四川大学学报(医学版)
J Sichuan Univ (Med Sci Edi) 2016; 47(1):49 - 53

钒暴露与 *hsp70-hom* 基因多态性对神经行为功能的交互作用研究*

张 勤[1],刘云兴[2],崔 鹂[3],李顺品[2],高 伟[2],胡高林[2],张祖辉[4],兰亚佳[1△]

1.四川大学华西公共卫生学院 环境卫生与职业医学系(成都 610041);2.攀枝花市第二人民医院 职业病科(攀枝花 617068);
3.深圳市龙岗区疾病预防控制中心 职业病防治科(深圳 518100);
4.四川大学华西基础医学与法医学院 生物化学与分子生物学教研室(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨钒暴露与 *hsp70-hom* 基因多态性对作业人群神经行为的综合影响,为制订钒作业工人的健康保护措施提供依据。**方法** 整群抽样某钒制品及化工厂工人为研究对象,问卷调查收集人口学信息及钒暴露资料;神经行为核心测试组合(NCTB)法检测神经行为功能;限制性片段长度多态性-聚合酶链反应(RFLP-PCR)法检测 *hsp70-hom* 基因型分布;主成分分析法构建神经行为功能综合指标(NBI)。**结果** ①钒暴露组在包括平均反应时间、视觉保留、数字跨度倒序、非利手提转捷度、目标追踪正确点数和总打点数及数字译码 7 个指标及 NBI 指数上,均以 T/C 基因型表现最差($P<0.05$)。②NBI 异常的风险,C/C 基因型是 T/T 基因型的 1.748 倍;而钒暴露组是对照组的 3.048 倍($P<0.05$);经年龄和文化程度调整后,钒暴露风险降低为 1.879 倍($P<0.05$),而基因未产生影响;③当基因多态和钒暴露双重因素作用时,钒暴露使 NBI 异常的风险为 2.828 倍($P<0.05$),而 T/C 基因型为 4.577 倍($P<0.05$);调整文化程度和年龄后,T/C 基因型风险增加至 7.777 倍($P<0.05$),而钒暴露未见影响。④当钒暴露与 T/C 基因型共存时,对 NBI 指数存在明显交互作用,交互作用超额危险度为 4.12 倍,交互作用归因比为 0.7,交互作用系数为 6.45;经年龄调整后,依次为 3.77 倍、0.7 和 7.44;经年龄和文化程度同时调整后,依次为 2.49 倍、0.75,未得出交互作用系数。**结论** 具有 T/C 基因型的文化程度偏低的钒暴露工人尤其需要加强职业防护。

【关键词】 钒 热休克蛋白 70 多态性 神经行为功能

Interaction Between Occupational Vanadium Exposure and *hsp70-hom* on Neurobehavioral Function

ZHANG Qin[1], *LIU Yun-xing*[2], *CUI Li*[3], *LI Shun-pin*[2], *GAO Wei*[2], *HU Gao-lin*[2], *ZHANG Zu-hui*[4], *LAN Ya-jia*[1△]. 1. *Department of Occupational and Environmental Medicine, West China School of Public Health, Sichuan University*, Chengdu 610041, China; 2. *Department of Occupational Medicine, Panzhihua Second People's Hospital*, Panzhihua 617068, China; 3. *Department of Prevention and Control of Occupational Diseases, Shenzhen Longgang District Center for Disease Control and Prevention*, Shenzhen 518100, China; 4. *Department of Biochemistry and Molecular Biology, West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University*, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: lanyajia@sina.com

【Abstract】 Objective In determine the effect of heat shock protein 70-hom gene (*hsp70-hom*) polymorphism on the neurobehavioral function of workers exposed to vanadium. **Methods** Workers from the vanadium products and chemical industry were recruited by cluster sampling. Demographic data and exposure information were collected using a questionnaire. Neurobehavioral function was assessed by Neurobehavioral Core Test Battery. The *hsp70-hom* genotype was detected by restricted fragment length polymorphism-polymerase chain reaction (RFLP-PCR). A neurobehavioral index (NBI) was formulated through principal component analysis. **Results** Workers with a T/C genotype had worse performance in average reaction time, visual retention, digital span (backward), Santa Ana aiming (non-habitual hand), pursuit aiming (right points, total points), digit symbol and NBI score than others ($P<0.05$). The relative risk of abnormal NBI score of the workers with a T/C genotype was 1.748 fold of those with a T/T genotype. The relative risk of abnormal NBI score of the workers exposed to vanadium was 3.048 fold of controls ($P<0.05$). But after adjustment with age and education, only vanadium exposure appeared with a significant effect on NBI score. When gene polymorphism and vanadium exposure coexisted, the effect of vanadium

* 攀枝花市主要职业病防治相关技术服务及分子遗传标志物检测分析项目(No.11H1219)资助

△ 通讯作者,E-mail: lanyajia@sina.com

on neurobehavioral function was attenuated, but the influence of T/C genotype increased [odds ratio (OR=4.577, P<0.05]. After adjustment with age and education, the OR of T/C genotype further increased to 7.777 (P<0.05). Vanadium exposure and T/C genotype had a bio-interaction effect on NBI score [relative excess risk due to interaction (RERI)=4.12, attributable proportion (AP)=0.7, synergy index (S)=6.45]. After adjustment with age and education, the RERI became 2.49 and the AP became 0.75, but no coefficient of interaction was produced. **Conclusion** Priorities of occupational protection should be given to vanadium-exposed workers with a *hsp*70-*hom* T/C genotype and low education level.

【Key words】 Vanadium Heat shock protein 70-hom Polymorphism Neurobehavioral function

钒及其化合物对呼吸系统、心血管系统、内分泌系统、泌尿系统和免疫系统等多器官、多系统均产生复杂的多重影响[1]。动物模型研究发现钒可对神经系统造成损害,钒可通过嗅黏膜[2]或破坏血脑屏障室管膜细胞连接[3]的方式直接进入中枢神经系统,导致明显的神经毒性,但有关钒对神经行为功能方面的人群资料仍匮乏。

神经系统的损伤除了与毒物的暴露有关,还与人群的易感性密切相关[4]。有研究表明,热休克蛋白 70 基因(*hsp*70)多态性在帕金森病、阿尔茨海默病、重症抑郁症等神经系统疾病中扮演重要角色[5],其中 *hsp*70-*hom* 位点(rs22227956)的多态性(T→C)是重要的研究靶点[6]。

故本研究以钒暴露工人为对象,比较分析不同 *hsp*70-*hom* 基因型人群神经行为功能表现的差异,探讨钒暴露与 *hsp*70-*hom* 基因多态性对作业人群神经行为的综合影响是否存在交互作用,为早期筛检及制订钒作业工人的健康保护措施提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

以钒作业工人为研究目标,根据某市中小型钒制品厂数目,随机抽取某钒制品厂全体接钒工人作为研究对象(钒暴露组),接钒工人定义为从事钒制品生产(包括原料、焙烧、浸出、成品、沉淀、废水)的作业工人。对照人群为无钒暴露职业史,从事与钒暴露组劳动强度类似、环境噪声相当的某化工厂全体作业工人。两组人群工龄均为半年以上;排除患有神经系统相关疾病、精神疾病、色盲、色弱等对神经行为功能测试有影响的疾病。所有问卷调查信息及生物样本采集均符合伦理学要求,获得受试者知情同意。

1.2 神经行为功能测试

神经行为测试采用 WHO 推荐的神经行为核心测试组合[7](neuro-behavioral core test battery, NCTB),测试指标包括简单反应时(平均潜伏期、错误次数),数字广度(顺序、倒序),圣地安娜提转捷度(利手、非利手),数字译码,视觉保留,目标追踪(正确点数、错误点数、总打点数)。测试由经过严格培训的调查员开展,同一项目由同一工作人员负责,以减少调查偏倚。

1.3 血清样本的收集

收集研究人群常规健康体检抗凝血,采用 TKM-血液 DNA 快速提取法提取 DNA[8],−70 ℃保存备用。

1.4 限制性片段长度多态性-聚合酶链反应(RFLP-PCR)法检测基因型分布

*hsp*70-*hom* 基因的引物序列:F 5′- GGACAAGTCTGAGAAGGTACAG-3′,R5′-GTAACTTAGATTCAGGTCTGG-3′[宝生物工程(成都)有限公司]。PCR 反应体系:模板 DNA 1 μL,上游引物(10 μmol/L)1 μL,下游引物(10 μmol/L) 1 μL,10×Taq Buffer 5 μL, dNTP Mixture(2.5 mmol/L)4 μL,*Taq* DNA 多聚酶(2.5 U/μL)0.5 μL,$MgCl_2$(25 mmol/L)3 μL,ddH_2O 34.5 μL。94 ℃预变性 5 min,94 ℃变性 1 min,58 ℃退火 1 min,72 ℃延伸 1 min,35 个循环后 72 ℃延伸 10 min(S10001Thermal Cycle PCR 仪器,美国 BIO-RAD 公司)。PCR 产物经 *Nco* Ⅰ(NEB)37 ℃水浴酶切过夜。酶切产物经 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳(在 3 V/cm 恒压下电泳 40 min),在凝胶成像系统下成像(Gel LoGic 200 IMAGING ROUTINE,美国柯达)观察。

1.5 统计学方法

根据资料特征,主要使用卡方分析、t 检验、方差分析等统计方法。$\alpha_{双侧}$=0.05。交互作用采用 R 软件分析,根据二分类 logistic 回归分析预测各因素的相对危险度,交互作用评价采用归因于交互作用的相对超额危险度(RERI)、交互作用归因比(AP)和交互作用系数(S)[9]。为了综合评估钒暴露及基因多态性对神经行为功能的影响,采用主成分分析法[10],构建神经行为功能综合指数

(neurobehavioral index，NBI)，纳入 8 个正优指标视觉保留、数字译码、提转捷度(利手和非利手)、数字广度(顺序和倒序)及目标追踪(总打点数和正确点数)，构建方程如下(其中，m 为最终纳入的主成分个数，i 为相应主成分代码，$\lambda i/p$ 为相应主成分方差贡献率，Fi 为相应主成分得分)：

$$NBI=\sum_{i=1}^{m}(\lambda i/p)Fi$$

以钒暴露组 NBI 的中位数为参考值，将受试人群分为神经行为综合表现正常(NBI≥－0.168 7)和异常(NBI＜－0.168 7)两类，进行基因及暴露因素分析。

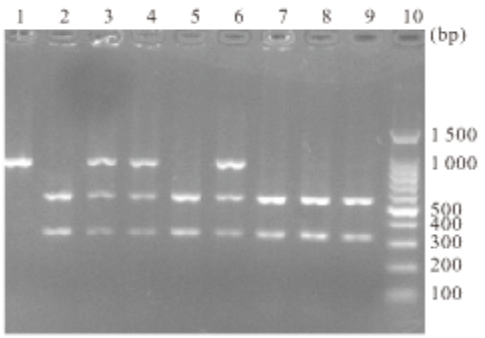
2　结果

2.1　调查人群一般情况

调查结果显示：钒暴露组(n＝128)平均年龄为(37.7±7.8)岁，对照组(n＝128)为(33.0±9.1)岁，差异有统计学意义(t＝－4.407，P＜0.05)。钒暴露组平均工龄为(10.5±9.4)年，对照组平均工龄为(11.6±8.7)年，差异无统计学意义(t＝1.045，P＞0.05)。钒暴露组与对照组男/女比例均为 2.12∶1。根据文化程度不同，将两组研究对象分别分为初级(初中及以下)、中级(高中、高职、中技、中专)和高级(大专及以上)，分析两组人群文化构成，经卡方检验发现两组文化程度构成不一致，差异有统计学意义(χ^2＝45.156，P＜0.001)。

2.2　*hsp70-hom* 基因型分布

hsp70-hom 基因 PCR 扩增产物片段长度为 878 bp，酶切产物电泳后可见 T/T 基因型显示为 551/327 bp 的 2 个片段，T/C 基因型显示为 878/551/327 bp 的 3 个片段，C/C 基因型显示为仅 878 bp的 1 个片段。见附图。



附图　*hsp70-hom* 基因 rs22227956 位点多态性分布

Fig　Distribution diagram of *hsp70-hom* (rs22227956) polymorphism

1：C/C (878 bp)；2,5,7,8,9：T/T (551/327 bp)；3,4,6：T/C (878/551/327 bp)；10：DNA ladder (100 bp)

2.3　*hsp70-hom* 不同基因型钒暴露对人群神经行为功能的影响

由表 1 可见：从反应速度和准确性的角度来看，在 T/C 基因型组的工人中，钒暴露组的平均潜伏期比对照组长(P＜0.05)。从运动活性的角度来看，钒暴露组均以带有 T/C 基因型的一组表现最差，与对照组比较差异有统计学意义的指标包括数字译码、非利手提转捷度、目标追踪正确点数、目标追踪总打点数(P 均＜0.05)。从记忆力的角度来看，带有 T/C 基因型的工人中，钒暴露组在数字译码、视觉保留和数字广度(倒序)3 个指标上的表现均较对照组差(P＜0.05)。根据主成分分析法获得 NBI，钒暴露组的得分以带有 T/C 基因型的一组表现最差(P＜0.05)，该趋势与各基因型工人在单指标中的表现类似。

表 1　不同 *hsp70-hom* 基因型职工的神经行为功能测试结果($\bar{x}\pm s$)

Table 1　Neurobehavioral function of participants with different *hsp70-hom* genotypes ($\bar{x}\pm s$)

Neurobehavioral function	T/T			T/C			C/C		
	Vanadium (n=75)	Control (n=64)	P	Vanadium (n=49)	Control (n=51)	P	Vanadium (n=4)	Control (n=13)	P
Simple reaction time									
Mean time (s)	387.0±88.2	367.3±90.7	0.199	381.7±90.9	350.4±62.1	0.046	330.5±58.3	387.3±142.7	0.457
Error dot score	0.3±0.6	0.6±0.9	0.027	0.2±0.4	0.5±0.9	0.012	0	0.6±0.1	0.040
Benton visual retention	7.0±1.7	8.3±1.2	0.000	6.8±2.1	8.1±1.2	0.000	7.5±1.9	7.6±1.5	0.901
Digit span									
Digit span forward	9.3±2.8	9.1±2.8	0.763	8.4±3.0	9.4±2.6	0.082	6.8±0.5	9.2±2.1	0.036
Digit span backward	4.9±2.0	5.9±2.4	0.010	4.7±2.1	6.3±2.5	0.001	5.0±1.2	6.3±2.9	0.400
Santa Ana dexterity									
Preferred hand	16.5±3.0	16.0±2.7	0.343	15.8±3.0	16.0±3.7	0.787	17.0±2.9	16.9±3.0	0.965
Non-preferred hand	15.3±3.4	15.5±2.9	0.746	12.2±3.0	15.4±3.3	0.000	16.3±2.5	16.3±2.7	0.970
Pursuit aiming									
Correct pursuit aiming	68.6±23.3	74.2±24.3	0.166	60.3±26.9	74.2±24.3	0.000	76.5±15.2	69.5±19.4	0.524
Error pursuit aiming	23.3±20.8	22.6±25.0	0.849	21.7±33.6	18.2±25.7	0.566	8.3±9.1	12.2±14.7	0.621
Total pursuit aiming	91.9±23.8	96.8±28.4	0.277	82.0±29.2	99.4±28.5	0.003	84.8±21.9	81.8±28.0	0.849
Digit symbol	33.2±15.4	31.8±9.2	0.513	27.8±14.2	35.9±9.5	0.001	32.5±14.7	34.1±9.8	0.804
NBI	－0.08±0.56	0.13±0.53	0.025	－0.33±0.65	0.25±0.58	0.001	0.15±0.24	0.03±0.66	0.597

2.4 *hsp70-hom* 基因型分布和钒暴露对神经行为综合功能的影响

表 2 可见 3 种基因型在 NBI 指数正常和异常组的分布差异没有统计学意义($P>0.05$),但突变型(T/C 和 C/C 型)NBI 异常率 54.2%高于野生型 31.9%($P<0.05$)。经单因素二分类 logistic 回归分析发现,相对于 T/T 基因型,C/C 基因型发生神经行为综合功能异常的风险为 1.748 倍($P<0.05$),增加 T/C 基因型后,风险降低为 1.709 倍($P<0.05$)。但经年龄和文化程度调整(年龄:≤30 岁,31～39 岁,≥40 岁;文化程度:初级,中级,高级)后,相对危险度的变化不具有统计学意义($P>0.05$)。等位基因 T 和 C 在不同神经行为人群中分布差异无统计学意义($P>0.05$)。钒暴露组 NBI 异常率 50.4%高于对照组 25.0%($P<0.05$),钒暴露使作业工人发生神经行为综合功能异常的风险为 3.048 倍($P<0.05$),经年龄和文化程度调整后,风险降低为 1.879 倍($P<0.05$),提示年龄和文化程度对钒暴露所致神经行为功能的改变影响较大。

2.5 钒暴露及 *hsp70-hom* 基因多态性对神经行为功能的综合影响

见表 3,表 4。由表 3 可知,当钒暴露与 *hsp*70-

表 2 *hsp70-hom* 基因型分布及钒暴露与神经行为综合功能异常的风险评估

Table 2 Associations of *hsp70-hom* genotype and vanadium exposure with neurobehavioral function

	Normal [case (%)]	Abnormal [case (%)]	χ^2	*P*	*OR* (95%*CI*)	*OR*' (95%*CI*)
Genotype						
T/T#	94 (68.1)	44 (31.9)	4.346	0.114	1	1
T/C	55 (55.0)	45 (45.0)			1.495 (0.534-4.189)	2.191 (0.699-6.871)
C/C	10 (58.8)	7 (41.2)			1.748 (1.026-2.977)*	1.614 (0.907-2.872)
TC+CC	65 (40.9)	52 (54.2)	4.255	0.039	1.709 (1.025-2.849)*	1.681 (0.965-2.927)
Allele						
T	243 (64.6)	133 (35.4)	3.154	0.076		
C	75 (56.0)	59 (44.0)				
Exposure factor						
Control	96 (75.0)	32 (25.0)	17.512	0.001	1	1
Vanadium	63 (49.6)	64 (50.4)			3.048 (1.794-5.178)*	1.879 (1.038-3.399)*

1 case missing without NBI. *OR*': Age and education adjusted *OR*. * $P<0.05$

表 3 钒暴露与 *hsp70-hom* 基因多态性共同作用对神经行为功能的综合影响分析

Table 3 Effect of vanadium exposure and *hsp70-hom* polymorphism on neurobehaviroal function

	β	*P*	*OR* (95%*CI*)	*β*'	*P*'	*OR*' (95%*CI*)
Vanadium exposure	1.04	0.008	2.828 (1.317-6.073)	0.569	0.181	1.766 (0.767-4.062)
T/T		0.053	1		0.008	1
T/C	1.521	0.017	4.577 (1.313-15.958)	2.051	0.003	7.777 (2.017-29.983)
C/C	0.188	0.678	1.207 (0.496-2.935)	0.065	0.893	1.067 (0.414-2.748)
T/C+C/C	0.505	0.223	1.656 (0.736-3.729)	0.511	0.239	1.668 (0.712-3.908)

β', *P*', *OR*': Ages and education adjusted

表 4 钒暴露与 *hsp70-hom* T/C 基因型对神经行为综合功能的交互作用分析

Table 4 Interaction effect between vanadium exposure and *hsp70-hom* T/C genotype on neurobehaviroal function

	V	T/C	*RR* (95%*CI*)	RERI	AP	S
Unadjusted	−	−		4.12 (0.13-8.11)	0.70 (0.44-0.97)	6.45 (0.90-46.30)
	−	+	0.88 (0.38-2.00)			
	+	−	1.88 (0.95-3.72)			
	+	+	5.88 (2.68-12.89)*			
Age adjusted	−	−		3.77 (0.10-7.44)	0.70 (0.43-0.97)	7.44 (0.65-85.70)
	−	+	0.86 (0.38-1.96)			
	+	−	1.73 (0.86-3.47)			
	+	+	5.36 (2.41-11.93)*			
Age and education adjusted	−	−	2.49 (0.11-4.87)	0.75(0.43-1.06)		/
	−	+	0.74 (0.31-1.76)			
	+	−	1.11 (0.53-2.33)			
	+	+	3.34 (1.43-7.81)*			

V: Vanadium exposure; /: Unproduced; *RR*: Relative risk. * $P<0.05$

hom 基因共同作用时，钒暴露组 NBI 异常的危险度是对照组的 2.828 倍（$P<0.05$），但经年龄和文化程度调整后，危险度差异未见统计学意义（$P>0.05$）。T/C 基因型人群在年龄和文化程度调整前后 NBI 异常的危险度由 4.577 倍增加至 7.777 倍（$P<0.05$）。进一步分析 T/C 基因型与钒暴露对 NBI 的交互作用影响发现（表 4），单独钒暴露或者 T/C 基因型未对 NBI 异常产生显著影响，但当钒暴露与 T/C 基因型同时存在时，相对于非 T/C 基因型的对照人群而言，其 NBI 异常危险度为 5.88 倍（$P<0.05$），且归因于交互作用的相对超额危险度为 4.12 倍，交互作用系数为 6.45；经年龄调整后，相对危险度下降为 5.36 倍（$P<0.05$），交互作用系数增加为 7.44；经年龄和文化程度同时调整后，相对危险度继续下降为 3.34 倍（$P<0.05$），但未获得交互作用系数。

3　讨论

HSP70 是一种广泛存在于生物界的一种应激蛋白，在各种脑损伤时对维持神经元的正常生理结构和功能具有重要作用[11]。*hsp*70-*hom* 基因作为 HSP70 家族中的一员，定位于 6p21.3 区主要组织相容性复合体（MHC）Ⅲ类分子内，其多态性可能与疾病或机体遭受再次应激的易感性或耐受性有关[12]。同时，神经系统的异常同重金属的暴露有关，例如 Garci 等[13]研究发现钒暴露可改变中枢神经系统中重要分子伴侣的含量，可致染钒大鼠小脑区域出现 HSP70 活性神经元数量增加，提示 HSP70 可能是影响钒神经行为功能变化的重要因素。因此，为了探讨 *hsp*70-*hom* 基因和钒暴露对于神经系统的影响是否存在交互作用，我们以钒作业工人为研究对象，通过基因多态性及神经行为功能检测发现：钒暴露及 *hsp*70-*hom* 多态性对神经行为功能均存在影响且有交互作用。

钒暴露组在包括平均潜伏期、视觉保留、数字广度（倒序）、非利手提转捷度、目标追踪正确点数和总打点数及数字译码 7 个指标及 NBI 指数上，均以 T/C 基因型表现最差。分别研究钒暴露及 *hsp*70-*hom* 基因多态性对 NBI 的影响，C/C 基因型导致 NBI 异常的风险是 T/T 基因型的 1.748 倍，而钒暴露组是对照组的 3.048 倍（$P<0.05$）；经年龄和文化程度调整后，钒暴露风险降低为 1.879 倍（$P<0.05$），而基因未产生影响。此结果提示，年龄及文化程度对接钒人群神经行为有较大影响，与我们课题组[14]前期研究一致。在单因素研究的基础上，进一步研究在基因多态和钒暴露双重因素作用下，钒暴露使 NBI 异常的风险为 2.828 倍（$P<0.05$），而 T/C 基因型的相对 4.577 倍（$P<0.05$）。当钒暴露与 T/C 基因型共存时，对 NBI 指数存在明显交互作用，交互作用的相对超额危险度为 4.12 倍，交互作用归因比为 0.70，交互作用系数为 6.45。结果提示：*hsp*70-*hom* 基因中 T/C 基因型可能影响钒对作业人群神经行为功能的作用。这一结果与胡志鹏等[5]的研究相似，其发现焦炉作业工人中携带 *hsp*70-*hom* 基因 T/C＋C/C 基因型中、高暴露组工人淋巴细胞早期凋亡率均高于低暴露组（$P<0.05$），*hsp*70-*hom* 基因 T/C＋C/C 基因型与高暴露环境的交互作用可增加淋巴细胞凋亡的危险度。

当钒暴露与 T/C 基因型共存时，经年龄调整后，交互作用的相对超额危险度为 3.77 倍，交互作用归因比为 0.70，交互作用系数为 7.44；经年龄和文化程度同时调整后，交互作用的相对超额危险度为 2.49 倍，交互作用归因比为 0.75，但未获得交互作用系数，可能与分层分析后，样本量较小有关。该结果提示年龄和文化程度对 NCTB 的检测结果具有一定影响，可能是由于文化程度的高低将影响受试者对检测项目的理解及操作，而神经系统的功能本身与年龄密切相关。

综上所述，为了减少钒暴露对工人神经行为功能的影响，携带 *hsp*70-*hom* 基因 T/C 基因型的接钒工人更应加强个人防护。由于本次研究未能采集个体的钒暴露剂量，因而难于就暴露浓度高低与基因型的差异对工人神经行为功能综合影响进行评价；且由于本次调查只着眼于劳动保护措施相对较差的中小型企业，使得样本量相对较少，当对年龄和文化程度同时调整时，未能获得交互作用系数。在今后的研究中，将进一步扩大样本量，以深入探讨钒暴露与 *hsp*70-*hom* 基因的交互作用机制。

参　考　文　献

1　Zwolak I. Vanadium carcinogenic, immunotoxic and neurotoxic effects: a review of *in vitro* studies. Toxicol Mech Method, 2014;24(1):1-12.

2　Ngwa HA, Arthi K, Jin HJ, *et al*. Vanadium exposure induces olfactory dysfunction in an animal model of metal neurotoxicity. Neurotoxicology, 2014;43:73-81. doi:10.1016/j.neuro.2013.12.004.

（下转第 59 页）

EMT 现象的发生可能是促进 GAC 侵袭转移的重要途径之一。通过靶向调控 ALDH1 或 EMT 的关键调节因子 Twist 等或可有效抑制 GAC 的侵袭和转移，改善患者预后，为 GAC 治疗提供新的视角。

参　考　文　献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, *et al*. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin, 2011; 61(2): 69-90.

2 Chen YC, Chen YW, Hsu HS, *et al*. Aldehyde dehydrogenase 1 is a putative marker for cancer stem cells in head and neck squamous cancer. Biochem Biophys Res Commun, 2009; 385(3): 307-313.

3 Jiang F, Qiu Q, Khanna A, *et al*. Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell associated marker in lung cancer. Mol Cancer Res, 2009; 7(3): 330-338.

4 Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, *et al*. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. Cell Stem Cell, 2007; 1(5): 555-567.

5 Eliasm C, Tozer KR, Silber JR, *et al*. TWIST is expressed in human gliomas and promotes invasion. Neoplasia, 2005; 7(9): 824-837.

6 Li J, Zhou BP. Activation of β-catenin and Akt pathways by Twist are critical for the maintenance of EMT associated cancer stem cell-like characters. BMC Cancer, 2011; 11: 49. doi: 10.1186/1471-2407-11-49.

7 Kang Y, Massague J. Epithelial mesenchymal transitions: twist in development and metastasis. Cell, 2004; 118(3): 277-279.

8 Vesuna F, Van Diest P, Chen JH, *et al*. Twist isa transcriptional repressor of E-cadherin gene expression in breast cancer. Biochem Biophys Res Commun, 2008; 367(2): 235-241.

9 Feng MY, Wang K, Song HT, *et al*. Metastasis-induction and apoptosis-protection by TWIST in gastric cancer cells. Clin Exp Metastasis, 2009; 26(8): 1013-1023.

10 Santisteban M, Reiman JM, Asiedu MK, *et al*. Immune-induced epithelial to mesenchymal transition *in vivo* generates breast cancer stem cells. Cancer Res, 2009; 69(7): 2887-2895.

11 Mani SA, Guo W, Liao MJ, *et al*. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. Cell, 2008; 133(4): 704-715.

12 Dalerba P, Dylla SJ, ParIk K, *et al*. Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007; 104(24): 10158-10163.

13 陆瑞祺，吴巨钢，周国才等. 胃癌 CDl33 阳性细胞亚群肿瘤起始细胞样特性的检测. 中华胃肠外科杂志，2012；15(2)：174-179.

14 Chen C, Wei Y, Hummel M, *et al*. Evidence for epithelial-mesenchymal transition in cancer stem cells of head and neck squamous cell carcinoma. PLoS One, 2011; 6(1): e16466. doi: 10.1371/journal.pone.0016466.

(2015－03－08 收稿，2015－08－08 修回)

编辑　沈　进

(上接第 53 页)

3 Avila-Costa MR, Colín-Barenque L, Zepeda-Rodríguez A, *et al*. Ependymal epithelium disruption after vanadium pentoxide inhalation: a mice experimental model. Neurosci Lett, 2005; 381(1-2): 21-25.

4 Aschner M, Edward LD, Cristina S, *et al*. Gene-environment interactions: neurodegeneration in non-mammals and mammals. Neurotoxicology, 2010; 31(5): 582-588.

5 胡志鹏，李卫星，张红明等. HSP70 基因多态性与焦炉工外周血淋巴细胞凋亡的易感性研究. 环境与健康杂志，2012；29(4)：306-310.

6 Kim JH, Hong YC. HSP70-hom gene polymorphisms modify the association of diethylhexyl phthalates with insulin resistance. Environ Mol Mutagen, 2014; 55(9): 727-734.

7 周鼎伦，封承勇，兰亚佳. 钒对神经行为功能影响的配对分析. 四川大学学报(医学版)，2007；38(3)：468-470.

8 Lahiri S. DNA isolation by a rapid method from human blood samples: effects of $MgCl_2$, EDTA, storage time, and temperature on DNA yield and quality. Biochem Genet, 1993; 31(7-8): 321-328.

9 Andersson T, Alfredsson L, Kallberg H, *et al*. Calculating measures of biological interaction. Eur J Epidemiol, 2005; 20(7): 575-579.

10 林海明，张文霖. 主成分分析与因子分析的异同和 SPSS 软件——兼与刘玉玫、卢纹岱等同志商榷. 统计研究，2005；3：65-69.

11 严艳萍. bFGF 对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤后 HSP70 表达的影响. 天津：天津医科大学，2006.

12 周　舫，李芳泽，蒋长征等. HSP70-hom 基因多态性与高原反应易感性的关系. 工业卫生与职业病，2005；31(1)：29-31.

13 Garci GB, Quiroga D, Sturtz N, *et al*. Morphological alterations of central nervous system (CNS) myelin in vanadium (V)-exposed adult rats. Drug Chem Toxicol, 2004; 2(3): 281-293.

14 Li H, Zhou DL, Zhang Q, *et al*. Vanadium exposure-induced neurobehavioral alterations among Chinese workers. Neurotoxicology, 2013; 36: 49-54. doi: 10.1016/j.neuro.2013.02.008.

(2015－03－13 收稿，2015－07－24 修回)

编辑　余　琳