维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2004)04-0509-02

结核性胸液淋巴细胞行为的单细胞定量研究

周向东,李升锦,兰 箭

(重庆医科大学第二临床学院呼吸内科,重庆 400010)

【摘 要】目的:为探讨结核性胸液淋巴细胞行为的特点及在病理过程中的意义。方法:采用单细胞微管吸吮技术,分别检测正常人外周血淋巴细胞、结核性胸膜炎患者外周血淋巴细胞、胸液中淋巴细胞与肺血管内皮细胞的粘附特点。结果:结核性胸膜炎患者外周血淋巴细胞的粘附性(2.83±0.43Pa)较正常人(1.21±0.25Pa)明显增强,但结核性胸液中淋巴细胞的粘附性(1.67±0.39Pa)却与正常人无明显差别。结论:结核性胸膜炎患者外周血淋巴细胞处刺激激活状态,其粘附性升高有利于贴壁向血管外游走进而向胸膜腔渗出。结核性胸液中淋巴细胞粘附性呈现正常水平可能系由于胸液中高浓度游离型上皮来源的粘附分子将其表面表达的粘附分子饱和的缘故。此现象提示胸液中的淋巴细胞,不易回吸收,其去除多以凋亡方式,最好籍助外力清除(胸穿抽液)。

【关键词】结核性胸膜炎;淋巴细胞;细胞行为

【中国图书分类法分类号】R318.51 【文献标识码】B 【收稿日期】2003-09-16

Monocellular quantitative analysis on cellular behavior characteristics of lymphocyte in tuberculous effusion

ZHOU Xiangdong, et al

(*Department of Respiratory Diseases, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To evaluate the cellular behavior characteristics of the lymphocyte in tuberculous pleural effusion. *Methods*: Micromanipulation technique was used to detect the adhesive ability of normal human peripheral blood lymphocytes, the peripheral blood lymphocytes and the lymphocytes in pleural effusion from patients with tuberculous pleurisy to pulmonary endothelial cells respectively. *Results*: The adhesive force (2.83±0.43, Pa) of peripheral blood lymphocytes in patients with tuberculous pleurisy was significantly higher than that in normal person(1.21±0.25, Pa), but there was no obvious increase of adhesive ability(1.67±0.39, Pa) in the lymphoeytes in pleural effusion. *Conclusion*: The peripheral blood lymphocytes from patients with tuberculous pleurisy is in the active state. Its high adhesive ability is helpful for its keeping close to wall, travelling through wall and exuding into pleural cavity. The normal level adhesive ability of lymphocytes may be owing to the high concentration of dissociating adhesive molecules in pleural effusion from epithelium which saturate the adhesive molecule on the surface of lymphocytes in tuberculous effusion. This implys that the lymphocytes in tuberculous pleural effusion can not be reclaimed easily. They are often wiped off by apoptosis or by thoracocentesis.

【Key words】Tuberculous pleurisy; Lymphocyte; Adhesion

淋巴细胞是结核性胸液形成的主要效应细胞,由于淋巴细胞从外周循环向胸膜腔的游走首先以贴壁滞留为第一步,故其粘附性是反映其功能特点的重要标志,相应地也同样反映其在胸水中的活动状态[1]。目前对于细胞粘附性的检测已有了成熟的单细胞定量方法,其中以细胞微管吸吮技术最为先进和优越。本研究对照观察结核性胸膜炎患者胸液中淋巴细胞和外周血淋巴细胞粘附性的各自特点,旨在进一步探讨淋巴细胞参与胸膜结核性炎症反应的细胞学机制。

作者介绍:周向东(1963-),男,教授,博士生导师,
主要研究方向:慢性呼吸道炎性疾病粘液高分泌的发生和干预研究。

1 对象与方法

1.1 对象

正常对照用外周血淋巴细胞来自健康献血员,共 8 名,男 5 名,女 3 名,年龄 22~31 岁,要求无吸烟者。结核性渗出性胸膜炎患者 19 例,其诊断均经胸膜活检病理检查证实,其中男 13 例,女 6 例,年龄 19~37 岁。患者尚未使用任何

维普资讯 http://www.cqvip.com

药物时首次胸穿所取胸液作为胸液淋巴细胞来源，同时所抽静脉血为外周血淋巴细胞来源。

1.2 胸液中淋巴细胞的分离采集

观察对象胸穿抽液所得胸水 20ml 或外周血 6ml，加入含 2.7%乙二胺四乙酸的离心管，1000r/min 离心 10min，吸取富含白细胞的上层膜，加于淋巴细胞分离液（华美公司分装）行水平离心，取中间单个核细胞重悬于含 10%小牛血 RPMI1640 培养液得淋巴细胞悬液，经涂片染色分类见淋巴细胞达 96%，台盼蓝染色活细胞比＞98%。

1.3 淋巴细胞粘附性的检测[2]

取自制圆形小腔，用硅胶粘于薄玻片上，紫外线消毒后，将传代良好的血管内皮细胞接种于其中，待细胞长满腔底时，将待测淋巴细胞加于其中，控制加入量少于内皮细胞数的 1/5。采用细胞微管吸吮系统，经拉针、灌针、置针、调零后，调节针位使针尖刚刚接触粘附于内皮细胞表面的淋巴细胞，从低压力开始加负压并操作推进器，观察在此负压下能否拉离该淋巴细胞，如不能则继续加大负压，直至找到拉离该细胞的最小负压值，同此过程每份样本连续测 10 个以上细胞取均值。细胞的粘附性以临界分离应力 Sc 表示：$Sc=2(Rp/Ri)^2Pc$。其中 Rp 为微管半径，Ri 为两细胞接触面半径，Pc 为最小负压值。

1.4 统计学处理

采用两组间均数 t 检验。

2 结 果

正常人外周血淋巴细胞的临界分离应力 Sc 为 1.21±0.25(Pa)，结核性胸膜炎患者外周血淋巴细胞 Sc 为 2.83±0.43(Pa)，与正常人相比较有非常显著差别（$P<0.01$）。结核性胸液淋巴细胞 Sc=1.67±0.39(Pa)，与正常人外周血淋巴细胞无显著差别。

3 讨 论

当结核菌侵犯胸膜时，结核菌膜抗原和分泌蛋白抗原募集大量淋巴细胞进入胸膜腔，引发强烈特异性炎症反应，致胸膜充血、水肿及液体渗出，从而形成显著的胸腔积液[3]。外周血淋巴细胞进入胸膜腔的过程可简要归述于下述步骤：外周血淋巴细胞受结核抗原刺激以及其它抗原呈递细胞转导信号的激活→胞内粘附分子分子 CD11b/CD18 转位于膜表面→与血管内皮细胞表达的配体细胞间粘附分子结合性增高→贴壁、滞留→穿越内皮细胞间隙→进入胸膜腔→随胸液游走[4]。

本研究显示结核性胸膜炎患者外周血淋巴细胞粘附性明显增强，说明其处于刺激激活的高粘状态，有利于细胞贴壁向胸膜腔渗出。令人不解的是同处于刺激激活状态的胸液淋巴细胞却不具备高粘附性，其原因考虑可能系细胞穿越内皮时细胞间粘附分子的消耗，亦或是胸液中过高浓度的游离型细胞间粘附分子将其表面粘附分子饱和结合的缘故。此现象当然一方面极有利于淋巴细胞随胸液游走；另一方面也提示我们，胸液淋巴细胞既已游走于胸液，则难以再回吸收入外周循环，其清除只能籍凋亡方式或借助外力，此也进一步说明了结核性胸膜炎患者治疗中胸穿抽液和使用皮质激素促进淋巴细胞凋亡的必要性[5]。

参 考 文 献

[1] Mariscaico MM. Leucocyte and inflammatory response [J]. Crit Care Med, 1993;21(11):5347－5355.

[2] 周向东，龙 勉. 采用细胞微管吸吮系统对细胞粘附性的单细胞定量测量[J]. 生物技术，1996;6(1):35－36.

[3] Miserocchi G. Physiology and pathophysiology of plearal fluid turnover[J]. Eur Respir J, 1997;10(2):219－225.

[4] Sung P, Kuhlamn P, Maldonado F, et al. Force contribution of the LEF－1/ICAM－1 complex to T cell adhesion[J]. J Cell Sci, 1992;103(1):25.

[5] 周向东，黄 勇. 糖皮质激素对肺部炎性效应细胞凋亡作用的异质性[J]. 中华结核和呼吸杂志，1998;24(3):224－226.