

# 厨师人群基因组 DNA 总甲基化水平及影响因素分析

孙东旭<sup>1,2</sup>, 张崇华<sup>2</sup>, 郑玮峰<sup>3</sup>, 李征<sup>1</sup>, 张晓峰<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨医科大学公共卫生学院, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 哈尔滨市疾病预防控制中心, 黑龙江 哈尔滨 150056; 3. 哈尔滨市阿城区人民医院, 黑龙江 哈尔滨 150300)

**摘要:** **目的** 探讨烹饪油烟 (cooking oil fume, COF) 对机体基因组 DNA 总甲基化水平的影响。**方法** 选取哈尔滨市内宾馆、酒楼等餐饮业从业人员, 以 120 名中餐厨师作为 COF 暴露人群, 以 120 名从事后勤、市场采购、客房、前台等人员作为对照人群, 进行流行病学问卷调查, 并采集血液进行基因组 DNA 总甲基化水平检测。**结果** COF 暴露组和对照人群的年龄、受教育程度、吸烟情况、二手烟暴露、工龄等因素差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。两组人群 DNA 均有不同程度甲基化, 但暴露组人群 DNA 总甲基化水平显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。多元回归分析表明 COF 暴露量是影响厨师 DNA 总甲基化水平的危险因素, COF 暴露量越大, DNA 总甲基化水平越高。**结论** 在本研究条件下, 长期暴露于 COF 的厨师人群 DNA 总甲基化水平显著高于一般人群, DNA 总甲基化水平与 COF 暴露量成正相关, DNA 总甲基化水平可作为 COF 暴露的候选效应生物学标志物, 应用于厨师人群肿瘤的早期筛查。

**关键词:** 厨师; 烹饪油烟; DNA 甲基化

中图分类号: R134 文献标志码: A 文章编号: 1002-221X(2016)03-0174-04 DOI:10.13631/j.cnki.zggyyx.2016.03.004

## Genomic DNA total methylation level and its influencing factors in cooks

SUN Dong-xu\*, ZHANG Chong-hua, ZHENG Wei-feng, LI Zheng, ZHANG Xiao-feng

(\* . College of Public Health, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

**Abstract: Objective** To explore the effect of cooking oil fumes (COF) on total genomic DNA methylation level. **Methods** 120 Chinese food cooks from hotels and restaurants in Harbin city were selected as COF exposure group; 120 general staffs such as support crew, buyers, room attendants, receptionists, etc. were selected as controls. Epidemiological questionnaire was used and the blood samples of all the study subjects were collected for detection of genomic DNA total methylation level. **Results** There was no significant difference between COF group and control group in age, education level, smoking or secondhand smoke exposure, working years, etc. ( $P<0.05$ ), but the DNA total methylation level was significantly higher in COF group than that in control group ( $P<0.05$ ). Multiple regression analysis showed that COF exposure level was the risk factor of DNA total methylation level on cooks, heavier COF exposure may cause higher DNA total methylation level. **Conclusion** The results suggested that DNA total methylation level of cooks who exposed to COF is significantly higher than that of general population, the level is closely related to COF exposure amount. Therefore, DNA total methylation level may be considered as a candidate biomarkers of COF exposure.

**Key words:** cook; cooking oil fumes (COF); DNA methylation

中餐烹调多采用煎、炒、炸等方式, 在此过程中产生了大量烹饪油烟 (cooking oil fume, COF)。研究表明 COF 具有致突变作用, 能参与诱导 DNA 加合物形成从而引发肺癌<sup>[1-3]</sup>。肿瘤的发生是多因素、多阶段、多基因累积作用的结果, 基因组 DNA 甲基化水平异常也参与肿瘤的发生。厨师由于职业特点长期暴露于 COF, 且工作场所职业卫生状况良莠不齐, 面临着较多的职业卫生问题。本研究通过对厨师职业人群进行血液采集和流行病学问卷调查, 揭示厨师职业人群基因组 DNA 甲基化水平及其主要影响因素, 为保护该人群免于罹患肺癌及相关疾病的综合防治提供

理论依据。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选取在哈尔滨市级和区级疾病预防控制中心预防保健门诊体检办理健康证的宾馆、酒楼等餐饮业从业人员, 选择中餐厨师 120 名作为 COF 暴露组 (排除凉菜、厨师学徒工、备菜工等), 选择从事后勤、市场采购、客房、前台等人员 120 名作为对照组。鉴于厨师多为男性, 因此本调查研究对象均选择男性, 并尽可能对两组人群的其他特征 (如年龄、工龄、文化程度等) 进行匹配。纳入标准: 连续从事目前工作的时间不少于 10 年, 无肿瘤家族史; 排除标准: 不能积极配合完成本次问卷调查或问卷完成质量不佳者。

### 1.2 内容与方法

收稿日期: 2015-09-30; 修回日期: 2016-01-11

作者简介: 孙东旭 (1983—), 男, 硕士研究生, 医师。

通讯作者: 张晓峰, 教授, E-mail: zhanghyd@163.com。

**1.2.1 现场流行病学调查** 本研究中所有调查对象均清楚了解本研究的目的和意义，签署知情同意书。调查问卷由经过培训的调查员监督指导调查对象完成，并随机对调查对象进行问卷验证。调查内容包括调查对象的社会人口学特征、文化程度、吸烟饮酒史、健康状况、肿瘤家族史、职业暴露史（包括工龄、每日实际工作时间等）及家庭装修情况等，各项调查指标的分类程度均给出明确的定义。

**1.2.2 实验室检测** 完成流行病学问卷调查后，由医护人员采集非抗凝静脉血4 ml，离心分离血清后将血凝块于-80℃保存备用，实验时室温融化后采用TIANamp Blood Clot DNA Kit（天根公司，中国）提取DNA，采用MethylFlash™ Methylated DNA Quantification Kit（Epigentek公司，美国）检测DNA总甲基化水平。

**1.3 数据统计分析**

调查表审核无误后双录入EpiDate3.1数据库，并采用一致性检验等方法进行数据比对、逻辑检错，剔除资料填写不完整或者有明确错误的问卷。采用SPSS17.0软件进行数据统计分析，计数资料采用 $\chi^2$ 检验，计量资料先进行正态分布检验，若数据符合正态分布则进行t检验和单因素方差分析，如不符合正态分布则采用 $\chi^2$ 检验。多因素分析采用非条件Logistic逐步回归模型分析方法，涉及的主要变量赋值方法见表1。

**表1 DNA甲基化水平影响因素主要计数变量赋值**

变量	因素	赋值
X <sub>1</sub>	年龄（岁）	1=30~39；2=40~49；3=50~
X <sub>2</sub>	文化程度	1=初中及以下；2=高中/中专；3=大专
X <sub>3</sub>	吸烟情况	1=是；2=否
X <sub>4</sub>	饮酒情况	1=是；2=否
X <sub>5</sub>	二手烟暴露	1=是；2=否
X <sub>6</sub>	健康状况	1=健康；2=欠佳
X <sub>7</sub>	肿瘤家族史	1=有；2=无
X <sub>8</sub>	近5年家中装修	1=是；2=否
X <sub>9</sub>	工种	1=厨师；2=非厨师
X <sub>10</sub>	工龄（年）	1=10~19；2=20~29；3=30~
X <sub>11</sub>	厨房内油烟量	1=轻度；2=中度；3=重度
X <sub>12</sub>	厨房内通风设施	1=好；2=一般；3=差

**2 结果**

**2.1 调查对象基本情况**

COF暴露组和对照组人群基本情况见表2，两组人群在年龄、工龄、受教育程度、吸烟、饮酒、二手烟暴露、家中装修情况、肿瘤家族史等方面差异无统计学意义（P>0.05）。

**表2 COF暴露组与对照组人群基本特征**

特征	暴露组 (n=120)	对照组 (n=120)	t/ $\chi^2$ 值	P 值
年龄( $\bar{x}\pm s$ , 岁)	42.9±6.63	42.1±5.18	0.706	0.482
30~39	40 (33.3)	36 (30.0)		
40~49	56 (46.7)	72 (60.0)		
50~	24 (20.0)	12 (10.0)		
工龄( $\bar{x}\pm s$ , 年)	20.9±7.01	20.6±5.52	0.232	0.817
10~19	50 (41.7)	44 (36.7)		
20~29	46 (38.3)	62 (51.7)		
30~	24 (20.0)	14 (11.7)		
受教育程度			0.217	0.347
初中以下	78 (65.0)	72 (60.0)		
初中	30 (25.0)	36 (30.0)		
高中/大专	12 (10.0)	12 (10.0)		
吸烟情况			0.300	0.188
是	64 (53.3)	62 (51.7)		
否	56 (46.7)	58 (48.3)		
饮酒情况			0.327	0.192
是	69 (57.5)	71 (59.2)		
否	51 (42.5)	49 (40.8)		
二手烟暴露			0.637	0.524
是	94 (78.3)	88 (73.3)		
否	26 (21.7)	32 (26.6)		
厨房内油烟量				
轻	86 (71.7)			
中	28 (23.3)			
重	6 (5.0)			
厨房内通风设施				
好	96 (80.0)			
一般	20 (16.7)			
差	4 (3.3)			

注：年龄、工龄的统计量为t值，其余为 $\chi^2$ 值；厨房内油烟量、厨房通风设施情况判断标准参考文献[4]。

**2.2 基因组DNA总甲基化水平**

COF暴露组和对照组人群基因组DNA均有不同程度DNA甲基化发生，暴露组DNA总甲基化量为(1.265±0.937) ng/100  $\mu$ l，对照组DNA总甲基化量为(0.917±0.569) ng/100  $\mu$ l，暴露组DNA总体甲基化量明显高于对照组（P<0.05，F=15.534）。

**2.3 DNA总甲基化水平影响因素分析**

**2.3.1 DNA总甲基化水平影响因素的单因素方差分析** 将DNA总甲基化水平作为因变量，将可能影响DNA总甲基化水平的因素作为影响因素进行单因素方差分析，结果显示年龄、受教育程度、吸烟情况、饮酒情况、二手烟吸烟等因素对DNA总甲基化水平

没有显著影响 ( $P > 0.05$ ), 而职业特征 (工种) 对 DNA 总甲基化水平有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 即 COF 暴露能显著增加机体 DNA 总甲基化水平。见表 3。

**2.3.2 DNA 总甲基化水平影响因素的多元线性回归分析** 采用非条件 Logistic 逐步回归模型分析, 将 DNA 总甲基化水平作为因变量, 将可能影响 DNA 总甲基化的因素作为自变量, 进入方程水准 0.05, 排除水准 0.10, 变量采用向前选择法进入模型, 引入多元线性回归方程。结果表明排除混杂因素后, COF 暴露量 ( $h$ ) = (烹饪年限 × 每天工作小时数) 是影响 DNA 总甲基化水平的唯一决定因素 ( $P < 0.05$ ), 即 COF 暴露量越大, 甲基化水平越高。见表 4。

### 3 讨论

中餐制作过程中产生的大量 COF 已成为室内空气污染的主要来源之一。多位学者对 COF 成分进行了检测分析, 表明 COF 主要由粒径达微米级的细油滴组成, 比重较大, 其组分多达 200 多种, 含有多环芳烃在内的多种化学致癌物。国外研究证实 COF

表 3 影响 DNA 总甲基化水平因素的单因素方差分析

影响因素	赋值	DNA 甲基化水平 (ng/100 μl)	F 值	P 值
文化程度	初中及以下	1.100±0.794	0.136	0.873
	高中/中专	1.116±0.785		
	大专	0.978±0.850		
工种	厨师	1.265±0.937	6.035	0.015
	非厨师	0.917±0.569		
工龄 (年)	10~19	1.116±0.867	0.246	0.783
	20~29	1.039±0.742		
	30~	1.176±0.762		
年龄 (岁)	30~39	1.167±0.930	0.539	0.585
	40~49	1.020±0.703		
	50~	1.178±0.791		
吸烟	是	1.113±0.876	0.105	0.747
	否	1.066±0.693		
饮酒	是	1.104±0.737	0.114	0.706
	否	1.052±0.584		
二手烟暴露	是	1.119±0.830	0.304	0.582
	否	1.004±0.660		

表 4 DNA 总甲基化水平影响因素的多元线性回归分析

入选变量	回归系数	标准误	t 值	P 值	95% CI 下限	95% CI 上限
截距	0.47	0.366	1.140	0.259	-0.32	1.15
COF 暴露量	$3.07 \times 10^{-5}$	0.000	2.444	0.018	$0.56 \times 10^{-5}$	$5.59 \times 10^{-5}$

具有遗传毒性, 能参与诱导 DNA 加合物形成, 诱发肺癌<sup>[1-3]</sup>; 张诚等<sup>[8]</sup>研究表明 COF 可诱导正常人支气管上皮细胞发生恶性转化, 诱发小鼠肺组织癌前病变及癌变, 病理类型主要为肺腺癌。动物实验研究发现 COF 暴露可使大鼠肺脏出现癌前病变的病理学改变, 且病变程度与暴露时间和暴露量成正比, 证实 COF 是肺腺癌、鳞癌的危险因素<sup>[9-12]</sup>。这些研究结果表明 COF 具有致癌性, 长期暴露于 COF 的厨师罹患肺癌的危险性较高。

有学者指出 DNA 甲基化是所有癌症共有的指纹, DNA 甲基化可开启或关闭那些对肿瘤细胞有利或不利的程序通道, 促进癌症发生发展, 因而 DNA 甲基化被称为肿瘤发生的“第三条途径”<sup>[13]</sup>。在甲基转移酶催化下, DNA 上 5' 序列 CG 两个核苷酸的胞嘧啶被选择性地添加甲基, 形成 5-甲基胞嘧啶, 且甲基化的核苷酸可随 DNA 复制而遗传。DNA 甲基化主要包括 5-甲基胞嘧啶 (5-mC) 和少量的 N6-甲基腺嘌呤 (N6-mA) 及 7-甲基鸟嘌呤 (7-mG)。DNA 甲基化可导致 DNA 构象变化, 进而影响蛋白质与 DNA 的相互作用。DNA 高甲基化时会发生从常规的 B-DNA 向 Z-DNA 的过渡, 由于 Z-DNA 结构收缩、螺旋加深, 使蛋白质赖以结合的原件缩入大沟而不利于转录

启动, 导致基因失活, 细胞生长失控<sup>[14]</sup>。本研究结果发现暴露于 COF 的厨师人群基因组 DNA 总甲基化水平显著高于非 COF 暴露人群 ( $P < 0.05$ ), 说明 COF 能导致机体 DNA 甲基化的发生。此外, 我们对调查对象的年龄、工龄、吸烟、教育程度、COF 暴露量等与 DNA 甲基化水平的相关性的分析结果表明, COF 暴露量与机体 DNA 总甲基化水平显著相关, 即 COF 暴露量越大, 机体 DNA 总甲基化水平越高。COF 暴露会导致机体哪一个或哪几个基因位点发生异常高甲基化, 这是本研究后续需要进一步探讨的问题; 此外, 本研究还需要进一步扩大观察样本量, 以使研究结果更客观, 更具有说服力。

综上所述, COF 是一类具有遗传毒性的化学物, 厨师由于长期暴露于 COF 环境, 会使基因组 DNA 甲基化水平增高。DNA 异常甲基化是肿瘤发生的早期事件, 先于细胞恶变而发生, 可能是 COF 致癌的主要作用机制之一, 因此机体 DNA 甲基化水平可作为 COF 暴露的早期效应生物学标志物的候选对象, 应用于厨师人群肺肿瘤的早期筛查。

(致谢: 本论文得到哈尔滨医科大学于维汉院士杰出青年培养基金资助)

家有职业病危害作业的单位职业卫生管理档案各项内容建档率偏低。主要原因：(1) 南京辖区站段大部分用人单位领导职业病法律意识淡薄；(2) 未建立职业卫生档案管理系统；(3) 管理部门及职责不明确；(4) 管理制度不健全；(5) 缺少相应支持文件；(6) 专业人员知识缺乏。建档的主体是用人单位，职业卫生档案管理工作首先要强化领导法律意识，明确单位相关部门责任，制定实施方案，形成一套行之有效的管理体系<sup>[1]</sup>，即实现职能管理部门、职业卫生技术服务机构、用人单位三方有机结合并在职业卫生工作中承担不同的责任，共同把职业卫生档案做好、管好、用好，最终达到按相关法律、法规、标准规范等要求，持续改进、不断完善企业职业卫生工作之目的，让职业卫生档案管理工作向着规范化、正规化、科学化的轨道健康发展。

### 3.2 加强职业卫生档案管理系统信息化建设

职业卫生档案管理系统信息化管理对提高建档工作效率、职业卫生信息使用效率、职业卫生档案管理效率，实现职能管理部门、职业卫生技术服务机构、用人单位三方相关信息共享具有重要意义。职业卫生档案是职业病防治机构在日常工作活动中形成的公文、像册、图表、书信、记录、录音、录像、总结等各种门类和各种载体档案，它是职业病防治机构的宝贵财富，对这一信息资源加强管理对职业病防治机构领导决策科学化和现代化建设极为重要。因此，各单位应加大投资力度，加强与相关部门合作开发职业卫生档案管理办公软件，充分发挥电子计算机在档案管理中的作用。基层单位应从加强职业卫生档案的建立与健全建设需要着手，注重工作场所相关档案资料的收集、整理、归档，强调归档资料

的及时性、完整性，加强职业卫生档案的规范化管理，完善企业职业病防治工作。

### 3.3 强调职业卫生档案质量

职业卫生档案能否准确、完整、动态地反映职业卫生工作的全过程，质量控制至关重要。必须通过技术标准的质量控制、工作过程质量控制、监管考核予以实现。技术标准的质量控制主要是把好职业卫生档案质量关，工作过程质量控制需要职业卫生服务机构专业人员和用人单位相关工作人员共同完成，职业卫生档案管理人员是整个档案规范化管理的具体实施者，对从事职业卫生档案管理人员要进行经常和定期的相关知识培训和技术指导，使其了解一定的职业卫生业务知识及档案意识和法制观念；职能管理部门要加强监管，以保证企业职业卫生工作进行顺利。

### 3.4 强化职业卫生档案科学管理

职业卫生档案资料的科学管理是对职业卫生工作成果的保护，是用人单位依法经营的直接证据，档案资料的定期妥善保存非常重要，该项工作必须持续有效地进行，建立健全职业卫生档案工作要在监管和职业卫生服务机构专业指导下予以实现。本次调查显示，经业务培训、技术指导，南京辖区站段（含分段）54家有职业病危害作业的单位职业卫生档案建档率、职业卫生档案管理水平有了极大提高，取得了明显效果。

### 参考文献：

[1] 张轩, 林玉娣, 焦建栋, 等. 以监督评审为契机不断改进和完善质量体系 [J]. 中国卫生质量管理, 2004, 11 (5): 58-59.

(上接第 176 页)

### 参考文献：

[1] Palmisano W A, Divine K K. Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum [J]. *Cancer Res*, 2000, 60 (21): 5954-5958.

[2] Seow A, Poh W T. Fumes from meat cooking and lung cancer risk in Chinese women [J]. *Cancer Epidemiology, Biomarkers&Prevention*, 2000, 9 (11): 1215-1221.

[3] Yang S C, Jenq S N, Kang Z C, et al. Identification of benzo [a] pyrene 7,8-diol 9,10-epoxide N2-deoxyguanosine in human lung adenocarcinoma exposed to cooking oil fumes from frying fish under domestic conditions [J]. *Chem Res Toxicol*, 2000, 13 (10): 1046 1050.

[4] 周宝森, 天王爵, 张群弟, 等. 女性肺腺癌危险因素分析 [J]. *中国公共卫生*, 2000, 16 (6): 536-539.

[5] 刘中文, 孙咏梅, 裘著革. 烹调油烟雾中有机成分的分析 [J]. *中国公共卫生*, 2002, 18 (9): 1046-1048.

[6] 张宝勇, 周才琼. 烹调油烟的组成与危害及防治措施 [J]. *中国油脂*, 2006, 31 (7): 44-47.

[7] 徐幽琼, Ignatius T S Yu, 林捷, 等. 不同食用油和烹调方式的油

烟成分分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2012, 22 (10): 2271-2274.

[8] 张诚, 李强, 吴庆琛, 等. 烹调油烟冷凝物诱导永生化人支气管上皮细胞恶性转化的研究 [J]. *中国医科大学学报*, 2011, 40 (12): 1103-1105.

[9] 让蔚清, 苏琦. 烹调油烟所致大鼠肺部病变的时相分析 [J]. *中国公共卫生*, 1999, 15 (9): 793-794.

[10] 张朝晖, 陈锋, 谭佑铭, 等. 烹调油烟致 Balb/C 小鼠肺癌的病理变化 [J]. *中国公共卫生*, 2003, 19 (12): 1455-1457.

[11] Melnick R L, J Huff. 1,3-Betadiene: toxicity and carcinogenicity in Laboratory animals and in humans [J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1992, 124 (6): 111-144.

[12] Gardner M J, Pannett B, Winter P D, et al. A cohort study of workers exposed to formaldehyde in the british chemical industry: an update [J]. *Br J Ind med*, 1993, 50 (9): 827-834.

[13] 刘文斌. 致癌物诱导大鼠肺鳞癌癌变过程中 DNA 甲基化动态改变与作用机制的研究 [D]. 第三军医大学, 2010.

[14] 杨萍, 张波, 曾君玲, 等. p16 基因甲基化是多环芳烃作业工人的生物标志物 [A]: 广东省环境诱变剂学会、广东省预防医学会卫生毒理专业委员会 2010 年学术会议 [C]. 广州, 2010.