

妊娠期PM_{2.5}暴露与血清代谢组的关联

赵文轩, 朱清扬, 张蕴晖

复旦大学公共卫生学院/公共卫生安全教育部重点实验室, 上海 200032

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.21116

摘要：

[背景] 母体的代谢性疾病会对子代发育产生不良影响，而PM_{2.5}是一系列妊娠代谢性疾病的危险因素之一，但其影响母体健康的生物学机制尚不明确。

[目的] 探究妊娠期PM_{2.5}累积暴露与孕妇血清代谢组的关联。

[方法] 本研究在上海亲子队列进行个体PM_{2.5}暴露测量的329人中随机选取50人，利用个体暴露预测模型计算孕早中期、孕晚期两次采样结束前三个月PM_{2.5}平均暴露浓度，并使用气相色谱-飞行时间质谱(GC-TOF-MS)法、超高效液相色谱-组合型四级杆Orbitrap质谱(UHPLC-QE-MS)法对其相应时期的血清进行代谢组学检测。运用线性混合效应模型探讨妊娠期PM_{2.5}暴露与血清代谢组的关联，并使用mummichog工具及富集分析进行通路分析。

[结果] 研究对象平均年龄为(29.31±3.83)岁，分别在孕(17.88±0.81)周、孕(32.54±1.26)周时接受孕早中期、孕晚期血清代谢组学检测，检测前三个月PM_{2.5}平均暴露水平分别为(44.03±8.74)、(40.31±6.33) μg·m⁻³。经混合效应模型分析及错误发现率校正后，GC-TOF-MS以及UHPLC-QE-MS阳、阴离子模式代谢组学检测结果显示分别有19、1903、179个信号峰与妊娠期PM_{2.5}相关。mummichog通路分析及富集分析结果显示，妊娠期PM_{2.5}暴露可以干扰前列腺素的γ-亚麻酸合成、白细胞三烯代谢及维生素E代谢通路，以及天冬氨酸代谢、葡萄糖-丙氨酸循环、丙氨酸代谢及谷胱甘肽代谢等生物学通路。

[结论] 妊娠期PM_{2.5}暴露会干扰孕妇一些生物学通路的表达，这些通路主要指向氧化应激、炎症反应及脂肪酸代谢。

关键词： PM_{2.5}；妊娠期；非靶向代谢组学；炎症反应；氧化应激

Association between gestational exposure to PM_{2.5} and serum metabolite profile ZHAO Wenxuan, ZHU Qingyang, ZHANG Yunhui (School of Public Health/Key Laboratory of Public Health Safety of Ministry of Education, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract:

[Background] PM_{2.5} may have adverse effects on offspring's development, and is known to be associated with a series of gestational metabolic disorders. However, the underlying biological mechanism remains unclear.

[Objective] This study aims to explore the association between gestational cumulative PM_{2.5} exposure and serum metabolite profile.

[Methods] We randomly selected 50 participants from the Shanghai Maternal-Child Pairs Cohort for the present study. Three-month mean PM_{2.5} exposure levels before sampling in the first-second trimester and in the third trimester were predicted by personal exposure model. Serum metabolite profiles of the same period was measured using both gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry (GC-TOF-MS) and ultra-high-performance liquid chromatography-Q exactive orbitrap mass spectrometry (UHPLC-QE-MS). A linear mixed-effect model was employed to examine the association between gestational PM_{2.5} exposure and serum metabolite profile. A pathway enrichment analysis was performed with mummichog approach.

[Results] The participants had an average age of (29.31±3.83) years. Serum metabolite profile was measured at a mean gestational age of (17.88±0.81) and (32.54±1.26) weeks respectively. The corresponding three-month mean PM_{2.5} exposure levels were (44.03±8.74) and (40.31±6.33) μg·m⁻³, respectively. After false discovery rate adjustment, in the mixed-effect model, by GC-TOF-MS, 19 signal peaks were significantly associated with gestational PM_{2.5} exposure; by UHPLC-QS-MS, 1903 positive ion and 179 negative ion signal peaks were associated with gestational PM_{2.5} exposure. The results of enrichment analysis with mummichog approach identified the enrichment of

组稿专家

周志俊(复旦大学公共卫生学院), E-mail: zjzhou@fudan.edu.cn
陶芳标(安徽医科大学), E-mail: fbtiao@ahmu.edu.cn

基金项目

国家重点研发计划项目(2019YFE0114500);
国家自然科学基金面上项目(81872581)

作者简介

并列第一作者
赵文轩(1996—),女,硕士生;
E-mail: 19211020023@fudan.edu.cn
朱清扬(1993—),男,硕士;
E-mail: 16211020022@fudan.edu.cn

通信作者

张蕴晖, E-mail: yhzhang@shmu.edu.cn

伦理审批

已获取

利益冲突

无申报

收稿日期

2021-03-23

录用日期

2021-07-23

文章编号

2095-9982(2021)09-0994-08

中图分类号

R12

文献标志码

A

►引用

赵文轩, 朱清扬, 张蕴晖. 妊娠期PM_{2.5}暴露与血清代谢组的关联[J]. 环境与职业医学, 2021, 38(9): 994-1000, 1032.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21116

Funding

This study was funded.

Correspondence to

ZHANG Yunhui, E-mail: yhzhang@shmu.edu.cn

Ethics approval

Obtained

Competing interests

None declared

Received

2021-03-23

Accepted

2021-07-23

►To cite

ZHAO Wenxuan, ZHU Qingyang, ZHANG Yunhui. Association between gestational exposure to PM_{2.5} and serum metabolite profile[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(9): 994-1000, 1032.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21116

prostaglandin formation from dihomo gamma-linolenic acid, leukotriene metabolism, and vitamin E metabolism pathways.

[Conclusion] Gestational PM_{2.5} exposure may perturb some metabolic pathways related to oxidative stress, inflammation, and fatty acid metabolism.

Keywords: PM_{2.5}; gestation; non-targeted metabolomics; inflammation; oxidative stress

怀孕对于母亲及子代都是至关重要的一个过程^[1],在这一过程中,母体内的代谢发生巨大的改变^[2],如血糖水平升高及游离脂肪酸水平改变等^[3]。这些生理性调节不仅为母体分娩和哺乳做好适应性准备,也可以满足胎儿生长发育的需求。不适宜的代谢调节会导致妊娠期糖尿病、妊娠期高血压综合征等妊娠期代谢性疾病^[4-5],进而对子代的体格发育、神经发育等造成不良影响^[6-7]。既往研究显示,细颗粒物(fine particulate matter, PM_{2.5})作为一种典型的空气污染物,是一系列妊娠期代谢性疾病(如妊娠期糖尿病、子痫前期、甲状腺功能紊乱等)的危险因素^[8-10],但其背后的生物学机制尚不明确。

近年来,代谢组学技术的发展与成熟为揭示PM_{2.5}的代谢效应提供了有力的工具,高通量的代谢组学方法已被应用于大气污染的健康效应研究^[11]。如Li等^[12]在一项横断面研究中,对180名研究对象的血清进行高通量代谢组学检测,探究与短期暴露于交通相关空气污染相关的代谢通路,发现NO₂、元素碳可干扰氧化应激、营养代谢等通路。现阶段,由于暴露评估手段的限制,只有少数研究对人体PM_{2.5}暴露与代谢组的关联性进行了探讨^[13-15]。其中Yan等^[13]对160名妊娠期妇女开展了代谢组学研究,发现孕前三个月PM_{2.5}高暴露组(PM_{2.5}质量浓度中位数为330 μg·m⁻³,四分位数间距为230 μg·m⁻³)氧化应激及炎症相关通路发生改变。虽然该研究关注了PM_{2.5}长期暴露,但测量仅局限于单一时间点。相较于单次测量,重复测量可以校正个体差异对结果的影响,而这一差异在代谢相关研究中尤为重要。

现有研究已部分揭示了PM_{2.5}暴露对机体新陈代谢的影响,提示脂质代谢、氧化应激及炎症反应相关通路可能在PM_{2.5}的健康效应中发挥一定的作用^[16-19]。然而各研究结果不尽相同,且妊娠期PM_{2.5}累积暴露对妊娠期代谢的影响及其潜在代谢机制仍不明确。因此,本研究拟通过气相色谱-飞行时间质谱(gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry, GC-TOF-MS)和超高效液相色谱-组合型四级杆Orbitrap质谱(ultra-high-performance liquid chromatography-Q exactive orbitrap mass spectrometry, UHPLC-QE-MS)

双平台高通量非靶向代谢组学技术获取孕妇在妊娠期的血清代谢物谱数据,探讨妊娠期PM_{2.5}暴露与血清代谢组的关联。

1 对象与方法

1.1 研究对象

基于上海亲子队列(Shanghai Maternal-Child Pair Cohort, Shanghai MCPC),本研究从329名进行PM_{2.5}个体暴露采样的妊娠期妇女中,随机选取50名具有完整妊娠期随访数据、单胎活产且无妊娠期并发症(包括但不限于妊娠期高血压、妊娠期糖尿病)的健康孕妇,并从上海亲子队列问卷信息库中获取其基本人口学信息。本研究经复旦大学公共卫生学院医学研究伦理委员会批准(编号:IRB#2016-04-0587-EX)。

1.2 PM_{2.5}暴露评估

研究对象分别在孕早中期、孕晚期经历两次连续72 h PM_{2.5}个体采样,并结合卫星数据和时间-活动模式等变量构建个体PM_{2.5}预测模型,模型R²=0.77,具体采样方案及模型的构建见先前报道^[20]。其中时间-活动模式指孕妇在不同活动模式下所花费的时间,第一次采样前的时间-活动模式以同期问卷记录为准,其他时间-活动模式通过线性混合效应模型平滑获得,并采用空气净化器使用时间及停止工作日期校准模型预测值。取两次采样结束日期前三个月的平均PM_{2.5}个体暴露浓度,探讨妊娠期PM_{2.5}累积暴露与血清代谢组的关联。

1.3 代谢组学检测

血清样本来自两次采样同期产检时留存的样本,自采血日起于复旦大学生物样本库-80℃条件下冻存,直至检测。

1.3.1 GC-TOF-MS法代谢组学检测 GC-TOF-MS法适用于分子量跨度较大的代谢组学研究。质谱数据的峰提取、矫正、解卷积、峰积分及峰对齐等处理均在ChromaTOF(版本4.3x)软件中完成。

1.3.2 UHPLC-QE-MS法代谢组学检测 相较以往的液相色谱-质谱法, UHPLC-QE-MS法具有更高的速度、灵敏度、分辨率及特异性,是定性、定量筛查的一种理想方法。分别对阴离子、阳离子模式下的数据进行

前处理。原始数据的保留时间校正、峰识别、提取、积分及对齐等工作均使用R语言(版本3.5.2)的XCMS包(版本3.12)完成。

1.4 统计学分析

采用主成分分析法评价血清代谢组学检测结果的稳定性。运用线性混合效应模型探讨妊娠期PM_{2.5}暴露对血清代谢组的影响,模型校正变量包括孕妇的年龄、体重指数(body mass index, BMI)、孕周、产次、孕期增重、职业及家庭年收入等。为避免引入大量的假阳性错误,本部分研究基于Benjamini等^[21]提出的错误发现率(false discovery rate, FDR)估计方法,进一步校正了模型中的 P 值,记为 P_{FDR} 。进入通路分析的代谢物需同时满足在混合效应模型中 $P < 0.05$ 且 $P_{FDR} < 0.05$ 。

1.5 代谢通路分析及代谢物定性

使用Python(版本3.0)语言环境下的mummichog工具为与PM_{2.5}暴露相关的UHPLC-QE-MS代谢组学信号峰进行通路注释。mummichog算法的假设是与某一生物学机制真正相关的代谢物必然在人体代谢物网络中呈现一定的空间聚集性,而假阳性结果则应服从随机分布(Gamma分布),该算法通过Gamma分布的累积分布函数对通路富集结果进行假设检验。该方法同时考虑了代谢物定性在统计学上的意义及在生物学上的合理性,已被广泛应用于非靶向代谢组学的研究中^[17, 22]。

选用xMSannotator工具对UHPLC-QE-MS法所识别的信号峰进行定性分析,该方法同时考虑了物质在不同离子模式下所有潜在的加和态类型及其在特定代谢通路中与上下游产物的共表达信息,还可根据聚类及质荷比等信息为代谢物定性给出置信度评分^[23]。所有相关过程均在R语言(版本3.5.2)环境下完成。

GC-TOF-MS法测得代谢物通过匹配实验室自有标准品数据库及外部公开数据库中的代谢物特征信息(保留时间、质荷比)完成定性,包括京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)、人类代谢组数据库(Human Metabolome Database, HMDB),相似度阈值为0.7。通过富集分析完成代谢物通路分析。

2 结果

2.1 研究对象基本人口学特征及暴露水平

如表1所示,研究对象平均年龄为(29.31±3.83)岁,

孕早中期BMI为(22.57±2.87) kg·m⁻², 92%的研究对象文化程度为大专及以上。该部分孕妇与所有参与PM_{2.5}个体暴露采样的孕妇的基本人口学信息的差异均无统计学意义。

研究对象分别在怀孕的第(17.88±0.81)周、第(32.54±1.26)周接受孕早中期、孕晚期血清代谢组学检测,检测前三个月PM_{2.5}平均暴露水平分别为(44.03±8.74)、(40.31±6.33) μg·m⁻³,且二者的数值差异具有统计学意义($P < 0.05$)。此外,孕妇的体重随怀孕进程显示出明显增长,相较孕早中期而言,孕晚期平均体重增长了约8 kg, BMI相应增长了约3 kg·m⁻²。

表1 研究对象基本人口学信息及PM_{2.5}暴露水平

Table 1 Socio-demographic characteristics and PM_{2.5} exposure levels of participants

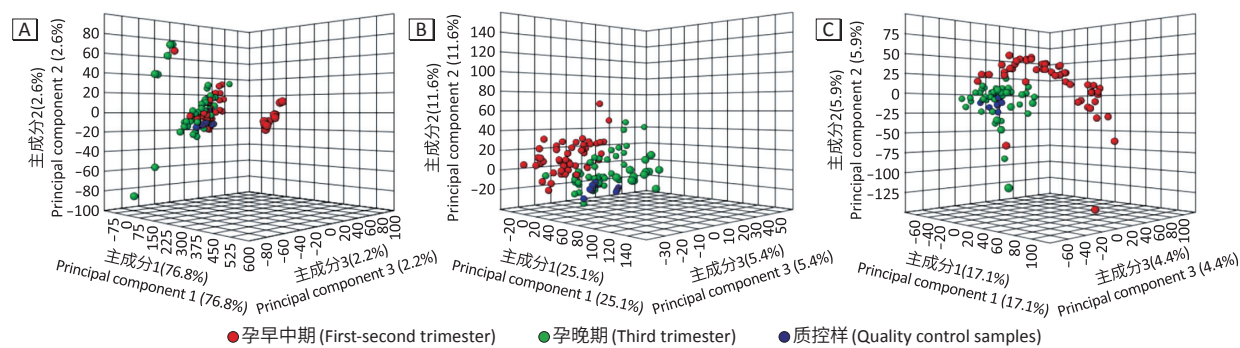
变量 (Variable)	$\bar{x} \pm s$ 或 n (%)
年龄/岁 (Age/years)	29.31±3.83
身高/cm (Height/cm)	160.62±5.15
孕早中期体重/kg (Weight in the first-second trimester/kg)	58.33±8.72 ^a
孕晚期体重/kg (Weight in the third trimester/kg)	66.27±8.66 ^a
孕早中期BMI/kg·m ⁻² [BMI in the first-second trimester/ (kg·m ⁻²)]	22.57±2.87 ^b
孕晚期BMI/kg·m ⁻² [BMI in the third trimester/ (kg·m ⁻²)]	25.65±2.84 ^b
产次 (Parity)	
0	26 (52.0)
≥1	24 (48.0)
文化程度 (Maternal education)	
高中及以下 (High school and below)	4 (8.0)
大专 (College)	13 (26.0)
大学及以上 (Bachelor and above)	33 (66.0)
家庭年收入/万元 (Family annual income/×10 ⁴ yuan)	
<10	7 (14.0)
10~30	40 (80.0)
>30	3 (6.0)
孕早中期采样结束前三个月PM _{2.5} 平均暴露质量浓度/(μg·m ⁻³) Three-month mean PM _{2.5} exposure level before sampling in the first-second trimester/ (μg·m ⁻³)	44.03±8.74 ^c
孕晚期采样结束前三个月PM _{2.5} 平均暴露质量浓度/(μg·m ⁻³) Three-month mean PM _{2.5} exposure level before sampling in the third trimester/ (μg·m ⁻³)	40.31±6.33 ^c

[注] 配对 t 检验,具有相同字母者差异有统计学意义。a和b: $P < 0.001$; c: $P < 0.05$ 。

[Note] By paired t test, statistical significant differences between two groups are marked with same superscript letters. a and b: $P < 0.001$; c: $P < 0.05$.

2.2 代谢组学数据质控

质控样本在UHPLC-QE-MS阳离子、阴离子模式及GC-TOF-MS下测得代谢物的主成分分析结果见图1。样本均在由主成分1、主成分2及主成分3组成的三维空间中呈紧密团状分布,提示代谢组学测定结果较为稳定。



[注] A：UHPLC-QE-MS 阳离子模式；B：UHPLC-QE-MS 阴离子模式；C：GC-TOF-MS。
[Note] A: UHPLC-QE-MS positive ion mode; B: UHPLC-QE-MS negative ion mode; C: GC-TOF-MS.

图1 质控样本GC-TOF-MS及UHPLC-QE-MS主成分分析结果

Figure 1 Principal component analysis results of quality control samples by GC-TOF-MS and UHPLC-QE-MS

2.3 妊娠期PM_{2.5}暴露与血清代谢组的关联

如表2所示，血清GC-TOF-MS代谢组学检测共测得415个信号峰，其质荷比分布在57~459之间，其中有301个信号峰得到了准确定性。UHPLC-QE-MS阳离子、阴离子模式分别检测到5436、3510个信号峰，其质荷比分布在71~983及70~998之间。

表2 各检测方法中与PM_{2.5}相关的代谢物（信号峰）数量
Table 2 Number of metabolites (signal peaks) related to PM_{2.5} by different detection methods

检测方法 Detection method	信号峰数量 Number of signal peaks	荷质比范围 Range of specific charge	定性峰数量 ^a Number of identified peaks	与PM _{2.5} 暴露相关峰数量 ^b Number of peaks related to PM _{2.5} exposure	
				<i>P</i> <0.05	<i>P</i> _{FDR} <0.05
GC-TOF-MS	415	57~459	301	30	19
UHPLC-QE-MS					
阳离子模式 Positive ion mode	5436	71~983	—	2110	1903
阴离子模式 Negative ion mode	3510	70~998	—	675	179

[注] a：GC-TOF-MS结果首先通过匹配数据库进行定性，而UHPLC-QE-MS结果在进入通路分析前不预先进行物质定性。b：*P*值为线性混合效应模型直接输出结果，*P*_{FDR}为使用Benjamini-Hochberg方法校正后的结果。
[Note] a: The GC-TOF-MS peaks are annotated prior to the pathway analysis, while the UHPLC-QE-MS peaks are analyzed without annotation. b: *P* values are derived from the linear mixed-effect model, while *P*_{FDR} values are FDR-adjusted with the Benjamini-Hochberg approach.

线性混合效应模型初步分析结果显示，GC-TOF-MS法检测的代谢物中有30个信号峰与妊娠期PM_{2.5}相关，UHPLC-QE-MS阳离子、阴离子模式结果中分别有2110、675个信号峰与PM_{2.5}暴露相关。校正FDR之后，这一数字分别降低至19、1903与179。

mummichog通路分析结果显示，妊娠期PM_{2.5}暴露主要影响了15条相关代谢通路（表3）。其中，前列腺素的γ亚麻酸合成、白细胞三烯代谢及维生素E代谢通路在阳离子、阴离子模式中均被发现与妊娠期

PM_{2.5}暴露相关（Gamma *P*<0.05）。此外，在阳离子模式中额外发现了PM_{2.5}暴露可以影响脂肪酸激活、脂肪酸代谢、脂肪酸氧化、Ω-3脂肪酸代谢等相关通路。在阴离子模式中额外发现了PM_{2.5}暴露可以影响前列腺素的花生四烯酸合成、维生素A代谢及C21甾类激素的生物合成及代谢等生物通路。这些通路主要涉及的生物学机制包括外源性化学物介导的氧化应激、炎症反应及脂肪酸代谢等。

进一步运用xMSannotator工具对代谢物进行UHPLC-QE-MS代谢产物定性分析，这些代谢产物同时满足在3条主要通路内（前列腺素的γ亚麻酸合成、白细胞三烯代谢及维生素E代谢通路），且与PM_{2.5}暴露相关（*P*_{FDR}<0.05）。在前列腺素通路中关键代谢分子包括前列腺素E₁、前列腺素F_{2α}、前列腺素G₁及前列腺素H₁等。PM_{2.5}暴露主要与前列腺素通路中的物质呈现正相关关系，仅与前列腺素H₁呈现负相关。在白细胞三烯代谢通路中，代谢产物主要为白细胞三烯B₄及其相关前体（如20-氧代-白细胞三烯B₄等）。作为机体氧化应激的指标，白细胞三烯及其代谢前体多与妊娠期PM_{2.5}暴露呈现正相关关系。维生素E代谢通路中，与妊娠期PM_{2.5}暴露有关的物质主要包括生育三烯酚与生育酚的代谢前体物质，这些参与机体抗氧化过程的物质主要与妊娠期PM_{2.5}暴露呈现负相关关系。

通过GC-TOF-MS法定性的代谢物中，与妊娠期PM_{2.5}暴露呈现负相关的物质包括丙氨酸、L-葡萄糖辛酸、十八碳烯酸、环戊硅氧烷、甲醛、L-谷氨酸等，而与PM_{2.5}暴露呈现正相关的物质则主要包括胆固醇、哌啶酸、异吲哚、油酸、花生四烯酸等。其中，花生四烯酸作为前列腺素及白细胞三烯生物合成的一个重要前体物质，与PM_{2.5}暴露呈现正相关关系（β=0.21，*P*<0.001且*P*_{FDR}=0.018）。

表3 与妊娠期PM_{2.5}暴露相关的代谢通路

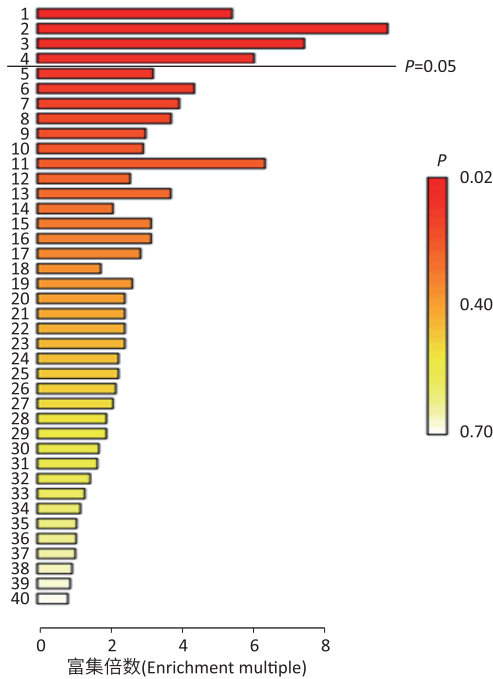
Table 3 Metabolic pathways related to gestational PM_{2.5} exposure

代谢通路名称 Name of metabolic pathways	总物质数 Total number of metabolites	UHPLC-QE-MS 阳离子模式 UHPLC-QE-MS positive ion mode			UHPLC-QE-MS 阴离子模式 (UHPLC-QE-MS negative ion mode)		
		总重叠物质数 Total number of overlapping metabolites	相关物质数 Number of related metabolites	Gamma P	总重叠物质数 Total number of overlapping metabolites	相关物质数 Number of related metabolites	Gamma P
前列腺素的γ亚麻酸合成 Prostaglandin formation from dihomo gamma-linoleic acid	11	6	6	0.003	6	2	0.001
白细胞三烯代谢 Leukotriene metabolism	92	48	12	0.019	37	3	0.013
维生素E代谢 Vitamin E metabolism	54	32	10	0.007	23	2	0.022
脂肪酸激活 Fatty acid activation	74	21	8	0.025	—	—	—
脂肪酸代谢 Fatty acid metabolism	63	17	6	0.010	—	—	—
脂肪酸氧化 Fatty acid oxidation	35	5	3	0.010	—	—	—
Ω-3 脂肪酸代谢 Omega-3 fatty acid metabolism	39	10	4	0.013	—	—	—
肉毒碱穿梭系统 Carnitine shuttle	72	24	7	0.016	—	—	—
饱和脂肪酸的β氧化 Saturated fatty acids beta-oxidation	36	16	5	0.019	—	—	—
脂肪酸氧化过氧化物酶体 Fatty acid oxidation, peroxisome	28	7	3	0.020	—	—	—
泛醌的生物合成 Ubiquinone Biosynthesis	10	7	3	0.020	1	1	1
脂肪酸从头合成 De novo fatty acid biosynthesis	106	22	6	0.026	—	—	—
前列腺素的花生四烯酸合成 Prostaglandin formation from arachidonate	78	61	10	0.237	55	4	0.013
维生素A代谢 Vitamin A (retinol) metabolism	67	28	3	0.488	26	2	0.003
C21 甾类激素的生物合成及代谢 C21-steroid hormone biosynthesis and metabolism	112	80	9	0.642	85	5	0.032

[注] 总物质数代表该代谢通路所包含的所有物质数量；总重叠物质代表检测出的物质中属于该代谢通路的数量；相关物质代表所有重叠物质中与PM_{2.5}暴露关联 $P<0.05$ 且 $P_{FDR}<0.05$ 的物质。

[Note] Total number of metabolites denotes the total number of metabolites in a pathway; total number of overlapping metabolites is the number of detected metabolites within a certain pathway; number of related metabolites is the number of PM_{2.5}-related metabolites ($P<0.05$ and $P_{FDR}<0.05$).

将上述物质进行富集分析，得到如图2所示的4条主要代谢通路，分别为天冬氨酸代谢、葡萄糖-丙氨酸循环、丙氨酸代谢及谷胱甘肽代谢通路。



[注 (Note)] 1：天冬氨酸代谢 (Aspartate metabolism)；2：葡萄糖-丙氨酸循环 (Glucose-alanine cycle)；3：丙氨酸代谢 (Alanine metabolism)；4：谷胱甘肽代谢 (Glutathione metabolism)；5：甘氨酸和丝氨酸代谢 (Glycine and serine metabolism)；6：尿素循环 (Urea cycle)；7：氨循环 (Ammonia recycling)；8：β-丙氨酸代谢 (Beta-alanine metabolism)；9：丙酸代谢 (Propanoate metabolism)；10：组氨酸代谢 (Histidine metabolism)；11：苹果酸-天冬氨酸穿梭 (Malate-aspartate shuttle)；12：谷氨酸代谢 (Glutamate metabolism)；13：磷脂酰肌醇磷酸代谢 (Phosphatidylinositol phosphate metabolism)；14：色氨酸代谢 (Tryptophan metabolism)；15：儿茶酚胺生物合成 (Catecholamine biosynthesis)；16：维生素B6代谢 (Vitamin B6 metabolism)；17：肉碱合成 (Carnitine synthesis)；18：酪氨酸代谢 (Tyrosine metabolism)；19：咖啡因代谢 (Caffeine metabolism)；20：半胱氨酸代谢 (Cysteine metabolism)；21：磷酸肌醇代谢 (Inositol phosphate metabolism)；22：支链脂肪酸的氧化 (Oxidation of branched chain fatty acids)；23：植酸过氧化物酶体氧化 (Phytanic acid peroxisomal oxidation)；24：苯丙氨酸和酪氨酸代谢 (Phenylalanine and tyrosine metabolism)；25：硒氨基酸代谢 (Selenoamino acid metabolism)；26：叶酸代谢 (Folate metabolism)；27：赖氨酸降解 (Lysine degradation)；28：氨基糖代谢 (Amino sugar metabolism)；29：肌醇代谢 (Inositol metabolism)；30：烟酸和烟酰胺代谢 (Nicotinate and nicotinamide metabolism)；31：半乳糖代谢 (Galactose metabolism)；32：类固醇生成 (Steroidogenesis)；33：类固醇生物合成 (Steroid biosynthesis)；34：精氨酸和脯氨酸代谢 (Arginine and proline metabolism)；35：瓦伯格效应 (Warburg effect)；36：嘧啶代谢 (Pyrimidine metabolism)；37：缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解 (Valine, leucine and Isoleucine degradation)；38：胆汁酸生物合成 (Bile acid biosynthesis)；39：花生四烯酸代谢 (Arachidonic acid metabolism)；40：嘌呤代谢 (Purine metabolism)。

图2 GC-TOF-MS检测中与PM_{2.5}暴露有关的代谢通路富集情况
Figure 2 Metabolic pathways related to PM_{2.5} exposure by GC-TOF-MS

3 讨论

本研究在前期评估妊娠期妇女个体 $PM_{2.5}$ 暴露水平的工作基础上,结合全代谢组关联研究进一步探讨了妊娠期 $PM_{2.5}$ 累积暴露与血清代谢组的关联。线性混合效应模型和通路富集分析结果指示,妊娠期 $PM_{2.5}$ 暴露会干扰孕妇体内一些生物学通路。其中,前列腺素的 γ 亚麻酸合成、白细胞三烯代谢及维生素E代谢通路在不同离子模式的UHPLC-QE-MS代谢组学研究中均被发现与 $PM_{2.5}$ 暴露具有关联;这些代谢通路的部分前体物质在GC-TOF-MS代谢组学研究中则进一步被证明与 $PM_{2.5}$ 暴露正相关。

前列腺素与白细胞三烯同属于类二十碳烷物质,参与体内多项生物稳态调节及炎症反应^[24]。血浆前列腺素 F_2 水平更被认为是在体内实验中反映氧化应激水平的“金标准”^[25]。对孕产妇健康而言,前列腺素在子宫肌层活动中具有核心地位^[26],而前列腺素 $F_{2\alpha}$ 及前列腺素 E_2 水平与流产的发生具有正相关关系^[27]。白细胞三烯这类物质能促进炎症、变态反应和趋化性。既往流行病学研究指出, $PM_{2.5}$ 急、慢性暴露会导致一般人群血浆白细胞三烯B4水平升高^[17, 28]。维生素E在人体中主要以生育酚及生育三烯酚的形式存在,作为过氧化自由基清除剂,可拮抗由 $PM_{2.5}$ 或臭氧所介导的炎症反应及氧化应激^[29]。对于孕妇而言,维生素E水平降低是子痫前期的危险因素之一^[30]。其他通过UHPLC-QE-MS方法定位的与妊娠期 $PM_{2.5}$ 暴露相关的代谢通路也佐证了 $PM_{2.5}$ 对脂肪酸代谢的影响,包括脂肪酸的从头合成、激活、代谢及氧化等过程。在既往研究中, $PM_{2.5}$ 对脂质代谢的不良影响也已得到广泛报道^[31]。

使用GC-TOF-MS代谢组学研究发现的花生四烯酸是白三烯及前列腺素的主要前体物质,有效印证了 $PM_{2.5}$ 暴露与上述代谢通路之间的关联,对UHPLC-QE-MS结果形成了良好的补充。此外,本研究发现 $PM_{2.5}$ 暴露可降低L-谷氨酸及丙氨酸的水平,并进而影响谷胱甘肽代谢。谷胱甘肽是拮抗氧化应激作用的重要物质^[32],该代谢通路的紊乱可影响机体抵抗氧化应激作用的能力。在孕产妇人群中,谷胱甘肽代谢失调是子痫前期的一个重要危险因素^[33]。

本研究结果显示,妊娠期 $PM_{2.5}$ 暴露可对孕妇体内部分代谢通路造成干扰,而孕妇代谢紊乱造成的代谢性疾病会进一步对儿童健康造成不良影响。妊娠期糖尿病可以增加死胎、巨大儿、新生儿低血糖等不良

妊娠结局的发生风险,且对子代的影响可持续至儿童时期甚至成年后,增加其肥胖发生率^[34]。亚临床的妊娠期甲减不仅会增加早产、低出生体重儿等不良结局风险,还会影响子代后续神经发育^[35]。

本研究应用高通量的非靶向血清代谢组学方法探讨了妊娠期 $PM_{2.5}$ 暴露与血清代谢组的关系,同时使用了UHPLC-QE-MS和GC-TOF-MS双平台进行检测,两者结果互为补充,一定程度上揭示了妊娠期 $PM_{2.5}$ 暴露相关的生物学机制,与其他空气污染相关研究的结果相似^[11-13]。

本研究仍存在一些局限性。首先,本研究的样本量较少,但研究结论与其他相关文章相似。其次,本研究只进行了两次血清代谢组学检测,虽然弥补了结局时间节点单一的问题,也平衡了个体内不同时间的代谢差异,但不能反映妊娠期血清代谢改变的中间过程。最后,尽管本研究综合专业知识及既往相关研究,主要考虑了与孕妇血清代谢相关且与 $PM_{2.5}$ 暴露相关的协变量,包括孕妇的年龄、BMI、孕周、产次、孕期增重、职业及家庭年收入等协变量,但依旧可能存在饮食、被动吸烟等混杂因素。

综上,本研究结果发现妊娠期 $PM_{2.5}$ 暴露会干扰孕妇一些生物学通路的表达,这些通路主要指向氧化应激、炎症反应及脂肪酸代谢。

参考文献

- [1] ALKEMA L, CHOU D, HOGAN D, et al. Global, regional, and national levels and trends in maternal mortality between 1990 and 2015, with scenario-based projections to 2030: a systematic analysis by the UN Maternal Mortality Estimation Inter-Agency Group [J]. *Lancet*, 2016, 387 (10017): 462-474.
- [2] LIANG L, RASMUSSEN MH, PIENING B, et al. Metabolic dynamics and prediction of gestational age and time to delivery in pregnant women [J]. *Cell*, 2020, 181 (7): 1680-1692.e15.
- [3] DI CIANNI G, MICCOLI R, VOLPE L, et al. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2003, 19 (4): 259-270.
- [4] LORENZO-ALMORÓS A, HANG T, PEIRÓ C, et al. Predictive and diagnostic biomarkers for gestational diabetes and its associated metabolic and cardiovascular diseases [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2019, 18 (1): 140.
- [5] ZHOU Y, CHEN ZH, ZHAO XL, et al. Effect of serum high

- molecular weight adiponectin level on the occurrence of eclampsia during subsequent pregnancy in patients with primary pregnancy induced hypertension [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21 (2) : 213-218.
- [6] VANHANDSAEME G, BENHALIMA K. The long-term metabolic and neurocognitive risks in offspring of women with type 1 diabetes mellitus [J]. *Acta Diabetol*, 2021, 58 (7) : 845-858.
- [7] JANSEN TA, KOREVAAR TI, MULDER TA, et al. Maternal thyroid function during pregnancy and child brain morphology : a time window-specific analysis of a prospective cohort [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7 (8) : 629-637.
- [8] YU H, YIN Y, ZHANG J, et al. The impact of particulate matter 2.5 on the risk of preeclampsia : an updated systematic review and meta-analysis [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2020, 27 (30) : 37527-37539.
- [9] TANG X, ZHOU JB, LUO F, et al. Air pollution and gestational diabetes mellitus : evidence from cohort studies [J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, 8 (1) : e000937.
- [10] ZHAO Y, CAO Z, LI H, et al. Air pollution exposure in association with maternal thyroid function during early pregnancy [J]. *J Hazard Mater*, 2019, 367 : 188-193.
- [11] JIN L, POLLITT KJ, LIEW Z, et al. Use of untargeted metabolomics to explore the air pollution-related disease continuum [J]. *Curr Environ Health Rep*, 2021, 8 : 7-22.
- [12] LI Z, LIANG D, YE D, et al. Application of high-resolution metabolomics to identify biological pathways perturbed by traffic-related air pollution [J]. *Environ Res*, 2021, 193 : 110506.
- [13] YAN Q, LIEW Z, UPPAL K, et al. Maternal serum metabolome and traffic-related air pollution exposure in pregnancy [J]. *Environ Int*, 2019, 130 : 104872.
- [14] WALKER DI, LANE KJ, LIU K, et al. Metabolomic assessment of exposure to near-highway ultrafine particles [J]. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2019, 29 (4) : 469-483.
- [15] MENNI C, METRUSTRY SJ, MOHNEY RP, et al. Circulating levels of antioxidant vitamins correlate with better lung function and reduced exposure to ambient pollution [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 191 (10) : 1203-1207.
- [16] ZHAO C, NIU M, SONG S, et al. Serum metabolomics analysis of mice that received repeated airway exposure to a water-soluble PM_{2.5} extract [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 168 : 102-109.
- [17] LIANG D, MOUTINHO JL, GOLAN R, et al. Use of high-resolution metabolomics for the identification of metabolic signals associated with traffic-related air pollution [J]. *Environ Int*, 2018, 120 : 145-154.
- [18] WANG X, JIANG S, LIU Y, et al. Comprehensive pulmonary metabolome responses to intratracheal instillation of airborne fine particulate matter in rats [J]. *Sci Total Environ*, 2017, 592 : 41-50.
- [19] ANDRA SS, AUSTIN C, PATEL D, et al. Trends in the application of high-resolution mass spectrometry for human biomonitoring : an analytical primer to studying the environmental chemical space of the human exposome [J]. *Environ Int*, 2017, 100 : 32-61.
- [20] ZHU Q, XIA B, ZHAO Y, et al. Predicting gestational personal exposure to PM_{2.5} from satellite-driven ambient concentrations in Shanghai [J]. *Chemosphere*, 2019, 233 : 452-461.
- [21] BENJAMINI Y, DRAI D, ELMER G, et al. Controlling the false discovery rate in behavior genetics research [J]. *Behav Brain Res*, 2001, 125 (1-2) : 279-284.
- [22] VLAANDEREN JJ, JANSSEN NA, HOEK G, et al. The impact of ambient air pollution on the human blood metabolome [J]. *Environ Res*, 2017, 156 : 341-348.
- [23] UPPAL K, WALKER DI, JONES DP. xMSannotator : an R package for network-based annotation of high-resolution metabolomics data [J]. *Anal Chem*, 2017, 89 (2) : 1063-1067.
- [24] FUNK CD. Prostaglandins and leukotrienes : advances in eicosanoid biology [J]. *Science*, 2001, 294 (5548) : 1871-1875.
- [25] TEPPNER M, ZELL M, HUSSER C, et al. Quantitative profiling of prostaglandins as oxidative stress biomarkers *in vitro* and *in vivo* by negative ion online solid phase extraction-Liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Biochem*, 2016, 498 : 68-77.
- [26] KIM SH, RIAPOSOVA L, AHMED H, et al. Oxytocin receptor antagonists, atosiban and nolasiban, inhibit prostaglandin F_{2α}-induced contractions and inflammatory responses in human myometrium [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1) : 5792.
- (下转第 1032 页)

- acute respiratory syndrome-coronavirus [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48 (6) : 742-748.
- [5] WRAPP D, WANG N, CORBETT KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation [J]. *Science*, 2020, 367 (6483) : 1260-1263.
- [6] CHEN N, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China : a descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10223) : 507-513.
- [7] 袁小丽, 李春盛. 体外膜肺氧合的临床应用 [J]. *中国临床医生杂志*, 2018, 46 (7) : 770-771.
- YUAN X L, LI C S. Clinical application of extracorporeal membrane oxygenation [J]. *Chin J Clin*, 2018, 46 (7) : 770-771.
- [8] 周宁, 鲍玫, 王振全. 体外膜肺氧合支持治疗应用及并发症防范研究进展 [J]. *临床误诊误治*, 2018, 31 (4) : 106-111.
- ZHOU N, BAO M, WANG Z Q. Research progress on application of extracorporeal membrane oxygenation support therapy and prevention of complications [J]. *Clin Misd Msth*, 2018, 31 (4) : 106-111.
- [9] 国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案 (试行第七版) [J]. *全科医学临床与教育*, 2020, 18 (2) : 100-105.
- General Office of National Health Commission, Office of State Administration of Traditional Chinese Medicine. Diagnosis and treatment of novel coronavirus infection pneumonia [J]. *Clin Educ Gen Pract*, 2020, 18 (2) : 100-105.
- [10] 王一丹, 唐浩, 陈卉, 等. 尘肺病合并肺结核发生情况的 Meta 分析 [J]. *职业与健康*, 2015, 31 (1) : 16-19.
- WANG Y D, TANG H, CHEN H, et al. Meta-analysis of pneumoconiosis complicated with tuberculosis [J]. *Occup Health*, 2015, 31 (1) : 16-19.
- (英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)

(上接第 1000 页)

- [27] WALDORF KM, SINGH N, MOHAN AR, et al. Uterine overdistention induces preterm labor mediated by inflammation : observations in pregnant women and nonhuman primates [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 213 (6) : 830.e1-830.e19.
- [28] ELANGO N, KASI V, VEMBHU B, et al. Chronic exposure to emissions from photocopiers in copy shops causes oxidative stress and systematic inflammation among photocopier operators in India [J]. *Environ Health*, 2013, 12 (1) : 78.
- [29] BO L, JIANG S, XIE Y, et al. Effect of vitamin e and omega-3 fatty acids on protecting ambient PM_{2.5}-induced inflammatory response and oxidative stress in vascular endothelial cells [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (3) : e0152216.
- [30] TARA VATI A, TOHIDI F. Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2018, 57 (6) : 779-790.
- [31] LI H, CAI J, CHEN R, et al. Particulate matter exposure and stress hormone levels : a randomized, double-blind, crossover trial of air purification [J]. *Circulation*, 2017, 136 (7) : 618-627.
- [32] DIAZ-VIVANCOS P, DE SIMONE A, KIDDLE G, et al. Glutathione-linking cell proliferation to oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 89 : 1154-1164.
- [33] JIN X, XU Z, CAO J, et al. Proteomics analysis of human placenta reveals glutathione metabolism dysfunction as the underlying pathogenesis for preeclampsia [J]. *Biochim Biophys Acta (BBA) -Proteins Proteom*, 2017, 1865 (9) : 1207-1214.
- [34] SZMUILOWICZ ED, JOSEFSON JL, METZGER BE. Gestational diabetes mellitus [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2019, 48 (3) : 479-493.
- [35] MARAKA S, OSPINA NM, O'KEEFFE DT, et al. Subclinical hypothyroidism in pregnancy : a systematic review and meta-analysis [J]. *Thyroid*, 2016, 26 (4) : 580-590.
- (英文编辑: 汪源; 责任编辑: 汪源)