

橡胶工人淋巴细胞 DNA 链断裂的研究

陈月华¹, 朱昌洪¹, 韦拔雄¹, 江朝强¹, 林大庆², 许启荣¹

(1. 广州市第十二人民医院, 广东 广州 510620; 2. 香港大学社会医学系)

摘要: 目的 观察橡胶生产的职业暴露对作业工人淋巴细胞 DNA 损伤的影响。方法 应用彗星试验检测某橡胶厂 281 名生产工人淋巴细胞 DNA 的损伤, 以 90 名管理人员为对照组。结果 生产工人的彗星矩 (TM) 大于管理人员 (1.77 μ m 与 1.52 μ m, $P=0.04$), 6 个工种中以混合车间工人的 TM 值最大, 其余依次为整理、压延、硫化和维修等组, 管理人员组的 TM 值最小 ($F=3.21$, $P=0.008$)。吸烟 ($P=0.012$)、饮酒 ($P=0.013$) 可使 TM 值显著增加。结论 橡胶生产的职业接触、吸烟可致淋巴细胞 DNA 损伤。

关键词: 职业接触; 彗星试验; DNA 损伤

中图分类号: R135.1; R394.6 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2002)01-0010-03

Studies on breakage in DNA chain of lymphocytes in rubber workers

CHEN Yue-hua¹, ZHU Chang-qi¹, WEI Ba-xiong¹, JIANG Chao-qiang¹, LIN Da-qing², XU Qi-rong¹

(1. Guangzhou Municipal No. 12 Hospital, Guangzhou 510620, China; 2. Department of community Medicine, The University of Hong Kong)

Abstract: Objective To study the effects of exposure to rubber production on lymphocytic DNA damage in the workers.

Methods With comet assay, lymphocytic damage in 281 production workers and 90 managerial workers of a rubber factory were examined for lymphocytic DNA damage. **Results** Tail moment (TM) in comet assay was greater in the production workers (1.77 μ m) than in the managerial workers (1.52 μ m), with a P value of 0.04, and the largest TM was observed in workers of the mixers followed by the finishers, the calendaring workers, vulcanizers and maintenance workers, and the smallest TM was seen in the managerial workers with F of 3.21 and P value of 0.008. TM could be increased by smoking, adjusted for other covariates.

Conclusions Occupational exposure in rubber production and smoking could cause lymphocytic DNA damage in the workers.

Key words: Occupational exposure; Comet assay; DNA damage

橡胶工业使用了大量的化学物质 (原材料、硬化剂、催化剂、活化剂、着色剂、其他溶剂), 其中有些已被证实有致癌致突变作用, 使淋巴细胞姐妹染色单体交换和微核率增高^[1]。橡胶生产工人中膀胱癌、肺癌和白血病的发病率增高^[2-4]。但有关橡胶作业工人的职业接触与 DNA 链断裂的关系在国际上研究不多, 国内更未见报道。彗星试验 (即单细胞凝胶电泳) 是一种灵敏、简单的测量 DNA 链损伤的方法, 我们用彗星试验的方法对广州市某橡胶厂生产工人的淋巴细胞 DNA 损伤进行研究, 以探讨职业暴露等因素与淋巴细胞 DNA 损伤的关系。

1 材料与方法

1.1 生产环境监测

该橡胶厂主要是把天然橡胶加工成轮胎、大小缓冲垫及其他橡胶产品。环境监测点为压延、整理、硫化和混合车间的粉尘浓度、硫化氢和二氧化硫等含量及温度和风速。

1.2 调查对象

为广州市某橡胶厂 5 个工种 281 名生产工人 (男 145 人, 女 136 人), 90 名管理人员为对照组 (男 52 人, 女 38 人)。职业史、健康状况、吸烟和饮酒史通过填写询问表获得。静脉抽血采样, 肝素抗凝, 4℃ 保存。

1.3 彗星试验

淋巴细胞包埋于琼脂糖中, 经碱性裂解、蛋白酶消化、解螺旋及电泳后加 20 μ g/ml 溴乙锭染色, 在德国 ZEISS 荧光显微镜下阅片, 用 Komat 4.0 图象分析仪 (英国) 分析, 以彗星矩 (TM) 作为 DNA 损伤的指标, 彗星矩即细胞电泳后 DNA 裂解片段从细胞核析出在凝胶板上所形成的彗星形态图像由彗星头 (细胞核) 到彗星尾的最长距离, 其中包括头尾的面积比、尾长、尾高等多项指标, 每个样品测量 50 个细胞的 TM 值, 由于其 TM 值不呈正态分布, 取中位数做下一步分析。详见 ZHU 等文献^[5]。

1.4 统计分析

由于 TM 值分布向右拖尾, 所有 TM 值先经过自然对数转换, 然后用 SPSS 8.0 软件包进行卡方检验、相关分析、方差分析及协方差分析。

收稿日期: 2001-05-15; 修回日期: 2001-09-17

基金项目: 本研究受广东省科技厅、广州市卫生局资助 (编号:

98-131)

作者简介: 陈月华 (1951-), 广东广州人, 副主任医师。

2 结果

2.1 环境监测

各车间温度 24.9 °C, 相对湿度 58%~80%, 风速 0.1~0.2 m/s, 都较为接近。硫化车间的 SO₂、H₂S 浓度远远低于国家的最高容许浓度值 (MAC, 分

别为 10 mg/m³ 和 15 mg/m³), 粉尘中游离 SiO₂ 含量范围 1.05%~5.22%。混合车间粉尘浓度最高, 甲苯浓度最高为 381.9 mg/m³, 超过 MAC 2.8 倍, 详见表 1。

表 1 作业环境各有害因素监测结果 ($\bar{x} \pm s$)

采样点	粉尘	甲苯	二甲苯	汽油	硫化氢	二氧化硫
硫化车间	1.8±0.6	13.9±2.9	3.6±3.8	7.7±4.1	1.2±0.2	低于检出限
压延车间	8.0±4.0	43.0±36.6	18.2±12.2	39.1±25.6	低于检出限	低于检出限
整理车间	12.2±5.6	12.1±3.2	3.2±4.2	1.1±0.8	低于检出限	低于检出限
混合车间	22.2±22.9	381.9±124.2	18.9±7.4	19.3±5.8	低于检出限	低于检出限

2.2 一般情况比较

从健康询问表的综合资料中可见, 管理人员年龄 [(44.5±9.5) 岁] 较生产工人 [(37.8±8.9) 岁] 大, 差别有显著性。管理人员和生产工人吸烟和饮酒状况相似, 男性分别为 65.4%、26.99% 和 66.29%、24.1%; 女性在管理人员组中无吸烟、饮酒, 在生产工人组中有 6 人 (4.4%) 吸烟和 4 人 (2.9%) 饮酒, 差别无显著性。

2.3 DNA 损伤情况

性别和年龄对生产工人的 DNA 损伤无影响, 生产工人的 DNA 损伤较管理人员为重 (1.77 μm 与 1.52 μm, P=0.04)。吸烟和饮酒可致 DNA 损伤, DNA 损伤在管理人员及 5 个工种中的差别有显著意义 (F=3.21, P=0.008), 混合车间工人 TM 值最大, 其余依次为整理、压延、硫化、维修, TM 值最小的是管理人员组, 剔除职业暴露、吸烟及饮酒因素的影响, 在即不抽烟又不饮酒的管理人员当中, 年龄和性别对 DNA 损伤也未见影响。工龄长短与 DNA 损伤关系不大, 故未列出。详见表 2。

2.4 TM 的方差分析

利用一般的线性模型对吸烟、饮酒、职业接触、性别、年龄作协方差分析, 发现经校正年龄、性别、吸烟及职业暴露等因素后, 显示橡胶作业工人的吸烟 (P=0.012)、饮酒 (P=0.013)、职业暴露 (P=0.027) 等可致淋巴细胞 DNA 损伤, 年龄与性别对 TM 影响不大 (表 3)。本研究还发现, 淋巴细胞 DNA 损伤随每天吸烟量的增加而增加 (P=0.033)。

表 2 职业暴露、吸烟、年龄、性别对 TM (μm) 的影响

		例数	TM (95%可信限)	P 值
年龄	30 岁以下	89	1.58 (1.38~1.80)	0.38
	31~40 岁	85	1.60 (1.40~1.84)	
	41~50 岁	162	1.79 (1.63~1.96)	
	50 岁以上	35	1.65 (1.33~2.04)	
性别	男	197	1.74 (1.60~1.89)	0.50
	女	174	1.67 (1.52~1.82)	
暴露	管理人员	90	1.52 (1.36~1.71)	0.04
	生产工人	281	1.77 (1.64~1.90)	
吸烟	未吸烟	235	1.59 (1.47~1.71)	0.03
	吸烟	136	1.93 (1.74~2.13)	
饮酒	不饮酒	318	1.63 (1.53~1.74)	<0.001
	饮酒	53	2.21 (1.87~2.62)	
	混合	25	2.54 (1.95~3.31)*	
工种	整理	52	1.81 (1.48~2.21)	0.008
	维修	43	1.63 (1.36~1.97)	
	压延	67	1.77 (1.54~2.03)	
	硫化	94	1.64 (1.46~1.83)	
	混合	25	2.54 (1.95~3.31)*	
	管理人员	90	1.52 (1.36~1.71)	
合计		371	1.70 (1.60~1.81)	

与管理人员相比较 * P=0.002

3 讨论

本研究对 371 人进行了淋巴细胞 DNA 损伤的检测, 结果表明橡胶生产的职业接触、吸烟、饮酒明显增加淋巴细胞 DNA 损伤, 生产工人比管理人员的 TM

表3 TM 的方差分析

	总方差	自由度	平均方差	F 值	P 值
正常值	8.38	5	1.67	4.86	0.000
中位数	3.37	1	3.37	9.76	0.002
职业暴露者	1.71	1	1.71	4.96	0.027
吸烟	2.19	1	2.19	6.36	0.012
饮酒	2.15	1	2.15	6.23	0.013
性别	1.13	1	1.13	3.26	0.072
年龄	0.27	1	0.27	0.77	0.382
误差	126.02	365	0.35		
合计	239.65	371			
正常值合计	134.41	370			

值大,混合车间 TM 值最大。这是因为称料和混合均在混合车间进行,因而混合车间工人接触粉尘和甲苯的浓度最高,它们都超过了我国车间空气最高容许浓度。Sorsa S^[6] 和 Rendon S^[7] 分别观察到混合车间工人染色体畸变和 SCE 频率增加,我们的本次研究结果与他们的发现相符合。

橡胶生产工人在硫化过程中接触到大量的有害化学物质,如 PAHs、1,3-丁二烯、苯乙烯等,均有损伤 DNA 作用,由 PAHs 的活性代谢产物与生物大分子如蛋白质和 DNA 的亲核区反应所致的 DNA 氧化损伤以及 DNA 修补能力降低被认为是橡胶生产工人 DNA 损伤的机制;某些活性代谢产物可同时与蛋白质和 DNA 作用,形成 DNA-蛋白质交联。本研究方法中在电泳前使用蛋白酶 K 处理细胞就是为了断开 DNA-蛋白质交联,保证了实验结果的准确,因为这种交联会阻滞 DNA 碎片的迁移,从而影响结果。

生活因素如吸烟、饮酒在职业卫生工作中作为混杂因素应加以重视。Barale S^等发现作业工人吸烟可使 SCE 增高^[8],我们以前的研究也表明吸烟与烟草工人的职业接触对 DNA 损伤有协同作用^[9]。本研究发现在橡胶作业工人当中,吸烟、饮酒也可使 DNA 断裂增加,所以作业工人的吸烟、饮酒等生活习惯也应为职业卫生所关注。

参考文献:

[1] M Sasiadek. Cytogenetic studies of workers from the rubber industry [J]. *Mutat Res* 1992, 279: 195-198.

[2] M kogevinas, M Sala, P Boffetta, et al. Cancer risk in the rubber industry: a review of the recent epidemiological evidence [J]. *Occup Environ Med*, 1998, 55: 1-2.

[3] International Agency for Research on Cancer: The rubber industry, Monographs on the evaluation of carcinogenic risk chemicals to human [M]. Vol 28, Lyon: IARC, 1982.

[4] International Agency for Research on Cancer: Overall evaluation of carcinogenicity. An updating of IARC monographs. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk chemicals to human [M]. Vol 42 (suppl 7), Lyon IARC, 1987.

[5] CQ Zhu, TH Lam, CQ Jiang, et al. Increased lymphocyte DNA strand breaks in rubber workers assay [J]. *Mutat Res* 2000, 470: 201-209.

[6] M Sorsa, J Maki-paakkanen, H Vainio. A chromosome study among worker groups in the rubber industry [J]. *Scand-J-Work Environ Health*, 1983 (suppl 2), 9: 43-47.

[7] A Rendon, A Rojas, S I Fernandez et al. In chromosome aberrations and in abnormal sperm morphology in rubber factory workers [J]. *Mutat Res* 1994, 323: 151-157.

[8] Barale R, Chebotti L, Divini T, et al. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1 650 subjects in an Italian population: 2 contribution of sex, age and lifestyle [J]. *Environ Mol Mutagen*, 1998, 31: 228-242.

[9] CQ Zhu, TH Lam, CQ Jiang, et al. Lymphocyte DNA damage in cigarette factory workers measured by the comet assay [J]. *Mutat Res*, 1999, 444: 1-6.

(上接第9页) 用于精子和精细胞,对生殖细胞具有遗传学效应,而且存在着剂量效应关系。

参考文献:

[1] 罗圣庆,李玉贵. 锰对雄性生殖功能危害的研究进展 [A]. 顾祖维. 职业医学进展 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 82-86.

[2] 吴卫平. 锰的雄性生殖毒性 [J]. 国外医学卫生学分册, 1990, 6: 324-327.

[3] 罗圣庆, 王子元, 王秀铃. 锰对雄性小鼠睾丸生殖功能的作用 [J]. 卫生研究, 1995, 24 (特辑): 49.

[4] Barlow SM. Reproductive hazard of industrial chemicals [J]. Academic press, 1982, 370.

[5] 庄碧嘉, 陈月华, 曹易琼. 硫酸锰对雄性小鼠生殖系统的亚慢性毒性影响 [J]. 卫生毒理学杂志, 1996, 10 (2): 97-99.