

## 木尘对中国仓鼠肺成纤维细胞的致突变作用

## Study on the mutagenicity of wood dust in lung cells of Chinese hamster

杨跃林, 王绵珍, 王治明, 詹承烈

YANG Yue-lin, WANG Mian-zhen, WANG Zhi-ming, ZHAN Cheng-lie

(华西医科大学职业病防治院, 四川 成都 610041)

**摘要:** 采用某木综厂车间中的木尘制成悬液和有机提取液, 对中国仓鼠肺成纤维细胞 (CHL) 进行诱变实验。结果发现两种受试物在 -S9 和 +S9 实验条件下均能诱发 CHL 微核率升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 且有明显的剂量-反应关系。

**关键词:** 木尘; 致突变; 微核率

**中图分类号:** R135.2; Q754 **文献标识码:** B

**文章编号:** 1002-221X(2000)06-0351-02

木尘可引起鼻窦癌、肺癌和白血病<sup>[1-4]</sup>等。为了探讨木尘的诱变性, 我们用某木综厂胶合板车间除尘室的木尘进行了体外细胞 (CHL) 培养微核实验, 现将结果报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞 中国仓鼠肺成纤维细胞 (Chinese hamster lung cell, CHLC), 常规培养。细胞由北京药检所购自日本。

1.1.2 培养液 Engle's MEM 培养基 (日本制药株式会社) 按说明配制成培养液, 使用时加入 10% 小牛血清 (成都生物制品厂产品)、双抗、L-谷氨酰胺, 调 pH 值 7.2~7.4。

1.1.3 受试物 木尘: 采用某木综厂胶合板车间除尘室的木尘, 为桦木和柳枝的混合尘, 用 200 目分样筛过筛, 分散度为  $< 2^{\mu}m$  占 55.6%,  $2 \sim 5^{\mu}m$  占 23.0%,  $5 \sim 10^{\mu}m$  占 16.3%,  $> 10^{\mu}m$  占 5.1%。置于干燥器中备用。

木尘悬液制备: 一组经高压湿热灭菌 (15 磅 20 分钟) 后加入无血清培养液, 备用。

木尘提取液制备: 一组经二氯甲烷 (DCM) 常温浸泡 4 小时, 取上清液, 残渣再用丙酮-甲醇 1:1 混合液常温浸泡 4 小时, 取上清液。两种上清液混合, 室温挥干, 以不同浓度溶于二甲亚砜 (DMSO), 备用。

1.1.4 阳性药物 丝裂霉素 C (Mitomycin C, MMC) Signa 公司出品, 用前以 pH 为 6.8 的 PBS 溶解稀释, 于 0~4℃ 贮存备用。环磷酰胺 (CP), 上海制药十二厂出品。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞毒性测定 每个 25cm<sup>2</sup> 培养瓶加培养液 5ml 接种  $2.8 \times 10^5$  个细胞, 37℃ 常规培养, 24 小时后加入受试物, 再培养 24 小时, 台盼蓝染色观察细胞存活情况。以 50% 细胞死

亡的剂量为最高剂量, 按 1/2 比例递减。2 种受试样品正式实验时均设 4 个剂量组。

1.2.2 正式实验 每瓶接种  $2.8 \times 10^5$  个细胞, 经 24 小时培养, 加入受试物、阳性物及溶剂对照, 染毒 24 小时 (-S9) 或 2 小时 (+S9)。+S9 实验中, 染毒结束后, 细胞需继续培养 22 小时。移去培养液, 于培养瓶中加入 D-Hanks 液 2ml, 轻摇数次后倒掉, 连续冲洗 2 次后, 以 0.25% 的胰酶消化 1~2 分钟, 加培养液终止消化, 吹打细胞, 使之均匀分散于悬液中。

1.2.3 低渗、固定、制片 将上述细胞悬液移入离心管, 以 1000r/min 离心 10 分钟, 弃上清液。加 0.075mol/L KCl 低渗 10 分钟后, 加固定液 (甲醇-冰乙酸 3:1 混合液), 1000r/min 离心 10 分, 弃上清液。经初步固定的细胞加固定液再固定 10 分, 1000r/min 离心 10 分, 弃上清。留少量残液将细胞吹打混匀后, 滴于洁净玻片上风干。

1.2.4 Giemsa 染色, 玻片计数 用新配制的 Giemsa 染液 (pH = 6.4) 染色 10~15 分, 自来水冲洗、风干、编盲。每张玻片油镜 (100×10) 下计数 1000 个完整细胞, 每个剂量组共计 4000 个细胞, 计算微核百分率。

毒性和正式实验重复一次 (报告的数字是 2 次实验的综合结果)。

### 1.2.5 统计分析

用单侧 *t* 检验比较处理组与对照组的差别, 用直线回归法检验剂量-反应关系, 用 *t* 检验直线相关系数。

## 2 结果

### 2.1 细胞毒性实验结果 (表 1)

表 1 不同质量浓度木尘悬液和提取液的细胞毒性作用

木尘悬液 质量浓度 ( $\mu g/ml$ )	毒性	木尘提取液 质量浓度 ( $\mu g/ml$ )	毒性
0	-	7.25	-
10	-	14.50	-
100	+	29	-
500	++	58	++
1000	+++	116	+++

注: +++: LD<sub>75</sub>, ++: LD<sub>50</sub>, +: LD<sub>25</sub>, -: LD<sub>0</sub>

由表 1 可见木尘悬液及提取液的 LD<sub>50</sub>, 分别为 500 $\mu g/ml$  和 58 $\mu g/ml$ 。故正式实验时剂量设计分别是: 木尘悬液组 500、250、125、62.5 $\mu g/ml$ ; 木尘提取液组为 58、29、14.5、7.25 $\mu g/ml$ 。

收稿日期: 1999-08-16; 修回日期: 2000-04-17

作者简介: 杨跃林 (1961-), 男, 云南人, 博士, 副教授, 主要研究职业中毒、职业肿瘤。

### 2.2 两种受试物诱发微核率 (‰) (表 2)

表 2 可见两种受试物在 -S9 或 +S9 实验条件下均能诱发 CHL 细胞微核率显著增高。-S9 实验条件下, 木尘提取液组诱发微核细胞率升高更明显, +S9 实验条件下, 木尘悬液及提取液诱发微核细胞率均较 -S9 时有所增加。其阴性对照和阳性对照结果与文献报道一致<sup>[6]</sup>。

表 2 木尘悬液与提取液微核率 (‰)

受试物	浓度 (μg/ml)	微核率 (x̄±s)	
		-S9	+S9
空 白	0 00	5 0±2 8	6 50±1. 29
二甲亚砷	2%	5 0±0 0	5 50±1. 91
丝裂霉素 C	0 25	33 5±9 0 * *	
环磷酸胺	0 20		53 25±8. 85 * *
木尘悬液	62. 5	6 5±1 3	13 75±1. 71 * *
	125	7 5±3 0	15 25±2. 22 * *
	250	8 0±4 2	32 00±3. 27 * *
	500	12 0±1 6 * *	17 25±2. 99 * *
木尘提取液	7. 25	3 0±1 0	9 00±0. 82 * *
	14. 50	14 3±4 0 *	18 25±4. 57 * *
	29. 00	12 8±4 0 *	20 50±5. 8 * *
	58. 00	19 5±2 5 * *	22 00±6. 25 * *

与对照比较 \* P<0.05 \*\* P<0.01。

### 2.3 浓度与微核率的相关关系 (表 3)

表 3 浓度与微核率的相关关系

		相关系数	直线回归方程
悬液组	+S9	0.484	Y=12.33+0.0236X
	-S9	0.983 * *	Y=5.36+0.013X
提取液组	+S9	0.836 *	Y=9.22+0.2681X
	-S9	0.867 *	Y=5.30+0.2586X

\* P<0.05, \*\* P<0.01。

表 3 可见两种受试物浓度与微核率呈正相关, 悬液 -S9 和提取液 -S9 及 +S9 组的相关系数差异有显著性。

### 3 讨论

(上接第 340 页) 片外, 神经肌电图检查感觉神经系统改变可作为职业性健康监护的指标之一。

#### 参考文献:

[1] 刘建东. 氟对大鼠抗氧化酶系统的影响及“抗氧灵”的拮抗作用 [J]. 工业卫生与职业病杂志, 1996, 22 (3): 151.  
 [2] 马文兰. 氟作业工人健康检查资料分析 [Z]. 包钢“氟害”普查资料汇编, 1983, 17-18.

Mohtshampur 等<sup>[5-6]</sup>用体外沙门氏菌、哺乳动物微粒体平皿试验结果分析发现, 榉木中含有诱变成分。刘树范等<sup>[7]</sup>应用 Ames 实验发现柞木水浸液在无 S9 时 TA98 出现阳性。

本实验结果显示, 胶合板车间榉木和柳桉混合尘的悬液和提取液在 -S9 或 +S9 实验条件下均能诱发 CHL 细胞微核率显著升高, 悬液 -S9 组和提取液 +S9、-S9 组存在明显剂量-反应关系。-S9 实验条件下, 提取液组诱发微核细胞率升高更明显, +S9 实验条件下, 悬液和提取液组微核细胞率均较 -S9 时有增加, 但木尘悬液组升高更明显。认为木尘悬液和提取液在本实验条件下均为微核实验阳性。说明该木尘悬液和提取液可能具有诱变活性, 国内外一些作者在对其他木材的实验中 also 得到类似结果<sup>[5-7]</sup>。

国内外多使用 Ames 试验测定木材的诱变性, Ames 试验检测的遗传学终点为 DNA 碱基序列改变, 而微核实验检测的遗传学终点为染色体完整性及染色体分离改变, 两种实验均为阳性, 提示木尘的遗传学作用终点在 1 种以上, 既可导致基因突变, 又可致染色体完整性改变; 既能作用于原核细胞, 又能作用于真核哺乳动物细胞。其导致微核率升高的机理尚有待进一步研究。

不同种类的木材在 Ames 试验中的诱变性不同<sup>[7]</sup>, 本实验使用的木尘为直接采自作业车间榉木和柳桉木混合尘, 其诱变性来自何种成分有待进一步研究。

#### 参考文献:

[1] 毕文芳. 关于木工的癌症问题 [J]. 国外医学卫生学分册, 1982, 4: 201-203.  
 [2] Kawachi I. A New Zealand cancer registry-based of cancer in wood worker [J]. Cancer, 1989, Dec 15, 64 (12): 2609-2613.  
 [3] Siemiątychi J, et al. Associations between several sites of cancer and nine organic dusts [J]. Am J Epidemiol, 1986, Feb 123 (2): 235-249.  
 [4] Mccammon CS, et al. Industrial hygiene characterization of automotive wood model shop [J]. Am Ind Hyg Assoc J, 1985, Jul 46 (7): 343-349.  
 [5] Mohtashampur E, et al. Release of mutagens after chemical or microbial deradation of beech wood lignin [J]. Toxicol lett, 1990, May 51 (3): 277-285.  
 [6] Mohtashampur E, et al. A fraction of beech wood mutagenic in the Salmonella mammalian microsome assay [J]. Int Arch Occup Environ Health, 1986, 58 (3): 227-234.  
 [7] 刘树范, 等. 应用 Ames 试验对五种木屑浸液的致突变性探讨 [J]. 工业卫生与职业病, 1987, 13 (4): 242-243.

[3] 李珠明. 电渣重熔钢作业氟化物对工人健康的影响 [J]. 中国工业医学杂志, 1996, 9 (4): 235.  
 [4] 王莹, 顾祖维. 现代职业医学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996, 260.  
 [5] 李欣, 张彦. 骨伤 X 线诊断学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991, 26-27.