

# 某些革兰氏阴性细菌激活补体的新途径

黄秀琴 魏 青 王 鸿

(华东师范大学生物系,上海)

**摘要** 已被公认的补体系统激活途径有两条:一条是以抗原抗体复合物为“激活剂”激活  $C_1$  的经典途径,另一条是不依赖抗体直接激活  $C_3$  的替代途径。用补体对 7 种革兰氏阴性细菌做溶菌试验,发现 *E. coli* B、*E. coli*  $K_{12} gal^+$  可不依赖特异性抗体而激活补体系统的经典途径,这是又一条补体系统的激活途径。

**关键词** 补体系统;经典途径;替代途径

补体(complement)是人和动物血清中的一组球蛋白,含有 11 种蛋白质成分:  $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ , 其中  $C_1$  由三个亚单位  $C_{1q}$ 、 $C_{1r}$  和  $C_{1s}$  组成。一般情况下,补体在体液中呈无活性状态,当受到某种“激活剂”的作用后,补体按一定顺序活化,发挥出一系列的生物学活性。

已被公认的补体系统的激活途径有两条,一条是以抗原抗体的复合物为“激活剂”激活  $C_1$ , 然后依次激活  $C_4$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$  的经典途径(classic pathway),另一条是以细菌脂多糖、酵母多糖、菊糖等物质为“激活剂”越过  $C_1$ 、 $C_4$  直接激活  $C_3$  而启动的替代途径(alternative pathway)。前者依赖于特异性抗体的存在,后者不依赖抗体而发挥作用<sup>[1]</sup>。

近年来,Loos Cooper 等<sup>[2]</sup>又发现了一条新的补体系统激活途径,即某些微生物可不依赖特异性抗体的存在而激活补体系统的经典途径。这一发现,对评述机体天然防御机能和某些物质的病理生理作用,将赋予新的内容和新的意义。

我们用补体对 7 种革兰氏阴性菌做溶菌试验,发现 *E. coli* B、*E. coli*  $K_{12} gal^+$  可不依赖特异性抗体而激活补体系统的经典途径。

## 材 料 和 方 法

### (一) 材料

1. 革兰氏阴性细菌: *E. coli* B、*E. coli* H111、*E. coli*  $K_{12} gal^+$ 、*E. coli*  $K_{12} gal^-$ 、假单胞菌 201 (*Pseudomonas* 201)、假单胞菌 301

(*Pseudomonas* 301)、变形杆菌 (*Proteus*)。以上细菌都取之于华东师范大学生物系微生物组实验室。

2. 补体: 自制冷冻干燥豚鼠补体,使用时用生理盐水以 1:10 稀释。

3. 10mmol/L EGTA 补体<sup>[3]</sup>:

1) 100 mmol/L EGTA 螯合溶液: 使 EGTA 溶解在普通盐水中(每毫升水中加入 1mg NaCl), 然后把混合液加热到 60℃, 再加 5N NaOH 一直到 EGTA 溶解为止, 最后用 1N HCl 调回 pH 到 7.45, 用普通盐水定好体积后放置于 4℃。

2) 10mmol/L EGTA 补体: 0.1ml 100 mmol/L EGTA 螯合液加到 1ml 补体中, 即为 10mmol/L EGTA 补体。

### (二) 方法

1. 把以上细菌分别接种在肉汤培养液中, 培养 4—6 小时。

2. 在无菌试管中, 加入 0.5ml 稀释补体、0.5ml 生理盐水、0.5ml 细菌菌液(每一种菌重复 2 支试管)做溶菌试验。并分别做好不加补体的对照, 即在无菌试管中, 加入 1ml 生理盐水, 0.5ml 细菌菌液(每一种菌重复 2 支试管)。

3. 对溶菌混合液进行平板计数, 计算其溶菌率(重复 5 次, 取其平均值)。

4. 对能产生溶菌现象的细菌, 用 10mmol/L EGTA 补体处理, 进一步做溶菌试验(做法同 2)。

# 结 果

## (二) *E. coli*B、*E. coli*K<sub>12</sub>gal<sup>+</sup> 的溶菌

### (一) 补体直接作用下细菌的溶菌性

在没有抗体存在的情况下,细菌中加入补体后,重复5次,结果均在7种细菌中,有2种菌产生了溶菌现象(见表1、图1)。

在补体的直接作用下,*E. coli* B、*E. coli*-K<sub>12</sub> gal<sup>+</sup> 的溶菌率分别为99.83% 和 94.21% (见表2)。

表 1 补体直接作用下细菌的溶菌性

	<i>E. coli</i> B	<i>E. coli</i> K <sub>12</sub> gal <sup>+</sup>	<i>E. coli</i> 0111	<i>E. coli</i> K <sub>12</sub> gal <sup>-</sup>	假单胞菌 201	假单胞菌 301	变形杆菌
加补体细菌	+	+	-	-	-	-	-
未加补体细菌	-	-	-	-	-	-	-

“+”产生溶菌现象“-”未产生溶菌现象

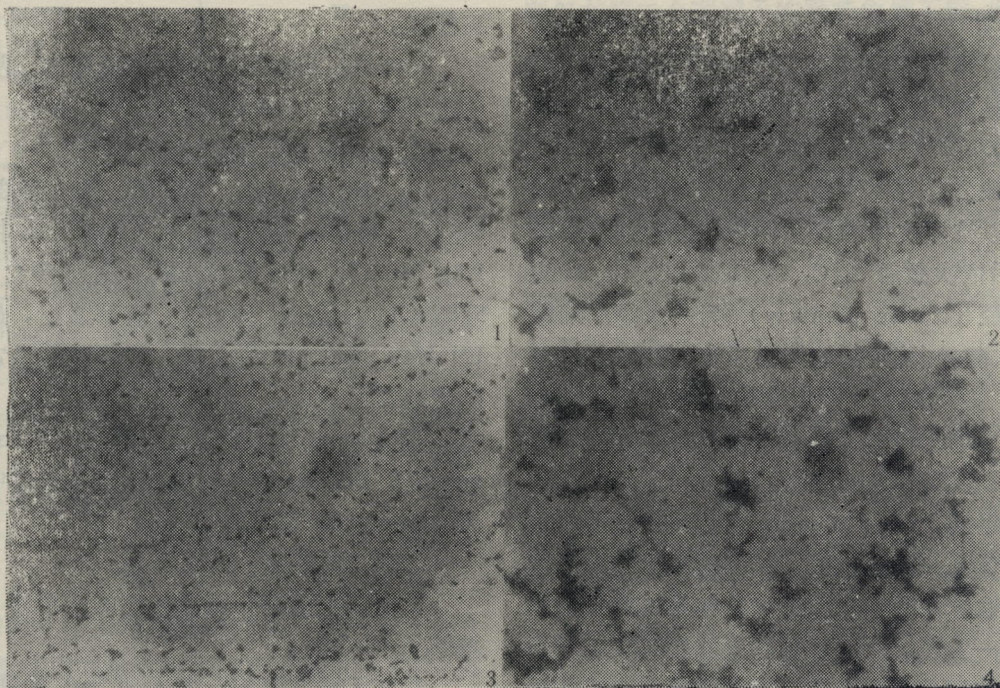


图 1 加入补体和未加入补体的 *E. coli*B、*E. coli*K<sub>12</sub>gal<sup>+</sup> 的形态

- 1) *E. coli*B 未加补体的      3) *E. coli*K<sub>12</sub>gal<sup>+</sup> 未加补体的  
2) *E. coli*B 加补体的(溶菌)      4) *E. coli*K<sub>12</sub>gal<sup>+</sup> 加补体的(溶菌)

表 2 *E. coli*B、*E. coli*K<sub>12</sub>gal<sup>+</sup> 的溶菌率

细菌	测定次数	第1次	第2次	第3次	第4次	第5次	平均
	溶菌率(%)						
<i>E. coli</i> B		99.95	99.72	99.93	99.92	99.65	99.83
<i>E. coli</i> K <sub>12</sub> gal <sup>+</sup>		97.25	91.17	94.73	96.23	91.69	94.21



### (三) 10 mmol/L EGTA 补体直接作用于细菌的情况

在 *E. coli* B、*E. coli* K<sub>12</sub> gal<sup>+</sup> 中加入 10 mmol/L EGTA 补体,都不能产生溶菌现象(见



图 2 加入 10mmol/L EGTA 补体的 *E. coli* B 和 *E. coli* K<sub>12</sub> gal<sup>+</sup>  
1. *E. coli* B 2. *E. coli* K<sub>12</sub> gal<sup>+</sup>

图 2)。

## 讨 论

1. 从以上结果可以看出,在没有抗体存在的情况下 *E. coli* B、*E. coli* K<sub>12</sub> gal<sup>+</sup> 可激活补体,产生溶菌反应,且溶菌率很高。

2. EGTA 为一种螯合剂,能螯合血清中的 Ca<sup>++</sup>,由于 C<sub>1</sub> 的激活需要 Ca<sup>++</sup> 的存在,因此在补体中加入 EGTA 能阻断 C<sub>1</sub> 的激活,从而关闭经典途径,而替代途径则不能<sup>[4]</sup>。本实验在补体中加入 EGTA 后不能产生溶菌现象,说明 *E. coli* B 和 *E. coli* K<sub>12</sub> gal<sup>+</sup> 激活的补体系统为不依赖抗体的经典途径。

3. 不依赖特异性抗体激活补体系统的经典途径的发现,对我们研究机体的天然防御机能有着新的意义。据最近文献报道<sup>[2]</sup>,除某些细菌外,病毒、支原体、原生动等多种微生物表面成分都能与 C<sub>1q</sub> 结合而启动补体系统,这说明在病原微生物感染早期,就可抑制、中和、消除致病因子,无疑补体具有天然的防御机能。

## 参 考 文 献

1. 陈仁等:免疫学问答图解,人民卫生出版社,12—18,1980。
2. 祝文嫒:国外医学(免疫学分册),9(2): 73—77,1986。
3. Fine D P et al.: *J. Immunology* 109: 807, 1972。
4. Clas F et al.: *Immunology* 40: 547, 1980。

## 侵袭性大肠杆菌艾希氏菌新血清型 O<sub>121</sub>:H—的检出

郑国樾 谢一俊

(福建省卫生防疫站,福州)

柳潮长 林伙佛

(沙县卫生防疫站,沙县)

**摘要** 1988 年 3 月和 4 月,在沙县和福州市由腹泻患儿和健康儿童粪便标本分离到肠侵袭性大肠艾希氏菌新血清型 O<sub>121</sub>:H—两株。该菌型尚未见报道。其 O 抗原与痢疾志贺氏菌 7 型相关,Sereny 试验阳性,并含有 140Md 侵袭性质粒。

**关键词** 肠侵袭性大肠艾希氏菌;新血清型;O<sub>121</sub>:H—

肠侵袭性大肠艾希氏菌 (EIEC) 的传染途径,对人经口感染后侵入大肠粘膜上皮细胞,并在此生长繁殖,造成肠壁溃疡,出现血、粘液

本文承蒙我站于恩席主任医师审核指导和中国兽药监察所协助 O 抗原鉴定,还有陈光华、曾凝梅和陈维瑾等同志参加部分试验,特表感谢。