

Ig/Ig 双特异性免疫复合物定量及免疫调节作用*

王三英¹ 杨天赐² 彭宣宪¹

摘要:目的 建立 Ig/Ig-TCIC 的定量方法,研究 Ig/Ig-TCIC 是否具有免疫调节作用。方法 以 Ig 的免疫生物学性质和数学计算相结合进行定量。通过研究 Ig/Ig-TCIC 与 C3/Ig-TCIC、全血清和复合 Ig 与补体等体液免疫指标的关系来探讨其免疫调节作用。结果 成功地建立了 Ig/Ig-TCIC 的定量方法,并发现 Ig/Ig-TCIC 与有关体液免疫指标的相互关系具有明显规律性。结论 本定量法简便实用。Ig/Ig-TCIC 作为免疫网络的中间产物在免疫调节中起重要作用。

关键词: 双特异性免疫复合物; 免疫网络; 免疫调节; 免疫球蛋白 补体

中图分类号: R392 文献标识码: A

Study on Quantitative Method and Immune Regulation of Ig/Ig two-component Determined Circulating Immune Complexes

WANG San-ying, YANG Tian-ci, PENG Xuan-xian, et al. The Key Laboratory of Education Ministry for Cell Biology and Tumor Cell Engineering (Xiamen 361005, China)

Abstract: Objective To establish a quantitative method to Ig/Ig two-component-determined circulating immune complexes (Ig/Ig-TCIC) and study whether Ig/Ig-TCIC was related to the function of immune regulation. **Methods** Quantity of Ig/Ig-TCIC was carried out by the combination of Ig immune biology with mathematics. The immune regulation of Ig/Ig-TCIC was characterized by the correlation of Ig/Ig-TCIC with C3/Ig-TCIC, serum Ig and C3, and complexed Ig and C3.

Results The quantitative method was established and significant regularity was found from the association of Ig/Ig-TCIC with these humoral immune markers. **Conclusion** This quantitative method was simple and useful. Ig/Ig-TCIC plays an important role in immune regulation as a middle product of immune network.

Key words: TCIC; immune network; immune regulation; immunoglobulin; complement

Ig/Ig 双特异性免疫复合物(Ig/Ig-TCIC)主要由独特型(Id)与抗独特型(Aid)结合形成,是免疫网络的中间产物^[1,2]。理论上,这类物质具有免疫调节作用,但目前尚未见有关报道。本文在建立 Ig/Ig-TCIC 定量方法的基础上,探讨其与健康人 C3/Ig-TCIC、全血清和复合 Ig 与补体之间的关系,旨在对这类免疫复合物的体液免疫调节作用有初步认识。

1 材料和方法

1.1 研究对象 394 例健康人血清分别采自厦门大学医院、厦门市中心血站和厦门市妇幼保健院。

1.2 实验材料 羊抗人 IgM、IgG 和 IgA 抗血清(依次为 μ 、 γ 、 α 链特异性)系卫生部上海生物制品研究所产品;HRP-抗人 IgM、IgG 和 IgA 的羊 IgG 系抗血清经硫酸-DEAE-32 层析提取 IgG 组分,再采用简易过碘酸钠法自行标记。

1.3 Ig/Ig-TCIC 的测定^[2] 将抗人 IgM、IgG 和 IgA 的羊 IgG(10 μ g/ml)分别包被反应板,每孔 0.1ml,4 $^{\circ}$ C 过夜,用 pH7.4 0.01mol/L PBS-T 洗涤 3 次。加入 0.1ml 按 1:75 稀释的待检血清标本,4 $^{\circ}$ C 过夜,同上洗涤。按包被抗体不同加酶标抗体:抗人 IgM 包被孔加入 HRP-抗人 IgG 或 HRP-抗人 IgA 的羊 IgG 依次用于检测 IgM/IgG 和 IgM/IgA-TCIC;抗人 IgG 包被孔加入 HRP-抗人 IgM 或 IgA 的羊 IgG 依次用于检测 IgG/IgM 和 IgG/IgA-TCIC;抗人 IgA 包被孔加入 HRP-抗人 IgM 和 IgG 的羊 IgG 依次用于检测 IgA/IgM 和 IgA/IgG-TCIC;每孔 0.1ml,37 $^{\circ}$ C 温育 1h,同上洗涤。加 TMP 底物溶液 0.1ml,37 $^{\circ}$ C 温育 45min;用 2mol/L 硫酸终止反应,全自动酶标检测仪测定结果。上述 6 种方法实质上

是对 3 种 TCIC 的检测,即对每种 TCIC 的检测通过包被和检测抗体的互换而有 2 种检测方法。为区别起见,对检测同一物质的不同方法按包被抗体在前,酶标抗体在后,中间隔以/的方式定名^[3]。

1.4 血清总、游离和复合 Ig 和 C3 的测定^[4] 血清总 Ig 和 C3 采用单向琼脂扩散法;复合 Ig 和 C3 的测定,取 3.5% PEG 血清沉淀物,按单向琼脂扩散法进行。

1.5 Ig/Ig-TCIC 含量参数的确定 首先按本实验室单扩法确定的健康人复合 Ig 含量(IgM:50 μ g/ml,IgG:110 μ g/ml,IgA:6 μ g/ml)为依据,再依 Ig 聚合体情况、抗体的抗原结合价、Ig/Ig-TCIC 占总免疫复合物的比例、各类 Ig 的分配率,得到用于定量的参数。

2 结果

2.1 Ig/Ig-TCIC 的含量比 以 6 类 Ig/Ig-TCIC 的 OD 值为横坐标,其含量参数为纵坐标,建立了定量各类 Ig/Ig-TCIC 中与酶标抗体结合的 Ig 的定量推算公式。然后按相应公式,分别得到健康人各类 Ig/Ig-TCIC 中后者(酶标抗体检测对象)的含量。结果 IgM/IgG-TCIC 中的 IgG 为 0.1950 μ g/ml,IgG/IgA-TCIC 中的 IgA 为 0.0468 μ g/ml,IgA/IgM-TCIC 中的 IgM 为 0.0213 μ g/ml,IgG/IgM-TCIC 中的 IgM 为 0.390 μ g/ml,IgA/IgG-TCIC 中的 IgG 为 0.0468 μ g/ml,IgM/IgA-TCIC 中的 IgA 为 0.0106 μ g/ml,并由此计算出同一 TCIC 中 2 类 Ig 的含量比。将组成同一 TCIC 的 2 类 Ig 含量相加,则为该 TCIC 的正常值,表 1。

2.2 Ig/Ig-TCIC 的正常值 按推算公式,分别得到不同年龄组和性别组的各类 Ig/Ig-TCIC 的含量,表 2,3。

2.3 Ig/Ig-TCIC 与有关免疫指标的相关性(表 4) 采用直线相关分析法,对 Ig/Ig-TCIC 与有关免疫指标的关系进行了分析。从表 4 可见,6 类 Ig/Ig-TCIC 之间,除 IgM/IgG-TCIC 与 IgG/IgM-TCIC 之间无明显相关外,余均有显著正

* 教育部优秀骨干教师基金和福建省自然科学基金资助项目(C97016)

1. 厦门大学生命科学学院,细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室(厦门 361005)

2. 厦门大学医院

相关, 并且还具有一 TCIC 的 2 种不同检测方法之间的相关系数较低的特点。在 Ig/Ig- TCIC 与 C3/Ig- TCIC 之间, 6 类 Ig/Ig- TCIC 均与 C3/IgG- TCIC 呈显著正相关, 而与 C3/IgM- TCIC 和 C3/IgA- TCIC 之间分别有 1/2 和 2/3 的指标呈显著正相关, 并且还具有一当检测 Ig/Ig- TCIC 和 C3/Ig- TCIC 的酶标抗体相同时, 相互间必然相关的特点。在 Ig/Ig- TCIC 与免疫球蛋白与补体水平之间, 全血清 IgM 与采用酶标 IgM 和 IgG 检测的 Ig/Ig- TCIC 呈显著正相关, 全血清 IgG 与采用酶标 IgM 检测的 Ig/Ig- TCIC 呈显著正相关; 复合 IgM 与采用酶标 IgG 检测的 Ig/Ig- TCIC 呈显著正相关, 复合 IgG 与 IgG/IgA- TCIC、IgA/IgM- TCIC、IgA/IgG- TCIC 里显著正相关; 全血清 C3 和复合 C3 与 Ig/Ig-

TCIC 的关系恰恰相反, 前者表现为正相关趋势, 而后者表现为负相关趋势。

表 1 各类 Ig/Ig- TCIC 的含量比(μg/ml)

	IgM	IgG	IgA	Ratios	Total
IgM/IgG- TCIC	0.195	0		IgM/IgG= 2:1	0.585
IgG/IgM- TCIC	0.390	1			
IgG/IgA- TCIC		0.046	8	IgG/IgA= 1:1	0.093
IgA/IgG- TCIC		0.046	8		
IgA/IgM- TCIC	0.021	3		IgA/IgM= 1:2	0.031
IgM/IgA- TCIC		0.010	6		

表 2 Ig/Ig- TCIC 不同年龄组的分布

年龄(岁)	IgM- IgG- TCIC		IgG- IgA- TCIC		IgA- IgM- TCIC		IgG- IgM- TCIC		IgA- IgG- TCIC		IgM- IgA- TCIC	
	No	μg/100ml	No	μg/100ml	No	μg/100ml	No	μg/100ml	No	μg/100ml	No	μg/100ml
0~	38	24.26±9.35	1	16.60±0	2	0.48±0.19	8	0.56±0.62	35	4.99±3.08	0	
1	75	25.69±11.42	49	5.97±4.69	75	1.58±0.69	75	4.13±1.18	75	9.67±3.08	50	9.96±7.67
15	68	31.05±15.91	67	8.63±6.57	68	1.79±0.60	68	4.44±1.31	68	12.68±3.81	67	24.99±14.29
30	77	31.23±11.00	75	11.15±6.08	75	1.82±0.93	77	4.14±1.71	77	13.13±3.85	77	34.93±16.94
40	85	34.47±12.99	84	13.5±5.766	83	1.80±0.73	85	4.06±1.36	84	13.62±4.36	83	42.06±3.46
50	49	35.95±11.72	45	11.32±5.90	45	1.75±0.75	46	3.65±1.23	46	15.52±5.08	46	37.96±15.83
60	49	42.64±11.27	44	8.19±6.71	46	1.02±0.85	49	2.66±1.32	49	14.80±4.26	48	36.00±16.95
平均	438	32.05±13.33	365	10.23±6.46	394	1.66±0.80	408	3.87±1.53	434	12.34±4.83	371	31.88±17.27

表 3 Ig/Ig- TCIC 的性别分布(X±S)

年龄(Y)	例数	IgM/IgG	IgG/IgA	IgA/IgM	IgG/IgM	IgA/IgG	IgM/IgA
男	217	0.89±0.19	0.62±0.27	0.34±0.12	0.40±0.12	0.98±0.21	0.86±0.29
女	199	0.83±0.19	0.74±0.27	0.44±0.11	0.52±0.14	1.06±0.27	0.94±0.28

表 4 Ig/Ig- TCIC 与有关免疫指标的相关性

	IgM/IgG	IgG/IgA	IgA/IgM	IgG/IgM	IgA/IgG	IgM/IgA
IgG/IgA	0.24*** (365)					
IgA/IgM	-0.20*** (378)	0.25*** (364)				
IgG/IgM	-0.08(376)	0.25*** (361)	0.80*** (392)			
IgA/IgG	0.50*** (414)	0.26*** (369)	0.25*** (399)	0.14*** (395)		
IgM/IgA	0.29*** (319)	0.66*** (319)	0.18*** (337)	0.19*** (334)	0.33*** (324)	
C3/IgM- TCIC	-0.02(390)	-0.06(115)	0.67*** (369)	0.69*** (325)	0.00(390)	0.18*** (332)
C3/IgG- TCIC	0.45*** (291)	0.31*** (289)	0.39*** (316)	0.37*** (312)	0.51*** (332)	0.26*** (234)
C3/IgA- TCIC	0.20*** (323)	0.34*** (331)	0.03(343)	0.04(340)	0.20*** (324)	0.60*** (302)
IgM	-0.10(277)	0.29*** (257)	0.26*** (283)	0.34*** (280)	0.17*** (250)	0.13(216)
IgG	0.06(358)	0.15(315)	0.15*** (342)	0.18*** (339)	0.09(373)	0.01(268)
IgA	-0.05(226)	0.02(224)	0.04(238)	0.00(238)	0.03(238)	-0.10(205)
C3	0.12(277)	0.11(253)	0.06(272)	0.03(269)	0.26*** (292)	0.11(223)
复合 IgM	0.21*** (355)	0.10(311)	-0.04(337)	0.01(334)	0.28*** (371)	0.10(263)
复合 IgG	0.10(345)	0.14* (306)	0.17*** (333)	0.12(329)	0.28*** (361)	0.07(259)
复合 IgA	-0.03(147)	0.06(149)	-0.01(157)	-0.15(155)	0.05(158)	0.03(131)
复合 C3	-0.27(51)	-0.32* (40)	-0.05(43)	-0.16(43)	-0.36* (52)	-0.15(26)

注: 括号内为例数 * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

3 讨论

免疫复合物的传统定量是采用热凝免疫球蛋白法。由于经典的热凝免疫球蛋白是由纯化 IgG 制备, 不适用于其它 Ig 类型的检测, 更不可能用于 Ig/Ig- TCIC 及其分子比的研究。本文建立了一种适于 Ig/Ig- TCIC 的定量法, 首先按单扩法确定免疫复合物中 IgM、IgG、IgA 的含量依次为 0.5、1.1、

0.06μg/ml; 再按 IgM、IgG、IgA 聚合情况为 5、1、1 依次得 0.1、1.1、0.067 最后按 IgM、IgG、IgA 的抗原结合价为 5、2、2 依次得 0.5、2.2、0.12, 取整数依次为 25、110、6; 按全组合得式: $(\frac{25}{114} + \frac{110}{141} + \frac{6}{141})^2$ 。解此式得: MM 的质量浓度为 0.0887μg/ml, MG 个的 M 质量浓度为 0.3901μg/ml, MA 中

M 质量浓度为 0.0213 μ g/ml; MG 中 G 的质量浓度为 0.1950 μ g/ml, GA 中 G 的质量浓度为 0.0468 μ g/ml; GA 中 A 的质量浓度为 0.468 μ g/ml, MA 中 A 的质量浓度为 0.0106 μ g/ml。由此,健康人血清中的 MM 为 0.0887 μ g/ml, GG 为 0.8582 μ g/ml, AA 为 0.0026 μ g/ml, MG 为 0.5851 μ g/ml, 0.0319 μ g/ml, GA 为 0.0936 μ g/ml。

不少学者证明了 Id 和 Aid 的存在。从免疫网络的理论和实践来考虑, Id 和 Aid 可以结合成本质为 Ig/Ig 的免疫复合物,其水平必定与游离 Id 和 Aid 的含量有密切关联。本文采用直线相关分析法对 Ig/Ig-TCIC 与有关体液免疫指标的相互关系进行探讨。结果表明,这些相互关系具有明显规律,包括同一 TCIC 的 2 种不同检测方法之间的相关系数较低:当检测 Ig/Ig-TCIC 和 C3/Ig-TCIC 的酶标抗体相同时,相互间必然相关;全血清 IgM 与采用酶标 IgM 和 IgG 检测的 Ig/Ig-TCIC 呈显著正相关,全血清 IgG 与采用酶标 IgM 检测的 Ig/Ig-TCIC 呈显著正相关;复合 IgM 与采用酶标 IgG

检测的 Ig/Ig-TCIC 呈显著正相关;全血清和复合 IgA 均不与任何 Ig/Ig-TCIC 相关;全血清 C3 和复合 C3 与 Ig/Ig-TCIC 的关系恰恰相反,前者表现为正相关趋势,而后者表现为负相关趋势等特点。这些结果提示, Ig/Ig-TCIC 作为免疫网络的中间产物在免疫调节中起重要作用,值得深入研究。

本文还确定了不同年龄组和性别的 Ig/Ig-TCIC 含量的正常值,这对研究患者 Ig/Ig-TCIC 的变化提供了重要基础。

参 考 文 献

- [1] 彭宣宪. 双特异性免疫复合物的研究进展[J]. 上海免疫学杂志, 1996, 16(5): 315.
- [2] 彭宣宪, 杨天赐, 王三英. 异类 Ig/Ig 双特异性免疫复合物的检测及其意义[J]. 中国公共卫生, 1999, 18(6): 321.
- [3] 杨天赐, 等. 健康人 C3/Ig 双特异性免疫复合物与体液免疫的相关性研究[J]. 厦门大学学报, 1999, 38(5): 776.
- [4] 彭宣宪, 等. 脐血免疫复合物的检测及其意义[J]. 中国公共卫生学报, 1997, 16(3): 187.

(2001-02-16 收稿 李溪莹编辑 刘铁校对)

文章编号: 1001-0580(2002)06-0714-01

【基层疾病控制】

学生常见病综合防治终期考评结果分析

广西柳州铁路卫生监督所(545007) 雷建华 王伟

中图分类号: R179

文献标识码: C

根据卫生部、教育部《关于印发〈全国学生常见病综合防治中终期考评方案〉的通知》和《广西学生常见病综合防治终期考评方案》(简称考评方案),现将柳州铁路局中小学生对“六病”综合防治工作终期考评自查结果进行分析,结果报告如下。

内 容 (1) 考核组织机构; (2) 分析 6 种病防治情况: (近视眼、沙眼、龋齿、营养不良、贫血、肠道蠕虫感染); 监测覆盖率及健康教育覆盖率。

方 法 (1) 查阅资料档案按《考评方案》执行。(2) 现场检查按《考评方案》要求,在柳局辖区随机抽查 6 所学校(中小学各 3 所)进行检查,包括小学生正确刷牙和中学生恒牙龋患情况。(3) 常见病检查:按《全国学生常见病综合防治方案》(1992 年)和《全国学生常见病综合防治方案技术规范》(1993 年)进行。(4) 统计方法:以 1995 年全国学生常见病防治规划中期考评结果为基础,将 2000 年与 1995 年相比较,应用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

结 果 所抽查的 6 所学校,组织机构健全,措施落实,经查阅有关资料均达到终期考评要求。6 所学校 1995~2000 年学生常见病防治资料,其监测结果见表 1,其中 2000 年监测中学生 3 574 人,小学生 3 123 人。

现场调查 180 人,口腔保健知识问卷刷牙率为 99.44%。90 名小学生正确刷牙只有 13 人,正确刷牙率 14.44%;45 名初一学生患龋 16 人,龋患 35.56%,龋均 0.53,充填率仅有 25.0%。

讨 论 本次对学生常见病综合防治终期考评抽查结果显示,铁路局中小学生对视力低下、肥胖外,蛔虫感染率和沙眼患病率均达到《全国学生常见病综合防治方案》所要求的第二阶段(1996~2000 年)的目标(表 1),贫血、龋齿、营养不良

患病率得到了有效控制,呈逐年下降趋势。龋齿患病率中学生高于小学生。

表 1 柳州铁路局 1995~2000 年学生常见病阳性率(%)

年份	监测人数	蛔虫	沙眼	贫血	龋齿	视力低下	营养不良	肥胖
1995	4 916	948 (19.30)	414 (8.42)	834 (16.97)	1 069 (21.75)	1 448 (29.45)	1 343 (27.32)	359 (7.30)
1996	5 212	173 (3.32)	525 (10.07)	990 (18.99)	1 769 (33.94)	1 630 (31.27)	1 362 (26.13)	456 (8.75)
1997	2 284	—	214 (9.37)	—	594 (25.92)	690 (30.21)	613 (26.84)	198 (8.67)
1998	4 288	—	329 (7.67)	657 (15.32)	876 (20.43)	1 679 (39.16)	986 (22.99)	412 (9.61)
1999	5 825	—	383 (6.58)	762 (13.08)	975 (16.74)	2 356 (40.45)	1 123 (19.28)	628 (10.78)
2000	6 697	155 (2.31)	350 (5.23)	860 (12.84)	1 087 (16.23)	2 936 (43.84)	1 259 (18.80)	749 (11.18)

中学生视力低下患病率高于小学生,其原因除了学习课业负担重外,还与读写姿势、用眼卫生、教室采光照度等因素亦有关。柳局学生视力低下呈明显的上升趋势,应引起铁路局、学校、家庭高度重视,学校要从小加强中小学生对用眼卫生知识教育,以利于保护视力,预防近视。

抽查结果显示,学生营养不良患病率呈下降趋势,但仍处在较高水平。

肥胖检出率呈逐年上升趋势,应引起社会及有关部门高度重视以防止肥胖导致成人后的高发心血管疾病、糖尿病及男性不育症等。

作者简介:雷建华(1957-),男,学士,副主任医师,主要从事卫生监督管理工作。