

# 二甲基甲酰胺对职业人群外周血淋巴细胞的遗传损伤作用

## Genetic damage of dimethyl formamide on peripheral lymphocytes of occupationally exposed workers

童智敏<sup>1</sup>, 施健<sup>1</sup>, 丁晓飞<sup>1</sup>, 赵进顺<sup>2</sup>, 朱宝立<sup>3</sup>

(1. 昆山市疾病预防控制中心, 江苏 昆山 215301; 2. 宁波大学医学院, 浙江 宁波 315211; 3. 江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009)

**摘要:** 为研究二甲基甲酰胺 (DMF) 的遗传毒性, 选择 85 名作业工人和 75 名非暴露工人作为研究对象, 采用甲基纤维素法和单细胞凝胶电泳法, 分析其微核发生率和 DNA 断裂损伤, 研究显示作业工人微核发生率和 DNA 断裂损伤的细胞数显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且存在一定的剂量-效应关系。提示 DMF 暴露可致工人遗传损伤, DNA 断裂可作为暴露人群的早期效应标志物。

**关键词:** DMF; 职业暴露; DNA 断裂; 微核试验

**中图分类号:** R135.1 **文献标识码:** B

**文章编号:** 1002-221X(2014)06-0445-02

**DOI:** 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.06.021

近年来, 国内二甲基甲酰胺 (DMF) 职业性中毒病例报道逐渐增多, 甚至发生死亡事件, 使 DMF 职业危害日益受到关注。DMF 可通过呼吸道或皮肤吸收, 对全身多个系统及器官产生毒性, 以消化系统尤其是肝脏为主要靶器官<sup>[1]</sup>。本文运用单细胞凝胶电泳试验和微核试验探讨 DMF 对职业人群外周血淋巴细胞遗传物质的损伤作用。

### 1 材料与方法

#### 1.1 研究对象

DMF 作业工人 85 名为暴露组, 均为男性, 接触工龄 1~11 年, 平均工龄 3.7 年, 平均年龄 (35.1 ± 9.3) 岁; 另选不接触有毒有害在本中心健康体检的餐饮业男性工人 75 名为对照组, 接触工龄 0.5~11.8 年, 平均工龄 3.8 年, 平均年龄 (34.3 ± 6.2) 岁, 具有可比性。

#### 1.2 材料

采集研究对象抗凝外周血 1 ml。0.5 g 甲基纤维素溶于 100 ml 的生理盐水。裂解液用 NaCl 12.5 mmol/L、EDTA 100 mmol/L、Tris 10 mmol/L 溶液配制, NaOH 调 pH = 10。临用前加入 1% TritonX-100 和 10% 二甲基亚砷 (DMSO), 4℃ 冰箱放置 30~60 min。电泳缓冲液用 200 mmol/L EDTA 贮备液和 10 mol/L NaOH 贮备液配制, 临用前新鲜配制 EDTA 1 mmol/L、NaOH 300 mmol/L 的应用液, 并调 pH = 13, 4℃ 冰箱放置。中和液用 0.4 mol/L 的 Tris-HCl 配制, 并调 pH = 7.5, 室温放置。染色液为溴乙锭 200 μg/ml 贮备液, 临用前新鲜配制应用液 20 μg/ml, 4℃ 冰箱放置。正常熔点琼脂糖 (NMA, 上海第二生物有限公司产品), 用不含 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 离子的 PBS 配

制成 0.75% 的凝胶溶液; 低熔点琼脂糖 (LMA, 美国 Sigma 公司产品), 用不含 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 离子的 PBS 配制 0.6% 的凝胶溶液。

主要仪器包括荧光显微镜 (日本 Nikon 公司产品, 型号 221884), 稳压稳流电泳仪 (南京科宝仪器公司生产, 型号 Eps604)。

#### 1.3 方法

**1.3.1 健康检查** 按照《职业健康监护技术规范》(GBZ—2007) 中对 DMF 职业健康检查要求进行体检。

**1.3.2 外周血细胞微核试验** 采用甲基纤维素法进行外周血淋巴细胞微核试验, 每例镜检 1000 个嗜多染红细胞并计算其微核细胞的千分率 (%)。

**1.3.3 外周血细胞 SCEG 分析** 采用常规法铺胶涂片, 铺好的胶片在预冷裂解液中 4℃ 裂解 1 h, 然后解旋、电泳、中和及染色。荧光显微镜下观察并测量 DNA 迁移长度 (μm)。结果参照 McKelvey-Martin 等介绍的方法<sup>[5]</sup>, 并加以改进。将细胞损伤分为不同的等级: 正常 (<20 μm)、轻度损伤 (20~39 μm)、重度损伤 (≥40 μm)。每片随机观察并测量 30 个细胞, 计算不同暴露组的损伤等级细胞数。

**1.3.4 统计学分析** 实验所得数值变量资料用 SAS 软件中的单因素方差分析进行多组间的比较, 分类变量资料用 SAS 软件中 R × C 表的  $\chi^2$  检验进行分析比较。

### 2 结果

#### 2.1 基本情况

暴露组工人血常规、尿常规、心电图等与对照组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 肝功能异常率 (ALT、AST 其中任一项指标高于正常参考值即定义为异常) 高于对照组, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.32, P < 0.05$ )。约 35.2% 暴露组工人自述有食欲降低、胃部不适等症状, 以上岗初期尤为明显。

#### 2.2 不同工龄 DMF 作业工人外周血微核、DNA 断裂发生率

经  $F$  检验, DMF 暴露组工龄 ≥ 5 年工人微核发生率较对照组升高, 差异有统计学意义 ( $F = 36.75, P < 0.001$ ); 经  $\chi^2$  检验, <0.5 年和 ≥ 5 年 DMF 作业工人出现损伤细胞的比重与对照组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

#### 2.3 接触不同浓度 DMF 对作业工人外周血微核、DNA 断裂发生率的影响

按接触 DMF 作业场所的时间加权平均浓度 (8h-TWA 为 20 mg/m<sup>3</sup>) 分为 1.6~19.5 mg/m<sup>3</sup> 和 20.0~56.6 mg/m<sup>3</sup> 两组, 经  $F$  检验, DMF 暴露组工人微核发生率 ( $P < 0.01$ ) 均较对照组升高, 差异有统计学意义; 经  $\chi^2$  检验, DMF 暴露组出现 DNA 断裂损伤细胞的比重与对照组比较, 差异有统计学

收稿日期: 2014-02-17; 修回日期: 2014-05-03

基金项目: 江苏省医学领军人才与创新团队项目 (LJ201130)

作者简介: 童智敏 (1977—), 女, 副主任医师, 从事职业卫生工作。

通讯作者: 朱宝立, 主任医师。

意义 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 1 按工龄分层分析 DMF 对作业工人外周血细胞微核率及 DNA 断裂损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	工龄	人数	微核率 (%)	外周血细胞彗星全长细胞数 (个)		
				<20 $\mu\text{m}$	20~39 $\mu\text{m}$	$\geq 40 \mu\text{m}$
暴露组	$\geq 5$ 年 <sup>1</sup>	30	2.62 $\pm$ 0.63 <sup>▲▲</sup>	801	70	29 <sup>▲</sup>
	<5 年 <sup>2</sup>	55	1.35 $\pm$ 0.69	1541	75	34 <sup>▲</sup>
对照组	$\geq 5$ 年	23	1.46 $\pm$ 0.72	643	32	15
	<5 年	52	1.13 $\pm$ 0.55	1492	48	20

注: 经  $\chi^2$  检验,  $\chi_1^2 = 8.31, P = 0.02$ ;  $\chi_2^2 = 7.83, P = 0.02$ ; 与对照组比较, <sup>▲</sup> $P < 0.05$ , <sup>▲▲</sup> $P < 0.01$ 。

表 2 按接触浓度分层分析 DMF 对作业工人外周血细胞微核率及 DNA 断裂损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	DMF 浓度 ( $\text{mg}/\text{m}^3$ )	人数	微核率 (%)	外周血细胞彗星全长细胞数 (个)		
				<20 $\mu\text{m}$	20~39 $\mu\text{m}$	$\geq 40 \mu\text{m}$
暴露组	1.6~19.5 <sup>1</sup>	56	1.74 $\pm$ 0.81 <sup>▲</sup>	1550	92	38 <sup>▲</sup>
	20.0~56.6 <sup>2</sup>	29	1.91 $\pm$ 1.05 <sup>▲</sup>	792	54	24 <sup>▲</sup>
对照组	0	75	1.23 $\pm$ 0.62	2135	80	35

注: 细胞微核率  $F_1 = 16.36, P < 0.0001$ ;  $F_2 = 16.54, P < 0.0001$ 。DNA 断裂  $\chi_1^2 = 11.40, P = 0.003$ ;  $\chi_2^2 = 16.06, P = 0.003$ 。与对照组比较<sup>▲</sup> $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

本研究采用微核试验和彗星试验进一步研究 DMF 对人类

外周血淋巴细胞遗传物质的损伤, 两组人群的年龄、工龄、性别、吸烟等因素均衡可比。结果显示, 作业组的外周血淋巴细胞微核和 DNA 断裂发生率较对照组显著升高, 且与接触工龄和暴露浓度存在一定的剂量-效应关系, 表明职业接触 DMF 可致遗传物质损伤。DMF 在体内经细胞色素 P450E1 催化代谢发生氧化作用, 生成一活性中间产物异氰酸甲酯 (MIC), 其具有亲电活性, 可以与蛋白质、DNA、RNA 等细胞大分子的亲核中心共价结合, 造成机体肝肾器官损伤、姊妹染色体和 DNA 的改变<sup>[2,3]</sup>。因此, DMF 暴露可使工人外周血淋巴细胞微核和 DNA 损伤的危险性明显增加, 其中 DNA 断裂可望成为 DMF 接触人群的早期效应标志物。

本次研究虽注意了质量控制, 但由于样本量过少, 且只在调查期间测定车间空气中 DMF 的浓度, 其动态变化情况并未掌握, 这给结论的外推带来一定的局限性。

#### 参考文献:

- [1] 金丽萍, 丁云龙, 韩承宏, 等. 职业性慢性重度二甲基酰胺中毒性肝病一例的教训 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2012, 30 (1): 70-71.
- [2] 陈砚滕. 二甲基酰胺诱发的人类外周血细胞 DNA 断裂损伤 [J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14 (2): 167.
- [3] 刘祥铨, 郑能雄, 张忠, 等. 二甲基酰胺对青年女工外周血淋巴细胞的遗传毒性 [J]. 中国工业医学杂志, 2012, 25 (2): 137.

## 焦炉工尿 1-羟基芘水平及脱离职业暴露后浓度变化分析

### Analysis on urinary 1-hydroxypyrene level of coke oven workers and its changes after leaving occupational exposure

李刚<sup>1</sup>, 漆骏<sup>1</sup>, 徐丹先<sup>1</sup>, 刘阳<sup>1</sup>, 何越峰<sup>2</sup>, 邢漪<sup>1</sup>

(1. 云南省疾病预防控制中心, 云南 昆明 650022; 2. 昆明医科大学公共卫生学院, 云南 昆明 650042)

摘要: 以某焦化厂焦炉车间 153 名生产工人和无职业性多环芳烃接触者 50 人为研究对象。记录其离开工作岗位的时间, 收集晨尿。用高效液相色谱法测定尿中 1-羟基芘水平。采用方差分析和协方差分析的统计学方法研究不同焦炉位置作业及脱离职业暴露后不同时间对尿 1-羟基芘水平的影响。焦炉工尿 1-羟基芘水平呈现炉顶 > 炉侧 > 炉底 > 对照趋势; 脱离职业暴露后, 焦炉工尿 1-羟基芘水平呈 8 h 以内组 > 8~16 h 组 > 16 h 以上组趋势。说明焦炉的作业位置以及脱离职业暴露后的时间均可影响焦炉工尿 1-羟基芘水平。

关键词: 焦炉工; 尿 1-羟基芘; 脱离职业暴露时间

中图分类号: R136 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2014)06-0446-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.06.022

焦炉工的多环芳烃职业暴露是其尿 1-羟基芘 (1-OHP)

的主要来源, 通过尿 1-羟基芘的含量可以评价焦炉工的多环芳烃类物质总的接触水平。但环境因素如吸烟和个体代谢水平 (代谢酶多态性) 等因素同时可以影响尿 1-羟基芘水平。另外, 由于多环芳烃在体内的代谢是一个动态过程, 在脱离职业暴露后不同时间对焦炉工进行尿样采集分析, 得到的结果可能并不一致。本研究对不同作业岗位焦炉工人脱离暴露后不同时间的尿 1-羟基芘水平进行探讨。

#### 1 对象与方法

##### 1.1 对象

选取某焦化厂工人 203 人进行研究, 其中炼焦车间 153 人, 该厂其他车间无职业性多环芳烃类接触者 50 人, 所有研究对象均为男性。将炼焦车间 153 名焦炉工分为炉顶工、炉侧工和炉底工 3 个外暴露等级, 炉顶工包括导烟车司机、上升管工, 炉侧工包括出推焦车司机、拦焦车司机和装煤车司机, 炉底工包括皮带工、调火工、维修工以及部分行政管理人员。

使用职业健康调查表收集个人基本信息及职业史、吸烟史等信息, 用 50 ml 一次性聚乙烯管收集空腹晨尿, 记录收集尿液时工人离开工作岗位时间。采集后均在 -70℃ 保存, 用

收稿日期: 2013-11-25; 修回日期: 2014-01-20  
 基金项目: 云南省科技厅资助项目 (编号: 2009CD127, 云南省应用基础研究项目)  
 作者简介: 李刚 (1967—), 男, 副主任医师。  
 通讯作者: 漆骏, E-mail: qijunkm@gmail.com。