

• 短篇论著 •

# 聚肌苷酸胞苷酸诱导 C57 小鼠产生抗核抗体和抗线粒体抗体

## Polyinosinic polycytidylic acid-induced production of anti-nuclear and anti-mitochondrial antibodies in C57 mice

朱 烨, 蒋廷旺, 屠小卿, 叶伟氏, 仲人前\*, 孔宪涛

(第二军医大学长征医院实验诊断科, 上海 200003)

**[摘要]** **目的:**探讨聚肌苷酸胞苷酸(polyinosinic polycytidylic acid, polyI : C)注射 C57 小鼠对其自身抗体产生的影响。**方**  
**法:**50 只 6~8 周龄雌性 C57 小鼠随机分为药物组和阴性对照组( $n=25$ ), 药物组按 5 mg/kg 剂量腹腔注射 polyI : C, 每周注  
射 2 次, 阴性对照组注射等量 PBS, 每 4 周每组取 5 只小鼠眼眶采血, 间接免疫荧光法测定血清抗核抗体(ANA)和抗线粒体抗  
体(AMA)水平。**结果:**随着药物注射次数的增多, 药物组在第 8 周 ANA 阳性率达到 100%, 最高滴度达到 1 : 10 000, 阴性对  
照组随着饲养时间的延长也出现 ANA 阳性, 并且在 12 周达到 100%, 但是始终没有出现滴度为 1 : 10 000 的高滴度自身抗  
体; 随着药物注射次数的增多, 药物组血清 AMA 阳性率逐渐增高, 16 周达到 80%, 最高滴度达到 1 : 10 000, 对照组未出现  
AMA 阳性。**结论:** polyI : C 注射 C57 小鼠可以刺激机体产生自身抗体 ANA 和 AMA, 并且其对 AMA 的诱导具有特异性。

**[关键词]** 聚肌胞苷酸; 抗体, 抗核; 线粒体; 模型, 动物

**[中图分类号]** R 593.2 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2007)08-0912-02

聚肌苷酸胞苷酸(polyinosinic polycytidylic acid, polyI : C)在自身免疫病中有一定的生物学作用, 可以诱导机体产生 I 型干扰素(IFN- $\alpha$ )<sup>[1]</sup>, 而 IFN- $\alpha$  可以刺激机体的免疫系统产生多种抗体, 其中包括部分自身抗体<sup>[2]</sup>。因此, 本研究以一定剂量的 polyI : C 腹腔注射 C57 小鼠, 观察自身抗体产生的种类和滴度, 为进一步建立自身免疫性疾病动物模型奠定基础。

### 1 材料和方法

1.1 实验动物 6 周龄 C57 小鼠 50 只, 体质量(20 $\pm$ 2.3) g, 购自第二军医大学实验动物中心, 超清洁级(SPF)条件下饲养。将小鼠随机分为 2 组: 对照组和 polyI : C(5 mg/kg) 药物组。

1.2 方法 polyI : C 用无菌 PBS 稀释至 1 mg/ml。药物组按照 5 mg/kg 剂量的 polyI : C 腹腔注射小鼠, 每周注射 2 次; 对照组注射等量 PBS。每 4 周每组取 5 只小鼠眼眶采血, 采用

欧蒙检测试剂盒, 以 Hep-2 细胞、猴肝、猴肾为基质, 间接免疫荧光法测定小鼠血清抗核抗体(ANA)、抗线粒体抗体(AMA)。血清用 PBS-Tween 1 : 100 稀释, 加样 25  $\mu$ l 温育 30 min, PBS 洗涤 5 min, 以鼠 FITC-IgG 作为荧光二抗, 加 25  $\mu$ l 荧光二抗温育 30 min, 再洗涤 5 min 后, 滴甘油封片, 即可镜检<sup>[3]</sup>。

### 2 结果

2.1 血清 ANA 检测结果 随着药物注射次数的增多, 小鼠体内逐渐产生抗核抗体, 并且阳性率逐渐增加, 在第 8 周时达到高峰 100%, 最高抗体滴度达到 1 : 10 000。阴性对照组随着饲养时间的延长也出现了 ANA 阳性, 虽然阳性率最终也达到了 100%, 但是达到的时间比药物组落后 8 周, 且未发现抗体滴度达到 1 : 10 000 的小鼠, 多数阳性为 1 : 100 (表 1)。药物组与对照组的核型也有明显差别: 前者以核膜型、着丝点型和颗粒型居多, 而阴性对照组则大多为核仁型及少量均质型。详见图 1。

表 1 药物组和对照组小鼠血清 ANA 阳性率及最高滴度比较

组 别	小鼠采血时间(t/周)				
	4	8	12	16	20
药物组					
阳性率(%)	60	100	100	100	100
最高滴度	1 : 1 000	1 : 10 000	1 : 10 000	1 : 10 000	1 : 10 000
阴性对照组					
阳性率(%)	40	40	80	100	100
最高滴度	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 1 000

2.2 血清 AMA 检测结果 药物组小鼠在 polyI : C 注射后 AMA 阳性率持续增高(4、8、12、16、20 周阳性率分别为 40%、40%、60%、80%、80%), 第 16 周达到 80% 并维持不变。而阴性对照组最终只有 1 只小鼠出现 AMA 弱阳性(各时间点阳性率为 0)。图 2 为间接免疫荧光法检测 AMA 的阳性照片。

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30471616), 上海市科委重大科技攻关基金(04DZ19116). Supported by National Natural Science Foundation of China (30471616) and Fund of Tackling Key Program of Shanghai Science and Technology Committee(04DZ19116).

**[作者简介]** 朱 烨, 技师. E-mail: zhuyue73633@yahoo. com. cn

\* Corresponding author. E-mail: renqianzhong@yahoo. com. cn

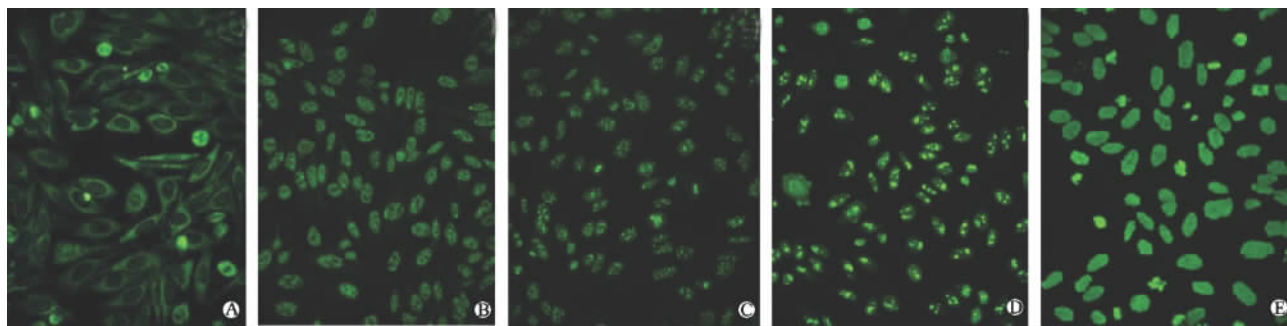


图 1 ANA 阳性镜检结果 (×400)

A、B、C、药物组;D、E:对照组; A:核膜型;B:颗粒型;C:着丝点型;D:核仁型;E:均质型

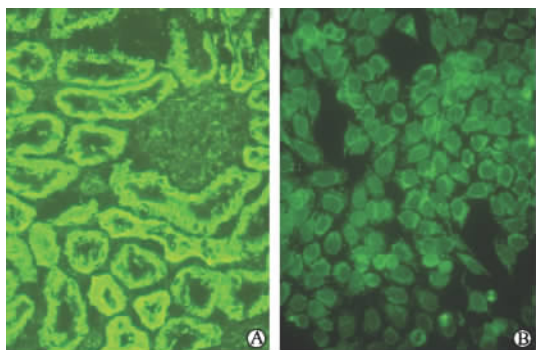


图 2 间接免疫荧光检测 AMA 阳性 (×400)

A:猴肾片;B:Hep-2 胞质阳性伴核膜型

### 3 讨论

目前有很多研究<sup>[4]</sup>表明 polyI : C 在一些自身免疫性疾病中发挥作用。polyI : C 是一种 I 型干扰素诱导剂,能够诱导机体产生 IFN- $\alpha$  和部分致炎细胞因子,而 IFN- $\alpha$  可以刺激机体产生多种抗体,包括自身抗体,但是对于产生抗体的类型及强度目前国内尚无相关报道。本研究以 polyI : C 作为诱导剂刺激 C57 小鼠,经过不同时间的诱导分别产生了 ANA 和 AMA,根据 ANA 的变化可以说明:C57 小鼠本身具有自身免疫病的基因易感性,随着年龄的增长可以产生一定的自身抗体,有一定的自身免疫倾向,但是药物组增加的趋势更加明显而且抗体滴度基本上都是 1 : 10000,说明

polyI : C 的刺激增强了小鼠机体的自身免疫反应。AMA 属于非器官特异性自身抗体,也是实验室诊断原发性胆汁性肝硬化(PBC)的敏感指标,间接免疫荧光法测定 PBC 患者外周血 AMA 阳性率可以达到 95%<sup>[5]</sup>。本实验中药物组小鼠血清 AMA 随着注射时间的变化有非常明显的变化,而阴性对照组则几乎没有出现阳性。这说明 polyI : C 注射 C57 小鼠可以刺激机体产生自身抗体 ANA 和 AMA,并且对 AMA 的诱导具有特异性。

### [参考文献]

[1] Braun D, Gerald P, Demengeot J, et al. Type I interferon controls the onset and severity of autoimmune manifestations in lpr mice [J]. *J Autoimmune*, 2003, 20:15-25.  
 [2] Le Bon A, Schiavoni G, Dagostino G, et al. Type I interferons potently enhance humoral immunity and can promote isotype switching by stimulating dendritic cells *in vivo* [J]. *Immunity*, 2001, 14:461-470.  
 [3] 姜小华, 仲人前, 范列英, 等. M2 自身抗原及其三联体的克隆表达和初步鉴定 [J]. *中华消化杂志*, 2001, 21:530-533.  
 [4] Babaya N, Nakayama M, Eisenbarth G S, et al. The stages of type 1A diabetes [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1051: 194-204.  
 [5] Kaplan M M, Gershwin M E. Primary biliary cirrhosis [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353:1261-1273.

[收稿日期] 2007-04-02

[修回日期] 2007-06-20

[本文编辑] 尹 茶