

砷诱导 L-02 细胞的耐砷性及细胞内 *MDR1*、*GST-π* 基因的表达

申旭波, 周远忠, 姜慧, 贾菲菲, 邹焰*

摘要: [目的] 观察砷诱导人胚肝(L-02)细胞耐砷性及细胞内耐砷性多药耐药基因1(*MDR1*)、谷胱甘肽-s-转移酶(*GST-π*)的表达水平。[方法] 应用噻唑蓝(MTT)比色法检测浓度分别为0、1、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 mmol/L的亚砷酸钠(NaAsO_2)作用24 h后,对L-02细胞生存率的影响。并选择细胞生存率在90%~95%时的 NaAsO_2 浓度为诱导浓度对细胞进行培养,以不加砷诱导的L-02细胞为对照,两组细胞在相同条件下培养6周,利用MTT法每周观察细胞生存率并计算半致死浓度(LC_{50})来反映细胞对砷的耐受性改变;利用real-time PCR检测培养6周后的细胞内*MDR1*、*GST-π* mRNA的表达情况;免疫组化法(SABC法)检测细胞内P-糖蛋白(P-gp)、*GST-π*蛋白的表达情况。利用MTT法和石墨炉原子吸收光谱法检测浓度为10 mmol/L的 NaAsO_2 作用24 h后细胞生存率和细胞内总砷浓度以观察两组细胞在再次大剂量急性砷中毒中的反应。[结果] 经 NaAsO_2 诱导6周后,诱导细胞 LC_{50} 和生存率都明显高于正常细胞($P < 0.001$);诱导细胞*MDR1*、*GST-π* mRNA的表达明显较正常细胞高($P < 0.001$);与对照组比较,诱导细胞P-gp、*GST-π*蛋白表达明显增高($P < 0.001$);在再次急性砷中毒试验中,诱导细胞生存率明显高于正常细胞($P < 0.001$),诱导细胞内总砷浓度较正常细胞低($P < 0.001$)。[结论] L-02细胞具有可诱导的对砷的耐受现象,其耐砷性可能与*MDR1*、*GST-π*基因高表达有关。

关键词: 亚砷酸钠; L-02肝细胞; 多药耐药基因1; 谷胱甘肽-s-转移酶π

Expression of *MDR1*, *GST-π* and Arsenic Tolerance of L-02 Cell after 6 Weeks Culture with Low Concentration of Arsenic SHEN Xu-bo, ZHOU Yuan-zhong, JIANG Hui, JIA Fei-fei, ZOU Yan* (Department of Preventive Medicine, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China). *Address correspondence to ZHOU Yan; E-mail: zouyan54321@126.com

Abstract: [Objective] To study the expression of multidrug resistance 1 (*MDR1*) and glutathione S-transferase- π (*GST-π*) in acquired arsenic tolerant L-02 hepatic cells, and to discuss its relationship with the acquired tolerance to arsenic. [Methods] MTT (3-[4, 5-dimethyl thiazol-2-yl]-2, 5-diphenyl tetrazolium) assay was conducted to detect the effects of NaAsO_2 exposure in various concentrations (0, 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, and 100 $\mu\text{mol/L}$) for 24 h on the survival rate of L-02 cells, then the initial dose under which the cell survival rate was 90%-95% was chosen to be added into the medium for culturing experiment L-02 cells (induced cells). L-02 cells grown in medium without arsenic were provided as control (normal cells). Induced cells and normal cells were cultured under the same condition for 6 weeks, then the survival rate and LC_{50} of induced cells and normal cells were detected by MTT assay which can reflect the change of arsenic tolerance. The levels of *MDR1* and *GST-π* mRNA were determined by real-time quantitative PCR, and the expression of P-glycoprotein (P-gp), *GST-π* was examined by immunohistochemical SABC. Cell survival rate and intracellular concentrations of total arsenic of the cells that were cultured with 10 $\mu\text{mol/L}$ NaAsO_2 for 24 h were measured in order to observe the response of the cells to another large dose acute arsenic exposure. [Results] After 6 weeks after induction of NaAsO_2 , LC_{50} and survival rate of induced cells were significantly higher than that of normal cells ($P < 0.001$); expression of the genes for *GST-π*/*MDR1* in induced cells was significantly higher than that in normal cells ($P < 0.001$). Compared with normal cells, expression of P-gp/*GST-π* protein in induced cells was significantly higher ($P < 0.001$). In the re-trial of acute arsenic poisoning, the survival rate of induced cells was significantly higher than that of normal cells ($P < 0.001$), the total cellular arsenic content was markedly decreased in induced cells ($P < 0.001$). [Conclusion] L-02 cells possess induced arsenic tolerance phenomenon. Acquired tolerance to arsenic is associated with increased expression of *MDR1*/*GST-π* in human hepatocyte cell line. This may provide an experimental basis for the prevention and treatment of arsenic poisoning at the gene level.

Key Words: sodium arsenite; human hepatocyte cell line(L-02); *MDR1*; *GST-π*

[基金项目] 贵州省科技厅项目[编号: C-271(2005)2059]

[作者简介] 申旭波(1977-),女,硕士,讲师;研究方向: 地方病

[*通信作者] 邹焰教授; E-mail: zouyan54321@126.com

[作者单位] 遵义医学院预防医学教研室, 贵州 遵义 563003

砷是一种广泛存在于自然界的类金属元素,为细胞原浆毒物。然而,砷的广泛分布使得长期低剂量接触砷的生物对较大剂量的急性砷中毒耐受性明显提高,即出现了生物体的抗砷性,而这些抗砷性同它们的遗传基础有着密不可分的关系。

研究表明,原核生物、真核酵母、哺乳动物细胞及人体内均已发现特异的抗砷基因及抗砷相关基因^[1]。谷胱甘肽-S-转移酶(GSTs)是一个重要的代谢酶家族,GST- π 是GSTs超基因家族中P家族的成员,GSTs在机体代谢有毒化合物、保护细胞免受急性毒性化学物质攻击和抑制细胞癌变中发挥重要作用^[2]。多药耐药基因1(MDR1)属于一个小的基因家族,其翻译产物是P-gp。P-gp是一种细胞膜ATP依赖泵^[3],其具有的泵功能可向胞外排出食物中的天然毒物、内源性代谢产物和细胞毒性物质,能将细胞内多种外来化学物质排出细胞外,使外来物在细胞内的积聚量降低,从而降低了对细胞的毒性,因此推测MDR1可能也参与细胞的抗砷作用。砷的甲基化是体内砷降解的主要途径,这个过程存在于人体大多数器官中,但主要在肝脏中进行。而GSTs、MDR1在肝脏中的含量均较高^[4-5],但目前对细胞抗砷性的研究大多是在动物细胞及人体其他脏器细胞中进行的,有关人胚肝(L-02)细胞的抗砷性研究未见报道。因此,本实验首先模拟自然界生物长期低剂量接触砷而产生抗砷性的特点,结合细胞培养和细胞毒理学技术建立人抗砷细胞模型,在此基础上,观察L-02耐砷细胞MDR1、GST- π mRNA的表达及其细胞内砷的变化情况,探讨其与细胞抗砷性的关系,旨在从基因水平为砷中毒的防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

亚砷酸钠(NaAsO₂)纯度 $\geq 99.99\%$,由北京恒大百盛生物科技有限公司生产,0.1 mg/L砷标准液由美国NIH刘杰博士惠赠;新生牛血清、DMEM-F12干粉培养基、胰酶均为美国Gibco公司产品;青、链霉素为华美生物工程公司产品;SABC免疫组化检测试剂盒为晶美生物工程有限公司产品;GST- π 、P-gp多克隆抗体为武汉博士德生物工程公司产品;BIOZOL总RNA提取试剂为杭州博日科技有限公司产品;逆转录试剂盒、Primer、SYBR®GREEN PCR Master Mix为宝生物工程大连有限公司产品;L-02细胞为中国典型培养物保藏中心提供;Varian AA系列石墨炉原子吸收光谱仪为美国瓦里安中国有限公司产品;SDX-1B倒置显微镜为重庆光电仪器厂产品;CO₂培养箱为日本SYNO公司产品;ELX800全自动酶标检测仪为美国BIO-TEK公司产品;BI-2000免疫组化图像分析系统为成都泰盟科技有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及砷诱导浓度的选择 将L-02细胞以DMEM完全培养基(含10%新生牛血清,100 U/mL青霉素,0.1 mg/mL链霉素),于37℃,5% CO₂,饱和湿度孵箱中培养,当细胞铺满细胞瓶底的90%后,以0.25%胰蛋白酶消化,按照1:2~1:4进行传代。将细胞接种于96孔板(1×10⁶/孔),培养24h,使细胞充分贴壁,弃去旧培养液,加入含不同浓度(0、1、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 mmol/L)NaAsO₂培养液,另设培养液为对照孔(即调零孔),每个浓度设4个平行孔;24h后以MTT法观察细胞生存率,培养孔中加入20 μ L MTT液(5 mg/mL,即0.5%MTT),继续培养4h,然后吸掉上清,每孔加入150 μ L二甲亚砜,在酶联免疫检测仪490 nm处测量各孔的光密度值

(D),按下式计算细胞生存率及LC₅₀: 细胞生存率=(D_{加药孔}/D_{对照孔})×100%。通过计算,NaAsO₂对L-02细胞生存率在95%时的浓度为3.09 μ mol/L,生存率在90%时的浓度为5.32 μ mol/L,故选用4 μ mol/L作为诱导浓度(图1)。

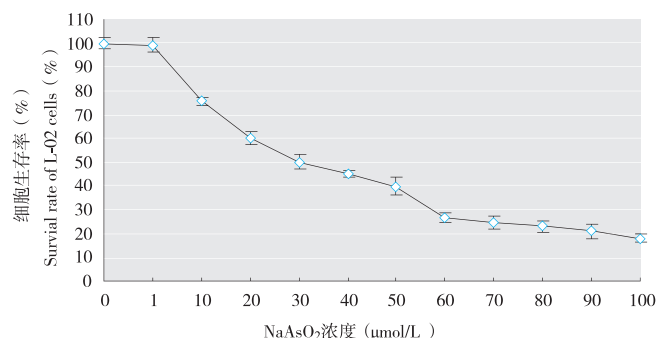


图1 24 h NaAsO₂急性毒性实验细胞生存率

Figure 1 Survival rate curve of L-02 cells after exposure to different concentration of NaAsO₂

1.2.2 细胞染毒 正常细胞和诱导细胞分别在DMEM培养基和4 μ mol/L NaAsO₂ DMEM培养基上培养6周,其他条件均相同。每周检测细胞存活率及半数致死浓度LC₅₀(LC₅₀通过药物抑制浓度计算软件1.0.0版LOGIT法得出)。6周后2种细胞用10 μ mol/L的NaAsO₂作用24h并检测细胞生存率和细胞内总砷浓度以观察2种细胞在再次大剂量急性砷中毒中的反应。

1.2.3 real-time PCR分析GST- π 及MDR1 mRNA的表达 收集同步培养6周后的正常细胞和诱导细胞,按试剂盒说明书的操作步骤提取细胞的总RNA及进行逆转录反应。PCR体系按说明书配制,内参照 β -actin、GST- π 、MDR1基因引物由宝生物工程大连有限公司设计合成。GST- π 引物:(5'-ACGGAGGGCTCTCTCAAA-3')(5'-GATCAGCAGCAAGTCCAGCAG-3');MDR1引物:(5'-CCCATCATTGCAATAGCAGG-3')(5'-GTTCAAACCTCTGCTCCTGA-3');内参照 β -actin引物:(5'-GGCCAACCGTGAAGATGA-3')(5'-CAGCCTGGATGGCTACGTACA-3')。反应条件95℃ 10s(1循环),95℃ 5s,60℃ 20s(40循环)。结果以C_t值为统计参数,用相对定量法进行分析^[6]。

1.2.4 免疫组化SABC法检测GST- π 及P-gp蛋白表达 将同步培养6周后的正常细胞和诱导细胞制作细胞爬片,按免疫组化SABC法说明书的操作步骤检测两组细胞中GST- π 、P-gp的蛋白表达。细胞内棕黄色或棕褐色颗粒为阳性表达,主要位于胞质和(或)胞膜,结果利用BI-2000免疫组化图像分析系统进行分析,每张片至少观察10个不同的视野,每个视野随机计数100个细胞,计算其中阳性细胞所占的比率,阳性表达率=(阳性细胞数/计数总细胞数)×100%。

1.2.5 石墨炉原子吸收光谱法检测细胞内总砷浓度 收集再次染毒的正常细胞和诱导细胞,用PBS冲洗3次,调整细胞浓度为1×10⁵个/mL,-20℃保存集中检测。根据周晋等^[7]介绍的方法检测砷浓度:取上述标本各1 mL,室温融化后加8 mL/L、0.1 mL的HCl立即充分震荡,然后用漩涡混合器混匀15s,静置15 min,再用超声处理30 min。取出于4℃冰箱静置过夜,然后离心12 000 r/min,10 min(离心半径6 cm),将上清液全部转

移到 2.0 mL 的刻度试管中, 再加少量的双蒸水洗涤残渣, 离心上清液合并到上述试管中, 加 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、0.1 mL 的 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 溶液, 并定容至 2 mL, 用石墨炉原子吸收光谱仪进行测定(标准曲线法), 每组 20 个样品, 每个样品做 3 个平行样。仪器工作条件: 波长 193.7 nm; 氦灯背景校正, 通带宽度 0.5 nm; 峰高定量; 灯电流 80%; 氢气 0.2 L/min; 进样体积 20.0 μL , 干燥 125 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; 灰化 1500 $^{\circ}\text{C}$, 20 s; 原子化 2300 $^{\circ}\text{C}$, 3 s(停气); 除残 2700 $^{\circ}\text{C}$, 3 s。

1.3 统计分析

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件行 t 检验。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 砷诱导不同时间后细胞对砷耐受性的改变及细胞内砷浓度的变化

结果显示 4 mmol/L NaAsO_2 诱导 2 周后, 在 24 h 急性砷染毒试验中, 细胞未表现出耐砷性提高, 两组细胞生存率比较无明显差异, LC_{50} 分别为 9.2 mmol/L 和 9.6 mmol/L。经 NaAsO_2 诱导 6 周后, 在 10 mmol/L NaAsO_2 再次急性染毒试验中, 诱导细胞对再次急性砷染毒表现出明显的耐受性提高, 两组细胞的生存率为: 诱导细胞 (78.89 $\pm$ 0.197) % 明显高于正常细胞 (64.81 $\pm$ 0.079) % ($P < 0.001$); 两组细胞 LC_{50} 分别为 23.1 mmol/L 和 10.2 mmol/L; 而诱导细胞内总砷浓度 (3.27 $\pm$ 0.009) $\mu\text{g}/\text{L}$ 明显低于正常细胞 (7.35 $\pm$ 0.006) $\mu\text{g}/\text{L}$ ($P < 0.001$)。

2.2 长期低剂量砷诱导后细胞内 GST- π 、MDR1 mRNA 及蛋白表达的变化

与正常细胞比较, 诱导细胞 MDR1、GST- π mRNA 的表达显著增高 ($P < 0.001$); 诱导细胞 P-gp、GST- π 蛋白表达也明显增高, 与正常细胞比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$) (表 1)。

表 1 长期低剂量砷诱导后细胞内 GST- π 、MDR1 mRNA 及蛋白表达的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Expression of GST- π , P-gp mRNA and protein in cells after long-term low-dose arsenic-induction			
项目 Items	例数 Number	正常细胞 Normal cells	诱导细胞 Induced cells
GST- π mRNA 表达	12	2.104 $\pm$ 0.178	17.69 $\pm$ 0.140*
MDR1 mRNA 表达	12	1.014 $\pm$ 0.189	8.89 $\pm$ 0.968*
GST- π 蛋白表达阳性细胞百分率 (%)	10	26.84 $\pm$ 4.844	84.44 $\pm$ 2.913*
GST- π positive cells percentage			
P-gp 蛋白表达阳性细胞百分率 (%)	10	24.44 $\pm$ 4.030	68.76 $\pm$ 3.814*
P-gp positive cells percentage			

[注]*: 与正常细胞比较 (Compared with normal cells), t 检验 (t -test), $P < 0.001$ 。

3 讨论

诱导浓度应该既要使细胞有一定的毒性压力, 又要使细胞大部分存活, 而且需要较长的诱导时间, 这与生物体在自然界长期接触低剂量砷, 从而获得耐受性很相似。因此本实验选择细胞存活率在 90%~95% 时对应的砷浓度作为诱导浓度。结果显示, 经 4 mmol/L 砷诱导 6 周后 L-02 细胞对急性砷毒性的耐受性明显提高, 诱导细胞的 LC_{50} 和细胞存活率明显高于正常细胞。这种耐受性的提高可能是由于细胞内参与非特异性解毒的物质表达增多, 如 GSH、MDR、热休克蛋白 (Hsp) 等^[8], 也可能

是特异性的人体抗砷基因表达已启动。

研究表明 GST- π 表达增加可促进 As-GSH 复合物的形成, 增加细胞对外来物的排出, 减少细胞内砷的积聚, 从而减小细胞毒性作用^[9]。本研究观察到诱导细胞 GST- π 蛋白及 mRNA 表达均明显高于正常细胞, 而诱导细胞内砷浓度明显低于正常细胞, 提示经诱导的 L-02 的耐砷性可能与 GST- π 基因的高表达有关; 与 LIU 等^[10]的实验结果类似。已有研究表明, 在秀丽隐杆线虫^[11]、鼠细胞株^[12]、MDR1a/1b 基因敲除大鼠^[10]中 P-gp 缺失, 其对砷的敏感性增加。本研究发现, 与正常细胞比较, 诱导细胞 MDR1 mRNA 及 MDR 编码的 P-gp 糖蛋白表达显著增高, 细胞获得耐砷性的同时 MDR1 及 P-gp 表达增加, 这说明 MDR1 在抗砷过程中有重要的贡献。而上述两个基因的抗砷机理, 可能是将进入细胞的砷先在细胞内代谢后泵出细胞外, 从而使细胞具备对砷的耐受性。

综上所述, 诱导细胞中 GST- π 、MDR1 mRNA 表达的升高是该细胞对砷产生耐受性的关键。了解这一点, 可为砷中毒从分子生物学方法上进行预防和治疗提供一定的基础依据; 而 GST- π 、MDR1 基因的表达如何调控及耐砷机制之间有无交互作用尚需进一步研究探讨。

参考文献:

[1] 杨丽, 仙玲玲, 杨磊. 生物体的抗砷基因[J]. 生命的化学, 2007, 27(2): 146-148, 149.

[2] ICSANAKY I, GREGUS Z. Role of glutathione in reduction of arsenate and of kglutamyltranspeptidase in disposition of arsenite in rat[J]. Toxicology, 2005, 207(1): 91-104.

[3] 王树叶, 曲洪澜, 曹峰林, 等. 谷胱甘肽 S 转移酶与三氧化二砷耐药性的相关研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2008, 42(2): 163-164, 167.

[4] 张永国, 亢晋勇. 谷胱甘肽硫转移酶的生理功能述评[J]. 忻州师范学院学报, 2006, 22(3): 125-128.

[5] 朱玉胜, 吕元. 药物转运蛋白 P-糖蛋白的研究现状[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 1998, 19(4): 159-160, 155.

[6] LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ method[J]. METHODS, 2001, 25(4): 402-408.

[7] 周晋, 孟然, 关秀茹, 等. 细胞内砷浓度与三氧化二砷治疗敏感性的关系[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(3): 193-195.

[8] ROMACH EH, ZHAO CQ, DELRAZO LM, et al. Studies on the mechanism of arsenic-induced self tolerance in liver epithelial cells through continuous low-level arsenite exposure[J]. Toxicol Sci, 2000, 54(2): 500-508.

[9] 高怡, 裴秋玲, 李国星, 等. 多药耐药相关蛋白 2 与谷胱甘肽共转运体系对肝脏砷代谢的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006, 24(5): 278-280.

[10] LIU J, CHEN H, MILLER DS, et al. Overexpression of glutathione S-transferase II and multidrug resistance transport proteins is associated with acquired tolerance to inorganic arsenic[J]. Mol Pharmacol, 2001, 60(2): 302-309.

度、经济发展水平、文化背景以及受教育程度等方面与西方发达国家均存在较大的差距,引入国外的测试工具不一定完全适合于我国的职业人群。在我国进行推广之前必须经过科学的验证。信度和效度是用来反映研究工具质量高低的两个指标,高信度和高效度的研究工具是良好科研的必需条件。

信度是指某研究工具所获得的结果的一致程度或准确程度。当使用同一研究工具重复测量某一研究对象时所得的一致程度越高,则该工具的信度就越高。同时,越能准确反映研究对象真实情况的工具,其信度也就越高。稳定性、内在一致性和等同性是信度的三个主要特征。对于工作内含量表进行信度测定选择同质信度作为测量指标。量表的同质性检验,如果 α 系数大于0.60,表示量表内部一致性较好^[6]。本次对工作内含量表的信度分析结果显示,建筑行业职工总体和各模块的同质信度 Cronbach's α 系数均在可接受范围内。在研究的五个模块中, PJD 模块的同质信度是5个模块中最低的,这和国内及其他亚洲研究结果相似^[7-8],究其原因可能是“我不需要按别人的不同要求去做相互抵触的事情”这个条目理解有困难,尤其是对于文化程度普遍较低的建筑工人,建议对这个条目进行适当的修订,以使该问卷能够适用于各种不同文化层次的人群。其他模块的 α 系数均大于0.60,所以我们认为就工作要求-工作自主度-社会支持理论模式的三个影响职业紧张维度而言,工作内含量表已经达到心理测量工具要求。

效度是指某一研究工具能真正反映它所期望研究概念的程度,可以用表面效度、内容效度、结构效度、效标关联效度等来反映。本次研究以 Pearson 相关分析计算各条目得分与其所在模块得分的相关系数,结果显示各条目与所在模块的相关系数间均具有良好的条目-总分相关性。应用因子分析对工作内含量表进行的内容分析和结构分析的结果显示,无论在技术人员还是建筑工人,工作内含量表的5个模块均分别加载于3个因子,技术自主度和决策自主度加载于1个因子,领导支持和同事支持加载于1个因子,工作需求加载于1个因子,表明高载荷因子与 JCQ 的理论框架一致。以上结果表明工作内含量表结构效度较好,该量表能够测量出其理论假设中主要的因素。

从工作内含量表条目因子分析结果看,本研究表明,建筑工人决策自主度模块的“工作决定权”条目载荷在因子载荷较低,原因可能是目前在我国建筑行业的建筑工人绝大多数是农民工,他们在工作中基本没有决定工作的可能性。Pearson 相关分析结果提示问卷主要模块与生理健康和心理健康均具有关联,表明工作内含量表能够揭示职业紧张与生理和心理之间的相关关系,从而在诸多可能影响身心健康的社会、心理因素中,初步筛选出对人群健康主要产生作用的因素(如本研究中的较

高的工作需求)。如前所述,该问卷在国际国内已经进行过大规模的人群调查,有较高的信度和效度^[2,4]。从本次包头市建筑行业工人的调查结果看,上述特征得到了很好的表述。

综上所述,中文版工作内含量表在能够真实而稳定地反映与职业紧张关系密切的工作要求、工作自主度以及社会支持这三个层面,在建筑行业职工中有较好的信度和效度。本次研究同时也发现,该量表在引入并进行翻译的过程中由语言表达方式上的文化差异而使该量表的的可读性和可理解性受到一定程度的影响,尤其是在用于调查了解文化程度相对较低的建筑工人的过程中更加明显,有些条目需要耐心地向调查对象进行详细解释才可能被理解,这就是造成有些条目在建筑行业职工中使用的 α 系数偏低的可能原因之一。建议在使用该量表调查文化层次相对较低的职业人群职业紧张状况时,尤其应加强调查员对量表内容的培训和与各种职业人群交流的能力,同时建议对工作内含量表部分表述做进一步的调整,以满足量表能在国内不同文化层次职业人群中均能广泛使用的要求。

参考文献:

- [1] 王林, 曾晓立, 林立. 职业紧张及其对策[J]. 中国行为医学科学, 2001, 10(2): 57-158.
- [2] KARASEK R, BRISSON C, KAWAKAMI N, et al. The Job Content Questionnaire (JCQ): an instrument for internationally comparative assessments of psychosocial job characteristics[J]. J Occup Health Psychol, 1998, 3(4): 322-355.
- [3] SIEGRIST J, STARKE D, CHANDOLA T, et al. The measurement of effort-reward imbalance at work: European comparisons[J]. Soc Sci Med, 2004, 58(8): 1483-1499.
- [4] 沙焱, 刘苹, 李健. 工作内含量表(中文版)在医务人员中的验证[J]. 中国职业医学, 2003, 30(3): 24-27.
- [5] LI L, WANG H M, SHEN Y. Chinese SF-36 health survey: Translation, cultural adaptation, validation and normalisation[J]. J Epidemiol Community Health, 2003, 57(4): 259-263.
- [6] 王重鸣. 心理学研究方法[M]. 北京: 人民教育出版社, 1990: 2.
- [7] 李伟, 柯继红, 张俊权, 等. 工作内含量表在石油行业职工中应用的信度和效度[J]. 实用预防医学, 2007, 14(1): 10-12.
- [8] CHENG Y, LUH W M, GUO Y L. Reliability and validity of the Chinese version of the Job Content Questionnaire in Taiwanese workers[J]. Int J Behav Med, 2003, 10(1): 15-30.

(收稿日期: 2009-02-16)

(编辑: 洪琪; 校对: 徐新春)

(上接第 137 页)

- [11] BROEKS A, GERRARD B, ALLIKMETS R, et al. Homologues of the human multidrug resistance genes MRP and MDR contribute to heavy metal resistance in the soil nematode *Caenorhabditis elegans*[J]. EMBO J, 1996, 15(22): 6132-6143.
- [12] ALLEN JD, BRINKHUIS RF, Van DEEMTER L, et al. Extensive

contribution of the multidrug transporters P-glycoprotein and Mrp 1 to basal drug resistance[J]. Cancer Res, 2000, 60(20): 5761-5766.

(收稿日期: 2009-03-04)

(编辑: 洪琪; 校对: 徐新春)