

HIV-1 感染者的 IgA 类免疫反应的评价*

彭宣宪¹ Mark A Wainberg² 陶玉珍² Bluma G Brenner²

摘要 目的 深入评价 HIV 感染者的 IgA 类免疫反应。**方法** 将 IgA 类免疫反应产物分解为游离 IgA、复合 IgA 和 IgA/C3 双特异性免疫复合物(IgA/C3-TCIC)三种组分,分别采用单向扩散法和 ELISA 技术进行分析。**结果** 对 68 例无症状 HIV 感染者、120 例 AIDS 患者和 36 例健康对照者的研究表明,HIV 感染者的游离和复合 IgA 显著升高,IgA/C3-TCIC 则明显下降,三者变化均与病情有一定关系,且其水平均在 p24 阳性组显著高于 p24 阴性组。游离 IgA 与 CD4 和 CD4/CD8 比率呈负相关,而与复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 呈正相关,但复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 间无明显相关性。**结论** 不同 IgA 类组分的免疫学意义有差异,其中复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 是判断 HIV 感染早期及其进展的良好指标,而游离 IgA 不失为反映 HIV 感染后期的一个特征性指标。患者血清 IgA 显著升高可能与抑制性 T 细胞的数量下降和功能障碍有关。并提出可考虑通过干扰复合 IgA 的形成和促进复合 IgA 的清除等途径来作为治疗疾病的新手段。

关键词 艾滋病 IgA 双特异性免疫复合物 免疫反应

IgA IMMUNE RESPONSES IN PATIENTS WITH HIV INFECTION*

Peng Xuanxian¹ Mark A. Wainberg² Tao Yuzhen² Bluma G. Brenner²

(1. The State Laboratory for Tumour Cell Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005
2. McGill AIDS Center, McGill University, Montreal, Canada)

ABSTRACT Aim To further understand IgA immune responses in patients with HIV infection. **Methods** IgA immune responses were dissected into their components, namely free IgA, complexed IgA and IgA/C3 two-component-determined circulating immune complexes (IgA/C3-TCIC), which were detected by single radio immune diffusion or ELISA. **Results** Our study group included 36 HIV-seronegative controls, 68 asymptomatic HIV+ subjects, 120 HIV+ individuals with AIDS-related opportunistic infection. Both levels of free and complexed IgA were significantly increased in patients, but the amount of IgA/C3-TCIC was markedly reduced among them. All of the three markers were dramatically higher in p24+ group than p24-one. Free IgA was negatively associated with CD4 and CD4/CD8 ratio, and positively with complexed IgA and IgA/C3-TCIC. However, there were no relationship between complexed IgA and IgA/C3-TCIC. **Conclusion** These findings show that complexed IgA and IgA/C3-TCIC may be better markers of early stage progression of HIV infection, and that free IgA may be a more valuable indicator in later stage disease. The mechanism of elevated serum IgA may be involved in CD4 numbers and function. Furthermore, a need for novel therapeutic strategies to modulate IgA immune responses in AIDS is suggested.

KEY WORDS AIDS IgA Two-component-determined circulating immune complexes (TCIC)
Immune response

* This project was supported by a grant from CIDA, Canada and a grant from Nature Science Foundation of Fujian Province

* 加拿大国际发展总署(CIDA)和福建省自然科学基金重点项目(C97016)资助课题

作者单位:1. 厦门大学肿瘤细胞工程国家专业实验室(厦门, 361005)

2. McGill AIDS Center, McGill University, Montreal, Canada

业已证明,血清 IgA 显著升高是 HIV 感染者的特征性反应^[1]。但迄今为止,对其发生

机理尚不清楚。有文献报道,这是因在感染过程中 B 细胞被非特异性活化的结果^(2,3),也有学者认为,活化的 B 细胞主要是针对有关 HIV 抗原决定簇的特异性反应^(4,5)。鉴于血清 IgA 由游离和复合(结合有抗原)两部分组合,后者又包括激活和未激活补体两大部分,而它们的免疫生物学意义有明显差异。故本文通过对 HIV 不同感染状态患者的这三种 IgA 反应产物进行比较研究,旨在加深对患者 IgA 免疫反应本质的认识。

1 材料和方法

1.1 研究对象 HIV 阳性血标本由 McGill AIDS Center, McGill University, Canada 提供。患者按 The Centers for Disease Control (CDC)标准分类,其中无症状组(CDC-2)68 例,AIDS 组(CDC-4)120 例。健康对照组(CDC-0)血标本 36 例,来源同上。

1.2 实验材料

1.2.1 羊抗人 C3 和 HRP-抗人 IgA 的羊 IgG-F(ab)₂(α 链特异性);美国 Organon Teknika Corp. 产品。

1.2.2 p24 酶联免疫检测试剂盒;美国 Coulter Corp. 产品。

1.2.3 96 孔酶联免疫反应板,丹麦 Nunc Maxisorp Immunoplates。

1.2.4 免疫扩散反应板;加拿大 ICN Biomedicals Ltd. 产品。

1.3 检测方法

1.3.1 游离和复合 IgA 的测定 取分离外周血淋巴细胞(PBLC)后的血浆用终浓度 3.5% PEG 沉淀过夜,2000g 离心 20min,另管分上清,沉淀用同浓度 PEG 洗 2 次。采用单向扩散法分别测定上清 IgA(游离 IgA)和沉淀 IgA(复合 IgA)的含量(mg/dL)。

1.3.2 IgA/C3 双特异性免疫复合物(IgA/C3-TCIC)的 ELISA 检测 按文献⁽⁶⁾进行,以抗人 C3 的羊 IgG 包被反应板,来结合 TCIC 中的 C3,再以 HRP-抗人 IgA 的羊 IgG 为检测抗体与 TCIC 中的 IgA 反应,其含量以 OD 表示。

1.3.3 CD4 和 CD8 的检测 常规分离外周血淋巴细胞(PBMC)后,用流式细胞自动分析仪进行计数,并按各亚型在 PBMC 中所占比例折算其每 μl 绝对数量和百分比。

1.3.4 p24 的检测 按文献⁽⁷⁾进行酸溶解后,再按试剂盒说明书进行。

2 结果

2.1 不同 HIV-1 感染类型的 IgA 类免疫反应 不同 HIV-1 感染类型的 IgA 类免疫反应结果见表 1。表 1 显示,游离 IgA 和复合 IgA 均随 HIV 感染加重而逐渐上升,其中游离 IgA 在 CDC-4 分别与 CDC-0 和 CDC-2 有非常显著性差异,复合 IgA 在 CDC-2 和 CDC-4 分别与 CDC-0 有非常显著性差异;IgA/C3-TCIC 则因 HIV 感染而明显下降,出现临床症状后又上升,但仍显著低于正常健康者,CDC-2 和 CDC-4 分别与 CDC-0 有显著性差异。

表 1 不同 HIV-1 感染类型的 IgA 类免疫反应
Table 1 IgA immune responses in different types of HIV infections

临床类型 Clinical types	例数 Cases	游离 IgA Free IgA	复合 IgA Complexed IgA	IgA/C3 双特异性免疫复合物 IgA/C3-TCIC
		$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
CDC-0	36	224 ± 13	2.7 ± 0.3	0.59 ± 0.05
CDC-2	68	249 ± 11	6.0 ± 0.5	0.29 ± 0.04
CDC-4	120	352 ± 10	7.0 ± 0.4	0.41 ± 0.03

2.2 IgA 类免疫反应与 p24 的关系 186 例检测了血清 p24 的患者中,67 例阳性,119 例阴性。其游离 IgA、复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC $\bar{x} \pm s$ 在阴性组依次为 258 ± 20、4.8 ± 0.4 和 0.37 ± 0.03,在阳性组依次为 350 ± 19、7.3 ± 0.6 和 0.57 ± 0.05,相互间均有非常显著性差异(P < 0.01),见表 2。

表 2 IgA 类免疫反应与 p24 的关系
Table 2 Relationships between IgA immune responses and p24

p24	例数 Cases	游离 IgA Free IgA	复合 IgA Complexed IgA	IgA/C3 双特异性免疫复合物 IgA/C3-TCIC
		$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
-	67	258 ± 20	4.8 ± 0.4	0.37 ± 0.03
+	119	350 ± 19*	7.3 ± 0.6*	0.57 ± 0.05*

2.3 IgA 类免疫反应与 T 细胞亚群的相关性
采用相关系数法,分析 IgA 类免疫反应与 T 细胞亚群的相关性。结果发现,游离 IgA 与 CD4 绝对数、CD4 百分比、CD4/CD8 比率均呈显著负相关,而其余均无明显相关性,见表 3。

表 3 IgA 类免疫反应与 T 细胞亚群的相关数(r)
Table 3 Pearson correlation matrix comparing IgA immune responses with the number or percent of CD4 and CD8 cells in PBMC

	例数 Cases	游离 IgA Free IgA	复合 IgA Complexed IgA	IgA/C3 双特异性免疫复合物 IgA/C3-TCIC
CD4 绝对数 CD4 Absolute No.	176	-0.34*	-0.16	-0.19
CD4 百分比 CD4 Percent	176	-0.31*	-0.08	-0.16
CD8 绝对数 CD8 Absolute No.	166	-0.04	-0.01	-0.02
CD8 百分比 CD8 Percent	166	-0.12	0.02	0.06
CD4/CD8 比率 CD4/CD8 Ratio	166	-0.29*	-0.06	-0.23

* P<0.01

2.4 IgA 类免疫反应指标间的相关性 采用相关系数法,研究 IgA 类免疫反应指标间的相关性。结果发现,游离 IgA 与复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 间均呈非常显著的正相关(P<0.01),而复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 间的相关性不明显,见表 4。

表 4 188 例患者 IgA 类免疫反应指标间的相关性(r)
Table 4 Pearson correlation matrix comparing IgA immune responses with themselves

	游离 IgA Free IgA	复合 IgA Complexed IgA	IgA/C3 双特异性免疫复合物 IgA/C3-TCIC
游离 IgA Free IgA	1		
复合 IgA Complexed IgA	0.54	1	
IgA/C3 双特异性免疫复合物 IgA/C3-TCIC	0.51	0.36	1

3 讨论

本研究将 IgA 类免疫反应分解为游离、复合和 IgA/补体双特异性免疫复合物(IgA/C3-TCIC)三种指标进行探讨,结果发现其在

HIV 感染者中均发生显著变化。其中游离 IgA 的升高是在患者出现了临床症状后表现最为明显;复合 IgA 的升高是在机体感染 HIV 后表现最为明显,而与患者是否出现临床症状无关;IgA/C3-TCIC 则表现为 HIV 感染者明显低于正常健康者,且与患者是否出现临床症状有关,有临床症状者较无临床症状者高。血清 IgA 在 HIV 感染中的预后价值已被大多数学者所接受^[1,8]。本文对 IgA 类免疫反应的剖解结果表明,复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 是判断 HIV 感染早期及其进展的良好指标,而游离 IgA 不失为反映 HIV 感染后期的一个特征性指标。同时说明,对有关免疫反应产物的剖析分析具有重要的理论和实际意义。

在 3 种 IgA 类免疫反应指标中,游离 IgA 可能包括机体对 HIV 感染的特异性和非特异性 IgA 类抗体反应;复合 IgA 代表机体以 IgA 类抗体中和因 HIV 感染出现的有关抗原的免疫反应产物;IgA/C3-TCIC 是复合 IgA 中结合了补体的部分。本文有关游离、复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 均在 p24 阳性组显著高于 p24 阴性组以及游离 IgA 与复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 呈显著正相关的结果,说明 HIV 感染者的 IgA 类免疫反应主要是针对 HIV 感染及其可能伴随的机会性感染。而游离 IgA 与 CD4 和 CD4/CD8 比率呈负相关以及复合 IgA 和 IgA/C3-TCIC 与之无关的资料,提示 HIV 感染者的 B 细胞被非特异性激活是血清 IgA 显著升高的重要原因,其机理可能与抑制性 T 细胞的数量下降和功能障碍有关。

值得注意的是,作为复合 IgA 组成部分的 IgA/C3-TCIC 其趋势与复合 IgA 明显不同,表现为在 HIV 感染者反而低于健康者,两者间无明显相关性。文献报道,结合补体是免疫复合物被迅速清除的重要前提。本文发现 HIV 感染者的 IgA/C3-TCIC 含量下降,提示患者复合 IgA 水平升高与其清除障碍有关。免疫复合物的病理生理意义与其免疫球蛋白类型密切相关,其中 IgA 类免疫复合物是疾病慢性化的重要指标,病理意义较大^[9-11]。免疫复合物

也可能是病毒长期存在体内的重要形式^[12]。因此,可以在从 HIV 感染者的复合 IgA 中找到病毒存在的直接证据和探讨其在疾病过程中的意义等的基础上,考虑通过干扰复合 IgA 的形成和促进复合 IgA 的清除等途径来作为治疗疾病的新手段。

4 参考文献

1. Phillips AN, Sabin CA, Elford J, et al. CD8 counts and serum immunoglobulin A levels early in HIV infection as predictors of CD4 depletion during 8 years of followup. AIDS, 1993, 7; 975.
2. Schnittman SM, Lane HC, Higgins SE, et al. Direct polyclonal activation of human B lymphocytes by the acquired immune deficiency syndrome virus. Science, 1986, 233; 1084.
3. Pahwa S, Pahwa R, Good RA, et al. Stimulatory and inhibitory influences of human immunodeficiency virus on normal B lymphocytes. Proc Natl Acad Sci, 1986, 83; 9124.
4. Burnett PR, VanCott TC, Polonis VR, et al. Serum IgA-mediated neutralization of HIV type 1. J Immunol, 1994, 152; 4642.
5. Amadori A, Zamarchi R, Ciminale V, et al. HIV-1-specific

- cific B cell activation during HIV-1 infection. J Immunol 1989, 143; 2146.
6. Peng XX, Wainberg MA, Tao Yuzhen, et al. Immunoglobulin and complement complexes in blood following infection with human immunodeficiency virus type 1. Clin Diagn Lab Immunol, 1996, 3; 128.
7. Lillo FB, Cao Y, Concedi DR, et al. Improved detection of serum HIV p24 antigen after acid-dissociation in immune complexes. AIDS, 1993, 7; 1331.
8. Schwartzlander B, Bek B, Skarabis H, et al. Improvement of the predictive value of CD4+ lymphocyte count by β 2-microglobulin, immunoglobulin A, and erythrocyte sedimentation rate. AIDS, 1993, 7; 813.
9. 彭宣宪, 方亮. 乙型肝炎患者血清中 IgA 类 HBsAg 特异性免疫复合物的初步研究. 中华微生物学和免疫学杂志, 1988, 8; 379.
10. 彭宣宪, 卢顺春, 徐旭士, 等. 乙型肝炎 IgA 类 HBsAg 免疫复合物与肝损害的研究. 中国免疫学杂志, 1995, 11; 752.
11. 彭宣宪, 王三英, 黄雪芳. 乙型肝炎 IgM 和 IgG/补体双特异性免疫复合物的意义. 病毒学报, 1997, 13; 224.
12. Oldstone MBA. Viral persistence. Cell, 1989, 56; 517.

1997年8月28日收稿 1998年1月15日修回

治疗恙虫病致并发急性溶血 13 例

郭宏德¹ 柯为洵¹ 顾小维² 宁文锡¹

1985年5月至1995年9月我们收治恙虫病273例,其中13例并发急性溶血。占4.76%。现报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

男性11例,女性2例,年龄4~48岁,平均17.6岁。其中1例院外误诊疟疾曾予氯喹、伯氨喹啉抗疟治疗1d,其余病人均有应用氯霉素、氨基比林或扑热息痛等药物史。应用上述药物2~48h后出现黄疸。以往无黄疸史,发病前无进食蚕虫史,有2例患者的父亲有“蚕豆黄”病史。

1.2 临床表现

13例均有发热,皮肤溃疡或焦痂,浅表淋巴结肿大,皮疹,头痛,腰痛,乏力,食欲下降。11例排过酱油样尿。5例有贫血貌。皮肤、巩膜轻度黄染10例,中度黄染3例。脾肿大4例。

1.3 实验室检查

外周血血红蛋白60~90g/L 3例,90~110g/L 6例,110g/L以上4例。网织红细胞升高11例,尿潜血

试验及尿胆原均阳性。血清总胆红素34.1~146.6 μ mol/L,以间接胆红素为主,其中小于85.5 μ mol/L者9例。高铁血红蛋白还原率均小于74%,其中小于30%者7例,最低11.4%,诊断为红细胞葡萄糖-6磷酸脱氢酶(G-6PD)缺乏,抗人球蛋白(Coombs)试验及酸溶血(Ham)试验阴性。有3例贫血者行骨髓穿刺检查,提示红系增生活跃,诊断为增生性贫血。8例血清变形杆菌 OXk 凝集效价 \geq 1:160,阴性者5例行肿大淋巴结穿刺涂片,3例找到恙虫病立克次体,其余2例用聚合酶链反应(PCR)测恙虫病立克次体 DNA 阳性。

1.4 治疗

发现黄疸后立即停用氯霉素,禁用氨基比林、扑热息痛等药物,改用强力霉素片,每天0.2,连用2~7天;地塞米松,每日10~15mg, (下转第39页)

作者单位:1. 浙江省湖州市解放军第98医院(湖州,313000)
2. 广州第一军医大学南方医院