

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺陷对苯醌染毒 K562 细胞毒性的影响

杨文文, 韦海燕, 曹萌, 张娟

摘要: [目的] 探讨葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺陷对苯醌(BQ)染毒人慢性髓性白血病(K562)细胞毒性的影响。[方法] 用不同浓度的BQ(0、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)处理野生型K562细胞,应用MTT比色法检测BQ对受试细胞的增殖抑制作用,Western blot法检测G6PD蛋白表达的变化。构建G6PD-set RNA干扰慢病毒,并感染野生型K562细胞株;以转染空载体的野生型K562细胞作为阴性对照细胞,荧光实时定量-聚合酶链反应(real-time PCR)法检测G6PD基因的mRNA表达量。再用不同浓度的BQ处理G6PD缺陷的K562-WT细胞(K562-G6PD Δ)和阴性对照细胞,检测细胞增殖抑制作用,比色法检测细胞中还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)水平。[结果] MTT结果表明,与BQ浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 的BQ作用24、48、72 h后,野生型K562细胞相对增殖率均明显降低($P < 0.05$)。Western blot结果显示,低剂量下(BQ浓度 $< 40 \mu\text{mol/L}$ 时)随着BQ浓度的增加,G6PD蛋白含量亦增加($r=0.809$, $P=0.008$);当BQ浓度升至40 $\mu\text{mol/L}$ 时,G6PD蛋白含量有所下降,但仍高于BQ浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ 组($P < 0.05$)。real-time PCR法检测结果显示,K562-G6PD Δ 细胞的G6PD mRNA表达量较阴性对照降低了86.65%,表明K562-G6PD Δ 细胞构建成功。干预G6PD后,MTT结果表明,与阴性对照细胞相比,K562-G6PD Δ 细胞暴露于不同浓度BQ后,其相对增殖率均明显降低($P < 0.05$)。比色法结果表明,当BQ浓度为20、40 $\mu\text{mol/L}$ 时,K562-G6PD Δ 细胞中GSH浓度明显降低,而在阴性对照细胞中,当BQ浓度为40 $\mu\text{mol/L}$ 时GSH浓度明显降低;当BQ浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 时,较阴性对照细胞相比,K562-G6PD Δ 细胞中GSSG浓度显著升高($P < 0.05$)。[结论] 野生型K562细胞暴露于BQ后细胞增殖受抑制,氧化产物增加的同时可能通过激活G6PD等抗氧化系统以抵抗机体所受的氧化损伤;而G6PD缺陷后,由于G6PD不能被激活,在暴露于较低剂量的BQ时即可使细胞内GSH耗竭导致GSSG在细胞内堆积而使细胞增殖抑制毒性增加。

关键词: G6PD缺陷; 苯醌; 谷胱甘肽; 氧化损伤; K562细胞

Effects of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency on Cytotoxicity of Benzoquinone on K562 Cells YANG Wen-wen, WEI Hai-yan, CAO Meng, ZHANG Juan (Key Laboratory of Environmental Medicine Engineering of Ministry of Education/School of Public Health, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China). Address correspondence to ZHANG Juan, E-mail: 101011288@seu.edu.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To evaluate the effects of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency on the cytotoxicity of benzoquinone (BQ) on K562 cells. [Methods] After treatment with different concentrations of BQ (0, 10, 20, and 40 $\mu\text{mol/L}$), MTT assay was used to detect the relative growth rate of K562-WT cells, and Western blot assay was used to measure the protein expression level of G6PD. RNA interference lentivirus targeting G6PD gene was constructed and transfected into K562-WT cells, while negative control group was transfected with empty vector. Quantitative real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) was applied to measure the mRNA expression of G6PD. MTT assay and colorimetric assay were used to detect the relative growth rate as well as reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) in G6PD defective K562-WT cells (K562-G6PD Δ) and negative control cells after treatment with different concentrations of BQ. [Results] The results of MTT assay indicated that the relative growth rates of K562-WT cells remarkably decreased with higher BQ concentrations compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ BQ group ($P < 0.05$) at 24, 48, and 72 h. The results of Western blot showed that the G6PD protein level was increased first ($r=0.809$, $P=0.008$) and then decreased when the cells were exposed to 40 $\mu\text{mol/L}$ BQ, but was still higher than that of 0 $\mu\text{mol/L}$ BQ group ($P < 0.05$). The results of real-time PCR showed the G6PD mRNA expression of K562-G6PD Δ cells was decreased by 86.65% compared with the negative

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.15593

[基金项目] 国家自然科学基金项目(编号: 81373034); 中央高校基本科研业务费专项基金和江苏省普通高校研究生科研创新计划资助项目(编号: SJZZ_0034)

[作者简介] 杨文文(1990—), 女, 硕士生; 研究方向: 环境卫生学; E-mail: ywwseu@163.com

[通信作者] 张娟, E-mail: 101011288@seu.edu.cn

[作者单位] 东南大学公共卫生学院, 环境医学工程教育部重点实验室, 江苏 南京 210009

control cells. That suggested K562-G6PD Δ cells were successfully constructed. The results of MTT assay indicated that the relative growth rate of K562-G6PD Δ cells was remarkably decreased compared with the negative control cells at each concentration of BQ ($P < 0.05$). The results of colorimetric assay showed that the level of GSH in K562-G6PD Δ cells was decreased when exposed to BQ concentrations of 20 and 40 $\mu\text{mol/L}$, while in the negative control cells the decrease occurred at 40 $\mu\text{mol/L}$. The level of GSSG in K562-G6PD Δ cells increased significantly compared with the negative control cells when exposed to the BQ concentration of 10 $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$). [Conclusion] The results of this study suggested that the proliferation of K562-WT cells could be inhibited with exposure to BQ, while G6PD is activated to produce GSH to resist oxidative damage. So, G6PD couldn't be activated in G6PD defective cells, which might lead to GSH depletion and GSSG accumulation as well as increase the cytotoxicity when the cells are exposed to relatively low doses of BQ.

Key Words: glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency; benzoquinone; glutathione; oxidative damage; K562 cell

苯作为一种常用的有机溶剂和化工原料,被广泛使用于工业生产,苯同时也是常见的环境污染物^[1-3]。国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)已确认苯是对人类有致癌作用的化学致癌剂^[4]。长期一定剂量的职业性苯暴露,会对机体产生造血毒性,导致贫血、骨髓增生异常综合征和血液系统恶性肿瘤等疾病^[5-7]。目前普遍认为,苯的氧化代谢产物如酚类、醌类等的累积作用,而不是苯自身,介导了苯对机体产生的造血毒性^[8-9]。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)是葡萄糖磷酸戊糖旁路代谢途径中的一个关键酶,能够催化葡萄糖-6-磷酸脱氢,使辅酶 II(NADP^+)还原为还原型辅酶 II(NADPH)。在谷胱甘肽还原酶的催化作用下, NADPH 使氧化型谷胱甘肽(GSSG)转化为还原型谷胱甘肽(GSH),GSH可以与苯的氧化代谢产物结合排出体外,从而减少苯对机体的氧化损伤^[10-12]。G6PD缺陷可造成 NADPH 生成不足,使细胞内GSH含量减少,导致苯的氧化代谢产物堆积,产生造血毒性^[13]。本课题组前期研究发现,苯暴露可诱导造血细胞内活性氧升高,血清、肝脏中G6PD水平明显升高^[14],提示G6PD可能参与苯的解毒作用。苯进入机体后经过多步反应最终在骨髓内被髓过氧化物酶(MPO)催化为终致癌物苯醌(BQ)^[8-9]。因此,骨髓是苯毒性的重要靶器官。本研究拟用BQ对人慢性髓系白血病细胞(K562)进行染毒,同时在体外构建G6PD低表达K562细胞株,研究G6PD缺陷对BQ染毒K562细胞毒性的影响。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

伊思柯夫改良培养液(IMDM)/胎牛血清(Gibco,

美国); PrimeScriptTM RT Master Mix(RR036A, TaKaRa, 日本); real-time PCR Master Mix(TOYOBO, 日本); 四甲基偶氮噻唑盐(MTT, Sigma, 美国); BQ/二甲基亚砜(Sigma, 美国); GSH和GSSG检测试剂盒(S0053, 江苏碧云天生物技术研究); G6PD抗体和ACTIN抗体(Abcam, 香港); 蛋白定量试剂盒(BCA)及化学发光底物反应液(ECL)(Thermo Fisher, 美国); 奥林巴斯荧光显微镜(南京奥利科学仪器有限公司); 全自动化学发光成像分析系统(Tanon 5200, 上海天能); Mithras LB941多功能酶标仪(Berthold technologies, 德国)。

1.2 细胞株制备及培养鉴定

野生型人慢性髓性白血病(K562-WT)细胞株购自中科院上海细胞库,常规培养于含体积分数10%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 U/mL链霉素的IMDM中,培养条件为37℃、体积分数5% CO_2 。G6PD-set RNA干扰慢病毒(上海吉凯公司),用该病毒感染K562野生细胞株,构建G6PD缺陷细胞株(K562-G6PD Δ);以转染空载体的野生型K562细胞株为阴性对照。感染72 h后提取总RNA,经逆转录合成cDNA后,以 β -actin为内参照,荧光实时定量-聚合酶链反应(real-time PCR)检测干扰效率。 β -actin和G6PD的循环条件为:95℃ 5 min, 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 95℃ 15 s, 共40个循环。每个样品的G6PD基因浓度除以其 β -actin基因浓度,即为此样品的G6PD相对含量。K562-G6PD Δ 和阴性对照细胞具有嘌呤霉素抗性,所以在常规培养基中加入终质量浓度为0.3 $\mu\text{g/mL}$ 的嘌呤霉素以维持其抗性。实验时,取对数生长期细胞,1000 $\times g$ 离心5 min,重悬细胞调节其浓度,加入用IMDM稀释的BQ溶液至终浓度为0、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$,细胞密度为1 $\times 10^5$ 个/mL。每个剂量组

设3个复孔。

1.3 实验方法

1.3.1 MTT法检测BQ对细胞的增殖抑制作用 取对数生长期K562细胞制成单细胞悬液,以5000个细胞/孔接种于96孔培养板中。0 $\mu\text{mol/L}$ 组不加BQ染毒,空白组不加细胞及毒物。染毒结束后每孔加入20 μL MTT溶液(5 mg/mL),继续培养4 h,后将96孔板2000 $\times$ g离心10 min,小心吸去孔内培养液,每孔加入150 μL 二甲基亚砜(DMSO)溶解蓝紫色结晶物,在酶标仪上选择490 nm波长测定光密度(D)值。按公式计算各组细胞相对增殖率,细胞相对增殖率= $(D_{\text{染毒组}}-D_{\text{空白组}})/(D_{0\mu\text{mol/L}}-D_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.3.2 蛋白印迹法测定G6PD蛋白表达量 6孔板每孔种 2×10^5 个细胞,染毒48 h后收集细胞。用蛋白裂解液提取蛋白。取30 μg 蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),条件:70 V电泳120 min,140 mA转膜240 min,体积分数5%的牛奶溶液,室温封闭1 h。分别加入1:2000倍稀释的兔抗人G6PD,鼠抗人 β -Actin单克隆抗体于4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育;后用TBST溶液洗膜3次,10 min/次,再加入1:5000倍稀释的辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗鼠IgG,1:2000倍稀释的HRP标记的羊抗兔IgG,室温摇床孵育2 h;后TBST溶液洗膜3次,10 min/次,最后用TBS溶液洗膜10 min。用全自动化学发光成像分析系统进行曝光,并利用ImageJ1.49v软件对各剂量组G6PD蛋白印记灰度和 β -Actin灰度进行分析,计算G6PD/ β -Actin比值。

1.3.3 分光光度法检测细胞中谷胱甘肽含量 6孔板每孔接种 2×10^5 个细胞,染毒12 h后收集细胞,通过液氮和37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴进行3次快速冻融后12000 $\times$ g离心10 min提取细胞上清。96孔板中依次加入标准品和样品,然后加入总谷胱甘肽检测工作液,混匀,25 $^{\circ}\text{C}$ 或室温孵育5 min,后加入0.16 mg/mL NADPH溶液,混匀,立即用酶标仪测定波长412 nm处的光密度值,得到样品中总谷胱甘肽浓度。在提取出的细胞上清及标准品中加入GSH清除工作液及GSH清除辅助液以去除GSH,按如上操作测样品中GSSG浓度。总谷胱甘肽的量(GSH+GSSG)扣除GSSG的浓度,计算GSH的浓度。

1.4 统计学分析

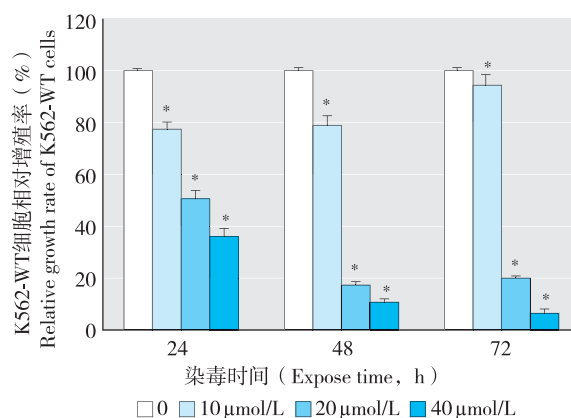
采用SPSS 19.0软件进行分析,资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料组间差异采用单因素方差分析,两两比较采用SNK法。两种细胞间比较采用两样本 t 检验。检验

水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BQ对K562-WT细胞增殖的抑制作用

在显微镜下观察,0 $\mu\text{mol/L}$ BQ组细胞生长旺盛,体积较大,边缘光滑,核大而明显。随着BQ染毒浓度的增加,胞质中颗粒物增多,细胞出现皱缩。BQ为10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 染毒K562-WT细胞24、48、72 h后,细胞相对增殖率均明显低于0 $\mu\text{mol/L}$ 组(均 $P < 0.05$);24、48、72 h 3个染毒时点,各BQ染毒组的细胞增殖率均随染毒浓度的增加而下降(r 值分别为-0.952、-0.904、-0.903,均 $P < 0.01$)。见图1。



[注]*: 与0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, $P < 0.05$ 。

[Note]*: Compared with the 0 $\mu\text{mol/L}$ group, $P < 0.05$.

图1 染毒24、48、72 h各BQ染毒组K562-WT细胞的增殖率

Figure 1 Relative growth rates in K562-WT cells treated with different concentrations of BQ for 24, 48, and 72 h

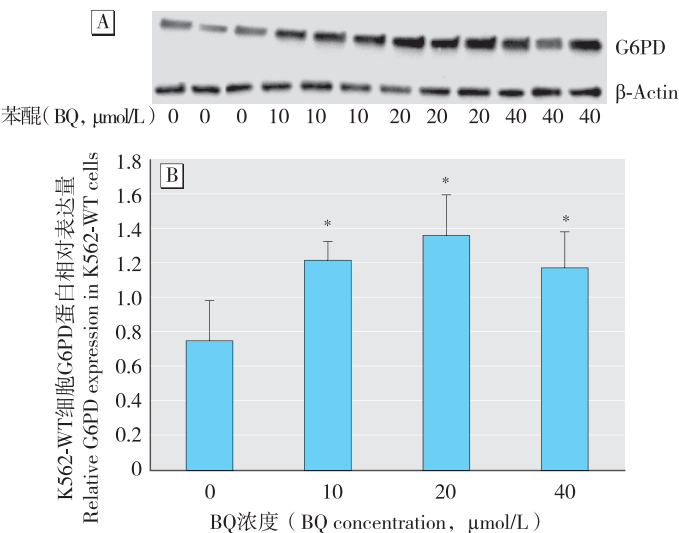
2.2 BQ染毒后K562-WT细胞中G6PD蛋白表达变化

对图2中各剂量组G6PD蛋白印记灰度和 β -Actin灰度进行分析,计算G6PD/ β -Actin比值。BQ染毒浓度为0、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 时,其比值分别为 0.75 ± 0.23 、 1.22 ± 0.10 、 1.36 ± 0.24 、 1.17 ± 0.21 。与0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,当BQ浓度为10、20 $\mu\text{mol/L}$ 时,G6PD蛋白含量随BQ浓度的升高而升高($r=0.809$, $P=0.008$);当BQ浓度升至40 $\mu\text{mol/L}$ 时,G6PD含量有所下降,但仍高于0 $\mu\text{mol/L}$ 组($P < 0.05$)。

2.3 G6PD缺陷的K562稳转细胞鉴定

RT-PCR法测得K562-WT细胞中G6PD mRNA表达量为 1.00 ± 0.10 ,阴性对照细胞G6PD mRNA表达量为 0.97 ± 0.04 ,而K562-G6PD Δ 细胞中G6PD mRNA表达量为 0.13 ± 0.01 。K562-G6PD Δ 细胞与阴性对照细胞相比G6PD mRNA表达量降低了86.65%($P < 0.05$)。

0.05), 而阴性对照细胞与 K562-WT 间 *G6PD* mRNA 表达量无明显差异 ($P=0.504$)。表明 *G6PD* 缺陷的 K562 稳转细胞构建成功。



[注]*: 与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, $P<0.05$ 。A: 印迹结果; B: 灰度扫描分析。
[Note]*: Compared with the 0 $\mu\text{mol/L}$ group, $P<0.05$. A: Western blot; B: Grey scale.

图2 不同浓度 BQ 染毒 48h 后 K562-WT 细胞中 G6PD 蛋白表达变化

Figure 2 Relative G6PD expression in K562-WT cells treated with different BQ concentrations for 48h

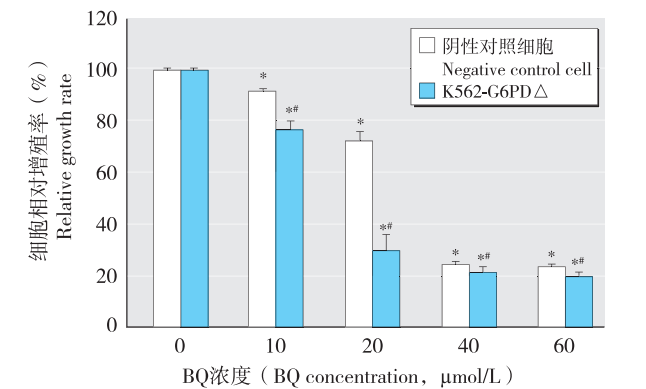
2.4 BQ 对 K562-G6PD Δ 和阴性对照细胞增殖的抑制作用

采用 MTT 法分别检测 K562-G6PD Δ 和阴性对照细胞 BQ 染毒 24h 后的增殖情况(图 3)。与 BQ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比, 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ BQ 作用下的阴性对照细胞和 K562-G6PD Δ 细胞相对增殖率均随 BQ 浓度的增加明显降低(r 值分别为 -0.979 、 -0.912 , 均 $P<0.01$)。BQ 浓度为 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 时, K562-G6PD Δ 细胞相对增殖率分别为 $(77.01 \pm 3.45)\%$ 、 $(29.12 \pm 6.87)\%$ 、 $(21.92 \pm 1.31)\%$, 均明显低于阴性对照细胞的 $(91.95 \pm 1.01)\%$ 、 $(72.26 \pm 3.37)\%$ 、 $(24.86 \pm 0.39)\%$ 。 $(t$ 值, P 值分别为 -7.153 , 0.002 ; -9.772 , 0.001 ; -3.736 , 0.02), 表明沉默 *G6PD* 后 K562 细胞的增殖受到抑制。

2.5 BQ 染毒后 K562-G6PD Δ 和阴性对照细胞中谷胱甘肽水平的变化

与 BQ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比, 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ BQ 作用下的阴性对照细胞和 K562-G6PD Δ 细胞 GSSG 和 GSH 浓度均先升高后降低, 且差异有统计学意义 ($P<0.05$)。表 1 可见, BQ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时, K562-G6PD Δ 中 GSH 浓度 $(8.41 \pm 7.87) \mu\text{mol/L}$, 明显低于阴性对照细

胞 $(79.00 \pm 1.90) \mu\text{mol/L}$ ($t=-9.633$, $P=0.001$)。当 BQ 浓度为 20、40 $\mu\text{mol/L}$ 时, K562-G6PD Δ 细胞中 GSH 浓度明显降低; 而阴性对照细胞, 当 BQ 浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时 GSH 浓度明显降低; 且 BQ 0、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 各剂量组, 与阴性对照细胞相比, K562-G6PD Δ 细胞中 GSH 浓度均明显降低 ($P<0.05$)。当 BQ 浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时, K562-G6PD Δ 中 GSSG 浓度 $(59.17 \pm 1.14) \mu\text{mol/L}$, 明显高于阴性对照细胞 $(33.58 \pm 7.43) \mu\text{mol/L}$ ($t=-5.897$, $P=0.004$), 当 BQ 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, K562-G6PD Δ 中 GSSG 浓度 $(82.98 \pm 3.40) \mu\text{mol/L}$, 亦高于阴性对照细胞 $(66.96 \pm 8.55) \mu\text{mol/L}$ ($t=-3.017$, $P=0.039$)。



[注]#: 与阴性对照细胞比较, $P<0.05$ 。*: 与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, $P<0.05$ 。
[Note]#: Compared with the negative control, $P<0.05$. *: Compared with the 0 $\mu\text{mol/L}$ group, $P<0.05$.

图3 不同浓度 BQ 染毒 24h 后 K562-G6PD Δ 和阴性对照细胞增殖率的变化

Figure 3 Relative growth rates in K562-G6PD Δ cells and negative control cells treated with different concentrations of BQ for 24h

表 1 不同浓度 BQ 染毒 12h 后 K562-G6PD Δ 和阴性对照细胞中 GSH 与 GSSG 水平的变化

BQ ($\mu\text{mol/L}$)	GSSG ($\mu\text{mol/L}$)		GSH ($\mu\text{mol/L}$)	
	阴性对照 Negative control	K562-G6PD Δ	阴性对照 Negative control	K562-G6PD Δ
0	33.58 $\pm$ 7.43	59.17 $\pm$ 1.14 [#]	79.00 $\pm$ 1.90	8.41 $\pm$ 7.87 [#]
10	66.96 $\pm$ 8.55 [*]	82.98 $\pm$ 3.40 ^{**}	56.97 $\pm$ 8.60 [*]	20.90 $\pm$ 7.87 ^{**}
20	62.32 $\pm$ 2.03 [*]	4.18 $\pm$ 0.79 ^{**}	119.79 $\pm$ 1.77 [*]	3.34 $\pm$ 0.04 ^{**}
40	1.95 $\pm$ 0.17 [*]	0.99 $\pm$ 0.25 ^{**}	8.92 $\pm$ 0.88 [*]	0.30 $\pm$ 0.19 ^{**}

[注]#: 与阴性对照细胞比较, $P<0.05$ 。*: 与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, $P<0.05$ 。
[Note]#: Compared with the negative control group, $P<0.05$. *: Compared with the 0 $\mu\text{mol/L}$ group, $P<0.05$.

3 讨论

慢性苯暴露可侵犯多个器官和系统, 其中对造血系统损害最为明显, 临床表现主要是白细胞和血小板

减少,并有出血倾向,严重者出现再生障碍性贫血,甚至引发白血病^[5-7]。在我国,随着工业生产迅猛发展,苯的使用量日益增多,但不少工厂防护措施尚未达到国家规定的标准,加之工人的自我防护意识欠缺,苯中毒仍然是职业病防治的重中之重^[15]。全世界大概有4亿人患有G6PD缺乏症,约5%的人受累^[16]。G6PD缺乏症平时不发病,无症状,常因暴露于强氧化剂(食新鲜蚕豆或药物)发病,又称蚕豆病,发病通常表现为急性溶血性贫血^[3-5]。发病原因是因为G6PD酶活性降低,GSH合成不足,红细胞因氧化损伤而溶血^[6]。以往研究多集中于其对红细胞的损伤,近年来大量研究致力于揭示G6PD对其他细胞氧化损伤的影响^[7]。

BQ是苯的终代谢产物,是一种强氧化剂,本研究中,以不同浓度的BQ染毒K562-WT细胞,K562-WT细胞中G6PD蛋白均高于对照组。结果提示K562-WT细胞暴露于一定浓度BQ时,可能激活G6PD等抗氧化系统以抵抗机体所受的氧化损伤。当K562-G6PD Δ 细胞暴露于不同浓度的BQ时,细胞增殖率均明显低于阴性对照细胞,结果表明沉默*G6PD*后,BQ对K562细胞的增殖抑制毒性显著增加。谷胱甘肽检测结果表明,K562-G6PD Δ 细胞在暴露于不同浓度BQ时,其GSH浓度均明显低于阴性对照细胞,表明沉默*G6PD*后细胞抗氧化能力即低于阴性对照细胞;阴性对照细胞在暴露于40 $\mu\text{mol/L}$ 的BQ时由于细胞不足以代偿高浓度的BQ所致的氧化损伤,细胞中GSSG和GSH浓度均降到较低水平,而K562-G6PD Δ 细胞在暴露于20 $\mu\text{mol/L}$ 的BQ时即出现此变化;表明与阴性对照细胞相比,K562-G6PD Δ 细胞暴露于低剂量BQ时即可由于G6PD不能被激活,GSH合成受限且被大量消耗,导致氧化产物如GSSG在细胞中堆积,而导致细胞毒性增加。

Ho等^[17]用携带*G6PD*缺陷的台湾客家亚型变异新生儿包皮成纤维细胞研究G6PD的生长调节作用,发现与正常细胞相比,*G6PD*缺乏细胞在各种培养条件下均生长缓慢,复制能力下降,提示*G6PD*缺陷可明显抑制细胞的生长和增殖,而外源性G6PD可使生长迟缓逆转,从另一个角度证明了G6PD在细胞生长调节中的重要作用。Jain等^[18]研究发现,心血管功能的缺陷与谷胱甘肽总量减少和GSH生成较少有关。抑制G6PD活性会影响钙平衡,从而引起心肌细胞收缩,而补充抗氧化剂则能逆转这些改变。哈佛

大学糖尿病研究中心^[19]研究发现高糖可抑制内皮细胞、肾脏细胞、胰岛 β 细胞、肝细胞及红细胞膜上的G6PD活性,使细胞内外抗氧化剂活性降低,细胞氧化产物无法还原,导致氧化应激反应加重,进而引起细胞的凋亡。

因此,*G6PD*缺陷可能导致苯毒性的易感性增加,提示应开展进一步深入的研究,以探讨*G6PD*缺陷个体从事苯相关作业的危险性。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] Fan R, Li J, Chen L, et al. Biomass fuels and coke plants are important sources of human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons, benzene and toluene[J]. Environ Res, 2014, 11(135): 1-8.
- [2] Pyatt DW, Hays SM, English C, et al. United States Voluntary Children's Chemical Evaluation Program (VCCP) risk assessment for children exposed to benzene[J]. Toxicol Mech Methods, 2012, 22(2): 81-104.
- [3] Santiago F, Alves G, Otero UB, et al. Monitoring of gas station attendants exposure to benzene, toluene, xylene (BTX) using three-color chromosome painting[J]. Mol Cytogenet, 2014, 7(1): 7-15.
- [4] Vainio H, Heseltine E, Wilbourn J. Priorities for Future IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans[J]. Environ Health Perspect, 1994, 102(6/7): 590-591.
- [5] Snyder R. Leukemia and benzene[J]. Int J Environ Res Public Health, 2012, 9(8): 2875-2893.
- [6] Robert SA, Kerzic PJ, Zhou Y, et al. Peripheral blood effects in benzene-exposed workers[J]. Chem Biol Interact, 2010, 184(1/2): 174-181.
- [7] Irons RD, Gross SA, Le A, et al. Integrating WHO 2001-2008 criteria for the diagnosis of Myelodysplastic Syndrome (MDS): a case-case analysis of benzene exposure[J]. Chem Biol Interact, 2010, 184(1/2): 30-38.
- [8] Dougherty D, Garte S, Barchowsky A, et al. NQO1, MPO, CYP2E1, GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and biological effects of benzene exposure—a literature review[J]. Toxicol Lett, 2008, 182(1/2/3): 7-17.
- [9] Sun P, Qian J, Zhang ZB, et al. Polymorphisms in phase I and phase II metabolism genes and risk of chronic benzene

- poisoning in a Chinese occupational population [J]. Carcinogenesis, 2008, 29(12): 2325-2329.
- [10] Ho H Y, Cheng M L, Chiu D T. Glucose-6-phosphate dehydrogenase—from oxidative stress to cellular functions and degenerative diseases [J]. Redox Rep, 2007, 12(3): 109-118.
- [11] Pandolfi P P, Sonati F, Rivi R, et al. Targeted disruption of the housekeeping gene encoding glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD): G6PD is dispensable for pentose synthesis but essential for defense against oxidative stress [J]. EMBO J, 1995, 14(21): 5209-5215.
- [12] Monks T J, Butterworth M, Lau S S. The fate of benzene-oxide [J]. Chem Biol Interact, 2010, 184(1/2): 201-206.
- [13] Fracasso M E, Doria D, Bartolucci G B, et al. Low air levels of benzene: correlation between biomarkers of exposure and genotoxic effects [J]. Toxicol Lett, 2010, 192(1): 22-28.
- [14] Zhang J, Tan K, Wei H, et al. Peptidomics based serum biomarkers for mice exposed to benzene [C]. The 50th Congress of the European Societies of Toxicology. European: Toxicology Letters, 2014, 229(S): S222.
- [15] 李永胜, 肖勇梅, 刘移民, 等. 苯醌致 HL-60 细胞增殖方法的研究 [J]. 中国职业医学, 2008, 35(5): 382-384.
- [16] Nkhoma E T, Poole C, Vannappagari V, et al. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis [J]. Blood Cells Mol Dis, 2009, 42(3): 267-278.
- [17] Ho H Y, Cheng M L, Lu F J, et al. Enhanced oxidative stress and accelerated cellular senescence in glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient human fibroblasts [J]. Free Radic Biol Med, 2000, 29(2): 156-169.
- [18] Jain M, Cui L, Brenner D A, et al. Increased myocardial dysfunction after ischemia-reperfusion in mice lacking glucose-6-phosphate dehydrogenase [J]. Circulation, 2004, 109(7): 898-903.
- [19] Zhang Z, Liew C W, Handy D E, et al. High glucose inhibits glucose-6-phosphate dehydrogenase, leading to increased oxidative stress and β -cell apoptosis [J]. FASEB J, 2010, 24(5): 1497-1505.

(收稿日期: 2015-10-12)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪; 校对: 丁瑾瑜)

【告知栏】

《环境与职业医学》杂志免收审稿费的通知

本着竭诚为广大作者和读者服务的宗旨,《环境与职业医学》杂志从2016年1月1日起免收审稿费。

《环境与职业医学》唯一投稿方式是在线投稿,官方网址为 <http://jeom.scdc.sh.cn:8081>。广大作者投稿时,请注意阅读网站首页公布的“作者指南”,认真检查稿件的研究内容是否符合《环境与职业医学》刊载范畴,写作格式是否符合本刊的要求。网上投稿时务必填写必要项目,并按照本刊要求提供所需的投稿材料,以免延误送审时间。

欢迎业内新老作者踊跃投稿,继续关注和支持本刊的发展。

《环境与职业医学》杂志编辑部