

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20180303001

王洪芳, 赵飞, 王蔚, 等. 内分泌干扰物对胰腺发育的影响及其机制研究进展[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 9-18

Wang H F, Zhao F, Wang W, et al. Effects of endocrine disrupting chemicals on pancreas development and the related mechanisms [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 9-18 (in Chinese)

内分泌干扰物对胰腺发育的影响及其机制研究进展

王洪芳, 赵飞*, 王蔚, 汝少国

中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003

收稿日期: 2018-03-03 录用日期: 2018-04-20

摘要: 内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)可以从不同来源释放到环境中,近年来动物实验研究表明,多种EDCs能够破坏生命早期胰腺发育,增加成年期患代谢疾病的风险,但其潜在机制尚不完全清楚。本文总结了近年来EDCs对不同动物模型胰腺发育的影响,主要包括胰岛 β 细胞结构损伤、胰岛 β 细胞功能障碍、胰岛尺寸降低、胰岛畸形、次级胰岛形成延迟以及胰腺长度缩短等,并从转录因子、氧化应激以及表观遗传修饰等方面对其作用机制进行综述,以期EDCs健康风险评估提供参考。

关键词: 内分泌干扰物; 胰腺发育; 胰岛 β 细胞

文章编号: 1673-5897(2018)3-009-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effects of Endocrine Disrupting Chemicals on Pancreas Development and the Related Mechanisms

Wang Hongfang, Zhao Fei*, Wang Wei, Ru Shaoguo

College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

Received 3 March 2018 accepted 20 April 2018

Abstract: Endocrine disrupting chemicals (EDCs) are released into the environment from different sources. Recent experimental studies on animal models have shown that multiple EDCs can disrupt the pancreas development in early life and increase the risk of metabolic diseases in adulthood. However, the underlying mechanisms are not fully understood. This study focused on reviewing the effects of EDCs on pancreas development of different animal models. These effects mainly include islet β cell structure damage and dysfunction, decreased islet size, islet malformation, delayed secondary islet formation, and shortened pancreas length, etc. Further, mechanisms underlying these effects were reviewed in aspects of transcription factors, oxidative stress, and epigenetic modifications. This review will provide reference for the health risk assessment of EDCs.

Keywords: endocrine disrupting chemicals; pancreas development; islet β cell

“成人疾病的胎儿起源”(fetal origins of adult disease, FOAD)假说认为早期生命(如胚胎期和/或婴

儿期)经历不利因素,组织器官在结构和功能上会发生永久性或程序性改变,最终增加成年期疾病发病

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 41676100)

作者简介:王洪芳(1992-),女,硕士研究生,研究方向为污染生态学, E-mail: 2551249854@qq.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: dongsideniao@qq.com

风险^[1]。这类不利因素主要包括营养不良、缺氧和内分泌干扰物的暴露等^[1-2]。其中,内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)是指可以改变内分泌系统功能,对机体或其后代的健康造成不利影响的外源性物质或混合物,包括农药、工业化合物、植物雌激素等^[3-4]。动物实验研究结果表明,EDCs在发育早期的关键窗口期暴露会影响成年后个体的胰腺结构和功能,可能诱发糖尿病、肥胖等代谢综合征^[5-7]。本文总结了EDCs对不同动物模型胰腺发育的影响,并从转录因子、氧化应激以及表观遗传修饰等方面对其作用机制进行综述,以期对EDCs健康风险评估提供参考。

1 胰腺发育的调控机制 (Regulating mechanisms of pancreas development)

胰腺是由内分泌腺和外分泌腺组成的双功能腺体,其中外分泌腺由腺泡细胞和导管细胞组成,主要功能是分泌消化酶进入肠道对食物进行消化;而内分泌腺由胰岛组成,主要功能是分泌激素维持血糖相对恒定。胰岛包含 α 、 β 、 δ 、 ϵ 和PP细胞5种内分泌细胞,各种细胞通过分泌不同的激素维持血糖平衡。其中 β 细胞占胰岛的绝大部分,分泌胰岛素,降低血糖; α 细胞分泌胰高血糖素,升高血糖。因此,内分泌腺功能紊乱会导致葡萄糖稳态受损,或引发糖尿病^[8-11]。

脊椎动物的胰腺由前肠内胚层上皮的背侧和腹侧外翻部分发育而来^[10-11]。在小鼠中,胚胎发育9.5 d(9.5 days of gestation, e9.5),胰腺以2个独立胰芽

(背芽和腹芽)的形式出现。早期胰芽(e9.5~12.5)主要由多能胰腺祖细胞组成,该时期为胰腺祖细胞活跃增殖期。e11.5~12.5,2个胰芽融合在一起。e12.5,胰腺上皮外翻侵入邻近的间质,随后进行扩张和分支。e13.5,位于分支尖端的多能胰腺祖细胞分化为腺泡祖细胞,而分支主干上的多能胰腺祖细胞成为双潜能祖细胞,并分化出内分泌祖细胞和导管细胞。e14.5,腺泡祖细胞分化成腺泡细胞,内分泌祖细胞移离主干上皮形成内分泌细胞簇。在出生后的发育过程中,成熟的内分泌细胞聚集形成胰岛,产生了具有腺泡、导管和胰岛的成熟胰腺^[8,10-11]。

胰腺的发育由转录因子和外周信号分子相互作用形成的复杂的基因调控网络协调调控。谱系追踪研究表明,转录因子是调控胰腺器官发生、分化和成熟的关键因素,在胰腺发育的每个阶段都有许多转录因子表达^[8](见图1)。按照胰腺发育顺序,可将转录因子分为以下几种类型:Pdx1、Ptf1a、Mnx1、Sox9、Nkx6.1、HNF1 β 、HNF6、Foxa2和GATA4/6参与多能胰腺祖细胞的形成和增殖;Pdx1、Ptf1a、Sox9、Nkx6.1、HNF1 β 和GATA4决定分支尖端多能胰腺祖细胞的形成;Pdx1、Sox9、Nkx6.1、HNF1 β 、HNF6、Foxa2和GATA6参与分支主干上双潜能祖细胞的形成;Ptf1a和GATA4使分支尖端的多能胰腺祖细胞定向分化为腺泡细胞;HNF1 β 、HNF6、Sox9和Foxa2等调控分支主干的双潜能祖细胞分化为导管细胞;Ngn3及其直接靶基因Islet1和NeuroD1决定双潜能祖细胞定向分化为内分泌祖细胞;最后,转录因子Mnx1、Islet1、NeuroD1、Pdx1、Pax4/6、Nkx2.2/6.1

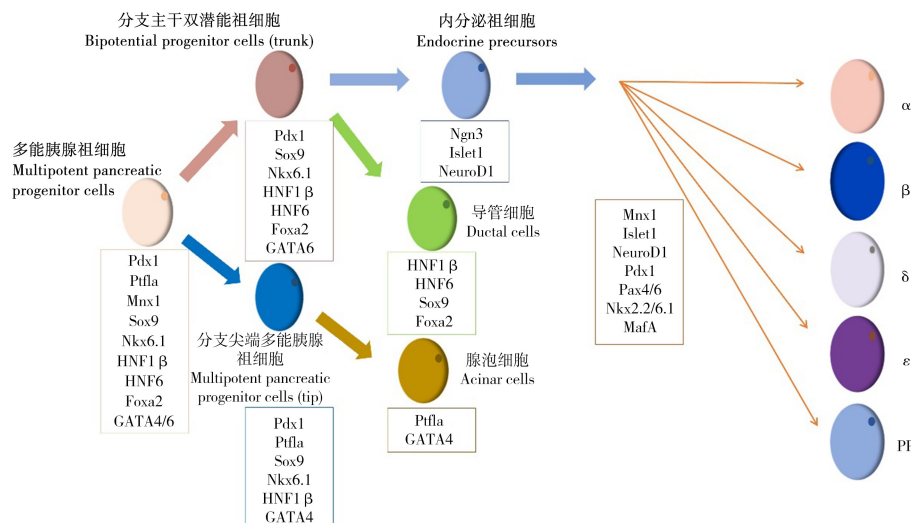


图1 胰腺发育及相关转录因子

Fig. 1 Pancreas development and the related transcription factors

和 MafA 等决定内分泌祖细胞向何种内分泌细胞分化^[8,10-11]。除了胰腺转录因子的级联调节,非胰腺组织的外部信号对胰腺发育也至关重要。其中 Notch 信号抑制多能胰腺祖细胞分化直至时机成熟,调控内分泌祖细胞分化为 β 细胞。FGF 信号参与胰芽形成以及促进多能胰腺祖细胞增殖。Wnt 信号参与腹芽形成,促进多能胰腺祖细胞增殖,并调控胰腺内外分泌细胞发育和 β 细胞功能。RA 信号在内胚层形成、背芽发育和多能胰腺祖细胞分化中起着重要作用。在胰腺发育的早期阶段,Hedgehog 信号必须被抑制才能保证胰芽正常发育。TGF β 信号在胰芽形成中必不可少。VEGF 信号参与背芽发育;BMP 信号参与腹芽的形成^[8,10,12-13]。此外表观遗传机制也可能在胰腺发育中发挥重要作用:研究证实前肠内胚层中的组蛋白甲基转移酶缺失会导致腹芽形成受阻,转而发育为肝芽,表明组蛋白修饰决定了肝脏和腹芽的命运^[10]。

2 EDCs 对脊椎动物胰腺发育的影响 (Effects of endocrine disrupting chemicals on pancreas development of vertebrates)

根据物种、EDCs 的种类、剂量、暴露时间和效应,将 EDCs 对胰腺发育的影响的研究结果进行整理,见表 1。

2.1 哺乳动物

动物模型实验研究表明,EDCs 主要对大鼠的内分泌胰腺发育具有干扰和破坏作用,表现为以下 3 个方面。

胰岛 β 细胞结构损伤。研究发现 Wistar 大鼠在妊娠期和哺乳期暴露于邻苯二甲酸二辛酯,导致子代断乳后胰岛 β 细胞超微结构损伤^[14]。

胰岛尺寸降低。邻苯二甲酸二辛酯能够降低发育期 Wistar 大鼠的胰岛 β 细胞面积^[14]。孕期 Wistar 大鼠暴露于地塞米松,结果胚胎的 β 细胞面积和 α 细胞面积都减小^[15]。Wistar 大鼠暴露于双酚 A,仔鼠出生时的 β 细胞面积降低^[16]。研究发现大鼠产前暴露于地塞米松,也导致子代 β 细胞面积减小^[17]。孕期咖啡因暴露导致胚胎胰岛变小、数量减少,胰岛总面积减少,胰岛 β 细胞总面积减小^[18]。Sprague-Dawley 大鼠孕期暴露于尼古丁,结果子代胰岛数量减少、尺寸降低,进而导致内分泌胰腺在整个胰腺中的比例显著降低^[11]。Wistar 大鼠妊娠期暴露于盐酸舍曲林,导致子代胰岛 β 细胞面积减小^[19]。Wistar 大鼠在妊娠期和哺乳期暴露于尼古丁,结果仔

鼠出生时 β 细胞凋亡增加, β 细胞面积减小^[20]。

胰岛 β 细胞功能障碍(胰岛素分泌受损)。大鼠妊娠期暴露于邻苯二甲酸二辛酯会损伤发育期子代胰岛素的分泌,降低胰腺中的胰岛素含量^[9,14]。孕鼠在妊娠最后一周和整个妊娠期暴露于地塞米松,造成子代胰岛素分泌缺陷^[15]。大鼠产前暴露于地塞米松导致仔鼠胰岛素水平降低^[17]。孕鼠孕期暴露于咖啡因导致子代 β 细胞内胰岛素分泌颗粒数目减少,囊泡内颗粒的膜融合和脱落现象明显^[18]。尼古丁染毒雌性 Wistar 大鼠导致子代胰岛素分泌降低^[20]。

2.2 其他动物

胰腺的发生过程以及调控胰腺发育的转录因子和信号通路在脊椎动物中高度保守,因此除哺乳动物外,斑马鱼等其他脊椎动物也被广泛用于胰腺发育及功能的相关研究。斑马鱼具有胚体透明、体外发育迅速、养殖成本低等优点,针对胰腺特异性基因开发的转基因技术使斑马鱼胚胎成为研究外源污染物对胰腺发育影响的有力体内实验模型。例如, *Tg(ins:GFP)* 转基因株系可以在生成胰岛素的 β 细胞中表达绿色荧光,使胰岛可见; *Tg(ptfla:GFP)* 株系可以在外分泌胰腺组织中表达绿色荧光,使外分泌胰腺可见^[21]。利用转基因斑马鱼胚胎,目前的研究发现 EDCs 对内分泌胰腺和外分泌胰腺发育的影响主要包括以下 4 个方面:

胰岛面积减小。将受精后 3 h(3 hours postfertilization, 3 hpf)的 *Tg(ins:GFP)* 和 *Tg(gcga:GFP)* 转基因斑马鱼胚胎暴露于 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻苯二甲酸异辛酯,结果斑马鱼胚胎和仔鱼的 β 细胞和 α 细胞的面积显著减小^[22]。全氟辛基磺酸染毒 *Tg(ins:GFP)* 和 *Tg(ptfla:GFP)* 转基因斑马鱼胚胎,导致斑马鱼胚胎的初级胰岛面积减小^[23]。

胰岛畸形。邻苯二甲酸异辛酯暴露增加了斑马鱼胚胎和仔鱼胰岛形态变异的频率^[22]。全氟辛基磺酸暴露导致斑马鱼胚胎和仔鱼胰岛形态发生变异的频率增加^[23]。将 *Tg(ins:GFP)* 和 *Tg(ins:荧光探针)* 转基因斑马鱼胚胎暴露于 3,3',4,4',5-五氯联苯,结果发现 3,3',4,4',5-五氯联苯导致胰岛形态变异的频率增加,初级胰岛过早地迁移,胰岛破碎以及形成异位 β 细胞^[24]。研究发现,曲古抑菌素 A 和丙戊酸可以通过破坏斑马鱼胰岛内分泌细胞的聚集扰乱斑马鱼内分泌胰腺的发育^[25]。次级胰岛形成延迟。全氟辛基磺酸能够延迟 *Tg(ins:GFP)* 和 *Tg(ptfla:GFP)* 转基因斑马鱼次级胰岛的形成^[23]。

表1 内分泌干扰物(EDCs)对脊椎动物胰腺发育的影响
Table 1 Effects of endocrine disrupting chemicals (EDCs) on pancreas development in vertebrates

参考文献 Reference	物种和品系 Species and strain	暴露物 Chemicals	剂量 Dosage	暴露时间 Exposure durations	效应 Observed effects
[5]	大鼠 Wistar rat	邻苯二甲酸二辛酯 Di(2-ethyl-hexyl) phthalate	口服 Oral 1, 10 and 100 mg·kg ⁻¹ bw	妊娠第9~11天 From gestational day 9-11	胰岛素分泌受损 Impaired insulin secretion
[14]	大鼠 Wistar rat	邻苯二甲酸二辛酯 Di(2-ethyl/hexyl) phthalate	口服 Oral 1.25 and 6.25 mg·kg ⁻¹ bw	整个妊娠期和哺乳期 Throughout gestation and lactation	胰腺β细胞超微结构损伤, β细胞面积减小,胰岛素分泌受损 Abnormal β cell ultrastructure, reduced β cell area and insulin secretion
[15]	大鼠 Wistar rat	地塞米松 Dexamethasone	口服 Oral 1 μg·mL ⁻¹	整个妊娠期或妊娠最后一周 During the last week or throughout gestation	β细胞和α细胞面积减小,胰岛素分泌受损 Reduced β cell area and α cell area, impaired insulin secretion
[17]	大鼠 Sprague-Dawley rat	地塞米松 Dexamethasone	腹腔注射 Intraperitoneal dexamethasone 0.1 mg·kg ⁻¹ bw	妊娠第14~20天 From gestational day 14-20	β细胞面积减小,胰岛素分泌受损 Fewer pancreatic β cell fractions and tissues and decreased insulin secretion
[18]	大鼠 Rat	咖啡因 Caffeine	灌胃 Gavage 120 mg·kg ⁻¹ bw	妊娠第9~20天 From gestational day 9-20	胰岛变小、数量减少,胰岛总面积减少, 胰岛β细胞总面积减小,胰岛素分泌受损 Smaller islet, decreased number of islets, reduced β cell area and islet area, and impaired insulin secretion
[7]	大鼠 Sprague-Dawley rat	尼古丁 Nicotine	皮下注射 Subcutaneous injection 3 mg·kg ⁻¹ bw	妊娠第4~17天 From gestational day 4-17	胰岛数量减少、尺寸降低 Decreased islet size and number
[20]	大鼠 Wistar rat	尼古丁 Nicotine	皮下注射 Subcutaneous injection 1 mg·kg ⁻¹ bw	整个妊娠期和哺乳期 Throughout gestation and lactation	β细胞凋亡增加,胰岛素分泌降低 Increased β cell apoptosis, and decreased insulin secretion
[16]	大鼠 Wistar rat	双酚A Bisphenol A	口服 Oral 10 μg·kg ⁻¹ bw	整个妊娠期 From the confirmation of mating until parturition	β细胞面积减小 Reduced β cell area

续表1

参考文献 Reference	物种和品系 Species and strain	暴露物 Chemicals	剂量 Dosage	暴露时间 Exposure durations	效应 Observed effects
[19]	大鼠 Wistar rat	盐酸舍曲林 Sertraline hydrochloride	皮下注射 Subcutaneous injection 10 mg·kg ⁻¹ bw	整个妊娠期 From the confirmation of mating until parturition	β 细胞面积减小 Reduced β cellarea
[22]	斑马鱼 <i>Tg(Ins:GFP)</i> and <i>Tg(Gcg:GFP)</i> transgenic zebrafish strains	邻苯二甲酸异辛酯 Mono(2-ethylhexyl) phthalate	水体暴露 Exposed to mono(2-ethylhexyl) phthalate solutions (200 μg·L ⁻¹)	受精后 3 h~168 h At 3 h post fertilization (hpf) through 168 hpf	胰岛面积减小,外分泌腺缩短, 初级胰岛形态变异的频率增加, Decreased islet area and exocrine pancreas length, aberrant morphology of the primary islet
[23]	斑马鱼 <i>Tg(Ins:GFP)</i> and <i>Tg(ptfla:GFP)</i> transgenic zebrafish strains	全氟辛基磺酸 Perfluorooctane sulphonate	水体暴露 Exposed to perfluorooctane sulphonate solutions (16, 32, or 64 μmol·L ⁻¹)	受精后 3 h~168 h At 3 hpf through 168 hpf	初级胰岛面积减小,外分泌腺的长度缩短, 胰岛形态发生变异的频率增加, 次级胰岛形成延迟 Decreased islet area and pancreas length, anomalous islet morphology, and delay the timing of secondary islet formation
[24]	斑马鱼 <i>Tg(Ins:GFP)</i> and <i>Tg(Ins:rmcherry)</i> transgenic zebrafish strains	3,3',4,4',5-五氯联苯 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl	水体暴露 Exposed to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl solutions (2 or 5 nmol·L ⁻¹)	受精后 24 h~48 h From 24 to 48 h post fertilization	胰岛形态变异的频率增加,初级胰岛过早地迁移,胰岛破碎以及形成异位 β 细胞 Anomalous islet morphology, altered islet migration, islet fragmentation, and formation of ectopic β cells
[25]	斑马鱼 <i>Tg(Ins:GFP)</i> and <i>Tg(ptfla:GFP)</i> transgenic zebrafish strains	曲古抑菌素 A 和丙戊酸 Trichostatin A and valproic acid	水体暴露 Treated with trichostatin A and valproic acid concentrations from 1 nmol·L ⁻¹ to 10 μmol·L ⁻¹	受精后 5 h~120 h From 5 to 120 h post fertilization	破坏胰岛内分泌细胞的聚集, 延缓外分泌腺的发育 Disrupt the clustering of endocrine cells, delay the development of exocrine pancreas
[26]	小鸡 Chick	丙戊酸 Valproic acid	卵黄注射 Injected with 0.4 mg valproic acid in the yolk	整个妊娠期 From the confirmation of mating until parturition	胰腺长度和质量显著减少 Significant decrease in length and weight of pancreas

外分泌胰腺长度缩短。将 *Tg(ptf1a:GFP)* 转基因斑马鱼胚胎暴露于邻苯二甲酸异辛酯, 导致外分泌胰腺占鱼身体总长的比例显著降低, 外分泌胰腺缩短^[22]。全氟辛基磺酸和邻苯二甲酸异辛酯类似, 也缩短了外分泌胰腺的长度^[23]。曲古抑菌素 A 和丙戊酸可以延缓斑马鱼外分泌胰腺的发育^[25]。另外, Akhtar 等^[26]研究发现, 丙戊酸暴露导致小鸡胚胎的外分泌胰腺长度显著减少。

3 机制研究 (Study on related mechanisms)

3.1 影响转录因子的表达

各种胰腺转录因子参与了胰腺发育和 β 细胞分化。在这些转录因子中 Pdx1 主要负责调控胰芽形成、 β 细胞分化以及维持成熟 β 细胞的功能; Pdx1 可以通过结合胰岛素基因转录调控区 A3 激活其转录过程, 上调胰岛素表达水平, 是胰腺发育的主要调控因子^[27-29]。Ngn3 是胚胎时期决定胰腺内分泌细胞分化的重要因子, 谱系追踪试验表明所有的内分泌细胞都来源于表达 Ngn3 的祖细胞^[11]。胰腺形成过程中的另一个关键转录因子 Ptf1a 主要负责调控外分泌细胞的分化以及维持外分泌细胞的功能^[11,30]。Nkx2.2 和 Nkx6.1 属同源域蛋白, Nkx2.2 对维持内分泌细胞的数量起重要作用, 敲除小鼠的 Nkx2.2 导致 β 细胞完全缺失, α 和 γ 细胞的数量急剧减少, ϵ 细胞的数量增加; Nkx6.1 仅在 β 细胞中表达, 对 β 细胞的生成起重要作用, Nkx6.1 基因缺失的小鼠无法产生 β 细胞。Pax4 和 Pax6 也属同源域转录因子, Pax4 功能受损或缺失, 小鼠的 β 细胞和 δ 细胞缺失, α 细胞增多; Pax6 基因突变会导致 α 细胞缺失, β 细胞、 δ 细胞和 γ 细胞数量减少。NeuroD1 在胰岛内分泌细胞的分化过程中起重要作用, NeuroD1 基因失活的小鼠, 在 e14.5~17.5 胰岛发育停滞, 小鼠出生后出现严重的糖尿病^[11,13]。MafA 是 β 细胞特异性转录因子, 是胰岛素基因转录的有效激活剂^[27,31]。HNF4 α 是 β 细胞转录的全局性调控因子^[32]。

研究发现, 环境中很多 EDCs 可以通过影响胰腺发育中关键转录因子的表达, 对胰腺器官的形成造成干扰或损伤。在邻苯二甲酸二辛酯对发育期大鼠胰腺发育的影响研究中发现, 大鼠妊娠期暴露于邻苯二甲酸二辛酯可降低子代内分泌胰腺发育关键转录因子 Pdx1、Pax4、Pax6、MafA 和 HNF4 α 的表达, 造成胰岛 β 细胞损伤, 包括超微结构损伤、面积减小、胰岛素分泌受损, 胰腺中的胰岛素含量降

低^[5,14]。胚胎期暴露于双酚 A 可降低出生时仔鼠胰腺发育关键转录因子 Pdx1 的表达, 从而影响 β 细胞的正常发育, 降低 β 细胞的质量^[16]。地塞米松可通过降低子代大鼠 Pdx1、Ngn3、Pax6、NeuroD1 和 MafA 的表达导致 β 细胞和 α 细胞面积减小, 胰岛素分泌受损, 胰岛素含量降低^[14,17]。咖啡因暴露后内分泌发育相关转录因子 Pdx1、Ngn3、NeuroD1、Nkx6.1 和 Pax6 的表达均显著降低, 导致内分泌细胞发育受损, 胰岛尺寸降低、数量减少, β 细胞面积减小, 胰岛素分泌被破坏^[18]。尼古丁可下调发育期大鼠 Pdx1、Pax6 和 Nkx6.1 的表达, 导致胰岛尺寸降低, 胰岛数量减少, 使内分泌胰腺在整个胰腺中的比例显著降低^[7]。盐酸曲舍林暴露会降低子代大鼠 Pdx1、Ngn3 和 NeuroD1 的表达, 导致 β 细胞面积减小^[19]。斑马鱼胚胎暴露于邻苯二甲酸异辛酯显著下调内分泌胰腺发育关键转录因子 Pdx1 的表达, 导致 β 细胞和 α 细胞的面积显著减小, 即胰岛面积减小, 胰岛形态变异的频率增加; 外分泌胰腺发育关键转录因子 ptf1a 的表达显著降低, 导致外分泌胰腺长度缩短^[22]。斑马鱼胚胎暴露于全氟辛基磺酸显著降低了 Pdx1 的表达, 导致初级胰岛面积减小, 胰岛形态发生变异的频率增加, 次级胰岛形成延迟^[23]。小鸡胚胎暴露于丙戊酸会干扰内分泌胰腺的生长发育, 可能是由于抑制了内分泌胰腺发育关键转录因子 Pax6 的表达使胰岛的正常发育受损^[26]。

此外, 研究发现性激素与其受体结合后, 能够调控胰腺发育关键转录因子的表达, 进而影响胰腺的发育过程。Rae 等^[33]研究报道, 孕期雄激素(丙酸睾酮)能通过结合雄激素受体上调转录因子 Pdx1 的表达, 增加 β 细胞数量; Yuchi 等^[34]研究报道, 17 β -雌二醇能够通过结合雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α)调控 Ngn3 的表达, 进而促进胰腺发育过程中 β 细胞的增殖和分化。这些研究表明性激素对胰腺发育也发挥调控作用, 而环境中很多 EDCs 能够竞争性结合雌/雄激素受体而发挥抗雌/雄激素效应, 如雌马酚、染料木黄酮、三苯氧胺等能竞争结合雌激素受体, 而甲氧滴滴涕、氟他胺、甲基睾酮、乙烯菌核利代谢物等能竞争结合雄激素受体^[35]; 因此, 这类 EDCs 可能会通过竞争结合性激素受体的途径最终改变胰腺发育相关转录因子的表达水平, 但相关研究尚未见报道, 还需进一步探讨。

3.2 诱导氧化应激

研究表明, 许多内分泌干扰物可以通过诱导氧

化应激造成胰腺 β 细胞损伤。氧化应激是由于活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)产生过量造成的,由于胰腺 β 细胞中抗氧化酶的表达水平较低,因此很容易受到氧化应激的影响。ROS 可以通过多种机制影响 β 细胞的功能和存活,包括改变酶活性、离子通道运输和受体信号转导,诱发基因表达的异常调控以及细胞凋亡。

研究发现,地塞米松暴露妊娠期 Sprague-Dawley 大鼠增加了胎鼠胰腺中氧化应激标志物 8-羟基-2-脱氧鸟嘌呤核苷的含量,表明地塞米松诱发了氧化应激,并最终破坏胰腺发育,使 β 细胞面积减小,胰岛素分泌受损^[17]。Jacobs 等^[22]研究证实了氧化应激参与了邻苯二甲酸异辛酯对 *Tg(ins:GFP)* 和 *Tg(gcga:GFP)* 转基因斑马鱼胰腺器官发生的破坏:邻苯二甲酸异辛酯暴露后胰腺细胞内抗氧化物质谷胱甘肽(GSH)被氧化,该结果表明邻苯二甲酸异辛酯破坏了细胞的氧化还原环境,进而导致胰腺 β 细胞面积减小。此外,研究发现胰腺 β 细胞暴露于邻苯二甲酸二辛酯可以诱导 ROS 产生,导致 GSH 耗竭,破坏抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)的活性,并导致丙二醛(MDA)积累,表明邻苯二甲酸二辛酯可能造成 β 细胞氧化损伤^[36]。Bruin 等^[37]研究发现, Wistar 孕鼠暴露于尼古丁能通过尼古丁乙酰胆碱受体在胚胎和新生大鼠发育过程中诱导胰腺产生氧化应激:显著增加了胰腺中谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和锰超氧化物歧化酶(SOD2)的蛋白表达,以及 ROS 的生成,进而介导 β 细胞凋亡。

研究发现转录因子 Pdx1 是氧化应激损伤胰腺发育的重要靶点,氧化应激发生时,ROS 激活 β 细胞中的应激激活蛋白激酶 JNK,促使转录因子 Pdx1 从细胞核转移到细胞质中,导致 Pdx1 的核积累减少,DNA 结合活性降低,从而降低胰岛素基因的表达,最终损伤胰岛素的合成和分泌^[38-40]。De Long 等^[19]报道 Wistar 大鼠妊娠期暴露于盐酸曲舍林后,子代胰腺发生氧化应激,损伤了胰腺关键转录因子 Pdx1 的表达,导致 β 细胞的面积减少;然而,EDCs 诱发 β 细胞氧化应激后,是否通过激活 JNK 信号通路损伤 Pdx1 的表达,尚不清楚。

3.3 改变表观遗传修饰

表观遗传是指基因的序列不发生变化,但基因的表达发生了可遗传和可恢复的改变^[41-42]。研究发现,在发育的关键时期(产前和产后)暴露于 EDCs 可以导致胰腺发育关键基因的表现遗传修饰异常,进

而影响其正常表达、破坏胰腺发育。

3.3.1 影响 DNA 甲基化

DNA 甲基化主要指在 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的催化下,胞嘧啶嘧啶环 5' 位置上加入一个甲基,主要发生在 CpG 双核苷酸的胞嘧啶碱基上;CpG 双核苷酸在基因启动子区常聚集形成 CpG 岛,启动子区 CpG 岛的高甲基化和转录沉默相关^[43-44]。研究发现,妊娠期 Wistar 大鼠暴露于邻苯二甲酸二辛酯后,子代胰岛中 DNA 甲基转移酶(Dnmt1, Dnmt3a 和 Dnmt3b)的表达水平升高,整体 DNA 甲基化水平升高,这表明邻苯二甲酸二辛酯暴露可能引发胰岛发育相关基因启动子区的高甲基化;甲基化 DNA 结合蛋白 MeCP2 和 MBD2 的基因表达也升高,推测甲基化的启动子区可能和 MeCP2、MBD2 共同作用,通过招募组蛋白乙酰化酶和其他因子,阻碍转录因子与 DNA 序列的结合,从而抑制 β 细胞发育和功能相关基因的表达,并最终导致 β 细胞功能障碍^[5,45]。

环境雌激素如双酚 A、4-壬基酚、乙烯雌酚等均能与雌激素受体(estrogen receptors, ERs)结合^[35],而最近的研究发现 ERs 可能通过作用于 DNMT 等改变基因 DNA 甲基化水平。Marques 等^[46]报道乳腺癌中 ER α 可以通过招募 Dnmt3B 至基因启动子区,增加启动子的 DNA 甲基化水平,从而抑制基因表达;而 Rüegg 等^[47]研究发现 ER β 可能通过招募胸腺嘧啶糖苷酶、或阻止 DNMT 与启动子结合从而降低基因启动子区甲基化水平。这些研究提示 EDCs 特别是环境雌激素可能会通过结合 ERs、调控 DNA 甲基转移酶等的功能改变基因启动子区甲基化水平,从而调控基因表达。然而,尽管研究发现胰腺细胞中也大量表达雌激素受体^[48],且 Pdx1^[49]和胰岛素^[50]等很多胰腺发育和功能相关基因的表达也受 DNA 甲基化调控,但 EDCs 对胰腺发育和功能相关基因表达的影响是否与其激活雌激素受体—DNA 甲基转移酶途径相关,目前尚不清楚,还需进一步研究。

3.3.2 影响组蛋白的修饰

组蛋白修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、类泛素化和 ADP-核糖基化修饰,这些修饰会影响核小体中的 DNA 与转录复合物的结合^[51],继而影响基因的表达。组蛋白修饰也参与调控胰岛素基因的表达和胰腺的发育:研究发现与其他细胞相比,胰岛 β 细胞中胰岛素基因启动子邻近区域的组蛋白 3(H3)乙酰化水平以及组蛋白 3 赖氨酸 4(H3K4)

甲基化水平明显升高^[52];Haumaitre 等^[53]使用组蛋白去乙酰化酶抑制剂处理大鼠胰腺细胞,发现组蛋白乙酰化能够影响外分泌胰腺中腺泡和导管的分化、促进内分泌胰腺的分化。研究表明,妊娠期 Wistar 大鼠暴露于双酚 A 可以改变子代胰腺发育关键调控基因 Pdx1 启动子区域的组蛋白修饰:子代胰腺 Pdx1 启动子区的组蛋白 H3 和 H4 乙酰化降低,组蛋白 H3 第 4 位赖氨酸三甲基化降低、第 9 位赖氨酸双甲基化升高,这些组蛋白修饰的变化可能抑制了 Pdx1 表达,进而损伤胰腺 β 细胞的发育,降低仔鼠出生时的 β 细胞面积^[16]。

4 结语 (Conclusions)

胰腺发育异常会导致糖尿病、肥胖、胰腺癌等多种疾病。环境中存在的 EDCs 可以通过不同的作用机制干扰脊椎动物生命早期的正常胰腺发育,尤其是内分泌胰腺发育,增加成年期患糖尿病、肥胖等代谢疾病的风险。本研究揭示了环境中常见的 EDCs 对胰腺发育的影响及其作用机制,为人体健康风险评估提供参考。

通讯作者简介:赵飞(1988—),女,博士,中国海洋大学生物学流动站,博士后,主要从事污染生态学和环境内分泌干扰物研究。

参考文献 (References):

- [1] Calkins K, Devaskar S U. Fetal origins of adult disease [J]. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, 2011, 41(6): 158-176
- [2] De Long N E, Holloway A C. Early-life chemical exposures and risk of metabolic syndrome [J]. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 2017, 10: 101-109
- [3] Singleton D W, Khan S A. Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption [J]. *Frontiers in Bioscience A Journal & Virtual Library*, 2003, 8: s110-s118
- [4] Giulivo M, Lopez de Alda M, Capri E, et al. Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review [J]. *Environmental Research*, 2016, 151: 251-264
- [5] Rajesh P, Balasubramanian K. Gestational exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) impairs pancreatic β -cell function in F1 rat offspring [J]. *Toxicology Letters*, 2015, 232(1): 46-57
- [6] Liu J, Yu P, Qian W, et al. Perinatal bisphenol A exposure

- and adult glucose homeostasis: Identifying critical windows of exposure [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64143
- [7] Somm E, Schwitzgebel V M, Vauthay D M, et al. Prenatal nicotine exposure alters early pancreatic islet and adipose tissue development with consequences on the control of body weight and glucose metabolism later in life [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(12): 6289-6299
- [8] Arda H E, Benitez C, Kim S K. Gene regulatory networks governing pancreas development [J]. *Developmental Cell*, 2013, 25(1): 5-13
- [9] Cano D A, Soria B, Martín F, et al. Transcriptional control of mammalian pancreas organogenesis [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2014, 71(13): 2383-2402
- [10] Fujitani Y. Transcriptional regulation of pancreas development and β -cell function [J]. *Endocrine Journal*, 2017, 64(5): 477-486
- [11] Dassaye R, Naidoo S, Cerf M E. Transcription factor regulation of pancreatic organogenesis, differentiation and maturation [J]. *Islets*, 2016, 8(1): 13-34
- [12] Serup P. Signaling pathways regulating murine pancreatic development [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2012, 23(6): 663-672
- [13] 周光纪, 徐海伟, 屈纪富. 胰腺的发育及其相关基因调控[J]. *胰腺病学*, 2006, 6(5): 303-306
- [14] Lin Y, Wei J, Li Y, et al. Developmental exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate impairs endocrine pancreas and leads to long-term adverse effects on glucose homeostasis in the rat [J]. *American Journal of Physiology. Endocrinology Metabolism*, 2011, 301(3): E527-E538
- [15] Dumortier O, Theys N, Ahn M T, et al. Impairment of rat fetal beta-cell development by maternal exposure to dexamethasone during different time-windows [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25576
- [16] 常怀龙. 表观遗传介导发育期 BPA 暴露致大鼠胰腺发育和学习记忆受损的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016: 2-40
- Chang H L. A study on the epigenetic mechanisms mediating effects of developmental exposure to BPA on rat pancreatic development and learning/memory function [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2016: 2-40 (in Chinese)
- [17] Chen Y C, Huang Y H, Sheen J M, et al. Prenatal dexamethasone exposure programs the development of the pancreas and the secretion of insulin in rats [J]. *Pediatrics and Neonatology*, 2017, 58(2): 135-144
- [18] 寇皓. 孕期咖啡因暴露所致子代大鼠糖代谢功能改变的宫内起源及可遗传性[D]. 武汉: 武汉大学, 2014: 6-69

- Kou H. Intrauterine origins and transgenerational effects of altered function of glucose metabolism in rats exposed to caffeine prenatally [D]. Wuhan: Wuhan University, 2014: 6-69 (in Chinese)
- [19] De Long N E, Gutgesell M K, Petrik J J, et al. Fetal exposure to sertraline hydrochloride impairs pancreatic β -Cell development [J]. *Endocrinology*, 2015, 156(6): 1952-1957
- [20] Holloway A C, Lim G E, Petrik J J, et al. Fetal and neonatal exposure to nicotine in Wistar rats results in increased beta cell apoptosis at birth and postnatal endocrine and metabolic changes associated with type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2005, 48(12): 2661-2666
- [21] Tehrani Z, Lin S. Endocrine pancreas development in zebrafish [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(20): 3466-3472
- [22] Jacobs H M, Sant K E, Basnet A, et al. Embryonic exposure to mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) disrupts pancreatic organogenesis in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Chemosphere*, 2018, 195: 498-507
- [23] Sant K E, Jacobs H M, Borofski K A, et al. Embryonic exposures to perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) disrupt pancreatic organogenesis in the zebrafish, *Danio rerio* [J]. *Environmental Pollution*, 2017, 220(Pt B): 807-817
- [24] Timme-Laragy A R, Sant K E, Rousseau M E, et al. Deviant development of pancreatic beta cells from embryonic exposure to PCB-126 in zebrafish [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology: CBP*, 2015, 178: 25-32
- [25] Li L, Bonneton F, Tohme M, et al. *In vivo* screening using transgenic zebrafish embryos reveals new effects of HDAC inhibitors trichostatin A and valproic acid on organogenesis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0149497
- [26] Akhtar L, Khan M Y, Minhas L A, et al. The developmental gross morphology of pancreas in chick embryo after prenatal administration of valproic acid [J]. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 2017, 25(1): 4-7
- [27] Kaneto H, Matsuoka T A, Miyatsuka T, et al. PDX-1 functions as a master factor in the pancreas [J]. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 2008, 13: 6406-6420
- [28] Pedica F, Beccari S, Pedron S, et al. PDX-1 (pancreatic/duodenal homeobox-1 protein 1) [J]. *Pathologica*, 2014, 106(4): 315-321
- [29] Burlison J S, Long Q, Fujitani Y, et al. Pdx-1 and Ptf1a concurrently determine fate specification of pancreatic multipotent progenitor cells [J]. *Developmental Biology*, 2008, 316(1): 74-86
- [30] Adell T, Gomez-Cuadrado A, Skoudy A, et al. Role of the basic helixloop-helix transcription factor p48 in the differentiation phenotype of exocrine pancreas cancer cells [J]. *Cell Growth & Differentiation*, 2000, 11: 137-147
- [31] Kaneto H, Matsuoka T A, Kawashima S, et al. Role of MafA in pancreatic beta-cells [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2009, 61(7-8): 489-496
- [32] Odom D T, Zizlsperger N, Gordon D B, et al. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors [J]. *Science*, 2004, 303(5662): 1378-1381
- [33] Rae M, Grace C, Hogg K, et al. The pancreas is altered by in utero androgen exposure: Implications for clinical conditions such as polycystic ovary syndrome (PCOS) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56263
- [34] Yuchi Y, Cai Y, Legein B, et al. Estrogen receptor α regulates β -Cell formation during pancreas development and following injury [J]. *Diabetes*, 2015, 64(9): 3218-3228
- [35] 田华, 汝少国, 郇欣. 环境激素对鱼类内分泌轴线的干扰作用及其机制研究进展[J]. *安全与环境学报*, 2009, 9(2): 10-13
- Tian H, Ru S G, Bing X. A review on the advances in the research of disruption effects and mechanisms of environmental hormone on endocrine axes in fish [J]. *Journal of Safety and Environment*, 2009, 9(2): 10-13 (in Chinese)
- [36] She Y, Jiang L, Zheng L, et al. The role of oxidative stress in DNA damage in pancreatic β cells induced by di-(2-ethylhexyl) phthalate [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2017, 265: 8-15
- [37] Bruin J E, Petre M A, Lehman M A, et al. Maternal nicotine exposure increases oxidative stress in the offspring [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2008, 44 (11): 1919-1925
- [38] Gerber P A, Rutter G A. The role of oxidative stress and hypoxia in pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes mellitus [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2017, 26 (10): 501-518
- [39] Kajimoto Y, Kaneto H. Role of oxidative stress in pancreatic β -cell dysfunction [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2004, 1011: 168-176
- [40] Kaneto H, Kawamori D, Matsuoka T A, et al. Oxidative stress and pancreatic beta-cell dysfunction [J]. *American Journal of Therapeutics*, 2005, 12(6): 529-533
- [41] Waterland R A, Jirtle R L. Transposable elements: Targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2003, 23(15): 5293-5300
- [42] Avrahami D, Kaestner K H. Epigenetic regulation of pancreas development and function [J]. *Seminars in Cell &*

- Developmental Biology, 2012, 23(6): 693-700
- [43] Ooi S K, O'Donnell A H, Bestor T H. Mammalian cytosine methylation at a glance [J]. Journal of Cell Science, 2009, 122: 2787-2791
- [44] 赵飞. 双酚 A 对斑马鱼 (*Danio rerio*) 雌激素效应的 DNA 甲基化机制研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015: 9-14
- Zhao F. The DNA methylation mechanism underlying the estrogenic effects of bisphenol A on zebrafish (*Danio rerio*) [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015: 9-14
- [45] Bogdanovic O, Veenstra G J. DNA methylation and methyl-CpG-binding proteins: Developmental requirements and function [J]. Chromosoma, 2009, 118: 549-565
- [46] Marques M, Laflamme L, Gaudreau L. Estrogen receptor α can selectively repress dioxin receptor-mediated gene expression by targeting DNA methylation [J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(17): 8094-8106
- [47] Rüegg J, Cai W, Karimi M, et al. Epigenetic regulation of glucose transporter 4 by estrogen receptor β [J]. Molecular Endocrinology, 2011, 25(12): 2017-2028
- [48] Tiano J P, Mauvais-Jarvis F. Importance of oestrogen receptors to preserve functional β -cell mass in diabetes [J]. Nature Reviews Endocrinology, 2012, 8(6): 342-351
- [49] Park J H, Stoffers D A, Nicholls R D, et al. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1 [J]. Journal of Clinical Investigation, 2008, 118(6): 2316-2324
- [50] Kuroda A, Rauch T A, Todorov I, et al. Insulin gene expression is regulated by DNA methylation [J]. PloS One, 2009, 4(9): e6953
- [51] Cosgrove M S, Boeke J D, Wolberger C. Regulated nucleosome mobility and the histone code [J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2004, 11: 1037-1043
- [52] Chakrabarti S K, Francis J, Ziesmann S M, et al. Covalent histone modifications underlie the developmental regulation of insulin gene transcription in pancreatic beta cells [J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278 (26): 23617-23623
- [53] Haumaitre C, Lenoir O, Scharfmann R. Histone deacetylase inhibitors modify pancreatic cell fate determination and amplify endocrine progenitors [J]. Molecular and Cellular Biology, 2008, 28(20): 6373-6383 ◆