合成。B细胞

维普资讯 http://www.cqvip.com



活化后增殖分化形成浆细胞，合成并分泌Ig，参与体内的免疫应答[2]。Young等[3]将曼氏血吸虫重组BCG-Sm97疫苗免疫小鼠后，发现分离血清与Sm97抗原或8周后成虫抽提物反应良好，Kremer等[4]将曼氏血吸虫重组BCG-Sm28GST疫苗单次分别采用皮下、静脉、腹腔和鼻腔粘膜免疫接种BALB/C鼠，观察到明显的抗Sm28GST抗体反应，作者等[1]发现日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗免疫BALB/C鼠8周后血清中IgG抗体水平明显升高，这些资料表明血吸虫重组BCG疫苗能诱导宿主产生特异性IgG抗体反应。

吴志良等[5]用五种日本血吸虫抗原动态观察感染鼠血清特异性IgG抗体反应，发现感染小鼠的IgG反应对可溶性虫卵抗原(SEA)、尿素溶解性虫卵抗原(JEU)和尿素溶解性成虫抗原(JWU)这三种抗原的反应最强，感染后6周急剧上升，第7周达到高峰，并持续在较高水平至观察结束的第16周。Kremer等[4]用曼氏血吸虫重组BCG-Sm28GST疫苗免疫BALB/C鼠发现抗Sm28GST的IgG抗体水平，皮下注射组从免疫后8周开始升高(1:40)，免疫后47周达最高水平(1:320)，并持续较高水平至免疫后58周(1:160)；静脉注射组也从免疫后8周开始升高(1:320)，免疫后10周达最高水平(1:5120)，并持续至免疫后24周，随后降低，免疫后24周和32周抗体滴度为1:256，表明重组BCG-Sm28GST疫苗静脉注射产生IgG水平高于皮下注射，本文显示日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗皮下和静脉注射免疫BALB/C鼠，免疫后4周IgG抗体水平显著升高，免疫后10周达最高水平，并持续较高水平至观察结束的16周，在疫苗免疫后10周静脉注射组的抗体水平显著高于皮下注射组，提示该疫苗能诱导宿主产生高水平的IgG抗体，静脉注射可产生较强的体液免疫应答，这与Kremer报道的结果相类似。

Lagranderie等[6]将表达B-半乳糖苷酶的重组BCG-LacZ疫苗采用口服、呼吸道吸入及皮内注射分别接种豚鼠，在免疫后2周和4周发现口服途径在肠系膜淋巴结中疫苗数目显著低于呼吸道和皮内途径的肺门和腹股沟淋巴结处的数目，而呼吸道和口服途径在脾脏中检出的疫苗数目大致相似；在免疫后8和16周皮内途径在淋巴结中检出的疫苗数目低于口服和呼吸道途径，表明呼吸道吸入途径可增加动物体内疫苗生存数目，增强$\beta$-半乳糖苷酶表达，因而产生较强的免疫应答。Kremer等[4]将重组BCG-Sm28GST疫苗采用腹腔注射、鼻腔粘膜单次接种BALB/C鼠分析疫苗在肝脾中的存活数目，在免疫后2周发现腹腔接种鼠中肝脾中有$5\times10^4$CFU活疫苗，而鼻腔接种鼠肝脾中有$5\times10^5$CFU活疫苗，表明鼻腔接种鼠活疫苗数目多于腹腔注射组，在免疫后8周，两个接种组肝脾中活疫苗数目下降，在随后4周维持一个稳定水平，免疫后16周肝脾中活疫苗消失。我们结合本文推测静脉注射可使疫苗进入动物体内数目多，疫苗在各个器官中存活数量大，表达的Sj26GST抗原分子多，诱导的特异性IgG抗体水平高，因而日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗静脉注射效果优于皮下注射，这需要进一步用实验证实，从而为我们的下一步工作开辟了新途径。

## 参 考 文 献

[1] 李文桂，石佑恩，汪燕鸣，等．血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗接种后保护力的观察[J]．同济医科大学学报，1999;28(1):13-16.

[2] 李文桂，石佑恩．血吸虫重组BCG疫苗研究进展[J]．国外医学寄生虫病分册，1998;25(3):101-106.

[3] Cherfas J．New hope for vaccine against schistosomiasis[J]. Science,1991;251:630-631.

[4] Kremer L,Riveau G,Baulard A,et al.Neutralizing antibody responses elicited in mice immunized with recombinant Bacillus calmette-Guerin producing the schistosoma mansoni Glutathione-s-transferase[J].J Immunol,1996;156:4309-4317.

[5] 吴志良，陈茂荣，叶爱民，等．日本血吸虫感染后IgG和IgM抗体反应动态观察[J]．中国血吸虫病防治杂志，1994;6(1):20-23.

[6] Lagranderie M, Murray A, Gicquel B, et al. Oral immunization with recombinant BCG induces cellular and humoral immune responses against the foreign antigen[J]. Vaccine, 1993;11(13):1283-1290.