DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.14.029
第26卷第14期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 14
2004年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2004

文章编号:1000-5404(2004)14-1295-03

论著

体液免疫在SARS发病机制中的作用

赖晃文[1],赖日权[2],田 野[2],杨传红[1],张 伟[2],冯晓冬[2],王卓才[2] (广州军区广州总医院:[1]医学实验科,[2]病理科,广州 510010)

提 要:目的 探讨体液免疫在严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)发病机制中作用。方法 应用光镜、电镜观察SARS尸检和1例肺穿刺活检组织的病理形态变化;用免疫组化及组织化学方法检测组织自身抗体及免疫复合物。结果 SARS患者肺组织呈弥漫性重度损伤,肺气-血屏障结构严重破坏,血管内皮细胞损伤;多脏器血管纤维素样坏死,广泛免疫器官损伤及多个器官病变组织存在大量的自身抗体和免疫复合物。电镜下见血管基膜、肾小球系膜区电子致密物沉积。结论 SARS的组织损伤不仅是病毒直接损伤组织,而且伴有机体过度免疫反应,形成免疫复合物型变态反应,提示体液免疫在组织损伤中起重要作用。

关键词:严重急性呼吸综合征;体液免疫;病理学
中图法分类号:R392.11;R512.99 文献标识码:A

Study on mechanisms of humoral immunity in SARS

LAI Huang-wen[1], LAI Ri-quan[2], TIAN Ye[2], YANG Chuan-hong[1], ZHANG Wei[2], FENG Xiao-dong[2], WANG Zhuo-cai[2]
([1]Department of Medical Experiment, [2]Department of Pathology, General Hospital, Guangzhou Military Area Command, Guangzhou 510010, China)

Abstract: Objective To explore the roles of humoral immunity in severe acute respiratory syndrome (SARS). Methods The pathological changes in the SARS autopsy case and a case of lung puncture were observed by light microscopy and electron microscopy. The autoantibody and immune complexes in the sample tissues were detected by immunohistochemical staining and histochemical staining. Results There were severely diffusive damages in the lungs. The endothelial cells in blood were injured. Fibrinoid necroses of blood vessels were observed in several organs and injury of immune organs and massive autoantibody and immune complexes were found in pathologically changed tissues. Electron-dense deposits were observed in the basement membrane of blood vessels and mesangial matrix of glomerulus by electron microscopy. Conclusion The SARS viruses not only cause direct damages to the tissues but also lead to immune complex-mediated hypersensitivity which in turn gives rise to a large number of tissue lesions. This indicates that the humoral immunity plays an important role in the process of organ damages.

Key words: SARS; humoral immunity; pathology

SARS是近期一种新的急性重度呼吸道传染性疾病。已经初步证实病原体为冠状病毒。本病所表现的肺部快速进行性严重病变和伴随多脏器急性损伤,以及病程短、死亡率高的特点,提示SARS病毒有可能刺激机体产生过度的免疫反应,导致剧烈的免疫损伤。为此,我们应用免疫病理技术及电镜观察,探讨体液免疫在SARS的组织损伤中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病例1及临床资料见报道[1] 病例2,SARS患者,男性,28岁,发病后第8天的肺穿刺活检;5例SARS病人血清(急性期3人,恢复期2人);昆明小鼠1只(广州军区广州总医院实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK军2002-010)。

1.1.2 血清学检查 2例SARS血清样品经广州市疾病预防控制中心、广州呼吸疾病研究所、广州军区广州总医院检验科采用IFA及用ELISA方法检测,明确2例SARS患者血清中存在特异性抗体IgG、IgM阳性。

1.2 方法

1.2.1 光镜样品制备 SARS尸检组织肺、心、肝、肾、脾、淋巴结和SARS肺穿刺组织经10%中性甲醛固定,石蜡包埋,连续切片,HE染色,光镜观察。

1.2.2 电镜样品制备 上述标本经3%戊二醛固定,1%锇酸后固定,乙醇梯度脱水,Epon812树脂浸透、包埋,超薄切片经铀-铅双染后,日立H-600透射电镜观察。

1.2.3 组织化学染色 六胺银和刚果红染色[2]。

1.2.4 免疫病理 ①自身抗体检测:采用间接免疫荧光技

作者简介:赖晃文(1956-),男,广东省兴宁市人,主任医师,副教授,主要从事肿瘤及病毒病理诊断和超微结构研究,发表论文16篇。电话:(020)36224950

收稿日期:2004-05-09;修回日期:2004-06-21

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

术，将昆明小鼠处死后，取肺、心、肝、脾、肾及胸腺组织，冰冻切片，冷丙酮固定；5份SARS病人血清，分别作为一抗与小鼠冰冻切片孵育，羊抗人IgG荧光抗体(DAKO公司产品)孵育，0.01 mol/L PBS (pH 7.2)漂洗，缓冲甘油封片，Nikon E-600型荧光显微镜观察。②免疫复合物检测：SARS尸检组织肺、心、肝、肾、脾和淋巴结组织，石蜡切片经脱蜡水化后，用FITC标记的免抗人IgG、IgM、IgA、C3和F抗体(DAKO公司产品)与切片孵育30 min，0.01 mol/L PBS (pH 7.2)漂洗，缓冲甘油封片，Nikon E-600荧光显微镜观察。上述组织作免疫组化染色(EnVision法)，一抗为免抗人IgG、IgM和IgA，(DAKO公司产品)。

2 结果

2.1 光镜观察

除肺、脾、肝、肾、心、淋巴结基本病变同前报道[1]外，病变肺组织的小血管管壁明显增厚，有的呈纤维样坏死，血管内皮细胞肿胀、脱落，血栓形成或高度充血，血管周围局部组织坏死，肺泡腔充满大量的蛋白样物质，广泛透明膜形成，肺泡上皮细胞脱落，肺泡腔有较多的巨噬细胞(图1)。脾脏和淋巴结小血管内皮细胞增生和肿胀，管壁有的呈纤维素样坏死。肾小球节段性系膜细胞增生，系膜区增宽，毛细血管壁不规则增厚，毛细血管襻血管腔充血，间质血管壁增厚，纤维素样坏死，血管周围炎症细胞浸润，肾小管上皮细胞变性、脱落、细胞管型和蛋白管型，间质水肿。心肌血管呈纤维素样坏死，周围炎症细胞浸润，心肌纤维排列稀疏，水肿伴灶性坏死。六胺银染色，血管壁基膜缺损或中断。

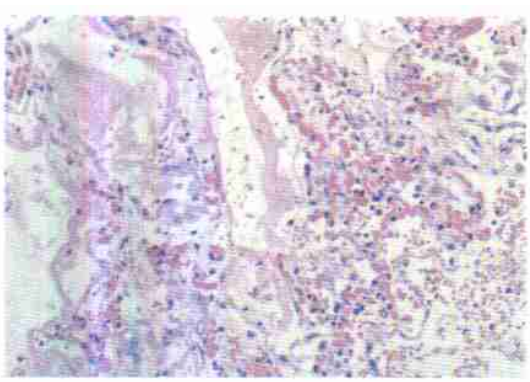


图1 间质性肺炎，肺泡腔炎性渗出，透明膜形成 (HE×100)

Fig 1 Intertitial peneumonia, inflammatory exudation of alveolar capacity and hyaline-membrane (HE×100)

2.2 电镜观察

2.2.1 肺 除肺基本病变外[3]，肺泡Ⅱ型上皮细胞明显增生肿胀、脱落、凋亡和坏死，胞质内板层小体明显减少，肺泡腔内充满蛋白样物质，毛细血管和小血管基膜增厚、断裂，部分可见少量的电子致密物沉积，血管内皮细胞肿胀，细胞塌陷或内皮细胞膜破裂，异染色质增多边聚，肺泡及间隔内巨噬细胞吞噬红细胞，胞质内溶酶体增多。

2.2.2 脾及淋巴结血管壁 结构模糊，血管内皮细胞坏死、脱落、基膜增厚，部分可见电子致密物沉积。

2.2.3 肾脏 肾小球系膜区可见块状电子致密物沉积、系膜区增宽，毛细血管襻血管基膜不规则增厚，未见电子致密物沉积，内皮细胞和肾小管上皮细胞坏死、脱落，间质血管基膜增厚，内皮细胞坏死，脱落。

2.2.4 心肌 血管病变同肾间质血管，心肌肌原纤维断裂，溶解，出现大量空化区。

2.3 免疫病理检测

2.3.1 自身抗体 小白鼠肺、心、肝、脾、肾及胸腺组织IgG均强阳性反应(图2)。阳性表达主要见血管壁、肺血管、肺泡脱落上皮及渗出物中。



图2 自身抗体：肺泡壁呈强阳性 (IF×200)

Tab 2 Autoantibody: strongly positive reactions in the alveolar wall (IF×200)

2.3.2 免疫复合物 ①免疫荧光和免疫组化结果基本相同，主要见肺、脾、心、肾和淋巴结等组织IgG呈强阳性，补体C3(图3、4)和IgA呈不同程度阳性反应，尤其肺组织血管壁，肺泡腔内蛋白样物质区内，脾脏、淋巴结和肾小血管壁均呈强阳性反应。②刚果红染色：肺泡型、脾、心、肾和淋巴结的小血管壁免疫复合物呈阳性反应，脾脏血管周围见洋葱皮样反应(图5)。



图3 补体C3肺泡壁强阳性，呈线状分布 (IF×200)

Tab 3 Complement C3 was strongly positive in the alveolar wall and distributed in line (IF×200)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



图 4　免疫复合物: 肺泡壁 IgG 呈强阳性　(EnVision× 200)

Tab 4　Immune complexes, IgG was strongly positive in the alveolar wall　(EnVision× 200)

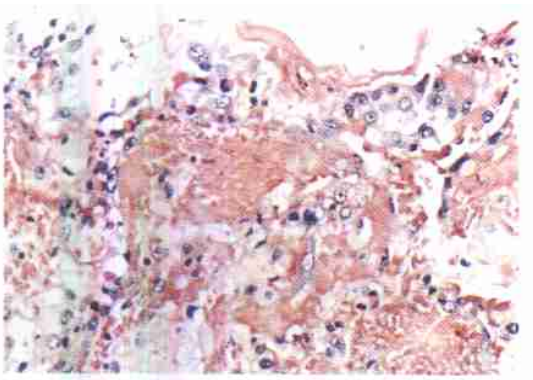


图 5　肺泡壁及血管管壁免疫复合物沉积　(刚果红染色× 200)

Tab 5　Immune complexes were in the alveolar wall and the wall of blood vessels　(Congo red× 200)

3　讨论

SARS 组织损伤可能的免疫病理学机制: 我们的研究[1] 表明 SARS 的主要病理变化是: ①急性肺组织重度损伤, 弥漫性肺泡充血、出血、水肿, 肺泡壁透明膜形成, 肺泡上皮增生, 肺泡腔内有大量脱屑的上皮、单核和多核巨细胞(脱屑性肺泡炎), 肺泡间质及肺泡纤维母细胞和平滑肌纤维轻度增生, 有早期纤维化倾向; ②广泛的免疫器官损伤, 淋巴结和脾脏明显出血、坏死, 淋巴滤泡和脾小体明显萎缩或消失, T 细胞明显减少; ③内脏器官小血管炎、血管内皮细胞增生、肿胀和变性, 有的呈血管炎性改变, 有的呈纤维素样坏死、血栓形成; ④肺、心、肝、脾、肾、肾上腺等实质细胞灶性的出血、坏死, 脑神经细胞变性等可能与全身中毒性病变有关, 上述变化显然不同于一般的病毒感染所致的病变。我们发现各个器官的血管炎, 纤维素样坏死, 血栓形成, 血管基膜致密沉积; 免疫组化检测出多个器官病变组织存在大量的自身抗体及免疫复合物沉积; 电镜下血管基膜也有明显的电子致密物沉积, 内皮细胞损伤, 气血屏障破坏, 细胞塌陷等异常改变, 提示 SARS 组织损伤不仅是病毒直接损伤组织, 而且由于该病毒的结构蛋白进入机体后, 不能和机体已有的抗体有效结合, 导致机体内异体蛋白滴度居高不下, 刺激机体发生过度的免疫反应, 从而引起剧烈的免疫损伤, 快速, 大规模地感染, 甚至破坏正常细胞与组织的结构, 引起急性肺损伤, 从而导致一系列急性的呼吸病症。

SARS 免疫损伤的类型: Drosten 等[4] 报道, SARS 病人的特异性 IgG 抗体在病程开始 1 周内出现, 并检验证实该抗体具有特异性保护作用。我们的实验表明, 受损组织血管壁有大量的免疫复合物(IC), 血管通透性增大, 血管基膜损伤和电子致密物沉积, 尤以肺、淋巴结和肾脏明显, 免疫复合物以 IgG、C3 为主。体内产生特异性的抗体与肺内相应的抗原结合, 形成免疫复合物沉积于血管基膜, 激活补体 C3, 引起血管及周围的炎症因而产生肺部损伤。该病人血中检测冠状病毒抗体强阳性, 因此, SARS 发病过程符合免疫复合物型变态反应Ⅲ型变态反应, 表明 SARS 病人的体液免疫在组织损伤中起重要作用。

以上论述仅依据临床病理变化和电镜下内皮细胞损伤等特点, 结合实验显示机体存在大量的自身抗体和免疫复合物沉积, 提示了体液免疫可能是 SARS 的重要发病机制之一。显然, SARS 相关的冠状病毒感染后引起多器官损伤, 直接导致细胞病变是存在的, 这可以从体外病毒分离过程中得到证据[4,5], 另外, 患者在发病中其细胞免疫、机体的状况及治疗的适当与否也对发病过程及损害程度有直接关系。总之, SARS 发病机制是复杂的, 有待于积累更多资料和更深入细致的系统研究。

参考文献:

[1] 赖日权, 冯晓冬, 王卓才, 等. SARS 尸检组织的临床表现和超微结构观察[J]. 中华病理学杂志, 2003, 32(2): 205－208.

[2] Rybarska J, Konieczny L, Piekarska B, *et al*. The detection of specific acute phase serum protein complexes and immune complexes by congo red binding[J]. J Physiol Pharmacol, 1995, 46(2): 221－231.

[3] 赖晃文, 赖日权, 杨传红, 等. 严重急性呼吸综合征 1 例病理及超微结构观察[J]. 解放军医学杂志, 2003, (增刊): S23－24.

[4] Drosten C, Gunther S, Preiser W, *et al*. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome[J]. N Engl J Med, 2003, 348(20): 1967－1976.

[5] Ksiazek T G, Erdman D, Goldsmith C S, *et al*. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome [J]. N Engl J Med, 2003, 348(20): 1953－1966.

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net