

氯乙烯作业工人肝脏功能损伤的影响因素研究

马世伟¹, 张芃², 汤乃军^{1*}, 耿广华², 赵力军¹, 韩伟², 任大林¹, 马晓明¹, 陈曦¹

(1 天津医科大学劳动卫生教研室, 天津 300070 2 天津大华医院, 天津 300455)

摘要: 目的 探讨氯乙烯作业工人肝脏功能损伤的影响因素。方法 以肝 B超检查异常或丙氨酸转氨酶 (ALT) ≥ 40 U/L 作为肝损伤指标, 结合历年体检资料, 对遗传因素 (氯乙烯代谢酶基因多态性)、生活习惯 (吸烟、饮酒)、氯乙烯作业等影响因素进行统计学处理分析。结果 多元 Logistic 分析和秩和检验显示细胞色素 P450 2E1 (CYP2E1) 基因型、饮酒与氯乙烯作业工人肝功能损伤有关。Spearman 等级相关分析显示, 日均氯乙烯摄入量与肝功能 ALT 值成正相关。结论 氯乙烯工人肝功能损伤情况受遗传、生活习惯、氯乙烯作业综合影响, 对氯乙烯工人的健康监护应全面考虑。

关键词: 氯乙烯; 肝功能; 代谢酶; 基因多态性

中图分类号: O623.221 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2008)01-0010-04

Impact factors on liver functional damage in vinyl chloride workers

MA Shiwei¹, ZHANG Peng², TANG Naijun^{1*}, GENG Guanghua², ZHAO Lijun¹, HAN Wei², REN Dalin¹, MA Xiaoming¹, CHEN Xi¹
(1. School of Public Health Tianjin Medical University Tianjin 300070, China 2. Tanggu Dahua Hospital Tianjin 300455, China)

Abstract: Objective To analyze the influence factors on liver functional damage in vinyl chloride (VC) workers. Methods The risen serum alanine aminotransferase (ALT) activity (> 40 U/L) or abnormal liver B-ultrasonic image were used as the parameters of liver functional damage in this study. From the past years health surveillance data, we have studied various influence factors such as genetic factors (gene polymorphism of vinyl chloride metabolic enzyme), living habit (smoking, drinking etc.) and service length in vinyl chloride post. Results Multiple logistic regression analysis showed that CYP2E1 c12/c22 genotype and drinking habit were associated with the liver functional damage. Spearman rank correlation analysis showed the daily average intake of VC had some positive correlation with plasma ALT value. Conclusion The liver functional damage is influenced by various factors especially genotype of CYP2E1, drinking habit and the VC exposure, suggesting that the health surveillance of VC workers should have more comprehensive consideration.

Key words: Vinyl chloride (VC); Liver function; Metabolic enzyme; Genetic polymorphism

氯乙烯单体 (vinyl chloride monomer, VCM) 具有肝脏毒性, 为人致癌物, 长期接触可出现神经衰弱、雷诺综合征、周围性神经病等一系列症状, 少数人可出现肝血管肉瘤。国家已经明确地将肝功能异常作为氯乙烯职业健康监护的一项重要指标, 国内外文献也将肝功能作为判断氯乙烯毒性作用的依据, 但氯乙烯作业工人肝功能异常的影响因素尚未有较全面的分析, 本研究主要探讨氯乙烯作业工人肝功能损伤的影响因素。

1 对象与方法

1.1 对象

选择氯乙烯作业超过一年并完整填写调查表的 2006 年在职工人为研究对象, 获得符合条件的工人 102 名, 年龄 (33.9 ± 9.3) 岁, 工龄 (11.7 ± 9.0) 年。

1.2 调查方法

收集自 1984 年以来作业工人的定期健康体检资料, 该厂历年体检由天津大华医院职业病防治科负责, 采用统一的健康体检表。

1.3 个人氯乙烯接触量估计

该厂环境保护处自 1986 年以来定期监测生产车间空气中氯乙烯浓度, 每月测定一次 (气相色谱法), 据此计算各车间每年的平均浓度。根据该厂工人工作的车间、工种等实际情况, 以工人每天实际接触 7 h (因室内操作, 减去 1 h 不在岗的时间), 平均每月工作约为 23 d (四班三运转, 即上 3 d 休息 1 d), 一个月总共接触 9 660 min 计。

累积接触量 = $\sum$ (年接触氯乙烯平均浓度 $\times$ 当年接触月数 $\times 9 660$) $\times$ 肺通气量 $\times 70\% / 10^6$ (男性肺通气量均值 6 500 ml/min, 女性肺通气量均值 4 300 ml/min, 30% 为无效腔)

日均氯乙烯摄入量 = 平均每天工作分钟 $\times$ 肺活量 $\times 70\% \times$ 平均每日空气氯乙烯浓度

计算出每名工人实际接触氯乙烯的累计接触水平

收稿日期: 2007-06-18 修回日期: 2007-08-31

基金项目: 天津市塘沽区科技兴区计划资助项目 (2005-XQ33-32)

作者简介: 马世伟 (1982-), 男, 硕士研究生, 从事劳动卫生与环境卫生专业, E-mail: msw1982@163.com

*: 通讯作者, 教授, 博士生导师, E-mail: wangnainjun@tjmu.edu.cn

为 517.44~121 044.3mg 日均氯乙烯吸入量为 1.65~94.75mg

1.4 氯乙烯代谢酶基因多态性

检测方法：（1）PCR检测谷胱甘肽-S转移酶Tl、Ml（GSTl、GSIMl）^[1~3]：

引物序列为 GSTl：5'-TTCCTTACTgTCCCTCA-CATCTC-3'，

5'-TCACCgATCATgCCAgCA-3'，

GSIMl：5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3'，

5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTG-3'，

PCR扩增产物在 1.5%琼脂糖凝胶电泳，溴化乙锭染色，紫外灯下拍照，同时设 β -actin 350 bp为阳性内对照，以未加引物的反应体系为阴性对照。

（2）应用 PCR和限制性长度多态分析技术（RFLP）检测细胞色素 P450E1（CYP2E1）^[3~5]多态性：

引物序列为 CYP2E1：5'-CCAgtCgAgTCTACATT-gTCA-3'，

5'-TTCATTCTgTCTTCTAACTg-3'，

应用 PstI 酶切 CYP2E1 PCR产物检测基因多态：PCR扩增产物与 PstI 限制性内切酶在 37℃条件下过夜消化后，3%琼脂糖凝胶电泳，溴化乙锭染色，荧光成像系统拍照。

1.5 统计方法

使用 SPSS11.5软件包，采用多元 Logistic回归、秩和检验和 Spearman等级相关进行统计分析。

2 结果

2.1 VC作业工人基因多态性分布情况

本次研究观察人群中 CYP2E1、GSTl、GSIMl基因型与研究中国人的基因多态性的文献报道情况基本一致^[5~7]，结果见表 1。

表 1 某化工厂 VCM作业工人基因多态性分布情况				
基因名称	基因型	片段长度（bp）	人数	百分比（%）
CYP2E1	q1q1	410	70	68.63
	q2q2	290、120	5	4.90
	q1q2	410、290、120	27	26.47
GSTl	有	459	54	55.84
	无	无	48	47.06
GSIMl	有	219	57	55.83
	无	无	45	44.17

2.2 VC作业工人肝损伤的影响因素分析

本次试验以丙氨酸转氨酶（ALT）≥40U/L为肝功能异常；将吸烟状况分为不吸烟、<10年且每天吸烟<10支为轻度吸烟、烟龄>10年或每天吸烟>10支者为重度吸烟；饮酒分为不饮酒、平均每天饮酒<60m皆定义为轻度饮酒、每天饮酒≥60m皆

定义为重度饮酒。按 0.1的排除标准经向后法 Logistic回归，分析年龄、工龄、氯乙烯累计接触剂量、吸烟、饮酒、CYP2E1、GSTl、GSIMl基因多态性等。结果见表 2。

表 2 VC作业工人肝损伤影响因素						
影响因素	β 值	Wald χ^2	P值	OR	95% CI	
					上限	下限
饮酒	0.887	3.814	0.051	2.427	0.997	5.911
CYP2E1	2.394	14.129	0.000	10.955	3.144	38.169
GSTl	-1.166	3.723	0.054	0.312	0.095	1.019

2.3 接触剂量与肝功能 Spearman等级相关性分析
因氯乙烯累计接触剂量、工龄、年平均接触量和肝功能 ALT实测值指标均不服从正态分布，故采用 Spearman等级相关分析其相关性，结果见表 3、4。

表 3 氯乙烯累积接触剂量与肝功能 Spearman等级相关					
	M	P ₂₅ ~P ₇₅	n	r _s	P值
氯乙烯累积接触量（mg）	252 907.0	3 104.64~606 119.00	102	0.176	0.078
肝功能（U/L）	27.50	19.00~42.00			

表 4 氯乙烯作业工人工龄、年均接触氯乙烯量与肝功能 Spearman等级相关					
	M	P ₂₅ ~P ₇₅	n	r _s	P值
年龄（年）	31.50	27.00~42.00	102	0.111	0.268
工龄（年）	10.00	3.00~19.25	102	0.100	0.319
日均 VC吸入量（mg）	86.61	3.56~94.75	102	0.243	0.014
肝功能（U/L）	27.50	19.00~42.00			

2.4 影响因素与肝功能指标秩和检验分析（表 5、表 6）

表 5 VC作业工人 CYP2E1、GSTl、GSIMl基因型与肝功能秩和检验						
影响因素	类型	n	M	P ₂₅ ~P ₇₅	Z值	P值
CYP2E1	q1q1	70	23.00	16.00~34.00	-4.004	0.001
	q1q2/q2q2	32	43.50	24.00~62.50		
GSTl	Null	49	29.00	19.00~50.50	-0.992	0.321
	Non.null	53	25.00	18.00~37.50		
GSIMl	Null	45	24.00	17.50~42.50	-0.752	0.452
	Non.null	57	30.00	19.50~40.50		

表 6 VC作业工人吸烟、饮酒与肝功能秩和检验						
影响因素	类型	n	M	P ₂₅ ~P ₇₅	χ^2 值	P值
吸烟	不吸烟	45	24.00	17.00~39.50	2.677	0.262
	轻度吸烟	22	30.00	18.75~35.50		
	重度吸烟	35	32.00	22.00~53.00		
饮酒	不饮酒	35	22.00	16.00~32.00	10.323	0.006
	轻度饮酒	53	28.00	20.00~40.75		
	重度饮酒*	14	41.50	29.00~62.50		

与不饮酒组比较，* P<0.05

3 讨论

虽然氯乙烯引起肝脏损伤已经成为公认的事实，

肝功能也已经纳入法定的职业性氯乙烯中毒诊断 (GBZ90-2002) 的指标范围, 但肝功能检测并不是氯乙烯毒性损害的特异性指标, 其影响因素尚未有较全面的分析。因此, 本研究通过氯乙烯接触工人基因多态性及肝功能等指标检测, 结合历年体检资料, 评价引起氯乙烯作业工人肝功能异常的影响因素。

目前认为氯乙烯是通过肝微粒体细胞色素 P450 (CYP2E1) 进行代谢的。在该酶的作用下, 氯乙烯氧化为有高度活性的中间代谢物氧化氯乙烯。氧化氯乙烯可自动重排 (或经氧化) 形成氯乙醛, 这些中间活性产物在谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 催化下, 与谷胱甘肽结合形成 S-甲酰甲基谷胱甘肽。随后经水解氧化形成 S-甲基甲酰半胱氨酸和 N-乙酰 (2-羟乙基) 半胱氨酸排出体外。其中一部分氯乙醛经醛脱氢酶 (ALDH) 形成氯乙酸而解毒。其代谢中间产物氯乙醛和氧化氯乙烯为强烷化剂, 有致突变、致畸和致癌作用。

本实验选取氯乙烯代谢过程中的三个主要代谢酶 CYP2E1、GSTT1 和 GSTM1, 通过检测其基因多态性, 探讨遗传因素在长期 VC 作业工人引起肝功能异常过程中的作用。结果发现饮酒、CYP2E1 基因型对其有影响, 其中具有 CYP2E1 $\eta\eta$ 型作业工人其肝功能异常情况显著高于 CYP2E1 $\eta\eta$ 者, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$, OR 10.955 95% CI 3.144 ~ 38.169)。

国内外动物实验表明, VC 在体内代谢过程中可诱导 CYP2E1 的活性发生代偿性增加^[8], 较高剂量的 VC 能诱发大鼠肝细胞 CYP2E1 mRNA 的表达^[9]。CYP2E1 存在基因多态性, 含不同基因型的工人其肝 CYP2E1 活性可能有差别, 由于尚不具备条件直接做人肝组织研究, 因此尚未定论。但经多元 Logistic 回归分析显示 CYP2E1 $\eta\eta/\eta\eta$ 型作业工人是氯乙烯肝脏毒性作用的易感人群, 因此对其应加强健康监护或调离氯乙烯作业岗位, 考虑将来作为敏感检测指标确定职业禁忌者, 从而达到一级预防的目的。

饮酒可加重肝功能损伤^[10-11], 乙醇是 CYP2E1 酶活力的诱导剂^[12]。饮酒个体 CYP2E1 mRNA 表达水平更高^[13], 即 $\eta\eta/\eta\eta$ 基因型 CYP2E1 酶活力处于较高水平, 从而使氯乙烯转化为活性代谢产物氯乙醛和氧化氯乙烯增多, 加重 DNA 的损伤。由于接触人员的不良嗜好 (饮酒) 提高了个体的易感性, 从而增加了外源性化学物对机体的损伤机会。因此, 在职业人群中应减少易感人群对外源化学毒物的接触, 戒除不良的个人嗜好以避免对机体的损伤, 从而更好地保护工人的健康。

GSTT1 未缺失型与缺失型相比对作业工人肝功能有一定的保护作用, 但其 OR 值仅为 0.312 且 GSTT1 两基因型秩和检验未见统计学意义。理论上氯乙烯也可在 GST 的催化下, 直接与谷胱甘肽结合而解毒。由此可以推断, GST 在氯乙烯代谢中主要起解毒作用, 其基因多态性作为肝功能损伤的影响因素有待进一步研究。

虽然经多元 Logistic 分析, 作业工人氯乙烯接触总剂量无统计学意义。但将接触总剂量分为工龄和年平均接触量后, 经 Spearman 等级相关分析发现, 年平均接触剂量与肝功能 ALT 值呈相关关系, 而工龄与 ALT 值尚未发现有相关关系。可能由于氯乙烯在体内代谢速度较快, 产生的毒性中间产物氯乙醛和氧化氯乙烯在体内浓度上升较快导致损害发生。由统计结果看出接触浓度较接触时间对肝脏的损伤可能更为明显, 因此降低作业车间空气中氯乙烯的浓度对减轻肝脏损伤意义较大。《工作场所有害因素职业接触限值》(GBZ-2002) 氯乙烯的职业接触限值已从原来的最高容许浓度 (MAC) $30\text{mg}/\text{m}^3$, 变更为时间加权平均容许浓度 (PC-STEL) $10\text{mg}/\text{m}^3$, 短时间接触容许浓度 (PC-TWA) 则降低为 $25\text{mg}/\text{m}^3$ 。为顺应国家标准, 该化工厂 5 年前进行了 II 期、III 期改造, 氯乙烯空气检测浓度已经低于国家标准, 其对工人职业健康产生的远期效果有待进一步研究。

氯乙烯对人体的损害只从临床肝功能指标考虑, 已经不能全面反应肝损伤情况, 需要发现更敏感的生物标志物指标。国内外对氯乙烯损害敏感性方面已经做了大量的研究, 基因多态性代谢酶 CYP2E1 $\eta\eta/\eta\eta$ 基因型^[14]、修复酶 XPD751 Lys/Gln 和 Gln/Gln^[15] 基因型、X 线交叉互补基因 I (XRCC1) 194 Arg/Trp 和 Trp/Trp 基因型^[5, 16, 17] 等的工人易于发生 DNA 损伤。但这些基因型是如何发挥作用的尚不清楚, 氯乙烯敏感指标的研究尚处于起步阶段, 随着新技术 (如蛋白质组学、代谢组学等) 的发展, 氯乙烯的研究有了新的发展机会, 为人体易感性和敏感指标的研究提供了可能, 有必要进行进一步研究。

氯乙烯的肝脏损伤并不是单一因素引起的, 它同时受到遗传因素、生活习惯、工作情况影响, 因此加大对工作场所监测和监督力度, 在控制空气中氯乙烯浓度的同时, 做好工人的健康宣传教育, 养成良好生活习惯, 戒掉不良嗜好, 做好个人防护, 不断提高对氯乙烯工人的健康监护水平。

参考文献:

[1] Jin Christine B A, Cao J S, Bran F C, et al. Polymorphisms in Glutathione

- one S-Transferees (GSTM1 and GSTT1) and survival after treatment for breast cancer [J. Can Res 2001 61 7130-7135.
- [2] Nurja M, Anne-Marie C B, Fredrik N, et al. Lung cancer risk of nonsmokers and GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphism [J. Can Epid Biol Pre 2000 9 827-833
- [3] Mariko M, Masatoshi W, Miki Y, et al. Genetic polymorphisms in cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1A2, CYP2E1, glutathione S-transferase (GST) M1 and GSTT1 and susceptibility to prostate cancer in the Japanese population [J. Cancer Lett 2001 165 171-177
- [4] Wan JX, Shi JX, Xia ZL, et al. Association of genetic polymorphisms in CYP2E1, Environ. MPQ, NQO1, GSTM1 and GSTT1 genes with benzene poisoning [J. Heal Pers 2002 110 1213-1218
- [5] Ruey HW, Chung LD, Jung DW, et al. XRCC1 and CYP2E1 polymorphisms as susceptibility factors of plasma mutant B3 protein and anti-B3 antibody expression in vinyl chloride monomer exposed polynyl chloride workers [J. Cancer Epid Biol Pre 2002 11 475-482
- [6] Mak JC, Ho SP, Leung HC, et al. Relationship between glutathione S-transferase gene polymorphisms and enzyme activity in HongKong Chinese asthmatics [J. Clin Exp Allergy 2007 37(8): 1150-1157
- [7] Liu B, Fan YJ, Wang ML, et al. Genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, M1 and P1 and susceptibility to reflux esophagitis [J. Dis Esophagus 2006 19 (6): 477-481.
- [8] 朱守民, 王爱红, 孙祖越, 等. 氯乙烯致大鼠 DNA损伤与肝代谢酶活性动态变化的研究 [J. 环境与职业医学, 2004 21 98-100.
- [9] 王爱红, 朱守民, 周元陵, 等. 氯乙烯染毒对大鼠肝细胞色素 P450 2E1活力和 mRNA表达的影响 [J. 工业卫生与职业病, 2005 31 146-147.
- [10] Ruhl CE, Everhart JE. Joint effects of body weight and alcohol on elevated serum alanine aminotransferase in the United States population [J. Clin Gastroenterol Hepatol 2005 3 1260-1268.
- [11] Maroni M, Fanetti AC. Liver function assessment in workers exposed to vinyl chloride [J. Int Arch Occup Environ Health 2006 79 57-65
- [12] Yamada Y, Sun F. Genetic differences in ethanol-metabolizing enzymes and blood pressure in Japanese alcohol consumers [J. J Hum Hypertens 2002 16 479-486
- [13] Yano H. Study of cytochrome P4502E1 mRNA level of mononuclear cells in patients with alcoholic liver disease [J. Alcohol Clin Exp Res 2001 25 2S6S
- [14] Hsieh HJ, Chen PC, Wong RH, et al. Effect of the CYP2E1 genotype on vinyl chloride monomer induced liver fibrosis among polynyl chloride workers [J. Toxicology 2007 27 [Epub ahead of Print].
- [15] Zhu S, Wang A, Xia Z. Polymorphisms of DNA repair gene XPD and DNA damage of workers exposed to vinyl chloride monomer [J. Int J Hyg Environ Health 2005 208 383-390
- [16] 仇玉兰, 朱守民, 刘静, 等. 氯乙烯致染色体损伤的易感性与 APE1 和 XRCC1 基因多态关系研究 [J. 卫生研究, 2007 36 132-136
- [17] Li Y, Marion M, J, Zipprich J, et al. The role of XRCC1 polymorphisms in base excision repair of etheno-DNA adducts in French vinyl chloride workers [J. Int J Occup Med Environ Health 2006 19 45-52.

急性氟乙酰胺中毒致发音困难 10例报告

10 cases of dysphonia in acute
fluoroacetamide poisoning

高伟

(沈阳市第九人民医院, 辽宁 沈阳 110024)

我院 2003年 1月至 2004年 2月共收治急性氟乙酰胺中毒 32例, 其中 10例出现短暂性发音困难、流涎及吞咽困难, 现分析报告如下。

1 临床资料

本组 10例, 男 2例, 女 8例, 年龄 20~50岁, 平均 30岁。全部为口服重度中毒患者。服药量 20~50 ml, 服毒至就诊时间 30 min~2 h, 发音困难最早出现于中毒后 24 h, 最晚 72 h, 平均 48 h, 症状发生之前抽搐已消失, 8例意识清晰, 2例精神恍惚。10例患者均有发音困难, 4例有流涎, 2例有吞咽困难。脑电图及颅脑 CT均正常。

出现症状后即静脉滴注甘露醇、脑蛋白水解液、地塞米松等防治脑水肿, 营养脑神经细胞治疗; 采用乙酰胺进行解毒治疗, 密切观察病情变化, 及时调整乙酰胺用量; 血液灌流治疗 4例, 同时营养心肌、防治呼吸道感染及其他对症治

° 病例报道 °

疗。10例患者全部治愈出院。

2 讨论

氟乙酰胺的中毒机制是它进入体内后脱胺形成氟乙酸, 经过活化后形成氟柠檬酸; 同时, 它能抑制乌头酸酶的活性使三羧酸循环受阻, 导致氟柠檬酸在体内蓄积, 直接刺激中枢神经而引起意识障碍、抽搐等临床症状。

发音困难是指神经系统病变引起的发音异常和构音不清, 患者可同时存在饮水呛咳或吞咽困难。它与失语不同, 失语是由于大脑皮质言语功能区病损而造成说话、听力、阅读和书写能力残缺或丧失。导致发音困难的病因主要为: (1) 肌肉病变: 肌营养不良症、重症肌无力; (2) 锥体外系病变: 震颤麻痹、舞蹈病; (3) 下运动神经元病变: 格林巴利综合征; (4) 上运动神经元病变: ①一侧皮质延髓束受损, 可引起短暂的发音困难; ②一侧广泛皮质运动区病变, 可引起持久性发音不清, 若在优势半球可合并运动性失语。

综上所述, 结合本文临床资料, 排除肌肉病变、锥体外系病变及大脑皮质病变, 笔者认为, 氟乙酰胺中毒患者出现短暂发音困难, 是由于氟乙酰胺对神经系统的损害导致一侧皮质延髓束病变所致。虽然具体作用机制目前尚不清楚, 但病例资料值得同行注意。