

· 论 著 ·

越江隧道线公交车司机和售票员 细胞遗传学效应调查*

上海医科大学环境卫生学教研组 (200032) 彭宝成 叶舜华

提 要 本文从多方面对接触汽车尾气的隧道线公交车司机和售票员进行遗传学检查, 并与植物园管理人员进行对比, 结果表明接触人群外周血抗 6-TG 淋巴细胞突变率、SCEs 及微核出现率明显增加, 与对照人群相比有高度显著性差异, 提示职业接触较高浓度汽车尾气可以导致人体细胞遗传损伤。

关键词 汽车尾气 淋巴细胞 抗 6-TG 突变率 SCEs 微核率

不少研究报道, 汽车尾气排出物具有很强的致突变活性, 能够引起基因突变及染色体损伤。然而汽车尾气对人体细胞遗传学效应的研究报道极少, 结果不一^[1~4]。

打浦路越江隧道是我国第一条越江隧道, 总长 2763 米, 目前车流量达到每小时 1000 余辆, 因而隧道内汽车尾气浓度很高。公交隧道二线是 1986 年开始运营的, 每班车每天来回经过隧道 16 次, 每次需要 6~8 分钟, 即每天大约有 1.5~2 小时是在隧道中, 而且公交车多开窗通行, 隧道空气能直接进入车内。此外, 在路面行驶时, 也能接触到一定浓度的汽车尾气。为了解汽车尾气对人体的遗传学效应, 我们以隧道二线公交车司机及售票员为研究对象, 从基因突变、DNA 损伤与修复及染色体损伤不同方面进行检测评价。

1 材料与方法

1.1 隧道及植物园空气污染物浓度监测

在隧道的 2~5 号通风井处及植物园设点, 监测指标: CO、NO_x、总烃(THC)、飘尘和铅浓度。

1.2 调查对象

选择工龄 3 年以上的隧道二线车队司机及售票员共 40 人为接触组, 年龄 20~50 岁。对照

人群选自上海市植物园管理人员计 36 人, 年龄 20~50 岁。工作中不接触汽车尾气, 并且每日上下班途中尾随汽车时间总计少于 1 小时。

1.3 遗传学指标检测

无菌取静脉血 4ml, 以 200IU 肝素抗凝, 常规分离出淋巴细胞, 用 D-Hank's 液洗涤三次, 以 RPMI 1640 培养基将沉于管底的淋巴细胞液混匀配成 5×10^6 个/ml 淋巴细胞悬液。

抗 6-TG 淋巴细胞突变率检测: 参照 Norman 等人方法并略作改进^[5]。取 24 孔培养板, 每孔加入 5×10^6 个/ml 淋巴细胞悬液 0.4ml, 含 20% 小牛血清 1640 培养基 0.6ml, 每份血样平行加两个孔, 其中一孔加入 2×10^{-7} M 6-硫代鸟嘌呤(6-TG) 0.01ml, 另一孔加入等量 1640 培养基, 置 37°C、CO₂ 5% 培养箱, 细胞培养至 33 小时, 加入松胞素 B 0.01ml (终浓度 5μg/ml) 以阻断胞质分裂, 使对 6-TG 具有抗性的细胞突变体在培养过程中能形成双核或多核, 继续培养至 72 小时收获细胞。经低渗、固定、涂片、染色后镜检。计数: 每个样品在高倍镜下观察 3000 个细胞, 计数在含有和不含有 6-TG 培养下具有双核或多核细胞的个数, 计算抗 6-TG 细胞突变率:

$$\text{抗 6-TG 细胞突变率} = \frac{\text{含 6-TG 培养的 1000 个淋巴细胞中双核及多核细胞数}}{\text{不含 6-TG 培养的 1000 个淋巴细胞中双核及多核细胞数}}$$

淋巴细胞姊妹染色单体交换率(SCE), 计数 25 个分裂相细胞, 得到平均 SCEs 进行比较, 及外周血淋巴细胞微核率检测, 计数 1000 个细胞, 观察发生微核率情况。

2 结果

2.1 隧道内空气污染状况

*本课题获得国家教委博士点基金资助

隧道4个点日平均浓度见表1。各项污染物浓度很高,与植物园区比较高出数十倍;与大气卫生标准相比,NO_x、飘尘及CO高十几倍

至几十倍,铅浓度高出2.8倍,说明其污染来自于汽车尾气。表明两组人群工作环境中空气污染状况不同。

表1 隧道及植物园区大气污染物浓度比较(mg/m³)

测定点	飘尘		CO		NO _x		THC	Pb	
	日均浓度	超标倍数	日均浓度	超标倍数	日均浓度	超标倍数	日均浓度	日均浓度	超标倍数
隧道	1.86	11.4	61.21	60.21	2.110	13.1	3.24	0.00420	1.8
植物园	—	—	1.68	0.68	0.029	—	0.77	0.00024	
大气卫生标准	0.15		1.0		0.15		—	0.0015	

2.2 隧道线公交车司机和售票员与植物园人群一般项目比较

对隧道线司售人员与植物园人群的年龄、主动吸烟、被动吸烟、家庭使用燃料等因素进行 t 检验及 χ^2 检验,无显著性差异($P>0.05$),提示两组人群具有可比性。

2.3 研究人群血液各项遗传学指标比较

隧道线公交车司机及售票员(接触组)和植物园人群(对照组)外周血各项遗传学指标统计分析结果见表2至表4。接触组人群抗6-TG淋巴细胞突变率、SCE发生率和淋巴细胞微核出现率均显著增加,统计学检验, P 值均小于0.01,说明接触人群体细胞HPRT基因位点突变、DNA损伤与修复以及染色体损伤增高。

表2 人群外周血抗6-TG淋巴细胞突变率比较(个/1000个存活细胞)

组别	检出范围	中位数	平均突变率($\bar{X} \pm SD$)
接触组	0.41~14.74	1.93	2.90 $\pm$ 3.16
对照组	0.37~5.30	0.97	1.53 $\pm$ 1.37

秩和检验 $H=8.42$ $P<0.01$

表3 人群外周血淋巴细胞SCE发生率比较(个/细胞)

组别	检出范围	中位数	平均SCEs($\bar{X} \pm SD$)
接触组	3.80~9.60	5.56	5.94 $\pm$ 1.23
对照组	2.05~6.72	4.58	4.50 $\pm$ 0.99

t 检验 $t=29.56$ $P<0.001$

表4 人群外周血淋巴细胞微核率比较

(个/1000细胞)

组别	检出范围	中位数	平均微核率($\bar{X} \pm SD$)
接触组	0~4	1.0	1.28 $\pm$ 1.01
对照组	0~2	0.5	0.69 $\pm$ 0.60

秩和检验 $H=7.09$ $P<0.01$

2.4 年龄、吸烟及接触工龄等因素对各项遗传学指标的影响

将接触组和对照组年龄、主动吸烟量、吸烟年数、被动吸烟量以及接触组工龄作自变量,Log转换后的抗6-TG细胞突变率、平方根反正弦转换后微核率以及SCE发生率作因变量,分别进行直线相关及回归分析,结果各组年龄、主动吸烟量、吸烟年数与抗6-TG细胞突变率和SCEs有正相关关系,相关系数及回归系数 t 检验有显著性,年龄及接触组吸烟量和吸烟年数与微核率也有显著性相关,表明随年龄、主动吸烟量或吸烟年数增加,体细胞基因突变及染色体损伤增高。接触组工龄等因素与各指标未见明显相关。采用多元线性逐步回归分析各因素的综合作用,结果表明年龄、每日吸烟量作用显著,其它因素,在逐步回归分析中被剔除(表5)。

3 讨论

直接测定体内细胞基因位点突变是当前研究机体遗传稳定性及致突变物检测技术发展的趋势,对于分析各种遗传性疾病、肿瘤的细胞突变情况及监测环境致突变、致癌因子对机体

表 5

多因素逐步回归分析结果

因变量	回归方程	F值	P值
对照组 (n=36)			
抗6-TG细胞突变率(%)*	$Y = -1.18 + 0.03X_1 + 0.07X_2$	10.38	<0.01
SCEs (个/细胞)	$Y = 1.92 + 0.06X_1 + 0.28X_2$	9.72	<0.01
接触组 (n=40)			
抗6-TG细胞突变率(%)*	$Y = -1.02 + 0.32X_1 + 0.14X_2$	9.63	<0.01
SCEs (个/细胞) **	$Y = 2.62 + 0.07X_1 + 0.66X_2$	8.92	<0.01
微核率(%)**	$Y = -1.36 + 0.08 + 0.43X_2$	10.85	<0.01

*Log转换, **arcsin√P转换; X_1 : 年龄, X_2 : 每日吸烟量。

的影响具有重要意义。检测外周血抗6-TG T淋巴细胞突变是近年来建立起来的检测体细胞基因突变的主要方法之一, 国内刚刚开展。次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶 (HPRT) 是嘌呤核苷酸补救合成途径中的一个关键酶, 其控制基因位于哺乳动物细胞和人的X染色体长臂的末端。HPRT特异性不强, 可将嘌呤类似物 (如6-硫代鸟嘌呤) 代谢催化成核苷-5'-磷酸, 掺入核酸分子后导致细胞死亡^[6]。如淋巴细胞受到各种理化因素作用导致 HPRT 位点基因突变, HPRT 酶失活, 细胞在含有 6-TG 等嘌呤类似物的培养系统中可以抵抗其毒性作用而存活生长。因此检测人体外周血中抗6-TG 细胞的出现频率就可以反映体细胞基因突变水平^[7]。汽车尾气中含有多种致突变物质, 大量短期遗传学测试已经证明汽车尾气颗粒及气体提取物的致突变性^[1~4]。由于隧道是一个相对密闭的空间, 尾气不能及时扩散, 各种污染物浓度很高, 穿越隧道的公交车司、售人员每天要接触高浓度的汽车尾气。

本研究对接触汽车尾气的隧道二线公交车司机及售票员和上海市植物园管理人员外周血抗6-TG细胞、SCE 发生频率及微核出现率检测和比较, 发现在两组人群年龄、吸烟情况等因素均衡的情况下接触人群各检测指标均显著高于对照人群, 表明接触汽车尾气可导致人的体细胞基因突变、DNA 损伤及染色体损伤。

随着年龄增加, 机体遗传结构的修复功能和免疫监视功能降低, 细胞自发突变率逐渐升

高。香烟烟雾中含有多环芳烃、醛类等多种致突变致癌物质, 不少实验显示香烟凝聚物具有致突变性, 人群研究表明吸烟者体细胞突变率比不吸烟者明显增高。从我们的研究看出, 年龄和吸烟与各项遗传学检测指标有明显相关关系, 接触工龄未见相关, 原因可能是由于隧道二线运营距今仅有7年, 司机、售票员接触工龄差较小, 因而工龄的作用不显著。

4 参考文献

- 1 Massad E, et al. Toxicity of Prolonged exposure to ethanol and gasoline autoengine exhaust gases. *Environ Res* 1986; 40:479
- 2 Tornqvist M, et al. Hemoglobin adducts in animals exposed to gasoline and diesel exhausts 1. Alkenes. *J Appl Toxicol* 1988; 8(3):159
- 3 Anwar WA, et al. Cytogenetic effects in a group of traffic policemen in Cairo. *Mutat Res* 1988; 208:225
- 4 IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes. Vol. 46 Lyon 1989; P119-127
- 5 Norman A, et al. A sensitive assay for 6-TG mutants lymphocytes. *Mutat Res* 1988; 208:17
- 6 Patricia O-W, et al. The use of bromodeoxyuridine labeling in the human lymphocyte HGPRT somatic mutation assay. *Mutat Res* 1987; 191:211
- 7 Hakoda M, et al. Measurement of in vivo HGPRT deficient mutant cell frequency using a modified method for cloning human peripheral blood T-lymphocytes. *Mutat Res* 1988; 197:161

Abstracts of Original Articles

Investigation on the Cytogenetic Effects in Tunnel Bus Drivers and Conductors**Peng Baocheng, et al**

The cytogenetic effects of tunnel bus drivers and conductors were studied in the paper, workers in Shanghai botanical garden were selected as control group. The result showed that the 6-TG-resisting lymphocyte mutation rate, frequency of sister chromatid exchange and the micronucleus of peripheral blood lymphocyte in exposed group were markedly higher than those in control group. The result suggested that high concentration automotive exhaust could induce genetic damages on occupational exposed people.

Key words, automobile exhaust, lymphocytes, 6-TG-resisting mutation, sister chromatid exchange, lymphocyte micronucleus

Studies on DPPC in the BALF of Experimental Silicotic Rats**Yang Qing**

Rat were injected with 50mg of silica intratracheally. The contents of dipalmitoylphosphatidylcholine(DPPC) of the broncho alveolar lavage fluid(BALF) were detected on 15, 45, 90, 180 and 270 days after dosing. The lung tissues of silicotic rats were examined under scanning electromicroscopy. The results show that the DPPC peaks at early stage and declines along with the experimental duration. There is a condation between the DPPC levels and the changes of amount and function of the type 2 areolar epithelium under scamming electromicroscopy.

key words, silica, dipalmitoylphosphatidylcholine(DPPC), scanning, electromicroscopy

Combined Effects of High Temperature and Carbon Monoxide on Rat Liver HSP70mRNA and its Synthesis**Wu Tangchun, et al**

The HSPs(heat stress proteins) could be induced by heat or other stimuli, the normal proteins was inhibited. Present study aimed at the effects of high temperature, carbon monoxide and their combined effects on the major heat stress protein-HSP70 and its mRNA. 8 male rats were randomly divided into four groups, control group($25.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$), high temperature group($40.0 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$), carbon monoxide group (600 + 50ppm, $25.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$) and the combine effects group(600 + 50ppm, $40 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$). After experiment, the rats recovered in room temperature for 60 min. Then determined the rectal temperature and HbCO in the blood, the liver were taken for HSP70 and its mRNA for analysis. The results were as follows, (1) the rectal temperature in high temperature group and combined effect group, showed a 3.0°C , HbCO level in CO group and combined effect group increased above 30%, respectively compared with control group. (2) only little HSP70 mRNA was transcribed in control group, showed little increase HSP70 mRNA was obviously increased in high temperature group, and the increase of HSP70 mRNA in combined effect group was most obvious, suggesting a synergistic action between high temperature and CO. The synthesis of HSP70 showed a consistent changes with that of its mRNA in all groups.

Key words, high temperature, carbon monoxide, combined effects, heat stress proteins, HSP70mRNA

The Study of Byssinosis in Guangzhou**Jiang Chaoqiang, et al**

1320 workers of two factories processing pure cotton were studied. 1306 subjects without occupational dust exposure were served