

细胞因子和 Clara 细胞蛋白在矽肺发生和发展中的变化及意义

Change and significance of serum cytokine and Clara cells secretory protein in occurrence and development of silicosis

鲁翼雯¹, 石远², 卞红¹, 陈献文², 王旋¹, 匡兴亚¹

(1. 同济大学附属杨浦医院/上海市杨浦区中心医院, 上海 200090; 2. 江阴市疾病预防控制中心, 江苏 江阴 214434)

摘要: 本研究以 76 例未接触粉尘者为正常对照组, 83 例接触矽尘 1 年以上的工人为接尘组, 38 例已经明确诊断的矽肺患者为矽肺组 (壹期 16 例、贰期 10 例、叁期 12 例), 采用酶联免疫法分别测定 TGF- β 1、TNF- α 1 和 NF- κ B 及 cc16 的含量。研究发现矽肺组 TGF- β 1、TNF- α 1 和 NF- κ B 含量明显高于接尘组和对照组 ($P < 0.05$); 接尘组 TNF- α 1 和 NF- κ B 的含量也高于对照组 ($P < 0.05$), 两两比较差异均有统计学意义。矽肺叁期患者 NF- κ B 含量明显高于壹期患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。矽肺组 cc16 水平明显低于对照组和接尘组 ($P < 0.05$), 而接尘组 cc16 水平随接尘年限的增加而逐渐下降, 壹期矽肺患者血清中 cc16 含量最低 ($P < 0.05$)。提示 cc16、TGF- β 1、TNF- α 1 和 NF- κ B 参与了矽肺的发生发展过程, 可为矽肺病的早期筛检和诊治提供参考依据。

关键词: Clara 细胞蛋白 (cc16); 核转化生长因子 (TGF- β 1); 肿瘤坏死因子 (TNF- α 1); 核转录因子- κ B (NF- κ B); 矽肺; 肺纤维化

中图分类号: R135.2 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2015)06-0465-02

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2015.06.028

目前矽肺的诊断主要依靠职业史和 X 线胸片, 并无实验室检测项目参与其中, 因此能否发现灵敏且特异的检测方法用于矽肺早期筛检, 是需要迫切解决的问题。游离二氧化硅 (SiO_2) 致肺组织纤维化的机制十分复杂, 涉及到多种细胞生物活性物质参与的各种反应, 其中细胞因子和 Clara 细胞分泌的主要功能蛋白都起了重要作用^[1,2]。本研究通过观察矽肺患者血清 Clara 细胞蛋白 (cc16)、转化生长因子 (TGF- β 1)、肿瘤坏死因子 (TNF- α 1) 和外周血单核细胞核蛋白转录因子- κ B (NF- κ B) 的含量变化, 了解它们在矽肺早期发病过程中所起到的作用。

1 对象与方法

1.1 对象及分组

对照组为未接触粉尘作业人员 76 例, 年龄 35~56 岁, 平均 48 岁。接尘组为接触粉尘作业工龄 1 年以上的工人 83 例, 年龄 34~58 岁, 平均 50 岁。矽肺组包括门诊随访和住院的矽肺患者共 38 例, 其中壹期 16 例、贰期 10 例、叁期 12 例, 年

龄 36~62 岁, 平均 52 岁。所有对象均为男性, 各组年龄差异无统计学意义。

1.2 问卷调查

详细询问并记录一般情况 (尤其是肺部疾患)、粉尘接触史、发病情况等, 进行一般体格检查, 包括血压、内科检查、心电图、高千伏 X 线胸片、肺功能、腹部 B 超、肝肾功能、血糖、血脂等。

1.3 矽肺的诊断

根据国家《尘肺 X 线诊断标准》(GBZ70—2009), 参考研究对象的胸片和发病情况, 由具有尘肺诊断资质的专业医生进行诊断和分期。

1.4 标本制备

1.4.1 主要试剂和仪器 由上海江莱生物科技有限公司提供的试剂盒 (德国 IBL 公司原装产品), 采用美国 BIO RAD iMark 酶标仪, 用酶联免疫法测定。

1.4.2 血清 cc16、TGF- β 1、TNF- α 1 测定 分批取三组对象空腹静脉血, 及时分离血清, -80°C 冷冻保存待测。

1.4.3 NF- κ B 测定 取空腹 EDTA 抗凝血 2 ml, 在 6 h 内用淋巴细胞分离液分离出单核细胞, 用细胞核蛋白和胞浆蛋白抽提液提取胞核蛋白及胞浆蛋白, 于 -80°C 冷冻保存待测, 避免反复冻融。以上操作均需在低温环境下进行。

1.5 统计学分析

利用 SPSS19.0 统计软件进行统计学分析。因四组数据不符合正态分布, 均采用非参数检验, 多组计量资料比较采用 Kruskal Wallis Test (单因素方差分析)。矽肺各期基本符合正态分布, 方差齐, 可进行方差分析。

2 结果

2.1 各组 cc16、TGF- β 1、TNF- α 1、NF- κ B 测定结果

与对照组比较, 矽肺组 TGF- β 1、TNF- α 1、NF- κ B 水平均明显升高, 差异有统计学意义, 接尘组 TNF- α 1 和 NF- κ B 水平明显升高 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 血清 cc16 的水平在接尘组中明显上升, 而在矽肺组中则明显下降, 两两比较差异都有统计学意义。见表 1。

2.2 各期别矽肺患者间血清 cc16 和 NF- κ B 水平的比较

矽肺患者随着分期级别的上升, 血清 cc16 和 NF- κ B 的含量也呈逐步上升的趋势, cc16 水平在壹期和叁期间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), NF- κ B 水平在壹期和叁期、贰期和叁期间也具统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.3 cc16 水平在不同接尘年限工人中的比较

收稿日期: 2015-08-24; 修回日期: 2015-09-20

基金项目: 2011 年国家临床重点专科建设项目

作者简介: 鲁翼雯 (1967—), 女, 主管技师, 从事职业病检验工作。

接尘组接尘<3年者 cc16 含量 (31.07±19.38) ng/ml, 明显高于对照组 (20.81±19.92) ng/ml, 而随着接尘时间的

增加, cc16 含量逐渐下降, 接尘 3~6 年者 (28.16±18.60) ng/ml, 6~8 年者 (18.84±7.66) ng/ml。

表 1 三组血清 cc16、TGF-β1、TNF-α1 和 NF-κB 水平比较

组别	例数	cc16 (ng/ml)	NF-κB (ng/L)	TGF-β1 (ng/L)	TNF-α1 (ng/L)
对照组	76	20.81±19.92	55.64±22.81	177.07±133.56	79.80±56.15
接尘组	83	26.79±18.11*	79.91±50.83*	180.52±151.18	100.63±81.27*
矽肺组	38	13.25±5.16*#	88.20±11.81*#	199.94±75.79*#	112.26±26.27*#

注: 与对照组比较, * $P<0.05$; 与接尘组比较, # $P<0.05$ 。

表 2 矽肺患者不同期别血清 cc16 和 NF-κB 水平比较

组别	例数	cc16 (ng/ml)	NF-κB (ng/L)
壹期矽肺	16	10.87±4.89	84.86±10.82
贰期矽肺	10	13.48±4.05*	86.92±11.33
叁期矽肺	12	14.16±4.82*	95.01±10.16* Δ

注: 与壹期矽肺比较, * $P<0.05$; 与贰期矽肺比较, $\Delta P<0.05$ 。

3 讨论

矽尘与肺泡细胞之间的相互作用是矽肺发病的关键, 肺巨噬细胞在矽肺发展中起了非常重要的作用, 是粉尘作用的主要靶细胞。矽尘作用于肺泡巨噬细胞, 改变了膜的通透性, 导致巨噬细胞崩解死亡, 释放出许多炎性活性因子, 这是引起肺纤维化最直接的原因^[3]。活性因子在矽肺纤维化过程中具有一定的作用。

TGF-β1 可以促进成纤维细胞的增殖和聚集, 是目前比较公认的肺纤维化形成和发展的重要细胞因子, 可以反映矽尘所致的肺组织炎症反应。本实验通过对三组不同对象血清 TGF-β1 含量的检测, 发现矽肺组明显高于对照组和接尘组 ($P<0.05$), 与文献报道一致^[4]。TNF-α1 是一种主要由巨噬细胞和单核细胞产生的促炎细胞因子, 参与正常炎症反应和免疫反应。在许多病理状态下 TNF-α1 产生增多, 是具有重要生物活性的细胞因子^[5]。本研究发现, 接尘组和矽肺组 TNF-α1 水平明显高于对照组 ($P<0.05$), 矽肺组 TNF-α1 水平高于接尘组 ($P<0.05$)。NF-κB 是一类关键性的核转录因子, 通常以同源或异源二聚体非活性形式存在于几乎所有类型细胞的胞质。它是调控炎症反应的重要转录因子, 与炎症性疾病密切相关^[6,7]。牛海燕等^[8]研究了核转录因子在 SiO₂ 刺激巨噬细胞产生细胞因子中的作用, 干预 NF-κB 的活性, 可延缓肺纤维化的形成。于红^[9]也报道了 NF-κB 在炎症反应调控中起核心作用, 通过下调 NF-κB 的转录活性可抑制肺损伤和肺纤维化。本研究结果发现矽肺组和接尘组 NF-κB 含量较对照组明显升高 ($P<0.05$), 且矽肺组比接尘组明显升高 ($P<0.05$)。说明 NF-κB 的水平与接触矽尘和矽肺的发生有密切联系, 证实了矽尘接触者和矽肺患者的 NF-κB 被持续活化, 使肺部炎症持续放大, 导致炎症进一步加重。同时也证实了 SiO₂ 粉尘可致人体内 NF-κB 的活化, 长期接触矽尘后使其活性不断增强。

cc16 属于分泌型珠蛋白, 是 Clara 细胞分泌的一种主要功能蛋白, 具有抗炎、抗氧化、免疫调节及肿瘤抑制等多种生物学活性^[10]。在肺和支气管的 cc16 表达水平最高, 接触矽肺颗粒可直接损伤 Clara 细胞。有研究发现在矽肺病人和接触矽尘人群中都有血清 cc16 含量的下降。本研究发现矽肺组 cc16

含量明显低于正常对照组和接尘组, 且在矽肺壹期时含量最低, 与文献报道一致^[11]。进一步研究发现, cc16 含量的下降与接尘年限有关, 接尘早期未见 cc16 含量的下降, 但随着接尘年限的不断增长, 其水平逐渐下降, 提示在接触早期, 矽尘颗粒刺激 Clara 细胞产生大量 cc16 蛋白以增加其内源性抗炎作用, 可能存在暂时应激性增高反应; 而后由于长期反复的吸入矽尘颗粒引诱接尘工人血清中 cc16 含量的不断下降, 并持续表现到矽肺的早期。矽肺壹期是形成肺纤维化最关键时期, 所以 cc16 含量下降最为明显。由此可见, 对接尘年限较长的劳动者和矽肺患者监测该项指标更有意义, 今后还需扩大样本量对不同接尘年限与 cc16 含量的关系做进一步的研究。

细胞因子和 Clara 细胞蛋白在支气管哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、间质性肺疾病和肺癌时都可发生改变, 所以参与本研究的实验者均排除以上多种肺部疾患。结果提示, cc16、TGF-β1、TNF-α1 和 NF-κB 水平的检测在矽肺发生发展过程中具有重要意义, 可能为矽尘暴露者和矽肺患者在临床实验室的早期筛检和临床防治提供新方法。

参考文献:

- [1] Blackwell T S, Christman J W. The role of nuclear factor-B in cytokine gene regulation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1997, 17 (1): 3-9.
- [2] 高衍新, 王瑞. 矽尘致肺纤维化机制及细胞因子在矽肺纤维化中的作用 [J]. *中国工业医学杂志*, 2008, 21 (1): 31-32.
- [3] 周建华, 周立人, 杨吉成, 等. 矿物粉尘诱导的肺泡巨噬细胞释放白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子 α 的观察 [J]. *天津医药*, 1999, 27 (2): 742-743.
- [4] 缪荣明, 张雪涛, 严于兰, 等. 矽肺患者血清转化生长因子-β1 和肿瘤坏死因子-α1 的变化 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2011, 29 (8): 606-607.
- [5] 徐峥嵘, 杜海科, 王世鑫, 等. 染矽尘大鼠早期肺组织肿瘤坏死因子的表达 [J]. *工业卫生与职业病*, 2005, 31 (4): 193-196.
- [6] Ward P A. Role of complement, chemokines and regulatory cytokines in acute lung injury [J]. *Ann NY Acad Sci*, 1996, 769: 104-112.
- [7] 牛海燕, 曾庆富, 李翔, 等. 核转录因子在二氧化硅刺激巨噬细胞产生细胞因子中的作用 [J]. *中华病理学杂志*, 2004, 4 (5): 363-367.
- [8] 于红. 核转录因子 NF-κB 与肺纤维化 [J]. *中国实用内科杂志*, 2006, 26 (15): 1203-1204.
- [9] Brennan F M, Maini R N, Feldmann M. Cytokine expression in chronic inflammatory disease [J]. *Br Med Bull*, 1995, 51 (4): 368.
- [10] 陈年兴, 戴军, 刘杰, 等. 矽肺患者血清 cc16 蛋白的检测及临床意义 [J]. *当代医学*, 2010, 3 (6): 17-18.