煤工尘肺患者血清白细胞介素-9和可溶性细胞间黏附分子-1水平变化及意义

李超, 袁宝军, 邹吉敏, 王冬梅, 张淑青

(华北煤炭医学院附属开滦医院检验科, 河北 唐山 063000)

摘要: 目的 探讨煤工尘肺患者 (CWP) 血清白细胞介素-9 (IL-9) 和可溶性细胞间黏附分子-1 (sICAM-1) 水平变化及意义。方法 用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测 106名 CWP患者 (CWP组)、55名具有与 CWP组相同接尘条件的 0^+煤矿工人 (0^+组)、62名具有相同接尘史但未患 CWP的煤矿工人 (接尘对照组) 及 47名非接尘井上健康工人 (正常对照组) 血清 IL-9和 sICAM-1水平。结果 与正常对照组比较, 接尘对照组和 0^+组 IL-9水平明显升高, 差异均具有统计学意义 (P均<0.05), 而 CWP组则轻度升高 ($P>0.05$); 接尘对照、0^+及 CWP三组 sICAM-1水平均明显降低, 差异均具有统计学意义 ($P<0.05$和 $P<0.01$)。CWP组 IL-9水平明显低于接尘对照组和 0^+组, 差异均具有统计学意义 (P均<0.05), 接尘对照组和 0^+组比较无明显变化 ($P>0.05$)。sICAM-1水平在接尘对照、0^+和 CWP三组中均无明显改变 (P均>0.05)。IL-9和 sICAM-1水平在 I期 CWP和 II期+III期 CWP以及不同接尘时间中均无显著变化 (P均>0.05)。CWP组 IL-9和 sICAM-1无明显相关性 ($r=0.024$, $P>0.05$)。结论 血清 IL-9和 sICAM-1水平可能与 CWP有关, 对 CWP进程具有一定提示作用; IL-9水平有助于鉴别 CWP患者和 0^+煤矿工人, 对 CWP的诊断可能具有一定的参考价值。

关键词: 煤工尘肺; 白细胞介素-9; 可溶性细胞间黏附分子-1

中图分类号: R135.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2009)05-0329-04

Study on serum levels of IL-9 and sICAM-1 in coal workers with pneumoconiosis

LI Chao, YUAN Bao-jun, ZOU Ji-min, WANG Dong-mei, ZHANG Shu-qing

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Kailuan Hospital of North China Coal Medical College, Tangshan 063000, China)

Abstract: Objective To explore the changes and significance of IL-9 and sICAM-1 levels in serum of coal workers with pneumoconiosis (CWP). Methods Serum levels of IL-9 and sICAM-1 were determined by ELISA method in 106 CWP patients (as CWP group), 55 0^+ coal workers (0^+ group), 62 healthy coal workers (dust control group) and 47 healthy workers on the ground (control group). Results Compared with control group the serum IL-9 level in 0^+ or dust control group were significantly higher ($P<0.05$), however, the serum levels of sICAM-1 in dust control, 0^+ and CWP group were significantly lower ($P<0.05\sim0.01$). While the serum level of IL-9 in CWP group was significantly lower than those in dust control and 0^+ group, respectively. Conclusions The serum levels of IL-9 and sICAM-1 may be related to the progress of CWP, the serum level detection of IL-9 may be useful in differential diagnosis of CWP from 0^+ coal workers.

Key words: Coal worker's pneumoconiosis (CWP); Interleukin-9 (IL-9); Soluble intercellular adhension molecule-1 (sICAM-1)

煤工尘肺 (coal workers' pneumoconiosis, CWP) 是以慢性炎症导致肺泡巨噬细胞聚集为特征的肺纤维化疾病。虽然巨噬细胞性肺泡炎的发生机制尚未完全清楚, 但肺泡巨噬细胞和内皮细胞却显示出了关键作用。白细胞介素-9 (IL-9) 主要由激活的 T细胞、B细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、气道上皮细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等分泌产生; 而细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 则广泛分布于内皮细胞、上皮细胞血管平滑肌细胞及成纤维细胞, 且二者均能促进炎性细胞进入炎症部位并在肺部聚集。近年来国内有研究证实, IL-9表达与慢性阻塞性肺疾病气道炎症密切相关[1], ICAM-1和巨噬细胞内转录活化蛋白参与了肺组织炎症和纤维化的形成[2]; 国外研究也认为 IL-9与肺纤维化有关[3], ICAM-1在特发性间质性肺炎中起一定作用[4], 但 IL-9和可溶性 ICAM-1 (sICAM-1) 在 CWP中的作用还未见报道。本研究通过对 106例 CWP患者血清 IL-9和 sICAM-1水平检测, 以探讨二者在 CWP发生发展中的变化及意义。

收稿日期: 2009-03-10

作者简介: 李超 (1976-), 女, 主管技师, 研究方向: 临床免疫学。

1 对象与方法

1.1 研究对象

106名CWP患者（Ⅰ期89人，Ⅱ期和Ⅲ期17人）为CWP组，选自2006年在华北煤炭医学院附属开滦医院职业病防治所查体的在职和退休矿工，年龄44～81岁，平均（61.79±9.05）岁，接尘时间10～39年，平均（27.04±5.42）年，均经职业病防治研究所按照2002年国家尘肺病诊断标准（GBZ70—2002）确诊；55名具有与CWP组相同接尘条件的0^+煤矿工人为0^+组，年龄52～76岁，平均（61.04±4.98）岁，接尘时间9～39年，平均（26.70±7.44）年；62名具有相同接尘史但未患CWP的煤矿工人为接尘对照组，年龄50～71岁，平均（60.74±4.75）岁，接尘时间8～38年，平均（27.54±6.22）年；以上三组接尘工种均为采煤工和掘进工，接触粉尘类型为煤尘和矽尘。另设正常对照组47名，为开滦非接尘井上健康查体工人，年龄51～69岁，平均（60.47±5.15）岁。所选对象均为男性，无明显心、肝、肾等主要脏器疾病，无免疫系统及内分泌系统疾病，未接受过影响免疫功能及内分泌功能的治疗。经统计学分析，CWP组、0^+组及接尘对照组、正常对照组的年龄及接尘时间差异无统计学意义，具有可比性。

1.2 标本采集及实验方法

所有检测对象均空腹采集静脉血，分离血清，－20℃储存，待统一测定。IL-9和sICAM-1均采用双抗体夹心酶联免疫吸附（ELISA）方法测定，酶标仪为美国Stat Fax2100，检测试剂购自美国R&B产品，严格按说明书操作。

1.3 统计学处理

采用SPSS11.5软件进行统计学分析，对于正态分布的计量资料，数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，对于偏态分布的计量资料，以中位数（M）和四分位数间距（Q）表示，数据转换为对数处于正态分布后，两均数比较采用t检验，多组计量资料比较采用单因素方差分析F检验，多个均数之间两两比较采用q检验；相关性采用Pearson直线相关分析，以$P<0.05$具有统计学意义。

2 结果

2.1 CWP患者血清IL-9及sICAM-1水平变化

4组结果比较后显示，IL-9和sICAM-1差异均有统计学意义（$F=3.83$，$P<0.05$；$F=4.29$，$P<0.01$）。与正常对照组比较，接尘对照组和0^+组IL-9水平均明显升高，差异均具有统计学意义（P均＜0.05）；CWP组虽有轻度升高，但差异无统计学意义（$P>0.05$）；而接尘对照、0^+组及CWP 3组sICAM-1水平却明显降低，差异均具有统计学意义（$P<0.05$，$P<0.01$）。CWP组IL-9水平均明显低于接尘对照组和0^+组，差异均具有统计学意义（P均＜0.05），接尘对照组和0^+组比较无明显变化（$P>0.05$）。sICAM-1水平在接尘对照组、0^+组和CWP组中依次减少，但3组间比较均无明显改变（P均＞0.05）。见表1。

表1 CWP患者血清IL-9及sICAM-1水平变化

组别	例数	IL-9（pg/ml）		sICAM-1（ng/ml）
		M	Q	$\bar{x}\pm s$
正常对照组	47	83.92	137.76	2 205.53±1 459.07
接尘对照组	62	126.79*	207.97	1 798.71±922.92*
0^+组	55	123.54*	209.79	1 667.46±785.74**
CWP组	106	90.97△▲	117.16	1 658.54±594.88**

与正常对照组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$；与接尘对照组比较，△$P<0.05$；与0^+组比较，▲$P<0.05$

2.2 CWP患者血清IL-9和sICAM-1水平与其相关指标关系

与Ⅰ期CWP比较，Ⅱ期＋Ⅲ期CWP患者血清IL-9水平轻度升高，随接尘时间增加，CWP患者血清IL-9水平也逐渐升高，但组间差异均无统计学意义（$P>0.05$）；而sICAM-1水平在各组中均无明显改变（$P>0.05$）。是否吸烟对CWP患者血清IL-9和sICAM-1水平无明显影响（$P>0.05$）。见表2。

表2 CWP患者血清IL-9和sICAM-1水平与其相关指标关系

相关指标		例数	IL-9（pg/ml）		sICAM-1（ng/ml）
			M	Q	$\bar{x}\pm s$
分期	Ⅰ期	89	80.01	111.45	1 658.76±617.83
	Ⅱ期＋Ⅲ期	17	116.11	103.10	1 657.14±438.94
接尘时间（年）	10～	33	77.67	105.54	1 693.03±543.42
	25～	31	92.30	180.13	1 496.90±479.70
	30～	42	102.55	148.90	1 719.07±657.57
吸烟	否	54	93.62	89.75	1 686.00±581.69
	是	52	90.97	219.64	1 634.15±599.12

2.3 CWP患者血清IL-9和sICAM-1的相关性分析

Pearson相关分析结果显示，CWP组血清IL-9和sICAM-1的相关系数$r=0.024$，$P>0.05$，二者不相关。

3 讨论

在CWP的弥漫性肺纤维化过程中，由肺泡巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、成纤维细胞和肺泡上皮细胞产生的细胞因子起了重要作用。IL-9是近年来受到关注的细胞因子，可刺激活性T细胞增殖、促进气道炎症发生或直接作用于气道上皮细胞产生趋化

因子等。Louahed等[5]在对人和转基因鼠的体内外实验中发现，IL-9可能通过上调骨髓干细胞表达IL-5受体α链，促进嗜酸粒细胞的分化成熟和在肺部的聚集，并可刺激气道上皮细胞过度分泌黏液，认为IL-9可调节哮喘多种临床症状的生物学进程，是发生哮喘的关键介质。Mclane等[6]研究也显示，IL-9可促进过敏原引起的嗜酸性炎症反应和气道的高反应，认为IL-9在复杂的过敏性炎症的发病机制中起重要作用。本研究结果显示，与正常对照组比较，接尘对照组和0^+组IL-9水平均明显升高，CWP组则升高不明显。可能接触粉尘初期，粉尘作为一种过敏原刺激机体快速产生免疫反应，使IL-9分泌增多。提示IL-9在参与粉尘引起的早期炎症刺激反应中发挥一定作用。本研究还发现，CWP组IL-9水平均明显低于接尘对照组和0^+组，而0^+组IL-9水平较接尘对照组也呈下降趋势，可能是随炎症刺激增强特别是发生肺纤维化后，IL-9在肺纤维化发生过程中发挥代偿作用而逐渐消耗，致使体内含量逐渐减低，IL-9主动参与炎症反应及发挥免疫应答反应的作用能力下降，推测IL-9更多地参与了纤维化的发生过程，其水平减低可能与肺纤维化发生有关，特别是有助于区分0^+组和CWP组，检测其含量对CWP的诊断可能具有一定参考价值。国外学者在矽尘所致肺损伤的鼠模型研究中也发现，IL-9可激发转基因鼠早期IL-9表达，并可降低矽尘所致的肺纤维化反应，同时矽尘所致Th2型免疫反应下降，认为IL-9抗纤维化作用与Th2型免疫反应下降有关[3]。表明CWP患者血清中IL-9水平的减低与CWP的发生有关。在对不同期别及不同接尘时间的比较中，本文结果显示，随期别及接尘时间的增加，CWP患者IL-9的含量也呈逐渐升高趋势，但升高程度不显著，可能随着粉尘对机体刺激时间的延长，纤维化程度的不断增加，同时Th2细胞为维持自身存活并促进增殖，因而会分泌一定量IL-9，而IL-9对Th2细胞的正反馈可能加大原有的免疫反应，使炎症细胞过度激活造成免疫损伤，导致其在CWP的发展过程中分泌水平略有不同。今后我们会进一步探讨IL-9在CWP严重程度、病理分型等过程中的改变及作用。

ICAM-1是免疫球蛋白超家族成员之一，在博莱霉素诱导鼠肺纤维化的模型中，肺泡巨噬细胞增加表达的ICAM-1诱导炎症细胞在肺内聚集、活化并分泌大量细胞因子，引起肺泡炎进而导致肺纤维化形成[2]。ICAM-1从血管内皮表面脱落后即成为sICAM-1，在介导细胞-细胞间黏附和各种炎症性疾病中起重要作用。有研究发现，ICAM-1在间质性肺炎患者II型肺泡上皮细胞和血管内皮细胞中表达增高可能是血清和灌洗液中sICAM-1的来源，而间质性肺炎患者血清和灌洗液中sICAM-1水平均明显高于健康对照，认为检测血清和灌洗液中sICAM-1水平可作为评价纤维化进展的一个有用标志[4]。而本研究结果显示，接尘对照、0^+及CWP 3组sICAM-1水平却明显低于正常对照组，且3组水平呈逐渐下降趋势，但3组sICAM-1水平间比较均无明显变化，可能是循环血液中的sICAM-1和内皮细胞表面的ICAM-1竞争结合白细胞上的整合素分子，随接尘刺激发生、刺激程度不断增强及肺纤维化的发生，sICAM-1被逐渐消耗，从而对细胞与内皮细胞的黏附起负调节作用，使炎症反应不致过强，提示sICAM-1在CWP的发生过程中可能起一定作用。对CWP不同期别及不同接尘时间组比较时发现，sICAM-1水平也均无明显改变，可能是随sICAM-1的负调节作用，炎症反应减弱，免疫应答反应降低，推测sICAM-1可能在CWP严重程度中作用不大，与接尘时间多少也无关。Vanhee等[7]研究显示，ICAM-1在CWP患者血管内皮细胞、肺泡细胞、支气管上皮细胞及肺泡巨噬细胞上均高表达，sICAM-1水平在CWP患者肺泡灌洗液中明显增高，认为源自肺泡巨噬细胞的肿瘤坏死因子诱导的ICAM-1参与了CWP患者肺泡巨噬细胞的聚集及炎症反应的发生，但CWP中单纯性弥漫性纤维化与进行性块状纤维化间比较，sICAM-1水平却无显著变化，说明sICAM-1水平在纤维化严重程度中未起明显作用。Ishii等[8]也发现，间质性肺纤维化患者肺泡灌洗液中sICAM-1水平与对照比较无明显改变，认为研究结果不同可能是由于不同疾病及同一种疾病不同期别以及组织分型异质性造成。sICAM-1在CWP不同病理分型、期别及严重程度等过程中的变化及作用有待今后进一步研究。

相关性分析显示，CWP组IL-9与sICAM-1不相关，认为IL-9的降低与sICAM-1的降低关系不大，提示IL-9可能不诱导sICAM-1的产生。另外，本实验结果还显示，吸烟对CWP患者血清IL-9和sICAM-1水平无明显影响。

综上所述，IL-9和sICAM-1与CWP的发生有关，对CWP发展进程具有一定提示作用，二者在CWP患者血清中均降低，可能预示对CWP患者肺纤维化的抑制作用；IL-9水平有助于鉴别CWP患者和0^+煤矿工人，对CWP的诊断可能具有一定的参考价值。

(下转第343页)

显异常改变，这可能与染毒的时间较短和染毒方式不同有关。

当轴突作为神经毒性原发部位而产生中毒性神经障碍时，轴突与包裹它的髓鞘发生变性，对整条轴突某点产生“化学性切断”，断点远端的轴突在生物学上与神经元胞体分离，而神经元胞体完整无损。轴突纤维蛋白磷酸化可使轴突水肿脱髓鞘，髓鞘的崩解消失将减缓轴突神经丝的传导，从而导致近端轴突病的发生，在临床上表现为下肢呈对称性弛缓性瘫痪。毒物损害髓鞘细胞时可引起髓鞘层分离，髓鞘水肿，发生的变化在早期是可逆的，继续发展演变为脱髓鞘病变[9]。本研究中高浓度组部分大鼠坐骨神经病理检查发现纤维内轴突肿胀与轻微的脱髓鞘改变，结合染毒过程中部分动物出现后肢无力等临床表现，说明β-CP在 111.05 mg/m^3 (4 h/d) 浓度下对 SD大鼠有一定的神经毒性作用，但其作用机制是否与上述机制有关有待进一步研究。

本研究还发现β-CP中、高浓度组雄性动物精子活率和高浓度组雄性动物总精子数与溶剂对照组比较均降低，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。目前大量的研究表明β-CP具有环境雌激素样的作用，这类物质进入人和动物体内后可模拟细胞内雌激素作用或改变该雌激素活性、干扰内分泌系统的正常功能[10,11]。β-CP中含有氰离子，而含氰的氰基在体内排除比较慢，亚急性染毒后，其氰离子与精子线粒体的氧化型细胞色素氧化酶中的三价铁结合形成氰化细胞色素氧化酶从而导致精子能量代谢障碍和 ATP的供应不足，并且由于成熟精子中线粒体含量很少，因此更易受到β-CP的毒性作用，从而导致精子活动度的降低[12]。对雄兔的生殖毒性研究表明 4.5%β-CP在达到 3.0 mg/(kg·d) 时可导致睾丸组织中精母细胞、支持细胞、间质细胞以及成熟精子数量减少，进而引起家兔精液中精子数量减少，活力降低，畸形精子增多[13]。

本试验结果表明：β-CP在达到一定浓度 [111.05 mg/m^3 (4 h/d)] 时可抑制 SD大鼠体重，对神经和雄性生殖系统有一定的毒性作用，其最大无作用浓度为 3.36 mg/m^3 (4 h/d)，这为人们在生产和使用时正确选择其剂量范围提供参考，尤其是作为室内卫生杀虫剂时具有一定的指导意义。

参考文献：

[1] 冯坚. 具有光学活性的拟除虫菊酯杀虫剂开发概况 [J]. 农药, 2000, 39 (2): 1-6.

[2] 韩庆松, 赵梅生, 袁秀芳. 一起由高效氯氰菊酯引起的中毒事故调查 [J]. 预防医学文献信息, 2001, 7 (2): 205.

[3] 付志燕, 杜春芸, 姚扬, 等. 高效氯氰菊酯对大鼠海马 CA3区神经元电压门控钾通道的影响 [J]. 生理学报, 2007, 59 (1): 63-70.

[4] GB15670—1995, 农药登记毒理学试验方法 [S].

[5] 梁丽燕, 越飞, 李红艳, 等. S生物烯丙菊酯亚慢性经口毒性和致突变性研究 [J]. 中国职业医学, 2005, 32 (2): 21-23.

[6] 张铣, 刘谷. 毒理学 [M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997: 128-129.

[7] 杨远和, 周梅, 贺铭, 等. 高效氯氰菊酯对人皮肤表皮细胞的直接刺激损害 [J]. 中国自然医学杂志, 2006, 8 (4): 246-249.

[8] 朱光华, 池继梅, 马争, 等. 国产高效氯氰菊酯原药的亚慢性毒性研究 [J]. 中国职业医学, 2004, 31 (5): 34-35.

[9] 夏世钧. 农药毒理学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 112-121.

[10] Garey J, Wolff M S. Estrogenic and antiprogestagenic activities of pyrethroid insecticide [J]. Biochem Biophys Res Comm, 1998, 251: 855-859.

[11] 杜克久, 徐晓白. 环境雌激素研究进展 [J]. 科学通报, 2000, 45 (21): 2241-2251.

[12] Go V, Garey J, Wolff M S, et al. Estrogenic potential of certain pyrethroid compounds in the MCF-7 human breast cancer cell line [J]. Environ Health Perspect, 1999, 107: 173-177.

[13] 李海峰, 李五福, 魏学良, 等. 高效氯氰菊酯对雄兔睾丸及精液的生殖毒性研究 [J]. 环境与职业医学, 2006, 23 (3): 246-248.

(上接第 331页)

参考文献：

[1] 杨雪梅, 万毅新. 慢性阻塞性肺疾病大鼠肺内白细胞介素 9和γ干扰素的表达 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2006, 5 (4): 297-300.

[2] 范贤明, 王曾礼. $STAT_1$ 对实验性肺纤维化大鼠肺组织炎症的调控作用 [J]. 四川大学学报 (医学版), 2004, 35 (3): 343-346.

[3] Arras M, Huaux F, Vink A, et al. Interleukin-9 reduces lung fibrosis and type 2 immune polarization induced by silica particles in a murine model [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2001, 24: 368-375.

[4] Takehara H, Tada S, Kataoka M, et al. Intercellular adhesion molecule-1 in patients with idiopathic interstitial pneumonia [J]. Acta Med Okayama, 2001, 55: 205-211.

[5] Louahed J, Toda M, Jen J, et al. Interleukin-9 upregulates mucus expression in the airways [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2000, 22: 649-656.

[6] Mclane M P, Haczku A, van de Rijn M, et al. Interleukin-9 promotes allergen-induced eosinophilic inflammation and airway hyperresponsiveness in transgenic mice [J]. Am J Res Cell Mol Biol, 1998, 19: 713-720.

[7] Vanhee D, Molet S, Gosset P, et al. Expresson of leucocyte-endothelial adhesion molecules is limited to intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the lung of pneumoconiotic patients: role of tumour necrosis facter-alpha (TNF-α) [J]. Clin Exp Immunol, 1996, 106: 541-548.

[8] Ishii Y, Kitamura S. Elevated levels of soluble ICAM-1 in serum and BAL fluid in patients with active sarcoidosis [J]. Chest, 1995, 107: 1636-1640.