维普资讯 http://www.cqvip.com

原发性体液免疫缺陷病的淋巴因子活性探讨

儿科医院
李成荣 杨绍强 Hans D. Ochs*

提 要 以CVI等原发性免疫缺陷病为模型，探讨IFN-r、BCGF、BCDF及IL-2四种淋巴因子缺陷在原发性体液免疫缺陷病中的作用，结果示75.9%的CVI病人（22/29）有一种或多种淋巴因子缺陷，其中分别为16例IFN-r、15例BCGF、7例BCDF及13例IL-2降低。仅4例病人四种淋巴因子同时缺陷。13例XLA中无1例因巴因子低于正常对照组范围。1例AT体外IFN-r、BCGF及IL-2分泌缺陷。1例高IgM血症患者BCGF降低。上述结果表明淋巴因子缺陷与体液免疫缺陷病的发病机理有一定关系

关键词 原发性体液免疫缺陷病；IFN-r；BCGF；BCDF；IL-2

淋巴因子是免疫活性细胞所释放的可溶性因子，对免疫反应的调节具有重要作用。其中由T细胞所产生，参与调节B细胞应答反应的淋巴因子已知有r-干扰素(IFN-r)、白细胞介素-2（IL-2）、β细胞生长因子(BCGF)及B细胞分化因子(BCDF)等[1,2]。随着对淋巴因子免疫调节作用的不断认识，体液免疫缺陷病与淋巴因子的关系日益引起人们的重视。已知普通变异型免疫缺陷病(CVI)病人IL-2产生缺陷[3]，但多种淋巴因子同时检测尚限于个例报告[4,5]。本文以CVI，性连锁隐性遗传低丙种球蛋白血症(XLA)、共济失调毛细血管扩张症(AT)等多种原发性免疫缺陷病为模型，同时检测四种淋巴因子，籍以进一步探讨原发性体液免疫缺陷病发病机理与淋巴因子的关系。

材料和方法

1. **观察对象**：11例正常对照为自愿受试者，男6名，女5名。病人包括CVI29例，XLA 13例，AT1例及高IgM血症1例。

2. **人外周血T细胞上清液的制备**：肝素抗凝血以分层液分离单个核细胞，2×10^6/ml细胞中加入PHA-P(5μg/ml)和PMA(乙酸肉豆蔻佛波醇15μg/ml)37℃、5%CO_2培养48h，收取上清液，−20℃保存待测。

3. **扁桃体B淋巴细胞的分离**：用二次AET—玫瑰花结法将分层离心所得的AET-细胞用作B细胞。置放B细胞（5×10^6/ml）于培养皿1h去除粘附细胞。

4. **IFN-r测定**：使用放射免疫试剂盒（centocor INC)测定。分别加入标准、阳性对照及T细胞上清液0.2ml到鼠抗人INF-r单克隆抗体的微孔中，温育清洗后再加入^{125}I标记的鼠抗人IFN-r单克隆抗体，r-计数器测定放射性活性，从标准曲线推得测定标本IFN-r含量(u/ml)。

5. **BCGF活性测定**：采用Howard法[6]略加改良。简言之，B细胞以2×10^5/孔浓度培养于96孔平底培养微孔中，加入10ug/ml F(ab')2羊抗人IgM重链特异性抗体（简称Anti-μ，Bio-RAD)和20%的T细胞上清液。总培养时间为72h，于终止培养前16h，每孔加入1μci^{3}H-TdR，收集细胞以液闪计数^{3}H-TdR渗入量，以cpm表示BCGF活性。

6. **BCDF活性测定**：采用Saiki法[7]。用终浓度为0.001%(V/V)的葡萄球菌(Cowen I(sac, Calbiec)hem活化B细胞，细胞浓度为1×10^6/ml，培

*美国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

养72h后用PBS洗净细胞三次，调细胞浓度至2×10⁵/孔，并加入20%的T细胞上清液，继续培养4天后收集上清液用ELISA法测定IgM。

7. **IL-2活性测定** 按Cillis[6]等介绍的方法测定。简言之，将一系列稀释的IL-2标准、待测T细胞上清液加入到IL-2依赖细胞株CTLL中(2×10⁴/孔)，培养20h加入1μci³H-TdR，继续培养4h，收集细胞测定³H-TdR的渗入量，并根据IL-2标准含量得到待测标本的IL-2含量(u/ml)。

结　果

1. **IFN-r测定结果** 11例正常对照组IFN-r测定结果为90.1～240.1u/ml（$\bar{x}\pm 2SD$），16例CVI和1例AT低于此范围，但所有XLA病例测定结果均在正常对照范围内（图1）。

2. **BCGF活性测定结果** 从图2可见15例CVI、1例AT及1例高IgM血症BCGF低于正常对照组范围(4251～14839cpm，$\bar{x}\pm 2SD$)，XLA病例无1例低于正常对照组。

3. **BCDF活性测定结果**（图3） 正常对照组BCDF活性测定为60.3～176.5ng/ml

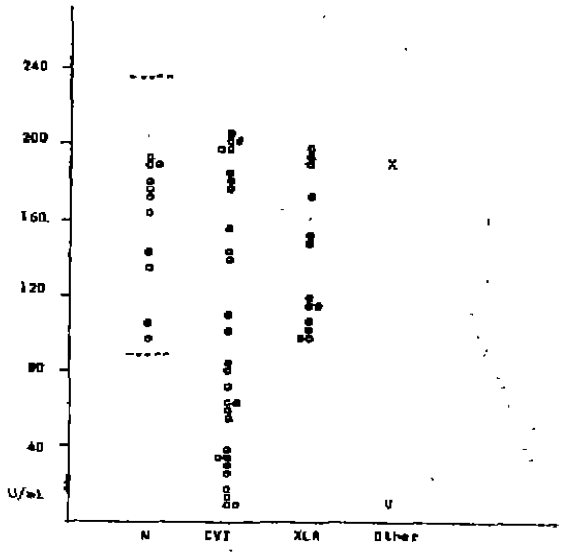


图1 IFN-r测定结果。N：正常对照组，横线为正常对照范围($\bar{x}\pm 2SD$)。Other：其它，V代表AT，X为高IgM血症。

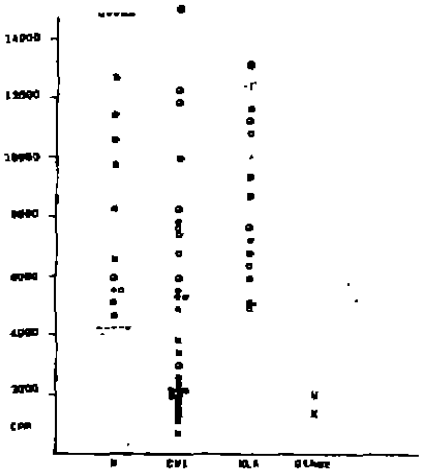


图2 BCGF测定结果

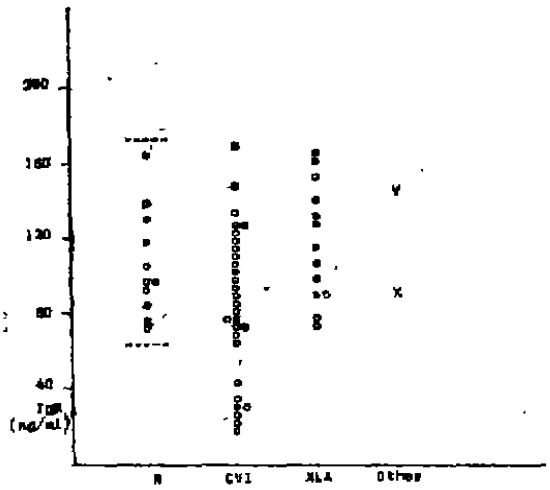


图3 BCDF测定结果

(IgM，$\bar{x}\pm 2SD$)，所测病例中7例CVI低于此值，XLA则无异常。

4. **IL-2活性测定结果**（图4） 分别有13例CVI及1例AT低于对照组范围（400.9～930.0/ml，$\bar{x}\pm 2SD$）。XLA病人均在正常范围内。

5. **淋巴因子相互关系** 进一步比较四种淋巴因子相互关系，发现其产生并不一致，以本组例数最多的CVI为例，4种淋巴因子均在正常对照组范围内的有7例。22例(75.9%)有一种或多种淋巴因子缺陷，其中1种淋巴因子异常者6例：INF-r2例，IL-2

维普资讯 http://www.cqvip.com

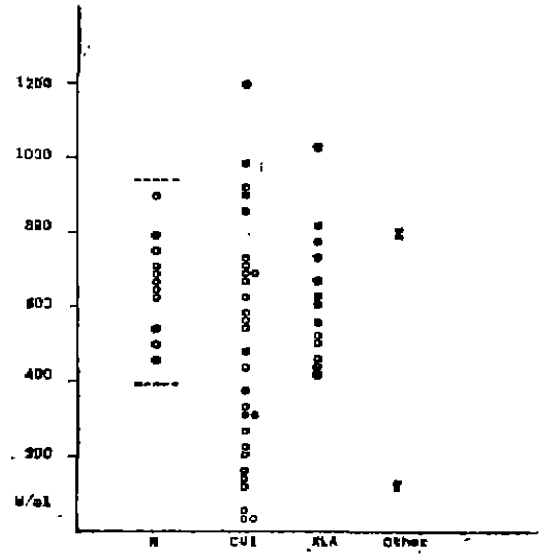


图4 IL-2测定结果

3例及BCDF1例。2种淋巴因子缺陷者7例：INF-r+BCGF5例，INF-r+IL-2和BCGF+BCDF各1例。3种淋巴因子异常者5例：INF-r+BCGF+IL-2 4例；BCDF+BCGF+IL-2 1例。仅4例病人表现为4种淋巴因子降低。

讨 论

B细胞应答反应是由B淋巴细胞、T淋巴细胞和巨噬细胞等相互作用的一个复杂体系来完成。辅助性T细胞(TH)所分泌产生的淋巴因子在其中起作重要调节作用。抗原刺激B细胞的应答过程可分为活化、增殖及分化三个阶段。(1)活化阶段：抗原或其他配体(如Anti-μ)与B细胞表面Ig受体(SmIg)结合，驱使处于Go期的静息B细胞进入G_1期；(2)增殖阶段：活化的B细胞接受BCGF等相应的生长信息后，进入S期并进行克隆扩增；(3)分化阶段：在BCDF等淋巴因子的作用下，B细胞分化成熟为抗体分泌细胞[2]。INF-r除具有增强自然杀伤细胞(NK)及调节巨噬细胞等作用外，现发现尚能促进B细胞分化。IL-2能促进T细胞增殖已为大家所公认，但新近不少报道表明IL-2亦可直接作用于B细胞，作用环节多数认为系促进B细胞增殖，也有认为能起B细胞分化因子的作用。

CVI的特点是低丙种球蛋白血症和易感性增高[8]，其发病机制十分复杂，可能系原发性T细胞缺陷，也可能是B细胞缺陷，或者二者同时兼有。在T细胞缺陷方面，以往多认为抑制性T细胞(TS)功能亢进为本病原因[10]，本组22例75.9%)有一种或多种淋巴因子分泌缺陷，表明本病低丙种球蛋血症与T_H功能异常所致的淋巴因子缺陷有关。

XLA是性链锁隐性遗传病，其发病机理仍未完全清楚，推测系B细胞内源性成熟障碍所致前B细胞不能转化为B细胞[9]。本文13例患者无一例有淋巴因子异常，进一步支持本病系纯B细胞障碍所致，T细胞未介入本病的发病。

AT发病机理仍不清楚，近来认为T细胞的抗原受体基因容易断裂，而修复功能又很低下可能是本病的原因。本文首次报导1例AT病人INF-r、BCGF及IL-2产生缺陷，提示淋巴因子与本病发病机理有一定关系。

高IgM血症的特点是血清IgM正常或升高，IgG、IgA降低或缺如。其发病机制过去认为是内源性B细胞缺陷致使Ig类别转换(Class Switching)障碍[11]。但近来mayer等[12]发现患者B细胞Ig重链稳定区基因并无异常，而于体外B细胞培养时加入一种转换T细胞(Switch T Cell)可纠正患者异常的IgG、IgA产生，表明某种T细胞缺陷可能为本病的原因。本文发现患者的BCGF分泌障碍，亦支持本病有T细胞功能异常的设想。但BCGF如何影响IgG类别转换，尚需进一步研究。

本文观察到四种淋巴因子产生缺陷有不一致的现象，即多数病人淋巴因子并非同时异常。迄今以免疫缺陷病为模型同时观察三种淋巴因子仅限于个例报导，Matheson[4]报

维普资讯 http://www.cqvip.com

导1例CVI的BCDF产生异常，而IL-2、BCGF正常，Saiki[5]则报导1例CVI的IL-2异常。而BCGF BCDF正常。本文22例CVI，1例AT和1例高IgM血症体外淋巴因子分泌缺陷中，除4例CVI的四种淋巴因子同时降低或缺如外，其余均为1—3种淋巴因子异常，且无一定规律性，这就进一步证实Saiki等提出的观点：各种淋巴因子由不同的T细胞亚群（克隆）所产生，其调控机制亦不尽相同。

参 考 文 献

[1] Dinarello CA, et al. N Engl J Med 1987; 317:940

[2] Jelinek DK et al. Advances in Immunol 1987; 40:1

[3] kruger G. Jclin Immunol 1984; 4:296

[4] Matheson DS, et al. J Immunol 1987; 138:2469

[5] Saiki O, et al. J Immunol 1984; 133:1920

[6] Howard MJ, et al. J Exp Med 1982; 154:914

[7] Saiki O, et al. J Immunol 1981; 127:1044

[8] Gillis S, et al. J Immunol 1978; 120:2027

[9] Buckley RH, et al. Clin Immunol Immunopathol 1986; 40:13

[10] Waldmann TA, et al. Lancet 1974; 2:609

[11] Levitt D, et al. J Clin Invest 1983; 72:1650

[12] mayer L, et al. N Engl J med 1986; 314:409

THE STUDY OF LYMPHOKINE ACTIVITIES IN PRIMARY HUMORAL IMMUNODEFICIENCIES

*Li Chengrong, Yang xiqiang Hans D. Ochs**

(Department of pediatrics, Children's Hospital)

The role of defective lymphokines(IFN-r, BCGF, BCDF, IL-2)in primary humoral immunodeficient patients were studied. One or four kinds of lymphokines were deficient in 75.9% of CVI(22/29) as comparing with normal control, including the impaired production of IL-2 in 13, BCGF in 15, BCDF in 7 and IFN-r in 16 cases respectively. Only 4 cases of CVI had all defect of 4 lymphokines. Lymphokines in 13 cases with XLA were completely normal. One case of AT had defect of IFN-r, BCGF, and IL-2 in vitro, and one case of hyper-Igm syndrome had deficient BCGF. These results suggest that abnormality of lymphokines are involved in the pathogenesis of some primary humoral immunodeficiencies, but not other, and that lymphokines are senthesized by different subsets of T cell or regulated by independent mechanisms

KEY WORDS primary humoral immunodefiencies; BCGF; BCDF; IFN-r; IL-2