

# 行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告



計畫名稱：石化工人基因多形性與DNA傷害相關之研究



計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC89-2320-B-002-159

NSC90-2320-B-002-125

執行期間 89年8月1日至91年7月31日

計畫主持人：鄭尊仁

計畫參與人員：翁瑞宏，黃郁芳，楊慧婷，雷侑蓁

執行單位：台大職業醫學與工業衛生研究所

中華民國91年9月10日

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 石化工人基因多形性與 DNA 傷害相關之研究

計畫編號：NSC89-2320-B-002-159

NSC90-2320-B-002-125

執行期限：89 年 8 月 1 日至 91 年 7 月 31 日

主持人：鄭尊仁 國立台灣大學職業醫學與工業衛生研究所

計畫參與人員：翁瑞宏，黃郁芳，楊慧婷，雷侑蓁 國立台灣大學職業醫學與工業衛生研究所

### 一 中文摘要

氯乙烯是人類致癌物質 (IARC, 1987), 許多流行病學研究都指出氯乙烯暴露和肝癌之間的相關性, 而 DNA 產生傷害是癌症發生一個很關鍵性的步驟, 所以過去有許多氯乙烯暴露和 DNA 傷害的研究, 除了 DNA 鏈結構外, 細胞遺傳學方面也發現氯乙烯會造成染色體變異、姊妹染色體交換、微核和 DNA 單股斷裂的產生, 最近又發現 8-OHdG 可作為評估 DNA 氧化壓力傷害的指標。這些 DNA 傷害指標除了與暴露的相關, 代謝與基因修補多形性也可能與氯乙烯 DNA 傷害有關。所以本研究探討姊妹染色分體交換、8-OHdG 以及 DNA 單股斷裂與氯乙烯暴露之相關。並評估易感性基因 CYP2E1, ALDH2, GSTT1, GSTM1 及 XRCC1 基因多形性與氯乙烯引起之 DNA 傷害的相關性。

本研究分三部分, 姊妹染色分體部分有 90 名男性員工, 其中高暴露 (1 ppm) 32 人, 低暴露 29 人, 非暴露組 29 人。非暴露組是同一公司, 其他製造廠工人沒有致突變物的暴露。氧化壓力指標 8-OHdG 部分包括五家氯乙烯聚合工廠共 205 名男性員工, 採集尿液及血

液樣本。彗星分析法部分研究對象為三家氯乙烯聚合工廠的男性作業員工, 共 33 人, 採集氯乙烯暴露當天下午的血液和氯乙烯暴露隔天早晨的尿液樣本。所有工人皆以問卷訪視的資料獲得氯乙烯聚合工人的個人基本資料、生活習慣、疾病史及工作概況等。

研究結果顯示, 高暴露組比對照組, 姊妹染色分體顯著升高 (8.0 vs 7.2,  $p < 0.05$ ), 低暴露組也比對照組高, 但未達統計顯著。年齡大於 45 歲及抽煙皆與姊妹染色分體顯著相關。至於基因多形性, XRCC1 (exon10) Gln-Gln 比 Gln-Arg/Arg-Arg, CYP2E1 C2C2 比 C1C1/C1C2, ALDH2 1-2/2-2 比 1-1 皆顯著升高。當我們把易感性基因型合起來, 在高暴露組具有 2 個以上易感形基因的比具一個或沒有易感形基因的姊妹染色分體交換頻率高, 但未達顯著, 但在低暴露組, 具 2 個以上易感性基因者, 比一個或沒有顯著升高, 並有明顯趨勢, 而在對照組易感形基因則與姊妹染色分體無關。在氧化壓力 DNA 傷害方面, B 型 C 型肝炎與 8-OHdG 明顯相關, 喝酒也有明顯相關, 但氯乙烯暴露、抽煙, 及年齡與 8-OHdG 則無關。有趣的是, 血漿中 Vitamin A 上升與

8-OHdG 增加也有關。彗星分析法部分，結果發現氯乙烯尿中代謝產物 TdGA 的濃度與空氣中氯乙烯濃度有相關，但是與彗星分析評估 DNA 單股斷裂沒有顯著相關。而抽煙、年齡和飲食習慣等潛在干擾因子在本研究中對彗星分析的結果也沒有產生影響。

研究顯示姊姊染色分體比尿中 8-OHdG 及彗星試驗對氯乙烯基因毒性偵測比較敏感。此外，代謝及基因修補多形性對氯乙烯基因毒性可能有修飾作用。

關鍵字：聚氯乙烯、基因多形性、姊姊染色分體、8-OHdG、彗星分析、DNA 單股斷裂、Thiodiglycolic acid。

#### **Abstract**

Vinyl chloride monomer (VCM) has been recognized as a human carcinogen. A large number of epidemiology studies have suggested an association between VCM exposure and liver cancer. DNA damage is a critical step in the carcinogenesis. DNA adducts and cytogenetic methods including chromosome aberrations, sister chromatid exchange frequency and micronuclei have been used to assess DNA damage in VCM exposure workers. However, the dose-response relationship between the low dose exposure to VCM and DNA damage remains unclear. In this study, we used sister chromatid exchange (SCE) Comet assay and urinary 8-OHdG to assess the VCM-induced DNA damage, and to evaluate the association between gene polymorphism and VCM-related

damage.

Analysis showed that SCE was higher in high exposure group than in control group (8.0 vs 7.2,  $p < 0.05$ ). Low exposure group also had higher SCE than control, but this did not reach a significance. SCE also increased with age and smoking. Further, XRCC1 Gln-Gln, CYP2E1 C2C2 and ALDH2 1-2/2-2 had higher SCE than their counterpart. When susceptible genotypes were considered together, those with at least 2 susceptible genotypes had higher SCE in low exposure group. Similar trend was also observed in high exposure group, although not significant. There is no association between genotypes and SCE in controls.

Urinary 8-OHdG was not associated with VCM exposure, age and smoking. However, 8-OHdG was significantly associated with Hepatitis B and C injection, and alcohol drinking. Interestingly, plasma vitamin A levels were inversely associated with urinary 8-OHdG. Urinary TdGA was found to be associated with air VCM levels. However, there was no relationship between the urinary TdGA levels and DNA SSB.

Our results indicated that SCE is more sensitive than urinary 8-OHdG and comet assay in detecting VCM-induced genotoxicity. Furthermore, metabolic and DNA repair genotypes may modify DNA damage caused by VCM.

Keywords: 8-OHdG, Polyvinyl chloride, comet assay, DNA single-strand breaks, thiodiglycolic acid (TdGA)

## 二、緣由與目的

氯乙烯是人類致癌物質 (IARC, 1987), 過去流行病學的研究已經清楚指出暴露於氯乙烯的工人比較容易得到肝腫瘤, 特別是肝血管肉瘤<sup>1</sup>。因為 DNA 傷害是癌症產生一個很關鍵性的步驟, 所以過去也有許多氯乙烯暴露和 DNA 傷害的研究<sup>2</sup>, 生物有效劑量指標如 DNA 鏈結物的產生; 細胞遺傳學方面 (早期生物效應指標) 則發現會增加染色體變異、姊妹染色體交換、微核和 DNA 股斷裂<sup>3</sup>的產生。上述指標在低濃度時毒性物質暴露有偵測極限, 所以本研究尋找新的基因毒性指標, 嘗試以尿液中 8-OHdG 作為氯乙烯暴露之 DNA 氧化傷害指標<sup>4</sup>, 並以彗星分析法來偵測氯乙烯暴露和 DNA 單股斷裂之間的關係。

## 三、結果與討論

研究結果顯示, 高暴露組比對照組, 姊妹染色體顯著升高 (8.0 vs 7.2,  $p < 0.05$ ), 低暴露組也比對照組高, 但未達統計顯著。年齡大於 45 歲及抽煙皆與姊妹染色體顯著相關。至於基因多形性, XRCC1 (exon10) Gln-Gln 比 Gln-Arg/Arg-Arg, CYP2E1 C2C2 比 C1C1/C1C2, ALDH2 1-2/2-2 比 1-1 皆顯著升高。當我們把易感性基因型合起來, 在高暴露組具有 2 個以上易感形基因的比具一個或沒有易感形基因的染色體高, 但未達顯著, 但在低暴露組, 具 2 個以上易感性基因者, 比一個或沒有顯著升高, 並有明顯趨勢, 而在對照組易感形基因則與姊妹染色體

無關。本研究進一步發現, 與氯乙烯代謝有關的 CYP2E1、ALDH2 及基因修補 XRCC1 會影響氯乙烯所造成的姊妹染色體頻率。

氧化壓力指標 8-OHdG 部分包括五家氯乙烯聚合工廠共 205 名男性員工, 採集尿液及血液樣本。研究對象平均年齡為 39.7 歲, 氯乙烯暴露濃度約為 1.4-60.1ppm, 平均 8-OHdG 濃度為 9.8ng/mg creatinine (範圍 1.4-60.1)。結果顯示有飲酒習慣者之 8-OHdG 較高, 另外帶有 B 型肝炎表面抗原或 C 型肝炎抗體的工人較無抗原或抗體者有顯著較高之 8-OHdG 濃度 ( $p < 0.05$ )。而氯乙烯暴露、年齡及抽煙則與 8-OHdG 無關。另外, 8-OHdG 與 CYP2E1、ALDH2、GSTM1、GSTT1 及 XRCC1 則無顯著相關。

彗星分析法研究對象共 33 名男性氯乙烯聚合工人, 平均年齡為 41 歲, 氯乙烯暴露濃度約為 0.05-13.38 ppm。以工作年資和工作類別 (依據杜等人 1995 的氯乙烯暴露模式) 作氯乙烯暴露分組的結果, 並沒有發現工作越久的人或是從事較高濃度氯乙烯暴露工作的人其 DNA 單股斷裂有顯著增加, 其他潛在干擾因子如年齡、抽菸、飲食習慣等均無統計上的顯著差異。進一步用尿中 TdGA 為暴露指標<sup>5</sup>, 扣除尿中肌肝酸測值未落在正常範圍 0.3-3 g/l 內的 7 個樣本。結果顯示尿中 TdGA 濃度與 DNA 單股斷裂頻率沒有相關。

本研究利用傳統及新開發生物性標記探討氯乙烯基因毒性及基因多形性對氯乙烯基因毒性之影響。結果顯示姊妹染色體交換仍然是一個靈敏的基因毒性指標, 而尿中 8-OHdG 會受到許多干擾, 將來可嘗試以血中 8-OHdG

來做指標。以彗星試驗來測量 DNA 單股斷裂是近來流行的方法。以前有研究顯示 DNA 單股斷裂與氯乙烯暴露有關<sup>6,7</sup>，但是，本研究並無發現明顯相關，可能本研究暴露濃度較低而氯乙烯主要形成鏈結物，而較少有氧化壓力產物，所以研究不同致突變物須選擇適當的生物指標。

本研究也發現代謝與基因修補多形性與氯乙烯基因毒性有關。具 CYP2E1 C2C2、ALDH2 1-2/2-2 及 XRCC1 (exon10) Gln-Gln 的氯乙烯工人，其姊姊染色分體交換比其他對應基因型的工人為高，但在對照工人則無此現象，顯示有交互作用的存在。本研究成果對了解氯乙烯致癌機轉有幫助。

#### 四、成果自評

本研究成果與計畫目標符合。部分內容已發表於 J Occup Environ Med 43:934-938, 2001；其餘內容目前投稿至兩家國外期刊審查中。且已於 2001 年加拿大生物偵測研討會及 2002 年工業衛生學術研討會發表成果。

#### 五、參考文獻：

1. Mundt KA, Dell LD, Austin RP, Luippold RS, Noess R, Bigelow C. Historical cohort study of 10109 men in the North American vinyl chloride industry, 1942-72:update of cancer mortality to 31 December 1995. *Occup Environ Med* 2000;57:774-81.
2. Giri AK. Genetic toxicology of vinyl chloride – a review. *Mutat Res* 1995;339:1-14.
3. Moiler P, Knudsen LE, Loft S, Wallin H. The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damage agents and effect of confounding factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:1005-15.
4. Toraason M. 8-Hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of workplace exposures. *Biomarkers* 1999;4:3-26.
5. Cheng TJ, Huang YF, Ma YC. Urinary thiodiglycolic acid levels for vinyl chloride monomer-exposed polyvinyl chloride workers. *J Occup Environ Med* 2001;43:934-8.
6. Du CL, Kuo ML, Chang HL, Sheu TJ, Wang JD. Changes in lymphocyte single strand breakage and liver function of workers exposed to vinyl chloride monomer. *Toxicology* 1995;77:379-385.
7. Awara WM, El-Nabi SH, El-Gohary M. Assessment of vinyl chloride-induced DNA damage in lymphocytes of plastic industry workers using a single-cell gel electrophoresis technique. *Toxicology* 1998;128:9-16.