



# 中国川渝地区人群的铅、砷、汞和镉暴露:以直接法和间接法获得的参考区间对比研究\*

聂蔓青<sup>1</sup>, 谢天成<sup>2</sup>, 郑波<sup>1</sup>, 邹晓莉<sup>1</sup>, 孙国康<sup>1</sup>, 何秋蓉<sup>1</sup>, 吴凌<sup>1</sup>, 张静<sup>1△</sup>, 周丁子<sup>1</sup>

1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院(成都 610041); 2. 北京大学公共卫生学院卫生检验学系(北京 100191)

**【摘要】目的** 针对中国川渝地区人群的铅、砷、汞和镉暴露水平进行评估,同时比较通过直接法和间接法等两种抽样技术获得的参考区间(reference intervals, RI)的区别,探究两种技术之间的可替代性和局限性。**方法** 检测5 562名22~50岁健康人群的血砷、尿镉、尿汞、血铅含量,基于人体生物监测(human biomonitoring, HBM)数据采用非参数法建立了中国川渝地区人群的RI(直接法),同时基于本地医院的实验室信息系统(laboratory information system, LIS)通过高斯混合模型(Gaussian mixture model, GMM)对健康个体进行划分后通过非参数法建立RI(间接法),并将两种方法建立的RI进行对比。**结果** 血砷的RI为0.11~1.3 μmol/L; 22~<43岁人群尿镉的RI为0.51~2.80 μmol/mol creatine, 43~50岁人群尿镉的RI为0.66~2.96 μmol/mol creatine; 尿汞的RI为0.12~1.10 μmol/mol creatine; 22~<41岁人群血铅的RI为14.00~47.00 μg/L, 41~50岁男性人群血铅的RI为16.00~53.38 μg/L, 41~50岁女性人群血铅的RI为15.00~51.02 μg/L。与LIS相比,通过直接法建立的RI范围大多更窄,两种方法建立的RI部分存在偏差。**结论** 通过直接法和间接法建立了中国川渝地区22~50岁健康人群的血砷、尿镉、尿汞、血铅含量的RI,有利于了解普通人群对金属的环境暴露情况并为金属中毒提供参考。对于来自同一实验室的数据,与直接抽样法相比,基于GMM的间接抽样方法在建立RI时表现出相对一致的性能。

**【关键词】** 参考区间 高斯混合模型 重金属

## Exposure to Lead, Arsenic, Mercury, and Cadmium in Populations in Sichuan and Chongqing : A Comparative Study of Reference Intervals Derived From Direct and Indirect Sampling Methods

NIE Manqing<sup>1</sup>, XIE Tiancheng<sup>2</sup>, ZHENG Bo<sup>1</sup>, ZOU Xiaoli<sup>1</sup>, SUN Guokang<sup>1</sup>, HE Qiurong<sup>1</sup>, WU Ling<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>1△</sup>, ZHOU Dingzi<sup>1</sup>. 1. West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Laboratorial Science and Technology, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China

△ Corresponding author, E-mail: zhangjing.gogo@163.com

**[Abstract] Objective** To assess the exposure levels of heavy metals, including lead, arsenic, mercury, and cadmium, in the local population in Sichuan and Chongqing, China, to compare and analyze the differences in reference intervals (RIs) obtained from direct and indirect sampling methods, and to explore the interchangeability and limitations of these two sampling methods. **Methods** RIs were obtained by the direct sampling method and the indirect sampling method. In the direct sample method, the levels of blood arsenic, urinary cadmium, urinary mercury, and blood lead levels of 5 562 healthy participants aged 22-50 years in Sichuan and Chongqing, China were measured by atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma-mass spectrometry. Using the human biomonitoring (HBM) data, we established RIs for the population by a nonparametric method. On the other hand, in the indirect sampling method, RIs were established via a nonparametric method based on data from the laboratory information system (LIS) of a local hospital after stratifying healthy individuals using a Gaussian mixture model (GMM). Comparative analysis of the RIs derived from the two sampling methods were then conducted. **Results** The RI for blood arsenic was 0.11-1.3 μmol/L. The RI for urinary cadmium was 0.51-2.80 μmol/mol creatine for adults aged 22 to under 43 years and 0.66-2.96 μmol/mol creatine for adults aged 43-50 years. The RI for urinary mercury was 0.12-1.10 μmol/mol creatine. The RI for blood lead was 14.00-47.00 μg/L for adults aged 22 to under 41 year, 16.00-53.38 μg/L for males aged 41-50 year, and 15.00-51.02 μg/L for females aged 41-50 year. Most of the RIs established by the direct sampling method had a narrower

\* 四川省科学技术项目(No. 2023NSFSC1730)资助

△ 通信作者, E-mail: zhangjing.gogo@163.com

出版日期: 2025-03-20

range compared to those established by the indirect sampling method, and the RIs established by both sampling methods were partially biased. **Conclusions** The RIs for blood arsenic, urine cadmium, urine mercury, and blood lead in healthy individuals aged 22-50 years in Sichuan and Chongqing, China were established using both direct and indirect sampling methods, which contributes to a better understanding of environmental exposure to metals in the general population and provides a reference for metal poisoning. For data from the same lab, the GMM-based indirect sampling method demonstrated relatively consistent performance in establishing RIs compared with the direct sampling method.

**[Key words]** Reference interval Gaussian mixture model Heavy metal

环境中积累的金属和准金属元素(后文统一称为金属)种类多样,难以降解,并且随着城市化和工农业发展逐渐入侵人类活动,危害人类的身体健康,造成令全球担忧的公共卫生问题。人体通过胃肠道、皮肤和呼吸道等多种途径吸收来自环境中的金属,长期或高浓度的暴露会导致这些金属在体内过量存在<sup>[1]</sup>,从而诱导或者增强自由基形成<sup>[2]</sup>,导致加速衰老<sup>[3-5]</sup>、心血管疾病<sup>[6-7]</sup>、肾脏疾病<sup>[8-10]</sup>、一些癌症<sup>[11-13]</sup>、认知障碍等<sup>[14-15]</sup>不良结局。人体生物监测(human biomonitoring, HBM)技术是通过测量生物基质中的物质及其代谢物来监测人体内化合物暴露水平的方法,其目的是对人口的营养状况和其暴露于环境化学物质及有毒物质的状况进行评估<sup>[16]</sup>。无论暴露途径如何,HBM的结果都是可靠的总暴露指标<sup>[17-18]</sup>。通过制定参考区间(reference intervals, RI),可以将HBM结果进一步转化为健康风险值<sup>[19-20]</sup>,使得研究者能够据此进一步评估暴露所带来的社会负担并针对相关政策提供科学依据。

RI是临床实验室提供的信息的重要组成部分,用于支持对临床化学和血液学实验室产生的数字病理结果进行解释。RI建立的经典方法是从定义明确的“健康人群”中直接抽取参考个体<sup>[21-22]</sup>,由于伦理和可行性的局限,提出了几种基于数据挖掘的间接抽样方法<sup>[23-24]</sup>,其中包括混合高斯模型(Gaussian mixture model, GMM)。GMM可以实现对不符合单一分布的复杂数据集进行聚类,对于RI建立的意义在于实现潜在健康人群与总体人群的亚组划分<sup>[25]</sup>。已有研究将其应用于儿科RI的建立,GMM呈现出稳定的性能<sup>[26]</sup>。尚未见研究运用此方法建立人体中金属RI。此外,间接法建立的RI用于替代直接法建立的RI的可行性仍然令人怀疑,通过比较同一区域通过直接法和间接法建立的RI,可以阐明间接法的可行性和潜在局限性<sup>[27]</sup>。

川渝地区(四川省和重庆市)作为主要的有色金属矿区之一,多金属复合污染尤为突出,土壤重金属背景值远高于全国土壤平均值,污染物会损害不同的器官(肾脏、肺、大脑和骨骼)<sup>[28-29]</sup>。目前,中国尚未开展全国范围的人群金属暴露研究,现有研究主要集中在贵州地区的血汞和尿汞水平,以及江浙沪皖地区的血镉和尿汞水平,这些研究大多基于小样本,并且仅针对特定人群<sup>[30-31]</sup>。为了

评估中国川渝地区人群金属暴露,本课题组自2020-2024年展开了一项HBM项目。选择中国川渝地区优势金属污染物砷、镉、铅和汞作为HBM的目标物质<sup>[32]</sup>,它们也是世界卫生组织确认的十大公共卫生问题化学物质中的四种金属<sup>[33]</sup>。根据HBM数据建立了中国川渝地区人群的RI,此外本研究还基于本地医院的实验室信息系统(laboratory information system, LIS)比较了通过间接抽样技术和直接抽样技术建立的RI。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究设计和研究对象

2020年1月-2024年6月,在中国川渝地区进行了一项针对普通人群血液中砷、铅和尿液中镉、汞水平的HBM项目。该项目的发起者是四川大学华西第四医院。该研究采用了直接采样法,从中国川渝地区(四川省和重庆市)招募了5562名22~50岁的健康志愿者。志愿者被要求签署知情同意书,并完成一份调查问卷,问卷具体内容包括:姓名、性别、年龄、饮食习惯、吸烟情况、酒精摄入情况、家族遗传史、用药史、金属填充物使用情况、职业暴露情况(特别是金属)、居住地。纳入的非职业接触人群排除了有铅、砷、汞和镉暴露史,服用相关补剂,急慢性患者这些情况,且采样地点附近没有工业场所。调查问卷和研究均得到四川大学华西第四医院伦理委员会的批准(伦理批号:HXSJ-EC-2024120),以符合赫尔辛基宣言<sup>[34]</sup>。

四川大学华西第四医院LIS数据库采用间接抽样技术,纳入2020年1月-2024年6月10099例22~50岁籍贯为中国川渝地区的门诊患者,提取了门诊患者血砷、尿镉、尿汞和血铅检测结果。

### 1.2 样本采集

对于HBM和LIS数据,血液和尿液样本采集和分析由同一实验室完成,具体步骤如下:

全血样品采集由门诊部护士完成。所有志愿者空腹8h后于肘静脉采集3~4 mL血液于肝素锂抗凝管。采集随机尿30 mL,直接收集于洁净的50 mL带盖聚丙烯塑料离心管。样品采集后立即储存在4℃下,并在24 h内完成检测。如不能及时检测,将样品置于-20℃冰箱保存。

### 1.3 样本分析

采用石墨炉原子吸收法测定铅和镉,分别参考美国CDC和中国的国家标准进行分析<sup>[35-36]</sup>。汞采用原子荧光光谱法进行测定,该方法已在文献中报道<sup>[37]</sup>。血中的砷采用实验室建立的电感耦合等离子体质谱方法分析。具体步骤如下:

#### 1.3.1 铅和镉分析步骤

用1%硝酸溶液将国家标准物质水中铅(1 000 mg/L)稀释为质量浓度50 mg/L的工作曲线铅标准溶液,稀释镉标准物质为质量浓度1 mg/L的工作曲线镉标准溶液。再用1%的硝酸溶液稀释工作曲线铅标准溶液成质量浓度为0、0.5、1.0、2、4、5 mg/L的铅标准溶液系列。另取6只5 mL容量瓶,分别加入0.2 mL质量浓度为0~5 mg/L的铅标准溶液系列,再取1.8 mL混合血浆,即配成质量浓度为0、50、100、200、400、500  $\mu\text{g/L}$ 的血铅工作曲线标准溶液系列。镉与铅的标准溶液系列和工作曲线标准溶液系列配制稀释倍数相同。

工作曲线、质控和盲样处理方式一致,取0.2 mL血样/尿样加入塞聚乙烯离心管,加入1.8 mL 5%硝酸溶液,立即盖好盖子,强力震摇,然后在漩涡混合器上振摇5 min,以3 500 r/min离心5 min,上清液采用石墨炉原子吸收法测定:仪器为Perkin Elmer公司PinAAcle 900T型原子吸收光谱仪。THGA石墨炉原子化器,石墨管;AS-900型自动进样器;铅空心阴极灯,分析波长:283.3 nm;镉空心阴极灯,分析波长:228.3 nm;灯电流:10 mA;光谱通带:0.7 L/nm;进样量:20  $\mu\text{L}$ ;高纯氩气:250 mL/min。石墨炉采用光学控温控温,采用峰面积积分记录数据。

#### 1.3.2 汞分析步骤

取混匀后的全血0.5 mL于10 mL PP材质的塑料离心管中,分别加入0.5 mL硝酸和0.5 mL过氧化氢,于90  $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴60 min后,取出放置至室温,用5%盐酸定容至5 mL,混匀后待测。同时做试剂空白。

取1 000  $\mu\text{g/L}$ 的汞标准中间溶液0、5.0、25、50、75、100  $\mu\text{L}$ 分别于10 mL塑料离心管中,加入正常人血0.5 mL,其余操作步骤同样品处理,得到质量浓度为0~20  $\mu\text{g/L}$ 的工作曲线系列。分析仪器为海光公司AFS-9710原子荧光光度计,波长为257.3 nm,灯电流为15 mA,原子化器高度为10 mm,光电倍增管负高压为300 V,载气(Ar)流量为400 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ ,屏蔽气(Ar)流量为1 000 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ ;延迟时间为4 s,读数时间为18 s,进样体积为1.0 mL,进样方式为断续流动,测量方式为标准曲线法,读数方法为峰面积。

#### 1.3.3 砷分析步骤

用1%硝酸溶液将铷单元素标准溶液稀释至10  $\mu\text{g/L}$

得到内标溶液。用1%硝酸溶液将1%Triton X-100溶液稀释100倍得到稀释剂。全血充分振摇混匀后(冷藏血需恢复至室温),移取0.2 mL血液样品于15 mL聚乙烯离心管中,加入9.8 mL稀释剂,盖塞,涡旋1 min后3 000 r/min离心5 min待测。

准确吸取0.10 mL砷单元素标准溶液(1 000  $\mu\text{g/mL}$ )于10 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液稀释至刻度,配置成10  $\mu\text{g/mL}$ 标准中间液。准确吸取0.10 mL砷标准中间液于10 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液稀释至刻度,配置成100  $\mu\text{g/L}$ 标准应用液。准确吸取0.0、0.10、0.20、0.50、1.0 mL标准应用液于10 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液稀释至刻度,配置成0.0、1.0、2.0、5.0、10.0  $\mu\text{g/L}$ 标准系列。分析仪器为Perkin Elmer公司NexION 2000G三重四极杆电感耦合等离子体质谱仪,使用调谐液调谐,冷却气流速为12.5 L/min,辅助气流量为1.2 L/min,雾化气流量为0.90 L/min;采用no gas模式,蠕动泵速为35 r/min,雾化器温度为3  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 1.4 质控方案

在样品分析时通过分析质控样品进行内部质量控制,每20个样品设置一个质控样分析,质控样分别为冻干牛血中铅标准物质、冻干人尿中汞标准物质、冻干人尿中镉标准物质〔GBW(E)090054, GBW(E)091029, GBW(E)091031,均由中国疾病预防控制中心定值〕和Seronorm<sup>TM</sup> Trace Elements Whole Blood RUO (L1-3)。实验室参与中国国家卫生健康委临床检验中心(NCCL)组织的外部质量评估计划用作外部质量控制。

### 1.5 数据清洗

对于HBM数据,移除溶血等质量不合格的标本。对于LIS数据,首先从数据库中删除缺失值和极值。然后检查重复值,如果一个人在一年内有两份或更多实验室记录,则使用最早的记录。考虑到样本量不足对聚类分析稳定性的不利影响,本研究未纳入22岁以下或50岁以上的人群。

在异常值检测过程中,首先通过决策树进行年龄和性别划分。随后,检查每个年龄和性别亚组的测试结果的正态性,并适当使用Box-Cox变换以确保数据服从高斯分布。最后,采用Tukey方法检测异常值,其中异常值定义为小于( $Q1 - 1.5 \times IQR$ )或大于( $Q3 + 1.5 \times IQR$ )。

### 1.6 统计学方法

两种抽样技术建立RI的流程如图1所示。对于LIS数据,GMM是在R 3.5.3的mixtools包中执行的。GMM的主要过程基于期望最大值算法。两个聚类分别代表健康个体(分析物水平低)和不健康个体(分析物水平高),使用

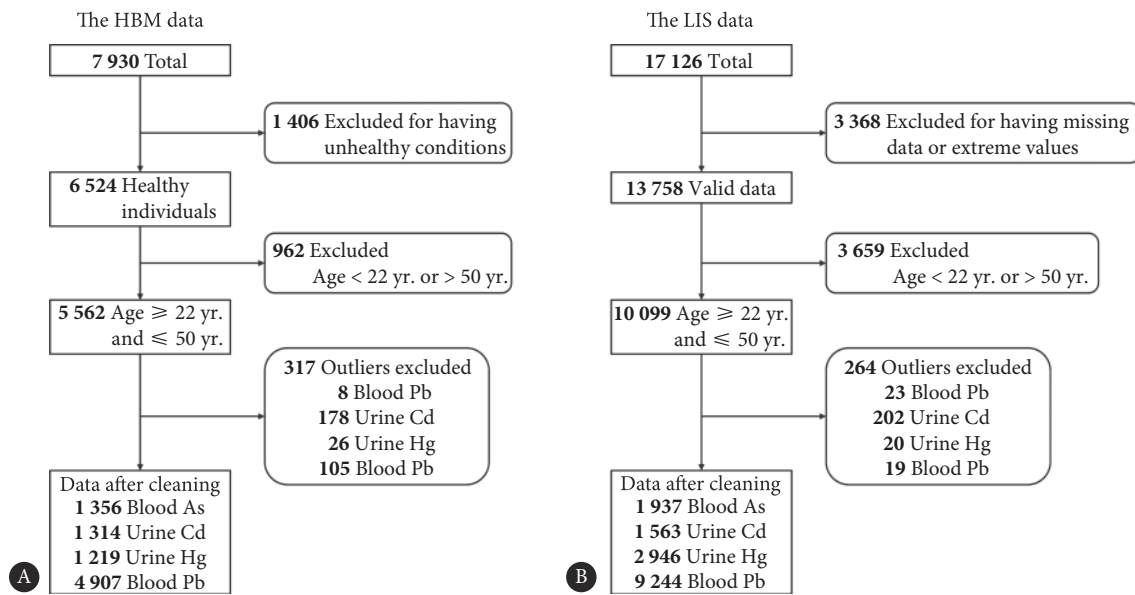


图 1 通过直接法 (A) 和间接法 (B) 建立参考区间的流程

Fig 1 Process for establishing reference intervals through direct (A) and indirect (B) sampling methods

非参数法计算RI, 第2.5百分位数和第97.5百分位数之间的95%区间定义为RI。对于每个RI, 计算终点的90%置信区间。

对于HBM数据, 亦使用非参数法计算RI, RI定义与上述相同。为了评估间接法确定的参考限值与直接技术确定的参考限值之间的偏差, 计算了参考限值的方法间差异与个体间SD的比率, 其中个体间SD为直接技术确定的参考限值宽度的1/3.92<sup>[26, 38]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 LIS数据和HBM数据分布

LIS数据总共包括1937个砷测量值、1563个镉测量值、

2946个汞测量值、9244个铅测量值; HBM数据总共包括1356个砷测量值、1314个镉测量值、1219个汞测量值、4907个铅测量值。血铅决策树显示年龄划分为22~<41岁和41~50岁(附图1, 见网络资源附件)。由于41岁后发现男性和女性之间的血铅有显著差异, 41~50岁的亚组也按性别划分。尿镉年龄划分为22~<43岁、43~50岁。血砷和尿汞不按年龄和性别划分。血砷、尿镉、尿汞、血铅含量的原始分布如表1、图2所示。

### 2.2 混合高斯模型

通过对血铅、血砷、尿汞和尿镉等生物标志物的浓度数据进行建模, GMM将总体分布分解为两个高斯成分, 浓度较低的密度曲线被确定为具有正常分析物水平

表 1 血液和尿液中砷、镉、汞、铅的原始分布

Table 1 Original distributions of As, Cd, Hg, and Pb in the blood and urine

Group	LIS sample size	Mean	SD	HBM sample size	Mean	SD
Blood As/( $\mu\text{mol/L}$ )						
22-50 yr.	1937	0.47	0.32	1356	0.46	0.29
Urine Cd/( $\mu\text{mol/mol creatine}$ )						
22-< 43 yr.	1280	1.43	0.71	1126	1.40	0.66
43-50 yr.	283	1.73	0.89	188	1.61	0.70
Urine Hg/( $\mu\text{mol/mol creatine}$ )						
22-50 yr.	2946	4.36	12.22	1219	0.43	0.24
Blood Pb/( $\mu\text{g/L}$ )						
22-< 41 yr.	6671	58.13	85.48	4545	26.99	8.47
41-50 yr. (male)	1413	157.28	142.78	472	31.42	9.96
41-50 yr. (female)	1160	106.70	108.95	440	29.97	10.26

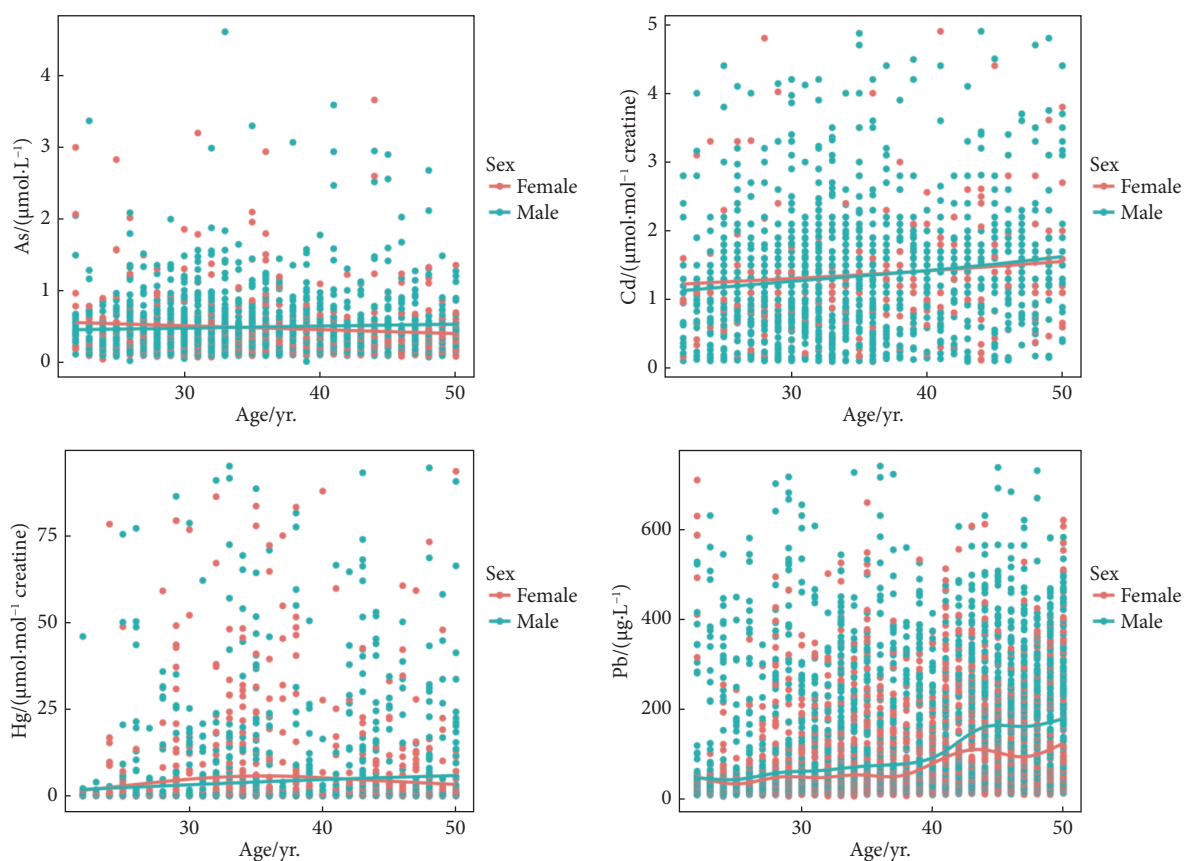


图 2 砷、镉、汞、铅的分布

Fig 2 The distributions of As, Cd, Hg, and Pb

The distributions of As, Cd, Hg, and Pb are shown separately for males (blue) and females (red).

的潜在健康个体的分布, 这些分布的参数(如均值、方差和混合比例)可以通过数据拟合来估计, 相应的分布参数显示如表2所示。对于GMM, 血铅正常的人群占总数的73.8%(6 823/9 244), 血砷正常的人群占79.1%(1 533/1 937), 尿汞正常的人群占76.6%(2 256/2 946), 尿镉正常的人群占85.2%(1 331/1 563)。

表 2 GMM数据的分布参数

Table 2 Distribution parameters of heavy metals in the Gaussian mixture model

Group	$\lambda$	$\mu$	$\sigma$
Blood As/( $\mu\text{mol/L}$ )			
22-50 yr.	0.791	0.354	0.166
Urine Cd/( $\mu\text{mol/mol creatinine}$ )			
22-< 43 yr.	0.865	1.240	0.416
43-50 yr.	0.793	1.380	0.439
Urine Hg/( $\mu\text{mol/mol creatinine}$ )			
22-50 yr.	0.766	0.418	0.253
Blood Pb/( $\mu\text{g/L}$ )			
22-< 41 yr.	0.848	30.900	13.600
41-50 yr. (male)	0.403	34.800	13.800
41-50 yr. (female)	0.513	33.900	14.600

$\lambda$ : the mixed coefficient;  $\mu$ : the mean;  $\sigma$ : the standard deviation.

### 2.3 直接法和间接法确定的参考区间

各指标参考区间的上、下限及其90%置信区间如图3所示。直接法: 血砷的RI为0.11 ~ 1.3  $\mu\text{mol/L}$ , 22 ~ <43岁人群尿镉的RI为0.51 ~ 2.80  $\mu\text{mol/mol creatinine}$ , 43 ~ 50岁人群尿镉的RI为0.66 ~ 2.96  $\mu\text{mol/mol creatinine}$ ; 尿汞的RI为0.12 ~ 1.10  $\mu\text{mol/mol creatinine}$ ; 22 ~ <41岁人群血铅的RI为14.00 ~ 47.00  $\mu\text{g/L}$ , 41 ~ 50岁男性人群血铅的RI为16.00 ~ 53.38  $\mu\text{g/L}$ , 41 ~ 50岁女性人群血铅的RI为15.00 ~ 51.02  $\mu\text{g/L}$ 。间接法: 血砷的RI为0.03 ~ 0.68  $\mu\text{mol/L}$ , 22 ~ <43岁人群尿镉的RI为0.42 ~ 2.06  $\mu\text{mol/mol creatinine}$ , 43 ~ 50岁人群尿镉的RI为0.52 ~ 2.24  $\mu\text{mol/mol creatinine}$ ; 尿汞的RI为-0.08 ~ 0.91  $\mu\text{mol/mol creatinine}$ ; 22 ~ <41岁人群血铅的RI为4.24 ~ 57.56  $\mu\text{g/L}$ , 41 ~ 50岁男性人群血铅的RI为7.75 ~ 61.85  $\mu\text{g/L}$ , 41 ~ 50岁女性人群血铅的RI为5.28 ~ 62.52  $\mu\text{g/L}$ 。直接法和间接法建立参考区间的偏倚比率如表3所示, 结果表明基于直接法和间接法的RI存在偏差, 在大多数情况下, 偏差比>0.375。

## 3 讨论

使用制造商的RI将导致8% ~ 62%的参考个体被归类

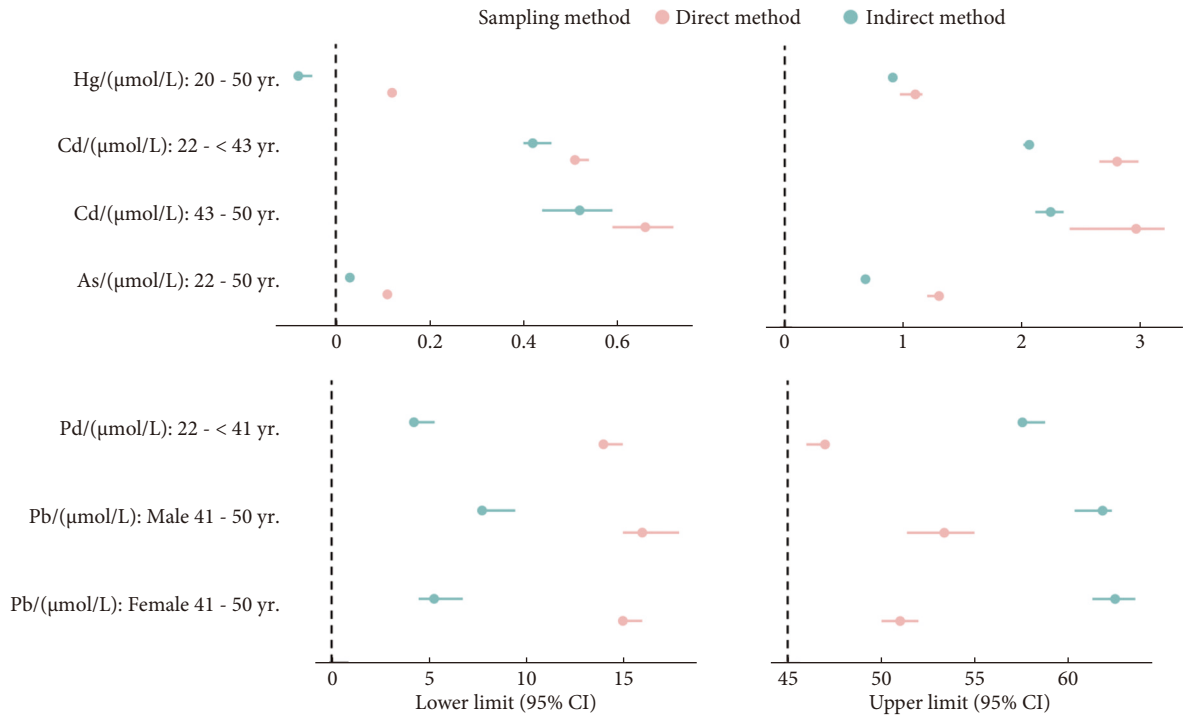


图 3 通过间接法、直接法获得的血液和尿液中砷、镉、汞、铅的参考区间的上、下限及其90%置信区间

Fig 3 Reference intervals of As and Pb in the blood and Cd and Hg in the urine acquired by direct and indirect sampling methods

表 3 通过直接法和间接法建立的砷、镉、汞、铅参考区间的偏倚比率  
Table 3 Bias ratio of reference intervals of As, Cd, Hg, Pb established by direct and indirect sampling methods

Group	BR <sub>LL</sub>	BR <sub>UL</sub>
Blood As/( $\mu\text{mol/L}$ )		
22-50 yr.	-0.26	-2.04
Urine Cd/( $\mu\text{mol/mol creatine}$ )		
22-< 43 yr.	-0.15	-1.27
43-50 yr.	-0.24	-1.23
Urine Hg/( $\mu\text{mol/mol creatine}$ )		
22-50 yr.	-0.80	-0.76
Blood Pb/( $\mu\text{g/L}$ )		
22-< 41 yr.	-1.16	1.25
41-50 yr. (male)	-0.87	0.89
41-50 yr. (female)	-1.06	1.25

BR: bias ratio; LL: lower limit; UP: upper limit.

为异常高(>97.5百分位数)<sup>[39]</sup>。临床和实验室标准协会建议个别实验室根据所使用的分析方法和所服务的人群建立自己的RI<sup>[40]</sup>。一项试点研究通过分析170名西班牙成年人的尿液了解汞、铅和镉的参考水平<sup>[41]</sup>。一项德国的研究分析了4 021名25~69岁成年人血液、尿液中铅、镉和汞的几何平均值,但未校正肌酐<sup>[42]</sup>。肌酐仅经肾小球过滤而不被肾小管重吸收,其排泄较稳定,可用作尿中其他代谢物的内部校正参数<sup>[43]</sup>,本研究使用尿肌酐对尿镉和尿汞含量进行了校正。一项研究使用蒙特卡罗模拟

通过数据挖掘评估2016-2018年期间,成人血铅水平的第95个和第97.5个百分位数分别为74.90  $\mu\text{g/L}$  和92.65  $\mu\text{g/L}$ <sup>[44]</sup>,较本研究更高,这可能是由于地区的差异。此外,未见中国地区制定对健康成年人砷、铅、镉和汞水平的RI。

在本研究中,43~50岁尿镉及41~50岁血铅浓度更高。41~50岁男性血铅浓度更高,可能是因为年龄对铅从循环到骨和骨吸收的交换和扩散以及铅从骨到循环的交换和扩散有显著影响<sup>[45]</sup>。且铅主要储存在人体的钙化组织中,对于非职业暴露的成年人,90%~95%的总铅负荷包含在骨骼中。骨铅的半衰期很长,随着年龄增长铅通过骨骼重塑缓慢释放回血液中<sup>[46]</sup>。韩国的一项研究表明男性比女性血铅水平更高,这与本研究一致。这可能是因为男性比女性拥有更多的红细胞(约10%),绝经前的女性比男性更容易将铅保留在骨骼中或释放得更慢<sup>[47]</sup>。至于尿镉,众所周知,每天只有0.001%的Cd通过尿液排泄。这种极慢的Cd排泄速度是由于缺乏有效的消除生化机制以及肾脏的再吸收。这意味着镉会随着年龄的增长而在身体中积累,特别是在肾脏皮层中积累,在50岁时达到平台期<sup>[48]</sup>。

与直接方法相比,间接方法具有一些主要的潜在优势。其过程更快,成本更低,不会给患者带来不便、不适或产生新的患者健康信息的风险。间接方法还使用与常规实践中相同的分析前和分析技术,可提供大量数据用于评估。然而值得注意的是,间接法不符合参考值理论

的基本原则,即对参考人群特征的仔细定义,这意味着患病亚群可能会对得出的参考区间产生影响<sup>[49]</sup>。因此有必要加强控制和排除受到潜在金属暴露的人群数据,以防止其在建立RI的过程中引入“污染”<sup>[50]</sup>。

YAN等<sup>[26]</sup>比较了PRINCE研究和LIS数据库建立的肌酐和尿素的参考分布,其结果显示,无论排除哪一组异常值,基于直接法和间接法的RI都存在偏差,在大多数情况下,偏差比 $>0.375$ 。与本研究的结果一致。可能是由于不同年龄组样本呈现不同分布,而基于GMM的间接抽样技术在区分健康和亚健康人群时的判别方法与直接抽样技术相比具有原理上的差异,于是这样的差异体现在了所建立的RI上。其次,这种差异也有可能是LIS数据未能排除诸如饮食、居住地、潜在职业暴露等混杂因素造成的。值得注意的是,通过直接法建立的RI范围大多更窄,这与YAN等的研究一致。因此,基于间接抽样方法在建立RI时表现出近似直接抽样技术的能力,具有很大的应用潜力。但是对于采用该技术建立的RI的结果的解释应仔细参考专业知识和临床意义,并且鼓励实验室在将使用间接抽样方法得出的RI应用于常规临床实践之前对其进行验证<sup>[49]</sup>。

本研究具有一定的局限性。由于LIS无法提供关于样本提供者更细致的数据,本研究未纳入吸烟、饮酒等因素,这也是该方法无法避免的弊端<sup>[49]</sup>。相应地,为了更好地进行比较,HBM数据也未根据上述混杂因素进行分组。由于LIS数据来自门诊患者,因此可能存在混杂因素,未来可以进一步收集并分析患者的详细健康状况、职业背景和饮食习惯等信息,以便评估这些因素是否对重金属暴露水平产生影响。此外,由于尿汞的样本量较小且数据中的低浓度值较多,经过GMM的计算后,尿汞RI的下限小于0,实际应用中可以根据生物学或临床常识将其设定为0。中国不同地区的金属污染水平不同<sup>[51]</sup>,本研究人群主要聚焦于川渝地区人群,希望后续将研究扩大至更广泛的人群。

有研究表明,人类环境的铅、镉、砷和汞共同暴露有可能引起协同神经毒性<sup>[52]</sup>。有必要尽量减少整个自然环境中的金属污染,并倡导良好的卫生习惯和饮食习惯以减少金属的吸收。本研究为实验室建立RI提供了关于抽样方法和亚洲人群的有效信息,给政策制定者提供了科学依据,有助于进行有效的公众健康指导。

综上,本研究通过直接法和间接法建立了中国川渝地区22~50岁健康人群的血砷、尿镉、尿汞、血铅含量RI,基于GMM的间接法建立的RI范围大多更窄且上限值更低,本研究有利于了解普通人群对金属的环境暴露情

况并为金属中毒监测提供参考。

\* \* \*

**作者贡献声明** 聂蔓青和谢天成负责论文构思、正式分析、研究方法、软件、可视化、初稿写作和审读与编辑写作,郑波和邹晓莉负责调查研究和研究项目管理,孙国康、何秋蓉和吴凌负责论文构思和数据审编,张静负责正式分析、经费获取、研究方法、软件、可视化、初稿写作和审读与编辑写作,周丁子负责经费获取、提供资源和监督指导。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

**Author Contribution** NIE Manqing and XIE Tiancheng are responsible for conceptualization, formal analysis, methodology, software, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. ZHENG Bo and ZOU Xiaoli are responsible for investigation and project administration. SUN Guokang, HE Qirong, and WU Ling are responsible for conceptualization and data curation. ZHANG Jing is responsible for formal analysis, funding acquisition, methodology, software, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. ZHOU Dingzi is responsible for funding acquisition, resources, and supervision. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**Declaration of Conflicting Interests** All authors declare no competing interests.

## 参 考 文 献

- [1] FU Z, XI S. The effects of heavy metals on human metabolism. *Toxicol Mech Methods*, 2020, 30(3): 167-176. doi: 10.1080/15376516.2019.1701594.
- [2] JOMOVA K, VALKO M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 2011, 283(2): 65-87. doi: 10.1016/j.tox.2011.03.001.
- [3] WANG C, HONG S, GUAN X, et al. Associations between multiple metals exposure and biological aging: evidence from the Dongfeng-Tongji cohort. *Sci Total Environ*, 2023, 861: 160596. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.160596.
- [4] NWANAJI-ENWEREM J C, COLICINO E, SPECHT A J, et al. Individual species and cumulative mixture relationships of 24-hour urine metal concentrations with DNA methylation age variables in older men. *Environ Res*, 2020, 186: 109573. doi: 10.1016/j.envres.2020.109573.
- [5] XIAO L, ZAN G, FENG X, et al. The associations of multiple metals mixture with accelerated DNA methylation aging. *Environ Pollut*, 2021, 269: 116230. doi: 10.1016/j.envpol.2020.116230.
- [6] TELLEZ-PLAZA M, GUALLAR E, NAVAS-ACIEN A. Environmental metals and cardiovascular disease. *BMJ*, 2018, 362: k3435. doi: 10.1136/bmj.k3435.
- [7] NUCERA S, SERRA M, CAMINITI R, et al. Non-essential heavy metal effects in cardiovascular diseases: an overview of systematic reviews. *Front Cardiovasc Med*, 2024, 11: 1332339. doi: 10.3389/fcvm.2024.1332339.
- [8] ORR S E, BRIDGES C C. Chronic kidney disease and exposure to nephrotoxic metals. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5): 1039. doi: 10.3390/ijms18051039.
- [9] STAMMLER L, UHL A, MAYER B, et al. Renal effects and carcinogenicity of occupational exposure to uranium: a meta-analysis. *Nephron Extra*, 2016, 6(1): 1-11. doi: 10.1159/000442827.
- [10] WANG X, ZHANG J, MA Z, et al. Association and interactions between mixed exposure to trace elements and the prevalence of kidney stones: a

- study of NHANES 2017-2018. *Front Public Health*, 2023, 11: 1251637. doi: 10.3389/fpubh.2023.1251637.
- [11] BYEON S, DU TOIT-THOMPSON T, HIPPERSON L, *et al.* Serum and tissue metalloids of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Sci*, 2024, 115(5): 1446-1458. doi: 10.1111/cas.16124.
- [12] ZHANG H, YAN J, NIE G, *et al.* Association between heavy metals and trace elements in cancerous and non-cancerous tissues with the risk of colorectal cancer progression in Northwest China. *Biol Trace Elem Res*, 2024, 202(11): 4932-4944. doi: 10.1007/s12011-024-04077-9.
- [13] CHEN Q Y, DESMARAIS T, COSTA M. Metals and mechanisms of carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2019, 59: 537-554. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010818-021031.
- [14] SHAH-KULKARNI S, LEE S, JEONG K S, *et al.* Prenatal exposure to mixtures of heavy metals and neurodevelopment in infants at 6 months. *Environ Res*, 2020, 182: 109122. doi: 10.1016/j.envres.2020.109122.
- [15] KIM Y, HA E H, PARK H, *et al.* Prenatal lead and cadmium co-exposure and infant neurodevelopment at 6 months of age: the Mothers and Children's Environmental Health (MOCEH) study. *Neurotoxicology*, 2013, 35: 15-22. doi: 10.1016/j.neuro.2012.11.006.
- [16] TOLONEN H, ANDERSSON A M, HOLMBOE S A, *et al.* Health information for human biomonitoring studies. *Int J Hyg Environ Health*, 2022, 246: 114051. doi: 10.1016/j.ijheh.2022.114051.
- [17] PIRKLE J L, SAMPSON E J, NEEDHAM L L, *et al.* Using biological monitoring to assess human exposure to priority toxicants. *Environ Health Perspect*, 1995, 103(Suppl 3): 45-48. doi: 10.1289/ehp.95103s345.
- [18] TAGNE-FOTSO R, RIOU M, SAOUDI A, *et al.* Exposure to bisphenol A in European women from 2007 to 2014 using human biomonitoring data-The European Joint Programme HBM4EU. *Environ Int*, 2024, 190: 108912. doi: 10.1016/j.envint.2024.108912.
- [19] BOCCA B, PINO A, ALIMONTI A. Metals as biomarkers of the environmental human exposure. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 2013, 1: 26004. doi: 10.1051/e3sconf/20130126004.
- [20] SCHULZ C, WILHELM M, HEUDORF U, *et al.* Reprint of "Update of the reference and HBM values derived by the German Human Biomonitoring Commission". *Int J Hyg Environ Health*, 2012, 215(2): 150-158. doi: 10.1016/j.ijheh.2012.01.003.
- [21] CERIOTTI F, HINZMANN R, PANTEGHINI M. Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem*, 2009, 46(Pt 1): 8-17. doi: 10.1258/acb.2008.008170.
- [22] CLSI. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline-Third Edition. CLSI document EP28-A3c. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- [23] KATAYEV A, FLEMING J K, LUO D, *et al.* Reference intervals data mining: no longer a probability paper method. *Am J Clin Pathol*, 2015, 143(1): 134-142. doi: 10.1309/ajcpqprnib54wfkj.
- [24] JABRE J F, PITT M C, DEEB J, *et al.* E-norms: a method to extrapolate reference values from a laboratory population. *J Clin Neurophysiol*, 2015, 32(3): 265-270. doi: 10.1097/wnp.0000000000000161.
- [25] HUANG H, LIAO Z, WEI X, *et al.* Combined gaussian mixture model and pathfinder algorithm for data clustering. *Entropy (Basel)*, 2023, 25(6): 946. doi: 10.3390/e25060946.
- [26] YAN R, LI K, LV Y, *et al.* Comparison of reference distributions acquired by direct and indirect sampling techniques: exemplified with the Pediatric Reference Interval in China (PRINCE) study. *BMC Med Res Methodol*, 2022, 22(1): 106. doi: 10.1186/s12874-022-01596-8.
- [27] ZHANG Y, MA W, WANG G, *et al.* Limitations of the Hoffmann method for establishing reference intervals using clinical laboratory data. *Clin Biochem*, 2019, 63: 79-84. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.11.005.
- [28] LIU H, QU M, CHEN J, *et al.* Heavy metal accumulation in the surrounding areas affected by mining in China: spatial distribution patterns, risk assessment, and influencing factors. *Sci Total Environ*, 2022, 825: 154004. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.154004.
- [29] 骆永明, 滕应. 我国土壤污染的区域差异与分区治理修复策略. *中国科学院院刊*, 2018, 33(2): 145-152. doi: 10.16418/j.issn.1000-3045.2018.02.003.
- LUO Y M, TENG Y. Regional difference in soil pollution and strategy of soil zonal governance and remediation in China. *Bull Chin Acad Sci*, 2018, 33(2): 145-152. doi: 10.16418/j.issn.1000-3045.2018.02.003.
- [30] 李佐祥, 刘梅, 侯腾, 等. 贵州省非职业接触汞健康人群血和尿汞水平及其参考值范围. *贵州医科大学学报*, 2023, 48(8): 908-913. doi: 10.19367/j.cnki.2096-8388.2023.08.006.
- LI Z X, LIU M, HOU T, *et al.* Study on the reference range of blood and urine mercury among non-occupational healthy population in Guizhou. *J Guizhou Med Univ*, 2023, 48(8): 908-913. doi: 10.19367/j.cnki.2096-8388.2023.08.006.
- [31] 潘畅, 林炜栋, 周钢, 等. 江浙沪皖地区18~22周岁男性血镉、尿汞参考区间探讨. *检验医学*, 2013, 28(3): 203-206. doi: 10.3969/j.issn.1673-8640.2013.03.008.
- PAN C, LIN W D, ZHOU G, *et al.* Investigation on the reference intervals of blood cadmium and urine mercury in Jiangsu, Zhejiang, Shanghai and Anhui regions among 18-22-year-old males. *Lab Med*, 2013, 28(3): 203-206. doi: 10.3969/j.issn.1673-8640.2013.03.008.
- [32] PENG J Y, ZHANG S, HAN Y, *et al.* Soil heavy metal pollution of industrial legacies in China and health risk assessment. *Sci Total Environ*, 2022, 816: 151632. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151632.
- [33] World Health Organization. 10 chemicals of public health concern. [2020-06-01][2025-02-12]. <https://www.who.int/news-room/photo-story/detail/10-chemicals-of-public-health-concern>.
- [34] World Medical Association. WMA Declaration of Helsinki-ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*, 2013, 310(20): 2191-2194. doi: 10.1001/jama.2013.281053.
- [35] Clinical and Laboratory Standards Institute. Measurement procedures for the determination of lead concentrations in blood and urine: approved guideline, 2nd edition. CLSI document C40-A2. Wayne, PA, United States of America. 2013.
- [36] National Health Commission of the People's Republic of China. Determination of cadmium in urine. Part 1: Graphite furnace atomic absorption spectrometry method: GBZ/T 307.1-2018. [2025-02-12]. <https://ndls.org.cn/standard/detail/642367036f9f65ff40d3ae9df7c0c30b>.
- [37] 何秋蓉, 雍莉, 江阳, 等. 两种预处理方法对原子荧光光谱法测定人全血中汞的结果影响. *预防医学情报杂志*, 2021, 37(9): 1285-1289.
- HE Q R, YONG L, JIANG Y, *et al.* Two pretreatment methods-atomic fluorescence spectrometry for determination of mercury in human whole blood. *J Prev Med Inf*, 2021, 37(9): 1285-1289.
- [38] OZARDA Y, ICHIHARA K, JONES G, *et al.* Comparison of reference intervals derived by direct and indirect methods based on compatible datasets obtained in Turkey. *Clin Chim Acta*, 2021, 520: 186-195. doi: 10.1016/j.cca.2021.05.030.
- [39] BREWSTER L M, MAIRUHU G, STURK A, *et al.* Distribution of creatine kinase in the general population: implications for statin therapy. *Am Heart J*, 2007, 154(4): 655-661. doi: 10.1016/j.ahj.2007.06.008.
- [40] OZARDA Y, HIGGINS V, ADELI K. Verification of reference intervals in routine clinical laboratories: practical challenges and recommendations. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 57(1): 30-37. doi: 10.1515/cclm-2018-0059.
- [41] CASTAÑO A, SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ J E, CAÑAS A, *et al.* Mercury, lead and cadmium levels in the urine of 170 Spanish adults: a pilot human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health*, 2012, 215(2): 191-195. doi: 10.1016/j.ijheh.2011.09.001.
- [42] SEIFERT B, BECKER K, HELM D, *et al.* The German Environmental Survey 1990/1992 (GerES II): reference concentrations of selected environmental pollutants in blood, urine, hair, house dust, drinking water and indoor air. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 2000, 10(6 Pt 1): 552-565. doi: 10.1038/sj.jea.7500111.
- [43] ZHOU J W, ZHENG X B, LIU H S, *et al.* Reliable quantitative detection of uric acid in urine by surface-enhanced Raman spectroscopy with

- endogenous internal standard. *Biosens Bioelectron*, 2024, 251: 116101. doi: [10.1016/j.bios.2024.116101](https://doi.org/10.1016/j.bios.2024.116101).
- [44] LI Y, CHEN J, BU S, *et al*. Blood lead levels and their associated risk factors in Chinese adults from 1980 to 2018. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 218: 112294. doi: [10.1016/j.ecoenv.2021.112294](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112294).
- [45] PATRICK L. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Altern Med Rev*, 2006, 11(2): 114-127.
- [46] TODD A C, LEE B K, LEE G S, *et al*. Predictors of DMSA chelatable lead, tibial lead, and blood lead in 802 Korean lead workers. *Occup Environ Med*, 2001, 58(2): 73-80. doi: [10.1136/oem.58.2.73](https://doi.org/10.1136/oem.58.2.73).
- [47] POPOVIC M, MCNEILL F E, CHETTLE D R, *et al*. Impact of occupational exposure on lead levels in women. *Environ Health Perspect*, 2005, 113(4): 478-484. doi: [10.1289/ehp.7386](https://doi.org/10.1289/ehp.7386).
- [48] FORTE G, MADEDDU R, TOLU P, *et al*. Reference intervals for blood Cd and Pb in the general population of Sardinia (Italy). *Int J Hyg Environ Health*, 2011, 214(2): 102-109. doi: [10.1016/j.ijheh.2010.09.006](https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2010.09.006).
- [49] JONES G R D, HAECKEL R, LOH T P, *et al*. Indirect methods for reference interval determination—review and recommendations. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 57(1): 20-29. doi: [10.1515/cclm-2018-0073](https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0073).
- [50] OZARDA Y. Reference intervals: current status, recent developments and future considerations. *Biochem Med (Zagreb)*, 2016, 26(1): 5-16. doi: [10.11613/bm.2016.001](https://doi.org/10.11613/bm.2016.001).
- [51] ZHANG Y, O'CONNOR D, XU W, *et al*. Blood lead levels among Chinese children: the shifting influence of industry, traffic, and e-waste over three decades. *Environ Int*, 2020, 135: 105379. doi: [10.1016/j.envint.2019.105379](https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105379).
- [52] ZHOU F, XIE J, ZHANG S, *et al*. Lead, cadmium, arsenic, and mercury combined exposure disrupted synaptic homeostasis through activating the Snk-SPAR pathway. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 163: 674-684. doi: [10.1016/j.ecoenv.2018.07.116](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.116).

(2024-12-16收稿, 2025-02-16修回)

编辑 刘华



**开放获取** 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

**OPEN ACCESS** This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2025 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*