

· 讲 座 ·

我国重金属中毒性肾病的研究概况

北京医科大学第三医院职业病研究中心(100083) 赵金垣 王世俊

我国的工业生产在建国后(1949)才逐渐开始发展,当时的职业病防治专业队伍除忙于防治各种急性职业病外,尚无力顾及它。1949~1979年间,国内文献除偶见重金属所致急性肾损伤的临床报告外,几无其它有关重金属性肾病的记载。80年代以来,重金属慢性中毒性肾损伤问题开始受到重视,并在监测手段、研究方法、各种重金属肾脏毒性机制等方面进行了十分活跃的研究探讨,兹将这些动态作一简要介绍,以供今后工作之参考。

我国重金属性肾病的主要研究手段

尿液分析乃是肾疾患最常采用、最重要的研究途径,这是因为:(1)尿液乃由肾脏直接生成,其变化往往在早期即可反映肾脏损伤及其程度,甚至部位、病因;(2)标本容易获得,检查不具损伤性;(3)方法的改进使尿液的分析更为细致、科学,使之能提供更为精密准确的信息。国内对尿液分析研究也给予很大重视,已成为重金属中毒性肾损伤主要研究手段。如:

一、尿蛋白分析

蛋白尿是肾损伤的主要指标。重金属对肾脏毒作用靶部位多集中于近曲小管,慢性接触所引起的亦是以低分子蛋白为主的肾小管性蛋白尿。目前已发展了多种方法以检测低分子蛋白尿。尹春晃等曾分别用醋酸纤维膜电泳法(cellulose-acetate membrane electrophoresis)及聚丙烯酰胺圆盘电泳法(polyacrylamide disc electrophoresis)分析了镉作业工人的尿蛋白,清楚地显示出以低分子蛋白为主的肾小管损伤的特征性尿蛋白谱形,并认为后一方法的分辨性能较好。目前一般认为十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)更为准确灵敏,因为SDS可供蛋白质多肽链大量负电荷,掩盖了蛋白质原有的荷电性,使蛋白质在凝胶中的泳动只取决于分子量大小,是目前国内最常用的方法。此外,还可采用凝胶色谱技术进行尿蛋白分离,此可同时分析其中的金属含量,有助于毒性机制探讨。

近20年来,已陆续从尿中分离出很多低分子蛋白,如 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG, MW11800)、溶菌酶(Lys, MW15000)、维生素A结合蛋白(RBP, MW21400)等,并制成检测药盒。它们的分子量都较低,可经肾小球顺利滤出,正常情况下几全部在近曲小管被重吸

收;其在尿中大量增加,多表明出现肾小管功能障碍,特异性及灵敏性较尿蛋白检测更强。国内多选择前二者为检测对象,尿中溶菌酶的测定已采用活性染料标记的溶壁微球菌为基质的光电比色法,研究表明此法较光学比浊法和琼脂平板法(agar plate)更为简便、灵敏;尿溶菌酶还与 β_2 -MG有相关关系,可以相互替代作为近曲小管功能障碍的反映指标。 β_2 -MG多采用瑞典生产的药盒(enzyme linked immunosorbent assay kit)进行测定;1986年后,国产放射免疫检测药盒(radio-immunoassay kit)问世,使 β_2 -MG的检测开展更为普遍。

二、尿酶分析

尿酶分析是近十余年发展起来的重要诊断手段之一,其来源主要有四个:(1)血清。由于肾小球的筛选作用,仅那些MW<40000的酶得以自由进入尿中,如Lys、核糖核酸酶(ribonuclease)等。这些低分子量血清酶大多在肾小管被重吸收并进行分解代谢,如近曲小管功能障碍,此类尿酶则会明显增加,但此类尿酶仅能大致判断肾损伤部位及程度,不能作更具体的定位。(2)泌尿生殖道上皮的组织酶,其量甚微,无甚诊断价值。(3)泌尿生殖道的腺体分泌物中常含活性很高的酶类,构成正常尿酶谱的一部分,但对肾脏疾患诊断的意义尚无深入了解。(4)肾小管细胞含有丰富的酶类。其可随细胞更新出现于尿中构成正常酶谱;若细胞受损,由于肾脏不同部位所含酶类各不相同,可根据尿酶的变化特点进行更为精细的损伤定位及病情预测。如尿酶多属刷毛缘酶类,多示损伤较轻;细胞浆酶类增加多表明病变进展;若细胞器酶类也明显增加,则提示损伤较重。

国内近六、七年在尿酶检测方面亦十分活跃,并开始用作重金属接触者肾脏功能的生物学监测指标。碱性磷酸酶(AKP)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)检测开展得较多,其为近曲小管刷毛缘酶,最易受重金属影响。对铅、汞、镉作业工人的调查显示,这些尿酶活性的明显增加,且具剂量效应关系,并早于尿蛋白的变化;目前多采用改良布登斯基法(modified Bodansky method), γ -GT则多采用对硝基苯胺法。肾小管溶酶体酶如N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)活性检测也有不少报告,一般多采用对硝基酚(PNP)

分光光度比色法。有调查表明,汞作业工人尿NAG活性明显增高,较尿蛋白敏感,且具剂量-效应关系;镉作业工人尿NAG活性虽也增高,但不如 β_2 -MG敏感;铅作业工人尿NAG活性增高出现较晚,阳性率亦不及尿蛋白,故不宜用作肾损伤早期指标。但亦有报告指出镉、汞作业工人尿NAG无明显变化。其它尿酶如乳酸脱氢酶(LDH)、谷草转氨酶(GOT)、6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PD)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)等也见有研究报告,但资料尚少,有待进一步积累。

国内目前多已肯定尿酶检测的价值,认为它属一种早期可复性改变,且具剂量-效应关系,适于用作重金属性慢性肾损伤的生物学监测指标。由于尿酶的来源复杂,不同毒物所引起的尿酶变化亦不相同,且对各种侵袭均较敏感,特异性相对较低,故单一的尿酶检测多难反映肾脏损伤的真实状况,而应结合其它指标变化情况方能作出正确判断。

三、尿中金属含量测定

生物体液中金属含量测定早年多为化学方法,近年逐渐转为仪器分析,如汞多采用冷原子吸收法, (cool atomic absorption), 铅、镉则多采用阳极溶出伏安法(anodic stripping voltammetry)或原子

吸收分光光度法,敏感度及精度均明显提高。研究表明,金属在血中的水平仅是近期接触程度的反映,其在尿中的水平似更能反映体内的负荷情况,可作为一种接触指标,但迄今尚未发现它与肾脏损伤及其程度有何直接关系。赵金垣等曾采用超滤浓缩及凝胶色谱技术分离尿中不同分子量的汞成分,并结合尿液生化测定、肾脏光镜及电镜检查结果去探求不同尿汞成分的消长与汞性肾损伤间的关系,显示尿汞主要由三种成分构成:(1)MW<10000的低分子复合物(LM-Hg),一般情况下可占尿汞总量70%,(2)MW≥70000的中高分子量蛋白结合汞(HMM-Pr-Hg), (3)MW<15000的低分子蛋白结合汞(LM-Pr-Hg),后者可能即是汞-金属硫蛋白结合物(Hg-meta-llothionein),随暴露增加,LM-Hg在尿汞中之比例反见减少,而LM-Pr-Hg却渐增加。当肾脏功能及结构出现异常后,则以HMM-Pr-Hg为主要尿汞形式(见表1)。因而提示,LM-Hg乃是肾脏在汞暴露仍维持正常生理功能的标志,LM-Pr-Hg可能是肾脏对汞的解毒能力已近饱和的反映,HMM-Pr-Hg则可能是肾脏已受到汞毒性损伤的信号。此一规律近在陶炼晖等的尿镉成分的研究中也得到印证,值得注意,国外尚未见类似研究。

表1

尿汞不同成分的消长与肾脏损伤的关系

暴露程度	肾功能变化	肾结构变化	尿汞,不同成分的消长情况		
			LM-Hg	LM-Pr-Hg	HMM-Pr-Hg
轻度	-	-	++	±	-
中度	±	±	±	+	±
重度	+	+	±	±	++

注:肾功能变化指尿蛋白+、尿氨基酸排泄↑、尿蛋白电泳异常等;肾结构变化指电镜及光镜下见有结构异常等。

我国重金属性肾病的研究动态

一、汞中毒性肾病

方国祥等对某汞矿慢性汞中毒性肾病发病情况的调查显示,887名受检对象(男性548人)中,汞性肾病的总患病率为3.4%,与暴露水平有密切关系(见表2)。对其中已确诊为中毒性肾病的工人尿液进行溶菌酶测定及尿蛋白圆盘电泳分析表明,皆表现为低分子量蛋白尿,认为属汞性肾损伤的特点,上述方法则可作为早期监测手段。

赵金垣等对碱厂296名汞作业工人蛋白尿的调查显示,在接触水平并非很高情况下(0.01~0.1mg/m³),汞中毒患病率约为12%,而尿蛋白超过正常对照组上限者(175mg/24h)却达21%,其中已确诊为汞中毒者蛋白尿阳性率为33%,非中毒者亦达19%,提

表2 汞中毒性肾病患者率与暴露水平的关系

生产现场空气中汞浓度 (mg/m ³)	汞中毒性肾病患者率 (%)
<0.005	0.5
0.005~0.01	3.9
0.01~0.05	5.3
0.05~0.1	7.9
>0.5	13.6

示蛋白尿在神经系统症状出现前即可发生,故为汞毒性作用的早期表现。研究认为由于蛋白尿是汞对肾脏毒性作用的直接后果,它所反映的不仅仅是剂量水平,也包括机体对汞的防护潜力,因而尿蛋白的检测不仅可反映群体暴露水平,还有助于检出敏感个体,以

及时防止汞毒的进一步危害。于明、肖云等的调查亦证实尿蛋白检测对汞作业工人的重要价值。但汞作业工人蛋白尿可表现为多种类型,与接触剂量有密切关系,较低浓度接触呈现低分子型,高浓度接触则主要为中高分子型蛋白尿。还有研究表明尿酶亦可作为汞性肾损伤的监测指标,如 γ -GT、AKP、LDH、NAG等。

关于汞性蛋白尿的发生机制亦有研究进行了深入探讨,发现肾小球滤出也是尿汞的重要来源,在高强度暴露下,此一来源甚至可占尿汞总量80%以上,从而揭示了一条与经典概念完全不同的尿汞生成新途径。研究表明此一来源可能与血中 Hg^{2+} 与血浆蛋白结合后使其负电性减弱,从而亦减小肾小球滤膜的“静电屏阻”(electrostatic hindrance)作用有关,致使血汞随原不易漏出的血浆蛋白进入尿中;这也可能是肾小球系膜区及内皮层出现大量蛋白沉积物、尿中出现大量白蛋白的生化基础。李沛荣等曾对3例轻度汞中毒患者作了肾组织活检,其病理改变与上述动物实验所见十分相似,表明慢性轻度汞中毒时已出现肾小管及肾小球组织学改变。

二、镉中毒性肾病

镉的肾脏毒性研究多集中于早期监测指标的探讨方面。刘荫曾、黄金祥等曾对冶炼厂镉作业工人进行了调查,结果表明,在低水平接触下,其血镉和尿镉均值分别为 $17.7\mu\text{g/L}$ 和 $4.0\mu\text{g/gCr}$,远高于正常对照组(分别为 $0.5\mu\text{g/L}$ 和 $0.35\mu\text{g/gCr}$);其尿 β_2 -MG均值为 $218\mu\text{g/gCr}$,也显著高于正常对照组($128\mu\text{g/gCr}$)。由于20%受检工人尿 β_2 -MG高于正常对照组上限($420\mu\text{g/gCr}$),比蛋白尿阳性率要高,故可作为镉性肾损伤敏感指标;但认为该指标仍有一定局限性,必须结合尿蛋白、尿镉测定及尿蛋白电泳分析等指标才能可靠判断早期镉性肾损伤。调查还显示,血镉水平与尿 β_2 -MG无明显相关,而尿镉接近 $5\mu\text{g/gCr}$ 时,则可见尿 β_2 -MG显著增高,故提议将尿镉临界值定为 $5\mu\text{g/gCr}$,以预示镉性肾损伤发生的可能性。其它调查也有类似结果,但有的报告认为尿镉临界值以 $10\mu\text{g/gCr}$ 为宜。阿拉塔、于明等曾进一步探讨过镉性肾损伤的敏感指标问题,认为尿AKP最灵敏,其次为尿 β_2 -MG,二者皆与尿镉有相关关系;尿NAG则不敏感。郭卫星、王翔朴等认为尿AKP不适于作镉性肾损伤的早期指标;他们还认为尿镉水平与肾损伤及其程度亦无明显相关,而尿溶菌酶及 β_2 -MG则与肾损伤关系密切,尤其是前者,最宜用作肾损伤的反映指标。黄世超等对镉作业工人尿蛋白的圆盘电泳分析则显示其尿中低分子蛋白比例及排出量皆明显增

加,故认为尿蛋白的SDS-PAGE分析可作为肾损伤的监测手段。王翔朴还用细胞色素C作为肾小管重吸收功能的指示物,比较 CdCl_2 、 NiCl_2 和 HgCl_2 的肾毒作用,发现Cd具有抑制肾小管对细胞色素C重吸收的特异作用,认为可用作研究镉的肾毒作用的探测器。

此外,有关镉的肾脏毒性更为细致的研究也在进行,如韩英士等用组织化学方法对大鼠肾小管酶类活性用光镜、电镜作原位观察,并用电脑图象处理系统进行定量研究,结果显示,在亚急性中毒情况下,近曲小管AKP活性明显受抑,认为可能为Cd的直接毒性所致;而G6PD和LDH活性则见增强,认为属于代偿反应,但具体机制仍有待澄清。陶炼晖等对镉性肾损伤与金属硫蛋白(metallothionein)的关系进行了探讨,结果显示,镉暴露除见肝、肾及血中镉-金属硫蛋白(Cd-MT)增加外,尿Cd-MT增加更甚,其幅度远远超过尿 β_2 -MG的增加。由于Cd-MT中含镉,其含镉量可占尿镉总量55~70%,而肾皮质镉每增加1ppm,以Cd-MT形式由尿排出的镉可增加 $430\mu\text{g/gCr}$,故Cd-MT除可反映尿镉水平外,亦可反映肾皮质镉负荷,故为镉性肾损伤灵敏且特异的指标。他们也发现尿中金属的排出形式与肾损伤间存在密切关系,即当肾脏结构及功能尚属正常时,尿镉以低分子结合物形式为主;在肾损伤发生之初,病变尚限于肾小管时,尿镉以Cd-MT为主,尿蛋白亦以低分子量为主;若肾损伤加重,GFR亦有下降,尿中中高分子蛋白结合镉则排出增加,如前述尿汞排泄规律甚为相似。这一现象的发现,预计将给研究重金属肾脏毒性机制及早期监测指标提供重要线索。

三、铅中毒性肾病

有关铅中毒性肾病的研究不象汞、镉之广泛。安云飞等对铅中毒性肾损伤早期监测的实验研究显示,尿 γ -GT活性下降乃最早出现的反应,且阳性率高于尿蛋白及尿糖,认为可作为铅性肾损伤的早期指标。临床观察亦显示尿酶确是铅性肾损伤的早期灵敏指标,如 γ -GT、AKP、LDH等,但表现为活性增高而非降低;NAG则不够灵敏,不适于铅性肾损伤的检测。近有报告指出,尿 β_2 -MG可作为铅性肾损伤的敏感指标。朱士雅等对铅中毒性大鼠肾脏的光镜及电镜研究表明,近曲小管上皮细胞的细胞器变性、核内包涵体形成乃是肾脏最早的结构变化;凌冶萍等对这些结构进行了X线微区分析,结果表明它们皆不是铅的沉积处,而只是细胞对铅毒性的反应。

四、其它

其它金属肾脏毒性的研究近年也有开展,如铊、

铈、砷、钒、铊等,尚待进一步积累资料。值得指出的是,这十多年重金属中毒性肾病的研究进展也有力地推动了整个职业医学学科的发展。比如,对各种中毒性肾脏损伤的研究结果给有关职业病的立法提供了有力依据,使某些以肾损伤为主的职业中毒如镉等的国家诊断标准得以顺利制订。对中毒性肾损伤的深入认识亦使临床工作开始考虑治疗过程中的肾损伤问题,如在大剂量重金属中毒情况下,已不主张单纯地投用络合剂强力驱排,而倾向于在血液透析配合下再投用络合治疗,以防肾损伤加剧。镉中毒的治疗一直是十分棘手的问题,因巯基络合剂虽对镉有很强亲和力,由于形成的低分子复合物经肾小球滤出后又可为肾小管重吸收,反起到向肾小管富集镉、强化其肾脏毒性的作用;氨基酸络合剂如EDTA、DTPA等尽管与镉形成的复合物较稳定,毒性不大,但由于不易透入肾细胞,故对排泄肾镉作用并不大。近年,国内已有人探索新型药

物,初步结果显示该药(MGDTC)可有效驱排肾皮质中之沉积镉,并有改善肾脏功能之功。由于国内重金属中毒病例仍多,职业病临床将会面临更大的压力,预计这一领域的研究将会进一步活跃并取得更大的进展。

综上所述,应该说这十多年我们在重金属中毒性肾病研究方面所取得的进步是巨大的。如果把80年代作为我国在这一领域的起始期,那么90年代将是它成长发展的黄金时代,因为我们的队伍已经形成,人材也在成长,我们必将会在这一领域取得重要进展。根据我国的具体情况,在未来的十年中,我们必须在努力开展基础研究的同时,集中力量去解决一些实际迫切需要解决的问题,如最常见的金属中毒性肾病的预防、诊断、治疗等,以使我们的队伍在实践中增长才干,增强信心。相信这是符合我国国情的办法,也是使我们更快赶上世界科学前进步伐的正确途径。

(参考文献略)

Ⅲ期矽肺合并上腔静脉综合征1例报告

乌鲁木齐铁路局职防院(830011) 沙 森 唐 瑾 李 学 明*

患者邢某,男性,58岁,X线号2468。自1954年至1976年,从事铁路干式凿岩累积接尘11年半,1973年首次胸片两肺细网及肺淋巴结肿大,1976年两下肺出现肯定的结节诊断为Ⅰ期矽肺;1978年结节阴影增多超过四个肺区,诊断为Ⅱ期矽肺,1982年右上出现2×3cm块状影,诊断为Ⅲ期矽肺;以后每年拍片进行动态观察:发现右上的团块影与呈环形钙化的数个肿大淋巴结融为一体,外缘达锁骨中线,边缘清晰,有灶周气肿,大阴影占据中上肺区,诊断为Ⅲ⁺;1991年右上块影进一步向纵膈、肺门方向收缩,大部分淹没在肺门及纵膈内,中、外带反见清晰,大阴影的外缘距胸骨傍线由1988年的6.5cm缩短至3~4cm,经侧位胸片及体层片证实:肺内融合病灶与纵膈阴影重叠,两个钙化肿大的淋巴结在10cm层面上紧贴右气管傍线的上中部。

患者于1990年初出现面部及上肢浮肿,时轻时重,与呼吸道感染症状有关,使用抗炎药物后呼吸道症状减轻,浮肿也随之消退,同年9月开始浮肿逐渐加重伴轻度呼吸困难,1991年3月入某院求治,5月转至我院,患者入院时呈慢性重病容,尚可平卧,浅淋巴结无肿大,巩膜无黄染,口唇轻度紫绀,面部、前臂呈紧张性浮肿,双侧颈静脉怒张,胸部表浅静脉充盈迂曲,肺气肿体征,心律齐,P₂明显增强,肝、脾及神经系统未发现异常。

实验室检查:血、尿、便常规均正常,血沉22~25mm/h,痰查抗酸杆菌及肿瘤细胞六次均阴性,AKP、AFP、肝功正常。胸部CT扫描结果:两肺上野有数个小结节阴影,纵膈内血管周围,气管前、隆突及两肺门均可见数个钙化并肿大的淋巴结影,上腔静脉被不规则的肿块包绕,7cm层面上胸主动脉受压呈椭圆形,上腔静脉呈狭缝状。DAS血管造影检查:4月12日注入肘前静脉造影剂后2.5秒至12.69秒分别摄SI减影像所见:上腔静脉中上段明显受压狭窄,管径约0.3cm,颈内静脉与上腔静脉相连处可见迂曲的侧枝与奇静脉相连(图片略);同年7月复查其相连的侧枝又有一分枝延伸至下腔静脉方向,诊断意见:符合Ⅲ期矽肺融合病灶与肿大的淋巴结压迫上腔静脉。所属淋巴结活检:5月29日患者右锁骨上淋巴结肿大,病理检查结果:炎性及纤维组织。周围静脉压:3.45kPa(3月4日),3.18kPa(7月1日)。

住院治疗经过:入院后即给予对症、抗感染治疗面部及上肢浮肿逐渐消退,胸壁迂曲的静脉血管平复,可见血管减少,颈静脉怒张减轻,但仍充盈,呼吸困难也消失,患者住院期间病情虽有反复,但用抗炎、利尿药后很快缓解,特别是所属淋巴结切开引流后症状缓解、消退更明显,于9月20日出院,定期随访,

*为乌鲁木齐铁路局中心医院实习生