

苯作业工人血浆热应激蛋白水平研究

陈 胜¹, 徐 耘², 肖成峰¹, 杨春秀², 王瑞波¹, 鄢堂春¹

(1. 同济医科大学职业医学研究所, 湖北 武汉 430030; 2 宜昌市卫生防疫站, 湖北 宜昌 443000)

摘要: 目的 了解苯接触对热应激蛋白 (HSPs) 表达的影响以及 HSPs 在苯毒性机理中的作用, 探讨 HSPs 作为接触苯工人分子生物标志物的可能性。方法 选择接触苯浓度 $\geq 40\text{mg}/\text{m}^3$ 工人 42 名为高暴露组, 接触苯浓度 $< 40\text{mg}/\text{m}^3$ 工人 50 名为低暴露组, 不接触苯等职业有害因素工人 42 名为对照组。采用 Western dot-blot 方法测定其血浆 HSP27、HSP60、HSP70 及 HSP90 水平。结果 发现高暴露组血浆 HSP70 水平明显高于对照组 ($P < 0.05$), 而 HSP27、HSP60 和 HSP90 在四组间差异无显著意义。结论 血浆 HSP70 水平能反映工人接触苯的水平及反应能力, 作为分子生物标志物在苯作业工人健康监护中有一定价值。

关键词: 苯; 热应激蛋白; 生物标志物

中图分类号: R135.1; Q 51 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(1999)05-0260-03

A study on level of heat shock protein in plasma of workers exposed to benzene

CHEN Sheng¹, XU Yun², XIAO Cheng-feng¹, YANG Chun-xiu², WANG Rui-bo¹, WU Tang-chun¹

(1. Institute of Occupational Medicine, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China; 2. Yichang Anti-epidemic Station, Yichang 443000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of benzene-exposure on the expression of heat shock proteins (HSPs) and the probability of HSPs in plasma of workers as biomarkers. **Method** 144 workers were divided into three groups according to the concentration of benzene in working environment: the high-exposed group had 42 workers who exposed to a high benzene exposure ($\geq 40\text{mg}/\text{m}^3$), the low-exposed group had of 50 workers exposed to a low level benzene exposure ($< 40\text{mg}/\text{m}^3$), and the control group consisted of 42 workers who neither had benzene nor other known harmful factors exposure. Using Western-dot-blotting the levels of HSP27, HSP60, HSP70 and HSP90 in plasma were determined. **Results** The levels of plasma HSP70 in high-exposed groups were significantly higher than that in controls ($P < 0.05$). **Conclusion** The level of plasma HSP70 might be used as an effective biomarker in the health monitoring of benzene workers.

Key words: Benzene; Heat shock proteins; Biomarker

热应激蛋白 (heat stress proteins, HSPs) 是原核和真核生物在各种应激条件下产生的具有高度保守性的蛋白质家族。由于其最开始被发现是在热处理即热应激条件下诱导产生的, 故称为热应激蛋白, 但随着研究的深入, 人们发现不仅热应激能诱导 HSPs 的合成, 其他各种应激如缺血、缺氧、毒物等也能诱导 HSPs 的合成, 以保护机体免受热、毒物等的损害, 产生热耐受和毒物耐受^[1,2]。除此之外, HSPs 还在正常细胞中参与蛋白质的折叠、装配、跨膜转运和降解等, 起“分子伴侣”作用, 在细胞的增殖、分化、凋亡等生理、生化过程中起重要作用^[3]。另外, HSPs

还与肿瘤的发生发展有关^[4]。根据 HSPs 在 SDS-PAGE 上分布分子质量的不同, HSPs 可分为 HSP27、HSP60、HSP70、HSP90、HSP110 等家族, 其中最主要、诱导性最强的是 HSP70^[5]。本研究检测了既往苯中毒工人和暴露于不同浓度苯作业工人血浆中 HSP27、HSP60、HSP70、HSP90 水平, 以了解接触苯对 HSPs 水平的影响及 HSPs 在苯毒性机理中的作用, 为研究苯致白血病机理及寻找接触苯作业工人生物标志物提供依据。

1 对象和方法

1.1 对象

根据作业环境空气中苯浓度选择某市橡胶厂成型、胶浆工人 42 名为高暴露组 (苯浓度 $\geq 40\text{mg}/\text{m}^3$), 选择某市造船厂刷漆、喷漆工人 50 名为低暴露组 (苯浓度 $< 40\text{mg}/\text{m}^3$)。在上述工种作业中, 苯均用作稀释剂, 工人在作业过程中不戴或仅戴简单防尘口罩。选择两厂机械加工、木工等不接触苯等职业有害

收稿日期: 1998-11-12; 修回日期: 1999-04-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39370594); 卫生部科研基金资助项目 (9810)

作者简介: 陈胜 (1971—), 男, 同济医科大学助教, 硕士, 目前主要从事热应激蛋白在生物监测中作用的研究。

因素工种工人 42 名为对照组。三组工人在年龄、工龄、生活习惯等方面无明显差异, 体检均未发现有急性感染性疾病者。

1.2 环境监测

按区域采样布点, 用 100ml 注射器在苯作业工人呼吸带高度采现场空气 100ml, 气相色谱法测定苯、甲苯、二甲苯浓度。

1.3 样品收集和处理

上午空腹静脉采血 5ml, 肝素抗凝, 分离血浆, 分装成若干份, 每份加入苯甲基磺酰氟 (PMSF) 至 1mmol/ml, -20°C 保存备用。指尖采血, 常规方法进行白细胞计数及测定血红蛋白含量。

1.4 HSPs 测定

采用 Western 斑点印迹法检测血浆 HSP27、HSP60、HSP70 和 HSP90 水平^[6]。第一抗体为兔抗人 HSP27、HSP60、HSP70 和 HSP90 (Prof. Tanguay 惠赠), 第二抗体为辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG (Sigma, 武汉博士德生物工程公司分装), 显色后用 CS-930 双波段色谱扫描仪 (日本岛津) 进行图象分析, 用积分光密度大小反映 HSPs 水平。

1.5 统计分析

结果用 SPSS 7.5 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 作业场所空气中苯浓度测定结果

由表 1 可见, 橡胶厂采样点空气中苯浓度超过国

家最高容许浓度 ($40\text{mg}/\text{m}^3$)^[7], 最高者是国家最高容许浓度的 7.2 倍; 造船厂采样点空气中苯浓度虽未超过国家最高容许浓度, 但非常接近。空气中甲苯、二甲苯浓度在各采样点比较接近。

表 1 作业环境空气中苯及同系物浓度 mg/m^3

厂名	工种	苯	甲苯	二甲苯
橡胶厂	夹布成型	287.0	24.5	40.9
	钻探成型	205.0	15.8	36.5
	胶浆	135.0	21.4	54.3
造船厂	刷漆	39.0	18.6	27.8
	喷漆	37.0	17.0	36.5

2.2 末梢血白细胞计数及血红蛋白测定结果

表 2 四组工人末梢血白细胞计数和血红蛋白含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	WBC ($\times 10^9/\text{L}$)	Hb (g/L)
高暴露组	42	6.52 \pm 0.84 *	137.1 \pm 14.7
低暴露组	50	6.89 \pm 0.82	142.4 \pm 16.7
对照组	42	7.13 \pm 0.81	139.6 \pm 17.3

* $P < 0.05$, 与对照组相比

由表 2 可见, 高暴露组工人末梢血白细胞计数明显低于对照组 ($P < 0.05$), 但仍在正常范围内; 三组工人血红蛋白含量无显著性差异, 且均在正常范围内。

2.3 血浆 HSPs 检测结果

由表 3 可见, HSP70 有随暴露水平的升高而升高的趋势, 高暴露组血浆 HSP70 水平明显高于对照组 ($P < 0.05$); 但其他 HSPs 三组之间差异并无显著性。

表 3 四组工人血浆 HSPs 水平 (积分光密度, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	HSP27	HSP60	HSP70	HSP90
高暴露组	42	2.287.2 \pm 373.8	8.101.7 \pm 1755.9	7.680.1 \pm 950.2 *	9.413.0 \pm 1068.4
低暴露组	50	2.343.1 \pm 401.3	8.388.5 \pm 1472.9	6.717.2 \pm 960.1	9.291.4 \pm 1349.8
对照组	42	2.245.1 \pm 341.4	8.794.9 \pm 1283.6	6.692.5 \pm 1000.1	9.384.4 \pm 1086.1

* $P < 0.05$, 与对照组相比

3 讨论

热应激蛋白的发现使人们从某些方面认识到生物体在遭受环境不良因素的刺激时是如何产生反应, 以保护机体免遭这些不良因素的伤害。由于热应激基因的启动子极易被不良因素如毒物、缺血、高温等所激活, 启动热应激基因的转录、翻译, 增强 HSP70 的合成, 在职业医学和毒理学领域, 正在尝试作为评价机体接触不良因素水平及损伤程度的指标^[8,9]。

本研究发现 HSP27、HSP60、HSP70、HSP90 四种 HSPs 中除暴露组 HSP70 水平显著高于对照组 ($P < 0.05$), 且有剂量-反应关系外, 其他各种 HSP 在四组之间差异均无显著意义, 这与 HSP70 受毒物的诱

导性最强, 保护作用更为广泛一致。暴露高浓度苯作业工人血浆 HSP70 水平升高, 可能是因为苯及其代谢产物直接诱导热应激基因的表达, 或者是苯在体内代谢产生的多种反应氧类物质 (reactive oxygen species, ROS) 使机体处于过氧化应激之中^[10], 而 ROS 可诱导热应激基因的表达, 使细胞内 HSP70 水平升高^[11]。ROS 还可攻击细胞膜脂质双分子层, 发生脂质过氧化, 破坏细胞膜的结构和功能^[12], 使细胞内的 HSP70 释放到血浆中, 血浆中的 HSP70 水平升高。本研究中高、低暴露组工人作业场所空气中甲苯和二甲苯浓度比较接近, 且王秀玲等人的研究表明甲苯、二甲苯作业工人血浆 HSP70 水平与对照组无明

显差异^[13]，因此可认为甲苯、二甲苯对本研究中高暴露组 HSP70 水平的升高影响较小。

综上所述，苯作业工人血浆 HSP70 水平的升高既可能是苯及其代谢产物诱导机体细胞内 HSP70 表达增加的结果，也可能是苯及其代谢产物损伤细胞膜结构或功能，使细胞内 HSP70 释放的结果。提示血浆 HSP70 能够反映机体对苯的反应能力及机体对苯的接触水平，故作为生物标志物在接触苯作业工人健康监护中有一定价值。

参考文献:

[1] Morimoto RI, Tissieres A, and Georgopoulos C. The stress response, function of the proteins and perspective. In *Stress Protein in Biology and Medicine* (Morimoto, R I, Tissieres, A, and Georgopoulos, C Eds) Pp. 1~36. Cold Spring Harbor Laboratory Press. (1990).

[2] Mosser DD, Bols NC. Relationship between heat-shock protein synthesis and thermotolerance in rainbow trout fibroblast [J]. *J Com Physiol* 1988, 158: 457~467.

[3] Gething MJ. Protein folding in the cell [J]. *Nature*, 1992, 355: 33~45.

[4] Lindquist S. The heat shock response [J]. *Ann Rev Biochem*, 1986, 55: 1151~1191.

[5] Hotchkiss R, Nunnally I, Lindquist S, et al. Hypothermia protects mice

against the lethal effects of endotoxin [J]. *Am J Physiol*, 1993 265: 1447~1457.

[6] 何晓生, 潘秋萍, 邬堂春, 等. Western 斑点印迹法检测主要热应激蛋白 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 1996, 14: 376~377.

[7] 王穆兰, 刚葆琪. 现代劳动卫生学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 495~500.

[8] 张国高, 贺涵贞, 邬堂春. 热应激蛋白及其在职业卫生中应用研究的展望 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 1998, 16 (2): 67~69.

[9] Carol P. Tracking toxicants [J]. *Environ Health Perspect*. 1997, 105 (1): 475~477.

[10] Smith MT, Yager JW, Steinmetz KL, et al. Peroxidase dependent metabolism of benzene's phenolic metabolites and its potential role in benzene toxicity and carcinogenicity [J]. *Environ Health Perspect*, 1989, 82: 23~29.

[11] Jacquier-Sarlin MR, Fuller K, Dinh-Xuan AT, et al. Protective effects of HSP70 in inflammation [J]. *Experientia*, 1994 50: 1031~1038.

[12] Chamulitrat W, Mason RD. Lipid peroxy radical intermediates in the peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenase [J]. *J Biol Chem*, 1989 264: 20968~20973.

[13] 王秀玲, 金锡鹏, 周彤, 等. 苯系化合物对作业工人血浆热应激蛋白 70 抗体滴度及热应激蛋白 70 水平的影响 [J]. *劳动医学*, 1998, 15 (2): 69~72.

· 短篇报道 ·

接触汽车废气职业人员血中 HbCO 浓度调查

Determination of blood carboxyhemoglobin level in workers exposed to motor vehicle exhaust

史苏伟, 王增珠

SHI Suwei, WANG Zeng-zhu

(福建省劳动卫生职业病研究所, 福建 福州 350001)

为了解汽车尾气中 CO 对人体的影响, 我们对泉州大桥、福州大桥、狮石、同安等 4 个车流量较大的征费所 (日车流量在 1 2~2 万辆) 285 名公路征费人员作了一次血液 HbCO 的含量测定, 结果报告如下。

1 对象与方法

在已排除吸烟的 285 名对象中男 200 名, 女 85 名, 年龄 19~57 岁, 平均年龄 34.6 岁; 征费工龄 1~11 年 5 个月, 平均征费工龄 4 年 5 个月。同时选取本系统的职工不接触 CO 的男女工人 96 名, 男 70 名, 女 26 名, 年龄 20~54 岁, 平均年龄 33 岁, 工龄 1~34 年, 平均 10.4 年。两组年龄、性别及吸烟习惯的构成差异无显著意义。碳氧血红蛋白 (HbCO) 含量测定, 采用 2140 型 CO 监测报警仪, 对征费所室内、室外连续测

定 32 小时。对两组工人进行常规体检。

2 结果

征费点空气中一氧化碳浓度: 在 9 个采样点 27 个样品中 CO 浓度范围为 2.5~223.3mg/m³, 时间加权平均浓度为 145.0mg/m³, 超过了国家卫生标准, 两组工人碳氧血红蛋白测定结果: 接触组 HbCO 含量为 (4.96±1.89)%, 对照组为 (2.12±1.26)%, 差异有显著意义 (P<0.01)。两组工人常规体检结果: 主要症状如烦躁、乏力、失眠、头昏、记忆力减退和头痛等, 接触组均明显高于对照组 (P<0.05)。

3 小结

本次调查说明, 长期接触低浓度一氧化碳对作业人员健康有一定影响, 表现为血中碳氧血红蛋白含量显著增高并出现一些神经衰弱等症。因此, 为保护作业人员的健康, 凡有一氧化碳产生的作业场所均应做好健康监护工作。

收稿日期: 1998-10-27; 修回日期: 1999-01-20

作者简介: 史苏伟 (1957—), 男, 福建福州人, 检验师。