

• 监测与检验 •

矽肺患者支气管灌洗液中 CC16、IFN- γ 水平的变化及临床意义Alteration and clinical significance of CC16 and IFN- γ in bronchoalveolar lavage fluid from patients with silicosis

张素华, 张红香

(淄博市职业病防治院, 山东 淄博 255000)

摘要: 对 64 例矽肺患者支气管灌洗液 (BALF) 中克拉拉细胞分泌蛋白 (CC16)、干扰素- γ (IFN- γ) 的含量进行了检测分析, 并设 20 例作对照组。结果显示, IFN- γ 和 CC16 可能具有协调作用, 共同参与了矽肺发生、发展的病理过程, 且与其严重程度有关, 对矽肺的早期诊断和预后判断具有一定的参考价值。

关键词: CC16; IFN- γ ; 矽肺; 支气管肺泡灌洗液

中图分类号: R135.2 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2014)01-0066-02

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.01.030

新近研究表明, 多种细胞因子在矽肺的发病过程中起重要作用。本文对灌洗液 (BALF) 中克拉拉 (clara) 细胞分泌蛋白 (clara cell secretory 16-kd protein, CC16) 和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 表达水平进行了检测分析, 以探讨其在矽肺发生、发展中的意义。

1 材料和方法

1.1 对象

随机选取我院 2011 年 6 月至 2013 年 1 月住院治疗的矽肺患者 64 例, 壹期矽肺 33 例、贰期矽肺 20 例、叁期矽肺 11 例; 年龄 34~66 (49.1 $\pm$ 4.5) 岁, 接尘工龄 5~26 (12.1 $\pm$ 7.8) 年。同时, 随机选取 20 例职业健康体检中具有相同接尘史但未确诊的矽肺患者作为对照, 年龄 33~62 (47.4 $\pm$ 7.8) 岁, 接尘工龄 4~27 (11.9 $\pm$ 4.7) 年。以上所选对象均为男性, 无心、肝、肾等器质性病变及结核等疾病, 无吸烟史。经统计学分析, 对照组与矽肺组年龄及接尘时间差异无统计学意义。

1.2 肺灌洗方法及标本采集

常规纤支镜气道检查后在活检刷检前做 BAL。术前 30 min 肌注阿托品 0.5 mg, 安定 2 ml, 0.5% 丁卡因 3 ml 咽喉部表面麻醉, 按纤支镜操作规程, 纤支镜到达灌洗部位后, 按 20~30 ml/次的灌洗量, 注入 37 $^{\circ}$ C 生理盐水反复灌洗, 并用负压回收, 总量一般为 200~400 ml, 每次灌洗一个肺叶。将收集到的 BALF 混匀后取 30 ml 于离心管中, 1 800~2 000 r/min 离心 10 min, 取上清液置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中备检。

1.3 实验方法

收稿日期: 2013-08-16; 修回日期: 2013-10-31

作者简介: 张素华 (1970—), 女, 副主任技师, 主要从事医学检验工作。

通讯作者: 张红香, zbhx0515@126.com。

采用酶联免疫吸附 (ELISA) 双抗体夹心法测定 CC16 及 IFN- γ 的含量 (试剂盒为美国 TSZ 公司生产, 严格按照说明书操作)。

1.4 统计学分析

所有数据均采用 SPSS17.0 统计软件分析。3 个样本均数间的比较, 若符合正态分布且方差齐则采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 若不符合则采用多个独立样本秩和检验 (Kruskal-Wallis)。多个均数间的两两比较采用 q 检验。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 矽肺患者与对照组 BALF 中 CC16 与 IFN- γ 水平的变化

表 1 显示, 矽肺壹期、贰期组 BALF 中 CC16 水平均显著低于对照组 ($P<0.05$), 叁期组高于对照组 ($P>0.05$)。壹期、贰期组 CC16 水平低于叁期组 ($P<0.05$), 贰期组高于壹期组 ($P<0.01$), 差异均具有统计学意义。BALF 中 IFN- γ 水平矽肺壹期组低于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 贰期、叁期组与对照组相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。贰期、叁期组 IFN- γ 水平均显著高于壹期组 ($P<0.01$), 叁期组高于贰期组 ($P>0.05$)。

表 1 矽肺患者与对照组 BALF 中 CC16 及 IFN- γ 水平的变化 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CC16 (ng/ml)	IFN- γ (ng/L)
对照组	20	477.36 $\pm$ 161.91 $^{\Delta}$	206.37 $\pm$ 48.25 $^{\Delta}$
壹期组	33	203.04 $\pm$ 33.97**	128.70 $\pm$ 17.14**
贰期组	20	398.94 $\pm$ 127.41* $^{\Delta}$	196.41 $\pm$ 46.26 $^{\Delta}$
叁期组	11	535.73 $\pm$ 78.10 $^{\Delta}$	209.11 $\pm$ 68.26 $^{\Delta}$

注: 与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与壹期组比较, $^{\Delta}$ $P<0.01$ 。

2.2 矽肺患者不同接尘工龄组 CC16 与 IFN- γ 水平的变化

将矽肺患者按接尘工龄分为 <10 年、10~20、>20 年三组, 进行 CC16、IFN- γ 水平比较, 结果见表 2。

表 2 矽肺患者不同接尘工龄组 CC16 与 IFN- γ 水平的变化

尘龄(年)	例数	CC16 (ng/ml)	IFN- γ (ng/L)
<10	19	429.61 $\pm$ 173.40 $^{\Delta\Delta}$	226.32 $\pm$ 64.51 $^{\Delta\Delta}$
10~20	30	314.63 $\pm$ 125.13*	176.70 $\pm$ 37.57*
>20	15	229.47 $\pm$ 57.61* $^{\Delta}$	143.21 $\pm$ 37.69* $^{\Delta}$

注: 与 <10 年比较, * $P<0.01$; 与 10~20 年比较, $^{\Delta}$ $P<0.05$, $^{\Delta\Delta}$ $P<0.01$ 。

相关分析显示, 矽肺患者 BALF 中 CC16 与 IFN- γ 两者呈正相关, 相关系数 $r=0.459$, $P<0.01$ 。

3 讨论

Clara 细胞是指排列在细支气管黏膜上的无纤毛立方上皮细胞,属分泌细胞,其分泌的一种相对分子量为15 840的内源性抗炎因子 CC16,具有抗炎、抗氧化、抗纤维化、免疫调节及肿瘤抑制等作用^[1-2]。该蛋白是 Clara 细胞损伤的一个较敏感的指标,其含量的改变可早期地反映呼吸道黏膜上皮细胞的损伤状况,多种原因导致的气道炎症,均使 Clara 细胞数量下降,CC16 分泌减少^[3]。本研究显示,壹期和贰期矽肺组 BALF 中 CC16 含量均明显低于对照组 ($P < 0.05$),考虑二氧化硅粉尘可引起肺部炎症性损伤,随着接尘时间延长肺部炎症逐渐加重,致使 Clara 细胞超微结构破坏,数量减少,从而引起 BALF 中 CC16 的含量降低。此外,活化的肺泡巨噬细胞释放的细胞毒素以及矽尘毒性和表面自由基对肺泡上皮的损伤也会使 Clara 细胞数量减少,使其分泌的 CC16 降低。实验中发现壹期和贰期矽肺组 CC16 含量较叁期矽肺组降低 ($P < 0.05$),这可能与 CC16 的自身代偿、抗氧化及对支气管上皮细胞损伤的修复作用有关^[4]。

IFN- γ 是由激活的淋巴细胞、自然杀伤 (NK) 细胞产生的小分子多肽,具有抗感染、抗炎、抗氧化、促进巨噬细胞及单核细胞介导的细胞毒反应,协同清除病原体并具有抗纤维化作用,主要通过抑制和竞争 TGF- β 分子信号传导途径来实现^[5]。同时,IFN- γ 也是创伤或感染后机体最早产生的多功能细胞因子之一,主要介导与细胞毒和局部炎症有关的免疫应答,调节急性炎症发展的方向与转归。本研究发现,矽肺壹期组 IFN- γ 水平低于对照组 ($P < 0.01$),但贰期、叁期组高于壹期组 ($P < 0.01$),叁期组高于贰期组 ($P > 0.05$)。可能的原因为机体在消除炎症、组织修复的防御反应中,大量消耗 IFN- γ ,从而引起矽肺患者 IFN- γ 的水平明显降低;随着肺纤维化程度增高,机体由于代偿或自身保护作用,引起 IFN- γ 等抗纤维化因子分泌加强,调节成纤维细胞增殖及胶原合成,抑制纤维化发展^[6]。

表 2 显示矽肺患者 IFN- γ 和 CC16 的水平在接尘初期增高,提示在炎症的起始阶段和激化阶段 IFN- γ 和 CC16 可能发挥着重要的作用,随矽尘接触时间的延长而降低,二者可能具有协调作用并呈正相关。Fisher 等^[7] 研究显示 CC16 能够抑制 IFN- γ 等许多炎症因子的生成及活性,同时 CC16 的表达又能够被 IFN- γ 上调。联合监测矽肺患者 BALF 中 IFN- γ 和 CC16 的浓度,对矽肺的早期诊断和预后的判断可能具有一定的参考价值。

参考文献:

- [1] 聂小蒙,李强. Clara 细胞蛋白—CC16 [J]. 国外医学呼吸系统分册,2004,24: 97-99.
- [2] Pilette C, Goddard V, Kiss R, *et al.* Reduced epithelial expression of secretory component in small airways correlates with airflow obstruction in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163: 185-194.
- [3] 刘萍,王世鑫,陈雷,等. 矽肺患者血清克拉拉细胞蛋白和表面活性蛋白 D 的改变 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2007,25 (1): 18.
- [4] Halatek T, Opalska B, Rydzynski K. Pulmonary response to methylene-clopentadienyl manganese tricarbonyl treatment in rats: injury and repair evaluation [J]. *Histol Histopathol*, 2006, 21 (11): 1181-1192.
- [5] Utsugi M, Dobashi K, Koga Y, *et al.* Glutathione redox regulates lipopolysaccharide-induced IL-12 production through p38 mitogen-activated protein kinase activation in human monocytes: role of glutathione redox in IFN- γ priming of IL-12 production [J]. *J Leukoc Biol*, 2002, 71 (2): 339-347.
- [6] Lasky J A, Ortiz L A. Antifibrotic therapy for the treatment of pulmonary fibrosis [J]. *Am J Med Sci*, 2001, 322 (4): 213-221.
- [7] Fisher C E, Ahmad S A, Fitch P M, *et al.* FITC-induced murine pulmonary inflammation: CC10 up-regulation and concurrent Shh expression [J]. *Cell Biol Int*, 2005, 29 (10): 868-876.

电感耦合等离子体质谱法间接测定粉尘中游离二氧化硅含量

Indirect determination of free silicon dioxide in dust with inductively coupled plasma mass spectrometry

刘园¹, 周婉笛¹, 李亚慧¹, 白玉萍^{1,2}, 刘英莉^{1,2}, 刘楠^{1,2}

(1. 河北联合大学公共卫生学院, 河北 唐山 063000; 2. 河北省煤矿卫生与安全重点实验室, 河北 唐山 063000)

摘要: 采用焦磷酸消解试样,经过滤,将游离二氧化硅分离,利用氢氟酸溶解硅酸盐测得全硅,用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 仪分别测得消解液和滤液中的硅,间接测得游离二氧化硅含量。硅在 0~1 000 $\mu\text{g/L}$ 内呈良好的线性关系 ($r=0.9995$),方法的检出限小于 0.35 $\mu\text{g/L}$,试样加标回收率在 91.35%~108.16%,精密度小于 3.41%。该方法快速、准确、灵敏、简便,适用于工作场所粉尘中游离二氧化

硅含量的测定。

关键词: ICP-MS; 粉尘; 游离二氧化硅

中图分类号: R134.4 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2014)01-0067-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.01.031

我国职业卫生标准规定,粉尘中游离二氧化硅 (SiO_2) 含量是确定粉尘浓度是否超过职业接触限值的依据^[1],测定粉尘中游离 SiO_2 含量成为粉尘监测工作中的一项重要内容^[2]。目前,工作场所粉尘中游离 SiO_2 含量的测定方法 (GBZ/T192.4—2007) 有焦磷酸重量法、红外分光光度法和 X 射线衍射法^[3],利用电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS)

收稿日期: 2013-05-15; 修回日期: 2013-05-30

作者简介: 刘园 (1990—),女,2010 级本科生。

通讯作者: 刘楠,助理研究员,从事劳动卫生与职业病研究。