

钙稳态在DBP诱导胚胎大鼠皮层神经元凋亡中的作用

王文娟, 杨光红, 曾奇兵, 喻馨兰, 汪文云

摘要: [目的] 研究钙稳态在邻苯二甲酸二丁酯(DBP)诱导大鼠皮层神经元凋亡中的作用。[方法] 取胚胎大鼠皮层神经元, 用25、50、100 mg/L的DBP进行细胞染毒, 同时用加入10 μmol/L钙络合剂(BAPTA-AM)和上述各浓度的DBP进行细胞培养, 检测各组细胞的凋亡率、细胞内钙浓度(Fluo-3/AM荧光强度)、活性氧浓度以及线粒体膜电位。[结果] 25、50、100 mg/L DBP染毒组的神经元凋亡率[(12.27±0.93)%、(18.53±0.87)%、(27.63±1.06)%], 荧光强度[(10.623±826)%、(14.815±732)%、(18.328±708)%], 细胞内活性氧的发生率[(10.21±1.05)%、(29.23±1.35)%、(34.68±1.03)%]及神经元线粒体膜电位下降率[(30.71±1.81)%、(45.30±3.25)%、(53.00±4.29)%]均高于对照组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。随着DBP染毒剂量的增加, 上述各项指标均呈剂量-效应关系($r=0.977$, $r=0.970$, $r=0.962$, $r=0.914$, 均 $P<0.05$); BAPTA-AM干预后, 与DBP同剂量组比较皮层神经元凋亡率有所降低, 荧光强度明显下降, 线粒体膜电位下降率降低, 细胞内活性氧的发生率降低(均 $P<0.05$)。[结论] DBP可诱导大鼠皮层神经元凋亡, 钙络合剂通过降低钙离子浓度, 缓解DBP诱导的皮神经元的凋亡, 表明钙稳态失衡促进DBP诱导的大鼠皮层神经元凋亡。

关键词: 邻苯二甲酸二丁酯; 皮层神经元; 钙稳态; 凋亡; 线粒体膜电位

Role of Calcium Homeostasis in Apoptosis of Embryonic Rat Cortical Neurons Induced by Dibutylphthalate WANG Wen-juan, YANG Guang-hong, ZENG Qi-bing, YU Xin-lan, WANG Wen-yun (Department of Occupational Health and Occupational Medicine, School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025, China). Address correspondence to YANG Guang-hong, E-mail: 280446859@qq.com · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To study the role of calcium homeostasis in the apoptosis of rat cortical neurons induced by dibutylphthalate (DBP). [Methods] Neurons were sampled from the cortex of pregnant rats. The cortical neurons were treated with 25, 50, and 100 mg/L DBP; meanwhile, 10 μmol/L calcium chelator (BAPTA-AM) was added into the above combinations. The apoptosis rates, intracellular free calcium concentrations [$[Ca^{2+}]$], reactive oxygen species (ROS), and mitochondrial membrane potential of the cortical neurons were detected by flow cytometry. [Results] After treated with 25, 50, and 100 mg/L DBP, the apoptosis rate [(12.27±0.93)%, (18.53±0.87)%, and (27.63±1.06)%, respectively], Fluo-3/AM fluorescence intensity [(10.623±826)%, (14.815±732)%, and (18.328±708)%, level of ROS [(10.21±1.05)%, (29.23±1.35)%, and (34.68±1.03)%, and decrease rate of mitochondrial membrane potential [(30.71±1.81)%, (45.30±3.25)%, and (53.00±4.29)%] were all higher than those of the control group (all $P<0.05$) in a dose-response manner ($r=0.977$, $r=0.970$, $r=0.962$, $r=0.914$, all $P<0.05$). After treated with BAPTA-AM, the apoptosis rates, Fluo-3/AM fluorescence intensity, level of ROS, and decrease rate of mitochondrial membrane potential of the cortical neurons were decreased compared with corresponding DBP only groups (all $P<0.05$). [Conclusion] DBP could induce rat cortical neuron apoptosis, and BAPTA-AM could blunt the apoptosis through decreasing [$[Ca^{2+}]$], suggesting that the disequilibrium of calcium homeostasis might promote the apoptosis of rat cortical neurons induced by BBP.

Key Words: dibutylphthalate; cortical neuron; calcium homeostasis; apoptosis; mitochondrial membrane potential

邻苯二甲酸二丁酯(dibutylphthalate, DBP)是塑料工业最常见的增塑剂之一, 广泛存在于食品袋、化

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.15442

[基金项目] 贵阳市科技计划项目(编号: 筑科合同[2013103]19号;
贵州省科技计划(编号: 黔科合LH字[2014]7102)

[作者简介] 王文娟(1986—), 女, 硕士, 讲师; 研究方向: 职业卫生
与职业医学; E-mail: reality0337@126.com

[通信作者] 杨光红, E-mail: 280447859@qq.com

[作者单位] 贵州医科大学公共卫生学院职业卫生与职业医学教研室,
贵州 贵阳 550025

妆品、儿童玩具及静脉内导管等中^[1]。同时DBP也是一种重要的环境内分泌干扰物, 由于其应用的广泛性, 可通过消化道、呼吸道、皮肤等途径进入人体。研究表明, DBP作为一种环境内分泌干扰物会对内分泌系统、神经系统、生殖系统等产生多方面影响^[2]。细胞内钙稳态的平衡在细胞的形态、功能以及信号传导中发挥重要作用, 细胞在受到外界化学物质刺激时, 会引起细胞内钙浓度增高, 引起钙稳态失衡, 诱发细胞程序性凋亡。在神经细胞中, 钙作为神经元内的重

要信使物质, 参与神经递质的合成和释放, 维持细胞的兴奋性。目前, DBP的研究主要集中在其雌激素效应方面, 与钙稳态相关的研究较少, 本研究以钙稳态通道为切入点, 探寻低剂量DBP暴露对神经系统的毒性效应及其作用机制, 对DBP的神经毒作用的远期效应进行初步评估。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康清洁级孕第17—18天的SD大鼠, 购于中国人民解放军第三军医大学, 合格证号SCXK(渝)2012-0003。

1.1.2 实验材料 DBP溶于二甲基亚砜(DMSO, Sigma, 美国)中, 配置成浓度为100 mmol/L的母液, -20℃保存, 染毒前用细胞培养液稀释至质量终浓度分别为25、50、100 mg/L。

1.1.3 细胞培养试剂 谷氨酰胺、多聚赖氨酸(Sigma, 美国); 改良Eagle细胞培养基(DMEM/12, Hyclone, 美国); 马血清、胎牛血清、神经元培养基(Gibco, 美国)。种植培养基: 高糖型DMEM/12, 10%马血清, 10%胎牛血清, 青霉素100 U/mL, 链霉素100 U/mL(BBI, 美国); 维持培养基: 神经元培养基(Gibco, 美国), 链霉素100 U/mL, 青霉素100 U/mL, 谷氨酰胺0.5 mmol/L。钙络合剂BAPTA-AM(Alexis), 荧光探针异硫氰酸荧光素标记的磷脂结合蛋白(Annexin V-FITC)细胞凋亡检测试剂盒、细胞活性氧含量检测试剂盒、细胞凋亡线粒体膜电位检测试剂盒JC-1(江苏凯基生物科技发展有限公司, 中国)。

1.1.4 主要仪器 CO₂培养箱及全自动酶标仪(WD-2102, 上海赫田科学仪器有限公司, 中国); DL-5大容量离心机(北京泰泽嘉业科技发展有限公司, 中国); TS100倒置显微镜(Nikon, 日本); 净化工作台(SW-CJ-2F, 中国苏州)、LSM700显微镜(Zeiss, 德国), FACSCanto流式细胞术测定仪(BD, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞制备 取孕第17—18天的SD大鼠, 在体积分数10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)麻醉后, 取出胎鼠及其子宫置于冰的DMEM中。在解剖显微镜下, 夹取胎鼠大脑皮层, 眼科剪将其剪成糜状(1 mm³), 吸管吸入离心管中, 离心1200 r/min(离心半径=3 cm), 5 min, 吸取上清液, 加入含有质量分数0.02%乙二胺四乙酸(EDTA), 采用质量分数为0.25%的胰酶5 mL进行消

化, 37℃水浴锅中10 min, 终止消化, 离心1200 r/min(离心半径=3 cm), 5 min, 用DMEM漂洗两遍, 轻轻吹匀, 离心1000 r/min(离心半径=3 cm), 3 min, 弃上清, DMEM 10 mL, 缓慢吹匀, 200目尼龙网筛网过滤, 所有操作均在无菌环境下进行。培养至第6天全量更换培养液后分别加入不同浓度的DBP和BAPTA-AM。单独染毒组DBP浓度分别为0、25、50、100 mg/L, 联合组分别加入10 μmol/L BAPTA-AM和上述浓度的DBP, 每个剂量重复3次。

1.2.2 神经元鉴定 取培养7 d的皮层神经元, 缓冲液漂洗, 4%多聚甲醛固定15 min, 0.3% Triton透化处理10 min, 磷酸缓冲剂(PBS)漂洗, 5% FBS封闭60 min。分别加入兔神经元特异性烯醇化酶(NSE, 1:200)4℃过夜。次日: 加入异硫氰酸荧光素(FITC)标记的山羊抗兔IgG(1:100), 37℃孵育40 min, 最后加入5 μg/L烟酸己可碱33258显色10 min。在倒置相差荧光显微镜(×100)观察, 计算原代培养皮层神经元标记蛋白NSE阳性细胞所占比例。

1.2.3 凋亡率测定 皮层神经元染毒12 h后, 用质量分数为0.25%的胰蛋白酶消化, 制成单个细胞悬液, 取1 mL皮层神经元, 2000 r/min(离心半径=3 cm)4℃离心10 min, 弃上清液。加入1 mL PBS漂洗, 上述步骤重复两次。2000 r/min(离心半径=3 cm)4℃离心10 min, 弃上清液。加入200 μL结合缓冲液并使细胞悬浮。加入10 μL Annexin V-FITC和5 μL的碘化丙啶(PI), 轻轻混匀, 避光室温孵育15 min。加入300 μL结合缓冲液, 流式细胞仪待测。激发波长488 nm, 每个染毒剂量设3个样品。BD FACSDiva软件分析。

1.2.4 细胞内钙([Ca²⁺]_i)浓度的测定 细胞培养、收集、染毒方法同上, 各管加入400 μL钙离子荧光探针(LFluo-3/AM), 37℃避光孵育20 min, 2000 r/min(离心半径=3 cm), 离心5 min, 1×缓冲液(Incubation Buffer)洗涤细胞后待检测。激发波长494 nm, 发射波长516 nm, 平均荧光强度和胞内钙离子浓度呈正相关, 荧光强度比值可反映细胞内钙离子浓度变化。

1.2.5 线粒体膜电位测定 细胞染毒方法同上。每管加入JC-1工作液使细胞呈悬浮状态, 37℃避光孵育20 min后, 2000 r/min(离心半径=3 cm), 离心5 min, 1×Incubation Buffer洗涤细胞两次后流式细胞仪检测。使用激发波长488 nm, 发射波长525 nm检测。绿色荧光无明显改变, 只分析与线粒体膜电位相关的红色荧光的变化。正常细胞的线粒体膜电位较高, 染毒后会有所下

降, 表现为对应红色荧光强度Y轴平均值的下降, 染毒组与对照组红色荧光强度比值为线粒体膜电位下降率。

1.2.6 活性氧(ROS)测定 细胞染毒、收集方法同上, 每管细胞分别加入400 μL DCFH-DA中, 使细胞呈悬浮状态, 37℃避光孵育20 min, 每隔3~5 min颠倒混匀一下, 使探针和细胞充分接触。用无血清细胞培养液洗涤细胞3次后, 用流式细胞仪检测。使用激发波长488 nm, 发射波长525 nm检测, 平均荧光强度和细胞内活性氧呈正相关。

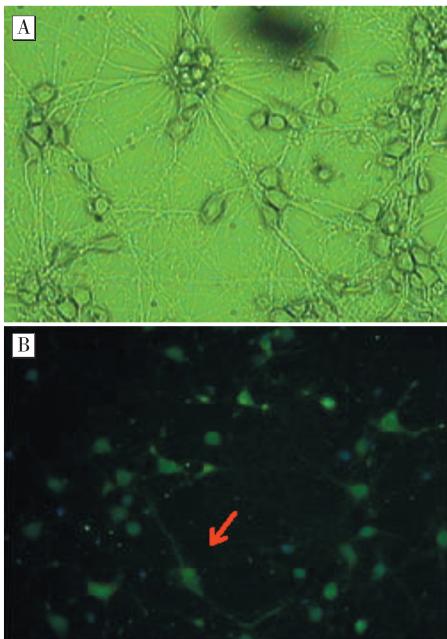
1.3 统计学分析

用SPSS 21.0软件包对实验数据进行方差分析, 各剂量组与对照组的实验结果以Dunnett's *t*检验进行比较, 同剂量组不同处理组之间的比较采用*t*检验, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 皮层神经元的原代培养及鉴定

刚接种的皮层神经元呈圆形, 胞体透亮, 体积较小, 光晕明显, 细胞分散分布, 12 h后可见神经元贴壁, 有突触, 48 h后, 突触增多, 胞体逐渐增大, 7 d后神经元胞体明显增大, 突触增多并逐渐形成网络样结构(图1A), 经NSE染色鉴定神经元(图1B), 皮层神经元纯度达90%, 符合实验要求。



[注]A: 培养7 d的皮层神经元; B: 用NSE鉴定的皮层神经元; ↗: 皮层神经元。

[Note] A: Cortical neurons cultured for 7 d; B: Cortical neurons identified by NSE; ↗: Cortical neurons.

图1 皮层神经元培养及鉴定(×100)

Figure 1 Cortical neurons culture and identification

2.2 皮层神经元凋亡率的变化

DBP与神经元作用12 h后, 随着DBP染毒浓度升高, 神经元凋亡率也逐渐增高, 呈剂量-效应关系($r=0.977$, $P<0.05$); 与对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。BAPTA-AM联合组细胞凋亡率分别与相应剂量的DBP染毒组相比, 均有下降, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 DBP及DBP与BAPTA-AM联合作用对皮层神经元凋亡率(%)影响

Table 1 Effects of DBP only and combination of DBP & BAPTA-AM on the apoptosis of cortical neurons

分组(Group)	染毒剂量浓度(Concentration, mg/L)			
	0	25	50	100
DBP	3.08 ± 1.15	12.27 ± 0.93 [#]	18.53 ± 0.87 [#]	27.63 ± 1.06 [#]
DBP+BAPTA-AM	2.54 ± 0.94	6.81 ± 0.90 [*]	9.83 ± 1.54 [*]	13.41 ± 1.10 [*]
<i>t</i>	1.06	13.21	14.01	26.95
<i>P</i>	0.30	0.00	0.00	0.00

[注][#]: 与0 mg/L DBP染毒组比较, $P<0.05$; ^{*}: 与DBP染毒组比较, $P<0.05$ 。

[Note][#]: Compared with the 0 mg/L DBP group, $P<0.05$; ^{*}: Compared with the DBP group, $P<0.05$.

2.3 皮层神经元胞内钙($[Ca^{2+}]_i$)浓度的变化

DBP染毒12 h后, DBP各染毒剂量组(25、50、100 mg/L), 细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度随着染毒浓度增高, 呈剂量-效应关系($r=0.970$, $P<0.05$)。荧光强度比值分别为(10623 ± 826)%、(14815 ± 732)%、(18328 ± 708)%, 与对照组(7973 ± 5360)%比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。BAPTA-AM联合组(25、50、100 mg/L)荧光强度比值分别为(7839 ± 545)%、(11660 ± 992)%、(12905 ± 990)%, 与相应剂量的DBP染毒组相比, 均有下降, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见图2。

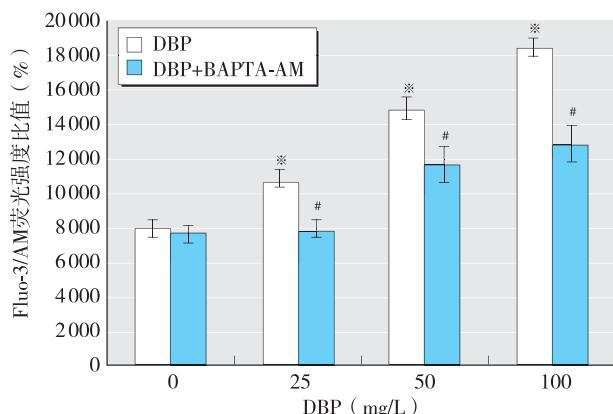
2.4 皮层神经元活性氧发生率的变化

DBP染毒12 h后, DBP各染毒剂量组(25、50、100 mg/L)细胞内活性氧的发生率随着染毒剂量增加, 呈剂量-效应关系($r=0.962$, $P<0.05$)。与对照组(1.48 ± 0.37)%比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。BAPTA-AM联合组(25、50、100 mg/L)活性氧发生率分别与相应剂量的DBP染毒组相比, 均有下降, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.5 皮层神经元线粒体膜电位的变化

DBP染毒12 h后, DBP各染毒剂量组(25、50、100 mg/L)神经元线粒体膜电位下降, 各浓度组下降率与对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.01$)。表3可见, 随着染毒剂量的增加线粒体膜电位下降率增加,

呈剂量-效应关系($r=0.914$, $P<0.05$)。BAPTA-AM 联合组(25、50、100 mg/L)线粒体膜电位下降率较同剂量DBP染毒组低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。



[注]*: 与0 mg/L DBP染毒组比较, $P<0.05$; #: 与DBP染毒组比较, $P<0.05$ 。

[Note]*: Compared with the 0 mg/L DBP group, $P<0.05$; #: Compared with the DBP group, $P<0.05$.

图2 DBP及DBP与BAPTA-AM联合作用对皮层神经元胞内钙浓度的影响

Figure 2 Effects of DBP only and combination of DBP & BAPTA-AM on the intracellular free calcium concentration of cortical neurons

表2 DBP及DBP与BAPTA-AM联合作用对皮层神经元活性氧发生率(%)影响

Table 2 Effects of DBP only and combination of DBP & BAPTA-AM on the ROS levels of cortical neurons

分组(Group)	染毒剂量浓度(Concentration, mg/L)			
	0	25	50	100
DBP	3.98 ± 1.10	10.21 ± 1.06*	24.85 ± 1.89*	33.43 ± 1.95*
DBP+BAPTA-AM	3.27 ± 0.97	5.09 ± 0.55*	11.22 ± 0.51*	16.17 ± 0.65*
t	1.35	12.11	19.6	23.66
P	0.70	0.00	0.00	0.00

[注]#: 与0 mg/L DBP染毒组比较, $P<0.05$; *: 与DBP染毒组比较, $P<0.05$ 。

[Note]#: Compared with the 0 mg/L DBP group, $P<0.05$; *: Compared with the DBP group, $P<0.05$.

表3 DBP及DBP与BAPTA-AM联合作用对皮层神经元线粒体膜电位变化率(%)影响

Table 3 Effects of DBP only and combination of DBP & BAPTA-AM on the mitochondrial membrane potential of cortical neurons

分组(Group)	染毒剂量浓度(Concentration, mg/L)			
	0	25	50	100
DBP	9.03 ± 0.83	30.71 ± 1.81*	45.30 ± 3.25*	53.00 ± 4.29*
DBP+BAPTA-AM	8.00 ± 1.22	15.28 ± 1.52*	22.31 ± 1.96*	30.51 ± 2.55*
t	1.97	18.41	17.10	12.74
P	0.07	0.00	0.00	0.00

[注]#: 与0 mg/L DBP染毒组比较, $P<0.05$; *: 与DBP染毒组比较, $P<0.05$ 。

[Note]#: Compared with the 0 mg/L DBP group, $P<0.05$; *: Compared with the DBP group, $P<0.05$.

3 讨论

环境中许多外源性刺激物可以诱导细胞凋亡,环境内分泌干扰物DBP可能也是诱导因子之一^[3]。本实验结果表明,各染毒组与对照组相比,随着染毒DBP剂量的增加,凋亡率均明显上升,表明DBP在25~100 mg/L的剂量范围可诱导体外培养的胎鼠皮层神经元细胞凋亡。

胞内钙稳态及Ca²⁺作为第二信使在调节和调控细胞功能中发挥着重要作用^[4],其中质膜上的Ca²⁺-ATP酶是钙离子外排的重要因素^[5]。研究显示,DBP染毒组随着暴露浓度增加,细胞内钙浓度增加,BAPTA作为Ca²⁺络合剂可透过细胞降低Ca²⁺浓度,使钙超载得以恢复或缓解。提示DBP可能通过影响钙离子外排,钙泵受到抑制,从而导致胞内钙离子浓度升高,与李环等^[6]研究结果一致。

线粒体膜电位的下降是细胞凋亡早期的一个标志性事件^[7-8]。有研究显示,DBP可能会导致细胞内钙超载,钙离子内流。线粒体内膜两侧的质子和其他离子的不对称分布形成,是维持线粒体正常生理功能的必需。钙离子的内流可导致线粒体膜去极化,膜电位降低。当凋亡启动时,ROS的浓度进一步升高可能加速凋亡的过程^[9]。本研究显示,染毒组ROS发生率增高,这可能是加速神经元凋亡的另一信号途径。

有研究表明细胞受到外源性刺激时,细胞内发生钙超载、DNA损伤、氧化、蛋白错构等都可以导致细胞通过线粒体途径发生细胞凋亡^[10],BAPTA-AM加入后,线粒体膜电位降低率有所缓解,可能是DBP诱导胞内钙升高,进入神经元内作用于线粒体,使其通透性增加,导致膜电位降低和促凋亡因子的释放,从而又进一步促进了细胞凋亡。

随着DBP处理浓度升高,皮层神经元凋亡率增加,同时胞内钙浓度、ROS发生率、线粒体膜电位降低率水平明显升高,提示DBP可促使皮层神经元凋亡。Ca²⁺络合剂可降低DBP诱导的凋亡效应,提示DBP可导致神经元胞内钙超载,钙离子内流,线粒体膜电位下降,从而引发神经元凋亡。ROS的浓度进一步升高可能是加速凋亡的另一途径。但是细胞的凋亡受到多因素、多通路的影响,DBP染毒对胎鼠皮层神经元凋亡的机制调控仍有待进一步探讨。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1]朱才众,熊鸿燕,李亚斐,等.增塑剂邻苯二甲酸二丁酯

- 低剂量与神经系统毒性效应的评估 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(8): 76-78.
- [2] van Ravenzwaay B, Coelho-Palermo CG, Strauss V, et al. The individual and combined metabolite profiles (metabolomics) of dibutylphthalate and di(2-ethylhexyl)phthalate following a 28-day dietary exposure in rats [J]. Toxicol Lett, 2010, 198(2): 159-170.
- [3] 王雪金, 周云清, 罗湘闽, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对大鼠卵巢颗粒细胞中细胞凋亡因子 Bcl-2、Bax 表达的影响 [J]. 实用预防医学, 2015, 22(2): 155-157.
- [4] Darszon A, López-Martínez P, Acevedo JJ, et al. T-type Ca^{2+} channels in sperm function [J]. Cell Calcium, 2006, 40(2): 241-252.
- [5] 刘冰, 金一和. 中枢神经系统钙稳态紊乱与神经损伤的研究进展 [J]. 国外医学卫生学分册, 2006, 33(4): 193-197.
- [6] 李环, 赵金昌, 徐一波, 等. DBP 对睾丸支持细胞内 Ca^{2+} 线粒体膜电位 Caspase 活性的影响 [J]. 北华大学学报, 2015, 16(4): 454-457.
- [7] Miyamoto H, Doita M, Nishida K, et al. Effects of cyclic mechanical stress on the production of inflammatory agents by nucleus pulposus and anulus fibrosus derived cells in vitro [J]. Spine, 2006, 31(1): 4-9.
- [8] Saris NE, Carafoli E. A historical review of cellular calcium handling, with emphasis on mitochondria [J]. Biochemistry, 2005, 70(2): 187-194.
- [9] Li N, Sioutas C, Cho A, et al. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage [J]. Environ Health Perspect, 2003, 111(4): 455-460.
- [10] Lisa BH, Lydia L, Donald DN. Mitochondria: pharmacological manipulation of cell death [J]. J Clin Invest, 2005, 115(10): 2640-2647.

(收稿日期: 2015-07-17)

(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》被中国科学引文数据库(CSCD)收录

2015年4月, 中国科学院文献情报中心公布了2015—2016年度中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database, CSCD)来源期刊。该库收录来源期刊1200种, 其中中国出版的英文期刊194种, 中文期刊1006种。经由定量遴选、专家定性评估, 《环境与职业医学》杂志被收录为CSCD来源期刊(http://sciencechina.cn/cscd_source.jsp)。

《环境与职业医学》杂志衷心感谢各位编委、审稿专家、作者和读者对本刊的支持! 热忱希望广大读者、作者、专家一如既往支持本刊工作, 踊跃投稿!

《环境与职业医学》再次入选 “中文核心期刊”及“中国科技核心期刊”

依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、统计和分析, 以及学科专家评审, 《环境与职业医学》杂志于2015年7月入编《中文核心期刊要目总览2014年版》, 即连续第六次入选中文核心期刊(预防医学、卫生学类)。

《环境与职业医学》于2015年10月再次入选“中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)”。

在此, 编辑部全体工作人员谨向全体编委、专家及广大作者和读者表示衷心的感谢, 希望大家一如既往地关心、支持杂志的发展, 并提出宝贵的意见与建议, 共同促进杂志的良性发展。