

亚硫酸盐对大鼠肺巨噬细胞膜 Fc受体和ConA受体的影响*

病理解剖学教研室 来茂德 徐英含

内容提要 本文研究了亚硫酸盐对大鼠肺巨噬细胞Fc和ConA受体的影响, 及Fc、ConA受体在肺巨噬细胞上的分布。结果发现亚硫酸盐能抑制ConA和Fc受体的活性。Fc受体大多分布在PM的边缘部位, ConA受体在不同形态的PM上分布是不一样的, 在圆细胞上分布于周边部, 而于膜性细胞和扁平细胞则分布于整个细胞表面。

关键词 肺巨噬细胞 Fc受体 ConA受体 亚硫酸钠 亚硫酸氢钠

二氧化硫(SO_2)是大气中的主要污染物。吸入的 SO_2 在呼吸道和肺泡表面能转变成亚硫酸氢盐⁽¹⁾(HSO_3^-), 它是 SO_2 在体内的一种生理形式⁽²⁾。由于能源和自然资源消耗的增加, SO_2 污染日趋严重。含硫氧化物的生物学作用近年来已是人们关心的一个问题。 HSO_3^- 与生化亲电反应基的反应是 SO_2 危害健康的重要方面。肺巨噬细胞(PM)在肺病理过程中发挥着重要的作用, 但迄今未见有 SO_2 — HSO_3^- 对PM膜受体影响的研究报告⁽³⁾。为探索 SO_2 及其衍生物引起肺损害的机理, 本文研究了亚硫酸盐对大鼠PM膜Fc受体和ConA受体的影响。

材料和方法

一、PM的收集和分组 Wistar大鼠, 重200~250g。麻醉后腹腔动脉放血。用0.02%EDTA溶液在无菌条件下进行原位支气管肺灌洗, 将收获的灌洗液混匀离心, 弃上层清液后用Hanks液洗2次。所获含PM的沉渣最后用含10%小牛血清的199培养基

配制细胞悬液(细胞浓度为 9×10^6 个/ml), 分装小瓶, 每瓶1 ml。分为三组: 亚硫酸盐a组: 亚硫酸钠(Na_2SO_3)和亚硫酸氢钠(NaHSO_3)的终浓度分别为 3×10^{-6} mol/L和 1×10^{-6} mol/L; 亚硫酸盐b组: Na_2SO_3 和 NaHSO_3 的终浓度分别为 6×10^{-6} mol/L和 2×10^{-6} mol/L; 对照组: 加等体积的三蒸水。各组亚硫酸盐溶液均在临用前配制。上述3组PM小瓶经37℃培养6小时后, 用于检测Fc受体和ConA受体。

二、EA花环形成率的检测 5%鸡红细胞悬液与1:100抗血清(抗鸡红细胞即CRBC的抗血清按文献方法制备⁽⁴⁾)等体积混和, 将50 μ l混和液加入每个经6小时培养的PM小瓶中, 使抗体的终浓度为1:2000。摇匀后37℃孵育30分钟, 取出小玻璃片, 在生理盐水中漂洗, 1%戊二醛固定, Giemsa染色。

三、EC(Erythrocyte-ConA)玫瑰花环形成率的检测 取同种大鼠的血, 经肝素抗凝, 无葡萄糖的Hanks液洗3次后配成2.5%的红细胞悬液。该红细胞悬液用5 μ g/ml ConA(广州医工所)37℃致敏30分

* 本研究得到自然科学基金资助

钟,离心去上清液,再用上述溶液洗涤2次,最后配成2.5%ConA-HRRBC悬液。每瓶PM中加入50 μ l 2.5% ConA-HRRBC悬液,摇匀后孵育30分钟,然后用生理盐水洗涤,固定,染色。

四、计算公式 按镜下结合3个或3个以上红细胞者为花环阳性细胞,计数200个PM中花环阳性细胞数,计算花环形成百分率。

五、扫描电镜标本的制备 PM收集方法同前,细胞浓度为 7×10^6 个/ml,于37℃培养6小时后分别加5%CRBC与1:100抗血清的混和液50 μ l和2.5% ConA-HRRBC悬液50 μ l。摇匀后37℃继续培养30分钟。贴壁细胞经生理盐水浸洗后,相继用2.5%戊二醛和1%锇酸各固定1小时(步骤间用PBS洗3次)。然后经酒精梯度脱水,醋酸异戊酯置换乙醇,临界点干燥和喷金。在扫描电镜(SEM)下观察受体的分布。

结 果

一、亚硫酸盐对EA和EC花环形成率的影响 特异性抗CRBC抗体通过其Fc段与PM表面的Fc受体结合,形成玫瑰花环。正常PM可结合多量的CRBC,镜下可见每个PM能结合几个甚至十几个CRBC。亚硫酸盐作用后,玫瑰花环阳性细胞数减少,且每个PM结合的CRBC数也减少。

正常PM能结合由ConA介导的同种大鼠红细胞(HRRBC)几个到几十个不等,可形成巨大玫瑰花。亚硫酸盐作用后EC花环形成率降低,且每个PM结合的HRRBC也减少。

EA和EC花环形成率的降低与亚硫酸盐的浓度有关,随浓度的增加,花环形成率更趋降低(见附表)。

为了排除亚硫酸盐对抗体、抗原抗体结合和ConA等的作用对玫瑰花环形成率的影响,我们在预实验时,曾将亚硫酸盐培养6小时后的PM组用生理盐水清洗后实验。该

附表 不同浓度亚硫酸盐对PM EA和EC花环形成率的影响(数据经 $\arcsin\sqrt{P}$ 转换)

组 别	EA花环形成率 (平均值 $\pm$ SD)	EC花环形成率 (平均值 $\pm$ SD)
对 照	58.50 $\pm$ 1.92	69.06 $\pm$ 1.84
亚硫酸盐a	49.24 $\pm$ 2.15*	60.99 $\pm$ 1.52*
亚硫酸盐b	32.37 $\pm$ 1.70**	56.39 $\pm$ 1.87**

*与对照组比较 $P < 0.01$

**与对照组和亚硫酸盐a组比较 $P < 0.01$

组结果,与不洗组的差异没有显著性($p > 0.05$)。

二、Fc受体和ConA受体在PM上的分布 根据SEM证实CRBC结合在PM边缘部位的突起或皱折上,中央部位结合得很少。以膜性PM结合的CRBC为多。结合到PM上的CRBC变形,失去原来的双凹圆盘状结构(图1)。

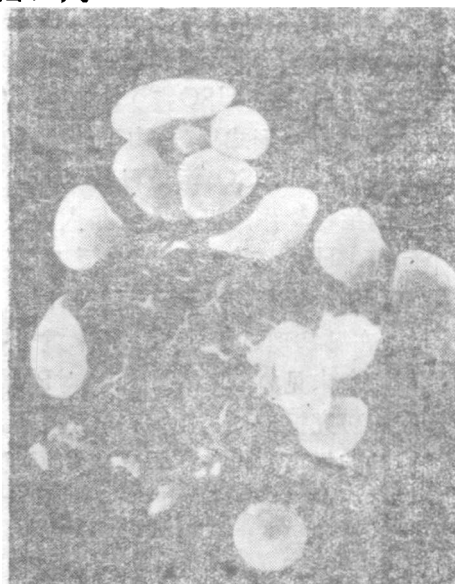


图1 CRBC大多结合在PM边缘部位的突起或皱折上。结合的CRBC变形 $\times 2000$

SEM发现,在静息状态的圆细胞上,HRRBC大多数结合在PM边缘部位的突起或皱折上(图2),而结合到功能活跃的膜性细胞和扁平细胞上的HRRBC则分布于整个PM表面(图3)。这说明在不同形态的PM上,ConA受体的分布是不一样的。部分结合的HRRBC有形态改变,呈半月

形, 香蕉形, 梭形等多种形态。

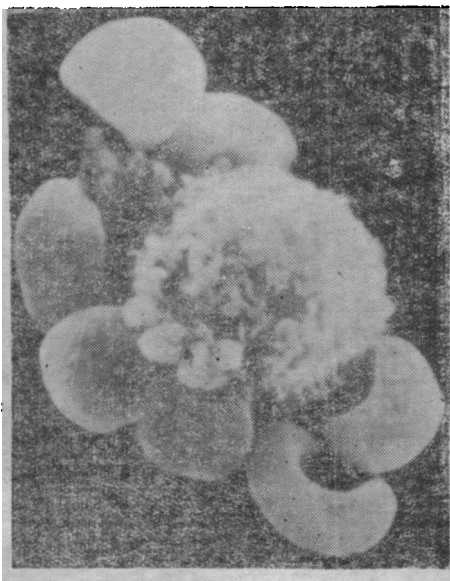


图2 HRRBC大多结合在细胞膜的周边部
结合的HRRBC变形 ×5000

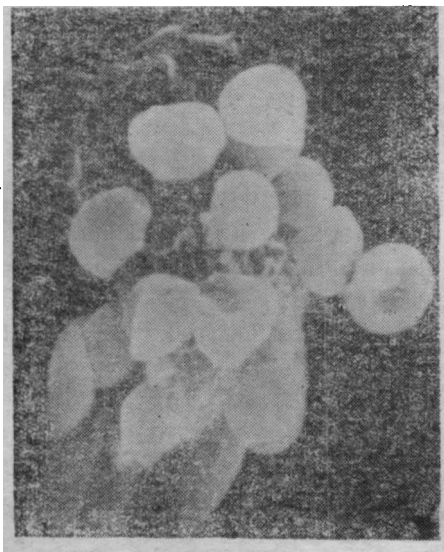


图3 HRRBC结合在整个膜性细胞表面。
结合的HRRBC变形 ×3000

讨 论

PM在呼吸道防御中发挥着重要的作用。巨噬细胞的吞噬作用包括“免疫性”吞噬和“非免疫性”吞噬作用。Fc受体在介导“免疫性”吞噬, 抗原递呈和肿瘤细胞杀伤中发挥重要的作用。而细胞膜表面的糖基和凝集素间的相互作用是“非免疫性”吞噬作用的识别基础⁽⁵⁾。

近年来研究证实PM的Fc受体是膜上一种糖蛋白或蛋白与脂的复合体。鼠巨噬细胞Fc受体是由一条或二条多肽链构成^(6~8)。许多因素如能量代谢, 细胞骨架, 膜脂质等可以影响它的功能。 HSO_3^- 是一个反应非常活跃的亲核基团, 能与肽链内或肽链间的二硫键(RSSR)起反应生成S-磺基半胱氨酸化合物(S-sulfocystenyl compound, RSSO_3^-); 亚硫酸盐可以影响PM膜的脂质过氧化作用⁽⁹⁾; 动物或PM在体外暴露于 SO_2 , 可使ATP酶活性增加, ATP消耗⁽¹⁾, ATP耗竭则使膜蛋白的磷酸化受阻。由于亚硫酸盐对Fc受体本身以及对其功能必须的膜脂质和能量代谢的影响, 使Fc受体在膜中的运动和对免疫球蛋白的多价结合受到影响。本研究表明亚硫酸盐作用后PM的EA玫瑰花环形成率降低, 并随浓度的增加而降低更为明显。EA花环形成率的降低可能涉及到受体亲和力的降低、受体数目的减少或两者兼有, 其确切机理有待进一步研究。

细胞膜糖蛋白的糖基是许多细胞外物质的特异性受体部位。ConA是一个四价凝集素, 能特异地与 α -D-葡萄糖甙和 α -D-甘露糖甙结合。本实验证明亚硫酸盐作用后EC玫瑰花环形成率降低, 并随浓度的增大而降低更为明显。这说明亚硫酸盐可引起PM膜糖蛋白的改变。PM膜ConA受体的这种改变可能与 NaHSO_3 与D-葡萄糖或D-甘露糖的醛基起亲核加成反应, 生成磺酸盐化合物有关。这样能与ConA结合的 α -D-葡萄糖或 α -D-甘露糖就减少, 随着 NaHSO_3 浓度的增加, 减少更为明显。此外, 亚硫酸盐可影响膜脂质; SO_2 可使PM的ATP消耗, 这些因素可影响膜的动力学, 从而也可影响ConA受体功能的表达。

我们在SEM观察中发现, CRBC多结合在PM边缘部位的皱折或突起上, 中央部位结合很少。Tigard等⁽¹⁰⁾认为PM的中央表面在标本冲洗过程中所受的剪切力(shearing force)大, 因此结合的红细胞少,

表明这种现象在某种程度上由人为影响所造成。但近年来证实受体在一定的膜结构域内有优势分布的倾向。本研究在检测 ConA 受体时采用同样的冲洗方法, 但并没有见到 PM 中央部位不结合红细胞的现象。因此, 作者认为 Fc 受体在 PM 膜边缘皱折或突起上优势分布的可能性不能排除。

本实验发现由 ConA 介导结合的红细胞多分布在圆细胞的边缘部, 而于膜性细胞和扁平细胞上则在整个 PM 表面都有分布。ConA 受体是随机分布于整个细胞上, 还是有一定的膜结构域优势分布, 文献结果不一。有人^(11, 12)在鼠胸腺和人周围血淋巴细胞定量超微结构研究中证明, ConA 受体位点是随机分布于这些细胞表面的。另有人⁽¹³⁾认为人类静息 T 细胞的 ConA 受体有一定的膜结构域优势分布。我们根据 SEM 观察, 推测大鼠不同形态的 PM, 其表面 ConA 受体的分布可能是不一样的。在静息状态的圆细胞多分布在边缘部, 而在功能活跃的细胞其边缘和中央分布均较多。Goldman 等⁽¹⁴⁾用相差显微镜研究后认为, 由 ConA 介导结合的红细胞仍为双凹圆盘状, 且其渗透脆性也无改变。有少数红细胞的扭曲是由膜内陷造成的。在我们的 SEM 观察中, 看到由 ConA 介导结合的红细胞大多有形态改变, 即使在结合的早期阶段也是如此。因此我们认为 ConA

介导的红细胞结合, 与由抗体介导的红细胞结合均可导致红细胞的变形。

参 考 文 献

1. Gause EM, et al. Biochemical Effects of Environmental Pollutants, USA, Ann Arbor Science Publisher INC, 1977: 273.
2. Mallon RG and Rossonan TG. Mutat Res 1981; 88: 125.
3. 来茂德. 国外医学卫生学分册, 1986; (3): 132.
4. Zhou Jian, et al. Toxicol Appl Pharmacol 1985; 78: 484.
5. Sharon N. Immunol Today 1984; 5 (5): 143.
6. Mellman IRA, et al. J Cell Biol 1984; 98 (4): 1163.
7. 夏邦顺. 国外医学免疫学分册, 1984; (4): 182.
8. Young JD-E, et al. Nature 1984; 306 (5939): 186.
9. 来茂德. 浙江医科大学研究生学位论文汇编, 1987.
10. Tigard IR, et al. J Reticuloendothel Soc 1974; 225: 15.
11. Schneider GB, et al. Am J Anat 1979; 156 (1): 121.
12. De Petris S. J cell Biol 1978; 79: 235.
13. Renan-Diqueras T, et al. Histochemistry 1985; 82: 293.
14. Goldman R and Cooper RA. Exp Cell Res 1976; 95: 223.

(1987年9月10日收稿, 同年12月28日修回)

EFFECTS OF BISULFITE AND SULFITE ON Fc AND CON A RECEPTORS OF RAT PULMONARY MACROPHAGES (PM)

Lai Maode and Xu Yinhan

Department of Pathology

By means of rosette formation of specific antibody and concanavalin A (Con A)-sensitized red blood cells (RBC), Fc and Con A receptors and effects of bisulfite and sulfite on the two receptors were studied. The data indicate that Fc receptors are mostly distributed on the PM periphery. The distribution of Con A receptor differs on different morphologic PM.

Con A receptors are located on the boundary of the round PM and the whole surface of membranous and flat PM. RBC bound to the PM mediated by either the specific antibody or Con A are deformed. Bisulfite and sulfite possess the ability to inhibit the activities of Fc and Con A receptors and damage the PM function with the help of the receptors.

KEY WORDS Pulmonary Macrophages Fc Receptors Con A
Sulfite Bisulfite

带旋髂深血管复合髂骨瓣整复双侧下颌骨缺损二例报告

附属第二医院口腔科 陈关福 杨明达 顾耕华 孙才均

病例摘要

例1：男，34岁。1年前发现右下后牙区有一肿物，向下颌部膨隆。X线片：下颌骨8—6有一不规则虫蚀样骨质破坏，形态不规则，边缘略粗糙不光滑。临床诊断：双侧下颌骨造釉细胞瘤。在全麻下施行右侧下颌角到左侧7下颌骨肿瘤截除术，切取长13cm，宽2.5cm带旋髂深血管的复合髂骨瓣修复下颌骨缺损。创口一期愈合，3周后X线片示骨断端连接处已模糊，骨密度无改变，术后1年复查，外形满意，功能良好。

例2：男，21岁。右侧下颌骨无痛性逐渐增大7年入院。X线片：右侧下颌骨升支至5不规则囊样骨质破坏，边缘有切迹，内见大小不等分隔。临床诊断：双侧下颌骨造釉细胞瘤。全麻下施行右侧下颌骨至6下颌骨肿瘤截除术。切取带旋髂深血管的复合髂骨瓣修复缺损。创口二期愈合，手术后1年复查，外形满意，功能良好。

讨 论 带旋髂深动脉的复合髂骨瓣

是近年来发展的新技术，其与带旋髂浅动脉者相比有更多优点：旋髂深血管的起始走行恒定，容易寻找；且外径大，与颌面部受区血管外径相近，易于吻合；血管蒂长，有足够的长度可用。旋髂深血管向髂骨分枝较多，可不发生植入骨的吸收和爬行替代过程，使移植后的骨组织保持原有的体积和形状，术后能维持骨块的正常血运，这种骨移植表现为一般骨折后的愈合过程，与游离骨移植相比具有愈合迅速，抗感染力强等优点。

移植骨组织可根据下颌骨缺损的范围切取，先在髂骨翼上用美蓝画出其形状和大小，然后用微型电动锯或骨凿截取髂骨块。

髂骨块截取后，其内侧面应保留足够厚度的肌肉与骨块相连，以保留分布到髂骨上的许多营养支及其回流的静脉。断蒂前应严密观察骨瓣的血运情况，确认血运良好，再切断血管蒂。本文2例切取颌骨块长13cm，宽2.5cm以上，修复后的下颌骨外形满意，功能良好。

(1987年5月14日收稿，同年9月18日修回)