

职业医学研究中值得注意的若干问题

顾祖维

(上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

职业医学是研究从事职业的个人和群体与职业有关的健康问题, 目的在于控制职业危害因素, 保护职业人群的健康, 促进人民健康与社会、环境和国民经济和谐地持续发展。我国自建国以来的55年里, 从劳动卫生发展到职业医学(或职业卫生)有了长足的进步, 取得了巨大的成就, 在庆祝新中国成立50周年的一系列文章中已作了总结。本文拟对我国职业医学研究中存在的一些主要问题, 提出来与同道讨论。

1 加强多因素的综合研究

职工个人或职业人群从事某种职业, 往往同时或先后受到多种职业危害因素的影响, 健康的损害是多种因素联合作用的结果。化工行业中工人同时接触多种化合物是常见的事。吸烟、饮酒、药物可以加重职业因素的危害是众所周知的。营养因素对化学毒物作用的减弱或增强近来受到重视。在国外, 职业危害的调查中还注意到上班路程和职业紧张的有关因素。目前不少报告的研究工作, 常常只考虑单个因素, 发现的不良效应就归咎于所关注的因素, 这显然是不合理的, 尤其当观察的指标大多数是非特异的。现时已有不少统计软件, 如SAS, SPSS/PC, Epi Info 和 STAT等可用于多因素的综合研究和分析。

2 评价化学物接触水平的新问题

我国化学物的职业接触限值从最高容许浓度(MAC)转换到时间加权平均浓度(PC-TWA), 因此监测职业人群化学物接触水平的方法必须作相应的更改。这里包括过去定点、短时间采样所积累的化学物的浓度资料如何利用, 能否转成8h时间加权平均浓度, 还有现在如何评价化学物的接触水平。理想的方法是提供个体采样器, 进行8h跟踪采样。但是按我国目前条件, 在相当长时间内提供大量这类采样器, 估计有一定困难。为此, 有些学者正在着手探索解决的办法。这些研究结果和提出的方法能否适用所有职业环境的评价是个问题。其中采用定点采样加工时测定, 并适当延长采样时间, 然后计算时间加权平均浓度, 可能是一个权宜的办法。我国现有300多种化学物的职业接触限值, 但其中还有不少化学物没有标准的检测方法, 它们都有待研究。

3 正确使用生物监测结果评价职业危害

生物监测与环境监测在评价职业危害因素的接触水平方面具有互补作用, 对这点, 职业医学工作者已有共识。事实上, 生物监测与环境监测一样, 不能凭一次测定结果对所观察人群的接触水平作出评价, 尤其是不能对化学物浓度波动大的工作场所进行评价。在环境中化学物浓度与其生物监测的接触标志物关系的研究中, 必须了解这些标志物在体内的半减期。有人报告二硫化碳2年累计接触量与尿中2-巯代噻唑烷4-羧酸(TTCA)浓度和工人工龄<5年及>15年者作相关

分析, 显然这种分析是不合理的。因为TTCA的半减期为5h, 现知6个半减期后体内实际残留的量基本上可以忽略不计。由此可知, 尿中TTCA的量只反映近期30h以内的接触水平, 它与这段时间空气中CS₂浓度作相关分析才有意义。同理, 乙苯和苯乙烯的代谢产物扁桃酸半减期为4h, 甲苯和二甲苯的代谢产物分别为马尿酸和甲基马尿酸, 它们的半减期分别为1.5和3.6h, 不能做上述一类研究。此外, 有报告检查了正己烷中毒患者和接触不同浓度正己烷工人尿中2,5-己二酮的浓度, 发现中毒患者尿中己二酮浓度都低于未发生中毒的工人, 分析结果时感到困惑。后来了解到中毒患者是在住院数天后采的尿样, 而工人是在工后采的尿。知道了己二酮的半减期为15h, 则上述结果就不难解释。另有人以尿中硫氰酸盐浓度为丙烯腈接触标志物, 研究丙烯腈对衰老的影响。因为有人发现衰老时CYP2E1酶的活性下降。据此, 他们以CYP2E1活性作为衰老的效应标志物进行研究。这项研究存在的问题是显而易见的: (1) 以反映短时接触水平的尿中硫氰酸盐浓度, 分析需长期作用才可产生的效应的关系是不合理的; (2) 衰老时可见到CYP2E1酶活性下降, 但其逆定理不一定成立, 即CYP2E1酶活性下降, 不一定说明衰老的存在。类似的不合理使用生物监测的例子, 在发表的论文中并不鲜见。

职业医学研究中, 观察职业有害因素的效应时, 有一些研究人员不注意统计学意义与生物学意义的区别。只注重 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 而忽略了接触组与对照组之间所观察到的某生物标志物数值差异是否有生物学意义。目前职业医学研究的主要任务是控制有害效应, 而不是研究职业有害因素对任何效应的增高或降低。这就要求研究人员对所选生物标志物的生物学意义有较深入的了解, 掌握它们的正常波动范围。一般而言, 接触组的数值落在正常范围以内, 不管它与对照组在统计学上的差异是 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 这种差异的生物学意义不可过高的估计。此外, 在调查生殖毒性效应时, 检测血中性激素水平时, 如果不考虑性激素水平存在周期性变化, 若采血时间不固定在周期的某一天, 则结果无可比性。细胞凋亡和热应激蛋白等指标, 过高或过低都可能反映有害效应, 其判断标准的界定, 都值得深入探讨。

4 分子职业医学研究中存在的问题

人类基因组计划的实施, 科学界利用大规模基因组的研究方法和成果, 开拓了环境基因组学、毒物基因组学、蛋白质组学、细胞组学等研究的新领域。国内研究环境因素对基因表达的影响、基因的多态性与环境因素危害的关系、毒物致细胞恶变后蛋白质表达差异、畸形胚胎基因表达的变化等的研究日益增多。其中基因芯片、蛋白质芯片、蛋白质双向电泳等新技术,

为在分子水平深入了解毒物对机体作用提供了有效的手段,但在这些新的研究领域中存在不少问题有待探索。

4.1 毒物对基因影响的过程不清楚

毒物对基因的影响是通过影响基因在 mRNA 水平和蛋白质水平的表达实现的。一般毒物对基因发生作用,引起某些基因 mRNA 表达增强或减弱十分迅速,以分钟和小时计,其持续时间较短。随之蛋白质的表达发生相应改变,而蛋白质(酶,受体等)的半衰期远远长于相应的 mRNA。故要发现 mRNA 表达的改变,必须在毒物作用后短时间内测试,以分钟、小时为间隔时间研究其改变的时间过程,否则会错过表达有效时间,而获得假阴性结果。如氯乙烯诱发 CYP2E1 酶活性增高,但 CYP2E1 mRNA 的表达水平未见明显增加;在研究铜的作用中,仅见金属硫蛋白(MT)表达增加,而未见 MT mRNA 的表达增高;这些很可能是由于上述原因所致。

4.2 环境因素与基因的关系

环境有害因素对生物体作用的研究要考虑环境因素与基因两方面的作用。目前国内外不少报告涉及基因多态性对毒物作用影响的研究。国内研究铅和苯的报告较多,如 ALAD 基因多态性(ALAD1 和 ALAD2)与血铅和铅中毒关系。从文献总结可知,目前很难确定何种基因型个体对铅毒性更易感。这类研究的问题在于,不同 ALAD 基因型的铅接触人群,在铅的接触水平方面是否相同。铅接触水平对血铅浓度的影响肯定比基因多态性的影响要大。但是要选择相同的铅接触水平的人群作研究十分困难。此外,这类研究的样本含量一般较小,造成相对危险度的 95% 可信限可达 0.37~11.77 类似的数值,难以获得可靠结果。

4.3 生物芯片的应用问题

在基因芯片、蛋白芯片技术应用中,如何提高结果的重现性至关重要。基因和蛋白的表达随时间、组织、器官、细胞种类和生物体状态及所处环境而不断变化。掌握正常的基因和蛋白表达谱是判断毒物作用的基础。因此每次实验至少应作两个芯片的测试,而如何从成千上万的数据中,选择真正与毒物作用有关的基因或蛋白十分关键。判断基因有改变(基因丢失、出现新基因、基因表达上调或下调)的标准有待研究。目前有人提出以基因表达信号的比值 ≤ 0.5 和 ≥ 2 , 也有 ≤ 0.2 和 ≥ 5 为判断标准。判断标准不同,对结果的解释差别很大。在暂时不能确定判断标准时,将基因表达差别的信号比值 ≤ 0.5 和 ≥ 2 的具体数值列出,供其他研究人员或今后进一步分析。此外,统计分析两组间表达的基因均数差异有无显著意义,在这类研究中的意义不大。因为虽然均数差异不显著,但是如果发现两组间有 1 个基因表达有差异,这个发现应该是重要的,而且研究者应致力去发现这种个别的差异。目前生物信息学中表达数据分析的研究甚多,Internet 上可查到 2003 年专题国际会议的摘要 Abstracts; Statistical Methods for Gene Expression; Microarrays and Proteomics 或查 University of Minnesota Online Privacy Statement。在国内 K-means 聚类分析方法应用较多。

5 值得重视的新课题

关于如何外推种属之间的毒性效应,如何预测多种化学物联合作用方式,如何确定环境和遗传因素在疾病发生中的相对作用,化合物的结构与毒性关系及如何预测新化学物的毒性,对新型产品如转基因食品、新型生物制品如何进行安全性评价,都是职业医学的重要课题,也是需要长期研究的课题。

关于与职业医学有关的毒理学新课题,现仅对纳米材料和 Homesis 问题作些粗浅讨论。

与过去半个世纪里超声、激光和计算机等新技术的应用对职业医学挑战一样,纳米材料的职业医学问题已成为 21 世纪的新课题。纳米材料的特性之一,是当物质细分到纳米尺度时,将发生性质上的变化,甚至有很多超常规的特异性能出现。据报道,金属纳米材料中粒径为 0.5 nm 的碳粒子,有可能通过简单扩散穿过气-血屏障和皮肤侵入体内;难溶性化学物制成纳米颗粒后吸收率会明显增高。所以纳米级的金属粒子的毒性预计要比微米级的更大。纳米材料受到关注的最大原因在于纳米级的粒子可能易穿透细胞核膜,与 DNA 发生作用造成遗传物质的损伤。如果真是如此,可想而知,其危害将是十分严重。所以在对纳米材料的危害评价时,重点要注意它们的遗传毒作用,并与相同化学物的微米级的粒子材料相比较,才能对上述问题作出科学的结论。

Homesis 国内通常译为兴奋效应。早在 19 世纪 80 年代有人发现“兴奋效应”现象,即高剂量的各种抗生素可抑制细菌生长,而剂量低到一定程度则能促进细菌生长。后来实验证明许多低剂量的辐射线和化学物都有促进细菌、植物和其他生物生长的效应。现在一般认为兴奋效应是指化学物在低于无可见的有害作用水平(NOEL)以下的剂量具有兴奋或刺激的作用,与高剂量的作用相反,一般有益于受试的生物体。Calabrese Edward 发现 1791 个低于 NOEL 的剂量,其中有 171 个剂量的反应大于对照组的反应,这说明兴奋效应较普遍存在,但并不是全部化学物的反应都存在兴奋效应。此外,不是所有的兴奋效应都是有益的。有报道指出,极低剂量的双酚 A 喂饲受孕小鼠,其雄性仔鼠的前列腺增大,这种效应恰恰与其较高剂量的效应相反。兴奋效应在我国尚未引起注意。而它在职业医学中的意义,包括对毒物的安全性评价、危险度评定和卫生标准制定的影响,都有待深入研究。

作者简介: 顾祖维(1935—),男,上海人;1960年毕业于苏联列宁格勒公共卫生医学院;1979~1981年法国访问学者;1987年获法国国家毒理学博士学位;1960~1992年在上海医科大学任教,曾任劳动卫生教研室主任;1989~1992年应邀赴美国疾病控制中心NIOSH工作,兼聘为美国国家研究委员会(NRC)高级研究员;1992年10月~1998年任上海市劳动卫生职业病防治研究所研究员;1999年至今任上海市疾病预防控制中心研究员,从事职业医学和遗传及分子毒理学研究。现任中国毒理学会生化与分子毒理专业委员会委员,国家自然科学基金会同行评议专家,《毒理学杂志》、《工业卫生与职业病》、《环境与健康展望》副主编,《中华劳动卫生职业病杂志》、《中国工业医学杂志》、《中国公共卫生》、《环境与职业医学》编委等;任20多部参考书主编或副主编,发表论文210余篇,享受国务院特殊津贴。