

邻苯二甲酸酯暴露与2岁幼儿神经发育的关联

许思楠, 郭剑秋, 张济明, 朱效宁, 刘萍, 王彦娜, 常秀丽, 邬春华, 周志俊

复旦大学公共卫生学院/公共卫生安全教育部重点实验室, 上海 200032

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.21141

摘要:

[背景] 邻苯二甲酸酯 (PAEs) 是一类环境内分泌干扰物, 对儿童神经发育、认知功能存在潜在影响。因此研究 PAEs 暴露对幼儿神经发育影响可为制定儿童卫生保健措施提供科学依据。

[目的] 评估江苏某农村地区2岁幼儿尿中PAEs暴露水平, 并探究其与儿童早期神经发育的关系。

[方法] 本研究基于“射阳小型出生队列”, 以2岁时参与随访的331名儿童为研究对象, 使用问卷收集幼儿的基本信息并采集尿样; 使用“Gesell量表0~3岁智力发育诊断量表”评估儿童神经发育情况。采用高效液相色谱串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 检测幼儿尿中10种PAEs代谢物水平, 采用广义线性模型分析PAEs暴露与幼儿神经发育的关联。

[结果] 2岁幼儿尿中10种PAEs代谢物检出率范围为93.05%~100.00%。PAEs代谢物浓度几何均值范围为0.25~50.13 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。2岁幼儿总发育商的均值 $\pm$ 标准差为97.58 $\pm$ 8.11。幼儿尿中邻苯二甲酸单甲酯 (MMP) 浓度分别与幼儿应能区 ($b=-1.53$, 95%CI: -2.77~-0.30, $P=0.015$)、应人能区评分 ($b=-1.58$, 95%CI: -2.86~-0.30, $P=0.015$) 和总发育商平均分 ($b=-1.34$, 95%CI: -2.53~-0.15, $P=0.027$) 呈负相关; 而幼儿尿中邻苯二甲酸单 (2-乙基己基) 酯 (MEHP) 浓度与幼儿动作能区评分 ($b=2.03$, 95%CI: 0.35~3.71, $P=0.018$) 和总发育商平均分 ($b=1.51$, 95%CI: 0.04~2.96, $P=0.045$) 呈正相关。性别分层分析发现, 女童尿中MMP分别与应能区 ($b=-1.94$, 95%CI: -3.81~-0.06, $P=0.043$)、应人能区 ($b=-2.80$, 95%CI: -4.73~-0.87, $P=0.004$) 以及总发育商平均分 ($b=-1.88$, 95%CI: -3.69~-0.07, $P=0.042$) 呈负相关; 男童中观察到尿MEHP分别与动作能区评分 ($b=3.17$, 95%CI: 1.01~5.33, $P=0.004$) 及总发育商平均分 ($b=2.15$, 95%CI: 0.24~4.07, $P=0.027$) 呈正相关。

[结论] 本研究发现PAEs在该农村地区2岁幼儿体内暴露普遍, PAEs暴露对2岁幼儿神经发育存在潜在影响并具有性别差异。

关键词: 邻苯二甲酸酯类; 暴露评估; 高效液相色谱-串联质谱; 神经发育; Gesell量表; 幼儿

Association between phthalates exposure and neurodevelopment of infants aged two years

XU Sinan, GUO Jianqiu, ZHANG Jiming, ZHU Xiaoning, LIU Ping, WANG Yanna, CHANG Xiuli, WU Chunhua, ZHOU Zhijun (School of Public Health/Key Laboratory of Public Health Safety of Ministry of Education, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract:

[Background] Phthalates (PAEs), a class of endocrine disrupting chemicals (EDCs), have been linked to potential adverse effects on neurodevelopment and cognitive function of children. Therefore, it is critical to explore the effects of PAEs exposure on neurodevelopment in the earlier life stage and provide scientific evidence for making child health protection measures.

[Objective] This study is conducted to assess urinary PAEs levels of two-year-old toddlers, and investigate its association with neurodevelopment during early childhood.

[Methods] A total of 331 toddlers aged 2 years from the Sheyang Mini Birth Cohort were enrolled. A questionnaire survey was conducted to collect the socio-demographic information of the toddlers and spot urine samples were collected during the follow-up visits. Urinary concentrations of 10 PAEs metabolites were detected by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). Gesell Development Schedule

组稿专家

周志俊 (复旦大学公共卫生学院), E-mail: zjzhou@fudan.edu.cn

陶芳标 (安徽医科大学), E-mail: fbtiao@ahmu.edu.cn

基金项目

上海市公共卫生三年行动计划重点学科建设项目 (GWV-10.1-XK11)

作者简介

许思楠 (1997—), 女, 硕士生;
E-mail: 20211020174@fudan.edu.cn

通信作者

邬春华, E-mail: chwu@shmu.edu.cn

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-04-07

录用日期 2021-07-15

文章编号 2095-9982(2021)09-0972-07

中图分类号 R12

文献标志码 A

补充材料

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21141

►引用

许思楠, 郭剑秋, 张济明, 等. 邻苯二甲酸酯暴露与2岁幼儿神经发育的关联 [J]. 环境与职业医学, 2021, 38 (9): 972-978.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21141

Funding

This study was funded.

Correspondence to

WU Chunhua, E-mail: chwu@shmu.edu.cn

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2021-04-07

Accepted 2021-07-15

Supplemental material

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21141

►To cite

XU Sinan, GUO Jianqiu, ZHANG Jiming, et al. Association between phthalates exposure and neurodevelopment of infants aged two years[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(9): 972-978.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21141

(GDS) was administered to assess the neurodevelopment of children. A generalized linear regression model was employed to explore the association between PAEs exposure and infant neurodevelopment.

[Results] The positive rates of selected 10 urinary PAEs metabolites were between 93.05% and 100.00%. The urinary PAEs metabolites concentrations (geometric mean) were in the range of 0.25-50.13 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The children's total development quotient (mean $\pm$ SD) evaluated by GDS was 97.58 $\pm$ 8.11. The urinary mono-methyl phthalate (MMP) concentration was negatively associated with the adaptive domain scores ($b=-1.53$, 95% CI: -2.77 - -0.30, $P=0.015$), the personal-social domain scores ($b=-1.58$, 95% CI: -2.86 - -0.30, $P=0.015$), and the total development quotient ($b=-1.34$, 95% CI: -2.53 - -0.15, $P=0.027$). Conversely, the urinary mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) concentration was positively associated with the motor domain scores ($b=2.03$, 95% CI: 0.35-3.71, $P=0.018$) and the total development quotient ($b=1.51$, 95% CI: 0.04-2.96, $P=0.045$). In sex-stratified analysis, the urinary concentration of MMP was negatively associated with the adaptive domain scores ($b=-1.94$, 95% CI: -3.81 - -0.06, $P=0.043$), the personal-social domain scores ($b=-2.80$, 95% CI: -4.73 - -0.87, $P=0.004$), and the total developmental quotient ($b=-1.88$, 95% CI: -3.69 - -0.07, $P=0.042$) in girls, while the urinary MEHP concentration was positively associated with the motor domain scores ($b=3.17$, 95% CI: 1.01-5.33, $P=0.004$) and the total developmental quotient ($b=2.15$, 95% CI: 0.24-4.07, $P=0.027$) in boys.

[Conclusion] The selected 2-year-old children are extensively exposed to PAEs in the rural area of Jiangsu. Furthermore, early childhood PAEs exposure may have potential impacts on infant neurodevelopment with sex-specific effects.

Keywords: phthalates; exposure assessment; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; neurodevelopment; Gesell Development Schedule; infant

邻苯二甲酸酯 (phthalates, PAEs) 是一类广泛使用的人工合成有机化合物^[1], 根据其相对分子质量和化学性质分为低分子量 PAEs (low molecular weight phthalate, LMWP, 分子量 <250) 和高分子量 PAEs (high molecular weight phthalate, HMWP, 分子量 >250)。LMWP 主要应用于化妆品、个人护理用品、香水和药品; HMWP 在塑料食品包装袋、玩具、建筑材料中广泛存在。其中, 个人护理用品是人群暴露于 PAEs 的首要来源。由于 PAEs 在塑料聚合物中以非共价键的方式存在, 因此塑料制品中 PAEs 会不断逸出至环境中, 可在水、大气、土壤等环境介质中广泛检出^[2]。

PAEs 可以通过消化道、呼吸道、皮肤^[3] 等途径进入人体。PAEs 进入人体后迅速代谢, 代谢物大部分经尿液排出体外, 因此采用尿液作为生物监测样本进行 PAEs 暴露评估以反映人群暴露水平^[4]。PAEs 具有内分泌干扰作用, 动物实验研究发现 PAEs 会通过干扰甲状腺功能^[5]、过氧化物酶受体家族 (peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs) 激活^[6]、钙稳态^[7] 等影响健康。儿童处于快速生长发育的关键时期, 代谢功能尚未发育完全, 对环境污染暴露更为易感, 特别是婴幼儿期儿童由于手口行为多、呼吸带低及单位体重摄入膳食多等原因, 暴露于 PAEs 的机会较多, 且暴露水平较高^[8]。目前流行病学研究报道 PAEs 暴露与幼儿神经发育不良、认知行为问题有关^[9], 但结论尚不一致。本研究通过检测尿样中 10 种 PAEs 代谢物评估 2 岁幼儿的 PAEs 暴露负荷, 同时使用“Gesell 量表 0~3 岁智力发育诊断量表^[10] (后简称 Gesell 量表)”

评估幼儿神经发育状况, 探究 PAEs 暴露与低龄儿童神经发育的关联, 为保护儿童健康提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2009—2010 年, 课题组在江苏省射阳县某妇产科医院建立“射阳小型出生队列”开展研究^[11], 于 2011 年继续随访队列中的 2 岁幼儿共 405 人。随访内容包括问卷调查、幼儿尿液样本采集以及儿童智力发育评估。排除尿液不足或缺失者 66 人, 神经发育指标缺失者 1 人, 母亲孕期患有妊娠期高血压和妊娠期糖尿病 5 人, 双胞胎 2 人, 本研究最终纳入 331 名儿童。儿童监护人均已签署知情同意书, 并协助完成相关调查。该项目获得复旦大学公共卫生学院伦理审查委员会批准 (批准号: IRB#2021-02-0875)。

1.2 问卷调查

采用课题组自行编制的调查问卷, 由统一培训的调查员通过面对面询问方式向儿童监护人采集信息。问卷调查内容主要包括: 疾病史、社会人口学信息、居住环境信息和可能接触 PAEs 的行为和生活习惯。

1.3 神经发育评估

2 岁幼儿智力和神经行为发育的评估使用 Gesell 量表, 该量表在国内广泛用于评估儿童神经智力发育。Gesell 量表共有 28 个条目, 对儿童动作能区、应物能区、言语能区、应人能区的神经发育水平进行评估。经过年龄校正计算各能区的发育商 (development quotient, DQ) 和总 DQ 平均分, DQ 评分越高代表幼儿

的神经发育状况越好。总 DQ 平均分 ≥ 85 , 表示幼儿神经发育正常; 总 DQ 平均分 < 84 , 表示幼儿神经发育迟缓。本研究由经培训合格的上海交通大学医学院附属新华医院的 4 位儿科医生作为评估医师独立完成幼儿神经发育量表评估, 并记录评估医师编号信息作为模型协变量。

1.4 尿样采集与 PAEs 检测

在监护人协助下, 调查员在研究现场用 15 mL 离心管(美国 Corning)采集幼儿尿样, 立即转移至 -20°C 低温冰箱, 并于 1 周内采用冷链转移至实验室保存于 -80°C 超低温冰箱中。

本研究检测幼儿尿中 10 种 PAEs 代谢物, 分别为邻苯二甲酸单甲酯(mono-methyl phthalate, MMP)、邻苯二甲酸单乙酯(mono-ethyl phthalate, MEP)、邻苯二甲酸单丁酯(mono-n-butyl phthalate, MBP)、邻苯二甲酸单异丁酯(mono-iso-butyl phthalate, MiBP)、邻苯二甲酸单苄基酯(mono-benzyl phthalate, MBzP)、邻苯二甲酸单(3-羧基丙基)酯[mono-(3-carboxypropyl) phthalate, MCPP]、邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯[mono-(2-ethylhexyl) phthalate, MEHP]、邻苯二甲酸单(2-乙基-5-羟己基)酯[mono-(2-ethyl-5-hydroxy-hexyl) phthalate, MEHHP]、邻苯二甲酸单(2-乙基-5-氧己基)酯[mono-(2-ethyl-5-oxo-hexyl) phthalate, MEOHP]、邻苯二甲酸单(5-羧基-2-己戊基)酯[mono-(2-ethyl-5-carboxy-pentyl) phthalate, MECPP] 的质量浓度。其中, MMP、MEP、MBP 和 MiBP 属于 LMWP; MBzP、MCPP、MEHP、MEHHP、MEOHP 和 MECPP 属于 HMWP。此外, MEHP、MEHHP、MEOHP 和 MECPP 均为邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[di-(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP] 的代谢产物。

采用高效液相色谱-三重四极杆串联质谱(high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) (Agilent 1290/6460, 美国) 进行检测^[12]。尿样解冻后加入 β -葡萄糖苷酸酶溶液酶水解, 经固相萃取提取净化得到洗脱液, 洗脱液氮气吹干后经过复溶, 超声、涡旋振荡、过滤等步骤后上机检测。该方法 MMP、MEP、MEOHP、MEHHP、MECPP 质量浓度的检出限均为 $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 其余 5 种代谢产物质量浓度的检出限均为 $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 回收率为 94.94%~117.81%, 日内、日间相对标准偏差均小于 10%。

尿中肌酐测定采用南京建成科技有限公司生产

的血、尿肌酐测定试剂盒(除蛋白法)。

1.5 统计学分析

使用 SPSS 20.0 软件分析数据。

采用频数和构成比描述研究对象的社会人口学信息; 使用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述幼儿 Gesell 量表各能区 DQ 评分情况。PAEs 代谢物质量浓度呈偏态分布, 经肌酐校正对数转换后近似正态分布。采用几何均数 G 、几何标准差 G_{SD} 和百分位数描述幼儿尿 PAEs 暴露水平的分布情况, PAEs 代谢产物质量浓度低于检出限时采用 $\text{LOD}/\sqrt{2}$ 赋值。LMWP 总浓度以 C_{LMWP} 表示, 为 MMP、MEP、MBP、MiBP 浓度之和(单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$); HMWP 总浓度以 C_{HMWP} 表示, 为 MBzP、MCPP、MEHP、MEHHP、MECPP、MEOHP 浓度之和(单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$); DEHP 总浓度(C_{DEHP}) 为 MEHP、MEHHP、MECPP、MEOHP 浓度之和(单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$); PAEs 代谢物总浓度(C_{PAEs}) 为 10 种代谢物浓度之和(单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)。使用 Mann-Whitney U 检验比较不同性别幼儿的 DQ 评分情况。

协变量的选择根据既往文献^[4] 或者与 PAEs 暴露和神经发育指标相关联的信息。主要包括母亲年龄、母亲学历、母亲职业、家庭年收入、母乳喂养时长、儿童性别、被动吸烟状况、居住地、评估医师编号。采用广义线性模型探究 2 岁幼儿 PAEs 暴露与 Gesell 量表各能区 DQ 得分的关系, 并进行性别分层分析; 采用广义相加模型进一步探究 PAEs 暴露与 Gesell 量表各能区 DQ 得分的剂量反应关系; 使用方差膨胀因子诊断模型的多重共线性。此外, 敏感性分析将 2 岁幼儿尿双酚 A (Bisphenol A, BPA)、有机磷农药 (organophosphate pesticides, OPs) 以及铅 (Pb)、镉 (Cd)、汞 (Hg) 质量浓度纳入作为协变量检验模型的稳健性。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 研究结果

2.1 基本信息

在研究纳入的 331 名 2 岁幼儿中, 男童 189 名 (57.1%), 女童 142 名 (42.9%)。幼儿母亲分娩年龄为 (26.03 ± 5.49) 岁, 39.0% 的幼儿母亲职业为家庭主妇, 70.4% 的幼儿母亲受教育水平为初中及以下; 75.8% 的幼儿居住在集镇和农村地区; 48.9% 的幼儿存在被动吸烟情况; 有 83.1%、95.2%、60.4% 的幼儿存在使用塑料奶瓶、塑料玩具、塑料餐具的情况。本研究将纳入与排除的幼儿基本特征进行比较, 结果显示所有纳入与排除对象在人口学因素上差异均无统计学意

义 ($P>0.05$)。结果见补充材料表 S1。

2.2 幼儿尿中 PAEs 代谢物暴露水平

2 岁幼儿尿液肌酐校正后 PAEs 代谢物暴露水平分布情况如表 1 所示, MEP、MiBP、MEHHP、MEOHP、MECCP 的检出率均为 100%, 其余 5 种 PAEs 代谢物的检出率范围为 93.05%~99.70%。10 种 PAEs 检出值的几何均值范围为 $0.80\sim 157.82\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (以肌酐计, 下同); C_{PAEs} 中位值及四分位数范围为 $3.05\ (1.54\sim 6.25)\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (以肌酐计, 下同)。未经肌酐校正的 PAEs 质量浓度见补充材料表 S2。

表 1 2 岁幼儿尿液肌酐校正后 PAEs 代谢物检出量分布 ($n=331$)

Table 1 Distribution of creatinine-adjusted urinary PAEs metabolites concentrations in toddlers aged 2 years ($n=331$)

代谢物 Metabolites	检出率/% Positive rate/%	检出值 (Concentration)			
		$G\pm G_{SD}$	P_{50}	$P_{25}\sim P_{75}$	Min~Max
MMP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	98.49	46.48 ± 4.59	47.63	$24.94\sim 93.90$	$<\text{LOD}\sim 89\ 194.02$
MEP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	100.00	56.00 ± 5.24	41.00	$16.56\sim 168.17$	$0.79\sim 20\ 984.56$
MBP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	99.70	116.78 ± 3.55	107.76	$50.30\sim 295.21$	$<\text{LOD}\sim 3\ 501.77$
MiBP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	100.00	90.24 ± 2.94	83.74	$47.93\sim 177.38$	$0.42\sim 3\ 116.27$
MCPP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	98.79	8.78 ± 3.08	4.46	$2.17\sim 8.06$	$<\text{LOD}\sim 716.70$
MBzP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	94.86	0.80 ± 3.10	0.76	$0.39\sim 1.41$	$<\text{LOD}\sim 35.63$
MEHP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	93.05	8.16 ± 3.39	8.66	$4.42\sim 16.79$	$<\text{LOD}\sim 436.35$
MEHHP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	100.00	37.56 ± 2.38	35.58	$21.05\sim 61.75$	$1.40\sim 2\ 622.01$
MEOHP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	100.00	26.94 ± 2.26	25.84	$16.69\sim 41.01$	$0.95\sim 1\ 468.82$
MECCP/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	100.00	157.82 ± 3.03	147.55	$74.70\sim 315.43$	$3.66\sim 6\ 769.98$
C_{DEHP} / ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	93.05	0.82 ± 2.67	0.76	$0.42\sim 1.47$	$<\text{LOD}\sim 26.61$
C_{LMWP} / ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	98.19	2.06 ± 3.45	1.84	$0.93\sim 4.04$	$<\text{LOD}\sim 501.30$
C_{HMWP} / ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	88.22	0.88 ± 2.62	0.84	$0.46\sim 1.59$	$<\text{LOD}\sim 26.88$
C_{PAEs} / ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	87.92	3.25 ± 3.07	3.05	$1.54\sim 6.25$	$<\text{LOD}\sim 502.66$

[注] C_{DEHP} : MEHP、MEHHP、MEOHP、MECCP 浓度之和 (单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$); C_{LMWP} : MMP、MEP、MBP、MiBP 浓度之和 (单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$); C_{HMWP} : MBzP、MCPP、MEHP、MEHHP、MECCP、MEOHP 浓度之和 (单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$); C_{PAEs} : 10 种 PAEs 的浓度之和 (单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)。

[Note] C_{DEHP} : The sum of molar concentrations of MEHP, MEHHP, MEOHP, and MECCP; C_{LMWP} : The sum of molar concentrations of MMP, MEP, MBP, and MiBP; C_{HMWP} : The sum of molar concentrations of MBzP, MCPP, MEHP, MEHHP, MECCP, and MEOHP; C_{PAEs} : The sum of molar concentrations of ten PAEs metabolites.

2.3 幼儿神经发育状况

2 岁幼儿 Gesell 量表总 DQ 平均分的 $\bar{x}\pm s$ 为 97.58 ± 8.11 , 各能区 DQ 评分见表 2。按性别分层后, 男、女童总 DQ 平均分分别为 97.19 ± 8.18 和 97.87 ± 8.41 ; 除男童应人能区 DQ 评分低于女童外 ($P=0.003$), 其他能区 DQ 得分、总 DQ 平均分以及神经发育迟缓率在男童女童间差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.4 幼儿 PAEs 暴露水平与神经发育指标的关联

校正潜在混杂因素后, 广义线性模型分析 PAEs 暴露与神经发育指标之间关联的结果见表 3, 尿中 MMP 经肌酐校正浓度分别与幼儿应物能区、应人能区和总 DQ 平均分呈负相关, 其关联系数 b 及其 95% 可信区间 (CI) 分别为 $-1.53\ (-2.77\sim -0.30)$ ($P=0.015$), $-1.58\ (-2.86\sim -0.30)$ ($P=0.015$), $-1.34\ (-2.53\sim -0.15)$ ($P=0.027$); 尿中 MEHP 经肌酐校正浓度与幼儿动作能区及总 DQ 平均分呈正相关, b (95% CI) 分别为 $2.03\ (0.35\sim 3.71)$ ($P=0.018$), $1.51\ (0.04\sim 2.96)$ ($P=0.045$); 其余尿中 PAEs 代谢产物浓度与幼儿 Gesell 量表各能区 DQ 评分的关联均不具有统计学意义 ($P>0.05$)。广义相加模型显示仅 MMP 与幼儿应人能区 DQ 得分的关系呈非线性关系 ($P<0.05$), 结果见补充材料图 S1。

敏感性分析校正了同一尿样中 BPA、OPs、Pb、Cd、Hg 浓度及混杂因素, PAEs 代谢物浓度与神经发育指标的关联方向和强度未发现明显变化, 结果见补充材料表 S3。

性别分层分析发现, 女童中 (图 1) 观察到 MMP 分别与应物能区、应人能区以及总 DQ 平均分呈负相关 ($b=-1.94$, 95% CI : $-3.81\sim -0.06$, $P=0.043$; $b=-2.80$, 95% CI : $-4.73\sim -0.87$, $P=0.004$; $b=-1.88$, 95% CI : $-3.69\sim -0.07$, $P=0.042$); 而在男童中 (图 2) 发现 MEHP 分别与动作能区评分及总 DQ 平均分呈正相关 ($b=3.17$, 95% CI : $1.01\sim 5.33$, $P=0.004$; $b=2.15$, 95% CI : $0.24\sim 4.07$, $P=0.027$)。

表 2 2 岁幼儿的 Gesell 量表各能区 DQ 评分情况 ($n=331$)

Table 2 Distribution of Gesell Development Schedule DQ scores in toddlers aged 2 years ($n=331$)

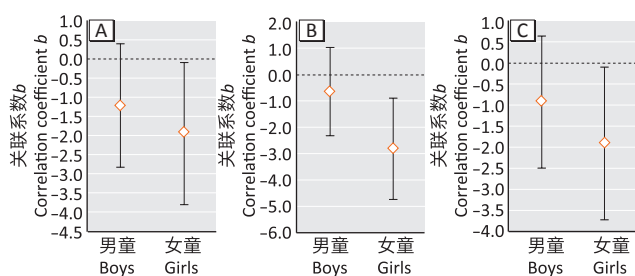
对象 Participants	人数 Number	DQ/ ($\bar{x}\pm s$)					神经发育迟缓 (Neurodevelopmental delay)	
		动作能 Motor	应物能 Adaptive	言语能 Language	应人能 Personal-social	总平均分 Total average	人数 Number	%
全体 (Total)	331	99.90 ± 8.92	96.65 ± 8.60	96.20 ± 10.16	97.47 ± 8.66	97.58 ± 8.11	9	2.73
男童 (Boys)	189	99.89 ± 8.54	96.63 ± 8.47	96.19 ± 10.50	96.58 ± 8.34	97.19 ± 8.18	5	2.66
女童 (Girls)	142	99.91 ± 9.45	96.68 ± 8.79	96.21 ± 9.72	98.65 ± 8.97	97.87 ± 8.41	4	2.82
Mann-Whitney U	—	13009	12626	12072	10976	11910	0.009 (χ^2)	
P	—	0.62	0.35	0.13	0.003	0.09	0.92	

表3 2岁幼儿尿液中经肌酐校正的PAEs代谢物水平与Gesell量表各能区DQ评分的关联性分析
Table 3 Associations between creatinine-adjusted urinary PAEs metabolites concentrations and Gesell Development Schedule DQ scores in 2-year-old toddlers

PAEs	动作能 DQ Motor DQ		应物能 DQ Adaptive DQ		言语能 DQ Language DQ		应人能 DQ Personal-social DQ		总 DQ 平均分 Total average DQ	
	<i>b</i> (95% CI)	<i>P</i>	<i>b</i> (95% CI)	<i>P</i>	<i>b</i> (95% CI)	<i>P</i>	<i>b</i> (95% CI)	<i>P</i>	<i>b</i> (95% CI)	<i>P</i>
MMP	-1.26 (-2.63~0.10)	0.070	-1.53 (-2.77~-0.30)	0.015	-1.10 (-2.63~0.44)	0.163	-1.58 (-2.86~-0.30)	0.015	-1.34 (-2.53~-0.15)	0.027
MEP	-0.68 (-1.92~0.57)	0.286	-1.03 (-2.16~0.09)	0.072	-0.68 (-2.08~0.71)	0.337	-0.32 (-1.49~0.85)	0.593	-0.68 (-1.76~0.40)	0.217
MBP	0.87 (-0.77~2.51)	0.297	-0.28 (-1.78~1.20)	0.709	-0.72 (-2.55~1.12)	0.443	0.15 (-1.38~1.69)	0.845	0.01 (-1.41~1.43)	0.990
MIBP	0.57 (-1.37~2.50)	0.563	-0.51 (-2.26~1.25)	0.570	-0.82 (-2.99~1.35)	0.458	-0.24 (-2.05~1.58)	0.799	-0.22 (-1.90~1.47)	0.801
MCPP	-0.08 (-1.93~1.77)	0.933	-0.77 (-2.45~0.90)	0.367	-0.05 (-2.12~2.02)	0.960	-0.80 (-2.54~0.93)	0.364	-0.42 (-2.03~1.19)	0.608
MBzP	0.14 (-1.68~1.96)	0.877	-0.11 (-1.76~1.54)	0.893	-0.21 (-2.25~1.83)	0.839	-0.09 (-1.80~1.62)	0.919	0.10 (-1.69~1.48)	0.898
MEHP	2.03 (0.35~3.71)	0.018	1.15 (-0.38~2.68)	0.140	1.08 (-0.82~2.98)	0.265	1.49 (-0.09~3.07)	0.065	1.51 (0.04~2.96)	0.045
MEHHP	1.08 (-1.34~3.49)	0.382	-0.07 (-2.26~2.12)	0.948	0.23 (-2.47~2.93)	0.867	0.61 (-1.65~2.88)	0.595	0.48 (-1.62~2.57)	0.656
MEOHP	0.61 (-1.94~3.16)	0.640	-0.32 (-2.62~2.00)	0.789	-0.21 (-3.07~2.64)	0.884	0.41 (-1.98~2.80)	0.738	0.15 (-2.07~2.36)	0.895
MECPP	0.51 (-1.35~2.38)	0.588	-0.42 (-2.11~1.26)	0.623	0.73 (-1.35~2.82)	0.491	0.74 (-1.00~2.49)	0.403	0.39 (-1.22~2.01)	0.632
C _{DEHP}	0.69 (-1.41~2.80)	0.519	-0.18 (-2.08~1.73)	0.856	0.82 (-1.54~3.17)	0.497	0.97 (-1.01~2.94)	0.337	0.59 (-1.24~2.41)	0.529
C _{LMWP}	-0.29 (-1.96~1.38)	0.734	-1.02 (-2.53~0.49)	0.185	-1.17 (-3.03~0.70)	0.221	-0.51 (-2.08~1.05)	0.522	-0.73 (-2.18~0.72)	0.321
C _{HMWP}	0.63 (-1.52~2.79)	0.564	-0.16 (-2.11~1.79)	0.871	0.81 (-1.60~3.22)	0.511	0.86 (-1.15~2.88)	0.401	0.55 (-1.32~2.42)	0.567
C _{PAEs}	-0.02 (-1.86~1.83)	0.986	-0.79 (-2.46~0.88)	0.352	-0.76 (-2.82~1.31)	0.472	-0.12 (-1.85~1.62)	0.896	-0.41 (-2.01~1.19)	0.616

[注] 模型经过母亲年龄、母亲受教育程度、家庭年收入、居住地、儿童性别、被动吸烟、评估医师校正。

[Note] The models are adjusted for maternal age, maternal education, household annual income, residence, child's sex, passive smoking, and evaluating physicians.



[注] 模型经过母亲年龄、母亲受教育程度、家庭年收入、居住地、被动吸烟、评估医师校正。

[Note] The models are adjusted for maternal age, maternal education, household annual income, residence, passive smoking, and evaluating physicians.

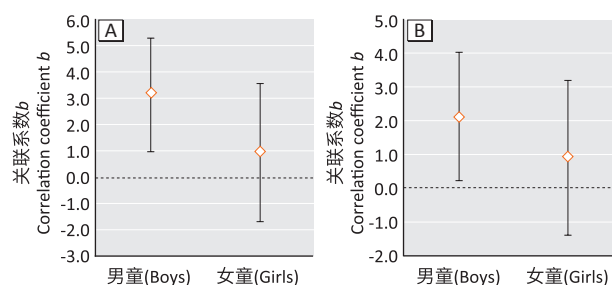
图1 幼儿尿中MMP浓度与应物能区(A)、应人能区(B) DQ得分及总DQ平均分(C)关系的性别分层分析

Figure 1 Associations of urinary MMP concentration with adaptive (A), personal-social (B), and total average (C) DQ scores in sex-stratified analysis

3 讨论

PAEs具有内分泌干扰作用,与儿童注意缺陷多动障碍、神经发育迟缓有关^[13]。本研究发现研究对象尿中PAEs代谢物普遍存在;幼儿尿中MMP浓度与应物、应人能区得分及总DQ平均分呈负相关,MEHP浓度与动作能区得分及总DQ平均分呈正相关;性别分层分析结果表明女童尿中MMP浓度与幼儿神经发育存在负向关联,而男童尿中MEHP浓度与幼儿神经发育存在正向关联。

本研究2岁幼儿尿液中10种PAEs代谢产物检出



[注] 模型经过母亲年龄、母亲受教育程度、家庭年收入、居住地、被动吸烟、评估医师校正。

[Note] The models are adjusted by maternal age, maternal education, household annual income, residence, passive smoking, and evaluating physicians.

图2 幼儿尿中MEHP浓度与动作能区DQ得分(A)及总DQ平均分(B)的关系的性别分层分析

Figure 2 Associations of urinary MEHP concentration with motor (A) and total average (B) DQ scores in sex-stratified analysis

率为93.05%~100.00%,儿童尿肌酐校正C_{PAEs}高于蔡秀等^[14]于安徽马鞍山队列的研究结果。本研究幼儿尿中C_{LMWP}水平高于C_{HMWP},这与Qian等^[15]对武汉2岁幼儿检测结果一致。本研究幼儿尿LMWP肌酐校正浓度高于台湾Ku等^[16]同类研究结果;而HMWP肌酐校正浓度的中位值均低于该研究。课题组既往研究发现使用塑料奶瓶、塑料餐具可能会增加幼儿邻苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)、邻苯二甲酸二异丁酯(diisobutyl phthalate, DiBP)与DEHP的暴露水

平^[4]；而个人护理产品是邻苯二甲酸二甲酯 (Dimethyl phthalate, DMP) 和 DEP 的主要暴露源, 占其总暴露量 50% 以上^[17]。膳食途径是中国人 DEHP 暴露的主要来源, 占 DEHP 总暴露量的 50% 以上；而膳食途径仅占 LMWP 总暴露量的 10% 以下^[18]。LMWP 和 HMWP 应用范围和暴露途径不同, 可能是造成以上研究差异的原因。

本研究观察到幼儿尿中 MMP 浓度与儿童应物能区、应人能区和总 DQ 评分存在负相关, 性别分层结果观察到 MMP 仅与女童存在上述关联。波兰的横断面研究发现 7 岁儿童尿中 MMP 浓度与优势与困难量表中总困难评分和数学能力评分存在正向关联；同时 MMP 与智力与发展量表固定 IQ 评分呈负相关, 表明 MMP 暴露可能与学龄儿童神经发育受损有关^[19]。Dong 等^[20]的研究发现 9 月龄婴儿哺乳期 MMP 暴露仅为女婴沟通能力发育迟缓的危险因素, 本研究结果与之一致。本研究还观察到幼儿尿中 MEHP 浓度与儿童动作能区和总 DQ 评分呈正相关；性别分层结果发现 MEHP 仅与男童动作能区评分及 DQ 平均分呈正相关。Qian 等^[15] 武汉 2 岁幼儿研究观察到孕期 MEHP 平均暴露水平也仅与男童贝利婴幼儿发育量表运动发展指数呈正相关；本研究结果与以上研究一致。LMWP 与 HMWP 诱导激活或调节 PPAR 通路时效力不同^[21], 此外, LMWP 与 HMWP 的暴露来源及水平不同, 也可能是 MMP 与 MEHP 对幼儿神经发育效应结果不一致的原因, 但这些发现需要更多的流行病学证据证明。

PAEs 作为环境内分泌干扰物, 具有抗雄激素作用并可干扰甲状腺激素水平, 而甲状腺激素和性类固醇激素在幼儿生命早期大脑发育起着关键作用^[13]。动物实验表明, PAEs 抑制胚胎合成睾酮, 使得下丘脑-垂体-性腺轴的组织和功能调节异常, 且睾酮、雌二醇在哺乳动物受体通路存在性别差异^[22], DEHP 及其代谢产物 MEHP 可以影响大鼠甲状腺素合成、调节和作用功能^[5]。流行病学研究表明 PAEs 暴露对儿童甲状腺功能影响具有性别差异, 主要表现为在女童甲状腺素水平下降, 而男童甲状腺素水平上升^[9]。生命早期暴露于 PAEs 会干扰海马功能与结构, 进而影响幼儿内在行为^[23]。以上机制学研究可能是 PAEs 对幼儿神经发育影响具有性别差异的原因。

本次研究基于射阳小型出生队列研究, 信息收集较为完整；采取的 PAEs 代谢产物检测方法检出限较低, 能够准确评估儿童尿中 PAEs 的暴露负荷。敏感性

分析排除了同期其他可能神经毒物的影响。但本研究依然存在一些局限性, 首先, 本研究设计仍属于横断面研究, 因果关系推断能力受限, 缺乏孕期 PAEs 暴露数据, 无法排除孕期 PAEs 的长期影响作用；其次, PAEs 在体内快速代谢主要经尿液排出, 生物半衰期较短^[21], 尿中的 PAEs 羟基化代谢产物常作为暴露的生物标志, 研究表明普通人群在无生活方式改变的情况下, PAEs 的暴露水平一般处于一个相对稳定的状态, 较大样本量可以减少暴露错分偏倚, 但研究结论外推时需谨慎。

综上, 本研究发现该农村地区 2 岁幼儿体内 PAEs 类暴露普遍存在, MMP 与 MEHP 暴露与 Gesell 量表发展量表部分能区得分存在关联, 且存在性别差异。研究结果为公共卫生政策和儿童卫生保健措施提供科学依据。在未来的研究中拟开展多中心、长时间的队列随访研究, 拓展结论的外推性；增加影响儿童神经发育的影响因素调查, 如膳食情况等；开展多污染物共暴露的研究, 在共暴露模型中探究 PAEs 类对儿童神经发育的影响。

参考文献

- [1] KOCH HM, CALAFAT AM. Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture [J]. *Philos Trans R Soc B: BiolSci*, 2009, 364 (1526): 2063-2078.
- [2] EJAREDAR M, NYANZA EC, TEN EYCKE K, et al. Phthalate exposure and childrens neurodevelopment: a systematic review [J]. *Environ Res*, 2015, 142: 51-60.
- [3] FERGUSON KK, MCEL RATH TF, KO YA, et al. Variability in urinary phthalate metabolite levels across pregnancy and sensitive windows of exposure for the risk of preterm birth [J]. *Environ Int*, 2014, 70: 118-124.
- [4] 朱效宁, 金玉娥, 邬春华, 等. 某地区 2 岁幼儿的邻苯二甲酸酯暴露水平及其影响因素 [J]. *环境与职业医学*, 2013, 30 (6): 405-410.
- [5] ZHU XN, JIN YE, WU CH, et al. Levels and influencing factors of phthalates exposure in Two-Year-Old infants in a county [J]. *J Environ Occup Med*, 2013, 30 (6): 405-410.
- [6] DONG J, CONG Z, YOU M, et al. Effects of perinatal di (2-ethylhexyl) phthalate exposure on thyroid function in rat offspring [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2019, 67: 53-60.
- [7] ZHANG Y, GE S, YANG Z, et al. Disturbance of di-(2-ethylhexyl) phthalate in hepatic lipid metabolism in rats fed with high

- fat diet [J]. Food Chem Toxicol, 2020, 146 : 111848.
- [7] RODRIGUES K, BATISTA-SILVA H, DE MOURA KRS, et al. Dibutyl phthalate rapidly alters calcium homeostasis in the gills of *Danio rerio* [J]. Chemosphere, 2020, 258 : 127408.
- [8] 高慧, 黄锐, 伍晓艳, 等. 学龄前儿童邻苯二甲酸酯暴露的累积风险评估 [J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40 (5) : 585-589.
- GAO H, HUANG K, WU XY, et al. Cumulative risk assessment of phthalates exposure in preschool children [J]. Chin J Epidemiol, 2019, 40 (5) : 585-589.
- [9] MORGENSTERN R, WHYATT RM, INSEL BJ, et al. Phthalates and thyroid function in preschool age children : sex specific associations [J]. Environ Int, 2017, 106 : 11-18.
- [10] 杨玉凤. 儿童发育行为心理评定量表 [M]. 北京 : 人民卫生出版社, 2016 : 71.
- YANG YF. Rating scales for children's developmental behavior and mental health [M]. Beijing : People's Medical Publishing House, 2016 : 71.
- [11] 齐小娟. 宫内铅、镉及拟除虫菊酯类杀虫剂暴露对婴幼儿生长发育的影响 [D]. 上海 : 复旦大学, 2011.
- QI XJ. Impact of prenatal lead, cadmium and pyrethroid exposure on development of offspring [D]. Shanghai : Fudan University, 2011.
- [12] 朱效宁, 汪国权, 周志俊, 等. 尿中 13 种邻苯二甲酸酯代谢物的高效液相色谱串联质谱测定法 [J]. 环境与职业医学, 2015, 32 (3) : 265-270.
- ZHU XN, WANG GQ, ZHOU ZJ, et al. Detecting 13 phthalate metabolites in human urine by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Environ Occup Med, 2015, 32 (3) : 265-270.
- [13] HLISNÍKOVÁ H, PETROVIČOVÁ I, KOLENA B, et al. Effects and mechanisms of phthalates' action on neurological processes and neural health : a literature review [J]. Pharmacol Rep, 2021, 73 (2) : 386-404.
- [14] 蔡秀秀, 高慧, 严双琴, 等. 邻苯二甲酸酯内暴露水平与学龄前儿童执行功能的关联研究 [J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52 (3) : 296-302.
- CAI XX, GAO H, YAN SQ, et al. Association between the internal exposure levels of phthalates and executive function of preschool children [J]. Chin J Prev Med, 2018, 52 (3) : 296-302.
- [15] QIAN X, LI J, XU S, et al. Prenatal exposure to phthalates and neurocognitive development in children at two years of age [J]. Environ Int, 2019, 131 : 105023.
- [16] KU HY, TSAI TL, WANG PL, et al. Prenatal and childhood phthalate exposure and attention deficit hyperactivity disorder traits in child temperament : a 12-year follow-up birth cohort study [J]. Sci Total Environ, 2020, 699 : 134053.
- [17] WANG W, LEUNG AOW, CHU H, et al. Phthalates contamination in China : status, trends and human exposure-with an emphasis on oral intake [J]. Environ Pollut, 2018, 238 : 771-782.
- [18] GUO Y, ZHANG Z, LIU L, et al. Occurrence and profiles of phthalates in foodstuffs from China and their implications for human exposure [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60 (27) : 6913-6919.
- [19] JANKOWSKA A, POLAŃSKA K, KOCH HM, et al. Phthalate exposure and neurodevelopmental outcomes in early school age children from Poland [J]. Environ Res, 2019, 179 : 108829.
- [20] DONG R, WU Y, CHEN J, et al. Lactational exposure to phthalates impaired the neurodevelopmental function of infants at 9 months in a pilot prospective study [J]. Chemosphere, 2019, 226 : 351-359.
- [21] BILITY MT, THOMPSON JT, MCKEE RH, et al. Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) by phthalate monoesters [J]. Toxicol Sci, 2004, 82 (1) : 170-182.
- [22] GORE AC, KRISHNAN K, REILLY MP. Endocrine-disrupting chemicals : effects on neuroendocrine systems and the neurobiology of social behavior [J]. Horm Behav, 2019, 111 : 7-22.
- [23] HOLAHAN MR, SMITH CA. Phthalates and neurotoxic effects on hippocampal network plasticity [J]. NeuroToxicology, 2015, 48 : 21-34.

(英文编辑 : 汪源 ; 责任编辑 : 丁瑾瑜)