

接触氯乙烯对淋巴细胞 DNA 损伤及微核率的研究

王民生¹, 翟明芬², 蒋晓红¹, 张若阳³, 王湘苏¹, 徐德州¹

(1. 江苏省职业病防治研究所, 江苏 南京 210028; 2. 常州市卫生防疫站, 江苏 常州 213003;
3. 镇江市卫生防疫站, 江苏 镇江 212000)

摘要: 目的 探索低浓度氯乙烯对外周血淋巴细胞 DNA 损伤效应。方法 以呼吸带氯乙烯平均浓度低于和高于国家最高容许浓度的作业工人为低浓度组 (85 例) 和高浓度组 (75 例), 不接触氯乙烯的 100 名健康工人为对照组, 应用单细胞微量凝胶电泳技术和微核试验测定淋巴细胞 DNA 的损伤程度。结果 高、低浓度组工人淋巴细胞 DNA 平均迁移距离分别为 $(48.7 \pm 8.6) \mu\text{m}$ 和 $(34.8 \pm 5.9) \mu\text{m}$; 微核率分别为 8.82% 和 3.12%, 与对照组相比及高低浓度组之间相比差异有非常显著意义 ($P < 0.01$)。结论 接触低浓度氯乙烯可引起淋巴细胞 DNA 损伤, 单细胞微量凝胶电泳技术可作为检测低浓度 VC 职业危害的早期客观指标。

关键词: 氯乙烯; 单细胞微量凝胶电泳; 微核

中图分类号: 0623.121; Q344⁺.12 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X (1999)06-0348-02

Studies on DNA damage and micronucleus in peripheral lymphocytes in workers exposed to vinyl chloride

WANG Min-sheng¹, ZHAI Ming-fen², JIANG Xiao-hong¹, ZHANG Ruo-yang³, WANG Xiang-su¹, Xu De-zhou¹

(1. Jiangsu Provincial Institute for Occupational Medicine, Nanjing 210028, China; 2. Changzhou City Health and Anti-epidemic Station, Changzhou 213003, China; 3. Zhenjiang City Health Anti-epidemic Station, Zhenjiang 212000, China)

Abstract: **Objective** To study effects of low-concentration vinyl chloride (VC) on DNA damage in peripheral lymphocytes. **Methods**

Workers in plastic industry were divided based on their exposure level, 85 exposed to VC in workshop at a concentration lower than maximal allowable concentration (MAC) set in the national standards as a low-level group, 75 exposed to VC higher than MAC as high-level group, and 100 unexposed as healthy control group. DNA damage in lymphocytes was determined with single cell microgel electrophoresis and micronucleus test. **Results** Average migration distance of DNA in lymphocytes was $(48.7 \pm 8.6) \mu\text{m}$ and $(34.8 \pm 5.9) \mu\text{m}$ and micronucleus rate was 8.82% and 3.12% in high-level and low-level groups respectively, with significant difference between them and all significantly different from those in control group ($P < 0.01$). **Conclusion** Exposure to low-level VC could cause DNA damage in lymphocytes, and that single cell microgel electrophoresis technique can be used as an objective indicator to detect early occupational hazard caused by low-level VC.

Key words: Vinyl chloride; Single cell microgel electrophoresis; Micronucleus

氯乙烯 (vinyl chloride, VC) 对人类的致癌作用早已被 IARC 确定^[1], 其对 DNA 的损伤作用一直受到关注^[2,3]。研究 DNA 损伤除了可阐明致癌的机制外, 还可对 VC 致健康损伤作用提供新的认识。我们在 VC 作业工人的健康监护工作中发现, 常规肝功能监测指标 (如 ALT、 γ -GT、CG、AH、GSH 等) 阳性率不高。故应用单细胞微量凝胶电泳技术 (single cell microgel electrophoresis assay, SCGE) 又叫“彗星”测试 (Comet assay), 检测了职业性接触 VC 工人外周血淋巴细胞 DNA 损伤情况, 并对其微核率进行了调查, 现将结果报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象

接触组 160 例, 男 95 人, 女 65 人, 按接触浓度分为高浓度组 [$(130.96 \pm 40.12) \text{mg/m}^3$] 75 例, 低浓度组 [$(27.79 \pm 17.22) \text{mg/m}^3$] 85 例; 另选不接触 VC 的健康工人 100 例作对照组。3 组平均年龄、平均工龄和吸烟状况相近 ($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 分离外周血淋巴细胞: 采静脉血 1ml, 肝素抗凝, 用 PRMI1640 培养液稀释后加入盛有淋巴细胞分离液的离心管中, 离心, 经洗涤后制备得细胞悬液, 调节细胞浓度至 $1 \times 10^6/\text{ml}$, 测定细胞成活率后进行 SCGE 测定。

1.2.2 “彗星”测试方法按王民生报道的方法进行^[4]。基本步骤: 单细胞悬液→铺成“三明治”结构的凝胶片→碱性溶解 1h→碱性条件 ($\text{pH}=10$) 下电泳 (25V, 300mA) 20min→EB 荧光染色→荧光显微镜观察, 用目镜测微尺测量彗尾的长度 (DNA 迁移距

收稿日期: 1999-10-20

基金项目: 江苏省预防医学基金资助 (F9824)

作者简介: 王民生 (1957—), 男, 硕士学位, 研究员。

离),同时对DNA损伤的程度进行分级^[5],分为无损伤($\leq 5\%$)、轻度损伤($6\% \sim 20\%$)、中度损伤($21\% \sim 40\%$)、重度损伤($41\% \sim 95\%$)、完全损伤($> 95\%$)。

1.2.3 数据处理:采用Primer软件中的 t 检验程序对数据进行统计分析。

2 结果

2.1 车间空气中氯乙烯浓度测定结果:近3年车间氯乙烯浓度连续监测资料高浓度组平均值为(130.96 ± 40.12) mg/m^3 ,低浓度组平均值为(27.79 ± 17.22) mg/m^3 ,低于国家最高容许浓度($30\text{mg}/\text{m}^3$)。

2.2 VC作业工人淋巴细胞DNA损伤

接触组与对照组工人淋巴细胞DNA损伤测定结果见表1,高、低浓度组VC作业工人淋巴细胞DNA平均迁移距离,高、低浓度组之间DNA平均迁移距离、平均微核率与对照组相比差异均有极显著意义($P < 0.01$)。这表明接触不同浓度VC能明显引起人淋巴细胞DNA和染色体的损伤。

表1 暴露不同浓度VC工人淋巴细胞DNA损伤和微核率的比较

组别	浓度 (mg/m^3)	例数 (个)	DNA迁移距离 $\bar{x} \pm s$ (μm)	微核率 (%)
高浓度组	130.96 ± 40.12	75	$48.7 \pm 8.6^{**}$	$8.82 \pm 1.68^{**}$
低浓度组	27.79 ± 17.22	85	$34.8 \pm 5.9^{**}$	$3.12 \pm 0.82^{**}$
对照组	—	100	21.2 ± 1.2	1.44 ± 0.53

*与对照组相比 $P < 0.01$ 。

2.3 VC作业工人性别间淋巴细胞DNA损伤的比较

VC作业工人不同性别的淋巴细胞DNA平均迁移距离和微核率相比较表明,在相同环境VC下,性别间差异不显著。

2.4 VC作业工人外周血淋巴细胞DNA损伤程度

从DNA损伤程度分级(表2)看出,随着浓度的增高,DNA损伤程度加重。

表2 暴露不同浓度VC工人淋巴细胞DNA损伤程度(%)比较

组别	无损伤	轻度损伤	中度损伤	重度损伤
高浓度组	47	36	14	3
低浓度组	60	38	2	0
对照组	91	9	0	0

3 讨论

VC损害肝脏,致肝血管肉瘤(ASL)和肢端溶骨症(AOL)比较肯定,国内外均有报道^[1]。VC在肝内经微粒体混合功能氧化酶作用,在还原型辅酶II的参与下进行环氧化反应,形成氯乙烯环氧化物,再发生分子重排,生成氯乙醛。这两种代谢物均为强烷

化剂,与核酸在体内和体外均可形成加合物,也可诱发DNA链断裂。Fucic在职业人群检查中发现接触VC组工人(20例)染色体畸变率和SCE频率均显著增高,分别达 6.5% 和 $7\% \sim 9\%$ ^[6]。本研究发现,低于国家最高容许浓度($\text{MAC} = 30\text{mg}/\text{m}^3$)的低浓度组工人外周血淋巴细胞DNA损伤程度和微核率均明显增高,DNA损伤和微核率与浓度明显相关,但性别间差异不明显。这表明彗星测试及微核率是检测VC遗传损伤的敏感指标。Fucic(1994)对接触VC(300ppm)的32名男工作了双核淋巴细胞微核的测定,10年工龄组接触当天取血,其微核率 12.82% ,停止接触后90天的微核率降至 3.16% ;5年工龄组同上的两次测得的微核率分别为 11.1% 和 1.7% ,由此可知微核能反映VC的蓄积作用^[7]。

VC慢性毒作用主要是肝脏损害,据报道VC几何平均浓度在 $4\text{mg}/\text{m}^3$ 左右仍可引起肝脏代谢功能异常^[8]。我国现行的VC车间空气中MAC($30\text{mg}/\text{m}^3$)显然偏高。美国已将VC接触限值由500ppm降至1ppm($2.789 \text{mg}/\text{m}^3$),前苏联车间空气中VC的MAC从 $1\text{mg}/\text{m}^3$ 降至 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$,我国曾有建议先将VC的MAC由 $30\text{mg}/\text{m}^3$ 降至 $15\text{mg}/\text{m}^3$,根据我们几年来工作及本次结果看,现有技术水平氯碱厂生产VC车间VC平均浓度是可以控制在 $15\text{mg}/\text{m}^3$ 以下的。我们认为,这方面目前国内报道的还不多见,我们只是进行了初步的调查研究,还有待积累更多的资料。

参考文献:

- [1] 王敬钦. 氯乙烯职业危害研究进展之一 [A]. 职业医学进展. 人民卫生出版社, 1998. 161.
- [2] 王民生, 蒋晓红, 王湘苏, 等. 氯乙烯致大鼠肝细胞DNA损伤的离体实验研究[J]. 工业卫生与职业病, 1998, 24(4): 219.
- [3] 王民生, 蒋晓红, 王湘苏, 等. 氯乙烯致大鼠肝细胞和外周血淋巴细胞DNA损伤的活体实验研究[J]. 工业卫生与职业病, 1998, 24(4): 222.
- [4] 王民生, Schmezer P. 碱性单细胞微量凝胶电泳技术简介[J]. 癌变·畸变·突变, 1996, 8(2): 112.
- [5] Anderson D, et al. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the Comet assay [J]. Mutation Res, 1994, 307: 261.
- [6] Fucic A, et al. Relationship between location of chromosome breaks induced by vinyl chloride monomer and lymphocytes [J]. Am Journal Industrial Medicine, 1995, 27(4): 565.
- [7] Fucic A, et al. The sensitivity of the micronucleus assay for the detection of occupational exposure to vinyl chloride monomer [J]. Mutation Res, 1994, 325(2/3): 53.
- [8] Ho SF, et al. Persistent liver dysfunction among workers at a vinyl chloride monomer polymerization plant [J]. J Society Occup Medicine, 1991, 41(1): 10.