维普资讯 http://www.cqvip.com

普通变异型免疫缺陷症的Ig类别及其亚类转换障碍——Ⅱ.体内观察

儿科医院 李成荣 杨锡强 Hans D. Ochs*

提 要 以新抗原噬菌体174($\phi\times174$)免疫5例普通变异型免疫缺陷(CVI)病人，以观察其体内免疫球蛋白(Ig)及其亚类转换功能。24例正常成人作为对照组。结果示5例人，仅1例能完全从IgM转换到IgG_4，9例仅产生IgM，5例$IgM+IgG_3+IgG_1$，3例$IgM+IgG_3+IgG_1+IgG_2$。上述发现进一步表明CVI的低丙种球蛋白血症系由沿CH基因5′—3′顺序的Ig类别及其亚类转换障碍所致

关键词 普通变异型免疫缺陷病；噬菌体174，特异性抗体；免疫球蛋白类别/亚类转换

普通变异型免疫缺陷症(CVI)的发病机理十分复杂，大多数患者外周血淋巴细胞总数不减少，但血清免疫球蛋白(Ig)降低，体外研究亦常可发现患者B细胞产生Ig的功能异常[1,2]。我们曾用美洲商陆(PWM)和EB病毒作为丝裂原观察到本病存在体外Ig及其亚类转换障碍，本文进一步以新抗原噬菌体174（简称ϕx174)免疫CVI病人，以观察其体内Ig及其亚类转换功能。

材料与方法

1. **观察对象**：正常对照24例，男女各半，均为自愿受试者。CVI病人25例。

2. **免疫方法**，$\phi\times174$为美国华盛顿大学医学院儿科免疫实验室制备。以6周间隔静脉给予受试者$\phi\times174$三次，剂量为2×10^9PFU/kg 1次(空斑形成单位，Plaque forming units)。分别于第一、二、三次注射前及注射后1、2、4周取血测IgM、IgG及IgG亚类。

3. **特异性抗$\phi\times174$IgM及IgG的检测**：用$\phi\times174$包被微孔板(1×10^{10}PFU/ml)，4℃过夜后用1%BSA室温下封闭2h，然后加入作10^3、10^4、10^5稀释的待查血清，并用已知含量（单位为kV）的抗$\phi\times174$IgM、IgG血清作为标准，置4℃过夜后分别加碱性磷酸酶交联的羊抗人IgM或IgG 37℃温育2h，加入酶底物比色。分别用特异性抗$\phi\times174$IgG抗体(GEKV)和抗$\phi\times174$IgM(MEKV)表示特异性抗体浓度。本方法的敏感范围在0.1—3,000kV间。

4. **特异性抗$\phi\times174$IgG亚类的检测**：包被方法与抗$\phi\times174$IgM和IgG的检测方法相同，血清标本作10^2稀释，用已知抗$\phi\times174$IgG亚类浓度的血清作为质控血清纠正变异。4℃过夜后加鼠抗人IgG亚类单克隆抗体，每种亚类加二株单抗。再次4℃过夜后加碱性磷酸酶交联的羊抗鼠IgG抗体。用OD值(OD×1000)表示$\phi\times174$IgG亚类浓度。

结 果

图1为正常对照组特异性抗$\phi\times174$IgM及IgG抗体反应，于首次免疫后主要的抗体反应是IgM，IgG仅在注射后6周（或第二次免疫前，2°）测及微量。但第二次免疫后IgG迅速产生到与IgM大致相同的水平，且维持时间较长，至第6周仍维持较高水平。IgM第二次免疫后4周迅速下降，至6周时已

* 华盛顿大学医学院儿科免疫实验室 教授
重庆医科大学 名誉教授

维普资讯 http://www.cqvip.com

接近0。第三次注射后IgG 进一步明显升高，IgM效价升高不著。

图2为正常对照特异性抗 $\phi\times174$ IgG 亚类抗体反应，其出现抗体反应的先后顺序是 IgG_3和IgG_1(1° 6 周或2°)，其次为IgG_2 (2° 1周)，最后为IgG_4(2° 2周。比较IgG亚类的效价可见IgG_1最高，其次分别为IgG_2、IgG_3、IgG_4。

图3为CVI病人特异性 抗 $\phi\times174$ IgM 及 IgG 亚类抗体反应、根据正常对照特异性抗体出现的时间及峰值、我们选择首次免疫后6周 (1° 6WK，或 2°)、第二、三次免疫后2周取血测病人对 $\phi\times174$ 的抗体反应。图中IgM及IgG亚类按Ig 重链稳定区(CH)基因顺序排列（正常对照及病人均无特异性抗 IgA 反应，故顺序中无IgA_1 及 IgA_2)。于首次免疫后，可测及21例IgM、3例IgG_3及3例 IgG_1

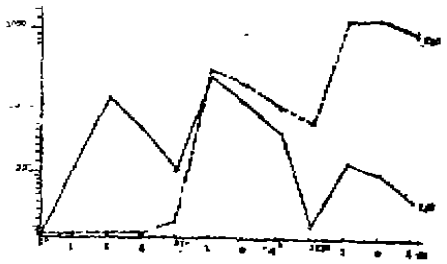


图1 正常对照组特异性抗×φ174IgM及IgG抗体反应。Ⅰ°、Ⅱ°及Ⅲ°表示第一、二、三次免疫。1、2、4WK为注射后1、2、4周。

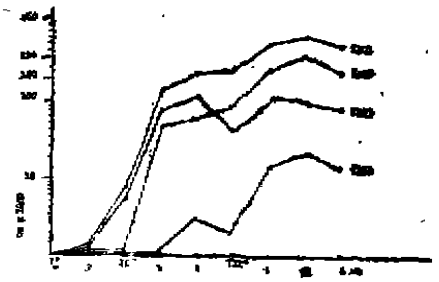


图2 正常对照特异性抗φ×174IgG亚类抗体反应

特异性抗体反应。第二次免疫后，所产生的抗体分别为IgM24 例、 $IgG_3$15 例、 $IgG_1$14

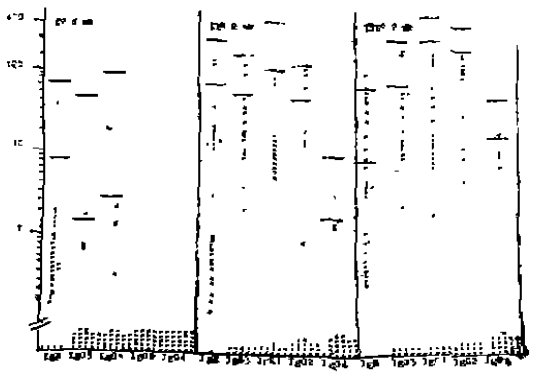


图3 CVI病人特异性抗 φ×174IgM及IgG亚类抗体反应，横线为正常对照参考范围 ($\bar{X}\pm SD$)。图中IgM单位为EKV，IgG亚类为OD×1000

例、$IgG_2$8例及$IgG_4$2例。最后一次免疫后，所有病人均能产生特异性抗IgM 反应，IgG_3 仍为15例、$IgG_1$16 例、IgG_2 增加到 11 例、$IgG_4$4例，其中1例为 $IgM+IgG_1+IgG_2$。归结起来，CVI病人特异性抗$\phi\times174$抗体反应有下述两个特点：其一是类别转换不完全。25例病人中，仅有 4 例能完全从IgM 转换到IgG_4；9例仅有IgM产生，5 例为 $IgM-IgG_3-IgG_1$，6例$IgM-IgG_3-IgG_1-IgG_2$。另一特点是抗体效价低，以第三次免疫为例，除10例IgM 在正常对照参考范围内外，其余仅2例IgG_3及1例IgG_4达此范围。

讨　论

$\phi\times174$ 是一种T细胞依赖性抗原[3]，当免疫人体时可产生抗体依赖的清除反应，即体液免疫反应。如在一定间隔期间内反复多次免疫机体可在体内产生原发性 (primary) 和继发性(secondary) 免疫反应。通过测定特异性抗$\phi\times174$抗体的效价，可以间接判断T、B淋巴细胞功能是否正常，免疫记忆效应是否健全，且$\phi\times174$无毒性作用，有作者观察900余例静脉注射$\phi\times174$ 的正常人及免疫缺陷病者未见任何毒副作用，因此 WHO

维普资讯 http://www.cqvip.com

免疫缺陷病专家小组已将 $\phi\times174$ 定为筛选免疫缺陷病的体内检查指标之一[4]。但以往对抗 $\phi\times174$ 抗体检测多采用中和滴定法[3,5]该法欠敏感且不能检测特异性IgG亚类，因此难以判断免疫缺陷病患者体内Ig类别及其亚类转换功能。我们在此基础上发展了一种检测特异性抗 $\phi\times174$ 抗体的ELISA法，并对24例正常对照进行了一系列动态观察，发现原发性反应主要是IgM，反复免疫后IgG迅速而持久的产生，IgM则渐下降。IgG亚类检测亦见首先出现的是IgG_3和IgG_1，仅在第二次免疫后才先后测出IgG_2及IgG_4。此现象与抗原刺激后体内免疫应答反应的规律相似，从IgM至IgG_4出现的顺序也与个体发育过程中产生Ig的顺序，或者与Ig重链稳定区基因（CH）顺序（$5'$-μ-δ-γ_3-γ_1-γ_2-γ_4-$3'$）相一致，因此 $\phi\times174$ 可以提供观察体内沿CH基因$5'$-$3'$侧重排和表达的可靠模型。

CVI突出的特点是低丙种球蛋白的血症，其发病机理仍未完全清楚[6]，我们在观察本病体外Ig及其亚类产生时发现有沿CH基因$5'$-$3'$侧的转换障碍现象，本文用 $\phi\times174$ 观察体内Ig转换，所测25例病人仅4例能完全从IgM转换到IgG_4，9例病人特异性Ig的产生停滞在IgM阶段，5例 $IgM\rightarrow IgG_3\rightarrow IgG_1$，此现像与体外观察极为相似，进一步表明CVI的低丙种球蛋血症系由沿CH基因$5'$—$3'$侧的Ig类别及其亚类转换障碍所致。

影响Ig及其亚类转换的因素仍未完全清楚，特别是Ig亚类。现知可能主要与下列因素有关[7,8]：(1)B细胞的活化、增殖及分化功能有否障碍，B细胞生长因子（BCGF）与/或B细胞分化因子（BCDF）受体数量不足，或反应性降低可影响Ig转换，我们曾初步观察到某些CVI病人B细胞对外源性Il-2、BCDF的反应性很差（待发表资料）。(2)T细胞功能及其分泌的淋巴因子有否缺陷。近来的研究表明Ts细胞中存在Ig类别特异性Ts，可直接作用于B细胞，通过抑制IgCH基因重排而影响Ig类别合成[9]，但Jeong[10]等的资料表明仅18%的CVI病人T_S活性亢进，因此不能完全解释本病的Ig类别转换障碍现象。T_H及其分泌的淋巴因子，如BCGF、BCDF等可影响B细胞的增殖分化，我们已报告75.9%的CVI病人有淋巴因子产生异常，因此可以认为本病Ig类别转换系由T—B细胞功能表达过程中多元性水平受阻所致。

目前有关Ig亚类转换影响因素的资料多为动物实验资料，鉴于CVI存在Ig亚类障碍，我们认为可以利用这一良好的天然人类模型对Ig亚类转换这一重要的免疫学基础理论进行探讨，以便对选择性Ig缺乏症包括IgG亚类缺陷症的发病机理作深一步的研究，为寻找这类常见的体液免疫缺陷病的根治方法开辟新途径。

[本文由四川省教委提供赞助]

参考文献

[1] Siegal FP, et al. New Engl J Med 1978; 299:172

[2] Saiki O, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1982; 79:6008

[3] Jackson CC, et al. New Engl J Med 1979; 300:1124

[4] Rosen FS, et al. Clin Immunol Immunopathol 1986; 40:166

[5] Ochs HD, et al. J Clin Invest 1971; 50:2559

[6] Buckley RH. Clin Immunol Immunopathol 1986; 40:13

[7] Jelinek DF, et al. Adv Immunol 1987; 40:1

[8] Teals JM, et al. J Immunol 1986; 137:749

[9] Richard GL, et al. Adv Immunol 1987; 40:135

[10] Jeong G, et al. J Clin Immunol 1985; 5:122

维普资讯 http://www.cqvip.com

动情周期中大鼠子宫β肾上腺素能受体测定的初步研究

生殖生理教研室 沈稗芳 王荣琪 鲍安铮 王鼎年* 梁宪生 魏莎莉

提 要 用放射配体结合技术测定了大鼠子宫肌细胞膜上β肾上腺素能受体的数目与亲和力。动情前期与动情期子宫即β肾上腺素能受体的数目（由最大结合容量R_T表示）为126.84±54.69fmol/mg蛋白质，明显高于动情后期与动情间期子宫中的数目77.98±30.66fmol/mg蛋白质（$P<0.05$），由此表明子宫的激素状态可影响受体从而再影响子宫收缩。动情周期中各期间的受体亲和力（用解离常数K_D反映）未见显著差别

关键词 β肾上腺素能受体；放射配体结合技术；^3H-双氢心得舒；动情周期；大鼠

根据组织对各种儿茶酚胺类药物的相对活力不同，Ahlquist[1] 在1948年提出了α与β两类肾上腺素能受体的概念。此后许多学者[2][3]观察了组织对受体激动剂、阻断剂

* 核医学教研室

ARREST OF IMMUNOGLOBULIN CLASS AND SUBCLASS SWITCHING IN COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY…… II: OBSERVATION IN VIVO

Li Chengrong et al.

(Children's Hospital)

The proceeding of immunoglobulin class and subclass switching in 25 patients of common variable immunodeficiency was observed in vivo by using of vaccination with new-antigen bacteria-phage 174 (ϕx 174). 24 normal adults served as control. The pattern of anti-ϕx174 specific antibody response was as follows: IgM was presented first with decreasing rapidly, and IgG was coming late maintaining its high level long. The sequence of IgG subclass productions was in order of IgG3 and IgG1, IgG2, IgG4. There were special profiles of antibody response to ϕ×174 in CVI patients: (1)class swithing defects: only IgM production in 9, IgM++IgG3+IgG1 in 5, IgM+IgG3+IgG1+IgG2 in 6, and swithing from IgM to IgG4 in only 4 cases; (2)the value of antibody response was low. Such fingings further indicate that the hypo-gammaglobulinemia of CVI resulted from defects in different levels of Ig class and subclass swithing along the 5'---3' order of CH genes

KEY WORDS Common variable immunodeficiency; Bacteria-phage 174; Specific antibodies; Immunoglobulin class/subclass swithing