

# 邻苯二甲酸酯暴露对产妇 11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶活性的影响

胡小娅 赵岩 陈北涛 梁园 李露茜 谢长明 张蕴晖 林振浪 谢爱兰 陈尚勤

**【摘要】** 目的 研究产妇尿液中邻苯二甲酸酯类(PAEs)物质代谢物的水平与 11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶(11 $\beta$ -HSD2 酶)活性的关联,初步探索 PAEs 影响胎儿宫内发育的可能机制。方法 2012 年采用单纯随机抽样法抽取宫内发育迟缓(IUGR)新生儿 33 例,并匹配正常对照新生儿 33 名,采用高效液相色谱-串联质谱法测定产妇尿液中 4 种 PAEs 代谢物,即邻苯二甲酸单丁酯(MBP)、邻苯二甲酸(2-乙基己基)单酯(MEHP)、邻苯二甲酸(2-乙基-5-羟基己基)单酯(MEHHP)、邻苯二甲酸(2-乙基-5-氧己基)单酯(MEOHP)和 3 种皮质醇皮质酮代谢物,即四氢皮质醇(THF)、allo-四氢皮质醇(allo-THF)、四氢皮质酮(THE)的含量,并分析产妇尿液中 PAEs 代谢物的水平与 11 $\beta$ -HSD2 酶活性的关联。结果 66 名产妇尿液样本中 MBP、MEHP、MEHHP、MEOHP 代谢物的检出率分别为 98% (65 名)、89% (59 名)、91% (60 名)、91% (60 名);病例组母亲尿液样本中 MBP、MEHHP、MEOHP 和 DEHP 合计(SumDEHP)的中位数分别为 31.20、24.61、11.72 和 48.67 ng/ml,高于对照组(分别为 17.32、12.03、5.68 和 28.64 ng/ml),差异均具有统计学意义( $P$  值均  $< 0.05$ );病例组母亲体内 11 $\beta$ -HSD2 的活性[(THF + allo-THF)/THE = (0.79  $\pm$  0.09) ng/ml]低于对照组[(THF + allo-THF)/THE = (0.58  $\pm$  0.04) ng/ml];男婴母亲尿液中 MBP( $\beta'$  = 1.12)、MEHHP( $\beta'$  = 1.14)、MEOHP( $\beta'$  = 1.10)、SumDEHP( $\beta'$  = 1.08)的含量与 11 $\beta$ -HSD2 的活性呈负相关,差异有统计学意义( $P$  值均  $< 0.05$ )。结论 PAEs 可能通过抑制 11 $\beta$ -HSD2 的活性影响胎儿宫内发育。

**【关键词】** 胎儿生长迟缓; 四氢皮质醇; 邻苯二甲酸酯; 宫内发育迟缓; 11 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶

**11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 enzyme activity effect after exposures phthalate esters in maternal** Hu Xiaoya\*, Zhao Yan, Chen Beitaotao, Liang Yuan, Li Luxi, Xie Changming, Zhang Yunhui, Lin Zhenlang, Xie Ailan, Chen Shangqin. \* Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China  
Corresponding author: Chen Shangqin, Email: csc5725@126.com

**【Abstract】 Objective** To study the association between phthalate esters (PAEs) metabolites in maternal urine and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11 $\beta$ -HSD2) enzyme activity, explore the possible mechanism of PAEs effect on fetal development. **Methods** All of 33 cases of intrauterine growth retardation (IUGR) newborn were selected by random sampling in 2012. And 33 cases of normal control newborn were enrolled, use high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method was used to detect 4 kinds of phthalate esters (PAEs) metabolites in maternal urine: mono-n-butyl phthalate ester (MBP), mono (2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate (MEHHP), mono (2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate (MEOHP) and three kinds of cortisol corticosterone metabolites, tetrahydrocortisol (THF), allo-tetrahydrocortisol (allo-THF), tetrahydrocortisone (THE), and analyze the association between phthalate esters (PAEs) metabolites in maternal urine and 11 $\beta$ -HSD2 enzyme activity. **Results** MBP, MEHP, MEHHP, MEOHP metabolites can be detected in 98% (65 cases), 89% (59 cases), 91% (60 cases), 91% (60 cases) of all 66 maternal urine samples, respectively. The median concentrations of test material in case group were 31.20 ng/ml for MBP, 24.61 ng/ml for MEHHP, 11.72 ng/ml for

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2014.09.011

基金项目:国家自然科学基金项目(81072263);浙江省人口和计划生育科技项目(2010-78)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院育英儿童医院(胡小娅、陈北涛、梁园、林振浪、谢爱兰、陈尚勤);上海复旦大学公共卫生学院 公共卫生安全教育部重点实验室(赵岩、李露茜、谢长明、张蕴晖)

通信作者:陈尚勤,Email:csc5725@126.com

MEOHP and 48.67 ng/ml for SumDEHP which were significantly higher than those of the control group (were 17.32, 12.03, 5.68 and 28.64 ng/ml);  $11\beta$ -HSD2 activity in case group ((THF + allo-THF)/THE = (0.79 ± 0.09) ng/ml) was significantly lower than that of the control group ((THF + allo-THF)/THE = (0.58 ± 0.04) ng/ml); PAEs metabolites MBP ( $\beta' = 1.12$ ), MEHHP ( $\beta' = 1.14$ ), MEOHP ( $\beta' = 1.10$ ), SumDEHP ( $\beta' = 1.08$ ) in baby boy mother's urine was reversely correlated to  $11\beta$ -HSD2 activity.

**Conclusions** PAEs could affect fetal development by inhibit  $11\beta$ -HSD2 activity.

**【Key words】** Fetal growth retardation; Tetrahydrocortisol; Phthalate esters; Intrauterine retarded;  $11\beta$ -hydroxy steroid dehydrogenase

邻苯二甲酸酯类物质 (PAEs) 作为增塑剂广泛应用于聚氯乙烯 (PVC) 制品、儿童玩具、化妆品、建筑材料、汽车配件、医疗器材等塑料产品中。目前应用最广泛的是邻苯二甲酸(2-乙基己基)酯 (DEHP) 和邻苯二甲酸二丁酯 (DBP)。释放到环境中的 PAEs 通过消化道、呼吸道和皮肤等途径进入人体<sup>[1-2]</sup>。动物毒理学的研究表明, PAEs 具有雄性生殖发育毒性、免疫毒性、肝脏毒性和致癌作用<sup>[3-6]</sup>。人群流行病学的研究表明, 环境水平的 DEHP 暴露与胎儿宫内发育不良间存在关联<sup>[7]</sup>。然而, 宫内 PAEs 暴露影响胎儿发育的机制仍不明确。

研究表明, 糖皮质激素的过度暴露与胎儿宫内发育迟缓 (IUGR) 的发生密切相关<sup>[8-9]</sup>。 $11\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 ( $11\beta$ -HSD) 是糖皮质激素代谢的关键酶。该酶有两种同工酶, I 型 ( $11\beta$ -HSD1) 主要表达于肝脏和脂肪组织, 催化无生物活性的糖皮质激素 (皮质酮) 向有生物活性的糖皮质激素 (皮质醇) 的转化; II 型酶 ( $11\beta$ -HSD2) 主要表达于盐皮质激素的靶组织, 催化皮质醇向皮质酮的转化, 防止皮质醇与盐皮质激素受体 (MR) 的结合。在怀孕期间, 母体胎盘组织也分泌大量的  $11\beta$ -HSD2。胎盘中的  $11\beta$ -HSD2 将皮质醇转化为皮质酮, 避免胎儿暴露于母体高水平的皮质醇<sup>[10-11]</sup>。体外细胞实验和动物实验的研究结果表明<sup>[12-14]</sup>, PAEs 能抑制  $11\beta$ -HSD2 的表达, 这提示我们 PAEs 可能通过抑制胎盘  $11\beta$ -HSD2 的活性, 导致胎儿暴露于过多的皮质醇, 影响胎儿宫内发育。

在本研究中, 笔者通过测定产妇尿液中几种代表性的 PAEs 代谢物, 包括邻苯二甲酸单丁酯 (MBP)、邻苯二甲酸(2-乙基己基)单酯 (MEHP)、邻苯二甲酸(2-乙基-5-羟基己基)单酯 (MEHHP) 和邻苯二甲酸(2-乙基-5-氧己基)单酯 (MEOHP) 的水平评估产妇 PAEs 的一般暴露状况; 通过测定产妇尿液中四氢皮质醇 (THF)、allo-四氢皮质醇 (allo-THF) 和四氢皮质酮 (THE) 评估产妇体内  $11\beta$ -HSD2 的活性; 通过分析 PAEs 的暴露水平与  $11\beta$ -HSD2 活性间的关联, 探索 PAEs 影响胎儿宫内发育的可能机制。

## 材料与方法

1. 研究对象: 收集 2012 年 6—12 月采用单纯随机抽样法在温州医科大学附属第二医院出生的, 体重在同胎龄儿出生体重第 10 百分位数以下或低于平均体重的 2 个标准差的新生儿<sup>[15]</sup> 及其母亲作为病例。本研究通过了温州医科大学附属第二医院伦理审查委员会的审查。对照选取于同一医院, 分娩日期相差不超过一周的正常新生儿, 即 37 周 ≤ 胎龄 < 42 周, 出生体重处于 2 500 ~ 4 000 g 范围内无畸形或疾病的婴儿。共收集 IUGR 新生儿 33 例, 正常对照新生儿 33 名。每位纳入研究的新生儿母亲均签署知情同意书。分娩后 2 d 内填写一份有关孕期基本状况、社会经济因素的问卷。根据医院的记录获得新生儿的基本人口学信息。

2. 尿液 PAEs 代谢物的测定: (1) 样品采集和预处理: 收集产妇分娩后一天内的尿液, 置于 -80 °C 保存待用。取 0.5 ml 尿样置于 4 ml 玻璃瓶中, 然后依次加入 200  $\mu$ l 乙酸铵溶液 (7.7 g 乙酸铵溶解于 100 ml 高纯水和 6 ml 乙酸中, 调节 pH 至 4.50)、50  $\mu$ l  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶 (2  $\mu$ l/ml)、100  $\mu$ l 4-甲基伞形花酮-葡萄糖苷酸溶液 (500 ng/ml)、50  $\mu$ l  $^{13}\text{C}_4$ -MEOHP (250 ng/ml, 作为回收率指示物) 和 500  $\mu$ l 高纯水。拧紧瓶盖, 置于水浴锅中进行水浴加热, 温度设定为 37 °C, 放置过夜, 使尿液样品和酶促反应充分。在酶促反应完全的尿液样品中加入 1 ml 的磷酸缓冲液 (20 g 一水磷酸二氢钠溶解于 1 000 ml 高纯水和 10 ml 磷酸的混合溶液, 调 pH 至 2.0) 用以稀释尿液样品。通过预先处理 (1.5 ml 乙腈和 1.2 ml 磷酸缓冲液活化) 的 SPE 固相萃取小柱 (ABS ELUT-NEXUS, 美国 Varian 公司)。然后分别用 1 ml 甲酸 (0.1 mol/L) 溶液和 1.2 ml 高纯水淋洗固相萃取小柱。并在空气中自然风干 5 min。最后再用 1.2 ml 乙腈和 1.1 ml 乙酸乙酯淋洗固相萃取小柱, 并收集这部分洗脱液。洗脱液在氮气流中进行浓缩, 吹干, 并以 500  $\mu$ l 乙腈: 水的体积比 1:9 定容。(2) 样品的仪器分析: 本研究所用的仪器为高

效液相色谱-串联质谱仪。高效液相色谱仪(Agilent 1200 Series HPLC system, 美国 Agilent 公司), 质谱仪检测器(美国 AB Sciex Instruments 公司)。液相色谱条件: 色谱柱: Venusil XBP Phenyl (2.1 mm × 100 mm, 5 μm); 流动相: 体积分数为 0.1% 的乙酸: 水溶液(流动相 A), 体积分数为 0.1% 乙酸: 乙腈水溶液(流动相 B)。质谱条件: 离子源为负离子源, 碎片电压为 -4 500 V, 接口温度为 500 °C, 离子检测模式为多重反应检测模式(multiple reaction monitoring, MRM)。载气和反应气均为 N<sub>2</sub>。

### 3. 产妇尿液中 THE、THF 和 allo-THF 的检测:

(1) 样品前处理: 取尿样 200 μl, 加入 400 μl 醋酸铵缓冲液(0.38 g 醋酸铵溶解并稀释于 10 ml 高纯水, 冰醋酸调节 pH 至 5.10) 和 4 μl 地塞米松内标溶液(5 μg/ml), 混匀后再加入 5 μl 葡萄糖醛酸脱氢酶(helix pomatia), 置于 55 °C 摇床内孵育 2 h, 使尿样中 THE、THF 和 allo-THF 游离。取出冷却后上固相萃取小柱, 用 1 ml 去离子水洗涤后, 100 μl 乙腈洗脱收集。(2) 检测仪器: 本研究中所使用的仪器为高效液相色谱串联质谱仪。高效液相色谱仪(Agilent 1200 Series HPLC system, 美国 Agilent 公司); 三重四极杆串联质谱仪(API4000 QTRAP MS/MS)。色谱条件: 色谱柱: Inertsil ODS-3 (2.1 mm × 150 mm I. D, 3 μm); 流动相: 体积分数为 0.1% 甲酸: 水溶液(流动相 A), 体积分数为 0.1% 乙腈: 水溶液(流动相 B)。质谱条件: 液相色谱-质谱联用接口: 电喷雾接口(ESI) 正离子模式; 气帘气压力: 20 psi; 离子源温度: 500 °C; 电喷雾电压: 4 500 V。

4. 统计学分析: 采用 Epidata 3.1 录入数据, 并采用 SPSS 17.0 进行统计分析。样品浓度均为仪器检测值扣除空白样品值, 样品浓度低于检测限(LOD) 以 1/2 LOD 计算。4 种目标物质 MBP、MEHP、MEHHP 和 MEOHP 的 LOD 均为 0.50 μg/L。

计算 DEHP 合计值(SumDEHP) = MEHP + MEHHP + MEOHP。通过尿比重校正 4 种目标物的浓度, 校正公式为:  $P_c = P \times [(1.024 - 1)/(SG - 1)]$ 。其中  $P_c$  为尿比重校正后的浓度,  $P$  为仪器检测浓度,  $SG$  为尿比重。将各代谢物 MBP、MEHP、MEHHP 和 MEOHP 的浓度进行对数转换后, 用中位数、几何均数表示, 其中 MBP、MEHP 及 SumDEHP 属于偏态分布, 经对数转换后为正态分布, 使用参数  $t$  检验, MEHHP 和 MEOHP 属于偏态分布, 使用 Mann-Whitney U 检验; 建立多元线性回归模型, 校正孕周、孕前 BMI、吸烟和饮酒等混杂因素后分析 PAEs 的暴露水平与 11β-HSD2 活性的关联, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 一般人口学状况: 66 对新生儿及其母亲被纳入本次研究, 其中 IUGR 新生儿 33 例, 出生体重为 (2.43 ± 0.32) kg, 出生体长为 (47.77 ± 1.89) cm, 孕周为 (38.40 ± 1.87) 周; 正常对照新生儿为 33 例, 出生体重为 (3.22 ± 0.32) kg, 出生体长为 (50.45 ± 0.96) cm, 孕周为 (39.33 ± 0.98) 周。病例组与对照组在新生儿性别、产妇产前 BMI、吸烟及饮酒等方面差异无统计学意义, 但病例组新生儿的出生体重、出生体长及孕周低于对照组新生儿。

2. 产妇 PAEs 的一般暴露状况: 收集产妇产后 1 d 的尿样, 测定了 1 种 DBP 的代谢产物(MBP)、1 种 DEHP 的一级代谢产物(MEHP) 及 2 种 DEHP 的二级代谢产物(MEHHP 和 MEOHP) 的浓度。病例组与对照组产妇尿中各测定物的检出率、中位数及几何均数见表 1。由表 1 可以看出, 超过 90% 的样本均能检测到 4 种目标物。除 MEHP 外, 病例组产妇尿液中 MBP、MEHHP、MEOHP 及 DEHP 合计的含量均高于正常对照组 ( $P < 0.01$ )。

表 1 产妇尿液几种 PAEs 代谢物的检出率及含量

PAEs 代谢物	检出率[% (名)]			中位数(ng/ml)			几何均数(ng/ml)			统计值	P 值
	病例组 (33 例)	对照组 (33 名)	合计(66 名)	病例组	对照组	合计	病例组	对照组	合计		
MBP	100(33)	97(32)	98(65)	31.20	17.32	22.74	31.34	12.67	19.93	3.47 <sup>a</sup>	< 0.01
MEHP	100(33)	79(26)	89(59)	6.26	6.28	6.27	6.49	4.09	5.15	-1.36 <sup>a</sup>	0.179
MEHHP	100(33)	81(27)	91(60)	24.61	12.03	16.97	24.13	7.68	13.61	-3.58 <sup>b</sup>	< 0.01
MEOHP	100(33)	82(27)	91(60)	11.72	5.68	8.88	11.62	4.13	6.93	-3.28 <sup>b</sup>	< 0.01
SumDEHP	-	-	-	48.67	28.64	39.50	45.35	17.57	28.23	3.16 <sup>a</sup>	< 0.01

注: PAEs: 邻苯二甲酸酯; MBP: 邻苯二甲酸单丁酯; MEHP: 邻苯二甲酸(2-乙基己基)单酯; MEHHP: 邻苯二甲酸(2-乙基-5-羟基己基)单酯; MEOHP: 邻苯二甲酸(2-乙基-5-氧己基)单酯; DEHP 合计(SumDEHP) = MEHP + MEHHP + MEOHP; <sup>a</sup>MBP、MEHP 和 SumDEHP 的浓度经对数转换后使用参数  $t$  检验, <sup>b</sup>MEHHP 和 MEOHP 使用 Mann-Whitney U 检验

3. 产妇尿液中 THF 与 THE 的含量: 在  $5\alpha$ 、 $5\beta$  还原酶及  $3\alpha$ -羟基类固醇脱氢酶 ( $3\alpha$ -HSD) 的作用下, 皮质醇代谢为 THF 和 allo-THF, 而皮质酮则代谢为 THE, 因而可通过测定尿液中 (THF + allo-THF) 与 THE 的比值来评估母体  $11\beta$ -HSD2 活性<sup>[10]</sup>。由表 2 可以看出, 虽然病例组母亲尿中 THE、(THF + allo-THF) 的含量与对照间差异无统计学意义, 但病例组 (THF + allo-THF)/THE 的比值高于对照组 ( $P = 0.038$ ), 这表明病例组产妇产体内  $11\beta$ -HSD2 的活性低于对照组。

表 2 产妇尿液中 THF、THE 的含量及 (THF + allo-THF)/THE 的比值

检测指标	病例组(33 例)	对照组(33 名)	t 值	P 值
THF + allo-THF (ng/ml)	3 375.56 ± 716.68	2 375.84 ± 210.80	1.34	0.186
THE(ng/ml)	4 517.07 ± 783.70	4 484.51 ± 426.18	0.04	0.971
(THF + allo-THF)/THE	0.79 ± 0.09	0.58 ± 0.04	2.12	0.038

注: THF: 四氢皮质醇; THE: 四氢皮质酮; allo-THF: allo-四氢皮质醇

4. 产妇尿液中 PAEs 代谢物的含量与  $11\beta$ -HSD2 活性的关联: 以 (THF + allo-THF)/THE 的比值为 Y 变量, 以对数转化的四种目标物的浓度为 X 变量, 建立多元线性回归模型, 并将孕周、孕前 BMI、吸烟和饮酒等可能的混杂因素纳入回归模型。表 3 结果显示, 尿液中 MBP 的浓度与 (THF + allo-THF)/THE 的比值正相关, 即产妇尿液中 MBP 的浓度越高,  $11\beta$ -HSD2 活性越低。分性别研究目标物的浓度与酶活性间的关联, 结果显示, 男婴母亲尿液中 MBP、MEHHP、MEOHP 及 SumMEHP 的浓度与 (THF + allo-THF)/THE 的比值呈正相关, 女婴母亲尿液中目标物的浓度均与 (THF + allo-THF)/THE 的比值不相关。

表 3 不同性别婴儿母亲的尿液中 PAEs 的含量与 (THF + allo-THF)/THE 比值的关联

代谢物	男婴母亲(32 名)					女婴母亲(34 名)				
	$\beta$ 值	$s_e$ 值	$\beta'$ 值	t 值	P 值	$\beta$ 值	$s_e$ 值	$\beta'$ 值	t 值	P 值
MBP	0.53	0.06	1.12	3.57	<0.01	0.15	0.28	0.10	0.87	0.392
MEHP	0.19	0.12	0.37	1.01	0.307	-0.24	0.14	-0.26	-1.46	0.143
MEHHP	0.54	0.05	1.14	3.57	<0.01	0.17	0.23	0.14	0.54	0.669
MEOHP	0.53	0.05	1.10	3.58	<0.01	-0.12	0.19	-0.13	-0.77	0.451
SumDEHP	0.50	0.07	1.08	3.09	<0.01	-0.16	0.16	-0.16	-0.94	0.340

注: PAEs: 邻苯二甲酸酯; MBP: 邻苯二甲酸单丁酯; MEHP: 邻苯二甲酸(2-乙基己基)单酯; MEHHP: 邻苯二甲酸(2-乙基-5-羟基己基)单酯; MEOHP: 邻苯二甲酸(2-乙基-5-氧己基)单酯; THF: 四氢皮质醇; THE: 四氢皮质酮; allo-THF: allo-四氢皮质醇; DEHP 合计 (SumDEHP) = MEHP + MEHHP + MEOHP

## 讨 论

PAEs 是人类最常接触的增塑剂类物质。2010 年, 我国 PAEs 的生产量约为 198 万吨, 占增塑剂总生产量的 85% ~ 90%, DBP 和 DEHP 是其中生产量和使用量较大的两种增塑剂<sup>[16]</sup>。本次研究中测定的 MBP 是 DBP 的活性代谢产物, MEHP 是 DEHP 的一级代谢产物, MEHHP 和 MEOHP 是 DEHP 的二级代谢产物<sup>[17]</sup>。

这些物质通过消化道、呼吸道、皮肤等途径进入人体后迅速代谢。有研究显示, 尿液中 PAEs 代谢物的水平可以预测近 3 个月人体 PAEs 的暴露水平<sup>[18]</sup>。在我们的研究中, 问卷调查结果显示, 产妇在整个孕期 PAEs 的暴露途径比较固定, 其生活习惯也没有发生改变, 因而我们获得的 PAEs 暴露资料可以在一定程度上反映产妇产中期及晚期 PAEs 的暴露状况。笔者还发现, 将近 90% 的产妇尿液中均能检出 4 种目标物质, 这表明产妇产期普遍暴露于 PAEs 环境中。另外, 我们还发现病例组产妇尿液中 MBP、MEHHP、MEOHP 和 SumDEHP 的含量高于正常对照组 ( $P < 0.05$ ), 这表明病例组新生儿 DBP 和 DEHP 的宫内暴露量明显高于对照组新生儿, 其暴露量可能与新生儿 IUGR 的形成有一定的关联。

尽管动物实验的证据表明, PAEs 能够影响胎鼠发育<sup>[19]</sup>, 但其对人类新生儿的胚胎毒性及其作用机制尚不明确。研究表明,  $11\beta$ -HSD2 是糖皮质激素代谢的关键酶, 催化皮质醇向皮质酮的转变, 保护胎儿免受母体高水平的皮质醇的损害<sup>[10-11]</sup>。我们的研究发现, 病例组产妇产体内  $11\beta$ -HSD2 的活性低于对照组。在怀孕期间, 母体胎盘组织分泌大量的  $11\beta$ -HSD2, 是体内  $11\beta$ -HSD2 的主要来源。因此, 我们推测病例组产妇产胎盘组织中  $11\beta$ -HSD2 的活性低于对照组。由于胎盘  $11\beta$ -HSD2 的活性较低, 母

体过多的皮质醇进入胎儿体内,影响胎儿宫内发育,导致 IUGR 的发生。

动物实验和体外细胞实验的结果证明了 PAEs 能够影响 11 $\beta$ -HSD2 的表达<sup>[12-14]</sup>,本研究使用多元线性回归矫正可能的混杂因素后发现产妇尿液中 PAEs 的水平与 11 $\beta$ -HSD2 的活性呈负相关,这提示我们 PAEs 可能通过抑制 11 $\beta$ -HSD2 的活性影响胎儿宫内发育,此外这种影响在男婴母亲中体现最明显,提示可能存在性别上的关联。

近年来,邻苯二甲酸酯类被公认为是一种内分泌干扰物,在体内会干扰人体的内分泌系统,它的毒性作用的主要靶器官是雄性生殖系统<sup>[20]</sup>。有研究指出,孕妇体内的邻苯二甲酸酯浓度越高,产下的男婴生殖器官阴茎短小、阴茎先天畸形、尿道下裂与隐睾症的风险就越高。孕期 PAEs 的暴露程度将会影响胎儿脐血中睾丸甾体激素的水平<sup>[21]</sup>。英国的一项研究表明,邻苯二甲酸二丁酯 (DBP) 及它的代谢物邻苯二甲酸单丁酯 (MBP) 会抑制灵长类动物胎儿睾丸间质细胞中类固醇的生成<sup>[22]</sup>。因此,本实验中这种性别上的关联也在一定程度上印证了 PAEs 的雄性生殖发育毒性。

本研究中,笔者发现产妇尿液中 PAEs 代谢物的水平与 11 $\beta$ -HSD2 活性之间存在关联,为 PAEs 胚胎毒性的机制性研究提供了线索,为评估母尿 11 $\beta$ -HSD2 的活性能否作为 PAEs 暴露的早期生物学指标提供了理论基础。

### 参 考 文 献

- [1] Ge RS, Chen GR, Tanrikut C, et al. Phthalate ester toxicity in Leydig cells: developmental timing and dosage considerations[J]. *Reprod Toxicol*, 2007, 23(3): 366-373.
- [2] Ma X, Lian QQ, Dong Q, et al. Environmental inhibitors of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 [J]. *Toxicology*, 2011, 285(3): 83-89.
- [3] Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J, et al. Phthalates: toxicology and exposure[J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2007, 210(5): 623-634.
- [4] Foster PM. Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters[J]. *Int J Androl*, 2006, 29(1): 140-147.
- [5] Larsen ST, Hansen JS, Hansen EW, et al. Airway inflammation and adjuvant effect after repeated airborne exposures to di-(2-ethylhexyl) phthalate and ovalbumin in BALB/c mice [J]. *Toxicology*, 2007, 235(1/2): 119-129.
- [6] 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.
- [7] Zhang Y, Lin L, Cao Y, et al. Phthalate levels and low birth weight: a nested case-control study of Chinese newborns [J]. *J Pediatr*, 2009, 155(4): 500-504.
- [8] Benediktsson R, Lindsay RS, Noble J, et al. Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension [J]. *Lancet*, 1993, 341(8841): 339-341.
- [9] Reinisch JM, Simon NG, Karow WG, et al. Prenatal exposure to prednisone in humans and animals retards intrauterine growth [J]. *Science*, 1978, 202(4366): 436-438.
- [10] Hammer F, Stewart PM. Cortisol metabolism in hypertension [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2006, 20(3): 337-353.
- [11] Shams M, Kilby MD, Somerset DA, et al. 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human pregnancy and reduced expression in intrauterine growth restriction [J]. *Hum Reprod*, 1998, 13(4): 799-804.
- [12] Zhao B, Chu Y, Huang Y, et al. Structure-dependent inhibition of human and rat 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 activities by phthalates [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 183(1): 79-84.
- [13] Hong D, Li XW, Lian QQ, et al. Mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) regulates glucocorticoid metabolism through 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 in murine gonadotrope cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 389(2): 305-309.
- [14] Lin H, Lian QQ, Hu GX, et al. In utero and lactational exposures to diethylhexyl-phthalate affect two populations of Leydig cells in male Long-Evans rats [J]. *Biol Reprod*, 2009, 80(5): 882-888.
- [15] 邵肖梅. 实用新生儿学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 71.
- [16] 陈荣圻. 邻苯二甲酸酯及其环保增塑剂的代用品开发 [J]. *印染助剂*, 2011, 28(12): 1-8.
- [17] Koch HM, Calafat AM. Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2009, 364(1526): 2063-2078.
- [18] Hauser R, Meeker JD, Park S, et al. Temporal variability of urinary phthalate metabolite levels in men of reproductive age [J]. *Environ Health Perspect*, 2004, (112): 1734-1740.
- [19] Zhang YH, Chen BH, Ding XC, et al. Reproductive and developmental toxicity in F1 Sprague-Dawley male rats exposed to di-n-butyl phthalate in utero and during lactation [J]. *J Hyg Res*, 2004, 33(1): 9-14.
- [20] 张蕴晖, 陈秉衡, 郑力行. 人体生物样品中邻苯二甲酸酯类的含量 [J]. *中华预防医学杂志*, 2003, 37(6): 429-434.
- [21] 陈曦, 马静, 于浩. 孕妇尿样中邻苯二甲酸酯代谢产物和脐带血中睾丸甾体激素水平的关联性研究 [J]. *中华预防医学杂志*, 2014, 48(3): 167-171.
- [22] Hallmark N, Walker M, Mckinnell C, et al. Effects of monobutyl and di(n-butyl) phthalate in vitro on steroidogenesis and Leydig cell aggregation in fetal testis explants from the rat: comparison with effects in vivo in the fetal rat and neonatal marmoset and in vitro in the human [J]. *Environ Health Perspect*, 2007, 115(3): 390-396.

(收稿日期: 2014-07-16)

(本文编辑: 郑洋)