

煤矸肺患者淋巴细胞亚群的检测

同济医科大学劳动卫生与职业病教研室 沈凌汛 毛福英 张国高
黄石市矿务局矸肺疗养所 李寿耀

内容提要 应用单克隆抗体对212例煤矸肺患者和观察对象的淋巴细胞亚群水平进行了研究,同时测定了淋巴细胞酸性 α -醋酸萘酯酶的活性和血清 IgG、IgA、IgM 的含量。并用多元逐步回归等方法分析了各免疫指标之间的相互关系。结果表明,患者的 OKT3⁺、OKT4⁺细胞、OKT4⁺/OKT8⁺比值和酸性 α -醋酸萘酯酶的阳性率明显降低,而 IgG、IgA 的含量明显升高,并与 OKT8⁺ 和 OKT4⁺ 细胞呈负相关。提示煤矸肺患者外周血中OKT3⁺细胞减少的主体是 OKT4⁺细胞,后者可能是抑制-诱导性OKT4⁺细胞的减少所引起。结果导致患者血清中 IgG、IgA 的含量增高,并容易感染结核及多种并发症。淋巴细胞亚群的检测可作为煤矸肺患者免疫状况的评价指标之一。

关键词 淋巴细胞亚群 OKT₃, OKT₄, 单克隆抗体

前言

大量研究表明,矸肺患者的体液免疫功能亢进、细胞免疫功能低下^[1,2]。而以往所用的免疫指标虽能说明一些问题,但难以阐述尘肺的复杂发病机理。近年来,国外开始测定石棉肺、矸肺患者的淋巴细胞亚群水平,借以深入研究尘肺发病与免疫的关系,可是所见报道的结果不一致^[3],而国内至今尚未见报道。为此,我们采用单克隆抗体技术测定了212名煤矸肺患者和观察对象的外周血T细胞总数和亚群的水平,目的在于了解煤矸肺患者T细胞亚群的水平,寻找评价煤矸肺患者免疫状况较为敏感的指标。尤其通过T细胞亚群变化的研究,来深入探讨煤矸肺发病机理中免疫反应的变化,为摸索治疗煤矸肺的新途径提供线索。

材料和方法

一、研究对象

1. 煤矸肺和煤矸肺合并结核患者154例,均为男性,平均年龄58.8岁(42~78岁),吸烟者比例为65.2%。

2. 煤矸肺观察对象(无尘肺0⁺者)58例,按1986年《尘肺X线诊断标准》集体诊断。

3. 对照组43例,选自无粉尘接触史的工厂管理干部。后两组均为男性,其年龄组成及吸烟者比例与煤矸肺组无显著差异。在选择研

究对象时剔除了有急性与慢性肝炎、肿瘤及传染病的患者。

二、实验方法

1. 外周血淋巴细胞亚群的测定

(1) 淋巴细胞洗涤液(简称洗涤液)的制备:无钙镁Hanks液加0.1% NaN₃和0.1% 牛血清白蛋白。

(2) 葡萄球菌-免疫球蛋白(SACI-Ig)的制备:取冻干葡萄球菌A蛋白菌体1支,溶解后加兔抗鼠IgG 0.1ml,室温下振荡30分钟,用洗涤液洗3次(2500rpm×15分钟),再悬于1ml洗涤液中即可。

(3) 测定方法:采用SACI-Ig间接花环法^[4]。经淋巴细胞分层液分离外周血淋巴细胞,并用洗涤液调整细胞浓度至 1×10^6 /ml。将淋巴细胞悬液加入到4个测定孔中(每孔100 μ l),分别测定OKT3⁺、OKT4⁺、OKT8⁺细胞的百分率及设一对照孔。800rpm×10秒,甩掉上清,每孔加洗涤液20 μ l。再加单克隆抗体OKT3、OKT4或OKT8(武汉生物制品研究所),每孔5 μ l(对照孔加洗涤液),4℃,30分钟。800rpm×10秒,洗3次后加SACI-Ig,每孔5 μ l,4℃,30分钟。600rpm×10秒,洗6次后用细胞制片机制片。瑞氏染色后,油镜下检查200个淋巴细胞,细胞周围粘附6个以上葡萄球菌者为阳性细胞,计算阳性细胞的百分率。

2. ANAE阳性率的测定

根据姜世勃的方法稍加改进^[9]。

3. 血清IgG、IgA和IgM含量的测定

采用单向免疫扩散法。

将以上结果在 Apple-Ⅰ型计算机上用多元逐步回归法进行统计处理研究其相互关系。

结 果

一、外周血淋巴细胞亚群的测定

煤矽肺患者和观察对象的OKT3⁺细胞与对照组比较明显减少($P<0.01$) (见表)。

煤矽肺患者的OKT4⁺细胞和OKT4⁺/OKT8⁺比值明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。OKT3⁺、OKT4⁺细胞和OKT4⁺/OKT8⁺比值的变化有随病期晋级而降低的趋势,但各病期及其与观察对象之间无显著差异。煤矽肺患

者和观察对象的OKT8⁺细胞未见明显变化。

二、ANAE阳性率的测定

煤矽肺患者和观察对象的ANAE阳性率均明显低于对照组($P<0.01$),并且有随病情加重而降低的趋势。

三、血清免疫球蛋白含量的测定

煤矽肺患者及观察对象的IgG、IgA含量明显高于对照组($P<0.01$),但IgM的含量未见明显变化。

四、煤矽肺合并结核患者免疫状况的改变

煤矽肺合并结核患者的IgG、IgA含量,OKT3⁺、OKT4⁺细胞,OKT4⁺/OKT8⁺比值以及ANAE阳性率和对对照组比较有显著差异($P<0.01$),而且改变幅度比各期煤矽肺患者要大(见表)。

表 外周血淋巴细胞亚群的测定

	<i>n</i>	OKT3 ⁺ (%)	OKT4 ⁺ (%)	OKT8 ⁺ (%)	OKT4 ⁺ /OKT8 ⁺
对 照 组	43	71.3±7.9	43.7±8.2	32.1±7.2	1.40±0.42
煤矽肺观察对象	58	60.6±9.9**	40.9±9.5	32.1±7.4	1.28±0.33
煤 矽 肺 I 期	48	59.2±10.9**	38.8±9.4*	32.3±8.8	1.17±0.34**
煤 矽 肺 II 期	54	59.9±10.2**	38.7±9.9*	32.8±8.8	1.16±0.34**
煤 矽 肺 III 期	26	58.2±11.1**	35.5±7.5**	31.6±8.5	1.12±0.29*
煤矽肺合并结核	26	52.8±12.9**	34.6±8.7**	33.4±8.8	1.09±0.39**

* 与对照组比较 $P<0.05$ ** $P<0.01$

五、各免疫指标之间的相互关系

用相关分析和多元逐步回归的分析发现: IgG、IgA的含量与OKT4⁺细胞的相关系数为-0.44, -0.26 ($P<0.01$, $P>0.05$)。OKT8⁺与OKT4⁺细胞的相关系数为0.38 ($P<0.05$)。

讨 论

目前许多学者认为粉尘具有佐剂样作用,对巨噬细胞、T、B细胞有毒性作用,可破坏淋巴细胞亚群之间的协调关系^[6]。尘肺患者体内T细胞亚群之间的协调关系究竟如何受到影响,一直是人们关注的问题,但至今未能解决。单克隆抗体的出现为解决这一问题提供了可靠的手段。一般用OKT3⁺、OKT4⁺、OKT8⁺细胞分别代表总T细胞,辅助/诱导T细胞(Th/

Ti)和抑制/细胞毒T细胞(Ts/Tc)。本试验利用单克隆抗体进行测定的结果表明煤矽肺患者的OKT3⁺细胞明显低于对照组($P<0.01$),结合ANAE阳性率的结果进一步证实煤矽肺患者的细胞免疫功能降低。

关于尘肺患者T细胞亚群的研究,国外报道结果不一。海老原勇发现接触矽尘者外周血中的OKT3⁺和OKT4⁺细胞(63.0±9.3%, 38.1±8.1%)明显低于对照组(66.9±8.2%, 40.8±7.2%) ($P<0.01$)^[11]。deshazo等报道,接触石棉水泥者的OKT3⁺、OKT4⁺、OKT8⁺细胞均明显减少^[8]。Costabel等证实,煤矽肺患者的支气管肺泡灌洗液(BALF)中的OKT4⁺/OKT8⁺比值降低^[9]。但Youinous报道的结果相反^[10]。本结果与海老原勇所报道的一致,说明煤矽肺患者体内OKT3⁺细胞

减少的主体是 OKT_4^+ 细胞。由于 OKT_4^+ 细胞减少, 使 OKT_4^+/OKT_8^+ 比值下降。

本研究结果表明, 煤矽肺患者的淋巴细胞亚群发生了明显变化, 证实了过去的推测, 即粉尘通过对淋巴细胞的毒性作用, 改变了T细胞亚群水平, 破坏了T-B细胞之间的协调关系, 导致患者产生一系列免疫功能紊乱。同时也可解释尘肺患者容易合并结核、肿瘤和自身免疫性疾病的原因。有研究表明, 单纯性肺结核患者外周血中的T细胞亚群变化情况和煤矽肺患者相似, 即 OKT_3^+ 、 OKT_4^+ 细胞, OKT_4^+/OKT_8^+ 比值明显下降, OKT_8^+ 细胞变化不大^[11]。因此可以设想, 由于 OKT_3^+ 、 OKT_4^+ 细胞的减少, 使煤矽肺等尘肺患者容易感染结核, 此后, OKT_3^+ 、 OKT_4^+ 细胞受到矽尘和结核菌的双重毒性作用, 免疫功能进一步紊乱, 加重了病情。另据报道, 因接触粉尘而引起的间质性肺炎的患者其外周血中的 OKT_3^+ 、 OKT_4^+ 细胞减少, 而 OKT_8^+ 细胞增多。有的系统性红斑狼疮 (SLE) 患者外周血中的 OKT_4^+ 细胞和 OKT_4^+/OKT_8^+ 比值降低^[12]。故推测淋巴细胞亚群的改变可能是尘肺患者容易合并间质性肺炎、SLE 等疾病的原因之一^[11,12]。

此外, 根据煤矽肺患者血清 IgG、IgA 含量和 OKT_4^+ 细胞的负相关关系, OKT_8^+ 和 OKT_4^+ 细胞的正相关关系, 我们认为煤矽肺患者外周血中的 OKT_4^+ 细胞减少可能是因为抑制-诱导性 OKT_4^+ 细胞 (suppressor-inducer OKT_4^+ 细胞) 的减少所引起^[13,14]。抑制-诱导性 OKT_4^+ 细胞可诱导和辅助 Ts 细胞的产生及发挥作用, 其数量减少后, Ts 的作用不能充分发挥, 致使 IgG、IgA 的含量增加并引起自身免疫性疾病^[13,14]。

综上所述, 单克隆抗体为我们深入了解淋巴细胞亚群水平提供了较为准确、完善的手段, 因而可以作为尘肺患者免疫状况的评价指标之一。另一方面, 由于淋巴细胞亚群的分类极其复杂, 特别是其表面标志和功能常不一致, 因此深入研究煤矽肺患者各淋巴细胞亚群的功能状况, 对于深入探讨煤矽肺的发病机

理, 摸索防治新途径均具有一定意义。

(参加本工作的还有黄石市卫生防疫站程堂英、房洪等同志。)

参考文献

1. 海老原男等。粉じん作業者にみられる免疫異常に関する疫学の研究。労働科学1986;62,325.
2. Miossec P, et al. Lowered FcIgG receptor-bearing T Lymphocytes correlate with non-organ-specific autoantibodies in silicosis. Int Archs Allergy Appl Immun 1984; 73,212.
3. Miller LG, et al. Asbestos exposure correlates with alterations in circulating T cell subsets. Clin Exp Immunol 1983;51,110.
4. 刘枫,等。乙型肝炎病人自发性抑制性T细胞功能及其与T细胞亚群的关系。中华医学杂志1986;66,154.
5. 姜世勃,等。T淋巴细胞酯酶活性检测法的改进和影响因素。上海免疫学杂志1983;3,254.
6. Davis GS, et al. Pathogenesis of silicosis. Current concepts and hypotheses. Lung 1986;164, 139.
7. 海老原男,等。粉じんと健康障害。労働科学1985; 61, 325.
8. deshazo RD, et al. Immunologic aberrations in asbestos cement workers, dissociation from asbestosis. J Allergy Clin Immunol 1983;72,454.
9. Costabel U, et al. Lung and blood lymphocyte subsets in asbestosis and in mixed dust pneumoconiosis. Chest 1987;91,110.
10. Youinou P, et al. Immunological effect of silica dust analyzed by monoclonal antibodies. J Clin Lab Immunol 1985; 16,207.
11. Shiratsuchi H, et al. Analysis of T cell subsets by monoclonal antibodies in patients with tuberculosis after in vitro stimulation with purified protein derivative of tuberculin. Clin Exp Immunol 1984;57,271.
12. Koide J, et al. Direct demonstration of immunoregulatory T-cell defects in patients with systemic lupus erythematosus. Scand J Immunol 1986; 23,449.
13. Morimoto C, et al. Communicative interactions between subpopulation of human T-lymphocytes required for generation of suppressor effector function in primary antibody response. J Immunol 1982;128,1645.
14. Thomas Y, et al. Functional analysis of human T cell subsets defined by monoclonal antibodies. J Exp Med 1981; 154,459.

Determination of T-cell Subsets in the Patients with Anthracosilicosis

Shen Linxun, et al,

Using the monoclonal antibodies (OKT System), we have studied T-cell subsets in 212 definite and probable patients with anthracosilicosis, at the same time, acid α -naphthyl acetate esterase (ANAE) activity and the serum levels of IgG, IgA and IgM have been determined. Multiple stepwise regression has been applied to analyse the relationships among the different immunologic indexes. The results revealed that, in the patients, the percentages of OKT-3 positive, OKT-4 positive T lymphocytes, ANAE positive lymphocytes and OKT4⁺/OKT8⁺ ratio significantly decreased, the serum levels of IgG, IgA increased significantly and were negatively correlated with the percentages of OKT-3 positive, OKT-4 positive T lymphocytes.

In view of these results, it was considered that the percentage of OKT-3 positive T lymphocytes in peripheral blood of the patients with anthracosilicosis decreased chiefly because of the reduction of OKT-4 T lymphocytes, the reduction of OKT-4 T lymphocytes belonged mainly to the decrease of suppressor-inducer OKT-4 positive T lymphocytes. As the result, the serum levels of IgG, IgA in the patients were elevated and the patients became susceptible to tuberculosis and other complications. These results suggest that the

determination of T-cell subsets could be used as one of the indexes to assay the immunologic status in the patients with anthracosilicosis.

key words, anthracosilicosis T-cell subsets monoclonal antibody

Protection and its Mechanism of Sodium Tetraborate on the Kidneys and Cultured Renal Cells from Fluoride Damage

Li Jianxue, et al,

The paper first reported the protection and its mechanism of sodium tetraborate on the kidneys and the cultured renal cells from sodium fluoride damage. Under subacute and chronic fluoride exposures, the rabbits urinary r-GT excretion increased, renal AKP, SDH, and AcP activities decreased, various organelles of renal tubular cells were damaged. The anabolisms of protein, RNA and DNA in the cultured rat renal cells were also affected by fluoride. Boron could eliminate or reduce all above adverse effects of fluoride. The possible protection mechanism of boron was that boron could integrate itself with fluorine to form BF_4^- , and that probably boron reduced the permeability of the cellular membrane for fluorine.

Key words, sodium tetraborate sodium fluoride fluoride damage on kidney boron protection protection mechanism