

· 论 著 ·

二噁英慢性低剂量暴露对雌性 SD大鼠血清蛋白的影响

陈曦¹, 汤乃军^{1*}, 马世伟², 马晓明¹, 赵力军¹, 刘静³, 张春梅⁴

(1 天津医科大学公共卫生学院劳动卫生教研室, 天津 300070 2 中国铁道科学研究院节能环保控劳卫研究所, 北京 100081 3 天津市疾病预防控制中心, 天津 300011 4 天津市和平区卫生防病站, 天津 300070)

摘要: 目的 对慢性低剂量暴露于 2,3,7,8-四氯二苯并二噁英 (TCDD) 的雌性 SD大鼠血清蛋白改变进行研究, 对 TCDD毒性效应作进一步阐述。方法 雌性 SD大鼠随机分为 3个染毒组和 1个对照组 [$n=8$ 只/组, 0 ng/(kg·d)、20 ng/(kg·d)、50 ng/(kg·d)、125 ng/(kg·d)], 灌胃染毒 29周, 采用双向凝胶电泳和基质辅助激光解吸飞行时间串联质谱技术对大鼠血清进行蛋白质组学研究, 寻找差异蛋白点, 并对其肝脏进行组织病理学检测。结果 上调的蛋白包括补体 C4 载脂蛋白 A-IV前体和低分子量的激肽原前体, 触珠蛋白和补体 C3仅在染毒组大鼠凝胶中被识别, 而对照组未见; 而 α 抑制因子 III前体只在对照组的胶上被识别。肝脏组织病理学检测显示染毒组大鼠肝脏出现肝细胞的脂肪变性、空泡形成、肝细胞坏死等改变, 并且随染毒剂量的增加严重程度增加。结论 慢性低剂量染毒使得血清蛋白谱发生改变, 所改变的蛋白质与 TCDD的免疫毒性、肝毒性、氧化应激等效应有关。血清差异蛋白可为 TCDD毒作用分子标志物的筛选提供依据。

关键词: 2,3,7,8-四氯二苯并二噁英; 血清蛋白质组学; 基质辅助激光解吸飞行时间串联质谱; 双向电泳

中图分类号: R994.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2009)03-0163-05

Effect of chronic low-dose exposure of dioxin on serum proteins in female SD rats

CHEN Xi, TANG Naijun*, MA Shiwei, MA Xiaoming, ZHAO Lijun, LIU Jing, ZHANG Chunmei

(1 Department of Occupational Health School of Public Health Tianjin Medical University Tianjin 300070 China 2 Chinese Academy of Railway Sciences Beijing 100081 China 3 Tianjin Municipal Center for Disease Control and Prevention Tianjin 300011 China 4 CDC of He Ping District in Tianjin Tianjin 300070 China)

Abstract Objective To explore the changes of serum proteins of female SD rats induced by chronic exposure to low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), thereby make a further explanation on the toxic effect of TCDD. Methods Thirty-two female Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups and gave intragastric administration with 0 ng/(kg·d), 20 ng/(kg·d), 50 ng/(kg·d), 125 ng/(kg·d) of TCDD respectively for 29 weeks. The serum proteins were studied using two-dimensional gel electrophoresis and MALDI-TOF-MS (matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry), and the hepatic histopathological changes were also observed. Results The up-regulated proteins in serum of TCDD-exposed rats were complement component 4, pre-apolipoprotein A-IV and LMW T-kininogen 1 precursor, haptoglobin and complement component 3 could be found only in that of TCDD treated rats and the α_1 -inhibitor III precursor was only present in that of the control rats. The hepatic pathological observation showed adipose degeneration, cytoplasmic vacuolization, hepatocytic necrosis etc and was dose-dependent. Conclusions The results suggested that the chronic exposure of low dose TCDD can induce the changes of serum proteins, which might related to the immunotoxicity, hepatotoxicity and oxidative stress of TCDD, and the analysis of serum protein spectrum should be helpful in the study of the toxicity of TCDD.

Key words: TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin); Serum proteomics; MALDI-TOF-MS/MS (matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry); Two-dimensional gel electrophoresis (2-D GE)

二噁英包括多氯二苯并二噁英 (PCDDs) 和多氯二苯并呋喃 (PCDFs), 其中 2,3,7,8-四氯二苯并二噁英被认为是危害最大毒性最强的化合物^[1,2]。二

噁英类物质的来源主要为城市垃圾或工业废弃物的焚烧、含氯化学品及农药生产过程中的工业副产物、造纸工业的氯气漂白过程, 还存在于其他一些排放源, 如燃煤电站、金属冶炼等。

TCDD和其它二噁英类物质具有广谱的生物效应, 包括引起所谓的“衰竭综合征”, 具有肝毒性、免疫毒性、致癌性, 可以引起生殖内分泌的改变等; 同时, 会引起过氧化反应和活性氧化化合物的增加。芳

收稿日期: 2009-04-06

基金项目: 国家自然科学基金资助 (30671725)

作者简介: 陈曦 (1982-) 女, 硕士研究生, 研究方向为工业毒理学。

*: 通讯作者, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为工业毒理学和环境流行病学, E-mail: tangnaijun@tjmu.edu.cn

香烃受体介导理论被认为是二噁英毒性作用的主要机制。芳香烃受体 (aromatic hydrocarbon receptor, AhR) 是一种配体依赖性转录因子, 二噁英被认为是一种芳香烃受体的激活剂。当 TCDD 进入细胞后, 与胞浆中的 AhR 结合并使之激活, 随后 TCDD-AhR 配体受体复合物由细胞浆转移至细胞核内, 并与芳香烃受体核转运蛋白 (ARNT) 聚合形成新的复合物 TCDD-AhR-ARNT 之后与 DNA 上特异的基因序列结合^[3], 从而引起下游一系列基因的转录^[4]和蛋白表达的改变^[5]。

一些研究已经证明慢性低剂量暴露于 TCDD 所产生的效应与急性暴露是不同的, 且低剂量暴露是接触 TCDD 的主要方式。例如, 低剂量慢性染毒大鼠比一次性染毒 6 倍剂量的大鼠更早的出现生殖衰老^[6]; 一次性高剂量的 TCDD 仅能够使 AhR 通路快速饱和, 而低剂量慢性暴露可以持续地刺激 AhR 基因池^[7]等。但是, 低剂量 TCDD 对于人类和动物的影响尚不明确, 需要进一步探讨。

为研究低剂量暴露于 TCDD 的慢性效应, 本实验对大鼠染毒 29 周, 采用双向凝胶电泳-质谱-生物信息学检索的分析方法对大鼠血清进行蛋白组学研究, 寻找差异蛋白点, 并对其肝脏进行组织病理学检测。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

ProteoExtract™ 高丰度蛋白去除试剂盒 (德国 Merck 公司), IEF 预制胶条、考马斯亮蓝 R-250 染色试剂盒 (美国 Bio-Rad 公司)。等电聚焦仪 (Phor Isoelectric Focusing System, 美国 Pharmacia 公司), 聚丙烯酰胺凝胶电泳仪 (Protein Xicell, 美国 Bio-Rad 公司), 凝胶成像系统 (Powerlook 2100XL, 美国 UMAX 公司), 飞行时间质谱仪 (MALDI/TOF/TOF 4700 Proteomics Analyzer, 美国 ABI 公司)。TCDD 粉末 (lot no. ER011005-01) (美国 CIL) 溶于分析纯丙酮试剂, 配成丙酮溶液储存, 每次染毒时将此丙酮溶液用玉米油按一定的浓度梯度加以稀释。

1.2 实验动物分组及处理

6 周龄纯系雌性 Sprague-Dawley 大鼠 32 只, 购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心, 许可证号 SCXK-(军) 2002-001。实验动物饲养于清洁级动物房, 温度 (21±1)℃, 相对湿度 (50±10)%, 12 h 明暗循环, 可自由摄取食物和水。将雌性大鼠随机分为 125 ng/(kg·d)、50 ng/(kg·d) 和 20 ng/(kg·d) 3 个染毒组和 1 个对照组。每周灌胃 1 次,

染毒浓度分别为 875 ng/kg、350 ng/kg、140 ng/kg、0 ng/kg。染毒前对大鼠进行称重, 按体重给予相应的 TCDD 溶液, 对照组仅给予玉米油。29 周后股动脉放血处死, 收集分离血清, 保存于液氮中以备后续分析。摘取动物肝脏, 称重后置于 4% 中性甲醛溶液中国定 24 h 常规方法制作石蜡切片, 苏木素伊红 (HE) 染色后观察肝脏组织形态学改变。

1.3 血清蛋白组学

1.3.1 血清样品制备 使用 ProteoExtract™ 高丰度蛋白去除试剂盒去除血清中的白蛋白/IG。实验操作依据试剂盒说明书进行, 去除高丰度蛋白后对样品进行浓缩处理, 并采用 Bradford 法进行蛋白定量。

1.3.2 第一向等电聚焦 (IEF) IEF 预制胶条 (18 cm pH 3~10), 泡胀 12 h (溶胀缓冲液: 8 mol/L 尿素, 2 mol/L 硫脲, 0.5% CHAPS, 0.52% 两性电解质, 0.02% 溴酚蓝, 1% DTT), 将胶条取出放入聚焦槽内, 加入矿物油至没过上样杯, 上样量为 1 mg 并用溶胀缓冲液稀释至 170 μL。程序设定为: S1 (0~500 V, 0.5 kV-hr), S2 (500 V, 2.5 kV-hr), S3 (500~3500 V, 10 kV-hr), S4 (3500 V, 42 kV-hr), 至总电压时间为 55 kV·h。

1.3.3 第二向聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 先将胶条放入平衡缓冲液 I (50 mmol/L Tris-HCl pH 6.8, 6 mol/L 尿素, 30% 甘油, 2% SDS, 2% DTT, 0.02% 溴酚蓝) 水平振荡 15 min。再将胶条转入平衡缓冲液 II (50 mmol/L Tris-HCl pH 6.8, 6 mol/L 尿素, 30% 甘油, 2% SDS, 2.5% AA, 0.02% 溴酚蓝) 水平振荡 15 min。第二次平衡结束后, 将 IEF 胶条放到已配好的 SDS-PAGE 凝胶上端, 并将 marker 放到凝胶的一端, 再用 0.5% 的琼脂糖将胶条和 marker 封严, 将胶板固定于电泳槽内。在电泳槽加入电泳缓冲液后接通电源, 待溴酚蓝指示剂达到底部边缘时即可停止电泳。电泳结束后, 取出凝胶, 进行染色。

1.3.4 考马斯亮蓝染色和脱色

1.3.5 MALDI-TOF 串联质谱检测 应用 PDQuest 软件进行胶图比对, 将表达量改变 2 倍及 2 倍以上的点作为差异蛋白点, 从胶内切去, 去离子水洗涤, 胰蛋白酶消化 37℃ 过夜。应用 MALDI-TOF MS/MS 法进行质谱分析, 质量范围 700~4000 m/z, 最小信噪比 50, 解离碰撞能量 1-keV, 捕获次数 1500。经 NCBI 数据库检索, 最终确定蛋白质。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 13.0 软件, 体重及脏器系数比较采用方差分析, 之后进行 Student-Newman-Keuls 检验, 检

验水准为 0.05，肝脏损伤等级资料的比较采用 F 检验，两两比较调整检验水准为 0.05/6（4 组共比较 6 次），约为 0.008。

2 结果
2.1 肝脏重量和体重

TCDD 染毒前，各组体重差别不具有统计学意

表 1 大鼠体重、肝脏重量、肝脏脏器系数

染毒剂量	6 周龄体重 (g)	处理时体重 (g)	肝脏重量 (g)	脏器系数 (%)
对照组	216.88±13.87	384.00±33.54	8.150±1.149	2.140±0.318
20 ng/(kg·d)	220.71±24.23	365.43±24.86	8.777±1.116	3.629±0.376*
50 ng/(kg·d)	212.50±12.54	359.13±29.46	9.312±0.832	3.648±0.233*
125 ng/(kg·d)	212.50±10.34	337.44±29.33*	9.934±1.336*	3.454±0.439*

与对照组相比，* P<0.05

2.2 肝脏的组织病理学

对照组动物的肝脏未见损害。染毒组大鼠出现肝细胞的脂肪变性、空泡形成、肝细胞坏死等改变，并且随染毒剂量的增加，肝损害严重程度增加，见图 1（封三），针对脂肪变性和肝细胞坏死，125 ng/(kg·d) 组、50 ng/(kg·d) 组与对照组、20 ng/(kg·d) 组相比较差别具有统计学意义，见表 2。

表 2 肝脏组织形态学

染毒剂量	平均秩次	
	脂肪变性	肝细胞坏死
对照组	6.50	9.50
20 ng/(kg·d)	8.27	11.54
50 ng/(kg·d)	15.31*△	20.39*△
125 ng/(kg·d)	17.52*△	21.47*△

与对照组相比，* P<0.008；与 20 ng/(kg·d) 组相比，△ P<0.008

2.3 双向凝胶电泳

对照组获得 188 个点，20 ng/(kg·d) 组获得 141

表 3 差异蛋白点的质谱分析

NCB 蛋白编号	蛋白鉴定结果	实验等点电和分子量 (kDa)	理论等点电和分子量 (kDa)	序列覆盖率
上调				
AAN72415	complement component C4	6.99/192.04	6.99/192.16	8%
AAA40747	preapoliipoprotein A-IV	5.12/44.43	5.12/44.45	29%
AAA41489	LMW T-kininogen 1 precursor	6.29/47.67	6.29/47.70	16%
仅见于染毒组				
AAH89816	hapoglobin	6.10/38.54	6.10/38.56	23%
AAA40837	complement component C3	5.73/31.84	5.73/31.86	34%
仅见于对照组				
AAA40628	alpha-1-inhibitor III precursor	5.70/163.67	5.70/163.77	27%

3 讨论

蛋白组学的方法可以对蛋白表达谱进行“全景式”描述，可以检测由于 TCDD 等毒性物质的暴露而引起的一系列蛋白表达的改变^[8-9]。Son 等学者认为某些表达改变的蛋白可以作为二噁英暴露的生物标志

物，29 周后，125 ng/(kg·d) 组与对照组相比体重较低，差别具有统计学意义，同时，该组肝脏的绝对重量与对照组相比增加，差别具有统计学意义；3 个染毒组肝脏的脏器系数与对照组相比增加，差别均具有统计学意义，见表 1。

个点，50 ng/(kg·d) 组获得 134 个点，125 ng/(kg·d) 组获得 148 个点，四组的双向凝胶电泳图见图 2（封三）。应用 PDQuest 软件，进行各点的匹配、标准化和表达量比较，选择其中 6 个点做进一步的分析，选择依据为此 6 个蛋白点在染毒组和对照组中具有 2 倍以上的改变。

2.4 MALDI-TOF/TOF 和蛋白质的确定

6 种蛋白质的等电点、分子量、编号、覆盖率等参数见表 3。上调的蛋白包括补体 C4（complement component 4，C4），载脂蛋白 A-IV 前体（preapoliipoprotein A-IV）和低分子量的激肽原前体（LMW T-kininogen 1 precursor），触珠蛋白（hapoglobin，HP）和补体 C3（complement component 3，C3）两种蛋白仅在染毒组大鼠的凝胶中有点被识别出，而对照组未见该点；而 α 抑制因子 III 前体只在对照组的胶上被识别出。

物，并且有助于进一步研究二噁英的毒性机制^[10-11]。本研究应用蛋白组学方法分析 TCDD 染毒雌性 SD 大鼠的血清蛋白改变，同时进行肝脏的组织病理学检测。

在人类和动物中都已经证明肝脏是 TCDD 的主要靶器官，慢性 TCDD 染毒可以引发实验动物肝脏肿瘤

的形成^[12],并且雌性大鼠较雄性大鼠的肝脏更容易受到 TCDD 的损害^[13],肝脏的湿重作为最终体重的组成部分,被认为是肝毒性表现的主要指标之一^[14]。与既往在大鼠和小鼠中的研究相同^[15-16],本研究中染毒组大鼠肝脏的绝对和相对重量增加,有学者推测这种改变可能是由于 TCDD 引起肝脏肿大^[17]而造成的。同时,染毒组肝脏出现一系列损害,包括细胞质空泡形成、脂肪变性、肝细胞坏死等改变,并且这种改变随着染毒剂量的增加而变得严重。

本研究目的是探寻 TCDD 引起的血清蛋白改变,其中上调的蛋白包括补体 C4、载脂蛋白 AIV 前体和低分子量的激肽原前体,而触珠蛋白和补体 C3 仅在染毒组大鼠的凝胶上有点被识别出,而对照组未见; α 抑制因子 III 前体只在对照组的凝胶上被识别出。鉴于 HP 和 C3 都是较为常见的蛋白质,因此我们推测并不是在对照组中该蛋白不存在,而是由于相对密度较低, HDQuest 软件无法识别出。

在我们的研究中,由于 TCDD 的暴露,补体 C3 和 C4 均随染毒剂量的增高而上调。C3 和 C4 是免疫系统的重要组成部分,前期 TCDD 对于补体系统的影响结论不一。14 日龄的小鼠亚慢性暴露于 TCDD 后引起总溶血补体 (CH50) 的减少和抗原 C3 水平的降低^[18]。C57BL/6 小鼠经 TCDD 染毒,其子代肾小球可见升高的免疫球蛋白和 C3^[19]。在汽车尾气检测工人和垃圾焚烧工人血清蛋白组学研究中,可见 C4 蛋白的表达升高^[5]。有学者推测这些结论的不统一在于蛋白水平的改变往往与免疫活性的改变不同步^[20],因此,TCDD 对于免疫成分的影响需要进一步研究。

触珠蛋白 (HP) 是一种涉及炎症和感染的反应蛋白,由肝脏合成。HP 和游离的氧和血红蛋白结合,形成具有过氧化酶活性的物质,具有抗氧化的特性^[21],有证据表明由于氧化应激和一些氮氧化物的作用会使该蛋白在动脉中表达上调^[22]。外源性化合物,如 TCDD、2,3,4,7,8-五氯二苯并呋喃 (PeCDF) 和多氯联苯 (PCB) 慢性染毒会引发大鼠的氧化应激反应,其中 TCDD 具有最高的效力^[23]。本研究中 HP 随染毒剂量的增加而上调,与 TCDD 的氧化应激作用相符合,也就是说,虽然染毒组大鼠肝脏损伤,该蛋白的合成可能会受到一定程度的影响,但是,推测肝损伤未达到使 HP 下降的严重程度^[24],TCDD 氧化应激效应更为明显,该蛋白在血清中增高而发挥其保护作用。

TCDD 染毒组中出现低分子量激肽原前体上调的结果,类似结果在 TCDD 的研究中尚未见到,但在 3-

甲基胆蒎 (3-MC) 的毒性研究中曾报道过该蛋白的改变,3-MC 和 TCDD 具有相似的毒性机制,都依赖 AhR 的介导发挥毒性作用。对于小鼠进行 3-MC 急性染毒,在染毒后出现该低分子量激肽原前体的迅速缺失^[25]。而本研究中该蛋白前体表达增高,推测是由于低剂量慢性暴露,与前述 3-MC 的染毒方式有所不同,该蛋白可能抑制后恢复并发挥代偿作用。

综上,慢性低剂量的 TCDD 染毒使得血清的蛋白谱发生改变,通过分析 TCDD 毒性相关的几种蛋白质,为 TCDD 的免疫毒性、肝毒性、氧化应激等效应提供了佐证和进一步研究的基础。

参考文献:

- [1] Zedrow JM, J J Stegeman, R L Tanguay. Histological analysis of acute toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in zebrafish [J]. *Aquat Toxicol* 2004; 66: 25-38.
- [2] Yoon C Y, Park M, Kim B H, et al. Gene expression profile by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the liver of wild-type (AhR+/+) and aryl hydrocarbon receptor deficient (AhR-/-) mice [J]. *J Vet Med Sci* 2006; 68: 663-668.
- [3] Pantelejev A A, Bickens D R. Dioxin induced chloracne reconstructing the cellular and molecular mechanisms of a classic environmental disease [J]. *Exp Dermatol* 2006; 15: 705-730.
- [4] Tang N J, Liu J, Coenraads P J, et al. Expression of AhR, CYP1A1, GSTA1, c-fos and TGF- α in skin lesions from dioxin-exposed humans with chloracne [J]. *Toxicol Lett* 2008; 177: 182-187.
- [5] Kim M K, Oh S, Lee J H, et al. Evaluation of biological monitoring markers using genomic and proteomic analysis for automobile emission inspectors and waste incinerating workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons or 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxins [J]. *Exp Mol Med* 2004; 36: 396-410.
- [6] Franczak A, Nynca A, Valdez K E, et al. Effects of acute and chronic exposure to the aryl hydrocarbon receptor agonist 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on the transition to reproductive senescence in female Sprague-Dawley rats [J]. *Biol Reprod* 2006; 74: 125-130.
- [7] Goldstein J A, P Linko, H Bergman. Induction of porphyria in the rat by chronic versus acute exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin [J]. *Biochem Pharmacol* 1982; 34: 1607-1613.
- [8] Conrad D H, J Goyette, Thomas P S. Proteomics as a method for early detection of cancer: a review of proteomics, exhaled breath condensate, and lung cancer screening [J]. *J Gen Intern Med* 2008; 23 (Suppl 1): 78-84.
- [9] Joo W A, Kang M J, Son W K, et al. Monitoring protein expression by proteomics: human plasma exposed to benzene [J]. *Proteomics* 2003; 3: 2402-2411.
- [10] Son W K, Lee D Y, Lee S H, et al. Analysis of proteins expressed in rat plasma exposed to dioxin using 2-dimensional gel electrophoresis [J]. *Proteomics* 2003; 3: 2393-2401.
- [11] Ohbayashi H, Sasaki T, Matsumoto M, et al. Dose and time de-

pendent effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on rat liver [J]. J Toxicol Sci 2007 32: 47-56.

[12] Kuwachi M, Hashimoto S, Obata A, et al. Identification of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin responsive genes in mouse liver by serial analysis of gene expression [J]. Biochem Biophys Res Commun 2002 292: 368-377.

[13] Walker N, Trischer A M, Sills R C, et al. Hepatocarcinogenesis in female Sprague-Dawley rats following discontinuous treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin [J]. Toxicol Sci 2000 54: 330-337.

[14] Cattle Y R, C D S Mariman, J A Popp. Age related susceptibility to the carcinogenic effect of the peroxisome proliferator WY-14,643 in rat liver [J]. Carcinogenesis 1991 12: 469-473.

[15] Boveith D R, Burgeon L D, Tashiro C, et al. Comparative toxicogenomic analysis of the hepatotoxic effects of TCDD in Sprague-Dawley rats and C57BL/6 mice [J]. Toxicol Sci 2006 94: 398-416.

[16] Van Biegel A P, Van der Kolk J, Fase K M, et al. Subchronic dose-response study of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in female Sprague-Dawley rats [J]. Toxicol Appl Pharmacol 1995 132: 1-13.

[17] Lee S H, Lee D Y, Son W K, et al. Proteomic characterization of rat liver exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin [J]. J Proteome Res 2005 4: 335-343.

[18] White K L Jr, Lysy H H, McCay J A, et al. Modulation of serum complement levels following exposure to polychlorinated dibenzo-p-dioxins [J]. Toxicol Appl Pharmacol 1986 84: 209-219.

[19] Mustafa A. An enhanced postnatal autoimmune profile in 24 week-old C57BL/6 mice developmentally exposed to TCDD [J]. Toxicol Appl Pharmacol 2008 232: 51-59.

[20] Wagner E, Frank M M, Sniakowicz R. J. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and natural immunity: lack of an effect on the complement system in a guinea pig model [J]. Toxicology 2001 159: 107-113.

[21] Asleh R, A P Levy. In vivo and in vitro studies establishing haptoglobin as a major susceptibility gene for diabetic vascular disease [J]. Vasc Health Risk Manag 2005 1: 19-28.

[22] Smeets M B, Pasterkamp G, Lin S K, et al. Nitric oxide synthesis is involved in arterial haptoglobin expression after sustained flow changes [J]. FEBS Lett 2002 529: 221-224.

[23] Hassoun E A, Wang H, Abushaban A, et al. Induction of oxidative stress in the tissues of rats after chronic exposure to TCDD 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran and 3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl [J]. J Toxicol Environ Health A 2002 65: 825-842.

[24] Kudo Y, Ochi T, Shimada H, et al. Utility of plasma circulating mRNA as a marker to detect hepatic injury [J]. J Vet Med Sci 2008 70: 993-995.

[25] Nukaya M, Takahashi Y, Gonzalez F J, et al. Aryl hydrocarbon receptor mediated suppression of expression of the low-molecular-weight p21k inogen gene in mice [J]. Biochem Biophys Res Commun 2001 287: 301-304.

· 短篇报道 ·

501例矽肺死因与病期分析

赵军

(宣化钢铁公司职工医院, 河北 张家口 075100)

为了解矽肺病人的死亡规律, 加强现患者的管理, 我们对本区 1998~2008 年间的 501 例“矽肺病例死亡卡”, 均按全国矽肺流调的统一要求填写, 并分别对总的和各期矽肺死亡病例的平均年龄、平均工龄、生存期进行分析。

本次调查发现, 矽肺死亡最小年龄 30 岁, 最大 92 岁; 接尘工龄最短 2 33 年, 最长 51. 83 年。各期矽肺死亡年龄、Ⅱ、Ⅲ期间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。接尘工龄, 仅Ⅱ期与Ⅲ期差异有统计学意义 ($P<0.01$)。说明矽肺的发病与接触生产粉尘的时间有关。矽肺病人的平均年龄低于一般人群平均寿命 (71 岁) 可见肺组织纤维化是引起病人过早死亡的原因之一。

本组病例的工种分布为硫铁矿采矿工 127 例 (占 25. 35%), 石工 58 例 (占 11. 58%), 煤矿采煤工 107 例 (占 20. 76%), 主掘进工 77 例 (占 15. 37%), 纯掘进工 39 例 (占 7. 78%), 其他 45 例 (占 9. 98%)。硫铁矿采矿工发生率最高, 其次是煤矿采煤工, 符合本区基本情况。本组病例从

确诊之日 (X 线胸片投照日期) 起至死亡前的病程 (生存期), 最短 0. 5 年, 最长 26 年, 平均 6. 56 年。小于 5 年者占 36. 3%, 大于 20 年者约占 2%。说明矽肺患者的病程短、死亡快、病死率高, 人均寿命相对缩短。

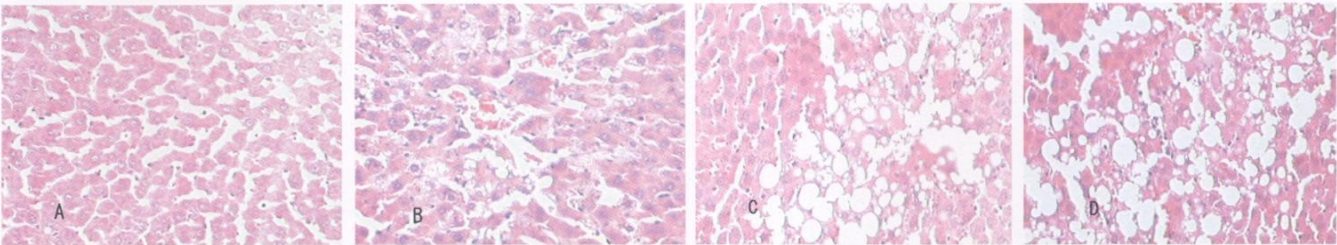
本次调查还发现, 随着病情的进展, 其直接致死率逐渐上升, 经显著性检验, I、Ⅱ、Ⅲ期之间差异有统计学意义 ($P<0.01$); 间接致死率随着病期的进展呈下降趋势, 各期之间差异也有统计学意义 ($P<0.01$)。表明随着病期的增加, 合并症与并发症的增多, 肺纤维化程度的加重, 使肺通气量减少, 呼吸受阻, 从而直接促进了矽肺病人的死亡。详见表 1。

表 1 矽肺期别与死亡的关系

期别	死亡例数	直接死亡		间接死亡	
		例数	%	例数	%
I 期	124	54	43. 54	70	56. 45
Ⅱ期	240	171	71. 25	69	29. 73
Ⅲ期	137	126	91. 97	11	8. 03
合计	501	351	70. 06	150	29. 94

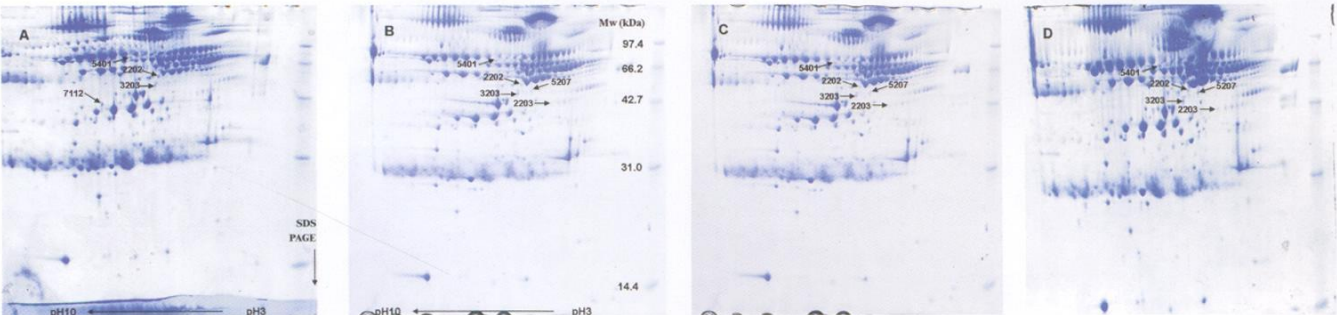
通过对 501 例矽肺病例的死亡与矽肺期别、工龄、工种、死亡年龄、生存期之间的关系分析, 对矽肺期别、接尘工龄、工种对矽肺患者平均寿命的影响有了进一步了解。提示对矽肺患者采取定期监督管理, 长期健康监护等措施, 是防止病情恶化, 延缓矽肺患者病程, 延长寿命的关键。

二噁英慢性低剂量暴露对雌性 SD 大鼠血清蛋白的影响(正文见 163~167 页)



对照组 20 ng/(kg·d)组 50 ng/(kg·d)组 125 ng/(kg·d)组

图1 各剂量组大鼠肝脏的组织病理学检测 (× 200)

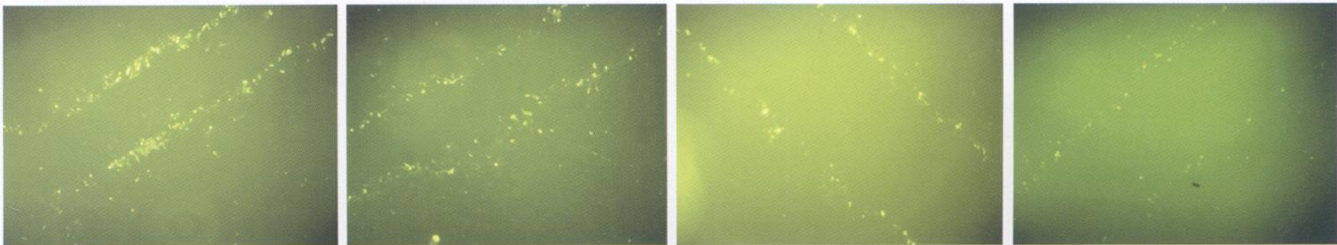


对照组 20 ng/(kg·d)组 50 ng/(kg·d)组 125 ng/(kg·d)组

Mw:分子量; SDS PAGE:十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳

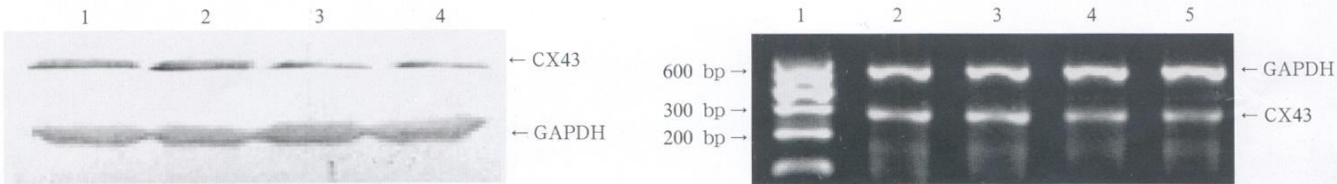
图2 四组双向凝胶电泳图(考马斯亮蓝染色)

鱼藤酮对星形胶质细胞缝隙连接耦联功能的影响 (正文见 168~170 页)



正常对照组 0.1 μmol/L 鱼藤酮组 0.5 μmol/L 鱼藤酮组 1.0 μmol/L 鱼藤酮组

图1 各实验组细胞荧光染料扩散观察 (× 100)



1: 正常对照组; 2: 0.1 μmol/L 鱼藤酮组;
3: 0.5 μmol/L 鱼藤酮组; 4: 1.0 μmol/L 鱼藤酮组

1: Marker; 2: 正常对照组; 3: 0.1 μmol/L 鱼藤酮组;
4: 0.5 μmol/L 鱼藤酮组; 5: 1.0 μmol/L 鱼藤酮组

图2 鱼藤酮对星形胶质细胞 CX43 蛋白表达的影响

图3 鱼藤酮对星形胶质细胞 CX43 mRNA 表达的影响