

各型麻风病人皮肤单核细胞 HLA-DR 抗原表达的研究*

赵国华** 朱思敏 吴惠茜 施钦仁

(中山医科大学病理学教研室, 广州, 510089)

提 要 应用免疫细胞化学方法观察多菌型瘤型麻风(LL)13例, 界线类偏瘤型麻风(BL)3例, 界线类麻风(BB)2例, 界线类偏结核样型麻风(BT)4例, 结核样型麻风(TT)2例以及5例正常人皮肤水泡液内单核细胞 HLA-DR 抗原表达。结果发现, 正常对照组单核细胞 HLA-DR 表达率明显高于病人组($P < 0.01$); 各病人组间 HLA-DR 表达率亦有显著性差别($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$), 其中以 LL/BL 组最低, 依次为 BB 组、TT/BT 组。提示麻风, 特别是 LL 病人对麻风杆菌缺乏特异的细胞免疫可能与病人单核细胞 HLA-DR 抗原表达减少, 影响其向 T 细胞传递抗原关。

关键词 麻风免疫; 免疫细胞化学; 组织相容抗原

中图分类号 R593.3

细胞免疫是机体对麻风杆菌的有效防御免疫。麻风, 特别是 LL 病人对麻风杆菌缺乏特异的细胞免疫力, 其机制未明, 抗原递呈细胞表达 I 类主要组织相容抗原是免疫应答中抗原递呈细胞与淋巴细胞相互作用的必要前提^[1], 抗原递呈细胞表面此类分子表达减少必将降低其抗原递呈功能, 导致免疫抑制^[11]。Nath 和 Hirschberg^[2,3] 等报道, LL 病人巨噬细胞不能有效地传递麻风菌抗原, 这是否与 LL 病人此类细胞 I 类主要组织相容抗原表达减少有关? 国外有少数研究结果不一致报道^[4~8], 迄今笔者尚未见国内有关文献报道。本文研究应用免疫细胞化学方法观察皮肤水泡内单核细胞 HLA-DR 抗原表达情况, 以探讨麻风免疫抑制的机制。

1 材料与方 法

1.1 材料来源 多菌型 LL 病人13例, 治疗时间2~24个月, 界限类偏瘤型麻风(BL)3

例, 界线类偏结核样型麻风(BT)2例, 界线类麻风(BB)4例, 结核样型麻风 TT2例。健康对照组5例。

1.2 皮肤发泡法 简述如下: 手臂掌侧皮肤固定一中间有4个直径为8 mm 的有机玻璃板, 真空泵连续负压(34~38kPa)吸引1.5~2 h, 使表皮与真皮完全分离形成4个直径约8mm 炎症水泡, 用相应大小的瓶盖保护水泡, 24 h 后抽出水泡液, 将水泡液过滤到孔径0.22 μm 的滤纸上, 冷福尔马林丙酮液固定2 min, PBS(0.01 mol/L, pH7.4)缓冲液冲洗3次, 将其剪成大小相等8块, 作免疫组化染色。

1.3 免疫染色用抗体及方法 Anti-HLA-DR 购自 DAKO 公司, 工作浓度1:100。ABC 试剂盒为 Vector 公司。常规方法染色, 3-氨基-9-乙基咔巴唑显色, 甘油明胶封片。

1.4 结果观察与分析 40倍物镜下观察滤纸5个视野内单核细胞总数量以及 HLA-DR 抗原阳性的单核细胞数量, 以阳性细胞的数

* 国家教委基金资助项目

** 第一作者, 36岁, 男, 讲师

作方差齐性检验后用方差分析方法统计。

2 结 果

红色阳性反应物定位于细胞膜(图1,2), 正常对照组 HLA-DR 阳性细胞数为 50.96%, TT/BT 组为 45.86%, 而 LL/BL 组仅为 4.73%, BB 组为 10.98%。统计分析 4 组的 HLA-DR 阳性单核数之间的差别有高度显著性($F=528, P<0.01$), 正常组对照与 LL/BL、BB 和 TT/BT 各组(q 值分别为 6.39, 5.77, 4.45, $P<0.01$), LL/BL 组与 TT/BT 和 BB 组之间差异均有高度显著性意义(q 值分别为 5.11, 4.67, $P<0.01$); BB 组与 TT/BT 组间的差异也有显著性意义($q=4.13, P<0.05$)(图3)。

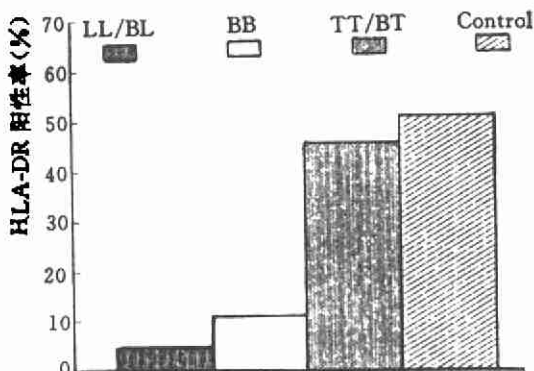


图3 各型麻风单核细胞 HLA-DR 阳性率

3 讨 论

麻风是一典型的与免疫有关传染病。机体的免疫功能不仅决定了感染后是否发病, 而且还决定其临床及病理类型。麻风病人存在免疫光谱现象, 光谱的一端为对麻风杆菌有较强细胞免疫力的 TT, 另一端为对麻风杆菌缺乏细胞免疫力的 LL, 两端之间为范围广泛的逐渐移行的连续的中间状态。产生这些现象的确切原因目前仍未清楚。Hirschberg^[2]和 Nath^[3]利用体外实验发现 LL 病人外周血淋巴细胞在存在正常人或 TT 病人单核细胞时, 能对麻风杆菌抗原刺激发生增生反应; 但 LL 病人的单核细胞不能使正常人、TT 病人以及自身淋巴细胞出现对麻风杆菌抗原刺激的增生反应。此结果一方面提示了正常人、TT 病人的单核细胞具有正常的抗原递呈能力而 LL 病人之单核细胞缺乏正常的抗原递呈功能。另一方面提示 TT 和 LL 病人的淋巴细胞都具有对麻风菌抗原应答的能力。说明了 LL 病人缺乏特异的细胞免疫可能与病人单核细胞对麻风菌抗原摄取、加工、递呈麻风菌抗原能力降低有关。究竟在哪个环节发生了异常? 本实验发现, 各型麻风病人皮肤水泡液内表达 HLA-DR 抗原单核细胞数明显低于正常人; 而且

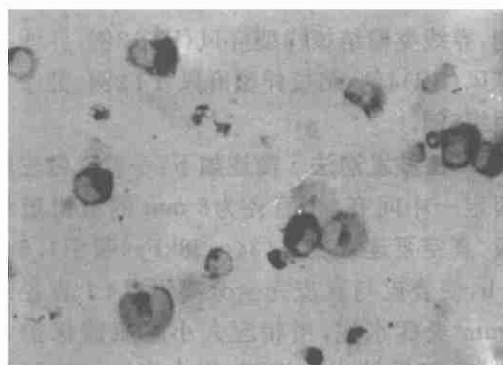


图1 TT 麻风

多数单核细胞膜表达 HLA-DR 抗原, ABC 法染色(×200)

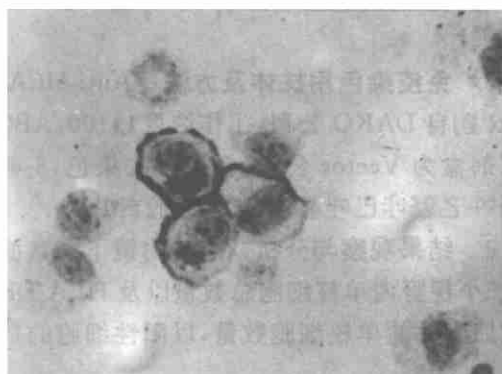


图2 LL 麻风

部分单核细胞膜表达 HLA-DR 抗原, ABC 法染色(×200)

从 TT 到 LL 病人,HLA-DR 阳性单核细胞的量逐渐减少,它们之间的差异均有显著性意义,与 Poulter 和 Collings^[4,5]的观察结果相似。HLA-DR 抗原属于 I 类主要组织相容抗原的一种,由两条糖基化的跨膜多肽链构成,主要存在于巨噬细胞、郎格罕细胞、树突状细胞等抗原递呈细胞膜以及 B 细胞表面。T 细胞对外来抗原刺激的应答,必须通过受体来识别抗原递呈细胞上 I 类抗原分子。它在免疫应答中的主要作用是与 T 细胞表面的 CD₄分子和或抗原受体结合,促进抗原的传递^[1,10],抗原递呈细胞 I 类抗原分子表达减少,不利于形成抗原、抗体、CD₄分子、I 类抗原分子复合物,造成免疫抑制。本研究结果提示麻风病人细胞免疫抑制可能与病人巨噬细胞 HLA-DR 分子表达减少,不能有效地传递麻风抗原有关。本实验还发现巨噬细胞 HLA-DR 分子减少的程度与麻风的病理类型有密切的关系,从 TT/BT 和 LL/BL 型 HLA-DR 阳性单核细胞数目逐渐减少,这一结果与麻风病人的免疫光谱现象一致,提示麻风菌感染可能影响了巨噬细胞 HLA-DR 分子的表达,但受机体内在因素的影响,免疫光谱一端的 LL 病人之巨噬细胞 HLA-DR 分子的合成受影响最大,反之,免疫光谱另一端的 TT 病人受影响较小;另一种可能是不同类型的麻风病人在感染麻风前其巨噬细胞的 I 类抗原分子表达就明显不同。从巨噬细胞 HLA-DR 抗原表达的角度部分解释了免疫光谱现象。但 Longerly, Van Voorhis, Volc-Platzer^[7~9]等人的报道与本研究不同。他们应用免疫组化法发现 LL 内芽肿内绝大多数细胞表达 HLA-DR 抗原^[7~9]。提示了 LL 病人细胞免疫缺陷并非由于缺乏 HLA-DR 抗原引起的。出现这些不一致结果的原因,一方面可能与研究的对象、实验方法不同以及不同的治疗状态有关;另一方面,免疫应答是参与免疫反应各环节的各种细胞相互之间的一系列连锁反应,涉及到免疫应答感应、效应以及调节等多个环节。LL 病人缺乏特

异的细胞免疫力也可能与免疫应答中多个环节的受损有关系。作者应用皮肤发泡法获得单核细胞,此方法操作简单、无痛、不留疤痕、易被病人接受,但此方法不能观察表皮和真皮内巨噬细胞以外的其他抗原递呈细胞,如表皮内的郎罕细胞等,故有一定的局限性。为进一步明确麻风免疫缺陷与抗原递呈细胞 HLA-DR 表达的关系,并正在应用免疫组化的方法观察不同麻风病人皮损内各种抗原递呈细胞 HLA-DR 的表达情况。

(广东肇庆市皮防所、广东泗安医院、广州市皮防所为本实验提供病例及实验场地;美国夏威夷大学医学院热带病研究室 Scollard 教授和 Chang 医生,本教研室叶玉玲教授为本实验提供部分抗体及试剂,在此表示衷心感谢)

参 考 文 献

- 1 Benacerraf B. Role of MHC gene products in immune regulation. *Science*, 1981, 212:1229
- 2 Hirschberg H. The role of macrophages in the lymphoproliferative response to mycobacterium leprae in vitro. *Clin Exp Immunol*, 1978, 34:46
- 3 Nath I, Vanrood JJ, Mehra NK, et al. Natural suppressor cells in human leprosy: the role of HLA-D-identical peripheral lymphocytes and macrophages in the in vitro modulation of lymphoproliferative response. *Clin Exp Immunol*, 1980, 42:203
- 4 Poulter LW, Colling LA, Tung KS, et al. Parasitism of antigen presenting cells in hyperbaccillary. *Clin Exp Immunol*, 1984, 55:661
- 5 Collings LA, Tidman N, Poulter LW, et al. Quantitation of HLA-DR expression by cells involved in the skin lesions of tuberculoid and lepromatous leprosy. *Clin Exp Immunol*, 1985, 61:58
- 6 Birdi TJ. The macrophages in leprosy: a review on the current status. *Int J Lepr*, 1989, 57:511
- 7 Longley J, Haregewoin A, Yemaerberhan T, et al. In vivo response to *M. leprae*: antigen presentation, interleukin-2 production, and immune cell phenotypes in naturally occurring leprosy. *Int*

- J Lepr 1986,53:385
- 8 Volc-Platzer B, Stemberger H, Luger T. Defective intralésional interferon-gamma activity in patients with lepromatous leprosy. Clin Exp Immunol, 1988, 71:235
- 9 Voorhis V, Kaplan G, Sarno EN, et al. The cutaneous infiltrates of leprosy. Cellular characteristics and the predominant T-cell phenotypes. N Engl J Med, 1982, 307:1593
- 10 Janeway CA. The role of CD4 in T-cell activation: accessory molecular or co-receptor? Immunol Today, 1989, 10:234
- 11 Janeway CA. Quantitative variation in Ia expression plays a central role in immunoregulation Immunol Today, 1984, 5:99

(1992-10-18收稿 1993-04-20修回)

STUDY OF THE HLA-DR EXPRESSION BY MONOCYTES IN THE SKIN BLISTERS OF DIFFERENT TYPES OF LEPROSY

Zhao Guohua Zhu Simin Wu Huixi
Olaf K. Skinsnes

(Department of Pathology, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

The expression of HLA-DR antigen by the monocytes within the skin blisters of 13 patients with LL, 3 BL, 4 BB, 2 BT, 2 TT and 5 normal controls was studied by immunocytochemical methods. The positive rate of HLA-DR positive reaction of monocytes in the normal group was significantly higher than in every other group of patients ($P < 0.01$). On the other hand, the expression of HLA-DR antigen by monocytes among the different groups of patients was also significantly different ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). From TT/BT to LL/BL, the expression of HLA-DR antigen decreased gradually which was consistent with the phenomenon of the immune spectrum in leprosy. Because HLA-DR antigen on the monocytes plays an important role in delivering processed antigen from monocytes to T cells, we suggested that its decrease might be one of the important reasons for cell mediated immunity depression in leprosy patients, especially LL patients.

Key words leprosy immunity; immunocytochemistry; histocompatibility antigen