

甲基叔丁基醚无铅汽油遗传毒性研究

杨红¹, 黄关麟², 李红艳¹, 张恒², 高锦伍¹, 王峰², 赵进顺¹

(1. 东南大学公共卫生学院, 江苏 南京 210009; 2. 南京炼油厂职工医院, 江苏 南京 210033)

摘要: 目的 研究甲基叔丁基醚 (MTBE) 无铅汽油的遗传毒性, 为保护接触人群的健康及制订卫生标准提供依据。方法 Ames 试验使用 TA97、TA98、TA100、TA102 四个菌株, 各菌株分别加 S9 与不加 S9, MTBE 无铅防爆汽油采用蒸气暴露法, 设 25、50、100 μ g/容器 (3L) 三个浓度组, 阴性和阳性对照采用平板掺入法; MTBE 无铅汽油及纯汽油小鼠骨髓微核试验采用经呼吸道 4 日染毒法, 分别设 68 640、34 320、2 288mg/m³ 和 108 798、57 889、3 627mg/m³ 三个浓度组, 另设阴性对照组及环磷酰胺 50mg/kg 腹腔注射为阳性对照组。结果 Ames 试验中各菌株 (加与不加 S9) 回复突变菌落数均小于阴性对照组 2 倍, 呈阴性; MTBE 无铅汽油及纯汽油小鼠骨髓微核试验 3 个剂量组的微核率, 与阴性对照组相比差异没有显著性 ($P > 0.05$)。结论 在本试验条件下, 未发现 MTBE 无铅防爆汽油有致突变性和染色体损伤作用。

关键词: MTBE 无铅汽油; Ames 试验; 微核试验

中图分类号: O623.423 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2001)04-0203-03

A study on genotoxicity of methyltertiary-butyl ether unleaded gasoline

YANG Hong¹, HUANG Guan-lin², LI Hong-yan¹, ZHANG Heng², GAO Jin-wu¹, WANG Feng², ZHAO Jin-shun¹

(1. The School of Public Health, South-East University, Nanjing 210009, China; 2. The Hospital of Nanjing Oil Refine Factory, Nanjing 210033, China)

Abstract; Objectives To study genotoxicity of methyltertiary-butyl ether (MTBE) unleaded gasoline and to lay a basis for protecting their health of exposed workers and formulating hygienic standard of it. **Methods** Four strains of TA97, TA98, TA100 and TA102 with or without S9 added were used in Ames test. Bacteria strains were exposed to evaporating gas of MTBE unleaded gasoline at various doses of 25, 50 and 100 μ g in a container with volume of three liters. Plate mixing method was used for positive and negative controls. Micronucleus assay of bone marrow was used for mice exposed to MTBE unleaded gasoline and pure gasoline via respiratory tract for four days, with positive controls treated by intraperitoneal injection of cyclophosphamide and negative controls. **Results** Number of bacteria colony of reverse mutation in various strains with or without S9 was less than that in negative controls, showing a negative Ames test. There was no significant difference in micronucleus rate between groups treated with MTBE unleaded gasoline and pure gasoline and negative control group ($P > 0.05$). **Conclusions** No mutagenicity and damage to chromosome caused by MTBE unleaded gasoline was found in this experiment.

Key words: Methyltertiary-butyl ether unleaded gasoline; Ames test; Micronucleus assay

1 材料与方法

1.1 MTBE 无铅汽油 Ames 试验

MTBE 无铅汽油由 85% 的 90 号汽油和 15% MTBE 组成, 由南京炼油厂提供。鼠伤寒沙门氏组氨酸缺陷型突变菌株 TA97、TA98、TA100、TA102, 由上海市职业病防治研究所提供, 大鼠肝微粒体酶系 (S9) 由多氯联苯诱导, 制成匀浆后在 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。阴性和阳性对照采用平板掺入法, 以二甲亚砜 (DMSO)

0.1ml/皿作阴性对照, 阳性对照不加 S9, TA97 用 4-硝基喹啉 200 μ g/皿, TA100、TA102 用甲基甲烷磺酸酯 1 μ l/皿; 加 S9, TA97、TA98、TA100 用 2-AF (2-氨基芴) 10 μ g/皿, TA102 用 1, 8-二羟基蒽醌 50 μ g/皿。MTBE 无铅汽油采用蒸气暴露法, 设 25、50、100 μ g/容器 (3L) 三个浓度组, 各浓度组设 3 个平行样本, 先将平皿放入容器中, 密闭容器装置, 部分真空, 通过加样孔加入受试物, 同时磁性风扇搅拌 4h, 在加样 30min 后, 打开放气阀使容器内大气压至 1 个大气压, 37 $^{\circ}$ C 培养 48h 后, 用自动菌落记数仪记数。阳性结果判断标准: 受试物每皿回复突变菌落数为阴性对照组的 2 倍或 2 倍以上即存在剂量-反应关系。

收稿日期: 2000-12-11; 修回日期: 2001-03-19

基金项目: 中石化集团公司资助 (W001-98)

作者简介: 杨红 (1967-), 女, 甘肃临泽人, 硕士, 讲师, 研究方向: 工业毒理

1. 2 MTBE 无铅防爆汽油及纯汽油小鼠骨髓微核试验

MTBE 无铅防爆汽油配方及来源同 Ames 试验, 纯汽油由南京炼油厂提供, 采用体质量 18~22g 昆明种小鼠, 每组 8 只, 雌雄各半, 由东南大学实验动物中心提供。无铅汽油、纯汽油各设 3 个浓度组, 分别为 68 640、34 320、2 288 mg/m³ 和 108 798、57 889、3 627 mg/m³ (MTBE 无铅汽油 LC₅₀ 为 114 400mg/m³、纯汽油 LC₅₀ 为 181 330mg/m³) 小鼠经呼吸道静式 4 日染毒法, 2h/d, 至第 5d 处死动物。阳性对照与阴性对照在相同条件下饲养, 阳性对照组于取材前 24h 腹腔注射环磷酰胺 50mg/kg。颈椎脱臼处死小鼠, 取出股骨, 剪开近膝端, 用止血钳夹住, 挤压股骨近端, 将溢出的骨髓轻点到已滴过一滴小牛血清的玻片上,

推片, 甲醇固定, 室温空气干燥, 用 Giemsa 液染色, 镜检。每张片子记数 1 000 个细胞, 并计算微核率 (‰)。

1. 3 统计方法

微核的出现呈泊松分布, 将微核率按平方根反正弦变换 ($\arcsin \sqrt{P}$), 使接近正态分布, 再用 Dunnett's *t* 检验, 分析各组与阴性对照组的统计学差异。

2 结果

2. 1 Ames 试验

MTBE 无铅汽油加 S9 与不加 S9 均未引起 TA97、TA98、TA100、TA102 回复突变菌数增加, 与阴性对照组相比, 低于阴性对照组的 2 倍, 差异无显著性 (表 1)。

表 1 MTBE 无铅汽油 Ames 试验结果

样品	剂量 μg/3L	TA97		TA98		TA100		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
阴性对照	—	147±5	143±6	36±4	41±3	155±8	156±8	260±9	265±10
无铅汽油	25	140±7	139±8	32±8	39±4	137±9	141±6	246±4	250±9
	50	144±11	147±9	38±4	36±4	158±8	153±7	261±8	261±12
	100	150±8	151±9	36±5	38±3	155±7	164±4	259±12	273±11
阳性对照		> 2 000 *	1 476±79 *	828±17 *	> 3 000 *	> 2 000 *	> 2 000 *	> 3 000 *	> 3 000 *

* 为与阴性比较 > 2 倍的回复菌落数。

2. 2 MTBE 无铅汽油、纯汽油小鼠骨髓细胞微核试验

MTBE 无铅汽油、纯汽油染毒 3 个剂量组的微核率, 经 Dunnett's *t* 检验, 与阴性对照组相比差异不显著 (表 2、表 3)。

表 2 MTBE 无铅汽油的小鼠骨髓微核试验结果

样品	浓度 (mg/m ³)	动物数 (只)	微核率 (‰)	
			$\bar{x} \pm s$	R 值 (%)
阴性对照	—	8	1.25±1.16	100.0
无铅汽油	68 640	8	2.88±2.10	230.4
	34 320	8	2.75±0.89	220.0
	2 288	8	1.58±1.77	120.0
环磷酰胺	50 (mg/kg)	8	25.14±6.20 *	2 001.1

* 为与阴性对照组相比 $P < 0.05$ 。

表 3 纯汽油的小鼠骨髓微核试验结果

样品	浓度 (mg/m ³)	动物数 (只)	微核率 (‰)	
			$\bar{x} \pm s$	R 值 (%)
阴性对照	—	8	1.63±0.92	100.0
纯汽油	108 798	8	1.75±1.65	107.4
	54 399	8	1.13±1.25	69.3
	3 627	8	2.38±1.77	146.0
环磷酰胺	50 (mg/kg)	8	23.25±5.60 *	1 426.4

* 为与阴性对照组相比 $P < 0.05$ 。

3 讨论

甲基叔丁基醚 (MTBE) 作为一种新型的汽油添加剂, 可提高汽油辛烷值, 减少 CO 及其他有害物质 (如臭氧、苯、丁二烯等) 的排放, 并可替代四乙基铅用作汽油抗爆剂, 且其生产简单、使用方便, 目前已成为全世界使用最广泛的汽油添加剂。关于 MTBE 的毒性, 目前国内外众多的研究资料表明, 它无明显的遗传毒性, 在各种 Ames 试验、微核试验中均呈阴性, 但在高剂量条件下具有一定的动物致癌性, 有神经毒性、发育毒性, 上述毒性的机制目前还不清楚^[1~3]。有的学者在程序外 DNA 合成 (UDS) 试验中得到的结果为阳性^[4], 有的为阴性^[5], 这可能与不同方法和不同系统之间的敏感性不同有关。赵进顺等用国产 MTBE 进行的 Ames 试验结果为阴性^[6], 本研究的 Ames 试验显示, TA97、TA98、TA100、TA102 在加与不加 S9 的情况下, 细菌回复突变率无明显增加, 表明在本试验条件下 MTBE 无铅汽油对 TA97、TA98、TA100、TA102 菌株无致突变作用。

王河川等进行的小鼠吸入 70 号汽油对骨髓细胞染色体及微核损伤的实验研究结果表明, 90 天吸入汽油对小鼠骨髓细胞染色体有损伤作用^[7]。我们的微

核试验结果表明, MTBE 无铅汽油及纯汽油各剂量组的微核率与阴性对照组相比差异均无显著性, 连续 4 天吸入 MTBE 无铅汽油及纯汽油未发现有染色体损伤作用。

有学者通过 Ames 试验、体外微核试验对含铅和无铅汽油尾气的遗传毒性进行比较, 发现两种汽油的尾气同样具有遗传毒性, 单位质量的颗粒提取物的遗传毒性没有显著性差异^[8,9], 由于单纯的取代四乙基铅对尾气中有机物的排放影响较小, 因此毒性变化较小, 单位时间内使用无铅汽油能显著地降低汽车尾气中颗粒物的排放, 减少幅度近 60%, 这无疑会使对人体的危害有所降低, 而汽车尾气的危害不仅仅是铅的污染, 无铅与无害汽油是两种概念, 本次试验初步表明 MTBE 无铅汽油没有致突变性和染色体损伤作用, 但我们在考虑单纯接触 MTBE 无铅汽油的加油站工作人员、运送汽油的卡车司机等职业人群的同时, 还应重视 MTBE 无铅汽油使用后对环境、人群健康的影响。有关 MTBE 无铅汽油的其他毒性还要进一步研究, 以减少对人群健康的可能危害。

参考文献:

- [1] Belpoggi F, Soffritti M, Maltoni C. Methyl-tertiary-butyl ether (MTBE) — a gasoline additive-causes testicular and lymphohaematopoietic cancers in rats [J]. *Toxicol Indust Health*, 1995, 11 (2): 119-224.
- [2] Rudolph K. Methyl-tertiary-butyl ether (MTBE) — evaluation of MTBE carcinogenicity studies [J]. *Toxicol Indust Health*, 1995, 11 (2): 167-172.
- [3] Daughtrey W, Gill M, Pitts L et al. Neurotoxicological evaluation of methyl tertiary butyl ether in rats [J]. *J Appl Toxicol*, 1997, 17(S1): 57-63.
- [4] 周伟, 叶舜华. 甲基叔丁基醚遗传毒性研究 [J]. *卫生研究*, 1998, 27 (5): 309-312.
- [5] McKee RH, Vergnis JS, Galvin JB, et al. Assessment of the in vivo mutagenic potential of methyl-tertiary-butyl ether [J]. *J Appl Toxicol*, 1997, 17, (S1): 31-37.
- [6] 赵进顺, 黄关麟, 田世兰, 等. 甲基叔丁基醚的蓄积毒性和遗传毒性研究 [J]. *中国公共卫生学报*, 1999, 18 (2): 104-108.
- [7] 王河川, 李克, 殷学军, 等. 小鼠慢性吸入 70 号汽油对骨髓细胞染色体及微核损伤的实验研究 [J]. *癌变·畸变·突变*, 1998; 10 (5): 289-292.
- [8] 袁东, 叶舜华, 周伟, 等. 含铅、无铅汽油尾气排出物遗传毒性比较 [J]. *上海环境科学*, 1999, 18 (7): 328-331.
- [9] 袁东, 周伟, 叶舜华. 含铅和无铅汽油汽车尾气成分和致突变性 [J]. *环境与健康杂志*, 1999, 16 (3): 125-128.

酒精中毒出现胼胝变性 1 例报告

赵勇¹, 张德军²

(1. 沈阳医学院附属中心医院, 辽宁 沈阳 110024; 2. 沈阳市第九人民医院, 辽宁 沈阳 110024)

胼胝体变性最早报道见饮红葡萄酒的意大利老年人, 国内报道少见, 现将我院收治的 1 例酒精中毒者出现胼胝体变性报告如下。

王某, 男, 45 岁, 自 19 岁始每日饮酒 500ml, 至今已 26 年。近 2 年逐渐出现运动减慢、精神抑郁、记忆力下降、肌体震颤等症状。于 2000 年 9 月 5 日上午 9 时左右因一次饮酒 250ml, 2 小时后出现抽搐、谵妄而入院诊治。

查体: T 36.4℃, P 84 次/分, R 21 次/分, BP 65/105mmHg。昏睡状态, 呼之不应, 压眶反应(+), 双瞳孔等大正圆; 对光反射略迟钝, 口角无偏斜, 颈略强直, 双肺呼吸音清; 心音纯, 律整, 腹平, 肌张力稍强, 双肾区有叩击痛; 双巴氏征阴性, 生理反射存在, 病理反射未引出。

实验室检查: WBC $7.2 \times 10^9/L$, 血糖 5.2mmol/L, 血清钾、钠、钙、氯正常, 肝转氨酶均在正常参考范围内, 尿常规及尿素氮肌酐亦均正常, B 超示肝脾不大。给予肌注安定 10mg, 吸氧及对症治疗, 病情不见好转, 逐渐昏迷。9 月 7 日 CT 平扫示: 胼胝体膝部及压部广泛低密度, 并延伸至额叶、

枕叶白质, 未见明显占位效应, 脑室尚对称, 大小尚可; CT 增强扫描未见低密度区有强化。CT 诊断: 脑白质病, 胼胝体变性。

9 月 13 日行 MRI 检查: 双侧大脑半球半卵圆中心区见片状 T₁WI 低、T₂WI 高信号影。胼胝体膝、压部见 T₁WI 低、T₂WI 高信号影。中线结构居中, 脑室系统未见异常, 脑干及小脑未见异常信号影。MRI 诊断: 大脑半球及胼胝体广泛白质病变, 结合病史考虑酒精中毒。病人 12 日后死亡。

讨论: 胼胝体变性又称原发性胼胝体萎缩或 Marchiafava-Bignami 二氏病, 病因不清, 多见于嗜酒者。认为与酒精中毒有关, 其病理改变特征为胼胝体中央部坏死, 脱髓壳及软化灶形成。也可侵及前后联合及其他白质区, 病灶基本对称, 病灶周边区可保持完好。临床表现为局限性或弥漫性脑组织受累。病情渐进发展, 无缓解, 对各种治疗无明显反应, 一般数年内死亡。该患嗜酒多年且量大, 其影像学所见与临床表现符合该病的典型特征, 考虑其胼胝体变性为酒精中毒所致。

(收稿日期: 2001-06-14; 修回日期: 2001-07-17)