

铅降低机体抗病毒能力的实验研究

朱宝立, 杜晨阳, 陈敏

(江苏省职业病防治研究所, 江苏 南京 210028)

摘要: 目的 探讨铅对机体抗病毒能力的影响。方法 采用体外和体内实验研究。结果 铅显著增强人胚肺细胞对呼吸道合胞病毒的敏感性, 降低细胞对呼吸道合胞病毒的抵抗力; 在动物实验中, 铅染毒组动物肺部病毒滴度显著增加, 肺部病变明显加重, 肺指数显著增加。结论 铅可降低机体的抗病毒能力, 增强其对病毒的易感性。

关键词: 铅; 抗病毒能力; 机体

中图分类号: O614.433 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2000)06-0329-03

The experimental study on the effects of lead on the antiviral ability

ZHU Bao-li, DU Chen-yang, Chen Min

(Jiangsu Provincial Institute of Occupational Medicine, Nanjing 210028, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of lead on the antiviral ability. **Methods** Experiments in vitro and in vivo were made to study the effect of lead on the antiviral ability of the organism. **Result** Lead could notably enhance the susceptibility of human embryo lung cell to respiratory syncytial virus, lower the resistance of the cells to the virus in the animal's lung, worsen the pathological changes of lung and increase the lung index. **Conclusion** Lead can reduce the antiviral ability of organism and enhance the susceptibility to the virus.

Key words: Lead; Organism; Antiviral ability

随着环境污染的日益加剧, 铅对人体的危害越来越受到人们的重视。由于研究手段的进步, 铅的免疫毒性也被人们所证实。本文应用体外和体内实验研究, 探讨铅对抗病毒能力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病毒 呼吸道合胞病毒(RSV)标准株—long株由中国预防医学科学院病毒所提供。

1.1.2 细胞 人胚肺细胞由中科院上海细胞所提供。

1.1.3 培养基 Eagers MEM(日本日水制药株式会社), 生长液用时加青、链霉素各100U/ml, 谷氨酰胺1mmol/L及10%小牛血清。维持液加入5%小牛血清。

1.1.4 硝酸铅 分析纯, 用生理盐水配制溶液。

1.1.5 动物 Balb/c小鼠, 5周龄, 雌雄各半, 由江苏省动物中心提供。

1.2 铅对细胞毒性的测定

向生长单层的细胞瓶中加入含铅维持液, 其质量浓度分别为1200、800、400、200、100、50、25、12.5、0 μ g/ml, 每浓度3瓶, 重复2次, 37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂,

培养4天。用胰酶-EDTA混合消化细胞单层, 台盼蓝染色, 于血球计数器盘内计数活细胞和死亡细胞数, 并计算死亡率。

1.3 铅对人胚肺细胞抗病毒能力的影响

1.3.1 铅对细胞病毒性病变的影响 96孔细胞培养板感染10倍稀释的病毒液, 吸附2小时后, 倾出病毒液, 加入含铅400 μ g/ml维持液, 共4行, 另有4行加不含铅维持液作对照, 每日观察细胞病变情况, 观察7天, 记录结果。

1.3.2 铅对RSV感染性增殖的影响 在生长成单层的人胚肺细胞瓶中, 接种0.1ml 1000TCID₅₀(半数组织培养感染量)的RSV液, 37 $^{\circ}$ C吸附1小时后, 分为阴性对照组、实验组, 分别加入维持液、100 μ g/ml铅液, 37 $^{\circ}$ C培养, 从感染24小时起, 分次收获培养液24、48、72、96小时, 每点4份。在细胞板上滴定其感染性滴度。

1.4 铅对小鼠抗病毒能力的影响

取5周龄Balb/c健康小鼠, 每组10只, 设铅实验组0.1mg/(只 \cdot d)、0.4mg/(只 \cdot d), 病毒对照组(不进行铅染毒, 只感染RSV病毒)和铅对照组(只进行铅染毒, 不感染RSV病毒), 雌雄各半。每天给小鼠腹腔注射硝酸铅染毒, 连续给药30天; 在乙醚浅度麻醉下用10TCID₅₀呼吸道合胞病毒液滴鼻感染小鼠, 使之形成病毒性肺炎, 每只50 μ l。感染病毒后连

收稿日期: 2000-06-26; 修回日期: 2000-09-20

作者简介: 朱宝立(1966—), 男, 江苏泰县人, 主管医师, 主要从事劳动卫生职业病管理与科研工作。

续观察7天,第8天解剖取肺称质量,并以肺质量除以体质量分别计算肺指数;同时记录肺部病变积分。

肺病变程度按下列标准积分:0分:肺组织正常;1分:肺组织出现炎症细胞,肺泡内有少量渗出液;2分:肺泡渗出液增多,部分实质纤维组织增生;3分:肺组织大部分实质或全部实质。

另一定量的肺组织匀浆后加5ml生理盐水,1500r/min离心10分钟,取上清液在细胞板上测定病毒滴度。

1.5 统计方法

采用SAS统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 铅对细胞毒作用的测定 表1表明,细胞维持液中铅浓度为800μg/ml以下时与对照组比较差异无显著意义, P > 0.05, 即TD₀为800μg/ml, 1200μg/ml铅对人胚肺细胞有一定毒作用。

表1 铅对细胞毒性的测定(细胞死亡百分率)

浓度 (μg/ml)	$\bar{x} \pm s$	P 值
1200	10.2 ± 1.38	< 0.05
800	5.01 ± 1.44	> 0.05
400	4.39 ± 1.54	> 0.05
200	3.98 ± 0.98	> 0.05
100	3.76 ± 0.36	> 0.05
50	4.21 ± 0.94	> 0.05
25	3.49 ± 1.29	> 0.05
12.5	4.16 ± 0.65	> 0.05
0	3.98 ± 0.41	

2.2 铅对人胚肺细胞抗病毒能力的影响

2.2.1 铅对人胚肺细胞病毒性病变的增强作用 表2表明,维持液中铅浓度为400μg/ml时RSV在人胚肺细胞上的TCID₅₀为10⁻⁷,而阴性对照组为10⁻⁴,说明加铅后细胞对病毒的敏感性增强1000倍,即铅能显著降低细胞抗病毒能力。

表2 铅对RSV病毒性细胞病变的增强作用

组别	病毒稀释度							
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
加铅组 (μg/ml)	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+
	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+
	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++	+
	++++	+++	+++	++	++	+	+	-
对照组	++++	++++	+++	++	+	+	-	-
	++++	++++	+++	++	+	+	-	-
	++++	++++	+++	++	+	+	-	-

“++++”:细胞病变90%以上,“+++”:细胞病变75%左右,“++”:细胞病变50%左右,“+”:细胞病变25%左右,“-”:细胞病变少于10%。

2.2.2 铅对病毒在细胞内感染性增殖的影响 表3表明,从12小时开始加铅实验组病毒滴度均高于对照组,其增加指数为1.50~3.45,说明铅能增强病毒在细胞内的复制,降低细胞对病毒的抵抗力。

表3 铅对RSV感染性增殖的影响

感染时间 (小时)	病毒滴度 (lg $\bar{x} \pm s$)		增加 指数
	对照组	实验组	
6	0.50 ± 0.52	0.50 ± 0.58	0.00
12	0.75 ± 0.50	2.75 ± 0.96	2.00
24	2.75 ± 0.50	4.25 ± 0.50	1.50
48	4.25 ± 0.50	6.50 ± 1.00 *	2.25
72	5.75 ± 0.96	8.60 ± 1.40 *	2.85
96	7.25 ± 0.96	10.7 ± 0.96 *	3.45

*与相应对照组比较, P < 0.05.

2.3 铅对动物抗病毒能力的影响

2.3.1 铅对小鼠肺部病毒性病变的影响 表4表明铅染毒组在感染呼吸道合胞病毒后,肺病变程度和肺指数均显著高于病毒对照组和铅对照组 (P < 0.05),说明铅能加重小鼠病毒性肺病变,降低机体的抵抗力。

表4 铅对小鼠病毒性肺病变程度的影响

组别	剂量	肺指数	肺病变程度
铅实验组	0.4mg/只	1.378 ± 0.154 0 *	1.67 ± 0.21 *
	0.2mg/只	1.176 ± 0.115 4 *	1.38 ± 0.16 *
病毒对照组		0.802 ± 0.107 2	1.02 ± 0.15
铅对照组		0.563 ± 0.067 1	0.45 ± 0.04

*与病毒对照组比较, P < 0.05.

2.3.2 铅对小鼠肺部病毒感染性增殖的影响 表5表明,铅实验组动物肺部病毒滴度均显著高于病毒对照组,其增加指数为2.14~3.00.说明铅能显著增强病毒在动物体内感染性复制,降低机体对病毒的抵抗力。

表5 铅对小鼠肺部病毒性增殖的影响

组别	剂量	病毒滴度 (lg $\bar{x} \pm s$)	增加指数
铅实验组	0.4mg/只	8.18 ± 0.92 * *	3.00
	0.2mg/只	7.32 ± 0.64 *	2.14
病毒对照组		5.18 ± 0.64	-
铅对照组		-	-

与病毒对照比较 * P < 0.05, ** P < 0.01.

3 讨论

目前,应用细胞培养技术和动物实验研究化学物质对病毒抵抗力影响的研究鲜见报道.本实验证实铅能在体外细胞和动物实验中显著降低机体抗病毒感染的的能力,增强机体对病毒的易感性.其作用机理可能

有以下两种：(1) 铅能有效地降低机体的免疫调节能力^[1]。有人认为铅能有效地抑制机体的体液免疫功能，这种抑制与对 B 淋巴细胞的直接作用有关，可能是由于铅明显改变 B 淋巴细胞表面补体受体位置的结果。也有报道认为铅首先抑制 T 淋巴细胞的功能，进而影响机体的细胞免疫功能。(2) 铅可能抑制机体的干扰素诱发系统，影响细胞产生抗病毒蛋白(AVC)。这一点可能是本次实验中影响体外细胞抗病毒能力的主要原因，因人胚肺细胞中几乎不存在与免

疫功能有关的 B 和 T 淋巴细胞，通常病毒能诱导细胞产生干扰素，干扰素进而诱导细胞产生抗病毒蛋白，抑制病毒在细胞内的复制。有关铅影响机体抗病毒能力的机理还需作进一步探讨。

参考文献：

- [1] 许松山. 铅和锌对机体免疫功能的影响研究进展 [J]. 延边医学院学报, 1989, 12 (3): 214.
- [2] 黄祯祥. 医学病毒学基础及实验技术 [M]. 北京: 科学技术出版社, 1990.

急性甲胺磷中毒 4 例报告

Acute methamidophos poisoning—4 cases report

何跃玲, 张凤珍

HE Yue-ling, ZHANG Feng-zhen

(泰安市职业病防治院, 山东 泰安 271000)

摘要: 本 4 例经皮肤及呼吸道同时吸收中毒, 表现为毒蕈碱、烟碱样症状, 全血胆碱酯酶活性下降及心脏损害。

关键词: 甲胺磷; 中毒

中图分类号: S139.3; S482.33 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2000)06-0331-01

1 中毒经过

1995 年 7 月 30 日上午 8 时某林场 4 名工人用市售甲胺磷乳剂 3kg 加 7kg 水配制农药, 然后用刷子搅拌均匀后涂刷松树树干, 但有时也溅到手背、面部及身上。当时正值高温天气, 最高气温达 33℃, 工作 8 小时后感头晕、头痛、乏力、恶心等, 疑为天热所致, 回家未彻底清洗更衣, 第二天继续工作。次日下午上述症状逐渐加重, 有的工人尚发生腹痛、视物不清、多汗等症, 休息一夜后无明显好转, 至 8 月 1 日中午由其林场送入我院。

2 临床资料

4 例均为青年女性, 年龄 16~20 岁, 平均 18 岁, 均为初次工作, 入院时仍着工作服。

入院时病人均头痛、头晕、乏力、恶心、食欲不振、多汗; 伴腹痛 2 例。体温偏高 1 例 (T 37.2℃), 脉搏 60 次/分以下 2 例, 血压均正常范围。均意识清楚、精神不振、皮肤潮湿、瞳孔缩小。视物不清 3 例。均无呕吐、腹泻、流涎、大汗淋漓、胸闷、心悸等。

全血胆碱酯酶活性 50% 2 例, 60% 2 例。心电图检查: 窦性心动过缓 2 例, 窦性心律不齐 1 例, S-T 段上移 1 例, T 波低平 3

例。胸透、肝功、腹部 B 超、血甘油三酯、胆固醇检查均正常。

根据 GB7794-87 国家诊断标准, 分别诊断为急性甲胺磷中毒轻度 2 例、中度 2 例。

4 例病人入院后均予彻底清洗皮肤、更衣, 应用阿托品肌肉注射, 地塞米松、能量合剂、庆大霉素等静滴, 3 例同时应用解磷定 0.5g 静滴 3 天。阿托品累积用量 5~7.5mg。全血胆碱酯酶活性均在 3~7 天内恢复到 70% 以上, 心电图全部正常。住院 14 天均痊愈出院。

3 讨论

甲胺磷又名多灭磷、克螨隆, 为广谱高效杀虫剂, 我国南方应用较多, 北方少用; 属高毒类, 大鼠经皮染毒 7h, LD₅₀ 为 50mg/kg。

本次中毒原因一是病人都未经过有毒有害作业上岗前安全卫生培训, 在无任何防护措施的情况下直接拿刷子刷树干, 有农药污染皮肤及衣服史; 二是气温高, 农药挥发快, 刷树干高度大多在人的呼吸带, 有呼吸道吸收的可能。4 例均在接触甲胺磷农药 8~24 小时后出现症状, 3 天后入院, 有不同程度的毒蕈碱样和/或烟碱样症状及中枢神经系统症状, 心电图显示有窦性心动过缓, 窦性心律不齐, ST 段、T 波改变等, 全血胆碱酯酶轻度下降, 均符合急性轻、中度甲胺磷中毒诊断标准。目前我国在抢救有机磷农药中毒过程中, 阿托品用量普遍较大, 使阿托品中毒率较高。本文病例在一出现阿托品化指征即暂停阿托品应用, 及时复查胆碱酯酶, 视情况随时增加或减少阿托品用量, 使阿托品用量维持在最小范围之内。由此可见, 甲胺磷经皮肤污染和呼吸道吸入引起的轻、中度中毒, 由于潜伏期较长, 病情发展较慢, 临床表现不如口服中毒者典型、紧急, 故阿托品用量可相应减少, 甚至不用解磷定亦可获同样效果。

收稿日期: 1998-07-17; 修回日期: 1998-09-09

作者简介: 何跃玲(1966-), 女, 山东临沂人, 主治医师, 从事职业病临床工作。