

上海交通大学医学院



学者介绍

Author introduction



余晓丹 博士

主任医师、博士生导师

YU Xiao-dan

Ph.D

Chief Physician, Doctoral Supervisor

余晓丹 (1971—), 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心主任医师。2004 年获上海第二医科大学 (现上海交通大学医学院) 儿科学博士学位。现任上海微量元素学会理事兼临床医学专业委员会副主任委员、上海医学会儿科学分会委员、中华医学会变态反应学分会儿童过敏性疾病学组委员、上海预防医学会环境卫生专业委员会委员、上海市出生缺陷一级预防工作专家组成员、“973”计划项目专家成员。

- 长期致力于儿童保健, 尤其是儿童营养性疾病、过敏性疾病的研究。主要方向为营养、环境与儿童生长发育, 微量营养素与儿童健康领域。近年来以第一作者或通信作者在国内国际学术杂志发表论文 50 余篇, 其中 SCI 收录论文 20 余篇。先后以第一负责人主持 1 项国家重点专项课题、2 项国家自然科学基金、2 项省部级科研项目, 以中方负责人主持 2 项美国国立卫生研究院课题, 以技术骨干主持 1 项“973”计划项目课题、5 项局级及国际合作项目。2012 年获第七届宋庆龄儿科医学成果奖及江苏省卫生厅医学新技术引进二等奖 (第二完成人)。2015 年入选上海市教育委员会高峰高原学科建设计划。

YU Xiao-dan born in 1971, chief physician of Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine. She received her Ph.D in pediatrics from Shanghai Second Medical University in 2004. She is currently the member of the Shanghai Society of Microelement and the vice chairman of the Clinical Medicine Committee, the member of the Shanghai Medical Association Pediatrics branch, the member of the Chinese Society Allergic Diseases branch, the member of the Shanghai Preventive Medicine Society of Environmental Health Professional Committee, the member of experts group on prevention of birth defects in Shanghai and the expert member of the 973 Program of China.

- She is devoted to the study of children's health care, especially in children with nutritional diseases and allergic diseases. Her main research areas are the associations of nutrition, environment and children growth and development, with a focus on micronutrients and children's health. In recent years, she has published more than 50 papers as first author or corresponding author at home and abroad, including more than 20 SCI articles. At present, she is the first person in charge of one National Key Project, two National Natural Science Foundation of China, and two Ministerial and Provincial Scientific Research Projects. She is also the Chinese principal of two National Institutes of Health Projects, the technical backbone of one 973 Program and five Bureau-level and International Cooperation Projects. In 2012, she won "the seventh Soong Ching Ling Pediatric Medical Achievement Award" and the second prize of "Jiangsu Provincial Health Department of New Medical Technology Introduction" (second complete). In 2015, she was enrolled into "Shanghai Municipal Education Commission—Gaofeng Clinical Medicine Grant Support".



论著·基础研究

维生素 E 拮抗双酚 A 对卵巢颗粒细胞性激素分泌的抑制作用

陈威威, 孙伟杰, 王磊, 焦先婷, 余晓丹

上海交通大学医学院附属新华医院环境与儿童健康教育部和上海市重点实验室, 上海 200092

[摘要] **目的**·研究维生素 E 能否对双酚 A (BPA) 的雌性性激素干扰效应起拮抗作用, 探索拮抗作用的适宜浓度。**方法**·提取大鼠卵巢原代颗粒细胞。不同浓度 BPA (0、0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{mol/L}$) 孵育 48 h 后, 收集并用 ELISA 法测定细胞培养基中的雌二醇 (E_2) 及孕酮 (P_4) 浓度。采用健康女性卵泡液中的平均浓度 (简称“人体平均浓度”, 5 $\mu\text{mol/L}$) 或高浓度 (25 $\mu\text{mol/L}$) 维生素 E (α -生育酚) 单独孵育或与 BPA (10、100 $\mu\text{mol/L}$) 共同孵育颗粒细胞 48 h 后, 测定培养液中性激素浓度。**结果**·10 $\mu\text{mol/L}$ 及 100 $\mu\text{mol/L}$ BPA 可使大鼠原代卵巢颗粒细胞分泌性激素水平呈浓度依赖性降低 ($P<0.05$)。25 $\mu\text{mol/L}$ 维生素 E 单独孵育时可分别使 E_2 和 P_4 浓度显著升高 (44.89 ± 15.18) % 和 (43.33 ± 8.82) % ($P<0.05$) ; 维生素 E (5 $\mu\text{mol/L}$ 或 25 $\mu\text{mol/L}$) 和 BPA 共同孵育时, 性激素浓度恢复正常, 与阴性对照组相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论**·人体平均浓度及高浓度维生素 E 均可拮抗 BPA 导致的性激素降低效应, 而高浓度维生素 E 的改善效果相对显著。

[关键词] 双酚 A; 维生素 E; 卵巢颗粒细胞; 雌二醇; 孕酮

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2017.06.004 **[中图分类号]** R725.8 **[文献标志码]** A

Vitamin E could reverse effects of bisphenol A on steroidogenesis in rat ovary granulosa cells

CHEN Wei-wei, SUN Wei-jie, WANG Lei, JIAO Xian-ting, YU Xiao-dan

MOE-Shanghai Key Lab of Children's Environmental Health, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China

[Abstract] **Objective**·To investigate whether vitamin E could reverse the disruptive effects of bisphenol A (BPA) on steroidogenesis and to explore the optimal vitamin E concentration. **Methods**·Rat primary granulosa cells were extracted and exposed to BPA (0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{mol/L}$). After 48 h of incubation, culture medium was collected and estradiol (E_2) and progesterone (P_4) were measured using ELISA kits. Then, granulosa cells were incubated with 5 $\mu\text{mol/L}$ (average concentration in follicular fluid) or 25 $\mu\text{mol/L}$ (high concentration in follicular fluid) vitamin E (α -tocopherol) or vitamin E (5 $\mu\text{mol/L}$ or 25 $\mu\text{mol/L}$) plus BPA (10 $\mu\text{mol/L}$ or 100 $\mu\text{mol/L}$) for 48 h, E_2 and P_4 were measured. **Results**·BPA at 10 $\mu\text{mol/L}$ and 100 $\mu\text{mol/L}$ suppressed E_2 and P_4 production in a dose-dependent manner ($P<0.05$). Vitamin E at 25 $\mu\text{mol/L}$ significantly increased E_2 and P_4 levels by (44.89 ± 15.18) % and (43.33 ± 8.82) % ($P<0.05$), respectively. Coincubation of the granulosa cells with BPA and vitamin E (5 $\mu\text{mol/L}$ or 25 $\mu\text{mol/L}$) restored the productions of E_2 and P_4 , which were not significantly different from the control group ($P>0.05$). **Conclusion**·Vitamin E (5 $\mu\text{mol/L}$ / 25 $\mu\text{mol/L}$) could reverse BPA-induced reduction in steroid hormone production in rat ovary granulosa cells, and the antagonistic effect of 25 $\mu\text{mol/L}$ vitamin E was more obvious than that of 5 $\mu\text{mol/L}$ vitamin E.

[Key words] bisphenol A; vitamin E; ovary granulosa cell; estradiol; progesterone

双酚 A (bisphenol A, BPA) 是一种广泛应用于塑料制品生产的化学合成物, 日常暴露主要来自塑料容器、塑料包装、奶瓶等。已有研究发现 BPA 可导致动物内分泌系统功能紊乱, 因此也将 BPA 称为环境内分泌干扰物 (environmental endocrine disruptors, EDCs) [1-2]。BPA 在人群中有着广泛的暴露, 现已在人类尿液、血浆、羊水以及卵泡液等体液中检测出 [3]。经调查发现, 上海 3 423 名 40 岁以上的社区居民中有 87.7% 尿中可检测出 BPA [4]。动物及细胞研究均已证明 BPA 会影响卵泡发育、卵母细胞成熟、纺锤体形成及颗粒细胞性激素的合成分泌 [5], 从而导致女

性不孕症 [6]。

维生素 E (vitamin E), 又称生育酚, 是体内重要的脂溶性抗氧化营养素, 对维护生殖系统健康有非常重要的作用 [7]。已有研究发现维生素 E 可以改善汞引起的男性生殖功能破坏 [8]。有关维生素 E 与 BPA 的研究较少。房玥晖等 [9] 报道了短期补充维生素 E 对 BPA 暴露所引起的雄性小鼠生殖系统抑制可产生一定保护作用。然而, 未见有关维生素 E 能否拮抗 BPA 对雌性性激素分泌毒性效应的研究。因此, 研究通过培养雌性大鼠卵巢原代颗粒细胞, 研究不同浓度 BPA 暴露对其雌二醇 (estradiol, E_2) 及孕

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划 (“973” 计划) (2014CB943300); 上海市教育委员会高峰高原学科建设计划 (20152220) (National Key Basic Research Program of China, “973” Program, 2014CB943300; Shanghai Municipal Education Commission—Gaofeng Clinical Medicine Grant Support, 20152220)。

[作者简介] 陈威威 (1990—), 男, 硕士生; 电子邮箱: chenweiwei1990@yahoo.com。

[通信作者] 余晓丹, 电子邮箱: xd_yu2003@126.com。

酮(progesterone, P_4)分泌量的影响,探索对性激素起作用的BPA浓度;并通过使用不同浓度维生素E单独或与BPA共同孵育颗粒细胞,探索维生素E对BPA性激素干扰效应起改善作用的适宜浓度。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级21~23 d刚断奶雌性Sprague-Dawley大鼠,购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司。动物生产许可证号:SCXK(沪)2013-0016。动物使用许可证号:SYXK(沪)2013-0106。将大鼠饲养于恒温($22.0\text{ }^{\circ}\text{C}\pm0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$)、恒湿($50\%\pm10\%$)环境,自由饮食与进水。饲养1~2 d后,进行相应处理。本实验中所有关于SD大鼠的实验均符合美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)关于实验动物使用及处理的准则。

1.2 主要试剂

无酚红DMEM培养基、胎牛血清(FBS)、青霉素/链霉素双抗溶液、磷酸盐缓冲液(PBS)购自美国Gibco公司;孕马血清促性腺激素(pregnant mare serum gonadotropin, PMSG)购自以色列ProsPec公司;卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)购自美国R&D System公司;睾酮、BPA及维生素E(α -tocopherol, α -生育酚)、二甲基亚砜(DMSO)购自美国Sigma-Aldrich公司;CCK-8试剂购自日本同仁公司;蛋白提取细胞裂解缓冲液(RIPA)、苯甲基磺酰氟(PMSF)、BCA蛋白定量试剂盒购于碧云天公司; E_2 及 P_4 竞争酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购于美国R&D System公司。

1.3 原代颗粒细胞提取及培养

大鼠原代卵巢颗粒细胞提取步骤参照相关文献^[10],并加以改进。简要步骤如下:大鼠腹部皮下注射PMSG(40 IU/只),以促进卵巢卵泡发育。48 h后使用脱颈椎法处死大鼠,取出双侧卵巢放置于预冷的PBS中,在显微镜($40\times$)下剥除卵巢外脂肪组织及黏膜,洗净血液及表面残留物。卵巢表面较干净时,将其转移至新的PBS中,使用10 mL针筒针头将卵巢表面凸起的卵泡刺破,使含有大量颗粒细胞的卵泡液释放。使用200目细胞筛滤过混合液,将滤过液以 $300\times g$ 离心5 min。将细胞沉淀重悬后培养于10% FBS的无酚红DMEM培养液中。在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培育48 h,待细胞覆盖率达到80%以上,进行

后续实验。

1.4 实验方法

1.4.1 CCK-8法测定BPA染毒后颗粒细胞活力 将卵巢颗粒细胞以5 000个/孔的密度接种于96孔板中,每孔100 μL ,待细胞贴壁密度达到80%后,吸弃原培养基并染毒。染毒步骤如下:BPA溶解于DMSO中,使用0.1% DMSO(对照组)或BPA(终浓度依次递增:0.01、0.1、1、10、100、200 $\mu\text{mol/L}$)染毒颗粒细胞;48 h后,各孔加入10 μL CCK-8溶液,孵育3 h后使用酶标仪测定450 nm波长处吸光度,即 $D(450\text{ nm})$ 。其公式:细胞活性= $[\text{染毒组 } D(450\text{ nm}) - \text{空白组 } D(450\text{ nm})] / [\text{对照组 } D(450\text{ nm}) - \text{空白组 } D(450\text{ nm})] \times 100\%$ 。

1.4.2 BPA染毒对颗粒细胞 E_2 及 P_4 分泌水平的影响 卵巢颗粒细胞覆盖率达80%后,吸弃原培养基,使用PBS清洗细胞3次以去除可能已生成的 E_2 及 P_4 ,使用不含FBS的无酚红DMEM培养基(因FBS与酚红可能会影响性激素代谢过程),加入FSH(50 ng/mL)及0.5 $\mu\text{mol/L}$ 睾酮(作为 E_2 与 P_4 合成的底物);设置对照组及BPA染毒组(0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{mol/L}$),48 h后收集细胞培养上清液,使用ELISA法测定 E_2 及 P_4 浓度。 E_2 及 P_4 的ELISA结果的组间及组内变异系数均小于15%。将细胞使用RIPA与PMSF混合液裂解后,采用BCA法测定总蛋白浓度,所测定的激素浓度均使用其对应的总蛋白浓度进行校正。

1.4.3 维生素E对BPA性激素分泌抑制作用的影响 卵巢颗粒细胞染毒前生长情况及处理如前所述。采用2个维生素E孵育浓度与BPA共用孵育。其中,5 $\mu\text{mol/L}$ 维生素E浓度和健康女性卵泡液中维生素E的平均浓度水平相同(简称为“人体平均浓度”),而25 $\mu\text{mol/L}$ 维生素E则是高浓度^[11-12]。设置阴性对照组、维生素E人体平均浓度(5 $\mu\text{mol/L}$)单独孵育组、维生素E高浓度(25 $\mu\text{mol/L}$)单独孵育组、BPA(10 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$)单独染毒组、共同孵育组[维生素E(5 $\mu\text{mol/L}$)+BPA(10 $\mu\text{mol/L}$),维生素E(25 $\mu\text{mol/L}$)+BPA(10 $\mu\text{mol/L}$),维生素E(5 $\mu\text{mol/L}$)+BPA(100 $\mu\text{mol/L}$),维生素E(25 $\mu\text{mol/L}$)+BPA(100 $\mu\text{mol/L}$)],同样在48 h后收集细胞培养上清液,使用ELISA法测定 E_2 及 P_4 浓度。

1.5 统计学分析

采用SPSS 11.0软件进行统计学分析。实验中所有数据均为至少3次实验重复一致后所得,定量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,数据统计采用Student's t 检验和方差分析法, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

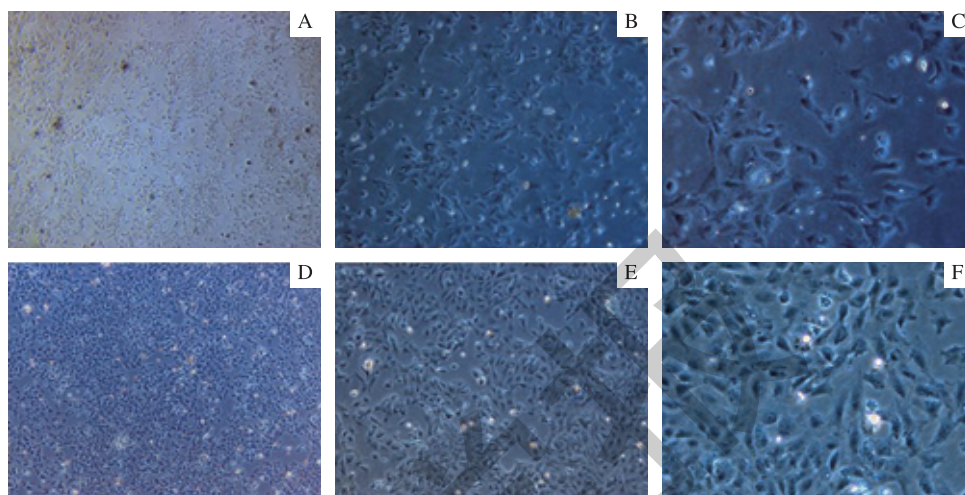


2 结果

2.1 大鼠原代卵巢颗粒细胞培养成功

使用倒置显微镜观察体外培养的颗粒细胞, 可见细胞刚铺

板时呈圆形, 4~6 h 后贴壁。24 h 后观察, 细胞呈梭形或多角形, 细胞之间有丝状伪足互相连接, 核大而圆, 胞质富含空泡及颗粒, 细胞聚集生长; 48 h 左右细胞增殖明显, 贴壁良好, 生长旺盛。图 1 为不同放大倍数下 24 h 及 48 h 的细胞形态。



注: A. 24 h ($\times 50$); B. 24 h ($\times 100$); C. 24 h ($\times 200$); D. 48 h ($\times 50$); E. 48 h ($\times 100$); F. 48 h ($\times 200$)。

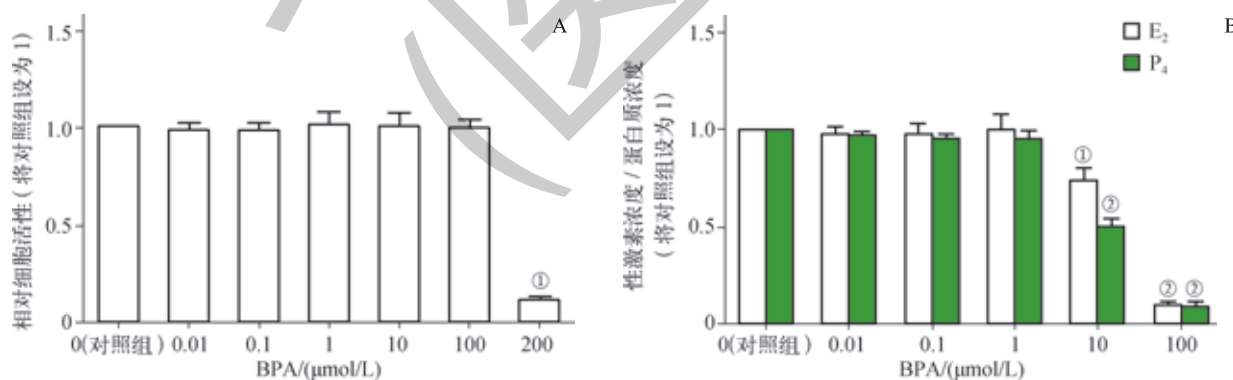
图 1 原代培养大鼠卵巢颗粒细胞镜下形态

Fig 1 Morphology of primary cultured rat granulosa cells

2.2 BPA 对大鼠卵巢颗粒细胞活性及 E_2 和 P_4 分泌的影响

BPA 染毒 48 h 后 CCK-8 检测结果显示, BPA 浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ 时, 卵巢颗粒细胞相对活性显著降低 ($P=0.000$), 表明细胞大量死亡 (图 2A)。为排除高浓度 BPA 致细胞死亡对性激素分泌水平的影响, 将后续用于染毒的 BPA 浓度设定为 $\leq 100 \mu\text{mol/L}$ 。在细胞染毒后 48 h, 取细胞培养上清液分别采用 ELISA 法测定 E_2 及 P_4 浓度

后发现, BPA $\geq 10 \mu\text{mol/L}$ 时可以浓度依赖性降低颗粒细胞分泌的性激素浓度 ($P<0.005$) (图 2B)。BPA 暴露浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, E_2 浓度为对照组的 (74.08 ± 6.23) % ($P=0.002$), P_4 浓度为对照组的 (50.56 ± 3.87) % ($P=0.000$); BPA 暴露浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, E_2 浓度约为对照组的 (10.71 ± 1.17) % ($P=0.000$), P_4 为对照组的 (10.74 ± 1.55) % ($P=0.000$)。



注: A. CCK-8 检测 (^① $P=0.000$, 与对照组比较); B. ELISA 检测 (^① $P=0.002$, ^② $P=0.000$, 与相应性激素对照组比较)。

图 2 不同浓度 BPA 对大鼠卵巢颗粒细胞活性及 E_2 和 P_4 分泌的影响

Fig 2 Viability and production of E_2 and P_4 of granulosa cells treated with varying concentrations of BPA

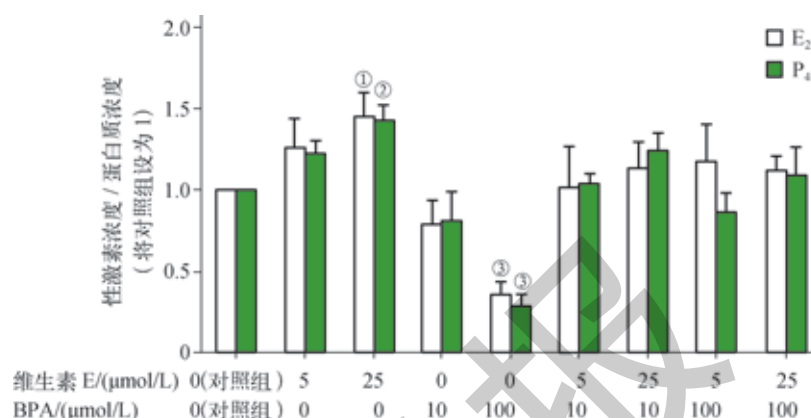
2.3 人体平均浓度 (5 $\mu\text{mol/L}$) 及高浓度 (25 $\mu\text{mol/L}$) 维生素 E 拮抗 BPA 的性激素抑制作用

如图 3 所示, 人体平均浓度 (5 $\mu\text{mol/L}$) 维生素 E 单

独孵育时, 虽使性激素分泌量升高, 但与对照组相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。高浓度 (25 $\mu\text{mol/L}$) 维生素 E 单独孵育时可使颗粒细胞 E_2 及 P_4 分泌量显著增

多, E_2 升高了 $(44.89 \pm 15.18) \% (P=0.007)$, P_4 升高了 $(43.33 \pm 8.82) \% (P=0.001)$ 。人体平均浓度 ($5 \mu\text{mol/L}$) 和高浓度 ($25 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 分别与 $10 \mu\text{mol/L}$ 和 $100 \mu\text{mol/L}$ BPA 共同孵育后, 维生素 E 的 2 个浓度均能使

性激素浓度恢复到正常水平, 与对照组相比, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 高浓度 ($25 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 孵育后的性激素浓度比相应的人体平均浓度 ($5 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 孵育后更高, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。



注: ① $P=0.007$, ② $P=0.001$, ③ $P=0.000$, 与相应性激素对照组比较。

图3 人体平均浓度 ($5 \mu\text{mol/L}$) 及高浓度 ($25 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 拮抗 BPA 性激素抑制效应

Fig 3 Effect of vitamin E ($5 \mu\text{mol/L}$ or $25 \mu\text{mol/L}$) and BPA on steroid hormone levels

3 讨论

BPA 作为一种广泛存在的 EDCs, 对动物生殖系统的影响已成为研究的重点。已有研究采用不同细胞类型或细胞系 (如 KGN 细胞系、黄体细胞、JEG-3 细胞系等) 证实 BPA 可使 E_2 和 P_4 分泌减少^[13-15]。然而, 细胞系并不能反映机体暴露于 BPA 后的真实情况。颗粒细胞作为性激素代谢的主要部位, 对维持动物生殖功能正常有重要作用, 而未成熟大鼠的颗粒细胞尚未受到体内性腺轴调节的影响, 因此, 我们提取未成熟大鼠原代卵巢颗粒细胞作为实验对象。有文献^[13, 16]也报道了 BPA 在 $10 \sim 100 \mu\text{mol/L}$ 浓度时会降低颗粒细胞 E_2 及 P_4 分泌, 与本研究结果一致。

E_2 与 P_4 的代谢紊乱可能会导致月经紊乱、卵巢功能缺陷, 严重者将会导致不孕症^[17]。目前, 仅有 Mumford 等^[18]在一项前瞻性队列研究中发现维生素 E 与健康女性血清 E_2 浓度呈正相关, 而与 P_4 浓度无相关性。然而, 尚无离体实验研究维生素 E 对卵巢颗粒细胞性激素分泌的效应。本研究结果显示高浓度维生素 E 单独孵育时, 可使卵巢颗粒细胞 E_2 及 P_4 分泌增多。其机制尚不明确, 推测可能与以下因素有关。一方面, 维生素 E 通过抗氧化应激反应影响激素水平。虽然未见研究显示维生素 E 通过抗氧化刺激雌性性激素的分泌, 但 Abidi 等^[19]发现维生素 E 缺乏会导致雄性大鼠机体慢性氧化应激反应发生, 从而抑制睾丸间质细胞的性激素合成。另一方面, 维生素 E 可能影响

性激素代谢通路关键酶。Kiyomi 等^[20]从性激素代谢通路角度进行了研究, 发现维生素 E 可增强 E_2 合成关键酶芳香化酶 (aromatase) 的活性。

目前, 有关 BPA 对性激素分泌抑制的机制研究多集中于几个关键基因及转录因子^[13, 21-22]。已有研究报道, BPA 可以使细胞发生氧化应激反应^[23], 而氧化应激反应会抑制机体类固醇类性激素的合成^[24]。可以推测, BPA 的促氧化应激效应产生也可能参与了其对性激素分泌抑制过程。维生素 E 及 BPA 对性激素的代谢影响存在共同作用机制, 这也为本实验结果的解释提供了一定的理论依据。在本研究中, 人体平均浓度 ($5 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 单独孵育颗粒细胞时, 对性激素分泌水平无显著刺激作用, 但其与不同浓度 BPA 共同孵育后都表现出了升高性激素的效应。我们推测: 与生理状态下比较, 人体高浓度 ($25 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 更易在氧化应激损伤状态下产生升高性激素的效应。与人体平均浓度 ($5 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 不同的是, 当高浓度 ($25 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 单独作用于颗粒细胞时, 其性激素分泌量增多。不同浓度维生素 E 的作用效果不同, 除了与本身量效相关外, 也可能存在不同的作用机制, 尚需进一步研究。当高浓度 ($25 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 和 BPA 共同孵育时, 相对人体平均浓度 ($5 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 与 BPA 共同孵育时性激素浓度升高更明显, 但其差异不显著。从拮抗作用角度来说, 可以认为高浓度 ($25 \mu\text{mol/L}$) 维生素 E 可能更适宜用于改善 BPA 所导致的性激素干扰效应, 这还需进一步的人群研究来证实。

本研究有一定局限性。第一, 对颗粒细胞性激素分泌过程产生显著干扰的 BPA 浓度高于人体平均浓度。我们研究了低浓度 BPA (0.01 $\mu\text{mol/L}$), 未发现显著性激素干扰效应, 但并不意味着低浓度 BPA 对颗粒细胞的其他生理过程没有干扰作用, 应该从其他角度 (如凋亡或增殖、活性氧变化等) 进行研究, 可能更具有实际意义。第二, 本研究缺乏体内实验验证, 今后将通过动物实验或人群研究方法进一步阐明相关机制。

鉴于维生素 E 影响性激素分泌, 且具有拮抗 BPA 生殖毒性作用, 建议维生素 E 缺乏症和 / 或长期接触 BPA

的育龄妇女要注意补充维生素 E。当用于拮抗 BPA 毒性效应时, 其补充量也应高于平均补充量。健康女性卵泡液中的维生素 E 平均浓度约为 5 $\mu\text{mol/L}$, 其同一健康人群血清中对应的维生素 E 平均浓度为 21.77 ~ 24.03 $\mu\text{mol/L}$ ^[11-12], 而目前维生素 E 缺乏症的诊断标准为维生素 E 浓度 <11.6 nmol/L (5 $\mu\text{g/L}$)^[25], 远低于健康人群血清平均浓度。因此在 BPA 暴露的育龄妇女中, 即使维生素 E 尚未低于维生素 E 缺乏诊断标准, 也要注意补充维生素 E。有关维生素 E 对 BPA 生殖毒性改善作用的相关机制, 尚需深入研究。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, et al. Human exposure to bisphenol A (BPA)[J]. *Reprod Toxicol*, 2007, 24(2): 139-177.
- [2] Caserta D, Maranghi L, Mantovani A, et al. Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology[J]. *Hum Reprod Update*, 2008, 14(1): 59-72.
- [3] Ikezuki Y, Tsutsumi O, Takai Y, et al. Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure[J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(11): 2839-2841.
- [4] Wang T, Li M, Chen B, et al. Urinary bisphenol A (BPA) concentration associates with obesity and insulin resistance[J]. *J Clin Endocr Metab*, 2011, 97(2): E223-E227.
- [5] Peretz J, Gupta RK, Singh J, et al. Bisphenol A impairs follicle growth, inhibits steroidogenesis, and downregulates rate-limiting enzymes in the estradiol biosynthesis pathway[J]. *Toxicol Sci*, 2011, 119(1): 209-217.
- [6] Ziv-Gal A, Flaws JA. Evidence for bisphenol A-induced female infertility: a review (2007-2016)[J]. *Fertil Steril*, 2016, 106(4): 827-856.
- [7] Santana AT, Guelfi M, Medeiros HCD, et al. Mechanisms involved in reproductive damage caused by gossypol in rats and protective effects of vitamin E[J]. *Biol Res*, 2015, 48(1): 43.
- [8] Rao MV, Sharma PS. Protective effect of vitamin E against mercuric chloride reproductive toxicity in male mice[J]. *Reprod Toxicol*, 2001, 15(6): 705-712.
- [9] 房明晖, 周逸婷, 钟燕, 等. 维生素 E 对双酚 A 暴露的发育期雄性小鼠生殖系统及抗氧化能力的影响[J]. *卫生研究*, 2013, 42(1): 18-22.
- [10] Hosoya T, Otsuka F, Nakamura E, et al. Regulatory role of BMP-9 in steroidogenesis by rat ovarian granulosa cells[J]. *J Steroid Biochem*, 2015, 147: 85-91.
- [11] Campos PC, Ferriani RA, dos Reis RM, et al. Lipid peroxidation and vitamin E in serum and follicular fluid of infertile women with peritoneal endometriosis submitted to controlled ovarian hyperstimulation: a pilot study[J]. *Fertil Steril*, 2008, 90(6): 2080-2085.
- [12] Singh AK, Chattopadhyay R, Chakravarty B, et al. Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF[J]. *Reprod Toxicol*, 2013, 42: 116-124.
- [13] Kwinkiewicz J, Nishi Y, Yanase T, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ mediates bisphenol A inhibition of FSH-stimulated IGF-1, aromatase, and estradiol in human granulosa cells[J]. *Environ Health Persp*, 2010, 118(3): 400-406.
- [14] Romani F, Tropea A, Scarinci E, et al. Endocrine disruptors and human corpus luteum: *in vitro* effects of phenols on luteal cells function[J]. *J Environ Sci Heal C*, 2013, 31(2): 170-180.
- [15] Huang H, Leung LK. Bisphenol A downregulates CYP19 transcription in JEG-3 cells[J]. *Toxicol Lett*, 2009, 189(3): 248-252.
- [16] Mlynarčíková A, Kolena J, Ficková M, et al. Alterations in steroid hormone production by porcine ovarian granulosa cells caused by bisphenol A and bisphenol A dimethacrylate[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 244(1-2): 57-62.
- [17] Baber R. Primary ovarian insufficiency[J]. *Med Today*, 2014, 15(3): 73-75.
- [18] Mumford SL, Browne RW, Schliep KC, et al. Serum antioxidants are associated with serum reproductive hormones and ovulation among healthy women[J]. *J Nutr*, 2016, 146(1): 98-106.
- [19] Abidi P, Leers-Sucheta S, Azhar S. Suppression of steroidogenesis and activator protein-1 transcription factor activity in rat adrenals by vitamin E deficiency-induced chronic oxidative stress[J]. *J Nutr Biochem*, 2004, 15(4): 210-219.
- [20] Kiyomi A, Makita M, Iwase T, et al. Clinical significance of female-hormones and cytokines in breast cancer patients complicated with aromatase inhibitor-related osteoarthritis-efficacy of Vitamin E[J]. *J Cancer*, 2015, 6(4): 367-376.
- [21] Peretz J, Flaws JA. Bisphenol A down-regulates rate-limiting Cyp11a1 to acutely inhibit steroidogenesis in cultured mouse antral follicles[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 271(2): 249-256.
- [22] Watanabe M, Ohno S, Nakajin S. Effects of bisphenol A on the expression of cytochrome P450 aromatase (CYP19) in human fetal osteoblastic and granulosa cell-like cell lines[J]. *Toxicol Lett*, 2012, 210(1): 95-99.
- [23] Hulak M, Gazo I, Shaliutina A, et al. *In vitro* effects of bisphenol A on the quality parameters, oxidative stress, DNA integrity and adenosine triphosphate content in sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa[J]. *Comp Biochem Physiol*, 2013, 158(2): 64-71.
- [24] Abidi P, Zhang H, Zaidi SM, et al. Oxidative stress-induced inhibition of adrenal steroidogenesis requires participation of p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway[J]. *J Endocrinol*, 2008, 198(1): 193-207.
- [25] Carpenter D. Vitamin E deficiency[J]. *Semin Neurol*, 1985, 5(4): 283-287.

[收稿日期] 2017-01-23

[本文编辑] 吴 洋

