

各类型麻风皮损内 T 细胞亚群的研究*

刘子君 Skinsnes, O.K. 丘钜世

(病理解剖学教研室)

何映芳 方郭锡 罗灵操

(广州市皮肤病防治所)

提 要 本文应用单克隆抗体和免疫酶标技术,分析了 30 例各类型麻风皮损(包括 TT 6 例、BT 4 例、BB 1 例、BL 6 例及 LL 13 例)内 Leu 4、OKT 4、及 OKT 8 细胞的数量及其分布特点,发现 Leu 4 细胞在 TT 数量较多,并多分布在肉芽肿周围,而在 LL 则量少而弥漫分散于病灶内。OKT 4/OKT 8 平均比值从 TT 端移行至 LL 时呈逐渐下降趋势。而 LL 的 OKT 8 细胞相对增多。TT 及 BT 尚见 OKT 4 与 OKT 8 细胞分布上呈分离现象。这些均说明 TT 及 BT 病变免疫反应较明显。本文尚发现表皮与毛囊内有 OKT 4 及 OKT 8 细胞浸润、较多见于 TT 及 BT、但 OKT 8 细胞浸润较多见于 LL,对其意义亦加以讨论

关键词 单克隆抗体 免疫酶标

麻风病是免疫缺陷疾病的一个模型。研究各类型麻风皮损内 T 细胞亚群的特点,是了解麻风免疫病理过程的重要环节。本文应用 T 细胞单克隆抗体免疫过氧化酶法进行研究,结果如下。

材料及方法

30 例新鲜麻风活动性皮炎活检,按 Ridley—Johling 麻风光谱五级分类法,TT 6 例、BT 4 例、BB 1 例、BL 6 例、LL 13 例,用 OCT 包埋剂包裹后放在液氮罐内保存。切片时先将标本解冻及置于 -20°C 恒冷切片机,连续切为 6μ 薄片放入 4°C 纯丙酮液内固定15分钟。取出切片后冷风吹干,置于 PBS 洗10分钟。用正常羊血清作用10分钟,分别加入第一抗体 Leu 4(Vector-Beckem Co) 1:40, OKT 4(Dako Co) 1:40, OKT 8(Dako Co) 1:40,于室温作用1小时。PBS 洗10分钟后,用 1:50 生物素标记羊抗鼠 IgG 二抗(Sigma Co)作用1小时, PBS 洗10分钟后,用 ABC 复合物室温下作用1小时,再 PBS 洗10分钟, AEC 液显色10分钟,水洗, Meyer 苏木素复染 2~3 分钟,甘油明胶封片。用固定的 AO 显微镜观察及计数,计数前对 AO 镜接目镜内放置一微标方格,每方格在高倍镜下为 0.62

mm^2 , 每例在病变内数 5 个格的阳性细胞。每例都要在相对应的病变处计数。得出相当于 3mm^2 病变面积内的阳性细胞数。在 TT 或 BT 组,还分别数上皮样细胞灶内及灶外的阳性细胞数。灶外应以 5 个淋巴细胞直径宽度范围内的阳性细胞数为准。

结 果

1. 各类型麻风真皮内 Leu 4(T 全细胞)细胞分布特点。不论那一类型麻风,病变内所见的淋巴细胞绝大部分为 Leu 4 细胞。TT 的 Leu 4 阳性细胞多位于上皮样细胞肉芽肿周围,但少数亦见于肉芽肿内。BT 一般 Leu 4 阳性细胞较 TT 者少,但分布在肉芽肿内似有所增加。BB 则 Leu 4 细胞分布较松散,而 BL 则 Leu 4 细胞有时呈局灶性分布。LL 则 Leu 4 细胞明显减少,分布松散。

2. 各类型麻风真皮内 Leu 4、OKT 4、OKT 8 细胞的数量比较。

从表 1 见 TT 的 Leu 4 细胞数多位于肉芽肿外周,少量位于肉芽肿内。灶周/灶内比值为 4.25。BT 的 Leu 4 细胞灶周/灶内比值为 1.99。OKT 4/OKT 8 总比值 TT 为 1.76, BT 为 1.13。

* 国家自然科学基金课题,广州市科委资助项目

表1 TT型及BT型麻风真皮内Leu4细胞、T4细胞T8细胞细胞的数量比较

例号	类型	Leu4		OKT4		OKT8		T4/T8	
		灶周 $\bar{x} \pm SD$	灶内 $\bar{x} \pm SD$	灶周 $\bar{x} \pm SD$	灶内 $\bar{x} \pm SD$	灶周 $\bar{x} \pm SD$	灶内 $\bar{x} \pm SD$	灶周	灶内
1	TT	52.3±33.8	15.5±8.7	23.3±8.7	7±3.1	16.0±1.4	2.3±1.3	1.4	2.6
2	TT	87.7±14.6	18±13	73±20.7	31±12.3	39.7±27.8	3.5±2.9	1.8	0.7
3	TT	59±43.8	16±5.7	42±21.2	6.5±2.1	27.5±7.8	3.5±2.1	1.5	2.6
4	TT	52±25.2	10.2±4.69	33.6±27.21	7.3±3.1	13±2.6	5.6±1.5	1.5	2.0
5	TT	46.3±20.5	7.8±1.5	26.4±10.2	6.5±2	11.2±9.5	2.5±0.5	1.3	2.6
6	TT	47.7±9.5	13.5±5.7	28.5±9.8	10±3.6	13.7±2.7	5.2±1.1	1.5	2.3
7	BT	15.7±3.1	12±2.5	8.8±2.4	6±1.2	3.1±1.1	5.7±0.1	1.9	0.3
8	BT	33.7±14.7	18±4.2	20.7±9.6	12±3.2	15.5±3.5	10±1.1	1.3	1.2
6	BT	35.2±8.3	8.5±2.6	23±4.2	7±1.4	11.4±2.6	4.3±1.1	1.6	1.4
10	BT	31.5±7.5	18.7±4.1	19.8±8.4	16±6.1	15.1±4.5	8±0.8	1.3	1.2

表2 BB、BL、及LL型麻风真皮内Leu4细胞、T4细胞、T8细胞的数量比较

例号	类型	Leu4 $\bar{x} \pm SD$	OKT4 $\bar{x} \pm SD$	OKT8 $\bar{x} \pm SD$	T4/T8
1	BB	15.8±4.8	10.8±5.1	9.3±5.1	1.1
2	BL	45.5±2.6	29.2±9.1	23±13.4	1.3
3	BL	45.8±4.8	20.8±6.7	26.8±1.9	0.7
4	BL	78.5±18.8	45.5±5.3	27±12.5	1.6
5	BL	40.7±16.1	28±2.71	18.7±4.9	1.4
6	BL	29.8±12.1	16.8±1.2	10.4±8.6	1.6
7	BL	44.4±13.1	24.5±8.6	20.2±13.1	1.2
8	LL	20±1.8	9.2±2.5	17.4±5	0.4
6	LL	45.5±25.5	13.5±3.1	27.4±12.9	0.5
10	LL	27.4±5.0	9.2±2.5	24.8±9.5	0.4
11	LL	16.7±4.5	8.7±2.1	19.8±12.6	0.4
12	LL	39.2±22.5	16.3±5.7	33.9±19.7	0.4
13	LL	35.5±4.9	10.3±6.4	2.45±16	0.4
14	LL	26.7±2.1	10.6±5.9	21.7±4.2	0.4
15	LL	26.8±9	10.3±6.7	13.8±4.7	0.7
16	LL	16.2±11.2	3.6±1.1	15.4±10.2	0.2
17	LL	21.4±11.7	6.6±1.3	15.5±11.1	0.4
18	LL	33.2±12.2	11.2±8.3	22.6±11.3	0.5
19	LL	20±1.8	9.2±2.5	17.4±4.9	0.5
20	LL	26.8±9	10.3±6.7	13.8±4.7	0.7

肉芽肿灶内外OKT4/OKT8比值中,TT灶周为1.4~2.5,平均为1.83;灶内为0.7~2.6,平均为1.7(图1、图2,均见封2)。BT灶周

OKT4/OKT8比值为1.0~1.6,平均为1.3;灶内0.8~1.4,平均为1.15。

从表2可见LL内Leu4、OKT4、OKT8细

细胞都少, OKT4/OKT8比值为0.2~0.7, 平均为0.45。说明OKT8细胞相对较OKT4细胞多(图3, 见插页)。BL内Leu4、OKT4及OKT8细胞较LL多, 其OKT4/OKT8比值为0.7~1.3, 平均为1.03。BB仅1例, 其OKT4/OKT8比值为1.1。

综合各类型的OKT4/OKT8总比值, 如图1。

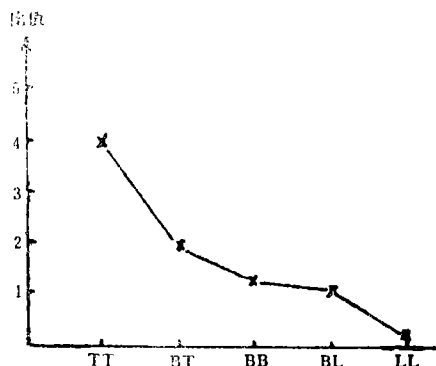


图1 各类型麻风 OKT4/OKT8 细胞总比值

从图中见OKT4/OKT8比值是由TT一端向LL一端逐渐下降, LL为最低点。

3. 表皮及毛囊内的T细胞浸润

在14例中, 我们见到表皮内及毛囊上皮细胞间有Leu4细胞浸润, 这在H-E染色下是难以发现的。其中TT阳性为66.6% (6例中4例阳性), BT阳性75% (4例中3例阳性) (图4, 见插页), LL为53.8% (13例中7例阳性)。OKT4细胞可见于各类型表皮及毛囊内。而5例OKT8细胞阳性中, 4例见于LL, 1例为TT。

讨论

巨噬细胞是麻风病变的主要成分, 在两极型间的BT、BB、及BL, 则巨噬细胞可表现由上皮样细胞过渡至麻风细胞的形态^[1]。但是, 在麻风各型免疫反应中必有淋巴细胞的参与, 故研究淋巴细胞在各亚型分布的形式及其数量上的差异, 对了解淋巴细胞如何参与麻风病变的免疫反应有重要意义。

我们^[2]曾用ANAE组化计算各类型麻风皮

损内的T细胞, 发现TT较多, LL较少, 但用此法不能区分T细胞的亚型。本文应用淋巴细胞各亚型单克隆抗体ABC免疫组化反应法, 便能清晰地了解淋巴细胞亚型的分布及数量, 求出其平均值加以对比。

Narayaman^[3]等证实T细胞在TT最多, 随着类型向LL移动T细胞也逐渐减少, OKT4/OKT8比值TT为1.2~5.0, 而LL为0.2~1.0。Modlin^[4]等报导OKT4/OKT8比值TT为2.5, BL为2, LL为0.7, 本文OKT4/OKT8比值也是TT(1.76) > BT(1.13) > BB(1.1) > BL(1.03) > LL(0.45)与前述作者报导共同点是TT型OKT4细胞明显高于OKT8细胞, 而LL则OKT8细胞相对多于OKT4细胞。OKT4细胞的增多及OKT4/OKT8比值的增大都意味着细胞免疫力的增强, OKT8细胞的增多则是细胞免疫功能低下的表现^[5]。实验性注射小鼠OKT8细胞, 也可抑制上皮样细胞肉芽肿的形成^[6]。因此LL细胞免疫功能是低下的。

TT型的OKT4及OKT8细胞分布在病灶内与周围呈分离现象。即病灶周OKT4/OKT8比值为1.83, 而病灶内为1.7。BT型灶周为1.3, 灶内为1.15。Van Maarsseu^[7]等认为这种分离现象反映区域不同免疫功能也不同。我们认为应该把这两个区看作是细胞免疫反应的互相添补区, 这种分离现象在病灶内可使OKT4细胞及巨噬细胞互相密切作用致后者发育为上皮样细胞。因巨噬细胞可表达及处理抗原, 产生IL-1激活T_H细胞, 后者分泌IL-2及一系列淋巴因子, 如MAT、MCF、MIF、及AggF等分别可使巨噬细胞分泌蛋白酶等杀灭麻风菌, 吸引更多巨噬细胞的参与, 使巨噬细胞移动受抑制而互相聚集一起等。因此OKT4细胞是积极参与细胞免疫过程。在LL则因巨噬细胞机能缺陷, 没能激活OKT4细胞, 产生IL-2极少, 而OKT8增多会抑制巨噬细胞的机能及抑制IL-2的产生, 从而不形成细胞免疫反应, 这都是LL对麻风菌抗原无反应的原因^[8]。

Rea^[9]等认为表皮内淋巴细胞浸润较多见

于BT, 而不见于LL, 认为淋巴细胞浸润与表皮Ia及Langerhans细胞的增生有联系。本文LL亦有淋巴细胞的浸润, 但较BT及TT为少见。目前已知Langerhans细胞在TT呈增生并能向淋巴细胞表达抗原^[9,10], 因此TT及BT表皮内淋巴细胞浸润较多见。OKT8细胞浸润表皮多见于LL, 我们考虑由于其可发挥其细胞毒性作用, 与LL表皮Langerhans细胞数量减少可能有关。

(在实验中还得到章星琪, 梁智, 马瑞琼, 梁凤英同志的协助, 特此感谢)

参 考 文 献

- [1] 丘钺世 刘子君. 中间类型麻风的组织病理学 中华皮肤科杂志 1981; 14:209.
- [2] 刘子君, 等. 皮肤各类型麻风病变内T淋巴细胞含量及分析. 中华医学杂志 1983; 63:23.
- [3] Narayanan RB, et al. T cell subsets in leprosy lesions; in situ characterization using monoclonal antibodies. Clin Exp Immunol 1983; 51:421.
- [4] Modlin RL, et al. In situ characterization of T lymphocyte subsets in the reactional states of leprosy. Clin Exp Immunol 1983; 53:17.
- [5] Goldstein G, et al. Immunoregulatory changes in human disease detected by

monoclonal antibodies to T lymphocytes. In McMichael, AJ. Fabre, JW. Monoclonal antibodies. Clinical Medicine. Academic Press. 1982. London p55.

- [6] Chensue, SW. et al. Modulation of granulomatous hypersensitivity: II. Participation of Ly1⁺ and Ly2⁺ lymphocytes in the suppression of granuloma formation and lymphokine production in Schistoma Mansoni infected mice. J Immunol 1981; 127:363.
- [7] Van Maarsseveen ACMTh, et al. Distribution of T-lymphocyte subsets in different portion of sarcoid granuloma. Hum Path 1986; 17:493.
- [8] Modlin RT, et al. In situ identification of cells in human leprosy granuloma with monoclonal antibodies to interleukin 2 and its receptor. J Immunol 1984; 132: 3185.
- [9] Rea TH, et al. Epidermal keratinocyte Ia expression, Langerhans cell hyperplasia and lymphocytic infiltration in skin lesions of leprosy. Clin exp Immunol 1986; 65:253.
- [10] Breathnach SM, et al. Cell-mediated immunity in cutaneous disease. Hum Path 1981; 17:161.

In Situ Characterization of T Lymphocyte Subsets in Various Types of Leprosy.

Liu Zijun Skinsnes, O. K. Qiu Jushi

(Department of Pathology)

He Yingfang Fang Guoxi Luo Lincao

(Guangzhou Skin Disease Control Clinic)

Abstract

Using monoclonal antibodies and immunoperoxidase technique, the numbers and distribution of T lymphocyte subsets in the skin lesions of various types of leprosy (including TT 6 cases, BT 4 cases, BB 1 case, BL 6 cases, and LL 13 cases) were determined and compared with each other. We found large amount of Leu 4 cells at the periphery of the TT granuloma, while the least number of this cells scattered loosely and admixed with the leprosy cells in LL. The OKT₄/OKT₈ ratio was much higher in the TT polar type, with gradually declining towards another pole of the spectrum in LL type, e. g., TT(1.76)>BT(1.1)>BL(1.03)>LL(0.45). It showed that OKT₈ cells were relatively increased in LL. The pattern of segregation of OKT₄ and OKT₈ cells at the periphery of the granuloma were shown in TT as well as in BT, but was better developed in the former. All these may reflect immunohistologically a cell-mediated immune response seen in both TT and BT. In addition, we found infiltration of OKT₄ and OKT₈ cells in epidermis as well as in the hair follicles, which were easily seen in TT and BT. Infiltration of OKT₈ cells were encountered in LL, and their significance was also discussed.

Key words Monoclonal antibodies Immunoperoxidase

正常人血液中 COHb 含量日间变化的动态观察

董胜璋 黄诺瑜

(环境卫生教研室)

黄剑文 莫素芳 林 方 谢国辉

(卫81级科研小组)

本调查对正常人血液中 COHb 与空气中 CO 浓度的日间变化进行了动态观察。

选择身体健康、不吸烟、年龄在18~22岁的大学生(男女各半)为观察对象。每观察对象分别在一天的早(7:00)中(14:00)晚(19:00)采指端末梢血液用751分光光度计直接测定 COHb 含量,于采血同时采受检者居室空气中 CO 浓度用 QGS-08 型红外线气体分析仪测定。

结果表明,血液中 COHb 男女平均浓度以中午为最高(1.33%),早(0.91%)晚(0.97%)较低。男女性别 COHb 在晚上出现差异($P<0.01$)。居室空气中 CO 浓度平均值则以晚上最高(2.25~2.62 mg/m³)、早晨次之(1.50~1.88 mg/m³)、中午最

低(0.23~1.22 mg/m³)。但均未超过一次最高允许浓度(3 mg/m³)。经统计分析表明,正常人血液中 COHb 含量在早晨与居室中 CO 浓度相关性较好而中午和晚上则较差。

以上结果提示,人体血液中 COHb 含量除受环境中 CO 浓度影响外,还受机体内在因素影响,本次测定 COHb 含量男女性别在晚上出现差异,男生>女生,可能因男生在下午进行了球赛。从本调查结果来看,一天中体内血液 COHb 含量以早晨较稳定,与空气中 CO 浓度相关性较好,中午和晚上则受较多因素影响。因此,用血液中 COHb 含量作为环境中低浓度 CO 污染的评价指标时,建议在早晨采样为好。

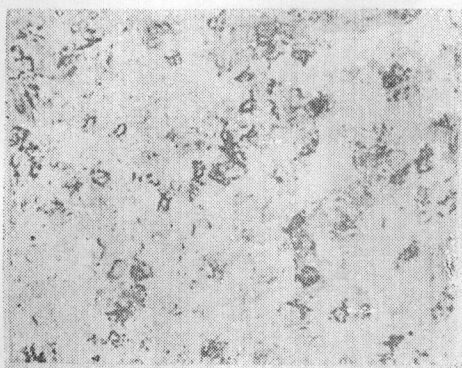


图3 LL型 OKT3 细胞数量相对较多,亦分散在泡沫细胞间 ABC 免疫酶标法 $\times 200$

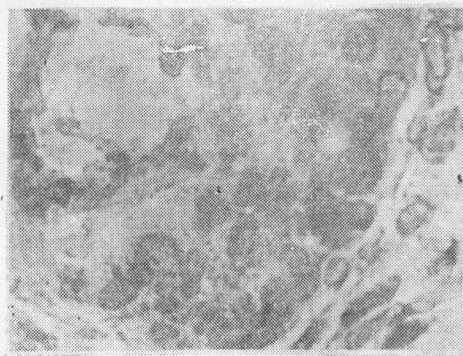


图4 BT型 OKT4 细胞在毛囊上皮细胞间浸润 ABC 免疫酶标法 $\times 300$

※

※

※

※

人雪旺氏细胞的培养及吞噬麻风菌的观察 (正文见第29页)



图1 体外培养的雪旺氏细胞呈梭形或多角形,胞突互相连接,核呈长梭形,可见核仁相差显微镜 10×10



图2 感染麻风菌72小时后的雪旺氏细胞,胞浆内吞噬多量麻风杆菌 抗酸染色 10×45



图3 雪旺氏细胞,具有多量微绒毛突起,绒毛间见一条麻风杆菌 透射电镜 $\times 10,000$

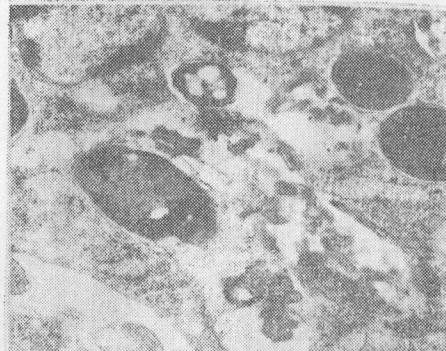


图4 雪旺氏细胞,胞浆内有多量麻风菌,菌的周围无明显的透亮区 透射电镜 $\times 15,000$

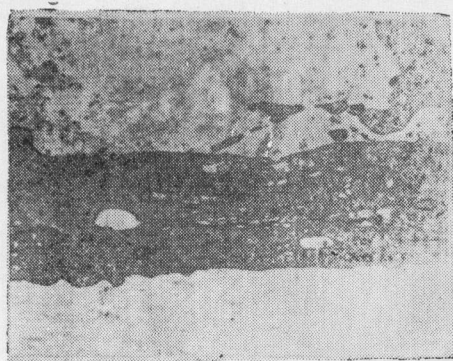


图1 与正常人关节透明软骨共培养的05772细胞，细胞长梭形，胞浆内有少许粗面内浆网及游离核糖体，线粒体及高尔基复合体，偶见微管，未见微丝，细胞未浸润软骨，软骨结构无破坏



图2 与经 MGuHCL 抽提的软骨共培养的 FB，与同正常透明软骨共培养者无明显差异，细胞也未浸润入软骨中，软骨结构无破坏

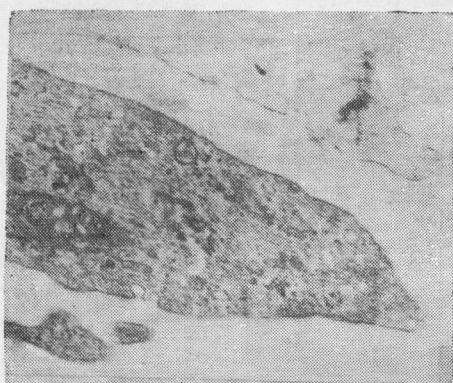


图3 微管大量出现于 OS-732 细胞插入经 5MGu-HCL 抽提的软骨中的胞突内，此处尚可见肿瘤细胞膜小凹，并有软骨基质破坏

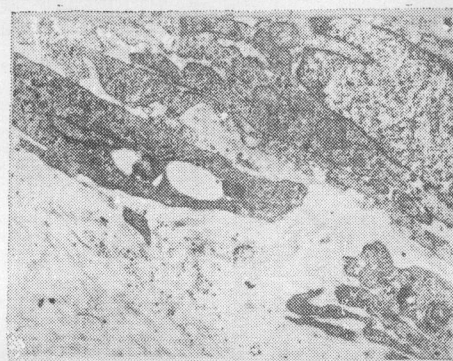


图4 被 OS-732 细胞浸润的软骨基质中，胶原纤维断裂，蛋白多糖颗粒消失，基质中出现块状电子密度高的物质

※

※

※

※

各类麻风皮损内 T 细胞亚群的研究 （正文见第24页）



图1 TT 型 OKT4 细胞分布在肉芽肿内及其外围部 ACC 免疫酶标法×480

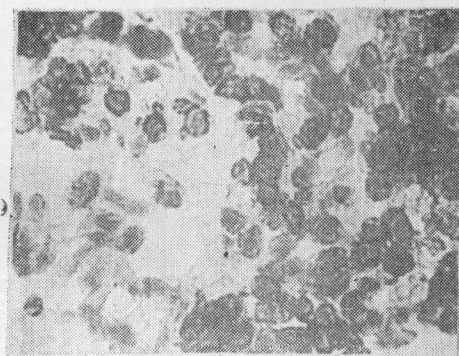


图2 TT 型 OKT8 细胞主要分布在肉芽肿的外围部 ABC 免疫酶标法×480