

· 综述 ·

脐带在胎儿环境污染物暴露危险度评价中的应用

刘静^{1,2}, 陆荣柱¹

(1. 江苏大学医学院预防医学系, 江苏 镇江 212001; 2. 复旦大学公共卫生学院, 上海 200032)

摘要: 由于胎盘屏障功能有限, 母体内的一些环境污染物进入胎儿体内。脐带是胎儿组织的一部分, 利用脐带对胎儿在母体内环境污染物暴露进行有效的危险度评价有着重要意义。

关键词: 脐带; 胎儿; 危险度评价

中图分类号: R321 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2005)06-0350-03

Application of umbilical cord blood in risk assessment on pollutant exposure in fetuses

LIU Jing^{1,2}, LU Rong-zhu¹

(1. Department of preventive medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China; 2. School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract Some environmental pollutants can transplacentally transfer from mothers to their fetuses for the limited function of placental barrier. Because the umbilical cord is part of the fetus tissue, so it is valuable to apply umbilical cord in risk assessment of prenatal exposure to toxicants.

Key Word: Umbilical cord; Fetus; Risk assessment

随着环境质量的恶化, 许多环境污染物可以经过呼吸道、消化道、皮肤等途径进入孕妇体内, 继而通过功能有限的胎盘屏障进入胎儿体内, 由于胎儿对化学物的毒作用比成人敏感, 在生长发育过程中, 如果在母体子宫内接触一些有毒的物质, 可能会产生一些与成人接触该物质不同的严重损害, 甚至癌变。因此, 对胎儿母体内接触化学物质的毒作用进行危险度评价有重要的意义, 以减少对下一代的健康损害。

脐带作为胎儿组织的一部分, 由于其收集简便、无创伤性, 已有不少研究利用脐带对胎儿在母体子宫内化学物接触浓度、效应等进行研究, 现将脐带在胎儿接触化学物危险度评价中的应用综述如下。

1 脐带在胎儿母体内毒物接触评定中的应用

某些脂溶性的环境污染物, 如 DDT、HCB、PCBs 等, 虽然已禁止使用, 但这些物质在当时使用广泛并且在环境中难以降解, 易在水、大气、土壤中蓄积, 在大多数工业化国家的居民体内都能检测到, 这些物质可以通过食物链产生生物放大作用, 在某些海产品的脂肪组织中浓度比较高。由于这些物质可以通过胎盘屏障, 对于海产品摄入量较多的孕妇来说, 这些物质可对胎儿产生一定的危害。由于胎儿在母体内暴露于某些环境物质, 会产生一些在成人不能观察到的毒作用, 如低出生体重、认知能力障碍和运动能力形成迟缓。因此, 很有必要对胎儿在母体内化学物质暴露进行评定。

胎儿在母体内接触一些有机物质, 尤其是脂溶性的物质, 通常用母亲的血液、母乳及脐带血进行检测。对脐带或脐带

血中化学物质或其代谢产物与 DNA 的加合物进行测定, 能对胎儿在母体内的毒物暴露提供直接的评定依据, 与用母体血液进行检测相比, 更能反应胎儿的毒物暴露情况。

Mori Chisato 及其研究小组在日本通过分析脐带和脐带血评价胎儿多种化学物的暴露状况^[1]。结果发现: (1) 有 50% 以上的脐带或脐带血清中可以检测到多种化学物或毒物。检测到的物质包括 Dioxins、PCBs、DDT、DDE、重金属 (镉和铅)、双酚 A 及植物雌激素。有些脐带中几种化学物的含量很高, 这一结果清楚地表明日本胎儿暴露于多种化学物质。(2) 分别对第一胎、第二胎和第三胎新生儿脐带中难以降解的化学物如 Dioxins、PCBs、DDT 及其代谢产物的浓度进行检测, 发现 Dioxins、PCBs、DDT 及其代谢产物的浓度在第一胎要高于第二和第三胎。Paul Stewart 等^[2]对新生儿脐带血中 PCBs 的类型和浓度进行研究, 这些新生儿的 PCBs 暴露是因为其母亲在怀孕期间食用了安大略湖的鱼类, 结果发现, 由于脐带血中脂质含量低, 对总的 PCBs 含量, 在暴露组和对照组 (母亲怀孕期间未食用安大略湖的鱼类) 用脐带血检测时没有发现两组之间的差别。但是, 暴露组脐带血中高氯的 PCB 同源物 (C17—C19) 含量显著增高, 并且脐带血中 C17—C19 的 PCB 同源物与母乳中 PCBs 水平相关 ($r=0.29$, $P<0.01$)。为了研究胎儿在母体内暴露于某些化学物质对发育的影响, Virlyn W 等^[3]对法罗群岛的 316 名新生儿的脐带 (包括脐带血) 进行 PCBs、HCB、DDE 的测定。用脐带进行检测, 目前还不是很普遍, 该研究选用脐带主要是为了进一步测定化学物质在脐带、脐带血及胎盘之间的分配比。由于脐带和脐带血中的脂质含量比较接近, 分别为 $0.22\% \pm 0.14\%$ 和 $0.17\% \sim 0.44\%$, 这可能会限制脐带在胎儿脂溶性物质接触评定中的应用。

收稿日期: 2004-12-05; 修回日期: 2005-03-15

作者简介: 刘静 (1976—), 女, 助教, 在读硕士, 从事职业卫生学研究。

虽然, 脐带和脐带血在接触评定中还有一定的局限性, 但因其样本易于收集, 无损伤性, 所以仍有重要的应用价值。

2 脐带在评估化学物质有害效应方面的应用

胎儿期对于个体的健康很重要, 很有必要对出生前在母体内接触多种化学物的有害效应进行危险度评价, 识别下一代中潜在的高危人群及预防其有害效应的发生。脐带作为胎儿组织的一部分, 当化学物质通过胎盘屏障时, 脐带也可能成为化学物质作用的靶器官之一, 因此, 脐带或脐带血中某些生化指标或分子水平的改变可以作为胎儿母体内化学物质接触的效应生物标志物。

大气中因燃料燃烧所产生的致癌性污染物能经胎盘转运, 由于胎儿对化学毒物作用很敏感, 因此, 胎儿母体内化学物质的暴露已成为被日益关注的卫生问题, 这些致突变或致癌的污染物, 包括芳香烃类化合物(如 PAH)能与 DNA 结合, 形成化学物质-DNA 加合物。Perera F 等^[4]通过分析新生儿脐带和其母亲血样中芳香烃-DNA 加合物及次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶 (HPRT) 基因突变频率研究经胎盘转运的化学物质的遗传毒性。研究对象为波兰克拉科夫地区的 67 位母亲和 64 名新生儿, 在控制了吸烟、饮食、社会经济状况等因素后, 发现新生儿用 P³²标记测定的芳香烃-DNA 加合物与 HPRT 突变频率间呈正相关 ($\beta = 0.56, P = 0.03$), 新生儿加合物含量比母体高, 而 HPRT 突变频率则低 4 倍。该研究证实了新生儿体细胞突变和通过胎盘转运到胎儿的常见污染物暴露之间的联系。Chelchowska M 等^[5]在孕妇吸烟对新生儿铁状况影响的研究中, 对脐带血清中铁的标志物进行检测, 发现吸烟组和非吸烟组在脐带血清总铁浓度方面比较接近, 吸烟组新生儿总铁结合力较高, 表明功能性铁缺乏, 吸烟组和非吸烟组贮存铁分别为 94 ng/ml 和 163 ng/ml, 表明孕妇吸烟会导致新生儿亚临床性的铁缺乏。

随着高通量技术(如 DNA 芯片)的发展, 一些毒理学家已经提出将毒理基因组学用于危险度评价。采用 DNA 芯片的毒理基因组分析是一高效的方法, 可同时检测上千种基因的表达。如果基因表达谱可以作为预测化学物导致有害效应的生物标志物, 那么毒理基因组分析将是对化学物进行危险度评价的理想方法。

Mori Chisato 等^[6, 7]探讨了利用 DNA 芯片对脐带进行毒理基因组分析建立胎儿暴露于多种化学物远期毒效应的危险度评价方法。研究目的是判断能否用毒理基因组分析在分子水平上检测远期效应。通过分析基因表达的改变来评价化学物对胎儿的毒效应是可能的。另外, 在技术方面脐带易于收集。因此, 选用脐带对胎儿接触的化学物质进行危险度评价似乎是一种理想的方法。

Mori Chisato 等建立的新的危险度评价方法分 4 个步骤。第一步是运用 DNA 芯片对脐带的基因表达进行全面分析。第二步是把从第一步获取的资料和每一脐带的暴露评定资料结合起来分析, 在此分析中, 将阐明全面的基因表达谱与暴露水平之间的关系。第三步是进行体外实验, 对暴露于化学物后从脐带获取细胞的基因表达改变进行 DNA 芯片分析。第四步

是对第二步和第三步的资料进行比较综合分析。在这一步骤, 因胎儿期的化学物暴露导致的分子水平的生物效应可以检测出来。用毒理基因组分析方法来建立新的危险度评价方法, 需要进行广泛的研究来阐明从毒理基因组分析获取的资料、从可观察到化学物有害效应的动物实验获取的资料以及对人的预测性研究获取的资料之间的关系。采用结合芯片技术的毒理基因组学方法对人脐带进行分析, 对胎儿多种化学物暴露的危险度评价将是可行的。

在建立毒理基因组分析方法的过程中, 有人怀疑检测脐带基因表达改变的可能性和可行性。为了回答这些问题和证实实用脐带进行毒理基因组分析的重要性, Mori Chisato 等又进行了两个基本实验。首先, 从脐带分离出全部 RNA ($n = 5$) 并进行 RT-PCR 分析。结果细胞色素 P4501A1、CYP1A2、CYP1B1 及性激素受体的 mRNA 在脐带中都可以检测到, 还发现每个脐带中 CYP1A1 的 mRNA 表达水平有差异。这些结果表明脐带可能是毒理基因组分析的靶器官。其次, 为了进行脐带的毒理基因组分析, 用人 IdDNA 芯片对 5 个脐带的基因表达谱的改变进行分析, 并用从人脐带静脉内皮细胞 (HUVEC) 提取的 mRNA 作为对照。对这 5 个脐带的基因表达进行全面分析, 表明脐带的 15 154 个基因中有 7 000 多个基因得到表达, 在 7 000 多个基因中, 有 265 个基因的表达水平高于或低于 HUVEC 中基因的表达水平。在 4 个脐带中都发生改变的基因只有 27 个。还发现了基因表达模式的改变, 如 X53331 和 AA314429 在有些脐带中是表达上调而在另一些脐带中则是表达下调。相反, 有些基因如 M60527 在 5 个脐带中都是表达下调。说明对每个脐带的 DNA 芯片分析可以检测出基因表达的个体差异。

综上所述, 脐带的某些功能、生理、生化、分子水平的改变可以作为胎儿母体内化学物质暴露的效应生物标志物。阐明在母体内暴露剂量和脐带效应之间的关系, 并与以后的随访资料相结合, 建立对胎儿化学物暴露的危险度评价, 以保证下一代的健康, 将有害效应降到最低程度, 并尽力减少环境污染物的排放及寻求一种能减少已在体内蓄积的化学物的量的方法^[7]。

3 有待解决的问题

由于脐带可以用来进行胎儿在母体内化学物质暴露的接触标志物和效应标志物的检测, 在应用到危险度评价过程中也应考虑所选标志物的灵敏性、特异性, 涉及的技术和伦理学等问题。以脐带的毒理基因组分析为例, 尽管它是预测对人可能的有害效应的一种理想方法, 而技术问题和社会伦理学问题的解决才会使这种方法更具有可行性。涉及的技术问题如必须弄清楚基因表达的改变是否是将来有害效应的一个指标, 这个阶段预测有害效应是值得怀疑的, 还需进行广泛动物实验来研究毒理基因组分析获取的资料和化学暴露资料之间的相互关系, 对基因表达发生改变的新生儿进行随访, 如果每个新生儿的脐带毒理基因组分析资料和其成长的随访资料具有相关性, 毒理基因组分析资料和随访资料的相关关系则可以阐明该方法的有效性。伦理学问题 (下转第 355 页)

990918)。铝染毒分高剂量组 (150 mg/kg)、低剂量组 (35 mg/kg) 和 0 剂量组; 氟染毒分高剂量组 (18 mg/kg)、低剂量组 (3 mg/kg) 和 0 剂量组。

81 只雄性 SD 大鼠, 体重 (185.0±10.5) (145~207) g, 适应性喂养 1 周后, 随机分 9 组, 即高铝高氟组、高铝低氟组、高铝组、低铝高氟组、低铝低氟组、低铝组、高氟组、低氟组、对照组。AlCl₃ 按 2 ml/100g 大鼠体重配制应用液灌胃, NaF 各剂量组均按大鼠饮水量配制成所需浓度加入饮水中, 对照组以洁净自来水灌胃。每周一至周六上午染毒, 周日称重, 共染毒 11 周。

末次染毒 24 h (禁食 12 h) 后, 取股静脉 EDTA 抗凝血 2 ml。采用氰化高铁血红蛋白法测定 Hb^[2], 网织红细胞采用煌焦油蓝染色后常规计数。数据以 SAS 软件进行统计分析。

2 结果

由表 1 可见, 多数染毒组 Hb 低于对照组, 但 *Q* 检验发现仅高铝高氟组与对照组相比差异有显著性, 方差分析显示铝、氟不同染毒水平对 Hb 有明显的影响, 但交互作用无显著意义。大鼠网织红细胞计数经反正弦函数转换后进行方差分析, 各染毒组呈上升趋势, 但与对照组比较差异均无显著性, 铝、氟不同染毒水平组间差异无显著性, 交互作用也不明显。

表 1 各组大鼠 Hb、网织红细胞计数 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Hb (g/L)	网织红细胞计数 (%)
高铝高氟组	9	1.15±0.46 *	27.00±15.38
高铝低氟组	9	1.42±0.22	15.33±8.07
高铝组	6	1.53±0.21	19.00±3.28
低铝高氟组	9	1.40±0.31	18.77±6.94
低铝低氟组	9	1.62±0.16	20.44±10.60
低铝组	10	1.53±0.14	22.50±4.40
高氟组	10	1.58±0.13	16.30±12.51
低氟组	10	1.49±0.14	20.20±14.16
对照组	9	1.58±0.34	16.22±9.40
		$F=2.84$ $P=0.008$	$F=1.84$ $P=0.085$
		$F_1=3.13$ $P=0.049$	$F_1=0.24$ $P=0.78$
		$F_2=4.66$ $P=0.012$	$F_2=2.03$ $P=0.14$
		$F_{1 \times 2}=1.78$ $P=0.14$	$F_{1 \times 2}=2.19$ $P=0.07$

与对照组相比较, * $P<0.05$

注: F_1 为铝不同染毒水平方差分析 F 值; F_2 为氟不同染毒水平方差分析 F 值; $F_{1 \times 2}$ 为交互作用方差分析 F 值。

3 小结

有研究认为铝可抑制 Hb 合成, 影响和破坏红细胞的增殖而抑制红细胞系的增生活性^[3,4]。血液透析病人血铝水平升高可降低其对人重组红细胞生成素的反应, 长期服用低剂量铝制剂可降低慢性肾功能衰竭病人的 Hb 和血细胞容积^[5,6]。铝、氟间联合作用主要表现为拮抗, 但也有研究认为氟可促进铝的吸收和蓄积^[7,8]。本研究发现不同染毒水平铝、氟对大鼠 Hb 有影响, 但未发现存在交互作用。组间比较显示仅高铝高氟组 Hb 与对照组相比差异有显著性, 可能是铝、氟独立作用相加的结果。各组大鼠网织红细胞计数之间无统计学差异, 但高铝高氟组有高于对照组的趋势, 提示铝抑制血红素合成使 Hb 下降, 骨髓代偿增生活跃, 促使不成熟红细胞释放。

参考文献:

- [1] 于燕妮, 肖开棋, 曹序茂, 等. 实验性铝氟联合中毒大鼠骨骼形态计量学研究 [J]. 中国地方病杂志, 1993, 12 (6): 332-334.
- [2] 邓家栋. 血液病实验室诊断 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1985. 7-8.
- [3] Garbosa G, Gutnisky A, Nesse A. Depressed erythroid progenitor cell activity in aluminumoverloaded mice [J]. Miner Electrolyte Metab, 1996, 22 (4): 214-218.
- [4] Abreo K, Glass J, Sella M. Aluminum inhibits hemoglobin synthesis but enhances iron uptake in Friend erythroleukemia cells [J]. Kidney Int, 1990, 37 (2): 677-681.
- [5] Lin JL, Kou MT, Leu ML. Effect of long-term low-dose aluminum-containing agents on hemoglobin synthesis in patients with chronic renal insufficiency [J]. Nephron, 1996, 74 (1): 33-38.
- [6] Muirhead N, Hodsman AB, Hollomby DJ, et al. The role of aluminium and parathyroid hormone in erythropoietin resistance in haemodialysis patients [J]. Nephrol Dial Transplant, 1991, 6 (5): 342-345.
- [7] 李达圣, 肖邦良, 董奇男, 等. 铝氟及其不同比例混合所致大鼠骨形态计量学观察 [J]. 中国地方病防治杂志, 1992, 7 (4): 202-205.
- [8] 李福成, 吴非, 张华, 等. 高氟促成铝蓄积与过量铝危害的实验研究 [J]. 微量元素与健康研究, 1999, 16 (2): 15-17.

(上接 351 页) 包括研究必须得到胎儿父母的知情同意, 每个脐带基因表达的信息都应妥善管理和经过严格的授权使用等。

参考文献:

- [1] Mori C, Sakurai K, Iguchi T. Analysis of several endocrine disruptors detected in human umbilical cords and cord serum in Japan [J]. Environ Sci, 2001, 8: 117-118.
- [2] Stewart P, Darvill T, Lonky E. Assessment of prenatal exposure to PCBs from maternal consumption of Great Lake fish: an analysis of PCB pattern and concentration [J]. Environ Res Section A, 1999, 80: S87-96.
- [3] Irlin W, Allah R, Cynthia C. Utilization of umbilical cords to assess in utero exposure to persistent pesticides and polychlorinated biphenyls [J]. Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology, 2000, 10: 776-788.

- [4] Perera F, Hemminki K, Jedrychowski W. In utero DNA damage from environmental pollution is associated with somatic gene mutation in newborns [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2002, 11 (10Pt 1): 1134-1137.
- [5] Chelchowska M, Laskowska-Klita T. Effect of maternal smoking on some markers of iron status in umbilical cord blood [J]. Roczn Akad Med Białymst, 2002, 47: 235-240.
- [6] Mori C, Komiya M, Adachi T. Application of toxicogenomic analysis to risk assessment of delayed long-term effects of multiple chemicals [J]. Environ Health Perspec, 2003, 111 (6): 803-809.
- [7] Mori C. High-risk group and high-risk life stage: Key issues in adverse effects of environmental agents on human health [J]. Reproductive Medicine and Biology, 2004, 3 (2): 51-58.