RRPC88020097 (冂.P) PC 8802-0097

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

微量營養素與染料製造工人泌尿上皮細胞週期之相關研究
Association of micronutrients and cell cycle analysis of exfoliated urothelial cells in dye workers

計畫編號：NSC 88-2314-B-038-006
執行期間：87 年 8 月 1 日至 88 年 7 月 31 日
主持人：葉錦瑩　　執行機構及單位：台北醫學院醫學系

一、中文摘要

台灣酸性染料製造過程中常見的中間物質聯苯胺已被確認為人類的致癌物質。而微量營養素如維生素 A、維生素 E、α－胡蘿蔔素、β－胡蘿蔔素、蕃茄紅素等以及微量元素如硒等被認為與癌症的預防有關，其抑癌機轉可能與其抗氧化能力、抑制細胞增生及促進細胞分化等功能有關。由以往本實驗室之研究顯示，膀胱癌患者或有泌尿系統疾病者其泌尿上皮細胞中屬非倍數體者之比例確有偏高的現象，且顯現出與染料製造廠員工之職業暴露程度亦有關係，故本研究測定員工血漿中微量營養素以瞭解對職業暴露所產生之泌尿上皮細胞非倍數體百分比的增加是否具有修飾作用。研究結果發現在微量營養素與研究個案 G_0G_1 異常值的比較方面，發現硒濃度較高($\geq 120\ \mu g/L$) 者似乎比濃度較低者有較少之異常值，維生素 A、維生素 E 及 β-胡蘿蔔素亦然，但都未達統計上顯著差異；在泌尿細胞週期 S 值的表現上亦有同樣趨勢。又在職業高暴露組中，硒及 α-胡蘿蔔素對泌尿上皮細胞週期的 G_0G_1 異常確有預防的作用，且兩者間的交互作用呈統計上的顯著性。

關鍵詞：微量營養素、細胞週期、染料、泌尿上皮細胞

Abstract

Benzidine-based dyes were the main product of dye-manufactories before 1992 in Taiwan. Some researches have shown that benzidine exposure could be harm for systematic heath, even had induced cancers. At present, benzidine had listed as human carcinogens by EPA and IARC. Bladder cancer is the most one induced by benzidine and the latency period is about 18 to 25 years. Micronutrients such as vitamin A, vitamin E, α-carotene, β-carotene, lycopene and the trace element, selenium , had been recognized as anticancer agents and concerned with the ability of antioxidation, which might be inhibiting cell proliferation and promoting cell differentiation. Our previous studies showed that patients with bladder cancer or urinary diseases had higher percentage of aneuploidy in their urothelial cells. The level of occupational exposure of dye workers was also association with the result of urinary epithelium cell cycle analysis. In this study, it was found that individuals with higher selenium level($\geq 120\ \mu g/L$) had the lower abnormal G_0G_1 proportion, and similar on individuals with higher vitamin A, vitamin E and β-carotene level, but not statistical significance. The similar trends still were observed on S proportion of urothelial cell cycle analysis. Besides, there were a significant protection of selenium and α-carotene on G_0G_1 proportion. We concluded that selenium and some micronutrients in plasma might be able to modify the carcinogenicity in uroepithelial cells of dye-manufacturing workers.

Keywords：micronutrients, cell cycle, dye, urothelial epithelium

二、緣由與目的

聯苯胺因其穩定性高、價格低廉，為過去製造染料的主要原料或中間物質。而使用聯苯胺類染料的工業包括染料業、紙業、紡織業、皮革業、橡膠、石油工業等等…。1895 年，第一篇研究報告顯示[1]，職業上暴露芳香胺與膀胱癌的誘發有很強的相關，而其中以聯苯胺(Benzidine)和 2-naphthylamine 的致癌性最強[2]。台灣染料製造業已有三十年以上歷史，在 1992 年以前，聯苯胺仍為台灣染料製造的主要原料或中間物質；1992 年以後，則全面禁止其使用、進口及製造。但一般膀胱癌之潛伏期平均長達十八至二十五年，且潛伏期間亦無明顯症狀出現；以時序性來看，未來相關從業人員中勢必會陸續有患者出現，且即使暴露消失後，亦可能發病，值得注意。

一般疾病的發生，除了受外在環境暴露劑量及個體遺傳基因差異的影響之外，個人的飲食習慣、生活起居更是重要的一環。對於膀胱癌的防治亦然，除了找出特定的危險因子加以改善之外，尋找有效的保護因子來進行預防或抑制，亦是重要的防治之道之一。許多研究證實，攝取新鮮蔬果可有效預防癌症之發生[3-5]。而血漿中所含多種微量營養素亦被證實和抗癌有相關性。故本研究擬探討染料廠員工血漿中微量營養素與聯苯胺所造成之效應間的關係，故本研究目的如下：

(一)根據不同暴露程度之染料廠員工，分析其血中微量營養濃度的分佈，以評估其日常攝取營養素之程度。

(二)探討血漿中維生素 A、維生素 E、α－胡蘿蔔素、β－胡蘿蔔素、蕃茄紅素及微量元素硒與泌尿上皮細胞週期變異間的關係。

(三)探討微量營養素對聯苯胺暴露所造成的泌尿上皮細胞週期病變的影響。

(四)提供廠方及個人對必需營養素補給的建議，以便預防疾病的發生。

三、結果

本研究個案包含男性員工 252 人、女性員工 40 人，總計有 292 名員工；在年齡分佈方面，男性與女性年齡的分佈，呈現顯著差異：男性多集中分佈於 30-39 歲間，而女性則偏向於較年輕的一層。在教育程度方面，性別亦呈現顯著差異，男性多集中於高中學歷，而女性則多半以大專學歷為主；婚姻狀況方面則皆以已婚者居多。

日常生活中膀胱癌危險因子的分佈，男性抽煙者佔總人數的一半，而約有 23%的男性有飲酒習慣；女性則無人有抽煙或飲酒之習慣。喝茶方面，平均每人每天喝約 1.3 杯，性別間未呈現顯著差異；喝咖啡習慣則約佔總人數的 10%。染髮、日常接觸染料和油漆或噴漆方面，比例都非常少，性別之間也未呈現顯著差異。至於泌尿系統的自覺症狀方面，有血尿的的人約址佔總人數的 2%、有結石的人約佔 4.1%、且未有糖尿病患者；亦間頻頻起床如廁者約佔四成，自認有憋尿習慣者僅 2.7%。研究個案職業暴露程度按該已肝廠員工之工作部門，分成行政、非現場、現場等三組，發現在不同部門間性別呈現統計上的顯著差異（x^2-test，P<0.01）。研究個案血漿中微量營養元素濃度之分佈，血漿中微量元素析的濃度平均值為 65.52 μg/L、維生素 A 為 4.7±17.6 μg/ dL、維生素 E 為 619.0±342.5 μg/dL、蕃茄紅素 7.3±6.1、α－胡蘿蔔素 3.6±3.5 μg/dL、β－胡蘿蔔素 20.1±19.8 μg/L。

研究個案脫落泌尿上皮細胞週期百分比之分佈顯示，G_0G_1 期百分比為 81.15±20.23、S 期百分比為 16.04±19.45、G_2M 期百分比為 2.80±4.80。根據 Murphy[6] 的判定標準，以 G_0G_1 值小於 83%、或 S 值大於 17%者為異常，G_0G_1 值異常者男性中有 29.0%、女性則有 40.0%，S 值異常者男性及女性中各有 32.5%，男女皆未達統計標準。從研究個案 G_0G_1 值異常與各影響因子間的關係觀之，可發現在全體員工的 G_0G_1 異常與年齡並無統計相關，但隨著暴露程度的增加、異常比例有升高的趨勢。年資在五年以上的員工較未滿五年的員工有較高的異常比例，但並未達統計上顯著意義（p=0.05）；而抽菸、喝酒、喝茶、

染髮等習慣及接觸噴漆、夜間小便等變項上，並未與 G_0G_1 異常率呈現統計相關，只有喝酒習慣與 G_0G_1 異常率間呈現統計上的邊際顯著（p=0.05）存在。而研究個案 S 異常率與各影響因子間的關係，其結果與 G_0G_1 值相似，但在喝酒一項則未達統計上顯著意義。

經調整性別、年齡、總膽固醇作用後，結果發現血漿中維生素 A、α-胡蘿蔔素、β-胡蘿蔔素濃度的增加（如表一），有較低的 G_0G_1 期異常比例，但未呈現統計上的顯著相關。而維生素 E 則在 900 μg/dL 以上時才有較低的 G_0G_1 期異常比例存在。經調整性別、年齡、總膽固醇值之作用後發現（如表二），血漿中微量營養素與 S 期異常率的關係，與 G_0G_1 期異常比例之趨勢類似。進一步以年資五年以上之男性現場員工其 G_0G_1 期異常比例進行多變項對數複迴歸分析結果，調整抽菸、總膽固醇值、夜尿、飲酒習慣及各微量營養素後，顯示工人之硒濃度在≧120 μg/L 者中，具有較低的 G_0G_1 期異常比例（OR=0.15，95%CI=0.03~0.87），工人之α-胡蘿蔔素濃度在 2~3.99 μg/dL 者，也具有較低的 G_0G_1 期異常比例（OR=0.16，95%CI=0.03~0.74）；總膽固醇值及抽菸習慣則與 G_0G_1 期異常比例具有正相關。而以 S 期異常比例在模式中觀之，硒及各種營養素均有保護作用，但未呈現統計上的顯著性。此外進一步分析其血漿中硒與α-胡蘿蔔素濃度對其 G_0G_1 期異常比例之交互作用（表三），同樣發現硒濃度≧120 μg/L 與α-胡蘿蔔素≧2.00 μg/dL 者，較其他硒濃度及α-胡蘿蔔素濃度的組合有最低的 G_0G_1 期異常比例，而且兩者有相乘作用存在（OR=0.06≒0.18x0.32）。

四、討論

本研究以某染料廠工作三年以上之員工進行探討，結果顯示染料工人血漿中微量營養元素硒濃度之平均值，似乎較國外一些研究結果為低[5,7]，但與國內之研究報告結果較相近[8]，男性員工硒濃度似乎較女性高，國外的研究亦有此情形出現。而在維生素 A、維生素 E、蕃茄紅素及β-胡蘿蔔素等微量營養元素方面，在其他研究中並無特別探討男女間是否有差異存在，本研究結果則呈現性別間有顯著差異存在，可能本研究所收集的個案，性別間存在著不同的社會經濟狀況：女性員工教育程度較高，可能營養攝取量也較男性員工來得高。

細胞週期危險因子分析發現，當以工作部門為替代性暴露指標，結果顯示暴露程度愈高，細胞週期異常比例愈高；此外，該廠在 1992 年即禁用聯苯胺類染料，距作細胞週期分析約五年，因此年資大於五年之現職員工，應是可能曾經接受到此類染料暴露；從本研究也發現，年資大於五年以上之現職員工較年資少於五年的現職員工，具有較高的細胞週期異常比例。這暗示染料工人之細胞週期異常，可能與其職業有關，並且聯苯胺的貢獻不容忽視。至於其他相關危險因子，並未見其與染料工人之細胞週期異常比例具有統計顯著相關存在。

此外，進行染料工人血漿微量營養素濃度與細胞週期異常比例分析也發現，具有較高濃度之微量元素硒、維生素 A、維生素 E、α-胡蘿蔔素及β-胡蘿蔔素之工人，相對的其細胞週期異常比例則較低，暗示著有保護作用存在。本研究發現染料製造現場的工人工作年資為五年以上者，具有較高的異包週期異常比例，而微量營養素及微量元素硒對於染料工人之致癌性可能扮演修飾性作用；未來若能繼續增加樣本數，或進一步進行暴露評估，應更可釐清染料暴露之致癌性機轉。

職業流行病學研究以指出，染料製造工人容易罹患膀胱癌，然而並非每位染料工人皆會產生此類癌症，這可能與個體的差異有關，並且膀胱癌的誘導期長，不易在現職工人中發現，因此本研究利用染料工人之脫落泌尿上皮細胞之週期比例分析，作為此類工人的前期效應指標，此具有作用器官的代表性，並且方便獲取前期變化的細胞；而席包週期的異常變化與日後癌症的產生具有相當高的關連性，雖然

細胞週期的早期變化離真正癌變仍距一段時日，然而利用此項指標來探討染料暴露之致癌性關係仍具有一定的意義。

五、計畫成果自評

個體的差異可影響到日後癌症產生的變化，許多流行病學研究指出，多種微量營養素與微量元素硒具有抗氧化的功能，可抑制細胞增生、促進細胞分化，可在致癌過程的起始與促進步驟扮演重要角色，然而此類職業性癌症研究相當少，相信探討微量營養素與微量元素對於染料工人之脫落泌尿上皮細胞週期分析，應可提供此類研究一些參考依據。

六、參考文獻

1. Case R, HoskerME, McDonald DB and Pearson JT. Tumors of the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. British Journal of Industrial Medicine. 11: 75-96, 1954.

2. 陳嘉慧：流式細胞儀在染料廠員工膀胱癌早期偵測之應用。台北醫學院藥學研究所碩士論文（1997）。

3. Zieger RG, Mason TJ, Stemhagen A et al.. Cartenoid intake, vegetables and the risk of lung cancer among white men in New Jercy. Am J Epidemiol. 123: 1080-93, 1986.

4. Stehr PA, Gloninger MF, Kuller LH, Marsh GM, Radford EP and Weinberg GB. Dietary vitamine A deficiencies and stomach cancer. Am J Epidemiol 121: 65-70, 1985.

5. Kune GA, Kune S, Field B, Wason LF, Cleland H, Merstein D and Vietetta L. Oral and pharyngeal cancer, diet, smoking, alcohol and serum vitamin A and β-carotene levels: A case-control study in man. Nutr Cancer. 20:61-70, 1993.

6. Murphy WM, Emerson LD. Flow cytometry versus urinary cytology in the evalation of patients with bladder cancer. The Journal of Urology. 136: 815-819, 1990.

7. Kathy JH, Geroge WC and Morris JS. Selenium, Lycopene, α -Tocopherol, β -Carotene, Retinol and subsequent bladder cancer. Cancer Research. 49: 6144-8, 1989.

8. 吳文玲：烏腳病盛行地區居民缺血性心臟病與血清中微量營養素及砷甲基化代謝能力之相關性研究。台北醫學院研究所碩士論文。

表一：研究個案血漿中微量營養素濃度與脫落泌尿上皮細胞 G_0G_1 期異常的關係

變項	正常	異常	危險對比值 (95%信賴區間)		p 值
總人數	203	89			
硒(μg/L)					
<70	125	61	1.00	—	—
70-119	33	15	0.89	(0.43-1.81)	0.74
≧120	45	13	0.61	(0.30-1.24)	0.17
維生素 A(μg/dl)					
<40.0	64	33	1.00	—	—
40.0-49.9	69	28	0.77	(0.41-1.45)	0.42
≧50.0	70	28	0.82	(0.43-1.56)	0.55
維生素 E(μg/dl)					
<700	137	62	1.00	—	—
700-899	41	20	1.10	(0.58-2.08)	0.77
≧900	25	7	0.62	(0.24-1.63)	0.33
蕃茄紅素(μg/dl)					
<8.00	134	50	1.00	—	—
8.00-10.99	37	20	1.39	(0.72-2.69)	0.32
≧11.00	32	19	1.39	(0.70-2.78)	0.34
α-胡蘿蔔素(μg/dl)					
<2.00	55	26	1.00	—	—
2.00-3.99	72	26	0.71	(0.37-1.38)	0.32
≧4.00	76	37	0.93	(0.49-1.76)	0.83
β-胡蘿蔔素(μg/dl)					
<10.00	65	30	1.00	—	—
10.00-19.99	70	29	0.86	(0.46-1.60)	0.63
≧20.00	68	30	0.87	(0.45-1.68)	0.68

1. 調整性別、年齡、總膽固醇

2. G_0G_1 值≧83% 定義為正常，G_0G_1 值<83% 則定義為異常。

表二：研究個案血漿中微量營養素濃度與脫落泌尿上皮細胞 S 期異常的關係

變項	正常	異常	危險對比值	(95%信賴區間)	p 值
總人數	226	66			
硒(μg/L)					
＜70	142	44	1.00	—	—
70-119	37	11	0.97	(0.44-2.12)	0.93
≧120	47	11	0.76	(0.35-1.64)	0.48
維生素 A(μg/dl)					
＜40.0	71	26	1.00	—	—
40.0-49.9	80	17	0.55	(0.27-1.14)	0.11
≧50.0	75	23	0.89	(0.44-1.79)	0.75
維生素 E(μg/dl)					
＜700	152	47	1.00	—	—
700-899	47	14	0.94	(0.46-1.93)	0.87
≧900	27	5	0.55	(0.18-1.64)	0.28
蕃茄紅素(μg/dl)					
＜8.00	146	38	1.00	—	—
8.00-10.99	43	14	1.20	(0.58-2.49)	0.63
≧11.00	37	14	1.22	(0.57-2.60)	0.60
α-胡蘿蔔素(μg/dl)					
＜2.00	63	18	1.00	—	—
2.00-3.99	74	24	1.08	(0.53-2.21)	0.84
≧4.00	89	24	0.84	(0.41-1.73)	0.63
β-胡蘿蔔素(μg/dl)					
＜10.00	72	23	1.00	—	—
10.00-19.99	77	22	0.85	(0.43-1.69)	0.65
≧20.00	77	21	0.71	(0.34-1.48)	0.36

1. 調整性別、年齡、總膽固醇

2. S 值≦17% 定義為正常，S 值＞17% 則定義為異常。

表三：五年以上年資之男性現場員工其脫落泌尿上皮細胞週期異常比例與各危險因子之多變項對數複迴歸分析

變　項	正常	異常	G_0G_1異常 危險對比值(95%CI)	S值異常 危險對比值(95%CI)
總人數	72	39		
硒(μg/L)				
＜70	45	28	1.00	1.00
70-119	10	8	1.35(0.32-5.59)	0.94(0.38-2.31)
≧120	17	3	0.15(0.03-0.87)*	0.54(0.21-1.40)
維生素A(μg/dl)				
＜40.0	19	12	1.00	1.00
40.0-49.9	28	11	0.55(0.13-2.25)	0.47(0.19-1.14)+
≧50.0	25	16	1.36(0.36-5.06)	0.95(0.43-2.10)
維生素E(μg/dl)				
＜700	56	27	1.00	1.00
700-899	10	9	1.41(0.38-5.32)	0.83(0.35-1.98)
≧900	6	3	0.61(0.10-3.68)	0.49(0.12-1.97)
α-胡蘿蔔素(μg/dl)				
＜2.00	20	12	1.00	1.00
2.00-3.99	28	11	0.16(0.03-0.74)*	0.91(0.39-2.14)
≧4.00	24	16	0.43(0.10-1.87)	0.91(0.37-2.24)
β-胡蘿蔔素(μg/dl)				
＜10.00	22	9	1.00	1.00
10.00-19.99	26	14	2.62(0.60-11.53)	0.97(0.42-2.23)
≧20.00	24	16	2.07(0.51-8.42)	0.86(0.35-2.12)
總膽固醇 (mg/dl)			1.03(1.01-1.06)*	
抽菸				
無	37	18	1.00	1.00
有	35	21	1.30(0.44-3.85)	1.38(0.71-2.71)
夜尿				
無	34	24	1.00	1.00
有	38	15	0.41(0.15-1.14)+	0.61(0.31-1.19)
喝酒				
無	55	26	1.00	
有	17	13	2.93(0.88-9.75)+	

1.調整年齡作用

2.G_0G_1值≧83% 定義為正常；G_0G_1值＜83% 則定義為異常。

3.+：$0.05 < p < 0.1$，*：$p < 0.05$