文章编号：1006-3617(2011)02-0098-02　　中图分类号：R114　　文献标志码：A

【调查研究】

微核试验和彗星试验观察职业性二甲基乙酰胺暴露的遗传损伤

周连芳，寿卫国，吴国华，薛振宇

摘要：［目的］观察二甲基乙酰胺（DMAc）对职业接触人群所产生的遗传损伤。［方法］用胞质阻断微核试验（CBMN）和彗星试验（SCGE）检测某氨纶企业DMAc接触工人（30名）及非接触DMAc的对照人员（30名）的外周血淋巴细胞DNA和染色体损伤。［结果］接触组微核率、微核细胞率、核分裂指数分别为（4.67±2.25）‰、（4.56±2.19）‰、（1.82±0.30）‰，对照组分别为（5.00±2.62）‰、（4.89±2.59）‰、（1.73±0.25）‰，两组的各指标间差异均无统计学意义（P>0.05）。接触组彗星尾DNA百分比、细胞尾长、尾相分别为（4.76±2.63）%、（12.60±5.68）μm、（2.51±2.30），对照组分别为（4.49±2.48）%、（11.77±5.01）μm、（2.28±1.89），各指标间的差异均无统计学意义（P>0.05）。［结论］在本实验条件下，职业性DMAc接触人群外周血淋巴细胞的染色体和DNA未表现出遗传损伤。

关键词：二甲基乙酰胺；DNA损伤；职业暴露

Detection of Genetic Damages of Occupational Dimethylacetamide Exposure with Micronucleus Test and Comet Assay

ZHOU Lian-fang, SHOU Wei-guo, WU Guo-hua, XUE Zhen-yu (Department of Occupational Disease Prevention, Xiaoshan District Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 311201, China)

Abstract: [Objective] To study the genetic damages of occupational exposure to Dimethylacetamide (DMAc). [Methods] The damages of DNA and chromosomes of peripheral blood lymphocytes were determined by comet assay and cytokinesis-block micronucleus test in exposed group consisting of 30 workers occupationally exposed to DMAc and a control group consisting of 30 workers without exposure to DMAc. [Results] In the exposure group, the micronucleus rate, micronucleus cell rate, and nuclei division index were (4.67 ± 2.25)‰, (4.56 ± 2.19)‰, (1.82 ± 0.30)‰, and showed no statistical significance of difference between those versus to the control group [(5.00 ± 2.62)‰, (4.89 ± 2.59)‰, (1.73 ± 0.25)‰] (P>0.05). The Tail DNA %, mean tail length, and meadians of mean tail moment were (4.76 ± 2.63)%, (12.60 ± 5.68) μm, (2.51 ± 2.30), and showed no statistical significance difference between those to the control group [(4.49 ± 2.48)%, (11.77 ± 5.01) μm, (2.28 ± 1.89)] (P>0.05). [Conclusion] Under condition in this experiment, DMAc occupational exposure exhibited no damage effect on DNA and chromosomes on workers.

Key Words: Dimethylacetamide(DMAc); DNA damage; occupational exposure

N,N-二甲基乙酰胺（N,N-Dimethylacetamide，DMAc）能与水、醚、酮、酯等完全互溶，对多种树脂，尤其是聚氨酯树脂、聚酰亚胺树脂具有良好的溶解能力，此外，DMAc还具有热稳定性高、不易水解、腐蚀性低、毒性小等特点。作为N,N-二甲基甲酰胺（N,N-Dimethylformamide，DMF）的替代品，其用途极为广泛，主要用作耐热合成纤维、塑料薄膜、涂料、医药、丙烯腈纺丝的溶剂。国内主要用于高分子合成纤维纺丝和其他有机合成的优良极性溶剂。

研究表明DMF是一种以消化系统尤其以肝脏为主要靶器官的全身性毒物，对消化系统、心血管系统、免疫系统、生殖系统都具有毒性效应，同时对人体的遗传物质有潜在性损伤[1]。DMAc作为DMF的替代品，毒性相对较小。国内外对DMAc毒性及其职业性暴露人群的健康损害效应研究甚少。DMAc职业暴露人群遗传毒性研究尚未见报道。

为了对DMAc接触工人是否存在遗传损伤进行评价，本研究拟用微核试验和彗星试验检测接触工人外周血淋巴细胞的2个遗传学终点。本文报导该项研究结果。

1　对象与方法

1.1　对象选择

于2009年4月选择辖区内某氨纶生产公司的两个卷绕车间，经测定两个车间的DMAc 8 h时间加权平均浓度均高于我国国家标准《工业场所有害因素职业接触限值　第1部分：化学有害因素》（GBZ 2.1—2007）规定的职业接触限值（20 mg/m^3）。随机选取30名工人为接触组，均为男性。选择与接触组对象年龄、性别、吸烟等情况相匹配的无DMAc接触史的宾馆、餐饮从业人员30名作为对照组。

1.2　方法

1.2.1　一般情况　采用问卷调查，对其一般情况及服药、接受X线检测等情况进行调查。

［作者简介］周连芳（1978–），女，硕士，主管医师；研究方向：卫生毒理学；E-mail：zhoulianfang@163.com

［作者单位］杭州市萧山区疾病预防控制中心职业卫生监督科，浙江杭州 311201

1.2.2 作业场所DMAc浓度测定 根据工作场所空气中酰胺类化合物的测定方法（GBZ/T 160.62—2004），采用空气采样器采集作业场所空气样本后，气相色谱测定。

1.2.3 接触组尿DMAc浓度测定 收集作业工人班末尿，采用气相色谱-质谱联用（GC-MS）测定尿中DMAc浓度。

1.2.4 彗星试验与微核试验 于班前抽取对象静脉血5 mL，肝素抗凝，0℃避光保存，2 h内送实验室检测。

（1）微核试验：微核试验与过伟军等[2]的方法相同，每一样本制2张玻片，并在400倍光学显微镜（Olympus公司产品）下观察1 000个双核淋巴细胞（500个/片），计算微核率（micronucleus rate，MNR，‰）和微核细胞率（micronucleus cell rate，MCR，‰）。计数500个细胞，计算核分裂指数（nuclei division index，NDI，‰），公式为NDI=（1N+2N×2+>2N×4）/500，其中1N为单核细胞数，2N为双核细胞数，>2N为多于两个核的细胞数。

（2）彗星试验：参照JIANLIN等[3]的方法并加以改进。用淋巴细胞分离液（上海环境生物高科技有限公司）从全血中分离淋巴细胞，制成单细胞悬液，经锥虫蓝染色计数细胞存活率（>99%）及细胞密度。制片后用溴乙锭（50 μL，20 μg/mL）染色。400倍荧光显微镜（OLYMPUS-BX51）下观察和拍摄200个细胞。Comet assay software project 分析软件分析尾DNA百分比（Tail DNA%）、细胞平均尾长（mean tail length，MTL，μm）和平均尾相（mean tail moment，MTM，尾DNA含量 × 尾长）。

1.2.5 统计学处理 用SPSS 13.0软件，TailDNA%、MTL、MTM采用独立样本t检验，MNR、MCR、NDI采用秩和检验分析。

2 结果

2.1 一般情况

接触组30名，年龄20~40岁，平均（29.2±5.9）岁，工龄为1.0~6.25年，平均3.60年；对照组30名，年龄20~42岁，平均（28.7±6.5）岁，P>0.05。两个卷绕车间DMAc 8 h时间加权平均浓度分别为107.49 mg/m³和73.2 mg/m³。接触组尿NMAc浓度为2.45~13.01 mg/g肌酐。

2.2 微核试验与彗星试验

微核试验中接触组和对照组MNR分别为（4.67±2.25）‰和（5.00±2.62）‰；两组MCR分别为（4.56±2.19）‰和（4.89±2.59）‰；NDI分别为（1.82±0.30）‰和（1.73±0.25）‰，各指标差异无统计学意义。彗星试验中接触组和对照组尾Tail DNA%分别为（4.76±2.63）%和（4.49±2.48）%；两组细胞MTL分别为（12.60±5.68）μm和（11.77±5.01）μm；MTM分别为2.51±2.30和2.28±1.89，各指标差异无统计学意义。见表1。

表1 两组微核试验与彗星试验结果（n=30，$\bar{x}\pm s$）

项目	接触组	对照组
微核率（MNR，‰）	4.67±2.25*	5.00±2.62
微核细胞率（MCR，‰）	4.56±2.19*	4.89±2.59
核分裂指数（NDI，‰）	1.82±0.30*	1.73±0.25
尾DNA百分比（Tail DNA%，%）	4.76±2.63**	4.49±2.48
细胞尾长（MTL，μm）	12.60±5.68**	11.77±5.01
尾相（MTM）	2.51±2.30**	2.28±1.89

［注］*：与对照组比较，独立样本t检验，P>0.05；**：与对照组比较，秩和检验，P>0.05。

3 讨论

微核（MN）是在细胞的有丝分裂后期染色体有规律地进入子细胞形成细胞核时，仍然留在细胞质中的染色单体或染色体的无着丝粒断片或环。微核试验具有简单、快速、非损伤性等优点，目前广泛用于电离辐射、化学突变剂、抗癌药物等的研究中。1985年，FENECH等[4]报道了胞浆分裂阻滞微核法（cytokinesis block micronucleus cytome assay，CBMN），在细胞培养物中加入细胞松弛素（cytochalasin-B，Cyt-B），通过识别双核细胞（binucleated cells，BN）来区别分裂细胞与未分裂细胞，检测双核细胞中的微核率。此后，CBMN即发展成为一种可分析染色体断裂、DNA错误修复、染色体不分离、坏死、凋亡和细胞分裂抑制的综合实验方法[5]。

自由基、紫外线、电离辐射和某些外来化合物等会损伤细胞的DNA，产生单链断裂或双链断裂。在碱处理DNA解螺旋后，DNA链断裂受损后出现的DNA片段由于相对分子质量很小而穿过凝胶分子筛，并在电泳电场作用下向阳极迁移，染色后在显微镜下可形成彗星状图像。彗星试验是一种快速、简便、灵敏的检测单个细胞DNA断裂的技术，已广泛应用于放射生物学、DNA损伤与修复、DNA交联、遗传毒理、肿瘤治疗评价及凋亡等领域的研究。

MALLEY等通过大小鼠长期、慢性接触的研究未发现DMAc引起大小鼠肝细胞增生的效应，表明其不存在显著致癌性[6]。本次研究表明，DMAc职业暴露人群MNR、MCR、NDI与对照组未见明显差异，彗星试验两组Tail DNA%、MTL、MTM与对照组未见明显差异，提示在本实验条件下，职业性DMAc接触人群外周血淋巴细胞的染色体和DNA未表现出遗传损伤。

鉴于本次研究选择的观察对象样本相对较少、接触者作业工龄等问题，同时微核及彗星试验检测的遗传学终点仅为染色体及DNA损伤，职业性DMAc暴露是否真正导致接触工人出现基因突变或表观遗传学方面的遗传损伤效应，尚有待于进一步的深入研究。

参考文献：

［1］陈钧强，张幸.二甲基甲酰胺毒性的研究进展［J］.浙江省医学科学院学报，2004（03）：39-42.

［2］过伟军，赵小颖，李苏英，等.汞作业所致工人的遗传效应［J］.中华劳动卫生职业病杂志.2007，25（2）：84-86.

［3］JIANLIN L，JILIANG H，LIFEN J，et al. Measuring the genetic damage in cancer patients during radiotherapy with three genetic end-points［J］. Mutagenesis，2004，19（6）：457-464.

［4］FENECH M，MORLEY A A. Measurement of micronuclei in lymphocytes［J］. Mutat Res，1985，147（1/2）：29-36.

［5］FENECH M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay［J］.Nat Protoc，2007，2（5）：1084-1104.

［6］MALLEY LA，SLONE T W Jr，MAKOVEC G T，et al. Chronic toxicity/oncogenicity of dimethylacetamide in rats and mice following inhalation exposure［J］. Fundam Appl Toxicol，1995，28（1）：80-93.

（收稿日期：2010-02-08）

（英文编审：薛寿征；编辑：郭薇薇；校对：徐新春）