

# 饮水中微囊藻毒素对人群健康影响的横断面研究

连民 刘颖 俞顺章 陈传炜 周学富 周余春 丁保国 王如鸿

**【摘要】** 目的 初步了解饮水中微囊藻毒素(MC)对人体健康的影响。方法 采用横断面研究方法,在泰兴肝癌高发区两个不同饮水类型的学校里分别随机抽取 111 名和 92 名学生,对其进行调查,并采集静脉血,检测血清中乙型肝炎病毒(HBV)感染标志物及血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶( $\gamma$ -GT)、碱性磷酸酶(ALP)水平。按照 HBV 感染进行分层,比较两组人群血清三种酶学水平的差异。结果 两组人群三种酶学指标差异存在显著性( $P < 0.01$ ),暴露组高于对照组。结论 长期饮用有微囊藻毒素污染的水可能对肝脏有损害作用,引起血清中某些肝脏酶学指标的升高。

**【关键词】** 饮水;微囊藻毒素;流行病学

**A cross-sectional study on the effects of microcystin in drinking water to the health of human beings** LIAN Min\*, LIU Ying, YU Shunzhang, et al.\* Institute of Preventive Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China

**【Abstract】 Objective** To understand the effects of microcystin(MC) in drinking water on health of human beings. **Methods** In Taixing, a cross-sectional study was conducted in two middle schools with different types of drinking water, from which 111 and 92 students were randomly selected and investigated. Blood samples from all individuals were collected and tested for serum HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBs, anti-HBc with enzyme linked immunoabsorbent assay and for serum alanine aminotransferase(ALT),  $\gamma$ -glutamyltransferase( $\gamma$ -GT) and alkaline phosphatase(ALP) contents by colorimetry. These levels of enzymes in sera were compared after the students were stratified according to the status of HBV infection. **Result** With the exclusion of the effect of HBV infection, three enzymes levels in sera between two groups of students showed significant differences( $P < 0.01$ ), much higher in exposure group than those in control group. **Conclusion** MC was possibly harmful to human beings in drinking water and induced the contents of some enzymes from the liver of human beings to increase in sera.

**【Key words】** Drinking; Microcystin; Epidemiology

统计资料显示,泰兴市肝癌的死亡率已由 1982 年的 56.30/10 万上升到 1996 年的 68.31/10 万,男性上升的趋势尤为明显,女性死亡率在 34.00/10 万 ~ 38.00/10 万之间,15 年间男女性肝癌死亡数占总癌症死亡数的百分比基本稳定,全人群的肝癌死亡率在恶性肿瘤死因中由 1987 年的第三位上升到 1996 年的第二位。肝癌已成为严重危害泰兴居民健康的最主要恶性肿瘤之一。

泰兴市境内水系主要为长江末梢水,乡中居民住宅周围大都有长度不一的水塘及宅沟,又常有土坝桥,造成数个互不流通的小宅沟。80 年代以前泰

兴居民多饮用沟塘河浜水,80 年代开始打井,由于泰兴海拔低,雨水丰沛,水井水位很高,目前大部分居民饮用浅井水。1997 年董传辉对泰兴等 4 个肝癌高发区进行肝癌危险度评估,发现长期饮用有微囊藻毒素(MC)污染的沟塘河浜及浅井水史是肝癌最主要的危险因素之一,时间越长,罹患肝癌的危险性越大。为此,我们于 1998 年 12 月进行了一次横断面调查,以期初步评价饮水中 MC 对人体健康的影响。

## 对象与方法

### 一、研究对象

随机选取日常生活长期饮用有 MC 污染的沟塘河浜水或浅井水的过船镇向荣中学在校生 111 名、日常生活长期饮用无 MC 污染的自来水的泰兴镇西

基金项目 国家自然科学基金资助项目(39730380)

作者单位 200032 上海医科大学预防医学研究所环境医学与分子生物研究室(连民、俞顺章、陈传炜),流行病学教研室(刘颖),江苏省泰兴市卫生防疫站(周学富、周余春、丁保国、王如鸿)

城中学在校生 92 名。全部对象年龄在 10 ~ 15 岁之间。

### 二、有无暴露因素的确定

1997 年董传辉等<sup>[1]</sup>已证实泰兴沟塘河浜水及浅井水广泛存在 MC 的污染,在本次研究之前,于 1998 年 8 月和 11 月两次对研究对象所长期饮用的饮用水源进行采样,进行水中 MC 的检测,对有无暴露因素再次进行确定。

### 三、调查内容与标本采集

按照统一表格,在培训过的调查员的指导下由研究对象填写。内容包括:年龄、性别、既往病史、饮水史等。同时采集静脉血 10 ml,分离血清后置 -20℃ 保存,待检。

### 四、实验室检测

1. 水中微囊藻毒素的检测采用 ELISA 方法检测,检测专用试剂:微囊藻毒素左旋体(MCLR)单克隆抗体由日本 Ueno 教授惠赠, MCLR 纯毒素及微囊藻毒素-牛血清白蛋白(MCLR-BSA)结合物由日本 Harada 教授惠赠。

2. 乙型肝炎病毒(HBV)感染标志物血清 HBV 表面抗原(HBsAg)、表面抗体(抗-HBs)、核心抗体(抗-HBc)、e 抗原(HBeAg)、e 抗体(抗-HBe)的检测采用 ELISA 方法,试剂盒购自华美生物工程公司,操作步骤按照试剂盒说明。

3. 血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、γ-谷胺酰转移酶(γ-GT)、碱性磷酸酶(ALP)的检测采用比色法,试剂盒购自上海申峰生物试剂厂和上海化学试剂研究所,操作步骤按照试剂盒说明。

## 结果与分析

### 一、暴露组与对照组所在地区水中微囊藻毒素污染状况

水样检测结果表明,作为暴露组的过船镇水源中存在较高浓度的微囊藻毒素(表 1)。1998 年 8 月采样时,正值泰兴雨季,阴雨连绵,对水体微囊藻毒

素理应有相当程度的稀释作用,并且不充分的光照也阻止了蓝藻的快速繁殖,在这种情况下,水中仍能检测出较高浓度的毒素,说明过船镇饮水中微囊藻毒素污染已相当普遍。作为对照组的泰兴镇的饮用水中未检出毒素。说明此次选择的暴露组和对照组是可靠的。

表1 过船、泰兴两镇饮水中微囊藻毒素(MC)的含量分布

采样地区	饮水类型	采样时间 (年.月)	样品数 (阳性数)	平均值 <sup>△</sup> (ng/L)
过船镇	沟塘河浜水	1998.07	3(3)	244
		1998.11	6(6)	114
	浅井水*	1998.07	5(5)	109
		1998.11	3(2)	116
泰兴镇	自来水	1998.07	3(0)	-
		1998.11	3(0)	-

注:\* 包括泵入家庭屋顶蓄水池的水;△ 为阳性样品的平均值

### 二、研究对象的一般情况

暴露组男性 57 人,女性 54 人,对照组男、女分别为 44 人和 48 人,两组性别具有可比性( $\chi^2 = 0.25, P > 0.50$ )。暴露组 10 ~ 13 岁学生占 47%,对照组则占 44%,两组比较差异无显著性( $\chi^2 = 0.22, P > 0.50$ )。此外,两镇经济状况、生活习惯基本一致。

### 三、暴露组与对照组 ALT、γ-GT、ALP 检测结果

暴露组 ALT、γ-GT 异常率分别高达 93% 和 81%,均明显高于对照组。暴露组高水平 ALP 所占比例也明显高于对照组(表 2)。

### 四、暴露组与对照组 HBV 感染谱比较

研究对象的乙型肝炎病毒 5 种血清生物标志物在本次研究中共出现了 13 种感染状态(表 3),暴露组与对照组都以 5 项全阴者为主,分别占 33.33% (37/111),54.35%(50/92)。次之,暴露组是抗-HBs 和抗-HBc 同为阳性,对照组为抗-HBs 阳性。这三种感染谱在两组中的差别具有统计学显著性( $P < 0.05$ )。乙肝血清标志物的分布状况提示,若两组血清酶含量存在差异,可能是由乙肝病毒感染所致。

表2 暴露组与对照组 ALT、γ-GT、ALP 比较

组别	ALT		γ-GT		ALP(U/L)			
	+	-	+	-	< 50	50 ~ 100	100 ~ 150	> 150
暴露组	10(93%)	8	9(81%)	21	6	34	38	33
对照组	3(41%)	54	7(8%)	85	26	62	4	0
$\chi^2$ 值	62.87		108.84		80.11			
P 值	< 0.01		< 0.01		< 0.01			

表3 暴露组与对照组 HBV 感染谱比较

HBV 编码	HBsAg	抗-HBs	抗-HBc	HBeAg	抗-HBe	暴露组 (111 人)	对照组 (92 人)	$\chi^2$ 值	P 值
1	-	-	-	-	-	37	50	9.07	0.003
2	-	+	-	-	-	4	15	9.57	0.002
3	-	+	+	-	-	28	7	10.94	0.001
4	-	-	+	-	-	1	1	-	1.000
5	-	-	+	-	+	0	1	-	0.453
6	-	+	+	-	+	11	7	0.33	0.569
7	+	-	-	-	-	11	5	1.39	0.241
8	+	+	-	-	-	2	1	-	1.000
9	+	-	+	-	-	1	0	-	1.000
10	+	+	+	-	-	3	1	-	0.628
11	+	-	+	-	+	5	2	-	0.460
12	+	+	+	-	+	2	0	-	0.502
13	+	-	+	+	-	6	2	-	0.297

五、暴露组与对照组按 HBV 编码对血清 ALT、 $\gamma$ -GT、ALP 进行分层分析

按乙肝病毒 5 种血清生物标志物的不同组合方式对资料进行分层,结果显示 ALT、 $\gamma$ -GT、ALP 的分布差异仍旧有显著性 ( $P < 0.01$ )。提示血清中肝脏酶学指标的异常并不单纯是乙型肝炎所致,还与饮水源的微囊藻毒素污染有关(表 4)。

表4 按 HBV 编码分层后暴露组与对照组 ALT、 $\gamma$ -GT、ALP 比较

指标		0		1		$\chi^2_{M-H}$	P 值
		暴露组	对照组	暴露组	对照组		
ALT	+	39	26	64	12	54.15	<0.01
	-	2	39	6	15		
$\chi^2$ 值		32.21		25.36			
P 值		<0.01		<0.01			
$\gamma$ -GT	+	33	3	57	4	96.79	<0.01
	-	8	62	13	23		
$\chi^2$ 值		64.53		37.04			
P 值		<0.01		<0.01			
ALP (U/L)	<50	4	19	2	7	62.36	<0.01
	50~100	14	43	20	19		
	100~150	14	3	24	1		
	>150	9	0	24	0		
$\chi^2$ 值		37.12		35.97			
P 值		<0.01		<0.01			

注 将 5 项全阴和仅有抗-HBs 阳性归为一层,赋值为 0 ;HBsAg、抗-HBc、HBeAg (或抗-HBe) 一项或多项为阳性者作为一层,赋值为 1

讨 论

自 70 年代末苏德隆教授在国际上首次提出“饮水与肝癌有关”的观点以来,它已被在数个肿瘤高发区数次大规模的回顾性及前瞻性的流行病学调查所证实。广西扶绥肝癌现场干预表明,改水满 8 年,肝癌发病率由改水前的 78.52/10 万降至 8.26/

10 万<sup>[3]</sup>。

水本身不会致病,水中一定存在与肝癌有关的某种物质。通过对肝癌高发区的流行病学调查并结合蓝藻生物学、饮水中微囊藻毒素检测及其毒理学试验,有学者提出淡水蓝藻产生的 MC 与肝癌有关。国外有关 MC 导致人中毒的报道很多。如:1975 年美国宾西法尼亚 Sewickley 暴发了一起约 8 000 人(占当地人口的 62%)的急性胃肠炎,调查后发现饮水源中有毒蓝藻的污染是致病的原因<sup>[4]</sup>;1991 年英格兰多名士兵在受蓝藻污染的水中训练后出现了类似流感的症状,并有部分士兵出现肝脏酶学指标升高,后来证实水中有 MC 的存在<sup>[5]</sup>;1996 年巴西一透析中心,因透析液遭 MC 污染,导致 130 名病人中有 116 人出现异常症状,并有 26 人最终死亡,这是迄今为止世界上报道的第一次因 MC 造成的人类死亡事件<sup>[6]</sup>。

水的蓝藻污染已成为全球范围内日益严峻的环境与公共卫生问题,蓝藻产生的 MC 对人体健康(主要是肝脏)存在的危害作用,也被越来越多的学者所认识。在长期饮用含有 MC 的水后,对人体健康造成损害的发生、发展过程中,必然经历一个早期变化的时期,而认识并探明这一早期变化,对及时采取措施阻止疾病的发展有着极为重要的意义。监测肝脏酶学指标的早期变化是目前最好的、也是应用最多的方法,可将其作为评价健康状态改变的早期亚临床测定指标。1983 年 Falconer 等<sup>[7]</sup>报道澳大利亚某地以遭受铜绿微囊藻污染的水库作为饮水源的居民出现了血清 ALT、 $\gamma$ -GT、ALP 的明显升高。周天伦等<sup>[8]</sup>发现启东肝癌高发区沟塘水蒸发残渣能使雄性 F344 大鼠肝  $\gamma$ -GT 酶显著升高。另有研究表明,较

低剂量的 MC 可引起大鼠血清乳酸脱氢酶( LDH )、ALT 的明显升高<sup>[9]</sup>,并可导致小鼠肝细胞中重要的解毒物质谷胱甘肽( GSH )的耗竭。本次研究在排除乙型肝炎的影响后,两组人群血清中的 ALT、 $\gamma$ -GT、ALP 含量差异存在显著性。提示长期饮用有 MC 污染的水对人体肝脏有损害作用,引起血清中某些肝脏酶含量的升高。暴露组出现的高 HBV 感染率及肝酶学指标的异常率,提示 HBV 与 MC 对肝脏具有协同损伤作用。

由于目前尚未找到一种能客观反映人体对 MC 的内暴露水平,又能稳定存在于人体内的生物标志物,精确评价人体对 MC 的早期暴露情况尚有一定困难。进一步探索 MC 的体内代谢途径,寻找其稳定的体内代谢产物作为生物标志物并建立起实验室检测方法,将是未来研究的方向。

参 考 文 献

1 董传辉,俞顺章,陈刚,等.江苏几个地区与某湖周围水厂不同类

型水微囊藻毒素调查.环境与健康杂志,1998,15:111-113.  
 2 Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, et al. Survey of microcystins in environmental water by a highly sensitive immunoassay based on monoclonal antibody. *Natural Toxins*,1996,4:271-276.  
 3 张丽生.广西扶绥肝癌现场研究 20 年的回顾与展望. *中国肿瘤*,1997,6:20-21.  
 4 Sykora JL, Keleti G. Cyanobacteria and endotoxins in drinking water supplies. In ( Carmichael WW ed. ) *The water environment. Algal toxins and health*. Plenum press :New York,1981,285-302.  
 5 Lawton LA, Codd GA. Cyanobacteria( blue-green algae )toxins and their significance in U. K. and European waters. *J Inst Water Environ Manage*,1991,5:460-465.  
 6 Jochimsen EM, Carmichael WW, An JS, et al. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N Engl J Med*,1998,338:873-878.  
 7 Falconer IR, Beresford AM, Runnegerr MTC. Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Med J Aust*,1983,1:511-514.  
 8 周天伦,俞顺章.启东肝癌高发区饮用水对 F-344 大鼠肝  $\gamma$ -GT 酶影响的分析. *中华预防医学杂志*,1990,24:203-205.  
 9 Rao LPV. Toxicity evaluation of in vitro cultures of freshwater cyanobacterium *microcystis aeruginosa*: I. Hepatotoxic and histopathological effects in rats. *Biomed and Environ Sci*,1995,8:254-264.

( 收稿日期 2000-04-07 )