

二氧化硅对大鼠 ACE 及 ANG II 的影响

Effect of silicon dioxide on angiotensin converting enzyme and angiotensin II in rats

朱为勇, 尹刚, 张华, 李越凡

ZHU Wei-yong, YIN Gang, ZHANG Hua, LI Yue-fan

(青岛市中心医院, 山东 青岛 266042)

摘要: 将 Wistar 大鼠随机分为染尘大鼠模型组、对照组。模型组大鼠水合氯醛腹腔注射麻醉后, 将 0.5 ml 的矽尘混悬液 (50 mg/ml) 缓慢注入气管; 对照组大鼠气管内注入 0.5 ml 灭菌生理盐水。分别在第 3、7、14、28 天各处死大鼠 8 只。测定血管紧张素转化酶 (ACE) 表达水平及血管紧张素 II (Ang II) 浓度。结果显示, 与对照组比较模型组出现肺纤维化及矽结节, 肺泡灌洗液中 Ang II 含量升高、肺组织 ACE 表达增强, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

关键词: 矽肺; 细胞因子; 血管紧张素

中图分类号: R992; O613.72 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2012)05-0366-02

矽肺患者吸入矽尘并最终导致肺纤维化, 炎症反应、成纤维细胞及局部血管紧张素在发病过程中具有重要作用。本文通过气管暴露法建立大鼠矽肺模型, 并观察染尘大鼠血管紧张素 II (Ang II) 以及肺组织血管紧张素转化酶 (ACE) 变化情况。

1 材料与方法

1.1 试剂

SiO₂ 结晶型标准品 (美国 Sigma 公司), ACE IgG (美国 Santa Cruz 公司, sc-12184), 大鼠 Ang-II ELISA 试剂盒 (上海源叶生物科技有限公司)。

1.2 动物分组及处理

Wistar 大鼠 64 只, 雌雄各半, 体重 (200 ± 20) g, 由青岛市药检所动物实验室提供。随机化原则分模型组、对照组, 每组 32 只。将大鼠麻醉后, 暴露气管, 模型组将 0.5 ml 矽尘混悬液 (浓度为 50 mg/ml) 缓慢注入气管, 对照组大鼠气管内注入 0.5 ml 灭菌生理盐水。各组于处理后 3、7、14、28 d 分别取 8 只大鼠麻醉后收集支气管肺泡灌洗液 (BALF)。使

用 ELISA 方法测定 BALF 中 Ang II 的含量。对大鼠的右肺中叶固定包埋, 制作病理切片行 ACE 免疫组化染色。每张病理片随机选择 5 个视野拍摄数码照片后, 使用 Image-Pro Plus 6.0 测量 ACE 表达区域染色的积分吸光度 (IA) 计算平均值。

1.3 统计学分析

采用 SPSS17.0 分析软件进行统计学分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 BALF 中 Ang II 含量的比较

与对照组比较, 各时间点模型组肺泡灌洗液中 Ang II 含量均增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 大鼠不同时间点 Ang II 的比较 pg/ml

组别	大鼠数	3 d	7 d	14 d	28 d
模型组	8	136.4 ± 17.2*	148.7 ± 14.1*	155.1 ± 19.7*	129.7 ± 20.6*
对照组	8	105.3 ± 9.3	100.1 ± 13.5	98.7 ± 7.4	101.6 ± 16.2

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$ 。

2.2 各组大鼠肺组织病理学结果

模型组于肺泡间隔和血管、支气管周围出现 SiO₂ 沉着及尘细胞聚集, 肺泡间隔增厚, 并逐渐出现纤维组织增生, 血管扭曲变形, 管腔缩小, 于 28 d 可见矽结节; 对照组未见明显炎症细胞浸润及纤维组织增生。

2.3 各组肺组织 ACE 表达

两组肺组织切片中 ACE 均有表达, 染色区域呈棕褐色, 主要定位于气管壁、细支气管壁上皮细胞, 肺泡 I、II 型上皮细胞及肺内血管平滑肌细胞的细胞膜。模型组染色区域及程度明显强于对照组, 于第 7 天及 14 天染色最为明显, 然后逐渐变淡, 范围缩小。通过软件计算所得各时间点模型组 ACE 表达的 IA 值均明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 2。

表 2 各组大鼠不同时间点肺组织 ACE 表达的 IA 值比较

组别	区域数	3 d	7 d	14 d	28 d
模型组	40	68 713 ± 7 023 [#]	81 900 ± 6 899*	79 882 ± 7 794*	73 600 ± 7 157*
对照组	40	19 625 ± 8 147	22 042 ± 7 762	23 097 ± 8 913	18 704 ± 7 382
<i>t</i> 值		28.86	36.45	29.86	33.77

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$ 。

3 讨论

矽肺是由于在生产过程中长期吸入游离二氧化硅粉尘, 引起肺组织纤维化并伴有肺功能损害的疾病。已有大量文献表明血管紧张素系统在肺组织纤维化的过程中具有重要作用^[1, 2]。

血管紧张素系统可以激活炎症细胞, 参与细胞凋亡、纤维 (下转第 385 页)

收稿日期: 2012-02-21; 修回日期: 2012-04-19
作者简介: 朱为勇 (1966—), 男, 副主任医师, 从事心血管病临床工作。

3 结论

本项目铸造过程中生产性粉尘危害严重,如吹砂间、振动落砂、熔铝炉等处为粉尘危害的关键控制点,生产性粉尘中应以矽尘为关注的重点。铸造过程中产生噪声的设备较多,如振动落砂、风铲产生的稳态噪声较高。铸造过程中存在熔铝炉等生产性热源,其产生的高温也需关注。

4 讨论

树脂砂铸造过程中吹砂处理、型模成型时会产生矽尘,且矽尘中游离二氧化硅的含量可能较高,对作业人员的危害较大,虽然这些岗位设置有机械排风等防护措施,但是通风除尘设施仍不能完全控制粉尘危害,尽管卫生工程措施是控制粉尘危害的前提条件,但管理措施则应更加重视,是控制粉尘危害的必要条件^[3]。如类比项目有吹砂间,虽然自带通风除尘设施,但是由于设备使用时间长,密封材料老化,维护管理不到位,致使吹砂过程中有粉尘泄漏,使矽尘浓度超过国家职业接触限值的要求,因此,需要采取综合治理措施,将二者紧密配合,才能使除尘设施充分发挥效能。

针对化学毒物采取必要的防护设施,应能获得较好的防护效果^[4]。同时,铸造过程中也应特别关注噪声,应加强设备的日常维护和检修,保持设备运转零部件良好的润滑^[4]。

(上接第 366 页)

化形成,促进组织炎症反应,抑制组织自身修复^[3]。Ang II 是该系统效应分子,ACE 则是这一过程中的关键酶^[4-6]。ACE 的主要作用是将无活性的 Ang I 水解为有活性的 Ang II,通过上调 Ang II 在肺纤维化中发挥主要作用。在肺损伤修复及纤维化过程中一个非常重要的机制是肺泡上皮细胞、巨噬细胞的凋亡。Ang II 的肽段是诱导肺泡上皮细胞凋亡的主要物质。体外培养的肺泡 II 型上皮细胞能被 Ang II 以剂量相关的方式诱导凋亡^[7]。Ang II 在成纤维细胞内分泌表达增强,刺激 TGF- β 转录,促使组织重构及纤维化发生。此外,Ang II 可引起肺动脉压力增高、肺血管收缩,导致肺血管通透性增加,肺水肿进一步加重,从血流动力学角度加重肺脏损伤。本实验发现矽肺大鼠的支气管壁、细支气管壁上皮细胞,肺泡 I、II 型上皮细胞及肺内血管平滑肌细胞均有 ACE 染色,以胞膜表达为主。通过 IOD 评估 ACE 染色可以看出模型组各时间点均明显高于对照组,对不同时间点肺泡灌洗液 Ang II 测定发现模型组亦明显高于对照组。这可能与模型组中矽尘刺激血管紧张素转化酶分泌,促进 Ang II 活化,诱导上皮细胞凋亡有关。提示 ACE 及 Ang II 参与尘肺肺纤维化过程。

在加强防噪工作的同时不能忽视防高温^[5],应采取切实有效的职业防护措施如通风降温、隔热、空调休息室、个体防护等,作业人员必须严格遵守操作规程,避免违规操作。加强职业病防治工作应重点从危害的关键控制点和重要的职业病危害因素控制做起。建议职业卫生监管部门加强监督,对建设单位的职业病危害因素进一步评价^[6],做好职业健康监护工作,保障劳动者的健康。

参考文献:

- [1] GBZ 2.1—2007,工作场所有害因素职业接触限值 第 1 部分:化学有害因素 [S].
- [2] GBZ 2.2—2007,工作场所有害因素职业接触限值 第 2 部分:物理因素 [S].
- [3] 沈航,张欣,董楠,等.某开发区铸造企业职业病危害调查 [J]. 职业与健康,2008,24 (5): 419-420.
- [4] 杨敏,陈建雄,闫雪华,等.某铝合金发动机铸造车间职业病危害及控制措施 [J]. 中国卫生工程学,2009,8 (1): 11-13.
- [5] 戴云,朱素蓉,陈喆,等.上海市 95 家铸造企业职业病危害现状及对策 [J]. 环境与职业医学,2009,26 (3): 290-292.
- [6] 丁道正,包玉屏,王峻涛,等.宜兴市某铸造企业职业病危害因素的识别与分析 [J]. 江苏预防医学,2011,22 (4): 60-61.

参考文献:

- [1] 胡晓维,章锐锋.应用血管紧张素转化酶 2 和肺部疾病的研究进展 [J]. 中华结核和呼吸杂志,2011,34 (7): 534-535.
- [2] King T E, Jr, Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Lancet, 2011, 378: 1949-1961.
- [3] Uhal B D, Li X, Piasecki C C, et al. Angiotensin signalling in pulmonary fibrosis [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44: 465-468.
- [4] Li X, Molina-molina M, Abdul-Hafez A, et al. Extravascular sources of lung angiotensin peptide synthesis in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006, 291: L887-895.
- [5] Mancini G B, Khalil N. Angiotensin II type I receptor blocker inhibits pulmonary injury [J]. Clin Invest Med, 2005, 28: 118-126.
- [6] Marshall R P, Gohlke P, Chambers R C, et al. Angiotensin II and the fibroproliferative response to acute lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004, 286: L156-164.
- [7] 庄甲居,邓淑凤,张维立,等.外源性血管紧张素 II 在体灌注对大鼠肺泡屏障的损伤作用及机制 [J]. 第二军医大学学报, 2008, 29: 1517-1520.