

黑热病人淋巴细胞转化的初步观察

新疆维吾尔自治区卫生防疫站 柴君杰 李宝山
喀什地区卫生防疫站 赵尔民

在利什曼感染中的淋巴细胞转化问题已有报告。Tremonti和Walton^[1]研究了美洲皮肤利什曼病人的淋巴细胞转化。Blewett等^[2]报告了豚鼠皮肤利什曼病中皮肤迟发型超敏反应和淋巴细胞转化。Mazzadra等^[3]在皮肤利什曼病患者中研究了淋巴细胞转化和利什曼素皮内反应。Farah等^[4]观察了热带利什曼对小鼠和豚鼠淋巴细胞转化的影响。但是对于内脏利什曼病——黑热病人的淋巴细胞转化问题尚无了解。

1977年我们对新疆喀什地区平原型黑热病人的淋巴细胞转化做了初步观察。

对象及实验方法

黑热病人：经骨髓穿刺查到利杜体(*Leishmania donovani*)确诊的黑热病人5例，其中男性2例，女性3例。年龄分别为7、8、11、15和24岁。病程均在3个月以上。没有其他合并症。于确诊后锑剂治疗开始之前采血检查。

皮内反应阳性健康人：居住在流行区内，无黑热病史而利什曼素皮内反应阳性的健康人5名，其中男性1名，女性4名。年岁分别为7、7、14、15和25岁。皮内反应强度(卅)者1名，(卅)者4名。

皮内反应阴性健康人：共5名，其中男性4名，女性1名。年龄分别为5、7、9、12

和14岁。

植物血凝素(PHA)：系本站自制。取东北云豆10克加生理盐水100毫升于4℃浸泡24小时后，取出豆子研磨成乳状，加生理盐水100毫升放4℃48小时后，以3,000转/分离心15分钟，取上清再经20,000转/分离心20分钟，取上清无菌分装，置-20℃备用。用1%家兔红细胞滴定其血凝滴度>2048。

杜氏利什曼抗原：用杜氏利什曼前鞭毛体制备的补结抗原^[5]。经凯氏微量法测定含氮量为212微克/毫升。

淋巴细胞转化试验：0.5%水解乳蛋白Hank's液含20%小牛血清，pH7.4，加青霉素、链霉素和卡那霉素各100单位/毫升。分装小瓶，每瓶4毫升。由不同对象同时采取静脉血(肝素抗凝)，每瓶接种0.5毫升。每份血液标本同时接种4组，每组2瓶。1.接种血液0.5毫升做为自然转化率对照；2.接种血液标本前加利什曼抗原0.1毫升；3.接种血液前加1:10稀释的PHA0.25毫升；4.接种血液前加PHA0.25毫升和利什曼抗原0.1毫升。在37℃静置培养72小时后，吸去上清，以沉淀物做成推片，甲醇固定，Giemsa(姬姆萨)染色。于油镜下观察100个淋巴细胞。以过渡型淋巴细胞和淋巴母细胞总数计算转化率。以淋巴母细胞数计算母细胞率(在核内出现明显核仁者方判定为淋巴母细胞)。每份血液取2个标本的平均值。

附表

黑热病人及健康人淋巴细胞转化试验结果

对 象	转化率(%)				母细胞率(%)			
	对 照	抗 原	PHA	PHA + 抗原	对 照	抗 原	PHA	PHA + 抗原
黑热病人	7.2±2.86	16.6±15.27	93.2±5.46	85.4±5.69	—	—	21.9±6.42	8.7±5.23
皮内反应阳性健康人	7.4±3.91	16.4±9.89	88.3±5.99	87.1±12.32	—	—	18.5±5.45	17.75±7.44
皮内反应阴性健康人	5.1±2.92	7.9±3.89	81.3±9.82	77.8±8.08	—	—	10.9±4.27	7.5±5.18

结 果

实验结果如表所示。各对照管转化率(自然转化率)在2.18~11.31%之间。加入利什曼抗原后黑热病人和皮内反应阳性健康人的转化率似有升高,但没有显著差异($P>0.05$)。加入PHA时各组转化率均在80%以上。黑热病人及皮内反应阳性健康人的转化率高于皮内反应阴性的健康人。病人与皮内反应阴性健康人之间差异显著($P<0.05$)。同时加入PHA和抗原时,转化率没有明显变化。

在对照管和抗原管内转化的细胞均为过渡型淋巴细胞,没有发现淋巴母细胞。加入PHA时母细胞出现(图1~3)。病人和皮内反应阳性健康人的母细胞率均显著高于皮试阴性健康人($P<0.05$)。在同时加入PHA和利什曼抗原时,黑热病人的母细胞率非常显著地降低($P<0.01$)。

讨 论

在皮肤利什曼病中利什曼抗原可以刺激病人淋巴细胞转化^[1,3]。在我们的实验中利什曼抗原不能引起黑热病人淋巴细胞转化。这个结果与黑热病人对利什曼素皮内反应阴性结果是一致的。

PHA引起的黑热病人淋巴细胞转化率明显地高于皮内反应阴性健康人。病人和皮内反应阳性健康人的母细胞率亦显著高于皮内反应阴性健康人。利什曼素皮内反应阳性是由于感染利什曼原虫后,宿主机体特异性细胞免疫形成的表现。黑热病人的皮内反应为阴性,在治愈后逐渐阳转。在流行区内一部份没有黑热病史的健康人亦可出现阳性皮内反应,这是由于杜氏利什曼原虫不显性感染的结果。皮内反应阳性者对黑热病具有免疫性。由此可见,病人和皮试阳性健康人的淋巴细胞对PHA的反应性增高,可能是杜氏利什曼抗原致敏的结果,而非细胞免疫已经建立的表现。

在PHA和利什曼抗原同时存在下,黑热病人的母细胞率显著降低,显示杜氏利什曼抗

原能够抑制黑热病人淋巴细胞对PHA的反应。Fatah等^[4]曾报告热带利什曼抗原可以抑制正常小鼠和豚鼠淋巴细胞对PHA的反应,抑制程度与抗原剂量有关。我们使用的抗原剂量(每管21.2微克氮)对健康人没有抑制作用。增加抗原剂量是否可以抑制健康人淋巴细胞对PHA的反应,尚待观察。但我们的结果至少可以说明黑热病人淋巴细胞对PHA的反应性显然易被利什曼抗原所抑制。这种抑制作用可能是杜氏利什曼的某种抗原成分干扰了淋巴细胞表面受体或者抑制了细胞的代谢过程。这种抑制作用是否与黑热病中表现的“免疫偏离”现象有关,其在杜氏利什曼原虫致病机制中的意义是值得研究的。

皮内反应阳性健康人淋巴细胞对PHA的反应性也明显增高,但这种反应在相同浓度利什曼抗原存在下不被抑制。提示宿主机体对黑热病的特异性细胞免疫建立之后,其淋巴细胞能够抵抗利什曼抗原的这种抑制作用。除应对这一现象进一步加以研究外,可以考虑利用对利什曼抗原抑制作用的这种对抗现象做为建立一种黑热病特异性细胞免疫功能体外测定系统的依据。

在使用形态学方法进行淋巴细胞转化试验时,仅仅计算总的转化率往往不能完全反映转化的质量。例如在自然转化的淋巴细胞和加入利什曼抗原后转化的淋巴细胞均为早期过渡型淋巴细胞,而在加入PHA后才出现大量的晚期过渡型和淋巴母细胞。因而除计算总转化率外,同时分别计算母细胞率可以全面地表示转化程度。

参 考 文 献

1. Tremonti L et al: Amer J trop med & hyg, 19: 49 1970.
2. Blewett TN et al: Ibid, 20: 546, 1971.
3. Mazzadra G et al: Gior Ital Derm Minerva Dermatol, 108(10): 527, 1973.
4. Farah FS et al: Immunol, 30: 929, 1976.
5. 柴君杰等: 黑热病血清学诊断方法的研究, 内部资料, 1979.

黑热病人淋巴细胞转化的初步观察

柴君杰等

(正文见251页)



图1 未转化的淋巴细胞
1250×

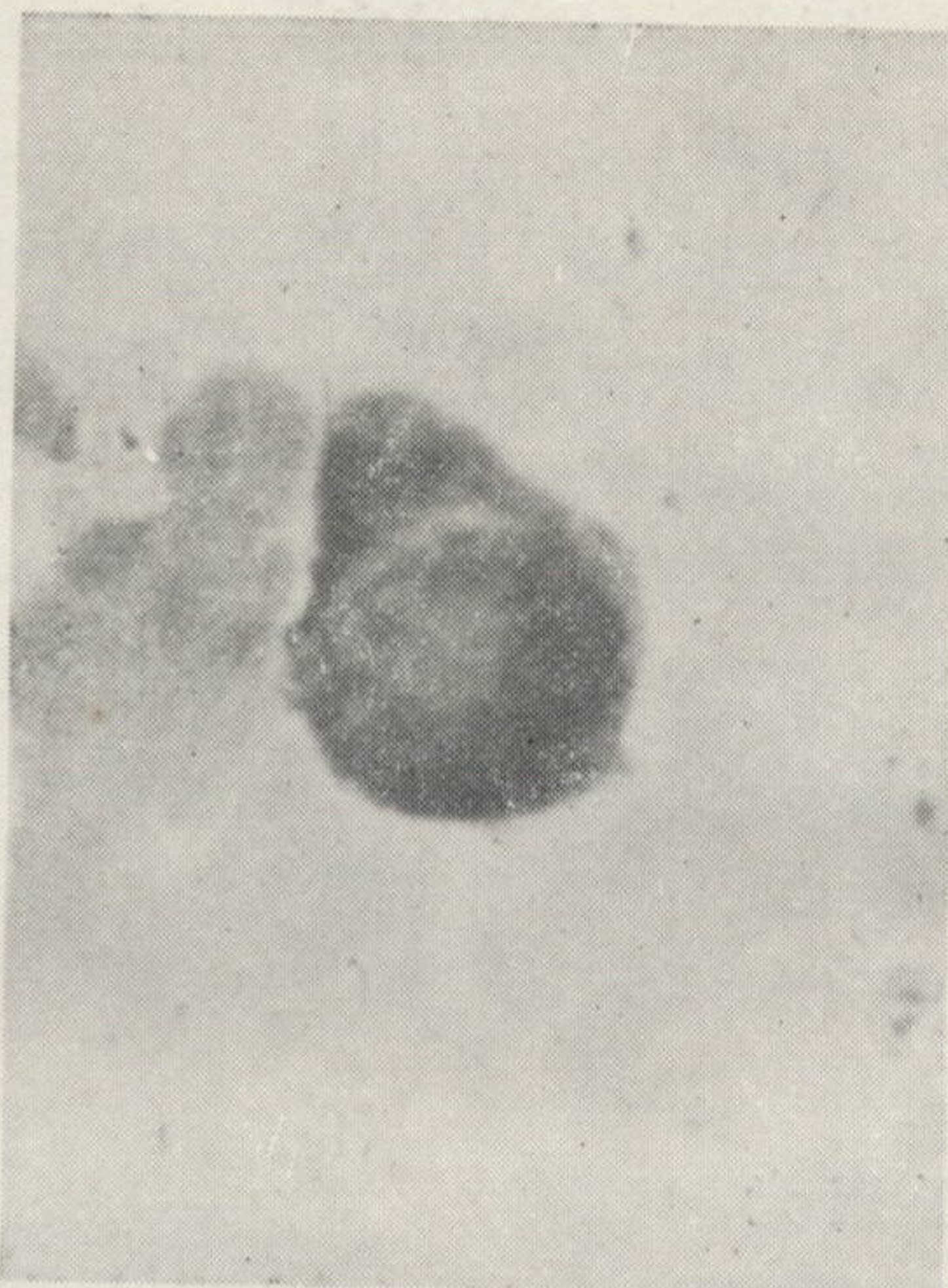


图2 过渡型淋巴细胞
1250×

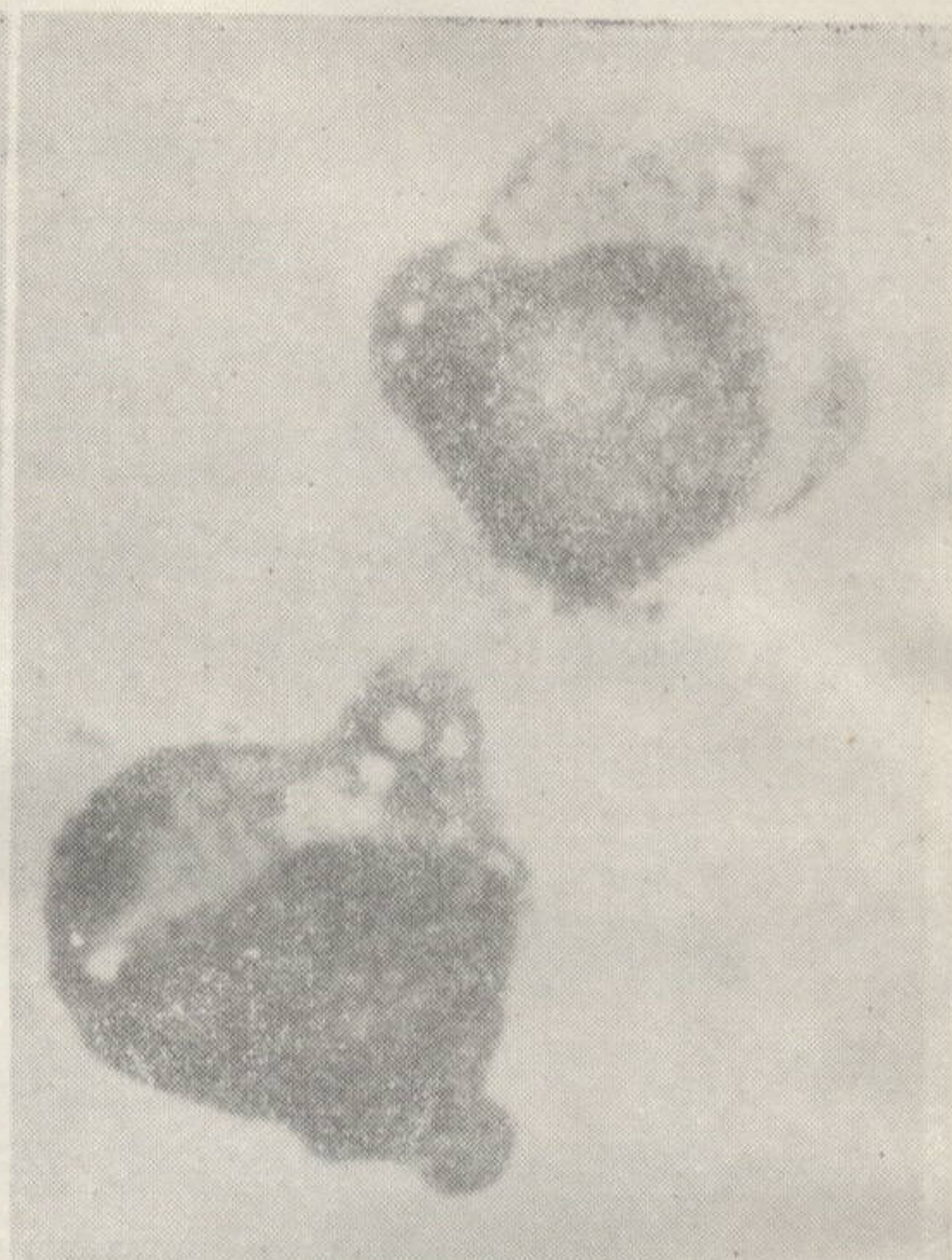


图3 淋巴母细胞(核仁清晰可见) 1250×

流行性出血热病人体内免疫复合物的检查

刘东升等

(正文见264页)

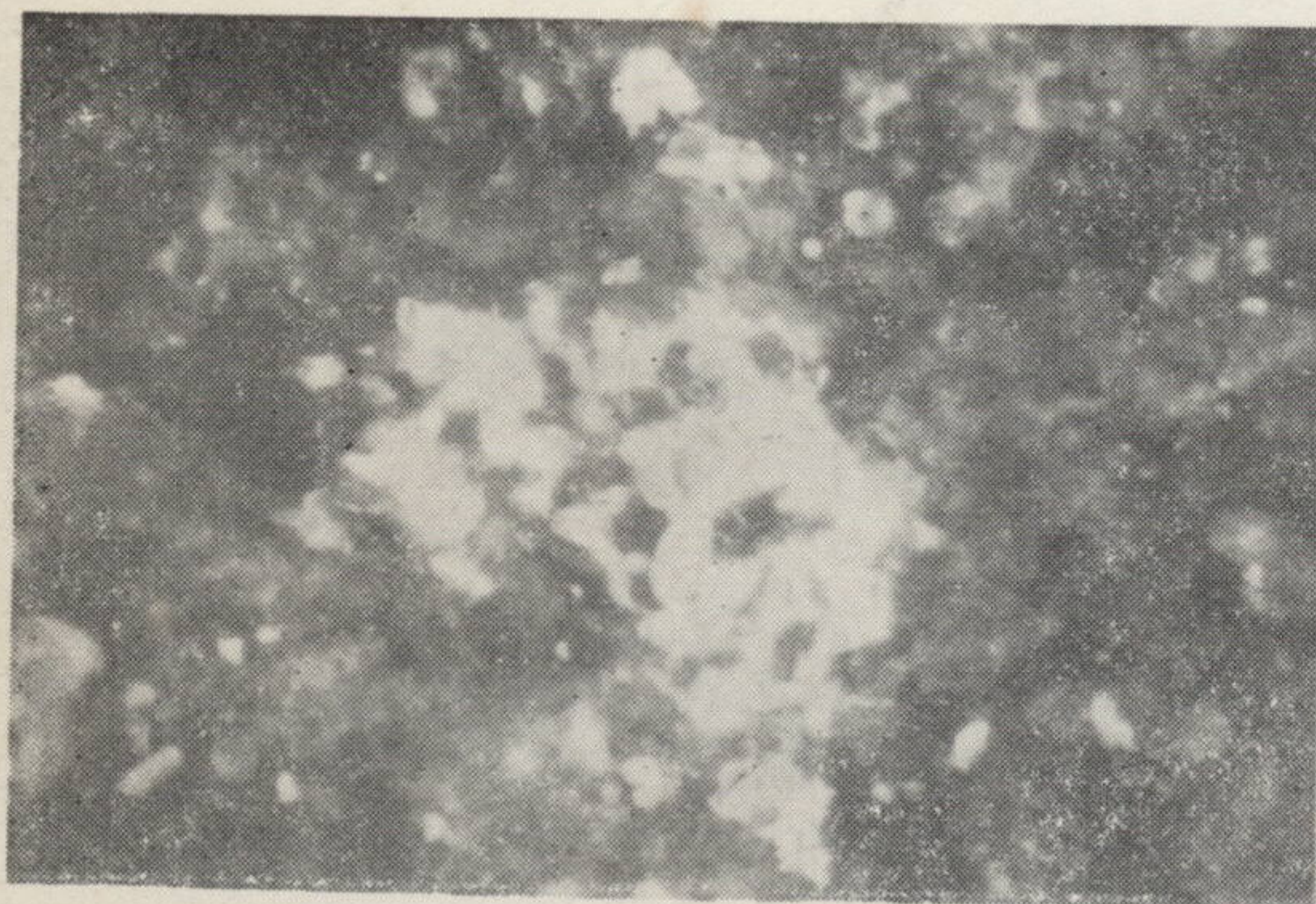


图2 流行性出血热患者肾组织切片免疫
荧光检查 160×

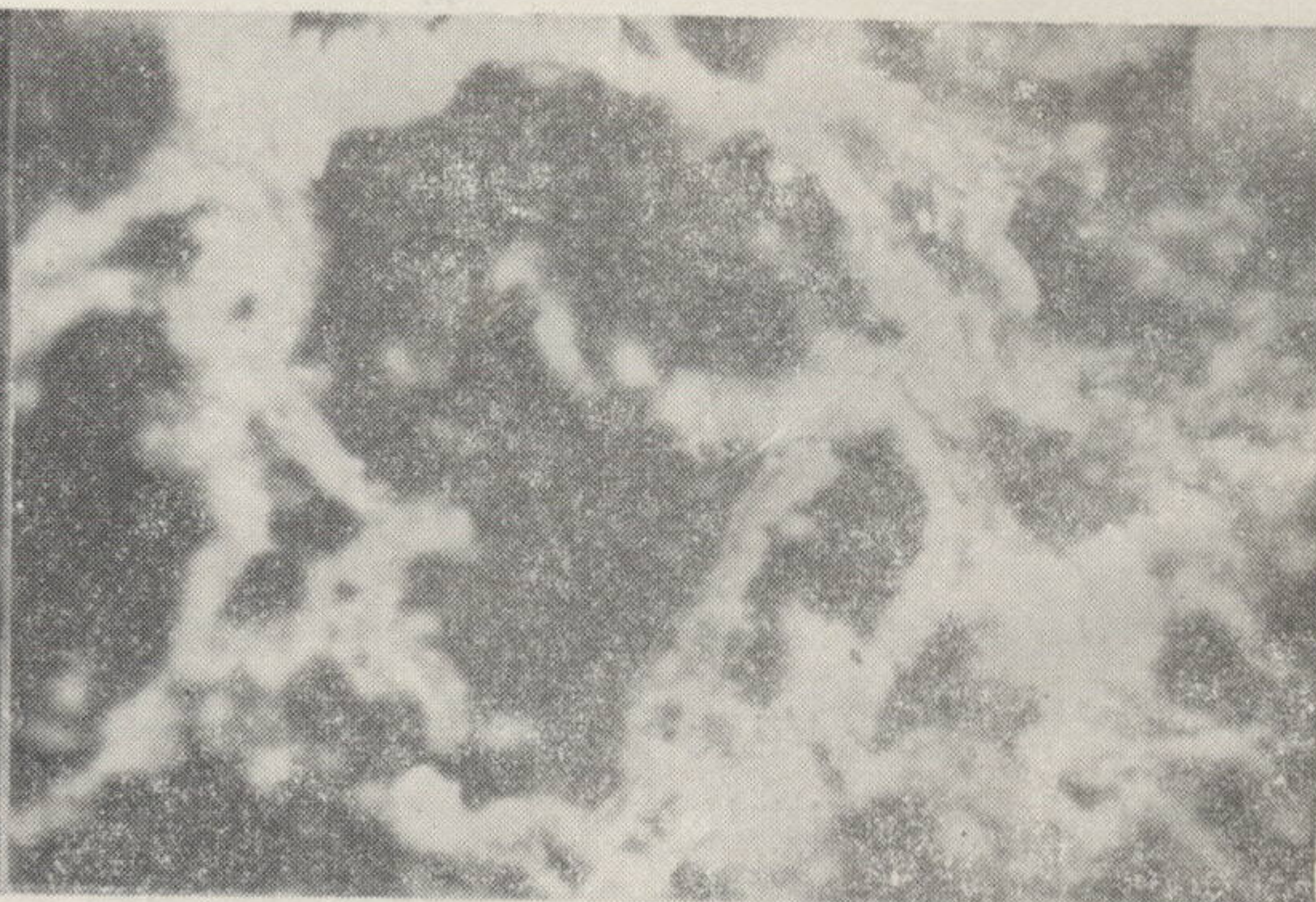


图3 流行性出血热患者肺组织切片免疫
荧光检查 160×