

## 经饮水甲基汞对小鼠脾脏中成熟免疫细胞影响的时间-效应特征

李倩, 郁馨纯, 张燕东, 常秀丽, 周志俊, 张玉彬

### 摘要:

[目的] 观察甲基汞暴露后不同时间点B10.S小鼠脾脏中髓系细胞、淋巴系细胞和骨髓中造血祖细胞生成相应成熟髓系细胞集落的数量及其动态变化,解释成熟免疫细胞动态变化的可能原因,探讨甲基汞引起机体免疫紊乱的可能机制。

[方法] 以6到8周龄的B10.S雌性小鼠为研究对象,随机分为对照组和实验组,分别饮用去离子水、1.25  $\mu\text{mol/L}$  甲基汞水溶液4周,测汞仪测定脾脏和脑中汞的含量,每周观察饮水和饮食消耗量。分别在第1周、2周和4周用动物电子称称量小鼠体重,并且在第1周、2周和4周用流式细胞仪检测小鼠脾脏中巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞、B淋巴细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞和自然杀伤(NK)细胞的数量,并用细胞集落形成试验(CFU, colony-formation units)检测骨髓造血祖细胞生成成熟髓系细胞的能力。

[结果] 2组小鼠饮水量、饮食消耗量、体重变化量之间的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。饮用甲基汞溶液1周后,与对照组相比,小鼠脾脏中单核细胞、中性粒细胞在脾脏细胞中的百分比增高;第2周,单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞的数量百分比降低( $P<0.05$ )。与对照组相比,B细胞数量百分比在第2周和第4周增高( $P<0.05$ ),CD4<sup>+</sup>T细胞的数量百分比在第4周下降,CD8<sup>+</sup>T细胞、NK细胞的数量百分比在第2周下降,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。CFU实验表明,在饮用甲基汞后第1周,粒细胞-红细胞-巨噬细胞-单核细胞集落(GEMM)数量、粒细胞-巨噬细胞集落(GM)数量、粒细胞集落(G)和巨噬细胞集落(M)数量增多,与对照组相比,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与对照组相比,饮用甲基汞2周后,GEMM和GM数量下降( $P<0.05$ ),4周后G和M数量增多( $P<0.05$ )。

[结论] 甲基汞可导致小鼠骨髓中髓系祖细胞分化生成相应成熟细胞的能力先增强后减弱再恢复至正常水平,进而导致单核细胞、中性粒细胞、巨噬细胞的百分比呈现先升高后降低再逐渐恢复的趋势,CD4<sup>+</sup>T细胞占脾脏细胞的百分比总体呈现下调的趋势,CD8<sup>+</sup>T细胞、NK细胞占脾脏细胞的百分比先下调后上升,B细胞占脾脏细胞的比例总体呈现上调的趋势。甲基汞暴露后不同时间点小鼠脾脏中成熟免疫细胞的动态变化很复杂,总体上可以用CFU的变化来解释髓系细胞变化的原因。成熟免疫细胞的数量百分比随染毒时间的变化而发生改变,提示甲基汞引起的免疫紊乱可能与其导致的成熟免疫细胞比例失调有关。

关键词: 甲基汞; 脾脏; 髓系细胞; 淋巴系细胞; 免疫细胞生成

引用: 李倩, 郁馨纯, 张燕东, 等. 经饮水甲基汞对小鼠脾脏中成熟免疫细胞影响的时间-效应特征[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(3): 264-270. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16599

**Time-effect features of methyl mercury exposure via drinking on mature immune cells in spleen of mice** LI Qian, YU Xin-chun, ZHANG Yan-dong, CHANG Xiu-li, ZHOU Zhi-jun, ZHANG Yu-bin (School of Public Health, Key Laboratory of Public Health Safety of Ministry of Education, Fudan University, Shanghai 200032, China). Address correspondence to ZHANG Yu-bin, E-mail: yz001@fudan.edu.cn · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

### Abstract:

[Objective] To explain the possible reasons of the dynamic changes of mature immune cells and explore the possible mechanism of immune disorder after methyl mercury (MeHg) exposure by observing the count and dynamic changes of splenic myeloid cells, lymphoid cells, and the generation of mature myeloid cells from hematopoietic progenitor cells in bone marrow at different time

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金资助项目(编号: 81402707)

[作者简介] 李倩(1992—),女,硕士生;研究方向:免疫毒理;E-mail: 14211020017@fudan.edu.cn

[通信作者] 张玉彬, E-mail: yz001@fudan.edu.cn

[作者单位] 复旦大学公共卫生学院,教育部公共卫生重点实验室,上海 200032

points following MeHg treatment.

[ Methods ] Female B10.S mice at 6-8 weeks old were randomly divided into a control group and an experiment group, then were administrated with double distilled water or 1.25  $\mu\text{mol/L}$  MeHg for 4 weeks. Mercury concentrations in spleen and brain were detected by mercury analyzer; drinking water and food consumption were observed weekly. After 1, 2, and 4 weeks of treatment, body weight was recorded with animal electronic scale; macrophages, monocytes, neutrophils, B lymphocytes, CD4<sup>+</sup>T cells, CD8<sup>+</sup>T cells, and nature killer (NK) cells in spleen were detected by flow cytometry. Bone marrow cells were harvested through colony formation units (CFU) to assess the potential for CFU formation of functional progenitors *in vitro*.

[ Results ] There was no significant difference between the two groups in drinking water and food consumption or body weight change ( $P > 0.05$ ). The percentages of splenic monocytes and neutrophils at week 1 after drinking MeHg were higher than those of the control group, whereas the percentages of splenic monocytes, macrophages, and neutrophils were decreased at week 2 after exposure ( $P < 0.05$ ). The percentage of splenic B cells was increased after 2 and 4 weeks of MeHg exposure ( $P < 0.05$ ), but the percentage of CD4<sup>+</sup>T cells was decreased at week 4, and the percentage of CD8<sup>+</sup>T cells and NK cells were decreased at week 2 ( $P < 0.05$ ). According to the CFU test, MeHg treatment increased the numbers of CFU for granulocyte-erythrocyte-monocyte-megakaryocyte (GEMM), granulocyte-macrophage (GM), granulocyte (G), and macrophage (M) at week 1, and decreased the numbers of CFU for GEMM and GM at week 2, as compared with the control group ( $P < 0.05$ ). After 4 weeks treatment, the numbers of CFU for G and M were increased compared with the control group ( $P < 0.05$ ).

[ Conclusion ] The ability of bone marrow functional myeloid progenitors to differentiate into mature cells is enhanced, weakened, and then returned to the normal level after MeHg exposure. The percentages of monocytes, neutrophils, and macrophages show a similar pattern. At the same time, the percentage of splenic CD4<sup>+</sup>T cells is down-regulated, the percentages of splenic CD8<sup>+</sup>T cells and NK cells decrease firstly and then increase, and the percentage of splenic B cells is up-regulated following MeHg exposure. The mature immune cells at different time points exhibit a complex dynamic change, which could be explained by the changes of CFU in general. The percentage of mature immune cells changes with the exposure time of MeHg, suggesting that the immune disorder induced by MeHg might be related to the disproportion of splenic mature immune cells.

**Keywords:** methyl mercury; spleen; myeloid cell; lymphoid cell; immune cell production

**Citation:** LI Qian, YU Xin-chun, ZHANG Yan-dong, et al. Time-effect features of methyl mercury exposure via drinking on mature immune cells in spleen of mice[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(3): 264-270. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16599

汞在人类生产生活中广泛存在。与人类健康密切相关的汞化学物主要包括甲基汞和无机汞,其中甲基汞对生物体的毒性最大<sup>[1]</sup>。一直以来,普遍认为食用鱼、贝类水产品是造成人体甲基汞暴露的主要途径,我国也十分注重海产品中甲基汞的污染问题。近年来研究也发现,我国部分地区非水产品(大米、玉米等)的甲基汞含量明显高于其他地区<sup>[2]</sup>。无机汞进入环境后可在微生物的作用下形成甲基汞,甲基汞在生物体内蓄积,通过食物链进入人体,对人体神经系统、生殖系统、免疫系统等造成损伤<sup>[3-5]</sup>。有动物研究发现,甲基汞可以对大鼠生殖细胞造成损害,也可以通过胎盘屏障进入胎儿体内,影响子代的生长发育,改变子代与中枢神经系统功能有关的行为和认知能力<sup>[6-7]</sup>。

已有国外文献报道,甲基汞具有免疫毒性,可以导致机体免疫抑制、引起机体的免疫紊乱、导致自身免疫性疾病等<sup>[8-9]</sup>。脾脏是机体重要的外周免疫器官,含有大量的免疫细胞,并且其免疫细胞亚群基本同外周血类似,其免疫细胞的变化可以反映机体免疫细胞总体变化的水平。脾脏内成熟免疫细胞主要包括:髓系细胞、淋巴系细胞等。髓系细胞主要包括单核细胞、

巨噬细胞、中性粒细胞等,淋巴系免疫细胞主要包括T淋巴细胞、B淋巴细胞和NK细胞等,这些细胞可分泌多种细胞因子,对机体免疫应答具有重要的作用。

本研究通过观察小鼠在甲基汞暴露后脾脏中髓系细胞和淋巴系细胞的变化规律,初步探讨甲基汞对骨髓中髓系祖细胞的影响,即在体外培养骨髓细胞,按照生成的细胞集落种类和数量来判断骨髓中髓系祖细胞生成成熟细胞的能力。GEMM表示骨髓中的相应的祖细胞可以在体外分化生成粒细胞、红细胞、巨噬细胞、单核细胞,GM表示骨髓中相应的祖细胞可以在体外生成粒细胞和巨噬细胞,G的集落可以代表骨髓中体外可以生成粒细胞的祖细胞,M的集落表示骨髓中体外可以生成巨噬细胞的祖细胞。本研究根据免疫细胞生成过程解释髓系细胞动态变化的原因,为甲基汞引起免疫紊乱的机制研究提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物、主要试剂和仪器

6到8周龄 SPF 级成年雌性健康的,体重约为 20 g

的B10.S小鼠(Jackson实验室,美国),甲基汞、 $\alpha$ -MEM培养基、胎牛血清、小牛血清、PBS(Sigma,美国),MethoCult半固体培养基(BC,加拿大),多聚甲醛(上海中国医药,中国),抗小鼠CD16/32(Fc block)、抗小鼠Ly6C-APC、抗小鼠Ly6G-PE、抗小鼠CD11b-FITC、抗小鼠F4/80-PE-Cy7、抗小鼠CD4-APC、抗小鼠CD8-PerCP、抗小鼠NK1.1-FITC、抗小鼠CD19-PE-Cy7(Biolegend,美国),高速冷冻离心机(Beckman,美国),96孔板、细胞过滤筛、细胞培养皿(Corning,美国),细胞计数仪(Nexcelom,美国),流式细胞仪(BD,美国),显微镜(Olympus,日本),动物电子秤(上海友声衡器,中国),测汞仪(Milestone,意大利)。本研究已通过复旦大学实验动物科学部动物实验伦理审查,审查表已提交至国家自然科学基金委员会。

## 1.2 动物处理

按随机数法将每批小鼠随机分为2组,实验共3批。每组5到6只小鼠,分别饮用去离子水(对照组)和1.25  $\mu\text{mol/L}$ 的甲基汞水溶液(实验组),分别于饮用后第1周,2周和4周取脾,制成脾脏细胞悬液进行实验。本实验甲基汞溶液浓度的确定是基于课题组前期关于孕期暴露甲基汞诱导自身免疫的研究<sup>[10]</sup>。此剂量可引起免疫系统紊乱,但不会影响小鼠生存率、进食量、饮水量和体重。

## 1.3 细胞处理、荧光抗体染色和流式细胞仪检测

**1.3.1 脾脏细胞处理** 在各时间点取脾组织后,将脾组织放在装有PBS的平皿中,用载玻片研磨脾组织,并用细胞过滤筛过滤。将过滤好的细胞悬液移至15 mL刻度离心管中,493  $\times g$ 离心5 min,弃上清。加入1 mL红细胞裂解液,室温静置5 min 40 s,随即加入10 mL小牛血清(SWB, simple wash buffer)中和裂解反应,2000 r/min离心5 min,弃上清。用4 mL SWB重悬脾脏细胞,计数备用。

**1.3.2 荧光抗体染色和流式细胞仪检测** 取脾脏细胞重悬液,以200  $\mu\text{L}$ /孔置于96孔板中,分为2组。用493  $\times g$ 低温离心机离心5 min,弃上清,加入100  $\mu\text{L}$  Fc-block,混匀后冰上反应20 min。493  $\times g$ 低温离心机离心5 min,弃上清,每组每孔分别加入用SWB配制好的100  $\mu\text{L}$ 含有抗小鼠Ly6C-APC(1 200)、抗小鼠Ly6G-PE(1 400)、抗小鼠CD11b-PerCP(1 400)、抗小鼠F4/80-PE-Cy7(1 500)的混合液,100  $\mu\text{L}$ 含有抗小鼠CD4-APC(1 400)、抗小鼠CD8-PerCP(1 400)、抗小鼠NK1.1-FITC(1 400)抗小鼠CD19-PE-Cy7(1

800)的混合液,同时设立同型对照,冰上避光30 min,493  $\times g$ 离心机离心5 min,弃上清,SWB洗涤后,200  $\mu\text{L}$  1%多聚甲醛固定,经流式细胞仪检测。

## 1.4 骨髓细胞的体外培养及细胞集落形成单位(CFU)实验

在各时间点处死小鼠后,取胫骨和股骨,置于装有无菌PBS的平皿中,用注射器吸取无菌PBS将骨髓冲洗出来,置于细胞过滤筛中研磨过滤,将滤液移至15 mL离心管中,后续处理同脾脏细胞,计数备用。取 $2 \times 10^4$ 个骨髓细胞接种于含有1 mL MethoCult培养基的细胞培养皿中,37℃、饱和湿度和5%CO<sub>2</sub>培养7 d后,显微镜下观察由骨髓细胞生成的细胞集落类型和数量。

## 1.5 统计学分析

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据采用SPSS 19.0统计软件进行两独立样本 $t$ 检验,实验数据组间比较采用方差分析,检验水准 $\alpha < 0.05$ 。用Graphpad Prism 6 mac版作图软件进行作图。

## 2 结果

### 2.1 小鼠体重的变化

随着处理周数的增加,对照组和甲基汞组中小鼠体重均逐渐增加,两组之间的差异没有统计学意义( $P > 0.05$ )。见图1。另外,两组小鼠饮水量没有明显差异,平均每天每只小鼠饮水或甲基汞溶液4~6 mL,两组小鼠饮食消耗量均无明显异常。

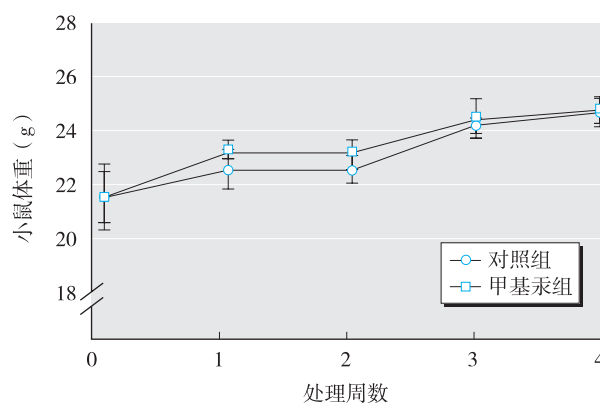


图1 小鼠体重变化

### 2.2 小鼠脾脏和脑中汞浓度

汞在对照组小鼠脾脏和脑中均未检出。在第1、2、4周,实验组小鼠脑中汞浓度与对应脾脏中汞浓度相比,差异尚无统计学意义。见表1。

表1 不同处理周数甲基汞组的汞浓度

处理周数(周)	脾脏汞浓度( $\mu\text{g/g}$ )	脑中汞浓度( $\mu\text{g/g}$ )
1	$12.75 \pm 2.25$	$14.43 \pm 4.83$
2	$22.75 \pm 0.03$	$40.86 \pm 6.19$
4	$64.73 \pm 14.24$	$94.43 \pm 6.72$

### 2.3 甲基汞对脾脏髓系细胞占脾脏细胞总数百分比的影响

在甲基汞暴露后的第1、2周,单核细胞占脾脏细胞数量百分比由( $1.65 \pm 0.76$ )%下降至( $0.75 \pm 0.19$ )%,与对照组相比,呈现先升高后降低的趋势,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。另外,在甲基汞暴露后的第2周、第4周,甲基汞组中性粒细胞的数量百分比为( $1.49 \pm 0.38$ )%、( $1.89 \pm 0.64$ )%,均低于对照组( $P < 0.05$ )。甲基汞组巨噬细胞在第2周占脾脏细胞数量的百分比为( $0.58 \pm 0.17$ )%,低于对照组( $P < 0.05$ )。甲基汞导致脾脏中单核细胞、巨噬细胞的百分比先增高后降低再逐渐恢复至正常水平。见图2。

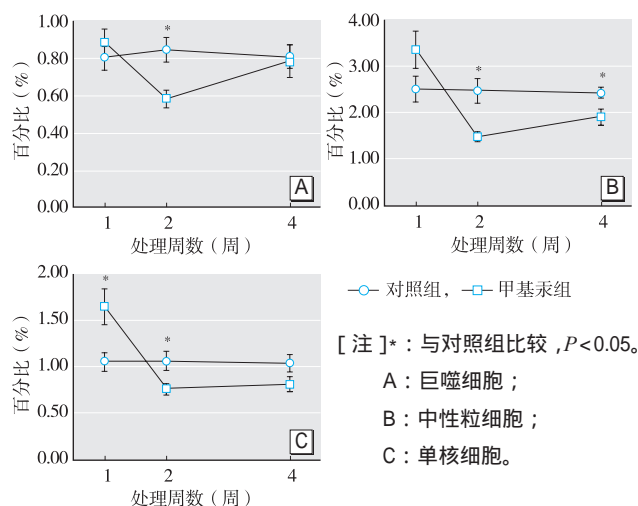


图2 甲基汞处理不同周数髓系细胞占脾脏细胞数量百分比的变化

### 2.4 甲基汞对脾脏淋巴系细胞占脾脏细胞总数百分比的影响

与对照组相比,B细胞占脾脏细胞数量的百分比在第2周和第4周逐渐增高至( $41.29 \pm 2.89$ )%和( $42.96 \pm 3.04$ )%,均高于对照组( $P < 0.05$ )。第2周甲基汞组NK细胞数量百分比为( $1.31 \pm 0.11$ )%,低于对照组( $P < 0.05$ )。第4周CD4<sup>+</sup>T细胞数量百分比为( $13.04 \pm 2.02$ )%,低于对照组( $P < 0.05$ )。在第2周,CD8<sup>+</sup>T细胞占脾脏细胞的数量百分比下降至( $7.47 \pm 0.88$ )%,与对照组相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图3。

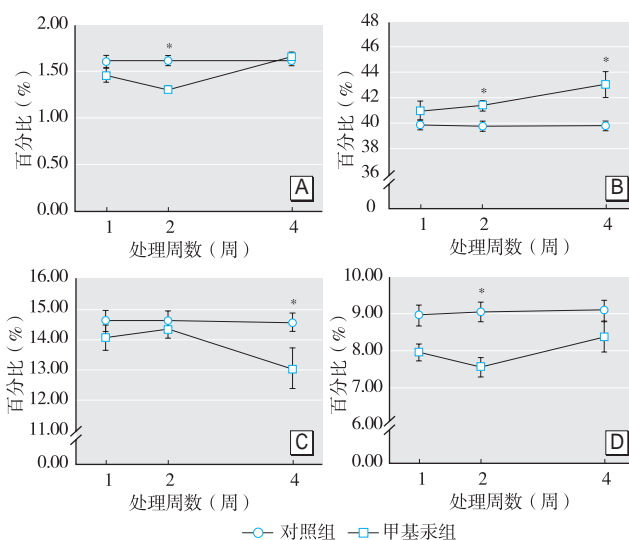
[注]\*:与对照组比较, $P < 0.05$ 。A: NK细胞; B: B细胞; C: CD4<sup>+</sup>T细胞; D: CD8<sup>+</sup>T细胞。

图3 甲基汞处理不同周数淋巴系细胞占脾脏细胞数量百分比的变化

### 2.5 甲基汞对骨髓细胞CFU形成的影响

由图4可以看出,与对照组相比,甲基汞组GEMM的数量由第1周的( $38.14 \pm 9.23$ )个下降至第2周的( $15.83 \pm 3.53$ )个,与对照组相比,差别有统计学意义( $P < 0.05$ )。甲基汞组GM的数量由第1周的( $5.86 \pm 1.46$ )个下降至第2周的( $2.83 \pm 0.37$ )个,与对照组相比,差别有统计学意义( $P < 0.05$ )。相应的,甲基汞组G的数量第1周为( $10.14 \pm 1.64$ )个,第4周为( $11.11 \pm 2.51$ )个,M的数量第1周为( $33.14 \pm 2.99$ )个,第4周为( $31.61 \pm 5.43$ )个,第1周和第4周的G、M集落数量与相应对照组相比,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

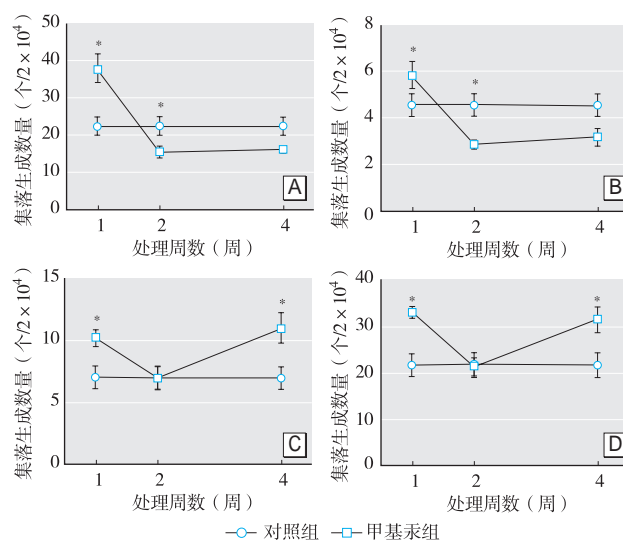
[注]\*:与对照组比较, $P < 0.05$ 。A: GEMM细胞; B: GM细胞; C: G细胞; D: M细胞。

图4 甲基汞处理不同周数细胞集落生成数量



### 3 讨论

甲基汞污染一直是个重要的公共卫生问题<sup>[11]</sup>。甲基汞可通过水生物的富集作用最终被人类摄入而影响人类的健康,甲基汞除了引起中枢神经系统的损伤外,还具有免疫毒性。即使一个很小的剂量,甲基汞也可以在体内对免疫细胞造成影响<sup>[12]</sup>。免疫系统作为人体对抗外来侵害的重要系统,在抗感染、抗肿瘤等多方面起主要作用,免疫系统的损伤必将带来对肿瘤和传染性疾病的易感性增高以及引发免疫功能紊乱等严重后果。本研究动态观察了甲基汞暴露后免疫细胞的变化,并试图从免疫细胞生成的角度解释髓系细胞变化的原因,为进一步阐释甲基汞免疫毒性机制提供依据。

造血干细胞在体内可以分化生成相应的造血祖细胞,进而生成白细胞、红细胞和血小板。造血祖细胞在体外培养,可生成相应成熟细胞的集落<sup>[13]</sup>。本次体外培养骨髓细胞发现,甲基汞导致骨髓中髓系祖细胞生成相应成熟细胞的能力先增强后减弱,然后具有逐渐恢复至正常水平的趋势,从而髓系祖细胞生成的单核细胞、巨噬细胞占脾脏细胞数量的百分比先增多后降低而后逐渐恢复。另外,从免疫学角度分析,这种趋势形成的另一方面的原因可能是甲基汞进入机体后对机体的免疫细胞具有一过性的刺激,使机体髓系细胞的活化程度增高,分裂加快,数量增多。髓系细胞变成活化状态后的寿命缩短,进而细胞大量死亡,表现为髓系细胞的百分比在第2周下降,机体内稳态的调节作用在甲基汞暴露第2周后逐渐发挥出来,进而到第4周髓系细胞的百分比逐渐恢复。成熟的髓系细胞是天然免疫的重要组成部分,可分泌多种细胞因子来参与免疫调节,在细胞免疫和体液免疫中具有重要作用。在正常小鼠中,单核细胞、中性粒细胞在脾脏中的数量百分比比较低,约为1%到3%,巨噬细胞百分比更低,其比例不到1%,所以即使本实验观察到髓系细胞的变化幅度都很小,但是在其细胞基数的水平上,如此小的数量变化都有可能改变其分泌的细胞因子来引起不同的生物学效应,从而影响机体的免疫功能。

有研究表明,甲基汞暴露可以导致儿童血液中CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T比例下降<sup>[14]</sup>,并有动物实验表明:甲基汞是有效的致T细胞凋亡物质,可以导致CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T细胞凋亡增加,可以作为基因毒素显著改变影响细胞生存和凋亡的基因表达<sup>[15-16]</sup>。本研究也发现,

甲基汞导致小鼠脾脏中CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T细胞有减少的趋势,猜测可能是由于细胞凋亡增加引起。由于T细胞比例下降,汞可能导致T细胞介导的细胞免疫缺陷。有研究发现,甲基汞导致新生大鼠体内NK细胞减少、NK细胞活性下降<sup>[17]</sup>,与本次研究发现的NK细胞在第2周比例下降相符合,NK细胞的减少可能会导致天然免疫系统的功能障碍,使得机体对病原菌的抵抗力下降。

汞暴露可以导致B细胞数量增多,B细胞活化增加,从而产生大量自身抗体<sup>[18]</sup>,自身抗体的大量产生对于诱导自身免疫性疾病有非常重要的作用。并且已有文献显示,甲基汞和无机汞暴露均可以引起自身免疫性疾病<sup>[19]</sup>。本次实验发现,B细胞百分比升高,因此甲基汞暴露后机体可能形成多种不同的特异性自身抗体,自身抗体的大量产生在诱导自身免疫病中起重要作用,可猜测甲基汞是否通过活化B细胞、增加B细胞的比例从而导致自身抗体分泌增多,引发或者加速自身免疫性疾病。B细胞数量增多,其活化程度可能会有增强的趋势,反过来也会抑制CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T的分化,使CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T数量下降。

汞可在脑部蓄积。在动物实验中,汞可高浓度集中于小鼠小脑浦肯野细胞和脊柱以及中脑的特定神经元<sup>[20]</sup>。甲基汞具有很强的神经毒性,可引起中枢神经系统不可逆改变,发育中的脑对甲基汞尤为敏感。妊娠期胎儿对甲基汞的聚集性和敏感性均显著高于母亲,当孕妇摄入一定量甲基汞,母亲没有任何症状,而胎儿则可能产生明显的神经损伤<sup>[21]</sup>。实验显示,在受孕前5d及整个孕期每天予母鼠甲基汞1mg/kg,在子鼠出生后1、3d取子鼠脑组织做组织病理检查,发现脑干、边缘系统包括海马和杏仁体神经元出现退行性病变<sup>[22]</sup>。成年期动物神经系统对于甲基汞的敏感性低于胎儿期。有研究显示,在大鼠服用甲基汞4mg/d所致的亚急性汞中毒模型上,中毒后第11天才观察到周围神经系统损伤,脊髓在第7天未见到明显病理变化,小脑的病理变化在染毒第15天才陆续出现,第18天出现明显轴索变性及髓鞘崩解,可见大量浸润的吞噬细胞<sup>[23-24]</sup>。本次研究检测到脾脏中的汞浓度低于脑中,实验观察到甲基汞暴露1周后免疫细胞数量就发生明显的变化,由此可推测免疫系统较神经系统对甲基汞的敏感性更强。这提示免疫细胞在汞导致的神经系统病变中具有重要作用,并且有研究表明汞诱导的小鼠神经系统病变如自闭症行为与小鼠暴露汞后

产生免疫反应有关<sup>[25]</sup>。由此可推测免疫系统较神经系统对甲基汞的敏感性更强。

综上所述,甲基汞暴露后不同时间点小鼠脾脏中成熟免疫细胞的动态变化很复杂,总体上可以用髓系祖细胞的变化解释成熟髓系细胞变化的原因。甲基汞导致骨髓中髓系祖细胞生成相应成熟细胞的能力先增强后减弱然后具有逐渐恢复至正常水平的趋势,所以单核细胞,巨噬细胞占脾脏细胞数量的百分比先增多后减少而后逐渐恢复。CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T百分比有减少趋势,NK细胞先减少后逐渐恢复,B细胞增多,这种变化造成免疫细胞数量比例不协调,可能导致髓系细胞分泌的细胞因子种类和数量上发生变化,T细胞抗原提呈能力下降,B细胞分泌自身抗体增多,从而引发或加剧免疫系统功能的紊乱,进而引起相应的免疫系统疾病。另外,甲基汞对机体的免疫系统影响非常复杂,比如携带不同组织相容性复合物-2(H-2)的小鼠对汞的敏感性有明显区别<sup>[26]</sup>,本研究中B10.S小鼠H-2基因为H-2<sup>s</sup>,对汞诱导的自身免疫敏感,而BALB/C小鼠H-2基因为H-2<sup>d</sup>,对汞诱导的自身免疫耐受,但汞也可引起BALB/C小鼠中免疫细胞和细胞因子的改变<sup>[16,27]</sup>。除了基因之外,性别差异和环境因素对甲基汞诱导免疫紊乱也有一定的作用<sup>[26]</sup>,并且这种免疫紊乱在汞导致的神经系统病变中可能起重要作用。本研究只关注较低剂量亚急性染毒的情况下甲基汞对机体免疫细胞数量百分比的影响,对于急性中毒导致免疫系统损伤的情况没有加以考虑。另外,本研究没有把甲基汞中毒的重要靶器官神经系统和免疫系统的变化联系起来,甲基汞导致免疫细胞出现上述一系列变化的原因和机制也没有进行深入的探讨,因此甲基汞导致免疫紊乱的机制仍需要大量的研究工作才能阐明。

## 参考文献

- [1] Scheuhammer AM, Meyer MW, Sandheinrich MB, et al. Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish[J]. *Ambio*, 2007, 36(1): 12-18.
- [2] 武晓燕, 战景明, 林海鹏, 等. 非水产品类食物中甲基汞含量及其分析方法概述[J]. *环境与职业医学*, 2014, 31(11): 887-890.
- [3] Tan SW, Meiller JC, Mahaffey KR. The endocrine effects of mercury in humans and wildlife[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2009, 39(3): 228-269.
- [4] Ceccatelli S, Daré E, Moors M. Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis[J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 188(2): 301-308.
- [5] Liu G, Cai Y, Philippi T, et al. Distribution of total and methylmercury in different ecosystem compartments in the Everglades: implications for mercury bioaccumulation[J]. *Environ Pollut*, 2008, 153(2): 257-265.
- [6] 李健, 刘苹, 刘伟华, 等. 甲基汞对大鼠仔代早期神经行为发育的影响[J]. *中国行为医学科学*, 2000, 9(1): 1-3.
- [7] Homma-Takeda S, Kugenuma Y, Iwamuro T, et al. Impairment of spermatogenesis in rats by methylmercury: involvement of stage- and cell-specific germ cell apoptosis[J]. *Toxicology*, 2001, 169(1): 25-35.
- [8] Häggqvist B, Havarinasab S, Björn E, et al. The immunosuppressive effect of methylmercury does not preclude development of autoimmunity in genetically susceptible mice[J]. *Toxicology*, 2005, 208(1): 149-164.
- [9] Li X, Yin D, Yin J, et al. Dietary selenium protect against redox-mediated immune suppression induced by methylmercury exposure[J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 72: 169-177.
- [10] Zhang Y, Gao D, Bolivar VJ, et al. Induction of autoimmunity to brain antigens by developmental mercury exposure[J]. *Toxicol Sci*, 2011, 119(2): 270-280.
- [11] Grandjean P, Landrigan PJ. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals[J]. *Lancet*, 2006, 368(9553): 2167-2178.
- [12] Silva-Pereira LC, Cardoso PC, Leite DS, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of low doses of mercury chloride and methylmercury chloride on human lymphocytes *in vitro*[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2005, 38(6): 901-907.
- [13] Wang LD, Wagers AJ. Dynamic niches in the origination and differentiation of haematopoietic stem cells[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12(10): 643-655.
- [14] Oulhote Y, Shamim Z, Kielsen K, et al. Children's white blood cell counts in relation to developmental exposures to methylmercury and persistent organic pollutants[J]. *Reprod Toxicol*, 2016, doi: 10.1016/j.reprotox.2016.08.001. (in Press)
- [15] Shenker BJ, Pankoski L, Zekavat A, et al. Mercury-induced apoptosis in human lymphocytes: caspase activation is linked to redox status[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4(3): 379-389.
- [16] Kim SH, Johnson VJ, Sharma RP. Oral exposure to inorganic

- mercury alters T lymphocyte phenotypes and cytokine expression in BALB/c mice[J]. Arch Toxicol 2003, 77(11): 613-620.
- [17] Ilbäck NG, Sundberg J, Oskarsson A. Methyl mercury exposure via placenta and milk impairs natural killer (NK) cell function in newborn rats[J]. Toxicol Lett, 1991, 58(2): 149-158.
- [18] Hultman P, Eneström S. Mercury induced B-cell activation and antinuclear antibodies in mice[J]. J Clin Lab Immunol, 1989, 28(3): 143-150.
- [19] Havarinasab S, Björn E, Nielsen JB, et al. Mercury species in lymphoid and non-lymphoid tissues after exposure to methyl mercury: correlation with autoimmune parameters during and after treatment in susceptible mice[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2007, 221(1): 21-28.
- [20] Yin Z, Lee E, Ni M, et al. Methylmercury-induced alterations in astrocyte functions are attenuated by ebselen[J]. Neurotoxicology, 2011, 32(3): 291-299.
- [21] Yasutake A, Marumoto M, Yoshida M. Neurotoxic action of inorganic mercury injected in the intraventricular space of mouse cerebrum[J]. J Toxicol Sci, 2010, 35(5): 767-771.
- [22] Kakita A, Wakabayashi K, Su M, et al. Intrauterine methylmercury intoxication: consequence of the inherent brain lesions and cognitive dysfunction in maturity[J]. Brain Res, 2000, 877(2): 322-330.
- [23] 曹秉振, 常高峰, 曹霞, 等. 氯化甲基汞中毒大鼠周围神经损伤的病理演变[J]. 第二军医大学学报, 2004, 25(11): 1190-1194.
- [24] 吕伟. 甲基汞中毒神经系统损伤的病理演变及与 Rho/Rock 信号通路的关系[D]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [25] Zhang Y, Bolivar VJ, Lawrence DA. Maternal exposure to mercury chloride during pregnancy and lactation affects the immunity and social behavior of offspring[J]. Toxicol Sci, 2013, 133(1): 101-111.
- [26] Ekstrand J, Nielsen JB, Havarinasab S, et al. Mercury toxicokinetics—dependency on strain and gender[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2010, 243(3): 283-291.
- [27] Abedi-Valugerdi M, Nilsson C, Zargari A, et al. Bacterial lipopolysaccharide both renders resistant mice susceptible to mercury-induced autoimmunity and exacerbates such autoimmunity in susceptible mice[J]. Clin Exp Immunol, 2005, 141(2): 238-247.
- (收稿日期: 2016-09-12; 录用日期: 2016-12-05)  
(英文编辑: 汪源; 编辑: 王晓宇; 校对: 王晓宇)

## 【告知栏】

## 《环境与职业医学》杂志微信公众号正式上线

《环境与职业医学》杂志微信公众号已于近期正式上线,该平台包括“读者”“作者”和“我们”三个主菜单,主要提供稿件状态查询、当期最新内容及稿件撰写要求等内容,同时也发布国内外最新研究动态及发展前沿等资讯,满足读者网络时代碎片化阅读的需求。本平台旨在为编者、作者、读者之间搭建一个分享、学习、互动的平台,以此推动《环境与职业医学》杂志的健康发展。

请直接扫描二维码或在公众号中搜索“环境与职业医学”(微信号: JEOM),即可关注本刊微信公众号。

《环境与职业医学》编辑部

