

• 专题研究 •

低浓度苯作业工人外周血象及尿中苯代谢产物分析

刘洋^{1,2}, 张巧耘^{1,2}, 韩磊², 钟丽², 曹敬莲², 夏超一^{1,2}, 卞倩², 朱宝立^{1,2}

(1. 东南大学环境医学工程教育部重点实验室, 江苏 南京 210009; 2. 江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210028)

摘要: 目的 分析低浓度苯作业工人外周血象及尿反反式粘糠酸 (μ -MA)、8-羟基脱氧鸟苷 (8-OHdG) 浓度改变及影响因素, 探究低浓度苯接触是否引起作业工人健康损害并为筛选苯的暴露及效应标志提供依据。方法 选取某大型石化企业低浓度苯接触工人 256 人与某高新技术企业不接苯工人 155 人, 调查问卷收集研究对象一般情况、生活习惯及职业史等情况, 采集生物样本, 检测血常规指标及尿 μ -MA、8-OHdG 浓度, 使用 SPSS13.0 统计软件对数据进行统计分析。结果 两组血常规指标存在显著性差异, 尿中 μ -MA 含量差异存在统计学意义 ($P < 0.01$); WBC 计数与接苯工龄及尿中 μ -MA、8-OHdG 浓度存在相关关系。结论 低浓度苯接触可引起工人外周血细胞计数降低, 尿 μ -MA 浓度增高。

关键词: 低浓度苯接触; 外周血象; 反反式粘糠酸 (μ -MA); 8-羟基脱氧鸟苷 (8-OHdG)

中图分类号: R135.1; O625.11 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2013)05-0347-03

Analysis on peripheral hemogram and urinary benzene metabolites
in workers with low-level benzene exposure

LIU Yang*, ZHANG Qiao-yun, HAN Lei, ZHONG Li, CAO Jing-lian, XIA Cao-yi, BIAN Qian, ZHU Bao-li

(* . Key Laboratory for Environmental Medicine Engineering of Ministry of Education, Southeast University, Nanjing 210009, China)

Abstract: **Objective** To analyze the peripheral hemogram, the levels of urinary μ -MA and 8-OHdG as well as their influencing factors in workers exposed to low-level benzene, exploring, whether low-level benzene exposure could damage workers' health and thereby providing the evidence for the screening of benzene exposure or effect markers. **Methods** 256 workers exposed to low-level benzene from a large petrochemical enterprise and 155 controls from an advanced tech enterprise were selected as the subjects of the study. The questionnaire was used for investigation of general situation, living habits, occupational history, etc., biological samples were taken, meantime, for blood routine examination and urinary μ -MA and 8-OHdG analysis. The data was analyzed with SPSS software system, version 13.0. **Results** There were obvious differences in blood routine index and urinary μ -MA between two groups ($P < 0.01$), it was observed as well that the correlation relationship was existed among WBC count, working age, and urinary levels of μ -MA and 8-OHdG. **Conclusion** The results show that low-level benzene exposure may induce peripheral blood cells decrease, and urinary μ -MA increase.

Key words: low-level benzene exposure; peripheral hemogram; trans,trans muconic acid (μ -MA); 8 hydroxy deoxyguanosine (8-OHdG)

随着人们对苯危害的认识, 各国纷纷改良生产工艺, 含苯制剂逐步被取代, 多数企业工作场所空气中苯浓度低于国家职业接触标准。低浓度苯接触是否造成作业工人健康损害, 尿中苯代谢产物如反反式粘糠酸 (μ -MA) 及 8-羟基脱氧鸟苷 (8-OHdG) 是否可作为低浓度苯的接触及早期损伤效应标志物, 均少有文献报道, 本文拟对此进行探讨。

1 对象与方法

1.1 对象

接触组为某大型石化企业工人 256 人, 对照组为某高新技术企业工人 155 人, 两组人员无原发血液系统疾病及家族史, 无血液毒性药物服用史, 半年内无射线接触史, 近期无感染史。调查问卷收集研究对象一般情况、吸烟史、职业史、既往病史等信息。该课题获得江苏省疾病预防控制中心伦理委员会批准, 所有研究对象均知情同意并签字。

1.2 工作环境苯浓度测定

按照《工作场所空气中有害物质监测的采样规范》(GBZ159—2004) 采集接苯作业工人呼吸带空气, 采用《工作场所空气有毒物质测定 芳香烃类化合物》(GBZ/T160.42—2007) 测定作业环境空气中苯浓度。

1.3 生物样品收集及处理

2011 年 9 月, 在企业职业健康体检中, 每个研究对象采

收稿日期: 2013-03-04; 修回日期: 2013-07-01

基金项目: 卫生部卫生行业科研专项 (200902006); 江苏省医学创新团队与领军人才项目 (LJ201130), 东南大学环境医学工程教育部重点实验室开放课题资助项目 (2012EME001)

作者简介: 刘洋 (1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 职业安全卫生与职业病。

通讯作者: 朱宝立, 主任医师, E-mail: zhubl@jscdc.cn。

集静脉血 2 ml 分别置于 EDTA 抗凝管中, 进行血常规分析, 获得白细胞 (WBC)、红细胞 (RBC)、血红蛋白 (Hb) 及血小板 (PLT) 计数。采集研究对象班末尿 20 ml, 分留 5 ml 尿样测定尿肌酐含量, 余按 1:100 加酸防腐于 -20°C 冷冻保存。要求采样前一日及当日禁食含防腐剂的食品和禁止吸烟。尿样经解冻、离心、调节 pH、 C_{18} 固相萃取柱富集净化后, 用高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 测定作业工人尿中 8-OHdG 和 μ -MA 的含量, 测定结果用尿肌酐进行校正。

1.4 统计分析

所有数据经 EpiData3.1 录入建立数据库, 采用 SPSS13.0 统计软件对数据进行分析, 主要统计分析方法包括描述性统计分析、 χ^2 检验、 t 检验、非参数 Mann-Whitney U 检验及秩和相关分析等。

2 结果

2.1 一般情况

接触组 256 人 (男 221 人、女 54 人), 平均年龄 (37.23 ± 7.58) 岁, 平均工龄 (13.50 ± 8.05) 年, 吸烟者 134 人 (52.3%), 不吸烟者 122 人 (47.7%)。对照组 155 人 (男 136 人、女 19 人), 平均年龄 (38.99 ± 9.83) 岁, 平均工龄

(14.75 ± 8.45) 年, 吸烟者 79 人 (51.0%), 不吸烟者 76 人 (49.0%)。经均衡性检验, 两组性别、年龄、吸烟等情况差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 工作环境苯浓度检测结果

本次检测在接触组石化企业共设采样点 38 个, 获得有效样品 82 份, 空气中苯浓度在 $<0.13 \sim 0.7 \text{ mg/m}^3$ 之间, 低于我国苯职业接触限值水平 (6 mg/m^3 , PC-TWA; 10 mg/m^3 , PC-STEL)。查阅该企业 2005 年投产以来历年作业场所环境监测资料, 苯浓度均低于我国苯职业接触限值, 且无其他血液毒性有毒有害物质。

2.3 两组血常规指标及尿中代谢产物浓度测定结果

有下列情况之一认为血常规检查异常: WBC 计数低于 $4.5 \times 10^9/\text{L}$, PLT 计数低于 $8.0 \times 10^9/\text{L}$, RBC 计数男性低于 $4.0 \times 10^{12}/\text{L}$ 或女性低于 $3.5 \times 10^{12}/\text{L}$, Hb 男性低于 120 g/L 或女性低于 110 g/L [1]。接触组血常规异常率高于对照组, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.82$, $P = 0.028$), 低浓度苯接触组外周血象检查 WBC、RBC、Hb 及 PLT 计数均值均低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 详见表 1。两组尿中代谢产物 μ -MA 浓度差异有统计学意义 ($t = -7.87$, $P < 0.01$), 8-OHdG 浓度差异无统计学意义 ($t = -1.48$, $P > 0.05$)。详见表 2。

表 1 接触组与对照组血常规测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	受检人数	异常人数	异常率 (%)	WBC($\times 10^9/\text{L}$)	RBC($\times 10^{12}/\text{L}$)	Hb(g/L)	PLT($\times 10^9/\text{L}$)
接触组	256	32	12.50*	$5.96 \pm 1.14^{**}$	$4.85 \pm 0.41^{**}$	$145.28 \pm 13.82^{**}$	$189.38 \pm 39.94^{**}$
对照组	155	9	5.81	6.45 ± 1.48	5.06 ± 0.44	156.40 ± 14.22	203.43 ± 48.08

注: 两组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 2 接触组与对照组尿中 μ -MA、8-OHdG 浓度比较 $\mu\text{g/gCr}$

组别	受检人数	μ -MA		8-OHdG	
		检出人数	$\bar{x} \pm s$	检出人数	$\bar{x} \pm s$
接触组	256	256	$31.14 \pm 16.76^{**}$	255	3.04 ± 1.73
对照组	155	155	19.93 ± 12.03	150	2.78 ± 1.63

注: 两组比较** $P < 0.01$ 。

2.4 性别、吸烟、劳动保护措施及工龄对尿中 μ -MA 和 8-OHdG 浓度的影响

两组不同性别受检者尿中 μ -MA 和 8-OHdG 浓度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组吸烟个体尿中 μ -MA 浓度高于不吸烟个体, 差异有统计学意义 ($Z = -3.19$, $P < 0.01$; $Z' = -3.22$, $P' < 0.01$); 两组吸烟个体尿 8-OHdG 浓度均数高于不吸烟个体, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。低浓度苯接触组严格遵守劳动保护措施者尿中 μ -MA 和 8-OHdG 浓度均低于不遵守劳动保护措施者, 差异有统计学意义 ($Z_1 = -5.92$, $P_1 < 0.01$; $Z_2 = -4.86$, $P_2 < 0.01$)。

低浓度苯接触组工人根据接苯工龄分为 0~、10~、20~ 年组, 三组个体尿中 μ -MA、8-OHdG 浓度均值 ($M \pm Q$) 分别为 (18.64 ± 12.44)、(35.65 ± 22.27)、(41.20 ± 26.95) $\mu\text{g/gCr}$ 和 (2.28 ± 1.71)、(2.69 ± 2.23)、(2.57 ± 2.37) $\mu\text{g/gCr}$, 各组间 μ -MA、8-OHdG 浓度差异有统计学意义 ($\chi^2_1 = 69.97$, $P_1 < 0.01$; $\chi^2_2 = 6.44$, $P_2 = 0.04 < 0.05$)。经 Spearman 相关分析显示, 工龄与尿中 μ -MA 浓度呈正相关 ($P < 0.01$)。

2.5 接触组血常规指标与尿中代谢产物浓度及工龄间的关系

将血常规指标与尿代谢产物浓度及工龄进行 Spearman 相关性分析, WBC 计数与尿中 μ -MA、8-OHdG 浓度呈负相关, 相关系数分别为 -0.31 、 -0.14 , 相关性具有统计学意义 ($P_1 < 0.01$, $P_2 = 0.03 < 0.05$)。WBC 及 RBC 计数与接苯工龄呈负相关, 相关系数分别为 -0.36 、 -0.13 ($P_1 < 0.01$, $P_2 = 0.04 < 0.05$)。详见表 3。

表 3 接触组血常规指标与尿中代谢产物浓度、工龄的相关关系

指标	WBC($\times 10^9/\text{L}$)	RBC($\times 10^{12}/\text{L}$)	Hb(g/L)	PLT($\times 10^9/\text{L}$)
μ -MA($\mu\text{g/gCr}$)	-0.31^{**}	0.02	0.01	-0.01
8-OHdG($\mu\text{g/gCr}$)	-0.14^*	0.02	0.05	-0.02
工龄(年)	-0.36^{**}	-0.13^*	-0.07	-0.01

注: 相关性检验, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3 讨论

长期接触较高浓度苯具有血液毒性, 造成血细胞计数降低, 低浓度苯接触能否引起血液毒性, 国内外研究尚存在争议。有研究比较了 387 名低浓度苯接触工人 (平均浓度 0.55 ppm) 与 553 名不接苯工人的外周血细胞计数, 未发现显著性差异 [2]。Tsai 等 [3] 调查了一大型石化企业低浓度苯环境 (1977 年至 1988 年 8 h-TWA 均值为 0.55 ppm, 1988 年后 8 h-TWA 均值降低至 0.14 ppm) 对工人外周血象的影响, 1200 名低浓度接苯工人与 3277 名不接苯工人的全血细胞计数差异未见统计学意义。Gerard 等 [4] 在 1981 年至 2007 年期间采集了 8532 份低浓度接苯血样与 12 173 份不接苯血样, 分析血象指标

未发现差异;进一步将接触组按接苯浓度分成三组 (<0.5 ppm, $0.5 \sim 1$ ppm 及 >1 ppm),也未发现存在显著差异。国内研究却发现空气平均苯浓度低于 1 ppm 作业环境中的 250 名工人白细胞及血小板计数显著低于 140 名不接苯对照组工人^[5]。本次研究低浓度苯接触组血常规异常率显著高于对照组,接触组血常规指标 WBC、RBC、Hb 及 PLT 计数均值均低于对照组,差异存在统计学意义。提示低浓度苯接触可引起作业工人外周血细胞计数降低,低浓度苯接触可能会导致血液毒性。将接触组工人工龄与血常规指标进行相关性分析,工龄与 WBC 与 RBC 计数相关系数分别为 -0.36 、 -0.13 ($P_1 < 0.01$, $P_2 < 0.05$),WBC 及 RBC 计数存在随工龄增长而降低的趋势,说明接苯时间越长低浓度苯接触造成的血液毒性可能越严重。关于低浓度苯接触是否引起血液毒性,本研究与国内其他研究结果相一致,但与国外研究结果存在差异,可能与职业卫生防护设备及措施不同、劳动者个体防护意识不同及人种差异有关,具体原因需进一步探索。

tt-MA 是苯在体内经代谢转化形成的微量不饱和短链二羧酸开环化合物,大约摄入苯的 2% 可代谢转换为 *tt*-MA 经尿液排出。有研究对空气中苯浓度与暴露工人尿中 *tt*-MA 含量进行了相关分析,结果显示职业苯接触水平在 0.1 ppm 以上时,两者具有较好相关性,认为 *tt*-MA 可作为苯接触的生物标志^[6]。作为职业苯接触的生物标志,尿中 *tt*-MA 具有特异性好、灵敏度高及便于分析等优点。本研究中,低浓度苯接触组与对照组尿中 *tt*-MA 浓度差异有统计学意义,尿 *tt*-MA 是否可作为低浓度苯作业接触标志可进一步探索,8-OHdG 是活性氧自由基损伤细胞核 DNA 或线粒体 DNA 后形成的产物,可反映 DNA 受羟基基团攻击的损伤,可作为苯致 DNA 损伤效应标志,但并非苯接触的特异标志。刘力等^[7]比较了低、中、高苯接触工人[接苯浓度分别为 (2.5 ± 2.4) 、 (103.3 ± 50.3) 、 (424.4 ± 181.7) mg/m³]与不接苯人员外周淋巴细胞 8-OHdG,随着接苯浓度增加,外周淋巴细胞 8-OHdG 显著增加,但低浓度接触组与对照组间 8-OHdG 含量差异无统计学意义。本研究低浓度苯接触工人与对照组尿中 8-OHdG 浓度差异未见统计学意义,与刘力等的研究结果一致。刘仁平等^[8]认为尿 *tt*-MA 与空气中苯浓度 ($0.25 \sim 5.95$ mg/m³ 范围内)具有较高相关性 ($r = 0.8759$),尿 8-OHdG 作为苯致遗传损伤的效应标志,与接苯浓度有一定的剂量-反应关系 ($r = 0.425$)。本研究分析了尿中代谢产物与血常规的关系,尿中 *tt*-MA、8-OHdG 浓度与 WBC 计数呈负相关,低浓度苯作业环境中工人尿中代谢产物与苯致职业健康损害应存在一定的剂量-反应关系。

研究分析性别、吸烟情况及是否按要求采取劳动保护措施对尿中苯代谢产物浓度的影响,未发现性别对尿 *tt*-MA 和 8-OHdG 浓度有显著影响。接触组和对照组吸烟个体尿 *tt*-MA 和 8-OHdG 浓度均高于不吸烟个体,其中尿 *tt*-MA 浓度差异存在统计学意义,De 等^[9]监测了低浓度苯暴露个体与对照人群尿 *tt*-MA 浓度,也认为吸烟者尿 *tt*-MA 浓度高于不吸烟者。这提示吸烟可能引起个体尿 *tt*-MA 浓度增高。研究还发现低浓度接苯个体中按要求采取劳动保护措施者尿中 *tt*-MA 和 8-OHdG 浓度均显著低于不按要求采取劳动保护措施者,这说明按要求采取劳动保护措施可以有效降低低浓度苯接触对作业工人的健康危害,建议接苯工人在低浓度苯环境中仍需采取合理严格的防护措施。此外,随着工龄的增加,工人尿中代谢产物含量增加,血常规指标 WBC 及 RBC 计数减少,因此,对于工龄较长的苯作业工人,企业应加强职业健康监护,及时调离接苯岗位。

参考文献:

- [1] GBZ188—2007, 职业健康监护技术规范 [S].
- [2] Collins J J, Ireland B K, Easterday P A, et al. Evaluation of lymphopenia among workers with low-level benzene exposure and the utility of routine data collection [J]. J Occup Environ Med, 1997, 39 (3): 232-237.
- [3] Tsai S P, Fox F E, Ransdell J D, et al. A hematology surveillance study of petrochemical workers exposed to benzene [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2004, 40 (1): 67-73.
- [4] Gerard M H Swaen, Ludovic van Amelsvoort, Johannes J Twisk, et al. Low level occupational benzene exposure and hematological parameters [J]. Chemico-Biological Interactions, 2010, 184 (1-2): 94-100.
- [5] Qing Lan, Luoping Zhang, Guilan Li, et al. Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene [J]. Science, 2004, 306 (5702): 1774-1776.
- [6] Scherer G, Renner T, Meger M. Analysis and evaluation of trans, trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1998, 717 (1-2): 179-199.
- [7] 刘力,冯坚持,张桥,等. 苯、甲苯、二甲苯暴露人群遗传毒性生物标志物的研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1996, 14 (1): 1-3.
- [8] 刘仁平,周建华,朱宝立,等. 低浓度苯系物作业人员尿中反-反式粘糠酸、苯巯基尿酸与 8-羟基脱氧鸟苷的关系 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2012, 30 (10): 918-922.
- [9] De Marchis P, Tranchina E, Tranchina G, et al. Benzene low dose exposure: comparison of different biologic markers among exposed workers and the general population [J]. G Ital Med Lav Ergon, 2007, 29 (3): 528-529.

保护劳动者健康是我们共同的责任