

急性有机磷农药中毒并发多器官功能障碍综合征患者 T 淋巴细胞亚群的研究

高 越¹, 何建如², 陈小青², 缪 群¹

(1. 杭州市第一人民医院急诊科, 浙江 杭州 310006; 2. 浙江大学医学院医学系, 浙江 杭州 310031)

摘要: 目的 探讨急性有机磷农药中毒(AOPP)并发多器官功能障碍综合征(MODS)患者T淋巴细胞亚群的变化及其临床意义。方法 用荧光单抗 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_{25}^+ 、 CD_{28}^+ 、 CD_{95}^+ 对62名AOPP患者和30名健康人外周血淋巴细胞进行标记,在流式细胞仪下计数。结果 AOPP并发MODS患者体内 CD_3^+ 、 CD_3^+/CD_{25}^+ 、 CD_8^+/CD_{28}^+ 明显减少($P<0.01$ 或 $P<0.05$); CD_4^+ 无明显变化($P>0.05$); CD_{95}^+ 、 CD_8^+/CD_{28}^+ 明显增加($P<0.01$)。结论 AOPP并发MODS患者T淋巴细胞因大量凋亡而总数减少,亚群发生变化,造成免疫功能低下和紊乱,提示免疫失衡可能参与了AOPP后MODS的发病过程,因此在临床治疗过程中须重视改善患者免疫功能。

关键词: T淋巴细胞;多器官功能障碍综合征;有机磷农药中毒

中图分类号: R595.4; R392 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)01-0006-03

Study on T-lymphocyte subsets in acute organophosphorus pesticide poisoning patients with multiple organ dysfunction syndrome

GAO Yue¹, HE Jian-ru², CHEN Xiao-qing², MIAO Qun¹

(1. The First Municipal Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310006, China; 2. Medical School, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes and evaluate the clinical significance of T-lymphocyte subsets in acute organophosphorus pesticide poisoning (AOPP) patients with multiple organ dysfunction syndrome (MODS). **Method** The lymphocytes of AOPP ($n=62$) and healthy subjects ($n=30$) were marked with CD_3^+ , CD_4^+ , CD_{95}^+ , CD_3^+/CD_{25}^+ , CD_8^+/CD_{28}^+ , CD_8^+/CD_{28}^- fluorescence antibodies, then were counted by flow cytometry. **Result** In AOPP patients with MODS, CD_3^+ , CD_3^+/CD_{25}^+ , CD_8^+/CD_{28}^+ were significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$), CD_8^+/CD_{28}^- , CD_{95}^+ were significantly increased ($P<0.01$), but CD_4^+ had no obvious change ($P>0.05$). **Conclusion** In AOPP patients with MODS, the total amount of T-lymphocyte is obviously decreased which may be stemmed from the apoptosis of lymphocytes, meanwhile T-lymphocyte subsets are also changed, thus caused the dysfunction of immune system, that may be involved in the development of MODS following AOPP. Therefore, the immune function of AOPP patients should be improved during the course of clinical treatment.

Key words: T-lymphocyte; Multiple organ dysfunction syndrome; Organophosphorus pesticide poisoning

淋巴细胞是人体免疫系统的重要组成部分,它们不仅具有识别抗原和排除抗原能力,而且对免疫应答起重要调节作用。急性有机磷农药中毒(AOPP)常发生多器官功能障碍综合征(MODS),治疗困难。AOPP患者外周血T淋巴细胞亚群的变化已有少量文献介绍^[1],但有关并发MODS时T淋巴细胞亚群的研究还未见报道。本文用流式细胞术对AOPP并发MODS患者外周血淋巴细胞的主要白细胞分化抗原(CD)进行了检测,观察T淋巴细胞亚群的变化,分

析患者细胞免疫功能发生的改变,探讨其在AOPP并发MODS发病中的意义,为临床防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

62例AOPP患者,均为口服中毒,其中敌敌畏中毒9例,氧化乐果19例,甲胺磷16例,乐果15例,对硫磷3例。根据文献[2]诊断标准分为2组:MODS组30例,平均年龄37.6(18~53)岁,男性13例,女性17例;非MODS组32例,平均年龄34.3(20~50)岁,男性12例,女性20例。另设30名健康献血员作为对照,平均年龄45.5(20~65)岁,男性18例,女性12例。所有病例均未使用过影响免疫功能的药物,并排除严重心、肺、脑、肝、肾疾病及糖

收稿日期: 2002-06-02; 修回日期: 2002-07-08

基金项目: 浙江省科学技术研究计划项目(012116)

作者简介: 高越(1967-),男,江苏扬州人,副主任医师,本科。

尿病、肿瘤、结缔组织疾病。

1.2 方法

每例采肘静脉血 2 ml，用 EDTA-Na₂ 抗凝后，取 100 μl 抗凝全血，分别加入抗 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₈⁺、CD₂₅⁺、CD₂₈⁺、CD₉₅⁺ 荧光抗体各 20 μl（法国 Immunotech 公司生产）对淋巴细胞作标记，混匀，室温避光放置 15 min，再加 0.12% 甲酸及 1% 多聚甲醛固定，用 CoaHem 型 Q-PREP 机（美国 Coulter 公司生产）经过 15 min 自动完成溶解红细胞及固定，稳定 20 min 后，每 100 μl 血样用流式细胞仪（型号为 ESPIL-XL，BECKMAN 公司生产）检测 10⁴ 个淋巴细胞，计数被荧光单抗标记的抗原阳性的细胞，以百分率表示（CD₃⁺ 为成熟总 T 细胞的标志，CD₄⁺ 为辅助性 T 细胞，CD₃⁺/CD₂₅⁺ 为 T 细胞总的活化标志，CD₉₅⁺ 指传导凋亡信号的膜受体，CD₈⁺/CD₂₈⁻ 为抑制性 T 细胞，CD₈⁺/CD₂₈⁺ 为细胞毒性 T 细胞）。

1.3 统计方法

数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。用 SAS 软件进行统计分析，采用校正 *t* 检验。

2 结果

2.1 AOPP 并发 MODS 组与正常对照组及 AOPP 非 MODS 组比较

CD₃⁺、CD₃⁺/CD₂₅⁺、CD₈⁺/CD₂₈⁺ T 细胞明显减少 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)；CD₄⁺ T 细胞无明显变化，差异无显著性 ($P > 0.05$)；CD₉₅⁺、CD₈⁺/CD₂₈⁻ T 细胞明显增加 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 AOPP 非 MODS 组与正常对照组比较

患者体内 CD₃⁺、CD₃⁺/CD₂₅⁺ T 细胞减少 ($P < 0.05$)；CD₈⁺/CD₂₈⁻ T 细胞增加 ($P < 0.05$)；CD₄⁺、CD₉₅⁺、CD₈⁺/CD₂₈⁺ T 细胞差异无显著性 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组间 T 淋巴细胞 CD 分子变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD ₃ ⁺	CD ₄ ⁺	CD ₉₅ ⁺	CD ₃ ⁺ /CD ₂₅ ⁺	CD ₈ ⁺ /CD ₂₈ ⁻	CD ₈ ⁺ /CD ₂₈ ⁺
MODS 组	32	40.52 ± 4.22 **	38.36 ± 5.63	40.17 ± 6.31 *	6.17 ± 4.37 *	29.64 ± 5.97 **	6.74 ± 5.67 *
非 MODS 组	30	52.16 ± 3.28 *△	39.76 ± 4.64	35.04 ± 7.68	9.03 ± 2.82 *△	23.28 ± 6.02 *△	11.92 ± 6.37
正常对照组	30	64.33 ± 2.86	40.53 ± 4.20	32.78 ± 8.28	11.62 ± 3.11	19.66 ± 4.17	13.24 ± 4.07

t 检验：MODS 组与正常对照组、非 MODS 组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；非 MODS 组与正常对照组比较，△ $P < 0.05$

3 讨论

有机磷农药可直接导致心、肺、脑、肾、胃肠道等脏器损害，而胃肠道的功能紊乱与损伤又可造成肠道内细菌及内毒素的易位而出现内毒素血症。本研究发现 AOPP 患者 CD₃⁺ T 细胞与正常对照组比较有明显降低，尤其是并发 MODS 患者，仅为 (40.52 ± 4.22)%，与此同时，CD₃⁺/CD₂₅⁺ T 细胞亦明显下降，CD₉₅⁺ T 细胞却增加。CD₉₅⁺ 即 *Fas*，因其与细胞表面的 *Fas* 配体 (*FasL*) 结合后可诱导 *Fas*⁺ 细胞凋亡，故又称“死亡受体”，激活 T 细胞可表达 *Fas* 与 *FasL*^[3]。正常人体淋巴细胞的新生与凋亡处于动态平衡状态，从而使淋巴细胞保持一定的数量，维持正常的免疫功能，但患病时此种平衡可能被打乱，AOPP 发生 MODS 时，由于内外环境多种刺激因素激活了 T 细胞，活化的 T 细胞则高度表达 *Fas* 与 *FasL*，两者结合通过 *Caspase* 级联反应，导致 T 细胞彼此杀伤或直接“自杀”，使 T 细胞总数和活化 T 细胞数量下降。T 细胞总数及活化 T 细胞的减少，可以使机体免于遭受

过强的免疫反应而造成损伤，但同时也导致了机体免疫功能低下，对内毒素等抗原的处理能力减弱，从而加重了 AOPP 患者发生 MODS。另外，*Fas* 基因的超量表达，也可引起多种炎症细胞和实质细胞的过度凋亡，本组 AOPP 并发 MODS 患者 CD₉₅⁺ T 细胞明显增加是否提示 *Fas* 和 *FasL* 基因的调节紊乱引起的淋巴和炎症细胞凋亡信号改变可能是 AOPP 后 MODS 发生的一个重要原因，值得进一步深入探讨。

本研究还显示，AOPP 患者 CD₈⁺/CD₂₈⁻ T 细胞比正常人增加，而发生 MODS 后更是明显升高，与非 MODS 组比较差异有显著性，而 CD₈⁺/CD₂₈⁺ T 细胞则相反。CD₈⁺ 主要是杀伤性 T 细胞 (CTL) 的表面标记，但 CTL 必须同时有 CD₂₈ 表达时才能显示杀伤功能，因此 MODS 患者 CD₈⁺/CD₂₈⁻ T 细胞明显增高表明体内组织细胞遭到了 CTL 的攻击而造成损伤，可能是导致 MODS 发生的原因之一。同时，CD₈⁺/CD₂₈⁻ 抑制性 T 细胞增加，也导致了其他具有免疫功能的 T 细胞减少或活性降低，机体对抗原的处理能力

下降,使疾病更趋严重,给治疗带来了困难。

CD_4^+ (Th)存在两种分别分泌促炎和抗炎细胞因子的亚群,称为Th1和Th2细胞,Th1/Th2的平衡,反映了促炎和抗炎的平衡^[4]。本实验显示AOPP患者与正常人比较 CD_4^+ T细胞虽有下降,但差异无显著性,与文献报道不符^[1]。一般而言,随着机体病情加剧, CD_8^+ / CD_{28}^+ 抑制性T细胞增加,分泌的抑制因子增多,致使它和辅助性T细胞之间网络紊乱,从而造成 CD_4^+ 明显降低。但实验结果并非如此,笔者推测,这可能是AOPP患者,尤其在发生MODS时,机体处于危重状态下发生了严重的炎症反应导致免疫功能紊乱所致。为此,我们将进一步检测Th1和Th2细胞亚群,以观察Th1和Th2的漂移方向。

综上所述,AOPP并发MODS患者T淋巴细胞因大量凋亡而总数降低,T淋巴细胞亚群发生变化,造

成患者细胞免疫功能低下或紊乱,免疫失衡可能参与了AOPP导致的MODS的发病过程,从而增加了治疗的难度。因此,临床上在治疗AOPP的过程中,除应用阿托品及胆碱酯酶复能剂外,更应重视运用免疫调节或增强剂,改善患者免疫功能,以防范和减少MODS的发生,才有利于疾病的治疗。

参考文献:

- [1] 李强,李志英,高明,等.急性有机磷农药中毒患者细胞免疫功能改变及临床意义[J].中国急救医学,2001,21:459-460.
- [2] 王今达,王宝恩.多脏器功能失常综合征(MODS)病情分期诊断及严重程度评分标准[J].中国危重病急救医学,1995,7:346-347.
- [3] Peter M E, Krammer P H. Mechanisms of CD_{95} (APO-1/Fas) - Mediated apoptosis [J]. Immunol, 1998, 10: 545-551.
- [4] Zedler S, Bone R C, Baue A E, et al. T-Cell reactivity and its predictive role in immune suppression after burns [J]. Crit Care Med, 1999, 27: 66-72.

沥青光毒性皮炎 19 例报告

Phototoxic dermatitis caused by pitch——19 case report

孙艳翎¹, 姜树华¹, 孙丽艳²

(1. 大连市职业病防治院, 辽宁 大连 116001; 2. 大连市疾病预防控制中心, 辽宁 大连 116021)

光毒性皮炎常因接触煤焦沥青等光敏性物质所致。某厂19名后勤辅助工,在接触煤焦沥青仅半个月余即发病,现报道如下。

1 中毒情况

2001年9~10月,某厂19名后勤辅助工在清扫一个约3000m²曾存放过粉状煤焦沥青仓库时,先后接触到了焦油沥青。开始因在库内工作,无日光照射,只是在下班光照面部时感发热、略痒。在仓库换顶棚期间,阳光直射到作业仓库内,受到直接照射的工人明显感到面部刺痛、灼热、痒、畏光、流泪等;而在背阴处时间长的工人表现较轻,只是觉畏光、流泪、面部红热。因着工作服,戴风帽、手套等,皮损限于暴露的面部。开始面部红、热、痒,一周左右出现脱屑,半个月时工人们面部出现程度不同的色素沉着,呈弥漫性,暗黑灰色,个别面部出现红色小丘疹,密集成片状,皮肤略肿,皮温高,无渗出、有脱屑,双眼结膜充血;个别患者有头晕、乏力感觉。由综合医院转我所诊治。接诊后对19名工人按接尘、接毒作业进行了相应的体检,除面部皮肤改变外,各项检查均未见异常。门诊治疗:口服息斯敏10mg每日1次,维生素C0.3g每日3次;面部红肿者用3%硼酸水湿敷,外用炉甘石洗剂、氧化锌、皮炎平霜等;静脉滴注5%葡萄糖加3g维生素C、5~10mg地塞米松,每日1次。脱离工作岗位,避光。经上述对症治疗,面部皮疹1~2周内消退,色素沉

着渐减轻;3个月后复诊,面部几乎恢复到正常肤色。

2 讨论

2.1 煤焦沥青具有强烈光感作用,接触它并经照射半小时到几小时即可发病,暴露部位皮肤瘙痒、灼热,尔后疼痛,出现充血肿胀,严重时出现浆液大疱,破裂后糜烂、结痂。光毒性皮炎多发生在夏天,同时伴有结膜炎,严重者可出现头晕、头痛、乏力、口渴、恶心、呕吐、腹痛、腹泻、咳嗽、胸闷等全身症状。皮炎痊愈后留有弥漫性色素沉着。一般认为,煤焦沥青中光感物质的粉尘、蒸气通过皮肤或呼吸道吸收,经日光照射即可引起光毒性皮炎。

2.2 本文病例皆是某厂后勤工,发病前有明确的煤焦沥青光敏性物质接触史,时值夏秋季节,在仓库换顶棚期间受阳光直接照射。皮损以面部为主,是与光敏性物质接触并受到日光照射的部位。同工种、同样条件下19人集体发病。皮损开始在接触煤焦沥青和日晒后3~20天,脱离接触后,一般需要2周左右治愈。光斑贴试验,呈晒斑样反应。经市职业性中毒诊断组会诊,确诊为光毒性皮炎。

2.3 近年来,光毒性皮炎已很少发生。本次患病的19名工人上岗前未经职业卫生培训,单位和个人均缺乏对煤焦沥青的认识而致集体发病。通过这起事件提醒大家,加强职业卫生宣传,提高安全意识,认真贯彻执行《职业病防治法》。本文所述,如该单位能认识到煤焦沥青的危害性并做好岗前教育及相应防护措施,这样的事是可以避免的。