

甲苯二异氰酸酯生物标志物的研究进展

李思龙^{1,2}, 朱文文^{1,2}, 邵华¹

(1. 山东省医学科学院/山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062; 2. 济南大学/山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250062)

摘要: 甲苯二异氰酸酯 (toluene diisocyanate, TDI) 是一种重要的化工原料, 也是一种具有较高风险的环境污染物质, 其接触人群众多, 职业危害严重, 已引起广泛的关注和研究。本文介绍了 TDI 的理化性质、毒性、职业接触限值、检测方法、生物标志物以及职业接触生物限值等研究现状, 为保护职业接触人群的健康、研究制定生物接触限值提供参考。

关键词: 甲苯二异氰酸酯; 生物标志物; 生物监测

中图分类号: R99 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2014)04-0285-03 DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.04.018

The research progress of occupational exposure to toluene diisocyanate

LI Si-long*, ZHU Wen-wen, SHAO Hua

(* . Shandong Academy of Occupational Health and Occupational Medicine, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China)

Abstract: The toluene diisocyanate (TDI) is not only a important chemical raw material but also a kind of environmental pollutant with high risk, that has large contact population and severe occupational hazard and aroused widespread concern and attention. In this paper, its physical and chemical properties, toxicity, occupational exposure limit value, detection methods and biomarkers etc. were all introduced which will provide a good reference for protecting the health of occupational exposed people and studying biological exposure threshold limit value.

Key words: toluene diisocyanate; occupational exposure; biological monitoring

甲苯二异氰酸酯 (TDI) 是一种低分子量化学物质, 为聚氨酯 (PU)、涂料、胶粘剂、软质泡沫等生产的主要原料, 广泛应用于家电、家具、床垫、沙发、汽车座椅、建材、电子、造船等行业。TDI 在人体中具有潜伏性和集聚性, 对皮肤、眼睛和呼吸道有强烈刺激作用, 长期低剂量接触可对人群造成损害^[1]。为减少接触 TDI 对人体造成的健康危害, 国内外均规定了空气中 TDI 的最高容许浓度。环境监测仅能反映空气中的浓度, 而生物监测则能反映不同来源和途径总的接触量和负荷量。因此, 研究职业接触 TDI 人群的生物限值对保护工人健康有重要意义。

1 TDI 的理化性质

TDI 有 2,4-TDI 和 2,6-TDI 两种异构体, 为浅黄色或无色透明液体, 有强烈的刺激性气味, 在紫外线照射下变黄, 密度 1.2244 g/cm³ (20 °C), 闪点 132 °C, 折射率 1.569; 按两种异构体含量的不同, 工业上有 TDI-65/35 (2,4-TDI 65%、2,6-TDI 35%)、TDI-80/20 (2,4-TDI 80%、2,6-TDI 20%)、TDI-100 (2,4-TDI 100%) 3 种规格的产品, 其中 TDI-100 最为常见。其熔点 TDI-65/35 为 3.5 ~ 5.5 °C, TDI-80/20 为 11.5 ~ 13.5 °C, TDI-100 为 19.5 ~ 21.5 °C; TDI 沸点 251 °C; 能与苯、氯苯、乙醚、丙酮、二甘醇、四氯化碳、煤油、橄

榄油混溶, 遇明火可燃烧, 加热分解释放出氰化物和氮氧化物, 可与含羟基的化合物、水、胺和具有活泼氢原子的化合物反应生成脲、氨基脲、氨基甲酸酯等^[2]。

2 TDI 的毒性

TDI 属于低毒类有机化学物质。吸入 TDI 可引起肺内血管、气道上皮、肺间质及免疫系统等多方面损伤。较高浓度 (0.5 ~ 5 ppm) 对黏膜有刺激作用, 可引起咽痛、剧咳、气急、呼吸道刺激症状, 严重者可出现肺泡性肺水肿。在较低浓度下 (0.001 ~ 0.02 ppm) 可有少数人出现气道高反应, 甚至诱发哮喘或过敏性肺炎。研究显示 TDI 吸入可诱导肺内炎症细胞出游, 增加炎症细胞 iNOS 表达, 但不影响血管内皮细胞 eNOS 的表达。TDI 诱导肺内炎症细胞表面 CD11b 和肺内毛细血管内皮 ICAM-1 表达增加, 从而加强炎症细胞与内皮细胞的相互粘附, 增加肺内炎症细胞的募集, 募集到肺内的炎症细胞释放过量的 NO 是 TDI 诱发肺损伤的原因之一^[3]。TDI 致肺损伤的恢复需要很长时间, 而接触 TDI 时间的长短和症状出现的迟早与这种恢复过程明显相关。目前, 对于 TDI 引起的职业性哮喘和过敏性肺炎还没有特效治疗方法, 有关糖皮质激素的作用亦有不同报道。

3 TDI 职业接触限值

TDI 很容易挥发, 在涂料的施工和涂抹过程中会逐渐释放出来, 对人体健康造成危害。为了避免 TDI 蒸气对人体造成危害, 各国均规定了空气中 TDI 的最高容许浓度。根据国际化学品安全规划署 (IPCS) 和欧共体共同编制的化学品安

收稿日期: 2013-08-09; 修回日期: 2013-10-09

基金项目: 山东省科技攻关项目 (2012G0030034)

作者简介: 李思龙 (1988—), 男, 硕士在读, 研究方向: 劳动卫生与环境卫生。

通讯作者: 邵华, E-mail: chinashaohua5888@163.com。

全卡的规定, TDI 在空气中的浓度为 0.036 mg/m^3 , 如长期接触超过此浓度的游离 TDI 可能导致死亡。基于毒性、流行病学、物理化学及劳动卫生数据, 美国职业安全与健康组织 (OSHA) 已经提出了 TDI 的可容许的暴露极限 (PEL) 为 0.02 ppm , 国际职业安全和卫生协会 (NIOSH), 提出极限浓度为 0.005 ppm , 这是一个 10 h 轮班作业期间异氰酸酯的时间加权平均浓度值 (time-weighted average, TWA), 而 0.02 ppm 是 10 min 采样期间的一个容许最高值。在台湾, TDI 暴露 15 min 的最高容许值是 0.005 ppm 。美国规定工作场所中容许的最高浓度为 0.14 mg/m^3 。澳大利亚、法国都规定 TDI 最高容许暴露极限浓度为 0.2 mg/m^3 。我国规定工作场所空气中 TDI 的 8 h 时间加权平均容许浓度 (PC-TWA) 为 0.1 mg/m^3 , 短时间接触平均容许浓度 (PC-STEL) 为 0.2 mg/m^3 。

4 TDI 检测方法

TDI 进入人体后最终通过尿液排出体外, 尿中甲苯二胺 (toluene diamine, TDA) 为其最终代谢产物。其检测方法有气相色谱法^[4]、高效液相色谱法等^[5]。血浆及尿液中 TDA 的代谢可分为快速清除相和减缓清除相, 清除率与吸入 TDI 浓度呈线性关系。尿液中的快速清除相反映了最近一次 TDI 的接触情况, 而减缓清除相则反映了既往体内 TDI 的蓄积状况。TDA 在快速相的半减期约 2 h, 8%~18% 的 TDA 可在 24 h 内排出体外; 6~8 h 内尿中 TDA 的排出浓度为 $5.0 \sim 8.6 \text{ mg/L}$ 。

空气中 TDI 的检测方法有色谱法^[6]、盐酸萘乙二胺比色法^[7]、纸带法以及由此而设计的异氰酸酯自动分析仪。色谱法的灵敏度及特异性都很高, 可检测到 $\mu\text{g/m}^3$ 的异氰酸酯, 但设备昂贵。盐酸萘乙二胺比色法的设备简单, 是目前最常用的检测方法。

5 TDI 生物标志物

5.1 TDI 氧化损伤及能量代谢标志物

于蕾等从氧化损伤和能量代谢的角度观察到小鼠吸入 TDI 后, 血清中丙二醛 (MDA) 含量明显增加, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和谷胱甘肽 (GSH) 含量有不同程度降低, 血液中 SDH 和 LDH 活性均有明显增高, ATP 酶活性下降。TDI 对氧化损伤和能量代谢的干扰, 导致了染毒动物血液中氧化损伤指标体系和能量代谢指标体系的改变, 这些指标可以作为 TDI 职业性接触人群早期诊断的参考指标, 但其性别和种属差异还有待于进一步的实验研究^[8]。

5.2 TDI 血液及尿液代谢标志物

季宇彬等应用气相质谱测定小鼠体内 TDI 的代谢产物, 并鉴别了其在机体中的代谢途径, 结果表明 2,4-TDI 在血液、尿液、粪便中都被代谢成为 2,4-TDA, GC-MS 法可有效分离并鉴定 TDI 体内代谢产物^[9]。郎朗等采用高效液相色谱法研究 TDI 在小鼠血清中的代谢情况, 发现 TDI 的代谢存在性别差异, 雄性在血清中代谢的生物半衰期为 51.72 min, 雌性代谢的生物半衰期为 111.77 min, 雄性小鼠在整个过程中降解较快, 说明雄性动物的代谢转化能力明显高于雌性动物, 通过对血清中代谢产物的检测, 得到 2,4-TDA 为其代谢产物^[10]。Sennbro 等对 81 名来自不同工厂职业暴露 TDI 工人监

测个人 8 h 加权接触 TDI 值, 并收集工作班后 4 h 尿, 同时采集职业暴露工人血液和尿液样本做对比试验, 发现职业接触空气中 TDI 与尿中 TDA 具有相关性, 尿中 TDA 浓度与职业接触空气中 TDI 浓度具线性相关^[11]。Lind 等采用气相色谱-质谱法检测了 TDI 作业者尿液与血液中 2,4-TDA 及 2,6-TDA 的代谢状况 (TDI 在体内可转化为 TDA), 结果显示尿液 2,4-TDA 及 2,6-TDA 的半衰期为 5.8~11 d; 血液 2,4-TDA 半衰期为 14~34 d, 2,6-TDA 为 16~26 d; 长期接触 TDI 者血浆 2,4-TDA 及 2,6-TDA 半衰期比正常人长 1 倍^[12]。

6 TDI 职业接触生物限值

基于 TDI 体内代谢产物的研究结果, 英国健康与安全署规定工人接触 TDI 生物监测指导值 (BMGV) 为 $1 \mu\text{mol}$ 尿 TDA/mol 肌苷。Sennbro 等通过比较不同行业 TDI 职业暴露工人接触 TDI 浓度与血、尿样本中 TDA 水平, 发现职业接触 TDI 浓度与血浆或者尿液中 TDA 浓度呈线性关系, 尿和血浆中 2,4-TDA 和 2,6-TDA 可能是 2,4-TDI 和 2,6-TDI 生物标志物, 并以瑞典 8 h 职业接触限值 (5 ppb , $36 \mu\text{g/m}^3$) 为基础, 推导出 2,4-TDI 职业接触生物限值为 $65 \mu\text{g}$ 2,4-TDA/L 尿或 $79 \mu\text{g}$ 2,4-TDA/L 血浆, 2,6-TDI 职业接触生物限值为 $97 \mu\text{g}$ 2,6-TDA/L 尿或 $104 \mu\text{g}$ 2,6-TDA/L 血浆, 总 TDI 职业接触生物限值为 $79 \mu\text{g}$ TDA/L 尿或 $90 \mu\text{g}$ TDA/L 血浆^[11]。我国目前已建立 TDI 职业接触限值, 但 TDI 生物代谢研究鲜见报道, 也未建立 TDI 职业接触生物限值。

综上所述, TDI 进入人体方式主要包括皮肤接触和吸入方式, TDI 对人体健康的影响主要为呼吸道致敏损伤及皮肤炎症。TDI 作用的分子生物学机制目前仍不清楚, 但可以明确的是 TDI 最终通过尿液排出体外, 尿中 TDA 为其最终代谢产物。生物监测被认为是最有效的评估职业接触 TDI 水平的手段, 因此, 了解 TDI 进入机体的相对量, 并根据已制定的职业接触限值, 制定相应的 TDI 生物接触限值, 将更好的为控制和降低人体接触水平, 预防职业危害提供依据。

参考文献:

- [1] 余慧珠, 马爱英, 严爱珍, 等. 接触低浓度二异氰酸甲苯酯工人的健康研究 [J]. 中国公共卫生, 2002, 18 (7): 806-807.
- [2] 解伟欣. 涂料中甲苯二异氰酸酯释放规律的研究 [D]. 中国海洋大学, 2009: 7-8.
- [3] Numata M, Suzuki S, Miyazawa N, *et al.* Inhibition of inducible nitric oxide synthase prevents LPS-induced acute lung injury in dogs [J]. The Journal of Immunology, 1998, 160 (6): 3031-3037.
- [4] Sakai T, Morita Y, Kim Y, *et al.* LC-MS determination of urinary toluenediamine in workers exposed to toluenediisocyanate [J]. Toxicology Letters, 2002, 134 (1): 259-264.
- [5] Carbonnelle P, Boukourt S, Lison D, *et al.* Determination of toluenediamines in urine of workers occupationally exposed to isocyanates by high-performance liquid chromatography [J]. Analyst, 1996, 121 (5): 663-669.
- [6] 张艳, 张昆山. 工作场所空气中甲苯二异氰酸酯的检测方法 [J]. 吉林电力, 2010, 38 (1): 38-40.
- [7] 阮冲. 盐酸萘乙二胺比色法测定室内二异氰酸甲苯酯 (TDI) 的探讨 [J]. 黑龙江科技信息, 2012, 20: 38-39.

- [8] 于蕾, 张凡菲, 郎朗, 等. 甲苯二异氰酸酯对小鼠血液中氧化损伤及能量代谢标志物的影响 [J]. 环境与职业医学, 2007, 24 (5): 487-489.
- [9] 季宇彬, 汲晨锋, 邹翔, 等. 气相质谱法对小鼠体内甲苯二异氰酸酯代谢产物的鉴定分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27 (9): 1886-1889.
- [10] 郎朗, 刘惠鑫. TDI 在小鼠血清中的代谢及代谢产物的鉴定 [J]. 哈尔滨商业大学学报 (自然科学版), 2007, 23 (2): 138-141.
- [11] Sennbro C J, Lindh C H, Tinnerberg H, *et al.* Biological monitoring of exposure to toluene diisocyanate [J]. Scandinavian Journal of Work, Environment Health, 2004, 30 (5): 371-378.
- [12] Lind P, Dalene M, Skarping G, *et al.* Toxicokinetics of 2, 4- and 2, 6-toluenediamine in hydrolysed urine and plasma after occupational exposure to 2, 4- and 2, 6-toluene diisocyanate [J]. Occupational and Environmental Medicine, 1996, 53 (2): 94-99.

sirt 3 的作用机制及抗肿瘤研究进展

林凯丽¹, 王彦¹, 王津晗², 刘强¹

(1. 北京协和医学院/中国医学科学院放射医学研究所, 天津 300192; 2. 天津商业大学, 天津 300134)

摘要: 沉默信息调节因子 3 (sirt3) 是线粒体去乙酰化蛋白, 参与线粒体蛋白去乙酰化调节, 激活超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, SOD2), 降低线粒体活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平, 维持细胞内稳态平衡, 调节氧化、激素或者电离辐射等应激反应。sirt3 是线粒体高保真蛋白和抑癌基因, 其去乙酰化活性与长寿相关, 因此, sirt3 缺失可导致线粒体代谢异常和细胞损伤, 引起与衰老相关的病理症状。本文对 sirt3 的线粒体定位、调节和抑癌作用进行讨论, 阐明 sirt3 可以维持线粒体完整性和正常代谢活动, 某种程度上能够抑制肿瘤的发生。

关键词: 沉默信息调节因子 3 (sirt3); 超氧化物歧化酶 2 (SOD2); 活性氧 (ROS)

中图分类号: R99 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2014)04-0287-03 DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.04.019

Study progress on action mechanism and its anti-tumor effect of sirt3

LIN Kai-li*, WANG Yan, WANG Jin-han, LIU Qiang

(* . Institute of Radiation Medicine of Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

Abstract: The silent information regulator 3 (sirt3) is a mitochondrial acetylated protein, participates the regulation of mitochondrial protein deacetylation, which may activate superoxide dismutase 2 (SOD2) to reduce mitochondrial reactive oxygen species (ROS) level, maintain cellular homeostasis and regulate the stress reaction by oxidation, hormones or ionizing radiation etc. sirt3 also is a mitochondrial high fidelity protein and a tumor suppressor factor, its deacetylation activity is associated with longevity. Therefore, the lack of sirt3 can induce mitochondrial metabolic disorders and cell damage, produce pathological symptoms associated with aging. In this review, the mitochondrial localization, metabolic regulation and tumor suppressor function of sirt3 will be well discussed, that clarifies sirt3 playing a vital role in maintaining the integrity and the normal metabolism of mitochondria and inhibiting tumor occurrence in some degree.

Key words: silent information regulator 3 (sirt3); superoxide dismutase 2 (SOD2); reactive oxygen species (ROS)

沉默信息调节因子 3 (sirt3) 是哺乳动物 7 个 sirtuins 家族成员之一, 与酵母沉默信息调节基因 sir2 同源^[1]。sirtuins (sirt1~7) 是一类 NAD 依赖的去乙酰化蛋白和 ADP 核糖基转移酶, 是非组蛋白乙酰化主要调节因子, 其酶活性受到细胞中 NAD⁺ 和 NADH 含量的调节。NAD⁺ 含量较高时, sirtuins 蛋白酶被激活; 相反 NADH 含量较高时, sirtuins 蛋白酶活性受到抑制^[2]。哺乳动物体内 sirtuins 蛋白分布于整个细胞, 其中 sirt1、sirt6、sirt7 主要定位于细胞核, sirt2 定位于细胞质,

sirt3、sirt4、sirt5 定位于线粒体^[3], 分别参与多种细胞代谢和生理调节, 包括多数的氧化应激, 基因的稳定性, 细胞的存活、增殖、代谢和衰老, 以及器官的长寿等^[4-6]。

线粒体 sirt3 蛋白参与线粒体蛋白的翻译后修饰调节, 影响线粒体的能量代谢、底物氧化和细胞凋亡等活动。sirt3 蛋白是线粒体基质中的一个可溶性蛋白, 其编码发生于细胞核, 分子量为 45 kD, 含有一个 N-末端线粒体靶向序列, 进入线粒体后剪切为 28 kD 具有酶活性的蛋白质^[7]。与人类 sirt3 相比, 小鼠 sirt3 蛋白缺乏定位于线粒体的 N-末端 142 个氨基酸残基序列, 定位于细胞核旁边, 分布模式与人类基本相同^[8]。sirt3 作为一种惰性蛋白, 被激肽酶激活后参与细胞的氧化应激调节^[8], 抵抗与衰老和氧化应激相关的疾病。

1 sirt3 在线粒体中的作用

1.1 sirt3 的去乙酰化作用

收稿日期: 2013-12-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31300695, 31240052); 天津市自然科学基金 (13JCQNJC11600); 协和青年基金资助和中央高校基本科研业务费专项资金 (2012G01)

作者简介: 林凯丽 (1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向: sirt3 基因在辐射防护中的抗氧化活性机理。

通讯作者: 刘强, 教授, E-mail: liuqiang@irm-cams.ac.cn。