

细胞培养结束后,根据情况可分瓶扩大培养,也可收集培养上清进行相关试验。细胞由静置状态转为悬浮培养后,有一短暂的适应期(因细胞不同而异,Ad6为1d),随后进入快速增长期。虽然倍增时间慢于标准静置培养,但细胞密度仍很高,培养5d后细胞密度达 $10^{10}/L$ ,活细胞数为 $1.45 \times 10^9/L$ 。其表达的单抗量随细胞数的增长而逐日增加,纯化后终浓度为 $0.44 g/L$ ,是平底瓶培养难以达到的浓度。可见悬浮培养增加了细胞生长的空间,使培养罐单位容积所提供的生长面积大大增加。在实验中,我们还发现抗体浓度在细胞死亡后仍能增加,但胞内蛋白的污染也随之增加;纯化后罐培养上清中单抗浓度虽为腹水的1/9,但活性只降低了1/3,说明污染蛋白较少。

利用自制细胞罐培养杂交瘤细胞制备单抗成本低,周期短,产品性质均一,在单抗的研究中有一定实用价值。鉴于该装置是微型悬浮细胞培养装置,

所以同样适用于小规模制备悬浮细胞中表达的基因工程生物技术产品。

参考文献:

[1] Falkenberg FW, Hengelage T, Krane M, et al. A simple and inexpensive high density dialysis tubing cell culture system for the in vitro production of monoclonal antibodies in high concentration[J]. J Immunol Methods, 1993, 165(2): 193-206.  
 [2] Falkenberg FW, Weichert H. In vitro production of monoclonal antibodies in high concentration in a new and easy to handle modular minifemter[J]. J Immunol Methods, 1995, 179(1): 13-29.  
 [3] Sjögren Jansson E, Ohlin M, Borrebaeck CA, et al. Production of human monoclonal antibodies in dialysis tubing[J]. Hybridoma, 1991, 10(3): 411-419.  
 [4] Pannell R, Milstein C. An oscillating bubble chamber for laboratory scale production of monoclonal antibodies as an alternative to ascitic tumours[J]. J Immunol Methods, 1992, 146(1): 43-48.

收稿日期:2001-03-09 修回日期:2001-06-18

本文编辑:程春开

## 5种免疫学指标综合判断肾炎与肾病综合征患者病变的临床意义\*

孙伟<sup>1</sup>, 刘晓梅<sup>1</sup>, 王迎伟<sup>1</sup>, 杜文平<sup>2</sup>

(1. 徐州医学院免疫学教研室, 江苏 徐州 221002; 2. 徐州医学院寄生虫学教研室)

**摘要:**目的 探讨循环免疫复合物(CIC)、补体溶血总活性(CH<sub>50</sub>)、补体膜攻击复合体(SC<sub>5b-9</sub>)、抗核抗体(ANA)和抗双链DNA(AdsDNA)抗体在肾炎和肾病综合征患者病变中的临床意义。方法 用沉淀法、溶血法、夹心ELISA法和斑点免疫金银染色技术(Dot-IGSS)4种方法分别对45份正常人血清、56份慢性肾炎综合征和42份肾病综合征患者的血清进行检测。结果 SC<sub>5b-9</sub>升高检出率最高,敏感性显著高于CH<sub>50</sub>;慢性肾炎综合征患者ANA、AdsDNA阳性率显著高于肾病综合征患者。结论 检测上述几种免疫学指标对于慢性肾炎或肾病综合征的病情判断及鉴别诊断均有一定的价值。

**关键词:**慢性肾炎综合征;肾病综合征;补体膜攻击复合体;抗核抗体

中图分类号:R369.2 文献标识码:A 文章编号:1000-2065(2002)01-0012-03

### The clinical significance of the five immunologic parameters for determining pathological changes in patients with nephritis or nephropathy syndrome

SUN Wei, LIU Xiao-mei, WANG Ying-wei, et al

(Department of Immunology, Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

**Abstract: Objective** To study the clinical significance of 5 immunologic parameters in patients with nephritis or nephrotic syndrome. **Methods** 143 blood specimens from 45 normal controls, 56 nephritis patients and 42 patients with nephrotic syndrome were studied to determine the contents of SC<sub>5b-9</sub>, CIC and CH<sub>50</sub> and the titers of ANA and AdsDNA antibodies by using PEG precipitation reaction, hemolytic assay, sandwich ELISA and Dot-IGSS respectively. **Results** The detectability rate of SC<sub>5b-9</sub> was the highest among these parameters and the sensitivity of the test for SC<sub>5b-9</sub> was higher than that for CH<sub>50</sub>. Moreover, the titers of ANA and AdsDNA antibodies in patients with nephritis syndrome were higher than in those with nephrotic

\* 作者简介:孙伟(1975-),男,山东临沂人,助教,学士。  
 (C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

syndrome. **Conclusion** The parameters mentioned above are of certain value in helping understand the pathologic changes and differentiate nephritis from nephrotic syndrome.

**Key words:** chronic nephritis syndrome; nephrotic syndrome; SC5b-9; antinuclear antibody

慢性肾炎综合征(简称肾炎)可由多种原因引起,最常见的是急性弥漫性增生性肾小球肾炎。原发性肾病综合征主要包括轻微病变型肾小球肾炎、膜性肾小球肾炎及膜性增生性肾小球肾炎。由于大多数肾炎与肾病的病因与异常的免疫因素参与有关,故作者对肾炎或肾病患者血液中循环免疫复合物(CIC)、补体溶血总活性(CH<sup>50</sup>)、补体膜攻击复合体(SC5b-9)及自身抗核抗体(ANA)、抗双链DNA(AdsDNA)抗体的浓度进行了测定,并就这些指标检测的敏感性及其临床意义做一分析。

### 1 材料和方法

1.1 标本来源 取正常人血清标本 45 份作为对照,每份标本分装 2 支试管,一管血液用 0.1 mol/L 的 EDTA 抗凝,分离血浆;另一管血液则析出血清备用。另取临床已确诊为慢性肾炎综合征患者的血液标本 56 份和肾病综合征患者的血液标本 42 份,标本处理同正常对照组。

#### 1.2 检测项目

1.2.1 CIC 单位数 采用聚乙二醇 6000(PEG)沉淀法检测每份血清标本 CIC 的含量,结果以单位数

(UN)表示。

1.2.2 CH<sup>50</sup> 活性 取每份血清标本采用 1% 致敏羊红细胞溶血法检测补体溶血总活性。

1.2.3 SC5b-9 含量 应用双抗夹心 ELISA 法测定血浆中 SC5b-9 的含量,具体方法见文献[1]。

1.2.4 ANA 滴度 用斑点免疫金银染色技术(Dot-IGSS)进行检测,步骤见文献[2]。

1.2.5 AdsDNA 滴度 测定方法同 ANA,具体步骤见文献[1]。

1.3 统计学处理 根据资料性质对所得数据采用 *t* 检验或  $\chi^2$  检验进行分析,检验水准: $\alpha=0.05$ 。

### 2 结果

2.1 CIC、CH<sup>50</sup>、SC5b-9 检测结果 以 CIC $\leq 8$  UN, CH<sup>50</sup> 为 66.30~95.10 kU/L 及 SC5b-9 $\leq 450$   $\mu$ g/L 为正常参考值,判断各组所测数据的升高与下降,并比较 3 项指标升高或降低的检出率。结果显示,肾炎组及肾病组患者单位数的上升、CH<sup>50</sup> 活性的下降及 SC5b-9 含量的升高与对照组相比均有显著差异 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ ),但绝大多数患者血浆 SC5b-9 含量呈现增高趋势,具体结果见表 1。

表 1 各组标本 CIC、CH<sup>50</sup> 及 SC5b-9 检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	均值(检出率)		
		CIC(UN)	CH <sup>50</sup> (kU/L)	SC5b-9( $\mu$ g/L)
肾炎组	56	6.56 $\pm$ 2.66(32.14%)* $\Delta$	55.74 $\pm$ 13.22(71.42%)* $\Delta\Delta$	704.38 $\pm$ 229.45(94.64%)* $\Delta\Delta$
肾病组	42	7.49 $\pm$ 2.40(52.38%) $\Delta\Delta$	61.62 $\pm$ 13.76(45.24%) $\Delta\Delta$	887.31 $\pm$ 341.47(97.62%) $\Delta\Delta$
对照组	45	5.31 $\pm$ 1.92(2.22%)	80.08 $\pm$ 10.17(4.44%)	215.00 $\pm$ 106.38(4.44%)

与肾病组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与对照组比较:  $\Delta$   $P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta$   $P < 0.01$

2.2 ANA 及 AdsDNA 检测结果 以 ANA $\geq 1:20$ , AdsDNA $\geq 1:20$  为阳性,判断各组血清标本 2 种抗体的检出率。结果发现,肾炎组患者 ANA 和 AdsDNA 升高的滴度均较对照组高 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ ),但肾炎组患者两抗体升高检出率显著高于肾病组 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ ),具体结果见表 2。

表 2 各组血清 ANA 及 AdsDNA 阳性率比较[例(%)]

组别	n	ANA	AdsDNA
肾炎组	56	28(50.00)** $\Delta\Delta$	13(23.21)* $\Delta\Delta$
肾病组	42	9(21.43) $\Delta\Delta$	2(4.76) $\Delta$
对照组	45	0(0)	0(0)

与肾病组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与对照组比较:  $\Delta$   $P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta$   $P < 0.01$

### 3 讨论

血浆 SC5b-9 是与 S 蛋白结合的补体膜攻击复合体<sup>[3]</sup>。本实验进行 CIC、CH<sup>50</sup>、SC5b-9 这 3 项定量指标的检测,比较后发现,慢性肾炎综合征和肾病综合征均以 SC5b-9 检测敏感性最高。虽然二者血清补体 CH<sup>50</sup> 活性均有明显下降(肾炎下降检出率为 71.42%,肾病为 45.24%),但 SC5b-9 升高的检出率显著超过 CH<sup>50</sup> 降低的检出率(肾炎升高占 94.64%,肾病为 97.62%)。由此可见,SC5b-9 灵敏度明显优于 CH<sup>50</sup>。

慢性肾炎综合征中最常见的类型是弥漫性增生型肾小球肾炎,其次为狼疮性肾炎,这主要与 CIC 沉

积于肾小球, 激活补体后续反应, 造成组织损伤有关。而原发性肾病综合征, 除轻微病变型肾小球肾炎外, 其余均与免疫因素参与有关, 尤其是膜性肾小球肾炎(MGN)<sup>[4]</sup>。目前的研究表明, MGN 的损伤由补体 C5b-9 直接损伤所致<sup>[5]</sup>。本实验测定结果显示, 慢性肾炎综合征组血浆 SC5b-9 升高幅度较小, 检出率略低于肾病综合征组, 但 CH<sup>50</sup> 活性则下降明显。而肾病综合征组血浆 SC5b-9 升高幅度较大, 检出率较高, 但 CH<sup>50</sup> 活性下降不如慢性肾炎综合征组显著。鉴于 MGN 的发病机制与肾小球内免疫复合物(IC)原位形成有关, 加上 IC 定位于肾小球基底膜(GBM)上皮侧, 故肾内补体 C5b-9 形成后因受超滤梯度等因素的影响可排入尿囊腔, 尿液中可测出微量的 C5b-9<sup>[4]</sup>。

值得一提的是, 肾炎与肾病患者中有些病例血清 CH<sup>50</sup> 检测结果属正常范围, 但 SC5b-9 的含量却异常升高。结合其他检查及临床观察发现, 上述患者病情并未完全缓解。因此, 作者认为, 血浆 SC5b-9 浓度可作为反映肾炎及肾病患者预后的敏感指标之一。

就自身抗体而言, 肾炎综合征患者 ANA、AdsDNA 阳性率明显高于肾病综合征患者, 因为肾炎综合

征患者中部分属于狼疮性肾炎。已知 ANA、AdsDNA 的检出率及滴度的升高与自身免疫性疾病的活动呈正相关, 故检测 ANA、AdsDNA 两项指标, 配合临床其他项目的检查, 对于临床初步区分肾炎综合征和肾病综合征、了解病情和判断预后等均有一定的参考价值。

**参考文献:**

[1] 王迎伟, 杜文平. SLE 患者血液 SC5b-9、ANA、AdsDNA 浓度的测定及其意义[J]. 中国病理生理杂志, 1998, 18(3): 188-191.  
 [2] Liu YS, Du WP, Chen M, et al. Comparative study of dot-immunogold silver staining and dot-ELISA for the detection of serum antibodies against *Wuchereria bancrofti*[J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 1994, 25(4): 724-727.  
 [3] Ogrodowski JL, Hebert LA, Sedmak D, et al. Measurement of SC5b-9 in urine in patients with the nephrotic syndrome [J]. Kidney Int, 1991, 40(6): 1141-1147.  
 [4] Nangaku M, Alpers CE, Pippin J, et al. Renal microvascular injury induced by antibody to glomerular endothelial cells is mediated by C5b-9[J]. Kidney Int, 1997, 52(6): 1570-1578.  
 [5] Kerjaszki D. Pathogenetic concepts of membranous glomerulopathy (MGN)[J]. J Nephrol, 2000, 13(suppl 3): s96-s100.

收稿日期: 2001-06-11 修回日期: 2001-09-17

本文编辑: 吴进

## 低温对脑缺血再灌注期间微管相关蛋白-2 免疫活性的影响\*

顾卫东<sup>1</sup>, 陈群<sup>2</sup>, 曾因明<sup>2</sup>, 丁浩中<sup>1</sup>

(1. 无锡市第四人民医院麻醉科, 江苏 无锡 214062; 2. 徐州医学院江苏省麻醉学重点实验室, 江苏 徐州 221002)

**摘要:**目的 观察低温对脑缺血再灌注期间海马 CA1 区微管相关蛋白-2 免疫活性的影响。方法 沙土鼠前脑缺血再灌注模型。动物随机分为假手术组、常温再灌注组和低温再灌注组, 后两组又各分为再灌注 6 h、48 h、96 h 3 个亚组, 每组 10 只。采用免疫组织化学方法结合计算机图像分析测定微管相关蛋白-2 活性, 观察再灌注 48 h、96 h 海马 CA1 区细胞膜、核膜完整, 核仁清楚的锥体神经元数目。结果 常温再灌注 6 h、48 h、96 h 海马 CA1 区微管相关蛋白-2 免疫活性分别为假手术组的 81%、69% 和 51% ( $P < 0.01$ )。低温再灌注 6 h、48 h、96 h 海马 CA1 区微管相关蛋白-2 免疫活性分别为假手术组的 93%、86% 和 71%, 均明显高于常温再灌注组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。再灌注 96 h 时, 常温再灌注组海马 CA1 区细胞膜、核膜完整, 核仁清楚的锥体细胞数目仅为假手术组的 5% ( $P < 0.01$ ), 低温再灌注组为假手术组的 47%, 明显多于常温再灌注组 ( $P < 0.01$ )。结论 低温减轻脑缺血后延迟性神经元死亡的作用可能与其抑制微管相关蛋白-2 的活性降解有关。

**关键词:** 脑; 延迟性神经元死亡; 低温; 微管相关蛋白-2

中图分类号: R743.31 文献标识码: A 文章编号: 1000-2065(2002)01-0014-04

### Effect of hypothermia on the immunoreactivity of microtubule associated protein 2 during cerebral ischemia/reperfusion

\* 基金项目: 江苏省青年科技基金资助课题(BQ98009)

作者简介: 顾卫东(1970-), 男, 江苏无锡人, 主治医师, 硕士。