

铅对机体免疫系统的毒作用及其机制的研究进展

李倩, 周志俊, 张玉彬

摘要: 铅是一种常见的广泛存在于环境中的重金属污染物, 对全身多个系统有毒性作用。为尝试解释铅对机体免疫系统的毒作用及其机制, 近20年来众多学者做了大量流行病学调查及动物实验研究。结果提示, 铅对机体的天然免疫系统和调节性免疫系统均有一定的毒性, 包括铅引起巨噬细胞的吞噬能力下降, 提高巨噬细胞内的氧化应激水平, 抑制细胞免疫, 促进体液免疫等。国内外学者对铅的免疫毒性及其机制方面的资料已有部分报道, 本文在此基础上就相关研究进展进行综述。

关键词: 铅; 免疫系统; 天然免疫; 调节性免疫; 免疫毒性

Research Advances on Toxic Effects and Mechanism of Lead on Immune System LI Qian, 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: Lead, a common heavy metal pollutant existent in the environment, is toxic to multiple organ systems of the body. To explain the toxic effects and mechanism of lead on immune system, various studies including epidemiological investigations and animal experiments have been conducted over past two decades. Accumulating evidence indicates that lead is immunotoxic and influences both innate and adaptive immunity. Lead decreases the phagocytic activity and increases the oxidative stress of macrophages. Lead also inhibits cell-mediated immunity and promotes humoral immunity. This review summarized related recent literatures.

Key Words: lead; immune system; innate immunity; adaptive immunity; immune toxicity

铅广泛存在于人类生活环境中, 但铅并不是人体的必需元素。铅在人体内半衰期长达数十年, 因此, 即使摄入微量的铅, 也可能对机体产生毒效应。铅在体内主要以二价铅离子的形式存在, 它可以随着血液循环分布到全身多个器官, 并对神经、血液、消化、和免疫等系统均有一定的毒性作用^[1-3]。免疫系统是机体执行免疫应答和免疫功能的重要系统, 分为天然免疫系统和调节性免疫系统(细胞免疫和体液免疫)。免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫活性物质组成。其中, 铅对免疫系统的毒作用虽然国内外已经开展了广泛的研究, 但在作用机制方面仍有许多未解开的“谜团”。本文主要就国外文献中有关铅对机体免疫系统的毒作用及其机制作一较为全面的概述。

1 铅对机体天然免疫系统的作用

机体的天然免疫系统是抵抗外来病原体的第一道防线, 主要由组织屏障以及具有非特异性识别外来侵入物能力的细胞和免疫活性物质构成。能够参与天然免疫系统的细胞主要包括单核/巨噬细胞、粒细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞(NK细胞)、B1细胞、 $\gamma\delta$ T细胞和先天淋巴样细胞(ILC)等, 免疫分子主要包括具有多抗原反应性的抗体、补体、酶类、干扰素(IFN)和肿瘤坏死因子(TNF)等。

1.1 铅对天然免疫系统的作用

铅可与生物体分子的巯基(-SH)基团结合, 形成-S-Pb-S-, 改变生物体分子结构或功能, 或者降低细胞的抗氧化水平。二价铅离子能够干扰二价钙离子在体内的正常活动, 干扰细胞内外信号的传递。当铅进入机体后, 一定程度上可加重机体的炎症反应, 比如引起TNF- α 和前列腺素E2(PGE2)的表达增加^[4]。铅染毒后, 机体对细菌尤其是专属胞内菌感染的抵抗力下降, 如李斯特杆菌和沙门氏菌等^[5]。铅对机体天然免疫系统的影响总体表现为抑制作用。

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.15503

[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

1.2 铅对天然免疫系统中巨噬细胞的影响

铅引起机体天然免疫系统抑制的确切机制仍未完全明确,已有的研究提示铅可能在多个方面降低机体的天然免疫能力。

1.2.1 铅降低巨噬细胞的吞噬和杀菌功能 铅能够抑制巨噬细胞本身的功能,降低巨噬细胞的吸附能力和对趋化因子的反应性,从而降低其运动能力^[6]。尽管可能受到种属、剂量和染毒途径等的影响,但大多数研究表明铅具有降低巨噬细胞的吞噬能力^[7]。铅可降低体内IFN- γ 的水平^[8],使巨噬细胞倾向于M2型活化,杀菌能力下降^[8-9]。

1.2.2 铅增加巨噬细胞的氧化应激水平及其机制 铅可增加巨噬细胞的氧化应激水平,活性氧(ROS)增加,活性氮(RNS)下降^[10],一氧化氮(NO)对于维持巨噬细胞杀菌能力至关重要^[11]。

总体来说,人周围血单个核细胞体外暴露于铅,其细胞内谷胱甘肽(GSH)、GSH过氧化物酶、GSH-S-转移酶(GST)和GSH还原酶的活性降低^[12]。铅通过降低GSH的水平引起超氧阴离子(O_2^-)增加, O_2^- 可在超氧化物歧化酶(SOD)作用下产生 H_2O_2 ^[10]。由于铅能使红细胞膜变脆,使其更易于被巨噬细胞吞噬,从而释放出更多的亚铁离子(Fe^{2+}),在 Fe^{2+} 存在的条件下, H_2O_2 能通过Fenton反应被进一步转换成更具生物学活性的 $HO\cdot$ 和 HO^- ,从而可能引起DNA突变和断裂等^[13-15]。

研究表明,铅对于NO产生这一过程的抑制作用与巨噬细胞的成熟度有关,在未成熟的巨噬细胞系中,低浓度铅可增加NO的产生,而高浓度铅则抑制NO的产生;但是对于成熟的巨噬细胞系,低浓度的铅表现出对NO的抑制^[16]。铅引起的NO下降并不是简单的由于诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)的表达下降^[17]。铅引起NO下降可能有3个原因:(1)铅可能激活Nrf2-keap1抗氧化系统,体内动物实验表明,铅可激活Nrf2途径^[18],导致Nrf2与Keap1分离(静息状态下,Keap1与Nrf2结合而处于未活化状态),使Nrf2能够进入细胞核内,启动一系列抗氧化酶的合成^[19],比如醌氧化还原酶(Nqo1)等^[20]。铅也可以通过引起内质网应激活化PKR样内质网激酶(PERK)激活Nrf2^[21]。除了激活Nrf2途径外,铅也能够激活NF- κ B,从而促使Nqo1的表达增加^[22];(2)在正常的情况下,NO是一氧化氮合成酶(NOS)以L-精氨酸为底物,在还原型辅酶II(NADPH)、黄素单核苷酸(FMN)、黄素嘌呤二核

苷酸(FAD)以及四氢生物喋呤(BH_4)等因子辅助下生成的,在氧化应激情况下, BH_4 缺失,NO产生停止,而 O_2^- 产生增多;(3)氧化应激状态能引起体内蛋白质的谷胱甘肽化,铅通过降低细胞内GSH以及GSH与氧化型谷胱甘肽(GSSG)的比例,增加细胞内的氧化应激水平,增加NOS的谷胱甘肽化。由于NOS上某些特殊位点的半胱氨酸对于NOS的正常功能是必需的,因而NOS的谷胱甘肽化会降低NO的产量,导致更多的 O_2^- 产生^[23]。

1.3 铅对机体内部分酶的影响

铅能够降低一系列具有提高杀菌能力的三磷酸鸟苷(GTP)酶的表达,例如Gbp1、p47 IRC和p-65 GBP^[24]。通常情况下,这些GTP酶基因的表达依赖于IFN- γ ,而铅可能通过降低IFN- γ 来降低这些基因的表达^[25]。但是,也有研究表明铅引起的GTP酶的下降可能不依赖于IFN- γ ^[8, 26]。铅能够降低小鼠脾脏巨噬细胞碱性磷酸酶的释放,而碱性磷酸酶对于巨噬细胞吞噬外来物后形成吞噬溶酶体是必需的^[27]。铅对机体天然免疫系统的影响是多方面的,确切的机制尚待进一步研究。

2 铅对机体调节性免疫系统的作用

调节性免疫系统主要由具有抗原特异性反应的细胞和分子构成。参与的细胞种类主要包括 $\alpha\beta$ T细胞(CD4+T细胞和CD8+T细胞)、B2细胞和具有抗原提呈功能的细胞包括已知的树突状细胞、巨噬细胞和B细胞,以及嗜碱性粒细胞和肥大细胞。参与调节性免疫的分子主要是指具有抗原特异反应性的各类抗体和仅限于直接参与杀伤性CD8+T细胞执行功能的一些分子,如酶类和TNF- α 等。

2.1 铅对细胞免疫和体液免疫的影响

铅对机体调节性免疫系统影响的主要特征是抑制辅助性T细胞1(Th1)反应而促进辅助性T细胞2(Th2)反应。铅对Th1反应的抑制表现为减少IFN- γ 的产生,降低机体对胞内菌和病毒的抵抗力,以及减轻迟发性变态反应等。铅促进Th2反应表现为增强体液免疫,增加过敏反应,以及加重某些自身免疫疾病等。

体内实验表明,铅选择性地活化携带特定 V_β 链的T细胞和降低IFN- γ 的产生^[8],但是铅可以增加Th2反应,包括引起IL-4、IgG1和IgE表达增加等^[28]。研究显示,铅通过三种途径抑制Th1而增强Th2反应。第一,铅直接作用于T细胞,抑制IFN- γ 的表达,增加

IL-4的表达,从而抑制Th1反应,促使Th2反应^[29]。需要说明的是,铅并不在转录水平降低IFN- γ 的表达,也不影响IFN- γ 从细胞内向细胞外的转运^[8]。IFN- γ 能够抑制Th2反应,因此,铅引起的IFN- γ 水平下降也能增强Th2反应。第二,铅诱导抗原提呈细胞使其更易于促进Th2反应。体外研究表明,铅直接作用于抗原提呈细胞如树突状细胞、巨噬细胞和B细胞,使其更倾向于诱导Th2反应^[30]。铅除了能增加抗原提呈细胞表面MHC-II分子的表达外,还能促使B细胞分裂增殖^[31]。另外,铅使巨噬细胞内的GSH和NO下降,而较少的GSH和NO将会更易触发Th2反应^[32-33]。第三,有些髓系细胞(称为髓系来源抑制性细胞)有抑制T细胞分裂的功能,而NO在维持这种抑制效应中起重要作用。铅可降低髓系细胞的NO表达水平^[34],因此会削弱抑制性髓系细胞的作用,促使Th2反应。自身抗体的大量产生在诱导自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮等的发生中起重要作用,而铅可能通过增强Th2反应来加速或加重这些疾病,如铅可加剧红斑狼疮性肾炎病程的进度^[35]。

2.2 铅对Th17、Th9、Tfh和Tregs细胞的影响

几类T细胞均对机体免疫系统具有重要的调节作用。辅助性T细胞17(Th17)主要介导自身免疫^[36],辅助性T细胞9(Th9)可广泛增强免疫反应^[37],滤泡性辅助性T细胞(Tfh)参与脾脏和淋巴结内B细胞的抗体类型转换和亲和力成熟等(T细胞-B细胞相互作用)^[38],而调节性T细胞(Tregs)主要对免疫反应起负调控作用^[39]。有研究显示,铅暴露兔子在胸腺和外周淋巴器组织Tregs细胞均升高,表明铅暴露可上调Tregs的表达,导致免疫抑制^[40]。相关研究还发现,长期经口暴露无机铅,使Th1细胞分化成Th17细胞的转化生长因子- β (TGF- β)的mRNA水平与对照组相比下降,提示铅一定程度上抑制Th17细胞的形成^[41]。目前,关于铅对这几类T细胞影响的研究仍然匮乏,尚不能得出明确的结论。

3 展望

铅对机体免疫系统的影响十分复杂。除了上述内容以外,其他值得关注的方面包括在生命不同时期暴露于铅可以造成不同的免疫机能改变^[42]、铅与其他重金属(比如镉)对免疫系统存在联合作用等^[43]。鉴于中国有不少铅污染受害者,特别是儿童的铅中毒率仍处在一个相对较高的水平^[44],与发达国家比较,我

国关于铅对免疫系统的毒作用研究较少,更缺乏机制研究。因此,铅对机体免疫系统的影响以及铅在相关疾病发生中的作用仍然需要大量的细致研究工作才能阐明。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] Bellinger DC, Needleman HL. Lead and the relationship between maternal and child intelligence[J]. J Pediatr, 1983, 102(4): 523-527.
- [2] Zota AR, Needham BL, Blackburn EH, et al. Associations of cadmium and lead exposure with leukocyte telomere length: findings from National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2002[J]. Am J Epidemiol, 2015, 181(2): 127-136.
- [3] Magzamen S, Amato MS, Imm P, et al. Quantile regression in environmental health: Early life lead exposure and end-of-grade exams[J]. Environ Res, 2014, 137C: 108-119.
- [4] Flohe SB, Bruggemann J, Herder C, et al. Enhanced proinflammatory response to endotoxin after priming of macrophages with lead ions[J]. J Leukoc Biol, 2002, 71(3): 417-424.
- [5] Fernandez-Cabezudo MJ, Ali SA, Ullah A, et al. Pronounced susceptibility to infection by Salmonella enterica serovar Typhimurium in mice chronically exposed to lead correlates with a shift to Th2-type immune responses[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2007, 218(3): 215-226.
- [6] Villanueva R, Albaladejo R, Ortega P, et al. Adherence of mouse peritoneal macrophages following exposure to lead[J]. Ind Health, 1997, 35(2): 291-293.
- [7] Gargioni R, Filipakneto F, Buchi D, et al. Cell death and DNA damage in peritoneal macrophages of mice (*Mus musculus*) exposed to inorganic lead[J]. Cell Biology International, 2006, 30(7): 615-623.
- [8] Heo Y, Mondal TK, Gao D, et al. Posttranscriptional inhibition of interferon-gamma production by lead[J]. Toxicol Sci, 2007, 96(1): 92-100.
- [9] Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, et al. Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages[J]. Science, 1993, 260(5107): 547-549.
- [10] Bussolaro D, Filipak NF, Gargioni R, et al. The immune response of peritoneal macrophages due to exposure to

- inorganic lead in the house mouse *Mus musculus* [J]. *Toxicol In Vitro*, 2008, 22(1): 254-260.
- [11] Tian L, Lawrence DA. Lead inhibits nitric oxide production *in vitro* by murine splenic macrophages [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1995, 132(1): 156-163.
- [12] Reglero MM, Taggart MA, Monsalve-Gonzalez L, et al. Heavy metal exposure in large game from a lead mining area: effects on oxidative stress and fatty acid composition in liver [J]. *Environ Pollut*, 2009, 157(4): 1388-1395.
- [13] Yu DY, Li WF, Deng B, et al. Effects of lead on hepatic antioxidant status and transcription of superoxide dismutase gene in pigs [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2008, 126(1/2/3): 121-128.
- [14] Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease [J]. *Toxicology*, 2011, 283(2/3): 65-87.
- [15] Jang WH, Lim KM, Kim K, et al. Low level of lead can induce phosphatidylserine exposure and erythrophagocytosis: a new mechanism underlying lead-associated anemia [J]. *Toxicol Sci*, 2011, 122(1): 177-184.
- [16] Song JS, Sim SY, Hong DP, et al. Lead treatment *in vitro* at early developmental stage of bone marrow-derived macrophages enhances NO production through IL-1 β and IL-6 but not TNF- α [J]. *Toxicology*, 2001, 162(1): 61-68.
- [17] Tian L, Lawrence DA. Metal-induced modulation of nitric oxide production *in vitro* by murine macrophages: lead, nickel, and cobalt utilize different mechanisms [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1996, 141(2): 540-547.
- [18] Wang Y, Fang J, Huang S, et al. The chronic effects of low lead level on the expressions of Nrf2 and Mrp1 of the testes in the rats [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2013, 35(1): 109-116.
- [19] Zhang DD. Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway [J]. *Drug Metab Rev*, 2006, 38(4): 769-789.
- [20] Chanas SA, Jiang Q, McMahon M, et al. Loss of the Nrf2 transcription factor causes a marked reduction in constitutive and inducible expression of the glutathione S-transferase Gsta1, Gsta2, Gstm1, Gstm2, Gstm3 and Gstm4 genes in the livers of male and female mice [J]. *Biochem J*, 2002, 365(Pt 2): 405-416.
- [21] Shinkai Y, Kaji T. Cellular defense mechanisms against lead toxicity in the vascular system [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(11): 1885-1891.
- [22] Korashy HM, El-Kadi AO. NF-kappaB and AP-1 are key signaling pathways in the modulation of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 gene by mercury, lead, and copper [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2008, 22(4): 274-283.
- [23] Crabtree MJ, Brixey R, Batchelor H, et al. Integrated redox sensor and effector functions for tetrahydrobiopterin- and glutathionylation-dependent endothelial nitric-oxide synthase uncoupling [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(1): 561-569.
- [24] Taylor GA, Feng CG, Sher A. p47 GTPases: regulators of immunity to intracellular pathogens [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(2): 100-109.
- [25] Shenoy AR, Kim BH, Choi HP, et al. Emerging themes in IFN-gamma-induced macrophage immunity by the p47 and p65 GTPase families [J]. *Immunobiology*, 2007, 212(9/10): 771-784.
- [26] Kasten-Jolly J, Heo Y, Lawrence DA. Central nervous system cytokine gene expression: modulation by lead [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2011, 25(1): 41-54.
- [27] Sengupta M, Bishayi B. Effect of lead and arsenic on murine macrophage response [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2002, 25(4): 459-472.
- [28] Heo Y, Lee WT, Lawrence DA. *In vivo* the environmental pollutants lead and mercury induce oligoclonal T cell responses skewed toward type-2 reactivities [J]. *Cell Immunol*, 1997, 179(2): 185-195.
- [29] Heo Y, Parsons PJ, Lawrence DA. Lead differentially modifies cytokine production *in vitro* and *in vivo* [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1996, 138(1): 149-157.
- [30] Kerr RP, Krunkosky TM, Hurley DJ, et al. Lead at 2.5 and 5.0 μ M induced aberrant MH-II surface expression through increased MII exocytosis and increased autophagosome formation in Raw 267.4 cells [J]. *Toxicol In Vitro*, 2013, 27(3): 1018-1024.
- [31] Kasten-Jolly J, Heo Y, Lawrence DA. Impact of developmental lead exposure on splenic factors [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 247(2): 105-115.
- [32] Rowley B, Monestier M. Mechanisms of heavy metal-induced autoimmunity [J]. *Mol Immunol*, 2005, 42(7): 833-838.
- [33] Murata Y, Amao M, Yoneda J, et al. Intracellular thiol redox status of macrophages directs the Th1 skewing in thioredoxin transgenic mice during aging [J]. *Mol Immunol*, 2002, 38(10): 747-757.

- [34] Farrer DG, Hueber S, Laiosa MD, et al. Reduction of myeloid suppressor cell derived nitric oxide provides a mechanistic basis of lead enhancement of alloreactive CD4(+) T cell proliferation[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 229(2): 135-145.
- [35] Hudson CA, Cao L, Kasten-Jolly J, et al. Susceptibility of lupus-prone NZM mouse strains to lead exacerbation of systemic lupus erythematosus symptoms[J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2003, 66(10): 895-918.
- [36] Reinert-Hartwall L, Honkanen J, Salo HM, et al. Th1/Th17 plasticity is a marker of advanced beta cell autoimmunity and impaired glucose tolerance in humans[J]. *J Immunol*, 2015, 194(1): 68-75.
- [37] Chang HC, Sehra S, Goswami R, et al. The transcription factor PU.1 is required for the development of IL-9-producing T cells and allergic inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(6): 527-534.
- [38] Fazilleau N, Mark L, McHeyzer-Williams LJ, et al. Follicular helper T cells: lineage and location[J]. *Immunity*, 2009, 30(3): 324-335.
- [39] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases[J]. *J Immunol*, 1995, 155(3): 1151-1164.
- [40] Fang L, Zhao F, Shen X, et al. Pb exposure attenuates hypersensitivity in vivo by increasing regulatory T cells[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 265(2): 272-278.
- [41] Goebel C, Flohe SB, Kirchhoff K, et al. Orally administered lead chloride induces bias of mucosal immunity[J]. *Cytokine*, 2000, 12(9): 1414-1418.
- [42] Dietert RR, Lee J, Hussain I, et al. Developmental immunotoxicology of lead[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2004, 198(2): 86-94.
- [43] Bishayi B, Sengupta M. Synergism in immunotoxicological effects due to repeated combined administration of arsenic and lead in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6(3): 454-464.
- [44] 楼蔓藤, 秦俊法, 李增禧, 等. 中国铅污染的调查研究[J]. *广东微量元素科学*, 2012, 19(10): 15-34.

(收稿日期: 2015-08-26)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪; 校对: 葛宏妍)

【告知栏】

《环境与职业医学》杂志发表论文可直接使用的英文缩写名单

本刊发表论文可直接使用的英文缩写如下。

常用名词: ICR、SD、AIDS、WHO、HE、SPF

培养基: RPMI-1640、DMEM/F12、DMEM、DEME、IMDM、MEM、OPTI

实验方法: ELISA、PCR、MTT、TUNEL、Bradford、Lowry

试剂: Tris、Tris-HCl、Triton X-100、EDTA、EDTA-2Na、EDTA-Na2、TBST、TBS、PBS、Annexin V、Annexin V-FITC、RNase、DNase

《环境与职业医学》编辑部

2016年5月25日