

• 专题研究 •

三氯乙烯致敏豚鼠体内循环免疫复合物的变化

朱启星^{1,2}, 徐辉¹, 冷静¹, 沈彤²

(1. 安徽医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生系, 安徽 合肥 230032; 2. 安徽医科大学皮肤病研究所, 安徽 合肥 230032)

摘要: 目的 检测循环免疫复合物 (CIC) 在三氯乙烯 (TCE) 致敏豚鼠体内含量的变化, 探讨其可能的作用。方法 选用体重 250 ~ 300 g 的白色雌性豚鼠, 随机分成空白对照组、溶剂对照组、TCE 处理组。根据豚鼠最大值试验 (GPMT) 方法处理豚鼠。分别在实验结束后 24 h、72 h 采血, 检测血清中 IgA/C3-CIC、IgG/C3-CIC 和 IgM/C3-CIC 的浓度。结果 TCE 处理组致敏率为 65.38%; 与溶剂对照组相比, TCE 致敏组和 TCE 未致敏组的血清中 IgA/C3-CIC、IgG/C3-CIC 和 IgM/C3-CIC 的浓度均明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 TCE 处理组豚鼠血清中循环免疫复合物含量降低, 可能提示其体液免疫发生改变。

关键词: 三氯乙烯; 豚鼠; 循环免疫复合物

中图分类号: R114; R623.221 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2012)01-0030-03

Changes of circulating immune complexes in guinea pigs sensitized by trichloroethylene

ZHU Qi-xing*, XU Hui, LENG Jing, SHEN Tong

(*. Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

Abstract: **Objective** To explore possible role of circulating immune complexes (CIC) played in guinea pigs (GPs) sensitized by trichloroethylene (TCE) and the related mechanism. **Methods** White female GPs (250 ~ 300 g) were randomly divided into blank control group, solvent (olive oil) control group and TCE treated group. GPs were treated according to Guinea Pig Maximization Test (GPMT). 24 h and 72 h after administration, the blood samples were taken for detection of serum levels of IgA/C3-CIC, IgG/C3-CIC and IgM/C3-CIC with Kits. **Results** Sensitization rate of GPs by TCE was 65.38%, compared with those of solvent control group, the levels of IgA/C3-CIC, IgG/C3-CIC and IgM/C3-CIC in unsensitized and sensitized PGs by TCE were all significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The study suggested that TCE treatment may affect the humoral immunity in GPs.

Key words: trichloroethylene (TCE); guinea pig (GP); circulating immune complex (CIC)

三氯乙烯 (trichloroethylene, TCE) 为不饱和卤代烃类化合物, 可致部分接触工人产生药疹样皮炎 (dermatitis medicamentosa-like of trichloroethylene, DMLT)^[1], 并伴有表皮淋巴肿大, 出现黏膜水肿、渗出等^[2]。近几年关于皮肤损伤的机制研究较多, 其发病机制多认为是抗原特异性 T 淋巴细胞介导的迟发型 IV 型变态反应^[3,4]; 也有研究^[5,6]认为体液免疫也参与了 DMLT 的发病过程。本文采用豚鼠最大值试验 (guinea pig maximization test, GPMT) 方法, 检测了 TCE 致敏豚鼠血清中循环免疫复合物 (CIC) 的浓度, 探讨其在三氯乙烯致敏豚鼠体内的变化情况及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

三氯乙烯、弗氏完全佐剂 (FCA) (美国 Sigma 公司产品), 十二烷基硫酸钠 (SLS) (上海化学试剂采购站, 日本

进口分装产品), 橄榄油 (中国医药上海化学试剂公司), 无刺激性胶布 (Neoplast 公司), IgA/C3-CIC、IgG/C3-CIC 和 IgM/C3-CIC ELISA 试剂盒 (美国 RB 公司产品, 上海西唐生物科技有限公司进口分装), 低温高速离心机 (德国 Hettich Universal 320/320R), 酶标仪 (美国 Bio Tek 公司)。

1.2 实验动物处理及分组

实验动物适应性饲养 5 ~ 7 d, 选用体重 250 ~ 300 g 的健康雌性豚鼠进行实验。根据豚鼠最大值试验 (GPMT) 方法处理豚鼠。第 1 天, TCE 实验组用 5% TCE (TCE: 橄榄油 = 5:95) 皮内注射进行初次致敏, 空白对照组不做任何处理, 溶剂对照组注射橄榄油; 第 8 天, TCE 组用 40% TCE 涂皮, 然后用 2 层纱布, 一层玻璃纸覆盖, 无刺激胶布封闭固定 48 h 进行第 2 次诱导致敏, 空白对照组不做任何处理, 溶剂对照组涂抹橄榄油, 48 h 后用生理盐水溶液清洗; 第 15 天, TCE 组用 20% TCE 涂抹进行终末激发, 处理方法同第 8 天, 24 h 后用生理盐水清洗。在终末激发后 24 h 观察和记录各组动物皮肤反应情况。终末激发后 24 h 依据皮肤致敏反应情况将 TCE 实验组分为 TCE 致敏 24 h 组 (8 只)、TCE 未致敏 24 h 组 (4 只)、TCE 致敏 72 h 组 (9 只)、TCE 未致敏 72 h 组 (5 只)。在终末激发后 24 h 和 72 h 心脏采血。

收稿日期: 2011-07-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30872147); 教育部科学技术研究重点项目 (210100); 安徽省自然科学基金项目 (11040606M213); 安徽高校省级自然科学基金重点项目 (KJ2009A73)

作者简介: 朱启星 (1958—), 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 皮肤毒理学, E-mail: zqxing@yeah.net。

1.3 视觉评分

末次激发后 24 h 依据《化学品毒性鉴定技术规范》(卫监督发【2005】272 号) 中皮肤致敏反应试验评分标准对实验动物进行评分。评分标准为: 无反应为 0 分; 散在或小块红斑为 1 分; 中度弥漫的红斑、轻度水肿为 2 分。仔细观察和记录受试区的皮肤反应并进行拍照, 对皮肤反应进行评分。当实验动物皮肤反应积分为 0 时判为皮肤致敏反应阴性; 实验动物皮肤反应积分 ≥ 1 时, 判为皮肤致敏反应阳性。

1.4 血清中循环免疫复合物浓度的测定

将采集的豚鼠全血, 3 000 r/min, 离心 15 min, 分离血清。用 IgA/C3-CIC、IgG/C3-CIC 和 IgM/C3-CIC ELISA 试剂盒, 按照试剂盒操作说明书测定血清中 IgA/C3-CIC、IgG/C3-CIC 和 IgM/C3-CIC 的浓度。

1.5 统计学分析

应用 SPSS13.0 软件进行分析, 所有计量资料均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组间的差异用单因素方差分析, 采用 LSD 法, 检验水准取 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 皮肤反应视觉评分结果

豚鼠染毒结束后立即观察皮肤反应, 按照皮肤刺激反应评价标准对每组实验动物情况进行记录。在本次致敏实验中, 空白对照组和溶剂对照组均未见红斑或水肿; TCE 处理组 26 只豚鼠有 17 只致敏, 致敏率 65.38%。结果见表 1。

表 2 不同组别豚鼠血清中 IgA/C3-CIC、IgG/C3-CIC、IgM/C3-CIC 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	IgA/C3-CIC (ng/ml)	IgG/C3-CIC (μ g/ml)	IgM/C3-CIC (μ g/ml)
空白组	5	907.27 $\pm$ 19.09	175.87 $\pm$ 7.68	18.51 $\pm$ 1.65
溶剂对照组	5	910.53 $\pm$ 14.97	174.93 $\pm$ 12.43	19.84 $\pm$ 0.40
TCE 致敏 24 h 组	8	755.60 $\pm$ 39.28 ^a	117.90 $\pm$ 11.01 ^a	13.23 $\pm$ 0.15 ^a
TCE 未致敏 24 h 组	4	755.13 $\pm$ 31.24 ^a	134.73 $\pm$ 4.16 ^a	14.67 $\pm$ 1.17 ^a
TCE 致敏 72 h 组	9	697.30 $\pm$ 42.68 ^{ac}	126.10 $\pm$ 13.81 ^a	14.38 $\pm$ 0.73 ^a
TCE 未致敏 72 h 组	5	717.03 $\pm$ 18.30 ^a	109.45 $\pm$ 12.80 ^a	14.50 $\pm$ 1.20 ^a

注: a. 与溶剂对照组相比, $P < 0.05$; b. 与相应时点 TCE 未致敏组相比, $P < 0.05$; c. 与 TCE 致敏 24 h 组相比, $P < 0.05$ 。

3 讨论

职业暴露 TCE 的工人出现 DMLT 伴肝功能损伤已经成为国内目前主要的职业卫生问题。有研究表明, IV 型变态反应性疾病与 T 淋巴细胞激活、细胞因子分泌、其他因素的共同参与密切相关^[7]。本课题组前期研究也发现, TNF- α 和 IL-1 在 DMLT 发生过程中具有重要意义^[8,9], 本研究拟通过动物实验, 重点探讨循环免疫复合物在 TCE 致敏豚鼠体内的变化情况, 以进一步探索 DMLT 的发病机制。

循环免疫复合物 (CIC), 主要是指血液中免疫复合物, 其与补体、其他免疫活性物质结合, 沉积在血管壁, 可导致组织损伤及血管炎, 并导致一系列的疾病。

戴宇飞等^[10] 采用豚鼠最大值法建立 TCE 致敏动物模型, 发现 TCE 致敏组豚鼠血清 IgG 含量与阴性对照组比较明显升高, 提示体液免疫参与了 TCE 皮炎的发生过程。周丽等^[11] 采用 GPMT 法探讨 TCE 对豚鼠皮肤变态反应和血清免疫球蛋白水平的改变, 发现 TCE 可引起血清免疫球蛋白改变。本研究显示, 与溶剂对照组相比, TCE 致敏组和 TCE 未致敏组的血

表 1 各组动物皮肤反应视觉评分

组别	动物数 (n)	致敏动物数			
		积分 0	积分 1	积分 2	积分 3
空白组	5	5	0	0	0
溶剂对照组	5	5	0	0	0
TCE 致敏 24 h 组	8	0	4	3	1
TCE 未致敏 24 h 组	4	4	0	0	0
TCE 致敏 72 h 组	9	0	4	3	2
TCE 未致敏 72 h 组	5	5	0	0	0

2.2 血清中 IgA/C3-CIC 的浓度

溶剂对照组与空白组相比, 血清中 IgA/C3-CIC 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与溶剂对照组相比, TCE 致敏组和 TCE 未致敏组的血清中 IgA/C3-CIC 水平均明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 TCE 致敏 24 h 组相比, TCE 致敏 72 h 组血清中 IgA/C3-CIC 水平明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 血清中 IgG/C3-CIC 的浓度

溶剂对照组与空白组相比, 血清中 IgG/C3-CIC 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与溶剂对照组相比, TCE 致敏组和 TCE 未致敏组的血清中 IgG/C3-CIC 水平均明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 血清中 IgM/C3-CIC 的浓度

溶剂对照组与空白组相比, 血清中 IgM/C3-CIC 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与溶剂对照组相比, TCE 致敏组和 TCE 未致敏组的血清中 IgM/C3-CIC 水平均明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

血清中 IgA/C3-CIC、IgG/C3-CIC、IgM/C3-CIC 水平均明显降低, 差异有统计学意义, 推测在 TCE 处理组豚鼠体内的体液免疫发生改变, 补体系统可能被激活。越飞等^[12] 在对 13 例 DMLT 患者的观察中发现治疗前患者血清 C3 浓度均明显低于治疗后血清 C3 浓度, 认为 DMLT 患者病程中可能存在补体活化, 从而引起脏器损伤。但在本实验中, TCE 是通过哪种途径激活补体, 还有待于更深入的研究。此外, 循环免疫复合物在三氯乙烯药疹样皮炎的病程中起着什么作用, 其具体作用机制是什么, 也需在今后进一步的研究中解决。

参考文献:

- [1] Nakajima T, Yamanoshita O, Kamijima M, et al. Generalized skin reactions in relation to trichloroethylene exposure: a review from the viewpoint of drug-metabolizing enzymes [J]. J Occup Health, 2003, 45 (1): 8-14.
- [2] 郑玉新, 戴宇飞. 三氯乙烯药疹样皮炎研究进展 [J]. 中国职业医学, 2006, 33 (5): 388-389.
- [3] Tang X J, Li L Y, Huang J X, et al. Guinea pig maximization test

- for trichloroethylene and its metabolites [J]. Biomed Environ Sci, 2002, 15 (2): 113-118.
- [4] 越飞, 李来玉, 梁丽燕, 等. 三氯乙烯致药疹样皮炎患者免疫功能的变化 [J]. 中国公共卫生, 2004, 20 (6): 708-709.
- [5] 夏丽华, 黄汉林, 邝守仁, 等. 三氯乙烯所致药疹样皮炎 50 例临床分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2004, 22 (3): 207-210.
- [6] 黄汉林, 李来玉, 陈秉炯. 广东省三氯乙烯职业危害新问题研究进展 [J]. 中国职业医学, 2002, 29 (3): 2-3.
- [7] Blossom S J, Doss J C, Hennings L J, et al. Developmental exposure to trichloroethylene promotes CD4⁺ T cell differentiation and hyperactivity in association with oxidative stress and neurobehavioral deficits in MRL + / + mice [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2008, 231 (3): 344-553.
- [8] 朱启星 戴丹 冯晓亮, 等. 三氯乙烯致豚鼠皮肤组织中白细胞介素-4、-6 和-8 表达的研究 [J]. 中国职业医学, 2010, 37 (1): 4-7.
- [9] 冯晓亮, 戴丹, 周承藩, 等. 三氯乙烯致豚鼠皮肤组织中 TNF- α 和 IL-1 的表达水平 [J]. 中国工业医学杂志, 2009, 22 (6): 403-406.
- [10] 戴宇飞, 牛勇, 程娟, 等. 三氯乙烯诱发豚鼠过敏性皮炎的免疫学效应 [J]. 卫生研究, 2005, 34 (1): 16-18.
- [11] 周丽, 徐新云, 李学余, 等. 三氯乙烯致豚鼠皮肤变态反应和血清免疫球蛋白水平改变 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20 (12): 3098-3100.
- [12] 越飞, 曾泽明 陈润涛, 等. 三氯乙烯药疹样皮炎患者体内补体等变化情况观察 [J]. 中国职业医学, 2007, 34 (6): 448-449.

• 短篇报道 •

老年尘肺患者院内下呼吸道感染分析

宁津红

(天津市职业病防治院, 天津 300011)

老年尘肺患者长期住院, 极易发生院内感染。由于老年人多有基础疾病, 下呼吸道感染的临床表现多不典型。为能及时诊断与治疗, 现将我院近年收治的老年尘肺病人医院内下呼吸道感染病例进行分析。

1 对象和方法

1.1 对象

2004 年 9 月—2011 年 9 月在我院尘肺科住院治疗, 发生医院内下呼吸道感染的老年尘肺患者 84 例, 年龄 60~85 岁、平均 (73.56 $\pm$ 6.24) 岁, 均为男性, 其中壹期尘肺 19 例、贰期尘肺 65 例。

1.2 方法

采用病例回顾性分析方法, 对患者临床表现、治疗及预后进行分析和总结。

1.3 诊断标准

下呼吸道感染以 2001 年 1 月卫生部颁发的《医院感染诊断标准》为标准。

1.4 统计学方法

采用 SPSS17.0 软件录入相关信息, 建立数据库, 以均数 $\pm$ 标准差表示, 并计算百分比。

2 结果

2.1 症状与体征

体温 $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ 23 例 (27.38%); 咳嗽 81 例 (96.43%); 咳粘痰 75 例 (89.29%), 其中咳黄脓痰 64 例 (76.19%), 痰中带血 3 例 (3.57%); 喘息 72 例 (85.71%); 胸痛/胸部不适 16 例 (19.05%); 神经精神症状 11 例 (13.95%); 发绀 67 例 (79.76%); 肺内干湿啰音 84 例 (100.00%); 心率加快 48 例 (57.14%); 双下肢水肿 46 例 (54.76%)。

2.2 实验室检查

WBC $> 10.0 \times 10^9/\text{L}$ 15 例 (17.86%), 中性细胞 $> 80\%$

21 例 (25.00%); 低钠/低钾 23 例 (27.38%); 肝功异常 5 例 (5.95%); 血气分析, 呼吸衰竭 67 例 (79.76%), 呼吸性酸中毒合并代谢性碱中毒 39 例 (46.43%)。痰培养可见: 肺炎克雷伯菌 12 例 (14.29%), 产酸克雷伯菌 1 例 (1.20%), 大肠埃希氏菌 5 例 (5.95%), 鲍氏不动杆菌 2 例 (2.38%), 金黄色葡萄球菌 2 例 (2.38%), 居泉沙雷菌 1 例 (1.20%), 铜绿假单胞菌 5 例 (5.95%), 产气肠杆菌 3 例 (3.57%), 阴沟肠杆菌 2 例 (2.38%), 草绿色链球菌 27 例 (32.14%), 奈瑟菌 24 例 (28.57%), 白色念珠菌 4 例 (4.76%), 酵母样菌 2 例 (2.38%)。

2.3 胸部 X 线检查

肺纹理增多或浸润性炎症阴影 84 例 (100%), 其中胸腔积液 2 例 (2.38%)。

2.4 治疗与转归

所有病人均给予抗生素治疗及持续低流量吸氧, 支气管解痉剂, 祛痰药, 注意观察疗效并根据药敏结果调整用药。心衰病人给予强心、利尿治疗, 改善心功能。注意纠正酸碱平衡失调及电解质紊乱, 低蛋白血症的补充白蛋白, 必要时给予静脉高营养治疗。84 例病人中有 6 例死于严重肺感染和呼吸衰竭。

3 讨论

老年尘肺病人多长期慢性咳嗽、咳痰, 下呼吸道感染症状易被基础疾病所掩盖, 可无发热和外周血白细胞计数增高, 有的仅表现为喘、憋气加重, 甚至是意识障碍, 而且由于组织器官的储备能力和代偿能力差, 往往病情发展迅速, 因此应及时诊断及治疗, 并严密监护。

正确选用抗生素是治疗老年患者下呼吸道感染的关键。应根据药敏结果选用敏感抗生素治疗。本组病例痰细菌学培养多为口及鼻咽部的正常菌群或条件致病菌, 可能是由于患者长期使用糖皮质激素, 反复感染, 抵抗力下降, 一些正常菌群转为条件致病菌感染。老年人常常无力咳嗽或咳嗽反射减弱, 意识障碍, 很难获取来自下呼吸道深部咳痰标本, 因此分析判断致病菌, 了解本医院致病菌流行及耐药情况, 合理选择使用抗生素尤为重要。尽管如此, 在使用抗生素前也应及时留取痰液标本, 并注意减少标本污染机会, 从而提高药敏结果准确性。老年尘肺患者发生下呼吸道感染时, 易出现呼吸衰竭、心功能衰竭, 电解质紊乱, 酸碱平衡失调, 因此在有效抗生素治疗基础上, 还要注意综合治疗及支持治疗, 提高机体抵抗力。

收稿日期: 2011-11-24