

矽肺患者外周血的单核细胞核转录因子 κ B 水平

张雪涛¹, 倪为民¹, 缪荣明², 鲁翼雯¹, 杨水莲¹, 朱玮³, 王丽辉¹, 匡兴亚¹

(1 上海市杨浦区中心医院职业病科, 上海 200090 2 无锡市职业病防治医院, 江苏 无锡 214002 3 无锡市锡山区卫生监督所, 江苏 无锡 214101)

摘要: 目的 观察矽尘接触者和矽肺患者外周血单核细胞核转录因子 κ B (NF- κ B) 水平的变化, 探讨 NF- κ B 在矽肺发生发展中的作用。方法 采用 ELISA 法对 100 名不接触粉尘的对照人群, 200 名接触矽尘 1 年以上的接尘工人, 32 名矽尘作业观察对象 (原诊断 0⁺ 患者) 及 79 例矽肺患者, 检测其外周血单核细胞核蛋白中的 NF- κ B 水平。结果 矽肺组 NF- κ B 水平较对照组和接尘组明显升高, 接尘组 NF- κ B 水平较对照组明显升高, 差异均有统计学意义; 在不同期别矽肺患者中 NF- κ B 水平随矽肺期别升高也有升高的趋势。多元回归分析也表明 NF- κ B 水平与接尘情况和矽肺的病期有关。结论 接尘组和矽肺组外周血单核细胞 NF- κ B 均有升高, 此种升高除与矽肺的发病有关外, 与矽肺的严重程度也有关, 提示对外周血单核细胞 NF- κ B 水平的监测可能成为矽肺发病预测、预后评估的生物标志物, 而适当干预 NF- κ B 的活化可能是矽肺防治新的干预靶点。

关键词: 矽肺; 核转录因子 κ B (NF- κ B); 肺纤维化

中图分类号: R135.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2011)02-0095-03

Levels of nuclear transcription factor κ B in Peripheral monocytes of silicosis patients

ZHANG Xue-tao^{*}, NI Wei-min, MIAO Rong-ming, LU Yi-wen, YANG Shui-lian, ZHU Wei, WANG Li-hui, KUANG Xing-ya

(*: Occupational Disease Department of Yangpu District Central Hospital, Shanghai 200090, China)

Abstract: Objective To explore the role of nuclear factor κ B (NF- κ B) in the development of silicosis through investigating the change of NF- κ B level in peripheral monocytes of silica dust exposed workers and silicosis patients. Methods One hundred workers never exposed to silica dust were selected as control group, 200 workers exposed to silica dust for more than 1 year as exposed group, 32 suspected silicosis workers as observing group and 79 silicosis patients as silicosis group. Levels of NF- κ B protein in the peripheral monocytes of all the subjects were determined by ELISA method. Results The NF- κ B level in silicosis group was significantly higher than those of control group and exposed group, and the level in exposed group was significantly higher than that of control group, meanwhile, the level of NF- κ B in silicosis group showed some increase along with the silicosis stage. The results of multiple regression analysis also showed that NF- κ B level was correlated with the stage of silicosis. Conclusion Data from this study showed that the level of NF- κ B in peripheral monocytes was increased in silica dust exposed group and silicosis group, which was not only correlated with the occurrence but also the severity of silicosis, suggested that NF- κ B may become a good biomarker for prediction and prognosis of silicosis, and block the activation of NF- κ B may be the new intervention target for prevention and treatment of silicosis.

Key words: silicosis; nuclear factor κ B (NF- κ B); pulmonary fibrosis

动物实验及人体外研究均表明, 核转录因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 与肺纤维化病变有关^[1], 对于 NF- κ B 的研究越来越受到有关学者的重视。本研究拟通过观察矽肺患者外周血单核细胞中 NF- κ B 水平的变化, 探讨 NF- κ B 在矽肺发生中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象

分为对照组、接尘组、观察对象组、矽肺组, 均为男性。对照组: 非粉尘作业工人 100 人, 平均年龄

(48.66 ± 8.02) 岁; 接尘组: 接触矽尘作业工龄在 1 年以上者 200 例 (工种为清砂工 86 例、型砂工 96 例、其他工种 18 例), 平均年龄 (50.76 ± 9.40) 岁; 矽肺组: 共 79 例, 其中 I 期矽肺 40 例、II 期矽肺 22 例、III 期矽肺 17 例 (工种为清砂工 54 例、型砂工 19 例、其他工种 6 例), 平均年龄 (52.29 ± 10.42) 岁, 病例来源于 2008 年住院及门诊随访患者; 观察对象 (原 0⁺ 病例) 32 例 (工种为清砂工 17 例、型砂工 9 例、其他工种 6 例), 年龄 (52.97 ± 9.19) 岁; 年龄在各组之间差异无统计学意义。剔除高血压病、糖尿病、心脏病、肾脏病、肝脏病、血液病、风湿免疫系统疾病、肿瘤等患者。全部受检对象均未从事过各类辐射和有毒作业, 也没有长期接

收稿日期: 2010-12-20

基金项目: 上海卫生局科研课题 (2007029)

作者简介: 张雪涛 (1968-), 女, 医学硕士, 副主任医师, 主要从事职业病临床及相关研究。

©1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

触过各类农药和毒物，营养和消化吸收功能良好，在受检前 1 个月内均未服用维生素 C 银杏叶制剂和茶多酚等抗氧化药物。

1.2 方法

1.2.1 调查表收集信息 采用问卷调查，了解粉尘接触史、吸烟史、年龄、既往史、家族史，进行一般体格检查，包括血压、内科体检等。

1.2.2 一般指标 心电图、高千伏 X线胸片、肺功能（FVC、FEV₁、FEV₁/FVC、MVV）、腹部超声、空腹血糖、血脂、肝功能、肾功能。

1.2.3 矽肺的诊断 对研究对象进行矽肺诊断，以确切的矽尘接触史为前提，技术质量合格的高千伏 X线后前位胸片为依据，根据国家尘肺 X线诊断标准，参考受检者的系列胸片和该单位矽肺发病情况，由尘肺诊断小组依据《尘肺病诊断标准》（GBZ 70—2002）进行诊断、分期。

1.2.4 NF-κB测定方法 取清晨空腹 EDTA抗凝的外周静脉血 2 ml 淋巴细胞分离液（上海华晶生物

高科技公司提供）分离单核细胞；细胞核蛋白和浆蛋白抽提试剂盒（凯基生物科技发展有限公司）提取细胞核蛋白及胞浆蛋白，所有标本在 6 h内完成蛋白抽提，-80℃冷冻保存待测。外周血单核细胞胞核蛋白中 NF-κB活性测定采用酶联免疫法，采用美国 BDRAD550酶标仪检测，试剂盒购自美国 Bpsource 公司。所有操作严格按照试剂盒提供的方法进行，由专人完成。

1.3 统计学分析

数据以均数 ±标准差表示，SPSS 1.5 统计软件进行统计学分析。显著性检验用单因素方差分析、多元回归分析。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 对照组、接尘组、矽肺组 3组患者一般指标的比较

三组间血压、血糖、血脂、肝肾功能指标差异无统计学意义，见表 1。

表 1 对照组、接尘组、矽肺组一般指标的比较

组别	例数	年龄（岁）	收缩压 (mm Hg)	舒张压 (mm Hg)	血糖 (mmol/L)	三酰甘油 (mmol/L)	胆固醇 (mmol/L)	肌酐 (μmol/L)	尿素氮 (mmol/L)	ALT (U/L)
对照组	100	48.66±8.02	130.42±8.65	82.65±7.68	4.93±0.94	1.45±0.94	5.15±1.03	71.80±16.50	5.53±1.20	24.31±17.44
接尘组	200	50.76±9.40	129.53±9.45	84.72±8.96	4.95±0.79	1.52±0.42	4.24±0.89	69.97±18.96	6.37±1.16	29.16±16.68
矽肺组	79	52.29±10.42	132.50±9.27	83.79±6.50	5.44±1.55	1.53±0.85	4.69±0.85	81.36±20.12	6.60±2.96	26.78±16.22

2.2 对照组、接尘组、矽肺组外周血单核细胞胞核蛋白中 NF-κB水平的比较

NF-κB水平在对照组与接尘组、对照组与矽肺组、接尘组与矽肺组之间比较差异均有统计学意义，见表 2。

表 2 3组外周血单核细胞胞核蛋白中 NF-κB水平的比较

组别	例数	NF-κB (ng/L)
对照组	100	59.71±9.27
接尘组	200	72.06±9.12*
矽肺组	79	85.25±11.64* [#]

注：与对照组比较，* P<0.001；与接尘组比较，[#]P<0.001

2.3 观察对象组及不同期别矽肺患者外周血单核细胞 NF-κB水平的比较

与矽肺组比较，观察对象组的 NF-κB水平较低，但差异无统计学意义（P=1.000）。在不同期别矽肺患者之间，NF-κB水平有随矽肺期别升高而升高的趋势，但差异无统计学意义（观察对象组、I、II期之间比较 P值均为 1.000；III期与观察对象组、I期、II期比较 P值分别为 0.475、0.525、0.811）。见表 3。

表 3 观察对象组与不同期别矽肺患者外周血单核细胞 NF-κB水平的比较

组别	例数	年龄（岁）	NF-κB (ng/L)
观察对象组	32	52.97±9.19	82.07±19.88
I 期	40	52.56±8.49	83.47±18.32
II期	22	52.14±8.02	84.08±20.51
III期	17	53.88±7.24	93.68±16.18

2.4 多元回归分析

将 NF-κB作为因变量，以年龄、分组、分期、接尘工龄、工种、防护措施、吸烟作为自变量，进行逐步回归分析。经校正其他因素后，NF-κB与矽肺的发病（P<0.01）、矽肺的分期（P<0.001）、吸烟（P<0.05）有关。提示矽肺患者及矽肺的期别越高 NF-κB水平越高，吸烟可使 NF-κB水平升高。见表 4。

表 4 NF-κB多元回归分析结果

指标	分期	年龄	接尘工龄	防护措施	工种	吸烟	分组
β值	0.449	0.025	0.038	-0.066	0.079	0.092	0.169
P值	0.001	0.636	0.540	0.178	0.395	0.045	0.003

2.5 NF- κ B水平的相关性检验

经 Pearson 相关分析, 外周血单核细胞 NF- κ B 水平与矽肺分期 (相关系数 $r=0.376$ $P=0.000$)、分组 ($r=0.343$ $P=0.000$)、工种 (按接尘浓度由低到高, 其他工种、型砂工、清砂工, $r=0.305$ $P=0.000$)、接尘工龄 ($r=0.280$ $P=0.000$)、MVV ($r=-0.281$ $P=0.000$)、年龄 ($r=0.243$ $P=0.000$) 有关。

3 讨论

目前矽肺肺纤维化的形成和发展过程中有许多环节仍未阐明。NF- κ B 是一种多功能的核转录因子, 几乎存在于体内所有细胞且含量最高^[3]。正常情况下, NF- κ B 二聚体与抑制蛋白结合, 以无活性的三聚体形式存在于胞浆中; 经细胞因子、氧化剂、生长因子、细菌、病毒以及过敏原等多种因素激活后由胞浆进入胞核, 与靶基因的 κ B 序列结合, 诱导和增强基因表达, 进一步调控多种细胞因子、黏附分子、趋化因子、炎症介质等基因的转录, 介导肺泡炎和肺纤维化的发生^[4,5]。

赵静等^[6]报道 SO_2 可诱导人肺泡巨噬细胞 (AM) NF- κ B 的高表达; 周建娅等^[7]的体外研究也发现 SO_2 可使 THP-1 细胞核中 NF- κ B 水平增高, 并随着剂量的增加和作用时间的延长而增加。本研究采用 ELISA 法对矽肺患者、接尘工人和非接尘对照组外周血单核细胞胞核蛋白中 NF- κ B 水平进行测定, 结果发现矽肺组 NF- κ B 水平较对照组和接尘组明显升高, 多元回归分析表明矽肺的发生与 NF- κ B 水平升高有关。本研究对不同期别矽肺患者 NF- κ B 水平

的比较结果显示, NF- κ B 水平随矽肺期别升高有升高的趋势, 但差异无统计学意义, 可能与样本量偏小有关。本研究中接尘组 NF- κ B 水平较对照组明显升高, 差异有统计学意义, 提示长期接触矽尘可致接尘工人出现 NF- κ B 活化, 证实了 SO_2 粉尘可致人体内 NF- κ B 活化的体外研究结论。另外本研究中矽肺组的接尘工龄明显长于接尘组, 也提示 NF- κ B 的活化与长期接触矽尘有关, 但相关分析未出现接尘工龄与 NF- κ B 水平之间明显的相关关系, 可能原因是本研究只获得了接尘工龄和工种, 未能获得粉尘浓度等空气监测指标, 未能计算累计接尘量, 这些因素可能影响了接尘工龄对 NF- κ B 的活化作用。

参考文献:

- [1] 于红. 核转录因子 NF- κ B 与肺纤维化 [J]. 中国实用内科杂志, 2006 26 (15): 1203-1204.
- [2] GBZ 70-2002 尘肺病诊断标准 [S].
- [3] Siebenlist U, Franzoso G, Brown K. Structure, regulation and function of NF- κ B [J]. Annu Rev Cell Biol 1994 10 (3): 405-455.
- [4] Kou HP, Wang CH, Huang KS, et al. Lipopolysaccharide enhances substance P-mediated neutrophil adherence to epithelial cells and cytokine release [J]. Am J Respir Crit Care Med 2000 16 (1): 192-199.
- [5] Chanson M, Berclaz PY, Scerri J, et al. Regulation of gap junctional communication by a pro-inflammatory cytokine in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-expressing but not cystic fibrosis airway cells [J]. Am J Pathol 2001 158 (8): 1775-1784.
- [6] 赵静, 王献华, 吴秀珍, 等. SO_2 对人肺泡巨噬细胞核因子- κ B 表达的意义 [J]. 现代预防医学, 2006 33 (7): 1063-1067.
- [7] 周建娅, 毛国根, 唐法娣, 等. 二氧化硅致人单核细胞 THP-1 核因子- κ B 活化定位改变的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2003 21 (3): 179-181.
- [8] Goering PL, Morgan DL, Ali SF. Effects of mercury vapor inhalation on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in rat brain and kidney are minimal [J]. J Appl Toxicol 2002 22 (3): 167-172.
- [9] Sarafian T, Verity MA. Oxidative mechanisms underlying methylmercury neurotoxicity [J]. Int J Dev Neurosci 1991 9 (2): 147-153.
- [10] Sakamoto M, Ikegami N, Nakano A. Protective effects of Ca^{2+} channel blockers against methylmercury toxicity [J]. Pharmacol Toxicol 1996 78 (3): 193-199.
- [11] Hare ME, McGims KM, Atchison WD. Methylmercury increases intracellular concentrations of Ca^{2+} and heavy metals in NG108-15 cells [J]. J Pharmacol Exp Ther 1993 266 (3): 1626-1635.
- [12] 万伯健. 卫生毒理学 [M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1991: 216-217.
- [13] 湖南医学院第二附属医院检验科. 临床生化检验 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1981: 417.
- [14] Lowry OH, Rosebrough N J, Farr A L. Protein measurement with the Folin Phenol reagent [J]. J Biol Chem 1951 193: 265.
- [15] Zalups RK. Molecular interactions with mercury in the kidney [J]. Pharmacol Rev 2001 52 (1): 126-131.
- [16] Zalups RK, Barfuss DW. Nephrotoxicity of inorganic mercury administered with L-cysteine [J]. Toxicology 1996 109: 15-29.
- [17] 周善良, 于瑞珍, 刘成林. β_2 -MG、BUN 及 C 测定对肾功能早期损害的诊断价值 [J]. 桂林医学院学报 1997 10 (6): 686-689.
- [18] Zhang TM, Wang BN, Liu G. Effect of Schisandrin B on lipid peroxidative damage to plasma membrane of rat liver in vitro [J]. Acta Pharmacol Sin 1992 13 (3): 255-258.
- [19] 朱冰, 刘耕陶. 过氧化氢对原代培养大鼠肝细胞的毒性作用及其机制 [J]. 中药药理学与毒理学杂志, 1996 10 (4): 260-266.