

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20131217001

钱波, 王健, 朱春艳, 等. 甲状腺激素脱碘酶在孕哺期十溴联苯醚(BDE 209)暴露致子代小鼠神经发育毒性中的潜在作用[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(3): 459-466

Qian B, Wang J, Zhu C Y, et al. The role of thyroid hormone deiodinase in developmental neurotoxicity in newborn mice mediated by decabromodiphenyl ether (BDE 209) exposure during pregnancy and lactation [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(3): 459-466 (in Chinese)

甲状腺激素脱碘酶在孕哺期十溴联苯醚(BDE 209)暴露致子代小鼠神经发育毒性中的潜在作用

钱波¹, 王健¹, 朱春艳¹, 胡宏², 邵静^{1,*}, 刘晓晖^{1,#}

1. 大连医科大学公卫学院 劳动卫生与环境卫生教研室, 大连 116044

2. 大连医科大学附属二院 检验科, 大连 116027

收稿日期: 2013-12-17 录用日期: 2014-01-11

摘要: 研究孕哺期 BDE 209 暴露对母鼠胎盘和子代脑组织甲状腺激素脱碘酶(deiodinase, DI)基因表达的影响,及其在子鼠神经发育毒性效应中的作用。将 75 只雌性昆明小鼠随机分为对照组、低剂量组和高剂量组,暴露 BDE 209 10 d 后,与雄鼠合笼,每组选取怀孕时间相近(相差不过 2 d)的 8 只母鼠孕期持续染毒至子鼠断乳。采用实时荧光定量 PCR 检测孕 17~18 d 胎盘、出生后 60 d 子鼠脑组织 3 种类型脱碘酶基因相对表达;利用 Morris 水迷宫评价出生后 60 d 子鼠学习记忆能力;测量第 2、16、30 和 60 天子鼠体重,观察孕哺期 BDE 209 暴露对子代生长发育的作用。结果显示,BDE 209 对子鼠出生时体重未见明显影响;出生后 30 d,高剂量 BDE 209 暴露组雌性子鼠体重显著低于对照组子鼠体重($p < 0.05$),而低、高剂量暴露组雄性子鼠体重均显著低于对照组子鼠体重($p < 0.05$, $p < 0.01$);出生后 60 d, BDE 209 对子鼠体重影响不明显。BDE 209 暴露能够显著延长出生后 60 d 雌、雄性子鼠逃避潜伏期($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)。BDE 209 暴露显著降低母鼠胎盘中 3 种类型脱碘酶(主要是 DI-3)基因表达($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$);同时, BDE 209 暴露可诱导出生 60 d 后雄性子鼠脑组织中 DI-1 基因表达($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$),抑制雄性子鼠脑组织中 DI-3 基因表达($p < 0.05$); BDE 209 暴露对出生后 60 d 雌鼠脑组织脱碘酶未见明显影响($p > 0.05$)。研究结果表明,孕哺期 BDE 209 暴露可能通过影响母鼠胎盘组织脱碘酶(特别是 DI-3)基因表达,导致子鼠神经发育毒性效应-学习记忆能力障碍。

关键词: BDE 209; 脱碘酶; Morris 水迷宫; 神经发育毒性

文章编号: 1673-5897(2014)3-459-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

The Role of Thyroid Hormone Deiodinase in Developmental Neurotoxicity in Newborn Mice Mediated by Decabromodiphenyl Ether (BDE 209) Exposure during Pregnancy and Lactation

Qian Bo¹, Wang Jian¹, Zhu Chunyan¹, Hu Hong², Shao Jing^{1,*}, Liu Xiaohui^{1,#}

1. Department of Environmental Health and Toxicology, School of Public Health, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

2. Biochemistry Lab, The Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, China

Received 17 December 2013 accepted 11 January 2014

基金项目: 国家自然科学基金(Nos. 81273031, 81302400); 大连医科大学引进人才科研启动基金(Nos. 201069);

作者简介: 钱波(1989-),男,研究生,研究方向: 环境卫生学; E-mail: qianbo89@gmail.com;

* 作者简介: (Corresponding author), E-mail: jshao@uw.edu;

共同通讯作者(Co-corresponding author), E-mail: liuxh92@126.com

Abstract: In order to study the effect of BDE 209 exposure on gene expression of deiodinase in placenta of mothers and brain of offspring of mice, 75 Kunming female mice were randomly assigned to control and two experimental groups through gavage for 10 days before mating. Then 8 mice with the similar fertilization day were selected for each group and continued to gavage through pregnancy and lactation, until weaning. Real time RT-PCR was employed to detect the expression of deiodinase mRNA in placenta of mothers at gestational day 17-18 and brain of offspring at 60 days after birth. Morris water maze was used to exam the ability of learning and memory in offspring at 60 days after birth. Body weight in pups exposed to BDE 209 was recorded on day 2, 16, 30 and 60 after birth. Compared with the control group, no significant difference in body weight was found at birth (day 2 and 16). On day 30, the significant decrease was found in female pups in high BDE 209 exposure ($p < 0.05$), and in male pups exposed to both levels of BDE 209 ($p < 0.05$). The escape latency of BDE 209 exposure group in postnatal days was longer than the control group, both in male and female mice ($p < 0.05$ or $p < 0.01$). Real time RT-PCR displayed that BDE 209 exposure significantly decreased the gene expression of three types of deiodinase in placenta at gestational day of 17-18, especially for DI-3 ($p < 0.05$ or $p < 0.01$). DI-1 gene expression was significantly induced by BDE 209 exposure in the brain of male pups at 60 days after birth ($p < 0.05$ or $p < 0.01$), while DI-3 expression was significantly decreased in low BDE 209 treated group. No effect in deiodinase gene expression was observed in the brain of postnatal 60 days female pups ($p > 0.05$). Together, these results indicated that BDE 209 exposure in utero during pregnancy and lactation might damage learning and memory ability in pups, possibly through manipulating the gene expression of deiodinase (mainly in DI-3) in placenta of mothers.

Keywords: BDE 209; deiodinase; Morris water maze; developmental neurotoxicity

多溴联苯醚(polybromodiphenyl ethers, PBDEs)是一类高效溴系阻燃剂,在过去的30~40年中被广泛应用在多种工业产品和家庭消费品中。由于PBDEs具有一定的挥发性,并且与产品以非共价键结合,使得PBDEs易从产品中释放出来,导致生态和生活环境污染。在过去的20多年里,PBDEs不仅被发现存在于大气、水和土壤等多种环境介质中,而且许多生物组织也检测到PBDEs的存在^[1]。人群调查显示,孕哺期妇女、婴幼儿及儿童等敏感人群体内PBDEs负荷有逐年升高趋势。在育龄妇女的脂肪、血液、胎盘,哺乳期妇女的乳汁,新生儿脐血及胚胎肝脏均已检测到PBDEs多种同系物的存在,并且新生儿脐血与母体血液PBDEs水平具有相关性^[2],这说明PBDEs可通过胎盘屏障或以哺乳方式进入胎儿及婴幼儿体内,对胚胎发育和婴幼儿健康产生潜在损害。目前PBDEs对人类毒理效应还不十分清楚,但动物研究显示,PBDEs对甲状腺激素干扰和神经发育损伤尤为显著^[3-4]。

甲状腺激素(TH,包括T3和T4)参与了脊椎动物几乎所有组织器官的发育和生理功能,尤其在神经系统发育过程中起着重要的作用^[5]。PBDEs对TH

的干扰作用已在多种种属动物研究中得到证实,主要表现在降低循环血液中T4浓度^[6]。PBDEs神经发育毒性的主要表现为诱导运动行为以及改变认知能力和降低学习记忆能力^[7]。因此,鉴于TH在大脑发育过程中的重要角色,刘早龄等推测PBDEs神经发育毒理效应可能(至少部分)与其导致的TH紊乱有关^[6],但二者的联系机制尚不清楚。

生物体诸多基础生理过程的调节依赖于甲状腺激素的合理代谢。其中,甲状腺激素脱碘酶在甲状腺激素代谢转化及组织利用中具有重要作用。甲状腺激素脱碘酶包括I型、II型和III型脱碘酶。II型(DI-2)主要分布在脑、垂体、及棕色脂肪组织,近年来在甲状腺、胎盘和胎儿脑中也有该酶表达,尤其在新生儿脑中该酶活性达到高峰。局部组织细胞中的T3主要由DI-2催化T4外环脱碘生成,这对于依赖TH的大脑发育(特别是胎儿和婴幼儿)至关重要^[8]。III型(DI-3)主要存在于脑、皮肤和眼睛等组织,特别是胎盘、胎脑和胎肝。DI-3催化T3和T4内环的脱碘,导致T3、T4的降解和灭活。在胎盘和胎儿组织,高DI-3活性可通过灭活T3调节胎儿循环T3水平,避免胎儿暴露于母体的高浓度T3之下,具有保护作用^[9]。I型(DI-1)主要分布于肝脏、肾脏和甲状腺,目前其功能尚不十分明确^[10]。由于DI-1同时具

有内环和外环脱碘的活性^[11],推测其主要作用包括:一是在外周组织中将 T4 催化生成 T3,以维持循环 T3 浓度稳定;二是为机体清除 T3 灭活后生成的 γ T3,并作为产生循环 T3 主要来源。目前有关 PBDEs 对哺乳动物脱碘酶影响的报道较少,鉴于上述三种脱碘酶的组织分布特征,及在维护循环和局部组织 TH 稳态中的重要作用,可以推测 PBDEs 对脱碘酶的影响可能是其甲状腺激素紊乱和神经发育毒性的一种机制。

PBDEs 具有 209 种同系物,其中十溴联苯醚(decabromodiphenyl ether, BDE 209)是目前使用量最大的一种。尽管 BDE 209 被认为毒性较小,但近年来的研究显示,其具有与其它同系物相似的甲状腺激素干扰效应和神经发育毒性^[12-13]。本研究通过建立孕哺期 BDE 209 暴露模型,研究 BDE 209 对昆明小鼠母鼠胎盘、子鼠脑组织中甲状腺激素脱碘酶基因表达的变化,初步探讨甲状腺激素脱碘酶在 PBDEs 诱导神经发育毒理效应中的作用,为将来的机制研究提供依据。

1 材料和方法(Materials and methods)

1.1 主要仪器与试剂

仪器: Morris 水迷宫检测系统(中国科学院研制),PCR 仪(Takara Thermal Cycler Dice TP800,宝生物公司,大连)。

试剂: BDE 209(纯度 > 99% ChemService 公司,美国),RNA 提取及反转录试剂(宝生物公司,大连),其他试剂皆为国产分析纯。

1.2 实验动物

选用 4 周龄 SPF 级昆明雌性小鼠 75 只(大连医科大学实验动物中心提供),随机分为 3 组(对照组、低剂量暴露组、高剂量暴露组),每组 25 只。将 BDE 209 溶于精炼花生油中,根据小鼠体重,按不同暴露剂量(低剂量暴露组: $1.5 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$,高剂量暴露组: $225 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 每天避光灌胃一次。对照组灌胃等量花生油。BDE 209 暴露 10 d 后,将雌鼠与同龄 SPF 级雄性昆明小鼠按 2:1 合笼,次日清晨检查脱落的阴栓,阴栓脱落则记为妊娠第 0 天。待确定雌鼠受孕后,将雄鼠取出。选取怀孕时间相近(相差不过 2 d)的 8 只母鼠继续对其进行染毒,直至出生后子鼠断乳。所有动物均自由采食、饮水。室内温度为 $20 \sim 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$,光线按亮/暗 12 h 循环。

1.3 样品采集

原代雌鼠每组取 5 只,在孕第 17~18 天处死,立

即取其胎盘组织,放入液氮中冻存,后转入 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。子鼠每组取雌雄各 5 只,在染毒 60 d 后处死,立即取其脑组织,放入液氮中冻存,后转入 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 实验动物一般动态观察

自子鼠出生第 1 天起,每天观察记录子鼠活动和精神状态,并在出生后第 2、16、30 和 60 天测量子鼠体重。

1.4.2 子鼠空间学习记忆能力检测(Morris 水迷宫试验)

子鼠出生后第 60 天,按照性别,每组随机取 5 只子鼠,用 Morris 水迷宫检测系统(中国科学院研制)开始进行强迫游泳训练。实验前将小鼠置于站台上适应 10 s,随后将小鼠随机从不同象限面壁置入池内,小鼠登上站台 5 s 后终止记录,最长记录时间为 120 s,若小鼠在 120 s 内不能上台,引导其登上站台适应 10 s,最后将小鼠擦干放入鼠笼。如此将小鼠置入游泳池,每天 4 次,每次间隔 1 h。在定位航行训练第 4 天,通过水池上方架设的一台连接电脑的摄像机,记录和分析动物行为轨迹以及动物找到平台所需时间,即逃避潜伏期测量,以评判小鼠的空间记忆能力。

1.4.3 脱碘酶 mRNA 水平检测

采用实时荧光定量 PCR(quantitative real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 I 型、II 型、III 型脱碘酶 mRNA 表达水平。(1)总 RNA 提取和质量控制:取 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存的孕第 17~18 天原代雌鼠胎盘和子鼠出生 60 d 脑组织,按照 RNAiso Plus 试剂盒(大连宝生物公司)方法分别提取总 RNA,通过紫外吸收值 A260/A280 和琼脂糖凝胶电泳验证 RNA 无污染及降解。(2)本研究所用引物均由大连宝生物公司设计合成,引物序列号及序列如表 1 所示。(3)荧光定量 PCR:将 $2 \mu\text{g}$ 总 RNA 逆转录合成 cDNA(Prime-Script[®] RT Master Mix 试剂盒,大连宝生物公司),然后按照 SYBR Premix Ex TaqTM II 试剂盒(大连宝生物公司)说明,使用大连宝生物公司 PCR 仪(Takara Thermal Cycler Dice TP800)进行实时荧光定量。反应条件为:预变性 $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s;PCR 反应 $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 s, $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环; $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 s, $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 s。(4)结果分析:使用 TP800 v4.01 软件对结果进行分析,以 GAPDH 的表达量对结果进行标准化。

1.5 统计学分析

所有数据结果均用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据管理与分析。方差齐时,采用单因素方差分析(ANOVA test)进行组间比较;方差不齐则用 Dunnett's T3 直接进行多重比较。 $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果(Results)

2.1 子鼠生长动态观察

断乳后对子鼠一般状态进行动态观察。随着生长期的延长,BDE 209 染毒组子鼠出现饮食及活动减少,精神萎靡,毛发紊乱,体重进行性下降直至消瘦

等表现。由表 2 可见,第 2、16 天雌、雄子鼠体重未见明显变化($p > 0.05$); 在出生后 30 d,高剂量组雌性子鼠体重明显降低($p < 0.05$),而雄性子鼠低剂量和高剂量组体重均明显降低($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$); 出生后 60 d 各组子鼠体重未见明显差异($p > 0.05$)。

2.2 孕哺期十溴联苯醚暴露对 60 d 子鼠学习记忆能力的影响

Morris 水迷宫训练结束后,在第 4 天对逃避潜伏期进行了考察。由图 1 可以看出,随着染毒剂量的升高,雌、雄子鼠的逃避潜伏期呈现延长趋势,剂量-效应趋势明显($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)。

表 1 引物 GAPDH, DI-1, DI-2, DI-3 的基本参数

Table 1 Parameters of GAPDH, DI-1, DI-2, DI-3 genes

基因名称 Gene name	序列号 Accession No.	序列(5' - 3') Sequence of the Primer (5' - 3')	扩增效率 Amplification efficiency	扩增片段大小 Sizes
甘油醛 - 3 - 磷酸脱氢酶 (GAPDH)	NM_008084.2 - F	TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG	102%	110
	NM_008084.2 - R	TGTGTCCGTCGTGGATCTGA		
I 型脱碘酶(DI-1)	NM_007860.3 - F	GCAGTTGCACCTGACCTTCA	109%	122
	NM_007860.3 - R	CCGGATGTCCACGTTGTCT		
II 型脱碘酶(DI-2)	NM_010050.2 - F	CACGTGGCGTTGCTTCTG	104%	112
	NM_010050.2 - R	CACTGGAATTGGGAGCATCTTC		
III 型脱碘酶(DI-3)	NM_172119.2 - F	CACCCTGGCCTCTCTCAAAG	106%	168
	NM_172119.2 - R	CGGGTCCCTTGTGCGTAGT		

表 2 BDE 209 对小鼠子鼠体重动态影响(g)

Table 2 Effect of BDE 209 exposure on the body weight in the offspring mice

组 别 Group		样本数/n Sample numbers/n	出生后时间/d Postnatal time/d			
			2	16	30	60
雌 性 Female	对照组 Control	8	1.8 ± 0.3	11.0 ± 0.4	33.0 ± 4.3	32.7 ± 1.6
	低剂量组 Low group	8	1.7 ± 0.0	8.6 ± 2.3	29.8 ± 1.0	33.0 ± 2.8
	高剂量组 High group	8	1.6 ± 0.0	8.9 ± 1.8	27.5 ± 1.4*	34.4 ± 1.2
雄 性 Male	对照组 Control	8	2.4 ± 0.1	11.9 ± 1.3	38.6 ± 3.5	39.3 ± 4.3
	低剂量组 Low group	8	2.2 ± 0.1	10.1 ± 2.9	33.8 ± 1.7*	38.7 ± 5.4
	高剂量组 High group	8	2.3 ± 0.0	10.2 ± 1.1	29.0 ± 1.8**	38.5 ± 2.8

注: * 与对照组比较, $p < 0.05$; ** 与对照组比较, $p < 0.01$ 。

Note: * compared with the control, $p < 0.05$; ** compared with the control, $p < 0.01$.

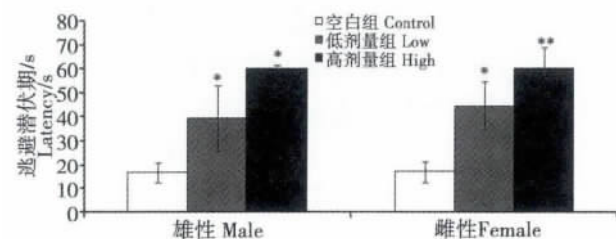


图1 孕哺期 BDE 209 暴露对子鼠逃避潜伏期影响

注: * 与对照组比较 $p < 0.05$; ** 与对照组比较, $p < 0.01$ 。

Fig. 1 Effect of BDE 209 on latency of offspring

Note: * compared with the control, $p < 0.05$; ** compared with the control, $p < 0.01$.

2.3 十溴联苯醚暴露对原代雌鼠胎盘脱碘酶表达的影响

BDE 209 暴露对原代雌鼠胎盘脱碘酶表达影响结果如图2所示。低剂量暴露组与对照组比较,低剂量暴露组胎盘 DI-1 和 DI-3 的 mRNA 表达水平显著下降(约 60%, $p < 0.05$),而 DI-2 的 mRNA 表达水平无显著差异($p > 0.05$);高剂量暴露组胎盘 DI-2 和 DI-3 的 mRNA 表达水平显著下降(约 70%, $p < 0.01$),而 DI-1 与对照组相比无显著差异($p > 0.05$)。

2.4 十溴联苯醚暴露对 60 d 子鼠脑组织脱碘酶表达的影响

BDE 209 暴露对雄性子鼠 3 种脱碘酶 mRNA 表达水平影响如图3所示。与对照组比较,低剂量暴露组子鼠脑组织 DI-1 的 mRNA 表达水平显著升高(约 300%, $p < 0.01$),DI-3 的 mRNA 表达水平显著降低(约 70%, $p < 0.01$),而 DI-2 的 mRNA 表达水平无显著差异($p > 0.05$);高剂量暴露组子鼠脑组织 DI-1 的 mRNA 表达水平显著升高(约 140%, $p < 0.05$),而 DI-2 和 DI-3 的 mRNA 表达水平无显著差异($p > 0.05$)。

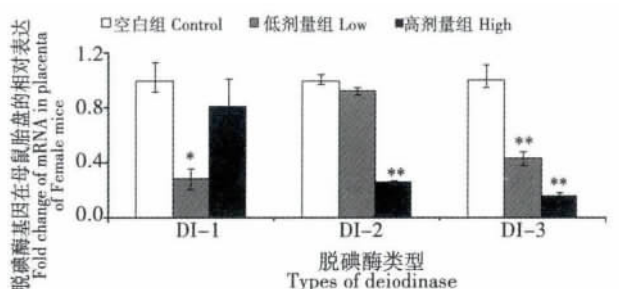


图2 孕哺期 BDE 209 暴露对母鼠胎盘脱碘酶基因表达影响

注: * 与对照组比较 $p < 0.05$; ** 与对照组比较, $p < 0.01$ 。

Fig. 2 Effect of BDE 209 exposure on deiodinase gene expression in the placenta of mice

Note: * compared with the control, $p < 0.05$;

** compared with the control, $p < 0.01$.

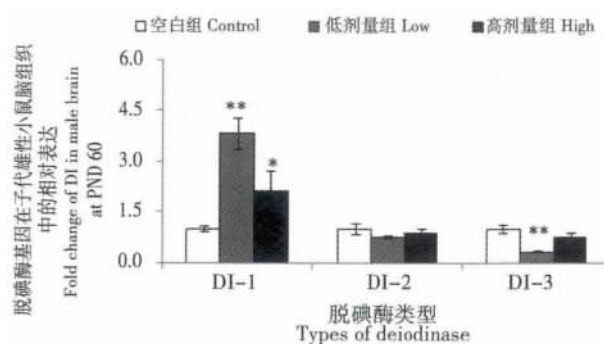


图3 孕哺期 BDE 209 暴露对雄性子鼠大脑组织脱碘酶基因表达影响

注: * 与对照组比较 $p < 0.05$; ** 与对照组比较, $p < 0.01$ 。

Fig. 3 Effect of BDE 209 exposure on deiodinase gene expression in the brain of male mice

Note: * compared with the control, $p < 0.05$;

** compared with the control, $p < 0.01$.

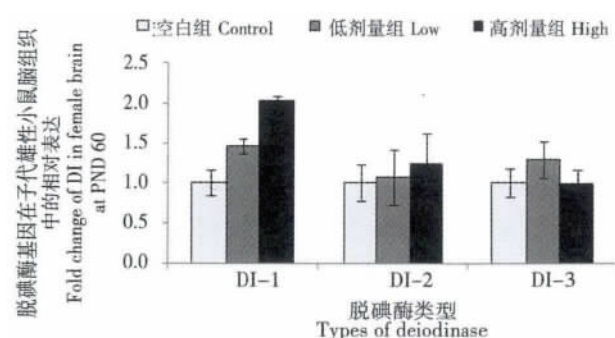


图4 孕哺期 BDE 209 暴露对雌性子鼠大脑组织脱碘酶基因表达影响

注: * 与对照组比较 $p < 0.05$; ** 与对照组比较, $p < 0.01$ 。

Fig. 4 Effect of BDE 209 exposure on deiodinase gene expression in the brain of female mice

Note: * compared with the control, $p < 0.05$;

** compared with the control, $p < 0.01$.

BDE 209 暴露对雌性子鼠脑组织 3 种脱碘酶基因表达影响如图4所示。与对照组比较,低剂量和高剂量暴露组子鼠脑组织中 3 种脱碘酶的 mRNA 表达水平均无显著差异($p > 0.05$)。

3 讨论(Discussion)

大量动物研究表明,PBDEs 具有神经发育毒性效应,主要表现在出生后子代运动行为异常,认知能力降低,学习和记忆能力下降等^[14]。本研究通过建立孕哺期 BDE 209 暴露模型,评价出生 60 d 子鼠神经发育毒性效应。水迷宫试验结果显示,BDE 209 暴露可导致雌、雄子鼠空间记忆能力降低,且具有剂量-效应关系,这与 Eriksson 和 Rice 等人在不同种属

小鼠中的研究结果一致^[15]。PBDEs 神经发育毒性机制目前还不清楚,可能与神经细胞凋亡、神经干细胞分化和迁移,以及钙信号传导通路有关^[3]。近年来许多研究显示,PBDEs 对甲状腺激素具有干扰作用^[16]。鉴于甲状腺激素在脑发育中的重要作用,有观点认为,PBDEs 神经发育毒性可能与其甲状腺激素干扰作用有关,但其具体作用途径不清。

众所周知,甲状腺激素对早期胚胎发育(特别是大脑的发育)起着关键作用。在胚胎自身甲状腺形成、分泌和行使甲状腺激素功能之前(小鼠孕 17 d),胎儿甲状腺激素主要来源于母体^[17]。为避免胚胎暴露于母体高浓度甲状腺激素(特别是 T3)之下,甲状腺激素脱碘酶 DI-3 在胎盘、胎脑以及胎肝等重要组织器官的表达和活性增高^[18]。胎盘是连接母鼠与胎鼠的第一道屏障,DI-3 在胎盘中的高表达和高活性可能体现了其在胚胎发育早期的保护作用^[17]。动物研究显示,DI-3 基因敲除对小鼠神经发育具有损伤作用,其表现程度远超过 DI-1 与 DI-2 双基因敲除导致的神经发育损害效应,表明 DI-3 的保护作用在早期神经发育过程中具有重要意义^[19]。本研究中,低剂量和高剂量 BDE 209 孕期暴露均导致母鼠胎盘 DI-3 基因表达下调,并与其诱导的子鼠神经毒性效应(学习记忆能力下降)相似,呈现剂量-反应关系,提示胎盘 DI-3 可能在孕哺期 BDE 209 暴露诱导的子代神经发育毒理效应中具有重要作用。另外,本实验显示,低剂量和高剂量 BDE 209 暴露对胎盘 DI-1 和 DI-2 基因表达影响并不一致,低剂量暴露引起胎盘 DI-1 基因表达下调,对 DI-2 基因表达无显著影响,而高剂量暴露则恰恰相反,提示胎盘组织中 DI-1 和 DI-2 可能在将母体循环中的 T4 转化为 T3 功能上具有互补作用。

3 种脱碘酶在成年小鼠的神经组织中也有表达,其功能在于维护局部脑组织细胞内 T3 的稳定,以保证神经细胞的正常活动^[20],因此推测,脱碘酶在小鼠脑组织中的表达和活性异常可能导致神经功能障碍。本研究对孕哺期 BDE 209 暴露后出生 60 d 子鼠脑组织中 3 种脱碘酶基因表达进行了观察,结果显示,BDE 209 低剂量和高剂量暴露均引起雄性子鼠脑组织中 DI-1 基因表达上调,而低剂量暴露导致雄鼠脑组织中 DI-3 基因表达下调,但不同暴露水平对 DI-2 基因表达没有显著影响。不同于 T4,外周循环中的 T3 不能通过血脑屏障,神经细胞中的 T3 主要由 DI-2 转化形成。DI-2 主要存在于神经胶质细

胞中,将循环中的 T4 脱碘生成有活性的 T3,并通过转运体(MCT8)运输到神经元中行使功能,而 DI-3 只分布于神经元,通过将 T4 降解生成 γ T3 或灭活 T3 生成 T2 控制细胞内 T3 浓度^[21]。DI-2 和 DI-3 这种在不同神经细胞分布的独特性可能有着重要生理意义。胶质细胞是神经系统分布最多的细胞,也是构成神经垂体主要细胞,由于胶质细胞具有较强的抗氧化能力^[22]。而氧化损伤是 PBDEs 的主要毒性机制之一,因此分布在胶质细胞中的 DI-2 比神经元中的 DI-3 不易受到 PBDEs 损伤,这与上述本实验观察结果相符。DI-2 的这种分布特性及功能特点可稳定脑组织 T3 生成及垂体通过促甲状腺素(TSH)调节甲状腺功能,这可能也是在多数 PBDEs 诱导甲状腺素干扰的研究结果中并未发现血液中 TSH 改变的一个原因^[6]。DI-1 在神经系统分布较少,与在外周组织不同,DI-1 在脑组织中可能并不参与 T3 生成(主要由 DI-2 完成),其作用主要可能是清除 DI-3 降解 T4 过程中生成的 γ T3^[21]。 γ T3 是 T3 竞争性抑制剂,它不仅可通过抑制 T3 与其受体结合阻碍 T3 的作用,而且能够通过阻碍 T3 进入细胞内导致细胞内 T3 水平降低,因此 DI-1 具有“清道夫”之称^[23]。基于 DI-1 在脑中的这种功能特点,DI-1 表达和活性的改变可能是 DI-3 活动的应答反应。

PBDEs 对动物的神经毒性作用与大脑所处的发育阶段有关。研究显示,小鼠出生后 10 d 之前暴露 PBDEs 能诱发神经毒性效应,而之后暴露多不能产生影响^[24]。另外,PBDEs 对动物的神经毒性作用与其在大脑中的累积和代谢过程有关。例如,BDE 99 在大鼠出生 10 d 时暴露可导致适应性降低等神经毒性效应,而 BDE 209 在相同时间点暴露则不能诱发病状,可能与 BDE 209 在脑中的累积速度较慢有关^[24]。本研究结果显示,孕哺期 BDE 209 暴露对出生后 60 d 雌鼠脑组织中的 3 种脱碘酶的基因表达均没有显著影响,而对雄鼠脑组织 DI-1 和 DI-3 基因表达水平有显著影响,表明 BDE 209 在体内代谢过程或在神经系统中蓄积速度具有性别差异性。此外,本研究发现,尽管孕哺期 BDE 209 暴露对 60 d 子代雄鼠脑组织的 DI-1 和 DI-3 基因表达水平有显著影响,子代雄鼠呈现了与同龄子代雌鼠相似(或稍低)的神经毒性效应,提示孕哺期 BDE 209 暴露诱导神经发育毒性效应可能是永久性的,主要源于对胚胎早期神经发育的损伤,并可能是通过对胎盘脱碘酶(主要是 DI-3)的影响造成的,而 BDE 209 在成鼠脑组

组织的蓄积对脑脱碘酶产生的影响可能是有限的、暂时的、或可逆转的,这可能与脱碘酶在成鼠神经细胞的分布和功能特点有关。

本研究对出生后子代小鼠的生长体重进行了动态观察(见表1)结果显示第2、16天雌、雄子鼠体重均无明显变化,表明孕哺期BDE 209暴露对子代生长发育没有明显影响。而出生第30天时所观察到的体重改变,且在第60天时得到恢复,显示孕期BDE 209暴露对子代体重生长的作用可能与BDE 209在体内代谢和蓄积过程有关,从而进一步证实BDE 209在体内代谢和蓄积过程可能有性别差异,这与上述BDE 209在成鼠脑组织的作用分析是一致的。

综合上述结果和分析,孕哺期BDE 209暴露对母体胎盘甲状腺激素脱碘酶(特别是DI-3)的影响可能是其神经发育毒性效应的机制之一。

通讯作者简介: 邵静(1965—),女,环境卫生学与毒理学,博士,教授,主要研究方向为环境污染健康与评价。

刘晓晖(1981—),女,环境科学,博士,副教授,主要研究方向为生态与环境毒理学。

参考文献:

- [1] Anderson H A, Imm P, Knobeloch L, et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDE) in serum: findings from a US cohort of consumers of sport-caught fish [J]. *Chemosphere*, 2008, 73(2): 187 – 194
- [2] Foster W G, Gregorovich S, Morrison K M, et al. Human maternal and umbilical cord blood concentrations of polybrominated diphenyl ethers [J]. *Chemosphere*, 2011, 84(10): 1301 – 1309
- [3] Costa L G, Giordano G. Is decabromodiphenyl ether (BDE-209) a developmental neurotoxicant? [J]. *Neurotoxicology*, 2011, 32(1): 9 – 24
- [4] Zhao X, Wang S, Li D, et al. Effects of perchlorate on BDE-47-induced alteration thyroid hormone and gene expression of in the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in zebrafish larvae [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2013, 36(3): 1176 – 1185
- [5] 张宝. 环境中毒物诱发甲减对胎儿神经系统发育的影响[J]. *中国科技信息*, 2013, (11): 165
- [6] 刘早龄, 张建清. 多溴联苯醚对甲状腺激素干扰毒性的研究进展[J]. *环境与职业医学*, 2010, 27(2): 107 – 112
- [7] Liu Z L, Zhang J Q. Progress in toxicity of polybrominated diphenyl ethers on the thyroid hormone disruption [J]. *Journal of Environmental & Occupational Medicine*, 2010, 27(2): 107 – 112 (in Chinese)
- [7] Costa L G, Giordano G. Developmental neurotoxicity of polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants [J]. *Neurotoxicology*, 2007, 28(6): 1047 – 1067
- [8] 刘圆圆, 冀秀玲, 沈群辉, 等. 六溴环十二烷及其复合污染脑发育期暴露对大鼠甲状腺激素代谢过程的影响[J]. *生态环境学报*, 2012, 21(9): 1614 – 1619
- [8] Liu Y Y, Ji X L, Shen Q H, et al. Disrupting Effects of Hexabromocyclododecane (HBCD) and its complex compounds on rat thyroid hormone metabolism after developmental exposure [J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2012, 21(9): 1614 – 1619 (in Chinese)
- [9] 冀秀玲, 刘洋, 刘芳, 等. 六溴环十二烷转甲状腺素蛋白结合活性及其发育期暴露的甲状腺激素干扰效应研究[J]. *环境科学*, 2010, 31(9): 2191 – 2195
- [9] Ji X L, Liu Y, Liu F, et al. Transthyretin-binding activity of hexabromocyclododecanes (HBCDs) and its thyroid hormone disrupting effects after developmental exposure [J]. *Environmental Science*, 2010, 31(9): 2191 – 2195 (in Chinese)
- [10] Galton V A, Schneider M J, Clark A S, et al. Life without thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion: studies in mice devoid of the 5'-deiodinases [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(6): 2957 – 2963
- [11] 蔡振伟, 沈永年. 脱碘酶及影响其酶活性的因素[J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2005, 8(3): 209 – 211
- [12] Heredia L, Torrente M, Colomina M T, et al. Behavioral effects of oral subacute exposure to BDE-209 in young adult mice: A preliminary study [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(3): 707 – 712
- [13] Noyes P D, Hinton D E, Stapleton H M. Accumulation and debromination of decabromodiphenyl ether (BDE-209) in juvenile fathead minnows (*Pimephales promelas*) induces thyroid disruption and liver alterations [J]. *Toxicological Sciences*, 2011, 122(2): 265 – 274.
- [14] Viberg H, Johansson N, Fredriksson A, et al. Neonatal exposure to higher brominated diphenyl ethers, hepta-, octa-, or nonabromodiphenyl ether, impairs spontaneous behavior and learning and memory functions of adult mice [J]. *Toxicological Sciences*, 2006, 92(1): 211 – 218
- [15] Rice D C, Thompson W D, Reeve E A, et al. Behavioral changes in aging but not young mice after neonatal exposure to the polybrominated flame retardant decaBDE [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2009, 117(12): 1903
- [16] Lee E, Kim T H, Choi J S, et al. Evaluation of liver and thyroid toxicity in Sprague-Dawley rats after exposure to polybrominated diphenyl ether BDE-209 [J]. *The Journal of Toxicological Sciences*, 2010, 35(4): 535 – 545

- [17] 李茂全, 陈纯海, 王艳艳. 甲状腺激素与胚胎期脑发育[J]. 成都医学院学报, 2010, 5(3): 260 - 265
Li M Q, Chen C H, Wang Y Y. Thyroid hormones and embryonic brain development [J]. Journal of Chengdu Medical College, 2010, 5(3): 260-265 (in Chinese)
- [18] 杨雪锋, 徐健, 郭怀兰, 等. 长期过量碘摄入对小鼠母-胎甲状腺激素代谢的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22(6): 532 - 534
Yang X F, Xu J, Guo H L, et al. Effects of long-term excessive iodine intake on the maternal-fetal thyroid hormone metabolism in mice [J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2006, 22(6): 532 - 534 (in Chinese)
- [19] Gereben B, Zavacki A M, Ribich S, et al. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling [J]. Endocrine Reviews, 2008, 29(7): 898 - 938
- [20] Bernal J. Action of thyroid hormone in brain. Journal of endocrinological investigation, 2002, 25(3): 268 - 288
- [21] Courtin F, Zroui H, Lamirand A, et al. Thyroid hormone deiodinases in the central and peripheral nervous system [J]. Thyroid, 2005, 15(8): 931 - 942
- [22] 谢玉丰. 神经胶质细胞与突触可塑性研究新进展[J]. 生理科学进展, 2007, 38(2): 111 - 115
Xie Y F. The updated advancements in synaptic plasticity mediated by glial cells [J]. Progress in Physiological Sciences, 2007, 38(2): 111 - 115 (in Chinese)
- [23] Holtorf K. Understanding Local Control of Thyroid Hormones. National Academy Hypothyroidism [OL]. 2012. (<http://nahypothyroidism.org/deiodinases/>)
- [24] 彦世帅, 徐海明, 秦展芬. 多溴二苯醚毒理学研究进展及展望[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(5): 609 - 617
Yan S S, Xu H M, Qin Z F. Research progress and future perspectives in toxicology study on polybrominated diphenyl ethers [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(5): 609 - 617 (in Chinese) ◆

中日韩确定化学品优先合作领域

2014 年 5 月 1 日 来源: Chemical Watch 网站

化学品管理将是中国、日本和韩国商定的 2015 - 2019 环境行动计划涵盖的优先领域之一。

该环境行动计划是 4 月 28 ~ 29 日在韩国大邱市举行的一次部长会议上通过的,是上述 3 国继 2010-2014 年行动计划之后的第二项计划。除“化学品管理和环境应急响应”外,优先合作领域还包括空气质量改善、水源保护、企业社会责任以及电子废物跨境转移。

联合公报表示,选择这些新领域是为了“应对新出现的问题和共同利益”。部长们评估了 2013 年 11 月在日本举行的第 7 次化学品管理政策对话的成果,并“鼓励继续努力在化学品管理领域开展进一步合作,比如,进行关于生态毒性的联合研究,以及共享关于化学风险评估的信息”。

关于联合国水俣公约,这三国确认,它们正在推进旨在批准该条约的准备工作。

这些部长认识到在每一国交流相关信息和政策,以增强控制电子废物跨境转移的能力的重要性。他们还同意确保三方热线的平稳运行,以打击废物的非法转移和继续推进在控制电子废物跨境转移方面的工作。

这些部长们还评估了此前的三方联合行动计划的进展情况,并对其执行情况表示满意。下次会议将在中国举行。

参加这次会议的 3 位部长是: 中国环境保护部副部长李干杰,韩国环境部部长 Seongkyu Yoon,日本环境部部长 Nobuteru Ishihara。

引自《化学品安全信息周报》2014 年第 19 期总第 283 期(中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所编译)

http://www.chinachemicals.org.cn/reported_detail.aspx?contentid=295&ClassID=230