

低浓度苯职业接触工人尿中苯巯基尿酸与8-羟基脱氧鸟苷的分布特征

王坤, 王彤, 周燕华, 浦跃朴, 张娟

东南大学公共卫生学院, 江苏 南京 210009

摘要:

[背景] 苯是公认的致癌物。随着生产工艺的发展和劳动防护设施的改善, 许多作业场所的空气苯浓度已经远低于职业接触限值, 但研究发现, 低水平苯接触依然会对职业人群健康造成影响。

[目的] 研究低浓度苯职业接触工人尿液中苯巯基尿酸(S-PMA)与8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的分布特征。

[方法] 采用横断面调查方法, 以206名扬州某涉苯汽车制造工厂2018—2019年间参加职业健康检查的职工作为研究对象; 其中120名汽车喷漆车间作业工人作为接触组, 86名非车间工作的文职管理人员作为对照组。收集研究对象的职业接触与健康检查资料及外周血和尿液样本。对血液样本进行血常规检查; 通过高分辨四级杆飞行时间质谱仪检测尿中S-PMA含量, 并以尿肌酐校正后的S-PMA测量值作为内暴露指标; 采用比色法检测血清中脂质过氧化物丙二醛(MDA)、尿液中8-OHdG水平。校正性别、年龄、体重指数、吸烟及饮酒情况后, 分析苯接触对工人外周血象和氧化损伤的影响, 并分析S-PMA与8-OHdG的相关性。以8-OHdG水平作为应变量, S-PMA水平及可能影响8-OHdG水平的因素为自变量, 进行多元线性逐步回归分析。

[结果] 该厂产苯环节主要发生在调漆、喷漆过程中。虽各接苯岗位苯接触浓度没有超过职业接触限值, 但接触组工人尿液中S-PMA的中位数为 $12.21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (以Cr计, 后同), 高于对照组($4.80 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $P<0.001$); 接触组MDA、8-OHdG的中位数分别为 $11.19 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $169.18 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, 均高于对照组(MDA、8-OHdG的中位数分别为 $9.08 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $91.43 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, $P<0.001$); 接触组红细胞异常率为10.0%, 高于对照组(2.3%, $P<0.05$)。调整吸烟因素后, 在吸烟与不吸烟人群中, 接触组S-PMA和8-OHdG水平均高于对照组($P<0.05$); 仅在不吸烟人群中, 接触组MDA水平高于对照组($P<0.05$); 血常规指标异常率在吸烟与不吸烟人群中差异无统计学意义。Spearman相关分析结果显示, 8-OHdG与S-PMA呈正相关($r=0.488$, $P<0.05$); 多元回归分析显示尿液中S-PMA的检出水平与8-OHdG水平呈正向关联, 其 b (95%CI) 为 9.942 ($9.337\sim10.547$), $P<0.001$ 。

[结论] 职业低浓度苯接触情况下, 工人尿中苯接触内暴露标志物S-PMA水平仍升高, 而S-PMA与DNA损伤标志物8-OHdG呈正相关, 作业工人体内氧化损伤增加。即使在低浓度下, 苯接触仍有较高的健康风险。

关键词: 苯; 苯巯基尿酸; 氧化损伤; 丙二醛; 8-羟基脱氧鸟苷

Distribution of S-phenylmercapturic acid and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in urine of workers exposed to low-concentration benzene WANG Kun, WANG Tong, ZHOU Yan-hua, PU Yue-pu, ZHANG Juan (School of Public Health, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

Abstract:

[Background] Benzene is a recognized carcinogen. With the development of production technology and the improvement of labor protection facilities, the concentrations of benzene in the air of many workplaces have been far lower than the national occupational exposure limit. However, a large number of studies have found that low-concentration benzene still has an impact on the health of occupational populations.

[Objective] This study is conducted to characterize the distributions of S-phenylmercapturic acid (S-PMA) and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in urine of workers exposed to low-

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2020.19802

作者简介

王坤 (1993—), 女, 硕士生;
E-mail: 220173435@seu.edu.cn

通信作者

张娟, E-mail: 101011288@seu.edu.cn

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-11-22

录用日期 2020-03-31

文章编号 2095-9982(2020)05-0413-08

中图分类号 R134

文献标志码 A

►引用

王坤, 王彤, 周燕华, 等. 低浓度苯职业接触工人尿中苯巯基尿酸与8-羟基脱氧鸟苷的分布特征[J]. 环境与职业医学, 2020, 37(5): 413-420.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2020.19802

Correspondence to

ZHANG Juan, E-mail: 101011288@seu.edu.cn

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2019-11-22

Accepted 2020-03-31

►To cite

WANG Kun, WANG Tong, ZHOU Yan-hua, et al. Distribution of S-phenylmercapturic acid and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in urine of workers exposed to low-concentration benzene[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2020, 37(5): 413-420.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2020.19802

concentration benzene.

[Methods] A cross-sectional survey was carried out to enroll 206 employees who took part in occupational health examination from a benzene-related automobile factory in Yangzhou from 2018 to 2019, including 120 workers in the automobile painting workstation as the exposure group and 86 office workers as the control group. The occupational exposure data, health examination data, and peripheral blood and urine samples were collected from the subjects. The blood samples were examined for routine blood test indicators. The urine samples were examined for the level of S-PMA by high-resolution quadrupole coupled with time-of-flight mass spectrometer, and the S-PMA level corrected by urine creatinine was taken as an internal exposure index. The contents of lipid peroxide malondialdehyde (MDA) in serum and 8-OHdG in urine were detected by colorimetry as indices of oxidative damage of lipid and DNA. After adjusting for sex, age, body mass index, smoking, and drinking, the effects of benzene exposure on peripheral blood and oxidative damage in workers and the correlations of S-PMA with 8-OHdG were analyzed. Multiple linear stepwise regression analysis was conducted with 8-OHdG as a dependent variable and S-PMA and possible influencing factors of 8-OHdG as independent variables.

[Results] Benzene release mainly occurred in the processes of paint mixing and painting in the automobile factory. Although the benzene concentration of each benzene exposure workstation did not exceed the national occupational exposure limit, the medians of urinary S-PMA, serum MDA, urinary 8-OHdG, and the abnormal rate of red blood cells of workers in the exposure group were $12.21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (in terms of Cr, thereafter), $11.19 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $169.18 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, and 10.0%, respectively, higher than those in the control group ($4.80 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $9.08 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $91.43 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, and 2.3%, respectively) ($P<0.001$ or $P<0.05$). After adjusting for smoking-related factors, the levels of S-PMA and 8-OHdG in the exposure group were higher than those in the control group for both smoking and non-smoking subjects ($P<0.05$); only for the non-smoking participants, the MDA level in the exposure group was higher than that in the control group ($P<0.05$); there was no significant difference in the abnormal rate of blood routine indicators between smokers and non-smokers. The results of Spearman correlation analysis showed that 8-OHdG was positively correlated with S-PMA ($r=0.488$, $P<0.05$). The results of multiple regression analysis showed that the level of S-PMA in urine was positively correlated with the level of 8-OHdG in urine [b (95% CI)= 9.942 (9.337 - 10.547), $P<0.001$].

[Conclusion] Under occupational low-concentration benzene exposure, the level of S-PMA in urine of workers is still increased, there is a positive correlation between S-PMA (a benzene exposure marker) and 8-OHdG (a DNA injury marker), and oxidative damage is increased, indicating a relatively high health risk.

Keywords: benzene; S-phenylmercapturic acid; oxidative damage; malondialdehyde; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

苯是工业及化工生产中常用的有机溶剂和化工原料^[1]。国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 已确认苯是人类致癌物^[2]。苯的毒性与其代谢密切相关^[3-4], 苯通过 I 相反应产生酚类、醌类等毒性产物, 通过 II 相反应与内源性物质结合并排出体外。苯巯基尿酸 (S-phenylmercapturic acid, S-PMA) 是苯在机体内的中间代谢产物环氧化苯与谷胱甘肽在谷胱甘肽 S-转移酶催化下形成的巯基尿酸前体, 在酸性条件下经脱水反应缩合而成的化合物, 经尿液排出, 是苯在机体内具有较强特异性和较高敏感性的代谢产物^[5]。有研究表明, 空气苯浓度范围为 $0.035\sim 73.85 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时, S-PMA 与其线性关系良好, 是较理想的职业低浓度苯接触生物标志物^[6-7]。苯的毒性代谢产物氢醌和苯醌可在骨髓中产生活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS), ROS 可引发脂质过氧化, 产生丙二醛 (malondialdehyde, MDA)^[8]。尿中 8-羟基脱氧鸟苷 (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG) 是 DNA 氧化损伤的产物, 在体内稳定存在并作为代谢终产物随尿液排出体外, 是反映 DNA 氧化损伤较为理想的指标^[9-11]。

随着生产技术的提高和防护设施的改善, 许多涉苯作业场所的空气苯浓度已经远低于职业接触限值 [8h 时间加权平均容许接触浓度 (C_{TWA}) 为 $6 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$, 短

时间接触容许浓度 (C_{STEL}) 为 $10 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$], 苯作业工人接触呈现低浓度接触状态^[12-13]。然而, 有研究表明, 即使职业环境中苯质量浓度 (后称“浓度”) 低于 $3.5 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$, 也会产生氧化损伤、血液毒性和遗传毒性等损伤^[14-18]。因此, 越来越多的学者开始关注低浓度苯接触造成的损伤, 其中关于低浓度苯接触下内暴露情况与损伤指标的关系研究较少。本研究以扬州市某汽车制造企业中汽车喷漆车间 (涉及低浓度苯暴露) 作业工人与非车间工作的对照人群为研究对象, 通过检测人群尿液 S-PMA 浓度、血常规、血清 MDA 浓度和尿液 8-OHdG 浓度, 了解工人尿液 S-PMA 与 8-OHdG 的分布和职业低浓度苯接触对工人健康的损害效应, 分析苯接触指标与损伤指标的关系, 为职业低浓度苯接触的筛查和预防提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

在江苏省作业场所职业病危害申报与备案管理系统中申报作业环境中苯浓度低于职业接触限值的涉苯企业中, 选取扬州市 2018—2019 年某涉苯汽车制造企业参加职业健康检查的职工 (206 名) 作为研究对象, 其中 120 名汽车喷漆车间作业工人作为接触组, 86 名

非车间工作的文职管理人员作为对照组。接触组包括喷漆车间的巡检工人、涂装工人及车身车间点修补工人。在喷漆过程中要使用含苯溶剂,工人在车间工作中均配备口罩、手套、防护服等防护用具,车间防尘、防热及通风系统等防护措施符合中国职业卫生相关规定。研究对象工龄超过3个月,无其他职业有害化学物质接触史。对照组在工作过程中无任何职业有害化学物质接触。所有研究对象的个人信息获取及血液样本、尿液样本等采集均在获得知情同意后于工作日进行。本实验已获得东南大学附属中大医院临床研究伦理委员会批准,伦理审批号为:2018ZDKYSB008。

1.2 问卷调查

问卷的内容主要包括:(1)调查对象的基本情况,包括性别、身高、体重、年龄等;(2)生活方式,含吸烟史、饮酒史;(3)疾病史,即调查对象是否患有其他疾病、家族患病史、既往病史、X射线检查史及药物服用史等;(4)调查对象职业史,即调查对象的作业车间、工作时间、工龄、既往职业史、劳动作业中的个人防护措施使用情况等。

1.3 现场调查及样品收集

开展职业卫生现场调查,内容包括:原辅材料,涉苯岗位,涉苯作业工人对苯的接触方式,已采取的职业病防护设施,个人防护情况以及车间中苯监测数据等。

用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管采集研究对象空腹静脉血3 mL,离心取血浆,用15 mL离心管收集研究对象尿液10 mL,于-80℃冰箱储存。

1.4 样品检测

1.4.1 实验仪器 高分辨四级杆飞行时间质谱仪(AB SCIEX,美国),超纯水仪(MILLIPORE-Q,美国),台式高速低温离心机(EPPENDORF,德国),精密电子天平(METTLER TOLEDO,瑞士)。

1.4.2 实验试剂 S-PMA标准品($C_{11}H_{13}NO_3S$,纯度 $\geq 98\%$;Tokyo Kasei Kogyo公司,日本),甲醇、乙腈(默克,德国),甲酸铵(赛默飞,中国上海),三氯甲烷、硫酸、氢氧化钾(以上试剂均为分析纯)。

1.4.3 血常规检测 采用全自动血细胞分析仪检测白细胞(white blood cell, WBC)计数、红细胞(red blood cell, RBC)计数、中性粒细胞(neutrophil, NEUT)计数、血小板(platelet, PLT)计数。参照WS/T 405—2012《血细胞分析参考区间》^[19]判断各指标检测值是否在参考值范围内。

1.4.4 尿中S-PMA测定 参照GBZ/T 254—2014《尿中

苯巯基尿酸的高效液相色谱测定方法》^[20]。将尿样于室温下解冻,进行3次萃取,合并3次萃取液于50℃氮气流下挥干,经甲醇溶解后,取100 μ L上清液分析。计算结果采用尿肌酐(Cr)校正,计量单位为 μ g $\cdot$ g⁻¹(以Cr计,后同)。回收率为85.6%~101%,4次测定结果的相对标准偏差为1.8%~4.2%。

1.4.5 尿中8-OHdG测定 采用人8-OHdG酶联免疫分析(ELISA)试剂盒检测尿液中8-OHdG含量。用酶标仪在450 nm波长下检测光密度(D)值。以标准品浓度(0.02、0.04、0.08、0.16、0.24 ng $\cdot$ L⁻¹)为横坐标,以D值为纵坐标,绘制标准曲线,根据标准曲线计算样品中8-OHdG的含量。采用尿Cr校正,计量单位为ng $\cdot$ g⁻¹(以Cr计,后同)。

1.4.6 血清MDA测定 采用人MDA试剂盒检测,用酶标仪在532 nm波长检测D值,以标准品浓度(1、2、5、10、20、50 μ mol $\cdot$ L⁻¹)为横坐标,以D值为纵坐标,绘制标准曲线,并计算尿中MDA的浓度。

1.5 统计学分析

使用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析。定量资料符合正态分布的采用均数 $\pm$ 标准差表示,偏态分布的采用M(P_{25} , P_{75})表示,分类资料采用率表示。定量资料间差异的比较:符合正态分布的资料采用独立样本t检验,不符合正态分布的两组及多组资料分别采用Mann-Whitney U检验和Kruskal-Wallis H(K)检验。分类资料间差异的比较采用 χ^2 检验及Fisher精确检验。采用Spearman相关对各指标之间进行相关分析,采用多元线性逐步回归法分析8-OHdG的影响因素。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 工艺特征

该喷漆车间使用物料含有油漆以及稀释剂,挥发时产生苯。依据工艺流程,涉苯环节包括搅拌调漆、烘干、喷底漆以及面漆。工人按照比例要求将底漆、固化剂、稀释剂倒入调漆桶进行机械搅拌,倒入喷枪瓶,对汽车表面进行喷漆,喷漆完毕后进行烘干,打磨修补后依次进行第一遍面漆及第二遍面漆的喷漆过程。作业工人接触苯的方式主要为经呼吸道摄入,另有少量皮肤接触。该公司在防尘、防热、布局及配电系统等方面设计合理,各岗位空气互通,基本符合中国职业卫生相关规定。各岗位苯浓度监测数据显示均低于国家职业接触限值。整个工艺流程见图1。

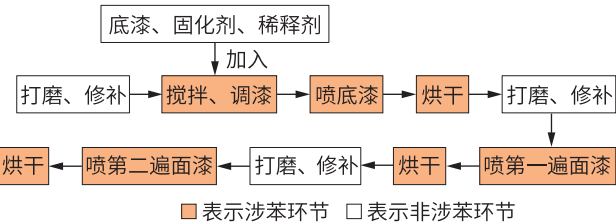


图1 汽车喷漆车间生产工艺流程图

Figure 1 Production process flow of an automobile painting workshop

2.2 研究对象人口学特征及生活方式

本研究共纳入 206 名调查对象。接触组 120 人，其中男性 93 人，女性 27 人，主要从事喷漆车间巡检和涂装工作、车身车间点修补等工作。对照组 86 人，其中男性 70 人，女性 16 人，主要从事文职管理等非车间工作。接触组与对照组在性别、年龄、体重指数、饮酒情况的差异均无统计学意义（均 $P>0.05$ ）；接触组吸烟率为 45.0%，高于对照组（25.6%）（ $P<0.05$ ）。见表 1。

2.3 血常规检查结果

接触组工人的红细胞和血小板计数均低于对照组（ $P<0.001$ ）；红细胞计数的异常率为 10.0%，高于对照组（2.3%）（ $P<0.05$ ）；其余血常规指标值及异常率的差异均无统计学意义（均 $P>0.05$ ）。见表 2。

2.4 尿液 S-PMA、8-OHdG 及血浆 MDA 水平

接触组工人尿 S-PMA、8-OHdG、MDA 均呈偏态分布，中位数分别为 $12.21\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $169.18\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $11.19\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，均高于对照组（均 $P<0.05$ ）。接触组工人尿中 S-PMA 范围为 $1.24\sim 230.21\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，其中有 5 名工人尿中 S-PMA $>100\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，超过职业接触范围。见表 3。

2.5 调整吸烟因素后两组人群的各指标检测结果

在吸烟人群中，接触组工人尿 S-PMA、8-OHdG 浓度中位数为 $15.3\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $182.7\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ，对照组分别为 $4.3\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $81.2\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ；不吸烟人群中，接触组工人尿 S-PMA 和 8-OHdG 浓度中位数为 $10.8\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $155.3\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ，对照组分别为 $4.9\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $105.0\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在吸烟与不吸烟

人群中，接触组 S-PMA 和 8-OHdG 浓度均高于对照组（ $P<0.05$ ）；接触组仅不吸烟人群 MDA 浓度高于对照组（ $P<0.05$ ）。血常规异常率在吸烟与不吸烟人群中差异无统计学意义（均 $P>0.05$ ）。见表 4。

表1 研究对象社会人口学特征及生活方式比较

Table1 Comparison of demographic characteristics and lifestyles of participants

变量 Variable	接触组 (n=120) Exposure	对照组 (n=86) Control	χ^2/t^*	P
性别 (Gender) #			0.502	0.602
男性 (Male)	93 (77.3)	70 (81.4)		
女性 (Female)	27 (22.7)	16 (18.6)		
年龄 / 岁 [M (P ₂₅ , P ₇₅)] Age/years	33 (27, 47)	32 (28, 38)	-1.420	0.156
体重指数 / kg·m ⁻² ($\bar{x}\pm s$) Body mass index	24.43±4.26	23.46±3.19	1.658	0.099
吸烟 (Smoking) #			8.114	0.004
是 (Yes)	54 (45.0)	22 (25.6)		
否 (No)	66 (55.0)	64 (74.4)		
吸烟年数 / 年 # Smoking time/years			0.355	0.837
0~	16 (29.6)	8 (36.4)		
5~	18 (33.3)	7 (31.8)		
10~	20 (37.1)	7 (31.8)		
每日吸烟量 / 包 # Daily smoking volume/packs			0.690	0.504
<1	46 (85.2)	17 (77.3)		
1~2	8 (14.8)	5 (22.7)		
饮酒 (Drinking) #			1.824	0.142
是 (Yes)	47 (39.2)	25 (29.1)		
否 (No)	73 (60.8)	61 (70.9)		
饮酒年数 / 年 # Drinking time/years			2.338	0.311
0~	15 (31.9)	7 (28.0)		
5~	18 (38.3)	14 (56.0)		
10~	14 (29.8)	4 (16.0)		
每周饮酒次数 # Weekly drinking frequency			3.003	0.083
≤1	20 (42.6)	16 (64.0)		
>1	27 (57.4)	9 (36.0)		

[注] *：分类资料间的比较为 χ^2 值，定量资料间的比较为 t 值。#：数据为人数（构成比/%）。

[Note] *：Statistics include χ^2 value for comparison between categorical data, as well as t value for comparison between quantitative data. #: Data are presented in number (proportion/%).

表2 两组人群血常规检测值及异常结果比较

Table 2 Comparison of blood routine test results and abnormal test results between two groups

指标 Index	检测值 (Result) [$(\bar{x}\pm s)$ / M (P ₂₅ , P ₇₅)]				异常人数 (异常率/%) (Abnormal results)		
	接触组 (n=120) Exposure	对照组 (n=86) Control	t/Z*	P	接触组 (n=120) Exposure	对照组 (n=86) Control	P#
白细胞计数 (WBC) / $\times 10^9\cdot\text{L}^{-1}$	6.41±1.48	6.19±1.55	1.027	0.306	2 (1.7)	4 (4.7)	0.283
红细胞计数 (RBC) / $\times 10^{12}\cdot\text{L}^{-1}$	4.87 (4.62, 5.09)	5.15 (4.89, 5.33)	-4.998	<0.001	12 (10.0)	2 (2.3)	0.031
中性粒细胞计数 (NEUT) / $\times 10^9\cdot\text{L}^{-1}$	3.47±1.07	3.58±1.10	-0.759	0.449	3 (2.5)	2 (2.3)	1.000
血小板计数 (PLT) / $\times 10^9\cdot\text{L}^{-1}$	196.00 (163.00, 233.00)	234.00 (208.75, 267.25)	-5.541	<0.001	4 (3.3)	1 (1.1)	0.392

[注] *：正态分布资料间的比较采用 t 检验，偏态分布资料间的比较采用 Mann-Whitney U 检验；#：分类资料间的比较，采用 Fisher 精确检验。

[Note] *：t test is used for comparison between the data of normal distribution, Mann Whitney U test is used for comparison between the data of skew distribution. #: The Fisher's exact test is used for comparison between categorical data.

表3 研究对象尿中S-PMA、8-OHdG及血浆MDA浓度
Table 3 Levels of S-PMA and 8-OHdG in urine and MDA in plasma in participants

指标 (Index)	接触组 (Exposure) (n=120)		对照组 (Control) (n=86)		Z	P
	全距 (Range)	M (P ₂₅ , P ₇₅)	全距 (Range)	M (P ₂₅ , P ₇₅)		
S-PMA/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	1.24~230.21	12.21 (6.88, 17.08)	<LOD~33.43	4.80 (2.09, 8.20)	-6.714	<0.001
8-OHdG/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	30.59~2 444.26	169.18 (142.11, 305.24)	27.96~962.67	91.43 (55.38, 195.83)	-4.984	<0.001
MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	2.76~52.55	11.19 (7.90, 16.07)	3.46~25.23	9.08 (6.79, 11.48)	-3.646	<0.001

[注 (Note)] LOD: 检测限 (Limit of detection)。

表4 调整吸烟因素后研究对象S-PMA、8-OHdG、MDA浓度及血常规异常率
Table 4 Levels of S-PMA, 8-OHdG, MDA and abnormal routine blood test results after adjustment of smoking in participants

指标 (Index)	吸烟 (Smoker) (n=76)				不吸烟 (Non-smoker) (n=130)			
	接触 (Exposure) (n=54)	对照 (Control) (n=22)	Z*	P	接触 (Exposure) (n=66)	对照 (Control) (n=64)	Z*	P
S-PMA/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ [M (P ₂₅ , P ₇₅)]	15.3 (8.7, 23.1)	4.3 (2.9, 6.9)	-5.028	<0.001	10.8 (5.5, 13.8)	4.9 (2.0, 8.8)	-4.196	<0.001
8-OHdG/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ [M (P ₂₅ , P ₇₅)]	182.7 (149.1, 346.9)	81.2 (51.5, 184.7)	-3.768	<0.001	155.3 (133.3, 274.1)	105.0 (56.2, 203.8)	-2.771	0.004
MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ [M (P ₂₅ , P ₇₅)]	11.5 (8.6, 16.1)	10.1 (5.1, 12.8)	-1.523	0.128	10.7 (7.6, 16.1)	8.8 (6.8, 11.1)	-2.906	0.006
白细胞计数异常率/% Abnormal rate of WBC/%	1.9	13.6	—	0.073	1.5	3.1	—	0.616
红细胞计数异常率/% Abnormal rate of RBC/%	1.9	4.5	—	0.503	1.5	0	—	1.000
中性粒细胞计数异常率/% Abnormal rate of NEUT/%	0	4.5	—	0.293	4.5	1.6	—	0.619
血小板计数异常率/% Abnormal rate of PLT/%	3.8	4.5	—	1.000	3.0	0	—	0.496

[注] *: 分类资料间的比较采用 Fisher 精确检验, 定量资料间的比较采用 Mann-Whitney U 检验, 统计量为 Z 值。

[Note] *: Fisher's exact test is used for comparison between categorical data, and Mann-Whitney U test is used for comparison between quantitative data, with Z value as statistics.

2.6 S-PMA与8-OHdG的相关性分析

在接触组中, 以S-PMA为横坐标, 8-OHdG为纵坐标绘制散点图 (S-PMA取值 $<60\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), S-PMA与8-OHdG呈现正相关关系 ($r=0.488$, $P<0.05$)。

2.7 接触组8-OHdG的分布特征

接触组尿液8-OHdG的水平在年龄、吸烟、吸烟年数、饮酒、接触工龄上均有差异, 其中年龄39~61岁、吸烟、吸烟年数 ≥ 10 年、饮酒、接触工龄 ≥ 9 年的人群尿液中8-OHdG含量较高 ($P<0.05$)。见表5。

表5 接触组8-OHdG的分布特征
Table 5 Distribution of 8-OHdG in exposure group

变量 Variable	分类 Category	人数 Number	8-OHdG/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ [M (P ₂₅ , P ₇₅)]	Z/H	P
性别 (Gender)	男性 (Male)	92	164.2 (141.5, 280.7)	-0.704	0.481
	女性 (Female)	27	180.1 (143.8, 360.7)		
年龄/岁 (Age/years)	22~	66	153.2 (133.1, 236.9)	-3.297	0.001
	39~61	54	215.3 (153.4, 416.3)		
吸烟 (Smoking)	是 (Yes)	61	175.5 (148.1, 332.7)	-2.274	0.023
	否 (No)	59	155.1 (133.3, 274.0)		
吸烟年数/年 Smoking time/years	0~	20	173.2 (149.2, 323.6)	8.367	0.015
	5~	20	157.2 (136.4, 180.9)		
	10~	21	303.8 (178.0, 657.6)		

续表5

变量 Variable	分类 Category	人数 Number	8-OHdG/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ [M (P ₂₅ , P ₇₅)]	Z/H	P
每日吸烟量/包 Daily smoking volume/packs	<1	51	175.3 (148.4, 305.7)	-0.925	0.355
	1~2	10	306.1 (139.0, 893.3)		
饮酒 (Drinking)	是 (Yes)	54	222.4 (153.5, 346.9)	-2.207	0.027
	否 (No)	66	153.2 (133.2, 216.1)		
饮酒年数/年 Drinking time/years	0~	19	182.8 (149.6, 339.8)	0.283	0.868
	5~	19	223.2 (157.4, 305.7)		
	10~	16	216.8 (151.2, 419.7)		
每周饮酒次数 Weekly drinking frequency	≤ 1	24	171.0 (148.7, 317.9)	-0.689	0.491
	>1	30	228.9 (155.0, 389.7)		
接触工龄/年 Exposure time/years	0.25~	77	157.4 (134.1, 273.0)	-2.575	0.010
	9~42	42	206.0 (149.6, 503.3)		

[注] 两组及多组资料分别采用 Mann-Whitney U 检验和 Kruskal-Wallis H (χ^2) 检验, 统计量分别为 Z 值和 H 值。

[Note] Two groups and multiple groups of data were tested by Mann-Whitney U test and Kruskal-Wallis H (χ^2) test, respectively, with Z and H value as statistics.

2.8 接触组8-OHdG含量影响因素的多元线性逐步回归分析

以8-OHdG水平为应变量, 以S-PMA浓度、年龄、性别、体重指数、是否吸烟、吸烟年数、每日吸烟量、

是否饮酒、饮酒年数、每周饮酒次数和接触工龄作为自变量进行多元线性逐步回归分析,发现S-PMA水平与8-OHdG水平呈正相关,饮酒、接触工龄是8-OHdG水平的危险因素, b (95%CI) 分别为57.791 (17.851~97.730)、2.844 (0.831~4.856) ($P<0.05$)。见表6。

表6 接触组8-OHdG含量影响因素的多元线性逐步回归分析
Table 6 Multiple linear stepwise regression analysis on the influencing factors of 8-OHdG level in exposure group

变量 (Variable)	b	S_b	t	P	95%CI
常量 (Constant)	27.952	17.226	1.623	0.107	-6.170~62.073
S-PMA	9.942	0.305	32.562	<0.001	9.337~10.547
饮酒 (Drinking)	57.791	20.163	2.866	0.005	17.851~97.730
接触工龄/年 Exposure time/years	2.844	1.016	2.799	0.006	0.831~4.856

[注] 饮酒变量的赋值: 0=不饮酒; 1=饮酒。

[Note] Assignment of drinking: 0=non-drinking; 1=drinking.

3 讨论

目前,随着自动化生产技术的提高和劳动防护设施的改善,许多作业场所的空气苯浓度已经远低于职业接触限值,苯作业职工的接触普遍呈现低浓度接触,低浓度苯接触的危害逐渐受到关注。本研究对该汽车企业进行调查,发现该厂喷漆车间生产过程中产生苯,作业工人对苯的暴露方式主要为呼吸接触,该公司在防尘、防热、布局及配电系统等方面设计合理,各岗位空气互通,基本符合中国职业卫生相关规定。接苯工人均配备了口罩、手套等防护用具,该汽车制造厂作业场所空气苯含量符合国家标准。关于低浓度苯接触的检测一直存在争议,有研究发现当空气苯接触浓度 $<3.5\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时人体代谢苯的效率更高,并提出依据浓度的高低,苯可能涉及了两种代谢途径^[21]。而最近有研究通过比较两种苯代谢途径的动力学模型,发现低浓度时苯代谢的剂量-效应关系呈超线性,因此认为以目前的检测方法检测空气中低浓度苯是不准确的^[22-23]。

根据毒物动力学,苯通过不同途径吸收、代谢以及排出,环境中苯的浓度不能充分反映人体的实际接触量。S-PMA是苯在机体内的特异生物标志物。GBZ 2.1—2019《工作场所有害因素职业接触限值 第1部分:化学有害因素》^[24]规定了S-PMA的生物接触限值及空气苯限值分别为 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 及 $C_{\text{TWA}}=6\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 、 $C_{\text{STEL}}=10\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 。美国政府工业卫生师协会推荐S-PMA的生物接触限值及作业场所空气中苯的职业接触限值分别为 $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 及 $C_{\text{TWA}}=1.6\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 、 $C_{\text{STEL}}=8\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ ^[25],德

国科学基金会也表明当接苯浓度为 $3.3\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时,尿中S-PMA为 $45\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[26]。本研究发现,该汽车制造厂苯接触工人尿液中S-PMA浓度 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 为12.21 (6.88, 17.08) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,对照组为4.80 (2.09, 8.20) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其中接触组有5名工人尿液S-PMA超过 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其余人员尿液S-PMA水平均未超过职业接触限值,这可能与日常生活习惯或接触工龄有关。根据S-PMA与空气苯浓度的相关性^[6-7]估算现场空气8h时间加权苯浓度为 $0.165\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$,接触组的苯接触水平属于职业低苯接触水平。

血常规是临床上常用的体检指标,对机体内许多病理改变都有敏感反应。以往研究发现,苯对造血系统影响最明显的表现为白细胞计数的降低,其次是红细胞、血小板、中性粒细胞等血细胞的数目降低,如曾汕等^[27]发现当苯接触浓度高于 $3.25\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时,白细胞、红细胞、血小板、中性粒细胞、淋巴细胞、血红蛋白6项血常规指标计数明显下降;当苯接触浓度在 $0.325\sim 3.25\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时,白细胞、血小板、血红蛋白3项血常规指标计数明显下降。越来越多的研究表明,低浓度苯也有血液毒性,长期接触低浓度苯的苯作业职工的职业健康应引起重视。很多报道了在低浓度苯接触时,工人的红细胞数量发生明显变化。一项韩国流行病学研究发现,低浓度苯接触($0.0325\sim 0.325\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$)与红细胞计数呈负相关^[15],而曾汕等^[27]也发现当苯接触浓度低于 $0.325\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时,只有红细胞计数明显下降。有动物研究表明,吸入苯($3.25\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$) 28d后,雄性小鼠的红细胞计数降低^[28]。本研究发现接触组工人红细胞计数和血小板计数均低于对照组,但未发现白细胞和中性粒细胞计数的降低,进一步研究发现接触组工人红细胞计数异常率高于对照组。这验证了苯在较低的接触浓度下,也可以导致血液毒性,推测红细胞计数可能是低苯接触下接苯工人血液指标早期改变的敏感指标。

苯接触诱导产生的自由基通过多种机制引起细胞损伤和坏死,引起氧化/抗氧化失衡和氧化应激^[29-30],使机体产生氧化损伤,其中包括脂质、蛋白质和DNA的氧化损伤。许多研究都发现苯接触人群体内DNA氧化损伤水平明显升高^[31],尿中8-OHdG水平是公认的提示短期DNA损伤的生物标志物^[32],El Batsh等^[29]对大鼠皮下注射苯,发现大鼠血清8-OHdG水平高于对照组,这与本研究结果一致,提示低浓度苯接触会引起DNA的氧化损伤。有证据表明,饮酒会引起

体内8-OHdG水平的增加^[33-34],本研究也观察到饮酒与8-OHdG水平的正相关关系。Franken等^[30]发现,8-OHdG与反-反式黏糠酸(trans,trans-muconic acid,tt-MA)呈正相关,尿中8-OHdG水平随tt-MA水平的增加而升高。tt-MA和S-PMA都是苯的内暴露指标,本研究对8-OHdG与S-PMA进行相关分析发现,两者呈正相关关系,体内S-PMA水平上升,8-OHdG水平也呈上升趋势。MDA是自由基作用于脂质发生过氧化反应的终产物,可反映体内脂质氧化应激程度,El Batsh等^[29]也发现皮下注射苯的大鼠血清MDA水平均高于对照组,与本研究结果一致,提示低浓度苯接触会引起脂质的氧化损伤,该结果也与其他研究^[25]中检测到的氧化应激结果一致。

目前,各个企业普遍采取职业保护措施,制造工艺趋向低苯、无苯。本研究在低苯接触工人中观察到S-PMA与8-OHdG呈正相关,同时观察到红细胞异常率的升高,以及脂质过氧化物MDA和DNA损伤产物8-OHdG含量的增加,说明即使在低浓度接触下,苯接触仍有一定的健康风险,会产生造血毒性,并对机体造成氧化损伤。就目前的结果而言,我国规定的苯职业接触限值的安全性仍有待商榷,需要继续开展大规模的队列研究进一步探索,以保护长期接触低水平苯的职业人群的职业健康。

参考文献

- [1] CHAIKLIENG S, SUGGARAVETSIRI P, KAMINSKI N, et al. Factors affecting urinary tt-muconic acid detection among benzene exposed workers at gasoline stations [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16 (21): 4209.
- [2] BOOGAARD PJ. The low-dose benzene debate needs a sharp blade [J]. *Chem-Biol Interact*, 2017, 278: 239-241.
- [3] YANG J, BAI WL, CHEN YJ, et al. 1, 4-benzoquinone-induced STAT-3 hypomethylation in AHH-1 cells: Role of oxidative stress [J]. *Toxicol Rep*, 2015, 2: 864-869.
- [4] ZHANG C, YU X, GAO J, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy was activated against 1, 4-benzoquinone-induced apoptosis in HL-60 cells [J]. *Toxicol Vitro*, 2018, 50: 217-224.
- [5] FARMER PB, KAUR B, ROACH J, et al. The use of S-phenylmercapturic acid as a biomarker in molecular epidemiology studies of benzene [J]. *Chem-Biol Interact*, 2005, 153-154: 97-102.
- [6] MENDES MP, SILVEIRA JN, ANDRE LC. An efficient analytical method for determination of S-phenylmercapturic acid in urine by HPLC fluorimetric detector to assessing benzene exposure [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1063: 136-140.
- [7] 罗巧, 朱长才, 宋世震. 苯接触标志物尿中苯巯基尿酸的分析与评价 [J]. *卫生研究*, 2008, 37 (1): 106-108.
- [8] TSIKAS D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges [J]. *Anal Biochem*, 2017, 524: 13-30.
- [9] YAHIA D, HARUKA I, KAGASHI Y, et al. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage induced by perfluorinated compounds in TK6 cells [J]. *Environ Toxicol*, 2016, 31 (2): 192-200.
- [10] WU D, LIU B, YIN J, et al. Detection of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) as a biomarker of oxidative damage in peripheral leukocyte DNA by UHPLC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1064: 1-6.
- [11] MA-ON C, SANPAVAT A, WHONGSIRI P, et al. Oxidative stress indicated by elevated expression of Nrf2 and 8-OHdG promotes hepatocellular carcinoma progression [J]. *Med Oncol*, 2017, 34 (4): 57.
- [12] TUOMI T, VEIJALAINEN H, SANTONEN T. Managing exposure to benzene and total petroleum hydrocarbons at two oil refineries 1977-2014 [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2018, 15 (2): 197.
- [13] HE Q, YAN Y, ZHANG Y, et al. Coke workers' exposure to volatile organic compounds in northern China: a case study in Shanxi Province [J]. *Environ Monit Assess*, 2015, 187 (6): 359.
- [14] LI J, ZHANG X, HE Z, et al. MGMT hypomethylation is associated with DNA damage in workers exposed to low-dose benzene [J]. *Biomarkers*, 2017, 22 (5): 470-475.
- [15] KOH DH, JEON HK, LEE SG, et al. The relationship between low-level benzene exposure and blood cell counts in Korean workers [J]. *Occup Environ Med*, 2015, 72 (6): 421-427.
- [16] LIANG B, ZHONG Y, CHEN K, et al. Serum plasminogen as a potential biomarker for the effects of low-dose benzene exposure [J]. *Toxicology*, 2018, 410: 59-64.
- [17] DUGHERI S, MUCCI N, CAPPELLI G, et al. New fully automated gas chromatographic analysis of urinary S-phenylmercapturic acid in isotopic dilution using negative chemical ionization with isobutane as reagent gas [EB/OL].

- [2020-03-17] . <https://doi.org/10.1002/jms.4481>.
- [18] COSTA-AMARAL IC, CARVALHO LV, SANTOS MV, et al. Environmental assessment and evaluation of oxidative stress and Genotoxicity biomarkers related to chronic occupational exposure to benzene [J] . Int J Environ Res Public Health, 2019, 16 (12) : 2240.
- [19] 血细胞分析参考区间: WS/T 405—2012 [S] . 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [20] 尿中苯巯基尿酸的高效液相色谱测定方法: GBZ/T 254—2014 [S] . 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [21] RAPPAPORT S M, KIM S, LAN Q, et al. Evidence that humans metabolize benzene via two pathways [J] . Environ Health Perspect, 2009, 117 (6) : 946-952.
- [22] COX LA, SCHNATTER AR, BOOGAARD PJ, et al. Non-parametric estimation of low-concentration benzene metabolism [J] . Chem-Biol Interact, 2017, 278 : 242-255.
- [23] MCNALLY K, SAMS C, LOIZOU GD, et al. Evidence for non-linear metabolism at low benzene exposures? A reanalysis of data [J] . Chem-Biol Interact, 2017, 278 : 256-268.
- [24] 工作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—2019 [S] . 北京: 中国标准出版社, 2019 : 8.
- [25] ACGIH. TLVs and BEIs. Based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices [R] . Cincinnati, Ohio : ACGIH, 2017.
- [26] DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft. List of MAK and BAT values [M] . Weinheim : Wiley-VCH Verlag, 2008 : 195-217.
- [27] 曾汕, 高晨, 张波, 等. 不同苯暴露水平工人血常规指标的 meta 分析 [J] . 环境与健康杂志, 2017, 34 (2) : 128-134.
- [28] LIANG B, CHEN Y, YUAN W, et al. Down-regulation of miRNA-451a and miRNA-486-5p involved in benzene-induced inhibition on erythroid cell differentiation *in vitro* and *in vivo* [J] . Arch Toxikol, 2018, 92 (1) : 259-272.
- [29] EL BATSH ME, ZAKARIA SS, GABALLAH HH. Protective effects of alpha-lipoic acid against benzene induced toxicity in experimental rats [J] . Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015, 19 (14) : 2717-2724.
- [30] FRANKEN C, KOPPEN G, LAMBRECHTS N, et al. Environmental exposure to human carcinogens in teenagers and the association with DNA damage [J] . Environ Res, 2017, 152 : 165-174.
- [31] BEALL HD, WINSKI SL. Mechanisms of action of quinone-containing alkylating agents I : NQO1-directed drug development [J] . Front Biosci, 2000, 5 : D639-D648.
- [32] FENGAC, GANGEMIS, TEODORO M, et al. 8-Hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in workers exposed to low-dose benzene [J] . Toxicol Rep, 2017, 4 : 291-295.
- [33] KUO HW, CHANG SF, WU KY, et al. Chromium (VI) induced oxidative damage to DNA : increase of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine concentrations (8-OHdG) among electroplating workers [J] . Occup Environ Med, 2003, 60 (8) : 590-594.
- [34] 成兴群, 徐爱国, 徐华, 等. 苯暴露工人尿中8-OHdG、tt-MA和S-PMA含量的测定 [J] . 职业与健康, 2014, 30 (24) : 3513-3515.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)