

壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 、T-AOC 和 MDC 水平变化

王冬梅, 袁宝军, 佟艳艳, 李超, 邹吉敏, 高利常

(开滦总医院检验科, 河北 唐山 063000)

摘要: **目的** 探讨壹期矽肺患者血清中 8-异前列腺素 F2 α (8-iso-PGF2 α)、总抗氧化能力 (T-AOC) 和巨噬细胞衍生趋化因子 (MDC) 水平变化及意义。**方法** 采用酶联免疫吸附法检测 58 例壹期矽肺 (矽肺组)、35 例具有与矽肺组相同接尘条件的健康井下接尘矿工 (接尘组) 和 33 例非接尘井上健康人员 (对照组) 血清中 8-iso-PGF2 α 水平; 用 Luminex 流式荧光技术检测血清 MDC 水平; 化学比色法检测血清 T-AOC 水平。**结果** 与对照组比较, 接尘和矽肺组血清 T-AOC 水平均明显升高, 接尘组 MDC 水平则明显降低, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.01$); 与接尘组比较, 矽肺组血清 8-iso-PGF2 α 和 T-AOC 水平降低, MDC 水平升高, 差异也具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 矽肺并发慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 患者血清 T-AOC 水平高于单纯矽肺患者 ($P < 0.05$); 饮酒矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 水平低于非饮酒矽肺患者, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 壹期矽肺患者血清 T-AOC 与 MDC 呈负相关 ($r = -0.247$, $P < 0.05$)。**结论** 壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 、T-AOC 及 MDC 水平异常, 并与矽肺发生发展有关; 饮酒可影响壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 水平。

关键词: 矽肺; 8-异前列腺素 F2 α (8-iso-PGF2 α); 总抗氧化能力 (T-AOC); 巨噬细胞衍生趋化因子 (MDC)

中图分类号: R135.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2015)05-0326-04 DOI: 10.13631/j.cnki.zggggyx.2015.05.002

Serum levels of 8-iso-PGF2 α , T-AOC and MDC in stage I silicosis patients

WANG Dong-mei, YUAN Bao-jun, TONG Yan-yan, LI Chao, ZOU Ji-min, GAO Li-chang

(Department of Clinical Laboratory, Kai Luan General Hospital, Tangshan 063000, China)

Abstract: **Objective** To explore the changes and the significance of serum levels of 8-iso-prostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α), total antioxidant capacity (T-AOC) and macrophage-derived chemokine (MDC) in stage I silicosis patients. **Methods** The levels of serum 8-iso-PGF2 α in fifty-eight stage I silicosis patients (silicosis group), 35 healthy miners (dust-contacted group) and 33 cases of healthy non underground workers (control group) were detected by enzyme-linked immunosorbent assays, meanwhile, the MDC and T-AOC levels were also detected by Luminex fluorescence technique and chemistry colorimetric method, respectively. **Results** Comparing with control group, the serum T-AOC level in dust-contacted group and silicosis group was significantly increased, the serum MDC level in dust-contacted group was significantly reduced (all $P < 0.01$); the serum levels of 8-iso-PGF2 α and T-AOC were significantly lower and the serum levels of MDC in silicosis group was significantly higher than those of dust-contacted group ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and there was a negative correlation between T-AOC and MDC in stage I silicosis patients ($r = -0.247$, $P < 0.05$); additionally, serum levels of T-AOC in silicosis with COPD was significantly higher than that of simple silicosis ($P < 0.05$); the levels of 8-iso-PGF2 α in drinking silicosis patients were significantly lower than that of non-drinking patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The results suggested that in stage I silicosis patients, serum levels of 8-iso-PGF2 α , T-AOC and MDC were abnormal and related to the development of silicosis; and drinking might affect the serum level of 8-iso-PGF2 α in silicosis patients.

Key words: silicosis; 8-iso-prostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α); total antioxidant capacity (T-AOC); macrophage-derived chemokine (MDC)

矽肺是因长期吸入游离 SiO₂ 粉尘微粒所致的以肺组织慢性炎症、纤维化改变为主的全身性病变, 其发病机制尚未充分阐明。研究显示, 氧化应激反应及趋化因子改变与肺部炎症、肺纤维化发生发展有关, 趋化因子变化受氧化应激反应影响^[1-3]。8-异前列腺

素 F2 α (8-iso-PGF2 α) 是一种能够准确、稳定地反映体内脂质氧化应激的特异性标志物; 总抗氧化能力 (T-AOC) 可反映各种抗氧化物质总的抗氧化水平; 趋化因子按照成熟期蛋白中半胱氨酸残基的相对位置可分为 C、CC、CXC 和 CX3C 四个亚类, 巨噬细胞衍生趋化因子 (MDC) 为重要的 CC 趋化因子, 参与多种 Th2 免疫反应。我们通过检测已确诊的 58 例壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 、T-AOC 及 MDC 水平, 探索其水平变化在矽肺发生发展过程中的作用。

收稿日期: 2015-06-01; 修回日期: 2015-08-04

作者简介: 王冬梅 (1976—), 女, 硕士, 主要从事临床免疫学检验与研究。

通讯作者: 袁宝军, 教授, 主要从事临床免疫学检验及相关研究, E-mail: ybj25999@163.com。

1 对象与方法

1.1 对象

以 2014 年开滦职业病防治院查体的在职和退休矿工以及住院矽肺患者为研究对象,选择壹期矽肺患者 58 例(矽肺组),均经开滦职业病防治院按照 GBZ70—2009《尘肺病诊断标准》确诊,其中单纯矽肺患者 20 例,并发慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者 38 例,主要从事掘进、开拓、采支等,年龄 53~68 岁,平均(60.50±3.55)岁,接尘年限 13~38 年,平均(27.48±7.04)年。选取具有与矽肺组相同接尘条件的健康井下矿工 35 例(接尘组),年龄 54~67 岁,平均(61.32±5.67)岁,接尘年限 12~34 年,平均(26.31±6.42)年。另选 33 例非接尘井上健康查体人员(对照组),年龄 51~65 岁,平均(60.59±4.33)岁。所选对象均为男性,且无肝脏、肾脏、心脑血管及免疫系统、内分泌系统疾病,近期无肺部感染史。经统计学分析,各组年龄和接尘年限间比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 标本采集

所有检测对象均于治疗前采集空腹静脉血,室温状态下静置 1 h,3000 r/min(离心半径 17.5 cm)离心 10 min 后提取血清放入冻存管中,置-20℃冰箱保存待测。

1.3 实验仪器和方法

采用酶联免疫吸附法检测 8-iso-PGF2α,试剂盒购自南京建成生物研究所,所用仪器为美国 Stat Fax-2100 酶标仪和 Stat Fax-2600 洗板机;化学比色法检测 T-AOC,试剂盒购自南京建成生物研究所,所用仪器为上海第三分析仪器厂生产的 722 型光栅分光光度计;Luminex 流式荧光技术检测 MDC,试剂盒购自美国 Millipore 公司,所用仪器为美国 Luminex 公司生产的 Luminex 200 多功能流式点阵仪。所有试剂使用前均平衡至室温,严格依照说明书操作。

1.4 统计学分析

应用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,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,两组间差异比较采用 t 检验,多组计量资料比较采用单因素方差分析 F 检验,组间两两比较采用 q 检验;相关性采用 Pearson 相关分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2α、T-AOC 及

MDC 水平变化

各组之间比较后显示,8-iso-PGF2α、T-AOC 及 MDC 差异均有统计学意义。与对照组比较,接尘组血清 T-AOC 水平明显升高,MDC 水平明显降低,差异均具有统计学意义($P<0.01$),8-iso-PGF2α 水平有升高趋势但无统计学意义($P>0.05$);矽肺组血清 T-AOC 水平明显升高,差异具有统计学意义($P<0.01$),8-iso-PGF2α 和 MDC 水平有下降趋势但均无统计学意义($P>0.05$)。与接尘组比较,矽肺组血清 8-iso-PGF2α 和 T-AOC 水平均显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),MDC 水平明显升高差异具有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2α、T-AOC 及 MDC 水平

组别	例数	8-iso-PGF2α		T-AOC		MDC	
		(pg/ml)		(U/ml)		(pg/ml)	
		M	Q	M	Q	M	Q
矽肺组	58	40.35 [*]	41.52	4.69 ^{▲#}	3.39	1051.33 [▲]	537.49
接尘组	35	58.76	81.60	8.53 [#]	4.61	596.41 [#]	627.30
对照组	33	52.35	65.16	2.16	5.33	1104.43	421.30

注:与对照组比较, $\#P<0.01$;与接尘组比较, $\blacktriangle P<0.01$, $*P<0.05$ 。

2.2 壹期矽肺患者并发症及不同接尘年限血清 8-iso-PGF2α、T-AOC 及 MDC 水平变化

与单纯矽肺患者比较,矽肺并发 COPD 患者血清 T-AOC 水平显著增高($P<0.05$),8-iso-PGF2α 和 MDC 水平略降低,但差异无统计学意义($P>0.05$);三组不同接尘年限的壹期矽肺患者 8-iso-PGF2α、T-AOC 及 MDC 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2α、T-AOC 及 MDC 水平与并发症及接尘年限关系

相关指标	例数	8-iso-PGF2α		T-AOC		MDC	
		(pg/ml)		(U/ml)		(pg/ml)	
		M	Q	M	Q	M	Q
并发症							
单纯矽肺组	20	25.16	36.63	4.01 [▲]	1.63	1117.63	481.12
矽肺并发 COPD 组	38	24.45	46.05	5.18	4.93	1032.28	560.46
接尘年限 (年)							
13~24	15	48.40	71.55	5.43	6.22	808.97	616.93
25~30	23	44.53	63.29	4.32	2.83	1071.62	575.22
>30	20	32.35	31.25	4.56	3.94	1011.25	272.26

注:与矽肺并发 COPD 组比较, $\blacktriangle P<0.05$ 。

2.3 壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2α、T-AOC 及 MDC 水平变化与吸烟及饮酒的关系

与非吸烟矽肺患者比较,吸烟矽肺患者血清 8-iso-PGF2α 水平略降低,T-AOC 水平略增高,MDC

水平无明显变化, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 与非饮酒矽肺患者比较, 饮酒矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 水平显著降低, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$), T-AOC 水平略增高, MDC 水平略降低, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 3。

表 3 壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 、T-AOC 及 MDC 水平与吸烟及饮酒的关系

相关指标	例数	8-iso-PGF2 α		T-AOC		MDC	
		(pg/ml)		(U/ml)		(pg/ml)	
		M	Q	M	Q	M	Q
非吸烟组	25	48.86	60.74	4.19	2.35	1032.28	447.97
吸烟组	33	37.56	26.21	5.06	5.01	1053.36	681.73
非饮酒组	30	47.26*	46.81	4.38	2.68	1083.41	482.41
饮酒组	28	31.40	23.47	5.09	5.24	929.46	640.46

注: 与饮酒组比较, * $P<0.05$ 。

2.4 8-iso-PGF2 α 、T-AOC 及 MDC 在壹期矽肺患者中的相关性分析

直线相关分析结果显示, 壹期矽肺患者血清中 T-AOC 与 MDC 呈负相关 (r 值为 -0.247 , P 值为 0.040), 8-iso-PGF2 α 与 T-AOC、MDC 均无相关性 ($P>0.05$)。

3 讨论

目前认为, 当机体吸入大量 SiO₂ 粉尘时, 可产生大量氧自由基, 从而损害肺组织结构和细胞, 导致矽肺的发生^[4]。自由基可损伤细胞膜脂质花生四烯酸, 使其发生脂质过氧化而产生 8-iso-PGF2 α , 它是反映体内脂质氧化应激的特异性标志物^[5]。T-AOC 是体内酶类少数小分子量抗氧化物质和非酶类抗氧化物质的总和, 反映机体总的抗氧化能力水平的高低。张雪涛等^[6]研究结果表明, 矽肺组血清中 T-AOC 水平明显高于接尘组和对照组, 认为机体氧化和抗氧化系统失衡与矽肺发生发展有关。本次研究结果显示, 与对照组比较, 接尘组和矽肺组血清 T-AOC 水平均明显升高, 而接尘组血清 8-iso-PGF2 α 水平有升高趋势, 矽肺组有降低趋势; 而矽肺组血清 8-iso-PGF2 α 和 T-AOC 水平却比接尘组明显降低。提示接触 SiO₂ 粉尘颗粒初期, 机体总的抗氧化能力明显增加, 而反映氧化损伤的氧化应激指标 8-iso-PGF2 α 增高不明显。随着粉尘进一步刺激, 患者病情加重, 机体氧化损伤和抗氧化能力均比接尘初期明显下降, 但抗氧化能力仍处于较高水平, 认为壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 和 T-AOC 水平出现异常, 机体氧化和抗氧化系统失衡, 二者参与了壹期矽肺的发生发展过程。

MDC 主要由单核细胞、树突状细胞、巨噬细胞分泌产生, 是 Th2 优势趋化因子, 并可通过选择性趋

化 Th2 细胞参与多种 Th2 免疫反应^[7]。研究发现, MDC 与特发性酸性粒细胞性肺炎发病机制有关^[8], MDC 水平在特发性肺纤维化存活和死亡患者支气管肺泡灌洗液中也存在差异, 其水平升高可能成为预测病情恶化的指标^[2]。我们研究显示, 血清 MDC 水平在接尘组比对照组明显降低, 而矽肺组比接尘组又明显升高。提示接尘初期 MDC 可能由于参与 Th2 免疫反应, 趋化效应细胞向肺组织迁移大量消耗而降低, 至纤维化阶段, 可能通过增强效应细胞活性, 使细胞分泌 MDC 水平增加, 进一步参与 Th2 免疫反应, 造成肺组织损伤及纤维化发生, 认为 MDC 参与了壹期矽肺发生发展过程。

另有研究报道, COPD 急性加重期 T-AOC 水平降低, 机体抗氧化能力下降, 存在氧化/抗氧化失衡^[9]。阎红娥等^[10]研究显示, 血清 8-iso-PGF2 α 水平在 COPD 患者急性加重期升高, 认为 COPD 患者体内氧化应激水平的增强发生在疾病全过程, 并与病情缓急相关。我们在对矽肺并发症研究中发现, 矽肺并发 COPD 组血清 T-AOC 水平明显高于单纯矽肺组, 8-iso-PGF2 α 和 MDC 水平在两组间的比较无明显改变, 提示矽肺并发 COPD 与单纯矽肺患者机体氧化/抗氧化指标变化存在差异, 而 8-iso-PGF2 α 水平变化与文献报道不一致则可能与病种选择有关。本研究还显示, 血清 8-iso-PGF2 α 、T-AOC 及 MDC 水平在不同接尘年限间均无明显差异, 提示接触矽尘时间长短可能对血清 8-iso-PGF2 α 、T-AOC 及 MDC 的表达影响不明显。

Helmersson 等^[11]报道, 长期吸烟者尿 8-iso-PGF2 α 水平均比非吸烟者以及曾吸烟者高, 吸烟可引起机体的氧化应激反应。动物实验认为, 慢性饮酒可使大鼠肺组织抗氧化物质减少, 抗氧化功能受损, 所致氧化应激反应可能是肺纤维化的因素之一^[12]。我们在探讨吸烟和饮酒对三种指标影响时发现, 吸烟组血清 8-iso-PGF2 α 水平略低于非吸烟组, 饮酒组血清 8-iso-PGF2 α 水平则明显低于非饮酒组, 而 T-AOC 和 MDC 水平在各组间均无明显改变, 提示吸烟和饮酒对壹期矽肺血清中 T-AOC 和 MDC 表达影响不明显, 吸烟对 8-iso-PGF2 α 表达也无明显影响, 但饮酒可能使壹期矽肺患者氧化应激状态受损, 影响 8-iso-PGF2 α 的水平表达。

本实验壹期矽肺患者血清 8-iso-PGF2 α 、T-AOC 及 MDC 的相关性分析结果显示, T-AOC 与 MDC 呈负相关, 而 8-iso-PGF2 α 与 T-AOC、MDC 无相关性。提示矽肺发生发展过程中, 机体总的抗氧化能力变化

2.5 POT1 基因 (rs1034794) 多态分布与 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验

经知情同意后采集某保险公司职工体检的健康人群外周血,提取基因组 DNA 后进行 POT1 基因多态性的检测。POT1 基因 (rs1034794) 野生型 58 例 (58%),杂合型30例 (30%),突变型12例 (12%)。该基因多态分布经 Hardy-Weinberg 检验,达到遗传平衡 ($P>0.05$)。

3 讨论

检测基因多态性的 PCR-RFLP 技术有方法简便和分型时间较短的优势,但用该方法也有一定的局限性,如在检测 POT1 基因 rs1034794 多态性时所需的 HpyCH4 V 内切酶价格较贵,一定程度上限制了该基因多态性的检测。用 CRS-PCR-RFLP 进行 SNP 检测,在国内外均有报道^[8,9],本课题组也应用该原理进行了几个基因多态位点的检测^[6,10],均取得较好的效果。本研究建立的 POT1 基因多态的检测方法,可以选择较为便宜的 内切酶 Alu I,内切酶费用降低近 90%,同时 PCR 产物和酶切电泳结果容易分辨,通过测序也进行了较好的验证,结果准确可靠。因此,变换碱基创造新的酶切位点可以降低实验成本,有利于基层和大样本含量的研究工作。

参考文献:

[1] Nan H, Qureshi A A, Prescott J, *et al.* Genetic variants in telomere-

maintaining genes and skin cancer risk [J]. Hum Genet, 2011, 129 (3): 247-253.

[2] Baumann P, Cech T R. Pot1, the putative telomere end-binding protein in fission yeast and humans [J]. Science, 2001, 292 (5519): 1171-1175.

[3] Greider C W. Telomeres do D-loop-T-loop [J]. Cell, 1999, 97 (4): 419-422.

[4] Shen J, Gammon M D, Terry M B, *et al.* Genetic polymorphisms in telomere pathway genes, telomere length, and breast cancer survival [J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 134 (1): 393-400.

[5] Zee R Y, Ridker P M, Chasman D I. Genetic variants of 11 telomere-pathway gene loci and the risk of incident type 2 diabetes mellitus: the Women's Genome Health Study [J]. Atherosclerosis, 2011, 218 (1): 144-146.

[6] 张忠彬,朱人,夏昭林.应用 CRS-RFLP 技术检测 hOGG1c. 326 位点的单核苷酸多态性 [J]. 中国工业医学杂志, 2004, 17 (5): 293-296.

[7] 赵春江,李宁,邓学梅.应用创造酶切位点法检测单碱基突变 [J]. 遗传, 2003, 25 (3): 327-329.

[8] Viana A C, Kim Y J, Cirelli J A, *et al.* A novel PCR-RFLP assay for the detection of the single nucleotide polymorphism at position +1440 in the human CXCR2 gene [J]. Biochem Genet, 2007, 45 (9-10): 737-741.

[9] 焦洁,王威,刘静,等.应用创造酶切位点 PCR-RFLP 检测乙醇脱氢酶 2 基因多态性 [J]. 卫生研究, 2009, 38 (1): 4-6.

[10] 王威,杨永利,周舫,等.创造酶切位点 PCR-RFLP 检测 MTHFR (rs2274976) 基因多态性 [J]. 卫生研究, 2010, 39 (2): 162-164.

(上接第 328 页)

可能对趋化因子 MDC 的表达存在一定的影响。抗氧化剂可降低大鼠巨噬细胞矽尘暴露后产生趋化因子,巨噬细胞对矽尘的反应一部分是由氧化应激介导^[3],今后我们会继续探讨矽肺患者氧化应激指标和趋化因子各自作用及其之间的关系。

参考文献:

[1] 张颖轶, 缪荣明. 氧化应激反应在矽肺发病中的影响及临床研究 [J]. 职业与健康, 2012, 28 (6): 641-643.

[2] Shinoda H, Tasaka S, Fujishima S, *et al.* Elevated CC chemokine level in bronchoalveolar lavage fluid is predictive of a poor outcome of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Respiration, 2009, 78 (3): 285-292.

[3] Barrett E G, Johnston C, Oberdörster G, *et al.* Antioxidant treatment attenuates cytokine and chemokine levels in murine macrophages following silica exposure [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1999, 158 (3): 211-220.

[4] 邱红燕, 袁聚祥. 氧化损伤与矽肺 [J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2008, 11 (7): 1062-1064.

[5] 牟海英, 马静. 8-异前列腺素 F2 α 与氧化应激损伤性疾病的研究进展 [J]. 国外医学卫生学分册, 2007, 34 (6): 377-381.

[6] 张雪涛, 倪为民, 缪荣明, 等. 矽肺患者氧化应激指标及外周血单核细胞 NF- κ B 水平的变化 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2011, 29 (4): 251-254.

[7] Yamashita U, Kuroda E. Regulation of macrophage-derived chemokine (MDC, CCL22) production [J]. Crit Rev Immunol, 2002, 22 (2): 105-114.

[8] Manabe K, Nishioka Y, Kishi J, *et al.* Elevation of macrophage-derived chemokine in eosinophilic pneumonia: a role of alveolar macrophages [J]. J Med Invest, 2005, 52 (1): 85-92.

[9] 王艳蕾, 刘智群, 杨建军, 等. 氧化/抗氧化失衡与 COPD 急性加重期炎症反应的关系 [J]. 天津医药, 2013, 41 (4): 327-329.

[10] 阎红娥, 张尧, 鲍文华, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者血清中 IL-32、8-iso-PGF2 α 的变化及意义 [J]. 黑龙江医药科学, 2014, 37 (2): 6-7.

[11] Helmersson J, Larsson A, Vessby B, *et al.* Active smoking and a history of smoking are associated with enhanced prostaglandin F (2 α), interleukin-6 and F2-isoprostane formation in elderly men [J]. Atherosclerosis, 2005, 181 (1): 201-207.

[12] 于洪志, 吴琦, 杜钟珍, 等. 慢性饮酒引起大鼠肺组织损伤及肺纤维化 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2012, 11 (4): 367-370.