

# 人源性抗 EB病毒 IgG/VCA抗体 在 SCID小鼠中的诱导<sup>①</sup>

肖锡宾<sup>1②</sup> 陈系古<sup>2</sup> 张昌卿<sup>1</sup> 李经略<sup>1</sup>  
黄冰<sup>2</sup> 冯凯涛<sup>1</sup> 叶永照<sup>1</sup> 孙韵<sup>1</sup>

(1 中山医科大学肿瘤医院中心实验室; 广州, 510060 2 中山医科大学实验动物中心; 广州, 510089)

**摘要** 将人外周血淋巴细胞 (PBL)和腹腔淋巴结淋巴细胞 (PLNL)移植入严重联合免疫缺陷疾病 (SCID)小鼠腹腔, 2个月后, 小鼠血清内产生人源性 IgG和抗 EB病毒壳抗原 IgG抗体 (IgG/VCA)。比较结果显示, 用 B95-8细胞作为 VCA来源所诱导的实验组 10只小鼠, IgG/VCA阳性率为 70% (7/10), 对照组为 17% (2/12)。IgG/VCA的几何平均滴度 (GMT)和血清 IgG浓度, 在 14只 SCID-PLNL小鼠中为  $1: 108$  和  $(96.2 \pm 56.4) \mu\text{g/L}$ ; 在 8只 SCID-PBL小鼠为  $1: 7.8$  和  $(13.84 \pm 6.0) \mu\text{g/L}$ 。该结果提示, SCID-PLNL小鼠较 SCID-PBL小鼠更适合用于人源性特异 IgG的诱导。

**关键词** 疱疹病毒 4型, 人免疫学; 抗体, 病毒; 小鼠, SCID

**中图分类号** R 373; R 392.11

建立人 B淋巴细胞体外免疫系统, 克服特异性人 B淋巴细胞来源的不足是制备人源性单克隆抗体的关键, 但迄今尚未有较完善的技术路线。本文就利用免疫重建方法在严重联合免疫缺陷小鼠<sup>[1]</sup> (severe combined immunodeficient disease mice, SCID小鼠)体内诱导人源性抗 EB病毒壳抗原 (VCA) IgG抗体 (IgG/VCA), 初步结果报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 SCID-PLNL, SCID-PBL小鼠的建立

将外科手术切除的正常人腹腔淋巴结在无菌条件下洗涤、剪碎, 过 200目滤网后取悬液, 用淋巴细胞分离液 (上海试剂二厂) 分离获得腹腔淋巴结淋巴细胞 (PLNL)。同样方法分离经肝素抗凝的新鲜健康人静脉血, 获得外周血淋巴细胞 (PBL)。用  $0.1 \text{ mol/L}$  pH 7.0 PBS缓冲液洗涤淋巴细胞, 调节细胞浓度为  $5 \times 10^6 / \text{mL}$ , 取 22只 SCID小鼠 (中山医科大学实验动物中心提供) 行尾静脉采血取样后, 每只小鼠经腹腔注入 1 mL 淋巴细胞悬液。其中 14只注入 PLNL (SCID-PLNL), 8只注入 PBL (SCID-PBL)。2个月后再取血清样本, 处死小鼠。检测前后 2次血清样品中鼠人 IgG含量和 IgG/VCA滴度,

将小鼠各脏器组织固定切片; 用免疫组化染色检测人 T B淋巴细胞的分布 (另文报道)。

### 1.2 人源性 IgG/VCA的诱导

10只已移植人淋巴细胞的 SCID小鼠 (其中 SCID-PLNL 7只, SCID-PBL 3只) 每隔 15 d 从腹腔注入 EB-VCA抗原阳性, 冻融的 B95-8细胞  $1 \times 10^6$  个, 共 2次。另 12只小鼠 (SCID-PLNL 7只, SCID-PBL 5只) 注入不产生 EB-VCA抗原的低分化鼻咽癌 CN<sub>2</sub> 细胞作为对照。

### 1.3 鼠人 IgG IgG/VCA抗体的测定

用双抗体夹心 Elisa方法测定小鼠血清中人 IgG抗体, 用直接 Elisa方法测定血清样品中鼠 IgG抗体<sup>[2]</sup>。根据同步建立的鼠人 IgG标准曲线算出实验小鼠血清中鼠人 IgG含量。IgG/VCA抗体的测定采用广东中山生物工程公司生产的 VCA/IgA检测试剂盒, 取辣根过氧化物酶标记的羊抗人鼠 IgG作为二抗。

## 2 结果

### 2.1 鼠人 IgG抗体的测定

移植人淋巴细胞前, 所有 SCID小鼠血清均未检测到鼠人 IgG抗体; 移植人淋巴细胞两个月后,

鼠 IgG 仍为阴性, 22 个血清样品均可测出人 IgG 抗体。

## 2.2 人源性 IgG/VCA 抗体水平测定

用 B95-8 细胞诱导的 SCID 小鼠血清 IgG/VCA 阳性率为 70% (7/10), 最高稀释度为 1: 1024; 对照组血清 IgG/VCA 阳性率为 17% (2/12), 最高稀释度为 1: 80。

## 2.3 SCID-PLNL 与 SCID-PBL 小鼠血清内人 IgG 含量及 IgG/VCA 几何平均滴度 (GMT)

14 只 SCID-PLNL 和 8 只 SCID-PBL 小鼠血清人 IgG 含量前者为  $(96.2 \pm 56.4) \mu\text{g/L}$ , 后者为  $(13.84 \pm 6.0) \mu\text{g/L}$ , 二者间有显著差异 ( $P < 0.05$ )。它们的 IgG/VCA 几何平均滴度分别为 1: 108 和 1: 7.8, 前者明显高于后者。

## 3 讨论

Lieber 等人<sup>[3]</sup>认为 SCID 小鼠是 CB-17 纯系小鼠因体细胞 16 号染色体基因突变后, 免疫球蛋白基因和 T 细胞受体基因的重组受到破坏, 从而导致体内缺乏成熟的功能性 T B 淋巴细胞, 成为免疫功能缺陷的小鼠。该小鼠能够接受人类淋巴细胞的移植。是目前研究人免疫机制较好的动物模型。

据报道<sup>[4]</sup>国内正常人外周血抗 EB 病毒 IgG/VCA 抗体在 3~5 岁时已达 100% 阳性。所以无论是在人的淋巴结淋巴细胞, 还是在外周血淋巴细胞内均含有与产生该抗体有关的记忆性淋巴细胞。本实验所见, 未用 B95-8 细胞免疫的 SCID 小鼠 (对照组) 有 17% (2/12) 能产生人 IgG/VCA, 可能是这些记忆性细胞自发增殖分化所致。经 B95-8 诱导的 SCID 小鼠不仅 IgG/VCA 阳性率高于对照组; 其最

高滴度 1: 1024, 也高于对照组的 1: 80。提示在诱导组小鼠内, 与 IgG/VCA 抗体生成有关的“记忆”性淋巴细胞, 在 EB 病毒壳抗原的刺激下有更显著的增殖和分化能力。特异抗体分泌更多。比较 SCID-PLNL 与 SCID-PBL 小鼠之间的差异还发现前者在血清 IgG 含量、IgG/VCA 抗体的几何平均滴度方面都高于后者。从诱导特异性 B 淋巴细胞分泌抗体的效果考虑, 应用腹腔淋巴结来源的淋巴细胞作为 SCID 小鼠的免疫重建细胞, 显著优于外周血来源的淋巴细胞。上述结果表明, 在 SCID 小鼠内移植人免疫细胞的方法, 不仅为人 B 淋巴细胞的长期培养和诱导分化提供了有效的环境。如果将肿瘤分布区淋巴结的淋巴细胞移植到 SCID 小鼠内, 再利用相应的肿瘤细胞作为抗原对免疫重建后的 SCID 小鼠进行加强免疫, 将有可能为制备抗肿瘤的人源性单抗提供足够的特异性人 B 淋巴细胞。

## 参 考 文 献

- 1 Bosma GC, Custer RP, Bosma MJ. A severe combined immunodeficient mutation in mouse. *Nature*, 1993, 301: 527
- 2 郑怀竞, 韩松. 临床检验 Elisa 指南. 北京: 北京医科大学, 中国协和医科大学联合出版社, 1994, 12~17
- 3 Lieber MR, Hesse JE, Lewis S, *et al.* The defect in murine severe combined immunodeficiency: joining of signal sequences but not coding segments in V (O) J recombination. *Cell*, 1988, 55: 27
- 4 区宝祥, 曾毅主编. 鼻咽癌病因和发病学的研究. 北京: 人民卫生出版社, 1985, 14

(1996-06-25 收稿 1996-09-25 修回)

## THE INDUCTION OF HUMAN IgG TO EPSTEIN-BARR VIRUS CAPSID ANTIGEN (EB-VCA) IN SCID MICE

Xiao Xibing<sup>1</sup> Chen Xigu<sup>2</sup> Zhang Changqing<sup>1</sup> Huang Bing<sup>2</sup>  
Li Jinglue<sup>1</sup> Fong Kaitao<sup>1</sup> Ye Yongzhao<sup>1</sup> Sun Yun<sup>1</sup>

(1 Central Laboratory of Tumor Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510060

2 Laboratory of Animal Center, Sun Yat-sen University of Medical Sciences)

Severe combined immunodeficient disease-human peripheral blood lymphocyte (SCID-hPBL) and human peritoneal lymph node lymphocyte (SCID-hPLNL) mice models have been established by intraperitoneal injection of lymphocytes isolated from normal human peripheral blood or peritoneal lymph nodes into SCID mice. The mice were then immunized by EB-VCA positive B95-8 cells. The sera from the SCID mice were then tested for their level of human IgG and induction of human IgG to EB-VCA (IgG/VCA). The results revealed that 70% (7/10) of sera had positive human IgG/VCA in the immunized mice, in comparison to 17% (2/12) in the control group. The GMT (geometric mean titer) of human IgG/VCA and the level of human IgG in the sera were  $1: 108$  and  $(96.2 \pm 56.4) \mu\text{g/L}$  in 14 SCID-hPLNL mice and  $1: 7.8$  and  $(13.84 \pm 6.0) \mu\text{g/L}$  in 8 SCID-hPBL mice respectively. The results suggested that SCID-hPLNL mice may be more effective for induction of human IgG to some specific immunogen than the SCID-hPBL mice.

**Subject headings** herpesvirus 4, human/immunology; antibodies, viral; mice, SCID

(上接第 30页)

## IN VITRO PURGING OF LEUKEMIC CELLS BY VERAPAMIL COMBINED WITH ADRIAMYCIN, VINCRISTINE AND ETOPOSIDE

Dai Mushui Hong Wende Pang Guoyuan Peng Aihua Luo Shaokai

(Laboratory of Hematology, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

Using semi-solid culture technique of clonal formation in vitro, we observed the influence of verapamil (VPL) upon ex vivo purging activity of adriamycin (ADM), vincristine (VCR) or etoposide (VP-16). The results showed that VPL significantly enhanced the killing activity of ADM, VCR or VP-16 on leukemia progenitor (L-CFU) cells, but did not add their toxicity to GM-CFU. When purged by combination of  $0.92 \mu\text{mol/L}$  ADM,  $0.0250 \mu\text{mol/L}$  VCR and  $1.70 \mu\text{mol/L}$  VP-16 or VPL combined with them, the survival rate of L-CFU was 11.61%, 3.52%, respectively, with the survival rate of GM-CFU was 35.81%, 26.05%, respectively, suggesting that VPL selectively enhanced ex vivo purging activity of combination of the above chemotherapeutic agents on leukemic cells, but did not add their toxicity to GM-CFU.

**Subject headings** verapamil/therapeutic use; leukemia, myeloid, acute/drug therapy; bone marrow purging; antineoplastic agents, combined