

# 职业接触环氧丙烷工人 Hb 加合物及其遗传毒性分析

赵福林<sup>1</sup>, 金汉杰<sup>1</sup>, 李明<sup>2</sup>, 张玉川<sup>3</sup>, 李玉凡<sup>3</sup>, 曲波<sup>3</sup>, 李刚<sup>3</sup>, Xiao Y<sup>4</sup>, Dan Segerback<sup>5</sup>

(1. 葫芦岛市职业病防治所, 辽宁 葫芦岛 125001; 2. 锦西化工总厂, 辽宁 葫芦岛 125001; 3. 辽宁省职业病防治院, 辽宁 沈阳 110005; 4. 荷兰莱顿大学; 5. 瑞典营养与毒理研究中心)

**摘要:** 目的 研究长期接触低浓度环氧丙烷工人的遗传效应。方法 采用气相色谱法对环氧丙烷作业现场进行监测的同时, 采集工人血样, 采用高灵敏的 N-alkyl Edman 气质谱法对血红蛋白加合物 (HP-缬氨酸) 含量进行了测定, 同时对姐妹染色单体互换 (SCE) 进行检测。结果 环氧丙烷作业工人时间加权平均浓度 (TWA) 为  $2.6 \text{ mg/m}^3$  和  $6.9 \text{ mg/m}^3$ 。环氧丙烷接触组工人的 HP-缬氨酸水平明显高于对照组, 差异有极显著性 ( $P=0.0018$ )。接触组中的每个细胞 SCE 数明显高于对照组, 差异有显著性 ( $P=0.011$ )。血红蛋白加合物与姐妹染色单体互换的相关系数  $r$  为  $0.762$ , 并且差异有极显著性 ( $P=0.0014$ )。结论 低浓度环氧丙烷对职业人群具有细胞遗传学毒性。

**关键词:** 职业接触; 环氧丙烷; 血红蛋白加合物; 姐妹染色单体互换

中图分类号: O623.11; R446.11 文章标识码: A 文章编号: 1002-221X(2002)03-0135-03

## Analysis on hemoglobin adducts and its cytogenetic effect in workers exposed to propylene oxide

ZHAO Fu-lin<sup>1</sup>, JIN Han-jie<sup>1</sup>, LI Ming<sup>2</sup>, ZHANG Yu-chuan<sup>3</sup>, LI Yu-fan<sup>3</sup>, QU Bo<sup>3</sup>, LI Gang<sup>3</sup>, XIAO Y<sup>4</sup>, Dan Segerback<sup>5</sup>

(1. Huludao Municipal Institute of Occupational Health, Huludao 125001, China; 2. Huludao Chemicals Plant, Huludao 125001, China; 3. Liaoning Institute of Occupational Health, Shengyang 110005, China; 4. Netherlands Leiden University; 5. Sweden Center for Nutrition and Toxicology)

**Abstract:** **Objective** To study the cytogenetic effect of workers exposed to low level propylene oxide in longer time. **Methods** Gas chromatography (GC) was used to detect the propylene oxide level in workshop air, the worker's blood samples was also collected. Hemoglobin adducts (HP-valine) were measured by the N-alkyl GC/MS method, the sister chromatid exchange (SCE) frequency was also analyzed. All data were analyzed by SPSS 8.0 statistical software. **Results** The TWA of two propylene oxide exposed posts was  $2.6$  and  $6.9 \text{ mg/m}^3$ , respectively. The level of HP-valine of PO workers was significantly higher ( $P=0.0018$ ). The SCE frequency was also significantly higher in exposed workers compared to the controls ( $P=0.011$ ). There was also a obvious correlation between HP-valine levels and SCE frequency ( $r=0.762$ ,  $P=0.0014$ ). **Conclusion** Low level propylene oxide has cytogenetic effect to the workers.

**Key words:** Hemoglobin adducts; Sister chromatid exchange; Occupational exposure; Propylene oxide

环氧丙烷 (propylene oxide) 是一种无色液体, 是生产聚醚多元醇和聚氨酯泡沫的重要中间体, 并已广泛地应用于医用合成树脂、食品消毒、淀粉变性、杀虫等领域<sup>[1]</sup>。由于其沸点低 ( $34^\circ\text{C}$ ), 易挥发, 可通过接触者的呼吸道和皮肤吸收, 在啮齿类动物暴露于高浓度环氧丙烷时具有弱的遗传毒性, 并可导致胃癌、鼻腔肿瘤等癌变<sup>[2,3]</sup>; 在对职业人群研究中显示长期接触低浓度环氧丙烷时也具有遗传毒性, 可导致 DNA 损伤<sup>[4]</sup>。血红蛋白加合物常用于监测化学致癌物的接触水平。作为直接烷化剂的环氧丙烷, 每个环

氧丙烷分子上的 2-羟丙基 (HP) 可与每个血红蛋白的亲核位点相结合而生成 HP-缬氨酸, 而且其化学性质稳定, 与红细胞具有同样长的寿命, 大约 4 个月, 故 HP-缬氨酸被应用于对环氧丙烷遗传毒性定量检测<sup>[3]</sup>。本次研究在对环氧丙烷作业现场进行监测的同时, 采集了 8 名操作工人的血样, 采用高灵敏度的 N-alkyl Edman 气质谱法对血红蛋白加合物 (HP-缬氨酸) 含量进行了测定, 同时对受试者做了姐妹染色单体互换 (SCE) 分析。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

接触组选择某化工厂环氧丙烷车间直接从事包装作业工人 8 名 (男 4 名, 女 4 名), 平均年龄 ( $29 \pm 3$ ) ( $26 \sim 34$ ) 岁, 平均工龄 ( $9 \pm 1$ ) ( $7 \sim 10$ ) 年; 对

收稿日期: 2001-10-25; 修回日期: 2002-01-20

作者简介: 赵福林 (1964-), 男, 辽宁人, 主管医师, 从事劳动卫生职业病防治工作。

照组为该地区不接触环氧丙烷的人员 8 名(男 4 名,女 4 名),平均年龄  $(30 \pm 3)$  (26~33) 岁,平均工龄  $(10 \pm 3)$  (5~13) 年。两组工人年龄、工龄差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。两组人群均无遗传病史、吸烟史和近期服药史,均不接触放射线等具有遗传毒性的职业性有害因素。

### 1.2 作业环境采样和测定

在环氧丙烷车间休息室、聚合工段和包装工段共设 6 个采样点,采用活性炭管采集车间空气样品(流速 0.5 L/min)。用气相色谱仪(GC-9A, FID)测定样品中环氧丙烷浓度,根据工人接触时间计算时间加权平均浓度(TWA)。

### 1.3 血样采集

抽取接触组和对照组工人静脉血 5~10 ml,分装于 2 个抗凝玻璃管中,分别进行冰冻和冰浴保存,待进行白细胞中 DNA 的提取和细胞遗传学分析。

### 1.4 血红蛋白加合物分析

采用 N-alkyl Edman 气质谱法测定 HP-缬氨酸。色谱采用 HP5890, GC 接口连接 VG70-250SEQ GC/H MS (负离子化学电离源),分离压为 10 K,色谱柱采用 DB-5 柔性石英毛细管柱(15 m×0.32 mm),氦气压为 704 Pa,离子源温度为 250 °C,甲醇作为溶剂气体,发射电流为 0.5 mA。

### 1.5 SCE 分析

取 0.5 ml 全血加入到含 F10 培养基、20%新生小牛血清、32U/ml 肝素、L-谷酰胺、抗菌素和 0.3 mg/ml 植物血凝素的培养液中。再加入 5-溴脱氧尿嘧啶核苷酸(BrdU),置 37 °C 培养箱(95%湿度,5% CO<sub>2</sub>)培养 72 h,在收获前 3 h 每个培养液中加入秋水仙素。离心收获细胞后用 0.075 mol/L KCl 在 37 °C 低渗处理 25 min,甲醇冰醋酸溶液(3:1)固定 2~3 次后,制片。玻片在 0.07 mol/L NaOH 改性 1 min,在不同的乙醇系列溶液(70%, 90%, 100%)中脱水,此玻片用 1 μg/ml 碘化丙锭染色。在带有 FITC 过滤器的荧光显微镜下观察染色单体,不与 BrdU 结合的染色单体显红色,与 BrdU 结合的染色单体显绿色。每份标本计数 25 个第二次中期分裂相细胞计算 SCE。

### 1.6 统计处理

人群、现场和实验数据均采用 SPSS 8.0 统计软件进行 *t* 检验和相关分析。

## 2 结果

### 2.1 作业环境测定结果

在环氧丙烷车间休息室、聚合工段和包装工段共

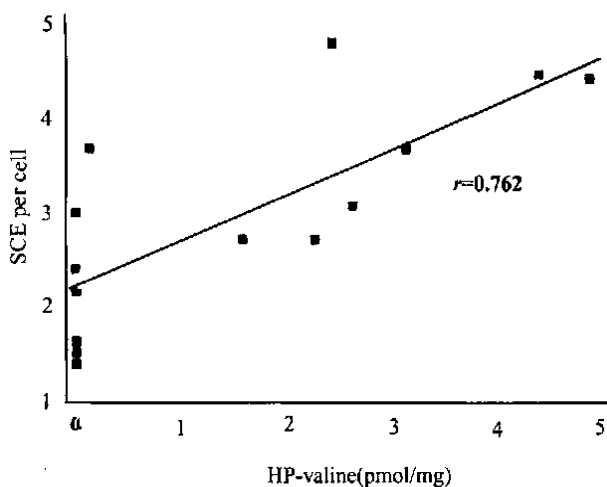
设 6 个采样点,环氧丙烷作业工人时间加权平均浓度(TWA)为 2.6 mg/m<sup>3</sup>(聚合工段)和 6.9 mg/m<sup>3</sup>(包装工段)。

### 2.2 环氧丙烷血红蛋白加合物和 SCE 分析结果

在所有的样品中均检测到 HP-缬氨酸,经统计学计算接触组工人的 HP-缬氨酸水平明显高于对照组,差异具有极显著性 ( $P = 0.0018$ )。接触组中的每个细胞 SCE 数明显高于对照组,差异具有显著性 ( $P = 0.011$ ),见表 1。血红蛋白加合物与姐妹染色单体互换的相关系数 *r* 为 0.762,并且差异有极显著性 ( $P = 0.0014$ ),见图 1。

表 1 接触组和对照组工人的血红蛋白加合物和 SCE 分析结果

组别	HP-缬氨酸 (pmol/mg)	SCE/细胞
接触组	2.688±1.522	3.70±0.82
对照组	0.006±0.001	2.00±0.52



查患者肝功能、肾功能、心肌酶、心电图等变化, 本文未能涉及森林脑炎病毒对心、肝、肾的损害情况, 但文献曾有森林脑炎病毒对肝功能造成不良影响的报道<sup>[7]</sup>, 值得今后进一步观察。

森林脑炎的治疗我国多采用中西医结合治疗的方式, 应用镇静、脱水、糖皮质激素等药物后, 可缩短病程, 减轻脑水肿。有报道, 早期使用恢复期病人血清或久居林区者血清或高效价免疫球蛋白, 可尽快控制症状, 改善预后<sup>[1, 3]</sup>。本文收集的病例也有肌注恢复期患者血清, 病历记录表明可使症状很快得到控制, 但由于血清来源较困难, 无规范的血清制品, 其使用方法、使用量和次数各例均不相同, 且未做血型匹配实验, 难以保证临床应用的安全性, 故本文未予介绍。文献报道, 干扰素和干扰素诱导剂 Poly I — CLC 联合应用在动物试验中可减少或不产生病毒血症, 还有待实验证实<sup>[8]</sup>。目前预防森林脑炎的主要方式仍是注射森林脑炎疫苗, 每年春季进入林区之前及时注射森林脑炎疫苗可有效地降低发病率和死亡率。

对于森林脑炎的分型, 有根据解剖部位分为脑膜炎型、脑膜脑炎型、脑干型、脊髓灰质型、上升型和混合型等<sup>[4]</sup>, 因较复杂, 且多为回顾性诊断, 对指导治疗意义不大, 临床应用较少。临床常用的分型方法多按病情轻重分为重型、普通型、轻型、顿挫型<sup>[1]</sup>。本研究通过调查 380 例森林脑炎患者, 发现普通型例数很少 (仅占 9 例), 且其临床症状、实验室检查和临床转归与重型极为相似, 故建议将其并入重型, 而将森林脑炎的临床分类简化为 3 型: 即 (1) 顿挫型: 仅有发热、轻度头痛、头晕、乏力、恶心等症状而无

神经系统损害体征; (2) 轻型: 除上述表现外, 尚有颈项强直、Kernig's 征等脑膜刺激征及脑脊液压力升高、细胞数和蛋白轻度增加等表现但无意识障碍; (3) 重型 (即过去的普通型和重型): 在轻型表现基础上, 出现意识障碍、吞咽困难、语言障碍和肌肉弛缓性瘫痪等表现, 提示其炎症反应更为明显。

本文通过采用回顾性调查的方法, 对森林脑炎的临床发病特点进行统计分析, 提出了新的分型方法, 供临床进一步验证, 以求对指导森林脑炎的诊断和治疗有切实帮助。

#### 参考文献:

- [1] 王季午. 传染病学 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 169.
  - [2] 骆福余, 张建华, 乐武. 森林脑炎 40 例临床分析 [J]. 哈尔滨医药, 1989, 9 (2): 14.
  - [3] 李华. 森林脑炎 230 例临床分析 [J]. 中华传染病杂志, 1997, 15 (4): 239-240.
  - [4] Parsons IM, Webb HE. Blood brain barrier disturbance and immunoglobulin G levels in the cerebrospinal fluid of the mouse following peripheral infection with the demyelinating strain of semliki forest virus [J]. J Neurol Sci, 1982, 57 (2~3): 307-318.
  - [5] Colombage G, Hall R, Pavy M, et al. DNA-based and alphavirus vectored immunisation with PM and E proteins elicits long-lived and protective immunity against the flavivirus, murray valley encephalitis virus [J]. Virology, 1998, 250 (1): 151-163.
  - [6] 玄德全, 伊世杰, 金昌吉. 森林脑炎临床特点观察及今后治疗的展望——附 82 例临床分析 [J]. 延边医学院学报, 1980, 3: 55.
  - [7] 阎甸华. 小儿森林脑炎 18 例临床分析 [J]. 黑龙江医药, 1982, 1: 9-10.
  - [8] Copenhagen DH, Singh IP, Sarzotti M, et al. Treatment of intracranial alphavirus infections in mice by a combination of specific antibodies and an interferon inducer [J]. Am J Trop Med Hyg, 1995, 52 (1): 34-40.
- (上接第 136 页) 汽车尾气污染时, 就会产生 ppb 级的一些简单的小分子烯烃, 这些微量的烯烃可以在人体内代谢为环氧丙烷<sup>[7]</sup>, 所以在非接触环氧丙烷的人体中也会检测到极微量的 HP-缬氨酸, 也就是说在人体内存在 HP-缬氨酸本底值。
- 此研究采用了新方法对体内血红蛋白加合物进行的检测, 其结果均与 SCE 的检测结果相一致, 可以证明长期接触低浓度环氧丙烷对职业人群具有细胞遗传学毒性。
- 参考文献:
- [1] 何凤生. 中华职业医学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 650-652.
  - [2] M N Rios-Blanco, K Pina, T Faller, et al. Propylene oxide: mutagenesis, carcinogenesis and molecular dose [J]. Mutat Res, 1997, 380: 179-197.
  - [3] Dan Segerback, K Pina, Thomas Faller, et al. Tissue distribution of DNA adducts in male Fischer rats exposed to 500 ppm of propylene oxide: quantitative analysis of 7-HP-guanine by <sup>32</sup>P-postlabelling [J]. Chemico-Biological Interactions, 1998, 115: 229-246.
  - [4] 李明, 李梦燕, 李玉杰, 等. 低浓度环氧丙烷的细胞遗传学效应研究 [J]. 工业卫生与职业病, 2000, 26 (4): 204-206.
  - [5] K Randerath, M V Reddy, R C Gupta. <sup>32</sup>P-postlabelling test for DNA damage [J]. Proc Natl Acad Sci, 1981, USA78: 6126-6129.
  - [6] Xiao Y. Analysis of micronuclei induced by 1, 3-butadiene and its metabolites using FISH [J]. Mutation Res, 1996, 354: 49-57.
  - [7] K Svensson, S Osteman-Golkar. Kinetics of metabolism of propene and covalent binding to macromolecules in the mouse [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1984, 73: 363-372.