

职业性锰暴露对男性工人血浆脑源性神经营养因子含量的影响

卿利^{1a}, 刘静^{1b}, 李琴^{1c}, 陈康成^{1b}, 梁林涵^{1b}, 吕应楠^{1b}, 沈岳飞², 杨晓波^{1b}, 曾小云^{1a}, 邹云锋^{1c}

摘要: [目的] 通过测定职业性锰暴露男性工人血浆脑源性神经营养因子(BDNF)水平,探讨锰暴露对工人血浆 BDNF 含量的影响。[方法] 选择广西某锰冶炼厂 179 名男性工人作为暴露组,按锰累积暴露指数(CEI)分为低暴露组(CEI<2.000, 84 名)和高暴露组(CEI≥2.000, 95 名),以同一地区某糖厂 96 名男性工人作为对照组,对其进行一般情况调查和血浆 BDNF 含量的测定。[结果] 控制年龄、民族等协变量后,该厂锰作业男性工人 CEI 与血浆 BDNF 含量呈负相关($r=-0.200$, $P<0.05$);两个暴露组人群血浆 BDNF 含量均低于对照组工人(均 $P<0.01$),高暴露组工人低于低暴露组($P<0.05$)。[结论] 职业性锰暴露可降低锰冶炼厂男性工人的血浆 BDNF 水平。

关键词: 锰暴露;血浆;脑源性神经营养因子;累积暴露指数

Effect of Occupational Manganese Exposure on Plasma Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels in Male Workers QING Li^{1a}, LIU Jing^{1b}, LI Qin^{1c}, CHEN Kang-cheng^{1b}, LIANG Lin-han^{1b}, LÜ Ying-nan^{1b}, SHEN Yue-fei², YANG Xiao-bo^{1b}, ZENG Xiao-yun^{1a}, ZOU Yun-feng^{1c} (1.a.Department of Epidemiology and Biostatistics b.Department of Occupational Health and Environmental Health c.Department of Toxicology, School of Public Health, Guangxi Medical University, Guangxi 530021, China; 2.Department of Neurology, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi 530021, China). Address correspondence to ZENG Xiao-yun, E-mail: zxyxjw@21cn.com; ZOU Yun-feng, E-mail: email_zyf@163.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To determine the plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in male workers with manganese (Mn) exposure at workplace and explore the effect of occupational Mn exposure on plasma BDNF levels. [Methods] A total of 179 male workers of a manganese smelter in Guangxi were chosen as exposure group, and divided into low (84 workers) and high (95 workers) Mn exposure groups by cumulative exposure index (CEI) of Mn. Another 96 male workers of a sugar refinery in the same district were selected as control group. All participants received questionnaires on general information and determination of plasma BDNF. [Results] After adjusted for age and nation, a negative correlation between the plasma BDNF and the Mn exposure were identified ($r=-0.200$, $P<0.05$). The plasma BDNF levels of the two exposure groups were statistically lower than that of the control group ($P<0.01$), and the high Mn exposure group reported a lower level of BDNF than the low Mn exposure group ($P<0.05$). [Conclusion] Occupational Mn exposure may decrease plasma BDNF levels in male Mn smelting workers.

Key Words: manganese exposure; plasma; brain-derived neurotrophic factor; cumulative exposure index

锰及其化合物是重要的工业原料,广泛应用于各种工业制造及日常生活中,由于职业暴露和环境污染接触锰及其化合物而引起的健康问题已经受到广泛关注。锰作业工人长期接触锰会引起慢性锰中毒,主要表现为以中枢神经系统损害为主的各

种临床或亚临床症状^[1-2],早期会出现情感障碍、手稳定度下降、记忆力和认知能力降低等^[3]。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)是重要的认知相关蛋白,其含量的变化对认知功能产生重要的影响^[4-6]。锰是否通过影响 BDNF 的表达从而影响工人的认知能力还鲜有文献报道。本研究通过对锰暴露工人血浆 BDNF 含量的测定,探讨锰神经毒性,为进一步研究锰的毒理作用机制提供线索。

1 对象与方法

1.1 研究对象

采用单纯随机抽样方法选择广西某锰冶炼厂 179 名男性冶炼工人为暴露组,按锰累积暴露指数(cumulative exposure index, CEI)分为低暴露组和高暴露组,其中低暴露组工人 84 名,高暴露组工人 95 名;以同一地区某糖厂 96 名男工为对照组,对照组工人均无锰及其化合物或其他神经毒性物质接触史。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(编号: 81072320、81060234), 广西自然科学基金资助项目(编号: 2011jjA40294)

[作者简介] 并列第一作者。卿利(1988—),女,硕士生;研究方向:职业流行病学;E-mail: ql871126@163.com。刘静(1985—),女,硕士生;研究方向:职业流行病学;E-mail: liujing-1245@163.com

[通信作者] 曾小云教授, E-mail: zxyxjw@21cn.com; 邹云锋副教授, E-mail: email_zyf@163.com

[作者单位] 1. 广西医科大学公共卫生学院 a. 流行病与卫生统计学教研室 b. 职业卫生和环境卫生教研室 c. 毒理学教研室, 广西 530021; 2. 广西医科大学第一附属医院神经内科, 广西 530021

1.2 方法

1.2.1 一般情况调查 采用一般情况调查问卷对所有研究对象进行面对面询问,收集研究对象的年龄、民族、文化水平、职业暴露史等基本信息。

1.2.2 作业场所空气锰浓度的测定 按照 GBZ 159—2004《工作场所空气中有害物质监测的采样规范》^[7]的规定,使用 FC-2 粉尘采样器(武汉仪器分析厂)采集空气样品;按 GBZ/T 160.13—2004《工作场所空气有毒物质测定 锰及其化合物》^[8]第一法,即火焰原子吸收光谱法进行实验操作,用 AA-6800 原子吸收分光光度计(日本岛津公司)进行测定,最后计算出空气锰浓度。

1.2.3 血浆 BDNF 含量测定 空腹采静脉血,分离血浆,−80℃ 保存待测。采用 ELISA 试剂盒(BDNF Sandwich ELISA Kit, Chemikine, USA)测定血浆 BDNF 含量。

1.2.4 CEI 计算及分级标准 $CEI = \sum \text{锰作业工龄(年)} \times \text{工作岗位空气中锰浓度}(\text{mg}/\text{m}^3)$ ^[9]。分级标准:高暴露组 $CEI \geq 2.000$,低暴露组 $CEI < 2.000$,对照组 $CEI = 0.000$ 。

1.2.5 吸烟与饮酒定义 吸烟指每天吸烟 1 支及以上,连续或累积 6 个月或 6 个月以上;饮酒指一次饮酒超过 5 mL。

1.2.6 质量控制 研究对象严格按照纳入、排除标准进行选择;问卷调查由经过统一培训的调查员面对面进行询问;调查完后进行问卷的查漏、核对和整理;血浆 BDNF 检测由技术熟练的人员单独操作;所有数据进行双录入;采用相应的统计分析方法进行数据的分析,以控制混杂因素对实验数据的影响。

1.3 统计分析

采用 EpiData3.0 数据库进行数据双录入,并核对整理,数据的统计分析使用 SPSS 16.0 软件包进行。使用方差分析或卡方检验分析各组工人的基本情况,采用偏相关分析锰暴露水平和血浆 BDNF 含量的关系,通过协方差分析以控制协变量的影响后比较各组工人间血浆 BDNF 含量的差异,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 作业场所空气锰浓度监测结果

该锰冶炼厂 2006—2008 年 3 年作业场所空气锰浓度(时间加权平均值)分别为 (0.430 ± 0.197) 、 (0.247 ± 0.151) 、 $(0.097 \pm 0.024) \text{ mg}/\text{m}^3$ 。

2.2 各组工人基本情况

低暴露组、高暴露组和对照组工人平均年龄分别为 (36.62 ± 5.75) 、 (40.49 ± 7.19) 和 (32.28 ± 8.73) 岁,差异有统计学意义 ($F = 29.526, P < 0.05$)。采用卡方检验比较各组工人间的基本情况,结果显示各组工人的民族、文化程度和婚姻状况差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

2.3 各组工人血浆 BDNF 含量的协方差分析

为控制年龄、民族等因素对工人血浆 BDNF 含量的影响,采用协方差对各组工人血浆 BDNF 含量的差异进行分析。结果表明,3 组工人血浆 BDNF 不全相同 ($F = 7.566, P < 0.01$);高暴露组工人低于低暴露组工人更低于对照组 ($P < 0.05$),见表 2。

2.4 暴露组工人 CEI 和血浆 BDNF 含量相关性分析

对暴露组工人锰暴露水平和血浆 BDNF 含量进行偏相关分析,结果显示 CEI 和血浆 BDNF 含量呈负相关 ($r = -0.200$,

$P = 0.015$)。

表 1 不同锰暴露水平工人基本情况

变量	对照组 (<i>n</i> = 96)		低暴露组 (<i>n</i> = 84)		高暴露组 (<i>n</i> = 95)		χ^2	<i>P</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
民族							33.487	<0.001
汉族	15	15.63	33	39.29	53	55.79		
壮族及其他少数民族	81	85.37	51	60.71	42	44.21		
婚姻状况							22.056	<0.001
未婚	40	41.67	14	16.67	14	14.74		
同居或已婚	54	56.25	68	80.95	79	83.16		
离异或丧偶	2	2.08	2	2.38	2	2.10		
文化程度							21.711	<0.001
初中及以下	22	22.92	22	26.19	49	51.58		
中专或高中	63	65.62	49	58.33	37	38.95		
大专及以上	11	11.46	13	15.48	9	9.47		
吸烟情况							5.955	0.203
吸烟	59	61.46	50	59.52	52	54.73		
曾吸烟	30	31.25	24	28.57	25	26.32		
从未吸烟	7	7.29	10	11.91	18	18.95		
饮酒情况							9.455	0.051
饮酒	71	73.96	61	72.62	64	67.37		
曾饮酒	20	20.83	10	11.90	14	14.74		
从未饮酒	5	5.21	13	15.48	17	17.89		

表 2 不同锰暴露水平工人血浆 BDNF 含量协方差分析结果

组别	<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$
对照组	96	260.15 ± 15.670
低暴露组	84	220.94 ± 15.496*
高暴露组	95	168.91 ± 15.572*#

[注]*: 与对照组相比, $P < 0.01$; #: 与低暴露组相比, $P < 0.05$ 。

3 讨论

锰及其化合物主要以烟尘的形式进入人体,当作业场所空气中锰烟尘浓度过高时,大量的锰经呼吸道吸收入机体内,主要以不溶性磷酸盐的形式蓄积在大脑的纹状体和苍白球等基底神经节部分。长期接触高剂量的锰可引起多种神经系统症状^[10],甚至会导致不可逆的锥体外系损伤。国外有研究表明,慢性锰中毒可导致情感和认知功能障碍,尤其易出现注意力不集中、记忆能力和空间定位能力下降^[11-12]。本课题组前期关于锰影响认知能力的研究结果也表明,锰暴露的男性工人认知能力低于对照组,且高暴露组 ($CEI \geq 2.000$) 工人低于低暴露组 ($CEI < 2.000$) (另文发表)。

既往关于锰毒性作用机制的研究很多,但并无一致的结论。cAMP-CREB 信号通路是神经元重要的信号转导通路,对学习、记忆在内的脑功能具有重要影响。有研究表明,CREB 磷酸化受到抑制可导致其下游的 BDNF 下调,从而诱导大鼠海马神经元的凋亡^[13],而神经元的凋亡可能会导致机体认知功能改变和学习记忆能力下降。目前,锰暴露导致学习记忆能力下降是否与锰影响海马与纹状体内 cAMP-CREB 信号通路有关尚未见相关报道。

此外,BDNF 作为 cAMP-CREB 信号通路下游的一个重要的认知相关蛋白,广泛分布于中枢神经系统、周围神经系统、骨和软骨组织等,但其主要在中枢神经系统内表达,对中枢神经系统多种类型神经元的发生、发展、维持和损伤修复都具

有重要作用^[14]。BDNF除了对神经系统有营养作用外,还通过调节突触可塑性来影响学习和记忆功能^[15]。国内研究发现精神分裂症患者认知能力的降低和低血清 BDNF 水平有关^[16]; SUN 等^[17]发现,慢性脑缺血灌注不足损害大鼠的空间和非空间认知能力,同时伴随其海马 BDNF 蛋白的降低,而环境强化使得大鼠的认知损害降低,海马 BDNF 蛋白也随之升高。

国外动物实验发现,大鼠血清 BDNF 水平和海马及皮质 BDNF 水平呈正相关^[18-19],全血 BDNF 和血浆 BDNF 都与海马 BDNF 呈正相关^[20]。此外,还发现人体血液中 BDNF 水平与脑部疾病相关,如抑郁症^[21]、阿尔茨海默病^[22]和多发性硬化症^[23]。以上研究均表明外周 BDNF 水平能反映大脑 BDNF 水平。

基于上述研究,认为锰可能通过影响 cAMP-CREB 信号通路导致其下游 BDNF 表达下调而降低认知能力。既往关于职业锰暴露对工人血浆 BDNF 含量的影响未见类似报道,本课题组首次通过测定工人血浆 BDNF 含量,研究锰暴露水平和血浆 BDNF 之间的关系,为进一步探讨锰致机体认知功能下降的可能机制提供线索。

国外研究发现不同年龄人群血浆 BDNF 含量不同^[24],且考虑到民族和婚姻状况也会对结果有影响,故为了控制这些可能混杂因素的影响,采用协方差分析进行不同组别工人血浆 BDNF 含量的比较,同时运用偏相关分析进行不同锰暴露水平和血浆 BDNF 水平的相关分析。结果表明,锰暴露水平与工人血浆 BDNF 含量呈负相关($P < 0.05$),随着锰暴露水平的升高,工人的血浆 BDNF 含量降低;暴露组工人血浆 BDNF 含量低于对照组人群($P < 0.01$),高暴露组工人低于低暴露组工人($P < 0.05$)。以上结果很好地印证了如下假设,即职业性锰暴露可能降低锰接触工人血浆 BDNF 含量。

锰暴露导致工人认知功能下降,同时其血浆 BDNF 的含量也降低,而锰是否也是通过干扰 cAMP-CREB 信号通路使其下游 BDNF 表达下降而影响认知功能,有待于今后进一步的研究加以验证。

• 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] ROELS HA, BOWLER RM, KIM Y, et al. Manganese exposure and cognitive deficits: a growing concern for manganese neurotoxicity[J]. *Neurotoxicology*, 2012, 33(4): 872-880.
- [2] CRISWELL SR, PERLMUTTER JS, VIDEEN TO, et al. Reduced uptake of [¹⁸F]FDOPA PET in asymptomatic welders with occupational manganese exposure[J]. *Neurology*, 2011, 76(15): 1296-1301.
- [3] 张文红, 薛梅, 郝静静, 等. 锰电焊作业工人神经行为功能的调查[J]. *铁道劳动安全卫生与环保*, 2004, 31(4): 187-189.
- [4] LI M, DAI FR, DU XP, et al. Infusion of BDNF into the nucleus accumbens of aged rats improves cognition and structural synaptic plasticity through PI3K-ILK-Akt signaling[J]. *Behav Brain Res*, 2012, 231(1): 146-153.
- [5] CARLINO D, LEONE E, DI COLA F, et al. Low serum truncated-BDNF isoform correlates with higher cognitive impairment in schizophrenia[J]. *J Psychiatr Res*, 2011, 45(2): 273-279.
- [6] YUAN H, HE S, HE M, et al. A comprehensive study on neurobehavior, neurotransmitters and lymphocyte subsets alteration of Chinese manganese welding workers[J]. *Life Sci*, 2006, 78(12): 1324-1328.
- [7] 中华人民共和国卫生部. GBZ 159—2004 工作场所空气中有害物质监测的采样规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [8] 中华人民共和国卫生部. GBZ/T 160.13—2004 工作场所空气有毒物质测定 锰及其化合物[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [9] 陆有荣, 黎燕宁, 李侯健, 等. 两家锰矿生产和冶炼厂工人职业性锰危害的回顾性分析[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2009, 27(10): 616-617.
- [10] 邹云锋, 付承红, 石玉琴, 等. 接锰工人计算机神经行为测试探讨[J]. *中国职业医学*, 2004, 31(2): 10-13.
- [11] CHANG YM, LEE JJ, SEO JH, et al. Altered working memory process in the manganese-exposed brain[J]. *NeuroImage*, 2010, 53(4): 1279-1285.
- [12] JOSEPHS KA, AHLKOG JE, KLOS KJ, et al. Neurologic manifestations in welders with pallidal MRI T1 hyperintensity[J]. *Neurology*, 2005, 64(12): 2033-2039.
- [13] 谭蕾, 罗爱林, 赵已林, 等. 氯胺酮对新生大鼠海马 CREB 磷酸化水平的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2010, 30(3): 317-319.
- [14] HU Y, RUSSEK SJ. BDNF and the diseased nervous system: a delicate balance between adaptive and pathological processes of gene regulation[J]. *J Neurochem*, 2008, 105(1): 1-17.
- [15] YAMADA K, NABESHIMA T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes[J]. *J Pharmacol Sci*, 2003, 91(4): 267-270.
- [16] ZHANG XY, LIANG J, CHEN DC, et al. Low BDNF is associated with cognitive impairment in chronic patients with schizophrenia[J]. *Psychopharmacology*, 2012, 222(2): 277-284.
- [17] SUN H, ZHANG J, ZHANG L, et al. Environmental enrichment influences BDNF and NR1 levels in the hippocampus and restores cognitive impairment in chronic cerebral hypoperfused rats[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2010, 7(4): 268-280.
- [18] KAREGE F, SCHWALD M, CISSE M. Postnatal developmental profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets[J]. *Neurosci Lett*, 2002, 328(3): 261-264.
- [19] SARTORIUS A, HELLWEG R, LITZKE J, et al. Correlations and discrepancies between serum and brain tissue levels of neurotrophins after electroconvulsive treatment in rats[J]. *Pharmacopsychiatry*, 2009, 42(6): 270-276.
- [20] KLEIN AB, WILLIAMSON R, SANTINI MA, et al. Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2011, 14(3): 347-353.
- [21] KAREGE F, PERRET G, BONDOLFI G, et al. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients[J]. *Psychiatry Res*, 2002, 109(2): 143-148.
- [22] LASKE C, STRANSKY E, LEYHE T, et al. Stage-dependent BDNF serum concentrations in Alzheimer's disease[J]. *J Neural Transm*, 2006, 113(9): 1217-1224.
- [23] CASTELLANO V, WHITE LJ. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis[J]. *J Neurol Sci*, 2008, 269(1/2): 85-91.
- [24] IUGHETTI L, CASAROSA E, PREDIERI B, et al. Plasma brain-derived neurotrophic factor concentrations in children and adolescents[J]. *Neuropeptides*, 2011, 45(3): 205-211.

(收稿日期: 2013-03-27)

(英文编审: 金克峙; 编辑: 王晓宇; 校对: 张晶)