

论著·临床研究

孕期多环芳烃暴露与幼儿孤独症谱系障碍 相关行为关系的出生队列研究

刘小燕¹ 王炳玲² 衣明纪³ 张风华^{4,5}

(1. 青岛大学, 山东 青岛 266071; 2. 青岛市疾病预防控制中心, 山东 青岛 266033;
3. 青岛大学附属医院儿童保健科, 山东 青岛 266003; 4. 青岛市妇女儿童医院儿童发育与行为科,
山东 青岛 266034; 5. 青岛市妇幼保健计划生育服务中心, 山东 青岛 266034)

[摘要] **目的** 探讨母孕期多环芳烃(PAHs)暴露与幼儿孤独症谱系障碍(ASD)相关行为的相关性。**方法** 采用出生队列研究,选择已进行脐带血PAH-DNA加合物测定并完成36月龄幼儿行为问题评估的348名幼儿作为研究对象。采用2~3岁儿童行为量表(CBCL)、孤独症行为评定量表(ABC)评定36月龄幼儿行为问题。分析脐带血PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿CBCL量表、ABC量表得分间的相关性。**结果** 新生儿脐带血PAH-DNA加合物的检出率为52.3%,浓度中位数为0.68 ng/mL。CBCL量表总得分中位数为23分,ABC量表总得分中位数为8分。PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿CBCL量表中社交退缩得分呈正相关($r_s=0.205$, $P<0.05$),与ABC量表总分、生活自理能力得分呈正相关(分别 $r_s=0.412$ 、 0.355 ,均 $P<0.05$)。PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿ABC量表总分密切相关($\beta=0.122$, $P<0.05$)。**结论** 母孕期PAHs暴露是儿童发生ASD相关行为的危险因素。有效降低母孕期PAHs暴露,开展新生儿脐带血PAH-DNA加合物检测,对ASD的早期预防、筛查及干预工作具有重要意义。 [中国当代儿科杂志, 2019, 21(4): 332-336]

[关键词] 孤独症谱系障碍; 行为学; 多环芳烃; 孕期; 队列研究; 幼儿

Association of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons during pregnancy with autism spectrum disorder-related behaviors in toddlers: a birth cohort study

LIU Xiao-Yan, WANG Bing-Ling, YI Ming-Ji, ZHANG Feng-Hua. Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China (Zhang F-H, Email: 1606108248@qq.com)

Abstract: Objective To study the association of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) during pregnancy and autism spectrum disorder (ASD)-related behaviors in toddlers. **Methods** A total of 348 toddlers who had accepted the measurement of PAH-DNA adduct in umbilical cord blood and evaluation of behavior problems at the age of 36 months were enrolled in this birth cohort study. Child Behavior Checklist (CBCL) and Autism Behavior Checklist (ABC) were used to evaluate behavior problems at the age of 36 months. The correlation of the concentration of PAH-DNA adduct in umbilical cord blood with CBCL and ABC scores at the age of 36 months were analyzed. **Results** The detection rate of PAH-DNA adduct in umbilical cord blood was 52.3%, and the median concentration was 0.68 ng/mL. The median total scores of CBCL and ABC scales were 23 and 8 respectively. In children aged 36 months, the concentration of PAH-DNA adduct was positively correlated with the score of social withdrawal in the CBCL scale ($r_s=0.205$, $P<0.05$), the total score of the ABC scale ($r_s=0.412$, $P<0.05$), and the self-care score of the ABC scale ($r_s=0.355$, $P<0.05$). The concentration of PAH-DNA adduct was closely associated with the total score of the ABC scale in children aged 36 months ($\beta=0.122$, $P<0.05$). **Conclusions** PAH exposure during pregnancy may be a risk factor for ASD-related behaviors in toddlers. Effective reduction of PAH exposure during pregnancy and detection of PAH-DNA adduct in neonatal umbilical cord blood are of vital importance for early prevention, screening and intervention of ASD. [Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(4): 332-336]

Key words: Autism spectrum disorder; Behavior; Polycyclic aromatic hydrocarbons; Pregnancy; Cohort study; Toddler

[收稿日期] 2018-11-20; [接受日期] 2019-02-14

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81372955); 山东省医药卫生科技指导计划项目(2015ws0357)。

[作者简介] 刘小燕,女,硕士研究生。

[通信作者] 张风华,女,主任医师。Email: 1606108248@qq.com。

孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 是以社交障碍、沟通障碍、兴趣狭窄及行为刻板为主要特征的神经发育障碍性疾病^[1]。近年来, 全球范围内 ASD 发病率呈上升趋势^[2]。2018 年美国疾病控制与预防中心 (CDC) 数据显示, 美国各州 ASD 儿童发病率为 16.8‰, 较 2016 年报告的数据增长 15%^[3-4]。我国尚无 ASD 流行病学的全国性研究数据, 各地区调查结果基本处于 10/ 万 ~30/ 万之间^[5]。ASD 儿童致残率高, 成年后多不具备独自生活的能力, 难以融入社会, 给家庭和社会带来极大的负担^[6]。如果能够早期筛查识别 ASD 儿童, 通过早期干预, 将在很大程度上改善患儿预后。因此, 寻找儿童生命早期的 ASD 危险因素、早期筛查 ASD 儿童, 具有重要意义。

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是自然环境中普遍存在的一种环境污染物, 能够通过多种途径进入胎儿及婴儿体内, 导致神经发育异常, 严重损害儿童健康^[7]。目前, 尚无学者关注生命早期 PAHs 暴露与 ASD 的关系。本研究首次调查母孕期 PAHs 暴露与 36 月龄幼儿 ASD 相关行为的关系, 明确 ASD 危险因素, 为 ASD 的早期预防和干预工作提供客观依据及新思路。

1 资料与方法

1.1 研究对象

以青岛地区 2014 年 1~12 月建立的出生队列人群为研究对象, 该队列的建立依托于国家自然科学基金面上项目。队列共募集到 1904 例符合纳入标准的儿童。随机抽取 400 名儿童检测孕期 PAHs 暴露水平。其中, 348 名幼儿参加 36 月龄行为调查, 最终纳入分析。本研究已通过院伦理委员会批准, 家长已知情并签署知情同意书。

排除标准: 排除存在低出生体重、产伤、窒息、颅内出血、缺氧缺血性脑病、出生缺陷、代谢异常 (常规新生儿疾病筛查) 等疾病的儿童。

1.2 流行病学资料收集

由经过培训的专业人员, 采用统一调查问卷对研究对象的母亲进行面对面调查, 调查内容主

要包括: 孕母信息 (年龄、文化程度、分娩时孕周等) 和幼儿信息 (性别、出生体重等)。

1.3 采集脐带血

PAH-DNA 加合物是常用的 PAHs 暴露标志物, 可通过胎盘屏障进入胎儿体内。本研究以脐带血 PAH-DNA 加合物作为衡量母孕期 PAHs 暴露水平的指标。分娩时, 使用 10 mL 肝素抗凝真空管采集脐带血 10 mL, 冷冻, 送青岛市疾病预防控制中心, -70℃ 保存待测。

1.4 PAH-DNA 加合物的测定

采用 OxiSelect™BPDE-DNA 加合物酶联免疫试剂盒 (Cell Biolabs, Inc. San Diego, CA) 快速测定脐带血中 PAH-DNA 加合物的浓度。

1.5 儿童 ASD 相关行为测试

由经过专业培训从事儿童智力测试多年的儿童保健医生, 采用 2~3 岁儿童行为量表 (Achenbach Child Behavior Checklist, CBCL)、孤独症行为评定量表 (Autism Behavior Checklist, ABC) 评定受试儿童的行为问题。

2~3 岁 CBCL 量表是评估幼儿行为问题的常用工具, 在我国具有良好的信度和效度^[8]。该量表包括 99 个行为问题, 可归纳为 6 个行为因子: 社交退缩、抑郁、睡眠问题、躯体诉述、攻击行为和破坏行为。社交退缩和抑郁两因子构成内向性, 攻击行为和破坏行为构成外向性。

ABC 量表是筛查、辅助诊断 ASD 儿童的常用量表, 在我国应用的信效度良好。该量表共 57 个项目, 涉及 ASD 儿童的感觉、交往、躯体运动、语言和生活自理 5 个方面。

1.6 统计学分析

使用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。非正态分布计量资料采用中位数 (四分位数间距) [$M(P_{25}, P_{75})$] 和 / 或中位数 (范围) 描述; 正态分布计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述。计数资料采用百分率 (%) 描述。采用 Spearman 相关分析 PAH-DNA 加合物浓度与 36 月龄幼儿 CBCL 量表、ABC 量表得分间的相关性。对 Spearman 相关分析有统计学意义的变量纳入多元线性回归模型。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象基本情况

348名被试幼儿的脐带血PAH-DNA加合物检出率为52.3%，浓度中位数为0.68 ng/mL。见表1。

表1 研究对象基本情况 (n=348)

变量	$\bar{x} \pm s/n(\%)$
孕母年龄(岁)	29 ± 4
孕母学历	
初中以上	255(73.3)
初中以下	93(26.7)
分娩时孕周(周)	39.5 ± 1.2
幼儿性别	
女	156(44.8)
男	192(55.2)
出生体重(g)	3490 ± 654
PAH-DNA加合物	
检出率(%)	182(52.3)
浓度中位数(范围, ng/mL)	0.68(ND, 20.08)

注: ND 示未检出。

2.2 36月龄幼儿行为问题得分

CBCL量表6个行为因子得分中位数在2~7分之间,总分中位数为23分。ABC量表5个能区得分中位数在0~3分之间,总分中位数为8分。见表2。

2.3 PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿行为问题得分的Spearman相关分析

CBCL量表中,PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿社交退缩得分呈正相关($r_s=0.205$, $P<0.05$)。ABC量表中,PAH-DNA加合物浓度与生活自理得分及ABC总分呈正相关(分别 $r_s=0.355$ 、 0.412 ,均 $P<0.05$)。见表3。

2.4 PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿行为问题得分的多元线性回归分析

以CBCL量表、ABC量表各个能区得分及总分的自然对数作为因变量,PAH-DNA加合物浓度作为自变量,在调整幼儿性别、出生体重以及分娩时孕周后,进行多元线性回归分析。结果显示,PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿的ABC总分呈正相关($\beta=0.122$, $P<0.05$)。见表4。

表2 36月龄幼儿行为问题得分 (n=348)

项目	M	P ₂₅	P ₇₅	最小值	最大值
CBCL					
社交退缩	3	1	7	0	14
抑郁	3	1	6	0	13
睡眠问题	2	0	4	0	8
躯体诉述	3	2	6	0	16
攻击行为	4	0	8	0	19
破坏行为	3	2	6	0	11
内向性行为	5	2	14	0	23
外向性行为	7	3	13	0	26
CBCL总分	23	11	41	2	95
ABC					
感觉能力	0	0	3	0	26
交往能力	0	0	3	0	31
躯体运动能力	3	0	4	0	20
语言能力	0	0	3	0	27
生活自理能力	3	1	5	0	18
ABC总分	8	4	15	1	99

表3 PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿行为问题得分的Spearman相关分析结果

项目	PAH-DNA加合物	
	r _s 值	P值
CBCL量表		
社交退缩	0.205	0.017
抑郁	0.078	0.369
睡眠问题	0.127	0.142
躯体问题	0.084	0.333
攻击行为	0.090	0.295
破坏行为	0.031	0.722
内向性行为	0.139	0.107
外向性行为	0.093	0.282
CBCL总分	0.130	0.136
ABC量表		
感觉能力	0.268	0.119
交往能力	0.304	0.076
运动能力	0.232	0.181
语言能力	0.275	0.110
生活自理能力	0.355	0.036
ABC总分	0.412	0.014

表4 PAH-DNA加合物浓度与36月龄幼儿行为问题的多元线性回归分析结果

项目	β 值	95%CI	SE	调整 β 值	t 值	P 值
社会退缩得分						
PAH-DNA(ng/mL)	0.037	(-0.006, 0.080)	0.022	0.166	1.720	0.088
幼儿性别	0.054	(-0.239, 0.347)	0.148	0.035	0.364	0.716
分娩时孕周(周)	0.002	(-0.117, 0.121)	0.060	0.003	0.028	0.728
出生体重(g)	0.000	(0.000, 0.000)	0.000	-0.034	-0.347	0.978
生活自理能力得分						
PAH-DNA(ng/mL)	0.048	(-0.027, 0.123)	0.036	0.268	1.344	0.194
幼儿性别	0.367	(-0.163, 0.896)	0.254	0.316	1.445	0.164
分娩时孕周(周)	-0.152	(-0.399, 0.094)	0.118	-0.257	-1.288	0.212
出生体重(g)	0.000	(0.000, 0.001)	0.000	0.260	1.187	0.249
ABC量表总得分						
PAH-DNA(ng/mL)	0.122	(0.026, 0.218)	0.047	0.374	2.600	0.015
幼儿性别	0.314	(-0.255, 0.883)	0.278	0.174	1.129	0.268
分娩时孕周(周)	-0.258	(-0.483, -0.032)	0.110	-0.336	-2.335	0.027
出生体重(g)	0.001	(0.000, 0.001)	0.000	0.452	2.964	0.006

3 讨论

本研究显示, 婴幼儿脐带血 PAH-DNA 加合物的检出率为 52.3%。与以往队列研究相比, 低于美国世贸中心火灾出生队列 (60.6%)、波兰克拉科夫出生队列 (71.1%) 以及中国铜梁出生队列 (79.5%) PAH-DNA 加合物检出率, 高于美国曼哈顿北部出生队列 (42.4%)^[9]。

近年来, 国内外研究显示, 母孕期 PAHs 暴露与儿童神经发育、行为问题密切相关, 包括认知障碍、智能迟缓、语言智商、焦虑/抑郁、注意力问题和多动行为等^[10-14], 而母孕期 PAHs 暴露与 ASD 相关性的人群研究未见报道。Landrigan 等^[15] 在一项环境污染与儿童神经发育的研究报告中, 推测 PAHs 暴露与 ASD 致病相关, 但并无研究数据支持。本研究单因素分析显示, 母孕期 PAHs 暴露与 36 月龄幼儿 CBCL 量表社交退缩得分呈正相关, 提示母孕期 PAHs 暴露影响儿童的社交能力, 社交障碍是 ASD 的核心症状之一^[16]。本研究还发现, 母孕期 PAHs 暴露与 36 月龄幼儿 ABC 量表总分及生活自理能力得分呈正相关, 表明母孕期 PAHs 暴露, 可增加幼儿发生 ASD 相关行为的危险。目前, 仅有一篇探讨 PAHs 暴露与 ASD 关系的相关研究, Sheng 等^[17] 通过动物模型研究发现, 孕期小鼠 PAHs 暴露会使子代小鼠 ASD 风险基因——间叶上皮转化因子 (MET) 基因异常表达。

儿童 ASD 相关行为的发生与多种因素有关, 如遗传、环境、性别、父母受教育程度、母亲分娩年龄等。考虑到这些因素之间相互影响的复杂性, 本研究在控制混杂因素后, 进行多元线性回归分析, 发现母孕期 PAHs 暴露与 36 月龄幼儿的 ABC 量表总分、生活自理能力得分的相关性仍有统计学意义, 表明母孕期 PAHs 暴露是幼儿发生 ASD 相关行为的高危因素。妊娠中期是大脑发育的关键时期, 胎儿大脑组织对 PAHs 存在高度敏感性^[18]。动物实验发现, 胎儿体内的 PAHs 剂量可达母体内剂量的 10 倍^[19]。PAHs 作为常见的环境污染物, 能够通过胎盘由母体进入胎儿体内, 形成 PAH-DNA 加合物, 损害大脑发育^[7,10]。目前 PAHs 损伤胎儿大脑发育的机制尚不清楚。研究显示, PAHs 可通过氧化应激、炎症反应、诱导 DNA 甲基化、激活细胞凋亡、扰乱谷氨酸信号等多种方式影响大脑发育、降低神经可塑性^[20-24]。Sheng 等^[17] 研究亦表明, 母孕期小鼠 PAHs 暴露通过基因与环境的交互作用, 使 MET 基因表达下调, 诱导神经元活性依赖性突触发育迟缓, 进而导致大脑发育受损。

与以往研究相比, 本研究具备以下优势: (1) 研究对象不同。本研究对象为孕母与幼儿, 而 Sheng 等^[17] 的研究对象为小鼠, 与之相比, 本研究能够更加直观地反映母孕期 PAHs 暴露与幼儿 ASD 相关行为的关系。(2) 研究方法不同。

本研究采用前瞻性队列研究,样本量较大,信息收集完整,以往研究为病例对照研究。本研究在数据分析时很好地控制了混杂因素的影响,结果可靠性高。(3)检测方法不同。本研究首次采用OxiSelect™BPDE-DNA加合物酶联免疫试剂盒检测新生儿脐带血中PAH-DNA加合物,较以往的荧光分析法、液相色谱检测法等经典检测方法更为便捷、经济、易于推广。

本研究采用CBCL量表、ABC量表评定儿童的ASD相关行为,由统一培训的专业人员,使用统一用语指导儿童主要照料者填写,对遗漏、信息不清、填写有误之处现场更正,在一定程度上提高了结果的准确性。本研究招募的研究对象主要是在城市生活的孕妇与儿童,研究结果主要反映了城市人群的特点,下一步应该继续扩大样本范围,增加研究结果的普遍性。

本研究首次发现母孕期PAHs暴露与幼儿ASD相关行为相关,为ASD的早期预防、筛查工作提供了客观依据。积极开展孕妇健康宣教,有效降低母孕期PAHs暴露,开展新生儿脐带血PAH-DNA加合物检测,对ASD早期预防、筛查及干预工作具有重要意义。

[参 考 文 献]

[1] Lobar SL. DSM-V changes for autism spectrum disorder (ASD): implications for diagnosis, management, and care coordination for children with ASDs[J]. *J Pediatr Health Care*, 2016, 30(4): 359-365.

[2] Lai MC, Lombardo MV, Baron-Cohen S. Autism[J]. *Lancet*, 2014, 383(9920): 896-910.

[3] Christensen DL, Baio J, van Naarden Braun K, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years—Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 sites, United States, 2012[J]. *MMWR Surveill Summ*, 2016, 65(3): 1-23.

[4] Baio J, Wiggins L, Christensen DL, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years—Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 sites, United States, 2014[J]. *MMWR Surveill Summ*, 2018, 67(6): 1-23.

[5] 殷道根,何珍,段学燕,等. 中国人群儿童孤独症危险因素 Meta分析[J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(12): 2877-2880.

[6] 熊妮娜,叶奇,邵翠霞,等. 2006年中国孤独症儿童相关残疾状况分析[J]. *中国康复理论与实践*, 2012, 18(8): 757-759.

[7] 梁轶群,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.

[8] 刘灵,吴立云,姚凯南. 2~3岁幼儿行为量表全国城市常模

的制定[J]. *中国儿童保健杂志*, 2003, 11(6): 377-379.

[9] Kim KH, Jahan SA, Kabir E, et al. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects[J]. *Environ Int*, 2013, 60: 71-80.

[10] Perera FP, Tang D, Wang S, et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and child behavior at age 6-7 years[J]. *Environ Health Perspect*, 2012, 120(6): 921-926.

[11] Perera FP, Chang HW, Tang D, et al. Early-life exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and ADHD behavior problems[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e111670.

[12] Vishnevetsky J, Tang D, Chang HW, et al. Combined effects of prenatal polycyclic aromatic hydrocarbons and material hardship on child IQ[J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2015, 49: 74-80.

[13] Kalia V, Perera F, Tang D. Environmental pollutants and neurodevelopment: review of benefits from closure of a coal-burning power plant in Tongliang, China[J]. *Glob Pediatr Health*, 2017, 4: 2333794X17721609.

[14] Drwal E, Rak A, Gregoraszczyk EL. Review: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)—action on placental function and health risks in future life of newborns[J]. *Toxicology*, 2019, 411: 133-142.

[15] Landrigan PJ, Lambertini L, Birnbaum LS. A research strategy to discover the environmental causes of autism and neurodevelopmental disabilities[J]. *Environ Health Perspect*, 2012, 120(7): a258-a260.

[16] Muratori F, Narzisi A, Tancredi R, et al. The CBCL 1.5-5 and the identification of preschoolers with autism in Italy[J]. *Epidemiol Psychiatr Sci*, 2011, 20(4): 329-338.

[17] Sheng L, Ding X, Ferguson M, et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon exposure leads to behavioral deficits and downregulation of receptor tyrosine kinase, MET[J]. *Toxicol Sci*, 2010, 118(2): 625-634.

[18] Miodovnik A, Engel SM, Zhu C, et al. Endocrine disruptors and childhood social impairment[J]. *Neurotoxicology*, 2011, 32(2): 261-267.

[19] Eskenazi B, Rosas LG, Marks AR, et al. Pesticide toxicity and the developing brain[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2010, 102(2): 228-236.

[20] Ball A, Truskewycz A. Polyaromatic hydrocarbon exposure: an ecological impact ambiguity[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2013, 20(7): 4311-4326.

[21] Grandjean P, Landrigan PJ. Neurobehavioural effects of developmental toxicity[J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13(3): 330-338.

[22] Desai G, Chu L, Guo Y, et al. Biomarkers used in studying air pollution exposure during pregnancy and perinatal outcomes: a review[J]. *Biomarkers*, 2017, 22(6): 489-501.

[23] Ferguson KK, McElrath TF, Pace GG, et al. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolite associations with biomarkers of inflammation, angiogenesis, and oxidative stress in pregnant women[J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 51(8): 4652-4660.

[24] Lee J, Kalia V, Perera F, et al. Prenatal airborne polycyclic aromatic hydrocarbon exposure, LINE1 methylation and child development in a Chinese cohort[J]. *Environ Int*, 2017, 99: 315-320.

(本文编辑: 王颖)