

豚鼠肠道局部免疫活性细胞的观察

刘 膜 国庆芬

(佳木斯医学院微生物学教研室, 佳木斯)

1977年 Marell Popovici 氏等认为, 口服伤寒死菌苗能产生血清抗体的保护作用, 并无接种反应^[1]。正木氏以霍乱弧菌经口接种给动物, 在血清中虽无抗感染物质, 但肠道局部不发生病变, 又能抵抗再度致死量细菌的攻击^[2]。Davis 氏认为感染痢疾菌的豚鼠和人的粪便中含有凝集素, 称为粪抗体 (Coproantibody), 对痢疾杆菌有特异性^[3]。现认为此粪抗体是肠道局部所产生的分泌性抗体 IgA^[4], 在肠道抗感染中起重要作用。滨田氏曾以小白鼠口服腺病毒进行肠道局部免疫, 证明在血清及粪浸液中均有抗体存在^[5]。本文报道豚鼠经口接种三种痢疾菌苗后, 荧光染色观察肠道局部粘膜产生含有免疫活性细胞的试验结果。

材料与方 法

(一) 口服菌苗的制备: 痢疾杆菌 F_{11} , 依链株 F_{12} (卫生部药品生物制品检定所提供), 按常规方法活化, 传代及生化鉴定。

先用普通营养琼脂斜面培养基培养痢疾菌 F_{11} , 和用含 400 微克/毫升链霉素营养琼脂斜面培养依链株 F_{12} 。各传代 3 次, 然后再用 200 毫升克氏瓶扩大培养, 37℃ 培养 3 天, 制成 30 亿/毫升的活菌苗。再取 F_{11} 活菌苗 1/2 量于 100℃ 加热 1 小时制成死菌苗。经检查无杂菌后加 1/10,000 硫柳汞分装备用。取 30 亿/毫升菌液 1 毫升滴加在 1 克淀粉中制成胶囊 10 粒再包上肠溶衣。

(二) 免疫动物: 豚鼠接种菌苗前, 一组动物用导管经口灌 0.2 克/毫升碳酸氢钠液 1.0 毫升, 另一组动物灌 0.25 克/毫升链霉素 1.0 毫升, 隔数分钟后再喂痢疾口服菌苗 (痢疾菌 F_{11} 活菌苗, F_{12} 依链株活菌苗, F_{11} 死菌苗), 动物经免疫接种后体温均有上升, 平均 39.1—39.3℃, 其中有两只死亡。

(三) 标记抗血清的制备^[6]: 将 FITC 荧光色

素用 pH 9.0 碳酸盐缓冲液配成 1% 浓度, 按如下量滴加到三种抗血清中 (抗血清由上海生物制品所提供)。

抗 IgG 血清 Ig 含量为 101.0 毫克/10 毫升滴加 1.07 毫升 FITC。

抗 IgA 血清 Ig 含量为 14.2 毫克/10 毫升滴加 0.15 毫升 FITC。

抗 IgM 血清 Ig 含量为 8.5 毫克/10 毫升滴加 0.10 毫升 FITC。然后在室温下用电磁搅拌器搅拌 4 小时 (350 转/分), 放冰箱透析 2 天, 除去游离荧光素, 再与肝脏粉末混合 (每 3 毫升标记的血清加 300 毫克肝脏粉末), 放冰箱过夜, 再用 3,000 转/分离心 15 分钟, 取上清染色组织切片证明无非特异荧光, 加防腐剂备用。

(四) 取材: 实验豚鼠经三次取样, 每次间隔 10 天。取小肠中段及迴盲上部, 分别制成组织切片, 肠浸液。取心血分离血清。每次取样均用正常动物作对照。用试管法测定循环抗体及肠浸液抗体。

结 果 与 讨 论

(一) 组织切片用标记荧光色素抗血清染色后, 在荧光显微镜下观察, 免疫的豚鼠在 10 天后可产生较多含 IgM 的浆细胞, 含 IgG 的浆细胞亦多 (图 1)。接种依链株菌苗的动物含 IgA 的浆细胞较多。由此结果表明, 豚鼠经口服不同菌苗后, 肠道粘膜经抗原刺激可产生特异性的含 IgA、IgG、IgM 的免疫活性细胞, 初期以含 IgM 的浆细胞为多 (图 2—4)。Crebbi 氏认为消化道淋巴组织能产生分泌性 IgA, 并在肠粘膜下有分泌性 IgA 的浆细胞^[7]。Craig 氏用家兔实验指出, 在 Peyer 氏板含有 IgA 的前驱细胞, 并能向消化管膜处运送, 分化成产生 IgA 的浆细胞, 其分化过程为

本文于 1978 年 7 月 27 日收到。

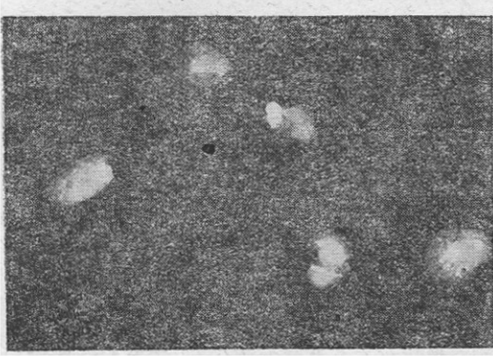
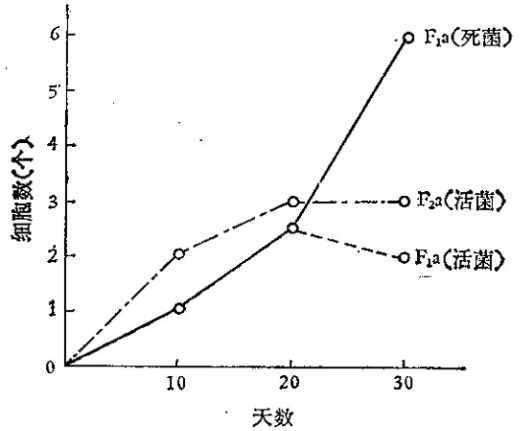
图1 豚鼠服菌苗10天后小肠组织切片 $\times 1500$ 

图2 小肠粘膜中含IgA的细胞数

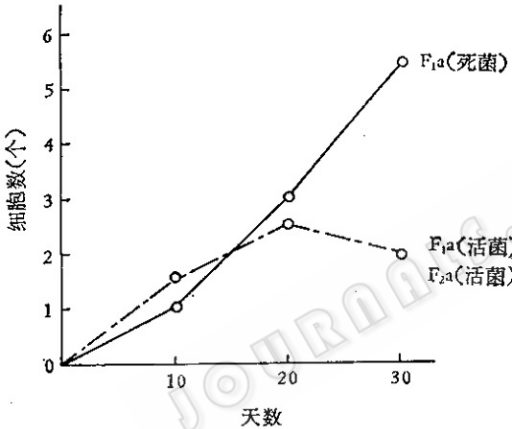


图3 小肠粘膜中含IgG的细胞数

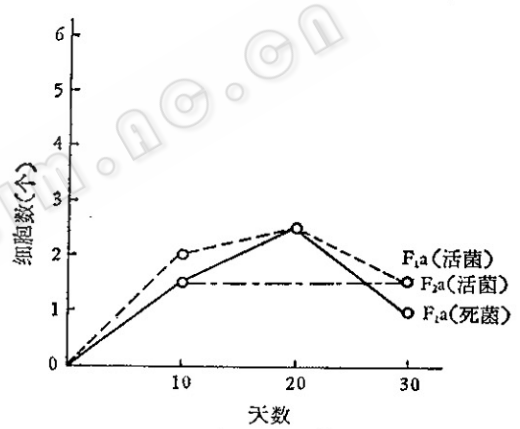


图4 小肠粘膜中含IgM的细胞数

M \rightarrow A 或 M \rightarrow G \rightarrow A。并指出 Peyer 氏板的特性是易于受各种抗原的刺激,在此T细胞可诱导B细胞成熟和分化。Knudso 氏认为能产生IgG和IgM^[6]。

(二) 实验豚鼠在第20天后,小肠粘膜的免疫活性细胞有增加的趋势,在接种依链株菌苗组中含IgM浆细胞减少,30天后减少更明显,而接种F_{1a}死菌苗中产生含IgA、IgG的浆细胞有显著的增加,而且荧光也较明亮。

(三) 测定循环抗体及粪抗体表明,口服三种菌苗的动物皆可产生低滴度的凝集素抗体,三组间无明显的差异(图5—6)。而在F_{1a}活菌苗组,F_{1a}死菌苗组的凝集素效价有差异。在实验中肠浸液加热60℃30分钟,则不出现凝集反应,与Burrows

氏称为粪抗体的性质相似,对热不稳定^[1]。

(四) 实验结果表明,经F_{1a}死菌苗免疫豚鼠,产生免疫活性细胞的效果优于其他两组。关于在人群中试用口服死菌苗来预防痢疾的可能性,有待于进一步探讨。

(五) 实验中同时取正常动物材料,以同样方法进行观察,没有发现含特异荧光的免疫活性细胞,也无循环抗体,结果均为阴性。

上述结果表明,豚鼠口服菌苗免疫后,肠道受痢疾杆菌刺激,使小肠、迴盲部粘膜固有层产生含有IgA、IgG、及IgM的浆细胞,并表现出有一定增长规律,随时间增长,则被IgA、IgG的浆细胞所取代,因此口服痢疾菌苗能够建立动物肠道局部免疫,至于免疫持续的时间及免疫活性细胞

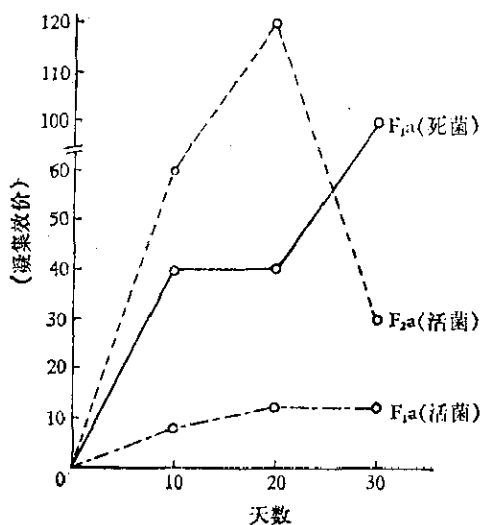


图5 豚鼠血清凝集效价

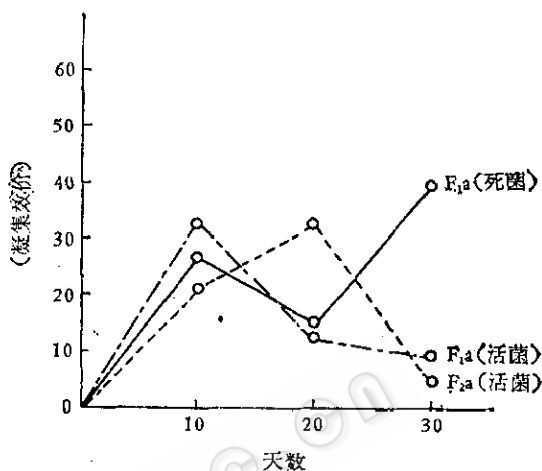


图6 豚鼠肠浸液凝集效价

的数量,尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 中国医学科学院医学情报研究所摘译: 医学参考资料, 5: 222—223, 1977。
- [2] 户部隆吉: 最新医学, 31(10): 1894—1901, 1976。
- [3] 细田四郎, 马场忠雄: 最新医学, 31(10): 1881—1888, 1976。
- [4] 河合忠: 免疫血清学检查, 第4卷第1版, 医学書院, 1973, p97—105。
- [5] 朝倉均, 日比纪文, 田中義等: 综合临床 26(6): 1134, 1977。
- [6] Lamin, Michael. E.: *Immunology*, 22: 223—190, 1976。

更 正

19 卷第 3 期 307 页图 10 倒置; 337—338 页正文及其附图中的 接合孢子均为“子囊壳”。