508残障人士无障碍阅读–本文有HTML支持代码 https://doi.org/10.1289/EHP5326-zh.

多代队列研究揭示环境对神经发育的潜在影响

Lindsey Konkel

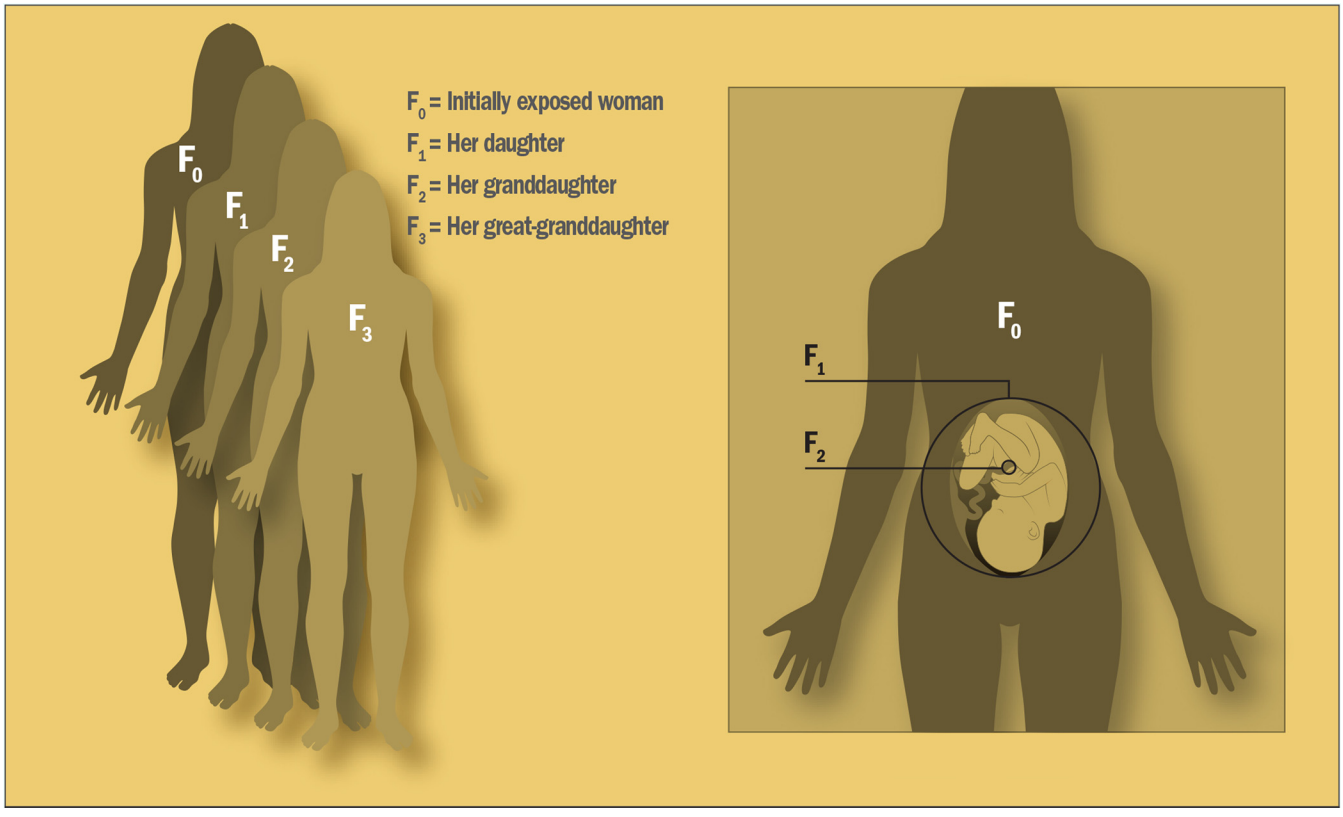
https://doi.org/10.1289/EHP5326-zh

1962 年刚生完女儿的 Marcy Hartman——她当时是一名报社记者——看着护士从胎盘中用注射器取出满满的一管血。“这是我对未来做的一个小贡献，”现年75岁的 Hartman 回忆道。

1959 年至 1967 年间， Hartman 和旧金山湾区的 1.5 万多名孕妇参加了名为儿童健康与发展研究（Child Health and Development Studies，CHDS）的长期队列研究。[1] 该研究旨在帮助科学家们更好地理解怎样健康地怀孕才能拥有健康的孩子。目前，研究人员正在借助 Hartman 和其他队列研究成员几十年前提供的生物样本和其他数据来解决环境在健康中所扮演的角色这一最棘手的科学问题之一——个体暴露是否会影响他或她后代的健康。

与男性终身产生精子不同，女性被认为生来就具有所有的卵子。这意味着每一次产前暴露都有可能直接影响三代人，CHDS 的首席研究员、流行病学家 Barbara Cohn 说。三代人包括母亲（称为 F_0 代）、胎儿（ F_1 代），如果胎儿是女孩，她所有未成熟的卵细胞——其中任何一个细胞都有可能成为 F_2 代。

在过去 10 年里，实验室动物研究已指出这种可能性，即子宫内暴露于潜在的有毒环境化学物质和其他压力源可能不仅会影响正在生长的胎儿的正常发育，还会影响未来几代人的正常发育。[2] 例如，在对老鼠的研究中发现，怀孕期间使用邻苯二甲酸二（2-乙基己）酯治疗的小鼠 F_2 后代的应激激素皮质酮基线水平和应激诱导的血浆水平低于未



当孕妇暴露于环境因子时，这种暴露不仅会影响她自己（F_0）和她未出生的孩子（F_1），还会影响胎儿体内正在发育的生殖细胞（F_2），如果胎儿是女性的话。这名孕妇的曾孙（F_3）是第一代没有直接受到原始辐射影响的人。Image: *EHP*.
F0=最初受暴露的女性
F1=她的女儿
F2=她的外孙女
F3=她的曾外孙女

使用的小鼠。[3] 另一项小鼠研究显示，喂食双酚A的雌鼠的 F_2 代和 F_4 代与未暴露的雌鼠之间的社会互动存在差异。[4]

毫无疑问，基于人类的研究证据被证明是难以捉摸的。[5] 毕竟，人类的繁殖速度要比小鼠慢得多，几十年来跟踪研究成千上万的人绝非易事。放眼全球，能够产生长期、多代人数据的队列研究非常少，而这些数据是解决人类暴露后可能产生的跨代影响所需要的。然而，现存为数不多的证据已开始提供线索，揭示一个人的暴露和经历是怎样影响未来几代人的神经发育和行为的。[6,7]

人类的新发现

2017年，研究人员在英国对一个大群体父母和孩子进行了研究，指出祖母在怀孕期间吸烟与孙辈的自闭症和确诊相关联。[6] 研究负责人、布里斯托尔大学（University of Bristol）流行病学家 Jean Golding于 1991 年创立了雅芳父母孩子纵向研究 (Avon Longitudinal Study of Parents and Children, ALSPAC)，旨在找出有关儿童发育问题的答案。[8]

Golding 并没有为这个 1.4 万个家庭的队列研究专门设计自闭症风险。“当时，自闭症的发病率普遍认为低于千分之一，”Golding 回忆说。她认为1.4万名儿童的研究量不足以回答关于这种罕见疾病的问题。事实上，她预计在队列研究的孩子中自闭症患者不到 10 例。

然而，自文件记载在 1988 年至 1995 年出生的英国儿童自闭症发病率比前几年增加了5倍后，Golding 对自闭症的风险因子产生了兴趣。[9] 这些年来， ALSPAC 的研究人员确认了 200 多名可能患有或已诊断有自闭症的儿童。

Golding 和他的同事有理由认为，儿童的神经发育可能与他们祖父母的吸烟习惯有关联。此前，他们发现了初步证据，表明母亲在怀孕期间吸烟的男孩中，父亲在产前暴露于吸烟环境的男孩的平均头围要小于父亲未暴露的男孩。(然而，在女孩身上没有发现这样的证据，子宫内暴露于母体吸烟环境的男孩或女孩的平均头围并没有因母亲是否在产前也暴露于吸烟环境而有所不同。)[10]

由于祖父母未被纳入 ALSPAC 的队列研究，研究人员因此询问了队列成员的母亲是否在怀孕期间吸烟。在上世纪50年代和60年代他们父母出生时，大部分的医生并没有阻止怀孕期的吸烟行为。

在调整了已知自闭症风险因子，包括母亲的教育和社会经济地位后，研究人员发现，外祖母吸烟的孩子比外祖母不吸烟的孩子更容易被诊断患有自闭症。[6] 但是，只有当孩子在子宫内也暴露于母体吸烟的环境时，这种关联才会明显。

2018年，护士健康研究二期（Nurses ' Health Study II，NHS-II）的一项数据分析也发现了多代人暴露与结局之间存在关联的证据，该研究自上世纪80年代末开始对一个大群体美国女性进行了跟踪调查。研究人员指出，祖母在怀孕期间使用二乙烯雌酚（DES）的孩子更有可能被诊断患有注意力缺陷/多动障碍（ADHD）。[7] 具体地说，有 7.7% 报告在子宫内暴露于 DES 的母亲报告她们的孩子患有 ADHD，而没有报告子宫内暴露于 DES 的母亲，其孩子患有 ADHD 的比例为 5.2% 。

之前的几项人体研究表明，内分泌干扰物如 DES 可能会产生多代健康效应。[11,12] NHS-II 队列研究首次报告了已知的内分泌干扰物与神经发育的潜在影响之间的关联，而且，其影响可以跨越三代人。第一研究作者、哥伦比亚大学流行病学家 Marianthi-Anna Kioumourtzoglou 介绍道。

这项研究很有趣，因为如果得到复制，这些发现可能会令我们对精神障碍病因学的思维模式发生转变，[5] 俄勒冈健康与科学大学（Oregon Health & Science University）神经精神病学家 Joel Nigg 表示。这些发现也有助于解释为什么一些复杂的疾病，如 ADHD，会在家族蔓延。在 Nigg 看来，这比目前已知的基因效应所解释的范围要大得多。

然而，在这一点上目前还远不清楚这种多代变化究竟是如何发生。人们所处的环境暴露程度如何引发孙辈大脑和身体的变化?

一些研究人员怀疑表观遗传可能起了作用。其他人提出了雌性或雄性生殖系可能是关键。[2] 大家都认为还有许多未解之谜。

表观基因组的作用

生物的基因序列决定其生物学特性——基因是疾病甚至进化等过程的主要调节因子——这一概念自20世纪初以来一直在科学和医学领域占据主导地位。现在越来越清楚的是，许多疾病并不是由单一的遗传原因引起的，而是由与机体环境相互作用调节的遗传因子的组合引起的。

但是一个人所处环境如何影响行为和神经发育在很大程度上仍然是个谜。[5] 环境表观遗传学的新发现提供了一些思路。“我们现在看到的是，在每一个生物系统中表观遗传学[对遗传学]都可能同样重要，”华盛顿州立大学表观遗传学家 Michael Skinner 表示。

表观基因组包含所有的化学修饰，这些修饰会在特定发育时期“开启”身体某些部位的特定基因，在其他发育时期“关闭”身体其他部位的特定基因。身体里的每个细胞都有相同的基因蓝图，但并不是身体里的每个细胞都有相同的功能。DNA 的化学修饰决定了不同的细胞如何解读相同的蓝图。这就是为什么大脑细胞的功能与皮肤细胞不同，即使它们有相同的 DNA。

多年来，科学家们一直认为所有这些修饰或表观遗传的“标记”都是随着每一代的更新而重置的。[2] 在新胚胎形成的早期，来自母体的表观遗传标记被删除。这种正常的生物过程确保了胚胎干细胞的多能性——它们具有独特的潜能可以在体内生长成任何细胞。

1938 年至 1971 年间，[19] DES 曾作为处方药预防流产和其他妊娠并发症。由于后来DES被证明会增加产前暴露的女儿患癌的风险，医生停止了给孕妇开这种药。[20] 怀孕期间使用 DES 也与其孙子尿道下裂(一种阴茎先天缺陷)、[11] 孙女月经不调的几率增加有关联。[12] Image: CC BY-NC-SA 2.0 via https://www.flickr.com/photos/diethylstilbestrol/24559986905.

但是，这个过程有时并不是按如此般步骤进行的。科学家们现在知道，其中一些表观遗传标记不会被删除或重置。相反，它们被印在基因组并传递下去。目前还不清楚这种情况通常是如何以及为什么会发生。[2] 然而，Skinner 和他的同事的动物模型显示，暴露于环境毒物可能会导致基因组产生新区域，在这个区域表观遗传标记不会消失。[13]

“从本质上讲，你是通过正常的 [DNA] 位置进行基因组转换。” Skinner 说道。如果这些转换发生在发育过程中恰当的时间，它们可能会被永久地编程并传递下去，他解释道。

这就是表观遗传的真正概念。动物研究表明，环境暴露会引起生物体表观基因组的变化，而这些变化可以在初次暴露后一段很长的时间内从一代传到下一代。[14]

Skinner 和他的同事们是最早证明这一现象的研究人员之一。2005 年，他们报告说，在给怀孕的小鼠注射了杀菌剂乙烯菌核利后，[15] 第四代小鼠发生了生殖异常，比如精子活力下降。 Skinner 假设，这些第四代后代遗传了上一代暴露于杀菌剂的分子效应，而他们自己从未暴露于杀菌剂。在随后的动物研究中，他报告了其他几种环境毒物可能增加后代生殖、肾脏、肥胖和癌症易感性的证据。[16,17]

“毒理学研究——啮齿动物研究——非常有帮助，但我认为我们需要毒理学和人类研究来获得更多的支持。”哥伦比亚大学的 Kioumourtzoglou 说。“说到底，啮齿动物不是人类。”而流行病学的研究方式本身并不理想，因为它们只能证明或展示有限的东西。“如果我们从两者均得到佐证，证据就会变得更加有力。” Kioumourtzoglou 说道。

在 ALSPAC 和 NHS-II 队列研究中观察到，目前尚无法证明吸烟和暴露于DES与孙辈患有自闭症和ADHD的关联是否与表观遗传有关。尽管这两项研究提供了诱人的线索，但也有很多局限性。例如，这两种方法都依赖于这一代人对上一代人回忆的暴露和健康习惯的自我报告。[6,7]

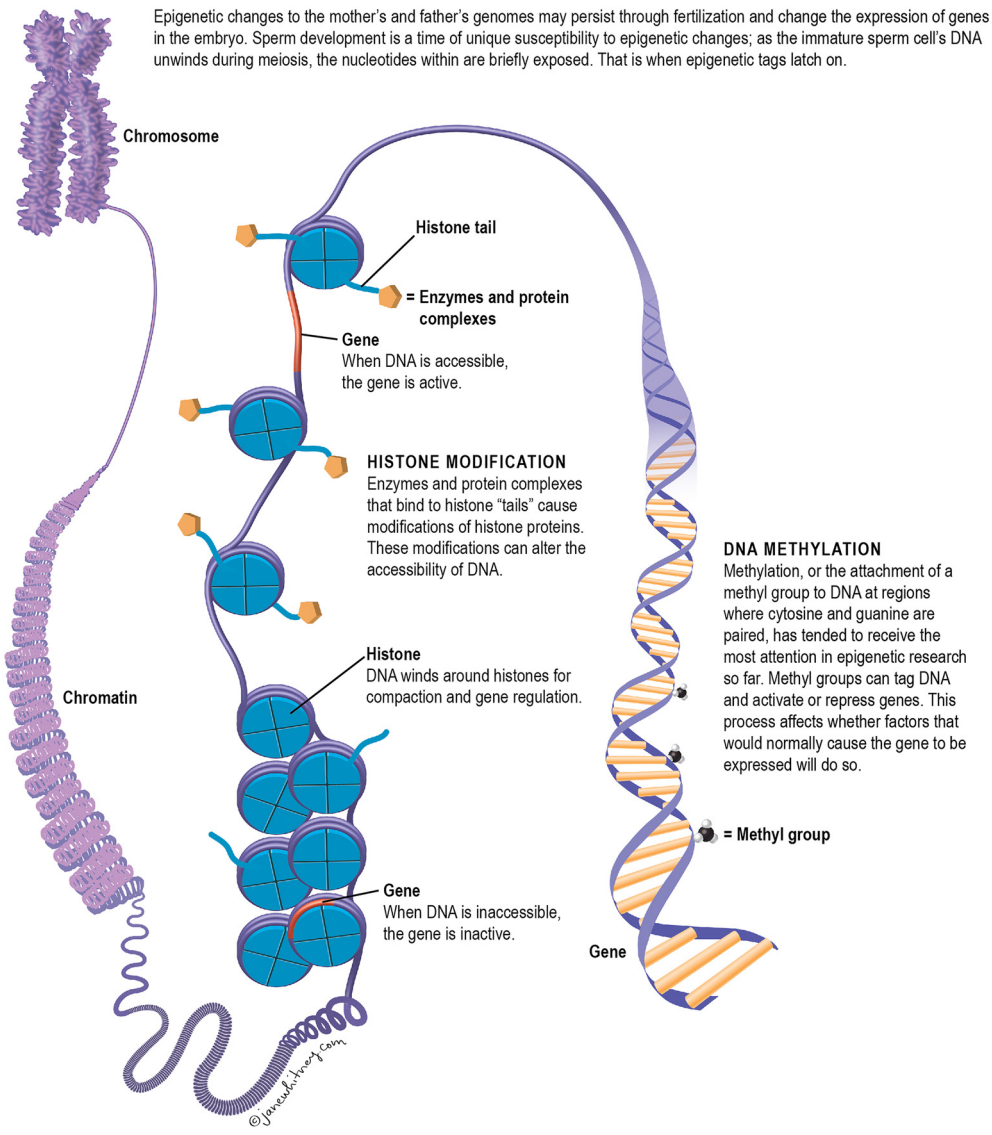


Image: *EHP*. 母亲和父亲基因组的表观遗传的变化可能通过受精持续存在，并改变胚胎中的基因表达。精子发育是一个独特的易受表观遗传变化影响的时期；当未成熟精子细胞的 DNA 在减数分裂过程中展开时，其中的核苷酸会短暂暴露。这就是表观遗传标签锁定的时候。

染色体

染色质

组蛋白尾巴

=酶和蛋白质复合物

基因

当 DNA 可及时，该基因活跃。

组蛋白修饰

与组蛋白"尾巴"结合的酶和蛋白复合物引起组蛋白修饰。这些修饰可以改变 DNA 的可及性。

组蛋白

DNA 缠绕在组蛋白周围以进行压缩和基因调节。

基因

当 DNA 不可及时，该基因不活跃

甲基化

甲基化，或甲基附属于 DNA 在胞嘧啶和鸟嘌呤配对的区域，目前为止往往受到最多关注的是表观遗传研究。甲基可以标记 DNA 并激活或抑制基因。这个过程会影响正常情况下导致基因表达的因子是否起作用。

甲基

多代研究具有挑战性，因为研究人员无法排除以下的可能性，他们观察到的关联是由于第一代的其他暴露还是几代人的共同暴露，或者是偶然暴露造成的。Image: © iStockphoto/kali9.

研究人员无法排除他们所看到的关联是由其他暴露、信息错误或偶然因素造成的可能性。这些研究也不能解释其他环境因素的影响，这些因素可能是几代人共有的。哪怕有可能，直接评估在世的人类大脑的表观遗传状态非常困难。DNA 中的表观遗传标记具有组织特异性，目前还没有好的方法从健康人群中获取和分析脑组织。[5]

Skinner 指出另一个潜在的问题，如果将过去的人类队列的脐带血样本用于对人类后代的表观遗传学研究，脐带血或血液的研究需要纯化细胞类型以便进行最佳的表观遗传学分析，他说道。但要纯化冷冻细胞群是很困难的。

可以这么说，从公共卫生的角度来看，表观遗传学不仅为更好地理解环境如何导致疾病风险提供了希望，还可能为如何干预提供了线索，哥伦比亚大学研究表观遗传学和环境健康的神经学科学家 Brandon Pearson 表示。然而，目前表观遗传学干预复杂疾病的思路还有待进一步拓展。“我们还不清楚是什么因素导致了像 ADHD 这样的表观遗传风险。” Pearson 说。“在基因位置上不太可能有任何单一的表观遗传标记或特征导致 ADHD 或其他神经精神疾病。”

一项新的研究成果

我们不可能知道人们现在暴露于的化学物质中有多少可能对神经发育和内分泌有影响。“每一代人都面临着一系列不断变化的环境状况和新的暴露，” Cohn 说。这些暴露层是如何相互复合或相互作用的——以及如何与我们的基因相互作用的——在很大程度上仍然是未知的。这些关联极其难以量化。“没有完美的人体研究，” Cohn 说。她知道她自己的研究也不会完美。

Cohn 和她 CHDS 的同事们在位于加州伯克利中心地带“Gourmet Ghetto” (美食区)的一家法国熟食店二层顶楼上整理了20世纪80年代中期至2013年间2万多名新生儿的数据。这些孩子的出生代表了一部分该队列的第三代人——当年准妈妈和准爸爸的孙辈，包括50多年前自愿参加这项研究的 Marcy Hartman 和她的丈夫。

Cohn 和他的同事们将这项队列研究中孙辈的出生记录与加州卫生局现有的自闭症病例数据库联系起来。他们正在识别和分析祖父母的暴露与行为——如吸烟、酗酒和药物使用——和第三代自闭症诊断之间是否有任何关联。[18]

每一代人都有其潜在的环境条件和暴露状况。其中一些暴露与后代的日常生活依然息息相关。但即使那些已经不复存在的暴露物质，潜在的健康影响可能依然会持续存在。Image: CC BY 2.0 via https://www.flickr.com/photos/simpleinsomnia/25128717624/.

ALSPAC 和 NHS-II 的研究依赖于第二代人报告他们父母的暴露情况，而 CHDS 的研究人员目前有了直接的证据。他们有药物暴露的医疗记录数据，比如 DES 。母亲和父亲都在孩子出生前后分别提供了血液和尿液。

在过去的几十年里，这些样品已经配制好并存在一个生物储存库中。Cohn 和他的同事们现在可以用尿液和血液来测量祖父母那代人当时体内的某些化学物质含量。例如，他们可以通过测量尿液中可替宁(尼古丁的代谢物)的含量来确定母亲在怀孕期间是否吸烟，以及吸烟的程度。Cohn 表示，有了这些测量数据，将有助于提高他们所发现的任何关联的真实性。

CHDS 数据集的另一个独特之处是研究人员掌握了第一代母亲和父亲的环境暴露信息。从父系的角度看，三代人的经历足以排除直接暴露的可能性，Cohn 指出。

加州自闭症数据库的初步统计显示，他们队列研究的群体仅有 100 多名自闭症儿童。研究人员说，这个数量足以找到主要的关联，但可能不足以让他们发现导致关联减弱的次要因素。

尽管不完美，但每一项新的研究都增加了一些知识。新的方法如孟德尔随机化（Mendelian randomization）——一种在某些情况下加强流行病学数据因果推断的技术——为研究人员评估环境污染物的潜在影响提供了更有力的工具。Nigg 及其同事最近使用这种方法进一步支持了铅暴露可能导致 ADHD 的证据。[5]

随着科学领域的扩展，研究人员能够解决日益复杂的健康与环境之间相互作用的问题，多年前 Hartman 和其他前瞻性纵向队列研究成员所做的小贡献提供了丰富的数据，这些数据在将来会继续发挥其作用。

Lindsey Konkel，是一名居住在新泽西的记者，主要报道科学、健康和环境相关的新闻。2018 年，通过环境新闻学会的环境新闻基金会，Konkel获Lizzie Grossman环境健康报道自由撰稿人基金的支持，前往旧金山湾区采访了CHDS队列成员和研究人员。

References

1. Child Health and Development Studies. 2019. About Us. http://www.chdstudies.org/about_us/index.php [accessed 25 June 2019].
2. Nilsson EE, Sadler-Riggleman I, Skinner MK. 2018. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of disease. Environ Epigenet 4(2): dvy016, PMID: 30038800, https://doi.org/10.1093/eep/dvy016.
3. Quinnies KM, Doyle TJ, Kim KH, Rissman EF. 2015. Transgenerational effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on stress hormones and behavior. Endocrinology 156(9):3077–3083, PMID: 26168342, https://doi.org/10.1210/EN.2015-1326.
4. Wolstenholme JT, Edwards M, Shetty SRJ, Gatewood JD, Taylor JA, Rissman EF, et al. 2012. Gestational exposure to bisphenol a produces transgenerational changes in behaviors and gene expression. Endocrinology 153(8):3828–3838, PMID: 22707478, https://doi.org/10.1210/en.2012-1195.
5. Nigg JT. 2018. Toward an emerging paradigm for understanding attention-deficit/hyperactivity disorder and other neurodevelopmental, mental, and behavioral disorders: environmental risks and epigenetic associations. JAMA Pediatr 172(7):619–621, PMID: 29799950, https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.0920.
6. Golding J, Ellis G, Gregory S, Birmingham K, Iles-Caven Y, Rai D, et al. 2017. Grand-maternal smoking in pregnancy and grandchild's autism traits and diagnosed autism. Sci Rep 7:46179, PMID: 28448061, https://doi.org/10.1038/srep46179.
7. Kioumourtzoglou MA, Coull BA, O'Reilly ÉJ, Ascherio A, Weisskopf MG. 2018. Association of exposure to diethylstilbestrol during pregnancy with multigenerational neurodevelopmental deficits. JAMA Pediatr 172(7):670–677, PMID: 29799929, https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.0727.
8. Boyd A, Golding J, Macleod J, Lawlor DA, Fraser A, Henderson J, et al. 2013. Cohort profile: the 'children of the 90s'—the index offspring of the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. Int J Epidemiol 42(1):111–127, PMID: 22507743, https://doi.org/10.1093/ije/dys064.
9. Hagberg KW, Jick H. 2010. Autism in the UK for birth cohorts 1988–2001. Epidemiology 21(3):426–427, PMID: 20386177, https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181d61dd9.
10. Pembrey M, Northstone K, Gregory S, Miller LL, Golding J. 2014. Is the growth of the child of a smoking mother influenced by the father's prenatal exposure to tobacco? A hypothesis generating longitudinal study. BMJ Open 4(7): e005030, PMID: 25015471, https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-005030.
11. Kalfa N, Paris F, Soyer-Gobillard MO, Daures JP, Sultan C. 2011. Prevalence of hypospadias in grandsons of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy: a multigenerational national cohort study. Fertil Steril 95(8):2574–2577, PMID: 21458804, https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.02.047.
12. Titus-Ernstoff L, Troisi R, Hatch EE, Wise LA, Palmer J, Hyer M, et al. 2006. Menstrual and reproductive characteristics of women whose mothers were exposed *in utero* to diethylstilbestrol (DES). Int J Epidemiol 35(4):862–868, PMID: 16723367, https://doi.org/10.1093/ije/dyl106.
13. Skinner MK, Guerrero-Bosagna C, Haque M, Nilsson E, Bhandari R, McCarrey JR. 2013. Environmentally induced transgenerational epigenetic reprogramming of the primordial germ cells and the subsequent germ line. PLoS One 8(7):e66318, PMID: 23869203, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066318.
14. van Otterdijk SD, Michels KB. 2016. Transgenerational epigenetic inheritance in mammals: how good is the evidence? FASEB J 30(7):2457–2465, PMID: 27037350, https://doi.org/10.1096/fj.201500083.
15. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. 2005. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. Science 308(5727):1466–1469, PMID: 15933200, https://doi.org/10.1126/science.1108190.
16. Manikkam M, Guerrero-Bosagna C, Tracey R, Haque MM, Skinner MK. 2012. Transgenerational actions of environmental compounds on reproductive disease and identification of epigenetic biomarkers of ancestral exposures. PLoS One 7(2):e31901, PMID: 22389676, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031901.
17. McBirney M, King SE, Pappalardo M, Houser E, Unkefer M, Nilsson E, et al. 2017. Atrazine induced epigenetic transgenerational inheritance of disease, lean phenotype and sperm epimutation pathology biomarkers. PLoS One 12(9):e0184306, PMID: 28931070, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184306.
18. Defense Technical Information Center. 2018. *Grandparental Exposures and Risk of Autism in the Third Generation*. Fort Detrick, MD: Defense Technical Information Center.
19. Wingard DL, Cohn BA, Helmrich SP, Edelstein SL. 1996. DES awareness and exposure: the 1994 California Behavioral Risk Factor Survey. Am J Prev Med 12(5):437–441, PMID: 8909659, https://doi.org/10.1016/S0749-3797(18)30305-2.
20. National Cancer Institute. 2011. Diethylstilbestrol (DES) and Cancer. https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/hormones/des-fact-sheet [accessed 25 June 2019].