· 调查报告与分析 ·

子宫肌瘤和卵巢囊肿与血清中 PAEs 暴露水平关系*

孙静[1], 张励倩[2], 顾磊[1], 赵栋[1], 高曦[2], 陈波[2], 厉曙光[2]

摘　要: 目的　了解育龄女性血清酞酸酯类化学物(PAEs)的暴露水平, 分析 PAEs 与子宫肌瘤、卵巢囊肿的相关性。**方法**　在上海市第一妇婴保健院收集 80 例子宫肌瘤、67 例卵巢囊肿和 17 例原发性不孕共 164 例妇科疾病患者和 80 例健康对照组血清, 采用气相色谱法(GC)检测其血清中 PAEs 的含量, 并分析其与妇科疾病的相关性。**结果**　244 例女性中血清的邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)和邻苯二甲酸二(2 - 乙基 - 己基)酯(DEHP)检出率分别为 26.2%、95.5% 和 92.2%, 几何均数分别为 0.071、0.270 和 0.193 mg/L; 病例组血清中 DBP 水平(0.342 mg/L)明显高于对照组(0.165 mg/L), 差异有统计学意义($t = 11.870$, $P < 0.01$); 子宫肌瘤组血清 DBP 含量与年龄因素呈负相关($r = -0.267$, $P = 0.028$), 对照组血清中 DBP 含量与 BMI 值间存在正相关($r = 0.270$, $P = 0.017$)。**结论**　子宫肌瘤和卵巢囊肿与血清 PAEs 水平存在一定的相关性。

关键词: 酞酸酯(PAEs); 增塑剂; 邻苯二甲酸二乙酯(DEP); 邻苯二甲酸二丁酯(DBP); 邻苯二甲酸二(2 - 乙基 - 己基)酯(DEHP); 子宫肌瘤; 卵巢囊肿

中图分类号: R　**文献标志码**: A　**文章编号**: 1001-0580(2015)06-0829-04　DOI: 10.11847/zgggws2015-31-06-40

Association of serum phthalate acid esters with ovarian cysts and uterine fibroids

SUN Jing*, ZHANG Li-qian, GU Lei, et al (* *Department of Health Care, Shanghai First Maternity and Infant Hospital of Tongji University, Shanghai* 200040, China)

Abstract: Objective　To detect the concentration of phthalate acid esters (PAEs) in serum of childbearing women and to analyze the association of serum PAEs with ovarian cysts and uterine fibroids. **Methods**　Serum samples were collected from 164 gynecological disease patients (80 uterine fibroids, 67 ovarian cysts, and 17 primary infertility patients) and 80 healthy controls from the First Maternity and Infant Health Institute in Shanghai. PAEs in serum were detected with gas chromatograph (GC). **Results**　For all participants of the study, the positive rates of diethyl phthalate (DEP), di-n-butyl phthalate (DBP), and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) were 26.2%, 95.5%, and 92.2%, with the geometric mean concentrations of 0.071, 0.270, and 0.193 mg/L, respectively. The levels of serum DBP in the patient group (0.342 mg/L) was significantly higher than that (0.165 mg/L) in the controls ($t = 11.870$, $P < 0.01$). The serum DBP level in the uterine fibroid patients was negatively correlated to age ($r = -0.267$, $P = 0.028$) and the serum DBP level in the controls was positively correlated to body mass index ($r = 0.270$, $P = 0.017$). **Conclusion**　The incidence of uterine fibroid and ovarian cyst may relate to PAEs exposure level.

Key words: phthalate acid esters (PAEs); plasticizer; diethyl phthalate (DEP); di-n-butyl phthalate (DBP); di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP); uterine fibroids; ovarian cysts

酞酸酯类化学物(phthalatic Acid Esters, PAEs)是一类产量及用量庞大的化学物质, 主要包括邻苯二甲酸(2 - 乙基己基)酯[di-(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]、邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)和邻苯二甲酸二乙酯(DEP)等, 作为塑料生产过程中使用的增塑剂, 它可使聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)等塑料具有更好的可塑性和弹性等。由于 PAEs 并非牢固结合到 PVC 高分子碳链上, 而是由氢键或范德华力松散连接, 随着时间的推移 PAEs 可逐渐逸出到环境和食品中, 从而对人体健康造成危害。PAEs 与人类健康关系密切, 在城市生活垃圾、土壤河流、水果蔬菜、塑料桶装食用油、塑料医用设备和某些人群中都已有检出[1-2], PAEs 对动物和人均有一定毒性[3-4]。已有研究表明, 子宫肌瘤、卵巢囊肿、不孕症等妇科疾病与多种因素相关, 主要是由遗传基因的易感性和环境影响共同作用形成[5-6]。本研究通过分析子宫肌瘤、卵巢囊肿、不孕症总者及健康女性对照血清中 PAEs 含量, 研究 PAEs 暴露水平与妇科疾病间存在的关系, 为相关性研究提供参考依据。

1.　对象与方法

1.1　对象　病例为 2010 年 2 月—2011 年 1 月在上海市第一妇婴保健院妇科经术后病理切片确诊为子

* **基金项目**: 国家自然科学基金(81172673); 上海市卫生局资助课题(2010257)
作者单位: 1. 上海市第一妇婴保健院妇科, 200040; 2. 复旦大学公共卫生学院营养与食品卫生学教研室
作者简介: 孙静(1966 -), 女, 上海人, 主任医师, 硕士, 研究方向: 妇科疾病。
通讯作者: 厉曙光, E-mail: leeshuguang@ fudan. edu. cn
数字出版日期: 2015 - 3 - 25 9:22
数字出版网址: http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20150325.0922.009.html

宫肌瘤或子宫内膜异位症卵巢囊肿患者,对照为此医院女性工作人员且经确诊未患有子宫肌瘤、卵巢囊肿、不孕症等妇科疾病。本研究共纳入 164 例病例和 80 名对照,病例组中包含 67 例卵巢囊肿、80 例子宫肌瘤和 17 例原发性不孕患者。研究对象年龄为 21 ~ 56 岁,平均(32.6 ± 7.2)岁。

1.2　调查方法　自行设计调查问卷,内容包括年龄、身高、体重、吸烟、饮酒、疾病史等基本信息,研究对象均签署知情同意书。以体质指数(body mass index, BMI)值作为评价研究对象是否肥胖的指标,采用 BMI 值亚洲标准[7]: < 18.5 kg/m^2 为偏瘦, 18.5 ~ 22.9 kg/m^2 为正常, ≥23 kg/m^2 为超重。本研究以 22.9 作为超重分界点。调查员均为学生和医院相关人员,统一培训后采用统一设计的调查问卷进行询问调查,现场调查和检测均在质量控制人员监督和指导下完成。

1.3　仪器与试剂　气相色谱仪(日本岛津公司, GC2010);高速冷冻离心机(德国 Thermo Fisher 公司, Sorvall ST 16R);涡旋混匀器(上海医大仪器厂, XW - 80A);超声波发生器(上海声源超声波仪器设备有限公司, SY5200 - D);氮吹仪(上海安谱公司, DC12H);分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司, AE200); PAEs 标准品(上海国药集团化学试剂有限公司): DEP (CAS No. 84 - 66 - 2, CP, ≥ 99.5%)、DBP (CAS No. 84 - 74 - 2, AR, ≥ 99.5%)、DEHP (CAS No. 117 - 81 - 7, CP, ≥ 99.0%)。正己烷(美国 Dikma 公司, CAS No. 110 - 54 - 3, AR, ≥97.0%),用前均经蒸馏纯化;高纯氮(上海比欧西公司,纯度为 99.999%)。

1.4　样品采集和预处理　收集各研究对象的静脉血 2 mL, 1 000 r/min 离心后取上层血清于洁净具塞玻璃管中, -40 ℃冻存。取 1 mL 血清样品,加入 2 mL正己烷,旋涡震荡 3 ~ 5 min 后, 4 000 r/min、4 ℃离心 8 min,取上层清液,按上述步骤重复操作 3 次,合并 3 次正己烷上清液约 5 mL,经微孔滤膜过滤后, 45 ℃氮吹浓缩,最后定容至 200 μL,转入气相色谱专用样品管加盖密封保存。为避免增塑剂的污染,本实验均采用玻璃器皿,全部实验用玻璃器皿均用超声清洗后,再以蒸馏水冲洗, 100 ℃烘箱中烘干后 500 ℃马弗炉烘烤 2 h,以避免玻璃器皿表面的污染。

1.5　定量分析条件　准确称取 DEP、DBP、DEHP 各 1.0 g,正己烷溶解,移入 100 mL 容量瓶中,加正己烷定容至 100 mL,得到 10 g/L 的混合标准储备液,于冰箱中备用。分别准确吸取一定量的 DEP、DBP 和 DEHP 混合标准储备液,用正己烷配制成混标浓度系列为 0.5、1.0、5.0、10.0 和 20.0 mg/L,气相色谱仪自动进样量每次 1 μL ($n = 6$),以峰面积对溶液浓度做线性回归分析。检出限为 0.1 mg/L 血清,低于检出限即为未检出(-),以 0.05 mg/L 计算。

1.6　统计分析　采用 SPSS 16.0 软件进行分析。PAEs 含量分布不服从正态分布,自然对数进行正态转化后,取几何均数进行统计分析。主要分析方法为 Pearson χ^2 检验, Spearman 相关分析及两样本资料的 t 检验。

2　结　果

2.1　建立 PAEs 的气相色谱检测方法　3 种酞酸酯类增塑剂在 0.5 ~ 20.0 mg/L 浓度范围内线性关系良好,其相关系数均 > 0.999。当添加量为 0.5 ~ 5.0 mg/L 时,本方法的平均加标回收率为 67.1% ~ 115.8% (其中 DEHP 为 89.2% ~ 115.8%),相对标准偏差为 2.0% ~ 10.3%,均能满足定量分析的要求。

表 1　血清中 3 种 PAEs 含量分布(mg/L)

增塑剂及组别	例(人)数	检出数	检出率(%)	GM (mg/L)
DEP				
病例组	164	37	22.6	0.069
子宫肌瘤	80	21	26.2	0.072
卵巢囊肿	67	15	22.4	0.069
原发不孕	17	1[a]	5.9[a]	0.054[a]
对照组	80	27	33.8	0.076
合计	244	64	26.2	0.071
DBP				
病例组	164	160[a]	97.6[a]	0.342[b]
子宫肌瘤	80	79[b]	98.8[b]	0.355[b]
卵巢囊肿	67	64	97.0	0.350[b]
原发不孕	17	15	88.2	0.266[b]
对照	80	73	91.2	0.165
合计	244	233	95.5	0.270
DEHP				
病例组	164	153	93.3	0.192
子宫肌瘤	80	76	95.0	0.208
卵巢囊肿	67	61	91.0	0.181
原发不孕	17	16	94.1	0.164
对照	80	72	90.0	0.195
合计	244	225	92.2	0.193

注: GM: 几何均数; 与对照组比较, a $P < 0.05$, b $P < 0.01$。

2.2　血清中 3 种 PAEs 检出率及含量　244 名对象血清中 DEP 检出率为 26.2% (64/244),病例组与对照组检出率差异无统计学意义,但原发不孕患者检出率明显低于对照组($\chi^2 = 4.032$, $P = 0.045$)。采用几何均数比较,原发不孕患者血清中 DEP 水平也明显低于对照组($t = -3.167$, $P = 0.003$)。DBP 检出率为 95.5% (233/244),各组比较结果显示,病例组检出率和几何均数均明显高于对照组($\chi^2 = 4.975$, $P = 0.026$; $t = 11.870$, $P < 0.001$);其中子宫肌瘤的检出率明显高于对照组($\chi^2 = 4.737$, $P = 0.030$),3 组患者血清中 DBP 浓度几何均数均明显

中国公共卫生 CPH

高于对照组（t = 12.012、9.620、3.607，均 P < 0.001）。DEHP 检出较高，检出率为 92.2%（225/244），但各组与对照组比较差异均无统计学意义。

2.3　不同年龄和 BMI 对象分布（表 2）　研究对象年龄为 21 ~ 56 岁，平均年龄（32.6 ± 7.2）岁，呈偏态分布，以 35 岁为界将年龄分 2 组后进行 Pearson χ^2 检验，病例组年龄分布明显高于对照组（χ^2 = 21.327，P < 0.001），子宫肌瘤患者平均年龄为 38.1 岁，年龄分布与对照组比较差异有统计学意义（χ^2 = 48.135，P < 0.001），卵巢囊肿患者偏小为 31.8 岁，年龄分布与对照组比较差异无统计学意义（χ^2 = 2.975，P = 0.085），子宫肌瘤组的 BMI 值明显高于卵巢囊肿组（t = 2.132，P = 0.035）。根据 BMI 值评价，病例组和对照组分别有 30 例（21.1%）和 6 人（7.7%）超重，平均 BMI 值分别为 20.93 和 20.88 kg/m^2，其中子宫肌瘤和卵巢囊肿患者的 BMI 分别为 21.47 和 20.59 kg/m^2。

表 2　不同年龄和 BMI 对象分布

年龄和 BMI	病例组								对照组	
	子宫肌瘤		卵巢囊肿		原发不孕		合计			
	人数	%	人数	%	人数	%	人数	%	例数	%
年龄（岁）	68		58		14		140		78	
≤35	7	10.3	34	41.4[d]	11	78.6	52	37.1[b]	67	85.9
>35	61	89.7	24	58.6	3	21.4	88	62.9	11	14.1
BMI（kg/m^2）	70		58		14		142		78	
≤22.9	49	70.0	50	74.6[c]	13	92.9	112	78.9[a]	72	92.3
>22.9	21	30.0	8	13.8	1	7.1	30	21.1	6	7.7

注：与对照组比较，a P < 0.05，b P < 0.01；与子宫肌瘤相比，c P < 0.05，d P < 0.01。

表 3　血清中 PAEs 含量、年龄和 BMI 间的相关性分析

	血清 DEP		血清 DBP		血清 DEHP	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
子宫肌瘤						
年龄（岁）	−0.015	0.906	−0.267[a]	0.028	0.092	0.454
BMI（kg/m^2）	0.198	0.100	0.103	0.395	0.020	0.873
卵巢囊肿						
年龄（岁）	−0.160	0.231	−0.039	0.771	−0.047	0.728
BMI（kg/m^2）	0.060	0.654	0.005	0.973	0.034	0.800
原发不孕						
年龄（岁）	−0.070	0.813	−0.459	0.099	−0.107	0.716
BMI（kg/m^2）	0.034	0.907	−0.361	0.204	−0.070	0.811
病例组						
年龄（岁）	−0.034	0.687	−0.160	0.059	0.092	0.280
BMI（kg/m^2）	0.141	0.095	0.033	0.694	0.033	0.700
对照组						
年龄（岁）	0.115	0.316	−0.037	0.748	−0.237[a]	0.037
BMI（kg/m^2）	0.071	0.540	0.270[a]	0.017	0.076	0.508
合计						
年龄（岁）	−0.022	0.747	0.209[b]	0.002	−0.031	0.648
BMI（kg/m^2）	0.107	0.115	0.138[a]	0.041	0.031	0.648

注：a P < 0.05，b P < 0.01。

2.4　血清中 PAEs 水平与年龄、BMI 间的相关性（表 3）　Spearman 相关分析显示，子宫肌瘤组血清 DBP 含量与年龄呈负相关（r = −0.267，P = 0.028）；对照组血清中 DBP 含量与 BMI 呈正相关（r = 0.270，P = 0.017），DEHP 含量与年龄呈弱负相关（r = −0.237，P = 0.037）；合并后的总人群中 DBP 含量与年龄转为正相关（r = 0.209，P = 0.002），DBP 含量与 BMI 呈弱正相关（r = 0.138，P = 0.041）。但卵巢囊肿与原发不孕患者中 PAEs 与各因素间均未见相关。

3　讨　论

本研究结果显示，DEP、DBP 和 DEHP 的检出率分别为 22.6%、97.6% 和 93.3%，几何均数分别为 0.0692、0.3422 和 0.192 mg/L，DEP 检出率较低，而 DBP 和 DEHP 检出率均较高，这与中国塑料工业中 DBP、DEHP 的生产量大和在日常生活中 PVC 等塑料制品广泛使用的现状相吻合。

Cobellis 等[8]研究意大利子宫内膜异位症患者的水平（0.57 mg/L）、Reddy 等[9]报道的印度健康女性和子宫内膜异位症患者血清中 DEHP 水平（0.45 和 2.44 mg/L）均高于本研究结果，但国内对女性健康人群的研究数据则较低，四川某地区 50 份 10 ~ 45 岁女性血清样品检测得 DEP、DBP 和 DEHP 中位数分别为 0.002、0.128 和 0.190 mg/L[10]；陈科等测定了 204 名女大学生血清中 DBP 和 DEHP 的含量，分别为 9.8 和 49.53 mg/L，其原因可能是不同的人群环境暴露程度不同，如生活习惯、环境污染、个人行为及 PAEs 随年龄在体内蓄积程度等因

中国公共卫生 CPH

素导致的暴露差别[11]。

子宫肌瘤、卵巢囊肿和原发不孕 3 类患者血清中 DBP 含量均明显高于对照组,采用广义线性模型纳入其他影响因素进行校正后,差异仍有统计学意义,提示与其日常生活中接触 PVC 塑料制品的频率有关,如食品包装材料、地板材料、装饰材料、生产油漆、个人护理用品以及医药设备等[12]。由于女性特殊的生理特点和生活习惯,PAEs 接触的机会明显高于男性,这是女性暴露途径与男性不同的一个重要方面[13]。DBP 在子宫肌瘤、卵巢囊肿及原发性不孕患者血清中的含量水平均明显高于对照组($P < 0.01$),提示 DBP 对以上疾病的发病可能有一定影响;DEP 在各组中含量差异不明显可能与 DEP 检出率较低有关;DEHP 含量在各组中差异不明显,可能与环境中 DEHP 的广泛暴露有关。考虑到 PAEs 是一类环境内分泌干扰物,可能与肥胖和年龄有关,因此对血清 PAEs 水平与年龄、BMI 间相关性进行分析,结果显示,在病例组以及分拆后的子宫肌瘤患者显示为负相关,但血清 DBP 水平在合并后的总人群中与年龄因素呈正相关,Spearman 相关系数为 0.209($P < 0.01$),表明该人群年龄因素对血清中 PAEs 含量的影响可能受到了其他因素的干扰。但是 DEP 和 DEHP 含量在各组间均未发现与 BMI 有关。原发不孕患者血清中 DEP 含量明显低于对照组,而校正后,DEP 与其他各个因素间均未显示显著相关,这可能与 DEP 在体内代谢的周期较短、与 DBP 和 DEHP 相比其在体内的蓄积性更低、更容易被机体代谢排泄所致。DEHP 在不同组别、年龄、BMI 和女性健康因素等方面均未见差异,其原因尚有待进一步研究。

血清中 PAEs 含量反映的是一个近期暴露水平,因此在临床上测定子宫肌瘤和卵巢囊肿患者血清中的 DBP 和 DEHP 含量将有助于初步筛查诊断以及对患者进行饮食方面的安全告诫,如减少摄入 PVC 塑料包装材料包裹的脂溶性食品,不要用 PVC 材质的容器盛放食品直接加热等,以避免 PAEs 对食品的污染。这也提示在临床上可对 PAEs 作为一种环境内分泌干扰物与相关疾病的诊断、治疗和预防予以关注。对于育龄女性的 PAEs 暴露,尤其是孕期及哺乳期妇女 PAEs 的暴露,除了可能会造成母代自身健康危害外,还可能会影响子代的健康,如子代肛门与生殖器间的距离缩短、孕期缩短、出生体重的改变等[14-16],因此,今后研究可关注于母代 PAEs 的暴露情况与子代生殖损伤的相关性。

参考文献

[1] Caserta D, Maranghi L, Mantovani A, et al. Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology[J]. Human Reproduction Update, 2008, 14(1): 59-72.

[2] 李荔群,陈蓉芳,高强,等. 塑料瓶装饮料中邻苯二甲酸酯的含量分析[J]. 环境与职业医学, 2011, 28(10): 585-588.

[3] Li SG, Dai JC, Zhang LQ, et al. An association of elevated serum prolactin with phthalate exposure in adult men[J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2011, 24(1): 31-39.

[4] Heidam LZ. Spontaneous abortions among dental assistants, factory workers, painters, and gardening workers: a follow up study[J]. Epidemiol Community Health, 1984, 38(2): 149-155.

[5] 李宏. 育龄妇女子宫肌瘤患病情况及影响因素分析[J]. 中国公共卫生, 2013, 29(8): 1230-1231.

[6] 蒋丽芳. DMPA 治疗子宫内膜异位症的临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2004, 19(11): 82-85.

[7] Choo V. WHO reassesses appropriate body-mass index for Asian populations[J]. Lancet, 2002, 360(9328): 235.

[8] Cobellis L, Latini G, De Felice C, et al. High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phthalate in women with endometriosis[J]. Human Reproduction, 2003, 18(7): 1512-1515.

[9] Reddy BS, Rozati R, Reddy S, et al. High plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and phthalate esters in women with endometriosis: a prospective case control study[J]. Fertility and Sterility, 2006, 85(3): 775-779.

[10] 梁春营,邓红梅,陈永亨. 人体血清中 6 种邻苯二甲酸酯的气相色谱-质谱同时测定法[J]. 环境与健康杂志, 2009; 26(11): 996-998.

[11] 陈科,厉曙光,张志强. 420 名大学生血清酞酸酯水平及其与性激素的关系研究[J]. 环境与职业医学, 2009, 26(3): 232-234.

[12] 杨柳,王敏,杨捷琳,等. 化妆品中邻苯二甲酸酯类物质对女大学生的累积暴露风险评估[J]. 环境与职业医学, 2014, 31(1): 1-6.

[13] Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, et al. Urinary levels of seven phthalate metabolites in the US population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000[J]. Environ Health Perspect, 2004, 112(3): 331-338.

[14] Swan SH, Main KM, Liu F, et al. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure[J]. Environ Health Perspect, 2005, 113(8): 1056-1061.

[15] Huang PC, Kuo PL, Chou YY, et al. Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns[J]. Environ Int, 2009, 35(1): 14-20.

[16] Wolgg MS, Engel M, Brtkoeiyd GS, et al. Prenatal phenol and phthalate exposures and birth outcomes[J]. Environ Health Perspect, 2008, 116(8): 1092-1097.

收稿日期: 2014-03-10　　(郑新编辑　校对)