

# 慢性苯中毒对细胞周期及 DNA 损伤的影响

孙蕾, 贾强

(山东第一医科大学/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)

**摘要:** 苯是应用较为广泛的化学物质, 可通过皮肤、呼吸道、消化道等进入体内, 长期低浓度接触可导致血液系统的损害, 如白细胞减少、再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征、白血病等。近年研究发现, 细胞周期相关调控蛋白与慢性苯中毒的易感性有关, 慢性苯中毒对染色体产生一定的损伤作用, 可致接苯工人微核率显著升高。本文就慢性苯中毒对细胞周期的影响及 DNA 损伤进行概述。

**关键词:** 苯中毒; 细胞周期; DNA 损伤

中图分类号: R135.12 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2022)06-0526-03 DOI: 10.13631/j.cnki.zggyx.2022.06.014

## Effects of chronic benzene poisoning on cell cycle and DNA damage

SUN Lei, JIA Qiang

(Shandong Provincial Institute of Occupational Health and Occupational Disease Prevention/Shandong First Medical University/Shandong Provincial Academy of Medical Sciences, Jinan, Shandong 250062, China)

**Abstract:** Benzene is a widely used chemical substance, which can enter the body through the skin, respiratory tract, digestive tract, etc. Long term low concentration exposure can cause damage to the blood system, such as leukopenia, aplastic anemia, myelodysplastic syndrome, leukemia, etc. Recent studies have found that cell cycle related regulatory proteins are related to the susceptibility to chronic benzene poisoning. Chronic benzene poisoning has a certain damage effect on chromosomes, which can significantly increase the micronucleus rate of benzene exposed workers. In this paper, the influence of chronic benzene poisoning on cell cycle and DNA damage were summarized.

**Keywords:** benzene poisoning; cell cycle; DNA damage

苯进入人体后, 在肝内细胞色素氧化酶 P450E1 作用下生成苯酚及其他酚类化合物, 这些代谢产物在骨髓过氧化物酶的作用下产生氢醌(HQ)和苯醌, 引起骨髓毒性<sup>[1]</sup>。苯能严重抑制骨髓功能, 引起细胞周期变化及染色体损伤<sup>[1-3]</sup>。国际癌症研究机构(IARC)早期研究表明苯为第一类致癌物<sup>[4]</sup>。近年来国外学者研究发现<sup>[5,6]</sup>, 苯代谢物 HQ 是其在体内的主要毒性物质, 长期低浓度接触 HQ 可致血细胞减少、贫血、淋巴瘤等相关血液性疾病。Regev 等<sup>[7]</sup>研究发现, 长期接触 HQ 可致试验动物骨髓和血液毒性及肝损伤。本文主要对慢性苯中毒引起的细胞周期变化及 DNA 损伤进行阐述。

### 1 慢性苯暴露与细胞周期变化

研究发现, DNA 损伤后细胞周期调控基因表达增加, 促使细胞周期停滞, 阻止受损细胞复制, 以给予细胞充足的时间和条件进行修复, 维持遗传物质的正常功能。若细胞周期调控基因出现改变, 可能导致细胞周期停滞功能障碍, 受损的复制使子代细胞基因组不稳定, 最终引发细胞恶变和肿瘤<sup>[8]</sup>。贺今等<sup>[1]</sup>研究发现, 苯油混合物染毒小鼠后, 骨髓单个核细胞(BMMNCs)中 S 期细胞比例和 CyclinD1、CDK4 蛋

白的相对表达水平均升高, G1 期细胞比例下降。S 期细胞比例升高, 提示在苯诱导的造血系统损伤过程中, S 期检查点在细胞周期调控中期具有主要作用。体外实验证明, HQ 可以诱导细胞氧化应激、周期改变及诱发凋亡<sup>[9-11]</sup>。低浓度 HQ 通过生成活性氧(ROS)改变 ERK/MAPK 信号通路, 尤其可提高 EPK1/2 蛋白磷酸化水平, 影响 HL-60 细胞周期的分布, 使 S 期细胞比例增加, 刺激增殖<sup>[12]</sup>。研究发现, 细胞周期 DNA 损伤检测点可用来监控 DNA 损伤的修复, 决定细胞周期能否继续进行, 与其相关的主要蛋白包括 ATM/ATR、Chk1/2、p53、CDC25、CyclinE/A-CDK2 等。ATM-Chk2 通路对基因组稳定性至关重要, DNA 受损时可导致共济失调毛细血管扩张突变基因(ATM)活化, 进而激活 Chk2 活化下游底物, 如 CDC25A 等细胞周期蛋白(cyclin), 此时通过激活同源重组修复通路, 发挥各细胞周期检测机制的作用, 使 S、G2/M 期阻滞, 令受损 DNA 得到充分的时间进行修复<sup>[10,11]</sup>。

**1.1 ROS** 苯代谢产生的醌类与酚类化学物在氧化还原过程中产生大量 ROS<sup>[13,14]</sup>。当体内清除自由基的酶类不足以清除 ROS 时, 聚集的 ROS 对细胞产生毒作用, 造成 DNA 损伤、细胞凋亡和细胞周期的改变<sup>[15,16]</sup>。恶性细胞中 ROS 水平的增加对获得癌症的特征(如增殖和存活)有重要作用。在这种内源性氧化应激状态下, 癌细胞易受 ROS 水平升高的影响, 导致 DNA 损伤、细胞周期停滞和凋亡<sup>[17]</sup>。ROS 的生成和消除彼此循环往复, 共同维系并保持细胞内环境的稳定, 成为驱动

作者简介: 孙蕾(1994—), 女, 硕士研究生, 主要从事卫生毒理学研究。

通信作者: 贾强, 副研究员, E-mail: jiaqiang5632@163.com

各调节途径的必需品<sup>[18]</sup>。相较于体内其他细胞,癌细胞 ROS 表达量更高,推测其原因可能为线粒体功能无法正常行使或出现损害、代谢能力增加、致癌基因被活化、氧化酶及环氧化酶在细胞内的活性升高或免疫细胞相互作用等<sup>[19]</sup>。Sabharwal 等<sup>[20]</sup>研究发现,ROS 可以诱导细胞核内 DNA 突变或损伤,活化细胞癌基因或使抑癌基因丧失活力,致使肿瘤产生。同时,吴建春等<sup>[21]</sup>认为,ROS 还可通过氧化修饰的方式调控 ERK、NF- $\kappa$ B 等通路,抑制凋亡的发生。

**1.2 细胞周期** 细胞周期系统在调控癌细胞增殖和凋亡等活动中扮演着关键的角色。当周期进程不受体内平衡机制约束时,人体的组织或器官将可能发生癌变。根据染色体数目,细胞周期可分为 4 个时期(G1、S、G2 及 M 期),G2/M 期和 G1/S 期被认为是周期发展中十分重要的两个阶段<sup>[18]</sup>。G1/S 期主要发生 DNA 合成,一旦 DNA 启动复制程序,便开始细胞增殖活动,若 G1/S 期发生阻滞,细胞将变异或分裂异常,进而终止增殖<sup>[18]</sup>。此外,cyclin 和相关的依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDK)作为调控周期系统的重要介质,彼此间相互协同,精确地控制着细胞周期各个阶段的平衡<sup>[22]</sup>。如 CDK2/4/6、Cyclin D1 和 Cyclin E 是 G1 期的主要调控蛋白,当这些蛋白的表达受到影响时,G1 期将发生阻滞;而 Cyclin B1 和 CDK1/2 活性的降低是周期阻滞在 G2/M 期的关键标志<sup>[23,24]</sup>。

研究发现<sup>[25]</sup>,Chk1/Chk2-CDC25A-Cyclin E-CDK2 通路参与由 DNA 损伤诱导的 S 期阻滞调控。Tu 等<sup>[26]</sup>利用 HQ 染毒肝细胞发现,CDC25A 蛋白泛素化降解,DNA 损伤检测点的相关蛋白 ATM/ATR 及磷酸化 Chk2/Chk1 的表达均上升,使细胞阻滞于 S 期。由于细胞周期各时相的 DNA 含量不同,通常正常细胞的 G1/G0 期具有二倍体细胞的 DNA 含量(2N),而 G2/M 期具有四倍体细胞的 DNA 含量(4N),而 S 期的 DNA 含量介于二倍体和四倍体之间<sup>[27]</sup>。李玉红<sup>[27]</sup>研究发现,在低浓度 HQ 时细胞增殖明显,由 G1 期进入 S 期的细胞数量较对照显著增加。

## 2 慢性苯暴露与 DNA 损伤

动物实验证实,苯通过肝脏细胞代谢成苯环氧化物、苯酚,进一步代谢生成 HQ、苯三酚等物质,这些苯在体内的代谢产物可引起 DNA 断裂、造血细胞凋亡、骨髓抑制等遗传损伤<sup>[28]</sup>。当细胞凋亡时,激活内切酶,DNA 被切割成细胞核碎片,进一步形成微核。流行病学研究表明,外周血淋巴细胞染色体畸变与血液淋巴系统肿瘤发生率具有高度相关性<sup>[29]</sup>。

**2.1 染色体损伤** 熊晓芸等<sup>[30]</sup>研究认为,长期低浓度苯接触工人外周血染色体总畸变率、单体型畸变率和染色体型畸变率及微核率均高于对照组,且接苯工龄越长,染色体畸变率和 DNA 损伤程度越高。有研究观察慢性苯中毒、苯致白血病前期和确诊苯白血病患者时发现,其外周血淋巴细胞染色体畸变率均高于正常人<sup>[31]</sup>。研究认为,苯致小鼠骨髓细胞染色体畸变、抑制 DNA 合成及骨髓嗜多染红细胞微核率较对照组升高;在染色体畸变的类型中,以染色单体型畸变所占比例较大<sup>[30,32]</sup>。Tian 等<sup>[33]</sup>发现,苯致染色体畸变一旦发生,损

伤是不可逆的。

**2.2 DNA 损伤** 苯在体内的代谢物经肝内代谢后进入骨髓,可造成骨髓细胞 DNA 损伤。苯作业工人在外周血 WBC 波动的情况下,其微核率依然明显高于健康对照组,提示微核率作为苯接触的早期生物标志物比 WBC 更敏感<sup>[34]</sup>,并在后续实验证实了这一说法。动物实验表明<sup>[35]</sup>,苯中毒组小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率均高于对照组。微核率升高直接影响 DNA 损伤修复能力,导致损伤加重。

## 3 小结

慢性苯中毒的发生发展受多种基因的调控,基因通过参与苯的代谢、DNA 损伤修复、细胞周期调控及造血调节等影响苯中毒的易感性<sup>[36]</sup>。在我国现行卫生标准条件下,职业性苯暴露仍可能造成遗传物质的损伤。细胞与动物实验发现,慢性苯中毒可导致 DNA 损伤、染色体畸变以及细胞周期的变化,其机制尚不完全清楚,仍需要进一步研究探讨,以确定慢性苯中毒早期检测指标的变化,保护苯作业人群,推动慢性苯中毒的一级预防。

## 参考文献

- [1] 贺今,刘光峰,于功昌,等. 苯所致再生障碍性贫血小鼠骨髓细胞活性氧和细胞周期的改变 [J]. 中国职业医学, 2019, 46 (2): 167-173.
- [2] Carbonari D, Chiarella P, Mansi A, et al. Biomarkers of susceptibility following benzene exposure: Influence of genetic polymorphisms on benzene metabolism and health effects [J]. Biomark Med, 2016, 10 (2): 145-163.
- [3] 赵雪,温缘缘,肖芸,等. 氢醌染毒对红白血病细胞株 K562 细胞周期的影响及其机制 [J]. 山东医药, 2019, 59 (4): 19-22.
- [4] 方延,郭孔荣,黄明,等. 职业性慢性苯中毒患者微核检测结果分析 [J]. 中国职业医学, 2017, 44 (5): 572-575.
- [5] Merletti F, Heseltine E, Saracci R, et al. Target organs for carcinogenicity of chemicals and industrial exposures in humans: A review of results in the IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans [J]. Cancer Res, 1984, 44 (5): 2244-2250.
- [6] Pereira P, Enguita FJ, Ferreira J, et al. DNA damage induced by hydroquinone can be prevented by fungal detoxification [J]. Toxicol Rep, 2014 (1): 1096-1105.
- [7] Regev L, Wu M, Zlotolow R, et al. Hydroquinone, a benzene metabolite, and leukemia: A case report and review of the literature [J]. Toxicol Ind Health, 2012, 28 (1): 64-73.
- [8] 周莉芳. 苯作业工人染色体损伤与细胞周期调控基因多态性关系 [D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [9] 杨凤. 苯醌细胞毒性、DNA 损伤及修复作用的研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2010.
- [10] Cronkite EP, Drew RT, Inoue T, et al. Hematotoxicity and carcinogenicity of inhaled benzene [J]. Environ Health Perspect, 1989 (82): 97-108.
- [11] Farris GM, Robinson SN, Gaido KW, et al. Benzene-induced hematotoxicity and bone marrow compensation in B6C3F1 mice [J]. Fundam Appl Toxicol, 1997, 36 (2): 119-129.

- [12] Ruiz-Ramos R, Cebrian ME, Garrido E. Benzoquinone activates the ERK/MAPK signaling pathway via ROS production in HL-60 cells [J]. *Toxicology*, 2005, 209 (3): 279-287.
- [13] Badham HJ, Renaud SJ, Wan J, *et al.* Benzene-initiated oxidative stress: Effects on embryonic signaling pathways [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 184 (1-2): 218-221.
- [14] Grigoryan H, Edmands WMB, Lan Q, *et al.* Adductomic signatures of benzene exposure provide insights into cancer induction [J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39 (5): 661-668.
- [15] Sun SQ, Zhang CX, Gao JH, *et al.* Benzoquinone induces ROS-dependent mitochondria-mediated apoptosis in HL-60 cells [J]. *Toxicol Ind Health*, 2018, 34 (4): 270-281.
- [16] Luo H, Liang HR, Chen JJ, *et al.* Hydroquinone induces TK6 cell growth arrest and apoptosis through PARP-1/p53 regulatory pathway [J]. *Environ Toxicol*, 2017, 32 (9): 2163-2171.
- [17] Hassani S, Ghaffari P, Chahardouli B, *et al.* Disulfiram/copper causes ROS levels alteration, cell cycle inhibition, and apoptosis in acute myeloid leukaemia cell lines with modulation in the expression of related genes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018 (99): 561-569.
- [18] 王加茹. 异甘草素诱导肝癌细胞凋亡机制的研究 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2020.
- [19] Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer [J]. *Free Radic Res*, 2010, 44 (5): 479-496.
- [20] Sabharwal SS, Schumacker PT. Mitochondrial ROS in cancer: Initiators, amplifiers or an Achilles' heel? [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14 (11): 709-721.
- [21] 吴建春, 徐静, 殷晓聆, 等. 中草药调节活性氧抗肿瘤的研究进展 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34 (4): 1589-1594.
- [22] 陈彦洁, 柳传毅, 吕满霞, 等. 鱼藤素诱导肺癌细胞凋亡和细胞周期阻滞的分子机制 [J]. *中国药理学通报*, 2019, 35 (8): 1109-1114.
- [23] Song DD, Liang HS, Qu B, *et al.* Moxidectin inhibits glioma cell viability by inducing G0/G1 cell cycle arrest and apoptosis [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40 (3): 1348-1358.
- [24] Lohberger B, Leithner A, Stuedl N, *et al.* Diacerein retards cell growth of chondrosarcoma cells at the G2/M cell cycle checkpoint via cyclin B1/CDK1 and CDK2 downregulation [J]. *BMC Cancer*, 2015 (15): 891.
- [25] Yao JY, Xiao J, Wei X, *et al.* Chaetominine induces cell cycle arrest in human leukemia K562 and colon cancer SW1116 cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16 (4): 4671-4678.
- [26] Tu YS, Kang XL, Zhou JG, *et al.* Involvement of Chk1-Cdc25A-cyclin A/CDK2 pathway in simvastatin induced S-phase cell cycle arrest and apoptosis in multiple myeloma cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 670 (2-3): 356-364.
- [27] 李玉红. 低浓度苯代谢物对 HL-60 细胞凋亡、增殖、分化的作用及可能机制 [D]. 武汉: 武汉大学, 2010.
- [28] Sul D, Lee D, Im H, *et al.* Single strand DNA break in T-and B-lymphocytes and granulocytes in workers exposed to benzene [J]. *Toxicol Lett*, 2002, 134 (1-3): 87-95.
- [29] Smerhovský Z, Landa K, Rössner P, *et al.* Risk of cancer in an occupationally exposed cohort with increased level of chromosomal aberrations [J]. *Environ Health Perspect*, 2001, 109 (1): 41-45.
- [30] 熊晓芸, 姜秋霞, 韩磊, 等. 长期低浓度苯接触的遗传损伤作用 [J]. *环境与职业医学*, 2014, 31 (2): 98-103.
- [31] Zhang LP, Eastmond DA, Smith MT. The nature of chromosomal aberrations detected in humans exposed to benzene [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2002, 32 (1): 1-42.
- [32] 李白霓, 陈伟强, 魏凤香, 等. 苯对小鼠遗传毒性的生物学研究 [J]. *中外医疗*, 2008, 27 (19): 21-22.
- [33] Tian W, Wang TS, Fang Y, *et al.* Aberrant lncRNA profiles are associated with chronic benzene poisoning and acute myelocytic leukaemia [J]. *J Occup Environ Med*, 2020, 62 (7): e308-e317.
- [34] 吴含恬, 郭孔荣, 方延, 等. 慢性苯中毒患者脱离苯接触后外周血淋巴细胞微核率与血常规指标变化特征 [J]. *环境与职业医学*, 2017, 34 (5): 392-397.
- [35] 陈韵聪, 张欣洁, 孙清, 等. 苯致小鼠遗传损伤与 miR-34a 表达改变研究 [J]. *中国职业医学*, 2015, 42 (2): 121-127.
- [36] 刘洋, 陈献文, 卞倩, 等. 慢性苯中毒易感细胞周期调控基因多态性研究进展 [J]. *中国工业医学杂志*, 2014, 27 (2): 108-110.

(收稿日期: 2021-11-01)

(上接第 504 页)

- [6] Zhuang ZQ, Landsittel D, Benson S, *et al.* Facial anthropometric differences among gender, ethnicity, and age groups [J]. *Ann Occup Hyg*, 2010, 54 (4): 391-402.
- [7] Occupational Safety and Health Administration. Respiratory Protection, 29 CFR 1910.134: Final Rule [J]. *Fed Regist*, 1998, 63 (5): 1152-1300.
- [8] GB 19083—2010, 医用防护口罩技术要求 [S].
- [9] GB/T 18664—2002, 呼吸防护用品的选择、使用与维护 [S].
- [10] Lee K, Slavcev A, Nicas M. Respiratory protection against mycobacterium tuberculosis: Quantitative fit test outcomes for five type N95 filtering-facepiece respirators [J]. *J Occup Environ Hyg*, 2004, 1 (1): 22-28.
- [11] 黎倩雨, 陈廷. 医用防护口罩舒适性研究现状 [J]. *毛纺科技*, 2022, 50 (7): 102-112.
- [12] 吉予彤. 口罩的新冠病毒防护性设计探索 [J]. *美与时代* (上), 2021 (8): 108-111.
- [13] 张弦. 医用防护口罩密合性设计的影响因素研究 [J]. *中国医疗器械信息*, 2021, 27 (1): 13-14, 59.
- [14] 周小童, 宋晓霞. 基于头面聚类及建模的成人面罩适合性问题研究 [J]. *上海工程技术大学学报*, 2018, 32 (4): 384-388.
- [15] 方雪娇, 江学为. 基于人体工学的贴合型防护口罩结构研究 [J]. *北京服装学院学报 (自然科学版)*, 2019, 39 (3): 29-34, 41.
- [16] Milosevic M, Kishore Biswas R, Innes L, *et al.* P2/N95 filtering facepiece respirators: Results of a large-scale quantitative mask fit testing program in Australian health care workers [J]. *Am J Infect Control*, 2022, 50 (5): 509-515.
- [17] Seo H, Kim JI, Kim H. Development of Korean head forms for respirator performance testing [J]. *Saf Health Work*, 2020, 11 (1): 71-79.

(收稿日期: 2022-11-23)