维普资讯 http://www.cqvip.com

第20卷 第1期 重庆医科大学学报 Vol. 20 No. 1
1995 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1995

论 著

小儿单纯性肾病IgG亚类及BCGF、BCDF、IL－6活性观察

儿童医院 林瑞春 沈 锦 杨锡强 李成荣

提 要 测定INS患儿T、B细胞增殖功能，血清IgG亚类，PWM诱导的体外IgG亚类产生及BCGF、BCDF、IL－6活性。结果显示INS发作期儿童T、B细胞增殖功能低下；血清及体外产生IgG1、IgG2及IgG4低下，IgG3和IgM正常；BCGF活性降低与B细胞增殖功能低下呈直线正相关；BCDF及IL－6活性降低与体外IgG产生低下呈直线正相关。结果提示INS可能存在Ig类别转换障碍致低IgG血症。T细胞及其分泌的淋巴因子异常可能在其中起重要作用

关键词 INS；IgG亚类；BCGF；BCDF；IL－6
中图分类号 R446.63

单纯性肾病（INS）为小儿常见肾脏疾病。本病低IgG血症发生机理不清。活性升高的抑性T细胞（Ts）抑制IgM向IgG及其亚类转换可能为其原因之一[1]。我们观察INS儿童淋巴细胞增殖功能，美洲商陆（PWM）诱导的体外IgG及其亚类产生，B细胞生长因子（BCGF）、B细胞分化因子（BCDF）和白细胞介素6（IL－6）以进一步探讨INS低IgG血症的可能机理。

研究对象及实验方法

1、研究对象

（1）病儿来源及分组：39例均为我院住院或出院后在肾脏病专科门诊随访的INS患儿，按1981年全国儿科肾脏病协作组制定的肾小球疾病分类标准诊断[2]。

A组：发作期21例，初发9例，复发12例。男：女为4.25：1。年龄2－9岁（平均5）。采血前4周内无血液制剂、糖皮质激素、免疫抑制或增强剂治疗史。

B组：激素治疗期6例。男：女为5：1。年龄3－7岁（平均6岁）。采血时为激素疗程4－5周，均达临床缓解。

C组：缓解期12例。男：女3：1。年龄5－12岁（平均12岁）。临床缓解并停药1.5－9年（平均4.2年）。采血前2周内无感染及用药史。

肝素抗凝外周静脉血血浆置－20℃冰箱备测。

2、实验方法

1. 血清IgG、IgA、IgM测定采用多克隆抗体单向免疫扩散法。

维普资讯 http://www.cqvip.com

(2)淋巴细胞增殖功能 采用 ^3H－TdR 掺入法，外周血单个核细胞（PBMC）分别用 PHA（终浓度 25μg／ml）和葡萄球菌 Cowan－I（SAC，终浓度 0.005%）刺激，结果以淋巴细胞增殖指数（PI）表示：

$$PI = \frac{PHA或SAC三孔测定CPM均值 - 本底}{未加PHA或SAC三孔测定CPM均值 - 本底}$$

(3) PWM 诱导 Ig 及 IgG 亚类产生 按常规方法进行。PWM 终浓度为 3μg／ml。

(4) IgG 亚类测定 采用本室根据 Papadea 略加修改建立的 ELISA 法[3]。

(5)T 细胞上清液（Tsup）制备 PBMC 以 PHA 刺激（终浓度 100μg／ml），48 小时收集 Tsup。

(6) B 细胞的分离与纯化 用二次 AET－玫瑰花结法分离纯化 B 细胞。

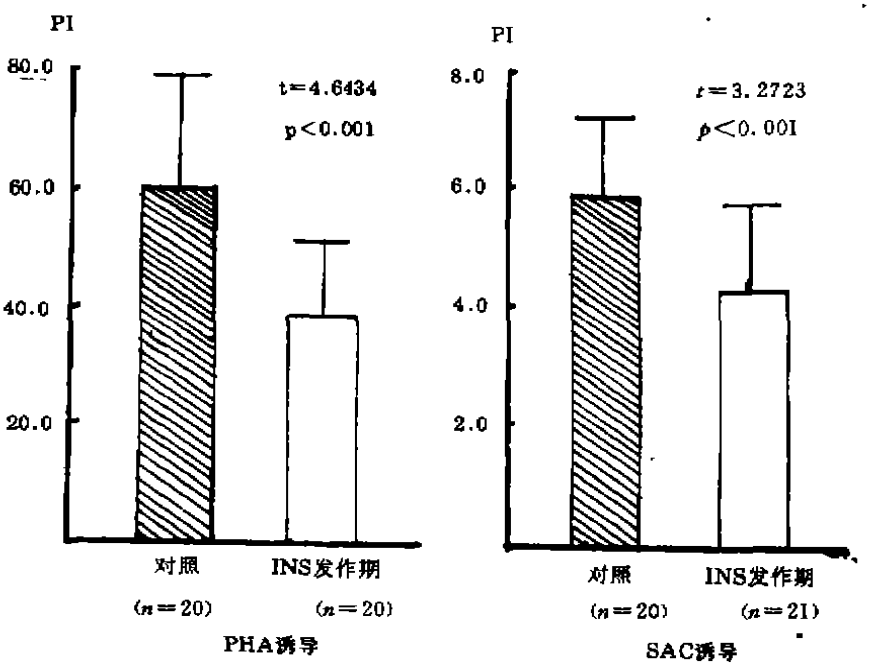
(7)BCGF 测定 按 Peest 法改良[4]。正常成人 B 细胞为靶细胞加入抗 μ 抗体（25μg／ml）和 20%待测 Tsup，用 ^3H－TdR 掺入法以表示 BCGF 活性。

(8)BCDF 测定 采用 Saiki 法[5]。B 细胞为靶细胞，0.001%SAC 活化培养 72 小时，洗涤后加 20%待测 Tsup，4 天后收集上清液，ELISA 法测定 IgM 含量以表示 BCDF 活性。

(9)IL－6 测定 采用 Muraguchi 法[6]。收获生长旺盛的 CESS 细胞，调细胞浓度至 1×10^5／ml，加入待测 Tsup，2 天后收集上清液，ELISA 法测定 IgG 含量以表示 IL－6 活性。

结 果

1. T、B 细胞增殖功能（如图） 与健康对照比较，INS 发作期儿童 T、B 细胞增殖功能均明显低下（$P<0.001$）。



附图 T、B 细胞增殖反应

2. BCGF、BCDF 及 IL－6 活性（表 1） INS 发作期儿童 BCGF、BCDF 及 IL－6 活性显著低于健康对照（$P<0.05$）；激素治疗

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 BCGF、BCDF 及 IL－6 活性($\bar{x}\pm s$)

淋巴因子	对照组	A 组	t 值	B 组	t 值	C 组	t 值
BCGF	5.93±1.80	4.66±1.70	2.2778*	5.20±0.86	1.4204	5.30±1.16	1.0954
(PI)	n=20	n=17		n=6		n=12	
BCDF	17.66±6.70	4.98±1.92	7.3096*	—	—	14.46±4.14	1.5812
(IgM, ng/ml)	n=17	n=10				n=11	
IL－6	112.72±35.86	55.05±20.96	6.9990*	107.19±28.96	0.4097	98.45±28.02	1.3523
(IgG, ng/ml)	n=28	n=20		n=6		n=12	

注：*P<0.05

期及缓解期儿童均在正常范围。

3. 体外 Ig 及 IgG 亚类产生(表 2)：与正常对照比较，INS 发作期儿童 IgG1、IgG2 及 IgG4 显著降低(P<0.001)，IgM 与 IgG3 水平正常(P>0.005)。9/12 例体外 IgG 亚类产生缺陷，其中 8 例 IgG1 及 IgG2 缺陷，6 例 IgG4 缺陷，仅 3 例 IgG3 缺陷。

表 2. PWM 诱导体外 IgM、IgG 及其亚类产生($\bar{x}+s$, ng/ml)

组 别	IgG	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM
发作期儿童	1213±574	891±571	677±379	306±117	17.93±6.78	1301±559
n=20						
对 照 组	2237±905	2172±733	1630±718	250±79	41.70±13.90	1285±344
n=21						
t 值	4.3651	7.3538	4.9870	1.4767	6.5847	0.0633
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	>0.05	<0.001	>0.05

4. 血清 Ig 及 IgG 亚类(表 3)：与正常对照比较，INS 发作期儿童血清 IgG 明显降低(P<0.001)，IgA、IgM 无明显变化(P>0.05)；IgG1、IgG2 及 IgG4 显著降低(P<0.01)，IgG3 无明显变化(P>0.05)。

表 3 INS 发作期儿童血清 Ig 及 IgG 亚类水平($\bar{x}\pm s$, g/L)

	2 岁组		3－5 岁组	
	n=4	t 值	n=14	t 值
IgG1	1895±216	10.4394***	2132±451	4.7162***
IgG2	940±133	6.1050**	955±174	8.3405***
IgG3	390±70	0.2857	404±193	0.8601
IgG4	93±26	5.2693**	93±24	8.8750***
IgG	2959±874	6.0892**	3146±1032	12.9942***
IgA	438±68	1.5294	770±340	0.1951
IgM	803±340	0.9270	986±380	1.9579

系与我院建立的同龄正常儿童$\bar{x}-1.96s$比较[3]

**P<0.01, ***P<0.001

维普资讯 http://www.cqvip.com

5. 淋巴因子与血清及体外产生 IgG 的关系：

INS 发作期儿童 BCDF 与血清及体外产生 IgG1 呈直线正相关（$r_1=0.64$，$r_2=0.74$，P 均<0.05）；IL－6 活性与血清及体外产生的 IgG 呈直线正相关（$r_1=0.68$，$r_2=0.84$，P 均<0.05）。

讨　论

INS 发作期儿童低 IgG 血症的产生机制尚未完全清楚。已知本病低 IgG 血症与尿 IgG 排出量无关，难以用 IgG 从尿中丢失解释。Chen 及 Giangiacomo 等提出本病可能存在抑制 IgG 合成的特异性 Ts 胞活性增高，抑制 IgM 向 IgG 转换致血清 IgG 低下[1]。本组血清及体外产生 IgM 正常，IgG 低下，其中 IgG1、IgG2 及 IgG4 明显降低，而 IgG3 则在正常范围，且血清 IgG3 构成比相对增高。按 Ig 重链稳定区基因顺序，r_3 紧靠 5′端，而 r_1、r_2 和 r_4 均在其后，较接近 3′端，我们推测本病发作期患儿低 IgG 血症可能为沿 CH 基因 5′－3′顺序的转换受抑所致，其障碍似乎突出在 r_3(IgG3) 后的组分。

Ig 同种型转换 (isotype switch) 的调节机理还不完全清楚。涉及到 B 细胞功能，T 细胞功能及其分泌的淋巴因子是否正常。我们曾报导 INS 患儿外周血 Ts 细胞功能亢进[7]，本组 INS 发作期儿童 PHA 诱导的淋巴细胞增殖功能低下，可能亦为 Ts 亢进的结果，其受抑制的细胞株可能主要与 T_H 细胞。T_H 细胞通过分泌多种淋巴因子调节免疫应答。各种淋巴因子在 B 细胞活化、表达 Ig 同种型过程中的作用涉及 B 细胞发育的不同阶段。文献报导小鼠 IL－4 能选择性增强 IgG1 和 IgE 的产生，IL－5 选择性促进 IgA 表达，IL－6 促进 B 细胞分化产生 IgG[8]。本文首次发现 INS 患儿 IL－6、BCGF 及 BCDF 活性显著降低。此外 INS 发作期儿童 B 细胞增殖功能低下程度与 BCGF 活性降低呈直线正相关，说明 B 细胞增殖功能低下可能是 BCGF 活性降低所致。IgG 及其亚类体外合成减少与 IL－6、BCDF 活性降低亦呈直线正相关，表明 Ig 合成及转换障碍是上述淋巴因子活性降低的结果。我们推测 INS 患儿 Ts 活性增高抑制了某些 T_H 细胞克隆，使相应淋巴因子活性降低从而抑制 B 细胞增殖、分化以致 Ig 类别及亚类转换障碍，此可能为 INS 伴低 IgG 血症的重要原因。

参 考 文 献

1. Giangicomo J. et al. N Engl J Med 1975.13：8
2. 姜新猷，等整理. 中华儿科杂志 1981；19(4)：241
3. 蒋利平，等. 上海免疫学杂志 1990；10：159
4. Peest D. et al. Clin Exp Immunol 1989：75.252
5. Saiki O. et al. J Immunol 1981：127：1044
6. Muraguchi A. et al. J Exp Med 1988：167：332
7. 欧阳颖，等. 上海免疫学杂志 1989；9：105
8. 李成荣，等. 中华儿科杂志 1991；29(2)：54

（收稿日期 1994－05－07）

维普资讯 http://www.cqvip.com

OBSERVATION OF IGG SUBCLASS PROUCTIONS, ACTIVTIES OF BCGF, BCDF AND IL－6 IN CHILDREN WITH IDIOPATHIC NEPHROTIC SYNDROME

Lin Reichun, et al
Children's Hospital

T cell (18) and B cell (21) proliferation, levels of IgM, IgG and IgG subclasses both induced by PWM in Vitro (20) and in serum (18), activities of B cell growth factors (BCGF, 35), B cell differenciation factors (BCDF, 25) and interleukin－6 (IL－6, 39) were measured in children with idiopathic nephrotic syndrome (INS). The results showed that comparing with normal controls, the levels of IgG, IgG1, IgG2 and IgG4 were significantly decreased both in vitro and in serum in patients, but not with IgG3 and IgM. There were a predominant inhibitions of T and B cell proliferation function as well as deficient activities of BCGF, BCDG and IL－6 to be found in children with active INS. The decreased activity of BCGF was correlated with B cell proliferation, while the defect activities of BCDF and IL－6 were to have a significant correlation with IgG production in vitro. These findings suggest that an aberation of Ig switch may be present in B cells from patients with active INS, which results in hypoimmunoglobulinemia G, and in which the dysfunction of T cell and their lymphokines probably plays an important role.

Key Words Idiopathic nephrotic syndrome; Immunoglobulin G subclasses; B cell growth factors; B cell differentiation factors; Interleukine－6

（上接 8 页）

Leydig cells and the nuclei were few and reduced in size. This shows signs of atrophy and degeneration of Legdig cells and the nuclei. By electron microscopy, C－shaped mitochondria and ring－shaped mitochondria were seen in Leydig cells of diabetic rats. This also shows signs of degeneration of the mitochondria. In pituitary of diabetic rats, the rough endoplasmic reticulum and the mitochondria were the same as the control in the morphology. But numerical density of the secretory granules in the gonadotrophs was significantly reduced. It shows that FSH secretion of the gonadotrophs is impaired. These studies indicate that the pathological changes in Leydig cells of diabetic rats appear to be responsible for the impared function of the testes. Moreover, reduced FSH secretion in the pituiary gland is also associated with the impaired function of the testes.

Key Words Streptozotocin diabetes; Pituitary; Testes; Morphology