

## · 综 述 ·

## 矽尘对肺组织的损伤机制

陈晔, 王欣, 李春云, 胡炜焱

(南京市职业病防治院职业病科, 江苏 南京 210042)

**摘要:** 矽肺是因患者长期暴露于矽尘环境中, 肺部形成广泛的结节状纤维化为特征的疾病, 是最常见和最严重的尘肺病之一, 疾病进展过程非常复杂, 包括炎症反应、免疫应答、细胞和组织损伤及胶原增生和纤维化形成。矽肺是多因素共同作用的结果, 主要的致病机制包括: 直接的细胞毒性作用, 产生活性氧自由基 (ROS) 和活性氮自由基 (RNS), 分泌炎症因子和趋化因子, 启动纤维化途径和细胞死亡。本文通过阐述矽尘损伤肺组织的致病机制, 为临床治疗提供依据。

**关键词:** 矽肺; 炎症; 免疫反应; 纤维化

中图分类号: R135.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2017)06-0432-03 DOI:10.13631/j.cnki.zggyyx.2017.06.009

## Mechanism of silica dust-induced lung damage

Chen Ye, Wang Xin, Li Chunyun, Hu Weiyi

(Nanjing Municipal Center for Prevention and Treatment of Occupational Diseases, Nanjing 210042, China)

**Abstract:** Silicosis is a disease characterized by extensive nodular fibrosis in lungs caused by long term exposure to silica dust, that is one of the most common and serious type of pneumoconiosis. Its progression is very complex, not a few of mechanisms including inflammation, immune response, structural damage and repair of cells and tissues, collagen hyperplasia and fibrosis formation, etc. Silicosis is the result of interaction of many factors, the main mechanisms involved are direct cytotoxicity, production of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS), secretion of inflammatory factors and chemokines, initiation of the pathways leading fibrosis and cell death. This review will offer some highlights of the mechanisms of lung damages by silica dusts, thereby provide a scientific basis for clinical therapeutic silicosis.

**Key words:** silicosis; inflammation; immune response; fibrosis

矽肺是由长期大量吸入二氧化硅粉尘导致的一种伴有肉芽肿形成的持续性炎症, 其结果是肺组织重构和肺功能损伤<sup>[1]</sup>。矽肺常伴发结核、慢性阻塞性肺疾病、类风湿关节炎<sup>[2]</sup>等。长期矽尘暴露可能还会导致肺癌。目前矽肺的治疗方法仅限于对症治疗和并发症的治疗, 尚无特效方法可以阻止甚至逆转疾病进展。终末期患者通常死于呼吸衰竭<sup>[1]</sup>。

矽肺的病理生理过程独特性在于肺部不断吞噬和释放矽尘, 导致疾病不断进展。目前研究的疾病过程包括矽尘进入气道, 越过黏膜屏障到达远端, 沉积的微粒不能被清除, 进入肺泡, 肺泡巨噬细胞吞噬微粒, 开始对肺的破坏过程, 随后炎症反应启动纤维化进程, 导致间质性肺疾病。矽尘导致的肺损伤包括以下五个主要机制, 现分别进行阐述。

## 1 对肺泡细胞直接的毒性作用

矽尘具有压电性, 即矽尘被粉碎后切割面产生 Si<sup>·</sup> 和 SiO<sup>·</sup> 自由基, 可与 CO<sub>2</sub>、O<sub>2</sub> 和水反应产生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和—OH 自由基, 产生直接的细胞毒性作用。新形成的粒子最具细胞毒性, 因为在液体环境中可以产生更多的自由基, 从而破坏细胞膜, 释放溶酶体酶, 导致组织损伤<sup>[3]</sup>。

晶体或非晶体形式的硅可以被巨噬细胞吞噬, 产生毒性作用, 导致内溶酶体破裂, 激活 Caspase-3。矽尘微粒的大小可以影响炎症反应。由于较小的粒子在每单位重量拥有更大的表面积, 一般认为较小的粒子更容易引起不良的生物学反应如炎症。直径 30~1 000 nm 的非晶形矽尘和直径 3 000~10 000 nm 的矽尘相比, 通过影响溶酶体的稳定性、前炎症因子的表达, 引起更加严重的肺部炎症反应<sup>[4]</sup>。

## 2 肺泡巨噬细胞产生有活性的物质

活性氧自由基 (ROS) 和活性氮自由基 (RNS) 常用于对抗有害物质, 维持机体免疫反应。当肺泡巨噬细胞和矽尘接触后产生大量诱导性一氧化氮合酶 (iNOS) 和 ROS, 从而损伤肺组织。在 ROS/RNS 中, 氮氧化物是矽肺的一个重要发病因素。在 iNOS 催化下精氨酸转化为瓜氨酸过程中产生氮氧化物, 然后与超氧化物反应形成过氧亚硝酸盐, 损伤线粒体和 DNA, 并抑制多种蛋白活性。这些氧化应激反应激活多种转化因子, 如 ROS 可以介导 NALP3 (NOD-like receptor, pyrin domain containing 3) 炎症小体激活、核因子-κB 蛋白 (NF-κB) 激活、肿瘤坏死因子-α (TNF-α) 和白介素-1β (IL-1β) 的产生。矽尘和巨噬细胞及上皮细胞反应, 使 NF-κB 由胞浆进入细胞核, 与 DNA 结合开始炎性和纤维化相关基因的转录和翻译。

## 3 肺泡巨噬细胞和上皮细胞产生细胞因子和趋化因子

矽尘可以促进肥大细胞产生白三烯 B<sub>4</sub>, 使中性粒细胞在

收稿日期: 2017-02-21; 修回日期: 2017-04-06

作者简介: 陈晔 (1985—), 女, 主治医师, 从事矽肺研究工作。

通信作者: 胡炜焱, 副主任医师, 从事尘肺治疗工作, E-mail: hwy68277@126.com。

炎症处聚集,亦可促进肿瘤生长<sup>[5]</sup>。矽尘还可通过促进巨噬细胞炎性蛋白-1 (MIP-1) 和 MIP-2 产生,增加巨噬细胞数量,从而加速肺组织损伤。巨噬细胞是最早与矽尘反应的细胞,随后激活胞外一系列信号通路,使细胞极化。M1 巨噬细胞主要抵抗微生物和维持炎症反应,当 iNOS 存在时,细胞极化为 M<sub>1</sub> 型。当精氨酸酶存在时,巨噬细胞极化为 M2 型,通过降低 iNOS 表达,缓解炎症反应和促进组织修复<sup>[6,7]</sup>。

在肺泡巨噬细胞表面,清道夫受体-A (scavenger receptors-A, SR-A) 和胶原样结构巨噬细胞受体 (macrophage receptor with collagenous structure, MARCO) 识别吞噬矽尘<sup>[7]</sup>,随后激活 NLRP3 炎症小体<sup>[8]</sup>, Caspase-1 启动切除,肺泡巨噬细胞内储存的 IL-1 $\alpha$  迅速释放,并促进其他细胞因子产生,如 IL-18 和 IL-1 $\beta$ <sup>[9,10]</sup>,从而诱发肺部炎症反应。实验表明<sup>[11]</sup>,如果缺乏 IL-1 $\alpha$ ,可以减少 IL-1 $\beta$  产生和中性粒细胞聚集。

最近研究的热门是 IL-17。实验发现<sup>[12]</sup>,在小鼠气管灌注石英尘后,肺泡巨噬细胞 IL-17A、ROR $\gamma$ t (retinoid-related orphan nuclear receptor  $\gamma$ t) 和 IL-23 的 mRNA 表达增加,使局部聚集 IL-17A T 细胞,产生 IL-17A,加剧矽肺急性炎症反应,而与慢性炎症反应及随后的纤维化无关<sup>[13]</sup> (IL-23 是维持 IL-17A T 细胞的因子,ROR $\gamma$ t 是人类和小鼠 IL-17A T 细胞关键的转录因子<sup>[14]</sup>)。炎症一旦启动,释放的细胞因子、趋化因子、脂类介质和生长因子聚集在肺泡的多核细胞和单核细胞周围,环绕矽尘形成肉芽肿,开始纤维化途径。

#### 4 肺泡巨噬细胞和上皮细胞启动纤维化途径

转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 在肺纤维化形成过程中起到重要作用。在小鼠气管内灌注  $\alpha$ -石英尘后,在肺肉芽肿、肺泡巨噬细胞、间质巨噬细胞和肺成纤维细胞中都发现了 proTGF- $\beta$  和 TGF- $\beta$ 。但似乎并非  $\alpha$ -石英尘直接刺激肺上皮细胞、巨噬细胞或成纤维细胞产生 TGF- $\beta$ ,而是经过一段时间持续暴露  $\alpha$ -石英尘后,通过刺激产生 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1 分泌才被启动。TGF- $\beta$ 1 和肺成纤维细胞上受体结合,激活下游 R-smads (receptor-activated small mothers against decapentaplegic),将信号传导入细胞核,启动细胞外基质基因转录<sup>[15]</sup>,再诱导 TGF- $\beta$  生成。

当成纤维细胞聚集到损伤区域,TGF- $\beta$  促使局部胶原沉积,弹性蛋白产生增加。MMP-2 (metal matrix proteinase-2) 和 MMP-9 表达增加,抑制 TIMP-1 (tissue inhibitor of MMP-1) 和 TIMP-2 所致的肺实质重构<sup>[16]</sup>。矽尘导致的肺组织损伤,MMP 所致的细胞外基质降解和胶原蛋白加剧沉积共同导致了肉芽肿形成和肺组织重塑。

上皮细胞和巨噬细胞分泌 IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ ,这两种因子都与成纤维细胞激活和胶原沉积有关。IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  相互竞争,当 IL-1 受体拮抗剂对炎症反应发挥作用时,抑制 IL-1 的生物作用,并且 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  增加 IL-6 的表达,对疾病进展亦有相同作用<sup>[17]</sup>。同样 IL-10 亦有控制矽肺的炎症反应作用,使炎症反应向纤维化发展。IL-10 可以促进 IL-4 和 IL-13 产生,促进 Th2 反应<sup>[18]</sup>。

#### 5 细胞凋亡

肺泡巨噬细胞凋亡在矽肺的发生和进展中起重要作用。

线粒体功能异常和凋亡受体及配体如 FasL 和 TNF 的增加促进了细胞凋亡<sup>[19]</sup>。矽尘和肺泡巨噬细胞表面 SR 结合,FasL 表达上调,通过与 Fas 结合诱发凋亡。通过研究矽尘患者肺泡灌洗液发现,Caspase-3、mFas (membrane-bound Fas) 水平与矽尘暴露的时间正相关,即使停止矽尘暴露,仍可随着疾病的进展,保持高水平状态<sup>[19]</sup>。矽尘还能使线粒体膜功能异常,Caspase-9 和 Caspase-3 被激活,DNA 断裂<sup>[20]</sup>。细胞凋亡时释放的趋化因子使炎症细胞聚集,增加炎症反应。更重要的是巨噬细胞凋亡时将矽尘重新排出至肺实质,再次被其他巨噬细胞吞噬,如此循环,组织损伤不断加重。

脂多糖 (LPS) 也是一个诱导细胞凋亡的重要因素。有学者在矽肺患者的支气管肺泡灌洗液中发现了 LPS,LPS 通过 TLR4 激活肺泡巨噬细胞内信号通路,诱发巨噬细胞启动自噬<sup>[21]</sup>,并且通过固有途径加速细胞凋亡。抑制自噬体形成可抑制肺泡巨噬细胞 LPS 诱导的细胞凋亡<sup>[22]</sup>。

近年发现一种新的细胞死亡方式—细胞焦亡,依赖于 Caspase-1 诱发,具有细胞凋亡和坏死的特质,ROS、炎症小体和其作用有关。其过程伴有细胞核 DNA 断裂,胞膜破裂,释放大量的炎性介质 (如 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-33 等)<sup>[23]</sup>。已有研究发现肺部感染性炎症反应与细胞焦亡相关<sup>[24,25]</sup>。矽肺的进展是否和细胞焦亡有关,还有待进一步研究印证。

#### 参考文献:

- [1] Leung CC, Yu IT, Chen W. Silicosis [J]. Lancet, 2012, 379 (9830): 2008-2018.
- [2] Pollard KM. Silica, silicosis, and autoimmunity [J]. Front Immunol, 2016, 7 (3): 97.
- [3] Greenberg MI, Waksman J, Curtis J. Silicosis: a review [J]. Dis Mon, 2007, 53 (8): 394-416.
- [4] Kusaka T, Nakayama M, Nakamura K, et al. Effect of silica particle size on macrophage inflammatory responses [J]. PLoS One, 2014, 9 (3): e92634.
- [5] Satpathy SR, Jala VR, Bodduluri SR, et al. Crystalline silica-induced leukotriene B4-dependent inflammation promotes lung tumour growth [J]. Nat Commun, 2015, 6 (4): 7064.
- [6] Lopes-Pacheco M, Xisto DG, Ornellas FM, et al. Repeated administration of bone marrow-derived cells prevents disease progression in experimental silicosis [J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 32 (6): 1681-1694.
- [7] Murthy S, Larson-Casey JL, Ryan AJ, et al. Alternative activation of macrophages and pulmonary fibrosis are modulated by scavenger receptor, macrophage receptor with collagenous structure [J]. FASEB J, 2015, 29 (8): 3527-3536.
- [8] Hari A, Zhang Y, Tu Z, et al. Activation of NLRP3 inflammasome by crystalline structures via cell surface contact [J]. Sci Rep, 2014, 4: 7281.
- [9] Biswas R, Hamilton RF Jr, Holian A. Role of lysosomes in silica-induced inflammasome activation and inflammation in absence of MARCO [J]. J Immunol Res, 2014 (4): 304180.
- [10] Peeters PM, Perkins TN, Wouters EF, et al. Silica induces NLRP3 inflammasome activation in human lung epithelial cells [J]. Part

- Fibre Toxicol, 2013, 10 (1): 3.
- [11] Rabolli V, Badissi A A, Devosse R, *et al.* The alarmin IL-1 $\alpha$  is a master cytokine in acute lung inflammation induced by silica micro- and nanoparticles [J]. Part Fibre Toxicol, 2014, 11 (1): 69.
- [12] Song L, Weng D, Liu F, *et al.* Tregs promote the differentiation of Th17 cells in silica-induced lung fibrosis in mice [J]. PLoS One, 2012, 7 (5): e37286.
- [13] Lo Re S, Dumoutier L, Couillin I, *et al.* IL-17A-producing gammadelta T and Th17 lymphocytes mediate lung inflammation but not fibrosis in experimental silicosis [J]. J Immunol, 2010, 184 (11): 6367-6377.
- [14] Huh JR, Littman DR. Small molecule inhibitors of ROR $\gamma$ 1: targeting Th17 cells and other applications [J]. Eur J Immunol, 2012, 42 (9): 2232-2237.
- [15] Allison SJ. Fibrosis: Regulation of fibrotic signalling by TGF- $\beta$  receptor tyrosine phosphorylation [J]. Nat Rev Nephrol, 2014, 10 (9): 484.
- [16] Scabilloni JF, Wang L, Antonini JM, *et al.* Matrix metalloproteinase induction in fibrosis and fibrotic nodule formation due to silica inhalation [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 288 (4): L709-717.
- [17] Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease [J]. Nat Med, 2012, 18 (7): 1028-1040.
- [18] Barbarin V, Xing Z, Delos M, *et al.* Pulmonary overexpression of IL-10 augments lung fibrosis and Th2 responses induced by silica particles [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 288 (5): L841-848.
- [19] Yao SQ, Rojanasakul LW, Chen ZY, *et al.* Fas/FasL pathway-mediated alveolar macrophage apoptosis involved in human silicosis [J]. Apoptosis, 2011, 16 (12): 1195-1204.
- [20] Joshi GN, Knecht DA. Silica phagocytosis causes apoptosis and necrosis by different temporal and molecular pathways in alveolar macrophages [J]. Apoptosis, 2013, 18 (3): 271-285.
- [21] He J, Wang Y, Xu LH, *et al.* Cucurbitacin IIa induces caspase-3-dependent apoptosis and enhances autophagy in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages [J]. Int Immunopharmacol, 2013, 16 (1): 27-34.
- [22] Chen S, Yuan J, Yao S, *et al.* Lipopolysaccharides may aggravate apoptosis through accumulation of autophagosomes in alveolar macrophages of human silicosis [J]. Autophagy, 2015, 11 (12): 2346-2357.
- [23] Stegmann KA, De Souza JB, Riley EM. IL-18-induced expression of high-affinity IL-2R on murine NK cells is essential for NK-cell IFN- $\gamma$  production during murine Plasmodium yoelii infection [J]. Eur J Immunol, 2015, 45 (12): 3431-3440.
- [24] Schell U, Simon S, Hilbi H. Inflammasome recognition and regulation of the legionella flagellum [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2016, 397 (6): 161-181.
- [25] He X, Qian Y, Li Z, *et al.* TLR4-Upregulated IL-1 $\beta$  and IL-1RI promote alveolar macrophage pyroptosis and lung inflammation through an autocrine mechanism [J]. Sci Rep, 2016, 6 (8): 31663.

## 尘肺生物样本库蛋白组学的应用展望

贺今, 刘光峰, 崔萍

(山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062)

**摘要:** 职业性尘肺病是我国发病率和死亡率最高的职业病, 尘肺病是以进行性肺间质纤维化为特征的肺部疾病, 但临床缺乏特效药物及早期筛选的分子标志物, 利用生物样本库及蛋白组学技术, 筛选和研究尘肺病患者血液、支气管肺泡灌洗液等特异性蛋白的差异表达, 将有利于特效药物的研发及早期分子标志物的建立。

**关键词:** 生物样本库; 尘肺; 蛋白组学

中图分类号: R135.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2017)06-0434-03 DOI:10.13631/j.cnki.zggyyx.2017.06.010

### Prospects on application of pneumoconiosis proteomics biobank

He Jin, Liu Guangfeng, Cui Ping

(Shandong Academy of Occupational Health and Occupational Medicine, Ji'nan 250062, China)

**Abstract:** The pneumoconiosis had the highest morbidity and mortality among occupational diseases in China. Pneumoconiosis was occupational lung disease characterized by progressive pulmonary fibrosis, but clinical treatments lacked of efficacious drug and molecular marker in early diagnosis. Differential protein expression of blood samples and bronchoalveolar lavage fluid were analyzed by tissue of biobanks and proteomics technology. This would made for development of efficacious drug and establishment of molecular marker in early diagnosis.

**Key words:** biobank; pneumoconiosis; proteomics

目前尘肺病仍是我国发病率最高的职业病, 由于易合并

肺癌、慢阻肺、肺结核等疾病, 致死率和致残率都很高。尘肺生物样本库是一种收集、处理、存储和应用各种尘肺生物标本及患者相关信息用于临床诊疗和分子靶向学研究的生物系统。患者血液、组织等生物样本的采集和保存将为进行的

收稿日期: 2017-09-18; 修回日期: 2017-11-10

作者简介: 贺今 (1975—), 女, 副主任医师, 博士研究生, 从事职业病临床治疗工作。