

# 氯乙烯作业工人淋巴细胞 DNA 损伤的研究

翟明芬 王民生 徐德州 周慧萍

**摘要** 目的 探讨用单细胞微量凝胶电泳测试方法 (MGE) 检测氯乙烯对人体外周血淋巴细胞 DNA 损伤。方法 选择 53 名氯乙烯作业工人和 55 名非氯乙烯接触工人用 MGE 方法测定外周血淋巴细胞 DNA 损伤的状况。结果 氯乙烯作业工人 DNA 损伤细胞数明显高于对照组 ( $P < 0.01$ )。结论 氯乙烯可引起人体淋巴细胞 DNA 链的断裂, 单个细胞微量凝胶电泳技术是一项敏感的检测人体细胞 DNA 损伤的方法。

**关键词** 氯乙烯 单个细胞微量凝胶电泳技术 淋巴细胞 DNA 损伤

**Studies on DNA Damage in Human Lymphocytes of Workers Exposed to Vinyl Chloride** Zhai Ming-fen\*, Wang Minsheng, Xu Dezhou, et al. \* Changzhou Municipal Institute for Occupational Health, Changzhou, Jiangsu 213003

**Abstract Objective** To detect DNA damage in human peripheral lymphocytes of workers exposed to vinyl chloride with microgel single cell electrophoresis (MGE). **Methods** Fifty-three workers exposed to vinyl chloride and 55 non-exposed controls were selected. DNA damage in their lymphocytes were detected by MGE. **Results** Number of lymphocytes with DNA damage was significantly higher in the exposed workers than that in non-exposed ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** Vinyl chloride can cause cleavage of DNA strand in human lymphocytes and MGE is a more sensitive method to detect DNA damage in human lymphocytes.

**Key words** Vinyl chloride, Microgel single cell electrophoresis, Lymphocyte, DNA damage

氯乙烯 (Vinyl chloride, VC) 单体的致癌作用及致突变作用已为人们所公认<sup>[1]</sup>, 可引起人类一种罕见的肿瘤——肝血管肉瘤。对氯乙烯作业工人近几年的健康监护中发现常规肝功能监测指标的实际意义不大; 肝胆酸检查则要使用放射免疫同位素标记方法。本文试用单细胞凝胶电泳法 (Single cell microgel electrophoresis assay, MGE), 又称彗星测试 (Comet assay), 观察了职业性氯乙烯生产工人外周有核细胞 DNA 的变化情况, 以探索该项技术在此一领域应用的可能性。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选择某树脂厂生产氯乙烯、聚氯乙烯的 53 名工人作为接触组, 其中男性 35 人, 女性 18 人; 同时测定作业场所空气中的氯乙烯浓度。另选择不接触氯乙烯的健康工人 (生活服务) 55 人为对照组, 性别与年龄构成基本与接触组一致。

### 1.2 方法

外周血有核细胞分离为: 取清晨空腹血 1ml, 肝素抗凝, 用 PRMI1640 培养液 5ml 稀释后加入盛有淋巴细胞分离液 2ml 的离心管中, 离心 20 分钟, 吸取

其有核细胞层 (主要为淋巴细胞)。彗星测试按王民生报道的方法进行<sup>[2]</sup>, 其程序为: 单细胞悬液滴于显微镜载玻片 (毛面) 上铺成“三明治”结构的凝胶片, 凝胶片浸没于碱性溶液中 1 小时, 经电泳、荧光染色后, 用显微镜观察; 目镜测微尺测量“彗星”的长度, 并对 DNA 损伤的程度进行分级。分级标准为: 无损伤 (损伤  $\leq 5\%$ ), 轻度损伤 (损伤  $5\% \sim 20\%$ ), 中度损伤 ( $20\% \sim 40\%$ ), 重度损伤 ( $40\%$  以上)<sup>[3]</sup>。

统计方法应用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

### 2.1 调查组与对照组基本情况

氯乙烯接触组: 男性 35 人, 平均年龄 ( $37.0 \pm 7.2$ ) 岁, 平均工龄 ( $12.4 \pm 7.6$ ) 年, 吸烟者占 85.7%; 女性 18 人, 平均年龄 ( $37.8 \pm 7.6$ ) 岁, 平均工龄 ( $14.6 \pm 8.8$ ) 年, 无吸烟者。对照组: 男性 39 人, 平均年龄 ( $36.6 \pm 7.5$ ) 岁, 平均工龄 ( $12.9 \pm 7.9$ ) 年, 吸烟者占 82.0%; 女性 16 人, 平均年龄 ( $35.7 \pm 6.9$ ) 岁, 平均工龄 ( $11.3 \pm 7.2$ ) 年, 无吸烟者。

### 2.2 车间空气中氯乙烯浓度

各车间空气中氯乙烯平均浓度见表 1。其中精馏、合成、泵房、聚合操作、清釜、计量槽等作业点氯乙烯浓度均超过国家最高容许浓度  $30\text{mg}/\text{m}^3$ ; 清釜时氯乙烯浓度高达  $2150\text{mg}/\text{m}^3$ , 是国家卫生标准的 71.6 倍。

作者单位: 213003 常州市职业病防治所 (翟明芬), 江苏省职业病防治所 (王民生、徐德州), 常州化工厂卫生所 (周慧萍)

表 1 某树脂厂氯乙烯车间各工段空气中氯乙烯浓度测定

mg/m<sup>3</sup>

工 段	测定点	样品数	浓度范围	$\bar{x} \pm s$
氯乙烯	转化工序	9	0.90~30.13	19.87±14.91
	水洗塔	5	3.30~25.02	16.78±9.90
	精 馏	10	0.20~114.98	31.80±35.26
	合 成	10	91.93~224.71	172.59±73.41
	泵 房	8	172.70~2138.40	976.87±294.58
聚氯乙烯	微机操作室	7	0.20~31.8	14.33±12.90
	聚合操作位	6	0.20~163.80	56.16±55.41
	清釜时	10	1030.00~3899.20	2150.00±2018.00
	计量槽	3	0.20~403.80	170.58±275.00

### 2.3 氯乙烯作业工人外周血有核细胞 DNA 损伤

氯乙烯接触组和对照组工人外周血有核细胞 DNA 损伤测定结果见于表 2。氯乙烯接触工人平均 DNA 受损细胞百分率为 19.2%，明显高于对照组 (3.4%)，差别有极显著意义 ( $P < 0.01$ )。DNA 受损

细胞分级表明，接触氯乙烯组工人 DNA 受损程度也明显高于对照组。对氯乙烯组工人按工种进行统计分析发现 (表 3)，DNA 受损细胞百分率在清釜工最高，最低为精馏，这可能与清釜工在清釜时所接触的氯乙烯浓度最高有关。

表 2 氯乙烯作业工人外周血有核细胞 DNA 损伤结果

组别	例数	观察细胞 (个)	受损细胞		DNA 受损细胞分级							
			个	%	0		I		II		III	
					个	%	个	%	个	%	个	%
氯乙烯	53	5300	1018	19.2*	4280	80.8	606	11.4	359	6.7	55	1.0
对照组	55	5500	186	3.40	5314	96.6	170	3.1	16	0.3	0	0

注：0、I、II、III分别为 DNA 未受损伤、轻度、中度和重度损伤

\*  $P < 0.01$

表 3 氯乙烯作业不同工种工人外周血有核细胞 DNA 损伤结果

工种	例数 (个)	观察细胞数 (个)	DNA 受损细胞	
			个	%
清釜工	8	800	242	30.3**
冷冻压缩	7	700	168	24.0**
聚合操作	11	1100	212	19.3**
合成维修	5	500	92	18.4**
控 制	7	700	126	18.0**
离心沉淀	10	1000	126	12.6**
精 馏	5	500	52	10.4**
对照组	55	5500	186	3.4

\*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

有关氯乙烯致肝血管瘤及肝癌国内均有报告<sup>[4,5]</sup>，氯乙烯在肝内经微粒体混合功能氧化酶及还原型辅酶 II 的参与下进行环氧化反应，形成氯乙烯环

氧化物，再经分子重排，生成氯乙醛，这两种物质均为强烷化剂，具有致突变和致癌作用<sup>[6]</sup>，对氯乙烯接触工人进行了外周血淋巴细胞微核、染色体畸变及姐妹染色体互换试验的调查研究，均获得有意义的结果<sup>[7]</sup>。本次调查发现，接触氯乙烯工人外周血有核细胞 DNA 有一定程度的损伤，以清釜作业最高，与清釜作业点空气中氯乙烯浓度最高相吻合。

单细胞微量凝胶电泳技术是近年发展起来的敏感的检测 DNA 损伤的技术，具有简便、快速、形象化、所需样本少等优点，本次调查样本量虽较少，仍能反映 DNA 的损伤情况，提示该方法应用于职业暴露于遗传毒性物质人群的流行病学研究是可行的，但由于样本量太少，尚难看出剂量-反应关系，仍需今后进一步观察。

### 4 参考文献

- 1 ECETOC. The mutagenicity and carcinogenicity of vinyl chloride: a historical review and assessment, Technical Report No 31. Brussels. Belgium, 1988. 1~417.

(下转 9 页)

高于空白对照组 ( $P < 0.01$ ), 染尘螺旋藻组则低于染尘组 ( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ )。染尘螺旋藻组中 ACP 高于空白组 ( $P < 0.01$ ), LDH 也高于空白组, 但差异无显著意义 ( $P > 0.05$ )。

表1 大鼠红细胞SOD活性、全血GSH-Px活性、BALF中LDH、ACP含量和肺组织中MDA的含量 ( $\bar{x} \pm s$ )

组号	组别	样本数	SOD (U/gHB)	GSH-Px (U/ml)	LDH (mU/100ml)	ACP (U/ml)	MDA ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ )
a	空白对照组	12	1 108.62 $\pm$ 160.48	23.69 $\pm$ 3.85	162.96 $\pm$ 68.45	4.99 $\pm$ 2.69	3.04 $\pm$ 0.67
b	染尘组	14	901.12 $\pm$ 95.74*	17.55 $\pm$ 1.65*	320.16 $\pm$ 132.44*	13.60 $\pm$ 6.06**	7.66 $\pm$ 1.45**
c	染尘螺旋藻组	12	1 068.08 $\pm$ 242.04 $\Delta$	21.60 $\pm$ 3.04 $\Delta\Delta$	201.42 $\pm$ 86.25 $\Delta$	8.76 $\pm$ 2.94 $\Delta\Delta\#\#\cdot$	4.56 $\pm$ 0.32 $\Delta\Delta\#\#\cdot$

注: b与a相比, \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; c与b相比,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; c与a相比,  $\#\#\cdot P < 0.01$ 。

## 2.4 实验性大鼠矽肺模型复制结果

染尘组和染尘螺旋藻组肺组织病理切片均可见II型(纤维细胞性)和II型(细胞纤维性)矽结节病变存在, 但染尘螺旋藻组中则有部分I型(细胞性)病变存在, 其中可见到较多的成纤维细胞; 空白对照组则无上述病理改变。

## 3 讨论

3.1 本实验中染尘组大鼠体内脂质过氧化居于较高水平, 因此把染尘组作为研究螺旋藻对实验性矽肺体内抗氧化水平作用的实验对照。SOD和GSH-Px是两种重要的抗氧化酶, 都具有清除自由基、抑制脂质过氧化反应的作用<sup>[3]</sup>。染尘螺旋藻组SOD和GSH-Px活性显著提高和肺组织中MDA含量显著降低的结果说明: 螺旋藻具有提高矽肺大鼠体内抗氧化水平、抑制或阻断由SiO<sub>2</sub>诱导的肺组织脂质过氧化反应、减少MDA生成的作用。在正常情况下LDH和ACP存在于膜性结构完整的PAM泡浆和溶酶体中, 肺泡腔中含量较少, 只有当PAM膜严重损伤后才大量出现在肺泡中<sup>[4]</sup>。染尘螺旋藻组大鼠BALF中ACP和LDH的含量降低, 结合肺组织病理切片中有I型(细胞性)病变的存在, 可以认为是由于螺旋藻提高了机体的抗氧化水平, 减少了脂质过氧化产物对PAM膜的损伤, 从而在一定程度上起到保护细胞膜、维持膜性结构完整性和延缓矽肺病变发展的作用。

## 2.3 肺组织中MDA的含量

染尘组和染尘螺旋藻组大鼠肺组织中MDA含量均显著高于空白对照组 ( $P < 0.01$ ), 染尘螺旋藻组则显著低于染尘组 ( $P < 0.01$ ) (见表1)。

3.2 螺旋藻提高机体抗氧化水平作用的机理, 可能与螺旋藻含有丰富的 $\beta$ -胡萝卜素和微量元素硒(Se)等营养成分有关<sup>[5]</sup>。 $\beta$ -胡萝卜素通过猝灭单线态氧、三线态光化学敏感物和自由基而抑制脂质过氧化反应的作用已经得到证实<sup>[6]</sup>, Se在生物体内以硒代半胱氨酸或硒代甲硫氨酸的形式构成GSH-Px的活性中心。研究证实: 提高机体内硒的含量, 可以增强GSH-Px的抗氧化活性<sup>[7]</sup>。经饮食摄入这些营养成分, 补充体内的消耗量, 可不断给机体补充拮抗自由基时被消耗的抗氧化剂, 使机体内抗氧化剂保持在较高的浓度。

## 4 参考文献

- 郭维新, 许长安. 脂质过氧化与矽肺. 工业卫生与职业病, 1989, 15(6): 376
- 杨莉, 袁秀玲, 吴开国, 等. 螺旋藻抗衰老的动物实验研究. 广西医科大学学报, 1993, 123
- 程元恺. 脂质过氧化与抗氧化酶. 工业卫生与职业病, 1993, 13(4): 254
- Voisin C. Broncho-alveolar Lavage in coal worker pneumoconiosis: Oxidant and antioxidant of alveolar macrophages. In vitro Effects of Mineral Dusts Edited by EG Beck. Springer-verlag Berlin, 1985, 93
- 程双奇, 曹世民, 郑伟. 螺旋藻的营养评价. 营养学报, 1990, 17(4): 415
- Burton GW, Zingold KV. Beta-carotene: an unusual type of lipid antioxidant. Science, 1984, 224: 569
- Forstrom JW. Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. Biochemistry, 1978, 17: 2639

(收稿: 1998-08-17 修回: 1998-10-12)

(上接7页)

- 王民生, Schmezer P. 碱性单细胞微量凝胶电泳技术简介. 癌变畸变突变, 1996, 8(2): 112
- Anderson D, et al. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the comet assay. Mutat. Res, 1994, 307: 261
- 王炳森, 等. 氯乙烯接触者并发肝癌和肝血管肉瘤的首例报告. 中华劳动卫生职业病杂志, 1991, 9(3): 178

- 王敬钦, 等. 氯乙烯作业工人患肝癌5例报告. 中华劳动卫生职业病杂志, 1990, 8(2): 93
- 王世俊, 主编. 工业卫生与职业病学. 北京: 化学工业出版社, 1990, 152
- Hrivnak L, et al. Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes in workers exposed to vinyl chloride. Mutat. Res, 1990, 240: 83

(收稿: 1998-04-27 修回: 1998-07-23)