

杂多阴离子 SiW_{11} 对硅肺发生的抑制作用

朱建国¹ 胡继岳² 杨震¹ 谢吉民²
施国琳³ 王金晞 陈荣三 戴安邦

(南京大学配位化学研究所, 配位化学国家重点实验室, 南京 210093)

本文观察了口服和雾化吸入 SiW_{11} 杂多阴离子对实验性大鼠硅肺的防治作用及其病理形态变化, 测定了大鼠肺匀浆中游离 $[\text{Ca}^{2+}]$ 及羟脯氨酸含量、肺泡无细胞灌洗液(BALF)中乳酸脱氢酶(LDH)含量及酸性磷酸酶(ACP)活性和血清脂质过氧化物(LPO)值。结果表明: SiW_{11} 杂多阴离子对石英的致硅肺作用有一定抑制效果。本文还初步讨论了这种抑制作用的原因。

关键词: 硅肺 杂多阴离子 十一钨硅酸盐 抑制作用

防治硅肺的药物, 目前主要为一些有机物, 无机物方面的研究少见报道。我们用离体细胞培养法, 以细胞存活率、乳酸脱氢酶活性和酸性磷酸酶活性为指标, 首次观察到几种 Keggin 结构的杂多阴离子对石英粉尘的细胞毒性有明显拮抗作用^[1]。本文在此工作基础上, 选取在体液 pH 条件下较稳定的十一钨硅酸阴离子, 用两种不同的给药途径, 研究它对染尘实验性硅肺大鼠的硅肺病的抑制作用。

实 验 方 法

一. 仪器: Olympus CO11 型显微镜(日本), 日立 SCR20BC 型高速冷冻离心机(日本), Orion Model 910 离子计及 Orion Model 93-20 钙离子选择性电极(美国), 压力型药物雾化器(宁波梅墟医疗用品厂), 日立 H-100 透射电镜(日本), 170SX-FTIR 傅里叶变换红外光谱仪(美国), SPEX-1403 型双单色器激光-拉曼光谱仪(美国)。

二. 实验动物: 雄性 Wistar 大白鼠, 江苏省药品检验所提供, 一级动物, 合格证号苏科条动(证)字 12 号。

三. 主要试剂: α -石英(以下简称石英), 标准粉尘(粒径小于 $5\mu\text{m}$, 游离 $\text{SiO}_2 > 97.7\%$), 中国预防医学科学院制; $\alpha\text{-K}_8\text{SiW}_{11}\text{O}_{39} \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (简称为 SiW_{11}), 白色粉状晶体, 按文献[2]自制; 1,1,3,3-四乙氧基丙烷(TEP), 德 Merck 公司。

四. 口服 SiW_{11} 试验: 将体重 200g 左右的雄性大鼠随机分为四组, 气管插入法向肺部注入用生理盐水配制的各样品 1.0ml。四种注射液为: (1)生理盐水(对照组); (2)50mg 石英 / ml; (3) (50mg 石英+10mg SiW_{11}) / ml; (4) 10mg SiW_{11} / ml。(3)组和(4)组的动物从染尘后第三天起

本文于1994年1月20日收到。

国家自然科学基金资助课题。

1.中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008;

2.镇江医学院, 镇江 212001;

3.南京大学医学院, 南京 210093。

每天口服 SiW_{11} 液, 剂量 $1.0\text{mg}/\text{天}$ 。实验动物分批处死, 取样检测各指标, 实验性硅肺大鼠模型详见前文[3]。

五. 雾化吸入 SiW_{11} 试验: 动物分组同试验四。(1)、(4)两组每只动物灌注生理盐水 1.0ml ; (2)、(3)两组各注入石英悬液 1.0ml (内含石英 100mg)。受试动物从第三天起, (1)、(2)两组每只动物每天吸入经氧气流雾化的生理盐水 0.10ml ; (3)、(4) 两组每只动物每天吸入经氧气流雾化的 SiW_{11} 溶液 0.10ml (每 ml 含 SiW_{11} 50mg)。

六. 生化检测和形态学观察: 肺组织匀浆游离钙浓度用离子选择电极测定⁽³⁾。羟脯氨酸用分光光度法测定⁽⁴⁾。乳酸脱氢酶活性用 2, 4-二硝基苯胍-丙酮酸法测定⁽⁵⁾, 结果以每 ml 产生丙酮酸的 μmol 数表示。酸性磷酸酶 (ACP) 活性用对硝基苯磷酸二钠法测定⁽⁶⁾, 结果以每 ml 产生对硝基酚的 nmol 数表示。脂质过氧化物 (LPO) 用硫代巴比妥-丙二醛荧光分光光度法测定⁽⁷⁾, 结果以每 ml 所含丙二醛 (以 TEP 为标准) 的 nmol 数表示。组织切片光镜和电镜制样按常规法。

结果和讨论

一. 硅肺的发生与 SiW_{11} 的抑制作用

1. 病理形态学观察: 形态学观察均未发现生理盐水对照组与 SiW_{11} 组有区别。染尘 30 天后, 石英组肺组织结节密集, 有融合成块现象, 纤维组织增生十分明显, 个别结节中央有坏死的倾向; 石英+ SiW_{11} 组纤维组织略有增生, 肺泡基本正常。雾化吸入组因染尘量较大, 硅肺病变稍重。但雾化吸入处理时间越长, 与口服处理组差别越小, 提示雾化吸入处理的效果优于口服途径。染尘 60 天后, 石英组肺组织已广泛纤维化, 小动脉管壁因纤维化而明显增厚, 管腔变窄, 管壁周围出现大量淋巴细胞、单核细胞浸润, 石英+ SiW_{11} 组细支气管旁及部分肺泡间隔内有巨噬细胞、淋巴细胞浸润, 部分肺泡腔内有少量浆液及单核细胞渗出, 但未见典型类上皮细胞结节 (见图 1 和图 2)。透射电镜观察: 石英组在染尘 30 天后的硅结节中胶原组织可清楚地看到。在 90 天后由于肺组织变硬, 镜下经常见到刮削痕迹, 而石英+ SiW_{11} 组在 90 天后仍细胞绒毛清楚, 肺泡膈基本完好 (图略)。表 1 列出了各批各组实验动物的肺湿重, 说明 SiW_{11} 对硅肺的发生和发展有一定的抑制作用。

表 1 大鼠肺湿重(克, $X \pm \text{SD}$)

Table 1 Wet Weight of Rat Lungs (g, $X \pm \text{SD}$)

time (day)	groups			
	control	quartz	quartz+ SiW_{11}	SiW_{11}
3	$1.40 \pm 0.20(6)$	$2.03 \pm 0.24(6)$	$1.75 \pm 0.28(6)$	$1.38 \pm 0.25(5)$
7	$1.42 \pm 0.25(6)$	$2.43 \pm 0.32(6)$	$1.85 \pm 0.30(5)^*$	$1.43 \pm 0.27(6)$
15	$1.50 \pm 0.35(6)$	$4.85 \pm 0.52(5)$	$2.60 \pm 0.26(6)^{**}$	$1.52 \pm 0.25(6)$
60	$1.60 \pm 0.35(6)$	$5.92 \pm 0.45(5)$	$3.01 \pm 0.25(5)^{**}$	$1.70 \pm 0.33(5)$
90	$1.80 \pm 0.35(6)$	$7.21 \pm 0.75(6)$	$3.34 \pm 0.29(6)^{**}$	$1.83 \pm 0.26(6)$

Note: 1. Number in parenthesis represents the number of rats.

2. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from quartz group

2. 肺组织羟脯氨酸含量的变化: 在医学上尿羟含量的测定可作为硅肺的辅助诊断。研究实验性大鼠硅肺的发生可直接取样于肺组织。表 2 为羟脯氨酸含量测定的结果。可见 90 天后石英组的羟脯氨酸含量高出对照组近 2 倍, 而石英+ SiW_{11} 组仅高出约 50%。

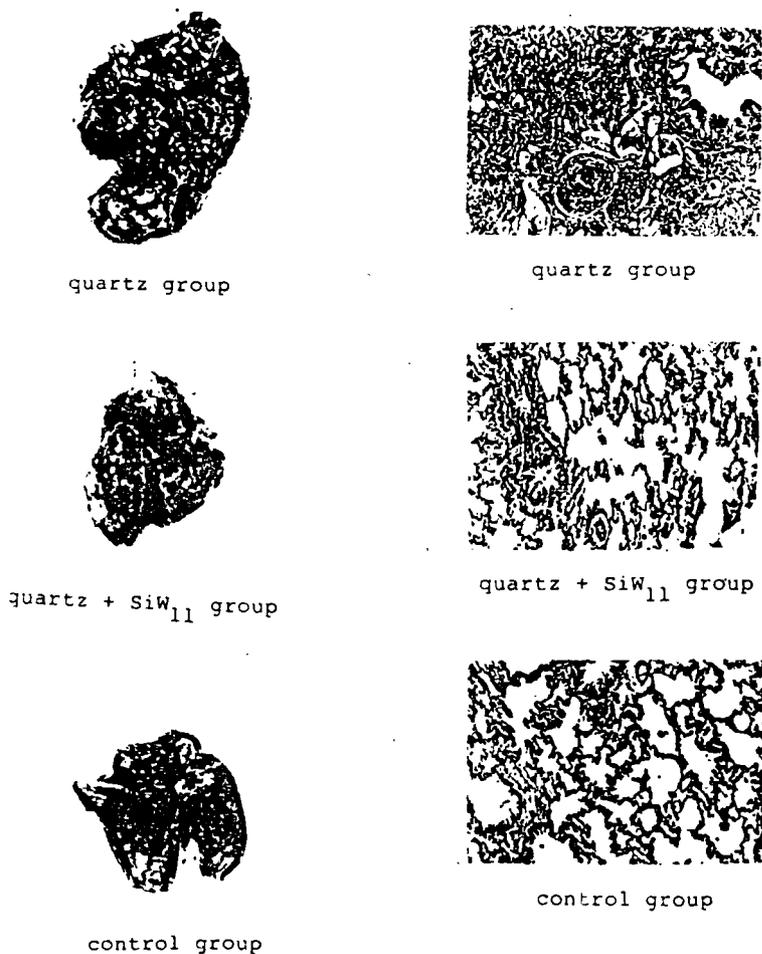


图1 吸入 SiW_{11} 60 天后鼠肺照片(10×10)

Fig.1 TEM photograph of sixty days after inhalation of SiW_{11} in rat lung

图2 吸入 SiW_{11} 60 天后鼠肺组织切片照片(10×10)

Fig.2 TEM photograph of tissue section of sixty days after inhalation of SiW_{11} in rat lung

表2 大鼠肺组织羟脯氨酸的含量($\mu g/g, \bar{X} \pm SD$)

Table 2 Hydroxyproline Contents in Rat Lungs Homogenate ($\mu g/g, \bar{X} \pm SD$)

time (day)	groups			
	control	quartz	quartz+ SiW_{11}	SiW_{11}
15	93.5 ± 16.4(6)	152.8 ± 21.6(5)	118 ± 23.1(6)*	95.7 ± 18.6(6)
30	89.3 ± 19.4(6)	208.7 ± 24.8(6)	130.4 ± 21.9(6)**	103.4 ± 21.5(6)
60	105.3 ± 26.5(6)	289.6 ± 34.7(5)	152.6 ± 24.6(5)**	98.6 ± 28.5(5)
90	108.4 ± 21.3(6)	304.8 ± 27.4(6)	168.5 ± 27.7(6)**	110.7 ± 30.5(5)

Notes are the same as Table 1.

3. 肺组织匀浆中游离 $[Ca^{2+}]$ 的变化: 在硅肺发生初期, 肺游离 $[Ca^{2+}]$ 已发生变化⁽⁸⁾. 表3

列出了各组动物肺组织匀浆游离[Ca²⁺]的变化。石英组在染尘三天后[Ca²⁺]即显著上升,并随时间的增加幅度加大,直到90天后增加趋缓。再看石英+SiW₁₁组,[Ca²⁺]虽也升高,但数值远低于石英组,变化幅度也较小。

表3 大鼠肺组织匀浆游离[Ca²⁺] (μg/g, $\bar{X} \pm SD$)

Table 3 Free [Ca²⁺] in Rat Lungs Homogenate (μg/g, $\bar{X} \pm SD$)

time (day)	groups			
	control	quartz	quartz+SiW ₁₁	SiW ₁₁
3	12.41 ± 2.32(6)	18.35 ± 1.86(6)	16.45 ± 3.32(6)	10.85 ± 1.65(5)
7	10.85 ± 2.10(6)	25.84 ± 2.45(6)	17.42 ± 2.82(5)*	12.48 ± 2.03(6)
15	14.38 ± 1.39(6)	29.03 ± 2.75(5)	19.35 ± 1.93(6)**	13.78 ± 3.04(6)
30	13.45 ± 0.83(6)	35.29 ± 3.24(6)	20.43 ± 3.84(5)**	12.49 ± 2.06(6)
60	17.93 ± 0.96(6)	42.72 ± 3.12(5)	24.79 ± 2.35(5)**	15.34 ± 3.02(5)
90	19.34 ± 1.83(6)	46.68 ± 3.45(6)	28.39 ± 3.03(6)**	18.45 ± 2.03(6)

Notes are the same as Table 1.

4. 肺无细胞灌洗液 LDH、ACP 活性及血清 LPO 值的变化: 将染尘后 60 天的大白鼠股动脉放血处死, 用生理盐水灌洗肺组织, 每只鼠收集 5.0ml 灌洗液, 离心, 得到无细胞灌洗液 (BALF), 测定其 LDH 及 ACP 活性, 也测定血清 LPO 值。结果见表 4。石英组的三项生化指标均显著高于对照组, 表示在硅肺的发生和发展过程中, 肺组织受到了损伤和破坏。而石英+SiW₁₁ 组的结果显著低于石英组, 进一步证实了 SiW₁₁ 具有抑制石英致硅肺的作用。

表4 肺无细胞灌洗液酶活性及血清 LPO 值 ($\bar{X} \pm SD$)

Table 4 Enzymatic Activities of BALF and Serum LPO

groups	LDH of BALF	ACP of BALF	LPO of serum
	μmol · cm ⁻³ · h ⁻¹	nmol · cm ⁻³ · h ⁻¹	nmol · cm ⁻³
control	2.41 ± 0.16	26.5 ± 2.5	2.96 ± 0.42
quartz	6.33 ± 0.29	82.4 ± 5.5	7.35 ± 0.63
quartz+SiW ₁₁	4.77 ± 0.25**	52.7 ± 2.4**	3.50 ± 0.44**
SiW ₁₁	2.50 ± 0.14	24.3 ± 3.9	2.20 ± 0.32

Notes are the same as Table 1. (n = 6)

讨 论

杂多阴离子具有金属氧化物结构和高分子量, 它与有机分子相互作用, 有形成稳定的有机金属衍生物的可能性。特别是缺位型 Keggin 结构, 常可能衍生出有机金属配合物⁽⁹⁾。

通常都认为石英和肺泡巨噬细胞的不断作用是形成硅肺病的首要过程。本实验 SiW₁₁+石英组的无细胞 BALF 的 LDH 及 ACP 活性均明显低于石英组, 表明杂多阴离子 SiW₁₁ 确有保护细胞膜的作用。我们选择 N(CH₃)₄Cl 作为磷脂中 N(CH₃)₄-R 的模拟物, 赖氨酸作为蛋白质的模拟物, 用有关波谱学研究 SiW₁₁ 与它们的作用。SiW₁₁ 和 N(CH₃)₄Cl 作用后, 红外吸收位置与两者纯样品比较出现了系列位移, 证明它们发生了作用。SiW₁₁ 作为路易斯碱, 氧上的电子部分向路易斯酸 N(CH₃)₄ 转移, 使前者的键削弱, 位置红移; 后者的 C-H 有所增强, 位置蓝移。用激光拉曼光谱也发现两者作用后 W-O 削弱, C-N 的有序度降低。SiW₁₁ 与赖氨酸作用后, W-O 也有所削弱, 表现出荷移跃迁吸收的红移。上述红外光谱上也证明 SiW₁₁ 与赖氨酸残基的 -NH₃ 有电性结合。结果正说明 SiW₁₁ 能与生物膜上的生物有机分子直接作用, 可

能在细胞膜外侧形成保护膜,起到抑制石英粒子进攻细胞膜的作用。

我们曾直接研究 SiW_{11} 和石英粉尘的作用。实验发现,经 SiW_{11} 作用后的石英的红外光谱出现了新的吸收峰,位置在 978.0 和 920.0cm^{-1} 处。激光拉曼谱中新的吸收峰位于 998.0cm^{-1} 处,且吸收强度较大,证明有新键生成。而属于 $\nu_{\text{W-O}}$ 的 236cm^{-1} 处的吸收峰有 10cm^{-1} 的红移, 982cm^{-1} 处的吸收峰显著加宽。这些都证明 SiW_{11} 与石英表面 Si-OH 直接作用的根据。 SiW_{11} 和石英表面的 Si-OH 形成氢键,或形成 W-O-Si 新键,都是钝化石英细胞毒性的原因。

参 考 文 献

- [1] 朱建国等,自然杂志,13(6),379(1990).
- [2] Teze, A., Herve, G., *Inorg. Nucl. Chem.*, 39, 2115(1977).
- [3] 毛 延、陈荣三等,无机化学学报,3(4),12(1987).
- [4] 钱小毛,中华医学检验杂志,1(7),20(1984).
- [5] 上海市立化验所主编,临床生化检验,上海科技出版社,372(1979).
- [6] 蒋传葵等,工具酶的活力测定,上海科技出版社,62-64(1982).
- [7] 翁玉椿等,细胞生物学杂志,7(5),142(1985).
- [8] 毛 延、陈荣三等,科学通报,33(19),1519(1988).
- [9] Pope, M. T., *Heteropoly and Isopoly Oxometalates*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg p.118, p.125(1983).

SUPPRESSIVE EFFECT OF SiW_{11} HETEROPOLYANION ON STARTING SILICOSIS

Zhu Jianguo¹ Hu Jiyue² Yang Zhen¹ Xie Jimin²
Shi Guolin³ Wang Jinxi Chen Rongsan Dai Anbang

(State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Coordination Chemistry Institute,
Nanjing University, Nanjing 210093)

¹ LMCP Institute of Soil Science, Chinese Academy of Science, Nanjing 210008.

² Zhenjiang Medical College, Zhenjiang 212001

³ Medical College, Nanjing University, Nanjing 210093

The pathological symptom of experimental silicotic rat treated with SiW_{11} heteropolyanion was improved. The free Ca^{2+} and hydroxyproline in rat lung homogenate, the activities of ACP and LDH in rat Bronchoalveolar Lavage Fluid, and the LPO value in rat serum were determined. Results showed that SiW_{11} heteropolyanion had some suppressive effect on the silicotic toxicity of quartz. The reason of the suppressive effect is also discussed.

Keywords: silicosis heteropolyanion 11-tungstosilicate suppressive effect