

豚鼠过敏性休克 IgE 和 C5 复合物分布及 c-kit 蛋白表达

郭 薇, 陈玉川, 成建定, 刘水平

(中山医科大学法医病理学教研室, 广东 广州 510089)

摘要: 【目的】探索过敏性休克法医学客观诊断标准。【方法】建立豚鼠异种血清过敏性休克模型, 采用 LSAB 免疫组化方法检测模型鼠脏器 IgE, c-kit 蛋白以及 C5 复合体的分布。【结果】过敏性休克豚鼠肝, 脾未检出 IgE, 肺、肾检见大量 IgE, 胃黏膜层 c-kit 蛋白阳性细胞明显增多, 各脏器均未检测出 C5 复合物。【结论】过敏性休克时, 肺小血管壁及管周, 肾小管内检见大量 IgE, 可作为法医检案客观诊断标准。同时提示, 肺和肾是病变最严重的脏器, 补体 C5 未参与异种血清造成的过敏性休克过程。胃黏膜层 c-kit 蛋白阳性细胞增多可作为辅助诊断指标。

关键词: 过敏症; IGE; 原癌基因蛋白质 c-kit 类; 肥大细胞

中图分类号: R331.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-257X(2002)02-0103-02

The Distribution of IgE and C5 Complement, the Expression of c-kit Protein in Anaphylactic Shock Guinea-pigs GUO Wei, CHEN Yu-chuan, CHENG Jian-ding, LIU Shui-ping. (Department of Forensic Pathology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510089, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the distribution of IgE, c-kit protein and C5 complement in the guinea-pigs which suffered from human serum anaphylactic shock. 【Methods】LSAB immunohistochemical method was used. 【Results】IgE was detected in lungs and kidneys but not in livers and spleens in anaphylactic guinea-pigs. The expression of c-kit increased in Anaphylactic guinea-pigs when compared with the control group. There was no C5 complement expression in both model and control groups. 【Conclusion】The distribution of IgE in lungs and kidneys may be useful in establishing a diagnosis of anaphylactic shock.

Key words: anaphylaxis; IgE; proto-oncogene proteins c-kit; mast cells

过敏性休克属于速发型变态反应, 也称过敏型变态反应(anaphylactic type of allergy), 是 IgE 介导的 I 型变态反应最危重的一种。它发病突然, 难以预见, 且危及生命, 常规尸检无特异性病变, 多年来是法医学鉴定中的一大难题。目前法医学鉴定过敏性休克多采用排除法, 结合用药史确定。临床实践中, 检测血清中总 IgE 水平诊断变态反应疾病。本室以前研究资料表明豚鼠在致敏后血清总 IgE 明显升高, 抗原再次攻击前明显高于再次攻击后休克死亡者^[1], 提示 IgE 可能在组织中存留。为了探索过敏性休克死亡的客观诊断指标, 我们在 2000 年 10 月至 2001 年 2 月间应用免疫组化方法检测豚鼠组织中的 IgE 和 C5 复合体的分布以及 c-kit 蛋白表达。

1 材料与方 法

1.1 材 料

多人混合的正常人血清, 中山医科大学法医物证教研室提供。

纯种 Hartly 豚鼠 12 只, 雌雄不拘, 体质量约 200 g, 随机分为正常对照组和模型组, 由中山医科大学实验动物中心提供。兔抗人 IgE 抗体, 兔抗人 C5 复合物抗体, 兔抗鼠 c-kit 抗体, 分别购自 DAKO 公司, 武汉博士德公司。DAB(棕黄色), S-P 试剂盒购自武汉博士德公司。

1.2 过敏性休克动物模型的建立

参照文献[2], 将多人血清混合后, 离心 4 000 r/min($r=8$ cm), 10 min, 取上清, 用 8.5 g/L 无菌生理盐水 1:10 稀释, 即为致敏原注射液。模型组豚鼠 6 只, 一侧后爪掌皮内注射致敏原 0.15 mL, 形成皮丘。致敏后饲养 3 周后, 于胸前区心搏最明显处刺入心腔, 见有搏动性回血后注射人血清 1 mL, 诱发过敏性休克, 豚鼠均在 2 min 内死亡, 休克发生率 100%。取肺、肝、肾、脾等组织, 常规甲醛固定, 备作 HE 染色, 免疫组化染色。对照组皮内注射 8.5 g/L 生理盐水 0.15 mL, 于饲养 3 周后, 心腔内注射 1 mL 8.5 g/L 生理盐水, 未死亡。断头处死后组织作上述处理。

收稿日期: 2001-10-23

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(950301); 中山医科大学“211 工程”重点学科建设基金资助项目(98)

作者简介: 郭 薇(1972-), 女, 山西运城人, 讲师, 博士。

1.3 免疫组化 LSAB 法染色

染色方法按试剂盒说明书进行,以 PBS 代替一抗、二抗、抗生物素蛋白-链霉亲和素-辣根过氧化物酶作对照。在图象分析仪上,每张切片随机取 5 个高倍视野,测定一定面积内阳性信号面积和阳性信号平均灰度值,计算阳性指数(PI)PI=阳性信号面积×阳性信号平均灰度值/测定面积。

1.4 统计学处理

实验组和对照组均数比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 致敏豚鼠休克模型的观察

实验组豚鼠于抗原攻击后 30 s 开始出现活动减少,继而躁动,呼吸困难,四肢软弱,抽搐,最后死亡。死后解剖检查,见心包无填塞,心脏停止于舒张期,肠系膜血管扩张充血,以及肺水肿。组织学检查发现,肺血管明显扩张出血,肺水肿合并肺气肿,肝小静脉扩张等休克的病理改变表现。对照组豚鼠无异常表现,未出现死亡。

2.2 IgE 的 LSAB 染色

对照组 6 例,肝,肾,脾,肺各组织未检见 IgE。实验组 6 例,肝,脾未检见 IgE。肾脏 IgE 出现在肾小管上皮细胞内(图 1)。肺小血管壁,血管周围出现新月型的阳性区域。

2.3 c-kit 的 LSAB 染色

对照组 6 例,胃黏膜层 c-kit 阳性细胞多分布在黏膜下层。实验组 6 例,胃黏膜层 c-kit 阳性细胞分布明显增多,PI($\bar{x} \pm s$)为 39.9 ± 3.3 ,与对照组 24.3 ± 2.2 相比(图 2),差异有显著性($P < 0.05$)。

2.4 C5 复合体的 LSAB 染色

实验组和对照组均未检出 C5 复合体。

3 讨论

过敏性休克在法医检案中经常遇到,除有肺、气管、肾充血水肿等非特异性表现外,尚无客观可靠的特异性形态学诊断指标。IgE 是 I 型变态反应的关键环节。IgE 由浆细胞受抗原刺激后分泌,IgE 与肥大细胞结合后在抗原再次入侵时,引起肥大细胞脱颗粒,释放过敏介质,导致严重的变态反应。临床实践证明,各种类型的变态反应血清中总 IgE 均升高^[3]。本实验过敏性休克豚鼠肝、脾未检见 IgE,肺、肾检出大量 IgE,提示肺、肾可能是过

性休克中受累最重的器官。而杨镇等在日本血吸虫病兔肝内血管壁检见 IgE^[4],说明寄生虫感染时,IgE 多出现在肝。不同组织检出 IgE 有助于区分寄生虫感染和过敏性休克。本实验过敏性休克豚鼠 IgE 分布在肺小血管壁及其周边和肾小管上皮细胞内,这提示过敏性休克时,组胺大量释放,小血管和毛细血管通透性增加,免疫球蛋白可以溢出血管,进入组织间隙,并能由肾小球滤过,在肾小管重吸收。

原癌基因 c-kit 属于血小板衍化生长因子(PDGF)和集落刺激因子(CSF-1)受体家族,编码酪氨酸激酶受体。c-kit 具有调节细胞间信息通道的功能,对控制细胞的生长和分化起关键作用。c-kit 是干细胞因子(SCF)的受体,SCF 是成纤维细胞分泌的,有促进肥大细胞增殖和分化的能力。一般认为 c-kit 仅在肥大细胞、黑素细胞、睾丸细胞内表达^[5]。在胃黏膜层 c-kit 阳性细胞主要是肥大细胞^[6]。系统性肥大细胞增多症的患者,c-kit 表达增多^[7]。本实验组豚鼠胃黏膜 c-kit 表达阳性的细胞明显增多,提示致敏后肥大细胞有增生和分化的现象出现。

C5 是过敏毒素,直接可引起肥大细胞脱颗粒,本实验中各脏器均未发现 C5 复合体,说明补体系统可能未参与血清过敏性休克过程。

本实验提示,肺、肾检出 IgE 可能有助于从形态学角度诊断过敏性休克;胃黏膜 c-kit 表达增多,似可作为过敏性休克的辅助形态学诊断指标。

(本文图 1, 2 见封 2 Fig. 1, Fig. 2 show inside front cover)

参考文献:

- [1] 左芷津,祝家镇. 检测青霉素过敏性休克血中 IgE 类抗体[J]. 中国法医学杂志, 1993, 9(3): 140.
- [2] 左芷津,祝家镇. 过敏性休克死亡体内白三烯变化的研究[J]. 中国法医学杂志, 1992, 7(3): 141.
- [3] Bruce S, Bochner M D, Lawrence M, et al. Anaphylaxis[J]. New Eng J Med, 1991, 324(25): 1785.
- [4] 杨 镇,李大鹏,施宝明,等. 日本血吸虫病兔肝内血管壁免疫球蛋白和补体的免疫组织化学分析[J]. 同济医科大学学报, 1998, 27(1): 49.
- [5] Ashman L K. The biology of stem cell factor and its receptor c-kit [J]. Int J Biochem Cell Biol, 1999, 31(10): 1037.
- [6] 刘 浩,籍 萍. 儿童贛门失迟缓症肠间质细胞的免疫组织化学研究[J]. 西安医科大学学报, 2000, 21(1): 26.
- [7] Elliott Middleton Jr. Allergy: principle and practice. 3th ed[M]. 西安:世界图书出版社, 1996. 30~35.

(编辑 黄小延)

PCR 技术对 Wilson 病基因进行定点突变的研究 (正文见第 94 页)
 PCR site-Directed Mutagenesis of Wilson Disease Gene *in Vitro* (Text in page 94)

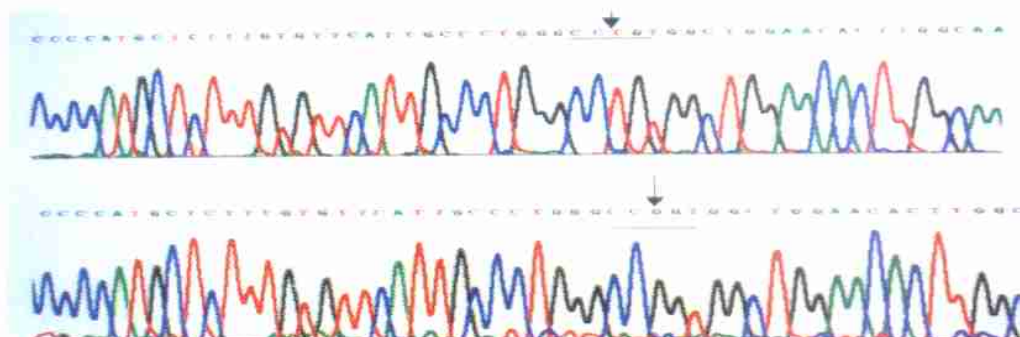


图 2 DNA 测序分析结果

Fig. 2 The DNA sequencing results

Mutation site in codon 778 of exon 8 in WD gene was produced from Arg(CGG)to Leu(CTG). Upper before mutation;
 Lower after mutation

豚鼠过敏性休克 IgE 和 C5 复合物分布及 c-kit 蛋白表达 (正文见第 103 页)
 The Distribution of IgE and C5 Complement, the Expression of c-kit protein in Anaphylactic Shock
 Guinea-pigs (Text in page 103)

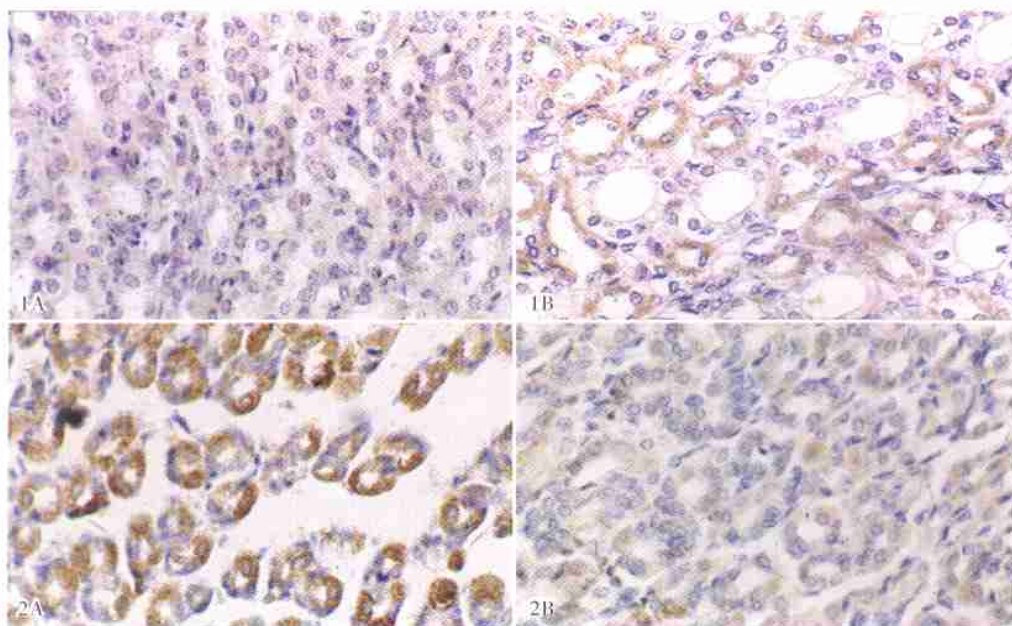


图 1 模型组和对照组肾脏 IgE 分布

图 2 模型组和对照组胃黏膜 c-kit 表达

Fig. 1 Distribution of IgE in kidneys of anaphylaxis and control groups (LSAB × 200)

1A: Anaphylaxis; 1B: Control

Fig. 2 Expression of c-kit in gastric mucous membrane of anaphylaxis and control groups (LSAB × 200)

2A: Anaphylaxis; 2B: Control