原创精选
Selected article

新烟碱类杀虫剂暴露对美国儿童青少年性激素水平的影响

余晋霞[1]，吕铖[1]，汪子夏[1]，田英[1,2]，高宇[1]

1. 上海交通大学医学院公共卫生学院环境与健康系，上海 200025
2. 上海交通大学医学院附属新华医院环境与儿童健康重点实验室，上海 200092

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.20482

摘要：

[背景] 新烟碱类杀虫剂是一类被广泛应用的新型杀虫剂。现有研究表明该类杀虫剂具有内分泌干扰效应，可影响性激素稳态，但有关儿童青少年的流行病学研究较少。

[目的] 评估儿童青少年新烟碱类杀虫剂的暴露水平及其与性激素水平的相关性。

[方法] 本研究基于美国国家健康与营养调查（NHANES）的公开数据（2015—2016年），选取6~20岁儿童青少年中同时具有基本特征信息、6种新烟碱类杀虫剂［包括吡虫啉（IMI）、啶虫脒（ACE）、噻虫啉（THD）、噻虫胺（CLO）、N-去甲基啶虫脒（N-DMA）、5-羟基吡虫啉（5-OH-IMI）］、3种性激素［包括雌二醇（E2）、睾酮（T）及性激素结合蛋白（SHBG）］数据的人群（n=599）。采用高效液相色谱质谱串联法检测尿中新烟碱类杀虫剂浓度，液相色谱质谱串联法检测血清T和E2水平，电化学发光免疫法检测血清SHBG浓度。由于仅N-DMA检出率较高，故研究对象按N-DMA水平log10对数值分成3组（Q1~Q3），采用广义线性模型分析儿童青少年N-DMA暴露对性激素的影响，并分析性别修饰效应。

[结果] 6种新烟碱类杀虫剂检出率［N-DMA（40.7%）、5-OH-IMI（17.9%）、CLO（7.7%）、IMI（4.3%）、ACE（0.5%）、THD（0.3%）］均低于50%。N-DMA质量浓度仅P_{75}（0.39 μg·L^{-1}）和P_{95}（1.15 μg·L^{-1}）高于其检出限（0.2 μg·L^{-1}）；5-OH-IMI质量浓度仅P_{95}（1.10 μg·L^{-1}）高于其检出限（0.4 μg·L^{-1}）；CLO质量浓度仅P_{95}（0.40 μg·L^{-1}）高于其检出限（0.2 μg·L^{-1}）；IMI、ACE和THD四分位数均低于检出限（0.4 μg·L^{-1}、0.3 μg·L^{-1}、0.03 μg·L^{-1}）。N-DMA、5-OH-IMI和CLO检出浓度存在季节性差异，夏秋季高于冬春季（P＜0.05）。广义线性模型显示，以Q1组为参照，N-DMA在Q3组中与血清T呈负相关（b=–0.12，95% CI：–0.22~–0.02），在Q2和Q3组中与血清SHBG均呈正相关（b=0.05，95% CI：0~0.09；b=0.08，95% CI：0.04~0.13），且均存在剂量-反应关系（$P_{趋势}$=0.023、＜0.001）。性别分层后，N-DMA在男性Q3组中与血清T呈负相关（b=–0.15，95% CI：–0.29~0）、与血清E2呈负相关（b=–0.07，95% CI：–0.13~0），且均存在剂量-反应关系（$P_{趋势}$=0.042、0.032）。N-DMA在男性Q2和Q3组中与血清SHBG均呈正相关（b=0.06，95% CI：0.01~0.11；b=0.07，95% CI：0.02~0.13），且存在剂量-反应关系（$P_{趋势}$=0.010）。在女性中未观察到这些关联。

[结论] 美国儿童青少年新烟碱类杀虫剂暴露水平较低，其中代谢物检出率高于原物。ACE代谢物N-DMA暴露与儿童青少年血清T下降、SHBG水平上升有关，且存在性别差异，提示新烟碱类杀虫剂暴露可能影响儿童青少年体内的性激素水平。

关键词：新烟碱类杀虫剂；N-去甲基啶虫脒；美国国家健康和营养调查；儿童青少年；性激素；内分泌干扰

Exposure to neonicotinoid insecticides in relation to serum sex hormones among American children and adolescents YU Jinxia[1], LYU Cheng[1], WANG Zixia[1], TIAN Ying[1,2], GAO Yu[1] (1.Department of Environmental Health, Shanghai Jiao Tong University School of Public Health, Shanghai 200025, China; 2.MOE and Shanghai Key Laboratory of Children's Environmental Health, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China)

Abstract:

[Background] As a new class of insecticides, neonicotinoid insecticides are widely used around the world. Recent studies have found that neonicotinoid insecticides have endocrine disrupting effects which can affect the homeostasis of sex hormones, but there are few epidemiological

基金项目
国家自然科学基金（41991314）；上海市公共卫生体系建设三年行动计划（2020—2022年）；优青计划（GWV-10.2-YQ20）；上海市公共卫生体系建设三年行动计划（2020—2022年）；重点学科计划（GWV-10.1-XK11）

作者简介
余晋霞（1995—），女，硕士生；
E-mail：1240330214@sjtu.edu.cn

通信作者
高宇，E-mail：gaoyu_ciel@sjtu.edu.cn

伦理审批 已获取
利益冲突 无申报
收稿日期 2020-10-16
录用日期 2021-01-15

文章编号 2095-9982(2021)03-0223-09
中图分类号 R13
文献标志码 A

▸引用
余晋霞，吕铖，汪子夏，等. 新烟碱类杀虫剂暴露对美国儿童青少年性激素水平的影响[J]. 环境与职业医学，2021，38（3）：223-230，237.

▸本文链接
www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20482

Funding
This study was funded.

Correspondence to
GAO Yu, E-mail: gaoyu_ciel@sjtu.edu.cn

Ethics approval Obtained
Competing interests None declared
Received 2020-10-16
Accepted 2021-01-15

▸To cite
YU Jinxia, LYU Cheng, WANG Zixia, et al. Exposure to neonicotinoid insecticides in relation to serum sex hormones among American children and adolescents[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(3): 223-230, 237.

▸Link to this article
www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20482

studies on children and adolescents.

[Objective] This study is conducted to explore the associations between neonicotinoid insecticides exposure and serum sex hormones among children and adolescents.

[Methods] This study was based on the public online data of the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) (2015-2016). A total of 599 children and adolescents at 6-20 years of age were finally enrolled, who had basic characteristic information and test data of six neonicotinoid insecticides [imidacloprid (IMI), acetamiprid (ACE), thiacloprid (THD), clothiandin (CLO), N-desmethyl-acetamiprid (N-DMA), and 5-hydroxy imidacloprid (5-OH-IMI)] and three sex hormones [estradiol (E2), testosterone (T), and sex hormone binding globulin (SHBG)]. Urine neonicotinoid pesticides were measured using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Serum T and E2 were detected using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Serum SHBG was tested using electrochemiluminescence immunoassay. Except a high detection rate of N-DMA, the detection rates of other neonicotinoid insecticides were low. Therefore, the study subjects were divided into three groups (Q1-Q3) according to the logarithmic value of N-DMA level. Generalized linear model was used to analyze the association between N-DMA exposure and sex hormones in all participants and different genders.

[Results] The detection rates of the 6 neonicotinoid insecticides [N-DMA (40.7%), 5-OH-IMI (17.9%), CLO (7.7%), IMI (4.3%), ACE (0.5%), and THD (0.3%)] were all lower than 50%. Only the P_{75} (0.39 μg·L^{-1}) and P_{95} (1.15 μg·L^{-1}) of N-DMA concentration were higher than its detection limit (0.2 μg·L^{-1}); only the P_{95} (1.1 μg·L^{-1}) of 5-OH-IMI concentration was higher than its detection limit (0.4 μg·L^{-1}); only the P_{95} (0.4 μg·L^{-1}) of CLO concentration was higher than its detection limit (0.2 μg·L^{-1}); the IMI, ACE, and THD quartiles were all lower than their detection limits (0.4 μg·L^{-1}, 0.3 μg·L^{-1}, and 0.03 μg·L^{-1} respectively). There were seasonal differences in the concentrations of N-DMA, 5-OH-IMI, and CLO, namely higher in summer and autumn than in winter and spring ($P<0.05$). The generalized linear model results showed that the N-DMA was negatively correlated with serum T (b=–0.12, 95% CI: –0.22-–0.02) in the Q3 group, while positively correlated with serum SHBG (b=0.05, 95% CI: 0-0.09; b=0.08, 95% CI: 0.04-0.13) in the Q2 and Q3 groups when taking the Q1 group as reference, and these two associations both had a dose-response trend (P_{trend}=0.023 and <0.001). After gender stratification, the N-DMA in the Q3 group was negatively correlated with boys' serum T (b=–0.15, 95% CI: –0.29-0) and serum E2 (b=–0.07, 95% CI: –0.13-0), and both had a dose-response trend (P_{trend}=0.042 and 0.032). The N-DMA in the Q2 and Q3 groups was positively correlated with boys' serum SHBG (b=0.06, 95% CI: 0.01-0.11; b=0.07, 95% CI: 0.02-0.13), and there was a dose-response trend (P_{trend}=0.010). However, none of these associations were observed in girls.

[Conclusion] The exposure level of neonicotinoid insecticides in American children and adolescents is relatively low, and the detection rates of metabolites are higher than those of the parents. Exposure to N-DMA, a metabolite of ACE, may be related to the decrease in T levels and the increase in SHBG levels in children and adolescents. Moreover, there are gender differences. These findings indicate that exposure to neonicotinoid insecticides may affect the levels of sex hormones in children and adolescents.

Keywords: neonicotinoid insecticides; N-desmethyl-acetamiprid; National Health and Nutrition Examination Survey; children and adolescents; sex hormone; endocrine disruption

新烟碱类杀虫剂是在烟碱结构基础上开发出来的一类新型杀虫剂，用于农业[1]、园林业[2]以及畜牧业[3]的害虫防治。因其具有高效性、广谱性且对哺乳动物低毒等优点，新烟碱类杀虫剂迅速在世界各地区被广泛使用[4]，主要使用地区覆盖亚洲、北美洲、拉丁美洲和欧洲，其中北美洲使用量占75%[5]。全球新烟碱类杀虫剂年销售额超过35亿美元，2014年新烟碱类杀虫剂占全球杀虫剂市场的25%[6]，是传统杀虫剂有机磷和拟除虫菊酯杀虫剂等的优良替代品[7]。人们可通过食物、灰尘、花粉和土壤等多途径接触新烟碱类杀虫剂，其中食物摄入是主要暴露途径[8]。1999—2015年美国食物和水中新烟碱类杀虫剂水平呈现增加趋势[9]。2016年美国农业部数据显示水果和蔬菜中残留大量新烟碱类杀虫剂[10]。除了环境介质和食物，一般人群的尿液和头发中也检出新烟碱类杀虫剂，尿液是其最普遍检出的生物样本[11-12]。一项横断面研究[13]发现1994—2011年日本95名45~75岁成年女性尿中新烟碱类杀虫剂水平逐年增加，Li等[14]在19名美国成人尿中也检出了7种新烟碱类杀虫剂。目前世界各国已对该类杀虫剂制订最大农残限值，然而因个体对其可接受水平的差异性，可能使部分易感人群因暴露于较高浓度的该类杀虫剂而存在一定的健康风险[15]。

虽然新烟碱类杀虫剂对哺乳动物的毒性较低[16]，但有研究表明该类杀虫剂暴露对其血清性激素及生殖内分泌功能存在干扰作用[17-18]。Bal等[19-20]使用0.5、2、8 mg·kg^{-1}新烟碱类杀虫剂吡虫啉（imidacloprid，IMI）灌胃染毒未成年雄性大鼠和成年雄性大鼠，发现在2、8 mg·kg^{-1}组中，血清睾酮（testosterone，T）水平下降，精子活力下降，精子畸形率增加以及精原细胞DNA断裂等。Abdel-Rahman Mohamed等[21]发现每天1 mg·kg^{-1}（以体重计）的IMI暴露组小鼠3β类固醇脱氢酶的mRNA表达水平降低，其附睾精子数量减少以及血清T水平降低。一项细胞实验结果表明，低浓度（0.1~1.0 μmol·L^{-1}）新烟碱类杀虫剂噻虫嗪

（thiamethoxam，THM）和噻虫啉（thiacloprid，THD）暴露可增强H295R人肾上腺皮质癌细胞中CYP19芳香酶和CYP3A7甾体16a-羟化酶活性，致其雌二醇（estradiol，E2）、雌酮（estrone，E1）、雌三醇（estriol，E3）等性激素失衡[22-23]。然而，目前尚未见新烟碱类杀虫剂暴露对性激素影响的人群研究报道。性激素水平对儿童青少年生长发育和第二性征的成熟发挥至关重要的作用[24]。因此，儿童青少年新烟碱类杀虫剂暴露水平及其对性激素的影响值得关注。本研究基于2015—2016年美国国家健康与营养调查（National Health and Nutrition Examination Survey，NHANES）数据，评价儿童青少年新烟碱类杀虫剂暴露水平及其对性激素的影响。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究利用NHANES的公开数据。NHANES是一项横断面调查，收集全美国有关非军事人口居民的健康和营养状况代表性数据[25-26]。本研究分析了2015—2016年NHANES数据，纳入标准为同时具有尿液新烟碱类杀虫剂、T、E2及性激素结合蛋白（sex hormone binding globulin，SHBG）检测数据的6~20岁儿童青少年。所有成年参与者均已签署知情同意书；NHANES已通过美国国家卫生统计中心伦理审查委员会的批准。

1.2 尿中肌酐和新烟碱类杀虫剂浓度

人群尿样经处理、存储并运送到美国疾病预防控制中心进行分析。NHANES采用酶法测定尿肌酐浓度，采用高效液相色谱法测定了尿中6种新烟碱类杀虫剂［包括IMI、THD、啶虫脒（acetamiprid，ACE）、噻虫胺（clothiandin，CLO）、5-羟基吡虫啉（5-hydroxy imidacloprid，5-OH-IMI）、N-去甲基啶虫脒（n-desmethyl-acetamiprid，N-DMA）］质量浓度（简称浓度），质控回收率为91.2%~116%[27-29]。IMI、ACE、CLO、THD、5-OH-IMI和N-DMA检出限（limit of detection，LOD）分别为0.4、0.3、0.2、0.03、0.4和0.2 μg·L^{-1}。低于LOD的检测值使用LOD/$\sqrt{2}$替换。

1.3 血清性激素浓度

NHANES项目测定了血清中3种性激素水平，包括T、E2和SHBG。采用同位素稀释液相色谱质谱串联法测量血清T和E2总量[30]。采用电化学发光免疫法测定血清SHBG总量[30]。血清T、E2和SHBG的检出限分别为0.75 μg·L^{-1}、2.994 ng·L^{-1}和0.800 nmol·L^{-1}。

1.4 统计学分析

采用SPSS 19.0进行合并及分析数据。连续变量用均数±标准差进行描述，并进行t检验；分类变量用构成比或率表示，并采用χ^2检验。研究对象新烟碱类杀虫剂浓度为偏态分布，用四分位数（P_{25}、P_{50}、P_{75}、P_{95}）描述其分布特征，并进行肌酐校正。除N-DMA检出率较高外（40.7%），其余杀虫剂检出率均较低（0.3%~17.9%），故本研究仅分析N-DMA对儿童青少年性激素的影响。N-DMA和性激素浓度均为偏态分布，故先经对数（log10）转化后再进行后续分析。将研究对象分为三组（Q1~Q3），即N-DMA浓度值低于或等于LOD分为Q1组，高于LOD者由低到高均分为Q2和Q3组。采用广义线性模型分析不同N-DMA水平对儿童青少年性激素的影响，并检验是否存在剂量-反应关系，并进一步研究N-DMA对不同性别儿童青少年性激素的影响。依据既往研究[4]选取儿童青少年的年龄、性别、种族、年龄别体重指数（body mass index，BMI）、贫困指数比（poverty index ratio，PIR）和出生国作为混杂因素纳入模型。考虑其他因素可能会干扰儿童青少年N-DMA暴露对性激素的影响，进一步对样本采集时间、研究对象年龄以及女性月经初潮进行敏感性分析。检验水准α=0.05（双侧）。

2 结果

2.1 基本特征

本研究共分析NHANES中1 839例6~20岁儿童青少年，剔除1 240例新烟碱类杀虫剂数据缺失者，最终599例纳入本研究。敏感性分析显示仅PIR在纳入与未纳入组间差异具有统计学意义（P<0.001），其余变量差异均无统计学意义（P>0.05）。

599例研究对象中，151例（46.0%）男性和134例（49.4%）女性年龄范围为6~11岁，177例（54.0%）男性和137例（50.6%）女性年龄范围为12~20岁。对数转化后的男性和女性血清T浓度为（16.80±10.10）和（10.90±4.60）ng·L^{-1}，E2浓度为（0.83±0.49）和（1.25± 0.72）ng·L^{-1}，SHBG浓度为（1.71±0.32）和（1.78± 0.26）nmol·L^{-1}。其他特征详见表1。

2.2 尿中新烟碱类杀虫剂浓度及季节性差异

6种新烟碱类杀虫剂检出率［N-DMA（40.7%）、5-OH-IMI（17.9%）、CLO（7.7%）、IMI（4.3%）、ACE（0.5%）、THD（0.3%）］均低于50%。N-DMA浓度仅P_{75}（0.39 μg·L^{-1}）和P_{95}（1.15 μg·L^{-1}）高于其检出限（0.2 μg·L^{-1}）；5-OH-IMI

表 1 2015—2016 NHANES 中 6~20 岁儿童青少年的基本特征和性激素水平 [n (%) 或 $\bar{x}\pm s$]
Table 1 Basic characteristics and sex hormone levels of children and adolescents aged 6-20 years in NHANES 2015-2016 [n (%) or $\bar{x}\pm s$]

变量 Variable	美国国家健康与营养调查数据 All data of NHANES (n=1839)		新烟碱类杀虫剂数据 Neonicotinoid insecticides data set (n=599)		t/χ^2	P
	男性 (Male) (n=941)	女性 (Female) (n=898)	男性 (Male) (n=328)	女性 (Female) (n=271)		
年龄 / 岁 (Age/years)					1.400	0.237
6~11	418 (44.4)	406 (45.2)	151 (46.0)	134 (49.4)		
12~20	523 (55.6)	492 (54.8)	177 (54.0)	137 (50.6)		
种族 (Race)					3.867	0.276
非西班牙裔白 (Non-Hispanic White)	270 (28.7)	241 (26.8)	90 (27.4)	76 (28.1)		
墨西哥裔美国人 (Mexican American)	210 (22.3)	220 (24.5)	89 (27.1)	70 (25.8)		
非西班牙裔黑 (Non-Hispanic Black)	195 (20.7)	169 (18.8)	66 (20.1)	55 (20.3)		
其他 (Other)	266 (28.3)	268 (29.8)	83 (25.3)	70 (25.8)		
出生国 (Country of birth)					1.115	0.291
美国 50 个州 / 华盛顿特区 (50 U.S. states/Washington DC)	862 (91.6)	816 (90.9)	294 (89.6)	244 (90.0)		
其他 (Other)	79 (8.4)	82 (9.1)	34 (10.4)	27 (10.0)		
年龄别 BMI (BMI-for-age) *					0.073	0.995
过轻体重 (Underweight)	22 (2.3)	13 (1.4)	8 (2.4)	3 (1.1)		
正常体重 (Normal weight)	530 (56.3)	485 (54.0)	189 (57.6)	139 (51.3)		
超重 (Overweight)	150 (15.9)	192 (21.4)	53 (16.2)	61 (22.5)		
肥胖 (Obese)	239 (25.4)	208 (23.2)	78 (23.8)	68 (25.1)		
贫困指数比 (Poverty index ratio)					13.941	**<0.001**
贫困线以下 (Below poverty level) (<1.85)	530 (56.3)	515 (57.3)	157 (47.9)	131 (48.3)		
贫困线以上 (Above poverty level) (1.85~5)	411 (43.7)	383 (42.7)	171 (52.1)	140 (51.7)		
样本采集时间 (Time of sample collection) **					0.007	0.935
冬春季 (Winter and spring)	481 (51.1)	418 (46.5)	168 (51.2)	124 (45.8)		
夏秋季 (Summer and autumn)	460 (48.9)	480 (53.5)	160 (48.8)	147 (54.2)		
睾酮质量浓度 (Testosterone levels) / (ng·L^{-1}) ***	16.80±10.30	10.80±4.50	16.80±10.10	10.90±4.60	0.647	0.518
雌二醇质量浓度 (Estradiol levels) / (ng·L^{-1}) ***	0.84±0.49	1.27±0.71	0.83±0.49	1.25±0.72	0.967	0.334
性激素结合蛋白浓度 (SHBG levels) / (nmol·L^{-1}) ***	1.71±0.32	1.79±0.28	1.71±0.32	1.78±0.26	0.328	0.743

[注] *：NHANES 根据美国疾病预防控制中心的特定性别生长图将参与者分为过轻体重 (≤P_5)、正常体重 (>P_5~P_{85})、超重 (>P_{85}~P_{95}) 和肥胖 (>P_{95})。**：冬春季 (11 月 1 日—4 月 30 日)，夏秋季 (5 月 1 日—10 月 31 日)。***：血清睾酮、雌二醇和性激素结合蛋白浓度经 log 转换。

[Note] *: According to the gender-specific growth chart of CDC in NHANES, the participants are classified as underweight (≤ P_5), normal weight (>P_5-P_{85}), overweight (>P_{85}-P_{95}), and obese (>P_{95}). **: Winter and spring (November 1 to April 30), summer and autumn (May 1 to October 31). ***: Log transformation of serum testosterone, estradiol, and SHBG levels.

浓度仅 P_{95} (1.10 μg·L^{-1}) 高于其检出限 (0.4 μg·L^{-1})；CLO 浓度仅 P_{95} (0.40 μg·L^{-1}) 高于其检出限 (0.2 μg·L^{-1})；MI、ACE 和 THD 浓度四分位数均低于检出限 (0.4、0.3、0.03 μg·L^{-1})。见表 2。鉴于 IMI、ACE、THD 检出率不高，故肌酐校正后只对其余杀虫剂进行季节性差异分析，结果发现 P_{95} 数值夏秋季均高于冬春季 [N-DMA (1.85 μg·g^{-1} vs 1.33 μg·g^{-1})、5-OH-IMI (1.81 μg·g^{-1} vs 1.66 μg·g^{-1})、CLO (0.81 μg·g^{-1} vs 0.59 μg·g^{-1})] (P<0.05)。

2.3 N-DMA 水平与儿童青少年性激素水平的相关性

调整混杂因素后，以 Q1 组为参照，N-DMA 在 Q3 组中与血清 T 呈负相关 (b=–0.12，95% CI：–0.22~–0.02)，在 Q2 和 Q3 组中与血清 SHBG 均呈正相关 (b=0.05，95% CI：0~0.09；b=0.08，95% CI：0.04~0.13)，且均存在剂量 - 反应关系 ($P_{趋势}$=0.023、<0.001)。见表 3。

2.4 N-DMA 水平与不同性别儿童青少年性激素水平的相关性

性别分层后，N-DMA 在男性 Q3 组中与血清 T 呈负相关 (b=–0.15，95% CI：–0.29~0)，与血清 E2 呈负相关 (b=–0.07，95% CI：–0.13~0)，且均存在剂量 - 反应关系 ($P_{趋势}$=0.042、0.032)。N-DMA 在男性 Q2 和 Q3 组中与血清 SHBG 均呈正相关 (b=0.06，95% CI：0.01~0.11；b=0.07，95% CI：0.02~0.13)，且存在剂量 - 反应关系 ($P_{趋势}$=0.010)。在女性中未观察到这些关联。见表 4。

表2 2015—2016年NHANES中6~20岁儿童青少年尿中新烟碱类杀虫剂浓度（n=599）

Table 2 Urinary concentrations of neonicotinoid insecticides in children and adolescents aged 6-20 years in NHANES 2015–2016 (n=599)

新烟碱类杀虫剂 Neonicotinoid insecticides	检出数（检出率/%） N (Detection rate/%)	未经肌酐校正值/（μg·L^{-1}） Crude concentration/（μg·L^{-1}）				肌酐校正值/（μg·g^{-1}） Creatinine adjusted concentration/（μg·g^{-1}）			
		P_{25}	P_{50}	P_{75}	P_{95}	P_{25}	P_{50}	P_{75}	P_{95}
吡虫啉（IMI）	26 (4.3)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
啶虫脒（ACE）	3 (0.5)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
噻虫胺（CLO）	46 (7.7)	<LOD	<LOD	<LOD	0.40	<LOD	<LOD	<LOD	0.67
噻虫啉（THD）	2 (0.3)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
5-羟基吡虫啉（5-OH-IMI）	107 (17.9)	<LOD	<LOD	<LOD	1.10	<LOD	<LOD	<LOD	1.75
N-去甲基啶虫脒（N-DMA）	244 (40.7)	<LOD	<LOD	0.39	1.15	<LOD	<LOD	0.48	1.62

[注] <LOD为低于检出限，IMI、ACE、CLO、THD、5-OH-IMI和N-DMA检出限分别为0.4、0.3、0.2、0.03、0.4和0.2 μg·L^{-1}。

[Note] <LOD is below the limit of detection, and the limits of detection of IMI, ACE, CLO, THD, 5-OH-IMI, and N-DMA are 0.4, 0.3, 0.2, 0.03, 0.4, and 0.2 μg·L^{-1} respectively.

表3 2015—2016年NHANES中6~20岁儿童青少年尿N-去甲基啶虫脒与性激素的相关性

Table 3 The association between the urinary N-desmethyl-acetamiprid and sex hormones in children and adolescents aged 6-20 years in NHANES 2015–2016

N-去甲基啶虫脒分组 Tertiles of N-DMA	n	睾酮（T）		雌二醇（E2）		性激素结合蛋白（SHBG）	
		b (95% CI)	P	b (95% CI)	P	b (95% CI)	P
Q1（<LOD）	355	—		—		—	
Q2（LOD~<0.47 μg·L^{-1}）	122	−0.09（−0.19~0.01）	0.064	−0.04（−0.12~0.03）	0.265	0.05（0~0.09）	**0.032**
Q3（⩾0.47 μg·L^{-1}）	122	−0.12（−0.22~−0.02）	**0.022**	−0.05（−0.13~0.03）	0.238	0.08（0.04~0.13）	**<0.001**
$P_{趋势}$（P_{trend}）			**0.023**		0.243		**<0.001**

[注] 校正的协变量有年龄、性别、种族、年龄别BMI、PIR和出生国。

[Note] Covariates including age, sex, race, BMI-for-age, PIR, and country of birth are adjusted.

表4 2015—2016年NHANES中6~20岁儿童青少年的尿N-去甲基啶虫脒与性激素的相关性（性别分层）

Table 4 The association between the urinary N-desmethyl-acetamiprid and sex hormones in children and adolescents aged 6-20 years in NHANES 2015–2016 (gender stratification)

性别 Gender	N-去甲基啶虫脒 N-DMA	n	睾酮（T）		雌二醇（E2）		性激素结合蛋白（SHBG）	
			b (95% CI)	P	b (95% CI)	P	b (95% CI)	P
男性（Male）	Q1（<LOD）	206	—		—		—	
	Q2（LOD~<0.41 μg·L^{-1}）	61	−0.11（−0.24，0.02）	0.099	−0.04（−0.11，0.03）	0.269	0.06（0.01，0.11）	**0.028**
	Q3（⩾0.41 μg·L^{-1}）	61	−0.15（−0.29，0）	**0.048**	−0.07（−0.13，0）	**0.047**	0.07（0.02，0.13）	**0.012**
	$P_{趋势}$（P_{trend}）			**0.042**		**0.032**		**0.010**
女性（Female）	Q1（<LOD）	149	—		—		—	
	Q2（LOD~<0.55 μg·L^{-1}）	61	−0.02（−0.10，0.07）	0.726	−0.03（−0.18，0.12）	0.681	0.01（−0.05，0.08）	0.699
	Q3（⩾0.55 μg·L^{-1}）	61	−0.03（−0.11，0.06）	0.543	−0.08（−0.23，0.07）	0.268	0.06（−0.00，0.12）	0.067
	$P_{趋势}$（P_{trend}）			0.545		0.254		0.063

[注] 校正的协变量有年龄、种族、年龄别BMI、PIR和出生国。

[Note] Covariates including age, race, BMI-for age, PIR, and country of birth are adjusted.

2.5 敏感性分析

进一步对样本采集时间、研究对象年龄以及女性月经初潮进行敏感性分析后发现，儿童青少年尿N-DMA与血清性激素之间的关联结果均无明显改变（补充材料：http://www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20482）。

3 讨论

本研究基于2015—2016年美国NHANES，分析6~20岁儿童青少年6种新烟碱类杀虫剂暴露情况，发现除N-DMA检出率较高（40.7%）外，其他新烟碱类杀虫剂检出率均较低（0.3%~17.9%）；2种代谢物（N-DMA和5-OH-IMI）的检出率高于4种新烟碱原物（CLO、IMI、ACE和THD）；新烟碱类杀虫剂检出浓度存在季节性差异。此外，本研究评估了检出率最高的N-DMA对儿童青少年性激素的影响，发现N-DMA暴露可能与儿童青少年血清T水平下降、SHBG水平上升有相关性，且存在性别差异。

本研究发现6种新烟碱类杀虫剂检出率均低于50%，这与其他研究检出率相似。Ospina等[4]分析2015—2016年美国3岁以上人群6种新烟碱杀虫剂暴露状况，其中N-DMA、5-OH-IMI、IMI、CLO、ACE和THD检出率分别为35%、19.7%、4.3%、7.7%、<0.5%和<0.5%。此外，Osaka等[31]在日本爱知县223名3岁儿童尿液中检出7种新烟碱类杀虫剂，其中IMI、ACE、CLO和THD检出率分别为15.2%、12.1%、8.1%和0%。Zhang等[32]在中国13个城市324名1~97岁志愿者尿中检出6种新烟碱类杀虫剂，其中IMI、ACE、CLO、THD检出率（97%、96%、99%、92%）均高于本研究（4.3%、0.5%、7.7%、0.3%），其原因可能与所用分析仪器不同有关（超高效液相串联质谱法，CLO、IMI、ACE、THD的检出限分别为0.002、0.006、0.000 7和0.000 2 μg·L^{-1}）。Kabata等[33]检测了来自斯里兰卡北部地区普通健康农民的40份尿样，其结果表明N-DMA的P_{75}和P_{95}数值分别为0.47 μg·L^{-1}和1.5 μg·L^{-1}。另一项研究[14]显示美国纽约515份普通成人志愿者尿N-DMA的P_{75}和P_{95}数值分别为0.61 μg·L^{-1}和1.77 μg·L^{-1}。本研究检出N-DMA的P_{75}和P_{95}数值分别为0.39 μg·L^{-1}和1.15 μg·L^{-1}，均低于上述两项研究报道的N-DMA水平，这可能与暴露人群的地域、年龄和职业存在差异性有关[34]。本研究发现代谢物N-DMA检出率最高，这可能与母体化合物ACE在美国农业中广泛使用有关[35]。此外，新烟碱类杀虫剂在人体内的半衰期较短，大部ACE代谢转化为N-DMA[36]，提示尿N-DMA浓度是评价ACE暴露的一项良好的生物监测指标。本研究观察到新烟碱类杀虫剂检出浓度存在季节性差异，夏秋季高于冬春季，这可能与该类杀虫剂的使用条件以及人群的饮食习惯有关[31, 37]。

本研究发现N-DMA暴露与儿童青少年T水平呈负相关，但与SHBG水平呈正相关，且存在剂量–反应关系。T是雄激素的主要成分，低浓度T与性腺功能减退、染色体畸变（如克氏综合征）和肝硬化有关[38]。E2是活性最高的雌激素，低浓度E2与卵巢肿瘤、睾丸肿瘤和下丘脑肿瘤有关[39]。SHBG是一种由肝脏产生的糖蛋白，主要生理功能为特异性结合并转运性激素，从而调控血液中具有生物活性的性激素浓度，临床用于多毛症、多囊卵巢综合征、肥胖和甲状腺疾病诊断[40]，血清T水平降低会导致SHBG水平升高[41]。本研究的确也发现了N-DMA与血清T的负相关关系具有统计学意义。一项基于小鼠饮水染毒的实验[42]显示，每天给予每只小鼠2.6和21.4 mg的ACE，180 d后其T的合成和代谢相关基因（*LHR*、*StAR*、*CYP11A1*、*CYP17A1*和*HSD17B1*）的表达均减少，这可能是N-DMA暴露引起SHBG水平升高的原因之一。此外，研究显示新烟碱类杀虫剂暴露会引起甲状腺功能紊乱[43]，而甲状腺激素分泌增加又可促进SHBG合成[44]，这也可能是N-DMA暴露引起SHBG水平升高的原因之一。本研究仅在男性中发现N-DMA暴露与T和E2水平下降、SHBG水平上升的关联性。虽然暂无相关的人群研究报道，但一项动物实验显示[45]，10、30 mg·kg^{-1}的ACE连续5周灌胃染毒成年雄性小鼠，其血清T水平下降，与本研究结果有相似性。这项实验研究表明血清T水平下降是由于ACE抑制了类固醇生成酶的关键基因（*CYP11A1*、*StAR*和*HSD3B*）表达。Zhang等[46]发现30 mg·kg^{-1}的ACE连续36 d灌胃染毒成年雄性小鼠，其体内T水平下降，这可能是由于ACE增加了氧化应激水平（丙二醛水平增加，谷胱甘肽过氧化物酶活性降低和超氧化物歧化酶活性降低）。另一项关于IMI的研究也发现了类似结果，Hafez等[47]用5、90 mg·kg^{-1}的IMI灌胃染毒成年雄性小鼠15 d后，发现其血清T和E2水平均下降。N-DMA暴露对性激素的影响仅在男性中发现，这种性别差异可能源于两性生殖系统和新陈代谢特点等差异性[48-49]，其相关机制有待深入研究。

本研究丰富了不同年龄段人群的新烟碱类杀虫剂暴露及其对激素影响的研究。本研究基于2015—2016年美国全国性大规模健康调查，具有样本量大、代表性好的优势，但也存在一定的局限性：①某些新烟碱类杀虫剂的检出率不高，分层研究可能影响了结果的稳健性；②本研究不能排除新烟碱类杀虫剂共暴露所致不良效应或与其他环境污染物复合暴露对性激素的影响；③本研究是一项横断面研究，无法论证因果关系。尽管本研究中儿童青少年暴露新烟碱类杀虫剂的检出率不高，但仍揭示在该研究人群暴露新烟碱类杀虫剂与其性激素水平存在一定的相关性，且呈现性别差异，此研究结果可为今后进一步探讨新烟碱类杀虫剂暴露对儿童青少年生殖内分泌系统的影响，保护其生殖内分泌健康提供理论依据。

参考文献

[1] DOUGLAS M R，TOOKER J F. Large-scale deployment of seed treatments has driven rapid increase in use of neonicotinoid insecticides and preemptive pest management in U.S. field

crops [J]. Environ Sci Technol，2015，49（8）：5088-5097.

[2] MACH B M，BONDARENKO S，POTTER D A. Uptake and dissipation of neonicotinoid residues in nectar and foliage of systemically treated woody landscape plants [J]. Environ Toxicol Chem，2018，37（3）：860-870.

[3] SHI J，YANG H，YU L，et al. Sublethal acetamiprid doses negatively affect the lifespans and foraging behaviors of honey bee（*Apis mellifera* L.）workers [J]. Sci Total Environ，2020，738：139924.

[4] OSPINA M，WONG L Y，BAKER S E，et al. Exposure to neonicotinoid insecticides in the U.S. general population：Data from the 2015-2016 National Health and Nutrition Examination Survey [J]. Environ Res，2019，176：108555.

[5] WANG X，ANADÓN A，WU Q，et al. Mechanism of neonicotinoid toxicity：impact on oxidative stress and metabolism [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol，2018，58：471-507.

[6] BASS C，DENHOLM I，WILLIAMSON M S，et al. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides [J]. Pestic Biochem Physiol，2015，121：78-87.

[7] ANDERSON J C，DUBETZ C，PALACE V P. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment：a literature review on current use products with a focus on fate，exposure，and biological effects [J]. Sci Total Environ，2015，505：409-422.

[8] ZHANG Q，LI Z，CHANG C H，et al. Potential human exposures to neonicotinoid insecticides：a review [J]. Environ Pollut，2018，236：71-81.

[9] CRADDOCK H A，HUANG D，TURNER P C，et al. Trends in neonicotinoid pesticide residues in food and water in the United States，1999-2015 [J]. Environ Health，2019，18：7.

[10] USDA. PDP databases and annual summaries [EB/OL]. [2020-10-07]. https: //www.ams.usda.gov/datasets/pdp/pdpdata.

[11] TAO Y，PHUNG D，DONG F，et al. Urinary monitoring of neonicotinoid imidacloprid exposure to pesticide applicators [J]. Sci Total Environ，2019，669：721-728.

[12] LEHMANN E，OLTRAMARE C，NFON DIBIÉ J J，et al. Assessment of human exposure to pesticides by hair analysis：the case of vegetable-producing areas in Burkina Faso [J]. Environ Int，2017，111：317-331.

[13] UEYAMA J，HARADA K H，KOIZUMI A，et al. Temporal levels of urinary neonicotinoid and dialkylphosphate concentrations in Japanese women between 1994 and 2011 [J]. Environ Sci Technol，2015，49（24）：14522-14528.

[14] LI A J，MARTINEZ-MORAL M P，KANNAN K. Variability in urinary neonicotinoid concentrations in single-spot and first-morning void and its association with oxidative stress markers [J]. Environ Int，2020，135：105415.

[15] HAN W，TIAN Y，SHEN X. Human exposure to neonicotinoid insecticides and the evaluation of their potential toxicity：an overview [J]. Chemosphere，2018，192：59-65.

[16] WANG Z，BROOKS B W，ZENG E Y，et al. Comparative mammalian hazards of neonicotinoid insecticides among exposure durations [J]. Environ Int，2019，125：9-24.

[17] MIKOLIĆ A，KARAČONJI I B. Imidacloprid as reproductive toxicant and endocrine disruptor：Investigations in laboratory animals [J]. Arch Ind Hyg Toxicol，2018，69（2）：103-108.

[18] NABIUNI M，PARIVAR K，NOORINEJAD R，et al. The reproductive side effects of imidacloprid in pregnant Wistar rat [J]. Int J Cell Mol Biotechnol，2015，2015（1）：10-18.

[19] BAL R，TURK G，TUZCU M，et al. Assessment of imidacloprid toxicity on reproductive organ system of adult male rats [J]. J Environ Sci Health B，2012，47（5）：434-444.

[20] BAL R，NAZIROĞLU M，TÜRK G，et al. Insecticide imidacloprid induces morphological and DNA damage through oxidative toxicity on the reproductive organs of developing male rats [J]. Cell Biochem Funct，2012，30（6）：492-429.

[21] ABDEL-RAHMAN MOHAMED A，MOHAMED W A，KHATER S I. Imidacloprid induces various toxicological effects related to the expression of 3β-HSD，NR5A1，and OGG1 genes in mature and immature rats [J]. Environ Pollut，2017，221：15-25.

[22] CARON-BEAUDOIN É，DENISON M S，SANDERSON J T. Effects of neonicotinoids on promoter-specific expression and activity of aromatase（CYP19）in human adrenocortical carcinoma（H295R）and primary umbilical vein endothelial（HUVEC）cells [J]. Toxicol Sci，2016，149（1）：134-144.

[23] CARON-BEAUDOIN E，VIAU R，HUDON-THIBEAULT A A，et al. The use of a unique co-culture model of fetoplacental steroidogenesis as a screening tool for endocrine disruptors：the effects of neonicotinoids on aromatase

activity and hormone production［J］. Toxicol Appl Pharmacol，2017，332：15-24.

[24] 曹玉萍. 不同BMI的9~12岁男性血清性激素相关指标及脂质组学研究［D］. 北京：北京体育大学，2016.
CAO Y P. The study of sex hormone levels and lipidomics in boys aged 9 to 12 with different BMI［D］. Beijing：Beijing Sport University，2016.

[25] National Health and Nutrition Examination Survey 2015-2016 Data Documentation，Codebook，and Frequencies Demographic Variables and Sample Weights［EB/OL］.［2020-05-01］. https://wwwn.cdc.gov/Nchs/Nhanes/2015-2016/DEMO_I.htm.

[26] GAHCHE J J，BAILEY R L，POTISCHMAN N，et al. Federal monitoring of dietary supplement use in the resident，civilian，noninstitutionalized US population：National Health and Nutrition Examination Survey［J］. J Nutr，2018，148（S2）：1436S-1444S.

[27] BAKER S E，SERAFIM A B，MORALES-AGUDELO P，et al. Quantification of DEET and neonicotinoid pesticide biomarkers in human urine by online solid-phase extraction high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry［J］. Anal Bioanal Chem，2019，411（3）：669-678.

[28] CAUDILL S P，SCHLEICHER R L，PIRKLE J L. Multi-rule quality control for the age-related eye disease study［J］. Stat Med，2008，27（20）：4094-4106.

[29] National Health and Nutrition Examination Survey 2015-2016 Data Documentation，Codebook，and Frequencies Albumin & Creatinine-Urine［EB/OL］.［2020-05-01］. https://wwwn.cdc.gov/Nchs/Nhanes/2015-2016/SSNEON_I.htm.

[30] National Health and Nutrition Examination Survey 2015-2016 Data Documentation，Codebook，and Frequencies Sex Steroid Hormone-Serum［EB/OL］.［2020-05-01］. https://wwwn.cdc.gov/Nchs/Nhanes/2015-2016/TST_I.htm.

[31] OSAKA A，UEYAMA J，KONDO T，et al. Exposure characterization of three major insecticide lines in urine of young children in Japan-neonicotinoids，organophosphates，and pyrethroids［J］. Environ Res，2016，147：89-96.

[32] ZHANG T，SONG S，BAI X，et al. A nationwide survey of urinary concentrations of neonicotinoid insecticides in China［J］. Environ Int，2019，132：105114.

[33] KABATA R，NANAYAKKARA S，SENEVIRATHNA S，et al. Neonicotinoid concentrations in urine from chronic kidney disease patients in the North Central Region of Sri Lanka［J］. J Occup Health，2016，58（1）：128-133.

[34] HARADA K H，TANAKA K，SAKAMOTO H，et al. Biological monitoring of human exposure to neonicotinoids using urine samples，and neonicotinoid excretion kinetics［J］. PLoS One，2016，11（1）：e0146335.

[35] ENGLERT D，BAKANOV N，ZUBROD J P，et al. Modeling remobilization of neonicotinoid residues from tree foliage in streams-a relevant exposure pathway in risk assessment?［J］. Environ Sci Technol，2017，51（3）：1785-1794.

[36] MARFO J T，FUJIOKA K，IKENAKA Y，et al. Relationship between urinary N-desmethyl-acetamiprid and typical symptoms including neurological findings：a prevalence case-control study［J］. PLoS One，2015，10（11）：e0142172.

[37] WANG A，MAHAI G，WAN Y，et al. Neonicotinoids and carbendazim in indoor dust from three cities in China：spatial and temporal variations［J］. Sci Total Environ，2019，695：133790.

[38] 赵健，桂士良，崔腾腾，等. 睾酮的生理作用及临床应用进展［J］. 中国性科学，2020，29（1）：20-24.
ZHAO J，GUI S L，CUI T T，et al. Progress in the physiological role and clinical application of testosterone［J］. Chin J Hum Sex，2020，29（1）：20-24.

[39] KUMAR A，BANERJEE A，SINGH D，et al. Estradiol：a steroid with multiple facets［J］. Horm Metab Res，2018，50（5）：359-374.

[40] OZZOLA G. Essay of sex hormone binding protein in internal medicine：a brief review［J］. Clin Ter，2016，167（5）：e127-e129.

[41] SIMÓ R，SÁEZ-LÓPEZ C，BARBOSA-DESONGLES A，et al. Novel insights in SHBG regulation and clinical implications［J］. Trends Endocrinol Metab，2015，26（7）：376-383.

[42] TERAYAMA H，QU N，ENDO H，et al. Effect of acetamiprid on the immature murine testes［J］. Int J Environ Health Res，2018，28（6）：683-696.

[43] LEEMANS M，COUDERQ S，DEMENEIX B，et al. Pesticides with potential thyroid hormone-disrupting effects：a review of recent data［J］. Front Endocrinol（Lausanne），2019，10：743.

（下转第237页）

[12] ANGELINI A，TRIAL J，ORTIZ-URBINA J，et al. Mechanosensing dysregulation in the fibroblast：a hallmark of the aging heart［J］. Ageing Res Rev，2020，63：101150.

[13] YOSHIDA G J. Regulation of heterogeneous cancer-associated fibroblasts：the molecular pathology of activated signaling pathways［J］. J Exp Clin Cancer Res，2020，39（1）：112.

[14] BAKIR B，CHIARELLA A M，PITARRESI J R，et al. EMT，MET，plasticity，and tumor metastasis［J］. Trends Cell Biol，2020，30（10）：764-776.

[15] 邓海静，李世峰，孙月，等. Ac-SDKP在抑制人肺泡II型上皮细胞向肌成纤维细胞分化中的作用［J］. 环境与职业医学，2015，32（2）：113-117.

DENG H J，LI S F，SUN Y，et al. Effects of Ac-SDKP on epithelial-mesenchymal transition of human type Ⅱ alveolar epithelial cells［J］. J Environ Occup Med，2015，32（2）：113-117.

[16] SAI L，YU G，BO C，et al. Profiling long non-coding RNA changes in silica-induced pulmonary fibrosis in rat［J］. Toxicol Lett，2019，310：7-13.

[17] CAI W，XU H，ZHANG B，et al. Differential expression of lncRNAs during silicosis and the role of LOC103691771 in myofibroblast differentiation induced by TGF-β1［J］. Biomed Pharmacother，2020，125：109980.

[18] QIAN W，CAI X，QIAN Q，et al. lncRNA ZEB1-AS1 promotes pulmonary fibrosis through ZEB1-mediated epithelial–mesenchymal transition by competitively binding miR-141-3p［J］. Cell Death Dis，2019，10（2）：129.

[19] DU S，LI C，LU Y，et al. Dioscin alleviates crystalline silica-induced pulmonary inflammation and fibrosis through promoting alveolar macrophage autophagy［J］. Theranostics，2019，9（7）：1878-1892.

[20] WANG Y，LIANG D，ZHU Z，et al. Bone morphogenetic protein-7 prevented epithelial-mesenchymal transition in RLE-6TN cells［J］. Toxicol Res，2016，5（3）：931-937.

[21] TA W. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis［J］. J Pathol，2008，214（2）：199-210.

（英文编辑：汪源；责任编辑：王晓宇）

（上接第230页）

[44] PUGEAT M，NADER N，HOGEVEEN K，et al. Sex hormone-binding globulin gene expression in the liver：drugs and the metabolic syndrome［J］. Mol Cell Endocrinol，2010，316（1）：53-59.

[45] KONG D，ZHANG J，HOU X，et al. Acetamiprid inhibits testosterone synthesis by affecting the mitochondrial function and cytoplasmic adenosine triphosphate production in rat Leydig cells［J］. Biol Reprod，2017，96（1）：254-265.

[46] ZHANG J J，WANG Y，XIANG H Y，et al. Oxidative stress：role in acetamiprid-induced impairment of the male mice reproductive system［J］. Agric Sci China，2011，10（5）：786-796.

[47] HAFEZ E M，ISSA S Y，AI-MAZROUA M K，et al. The neonicotinoid insecticide imidacloprid：a male reproductive system toxicity inducer-human and experimental study［J］. J Toxicol，2016，2（1）：1-8.

[48] JOHANNSEN T H，MAIN K M，LJUBICIC M L，et al. Sex differences in reproductive hormones during mini-puberty in infants with normal and disordered sex development［J］. J Clin Endocrinol Metab，2018，103（8）：3028-3037.

[49] AGIRBASLI M，AGAOGLU N B，ORAK N，et al. Sex hormones and metabolic syndrome in children and adolescents［J］. Metabolism，2009，58（9）：1256-1562.

（英文编辑：汪源；责任编辑：陈姣）