

HMGB1 和 sRAGE 与煤工尘肺通气功能的相关性

Correlation of HMGB1/sRAGE and pulmonary ventilation function in coal workers' pneumoconiosis

祝丽丽¹, 梁园园², 曲晨菲², 万文娟¹, 李素平¹

(1. 山西医科大学公共卫生学院, 山西 太原 030001; 2. 青岛滨海学院医学院医学检验教研室, 山东 青岛 266000)

摘要: 通过检测煤工尘肺 (CWP) 患者与健康对照者血清中高迁移率族蛋白 I (HMGB1)、可溶性晚期糖基化终末产物受体 (sRAGE) 的表达水平及肺通气功能, 探讨 HMGB1、sRAGE 与肺通气功能的相关性。结果表明, CWP 患者肺功能损伤类型以限制型为主, 且随 CWP 期别的增加, 肺通气功能呈进行性下降。HMGB1 表达量与 CWP 患者肺通气功能在壹期、贰期具有一定的平行关系, 叁期时表达量下降; sRAGE 表达量随 CWP 期别的增加而升高。

关键词: 煤工尘肺; HMGB1; sRAGE; 肺通气功能

中图分类号: R135.2 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2014)03-0224-02

DOI:10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.03.030

多项研究均表明 HMGB1、sRAGE 均与炎症有关^[1-4], 而 CWP 正是以炎症反应和肺纤维化为主要病变的疾病。本实验拟通过检测 CWP 患者与健康对照者血清中 HMGB1、sRAGE 的表达水平及肺通气功能, 探讨这些因子与 CWP 发生时肺通气功能的相关关系。

1 对象与方法

1.1 对象

选择山西省西山矿务局总医院职业病科体检人群作为实验采集对象, 研究病例均来自某煤矿井下开采工, 且经山西省职业病防治所确诊为 CWP; 健康对照对象为同一煤矿的质控管理工种。采用问卷调查的方式采集研究对象的年龄、接尘时间、工种、吸烟史、既往病史等基本资料。为使各组数据均衡可比, 筛选标准为年龄 50~75 岁, 接尘时间 20~35 年, 吸烟 20~30 支/d、烟龄 25~30 年, 无呼吸道相关疾病。共收集资料 238 例, 排除混杂因素后具有可比性资料 152 例, 其中 CWP 壹期 45 例、贰期 41 例、叁期 15 例, 健康对照 51 例。

1.2 主要试剂及仪器

人 HMGB1-ELISA Kit、人 sRAGE-ELISA Kit (武汉博士德生物工程有限公司), Neofuge 15R 台式高速冷冻离心机 (上海力申科学仪器有限公司), SpectraMax M2 型多功能酶联免疫检测仪 (美国 Molecular Devices 公司), 隔水式电热恒温培养箱 (上海跃进医疗器械一厂), 漩涡混匀器 WH-861 (上海环球物化仪器厂), -80℃、-20℃ 低温冰箱 (中科美菱公司)。

1.3 检测指标

1.3.1 肺功能指标的测定 采用德国 Jaeger MS-PFT 型高级弥散肺功能仪进行检测。检测指标包括用力肺活量 (FVC)、一秒用力呼气量 (FEV_{1.0})、FEV_{1.0}/FVC。为了更好地消除年龄、身高、体重因素对肺功能指标测定结果的影响, 各项肺功能指标 (FEV_{1.0}/FVC 除外) 均以实测值占预计值的百分比表示^[5]。每位受检者测定 3 次, 选择最优者作统计。

1.3.2 肺功能异常判断标准 肺脏呼吸功能损伤类型及评定以 FVC、FEV_{1.0}、FEV_{1.0}/FVC 三项为基本指标。阻塞型: FEV_{1.0} < 80%、FEV_{1.0}/FVC < 70%; 限制型: FVC < 80%、FEV_{1.0}/FVC > 70%; 混合型: FVC < 80%, FEV_{1.0}/FVC < 70%。

1.3.3 血清 HMGB1 指标测定 抽取研究对象空腹静脉血 2 ml, 低温离心后收集血清, -80℃ 保存。从 -20℃ 冰箱取出人 HMGB1-ELISA Kit 试剂盒, 置 4℃ 冰箱解冻过夜。实验所有操作均按试剂盒说明书进行: (1) 设定本次检测所需的已包被抗体的酶标板孔数, 共计 8 孔。(2) 1 孔只加样品稀释液作为对照, 倍比稀释的标准品按 100 μl/孔依次加入一排 7 孔中。酶标板加盖, 裹保鲜膜 37℃ 反应 90 min。(3) 甩去酶标板内液体, 不洗。(4) 将配制好的生物素标记抗体工作液按 100 μl/孔依次加入, 37℃ 反应 60 min。(5) 0.01 mol/L TBS 洗涤 3 次, 每次浸洗 1 min。(6) 将试剂盒中的 A、B、C 工作液按每孔 100 μl 依次加入, TMB 空白孔除外, 37℃ 反应 30 min。(7) 0.01 mol/L TBS 洗涤 5 次, 每次浸洗 2 min。(8) 按 90 μl/孔依次加入 TMB 显色液, 包裹锡箔纸 37℃ 避光反应, 反应过程中当观察到标准品前 3~4 孔有明显的梯度蓝色, 而后 3~4 孔差别不明显时, 立即按 100 μl/孔加入 TMB 终止液。(9) 用酶标仪在波长 450 nm 处测定 OD 值。(10) 根据样品 OD 值, 在标准曲线坐标上得出相对应的样品浓度。

1.3.4 血清 sRAGE 指标测定 方法同血清 HMGB1 测定。

1.4 统计学方法

使用 Excel 软件记录原始统计数据, 所有数据采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示。应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。多组间比较采用方差分析、 χ^2 检验和 Spearman 秩相关分析。检验以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肺功能检测结果

随 CWP 期别的增加, 肺通气量减少 ($P < 0.01$); CWP 各期与健康对照组相比, 除壹期 FEV_{1.0}/FVC 外, 各肺通气指标均降低 ($P < 0.05$), 见表 1。

收稿日期: 2013-11-05; 修回日期: 2014-02-24

作者简介: 祝丽丽 (1986-), 女, 硕士研究生。

通讯作者: 李素平, 硕士研究生导师, E-mail: lisuping56@126.com。

表1 CWP各期与健康对照组肺功能检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	FVC	FEV _{1.0} /FVC	FEV _{1.0}
健康对照	51	110.00 ± 15.15	86.65 ± 13.11	116.40 ± 19.23
壹期	45	90.80 ± 14.56* #	82.32 ± 16.25#	92.70 ± 16.18* #
贰期	41	57.90 ± 16.20* #	63.82 ± 14.67* #	76.50 ± 15.53* #
叁期	15	47.40 ± 12.86* #	36.54 ± 13.10* #	21.80 ± 18.01* #

注: CWP各期别与健康对照组比较, * $P < 0.05$; 期别间比较, # $P < 0.01$ 。

2.2 CWP各期肺功能损害类型

CWP肺功能障碍类型均以限制型为主; 各期肺功能障碍类型比较, 差异具有统计学意义; 各期肺功能异常数比较, 差异具有统计学意义, 见表2。

表2 CWP各期肺功能障碍类型比较 例(%)

组别	例数	异常数	限制型	混合型	阻塞型
壹期	45	24(53.33)*	20(83.33)#	3(12.50)#	1(4.17)#
贰期	41	39(95.12)*	29(74.36)#	6(15.38)#	4(9.76)#
叁期	15	15(100.00)*	7(46.67)#	3(20.00)#	5(33.33)#
合计	101	78(77.23)	56(71.79)	12(15.38)	10(12.82)

注: 各期别肺功能异常数比较, * $P < 0.01$; CWP各期别肺功能障碍类型比较, # $P < 0.01$ 。

2.3 血清HMGB1检测结果

不同期别CWP患者与健康对照者血清中HMGB1测定结果显示, HMGB1在CWP壹、贰期时随期别的表达量升高(102.10 ± 12.42, 228.43 ± 10.41), 但在叁期时表达量下降(116.9 ± 6.19), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 与健康对照组(89.14 ± 9.73)相比, CWP各组别表达量均高于健康对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 HMGB1与肺通气指标的关系

除FEV_{1.0}/FVC外, HMGB1在CWP壹、贰期与肺通气指标均呈显著性的负相关关系($P < 0.05$); 与叁期各通气指标相关关系不显著($P > 0.05$)。见表3。

表3 血清HMGB1浓度与肺通气指标的相关关系 (r)

组别	FVC	FEV _{1.0} /FVC	FEV _{1.0}
壹期	-0.764*	-0.540	-0.812*
贰期	-0.825*	-0.512	-0.843*
叁期	0.277	0.154	0.292

注: * $P < 0.05$

2.5 血清sRAGE检测结果

不同期别CWP患者与健康对照者血清中sRAGE测定结果显示, 随CWP期别的增加sRAGE表达量升高(壹期121.28 ± 9.29, 贰期165.05 ± 12.17, 叁期199.63 ± 7.52), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 与健康对照组(96.79 ± 9.54)相比, CWP各组sRAGE表达量均高于健康对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

CWP病变以肺组织纤维化为主, 其主要临床表现是呼吸功能受损, 是一种不可逆的致残性全身性疾病。肺功能检查

不仅可协助医生判断疾病的严重程度, 也利于对病情进行动态评估, 其中FVC、FEV_{1.0}、FEV_{1.0}/FVC为常用的反映肺通气功能的指标。本次研究结果显示, 随CWP期别的增加, 各项肺功能通气指标呈进行性下降; CWP各期别与健康对照组相比, 除壹期FEV_{1.0}/FVC外, 各肺功能通气指标均降低。提示CWP患者肺通气功能有不同程度的损害, 叁期损伤尤为严重。

本次结果显示, CWP壹期、贰期患者肺功能障碍均以限制型为主, 其次为混合型, 阻塞型最少; 叁期肺功能障碍以限制型为主, 其次为阻塞型, 混合型最少; 表明多数CWP患者均出现肺部限制性通气不足, 与近年报道相同^[6,7]。肺功能异常壹期CWP患者24例, 占壹期总人数的53.33%; 贰期和叁期患者其比例则高达95%以上; 提示在CWP早期肺通气功能影响尚小, 肺功能损害在CWP早期可能并不是一个敏感性指标。

通过检测CWP患者血清中HMGB1的浓度发现, HMGB1在壹期、贰期随着期别的增加表达量升高, 在壹期、贰期CWP患者中除FEV_{1.0}/FVC外, HMGB1与肺功能通气指标均呈显著性的负相关关系, 提示血清HMGB1水平在辅助判断CWP患者的肺脏损伤程度方面可能存在潜在价值。CWP患者血清中sRAGE随着期别的升高表达量不断增加, 在叁期时呈现出HMGB1的水平与肺功能损害不一致的现象, 可能与此时由于sRAGE的大量出现抑制了HMGB1与RAGE相互作用所产生的炎症反应有关, 从而导致HMGB1表达量减少。

参考文献:

- [1] Asavarut P, ZHAO H, GU J, et al. The role of HMGB1 in inflammation-mediated organ injury [J]. Acta Anaesthesiologica Taiwanica, 2013, 51 (1): 28-33.
- [2] Nakamura T, Sato E, Fujiwara N, et al. Increased levels of soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and high mobility group box 1 (HMGB1) are associated with death in patients with acute respiratory distress syndrome [J]. Clinical Biochemistry, 2011, 44 (8-9): 601-604.
- [3] Yilmaz Y, Yonal O, Eren F, et al. Serum levels of soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) are higher in ulcerative colitis and correlate with disease activity [J]. Journal of Crohn's and Colitis, 2011, 5 (5): 402-406.
- [4] Mahajan N, Dhawan V, Malik S, et al. Serum levels of soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in Takayasu's arteritis [J]. Int J Cardiol, 2010, 145 (3): 589-591.
- [5] 李德鸿. 职业病医师培训教材——尘肺病 [M]. 北京: 人民日报出版社, 2004: 154.
- [6] 徐希娴, 毛丽君. 301例矽肺、煤工尘肺及陶工尘肺肺功能及影像学分析 [J]. 中国工业医学杂志, 2010, 23 (5): 332-338.
- [7] 李永斌. 50例高龄矽肺患者肺通气功能及病情分析 [J]. 中外医学研究, 2011, 9 (26): 40-41.