煤工尘肺与 T 淋巴细胞及微量元素关系的临床研究

李庆¹, 徐从景², 李廷³, 祁新兰¹

(1. 安徽理工大学医学院, 安徽 淮南 232001; 2. 淮南矿一院, 安徽 淮南 232001; 3. 淮南矿工三院, 安徽 淮南 232001)

摘要: 目的 探讨煤工尘肺与 T 淋巴细胞及微量元素的关系。方法 采用 BAS (Biotin-Avidin system, 生物素-链霉亲和素系统) 组织化学法检测煤工尘肺患者和正常对照组外周血 T 淋巴细胞亚群 (CD₃、CD₄ 和 CD₈)、FAAS (flame atomic absorption spectrophotometry) 法检测患者和正常对照组血清 Cu、Zn、Fe 和 Mg 含量。结果 各期煤工尘肺患者和正常老年对照组相比较 CD₃ 的水平下降显著 ($P < 0.01$); 早期 (I 期、II 期) 煤工尘肺患者 CD₄ 反应性增加 ($P < 0.01$); 各期煤工尘肺患者和对照组相比较 CD₈ 的水平上升显著 ($P < 0.01$); CD₄/CD₈ 的水平均下降 ($P < 0.01$)。煤工尘肺患者与老年对照组比较外周血清 Cu 升高, 差异有非常显著性 ($P < 0.01$), Cu/Zn 比值升高差异有显著性 ($P < 0.05$)。结论 煤工尘肺患者的细胞免疫力下降, 并伴有免疫调节紊乱, 与微量元素 Cu、Zn 的含量变化密切相关。

关键词: 煤工尘肺; T 淋巴细胞; 微量元素

中图分类号: R135.2; R392.12 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2005)04-0208-03

Clinical studies on relationship between coal worker's pneumoconiosis and T-lymphocyte subtype and trace elements

LI Qing¹, XU Cong-jing², LI Ting³, QI Xin-lan¹

(1. Medical School of Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China; 2. The First Miner Hospital of Huainan, Huainan 232001, China; 3. The Third Miner Hospital of Huainan, Huainan 232001, China)

Abstract Objective To investigate the relationship between coal worker's pneumoconiosis (CWP) and T-lymphocyte subtype and trace elements. **Method** T-lymphocyte subtypes CD₃, CD₄ and CD₈ were examined by biotin-avidin system (BAS) immunohistochemistry in patients with CWP and healthy controls in their peripheral blood. Their serum levels of copper (Cu), zinc (Zn), iron (Fe), calcium (Ca) and magnesium (Mg) were measured by flame atomic absorption spectrophotometry (FAAS). **Result** Number of CD₃ declined significantly in patients with CWP at varied stages and number of CD₄ reactively increased in patients with CWP at stages I and II, as compared to that in the elderly healthy controls ($P < 0.01$). Number of CD₈ increased and ratio of CD₄ to CD₈ declined significantly in patients with CWP at varied stages as compared to that in the elderly healthy controls ($P < 0.01$). Serum level of Cu and ratio of Cu to Zn increased significantly in patients with CWP, as compared to that in the elderly healthy controls ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). **Conclusion** Cellular immune function declined in patients with CWP due to disturbance of immune regulation, which closely associated with changes in serum level of Cu and ratio of Cu to Zn. It provided a useful evidence for further studies on element medicine and therapy of CWP.

Key words: Coal worker's pneumoconiosis; T-lymphocyte; Trace element

煤工尘肺的发生和发展与多种因素密切相关, 各种报道不少^[1-4]。为进一步研究淋巴细胞各功能亚群和微量元素对煤工尘肺患者的影响, 本文使用 BAS (Biotin-Avidin system, 生物素-链霉亲和素系统) 免疫组织化学法检测 70 例煤工尘肺患者和 50 例对照工人外周血淋巴细胞 (peripheral blood lymphocytes, PBL) 功能亚群的分布情况; 采用火焰原子吸收分光光度法 (FAAS) 测定了煤工尘肺患者和对照组血清中铜、锌和镁的含量, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

120 例老年男性共分 5 组: (1) 健康老年对照组: 20 例, 年龄 61~70 岁, 平均年龄 (65.5±4.4) 岁。(2) 健康老年接尘对照组 (0 期尘肺): 30 例, 年龄 59~71 岁, 平均年龄 (65.0±5.1) 岁; 平均接尘 (18.3±2.4) 年。(3) I 期尘肺: 30 例, 年龄 62~74 岁, 平均年龄 (69.3±5.6) 岁; 平均接尘 (22.5±5.2) 年。(4) II 期尘肺: 20 例, 年龄 58~75 岁, 平均年龄 (67.5±6.8) 岁; 平均接尘 (19.5±5.8) 年。(5) III 期尘肺: 20 例, 年龄 60~75 岁, 平均年龄 (69.0±3.5) 岁; 平均接尘 (21.3±7.4) 年。所有病历均选自淮南矿务局职防院并经确诊的住院煤

收稿日期: 2004-09-27; 修回日期: 2005-03-11

基金项目: 煤炭部煤炭科学基金资助 (编号: 96 安 10705)

作者简介: 李庆 (1962-), 男, 副教授, 主要从事煤工尘肺的感染和免疫研究。

工尘肺患者, 诊断标准为我国目前实施的《尘肺病诊断标准》(GBZ70—2002), 接尘对照组选自该院疗养区, 老年健康对照选自社区, 无合并症(如结核等)。

1.2 检测方法

1.2.1 对照组与各期煤工尘肺患者其外周血淋巴细胞 CD₃、CD₄、CD₈ 检测 使用 BAS 免疫组织法化学法^[4], McAb 试剂盒由上海医学化验所提供。

1.2.2 血清中铜、锌、铁、钙和镁的含量 采用火焰原子吸收分光光度法(FAAS)。试剂(1) 0.14 mol/L HNO₃, 0.063 mol/L SrCl。 (2) 铜、锌标准贮备液均由基准试剂或光谱纯金属氧化物制备成浓度 1.0 mg/ml; 硝酸为优级纯, 其余试剂为分析纯, 实验用水为去离子水; 所用玻璃仪器均以(1+5)硝酸浸泡过夜, 用自来水反复冲洗后用去离子水洗干净。(3) 标准工作液系列均逐级稀释现配, 分别吸取适量的铜、锌标准使用液, 用盐酸(1+11)配制成。(4) 肘静脉采 4 ml 血样后置 LXJ-II 型高速离心机 2 500 r/min, 10 min, 取血清 2 ml 置具塞 10 ml 刻度试管中, 用 0.14 mol/L HNO₃ 定容 10 ml, 以试剂空白液调零

后, 使用 P-E1100B 型原子吸收分光比色计(AAS)火焰法测定铜、锌; 取该液 1 ml 以 0.063 mol/L SrCl₂ 稀释 10 倍, 以试剂空白液调零后, 火焰法测定镁。测定后用标准曲线计算出样品中铜、锌和镁的含量。

1.3 数据处理

临床研究数据, 以均值 ± 标准差(%, $\bar{x} \pm s$) 和 ($\bar{x} \pm s$, μ g/ml) 表示, 统计方法为 *t* 检验和方差分析后的 *q* 检验法及相关分析。

2 结果

2.1 煤工尘肺患者与各对照组外周血淋巴细胞 CD 抗原分布情况

由表 1 可见, 接尘对照组与各期煤工尘肺患者和老年对照组相比较 CD₃ 的水平下降显著 ($P < 0.01$); 接尘对照组及早期(I 期、II 期)煤工尘肺患者 CD₄ 反应性增加 ($P < 0.01$); 接尘对照组与各期煤工尘肺患者和老年对照组相比较 CD₈ 的水平上升显著 ($P < 0.01$); 接尘对照组与各期煤工尘肺患者和老年对照组相比较 CD₄/CD₈ 的水平均下降 ($P < 0.01$)。

表 1 各期煤工尘肺患者与对照组外周血淋巴细胞 CD 抗原分布情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD ₃	CD ₄	CD ₈	CD ₄ /CD ₈
老年对照组	20	65.40 ± 6.92	41.10 ± 6.35	30.60 ± 4.60	1.34 ± 0.32
接尘对照组	30	53.80 ± 5.20**	48.20 ± 5.57**	49.50 ± 5.50**	0.99 ± 0.22**
I 期尘肺组	30	55.63 ± 3.50**	55.40 ± 4.25**	55.40 ± 4.85**△△	1.03 ± 0.35**
II 期尘肺组	20	54.10 ± 4.85**	51.04 ± 4.85**	56.38 ± 6.30**△△	0.91 ± 0.18**
III 期尘肺组	20	57.40 ± 6.65**	45.70 ± 3.40	64.90 ± 8.75**△△	0.71 ± 0.25**△△

q 检验: 与老年对照组比较 ** $P < 0.01$, 与接尘对照组比较 △△ $P < 0.01$

2.2 对照组和患者血清铜、锌和镁含量

煤工尘肺患者与老年对照组比较外周血清 Cu 升高有高度显著性差异 ($P < 0.01$), Cu/Zn 比值升高有显著性差异 ($P < 0.05$)。见表 2。

煤工尘肺患者与老年对照组比较外周血清 Cu 升

表 2 对照组和患者血清铜、锌和镁含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Cu	Zn	Cu/Zn	Mg
老年对照组	20	1.07 ± 0.25	1.09 ± 0.13	0.97 ± 0.11	23.70 ± 3.80
接尘对照组	30	1.27 ± 0.20**	1.12 ± 0.15	1.12 ± 0.10	23.80 ± 0.25
I 期尘肺组	30	1.28 ± 0.26**△	1.14 ± 0.25	1.12 ± 0.29	24.70 ± 0.22
II 期尘肺组	20	1.29 ± 0.29**	1.17 ± 0.35	1.19 ± 0.44*	23.67 ± 2.35
III 期尘肺组	20	1.18 ± 0.19*	1.16 ± 0.15	1.04 ± 0.27	23.66 ± 5.51
<i>F</i> 值		4.93	1.06	3.76	0.81
<i>P</i> 值		< 0.01	> 0.05	< 0.05	> 0.05

q 检验: 与老年对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 III 期尘肺组比较 △ $P < 0.05$

2.3 煤工尘肺患者微量元素 (Cu、Zn 和 Cu/Zn) 与 CD₃、CD₄、CD₈、CD₄/CD₈ 相关分析 (见表 3)

表 3 患者血清 Cu、Zn 和 Cu/Zn 与 CD₃、CD₄、CD₈、CD₄/CD₈ 相关分析结果 (r)

微量元素	CD ₃	CD ₄	CD ₈	CD ₄ /CD ₈
Cu	-0.89	0.78	0.85	-0.90
Zn	-0.76	0.75	0.84	-0.79
Cu/Zn	-0.88	0.89	0.91	-0.87

3 讨论

3.1 T 淋巴细胞亚群在煤工尘肺患者发病中的作用

煤工尘肺是工业生产中长期吸入煤矿粉尘所引起的以肺实质弥漫性纤维病变为主的疾病, 目前认为其发病机制是由于从业工人在环境中吸入含 SiO₂ 的煤粉尘, 被巨噬细胞吞噬后释放水解酶和矽尘, 损伤线粒体; 释放出致纤维因子, 激活成纤维细胞, 形成胶原性矽结节和玻璃样变, 使患者血清中纤维结合蛋白含量降低^[1]; 同时矽尘刺激肺泡 II 型细胞和巨噬细胞崩解时产生的粘蛋白和脂蛋白刺激免疫细胞活化, 造成免疫损伤。本检测结果表明患者的泛 T 细胞 (CD₃) 较正常对照显著下降, 早期患者 CD₄ 较正常对照有所增加, 而 CD₄/CD₈ 比值随病情发展下降。煤工尘肺患者的免疫反应都受到 CD₄ 亚群细胞 (TH1/TH2) 和 CD₈ 亚群细胞 (Ts/CTL) 的调控, TH1 细胞可增强炎性细胞的细胞毒性作用, TH2 细胞可促进抗体产生。在煤工尘肺患者外周血清中 SIL-2R、IL-6、IL-8 等均显著高于正常对照组, 并随疾病发展而增加; TNF-α 均显著低于正常对照组, 并随疾病发展而下降^[2]; 有报道矽肺患者 CD₄/CD₈ 比值显著低于正常对照^[3]。其机制从细胞角度来说即为 CD₄ 与 CD₈ 细胞比例失衡, 从分子角度来说, 当煤粉尘损伤巨噬细胞, 一方面释放 IL-1、IL-4、IL-6、IL-8 等炎性细胞因子, 产生强烈的炎症反应; 另一方面很快释放一种强烈的内源性免疫抑制剂前列腺素 E₂ (PEG₂), 使 T 细胞有丝分裂抑制、细胞免疫功能瘫痪^[4]。因此早期煤工尘肺患者血清中 CD₄ 细胞的增加应以 TH2 为主, 但随着病程的进展 CD₄ 的逐渐下降应以 TH1 下降为主, 表明患者细胞免疫被抑制, 以 II 期为著。据报道临床使用增强细胞免疫的药物有提高患者机体抵抗力, 改善一般情况的作用^[6]。本研究证明煤工尘肺患者 CD₃ 细胞显著低下 (P < 0.01), 且 CD₄/CD₈ 亦较对照组低, 表明患者的细胞免疫功能有明显缺

陷, 这是患者易招致微生物感染的重要原因。

3.2 煤工尘肺患者微量元素代谢异常及对发病的影响

铜、锌是人体必需的微量元素, 铜、锌与体内多种酶的活性有关, 是抗氧化酶 SOD 的组成部分^[7-9]。SOD 是体内游离自由基的清除剂, 微量元素铜和锌缺乏, 铜锌-SOD 抗氧化能力下降, 可降低细胞膜的保护作用和机体免疫力, 易发生反复感染。研究结果表明, 煤工尘肺血清铜的含量明显高于老年健康对照 (P < 0.01), 铜/锌比值上升 (P < 0.05), 其原因可能为 SiO₂ 吸入后, 刺激肺尘细胞释放自由基 (OH·、O₂⁻), 促使患者的抗氧化功能代偿性增强所致。因此铜/锌比值对研究煤工尘肺患者体内铜、锌元素的含量变化和对给患者适度补锌有指导意义。

3.3 微量元素代谢-T 淋巴细胞亚群-尘肺的关系

本研究结果提示, 患者血清 Cu、Zn 和 Cu/Zn 与 CD₃、CD₄、CD₈、CD₄/CD₈ 密切相关, 分析结果 (r) 分别是显著负相关、显著正相关、显著正相关、显著负相关。微量元素代谢异常-T 淋巴细胞亚群异常-尘肺, 可互为因果。弄清各种微量元素对免疫功能影响的机制, 为今后合理应用微量元素, 纠正煤工尘肺患者微量元素代谢失常, 从而恢复机体免疫功能, 防治尘肺具有重要的意义。

参考文献:

- [1] 张超, 罗敏, 童燕, 等. 煤工尘肺患者血清纤维结合蛋白含量的变化 [J]. 职业医学, 1997, 24 (6): 24.
- [2] 李庆, 李廷, 祁新兰. 煤工尘肺患者血清中几种细胞因子水平的变化 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2002, 20 (6): 466.
- [3] 孙曙舫, 胡颖颖, 徐成伟. 矽肺病人外周血 T 淋巴细胞亚群的变化 [J]. 中国工业医学杂志, 2000, 13 (5): 303.
- [4] 李庆, 李廷, 祁新兰, 等. BAS 组织化学法检测煤工尘肺患者 PBL 功能亚群的研究 [J]. 中华中西医结合杂志, 2003, 3 (3): 12.
- [5] 蒋雄斌. 感染、创伤应激时 TH1/TH2 的平衡变化及其意义 [J]. 国外医学·生理病理科学与临床分册, 2000, 20 (2): 164.
- [6] 张惠贞, 梁宏立, 刘金星. 盐藻提取物对尘肺病人抗氧化及细胞免疫功能的研究 [J]. 中国工业医学杂志, 1995, 8 (5): 260.
- [7] 韦安阳, 周春兰. 微量元素铜、铁、锰、钴与自由基 [J]. 广东微量元素科学, 2001, 8 (6): 15.
- [8] 周济桂, 魏春山, 喇万英. 临床微量元素学 [M]. 石家庄: 河北科学技术出版社, 1994. 16-25.
- [9] 相有章, 杨晓霞, 边建朝, 等. 葡萄糖酸锌对铜 SOD 代谢及氧化功能的试验研究 [J]. 微量元素与健康研究, 2001, 18 (2): 21.