

大气污染物对杭州市小学生唾液溶菌酶含量的影响

刘卫艳¹, 徐虹¹, 刘静²

1.浙江省杭州市疾病预防控制中心环境所, 310021; 2.温州医科大学 2014 级预防医学专业

【摘要】 目的 研究杭州市大气污染物对小学生唾液溶菌酶含量的影响, 为有效改善小学生健康指标提供参考。**方法** 2015 年 10 月至 2016 年 3 月, 随机整群抽取杭州市下城区、西湖区、淳安县 3 所学校共 248 名小学生采集唾液样品, 收集同期 3 所学校附近的环境空气质量和气象资料, 利用混合线性模型分析大气污染物对小学生唾液溶菌酶含量的影响。**结果** 西湖区、下城区 2 次测量唾液酶含量差异有统计学意义 (t 值分别为 -4.49, 2.75, P 值均 <0.01)。不同性别、年龄小学生唾液溶菌酶含量差异无统计学意义。混合线性模型提示, 测试当天的 PM_{2.5}, PM₁₀, SO₂, NO₂, CO 浓度每升高 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 唾液溶菌酶分别升高 1.75, 0.82, 6.12, 1.05, 70.73 $\mu\text{g}/\text{L}$; 测试前 1 天 SO₂ 的质量体积浓度每升高 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 唾液溶菌酶升高 8.17 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。**结论** 小学生唾液溶菌酶水平与接触大气污染物的质量体积浓度存在正相关, 且有滞后效应。

【关键词】 唾液; 酶类; 大气; 环境污染物; 学生

【中图分类号】 G 637.8 R 446 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-9817(2019)11-1712-03

Effect of air pollutants on salivary lysozyme of pupils in Hangzhou/LIU Weiyan*, XU Hong, LIU Jing. * Hangzhou Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou (310021), China

【Abstract】 Objective To explore the effect of air pollutants on salivary lysozyme of pupils in Hangzhou, and to provide a reference for effectively improving health index of primary school students. **Methods** A total of 248 healthy pupils from one primary school in Xiacheng district, Xihu district and Chun'an county of Hangzhou were selected with cluster random sampling methods during October 2015 to March 2016. Meteorological and air quality data near the three schools during the same period were collected. Mixed linear model was used to analyze the influence of air pollutants on salivary lysozyme of pupils. **Results** There was significant difference in the content of salivary enzymes between Xihu District and Xiacheng District ($t = -4.49, 2.75, P < 0.01$). There was no significant difference in salivary lysozyme among pupils of different sex and age. Mixed linear model suggested that for 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ increase of PM_{2.5}, PM₁₀, SO₂, NO₂ and CO, salivary lysozyme increased by 1.75, 0.82, 6.12, 1.05 and 70.73 $\mu\text{g}/\text{L}$, respectively. Salivary lysozyme increased by 8.17 $\mu\text{g}/\text{L}$ for 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ increase of SO₂ the day before the test. **Conclusion** The level of salivary lysozyme in pupils is positively correlated with the concentration of air pollutants with a lagging effect.

【Key words】 Saliva; Enzymes; Atmosphere; Environmental pollutants; Students

溶菌酶是单链多肽组成的碱性蛋白质, 能溶解细菌表面的糖蛋白, 是身体主要的非特异免疫物质之一^[1]。因为取样方便且灵敏度高, 常作为大气污染物对人体健康影响的调查指标^[2-6]。关于大气污染对儿童唾液溶菌酶的影响尚存不一致的结论^[7]。本研究通过对杭州市小学生开展唾液溶菌酶含量检测, 结合同期的气象及环境空气质量数据, 分析探讨大气污染物对杭州市小学生唾液溶菌酶含量的影响。

1 对象与方法

1.1 对象 在杭州市下城区、西湖区、淳安县各 1 所小学(A, B, C 校)的三至五年级学生中, 按照整群随机抽样原则, 抽取 2 个班的正常健康小学生作为调查对象(排除现居住区居住不满 3 年或既往有呼吸系统病史者)。获得有效测量数据的学生 248 名, 其中西湖区男生 52 名, 女生 29 名; 下城区男生 71 名, 女生 56 名; 淳安县男生 24 名, 女生 16 名。3 个地区学生性别分布差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.42, P > 0.05$); 年龄、身高、体重分布差异有统计学意义 (F 值分别为 70.83, 17.15, 15.92, $P < 0.01$), 西湖区学生年龄、身高、体重均高于其他 2 个地区。

本研究获得杭州市疾病预防控制中心医学伦理委员会批准(批准号: 20150525), 征得所有调查对象、监护人和学校同意, 并填写知情同意书。

【基金项目】 浙江省医药卫生科技计划项目(2015KYB317); 杭州市科技发展计划项目(20140533B15)。

【作者简介】 刘卫艳(1963-), 女, 黑龙江人, 大学本科, 高级工程师, 主要从事环境卫生工作。

DOI: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2019.11.032

1.2 方法 收集 2015—2016 年全年杭州市西湖区某监测站(距离 A 校约 2.4 km)、下城区某环境监测站(距离 B 校约 0.4 km)、淳安县千岛湖镇环境监测站(距离 C 校约 3.5 km)每日大气污染物质量体积浓度(PM10, PM2.5, NO₂, SO₂, CO, O₃)监测数据。收集同期日平均气温、相对湿度、风速等气象数据,来自于杭州市气象局。采用国家疾病预防控制中心统一编制的《小学生健康调查表》进行调查。问卷调查表的回收率≥90%,符合率≥95%。

1.3 唾液溶菌酶采集与检测 于 2015 年 10 月 13—29 日、2016 年 1 月 7—11 日及 2016 年 3 月 22 日分别进行 2 次学生唾液采集。以班级为单位,采用非刺激方法,收集自然流出的清亮唾液 2 mL 左右置于塑料离心管中,-20 ℃保存,尽快测定。唾液溶菌酶采用人溶菌酶(LYS)酶联免疫分析法(ELISA)进行测定,试剂盒由上海将来实业股份有限公司提供。设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μL,样本孔中加入待测样本 50 μL,空白孔不加。除空白孔外,标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体 100 μL,用封板膜封住反应孔,37 ℃水浴锅或恒温箱温育 60 min。弃去液体,吸水纸上拍干,每孔加满洗涤液(350 μL),静置 1 min,甩去洗涤液,吸水纸上拍干,如此重复洗板 5 次(也可用洗板机洗板)。每孔加入底物各 50 μL,37 ℃避光孵育 15 min。每孔加入终止液 50 μL,15 min 内,在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值。

1.4 统计方法 采用 EpiData 3.1 软件进行双录入,利用 SPSS 23.0 软件进行数据分析。3 个地区性别分布差异采用χ²检验,年龄、身高、体重比较采用方差分析。两次测量的唾液酶含量差异比较采用配对样本 *t* 检验。不同性别、年龄学龄儿童的唾液溶菌酶含量比较采用独立样本 *t* 检验和方差分析。空气污染物与气象因素的关联性分析采用 Spearman 秩相关。唾液酶含量的影响因素分析采用混合线性模型,以移动平均滞后的污染物浓度和气象因素分析对唾液溶菌酶含量的影响。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 空气污染物及唾液酶含量比较 3 个地区 2 次测量期间空气污染物含量显示,SO₂, CO 均未超过国家一级标准^[8];NO₂ 西湖区第 2 次、下城区第 1 次均超过国家一、二级标准,O₃~8 h 西湖区、下城区第 1 次超过国家二级标准;PM10 均超过国家一级标准,其中西湖区第 1 次、下城区第 2 次超过国家二级标准;PM2.5 均超过国家一级标准,其中西湖区第 1 次、下城区第 2 次超过国家二级标准。西湖区、下城区 2 次测量唾液酶含量差异有统计学意义(*t* 值分别为-4.49, 2.75, *P* 值均<0.01),淳安县 2 次测量唾液酶含量差异无统计学意义(*t* = -1.84, *P* = 0.07)。不同性别、年龄小学生的唾液溶菌酶含量差异均无统计学意义(*t* = 0.74, *F* = 0.14, *P* 值均>0.05)。见表 1。

表 1 不同地区各个测量时间大气污染物质量体积浓度及唾液溶菌酶含量

地区	测量时间	SO ₂ / (μg·m ⁻³)	NO ₂ / (μg·m ⁻³)	CO/ (mg·m ⁻³)	O ₃ ~8 h/ (μg·m ⁻³)	PM10/ (μg·m ⁻³)	PM2.5/ (μg·m ⁻³)	唾液溶菌酶/ ($\bar{x}\pm s, \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
西湖区	第一次	17	76	600	161	103	68	516.83±122.33
	第二次	27	88	1 200	21	130	92	621.87±171.19
下城区	第一次	25	109	1 400	187	184	104	608.57±134.66
	第二次	10	47	1 000	67	56	50	555.39±171.15
淳安县	第一次	12	27	800	72	76	54	624.07±151.93
	第二次	10	22	600	89	66	52	708.96±250.05

2.2 气象因素件的相关性分析 温度与 O₃~8 h, PM2.5 呈正相关,湿度与 SO₂, O₃~8 h, PM10 呈负相关,风速与 SO₂, NO₂, CO, PM10, PM2.5 呈负相关, SO₂, PM10, PM2.5, CO 之间均呈正相关,PM10 与 NO₂ 呈正相关。PM2.5 与 O₃~8 h 呈正相关,CO 与 O₃~8 h 呈负相关。见表 2。

2.3 大气污染物对唾液溶菌酶的影响 单污染物模型结果显示,测试当天(Lag0 d)的 PM2.5, PM10, SO₂, NO₂ 和 CO 的质量体积浓度每升高 1 μg/m³,唾液溶菌酶分别升高 1.75, 0.82, 6.12, 1.05, 70.73 μg/L。测试前 1 天(Lag1 d)SO₂ 的质量体积浓度每升高 1 μg/m³,唾

液溶菌酶升高 8.17 μg/L。见表 3。

表 2 杭州市 2015—2016 年大气污染物与气象因素之间的相关系数(*r* 值)

变量	湿度	风速	SO ₂	NO ₂	CO	O ₃ ~8 h	PM10	PM2.5
温度	0.00	-0.36*	0.17	0.05	-0.05	0.54*	0.02	0.73*
湿度		-0.12	-0.33*	0.01	0.24*	-0.59*	-0.25*	-0.12
风速			-0.41*	-0.57*	-0.41*	-0.11	-0.46*	-0.37*
SO ₂				0.57*	0.52*	0.17	0.72*	0.57*
NO ₂					0.73*	-0.09	0.76*	0.17
CO						-0.30*	0.73*	0.22*
O ₃ ~8 h							0.10	0.39*
PM10								0.24*

注: * *P* < 0.05。

表 3 大气污染物对唾液溶菌酶含量的影响[β 值(β 值 95%CI)]

污染物	测试当天	测试前 1 天	测试前 2 天	测试前 3 天
PM _{2.5}	1.75(0.95~2.56)*	-0.69(-1.46~0.08)	-0.67(-1.34~0.00)	-0.31(-1.19~0.57)
PM ₁₀	0.82(0.43~1.22)*	0.00(-0.46~0.46)	-0.16(-0.57~0.24)	0.13(-0.33~0.58)
SO ₂	6.12(3.40~8.84)*	8.17(3.29~13.06)*	2.53(-1.72~6.78)	2.16(-1.48~5.81)
NO ₂	1.05(0.33~1.76)*	0.43(-0.24~1.09)	0.32(-0.37~1.01)	0.64(-0.03~1.31)
CO	0.07(0.03~0.12)*	0.03(-0.01~0.08)	0.01(-0.03~0.06)	0.04(-0.01~0.08)
O ₃ -8 h	-0.46(-1.05~0.12)	0.32(-0.53~1.16)	0.54(-0.33~1.41)	0.67(-0.24~1.57)

注: * $P<0.05$ 。

3 讨论

国内外研究表明^[9],长期居住在不同大气污染环境中的儿童,在未出现临床症状之前,免疫功能已有不同程度的降低。唾液中的唾液酶为个体非特异性免疫功能组成成分之一,是身体局部感染的重要因素^[10]。学龄儿童正处于生长发育期,是空气污染的主要敏感人群之一,免疫系统对环境影响特别敏感,且无职业暴露,比较有代表性^[2,11-14]。

本研究剔除了吸烟、生活习惯、室内环境影响等混杂因素使大气污染因素暴露成分,增加了结果的可比性。本调查选择在杭州灰霾天气较为频发的冬春季节,监测期间 3 个地区的 PM₁₀,PM_{2.5} 浓度均超过国家一级标准,其中西湖区第 1 次测试、下城区第 2 次测试均超过国家二级标准,整体大气环境的细颗粒物浓度较高。本研究结果显示,PM_{2.5},PM₁₀ 浓度不同测量的唾液酶含量差异有统计学意义,与文献报道一致^[11,15]。不同性别、年龄学龄儿童唾液溶菌酶含量未见明显差异的结果与张瑞等^[4-5]报道的学龄期儿童非特异性免疫水平与性别无关,且唾液溶菌酶不随个体青春发育变化而变化基本一致。

单污染模型显示 SO₂,PM₁₀,NO₂,PM_{2.5} 对唾液溶菌酶含量影响较大,SO₂,PM_{2.5},NO₂,PM₁₀ 每升高 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,唾液溶菌酶分别升高 6.12,1.75,1.05,0.82 $\mu\text{g}/\text{L}$,与王宇飞等^[2]报道的大气 PM_{2.5} 污染对会儿童非特异性免疫功能产生不良影响结论一致。其中 SO₂ 的影响较强且存在滞后效应是因为空气中的含硫化物、含氮化合物等有害物质能氧化蛋白分子的巯基,破坏二硫键,影响和破坏人体的防御功能,导致唾液溶菌酶水平改变^[4,16]。NO₂ 主要来源于机动车尾气排放以及臭氧与氮氧化物的二次合成,与其他的燃烧大气污染物(PM_{2.5},PM₁₀,SO₂,CO)在空间分布上具有高度一致性^[17-18]所产生的影响。该研究小学生唾液溶菌酶水平与接触大气污染物的浓度有正相关,与文献相关报道相同^[11,15]。

综上所述,大气污染物的浓度对小学生唾液溶菌酶水平有影响,且有滞后效应。

4 参考文献

- [1] 温普红,李宗孝.一种新型的溶菌酶活力测定法[J].药物分析杂志,2013,23(5):390-392.
- [2] 王宇飞,句立言,刘晓波,等.大气污染对儿童肺通气功能及唾液溶菌酶含量的影响[J].环境与健康杂志,2016,33(8):719-722.
- [3] 孙湛,刘仲,杨月莲,等.济南市冬季灰霾期间儿童唾液溶菌酶浓度分析[J].中国公共卫生管理,2016,32(2):178-179.
- [4] 张瑞,梅勇,代浩,等.934名小学生唾液溶菌酶正常参考值调查[J].中国卫生检验杂志,2013,23(6):1590-1591.
- [5] 王燕侠,牛静萍,丁国武,等.空气污染对青春期青少年免疫功能的影响研究[J].中国学校卫生,2007,28(6):560-561.
- [6] 陈荣富,陈伟建,项晓青,等.392名小学生唾液溶菌酶含量分析[J].浙江预防医学,2006,18(11):22.
- [7] 孙文娟,席淑华,叶丽杰,等.大气污染对儿童非特异性免疫功能影响研究[J].环境与健康杂志,2002,19(1):46-47.
- [8] 中华人民共和国生态环境部.环境空气质量标准[EB/OL].[2019-07-09].http://kjs.mee.gov.cn/hjbhbz/bzwb/dqhjzlbz/201203/t20100302_224165.sl.
- [9] 宋宏.环境空气污染与人体健康[J].中国公共卫生,1997,13(4):245.
- [10] 郑武飞.医学免疫学[M].北京:人民卫生出版社,1992:57.
- [11] 牛静萍,徐大琴,万学中,等.沙尘暴对中、小学生唾液溶菌酶的影响[J].环境与健康杂志,2009,26(3):206-208.
- [12] KAN H, HEISS G, ROSS K M. Traffic exposure and lung function in adults; the atherosclerosis risk in communities study[J].Thorax, 2007,62(10):873-879.
- [13] 张莉君,郭常义,许慧慧,等.2013年冬季上海两社区学龄儿童在校时间PM_{2.5}暴露评价[J].环境与健康杂志,2018,35(8):672-677.
- [14] 柯钊跃,王佳,郑君瑜,等.广州市学龄儿童在校期间PM_{2.5}暴露水平评价[J].中国环境科学,2011,31(10):1618-1624.
- [15] 席淑华,孙文娟,叶丽杰,等.大气污染致儿童免疫功能损害效应的研究[J].中国学校卫生,2003,24(5):447-449.
- [16] ARBEX M A, SANTIAGO S L, ELISANGELA P M, et al. Impact of urban air pollution on acute upper respiratory tract infections[M].Intech, 2011:237-250.
- [17] 崔亮亮,牛纪伦,于坤坤,等.2013—2015年济南市大气污染物SO₂和NO₂对居民心血管疾病应急呼叫事件影响的急性效应[J].山东大学学报(医学版),2018,56(11):105-110.
- [18] YU IT, QIU H, WANG X, et al. Synergy between particles and nitrogen dioxide on emergency hospital admissions for cardiac diseases in Hong Kong[J].Int J Cardiol, 2013,168(3):2831-2836.

收稿日期:2019-06-05;修回日期:2019-09-18