DOI:10.16016/j.1000-5404.202009206

重庆市大气细颗粒物中多环芳烃组分与男性精子 DNA 损伤的关联研究

王芙蓉[1],周妮娅[2],陈 卿[2],刘太秀[2],曹 佳[2],张爱华[1] 550025 贵阳,贵州医科大学公共卫生学院卫生毒理学教研室[1];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)军事预防医学系毒理学研究所[2]

[摘要] **目的** 探讨重庆市大气细颗粒物($PM_{2.5}$)中的多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons,PAHs)暴露对男性精子 DNA 的损害效应。**方法** 研究对象来源于 2013、2014 年重庆市大学生男性生殖健康研究队列(male reproductive health in Chongqing college students,MARHCS),检测采样期间大气 $PM_{2.5}$ 中的低环 PAHs(2~4 环)和高环 PAHs(5~6 环)各组分的含量;采用单细胞凝胶电泳实验检测精子 DNA 损伤;采用混合效应模型探讨 PAHs 各组分的暴露程度与男性大学生精子 DNA 损伤水平之间的关联。**结果** 2013 年大气细颗粒物中的 PAHs 组分以低环 PAHs 为主,其中菲、芴、芘的占比最高,而 2014 年大气细颗粒物中则以高环 PAHs 为主,如茚并[1,2,3-cd]芘、苯并[g,h,i]苝、苯并[a]芘等。在 2014 年,男性大学生的精子 DNA 损伤指标如彗星尾长、尾矩和 Olive 尾矩较 2013 年明显增加($P<0.05$)。混合效应模型结果显示:低环 PAHs 中的荧蒽、苊烯、芘和总低环 PAHs 与精子 DNA 损伤指标中的彗星尾长和尾矩呈负相关。高环 PAHs 中的苯并[k]荧蒽、苯并[b]荧蒽和二苯并[a,h]蒽与精子 DNA 损伤指标中的彗星尾长呈正相关[β(95%*CI*):108.987(43.754~203.820)、158.700(65.957~303.272)、185.708(67.350~387.775),校正 P 均<0.05];与彗星尾矩呈正相关[β(95%*CI*):449.204(260.066~737.695)、683.108(374.515~1192.387)、683.108(374.515~1192.387),校正 P 均<0.05]。**结论** 重庆市大气细颗粒物中的高环 PAHs 组分暴露,可能导致精子 DNA 损伤效应增加。

[关键词] 大气细颗粒物;多环芳烃;精子 DNA 损伤;MARHCS 队列
[中图法分类号] R122.7; R181.34; R697.4 [文献标志码] A

Association between fine particulate matter bound polycyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage of male sperm in Chongqing

WANG Furong[1], ZHOU Niya[2], CHEN Qing[2], LIU Taixiu[2], CAO Jia[2], ZHANG Aihua[1] [1]Department of Toxicology, School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou Province, 550025; [2]Institute of Toxicology, Faculty of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the association between exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in atmospheric fine particulate matter ($PM_{2.5}$) and sperm DNA damage in Chongqing. **Methods** The subjects were sampled from our previously established cohort of the male reproductive health in Chongqing college students (MARHCS) study. The concentrations of PAHs (collected during the sampling periods) with low fused aromatic rings (2~4 rings) and with high fused aromatic rings (5~6 rings) in the air $PM_{2.5}$ filter membranes were detected. Single cell gel electrophoresis (Comet assay) was used to evaluate DNA damage. Finally, the mixed-effects model was used to investigate the relationships between the exposure concentrations of PAHs components in $PM_{2.5}$ and severity of sperm DNA damage. **Results** In 2013, the low molecular weight (LMW) PAHs accounted for a large proportion in atmospheric fine particles, mainly phenanthrene, fluorene and pyrene. While, the high molecular weight (HMW) PAHs dominated in 2014, such as indeno[1,2,3-cd]pyrene, benzo[g,h,i]perylene and benzo[a]pyrene. Sperm DNA damage

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(81630087);国家重点研发计划(2017YFC1002001)
[通信作者] 张爱华,E-mail: aihuagzykd@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

indicators, such as tail length, tail moment and Olive tail moment were more common in the cohort in the year of 2014 than in 2013 (all $P<0.05$). The results of the mixed model showed that the concentrations of fluoranthene, acenaphthene, pyrene and ∑LMW PAHs were negatively correlated with tail length and tail moment. The concentrations of benzo[k]fluoranthene, benzo[b]fluoranthene and dibenz[a,h]anthracene were positively correlated with tail length [β(95%*CI*): 108.987(43.754~203.820), 158.700(65.957~303.272), 185.708(67.350~387.775), respectively; all corrected $P<0.05$] and with tail moment [β(95%*CI*): 449.204(260.066~737.695), 683.108(374.515~1192.387), 683.108(374.515~1 192.387), respectively; all corrected $P<0.05$]. **Conclusion** The exposure of HMW PAHs in Chongqing atmospheric fine particles may lead to the enhancement of sperm DNA damage.

[**Key words**] atmospheric fine particles; polycyclic aromatic hydrocarbons; sperm DNA damage; MARHCS cohort

Supported by the Key Program of National Natural Science Foundation of China(81630087) and the National Key R&D Program of China(2017YFC1002001).
Corresponding author: ZHANG Aihua, E-mail: aihuagzykd@163.com

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是一类普遍存在于水、空气、土壤和食品等各种环境介质中的内分泌干扰物[1]。美国环境保护署(USEPA)根据多环芳烃作为致突变和致癌化合物的环境危害和健康风险,列出了16种优先控制的PAHs[2]。大气环境中的PAHs能够在颗粒相和气相中进行动态分配,2~4环的小分子量PAHs(low molecular weight PAHs, LMW PAHs,低环PAHs)更多地在气相中富集[3],而5~6环的大分子量(high molecular weight PAHs, HMW PAHs,高环PAHs)更多地富集在颗粒相中[4]。

大量研究证实,PAHs对男(雄)性生殖功能具有损害作用,包括生殖细胞损伤、精液质量下降、性殖激素水平改变以及精子DNA损伤等[5-7]。本课题组前期研究结果发现:重庆地区男性尿液中PAHs代谢产物与精子DNA损伤呈正相关[8],与精子端粒长度存在负相关[9]。说明环境中PAHs暴露可致精子DNA的遗传损害。然而环境空气中不同低环PAHs和高环PAHs组分的暴露程度如何,不同的PAHs组分是否会对男性精子DNA损伤造成不同影响,目前仍不清楚。

因此,本研究在前期建立的重庆大学生男性生殖健康队列研究(male reproductive health in Chongqing college students, MARHCS)的基础上,检测大气$PM_{2.5}$中PAHs的不同组分及其含量,评估其污染特征及变化趋势,探讨大气细颗粒物中的PAHs暴露与男性精子DNA损伤的关联,分析大气颗粒物中PAHs的不同组分对精子DNA损伤可能产生的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本次研究对象来源于课题组前期建立的MARHCS队列研究。此队列研究的目的是分析环境暴露对青年男性生殖健康的影响。MARHCS研究在2013年6月开展了基线调查,共有796名合格的志愿者符合纳入标准并完成了全部调查。2014年6月,对该人群进行第2次随访,共有656(82.4%)名研究对象参加并完成了所有随访调查。合格的志愿者均签署知情同意书,填写调查问卷,并由专业男科医师检查评估其生殖健康状况。此项研究已得到第三军医大学伦理委员会的批准(1.0/2013.4-12)。

1.2 方法

1.2.1 精液标本的采集及精子DNA损伤检测 受试者取精前禁欲2~7 d,通过手淫法采集全部精液样本于已称过质量的一次性干燥无菌广口的采精杯中。采精后准确记录其采精时间、禁欲时间、精液撒漏情况。精液标本采集后立即置于37 ℃孵箱中液化,观察其液化的情况并记录液化时间,待完全液化后,充分混匀后取5 μL,按WHO标准进行精液常规分析。

精子DNA损伤水平采用单细胞凝胶电泳(彗星实验)进行检测,详细操作步骤见前期发表的研究[10]。采用Casp(http://casplab.com/)彗星分析软件分析5项彗星指标:①尾部DNA含量百分比(tail DNA%);②尾长(tail length, TL);③彗星长(comet length, CL);④尾矩(tail moment, TM),其计算公式为尾部DNA%×尾长;⑤Olive尾矩(olive tail moment, OTM),其计算公式为尾部DNA%×头部中心到尾部中心的距离。

1.2.2 大气$PM_{2.5}$中PAHs含量的测定 $PM_{2.5}$样本采集工作于精液样本采集前90 d开始,于2013年3月8日至6月21日、2014年3月5日至6月16日进行采集。采集点分别位于重庆大学虎溪大学城校区和沙坪坝老校区。采样仪器与材料:$PM_{2.5}$大流量颗粒物采样器(TE-6070V-2.5-HVS, Tisch,美国),分析天平(BSA2235,Sartorius,德国),聚丙烯滤膜90 mm、石英滤膜90 mm(Pallfex2500 QAT-UP,PALL,美国)。每张膜连

续采样 48 h,采样流速为 220 L/min。采膜结束后将采样膜装入塑封袋中,放进-20 ℃冷柜保存。平衡 24 h 后,行滤膜称量并记录其质量。滤膜称量后,放入-4 ℃环境下保存,直至进行 PAHs 成分分析。

PAHs 组分分析采用 GC-MS 进行检测,检测方法及前处理要求参照《环境空气和废气气象和颗粒物中多环芳烃的测定气象色谱-质谱法》(HJ646-2013)。由中国测试技术研究院生物所负责检测 16 种优先控制的 PAHs 污染物的浓度,其中 10 种低环 PAHs:萘(naphthalene, Nap)、苊烯(acenaphthylene, AcPy)、苊(acenaphthene, Ace)、芴(fluorene, Flu)、菲(phenanthrene, Phe)、蒽(anthracene, Ant)、荧蒽(fluoranthene, FLA)、芘(pyrene, Pyr)、苯并[a]蒽(benzo[a]anthracene, B[a]A)、䓛(chrysene, Chr),6 种高环 PAHs:苯并[b]荧蒽(benzo[b]fluoranthene, B[b]F)、苯并[k]荧蒽(benzo[k]fluoranthene, B[b]F)、苯并[a]芘(benzo[a]pyrene,B[a]P)、二苯并[a,h]蒽(dibenz[a, h]anthracene,D[a,h]A)、茚[1,2,3-cd]芘(Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Inp)、苯并[g,h,i]苝(benzo[g,h,i]perylene, B[g, h, i]P)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 和 SAS 9.1 统计软件。研究对象的人口信息和彗星参数及空气污染物水平为非正态数据资料,用中位数以及四分位数[$M(P_{25},P_{75})$]或例(%)进行描述。用 Mann Whitney U 检验比较分析 2013 年和 2014 年研究对象两次调查中精子 DNA 损伤水平(彗星参数)和大气颗粒物中 PAHs 各组分含量;用 Kruskal-Wallis 检验分析分层资料;采用消除了潜在混杂因素[年龄、禁欲天数、体质量指数(BMI)、吸烟、饮酒、烧烤和油炸食物]的混合效应模型,研究 2013、2014 年研究对象的精子 DNA 损伤水平与大气细颗粒物中 PAHs 各组分的暴露水平之间的相关性。为了提高检验效能,对彗星参数和大气 $PM_{2.5}$ 中的 PAHs 各组分含量等在模型中进行 ln 转换,使其呈现近似正态分布,数据分析后再进行反向转换,得到变化百分比和 95% 可信区间(CI)。最后对混合效应模型进行 Bonferroni 多重检验的校正(P 值×95)。$P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的一般特征描述

研究对象的人口背景学特征和精子 DNA 损伤水平的描述性资料见表 1。2013 年共有 796 名合格的志愿者参与基线调查,2014 年的随访中,656 名(82.4%)研究对象完成了所有的调查及采样。除饮酒外,其余基本人口学特征(包括年龄、禁欲天数、BMI、吸烟、油炸食物和烧烤食物摄入次数)的差异均无统计学意义。与 2013 年相比,研究对象 2014 年的精子 DNA 损伤指标分别为:尾部 DNA 含量百分比(17.01% *vs* 19.42%),尾长(29.44 *vs* 35.65 pixels),彗星长(66.11 *vs* 81.47 pixels),尾矩(5.72 *vs* 7.57),Olive 尾矩(4.71 *vs* 6.27)均明显升高($P<0.001$)。

表 1 研究对象的人口学资料和精子 DNA 损伤情况

[$M(P_{25},P_{75})$, 例(%)]

变量	2013 年基线调查(n=796)	2014 年随访调查(n=656)	P 值
基本特征			
年龄/岁	20.0(20.0, 21.0)	21.0(21.0, 22.0)	0.906
禁欲时间/d	4.0(3.0, 6.0)	4.0(3.0, 5.0)	0.646
BMI/kg·m^{-2}	20.9(19.6, 22.7)	21.2(19.6, 22.8)	0.620
吸烟			
从不吸烟	593(74.6)	483(72.6)	0.451
已戒烟	30(3.8)	35(5.3)	
吸烟	171(21.6)	147(22.1)	
饮酒			
从不饮酒	409(51.5)	130(19.5)	<0.001
已戒酒	10(1.3)	41(6.2)	
饮酒	374(47.2)	495(74.3)	
油炸食物摄入次数			
<1 次/周	436(54.9)	371(55.7)	0.926
1~2 次/周	273(34.4)	217(32.6)	
≥3 次/周	85(10.7)	78(11.8)	
烧烤食物摄入次数			
<1 次/周	676(85.1)	545(81.8)	0.095
1~2 次/周	102(12.8)	107(16.1)	
≥3 次/周	16(2.1)	14(2.1)	
精子 DNA 损伤参数			
尾部 DNA 含量百分比(%)	17.01(10.62, 26.47)	19.42(11.55, 30.53)	<0.001
尾长(pixels)	29.44(20.11, 39.23)	35.65(25.47, 52.13)	<0.001
彗星长(pixels)	66.11(56.76, 76.42)	81.47(67.93, 94.50)	<0.001
尾矩	5.72(2.65, 11.08)	7.57(3.26, 15.90)	<0.001
Olive 尾矩	4.71(2.54, 8.19)	6.27(3.26, 11.59)	<0.001

2.2 大气 $PM_{2.5}$ 中 PAHs 各组分的含量

2013 年共采集 $PM_{2.5}$ 样品 34 个,2014 年采集 $PM_{2.5}$ 样品 92 个。剔除部分有缺损 $PM_{2.5}$ 滤膜,最终送检分析 PAHs 含量的样本数分别为:2013 年 32 个,2014 年 62 个。大气 $PM_{2.5}$ 滤膜中的 16 种 PAHs 各组分的含量如表 2 所示。2013 年 16 种 PAHs 的总平均浓度($\sum$16 PAHs)为 5.783 ng/m^3,所检出的 PAHs 组分含量以低环 PAHs(5.177 ng/m^3)为主,含量前 3 名依次为菲(1.451 ng/m^3)、芴(0.832 ng/m^3)和芘(0.743 ng/m^3),高环 PAHs 的平均总浓度仅为 0.606 ng/m^3。2014 年

检出的 PAHs 中高环 PAHs 含量较高,平均总浓度为 1.109 ng/m^3,含量前 3 名依次为茚并[1,2,3-cd]芘(0.468 ng/m^3)、苯并[g,h,i]苝(0.224 ng/m^3)和苯并[a]芘(0.124 ng/m^3),而检出的菲、芴、芘等低环 PAHs 的含量较 2013 年明显降低。2013 年有 5 种 PAHs 组分因低于检测限制而未被检出,分别为苊(Ace)、蒽(Ant)、苯并[b]荧蒽(B[b]F)、苯并[k]荧蒽(B[k]F)和二苯并[a,h]蒽(D[a,h]A)。2014 年有 4 种 PAHs 组分未被检出,分别为萘(Nap)、苊烯(AcPy)、苊(Ace)和菲(Phe),其中芴(Flu)和蒽(Ant)可被检出,但检出量低(平均浓度为 0.002 ng/m^3)。

2.3 大气细颗粒物中 PAHs 各组分暴露与精子 DNA 损伤水平的关联

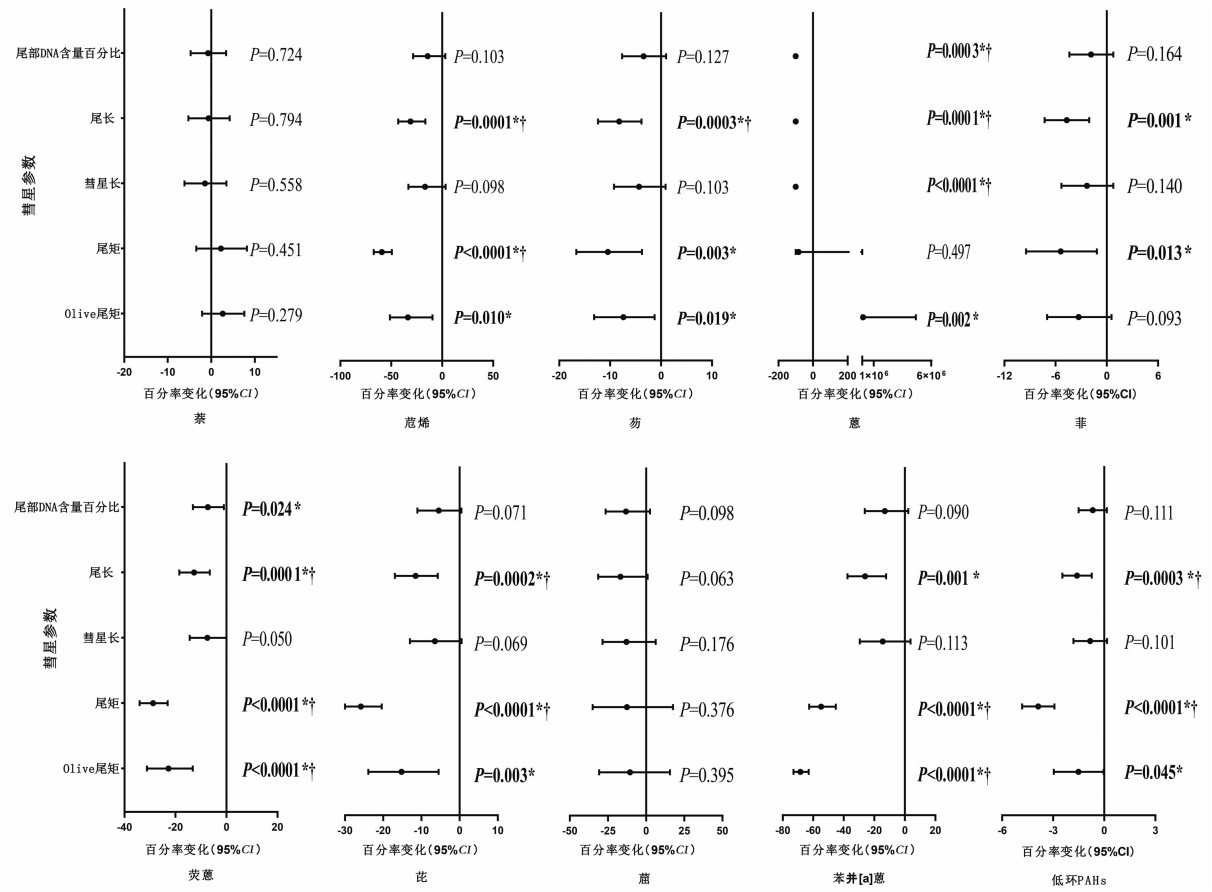
混合效应模型结果显示(图 1):低环 PAHs 中的苊烯、芴、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽和总低环 PHAs(∑LMW PAHs)暴露程度与精子 DNA 损伤指标中的彗星尾长、尾矩和 Olive 尾矩呈负相关;菲的浓度与尾长和尾矩呈负相关。经 Bonferroni 多重校正后,只有荧蒽与彗星尾长(β = −12.707, 95% *CI*: −18.491 ~ −6.512,校正 P<0.05)、尾矩(β = −28.780, 95% *CI*: −34.061 ~ −23.076,校正 P<0.05)和 Olive 尾矩(β = −22.717, 95% *CI*: −31.177 ~ −13.218,校正 P<0.05)仍呈负相关,芴与尾长呈负相关(β = −8.211, 95% *CI*: −12.396 ~ −3.826,校正 P<0.05),蒽与尾部 DNA 含量百分比、尾长和彗星长呈负相关,苊烯、芘和∑LMW PAHs 与彗星尾长、尾矩呈负相关,苯并[a]蒽与尾矩和 Olive 尾矩呈负相关(校正 P<0.05)。

高环 PAHs 与精子 DNA 损伤参数混合效应模型结果显示(图 2):彗星尾长、尾矩与苯并[k]荧蒽[β(95% *CI*): 108.987 (43.754 ~ 203.820), 449.204 (260.066 ~ 737.695), P 均<0.05]、苯并[b]荧蒽[β(95% *CI*): 158.700 (65.957 ~ 303.272), 683.108 (374.515 ~ 1192.387), P<0.0001]和二苯并[a,h]蒽[β(95% *CI*): 185.708 (67.350 ~ 387.775), 1096.039 (554.502 ~ 2085.645), P<0.05]含量呈正相关。此外,苯并[b]荧蒽与彗星长呈正相关,∑HMW PAHs 与尾长呈正相关,∑16 PAHs 与尾长和尾矩呈负相关。经 Bonferroni 多重校正后,只有苯并[k]荧蒽、苯并[b]荧蒽和二苯并[a,h]蒽与彗星尾长、尾矩之间的相关性仍然有统计学意义(校正 P<0.05)。

表 2 2013–2014 年大气颗粒物中 PAHs 组分的含量变化

变量	2013 年		2014 年		P 值
	均数	$M(P_{25},P_{75})$	均数	$M(P_{25},P_{75})$	
$PM_{2.5}$/μg·m^{-3}	53.347	52.943(51.250, 55.852)	67.700	67.711(66.822, 68.633)	<0.001
PAHs/ng·m^{-3}					
∑16 PAHs	5.783	5.900(3.500, 7.820)	1.287	1.080(0.910, 1.390)	<0.001
低环 PAHs(∑LMW PAHs)	5.177	5.200(2.940, 7.260)	0.178	0.170(0.130, 0.210)	<0.001
萘(Nap)	0.653	0.395(0.280, 0.550)	–	–	<0.001
苊烯(AcPy)	0.223	0.190(0.150, 0.300)	–	–	<0.001
苊(Ace)	–	–	–	–	–
芴(Flu)	0.832	0.650(0.440, 1.500)	0.002	–	<0.001
菲(Phe)	1.451	1.310(0.890, 2.200)	–	–	<0.001
蒽(Ant)	–	–	0.002	–	<0.001
荧蒽(Flt)	0.686	0.700(0.420, 0.900)	0.039	0.030(0.030, 0.040)	<0.001
芘(Pyr)	0.743	0.770(0.470, 1.040)	0.049	0.050(0.040, 0.060)	<0.001
䓛(Chr)	0.266	0.230(0.210, 0.270)	0.040	0.030(0.030 0.040)	<0.001
苯并[a]蒽(B[a]A)	0.322	0.320(0.260, 0.330)	0.047	0.04(0.030, 0.060)	<0.001
高环 PAHs(∑HMW PAHs)	0.606	0.560(0.560, 0.670)	1.109	0.940(0.780, 1.100)	<0.001
苯并[b]荧蒽(B[b]F)	–	–	0.095	0.080(0.060, 0.110)	<0.001
苯并[k]荧蒽(B[k]F)	–	–	0.114	0.100(0.080, 0.120)	<0.001
苯并[a]芘(B[a]P)	0.167	0.155(0.150, 0.170)	0.124	0.100(0.090, 0.130)	<0.001
茚并[1,2,3-cd]芘(InP)	0.273	0.250(0.240, 0.300)	0.468	0.380(0.330, 0.480)	<0.001
二苯并[a,h]蒽(DBahA)	–	–	0.083	0.080(0.060, 0.080)	<0.001
苯并[g,h,i]苝(B[g,h,i]P)	0.167	0.160(0.160, 0.200)	0.224	0.190(0.170, 0.230)	<0.001

∑16 PAHs 包括低环 PAHs 和高环 PAHs;–:此 PAHs 组分未检出



*:表示分析后低环 PAHs 组分与精子 DNA 损伤参数的关联性具有统计学意义($P<0.05$);†:表示经过 Bonferroni 多重校正后仍具有统计学意义($P<0.05$)

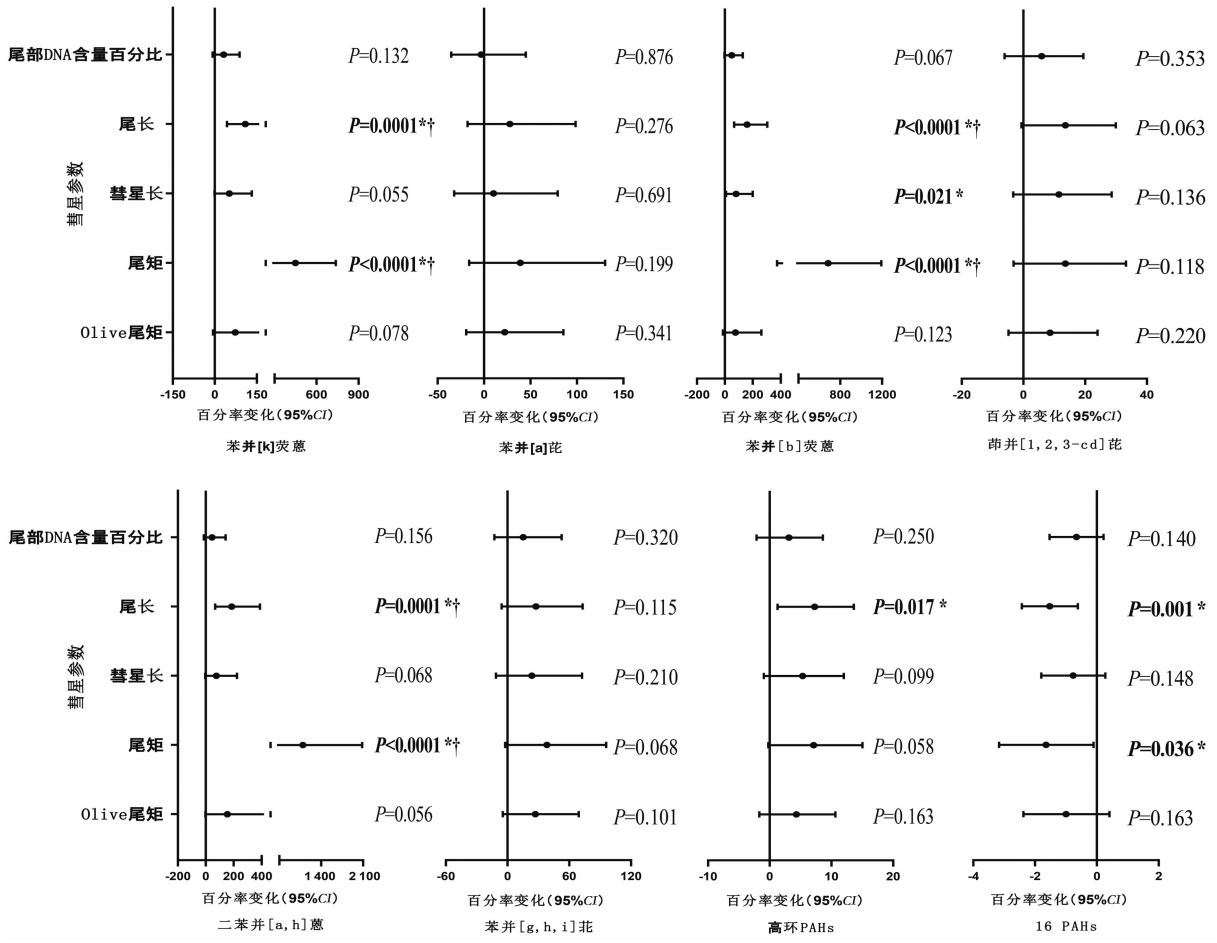
图 1 大气细颗粒物中低环 PAHs 暴露与精子 DNA 损伤参数的混合效应模型

3 讨论

近年来,由于人类活动的加剧,使得生物有机质的燃烧、汽车尾气、工业生产排放等都产生大量的多环芳烃,导致 PAHs 污染大气环境问题日趋严重[11-12]。多环芳烃作为大气颗粒物成分中主要毒性物质之一,长期暴露可能导致严重的远期效应,如致突变、致癌以及生殖发育损害。本研究发现:高环 PAHs 中的苯并[k]荧蒽、苯并[b]荧蒽和二苯并[a,h]蒽暴露浓度与精子 DNA 损伤指标彗星尾长、尾矩呈正相关,且存在显著的剂量-反应关系,该结果提示大气 $PM_{2.5}$ 中 PAHs 的高环组分暴露可能与精子 DNA 损伤增加有关。

即使是同类 PAHs 化合物,但同系物、同分异构体之间,其结构上的细微差别都会导致不同的毒性或致癌性。通常低环 PAHs 暴露会导致较强的急性毒性,但致癌性相对较低;而高环 PAHs 急性毒性多不明显,相反却具有较强的“三致效应”[13-14]。高环 PAHs 吸附于空气颗粒物上,通过呼吸到达肺泡沉积下来,进入血液循环。有相关机制研究表明:PAHs 进入机体,在环氧化水解酶、脱氧酶细胞色素 P450 等的作用下进行代谢活化,通过与 DNA 亲和位点鸟嘌呤外环氨基端共价结合,形成 PAHs-DNA 加合物,引起 DNA 损伤[15];或者引起机体氧化应激,产生大量活性氧簇、自由基等,从而导致 DNA 损伤[16]。本研究中大气颗粒物中低环 PAHs 组分与精子 DNA 损伤指标尾长、尾矩呈负相关。相比国内外其他城市,本研究人群的大气 $PM_{2.5}$ 中 PAHs 暴露浓度为 3.735 ng/m^3,大气颗粒物中 PAHs 的质量浓度较低[17-18]。对于研究显示的较低的 PAHs 环境暴露水平,我们推测在较低的暴露程度下,不同的 PAHs 暴露程度、毒性作用不同,因此观察到的效应不同。

已有研究表明机动车尾气排放的多环芳烃主要以高环多环芳烃为主,如茚并[1,2,3-cd]芘、苯并[g,h,i]芘、苯并[k]荧蒽等,而燃煤源则以萘、芴、菲、蒽等低环



*:表示分析后低环 PAHs 组分与精子 DNA 损伤参数的关联性具有统计学意义($P<0.05$);†:表示经过 Bonferroni 多重校正后仍具有统计学意义($P<0.05$)

图 2 大气细颗粒物中高环 PAHs 暴露与精子 DNA 损伤参数的混合效应模型

多环芳烃为主[13,19]。本研究通过对比 2013 年与 2014 年检测的大气颗粒物中 PAHs 质量浓度,发现 2013 年大气颗粒物中低环 PAHs 组分所占比例较大,而 2014 年大气颗粒物中高环 PAHs 的含量相对较高。重庆市在“十二五”期间,为了改善主城区的空气质量,规定在主城区禁止新建、改建、扩建以煤炭为燃料的工业项目,并将污染严重的工矿企业搬迁至环境容量能够接受的区县地区。此外,2013 年重庆汽车保有量为 191 万辆,而到了 2015 年汽车保有量已达 279 万辆。随着城市交通的快速发展,交通污染对城市大气环境的影响逐渐占主要地位,主城区大气污染逐渐由烟煤型污染转变为交通污染型污染[20]。与赵雪艳等[21]研究的重庆市大气颗粒物中 PAHs 的污染特征相一致,本研究结果表明 2013 年各个采样点的燃煤污染较重,而 2014 年各个采样点则以交通污染为主。

本课题组前期研究结果发现尿 OH-PAHs 代谢产物与精子 DNA 损伤增加有关,与其他学者研究结果一致,如 JENG 等[22]在 1 项职业流行病学研究中发现尿 1-OHPyr 与精子 DNA 损伤呈正相关,YANG 等[6]在前来武汉某医院生殖医学中心寻求生殖功能检查的育龄期男性研究中发现:尿 9-OHFlu 与精子 DNA 损伤和精子凋亡增加有关。然而,人群流行病学研究也有相反的报道。在对 PAHs 职业暴露人群的男性精液质量调查中发现 1-OHPyr 与精子 DNA 损伤和精子形态异常呈正相关,此外,PAHs 高暴露的工人出现少精症的比例较 PAHs 暴露程度低的男性显著升高[23]。目前在对 PAHs 致男(雄)性生殖健康危害的流行病学研究中,多为尿液中 OH-PAHs 代谢产物(内暴露)浓度与生殖参数的关联分析。有研究表明经尿液排泄的主要为低环小分子 PAHs(2-4 环)代谢物,高环大分子 PAHs(>4 环)的代谢产物主要通过粪便排出体外[24]。由于仪器和方法的灵敏度限制,在尿液中能检测出的

PAHs 代谢产物种类主要为低环 PAHs,如萘、芴、菲和芘类等代谢产物[25]。因此,测定尿液中各种 OH-PAHs 的浓度并不能完全代表人体 PAHs 各组分的暴露水平。

有研究表明吸入、进食和经皮肤吸收是 PAHs 主要的暴露途径,如香烟烟雾中含有多种多环芳烃及其烷基衍生物,包括致癌的苯并[a]芘和二苯并[a,1]芘[26],吸烟者体内的多环芳烃暴露量会显著高于不吸烟者;另外,食物经过烘烤、油炸等加工方式后,可在高温环境下产生 PAHs,成为饮食暴露 PAHs 的主要途径。本研究在问卷调查中除吸烟情况之外,还加入了饮酒、油炸和烧烤食物摄入等内容,调查结果显示:本研究中的大学生不吸烟者比例很高,2013 年和 2014 年分别有 74.6%和 72.6%的研究对象表示从不吸烟。2013 年有 47.2%的研究对象有饮酒的习惯,而 2014 年这个比例上升到了 74.3%。由于饮酒是较明确的精子质量损伤因素,在前期的初步分析中,我们将饮酒与不饮酒者分组进行了比较研究,结果未发现两组研究对象精子 DNA 损伤程度的不同(结果未显示)。此外,在课题组前期对大学生精液常规参数以及精子 DNA 损伤影响因素的研究中,也未发现饮酒与精子 DNA 损伤的关联性[10]。大学生人群与一般人群相比,虽然都有饮酒,但饮酒的频率和饮酒量较普通成年男性低,因此在本研究中未发现饮酒因素对精子 DNA 损伤的影响。

本研究发现:大气 $PM_{2.5}$ 中不同的低环 PAHs 组分和高环 PAHs 组分暴露水平与男性精子 DNA 损伤程度的关联不同,高环 PAHs 组分暴露可能导致精子 DNA 损伤增加。本研究中的大学生生殖健康队列人群,年龄一致,生活环境及生活方式相近,便于控制研究中的混杂因素对精子 DNA 损伤的影响。此外,两次调查均在相同季节进行,可以避免季节因素和气候、气象条件(如气温、相对湿度等)对精子 DNA 损伤及大气颗粒物中 PAHs 含量的影响。本研究为了弥补前期暴露评估的不足,试图通过外暴露检测评价 PAHs 暴露对生殖健康的影响,但从研究结果来看,采用 PAHs 外暴露浓度不能综合反映个体经多途径暴露的水平;此外,在关联分析中排除了年龄、禁欲天数、BMI、吸烟、饮酒、烧烤和油炸食物等混杂因素对精子质量的影响,但由于研究调整的混杂因素有限,可能还有一些重要的或未知的混杂因素没有考虑。最后,本研究基于一个年轻人群,其研究结果可能不适用于老年人或其他易感人群。因此,有必要开展进一步的人群调查,通过对多个时点、多个暴露途径同时测定低环 PAHs 和高环 PAHs 各个组分在体内外的暴露程度,以便更加全面、准确地评估 PAHs 的暴露水平,阐明大气 $PM_{2.5}$ 中 PAHs 暴露对男性生殖健康的危害。

参考文献:

[1] BANSAL V, KIM K H. Review of PAH contamination in food products and their health hazards[J]. Environ Int, 2015, 84: 26-38. DOI:10.1016/j.envint.2015.06.016.

[2] WISE S A, SANDER L C, SCHANTZ M M. Analytical methods for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a historical perspective on the 16 US EPA priority pollutant PAHs[J]. Polycycl Aromat Compd, 2015,35(2/3/4):187-247. DOI:10.1080/10406638.2014.970291.

[3] XIAO Y H, TONG F C, KUANG Y W, *et al*. Distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in forest soils from urban to rural areas in the Pearl River Delta of Southern China[J]. Int J Environ Res Public Heal, 2014, 11(3): 2642-2656. DOI: 10.3390/ijerph110302642.

[4] WANG C H, WU S H, ZHOU S L, *et al*. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from urban to rural areas in Nanjing: Concentration, source, spatial distribution, and potential human health risk[J]. Sci Total Environ, 2015, 527/528: 375-383. DOI:10.1016/j.scitotenv.2015.05.025.

[5] WANG L L, HU W Y, XIA Y K, *et al*. Associations between urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites and serum testosterone in US adult males: National Health and nutrition examination survey 2011-2012[J]. Environ Sci Pollut Res, 2017, 24(8): 7607-7616. DOI: 10.1007/s11356-017-8407-9.

[6] YANG P, WANG Y X, SUN L, *et al*. Urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons, sperm DNA damage and spermatozoa apoptosis[J]. J Hazard Mater, 2017, 329: 241-248. DOI:10.1016/j.jhazmat.2017.01.053.

[7] SAAD A A, HUSSEIN T, EL-SIKAILY A, *et al*. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons exposure on sperm DNA in idiopathic male infertility[J]. J Health Pollut, 2019, 9(21): 190309. DOI:10.5696/2156-9614-9.21.190309.

[8] HAN X, ZHOU N, CUI Z, *et al*. Association between urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites and sperm DNA damage: a population study in Chongqing, China[J]. Environ Health Perspect, 2011, 119(5): 652-657. DOI:10.1289/ehp.1002340.

[9] LING X, ZHANG G, SUN L, *et al*. Polycyclic aromatic hydrocarbons exposure decreased sperm mitochondrial DNA copy number: a cross-sectional study (MARHCS) in Chongqing, China[J]. Environ Pollut, 2017, 220(pt a): 680-687. DOI:10.1016/j.envpol.2016.10.026.

[10] 刘太秀,崔志鸿,曹佳. 重庆市大学生精液常规参数与精子 DNA 损伤的关联性分析[J]. 第三军医大学学报,

2016, 38(11): 1325-1330. DOI:10.16016/j.1000-5404.201603024.
LIU T X, CUI Z H, CAO J. Association analysis between routine semen parameters and sperm DNA damage in Chongqing college students[J]. J Third Mil Med Univ, 2016, 38(11): 1325-1330. DOI:10.16016/j.1000-5404.201603024.

[11] GAO Y, GUO X Y, JI H B, *et al*. Potential threat of heavy metals and PAHs in $PM_{2.5}$ in different urban functional areas of Beijing[J]. Atmos Res, 2016, 178/179: 6-16. DOI: 10.1016/j.atmosres.2016.03.015.

[12] SHEN H, HUANG Y, WANG R, *et al*. Global atmospheric emissions of polycyclic aromatic hydrocarbons from 1960 to 2008 and future predictions[J]. Environ Sci Technol, 2013, 47(12): 6415-6424. DOI:10.1021/es400857z.

[13] NGUYEN T N T, JUNG K S, SON J M, *et al*. Seasonal variation, phase distribution, and source identification of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons at a semi-rural site in Ulsan, South Korea[J]. Environ Pollut, 2018, 236: 529-539. DOI:10.1016/j.envpol.2018.01.080.

[14] KIM K H, JAHAN S A, KABIR E, *et al*. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) and their human health effects[J]. Environ Int, 2013, 60: 71-80. DOI:10.1016/j.envint.2013.07.019.

[15] WELLS P G, MCCALLUM G P, LAM K C H, *et al*. Oxidative DNA damage and repair in teratogenesis and neurodevelopmental deficits[J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2010, 90(2): 103-109. DOI:10.1002/bdrc.20177.

[16] VOGEL C F A, VAN WINKLE L S, ESSER C, *et al*. The aryl hydrocarbon receptor as a target of environmental stressors-Implications for pollution mediated stress and inflammatory responses[J]. Redox Biol, 2020, 34: 101530. DOI:10.1016/j.redox.2020.101530.

[17] YAN D, WU S, ZHOU S, *et al*. Characteristics, sources and health risk assessment of airborne particulate PAHs in Chinese cities: a review[J]. Environ Pollut, 2019, 248: 804-814. DOI:10.1016/j.envpol.2019.02.068.

[18] MEHMOOD T, ZHU T, AHMAD I, *et al*. Ambient $PM_{2.5}$ and PM_{10} bound PAHs in Islamabad, Pakistan: Concentration, source and health risk assessment[J]. Chemosphere, 2020, 257: 127187. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.127187.

[19] 陈瑞, 李拥军, 杨海霞, 等. 2018 年兰州社区大气细颗粒物中多环芳烃的污染特征及健康风险评价[J]. 卫生研究, 2019, 48(6): 957-963. DOI: 10.19813/j.cnki.weishengyanjiu.2019.06.016.
CHEN R, LI Y J, YANG H X, *et al*. Pollution characteristics and health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric fine particles in Lanzhou community in 2018[J]. J Hyg Res, 2019, 48(6): 957-963. DOI:10.19813/j.cnki.weishengyanjiu.2019.06.016.

[20] 刘正实, 吴小华, 李小红, 等. 渝北区环境空气质量现状及污染原因分析[J]. 地球与环境, 2016, 44(2): 225-230.
LIU Z S, WU X H, LI X H, *et al*. Analysis of environmental air quality and pollution causes in Yubei District[J]. Earth Environ, 2016, 44(2): 225-230. DOI: 10.14050/j.cnki.1672-9250.2016.02.012.

[21] 赵雪艳, 任丽红, 姬亚芹, 等. 重庆主城区春季大气 PM_{10} 及 $PM_{2.5}$ 中多环芳烃来源解析[J]. 环境科学研究, 2014, 27(12): 1395-1402.
ZHAO X Y, REN L H, JI Y Q, *et al*. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in PM_{10} and $PM_{2.5}$ in spring in Chongqing[J]. Res Environ Sci, 2014, 27(12): 1395-1402.

[22] JENG H A, PAN C H, CHAO M R. 1-Hydroxypyrene as a biomarker for assessing the effects of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons on semen quality and sperm DNA integrity[J]. J Environ Sci Heal Part A, 2013, 48(2): 152-158. DOI:10.1080/03601234.2012.716741.

[23] HSU P C, CHEN I Y, PAN C H, *et al*. Sperm DNA damage correlates with polycyclic aromatic hydrocarbons biomarker in coke-oven workers[J]. Int Arch Occup Environ Health, 2006, 79(5): 349-356. DOI:10.1007/s00420-005-0066-3.

[24] 付慧, 胡小键, 陈曦, 等. 超高效液相色谱-三重四极杆质谱法同时检测人尿中 12 种单羟基多环芳烃代谢物[J]. 色谱, 2018, 36(5): 487-492. DOI:10.3724/SP.J.1123.2017.12029.
FU H, HU X J, CHEN X, *et al*. Simultaneous determination of 12 monohydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in human urine by ultraperformance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(5): 487-492. DOI:10.3724/SP.J.1123.2017.12029.

[25] 宋喜丽, 胡小键, 林少彬. 人尿中羟基多环芳烃分析方法的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2017, 34(6): 555-560.
SONG X L, HU X J, LIN S B. Analytical methods of hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine: a review of recent studies[J]. J Environ Heal, 2017, 34(6): 555-560.

[26] GAO B, DU X Q, WANG X M, *et al*. Parent, alkylated, and sulfur/oxygen-containing polycyclic aromatic hydrocarbons in mainstream smoke from 13 brands of Chinese cigarettes[J]. Environ Sci Technol, 2015, 49(15): 9012-9019. DOI: 10.1021/acs.est.5b01108.

(**收稿**:2020-09-24;**修回**:2020-10-09)
(编辑 张 维)