

国产石棉致癌作用与间皮瘤阻断效果的实验研究

华西医科大学公共卫生学院尘肺研究室 刘学泽 罗素琼

一、国产石棉致癌作用的实验研究

1. 不同产地温石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤的实验研究

本实验目的在于探讨我国不同产地温石棉的致癌作用,比较其致癌强度大小,为进一步研究石棉的致癌机理和预防对策提供实验依据。选用金州、涞源、芒岩、川矿和新康五大产区温石棉,与UICC加拿大“A”温石棉比较,用能谱(EDXA)分析了我国温石棉的化学元素构成,并用相差显微镜测定了石棉纤维的长径和直径分散度。实验结果表明,我国五大产区温石棉与加拿大温石棉的化学组成基本相同,但各组间皮瘤的诱发率却不一样。UICC加拿大“A”石棉间皮瘤诱发率最高为59.2%,我国金州、芒岩、新康的诱发率分别为52.0%、49.0%和49.2%,与加拿大“A”石棉比较无显著性差异。而川矿、涞源温石棉诱发率较低,分别为33.3%和38.8%,与加拿大石棉比较有显著性差异($P<0.05$)。第一例间皮瘤死亡时间,川矿、新康石棉组与加拿大接近,分别为351、371和316天,其它三组出现较晚。间皮瘤鼠的平均存活时间以涞源、金州较长,其它与加拿大石棉组相似。加拿大石棉组50%大鼠的生存期最短为603天,病死比最大。我国五个实验组中新康石棉组与加拿大组相似($P>0.25$),其余各组50%大鼠生存期均比加拿大组延长70~117天,而病死比则小且有显著性差异($P<0.01\sim0.001$)。提示石棉的致癌强度有与生存期呈反比,与病死比呈正比的趋向。生存率曲线和间皮瘤死亡高峰期温石棉各组表现不如青石棉规律明显。本实验采用多项指标对温石棉的致癌性进行综合分析,比只采用诱发率评价更有实际意义。

2. 不同产地青石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤的实验研究

一般来讲青石棉的致癌性大于温石棉。摸清国产不同地区青石棉的致癌作用大小,有利于评价工人(或居民)患肿瘤的危险性和提早采取防癌措施。西南有4个青石棉污染现场,本文仅就这4个产区石棉的致癌强度大小进行比较。选用云南大姚、姚安、牟定和四川盐源县青石棉,用EDXA分析化学成分,与温石棉不同的是含有Na和Fe。同一类石棉产地不

同元素所占比例稍有差异,国产4种青石棉Mg含量较UICC青石棉高,而Fe的含量则低于UICC青石棉。用相差显微镜测定了纤维的直径和长径分散度。间皮瘤诱发率是评价石棉致癌强度大小的重要指标。各组诱发率中以盐源组最高(68.8%),其余3组诱发率在54.0~59.2%,与UICC青石棉组(58.0%)比较,差异无显著性。从其它各项指标来看,以盐源青石棉组最突出,表现在第一例间皮瘤死亡时间早(237天),间皮瘤鼠平均存活时间短(498天),50%大鼠生存期短(495天),间皮瘤死亡高峰期出现早(350~650天),生存率曲线较低,与UICC青石棉组比较有明显差异。因此我们认为盐源青石棉的致癌强度大于UICC青石棉。

3. 不同种类石棉致癌强度大小的比较

用青、温石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤,并采用多项指标对致癌强度大小进行了评价和比较,证明无论哪些指标,青石棉的致癌强度都大于温石棉。

4. 不同剂量石棉的致癌作用研究

用10、20、30、40、60mg新康温石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤。实验结果表明,除10mg剂量组外,其余各组无论是在诱发率、第一例间皮瘤存活时间、间皮瘤鼠平均存活时间,还是在生存率曲线、50%大鼠生存期和病死比指标上均未显示出差异。这些结果提醒人们加强防尘、降尘和注意环境的保护,减少石棉污染,将会大幅度降低间皮瘤的发生,即使发生肿瘤,年龄也较晚,寿命也会增加,因此从某种角度讲石棉与间皮瘤之间存在着剂量-效应关系。

5. 不同产地和不同种类石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤的病理学及形态发生学观察

不同地区温石棉所致胸膜间皮瘤的病理观察结果表明,其组织学类型构成情况基本相似。总的趋势是纤维型较少(19.7%),上皮型(38.6%)和混合型(41.7%)较多。青石棉所致间皮瘤各组织学类型也未见明显差异,组织学类型构成情况与温石棉则不一样。纤维型(45.9%)多于上皮型(20.2%),混合型(33.9%)也多于上皮型,且均有显著性差异。石棉种类不同引起的组织学类型上的差异,是否与纤维的理化性质不同,尚值得探讨。间皮瘤的分化程度与

组织学类型有一定的相关性,无论是青石棉或温石棉,纤维型中高分化的例数较多。两类石棉所致间皮瘤的浸润性与组织学类型没有相关性,说明任何一种类型的胸膜间皮瘤都具有较强的侵袭能力。另外对石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤的形态发生学也进行了观察。

6. 石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤的超微结构观察,免疫组织化学及酶组化研究

对23例间皮瘤作了超微结构观察,发现不论何种石棉引起的间皮瘤,其组成细胞及超微结构相似。对58例间皮瘤进行了免疫组织化学研究,四种组织学类型均同时显示Kerentin及Vimentin阳性,再次证实了间皮瘤免疫组化染色特征是同时表达Kerentin及Vimentin兼有上皮和间叶的特征。对41例间皮瘤作了酶组化分析,发现上皮型瘤细胞脱氢酶(SDH、ICDH、MDH、GDH、 β -OHBD、LDH、 α -GPD)活性及氧化酶(CCO)活性较高,而水解酶活性较低。纤维型间皮瘤则相反,水解酶(AKP、ACP、ATPase、S'-N、 β -GA、 β -Gr)活性较高而脱氢酶及氧化酶活性较低。

7. 温石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤 175 例大体分型探讨

本实验对温石棉诱发的大鼠胸膜间皮瘤 175 例进行了大体分型探讨,弥漫型103例(58.9%),局限型72例(41.1%)。在此基础上根据瘤结形态又分为4种亚型,即结节型、巨块型、斑块型和混合型。弥漫型胸膜间皮瘤以结节型占优势,局限型则以巨块型为主,胸腔积液多为血性,弥漫型间皮瘤有渗出者居多,另外对间皮瘤的大体形态进行了较详细的描述。研究结果提示,在接触石棉的工人或来自石棉污染区的人群中,有血性胸水、心腔积液或胸部出现巨块时,有患间皮瘤的可能性,应尽量减少误诊或漏诊。

8. 大鼠胸膜间皮瘤X线分析

选用78例经病理证实为胸膜间皮瘤的大鼠,并有较系统的X线动态胸片和死前照片进行系统的分析研究。大鼠间皮瘤的X线胸片表现形式多种多样,肺野内有呈片状影,团块影,使透光度下降;膈肌呈凹凸不平或锯齿状;纵膈密度增高、增宽,或因肿瘤存在使纵膈向健侧移位,也可表现为“冰冻纵膈”;心包出现积液时可见心影扩大,或边界不清的结节影。

二、几种抗氧化剂对间皮瘤癌前阻断效果的评价

1. 青石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤癌变过程的研究

大鼠胸腔染尘后,分期分批处死。光镜观察发现,实验早期出现间皮单层增生,随染尘时间增长,出现不典型性复层,结节或乳头状增生,最后发展为

间皮瘤。由此推测间皮瘤的发生经过3个阶段:(1)单层反应性增生,表现为间皮细胞单层立方状增生;

(2)癌前阶段,表现为间皮复层、结节或乳头状以及石棉肉芽肿周围细胞成分不典型性增生;(3)间皮瘤发生。研究结果为癌前阻断时机提供了依据。

2. 亚硒酸钠对间皮瘤的癌前阻断效果

间皮瘤是石棉引起的较为特异性的肿瘤。由于石棉的广泛应用和环境污染,间皮瘤有增多的趋势。近10年来,由于“自由基损伤学说”的兴起,有人注意到石棉致癌过程中有自由基参与,细胞的损伤与脂质过氧化有关,由此而想到自由基清除剂或抗氧化剂的应用可能有阻断和预防石棉致病的作用。硒化合物具有抗氧化能力,也可作为自由基清除剂在多种肿瘤和疾病中发挥作用。实验证明,胸腔染尘青石棉的大鼠,饮用5ppm Na_2SeO_3 后,间皮瘤诱发率由68.8%降至48.0% ($P<0.05$);第一例间皮瘤死亡时间向后推迟104天;间皮瘤鼠的平均寿命增加46天;间皮瘤死亡高峰期明显向后推迟150天;生存率曲线提高;50%大鼠生存期延长;病死比减小。与未给硒的染尘大鼠比较均显示出了差异。这一事实表明, Na_2SeO_3 对石棉引起的间皮瘤有抑制作用,表现为延缓间皮瘤的发生和降低诱发率。

3. 类胡萝卜素(玉米黄素)对间皮瘤的癌前阻断效果

在研究肿瘤防治的今天,毫无疑问,用预防的方法控制肿瘤的发生是制服肿瘤的最理想方法。任何含叶绿素的植物均可提供部分类胡萝卜素,尤其丰富的来源是深色黄绿蔬菜、黄色玉米等。本次选用类胡萝卜素作为石棉致间皮瘤的抑制剂,是因为来源广泛丰富,因而更具有实用价值,实验结果表明染尘大鼠经食用添加类胡萝卜素后,间皮瘤诱发率虽无明显下降(68.8%→63.8%),但第一例间皮瘤死亡时间比未给药组推迟152天,患瘤鼠平均寿命延长72天,间皮瘤死亡高峰向后推迟150天出现晚发,生存率曲线明显提高,死亡危险性减小,这不能不归功于类胡萝卜素的作用。

4. 芳维甲酸酯(苯丙烯苯甲酸酯)对间皮瘤的癌前阻断效果

维甲酸衍生物因毒性较小,在癌化学预防中,是最有希望的,因此选用我校药学院合成的维甲酸第三代产物——芳维甲酸酯作为间皮瘤的化学预防剂。芳维甲酸酯虽然在体外实验中显示出抑制肿瘤细胞的活性较维甲酸大,但在间皮瘤的动物实验中却没有见到明显效果。诱发率虽有降低(68.8%降致54.3%),

但未显示出显著性差异 ($P>0.05$), 间皮瘤鼠平均存活时间, 生存率曲线等与未给药组间未显示出差异, 但首发病例死亡时间向后推移 139 天, 间皮瘤发生时间和频率向后延缓, 表明芳维甲酸酯也起到一定作用。阻断效果较差是否因我们添加 $5\mu\text{g}/\text{只}$ 剂量 (每周两次) 偏大而有毒性反应有关, 尚需进一步实验证实。

5. 青石棉胸腔染尘大鼠血浆过氧化脂质和红细胞超氧化物歧化酶的变化

众多的研究都支持活性氧代谢产物可作为石棉毒作用的第二信使。体外实验表明, 石棉可激活大鼠肺泡巨噬细胞, 人多形核白细胞导致活性氧的增加。氧自由基的毒性主要表现在脂质过氧化, 而各类石棉均可导致脂质过氧化, 产物中的过氧化脂质 (LPO) 丙二醛 (MDA) 具有致突变作用。本实验在于证实青石棉染尘大鼠体内的氧自由基是否可产生相同于体外实验的生物学效应, 为进一步研究抗氧化剂的应用, 减弱和消除石棉的毒作用提供实验依据。实验结果表明, 青石棉注入大鼠胸腔后, 可促进体内脂质过氧化反应, 表现在不同时期血浆过氧化脂质 (LPO) 升高, 与未染尘大鼠比较有显著性差异 ($P<0.05$)。超氧化物歧化酶 (SOD) 是抑制超氧阴离子自由基 (O_2^-) 的特异酶。但在本实验中 SOD 含量表现为相对稳定。脂质过氧化产物的堆积, 引起体内氧化与抗氧化能力失衡, 是石棉致间皮瘤的可能原因。SOD/LPO 比值能更准确反映体内失衡关系, 实验结果表明, 随染尘时间延长, 比值下降更加明显, 因此 SOD/LPO 比值是一个有价值的指标。

6. 亚硒酸钠阻断间皮瘤实验中的过氧化脂质

(LPO) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 变化规律探讨

实验证明, 青石棉诱发大鼠胸膜间皮瘤实验中, 大鼠饮用 5ppm 浓度的 Na_2SeO_3 有明显抑制间皮瘤发生的作用。在实验过程中, 测定了 Na_2SeO_3 组大鼠的 LPO 值和 SOD 含量。结果表明大鼠接触青石棉 14、17 个月给硒组的 LPO 值下降, 接近阴性对照组。而未给硒的阳性组, 则随着接尘时间的增加 LPO 值持续上升, 与给硒组和阴性组比较有显著性差异 ($P<0.05$)。虽然正常大鼠的 LPO 值随增龄而增高 ($P<0.05$), 但青石棉进入体内后显然加重了脂质过氧化, 而加入 Na_2SeO_3 干扰后, 则表现出对抗脂质过氧化的能力提高, 反映在 LPO 值的下降 ($P>0.05$)。清除 O_2^- 的特异酶 SOD 的含量在 14、17 月时, 给硒组也明显增高 ($P<0.05$)。另外对间皮瘤和非间皮瘤鼠 (病理确诊) 的 LPO 和 SOD 含量进行了分析, 结果表明, 间皮瘤大鼠无论是给硒组或不给硒 LPO 值均高于非间皮瘤; 给硒后无论是间皮瘤和非间皮瘤鼠 LPO 值均低于未给硒的阳性对照 ($P>0.05$), 而非间皮瘤 LPO 值与阴性组接近; SOD 值无论是间皮瘤或非间皮瘤, 给硒或不给硒均无统计学差异 ($P>0.05$)。提示间皮瘤的发生与 LPO 值有关, 与 SOD 含量无明显相关关系。

实验结果为研究石棉致间皮瘤机理和预防石棉所致疾病提供了证据。 Na_2SeO_3 能对抗脂质过氧化, 使 LPO 值下降, 因此表现在间皮瘤诱发率的下降和其它指标的改变; 类胡萝卜素由于广泛存在于蔬菜、玉米和胡萝卜素中, 因此可望在石棉污染现场食用硒盐及富含类胡萝卜素食物, 对预防或减缓石棉所致间皮瘤有相当的实用价值。

An Experimental Study of Carcinogenesis of Asbestos and of the Effect of Antioxidizer on Asbestos Induced Mesothelioma

Liu Xueze, Luo Suqiong

The objectives of this topic are.

(1) To study the carcinogenicity of asbestos, the correlation of carcinogenesis to different variety of asbestos, different place of production and exposure doses;

(2) To study the effect of administering blocking agents to asbestos induced mesothelioma and lung cancer so as to provide scientific basis for field practice.

On the basis of field investigation and

experimental study, the chemical component and morphological characters of asbestos, histopathological and ultramicroscopic structure examinations, enzyme and free radical activities as well as the x-ray films of rat mesothelioma and lung cancer were carried out. Models of induced pleural and peritoneum mesothelioma and lung cancer were obtained. Comprehensive indices for evaluating the

(下转第27页)

氨。值得一提的是大冶、程潮分别于1981年和1987年引进了柴油运机,排出的废气使井下多环芳烃化合物较高,平均值分别为 $6.08 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 和 $96.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$,其中苯并(a)芘在大冶矿30水平4进路台车采矿处测为 $1.25 \mu\text{g}/\text{m}^3$,参考苏联MAC($0.15 \mu\text{g}/\text{m}^3$)超过7倍多,值得重视。四矿均未发现石棉或滑石等致癌物。

四、矿尘的毒理试验

用纯 Fe_2O_3 做细胞遗传毒作用和DNA损伤作用实验。结果为小鼠骨髓细胞染色体畸变分析,阴性;小鼠外周血淋巴细胞微核试验,阴性;小鼠骨髓细胞姐妹染色体交换试验,阴性。为探索铁尘本身有无致突变作用,选用了四矿中肺癌死亡率最高的綦江矿粉尘做小鼠 LD_{50} 试验,小鼠骨髓微核试验,SOS显色法试验。结果表明:綦江矿粉尘对小鼠的 $\text{LD}_{50} > 8000 \text{mg}/\text{kg}$;微核试验为阴性;SOS显色试验未获得阳性结果。

讨论

一、调查结果表明,赤铁矿井下开采,例如大冶铁矿和綦江铁矿,肺癌危险度超量,与1973~1975年全国肿瘤调查资料比较,SMR分别为256和408,经统计学处理差异有显著性。綦江铁矿肺癌标化死亡率

与1988年全国中小城市死亡率比较,SMR为179,亦有显著性差异。但属赤铁矿露采的灵乡铁矿、磁铁矿井下开采的程潮铁矿,肺癌死亡率虽有升高趋势,但无显著性意义。这一结果与国内外大多数报道及IARC看法一致。但并未见井下氨水平超高,这点与IARC看法不一致。

二、监测结果表明,赤铁矿开采时镍、镉、砷、铬的浓度均大大低于最高容许浓度;多环芳烃虽在大冶和程潮矿较高,但从开始使用到1988年分别只有7年和2年,也未见有石棉、滑石存在,故赤铁矿肺癌高发不宜用上述可能致癌因子解释。

三、从赤铁矿工肺癌SMR可看出,接触铁尘者SMR有高于非接尘者的趋势,但无统计学意义。病例-对照研究表明矽肺患者有肺癌易感性,其OR为1.34,但无显著性。这些趋势有待继续观察。

四、队列分析和病例-对照研究都表明,吸烟增加肺癌的危险性,在统计学上有显著性意义。井下由于通风较差,加之粉尘可吸附烟中致癌物从而增加致癌物浓度以及延缓致癌物排出,因此更增加了吸烟致肺癌的作用。

五、毒性试验表明,纯 Fe_2O_3 和綦江矿粉尘的致癌、致突试验均为阴性。

An Etiologic Study on Lung Cancer of Haematite Mine Workers

Wu Zhien, et al

A retrospective cohort study on lung cancer mortality and a nested case-control study were carried out in 4 iron ore mines with 14841 male subjects who had been employed between the years 1972 and 1974 at least for 1 year and to be followed up to 1988. The industrial hazard agents such as dust, arsenic, nickel, cadmium, PAHs and radon daughters were measured. The results showed that there was a higher mortality rate from lung cancer among workers

mining haematite underground. Lung cancer mortality trends to be raised for dust exposed and silicosis workers, but not statistically significant. The risk of lung cancer among smokers was elevated with an $\text{OR} = 2.55$, $P < 0.01$. As the levels of As, Ni, Cd and radon daughters were quite low in workplace so we could not conclude that those agents were causes of higher lung cancer mortality rates.

(上接第33页)

carcinogenicity of asbestos were suggested and several antioxidant were recommended for inhibiting mesothelioma and lung cancer. The results showed that the carcinogenesis disagreed with the variety of asbestos and its place of production. There was a dose-effect

relationship between asbestos exposure and carcinogenicity. Free radical participated in the course of carcinogenesis, which linked closely with lipid peroxide. Sodium selenite and cryptoxanthin might inhibit and delay the formation of carcinoma.