

200666

矽肺生化和免疫检验 方法资料汇编

全国矽肺生化免疫学习班编

1977.5于广西桂林

前 言

在伟大导师毛主席革命卫生路线指引下，英明领袖华主席“抓纲治国”的战略决策鼓舞下，为在本世纪末实现“四个现代化”这个雄伟目标，矽肺的防治工作已在全国各地广泛开展。为配合防治工作的需要，常采用生化和免疫的检验的项目进行判断病情。为此，于1977年5月举办全国矽肺生化和免疫检验学习班以交流经验和统一方法。现将学习班的资料汇编成册，供从事这项工作的同志参考。由于我们的水平有限，错误之处在所难免，希批评指正。

编 者

1977.10.

目 录

一、免疫学部份

1. 免疫学基础知识..... (1)
2. 矽肺发病中的免疫问题..... (11)
3. 关于矽肺免疫诊断中的几个问题 (综述) (25)
4. T淋巴细胞的植物血凝素转化试验和绵羊红细胞自发性花环形成试验..... (37)
5. 实验性矽肺免疫反应的研究..... (46)
6. 琼脂扩散试验..... (49)
7. 免疫球蛋白..... (52)

二、生物化学部分

8. 有关矽肺生化研究的综述..... (58)
9. 肺中结缔组织的生物化学简介..... (67)
10. 关于矽肺生化指标应用的探讨..... (80)
11. 矽肺与糖蛋白..... (100)
12. 铜兰蛋白..... (109)
13. 溶菌酶..... (113)
14. 醋酸纤维薄膜血清蛋白质电泳法..... (117)
15. 尿羟脯氨酸及其测定问题..... (124)
16. 尿羟脯氨酸测定方法的某些改进..... (135)
17. 简易聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳方法介绍..... (141)
18. 双向定量免疫电泳..... (149)
19. 放射火箭电泳自显影定量测定..... (151)
20. 常用卫生统计学..... (153)

免疫学的基础知识 (简述)

浙江省人民卫生实验院卫生学微生物所矽肺组

一、免疫学的概念:

长期以来,人们对免疫学的认识,经历了一个由浅到深,由局部到较全面的认识过程。过去免疫只是微生物的一个分支,人们只是片面地看到免疫在防治传染病中的重要作用,而对机体免疫功能的失调所引起的许多免疫性疾病,没有正确的认识。现在从事生物学,生理学,生物化学,病理学以及临床各科的工作者,应用电子显微镜,同位素,免疫化学及细胞培养等新技术,从细胞免疫与体液免疫及其相互联系上进行研究,对于机体免疫稳定功能的本质,以及免疫功能失调引起的许多免疫性疾病,有了进一步的认识。当前我们除了发展免疫抗感染的作用外,更广泛的研究增强机体免疫稳定功能等,在防治免疫性疾病方面,具有重要意义。

免疫反应是机体接触抗原性物质后引起的一种防卫反应,用以保护机体免受抗原性物质的侵损。机体的免疫功能主要表现在两个方面——一是对外来刺激物的防御功能,二是对内在刺激物的自身稳定功能和免疫监视功能。但事物总是一分为二,正常免疫反应如抗御传染、免疫监视等对人体有利,而异常免疫反应对人体也有害。如用免疫血清防治疾病可能引起血清病,有些人对外界某些物质过敏也是免疫反应过高造成的损害,近年来,自身免疫性疾病的发现,说明异常的免疫反应可使机体造成严重疾病。而矽肺发病可能与机体免疫反应异常有关。

机体的免疫功能具体由细胞免疫及体液免疫二部分组成。不论是细胞免疫或体液免疫。

根据形成来源不同有由遗传而来的非特异免疫性及在个体发育过程中获得的特异免疫性。前者是正常人生来就有,对多种刺激物(或称抗原物质),均有一定的抵抗作用。后者是在非特异性免疫的基础上进一步发展建立起来,以后,再接触该种刺激物,机体抵抗它的能力就大大增强。

二、构成免疫反应的物质基础:

1. 抗原:

构成免疫反应,首先要有抗原物质。众所周知,凡能刺激机体产生特异性细胞免疫或体液免疫的物质称为抗原,抗原一般是外来异种或异物物质,但当机体自身稳定功能失调时,自身物质,如变性坏死细胞,可成为自身抗原。抗原具有以下性质:(1) 其分子量一

一般在10000以上，使在体内与网状内皮系统很好接触，分子量小于1万为半抗原，需在体内与机体蛋白质成分结合后，方有抗原性。(2) 抗原因其化学结构与分子排列不同而具有特异性，决定抗原特异性的化学基团，称决定簇，它是抗原分子的一部分，以作用性质来分，有共同决定簇和特异决定簇，抗原分子愈大，含决定簇数量也愈多。(3) 抗原化学成分往往是蛋白质，或是大分子多糖。

医学上重要抗原分为：

(1) 异种抗原：如病原微生物，细菌外毒素，对人具有较强抗原性，它们主要是引起机体体液免疫，但动物血清，则引起人体变态反应。

(2) 同种异体抗原：如异型红细胞，人的红细胞对不同型的人是抗原物质，输入不同型的机体内，能引起溶血现象，这也是一种免疫反应。

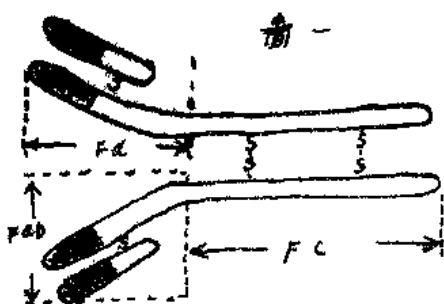
(3) 自身抗原：如在免疫稳定功能失常者，将自身的衰老细胞或破坏变性的细胞，视为抗原，全身性红斑狼疮患者以自身死亡的单核白细胞细胞核视为抗原。

(4) 外来性半抗原与机体成分结合而形成抗原：微生物某些成分，药物，化学药品以及动植物某些成分往往是半抗原，与机体成分结合形成抗原，可引起各型变态反应。

2. 免疫球蛋白：

众所共知，抗体主要由浆细胞产生，再释放至血液，体液或外分泌液中的一种球蛋白（即免疫球蛋白），具有特异性，能与相应抗原结合而发生各种免疫反应。

一九六四年世界卫生组织统一免疫球蛋白：以Ig表示。免疫球蛋白根据其理化特性的不同，可分为IgG、IgA、IgM、IgD及IgE五种类型。人血清中的免疫球蛋白：以IgG最多（70—80%），其次是IgA（15—20%）与IgM（7%），IgD与IgE含量极少。各种球蛋白作用不同，大多具有抗体的特性。IgE抗体活性大，唯IgD尚未发现有任何抗体活性。



(1) 免疫球蛋白结构：其基本结构是由二条对称重链和二条对称轻链组成，链与链间由双硫键连成。其结构呈Y字型(图一)。应用木瓜蛋白酶水解免疫球蛋白，又将其断裂为Fab、Fc与Fd片段，其中Fab与Fd能与抗原结合，Fc决定免疫球蛋白的生物学活性。电泳时，主要在γ球蛋白区带中，但也延伸到β、α₁、α₂球蛋白区带中。

(2) 免疫球蛋白的代谢：血清中各种免疫球蛋白的含量主要决定于其合成与分解代谢的速度。免疫球蛋白IgG和IgA的合成率都很高，它们在血清中含量的不同是由于IgA的分介率比IgG大四倍，所以血清中IgG的含量较高。IgG在人血清中存留的时间最长，其分介率与IgG的血清浓度有密切关系，浓度愈低，分介愈慢，相反，分介也愈快。

五种免疫球蛋白中，仅IgG能通过胎盘，进入胎儿。初生儿的免疫力，在质与量上与成人不同，在出生后第一个月产生的抗体主要为IgM，在三个月后才有一定量的IgG产生，IgA产生最晚。

(3) 免疫球蛋白的生物学特性:

IgG: 一分子量约为150000, 是血清中的主要抗体。当接触抗原后这种抗体形成较缓慢, 随着多次接触而增多, 其分泌也慢。IgG除存在于血清外, 也存在于组织液中, 能通过血管壁, 抗多种抗原微生物感染, IgG能固定补体, 激活吞噬细胞起到溶菌, 抑菌, 中和病毒及中和毒素作用。在呼吸道有感染者痰内, 约有半数含IgG。用于防治疾病的丙种球蛋白主要含有IgG。

IgM: 分子量约为1,000,000, 是大分子免疫球蛋白, 主要存在于血清中。IgM作用与IgG相似, 但其溶菌、杀菌能力比IgG为强。在人体受到细菌或病毒感染及接种菌苗或疫苗后, 血中首先出现的是IgM, 以后才出现IgG。

IgA: 其在血清与分泌液(初乳、支气管等)中都有。正常人血清中含量较少, 而分泌液中则以IgA为主, 故粘膜免疫主要靠IgA, 血液免疫主要靠IgG。IgA主要在肠胃道及呼吸道粘膜与腺体的淋巴组织中合成。分泌性IgA对病毒有明显作用, 能抑制其生长; 对细菌性感染(如呼吸道对葡萄球菌、链球菌、肺炎球菌等)都有一定的局部免疫。

IgE: 其分子量200,000, 应用荧光染色证明产生IgE的浆细胞处于呼吸道、肠胃道粘膜及局部淋巴结内。正常血清中含量很少, 但在过敏性哮喘, 寄生虫等过敏性疾病患者中可以显著升高。

IgD: 血清中含量极微, 能与特异性抗原结合, 但作用尚不清楚。

3. 免疫组织(器官)和免疫活性细胞:

机体之所以能执行防御、自稳、监督等免疫功能, 主要是依赖于淋巴样组织(器官)和淋巴样细胞。可以说淋巴组织是免疫反应的基本单位, 而免疫细胞则是免疫反应的主导执行者。

(一) 免疫组织(器官):

主要有淋巴结、脾脏、胸腺、骨髓、腔上囊或类似组织。从功能上分, 淋巴组织又可分为: 中枢性淋巴组织, 包括胸腺、腔上囊或类似组织; 外周淋巴组织, 主要有脾脏、淋巴结等。

(1) 胸腺: 胚胎期的胸腺分二叶, 位于胸内, 胸骨后。它由许多小叶组成, 小叶又分皮质、髓质。皮质主要含密集的小淋巴球, 髓质则主要是网状上皮细胞。

(2) 腔上囊或类似组织: 鸡及鸟类除胸腺外尚有腔上囊结构。人及哺乳动物不存在囊组织, 但有类似组织。现人们认为兰尾淋巴集结, 扁桃体等可能系类似组织, 具有类似的功能。

(3) 骨髓: 骨髓腔内的骨髓有红髓、黄髓及胶样髓的区别。现在已知机体的主要免疫细胞, 包括巨噬细胞、T淋巴系、B淋巴系细胞(浆细胞)都来源骨髓的干细胞。

(4) 淋巴结: 它遍布全身, 总数约有500—600个, 其结构上可分成皮质和髓质。皮质有密集的淋巴小结, 可产生小淋巴细胞, 因此称为生发中心。当机体受抗原刺激时, 生发中心迅速增大。因此, 可认为生发中心是局部产生淋巴球。皮质从组织结构上又分为浅区和深区。浅区有囊依赖性淋巴细胞(B细胞), 深区多为胸腺依赖性淋巴细胞(T淋巴)集聚。髓质主要存留囊依赖性细胞(B细胞)和抗体生成的地方。

(5) 脾脏: 其红髓中的脾索是脾脏的淋巴组织, 含有大量的囊依赖性淋巴细胞(B细

胞)，其白髓是胸腺依赖淋巴细胞（T细胞）存留处。脾脏是重要免疫器官。脾的30—50%为T细胞，而更多的（50—70%）为B细胞。

（二）免疫活性细胞：

经过分析验证，免疫细胞主要是淋巴系细胞，包括巨噬细胞，淋巴细胞，浆细胞等。因此，免疫细胞是指受抗原刺激后能发生反应的细胞，总称淋巴样细胞。当前免疫学上对淋巴细胞的作用有很高的评价。淋巴细胞由骨髓干细胞分化而来，经过胸腺或法氏囊等同器官内分裂分化，转变成胸腺依赖淋巴细胞，又名T淋巴细胞，或囊依赖淋巴细胞，又名B淋巴细胞。

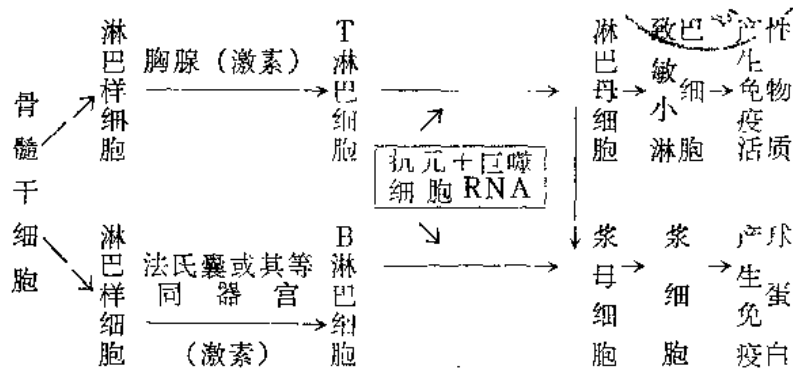
T淋巴细胞：骨髓干细胞进入胸腺，受胸腺上皮细胞分泌的胸腺等激素刺激，在胸腺内增生繁殖，然后离胸腺进入血循环或淋巴器官，成为T淋巴细胞，才能接受抗原刺激而致敏，转变为致敏小淋巴细胞，发挥细胞免疫作用。此种淋巴细胞寿命很长，可存活数月甚至数年，且可被植物血凝素（PHA）等激活，促进有丝分裂。

B淋巴细胞：骨髓干细胞不依赖胸腺内激素的刺激，在鸟中，干细胞通过泄殖腔后的法囊氏中，在囊内受激素刺激，分化增殖为B淋巴细胞。转化为B淋巴细胞后才能接受抗原的刺激转变为浆细胞，发挥体液免疫的作用。这种淋巴细胞寿命短，只存活数日至数周不能被PHA激活。

三、免疫反应过程：

机体内巨噬细胞接触到外来或内在的颗粒性抗原物质即将其吞噬，可溶性抗原物质即将其吞饮。由于巨噬细胞胞浆内充满着由溶菌酶、蛋白酶、酯酶和磷酸酶等组成的溶酶体，能将吞噬或吞饮入胞浆的抗原物质消化分解而保留其抗原决定簇，此种抗原分子结构较原有为小，抗原性较原有为强，处理后的抗原决定簇作为信息附着到巨噬细胞胞浆膜的表面，与巨噬细胞的RNA结合成为抗原核糖核酸复合体，具有强烈的吸引淋巴细胞的作用，抗原信息即由巨噬细胞传递给T淋巴细胞，T淋巴细胞表面有与抗原信息起反应的受体，特异T淋巴细胞受体只与特异抗原信息结合，这称为对抗原的识别或称致敏，一般一个T淋巴细胞只能识别一种抗原，并传递该抗原信息给B淋巴细胞，抗原信息也可直接由巨噬细胞传递给B淋巴细胞，它也有同样受体。T淋巴细胞与B淋巴细胞识别抗原后，由原来无特异性的淋巴样细胞转化为具特异性的淋巴母细胞和浆母细胞。T淋巴细胞经过母细胞阶段变成致敏小淋巴，再受相应抗原刺激时，可以释放多种免疫活性物质，破坏杀伤靶细胞，为抑制杀伤某些病原微生物，直接使肿瘤细胞解体，将异体移植组织器官排斥等。B淋巴细胞经过母细胞阶段变成浆细胞，在其核蛋白体构成的内质网中合成抗体免疫球蛋白，至高尔基器内浓缩贮存，再分泌到细胞外。

T淋巴细胞和B淋巴细胞增殖转化与抗原的理化性质、分子大小、数量和进入途径有关。



四、细胞免疫与体液免疫：

1. 细胞免疫

细胞免疫主要由吞噬细胞和致敏小淋巴细胞完成，前者属非特异性免疫，后者为特异性免疫。

(1) 吞噬细胞的吞噬功能

机体内有吞噬功能的细胞主要有三类：①网状内皮系统的细胞如脾、肝、肺、脑、淋巴结的网状细胞和血窦的内皮细胞。②结缔组织内的组织细胞。③血液内的单核细胞和中性多核白细胞。这些细胞（除中性多核白细胞外）处于活动状态时称为巨噬细胞，有吞噬和吞饮异物或变性自身物质的能力，吞入细胞后由溶酶体将其消化。巨噬细胞的活性受到刺激可以加强，表现为溶酶体增加，胞突伸长增多，少量微生物毒素能使巨噬细胞兴奋，加强吞噬吞饮能力结核杆菌、伤寒杆菌、布鲁氏菌等被吞噬后头几天能在细胞内繁殖以后被活性加强了巨噬细胞所消化。但是毒力很强的微生物可突破这一道防线。

(2) 致敏小淋巴细胞释放的免疫活性物质

①淋巴毒素：是 β 和 γ 球蛋白，分子量80000—90000，在56℃ 1小时及PH 5—9情况下仍稳定，核糖核酸酶、脱氧核糖核酸酶与胰酶处理仍保持活性。淋巴毒素可以直接破坏肿瘤细胞，并抑制细胞核糖核酸和蛋白质的合成。

②转移因子：是一种能转移细胞免疫，包括迟发型变态反应能力的物质，分子量仅5000，无抗原性，存在于致敏淋巴细胞和白细胞内，能使正常淋巴细胞转化为免疫活性的致敏淋巴细胞。将致敏淋巴细胞反复冻融，用胰酶、脱氧核糖核酸酶、核糖核酸酶处理，可制取转移因子，目前用以治疗某些肿瘤和白色念珠菌感染已获成功，是医学上重要发展方向。

③移动抑制因子，有嗜巨噬细胞性质，可结合在巨噬细胞胞浆膜，抑制巨噬细胞移动，使巨噬细胞在局部粘聚，以利在局部发挥作用。移动抑制因子是糖蛋白，分子量35000—70000，其活性可被胰酶及神经氨酸酶破坏，但不被核糖核酸酶或脱氧核糖核酸酶破坏，56℃ 30分钟不影响其活性，在-20℃下活性降低。异体植皮时，若移动抑制试验阳性，表示细胞免疫反应强，则异体皮易被排斥。恶性肿瘤病人该试验呈阳性，痊愈后即转阴。

④皮肤反应因子：也称发炎因子，特异性抗原及非特异性刀豆球蛋白均能诱生皮肤反应因子，它能引起局部血管通透性增加，有利于细胞在局部浸润。分子量在36000—42000，

56℃可使部分灭活, 100℃完全破坏。

⑥其它: 除释放上述免疫活性物质外, 还能释放趋化因子、促分裂因子及干扰素样物质。

2. 体液免疫:

是指抗体即各种免疫球蛋白的免疫作用。它由B细胞在抗原影响下转化成的浆细胞所产生, 能与相应的病原生物或其毒性产物相结合而杀死或解除其毒害作用, 是抗传染免疫中的一个重要方面。但是, 同致敏T细胞的细胞免疫作用一样, 如果破坏的对象是机体的自身组织、细胞, 则可形成多种对人体有害的免疫性疾病。

抗原进入机体后, 抗体检出的时间随抗原的不同而异。红细胞抗原一般是3—4天后, 在4—5天时达高峰, 可溶性蛋白抗原的是5—7天, 在9—10天时达高峰, 细菌抗原的抗体是10—14天后, 其高峰出现较迟, 如白喉类毒素抗体的高峰要在第三个月才到达。

入体在第一次接受抗原刺激后, 血液和体液中最早出现的是IgM, 随后逐渐减少并代之以IgG的出现并增多。经一定时间达高峰后, 再渐下降。若机体再次受到同样抗原, 则抗体量迅速上升, 且主要是IgG, 持续一个较长时间后再逐步减少。

细胞免疫与体液免疫的状态和产物均可用一定方法测定及制取, 如以巨噬细胞移动抑制试验、淋巴细胞转化试验及玫瑰花结形成试验等进行细胞免疫的研究; 以免疫电泳、琼脂扩散试验及荧光显微镜检查等进行体液免疫的研究, 不但能了解机体的免疫功能状态, 而且可作为诊断和治疗疾病的参考。

五、几种免疫反应:

细胞免疫与体液免疫的最终结果是将抗原等刺激物排斥, 破坏或消灭, 这些免疫反应可能对机体有利, 如将病原微生物吞噬溶解, 外毒素中和, 但也可能对机体不利, 如引起自身免疫性疾病等。

1. 抗感染免疫:

病原微生物及其毒素刺激机体主要产生抗体。抗体与相应外毒素结合, 直接中和外毒素。抗体与肺炎球菌等相应革兰氏阳性菌结合, 在补体协助下, 便于被白细胞吞噬消化。有些病原微生物刺激机体, 主要通过致敏淋巴细胞的免疫作用。一般来说, 机体的抗传染免疫, 主要是免疫球蛋白起作用。但有些传染病, 如某些细菌感染——结核病等, 细胞免疫起主要作用, 或者起联合作用。

2. 变态反应:

当机体受了某种抗原物质侵入后, 可获得一定程度的特异性免疫力。但在某些情况下, 有些人与某种抗原物质接触后, 机体对这种物质处于致敏状态。当再次接触同样的物质, 就可导致组织器官损伤或功能障碍, 临床上, 将这一类反常的免疫反应称变态反应。如过敏性哮喘, 当吸入植物花粉、兽毛等抗原物质后刺激机体产生抗体IgE, IgE粘附于呼吸道粘膜下肥大细胞表面或血流中嗜碱性白细胞表面, 当再次吸入相应抗原, 此等抗原与IgE结合, 数分钟内细胞释放细胞胺及过敏缓慢作用物质, 因而引起肺部血管扩张、水解及支气管平滑肌痉挛而发生哮喘。

变态反应。有细胞变反应，当变应元刺激机体，使正常淋巴细胞转变为致敏淋巴细胞，亦有体液变态反应，当变应元刺激机体，产生抗体，主要是IgG、IgM、IgE。

3. 自身免疫病：

自身抗原与相应抗体或免疫活性物质发生免疫反应可导致疾病，往往发生在自身免疫稳定功能减弱者，如胸腺、骨髓、淋巴组织有病变时。当机体免疫功能紊乱，机体的正常组织被自身的抗体或致敏淋巴细胞所破坏，产生自身免疫病，但血液中有自身组织的抗体，并不一定有自身免疫性疾病，只有，机体对自身组织产生免疫反应（体液的或细胞的）而破坏组织时才能称为自身免疫性疾病。

产生自身免疫现象是由二个主要变化的结果：（1）“自身”抗原产生质的改变，使免疫系统误认其为外来物质，产生相应的免疫反应；（2）被禁免疫“细胞团”发生突变或体内免疫稳定机理失灵，使这种免疫能细胞脱轨增生，对正常“自身”抗原发生免疫反应。

4. 肿瘤发生与机体免疫状态：

机体具有免疫调节功能，以维护体内环境的稳定，所谓免疫稳定性，但当免疫稳定功能衰弱时，易于感染也易于得肿瘤。在胚胎时免疫能力很差，出生后逐渐发展，5—30岁免疫能力最强，以后逐渐减弱，故在5岁以下儿童期可患神经母细胞瘤、急性白血病等；老年期随年龄增长，恶性肿瘤发生率也高。

六、矽肺与免疫：

近代免疫学的发展，促使人们对矽肺免疫的研究，认识到对阐明矽肺发病原理，寻找早期诊断指标，探索矽肺防治途径等都有一定意义。为此，我们在参阅有关资料，并结合我们对矽肺免疫的粗浅认识，本着“百家争鸣”的方针，对矽肺病是否存在免疫反应，其性质是什么，与肺结核的关系又是如何，及其实践意义等问题，略谈我们的看法：

1. 有关矽肺免疫的若干问题：

（1）矽肺发病中的免疫问题。我们认为，从病理上，见浆细胞出现，从生化改变，测得矽肺患者及矽肺病鼠血清γ球蛋白明显增高，免疫反应见染尘后病鼠、或患者血清，与相应抗血清呈现抗原、抗体沉淀反应等诸方面，都证实矽肺发病有免疫因素参与（*见浙医大矽肺组——矽肺发病中的免疫问题）。

（2）矽肺免疫反应中的抗原问题（见*）

（3）矽肺免疫反应的特异性问题。近年来对此问题引起了极大关注，多数认为矽肺属非特异性免疫，但在有些报导中，提及矽肺具有特异性免疫，如苏联有人证明，石棉肺及尘肺患者肺组织提取物，除了正常肺具有抗原外，还含有石棉肺或尘肺抗原。因此，对其特异性要作出肯定结论，尚有待研究。从我们历年来对实验性矽肺及矽肺患者试验中，也提供了一些线索，给我们的印象是——病鼠（或患者）与正常鼠（或正常人）血清中有共同抗原成分，但含量不同，并非病鼠（或患者）所特有。理由是——兔抗矽肺病人抗血清或抗原、抗体复合体抗血清，从琼脂扩散试验测得正常人血清免疫反应有4—9.7%阳性率，且其沉淀线与矽肺患者相吻合，同时，肺部某些疾病，如肺结核，慢性气管炎等，其阳性率分别为25%、17.4%说明正常人与矽肺、矽肺与肺藏有关疾患存在共同免疫反应。此

外,用较敏感的对流电泳测定,也看出矽肺患者(或病鼠)与正常人(或正常鼠)血清均有相当数量呈阳性反应。但国内有些单位,以大量实验数据证明,矽肺病鼠血清中存在一种正常鼠所没有的抗原成分,也即矽肺病鼠血清中存在一种特异性抗原。遵照毛主席“马克思主义叫我们看问题不要从抽象的定义出发,而要从客观存在的事实出发,从分析这些事实中找出方针、政策、办法来”的教导,我们认为,实验性矽肺,在急性发病的病鼠体内,可能存在大量抗原物质,其量与正常鼠体内微量抗原,形成显著不同。因此,用敏感性差,特异性强的琼脂扩散试验,测得正常鼠均呈阴性反应,病鼠呈阳性反应是完全可能的。

(4) 矽肺免疫与肺结核之关系。肺结核是矽肺最严重的并发症。从我们对53例矽肺结核琼脂扩散试验测得结果阳性率为73.6%;而单纯矽肺31.5%。二者有非常显著差异。国外,有人报导了矽肺结核是交互的、非特异性的免疫反应的加强,有的发现井工接种卡介苗后,患矽肺结核比正常对照组井工有明显增多,认为井工受结核菌刺激,改变了抗体形成,可能使机体免疫变态反应活跃,增强了抗原,抗体反应。有的资料指出,二氧化矽对结核有促进作用;患矽肺时,IgG增高,它具有促进结核发病作用。

以上看出,矽肺合并结核后,病情发展迅速是与机体免疫状态有关。

(5) 由于过去偏重于应用体液免疫方法检测矽肺患者血清,近年来,随着细胞免疫的发展,对多种疾病开展了研究,我们认为测定矽肺患者细胞免疫功能,对于了解患者的抗御能力,对指导临床实践,治疗效果判断都可能有一定意义,因此,国内少数单位对矽肺患者细胞免疫进行某些研究。结果指出矽肺患者细胞免疫功能有所下降。如上海职防院观察了153例接触粉尘井工、疑似矽肺及矽肺患者,发现正常井工淋巴细胞转化率与疑似矽肺及矽肺患者之间有非常显著差异,而各期矽肺间未见差别。我们用上法及玫瑰花结形成试验二项指标对119名正常人、矽肺患者及矽肺结核进行测定,见单纯矽肺二项指标均比正常人低,经统计学处理有显著差异,而矽肺结核淋巴细胞转化率与正常人相近。上海化工局职防院观察到矽肺患者病情发展组淋巴细胞转化率较病情稳定组为低,且二组存在非常显著差异。

2. 免疫学原理和免疫检测方法在矽肺防治实践中的应用。

(1) 用作实验性矽肺疗效指标:当矽肺免疫提出后,都迫切希望从中寻找有效疗效指标,上海、浙江等省市在应用克矽平、抗矽-14对实验性矽肺疗效考核中,以琼脂扩散试验与被公认指标——病理、肺重、胶元含量及血兰蛋白作比较,以探讨免疫指标的实用价值(见表)。从表看出:无论染尘时给药或染尘后给药,治疗组病鼠免疫反应阳性率仅0—36.3%,而不同染尘期石英对照组绝大多数动物呈阳性反应,看出给药组与对照组有明显不同,且反应出现早,与病理、肺重、胶元含量及血兰蛋白呈密切相关。此外,琼脂扩散试验操作简便,用血量少,特异性强,无需特殊设备等优点,因此,可用作实验性疗效指标。

(2) 应用免疫抑制剂或增强剂治疗矽肺的可能性。应用免疫反应原理防治传染病所取得的成就是人所共知的。那么,矽肺综合治疗中能否考虑矽肺免疫这个机理,选用药物。多年来,在实验性矽肺及临床治疗上,曾使用免疫抑制剂,如考的松,考的松加ACTH、多潘(Dopan)、环磷酰胺等,但由于有些免疫抑制剂在某些实验研究中没有看到明显

疗效，且可激发结核活动及长期应用的副作用而迫使慎重对待。目前多认为对进展迅速的矽肺应作为激素治疗的适应症。

近年来，国内采用抗矽-14治疗矽肺，见部分病例，胸片上显示结节阴影明显减少，变淡，变小，融合块也明显缩小，认为这种好转现象在过去的临床治疗中还属于罕见。究其作用机制，可能该药具有抑制体液免疫的作用。因此，免疫疗法是值得进一步探讨的。

以上提到的免疫抑制剂，是一类抑制免疫反应的药物，目前常用的免疫抑制剂大致可分为：

- (1) 烷化剂：环磷酰胺、苯丁酸氮芥。
- (2) 抗代谢药：嘌呤对抗剂及叶酸对抗剂。
- (3) 酶：L-门冬酰胺酶。
- (4) 肾上腺皮质激素：强的松、强的松龙。
- (5) 其他：抗淋巴细胞球蛋白。

其作用机理：

(1) 烷化剂：此类活性很高，其主要作用是使细胞浆和细胞核中核糖核酸 (RNA)、酶和蛋白质结构烷化，因而改变其分子性质。在某些情况下，烷化剂对DNA分子并无损伤，但当RNA复制时，可产生错误密码，从而影响核酸合成和细胞功能，最后使细胞不能分裂或死于分裂期。烷化剂中应用最广的是环磷酰胺，在动物身上，它能抑制某些抗体的形成，它对临床上多种自身免疫性疾病均有效。

(2) 抗代谢产物：如嘌呤、叶酸对抗剂。这类药物的化学结构与体内代谢产物（嘌呤、叶酸等）相似，后者是合成核酸的必要物质。由于这类药物与代谢产物竞争必要的酶，阻碍了核酸的生物合成，影响细胞分裂，盐殖，起到抑制免疫过程。

(3) 酶：L-门冬酰胺酶，其作用似在细胞盐殖前影响抗原识别，引起淋巴细胞减少，使迟发生变态反应受抑制。

(4) 肾上腺皮质激素：是目前常用的免疫抑制剂，对免疫反应的各个环节都有作用，但作用与给药时间有关。实验证明肾上腺皮质激素对体液免疫及细胞免疫都有作用，其作用主要是通过阻止磷原子参入核酸，妨碍核酸合成，从而抑制细胞分裂，盐殖及激素直接溶解淋巴细胞，最后使抗体生成减少。

至于应用细胞免疫增强剂。目前还是处在设想、推理、试用阶段。如用细胞免疫触发剂——转移因子或注射菌苗，利用其能使正常T淋巴细胞转变成免疫性细胞或调动T细胞的活性，以提高细胞免疫水平来治疗矽肺。

实验性矽肺不同疗效指标比较

治疗时间	组别	给药时间及给药总数 (mg)	免疫反应			病 变		生 化 指 标	
			动物数	阳性数	阳性率 (%)	肺重 (g)	病理分级	胶原含量 (mg)	血兰蛋白 (单位)
染尘时给药	石英对照 (1)		12	12	100	* 5.14			
	克砂平	一个月 (120mg)	15	2	13.2	* 2.53			
	同 (1)		20	20	100	6.19	I、II	149.4	
	克砂平	二个月 (240mg)	10	0	0	2.56			
	抗砂 14	二个月 (60mg)	30	11	36.6	** 0.7	I	79.5	
染尘后给药	同 (1)		8	7	87.5	7.4	V	292.5	
	抗砂 14	4个月*** (120mg)	10	1	10	5.3	IV	275.5	
	同 (1)		13	12	88.9	** 1.27	IV	380	625
	抗砂 14	8个月**** (120mg)	21	3	16.7	** 0.98	II、IV为主	282	557
	克砂平	8个月**** (900mg)	14	0	0	0.7	I、IV为主	176	463

注: * 表示检测部分动物; ** 表示肺干重; *** 染尘后二个月给药;

**** 染尘后四个月给药

不同染尘时间琼脂扩散试验

粉尘名称	染尘量 (mg)	测定日期 (染尘后)	抗原名称	动物数 (只)	琼扩试验	
					阳性数 (只)	%
上海酸处理石英尘 (1)	25	7	肺匀浆沉淀 (2)	8	8	100
"	25—60	14	同 (2) 或病鼠血清 (3)	23	23	100
上海、北京、天津等酸处理石英尘	25—50	30	同 (2) (3)	18	18	100
同 (1)	25—60	60	同 (2) 或肺匀浆	43	40	93
酸处理石英尘	50—60	150	同 (3)	29	28	96
上海、沈阳酸处理石英尘	"	240	"	24	18	79

矽肺发病中的免疫问题 (综述)

浙江医科大学矽肺研究组

一、矽肺发病机理

1. 一般概况:

矽肺的发生发展是受多种因素影响的复杂的病理变化过程。要全面地认识矽肺发病机理的整个过程,反映出它的本质问题和其内部的规律性,为实践工作提供理论根据,则是一项艰巨、复杂、细致的任务。只有遵照毛主席的教导,用辩证唯物主义的立场观点去认识客观世界,“从事物的内部,从一事物对他事物的关系,和从它们之间的互相联系,互相影响”去研究矽肺的发生与发展,和用一分为二的辩证方法对前人有关材料,即要看到它们的正面也要看到它们的反面,去粗取精、去伪存真、由此及彼、由表及里”地综合分析,细致研究,全面地认识矽肺发病中的机理问题是可以逐步解决的。在不断实践,不断认识,“由特殊到一般”,“由一般到特殊”的反复认识过程中,提出我们自己的对矽肺发病机理的观点和学说,不但是非常必要的,而且也是完全可能的。

矽肺发病机理的研究已有几十年的历史,但至今尚未完全认识和解决。为解释该问题做了大量的工作,先后提出了多种的学说和假说,其中主要的有:机械刺激、化学毒性、矽酸聚合、新旧表面、表面活性、压电效应、放射能和免疫学说等。根据以上理论,在矽肺的诊断和治疗方面提供了很多方法和途径。例如在矽肺诊断方面,除胸部X线的判断外,探索了多种生化和免疫诊断指标,在矽肺治疗上寻找了一些溶矽、排矽、解毒和抑制胶原纤维形成的药物,并为医药工业合成治疗矽肺药物提出了一些理论依据。矽肺发病机理的研究确实积累了大量的资料,做出很多有益的工作,需要我们有分析有批判地学习,达到古为今用、洋为中用的目的。

2. 存在问题:

就以往矽肺发病机理的各学说来看,它们并不是十全十美的,普遍存在着以下几个倾向:

(1) 着重外因的研究,即致病因子(矽尘)对机体的危害,忽略了机体对外来因素的反应和其内因的主导作用。例如对矽尘的形状、硬度、新旧表面、晶体结构、溶解程度、压电效应和放射性能等,以及它们对机体的危害作用,做了多方面的研究,虽然在某些程度上阐明了一些问题,但只是解释了矽尘与生物组织发生接触的变化,涉及到的内容也仅是矽肺发病的起源,或者是矽肺病变的最早阶段。

(2) 片面孤立:矽肺发生发展的起始是一事物发展的整体,是受多种因素影响的复杂的病理变化过程,各种矛盾贯穿于发展过程的始终。以往各学说的片面孤立性就在于把矽肺的发展视为单一矛盾组成的简单过程,忽略了“复杂的过程则有一对以上的矛盾”。用

解决单一矛盾的观点去认识矽肺，只能解释矽肺发病过程中某一个局限性的问题，而说明不了矽肺病变形成的整个过程。例如化学毒性学说认为矽尘在体内的溶解产物是一个细胞毒，是造成尘细胞死亡的原因，但回答不出尘细胞死亡与矽肺结节玻璃样变组织形成之间的关系。又例如免疫学说，证明了矽肺玻璃样变组织中含有大量的球蛋白，可能是抗原抗体反应后复合物沉积的结果。从这点出发有人分析了胶元病中的几个特点：有溶解性炎症、细胞基质损害、血清蛋白的改变以及某些免疫反应等，矽肺符合上述条件，肯定地认为矽肺属自身免疫性疾病。但当前还存在着一些问题，缺乏奠定该病变的物质基础，其抗原物质究竟是什么？它在矽肺发病中究竟起得什么作用？有些现象与免疫性疾病对不上号，就把免疫学说全部地否定了。其他各学说亦然如此，“虽然各有其片面的真理，但在认识的整体上则是错误的”。其主要原因在于看不到事物有一个发展过程，缺乏整体概念，只顾其一，不管其余，因而造成各学派之间意见分歧互相争论，至今尚无一个统一的认识。

(3) 对实践工作的影响：理论是指导行动的依据。由于各学说研究的内容多偏重于外因和矽尘与生物膜接触的最早阶段，因而在探讨治疗矽肺的药物上，无论是药筛和临床使用方面，主要是属于预防性质的药物。例如碱性药物、铝制剂和P204等，在实验治疗上正是由于早期给药（染尘后马上给药或1~2月之内给药），因而获得比较好或很好的效果。但把这些预防性的药物用在矽肺结节已经胶元纤维化的临床矽肺上，得不到与实验相等的效果，除两者之间在发病机理上可能不同之外，前后病变基础不一，出现不同结果，是比较容易理解。这也可能是很多治疗实验性矽肺成功的药物虽然很早就已提出然而迟迟不能在临床顺利应用的主要原因之一。在治疗上虽已考虑到医治矽肺晚期病变，但从矽肺发病机理一点论的观点出发，必然导致矽肺治疗上的单一用药。根据我们现已看到的资料，无论是在药筛或临床评价药物的疗效上，主要是采用单一药物治疗，这对受多因素影响的矽肺来说，顾此失彼，照顾不了存在着的全面问题，因而很多药物在临床使用后，效果并不理想。此外，矽肺是一种慢性职业病，长期服用一种药物，难免引起机体的耐受和蓄积这都应引以为注意。

3. 全面认识：

“马克思主义的哲学认为十分重要的问题，不在于懂得了客观世界的规律性，因而能够解释世界，而在于拿了这种对于客观规律的认识去能动地改造世界”。在实践的基础上，分析讨论矽肺发病机理的目的，在于为矽肺防治提供理论依据，更好地完成防治矽肺的实际工作。为此，我们在学习毛主席“实践论”、“矛盾论”、“论十大关系”的基础上，运用前人一些有益的工作，综合辩证地认识矽肺发病机理，初步剖析一下矽肺发病过程中矛盾的普遍性和特殊性，以及它们之间的互相关系和影响，与同志们共同商榷。

(1) 内因与外因的关系：“外因是变化的条件，内因是变化的根据，外因通过内因而起作用。”矽肺是长期吸入一定浓度的含游离 SiO_2 的生产性粉尘，而引起以肺组织异常纤维增生为主的慢性职业病。引起矽肺病的外因是矽尘。生产性矽尘吸入机件后，其致病能力与机体的防御功能构成一对矛盾，互相排斥、互相斗争、互相对立着。一般情况下，机体的防御功能占主要地位，是矛盾的主要方面。吸入体内的矽尘通过联防线（鼻腔中的鼻毛和粘膜、气管和支气管的纤毛上皮细胞和粘膜、肺泡中的表面活性物质等）使被吸入的矽尘重新排出体外，真正滞留在肺组织中的矽尘量甚微（占总吸入量的2~3%），并

能及时地被分散转运, 所以不会得病。一旦空气中矽尘浓度过高或机体防御功能降低, 矛盾的双方发生转化, 矽尘致病作用上升为矛盾的主要方面, 取得支配地位, 决定着矽肺病的发生。大量的厂矿现场调查资料和实验研究工作均证实了上述情况。当矽尘浓度过高, 其致病作用超越机体防御功能范围时, 大部分工人患得矽肺 (在实验模型制备时, 注入30毫克或更多些矽尘到一定时间方得典型的矽肺结节病变)。即使是在同一作业环境中, 矽肺发病情况也有个体差异, 发病时间有早有晚, 病变程度有重有轻, 甚至也有不得病的。上述事实证明了“外因是条件, 内因是根据, 外因通过内因而起作用”。矽肺的发生与发展 and 机体的免疫防御功能情况有关。

(2) 矛盾的普遍性和特殊性: 当高浓度的矽尘进入机体肺组织之后, 矽尘或由于它而产生的其他物质的致病作用与机体防御功能之间的斗争, 是矽肺发展过程中的普遍性矛盾, 贯穿整个过程的始终。矽肺从发病开始到肺组织纤维增生玻璃样变的矽结节形成, 又经历着几个主要阶段。每一阶段中都有其特殊的矛盾和运动形式。各阶段的矛盾和运动形式又有其质上的区别 (见下文)。因而矽肺的发生与发展是受多种因素影响的复杂的病理变化过程, 这就是我们认识矽肺发病机理的思想基础。

(3) 几个主要阶段:

①机械刺激异物反应: 任何粉尘当长期吸入或短时间内大量进入肺脏时, 都是一个强烈的异物刺激, 有人形容它“象针一样”地不断刺激肺组织, 引起肺泡壁细胞增生、淋巴样细胞浸润、活跃的吞噬现象。此时, 粉尘在体内作用是以机械刺激为主。由于粉尘的刺激长期存在, 肺组织和局部淋巴组织发生慢性炎症变化, 其运动形式是损害与修复过程反复交替进行, 组织增生明显, 形成“异物肉芽组织”。该“异物肉芽组织”发生过程, 首先表现在矽尘直接刺激肺泡壁的Ⅱ型细胞 (图1, 其特点在细胞浆内有嗜银小体, 细胞表面有多量的微绒毛) 变圆、肿胀、继而增生、脱落聚集于肺泡腔内, 并分泌过量的肺表面活性物质, 其主要成分是脂类如卵磷脂等。因而在实验性矽肺的早期病变中脂类的增加非常明显。这种脂类虽对矽肺纤维增生没有直接关系, 但它可以刺激骨髓干细胞, 经血运送到肺间质, 在间质成熟成肺泡巨噬细胞, 提供了肺泡巨噬细胞的来源。此时, 在电镜下可见到当Ⅱ型细胞大量增生和死亡后, 巨噬细胞取而代之, 并表现了活跃地吞噬矽尘的能力。上述病理变化过程, 在无有害粉尘作用下, 是可以经过吸收、清除、再生机能而好转。而在有害的矽尘作用下, 即是不再接触粉尘, 在上述病理变化的基础上, 仍然进一步继续发展。此时, 再用机械刺激学说的依据来解释病变的继续发展, 就显得无能为力了。因此, 在很多研究资料中反驳机械学说的理由也就在于此。认为具有高硬度的金钢砂粉尘并不引起肺脏的纤维组织增生, 而硬度较低的矽尘却在肺中引起典型的矽肺结节病变, 就将机械学说否定了。事物都是一分为二的, 全部的肯定或否定都不符合辩证唯物主义观点。机械学说说明不了矽肺发病的整个过程, 但机械刺激所构成的“异物肉芽组织”和其周围的成纤维细胞的增生, 为矽肺的进一步发展创造了条件, 打下了初级矽肺结节物质基础。

②化学毒性作用: 当矽尘在体内被吞噬细胞吞噬之后, 结束了它对肺组织的直接机械刺激。以后, 则按另一种形式危害机体, 那就是它的溶解和其溶解产物的毒性作用。矽尘虽然溶解很慢, 但在体液内是可以溶解的, 这一点早被大量的研究工作所证实。溶解后的产物——矽酸 (主要是聚合矽酸), 吞噬细胞具有毒性作用, 有人称之为“细胞浆毒”, 使

吞噬细胞变性坏死。这些事实也取得了多数研究者的支持。矽尘如何使吞噬细胞死亡,以前对这个问题还不是非常清楚。近年来随着电子显微镜技术的发展和运用,对矽尘如何破坏吞噬细胞使其死亡也做了大量工作。有人利用连续相差显微摄影、组织化学和电子显微镜等技术,观察了体外培养的吞噬细胞在矽尘作用下的动态变化,发现吞噬细胞吞噬矽尘颗粒之后,细胞质中的单层膜的吞噬体迅速将其吞噬,随之溶酶体将其包围并释放酶给吞噬体,称之为次级溶酶体。此时,有害和无害粉尘在细胞内的表现情况一样。当粉尘表面吸附的蛋白质被酶消化之后,两者对吞噬细胞作用完全两样。后者变为残末体排出细胞之外,吞噬细胞活性不变,仍然保持原来的活动能力(图2)。前者矽尘的水化物表面上的羟基与膜上的卵磷脂作用(靠氢键力量)变成可溶性卵磷脂,破坏了次级溶酶体膜的结构,导致膜破裂,释放大量的水解酶(如磷酸酶,组织蛋白酶、溶菌酶、核糖核酸酶、 β -葡萄糖醛酸酶等)到细胞质内,使细胞本身被消化而死亡(图3、4、5)。吞噬细胞消化、死亡、崩解之后,一方面释放致纤维化因子(H因子),刺激周围的成纤维细胞合成胶原纤维;另方面释放抗原物质,为下一阶段免疫反应创造了条件;还有矽尘颗粒游离出来,被另外的吞噬细胞再吞噬。如此往复循环,破坏一批又一批的吞噬细胞,这就是造成矽肺病变继续发展的重要原因。事实证明,吞噬细胞破坏越多,病变发展越严重,两者呈一致关系。

③免疫反应:免疫是机体抵抗外来侵袭和维护体内相对平衡的一种重要手段。如果自身免疫稳定功能失常,体内相对平衡发生紊乱时,可导致自身免疫性疾病的发生。如胶原病中风湿病、红斑性狼疮、硬皮病和肺组织淀粉样变等。从病理形态、生化改变和血清免疫学等方面的研究资料来看,都证明了矽肺病变形有免疫因素的参与(详见下文)。在矽肺结节玻璃样变组织中含有大量的无定型的球蛋白,很可能是抗原~抗体反应的结果,根据大量的实验资料的现象来看,参加免疫反应的抗原物质很可能是矽尘导致尘细胞死亡后的崩介产物(依据见下文)。该抗原物质被吞噬细胞吞噬,象吞噬其他异物一样,溶酶体迅速向吞噬体靠拢并将其包围,随而释放水解酶消化分解抗原物质保留其抗原决定簇。此时抗原分子结构虽较原来为小,但抗原性则比原来增强。通称之为“抗原信息”,附着于吞噬细胞的浆膜上并与细胞内质网上的核糖核酸结合成为抗原核糖核酸复合物(图6)。此时,它具有强烈地吸引淋巴细胞的作用,将大量的淋巴细胞其中包括被胸腺或类法氏囊组织所激化的T细胞和B细胞环绕在自己的周围,并将抗原信息”传递给T细胞和B细胞,通过母细胞的转化阶段成免疫活性细胞,履行体内细胞免疫和体液免疫任务。

因为吸入体内的矽尘溶解很慢,长期存在于肺组织,由于它们的存在,不断地破坏一批又一批的尘细胞,使其变性坏死崩解,为持续供应抗原物质创造了条件。抗原~抗体免疫反应不断进行的结果,使大量的免疫球蛋白继续沉积在初期矽结节的纤维囊之间,由少积多逐步形成透明玻璃样变组织,即由初期细胞成分所构成的矽结节变成晚期的无细胞成分的玻璃样组织所构成的典型矽结节(图7)。

4. 矽肺发展的根本原因:

造成矽肺发生发展的外因是高浓度的生产性矽尘,其内因在于事物内部的矛盾性。用辩证唯物主义的观点和方法从事物的内部,从一事物与它事物的关系和从它们之间的互相联系、互相影响的根本问题上,去分析矽肺发病机理,看到了矽肺的发生发展有一个过