文章编号：1006-3617(2010)04-0205-04　**中图分类号：**R114　**文献标志码：**A

【论著】

铝对小鼠认知能力及*β-APP*基因表达的影响

潘宝龙，吉秀亮，杨焱，牛侨*

摘要：［目的］探讨铝暴露对小鼠认知功能及脑组织β-淀粉样前体蛋白（β-APP）基因表达的影响。［方法］动物模型高、中、低剂量组每日用 $AlCl_3$ 含量分别是 120、12、1.2 mg/kg 的饲料进行喂养，对照组每日正常饲养。染毒 3 个月后用跳台试验、避暗试验和水迷宫试验检测小鼠的认知功能。小鼠脑组织中β-APP mRNA 的表达用逆转录-聚合酶链反应（RT-PCR）法检测。［结果］与对照组相比，高、中剂量组跳台试验潜伏期明显缩短（$P < 0.05$），错误次数增多（$P < 0.05$）；避暗试验高剂量组潜伏期较对照组明显缩短（$P < 0.05$），错误次数明显增多（$P < 0.05$）；水迷宫试验低、中、高剂量组随着染铝浓度的增加潜伏期明显延长（$P < 0.05$），高、中剂量组穿越平台的次数与对照组相比明显减少（$P < 0.05$）。高、中剂量组β-APP mRNA 的表达量明显增高（$P < 0.05$）。铝暴露剂量与跳台试验潜伏期（$r_s = -0.725$, $P < 0.05$）、避暗试验潜伏期（$r_s = -0.765$, $P < 0.01$）、Morris 水迷宫试验潜伏期（$r_s = 0.097$, $P < 0.05$）、跳台试验错误次数（$r_s = 0.565$, $P < 0.01$）、避暗试验错误次数（$r_s = 0.509$, $P < 0.05$）之间均存在剂量-效应关系。铝暴露与β-APP mRNA 的表达量呈明显的正相关（$r_s = 0.743$, $P < 0.05$）。［结论］铝暴露可导致小鼠认知功能障碍及β-APP 的过度表达，这可能是铝致小鼠认知功能障碍的重要机制之一。

关键词：铝；认知能力；β-APP 基因；小鼠

Effect of Aluminum Exposure on Cognitive Ability and Expression of *β-APP* Gene in Mice

PAN Bao-long, JI Xiu-liang, YANG Yan, NIU Qiao (School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi* 030001, *China). *Address correspondence to NIU Qiao; E-mail: niuqiao55@163.com*

Abstract：［Objective］To explore the effect of chronic aluminum exposure on cognitive ability and expression of *β-APP* gene in mice.［Methods］The high, middle and low dose groups were established by the gavages which the dosage of $AlCl_3$ in the fodder were 120, 12 and 1.2 mg/kg respectively. The control group was foddered regularly. Three months later, the spatial learning and memory ability were evaluated by step through test (STT), step down test (SDT), and morris water maze (MWM), while gene expression of *β-APP* by RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction).［Results］Compared with the control group, the latent period of SDT of high and middle dose groups was significantly decreased ($P < 0.05$), the error number of SDT of high and middle dose groups was significantly increased ($P < 0.05$).The latent period of STT of high dose group was significantly decreased ($P < 0.05$) and the error number significantly increased ($P < 0.05$). In MWM the latent periods of different dose groups were significantly and constantly extended corresponding with doses of $AlCl_3$ ($P < 0.05$), numbers of traversing flat in high and middle dose groups were significantly decreased ($P < 0.05$). The expressions of β-APP gene in high and middle dose groups were significantly enhanced compared with the control group. There were dose-response relationships between aluminum exposure and the latent period of SDT ($r = -0.725$, $P < 0.05$), of STT ($r = -0.765$, $P < 0.01$), and of MWM ($r = 0.097$, $P < 0.05$). There were dose-response relationships between aluminum exposure and the error number of SDT ($r = 0.565$, $P < 0.01$), and of STT ($r = 0.509$, $P < 0.05$). Statistical analysis showed that positive correlations existed between aluminum exposure and expression of *β-APP* mRNA ($r_s = 0.743$, $P < 0.05$).［Conclusion］The exposure to aluminum could result in the dysfunction of the ability of spatial learning and memory of mice and the over-expression of β-APP gene. It might be one of the most important pathogenic mechanisms.

Key Words: aluminum; cognitive ability; β-APP gene; mice

铝是环境中最常见的金属元素之一，在工业、医药和日常生活中应用广泛。铝可在脑组织中蓄积，干扰脑细胞活动，破坏神经元结构，导致中枢神经功能障碍[1]。研究表明，铝中毒可引起学习记忆功能障碍，但其机制目前还不十分清楚。

β-淀粉样前体蛋白（beta-amyloid precursor protein，β-APP）是一种具有受体样结构的大分子跨膜糖蛋白，由它代谢产生的淀粉样蛋白（β-AP），是由细胞膜外的 28 个氨基酸和跨膜部分的 12 个氨基酸组成。β-AP 可引起自由基生成和氧化应激，通过突触体脂质过氧化作用，产生神经元细胞膜损伤，还可扰乱细胞内环境的稳定性，诱导神经细胞发生凋亡等[2]，从而对神经系统造成损害，导致小鼠认知功能障碍。有研究表明，铝暴露

[作者简介] 潘宝龙（1981-），男，硕士；研究方向：神经毒理学；E-mail：panbaolong1@163.com

[*通信作者] 牛侨教授，E-mail：niuqiao55@163.com

[作者单位] 山西医科大学公共卫生学院劳动卫生教研室，山西 太原 030001

可诱导β-APP过度表达导致具有神经毒性的β-AP生成增多[3]。

本实验主要探讨铝暴露对小鼠认知功能及脑组织β-APP mRNA 基因表达的影响及其关系。

1 材料与方法

1.1 动物

断乳（出生后20 d）的昆明种小白鼠（由山西医科大学动物中心提供）40只，雌雄各半。随机分为4组，每组10只。

1.2 试剂及仪器

$AlCl_3$（天津市东丽区天大化学试剂厂），TRNzol总RNA提取试剂，cDNA第一链合成试剂盒，2×Taq PCR MasterMix（北京天根生化科技有限公司提供），小鼠跳台反射箱，小鼠避暗反射箱，Morris水迷宫（中国科学院药物研究所研制）。

1.3 染毒方法

将动物分为高、中、低剂量组，每日每只饲喂4 g不同质量浓度$AlCl_3$（120、12、1.2 mg/kg）的饲料，对照组正常饲养。染毒3个月后，进行小鼠神经行为学测定。

1.4 神经行为检测

1.4.1 小鼠跳台试验 小鼠跳台反射箱由不透明有机玻璃分隔成5间，箱底为铜栅，通以36 V电流，每间置一高3.0 cm、直径3.2 cm的橡皮垫作为动物回避电击的安全区。实验时，先将小鼠置于反射箱中适应2 min，然后立即通电，动物受到电击后表现为跳上平台即逃避反应，多数动物会再次或多次跳到铜栅上，受到电击后又迅速跳回平台，如此训练5 min。24 h后，在底部铜栅通电的情况下，直接将动物置于平台上，记录小鼠被放上平台到第一次跳下的时间，称为潜伏期（LT），小鼠受电击会逃避性的跳上平台，然后记录5 min内小鼠再次跳下的次数（错误次数，EN），LT和EN共同作为记忆成绩。

1.4.2 小鼠避暗实验 反射箱分单独5个箱，每个箱大小为36 cm×12 cm×12 cm，分明暗两室，明室由透明有机玻璃构成，暗室底部安装铜栅，通以36 V电流，明、暗两室之间有一直径为3 cm洞口相沟通。实验时，先将小鼠放入反射箱中适应2 min，利用小鼠喜暗的习性，将小鼠头部背对着洞口放入明室，小鼠马上进入暗室时立即给予直流电电击小鼠，其会通过洞口逃出暗室，如此训练5 min。24 h后在暗室铜栅通电的情况下，将小鼠置于明室，记录小鼠从明室第一次进入暗室的时间，称为潜伏期（LT），小鼠受电击后会逃避性的跑出暗室，然后记录5 min内小鼠进入暗室的次数（错误次数，EN），LT和EN共同作为记忆成绩。

1.4.3 Morris水迷宫 圆形水池直径为100 cm、高75 cm，平台高度50 cm、直径10 cm，平台低于水面1 cm，水温（22±2）℃。迷宫上方安装带有显示系统的摄像机，计算机自动跟踪计时并记录游泳轨迹。实验期间迷宫外参照物保持不变。Morris水迷宫测试程序包括定位航行试验和空间探索试验两个部分。试验前一天将小鼠放入水池中（不含平台）自由游泳2 min，使其熟悉迷宫环境。

（1）定位航行试验（place navigation）：试验历时5 d，每天4次，每次间隔20 min。记录小鼠分别从4个不同象限入水点入水找到平台所需的时间，即逃避到平台上的潜伏期（escaping latency）。训练开始时，将平台置于东南象限，从4个象限池壁的中点将小鼠面向池壁固定方向放入水池，自动录像系统记录小鼠找到平台的时间，4次训练即将小鼠分别从不同象限（东北、西北、东南和西南）靠近池壁的中点面向池壁放入水中，4次潜伏期成绩的平均值作为当日最终成绩进入最后统计。如果小鼠在1 min内未找到平台，即将其引上平台，其潜伏期按1 min 计算。

（2）空间探索试验（spatial probe test）：第5 天下午进行空间探索试验，撤除平台，将受试小鼠在西北象限池壁中点面向池壁放入水中，记录1 min内小鼠穿越平台的次数作为小鼠的记忆成绩。

1.5 *β-APP* 基因表达检测

小鼠4个月龄时（即神经行为检测结束后）将其断头处死，分离脑组织用于*β-APP*基因表达水平的测定。

1.5.1 引物序列 应用Primer Premier软件设计*β-APP*、*GAPDH*内参的引物，由北京赛百盛公司合成。

1.5.2 RNA提取、定量及逆转录 按照总RNA提取试剂说明书操作提取RNA，所提取的总RNA用紫外分光光度计检测纯度及含量，要求D_{260}/D_{280}=1.8~2.0，提取的RNA，按照cDNA第一链合成试剂盒说明合成cDNA。

1.5.3 聚合酶链反应操作程序 cDNA 2.5 μL，*β-APP*一对引物各0.5 μL，2×MasterMix 6.5 μl，ddH_2O 2.5 μL进行扩增。扩增条件：94℃灭活逆转录酶5 min，扩增35个循环。每个循环包括：94℃变性50 s，49℃退火50 s，72℃延伸1 min，35个循环结束后72℃ 终末延伸10 min。

1.5.4 基因检测及分析 反应结束后取5 μL反应产物，在含0.5 μg/mL溴乙啶的1.5%琼脂糖凝胶中电泳，凝胶成像系统观察结果，分析目的基因扩增条带亮度，读取亮度值，以*GAPDH*为内参照进行半定量分析。小鼠*β-APP*、*GAPDH*基因引物序列见表1。

表1 小鼠*β-APP*、*GAPDH*基因引物序列信息表

Table 1 *β-APP*, *GAPDH* gene primer sequence information of mice

基因（Gene）	引物（Sense）	反义序列（Anti-sense）	退火（Annealing，℃）	序列长度（Sequence length，bp）
β-APP	5′-GAACTTGGACAGCGAAAC-3′	5′-AAGCCGAGGGTGAGTAAA-3′	49	103
GAPDH	5′-TGAACGGGAAGCTAACTGC-3′	5′-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3′	60	307

1.6 统计学分析

全部数据用均数±标准差（Mean±SD）表示，所有数据用SPSS 13.0软件分析。组间比较用单因素方差分析；利用等级相关分析剂量-效应关系。以双侧$P<0.05$作为判断差别有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组神经行为功能

与对照组相比，中、高剂量组小鼠跳台实验潜伏期明显缩短（$P<0.05$），错误次数明显增多（$P<0.05$）；避暗试验高剂量组潜伏期较对照组明显缩短（$P<0.05$），错误次数明显增多

（$P < 0.05$）；水迷宫试验低、中、高剂量组随着染铝浓度的增加潜伏期明显延长（$P < 0.05$），中、高剂量组穿越平台的次数明显减少（$P < 0.05$）。相关分析结果显示：铝暴露剂量与跳台试验潜伏期（$r_s = -0.725$，$P < 0.05$）、跳台试验错误次数（$r_s = 0.565$，$P < 0.01$）、避暗试验潜伏期（$r_s = -0.765$，$P < 0.01$）、避暗试验错误次数（$r_s = 0.509$，$P < 0.05$）、Morris 水迷宫试验潜伏期（$r_s = 0.097$，$P < 0.05$）之间均存在剂量-效应关系。随着铝暴露剂量的增加，跳台和避暗试验潜伏期明显缩短，错误次数随之增加，Morris 水迷宫潜伏期也相应延长。铝暴露剂量与 Morris 水迷宫穿越次数的相关趋势无统计学意义（$r_s = -0.032$，$P > 0.05$）（见表 2）。

表 2　小鼠跳台、避暗和水迷宫试验结果（n=10，$\bar{x}\pm s$）

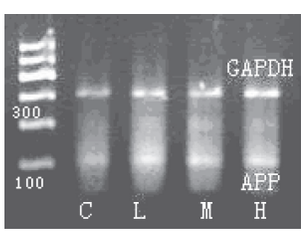
Table 2　Results of STT、SDT and MWM test in different groups（n=10，Mean±SD）

组别 Group	跳台试验（Step through test）		避暗试验（Step down test）		Morris 水迷宫（Morris water maze）	
	潜伏期（LT，s）	错误次数（EN）	潜伏期（LT，s）	错误次数（EN）	潜伏期（LT，s）	穿越平台次数（Through plat number）
对照组（Control）	135.00±30.09	0.67±1.03	260.00±20.27	0.29±0.76	33.71±21.68	4.20±3.11
低剂量组（Low dose）	85.75±72.47	1.00±1.09	205.00±21.21	0.50±1.04	38.69±21.87*	2.00±2.31
中剂量组（Middle dose）	23.31±14.98*	2.00±1.414*	186.66±120.55	0.67±1.15	42.24±21.25*	1.14±1.07*
高剂量组（High dose）	18.50±11.73*	2.40±0.548*	95.50±81.17*	1.61±0.89*	51.01±16.69*	0.83±0.98*

［注］*：与对照组比较（Compared with control group），$P < 0.05$。

2.2　脑组织 *β-APP* 基因表达结果

随着染毒剂量的增加，β-APP 条带亮度也随之增强（见图 1）。



［注］H：高剂量组（High dose）；M：中剂量组（Middle dose）；L：低剂量组（Low dose）；C：对照组（Control）

图 1　小鼠 β-APP mRNA 表达水平

Figure 1　Expression of β-APP mRNA in different groups

β-APP mRNA 的表达量随着染毒剂量的增加而增加。与对照组相比，高、中剂量组 β-APP mRNA 的表达量明显增高，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。相关分析结果显示，铝暴露剂量与 β-APP mRNA 的表达量之间存在明显的剂量-效应关系（$r_s = 0.743$，$P < 0.05$）（见表 3）。

表 3　小鼠 β-APP mRNA 表达结果（$\bar{x}\pm s$）

Table 3　Expression of β-APP mRNA in different groups（mean±SD）

组别（Group）	β-APP
对照组（Control）	0.24±0.12
低剂量组（Low dose）	0.29±0.10
中剂量组（Middle dose）	0.47±0.20*
高剂量组（High dose）	0.54±0.12*

［注］*：与对照组比较（Compared with control group），$P < 0.05$。

3　讨论

铝是一种慢性蓄积性神经毒物，可以多层次多途径损害认知功能。 铝可引起脂质过氧化增强和自由基增多，可直接损伤各种酶类、载体、受体、通道和蛋白质，影响长时程增强（LTP）的形成和维持（LTP 是一种由强直刺激作用于兴奋性突触传递通路所诱发的突触传递效率长时间增强的现象），进而会影响学习记忆功能[4-5]。动物实验表明给大鼠长期口服或皮下注射三氯化铝，均可导致大鼠学习记忆能力下降[6]。小鼠腹腔或皮下注射 $AlCl_3$ 1 个月后，其条件回避反应率明显低于对照组[7]。有研究表明，$AlCl_3$ 侧脑室注射可导致小鼠空间学习和记忆障碍[8]。迄今，铝对学习记忆的抑制作用已在多数动物和人身上得到证实。但以往对铝的神经毒性研究多采取急性暴露或体外实验方法，少数慢性毒性研究则常以腹腔注射或灌胃方式为主，与人体实际慢性摄铝方式经水或食物不符。大量资料表明，肠外用铝对动物神经系统产生明显的毒性作用。但经口摄入铝对动物行为的影响则报道较少，且迄今仍意见不一。本研究以饲料中添加 $AlCl_3$ 的方式对断乳小鼠进行染毒 3 个月的结果显示：铝暴露与跳台试验潜伏期、跳台试验错误次数、避暗试验潜伏期、避暗试验错误次数、Morris 水迷宫试验潜伏期之间均存在剂量-效应关系。与对照组相比，铝暴露组小鼠跳台、避暗试验潜伏期明显缩短，错误次数明显增多，Morris 水迷宫潜伏期明显延长，可以认为铝能损伤小鼠的学习和记忆功能。此结论与林巧等[9]研究结果一致。

国内有研究表明，铝可以引起 β-APP 在大鼠海马结构神经元沉积[10]。铝中毒 AD 大鼠模型海马结构中表达 β-APP 的神经细胞明显高于对照组[11]。β-APP 表达增多必导致有神经毒性的 β-AP 生成增多，β-APP 代谢产生 β-AP，β-AP 具有沉积作用和神经毒性。β-AP 的神经毒性作用可以增强或加大各种伤害性刺激的细胞损伤效应，还具有直接的细胞毒性[12]，较高浓度的 β-AP 能引起神经退化、死亡[13-14]和细胞变性[15-16]。β-AP 可引起自由基生成和氧化应激，通过突触体脂质过氧化作用，产生神经元细胞膜损伤，还可扰乱细胞内环境的稳定性，诱导细胞发生凋亡等[6]。有研究表明，β-AP 可引起学习记忆减退和认知障碍[17]。本研究表明，铝暴露剂量与 β-APP mRNA 的表达量之间存在明显的剂量-效应关系，铝暴露剂量越高，β-APP mRNA 的表达量越多。

本研究也表明，铝暴露可引起小鼠认知功能障碍及 β-APP 基因过度表达，相应的 β-AP 生成增多，可以推测这是铝暴露致小鼠认知功能障碍可能的机制之一。但其具体的机制尚有待进一步研究。

参考文献：

[1] HOLLÓSI M, URGE L, PERCZEL A, et al. Metalion-induced conformational changes of phosphorylated fragments of human neurofilament (NF-M) protein [J]. J Mol Biol, 1992, 223 (3): 673-682.

[2] FORLONI G, CHIESA R, SMIROLDO S, et al. Apoptosis mediated neuro-toxicity induced by chronic application of beta amyloid fragment 25-35 [J]. Neuroreport, 1993, 4 (5): 523-526.

[3] FLOOD J F, MORLEY J E, ROBERTS E. Amnestic effects in mice of four synthetic peptides homologous to amyloid B protein from patients with Alzheimer's disease5 [J]. Proc Natl Aced Sci USA, 1991, 88 (8): 3363-3366.

[4] 牛侨, 牛丕业, 何淑嫦. 天麻对铝致大鼠学习记忆障碍的影响 [J]. 卫生研究, 2004, 33 (1): 45-49.

[5] YE Y, GUO J Z, ZHOU Q X, et al. The homeostasis of iron and suppression of HO -1 involved in the protective effects of nimodipine on neurodegeneration induced by aluminum overloading in mice [J]. Eur J Pharmacol, 2008, 586 (1/2/3): 100-105.

[6] 王怀明, 杨望清, 郭洪志, 等. 铝盐致大鼠学习记忆功能障碍的 β-PP、SS 作用机制研究 [J]. 临床神经病学杂志, 2001, 14 (1): 25.

[7] YEN-KOO H C. The effect of aluminum on conditioned avoidance (CAR) in mice [J]. Toxitol Ind Health, 1992, 8 (1/2): 1-7.

[8] 郭卫力, 张勤丽, 吉秀亮, 等. 三氯化铝侧脑室注射对小鼠认知能力的影响 [J]. 环境与职业医学, 2008, 25 (6): 581.

[9] 林巧, 曹云鹏. 长期经口铝摄入对大鼠记忆行为的影响 [J]. 中国临床康复, 2003, 7 (25): 3446.

[10] 钱亦华, 杨杰, 任惠民, 等. 痴呆模型大鼠背海马结构内淀粉样蛋白沉积的免疫细胞化学研究 [J]. 西安医科大学学报, 1997, 18 (3): 304-307.

[11] 金涛, 夏春林, 邱悦, 等. Alzheimer 病铝中毒大鼠模型海马结构中 β-APP 和 GFAP 研究 [J]. 苏州医学院学报, 2001, 21 (2): 132-133.

[12] SMITH SWINTOSKY V L, MATTSON M P. Glutamate, β-amyloid Precursor proteins, and calcium mediated neurofibrillary degeneration [J]. J Neural Transm Suppl, 1994, 44: 29-45.

[13] NEVE R L, ROBAKIS N K. Alzheimer's disease: a re-examination of the amyloid hypothesis [J]. Trends Neurosci, 1998, 21 (1): 15-19.

[14] GOVANNIN M G, SCALI C, PROSPERI C, et al. Beta-amyloid-induced inflammation and cholinergic hypofunction in the rat brain in vivo: involvement of the p38MAPK pathway [J]. Neurobiol Dis, 2002, 11 (2): 257-274.

[15] PIKE C J, CUNUMINGS B J, COTMAN C W. Beta- amyloid induces neuritic dystrophy in vitro: Similarities with Alzheimer pathology [J]. Neuroreport, 1992, 3 (9): 769-772.

[16] FRANSCHY S A, BAIRD A, COLE G M. Effect of injected Alzheimer beta amyloid cores in rat brain [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88 (19): 8362-8366.

[17] CLEARY J, HTITTNER J M, SEMOTUK M, et al. Beta-amyloid (1-40) effects on behavior and memory [J]. Brain Res, 1995, 682 (1/2): 69-74.

（**收稿日期**：2008-12-31）

（编辑：徐新春；校对：吴德才）

（上接第 204 页）

从时间分布的规律来看，本区的职业伤害时间分布特点为 2 月份较少，8 月份较多；星期五较高，星期一最低；9 时至 11 时为高峰，15 时至 17 时为次高峰。虽然缺少发生职业伤害作业场所环境因素的监测数据，但分析其原因，可能是 2 月份通常多为农历春节期间，是生产淡季，而 8 月份是一年中最炎热的月份，高温致使工人休息不好，情绪烦躁，易出现疲劳和注意力不集中，因而导致职业伤害高发。上午、下午的两个高峰时段均为离下班约 0.5 h，人的精神趋于疲乏，生理和心理上都容易出现差错，从而导致各种职业伤害的发生频率显著增加，提示工矿企业要加强这些重点时段的职业卫生管理。

研究表明，该区职业伤害的部位多数集中在四肢和面额部，伤害原因以物体打击、机械伤害、高处坠落为主。由于该信息监测系统缺少发生职业伤害的企业所属行业和类型信息，所以无法分析本区职业伤害的行业分布特点。但从本区职业病危害企业职业卫生建档的数据库来看，在本区工矿企业构成中制造业、加工业占多数，因此职业伤害发生的直接原因以机械伤害为主。提示在开展作业场所职业伤害干预时要根据这些特征采取有针对性的措施，特别要加强四肢和头面部的防护，这些重点工种的从业人员应是安全生产的重点防护人群。

综上所述，本区职业伤害的发生情况应该引起相关部门的高度重视，安全监管和劳动保护部门要加强安全生产的监管和指导，协助企业加强管理，制定有关安全操作规程。工矿企业要将职业伤害防制纳入企业职业安全与健康管理体系，主动改进生产技术和加强对外来务工人员的职业安全教育和技能培训，提高从业人员的安全防护和自我保护意识；疾病预防控制机构要将职业伤害纳入职业卫生工作范畴，协助企业开展作业场所健康促进工作。

参考文献：

[1] 佚名. 2005 年全国安全生产伤亡事故情况、主要特点及存在问题 [J]. 林业劳动安全, 2006, 19 (1): 44-46.

[2] 倪建华, 黄丽美, 陈岚, 等. 上海市松江区 2002~2006 年伤害死亡和潜在寿命损失分析 [J]. 中国预防医学杂志, 2008, 9 (6): 527-530.

[3] 陈荣昌, 刘敏燕, 黄兵. 美国职业卫生法规、监管及统计体系 [J]. 中国安全科学学报, 2007, 17 (3): 100-104.

[4] 刘新荣, 杨建国, 沈骏, 等. 1993~2002 年某化工开发区职业伤害的流行病学研究 [J]. 工业卫生与职业病, 2003, 29 (6): 321-325.

[5] 刘金英, 高晓虹, 李晓枫, 等. 某港口企业职业伤害流行病学调查 [J]. 中国公共卫生, 2005, 21 (8): 997.

（**收稿日期**：2009-03-30）

（编辑：王晓宇；校对：徐新春）