

·临床研究报道·

肺炎支原体肺炎患者外周血淋巴细胞
凋亡过程及临床意义

蒋玉红¹,张忠国²,王成²

(1. 青岛市儿科临床研究所,山东 青岛 266011; 2. 青岛市儿童医院,山东 青岛 266011)

[摘要] 目的 检测肺炎支原体(MP)肺炎患者免疫功能并探讨外周血淋巴细胞凋亡过程。方法 T淋巴细胞亚群采用间接免疫荧光法,免疫球蛋白采用免疫比浊法,细胞凋亡用吖啶橙-溴化乙锭染色法。结果 MP肺炎患者 IgG,CD4⁺,CD4⁺/CD8⁺与正常相比明显降低,均 $P < 0.05$;IgM,CD8⁺明显升高与正常对照有显著性差异,均 $P < 0.01$ 。MP肺炎患者外周血淋巴细胞凋亡率明显升高,并且体外培养时间越长,外周血淋巴细胞凋亡率越高,通过 t 检验,与正常对照相比较,有显著性差异, $P < 0.01$ 。结论 外周血淋巴细胞凋亡过度是该组患者免疫功能低下的一个重要原因。

[关键词] 肺炎支原体肺炎;淋巴细胞凋亡

[中图分类号] R518.9;R331.1⁺44 [文献标识码] B [文章编号] 1008-8830(2001)02-0543-02

肺炎支原体(MP)肺炎是儿科常见病、多发病,严重影响患者身心健康,关于MP肺炎患者的免疫功能早有研究报道,但对于外周血淋巴细胞凋亡过程的研究未见文献报道,我们自1999年至今做了此项研究工作,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

临床确诊的MP肺炎患者58例,男37例,女21例,年龄最大13岁,最小1 $\frac{4}{12}$ 岁,平均年龄6 $\frac{8}{12}$ 岁。同时设正常对照组28例,平均年龄6 $\frac{11}{12}$ 岁,其中男15例,女13例,均来自于健康儿童体检。

1.2 实验内容及方法

T淋巴细胞亚群采用单克隆抗体间接免疫荧光法,主要检测CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺,试剂购于武汉生物制品研究所。体液免疫采用免疫比浊法检测IgM,IgG,IgA,试剂购于科华生物工程公司。

外周血淋巴细胞凋亡检测法:染液:吖啶橙100 $\mu\text{g/ml}$,溴化乙锭100 $\mu\text{g/ml}$,用PBS配制混匀备用。抽3~5 ml 静脉抗凝血,一部分直接用1640培养基做淋巴细胞培养,另一部分用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞,将分离的淋巴细胞用1640培养液洗涤3次,再用1640培养液将淋巴细胞配制成 $2 \times 10^6/\text{L}$ 细胞悬液,取淋巴细胞悬液25 μl 加2 μl 染液,轻轻混匀静置10 min,取10 μl 于玻片上,荧光镜下计数200个淋巴细胞,计算出凋亡淋巴细胞的百分率。培养24 h,48 h的凋亡淋巴细胞检测同上,试剂由国家病毒所提供。

2 结果

从表1可看出,MP肺炎患者IgG,CD4⁺,CD4⁺/CD8⁺明显降低;IgM,CD8⁺明显升高与正常对照有显著性差异,从表2可以看出,MP肺炎患者外周血淋巴细胞凋亡率明显升高,并且体外培养时间越长,外周血淋巴细胞凋亡率越高,通过 t 检验,与正常对照组比较,有显著性差异。

[收稿日期] 2001-03-20; [修回日期] 2001-05-25
[作者简介] 蒋玉红(1964-),男,大学,主治医师。

表 1 MP 肺炎外周血免疫功能检测结果								($\bar{x} \pm s$)
	例数	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
正常组	28	9.85 ±0.78	1.50 ±0.23	1.39 ±0.21	61.27 ±7.73	44.51 ±6.25	29.77 ±3.45	1.3251 ±0.2371
MP 肺炎	58	8.08 ±0.41	1.44 ±0.24	1.89 ±0.37	59.57 ±7.45	31.29 ±5.63	37.46 ±6.34	0.9029 ±0.138
P		<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01

表 2 MP 肺炎外周血淋巴细胞凋亡检测结果 (%)				
项目	例数	0 h	24 h	48 h
正常对照	28	0.72 ±0.14	1.45 ±0.27	2.09 ±0.98
MP 肺炎	58	4.06 ±0.35	5.87 ±0.57	8.32 ±1.15
P		<0.01	<0.01	<0.01

3 讨论

机体内环境的平衡,有赖于体内各类细胞的免疫功能处于相对稳定状态^[1],事实上,在机体生长发育过程中,新生细胞的出现并产生与机体生长发育阶段相适应的功能同时,体内原有的、无功能的、间或有害的细胞准确地某个阶段从体内消失,即细胞凋亡^[2]。细胞凋亡的生物学特征是通过细胞自身内部死亡机制而启动发生,核酸内切酶活化,将DNA最终分解为180 bp大小的片段DNA。

细胞凋亡在体内有其固有的特征,初期表现为细胞核固缩、染色质凝固、细胞质浓缩、细胞体积缩小,但细胞结构完整;中期细胞核浓缩和片段化,细胞表面起,最终形成具有完整细胞膜包被的凋亡小体;后期凋亡小体被吞噬细胞吞噬,凋亡细胞在体内消失^[3]。

本文通过对58例MP肺炎患者外周血凋亡淋巴细胞和免疫功能检测发现,该组患者的免疫功能明显降低,主要表现为IgG,CD4⁺,CD4⁺/CD8⁺明显降低;IgM,CD8⁺明显升高,外周血淋巴细胞凋亡

率升高,并且体外培养时间越长,外周血淋巴细胞凋亡率越高,由于MP的免疫粘附性及代谢产物对淋巴细胞的免疫损伤,使淋巴细胞表达受抑,活性降低,主要以CD4⁺功能降低为主,CD4⁺产生的功能性细胞因子减少,从而引起MP肺炎患者免疫功能不平衡,抗原提呈作用减低,B淋巴细胞成熟障碍,产生抗体相对减少^[4,5],同时外来抗原MP及代谢产物也加速外周血成熟淋巴细胞的凋亡,整体淋巴细胞免疫功能降低。

总之,MP肺炎患者外周血成熟淋巴细胞凋亡加速是引起该组患者免疫功能降低、病程长、易复发的一个重要原因,应引起临床工作者的高度重视,从免疫方面入手,开辟MP肺炎患者治疗的新途径。

[参 考 文 献]

[1] Herman Steller. Mechanisms and genes of celular suicide [J]. Science, 1995, 267(12): 1445 - 1449.

[2] Craig B Thompson. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease [J]. Science, 1995, 267(12): 1456 - 1462.

[3] 刘 锰. 自身免疫与细胞程序死亡 [J]. 国外医学免疫学分册, 1995, 12(4): 197 - 199.

[4] 马少春,蒋玉红,魏强. 反复呼吸道感染患儿外周血淋巴细胞凋亡及免疫功能的相关探讨 [J]. 中国实用儿科杂志,1999, 14(2): 101 - 102.

[5] 郭峰,钱宝华,闵碧荷. 血液免疫学研究 [M]. 上海:第二军医大学出版社,1998, 4 - 28.

(本文编辑:吉耕中)