

• 综 述 •

免疫球蛋白 G 及其临床应用研究进展

魏 刚 综述, 胡志东 审校

(天津医科大学总医院医学检验科, 天津 300052)

关键词: 免疫球蛋白 G; 临床应用; 研究进展**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.024**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2016)05-0637-03

免疫球蛋白 G(IgG)是人血清中百分含量最高的蛋白质,约占血浆蛋白的 10%~20%,并且是人类 5 种免疫球蛋白:免疫球蛋白 M(IgM)、IgG、免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 D(IgD)和免疫球蛋白 E(IgE)中最主要的类型。这些密切相关的糖蛋白,由 82%~96% 蛋白质和 4%~18% 碳水化合物组成,其重链结构不同具有不同的功能效应。IgG 可以进一步分为 4 种高度保守的亚型,根据水平由高到低依次为 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4^[1],虽然它们在氨基酸水平上超过 90% 是相同的,但 IgG 各亚型的结构和功能有一定的差异。IgG 各亚型的恒定区不同,特别是铰链区和 CH2 结构域,这些区域都参与 IgG 和 IgG-Fc 受体(FcγR)与补体 C1q 的结合。本文就 IgG 的基本结构及特点,分类及反应特点,各亚型的临床应用等方面做一综述,以为临床医学提供新的思路。

1 IgG 的基本结构及特点

1.1 IgG 的基本结构 IgG 分子由 4 条多肽链组成,两条相同的 $50 \times 10^3 \gamma$ 重(H)链和两条相同的 $25 \times 10^3 \kappa$ 或 λ 轻(L)链,通过多肽链间的二硫键连接在一起。每条重链由 1 个 N-末端可变区(VH)和 3 个恒定区(CH1、CH2、CH3),以及 CH1 和 CH2 之间的一个额外的铰链区组成。同样,轻链由一个 N-末端可变区(VL)和恒定区(CL)组成。轻链结合 VH 和 CH1 区形成 Fab 臂,V 区相互作用形成抗原结合区。两条重链和轻链-异源二聚体(HL)通过在 CH3 结构域之间铰链区的二硫键和非共价键相互作用结合形成一个单一抗体分子(H2L2)。由铰链下区域和 CH2/CH3 域形成的抗体部分称为结晶片段(Fc)。

1.2 IgG 亚型的结构特点 人类 4 种 IgG 亚型的整体结构非常类似,但每个亚型间影响它们的结合辅助分子和受体的重要差异影响其功能。4 种亚型有超过 90% 的同源性氨基酸序列,差异并不是随机分布的。在铰链区和 N-末端的 CH2 结构域发现多种差异,而其他区域氨基酸的差异很少。这是已知 CH1 结构域结构变化的功能性后果。另一方面,在 CH2/CH3 结构域上的差异,形成了 Fc 尾。Fc 部分的 CH2 结构域铰链区最近端的残基负责抗体的功能效应,包含一个很大程度上重叠的针对补体 C1q 的结合位点和先天免疫系统效应细胞的 FcγR。位于两个 CH2/CH3 之间的接口在 297 位上高度保守的 N-连接糖基化位点形成 IgG 分子的 Fc,负责微妙但重要的 Fc 四级结构的变化。这些聚糖还直接参与了与 FcγR 的结合,而且还可以通过高度特异修饰 297 位聚糖,调节其相互作用,可能是在人类特异免疫反应中调节这种变化^[2]。虽然这种糖

基化位点被视为 IgG 唯一的糖基化位点,约所有抗体 10%~15% 的 V 区也被糖化。这些位点最常通过 VDJ 重组或体细胞突变出现,有报道这种糖基化可影响抗原结合特性^[3-4],使其与调节凝集素结合。反过来,也可以调节刺激 B 淋巴细胞活化所需的阈值,被描述为在滤泡性淋巴瘤中某些类型的正选择信号。CH3-CH2 域之间的接口还包含新生儿 Fc 受体(FcRn)的结合位点,负责延长 IgG 半衰期,通过胎盘和 IgG 在黏膜表面运输。在这一区域存在较小变化,对与 FcRn 结合的影响很小。

2 IgG 的分类及反应特点

2.1 IgG 的种类 IgG 可以进一步分为 4 个亚型,根据体内水平由高到低依次为 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4,虽然他们在氨基酸水平上超过 90% 是相同的,但其结构和功能有一定的差异。此外,IgG 抗体对不同抗原的反应导致明显地倾向一种亚型反应(选择性亚型)。选择性亚型缺陷对个体一般是无损伤的,但有时也会导致对某些特定类型的病原体易感性的增强。这是由于在 14 号染色体 Ig 基因缺失引起的异型或亚型缺陷所致,这种情况较为罕见^[5]。通常,有一个或更多的 IgG 亚型水平低于健康人的正常范围,并且有时会导致对黏膜内细菌感染的反应受损。总之,在 Ig 位点获得的变异可能对进化过程中抗体介导的免疫反应的优化和微调的有利变化具有选择性。

2.2 IgG 抗体反应 抗原进入人体的途径及其化学成分使免疫反应转换为类型转换的优先模式。除了抗原本身直接激活 B 淋巴细胞,一些第 2 信号也会影响 B 淋巴细胞的分化,包括识别模式的识别受体如 Toll 样受体,以及淋巴细胞和抗原呈递细胞产生的细胞因子的识别^[6]。例如,蛋白质抗原通常使 B 淋巴细胞通过其表达的 MHC II 类分子接受 T 淋巴细胞的协助。对于这些抗原,类型转换往往倾向于 IgG1 或 IgG3,但也可以是 IgG4 和 IgE。另一方面,在缺乏 T 淋巴细胞协助的情况下,多糖抗原可诱导类型转换为特定的 IgG2。在原发性或继发性免疫反应中经过类型转换的 B 淋巴细胞也可以经过后续的类型转换^[7],但是这受其余重链基因而不是前类型转换基因组的可用性限制。Cγ4 盒的相对末端位置可能是 IgG4 的反应倾向于在重复抗原暴露后发生的原因之一^[8]。

3 IgG 亚型的临床应用

人 IgG 抗体由 4 个亚型即 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 组成。IgG 亚型之间的差异可反映在不同的生物学重要功能上,例如抗原识别、补体激活及细胞表面受体结合。很多研究表明,血清 IgG 亚型的浓度与参考区间的偏差和不同的疾病状态

有关。

3.1 IgG1 可溶性蛋白抗原和膜蛋白主要诱导 IgG1 抗体反应,但都伴随着较低水平的其他亚型,大多是 IgG3 与 IgG4^[9]。因为 IgG1 通常是最丰富的亚型,IgG1 缺乏见于各种原发性和继发性抗体缺陷,可以降低总 IgG 水平。IgG1 缺乏,有时联合其他 IgG 亚型缺乏,与复发性感染有关。IgG1 浓度降低可能是由于综合免疫缺陷而不是某特异亚型缺陷造成,如肾病综合征患者血清中 IgG1 浓度较低。

3.2 IgG2 对细菌荚膜多糖抗原的免疫球蛋白抗体反应几乎完全限于 IgG2^[10],IgG2 缺乏可能导致 IgG 抗糖类抗体的缺失,虽然这些反应也可以由提高其他 IgG 亚型的水平来补偿,特别是通过升高的 IgG1 和 IgG3 水平。IgG2 缺乏与对某些细菌感染的易感性增加相关,表明 IgG2 有防御这些病原体的作用。低浓度 IgG2 经常与 IgG4 和(或)IgA1 和 IgA2 的缺乏相关^[11]。选择性 IgG2 缺陷表现为病毒和细菌感染发生率增加,预示着免疫应答的功能缺陷。上呼吸道和支气管肺部感染患者血清 IgG2 浓度较低。此外,肾病综合征患者血清 IgG1 和 IgG2 浓度较低,轻微肾炎患者尤为明显。对静脉注射免疫球蛋白后抗糖类反应性的广泛分析表明,虽然 IgG2 代表和多聚糖的大部分反应,但并非总是如此^[12]。在自然感染针对抗 b 型流感嗜血杆菌多糖 IgG1 抗体也有报道。在健康个体的正常免疫反应中,也可以观察到在第 2 代肺炎球菌疫苗中也发现某些针对蛋白质结合多糖的 IgG1 和 IgG3 的反应。

3.3 IgG3 IgG3 抗体对效应功能的诱导是非常有效的。作为一个强有力的促炎性抗体,其半衰期短限制了过度的炎症反应的发展。然而,发现一些个体有 G3m 异型“S”或“15”标志,也有半衰期延长的 IgG3 可能挑战这一假设^[13]。但是这些个体 IgG3 水平并没有增加,这可能是由于 $\gamma 3$ 启动子的多态性影响了 IgG3 到 G3m 异型类型转换的频率,也解释了 G3m 纯合型个体低浓度的 IgG3。一般病毒感染导致 IgG1 和 IgG3 亚型抗体增多,IgG3 抗体首先出现在感染过程,但以 IgG3 为主的反应罕见。反链抗体结合了 Fab2 片段的铰链区,其不是完整的 IgG 抗体^[14]。同时,P 和 PK 血型抗原的抗体在很大程度上受限于 IgG3。对其他红细胞抗原(如 RhD 抗原)和血小板抗原(如人血小板抗原 Ia),输血和妊娠反应,通常以 IgG1、IgG3 或两者共同为主。IgG3 水平下降,经常与其他 IgG 亚型缺陷相关。IgG 亚型浓度的多克隆增殖可发生于慢性抗原刺激,但只起次要的诊断作用。单克隆 IgG 增殖是由 1 种 IgG 亚型的生成增加所致。IgG 亚型的测定可用于患者感染易感性增加的诊断说明。测定出 IgG 亚型缺陷是免疫防御机能障碍和需要额外诊断调查的指征。

3.4 IgG4 过敏原是 IgG1 和 IgG4 很好的诱导剂,除了 IgE,IgG4 抗体往往在非传染性位点反复或长期暴露于抗原后形成,并可能成为占主导地位的亚型。例如长期养蜂的人和进行免疫治疗的过敏性个体,其症状缓解可能与 IgG4 的诱导相关。转换到 IgG4 可能受白细胞介素-10(IL-10)的调控^[15]。IgG4 是对治疗性蛋白免疫反应的主要抗体亚型,如因子Ⅷ和Ⅸ及一些重组抗体如阿达木单抗^[16]。此外,蠕虫或丝虫寄生虫感染可能导致 IgG4 抗体的形成,高 IgG4 滴度可能与无症状感染有关。孤立的 IgG4 缺乏罕见,其可能的后果尚不确定。此外,

IgG4 相关疾病(IgG4-RD)以血清 IgG4 浓度升高及组织浸润 IgG4 阳性浆细胞为特点,可能会影响多个器官^[17]。IgG4-RD 的疾病谱很宽,包括自身免疫性胰腺炎(AIP)、Mikulicz's 病、垂体炎、Riedel 甲状腺炎、间质性肺炎、间质性肾炎、前列腺炎、淋巴结肿大、腹膜后纤维化、炎性主动脉瘤及炎性假瘤^[18]。70%~80% 的 AIP 患者及 10% 的胰腺癌患者可观察到血清 IgG4 水平升高($>1.4 \text{ g/L}$)。然而,5% 的健康人群中也可能存在 IgG4 水平升高,这使得需要联合其他指标诊断 AIP。

4 小 结

总之,IgG 是人免疫球蛋白的主要种类,4 个亚型功能各异,又互有关联。IgG 亚型缺陷与疾病的关系日益受到临床重视。这类疾病多发于幼儿和少年,如小儿肺炎、多种呼吸道疾病、中耳炎、鼻窦炎等,成人常见的有肺炎、气管炎、慢性阻塞性肺部疾病、支气管扩张和哮喘等疾病。检测血清 IgG 亚型的临床意义在于筛查 IgG 亚型缺陷病,辅助过敏性疾病的诊断,了解自身免疫性疾病的发病机制。积极利用 IgG 亚型的检测,发挥其在疾病诊断和治疗中的价值。另外,其与很多疾病的关系尚不清楚,需要更多的研究来明确其在疾病发生、发展及治疗中的作用。

参考文献

- [1] Schur PH. IgG subclasses. A historical perspective[J]. Monogr Allergy,1988(23):1-11.
- [2] Kapur R, Kustiawan I, Vestreim A, et al. A prominent lack of IgG1-Fc fucosylation of platelet alloantibodies in pregnancy[J]. Blood,2014,123(4):471-480.
- [3] Ackerman ME, Crispin M, Yu X, et al. Natural variation in Fc glycosylation of HIV-specific antibodies impacts antiviral activity[J]. J Clin Invest,2013,123(5):2183-2192.
- [4] Guhr T, Bloem J, Derksen NJ, et al. Enrichment of sialylated IgG by lectin fractionation does not enhance the efficacy of immunoglobulin G in a murine model of immune thrombocytopenia[J]. PLoS One,2011,6(6):21246.
- [5] Pan Q, Lennart H. Molecular basis of IgG subclass deficiency[J]. Immunol Rev,2000,178(1):99-110.
- [6] Pone EJ, Zhang J, Mai T, et al. BCR-signalling synergizes with TLR-signalling for induction of AID and immunoglobulin class-switching through the non-canonical NF-kappaB pathway[J]. Nat Commun,2012(3):767.
- [7] Berkowska MA, Driessen GJ, Bikos V, et al. Human memory B cells originate from three distinct germinal center-dependent and-independent maturation pathways[J]. Blood,2011,118(8):2150-2158.
- [8] Aalberse RC, Stapel SO, Schuurman J, et al. Immunoglobulin G4: an odd antibody[J]. Clin Exp Allergy,2009,39(4):469-477.
- [9] Ferrante A, Beard LJ, Feldman RG. IgG subclass distribution of antibodies to bacterial and viral antigens[J]. Pediatr Infect Dis J, 1990,9(8 Suppl):S16-S24.
- [10] Schauer U, Stemberg F, Rieger CH, et al. Levels of antibodies specific to tetanus toxoid, Haemophilus influenzae type b, and pneumococcal capsular polysaccharide in healthy children and adults[J]. Clin Diagn Lab Immunol,2003,10(2):202-207.
- [11] Nurkic J, Numanovic F, Arnautalic L, et al. Diagnostic significance

of reduced IgA in children[J]. Med Arch, 2014, 68(6): 236-239.

[12] von Gunten S, Smith DF, Cummings RD, et al. Intravenous immunoglobulin contains a broad repertoire of anticarbohydrate antibodies that is not restricted to the IgG2 subclass[J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 123(6): 1268-1276.

[13] Stapleton NM, Andersen JT, Stermerding AM, et al. Competition for FcRn-mediated transport gives rise to short half-life of human IgG3 and offers therapeutic potential[J]. 2011(2): 599.

[14] Brezski RJ, Jordan RE. Cleavage of IgGs by proteases associated with invasive diseases: an evasion tactic against host immunity[J]. MAbs, 2010, 2(3): 212-220.

[15] Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and immune tolerance to allergens[J]. World Allergy Organ

J, 2015, 8(1): 17.

[16] van Schouwenburg PA, Kriekaert CL, Nurmohamed M, et al. IgG4 production against adalimumab during long term treatment of RA patients[J]. J Clin Immunol, 2012, 32(5): 1000-1006.

[17] Yamamoto M, Tabeya T, Naishiro Y, et al. Value of serum IgG4 in the diagnosis of IgG4-related disease and in differentiation from rheumatic diseases and other diseases[J]. Mod Rheumatol, 2012, 22(3): 419-425.

[18] Mahajan VS, Mattoo H, Deshpande V, et al. IgG4-related disease[J]. Annu Rev Pathol, 2014(9): 315-347.

(收稿日期: 2015-11-15)

• 综 述 •

CA125、CA724、HE4 和 CEA 联合检测在卵巢癌诊断中的应用

白珊珊 综述, 何雅军[△]审校

(暨南大学医学院附属广州红十字会医院, 广东广州 510220)

关键词: 卵巢癌; 糖类抗原 125; 人附睾蛋白 4; 癌胚抗原; 糖类抗原 724; 联合检测

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 05. 025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)05-0639-03

随着人类生活水平的提高, 寿命的延长, 内分泌代谢疾病的增加, 近年来卵巢癌发病率逐年上升且有年轻化的趋势。卵巢癌是发病率仅次于子宫颈癌和子宫内膜癌的一种女性生殖系统常见肿瘤, 并且其病死率位居妇科肿瘤之首。主要原因是卵巢癌早期症状与卵巢良性病变相似, 且进展迅速。由于缺乏有效的早期诊断手段, 仅有不到 25% 的患者就诊时属于早期^[1]。卵巢癌晚期 5 年生存率仅 20%~30%, 且术后复发率高达 70%, 而早期发现卵巢癌并选择适当的手术治疗与有效的化疗, 其 5 年生存率高达 90%^[2], 故早期发现、及时治疗对改善卵巢癌预后意义重大。目前临床上常采用盆腔检查、宫腔镜、阴道超声、诊断性刮宫和血清肿瘤标志物(TM)对卵巢癌进行诊断, 可是至今仍没有高灵敏度的特异指标用于卵巢癌早期诊断、发现复发、监测治疗反应和判断预后。由于附件在盆腔内的位置较深, 频繁卵巢外扩散使盆腔检查及影像学检查的应用受到限制。而卵巢癌患者在亚临床阶段有一些相关基因的变异, 产生一些相应的代谢产物, 这些代谢物即为 TM, 近年来发现其出现在血液或其他体液中并可以被检测用以协助诊断。此外, TM 在影像学改变及出现临床症状前数月即升高^[3], 因此早期 TM 检测有助于卵巢癌的早期诊断。目前, TM 已广泛用于卵巢癌的早期诊断, 常用标志物有糖类抗原 125(CA125)、人附睾蛋白 4(HE4)、糖类抗原 199(CA199)、糖类抗原 153(CA153)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 724(CA724)等, 几种标志物诊断价值并不完全重叠。本文就卵巢癌常用标志物 CA125、HE4、CEA 及 CA724 的联合应用进行综述。

1 CA125

CA125 是相对分子质量为 $(2\sim10)\times10^5$ 的糖蛋白抗原, 存在于人体间皮组织(腹膜、胸膜、心包膜)及米勒管上皮组织

(输卵管、子宫内膜、宫颈内膜), 在上皮性卵巢癌细胞中 CA125 高度表达, 并分泌入血液。此外, CA125 在胚胎发育过程中存在于体腔上皮化生组织细胞表面, 出生后即消失, 在卵巢癌中复现。用卵巢浆液性乳头状囊腺瘤癌细胞株 OVCA433 免疫 BALB/c 小鼠, 经与骨髓瘤细胞杂交得到单克隆抗体 OC125, OC125 识别的抗原即为 CA125。因此, 血清 CA125 检测对上皮性卵巢癌诊断价值高。

CA125 是卵巢癌筛查常用的标志物, 是浆液性卵巢癌首选标志物, 可在临床症状出现前 4~6 个月升高。早在 2009 年, Medeiros 等^[4]完成了评估 CA125 诊断卵巢癌准确性的 Meta 分析, 结果显示 CA125 对卵巢癌的灵敏度为 80%、特异度为 75%。CA125 对卵巢癌的敏感性与卵巢癌病理分期相关, 按国际妇产科联盟(FIGO)分期法, CA125 的临界值(cut-off 值)为 35 U/mL 时, CA125 对 FIGO I 期的灵敏度为 66%, II 期为 74%, III 期为 94%, IV 期为 100%。CA125 对肿瘤组织具有高灵敏度和特异度, 但单独用于人群筛查时其灵敏度不够。朱振宁等^[5]得出当 CA125 的 cut-off 值为 35 U/mL 时, 其诊断卵巢癌的灵敏度为 65%、特异度为 75%。另外, CA125 对卵巢癌的特异性不强, 除卵巢癌外, CA125 在许多良性疾病(子宫内膜异位症、卵巢囊肿)及生理情况(月经期、妊娠期)均升高。在大多数研究中, I 期卵巢癌检查 CA125 的灵敏度在 50%~60%。鉴于 CA125 的灵敏度有限, 易发生漏诊, 需要新的 TM 来代替或补充, 以更灵敏地发现早期卵巢癌。

2 HE4

HE4 由 Kirchhoff 在 1991 年发现, 属于蛋白质“4-硫”核心家族。HE4 是由两个“乳清蛋白域”和一个“4-二硫化中心”组成的一种相对分子质量为 13×10^3 的一种酸性、半胱氨酸丰富的