

细胞损伤, 可使其携氧或供氧能力下降, 从而使中枢神经细胞缺氧, 间接引起神经细胞的损伤。

#### 参考文献:

- [1] Nieboer E. Nickel and human health: current perspectives [M]. A wiley interscience publication. 1992. 37.
- [2] 王蓁兰, 刚葆琪. 现代劳动卫生学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 534.
- [3] 袁宝珊, 梁超珂. 环境污染物致癌致畸致突变 [M]. 兰州: 兰州大学出版社, 1995. 25.
- [4] 夏元洵. 化学物质毒性全书 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1991. 75.
- [5] 孙应彪, 朱玉真. 硫酸镍对小鼠脑组织钙调素、ATP酶活性的影响 [J]. 中国公共卫生, 2000, 16 (12): 1101.
- [6] 朱俐冰, 朱玉真. 硫酸镍对小鼠脑组织单胺类神经递质的影响 [J]. 中国职业医学, 2001, 27 (6): 56.

- [7] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 135.
- [8] 杨抚华. 医学细胞生物学概论 [M]. 第3版. 成都: 四川科学技术出版社, 1996. 72.
- [9] Misra M, Ricardo E, Rodriguez S, et al. Nickel induced lipid peroxidation in the rat: Correlation with nickel effect on antioxidant defense systems [J]. Toxicology, 1990, 64 (1): 1.
- [10] Chao Sheng-Hao, YasuhiRo Suzuki, John R ZYSK, et al. Activation of calmodulin by various metal cations as a function of ionic radius [J]. Mol Pharmacol, 1984, 26 (1): 75.
- [11] 姜悦, 谭炳德, 董秀清. 镉致肾小管细胞膜  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶与钙稳态的变化 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1995, 13 (3): 199.
- [12] 罗圣庆.  $\text{NiCl}_2$  处理的大鼠脂质过氧化作用增强 [J]. 国外医学卫生学分册, 1986, 13 (4): 243.

## 低浓度苯对大鼠 T 细胞亚群的影响

### Effect of low level benzene exposure on T-lymphocyte subpopulation of rats

李 华<sup>1</sup>, 刘 欧<sup>1</sup>, 于文杰<sup>1</sup>, 李雪欣<sup>1</sup>, 苏树祥<sup>2</sup>

LI Hua<sup>1</sup>, LIU Ou<sup>1</sup>, YUN Wen-jie<sup>1</sup>, LI Xue-xin<sup>1</sup>, SU Shu-xiang<sup>2</sup>

(1. 北京燕山石化公司职工医院, 北京 102500; 2. 北京燕山石化公司职业病防治研究中心, 北京 102500)

**摘要:** 目的 探讨低浓度苯对大鼠 T 淋巴细胞亚群和  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-4 (IL-4) 的影响。方法 把 Wistar 大鼠随机分为 4 组: 20 mg/m<sup>3</sup>、30 mg/m<sup>3</sup>、40 mg/m<sup>3</sup> 染毒组和对照组, 每组 30 只, 雌雄各半。采用静式吸入染毒法, 每天 1 次, 每次 2 小时, 每周连染 5 天, 持续 1 至 3 个月。结果 与对照组比较, 染毒早期, 使 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、IFN- $\gamma$ 、IL-4 增加, 之后, 出现 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 减少。结论 较长期低浓度接苯 (30~40 mg/m<sup>3</sup>) 可能会引起外周血象 T 淋巴细胞亚群及功能上的改变。

**关键词:** 苯; 大鼠; T 淋巴细胞亚群;  $\gamma$ -干扰素; 白细胞介素-4

中图分类号: R135.12 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2002)06-0356-02

研究证明, 苯可抑制机体的免疫功能<sup>[1-3]</sup>。随着科技发展及生产工艺改革, 职业性苯接触的浓度已大大降低, 因而急性中毒和症状明显的慢性中毒已较少见, 而低浓度苯接触所致的亚临床危害日益受到重视。为了进一步探讨低浓度苯对 T 淋巴细胞亚群和 IFN- $\gamma$ 、IL-4 的影响, 并为健康监护提供线索, 特进行了此次实验研究。

#### 1 材料与与方法

收稿日期: 2002-06-24; 修回日期: 2002-08-07

作者简介: 李华 (1965-), 女, 辽宁沈阳人, 副主任检验师, 从事医学检验工作

1.1 材料 苯 (优级纯) 由北京双环化学试剂厂出品, 含量 > 99.7%。实验动物 Wistar 大鼠 (二级) 由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供。IFN- $\gamma$  和 IL-4 试剂由法国 Diadone 公司生产的大鼠 IFN- $\gamma$ 、IL-4 专用 ELISA 试剂盒。T 淋巴细胞亚群检测试剂: T 淋巴细胞亚群单抗由卫生部武汉生物制品研究所提供; RPMI-1640 为 Serva 公司生产。检测仪器为伯乐 450 酶标仪。

1.2 染毒方法 将 120 只体质量 120~160 g 大鼠随机分为 4 组: 苯浓度 20 mg/m<sup>3</sup>、30 mg/m<sup>3</sup>、40 mg/m<sup>3</sup> 染毒组和对照组, 每组 30 只, 雌雄各半。染毒方法: 在静式染毒柜中, 采用静式吸入染毒法, 每天染毒 1 次, 每次染毒 2 小时, 每周连续 5 天, 持续 1 至 3 个月。于开始染毒后 1 个月、2 个月、3 个月时, 分 3 批各组处死 10 只动物, 检测各项指标。染毒柜内苯浓度用气相色谱法测定。

1.3 观察指标和方法 IFN- $\gamma$ 、IL-4 实验步骤: 加 100  $\mu$ l 标准液 (标准液浓度 12.5, 25, 50, 100, 200, 400  $\mu$ g/ml) 或样本于实验孔内, 加 50  $\mu$ l 生物素标记的抗 IFN- $\gamma$  或抗 IL-4 室温下 (18~25  $^{\circ}$ C) 孵育 2 h, 洗涤后, 加 100  $\mu$ l HRP, 室温下孵育 0.5 h, 洗涤, 加 100  $\mu$ l TMB, 室温下孵育 12~15 min, 用伯乐 450, 450 nm 波长读取 OD 值。结果分析: 制作一条标准曲线, 平均光吸收值作 Y 轴, 对应的 IFN- $\gamma$  和 IL-4 浓度作 X 轴, 各样本中的 IFN- $\gamma$  和 IL-4 含量通过标准曲线上样本 OD 值确定。T 淋巴细胞亚群测定: 分离淋巴细胞, 参照侯林浦等<sup>[4]</sup>方法, 将分离获得的淋巴细胞用 Hank's 液调至  $5 \times 10^6/\text{ml}$ , 37  $^{\circ}$ C

预培养 45 min。去除粘附细胞，将按要求配制的不同致敏红细胞悬液混合，置室温 10 min，500 r/min，离心 10 min，室温继续放置 1 h 后于 4℃ 过夜，涂片固定，Giemsa 染色，镜下观察。结果判断：不同淋巴细胞周围以粘附 3 个以上相应红细胞者为花环试验阳性细胞，共计数 200 个淋巴细胞。

1.4 统计方法 t 检验。

2 结果

2.1 染苯时间、苯浓度对大鼠 T 淋巴细胞的影响 见表 1。

表 1 染苯时间、苯浓度对大鼠免疫指标的影响

染苯		例数	IFN-γ (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	WBC (×10 <sup>9</sup> /L)
时间	浓度 (mg/m <sup>3</sup> )								
1 个月	20	10	419.08±152.84	33.35±26.95	89.00±4.45 **	60.50±9.10 *	28.50±8.36	2.54±1.64	14.99±6.64 *
	30	10	521.88±217.52 *	36.73±31.37	86.20±8.97	54.90±12.41	31.30±5.98	1.78±0.88	9.47±3.63
	40	10	588.58±202.51 **	42.74±25.61 *	87.30±5.68 *	59.70±6.98	27.60±3.03	2.17±0.44	9.66±4.24
	对照组	10	342.72±124.16	18.06±20.01	80.44±6.71	51.78±10.40	29.56±5.77	1.87±0.69	8.33±2.22
2 个月	20	10	281.56±112.69	27.02±21.79	82.70±29.46	73.33±5.39 *	18.56±2.65 **	4.04±0.75 **	8.54±1.36
	30	10	257.36±193.08	29.77±23.58	91.60±3.17	72.60±5.21 *	19.00±4.00 **	4.02±1.07 **	7.18±2.65
	40	10	283.09±132.71	37.28±43.78	87.89±6.83	70.22±8.54	17.67±3.87 **	4.24±1.48 **	8.07±2.03
	对照组	10	308.30±137.96	15.80±13.10	91.80±3.49	64.70±7.65	27.10±4.79	2.51±0.76	8.92±2.78
3 个月	20	10	388.93±184.13	150.08±298.94	68.90±7.55	34.20±11.26	34.70±7.97	1.11±0.65	8.45±3.03
	30	10	293.98±148.15	22.54±13.85	71.60±5.21	39.30±5.85	32.30±5.91	1.28±0.39	6.73±1.97
	40	10	362.77±99.07	31.89±21.37	60.58±7.04 **	28.42±6.46 **	32.17±5.32	0.91±0.27	7.71±2.41
	对照组	10	296.80±200.68	30.96±35.81	74.27±7.25	38.18±8.53	36.09±6.16	1.11±0.42	7.55±1.91

\* 与对照组比较 P<0.05; \*\* P<0.01。

3 讨论

3.1 有研究表明，当空气中苯的质量浓度波动在 40 mg/m<sup>3</sup> 或超过 1~2 倍时，接触后对血细胞就可产生不同程度的影响<sup>[5]</sup>，苯进入机体可产生多种生物学效应<sup>[6]</sup>，包括对机体的免疫系统，影响 T 淋巴细胞的功能<sup>[7]</sup>。CD4<sup>+</sup> 包括有诱导 T 细胞及辅助 T 细胞，总的作用是使免疫应答增强。而 CD8<sup>+</sup> 细胞除了含有产生免疫杀伤作用的 T 细胞外，还包括对免疫应答产生负效应的抑制 T 细胞。T 淋巴细胞亚群，尤其是 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值是反映人体免疫系统内环境稳定的一个最主要指标。正是由于 CD4<sup>+</sup> 与 CD8<sup>+</sup> 亚群的细微平衡决定了免疫反应的发生与否、发生类型及发生的总效应<sup>[8]</sup>。

本实验结果表明，苯亚急性染毒者达一定剂量（20 或 40 mg/m<sup>3</sup>），一定时间（1 个月）后，可引起外周血象和 T 淋巴细胞亚群的变化。据报道苯毒刺激骨髓后首先白细胞系统增生，引起 CD3<sup>+</sup> 与 CD4<sup>+</sup> 增加<sup>[9]</sup>，由于苯毒的刺激使 T 淋巴细胞活化，并由 CD4<sup>+</sup> 细胞中的辅助性 T 细胞分泌淋巴因子，使 IFN-γ、IL-4 增加<sup>[10]</sup>。

3.2 IFN-γ 的增加较 IL-4 出现早且在 2 个染苯浓度（30 mg/m<sup>3</sup>，40 mg/m<sup>3</sup>）中都出现，因此，IFN-γ 抑制了 T 细胞的增殖<sup>[10]</sup>，使 T 细胞恢复到正常范围。之后，由于接苯时间的增加，苯对白细胞系统毒副作用的影响，引起骨髓白细胞系统受抑制，表现为苯毒先抑制 CD8<sup>+</sup> 细胞，使 CD8<sup>+</sup> 减少和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值增加，对机体免疫水平的抑制作用减弱。最后抑制

从表 1 结果可见，苯浓度 20 mg/m<sup>3</sup> 1 个月后，CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 与对照组比较，结果升高，差异有统计学意义；染苯 2 个月后，20、30 mg/m<sup>3</sup> 组 CD4<sup>+</sup> 升高，各浓度组 CD8<sup>+</sup> 减少差异有统计学意义；染苯 3 个月组，苯浓度 40 mg/m<sup>3</sup>，CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 减少差异有统计学意义。

2.2 染苯时间、苯浓度对大鼠 IFN-γ、IL-4 的影响 见表 1。

从表 1 结果可见，染苯 1 个月后，苯浓度 30 mg/m<sup>3</sup>、40 mg/m<sup>3</sup> 组，IFN-γ、IL-4 升高，差异有统计学意义。

CD3<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup> 细胞，出现 CD3<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup> 减少。本研究结果还提示，这种效应是在不影响白细胞总体水平的前提下产生的。因此，长期低剂量苯接触虽未导致临床症状，但其产生的亚临床危害，同样应引起人们的重视<sup>[11]</sup>。

3.3 国际上常把低于 32 mg/m<sup>3</sup> 苯接触作为低浓度接触水平，许多国家也将 32 mg/m<sup>3</sup> 作为控制标准，我国为 40 mg/m<sup>3</sup>。随着对苯毒性认识的不断深入，其接触的职业性限值也在降低，美国已由原来的 32 mg/m<sup>3</sup> 降为 3.2 mg/m<sup>3</sup><sup>[11]</sup>。建议我国进一步修订苯的卫生标准。

参考文献：

[1] Aoyama K. Effect of benzene inhalation on lymphocyte subpopulations and immune response in mice [J]. Toxicol Appl pharmacol, 1986, 85: 90-92.  
 [2] 周玲, 凡恩来. 苯作业工人细胞免疫功能的变化 [J]. 职业医学, 1987, 14 (6): 53-54.  
 [3] 张秀霞, 仓永兰. 苯中毒患者及苯、二甲苯作业工人的细胞免疫 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1998, 6 (4): 230-232.  
 [4] 侯林浦, 魏由仁. 现代临床免疫学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1994. 130.  
 [5] 金惠芝, 刘文廉. 长期低浓度苯、甲苯及二甲苯对接触工人血细胞影响的比较 [J]. 中华预防医学杂志, 1983, 17 (2): 100-101.  
 [6] Kalir A, Bessler H, Braun R, et al. Benzene-derived free radical-a possible mediator of its carcinogenicity [J]. Isr J Med Sci, 1989, 25 (8): 420-422.

(下转第 380 页)

表4 1, 2-二氯乙烷的采样效率

采样流速 (ml/min)	采样时间 (min)	前段浓度 (mg/m <sup>3</sup> )	后段浓度 (mg/m <sup>3</sup> )	采样效率 (%)
30	480	67.2	0.000	100
30	480	112.4	0.025	99.98
200	20	22.7	0.070	99.69
200	20	54.2	0.011	99.98

表4的结果表明,当空气中的1,2-二氯乙烷浓度为22.7~112.4mg/m<sup>3</sup>时,活性炭的采样效率为99.69%~100%,均符合《车间空气监测检验方法研究规范》的要求。

2.8 现场应用

利用本法对深圳市某纸品实业有限公司生产场所内的3个不同作业点进行检测,结果见表5。

表5 某公司印刷车间测定结果 mg/m<sup>3</sup>

采样地点	1, 2-二氯乙烷	正己烷	甲苯	三氯甲烷
新五色机3号工位	7.6	55	1.8	16
旧四色机2号工位	40	469	4.3	31
旧五色机5号工位	41	310	4.1	22

(上接第357页)

[7] Lewis JG, Odom B, Adams DO. Toxic effects of benzene and benzene metabolites on mononuclear phagoclear phagocytes [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1998, 92: 245-247.

[8] 宋理君. T 细胞亚群分布的测定及其临床意义 [J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 1989, 10 (4): 1-2.

(上接368页)

表2 两组肺功能测定结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

肺功能指标	观察组		对照组	
	男 (n=25)	女 (n=17)	男 (n=25)	女 (n=17)
FVC (L)	4.18±0.69	3.11±0.55	4.49±0.58	3.33±0.35
FEV <sub>1.0</sub> (L)	3.86±0.64	2.81±0.37	3.96±0.55	2.91±0.38
FEV <sub>1.0</sub> %	88.26±4.78	86.45±4.94	88.96±5.91	87.36±4.63
MMF (L/s)	5.45±1.34	3.73±0.93	5.59±1.18	3.90±0.90
$\dot{V}_{75}$ (L/s)	8.07±1.65	5.66±1.22	8.56±1.79	5.85±1.44
$\dot{V}_{50}$ (L/s)	6.07±1.40	4.21±1.00	6.38±1.43	4.37±0.99
$\dot{V}_{25}$ (L/s)	3.09±1.20	2.07±0.69	3.11±0.93	2.14±0.66

2.3 X线胸片结果 观察组X线胸片的主要异常表现为两中、下肺纹理增强,检出的7例中男性3例,女性4例,其中1例有散在的结节状阴影。肺门、胸膜等未发现异常改变。

3 小结

该陶瓷纤维制品生产企业,虽然生产设备比较先进,主要尘源安装通风除尘设备,但作业场所粉尘浓度仍不同程度

测得结果与现场情况相符合。

3 小结

应用活性炭管采集空气中1,2-二氯乙烷,热解吸后,气相色谱法氢火焰离子化检测器测定,结果表明活性炭管对1,2-二氯乙烷的吸附效果良好,100mg活性炭对1,2-二氯乙烷的穿透容量大于13.2mg。当1,2-二氯乙烷的浓度为22.7~112.4mg/m<sup>3</sup>时,采样效率均达99.69%~100%;样品在炭管中至少可保存8天,方法的重现性好,不同浓度的相对标准偏差为1.7%~7.4%;平均解吸效率为83.8%~89.4%;方法的最低检测浓度为0.73mg/m<sup>3</sup>;空气中与1,2-二氯乙烷共存苯、甲苯、正己烷、三氯甲烷等在本方法条件下不干扰测定。

参考文献:

[1] 夏元洵. 化学物质毒性全书 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1991. 242.

[2] 中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所. 车间空气监测检验方法 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 1990. 254. 500.

[9] 高雪芹, 乔赐彬. 苯的免疫毒性研究进展 [J]. 国外医学卫生学分册, 1999, 17 (3): 132-135.

[10] 龙振洲. 医学免疫学 [M]. 北京: 北京大学医学部出版, 1989. 12; 14.

[11] 张巧, 陈小玉. 长期低剂量苯接触对油漆工T淋巴细胞亚群的影响 [J]. 河南医科大学学报, 2000, 35 (6): 530-531.

超出国家卫生标准。调查发现,粉尘对机体的刺激作用比较明显,夏季尤甚。肺功能测定结果,各项肺功能指标均不同程度低于对照组,X线胸片结果认为与接触此类纤维、粉尘有关。建议陶瓷纤维制品生产企业应按照国际劳工局颁发的“安全使用合成玻璃纤维隔热棉(玻璃棉、岩棉、渣棉)实用规程”进行操作,以确保陶瓷纤维制品生产工人的身体健康。