

三种统计模型在职业工人多环芳烃暴露与认知水平关联研究中的应用

王慧敏, 付萌萌, 吴敏, 刘成娟, 杜娟娟, 聂继盛

山西医科大学劳动卫生学教研室, 山西 太原 030001



DOI 10.11836/JEOM21428

摘要:

[背景] 多环芳烃(PAHs)作为一类复杂的有机污染物,暴露呈现多种羟基代谢物共同暴露的特征,大部分研究分析了每种PAHs代谢物的独立作用,并将其他代谢物作为协变量调整,未考虑到相互作用,其毒性效应的研究需要合理的统计方法。

[目的] 探讨 logistic 回归、加权分位数之和(WQS)回归和贝叶斯核机器回归(BKMR)在评估外源化学物质混合暴露与健康结局相关分析中的适用性,比较三个模型的优点和局限性,提出化学物质混合暴露健康效应评价的分析策略以应用于 PAHs 暴露与认知水平关联的分析中。

[方法] 根据相应的纳排标准,收集山西省某焦化厂和污水处理厂 1 051 名参加职工健康体检工人的尿液,使用超高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS)检测 11 种 PAHs 羟基代谢物单羟基多环芳烃浓度,使用蒙特利尔认知评估量表评定其认知水平,获取轻度认知功能障碍(MCI)检出率。分别应用 logistic 回归、WQS 回归和 BKMR 分析二者之间的联系。

[结果] 研究对象 MCI 检出率为 21.7%(228/1 051)。2-羟基萘(2-OHNA)的浓度在 11 种代谢物中最高,中位浓度为 0.30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,其次是 9-羟基菲(9-OHPHE)(0.26 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。MCI 组与认知正常组 2-OHNA、1-羟基萘(1-OHNA)、2-羟基芴(2-OHFLU)、9-OHPHE、1-羟基菲(1-OHPHE)和 1-羟基芘(1-OHPYR)浓度差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。logistic 回归显示:2-OHNA 和 2-OHPHE 与 MCI 检出有关,2-OHNA 与 2-OHPHE 浓度每增加 10 倍,MCI 检出的 OR(95%CI)分别为 1.28(1.01~1.67)和 1.27(1.00~1.72)。WQS 回归显示:WQS 指数与 MCI 检出率呈正相关(OR=1.37,95%CI: 1.10~1.72)。BKMR 分析显示:当所有代谢物浓度均处于或高于其第 30 百分位数时,总体效应具有统计学意义;与均处于其中位浓度相比,当所有 PAHs 代谢物暴露水平均处于第 75 百分位数时,MCI 检出风险比例上升 6%。

[结论] 基于三种模型的结果,认为 2-OHNA 和 2-OHPHE 是与认知水平相关的最重要因素。推荐使用传统的 logistic 和 WQS 或 BKMR 任一种相结合的方式对 PAHs 与 MCI 关联研究。

关键词: 多环芳烃; logistic 回归; 加权分位数之和回归; 贝叶斯核机器回归; 认知

Application of three statistical models in association between polycyclic aromatic hydrocarbons exposure and cognitive level in workers WANG Huimin, FU Mengmeng, WU Min, LIU Chengjuan, DU Juanjuan, NIE Jisheng (Department of Occupational Health, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

Abstract:

[Background] As a complex organic pollutant, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) exposure shares the common exposure characteristics of multiple hydroxyl metabolites. Most studies have analyzed independent effect of each PAHs metabolite and have adjusted for the potential confounding effects induced by other metabolites concomitantly, without considering possible interactions among them. Proper statistical methods are needed to study their toxic effects.

[Objective] To explore the applicability of logistic regression, weighted quantile sum (WQS) regression, and Bayesian kernel machine regression (BKMR) in evaluating the correlation between mixed exposures to exogenous chemicals and health outcomes, compare the advantages and limitations of the three models, and propose analytical strategies for evaluating the health effects of mixed chemical exposure for application in the analysis of the association between PAHs exposure and cognition.

[Methods] Urine samples were collected of workers from a coke oven plant and a water treatment plant in Shanxi Province, who participated in their routine employee health examination. Mono-hydroxylated PAHs were detected by high-performance liquid chromatography

基金项目

国家自然科学基金(82073526);山西省回国留学人员科研资助项目(2016-057);山西省自然科学基金项目(2015011128)

作者简介

王慧敏(1996—),女,硕士生;
E-mail: wanghm0422@163.com

通信作者

聂继盛, E-mail: niejisheng@126.com

伦理审批

已获取
利益冲突 无申报
收稿日期 2021-09-12
录用日期 2022-02-17

文章编号

2095-9982(2022)05-0478-07
中图分类号 R114
文献标志码 A

补充材料

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21428

引用

王慧敏, 付萌萌, 吴敏, 等. 三种统计模型在职业工人多环芳烃暴露与认知水平关联研究中的应用[J]. 环境与职业医学, 2022, 39(5): 478-484.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21428

Funding

This study was funded.

Correspondence to

NIE Jisheng, E-mail: niejisheng@126.com

Ethics approval

Obtained

Competing interests None declared

Received 2021-09-12

Accepted 2022-02-17

Supplemental material

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21428

To cite

WANG Huimin, FU Mengmeng, WU Min, et al. Application of three statistical models in association between polycyclic aromatic hydrocarbons exposure and cognitive level in workers[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(5): 478-484.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21428

with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS), cognitive function was assessed using the Montreal Cognitive Assessment (MoCA). A cut-off value of MoCA less than 26 was considered mild cognitive impairment (MCI). According to a predetermined inclusion and exclusion criteria, 1 051 cases were included in the final data analysis. Logistic regression, WQS regression, and BKMR were used to analyze the relationship between PAHs metabolites and MCI.

[Results] The prevalence rate of reporting MCI among the 1 051 workers was 21.7% (228/1 051). The concentration of 2-hydroxynaphthalene (2-OHNA) was the highest among the 11 PAHs metabolites with a median concentration of $0.30 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, followed by 9-hydroxyphenanthrene (9-OHPHE) ($0.26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). There were significant differences between the two groups in 2-OHNA, 1-hydroxynaphthalene (1-OHNA), 2-hydroxyfluorene (2-OHFLU), 9-OHPHE, 1-hydroxyphenanthrene (1-OHPHE), and 1-hydroxypyrene (1-OHPYR) (all P s < 0.05). In the logistic regression, 2-OHNA and 2-OHPHE were associated with MCI, and the OR (95%CI) for reporting MCI was 1.28 (1.01-1.67) and 1.27 (1.00-1.72) for each 10-fold increase in 2-OHNA and 2-OHPHE concentrations, respectively. In the WQS regression analysis, the WQS index was positively correlated with the prevalence rate of reporting MCI (OR=1.37, 95%CI: 1.10-1.72). In the BKMR analysis, compared with the median exposure levels of all chemicals, the overall effect was statistically significant when all PAHs metabolites concentrations were at or above their 30th percentile; when all exposures were at the 75th percentile, the risk of reporting MCI increased by 6%.

[Conclusion] Based on the results of these three models, 2-OHNA and 2-OHPHE are the most important factors related to cognitive. It is recommended to use a combination of traditional logistic regression and either WQS or BKMR to study the association between PAHs and MCI.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons; logistic regression; weighted quantile sum regression; Bayesian kernel machine regression; cognition

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是一组分布广泛的有 2~7 个芳香环的化合物^[1],是炼焦生产过程中燃料不完全燃烧而产生的主要污染物。PAHs 暴露后可被细胞色素 P450 酶氧化形成多种单羟基多环芳烃,主要通过尿液迅速排出^[2]。职业流行病学研究发现焦炉工人长时间暴露于工作环境中的 PAHs,会出现神经官能症并伴有植物神经系统调节紊乱、学习记忆能力降低^[3]。动物和细胞实验均表明,苯并[a]芘(PAHs 的代表)染毒可引起大鼠的学习记忆能力和神经行为功能下降,小鼠神经元死亡^[4]。蒙特利尔认知评估(Montreal Cognitive Assessment, MoCA)量表是通过神经心理测试的方式反映人类认知水平和神经行为的常见量表之一^[5]。

化学物暴露的健康效应评估往往仅关注单一化学物暴露,在分析中未能考虑到其他化学物的暴露情况。然而人群的实际暴露情况却呈现多来源、多样性、同时性的特征^[6-8]。单一化学物的暴露评估往往忽略了混合暴露带来的巨大风险,提示流行病学研究的也应考虑混合暴露物的健康风险评估^[8-9]。混合暴露分析的复杂性主要来源于化学物间暴露来源和代谢途径相似而导致的高度相关性,以及化学物间复杂的相互作用。在传统的分析方法中,化学物间高度的共线性可能导致结果的扭曲。由于混合暴露数据高维的特征,传统的分析方法无法将所有潜在的交互作用项纳入模型。而对 PAHs 与神经行为为关联的分析也多采用传统的分析方法^[10-11]。

近年来,为解决以上问题,统计学家开发了许多

新的模型。然而对于流行病学研究人员而言,许多模型的适用性和优缺点并不十分清楚,尚无化学物混合暴露健康风险评估的分析策略。因此,充分探索各模型的优缺点和适用性,提出一个较完整的分析策略,对探讨 PAHs 暴露与认知水平的关联,识别相关危险因素具有十分重要的意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究采用整群抽样的方法,于 2019 年 4—5 月选取山西省某焦化厂和水处理厂作业人员每年定点参加职工健康体检的从业人员进行调查。研究对象入选标准为:在本单位工作满一年以上;身体状况良好,无高血压、脑病、肝肾疾病等急、慢性病,无传染病、自身免疫疾病、神经系统疾病和精神心理疾病;无神经相关疾病家族史;本人近三个月未服用影响神经系统功能的药物,过去 48 h 内未进行剧烈运动,无酗酒嗜好。经筛选,共招募焦化厂工人 610 名,水处理厂工人 454 名纳入此次研究。在排除尿样缺失 2 例,健康问卷不完整 6 例及 MoCA 量表缺失 5 例后,最终纳入分析的研究对象为 1 051 例。该研究经山西医科大学伦理委员会批准(编号:2020GLL037),获得所有参与者的知情同意。

1.2 样品收集

于工人体检时,用尿杯收集工人晨尿 50 mL,及时送至实验室,用便携式尿比重仪(日本爱拓公司)测定尿相对密度后分装至 10 支 5 mL 冻存管中,置于 -80°C

保存,以待后续检测。

1.3 问卷调查

于工人体检时,经由统一培训的调查员采用本课题组已熟练掌握的“健康调查表”^[10]对工人进行面对面问卷调查,获取一般情况。同时使用 MoCA 量表北京版评价工人的认知功能。MoCA 量表满分为 30 分,若受试者受教育年限 ≤ 12 年(高中水平),可将结果加 1 分,但总分不能超过 30 分。该量表一共分为 8 个部分:①视空间/执行功能。包括 3 项,评价执行能力、视空间、视觉感知和视觉与运动整合功能,共 5 分。②命名。评价视觉特征分析能力、对动物的概念性理解和视觉感知功能,共 3 分。③记忆。此处不计分。④注意。包括 3 项,评价执行、瞬时记忆、注意力和计算功能,共 6 分。⑤语言。包括 2 项,评价语言功能,语音流畅性、语义流畅性、注意力和瞬时记忆力,共 3 分。⑥抽象思维。包括 1 项,评价抽象思维及语义知识,共 2 分。⑦延迟回忆。此项为回忆第三项记忆部分提及的词语,评价短时言语记忆回忆功能,共 5 分。⑧定向。包括 1 项,评价定向力,共 6 分,此项敏感度高但特异性差。以 26 分为界定值,对 MCI 筛查有较高的灵敏度(86%)和较高的特异性(88%)^[12]。本研究以 26 分为界定值,筛查轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)。 ≥ 26 分认知正常, < 26 分为 MCI。

1.4 尿中 PAHs 代谢物检测

将 -80°C 冻存的尿样置于室温下解冻,进行水解、萃取、洗脱一系列前处理,最后定容体积至 0.5 mL,用高效液相色谱-串联质谱联用仪(high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)(LCMS-8050,日本岛津公司)测定尿中 11 种 PAHs 代谢物质量浓度(后称浓度),具体操作方法同本课题组先前的测定方法^[13]。本次测定的 11 种代谢物为:2-羟基萘(2-hydroxynathalene, 2-OHNAP)、1-羟基萘(1-hydroxynaphthalene, 1-OHNAP)、3-羟基芴(3-hydroxyfluorene, 3-OHFLU)、2-羟基芴(2-hydroxyfluorene, 2-OHFLU)、2-羟基菲(2-hydroxyphenanthrene, 2-OHPHE)、9-羟基菲(9-hydroxyphenanthrene, 9-OHPHE)、1-羟基菲(1-hydroxyphenanthrene, 1-OHPHE)、1-羟基芘(1-hydroxypyrene, 1-OHPYR)、3-羟基蒽(3-hydroxychrysene, 3-OHCHR)、6-羟基蒽(6-hydroxychrysene, 6-OHCHR)、9-羟基苯并[a]芘(9-hydroxybenz[a]pyrene, 9-OHBAP)。各代谢物的工作曲

线呈现良好的线性关系, R^2 在 0.998 9~1.000 0 之间。本方法的加标回收率为 88.31%~134.57%,相对标准偏差为 2.7%~18.78%。以三倍信噪比作为各代谢物的检出限,本实验的检出限为 0.001 4~0.044 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,低于检出限的代谢物用检出限/2 代替。实验操作时,每测定 21 个样品做一个空白对照,一个低浓度质控对照,一个高浓度质控对照,用于质量控制。

1.5 三种回归模型分析

1.5.1 logistic 回归 将 PAHs 代谢物常用对数转换后的浓度作为连续性变量,MCI 检出与否作为二分类结局变量。logistic 回归分析中调整了年龄、性别、受教育年限、吸烟情况、饮酒情况、锻炼情况及上夜班情况。

1.5.2 加权分位数之和(weighted quantile sum, WQS) 回归 WQS 回归模型是一种将暴露百分位数加权得分与线性(连续结果)或 logistic(二元结果)回归相结合的方法^[14-15]。该方法考虑了所有被测量的化学物,并且假设模型中的所有 PAHs 代谢物与 MCI 检出的关联具有相同的作用方向。将各代谢物转化为有序变量(四分位数),WQS 回归模型计算出一个代表代谢物全身负荷的加权指数,每种代谢物的相应权重代表特定化学物对 WQS 指数的贡献程度。此研究 WQS 指数的系数设置为正约束系数,以确定在该方向上是否存在相关。

1.5.3 贝叶斯核机器回归(Bayesian kernel machine regression, BKMR) 本研究中, BKMR 模型如下: $Y_i = h(\rho_{2\text{-OHNAP}}, \rho_{1\text{-OHNAP}}, \rho_{3\text{-OHFLU}}, \rho_{2\text{-OHFLU}}, \rho_{2\text{-OHPHE}}, \rho_{9\text{-OHPHE}}, \rho_{1\text{-OHPHE}}, \rho_{1\text{-OHPYR}}, \rho_{3\text{-OHCHR}}, \rho_{6\text{-OHCHR}}, \rho_{9\text{-OHBAP}}) + \beta Z_i + e_{i0}$ 其中: Y_i 表示个体 i 的响应变量($i=1, \dots, n$), $h(\cdot)$ 是基于混合分量之间的非线性和/或相互作用的暴露-反应函数,包含化学物的非线性和/或相互作用; ρ 为各代谢物浓度; β 为协变量的回归系数; $Z = Z_1, \dots, Z_p$ 为调整的第 1 到第 p 个协变量(与二元 logistic 和 WQS 回归模型调整的相同); e_i 为残差。

应用过程如下:首先,研究混合物的累积毒性作用,核函数为二项函数,比较所有其他暴露在特定分位数时的剂量-反应函数的估计值,绘制 11 种 PAHs 代谢物的累积效应图;随后,得到每种代谢物的单次暴露效应,此时所有其他代谢物都固定在某个特定的分位数上;然后,将其余 PAHs 代谢物固定在其中位浓度,得到每种代谢物与 MCI 检出的剂量-反应关系,绘制代谢物与 MCI 检出的剂量-反应关系;最后,利用双变量剂量-反应函数,将所有其他代谢物都固定在其中位浓

度值,探索两种 PAHs 代谢物是否存在相互作用。

1.6 统计学分析

用 R 4.0.4 进行统计分析,用 EpiData 3.1 将调查问卷进行双录入。符合正态分布的连续性变量用 $\bar{x}\pm s$ 表示,分类变量用例数及构成比表示。为校正偏态分布,PAHs 代谢物浓度经常用对数转换后纳入分析;工人神经行为测试得分以原始数据的形式纳入分析。分类变量、数值变量的组间比较用卡方检验和 Mann-Whitney *U* 检验。计算 11 种 PAHs 代谢物浓度之间的 Spearman 相关系数。使用 logistic、WQS 和 BKMR 三种回归模型分析代谢物与 MCI 的关联。

2 结果

2.1 研究对象的基本信息

本研究共纳入 1 051 名研究对象,MCI 的检出率为 21.7%(228/1 051),总人群平均年龄为(45.15±7.20)岁,90.2%为男性。认知正常和 MCI 的两组人群除年龄、锻炼情况和上夜班情况差异无统计学意义外(均 $P > 0.05$),在性别、受教育程度、吸烟情况、饮酒情况以及 MoCA 量表各项得分间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 不同组工人的基本情况 ($n=1\ 051$)

Table 1 Demographic characteristics of workers reporting MCI or not ($n=1\ 051$)

| 变量(Variable) | 合计(Total) | MCI | | <i>P</i> ' |
|--|------------|-------------------|------------------|------------------|
| | | 是(Yes)($n=228$) | 否(No)($n=823$) | |
| 年龄/岁(Age/years), $\bar{x}\pm s$ | 45.15±7.20 | 48.10±6.58 | 44.34±7.16 | 0.084 |
| 性别(Gender), $n(\%)$ | | | | 0.001 |
| 男(Male) | 948(90.2) | 219(96.1) | 729(88.6) | |
| 女(Female) | 103(9.8) | 9(3.9) | 94(11.4) | |
| 受教育程度(Education level), $n(\%)$ | | | | <0.001 |
| 初中及以下 Middle school and below | 278(26.5) | 115(50.4) | 163(19.8) | |
| 中专及高中 Secondary vocational and high school | 344(32.7) | 72(31.6) | 272(33.0) | |
| 大学及以上(College and above) | 429(40.8) | 41(18.0) | 388(47.2) | |
| 吸烟情况(Smoking), $n(\%)$ | | | | <0.001 |
| 从不(Never) | 390(37.1) | 59(25.9) | 331(40.2) | |
| 过去(Ever) | 554(52.7) | 141(61.8) | 413(50.2) | |
| 现在(Now) | 107(10.2) | 28(12.3) | 79(9.6) | |
| 饮酒情况(Drinking alcohol), $n(\%)$ | | | | <0.001 |
| 从不(Never) | 605(57.6) | 104(45.6) | 501(60.9) | |
| 过去(Ever) | 390(37.1) | 109(47.8) | 281(34.1) | |
| 现在(Now) | 56(5.3) | 15(6.6) | 41(5.0) | |
| 锻炼情况(Exercise), $n(\%)$ | | | | 0.205 |
| 从不(None) | 292(27.8) | 67(29.4) | 225(27.3) | |
| 偶尔(Occasionally) | 370(35.2) | 69(30.3) | 301(36.6) | |
| 经常(Regularly) | 389(37.0) | 92(40.4) | 297(36.1) | |

续表 1

| 变量(Variable) | 合计(Total) | MCI | | <i>P</i> ' |
|--------------------------------------|-----------|-------------------|------------------|------------------|
| | | 是(Yes)($n=228$) | 否(No)($n=823$) | |
| 上夜班情况(Night shift), $n(\%)$ | | | | 0.098 |
| 是(Yes) | 338(32.2) | 63(27.6) | 275(33.4) | |
| 否(No) | 713(67.8) | 165(72.4) | 548(66.6) | |
| MoCA量表得分(MoCA score), $\bar{x}\pm s$ | | | | |
| 视空间/执行功能 Visuospatial/Executive | 3.83±1.09 | 2.73±1.06 | 4.13±0.88 | <0.001 |
| 命名(Naming) | 2.93±0.31 | 2.80±0.50 | 2.96±0.21 | <0.001 |
| 注意(Attention) | 5.63±0.72 | 5.05±1.01 | 5.79±0.52 | <0.001 |
| 语言(Language) | 2.30±0.71 | 1.82±0.77 | 2.43±0.63 | 0.019 |
| 抽象思维(Abstraction) | 1.51±0.67 | 1.01±0.77 | 1.65±0.56 | <0.001 |
| 延迟回忆(Delayed recall) | 3.29±1.36 | 1.90±1.36 | 3.67±1.08 | <0.001 |
| 定向(Orientation) | 5.96±0.27 | 5.93±0.46 | 5.98±0.18 | <0.001 |

[注]*: *P*值通过分类变量的卡方检验和数值变量的Mann-Whitney *U* 检验得出。

[Note]*: *P*-values are obtained by chi-square test for categorical variables and Mann-Whitney *U* test for numerical variables.

2.2 工人尿 PAHs 代谢物测定及其相关性

表 2 显示,2-OHNPAP 的浓度在 11 种代谢物中最高,中位浓度为 $0.30\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,其次是 9-OHPHE ($0.26\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。两组 2-OHNPAP、1-OHNPAP、2-OHFLU、9-OHPHE、1-OHPHE 和 1-OHPYR 浓度差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),与认知正常组相比,MCI 组尿中这些 PAHs 代谢物浓度升高。各代谢物之间的相关性见图 1(r 范围为 0.02~0.74)。其中,2-OHNPAP 与 1-OHNPAP 和 2-OHPHE 中度相关($r=0.55$ 、 0.53),3-OHCHR 和 9-OHBAP 之间存在强相关性($r=0.74$)。

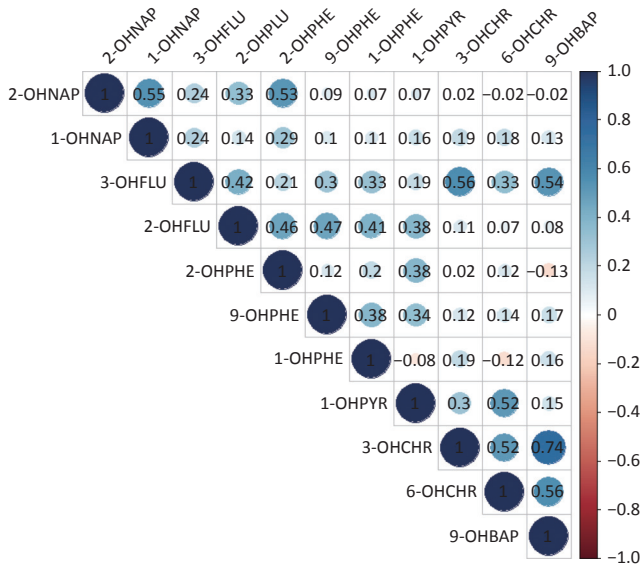
表 2 工人尿 PAHs 代谢物的浓度 ($n=1\ 051$) [$M(P_{25}, P_{75})$]

Table 2 Concentrations of urinary PAHs metabolites among workers ($n=1\ 051$) [$M(P_{25}, P_{75})$]

| 代谢物 (Metabolites) | 总人群(Total population) | MCI | | <i>P</i> ' |
|----------------------|-----------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 是(Yes) | 否(No) | |
| 2-OHNPAP | 0.30(0.12, 0.75) | 0.35(0.15, 0.94) | 0.29(0.11, 0.70) | 0.021 |
| 1-OHNPAP | 0.08(0.05, 0.15) | 0.09(0.06, 0.18) | 0.08(0.05, 0.14) | 0.050 |
| 3-OHFLU | 0.05(0.02, 0.11) | 0.06(0.02, 0.12) | 0.05(0.02, 0.11) | 0.098 |
| 2-OHFLU | 0.10(0.07, 0.16) | 0.12(0.08, 0.22) | 0.10(0.06, 0.16) | <0.001 |
| 2-OHPHE | 0.14(0.08, 0.32) | 0.16(0.08, 0.34) | 0.14(0.08, 0.32) | 0.088 |
| 9-OHPHE | 0.26(0.17, 0.42) | 0.30(0.19, 0.49) | 0.26(0.17, 0.39) | 0.001 |
| 1-OHPHE | 0.06(0.02, 0.11) | 0.07(0.02, 0.14) | 0.06(0.02, 0.11) | 0.025 |
| 1-OHPYR | 0.13(0.08, 0.23) | 0.14(0.09, 0.25) | 0.12(0.08, 0.22) | 0.032 |
| 3-OHCHR | 0.02(0.01, 0.06) | 0.02(0.01, 0.06) | 0.02(0.01, 0.06) | 0.719 |
| 6-OHCHR | 0.07(0.03, 0.10) | 0.07(0.03, 0.10) | 0.07(0.03, 0.10) | 0.943 |
| 9-OHBAP | 0.03(0.00, 0.08) | 0.03(0.00, 0.08) | 0.03(0.00, 0.08) | 0.601 |

[注]*: *P* 值由 Mann-Whitney *U* 检验得出。

[Note]*: *P*-values are derived from Mann-Whitney *U* test.



[注] 图中数值为 Spearman 相关系数。相关系数的绝对值越大, 圆的半径越大。

[Note] Number in each cell shows a Spearman correlation coefficient (r). The greater absolute value of correlation coefficient, the greater radius of circle.

图 1 工人尿中 PAHs 代谢物相关性热图 (n=1 051)

Figure 1 Correlation map of selected urinary PAHs metabolites among workers (n=1 051)

2.3 PAHs 代谢物与认知水平的关系

2.3.1 logistic 模型评估结果 使用二元 logistic 回归评估了 PAHs 代谢物与 MCI 检出关系(见表 3)。模型 1 中调整年龄、性别、受教育年限、吸烟情况、饮酒情况、锻炼情况及上夜班情况后, 发现 2-OHNAP、1-OHNAP 和 2-OHPHE 与 MCI 检出相关。模型 2 中, 分析单一代谢物与 MCI 的关系时, 调整了其他代谢物, 结果表明 2-OHNAP 与 2-OHPHE 浓度升高与 MCI 检出率的 OR 增加相关(均 $P < 0.05$)。2-OHNAP 与 2-OHPHE 的浓度每增加 10 倍, MCI 检出率的 OR(95%CI) 分别为 1.28(1.01~1.67) 和 1.27(1.00~1.72)。

2.3.2 WQS 回归模型评估结果 WQS 指数与 MCI 检出的关系和各 PAHs 代谢物的权重见图 2。调整了所有协变量后, WQS 模型显示, WQS 指数与 MCI 检出率相关($OR=1.37, 95\%CI: 1.10\sim 1.72$)。模型中权重最高的代谢物是 2-OHNAP, 次之是 1-OHPYR。

2.3.3 BKMR 模型评估结果 图 3A 显示: MCI 检出随着 PAHs 代谢物浓度的升高而增加, PAHs 代谢物存在累积毒性。当所有代谢物均处于或高于其第 30 百分位数时, 总体效应具有统计学意义; 当所有代谢物暴露水平均处于第 75 百分位数时, MCI 检出风险比例上升 6%。图 3B 显示: 当 2-OHNAP、2-OHPHE 暴露浓度从其第 25 百分位数增加到第 75 百分位数(其他代谢

物暴露保持固定在第 75 百分位数)时, MCI 检出风险比例分别上升 0.2%、0.3%; 其他代谢物与 MCI 检出均无统计学意义。由图 3C 可知 2-OHNAP 和 2-OHPHE 与 MCI 检出呈现线性关系。图 3D 显示: 2-OHPHE 暴露-反应函数的斜率与 2-OHNAP 在不同分位数上相似, 表明二者没有交互作用。

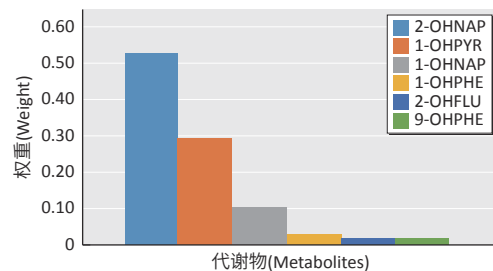
表 3 工人尿 PAHs 代谢物与 MCI 检出率的关系 [OR(95%CI)]

Table 3 Association between urinary PAHs metabolites and MCI reporting rate among workers[OR (95%CI)]

| 代谢物(Metabolites) | 模型1(Model 1) | 模型2(Model 2) |
|------------------|------------------|------------------|
| 2-OHNAP | 1.50(1.23~1.84)* | 1.28(1.01~1.67)* |
| 1-OHNAP | 1.53(1.14~2.06)* | 1.25(0.88~1.76) |
| 3-OHFLU | 1.08(0.88~1.34) | 0.98(0.74~1.29) |
| 2-OHFLU | 1.29(0.97~1.72) | 1.09(0.75~1.58) |
| 2-OHPHE | 1.55(1.21~1.98)* | 1.27(1.00~1.72)* |
| 9-OHPHE | 0.84(0.58~1.21) | 0.63(0.40~1.01) |
| 1-OHPHE | 1.17(0.92~1.49) | 1.15(0.85~1.55) |
| 1-OHPYR | 1.07(0.79~1.45) | 1.19(0.78~1.81) |
| 3-OHCHR | 0.95(0.76~1.20) | 0.90(0.60~1.34) |
| 6-OHCHR | 0.81(0.65~1.01) | 0.90(0.65~1.24) |
| 9-OHBAP | 0.90(0.76~1.07) | 1.03(0.78~1.35) |

[注] 模型 1 校正了年龄、性别、受教育年限、吸烟情况、饮酒情况、锻炼情况及上夜班情况; 模型 2 在模型 1 的基础上还校正了其他代谢物。*: $P < 0.05$ 。

[Note] Model 1 is adjusted for age, gender, years of education, smoking, drinking, exercise, and night shift; Model 2 is also adjusted for other metabolites based on Model 1. *: $P < 0.05$.

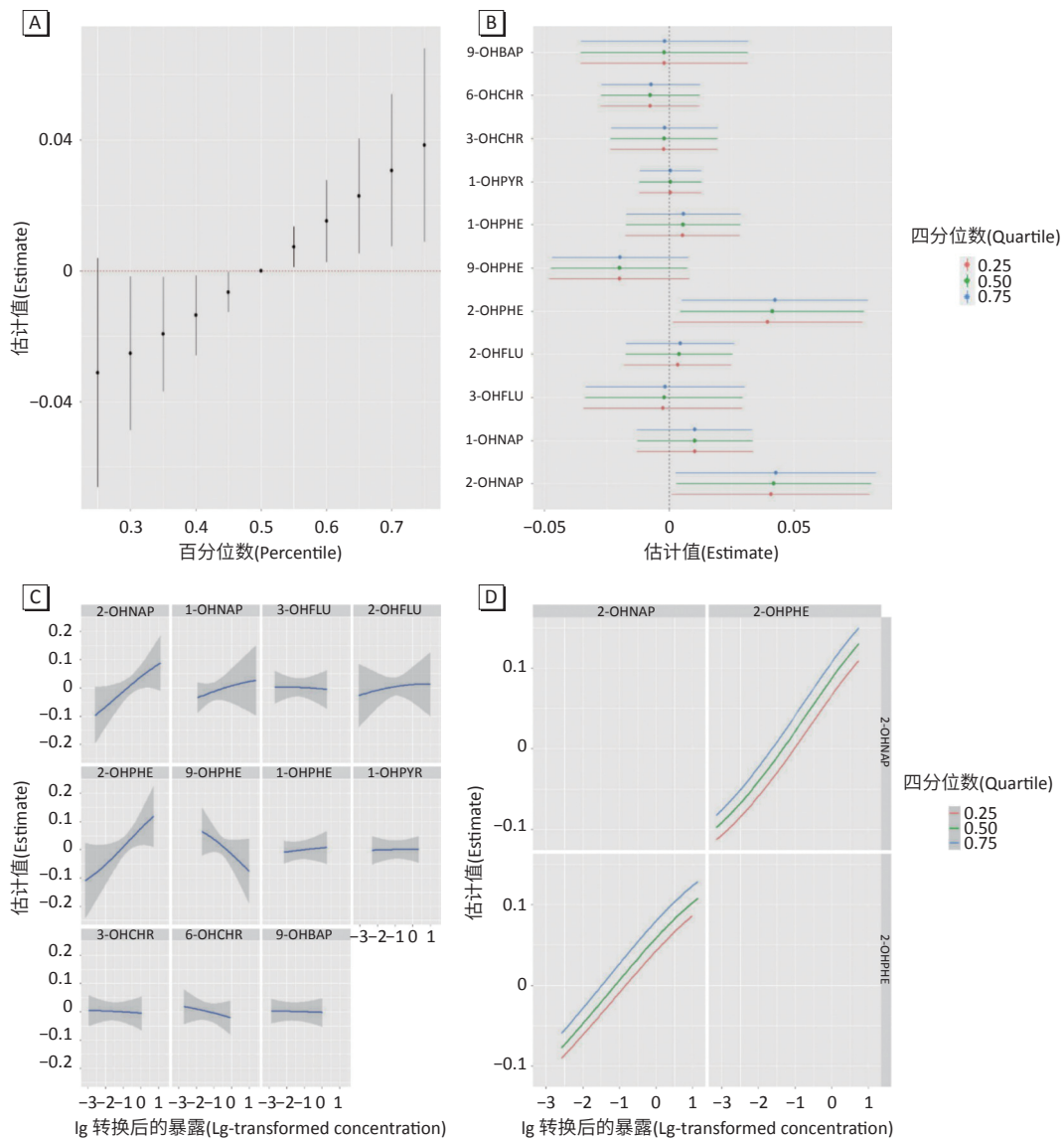


[注] 模型调整了年龄、性别、受教育年限、吸烟情况、饮酒情况、锻炼情况及上夜班情况。

[Note] Model is adjusted for age, gender, years of education, smoking, drinking, exercise, and night shift.

图 2 WQS 回归模型中工人尿 PAHs 代谢物的权重

Figure 2 Weights of each urinary PAHs metabolites among workers in the WQS regression model



[注] A: 代谢物的累积效应; B: 代谢物的单独暴露效应; C: 每种代谢物的单变量剂量-反应函数(其他代谢物固定在中位浓度); D: 双变量剂量-反应函数。2-OHNAP(左下图)、2-OHNAP(右上图)固定在第 25、50 或 75 个百分位数且其他代谢物固定在中位浓度。模型调整了年龄、性别、受教育年限、吸烟情况、饮酒情况、锻炼情况及上夜班情况。

[Note] A: Cumulative effect of PAHs metabolites. B: The single-exposure effect of PAHs metabolites. C: Univariate exposure-response functions for each PAHs metabolite, with other metabolites fixed at their median concentrations. D: Bivariate exposure-response function: 2-OHNAP (lower left panel) and 2-OHPHE (top right panel), when 2-OHPHE or 2-OHPHE is fixed at the 25 th, 50 th, or 75 th percentile concentration and other PAHs metabolites are fixed at the median concentration. The model is adjusted for age, gender, years of education, smoking, drinking, exercise, and night shift.

图 3 BKMR 模型研究工人中尿 PAHs 代谢物与 MCI 的关系

Figure 3 Association between urinary PAHs metabolites and MCI in workers by BKMR model

3 讨论

在此次研究中,以 PAHs 暴露与 MCI 检出的关联来探讨了多种统计模型在环境化学物混合暴露与健康结局关联分析中的适用性: logistic 回归指出了 2-OHNAP 和 2-OHPHE 与 MCI 检出之间的关联; WQS 回归模型进一步发现了 2-OHNAP 和 1-OHPYR 在 MCI 中的作用;在 BKMR 模型中,发现暴露的整体效应与 MCI 检出相关,单变量暴露-反应函数也显示 2-OHNAP

和 2-OHPHE 与 MCI 之间存在正相关。

既往的研究表明,尿 2-OHNAP 与反映即时听觉记忆和注意力集中程度的数字跨度得分之间存在剂量-反应关系,1-OHPYR 与反映眼-手快速协调能力的测试得分负相关^[10],与本研究结果相似。

在一个 logistic 模型中纳入所有的化学物是不正确的,因为化学物之间的高度相关性可能导致结果失真^[14]。本研究中各 PAHs 代谢物之间存在高度相关,可

能会产生多重共线性的问题。根据共线性诊断结果(见补充材料表 S1), PAHs 代谢物的容忍度不接近 0, 方差膨胀因子也小于 10, 提示没有多重共线性的问题, 尚可以使用 logistic 模型。

WQS 的一个重要缺陷是不能同时评估具有不同作用方向的化学物的联合效应。如果在 WQS 回归模型中对与 MCI 检出负相关的 PAHs 代谢物进行了错误的分类, 那么在与 MCI 负相关的相关分析中, 这些化学物在 WQS 指数中的权重可以忽略不计^[16]。此外, WQS 分析模型假设纳入的化学物间不存在交互作用, 因而该模型对于评估存在交互作用的暴露情况还有缺陷。

BKMR 分析可以识别非线性效应和化学物间的相互作用^[17]。与 WQS 回归模型相比, BKMR 分析可以获得暴露-反应关系和识别两种化学物之间的相互作用。BKMR 模型的限制主要来自其核心算法: 将其他化学物固定在一定暴露水平上以推断暴露-反应函数, 不能估计同时暴露于高水平和低水平化学物时的效应。

本次研究以尿 PAHs 代谢物作为暴露只能反映 PAHs 的近期暴露^[18]。而 MCI 发病随时间进展, 因而以此近期暴露与长期进展得到的结局建立关联可能存在结果不稳定的情况。此外, 本研究为横断面研究, 无法建立因果关联, 需要更多的研究确证。

logistic 回归是传统的回归模型, 应用广泛, 在关联建立初期若条件符合尚可使用。两种较新的模型各有优缺点: WQS 模型在知晓暴露与结局可能的关联方向的情况下能够估计每种暴露的权重, BKMR 能够进行剂量-反应关系和交互作用的探索。研究者可根据研究需求进行恰当的选择。

综上, 本研究中推荐使用传统的 logistic 与 WQS 或 BKMR 二者之一相结合的方式对 PAHs 与 MCI 关联研究, 以得到科学的结果。

参考文献

- [1] KIM KH, JAHAN SA, KABIR E, et al. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects[J]. *Environ Int*, 2013, 60: 71-80.
- [2] HOSEINI M, NABIZADEH R, DELGADO-SABORIT JM, et al. Environmental and lifestyle factors affecting exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in the general population in a Middle Eastern area[J]. *Environ Pollut*, 2018, 240: 781-792.
- [3] FAN Y, LI X, XU Q, et al. Serum albumin mediates the effect of multiple per- and polyfluoroalkyl substances on serum lipid levels[J]. *Environ Pollut*, 2020, 266: 115138.
- [4] CHEN C, TANG Y, JIANG X, et al. Early postnatal benzo(a)pyrene exposure in sprague-dawley rats causes persistent neurobehavioral impairments that emerge postnatally and continue into adolescence and adulthood[J]. *Toxicol Sci*, 2012, 125(1): 248-261.
- [5] COEN RF, MCCARROLL K, CASEY M, et al. The frontal assessment battery: normative performance in a large sample of older community-dwelling hospital outpatient or general practitioner attenders[J]. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 2016, 29(6): 338-343.
- [6] CZARNOTA J, GENNINGS C, COLT JS, et al. Analysis of environmental chemical mixtures and non-hodgkin lymphoma risk in the NCI-SEER NHL Study[J]. *Environ Health Perspect*, 2015, 123(10): 965-970.
- [7] KIM S, KIM S, WON S, et al. Considering common sources of exposure in association studies - Urinary benzophenone-3 and DEHP metabolites are associated with altered thyroid hormone balance in the NHANES 2007-2008[J]. *Environ Int*, 2017, 107: 25-32.
- [8] KIM S, PARK J, KIM HJ, et al. Association between several persistent organic pollutants and thyroid hormone levels in cord blood serum and bloodspot of the newborn infants of Korea[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0125213.
- [9] COKER E, CHEVRIER J, RAUCH S, et al. Association between prenatal exposure to multiple insecticides and child body weight and body composition in the VHEMBE South African birth cohort[J]. *Environ Int*, 2018, 113: 122-132.
- [10] DU J, PAN B, CAO X, et al. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites, peripheral blood mitochondrial DNA copy number, and neurobehavioral function in coke oven workers[J]. *Chemosphere*, 2020, 261: 127628.
- [11] CAO X, LI J, CHENG L, et al. The associations between prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites, umbilical cord blood mitochondrial DNA copy number, and children's neurobehavioral development[J]. *Environ Pollut*, 2020, 265: 114594.
- [12] JULAYANONT P, PHILLIPS N, CHERTKOW H, et al. Montreal cognitive assessment (MoCA): Concept and Clinical Review[EB/OL]. [2021-09-01]. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4471-2452-8_6.
- [13] NIE J, LI J, CHENG L, et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbons metabolites, cord blood telomere length, and neonatal neurobehavioral development[J]. *Environ Res*, 2019, 174: 105-113.
- [14] SANDERS AP, MAZZELLA MJ, MALIN AJ, et al. Combined exposure to lead, cadmium, mercury, and arsenic and kidney health in adolescents age 12-19 in NHANES 2009-2014[J]. *Environ Int*, 2019, 131: 104993.
- [15] LUO K, LIU J, WANG Y, et al. Associations between organophosphate esters and sex hormones among 6-19-year old children and adolescents in NHANES 2013-2014[J]. *Environ Int*, 2020, 136: 105461.
- [16] ADGENT MA, CARROLL KN, HAZLEHURST MF, et al. A combined cohort analysis of prenatal exposure to phthalate mixtures and childhood asthma[J]. *Environ Int*, 2020, 143: 105970.
- [17] ZHANG Y, DONG T, HU W, et al. Association between exposure to a mixture of phenols, pesticides, and phthalates and obesity: Comparison of three statistical models[J]. *Environ Int*, 2019, 123: 325-336.
- [18] MA Y, HARRAD S. Spatiotemporal analysis and human exposure assessment on polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor air, settled house dust, and diet: A review[J]. *Environ Int*, 2015, 84: 7-16.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 王晓宇)