DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.02.019
第26卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 2
2004年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2004

文章编号:1000-5404(2004)02-0131-04

论著

饮用氯消毒水与人淋巴细胞遗传物质损伤联系的分子流行病学研究

宋建勇[1],林 辉[1],刘建平[1],孙华明[2],熊鸿燕[1],凌宗权[3] (第三军医大学预防医学系:[1]流行病学教研室,[2]卫生毒理学教研室,重庆市卫生毒理学实验室,重庆 400038;[3]重庆市涪陵卫生防疫站,重庆 400054)

提 要:目的 评价长期饮用氯消毒水对人群淋巴细胞遗传物质的损伤,以期为该领域积累研究资料。方法 采用微核实验和彗星实验检测A、B两地长期饮用氯消毒水人群(各50人)和饮用地下水人群(分别为50、40人)的淋巴细胞遗传物质损伤;采用SPSS 10.0软件包进行数据整理和分析。结果 A、B两地长期饮用氯消毒水人群的微核细胞率和第4级DNA损伤细胞比例均显著高于对照组;人群淋巴细胞遗传物质损伤与饮用氯消毒水年限存在一定剂量效应关系;经分层分析提示吸烟是饮水氯消毒对细胞遗传物质损伤的一重要混杂因素。结论 长期饮用氯消毒水对人淋巴细胞遗传物质存在损伤作用。

关键词:氯消毒;淋巴细胞;损伤分子;分子流行病学
中图法分类号:R123.6;R392.12;R181.39 文献标识码:A

Molecular epidemiological studies on chlorinated drinking water and damage to genetic material in human lymphocytes

SONG Jian-yong[1], LIN Hui[1], LIU Jian-ping[1], SUN Hua-ming[2], XIONG Hong-yan[1], LING Zong-quan[3] ([1]Department of Epidemiology, [2]Department of Hygiene Toxicology, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [3]Epidemic-prevention Station, Fuling District 400054, Chongqing, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the effect of long-term exposure to chlorinated drinking water on the damage to genetic material in human lymphocytes. **Methods** Damages to the genetic material of population exposed to chlorinated drinking water (50 people) and underground drinking water (90 people, as the control) for a long period of time in areas A and B were detected by micronucleus test and comet assay. The data collected were processed with SPSS 10.0 software package. **Results** In both areas, the micronucleated cell rates and the cells with DNA damage at the fourth-class of people exposed to chlorinated drinking water were higher than those of the controls. Damage to the genetic material was associated with the years of exposure to chlorinated drinking water. Smoking was an important confusion factor resulting in damage to the genetic material of people exposed to chlorinated drinking water. **Conclusion** Long-time exposure to chlorinated drinking water may result in damage to the genetic material in human lymphocytes.

Key words: chlorination; lymphocyte; damage; molecular epidemiological study

氯消毒剂因其价廉、简便和良好的消毒效果,是各国和地区公共给水消毒处理的主要措施;近20多年研究表明经氯消毒剂消毒的饮水中存在的三卤甲烷(THMs)等系列氯化消毒副产物(chlorination by-products, CBPs)对健康存在潜在威胁,已受到国内外研究者的广泛关注,但现阶段该领域的流行病研究主要采用病例对照研究等描述性研究方法进行饮水氯消毒及其副产物与疾病相关性研究,缺乏相关的分子流行病学评价;本研究是将分子生物学方法用于流行病学研究(分子流行病学方法),具体方法是:采用微核实验和彗星实验研究长期饮用氯消毒水对人群淋巴细胞遗传物质损伤,为该领域积累分子流行病学研究资料。

1 对象与方法

1.1 研究现场和研究对象

选择分别从事重工业和轻工业生产的A、B两地为研究现场,自行设计的调查表筛选健康成年人作为研究对象(主要筛选因素包括年龄、性别、健康状况和饮水类型及其饮用时间

基金项目:教育部"春晖计划"资助项目(G-99-05)
Supported by the "ChunHui Projects" of State Education Ministry of China (G-99-05)
作者简介:宋建勇(1964-),男,山东省肥城县人,高级实验师,主要从事流行病学方面的研究,发表论文15篇。电话:(023)68752286
收稿日期:2003-07-22;修回日期:2003-10-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

等),参考文献[1]其他毒物对淋巴细胞的DNA损伤研究,以长期饮用氯消毒水人群和地下深井水的人群分别作为暴露组和对照组,即A地暴露组(A_E)50人、A地对照组(A_C)40人;B地暴露组(B_E)50人和B地对照组(B_C)50人。

1.2 标本收集及检测

1.2.1 标本收集 采集A、B两地的研究对象外周静脉血5 ml,肝素抗凝,按微核实验和彗星实验的淋巴细胞分离方法,分离淋巴细胞置微量离心管,-70 ℃保存备检。

1.2.2 微核实验 每个标本计数淋巴细胞2 000个,微核实验方法及微核判断参照文献[1]。

1.2.3 彗星实验 每个标本计数淋巴细胞200个,彗星实验方法及细胞DNA损伤分级参照文献[2]。

1.3 统计学分析

以SPSS软件包进行数据管理和分析(χ^2检验和t检验)。

2 结果

2.1 研究现场和对象一般情况

A地为典型的重工业生产区,主要生产枪炮等机械产品。B地处郊区,进行矿泉水生产,为典型的轻工业生产区,两地年平均收入近似。A、B两地氯消毒饮水中氯仿浓度分别为47.2 μg/L、42.5 μg/L,均小于国家公共饮用水卫生标准(60.0 μg/L);入选研究对象的其他一般情况比较见表1,两地暴露组与对照组的年龄、性别和吸烟比例无显著性差异($P>0.05$),具有可比性。

表1 A、B两地暴露组和对照组一般情况比较

Tab 1 Comparison of the general data of the exposed groups and the control in areas A and B

Group	Age($\bar{x}\pm s$)[1]	Male/female[2]	Smoking/non-smoking[2]
Exposed group in A (A_E)	39.52±7.38	42/8	26/24
Control group in A (A_C)	40.03±8.46	35/5	18/12
Exposed group in B (B_E)	39.78±8.38	41/9	25/25
Control group in B (B_C)	38.66±7.37	44/6	23/27

[1]: t test; [2]: χ^2 test

2.2 A地饮用氯消毒水对淋巴细胞的遗传物质损伤

A地饮用氯消毒水组(暴露组)和饮用地下井水组(对照组)分别为50人和40人,每个标本进行微核实验和彗星实验,结果见表2。暴露组的平均微核细胞率和第3级、第4级DNA损伤细胞比例均显著高于对照组。

表2 A地饮用氯消毒水与人淋巴细胞的遗传物质损伤

Tab 2 Exposure to chlorinated drinking water and damage to the genetic material in human lymphocytes of people in Area A

Group	Micronucleus frequency(‰)	Proportion of the five class cells DNA damaged(%)				
		Zero degree	1 degree	2 degree	3 degree	4 degree
A_E	92(0.92)	5 264(52.64)	2 510(25.10)	1 002(10.02)	706(7.06)	518(5.18)
A_C	44(0.55)	4 562(57.02)	2 092(26.15)	668(8.35)	484(6.05)	194(2.43)
χ^2	8.06	34.47	2.57	14.73	7.34	88.79
P	0.004 5	0.000 0	0.108 6	0.000 1	0.006 7	0.000 0

A_E: Group of drinking chlorinated water in Area A;

A_C: Control group in Area A

2.3 B地饮用氯消毒水对淋巴细胞的遗传物质损伤

B地饮用氯消毒水组(暴露组)和饮用地下水组(对照组)各50人,每个标本进行微核实验和彗星实验,结果见表3。暴露组中平均微核细胞率和第3级、第4级DNA损伤细胞比例均显著高于对照组。

表3 B地饮用氯消毒水与人淋巴细胞遗传物质损伤

Tab 3 Exposure to chlorinated drinking water and damage to the genetic material in human lymphocytes of people in Area B

Group	Micronucleus frequency(‰)	Proportion of the four classes of cells DNA damaged(%)			
		Zero degree	1 degree	2 degree	3 degree	4 degree
B_E	78(0.78)	539 6(53.96)	258 0(25.80)	950(9.50)	786(7.86)	288(2.88)
B_C	48(0.48)	599 8(59.98)	269 4(26.94)	717(7.17)	449(4.49)	142(1.42)
χ^2	7.15	73.91	3.35	35.53	98.01	50.66
P	0.007 5	0.000 0	0.067 3	0.000 0	0.000 0	0.000 0

B_E: Group of drinking chlorinated water in Area B

B_C: Control group in Area B

2.4 饮用氯消毒水年限与淋巴细胞遗传物质损伤

将A、B两地饮用氯消毒水人群按饮用年限分为3组,见表4,A地各年限组间,微核细胞率和彗星实验第4级DNA损伤细胞比例均有显著性差异($P<0.05$);B地各年限组间,第3级DNA损伤细胞比例存在显著性差异。

表4 饮用氯消毒自来水年限与淋巴细胞遗传物质损伤

Tab 4 Years of exposure to chlorinated drinking water and damage to the genetic material in human lymphocytes

Years	Area A			Area B		
	n	Micronucleus frequency(‰)	The fourth-class cells DNA damage(%)	n	Micronucleus frequency(‰)	The third-class cells DNA damage(%)	The fourth-class cells DNA damage(%)
<35	13	16(0.62)	102(3.92)	15	18(0.60)	158(5.27)	74(2.47)
36-44	24	42(0.88)	258(5.38)	22	36(0.82)	352(8.0)	124(2.82)
≥45	13	34(1.31)	158(6.08)	13	24(0.92)	276(10.62)	90(3.46)
χ^2		6.98	12.99		2.01	55.23	5.34
P		0.030 5	0.001 5		0.365 1	0.000 0	0.069 1

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.5　饮用氯消毒水与吸烟对淋巴细胞遗传物质损伤的混杂效应分析

为进一步控制吸烟在饮用氯消毒水对淋巴细胞遗传物质损伤作用中的混杂效应, 本研究将每天吸烟≥1 支, 超过 1 年者定义为吸烟者, 以吸烟进行分层分析, 见表 5, 吸烟组的微核细胞率(1.09‰)和第 4 级 DNA 损伤细胞比例(3.86%)均显著高于非吸烟组的 0.39‰和 2.20%($P<0.01$); 吸烟组中和非吸烟组中, 饮用氯消毒水人群的第 4 级损伤细胞比例均显著高于对照组。

表 5　饮用氯消毒水与吸烟对淋巴细胞遗传物质损伤的混杂效应分析

Tab 5　Analysis of the confusion effect of exposure to chlorinated drinking water and smoking on damage to the genetic material in human lymphocytes

Index	Smoking							
	A_E(26)	A_C(18)	χ^2	P	B_E(25)	B_C(23)	χ^2	P
Micronucleus cells(‰)	76(1.46)	30(0.83)	5.58	0.018 1	52(1.04)	42(0.91)	3.72	0.053 9
The fourth-class cells DNA damaged(%)	340(6.54)	116(3.22)	47.61	0.000 0	158(3.16)	96(2.09)	10.71	0.001 1
	Non-smoking							
	A_E(26)	A_C(18)	χ^2	P	B_E(25)	B_C(23)	χ^2	P
Micronucleus cells(‰)	20(0.42)	14(0.32)	0.94	0.331 9	26(0.52)	17(0.32)	2.64	0.103 9
The fourth-class cells DNA damaged(%)	178(3.71)	78(1.77)	39.29	0.000 0	130(2.60)	46(0.85)	47.68	0.000 0

A_E: Group of drinking chlorinated water in Area A; A_C: Control group in Area A;

B_E: Group of drinking chlorinated water in Area B; B_C: Control group in Area B

3　讨论

饮水氯化消毒(chlorination)是指应用氯或氯制剂进行饮水消毒的一种方法, 其中氯是目前应用最广的公共给水消毒剂(尤其在发展中国家和地区)。毒理学研究证实许多 CBPs(如 THMs、氯乙酸、MX 等)对细菌、哺乳动物细胞存在明显遗传毒性, 能造成染色体、DNA 损伤和/或基因突变等[3~5]; 实验研究和大量流行病学调查提示饮水氯消毒及其 CBPs 暴露与膀胱癌、结/直肠癌、肾癌等多种肿瘤存在联系[6,7], 但因氯消毒饮水的价廉、简便和较好的消毒效果等优点, 仍是当前应用最广的饮水消毒方法。目前原水污染日渐严重和复杂, 加氯可能产生新的或更高浓度的 CBPs, 在尚无更好的饮水消毒措施取代氯消毒的情况下, 加强饮水氯消毒及其 CBPs 对健康影响的基础和流行病学研究, 有重要意义。

遗传物质损伤是反映环境物质致癌作用的早期生物学指标, 微核实验和彗星实验可较敏感地分别检测染色体断裂和 DNA 损伤, 而且所需样本量少、操作简单和费用低, 适合人群流行病学研究[8], 同时采用微核实验和彗星实验可较敏感地检测出饮水氯消毒暴露人群的遗传物质损伤水平。

由于遗传物质损伤受环境、生活饮食习惯等多因素的影响, 评价饮水氯消毒对人群遗传物质损伤关键的问题就在于混杂因素的控制, 为此, 本研究采用在多个现场、设立内对照、主要混杂因素成组匹配、扩大每例淋巴细胞计数量以及采用分层分析等方法对混杂因素进行控制, 其研究结论有一定可信度, 为深入研究饮水氯消毒及其 CBPs 暴露对人群健康影响的提供了线索。

A、B 两地饮用氯消毒水组和对照组均为健康成年人, 两组的年龄、性别和吸烟的比例均无显著性差异, 具可比性。

A、B 两地饮用氯消毒水人群的微核细胞率及彗星实验的第 3 级、第 4 级 DNA 损伤细胞比例均显著高于对照组, 见表 2 和表 3, 提示饮用氯消毒水对人淋巴细胞遗传物质存在损伤作用; 同时 A 地的微核细胞率和第 4 级 DNA 损伤细胞比例均显著高于 B 地, 可能与 A 地自行加氯消毒产生的副产物水平较高、工作环境长期接触金属灰尘等因素有关, 有待进一步研究确定。

对饮用氯消毒水年限分析, 见表 4。提示饮用氯消毒水年限与淋巴细胞遗传物质损伤存在一定量效关系; 饮水年限组间两两比较, ≥45 年组人群淋巴细胞遗传物质损伤显著高于 35 年组, 但与 35~45 年组无显著性差异, 提示饮水氯消毒对淋巴细胞遗传物质损伤作用可能较弱, 需要较长时间的积累过程。

以吸烟为分层因素进行分析, 见表 5, 吸烟组淋巴细胞遗传物质损伤显著高于非吸烟组, 但吸烟组和非吸烟组中, 饮用氯消毒水人群的淋巴细胞遗传物质损伤与对照组有显著性差异, 提示吸烟是遗传物质损伤的原因之一, 但并不影响饮用氯消毒水对淋巴细胞遗传物质存在损伤作用的结论。

在尚无其他更好的消毒措施取代其的情况下, 深入评价饮水氯消毒及其 CBPs 对健康的影响, 对于维护公共健康有重要意义。鉴于目前该领域研究现状, 采用设计较好、论证强度较高的研究方法从以下几方面进行研究对于阐明饮水氯消毒及其副产物对健康的影响有较大帮助: ①进行多种氯化消毒副产物、低浓度(饮水中实际浓度)混合作用下对动物整体生理效应和“三致”的系统研究; ②选择敏感的、适合人群流行病学调查的方法和指标, 更多地从细胞、分子水平评价饮水

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

氯消毒暴露对人群健康的影响，积累资料；③进行氯消毒及其副产物对健康影响的干预研究；④鉴于本地水源污染较重且复杂，为控制水源性传播疾病，加大消毒氯量的情况下，有必要对饮水中 CBPs 进行监测、分离，确定是否存在新的或高浓度的某种副产物，并对其进行毒性评价；⑤重视 CBPs 对健康影响的机制研究。

参考文献：

[1] 曹 佳，林 真，余争平，等. 微核实验：原理、方法及其在人群检测和毒性评价中的应用[M]. 北京：军事医学科学院出版社，2000. 12－15，91－108.

[2] Moretti M, Villarini M, Pasquini R, *et al*. A molecular epidemiology approach to assessing the genotoxic risk in the production of graphite electrodes: the cytogenetic markers and DNA damage[J]. Ann Ig, 1999, 11(6): 473－478.

[3] Tafazoli, Kirsch-volders M. *In vitro* mutagenicity and genotoxicity study of 1, 2-dichloroethylene, 1, 1, 2-trichloropropane, 1, 2, 3-trichloropropane and 1, 1, 3 trichloropropane using the micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis technique in human lymphocytes[J]. Mutat Res, 1996, 371(3): 185－192.

[4] Park J H, Lee B J, Lee S K, *et al*. Genotoxicity of drinking water from three Korean cities[J]. Mutat Res, 2000, 466(2): 173－178.

[5] 张遵真，衡正昌，李 丽，等. 五种氯化有机物对 V79 细胞 DNA 损伤作用的研究[J]. 癌变·畸变·突变，1999，11(1)：5－8.

[6] Doyle J J, Zheng W, Cerhan J R, *et al*. The association of thrinking water source and chlorination by-products with cancer incidence among postomenopausal women in Iowa: a prospective cohort study[J]. Am J Public Health, 1997, 87(7): 1168－1176.

[7] Morris R D, Audet A M, Angelillo I F, *et al*. Chlorination, chlorination by-products and cancer: a meta-analysis[J]. Am J Public Health, 1992, 82(7): 955－963.

[8] 林 辉，刘建平. 单细胞凝胶电泳在流行病学研究中的应用[J]. 中华预防医学杂志，2000，34(5)：318－319.

（编辑 王 红）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2004)02-0134-02

某教研室天然外照射和表面沾染情况调查

Investigation of natural external radiation and surface contamination in a certain department

卢雪涛[1]，张国庆[1]，李 涛[1]，柏 杨[1]，靳凯[1]，薛春洪[1]，蔡同建[1]，孙 斌[1]，王伟华[1]，郭朝华[2]，李 蓉[2]（第三军医大学：[1] 学员旅三队 97 区队，[2] 预防医学系全军复合伤研究所，创伤烧伤复合伤国家重点实验室，重庆 400038）

我国 1983－1990 年，完成了全国环境天然电离辐射水平调查，结果显示我国居民所受天然辐射的年有效剂量平均为2 200 μSv，但对一些特殊场所天然辐射水平的调查对其有补充意义[1]。人类除受天然辐射的照射外，还可能受到其他的附加照射。当工作场所受到放射性核素污染时，在一定范围内利用辐射仪可测出其大小和污染范围。

我校某教研室长期从事实验工作，由于计算机显示器等仪器产生的外照射、同位素试剂产生的混合辐射等，可能使室内外照射水平增高，同位素等可能导致表面污染，因此有人怀疑工作人员所受电离辐射水平增高。因此我们对其用房按一般实验室、机能实验室、办公室和杂物室分为四类，进行了天然外照射和β 表面沾染水平的调查，并选取相应对照组进行对比，为以后研究工作提供资料。

1 仪器与方法

1.1 仪器

ACTINDSCOPE-Ⅱ型辐射仪：由重庆 759 厂生产。在出厂时经中科院成都计量分院校正。

1.2 测点选择

实验组：考虑视屏显示终端（VDTs）和同位素试剂对室内空气吸收剂量率的影响，将用房按一般实验室、机能实验室、办公室和杂物室分为四类，其中机能实验室内有较多视屏显示终端。

对照组：选择与实验组同一楼层其他相应类似房间各两间（无机能实验室）进行测量，与实验组对比。

1.3 测量方法

有 VDTs 房间测量时不开机使用。测量外照射时，每个房间各选中央和四角 5 个点作为测点，探头距地（1.0±0.3）m，距墙大于 30 cm，每个点测量 3 次，每次 2 min。

测量β 表面沾染时，探头距测量面 2.5～5.0 cm，移动速度低于 10～15 cm/s。

1.4 统计学分析

结果用 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 Microsoft Excel2000 进行分析，采用 t 检验。

2 结果

2.1 室内天然外照射

表 1 是实验组与对照组室内外照射空气吸收剂量率。

作者简介：卢雪涛（1980－），男，青海省湟中市人，技师。电话：(023)68752410

收稿日期：2002-05-10；修回日期：2003-03-25

（下转 138 页）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net