

FOX-7 是一种钝感含能材料, 但关于 FOX-7 毒性的文献报道较少见。本试验结果提示, FOX-7 对大鼠经口 LD_{50} 为 995.63 mg/kg, 对肝、肺、肾脏有损伤作用, 皮肤刺激总积分均值最高 0.5, 眼刺激总积分平均值最高为 5.5。按照卫生部《工业化学品毒性鉴定规范及实验方法》进行分级评价, FOX-7 属低毒类物质, 对家兔皮肤和眼睛有轻度刺激性。

文献报道^[2], FOX-7 在常温下会发生酸碱、水解反应, 虽 FOX-7 的大部分衍生物依旧保持着硝基烯胺结构, 但周围基团的变化导致衍生物性质的巨大差异。人体摄入 FOX-7 后, 在胃酸作用下分解产生多种 FOX-7 的衍生物, 其毒性数据尚未完全了解, 需要继续研究探索。本文仅对 FOX-7 的急性毒

性进行探讨, 由于职业人群在 FOX-7 的科研、生产和使用过程中有长期接触史, 因此还需对其亚急性和亚慢性毒性进行深入研究。

参考文献:

- [1] 杨卓. 高能材料与高效毁伤技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2012: 299.
 - [2] 陈咏顺, 徐抗震, 王敏. FOX-7 的反应性研究进展 [J]. 含能材料, 2012, 20 (1): 120-125.
- (志谢: 兵器工业第五二一医院眼科李君延医生和金庆新主任在试验期间给予指导和帮助。)

1, 3-丁二烯作业工人代谢酶基因多态性与 DNA 损伤的关系

Association between genetic polymorphisms of metabolizing enzymes and DNA damage among workers exposed to 1, 3-butadiene

李亚慧, 刘楠, 郑国颖, 李云, 关维俊, 周婉笛, 刘园

(河北联合大学公共卫生学院/河北省煤矿卫生与安全重点实验室, 河北 唐山 063000)

摘要: 本研究采用碱性彗星试验评价个体外周血淋巴细胞 DNA 损伤, 聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法分析细胞色素 P450 2E1 (*CYP2E1*)、微粒体环氧化物水解酶 (*mEH*)、谷胱甘肽 S-转移酶 P1 (*GSTP1*) 基因的多态性, 探讨外源性化学物代谢酶基因多态性与 1, 3-丁二烯 (BD) 工人外周血淋巴细胞 DNA 损伤的关系。结果发现, BD 暴露组 and 对照组彗星尾距分别为 4.65 (3.49~5.98) 和 2.38 (0.82~3.98), 差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。暴露组中具有 *CYP2E1* 基因 *Pst*I 位点 c1/c2 或 c2/c2 基因型个体的彗星尾距显著高于 c1/c1 基因型个体 ($P<0.01$)。

关键词: 1, 3-丁二烯; 彗星试验; DNA 损伤; 代谢酶; 基因多态性

中图分类号: R994.3 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2015)02-0121-02

DOI:10.13631/j.cnki.zgggxyx.2015.02.016

1, 3-丁二烯 (1, 3-butadiene, BD) 作为一种确定的人类致癌物^[1], 其进入机体后在细胞色素 P450 (CYP) 和微粒体环氧化物水解酶 (microsomal epoxide hydrolase, *mEH*) 的作用下被代谢为单环氧化物 1, 2-环氧丁烯 (EB)、双环氧化物 1, 2:3, 4-二环氧丁烯 (DEB) 和 3, 4-环氧-1, 2-丁二烯二醇等氧化产物 (EBD)^[2], 这些活性中间代谢产物可直接与体内大分子物质共价结合, 形成多种 DNA 加合物, 导致遗传物质发生损伤。国内外研究表明, 在 BD 的代谢过程中, *CYP2E1*、*mEH* 及谷胱甘肽转移酶 (GST) 基因多态性发挥着非常重要的作用。因此, 本研究将采用碱性彗星试验评价个体 DNA 损

伤水平, 进一步探讨部分外源性化学物代谢酶基因 (*CYP2E1*、*mEH*、*GSTP1*) 多态性对职业 BD 接触者 DNA 损伤的影响。

1 对象与方法

1.1 对象

本研究包括 228 名研究对象, 均为汉族。暴露组来自某大型石化企业的 173 名 BD 作业工人, 男性 124 人、女性 49 人, 平均年龄 (36.9 ± 6.5) 岁, 接触工龄 (15.5 ± 6.9) 年; 对照组为 55 名事业单位行政人员, 男性 50 人、女性 5 人, 平均年龄 (37.9 ± 7.8) 岁, 工龄 (12.7 ± 8.8) 年。对照组的年龄、吸烟比例及生活条件与接触组均衡可比。

1.2 方法

1.2.1 职业流行病学调查 对研究对象的一般情况、BD 接触史、职业病诊断情况等进行调查。暴露组工人均暴露于 BD1 年以上。

1.2.2 血样采集和 DNA 制备 抽取研究对象的肘静脉血, 0.4 ml 肝素钠抗凝用于碱性彗星试验, 2 ml EDTA 抗凝, 置于冰盒-20℃ 保存。盐析法提取 DNA。

1.2.3 BD 空气监测 对职业 BD 暴露作业场所空气中的 BD 浓度进行短时间接触容许浓度 (15 min) 监测, 根据《中华人民共和国国家职业卫生标准》(GBZ/T160.39—2004), 采用直接进样法, 使用 HP5890 气相色谱仪对样品进行检测。测得 BD 浓度为 1.80 (0.59~2.76) mg/m³。

1.2.4 碱性彗星试验 常规范提取淋巴细胞。使用两层凝胶电泳法, 经裂解、DNA 解螺旋、电泳和中和得到湿琼脂糖凝胶片 (每人制备 2 张)。操作在采血后 8 h 内避光完成。采用乙醇脱水法将湿凝胶片脱水干燥后装于有干燥剂的载片盒中运回实验室。30 μg/ml 溴乙锭染色后, 在荧光显微镜下观察 100 个细胞核, 使用彗星试验图像分析软件 IMI1.0 分析彗星尾矩 (Olive TM), 即“彗星”头部和尾部各自分布的中心点

收稿日期: 2014-05-30; 修回日期: 2014-10-08

基金项目: 唐山市科技支撑计划项目 (No. 13130297Z)

作者简介: 李亚慧 (1990—), 女, 2010 级本科生。

通讯作者: 刘楠, 女, 助理研究员。

间的距离与总体 DNA 在尾部分数的乘积。

1.2.5 基因型分析 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 技术对 *CYP2E1*、*GSTP1* 和 *mEH* 基因进行分型。

1.2.6 统计学方法 SPSS13.0 统计软件进行数据的统计分析。彗星尾矩不呈正态分布, 且经对数变换仍不呈正态分布, 以中位数 *M* (95%*CI*) 表示。采用协方差分析比较不同基因型 Olive TM 的差异, 检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 研究对象 DNA 损伤情况

对职业 BD 暴露工人和对照人群的外周血淋巴细胞 Olive TM 进行秩和检验 (Kruskal-Wallis test) 比较两组间的差别, 结果显示, BD 暴露组和对照组 Olive TM 分别为 4.65 (3.49~5.98) 和 2.38 (0.82~3.98), 差别具有统计学意义 ($P<0.01$), 提示 BD 接触可能会导致职业接触工人遗传损伤。

表 1 *CYP2E1* 基因多态性与 Olive TM 的关系

基因型	对照组			暴露组		
	例数	GM (95%CI)	<i>P</i> 值	例数	GM (95%CI)	<i>P</i> 值
<i>CYP2E1 Pst1</i>						
c1/c1	38	2.34 (1.03~3.66)	0.81	112	4.44 (3.39~5.72)	0.000
c1/c2	17	2.41 (0.52~4.17)		58	5.01 (4.10~6.22)	
c2/c2	0	—		3	5.98 (5.82~6.18)	
c1/c2+c2/c2	17	2.41 (0.52~4.17)	0.81	61	5.02 (4.10~6.22)	0.000
<i>CYP2E1 Dra1</i>						
D/D	32	2.09 (0.95~3.60)	0.20	104	4.66 (3.49~6.14)	0.56
D/C	23	2.48 (0.58~4.13)		63	4.65 (3.50~5.76)	
C/C	0	—		6	4.51 (3.82~4.78)	
D/C+C/C	23	2.48 (0.58~4.13)	0.20	69	4.65 (3.50~5.76)	0.45

3 讨论

BD 及其环氧化物对 DNA 造成的损伤包括稳定的大分子加合物、氧化性 DNA 损伤和 DNA 双链的断裂, 碱性彗星试验可检测个体 DNA 链断裂、碱性不稳定位点和不完全剪切修复位点的数量, 除了 BD 暴露造成氧化性 DNA 损伤外, 还包括一部分凋亡和坏死细胞, 因此非常适合于筛检对 DNA 损伤因素敏感的高危人群。本研究通过对 BD 接触工人 Olive TM 的研究, 探讨低剂量浓度下 BD 暴露生物标志物, 结果发现, BD 暴露组和对照组 Olive TM 分别为 4.65 (3.49~5.98) 和 2.38 (0.82~3.98), 在调整了年龄/作业工龄、性别、吸烟、饮酒等混杂因素作用后, 差异存在统计学意义 ($P<0.01$), 说明职业接触 BD 可能会导致作业工人的 DNA 损伤, 提示外周血淋巴细胞 Olive TM 可以作为职业接触 BD 工人健康监护的一种早期监测指标。

CYP2E1 主要位于肝微粒体, 它能代谢活化包括 BD 在内的许多低分子量的有潜在致癌性的化学物质, 存在 *Pst* I、*Rsa* I、*Dra* I 和 *Tag* I 等多态^[3]。BD 进入人体后, 首先在 *CYP2E1* 作用下代谢为 EB, 接着 EB 又可在 *CYP2E1* 的作用下被代谢为 DEB, 如果该代谢酶基因发生突变, 则酶活性将下降, 最终影响 BD 在体内的代谢速度。本研究结果表明, BD 作业工人 *CYP2E1* 基因 *Pst1* 位点 c1/c2 或 c2/c2 基因型个体的 Olive TM 显著高于 c1/c1 基因型个体, 与文献报道的结果相一致^[4]。

GSTP1 基因多态性在肿瘤的的发生中起重要作用。如果

2.2 代谢酶基因多态性的分布

研究对象中 *CYP2E1 Pst1*、*CYP2E1 Dra1*、*GSTP1 Ile*¹⁰⁵ Val、*mEH Tyr*¹¹³ His 和 *mEH His*¹³⁹ Arg 5 个位点变异型等位基因的频率分别是 0.66、0.59、0.59、0.36、0.79, 其基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡, 且 BD 暴露组和对照组的基因型分布差异无统计学意义 ($P>0.05$), 提示选择人群无偏倚。

2.3 代谢酶基因多态性与 DNA 损伤的关系

职业 BD 暴露组中, 使用多元非参数协方差分析, 校正年龄/作业工龄、性别、吸烟、饮酒因素后, 暴露组具有 *CYP2E1* 基因 *Pst1* 位点 c1/c2 或 c2/c2 基因型个体的 Olive TM 显著高于 c1/c1 基因型个体 ($P<0.05$); 由于 *CYP2E1* c2/c2 基因型个体只有 3 例, 故将杂合型和突变纯合型合并, 仍发现 Olive TM 水平较高。未在对照组中观察到类似的关联, 未发现其它位点的遗传变异对暴露组外周血淋巴细胞 DNA 损伤的危险度有显著性影响。见表 1。

GSTP1 多态位点发生改变, 可影响该酶对体内过氧化物和亲电子物质的清除能力, 使个体对环境污染物所致的 DNA 损伤具有不同的易感性。本次研究没有发现 *GSTP1* 多态位点与 Olive TM 之间的直接关系, 可能是因为 *GSTP1* 基因多态性对 BD 导致的 DNA 损伤影响较小, 目前的样本量难以发现较小的关联。

总之, BD 接触可能导致职业接触工人 DNA 损伤, 碱性彗星试验可以作为低浓度 BD 接触早期健康损害的敏感指标。*CYP2E1 Pst1* 位点 c1c2/c2c2 基因型、*mEH His/His*¹¹³ 基因型可能是 BD 所致遗传效应的危险基因型, 提示代谢酶在 BD 致遗传物质损伤中的重要作用, 其机制有待进一步研究。

参考文献:

[1] Grosse Y, Baan R, Straif K, *et al.* Carcinogenicity of 1,3-butadiene, ethylene oxide, vinyl chloride, vinyl fluoride, and vinyl bromide [J]. *Lancet Oncol*, 2007, 8 (8): 679-680.

[2] Filser J G, Hutzler C, Meischner V, *et al.* Metabolism of 1,3-butadiene to toxicologically relevant metabolites in single-exposed mice and rats [J]. *Chem Biol Interact*, 2007, 166 (1-3): 93-103.

[3] Schlade Bartusiak K, Rozik K, Laczmanska I, *et al.* Influence of GSTT1, mEH, CYP2E1 and RAD51 polymorphisms on diepoxybutane induced SCE frequency in cultured human lymphocytes [J]. *Mutat Res*, 2004, 558 (1/2): 121-130.

[4] 谭红汕, 王琪, 王爱红, 等. 1,3-丁二烯致染色体损伤的遗传易感性 with *CYP2E1* 和 *GSTs* 基因多态性关系 [J]. *环境与职业医学*, 2010, 27 (5): 266-269.