

甲苯二异氰酸酯职业暴露者外周血淋巴细胞亚群分析

沈美丽¹, 梅良英², 孟涛¹, 贾强³, 苗盼盼¹, 牛勇¹, 叶萌¹, 陈学磊³, 于功昌³, 邵华³, 戴宇飞¹

摘要:

[目的] 研究甲苯二异氰酸酯(TDI)对暴露工人外周血淋巴细胞亚群的影响,为探讨TDI的免疫毒性提供依据。

[方法] 采用横断面研究方式,以整群抽样法选取甘肃省TDI作业工人53名为暴露组,选取同地区非职业性TDI暴露工人55名为对照组。气相色谱法检测作业环境中TDI水平和尿中代谢产物甲苯二胺(TDA)浓度。应用流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群水平,并结合血常规中淋巴细胞总数的结果,计算CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、B细胞和NK细胞绝对数。

[结果] 暴露组尿中总TDA浓度 $M(P_{25}-P_{75})$ 为15.86(7.91~29.99)μg/L。淋巴细胞亚群分析,对照组的淋巴细胞、CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、B细胞和NK细胞分别为 $1.80(1.40-2.30) \times 10^9/L$ 、 $(1.24 \pm 0.35) \times 10^9/L$ 、 $0.65(0.53-0.75) \times 10^9/L$ 、 $0.47(0.35-0.57) \times 10^9/L$ 、 $0.18(0.13-0.23) \times 10^9/L$ 和 $0.23(0.19-0.31) \times 10^9/L$ 。暴露组淋巴细胞、CD8⁺T细胞和NK细胞分别为 $1.92(1.59-2.46) \times 10^9/L$ 、 $0.54(0.40-0.67) \times 10^9/L$ 和 $0.45(0.35-0.61) \times 10^9/L$,暴露组高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。依据尿中总TDA浓度中位数进行分组,低暴露组淋巴细胞、CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞和NK细胞分别为 $2.13(1.84-2.45) \times 10^9/L$ 、 $(1.42 \pm 0.34) \times 10^9/L$ 、 $0.70(0.58-0.83) \times 10^9/L$ 、 $0.60(0.53-0.69) \times 10^9/L$ 和 $0.48(0.33-0.64) \times 10^9/L$,高于对照组($P < 0.05$);高暴露组NK细胞为 $0.43(0.32-0.55) \times 10^9/L$,高于对照组($P < 0.05$)。所有指标在低、高暴露组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。暴露组TDI暴露工龄与淋巴细胞亚群的变化无相关($P > 0.05$)。

[结论] TDI暴露可导致作业工人外周血淋巴细胞亚群发生变化,提示TDI职业暴露者免疫功能受到影响。

关键词: 甲苯二异氰酸酯; 淋巴细胞亚群; CD8⁺T细胞; NK细胞

引用: 沈美丽,梅良英,孟涛,等. 甲苯二异氰酸酯职业暴露者外周血淋巴细胞亚群分析[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(3): 196-201.

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16561

Analysis of lymphocyte subsets in peripheral blood of toluene diisocyanate exposed workers SHEN Mei-li¹, MEI Liang-ying², MENG Tao¹, JIA Qiang³, MIAO Pan-pan¹, NIU Yong¹, YE Meng¹, CHEN Xue-lei³, YU Gong-Chang³, SHAO Hua³, DAI Yu-fei¹ (1.Key Laboratory of Chemical Safety and Health, National Institute for Occupational Health and Poison Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China; 2.Institute of Occupational Disease Prevention and Treatment, Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Wuhan, Hubei 430079, China; 3.Shandong Academy of Occupational Health and Occupational Medicine, Shandong Academy of Medical Sciences, Ji'nan, Shandong 250062, China). Address correspondence to DAI Yu-fei, E-mail: yf_dai@sina.com · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To investigate the effects of toluene diisocyanate (TDI) exposure on lymphocyte subsets in peripheral blood of workers and explore the immunotoxicity of TDI.

[Methods] In this cross-sectional study, we recruited 53 TDI exposed workers and 55 non-TDI exposed workers by cluster sampling in Gansu Province. The concentration of TDI in working environment and the concentration of urinary toluenediamine (TDA)

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 十二五国家科技支撑计划资助项目(编号: 2014BAI12B02); 国家自然科学基金项目(编号: 81470145); 山东省科技发展计划项目(编号: 2012G0030034)

[作者简介] 并列第一作者。沈美丽(1985—),女,博士,助理研究员;研究方向:生物标志物与分子流行病学;E-mail: shenmeili01@126.com。梅良英(1975—),男,硕士,副主任技师;研究方向:职业卫生;E-mail: 13782856@qq.com

[通信作者] 戴宇飞, E-mail: yf_dai@sina.com

[作者单位] 1. 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所,化学污染与健康安全重点实验室,北京 100050; 2. 湖北省疾病预防控制中心职业病防治研究所,湖北 武汉 430079; 3. 山东省医学科学院,山东省职业卫生与职业病防治研究院,山东 济南 250062

in workers were measured by gas chromatography. The lymphocyte subsets in peripheral blood were analyzed by flow cytometry. Combined with lymphocyte count measured by automatic blood analyzer, major lymphocyte subsets were calculated including CD3⁺T cells, CD4⁺T cells, CD8⁺T cells, B cells, and NK cells.

[Results] The median (P_{25} - P_{75}) of total urinary TDA was 15.86 (7.91-29.99) $\mu\text{g/L}$ in the TDI exposed workers. The lymphocyte, CD3⁺T cell, CD4⁺T cell, CD8⁺T cell, B cell, and NK cell counts in the control group were $1.80 (1.40-2.30) \times 10^9/\text{L}$, $(1.24 \pm 0.35) \times 10^9/\text{L}$, $0.65 (0.53-0.75) \times 10^9/\text{L}$, $0.47 (0.35-0.57) \times 10^9/\text{L}$, $0.18 (0.13-0.23) \times 10^9/\text{L}$, and $0.23 (0.19-0.31) \times 10^9/\text{L}$, respectively. The lymphocyte, CD8⁺T cell, and NK cell counts in the TDI exposed workers were $1.92 (1.59-2.46) \times 10^9/\text{L}$, $0.54 (0.40-0.67) \times 10^9/\text{L}$, and $0.45 (0.35-0.61) \times 10^9/\text{L}$, respectively, which were higher than those in the control group ($P < 0.05$). We classified the exposed workers into two groups by the median of total urinary TDA levels: The counts of lymphocytes, CD3⁺T cells, CD4⁺T cells, CD8⁺T cells, and NK cells in the low exposure group were $2.13 (1.84-2.45) \times 10^9/\text{L}$, $(1.42 \pm 0.34) \times 10^9/\text{L}$, $0.70 (0.58-0.83) \times 10^9/\text{L}$, $0.60 (0.53-0.69) \times 10^9/\text{L}$, and $0.48 (0.33-0.64) \times 10^9/\text{L}$, respectively, and were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$); The count of NK cells was $0.43 (0.32-0.55) \times 10^9/\text{L}$ in the high exposure group, higher than that in the control group ($P < 0.05$). However, no difference was found between the low and high exposure groups ($P > 0.05$). Working years and the change of lymphocyte subsets were not associated ($P > 0.05$).

[Conclusion] TDI exposure could cause the change of lymphocyte subsets in peripheral blood of occupationally exposed workers, implying potential impacts of TDI on immunological functions.

Keywords: toluene diisocyanate; lymphocyte subset; CD8⁺T cell; NK cell

Citation: SHEN Mei-li, MEI Liang-ying, MENG Tao, et al. Analysis of lymphocyte subsets in peripheral blood of toluene diisocyanate exposed workers[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(3): 196-201. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.16561

甲苯二异氰酸酯(toluene diisocyanate, TDI)是重要的聚氨酯生产原料,广泛用于油漆、涂料、泡沫绝缘材料等的生产。TDI为无色至浅黄色液体,有刺激性气味,易挥发,被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)列为2B类致癌物。研究表明,职业接触TDI可对眼睛、呼吸道粘膜和皮肤造成刺激^[1],可引起肺通气功能损伤^[2-3],长期接触TDI可引起职业性哮喘^[4-6]。淋巴细胞是机体免疫应答的重要成分,淋巴细胞亚群可作为评价机体免疫功能状态的指标。Finotto等研究表明,在TDI引发职业性哮喘的人群中,TDI暴露后8h和48h,可导致外周血CD8⁺T细胞明显升高,而CD4⁺T细胞没有明显变化,同时,在TDI暴露后24h也观察到嗜酸性粒细胞升高,在48h达到最高值^[7]。Bentley等在异氰酸酯哮喘患者中开展的支气管粘膜活检发现,CD25⁺T细胞明显增加,但CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞未见明显变化^[8]。现有研究较多关注于TDI引发的职业性哮喘患者,但对长期TDI暴露人群的健康损害研究较少。本研究以长期TDI暴露工人为研究对象,通过流式细胞术对淋巴细胞亚群进行分析,探讨TDI的免疫毒性效应指标。

1 对象与方法

1.1 研究对象

以整群抽样法选择甘肃省某TDI生产企业的男性制造工和包装工53人为TDI暴露组(工龄>1年),以

同地区从事食品加工的男性作业人员55名为对照组,对照组人群无TDI及其他有机溶剂的职业暴露史。两组人群均排除有免疫相关疾病、对药物过敏和最近1周有急性感染性疾病的工人。本研究项目通过中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所伦理审查委员会的审查,研究对象在问卷调查前均签署了知情同意书。

1.2 调查内容和样品采集

问卷调查内容包括工人的人口学资料(年龄、性别、教育程度等)、吸烟、饮酒和既往病史等。采集研究对象的班后尿液50 mL,4℃保存,用于检测尿中TDI的代谢产物。采集清晨空腹静脉血4 mL,EDTA抗凝,用于血常规分析和淋巴细胞亚群分析。

1.3 作业环境TDI的外暴露评估

进行作业环境中TDI外暴露评估时,按照GBZ 159—2004《工作场所空气中有害物质监测的采样规范》方法,选择有代表性的采样地点19个,每次采集时间为0.25 h,连续采集空气样品3 d,共收集有效样本53个。空气样本采集后用气相色谱法分析^[9],按照各个工种工时调查情况计算出8h时间加权平均浓度(8h-TWA)。

1.4 尿中TDI代谢产物的测定

尿中TDI的代谢产物主要为2,4-甲苯二胺(2,4-TDA)和2,6-甲苯二胺(2,6-TDA)。尿中螯合态的TDA经硫酸酸化处理后变成游离态的TDA,碱性条件下用甲苯萃取,加入七氟丁酸酐衍生后,经毛细

管色谱柱分离,电子捕获检测器检测^[10]。所用气相色谱仪为安捷伦科技公司7890B GC。暴露组共检测尿样46份,对照组共检测尿样54份。

1.5 血常规分析

应用全自动血细胞分析仪(AC-900+, SWELAB, 瑞士)进行血常规检测,测得研究对象外周血淋巴细胞总数。

1.6 淋巴细胞亚群分析

实验所用抗体购自美国BD Biosciences。应用四色免洗淋巴细胞亚群分析试剂盒(BD MultiSET IMK Kit)进行淋巴细胞亚群的分析,按照说明书进行操作。同一血样取2支试管,分别加入30 μL EDTA抗凝血。试管A加入CD3-FITC、CD8-PE、CD45-PerCP和CD4-APC抗体的混合物,试管B加入CD3-FITC、CD16+56-PE、CD45-PerCP和CD19-APC抗体的混合物。充分混匀,室温避光孵育15 min。取出试管,每管加入1 × FACS溶血素300 μL,充分混匀,避光孵育15 min。应用流式细胞仪(BD FACSCalibur, 美国)上机检测。采用MultiSET软件分析淋巴细胞各亚群的百分比。根据下列公式计算各亚群淋巴细胞的绝对数:各亚群淋巴细胞的绝对数(个/L)=淋巴细胞总数($10^9/L$)×各亚群淋巴细胞百分比(%)。

1.7 统计学分析

应用SPSS 19.0统计软件包进行数据分析。符合正态分布的数据,用 $\bar{x} \pm s$ 描述,组间比较应用Student's *t*检验;不符合正态分布的数据,用中位数和第25、75百分位数描述,即 $M(P_{25} \sim P_{75})$,经自然对数转换后,应用多元线性回归模型,以各淋巴细胞亚群的转换值为应变量,以年龄、BMI、吸烟情况、饮酒情况及分组情况为自变量,进行分析。采用Spearman法进行相关分析。吸烟和饮酒情况的比较采用卡方检验。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 TDI暴露情况及研究对象基本信息

作业环境中TDI外暴露水平以8h-TWA表示,平均值为0.39 mg/m³,高于2007年我国规定的工作场所TDI的时间加权平均容许浓度(0.1 mg/m³)。如表1所示,调查对象均为男性,暴露组和对照组的年龄、BMI、吸烟和饮酒情况的差异均无统计学意义。暴露组尿中总TDA均有检出,浓度中位数为15.86 μg/L,对照组中89%的尿样低于检出限。TDI暴露组工龄中位数为8.50年。

表1 研究对象基本特征及尿中代谢产物水平

Table 1 General characteristics and urinary TDI metabolites of selected workers

基本特征 Characteristics	对照组(<i>n</i> =55) Control group	TDI暴露组(<i>n</i> =53) TDI exposure group	统计量 Test value	<i>P</i>
年龄(岁) Age, years	35.25 ± 8.45	36.19 ± 8.60	0.569 ^a	0.570
BMI(kg/m ²)	23.48 ± 2.54	22.52 ± 2.67	-1.914 ^a	0.058
吸烟情况(Smoking)			1.329 ^b	0.249
是(Yes)	39	32		
否(No)	16	21		
饮酒情况(Drinking)			1.582 ^b	0.208
是(Yes)	32	37		
否(No)	23	16		
尿中TDA(μg/L) Urinary TDA				
2,4-TDA	—	10.52(0.31~28.13)	—	—
2,6-TDA	—	2.82(1.64~5.66)	—	—
总TDA	—	15.86(7.91~29.99)	—	—
工龄(年) Working years	—	8.50(3.75~19.00)	—	—

[注] a: 统计量为*t*值; b: 统计量为 χ^2 值。

[Note] a: Test value is *t*; b: Test value is χ^2 .

2.2 淋巴细胞亚群分析

如表2所示,TDI暴露组工人淋巴细胞、CD8⁺T细胞和NK细胞的数量高于对照组,增加的百分率分别为6.67%、14.89%和95.65%,组间差异有统计学意义($P<0.05$)。

表2 暴露组和对照组外周血淋巴细胞亚群情况

Table 2 Peripheral blood lymphocyte subsets between control group and exposure group

细胞($10^9/L$) Cell	对照组(<i>n</i> =55) Control group	TDI暴露组(<i>n</i> =53) Exposure group	对照组(<i>Ln</i> , <i>n</i> =55) Control group(<i>Ln</i>)	TDI暴露组(<i>Ln</i> , <i>n</i> =53) Exposure group(<i>Ln</i>)	变化率(%) Percentage change	<i>P</i> *
淋巴细胞[Lymphocyte, $M(P_{25} \sim P_{75})$]	1.80(1.40~2.30)	1.92(1.59~2.46)	0.55 ± 0.27	0.68 ± 0.27	6.67	0.005
CD3 ⁺ T细胞[CD3 ⁺ T cell, $\bar{x} \pm s$]	1.24 ± 0.35	1.32 ± 0.44	—	—	6.45	0.208
CD4 ⁺ T细胞[CD4 ⁺ T cell, $M(P_{25} \sim P_{75})$]	0.65(0.53~0.75)	0.66(0.54~0.85)	-0.47 ± 0.31	-0.37 ± 0.32	1.54	0.087
CD8 ⁺ T细胞[CD8 ⁺ T cell, $M(P_{25} \sim P_{75})$]	0.47(0.35~0.57)	0.54(0.40~0.67)	-0.79 ± 0.41	-0.65 ± 0.46	14.89	0.041
B细胞[B cell, $M(P_{25} \sim P_{75})$]	0.18(0.13~0.23)	0.21(0.13~0.26)	2.27 ± 0.41	2.27 ± 0.50	16.67	0.941
NK细胞[NK cell, $M(P_{25} \sim P_{75})$]	0.23(0.19~0.31)	0.45(0.35~0.61)	-1.44 ± 0.58	-0.80 ± 0.46	95.65	<0.001

[注] 变化率为暴露组与对照组相比,变化的百分率。*: 校正年龄、BMI、吸烟和饮酒情况。

[Note] Percentage change is calculated as the difference of cell counts between the exposure group and the control group divided by the cell count of the control group. *: Age, BMI, drinking, and smoking are adjusted.

2.3 TDI 内暴露剂量对淋巴细胞亚群的影响

Spearman 相关性分析发现 ,暴露组中淋巴细胞、CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞和 NK 细胞水平与尿中总 TDA 浓度无相关关系(*r* 值分别为 -0.124、-0.094、0.081、-0.102、-0.079 和 -0.248 ,均 *P*>0.05)。如表 3 所示 ,依据尿中总 TDA 浓度的中位数将暴露组分为低暴露组和高暴露组。低暴露组淋巴细胞、CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞和 NK 细胞的数量均高于对照组(*P*<0.05) ,增加的百分率分别为 18.33%、14.52%、7.69%、27.66% 和 108.70% ;而高暴露组仅有 NK 细胞水平高于对照组(*P*<0.05) ,增加的百分率为 86.96%。所有指标在低、高暴露组间差异均无统计学意义(*P*>0.05)。

2.4 TDI 暴露工龄对淋巴细胞亚群的影响

Spearman 相关性分析发现 ,TDI 暴露工龄与淋巴细胞、CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞和 NK 细胞水平无相关关系(*r* 值分别为 -0.107、0.077、-0.070、0.175、0.120 和 -0.156 ,均 *P*>0.05)。依据暴露工龄中位数将暴露组工人分为短时间暴露组和长时间暴露组。结果显示 ,短时间暴露组的淋巴细胞和 NK 细胞的数量高于对照组(*P*<0.05) ,增加的百分率分别为 18.33% 和 95.65% ;长时间暴露组的淋巴细胞、CD8⁺T 细胞和 NK 细胞的数量高于对照组(*P*<0.05) ,增加的百分率分别为 5.00%、23.40% 和 91.30%。其他指标在不同暴露工龄组间差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 4。

表 3 TDI 内暴露剂量对外周血淋巴细胞亚群的影响
Table 3 Effects of urinary TDI metabolites on peripheral blood lymphocyte subsets

细胞(10 ⁹ /L) Cell	对照组(<i>n</i> =55) Control group	低暴露组(<i>n</i> =23) Low exposure group	高暴露组(<i>n</i> =23) High exposure group	变化率 1 Percentage change 1(%)	变化率 2 Percentage change 2(%)
淋巴细胞[Lymphocyte , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	1.80(1.40~2.30)	2.13(1.84~2.45)**	1.92(1.54~2.47)	18.33	6.67
CD3 ⁺ T 细胞(CD3 ⁺ T cell , $\bar{x} \pm s$)	1.24 ± 0.35	1.42 ± 0.34*	1.28 ± 0.53	14.52	3.23
CD4 ⁺ T 细胞[CD4 ⁺ T cell , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	0.65(0.53~0.75)	0.70(0.58~0.83)*	0.65(0.49~0.98)	7.69	0
CD8 ⁺ T 细胞[CD8 ⁺ T cell , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	0.47(0.35~0.57)	0.60(0.53~0.69)**	0.46(0.35~0.64)	27.66	-2.13
B 细胞[B cell , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	0.18(0.13~0.23)	0.22(0.16~0.33)	0.19(0.12~0.25)	22.22	5.56
NK 细胞[NK cell , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	0.23(0.19~0.31)	0.48(0.33~0.64)**	0.43(0.32~0.55)**	108.70	86.96

[注]与对照组相比 ,* : *P*<0.05 ; ** : *P*<0.01。校正年龄、BMI、吸烟和饮酒。变化率 1 为低暴露组与对照组相比 ,变化的百分率。变化率 2 为高暴露组与对照组相比 ,变化的百分率。

[Note]Compared with the control group ,* : *P*<0.05 ; ** : *P*<0.01. Age , BMI , drinking , and smoking are adjusted. Percentage change 1 is calculated as the difference of cell counts between the low exposure group and the control group divided by the cell count of the control group. Percentage change 2 is calculated as the difference of cell counts between the high exposure group and the control group divided by the cell count of the control group.

表 4 TDI 暴露工龄对外周血淋巴细胞亚群的影响
Table 4 Effects of TDI related working years on peripheral blood lymphocyte subsets

细胞(10 ⁹ /L) Cell	对照组(<i>n</i> =55) Control group	短时间暴露组(<i>n</i> =27) Short-time exposure group	长时间暴露组(<i>n</i> =26) Long-time exposure group	变化率 1 Percentage change 1 (%)	变化率 2 Percentage change 2 (%)	变化率 3 Percentage change 3 (%)
淋巴细胞[Lymphocyte , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	1.80(1.40~2.30)	2.13(1.57~2.50)*	1.89(1.65~2.44)*	18.33	5.00	-11.27
CD3 ⁺ T 细胞(CD3 ⁺ T cell , $\bar{x} \pm s$)	1.24 ± 0.35	1.28 ± 0.46	1.37 ± 0.42	3.23	10.48	7.03
CD4 ⁺ T 细胞[CD4 ⁺ T cell , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	0.65(0.53~0.75)	0.61(0.53~0.85)	0.69(0.55~0.85)	-6.15	6.15	13.11
CD8 ⁺ T 细胞[CD8 ⁺ T cell , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	0.47(0.35~0.57)	0.52(0.41~0.67)	0.58(0.36~0.68)*	10.64	23.40	11.54
B 细胞[B cell , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	0.18(0.13~0.23)	0.16(0.11~0.24)	0.23(0.15~0.28)	-11.11	27.78	43.75
NK 细胞[NK cell , <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ - <i>P</i> ₇₅)]	0.23(0.19~0.31)	0.45(0.39~0.60)**	0.44(0.29~0.62)**	95.65	91.30	-2.22

[注]与对照组相比 ,* : *P*<0.05 ; ** : *P*<0.01。校正 BMI、吸烟和饮酒。变化率 1 为短时间暴露组与对照组相比 ,变化的百分率。变化率 2 为长时间暴露组与对照组相比 ,变化的百分率。变化率 3 为长时间暴露组与短时间暴露组相比 ,变化的百分率。

[Note]Compared with the control group ,* : *P*<0.05 ; ** : *P*<0.01. BMI , drinking , and smoking are adjusted. Percentage change 1 is calculated as the difference of cell counts between the short-time exposure group and the control group divided by the cell count of the control group. Percentage change 2 is calculated as the difference of cell counts between the long-time exposure group and the control group divided by the cell count of the control group. Percentage change 3 is calculated as the difference of cell counts between the long-time exposure group and the short-time group divided by the cell count of the short-time exposure group.

3 讨论

TDI 诱发职业性哮喘的靶细胞为支气管上皮细胞。在工业环境中 ,支气管上皮细胞长期受到 TDI 刺

激后 ,可能出现结构的改变和功能的紊乱 ,并导致一系列生物活性分子的产生与释放 ,如白介素 -1、白介素 -6、白介素 -8 和肿瘤坏死因子 -α 等^[11-12]。TDI 作为

半抗原,其含有的异氰基团可与气道内的白蛋白共价结合,生成TDI-人血清白蛋白(TDI-HSA),成为完全抗原物质^[13]。TDI-HSA可能通过某些中间环节渗透到黏膜下组织,被抗原提呈细胞产生活性物质。这些活性物质与支气管上皮细胞产生的细胞因子共同活化淋巴细胞、中性粒细胞等炎性细胞,从而导致下游一系列炎性反应的发生。

本研究对TDI暴露工人外周血淋巴细胞亚群进行分析,结果表明,暴露组和对照组相比,淋巴细胞、CD8⁺T细胞和NK细胞的数量升高($P<0.05$)。淋巴细胞是机体重要的免疫细胞,CD8⁺T细胞为毒性T细胞,可通过直接杀伤作用清除靶细胞,CD8⁺T细胞增多与在TDI哮喘患者中的研究结果相一致^[7]。NK细胞可非特异性识别靶细胞,参与机体抗肿瘤和抗病毒感染活动。TDI暴露人群中,关于NK细胞的变化之前未见报道。CD8⁺T细胞和NK细胞增多,提示TDI作业工人免疫功能受到影响,可能与炎性反应相关。

为了进一步明确淋巴细胞亚群的变化与TDI暴露水平的关系,本研究进行了TDI内暴露剂量的分析。工业常用的TDI是2,4-TDI和2,6-TDI的混合物,在尿中的代谢产物为2,4-TDA和2,6-TDA,尿中TDA的浓度可通过气相色谱法检测^[14-16]。尿液中,2,4-TDA的半衰期为5.8~11 d,2,6-TDA的半衰期为6.4~9.3 d^[17]。研究显示,尿中TDA浓度与工作环境中TDI浓度具有线性相关性^[18],但尿中TDA浓度和效应指标的关联性尚未见文献报道。本研究以尿中总TDA浓度作为内暴露指标,探讨其与血液学指标的关系。结果表明,TDI作业工人尿中总TDA浓度高于对照组。根据尿中总TDA浓度的中位数将暴露组分为低暴露组和高暴露组。低暴露组的淋巴细胞、CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞和NK细胞的数量均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),而高暴露组仅NK细胞的数量高于对照组($P<0.05$)。低暴露组与高暴露组相比,不仅发生变化的指标种类变多,且指标增加的百分率更多,提示低暴露组工人受TDI的影响更为明显。

本研究中暴露组均为长期暴露于TDI的工人,工龄中位数为8.50年,但并未观察到TDI暴露工龄与免疫学指标之间存在相关关系。这一结果可以用健康工人效应来解释。由于TDI可导致作业工人肺功能下降、哮喘及炎症反应^[4-5],可能一部分长期暴露于TDI的工人由于严重的健康损害效应而离开岗位,现保留人员(长期暴露者)已产生耐受性或为非易感体质,

从而导致本研究中短时间暴露组的免疫学效应变化强于长时间暴露组工人。

个体的易感性是影响TDI健康效应的另一重要因素。研究表明,*GSTM1*缺失型(null)基因型,*GSTP1*低活性(slow-activity)基因型,*NAT1*慢代谢(slow-acetylator)基因型可以提高异氰酸盐引发的职业性哮喘的风险^[19-22],可能是这些基因参与了TDI在体内的代谢过程。接下来的研究可以从基因多态性的角度探索TDI的免疫学效应。

综上,本研究观察到外周血CD8⁺T细胞和NK细胞在TDI暴露组中升高,提示TDI暴露可通过对外周血淋巴细胞亚群的影响介导炎性反应。

参考文献

- [1] 崔国荣,赵明,董慧萍. 甲苯二异氰酸酯对作业工人的健康影响[J]. 职业与健康, 2008, 24(13): 1243-1244.
- [2] 刘保峰,赵欣,张明,等. 甲苯二异氰酸酯对作业工人健康影响的调查[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2014, 32(8): 588-590.
- [3] 巨睿,贾强,孟涛,等. 甲苯二异氰酸酯职业接触对工人健康的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2016, 34(1): 23-26.
- [4] Padoan M, Pozzato V, Simoni M, et al. Long-term follow-up of toluene diisocyanate-induced asthma[J]. Eur Respir J, 2003, 21(4): 637-640.
- [5] Ott MG. Occupational asthma, lung function decrement, and toluene diisocyanate(TDI) exposure: a critical review of exposure-response relationships[J]. Appl Occup Environ Hyg, 2002, 17(12): 891-901.
- [6] Pisati G, Baruffini A, Zedda S. Toluene diisocyanate induced asthma: outcome according to persistence or cessation of exposure[J]. Br J Ind Med, 1993, 50(1): 60-64.
- [7] Finotto S, Fabbri LM, Rado V, et al. Increase in numbers of CD8 positive lymphocytes and eosinophils in peripheral blood of subjects with late asthmatic reactions induced by toluene diisocyanate[J]. Br J Ind Med, 1991, 48(2): 116-121.
- [8] Bentley AM, Maestrelli P, Saetta M, et al. Activated T-lymphocytes and eosinophils in the bronchial mucosa in isocyanate-induced asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 1992, 89(4): 821-829.
- [9] 张敏,雷兴红. 涂料中游离甲苯二异氰酸酯的气相色谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2003, 20(6): 364-365.
- [10] 杜欢永,宋景平,赵海燕,等. 尿中甲苯二胺气相色谱测定

- 方法的研究[J].中华劳动卫生职业病杂志,2001,19(6):449-449.
- [11]Lee YM, Kim HA, Park HS, et al. Exposure to toluene diisocyanate(TDI)induces IL-8 production from bronchial epithelial cells : effect of pro-inflammatory cytokines[J]. J Korean Med Sci ,2003 ,18(6) : 809-812.
- [12]Mattoli S, Colotta F, Fincato G, et al. Time course of IL1 and IL6 synthesis and release in human bronchial epithelial cell cultures exposed to toluene diisocyanate[J]. J Cell Physiol , 1991 ,149(2) : 260-268.
- [13]Wisniewski AV, Lemus R, Karol MH, et al. Isocyanate-conjugated human lung epithelial cell proteins : A link between exposure and asthma[J]. J Allergy Clin Immunol , 1999 ,104(2) : 341-347.
- [14]Sennbro CJ, Lindh CH, Tinnerberg H, et al. Biological monitoring of exposure to toluene diisocyanate[J]. Scand J Work Environ Health ,2004 ,30(5) : 371-378.
- [15]Persson P, Dalene M, Skarping G, et al. Biological monitoring of occupational exposure to toluene diisocyanate : measurement of toluenediamine in hydrolysed urine and plasma by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Br J Ind Med , 1993 ,50(12) : 1111-1118.
- [16]Sakai T, Morita Y, Roh J, et al. Improvement in the GC-MS method for determining urinary toluene-diamine and its application to the biological monitoring of workers exposed to toluene-diisocyanate[J]. Int Arch Occup Environ Health , 2005 ,78(6) : 459-466.
- [17]Lind P, Dalene M, Skarping G, et al. Toxicokinetics of 2 ,4- and 2 ,6-toluenediamine in hydrolysed urine and plasma after occupational exposure to 2 ,4-and 2 ,6-toluene diisocyanate [J]. Occup Environ Med ,1996 ,53(2) : 94-99.
- [18]Maitre A, Berode M, Perdrix A, et al. Biological monitoring of occupational exposure to toluene diisocyanate[J]. Int Arch Occup Environ Health ,1993 ,65(2) : 97-100.
- [19]Vainio H, Rosenberg C, Hirvonen A, et al. International workshop on biomarkers for isocyanates[J]. Scand J Work Environ Health ,1999 ,25(2) : 157-159.
- [20]Piiirilä P, Wikman H, Luukkonen R, et al. Glutathione S-transferase genotypes and allergic responses to diisocyanate exposure[J]. Pharmacogenetics ,2001 ,11(5) : 437-445.
- [21]Wikman H, Piiirilä P, Rosenberg C, et al. N-Acetyltransferase genotypes as modifiers of diisocyanate exposure-associated asthma risk[J]. Pharmacogenetics ,2002 ,12(3) : 227-233.
- [22]曹冬冬,王佳毅,刘浏,等. 职业暴露异氰酸酯易感基因的研究进展[C]//中国职业安全健康协会2013年学术年会论文集. 福州:中国职业安全健康协会,2013:766-770.
- (收稿日期:2016-08-05;录用日期:2016-12-26)
(英文编辑:汪源;编辑:洪琪;校对:汪源)

【告知栏】

《环境与职业医学》杂志被中国科学引文数据库(CSCD)收录

2015年4月,中国科学院文献情报中心公布了2015—2016年度中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database, CSCD)来源期刊。该库收录来源期刊1200种,其中中国出版的英文期刊194种,中文期刊1006种。经由定量遴选、专家定性评估,《环境与职业医学》杂志被收录为CSCD来源期刊(http://sciencechina.cn/cscd_source.jsp)。

CSCD创建于1989年,收录我国生物学、医药卫生、环境科学等领域出版的中英文科技核心期刊和优秀期刊千余种。2007年开始,CSCD与美国汤森路透集团合作,是美国科技信息研究所(ISI)Web of Science平台上第一个非英文语种的数据库,已实现与Web of Science的跨库检索。CSCD来源期刊与SCI在同一平台上面向全球提供服务,所有进入CSCD的期刊论文均可经由该平台检索,为国内唯一实现该功能的数据库。

《环境与职业医学》杂志衷心感谢各位编委、审稿专家、作者和读者对本刊工作的支持!衷心希望广大读者和作者一如既往支持本刊工作,踊跃投稿!