

噪声作业工人血浆热应激蛋白 70 抗体与心脏功能异常的关系

姚惠琳¹, 祁成¹, 彭丽华¹, 杨杪², 杨秋玲¹, 郑建如¹, 马晓钟¹, 陈胜², 邬堂春²

(1. 东风汽车公司职业病防治所, 湖北 十堰 442000; 2. 华中科技大学同济医学院公共卫生学院, 湖北 武汉 430030)

摘要: 目的 探讨噪声作业工人血浆热应激蛋白 (HSP) 70 抗体与心功能异常之间的关系。方法 用 Western blot 免疫印迹法测定噪声作业工人血浆 HSP70 抗体水平, 用多因素 Logistic 回归模型分析 HSP70 抗体水平与心电图异常的关系。结果 心电图异常组 HSP70 抗体阳性率为 35.6%, 明显高于心电图正常组 (15.7%); 在排除了常见心血管疾病危险因素的影响后, 心电图异常与 HSP70 抗体之间仍然存在较强联系。结论 血浆 HSP70 抗体可能是噪声作业工人心脏功能异常的危险因素之一。

关键词: 噪声; HSP70 抗体; 心功能异常

中图分类号: R136.2; R446.6; R444 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)05-0283-04

Relationship between plasma HSP70 antibody level and cardiac function in workers exposed to noise

YAO Hui-lin¹, QI Cheng¹, PENG Li-hua¹, YANG Miao², YANG Qiu-ling¹, ZHENG Jian-ru¹, MA Xiao-zhong¹, CHEN Sheng², WU Tang-chun²

(1. Institute of Occupational Medicine, Dongfeng Mobile Co., Shiyan 442000, China; 2. College of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship between heat stress protein 70 (HSP 70) and cardiac dysfunction in the workers exposed to noise. **Method** Plasma HSP70 was determined with Western blotting technique in the workers exposed to noise, and logistic regression model was used to analyze the relationship between anti-HSP70 and electrocardiogram abnormality in the workers exposed to noise. **Result** The positive rate of plasma anti-HSP70 in abnormal ECG group was 35.6%, significantly higher than that of normal ECG group (15.7%). After adjusting the generally recognized risk factors for cardiovascular disease, there was still a strong association between plasma level of anti-HSP70 and incidence of abnormal ECG. **Conclusion** Anti-HSP70 might be a risk factor of cardiac dysfunction in the workers exposed to noise.

Key words: Noise; Heat stress protein 70; Abnormal cardiac function

目前在职业卫生领域, 对热应激蛋白 (heat shock proteins, HSPs) 抗原和抗体作为某些职业人群应激程度、应激能力和健康评价指标可能性的探讨较为广泛, 其中以 HSP70 的研究更为深入^[1]。噪声作为常见的职业危害因素除了导致人体的听力损害外, 对非听觉系统如心血管系统也有一定的损害^[2]。本文试图通过分子流行病学调查, 探索 HSP70 抗体水平与噪声作业者心功能异常之间的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

选择某汽车制造公司只接触噪声不接触高温、毒物等其他有害因素, 工龄 1 年以上, 未使用个体防护

用品 (耳塞或耳罩), 体检前 1 个月未发热的 391 名工人为观察对象, 平均年龄 (34.5 ± 7.7) 岁, 平均工龄 (11.4 ± 7.8) 年, 其中男 264 例、女 127 例。

1.2 调查内容和方法

调查内容包括职业史、心血管疾病危险因素 (年龄、吸烟、饮酒、身高、体重、脂肪摄入量、文化程度、既往病史、心血管病家族史、体力劳动强度、每日睡眠时间等)。调查表由课题组统一设计, 由经过专门培训的执业医师询问并填写完成, 同时进行常规内科检查及测量身高、体重等。

1.3 心电图、血压检查

心电图检查采用日本产 ECG-103 型心电图机, 在静息状态下对受试者作 12 导联描记, 按黄宛主编的《临床心电图学》进行诊断。血压的测定方法及高血压的诊断标准按照 WHO1999 年标准执行。

1.4 环境噪声检测

收稿日期: 2004-03-31; 修回日期: 2004-05-20

基金项目: 国家自然科学基金 (30200227) 和湖北省科技攻关计划 (2003AA301C107) 资助

作者简介: 姚惠琳 (1964-), 女, 副主任医师, 在读硕士研究生, 从事职业病防治工作。

用丹麦产必凯 2231 型声级计, 在人耳高度测定等效连续 A 声级 (L_{Aeq}) 噪声, 并记录工人每日接触时间, 参照近 20 年噪声检测记录, 用累积噪声暴露量 (CNE) 来评价工人的实际噪声暴露量, CNE 参考赵氏计算公式^[3] 计算。

1.5 HSP70 抗体及血糖、血脂检测

HSP70 抗体用 Western blot 法^[4] 检测, 血糖、血脂按国标方法测定。

1.6 统计分析

将调查结果输入计算机, 用 SPSS/PC⁺ ver11.5 统计分析软件进行 t 检验、 χ^2 检验及 Logistic 回归分析 (用 backward 法, 退出方程标准 $\alpha=0.10$)。

表 1 调查对象一般特征、累积噪声暴露量及检测指标比较

组别	例数	年龄	性别比 (男/女)	吸烟率 (%)	饮酒率 (%)	饮茶率 (%)	心血管病家族史 (%)	CNE	体重指数	收缩压升高 (%)	舒张压升高 (%)	血糖 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)
心电图异常组	104	34.7±8.8	76/28	47.11	25.96	45.19	19.23	94.70±8.08**	23.47±3.40	7.69	25.96	4.73±0.90*	5.47±1.22	1.39±1.55
心电图正常组	287	34.5±7.3	188/99	36.93	18.81	48.43	13.93	90.15±8.02	23.29±3.21	4.53	18.82	4.54±0.80	5.40±1.36	1.25±0.73

与心电图正常组比较 *P<0.05 **P<0.01; 体重指数=体重 (kg) / [身高 (m)]²

由表 1 可见, 心电图异常组的吸烟率、饮酒率、心血管病家族史、高血压检出率、血糖、血脂水平均高于心电图正常组, 但除血糖外差异无显著意义 (P>0.05); 心电图异常组的累积噪声暴露水平明显高于正常组, 经统计学比较差异有非常显著意义 (P<0.01)。

2.3 累积噪声暴露量与血浆 HSP70 抗体阳性率及心电图异常率的关系

为探讨工人累积噪声暴露量与血浆 HSP70 抗体阳性率、心电图异常率之间的关系, 将所有调查对象 1:10 滴度的 HSP70 抗体阳性率、心电图异常率按 CNE 分层, 进行趋势 χ^2 检验。结果噪声作业者的 HSP70 抗体阳性率和心电图异常率随 CNE 的增加而明显升高, 差异有非常显著意义 (P<0.01), 见表 2。

表 2 累积噪声暴露量与 HSP70 抗体阳性及心电图异常的关系

CNE [dB(A)·年]	例数	HSP70 抗体阳性		心电图异常	
		例数	%	例数	%
~80	16	1	6.2	1	6.2
~85	69	11	15.9	9	13.0
~90	111	15	13.5	24	21.6
~95	69	13	18.8	20	29.0
~100	54	18	33.3	21	38.9
>100	72	24	33.3	29	40.3
合计	391	82	21.0	104	26.6

趋势 χ^2 值=14.296 P<0.0002 趋势 χ^2 值=21.931 P<0.0001

2.4 HSP70 抗体阳性率的 Logistic 回归分析

为排除混杂因素的影响, 采用多因素 Logistic 回

2 结果

2.1 噪声暴露情况

本次共检测噪声作业点 55 点次, 所测 L_{Aeq} 平均为 (87.20±7.99) dB (A) [75~99.3dB (A)], 其中 85dB (A) 以上者占 76.36%, 换算成 CNE 为 (91.36±8.27) dB (A)·年 [69.67~110.73dB (A)·年]。

2.2 调查对象一般特征及噪声暴露量比较

考虑到现场工作的可行性, 我们以心电图作为心脏功能的判定指标, 在诊断时排除可能的变异和生理状态。根据心电图结果将调查对象分为异常与正常两组, 比较两组的累积噪声暴露情况、一般特征及检测指标, 见表 1。

归分析进一步明确工人血浆 HSP70 抗体水平与噪声暴露量的关系。结果表明, 在控制了混杂因素的作用后, CNE 仍然进入了血浆 HSP70 抗体水平最佳回归模型, 见表 3。

表 3 血浆 HSP70 抗体阳性率的多因素 Logistic 回归分析

变量	偏回归系数	标准误	Wald 值	P 值	OR 值 (95%CI)
常数项	-4.018	1.998	4.045	0.044	
CNE	0.056	0.019	9.051	0.003	1.058 (1.020~1.097)
文化程度	-0.464	0.193	5.786	0.016	0.629 (0.431~0.918)
舒张压	0.784	0.338	5.057	0.027	2.075 (1.849~4.201)
睡眠时间	-0.068	0.037	3.359	0.067	0.899 (0.845~1.032)
年龄	0.156	0.074	3.319	0.069	1.122 (0.989~1.428)
体重指数	1.356	0.730	3.011	0.083	3.220 (0.835~14.261)

注: 体重指数≥25=1, 体重指数<25=0; 文化程度: 文盲=1, 小学=2, 初中=3, 高中=4, 大专及以上=5; 舒张压≥90mmHg=1, 舒张压<90mmHg=0, 表 5 同。

2.5 噪声作业工人心电图异常与 HSP70 抗体水平的单因素分析

本次调查共诊断心电图异常 104 例, HSP70 抗体阳性 82 例, 阳性率 21.0%。心电图异常组的 HSP70 抗体阳性者 37 例, 阳性率 35.6%, 明显高于心电图正常组 (阳性率为 15.7%), 两组比较差异有非常显著意义 (P<0.01)。各种类型心电图异常者的 HSP70 抗体阳性情况见表 4。

由表 4 可见, 各类心电图异常组的 HSP70 抗体阳

性率均高于心电图正常组, 其中窦性心律失常、慢性心肌缺血、异位节律组与正常组比较差异有非常显著意义 ($P < 0.01$), 其余各组差异无显著意义 ($P > 0.05$)。

表 4 各类心电图异常者的 HSP70 抗体阳性情况

心电图结果	人数	HSP70 抗体 阳性例数	阳性率 (%)
正常	287	45	15.7
窦性心律失常	45	17	37.8**
左心室高电压	20	4	20.0
慢性心肌缺血	11	6	54.5**
传导异常	9	3	33.3
异位节律	6	4	66.7**
其他异常	13	3	23.1
合计	391	82	21.0

注: 其他异常包括心电图轴偏移、心脏转位。

与正常组比较 ** $P < 0.01$

2.6 心电图异常的 Logistic 回归分析

心电图异常的危险因素较多, 为排除其他因素的影响, 进一步探讨噪声作业者 HSP70 抗体水平与心电图异常的关系, 我们以心电图异常为因变量, 以 HSP70 抗体水平及影响心电图的常见因素和累计噪声暴露量为自变量进行 Logistic 回归分析。结果表明, CNE、舒张压、HSP70 抗体等因素与心电图异常有关。在排除其他因素影响后, CNE 每增加 1dB (A)° 年, 发生心电图异常的危险性增加 0.061 倍。而 HSP70 抗体阳性者发生心电图异常的危险性是 HSP70 抗体阴性者的 2.67 倍, 提示 CNE、HSP70 抗体阳性等可能是心电图异常的危险因素, 结果见表 5。

表 5 心电图异常的多因素非条件 Logistic 回归分析

变量	偏回归 系数	标准误	Wald 值	P 值	OR 值 (95%CI)
常数项	-7.257	1.602	20.526	0.000	
HSP70 抗体	0.981	0.280	12.297	0.000	2.668 (1.542~4.616)
CNE	0.059	0.016	13.961	0.000	1.061 (1.028~1.094)
体重指数	-0.692	0.309	5.023	0.025	0.500 (0.273~0.917)
舒张压	0.727	0.333	4.754	0.029	2.069 (1.076~3.976)
年龄	0.136	0.074	3.357	0.067	1.145 (0.991~1.324)
吸烟	0.002	0.001	3.327	0.068	1.002 (1.000~1.003)
睡眠时间	-0.033	0.019	3.011	0.083	0.967 (0.932~1.004)

注: HSP70 抗体阳性 = 1, 阴性 = 0。

3 讨论

外界环境刺激如高温、缺氧、毒物等均可引起机体产生热应激蛋白, 它是对机体的一种保护机制, 但这种保护机制有一定的限度。当外界刺激长期存在,

使 HSP70mRNA 长期异常表达, 以及外界刺激超过机体的耐受极限或机体受损时, HSPs 便有可能作为自身抗原产生抗体, 增加自身免疫反应的危险性^[5]。根据 HSPs 在 SDS-PAGE 上的结果, 按分子量大小将其分为几个家族: HSP110、HSP90、HSP70、HSP60、小分子 HSPs 及泛素等, 其中, 最主要、诱导性最强的是 HSP70^[1]。噪声作为机械行业最常见的职业危害因素, 对其所造成的健康影响的研究日益深入, 目前除对听觉系统损害的研究外对心血管影响的研究也较多。工业噪声作为强烈的外界环境刺激, 有关接触工人 HSPs 抗体水平如何, 特别是抗体水平与噪声作业者心血管疾病的关系、是否与心血管疾病的发生机制相关的报道国内外较少。我们测定了 391 例噪声作业者血浆 HSP70 抗体滴度, 经趋势 χ^2 检验和 Logistic 回归分析发现, HSP70 抗体阳性率随着 CNE 的增加而明显升高, 提示长期职业噪声暴露可引起工人血浆 HSP70 抗体阳性率升高。同时我们发现心电图异常组的累积噪声暴露量明显高于正常组 ($P < 0.01$), 进一步分层分析和多因素 Logistic 回归分析发现, 随着累积噪声暴露量的增加, 心电图异常率明显升高, 说明心电图异常与工人累积噪声暴露水平有明显正相关关系。提示职业噪声暴露可影响工人心脏功能。

为研究 HSP70 抗体与噪声作业者心脏功能异常的关系, 比较了心电图异常组与正常组的 HSP70 抗体水平, 结果异常组 HSP70 抗体阳性率明显高于正常组 ($P < 0.01$), 提示 HSP70 抗体可能与心电图异常之间有一定联系。为排除混杂因素的影响, 对心电图异常与有关因素的关系进行 Logistic 回归分析, 结果 HSP70 抗体被引入回归方程, 其 OR 值为 2.67, 表明 HSP70 抗体可能是噪声作业者心电图异常的危险因素。

迄今为止, 噪声引起心血管功能异常的机制尚不清楚, 一般认为噪声影响了人体的神经血管功能, 刺激中枢神经系统以及改变大脑皮质的兴奋抑制功能, 继而造成心血管系统一系列改变^[2,6], 如通过减压反射引起噪声暴露者的心率减慢, 噪声作业工人窦性心动过缓、心律失常发生率增高。此外, 噪声还可通过增加外周阻力和 β 受体对心脏的作用, 影响心肌供血和耗氧, 造成心肌缺血^[9]。从本次调查结果来看, 窦性心律失常、慢性心肌缺血和异位节律者的 HSP70 抗体阳性率明显高于心电图正常组 ($P < 0.01$), 与上述噪声引起心血管功能异常的机制相符, 推测

(下转第 288 页)

表 1 Hoechst 33258/PI 荧光染色检测凋亡率和坏死率%
($\bar{x} \pm s, n=3$)

醋酸铅浓度 (mmol/L)	凋亡率 (%)	坏死率 (%)
0 (对照组)	3.1 ± 1.1	3.0 ± 0.5
0.25	13.4 ± 3.3 *	3.9 ± 0.3
0.50	26.6 ± 6.3 **	7.2 ± 1.7 **

与对照组比较, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.3 醋酸铅对 caspase-3 活性的影响

对照组、DEVD-fmk 预处理组及 0.25 mmol/L、0.5 mmol/L 醋酸铅处理组的 caspase-3 相对活性 (A_{405nm}) 分别为 0.058 ± 0.005、0.061 ± 0.004、0.309 ± 0.023、0.547 ± 0.045。DEVD-fmk 预处理组的 caspase-3 活性与对照组比较无统计学意义,但 0.25、0.5 mmol/L 醋酸铅处理组的 caspase-3 活性均明显高于对照组 ($P < 0.01$)。

3 讨论

铅可对中枢和周围神经系统产生毒性作用,引起神经系统的功能改变。研究发现,铅对神经系统的毒性作用机制可能与铅诱导神经元过度凋亡有关^[1,2]。国内安兰敏等^[1]报道醋酸铅染毒成年 SD 大鼠后,大鼠海马、皮层组织凋亡细胞明显增多,显著高于对照组,并与铅染毒剂量有较好的剂量-反应关系,其凋亡机制可能与 fos、jun 的参与有关。Sharifi 等^[2]通过在 2~4 周和 12~14 周大鼠腹膜内注射醋酸铅 7 周,发现海马区细胞的死亡部分是通过凋亡途径。

本研究的结果显示,用 0.25、0.5 mmol/L 醋酸铅处理 PC12 细胞 48 h,用流式细胞仪检测到凋亡峰,荧光染色观察到典型的凋亡形态学改变,0.25、0.5 mmol/L 醋酸铅处理组的凋亡率均明显高于对照组。因此,醋酸铅可诱导 PC12 细胞凋亡,进一步证明铅的神经毒性与细胞凋亡有关。荧光染色结果发现,0.5 mmol/L 醋酸铅处理组的坏死率也明显高于对照组 ($P < 0.01$),说明铅浓度过高可使 PC12 细胞以坏死方式死亡。

Caspase 家族存在于哺乳动物细胞中,是与线虫细胞死亡蛋白 CED-3 相似的一类蛋白酶,其中 caspase-3 是最关键的一员。近年发现一些物质诱导 PC12 细胞凋亡中有 caspase-3 的活化^[5~7]。Jiang 等发现 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞凋亡有 caspase-3 的参与^[3], Boccellino 等报道苯乙烯-7,8-氧化物诱导 PC12 细胞凋亡与 caspase-3 的活化有关^[4], Kitazawa 等用 100~300 μmol/L 狄氏剂 (一种杀虫剂) 处理 PC12 细胞,发现 caspase-3 以剂量和时间依赖性的方式活化^[7]。本研究用 0.25、0.5 mmol/L 醋酸铅处理 PC12 细胞 48 h,也发现 caspase-3 活性明显升高。因此醋酸铅诱导 PC12 细胞凋亡可能有 caspase-3 的参与,铅的神经毒性可能与 caspase-3 的活化有关。对于 caspase-3 抑制剂能否用于缓解铅所致的神经毒性将值得深入探讨。

参考文献:

- [1] 安兰敏, 牛玉杰, 秋震宇, 等. 铅对大鼠细胞凋亡及癌基因表达的影响 [J]. 中国公共卫生, 2003, 19 (10): 1216-1218.
- [2] Sharifi AM, Baniasadi S, Jorjani M, et al Investigation of acute lead poisoning on apoptosis in rat hippocampus in vivo [J]. Neurosci Lett, 2002, 329 (1): 45-48.
- [3] 李立宏, 高国栋, 王学廉, 等. 多巴胺诱导 PC12 细胞凋亡的免疫组织化学及超微结构分析 [J]. 第四军医大学学报, 2001, 22 (4): 326-329.
- [4] Grub S, Persohn E, Trommer WE, et al Mechanisms of cyclosporine A-induced apoptosis in rat hepatocyte primary cultures [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2000, 163 (3): 209-220.
- [5] Jiang B, Liu JH, Bao YM, et al Hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells and the protective effect of puerarin [J]. Cell Biol Int, 2003, 27 (12): 1025-1031.
- [6] Boccellino M, Cuccovillo F, Napolitano M, et al Styrene-7,8-oxide activates a complex apoptotic response in neuronal PC12 cell line [J]. Carcinogenesis, 2003, 24 (3): 535-540.
- [7] Kitazawa M, Anantharam V, Kanthasamy AG. Diehrin induces apoptosis by promoting caspase-3-dependent proteolytic cleavage of protein kinase Cδ in dopaminergic cells: relevance to oxidative stress and dopaminergic degeneration [J]. Neuroscience, 2003, 119 (4): 945-964.

(上接第 285 页)

HSP70 抗体可能参与了噪声导致作业工人心功能异常的发生过程。随着研究工作的深入, HSP70 有望成为心脏功能异常的检测指标。但心电图异常者 HSP70 抗体产生的机制及 HSP70 抗体参与心脏生物电流改变的过程尚有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 张国高, 贺涵珍, 邹春春. 热应激蛋白及其在职业医学中应用研究的展望 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1998, 16: 67-69.

- [2] 刘文魁, 蔡荣泰. 物理因素职业卫生 [M]. 北京: 科学出版社, 1995, 49-59.
- [3] 赵一鸣. 累积噪声暴露量与高血压患病率的剂量-反应关系 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1993, 11: 325-327.
- [4] Wu T, Jimiang Ma, Sheng Chen, et al. Association of plasma antibodies against the inducible HSP70 with hypertension and harsh working conditions [J]. Cell Stress & Chaperones, 2001, 6 (4): 394-401.
- [5] Burlon RH. Heat shock proteins in relation to medicine [J]. Mol Aspects Med, 1993, 14: 83-165.
- [6] 何凤生. 中华职业医学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999, 1025-1028.