

苯接触与淋巴细胞 DNA 损伤

韦拔雄, 麦剑平, 陈月华, 何健民, 江朝强

(广州市第十二人民医院, 广东 广州 510620)

摘要: 采用气相色谱法检测广州某鞋厂 112 名 (男 43 名, 女 69 名) 工人的血苯浓度, 应用微核试验及彗星电泳测定淋巴细胞 DNA 损伤。结果显示, 苯接触者血苯浓度升高 ($P < 0.001$), 以刷胶车间工人最高 ($0.0296 \mu\text{mol/L}$), 其次为成型车间 ($0.0035 \mu\text{mol/L}$), 对照组工人血苯值为 ($0.0004 \mu\text{mol/L}$)。3 组间 DNA 损伤差异有非常显著意义 ($P < 0.001$), 刷胶车间工人微核率为 5.2%, 彗尾 DNA 含量为 42.6%; 成型车间工人两项指标分别为 2.1%, 38.8%; 对照组则为 0.5% 和 32.3%。提示苯可致淋巴细胞 DNA 损伤, 损伤程度与苯接触量有关。

关键词: 苯; DNA 损伤; 微核试验; 彗星电泳

中图分类号: R135.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2005)05-0290-02

Benzene exposure and lymphocytic DNA damage

WEI Ba-xiong, MAI Jian-ping, CHEN Yue-hua, HE Jian-min, JIANG Chao-qiang

(Guangzhou 12th Hospital, Guangzhou 510620, China)

Abstract: Blood benzene levels of 112 workers (43 men, 69 women) were measured by gas chromatography, DNA damage were detected by micronucleus test and comet assay. The results showed that the blood benzene level in benzene exposed workers was significantly increased ($P < 0.01$), the highest level ($0.0296 \mu\text{mol}$) was the workers in glue brushing shop then the moulding shop workers ($0.0035 \mu\text{mol}$), the control was only $0.0004 \mu\text{mol/L}$. The DNA damage also showed significantly difference among these three groups ($P < 0.01$), the glue brushing workers had the largest incidence of MN (5.2%) and DNA content in comet tail (42.6%), the moulding workers were 2.1% and 38.8%, and the controls were only 0.5% and 32.3% respectively. It was suggested that benzene exposure might increase the lymphocytic DNA damage, which seems to related to the exposure degree of benzene.

Key words: Benzene; DNA damage; Micronucleus test; Comet assay

研究表明, 苯对造血系统具有明显的毒性作用, 引起细胞内微核 (MN) 形成、姐妹染色单体交换 (SCE)、细胞核内染色体畸变 (CA) 等改变, 严重者引起再生障碍性贫血和白血病等疾病^[1-3]。本文通过检测血苯浓度、应用微核试验和单细胞凝胶电泳对某鞋厂接苯工人的淋巴细胞进行 DNA 损伤检测, 探讨苯对淋巴细胞 DNA 的影响。

1 对象与方法

1.1 对象

选取某鞋厂刷胶车间生产工人 30 名, 男 5 名, 女 25 名, 平均年龄 (24.3 ± 4.2) 岁, 其中诊断为急性轻度苯中毒 17 名; 成型车间工人 52 名, 男 20 名, 女 32 名, 平均年龄 (24.6 ± 5.2) 岁。另选取该厂设计、裁剪人员 30 名工作人员作对照组, 男 18 名, 女 12 名, 平均年龄 (25.8 ± 5.8) 岁。抽取静脉血, 肝素抗凝, 送实验室检测血苯, 并进行微核和彗星电泳试验。

1.2 生产环境监测

该厂刷胶车间的苯空气浓度 (PC-STEL) 为 62.5 mg/m^3 , 超过国家颁布的 GBZ2-2002 标准 ($< 6 \text{ mg/m}^3$); 甲苯浓度 (PC-TWA) 为 32.5 mg/m^3 (GBZ2-2002 标准为 $< 50 \text{ mg/m}^3$)。成型车间苯空气浓度为 26 mg/m^3 , 甲苯浓度为 24.5 mg/m^3 。其余车间未见苯及苯系物质空气浓度超标。

1.3 方法

1.3.1 血苯检测 采用 GC-FID 顶空进样法^[4]。抗凝血放置

于水浴箱内 60°C 水浴 40 min, 由 GL/MSD 气质联用仪 (美国 Agilent 公司) 的 FID 检测器进行检测。

1.3.2 微核试验^[5] 采集血样经 0.3% 甲基纤维素溶液分离淋巴细胞后, 取出淋巴细胞悬液, 推片, 气干, 100% 甲醇固定, 再用 1:1.5 姬姆萨溶液染色。光学显微镜油镜下每例随机观察 2000 个淋巴细胞, 计算其微核率 (MNF, %%)。

1.3.3 彗星电泳试验^[6] 采集血样经细胞分离液分离淋巴细胞后包埋于 4 层琼脂糖中, 进行蛋白酶消化、碱性裂解、解螺旋和电泳, 再用 $20 \mu\text{g/ml}$ 浓度的溴乙啶 (EB) 染色, 荧光显微镜 (德国 ZEISS) 下观察及进行细胞 DNA 的电泳图像分析 (Komet4.0 图像分析软件, 英国)。每例随机测量 50 个彗星图像, 以彗尾含量 (Tail-DNA content, %) 来测定 DNA 的损伤度。由于彗星形态不一致, 故取其中位数进行数据分析。

1.4 数据分析

所有数据采用方差分析、*t* 检验。

2 结果

2.1 血苯检测

30 名刷胶车间工人的血液中均可检出苯, 血苯浓度为 $0.0054 \sim 0.0682 \mu\text{mol/L}$, 平均值 $0.0296 \mu\text{mol/L}$, 大多数中毒患者的血苯大于平均值。成型车间中大部分生产工人血液中可检测到一定量的苯, 其浓度为 $0 \sim 0.0090 \mu\text{mol/L}$, 平均值 $0.0035 \mu\text{mol/L}$ 。对照组中仅少数人员可检测到少量的苯, 浓度最大者为 $0.0014 \mu\text{mol/L}$ 。2 组血苯浓度差异有非常显著意义 ($P < 0.01$)。男女之间的血苯浓度差异无显著意义。

2.2 微核试验

收稿日期: 2004-05-08; 修回日期: 2004-08-19

作者简介: 韦拔雄 (1967-), 男, 硕士, 副主任医师。

刷胶车间工人的微核率最高, 平均值为 5.2% (2% ~ 7%); 成型车间其次, 为 2.1%; 对照组为 0.5%; 3 组间微核率差异有显著性 ($P < 0.01$)。另外, 在刷胶车间和成型车间工人中, 部分淋巴细胞内可见双微核或多微核形成。

2.3 彗星试验

淋巴细胞电泳后形成彗星图像, 分为头部和尾部两部分, 断裂的 DNA 片断主要存在于尾部内。通过图像分析系统计算彗星尾部的 DNA 片断含量, 来检测细胞内 DNA 的损伤度。刷胶车间工人的彗星 DNA 片断含量为 35.0% ~ 58.6%, 成型车间为 33.5% ~ 45.1%, 对照组 21.8% ~ 36.9%, 3 组间差异有显著性 ($P < 0.01$)。3 项指标的检测结果见表 1。

表 1 受检人员的血苯浓度、微核率、彗星试验检测结果

组别	人数	血苯浓度 ($\mu\text{mol/L}$)		微核率 (%)		彗尾 DND 含量 (%)	
		范围	均值(\bar{x})	范围	均值(\bar{x})	范围	中位数
刷胶车间	30	0.0054~0.0682	0.0296 ^{*△}	2~7	5.2 ^{*△}	35.0~58.6	42.6 ^{*△}
成型车间	52	0~0.0090	0.0035 [*]	1~3	2.1 [*]	33.5~45.1	38.8 [*]
对照组	30	0~0.0014	0.0004	0~2	0.5	21.8~36.9	32.3

与对照组比较, $*P < 0.001$; 与成型车间比较, $\triangle P < 0.001$

3 讨论

苯及混苯物质是再生障碍性贫血和白血病的重要致病因素之一^[1,3,7]。血苯浓度可以反映机体在近期内接触苯量的多少。本研究中由于刷胶车间工人使用的粘合剂中含有大量的工业苯, 而且主要是手工作业, 所以接触到的苯最多, 血苯浓度最高。接苯工人血苯浓度愈高, 中毒症状愈明显。在刷胶车间中有 17 例白细胞计数降低 ($2.5 \times 10^9/\text{L} \sim 4.0 \times 10^9/\text{L}$), 其中 3 例已发展为急性再生障碍性贫血, 现仍有 2 例在接受治疗。可见苯的吸收与苯接触量有关。

许多研究指出, 急慢性苯、甲苯和二甲苯中毒引起的细胞 DNA 损伤早于外周血白细胞数减少^[8], DNA 损伤是苯引起再障和白血病的一个重要环节, 因此检测细胞内 DNA 损伤是苯致血液系统疾病的一个敏感的预测指标^[9]。苯对细胞的影响主要是苯代谢产生大量的活性氧自由基^[10], 引起细胞内遗传物质损伤。微核和 DNA 链裂解是细胞核 DNA 损伤最直接的表现。本研究结果显示体内血苯含量越高, 淋巴细胞 DNA 的损伤越大。刷胶车间工人的微核率明显高于成型车间和对照

组, 三者之间差异有显著意义。此结果与钟宝珍等对苯中毒引起的 DNA 损伤研究相一致^[2]。彗星电泳试验发现刷胶车间彗尾 DNA 含量最大, 成型车间其次, 对照组最小, 组间比较差异有显著意义。由此可见, 暴露于苯污染的环境中可致人体内淋巴细胞 DNA 损伤^[11~13], 损伤程度随体内血苯含量的增加而加重。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 钟宝珍, 唐琪妮, 刘春芳, 等. 慢性苯中毒外周血淋巴细胞微核率及姊妹染色单体互换率的观察 [J]. *中华预防医学杂志*, 1982, 16 (2): 354-358.
- [3] 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.
- [4] 孙亚娟, 黄仲杰, 沈保华, 等. 水、尿、血中苯类化合物的顶空色谱分析 [J]. *法医学杂志*, 1994, 10 (1): 22-26.
- [5] 薛开先. 人微量外周血淋巴细胞微核直接测试法 [A]. 见: 曹佳, 林真, 余争平. 微核试验 [M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2000. 91-111.
- [6] Zhu CQ, Lam TH, Jiang CQ, et al. Lymphocyte DNA damage in cigarette factory workers measured by the comet assay [J]. *Mutat Res*, 1999, 444: 1-6.
- [7] IARC. Environmental carcinogens. Methods of analysis and exposure measurement. Benzene and alkylated benzenes [Z]. IARC, Lyon, 1988, 43: 1-20.
- [8] 陈嘉楠, 刘薇薇, 黄振倩, 等. 苯接触工人外周血 T 细胞受体 TCR β 亚家族基因多态性分析 [J]. *中国工业医学杂志*, 2003, 16 (3): 148-151.
- [9] Rabbitts TH. Chromosomal translocations in human cancer [J]. *Nature*, 1994, 372: 143-149.
- [10] Subrahmanyam VV, Ross D, Eastmond DA, et al. Potential role of free radicals in benzene-induced myelotoxicity and leukemia [J]. *Free Radic Biol Med*, 1994, 11 (5): 495-515.
- [11] Sul D, Lee D, Im H, et al. Single strand DNA breaks in T- and B-lymphocytes and granulocytes in workers exposed to benzene [J]. *Toxicol Lett*, 2002, 134 (1-3): 87-95.
- [12] 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.
- [13] 朱志良, 庄志雄, 黄钰, 等. 混苯作业工人外周血细胞 DNA 损伤检测 [J]. *现代预防医学*, 2002, 29 (4): 498-499.

《核与放射突发事件医学救援小分队行动导则》出版发行

刘长安、刘英、苏旭编著的《核与放射突发事件医学救援小分队行动导则》一书于 2005 年 9 月由北京大学医学出版社出版发行, 定价 17.5 元。本书为中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所暨卫生部核事故医学应急中心技术丛书之一, 系统论述了核与放射突发事件医学救援小分队的职责和任务、应急准备、现场医学救援原则与程序、放射防护行动等问题。可作为对核与放射突发事件应急响应负有责任的各级医学应急组织建立医学救援小分队、实施有效应急准备和响应的参考性技术文件, 供卫生行政部门、医疗机构、疾病预防控制机构、卫生监督机构的相关管理人员、技术人员和医护人员阅读。需订购者请与北京市德外新康街 2 号(邮编: 100088) 卫生部核事故医学应急中心办公室联系。联系人: 陈惠芳; 联系电话: 010-62389904; 传真: 010-62049160。