

Chương 18. Kháng thể

Mục lục

Chương 18. Kháng thể.....	1
18.1. Giới thiệu	2
18.2. Immunoglobulin	3
18.2.1. Cấu trúc của immunoglobulin	3
18.2.2. Chuỗi nặng.....	4
18.2.3. Chuỗi nhẹ.....	4
18.2.4. Vùng thay đổi và vùng ổn định	5
18.2.5. Xử lý immunoglobulin với enzyme phân giải protein	6
18.3. Yếu tố quyết định kháng nguyên của immunoglobulin	6
18.3.1. Isotype	6
18.3.2. Allotype	7
18.3.3. Idiotype.....	7
18.4. Sinh tổng hợp immunoglobulin.....	7
18.5. Biến dưỡng của immunoglobulin	8
18.6. Các nhóm immunoglobulin	9
18.6.1. Immunoglobulin G	9
18.6.2. Immunoglobulin M.....	10
18.6.3. Immunoglobulin A	12
18.6.4. Immunoglobulin E.....	14
18.6.5. Immunoglobulin D	16
18.7. Immunoglobulin không bình thường.....	17
18.7.1. Bệnh đa u tủy xương.....	17
18.7.2. Bệnh chuỗi nặng	18
18.7.3. Chứng cryoglobulin huyết.....	18

18.1. Giới thiệu

Kháng thể là các protein globulin còn gọi là immunoglobulin được tổng hợp trong huyết thanh và dịch mô, chất này phản ứng chuyên biệt với chính kháng nguyên kích thích sản sinh ra chúng. Có ba kiểu globulin hiện diện trong máu đó là: alpha, beta và gamma. Kháng thể là những gamma globulin. Kháng thể là một trong những protein chính của huyết tương, có chức năng chống lại sự xâm nhiễm và thường được xem như là tuyến phòng vệ đầu tiên. Chức năng quan trọng nhất của kháng thể là tạo ra sự bảo vệ chống lại vi sinh vật gây bệnh. Kháng thể tạo sự bảo vệ theo các cách sau:

- (1). Ngăn chặn sự tấn công của vi sinh vật lên bề mặt niêm mạc của cơ thể chủ.
- (2). Làm giảm độc tính của vi sinh vật bằng cách trung hoà độc tố và virus.
- (3). Tạo thuận lợi cho sự thực bào bằng cách opsonin hoá vi sinh vật.
- (4). Làm hoạt hoá bổ thể, dẫn đến hoạt động qua trung gian bổ thể chống lại vi sinh vật.

Năm 1890, nhà khoa học người Đức Emil Adolf Von Behring (1854 - 1917) và nhà khoa học người Nhật Kitasato Shibasaburo (1853 - 1937) là những người đầu tiên đã tiến hành thực nghiệm chứng minh sự tồn tại vật lý của kháng thể. Họ đã chứng minh rằng huyết thanh thu nhận từ thỏ đã được tiêm chủng với độc tố uốn ván hay bạch hầu có thể ngăn chặn được bệnh ở chuột do nhiễm các vi khuẩn gây bệnh uốn ván hay bạch hầu. Chất chưa biết hiện diện trong huyết thanh có vai trò trong sự bảo vệ cho chuột thoát khỏi bệnh đã được Tizzoni và Cattani chứng minh vào năm 1891 và đặt tên là kháng độc tố. Tiếp đến thực nghiệm của Paul Ehrlich và Jules Bordet đã chứng minh phản ứng bảo vệ có thể được tạo ra ngay cả khi chống lại tế bào (hồng cầu). Từ đó thuật ngữ kháng thể được sử dụng thay thế cho thuật ngữ kháng độc tố.

Vào năm 1939, Tiselius và Kabat đã xác định thành công phân tử kháng thể. Họ đã chứng minh rằng tính sinh siêu miễn dịch (hyperimmunization) làm tăng nồng độ γ -globulin trong huyết thanh và phân đoạn này có chứa hoạt tính kháng thể. Do γ -globulin là những protein nặng có phân tử lớn, nên có đề xuất cho rằng để có đặc tính sâu hơn của kháng thể đòi hỏi phải bẻ gãy chúng thành những mảnh nhỏ hơn và dễ xử lý hơn.

Năm 1959, Porter đã thành công trong việc phân cắt immunoglobulin G (IgG) của

thoả bằng enzyme thủy giải protein thu nhận từ đu đủ. Sản phẩm của sự phân cắt này gồm hai mảnh: mảnh thứ nhất có hóa trị một, có hoạt tính liên kết với kháng nguyên được gọi là Fab hay mảnh liên kết với kháng nguyên và mảnh thứ hai lưu giữ chức năng của yếu tố tác động (effector) thuộc kháng thể và kết tinh thành mạng lưới nên được gọi là Fc hay mảnh có khả năng kết tinh.

Edelman và Poulik sử dụng phương pháp tương tự để chế myeloma globulin thành hai thành phần khác biệt, được gọi là chuỗi nặng (H) và chuỗi nhẹ (L). Năm 1964 Tổ chức sức khỏe thế giới (WHO) đã công định thành thuật ngữ immunoglobulin (Ig) thay cho thuật ngữ kháng thể. Immunoglobulin không những chỉ gồm globulin kháng thể mà còn có cả cryoglobulin, macroglobulin và protein u tủy (myeloma) không bình thường. Vì vậy tất cả kháng thể là immunoglobulin nhưng không phải tất cả immunoglobulin đều là kháng thể.

18.2. Immunoglobulin

Có năm nhóm immunoglobulin gồm:

- (1) immunoglobulin G (IgG),
- (2) immunoglobulin M (IgM),
- (3) immunoglobulin A (IgA),
- (4) immunoglobulin E (IgE) và
- (5) immunoglobulin D (IgD).

Protein myeloma là immunoglobulin được giải trình tự amino acid. Protein này cũng là immunoglobulin, được sử dụng đầu tiên để nghiên cứu về tính thể học. Chúng cung cấp những nhận định ban đầu về vùng cấu trúc của immunoglobulin.

18.2.1. Cấu trúc của immunoglobulin

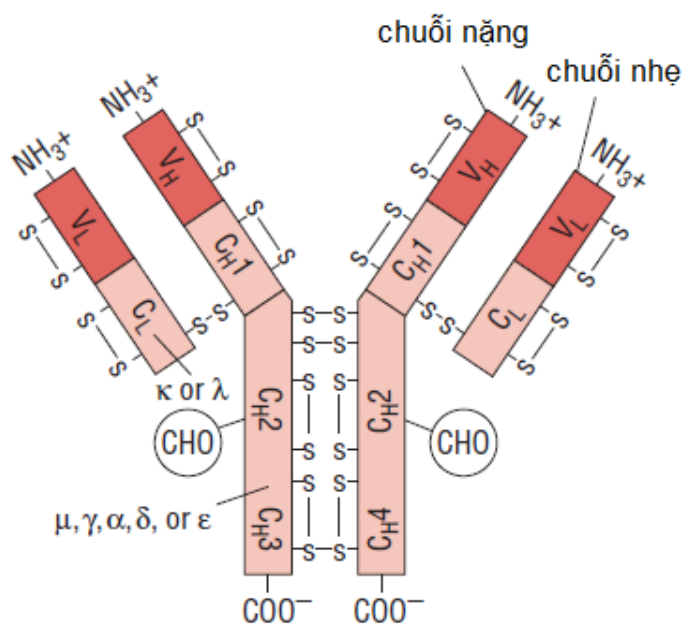
Immunoglobulin có các đặc điểm sau:

- (a). Là glycoprotein,
- (b). Có cấu trúc phức tạp với bốn chuỗi polypeptide: hai chuỗi nặng giống nhau, mỗi chuỗi thường nặng 55 kDa và hai chuỗi nhẹ giống nhau, mỗi chuỗi nặng 25 kDa. Immunoglobulin thường có dạng hình chữ ‘Y’ hay hình chữ ‘T’, đây là đặc điểm phổ biến nhất để nhận biết cấu trúc immunoglobulin.

(c). Thuật ngữ nặng và nhẹ là đề cập đến trọng lượng phân tử của chuỗi. Chuỗi nặng có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng 50.000 - 70.000 Da, trong khi đó chuỗi nhẹ có trọng lượng phân tử là 25.000 Da. Chuỗi nặng thì dài hơn và chuỗi nhẹ thì ngắn hơn.

18.2.2. Chuỗi nặng

Phân tử immunoglobulin có hai chuỗi nặng. Mỗi chuỗi nặng được cấu tạo từ 420 - 440 amino acid. Hai chuỗi nặng này giữ với nhau nhờ một đến năm cầu nối disulfide (S -



S). Từng chuỗi nặng gắn kết với chuỗi nhẹ qua cầu nối disulfide và cầu nối cộng hóa trị như các liên kết muối, cầu nối hydrogen và cầu nối kỵ nước để hình thành heterodimer (H - L). Tương tự như vậy tương tác cộng hóa trị và cầu nối disulfide liên kết với hai chuỗi nặng và chuỗi nhẹ giống nhau (H - L) với nhau để hình thành cấu trúc kháng thể gồm bốn chuỗi cơ bản (H - L) x 2.

Hình 18.1. Minh họa cấu trúc immunoglobulin (Nguồn: Subhash Chandra Parija).

Chuỗi nặng của phân tử kháng thể cụ thể giúp xác định nhóm kháng thể đó. Ví dụ IgM có chuỗi nặng mu (μ), IgG có chuỗi nặng gamma (γ), IgA có chuỗi nặng alpha (α), IgD có chuỗi nặng delta (δ) và IgE có chuỗi nặng epsilon (ε). Các chuỗi nặng này có khác biệt về cấu trúc và kháng nguyên cho mỗi nhóm immunoglobulin. Chúng khác về kích thước, thành phần carbohydrate và kháng nguyên. Chi tiết được trình bày tại Bảng 18.1.

18.2.3. Chuỗi nhẹ

Phân tử immunoglobulin có hai chuỗi nhẹ. Mỗi chuỗi nhẹ được cấu tạo từ 220 - 240 amino acid. Chuỗi nhẹ gắn vào chuỗi nặng nhờ cầu nối disulfide. Chuỗi nhẹ có cấu trúc và hóa học tương tự nhau trong tất cả các nhóm immunoglobulin. Chúng có hai kiểu: kappa (κ) và lambda (λ). Hai kiểu này khác nhau về các amino acid hiện diện trong vùng

ổn định. Mỗi immunoglobulin có hoặc là hai chuỗi kappa hoặc là hai chuỗi lambda nhưng không bao giờ có cả hai. Chuỗi κ and λ hiện diện trong huyết thanh người ở tỷ lệ 2:1.

Bảng 18.1. Immunoglobulin cùng với chuỗi nặng và nhóm phụ của chúng.

Nhóm	Chuỗi nặng	Nhóm phụ
IgG	Gamma (γ)	$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$
IgM	Mu (μ)	Không có
IgA	Alpha (α)	α_1, α_2
IgE	Epsilon (ϵ)	Không có
IgD	Delta (δ)	Không có

18.2.4. Vùng thay đổi và vùng ổn định

Mỗi chuỗi polypeptide của phân tử immunoglobulin có phần cuối amino và phần cuối carboxyl. Phần cuối amino được gọi là vùng thay đổi (hay vùng V) và phần cuối carboxyl gọi là vùng ổn định (hay vùng C). Cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đều có vùng thay đổi và vùng ổn định. Những vùng này nắm giữ cấu tạo nhờ cấu trúc không gian ba chiều có các đoạn lặp lại, được gọi là vùng (domain). Mỗi chuỗi nặng gồm một vùng thay đổi (VH) và ba vùng ổn định (CH). IgG và IgA có ba vùng CH (CH1, CH2 và CH3). Ngược lại IgM và IgE có bốn vùng (CH1, CH2, CH3 và CH4). Mỗi chuỗi nhẹ gồm một vùng thay đổi (VL) và một vùng ổn định (CL).

(a). Vùng thay đổi: một nửa amino của chuỗi nhẹ hay chuỗi nặng gồm 100 - 110 amino acid, được biết như là vùng thay đổi hay vùng V (VL trong chuỗi nhẹ và VH trong chuỗi nặng). Mỗi nhóm immunoglobulin có vùng V khác nhau. Vùng thay đổi của cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng gồm các vùng biến động cao được gọi là vùng siêu biến động.

Kháng nguyên kết hợp với các vị trí Fab của phân tử kháng thể. Mỗi vị trí Fab này chỉ gồm 5 - 10 amino acid hiện diện trong vùng siêu biến động của cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng. Những vị trí liên kết kháng nguyên này chịu trách nhiệm cho sự liên kết chuyên biệt của kháng thể với kháng nguyên. Tính chuyên biệt cao của kháng thể chủ yếu là do sự hiện diện của các vùng siêu biến động này.

(b). Vùng ổn định: một nửa carboxyl cuối của phân tử được gọi là vùng ổn định (C). Vùng ổn định C gồm hai trình tự amino acid cơ bản. Đoạn Fc hiện diện trong vùng ổn định của chuỗi nặng, sẽ kết tinh trong điều kiện ion thấp. Vùng ổn định của chuỗi nặng có nhiều chức năng sinh học. Vùng này có chức năng hoạt hóa bổ thể, liên kết với thụ thể trên bề mặt tế bào, truyền qua nhau thai (placental transfer) và nhiều hoạt tính sinh học khác.

Vùng ổn định của chuỗi nhẹ không có chức năng sinh học. Một phân tử kháng thể có hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ giống nhau, được viết ở dạng H_2L_2 , hay ở dạng $(H_2L_2)_n$ của cấu trúc cơ bản gồm bốn chuỗi. Kiểu đồng dạng phụ (Subisotype) tồn tại ở dạng chuỗi α và chuỗi γ , điều này dẫn đến sự tồn tại nhóm lớp phụ (subclass) immunoglobulin tương ứng.

18.2.5. Xử lý immunoglobulin với enzyme phân giải protein

Phân tử immunoglobulin có thể bị bẻ gãy thành nhiều mảnh do sự tác động của enzyme phân giải protein. Theo đó enzyme papain phân giải protein chỉ phân cắt các cầu nối nội chuỗi disulfide phía trên, liên kết giữa các chuỗi nặng, ngược lại enzyme pepsin chỉ phân cắt các cầu nối nội chuỗi disulfide bên dưới, vì thế tạo ra sự phân cắt khác nhau đối với sản phẩm. Ví dụ cầu nối peptide trong vùng nối sẽ bị bẻ gãy khi phân tử kháng thể xử lý bằng papain, dẫn đến tạo ra hai đoạn Fab giống nhau và một đoạn Fc. Các đoạn Fab được tạo ra do phân cắt cầu nối hóa trị đơn, cầu nối này dùng để nối với kháng nguyên. Khi xử lý với pepsin sẽ phân cắt immunoglobulin ở vị trí khác, tạo ra một đoạn Fc và hai đoạn Fab, $F(ab)_2$ này nhờ vào sự phối hợp để làm giảm các điều kiện bị phân tách thành các đơn vị Fab đơn phân.

18.3. Yếu tố quyết định kháng nguyên của immunoglobulin

Có ba kiểu quyết định kháng nguyên của immunoglobulin gồm: (1) isotype, (2) allotype và (3) idiotype.

18.3.1. Isotype

Khi nói đến isotype của immunoglobulin là nói đến vùng ổn định cụ thể của chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng thuộc immunoglobulin. Immunoglobulin được phân nhóm dựa trên các isotype khác nhau thuộc chuỗi nặng. Chuỗi nặng được phân biệt nhờ sự hiện diện của

các chỉ dấu (marker) của chuỗi nặng như μ , γ , α , δ và ϵ có trong các immunoglobulin tương ứng là IgM, IgG, IgA, IgD và IgE. Chuỗi nhẹ cũng được phân biệt nhờ các chỉ dấu isotype như κ và λ . Isotype hiện diện trong tất cả các thành viên của loài.

18.3.2. Allotype

Nói đến allotype là nói đến sự khác biệt về allele trong cả vùng thay đổi và vùng ổn định của immunoglobulin. Chỉ dấu allotype hiện diện trên vùng ổn định của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng. Chúng là Am trên chuỗi nặng α , Gm trên chuỗi nặng γ và Km trên chuỗi nhẹ κ . Các chỉ dấu allotype không có mặt trên các chuỗi nặng μ , δ và trên chuỗi nhẹ ϵ . Có hơn 25 kiểu Gm, 3 Km allotype và 2 Am trên IgA đã được mô tả. Allotype hiện diện trong một số nhưng không phải tất cả các thành viên của một loài và có tính di truyền đơn giản theo kiểu Mendel.

18.3.3. Idiotypic

Nói đến idiotype là nói đến sự chuyên biệt liên quan đến vùng biến động (hay còn gọi là vùng thay đổi). Các chỉ dấu idiotype được phát hiện trong vùng siêu biến động của immunoglobulin. Idiotype đặc trưng cho mỗi phân tử kháng thể. Kháng thể kháng idiotype được tạo ra để chống lại đoạn Fab sẽ ngăn chặn sự tương tác kháng nguyên - kháng thể.

18.4. Sinh tổng hợp immunoglobulin

Tế bào lympho B và tương bào sẽ tham gia vào sự tổng hợp immunoglobulin. Các tế bào B không sinh trưởng sẽ tổng hợp chỉ một lượng nhỏ immunoglobulin chủ yếu kết hợp trong màng tế bào. Tương bào, hầu như khác biệt với tế bào B, đặc biệt là để sản sinh và tiết ra một lượng lớn immunoglobulin. Khả năng tổng hợp của tương bào phản ánh sự phong phú của chúng tế bào chất, chúng cực kỳ phong phú trong mạng lưới nội chất.

Bình thường các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được tổng hợp trong polyribosome riêng biệt của tương bào. Lượng chuỗi nặng và nhẹ được tổng hợp trên polyribosome thường cân bằng và vì vậy cả hai kiểu chuỗi này kết hợp để tạo ra phân tử Ig hoàn chỉnh mà không có sự dư thừa bất kỳ chuỗi nào. Sự lắp ráp của phân tử Ig hoàn chỉnh được tiến hành theo cách hoặc là sự kết hợp giữa một chuỗi nặng và một chuỗi nhẹ để hình thành

nên bán phân tử H-L và sau đó nối với phân nửa còn lại để hình thành nên phân tử hoàn chỉnh (H₂L₂) hoặc bằng cách hình thành các dimer H₂ và L₂, sau đó kết hợp lại với nhau để hình thành nên phân tử hoàn chỉnh.

Trong khi các chuỗi nhẹ tự do có thể được tiết ra một cách hiệu quả từ tương bào, thì ngược lại các chuỗi nặng tự do thường không được tiết ra từ tế bào này. Các chuỗi nặng được tổng hợp và vận chuyển đến mạng lưới nội chất, nơi chúng được glyco giải. Nhưng khi tiết ra đòi hỏi cần có sự kết hợp với chuỗi nhẹ để hình thành nên phân tử immunoglobulin hoàn chỉnh. Nếu chuỗi nhẹ không được tổng hợp hoặc chuỗi nặng được tổng hợp dư thừa, thì các chuỗi nặng tự do sẽ kết hợp với protein liên kết với chuỗi nặng thông qua vùng CH1 của chuỗi nặng, điều này được cho là nhằm lưu giữ chúng trong tương bào.

Cả IgM và IgA là các kháng thể dạng polymer, có thêm một chuỗi polypeptide đó là chuỗi J. Chuỗi J này được tổng hợp bởi tất cả tương bào, bao gồm cả tế bào sản sinh ra IgG. Tuy nhiên nó chỉ kết hợp với các dạng polymer của IgM và IgA. Chuỗi J được cho là có một số vai trò cho sự khởi đầu của quá trình polymer hóa. Protein IgM được lắp ghép trong hai bước. Đầu tiên các đơn vị đơn phân (monomer) được lắp ghép trước, sau đó năm đơn vị đơn phân và một chuỗi J kết hợp với nhau qua liên kết cộng hóa trị để tạo ra phân tử gồm năm tiểu đơn vị (penta).

18.5. Biện dưỡng của immunoglobulin

Thời gian bán rã (T_{1/2}) của immunoglobulin là một trong những thông số được sử dụng phổ biến nhất để đánh giá tốc độ dị hóa của immunoglobulin. Thời gian bán rã tương ứng với thời gian làm giảm một nửa hàm lượng immunoglobulin tuần hoàn sau khi đạt được sự cân bằng. Thời gian bán rã thường được xác định bằng cách tiêm immunoglobulin có đánh dấu đồng vị phóng xạ (I¹³¹).

IgG là nhóm immunoglobulin có chu kỳ bán rã dài nhất, trung bình 21 ngày, ngoại trừ IgG3. IgG3 có chu kỳ bán rã ngắn hơn, trung bình khoảng 7 ngày, ngắn hơn nữa là IgA khoảng 5 - 6 ngày và ngắn hơn nữa là IgM chỉ có 5 ngày.

Tốc độ tổng hợp IgA1 là 24 mg/kg/ngày, tốc độ này không quá khác biệt so với tốc độ tổng hợp IgG1 là 25 mg/kg/ngày, nhưng nồng độ huyết thanh của IgA1 chỉ khoảng

1/3 nồng độ của IgG1. Điều này được lý giải là do tốc độ tuần hoàn của mảnh này lớn gấp ba lần so với IgA1 (24%/ ngày). Tốc độ tuần hoàn cao nhất và thời gian bán rã ngắn hơn của mảnh này chính là IgE, tương ứng 74%/ngày và 2,4 ngày. Tốc độ tổng hợp thấp nhất là IgE, 0,002 mg/kg/ngày, so với 20 - 60 mg/kg/ngày của IgG.

18.6. Các nhóm immunoglobulin

Cấu trúc và chức năng sinh học của năm nhóm immunoglobulin là: IgG, IgM, IgA, IgE và IgD được mô tả như sau:

18.6.1. Immunoglobulin G

IgG là immunoglobulin 7S, trọng lượng phân tử 150.000 Da, có chu kỳ bán rã là 23 ngày, dài nhất trong số các immunoglobulin. Các đặc điểm khác của IgG được mô tả ở Bảng 18.2. IgG là nhóm immunoglobulin có nhiều nhất trong huyết thanh, chiếm khoảng 80% trong tổng số immunoglobulin huyết thanh. Có bốn phân nhóm IgG là: IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4, số thứ tự được đánh theo nồng độ giảm dần trong huyết thanh. Mặc dù sự khác nhau giữa các phân nhóm này là không đáng kể nhưng chức năng của chúng lại khác nhau như sau:

(1). IgG1, IgG3 và IgG4 thì đặc biệt bởi vì chúng chỉ là những immunoglobulin có khả năng bảo vệ chéo qua nhau thai. Chúng có vai trò quan trọng trong bảo vệ nhau thai phát triển chống lại sự xâm nhiễm.

(2). IgG3, IgG1 và IgG2 xếp theo thứ tự về tính hiệu quả, chúng có vai trò trong hoạt hóa bổ thể.

(3). IgG1 và IgG3 liên kết ái lực cao với thụ thể Fc trên tế bào thực bào và vì vậy làm trung gian cho sự opsonin hóa. IgG4 có ái lực vừa phải với thụ thể Fc và IgG2 có tính ái lực cực thấp.

Hai chuỗi γ , cùng với hai chuỗi nhẹ κ hay λ liên kết với nhau nhờ cầu nối disulfide, tạo ra phân tử IgG như sau: (a). Chuỗi γ là polypeptide dài 450 amino acid, nặng 51 kDa. (b). Nó gồm vùng dao động VH và vùng ổn định C cùng với đó là ba vùng được ấn định là CH1, CH2 và CH3. (c). Vùng nối định vị ở giữa CH1 và CH2. (d). Enzyme phân giải protein như papain và pepsin, phân cắt phân tử IgG tại vùng nối để tạo ra các đoạn Fab và F(ab')₂ và Fc.

Có bốn phân nhóm IgG ở người tương ứng với bốn chuỗi đồng vị γ được ấn định là γ -1, γ -2, γ -3 và γ -4. IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4 biểu hiện khác nhau về vùng nối của chúng và khác nhau về số lượng và vị trí của cầu nối disulfide để nối hai chuỗi γ trong mỗi phân tử IgG. Chỉ có 5% khác nhau về trình tự amino acid trong số các chuỗi đồng vị γ ở người, nhất là vùng nối. Chức cysteine có thể được sử dụng làm cầu nối disulfide giữa các chuỗi nặng (γ) với nhau được phát hiện trong vùng nối. IgG1 và IgG4 có hai cầu disulfide của chuỗi nặng, IgG2 có 4 và IgG3 có 11. IgG được phân bố đầy đủ trong các ngăn nội và ngoại mạch.

Đặc điểm sinh học của IgG: (a). Trong phản ứng với sự xâm nhiễm, kháng thể IgG xuất hiện chậm sau khi có sự xuất hiện của kháng thể IgM, nhưng lại bền vững trong thời gian lâu hơn. (b). Kháng thể này bảo vệ chống lại vi sinh vật hiện diện trong máu và mô. Nó được phân bố đầy đủ trong các khoang mạch nội và ngoại mạch. (c). IgG chỉ là một immunoglobulin truyền qua nhau thai; nên nó tạo ra miễn dịch thụ động tự nhiên cho trẻ sơ sinh. (d). Kháng thể này tham gia tạo sự trầm hiện, cố định bổ thể và trung hòa độc tố và virus. (e). Nó liên kết với vi sinh vật và tạo thuận lợi cho quá trình thực bào của vi sinh vật.

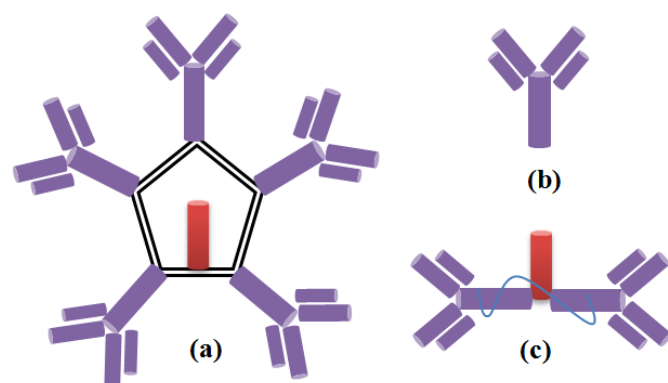
18.6.2. Immunoglobulin M

IgM cấu thành khoảng 5 - 8% tổng số immunoglobulin huyết thanh. Nó được phân bố chủ yếu trong nội mạch. Có một phân tử nặng (19S), trọng lượng phân tử dao động trong khoảng từ 900.000 đến 1.000.000 Da. IgM có chu trình bán rã là 5 ngày (Bảng 18.2).

IgM chủ yếu là thành phần được cấu tạo từ năm tiểu đơn vị immunoglobulin đơn phân (pentamer) và một chuỗi J. Mỗi IgM đơn phân gồm có hai chuỗi nhẹ (chuỗi nhẹ κ hay γ) và hai chuỗi nặng (μ). Chuỗi nặng này lớn hơn các chuỗi của IgG khoảng 20.000 Da, tương ứng với vùng phụ (extra domain) nằm trên vùng ổn định (CH_4). Hai nhóm phụ của IgM (IgM1 và IgM2) được mô tả thì khác với chuỗi μ . IgM1 gồm có μ_1 và IgM2 gồm chuỗi μ_2 (Hình 18.2).

Chuỗi μ immunoglobulin là chuỗi polypeptide gồm 570 amino acid, nặng 72 kDa,

gồm một vùng dao động, được ấn định VH và bốn miền trong vùng ổn định, được ấn định là CH1, CH2, CH3 và CH4. Chuỗi μ không có vùng bản lề (vùng nối). Mảnh đuôi định vị tại đầu cuối carboxyl của chuỗi này. Mảnh này gồm các chức có 18 amino acid. Chức cysteine đính tại vị trí áp chót (penultimate) của vùng cuối carboxyl thuộc chuỗi μ hình thành cầu nối disulfide để ghép nối vào chuỗi J. Có năm oligosaccharide liên kết với N trong chuỗi μ ở người.



Hình 18.2. Ảnh minh họa cấu trúc của các immunoglobulin. (a). IgM có cấu tạo từ 5 đơn phân (pentamer), là dòng kháng thể đầu tiên phòng vệ hiệu quả chống lại các chất lạ của cơ thể. IgM được tạo ra trong phản ứng miễn dịch sơ cấp trên bề mặt niêm mạc; (b). IgA có cấu trúc từ hai đơn phân (dimer), chúng có chức năng bảo vệ. (c). IgG, IgD và IGE có cấu trúc dạng đơn phân tử. Theo đó IgG có chức năng phòng thủ hiệu quả giúp các khoang ngoại mạch thoát khỏi các chất lạ của cơ thể và các thành phần của chất lạ, IgD ảnh hưởng đến chức năng của tế bào lympho, IgE bảo vệ chống lại các ký sinh đường ruột và có vai trò trong nhiều triệu chứng dị ứng.

niêm mạc; (b). IgA có cấu trúc từ hai đơn phân (dimer), chúng có chức năng bảo vệ. (c). IgG, IgD và IGE có cấu trúc dạng đơn phân tử. Theo đó IgG có chức năng phòng thủ hiệu quả giúp các khoang ngoại mạch thoát khỏi các chất lạ của cơ thể và các thành phần của chất lạ, IgD ảnh hưởng đến chức năng của tế bào lympho, IgE bảo vệ chống lại các ký sinh đường ruột và có vai trò trong nhiều triệu chứng dị ứng.

IgM đơn phân có trọng lượng phân tử 180.000 Da, được xem như là kháng thể liên kết màng trên tế bào B. Như đã đề cập ở trên, chuỗi J trong phân tử IgM được cho là có vai trò chính trong việc tiết ra để hình thành phân tử polymer của chính nó. Nhờ sự hiện diện trên màng tế bào B, IgM hoạt động như là phân tử liên kết với kháng nguyên trong phức hợp kháng nguyên - kháng thể.

Do cấu trúc dạng pentamer của IgM có 10 vị trí liên kết với kháng nguyên, nên IgM huyết tương có hoá trị cao hơn các đồng loại kháng thể (isotype) khác. Một phân tử IgM có thể liên kết với 10 phân tử hapten nhỏ; tuy nhiên do sự cản trở lập thể nên chỉ có năm hoặc ít hơn năm phân tử kháng nguyên lớn hơn có thể được liên kết đồng thời với IgM.

Khi xử lý huyết thanh với 2-mercaptoethanol sẽ phá huỷ IgM mà không làm ảnh hưởng đến kháng thể IgG. Đây chính là cách thức cơ bản để phân biệt kháng thể IgM và IgG trong huyết thanh được xử lý trước bằng 2-mercaptoethanol.

Đặc điểm sinh học của IgM: IgM có những đặc điểm sinh học sau:

(a). Là phân tử có cấu trúc dạng năm đơn phân (pentamer) nên có hóa trị cao, điều này giúp chúng đạt hiệu quả cao hơn so với các kháng thể đồng loại trong liên kết với kháng nguyên có nhiều epitope lặp lại như các hạt virus và tế bào máu đỏ.

(b). IgM hiệu quả hơn so với IgG trong hoạt hóa bổ thể. Sự hoạt hóa bổ thể đòi hỏi phải có hai vùng Fc ở gần nhau và cấu trúc dạng pentamer của phân tử thỏa mãn yêu cầu này.

(c). IgM là immunoglobulin đầu tiên được tạo ra trong phản ứng sơ cấp với kháng nguyên. Immunoglobulin này bảo vệ chống lại sự xâm lấn của vi sinh vật gây bệnh vào máu. Sự khiếm khuyết của kháng thể IgM liên quan đến nhiễm trùng máu.

(d). So với IgG, kháng thể IgM có vòng đời ngắn và sớm biến mất. Vì vậy sự hiện diện của kháng thể IgM trong huyết thanh biểu thị cho sự nhiễm trùng hiện tại.

(e). IgM cũng là immunoglobulin đầu tiên được tổng hợp ở trẻ sơ sinh khoảng 20 tuần tuổi. Kháng thể này không được chuyển qua đường nhau thai; vì thế sự hiện diện của IgM trong thai nhi hay ở trẻ sơ sinh biểu thị cho nhiễm trùng tử cung. Vì vậy việc phát hiện kháng thể IgM trong huyết thanh là phương pháp thường được sử dụng để chẩn đoán nhiễm trùng bẩm sinh do các đối tượng gây bệnh như giang mai, rubella, ký sinh trùng toxoplasma, ... gây ra.

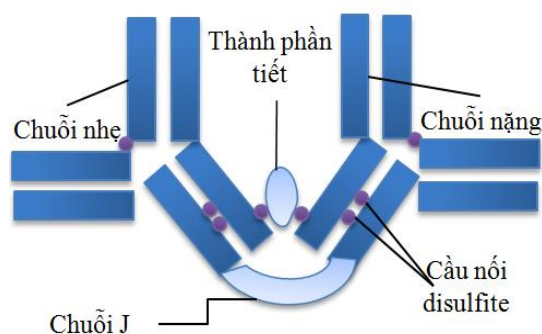
18.6.3. Immunoglobulin A

IgA là immunoglobulin huyết thanh chính thứ hai, chiếm khoảng 10 - 15% immunoglobulin huyết thanh. Kháng thể này có chu kỳ bán rã từ 6 đến 8 ngày (Bảng 18.2). IgA gồm chuỗi nặng α là chuỗi chuyên biệt trên phân tử IgA. Chuỗi α là polypeptide dài gồm 470 amino acid, nặng 58 kDa. Chuỗi này được chia thành ba vùng ổn định gọi là CH1, CH2 và CH3 cùng với đó là vùng dao động gọi là VH. Vùng bản lề ở giữa CH1 và CH2. Một mảnh bổ sung gồm 18 amino acid tại vị trí gần cuối của chuỗi này chứa chức cysteine nơi mà chuỗi J có thể được đính vào nhờ cầu nối disulfide. IgA

xuất hiện trong hai dạng: IgA trong huyết thanh và IgA tiết.

IgA trong huyết thanh: hiện diện trong huyết thanh và là phân tử đơn phân 7S, nặng 60.000 Da. IgA có chu kỳ bán rã từ 6 - 8 ngày. IgA có hai nhóm phụ là IgA1 và IgA2, tương ứng với hai chuỗi đồng dạng là α -1 và α -2. Chuỗi α -2 có hai allotype, A2m(1) và A2m(2) và không có cầu nối disulfide để liên kết chuỗi nặng với chuỗi nhẹ. Sự khác nhau trong hai chuỗi α này phát hiện được tại hai vị trí CH1 và năm vị trí CH3. Vì vậy có ba sự dao động của chuỗi nặng α ở người.

IgA tiết: là một dimer (hai đơn phân) hoặc tetramer (bốn đơn phân) gồm một chuỗi J polypeptide và một chuỗi polypeptide gọi là cấu tử tiết (SC), SC hay còn gọi là mảnh tiết (Hình 18.3). SC là một polypeptide có trọng lượng phân tử 70.000 Da do tế bào biểu mô thuộc màng nhầy tiết ra. Mảnh tiết này gồm năm vùng tương tự như immunoglobulin liên kết với vùng Fc của IgA. Sự tương tác này bền vững nhờ cầu nối giữa vùng thứ năm của SC và một chuỗi của IgA dimer. Tương bào tiết IgA tập trung dọc theo bề mặt màng nhầy. Lượng sản sinh hằng ngày của IgA tiết thì lớn hơn bất kỳ lượng



sản sinh nào khác của immunoglobulin. IgA tiết là immunoglobulin chính hiện diện trong các chất tiết ra bên ngoài như sữa, nước bọt, nước mắt và niêm dịch của cuống phổi, tuyến niệu dục và tuyến tiêu hóa. IgA hoạt hóa bổ thể không theo con đường cổ điển nhưng lại theo con đường khác.

Hình 18.3. Sơ đồ minh họa cấu trúc immunoglobulin A (IgA).

Đặc điểm sinh học của IgA tiết: IgA tiết có những đặc điểm sinh học sau đây:

(a). IgA tiết bảo vệ niêm mạc chống lại vi sinh vật gây bệnh. Được xem như là chức năng tác động quan trọng tại bề mặt niêm mạc, là các điểm xâm nhập chính của hầu hết vi sinh vật gây bệnh. Do có đặc tính cao phân tử nên IgA tiết có thể liên kết chéo với các kháng nguyên lớn có nhiều epitope.

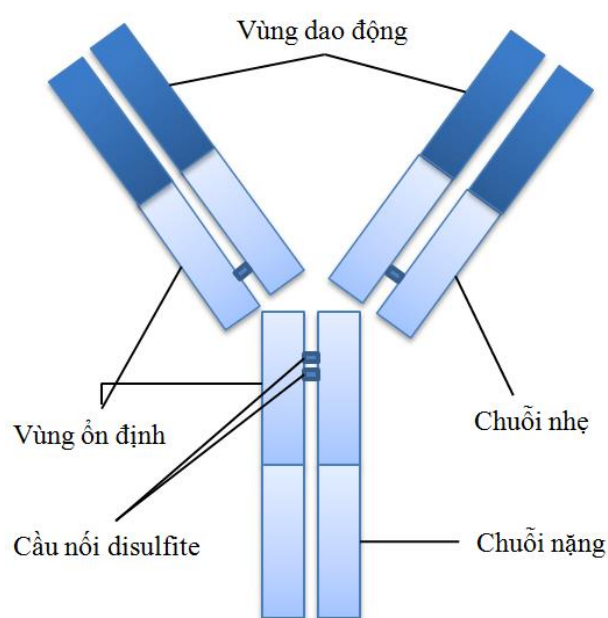
(b). Sự liên kết của IgA tiết với kháng nguyên bề mặt vi khuẩn và virus sẽ ngăn chặn sự bám dính của đối tượng gây bệnh lên tế bào niêm dịch, nhờ đó ức chế sự xâm

nhễm của virus và sự tập kết của vi khuẩn. Phức hợp của IgA tiết và kháng nguyên dễ dàng được bẫy trong niêm dịch và sau đó loại bỏ ra ngoài nhờ tế bào biểu mô có lông rung của tuyến hô hấp hoặc bằng nhu động ruột.

(c). Sữa mẹ có IgA tiết và nhiều phân tử khác giúp bảo vệ trẻ sơ sinh chống lại sự xâm nhiễm trong tháng đầu đời. Do hệ miễn dịch của trẻ không đầy đủ chức năng nên sữa mẹ đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì sức khỏe của trẻ.

(d). IgA tiết cung cấp một đường ranh quan trọng trong phòng vệ chống lại vi khuẩn gây bệnh như *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae*, *Neisseria gonorrhoeae*, ... và virus gây bệnh như: polio, influenza và reovirus.

18.6.4. Immunoglobulin E



IgE chiếm ít hơn 1% trong tổng số immunoglobulin. Nó hiện diện trong huyết thanh ở nồng độ rất thấp (0,3 $\mu\text{g/mL}$). IgE gần như tìm thấy ngoại mạch trong lớp lót của tuyến hô hấp và ruột. IgE là phân tử 8S, trọng lượng phân tử là 190.000 Da, có chu kỳ bán rã là 2 - 3 ngày. Không giống như các immunoglobulin khác là bền nhiệt, IgE là protein không bền nhiệt - dễ dàng bị bất hoạt ở 56°C trong 1 giờ (Bảng 18.2).

Hình 18.4. Minh họa cấu trúc của immunoglobulin E (IgE).

Hai chuỗi nặng polypeptide e, cùng với hai chuỗi κ hay hai chuỗi nhẹ λ , buột chặt với nhau nhờ cầu nối disulfide, tạo nên một phân tử IgE. Chuỗi e này là polypeptide dài 550 amino acid, nặng 72 kDa. Gồm một vùng dao động VH và bốn vùng ổn định là CH1, CH2, CH3 và CH4. Chuỗi nặng này không có vùng bản lề. Ở người, chuỗi nặng ϵ có 428 amino acid trong vùng ổn định (Hình 18.4). IgE không truyền qua nhau thai hoặc cố định bỏ thể.

Đặc điểm sinh học của IgE: IgE có những đặc điểm sinh học sau:

(a). IgE còn được biết là kháng thể reagin, gián tiếp qua type I, tức thì gây phản ứng siêu mẫn cảm (dị ứng).

(b). IgE đóng vai trò trong các triệu chứng dị ứng phấn hoa, hen suyễn và sốc phản vệ. IgE liên kết với thụ thể Fc trên màng bạch cầu ưa kiềm (basophil) của máu và dưỡng bào mô. Kháng nguyên (chất gây dị ứng) liên kết chéo với thụ thể nối với phân tử IgE sẽ cảm ứng bạch cầu ưa kiềm và dưỡng bào làm hoán đổi các hạt này trên màng plasma và phóng thích các thành phần của chúng vào môi trường ngoại bào - quá trình này gọi là làm mất hạt. Kết quả là, có sự đa dạng về các chất trung gian có hoạt tính được học được phóng thích và làm tăng các phản ứng dị ứng.

(c). Việc mất hạt dưỡng bào diễn ra một cách cục bộ do IgE có thể cũng làm phóng thích các chất trung gian, tạo thuận lợi cho việc xây dựng nhiều tế bào cần thiết cho sự phòng vệ kháng lại ký sinh.

Bảng 18.2. So sánh đặc điểm khác nhau của immunoglobulin.

Đặc điểm	Immunoglobulin				
	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Cấu trúc	Đơn phân (monomer)	Hai đơn vị (dimer)	Năm đơn vị (pentamer)	Đơn phân (monomer)	Đơn phân (monomer)
% trong huyết thanh	80%	10 - 13%	5 - 8%	0,2%	0,002%
Có trong	Máu, bạch huyết (lymph) và ruột	Máu, bạch huyết và bề mặt tế bào B	Chất tiết	Bề mặt tế bào B, máu và bạch huyết	Gắn kết với dưỡng bào và tế bào ưa kiềm
Hệ số lắng	7	7	19	7	8
Trọng lượng phân tử (kDa)	150	160	900	180	190
Carbohydrate (%)	3	8	12	13	12
Nồng độ huyết	12	2	1.2	0,03	0,00004

thanh (mg/mL)					
Chu kỳ bán rã (ngày)	23	6–8	5	2–8	1–5
Chuỗi nặng	$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$	α_1, α_2	μ	Δ	ϵ
Chuỗi nhẹ	κ hay δ	κ hay δ	κ hay δ	κ hay δ	κ hay δ
Liên kết bổ thể	Con đường cổ điển	Con đường khác	Con đường cổ điển	Không có	Không có
Chuyển qua nhau thai	+	-	-	-	-
Hiện diện trong sữa	+	+	-	-	-
Tiết thanh dịch	-	+	-	-	-
Bền nhiệt (56°C)	+	+	+	+	-
Liên kết với mô	Heterologous	Không	Không	Không	Homologous

18.6.5. Immunoglobulin D

IgD chiếm tỷ lệ nhỏ hơn 1% các immunoglobulin huyết thanh. Chất này là đơn phân tử có hệ số lắng 7S, trọng lượng phân tử là 180.000 Da. Chu kỳ bán rã của IgD chỉ trong vòng 2 - 3 ngày. IgD có cấu trúc gồm bốn chuỗi đơn phân chính trong đó có hai chuỗi nặng δ , trọng lượng phân tử 63.000 Da, có một chuỗi và hoặc hai chuỗi nhẹ κ hoặc hai chuỗi nhẹ λ , trọng lượng phân tử 22.000 Da/chuỗi (Bảng 18.2).

Chuỗi δ immunoglobulin là chuỗi nặng polypeptide dài 500 amino acid, nặng 64 kDa, gồm một vùng dao động VH và ba vùng ổn định là CH1, CH2 và CH3. Vùng bản lề trong chuỗi δ immunoglobulin ở người cũng có 58 amino acid. Có hai exon mã hoá cho vùng bản lề này. Vùng bản lề của IgD rất nhạy với hoạt động của enzyme thuỷ giải protein. Hai exon tách biệt mã hoá cho thành phần màng của chuỗi δ này. Một exon khác mã hoá cho phần đầu cuối carboxy của chuỗi δ . Chuỗi δ ở người chứa ba oligosaccharide liên kết với N.

IgD hiện diện trên bề mặt của lympho bào B và cả IgD và IgM hoạt động như là

các thụ thể nhận biết kháng nguyên. Vai trò của IgD trong miễn dịch vẫn chưa được hiểu rõ. Vai trò của nhiều immunoglobulin trong phòng vệ ở người được tóm tắt ở Bảng 18.3.

Bảng 18.3. Vai trò của immunoglobulin trong bảo vệ người.

TT	Immunoglobulin	Chức năng
1	IgG	Khuyến đại sự thực bào; trung hòa độc tố và virus; bảo vệ thai và trẻ sơ sinh.
2	IgM	Đặc biệt hiệu quả trong việc chống lại vi sinh vật và kháng nguyên gây ngưng kết; kháng thể đầu tiên được sản sinh ra trong phản ứng chống lại sự xâm nhiễm đầu tiên.
3	IgA	Bảo vệ cục bộ trên bề mặt niêm mạc
4	IgD	Chức năng của huyết thanh thì chưa biết; hiện diện trên bề mặt tế bào B và chức năng khởi đầu của phản ứng miễn dịch
5	IgE	Phản ứng dị ứng; có thể ly giải ký sinh

18.7. Immunoglobulin không bình thường

Immunoglobulin không bình thường là những protein khác có cấu trúc tương tự được phát hiện trong huyết thanh ở một số trường hợp bệnh lý như đa u tủy xương (multiple myeloma), bệnh ở hai chuỗi nặng, chứng cryoglobulin huyết và đôi khi cũng gặp ở một số cá thể khỏe mạnh.

18.7.1. Bệnh đa u tủy xương

Protein Bence-Jones (BJ) là những protein không bình thường được mô tả sớm nhất vào năm 1847, chúng được phát hiện ở những bệnh nhân đa u tủy xương (multiple myeloma). Các protein này là những chuỗi nhẹ của immunoglobulin, theo đó xuất hiện ở dạng hoặc κ hoặc λ . Ở bệnh nhân, chuỗi này có thể ở dạng hoặc κ hoặc λ nhưng không bao giờ là cả hai. Protein BJ có thuộc tính khác thường đó là đông tụ ở 60°C và tái hòa tan ở nhiệt độ cao hơn là 80°C.

Ở bệnh đa u tủy xương, tế bào plasma tổng hợp IgG, IgA, IgD, hay IgE bị ảnh hưởng. U tủy liên quan đến tế bào plasma sản sinh IgM được gọi là chứng Waldenström's macroglobulin huyết.

Trường hợp này đặc trưng bởi việc sản sinh dư thừa protein u tủy (protein M) và

các chuỗi nhẹ của chúng (protein BJ). Nghiên cứu về protein u tủy giúp hiểu biết hơn về chức năng của immunoglobulin. Kháng thể đơn này hay gọi là kháng thể đơn dòng thu nhận từ huyết thanh của bệnh nhân bị bệnh đa u tủy được sử dụng trong nhiều nghiên cứu về huyết thanh học và sinh hóa vào những năm của thập niên 1950 và 1960.

Các protein này vẫn còn là nguồn chủ yếu của các immunoglobulin đồng đẳng (homogeneous) cho đến khi phát triển được dòng tế bào lai hybridoma vào năm 1974. Các nhà huyết thanh học đã tiêm chúng vào động vật và tạo kháng huyết thanh, được sử dụng cho một số nghiên cứu về đặc tính cơ bản của kháng thể. Ví dụ huyết thanh miễn dịch được hấp thu với các protein khác và được sử dụng để xác định các đặc điểm về isotype (kiểu tương đồng), allotype và idiotype.

18.7.2. Bệnh chuỗi nặng

Bệnh chuỗi nặng là một rối loạn khác, đây là khối u bạch huyết (lymphoid neoplasia), đặc trưng do sự sản sinh quá mức các chuỗi nặng immunoglobulin.

18.7.3. Chứng cryoglobulin huyết

Cryoglobulin huyết là trường hợp đặc trưng do sự hiện diện của cryoglobulin trong máu. Trường hợp này có thể không luôn luôn liên quan đến bệnh nhưng thường được phát hiện ở những bệnh nhân có macroglobulin huyết, lupus ban đỏ toàn thân và u tủy. Hầu hết cryoglobulin gồm hoặc là IgG hoặc là IgM hoặc kết tủa hỗn hợp cả hai. Ở chứng cryoglobulin huyết, huyết thanh từ bệnh nhân bị tua trong điều kiện lạnh và tan ra trong điều kiện ấm.