

· 讲 座 ·

我国职业中毒性肾病的临床研究进展

赵金垣 王世俊

一、概述

职业中毒性肾病(occupational toxic nephropathy)是指在工作或生产过程中由于过量的生产性化学物质侵入机体而引起的肾脏功能障碍及结构损伤,其主要侵入途径为呼吸道及皮肤。生产条件不良、防护措施不力是造成机体过量接触、导致慢性损害发生的主要原因;生产事故、违章操作等意外情况则是急性中毒的常见起因。

我国自70年代末期,才以重金属中毒性肾病的临床研究为起点,开展了此一领域的全方位探索,并逐渐成为近年职业病领域的研究热点之一。80年代以前,国内文献除偶见急性中毒性肾损害的病例报告外,几无中毒性肾病的研究论文可见。而据近10年国内10种医学杂志统计,各杂志每年发表的有关中毒性肾病的论文约2~11篇,平均每年国内发表的有关中毒性肾病的论文总数约为26篇左右,其中由工业性毒物引起的约为10%~65%。药物也是中毒性肾病的重要病因,常见为氨基甙类抗生素、抗结核药、解热镇痛药、抗癌药、利尿剂等;环境性毒物如毒蕈、棉酚、蛇毒、蜂毒、斑蝥等引起的中毒性肾病也屡有报道,因均不属职业中毒范畴,故不在此赘述。

重金属中毒性肾病是国内开展最早的研究课题,几乎所有的重金属均已见有中毒性肾病的临床病例及流行病学调查报告,并开展了实验室研究工作;研究较多的还有溶血性毒物(砷化氢、苯胺、胂类、酚类等)及有机溶剂(二硫化碳、卤代烃、汽油)等。工业毒物引起的中毒性肾病除常见的临床类型如急性肾小管坏死、急性肾小管堵塞、肾小管功能障碍、急性肾功能衰竭等,一些罕见的类型如中毒引起横纹肌溶解导致肌红蛋白性肾小管堵塞、工业毒物引起的肾小球肾炎、工业毒物引起的溶血性尿毒症综合征(hemolytic uremic syndrome, HUS)也都有报告^[1-5],表明国内学者对中毒性肾病的认识程度及临床能力已达到较高的水平。

尤应指出的是,由于中毒性肾病的病因繁多、发病机制复杂、临床表现多样,且缺乏方便、规范的检测方

法,故给临床诊治带来很大困难,国内外迄今仍未见科学系统的临床分类方法^[6,7]。近十余年来,国内学者以制订中毒性肾病国家诊断标准为契机,一直致力于此项工作,在大量病例资料的基础上,汲取国内外有关学科的最新进展,对急慢性中毒性肾病的概念、临床类型、检测手段、诊断步骤及治疗原则进行了科学有序的归纳整理,终于形成了一套比较切合实际的临床分类体系,极大地方便了工作。尽管可能还不够成熟,但为今后的进步铺垫了良好基础,也是我国学者在此一学术领域的一份重要贡献。

兹将我国在职业中毒性肾病的临床研究概况及进展简要介绍于下。

二、职业中毒性肾病基本研究手段的建立及进展

建立基本研究手段乃从事中毒性肾病研究的基础,这也是我国在中毒性肾病研究的初创阶段十余年间的主要工作。其重点以肾损伤的生物标志物(biomarkers)为中心,进行了各种探索。尿液分析是本阶段的研究重点,因为:(1)尿液由肾脏直接生成,故为肾脏毒性的生物标志物最主要来源;(2)标本容易获得,检查不具损伤性;(3)方法的不断改进使尿液分析更为方便灵敏。这方面的工作主要有:

1. 尿蛋白分析:蛋白尿是肾脏损伤的重要生物标志物,中毒性肾损害的主要靶部位在肾小管,故低分子蛋白尿的检测是工作的重点^[8,9]。一般定量分析方法对低分子尿蛋白不够灵敏,经反复比较,国内多推崇双缩脲法(biuret method)和考马斯亮蓝法(coomassie brilliant blue method),后者操作简便,受到欢迎,从而使定量测定微量尿蛋白成为可能^[10]。此外,尚开展了尿蛋白的分子量分析,建立了醋酸纤维膜电泳(acetate membrane electrophoresis)、聚丙烯酰胺电泳(polyacrylamide electrophoresis)、凝胶色谱(gel chromatography)等方法。目前多认为十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺垂直板电泳最为方便实用,可同时分析多个标本,操作简单,分辨性能也好,能清楚地显示各种分子量蛋白的不同区带。近年染色方法又有改进,如用银染色法,使尿中极微量的蛋白亦得以清楚显示。凝胶色谱法操作虽较繁琐,但由于可分别收集不同分子量蛋白质,仍为研究工作的重要工具^[11-13]。

作者单位:100083 北京医科大学第三临床学院职业病研究中心

近 10 年,更进一步开展了对尿中某些特定蛋白进行直接定量测定的研究,如使用活性染料标记的溶壁微球菌为基质、光电比色法检测尿中溶菌酶(lysozyme, Lys, MW 15 kd),较早年的光学比浊法或琼脂平板法更为简便灵敏。近年还探索了酶联免疫检测盒(enzyme-linked immunosorbent assay kit)和放射免疫检测盒(radio-immunoassay kit)测定尿中低分子蛋白,如 β_2 -微球蛋白(β_2 -microglobulin, β_2 -MG, MW 11.8 kd)、视黄醇结合蛋白(retinolbinding protein, RBP, MW 21.4 kd)等,使检测更为简便、灵敏、规范^[9,14,15];1986 年后,各种国产检测盒相继问世,为中毒性肾病的防治研究提供了更先进的手段,现已广泛应用于健康监护、职业病流调及临床工作。

2. 尿酶分析:这是近 20 年发展起来的肾脏损伤检测手段^[16,17]。尿酶(urinary enzymes)主要有 4 个来源:(1)血清:血清中那些 MW < 40 kd 的酶类,如 Lys、核糖核酸酶等,其可透过肾小球滤膜进入尿中,并被肾小管上皮重吸收进行分解代谢,若肾小管受损,此类酶在尿中含量会明显增加;(2)泌尿道上皮:该部组织更新溃解均会向尿中释出一些酶类,但数量甚微,无临床价值;(3)泌尿生殖道的腺体分泌物:常含活性很高的酶类,构成正常尿酶谱的一部分,但对肾脏疾患的临床意义尚缺乏了解;(4)肾小管细胞:其含有丰富的酶类,正常时即随细胞更新出现于尿中,构成正常酶谱的主要部分;肾小管损伤可使这些酶类在尿中明显增加,故可作为肾脏毒性的生物标志物。由于肾小管不同部分、细胞不同结构所含酶类均不尽相同,故可根据尿酶的构成特点进行更精细的损伤定位及病情预测,如刷毛缘酶类在尿中居多,多提示损伤较轻,细胞器酶类也明显增加,则表明损伤加重等。理论上,尿酶检测似比尿蛋白分析更敏感,定位也更精确,但由于对尿酶的最适保存条件、反应条件、激活因子、抑制因子等具体细节仍缺乏深入了解,测定方法的规范化及质控问题未能完全解决,测定结果有相当波动,使尿酶检测的应用仍受到相当限制。

尽管如此,国内学者在探索尿酶用作工业性肾脏毒物的健康监护方面仍进行着活跃的工作,各种重金属、二硫化碳、氯乙烯、三硝基甲苯、有机氟、汽油等接触均见有尿酶的监测报告,其中尤以碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)、 γ -谷氨酰转移酶(γ -glutamyl transferase, γ -GT)检测开展较多^[18,19],它们属近曲小管刷毛缘酶类,在反映肾小管损伤方面最为敏感。例如,对铅、汞、镉、铬等作业工人的调查表明,这些尿酶的活性均有明显增加,具有量效关系,且早于尿蛋白的

改变。肾小管细胞溶酶体酶如 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶(N-acetyl- β -D-glucosaminidase, NAG)的检测也有不少报告^[20],如对汞、镉等作业工人已见 NAG 的监测报告,但结果不一,是否与接触强度、检测方法的差异有关,尚待探讨。其它尿酶,如乳酸脱氢酶、天冬氨酸转氨酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、谷氨酸脱氢酶、亮氨酸氨基肽酶、磷酸二酯酶 I 等也都有调查报告,但资料尚少。

3. 尿中毒物检测:前期主要集中于金属检测方法的改进,使多数金属的测定已由早年的化学分析转为仪器分析,如汞多采用冷原子吸收法;铅、镉、镍、铬等多采用阳极溶出伏安法或原子吸收分光光度法等,敏感性及精确度均有明显提高。进一步研究表明:投用络合剂后金属在尿中的排泄水平似较其自然排泄更准确地反映其在体内的负荷状况,故不少临床学家倾向于将“驱排试验”列为金属中毒的必需诊断步骤之一^[21],但一直未能发现尿中毒物排泄状况与肾脏损伤有何直接关系。80 年代初期,北京医科大学职业病研究中心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^[22],结合肾脏光镜、电镜观察及生化指标,对此问题进行了探索,发现尿汞由三种不同分子量的含汞物质构成:(1)MW < 10 kd 的低分子汞复合物为正常情况下尿汞的主要成分,约占尿汞的 70% 以上;(2)MW 10~15 kd 的低分子蛋白结合汞则可能为汞硫蛋白(mercurithionein),正常时仅占尿汞成分 1% 左右,其在尿中显著增加为肾脏对汞毒性的代偿反应的信号;(3)MW > 68 kd 的中高分子量蛋白结合汞,为高强度汞暴露下尿汞排出的主要形式,也可作为汞性肾损伤的早期信号。嗣后湖南医科大学环境医学研究所进而对镉等金属的研究亦证实:对尿中金属排泄状况作进一步的分子量分析,有助于发现其与肾损伤间的内在联系,可能使其成为肾脏毒性的又一可靠的生物标志物。如他们发现尿中镉硫蛋白的测定除可反映尿镉水平外,也反映了肾皮质的镉负荷,因而是镉性肾损伤灵敏而特异的指标^[23]。中国预防医科院劳动卫生与职业病研究所也曾对镉性肾损伤的指标进行过探索,认为尿镉升高(> 5 $\mu\text{g/g Cr}$)而兼有尿 β_2 -MG 升高,可作为较可靠的判断标准^[24]。对尿汞成分的研究还揭示了高强度汞暴露时,肾小球滤出是尿汞的重要来源(经典理论认为尿汞 99% 系来自肾小管排泄),研究认为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,较易通过肾小球滤膜的“静电屏障”(electrostatic hindrance)而得以入尿有关;这也可能是高强度汞暴露时,肾小球系膜及内皮层出现大量蛋白沉积物、白蛋白

尿,甚至引起肾小球肾炎、肾病综合征的生化基础^[22,25]。

上述这些基础研究工作为临床工作提供了不断丰富的理论基础和探索手段,使临床研究得以快速、顺利地发展。

参 考 文 献

- 1 刘汉名. 工业毒物中毒引起的血红蛋白尿. 职业医学, 1989, 16(2): 25~ 26.
- 2 郭佩白, 李忠, 彭家炯, 等. 急性砷化氢中毒 65 例分析. 中国工业医学杂志, 1990, 3: 25~ 26.
- 3 王敬钦, 贾连林. 急性重度 CO 中毒合并肌红蛋白性肾病 2 例报告. 中国工业医学杂志, 1989, 2: 27~ 28.
- 4 高慧, 杨忠孝, 金世鑫, 等. 棉酚中毒所致远端肾小管性酸中毒 177 例初步观察. 中华内科杂志, 1985, 24: 419~ 421.
- 5 杨青, 舒贵阳, 侯建明. 急性砷中毒引致肾性尿崩症一例. 中华肾脏病杂志, 1993, 9: 87.
- 6 Bennett JC, Plum F eds. Cecil Textbook of Medicine. Vol. I, 20th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996. 511~ 626.
- 7 Bennett WM, Elizinga LW. Tubulo-interstitial disease and toxic nephropathy. In: Brenner BM and Rector FC eds. The Kidney. Vol. II, 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1991. 1430~ 1496.
- 8 Bernard A, Lauwerys RR. Proteinuria: changes and mechanisms in toxic nephropathies. Crit Rev Toxicol, 1991, 21: 373~ 383.
- 9 王世俊. 蛋白尿与中毒性肾病. 见: 任引津主编: 职业病学进展. 第 2 卷. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 116~ 128.
- 10 阿拉塔, 韩玉花, 蒋如珊. 三种常用尿蛋白定量方法的比较. 工业卫生与职业病, 1987, 13: 362~ 363.
- 11 黄世超, 王世俊. 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法定量分析镉接触工人尿蛋白. 中华劳动卫生职业病杂志, 1984, 2: 115~ 119.
- 12 肖春新, 丁良, 茅金娣. 改进后的 SDS 盘状电泳用于轴作

- 业职工尿蛋白分析. 中华放射医学防护杂志, 1988, 8: 423~ 425.
- 13 赵金垣, 王世俊, 蒋如珊, 等. 汞作业工人尿蛋白的凝胶电泳和十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳研究. 中华预防医学杂志, 1989, 23: 203~ 206.
 - 14 黄金祥. 尿 β_2 -微球蛋白测定对慢性镉中毒的诊断价值. 中华劳动卫生职业病杂志, 1984, 2: 106~ 110.
 - 15 乔幼薇, 王宗蕙, 苏英. 铊作业者尿中 β_2 -微球蛋白的改变. 中华劳动卫生职业病杂志, 1988, 6: 137~ 138.
 - 16 刘荫曾. 尿酶测定在职业医学上的应用. 见: 任引津主编: 职业病学进展. 第 2 卷, 北京: 人民卫生出版社, 1986. 134~ 142.
 - 17 陆利敏. 肾损害的早期诊断指标——尿酶. 中华劳动卫生职业病杂志, 1988, 6: 304~ 306.
 - 18 肖云, 冯兆良, 蔺心芳, 等. 接铅工人尿中碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶活性及其意义的探讨. 职业医学, 1987, 14(6): 55~ 56.
 - 19 覃国杰, 陈月华, 林炳均, 等. 尿 γ -GT 测定在铅接触肾损害的应用价值. 中华肾脏病杂志, 1987, 3: 146~ 147.
 - 20 于明, 王世俊. 尿 N-乙酰- β -D 氨基葡萄糖苷酶对诊断汞、镉、铅肾损害的意义. 中华劳动卫生职业病杂志, 1989, 7: 30~ 32.
 - 21 卿质彬. “驱铅试验”的临床应用体会. 中国工业医学杂志, 1993, 6: 55.
 - 22 Zhao JY, Wang SJ. Experimental study on proteinuria caused by chronic exposure to mercury. Biomed Environ Sci, 1988, 1: 235~ 246.
 - 23 陶炼晖, 王翔朴. 镉毒性肾损伤与镉、锌结合蛋白. 职业医学, 1990, 17: 131~ 134, 258~ 260.
 - 24 刘荫曾, 黄金祥. 慢性镉中毒诊断问题刍议. 职业医学, 1984, 11(5): 41~ 43.
 - 25 赵金垣, 王世俊. 慢性汞染毒大鼠尿汞排泄与蛋白尿的关系. 中国药理学与毒理学杂志, 1986, 1: 63~ 68.

(续 续)

(收稿: 1998- 02- 16)

(本文编辑: 陆丽敏)

本刊对图表格式的要求

每幅图或表占 1 页, 集中附于文后, 分别按其在正文中出现的先后次序连续编码。每幅图表应冠有图(表)题。说明性的资料应置于图(表)下方注释中, 并在注释中标明图表中使用的全部非公知公用的缩写。本刊采用三横线表(顶线、表头线、底线), 如遇有合计或统计学处理行(如 t 值、 P 值等), 则在这行上面加一条分界横线, 表内数据要求同一指标有效位数一致, 一般按标准差的 1/3 确定有效位数。论著文稿的表题(图题)、表文(图文)及表注(图注)请用中英文对照书写。表内同类数据小数点后的取舍位数要一致, 未取得数据者以“...”表示, 未做者则空白之。线条图应墨绘在白纸上, 高宽比例约为 5: 7 左右。以计算机制图者应提供激光打印图样; 照片图要求有良好的清晰度和对比度, 均一式两份。图中需标注的符号(包括箭头)请用另纸标上, 不要直接写在照片上, 每幅图的背面应贴上标签, 注明图号、作者姓名及图的上下方向。图片不可折损。若刊用人像, 应征得本人的书面同意, 或遮盖其能被辨认出系何人的部分。大体标本照片在图内应有尺度标记。病理照片要求注明染色方法和放大倍数。图表中如有引自他刊者, 应注明出处。

本刊编辑部