

孕期苯并[a]芘暴露对子代大鼠大脑皮质芳香烃受体表达及其与芳香烃受体核转运蛋白2相互作用的影响

韩隽韬, 张宇, 聂继盛

山西医科大学公共卫生学院劳动卫生学教研室, 山西 太原 030001

摘要:

[背景] 苯并[a]芘(BaP)作为生物源性物质可以引起相关转录调节因子生理功能异常,但其具体机制尚不明确。

[目的] 探究孕期BaP暴露对芳香烃受体(AhR)表达的影响以及AhR与转录因子芳香烃受体核转运蛋白2(ARNT2)的相互作用。

[方法] 取健康SD大鼠60只,以雌雄比例1:1的形式合笼。怀孕大鼠随机分为空白组、橄榄油组,以及10、20、40 mg·kg⁻¹ BaP组,每组6只。受孕后17~19 d BaP组腹腔注射相应剂量BaP,橄榄油组注射等量橄榄油,空白组没有任何处理。取出生后1 d (PND1)和出生后7 d (PND7)的子鼠大脑皮质,使用Western blotting法和免疫共沉淀法分析不同时点子鼠AhR的表达及AhR与ARNT2相互作用的情况。

[结果] Western blotting法检测结果显示:在PND1子鼠中,40 mg·kg⁻¹ BaP组皮质AhR蛋白相对表达水平(1.91±0.74)高于空白组(1.00±0.00) ($P<0.05$);在PND7子鼠中,20、40 mg·kg⁻¹ BaP组皮质AhR蛋白相对表达水平(1.92±0.56、1.77±0.62)高于空白组(1.00±0.00) ($P<0.05$)。免疫共沉淀法检测结果显示:在PND1, ARNT2与AhR结合蛋白的相对表达量在10、20、40 mg·kg⁻¹ BaP组(1.74±0.27、2.55±0.40、1.26±0.24)均高于空白组(1.00±0.00) ($P<0.05$);在PND7, ARNT2与AhR结合蛋白的相对表达量在20、40 mg·kg⁻¹ BaP组(1.75±0.59、1.83±0.49)均高于空白组(1.00±0.00) ($P<0.05$)。

[结论] 孕期BaP暴露会引起子鼠皮质内AhR表达水平升高,并且增强AhR与ARNT2的相互作用。

关键词: 苯并[a]芘; 芳香烃受体; 芳香烃受体核转运蛋白2; 蛋白质相互作用

Effects of benzo[a]pyrene exposure during pregnancy on expression of aryl hydrocarbon receptor and its interaction with aryl hydrocarbon receptor nuclear transporter 2 in offspring rat cortex
HAN Juntao, ZHANG Yu, NIE Jisheng (Department of Occupational Health, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

Abstract:

[Background] Benzo[a]pyrene (BaP), an xenobiotic compound, can induce dysfunction of related transcription regulators, but the underlying mechanism has not been clarified yet.

[Objective] This study aims to investigate the effects of BaP exposure during pregnancy on aryl hydrocarbon receptor (AhR) expression and the interaction between AhR and aryl hydrocarbon receptor nuclear transporter 2 (ARNT2).

[Methods] Sixty healthy SD rats were selected and mated 1:1. The pregnant rats were divided into a blank group, an olive oil group, and 10, 20, and 40 mg·kg⁻¹ BaP groups, with 6 rats in each group. At gestational day 17-19, the 30 pregnant rats were intraperitoneally injected with BaP, olive oil, or received no treatment as designed. The expression of AhR and its interaction with ARNT2 in the cortex of offspring rats on postnatal day 1 (PND1) and postnatal day 7 (PND7) were measured by Western blotting and Co-Immunoprecipitation assay.

[Results] According to the results of Western blotting: in the PND1 offspring cortex, the AhR relative expression level was increased in the 40 mg·kg⁻¹ BaP group (1.91±0.74) compared with the blank group (1.00±0.00) ($P<0.05$); in the cortex of PND7 offspring, the AhR relative

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.20515

组稿专家

陈涛(苏州大学医学部公共卫生学院),
E-mail: tchen@suda.edu.cn

基金项目

国家自然科学基金面上项目(81673143)

作者简介

韩隽韬(1994—),男,硕士生;
E-mail: ak47han@163.com

通信作者

聂继盛, E-mail: niejisheng@126.com

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2020-10-31

录用日期 2021-03-04

文章编号 2095-9982(2021)04-0332-05

中图分类号 R114

文献标志码 A

►引用

韩隽韬, 张宇, 聂继盛. 孕期苯并[a]芘暴露对子代大鼠大脑皮质芳香烃受体表达及其与芳香烃受体核转运蛋白2相互作用的影响[J]. 环境与职业医学, 2021, 38(4): 332-335, 341.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20515

Funding

This study was funded.

Correspondence to

NIE Jisheng, E-mail: niejisheng@126.com

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2020-10-31

Accepted 2021-03-04

►To cite

HAN Juntao, ZHANG Yu, NIE Jisheng. Effects of benzo[a]pyrene exposure during pregnancy on expression of aryl hydrocarbon receptor and its interaction with aryl hydrocarbon receptor nuclear transporter 2 in offspring rat cortex[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(4): 332-335, 341.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20515

expression levels were increased in the 20 mg·kg⁻¹ BaP group (1.92±0.56) and the 40 mg·kg⁻¹ BaP group (1.77±0.62) ($P<0.05$). The results of Co-Immunoprecipitation assay showed that, on PND1, the binding amounts of ARNT2 to AhR were increased in the 10, 20, and 40 mg·kg⁻¹ BaP groups (1.74±0.27, 2.55±0.40, and 1.26±0.24, respectively) compared with the blank group (1.00±0.00) ($P<0.05$); on PND7, the bindings amounts were increased in the 20 and 40 mg·kg⁻¹ BaP groups (1.75±0.59 and 1.83±0.49) compared with the blank group (1.00±0.00) ($P<0.05$).

[Conclusion] Prenatal BaP exposure can cause elevated offspring AhR expression and enhance AhR-ARNT2 interaction.

Keywords: benzo[*a*]pyrene; aryl hydrocarbon receptor; aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator 2; protein interaction

多环芳烃是一类环境污染物,是煤、石油、木材、烟草以及有机高分子化合物等有机物不完全燃烧时产生的挥发性碳氢化合物。由于空气流动是多环芳烃的主要扩散途径,所以其在环境中广泛存在。暴露于多环芳烃的职业群体包括焦炉工人、烟囱清洁工、铝业工人等,他们主要的暴露途径为呼吸道和皮肤^[1]。多环芳烃的神经毒性越来越受到人们关注,其所致的不良结局主要为神经退行性变以及神经发育障碍。研究表明,暴露于多环芳烃的焦炉工,其神经行为功能改变明显,如感知、记忆功能改变,且与多环芳烃暴露存在剂量-反应关系^[2]。体外研究发现,多环芳烃会影响终末神经分化,提示其会从胎儿早期开始对神经发育造成损伤^[3]。本课题组通过队列研究发现,产前暴露于多环芳烃会使后代神经发育评分降低^[4]。在前期的动物实验中,课题组发现大鼠孕期苯并[*a*]芘(benzo[*a*]pyrene, BaP)暴露会导致子代大鼠脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、活性调控骨架相关蛋白(activity regulated cytoskeleton associated protein, ARC)表达下降,并且造成子鼠神经行为改变^[5]。上述研究虽然指出多环芳烃具有一定的神经发育毒性,但是具体机制尚不明,需要进一步研究论证。

有研究表明,3~7环的多环芳烃可能会激活芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR),从而导致胚胎发育毒性^[6]。AhR与PER-ARNT-SIM(PAS)家族蛋白如芳香烃受体核转运蛋白2(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator 2, ARNT2)结合形成二聚体^[7]。ARNT2是神经细胞中重要的转录调控因子,它在细胞中的存在形式会影响相关靶基因的表达,从而与神经发育有关的蛋白的表达。目前有关AhR与ARNT结合并产生转录调节功能的研究较多^[8],而AhR是否可以与ARNT2发生相互作用,从而干扰ARNT2的正常转录功能还需要探讨。

本研究通过孕期BaP染毒孕鼠,来检测子代大鼠大脑皮质AhR表达及其与相关转录因子ARNT2相互作用的情况,试图从转录因子调控这个角度来解释BaP

所导致的神经发育相关蛋白表达下降的原因。

1 对象与方法

1.1 主要试剂与器材

BaP (Sigma-Aldrich, 美国), 橄榄油(成都科龙化工试剂厂, 中国), 蛋白提取试剂、Protein G 琼脂糖珠子(碧云天生物科技有限公司, 中国), AhR 抗体、ARNT2 抗体(Santa Cruz Biotechnology, 美国)。

1.2 动物分组及染毒

3月龄SD大鼠60只(雌雄比例1:1), 许可证号: SCXK(京)2012-0004。适应饲养后, 雌鼠与雄鼠1:1合笼过夜。怀孕大鼠随机分为空白组、橄榄油组, 以及10、20和40 mg·kg⁻¹(以体重计) BaP组。本研究采用了与前期研究^[9]一致的动物模型和剂量设置。前期研究发现BaP会导致BDNF表达下降并且试图从表观遗传调控来解释。但是在部分剂量、部分时间段中, BDNF的下降无法用表观遗传机制解释, 提示其他机制在其中发挥主要作用。所以本研究从转录因子调控角度来研究其中具体机制。30只孕鼠按照随机数字法分为每组6只, 受孕后17~19 d BaP组腹腔注射相应剂量BaP, 橄榄油组注射等量橄榄油, 空白组没有任何处理。为消除窝间子鼠出生数量差异, 将每组的子鼠数量调整为9~15只。本实验过程遵守国家有关实验动物管理和使用的规定。

1.3 子鼠大脑皮质蛋白提取

取各组出生后1 d (postnatal day 1, PND1) 和出生后7 d (postnatal day 7, PND7) 子鼠皮质, 按照每20 mg组织加入100~200 mL裂解液, 使用超声匀浆仪匀浆至充分裂解。在4℃条件下12 000×g离心3 min, 取上清, 即为皮质蛋白。使用BCA蛋白定量法测定蛋白量, 并将各组蛋白浓度调整至同一浓度, 加入0.25倍样品体积的上样缓冲液, 沸水浴5 min。

1.4 Western blotting法检测子鼠皮质中AhR蛋白表达

使用8% (质量分数) SDS分离蛋白样品, 蛋白上样量在30~50 mg之间, 100 V恒压电泳1 h, 转膜40 min, 250 V。随后, 5% (质量分数) 脱脂牛奶封闭4 h。一抗

(1:1000) 4℃冰箱孵育过夜, 使用TBST摇床洗脱3次, 每次10 min。使用相应的HRP标记二抗(1:8000)在37℃环境下孵育1 h。随后洗脱3次, 每次10 min。使用ECL试剂盒显色, 使用Quantity One 4.6.6软件分析目的蛋白光密度值并进行统计。

1.5 蛋白质免疫共沉淀法 (Co-Immunoprecipitation, Co-IP) 检测 AhR 与 ARNT2 的相互作用

将步骤1.4中提取的蛋白样品平均分为两份, 一份用于Western blotting法检测ARNT2表达情况, 另一份加入用于免疫沉淀的一抗(每100 mg蛋白加入1 mg AhR抗体), 4℃缓慢摇动过夜。再加入25 mL充分重悬的Protein G琼脂糖珠子, 4℃缓慢摇动6 h。1000×g离心5 min, 小心吸取上清, 注意不可吸掉Protein G珠子, 用上述准备蛋白样品的裂解液洗涤珠子3次, 完成最后一次洗涤后, 加入50 mL的1×SDS-PAGE电泳上样缓冲液, 沸水浴处理3~5 min。取适量样品用于SDS-PAGE电泳。

1.6 统计学分析

应用SPSS 22.0软件进行统计分析, 服从正态分布且方差齐性的计量资料采用单因素方差分析, 两两比较用LSD-t检验, 双侧检验水准 $\alpha=0.05$ 。使用GraphPad prism 7软件制图。

2 结果

2.1 不同时点子鼠皮质 AhR 蛋白表达

Western blotting法检测结果显示: 在PND1子鼠中, 相较于空白组, 40 mg·kg⁻¹ BaP组AhR蛋白表达升高($P<0.05$); 在PND7子鼠中, 相较于空白组, 20、40 mg·kg⁻¹ BaP组AhR蛋白表达升高($P<0.05$)。见图1和表1。

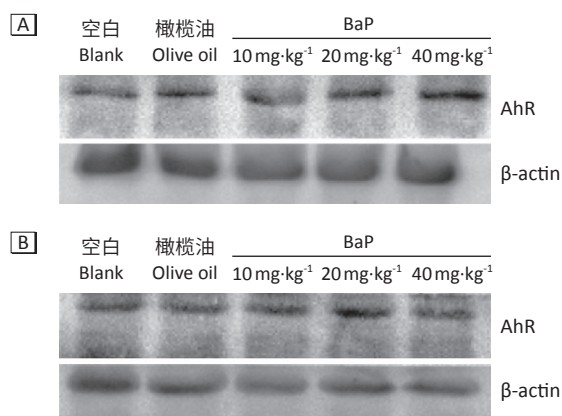


图1 孕期BaP暴露后在PND1 (A) 和PND7 (B) 子鼠皮质内 AhR 蛋白表达情况

Figure 1 The expressions of AhR protein in cortex of offspring rats on PND1 (A) and PND7 (B) following prenatal exposure to BaP

表1 孕期BaP暴露对不同时点子鼠皮质AhR蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effects of prenatal exposure to BaP on the expressions of AhR in cortex of offspring rats at different time points ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别 (Group)	PND1	PND7
空白 (Blank)	1.00±0.00	1.00±0.00
橄榄油 (Olive oil)	0.96±0.17	1.32±0.25
10 mg·kg ⁻¹ BaP	1.39±0.35	1.26±0.47
20 mg·kg ⁻¹ BaP	1.57±0.39	1.92±0.56*
40 mg·kg ⁻¹ BaP	1.91±0.74*	1.77±0.62*
F	3.795	3.631
P	0.025	0.022

[注] *: 与空白组对比, $P<0.05$ 。

[Note] *: Compared with the blank group, $P<0.05$.

2.2 不同时点子鼠皮质中 AhR 与 ARNT2 的相互作用

Co-IP检测结果显示: 在PND1, 10、20、40 mg·kg⁻¹ BaP组AhR-ARNT2相互作用较空白组增强($P<0.05$); 在PND7, 20、40 mg·kg⁻¹ BaP组AhR-ARNT2相互作用较空白组增强($P<0.05$)。见图2和表2。

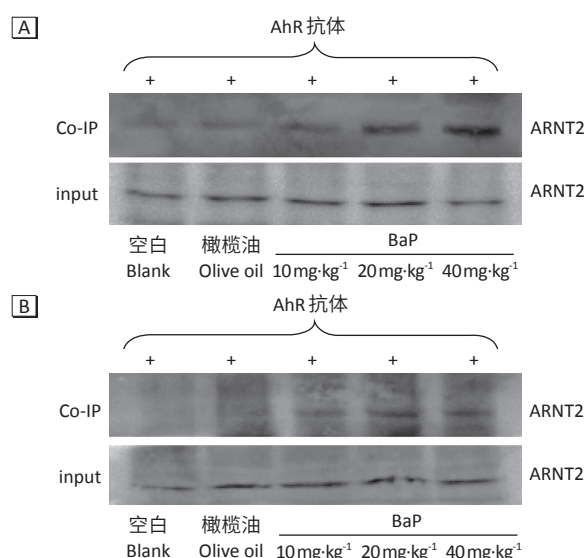


图2 孕期BaP暴露后在PND1 (A) 和PND7 (B) 子鼠皮质内 ARNT2与AhR的结合情况

Figure 2 The binding amounts of ARNT2 to AhR in cortex of offspring rats on PND1 (A) and PND7 (B) following prenatal exposure to BaP

表2 孕期BaP暴露对不同时点子鼠皮质AhR-ARNT2结合蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effects of prenatal exposure to BaP on the binding expressions of AhR and ARNT2 in cortex of offspring rats at different time points ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别 (Group)	PND1	PND7
空白 (Blank)	1.00±0.00	1.00±0.00
橄榄油 (Olive oil)	1.23±0.07	1.04±0.08
10 mg·kg ⁻¹ BaP	1.74±0.27*	0.91±0.13
20 mg·kg ⁻¹ BaP	2.55±0.40*	1.75±0.59*
40 mg·kg ⁻¹ BaP	1.26±0.24*	1.83±0.49*
F	28.017	6.379
P	<0.001	0.003

[注] *: 与空白组对比, $P<0.05$ 。

[Note] *: Compared with the blank group, $P<0.05$.

3 讨论

随着社会发展,化石燃料的大量燃烧,以及交通运输工具的增多,多环芳烃在环境中的水平急剧增加。多环芳烃具有生殖发育毒性,会增加孕产妇流产、死产的风险^[10]。母亲职业暴露于多环芳烃中,后代会产生神经发育损害,并有可能持续到成年期^[11]。本课题组之前的研究发现,孕期BaP暴露会导致子代大鼠神经发育有关的蛋白BDNF表达下降,从而引起子代大鼠学习记忆能力下降以及神经行为变化^[9]。影响上述基因和蛋白表达的主要途径有三条:(1)干扰基因序列,如产生DNA加合物^[12];(2)表观遗传调控,如DNA甲基化、组蛋白乙酰化、糖基化;(3)转录因子调控,具体分为发生在细胞核内的转录调控和在细胞质中的转录后调控。本研究试图从转录因子调控的角度解释前期研究发现的孕期BaP暴露引起BDNF下降的现象。

有研究发现,孕期BaP暴露会激活子代大鼠脑内AhR^[13],与本研究结果相吻合。AhR在细胞质中与热休克蛋白90、P53等蛋白形成复合物,一些生物异源性物质如二噁英、BaP会激活AhR,使其从复合物中解离出来。AhR进入细胞核之后会与不同的配体结合形成二聚体,这些二聚体可以与基因上的生物异源性物质反应元件结合产生抑制或促进转录的作用^[14]。本次实验的结果发现AhR可以与ARNT2发生相互作用,形成二聚体。从蛋白质结构上来看,AhR、ARNT和ARNT2同属于PAS蛋白家族,它们都含有碱性螺旋环螺旋结构^[15],拥有该结构的蛋白可以发生相互作用形成二聚体。这从蛋白质结构方面验证了本实验的结果。

ARNT2也可以作为一种神经转录因子与神经元PAS结构域蛋白4(neuronal PAS domain-containing protein 4, NPAS4)结合,来影响BDNF的表达,从而维持神经与突触的正常功能。具体机制为,NPAS4与ARNT2结合为异质二聚体转录调控因子,与大鼠BDNF启动子上的PAS反应元件结合,诱导BDNF启动子I和IV的表达^[16]。而当AhR与ARNT2结合时,会与其他正向调节因子产生竞争性抑制,导致转录因子的正常生理功能受到影响,这可能会对靶基因的转录起到抑制作用。

综上所述,本研究发现,孕期多环芳烃暴露导致子代出生早期大脑皮质中AhR表达升高,AhR与ARNT2发生相互作用,推测该相互作用可能阻断了ARNT2在靶基因表达中的正常生理功能。

参考文献

- [1] HAN Y, XIA Y, ZHU P, et al. Reproductive hormones in relation to polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) metabolites among non-occupational exposure of males [J]. *Sci Total Environ*, 2010, 408 (4): 768-773.
- [2] ALICANDRO G, ROTA M, BOFFETTA P, et al. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and lymphatic and hematopoietic neoplasms: a systematic review and meta-analysis of cohort studies [J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90 (11): 2643-2656.
- [3] SLOTKIN TA, SKAVICUS S, CARD J, et al. In vitro models reveal differences in the developmental neurotoxicity of an environmental polycyclic aromatic hydrocarbon mixture compared to benzo [a] pyrene: Neuronotypic PC12 Cells and embryonic neural stem cells [J]. *Toxicology*, 2017, 377: 49-56.
- [4] CAO X, LI J, CHENG L, et al. The associations between prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites, umbilical cord blood mitochondrial DNA copy number, and children's neurobehavioral development [J]. *Environ Pollut*, 2020, 265: 114594.
- [5] 吕胜杰, 宁丽俊, 王琦, 等. 孕期苯并[a]芘暴露对子鼠神经行为及海马Arc mRNA表达的影响 [J]. *环境与职业医学*, 2019, 36 (2): 128-133.
LÜ SJ, NING LJ, WANG Q, et al. Effects of prenatal benzo [a] pyrene exposure on neurobehavior and Arc mRNA expression in hippocampus of offspring rats [J]. *J Environ Occup Med*, 2019, 36 (2): 128-133.
- [6] KAMELIA L, DE HAAN L, KETELSLEGERS HB, et al. In vitro prenatal developmental toxicity induced by some petroleum substances is mediated by their 3- to 7-ring PAH constituent with a potential role for the aryl hydrocarbon receptor (AhR) [J]. *Toxicol Lett*, 2019, 315: 64-76.
- [7] HAO N, BHAKTI VL, PEET DJ, et al. Reciprocal regulation of the basic helix-loop-helix/Per-Arnt-Sim partner proteins, Arnt and Arnt2, during neuronal differentiation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41 (11): 5626-5638.
- [8] JURICEK L, COUMOUL X. The aryl hydrocarbon receptor and the nervous system [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (9): 2504.
- [9] 吕胜杰. 孕期苯并[a]芘的暴露对大鼠子代神经行为和BDNF基因5hmc的影响 [D]. 太原: 山西医科大学, 2019.

(下转第341页)

- embryos by targeting AhR and Wnt/ β -catenin signal pathways [J]. *Environ Toxicol*, 2017, 32 (10) : 2316-2322.
- [14] CHEN T, JIN H, WANG H, et al. Aryl hydrocarbon receptor mediates the cardiac developmental toxicity of EOM from PM_{2.5} in P19 embryonic carcinoma cells [J]. *Chemosphere*, 2019, 216 : 372-378.
- [15] BOON RA, DIMMELER S. MicroRNAs in myocardial infarction [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12 (3) : 135-142.
- [16] CHEN Y, ZHAO Y, CHEN W, et al. MicroRNA-133 overexpression promotes the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells on acute myocardial infarction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8 (1) : 268.
- [17] PAIVA S, AGBULUT O. MiRroring the multiple potentials of microRNAs in acute myocardial infarction [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2017, 4 : 73.
- [18] MULERO-NAVARRO S, FERNANDEZ-SALGUERO P M. New trends in aryl hydrocarbon receptor biology [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2016, 4 : 45.
- [19] DUAN J, YU Y, LI Y, et al. Comprehensive understanding of PM_{2.5} on gene and microRNA expression patterns in zebrafish (*Danio rerio*) model [J]. *Sci Total Environ*, 2017, 586 : 666-674.
- [20] HUANG Y, JIANG B, XIA Y, et al. Downregulation of miR-133a contributes to the cardiac developmental toxicity of trichloroethylene in zebrafish [J]. *Chemosphere*, 2020, 251 : 126610.
- [21] ZHOU F Q, ZHAO X F, LIU F Y, et al. MiR-101a attenuates myocardial cell apoptosis in rats with acute myocardial infarction via targeting TGF- β /JNK signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23 (10) : 4432-4438.
- [22] JAYASUNDARA N, VAN TIEM GARNERL, MEYER J N, et al. AHR2-mediated transcriptomic responses underlying the synergistic cardiac developmental toxicity of PAHs [J]. *Toxicol Sci*, 2015, 143 (2) : 469-481.
- [23] ROGERS S, DE SOUZA AR, ZAGO M, et al. Aryl hydrocarbon receptor (AhR) -dependent regulation of pulmonary miRNA by chronic cigarette smoke exposure [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 : 40539.
- [24] LI J, LIU Y, JIN Y, et al. Essential role of Cdc42 in cardiomyocyte proliferation and cell-cell adhesion during heart development [J]. *Dev Biol*, 2017, 421 (2) : 271-283.

(英文编辑：汪源；责任编辑：汪源)

(上接第 335 页)

- LYU S J. Effects of exposure to benzo (α) pyrene during pregnancy on neurobehavior and *BDNF* gene 5hmc in offspring rats [D]. Taiyuan : Shanxi Medical University, 2019.
- [10] O'BRIEN J L, LANGLOIS P H, LAWSON C C, et al. Maternal occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and craniosynostosis among offspring in the National Birth Defects Prevention Study [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2016, 106 (1) : 55-60.
- [11] LANGLOIS P H, HOYT A T, DESROSIERS T A, et al. Maternal occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and small for gestational age offspring [J]. *Occup Environ Med*, 2014, 71 (8) : 529-35.
- [12] ROTHMAN N, CORREA-VILLASEÑOR A, FORD D P, et al. Contribution of occupation and diet to white blood cell polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in wildland firefighters [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1993, 2 (4) : 341-347.
- [13] WAKX A, NEDDER M, TOMKIEWICZ-RAULET C, et al. Expression, localization, and activity of the aryl hydrocarbon receptor in the human placenta [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (12) : 3762.
- [14] LARIGOT L, JURICEK L, DAIROU J, et al. AhR signaling pathways and regulatory functions [J]. *Biochim Open*, 2018, 7 : 1-9.
- [15] SHARMA N, POLLINA E A, NAGY M A, et al. ARNT2 tunes activity-dependent gene expression through NCoR2-mediated repression and NPAS4-mediated activation [J]. *Neuron*, 2019, 102 (2) : 390-406.e9.
- [16] PRUUNSILD P, SEPP M, ORAV E, et al. Identification of cis-elements and transcription factors regulating neuronal activity-dependent transcription of human *BDNF* gene [J]. *J Neurosci*, 2011, 31 (9) : 3295-3308.

(英文编辑：汪源；责任编辑：汪源)