南京两医院体检人群尿液中有机磷酸酯代谢物与氧化应激水平的关联

张红丹[1a, 1b]，徐诚[1a, 1b]，王彤[1a, 1b]，张娟[1a, 1b]，宋宁慧[2]

1. 东南大学 a. 公共卫生学院 b. 环境医学工程教育部重点实验室，江苏 南京 210009
2. 生态环境部南京环境科学研究所，江苏 南京 210042

摘要：

[背景] 有机磷酸酯（OPEs）被广泛用作阻燃剂和添加剂，已成为环境介质中普遍存在的污染物。尿液中磷酸二酯已被确定为评估人类OPEs暴露的生物标志物。

[目的] 检测人群尿液中7种OPEs二酯代谢物和人体氧化应激生物标志物8-羟基-2′-脱氧鸟苷（8-OHdG）的水平，分析二者之间的关联。

[方法] 调查南京两医院参加健康体检的304名普通成人，女性135名和男性169名，年龄为18~65岁。通过高效液相色谱串联质谱法测定尿液中磷酸二乙酯（DEP）、磷酸二正丁酯（DnBP）、磷酸二苯酯（DPhP）、双（2-氯乙基）磷酸酯（BCEP）、双（1-氯-2-丙基）磷酸酯（BCPP）、双（丁氧乙基）磷酸酯（BBEP）、双（1，3-二氯-2-丙基）磷酸酯（BDCPP）和8-OHdG的含量。通过Pearson相关性检验和多元线性回归分析检验尿液OPEs代谢产物和8-OHdG之间的相关性。

[结果] BCPP［几何均数（GM）：4.88 μg·g^{-1}］和DnBP（GM：4.61 μg·g^{-1}）是尿液最丰富的OPEs代谢产物。尿液DEP、DnBP、BCPP、BBEP和BDCPP水平存在性别差异（$P<0.05$）：男性尿液DnBP、BCPP和BDCPP高于女性（GM：5.83、6.44、0.86 μg·g^{-1} vs 5.47、3.42、0.69 μg·g^{-1}），女性尿液DEP和BBEP高于男性（GM：7.44、5.25 μg·g^{-1} vs 0.67、0.80 μg·g^{-1}）。Pearson相关性检验显示尿液8-OHdG与DEP（r=0.219）、DnBP（r=0.417）、DPhP（r=0.308）、BCEP（r=0.420）、BDCPP（r=0.287）和Σ7OPEMs（r=0.276）均呈正相关（均$P<0.01$）；性别分层后，男性尿液8-OHdG与DEP（r=0.240）、DnBP（r=0.436）、DPhP（r=0.367）、BCEP（r=0.448）、BDCPP（r=0.348）和Σ7OPEMs（r=0.327）均呈正相关（均$P<0.05$），女性尿液8-OHdG与BBEP呈正相关（r=0.233，$P<0.05$）。进一步校正性别和年龄后，多元线性回归分析显示尿液8-OHdG与DEP（b=0.182）、DnBP（b=0.418）、DPhP（b=0.303）、BCEP（b=0.418）、BDCPP（b=0.284）和Σ7OPEMs（b=0.281）均呈正向关联（均$P<0.05$）。

[结论] 本研究发现DEP、DnBP、DPhP、BCEP和BDCPP与8-OHdG水平升高相关，表明成年人暴露于OPEs可能会在代谢过程中引起氧化应激。

关键词：有机磷酸酯；尿液代谢物；氧化应激；成年人；8-羟基-2′-脱氧鸟苷

Associations of urinary organophosphate metabolites with oxidative stress levels in physical examination population in two hospitals of Nanjing

ZHANG Hongdan[1a, 1b], XU Cheng[1a, 1b], WANG Tong[1a, 1b], ZHANG Juan[1a, 1b], SONG Ninghui[2] (1.a.School of Public Health b.Key Laboratory of Environmental Medicine Engineering of Ministry of Education, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China; 2.Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment, Nanjing, Jiangsu 210042, China)

Abstract:

[Background] Organophosphate esters (OPEs) are widely used as flame retardants and additives, and have become a ubiquitous pollutant in various environmental media. Phosphodiesters in urine have been identified as a biomarker for assessing human OPEs exposure.

[Objective] This study is conducted to detect the levels of seven human urinary OPEs diester metabolites and oxidative stress biomarker 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG), and assess their relationships.

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.21239

组稿专家
施小明（中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所），E-mail：shixm@chinacdc.cn

基金项目
国家自然科学基金（81573120）；环境医学工程教育部重点实验室开放课题（2017EME001）

作者简介
张红丹（1996—），女，硕士生；
E-mail：220183436@seu.edu.cn

通信作者
张娟，E-mail：101011288@seu.edu.cn
宋宁慧，E-mail：snh@nies.org

伦理审批 已获取
利益冲突 无申报
收稿日期 2021-05-23
录用日期 2021-08-10

文章编号 2095-9982(2021)10-1106-07
中图分类号 R12
文献标志码 A

补充材料
www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21239

▸引用
张红丹，徐诚，王彤，等.南京两医院体检人群尿液中有机磷酸酯代谢物与氧化应激水平的关联［J］.环境与职业医学，2021，38（10）：1106-1112.

▸本文链接
www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21239

Funding
This study was funded.

Correspondence to
ZHANG Juan, E-mail: 101011288@seu.edu.cn
SONG Ninghui, E-mail: snh@nies.org

Ethics approval Obtained
Competing interests None declared
Received 2021-05-23
Accepted 2021-08-10

Supplemental material
www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21239

▸To cite
ZHANG Hongdan, XU Cheng, WANG Tong, et al. Associations of urinary organophosphate metabolites with oxidative stress levels in physical examination population in two hospitals of Nanjing[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(10): 1106-1112.

▸Link to this article
www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21239

[Methods] The cross-sectional study included a total of 304 adults, 135 women and 169 men, aged 18-65 years, who participated in health checkups in two hospitals in Nanjing. The levels of urinary diethyl phosphate (DEP), di-n-butyl phosphate (DnBP), diphenyl phosphate (DPhP), bis(2-chloroethyl) phosphate (BCEP), bis(1-chloro-2-propyl) phosphate (BCPP), bis(2-butoxyethyl) phosphate (BBEP), bis(1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate (BDCPP), and 8-OHdG were measured by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Pearson correlation test and multiple linear regression analysis were used to test the correlation between urinary OPEs metabolites and 8-OHdG.

[Results] BCPP [geometric mean (GM): 4.88 $\mu g \cdot g^{-1}$] and DnBP (GM: 4.61 $\mu g \cdot g^{-1}$) were the most abundant urinary OPEs metabolites. There were gender differences in urine DEP, DnBP, BCPP, BBEP, and BDCPP levels ($P<0.05$): The DnBP, BCPP, and BDCPP levels in urine were higher in males (GM: 5.83, 6.44, 0.86 $\mu g \cdot g^{-1}$ vs 5.47, 3.42, 0.69 $\mu g \cdot g^{-1}$), while the DEP and BBEP levels in urine were higher in females (GM: 7.44, 5.25 $\mu g \cdot g^{-1}$ vs 0.67, 0.80 $\mu g \cdot g^{-1}$). The pearson correlation test results showed that urinary 8-OHdG was positively associated with DEP (r=0.219), DnBP (r=0.417), DPhP (r=0.308), BCEP (r=0.420), BDCPP (r=0.287), and Σ7OPEMs (r=0.276) (all $P<0.01$). After gender stratification, male urinary 8-OHdG was positively correlated with DEP (r=0.240), DnBP (r=0.436), DPhP (r=0.367), BCEP (r=0.448), BDCPP (r=0.348), and Σ7OPEMs (r=0.327) (all $P<0.05$), while female urinary 8-OHdG and BBEP were positively correlated (r=0.233, $P<0.05$). After further adjusting for gender and age, the results of multiple linear regression analysis showed that urinary 8-OHdG was positively correlated with DEP (b=0.182), DnBP (b=0.418), DPhP (b=0.303), BCEP (b=0.418), BDCPP (b=0.284), and Σ7OPEMs (b=0.281) (all $P<0.05$).

[Conclusion] The study findings show that DEP, DnBP, DPhP, BCEP, and BDCPP are associated with increased levels of 8-OHdG, indicating that being exposed to OPEs may cause oxidative stress during their metabolism in adults.

Keywords: organophosphate; urinary metabolite; oxidative stress; adult; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

2009年，《斯德哥尔摩公约》将多溴二苯醚列为持久性有机污染物，有机磷酸酯（organophosphate esters，OPEs）替代多溴二苯醚，作为一类新兴阻燃剂被广泛应用[1]。OPEs主要用作塑料、聚氨酯泡沫、纺织品、热固性涂料和高分子混合物中的阻燃剂和添加剂[2]。OPEs还应用于电子设备[3]、婴儿产品[4]和食品包装[5]。2004—2015年，全球OPEs的总消费量由21万t增长至68万t，并逐年增长[6-8]。OPEs用作材料添加剂可能会因非化学键结合而轻易地通过挥发、产品磨损和泄漏释放到环境中[2]。因此，大气[9]、水[10]和土壤[11]中已经广泛检测到OPEs。目前，住宅[12]、办公空间[13]和育儿场所[14]等许多人居环境中也检测到OPEs。

OPEs是合成磷酸衍生物，其结构按照酯键的不同可大致分为三类：氯化OPEs、烷基OPEs和芳基OPEs。OPEs可通过I相和II相生物转化代谢为更亲水且更易消除的代谢物[15]。

OPEs经I相代谢产生的主要代谢产物为磷酸二酯[16]：氯化OPEs磷酸三（2-氯乙基）酯（TCEP）、磷酸三（2-氯丙基）酯（TCPP）和磷酸三（1，3-二氯异丙基）酯（TDCPP）经I相代谢产生双（2-氯乙基）磷酸酯（BCEP）、双（1-氯-2-丙基）磷酸酯（BCPP）和双（1，3-二氯-2-丙基）磷酸酯（BDCPP）；烷基OPEs磷酸三乙酯（TEP）、磷酸三正丁酯（TnBP）和磷酸三（2-丁氧基乙基）酯（TBEP）经I相代谢产生磷酸二乙酯（DEP）、磷酸二正丁酯（DnBP）和双（丁氧乙基）磷酸酯（BBEP）；芳基OPEs磷酸三苯酯（TPhP）经I相代谢产生磷酸二苯酯（DPhP）。尿液中量化的磷酸二酯已被确定为评估人类OPEs暴露的生物标志物[17-18]。

以往的研究发现，暴露于OPEs可引起神经毒性[19]、生殖毒性[20]和内分泌紊乱[21]等。动物和细胞实验表明，暴露于OPEs能够引起氧化应激[22-23]。氧化应激导致线粒体和核DNA的损伤，产生脂质过氧化作用[24]。8-羟基-2'-脱氧鸟苷（8-hydroxy-2'-deoxyguanosine，8-OHdG）是DNA受损修复后释放的核苷，被广泛用作DNA损伤和氧化应激的生物标志物[25-28]。流行病学研究表明，OPEs暴露与氧化应激之间存在关联[29-31]。

本研究通过检测304名体检人群尿液中7种OPEs代谢产物与8-OHdG的水平，分析尿液OPEs代谢产物与8-OHdG之间的关联，探讨成年人暴露于OPEs是否在代谢过程中引起氧化应激。

1 对象与方法

1.1 研究对象

研究对象为2017年于南京两医院参加健康体检的普通成人304名，平均年龄为（35±10）岁（18~65岁），女性135名和男性169名。研究对象各体检指标均在正常范围内，无吸烟、饮酒史。基本个人信息来自健康体检问卷。按照健康体检的要求，使用50 mL聚丙烯试

管收集晨尿，标记后放置冰盒内运回实验室，在 -80°C 保存待用。本研究伦理许可已由东南大学附属中大医院临床研究伦理委员会批准（2015ZDKYSB038），研究对象均知情同意。

1.2 化学品和试剂

DEP（97.6% 纯度）、DnBP（99.9% 纯度）、DPhP（96% 纯度）、BCEP（95% 纯度）、BCPP（95% 纯度）、BBEP（96% 纯度）和 BDCPP（95% 纯度）7 种 OPEs 代谢产物和 8-OHdG（97% 纯度）标准品均购于加拿大 Toronto Research Chemicals。乙腈购于德国 Merck（色谱纯，>99% 纯度）。

1.3 样品制备和仪器分析

尿液的预处理程序如下：将 10 mL 尿液样品放入 50 mL 离心管中，然后加入盐酸将尿液 pH 值酸化至 5；尿液样品在 80°C 的水浴中水解 2 h，恢复到室温后加入 10 mL 乙腈溶液和 3 g 氯化钠，涡旋 1 min；6 910×*g* 离心 5 min；取 5 mL 上层溶液通过自制滤筒（该滤筒中装有 100 mg N- 丙基乙二胺、20 mg 石墨化炭黑、4 g 无水硫酸钠），收集在容量试管中；上样后，取 5 mL 上层溶液进行洗脱，收集的洗脱液在恒温氮吹仪（中国天津奥特赛斯）旋转蒸发至接近干燥；加入 1 mL 乙腈使体积恒定，将溶液通过 0.22 μm 滤膜过滤。将制备好的样品储存在 -20°C 等待仪器分析。

使用高效液相色谱 - 串联四级杆离子阱质谱仪（LC-Agilent Technologies 1290 Infinity，MS-AB SCIEX QTRAP 4500，美国 Agilent）测量尿液样品中 OPEs 代谢物和 8-OHdG 的质量浓度（后称浓度）。在 ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱（150 mm×2.1 mm，3.5 μm；美国 Agilent）上分离所有分析物（目标物质总离子流见补充材料图 S1）。含有 0.2% 氨水溶液和乙腈用作流动相。梯度洗脱程序设置如下：0~2 min，1% 乙腈；2~4 min，1%~20% 乙腈；4~6 min，含 20%~40% 乙腈；6~8 min，40%~60% 乙腈；8~9 min，60%~40% 乙腈；9~9.1 min，40%~1% 乙腈；9.1~10 min，1% 乙腈。每个样品注入 5 μL 提取液，流速设置为 0.3 mL·min^{-1}，柱温保持在 30°C。电喷雾电离以负离子模式进行。电离电压为 -5 500 V，离子源温度为 500°C。补充材料表 S1 中列出其他的优化质谱参数，包括每种目标化合物的母离子、子离子、去簇电压、碰撞能量、入口电压和出口电压。尿肌酐水平的测定按照肌酐测定试剂盒（L-Type Creatinine M，日本 FUJIFILM）的说明书步骤进行。

1.4 质量控制

用于计算尿液样品中目标化合物浓度的校准标准品的浓度范围为 0.01~200 μg·L^{-1}，校准曲线的回归系数 >0.997。检测限（信噪比≥3）范围为 0.03~18.33 ng·L^{-1}，定量限（信噪比≥10）为 0.10~55.00 ng·L^{-1}。本底值低于检测限。方法回收率的测量是检测 3 种不同浓度（10、100、200 ng·L^{-1}）的加标样品（基质为人工尿），并为每种浓度设置 5 个平行样品，3 种浓度的加标样品的回收率达到 52.36%~114.56%，精密度低于 10%。具体数据见补充材料表 S2。

1.5 统计学分析

使用 SPSS 20.0 进行统计分析。针对个体肌酐水平调整 OPEs 代谢产物和 8-OHdG 的尿液浓度，单位以 μg·g^{-1} 表示。7 种 OPEs 代谢物的总浓度表示为 Σ7OPEMs。实验数据采用几何均数（geometric mean，GM）表示。采用 Mann–Whitney *U* 检验研究两组之间的差异。Pearson 相关性检验和多元线性回归分析用于检验不同变量之间的相关性；在进行 Pearson 相关性检验和多元线性回归分析之前，将 OPEs 代谢产物和 8-OHdG 的浓度进行常用对数转换。使用 GraphPad Prism 8.0 制作图形。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 尿液 OPEs 代谢产物浓度

表 1 显示体检人群尿液样本中 OPEs 代谢产物的浓度。尿液中 7 种 OPEs 代谢产物检出率范围为 53.6%~99.3%。尿液中 Σ7OPEMs GM 浓度为 15.01 μg·g^{-1}。BCPP（GM：4.88 μg·g^{-1}）和 DnBP（GM：4.61 μg·g^{-1}）是成年人尿液最丰富的 OPEs 代谢产物，其次是 DPhP（GM：1.00 μg·g^{-1}）、BCEP（GM：0.73 μg·g^{-1}）、BDCPP（GM：0.72 μg·g^{-1}）、DEP（GM：0.59 μg·g^{-1}）和 BBEP（GM：0.57 μg·g^{-1}）。

2.2 性别相关的尿液 OPEs 代谢物水平

表 2 显示体检人群尿液样本中 OPEs 代谢产物的性别差异。尿液 DEP、DnBP、BCPP、BBEP 和 BDCPP 在男性和女性之间存在差异（P<0.05）：对于尿液 DnBP、BCPP 和 BDCPP，男性高于女性（GM：5.83、6.44、0.86 μg·g^{-1} vs 5.47、3.42、0.69 μg·g^{-1}）；但是，对于尿液 DEP 和 BBEP，女性远高于男性（GM：7.44、5.25 μg·g^{-1} vs 0.67、0.80 μg·g^{-1}）。

表1 南京两医院体检人群尿液中OPEs代谢产物和8-OHdG的分布（n=304）

Table 1 Distributions of urinary OPEs metabolites and 8-OHdG among selected physical examination population in two Nanjing hospitals (n=304)

目标化合物 Target compound	检出率/% Positive rate/%	未调整/（μg·L^{-1}） Crude concentration/（μg·L^{-1}）				肌酐调整/（μg·g^{-1}） Creatinine-adjusted concentration/（μg·g^{-1}）			
		范围 Range	几何均数 Geometric mean	标准差 Standard deviation	中位数 Median	范围 Range	几何均数 Geometric mean	标准差 Standard deviation	中位数 Median
DEP	68.4	ND~29.51	0.44	2.69	2.69	ND~79.80	0.59	7.19	7.25
DnBP	68.1	ND~21.97	3.11	3.59	3.59	ND~91.54	4.61	16.45	5.78
DPhP	67.8	ND~32.35	0.67	0.54	0.54	ND~32.49	1.00	3.41	0.93
BCEP	68.1	ND~1.14	0.49	0.50	0.50	ND~5.29	0.73	1.63	0.85
BCPP	99.3	ND~334.59	3.36	2.98	2.98	ND~672.23	4.88	65.18	4.17
BBEP	53.6	ND~15.25	0.46	4.40	4.40	ND~20.88	0.57	3.54	4.11
BDCPP	67.8	ND~29.74	0.48	0.40	0.40	ND~29.87	0.72	2.90	0.68
Σ7OPEMs	—	2.61~348.02	10.12	12.46	12.46	1.89~699.21	15.01	73.60	18.66
8-OHdG	86.5	5.81~2008.55	32.42	147.65	147.65	2.94~2464.02	52.10	1016.94	59.02

[注] ND：未检出。Σ7OPEMs：尿液中7种OPEs代谢物的总浓度。

[Note] ND: Not detected. Σ7OPEMs: Sum urinary concentrations of all seven OPEs metabolites.

表2 南京两医院体检人群尿液中OPEs代谢产物的性别差异

Table 2 Gender differences in urinary OPEs metabolites among selected physical examination population in two Nanjing hospitals

单位（Unit）：μg·g^{-1}

目标化合物 Target compound	男性 Male（n=169）			女性 Female（n=135）			P
	几何均数 Geometric mean	标准差 Standard deviation	中位数 Median	几何均数 Geometric mean	标准差 Standard deviation	中位数 Median	
DEP	0.67	7.09	0.86	7.44	12.72	12.01	**<0.001**
DnBP	5.83	16.38	6.20	5.47	16.39	3.91	**0.043**
DPhP	1.07	3.42	0.94	1.08	3.28	0.90	0.363
BCEP	0.83	1.64	0.85	0.80	1.54	0.53	0.090
BCPP	6.44	71.39	5.95	3.42	8.16	2.81	**<0.001**
BBEP	0.80	2.65	0.75	5.25	4.25	5.63	**<0.001**
BDCPP	0.86	2.98	0.70	0.69	2.44	0.49	**0.006**
Σ7OPEMs	19.02	79.00	16.32	19.21	23.63	19.83	0.299

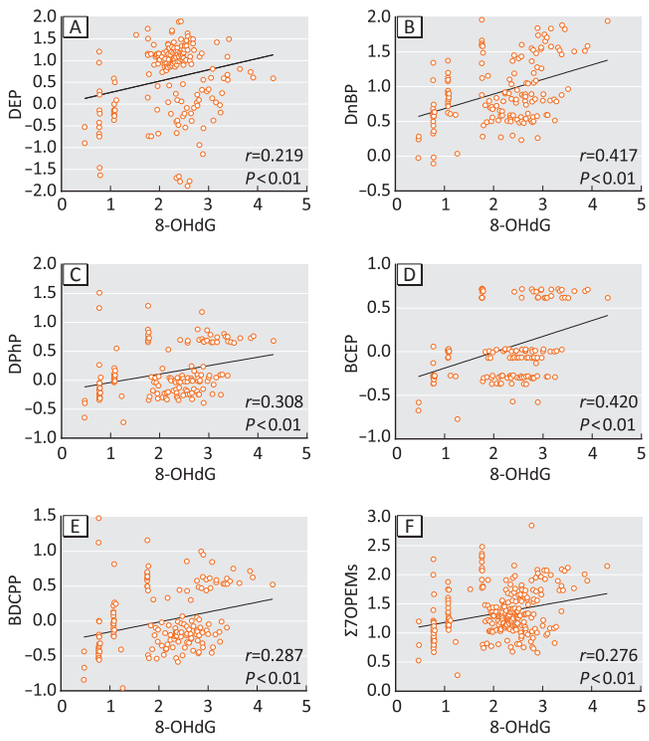
[注] Σ7OPEMs：尿液中7种OPEs代谢物的总浓度。

[Note] Σ7OPEMs: Sum urinary concentrations of all seven OPEs metabolites.

2.3 OPEs暴露与氧化应激之间的关联

经过肌酐调整后，通过Pearson相关性检验分析单个OPEs代谢产物与8-OHdG尿液浓度（常用对数转换）之间的相关性（图1）。结果表明：8-OHdG与DEP（r=0.219）、DnBP（r=0.417）、DPhP（r=0.308）、BCEP（r=0.420）、BDCPP（r=0.287）和Σ7OPEMs（r=0.276）均呈正相关（均P<0.01）；但是，尿液中8-OHdG与BCPP、BBEP相关性无统计学意义（P>0.05）（见补充材料图S2）。

经过肌酐调整后，按照性别分层，通过Pearson相关性检验分析不同性别下单个OPEs代谢产物与8-OHdG尿液浓度（常用对数转换）之间的相关性。结果表明：男性尿液8-OHdG与DEP（r=0.240）、DnBP（r=0.436）、DPhP（r=0.367）、BCEP（r=0.448）、BDCPP（r=0.348）和Σ7OPEMs（r=0.327）均呈正相关（均P<0.05，见补充材料图S3）；女性尿液8-OHdG与BBEP呈正相关（r=0.233，P<0.05，见补充材料图S4）。



[注] 采用经常用对数转换的浓度（肌酐调整）进行分析。A：DEP；B：DnBP；C：DPhP；D：BCEP；E：BDCPP；F：Σ7OPEMs。

[Note] Log-transformed urinary concentrations (creatinine adjusted) are used for analysis. A: DEP; B: DnBP; C: DPhP; D: BCEP; E: BDCPP; F: Σ7OPEMs.

图1 南京两医院体检人群尿液中OPEs代谢产物与8-OHdG浓度的Pearson相关性

Figure 1 Pearson correlations between urinary OPEs metabolites and 8-OHdG concentrations among selected physical examination population in two Nanjing hospitals

经过肌酐调整后，控制性别和年龄混杂因素，通过多元线性回归分析来进一步探讨单个OPEs代谢产物与8-OHdG尿液浓度（常用对数转换）之间的关联（表3）。结果表明，8-OHdG与DEP（b=0.182）、DnBP（b=0.418）、DPhP（b=0.303）、BCEP（b=0.418）、BDCPP（b=0.284）和Σ7OPEMs（b=0.281）存在正向关联（均$P<0.05$）。

表3 南京两医院体检人群尿液中OPEs代谢产物与8-OHdG浓度的多元线性回归分析

Table 3 Multiple linear regression analysis on urinary OPEs metabolites and 8-OHdG concentrations among selected physical examination population in two Nanjing hospitals

目标化合物 Target compound	标准化回归系数（b） Standardized coefficient（b）	95%置信区间 95% confidence interval	P
DEP	0.182	0.005~0.301	**0.043**
DnBP	0.418	0.547~1.113	**<0.001**
DPhP	0.303	0.327~0.954	**<0.001**
BCEP	0.418	0.638~1.291	**<0.001**
BCPP	0.097	0.044~0.321	0.136
BBEP	0.003	0.203~0.209	0.977
BDCPP	0.284	0.270~0.880	**<0.001**
Σ7OPEMs	0.281	0.303~0.734	**<0.001**

[注] Σ7OPEMs：尿液中7种OPEs代谢物的总浓度。采用经常用对数转换的浓度（肌酐调整）进行分析。校正性别和年龄；调查人群无吸烟和饮酒史。

[Note] Σ7OPEMs: Sum urinary concentrations of all seven OPEs metabolites. Log-transformed urinary concentrations (creatinine adjusted) are used for analysis. Gender and age are adjusted; the survey population report no history of smoking or alcohol consumption.

3 讨论

本研究调查于南京两医院参加健康体检的普通成人尿液中OPEs代谢产物与氧化应激生物标志物8-OHdG之间的关联。研究发现：DnBP和BCPP是普通成人尿液中最丰富的OPEs代谢产物；DEP、DnBP、BCPP、BBEP和BDCPP有性别差异，男性DnBP、BCPP和BDCPP高于女性，女性DEP和BBEP高于男性；Pearson相关性检验分析显示8-OHdG与DEP、DnBP、DPhP、BCEP和BDCPP呈正相关；性别分层后，男性8-OHdG与DEP、DnBP、DPhP、BCEP和BDCPP呈正相关，女性8-OHdG与BBEP呈正相关；进一步校正性别和年龄后，多元线性回归分析显示8-OHdG与DEP、DnBP、DPhP、BCEP和BDCPP有正向关联。

将本研究与不同研究报告的成年人（≥18岁）尿液OPEs代谢物浓度进行比较（见补充材料表S3），DPhP和BDCPP是先前研究分析的两种最常见的OPEs代谢物，本研究的DPhP（GM：0.67 μg·L^{-1}）尿液水平远低于美国（0.71~1.137 μg·L^{-1}）和加拿大（1.7 μg·L^{-1}）；BDCPP（0.48 μg·L^{-1}）尿液水平与加拿大（0.55 μg·L^{-1}）相似，但远低于美国（0.69~2.321 μg·L^{-1}）。对于尿液DEP和BCEP，本研究数据（DEP：0.44 μg·L^{-1}；BCEP：0.49 μg·L^{-1}）与美国（DEP：0.348 μg·L^{-1}；BCEP：0.354~0.38 μg·L^{-1}）相当。本研究观察到成年人尿液中DnBP（3.11 μg·L^{-1}）、BCPP（3.36 μg·L^{-1}）和BBEP（0.46 μg·L^{-1}）水平远高于美国（DnBP：0.0168~0.18 μg·L^{-1}；BCPP：0.0838、0.18 μg·L^{-1}；BBEP：0.0326 μg·L^{-1}）和加拿大（DnBP：0.08 μg·L^{-1}）。

先前的研究表明，在OPEs代谢产物中发现性别相关差异[32-35]。例如，成年男性血清中磷酸三异丁酯的浓度高于女性[34]，女孩TPhP的暴露风险高于男孩[32]，女性头发中TPhP的浓度明显高于男性[33]。本研究在课题组前期研究的基础上[36]，经过肌酐校正，并增加了样本量，结果显示尿液DEP、DnBP、BCPP、BBEP和BDCPP在男性和女性之间有差异（表2）。原因可能是男性和女性之间的OPEs暴露来源和水平不同，这将影响尿液中OPEs代谢产物的水平。例如，部分女性产品（例如指甲油）是OPEs的重要来源，可增加女性暴露于OPEs的风险[37]。

本研究结果显示，Pearson相关性检验分析后，尿液8-OHdG与DEP、DnBP、DPhP、BCEP和BDCPP呈正相关（图1）。进一步校正性别和年龄后，多元线性回归分析显示尿液8-OHdG与DEP、DnBP、DPhP、BCEP和BDCPP有关联（表3）。先前的研究也发现OPEs代谢产物与氧化应激之间的关联：波多黎各孕妇尿液中BCEP、BCPP和DPhP与8-OHdG的增加有关[29]；日本7岁儿童尿液中BBEP、DPhP和8-OHdG之间存在正相关性[30]；生活在电子垃圾区域的人群尿液中BCPP、BCEP、DPhP和DnBP与8-OHdG水平呈正相关[31]。动物和细胞实验表明，TCEP和TPhP会引起小鼠肝脏和睾丸TM3 Leydig细胞的氧化应激[22]。TDCPP诱导肾上腺PC12细胞的氧化应激，尽管未观察到细胞活力降低[23]。关于OPEs诱导氧化应激的机制，以及OPEs暴露对氧化应激生物标志物的影响仍需要进行更多的动物实验和流行病学研究。

本研究有一定的局限性：第一，本研究属于横断面研究设计，不能从本数据中建立因果关系；第二，8种检测物质中，DEP的加标回收率低于70%；第三，机体可能受多种污染物（苯、重金属和空气污染物等）复合暴露的影响，但本研究只调查了OPEs代谢产物与8-OHdG的关联；第四，研究中也未调查其他的氧

化应激风险因素，如生活方式、经济和教育状况等，可能会使结论产生偏倚。因此进一步的研究需要控制更多的混杂因素。

综上，本研究发现DEP、DnBP、DPhP、BCEP和BDCPP与氧化应激生物标志物8-OHdG水平升高相关，表明成年人暴露于OPEs可能会在代谢过程中引起氧化应激。本研究为进一步探索环境化学污染物暴露对机体氧化应激风险的影响提供了流行病学证据。未来应开展研究以查明OPEs干扰氧化应激潜在的生物学机制和其介导的健康效应。

参考文献

[1] UNEP. Stockholm convention on POPs [EB/OL]. [2021-01-01]. https: //www.unido.org/our-focus-safeguarding-environment-implementation-multilateral-environmental-agreements/stockholm-convention.

[2] VAN DER VEEN I，DE BOER J. Phosphorus flame retardants：properties，production，environmental occurrence，toxicity and analysis [J]. Chemosphere，2012，88 (10)：1119-1153.

[3] ABBASI G，SAINI A，GOOSEY E，et al. Product screening for sources of halogenated flame retardants in Canadian house and office dust [J]. Sci Total Environ，2016，545-546：299-307.

[4] HOFFMAN K，BUTT CM，CHEN A，et al. High exposure to organophosphate flame retardants in Infants：associations with baby products [J]. Environ Sci Technol，2015，49 (24)：14554-14559.

[5] LI J，ZHAO L，LETCHER RJ，et al. A review on organophosphate Ester (OPE) flame retardants and plasticizers in foodstuffs：levels，distribution，human dietary exposure，and future directions [J]. Environ Int，2019，127：35-51.

[6] PANTELAKI I，VOUTSA D. Organophosphate flame retardants (OPFRs)：a review on analytical methods and occurrence in wastewater and aquatic environment [J]. Sci Total Environ，2019，649：247-263.

[7] SALA B，GIMÉNEZ J，DE STEPHANIS R，et al. First determination of high levels of organophosphorus flame retardants and plasticizers in dolphins from Southern European waters [J]. Environ Res，2019，172：289-295.

[8] MÖLLER A，STURM R，XIE Z，et al. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in airborne particles over the Northern Pacific and Indian Ocean toward the Polar Regions：evidence for global occurrence [J]. Environ Sci Technol，2012，46 (6)：3127-3134.

[9] WU Y，VENIER M，SALAMOVA A. Spatioseasonal variations and partitioning behavior of organophosphate esters in the great lakes atmosphere [J]. Environ Sci Technol，2020，54 (9)：5400-5408.

[10] BOLLMANN UE，MÖLLER A，XIE Z，et al. Occurrence and fate of organophosphorus flame retardants and plasticizers in coastal and marine surface waters [J]. Water Res，2012，46 (2)：531-538.

[11] FRIES E，MIHAJLOVIĆ I. Pollution of soils with organophosphorus flame retardants and plasticizers [J]. J Environ Monit，2011，13 (10)：2692-2694.

[12] ZHOU L，HILTSCHER M，GRUBER D，et al. Organophosphate flame retardants (OPFRs) in indoor and outdoor air in the Rhine/Main area，Germany：comparison of concentrations and distribution profiles in different microenvironments [J]. Environ Sci Pollut Res，2017，24 (12)：10992-11005.

[13] WU M，YU G，CAO Z，et al. Characterization and human exposure assessment of organophosphate flame retardants in indoor dust from several microenvironments of Beijing，China [J]. Chemosphere，2016，150：465-471.

[14] FROMME H，LAHRZ T，KRAFT M，et al. Organophosphate flame retardants and plasticizers in the air and dust in German daycare centers and human biomonitoring in visiting children (LUPE 3) [J]. Environ Int，2014，71：158-163.

[15] VAN DEN EEDE N，MAHO W，ERRATICO C，et al. First insights in the metabolism of phosphate flame retardants and plasticizers using human liver fractions [J]. Toxicol Lett，2013，223 (1)：9-15.

[16] HOU R，XU Y，WANG Z. Review of OPFRs in animals and humans：absorption，bioaccumulation，metabolism，and internal exposure research [J]. Chemosphere，2016，153：78-90.

[17] HOFFMAN K，GARANTZIOTIS S，BIRNBAUM LS，et al. Monitoring indoor exposure to organophosphate flame retardants：hand wipes and house dust [J]. Environ Health Perspect，2015，123 (2)：160-165.

[18] CEQUIER E，SAKHI AK，MARCÉ RM，et al. Human exposure pathways to organophosphate triesters - A biomonitoring

study of mother-child pairs [J]. Environ Int, 2015, 75: 159-165.

[19] NOYES P D, HAGGARD D E, GONNERMAN G D, et al. Advanced morphological - behavioral test platform reveals neurodevelopmental defects in embryonic zebrafish exposed to comprehensive suite of halogenated and organophosphate flame retardants [J]. Toxicol Sci, 2015, 145 (1): 177-195.

[20] KWON B, SHIN H, MOON H B, et al. Effects of tris (2-butoxyethyl) phosphate exposure on endocrine systems and reproduction of zebrafish (Danio rerio) [J]. Environ Pollut, 2016, 214: 568-574.

[21] LIU X, JI K, CHOI K. Endocrine disruption potentials of organophosphate flame retardants and related mechanisms in H295R and MVLN cell lines and in zebrafish [J]. Aquat Toxicol, 2012 (114/115): 173-181.

[22] CHEN G, ZHANG S, JIN Y, et al. TPP and TCEP induce oxidative stress and alter steroidogenesis in TM3 Leydig cells [J]. Reprod Toxicol, 2015, 57: 100-110.

[23] DISHAW L V, POWERS C M, RYDE I T, et al. Is the PentaBDE replacement, tris (1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP), a developmental neurotoxicant? Studies in PC12 cells [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2011, 256 (3): 281-289.

[24] BANERJEE B D, SETH V, AHMED R S. Pesticide-induced oxidative stress: perspectives and trends [J]. Rev Environ Health, 2001, 16 (1): 1-40.

[25] KASAI H. Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: formation, repair, and mutagenesis [J]. Free Radic Biol Med, 2002, 33 (4): 450-456.

[26] GANNETT P M, SURA T P. Base pairing of 8-oxoguanosine and 8-oxo-2'-deoxyguanosine with 2'-deoxyadenosine, 2'-deoxycytosine, 2'-deoxyguanosine, and thymidine [J]. Chem Res Toxicol, 1993, 6 (5): 690-700.

[27] CHENG K C, CAHILL D S, KASAI H, et al. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G→T and A→C substitutions [J]. J Biol Chem, 1992, 267 (1): 166-172.

[28] VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39 (1): 44-84.

[29] INGLE M E, WATKINS D, ROSARIO Z, et al. An exploratory analysis of urinary organophosphate ester metabolites and oxidative stress among pregnant women in Puerto Rico [J]. Sci Total Environ, 2020, 703: 134798.

[30] BAMAI Y A, BASTIAENSEN M, ARAKI A, et al. Multiple exposures to organophosphate flame retardants alter urinary oxidative stress biomarkers among children: the Hokkaido Study [J]. Environ Int, 2019, 131: 105003.

[31] LU S Y, LI Y X, ZHANG T, et al. Effect of E-waste recycling on urinary metabolites of organophosphate flame retardants and plasticizers and their association with oxidative stress [J]. Environ Sci Technol, 2017, 51 (4): 2427-2437.

[32] HE C, TOMS L M, THAI P, et al. Urinary metabolites of organophosphate esters: concentrations and age trends in Australian children [J]. Environ Int, 2018, 111: 124-130.

[33] LIU L Y, HE K, HITES R A, et al. Hair and nails as noninvasive biomarkers of human exposure to brominated and organophosphate flame retardants [J]. Environ Sci Technol, 2016, 50 (6): 3065-3073.

[34] GAO D, YANG J, BEKELE T G, et al. Organophosphate esters in human serum in Bohai Bay, North China [J]. Environ Sci Pollut Res, 2020, 27 (3): 2721-2729.

[35] OSPINA M, JAYATILAKA N K, WONG L Y, et al. Exposure to organophosphate flame retardant chemicals in the U.S. general population: data from the 2013-2014 National Health and Nutrition Examination Survey [J]. Environ Int, 2018, 110: 32-41.

[36] 徐诚. 南京市水体OPEs分布及人群内暴露特征分析 [D]. 南京. 东南大学, 2018.
XU C. The distribution of OPEs in water and the internal exposure character of population in Nanjing city [D]. Nanjing: Southeast University, 2018.

[37] MENDELSOHN E, HAGOPIAN A, HOFFMAN K, et al. Nail polish as a source of exposure to triphenyl phosphate [J]. Environ Int, 2016, 86: 45-51.

（英文编辑：汪源；责任编辑：王晓宇）