基础研究 文章编号:0253-3626(2009)12-1683-02

血栓闭塞性脉管炎患者血管壁的免疫病理学研究

郭 轶,代远斌
(重庆医科大学附属第一医院血管外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:对血栓闭塞性脉管炎(Thrombaogiitis obliterans,TAO)患者的病变血管进行免疫病理学研究,以探讨血管壁的免疫损伤与 TAO 发病之间的关系。方法:以我院 2005~2007 年 29 例因 TAO 导致肢体坏死行截肢术的患肢血管为病例组,以我院同期 32 例因其他病因行截肢术的患肢血管为对照组,均以免疫组化 SP 法进行 CD_3、CD_{20} 染色,对阳性细胞数进行定量分析并与临床资料进行相关探讨。结果:TAO 组中 CD_3(+)、CD_{20}(+)细胞平均数较对照组均明显增高,两组间有显著差异($P<0.01$)。TAO 组中 CD_3(+)细胞平均数高于 CD_{20}(+)细胞平均数,两者间有较显著差异($P<0.05$)。结论:TAO 的发病与患者血管壁的免疫损伤关系密切,CD_3(+)细胞直接引起的免疫损伤在血管壁的免疫损伤中起更重要的作用。

【关键词】血栓闭塞性脉管炎;免疫病理学;血管壁
【中国图书分类法分类号】R36;R392 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-04-22

Immunopathology investigation of vascular wall of patients with thromboangiitis obliterans

GUO Yi, et al
(*Department of Vascular Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To approach the relationship between immunologic injury of vascular wall and thromboangiitis obliterans (TAO) by immunopathology investigation of vascular wall of patients with TAO. *Methods*: The vascellums of the affected limbs of 29 patients with TAO treated in our hospital from 2005 to 2007 were case group. The vascellums of the affected limbs of 32 patients with other diseases were control group. CD_3 and CD_{20} cells were detected in surgical specimens from 29 cases of TAO and 32 cases of other diseases by immunohistochemical staining with streptavidin-horseradish peroxidase detective system. *Results*: The number of CD_3 and CD_{20} positive cells of TAO group were much higher than that of control group ($P<0.01$). In TAO group, the number of CD_3 positive cells were higher than the number of CD_{20} positive cells ($P<0.05$). *Conclusion*: The relationship between immunity diversity and TAO is close. Immunity diversity caused by CD_3 positive cells plays a significance role in TAO.

【Key words】Thromboangiitis obliterans(TAO); Immunopathology; Vascular wall

血栓闭塞性脉管炎(Thrombaogiitis obliterans,TAO)是一种累及血管的炎症性,闭塞性和周期发作的慢性病变,主要侵犯四肢远端的中小动静脉,尤其是下肢血管。病因虽不十分清楚,吸烟可能是其诱因,近年的研究证明了血管壁免疫损伤及免疫炎症在该病的发生、发展过程中起着重要的作用。本研究对 TAO 患者血管壁进行 HE 染色及 CD_3 和 CD_{20} 免疫病理学染色,用光学显微镜观察,并与对照组的观察结果作比较研究,现报告如下。

作者介绍:郭 轶(1982-),男,硕士,
研究方向:血管外科。
通讯作者:代远斌,男,副教授,E-mail:dyb630611@163.com。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本分组 (1)TAO 组:29 例,为我院 2005~2007 年因 TAO 导致肢体缺血坏死行截肢术的手术标本(均为下肢),术前均行 CTA 或 DSA 检查明确诊断,术后病理学检查证实。29 例均为男性,年龄 19~41(平均 28.9±4.8)岁,吸烟史 5~20(平均 11.9±3.5)年。其中足背动脉 16 例,胫前动脉 8 例,胫后动脉 5 例。(2)对照组:32 例,为我院同期 32 例因其他病因行截肢术的手术标本,其中骨肉瘤 16 例,动脉硬化性闭塞 12 例,外伤 4 例。男 21 例,女 11 例,年龄 18~76(平均 40.4±19.2)岁。其中足背动脉 11 例,胫前动脉 10 例,胫后动脉 8 例,股动脉 3 例。

1.1.2 试剂 免疫组化 SP 试剂盒,一抗鼠抗人 CD_3、CD_{20} 单

抗(即用型)均为北京中杉金桥公司产品。

1.2 方法

每例标本分别进行两种处理:① 常规切片 HE 染色复查诊断;②用于免疫组化染色的标本切片按免疫组织化学 SP 法处理。并设立对照:以已知淋巴结阳性切片为 CD_3、CD_{20} 阳性对照;以 PBS 液代替第一抗体为阴性对照。

1.3 结果判定

CD_3、CD_{20} 以细胞膜及细胞浆内出现棕黄色信号为阳性细胞。随机观察至少 10 个高倍镜(10×40)视野,算出 1 个高倍镜视野中细胞平均数。

1.4 统计学分析

应用 SPSS11.0 统计软件对数据进行 t 检验,以 $P\leqslant 0.05$ 判为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HE 染色切片观察

TAO 组患者血管壁明显增厚,以内膜增生为主。内皮细胞及内皮下纤维层有部分增生。胶原纤维排列紊乱,稀疏不匀。内弹力膜不规则,粗细不均,有的断裂,有的消失。在纤维层可见少量由中膜游走来的平滑肌细胞。中膜广泛纤维化,平滑肌细胞排列紊乱。外膜也有较明显的增生。增生的内膜中可见明显的淋巴细胞浸润,中膜及外膜未见大量炎性细胞浸润。而对照组血管结构基本正常。

2.2 阳性细胞的分布

CD_3(+)、CD_{20}(+)细胞呈圆形或者椭圆形。正常血管壁组织中,无或极少有 CD_3(+)、CD_{20}(+)细胞的分布,TAO 患者血管壁可见大量 CD_3(+)、CD_{20}(+)细胞分布,主要集中在增生的血管内膜层,内弹力膜以下的血管中膜肌层及外膜层均未见明显的 CD_3(+)细胞分布。其中 CD_3(+)阳性细胞分布更接近内皮细胞(如图 1);CD_{20}(+)细胞更接近于内弹力膜,中膜可偶见少量 CD_{20}(+)细胞分布(如图 2)。

2.3 阳性细胞计数结果

CD_3(+)、CD_{20}(+)细胞平均数 TAO 组明显高于对照组,两组相比差异有显著性($P<0.01$);TAO 组中 CD_3(+)细胞平均数高于 CD_{20}(+)细胞平均数,两者间有较显著差异($P<0.05$)(见表 1)。

表 1 不同组别 CD_3(+)、CD_{20}(+)细胞计数

组别	例数	CD_3(+)	CD_{20}(+)
TAO 组	29	40.7 ± 4.9*	13.1 ± 2.2**
对照组	32	1.3 ± 0.9	1.0 ± 0.8

与 TAO 组比较 *$P<0.01$,**$P<0.01$ TAO 组间比较 $P<0.05$



图 1 TAO 组血管壁 CD_3(+)细胞的分布

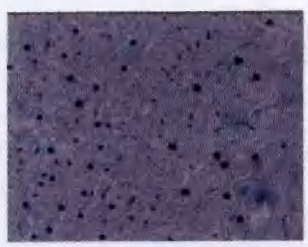


图 2 TAO 组血管壁 CD_{20}(+)细胞的分布

3 讨 论

T 淋巴细胞、B 淋巴细胞及其亚群是机体免疫系统的主要组成部分,其中 T 淋巴细胞除直接介导细胞免疫功能外,对机体免疫应答的调节也起关键作用;B 淋巴细胞主要介导体液免疫。近年来研究认为 TAO 是一种自身免疫性疾病,其活动期病人主要表现为细胞免疫功能低下而体液免疫亢进[1]。其免疫功能混乱由以 T 淋巴细胞功能混乱为主,特别在血管壁的直接免疫炎症和免疫损伤中起显著作用[2]。本实验先以切片观察证明免疫损伤为 TAO 发病的主要原因,损伤部位以血管内膜为主。并 CD_3(+)标记 T 淋巴细胞,以 CD_{20}(+)标记 B 淋巴细胞进一步探讨细胞免疫和体液免疫在 TAO 发病的作用。

我们的实验表明 TAO 患者动脉壁的浸润细胞中 CD_3(+)的 T 淋巴细胞数目明显多于 CD_{20}(+)的 B 淋巴细胞。两种细胞的分布主要集中在增生的内膜层,中膜及外膜层分布较少。两种细胞在内膜层的分布存在差异,CD_3(+)的 T 淋巴细胞分布更接近内皮细胞;CD_{20}(+)B 淋巴细胞分布更接近于内弹力膜层。该分布差异可能与 TAO 患者的病理基础为多种免疫损伤及 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞功能不同有关:①T 淋巴细胞介导的细胞免疫失调,主要表现在 T 细胞亚群功能失调为主。抑制性 T 淋巴细胞(TS)功能降低,使机体免疫系统对自身抗原易于发生免疫应答,引起体液免疫亢进,导致和加重免疫复合物的损伤;效应 T 淋巴细胞(TE)和细胞毒 T 淋巴细胞(TC)细胞功能相对亢进,可能直接参与机体的自身免疫反应,造成血管壁损伤[3]。临床表现有浅静脉炎发作,及活动期病变处有淋巴细胞浸润等迹象。这种炎症主要引起内皮细胞病变,可能导致 CD_3(+)的 T 淋巴细胞分布更接近内皮细胞。②B 细胞介导的体液免疫功能亢进,体液免疫测定结果也表明 TAO 患者血清中的免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM 和多种免疫复合物[抗磷脂蛋白抗体、抗内皮细胞抗体、抗中性粒细胞抗体等]明显高于正常值[4-7]。体液免疫亢进及抑制性 T 淋巴细胞(TS)功能降低双重作用加重了血管壁的免疫复合物损伤。研究表明[8]TAO 患者血管壁的免疫复合物主要沉积在内弹力膜下及中膜,可能导致 CD_{20}(+)的 B 淋巴细胞分布更接近于内弹力膜,中膜也可偶见少量 CD_{20}(+)的 B 淋巴细胞分布。

综上,TAO 是一种多免疫因素参与的自身免疫疾病,其特异表现为中小动静脉的非特异性免疫炎症及血管腔的血栓性闭塞。非特异性炎症主要由 T 淋巴细胞介导的直接免疫损伤及其抗免疫复合物损伤作用降低导致。血管腔的血栓性闭塞主要由 B 淋巴细胞介导的体液免疫亢进及红细胞免疫功能异常[9]导致,但血管损伤也会加速血栓的形成。CD_3(+)T 淋巴细胞直接引起的免疫损伤在 TAO 患者血管壁的免疫损伤中起关键的作用,对免疫复合物的损伤也有促进作用并加速血栓形成;故 T 淋巴细胞引起的血管壁的免疫损伤对 TAO 患者的发病起更重要作用。新的免疫调节药物及靶向治疗药物的临床应用可能为 TAO 的治疗开启新的篇章。

基础研究 文章编号:0253-3626(2009)12-1685-04

过氧化氢酶与甲基强的松龙对实验性脱髓鞘性视神经炎的抑制作用

简 嘉[1],李平华[2]

(1.重庆医科大学附属第二医院眼科,重庆 400010;2.重庆医科大学附属第一医院眼科,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究活性氧簇清除剂过氧化氢酶(Catalase,CAT)及甲基强的松龙(Methylprednisolone sodium succinate,MP)琥珀酸钠对实验性脱髓鞘性视神经炎的作用及其机制。方法:将致敏大鼠分别以 Catalase、生理盐水 (Physiologic saline,PS)及 MP 琥珀酸钠腹腔注射后分别于抗原致敏后第 7 d 及 14 d,通过 H_2O_2 测定、病理图像分析、细胞组织超微结构分析等方法研究 CAT 及 MP 对实验性变应性视神经脊髓炎(Experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)大鼠视神经炎症损伤的作用。结果:EAE 大鼠视神经 H_2O_2 含量较正常大鼠高,CAT 和 MP 能减少 EAE 大鼠视神经 H_2O_2 含量,减轻炎症反应,抑制视神经的脱髓鞘,但 MP 对 H_2O_2 清除作用及髓鞘损害的保护作用较 CAT 弱。结论:H_2O_2 可能和脱髓鞘性视神经炎的发病有一定关系。

【关键词】过氧化氢酶;甲基强的松龙;视神经炎;脱髓鞘

【中国图书分类法分类号】R 774.61 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-05-26

The suppessive effects of catalase and methylprednisolone sodium succinate on experimental demyelinating optic neuritis

JIAN Jia, et al

(*Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the pathogenesis of active oxygen scavenger (catalase, CAT) and methylprednisolone sodium succinate (MP) on experimental demyelinating optic neuritis. *Methods*: The expenimental rats received intraperitoneal injections of CAT, physiologic saline (PS) and MP after antigenic sensitization. On day 7th and 14th after antigenic sensitization, H_2O_2 measurement, patho-image analysis, and histiocyte ultrastructure analysis were applied to study the effects of CAT and MP on experimental demyelinating optic neuritis. *Results*: The concentration of H_2O_2 in optic nerves of experimental demyelinating optic neuritis was higher than that in the normal optic nerves. CAT and MP can reduce not only the content of H_2O_2 in optic nerves of EAE rats, but also the number of inflammatory cells and reactive astroglial cells, the extent of demyelination in the retrobulbar optic nerves .But the effect of MP on H_2O_2 scavenging and myelin protection was weaker than that of CAT. *Conclusion*: H_2O_2 may has some relationship with the occurrence of experimental demyelinating optic neuritis.

【Key words】Catalase; Methylprednisolone; Optic neuritis; Demyelination

作者介绍:简 嘉(1980-),女,硕士,
研究方向:视神经炎。

通讯作者:李平华,男,教授,E-mail:yanke1021@sina.com。

参 考 文 献

[1] 唐 博,罗文军.血栓闭塞性脉管炎发病机制的研究进展[J].国外医学外科学分册,2004,31(5):295-298.

[2] Kobayashi M, Ito M, Nakagawa A, et al. Immunohistochemical analysis of arterial wall cellular infiltration in Buerger's disease[J]. J Vasc Surg, 1999, 29(3): 451-458.

[3] 于爱莲,李新华,邓 文,等.血栓闭塞性脉管炎患者 T 细胞亚群的改变[J].泰山医学院学报,1994,14(4):276-277.

[4] 于爱莲,张丰雪,牟爱莉.血栓闭塞性脉管炎患者血清补体溶解免疫复合物作用的研究[J].中国实验临床免疫学杂志,1999,9(3):30-32.

[5] 王俊英,蒋米尔,薛 莲,等.血栓闭塞性脉管炎患者抗磷脂蛋白抗体检测及意义[J].上海医学,1997,20(5):280-282.

[6] Eichhorm J, Sima D, Imdschu C, et al. Antiendothelial cell antibody in thrombaogiitis obliterans[J]. Am J Med Sci, 1998, 315(1): 17-23.

[7] Halacheva K S, Manolova I M, Petkov D P, et al. Study of anti-neutrophil cytoplamic antibody in patients with thrombaogiitis obliterans (Buerger's disease)[J]. Scand J Immunol, 1998, 48(5): 544-550.

[8] 崔新明,陈 越,潘 力,等.血栓闭塞性脉管炎血管中膜免疫复合物沉积的电镜观察[J].白求恩医科大学学报,2001,27(4):379-380

[9] 伏祥茂,景在平,郭 峰.血栓闭塞性脉管炎患者红细胞免疫功能及调节因子的研究[J].上海医学,1997,20(7):403-404.

(责任编辑:冉明会)