

# 抗人丙二醛修饰低密度脂蛋白

## 单克隆抗体的制备和免疫学性质\*

阎道广 周 玫 陈 瑗

(第一军医大学自由基医学研究室, 广州 510515)

低密度脂蛋白(LDL)发生氧化修饰后可被巨噬细胞膜上的清道夫受体所识别,引起大量吞噬,导致泡沫细胞形成这一学说已被人们所重视。体外实验表明,LDL 极易被氧化,这个过程涉及脂质过氧化,大量的活性醛类包括丙二醛(MDA)被产生,MDA 与 LDL 载脂蛋白 B 上的游离氨基共价结合使之产生了新的抗原性,最近,在正常人和动脉粥样硬化(As)病人血清中发现有丙二醛修饰的低密度脂蛋白(MLDL)自身抗体存在。MLDL 的单克隆抗体,国外已有报导,并被用来测定体内 MLDL 的量以代表体内氧化修饰密度脂蛋白(OLDL)的量,我们制备了 MLDL 单克隆抗体,并对其生物学性质进行了研究。

我们按照 Curtiss 等报道的方法,先用不同修饰度的鼠 LDL 对 BALB/C 小鼠进行免疫,使其产生专一的与人 MLDL 非常相似的鼠 MLDL 的决定簇的 B 细胞克隆,于融合三天前用不同修饰度的人 MLDL 加强免疫,使鼠不

会产生对异源蛋白的决策簇抗体以避免种系差异性的影响。本文报道的两株单抗细胞株是分别用不同修饰度的 MLDL 从两次融合获得的 14 株阳性孔中筛选出的强阳性孔克隆培养后建立的, 分别命名为 HML<sub>1</sub>、HML<sub>2</sub>。HML<sub>1</sub>、HML<sub>2</sub> 培养上清效价为  $1.29 \times 10^4$ 、 $1.73 \times 10^4$ 。腹水效价为  $3.8 \times 10^4$ 、 $2.5 \times 10^4$ 。抗体亚类均为 IgG2a。HML<sub>1</sub>、HML<sub>2</sub> 的相对亲和力为  $0.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 相对亲和力 HML<sub>1</sub> > HML<sub>2</sub>。单抗相加实验表明, 两株单抗识别同一抗原决策簇, 竞争性 BA-ELISA 显示 NLDL 不能抑制 MLDL 与 HML<sub>1</sub> 结合, 而 MDA-polylysine 以及 MDA-albumin 却是 MLDL 强竞争抑制剂。据此, 我们认为, LDL 被 MDA 修饰后形成了新的抗原决策簇, 其抗原新位点是 MDA 与载脂蛋白 B 氨基酸残基上的游离氨基共价结合的产物。我们的实验结果还显示当 LDL 游离氨基减少至 30% 左右时, 其抑制包被抗原与单克隆结合的能力不再增加。同时修饰 4 h 和 24 h 的 OLDL, 均能和 MLDL 竞争性地与 HML<sub>1</sub> 结合, 表明了 LDL 的氧化修饰中活性醛与载脂蛋白 B 上的游离氨基的共价结合。

最近, 在正常人及 As 病人血清中发现抗 MLDL 的自身抗体, 这种自身抗体免疫反应与 As 发生可能无关, 但对有 As 并发症危险性的病人则可能有预报价值。抗 MLDL 单抗的获得也为我们更好地研究 As 患者血液 OLDL 的自身抗体的特征和探讨血液中 OLDL 的量以及单抗应用于临床诊断的可能性提供了研究基础。