

因素^[7]。XPD 基因是人的一种 DNA 修复基因, 也称作核苷酸切除修复交叉互补 (excision repair/cross complementing, ERCC) 基因。XPD 定位于人类染色体 19q 13.2-13.3, 转录产物大小为 2283 bp, 由 760 个核苷酸组成, 包含 23 个外显子。XPD 是一种 ATP 依赖的 DNA 解螺旋酶, 参与核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER) 途径, 同时还参与组成 II 型转录因子 H (TF II H) 复合物及 p53 介导的凋亡反应, 是一个多功能的基因^[8]。

本研究发现 296 名二甲基甲酰胺接触工人不同基因组 (XPD-312GG/GA + AA, XPD-751AA/AC + CC) 工人血 ALT、AST、 γ -GT 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。以肝功能正常与否考察基因型分布, 结果显示, 在不同基因组间工人肝功能异常率比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 校正 OR_j 分别为 0.70、1.03, 95% CI 分别为 0.38 ~ 1.41、0.51 ~ 2.05。因此推测 XPD 基因 Asp312Asn 和 Lys751Gln 多态性可能与二甲基甲酰胺毒性易感性无关。

参考文献:

[1] 刘祥铨, 张忠, 吴长汉, 等. 职业接触二甲基甲酰胺对青年女工肝损害研究 [J]. 中国职业医学, 2012, 39 (2): 141-142.

[2] 徐承敏, 钱亚玲, 张幸. CYP2E1 和 GST 基因多态性对二甲基甲酰胺代谢及毒性的影响 [J]. 中国工业医学杂志, 2007, 20 (1): 38-41.

[3] Amato G, Grasso E, Longo V, et al. Oxidation of N,N-dimethylformamide and N,N-diethylformamide by human liver microsomes and human recombinant P450s [J]. Toxicol Letters, 2001, 124: 11-19.

[4] J Luo J C, Cheng T J, Kuo H W, et al. Abnormal liver function associated with occupational exposure to dimethylformamide and glutathione S-transferase polymorphisms [J]. Biomarkers, 2005, 10 (6): 464-474.

[5] 刘祥铨, 郑能雄, 张忠, 等. 二甲基甲酰胺对青年女性工人遗传毒性的研究 [J]. 预防医学论坛, 2010, 16 (8): 673-675.

[6] 刘祥铨, 郑能雄, 张忠, 等. 二甲基甲酰胺对青年女工外周血淋巴细胞的遗传毒性 [J]. 中国工业医学杂志, 2012, 25 (2): 135-137.

[7] 朱守民, 夏昭林. DNA 损伤修复基因与遗传易感性 [J]. 环境与职业医学, 2003, 20 (1): 50-52.

[8] Lunn R M, Helzlsouer K J, Parshad R, et al. XPD polymorphisms: effects on DNA Repair proficiency [J]. Carcinogenesis, 2000, 21 (4): 551-555.

2,4-二氯苯氧乙酸对仔代大鼠早期神经行为发育的影响

Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on early neurobehavioral development in offspring of rats

薄存香, 张振玲, 郭启明, 谢琳, 刘永霞, 戈扬, 赛林霖, 张放

BO Cun-xiang, ZHANG Zhen-ling, GUO Qi-ming, XIE Lin, LIU Yong-xia, GE Yang, SAI Lin-lin, ZHANG Fang

(山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250002)

摘要: 探讨孕哺期暴露 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D) 对仔代大鼠早期神经行为发育的影响。大鼠于受孕后第 2 天开始经口灌胃染毒 2,4-D 0、25、50、100 mg/kg 直到仔鼠出生后第 21 天。结果显示各染毒组仔鼠出生后张耳、门牙萌出、开眼、睾丸下降、阴道开启等生理发育指标与对照组比较差异无统计学意义。仔鼠早期神经行为测试中 100 mg/kg 染毒组断崖回避、空中翻正及听觉惊愕的阳性发生率明显低于对照组 ($P < 0.05$), 出现神经行为发育迟缓。提示 2,4-二氯苯氧乙酸对早期神经行为发育具有一定毒性作用。

关键词: 2,4-二氯苯氧乙酸; 神经行为; 发育毒性

中图分类号: R994.6 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2013)06-0438-03

2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D) 属于苯氧羧酸类除草剂, 具有较强的神经毒性作用^[1],

能通过胎盘和乳汁影响胎儿的发育^[2]。发育中的脑由于血脑屏障尚未发育成熟更容易受到侵害, 目前对仔代神经系统发育影响未见任何报道。本研究通过孕鼠妊娠期和哺乳期染毒 2,4-D, 观察其仔代大鼠出生后早期神经行为的发育, 探讨 2,4-D 的神经行为发育毒性作用。

1 材料与方法

1.1 受试物

2,4-二氯苯氧乙酸, 白色粉末 (纯度 > 98%), 不溶于水, 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司提供。用少量吐温 80 助溶配制所需浓度 (2.5、5.0、10.0 mg/ml)。阴性组给予等量的吐温水溶液。

1.2 实验动物与染毒

选用清洁级 Wistar 大鼠雌 40 只, 体重 230 ~ 250 g, 雄 20 只, 体重 280 ~ 320 g。由山东大学实验动物中心提供, 动物许可证号 SCXK (鲁) 20090001。动物适应 1 周后, 按雌: 雄 = 1:1 于每晚 16:00 时合笼, 次日 8:00 检查阴栓, 以查见阴栓的当天作为妊娠 0 d, 将孕鼠随机分为 4 组, 于妊娠第 2 天开始灌胃染毒至仔鼠出生后第 21 天, 2,4-D 染毒剂量分别为 0、25、50、100 mg/kg。实验在 SPF 级动物房内进行, 动物房温度 20 ~ 24 °C, 湿度 40% ~ 50%。

1.3 观测指标及方法

收稿日期: 2013-03-26; 修回日期: 2013-05-14

基金项目: 山东省自然科学基金项目 (ZR2012CL12, ZR2009CM114); 东省医学科学院科技项目 (2011013)

作者简介: 薄存香 (1979-), 女, 硕士研究生, 助理研究员, 主要从事卫生毒理学研究。

通讯作者: 赛林霖, 博士在读, 从事卫生毒理学研究。

1.3.1 母体毒性 从母鼠妊娠第 0 天开始, 每 3 天称 1 次体重, 直到妊娠第 21 天, 观察孕鼠有无外观变化、阴道出血、流产以及死亡等情况。待孕鼠自然分娩后, 记录母鼠的孕期、死产、活产数及仔鼠的存活情况。

1.3.2 仔鼠早期生理发育指标 每周称量体重, 分别在仔鼠出生后第 4、6、16、25、30 天观察耳廓分离、门牙萌出、开眼、睾丸下降及阴道开启情况, 计算观察日各指标的发生率。

1.3.3 仔鼠早期神经行为功能发育指标 分别在仔鼠出生后第 3、4、7、10、12、16 天测试平面翻正、断崖回避、听觉惊愕、前肢悬挂、空中翻正、视觉定位, 计算出测试日各组仔鼠出现的阳性率^[3]。

1.4 统计分析

采用 SPSS 10.0 统计软件进行分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行方差分析, 计数资料采用 χ^2 值。

2 结果

2.1 母体毒性

各实验组孕鼠在染毒期间进食、饮水量及体重增长均无异常。染毒中后期 50、100 mg/kg 组个别孕鼠出现口鼻少量血性分泌物, 未见阴道出血、早期或晚期流产、死亡等毒性反应。2,4-D 各染毒组孕鼠体重与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 对于自然分娩的母鼠未发现死产仔鼠, 各组母鼠的死产仔鼠、活产仔鼠数、孕期、仔鼠 4 d 出生存活率及 21 d 哺育存活率差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 2,4-D 对仔鼠生殖的影响

染毒剂量 (mg/kg)	n	产仔数	孕期 (d)	4 d 存活率 (%)	21 d 存活率 (%)
0	7	8.14 ± 1.95	21.29 ± 0.49	100.00	96.55
25	6	9.83 ± 2.64	21.33 ± 0.52	100.00	98.30
50	8	8.25 ± 2.25	21.12 ± 0.35	97.01	95.52
100	7	8.57 ± 1.81	21.43 ± 0.53	98.33	95.00

2.2 仔鼠的早期生理发育指标

出生时各染毒组仔鼠体重与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。50 mg/kg 组仔鼠体重在 21 d 时低于对照组, 100 mg/kg 组仔鼠体重于出生后 14 d 开始低于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同 2,4-D 染毒组仔鼠的生理发育指标, 包括耳廓分离、门牙萌出、开眼、睾丸下降及阴道开启与对照组差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 仔鼠早期神经行为发育指标

25 和 50 mg/kg 染毒组仔鼠早期神经行为发育指标和对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 100 mg/kg 组仔鼠的断崖回避、空中翻正及听觉惊愕的阳性发生率明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 2 2,4-D 染毒组仔鼠出生后不同时间体重变化 ($\bar{x} \pm s$) g

染毒剂量 (mg/kg)	n	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
0	56	8.10 ± 1.08	19.72 ± 2.92	32.49 ± 5.48	49.82 ± 8.93	74.09 ± 10.13
25	58	7.91 ± 0.80	19.10 ± 2.48	30.26 ± 5.32	47.16 ± 8.15	71.66 ± 11.13
50	64	7.76 ± 0.74	18.99 ± 2.03	30.73 ± 3.64	45.70 ± 5.84*	70.07 ± 8.19*
100	57	7.86 ± 0.59	18.90 ± 1.65	30.04 ± 3.40*	45.12 ± 6.31*	67.68 ± 8.63*

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

表 3 2,4-D 对仔鼠早期神经行为指标的影响 %

染毒剂量 (mg/kg)	n	断崖回避	平面翻正	空中翻正	前肢悬挂	听觉惊愕	视觉定位
0	56	83.93	82.14	58.71	75.00	71.42	89.29
25	58	84.48	70.69	81.03	63.79	60.34	75.86
50	64	70.31	82.81	82.81	76.56	64.62	82.81
100	57	57.89*	77.19	61.40*	57.89	50.87*	78.95

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

本实验显示, 孕哺期暴露 2,4-D 仔鼠早期生理发育指标未见异常改变, 出生后仔鼠的体重增长缓慢。在神经行为发育指标研究中, 100 mg/kg 组仔鼠的断崖回避、空中翻正及听觉惊愕的阳性发生率显著低于对照组 ($P < 0.05$), 说明进入仔鼠脑内的 2,4-D 可对早期神经行为发育产生一定的影响。

2,4-D 具有致畸胎作用, 能引起母体毒性、死胎及仔代泌尿生殖道畸形。本实验结果显示各染毒组孕鼠体重增长无异常, 个别孕鼠出现了口鼻少量血性分泌物等中毒症状, 与 Sameshima K 报道^[4]一致。2,4-D 能使出生时胎儿的体重下降^[5], 本实验各染毒组胎鼠出生时体重低于对照组, 差异无统计学意义, 但出生后胎鼠体重增长缓慢, 说明 2,4-D 通过胎盘和乳汁对仔鼠生长发育产生一定影响。

2,4-D 是有较强神经毒性作用的物质^[6,7]。本研究显示, 2,4-D 能透过血脑屏障延缓仔代空中翻正及听觉惊愕等早期神经行为的发育。Wayner^[8]等新近研究发现海马神经环路所具有的 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate receptor, NM-DA) 受体通道和长时程增强 (long term potentiation, LTP) 是空中翻正得以完成的功能性机制, 而听觉惊愕特别受到注意力的影响^[9], 当注意力无法集中或被转移时, 对声刺激的反应大大减弱。NMDA 是哺乳类中枢神经系统中重要的离子型谷氨酸受体, 不仅在神经系统发育过程中发挥着重要的生理作用, 而且对大脑学习记忆功能的正常运行至关重要。当突触后 NMDA 受体被激活时, 钙离子通过 NMDA 受体进入胞内, 触发活动依赖的突触传递效能长时程增强 LTP 改变, 从而影响一系列神经行为活动。2,4-D 发挥神经毒性作用是否与 NMDA 受体通道的改变有关还需进一步研究。

参考文献:

[1] Bongiovanni B, Ferri A, Brusco A, et al. Adverse effects 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on rat cerebellar granule cell cultures were attenuated by amphetamine [J]. Neurotox Res, 2011, 19 (4): 544-555.

[2] Fofana D, Kobae H, Sameshima K, et al. Postnatal survival of rat offspring prenatally exposed to pure 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) [J]. Congenit Anom (Kyoto), 2002, 42 (1): 32-35.

[3] 刘平, 耿菊敏, 李健, 等. 豆腐果苷对大鼠仔的早期神经行为毒性 [J]. 中成药, 2002, 24 (4): 278-280.

[4] Sameshima K, Kobae H, Fofana D, et al. Effects of pure 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on cultured rat embryos [J]. Congenit Anom (Kyoto), 2004, 44 (2): 93-96.

(下转第 472 页)

另外采用除尘器、除漆雾及有机废气系统，治理后由风机排至室外。本项目探伤现场设有警戒绳、工作警示灯，探伤作业时警示灯亮起，并有工作人员提醒勿靠近。企业一般安排夜间探伤或午间职工下班后，探伤现场无关人员全部清场。配置辐射监测仪器和个人剂量报警仪。探伤作业时采用探伤流动车隔离操作，正常情况下不会对人体造成伤害。噪声较大机组其管路放空口处安装放空消声器。机房设置封闭式机械进排风隔声站房。进排风口采用消声处理。房门窗设置隔声门窗，墙面和天花板安装吸声结构，吸声结构充分考虑对低频声的吸声效果。

2.7 职业健康检查

对该公司接触有毒有害作业的 210 名工人进行了职业健康检查，其中包括电焊工 107 人、装配工 103 人。主要健康异常情况：白细胞异常 4 人，血压异常 2 人，丙氨酸氨基转移酶偏高 4 人，血红蛋白偏低 2 人，血小板异常 4 人，血糖偏高 17 人，总胆固醇偏高 5 人，甘油三酯偏高 5 人，心电图异常 21 人，尿常规异常 49 人，电测听异常 7 人，胸部 X 线异常 3 人，肺功能异常 5 人，肝脏 B 超异常 3 人，无疑似职业病病例。血象、血压、转氨酶、心电图异常等改变大部分与生活习惯有关，与从事的工种无直接相关联系。但电测听异常、胸部 X 线和肺功能异常者都为焊工或打磨工，可能与职业接触因素有关，应定期复查，根据后期检查情况妥善处理。

3 讨论

造船行业具有职业危害种类多、危害严重、防控技术受限、劳动密集型、外包工多、事故易发等特点，是典型的职业病高发行业和职业病难以治理的行业，其职业病危害的分布贯穿于整个造船工艺。焊接是造船工艺的最主要工种，焊接过程中有着不同的电焊烟尘、锰等尘毒污染^[1]，可导致电焊工尘肺和锰中毒；切割打磨过程中产生噪声和金属尘，可导致职业性耳聋和尘肺；在涂装作业中发生的化学毒物中毒主要为慢性苯中毒；另外相关工种还接触电焊弧光、噪声、振动、高温、电离辐射等物理因素，可导致电光性眼炎、噪声性耳聋、振动性白指、职业中暑和放射疾病^[2]。

本项目存在的职业病危害因素有锰、二甲苯、噪声等。职业病危害关键控制岗位为电焊工、油漆工、打磨工、装配工。结合工人所在岗位，电测听异常主要发生在打磨岗位的工人；肺功能、胸片异常主要发生在焊接岗位，这与文献报

道的造船企业易出现噪声性耳聋、电焊烟尘易造成肺部损伤相一致^[3-5]。企业应妥善处理好复查、调离后续工作。另外，有害因素会产生联合作用，对操作者造成多方面的损害。故对电焊工的健康调查应进行多方面的检查及综合分析，才能作出全面、综合、准确的评价。

针对检查结果出现的问题可采取以下措施予以改善。(1) 针对锰污染，工艺上可采用焊接机器人、单面焊双面成型新工艺或者搅拌摩擦焊等减少锰尘接触机会，源头上选择无毒或低毒的电焊条；工程防护上采用有效的通风净化系统等增加工作场所的通风换气，同时给工人配发具有防护极细工业粉尘及焊接时对金属尘有防护作用的过滤式防尘口罩；对作业人员加强卫生知识教育，提高自我防护意识，督促防护用品的正确使用，并合理安排工作量，避免集中生产、窝风操作。(2) 对于二甲苯超标现场，宜选用无苯漆减少苯的危害。另外可加强和完善喷漆房的通风设施，减少毒物的聚集，增大毒物的排出。(3) 对于噪声污染的岗位，应尽可能将噪声污染最严重的工序单独放置，并在周围设置含吸声材料的隔音屏障，对接噪工人配发耳塞，由专人不定时检查防护设备的使用情况；合理安排作息时间，有利于短期受损听力的恢复等。(4) 按照卫生部颁布的《职业健康监护管理办法》，电焊工并不要求听力测试，但是厂方应重视电焊工人的听力防护，将从事与噪声有关工种的员工纳入听力测试范围。另外除了电焊工种和打磨工种要进行健康体检外，其他接触有毒有害因素（如噪声、苯、甲苯、二甲苯、X 射线等）的工人也应按规范要求定期进行健康体检。对于体检异常者，定期复检。对于劳务派遣人员的健康体检，企业应与派遣单位协商解决，保证体检工作正常进行。

参考文献:

[1] 张兴容. 船厂工业有害物对人体健康的影响与通风技术的应用 [J]. 上海应用技术学院学报, 2007, 7 (4): 225-228.
 [2] 吴建华. 某造船厂 48 年职业病防治工作回顾与评估 [J]. 环境与职业医学, 2010, 27 (5): 310-313.
 [3] 陈吉旭, 邓虹. 舱室排风除尘导致噪声超标的初步检查 [J]. 工业卫生与职业病, 2007, 33 (2): 128.
 [4] 马雪松, 郭璐. 某船厂船体车间电焊工尘肺发病情况调查 [J]. 中国工业医学杂志, 2004, 17 (2): 144-145.
 [5] 汤华玲, 刘红, 鞠红梅. 造船业电焊工尘肺发病情况分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2008, 26 (4): 256-257.

(上接第 439 页)

[5] Charles J M, Hanley T R Jr, Wilson R D, et al. Developmental toxicity studies in rats and rabbits on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its forms [J]. Toxicol Sci, 2001, 60 (1): 121-131.
 [6] Bortolozzi A A, Evangelista De, Duffard A M, et al. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid exposure on dopamine D2-like receptors in rat brain [J]. Neurotoxicol Teratol, 2004, 26 (4): 599-605.
 [7] Uyanikgil Y, Yalcinkaya M, Ates U, et al. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid formulation on medulla spinalis of poecilia reticulata: a histopathological study [J]. Chemosphere, 2009, 76 (10): 1386-1391.

[8] Wayner, M J Tracy H A, Armstrong D L, et al. Air righting: role of the NMDA receptor channel and hippocampal LTP [J]. Physiology & Behavior, 2000, 69 (4): 505-510.
 [9] Schicatanio E J, Blumenthal T D. The effects of caffeine and directed attention on acoustic startle habituation [J]. Pharmacology Biochem-istr and Behavior, 1998, 59 (1): 145-150.