

短期苯暴露对工人外周血象及淋巴细胞染色体的损伤

王学生, 刘楠, 关维俊*, 庞淑兰, 白玉萍, 徐国卉, 刘英莉

摘要: [目的] 探讨短期苯暴露对鞋厂工人外周血象及淋巴细胞染色体的损伤。[方法] 测定作业场所空气中苯浓度, 检查 203 名苯暴露工人(暴露组)与当地未暴露苯和其他有毒有害物质的 178 名健康工人(对照组)的血常规指标。应用外周血淋巴细胞胞质分裂阻滞微核(CBMN)试验结果评价研究对象外周血淋巴细胞染色体损伤。[结果] 暴露组外周血红细胞计数(RBC)、血细胞比(HCT)、血小板计数(PLT)、红细胞分布活力(RDW)降低的阳性率和平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)异常率与对照组比较, 差异均有统计学意义, χ^2 值分别为 38.21、21.37、18.02、22.17、36.59、41.23, P 均 < 0.01 ; 将暴露组按接苯工龄分为 ≤ 8 个月、9~15 个月和 16~24 个月 3 组, 中性粒细胞(GRAN)减少的阳性率随着工龄的增长而有增高的趋势, 且差异具有统计学意义($F = 7.47$, $P < 0.05$); 进一步按性别分类, 发现暴露组女工 HCT、平均红细胞体积(MCV)、PLT、血红蛋白含量(HGB)、RDW 异常率明显高于男工, χ^2 值分别为 21.04、36.26、6.94、71.62、12.91, P 均 < 0.01 。暴露组 CBMN 率[(2.98 ± 1.49)‰]明显高于对照组[(0.39 ± 0.72)‰], $P < 0.001$ 。[结论] 短期苯暴露对作业工人的血液系统及染色体损伤有一定影响, 并且上述指标的改变早于白细胞的异常, 在职业性苯中毒的早期诊断中具有一定意义。

关键词: 苯; 鞋厂工人; 外周血; 分裂阻滞微核试验; 淋巴细胞染色体损伤

Effect of Short-term Benzene Exposure on Peripheral Blood and Chromosomal Damage among Workers WANG Xue-sheng, LIU Nan, GUAN Wei-jun*, PANG Shu-lan, BAI Yu-ping, XU Guo-hui, LIU Ying-li (Laboratory of Occupational Health and Safety in Coal Industry, School of Preventive Medicine, North China Coal Medical College, Tangshan, Hebei 063000, China). *Address correspondence to GUAN Wei-jun; E-mail: guan-weijun@sohu.com

Abstract: [Objective] To investigate the effect of short-term benzene exposure on human peripheral blood and cell genotoxicity. [Methods] Benzene concentrations in the air of workplaces were determined. Blood routine indices were examined in peripheral blood in 203 workers of a shoemaking factory who were exposed to benzene, and their chromosomal damage of peripheral blood lymphocyte were evaluated with cytokinesis-block micronucleus (CBMN) method. A total of 178 workers who weren't exposed to benzene and other toxic substances served as control group. [Results] Compared with the control group, the abnormality ratio of red blood cell (RBC), hematocrit (HCT), platelet count (PLT), red cell distribution width (RDW), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) of benzene exposed group showed significantly decrease, χ^2 were 38.21, 21.37, 18.02, 22.17, 36.59 and 41.23, respectively ($P < 0.01$). Two hundred and three exposed subjects were divided into three groups by their length of service (≤ 8 months, 9-15 months and 16-24 months), stratification analysis found that significant associations between the abnormality ratio of granulocyte (GRAN) and the length of service ($F = 7.47$, $P < 0.05$) existed. The abnormality of HCT, mean corpuscular volume (MCV), PLT, hemoglobin (HGB) and RDW in females were significantly higher than that in males, $\chi^2 = 21.04, 36.26, 6.94, 71.62, 12.91$, $P < 0.01$, respectively. The lymphocyte chromosomal damage level expressed as frequency of CBMN in benzene exposed workers was significantly higher than that in controls [(2.98 ± 1.49)‰, vs (0.39 ± 0.72)‰, $P < 0.001$]. [Conclusion] Short-term benzene exposure is an occupational hazard to workers' blood system and cell genotoxicity. The changes in the above-mentioned indices are shown earlier than the decrease of leucocytes.

Key Words: benzene; workers in shoemaking factory; peripheral blood; cytokinesis-block micronucleus tests; chromosomal damage

[基金项目] 科技部社会公益研究专项项目(编号: 2005DE101439)

[作者简介] 王学生(1964-), 男, 教授; 研究方向: 分子毒理学; E-mail: xswang64@163.com

[*通信作者] 关维俊教授; E-mail: guan-weijun@sohu.com

[作者单位] 华北煤炭医学院预防医学系/河北省煤矿卫生与安全实验室, 河北 唐山 063000

苯作为油漆、黏合剂等化学物品的溶剂和稀释剂, 广泛应用于喷漆、制鞋、制革、印刷等行业。国内外研究表明, 长期从事苯作业的工人, 常出现神经、消化和血液系统等方面的症状或体征, 严重者可出现再生障碍性贫血甚至白血病^[1-2]。但短期苯暴露对人体的健康效应, 如是否引起外周血细胞的损害尚无定论。另外, 苯在肝内通过细胞色素 P450 (CYP) 2E1 酶催化

代谢产生大量自由基,而氧自由基进入细胞核中能攻击 DNA 并使 DNA 链发生断裂,碱基改变, DNA-DNA、DNA-蛋白质发生交联,影响基因表达及蛋白质合成,损伤遗传物质,导致染色体畸变——微核形成率的增加^[3-4]。为进一步了解短期内苯暴露对工人的外周血象损害情况及遗传毒性,本研究拟选择某制鞋厂苯暴露作业工人为观察对象,通过测定车间空气中苯浓度和对工人进行健康检查,探讨苯对暴露工人血液及遗传的毒性作用,为作好苯暴露人群的健康监护提供数据。

1 对象与方法

1.1 对象

苯暴露组:选择某制鞋厂苯暴露作业工人 203 名,其中男性 92 人(45.3%)、女性 111 人(54.7%),平均年龄为 19.1(17~26)岁,从事苯作业平均工龄为 1.3 年,按接苯工龄(月)分为≤8、9~15 和 16~24 3 组,每日平均工作时间约 8 h。对照组:同一地区未暴露苯和其他有毒有害物质的健康工人 178 名,其中男性 75 人(42.1%)、女性 103 人(57.9%),平均年龄为 19.3(18~21)岁。2 组年龄、性别构成差异无统计学意义($P>0.05$)。2 组人员均无免疫性相关疾病,受检前 1 个月内未发生感染,无心血管系统疾病。使用调查表收集研究对象的职业史、吸烟饮酒史、既往健康(疾病状况)等信息。

1.2 方法

1.2.1 作业场所苯浓度测定 根据 GBZ 2—2002《工作场所有害因素职业接触限值》^[5]中的方法,对制鞋车间 5 个作业点进行采样,每天上午 10 时对各作业点测定 2 次,连续采样 3 d;在工人呼吸带处进行空气采样,采用气相色谱法测定苯、甲苯、二甲苯浓度。

1.2.2 血常规检查 采集肘静脉血 2.5 mL,其中 2 mL 用于血常规分析,0.5 mL 用于外周血淋巴细胞胞质分裂阻滞微核(CBMN)试验。白细胞(WBC)、血红蛋白含量(HGB)、血小板

计数(PLT)等指标用全自动血液分析仪测定,由血常规分析技师分析并作出结论。评价标准:规定 WBC 正常值不低于 $4.0\times 10^9/L$; PLT 不低于 $1.0\times 10^{11}/L$; 红细胞计数(RBC):男 $4.0\times 10^{12}\sim 5.5\times 10^{12}/L$,女 $3.5\times 10^{12}\sim 5.0\times 10^{12}/L$; HGB:男 120~160 g/L,女 110~150 g/L; 血细胞比(HCT):男 0.42~0.49(42%~49%),女 0.37~0.43(37%~43%); 平均红细胞体积(MCV):80~100 fL; 平均红细胞血红蛋白含量(MCH):27~33 μg ; 平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC):320~360 g/L; 中性粒细胞(GRAN):不低于 $2.0\times 10^9/L$ 。

1.2.3 CBMN 试验 采用 FENECH^[6]推荐的 CBMN 方法。将 0.5 mL 的全血立即注入 5 mL 的培养液(体积分数为 80%的 RPMI1640、体积分数为 20%的胎牛血清、250 mg/L 谷氨酰胺、植物血凝素和肝素适量)中混匀,防止血凝块形成,于 $(37\pm 1)^{\circ}C$ 温箱中培养至 42~44 h,加入细胞松弛素-B,终浓度为 6 $\mu g/mL$,继续培养至 70~72 h 收获细胞。细胞经 0.075 mol/L KCl 低渗、4:1 的甲醇:冰醋酸固定后滴片,玻片室温下自然干燥过夜。用质量分数为 10%的 Gimsa 染液染色 10 min,10 $\times$ 100 倍光镜下计数 1000 个双核细胞中含微核细胞数,计数其微核率。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 进行 χ^2 检验和相关分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 车间空气苯浓度

车间空气中的苯、甲苯、二甲苯的 8 h 时间加权平均容许浓度(PC-TWA)分别为 6、50、50 mg/m³;短间接接触容许浓度(PC-STEL)分别为 10、100、100 mg/m³^[5]。制鞋车间 5 个作业点苯质量浓度均超过国家职业卫生标准。整个车间苯平均质量浓度(质量浓度范围)为 19.54(6.24~22.52)mg/m³;甲苯浓度为 11.15~199.92 mg/m³,平均 45.35 mg/m³;二甲苯浓度为 0.98~12.51 mg/m³,平均 2.99 mg/m³,见表 1。

表 1 车间空气中苯及其同系物浓度(mg/m³, n=6)

作业点 Work places	苯(Benzene)		甲苯(Methylbenzene)		二甲苯(Dimethylbenzene)	
	浓度范围(Concentration range)	均值(Mean value)	浓度范围(Concentration range)	均值(Mean value)	浓度范围(Concentration range)	均值(Mean value)
1	6.36~19.21	16.72	18.15~126.32	61.16	1.17~11.46	3.06
2	7.53~21.04	18.15	11.15~105.26	17.63	0.98~9.53	1.38
3	6.24~22.52	21.57	17.82~199.92	76.38	1.24~12.51	5.92
4	6.92~19.70	18.86	13.43~178.67	34.92	1.08~10.36	2.27
5	7.41~22.52	22.41	15.05~183.69	36.68	1.12~11.17	2.34

2.2 血象检测结果

与对照组相比,暴露组 RBC 减少、HCT 降低、PLT 减少、红细胞分布活力(RDW)降低的阳性率和 MCH、MCHC 的异常率差异均有统计学意义, χ^2 值分别为 38.21、21.37、18.02、

22.17、36.59、41.23, P 均 <0.01 ; 2 组 WBC 减少、MCV 减少、HGB 降低、GRAN 减少的阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 暴露组与对照组外周血液指标检查结果

血细胞变化 Changes of blood cells	暴露组(n=203) Exposure group			对照组(n=178) Control group		
	人数 Number	阳性率(%) Positive rate	范围 Concentration range	人数 Number	阳性率(%) Positive rate	范围 Concentration range
WBC($\times 10^9/L$)减少(Decreased WBC)	13	6.4	3.24~11.05	10	5.6	3.89~13.50
RBC($\times 10^{12}/L$)减少(Decreased RBC)	48	23.6**	2.38~5.96	11	6.2	3.34~5.75
HCT降低(Reduced HCT)	161	79.3**	0.24~0.57	39	21.9	0.33~0.51

(续表 2)

血细胞变化 Changes of blood cells	暴露组 (n=203) Exposure group			对照组 (n=178) Control group		
	人数 Number	阳性率 (%) Positive rate	范围 Concentration range	人数 Number	阳性率 (%) Positive rate	范围 Concentration range
MCH (pg) 异常 (MCH abnormality)	51	25.1**	16.30~87.70	14	7.9	24.90~35.60
MCV (fL) 减少 (Decreased MCV)	10	4.9	36.10~112.00	6	3.4	73.60~101.40
PLT (×10 ⁹ /L) 减少 (Decreased PLT)	38	18.7**	69.00~693.00	9	5.1	91.00~724.00
HGB (g/L) 降低 (Reduced HGB)	46	22.7	75.20~168.90	30	16.9	85.30~165.80
RDW (g/L) 降低 (Reduced RDW)	45	22.2**	11.30~22.60	11	6.2	13.60~24.10
MCHC (g/L) 异常 (MCHC abnormality)	58	28.6**	246.00~523.00	8	4.5	309.00~375.00
GRAN (×10 ⁹ /L) 减少 (Decreased GRAN)	4	2.0	1.10~12.40	1	0.6	1.80~11.90

[注]**: 与对照组比较 (Compared with the control group), $P < 0.01$ 。

2.3 血象异常与工龄的关系

趋势, 差异有统计学意义 ($F = 7.47$, $P < 0.05$), 见表 3。

暴露组 GRAN 减少的阳性率随着工龄的增长而有增高的

表 3 暴露组血象异常与工龄的关系

Table 3 Association between abnormality ratio of peripheral blood and length of service in benzene exposed workers

血细胞变化 Changes of blood cells	工龄 ≤ 8 个月 (n=59) Length of service ≤ 8 month		工龄 9~15 个月 (n=76) Length of service 9-15 months		工龄 16~24 个月 (n=68) Length of service 16-24 months	
	人数 Number	阳性率 (%) Positive rate (%)	人数 Number	阳性率 (%) Positive rate (%)	人数 Number	阳性率 (%) Positive rate (%)
WBC 减少 (Decreased WBC)	3	5.1	6	7.9	4	5.9
RBC 减少 (Decreased RBC)	13	22.0	20	26.3	15	22.1
HCT 降低 (Reduced HCT)	47	80.0	60	78.9	54	79.4
MCH 异常 (MCH abnormality)	12	20.3	20	26.3	19	27.9
MCV 减少 (Decreased MCV)	3	5.1	4	5.3	3	4.4
PLT 减少 (Decreased PLT)	11	18.6	14	18.4	13	19.1
HGB 降低 (Reduced HGB)	12	20.3	13	17.1	20	30.9
RDW 降低 (Reduced RDW)	14	23.7	15	19.7	16	23.5
MCHC 异常 (MCHC abnormality)	18	30.5	23	30.3	17	25.0
GRAN 减少 (Decreased GRAN)	0	0.0	1	1.3	3	4.4*

[注]*: 分别与 ≤ 8 个月组、9~15 个月组比较 (Compared with ≤ 8 month and 9-15 month group, respectively), $P < 0.05$ 。

2.4 血象异常与性别的关系

暴露组女性 HCT 降低 ($\chi^2=21.04$)、MCV 减少 ($\chi^2=36.26$)、PLT 减少 ($\chi^2=6.94$)、HGB 降低 ($\chi^2=71.62$)、RDW 降低 ($\chi^2=12.91$) 的阳性率明显高于男性 (P 均 < 0.01)，WBC 减少和 GRAN 减少的阳性率男女之间差异无统计学意义 ($\chi^2=3.496$, $\chi^2=4.039$, P 均 > 0.05)，见表 4。

表 4 暴露组血象异常与性别的关系

Table 4 Association between abnormality ratio of peripheral blood and sex in benzene exposed workers

血细胞变化 Changes of blood cells	男 (Male) (n=92)		女 (Female) (n=111)	
	人数 Number	阳性率 (%) Positive rate	人数 Number	阳性率 (%) Positive rate
WBC 减少 (Decreased WBC)	7	7.6	6	5.4
RBC 减少 (Decreased RBC)	24	26.1	24	21.6
HCT 降低 (Reduced HCT)	67	72.8	94	84.7**
MCH 异常 (MCH abnormality)	23	25.0	28	25.2
MCV 减少 (Decreased MCV)	2	2.2	8	7.2**
PLT 减少 (Decreased PLT)	14	15.2	24	21.6**
HGB 降低 (Reduced HGB)	16	17.4	30	27.0**
RDW 降低 (Reduced RDW)	15	16.3	30	27.0**
MCHC 异常 (MCHC abnormality)	33	35.9	25	22.5
GRAN 减少 (Decreased GRAN)	2	2.2	2	1.8

[注]**: 与男性比较 (Compared with males), $P < 0.01$ 。

2.5 CBMN 率

结果显示暴露组 CBMN 率明显高于对照组 ($P < 0.001$)，见表 5。

表 5 暴露组与对照组 CBMN 率的情况

Table 5 Status of CBMN frequencies between benzene exposed workers and controls

组别 Group	人数 Number	淋巴细胞数 Lymphocyte	含微核细胞数 Inclusion of lymphocyte	CBMN 率 ($\bar{x} \pm s$, %) Frequency of CBMN
暴露组 Exposure group	203	203000	6059	2.98 ± 1.49**
对照组 Control group	178	178000	694	0.39 ± 0.72

[注]**: 与对照组比较 (Compared with the control group), $t = 4.69$, $P < 0.001$ 。

2.6 苯作业工龄与 CBMN 率的关系

方差分析及进一步使用 Bonferroni 校正进行两两比较, 均未发现暴露组 CBMN 率与苯暴露工龄间有明显关联, 见表 6。

表 6 苯作业工龄对 CBMN 率的影响

Table 6 Influence of length of service to CBMN frequencies

工龄 (月) Length of service (months)	人数 Number	CBMN 率 ($\bar{x} \pm s$, %) Frequency of CBMN	P
≤ 8	59	2.94 ± 0.18	
9~15	76	2.73 ± 0.26	0.33
16~24	68	3.37 ± 0.23	0.10

3 讨论

苯是一种具有芳香味、易挥发的工业毒物,毒性作用比较广泛,涉及到人体多个器官与系统,对人体健康影响较大。苯暴露对血液系统的损害报道较多^[7-9]。研究发现苯的血液系统毒作用最主要表现是导致暴露工人的外周血象异常。苯通过肝微粒体上的CYP代谢成各种苯醌和氢醌,集中在骨髓发挥毒性作用。通过对骨髓造血干细胞和骨髓基质细胞等的破坏作用,抑制造血干细胞的有丝分裂等,主要包括影响DNA合成、诱导干细胞凋亡、促进血细胞破坏、干扰促红素的刺激作用和影响造血微环境,影响血细胞的生成,导致外周血细胞计数的异常。本研究发现与对照组相比,暴露组工人的RBC减少、HCT降低、PLT减少、RDW降低的阳性率与MCH、MCHC的异常率均有明显差异。其中MCH和MCHC存在升高和降低两种情形,若只提及一种情况将对结果产生稀释作用;而RBC、HCT与HGB正常值,男性与女性之间有一定差异,如采用均值比较,也会导致较大误差,故本研究采用外周血细胞的异常率进行比较。研究结果提示苯暴露可引起红细胞相关指标RBC减少、RDW降低、MCH和MCHC的异常率明显升高,血小板相关指标PLT减少和HCT降低的阳性率明显增高,这些结果说明短时期的苯接触(平均工龄为1.3年)依然可引起全身的血液损伤,而对WBC、HGB影响不大,这与文献报道不相符^[10]。因此,我们再进行进一步将暴露组按接苯工龄分组后,发现GRAN减少的阳性率随着工龄的增长而有增高的趋势,且差异具有统计学意义($P < 0.05$),但仍未发现对WBC的影响,可能因为短时期的苯暴露可引起红细胞与血小板相关指标的改变,要早于白细胞的改变,提示这些指标在苯中毒的早期诊断中可能有一定意义,有进一步研究的必要。

微核是染色体发生断裂形成的存在于细胞质中的无着丝粒断片,微核率可反映遗传物质染色体损伤程度,是观察毒物对机体遗传效应影响的重要指标。CBMN法仅计数分裂一次的细胞中的微核数,且其计数的微核不仅仅包括从干细胞分化到终末淋巴细胞过程中因受环境刺激而产生和保留下来的微核,还包括终末分化淋巴细胞在外周血循环时受化学物损伤而产生的微核,这类微核在传统的直接检测法中是检测不到的,因此CBMN法提高了方法的精确性与敏感性。据文献报道,许多致癌、致突变物质可导致DNA损伤,微核形成^[11]。有人测定苯作业工人外周血微核数增加早于WBC改变^[12],徐厚恩等发现接触苯浓度为 32 mg/m^3 ,其体内染色体损伤早于WBC变化^[13]。这说明长期接触苯作业时,体内遗传物质首先受损。虽然本次研究对象从事苯作业的时间较短,但在WBC异常率无明显差异的情况下,我们发现苯暴露组工人外周血CBMN率明显高于对照组($P < 0.001$),提示短期苯接触也可引起染色体损伤,具

有一定的遗传毒作用。

本次研究提示我们,短期苯暴露对作业工人的血液系统及染色体损伤仍有一定影响,为了保障苯作业工人的身体健康,工矿企业应该及早对他们进行职业健康监护,加强作业场所防护设施的投入和职业卫生知识的培训,进一步强化劳动者的自我保护意识。苯作业车间应建立完善的通风排毒设施,将车间内苯浓度控制在国家规定职业卫生标准之内,以预防苯毒性职业危害的发生。另外,对于接苯工人开展健康监护时,除需要检查血液学指标外,建议在有条件的情况下,可考虑增加检测遗传物质损伤的有关指标,以便能及早发现苯接触工人的异常变化并全面分析和评价苯对接触工人的职业危害。

参考文献:

- [1] 张奔.对低浓度苯接触工人健康状况的调查[J].中华预防医学杂志,1996,30(3):164-166.
- [2] 陈灏珠.实用内科学[M].10版.北京:人民出版社,2000:680.
- [3] SMITH M T, ZHANG L. Biomarkers of leukemia risk: benzene as a model[J]. Environ Health Perspect, 1998, 106(suppl 4): 937-946.
- [4] WANDLE E O, ONO K, KAIN R, et al. Linear correlation between surviving fraction and the micronucleus frequency[J]. Int J Radiat Biol, 1989, 56(5): 771-775.
- [5] 中华人民共和国卫生部. GBZ 2—2002 工作场所有害因素职业接触限值[S]. 北京:中国标准出版社,2002.
- [6] FENECH M. The in vitro micronucleus technique[J]. Mutat Res, 2000, 455(1/2): 81-95.
- [7] 金瓒.苯对作业工人血常规的影响[J].实用医技杂志,2008,15(15):1943-1944.
- [8] 陈美芳.苯系物324名作业人员健康状况的调查[J].职业与健康,2005,21(11):1717-1718.
- [9] 移钱华,何晓庆,杨建国,等.不同浓度苯接触对作业工人健康的影响[J].职业与健康,2007,23(1):1-3.
- [10] 郭颖燕,沈心钿,陈兆进,等.低浓度苯暴露对鞋厂工人外周血象影响的研究[J].中国公共卫生管理,2008,24(4):430-432.
- [11] 朱守民,王爱红,刘桂明,等.氯乙烯染毒大鼠DNA损伤与肝脏某些生化指标的变化[J].卫生研究,2004,33(3):273-275.
- [12] 谢秀珍,栗学竺,张露霞,等.低浓度混合苯对细胞遗传学影响的探讨[J].中国工业医学杂志,1993,6(2):83-84.
- [13] 徐厚恩,张锐,薛彬,等.综合评定苯低浓度污染有毒危险性的研究[J].中华预防医学杂志,1995,29(5):264-266.

(收稿日期:2009-06-08)

(英文编审:黄建权;编辑:王晓宇;校对:徐新春)

更正:本刊2010年第7期封三“专家风采”栏目,“王世俊教授”一文第2段第9行“二巯基丁二酸钠”系“二巯基丁二酸钠”之误,特此更正,并致歉意。

本刊编辑部
2010年8月3日