

苯乙烯工人外周血淋巴细胞微核和SCE的观察

王凤荣 张玉洁 管树立

天津市化工局劳动卫生研究所

苯乙烯是制备多种塑料、合成橡胶、制药、香料等重要的化工原料。生产中未聚合的苯乙烯可逸出，或聚合物解聚及受热时均有苯乙烯释出。苯乙烯主要危害是引起刺激症状和麻醉作用，慢性作用可对血液和肝脏有轻度损害；目前苯乙烯的远期效应已引起国内外学者的关注，本次我们采用人体外周血淋巴细胞微核及姊妹染色体互换率两项指标来观察对人体细胞的遗传毒性效应，研究目的为保证工人安全生产及对远期安全评价提供参考依据。

对象和方法

选择天津××化工厂苯乙烯作业工人，选择对象的原则：无烟酒嗜好，无特殊饮食嗜好，无传染病及遗传病。又根据是否接触苯乙烯分为接触组和对照组。

接触组：根据车间内苯乙烯浓度的高低，分为一、四两个车间，共60名作业工人。

对照组：选本厂劳动条件与生产情况与接触组近似，但不接触苯乙烯的作业工人27名，为对照车间。

各车间受检人性别、年龄及工龄分布情况见表1，表2。

表1 苯乙烯作业受检人数表

组别	男(名)	女名	合计(名)
一车间	24	12	36
四车间	14	10	24
对照车间	14	13	27
合计	52	35	87

表2 苯乙烯作业工人年龄工龄分布表

组别	年龄(岁)	工龄
一车间 四车间	30(18-42)	3个月-20年
对照车间	30(19-41)	5个月-20年

各车间内苯乙烯空气浓度测定，采用化工部统一制定的测定方法，即气象色谱法进行。

观察方法：

1. 人体外周血淋巴细胞微核标本制备及监测方法：静脉采血0.5ml肝素抗凝，加入含有5ml培养液及含有80%的“1640”、PHA、青链霉素的混合水溶液(PH7.1-7.2)，将血加入后轻轻混匀，置37℃隔水式恒温箱内培养72小时，取出弃上清液，加入0.075Mkcl 6-7ml，进行低渗，加3:1甲醇冰醋酸固定液1ml。进行予固定。再以1000rpm，离心10分钟，弃上清液，加固定液固定，反复进行2-3次，以冷冻清洁玻片滴片使其自然干燥后镜检。高倍镜下每例记录2000个胞浆膜完整的淋巴细胞。

微核监测标准：微核必须在胞浆完整的间期细胞中，形态为圆形或椭圆形，直径小于主核的1/3~1/20与主核完全脱离，染色与主核一致的小核即是微核，结果以含微细胞的千分率表示。

2. 姊妹染色单体互换率标本片制备与监测方法：姊妹染色单体培养与微核培养液相同，将肝素抗凝静脉血分别加入2~3个培养瓶中各0.5ml，轻轻混匀后置37℃恒温箱

内黑布避光培养72小时, 于24小时加 BUdR (最终浓度5 μ m/ml), 于终止前4小时加秋水仙素(最终浓度0.04 μ m/ml)后继续培养到72小时终止培养。从温箱取出, 低渗, 予固定后再固定三次, 离心操作与上法相同, 然后过夜低温处理翌晨再离心, 弃上清液, 加新配制固定液数滴, 以清洁冷冻玻片滴片, 吹片, 火焰固定, 自然干燥, 室温下老化三天, 然后56 $^{\circ}$ C 2 \times SSC 液内紫外灯照射下(距离5m30分钟, 以蒸馏水冲洗, 晾干, 以P^H6.8的10%吉姆萨染液染色, 供SCE阅片, 油镜下计数30个染色体数目完整(46条 \pm 1条), 第二周期的中期分裂相淋巴细胞, 染色体臂含端粒部分交换计数为“1”次, 臂中段部分, 交换为“2”次, 两着丝点处的交换均计入内, 结果从每个细胞中46条染色体交换总数为该细胞交换率。

结果

1. 各车间空气中苯乙烯浓度测定结果见表3:

表3 各车间空气中苯乙烯浓度测定:

组别	苯乙烯浓度(mg/M ³)	超M.A.C(倍数)
一车间	106.7	2.7
四车间	25.6	—
对照车间	0	—

2. 外周血淋巴细胞微核率测定结果见表4。

表4 苯乙烯作业工人外周血淋巴细胞微核率

组别	检查人数	观察细胞数	微核细胞数	微核%	μ 值
一车间	26	2000 \times 36	54	0.75	0.3(P<0.05)
四车间	24	2000 \times 24	26	0.54	0.1
对照车间	27	2000 \times 27	18	0.33	—

3. 外周血淋巴细胞姊妹染色单位交换率测定结果见表5

表5 苯乙烯作业工人外周血 SCE测定值

组别	受检查人数	观微细胞	SCE($\bar{X}\pm S$)r/l	t值
一车间	34	30 \times 34	8.4 \pm 3.7	3.5(P<0.01)
四车间	43	20 \times 24	7.4 \pm 3.3	1.5
对照车间	26	30 \times 26	6.2 \pm 3.3	—

讨论

苯乙烯的化学结构及在动物体内的代谢方式与氯乙烯相似^[1], 因此苯乙烯的致突, 致畸, 致癌问题也日益受到关注, 又因90%的致突物也是致癌物, 因而多用某种化学物质的致突变性来判断它是否存有潜在的致癌危险, Goeta kihlman 等初步阐明了染色体畸变与微核间有密切相关的关系^[2], 微核可有规律地存在于癌症患者周围血淋巴细胞胞浆中, 也存在于受环境污染的生物体周围血有核红细胞浆内^[3], 微核形成多数学者认为是无着丝点染色体断片及落后染色体可形成微核。Matter认为微核可作为染色体损伤的检查指标^[4-5], 本次检查结果说明较高浓度的苯乙烯对人体的染色体均有损伤作用, 见表5。姊妹染色单体互换率的检查也是一种快速、简便及敏感的遗传毒理学测试法, 其灵敏度较常规染色体畸变分析高百倍^[6-8], 姊妹染色单体互换率测定值, 虽不受性别、年龄等的影响, 但与苯乙烯浓度有密切关系。从表3、表5看出高浓度一车间苯乙烯浓度超过国家最高允许浓度2.7倍时, 姊妹染色单体互换率值与对照车间就存有非常显著的差异(P<0.01); 微核率值与对照车间虽未有显著性差异但有随车间苯乙烯浓度的升高而增加的趋势见表4。说明苯乙烯对其作业工人有致突作用, 并且浓度越高, 这种突变作用越明显。

以上结果提示我们, 在接触苯乙烯工人中, 可将姊妹染色单体互换异常的检查, 做为监测指标。
(下转第36页)

不同净水措施生产的自来水致突变性研究

谢 雄, 吴 坤, 陈波林

哈尔滨医科大学公共卫生学院卫生毒理教研室

饮水中有机污染物对人体健康的影响日益引起各国卫生学界关注, 国内外流行病学研究表明, 某些癌症的发病率, 死亡率与饮水质量存在一定的相关性[1-3]。

H市自来水主要取自S江。该江长期遭受工业废水, 特别是有机化合物的严重污染。该市居民恶性肿瘤死亡率几个区之间差异显著。在对造成此种差异的28种可能影响因素的分析中见到, 饮用S江水是个重要因素[4]。我室曾对H市3个区自来水同步采集, 以同一处理方法获得有机浓集物, 通过Amse试验, SCE检测以及SHE细胞恶性转化试验等证实, H市以S江为源水的自来水有机浓集物具有肯定的致突变性。水中主要含有不需肝微粒体酶代谢活化, 以移码型为主的非挥发性有机致突变物[5]。据国内外一些报导认为, 自来水致突变性的产生与源水污染以及自来水厂净化处理措施有关。为了观察不同净水处理措施对H市自来水致突变性的影响, 进行了本课题研究。

材料和方法

1. 受检自来水情况

对H市3种源水4种处理生产出的自来水, 进行了有机浓集物致突变性检测。净化前后的自来水均为同步采集的。

2. 检样制备

与我室既往研究报导相同[5]。自来水样经国产GDX-102树脂吸附, 乙醚洗脱, K.D浓缩器浓缩, 除湿干燥, 溶于DMSO, 密封, 避光, 低温保存。

3. 自来水有机浓集物致突变性检测

3.1 鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验;

表 1. 受检自来水及其净化处理情况

受检水样	水源情况	净水措施
A	S江(城市上游)	混凝, 沉淀, 过滤, 加氯消毒
B	S江(城市上游)+地下水	混凝, 沉淀, 过滤, 加氯消毒
C	S江(城市下游)	混凝, 沉淀, 过滤, 加氯消毒
D	S江(城市下游)	常规水质净化后臭氧消毒
E	S江(城市下游)	同上臭氧消毒+活性炭
F	S江(城市中下游)	高梯度磁分离

采取Amse平皿掺入法, 应用TA98和TA100两菌株, 经鉴定特性符合试验要求。因以前研究工作多次试验获知所检测水体中主要为直接致突变物, 故本课题试验大多在未加S9条件下进行, 每一试验浓度均设平行检样, 试验重复3次, 计算出6皿平均回变菌落和MR值(回变菌落数/自发回变菌落数)。MR值大于或等于2, 且有明确的剂量-反应关系, 判断为阳性。

3.2 波动试验:

同样应用TA98和TA100菌株, 采用张皎皎改进Green等人的方法[6]。观察培养3天后的变色管数, 以出现阳性的管数减去阴性对照组阳性管数得出实际阳性管数, 计算阳性率。

3.3 姐妹染色单体交换试验:

采用人体外周血淋巴细胞体外培养方法, 由无烟酒嗜好的健康成年男女各1人供血, 经细胞培养, 加入Brdu, 秋水仙素, 收获细胞, 低渗, 固定, 制片, UPG法区分染色, 干燥镜检。每一浓度标本分析男女各50