

客车厂工人淋巴细胞 DNA 损伤分析

韦拔雄, 朱昌洪, 许启荣, 陈月华, 江朝强

(广州市第十二人民医院, 广东 广州 510620)

摘要: 目的 研究职业接触对生产工人淋巴细胞 DNA 损伤的影响。方法 应用彗星试验对广州某客车制造厂 6 个车间的 346 名 (男 240, 女 106) 工作人员, 进行淋巴细胞 DNA 损伤检测, 其中 306 名为生产工人, 40 名 (男 20, 女 20) 管理人员为对照组。结果 6 个工种的彗星矩 (TM) 各不相同 ($P=0.003$), 以喷漆工的 TM 最大 [$3.25 \mu\text{m}$ ($2.97 \sim 3.55$)], 其他依次为车床工 [$3.18 \mu\text{m}$ ($2.66 \sim 3.82$)], 辅助工 [$3.13 \mu\text{m}$ ($2.82 \sim 3.48$)], 电焊工 [$2.89 \mu\text{m}$ ($2.63 \sim 3.19$)], 管理工人 [$2.54 \mu\text{m}$ ($2.22 \sim 2.90$)] 和组装工 [$2.32 \mu\text{m}$ ($2.02 \sim 2.67$)]。吸烟可使 DNA 损伤增加 ($P=0.023$)。经协方差分析, 调整年龄、性别、职业暴露、吸烟和饮酒等因素发现, 职业暴露 ($P=0.001$) 和吸烟 ($P=0.019$) 可分别影响 TM 值的改变, 使 DNA 损伤显著增加。结论 职业接触和吸烟可致淋巴细胞 DNA 损伤。

关键词: 职业接触; 彗星试验; DNA 损伤

中图分类号: R135.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)04-0212-03

Analysis for DNA damage in lymphocyte of the workers at a bus manufacturer

WEI Ba-xiong, ZHU Chang-qi, XU Qi-rong, CHEN Yue-hua, JIANG Chao-qiang

(No. 12 People's Hospital, Guangzhou 510620, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of occupational exposure on lymphocyte DNA in the workers of a bus manufacturer.

Method Comet assay was used to detect DNA damage of lymphocyte in 346 workers (240 males and 106 females) at six workshops of a bus manufacturer in Guangzhou, including 306 production workers and 40 managers (20 males and 20 females) as controls. **Result**

Significant difference in comet tail moment (TM) was found in workers at six kinds of job categories: the largest in workers spraying paint [$3.25 \mu\text{m}$ ($2.97 \sim 3.55$)], next in lathe operators [$3.18 \mu\text{m}$ ($2.66 \sim 3.82$)], auxiliary workers [$3.13 \mu\text{m}$ ($2.82 \sim 3.48$)], welders [$2.89 \mu\text{m}$ ($2.63 \sim 3.19$)], managerial workers [$2.54 \mu\text{m}$ ($2.22 \sim 2.90$)] and assemblers [$2.32 \mu\text{m}$ ($2.02 \sim 2.67$)]. TM could be significantly increased in smokers than in non-smokers [$3.14 \mu\text{m}$ ($2.89 \sim 3.40$) vs $2.79 \mu\text{m}$ ($2.63 \sim 2.97$)], $P=0.023$. Analysis of covariance showed that TM could be influenced by occupational exposure ($P=0.001$) and smoking ($P=0.019$), adjusted for other factors such as age, gender, drinking status, etc., causing more damage to DNA. **Conclusion** Occupational exposure in a bus manufacturer and smoking could cause DNA damage in workers.

Key words: Occupational exposure; Bus manufacturer; Comet assay; DNA damage

在现代化的生产过程中, 生产工人仍经常接触到低浓度的有害气体或粉尘。许多研究指出低浓度的苯、甲苯、镍、铬和锰等工业上常用的物质可以引起机体细胞染色体畸变 (CA)、姐妹染色单体交换 (SCE) 和微核 (MN) 等改变^[1~3]。为进一步探讨职业接触对人体健康的影响, 我们用彗星试验 (即单细胞凝胶电泳法) 的方法对广州市某客车制造厂生产工人淋巴细胞 DNA 的损伤进行研究, 以探讨职业暴露等因素与淋巴细胞 DNA 损伤的关系^[4]。

1 对象与方法

1.1 对象

该厂是专门组装生产客车的国有企业, 主要工种

为焊接、加工、喷漆和组装。所有人员依其工种分为电焊工、喷漆工、车床工、组装工、辅助工和管理人员 6 组, 共 346 人 (男 240, 女 106); 其中管理人员 40 人, 主要为行政后勤人员, 作为对照组。所有观察对象所在的岗位均在 1 年以上。体检时发放体格健康询问表, 内容包括身体状况、吸烟、饮酒及职业接触等历史记录。晨抽静脉血 0.5 ml, 肝素抗凝, 4℃ 保存送实验室进行彗星试验。

1.2 方法

1.2.1 生产环境监测 环境监测由我院劳动卫生监测中心根据国家颁布的劳动卫生监测标准 (GBZ-2-2002) 执行。主要项目是检测车间内空气粉尘浓度, 苯、甲苯、二甲苯的浓度, 噪声以及电焊烟雾中 MnO_2 的水平。喷漆车间的苯浓度 PC-STEL 为 $33 \text{ mg}/\text{m}^3$, 超过标准 ($10 \text{ mg}/\text{m}^3$); PC-TWA 为 $4.7 \text{ mg}/\text{m}^3$, 未超标 ($6 \text{ mg}/\text{m}^3$)。甲苯浓度 PC-STEL 为 $97 \text{ mg}/\text{m}^3$, 未超标

收稿日期: 2002-12-30; 修回日期: 2003-02-17

基金项目: 广东省 1998 年重点科研项目资助 (广东省科技厅编号: 98-131); 广州市卫生局科研经费资助

作者简介: 韦拔雄 (1967-), 主治医师。

(100 mg/m³); PC-TWA 为 12.6 mg/m³, 未超标 (50 mg/m³)。二甲苯 PC-STEL 为 3.2 mg/m³, 未超标 (100 mg/m³)。电焊车间的 MnO₂ 浓度和其在烟尘中的含量 PC-STEL 分别为 0.11 mg/m³ 和 4.4 mg/m³, 未超标 (0.45 mg/m³ 和 6 mg/m³)。加工车间和组装车间的各项检测均未超出标准。

1.2.2 彗星试验 二甲基亚砷 (DMSO)、曲拉通 (TritonX-100)、溴乙啶 (EB)、SDS、Tris base 为 Sigma 公司产品, 蛋白酶 K 为 Merck 公司产品, 淋巴细胞分离液为上海第二化学试剂厂产品, 正常熔点琼脂糖和低熔点琼脂糖由 Promega 公司提供, EDTA、氯化钠、氢氧化钠、磷酸氢二钠及磷酸二氢钾由汕头化学公司提供。

淋巴细胞的分离和彗星试验 (单细胞凝胶电泳法) 详见 Zhu 报道^[5]。采集的血样经淋巴细胞分离液分离后包埋于四层琼脂糖中, 进行碱性裂解、蛋白酶消化、解螺旋和电泳, 再用溴乙啶 (EB) 染色, 荧

光显微镜 (德国 ZEISS) 下观察及用 Komet 4.0 图像分析软件 (英国) 对细胞 DNA 的电泳图像进行分析。每例随机测量 50 个彗星图像, 以彗星矩 (Tail Moment, TM) 来测定 DNA 的损伤度。由于彗星形态不一致, 故取其中位数 (平均值) 来进行数据分析。

1.3 数据分析

所有 TM 值 (中位数) 均经自然对数转换, 用 SPSS7.0 for windows10.0 作 *t* 检验、协方差分析。

2 结果

2.1 基本情况

6 组人员中车床车间工人的年龄最大、工龄最长, 喷漆工人年龄最小、工龄最短 ($P<0.001$ 与 $P=0.003$); 生产部门男性比例较管理部门大, 86% 的焊工为男性 ($P<0.001$)。在男性人群中, 吸烟和饮酒无明显差异 ($P=0.94$ 与 $P=0.51$), 女性无吸烟者。详见表 1。

2.2 彗星试验结果

表 1 研究对象的基本情况

组别	例数	年龄 (岁) ($\bar{x}\pm s$)	工龄 (年) ($\bar{x}\pm s$)	性别 (例)		饮酒 (例)				吸烟 (例)		
				男	女	男性不饮	男性饮	女性不饮	女性饮	男性不吸	男性吸	女性不吸
管理人员	40	41.0 $\pm$ 7.2	20.9 $\pm$ 8.7	20(50.0)	20(50.0)	11(55.0)	9(45.0)	19(95.0)	1(5.0)	9(45.0)	11(55.0)	20(100)
组装工人	31	38.1 $\pm$ 6.9	17.7 $\pm$ 8.9	20(64.5)	11(35.5)	9(45.0)	11(55.0)	11(100)	0	7(35.0)	13(65.0)	11(100)
车床工人	30	42.7 $\pm$ 9.4	22.7 $\pm$ 8.8	18(60.0)	12(40.0)	13(72.2)	5(27.8)	12(100)	0	8(44.4)	10(55.6)	12(100)
电焊工人	120	36.5 $\pm$ 9.2	16.7 $\pm$ 10.2	103(85.8)	17(14.2)	65(63.1)	38(36.9)	17(100)	0	46(44.7)	57(55.3)	17(100)
辅助工人	45	38.8 $\pm$ 8.2	19.7 $\pm$ 8.8	28(62.2)	17(37.8)	19(67.9)	9(32.1)	17(100)	0	14(50.0)	14(50.0)	17(100)
喷漆工人	80	35.6 $\pm$ 8.5	16.1 $\pm$ 9.1	51(63.8)	29(36.2)	30(58.8)	21(41.2)	29(100)	0	21(41.2)	30(58.8)	29(100)
		$F=4.86$	$F=3.68$	$\chi^2=26.22$		$\chi^2=4.25$		$\chi^2=4.34$		$\chi^2=1.26$		
		$P<0.001$	$P=0.003$	$P<0.001$		$P=0.51$		$P=0.50$		$P=0.94$		

注: 括号内数据为构成比。

职业接触对 DNA 损伤的影响, 不同工种人群的 TM 值 (几何均值, 95%CI) 有显著差别 ($P=0.003$), 除组装工人外, 所有生产工人的 TM 值均较管理人员大, 尤以喷漆工人的 TM 值最大; 饮酒可增加 TM 值, 但差别未见显著意义, 吸烟者的 TM 值较非吸烟者大 ($P=0.023$); 年龄 40 岁以上者其 TM 值虽大于 40 岁以下者, 但差别无显著性, 性别对 TM 值无明显影响。详见表 2。

2.3 协方差分析

经调整年龄、性别、职业暴露、吸烟和饮酒等因素发现, 职业暴露 ($P=0.001$) 和吸烟 ($P=0.019$) 可分别影响 TM 值的改变, 使 DNA 损伤增加; 性别、年龄和饮酒则未见明显影响。见表 3。

对不同工种用协方差进行分层分析发现, 经调整年龄、性别、吸烟和饮酒后, 各工种的 TM 值与管理

表 2 职业暴露、吸烟及饮酒等对 TM 的影响

因素	组别	人数	TM (μ m)	F 值	P 值
职业暴露	管理人员	40	2.54 (2.22~2.90)	3.65	0.003
	组装工人	31	2.32 (2.02~2.67)		
	车床工人	30	3.18 (2.66~3.82)		
	电焊工人	120	2.89 (2.63~3.19)		
	辅助工人	45	3.13 (2.82~3.48)		
	喷漆工人	80	3.25 (2.97~3.55)*		
饮酒	不饮酒	252	2.87 (2.71~3.04)	1.26	0.26
	饮酒	94	3.06 (2.79~3.36)		
吸烟	非吸烟者	211	2.79 (2.63~2.97)	5.23	0.023
	吸烟者	135	3.14 (2.89~3.40)		
年龄	30 岁或以下	82	2.82 (2.53~3.13)	1.87	0.156
	31~40 岁	136	2.82 (2.61~3.04)		
	40 岁以上	128	3.11 (2.87~3.37)		
性别	女	106	2.97 (2.74~3.23)	0.21	0.65
	男	240	2.90 (2.73~3.08)		

与管理人员相比较 * $P=0.006$

表 3 客车厂工人 TM 值的协方差分析

因素	总方差 (III型)	自由度	平均方差	F 值	P 值
校正模型	6.37	9	0.71	3.53	0.000
截差	6.43	1	6.43	32.05	0.000
吸烟	1.11	1	1.11	5.51	0.019
职业暴露	4.15	5	0.83	4.14	0.001
饮酒	0.09	1	0.09	0.44	0.508
年龄	0.35	1	0.35	1.76	0.185
性别	0.72	1	0.72	3.60	0.059
误差	67.36	336	0.20		
总值	471.79	346			
校正总值	73.73	345			

人员的比较有明显的不同,喷漆工人 ($P=0.002$)、辅助工人 ($P=0.011$)、车床工人 ($P=0.044$) 等与管理工人的 TM 值差异有显著性,而电焊工人 ($P=0.10$) 和组装工人 ($P=0.21$) 的 TM 值与管理工人差异无显著性。

3 讨论

在本研究中,我们发现职业暴露明显增加淋巴细胞 DNA 损伤,生产工人的 TM 值较管理人员大,尤以喷漆工人最为显著。这是因为在生产车间内我们可以检测到一定量的苯、甲苯、二甲苯以及含有 SiO_2 、 MnO_2 的粉尘,喷漆车间苯的短间接接触浓度 (PC-STEL) 甚至超过了 GBZ-2-2002 浓度标准,这些物质在许多文献报道中被认为具有致细胞染色体畸变作用,为人类致癌物^[2,6]。我们以前对广州某卷烟厂、橡胶厂的研究也表明长期低浓度的职业暴露可以增加淋巴细胞 DNA 的损伤^[5,7]。此外吸烟可单独增加淋巴细胞 DNA 损伤的危险性。

在对研究对象 6 个工种的 DNA 损伤分层分析发现,不同工种工人的 DNA 损伤程度不一,喷漆工、车工、辅助工的 DNA 损伤较管理人员明显增加。苯系物质在体内代谢过程中可产生大量的活性氧自由基,引起细胞内脂质过氧化作用,导致细胞的损伤。高浓度的苯和甲苯对机体造血细胞的损害作用较为明确,引起造血障碍和白血病^[8]; Hogstedt 和 Andreoli 等许多研究表明低浓度的苯接触也可引起淋巴细胞 DNA 损伤,细胞内 CA、SCE 增加^[4,9]。李芳红等对混苯作业工人进行 DNA 损伤检测发现混苯暴露组工人的 DNA 损伤显著增加^[10]。本研究中喷漆工的淋巴细胞 DNA 损伤度最高,与他们长期接触较多的苯和甲苯有关,研究结果与上述报道一致。辅助工主要在车间内搬运器件和一般设备维护,车工则操控机床对零部件进行加工,主要接触的是低浓度的工业粉尘和加工零件而产生的烟雾,而这些烟尘也被认为是有害毒害作用的。电焊烟尘中含有镍、铬和锰等多种有害元

素,有报道表明电焊工的淋巴细胞 CA 增高, DNA-蛋白质交联增加^[2,11]。本研究发发现电焊工的 TM 值大于管理人员,但未见明显差异,这可能与电焊烟尘在呼吸道和消化道的防御作用下吸收入血量减少,以及血细胞络合作用使其毒性降低有关;组装工从事整机组装,车间工作环境最好, DNA 损伤度最小,与管理人员没有明显差别。

吸烟对人体的危害已经引起了广泛的报道,烟雾中的尼古丁、亚硝酸等物质进入人体后产生具有强氧化作用的自由基,导致细胞 DNA 损伤^[12]。本研究发现,吸烟者的 TM 值较非吸烟者明显增加,我们以前对卷烟厂生产工人 DNA 损伤分析发现烟草粉尘和吸烟均可单独增加淋巴细胞 DNA 损伤,且两者具有协同作用^[5],可见吸烟应当在职业卫生研究中引起足够的重视。

参考文献:

- [1] Sasiadek M. Cytogenetic studies of workers from the rubber industry [J]. *Mutat Res*, 1992, 279: 195-198.
- [2] Elias Z, Mur JM, Pierre F, et al. Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of welders and characterization of their exposure by biological samples analysis [J]. *J Occup Med*, 1989, 31: 477-483.
- [3] Xu XP, Wiencke JK, Niu TH, et al. Benzene exposure, glutathione S-transferase theta homozygous deletion, and sister chromatid exchanges [J]. *Am J Ind Med*, 1998, 33: 157-163.
- [4] Andreoli C, Leopardi P, Crebelli R. Detection of DNA damage in human lymphocytes by alkaline single cell gel electrophoresis after exposure to benzene or benzene metabolites [J]. *Mutat Res*, 1997, 377: 95-104.
- [5] Zhu CQ, Lom TH, Jiang CQ, et al. Lymphocyte DNA damage in cigarette factory workers measured by the comet assay [J]. *Mutat Res*, 1999, 444: 1-6.
- [6] IARC. Environmental carcinogens. Methods of analysis and exposure measurement. Benzene and alkylated benzenes [Z]. IARC, Lyon, 1988.
- [7] 陈月华, 朱昌洪, 韦拔雄, 等. 橡胶工人淋巴细胞 DNA 断裂研究 [J]. *中国工业医学杂志*, 2002, 15 (1): 10-12.
- [8] 李娟, 罗绍凯, 张国材, 等. 126 例再生障碍性贫血患者职业分布及有害因素分析 [J]. *中国职业医学*, 1999, 26 (1): 8-10.
- [9] Hogstedt B, Holmen A, Karlsson A, et al. Gasoline pump mechanics had increased frequencies and sizes of micronuclei in lymphocytes stimulated by pokeweed mitogen [J]. *Mutation Research*, 1991, 263: 51-55.
- [10] 李芳红, 杨臻, 林建东, 等. 单细胞凝胶电泳法检测混苯作业工人遗传损伤 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 1998, 16 (6): 355-356.
- [11] Costa M, Zhitkovich A, Toniolo P. DNA-protein cross-links in welders: molecular implications [J]. *Cancer Res*, 1993, 53: 460-463.
- [12] Pryor WA. Cigarette smoke radicals and the role of free radicals in chemical carcinogenicity [J]. *Environ Health Perspect*, 1997, 105: 875-883.