维普资讯 http://www.cqvip.com

新生儿B细胞CD40表达与CD40单抗诱导的B细胞功能

儿童医院内科 陈 实* 吴仕孝 李成荣 杨锡强

提 要 采用流式细胞术检测新生儿B细胞(BL)CD40表达的同时以CD40单抗取代T辅助细胞(TH)CD40配体(CD40L)作用，观察其诱导的体外BL增殖及免疫球蛋白(Ig)产生能力。结果发现新生儿BLCD40表达水平与成人接近，CD40单抗可使新生儿低下的BL增殖，Ig产生及类别转换能力明显增高。本文提示新生儿BL功能低下并非BL内在缺陷所致，TH表达的CD40L或细胞因子(CK)不足可能在其中起重要作用。

关键词 B细胞；CD40；CD40单抗；免疫球蛋白；新生儿
中图分类号 R392.1

TH调节BL功能的重要途径之一是表达CD40L并与BLCD40交联，通过CD40分子构型变化触发BL活化、Ig合成与类别转换[1-8]。本文首次在新生儿中检测BLCD40表达水平，以CD40单抗取代CD40L作用，观察该单抗诱导的BL功能，间接了解THCD40水平及其对BL功能的影响，探讨新生儿抗体反应低下的机理。

1 对象和方法

1.1 研究对象

1.1.1 健康新生儿18名为研究对象，顺产，平均胎龄38±4周，平均产重3.25千克，男性10例，女性8例，其母孕期内健康，无血制品及免疫增强剂或抑制剂使用史。

1.1.2 健康成人对照20例，平均年龄31岁，男性11例，女性9例。无近期感染史及血制品与免疫增强或抑制剂使用史。

采集肝素化新生儿脐血及成人外周血备测。

1.2 实验方法

1.2.1 BL增殖反应 按^{3}H－TdR掺入法常规操作，以葡萄球菌蛋白(SAC，Sigma，USA，终浓度0.05%)为丝裂原，以增殖指数PI表示BL增殖能力。

1.2.2 BL培养上清液Ig测定 按我院免疫室建立的ELISA法测检测由SAC/鼠抗人CD40单抗(Hutch－inson Cancer Research Center，USA，005mg/ml)诱导的BL培养上清液中IgG、IgA、IgM水平。

1.2.3 BL的分离与纯化：以AET致敏绵羊红细胞采用Denis法分离纯化BL[4]，经TL表型鉴定，E花环阴性细胞中CD_5^+细胞小于6%。

1.2.4 流式细胞术检测BLCD40表达 分离纯化的BL以乙醇固定备测。洗涤后以钢丝网滤过细胞，加入CD40单抗(200μg/ml)，4℃孵育后洗涤，加入FITC一羊抗鼠IgG荧光抗体(军事医科院微生物流行病研究所，1:10)，4℃孵育后以未加单抗及荧光抗体的BL为空白对照，流式细胞仪(FACS Becton Dickenson，USA)计数每1万个细胞中CD_{40}^+细胞数。

1.3 统计学分析

结果以OXSTAT－Ⅱ统计软件进行贮存，转换及运算。统计方法包括W正态检验，F方差齐性分析及t检验。

2 结果

2.1 BL增殖反应

18例新生儿SAC诱导的BL增殖能力明显低于成人(PI分别为1.66±0.53，4.71±1.00，t=12.1012，P<0.001)，加入CD40单抗后，新生儿PI(2.18±0.40)增高虽未达到成人水平(5.11±0.95)，但增高幅度(1.3)倍)超过成人(1.06倍)。

2.2 BL体外Ig产生(表)

与成人比较，18例新生儿SAC诱导的BLIg产生水平明显低下加入CD40单抗后，BLIg产生明显增高，虽未达成人水平，但增高幅度超过成人。

2.3 BLCD40表达

10例新生儿每1万个纯化BL中$CD40^+$细胞百分率(90.83±9.77)与成人(95.54±3.28)无显著性差别(t=0.098，P>0.05)。

3 讨论

* 男，1959－05出生，副教授，博士研究生，现在深圳市南山人民医院儿科

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 SAC/CD40MAb诱导的B细胞体外Ig产生(ng/ml, $\bar{x}\pm s$)

分 组	诱导物	IgG	IgM	IgA
新生儿	SAC	123±63	670±154	52±21
(18例)	SAC/CD40mAb	148±60	739±147	6.7±26
	t	4.5858	4.7725	7.5275
成人	SAC	1347±287	1251±239	309±47
(20)例	SAC/CD40mAb	1441±252	1347±213	354±57
	t	19.0438	7.7922	7.1350

P值均<0.01

本组资料显示，新生儿BL增殖反应能力明显低于成人，产生的Ig以IgM为主，而IgG及IgA水平低下，存在Ig类别转换受阻。IgM为低亲合力多反应性抗体，在抗感染免疫中缺乏有效的保护作用是新生儿对多种病原体易感的重要原因之一[5]。新生儿低抗体反应的机理目前仍不十分清楚。已知TH可通过表达某些表面分子或分泌某些ck与BL相互作用，诱导和调节Ig的合成，其主要过程包括:TH首先表达CD4、抗原受体(TCR)及LFA－1等表面分子，与BL表面的MHC－Ⅱ类分子及ICAM－1作用后，诱导TH表达CD40L，该配体可直接与BL表达的CD40分子交联，通过CD40构型的改变启动BL表达B7－1/B7－2，后者与TH表面的CT28/CDLA－4结合后，触发TH分泌IL－4，当IL－4与BL的IL－4受体结合后，即可引出BL的多种生物学活性[6]。目前认为CD40L/CD40交联式调节是影响Ig合成的中心环节，此调节过程受阻，必然引起Ig产生不足。自文献报导一些伴有高IgM血症的免疫缺陷患者存在TLCD40L表达障碍以来，CD40L/CD40对BL功能的影响已引起广泛关注[7]。尽管已有资料证实新生儿的低抗体反应与TL分泌的CK不足有关，但是否存在CD40L/CD40调节低下，国内外尚无报导。本组结果表明，新生儿BLCD40表达水平与成人一致，提示新生儿BL功能低下并非BL内在缺陷所致。以CD40单抗取代CD40L作用，发现新生儿BL增殖及Ig合成明显增高，出现较多IgA及IgG的合成，尽管尚未及成人水平，但增高程度超过成人，间接提示新生儿THCD40L水平可能不足。因而我们推测，THCD40L不足可能是新生儿低抗体反应的重要原因之一。

参 考 文 献

1.Zhang K, Clark EA, Saxon A, et al. CD40 stimulation provides an IFN－r independent and IL－4 dependent differentiation signal directly to human B cell for IgE production. J Immunol 1991;146:1836

2.Gascan H, Ganchat JF, Aversa G, et al: Anti CD40 monoclonal antibody or $CD4^+$ T cell clones and IL－4 induce IgG4 and IgE switching in purified B cells via different signal pathways. J Immunol 1991;147:8

3.Randolph JN, Jeffery AC, Aleiandro A, et al:CD40 and its ligand, an essential ligand receptor pair of thymus dependent Bcell activation. Immunol Today 1992;13:431

4.Denis R: Isolation of human T and B lymphocytes by E－rosette gradient cenfrifugation characterization of the isolated population. J Immunol Methods. 1980;33;333

5.Watson W, Oen K, Ramdahin R, et al:Immunoglobulin and cytokine production by neonatal lymphocytes. Clin Exp Immunol 1991;83:169

6.Fiona HD, Teresa MF, Sally RM, et al:The role of CD40 in the regulation of humoral and cell－medicated immunity. Immun Today 1994;15:406

7.Ulfk, Daniel G, Hans WM, et al: Defective expression of T cell CD40 ligand cause X－linked immunodeficiency with hyper－IgM. Nature 1993; 361:539

(收稿日期 1997－08－28)

维普资讯 http://www.cqvip.com

Expression of CD40 on neonatal B lymphocytes adn function of B lymphocytes induced with CD40 McAb

Chen shi, et al
College of Pediatrics

Expression of CD40 on neonatal B lymphocytes (BL) were investigated with flow cytometry. Meanwhile proliferation and production in vitro of immunoglolulin (Ig)were also observed through using CD40 McAb to CD40 ligand (CD40L) on TH cells.The results showed that expression of CD40 on BL in neonates was almost identical to that in adults. Lowered proliferation and Ig production were significantly increased when neonatal BL were stimulated with Sac plus CD40 McAb.The results suggested that the dysfunction of neonatal BL is not caused by the expression of CD40.Lacking of CD40L or cytokines produced by TH cells may play an important role in the nathogenesis of the inability of antibody response in neonates.

KEY WORDS Newborns; CD40; CD40 ligand; Lmmunoglobulins

166-168

(18)

PCR用于尖锐湿疣诊断的价值

R752.530.4

临床学院泌尿外科 王德林*
尿外科 何士元 乔天恩
第二临床学院泌
妇产科 顾美礼

提 要 用人乳头瘤病毒基因L_1区通用引物(MY11/MY09)进行聚合酶链反应，检测50例尖锐湿疣新鲜组织，其中含3例病变不典型病理活组织检查不能确诊者。HPV.DNA阳性率100%HPV－6、11、16、18型分别为36%，70%，14%，8%。结果显示:(1)PCR检测HPV具有灵敏、特异、简单快速等优点，可有助于不典型尖锐湿疣患者的诊断，(2)MY11/MY09在筛选HPV感染时是较理想的引物，(3)尖锐湿疣组织中以HPV6、11为最常见型别。

关键词 聚合酶链反应; 人乳头瘤病毒; 尖锐湿疣
中图分类号 R752.53

尖锐湿疣是由人乳头瘤病毒(human papillomavirus,HPV)所致的性传播疾病，检测HPV的存在是诊断此病的辅助手段。过去检测HPV常采用核酸杂交和免疫组化等技术，都存在不同程度的局限性。本文采用通用引物介导的聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)检测湿疣组织中的HPV.DNA，并以其产物进行杂交，鉴别其类型，以探讨PCR对湿疣的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 组织标本

尖锐湿疣活检组织50例，其中包括表现不典型病检不

*男,1968－09出生，讲师