

I期煤工尘肺肺泡巨噬细胞 功能和形态的研究

山西医学院 (030001) 刘保连 姚汝琳 田琳 郭冀
潞安矿务局 李安昌

提 要 利用全肺大容量灌洗和小容量肺叶灌洗的方法分别观察了15例和25例 I 期煤工尘肺肺泡巨噬细胞功能和形态的变化。肺泡巨噬细胞形态表现为多种形式, 既有幼稚型、成熟型, 又有衰老型和坏死型, 部分细胞表面有网眼性结构, 肺泡巨噬细胞内含有大量的粉尘, 诱发活性氧自由基的产生, 损伤细胞膜性结构, 脂质过氧化产物增加, 同时肺泡巨噬细胞处于机能代偿状态表现为细胞内容物增多, 导致某些酶如乳酸脱氢酶、酸性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性升高。

关键词 煤工尘肺 肺泡巨噬细胞

煤矿粉尘为混合性粉尘, 游离SiO₂含量较低, 一般在5%以下, 所致煤工尘肺主要特点是发病工龄长, 病情进展缓慢。当粉尘被肺泡巨噬细胞吞噬后, 对细胞的毒性较弱。煤工尘肺肺泡巨噬细胞功能和形态的改变如何, 迄今为止报道甚少。本文分别利用大容量全肺灌洗和小容量肺叶灌洗的方法, 收集肺泡巨噬细胞, 观察其功能和形态的变化, 为进一步阐明煤工尘肺的发病机理提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 病例的选择 所有病例均为男性, 年龄40~60岁, 职业史明确, 经当地职业病诊断小组按照我国尘肺诊断标准分期。患者近期内无呼吸系统疾病感染史。

1.2 对照的选择 本研究用两种方法。

1.2.1 小容量肺叶灌洗: 首先用1%地卡因口腔喷雾局麻, 然后气管内注入2ml利多卡因, 待会厌反射消失后, 进行支气管肺泡灌洗, 所有患者均灌洗右肺中叶, 每例注入200~250ml 无菌生理盐水, 分4~5次进行, 用单层纱布过滤支气管肺泡回收液, 去除粘液, 计数细胞, 然后以2000转/分离心10min, 去除上清液, 将细胞浓度调至1×10⁶个/ml, 待用。所有对照和部分煤工尘肺患者均用此方法。

1.2.2 大容量全肺灌洗: 每侧肺灌洗液量为0000ml左右, 细胞收集过程同前, 细胞残

渣进行HE染色, 油镜下观察肺泡巨噬细胞形态学变化, 另取几例按扫描电镜标本制作要求, 在扫描电镜下观察肺泡巨噬细胞的形态, 本次共观察15例 I 期患者。

本次所采用的收集肺泡巨噬细胞方法有两种, 收集范围不同, 但细胞的功能和形态相同, 反映了煤工尘肺患者所处的状态。

1.3 指标的测定

1.3.1 肺泡巨噬细胞存活率: 用台盼兰排斥法; 坏变率、多核率及细胞形态的变化均在显微镜下观察。

1.3.2 乳酸脱氢酶(LDH)、酸性磷酸酶(ACP): 分别用2,4-二硝基苯肼法和对硝基苯磷酸二钠法; 超氧化物歧化酶(SOD)用邻苯三酚自氧化法测定。

1.3.3 化学发光, 脂质过氧化物的测定: 见文献1,2。

1.3.4 肺泡巨噬细胞膜流动性的测定: 见文献3。

2 结果

2.1 肺泡巨噬细胞存活率、吞噬率、坏变率和多核率的变化 见表1。

2.2 肺泡巨噬细胞形态学变化

I期煤工尘肺肺泡巨噬细胞主要有以下几种类型: (1) 幼稚型: 体积小, 呈圆形, 细胞可见有伪足, 胞核规则, 致密深染, 和胞浆

表1 肺泡巨噬细胞四个率的变化 ($\bar{X} \pm SD, \%$)

组别	n	存活率	坏死率	尘细胞率	多核率
对照	11	93.00 ± 5.27	1.20 ± 1.10	27.27 ± 20.93	1.91 ± 1.37
I期煤工尘肺	15	89.63 ± 5.20	14.60 ± 7.76**	88.06 ± 6.09**	8.37 ± 4.18**

**表示和对照组比较P<0.01

比例约为1:3,胞浆蓝染,均匀致密,内含粉尘较少;(2)成熟型:体积中等,呈圆形,细胞核较幼稚型细胞淡染;(3)衰老型:体积大,呈圆形或不规则形,胞核增大,疏松,可见有脱颗粒现象,核仁增多,胞浆呈颗粒状,内有空泡,细胞内含粉尘较多;(4)坏死型:细胞体积增大更加明显,胞膜断裂,胞浆疏松或消失,胞核呈颗粒状,核膜保持完整或破裂,核仁呈灰白色,较多,在破坏的细

胞内可见有大量的粉尘。

扫描电镜可见肺泡巨噬细胞体积大小不等,伪足减少或消失,部分细胞可见粗大的伪足,细胞表面皱褶减少,囊泡样改变明显,少数细胞表面可见网眼性结构及细胞破裂现象。

2.3 肺泡巨噬细胞生化指标的改变

2.3.1 肺泡巨噬细胞上清液中LDH和ACP的活性 见表2。

表2 肺泡巨噬细胞内LDH和ACP的活性 ($\bar{X} \pm SD$)

组别	n	LDH (μ/ml)	ACP (B-L单位)/ml
对照	12	50.20 ± 30.3	0.79 ± 0.49
I期煤工尘肺	16	58.52 ± 23.96	1.46 ± 0.07*

细胞浓度为 1×10^6 个/ml *与对照组比较P<0.05

由表2所述结果可见, I期煤工尘肺肺泡巨噬细胞ACP活性高于对照组。

2.3.2 肺泡巨噬细胞氧化和抗氧化指标的改变 见表3。

表3 肺泡巨噬细胞化学发光、MDA和SOD的变化 ($\bar{X} \pm SD$)

组别	n	化学发光(mv)	MDA $\mu mol/ml$	SOD μ/ml
对照	23	0.08 ± 0.05	0.86 ± 0.50	20.50 ± 10.80
I期煤工尘肺	25	0.35 ± 0.22**	1.74 ± 0.70*	33.60 ± 11.3*

细胞浓度为 1×10^6 个/ml *和**意义同前表

由表3可见, I期煤工尘肺肺泡巨噬细胞化学发光,MDA和SOD均高于对照组。

2.3.3 肺泡巨噬细胞膜流动性的变化 见表4。

表4 肺泡巨噬细胞P值的变化 ($\bar{X} \pm SD$)

组别	n	P
对照	16	0.176 ± 0.074
I期煤工尘肺	12	0.084 ± 0.037**

细胞浓度为 2×10^6 个/ml

由表4可见, I期煤工尘肺肺泡巨噬细胞膜流动性升高,与对照组相比有显著性差异。

3 讨论

支气管肺泡冲洗结果表明煤工尘肺被清洗出的粉尘主要存在于肺泡巨噬细胞内,而肺泡内游离粉尘较少。这些长期滞留在细胞内的粉尘,引起了该细胞功能和形态的改变,再之煤矿粉尘游离SiO₂含量较低,对细胞的毒性较弱,因此煤工尘肺肺泡巨噬细胞有其自己的特点,主要表现如下。

3.1 肺泡巨噬细胞形态各异,既有成熟型,又有幼稚型、衰老型和坏死型,细胞类型代表着细胞功能状态。幼稚型细胞功能活跃,吞噬粉

尘能力较强,随着时间的增加,逐渐成为成熟型、衰老型和坏死型。

3.2 煤矿粉尘长期作用于肺泡巨噬细胞,诱发活性氧的产生,肺泡巨噬细胞化学发光强度明显高于对照组。自由基活性很高,主要攻击细胞膜不饱和脂肪酸(RH),使之脱氢转化为有机自由基 R·, R· 与 O₂ 作用生成有氧自由基 ROO·, ROO· 与 RH 脱失的氢形成过氧化物 ROOH,这一过程又使一个新的R·产生,如此循环,直至细胞受损。本文结果 I 期煤工尘肺肺泡巨噬细胞 MDA 的含量明显高于对照组,说明自由基在细胞受损中一直起着重要的作用。细胞膜受损导致细胞膜流动性和通透性发生改变,理论上讲,细胞膜受损,膜通透性升高,细胞内 LDH 大量外漏,导致胞内活性下降,同时溶酶体酶 ACP 活性也下降,细胞膜流动性下降。但本次结果与此相反,可能与肺泡巨噬细胞长期受毒性较低的粉尘刺激,处于代偿状态,透射电镜观察到尘肺患者肺泡巨噬细胞胞浆内容物增加,尤以溶酶体增加更为明显,支持上述现象。SOD 的结果与此相似,Voisin⁽⁴⁾ 报道煤工尘肺患者 SOD 活性升高,Kamal⁽⁵⁾ 报道接触矽尘和石棉尘工人血清中 SOD 活性升高,以上现象也说明了尘肺患者肺泡巨噬细胞处于代偿状态。

尽管吸烟对肺泡巨噬细胞的功能和形态有一定的影响,但由于本研究的病人和对照组观察人群均吸烟,而且其它条件相同,本文对吸烟对细胞的影响没有做深入研究。关于吸烟对细胞的影响,有待于进一步寻找新的病例继续研究。

总之, I 期煤工尘肺肺泡巨噬细胞在低毒性粉尘的长期刺激下,氧化系统处于激活状态,该细胞处于代偿状态,而且形态各异。

4 参考文献

- 1 Allen RC, et al. Evidence of the generation of an electronic excitation state in human polymorphonuclear leukocyte. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; 47:679
- 2 Stacey NH, et al. Cadmium toxicity and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Appl pharmacol* 1980; 53: 470
- 3 曹承敬. 二氧化硅及柠檬酸铝对豚鼠肺泡巨噬细胞膜流动性的影响. *中华劳动卫生职业病杂志* 1984; 2: 36
- 4 Voisin C, et al. BAL in coal worker's pneumoconiosis. Oxidant and antioxidant of alveolar macrophages, *In vitro Effects of Mineral Dusts*, Edited by E G Beck, Springer-verlag Berlin, 1985; 93
- 5 Kamal AA. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dusts. *Environ Res* 1989; 49: 173

铅作业女工不孕13年驱铅后孕产 1 例报告

广东韶关市职业病防治院(512028) 陈先友

患者,女,40岁,煤矿充电工人,住院号18885,从事接触铅作业14年。自1976年9月至1990年11月从事矿灯充电工作,每天工作8小时,工作场地为室内自然通风,戴口罩防护,工作时嗅到异味。1980年和1983年作尿铅测定均为正常;1990年7月晨尿铅测定结果 0.83μmol/L,后因头晕腹胀10年于1990年11月以铅吸收第一次住院治疗。

患者1977年结婚,其夫为非接触铅工人。婚后夫妻同居生活13年未孕。1982年在妇幼保健院、市级医院夫妻均进行不孕症检查,分别行输卵管通液试验及精液化验均未发现异常。患者从事铅作业期间月经紊乱,周期为40~90天不等。既往体健。

入院体格检查无异常改变。仅见点彩红细胞0.01。住院后驱铅治疗,选用CaNa₂EDTA0.5g肌注,2次/日,每周3天,疗程2周,总剂量6.0g,复查尿铅为0.14~0.22μmol/L正常范围,症状消失出院。出院回家第1个月内怀孕。足月后剖腹产1男婴,体重2.9kg。产后月经基本恢复正常。随访两年,其小孩生长发育与同龄儿童无异。

讨论 铅毒性作用致女工不孕的病例报告不多,而驱铅治疗能恢复女工生育的报告更为少见。本例铅作业女工婚后不孕13年之久,驱铅一个疗程后即怀孕,提示铅毒性作用影响女工生育的可能。