

細菌脂多糖增强抗体形成

楊貴貞 李兴春 張紹倫 彭大才 趙会先

(吉林医科大学, 长春)

远在 1929 年, Kolle 等已发现注射革兰氏阴性杆菌或其提取物能提高机体的非特异性免疫。以后证明, 其有效因素即革兰氏阴性菌内毒素, 化学成分为脂多糖。Johnson^[1]用蛋白抗原免疫家兔时, 若同时注入革兰氏阴性菌内毒素, 抗体效价可增 2—40 倍。Culter 等^[2,3]曾观察到脂多糖能提高溶血素的效价。此外亦有学者证明, 脂多糖可减少照射后的自身感染, 提高动物的存活率^[4-6]。这些文献报导使作者想到, 脂多糖或能拮抗电离辐射后免疫生成所遭受的抑制作用。本文将报告脂多糖对于白喉类毒素及伤寒 H901 抗体产生的增强作用, 以及脂多糖对电离辐射后动物抗体产生的影响。

材料及方法

免疫原 所用细菌为本校微生物教研室保存的 H901 菌种, 经煮沸 30 分钟杀死后制成浓度相当于麦氏管三号的菌苗。白喉类毒素购自长春生物制品所(40Lf/mL)。

细菌脂多糖, 即纯化伤寒, 副伤寒甲、乙三联菌苗, 购自北京卫生部生物制品所。每毫升含伤寒及副伤寒甲、乙抗原各 50 微克, 注射量为每公斤体重 0.2 毫克。

实验动物 家兔及大白鼠皆为本校动物饲养园所供应, 家兔体重为 2,000 克左右; 大白鼠体重为 150 克左右。

免疫方法 家兔用死菌苗免疫, 共免疫 3 次。第 1 次皮下注入 0.5 毫升, 第 2 次静脉注入 1.0 毫升, 第 3 次静脉注入 1.5 毫升, 间隔为 1 日。大白鼠用 H901 死菌苗免疫两次, 每次 6 千万细菌, 注入途径为两后脚掌, 间隔为 14 日。用白喉类毒素免疫的大白鼠, 共免疫两次, 间隔同上, 每次由两后脚掌各注入 0.2 毫升。

实验分组 家兔实验分 7 个组, 每组 5 只, 第 1 组为不照射仅用 H901 菌苗免疫的对照组; 第 2 组 400 伦照射后 24 小时免疫; 第 3 组 注射脂多糖后 24 小时免疫; 第 4 组 注射脂多糖后 48 小时免疫; 第 5 组 注射脂多糖后 24 小时照射, 再经 24 小时后免疫; 第 6 组 注射脂多糖后 48 小时照射, 再经 24 小时后免疫; 第 7 组 仅注射脂多糖对照组。

大白鼠实验共分 16 个组, 白喉类毒素免疫 8 个组, H901 免疫 8 个组, 每组 8 只动物。8 个组中一次免疫及二次免疫各有 4 个组, 其中两个组用脂多糖处理, 其他两个组为未处理的对照组, 并分别于免疫后 4 及 7 天解剖取材。H901 菌苗实验分组方法同白喉类毒素免疫组, 仅所用免疫原不同。

取材时间及观察指标 家兔每次免疫前取血 1 次, 当第 3 次免疫后每隔 3 天取血 1 次, 共取血 7 次。观察指标为细菌凝集和补体结合反应, 皆以“4 +”为判定效价标准。大白鼠于第 2 次免疫后 4 日及 7 日取血, 测定血凝效价及琼脂弥散反应。

实验结果及分析

大白鼠的实验结果及分析:

表 1 白喉类毒素免疫后血凝效价几何平均数

免疫次数	免疫后取材时间(天)	未加脂多糖组	加脂多糖组
1 次	4	0	0
	7	0	0
2 次	4	2438	2742
	7	5623	27251

表 1 说明大白鼠用白喉类毒素免疫后血凝抗体效价的情况。未用脂多糖处理的动物, 1 次免疫后无论 4 或 7 天取材观察, 皆未见到有血凝抗体。2 次免疫后 4 与 7 天时, 血清中抗体效价相差很少。用脂多糖处理的动物, 1 次免疫后亦无抗体产生; 2 次免疫后 4 天, 其抗体效价与未加脂多糖动物相同; 7 天者效价则较未加脂多糖者高, 约为其 5 倍。未加脂多糖组 2 次免疫后 7 天较 4 天取血观察者, 其抗体效价仅增加 1 倍, 而加脂多糖组则增加 9 倍左右。由此可见, 动物用脂多糖处理后, 在 2 次免疫后 7 天者抗体效价有明显地增加。

在琼脂弥散试验中亦见到类似的结果, 见表 2。

表 2 血液中抗体与不同稀释度抗原起沉淀反应的结果

免疫次数	组别 免疫后 类毒素稀释 取材时间(天)		未加脂多糖				加脂多糖			
			8×	16×	32×	64×	8×	16×	32×	64×
	1 次	4	0/8*	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	7		0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	
2 次	4		3/7	4/7	0/7	0/7	2/8	1/8	4/8	1/8
	7		6/8	2/8	0/8	0/8	1/8	1/8	6/8	

* 分子代表阳性例数, 分母代表标本总数。

表 2 说明血液中抗体与不同稀释度抗原起沉淀反应的结果。1 次免疫无论正常动物免疫组或加脂多糖组, 其琼脂弥散反应皆为阴性。2 次免疫后, 未加脂多糖组 4 与 7 天的琼脂弥散反应阳性数目几相等, 其效价亦几相等。加脂多糖组的琼脂反应阳性率与抗原稀释倍数皆较高。

此外, 观察了细菌脂多糖对伤寒杆菌免疫动物后抗体产生的情况。

表 3 伤寒杆菌 H901 免疫后凝集效价几何平均数

免疫次数	免疫后取材时间(天)	未加脂多糖组	加脂多糖组
1 次	4	0	0
	7	0	0
2 次	4	59.44	87.24
	7	56.57	146.7

由表 3 可看出, 用伤寒杆菌 H901 两次免疫大白鼠后, 其血清抗体效价甚低。1 次免疫后与白喉类毒素免疫相同, 未见有抗体生成。2 次免疫后 4 天与 7 天观察, 在未加脂多糖组结果未见差别, 而在用脂多糖处理的动物组, 则 7 天较 4 天稍有增加, 但与白喉类毒

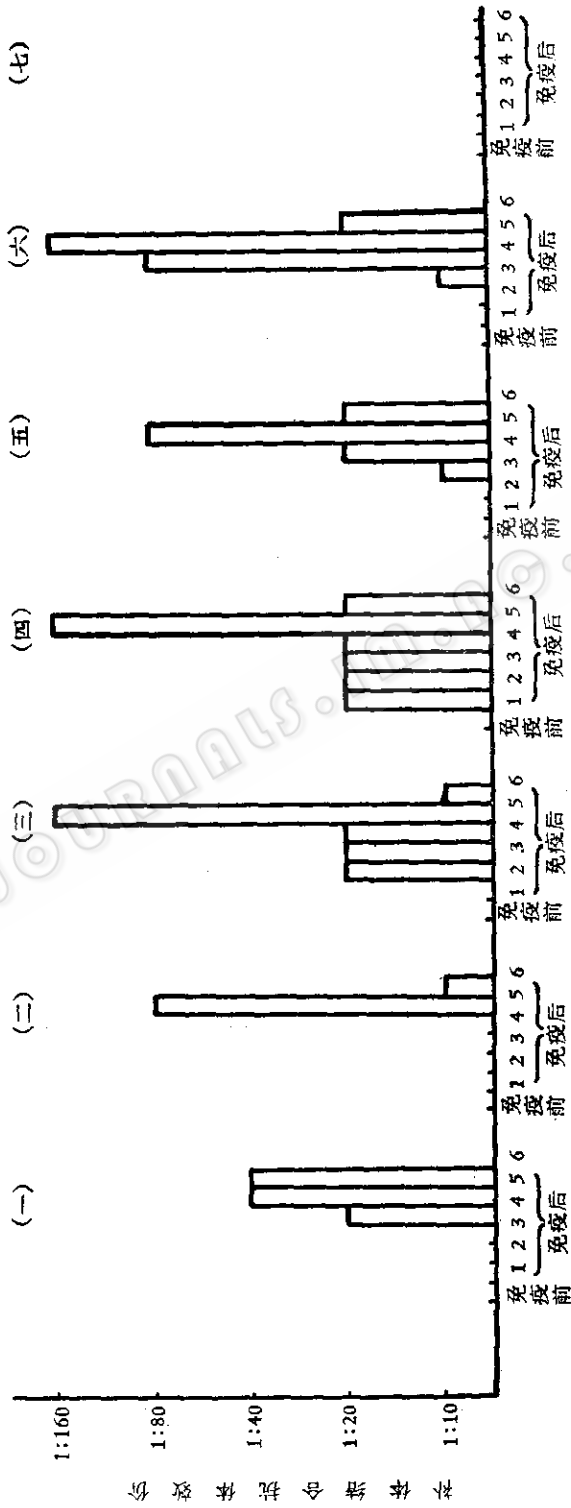


图 1 脂多糖对电离辐射后家兔补体结合抗体效价的影响
 (一) 免疫对照组; (二) 照射免疫对照组; (三) 脂多糖注入后 24 小时免疫组; (四) 脂多糖注入后 48 小时免疫组;
 (五) 脂多糖(24 小时)照射免疫组; (六) 脂多糖(48 小时)照射免疫组; (七) 脂多糖对照组。

素相比,則抗体效价不够显著。

进一步又观察了脂多糖对大剂量电离辐射后,家兔产生抗体的影响。

图 1 說明脂多糖对电离辐射后家兔补体結合抗体效价的影响。由图 1 可見,注射脂多糖确能增加补体結合抗体效价并促进抗体的形成(第 3、4 組),对照射免疫組(第 5、6 組)亦有类似作用。該二組的抗体出現時間虽較第 3、4 組迟,但較正常免疫組抗体出現尚早。第 6 組效果較第 5 組更为明显。此外,在图中亦能看到,单纯照射組在第 5 次取血时已恢复了产生抗体的能力。

同一試驗各組家兔凝集反应結果見表 4 及图 2。

表 4 脂多糖对电离辐射后家兔凝集素效价的影响

动物组别	凝 集 素 平 均 效 价					
	免疫前取血	免 疫 后 取 血 次 数				
		1	2	3	4	5
1	9.6 (1)	9.6 (1)	138 (14.4)	1660 (170)	2884 (300)	2512 (262)
2	5.3 (1)	5.3 (1)	13.1 (2.46)	60.3 (11.2)	1260 (238)	550 (102)
3	7.1 (1)	14.5 (2.04)	631 (88.9)	1660 (234)	2884 (400)	631 (88.9)
4	5.3 (1)	160 (30.2)	832 (157)	1446 (273)	2512 (473)	955 (182)
5	5.5 (1)	40 (7.28)	320 (58.2)	1097 (199)	5012 (910)	602.6 (109.5)
6	3.3 (1)	79.5 (24.1)	190.6 (56)	742 (224.5)	1280 (377)	2512 (738)
7	3.3 (1)	7.25 (2.2)	26.3 (7.9)	69.2 (29.7)	39.9 (12.9)	26.6 (8.08)

注: 括弧中数字表示凝集素效价与免疫前效价之比。

由表 4 亦可看到,对家兔施行 400 仑照射,确能抑制其产生抗体的能力,但并不能完全破坏这种能力。因为从血清效价的动力变化来看,照射組的抗体效价还是在不断升高,待 7 天后,即第 4 次取血时,似已恢复抗体产生的能力,但其效价較第 1、3、4、5、6 組皆低。第 7 組(脂多糖对照組)抗体效价变动不明显。

为了更清楚地說明問題,在图 2 中列出 4 組結果(3 組对照,1 組实验組)。此图中显而易见,实验組(照射后免疫加脂多糖組)动物的凝集素效价較其他 3 組出現早,效价高,且維持時間較长。特別引人注意的是实验組較正常免疫对照組动物血清中凝集素出現尚早。

从上述試驗結果可以看出,細菌脂多糖不但增強了与其具有相同抗原組成的 H901 杆菌免疫动物产生抗体的能力;同时亦增強了白喉类毒素产生抗体的能力。因之,象其他学者所指出那样^[1],細菌脂多糖增加特异性抗原产生抗体的能力是非特异的刺激作用。

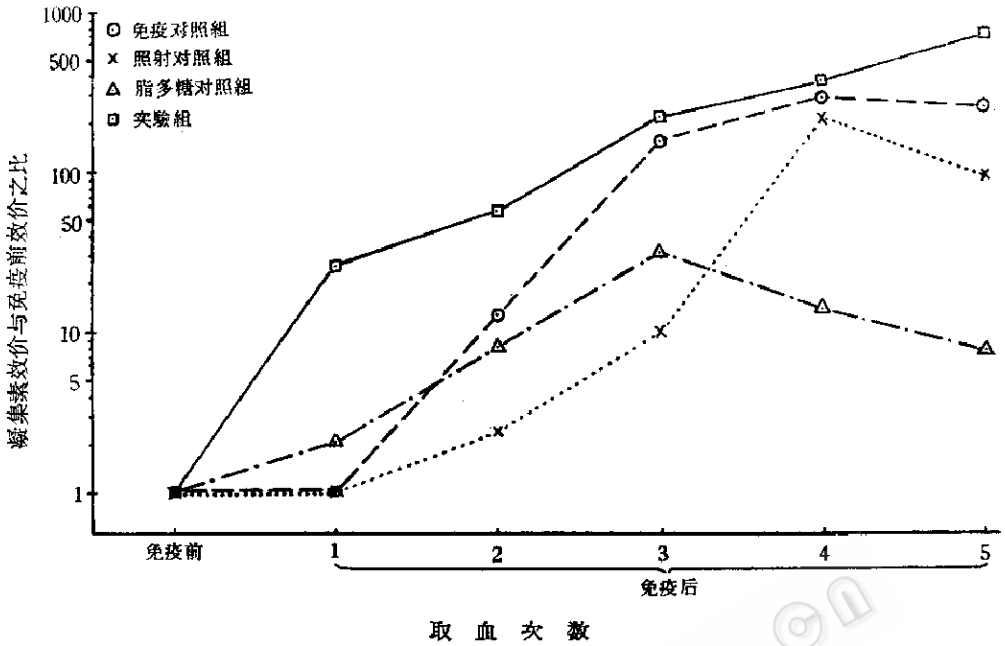


图2 脂多糖对电离辐射后家兔凝集素效价的影响

动物受到电离辐射后,在10天内抗体产生受到完全抑制,而细菌脂多糖处理者照射后,抗体产生不但没有受到抑制,反而产生速度较正常对照组高。在这里,脂多糖的主要作用,乃在于对免疫反应器官的非特异性激发,使电离辐射不再能影响它们。

摘 要

本实验分为两大部分,第一部分,实验动物为正常健康大白鼠,分别以白喉类毒素及H901伤寒菌苗加脂多糖后,一同注入动物;第二部分,健康家兔经脂多糖处理,然后于24或48小时后受400仑电离辐射,并于照射后经24、48小时进行免疫。

实验结果说明,细菌脂多糖与特异性抗原同时、或先24、48小时注入,可以增强血凝抗体的效价,并增加琼脂弥散反应出现的阳性率及抗原稀释倍数。

电离辐射能抑制家兔抗体生成;在照射后7日左右,抗体生成的能力已完全恢复。脂多糖不但能使未经照射的正常免疫动物的抗体出现较早,效价亦较高,且亦能消除电离辐射对机体抗体产生的抑制作用,并使其效价反高于正常免疫动物,出现亦较早。可见细菌脂多糖可能是作用于抗体产生的诱导时相。

可认为,脂多糖的主要作用在于对免疫器官的非特异激发,因而增强抗体的生成。

参 考 文 献

- [1] Johnson, A. G.: *J. Exp. Med.*, **103**: 225, 1956.
- [2] Culter, J. L.: *J. Immunol.*, **84**: 416, 1960.
- [3] Culter, J. L.: *J. Immunol.*, **85**: 73, 1960.
- [4] 刘树铮: 吉林医科大学学报, **4**: 15, 1961.
- [5] Smith, W. W. et al.: *Am. J. Physiol.*, **192**: 263, **192**: 549, 1958.
- [6] Каулен, Д. Р.: *Мед. радиол.*, (5): 88, 1960.

THE ENHANCEMENT OF ANTIBODY PRODUCTION BY BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDE

YANG KUEI-CHEN, LI HSING-CHUN, CHANG SHAO-LUN,
PENG TA-TSAI AND CHAO HUI-HSIEN

(Department of Microbiology, Kirin Medical Institute, Changchun)

The present work was presented in two parts. The first part was performed with normal white rats, some of which received diphtheria toxoid, and the others, typhoid vaccine, together with bacterial lipopolysaccharide. In the second part, normal rabbits were injected with lipopolysaccharide, with or without subsequent exposure of the animals to ionizing radiation of 400 r. 24 or 48 hours later, but all subjected to immunization either 24 or 48 hours thereafter.

As was seen from the results, bacterial lipopolysaccharide given simultaneously with, or 24 or 48 hours after, the introduction of specific antigens, enhanced the titre of hemagglutinin, and increased the incidence of positive reaction and sensitivity in agar diffusion test. The earlier the lipopolysaccharide was given before the antigen, the sooner did this effect make its appearance.

Ionizing radiation inhibited antibody production in rabbits up to about the 7th day, when the antibody-producing ability of the animal had already completely recovered. Lipopolysaccharide not only brought about an earlier appearance and a higher titre of antibodies in unirradiated animals, but abolished also the inhibition exerted by ionizing radiation upon antibody production, rendering its titre higher, and its appearance earlier.

It was concluded that the action of lipopolysaccharide consists mainly in exercising nonspecific activation of immunologically responsive organs, thus reinforcing the production of antibodies against typhoid bacilli, and diphtheria toxoid, and annulling the inhibiting influence of ionizing radiation on the antibody production.