学龄前儿童血铅水平对T淋巴细胞亚群的影响

孙　鹂[1]，赵正言[2]，李　荣[2]，陈汉云[2]
（1. 杭州师范学院医学院，浙江　杭州　310012；2. 浙江大学附属儿童医院，浙江　杭州　310000）

摘要：目的　探讨低水平铅暴露对学龄前儿童$CD_4^+CD_8^+$双阳性T淋巴细胞的影响。方法　用石墨炉原子吸收光谱法对217名学龄前儿童进行血铅浓度检查，并在此基础上用流式细胞仪检测不同血铅水平对学龄前儿童淋巴细胞免疫表型$CD_4^+CD_8^+$、CD_4^+、CD_8^+的影响。结果　高铅组（血铅≥0.483 μmol/L）学龄前儿童$CD_4^+CD_8^+$、CD_4^+、CD_4^+/CD_8^+与低铅组（血铅<0.483 μmol/L）比较显著下降（$P<0.05$）；而CD_8^+细胞显著升高（$P<0.05$）。结论　低水平铅暴露对学龄前儿童$CD_4^+CD_8^+$、CD_4^+、CD_8^+具有不利影响。

关键词：铅暴露；学龄前儿童；T淋巴细胞亚群
中图分类号：O614.433　　文献标识码：A　　文章编号：1002－221X(2002)06－0334－02

Effect of blood lead level on T-lymphocyte subset in pre-school children

SUN Li[1], ZHAO Zheng-yan[2], LI Ron[2], CHEN Han-yun[2]
(1. *College of Medical Sciences, Hangzhou Teacher College, Hangzhou* 310012, *China* 2. *The Children's Hospital Affiliated to Medical College of Zhejiang University, Hangzhou,* 310000, *China*)

Abstract: Objective To study the effect of lead exposure on T-lymphocyte subset of CD_4^+, CD_8^+ in preschool children. **Methods** The blood lead levels of 217 pre-school children were measured by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry and lymphocyte immunophenotype cells were also analysed by flow cytometer. **Results** $CD_4^+CD_8^+$, CD_4^+, CD_4^+/CD_8^+ were significantly lower in the children with higher blood lead level (≥0.483 μmol/L) ($P<0.05$), while CD_8^+ cells were significantly increased ($P<0.05$) as compared with those with lower blood lead levels children. **Conclusion** Low level lead exposure could cause adverse effect on T-lymphocyte subset in children.

Key word: Lead exposure; Pre-school children; T-lymphocyte subset

世界卫生组织（WHO）认为，环境中对儿童威胁最大的是铅[1,2]。铅具有明显免疫毒性，抑制小儿免疫系统功能，使儿童极易患感冒、肺炎、结核和肝炎等疾病[3]。本课题目的是探讨无明显铅中毒临床症状出现时，机体T淋巴细胞亚群$CD_4^+CD_8^+$双阳性淋巴细胞、CD_4^+、CD_8^+的改变。

1　对象与方法

1.1　对象

对浙江省某镇217名3～7岁学龄前儿童进行血铅浓度检测，并对符合免疫检测纳入标准的儿童进一步检测T淋巴细胞亚群。免疫纳入标准为：无免疫性疾病，无铅中毒临床表现及体症，3个月内未进行免疫接种，体检正常。其中女性96名，男性121名。

1.2　方法及分组

1.2.1　血标本采集　对217名学龄前儿童均采集颈静脉血：0.5 ml血7%EDTA抗凝，用于检测血铅浓度；1.5 ml血肝素抗凝，用于检测$CD_4^+CD_8^+$、CD_4^+、CD_8^+。采集静脉血之前，局部皮肤进行严格的去铅处理，试管常规进行去铅处理。通过对血铅浓度的检测，将血铅浓度≥0.483 μmol/L的儿童设为高铅组，血铅水平<0.483 μmol/L为低铅组，对符合免疫检测纳入标准的高铅组及低铅组儿童进一步检测T淋巴细胞亚群。

1.2.2　血铅测定　用石墨炉原子吸收光谱法。静脉血液加入10%HNO_3（1∶9）消化，立即混匀振荡15～30 s，3 000 r/min离心5 min，取上清液20 μl导入石墨炉分析，根据峰高在标准曲线上得到血铅浓度。血铅参考物质来自美国疾病控制中心（CDC），测得值均在标准值范围内。

1.2.3　$CD_4^+CD_8^+$，CD_4^+，CD_8^+测定　对高铅组及低铅组的抗凝血在12 h内行荧光抗体染色。流式细胞仪分析扫描10 000个淋巴细胞，确定免疫阳性细胞数，求其百分比。单克隆抗体的特异结合性以同型鼠免疫球蛋白为对照。

1.2.4　统计学分析　全部数据输入电脑，采用SPSS10.0软件包进行统计分析。对结果分别进行正态性检查、两样本均数差别t检验等。

2　结果

2.1　217名学龄前儿童血铅浓度

血铅浓度范围在0.111～2.106 μmol/L，算术均数

收稿日期：2002－07－05；修回日期：2002－08－22
基金项目：浙江省卫生厅基金资助（编号2000A61）
作者简介：孙鹂（1964－），女，硕士，副教授。

及标准差分别为0.461和0.269 μmol/L。有63名(占总数29.03%)儿童血铅浓度达到或超过目前国际上公认的儿童铅中毒诊断标准0.483 μmol/L[4]。对样本总体进行正态性 u 检验,u_1 为3.951 0,u_2 为14.515 1,表明血铅分布偏离正态分布,故将血铅浓度对数变换后进行统计学分析,男孩血铅浓度为(0.455±0.009)μmol/L,女孩为(0.442±0.009)μmol/L。血铅浓度之间差异无显著性,$P>0.05$。

2.2 不同血铅浓度对学龄前儿童T淋巴细胞亚群 $CD_4^+CD_8^+$、CD_4^+、CD_8^+ 影响

以血铅浓度0.483 μmol/L为分界线,将血铅≥0.483 μmol/L的为高铅组,同时设立血铅<0.483 μmol/L的低铅组。按照免疫检测的纳入标准,共有35名儿童纳入低铅组,有38名儿童纳入高铅组。结果表明,高铅组 $CD_4^+CD_8^+$、CD_4^+、CD_4^+/CD_8^+ 细胞阳性率与低铅组相比显著下降($P<0.05$),而高铅组 CD_8^+ 细胞比例显著增高($P<0.05$),见表1。

表1 不同铅浓度对T淋巴细胞亚群分布的影响(%)

指标	低铅组		高铅组		t 值	P 值
	例数	$\bar{x}\pm s$	例数	$\bar{x}\pm s$		
$CD_4^+CD_8^+$	35	0.524±0.250	38	0.393±0.189	2.511	0.014
CD_4^+	35	27.097±5.828	38	23.683±4.815	2.737	0.008
CD_8^+	35	20.571±4.842	38	23.213±5.768	2.110	0.038
CD_4^+/CD_8^+	35	1.407±0.505	38	1.087±0.366	3.120	0.003

3 讨论

铅对机体的影响是全身性、多系统的,免疫系统是铅作用的重要靶器官之一[5]。目前,国内外有关铅中毒对免疫系统影响的研究主要集中在成人职业性铅中毒人群和动物实验,而对儿童未成熟免疫系统的影响国内报道较少。

本研究结果显示,高铅组儿童 $CD_4^+CD_8^+$ 双阳性细胞、CD_4^+ 单阳性细胞显著减少,CD_8^+ 单阳性细胞明显增加,提示铅可能干扰了胸腺细胞由 $CD_4^+CD_8^+$ 双阳性细胞向 CD_4^+、CD_8^+ 单阳性细胞分化、发育的过程。$CD_4^+CD_8^+$ 细胞属于未成熟的T细胞。淋巴细胞在胸腺内分化、发育的过程中,逐渐由胸腺皮质外层向皮质内层及胸腺髓质移行。胸腺皮质外层的早期胸腺细胞为 $CD_4^-CD_8^-$ 双阴性T淋巴细胞(第Ⅰ阶段),进入胸腺皮质深层后,成为 $CD_4^+CD_8^+$ 双阳性细胞(第Ⅱ阶段),经过阳性选择,胸腺细胞表面MHC-Ⅰ类分子选择双阳性细胞的 CD_4^+ 共受体,使同一双阳性细胞表面的 CD_4^+ 共受体减少,分化为 CD_8^+ 细胞。而胸腺细胞表面的MHC-Ⅱ选择双阳性细胞的 CD_8^+ 共受体,使同一双阳性细胞 CD_8^+ 减少,分化为 CD_4^+ 细胞(第Ⅲ阶段),最后进入胸腺髓质,经过阴性选择,排除自身反应性T淋巴细胞克隆,分化发育为具有免疫功能的成熟T淋巴细胞[6]。有研究报道铅暴露的小鼠胸腺发生严重萎缩,胸腺重量/小鼠体重比率下降,胸腺细胞数减少,胸腺中 $CD_4^+CD_8^+$、CD_4^+ 细胞显著下降[7,8]。因此,我们认为本课题中的 $CD_4^+CD_8^+$ 细胞显著下降,可能与血铅浓度增高抑制了胸腺细胞的正常分化和发育有关。免疫系统对毒物尤其敏感,T淋巴细胞亚群主要发挥免疫及免疫调节的功能,铅中毒儿童外周血 $CD_4^+CD_8^+$ 细胞的变化,将对机体免疫系统及功能产生何种影响和后果有待于进一步研究探讨。而 CD_4^+、CD_4^+/CD_8^+ 的下降,表明铅中毒儿童可能具有潜在易患某些自身免疫性疾病或感染性疾病的危险,应该引起足够的重视。本研究也表明,在无其他明显铅中毒症状出现前,机体T淋巴细胞亚群已经出现改变,因而对铅暴露人群进行铅暴露状况评价时,T淋巴细胞亚群的监测可以作为一种较为敏感的指标之一,但由于免疫系统是一个极其复杂的网络系统,而且本研究现有资料也表明铅暴露对儿童免疫系统的影响远比原来想象的更复杂,因此尚需进一步深入研究。

参考文献:

[1] 沈晓明. 儿童铅中毒诊断和治疗的新观点[J]. 中国实用儿科杂志, 1995, 10(5): 299-301.
[2] 沈晓明. 儿童铅中毒研究进展[J]. 国外医学儿科学分册, 1995, 22(2): 57-60.
[3] 陈树宝. 儿科学新理论及新技术[M]. 上海: 上海科技教育出版社. 1996, 38-42.
[4] 沈晓明, 颜崇淮. 铅对儿童生长发育的影响[A]. 沈晓明. 儿童铅中毒[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 98-123.
[5] Undeger U, Basaran N, Canpinar H, et al. Immune alterations in lead-exposed workers[M]. Toxicology, 1996, 109: 167-172.
[6] 龚非力. 基础免疫学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998. 11-15.
[7] 张启先, 隋春生, 王春华. 饮水中不同浓度铅对小鼠免疫功能的影响[J]. 白求恩医科大学学报, 1995, 21(6): 577-579.
[8] Kishikawa H, Song R, Lawrence DA, et al. Interleukin-12 promotes enhanced resistance to Listeria monocytogenes infection of lead-exposed mice[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1997, 147: 180-189.