

# 砷暴露对大鼠 E2 和 TRH 及其受体 mRNA 表达的影响

赖媛艳, 李宏昀, 马晓薇, 江志红, 吴军

新疆医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室, 新疆 乌鲁木齐 830011



DOI 10.11836/JEOM22274

## 摘要:

**[背景]** 砷能够进入下丘脑诱导雌激素效应并干扰神经内分泌系统正常功能。甲状腺内分泌系统(下丘脑-垂体-甲状腺轴)作为主要的内分泌系统之一, 砷对其毒性机制尚不明确。

**[目的]** 为了解不同砷暴露水平下对大鼠雌二醇(E2)、下丘脑促甲状腺激素释放激素(TRH)及其受体(ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 、TRHR)mRNA 的影响及其可能的下丘脑毒作用途径与机制。

**[方法]** 70 只 Wister 大鼠随机分组为: 正常对照组(无菌水); 低、中、高剂量砷染毒组(0.8、4.0、20.0 mg·kg<sup>-1</sup> 亚砷酸钠); 雌激素受体抑制剂(ICI182780)干预低、中、高剂量砷染毒组; 每组 10 只, 雌雄各半。染毒组大鼠给予 19 周 NaAsO<sub>2</sub> 饮水染毒, 干预组于第 9 周经尾静脉注射 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> ICI182780, 每周 3 次。通过 ELISA 检测大鼠血清中的 E2、TRH 水平; 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测大鼠下丘脑组织中雌激素受体  $\alpha$ (ER $\alpha$ )、雌激素受体  $\beta$ (ER $\beta$ ) 和 TRH 受体(TRHR) mRNA 表达水平。

**[结果]** (1) E2 及其受体 mRNA: 与对照组相比, 雌性大鼠血清 E2 水平在低、中剂量砷染毒组上升( $P < 0.05$ ), 雄性大鼠血清 E2 水平在低、中、高剂量砷染毒组上升( $P < 0.05$ ), 雌性 E2 变化大于雄性; 在下丘脑组织中, 与对照组相比, 雌性大鼠 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  mRNA 相对表达量在低、中、高剂量砷染毒组上升( $P < 0.05$ ), 雄性大鼠 ER $\alpha$  mRNA 相对表达量在低、中、高剂量砷染毒组上升( $P < 0.05$ )。 (2) TRH 及其受体 TRHR mRNA: 与对照组相比, 雌性大鼠血清 TRH 水平在高剂量砷染毒组上升( $P < 0.05$ ), 雌性大鼠 TRHR mRNA 相对表达量在低、中、高剂量砷染毒组上升( $P < 0.05$ )。 (1) 和 (2) 结果提示雌性较雄性更易出现砷暴露后 E2 及其受体和 TRH 及其受体基因的异常改变。 (3) 与雌性大鼠中高剂量砷染毒组相比, 增加 ICI182780 干预后, 抑制了砷暴露诱导 TRH、TRHR 的表达 ( $P < 0.05$ ), 提示在下丘脑中砷可能是通过诱发类雌激素效应对 TRH、TRHR 产生毒作用。

**[结论]** 砷暴露可以在下丘脑诱发类雌激素效应, 干扰甲状腺功能, 并表现出剂量依赖及性别差异。E2 及 TRH 及其受体可能是砷类雌激素效应的毒作用途径。

**关键词:** 砷; 下丘脑; 类雌激素效应; 促甲状腺激素释放激素; 促甲状腺激素释放激素受体

**Effects of arsenic exposure on E2 and TRH and their receptor mRNA expressions in rats** LAI Yuanyan, LI Hongyun, MA Xiaowei, JIANG Zhihong, WU Jun (Department of Labor Health and Environmental Health, School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

## Abstract:

**[Background]** Arsenic can enter the hypothalamus to induce estrogen effect and interfere with the function of the neuroendocrine system. The thyroid endocrine system (hypothalamic-pituitary-thyroid axis) is one of the main endocrine systems, and the mechanism of arsenic-induced thyroid endocrine toxicity is still unclear.

**[Objective]** To investigate the effects of different arsenic exposure levels on estradiol (E2), hypothalamic thyrotropin-releasing hormone (TRH), and their receptor (ER $\alpha$ , ER $\beta$ , and TRHR) mRNAs in rats and the possible hypothalamic toxic pathway and mechanism.

**[Methods]** Seventy Wister rats were randomly divided a control group (sterile water); low-, medium-, and high-dose arsenic exposure groups [0.8, 4.0, and 20.0 mg·kg<sup>-1</sup> sodium arsenite (NaAsO<sub>2</sub>)]; estrogen receptor inhibitor (ICI182780) intervention + low-, medium-, and high-dose arsenic exposure groups; with 10 animals in each group, half male and half female. Rats in the arsenic exposure groups were exposed to NaAsO<sub>2</sub> by drinking water for 19 weeks, and rats in the

## 基金项目

新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2018D01C147); 新疆维吾尔自治区十四五特色学科-公共卫生与预防医学项目

## 作者简介

赖媛艳(1997-), 女, 硕士生;  
E-mail: 2661474065@qq.com

## 通信作者

吴军, E-mail: wuj1997@sohu.com

## 作者中包含编委会成员

伦理审批 已获取  
利益冲突 无申报  
收稿日期 2022-07-01  
录用日期 2022-11-23

文章编号 2095-9982(2023)01-0089-06

中图分类号 R114

文献标志码 A

## ►引用

赖媛艳, 李宏昀, 马晓薇, 等. 砷暴露对大鼠 E2 和 TRH 及其受体 mRNA 表达的影响 [J]. 环境与职业医学, 2023, 40(1): 89-94.

## ►本文链接

[www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22274](http://www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22274)

## Funding

This study was funded.

## Correspondence to

WU Jun, E-mail: wuj1997@sohu.com

## Editorial Board Members' authorship

No

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2022-07-01

Accepted 2022-11-23

## ► To cite

LAI Yuanyan, LI Hongyun, MA Xiaowei, et al. Effects of arsenic exposure on E2 and TRH and their receptor mRNA expressions in rats[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2023, 40(1): 89-94.

## ► Link to this article

[www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22274](http://www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22274)

intervention groups were injected with 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> ICI182780 via tail vein at week 9, 3 times a week. The levels of E2 and TRH in serum of rats were detected by ELISA. The expression levels of estrogen receptor  $\alpha$  (*ER $\alpha$* ), estrogen receptor  $\beta$  (*ER $\beta$* ), and TRH receptor (*TRHR*) mRNAs in hypothalamus of rats were detected by real-time PCR (RT-PCR).

**[Results]** (1) E2 and its receptor mRNA: Compared with the control group, the serum E2 level of female rats was increased in the low-dose and the medium-dose arsenic exposure groups ( $P < 0.05$ ), and the serum E2 level of male rats was increased in the low-dose, the medium-dose, and the high-dose arsenic exposure groups ( $P < 0.05$ ), and the change of female E2 was greater than that of male rats. Compared with the control group, the relative expression levels of *ER $\alpha$*  mRNA and *ER $\beta$*  mRNA in female rats were increased in the low-dose, the medium-dose, and the high-dose arsenic exposure groups ( $P < 0.05$ ), so were the relative expression levels of *ER $\alpha$*  mRNA in male rats ( $P < 0.05$ ). (2) TRH and its receptor mRNA: Compared with the control group, the serum TRH level of female rats was increased in the high-dose arsenic group ( $P < 0.05$ ), the relative expression level of *TRHR* mRNA was increased in the low-dose, the medium-dose, and the high-dose arsenic exposure groups ( $P < 0.05$ ). Results (1) and results (2) suggested that females were more likely than males to have abnormal changes in E2, TRH, and related receptor genes after arsenic exposure. (3) Compared with female rats in the medium-high dose arsenic exposure group, the expressions of TRH and TRHR induced by arsenic exposure were inhibited after the intervention of ICI182780 ( $P < 0.05$ ), suggesting that arsenic in the hypothalamus may have toxic effects on TRH and TRHR by inducing estrogen-like effects.

**[Conclusion]** Arsenic exposure can induce estrogen-like effects in the hypothalamus, interfere with thyroid function, and show dose-dependent and sex differences. E2 and TRH and their receptors may be the toxic pathway of arsenic-related estrogen-like effect.

**Keywords:** arsenic; hypothalamus; estrogen-like effect; thyrotropin-releasing hormone; thyrotropin-releasing hormone receptor

砷是一种环境内分泌干扰物(environmental endocrine disrupting chemicals, EDCs), 美国毒物和疾病登记署根据毒物的毒性、暴露频率和暴露可能性, 将砷列为第一位<sup>[1]</sup>。砷中毒主要包括职业性砷中毒和生活环境介质污染后接触砷导致的砷中毒, 上述情况多发生在高浓度砷暴露环境。研究显示, 长期低浓度砷暴露可导致中枢神经系统障碍<sup>[2]</sup>、内分泌系统紊乱<sup>[3]</sup>, 甚至是癌症的发生, 如甲状腺癌(thyroid cancer, TC)、乳腺癌等<sup>[4-5]</sup>。但砷的致病机制尚未完全阐明。

EDCs 是指存在于体外环境中, 可进入人体内影响激素的合成、分泌及作用, 进而破坏内分泌系统稳态的物质<sup>[3]</sup>。甲状腺内分泌系统是重要的内分泌系统之一, 主要由下丘脑、垂体、甲状腺组成, 砷可能穿过血脑屏障进入下丘脑影响甲状腺相关激素的合成分泌(如 TRH), 进而破坏甲状腺内分泌系统功能。Sun 等<sup>[6]</sup>研究表示砷暴露可通过改变下丘脑-垂体-甲状腺轴(hypothalamic-pituitary-thyroid, HPT)的基因转录对甲状腺内分泌系统造成损伤。此外, E2 是一种重要的内源性雌激素, E2 与 *ER $\alpha$* 、*ER $\beta$*  结合产生雌激素效应, E2 及其受体也对大脑发挥作用, 研究发现 *ER $\alpha$*  和 *ER $\beta$*  可以在下丘脑中表达<sup>[7]</sup>。砷作为一种 EDCs 可影响雌激素及其受体表达<sup>[8]</sup>, 发挥雌激素干扰效应, 影响内分泌系统稳态。Zsarnovszky 等<sup>[9]</sup>发现在脑部组织中, 可观察到甲状腺激素和雌激素受体之间相互关联的生物学效应, 并认为两者与砷等 EDCs 间可能有相互作用。这提示砷可能在下丘脑中诱发类雌激素效应, 进而影响下丘脑对 TRH 信号传导的调控, 但还需要实验证据。

流行病学研究表明<sup>[10-12]</sup>, 与砷暴露有关的中枢神经系统和 TC 等疾病的发生率存在性别差异。研究认为砷作为 EDCs 在其中起着重要的作用, 雌激素及其受体成为砷致病诱导性别差异研究的重点<sup>[11-13]</sup>。Pandey 等<sup>[14]</sup>的研究表明, 砷在雄性、雌性和缺乏 E2 的雌性中引起的神经毒性不同, 认为雌激素效应可能是男性比女性更容易受到砷引起的神经毒性的原因之一。Mahmood 等<sup>[15]</sup>认为 E2 能影响下丘脑释放激素影响内分泌功能, 甲状腺功能受到 HPT 轴调控; Tan 等<sup>[16]</sup>的实验结果也进一步证实雌激素可能影响 HPT 轴。然而, TC 的女性发病率高于男性, 这与神经毒性的性别特征不同, 提示砷诱导的靶器官类雌激素效应与神经内分泌的具体关系还需深入探讨。

本研究的主要目的是探讨不同砷暴露水平下大鼠 E2 及其受体、TRH 及其受体表达的变化及性别差异特征。同时观察 ICI182780 干预后, 对 E2 及其受体和 TRH 信号传导相关基因的影响, 并初步探究砷暴露是否会诱导下丘脑的类雌激素效应及其可能的毒性作用机制, 为防治低砷暴露相关的内分泌系统疾病提供科学依据和研究基础。

## 1 对象与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

**1.1.1 主要仪器** 全波长酶标仪(Multiskan GO 型)、实时荧光定量 PCR 仪(QuanStudio 6 Flex 型)(美国 Thermo Fisher Scientific)。

**1.1.2 主要试剂** ICI182780(美国 Med Chem Express),

E2(货号:CSB-E05110r)ELISA试剂盒(CUSABIO公司),cDNA逆转录试剂盒、荧光定量试剂盒(TaKaRa公司)。中国上海生工生物公司设计合成引物,见表1。

表1 RT-PCR中各引物序列  
Table 1 Primer sequences of RT-PCR

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
GAPDH	GACATGCCCGCTGGAGAAAC	AGCCAGGATGCCCTTTAGT
ER $\alpha$	TCCTCCTCATCTTTCCCATATCG	GCATCTCCAGCAGCAGGTCATAG
ER $\beta$	ATCTCCTCCAGCAGCAGTCAG	CATCTCCAGCAGCAGGTCATACAC
TRHR	CTTGTTGGTGGTTATCTGTGGACTGG	CAGGTAGCAGTTTGTAGCGGTTCTC

## 1.2 方法

**1.2.1 动物模型设计** 选用新疆医科大学实验动物中心4周龄Wistar大鼠70只,雌性和雄性各35只,雌雄不同笼,在SPF动物房(室温:18~22℃,湿度:40%~60%)内饲养20周,12h通风照明1次。正常对照组饮用无菌水,经预实验测定大鼠NaAsO<sub>2</sub>半数致死量(medianlethaldose, LD<sub>50</sub>)为100 mg·kg<sup>-1</sup>,按照亚慢性毒性实验设计原则和相关文献<sup>[17]</sup>,以NaAsO<sub>2</sub> LD<sub>50</sub>的1/5、1/25和1/125(即20.0、4.0、0.8 mg·kg<sup>-1</sup>)确定高、中、低砷暴露剂量,染毒19周。参照毒理学亚急性动物实验周期4~8周的范围,本研究选择经砷持续染毒8周后,产生一定的毒性效应,第9周再行干预,通过尾静脉注射给予ICI182780干预组大鼠0.5 mg·kg<sup>-1</sup>的ICI182780,该剂量根据产品说明书推荐剂量范围和预实验验证可以产生雌激素受体抑制,每周3次。分组情况为:正常对照组(无菌水);低剂量砷染毒组(0.8 mg·kg<sup>-1</sup> NaAsO<sub>2</sub>);中剂量砷染毒组(4.0 mg·kg<sup>-1</sup> NaAsO<sub>2</sub>);高剂量砷染毒组(20.0 mg·kg<sup>-1</sup> NaAsO<sub>2</sub>);ICI182780干预低剂量砷染毒组;ICI182780干预中剂量砷染毒组;ICI182780干预高剂量砷染毒组。

每组大鼠第19周末麻醉,腹主动脉取血,提前4℃预冷离心机,样品以3000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上清液于-80℃保存。腹主动脉取血后,冰下摘取大鼠下丘脑,置于冻存管在-80℃保存。本实验通过新疆医科大学第一附属医院实验动物伦理委员会审批(批号:IACUC-20190226-33)。

**1.2.2 ELISA法测定大鼠血清中E2含量** 取-80℃保存的大鼠血清样品,根据说明书检测E2含量。

**1.2.3 实时荧光定量PCR(RT-PCR)** 取-80℃保存的大鼠下丘脑组织,根据Trizol提取总RNA法的说明操作,使用分光光度计(型号:Nano Drop 2000 V1.0)测其浓度值以及纯度。-20℃保存反转录合成的cDNA。根

据荧光定量试剂盒说明书配制20 μL反应体系,反应条件:(1)控制阶段:95℃、30 s;(2)扩增阶段:95℃、5 s,60℃退火34 s;(3)45个循环。以GAPDH基因为内参基因,运用2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算目的基因mRNA相对表达量,ΔΔCt=(Ct<sub>实验组目的基因</sub>-Ct<sub>实验组GAPDH基因</sub>)-(Ct<sub>对照组目的基因</sub>-Ct<sub>对照组GAPDH基因</sub>)。

## 1.3 统计学分析

使用SPSS 26.0软件进行统计学分析,计量资料用均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )描述,数据服从正态,组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),任意两组间比较时,方差齐采用LSD-t检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

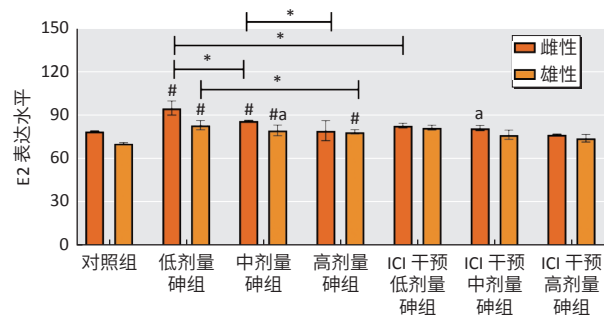
## 2 结果

### 2.1 一般情况

大鼠染毒期间,总体情况良好,各组饮水量、肢体活动正常,部分大鼠砷染毒后期出现情绪异常、毛发干硬、睡眠紊乱的情况。平均初始体重(130.56±15.99)g,实验后为(337.42±99.82)g,对照组和各处理组大鼠体重上升趋势基本一致。染毒前后,各处理组的体重均值与对照组比较,差异无统计学意义(P>0.05)。

### 2.2 大鼠雌激素相关指标

**2.2.1 大鼠血清E2表达情况** 与对照组比较,雌性低、中剂量砷染毒组E2水平升高(P<0.05),雄性低、中、高剂量砷染毒组E2水平升高(P<0.05);提示:砷染毒后雌性E2变化较雄性明显。与雌性中低剂量砷染毒组相比,增加ICI182780干预后,降低了低砷暴露诱导的E2表达(P<0.05),见图1。



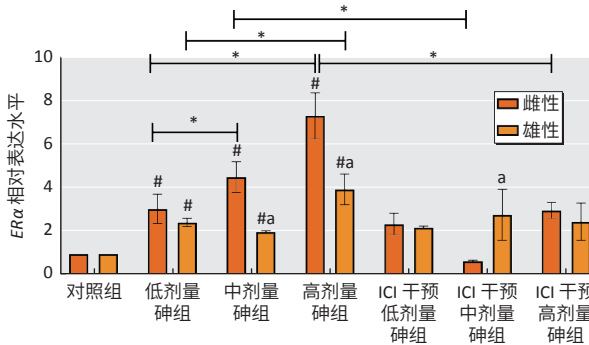
[注] #: 与对照组比, P<0.05; \*: 同性别两组比较, P<0.05; a: 与同组雌性比较, P<0.05。

图1 各组大鼠血清中E2表达情况(n=5, ng·L<sup>-1</sup>,  $\bar{x} \pm s$ )

Figure 1 Expression of E2 in serum of rats in each group (n=5, ng·L<sup>-1</sup>,  $\bar{x} \pm s$ )

**2.2.2 大鼠下丘脑ER $\alpha$  mRNA相对表达水平** 与对照组比较,雌性低、中、高剂量砷染毒组ER $\alpha$  mRNA表达升高,随着砷染毒剂量增加,ER $\alpha$  mRNA表达逐渐上升,中、高剂量砷染毒组均高于低剂量砷染毒组(P<0.05)。

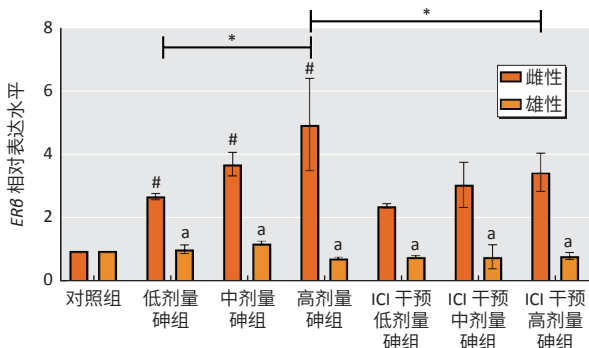
与对照组比较, 雄性低、中、高剂量砷染毒组  $ER\alpha$  mRNA 表达升高, 高剂量砷染毒组高于低剂量砷染毒组 ( $P < 0.05$ ), 砷促进雄性  $ER\alpha$  mRNA 表达, 但变化不如雌性明显。与雌性低、中剂量砷染毒组比较, 增加 ICI182780 干预后  $ER\alpha$  mRNA 表达降低 ( $P < 0.05$ )。中、高剂量砷染毒组和 ICI182780 干预中剂量砷组可见  $ER\alpha$  mRNA 表达存在性别差异 ( $P < 0.05$ ), 见图 2。



[注] #: 与对照组比,  $P < 0.05$ ; \*: 同性别两组比较,  $P < 0.05$ ; a: 与同组雌性比较,  $P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠下丘脑  $ER\alpha$  mRNA 相对表达情况 ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )  
Figure 2 Relative expression of  $ER\alpha$  mRNA in hypothalamus of rats in each group ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

**2.2.3 大鼠下丘脑  $ER\beta$  mRNA 相对表达水平** 与对照组比较, 雌性低、中、高剂量砷染毒组  $ER\beta$  mRNA 表达升高 ( $P < 0.05$ ), 高剂量砷染毒组高于低剂量砷染毒组 ( $P < 0.05$ )。与雌性高剂量砷染毒组比较, 增加 ICI182780 干预后  $ER\beta$  mRNA 表达降低 ( $P < 0.05$ )。各干预组间  $ER\beta$  mRNA 表达存在性别差异 ( $P < 0.05$ ), 表明  $ER\beta$  可能是砷通过雌激素效应诱导性别差异的关键靶点之一, 见图 3。



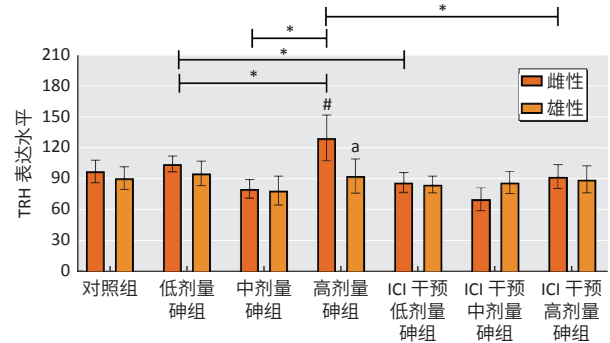
[注] #: 与对照组比,  $P < 0.05$ ; \*: 同性别两组比较,  $P < 0.05$ ; a: 与同组雌性比较,  $P < 0.05$ 。

图 3 各组大鼠下丘脑  $ER\beta$  mRNA 相对表达情况 ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )  
Figure 3 Relative expression of  $ER\beta$  mRNA in hypothalamus of rats in each group ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

## 2.3 大鼠 TRH 及 TRHR mRNA 表达情况

**2.3.1 TRH 表达情况** 在高剂量砷染毒作用下, 雌性

大鼠血清 TRH 水平较对照组上升 ( $P < 0.05$ ), 且高剂量砷染毒组中表达出现性别差异 ( $P < 0.05$ )。雌性大鼠中, 与低、高剂量砷染毒组相比, 增加 ICI182780 干预后 TRH 的表达水平下降 ( $P < 0.05$ ), 见图 4。

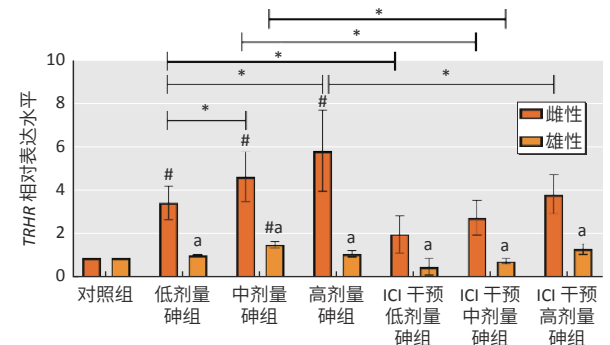


[注] #: 与对照组比,  $P < 0.05$ ; \*: 同性别两组比较,  $P < 0.05$ ; a: 与同组雌性比较,  $P < 0.05$ 。

图 4 各组大鼠血清中 TRH 表达情况 ( $n=5$ ,  $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Figure 4 Expression of TRH in serum of rats in each group ( $n=5$ ,  $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

**2.3.2 TRHR mRNA 相对表达水平** 与对照组比较, 雌性低、中、高剂量砷染毒组  $TRHR$  mRNA 表达升高 ( $P < 0.05$ ),  $TRHR$  mRNA 在低、中、高剂量砷染毒组依次上升 ( $P < 0.05$ ), 表明随砷染毒剂量增加,  $ER\beta$  表达水平上升。与雌性低、中、高剂量砷组比较, 采用 ICI182780 干预后  $TRHR$  mRNA 的表达下降 ( $P < 0.05$ )。各组间  $TRHR$  表达存在性别差异 ( $P < 0.05$ ), 见图 5。



[注] #: 与对照组比,  $P < 0.05$ ; \*: 同性别两组比较,  $P < 0.05$ ; a: 与同组雌性比较,  $P < 0.05$ 。

图 5 各组大鼠的下丘脑  $TRHR$  mRNA 相对表达情况 ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Figure 5 Relative expression of  $TRHR$  mRNA in hypothalamus of rats in each group ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

## 3 讨论

E2 与其受体 ( $ER\alpha$ 、 $ER\beta$ ) 结合形成的复合物能够诱导基因信号传导进而改变相关基因的表达, 此外, E2 对内分泌系统的调节发挥重要作用,  $ER\alpha$  和



ER $\beta$  是下丘脑神经元中调节信号传递的关键靶点之一<sup>[18]</sup>。E2 和甲状腺激素是大脑发育所必须的, Cohen 等<sup>[19]</sup>发现二者间存在相互作用, 甲状腺激素激活可能存在较强的雌激素依赖性。Wang 等<sup>[20]</sup>的研究也证实 ER $\alpha$  与甲状腺乳头癌细胞迁移和侵袭有关, 调节 ER $\alpha$  的主要作用因子可能成为治疗侵袭性甲状腺乳头状癌的有效途径。

砷作为 EDCs, 可能通过破坏 E2 或作为类雌激素与 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  结合, 干扰 E2 和 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  的信号转导<sup>[3]</sup>。Chen 等<sup>[21]</sup>研究认为砷暴露会导致 E2 下降, 本实验研究不同砷暴露剂量对 E2 水平的影响, 发现低剂量砷暴露可促进 E2 表达, 然而随着砷暴露剂量增加, 在高剂量砷暴露组中 E2 表达水平明显降低, 高剂量砷暴露可能在一定程度上抑制了低剂量砷诱发的 E2 高表达, 表明外源性砷暴露对内源性 E2 的作用可能不是线性的过程, 即: 当低浓度砷暴露时, 促进 E2 表达, 随着砷暴露剂量达到一定浓度时, E2 高表达趋势受到削弱, 众所周知, E2 对神经系统具有保护作用, 雄性体内 E2 含量较雌性更低可能是其更容易遭受砷诱导的神经毒性损伤的原因之一。通过饮水砷染毒, 雌性大鼠下丘脑组织中 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  mRNA 表达较对照组上升, 并随砷染毒剂量增加其表达量升高, 这与古丽达娜·塔布斯别克等<sup>[22]</sup>的研究结果一致, 表明砷诱导 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  mRNA 表达可能具有剂量依赖性, 砷对下丘脑的损伤可能与 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  mRNA 水平升高有关。在砷致下丘脑毒性的研究发现 E2 诱导的 ER 升高能够影响甲状腺激素合成和分泌<sup>[9]</sup>。课题组前期<sup>[17]</sup>对大鼠甲状腺组织检测也发现砷暴露会导致细胞器组织形态学损伤。本研究的雌性大鼠中, 高剂量砷染毒组 TRH 水平较对照组上升, 结合前期研究<sup>[17]</sup>高剂量砷染毒组促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)较对照组具有相同的上升趋势, 可以猜测上游激素 TRH 表达上升进一步激活下游激素 TSH 表达, 这与 TRH 促进 TSH 合成和分泌的反馈调控机制相符。TSH 水平增高是 TC 的独立危险因素, 这提示高砷暴露对甲状腺内分泌系统功能紊乱产生毒性作用。

人群流行病学调查报道了砷暴露中 TC 女性发病率高于男性, Derwahl 等<sup>[23]</sup>认为雌激素及其受体可能是甲状腺疾病发生性别差异的原因之一。本实验中, 雌性大鼠下丘脑 ER $\alpha$  mRNA 的表达高于雄性, 雌性下丘脑组织中的 ER $\beta$  mRNA 表达随砷染毒剂量增加而升高, 而雄性 ER $\beta$  mRNA 表达不受砷暴露影响, 提示砷可能通过影响 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  mRNA 基因表达以诱导疾病性

别差异。Che 等<sup>[13]</sup>也认为 ER 及其作用可能在砷诱导肺癌发病率的性别差异中起关键作用。已有研究报道砷暴露会对 HPT 轴的基因转录产生影响<sup>[6]</sup>。本研究对 HPT 中关键指标 TRH 激素检测发现, 高剂量砷暴露下 TRH 表达水平出现性别差异, 而且加入 ICI182780 干预后, 雌性大鼠 TRH 表达水平下降, 推测砷可能通过诱导类雌激素效应对 HPT 产生毒性作用, 并且其诱发的甲状腺毒性具有性别差异。雌性大鼠下丘脑中 TRHR 和 ER $\alpha$  mRNA 表达均随砷染毒剂量增加而增高, 提示砷暴露下, ER $\alpha$  和 TRHR 的作用在一定程度上有关联。

有研究认为 ICI182780 能够拮抗 E2 对肿瘤细胞的增殖作用<sup>[24]</sup>。本研究中, ICI182780 干预对砷染毒后雌激素效应指标(E2 和 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  mRNA)和 TRHR mRNA 的表达具有反向调节作用, ICI182780 被证实可以减弱砷暴露下 ER $\beta$  mRNA 的升高<sup>[13]</sup>。本研究 ICI182780 干预结果表明, 砷暴露可能诱导下丘脑类雌激素效应, 进而影响 TRH 信号传导, 破坏甲状腺内分泌系统稳态, 破坏下丘脑对 HPT 的正常调控。

综上, 本研究开展砷致 E2 及核雌激素受体(ER $\alpha$ 、ER $\beta$ )靶基因影响的初步探究, 发现 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  的改变可能是砷诱导下丘脑 TRH 信号传导指标(TRH、TRHR)表达异常、出现性别差异的毒性机制之一, 诱使雌性对甲状腺疾病易感性增加。砷对 E2 及 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  的作用可能是砷导致 TC 男女发病率和神经系统疾病不同的原因之一。今后还需观察促细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK 1/2)等雌激素非基因组途径在砷诱导神经内分泌功能紊乱的作用研究。

## 参考文献

- [1] ANDRADE VM, ASCHNER M, DOS SANTOS AP M. Neurotoxicity of metal mixtures[J]. *Adv Neurobiol*, 2017, 18: 227-265.
- [2] GARZA-LOMBÓ C, PAPP A, PANAYIOTIDIS MI, et al. Arsenic-induced neurotoxicity: a mechanistic appraisal[J]. *J Biol Inorg Chem*, 2019, 24(8): 1305-1316.
- [3] SUN HJ, XIANG P, LUO J, et al. Mechanisms of arsenic disruption on gonadal, adrenal and thyroid endocrine systems in humans: a review[J]. *Environ Int*, 2016, 95: 61-68.
- [4] KUMAR A, KUMAR R, RAHMAN S, et al. Assessment of arsenic exposure in the population of Sabalpur village of Saran District of Bihar with mitigation approach[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021, 28(32): 43923-43934.
- [5] MARCINIAK W, DERKACZ R, MUSZYŃSKA M, et al. Blood arsenic levels and the risk of familial breast cancer in Poland[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(10): 2721-2727.
- [6] SUN HJ, LI HB, XIANG P, et al. Short-term exposure of arsenite disrupted

- thyroid endocrine system and altered gene transcription in the HPT axis in zebrafish [J]. *Environ Pollut*, 2015, 205: 145-152.
- [7] SAITO K, CUI H. Emerging roles of estrogen-related receptors in the brain: potential interactions with estrogen signaling [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1091.
- [8] DIVEKAR SD, LI HH, PARODI DA, et al. Arsenite and cadmium promote the development of mammary tumors [J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(7): 1005-1014.
- [9] ZSARNOVSZKY A, KISS D, JOCSAK G, et al. Thyroid hormone- and estrogen receptor interactions with natural ligands and endocrine disruptors in the cerebellum [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2018, 48: 23-36.
- [10] KOSEOGLU E, KUTUK B, NALBANTOGLU O U, et al. Arsenic and selenium measurements in nail and hair show important relationships to Alzheimer's disease in the elderly [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2021, 64: 126684.
- [11] CERRI S, MUS L, BLANDINI F. Parkinson's disease in women and men: what's the difference? [J]. *J Parkinsons Dis*, 2019, 9(3): 501-515.
- [12] LIU J, XU T, MA L, et al. Signal pathway of estrogen and estrogen receptor in the development of thyroid cancer [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 593479.
- [13] CHE W, YANG M, CHENG Y, et al. Arsenic induces gender difference of estrogen receptor in AECII cells from ICR fetal mice [J]. *Toxicol In Vitro*, 2019, 56: 133-140.
- [14] PANDEY R, GARG A, GUPTA K, et al. Arsenic induces differential neurotoxicity in male, female, and E2-deficient females: comparative effects on hippocampal neurons and cognition in adult rats [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59(5): 2729-2744.
- [15] MAHMOOD AS MH, UDDIN M, IBRAHIM MM H, et al. Norepinephrine regulation of ventromedial hypothalamic nucleus metabolic-sensory neuron 5'-AMP-activated protein kinase activity: impact of estradiol [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 2013.
- [16] TAN J, CHEN H, CHEN S, et al. The interactive effects of ethinylestradiol and progesterone on transcriptional expression of genes along the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in embryonic zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 805: 150371.
- [17] 李宏昀, 马晓薇, 江志红, 等. 大鼠砷暴露致雌激素效应及对甲状腺功能的影响 [J]. *实用预防医学*, 2021, 28(12): 1415-1420.
- LI HY, MA XW, JIANG ZH, et al. Estrogenic effect of arsenic exposure and its effect on thyroid function in rats [J]. *Pract Prev Med*, 2021, 28(12): 1415-1420.
- [18] RUSSELL JK, JONES CK, NEWHOUSE PA. The role of estrogen in brain and cognitive aging [J]. *Neurotherapeutics*, 2019, 16(3): 649-665.
- [19] COHEN A, POPOWITZ J, DELBRIDGE-PERRY M, et al. The role of estrogen and thyroid hormones in zebrafish visual system function [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 837687.
- [20] WANG Z, HE L, SUN W, et al. miRNA-299-5p regulates estrogen receptor alpha and inhibits migration and invasion of papillary thyroid cancer cell [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 6181-6193.
- [21] CHEN Y, SUN Y, ZHAO A, et al. Arsenic exposure diminishes ovarian follicular reserve and induces abnormal steroidogenesis by DNA methylation [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 241: 113816.
- [22] 古丽达娜·塔布斯别克, 马瑶, 白雪, 等. 砷染毒对家兔皮肤雌激素受体 $\alpha$ 、 $\beta$ 和PI3K mRNA表达的影响及性别差异 [J]. *环境与职业医学*, 2020, 37(3): 254-259.
- TABUSIBIEKE G, MA Y, BAI X, et al. Effects of arsenic exposure on expressions of ER $\alpha$ , ER $\beta$ , and PI3K mRNA in rabbit skin and sex difference [J]. *J Environ Occup Med*, 2020, 37(3): 254-259.
- [23] DERWAHL M, NICULA D. Estrogen and its role in thyroid cancer [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2014, 21(5): T273-T283.
- [24] YE WY, WANG JZ, DENG GG, et al. Estrogenic activities of compound GL-1, isolated from *Ganoderma lucidum* [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(24): 6062-6066.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 顾心怡、陈姣)

(上接第 82 页)

- [24] 张建, 朱庆云, 朱建锋, 等. 上海市青浦区社区卫生服务中心医务人员职业紧张状况调查 [J]. *职业卫生与应急救援*, 2018, 36(5): 415-417.
- ZHANG J, ZHU QY, ZHU JF, et al. Occupational stress and influencing factors among community medical personnel in Qingpu District of Shanghai [J]. *Occup Health Emerg Rescue*, 2018, 36(5): 415-417.
- [25] YOON Y, RYU J, KIM H, et al. Working hours and depressive symptoms: the role of job stress factors [J]. *Ann Occup Environ Med*, 2018, 30(1): 46.
- [26] 杨思佳, 陈佳音, 陈健. 基于德尔菲法构建中国医务人员职业紧张风险管理指标体系 [J]. *环境与职业医学*, 2022, 39(7): 815-820.
- YANG SJ, CHEN JY, CHEN J. Construction of work-related stress risk management index system for medical personnel in China based on Delphi method [J]. *J Environ Occup Med*, 2022, 39(7): 815-820.
- [27] 尹雪梅, 胡玉喆, 董胜雯. 医务人员职业紧张影响因素及职业紧张—缓解因素模式的研究 [J]. *医学理论与实践*, 2020, 33(16): 2621-2625.
- YIN XM, HU YZ, DONG SW. Study on the factors of occupational stress and occupational stress-mitigating factor model in medical staff [J]. *J Med Theory Pract*, 2020, 33(16): 2621-2625.
- [28] CLOUGH BA, MARCH S, CHAN RJ, et al. Psychosocial interventions for managing occupational stress and burnout among medical doctors: a systematic review [J]. *Syst Rev*, 2017, 6(1): 144.
- [29] 陈惠清, 黄曼琪, 李晓艺, 等. 电子制造业一线工人优化干预职业紧张效果评估 [J]. *中国职业医学*, 2022, 49(2): 191-195.
- CHEN HQ, HUANG MQ, LI XY, et al. Evaluation of optimal intervention effect on occupational stress in front-line workers of electronic manufacturing industry [J]. *China Occup Med*, 2022, 49(2): 191-195.
- [30] ALKHAWALDEH JM A, SOH KL, MUKHTAR FB M, et al. Effectiveness of stress management interventional programme on occupational stress for nurses: a systematic review [J]. *J Nurs Manag*, 2020, 28(2): 209-220.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 顾心怡、陈姣)