

· 临床研究 ·

新生儿外周血 B 淋巴细胞 CD21 表达的免疫学意义

张融¹, 王琼瑾¹, 徐金梅¹, 蒋犁², 寿玮章², 尹琰²

(1. 扬州市第一人民医院儿科, 江苏 扬州 225001; 2. 东南大学临床医学院医学实验中心, 江苏 南京 210009)

[摘要] 目的 通过测定小儿外周血中 B 淋巴细胞 CD21 的表达, 探讨新生儿体液免疫功能低下、免疫球蛋白合成不足的原因。方法 对不同年龄组小儿, 利用流式细胞仪对外周血 B 淋巴细胞及 CD21 的表达进行检测; 同时测定其血清免疫球蛋白水平。结果 新生儿组的外周血中表达 CD21 的 B 淋巴细胞比例和数目明显低; B 淋巴细胞表达 CD21 位点的平均荧光强度 (MFI) 也明显降低, 说明新生儿 B 淋巴细胞表达 CD21 的表达量低下。除了新生儿组 IgG 水平高于婴幼儿组外, 血清免疫球蛋白水平也随着年龄的增长, 呈逐渐升高的趋势。结论 新生儿乃至小婴幼儿体液免疫功能不足、免疫球蛋白水平低下的原因与 B 淋巴细胞功能及 CD21 的低表达有关。

[中国当代儿科杂志, 2007, 9(6): 546-548]

[关键词] B 淋巴细胞; CD21; 免疫球蛋白; TI 抗原; 新生儿

[中图分类号] R722 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2007)06-0546-03

Expression of CD21 in peripheral blood B lymphocytes of neonates

ZHANG Rong, WANG Qiong-Jin, XU Jin-Mei, JIANG Li, SHOU Wei-Zhang, YIN Yan. Department of Pediatrics, Yangzhou First People's Hospital, Yangzhou, Jiangsu 225001, China (Email: meltzhang@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To study the cause of low immunologic function and insufficiency of immunoglobulin synthesis in neonates by detecting CD21 expression in B lymphocytes in different age group children. **Methods** This study consisted of three age group children: 2-26 days ($n=18$), 6 months-2 years ($n=12$) and 3-12 years ($n=17$). CD21 expression in B lymphocytes was detected with flow cytometry. Serum levels of immunoglobulins were measured by immunoturbidimetry. **Results** The percentage and the number of B lymphocytes expressing CD21 in the neonate group were significantly lower than in the other two age groups. The neonate group also showed lower mean fluorescence intensity (MFI) of CD21. The percentage and the number of B lymphocytes expressing CD21 as well as the MFI of CD21 increased significantly with the age. The serum levels of IgA and IgM in the neonate group were noticeably lower than those in the other two age groups. The serum levels of IgA and IgM also increased significantly with the age. **Conclusions** Low CD21 expression in B lymphocytes may be related to low function of humoral immunity in neonates.

[Chin J Contemp Pediatr, 2007, 9(6): 546-548]

Key words: B lymphocyte; CD21; Immunoglobulin; T cell independent antigen; Neonate

新生儿的免疫功能不成熟, 主要表现在免疫球蛋白(Ig)的合成不足, 易罹患各种感染性疾病。有研究发现: 新生儿脐血 B 淋巴细胞表面的补体受体-2(CD21)表达微弱; 脾边缘带 B 淋巴细胞不成熟, 缺乏 CD21 的表达; 均可能是不能产生抗非 T 细胞依赖性抗原, TI 抗原抗体的原因^[1,2]。TI 抗原包括细菌脂多糖、荚膜多糖、聚合鞭毛素等, 这些 TI 抗原在与 B 淋巴细胞表面的补体受体-2 结合后, 产生增生信号, 介导 B 细胞进入细胞周期, 分泌相应的抗体。

B 淋巴细胞表面的 CD21 是一种单链跨膜糖蛋白, CD21 的天然配体是补体 C3 裂解片段—iC3b/C3dg/C3d, 同时还是 IgE、CD23 的低亲和力的受体, 以及 EB 病毒表面包膜糖蛋白 gp320/gp220 的结

合位点^[3-5]。CD21 的表达在 B 细胞转化、增殖以及针对 TI 抗原的抗体生成和抗感染免疫方面均起了关键作用^[1,6,7]。本文采用流式细胞技术对不同年龄组小儿测定外周血 B 淋巴细胞表面 CD21 的表达水平, 发现新生儿组的 CD21 呈现低表达, 从而揭示了新生儿乃至小婴幼儿 B 淋巴细胞的分化、增殖和合成免疫球蛋白等功能低下的原因。

1 对象与方法

1.1 对象

为 2003 年 4 月至 2004 年 6 月因非感染性疾病住院的新生儿 18 例, 男 8 例, 女 10 例; 年龄 2~26

[收稿日期] 2007-01-05; [修回日期] 2007-02-28

[作者简介] 张融, 男, 硕士, 主任医师。主攻方向: 感染、血液、免疫性疾病。

d,无宫内感染史,主要以颅内出血、缺氧缺血性脑病、咽下综合征等住院治疗。同期设对照组,根据年龄分为二组:对照组 I (婴幼儿组),为同期以非感染性疾病如晚发性维生素 K 缺乏症、气管异物、先天性心脏病、肠套叠等疾病住院的小儿 12 例,男 6 例,女 6 例;年龄 6 月至 2 岁。无发热、出疹及肝、脾、淋巴结肿大。对照组 II (儿童组),系以癫痫、先天性心脏病、气管异物、外伤等住院的儿童 17 例,男 11 例,女 6 例;年龄 3 ~ 12 岁。这两组的设立在于观测小儿不同年龄阶段,非感染性疾病状态下 B 淋巴细胞数和 CD21 的表达。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有研究对象在入院后采集外周静脉血 1.8 mL,加入无菌肝素抗凝管(含肝素抗凝液 0.2 mL)中充分混匀,置于 4℃ 冰箱保存,在 24 h 内送达东南大学现代医学实验中心流式细胞分析实验室。

1.2.2 标本处理 取肝素抗凝血 100 μL 加入同型对照 IgG1-FITC(异硫氰酸荧光素, Coulter Immunotech 公司)和同型对照 IgG1-PE (CALTAG 公司)的对照试剂各 20 μL 混匀,作同型对照管,以剔除非特异结合。同时再取抗凝血 100 μL 加入 CD19-FITC IgG120 μL(Coulter Immunotech 公司)和 CD21-PE IgG 120 μL (CALTAG 公司)混匀,置于 4℃ 冰箱内避光孵育 30 min。加 3 mL 红细胞裂解液混匀置于 4℃ 避光,10 min 后进行离心(800 r/min, 5 min)。去上清液,加入 0.4 mL 磷酸缓冲液(PBS)重悬浮,1 h 内上机。进行流式细胞仪(FACS Calibur 流式细胞仪, B-D 公司)的检测。

1.2.3 分析 运用随机的 Cell Quest 软件收集并分析。以淋巴细胞为特征,用侧向散射和前向散射进行设门,分辨出淋巴细胞;其后用双标法分析出每份标本中双阳(CD19⁺, CD21⁺) B 细胞的百分率,同时检测 B 淋巴细胞表达的 CD21 位点,以平均荧光强度(MFI)表示。

1.3 免疫球蛋白测定

对研究对象同时采 1 mL 静脉血(不抗凝),用美国 Beckman Coulter 公司的原配试剂,在 IMMAGE 特定蛋白仪上,进行 IgA, IgG, IgM 的检测(速率透射浊度法)。

1.4 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 10.0 进行分析;组间比较用方差分析(one way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有显著性的标准。观察不同年龄组之间各检测指标是否存在显著性差异。

2 结果

2.1 各年龄组外周血表达 CD21 的 B 淋巴细胞数

通过对不同年龄组外周血表达 CD21 的 B 淋巴细胞数目和比例的观察发现,新生儿组明显低于婴幼儿组及儿童组,而儿童组显示其外周血表达 CD21 的 B 淋巴细胞比例及数目最高;数据显示出随着年龄呈现出逐渐上升趋势,经方差分析, $P < 0.01$, 差异有显著性(见表 1)。

2.2 不同年龄组 B 细胞 CD21 表达的 MFI

新生儿组 B 淋巴细胞表达 CD21 的平均 MFI 低于其他两组,显示出随着年龄的增长,其 B 淋巴细胞 CD21 的表达有逐渐上调的特点。经统计学处理, $P < 0.05$, 差异有显著性(见表 1)。

表 1 各年龄组 B 淋巴细胞 CD21 的表达

	例数	表达 CD21 的 B 细胞比例 (%)	表达 CD21 的 B 细胞数	CD21 平均 MFI
新生儿组	18	9.12 ± 3.14	356.94 ± 81.76	463.92 ± 95.57
对照组 I	12	16.26 ± 5.47	525.83 ± 98.54	518.43 ± 108.21
对照组 II	17	18.75 ± 7.18	613.10 ± 115.63	544.52 ± 118.42
<i>F</i>		10.42	8.52	5.18
<i>P</i>		<0.01	<0.05	<0.01

2.3 血清免疫球蛋白水平在各年龄组的特点

从免疫球蛋白检测结果来看,除了 IgG 在新生儿组高于婴幼儿组外,血清免疫球蛋白 IgA, IgM 水平基本上也呈现随着年龄的增长而同步升高的趋势(见表 2)。

表 2 不同组血清免疫球蛋白水平

	例数	IgA	IgG	IgM
新生儿组	16	0.11 ± 0.06	6.92 ± 2.13	0.102 ± 0.036
对照组 I	11	0.39 ± 0.24	5.16 ± 1.32	0.828 ± 0.314
对照组 II	13	1.18 ± 0.43	9.24 ± 2.65	1.521 ± 0.418
<i>F</i>		11.64	3.48	14.62
<i>P</i>		<0.01	<0.05	<0.01

3 讨论

小儿处于不断的生长发育时期,其免疫功能也呈现各年龄阶段的特点。然而新生儿抗感染的体液免疫功能不成熟,在病原体入侵时不能有效合成 Ig, 容易发生各种感染性疾病。新生儿 B 细胞能分化为产生 IgM 的浆细胞,而能分泌 IgG 和 IgA 的 B 细胞分别到 2 岁和 5 岁时才达成人水平^[1,2]。

Ig 的合成不但取决于 B 淋巴细胞的活化和增殖能力,还取决于引起免疫应答的抗原的性质,特别

是否需要 T 辅助细胞参与的 T 细胞依赖性抗原 (TD 抗原) 和 TI 抗原^[2,7]。在新生儿,已能够合成抗 TD 抗原的抗体,故对蛋白质类抗原(如破伤风、白喉类毒素等 TD 抗原)能产生抗体反应,所以美国疾病控制中心(CDC)推荐小儿出生后 2 个月就可以进行百白破(DTP)免疫接种程序^[2]。新生儿对 TI 抗原(细菌多糖类如肺炎链球菌多糖等)的抗体合成能力极差,因为这一作用需 B 淋巴细胞表面补体受体-2 CD21 的参与,当络合有补体 C3 片段如 C3d 的抗原同时结合到 CD21 和 B 细胞受体(BCR)上,这一搭桥作用增强 B 细胞受体的信号传递,大大促进了 B 细胞的活化和相关抗体的合成^[1,6,7]。我们通过对不同年龄组小儿外周血 B 淋巴细胞表面 CD21 表达的检测发现,新生儿组的外周血中表达 CD21 的 B 淋巴细胞比例和数目明显低于两个对照组,并且 B 淋巴细胞表达 CD21 位点的 MFI 也明显降低,这与新生儿血清 Ig 疫球蛋白水平的明显低下有密切联系。

CD21 分子量为 145 KD,主要存在于 B 淋巴细胞、树突状细胞和鼻咽部上皮细胞表面,还在星形胶质细胞和胸腺细胞表达^[8]。CD21 分子是由链状串联结合的短同源重复序列(SCR)—SCR1 和 SCR2 区域组成,SCR1 和 SCR2 因蛋白脱糖基化而聚集形成一个紧凑的 V 形结构,成为各种配体的结合位点^[9,10]。CD21 在成熟 B 淋巴细胞膜,与 CD19、TAPA-1(抗增殖性抗体的作用靶)形成一个稳定的复合物,通过与不同的配体结合,而发挥了各种生物学功能^[11,12]。CD21 参与了免疫应答调节和 B 细胞增生分化,CD21 与 C3 d、CD23 的相互作用促使 B 细胞活化、增殖、分化为产生 IgE 的细胞,以及阻断生发中心 B 细胞进入凋亡;还参与了 EBV 内移、组织修复、炎症反应等过程^[7,13,14]。由于小儿标本采集的困难,而外周静脉中 B 淋巴细胞较多,可满足本研究的要求。本文中新生儿的外周血中表达 CD21 的 B 淋巴细胞比例和数目的不足,也说明在这个年龄阶段 B 细胞的增殖能力的低下。本课题进一步证实了新生儿乃至小婴幼儿免疫功能低下、免疫球蛋白的合成特别是抗 TI 抗原的抗体合成不足与新生儿 B 淋巴细胞功能及 CD21 的低表达有密切关系。

但随着小儿年龄的增长,表达 CD21 的 B 淋巴细胞数目、B 淋巴细胞表达 CD21 的 MFI 也相应提高,并且血清免疫球蛋白水平也逐渐增高。又因为 CD21 是 EB 病毒的特异性受体,B 淋巴细胞 CD21

表达增加,使得其对 EB 病毒的易感性增大;EB 病毒结合到 CD21,发生入胞作用,进而影响 B 细胞的生长,并可导致自身抗体的产生和 B 细胞恶性肿瘤^[15,16]。

[参 考 文 献]

- [1] 杨锡强,蒋利萍. 小儿免疫功能特点[M].//胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学上册,第7版,北京:人民卫生出版社,2002,566.
- [2] 刘宇隆,涂文伟,杨执庸. 新生儿生理性免疫缺陷[M].//杨锡强. 儿童免疫学. 北京:人民卫生出版社,2001,253-265.
- [3] Weis JJ, Tedder TF, Fearon DT. Identification of a 145,000 Mr membrane protein as the C3d receptor(CR2) of human B lymphocytes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81(2):881-885.
- [4] Aubry J, Pochon S, Graber P, Jansen K, Bonnefoy J. CD21 is a ligand for CD23 and regulates IgE production [J]. Nature, 1992, 358(6386):505-507.
- [5] 张融,王琼瑾,徐金梅,蒋犁,寿伟璋. 传染性单核细胞增多症外周血 B 淋巴细胞 CD21 的表达 [J]. 实用儿科临床杂志, 2005, 20(3):249-250.
- [6] Marshall-Clarke S, Reen D, Tasker L, Hassan J. Neonatal immunity: how well has it grown up? [J]. Immunol Today, 2000, 21(1):35-41.
- [7] 杨志章. 参与 B 细胞识别抗原及活化的 CD 分子[M].//杨志章,龚非力. 医学免疫学. 北京:科学出版社,2000,101-102.
- [8] Anthony LD. B-cell development & the humoral immune response [M]. //Tristram GP, Daniel PS, Abba IT, John BI. Medical Immunology. 10th ed. USA: McGraw-Hill, 2002, 122-184.
- [9] Elizabeth MF, Amal M, Francoise M, Véronique Frémeaux-Bacchi, Corinne K, Hannah G, et al. Expression of CD21 is developmentally regulated during thymus maturation of human T lymphocytes [J]. Int Immunol, 1999, 11(11):1841-1849.
- [10] 王琳. CD21/CR2 的研究进展 [J]. 免疫学杂志, 2003, 19(3):100-103.
- [11] Matsumoto AK, Kopicky-Burd J, Carter RH, Tuverson DA, Tedder TF, Fearon DT. Intersection of the complement and immune system: a signal transduction complex of the B lymphocyte-containing complement receptor type 2 and CD19 [J]. J Exp Med, 1991, 173(1):55-64.
- [12] Bradbury LE, Kansas GS, Levy S, Evans RL, Tedder TF. The CD19/CD21 signal transducing complex of human B lymphocytes includes the target of antiproliferative antibody-1 and Leu-13 molecules [J]. J Immunol, 1992, 149(9):2841-2850.
- [13] Bohnsack JF, Cooper NR. CR2 ligands modulate human B cell activation [J]. J Immunol, 1988, 141(6):2569-2576.
- [14] Bonnefoy JY, Henchoz S, Hardie D, Holder MJ, Gordon J. A subset of anti-CD21 antibodies promote the rescue of germinal center B cells from apoptosis [J]. Eur J Immunol, 1993, 23(4):969-972.
- [15] 王琼瑾,张融. 不同年龄阶段小儿外周血 B 淋巴细胞 CD21 表达的差异 [J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21(21):1494-1495.
- [16] Fox RI, Luppi M, Pisa P, Kang HI. Potential role of Epstein - Barr virus in Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis [J]. J Rheumatol Suppl, 1992, 32:18-24.

(本文编辑:吉耕中)