

· 论 著 ·

孕期PAHs暴露与胎盘线粒体拷贝数的关联研究

朱玲慧¹, 鲁英², 张露艺¹

1.新疆医科大学公共卫生学院, 新疆 乌鲁木齐 830054; 2.海南医学院, 海南 海口 571199

摘要: **目的** 分析孕妇多环芳烃 (PAHs) 暴露水平与胎盘线粒体DNA (mtDNA) 拷贝数的相关性, 为孕期PAHs暴露对子代健康潜在影响研究提供依据。 **方法** 选择2019年1—10月在乌鲁木齐市某三甲医院分娩的200名孕妇及其新生儿为研究对象, 根据分娩时间分为采暖期组 (1—4月) 和非采暖期组 (7—10月), 收集年龄、民族、文化程度和家庭采暖方式等资料; 采用气相色谱-质谱联用法测定孕妇及其新生儿血液16种PAHs总浓度; 提取胎盘DNA, 采用实时荧光定量PCR法检测胎盘mtDNA拷贝数; 采用Spearman秩相关分析血PAHs总浓度与胎盘mtDNA拷贝数的相关性。 **结果** 纳入采暖期组和非采暖期组各100人, 年龄分别为29 (3) 岁和29 (4) 岁, 孕期分别为 (275.06±0.72) 和 (276.82±0.66) d。采暖期组孕妇血PAHs总浓度 [15.71 (4.30) vs. 12.98 (5.49) μg/L]、新生儿血PAHs总浓度 [14.29 (4.25) vs. 11.24 (5.09) μg/L] 和胎盘mtDNA拷贝数 [4.67 (1.18) vs. 4.51 (0.62)] 均高于非采暖期组 ($P < 0.05$)。孕妇和新生儿血PAHs总浓度均与胎盘mtDNA拷贝数呈正相关 ($r_s=0.240$, $P=0.001$; $r_s=0.273$, $P < 0.001$)。采暖期组孕妇血PAHs总浓度与胎盘mtDNA拷贝数呈正相关 ($r_s=0.245$, $P=0.014$); 非采暖期组新生儿血PAHs浓度与胎盘mtDNA拷贝数呈正相关 ($r_s=0.292$, $P=0.003$)。 **结论** 孕妇PAHs暴露水平与胎盘mtDNA拷贝数呈正相关, 孕妇PAHs暴露与新生儿氧化应激存在一定相关性。

关键词: 孕妇; 新生儿; 多环芳烃; mtDNA拷贝数; 氧化应激

中图分类号: R172; R181.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2022) 03-0248-05

Correlation between exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons during pregnancy and placental mitochondrial DNA copy number

ZHU Linghui¹, LU Ying², ZHANG Luyi¹

1.School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830054, China;

2.Hainan Medical College, Haikou, Hainan, 571199, China

Abstract: Objective To examine the correlation between exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and placental mitochondrial DNA (mtDNA) copy number among pregnant women, so as to provide the evidence for evaluation of potential effects of PAHs exposure during pregnancy on offspring health. **Methods** A total of 200 pregnant women delivered at a tertiary hospital in Urumqi City during the period from January to October 2019, and their newborns were recruited, and grouped according to the time of delivery, including the heating group [delivery during the heating period (from January to April)] and the non-heating group [delivery during the non-heating period (from July to October)]. Subjects' age, ethnicity, educational level and type of home heating were collected, and the total concentration of 16 PAHs was determined in the blood samples of pregnant women and their babies using gas chromatography-mass spectrometry. Placental DNA was extracted, and placental mtDNA copy number was measured using real-time fluorescence quantitative PCR assay. In addition, the correlation between PAHs concentration and placental mtDNA copy number was examined using the Spearman rank correlation analysis. **Results** There were 100 subjects in the heating group, which had a median age of 29 (interquartile range, 3) years and had a mean gestational age of (275.06±0.72)

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.03.007

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960580)

作者简介: 朱玲慧, 硕士在读

通信作者: 鲁英, E-mail: 316139862@qq.com

days, and there were 100 subjects in the non-heating group, which had a median age of 29 (interquartile range, 4) years and had a mean gestational age of (276.82±0.66) days. The total concentration of PAHs in the blood of pregnant women [15.71 (4.30) vs. 12.98 (5.49) $\mu\text{g/L}$; $P<0.05$], the total concentration of PAHs in neonatal blood [14.29 (4.25) vs. 11.24 (5.09) $\mu\text{g/L}$; $P<0.05$] and the placental mtDNA copy number [4.67 (1.18) vs. 4.51 (0.62); $P<0.05$] were all higher in the heating group than in the non-heating group. Spearman rank correlation analysis revealed that the total concentration of PAHs in the blood of pregnant women and neonates was positively correlated with placental mtDNA copy number ($r_s=0.240$, $P=0.001$; $r_s=0.273$, $P<0.001$), and the total concentration of PAHs in the blood of pregnant women was positively correlated with the placental mtDNA copy number in the heating group ($r_s=0.245$, $P=0.014$), while the PAHs concentration in the neonatal blood was positively correlated with the placental mtDNA copy number in the non-heating group ($r_s=0.292$, $P=0.003$). **Conclusions** Exposure to PAHs positively correlates with placental mtDNA copy number among pregnant women, and there is a correlation between maternal exposure to PAHs and neonatal oxidative stress.

Keywords: pregnant woman; newborn; polycyclic aromatic hydrocarbons; mtDNA copy number; oxidative stress

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是大气颗粒物中的主要致癌物, 进入机体后通过代谢活化作用产生大量活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 当 ROS 量超过机体清除能力时, 线粒体 DNA (mitochondria DNA, mtDNA) 因缺乏蛋白质保护, 极易受到 ROS 攻击^[1]。在外源性化学物作用下, 线粒体通过复制 mtDNA 分子增加细胞 mtDNA 拷贝数弥补损伤^[2]。研究发现, 低剂量 PAHs 暴露, mtDNA 拷贝数异常升高提示机体处于高氧化应激状态, 可作为环境污染暴露标志物^[3]。

孕妇与胎儿通过胎盘进行物质交换, 孕期暴露于 PAHs 可能造成不良妊娠结局, 导致新生儿体重过低, 甚至影响体格、认知和神经正常发育^[4-5]。本研究以胎盘 mtDNA 拷贝数为 PAHs 暴露靶点, 采用气相色谱-质谱联用法检测孕妇和新生儿血液中 16 种健康危害性较大的 PAHs, 分析孕妇血 PAHs 浓度与胎盘 mtDNA 拷贝数的相关性, 为探讨孕期 PAHs 暴露对子代健康潜在影响的可能机制提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象 选择 2019 年 1—10 月在乌鲁木齐市某三甲医院分娩的孕妇及其新生儿为研究对象, 根据分娩时间分为采暖期组 (1—4 月) 和非采暖期组 (7—10 月)。孕妇纳入标准: 年龄 ≥ 18 岁; 在乌鲁木齐市居住时间 ≥ 1 年; 足月分娩。排除标准: 孕期服用人工流产药物; 患糖尿病、高血压等慢性病; 有家族遗传病史、传染病史或异常分娩史; 有吸烟或饮酒史。本研究通过新疆医科大学第一附属医院伦理委员会审查, 审批号: 20190226-30。研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 问卷调查 由统一培训的调查人员通过医院病历系统和问卷收集研究对象的年龄、民族、文化程度、家庭采暖方式和配偶吸烟情况等资料。

1.2.2 PAHs 浓度检测 采集孕妇静脉血、新生儿脐带血各 5 mL 于 EDTA 抗凝采血管。采用气相色谱-质谱联用法 (GC-MS) 检测萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并 [a] 芘、蒽、苯并 [g, h, i] 花、苯并 [a] 蒽、苯并 [b] 荧蒽、苯并 [k] 荧蒽、二苯并 [a, h] 蒽和茚苯 [1, 2, 3-cd] 芘 16 种 PAHs 浓度, 并计算 PAHs 总浓度。

1.2.3 胎盘 mtDNA 拷贝数测定 胎盘组织取自胎儿侧的脐旁绒毛膜以及绒毛间质组织, 表面积为 1 cm^2 , 深度为 0.5 cm。采用血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司] 提取胎盘组织 DNA, 浓度为 200~1 000 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 纯度为 1.7~1.9。采用实时荧光定量 PCR 法检测线粒体基因 ND-1 和核基因 HGB 含量。线粒体基因 ND-1 扩增引物: ND-1 F-5' -CCCTAAAACCCGCCACATCT-3' ; ND-1 R-5' -GAGCGATGGTGAGAGCTA-AGGT-3'。核基因 HGB 扩增引物: HGB F-5' -GTGCACCTGACTCCTGAGGAGA-3' ; HGB R-5' -CCTTGATACCAACCTGCCAG-3'。反应体系: SYBR Premix Ex Taq II (2 \times) 5 μL , 上、下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.4 μL , ROX reference dye 0.2 μL , 模板 DNA 1 μL 和 RNase free ddH₂O 3 μL 。实时荧光定量 PCR 法反应条件: 预变性, 95 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; PCR 循环, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 34 s, 40 个循环。采用 SYBR Premix Ex Taq™ II (Tli RNase H Plus) 试剂盒 (大连 Takara 公司), 应用 SYBR green 法, 以核基因 HGB 为参照, 计算 mtDNA 拷贝

数=Ct_{HGB}-Ct_{mtND-10}。每个样本测量3个平行样。

1.3 统计分析 采用 Excel 2010 软件建立数据库, 采用 SPSS 22.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布的采用均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 描述, 组间比较采用 *t* 检验; 不服从正态分布的采用中位数和四分位数间距 [$M(Q_R)$] 描述, 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。定性资料采用相对数描述, 组间比较采用 χ^2 检验。血 PAHs 浓度与胎盘 mtDNA 拷贝数的相关性采用 Spearman 秩相关分析。检验水

准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 基本情况 采暖期组 100 人, 年龄 $M(Q_R)$ 为 29 (3) 岁, 孕期为 (275.06±0.72) d; 非采暖期组 100 人, 年龄为 29 (4) 岁, 孕期为 (276.82±0.66) d。2 组孕妇的年龄、孕期、民族、文化程度、家庭采暖方式和配偶吸烟情况比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 采暖期组和非采暖期组孕妇基本情况比较 (n=100)

Table 1 Comparison of basic conditions of pregnant women between the heating group and the non-heating group (n=100)

项目 Item	采暖期组 Heating group	非采暖期组 Non-heating group	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
孕期/天 Gestational age/d ^a	275.06±0.72	276.82±0.66	-1.816	0.071
年龄/岁 Age/Year			2.510	0.285
15~	7 (7.00)	12 (12.00)		
25~	89 (89.00)	81 (81.00)		
35~44	4 (4.00)	7 (7.00)		
民族 Ethnicity			1.802	0.179
汉族 Han	95 (95.00)	90 (90.00)		
少数民族 Minority	5 (5.00)	10 (10.00)		
文化程度 Educational level			0.648	0.723
小学及以下 Primary school and below	1 (1.00)	2 (2.00)		
中学 Middle school	17 (17.00)	14 (14.00)		
大专及以上 Diploma and above	82 (82.00)	84 (84.00)		
家庭采暖方式 Type of home heating			1.354	0.508
集中式供暖 Centralized heating	97 (97.00)	99 (99.00)		
燃煤取暖 Coal warming	2 (2.00)	1 (1.00)		
电力取暖 Electricity heating	1 (1.00)	0 (0)		
配偶吸烟情况 Smoking status of husband			0.209	0.648
否 No	70 (70.00)	67 (67.00)		
是 Yes	30 (30.00)	33 (33.00)		

注: a 表示采用 $\bar{x}\pm s$ 描述, 组间比较采用 *t* 检验; 其他项均采用 *n* (%) 描述, 组间比较采用 χ^2 检验。Note: a, described with $\bar{x}\pm s$, and compared by *t* test; other items, described with *n* (%), and compared by chi-square test.

2.2 孕妇及新生儿血 PAHs 浓度和胎盘 mtDNA 拷贝数 孕妇血 PAHs 总浓度为 (14.86±4.12) $\mu\text{g/L}$, 新生儿血 PAHs 总浓度为 (12.79±3.50) $\mu\text{g/L}$, 孕妇血 PAHs 总浓度高于新生儿 ($t=5.417, P<0.001$)。

采暖期组和非采暖期组孕妇血 PAHs 总浓度均高于新生儿 ($Z=-4.275, P<0.001; Z=-3.206, P<0.001$)。采暖期组孕妇血 PAHs 总浓度、新生儿血 PAHs 总浓度和胎盘 mtDNA 拷贝数均高于非采暖期组 ($P<0.05$)。见表 2。

2.3 血 PAHs 总浓度与胎盘 mtDNA 拷贝数的相关性分析 孕妇和新生儿血 PAHs 总浓度均与胎盘 mtDNA 拷贝数呈正相关 ($r_s=0.240, P=0.001; r_s=0.273, P<0.001$)。采暖期组孕妇血 PAHs 总浓度与胎盘 mtDNA 拷贝数呈正相关 ($r_s=0.245, P=0.014$); 新生儿血 PAHs 总浓度与胎盘 mtDNA 拷贝数无相关性 ($r_s=0.147, P=0.143$)。非采暖期组孕妇血 PAHs 总浓度与胎盘 mtDNA 拷贝数无相关性 ($r_s=0.137, P=0.175$); 新生儿血 PAHs 总浓度与胎盘 mtDNA 拷贝

数呈正相关 ($r_s=0.292$, $P=0.003$)。

表 2 采暖期组和非采暖期组血 PAHs 浓度和胎盘 mtDNA 拷贝数比较 [$M(Q_R)$, $n=100$]

Table 2 Comparison of blood PAHs levels and placental mtDNA copy number between the heating group and the non-heating group [$M(Q_R)$, $n=100$]

项目 Item	采暖期组 Heating group	非采暖期组 Non-heating group	Z 值	P 值
PAHs/ ($\mu\text{g/L}$)				
孕妇 Pregnant women	15.71 (4.30)	12.98 (5.49)	-5.471	<0.001
新生儿 Newborns	14.29 (4.25)	11.24 (5.09)	-5.193	<0.001
mtDNA 拷贝数 mtDNA copy number	4.67 (1.18)	4.51 (0.62)	2.331	0.020

3 讨论

既往研究发现,乌鲁木齐市健康女性尿中 PAHs 代谢物 1-羟基芘的浓度约是美国、韩国成年人的 3~4 倍; 9-羟基菲浓度是美国成年人的 4~7 倍^[6]。另有研究发现,乌鲁木齐市孕产妇和新生儿血芘浓度均高于哈尔滨市,孕产妇血苯并[a]芘浓度高于太原市^[7]。本研究中孕妇血 PAHs 总浓度为 $(14.86 \pm 4.12) \mu\text{g/L}$, 低于昆明市孕妇 $(16.0 \pm 7.51) \mu\text{g/L}$ ^[8], 高于石家庄皮革厂工人的调查结果 (2.56 ng/mL) ^[9] 和北京市城区^[10] 的调查结果。提示乌鲁木齐市孕妇存在 PAHs 暴露风险。

本研究结果显示,采暖期组孕妇和新生儿血 PAHs 总浓度均高于非采暖期组,与乌鲁木齐市采暖期大气污染较为严重,PAHs 浓度较高的研究结果^[12] 一致,提示 PAHs 负荷水平升高可能与乌鲁木齐市冬季大气污染有关。

孕妇和新生儿血 PAHs 总浓度均与胎盘 mtDNA 拷贝数呈正相关,提示 PAHs 可通过胎盘屏障影响脐带血 PAHs 浓度,并导致胎盘 mtDNA 拷贝数升高。线粒体基因组的多拷贝性对线粒体功能损伤具有缓冲作用^[2]。在有害因素暴露初期,轻度氧化应激会使 mtDNA 拷贝数上升;但过度的氧化应激造成损伤累积,mtDNA 拷贝数下降,线粒体功能障碍,导致细胞坏死和凋亡。因此,可通过 mtDNA 拷贝数的变化反映机体氧化应激水平。本研究中孕妇和新生儿血 PAHs 总浓度均与 mtDNA 拷贝数呈正相关,与轻度氧化应激状态下 mtDNA 拷贝数的变化相符,提示新生儿处于有害因素暴露下的适应期或代偿阶段,这种状态是否会对子代生长发育造成远期危害有待进一步研究。

采暖期组孕妇血 PAHs 总浓度与胎盘 mtDNA 拷贝数呈正相关,考虑 mtDNA 拷贝数的增高可能与

PAHs 高暴露有关。非采暖期组新生儿血 PAHs 总浓度与胎盘 mtDNA 拷贝数水平正相关。根据孕周数倒推,采暖期组孕妇孕期为 2018 年 4 月—2019 年 4 月;非采暖期组孕妇孕期为 2018 年 10 月—2019 年 10 月。非采暖期组孕妇在孕早期 (<14 周) 经历了采暖期,提示孕早期 PAHs 暴露对胎盘 mtDNA 拷贝数的影响更大。孕早期为妊娠的敏感阶段,胚胎易受到危险因素的影响。

综上所述,PAHs 可通过胎盘屏障,与胎盘 mtDNA 拷贝数升高有一定的相关性。本文探讨了孕期 PAHs 暴露对胎盘 mtDNA 拷贝数的影响,为孕期 PAHs 暴露对子代健康影响研究提供参考。虽然本研究无法明确 PAHs 外暴露的具体来源,但大气细颗粒物、汽车尾气、香烟烟雾、烹调油烟、烟熏食物和高温烹饪均存在 PAHs 暴露。因此,应关注孕妇 PAHs 高暴露防护,减少其接触 PAHs 暴露的途径,降低 PAHs 暴露造成的潜在危害。

参考文献

- [1] 李琼,陈燊,张海燕,等.利用 Tox21 通路数据库评估石家庄市大气细颗粒物中多环芳烃激活毒性通路的风险[J].癌变·畸变·突变,2020,32(2):112-117.
LI Q, CHEN S, ZHANG H Y, et al. Risk assessment of fine particulate matter exposure using toxicity pathways of human lung cells [J]. Carcinog Teratog Mutagen, 2020, 32 (2): 112-117.
- [2] PAVANELLO S, DIONI L, HOXHA M, et al. Mitochondrial DNA copy number and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2013, 22 (10), 1722-1729.
- [3] LING X, ZHANG G W, SUN L, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons exposure decreased sperm mitochondrial DNA copy number: a cross-sectional study (MARHCS) in Chongqing, China [J]. Environ Pollut, 2017, 220 (Pt A): 680-687.
- [4] GENKINGER J M, STIGTER L, EDRYCHOWSKI W, et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure, antioxidant levels and behavioral development of children ages 6-9 [J].

- Environ Res, 2015, 140 (7): 136-144.
- [5] 梁铁群, 张风华. 多环芳烃对儿童早期发育的神经毒性效应分析 [J]. 中国妇幼保健, 2016, 31 (23): 5217-5219.
LIANG Y Q, ZHANG F H. Analysis of neurotoxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on early development of children [J]. Matern Child Health Care China, 2016, 31 (23): 5217-5219.
- [6] 韩瑜. 乳腺癌患者体内多环芳烃代谢水平研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2013.
HAN Y. The study of the polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in breast cancer patients [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2013.
- [7] 张露艺, 李欣, 鲁英. 乌鲁木齐市母婴多环芳烃负荷水平及关系: 基于某三甲医院的调查 [J]. 环境与职业医学, 2020, 37 (10): 963-969.
ZHANG L Y, LI X, LU Y. Relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons loads of pregnant women and newborns in a Class-A tertiary hospital in Urumqi [J]. J Environ Occup Med, 2020, 37 (10): 963-969.
- [8] 汪启兵. 多环芳烃在母胎间的传输及其与病理妊娠的研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2017.
WANG Q B. The transmission of polycyclic aromatic hydrocarbons between mother and fetus and its relationship with pathological pregnancy [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2017.
- [9] 杨立新, 曾凡刚, 张晓娜, 等. 人血液中 16 中多环芳烃测定的固相萃取结合气相色谱-质谱法 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2019, 37 (2): 139-143.
YANG L X, ZENG F G, ZHANG X N, et al. Solid phase extraction binding gas chromatography-mass spectrometry measured by polycyclic aromatic hydrocarbons in human blood [J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis, 2019, 37 (2): 139-143.
- [10] 陈小兰, 刘晓红, 霍文华, 等. 北京地区母体血清多环芳烃水平与自发性早产发生风险的关联性 [J]. 中国生育健康杂志, 2017, 28 (1): 1-5, 9.
CHEN X L, LIU X H, HUO W H, et al. Association of polycyclic aromatic hydrocarbons in maternal plasma with risk of spontaneous preterm birth [J]. Chin J Reprod Health, 2017, 28 (1): 1-5, 9.
- [11] 周涛, 张建中. 乌鲁木齐市采暖期供暖燃气锅炉现状分析及对策 [J]. 资源节约与环保, 2018 (10): 20-21.
ZHOU T, ZHANG J Z. Current situation analysis and countermeasures of heating gas boilers in Urumqi [J]. Resour Econ Environ Prot, 2018 (10): 20-21.
- 收稿日期: 2021-11-29 修回日期: 2022-01-28 本文编辑: 吉兆洋

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《预防医学》杂志开展优秀论文评选活动

《预防医学》杂志于 1989 年 9 月创刊, 是中华预防医学会系列期刊, 中国科技核心期刊、《中国学术期刊影响因子年报》统计源期刊、世界卫生组织西太平洋地区医学索引 (WPRIM)、中国期刊全文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中文生物医学期刊文献数据库收录期刊。主要栏目有述评、论著、综述、疾病控制、疾病监测、妇幼保健、健康教育、卫生管理和实验技术等。获得“浙江省科技期刊编辑学会优秀期刊特色奖”“中华预防医学会系列杂志编辑质量奖”“中华预防医学会期刊质量进步奖”等荣誉, 2020 年入选第二十七届北京国际图书博览会 (BIBF) “2020 中国精品期刊展”, 2021 年荣获“第七届华东地区优秀期刊奖”。

自我刊开展优秀论文评选活动以来, 受到大家的欢迎, 广大作者踊跃参与, 精品力作不断涌现。2022 年, 我刊继续开展优秀论文评选活动, 邀请编委会专家每期评选月度优秀论文, 在《预防医学》杂志及官网公布获奖名单, 给第一作者颁发获奖证书; 并从月度优秀论文中评选出年度一等奖 1 篇, 奖励 3000 元; 二等奖 2 篇, 奖励 1500 元; 三等奖 3 篇, 奖励 1000 元。

《预防医学》编辑部