

网络出版时间: 2016-1-20 10:32:26 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160120.1032.026.html>

◇预防医学研究◇

孕鼠经饮水暴露镉对胎鼠生长发育的影响

王颖, 王华, 胡永方, 王碧伟, 付林, 姬艳丽, 杨露露, 徐德祥

摘要 目的 探讨孕期母体经饮水暴露镉对胎鼠生长发育的影响。方法 孕鼠随机分为对照组、低浓度组、中浓度组和高浓度组,低、中和高浓度组孕鼠分别于孕第0天至第17天经饮水暴露氯化镉水溶液(5、50和250 ppm),对照组孕鼠饮用去离子水。于受孕第18天剖杀所有孕鼠,记录活胎数、死胎数和吸收胎数,称量活胎体重和胎盘重量,测量胎鼠身长,并检测孕鼠血清镉含量。结果 50和250 ppm镉处理组孕鼠血清镉含量较对照组明显升高($P < 0.05$);各组之间孕鼠增重无差异;与对照组相比,50 ppm镉处理组胎鼠身长明显下降($P < 0.05$),250 ppm镉处理组胎鼠身长和体重均显著降低($P < 0.05$)。结论 孕期母体经饮水暴露较高浓度镉引起胎鼠生长发育迟缓。

关键词 镉;宫内生长迟缓;小鼠;胎盘;饮水

中图分类号 R 114

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)02-0210-04

镉是环境中有毒重金属,主要用于镍镉电池、电镀和铅锌矿等工业生产。近年来,环境镉污染及其引发的健康损害引起广泛关注。2014年4月,环境保护部和国土资源部联合发布“全国土壤污染状况调查公报”显示,我国耕地土壤点位污染物超标率为19.4%,其中镉污染排于首位。一项抽查结果显示,我国部分地区市售大米中Cd含量超过食品卫生质量标准的约10%^[1]。镉主要通过胃肠道吸收、空气吸入和吸烟等途径进入体内,其中胃肠道吸收是非吸烟人群和非职业暴露人群镉摄入的主要途径^[2]。进入机体的镉可以损害肝脏、肾脏、免疫、神经、心血管、骨骼和睾丸等,甚至诱发突变和致癌^[3]。镉生物半衰期长,易在生物体内长期蓄积,尤其以肝脏和肾脏为主。最近人群调查显示,孕妇血清镉水平与其胎儿出生体重呈负相关^[4]。孕鼠经腹腔单次注射高剂量镉引起胎鼠体重和身长明显

降低^[5]。然而,过去的动物实验主要采用腹腔注射或皮下注射等非常规人体镉暴露途径,实验结果存在不确定性。该研究拟探讨小鼠整个孕期经饮水暴露不同浓度镉对胎鼠生长发育的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料 清洁级ICR小鼠(8周,♂31~36 g,♀24~28 g)购于北京维通利华实验动物有限责任公司;氯化镉和优级纯硝酸(HNO_3)均购自国药集团化学试剂有限公司;镉标准溶液(100 mg/L)购自国家环境保护总局标准样品研究所;TAS-990G石墨炉原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),具有氘灯背景校正装置、恒温平台石墨管和Cd空心阴极灯。

1.2 实验动物 小鼠实验前适应性喂养(温度20~25℃、湿度45%~55%以及12 h/12 h明暗光照)2周后,按2:4(♂:♀)于晚上9:00合笼,次日早晨8:00查雌鼠阴栓,查到阴栓者定为受孕第0天(GD0)。所有孕鼠按照体重被随机分为对照组(0 ppm)、低浓度镉组(5 ppm)、中浓度镉组(50 ppm)和高浓度镉组(250 ppm),其中对照组孕鼠饮用去离子水,不同浓度镉暴露组孕鼠分别于受孕第0天至第17天经饮水暴露氯化镉水溶液(5、50、250 ppm,均用去离子水配制)。根据WHO提出的膳食摄入安全限值5 ppm相当于正常人群镉暴露量,参考相关研究文献^[6-7]设置饮水浓度。于受孕第18天摘眼球取血后处死并取出子宫,记录活胎数、死胎数和吸收胎数,称量活胎体重,测量胎鼠身长。用石墨炉原子吸收分光光度法测定孕鼠血清镉含量。

1.3 血清镉含量测定 受孕18 d小鼠被摘眼球取血,室温静置2 h后,4 000 r/min离心10 min,取上清液于2 ml离心管中,-80℃保存待用,所有离心管和枪头用10%硝酸(优级纯)浸泡过夜。测量前用1%硝酸1:4稀释,同时以1%硝酸作为试剂空白对照。样品测量前,用1%硝酸配置不同浓度的镉标准(0.0、0.2、0.4、0.8 μg/L),并在每管中以2:1的比例加入基体改进剂(0.5%硝酸镁和0.2%硝酸

2015-11-06 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81473016、31571557)

作者单位:安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系,合肥 230032

作者简介:王颖,女,硕士研究生;

徐德祥,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: xudex@

126.com

铵 2 : 1 混合)。用石墨炉原子吸收分光光度法检测孕鼠血清镉含量,采用氘灯扣除背景,波长为 228.8 nm,工作灯为 Cd 灯,对照灯为 Pb 灯;滤波系数为 0.1,积分时间为 4 s;进样量为 15 μ l。石墨炉原子吸收法测定血清中镉含量的加热程序。见表 1。

表 1 石墨炉原子吸收法测定血清中镉含量的加热程序

步骤	温度(℃)	升温时间(s)	保持时间(s)
干燥 1	90	5	10
干燥 2	120	5	10
灰化 1	600	10	15
灰化 2	700	10	10
原子化	1 700	0	3
净化	1 800	1	2

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,定量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;多组比较采用方差分析,然后用 Bonferroni 或 Tamhane's T2 法进行两组间统计分析。死胎数和吸收胎数不服从正态分布,不满足方差分析的条件,选用 Kruskal-wallis H 秩和检验比较分析。

2 结果

2.1 不同浓度镉暴露对母鼠血清镉含量的影响

孕鼠被摘眼球取血,全血室温静置 2 h 后 4 000 r/min 离心 10 min,吸取上层血清,用石墨炉原子吸收法检测母鼠血清镉含量。检测结果显示,与对照组比较,不同浓度镉处理组母鼠血清中镉含量呈逐渐上升趋势,分别升高 2.0、2.8、4.8 倍,且 50 ppm、250 ppm 组与对照组相比差异有统计学意义 ($F = 21.94$, $P < 0.05$)。见图 1。

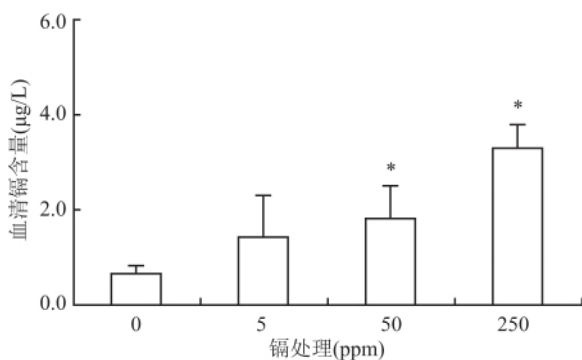


图 1 不同浓度镉暴露组孕鼠血清镉含量 ($n = 15$, $\bar{x} \pm s$)

与对照组比较: * $P < 0.05$

2.2 不同浓度镉暴露对孕鼠增重的影响 小鼠从受孕第 0 天至第 17 天经饮水暴露不同浓度镉(0.5、

50、250 ppm),于受孕第 0、3、6、9、12、15、18 天称量孕鼠体重。对照组孕鼠体重随着受孕时间推进而逐渐递增,其它镉暴露组不同孕期母鼠体重与对照组同期体重比较差异均无统计学意义。见图 2。

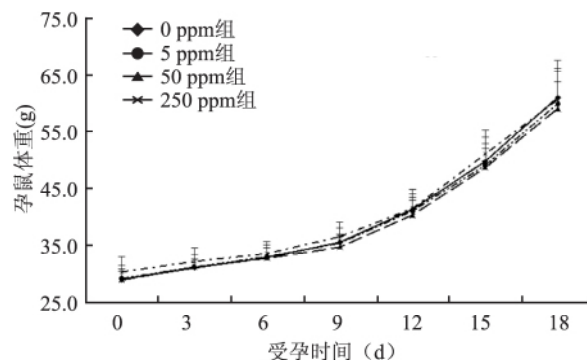


图 2 不同浓度镉暴露对孕鼠体重的影响 ($n = 15$, $\bar{x} \pm s$)

2.3 不同浓度镉暴露对胎鼠存活和死亡的影响

于受孕 18 d 称重并剖杀孕鼠,记录活胎数、死胎数和吸收胎数。与对照组相比,50 ppm 组平均吸收胎数显著高于对照组 ($P < 0.05$),250 ppm 组吸收胎数有升高趋势,其它浓度镉暴露组死胎数、吸收胎数与对照组之间无差异。见表 2。

表 2 不同浓度镉暴露对胎鼠数量的影响 ($n = 15$, $\bar{x} \pm s$)

镉(ppm)	活胎数(个)	死胎数(个)	吸收胎数(个)
0	13.1 $\pm$ 2.9	0.4 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.7
5	11.3 $\pm$ 3.2	0.2 $\pm$ 0.4	0.3 $\pm$ 0.5
50	11.3 $\pm$ 2.3	0.3 $\pm$ 0.6	1.1 $\pm$ 1.0*
250	13.3 $\pm$ 2.5	0.4 $\pm$ 0.6	0.8 $\pm$ 1.1

与对照组比较: * $P < 0.05$

2.4 不同浓度镉暴露对胎鼠身长、体重和胎盘重量的影响

于受孕 18 d 处死孕鼠并剖宫产,测量活胎胎鼠身长、体重和胎盘重量。与对照组比较,50、250 ppm 组平均胎鼠身长显著减小 ($F = 10.77$, $P < 0.05$),而 250 ppm 组平均胎鼠体重均明显下降 ($F = 6.83$, $P < 0.05$);不同浓度镉暴露组胎盘重量与对照组之间均无显著差异。见表 3。

表 3 不同浓度镉暴露对胎鼠身长、体重和胎盘重量的影响 ($n = 15$, $\bar{x} \pm s$)

镉(ppm)	胎鼠身长(cm)	胎鼠体重(g)	胎盘重量(g)
0	2.56 $\pm$ 0.09	1.39 $\pm$ 0.10	0.103 $\pm$ 0.01
5	2.56 $\pm$ 0.07	1.42 $\pm$ 0.08	0.100 $\pm$ 0.02
50	2.48 $\pm$ 0.06*	1.36 $\pm$ 0.07	0.089 $\pm$ 0.01
250	2.35 $\pm$ 0.16*	1.27 $\pm$ 0.12*	0.098 $\pm$ 0.01

与对照组比较: * $P < 0.05$

3 讨论

本研究结果显示,小鼠从受孕第0天至第17天经饮水暴露氯化镉50 ppm组胎鼠身长明显下降,250 ppm组胎鼠身长和体重均显著降低。受孕第9天小鼠经腹腔单次注射氯化镉(4.5 mg/kg)引起胎鼠身长和体重明显下降,并引起胎鼠缺趾和尾部畸形^[1]。这些结果提示,孕鼠暴露较高剂量镉引起胎鼠生长发育迟缓。然而,镉诱发胎鼠生长发育迟缓的作用机制尚不清楚。

锌是机体必需的微量元素之一,锌通过催化、结构和调节3个方面调控基因表达,在胚胎和胎儿的正常发育过程中起重要作用^[8]。有研究^[9]显示,孕鼠经饮水暴露镉引起母体血清和胚胎锌含量显著降低。孕期母体锌补充明显保护镉引起的胎鼠畸形和生长发育迟缓^[10]。这些结果提示,母体血清锌的降低很可能是镉诱导胎鼠生长发育迟缓的重要原因。

胎盘是联系母体和胎儿的重要枢纽,有物质运输、屏障和内分泌功能。研究^[11]表明,镉很难透过胎盘屏障并可能在胎盘组织蓄积。本研究显示,孕期较高浓度镉暴露明显升高母鼠血清镉含量。母体血镉含量与胎盘镉含量呈现正向关联^[12]。提示胎盘可能是镉的毒作用靶器官。进一步研究结果显示,孕期暴露较高浓度镉未引起小鼠胎盘重量降低。上述结果提示,胎盘发育异常可能不是镉诱导胎鼠生长发育迟缓的原因。另外的研究需要探讨镉是否引起胎盘功能障碍,继而诱发胎鼠生长发育迟缓。

综上所述,本实验条件下孕鼠经饮水暴露较高浓度镉引起胎鼠生长发育迟缓。然而,镉诱导胎儿生长发育迟缓的确切作用机制尚需要进一步探讨。

参考文献

[1] 甄燕红,成颜君,潘根兴,等. 中国部分市售大米中Cd、Zn、Se

的含量及其食品安全评价[J]. 安全与环境学报, 2008, 8(1): 119-22.

- [2] Vromman V, Waegeneers N, Cornelis C, et al. Dietary cadmium intake by the Belgian adult population [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2010 27(12): 1665-73.
- [3] 邓新,温璐璐,迟鑫妹. 镉对人体健康危害及防治研究进展[J]. *中国医疗前沿*, 2010 5(10): 4-5.
- [4] Ikeh-Tawari E P, Anetor J I, Charles-Davies M A. Cadmium level in pregnancy influence on neonatal birth weight and possible amelioration by some essential trace elements [J]. *Toxicol Int*, 2013, 20(1): 108-12.
- [5] Wang Z, Wang H, Xu Z M, et al. Cadmium-induced teratogenicity: association with ROS-mediated endoplasmic reticulum stress in placenta [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 259(2): 236-47.
- [6] Sorell T L, Graziano J H. Effect of oral cadmium exposure during pregnancy on maternal and fetal zinc metabolism in the rat [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1990, 102(3): 537-45.
- [7] Ronco A M, Urrutia M, Montenegro M, et al. Cadmium exposure during pregnancy reduces birth weight and increases maternal and foetal glucocorticoids [J]. *Toxicol Lett*, 2009, 188(3): 186-91.
- [8] Badakhsh M H, Khamseh M E, Seifoddin M, et al. Impact of maternal zinc status on fetal growth in an Iranian pregnant population [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2011, 27(12): 1074-6.
- [9] Sorell T L, Graziano J H. Effect of oral cadmium exposure during pregnancy on maternal and fetal zinc metabolism in the rat [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1990, 102(3): 537-45.
- [10] 徐忠美,王华,王振,等. 孕期补充锌减轻镉引起的小鼠胚胎发育毒性[J]. *安徽医科大学学报*, 2012, 47(4): 425-8.
- [11] Kippler M, Hoque A M, Raqib R, et al. Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients to the fetus [J]. *Toxicol Lett* 2010 192(2): 162-8.
- [12] Suprewicz K, Kozikowska I, Chrobaczynska-Dylag M, et al. Effects of the cigarette smoking on the newborn clinical parameters and the accumulation of cadmium and lead in the placenta of women from Upper Silesia [J]. *Ginekol Pol* 2013, 84(9): 776-80.

Effects of maternal cadmium exposure during pregnancy on fetal growth in mice

Wang Ying, Wang Hua, Hu Yongfang, et al

(Dept of Toxicology, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the effects of maternal exposure to cadmium *via* drinking water during pregnancy on fetal growth and development in mice. **Methods** All pregnant mice were randomly divided into four groups. In control group, mice were fed with deionized water. In cadmium group, mice were fed with CdCl₂ solution

网络出版时间: 2016-1-20 10:32:26 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160120.1032.028.html>

◇临床医学研究◇

凝集素芯片法分析桥本氏甲状腺炎患者外周血 DC 细胞膜糖蛋白的表达

袁媛^{1,2} 唐晓磊³ 张林杰¹

摘要 目的 通过凝集素芯片法筛选桥本氏甲状腺炎(HT)患者外周血树突状细胞(DC)差异表达的膜表面糖蛋白,了解其在 HT 中的表达变化。方法 通过制备包含有 32 种凝集素的凝集素芯片对 16 例 HT 患者和 22 例健康者外周血 DC 细胞膜表面糖蛋白的表达进行分析;凝集素耦联葡聚糖拉下相应差异表达的糖蛋白并进行质谱鉴定;同时应用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)、Western blot 法和流式细胞术对 HT 患者外周血 DC 中该糖蛋白的 mRNA、蛋白表达及 Galectin-9⁺ DC 比例进行分析。最后通过 ELISA 法检测 DC 与 CD8⁺T 细胞孵育上清液中 IFN- γ 、穿孔素、颗粒酶 B 浓度。结果 凝集素芯片检测结果显示凝集素脱落酸素(ABA)对应的糖蛋白在 HT 组显著低于健康组($P < 0.01$)。对凝集素 ABA 耦联葡聚糖拉下后洗脱的蛋白进行质谱鉴定,结果显示,众多洗脱蛋白中半乳糖结合蛋白-9(Galectin-9)所占比例较为丰富;随后通过 qRT-PCR 和 Western blot 进一步验证 Galectin-9 在 HT 组 DC 中的表达低于健康组;流式细胞术结果则显示 HT 组 DC Galectin-9^{low} 比例高于健康组,且其均能

较健康组诱导 CD8⁺T 细胞产生 3 种高水平杀伤因子。结论

HT 患者外周血 Galectin-9^{low} DC 可能与 HT 相关。

关键词 桥本氏甲状腺炎;树突状细胞;凝集素芯片;半乳糖结合蛋白-9

中图分类号 R 392.12

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)02-0213-05

桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis, HT)是一种常见的自身免疫性甲状腺疾病(autoimmune thyroid diseases, AITD)。研究^[1-2]表明辅助型 T 细胞以及 T 调节细胞(T regulatory cell, Treg)比例或功能失衡均能导致淋巴细胞侵入甲状腺腺体并产生针对自身抗原的抗体。树突状细胞(dendritic cell, DC)作为一种重要的抗原递呈细胞,还兼备调节固有免疫和适应性免疫的功能^[3]。研究^[4-6]表明,外周血 DC 在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、多发性硬化(multiple sclerosis, MS)、自身免疫性甲状腺病(autoimmune thyroid disease, AITD)以及其它恶性疾病发生、发展中发挥着重要作用。自身免疫病患者体内一些异质性 DC 能够通过分泌高水平的白介素 12(interleukin 12, IL-12)和 IL-23 从而增强 Th1 和辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17)细胞的免疫反应^[7-8]。凝集素被广泛用于分析糖复合物上的糖链结构^[9]。本实验参考 ANGELONI S 和 RIDET JL 的方法,应用的凝

2015-11-17 接收

基金项目:安徽高校省级自然科学研究重点项目(编号:KJ2011A167)

作者单位:¹安徽医科大学免疫学教研室,合肥 230022

²蚌埠医学院第一附属医院核医学科,蚌埠 233004

³芜湖市第二人民医院检验科,芜湖 241000

作者简介:袁媛,女,硕士研究生;

张林杰,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: zlj33@vip.sina.com

(5, 50 and 250 ppm). All pregnant mice were sacrificed on GD18. For each litter, the number of live fetuses, dead fetuses and resorptions were counted. Live fetuses in each litter were weighed, crown-rump lengths were examined, and cadmium concentration in maternal serum was detected by GFAAS. **Results** Cadmium concentration in maternal serum was significantly increased in cadmium-exposed (50 and 250 ppm) mice when compared to the controls ($P < 0.05$). No significant difference in maternal weight gain was observed among four groups. Average crown-rump length of fetuses was markedly decreased in cadmium-exposed (50 and 250 ppm) mice as compared with the controls ($P < 0.05$). Moreover, Maternal cadmium exposure (250 ppm) obviously decreased average body weight of fetuses in mice ($P < 0.05$). **Conclusion** Maternal exposure to higher levels of cadmium by drinking water results in fetal growth retardation in mice.

Key words cadmium; intrauterine growth retardation; mice; placenta; drinking water