

## 三代小鼠十溴联苯醚灌胃染毒对子鼠( $F_1$ 、 $F_2$ )学习记忆能力的影响

朱春艳<sup>1</sup>, 安月<sup>2</sup>, 钱波<sup>1</sup>, 邵静<sup>1</sup>, 胡宏<sup>2</sup>, 刘晓晖<sup>1</sup>

**摘要:** [目的] 考察三代小鼠十溴联苯醚(decabromodiphenyl ether, BDE 209)灌胃染毒对两代子鼠空间学习记忆能力和空间位置记忆能力的影响。[方法] 将75只雌性昆明 $F_0$ 代小鼠随机分为对照组[0 mg/(kg·d)]、1.5 mg/(kg·d)和225 mg/(kg·d)染毒组, 每组25只, BDE 209灌胃10d后, 与雄鼠合笼, 每组选取怀孕时间相近(相差不超过2d)的8只母鼠孕期持续染毒至子鼠断乳。第一代( $F_1$ )及第二代( $F_2$ )子鼠在断乳后也按照与母鼠相同的方式进行染毒。观察出生后子鼠数量并测量第30、60和90天子鼠体重, 并利用Morris水迷宫评价出生后第30、60和90天子鼠的空间学习记忆能力和空间位置记忆能力。[结果] 与对照组比较, 1.5 mg/(kg·d)组 $F_0$ 和 $F_1$ 代母鼠产仔数量分别降低约25%、30% ( $P<0.05$ ); 225 mg/(kg·d)组 $F_1$ 代出生后30天雌性子鼠体重降低约17% ( $P<0.05$ ); 染毒组 $F_1$ 代出生后30天雄性子鼠体重分别降低约12% ( $P<0.05$ )、25% ( $P<0.01$ ); 染毒组 $F_2$ 代出生后30天雌性子鼠体重降低约12% ( $P<0.01$ ); 1.5 mg/(kg·d)组 $F_2$ 代出生后30天雄性子鼠体重降低约8% ( $P<0.05$ ), 225 mg/(kg·d)组 $F_2$ 代出生后60、90天雄性子鼠体重均降低约13% ( $P<0.01$ ); 各组 $F_1$ 代60、90天,  $F_2$ 代30、60和90天雌性子鼠逃避潜伏期延长, 结果具有统计学意义 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );  $F_1$ 代1.5 mg/(kg·d)组出生后60天, 各组出生后90天, 及 $F_2$ 代225 mg/(kg·d)组出生后30、60、90天雄性子鼠逃避潜伏期延长, 结果具有统计学意义 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );  $F_1$ 、 $F_2$ 代子鼠平台象限活动时间差异无统计学意义 ( $P>0.05$ );  $F_2$ 代出生后60和90天雌性子鼠平台穿越次数减少, 结果具有统计学意义 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );  $F_2$ 代雄性子鼠出生后90天平台穿越次数减少, 结果具有统计学意义 ( $P<0.05$ )。[结论] 三代小鼠BDE 209染毒能够影响子代发育, 降低子代空间学习记忆能力和空间位置记忆能力。

**关键词:** 十溴联苯醚; 三代; 水迷宫; 学习记忆能力; 小鼠

**Effects of Decabromodiphenyl Ether Exposure by Gavage on Learning and Memory in  $F_1$  and  $F_2$  Offspring Mice** ZHU Chun-yan<sup>1</sup>, AN Yue<sup>2</sup>, QIAN Bo<sup>1</sup>, SHAO Jing<sup>1</sup>, HU Hong<sup>2</sup>, LIU Xiao-hui<sup>1</sup> (1. Department of Environmental Health and Labor Health, School of Public Health, Dalian Medical University, Liaoning 116044, China; 2. Biochemistry Lab, The Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Liaoning 116027, China). Address correspondence to HU Hong, E-mail: 452522789@qq.com; LIU Xiao-hui, E-mail: liuxh892@126.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

**Abstract:** [Objective] To evaluate the effects on learning and memory ability of two generations of offspring after prenatal and postnatal decabromodiphenyl ether (BDE 209) exposure by gavage. [Methods] Seventy-five Kunming female mice were randomly assigned to one control and two BDE 209 groups [1.5 mg/(kg·d) and 225 mg/(kg·d)] through gavage for 10 days before mating. Then eight mice with close fertilization day were selected for each group and continued to gavage through pregnancy and lactation until weaning. Offspring in  $F_1$  and  $F_2$  were treated in the same protocol as the  $F_0$ . Body weight and numbers of pups was recorded. Morris water maze was used to exam the ability of learning and memory in offspring at 30, 60 and 90 days after birth. [Results] The numbers of pups in  $F_1$  and  $F_2$  were significant decreased by 25% and 30% respectively in the low BDE 209 group ( $P<0.05$ ), compared with the control group. The high BDE 209 exposure significantly decreased the body weight of the  $F_1$  30-day-old female pups by about 17% ( $P<0.05$ ). The BDE 209 exposure significantly decreased the body weight of the  $F_1$  30-day-old male pups by 12% and 25%, respectively ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The BDE 209 exposure significantly decreased the body weight of the  $F_2$  30-day-old female pups by about 12% ( $P<0.01$ ). The low BDE 209 exposure significantly decreased the body weight of the  $F_2$  30-day-old male pups by about 8% ( $P<0.05$ ); the high BDE 209 exposure significantly decreased the body weight of the  $F_2$  60- and 90-day-old male pups by about 13%

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2014.0227

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(编号: 81273031.81302400); 大连医科大学引进人才科研启动基金(编号: 201069)

[作者简介] 并列第一作者。朱春艳(1987—), 女, 硕士生; 研究方向: 环境卫生学; E-mail: zcy0305@126.com。安月(1973—), 女, 硕士, 副主任技师; 研究方向: 临床检验; E-mail: anxur@126.com

[通信作者] 并列通信作者。胡宏, E-mail: 452522789@qq.com; 刘晓晖, E-mail: liuxh892@126.com

[作者单位] 1. 大连医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室, 辽宁 116044; 2. 大连医科大学附属第二医院检验科, 辽宁 116027

( $P<0.01$ ). The escape latency of the female  $F_1$  pups of 60 and 90 days old or the female  $F_2$  pups of 30, 60, and 90 days old was increased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Also, the escape latency of the male  $F_1$  pups of 60 and 90 days old in the low exposure group or the male  $F_2$  pups of 30, 60, and 90 days old in the high exposure group was increased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The time in target quadrant of the  $F_2$  female of 60 or 90 days old was decreased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Also, the time in target quadrant of the  $F_2$  male of 90 days old was decreased ( $P<0.05$ ).

[ Conclusion ] Exposure to BDE 209 shows detrimental effects on developmental learning and memory in offspring mice.

**Key Words:** decabromodiphenyl ether; three generations; Morris water maze; learning and memory; mouse

多溴联苯醚 (polybromodiphenylethers, PBDEs) 是一类具有相同基础结构, 含不同溴原子数的人工合成有机化合物, 共 209 种同系物。作为添加型阻燃剂, PBDEs 在过去的三四十年中被广泛应用于纺织、家具、电子、电器等工业和生活领域<sup>[1]</sup>, 已对全球生态系统产生污染。由于 PBDEs 具有生物富集性和远距离传输能力, 而且在人体多种组织样本中也检测到相当浓度的 PBDEs 且水平有逐年上升趋势, 对人类健康具有潜在威胁<sup>[2]</sup>, 因此 2009 年, 斯德哥尔摩公约将四、五和八 (商业化的五溴联苯醚) 以及六和七溴联苯醚列为新型持久性有机污染物加以管制<sup>[3]</sup>。尽管如此, 十溴联苯醚 (BDE 209) 产品在一些国家仍在大量生产使用, 评价其对环境造成的污染和对生物体产生的毒性效应也成为公共卫生的重要课题。

我国是 PBDEs 生产和使用大国, 据 2012 年统计数据显示, BDE 209 的年消耗量每年达到 20 万 t, 已成为国内环境中主要有机污染物之一<sup>[4]</sup>。环境调查研究显示, 在多种环境介质 (大气、水和土壤等) 和生物组织 (包括人体血清、母乳和脐带血等) 中均检测到 BDE 209 的存在。毒理学研究发现, BDE 209 可能具有与低溴联苯醚相似的肝脏、甲状腺和生殖等多种毒性作用<sup>[5]</sup>; 另外, BDE 209 能够通过胎盘屏障和血脑屏障, 可能对子代发育 (包括神经发育) 产生损伤。蒋惠萍等<sup>[6]</sup>研究显示, 孕期 BDE 209 染毒 [100~1 200 mg/(kg·d)] 导致 Wistar 大鼠学习记忆能力下降, 海马生长相关蛋白 (GAP-43) 和神经生长因子 (BDNF) 表达水平降低, 提示 BDE 209 可能具有发育神经毒性效应, 然而 WILLIAMS 等<sup>[7]</sup>用相似剂量的 BDE 209 孕期染毒并未得到相同结果。

一般认为 BDE 209 相对分子质量较大, 细胞渗透能力较低, 急性毒性较小, 长期以来对其神经毒性效应的研究没有给予足够重视, 导致目前的研究报道数量有限。另外, BDE 209 发育神经毒性的研究结果并不一致, 存有争议, 因此, BDE 209 发育神经毒性效应仍需进一步探讨和证实<sup>[8]</sup>。以往有关 BDE 209 发育神经毒性的动物研究, 多数基于高剂量染毒, 远

远超过人类环境暴露剂量<sup>[9]</sup>, 而且采用的染毒途径和时间多为短期孕期染毒, 不太符合人类长期、低剂量的暴露方式。与低溴联苯醚相比, BDE 209 在体内排出速度较快, 半衰期短, 在生物组织中累积速度较慢, 因此, 利用动物实验并采用长期染毒方式, 对评价其发育神经毒性效应更具有重要参考价值。本研究拟在着重考虑染毒剂量、途径、时间上设计实验, 对孕前期及孕期母鼠进行 BDE 209 染毒, 并持续对出生后  $F_1$  和  $F_2$  代进行 BDE 209 灌胃, 评价 BDE 209 染毒对  $F_1$  和  $F_2$  代神经行为的影响, 以期得到更可靠的结论。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与实验仪器

BDE 209 (纯度 >99%, 美国, ChemService 公司); Morris 水迷宫检测系统 (中国科学院研制)。

### 1.2 实验动物选取及分组

健康成年昆明雌性小鼠 ( $F_0$ ) 75 只 [SPF 级, 大连医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK (辽) 2008-0002], 适应性驯养 1 周后, 根据参考文献 [10], 随机分为对照组 [0 mg/(kg·d)]、低剂量 [1.5 mg/(kg·d)] 和高剂量 [225 mg/(kg·d)] 染毒组, 每组 25 只。将 BDE 209 溶于花生油中, 通过灌胃对实验动物进行染毒 (根据 COSTA 等<sup>[8]</sup>研究), 对照组给予花生油灌胃, 每天下午避光染毒 1 次。 $F_0$  代雌鼠染毒 10 d 后, 与同龄 SPF 级雄鼠 (未染毒) 按 1:2 合笼受孕, 通过阴栓确定雌鼠受孕后, 将雄鼠取出, 并对孕鼠持续染毒, 直至自然分娩。选取出生时间相近的  $F_1$  代子鼠继续通过母乳染毒, 在断乳后按照与母鼠相同的方式进行染毒, 并在出生后 30 (PND30)、60 (PND60)、90 天 (PND90) 进行神经行为检测。取部分持续染毒的  $F_1$  代雌鼠与同龄 SPF 级雄鼠合笼受孕, 其出生时间相近的  $F_2$  代子鼠也按上述方式染毒, 并在上述时间点进行神经行为检测。所有动物均自由摄食、饮水。室内温度为 20~25℃, 湿度 45%~55%, 光线按亮/暗各 12h 循环。

### 1.3 一般形态学观察

所有小鼠均在每天染毒前观察毛发、饮食、精神状态等一般指标。其中,母鼠体重增长量以孕末期(分娩的前一天)体重与受孕成功当天体重差值表示;按照性别,在前述每个时间点,随机抽取 8 只子鼠进行体重称量;生产子鼠的数量以分娩当天计数为准。

### 1.4 神经行为学测定(Morris 水迷宫检测)

F<sub>1</sub> 代和 F<sub>2</sub> 代子鼠分别在出生后 30、60 和 90 天,按照性别,从各组随机抽取 5 只进行 Morris 水迷宫测试。水迷宫主要由一个圆形水池组成,平台固定于第二象限正中,水池上方架设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。实验动物训练 4 d,2 次/d。在第 4 天正式评价逃避潜伏期。训练时将其面向侧壁放入水中,待找到平台后,让其在平台上停留 30 s,记录小鼠逃避潜伏期。如果在 60 s 内未找到平台,将其引至平台,这时潜伏期记为 60 s,每次训练间隔最少 30 min。通过记录各组小鼠的逃避潜伏期,比较小鼠空间学习记忆能力;通过记录各组小鼠的平台象限活动时间,反映小鼠的空间位置记忆能力。

### 1.5 统计学分析

数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示。时间点的数据,同剂量组的不同训练时间及同时间不同剂量组之间的数据采用单因素方差分析法;对多个时间点的数据进行球形度检验,若满足则采用重复测量资料的方差分析法,组间比较用最小显著差法(LSD)和 Dunnett's T3 检验,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 一般形态学观察

BDE 209 染毒过程中对实验小鼠一般状态进行动态观察。随着 BDE 209 染毒时间的延长,小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。其中,由表 1 可见,F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub> 代母鼠体重增长有降低趋势。低剂量 BDE 209 染毒后,F<sub>0</sub> 和 F<sub>1</sub> 代母鼠产仔数量均少于对照组,分别减少约 25% 和 30%( $P<0.05$ )。

F<sub>1</sub> 代子鼠体重动态变化如表 2 所示。与对照组比较,高剂量组出生后 30 天雌性子鼠体重降低 17% ( $P<0.05$ ),出生后 60 和 90 天的体重差异无统计学意义;低、高剂量 BDE 209 染毒出生后 30 天雄性子鼠体重分别降低 12% ( $P<0.05$ ) 或 25% ( $P<0.01$ ),同样,

在出生后 60 和 90 天的体重未明显下降。

表 1 BDE 209 对母鼠生产体重及产仔数量影响( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effects of BDE 209 exposure on body weight and pups

| 染毒剂量组<br>Dose<br>[mg/(kg·d)] | 母鼠体重增长量(g)(n=8)<br>Body weight increment of F <sub>0</sub> female mice |                | 产仔数量(n)<br>Number of pups |                |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------------|----------------|
|                              | number of mother mice                                                  |                |                           |                |
|                              | F <sub>0</sub>                                                         | F <sub>1</sub> | F <sub>0</sub>            | F <sub>1</sub> |
| 0                            | 34.7 ± 4.6                                                             | 34.1 ± 1.1     | 13.0 ± 1.0                | 13.3 ± 1.7     |
| 1.5                          | 27.3 ± 1.2                                                             | 27.1 ± 1.4     | 9.7 ± 0.6*                | 9.3 ± 1.5*     |
| 225                          | 28.7 ± 2.3                                                             | 27.2 ± 1.6     | 10.3 ± 2.1                | 10.8 ± 2.1     |

[注]与 0mg/(kg·d) 组相比,\*, $P<0.05$ 。

[Note] Compared with the 0mg/(kg·d) group, \*,  $P<0.05$ .

表 2 BDE 209 对 F<sub>1</sub> 代小鼠子鼠体重动态影响( $\bar{x} \pm s$ , g)

Table 2 Effects of BDE 209 exposure on body weight of

| F <sub>1</sub> offspring mice  |                                 |              |            |            |
|--------------------------------|---------------------------------|--------------|------------|------------|
| 染毒剂量组<br>Dose[ mg/( kg · d ) ] | 样本含量( <i>n</i> )<br>Sample size | PND30        | PND60      | PND90      |
| 雌性( Female )                   |                                 |              |            |            |
| 0                              | 8                               | 33.0 ± 4.3   | 32.7 ± 1.6 | 39.3 ± 3.1 |
| 1.5                            | 8                               | 29.8 ± 1.0   | 33.0 ± 2.8 | 35.8 ± 6.2 |
| 225                            | 8                               | 27.5 ± 1.4*  | 34.4 ± 1.2 | 34.5 ± 3.9 |
| 雄性( Male )                     |                                 |              |            |            |
| 0                              | 8                               | 38.6 ± 3.5   | 39.3 ± 4.3 | 47.4 ± 3.3 |
| 1.5                            | 8                               | 33.8 ± 1.7*  | 38.7 ± 5.4 | 45.2 ± 6.8 |
| 225                            | 8                               | 29.0 ± 1.8** | 38.5 ± 2.8 | 41.0 ± 3.7 |

[注]与 0mg/(kg·d) 组相比,\*, $P<0.05$ ; \*\*,  $P<0.01$ 。

[Note] Compared with the 0mg/(kg·d) group, \*,  $P<0.05$ ; \*\*,  $P<0.01$ .

由表 3 可见,与对照组比较,低、高剂量 BDE 209 组出生后 30 天雌性子鼠体重均降低约 12% ( $P<0.01$ ),出生后 60 和 90 天的体重差异无统计学意义;低剂量 BDE 209 染毒出生后 30 天雄性子鼠体重降低约 8% ( $P<0.05$ ),而高剂量 BDE 209 染毒出生后 60、90 天雄性子鼠体重均降低约 13% ( $P<0.01$ )。

表 3 BDE 209 对 F<sub>2</sub> 代小鼠子鼠体重动态影响( $\bar{x} \pm s$ , g)

Table 3 Effects of BDE 209 exposure on body weight

| of F <sub>2</sub> offspring mice |                                 |              |              |              |
|----------------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 染毒剂量组<br>Dose[ mg/( kg · d ) ]   | 样本含量( <i>n</i> )<br>Sample size | PND30        | PND60        | PND90        |
| 雌性( Female )                     |                                 |              |              |              |
| 0                                | 8                               | 26.5 ± 2.0   | 33.8 ± 2.5   | 36.8 ± 6.8   |
| 1.5                              | 8                               | 23.3 ± 1.2** | 37.0 ± 4.5   | 39.3 ± 3.2   |
| 225                              | 8                               | 23.1 ± 1.1** | 35.1 ± 2.6   | 39.3 ± 1.5   |
| 雄性( Male )                       |                                 |              |              |              |
| 0                                | 8                               | 29.3 ± 0.6   | 46.0 ± 1.2   | 47.0 ± 1.6   |
| 1.5                              | 8                               | 27.0 ± 1.4*  | 45.8 ± 2.5   | 43.1 ± 1.9   |
| 225                              | 8                               | 30.2 ± 1.9   | 39.9 ± 2.5** | 41.0 ± 2.7** |

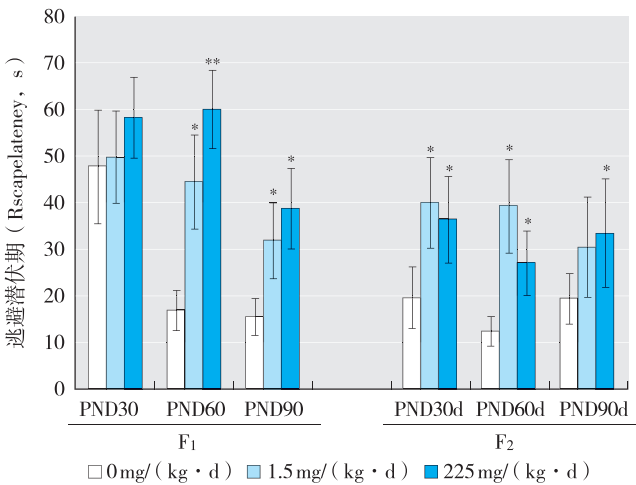
[注]与 0mg/(kg·d) 组相比,\*, $P<0.05$ ; \*\*,  $P<0.01$ 。

[Note] Compared with the 0mg/(kg·d) group, \*,  $P<0.05$ ; \*\*,  $P<0.01$ .

### 2.2 定位航行试验

F<sub>1</sub> 代出生后第 30 天雌性子鼠逃避潜伏期无明显

变化, 而第 60、90 天则明显延长 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );  $F_2$  代第 30、60 和 90 天子鼠逃避潜伏期均延长 ( $P<0.05$ ), 见图 1。



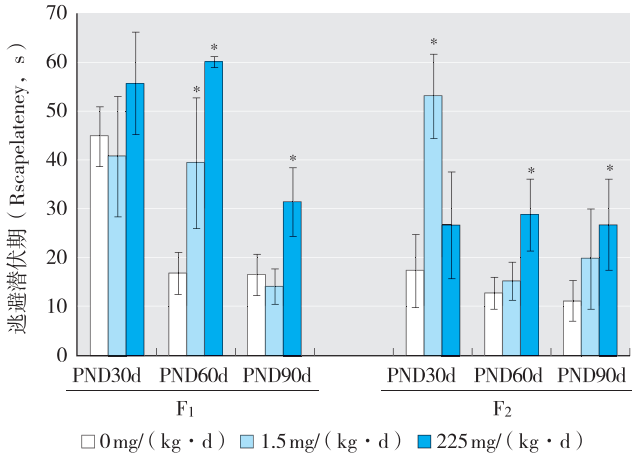
[ 注 ] 与 0mg/( kg · d ) 组比较, \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .  
[ Note ] Compared with the 0mg/( kg · d ) group, \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .

图 1 BDE 209 染毒对雌性子鼠逃避潜伏期影响

Figure 1 Effect of BDE 209 on latency of female offspring

$F_1$  代出生后 30 天雄性子鼠逃避潜伏期无明显变化, 而出身后 60、90 天则明显延长 ( $P<0.05$ ); 随着 BDE 209 两代累积染毒,  $F_2$  代出生后 30、60、90 天雄

性子鼠逃避潜伏期明显延长 ( $P<0.05$ ), 见图 2。



[ 注 ] 与 0mg/( kg · d ) 组比较, \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .  
[ Note ] Compared with the 0mg/( kg · d ) group, \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .

图 2 BDE 209 染毒对雄性子鼠逃避潜伏期影响

Figure 2 Effect of BDE 209 on latency of male offspring

2.3 空间探索实验

由表 4、5 可见, 随着染毒剂量的升高,  $F_1$ 、 $F_2$  代子鼠平台象限活动时间差异无统计学意义;  $F_2$  代出生后 60 和 90 天雌性子鼠平台穿越次数显著降低 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),  $F_2$  代雄性子鼠出生后 90 天平台穿越次数显著降低 ( $P<0.05$ )。

表 4  $F_1$ 、 $F_2$  代雌、雄性鼠平台象限活动时间 ( $\bar{x} \pm s, s$ )

Table 4 Time in target quadrant of  $F_1$  and  $F_2$  offspring mice after BDE 209 exposure

| 染毒剂量<br>Dose[ mg/( kg · d ) ] | 雌性( Female, n=5 ) |              |              | 雄性( Male, n=5 ) |              |              |
|-------------------------------|-------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|
|                               | PND30             | PND60        | PND90        | PND30           | PND60        | PND90        |
| $F_1$                         |                   |              |              |                 |              |              |
| 0                             | 11.52 ± 0.72      | 10.06 ± 1.37 | 9.68 ± 0.42  | 11.74 ± 0.88    | 10.63 ± 2.11 | 10.84 ± 4.59 |
| 1.5                           | 9.65 ± 1.30       | 10.35 ± 1.41 | 8.53 ± 2.81  | 12.43 ± 1.99    | 11.49 ± 2.01 | 7.82 ± 2.30  |
| 225                           | 6.30 ± 2.78       | 7.31 ± 1.12  | 9.38 ± 2.24  | 8.82 ± 1.00     | 10.19 ± 1.55 | 7.88 ± 3.98  |
| $F_2$                         |                   |              |              |                 |              |              |
| 0                             | 12.11 ± 1.21      | 11.33 ± 1.23 | 10.31 ± 2.92 | 13.45 ± 1.52    | 8.72 ± 2.66  | 9.22 ± 3.23  |
| 1.5                           | 9.66 ± 2.45       | 9.56 ± 3.22  | 10.29 ± 1.45 | 12.12 ± 1.69    | 8.64 ± 1.71  | 8.55 ± 1.53  |
| 225                           | 9.38 ± 3.56       | 7.54 ± 2.66  | 6.79 ± 0.14  | 9.31 ± 3.69     | 7.57 ± 1.04  | 6.92 ± 2.92  |

[ 注 ] 与 0mg/( kg · d ) 组比较, \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .  
[ Note ] Compared with the 0mg/( kg · d ) group, \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .

表 5  $F_1$ 、 $F_2$  代雌、雄性鼠穿越平台次数 ( $\bar{x} \pm s$ , 次)

Table 5 Frequencies of platform crossing of offspring mice after BDE 209 exposure

| 染毒剂量<br>Dose[ mg/( kg · d ) ] | 雌性( Female, n=5 ) |              |               | 雄性( Male, n=5 ) |             |              |
|-------------------------------|-------------------|--------------|---------------|-----------------|-------------|--------------|
|                               | PND30             | PND60        | PND90         | PND30           | PND60       | PND90        |
| $F_1$                         |                   |              |               |                 |             |              |
| 0                             | 1.45 ± 0.56       | 0.94 ± 0.34  | 1.03 ± 0.31   | 1.60 ± 0.42     | 1.31 ± 0.81 | 1.71 ± 0.57  |
| 1.5                           | 1.78 ± 0.46       | 1.42 ± 0.35  | 0.95 ± 0.21   | 1.45 ± 0.26     | 1.12 ± 0.48 | 1.28 ± 0.53  |
| 225                           | 1.8 ± 0.18        | 1.40 ± 0.63  | 0.76 ± 0.24   | 1.80 ± 0.41     | 1.43 ± 0.37 | 1.32 ± 0.13  |
| $F_2$                         |                   |              |               |                 |             |              |
| 0                             | 0.98 ± 0.29       | 1.14 ± 0.24  | 1.51 ± 0.26   | 0.84 ± 0.23     | 1.35 ± 0.34 | 1.18 ± 0.33  |
| 1.5                           | 1.15 ± 0.32       | 0.60 ± 0.17* | 0.64 ± 0.17** | 0.93 ± 0.18     | 1.32 ± 0.50 | 0.40 ± 0.14* |
| 225                           | 1.10 ± 0.36       | 0.82 ± 0.38  | 0.81 ± 0.28** | 0.59 ± 0.15     | 1.37 ± 0.45 | 1.07 ± 0.42  |

[ 注 ] 与 0mg/( kg · d ) 组比较, \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .  
[ Note ] Compared with the 0mg/( kg · d ) group, \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .



### 3 讨论

本实验采用昆明小鼠,研究孕哺期及出生后 BDE 209 染毒对后代生长状况和空间学习记忆能力影响,结果表明,BDE 209 染毒并未引起  $F_0$  代孕鼠体重增长异常,与周俊等<sup>[11]</sup>在大鼠中研究孕哺期 BDE 209 染毒对母鼠体重影响的结果不一致。孕哺期染毒 BDE 209 可导致  $F_0$  和  $F_1$  代孕鼠生产仔鼠数量都减少,低剂量组尤其明显,与周俊等在大鼠中的研究结果相似。孕后第 6 天是受精卵着床的时期,李祥等<sup>[12]</sup>利用整体动物研究发现,BDE 209 染毒能够降低雌性大鼠体重和卵巢脏器系数,损伤卵巢组织的抗氧化系统。谭敬妮等<sup>[13]</sup>利用体外实验也证实,BDE 209 可以降低小鼠卵母细胞的细胞存活率。结合本实验结果提示,BDE 209 可能具有生殖毒性作用,低剂量染毒效应尤其显著。

作为评价 BDE 209 发育毒性的基础指标,本研究对  $F_1$ 、 $F_2$  代出生后不同时期仔鼠体重进行了观察。结果表明,孕哺期及出生后染毒 BDE 209 能够降低后代体重,并呈现一定的性别差异,与丁淑瑾等<sup>[14]</sup>研究结果一致。作为环境内分泌干扰物,PBDEs 对与生长发育相关的甲状腺激素、孕激素等的调控被认为可能是影响子鼠体重降低的机制<sup>[15]</sup>。另外,BDE 209 的体内代谢途径可能会影响母鼠营养物质的吸收,也被认为是影响子鼠生长发育机制之一<sup>[11]</sup>。综合本研究结果,BDE 209 能够对子代发育产生影响,但具体机制尚需进一步探讨。

关于 BDE 209 发育神经毒性效应目前仍存在争议,有学者建议对其继续评估<sup>[8]</sup>。以往多数研究集中在敏感期 BDE 209 染毒,例如孕哺期、出生后脑发育关键期等<sup>[2]</sup>。本研究中 BDE 209 染毒从  $F_0$  原代雌鼠合笼前 10 天左右开始,至  $F_2$  代子鼠出生后 90 天,染毒时间持续两代之久。相比以往利用高剂量、急性动物实验评价 BDE 209 毒性效应需要外推到人类,采用更符合人类染毒实际的低剂量、长期染毒,能够较接近地反映 BDE 209 对人类的潜在毒性效应。利用水迷宫实验检测出生前、后持续 BDE 209 染毒对子代小鼠学习记忆能力的影响,从而探讨其潜在神经发育毒性效应。结果显示,出生前、后持续染毒 BDE 209,可导致  $F_1$  和  $F_2$  代子鼠逃避潜伏期延长,并且呈现性别差异性,进一步证实 BDE 209 具有神经发育毒性效应,而且这种影响在  $F_2$  代子鼠尤为明显(图 1 和图 2),表现在同期出生子鼠比较, $F_2$  代实验组子鼠逃避潜伏期变化更大。本研究中,BDE 209 对子代学习记忆能力的

影响及性别差异性,在其他实验动物种属中也得到证实。谢欣等<sup>[9]</sup>对孕后 6~20 d 大鼠进行 BDE 209 染毒,观察出生后 60 天雌性子鼠逃避潜伏期变化,结果发现,BDE 209 染毒能够影响大鼠  $F_1$  代学习记忆能力且具有性别差异性。COSTA 等<sup>[8]</sup>也报道,BDE 209 染毒可以引起行为学改变,并且这种改变可能存在性别差异。本课题组前期研究表明,孕期母鼠 BDE 209 染毒能够对  $F_1$  代出生 60 天子鼠雌、雄逃避潜伏期皆产生影响(生态毒理学报,待发表)。本实验中反映动物空间位置记忆能力的空间探索实验结果也发现,三代 BDE 209 染毒能够影响  $F_2$  代雌、雄子鼠 60 或 90 天穿越平台次数。而谢欣等<sup>[9]</sup>的研究中,孕哺期 BDE 209 染毒只对出生后 60 天雌性子鼠逃避潜伏期产生影响,而空间探索实验无影响。综合本实验结果表明,孕期 BDE 209 染毒能够对出生后 60 天雌、雄子鼠神经系统皆产生毒性影响,提示 BDE 209 染毒时期也是对子代神经系统产生毒性影响的重要因素之一。

除了性别本身作为影响学习记忆能力的因素,与神经系统发育相关的甲状腺激素分泌异常被认为是 BDE 209 神经毒性效应的重要机制。许多研究显示,PBDEs 对甲状腺激素具有干扰作用<sup>[16]</sup>。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。KIM 等<sup>[17]</sup>对妊娠 6~18 d 大鼠母鼠进行 BDE 209 染毒,结果发现 BDE 209 能够影响子鼠甲状腺激素  $T_4$  水平,且具有性别差异性。本课题组在前期研究中探讨孕哺期 BDE 209 染毒对出生后 60 天子鼠进行神经毒性效应和脑组织脱碘酶表达检测,首次明确了孕早期 BDE 209 染毒对胎盘甲状腺脱碘酶表达的影响,提出 BDE 209 可通过影响脱碘酶导致脑局部组织甲状腺激素紊乱,诱导神经毒性(生态毒理学报,待发表)。对于出生后小鼠,循环  $T_3$ 、 $T_4$  水平对外周组织器官可能具有直接和关键的作用,然而由于循环  $T_3$  不能通过血脑屏障,脑组织主要利用循环  $T_4$  通过 II 型脱碘酶转化成  $T_3$  发挥激素功能,并通过 III 型脱碘酶使  $T_4$  和  $T_3$  失活,两者对维持脑局部组织细胞中  $T_3$  的稳定起关键作用。根据脱碘酶的功能特点及在脑组织细胞分布的独特性,例如 II 型脱碘酶主要分布在神经胶质细胞,转化  $T_4$  生成  $T_3$  的效率很高,这使得脑组织甲状腺素水平在一定程度上并不依赖于循环  $T_3$ 、 $T_4$ ,即使循环  $T_4$  水平稍有降低,II 型脱碘酶的高转化效率也会保证神经细胞  $T_3$  的水平(如果 II 型脱碘酶没有损

害),这可能是脑作为重要器官的保护机制。因此推测,出生前后 BDE 209 持续染毒可能主要通过干扰脑组织脱碘酶表达、导致局部甲状腺激素紊乱,而损害子鼠的学习记忆能力。另外,BDE 209 对动物的神经毒性作用与大脑所处的发育阶段、BDE 209 在大脑中累积和代谢过程可能也有相关性。

孕早期和出生前、后 BDE 209 染毒能够对后代子鼠发育神经系统产生毒性效应。尽管 BDE 209 的毒性相对较低,其发育神经毒性效应仍存争议,但是本研究采用接近人类的 BDE 209 染毒途径、时间和剂量,其结果具有一定价值。当然,BDE 209 发育神经毒性及其机制仍有待进一步探讨。

• 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

#### 参考文献:

- [1] 叶细标,傅华.多溴联苯醚的环境暴露及健康危害[J].环境与职业医学,2007,24(1):95-101.
- [2] 万斌,郭良宏.多溴联苯醚的环境毒理学研究进展[J].环境化学,2011,30(1):143-152.
- [3] 曾艳红,罗孝俊,孙毓鑫,等.东江下游入河排污水卤系阻燃剂质量浓度及排放通量[J].环境科学,2011,32(10):2891-2895.
- [4] 邵敏,陈永亨,李晓宇.四川妇女血清中多溴联苯醚的浓度水平与组成特征[J].环境科学,2013,34(5):1877-1881.
- [5] 刘俊晓,霍霞.多溴联苯醚对哺乳动物的毒性作用及机制[J].癌变·畸变·突变,2008,20(6):495-499.
- [6] 蒋惠萍,余艳红,陈敦金,等.母源性 BDE-209 暴露对子鼠海马 GAP-43, BDNF 表达的影响[J].南方医科大学学报,2008,28(8):1319-1322.
- [7] WILLIAMS AL, DESESSO JM. The potential of selected brominated flame retardants to affect neurological development[J]. J Toxicol Environmental Health B Crit Rev, 2010, 13(5):411-448.
- [8] COSTA LG, GIORDANO G. Is decabromodiphenyl ether (BDE-209) a developmental neurotoxicant[J]. Neurotoxicology, 2011, 32(1):9-24.
- [9] 谢欣,周义军,高宇,等.孕期十溴联苯醚暴露对子代大鼠空间学习记忆能力的影响[J].环境与职业医学,2013,30(7):515-519.
- [10] TSENG LH, LEE CW, PAN MH, et al. Postnatal exposure of the male mouse to 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabrominated diphenyl ether: decreased epididymal sperm functions without alterations in DNA content and histology in testis[J]. Toxicology, 2006, 224(1/2):33-43.
- [11] 周俊,陈敦金,廖秦,等.孕期,哺乳期暴露十溴联苯醚对子代大鼠免疫功能的影响[J].南方医科大学学报,2006,26(6):738-741.
- [12] 李祥,汤艳,李华,等. BDE-209 对雌性大鼠卵巢抗氧化系统的影响[J].工业卫生与职业病,2012,38(1):1-3.
- [13] 谭歆妮,王志新,陈敦金. BDE-209 对小鼠卵母细胞体外成熟的影响[J].实用医学杂志,2009,25(12):1939-1941.
- [14] 丁淑瑾,王志新,陈敦金.母源性十溴联苯醚胃灌后对出生子鼠数量及体重的影响[J].实用医学杂志,2008,12(24):2056-2057.
- [15] 史熊杰,刘春生,余珂,等.环境内分泌干扰物毒理学研究[J].化学进展,2009,21(2):340-349.
- [16] LEE E, KIM TH, CHOI JS, et al. Evaluation of liver and thyroid toxicity in Sprague-Dawley rats after exposure to polybrominated diphenyl ether BDE-209[J]. J Toxicol Sci, 2010, 35(4):535-545.
- [17] KIM TH, LEE YJ, LEE E, et al. Effects of gestational exposure to decabromodiphenyl ether on reproductive parameters, thyroid hormone levels, and neuronal development in Sprague-Dawley rats offspring[J]. J Toxicol Environ Health A, 2009, 72(21/22):1296-1303.

(收稿日期:2014-01-30)

(英文编辑:汪源;编辑:张晶;校对:丁瑾瑜)