

免疫细胞在 SARS 病变组织中的表达及其作用

贺莉彦青袁蔚袁张庆玲袁张进华袁耿舰袁蔡俊杰袁王慧君袁第一军医大学病理教研室袁广东广州 510515 袁

摘要目的 观察并探讨免疫细胞标志物及其活化抗原在严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS) 病变组织中的表达及其在 SARS 发病中的作用。方法 采用 14 种免疫细胞标志物及其活化抗原免疫组化(DAB 及碱性磷酸酶)双染色法检测 3 例 SARS 尸检病变肺、脾、淋巴结免疫细胞及其活性表达情况。结果 病变肺、脾、淋巴结内均可见大量增生的单核巨噬细胞,部分经 CD25 标记显示阳性。活化单核巨噬细胞在病变肺组织炎症灶内可见散在的 CD45RO 阳性 T 淋巴细胞,而 Ki67 阳性的 T 淋巴细胞(活化 T 淋巴细胞)则很少表达。淋巴结内经 Ki67 及 CD45RO 双染标记的 T 淋巴细胞活化的 T 淋巴细胞散在阳性。T 淋巴细胞亚群数量均明显减少。CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞及 NK 细胞减少则更为严重。结论 单核巨噬细胞在 SARS 发病过程中活性显著增加,为主要反应细胞,而 T 淋巴细胞亚群则显著减少。单核巨噬细胞及 T 淋巴细胞可能在 SARS 发病机制中起着重要作用。

关键词 急性重症呼吸综合征 SARS 免疫组织化学 免疫细胞

中图分类号 R392.3 文献标识码 A 文章编号 1000-2588(2003)08-0774-03

Expression of immune cells and their roles in the involved tissues of SARS patients

HE Li, DING Yan-qing, WANG Wei, ZHANG Qing-ling, ZHANG Jin-hua, GENG Jian, CAI Jun-jie

Department of Pathology, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To study the expression of the immune cell markers and their active antigens in the involved tissues of patients with severe acute respiratory syndrome (SARS). Methods Specimens of the lungs, spleens and lymph nodes were obtained from autopsy of 3 SARS cases to investigate the expression of the immune cells and their activities with double immunohistochemical staining (DAB and AP) by using 14 immune cell markers and their active antigens. Results A large quantity of proliferated macrophages could be observed in the lungs, spleens and lymph nodes of the SARS patients, some of which were positive for CD25 marker (active macrophages). In the lungs of the 3 patients, localized necrosis occurred where infiltration of CD45RO(+) T lymphocytes was observed, with only scarce Ki67(+) T lymphocytes (active T lymphocytes) and B lymphocytes. In the lymph nodes, scattered T lymphocytes positive for Ki67 and CD45RO markers (active T lymphocytes) were seen, but the T lymphocyte subpopulations were obviously decreased, which was especially so with CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes and NK cells. Conclusion Significantly enhanced activity of the macrophages occurs in SARS as the major reactive cells, but T lymphocyte subsets are obviously decreased, indicating the important roles of the macrophages and T lymphocytes in the pathogenesis of SARS.

Key words: severe acute respiratory syndrome; immunohistochemical; immune cells

急性重症呼吸综合征 (severe acute respiratory syndrome) SARS 是一种以呼吸道症状为主的急性传染病。研究表明其致病主要病原体为 SARS 冠状病毒 (severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-coV)。SARS-coV 是一种有包膜的 RNA 病毒。

对人体组织损伤的机制尚不清楚。本研究应用 14 种免疫细胞标志物及其活化抗原采用免疫组化双重染色法对病变组织进行检测,以探讨免疫细胞在 SARS 发病中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 临床资料

收集广东省 3 例于 2003 年 2 月至 5 月间因 SARS 死亡病例。在第一军医大学南方医院病理科行尸体解剖的资料。例尸检病例生前均有与 SARS 病人明确接触史,均无明确的皮质激素治疗史,同时符合 SARS 的临床诊断标准。

1.2 病理制片及常规染色

取 3 例 SARS 尸体解剖肺、脾及其淋巴结,中性甲醛固定,石蜡包埋,切片,同时行 HE 染色,观察其组织学特点。

收稿日期 2003-03-18

基金项目 国家自然科学基金 SARS 紧急启动项目 30340015 军队医药卫生 SARS 专项 3F016-2 广东省 SARS 专项 D2003-80 袁

This study was an Emergency SARS Research project supported by National Natural Science Foundation of China 30340015 袁 and also received financial support from the Dedicated Fund for SARS Control of Medical Science Research Project of the Army 3F016-2 袁 and of Guangdong Province of China D2003-80 袁

作者简介 贺莉 972 袁女 袁山西忻州人 第一军医大学在读硕士研究生 袁 e-mail: HELY@fimmu.com

通讯作者 袁彦青 第一军医大学病理学教研室 电话 20-61642148 袁 E-mail: dyq@fimmu.com

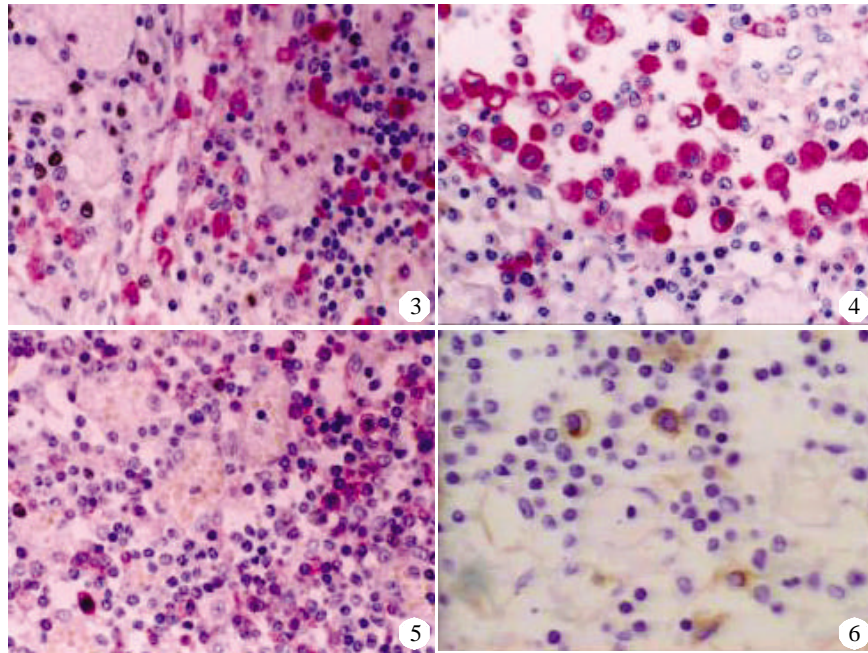


图 3 淋巴结活化的淋巴细胞及增生的单核吞噬细胞 Ki67、CD68 双显色 放大倍数 400 倍

Fig.3 Active lymphocytes and proliferating macrophages Ki67, CD68 double-staining in the lymph nodes (Original magnification: 400)

图 4 淋巴窦内单核吞噬细胞明显增生 CD68 染色 放大倍数 400 倍

Fig.4 Obvious proliferatinon of macrophages in the lymphatic sinus (CD68 stain, original magnification: 400)

图 5 淋巴结活化的 T 淋巴细胞 Ki67、CD45RO 双显色 放大倍数 400 倍

Fig.5 Active T lymphocytes Ki67, CD45RO double-staining in the lymph nodes (Original magnification: 400)

图 6 淋巴结活化的单核吞噬细胞 CD25 染色 放大倍数 400 倍

Fig.6 Active macrophages in the lymph nodes (CD25 stain, original magnification: 400)

表 1 4 种免疫细胞标志物及其活性抗原在 SARS 病变组织中表达

Tab.1 Expressions of 14 immune cell markers and their active antigens in the involved tissues of SARS patients

Marker	Lung	Spleen	Lymphnode
Ki67	-	-	+
CD3	-	-	-
CD4	-	-	-
CD8	-	-	-
CD15	++	++	++
CD16	-	-	-
CD20	-	+	++
CD25	-	-	+
CD45RO	+	+	+
CD68	++	++	++
MAC387	++	++	++
CD30	-	-	-
CD45RA	-	-	+
PCNA	+	-	+

IFN 酶而 IFN 酶可以激活巨噬细胞 本研究应用 CD15、CD68、MAC387 3 种不同抗体对 3 例尸检组织肺、脾及淋巴结标记结果均显示病变组织中的单

核巨噬细胞大量增生 部分单核巨噬细胞活性增强 CD25 阳性 而用 CD16 标记的 NK 细胞在病变组织中则很少表达 以上结果可能说明了在 SARS 病毒入侵时 病毒与单核巨噬细胞表面 CD13 受体结合 诱导单核巨噬细胞趋化 使单核巨噬细胞从静止转向活化或超活化 对病毒进行有效清除 而 NK 细胞对 SARS 病毒的防御功能可能已遭到破坏 研究结果提示单核巨噬细胞可能在 SARS 的发病机制中起到了重要作用

机体免疫系统包括细胞免疫和体液免疫 抵抗病毒感染最主要的免疫反应是特异性 T 淋巴细胞介导的细胞免疫 文献报道 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞在控制病毒的复制和传播方面起重要作用 CD8⁺ T 细胞可以聚集在病毒复制部位并破坏病毒感染细胞 诱导 CD8⁺ 毒性 T 细胞向病毒感染部位集聚和活化 单核巨噬细胞亦需要 CD4⁺ T 细胞的辅助 本研究结果显示 在不同免疫器官 B 淋巴细胞及 T 淋巴细胞亚群数目均减少 而淋巴细胞亚群的两个亚类 CD4⁺、CD8⁺ 数目减少则更为明显 淋巴细胞损耗直接说明了病毒感染的严重性 本研究结果支持丁彦

的释放量减少。低浓度的内皮性 NO 还可增加 NF- κ B 的活性。因为 NO 的减少降低氧自由基清除而氧自由基增多促使 NF- κ B 的降解，释放出 NF- κ B/Rel 体系的成分，从而刺激诸如 P-选择素基因的转录。

Davenpeck 等对大鼠微循环研究发现 NO 合成减少与 P-选择素表达有明显关系。NO 抑制剂可使 P-选择素表达增多。P-选择素可使白细胞与内皮细胞相互作用增强。左旋精氨酸和超氧化物歧化酶以及 8-溴环鸟苷酸可以减轻这种作用。由此认为 NO 自由基和环鸟苷酸参与了 NO 与 P-选择素的相互作用。本研究结果显示给予 NO 的合成底物 L-Arg 使得创伤休克时 P-选择素含量减少。可能是因为 L-Arg 促进了内皮性 NO 的合成而改善组织血供及抑制血小板聚集。白细胞浸润也从另一个方面证明了 NO 与 P-选择素之间的关系。

本研究又发现 P-选择素不仅在血管内皮细胞中表达，而且还在支气管细胞和心肌细胞中表达。这与原先的观点不同。即 P-选择素只存在于内皮细胞及血小板中。尽管其机制现在尚不清楚，但揭示了 P-选择素是创伤性休克病理生理过程中的重要因素。此外，肝脏中却没有发现 P-选择素阳性表达。可能是因为 P-选择素在肝脏中的表达较其他脏器偏弱的缘故。

我们的研究表明创伤性休克时 P-选择素的含量是升高的。这为我们治疗和改善创伤性休克方面开辟了新的途径。使用保护内皮功能的药物和促进内皮性 NO 合成的药物或 P-选择素拮抗剂可能成为治疗创伤性休克的手段。

参考文献

胡美茹, 于清宏, 沈倍奋. 选择素家族的分布及生物学功能研究进展. *免疫学杂志*, 2001, 17(3): S143-5.
Hu MR, Yu QH, Sheng BF. Recent advances of research on function and distribution of selectins. *Immunol*, 2001, 17(3): S143-5.

Eppihimer MJ, Wolitzky B, Anderson DC, et al. Heterogeneity of expression of E- and P-selectins in vivo. *Circ Res*, 1996, 79(3): 560.
Lefer AM, Lefer DJ. Pharmacology of the endothelium in ischemia-reperfusion and circulatory shock. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1993, 33: 71-90.
Gauthier TW, Scalia R, Murohara T, et al. Nitric oxide protects against leukocyte-endothelium interaction in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, 15(10): 1652-9.
Scalia R, Pearlman S, Campbell B, et al. Time course of endothelial dysfunction and neutrophil adherence and infiltration during murine traumatic shock. *Shock*, 1996, 6(3): 177-182.
Panes J, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell interactions: Molecular mechanisms and implications in gastrointestinal disease. *Gastroenterology*, 1998, 114(5): 1066-90.
Harbrecht BG, Wu B, Watkins SC, et al. Inhibition of nitric oxide synthesis during severe shock but not after resuscitation increases hepatic injury and neutrophil accumulation in hemorrhaged rat. *Shock*, 1997, 8(6): 415-21.
Marzi I, Bauer C, Hower R, et al. Leukocyte-endothelial interactions in the liver after hemorrhagic shock in the rat. *Circ Shock*, 1993, 40(2): 105-14.
Eppihimer MJ, Granger DN. Ischemia/reperfusion-induced leukocyte-endothelial interactions in postcapillary venules. *Shock*, 1997, 8(1): 16-25.
Sanders WE, Wilson RW, Ballantyne CM, et al. Molecular cloning and analysis of in vivo expression of murine P-selectin. *Blood*, 1992, 80(3): 795-800.
Davenpeck KL, Gauthier TW, Lefer AM. Inhibition of endothelial-derived nitric oxide promotes P-selectin expression and actions in the rat microcirculation. *Gastroenterology*, 1994, 107(4): 1050-8.
Armstead VE, Minchenko AG, Schuhl RA, et al. Regulation of P-selectin expression in human endothelial cells by nitric oxide. *Am J Physiol*, 1997, 273(2Pt2): H740-6.
Collins T. Endothelial nuclear factor-kappa B and the initiation of the atherosclerotic lesion. *Lab Invest*, 1993, 68(5): 499-508.
郑立新, 周晓红. 选择素研究进展. *生物医学工程学报*, 2000, 17(1): 101-6.
Zheng LX, Zhou XH. Progress of study on selectin. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Za Zhi*, 2000, 17(1): 101-6.

连接 776 页

青等人提出的免疫系统是 SARS 病毒主要攻击的靶器官的观点。

综上所述我们认为在 SARS 病毒侵入机体后，机体免疫系统遭到严重破坏，而病变组织要肺、肝、脾、淋巴结、单核巨噬细胞系统的大量增生并活化，可能提示了单核巨噬细胞在 SARS 发病机制中单核巨噬细胞扮演重要角色。单核巨噬细胞的大量增生及淋巴细胞的急骤减少二者之间的相关性及其相互作用尚有待于进一步研究。

参考文献

Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science*, 2003, 300(5624): 1377-8.
Kontoyiannis DP, Pasqualini R, Arap W. Aminopeptidase N inhibitors and SARS. *Lancet*, 2003, 361(9368): 1558.
Huber VC, Lynch JM, Bucher DJ, et al. Receptor-mediated phagocytosis makes a significant contribution to clearance of influenza virus infections. *Immunol*, 2001, 166: 7381-88.
丁彦青, 王慧君, 申洪, 等. 严重急性呼吸综合征临床病理学观察. *中华病理学杂志*, 2003, 32(3): 195-200.
Ding YQ, Wang HJ, Shen H, et al. The clinical pathology of severe acute respiratory syndrome. *Chin J Pathol*, 2003, 32(3): 195-200.