# 四氢吡咯二硫代氨基甲酯对全氟异丁烯吸入性肺损伤的防治效果

赵 建, 丁日高, 张宪成, 王文珠

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 目的 通过观察四氢吡咯二硫代氨基甲酯(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)对抗小鼠全氟异丁烯(perfluoroisobutylene, PFIB)吸入性急性肺损伤(acute lung injury, ALI)的防治效果, 为寻找防治PFIB中毒的有效药物提供理论根据。方法 采用小鼠动态吸入PFIB全身暴露染毒装置对实验小鼠进行染毒, 观察了PDTC给药组与对照组小鼠的存活率、肺系数和支气管肺灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中蛋白含量的变化情况。结果 染毒前30 min给PDTC(120 mg/kg)能显著提高PFIB [(0.170±0.005) mg/L]中毒小鼠的存活率, 明显降低肺系数; 染毒前60 min, 30 min, 15 min给PDTC(120 mg/kg)均能显著地减少BALF中蛋白含量; 染毒前30 min给PDTC对抑制BALF中蛋白漏出具有剂量依赖关系。染毒后10 h给药(120 mg/kg)能显著性地增加BALF中总蛋白含量。结论 PDTC对小鼠PFIB吸入性肺损伤具有预防作用, 但PDTC治疗时间延迟能加重肺损伤, 其作用机理尚待进一步研究。

关键词: 全氟异丁烯; 四氢吡咯二硫代氨基甲酯; 急性肺损伤

中图分类号: R563 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2001)06-0331-05

## Effects of pyrrolidine dithiocarbamate on acute lung injury induced by perfluoroisobutylene inhalation in mice

ZHAO Jian, DING Ri-gao, ZHANG Xian-cheng, WANG Wen-zhu

(*Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Science, Beijing, 100850, China*)

**Abstract: Objective** To find a successful therapeutic intervention for the acute lung injury induced by perfluoroisobutylene (PFIB) inhalation. **Method** Kunming's mice were exposed to gaseous PFIB [(0.130±0.005) mg/L] for 5 minutes in a flow-past whole-body exposure system. Preventative effects of pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) the lung toxicity and the mortality of PFIB inhalation were studied. **Result** PDTC (120 mg/kg) pretreatment might significantly lower the mortality when PFIB [(0.170±0.005) mg/L] was inhaled for 5 min. In the mice pretreated with PDTC 30 min before PFIB exposure, could also significantly lower lung coefficient; the protein concentration in BALF in mice pretreated with PDTC 60 min, 30 min or 15 min before PFIB exposure, were significantly lowered as well. These effects of PDTC were found to be dose-dependent, but the acute lung injury was still aggravated when PDTC was given after the PFIB inhalation. **Conclusion** The preventative effects of PDTC against the toxicity of PFIB inhalation were identified, but its mechanism still remains to be further clarification.

**Key words:** Perfluoroisobutylene; Pyrrolidine dithiocarbamate; Acute lung injury

全氟异丁烯是氟代高分子化合物如聚四氟乙烯高温裂解产物中毒性最高的组分, 其毒性约为光气强度的10倍, 主要通过呼吸道吸入中毒, 而且易于穿透防护面具, 可造成广泛的肺细胞急性损伤、肺水肿甚至死亡, 是潜在的军用毒剂[1]。PFIB的毒理学可能与它易攻击亲核物质和产生反应性中间产物有关[2,3]。目前, 临床上对急性肺损伤(ALF)的治疗一直沿用大剂量激素冲击疗法, 但缺乏有力的实验证据[4]。近年研究表明, 过度炎症性反应在该病的发生发展过程中起主导作用[5], 故炎症细胞因子的作用不容忽视, 其转录、表达水平与核因子-KappaB(nuclear factor-KappaB, NF-KappaB)的活性紧密相关。四氢吡咯二硫代氨基甲酯是二硫代氨基甲酯的吡咯衍生物, 具有NF-kappaB抑制剂和抗氧化剂的作用, 有很好的抗炎效果[6,7]。本文研究了PDTC对PFIB吸入致小鼠急性肺损伤的防治效果, 以寻求ALI的有效防治药

收稿日期: 2001-04-16; 修回日期: 2001-08-03

基金项目: 军事医学科学院创新基金项目

作者简介: 赵建(1975—) 男, 山东肥城人, 硕士, 研究方向: 化学性肺损伤的研究。

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

物。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

PFIB，纯度98%，上海有机氟材料研究所提供；

PDTC，纯度99%，购自Sigma公司；

无水硫酸钠，纯度99%，购自北京北化精细化学品有限公司；

酪氨酸，分析纯，购自北京市东环联合化工厂；

乙醚，分析纯，购自天津市化学试剂三厂；

Folin酚，购自岳太公司；

SQ-204型气相色谱仪，购自北京分析仪器厂；

UV-160A型紫外-可见光分光光度计，购自SHIMADZU公司。

### 1.2 实验方法与分组

1.2.1 实验动物 昆明种小鼠，18～22克，雌雄各半，购自军事医学科学院实验动物中心。

1.2.2 小鼠动态吸入PFIB全身暴露的染毒方法 小鼠动态吸入PFIB全身暴露染毒装置及PFIB染毒浓度的测定方法详见文献[8]；在肺系数计算和蛋白含量测定的研究中PFIB的质量浓度为（0.130±0.005）mg/L，染毒时间为5 min，染毒1次；在观察小鼠存活率的研究中PFIB的质量浓度为（0.170±0.005）mg/L，染毒时间为5 min，染毒1次。

1.2.3 动物分组 动物于染毒前禁食12 h，然后称质量并记录；采用随机数字表法进行分组[9]：（1）在PDTC对PFIB急性肺损伤防治效果的时间-效应关系研究中，均按120 mg/kg剂量用药，选择的给药时间为染毒前60 min、染毒前30 min、染毒前15 min、染毒后1 h、染毒后4 h和染毒后10 h共6个实验点，每个实验点设给药组和PFIB对照组，每组动物数为12只；（2）PDTC对PFIB急性肺损伤预防作用的剂量-效应关系研究中，均于染毒前30 min给药，选择的给药剂量为15、30、60和120 mg/kg，共4个实验点，每个实验点设给药组和PFIB对照组，每组动物数为12只；（3）在观察PDTC对PFIB中毒小鼠存活率的研究中，设给药组和PFIB对照组，每组动物数为12只，所选择PDTC剂量为120 mg/kg，给药时间为染毒前30 min，给药方式为腹腔注射。

### 1.3 观测指标

1.3.1 肺系数计算 小鼠染毒后24 h，经腹主动脉放血处死，解剖取肺，称肺湿质量；然后烘干（80℃，24 h），称肺干质量；分别计算湿肺体比（肺湿质量/体质量）、干肺体比（肺干质量/体质量）、湿干肺比（肺湿质量/肺干质量）以及肺含水量［（肺湿质量－肺干质量）/肺湿质量］。

1.3.2 支气管肺灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）制备及蛋白含量测定 小鼠于染毒后24 h，经腹主动脉放血处死，打开胸腔暴露气管和肺，做气管插管，用0.5 ml PBS缓冲液（4℃，pH＝7.4）反复冲洗3～5次，将灌洗液置于1.0 ml离心管中离心（4℃，1 500 r/min，10 min），然后将上清液移出备用。

取100 μl BALF上清液加1.90 ml 22.2%硫酸钠于一小试管中混匀，从中取出500 μl加入另一试管中此为总蛋白管；剩余1.50 ml内加入500 μl乙醚，用力搅拌30s，然后离心（3 000 r/min，5 min），吸取下层蛋白层500 μl于另一试管，此为白蛋白管；另取500 μl酪氨酸标准液（0.2 mg/ml）于一试管中，此为标准管。3管各加0.5%NaOH 9 ml，混匀放置30 min，后加300 μl Folin酚试剂，混匀放置10 min。用蒸馏水调零点，于500 nm波长测3管的吸光值[10]。蛋白含量的计算方法为：

$$\text{总蛋白（g/ml）} = (A_{\text{总蛋白管}}/A_{\text{标准管}}) \times 6.4$$

$$\text{白蛋白（g/ml）} = (A_{\text{白蛋白管}}/A_{\text{标准管}}) \times 6.64$$

1.3.3 PFIB中毒小鼠存活率的观察 参照以前的研究结果，PFIB小鼠的$LCT_{50}$为0.80（mg·min）/L，故选择小鼠染毒质量浓度为（0.175±0.005）mg/L，染毒时间为5 min，染毒1次，观察染毒后72 h内小鼠的存活情况。

### 1.4 统计方法

给药组与对照组间的比较采用$t$检验；不同实验点间比较采用方差分析；PDTC对PFIB急性肺损伤预防作用的剂量-效应关系分析采用直线相关与回归分析；Fisher精确性检验用于比较PDTC给药组与对照组小鼠存活率[9]。数据处理方法：以对照组均数为参照，实验组各数据除以对照组均数，求得百分比，并以此进行不同实验点间比较和作图分析，其数据表示形式为$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$。

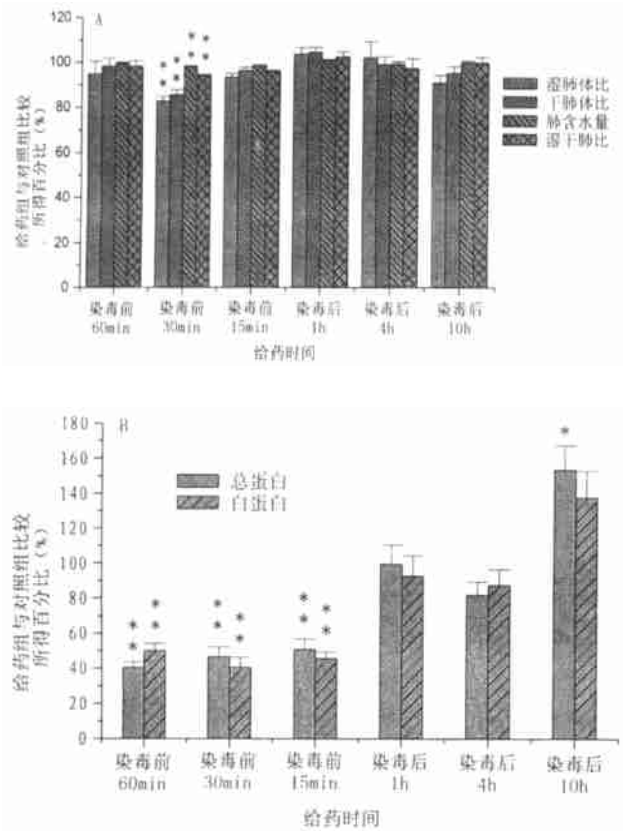
## 2 实验结果

### 2.1 PDTC对PFIB急性肺损伤防治效果的时间-效应关系

PDTC（120 mg/kg）于染毒前30 min给药，可以显著地降低肺系数的各项指标（图1A，$P<0.01$）；PDTC（120 mg/kg）于染毒前60、30和15 min给药，均可以显著性地降低总蛋白和白蛋白在肺灌洗液中的含量（图1B，$P<0.01$），但3个预防时间点间经方

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

差分析，差异无显著性。PDTC 用于治疗时间的延迟，有加重肺损伤的趋势，如在染毒后 10 h 给药，总蛋白较对照组升高 53.43%，差异具有显著性（$t$ 检验，$P<0.05$）。




*与对照组比较，$P<0.05$；**$P<0.01$，下图同。

图 1 在 PDTC 不同给药时间时小鼠肺系数（A）和 BALF 中蛋白含量（B）的变化情况

## 2.2 PDTC 对 PFIB 急性肺损伤预防作用的剂量-效应关系

为进一步确定 PDTC 对 PFIB 吸入性肺损伤的预防效果，均采取在染毒前 30 min 给予不同剂量的 PDTC 来观察小鼠 PFIB 吸入性肺损伤的变化情况。将取得的结果进行直线相关和回归分析发现：干肺体比（图 2B，$y = 95.15 - 0.08x$，$r = -0.989$，$P = 0.011$）、总蛋白（图 2E，$y = 142.55 - 46.91 \cdot \lg(x)$，$r = -0.996$，$P = 0.004$）和白蛋白（图 2F，$y = 88.44 - 0.39x$，$r = -0.999$，$P = 0.001$）3 项指标随着 PDTC 剂量的增大而降低，湿干肺比（图 2D，$y = 81.31 + 6.48x$，$r = 0.971$，$P = 0.0285$）随着 PDTC 剂量的增大而增大；其他两项指标（图 2A，2C）虽然没有这种变化规律，但是与对照组比较，差异均有显著性。说明 PDTC 对肺内蛋白漏出和水分渗出具有显著抑制作用，但是随着 PDTC 剂量的加大，其对肺内蛋白漏出的抑制作用似较水分渗出明显。

## 2.3 PDTC 对 PFIB 中毒小鼠存活率的影响

PDTC 对 PFIB 吸入性急性肺损伤的时间-效应关系和预防作用的剂量-效应关系的研究表明，PDTC 对 PFIB 吸入性急性肺损伤具有预防作用。为了研究其预防作用的强弱，选择 PDTC 最有效的药物剂量（120 mg/kg）和给药时间（染毒前 30 min）在较高 PFIB 吸入质量浓度〔（0.170±0.005）mg/L，5 min〕的情况下，观察了小鼠的存活情况，结果发现 PDTC 可以显著地提高染毒小鼠的存活率（PDTC 给药组的存活率为 75.00%，对照组的存活率为 16.67%，经 Fisher 精确性检验，$P<0.01$）。

## 3 讨论

急性肺损伤研究中，湿肺体比是反映肺水肿病变严重程度的指标，干肺体比是反映肺内固形物（包括细胞、蛋白等）漏出的指标，肺含水量是反映肺水渗出的指标，湿干肺比是比较肺水渗出和固形物漏出情况的指标，而 BALF 中蛋白含量则是用于反映肺细胞损伤的严重程度。本实验中观察到，PDTC 预防性给药可以显著地提高 PFIB 中毒小鼠的存活率，提示 PDTC 对小鼠 PFIB 中毒具有预防作用，可能具有一定的临床应用价值；PDTC 染毒前 30 min 给药能够显著地降低肺系数；PDTC 染毒前 60、30、15 min 给药均能显著地减少 BALF 中蛋白的含量，且染毒前 30 min 给药对 BALF 中蛋白漏出的抑制作用具有剂量依赖关系；然而由湿干肺比这项指标的剂量-效应曲线可以看出，虽然 PDTC 预防可以同时减少肺内固形物漏出和肺水渗出，但其对肺内固形物漏出比对肺水渗出的抑制作用要强。

PDTC 是二硫代氨基甲酯（dithiocarbamate）的吡咯衍生物，具有 NF-KappaB 抑制剂和抗氧化剂作用，其对抗 PFIB 吸入性急性肺损伤可能是这两方面作用的结果。大量的实验研究表明，NF-KappaB 是 Rel 家族中的一员，由 p50 和 p65 亚单位组成，正常情况下，由于 NF-KappaB 抑制剂 α（inhibitor of NF-KappaB α，I KappaB α）的存在而分散于细胞浆中；在多种刺激因子的作用下，由于 I KappaB α 降解失活，而使得 p50 和 p65 亚单位转移入核，结合到 KappaB 识别位点，与其他转录因子共同作用起始大量的前炎症细胞因子的转录表达；PDTC 可以通过阻止 I KappaB α 的从头磷酸化和后续的降解反应，抑制 I KappaB α 降解失活，阻止 NF-KappaB 亚单位转移入核，从而阻抑 NF-KappaB 作用的发挥，对抗炎症的发生发展过程，降低

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

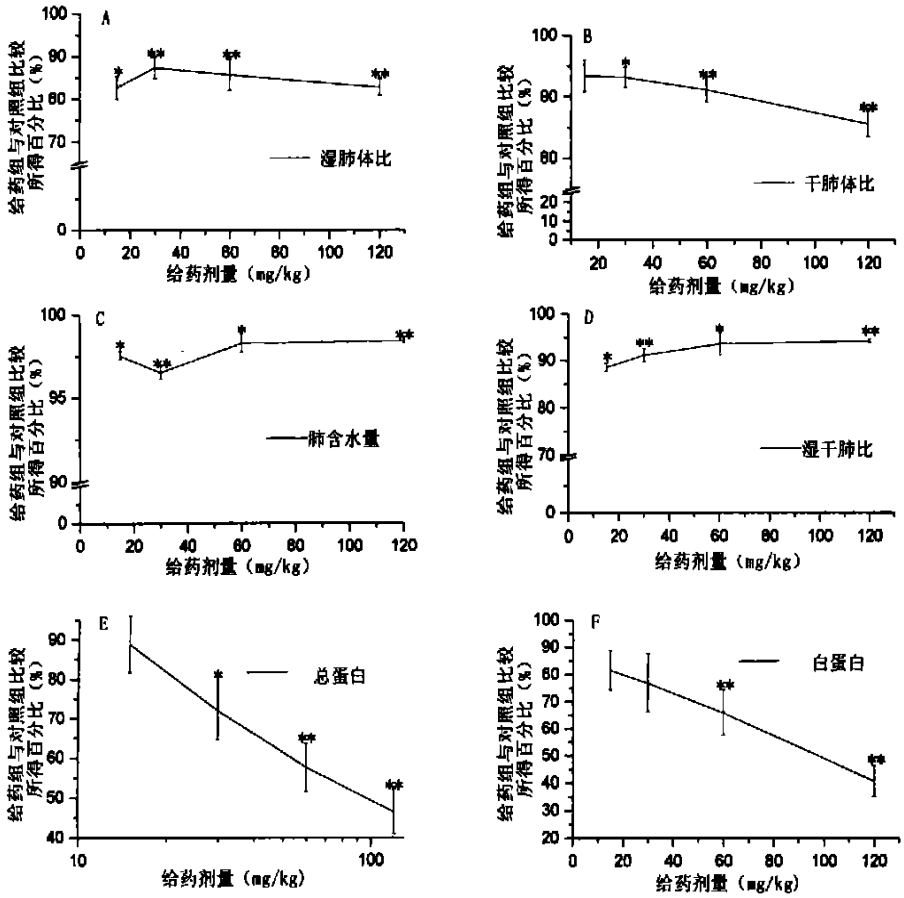



图2 在PDTC不同给药剂量时小鼠肺系数（A, B, C, D）和BALF中蛋白含量（E, F）的变化情况

细胞损伤程度[6,7,11~14]。另有实验研究表明，PDTC可以诱导编码GCS两个亚单位基因的活化，增强从头合成细胞保护剂谷胱甘肽的能力，减轻脂质过氧化，降低丙二醛水平，在一定程度上可能对吸入PFIB所致的氧化-还原系统失衡起到纠正作用[15,16]。

综上所述，PDTC对PFIB吸入引起的急性肺损伤有预防作用，但是PDTC治疗延迟亦可能加重肺损伤，其具体的作用机制尚未阐明，可能与PDTC具有"前氧化剂"（pro-oxidant）作用有关。有实验表明PDTC可以诱导产生细胞氧化性状态，降低表面活性蛋白（surfactant protein，SP）SP-A、SP-B的mRNA水平，减少表面活性蛋白的表达[17,18]。相信随着PDTC对抗PFIB吸入性肺损伤的作用机制的阐明，急性肺损伤的发病机理研究亦会取得长足的发展。

参考文献：

[1] 张宪成. 全氟异丁烯的理化性质及侦检防护[J]. 国外医学军事医学分册, 1995, 12(3): 113-118.

[2] England DC, Krespan CG. Fluoroketenes. I. bis(trifluoromethy) ketene and its reaction with fluoride ion[J]. J Am Chem Soc, 1966, 88: 5582.

[3] Zeifman YG, Ter-Gabrielyan NP, Knunyants IL. The chemistry of perfluoroisobutylene[R]. Uspekhi Khimii, 1984, 53: 431.

[4] Lehnert BE, Starest DM, Kinkeed SA, et al. Mechanisms of lung injury caused by perfluoroisobutylene and relared agents[R]. ADA297352, USAMRICD, 1995 Jan, 1-261.

[5] 张锡刚, 丁日高. 急性肺损伤研究进展[J]. 军事医学科学院院刊, 1999, 23(3): 228-231.

[6] Pilar L, Sara M-M, Monica M, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate protects mice from lethal shock induced by LPS or TNF-α[J]. Eur J Immuno. 1999, 29: 1890-1900.

[7] Traenckner EB, Wilk S, Baeuerle PA. A proteasome inhibitor prevents activation of NF-Kappa B and stabilizes a newly phosphorylated form of I Kappa B-alpha that is still bound to NF-Kappa B[J]. EMBO J, 1994, Nov 15, 13(22): 5433-5441.

[8] 张宪成, 王文珠, 彭双清, 等. 不同吸附剂对PFIB防护性能的实验研究[J]. 中国工业医学杂志, 1999, 12(3): 136-138.

[9] 孙瑞元. 定量药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 97-116.

[10] 蔡武成, 袁积厚. 生物物质常用化学分析方法[M]. 科学出版社, 1982. 93-95.

[11] Kuo HP, Wang CH, Huang KS, et al. Nitric oxide modulates

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

interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha synthesis by alveolar macrophages in pulmonary tuberculosis [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 161 (1): 192-199.

[12] Zhou J, Struthers AD, Lyles GA. Differential effects of some cell signalling inhibitors upon nitric oxide synthase expression and neuclear factor-kappa B activation induced by lipopolysaccharide in rat aortic smooth muscle cells [J]. Pharmcol Res. 1999, 39 (5): 363-373.

[13] Walker G, Kunz D, Pingnat W, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate differentially affects cytokine-and cAMP-induced expression of group II phospholipase A2 in rat renal mesangial cells [J]. FEBS Lett, 1995, 364 (2): 218-222.

[14] Liu SF, Ye X, Malik AB. Pyrrolidine dithiocarbamate prevents I-kappa B degradation and reduces microvascular injury induced by lipopolysaccharide in multiple organs [J]. Mol Pharmcol, 1999, 55 (4): 658-667.

[15] Nathens AB, Bitar R, Davreux C, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate attenuates endotoxin-induced acute lung injury [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1997, 17 (5): 608-616.

[16] Wild AC, Mulcahy RT. Pyrrolidine dithiocarbamate up-regulates the expression of the genes encoding the catalytic and regulatory subunits of gammaglutamylcysteine synthetase and increases intracellular glutathione levels [J]. Biochem J, 1999, 338 (Pt3): 659-665.

[17] Khalak R, Huyck HL, Pryhuber GS. Antagonistic effects of pyrrolidine dithiocarbamate and N-acetyl-cysteine on surfactant protein A and B mRNAs [J]. Exp Lung Res, 1999, 25 (6): 479-493.

[18] Pryhuber GS, Khalak R, Zhao Q. Regulation of surfactant protein A and B by TNF-alpha and phorbol ester independent of NF-kappa B [J]. Am J Physiol, 1998, 274 (2 Pt 1): L289-295.

# 某纺织厂浆料作业工人皮炎病例调查

## Survey on dermatitis cases in sizing workers of textile mill

胡 英，马 辉，姚玉春

HU Ying, MA Hui, YAO Yu-chun

（锦州市职业病防治研究所，辽宁 锦州 121000）

摘要：通过对136例皮炎病例的调查，发现病因可能与丙烯酸酯、氨气有关。治疗以脱敏为主。

关键词：丙烯酸酯；氨气；皮炎

中图分类号：R135.7 文献标识码：B

文章编号：1002－221X(2001)06－0335－01

某纺织厂涤纶车间自1989年投产至1994年先后有136名浆料作业工人出现皮炎，为此我们对这些病例进行了临床调查，现报道如下。

### 1 一般情况

该车间生产涤纶布，工艺过程为：络丝→整经→浆丝→织造→烘干→整理。浆丝所用浆料主要成分为丙烯酸酯，织造和上浆过程中产生氨气。

该车间共有283人，4年间共有136人先后出现皮炎，患者均为女性，年龄19～28岁，平均23.5岁，工龄2个月～4年。

### 2 临床资料

#### 2.1 临床表现

136例皮炎患者接触浆料时间为2个月～4年，多在接触浆料2～3个月后发病，脱离该岗位1～2周后，病情明显好转。

皮损主要分布在面、颈、双上肢（前臂为主）、双下肢（小腿为主）暴露部位，面部和手最为严重。皮疹初起时为粟粒大小的丘疹，继而融合成片。皮疹发红，无渗出，无破溃及结痂，皮疹周围皮肤正常。自觉灼热，痒感，出汗后加重。查体136名皮炎患者中80%皮肤划痕征阳性。

#### 2.2 治疗

患者口服息斯敏等药，外用肤轻松、肤美松、皮炎平等，病情好转，接触后再发，脱离岗位后病情又逐渐好转，反复接触逐渐加重。

### 3 讨论

纺织厂浆料作业工人生产过程中接触丙烯酸酯、氨气等有害的物质。1989年底至1994年间所调查的136名皮炎患者均为接触丙烯酸酯、氨气等，且接触发病，脱离后经适当治疗病情好转，首发于暴露部位，皮肤划痕征80%阳性。其发病原因可能是：（1）丙烯酸酯对皮肤的局部刺激作用和不同程度的致敏反应[1]；（2）生产过程中产生的氨气，低浓度氨气对皮肤粘膜有刺激作用[1]，持续作用则皮肤变干燥、粗糙，易发生皲裂或皮炎[2]；（3）车间温度高、湿度大，较易诱发。

### 4 防护措施

加强个人防护，穿紧身长衣裤，尽可能减少暴露部位；暴露部位涂防护膏或戴乳胶手套；皮炎严重者及皮肤划痕征强阳性等过敏体质者应及时调离岗位。

参考文献：

[1] 吴执中. 职业病 [M]. 北京：人民卫生出版社，1984，264-265，509-511.

[2] 夏元洵. 化学物质毒性全书 [M]. 上海：上海科技文献出版社，1991. 178.

收稿日期：2000－03－17；修回日期：2000－07－10

作者简介：胡英（1964－），女，辽宁锦州人，主治医师，主要从事职业病防治工作。

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