

网络出版时间: 2020/5/29 13:04 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200527.1643.032.html>

◇ 综 述 ◇

II 型拟除虫菊酯暴露对甲状腺激素影响的相关研究进展

詹 峰¹ 综述 仰 阳¹ 郭 策¹ 孟秀红^{1,2} 审校

摘要 高效、低毒、广谱的 II 型拟除虫菊酯类农药在日常生活以及农业中被普遍应用,但近年来被证明是环境内分泌干扰物,长期暴露于低浓度的 II 型拟除虫菊酯类农药会对人体的内分泌功能造成严重影响,而甲状腺激素(TH)作为内分泌系统的重要组成部分也会受到严重影响。现就 II 型拟除虫菊酯对 TH 的合成、转运和结合过程造成的影响进行简要综述,为进一步研究 II 型拟除虫菊酯提供理论基础。

关键词 II 型拟除虫菊酯; 氰戊菊酯; 甲状腺激素

中图分类号 R 114

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2020)06-0983-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.06.032

2019-11-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81773442)

作者单位: ¹ 安徽医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学系, 合肥 230032

² 人口健康与优生安徽省重点实验室, 合肥 230032

作者简介: 詹 峰,男,硕士研究生;

孟秀红,女,博士生导师,责任作者, E-mail: mengxiuhong@

163.com

拟除虫菊酯是据天然除虫菊素的化学结构仿造而成,根据是否含有氰基分为 2 型, I 型不含氰基(如联苯菊酯)、II 型含氰基(如氰戊菊酯、氰氟菊酯)。广谱、高效、低毒的 II 型拟除虫菊酯是防治农作物、蔬菜、水果和茶叶虫害的首选杀虫剂;同时也是室内卫生杀虫剂的主要成分。环境内分泌干扰物(environmental endocrine disruptors, EEDs)按来源可分为天然和人工合成 2 类,前者主要是植物激素,后者广泛存在于工农业生产和日常生活中。越来越多的研究^[1]证明,拟除虫菊酯也是一种环境内分泌干扰物。拟除虫菊酯在结构上与三碘胸腺嘧啶(total triiodothyronine, T3)和四碘甲腺原氨酸(total thyronine, T4)的相似性提示它们可能是环境甲状腺激素干扰物^[2]。

1 拟除虫菊酯概况

有机氯、有机磷和氨基甲酸酯类农药先后被广泛应用,后又因其高毒和内分泌干扰作用逐渐在全

A modified *in vitro* primary culture method of human ovarian serous adenocarcinoma cells

Zhang Chenchen¹, Cai Zeyu², Wang Xian¹, et al

(¹ Dept of Pathology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

² Dept of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract A simple and efficient method of human ovarian serous adenocarcinoma cells (HOSACs), culture was established through improving methods for culturing primary cells of the common human ovarian serous adenocarcinoma. 25 tissue specimens of serous ovarian carcinoma confirmed by clinicopathology were collected, and each specimen was randomly divided into two groups: the modified group and the traditional group. The modified group was extracted cells with modified enzyme digestion method and tissue block adherence method (trypsin + hyaluronidase digestion for 2 ~ 3 min + tissue block and cell suspension plating). Traditional group was extracted with tissue block adherence method (the tissue block is shredded directly and then plating). The cell purity and cell viability obtained by the two methods were compared by cell immunofluorescence and CCK-8. The growth characteristics of primary cells of the two groups were observed under phase contrast microscope at 48 h and 72 h. The results of immunofluorescence and CCK-8 showed that the number of cells, cell viability and cell purity obtained in the modified group were higher than those in the traditional group ($P < 0.05$).

Key words ovarian serous adenocarcinoma; human ovarian cancer cells; primary culture; cell identification

世界被禁止,低毒的、人工合成仿效天然除虫菊酯的拟除虫菊酯类农药则被广泛使用。同时拟除虫菊酯是我国控制多种农业害虫的第二常用杀虫剂^[3],也是全世界使用最多的第四类杀虫剂^[1]。

在农业生产中拟除虫菊酯杀虫剂被广泛应用,食用蔬菜和水果上的残留物被认为是人类主要接触源之一。在美国,非职业场所也可检测到低浓度的拟除虫菊酯^[4]。农业大国印度的一项研究^[5]在牛奶中检测到 II 型拟除虫菊酯。顺式 2,2-二氯乙烯基-2,2-二甲基环丙烷-1-羧酸 [cis-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylic acid (cis-DCCA)],反式 2,2-二氯乙烯基-2,2-二甲基环丙烷-1-羧酸 [trans-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylic acid (trans-DCCA)]还有 3-苯氧基苯甲酸(3-phenoxybenzoic acid, 3-PBA)是拟除虫菊酯的主要代谢产物。国外监测报告^[6]发现,79%的鸡蛋样本中检测出拟除虫菊酯残留,且氯氰菊酯残留量超出美国国家环境署规定的最大残留限量。对我国巢湖地区的监测^[7]发现氰戊菊酯是沉积物中主要污染物。另有报道^[8]显示在北京和广东的室内空气中氰戊菊酯和溴氰菊酯是最常被检测到的污染物,报告中也发现中国人群尿样中 3-PBA 检测率为 36.0%~98.8%,美国人群尿样中 3-PBA 检出率为 46.0%~79.8%。拟除虫菊酯暴露现象在人群中越来越普遍。

2 下丘脑-垂体-甲状腺轴及甲状腺激素概述

机体甲状腺激素(thyroid hormone, TH)的生产由隶属于下丘脑-垂体系统的下丘脑-垂体-甲状腺轴(hypothalamus-pituitary-thyroid, HPT)所决定。垂体促甲状腺激素(thyroid-stimulating hormone, TSH)在下丘脑促甲状腺激素释放激素(thyrotropin-releasing hormone, TRH)的刺激下合成、分泌,随后作用于甲状腺以刺激 TH 生物合成与分泌的所有步骤。T3 和 T4 通过负反馈控制 TRH 和 TSH 的分泌,维持 HPT 轴主要激素的生理水平。

在神经系统发育、线性生长、能量代谢和产热方面,TH 至关重要。TH 还可以调节营养素的肝脏代谢、液体平衡和心血管系统。除 TSH 外,有许多次级调节剂,包括大脑中的脱碘酶、血液中的胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGFs)和在组织中广泛存在的甲状腺激素受体(thyroid hormone receptors, TRs)^[9]。其中脱碘酶只有在如单羧酸转运体 8(monocarboxylate transporter 8, MCT8)和

MCT10、有机阴离子转运体(organic anion transporting polypeptides, OATPs)等特定的膜转运体的协助下才能进入细胞。进入细胞后,脱碘酶在一定程度上负责调节细胞内 TH 的活动,激活或失活 TH,通过微调甲状腺合成和 T4 和 T3 的释放维持 TH 的最佳水平^[10]。TRs 与 TH 特异性结合,调节组织中 TH 水平,发挥其生物功能^[11]。IGFs 是促进胎儿和新生儿生长的关键多肽类物质,主要有 IGF1 和 IGF2。

3 II 型拟除虫菊酯对 TH 的影响

3.1 II 型拟除虫菊酯对脱碘酶及 TH 浓度的影响

脱碘酶主要有 3 种: I 型脱碘酶(deiodinase type 1, D1)、II 型脱碘酶(deiodinase type 2, D2)和 III 型脱碘酶(deiodinase type 3, D3),人类主要依赖 D2 和 D3。在大脑与胎盘中 D2、D3 均有表达, T4 通过 D2 脱碘转化为 T3, T3 和 T4 在 D3 作用下失活^[11]。2 种脱碘酶对机体 TH 代谢起着重要作用。

有研究^[12]表明 GD18 小鼠大脑皮层 D2 和 D3 mRNA 表达水平在低剂量氰戊菊酯作用下降低,从而使 T4 水平升高, T3 水平降低,导致母体 TH 水平失衡。一项研究^[13]显示母体孕期 T4 水平升高是低出生体质量(low birth weight, LBW)和小于胎龄儿(small for gestational age, SGA)的危险因素,且即使母体孕期甲状腺功能属正常范围但发生轻微改变也会对胎儿出生结局产生影响。Chang et al^[14]研究发现蜥蜴暴露于高效氯氟氰菊酯后 D1 mRNA 和 D2 mRNA 表达水平降低,造成甲状腺功能紊乱,同时蜥蜴体质量下降。Tu et al^[15]发现斑马鱼暴露于高效氯氟氰菊酯后 D2 mRNA 表达水平降低,外周 T3 和 T4 水平紊乱。Ansari et al^[16]研究表明大鼠暴露于高效氯氟氰菊酯会影响大脑纹状体中 D2 水平与 TH 的表达,并造成大鼠体质量显著降低。Zhang et al^[17]研究显示高效氟氯氰菊酯、氰戊菊酯和氯菊酯暴露可显著降低斑马鱼幼苗的 T3 水平,造成斑马鱼畸形率与死亡率上升,同时对斑马鱼的早期发育产生不良影响。以上研究表明 II 型拟除虫菊酯可降低 D1、D2 和 D3 3 种脱碘酶的表达水平,造成机体 TH 水平紊乱进而导致内分泌干扰和体质量下降等不良后果。

3.2 II 型拟除虫菊酯对 TH 转运体的影响 TH 在靶细胞中跨膜传递需借助有机阴离子转运多肽(organic anion transporting polypeptide, OATP1C1)和 MCT8 等 TH 转运体^[11]。OATP1C1 对 T4 有较强的

亲和力,促进 TH 穿过血脑屏障进入脑胶质细胞和神经细胞^[18]。MCT8 主要在大脑中表达,介导正常神经发育所需循环中 TH 的摄取^[11]。TH 转运体 OATP1C1 和 MCT8,对于大脑正常发育和机体 TH 水平的维持起到了关键的作用。

代波^[12]的研究显示孕鼠暴露于低剂量的氰戊菊酯后,其胎盘中 OATP1C1 mRNA 和子代小鼠大脑中 MCT8 mRNA 表达水平降低,干扰了大脑皮层和胎盘中 TH 通路的正常功能,导致子代青春期小鼠学习记忆能力下降。Liu et al^[19] 研究显示孕鼠暴露于高剂量氰戊菊酯使胎鼠大脑皮层中 OATP1C1 mRNA 表达显著下调,同时增加子代小鼠的焦虑行为,损害了认知和行为发育。OATP1C1 基因敲除的小鼠没有明显的神经损伤,但血清中 T3 和 T4 水平降低,显示轻微的甲状腺功能减退症状^[20]。一项动物研究^[21]表明 MCT8 敲除的斑马鱼幼虫出现严重的低髓鞘化,而 OATP1C1 和 MCT8 双侧敲除的小鼠也出现低髓鞘化,伴随低体质量和神经萎缩^[20]。髓鞘化受损影响神经传导,进一步影响神经肌肉活动,并可能加重神经症状,如共济失调和肌张力障碍,这是 Allan-Herndon-Dudley 综合征的重要特征^[22]。上述研究表明 II 型拟除虫菊酯降低 OATP1C1 和 MCT8 2 种 TH 转运体表达水平,干扰 TH 正常进入靶细胞发挥功能,影响外周 TH 水平,进而影响甲状腺功能。

3.3 II 型拟除虫菊酯对 TRs 及 IGFs 的影响 TRs 主要有 TR α 1、TR β 1 和 TR β 2,通过与 TH 特异性结合来调节组织中 TH 水平进而发挥其生物功能^[11]。研究^[23]表明孕鼠暴露于较高浓度氰戊菊酯可下调胎盘 TR α 1 和 TR β 1 mRNA 表达水平,从而影响 TRs 信号。Tu et al^[15] 研究发现斑马鱼胚胎在氯菊酯暴露后,TR α 和 TR β 基因表达上调,造成内分泌紊乱。另一项研究^[24]显示斑马鱼暴露于联苯菊酯和高效氯氟菊酯后 TR α 表达水平显著上调,内分泌紊乱,体质量下降。

在多项研究^[25-26]中 IGFs 被证明是 TRs 下游的靶基因。IGFs 是促进胎儿和新生儿生长的关键多肽类物质,主要有 IGF1 和 IGF2。Qu et al^[27] 发现 Leydig 细胞氰戊菊酯暴露导致 IGF1 信号通路的 ERK1 / 2 磷酸化,可降低 IGF1 mRNA 表达水平,使 IGF1 合成减少,从而破坏 IGF1 信号通路,同时动物研究^[23]显示较高剂量氰戊菊酯暴露可下调胎鼠胎盘 IGF2 mRNA 表达水平。Nawathe et al^[28] 在人群研究中发现 IGF1 mRNA 表达与出生体质量呈显著

正相关。另有人群研究^[29]表明 IGF1 的缺乏可能是胎儿生长迟缓的主要原因之一。一项体外研究^[30]显示急性暴露于溴氰菊酯可使鳟鱼体内 IGF1 和 IGF2 mRNA 表达水平减少,且呈剂量关系,并对鳟鱼的生长、发育和繁衍造成不良影响。II 型拟除虫菊酯影响 TR α 和 TR β 基因表达,且下调其下游靶基因 IGF1 表达水平,破坏 IGF1 信号通路,造成内分泌干扰,体质量降低,并可能造成胎儿生长受限。

4 展望

研究^[12,19]发现 II 型拟除虫菊酯除了干扰 TH 通路之外,孕期暴露于氰戊菊酯导致后代焦虑行为的增加,并损伤认知和行为发育。在此基础上,是否是 TH 介导的神经发育损伤及其具体的机制仍需进一步研究。同时这些研究多关注 II 型拟除虫菊酯暴露的隔代影响,对于 TH 跨代或是代际影响需要进一步的研究。

已有研究^[31]表明橄榄油可以促进垂体、甲状腺和卵巢的内分泌功能,增强抗氧化防御系统,缓解溴氰菊酯暴露造成的氧化损伤,从而保护甲状腺和卵巢。这为缓解溴氰菊酯暴露造成的伤害提供了新的思路和预防方法,但橄榄油能否防止其他 II 型拟除虫菊酯暴露所致的不良影响,以及能否通过其他途径保护 TH 通路需进一步研究。

5 结语

综上所述,II 型拟除虫菊酯通过多种途径干扰 TH 通路,不仅影响了 TH 的生产和运输等过程,还影响了 TH 的下游基因,对个体从胎儿到成年都产生了严重的不良结局。如若在孕期或生命早期远离 II 型拟除虫菊酯或是对其进行有效防护,又或是对其造成的影响给予积极治疗,都会减轻 II 型拟除虫菊酯暴露造成的不良影响。同时本文也为进一步研究 II 型拟除虫菊酯对 TH 通路的影响提供了理论基础。

参考文献

- [1] Brander S M, Gabler M K, Fowler N L, et al. Pyrethroid pesticides as endocrine disruptors: molecular mechanisms in vertebrates with a focus on fishes [J]. Environ Sci Technol, 2016, 50(17): 8977-92.
- [2] Zhang J, Yoshinaga J, Hisada A, et al. Prenatal pyrethroid insecticide exposure and thyroid hormone levels and birth sizes of neonates [J]. Sci Total Environ, 2014, 488-489: 275-9.
- [3] Richardson J R, Taylor M M, Shalat S L, et al. Developmental pes-

- tic exposure reproduces features of attention deficit hyperactivity disorder[J]. *FASEB J* 2015 29(5):1960–72.
- [4] Arcury T A ,Lu C ,Chen H ,et al. Pesticides present in migrant farmworker housing in North Carolina[J]. *Am J Ind Med* 2014 , 57(3):312–22.
- [5] Bedi J S ,Gill J P ,Aulakh R S ,et al. Pesticide residues in bovine milk in Punjab ,India: spatial variation and risk assessment to human health[J]. *Arch Environ Contam Toxicol* 2015 69(2):230–40.
- [6] Parente C E T ,Lestayo J ,Guida Y S ,et al. Pyrethroids in chicken eggs from commercial farms and home production in Rio de Janeiro: Estimated daily intake and diastereomeric selectivity [J]. *Chemosphere* 2017 184:1261–9.
- [7] Wang J Z ,Bai Y S ,Wu Y ,et al. Occurrence ,compositional distribution and toxicity assessment of pyrethroid insecticides in sediments from the fluvial systems of Chaohu Lake ,Eastern China[J]. *Environ Sci Pollut Res Int* 2016 23(11):10406–14.
- [8] Tang W ,Wang D ,Wang J ,et al. Pyrethroid pesticide residues in the global environment: an overview [J]. *Chemosphere* 2018 , 191:990–1007.
- [9] Roelfsema F ,Boelen A ,Kalsbeek A ,et al. Regulatory aspects of the human hypothalamus-pituitary-thyroid axis[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2017 31(5):487–503.
- [10] Ortega-Carvalho T M ,Chiamolera M I ,Pazos-Moura C C ,et al. Hypothalamus-Pituitary -Thyroid Axis[J]. *Compr Physiol* 2016 6(3):1387–428.
- [11] Bianco A C ,Dumitrescu A ,Gereben B ,et al. Paradigms of dynamic control of thyroid hormone signaling[J]. *Endocr Rev* 2019 40(4):1000–47.
- [12] 代波. 氟戊菊酯暴露对小鼠认知行为及发育中大脑甲状腺激素信号的干扰作用[D]. 合肥:安徽医科大学 2015.
- [13] Johns L E ,Ferguson K K ,Cantonwine D E ,et al. Subclinical changes in maternal thyroid function parameters in pregnancy and fetal growth[J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2018 103(4):1349–58.
- [14] Chang J ,Hao W ,Xu Y ,et al. Stereoselective degradation and thyroid endocrine disruption of lambda-cyhalothrin in lizards (*Eremias argus*) following oral exposure[J]. *Environ Pollut* 2018 232:300–9.
- [15] Tu W ,Xu C ,Jin Y ,et al. Permethrin is a potential thyroid-disrupting chemical: *In vivo* and *in silico* evidence[J]. *Aquat Toxicol* , 2016 175:39–46.
- [16] Ansari R W ,Shukla R K ,Yadav R S ,et al. Involvement of dopaminergic and serotonergic systems in the neurobehavioral toxicity of lambda-cyhalothrin in developing rats[J]. *Toxicol Lett* 2012 211(1):1–9.
- [17] Zhang Q ,Zhang Y ,Du J ,et al. Environmentally relevant levels of lambda-cyhalothrin ,fenvalerate and permethrin cause developmental toxicity and disrupt endocrine system in zebrafish (*Danio rerio*) embryo[J]. *Chemosphere* 2017 185:1173–80.
- [18] Stromme P ,Groeneweg S ,Lima de Souza E C ,et al. Mutated thyroid hormone transporter OATP1C1 associates with severe brain hypometabolism and juvenile neurodegeneration [J]. *Thyroid* 2018 , 28(11):1406–15.
- [19] Liu J J ,Guo C ,Wang B ,et al. Maternal fenvalerate exposure during pregnancy impairs growth and neurobehavioral development in mouse offspring[J]. *PLoS One* 2018 13(10):e0205403.
- [20] Mayerl S ,Schmidt M ,Doycheva D ,et al. Thyroid hormone transporters MCT8 and OATP1C1 control skeletal muscle regeneration [J]. *Stem Cell Reports* 2018 10(6):1959–74.
- [21] Zada D ,Blitz E ,Appelbaum L. Zebrafish – An emerging model to explore thyroid hormone transporters and psychomotor retardation [J]. *Mol Cell Endocrinol* 2017 459:53–8.
- [22] de Souza J S ,Kizys M M ,da Conceição R R ,et al. Perinatal exposure to glyphosate-based herbicide alters the thyrotrophic axis and causes thyroid hormone homeostasis imbalance in male rats [J]. *Toxicology* 2017 377:25–37.
- [23] Wang B ,Liu J J ,Wang Y ,et al. Maternal fenvalerate exposure induces fetal intrauterine growth restriction through disrupting placental thyroid hormone receptor signaling [J]. *Toxicol Sci* 2017 , 157(2):377–86.
- [24] Tu W ,Xu C ,Lu B ,et al. Acute exposure to synthetic pyrethroids causes bioconcentration and disruption of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in zebrafish embryos [J]. *Sci Total Environ* 2016 , 542(Pt A):876–85.
- [25] Lindsey R C ,Aghajanian P ,Mohan S. Thyroid hormone signaling in the development of the endochondral skeleton [J]. *Vitam Horm* 2018 106:351–81.
- [26] Bassett J H ,Williams G R. Role of thyroid hormones in skeletal development and bone maintenance [J]. *Endocr Rev* 2016 37(2):135–87.
- [27] Qu J H ,Fei J ,Hong X ,et al. Involvement of IGF-I signaling pathway in the regulation of steroidogenesis in mouse Leydig cells treated with fenvalerate [J]. *Toxicology* 2012 292(2–3):151–5.
- [28] Nawathe A R ,Christian M ,Kim S H ,et al. Insulin-like growth factor axis in pregnancies affected by fetal growth disorders [J]. *Clin Epigenetics* 2016 8:11.
- [29] Martin-Estal I ,de la Garza R G ,Castilla-Cortázar I. Intrauterine growth retardation (IUGR) as a novel condition of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency [J]. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2016 170:1–35.
- [30] Aksakal E ,Ceyhan S B ,Erdogan O ,et al. Acute and long-term genotoxicity of deltamethrin to insulin-like growth factors and growth hormone in rainbow trout [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2010 152(4):451–5.
- [31] Mekircha F ,Chebab S ,Gabbianelli R ,et al. The possible ameliorative effect of *Olea europaea* L. oil against deltamethrin-induced oxidative stress and alterations of serum concentrations of thyroid and reproductive hormones in adult female rats [J]. *Ecotoxicol Environ Saf* 2018 161:374–82.