

铝对小鼠免疫系统影响的研究

朱方争 谢佩意

摘要 为探讨铝对免疫系统的影响,给小鼠每天腹腔注射氯化铝(AlCl_3)溶液〔10, 25, 40mg/(kg·d)〕,连续注射2, 4, 6周。结果表明:染铝4周后脾重及25mg/kg、40mg/kg组的PFC值、 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 、ANAE阳性率均显著增加,6周后各剂量组的脾重、PFC值及25mg/kg组的 CD_4^+ 、 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 、ANAE和40mg/kg组的 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、ANAE均显著增加,并且随染铝时间延长,40mg/kg组的PFC值、 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 及ANAE呈先升高后下降趋势,而 CD_8^+ 呈上升趋势,提示铝对小鼠免疫系统具有影响作用,呈双向性。

关键词 铝 抗体生成细胞(PFC) T淋巴细胞亚群(CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_8^+) α -醋酸萘酯酶(ANAE)

Studies on Effects of Aluminum on Immune System in Mice Zhu Fangzheng, Xie Peiyi, Department of Occupational Health, Guangxi Medical university. Nanning 530021

Abstract Aluminum chloride solution〔10, 25 and 40 mg/(kg·d)〕was injected into mice intraperitoneally for two, four and six weeks, respectively, to explore the effects of aluminum on immune system. Results showed that the weight of spleen, PFC, proportions of CD_3^+ and CD_4^+ , the ratio of $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$, and α -naphthyl acetate enzyme (ANAE) were all significantly increased in the groups four weeks after exposure to 25 and 40 mg/kg of aluminum. Both of the weight of spleen and PFC significantly increased in all groups, and proportions of CD_4^+ , the ratio of $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$, and ANAE increased in the group with 25 mg/kg of aluminum and proportions of CD_3^+ and CD_4^+ , the ratio of $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$, and ANAE were all significantly increased in the groups with 40 mg/kg of aluminum six weeks after exposure. There was a tendency that PFC in the group with 40 mg/kg of aluminum and proportions of CD_3^+ and CD_4^+ , the ratio of $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$, and ANAE were all increased at first and then lowered with the length of exposure. But, CD_8^+ showed a rising trend. It suggests that effects of aluminum on immune system in mice were dual direction in nature.

Key words Aluminum, P forming cells(PFC), Subgroup of T-lymphocyte, α -naphthyl acetate enzyme (ANAE)

机体的免疫系统最易遭受外来有害因素的影响而发生改变,通过体液免疫和细胞免疫的异常而反应出来。关于铝对小鼠免疫系统的影响,目前报道较少^[1],为此我们进行动物实验以完善铝的免疫毒性研究,对铝所致小鼠免疫系统的改变做了初步探讨,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物及处理

健康昆明纯种小鼠120只,体重18~25g,雌雄各半(本校动物室提供),观察1周后,随机分成12组,每组10只,设3个剂量组〔分别ip10, 25, 40mg/(kg·d) AlCl_3 〕和生理盐水对照组,于染铝2, 4, 6周后分别处死进行免疫指标检测。

作者单位: 530021 南宁 广西医科大学劳动卫生与职业

病教研室

- 1. 2 试剂
- 1. 2. 1 无结晶水氯化铝 (AlCl₃) 用生理盐水配制成 4mg/ml, 2. 5mg/ml, 1mg/ml 水溶液, 高压消毒后备用
- 1. 2. 2 T 淋巴细胞亚群检测试剂盒 购自北京军事医学科学院生物制剂发展中心
- 1. 2. 3 Hank's 液 淋巴细胞分离液 购自上海试剂二厂。
- 1. 2. 4 α 醋酸萘酯 化学纯, 上海试剂一厂产品
- 1. 3 方法
- 1. 3. 1 脾抗体生成细胞数的测定 采用琼脂平板溶血空斑法^[2,3]。
- 1. 3. 2 T 淋巴细胞亚群检测 采用 T 淋巴细胞亚群单克隆抗体 APAAP 桥联酶标法^[4]。在高倍镜下观察 200 个单核细胞的阳性细胞数, 计算 CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺ 阳性细胞的百分率
- 1. 3. 3 外周血 T 淋巴细胞 α 醋酸萘酯酶 (ANAE) 阳性率测定 采用直接涂片法^[5]。
- 1. 4 统计方法 数据均以 $\bar{x} \pm s$, 采用 Pems

- 软件包进行 *t* 或 *t'* 检验及相关分析。
- 2 结果
- 2. 1 铝对小鼠免疫器官的影响
- 2. 1. 1 对脾脏重量的影响 结果表明, 随着染铝时间延长, 各染铝组小鼠脾脏指数呈上升趋势, 染铝 4 周和 6 周后显著增加 (*P* < 0. 01)
- 2. 1. 2 对胸腺重量的影响 染铝 2, 4, 6 周后各组胸腺指数均无明显差异
- 2. 1. 3 病理检查 脾脏和胸腺组织切片经病理检查发现染铝 6 周后脾脏组织淋巴细胞数增多, 其余均未发现有异常改变
- 2. 2 铝对小鼠全身性体液免疫功能的影响
- PFC 试验测定结果见表 1, 表明染铝 4 周和 6 周后, 各染铝组与对照组相比, 小鼠脾 PFC 值均增加, 其中染铝 4 周后 25mg/kg, 40mg/kg 组及 6 周后各染铝组具有统计学意义 (*P* < 0. 05 或 0. 01), 并且随染铝时间延长, 25mg/kg 及 40mg/kg 组的 PFC 值呈先升高后下降趋势。

表 1 AlCl₃ 对小鼠脾 PFC 的影响

AlCl ₃ mg / (kg d)	PFC 个数 / 10 ⁶ 脾细胞 ($\bar{x} \pm s$)		
	2 周	4 周	6 周
0	69. 20 ± 12. 38	75. 33 ± 21. 68	74. 95 ± 11. 03
10	68. 97 ± 15. 02	81. 64 ± 14. 45	87. 53 ± 7. 95*
25	73. 38 ± 8. 42	101. 53 ± 5. 07*	99. 33 ± 4. 78*
40	72. 56 ± 7. 76	98. 69 ± 8. 75*	96. 95 ± 6. 03*

与对照组比较* *P* < 0. 05, ** *P* < 0. 01

- 2. 3 铝对小鼠全身性细胞免疫功能的影响
- 由表 2 可见, 与对照组相比, 染铝 4 周后, 40mg/kg 组的 CD₃⁺, CD₄⁺, CD₄⁺/CD₈⁺, ANAE 阳性率显著增加 (*P* < 0. 05 或 0. 01); 6 周后, 25mg/kg 组的 CD₃⁺, CD₄⁺/CD₈⁺, ANAE 阳性率及 40mg/kg 组的 CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺ 及 ANAE 显著增加, 并且随染铝时间延长, 40mg/kg 组的 CD₃⁺, CD₄⁺, CD₄⁺/CD₈⁺ 及 ANAE 呈先升高后下降趋势, 而 CD₈⁺ 呈上升趋势。
- 2. 4 染铝剂量与各免疫指标的关系

- 由表 3 可见在染铝 4 周中脾脏指数, CD₄⁺, ANAE 含量及 6 周中脾脏指数, CD₈⁺ 随染铝剂量的增加而增加, 呈显著正相关关系
- 3 讨论
- 免疫器官重量和组织学的变化在免疫毒性的评价中占有重要地位, 在一定程度上免疫器官相对重量的变化是比形态学指标更为敏感的一个参数^[6]。本研究表明小鼠染铝 4 周和 6 周后, 其体重增长速度减慢甚至停滞, 但其脾脏重量则明显增加, 且与染毒剂量呈显著正相

表 2 小鼠细胞免疫指标的检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

染铝时间	AlCl ₃ mg / (kg·d)	CD ₃ ⁺ (%)	CD ₄ ⁺ (%)	CD ₈ ⁺ (%)	CD ₄ ⁺ / CD ₈ ⁺	AN AE (%)
2周	0	53.97± 6.27	30.53± 8.58	21.75± 5.67	1.41± 0.28	47.17± 12.02
	10	50.69± 5.03	29.66± 6.95	20.69± 6.32	1.39± 0.58	48.02± 10.58
	25	49.33± 7.85	32.73± 5.91	23.75± 4.08	1.42± 0.61	47.69± 9.66
	40	54.69± 4.84	28.95± 6.28	21.66± 4.58	1.41± 0.47	47.33± 11.55
4周	0	55.88± 5.67	32.77± 7.66	23.55± 4.98	1.43± 0.38	48.63± 11.53
	10	54.69± 6.78	30.97± 5.35	21.64± 3.77	1.42± 0.28	48.55± 10.66
	25	53.98± 8.51	31.87± 6.28	24.58± 4.02	1.41± 0.35	49.28± 12.05
	40	68.33± 4.69*	40.69± 4.33	22.63± 3.98	1.81± 0.27*	57.34± 8.56
6周	0	54.69± 6.02	33.28± 4.59	23.98± 5.03	1.39± 0.57	49.35± 9.63
	10	54.02± 5.89	31.44± 5.67	22.32± 6.58	1.41± 0.61	49.98± 10.73
	25	55.03± 6.74	39.69± 4.38	24.58± 4.28	1.52± 0.38	57.65± 9.78
	40	64.54± 5.42	38.56± 3.22	29.58± 6.42	1.42± 0.48	55.97± 10.67

与对照组相比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 三个不同染铝时间的染铝剂量与各免疫指标的相关分析

染铝时间	各免疫指标的 r 值						
	脾脏指数	胸腺指数	PFC	CD ₃ ⁺	CD ₄ ⁺	CD ₈ ⁺	CD ₄ ⁺ / CD ₈ ⁺
2周	0.156	0.232	0.267	0.339	0.367	0.266	0.158
4周	0.694	0.346	0.134	0.326	0.675	0.142	0.179
6周	0.843*	0.169	0.223	0.258	0.328	0.576	0.245

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

关,提示在本实验条件下铝对小鼠脾脏有一定的影响。与刘景芳报道^[1]的结果不完全相同,他认为在小鼠基础饲料中加铝 10mg / (kg·d) 两个月后,观察到胸腺及脾脏指数与对照组相比有明显降低,其原因可能与所用动物种属、染毒方式、时间及实验条件不同等因素有关。

机体体液免疫应答主要由 B 细胞通过产生抗体来完成^[7]。本实验采用 PFC 值作为反映机体体液免疫指标。本实验结果发现,小鼠 PFC 值在 4 周和 6 周后均显著增加,且较高剂量组〔25, 40mg / (kg·d)〕的 PFC 值随染铝时间延长呈先升高后下降趋势,虽然下降不明显,但可说明在染铝早期体液免疫系统受铝刺激而增强,属于一种应激反应,而随着染铝时间的延长,机体内铝蓄积量增加,这种应激现象也随着铝对免疫活性细胞刺激作用的减弱而消失,并可能进一步发展为免疫抑制,本实验的细胞免疫结果也获得类似的现象,本研究结果显示,染铝 4 周后, 40mg / kg 组的 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺ / CD₈⁺、AN AE 显著增加,而 6 周后则略有下降,但 CD₈⁺ 则呈上升趋势。

总之,本研究仅对铝的免疫毒性作了初步探讨,结果表明铝对小鼠免疫系统具有一定的影响,呈双向性,即早期为促进作用,随着染铝时间延长,小鼠的免疫功能略有降低,该结果与我们所做的铝厂工人免疫功能的调查结果基本吻合。今后需要对从吸入途径染铝的小鼠免疫毒性进行深入研究,才有可能将动物实验结果外推至人。

4 参考文献

1 刘景芳,等.铝对小鼠免疫毒性的研究.中华预防医学杂志, 1992, 26 (1): 63
2 Stadeker M J. Quantitative evaluation of immunologic function. J Immune, 1973, 111: 18
3 病生教研室.小鼠 PFC 值的测定方法探讨.广西医学院学报, 1979, 2: 46
4 广西医学院微生物学与免疫学研究室编.免疫学实验技术: 42
5 上海市化验所,主编.临床免疫学检验(上册).上海:上海科学技术出版社, 1983, 44~ 47
6 李云波,等.免疫毒理学常用方法及其评价.国外医学卫生学分册, 1987, 14 (6): 329
7 刘毓谷,主编.卫生毒理学基础.第三版.北京:人民卫生出版社.

(收稿: 1997-07-21 修回: 1997-12-29)