

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2019110102

侯沙沙, 王晓晨, 谢琳娜, 等. 氟工厂附近青少年体内全氟化合物(PFASs)暴露特征分析及其与性征发育水平关联性初探[J]. 环境化学, 2020, 39(4): 931-940.

HOU Shasha, WANG Xiaochen, XIE Linna, et al. Exposure to perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances and association with the level of pubertal development of adolescents near a fluorochemical plant[J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(4): 931-940.

氟工厂附近青少年体内全氟化合物(PFASs)暴露特征分析及其与性征发育水平关联性初探

侯沙沙 王晓晨 谢琳娜 董晓杰 董兵 苏丽琴
朱英* 朱会卷*

(中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所, 北京, 100021)

摘要 本研究采用分层随机整群抽样方法选取232名13—16岁在校中学生, 进行问卷调查和体格检查, 使用超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定血清中18种PFASs含量, 运用有序多分类 Logistic 回归分析 PFASs 暴露与性征发育水平的关联性。血清中共检出16种PFASs, 其中有11种检出率大于60%。PFOA为主要污染物, 占检出PFASs总含量的67.8%—97.7%, 中位数为94.2 ng·mL⁻¹。男生PFBA和PFHpA浓度高于女生, PFHpA和PFOA浓度随学生家庭至工厂距离增大而下降, $P < 0.05$, 具有统计学意义。男生阴毛发育与PFOA、PFOS和PFNA有关, PFOA中低浓度组(Q₂)、PFOS中高浓度组(Q₃)、PFNA中高浓度组(Q₃)和高浓度组(Q₄)相对于各自低浓度组(Q₁)与男生阴毛发育负相关, OR(95% CI)分别为0.291(0.091—0.935)、0.214(0.065—0.701)、0.246(0.079—0.771)和0.197(0.058—0.666), $P < 0.05$ 。男生外生殖器发育与PFNA有关, 中低浓度组(Q₂)和高浓度组(Q₄)相对于低浓度组(Q₁)与男生外生殖器发育呈负相关, OR(95% CI)分别为0.200(0.058—0.689)和0.179(0.047—0.682), $P < 0.05$ 。女生阴毛发育与PFHxS有关, 中低浓度组(Q₂)相对于低浓度组(Q₁)与阴毛发育水平负相关, OR(95% CI)为0.360(0.138—0.938), $P < 0.05$ 。该地区青少年处于PFOA高暴露水平, 部分PFASs与青少年性征发育负相关, 可能对青春期内发育产生影响。

关键词 青少年, PFASs, 性征发育, Tanner分期。

Exposure to perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances and association with the level of pubertal development of adolescents near a fluorochemical plant

HOU Shasha WANG Xiaochen XIE Linna DONG Xiaojie DONG Bing
SU Liqin ZHU Ying* ZHU Huijuan*

(Institute of Environmental Health and Related Product Safety,
Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing, 100021, China)

Abstract: A school-based survey was conducted with a random stratified cluster sampling method. 232 adolescents aged 13—16 years were selected, given questionnaire and physical examination. Levels of 18 PFASs in serum were quantified by UPLC-MS/MS. Ordered logistic regression was conducted to explore the association between PFASs and sexual maturity. 16 PFASs were detected in serum among which the detection rate of 11 kinds were over 60%. PFOA turned out to be the predominant PFASs with a median concentration of 94.2 ng·mL⁻¹, taking up 67.8%—97.7% of total

2019年11月1日收稿(Received: November 1, 2019).

* 通讯联系人, Tel: 01050930161, E-mail: zhuying0112@sina.com; Tel: 15210099611, E-mail: zhuhuijuan2000@126.com

Corresponding author, Tel: 01050930161, E-mail: zhuying0112@sina.com; Tel: 15210099611, E-mail: zhuhuijuan2000@126.com

content. Male was with higher concentration of PFBA and PFHpA in serum than female ($P<0.05$). The concentration of PFHpA and PFOA decreased as the distance to the factory increased ($P<0.05$). Compared with the reference group (Q_1), PFOA (Q_2), PFOS (Q_3) and PFNA (Q_3, Q_4) were negatively correlated with the pubic hair development of male. OR (95% CI) was 0.291 (0.091—0.935), 0.214 (0.065—0.701), 0.246 (0.079—0.771) and 0.197 (0.058—0.666), respectively ($P<0.05$). PFNA (Q_2, Q_4) was negatively correlated with the genitalia development of male with OR (95% CI) 0.200 (0.058—0.689) and 0.179 (0.047—0.682) ($P<0.05$). PFHxS (Q_2) was negatively correlated with pubic hair development of female with OR (95% CI) 0.360 (0.138—0.938), $P<0.05$. Our results showed that teenagers in this area were under high exposure of PFASs, some of which were negatively correlated and could make an effect on the sexual maturity of adolescents.

Keywords: adolescents, PFASs, sexual maturity, Tanner stage.

近年来,全氟或多氟化合物(perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances, PFASs)因其环境持久性、生物放大效应、人体蓄积性及潜在的生物毒性效应逐渐引起广泛关注。PFASs 包括全氟羧酸类(PFCAs)、全氟烷基磺酸类(PFSAs)等^[1]。目前人群血清中 PFASs 检出率接近 99%,除了主要污染物 PFOS 和 PFOA,一些新型多氟化合物如 6:2 Cl-PFESA,紧随 PFOS 被检出^[2]。鉴于 PFASs 对人类具有潜在健康威胁,各国和有关组织已相继制定限制 PFASs 的新法规^[3]。

研究表明,PFASs 具有内分泌干扰作用^[4]。人类体内暴露 PFASs,可能发生内分泌干扰作用引起的体内激素水平改变,影响身体生长发育的外在形态,导致身高发育迟缓、性征发育提前或推迟等不良结局^[5]。

目前关于青少年 PFASs 暴露与性征发育水平关联性研究较少,本文针对 PFASs 相关的内分泌干扰作用,通过分析氟工厂附近青少年人群的 PFASs 暴露特征,进行 PFASs 暴露与青少年性征发育水平关联性研究,旨在通过流行病学研究描述氟工厂附近青少年 PFASs 暴露特征及其对青春期内性征发育水平的影响。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 研究对象

2018 年 11 月在山东省某中学,用分层随机整群抽样的方法选取初三和初四学生。每个学生签署知情同意书,进行血液样品采集和流行病学调查,排除患有严重肝肾疾病、血液系统等内分泌疾病和慢性疾病,接受激素类药物治疗及有家族遗传性病史者,共调查 13—16 岁学生 232 人。

1.2 研究方法

1.2.1 体格检查

采用电子身高体重测量计测量身高和体重,同一研究对象连续测量两次取平均值,读数精确到 0.1 cm 或 0.1 kg。

由固定的专业医生采用视诊法并根据 Tanner 分期标准评价性征发育水平,指标包括男女生阴毛发育、男生外生殖器发育、女生乳房发育,根据发育水平,依次分为 1 期、2 期、3 期、4 期、5 期^[6]。

1.2.2 样品收集及问卷调查

由专业护士采集血液样品,现场离心分装,−80℃ 保存。由经过专门培训的调查人员现场指导,学生以自我管理式完成调查问卷。

1.2.3 血清中 PFASs 测定

参照文献[7-8],并经优化后用液液萃取-同位素内标-超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)检测血清中 PFASs 浓度。18 种 PFASs 包括全氟丁酸(PFBA)、全氟戊酸(PFPeA)、全氟己酸(PFHxA)、全氟庚酸(PFHpA)、全氟辛酸(PFOA)、全氟壬酸(PFNA)、全氟癸酸(PFDA)、全氟十一酸

(PFUnDA)、全氟十二酸(PFDoA)、全氟十三酸(PFTrDA)、全氟十四酸(PFTeDA)、全氟丁烷磺酸(PFBS)、全氟己烷磺酸(PFHxS)、全氟庚烷磺酸(PFHpS)、全氟辛烷磺酸(PFOS)、4:2 氯代多氟醚磺酸(4:2 Cl-PFESA)、6:2 氯代多氟醚磺酸(6:2 Cl-PFESA)和 8:2 氯代多氟醚磺酸(8:2 Cl-PFESA)。

样品前处理过程取 200 μL 血清,依次加入 2 mL $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$ 缓冲液($\text{pH} = 10$)、1 mL 2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸(TBAS)离子对试剂、5 μL 10 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ PFASs 内标、4 mL 甲基叔丁基醚,250 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡 20 min,4000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液。重复 2 次,合并上清液,在 40 $^\circ\text{C}$ 恒温下氮吹至干。用 200 μL 甲醇复溶,震荡离心后取上清液进行分析。

色谱条件为 Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm) 色谱柱,柱温 40 $^\circ\text{C}$,进样量 10 μL ,流动相 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵(A)和甲醇(B),流速 300 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,梯度洗脱程序 0 min,90% A/10% B;1.0 min,80% A/20% B;4.0—6.0 min,10% A/90% B;6.1—8.0 min,90% A/10% B。

质谱条件为负离子多反应监测模式,电喷雾离子源,喷雾电压(IS)-4000 V,碰撞气(CAD)83 kPa,气帘气(CUR)103 kPa,雾化气(GS1)345 kPa,加热气(GS2)241 kPa。目标化合物的具体质谱参数见表 1。

表 1 18 种 PFASs 的质谱参数
Table 1 The MS parameters of the 18 PFASs

序号 No.	化合物 Analyte	母离子/子离子 Q1/Q3	碰撞能量/eV Collision energy	去簇电压/V Declustering potential
1	PFBA	212.600/168.900	-11	-24
2	PFPeA	262.600/219.000	-12	-25
3	PFHxA	312.600/269.000	-9	-22
4	PFHpA	362.000/319.000	-17	-15
5	PFOA	412.900/368.900	-14	-16
6	PFNA	462.900/419.200	-15	-30
7	PFDA	513.000/469.100	-14	-31
8	PFUnDA	563.000/519.200	-17	-23
9	PFDoDA	613.000/569.200	-15	-31
10	PFTrDA	663.000/619.000	-15	-41
11	PFTeDA	713.000/669.000	-18	-35
12	PFBS	299.000/80.000	-48	-48
13	PFHxS	399.000/80.000	-55	-30
14	PFHpS	448.800/80.000	-56	-43
15	PFOS	498.000/99.000	-66	-56
16	4:2 Cl-PFESA	431.000 / 251.000	-31	-70
17	6:2 Cl-PFESA	531.000/351.000	-35	-31
18	8:2 Cl-PFESA	631.000 / 451.000	-45	-79

1.3 统计学分析

实验所得样本数据小于 LOD 的样本赋予 $\text{LOD}/\sqrt{2}$,小于 LOQ 的样本赋予 $\text{LOQ}/2$ 。用 SPSS 22.0 进行统计分析,不同因素组间 PFASs 浓度比较采用 t 检验、方差分析或秩和检验;PFASs 暴露与性征发育关联性研究采用单因素和多因素有序多分类 Logistic 回归分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

1.4 质量控制

本研究调查方案及问卷内容由专家多次论证通过,调查中使用的材料均统一购置并预先进行空白筛查,调查问卷由经过统一培训合格后的调查员参与发放和收集,并进行现场核对。问卷数据采用双人双录入,并由专人进行复查。

实验过程中每批次(32 个)样品前后加 2 个标准参考物质(NIST SRM 1957,美国国家标准技术研究所以研制)用于质量控制及评价方法的精密性、准确性;每批次加 2 个空白样品,用于评估空白污染;进样过程中每隔 10 个样品进 1 次甲醇溶剂,用于评估系统污染。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 基本情况

2.1.1 研究对象基本信息

研究对象年龄分布以 14、15 岁居多,占比 90.1%;父母最高学历以初中文化水平为主,占比 68.9%;家庭至工厂距离从 4 km 到 11 km 不等,8—11 km 居多,占比 51.7%;室外活动时间多为 1—2 h,占比 52.6%。具体信息见表 2。

表 2 研究对象基本信息

Table 2 Basic information of the study population

项目 Characteristic variable		男生 Boys (n=101)	女生 Girls (n=131)
年龄 Age	13	8 (7.9)	13 (9.9)
	14	53 (52.5)	54 (41.3)
	15	40 (39.6)	62 (47.3)
	16	-	2 (1.5)
BMI	<18.5	28 (27.7)	18 (13.7)
	18.5—24.9	51 (50.5)	85 (64.9)
	≥25.0	22 (21.8)	28 (21.4)
父母最高学历 Parental highest educational level	小学及以下 (≤Primary)	8 (7.9)	9 (6.9)
	初中 (Junior)	67 (66.4)	93 (71.0)
	高中及以上 (≥Senior)	26 (25.7)	29 (22.1)
家庭至工厂距离 Distance between home address and plant/km	4—6	11 (10.9)	22 (16.8)
	6—8	35 (34.6)	44 (33.6)
	8—11	55 (54.5)	65 (49.6)
室外活动时间 Time of outdoor activity/h	≤1 h	18 (17.8)	41 (31.3)
	1—2 h	55 (54.5)	67 (51.1)
	≥2 h	28 (27.7)	23 (17.6)

注:括号内数字为构成比/%; Note: The number in bracket indicates proportion/%

2.1.2 性征发育基本情况

研究对象不同性征发育指标的 Tanner 分期人群分布情况如图 1 所示。男女生阴毛发育水平以 Tanner 3、4、5 期为主,占比分别为 83.2% 和 96.2%;男生外生殖器发育水平和女生乳房发育水平以 Tanner 4、5 期为主,占比分别为 83.2% 和 74.0%;性征发育水平不同指标在 Tanner 1 期和 2 期的总人数仅占研究对象的 0.02%—16.8%,主要是男女生阴毛发育和男生外生殖器发育。本研究得出的 13—16 岁男女生性征发育分期特点与大样本人群研究结果^[9]基本一致,性征发育无明显延迟或提前。

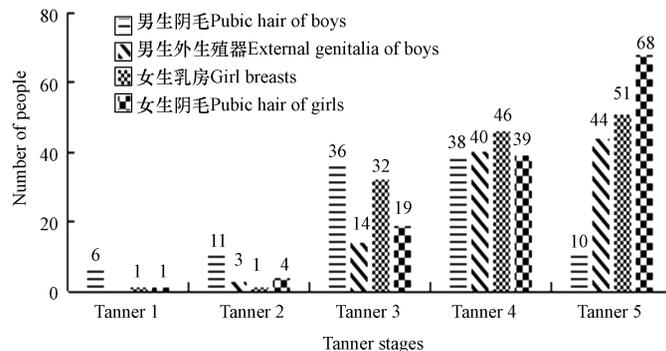


图 1 不同性征发育指标 Tanner 分期人群分布图

Fig.1 Students distribution of different sexual developmental characteristics by Tanner stages

2.2 青少年 PFASs 暴露特征分析

2.2.1 PFASs 暴露特征

在所分析的 18 种 PFASs 中,11 种物质的检出率大于 60%,其中 PFOA、PFOS、6:2 Cl-PFESA、PFNA、PFUnDA 和 PFHxS 共 6 种物质的检出率为 100%,PFBA、PFHpA、PFDA、PFHpS 和 PFHxA 的检出率在 69%—99%之间,4:2 Cl-PFESA、PFTTrDA、PFDoDA、8:2 Cl-PFESA 和 PFPeA 共 5 种物质的检出率在 5%—35%之间,PFTeDA 和 PFBS 未检出(LOD 分别为 $0.03 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.01 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$).对于检出率低于 60%的 PFASs,文中不再予以重点关注。

根据暴露水平,PFOA 占检出 PFASs 总量的 67.8%—97.7%,中位数为 $94.2 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.另外,检出浓度中位数大于 $1.00 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 PFASs 还有 PFOS ($2.63 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0.4%—26.3%)、PFBA ($1.38 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0.02%—9.9%) 和 6:2 Cl-PFESA ($1.07 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0.2%—24.6%).具体见表 3。

表 3 青少年血清中 PFASs 水平($n=232$,单位: $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Table 3 Serum concentrations of PFASs in teenagers ($n=232$, $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)

序号 No.	化合物 Analytes	检出率 Detection rate	GM±GSD Geometric mean±geometric standard deviation	P_{10} 10th percentile	P_{25} 25th percentile	P_{50} 50th percentile	P_{75} 75th percentile	P_{90} 90th percentile
1	PFOA	100%	99.7 ± 1.7	56.7	69.9	94.2	133.8	202.0
2	PFOS	100%	2.72 ± 1.69	1.44	2.00	2.63	3.73	5.02
3	6:2 Cl-PFESA	100%	1.06 ± 1.79	0.56	0.78	1.07	1.51	2.23
4	PFNA	100%	0.64 ± 1.78	0.34	0.46	0.65	0.95	1.16
5	PFHxS	100%	0.31 ± 1.41	0.20	0.26	0.32	0.39	0.47
6	PFUnDA	100%	0.20 ± 1.74	0.09	0.15	0.22	0.29	0.38
7	PFHpA	99%	0.68 ± 2.09	0.28	0.45	0.69	1.14	1.79
8	PFDA	99%	0.29 ± 2.34	0.12	0.19	0.31	0.49	0.74
9	PFBA	98%	1.35 ± 2.57	0.47	0.90	1.38	2.41	4.34
10	PFHpS	84%	0.07 ± 2.23	0.02	0.05	0.09	0.10	0.13
11	PFHxA	69%	0.04 ± 3.23	0.01	0.01	0.05	0.11	0.17
12	8:2 Cl-PFESA	35%	0.01 ± 2.29	0.01	0.01	0.01	0.01	0.08
13	PFDoA	34%	0.01 ± 2.40	0.01	0.01	0.01	0.03	0.06
14	PFTTrDA	22%	0.01 ± 2.29	0.01	0.01	0.01	0.01	0.06
15	4:2 Cl-PFESA	19%	0.01 ± 1.79	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03
16	PFPeA	5%	0.01 ± 2.29	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
17	Σ PFASs	-	109.0 ± 1.6	61.9	78.3	101.9	143.5	212.7

该地区 PFOA 浓度是美国 12—19 岁青少年^[10]血清 PFOA 浓度 ($1.67 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的 56 倍;是韩国青少年^[11] PFOA 暴露水平 ($1.94 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的 50 倍;是我国河南地区青少年^[12] PFOA 暴露水平 ($1.20 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的 80 倍;是美国氟工厂^[13]附近青少年血清 PFOA 浓度 ($69.20 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的 1.4 倍,说明该人群 PFOA 暴露处于高水平,且可能与氟工厂的污染排放有关.该人群血清中 PFOS 含量 ($2.63 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 与美国、韩国地区一般青少年人群含量 ($3.60 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $4.57 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 相比,处于低水平,可能与该地区经济发展水平相对较低,空气、水、食物等受 PFOS 污染程度小有关^[11].6:2 Cl-PFESA 作为新型全氟化合物替代品,已有文献中较少见到人群血清中的浓度水平相关报道.该人群血清中 6:2 Cl-PFESA 检出率为 100%,尽管含量水平 ($1.07 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 低于 PFOA 和 PFOS 的,但提示污染已经非常普遍,需要持续关注.PFBA 的检出率为 98%,中位数为 $1.38 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,比其他地区相比,也处于较高水平.美国国家人体生物监测项目^[10]因 PFBA 检出率低于 60%而未报告其浓度;我国河南地区^[12] PFBA 检出率为 78.2%,中位数为 $0.11 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$;本研究所在城市非氟工厂附近成人^[14] PFBA 暴露检出率为 87.5%,中位数 $0.35 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.因此,该人群的 PFBA 暴露特征提示可能与该氟工厂的污染排放有关。

2.2.2 不同因素对 PFASs 暴露水平影响

分析不同性别、不同家庭至工厂距离对 PFASs 暴露水平的影响.对于符合正态分布的,PFASs 组间

比较采用 t 检验或方差分析,统计值为 t/F ;将 PFASs 进行对数转换,仍不符合正态分布的,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验或 Kruskal-Wallis H 检验,统计值为 Z/χ^2 .结果表明,不同性别下 PFBA 和 PFHpA 浓度水平存在差异,男生高于女生, $P<0.05$;PFOA 和 PFHpA 的浓度与家庭至工厂的距离有关,且随着距离的增加而降低, $P<0.05$,PFHpS 也显示出距离差异, $P<0.05$,具体见表 4.

本研究中男生 PFBA、PFHpA 暴露水平高于女生,可能的原因一方面为女性的月经周期对血液中 PFBA、PFHpA 的清除有一定作用;另一方面对于 PFBA 等具有较强迁移性的 PFASs,男生室外活动时间多于女生会导致更长时间的暴露.该结果与儿童人群研究显示的 PFASs 暴露无性别差异的多数结论不一致^[15, 16],但与部分成人研究结论一致^[17-19].本研究主要关注的人群是青少年,处于儿童与成人的过渡阶段,且女生均已月经来潮,造成部分 PFASs 的性别分布特征更趋于成人.

距氟工厂 4—11 km 范围内,随着学生家庭至工厂距离的增大,血清中 PFOA 和 PFHpA 浓度逐渐下降,显示出地理位置导致 PFOA 和 PFHpA 的暴露差异,且这种差异可能与氟工厂排放有关.文献报道^[20],该氟工厂周围居民室内和室外空气中 PFASs 浓度相关性强,距工厂 10 km 处居民室内外空气 PFASs 含量分别为 $77.6 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $812 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,其中 PFOA 占比 80%左右,该地区人群可通过空气、粉尘暴露于 PFASs.距工厂 4 km 范围内,随着距离的增加,地下水 PFASs 也在减少^[21].此外,氟工厂附近农田中的蔬菜、作物^[22]、居民家庭散养鸡鸡蛋^[23]中 PFASs 浓度随着与工厂距离的增大而降低.这些文献证明该地区一定范围内,空气、地下水、食物均受到 PFASs 污染,这也是人群 PFASs 高暴露的主要原因.本研究结果则进一步证实了,人群 PFASs 暴露也与家庭至工厂距离有关,且主要污染物包括 PFOA 和 PFHpA.该地区环境样本中发现 PFCAs 与氟工厂相关^[20],本研究尚未发现其他 PFCAs 与家庭至工厂距离的相关性,可能是由于本研究人群主要在距工厂 4 km 之外,缺乏距氟工厂更近距离人群的暴露数据,尚需增加更近距离人群样本,进一步探讨与氟工厂相关的 PFCAs.考虑到 PFBA 的易迁移性,尽管 PFBA 的暴露与距离无关,但本地区人群暴露水平高于其他地区^[12],因此不排除其暴露与氟工厂排放的关系.PFHpS 在不同距离上虽显示有统计学差异,但呈现远距离浓度稍高于氟工厂附近浓度,且无明显递增趋势,排除其与氟工厂排放的可能性.

表 4 不同分组下 PFASs 的浓度分布情况 (Median, $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $n=232$)

Table 4 Distribution of PFASs concentrations in different groups (Median, $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $n=232$)

不同因素 Characteristic variable		PFBA ^①	PFHxA ^①	PFHpA ^②	PFOA ^①	PFNA ^②	PFDA ^①	PFUnDA ^①	PFHxS ^②	PFHpS ^①	PFOS ^②	6:2 Cl-PFESA ^②
性别 Gender	男 Boy	1.59	0.08	0.81	103.00	0.64	0.29	0.21	0.32	0.09	2.56	1.01
	女 Girl	1.22	0.04	0.63	91.00	0.66	0.34	0.24	0.32	0.08	2.64	1.09
	t/Z	-2.51	-1.93	3.09	-1.59	0.68	-1.03	-2.38	0.63	-1.21	1.04	-1.15
	P	0.01*	0.05	0.00**	0.11	0.50	0.30	0.09	0.53	0.23	0.30	0.25
家庭至工厂距离/km Distances between home address and plant	4—6	1.48	0.08	1.28	164.0	0.68	0.30	0.20	0.30	0.08	2.28	0.93
	6—8	1.31	0.06	0.73	105.0	0.64	0.30	0.24	0.32	0.08	2.62	1.05
	8—11	1.39	0.04	0.63	80.1	0.65	0.34	0.21	0.32	0.10	2.72	1.10
	F/χ^2	2.34	1.30	19.37	45.26	0.16	1.54	2.47	1.50	8.14	2.09	1.46
	P	0.31	0.52	0.00**	0.00**	0.92	0.46	0.29	0.47	0.02*	0.35	0.48

注:经对数转换后,①非正态分布,②正态分布; * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

Note: After log-transformed, ①Non-normal distribution, ②Normal distribution; * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

2.3 PFASs 暴露与性征发育关联性分析

将性征发育水平作为因变量,PFASs 暴露以四分位数分为 4 组,分别为低浓度组 $Q_1 (<P_{25})$ 、中低浓度组 $Q_2 (P_{25}-P_{50})$ 、中高浓度组 $Q_3 (P_{50}-P_{75})$ 、高浓度组 $Q_4 (>P_{75})$.根据相关研究^[24-25],青少年性征发育相关的因素包括年龄、BMI、身体活动量、父母对子女的青春教育有关,本文将室外活动时间替代身体活动量、父母学历替代父母对子女的青春教育,与年龄、BMI 同时作为控制变量,通过单因素和多因素 Logistic 回归,分析 PFASs 与性征发育的关联性.结果发现,单因素 Logistic 分析未显示男生阴毛发育水平与 PFOA、PFOS 有关,多因素 Logistic 分析显示 PFOA、PFOS、PFNA 均与男生阴毛发育水平有关, PFOA 中低浓度组 Q_2 、PFOS 中高浓度组 Q_3 、PFNA 中高浓度组 Q_3 和高浓度组 Q_4 相对于各自低浓度组

Q_1 与男生阴毛发育负相关,OR(95% CI)分别为0.291(0.091—0.935)、0.214(0.065—0.701)、0.246(0.079—0.771)和0.197(0.058—0.666), $P<0.05$ 。单因素 Logistic 分析发现男生外生殖器与 PFNA 高浓度组 Q_4 有关,控制相关因素后中低浓度组 Q_2 和高浓度组 Q_4 相对于低浓度组 Q_1 与男生外生殖器发育均呈负相关,OR(95% CI)分别为0.200(0.058—0.689)和0.179(0.047—0.682), $P<0.05$ 。单因素 Logistic 分析中女生阴毛发育水平与 PFHxS 浓度组相关性无统计学意义,经过控制变量调整后,发现 PFHxS 中低浓度组 Q_2 相对于低浓度组 Q_1 与阴毛发育水平负相关($\beta<0$, $P<0.05$),OR(95% CI)为0.360(0.138—0.938)。女生乳房发育与所研究 PFASs 无关。详细结果见表 5。

表 5 PFASs 暴露与性征发育水平关联性分析

Table 5 Correlation analysis between serum concentration and developmental level of sexuality

性征指标 Indicators of sexuality	暴露水平 Level of exposure	模型一 Model 1			模型二 Model 2		
		β	OR (95% CI)	P	β	OR (95% CI)	P
男生阴毛 Pubic hair of boys							
PFOA	Q_1	0	1.00		0	1.00	
	Q_2	-0.780	0.458(0.155—1.354)	0.158	-1.233	0.291(0.091—0.935)	0.038*
	Q_3	-0.436	0.647(0.237—1.763)	0.395	-0.805	0.447(0.151—1.322)	0.145
	Q_4	-0.803	0.448(0.153—1.309)	0.142	-1.092	0.336(0.108—1.044)	0.059
PFOS	Q_1	0	1.00		0	1.00	
	Q_2	-0.547	0.579(0.214—1.560)	0.281	-0.744	0.475(0.168—1.347)	0.162
	Q_3	-0.994	0.370(0.126—1.090)	0.071	-1.544	0.214(0.065—0.701)	0.011*
	Q_4	-0.735	0.480(0.169—1.355)	0.166	-0.823	0.439(0.141—1.369)	0.156
PFNA	Q_1	0	1.00		0	1.00	
	Q_2	-0.538	0.584(0.206—1.650)	0.310	-1.067	0.344(0.115—1.028)	0.056
	Q_3	-0.828	0.437(0.147—1.296)	0.135	-1.402	0.246(0.079—0.771)	0.016*
	Q_4	-1.319	0.267(0.086—0.828)	0.022*	-1.624	0.197(0.058—0.666)	0.009**
男生外生殖器 External genitalia of boys							
PFNA	Q_1	0	1.00		0	1.00	
	Q_2	-0.970	0.379(0.126—1.140)	0.084	-1.608	0.200(0.058—0.689)	0.011*
	Q_3	-0.332	0.717(0.226—2.275)	0.572	-0.825	0.438(0.123—1.557)	0.202
	Q_4	-1.513	0.220(0.067—0.720)	0.012*	-1.720	0.179(0.047—0.682)	0.012*
女生阴毛 Pubic hair of girls							
PFHxS	Q_1	0	1.00		0	1.00	
	Q_2	-0.706	0.494(0.199—1.220)	0.126	-1.021	0.360(0.138—0.938)	0.036*
	Q_3	0.145	1.156(0.447—2.989)	0.765	0.055	1.057(0.393—2.841)	0.913
	Q_4	-0.440	0.644(0.255—1.624)	0.351	-0.778	0.459(0.167—1.259)	0.130

注:该表只展示有统计学意义的 PFASs;以 Q_1 为参照组;模型一:未加入任何控制变量的单因素 Logistic 回归分析;模型二:加入年龄、BMI、父母最高学历、室外活动时间作为控制变量的多因素 Logistic 回归分析; ** $P<0.01$, * $P<0.05$ 。

Note: This figure merely exhibited PFASs with statistical significance; level of PFASs Q_1 was set as the control group; Model 1: Single-factor logistic regression analysis with no control variable added; Model 2: Adjusted by age, BMI, educational status of parents, and time of outdoor activity; ** $P<0.01$, * $P<0.05$.

人类青春期的性发育主要受下丘脑-垂体-性腺轴的控制,性器官和第二性征在体内分泌的多种激素的共同刺激下发育和成熟。青少年处于青春发育的敏感阶段,体内激素的变化会引起相应体征的改变。研究证实性发育水平与体内雌二醇、睾酮和黄体生成素等呈正相关关系^[26]。PFASs 对性发育的影响与体内激素改变密切相关。多数研究证明^[27-29],PFASs 对内分泌激素水平存在干扰作用。本文研究区域主要污染物 PFOA,控制影响因素后,在其暴露的中低浓度水平上,表现出对男性阴毛发育水平的负相关作用,与流行病学调查^[29-31]发现的 PFOA 与青春发动时相延迟的结论具有相似性,均提示 PFOA 对性发育的潜在抑制作用,分子机制上可能与 PFOA 的睾酮激素抑制作用^[30, 32]有关。青少年体内暴露的全氟烷基羧酸类除了 PFOA 外,PFNA 相对其他污染物检出率及检出浓度较高,见表 3。PFNA 与男生外生

殖器及阴毛发育水平的负向关联性较明显,且表现在高浓度、中高浓度和中低浓度水平上.当前并没有相关研究阐述 PFNA 与性征发育的影响,但动物实验^[33]和流行病学研究^[34]均报道 PFNA 与大鼠和青少年体内睾酮下降有关,表现出对男性性激素的抑制作用,与本文得出的 PFNA 与男性性征发育水平负相关结果具有一致性.PFNA 相比主要污染物 PFOA 表现出更明显的负相关作用,可能与其碳链长度有关.研究表明,PFASs 碳链越长,分子内分泌干扰作用越大^[35].

本研究区域常见全氟烷基磺酸类污染物 PFOS、PFHxS 也表现出对阴毛发育水平的负相关关系,分别表现在中高浓度和中低浓度水平上.在本地青少年男性中 PFOS 暴露表现出对阴毛发育的抑制作用可能与 PFOS 影响性激素有关,但研究显示 PFOS 引起性激素升高或降低的结论不一致^[32, 36],性征发育指标是体内激素系统总体的外在表现,PFOS 的内分泌干扰作用不仅影响性激素,其他激素的变化也可能最终改变性征发育表现.PFHxS 与性激素的关联性研究较少^[34],目前尚未报道 PFHxS 与性激素存在明显相关性,但有研究发现 PFHxS 与甲状腺激素变化有关^[37].甲状腺激素在青春期性征发育过程中同样发挥着重要作用,临床研究表明^[38],甲状腺功能减退可导致青春发育延迟,甲状腺功能改变可引起性腺功能异常,从而发生性征发育改变.因此,PFHxS 对性征发育的影响可能与其存在的甲状腺激素干扰作用有关.

通过本地区青少年体内 PFASs 与性征发育水平关联性分析发现,PFASs 分别对男女生不同性征发育评价指标存在负相关关系,但作用程度较弱.PFASs 对性征发育水平作用程度微弱的表现,符合环境污染对健康影响的一般规律.不同 PFASs 对性征发育指标的影响不同,与男性性征发育有关的 PFASs 更多,且 PFOA、PFOS 等 PFASs 仅表现出对男性阴毛发育的影响,提示男生性发育水平改变可能对 PFASs 暴露更敏感,应该加强关注 PFASs 对男生性征发育的影响.青少年出现月经初潮、遗精,外生殖器、乳房、阴毛等性征发育均与体内性激素水平变化密切相关^[29, 32-34, 39],本文未进行激素水平测定,后续可以通过联合激素水平和表观形态共同研究 PFASs 对青春期生长发育的影响.

本研究初步探讨了 PFASs 与性征发育水平的关联性,但仍存在不足,研究所选样本年龄未涵盖整个青春期发育阶段,关联性分析尚存在局限性;视诊法评价不同性征发育水平具有主观性,存在一定的观察者偏倚;青少年性征发育水平受诸多因素影响,分析过程中未考虑其他环境污染物的相互作用及膳食状况、家庭经济等因素.目前关于 PFASs 与青少年性征发育关联性研究较少,为更好地体现 PFASs 对青少年性征发育水平的影响,应在扩大样本量及控制相关影响因素的基础上开展更全面的研究.

3 结论 (Conclusion)

(1) 该地区青少年体内共检出 16 种 PFASs, PFOA 是主要污染物,中位数为 $94.2 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$.

(2) 该人群男生体内 PFBA、PFHpA 浓度高于女生,其他 PFASs 无性别差异;在 4—11km 范围内,PFHpA 和 PFOA 浓度随着家庭至工厂距离增大而下降.

(3) 该地区青少年体内部分 PFASs 与性征发育负相关.通过单因素和多因素 Logistic 回归分析, PFOA、PFOS、PFNA 与男生阴毛发育负相关,PFNA 与男生外生殖器发育负相关,PFHxS 与女生阴毛发育负相关,所研究的 PFASs 与女生乳房发育均无相关.

参考文献 (References)

- [1] LIU Z, LU Y, WANG T, et al. Risk assessment and source identification of perfluoroalkyl acids in surface and ground water: Spatial distribution around a mega-fluorochemical industrial park, China[J]. *Environment International*, 2016, 91:69-77.
- [2] 盛南, 潘奕陶, 戴家银. 新型全氟及多氟烷基化合物生态毒理研究进展[J]. *安徽大学学报(自然科学版)*, 2018, 42(6):3-13. SHENG N, PAN Y T, DAI J Y, et al. Current research status of several emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs)[J]. *Journal of Anhui University(Natural Sciences)*, 2018, 42(6):3-13(in Chinese).
- [3] 周秀鹏, 盛南, 王建设, 等. 全氟和多氟化合物替代品的研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(3):3-12. ZHOU X J, SHENG N, WANG J S, et al. The current research status of several kinds of fluorinated alternatives[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(3):3-12(in Chinese).
- [4] BALLESTEROS V, COSTA O, IÑIGUEZ C, et al. Exposure to perfluoroalkyl substances and thyroid function in pregnant women and children: A systematic review of epidemiologic studies[J]. *Environment International*, 2016, 99:15-28.

- [5] LIN C Y, WEN L L, LIN L Y, et al. The associations between serum perfluorinated chemicals and thyroid function in adolescents and young adults[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013,244-245(2):637-644.
- [6] 李丹, 史慧静, 张越, 等. Tanner 分期看图自评法在城市青少年中的适用性研究[J]. *中国学校卫生*, 2012,33(9):1029-1032.
LI D, SHI H J, ZHANG Y, et al. Applicability of drawings based on self-assessment of Tanner stages among urban Chinese adolescents[J]. *Chinese Journal of School Health*, 2012,33(9):1029-1032 (in Chinese).
- [7] 谢琳娜, 张海婧, 侯沙沙, 等. 人体血清中 18 种全氟化合物 UPLC-MS/MS 分析方法, *环境卫生学杂志*, 2019,9(5):500-507.
XIE L N, ZHANG H J, HOU S S, et al. Simultaneous analysis of 18 Perfluoroalkyl substances in human serum by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Environmental Hygiene*, 2019,9(5):500-507 (in Chinese).
- [8] 谢琳娜, 张海婧, 侯沙沙, 等. 固相萃取超高效液相色谱-串联质谱法分析土壤中 15 种全氟化合物, *分析化学*, 2019,12(47):1967-1972.
XIE L N, ZHANG H J, HOU S S, et al. Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with solid phase extraction for determination of 15 kinds of perfluoroalkyl acid[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2019,12(47):1967-1972 (in Chinese).
- [9] 巩宗林. 青春期中发育时相与家庭环境因素的关系[D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
GENG Z L. The relationship between the pubertal timing and family environmental factors [D]. Suzhou: Soochow University, 2013 (in Chinese).
- [10] CDC of USA. Fourth national report on human exposure to environment chemicals 2018[EB/OL]. [2018-09-10]. <https://www.cdc.gov/exposurereport/index.html>.
- [11] JI K, KIM S, KHO Y, et al. Serum concentrations of major perfluorinated compounds among the general population in Korea: Dietary sources and potential impact on thyroid hormones[J]. *Environment International*, 2012,45(1):78-85.
- [12] 付亚宁. 典型农区全氟化合物健康效应研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2014.
FU Y N. Health effects of perfluorinated compounds in a typical agricultural area [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2014 (in Chinese).
- [13] FRISBEE S J, SHANKAR A, KNOX S S, et al. Perfluorooctanoic acid, perfluorooctanesulfonate, and serum lipids in children and adolescents[J]. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 2010,164(9):1268-1278.
- [14] PAN Y, ZHANG H, CUI Q, et al. First report on the occurrence and bioaccumulation of hexafluoropropylene oxide trimer acid (HFPO-TA): An Emerging Concern[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017,51(17):9553-9560.
- [15] 朱昱, 蔡颖, 曾晓雯, 等. 台湾儿童血清全氟化合物与血脂关联的性别差异研究[J]. *生态毒理学报*, 2016,11(1):202-208.
ZHU Y, CAI Y, ZENG X W, et al. Sex-specific difference in the association between serum PFOS and PFOA level and lipid level in Taiwanese Children[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016,11(1):202-208 (in Chinese).
- [16] KIM D H, LEE M Y, OH J E. Perfluorinated compounds in serum and urine samples from children aged 5-13 years in South Korea[J]. *Environmental Pollution*, 2014,192:171-178.
- [17] KIM H Y, KIM S K, KANG D M, et al. The relationships between sixteen perfluorinated compound concentrations in blood serum and food, and other parameters, in the general population of South Korea with proportionate stratified sampling method[J]. *Science of the Total Environment*, 2014,470-471(2):1390-1400.
- [18] WANG Y, ZHONG Y, LI J, et al. Occurrence of perfluoroalkyl substances in matched human serum, urine, hair and nail[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018,67(5):191-197.
- [19] WAN H T, LEUNG P Y, ZHAO Y G, et al. Blood plasma concentrations of endocrine disrupting chemicals in Hong Kong populations[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013,261(13):763-769.
- [20] SU H, LU Y, WANG P, et al. Perfluoroalkyl acids (PFAAs) in indoor and outdoor dusts around a mega fluorochemical industrial park in China: Implications for human exposure[J]. *Environment International*, 2016,94:667-673.
- [21] 苏红巧. 氟化工园区周边居民健康风险研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2017.
SU Q H. Human health risk assessment for residents around a fluorochemical industrial park [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2017 (in Chinese).
- [22] LIU Z, LU Y, SHI Y, et al. Crop bioaccumulation and human exposure of perfluoroalkyl acids through multi-media transport from a mega fluorochemical industrial park, China[J]. *Environment International*, 2017,106:37-47.
- [23] SU H, SHI Y, LU Y, et al. Home produced eggs: An important pathway of human exposure to perfluorobutanoic acid (PFBA) and perfluorooctanoic acid (PFOA) around a fluorochemical industrial park in China[J]. *Environment International*, 2017,101:1-6.
- [24] 傅君芬, 周雪莲. 肥胖对儿童青春期中发育的影响及作用机制[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014,29(8):574-577.
FU J F, ZHOU X L. Influence and mechanism of obesity on the onset of pubertal development in obese children[J]. *Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 2014,29(8):574-577 (in Chinese).
- [25] 李梦娜, 史慧静, 江小小. 上海市中小学生学习身体活动量与青春期中发育水平的关联性[J]. *中国学校卫生*, 2014,35(10):1475-1478.
LI M N, SHI H J, JIANG X X. Association of pubertal development and daily physical activity in Shanghai[J]. *Chinese Journal of School Health*, 2014,35(10):1475-1478 (in Chinese).

- [26] 李建梅, 汪小娟. 深圳宝安区中小学生性发育状况调查[J]. 现代预防医学, 2006,33(9):1591-1592.
LI J M, WANG X J. Investigation on the sexual development of primary and secondary school students in Bao'an District, Shenzhen[J]. Modern Preventive Medicine, 2006,33(9):1591-1592(in Chinese).
- [27] LEWIS R C, JOHNS L E, MEEKER J D. Serum biomarkers of exposure to perfluoroalkyl substances in relation to serum testosterone and measures of thyroid function among adults and adolescents from NHANES 2011—2012[J]. International Journal of Environmental Research & Public Health, 2015,12(6):6098-6114.
- [28] LÓPEZ-DOVAL S, SALGADO R, PEREIRO N, et al. Perfluorooctane sulfonate effects on the reproductive axis in adult male rats[J]. Environmental Research, 2014,134:158-168.
- [29] LOPEZ-ESPINOSA M, MONDAL D, ARMSTRONG B G, et al. Perfluoroalkyl substances, sex hormones, and insulin-like growth factor-1 at 6—9 years of age: A cross-sectional analysis within the C8 health project[J]. Environmental Health Perspectives, 2016,124(8):1269-1275.
- [30] MARIA-JOSE L E, TONY F, BEN A, et al. Association of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) with age of puberty among children living near a chemical plant[J]. Environmental Science & Technology, 2011,45(19):8160-8166.
- [31] KRISTENSEN S L, RAMLAU-HANSEN C H, ERNST E, et al. Long-term effects of prenatal exposure to perfluoroalkyl substances on female reproduction[J]. Human Reproduction, 2013,28(12):3337-3348.
- [32] BIEGEL L B, LIU R C, HURTT M E, et al. Effects of ammonium perfluorooctanoate on Leydig cell function: In Vitro, In Vivo, and ex Vivo studies[J]. Toxicology & Applied Pharmacology, 1995,134(1):18-25.
- [33] YIXING F, ZHIMIN S, XUEMEI F, et al. Perfluorononanoic acid induces apoptosis involving the Fas death receptor signaling pathway in rat testis[J]. Toxicology Letters, 2009,190(2):224-230.
- [34] ZHOU Y, HU L W, QIAN Z, et al. Association of perfluoroalkyl substances exposure with reproductive hormone levels in adolescents: By sex status[J]. Environment International, 2016,94:189-195.
- [35] 任肖敏. 羟基多溴联苯醚和全氟烷基酸对甲状腺激素系统干扰效应的分子机理研究[D].北京:中国科学院大学, 2013.
REN X M. Molecular toxicology of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers and perfluoroalkyl acid on the thyroid hormone system[D]. Beijing:University of Chinese Academy of Sciences, 2013(in Chinese).
- [36] KNOX S S, TIMOTHY J, BETH J, et al. Implications of early menopause in women exposed to perfluorocarbons[J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2011,96(6):1747-1753.
- [37] WEN L, LIN L, SU T, et al. Association between serum perfluorinated chemicals and thyroid function in U.S. Adults: The national health and nutrition examination survey 2007—2010[J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2013,98(9):E1456-E1464.
- [38] 程莉惠, 陈利鸿. 幼年型甲状腺功能减退症与青春期发育异常[J]. 医学理论与实践, 2018,31(17):2547-2549.
CHENG L H, CHEN L H. Childhood hypothyroidism and adolescent developmental abnormalities[J]. Medical Theory and Practice, 2018, 31(17):2547-2549(in Chinese).
- [39] ULLA NORDSTR M J, BRUNO V, JEAN-PHILIPPE A, et al. PFOS (perfluorooctanesulfonate) in serum is negatively associated with testosterone levels, but not with semen quality, in healthy men[J]. Human Reproduction, 2013,28(3):599-608.