

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200827002

熊忆茗, 李红梅, 秦占芬. 双酚 A 对哺乳类实验动物雄性生殖系统发育的影响[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(4): 43-56

Xiong Y M, Li H M, Qin Z F. Effects of bisphenol A on development of male reproductive system in mammal laboratory animals [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(4): 43-56 (in Chinese)

## 双酚 A 对哺乳类实验动物雄性生殖系统发育的影响

熊忆茗<sup>1,2</sup>, 李红梅<sup>1,2</sup>, 秦占芬<sup>1,2,\*</sup>

1. 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085

2. 中国科学院大学, 北京 100049

收稿日期: 2020-08-27 录用日期: 2020-09-22

**摘要:** 内分泌干扰物双酚 A (bisphenol A, BPA) 对生殖系统尤其是雄性生殖系统的影响一直受到关注, 然而目前相关研究中存在诸多不一致的结果。本文系统分析了低剂量 BPA 对哺乳类实验动物大鼠和小鼠雄性生殖系统发育影响的文献, 重点关注睾丸和附睾的质量、睾丸组织学结构、附属腺和外生殖器参数、肛殖距、精子参数和性激素水平等指标的变化, 并探讨了实验结果与实验设计某些因素的相关性。经分析发现, 妊娠期 BPA 暴露对实验鼠雄性生殖系统的影响呈现比较一致的阳性结果, 但是哺乳期暴露和妊娠至哺乳期的暴露存在很多矛盾的结果; 而动物品系、给药方式等因素与实验结果之间没有明确的关系, 即便相似甚至相同的实验设计下也出现了不同的结果。进一步分析发现, 有些研究在实验质量控制方面存在一定的缺陷, 这可能是造成矛盾结果的主要原因。综合来看, BPA 在器官水平和组织病理学水平对雄性生殖系统发育的影响较弱, 基于此类指标的效应判断容易受到实验设计因素和质量控制的影响, 最终可能导致不一致的结果。由此建议, 今后相关研究在加强质量控制的同时, 应重点关注 BPA 对细胞和分子层面的损伤。

**关键词:** 双酚 A; 雄性生殖系统; 内分泌干扰物; 质量控制

文章编号: 1673-5897(2021)4-043-14 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Effects of Bisphenol A on Development of Male Reproductive System in Mammal Laboratory Animals

Xiong Yiming<sup>1,2</sup>, Li Hongmei<sup>1,2</sup>, Qin Zhanfen<sup>1,2,\*</sup>

1. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Received 27 August 2020 accepted 22 September 2020

**Abstract:** The effects of bisphenol A (BPA), a known endocrine disrupting chemical (EDC), on the reproductive system, especially the male reproductive system, have received much attention. However, some contradictory results are confusing. This review systematically analyzed the literatures concerning on the effects of low doses of BPA on the development of the male reproductive system in mammal laboratory animals, with focus on changes in testis mass, epididymis mass, testis histology, development of accessory glands and external genitals, anogenital distance, sperm parameters and sex hormone levels, and explored the possible correlations between the results and certain

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(21876196); 国家重点研发计划资助项目(2018YFA0901103)

第一作者: 熊忆茗(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境毒理学, E-mail: xiongyim70680@163.com

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: qinzhanfen@rcees.ac.cn

experimental factors. As a result, it was concluded that gestational exposure to BPA generally produced consistent adverse effects, while contradictory results appeared when animals were treated during lactation or from gestation to lactation, even under similar or the same experimental design. The data show no clear correlation between experimental results and experimental factors. Further analysis revealed certain defects of quality control in some literatures, which could be responsible for inconsistent results among experimental results. Taken together, BPA could lack strong influences on the development of the male reproductive system at the organ and histopathological levels, thereby resulting in the experimental results being easily interfered by experimental factors or quality control. Therefore, future relevant research should focus on cellular and molecular damages of BPA to the male reproductive system while strengthening experimental quality control.

**Keywords:** bisphenol A; male reproductive system; endocrine disrupting chemical; quality control

双酚 A(bisphenol A, BPA)为大量生产化学品,主要用于合成聚碳酸酯、环氧树脂等高分子材料,后者被用于制造饮料瓶、奶瓶和食品包装等众多的消费品。在生产、使用以及相关废弃物的处置过程中,BPA 被释放进入环境;人体通过饮食、呼吸、直接接触等途径摄入 BPA,BPA 甚至可经子宫和母乳进入胎儿和新生儿。监测数据显示,BPA 在成人和新生儿的体液与组织中均有检出,在血液与母乳中的浓度一般在皮摩尔和纳摩尔水平,有的样品中高达微摩尔水平<sup>[1-3]</sup>。

BPA 是一种复杂的内分泌干扰物,具有包括雌激素活性、雄激素活性在内的多种内分泌干扰活性,其对生殖系统尤其是雄性生殖系统的影响一直受到关注<sup>[4]</sup>。有文献报道低剂量 BPA 即可影响睾丸、附睾及附属腺的结构、精子质量和数量、激素水平以及其他的生殖相关参数,但同时又有一些研究显示 BPA 对雄性生殖系统没有明显的影响<sup>[5-6]</sup>。虽然美国食品药品监督管理局(US FDA)曾提出,不同研究间出现不一致的结果可能源于暴露方式或者毒性测试指标的差异<sup>[7]</sup>,但事实是有些采用相同暴露方式和毒性测试指标的研究也出现不一致的结果。总体来看,虽然目前关于 BPA 对雄性生殖系统发育影响的数据很多,但是对这一问题的整体认识并不清楚。

为此,本文尝试通过分析 BPA 对哺乳类实验动物(大鼠和小鼠)雄性生殖系统发育影响的文献,比较不同研究间毒性效应的差异,并探讨产生差异的可能原因,以期获得关于 BPA 雄性生殖毒性较为全面的认识。文章首先以“bisphenol A”、“male”、“reproduction/reproductive”为检索词,通过 Pubmed 获得 MEDLINE 数据库中的研究文献 139 篇,根据公认的 BPA 无可见不良效应剂量水平(NOEL)5 mg·(kg bw·d)<sup>-1</sup><sup>[8]</sup>,过滤掉高于此剂量的文献,最后确定

对 46 篇进行分析。考虑到雄性生殖系统在妊娠期和哺乳期完成不同的发育程序<sup>[9-10]</sup>,理论上不同发育期内的 BPA 暴露会产生不同的效应,因此文章按照妊娠期、哺乳期和妊娠-哺乳期 3 个暴露时期对文献进行分类分析,重点关注 BPA 对睾丸及附睾的质量和组织学结构、附属腺和外生殖器参数、肛殖距(anogenital distance, AGD)、精子参数和性激素水平的影响,在此基础上讨论暴露途径、剂量、实验动物品系等实验因素与毒性效应的关系。

## 1 妊娠期 BPA 暴露的影响 (Effects of gestational exposure to BPA)

本文收集到 19 篇关于妊娠期 BPA 暴露对雄性生殖系统发育影响的文献,考虑睾丸形成前后暴露导致的效应可能不同,因此将文献大致分为妊娠前期(GD0 ~ 14/15, 睾丸形成)、妊娠后期(GD14/15 ~ 21, 睾丸和生殖道发育)和整个(或大部分)妊娠期暴露分别分析。表 1 汇集了这些文献的实验设计和毒性效应的信息,具体分析如下。

### 1.1 妊娠前期 BPA 暴露的影响

Hong 等<sup>[11]</sup>报道 ICR 小鼠着床期(GD1 ~ 5)口服暴露 20  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$  BPA,导致子鼠在出生后 PND24 和 PND35 睾丸质量和雄激素水平下降;但当发育至 PND50,睾丸质量下降的效应消失。Rahman 等<sup>[12]</sup>报道 ICR 孕鼠在睾丸形成期间(GD7 ~ 14)灌胃 BPA,5  $\text{mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$  的剂量抑制子代成年后的生精功能,而低剂量 50  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$  的处理没有明显效应。在稍晚期(GD10 ~ 16)的 C57BL/6 小鼠暴露研究中,LaRocca 等<sup>[13]</sup>发现 50  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$  和 1 000  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$  的灌胃处理对子鼠成年后的睾丸在器官、组织、细胞水平以及分子水平上都没有影响,同时也不影响精子的发生和睾酮(T)的水平。

以上3项研究好像显示着床时期的BPA暴露对子鼠的雄性生殖系统发育有一定的影响,但是随着时间的延长,BPA的效应似乎有被修复的趋势;睾丸形成时期的BPA暴露对子鼠成年后的生殖系统似乎没有明显影响。

### 1.2 妊娠后期BPA暴露的影响

亦有研究在妊娠后期进行BPA暴露,此时睾丸已经形成。Quan等<sup>[14]</sup>选择在GD14~21对SD大鼠进行灌胃处理,发现 $1\text{ mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$  BPA对子代雄性生殖系统有明显影响,表现在断乳后睾丸组织学结构异常、T水平下降,而且肾小管的结构也出现异常;PND50时精子数量与质量降低、畸形率增加。Lv等<sup>[15]</sup>报道相同方式和相近剂量( $4\text{ mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )的BPA暴露(GD12~21),导致SD大鼠子代出生后T水平降低。在Abdel-Maksoud等<sup>[16]</sup>的灌胃暴露研究中,也发现低剂量( $2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和 $25\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )BPA对Long-Evans大鼠的睾丸产生不良影响,表现为PND35时生精上皮的细胞受到明显破坏,生精小管结构紊乱并萎缩,生殖细胞脱落进入管腔中。

Timms等<sup>[17]</sup>对妊娠后期(GD14~18)的CD-1小鼠(与ICR小鼠为同一品系)短期暴露 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$  BPA,观察到胎鼠前列腺导管被刺激发育,尿道呈现狭窄性异常。另一项对CD-1小鼠妊娠后期(GD16~18)的暴露研究发现,低剂量BPA( $50\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )虽然没有影响子鼠(PND3、21、60)的睾丸质量,但导致附睾质量减少和肛门-生殖器距离(AGD)增加<sup>[18]</sup>;这些结果好像指示BPA影响小鼠的雄性生殖系统发育,但是附睾质量与AGD作为生殖风险的标志表现出了相反的变化趋势,有违二者正相关的一般认识<sup>[19]</sup>。

就以上几项研究来看,妊娠后期BPA暴露对大鼠和小鼠的雄性生殖系统发育都有不同程度的影响,妊娠后期可能是BPA作用的较为关键的窗口期。

### 1.3 整个(或大部分)妊娠期BPA暴露的影响

全妊娠期覆盖睾丸和生殖道的发生和早期发育的过程,此时期的暴露理论上能够较好地揭示BPA对雄性生殖系统发育的影响。3篇文章研究了整个妊娠期内饮水暴露BPA的影响。Ullah等<sup>[20]</sup>对SD大鼠进行BPA暴露( $1\text{ mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和 $5\text{ mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),PND16检测到生精小管面积、间隙面积、上皮面积、曲细精管直径降低而上皮高度增加等组织学变化,且睾丸的生精与激素合成功能也受到影

响。Yang等<sup>[21]</sup>对C57BL/6J小鼠进行BPA暴露( $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ),观察到BPA引起了生精小管细胞凋亡,影响了睾丸类固醇合成能力而降低了T的水平。Tanaka等<sup>[22]</sup>对SD大鼠进行BPA暴露( $0.2、2、20$ 和 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ),新生大鼠同样检测到T降低的变化。此3项研究实验设计接近,结果也一致显示妊娠期饮水暴露BPA明显损伤雄性生殖系统发育。与饮水暴露类似,完整妊娠期内的灌胃暴露研究中也观察到BPA对雄性生殖系统发育的损伤。Henafy等<sup>[23]</sup>报道妊娠期暴露于低剂量BPA的Wistar大鼠的雄性子代出现睾丸与附睾质量降低,AGD减少的变化,但T水平没有受到明显影响。Ma等<sup>[24]</sup>对SD大鼠灌胃BPA( $0.05\text{ mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),观察到8周龄大鼠睾丸组织结构受损、精子数量减少和T水平降低。Vilela等<sup>[25]</sup>对*Calomys laucha*小鼠在妊娠期灌胃BPA,研究发现,BPA( $40、80$ 和 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )导致PND70的子鼠精子活性降低,虽然在PND21时AGD没有受到影响。

另有几项研究虽然不是在整个妊娠期都暴露于BPA,但也几乎覆盖了睾丸发生和发育的大部分过程。Wistar大鼠在GD10~21灌胃暴露于BPA( $25\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和 $250\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),子鼠在4月龄时检出睾丸器官系数降低、间质细胞坏死、生殖细胞变性、精子数量与质量降低、促黄体生成素(LH)与T水平降低等明显损伤<sup>[26]</sup>。CD-SD大鼠在GD6~21暴露于BPA( $2.5、25、250$ 和 $2\text{ }500\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),子鼠出生后有尿道短小、尿路上皮厚度小和精阜形态异常等症状<sup>[27]</sup>。相同时期(GD6~21)SD大鼠的BPA( $0.1\text{ mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )暴露研究,却发现1年龄子鼠没有出现精子和睾丸组织学结构的异常<sup>[28]</sup>。Shi等<sup>[29]</sup>在GD11~21将CD-1小鼠暴露于BPA( $0.5、20$ 和 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),虽然检测到BPA引起了睾丸细胞的凋亡,但在PND60时发现BPA没有明显影响小鼠睾丸质量或T浓度,仅低剂量BPA降低了精子数量。Wei等<sup>[30]</sup>的研究也报道了相似的结果,在GD0.5~17.5通过腹腔注射对昆明小鼠进行BPA暴露( $2.5\text{ mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和 $5\text{ mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),虽然小鼠断乳后血清T浓度显著降低,但发育至8周龄后,T浓度略有回升。这4项研究的结果差异似乎显示,停止暴露或断乳后立即检测比发育至一定阶段后再检测显示的生殖毒性更强,即BPA对生殖系统的影响在停止暴露后发生一定程度的修复。

表1 妊娠期双酚A (BPA) 暴露对实验鼠的雄性生殖系统发育的影响  
Table 1 Developmental effects of gestational exposure to bisphenol A (BPA) on the male reproductive system in laboratory rats or mice

文献 References	动物 Animal	给药时期/方式 Administration period/route	剂量/ Dosage/ ( $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )	检测 时间 Analysis time	效应 Effects							综合评价 Comprehensive evaluation	
					睾丸质量 Testis mass	附睾质量 Epididymis mass	附属腺、 外生殖器官 Accessory glands and external genitalia	肛殖距 Anogenital distance	睾丸组织学 结构 Testicular histology	精子参数 Sperm parameters	性激素水平 Sex hormone levels		
[11]	ICR 小鼠	GDI ~ 5/经口		PND24	↓	/	/	/	/	/	/	T ↓	√
	ICR mice	GDI ~ 5/po	20	PND35	↓	/	/	/	/	/	/	T ↓	√
				PND50	-	/	/	/	/	/	/	T ↓	√
[12]	ICR 小鼠	GD7 ~ 14/灌胃	50, 5 000	PND120	/	/	/	/	/	/	↓ (5 000)	/	√ (5 000)
	ICR mice	GD7 ~ 14/ig											
[13]	C57BL/6 小鼠	GD10 ~ 16/灌胃	50, 1 000	PND56	-	-	/	-	-	-	-	-	×
	C57BL/6 mice	GD10 ~ 16/ig											
[14]	SD 大鼠	GD14 ~ 21/灌胃	1 000	PND21	-	/	/	/	/	↓	/	T ↓	√
	SD rats	GD14 ~ 21/ig		PND50	/	/	/	/	/	↓	/	/	√
[15]	SD 大鼠	GD12 ~ 21/灌胃	4 000	PND0	/	/	/	/	/	/	/	T ↓	√
	SD rats	GD12 ~ 21/ig											
[16]	Long-Evans 大鼠	GD12 ~ 21/灌胃	2.5, 25	PND35	/	/	/	/	/	↓	/	/	√
	Long-Evans rats	GD12 ~ 21/ig											
[17]	CD-1 小鼠	GD14 ~ 18/经口	10	GD19	/	/	↑	/	/	/	/	/	√
	CD-1 mice	GD14 ~ 18/po											
[18]	CD-1 小鼠	GD16 ~ 18/经口	50	PND3	-	/	↑	↑	/	/	/	/	√
	CD-1 mice	GD16 ~ 18/ig		PND21	-	/	↑	↑	/	/	/	/	√
				PND60	-	↓	↑	↑	/	/	/	/	√
[20]	SD 大鼠	GD1 ~ 21/饮水	1 000, 5 000	PND16	/	/	/	/	↓	↓	↓	T ↓; LH ↓; FSH ↓; E2 ↓	√
	SD rats	GD1 ~ 21/dw											
[21]	C57BL/6J 小鼠	GD1 ~ 21/饮水	5, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	PND14	/	/	/	/	↓	/	/	T ↓	√
	C57BL/6J mice	GD1 ~ 21/dw		PND35	/	/	/	/	↓	/	/	T ↓	√



续表1

文献 References	动物 Animal	给药时期方式 Administration period/route	剂量/ Dosage/ ( $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ) ( $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )	检测 时间 Analysis time	效应 Effects							综合评价 Comprehensive evaluation
					睾丸质量 Testis mass	附睾质量 Epididymis mass	附属腺、 外生殖器 Accessory glands and external genitalia	肛殖距 Anogenital distance	睾丸组织学 结构 Testicular histology	精子参数 Sperm parameters	性激素水平 Sex hormone levels	
[22]	SD 大鼠 SD rats	GD1 ~21/饮水 GD1 ~21/dw	0.2, 2, 20, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	PND1	/	/	/	/	/	/	T ↓	✓
[23]	Wistar 大鼠 Wistar rats	GD1 ~21/灌胃 GD1 ~21/ig	50	PND60	↓	↓	/	↓	/	/	-	✓
[24]	SD 大鼠 SD rats	GD1 ~21/灌胃 GD1 ~21/ig	50, 5 000	PND56	/	/	/	/	↓	↓	T ↓; LH ↓	✓
[25]	<i>Calomys laucha</i> 小鼠 <i>Calomys laucha</i> mice	GD1 ~21/灌胃 GD1 ~21/ig	40, 80, 200	PND21 PND70	/	/	/	-	/	/	/	×
[26]	Wistar 大鼠 Wistar rats	GD10 ~21/灌胃 GD10 ~21/ig	25, 250	PND120	↓	/	/	/	↓	↓	T ↓; LH ↓	✓
[27]	CD-SD 大鼠 CD-SD rats	GD6 ~21/灌胃 GD6 ~21/ig	2.5, 25, 250, 2 500	PND1	/	/	↓	/	/	/	/	✓
[28]	SD 大鼠 SD rats	GD6 ~21/灌胃 GD6 ~21/ig	100	PND360	/	/	/	/	-	-	/	×
[29]	CD-1 小鼠 CD-1 mice	GD11 ~21/经口 GD11 ~21/po	0.5, 20, 50	PND12 PND60	↑(0.5)	/	/	/	↓	/	/	✓
[30]	昆明小鼠 Kunming mice	GD0.5 ~17.5/ 腹腔注射 GD0.5 ~17.5/ip	2 500, 5 000	PND21 PND56	-	/	/	/	↓	/	T ↓	✓

注: po, 口服; ig, 灌胃; dw, 饮水; ip, 腹腔注射; ↑, 促进作用; ↓, 抑制作用; -, 无明显作用; /, 未检测; ×, 综合认为无效应; GD, 孕期天数; PND, 产后天数; T, 睾酮; LH, 促黄体生成素; FSH, 促卵泡生成素; E2, 雌二醇; CD-1 小鼠与 ICR 小鼠属同一品系, 表中记录以原文表述为准; 括号中为有效应的剂量, 没有注明剂量则表示所有剂量都产生效应。  
 Note: po, peros; ig, intragastric administration; dw, drinking water; ip, intraperitoneal injection; ↑, promoting effect; ↓, inhibiting effect; -, no obvious effect; /, not detected; ×, comprehensively considered effective; ×, comprehensively considered no effect; GD, gestation day; PND, postnatal day; T, testosterone; LH, luteinizing hormone; FSH, follicle stimulating hormone; E2, estradiol; CD-1 mice and ICR mice belong to the same strain, and the records in the table are subject to the original expression; the effective dose is shown in parentheses; when all doses produce effects, it will not be specifically labeled.

就以上文献来看,妊娠前期、后期以及整个妊娠期的BPA暴露对实验鼠的雄性生殖系统发育都有不良影响,且不良效应的产生可能与暴露方式无关,灌胃、饮水和注射的暴露方式都可产生阳性结果。

## 2 哺乳期BPA暴露的影响(Effects of lactational exposure to BPA)

哺乳期内睾丸、生殖道乃至整个雄性生殖系统进一步发育,研究此发育期内BPA暴露效应的文献较多,在表2中概括了主要文献研究的实验设计和毒性效应的信息,具体分析如下。

Kalb等<sup>[31]</sup>对瑞士白化小鼠母体管饲BPA(300、900和3000  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),发现高剂量组的子鼠在8个月龄时出现AGD降低、生精小管发育不全的现象,且所有剂量的BPA均影响了精子生成。解美娜和李锋杰<sup>[32]</sup>用相似方式处理ICR小鼠(0.01  $\text{mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和5  $\text{mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),PND75检测到BPA对子鼠睾丸组织学结构的损伤并伴有细胞凋亡。该作者也研究了通过皮下注射相同剂量BPA的方式直接处理哺乳期ICR小鼠,哺乳结束时发现BPA处理组的生精小管结构破坏、生殖细胞凋亡<sup>[33]</sup>。事实上,更多的研究都选择使用BPA直接处理哺乳期的子鼠而不是通过母鼠给药经哺乳暴露。Henafy等<sup>[23]</sup>报道哺乳期大鼠管饲BPA(50  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),在PND60检测到大鼠体质量、睾丸与附睾质量降低,伴有AGD缩小和T水平降低。

除整个哺乳期的暴露外,另有哺乳期内部分时间段暴露BPA对雄性生殖系统发育影响的报道。Aikawa等<sup>[34]</sup>对新生SHN小鼠持续5d皮下注射BPA(0.5  $\mu\text{g}\cdot(\text{只}\cdot\text{d})^{-1}$ 和50  $\mu\text{g}\cdot(\text{只}\cdot\text{d})^{-1}$ ),检测到10周龄小鼠精子畸形发生率增加、活动率降低,但睾丸组织学结构未出现明显异常。Salian等<sup>[35]</sup>报道相同时期的皮下注射(剂量为100、200、400、800和1600  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),Holtzman大鼠在PND125时精子数量和质量也受到明显影响,且有生殖细胞脱落到生精小管腔中,成年后生育能力也受到影 响;但该研究还在400  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 剂量组中观察到了T增加的现象,与其他参数的结果存在一定的矛盾。Toyama和Yuasa<sup>[36]</sup>对Wistar大鼠及ICR小鼠在PND1~11期间隔日皮下注射600  $\mu\text{g}$  BPA,青春期时检测到动物精子形态异常,性成熟后虽仍有部分精子头部发生变形,但生殖能力并未损伤。而Nagao等<sup>[37]</sup>虽然也进行了5d的BPA暴露(300  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),但在断乳(PND21)或性成熟(PND84)时均未检

测到对睾丸质量或结构的影响。Kato等<sup>[38]</sup>在PND1~9对SD大鼠进行0.024、0.12、0.6和3  $\mu\text{g}\cdot(\text{只}\cdot\text{d})^{-1}$  BPA的暴露,PND35和PND150时同样未检测到睾丸和附睾质量、结构及性激素生成方面的缺陷。这几项研究虽然在相似发育期同样使用了皮下注射的给药方式,但结果互有矛盾。而Brouard等<sup>[39]</sup>在PND15~30对SD大鼠皮下注射BPA(50  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),结束后检测到大鼠睾丸质量增加、生精小管中管腔和顶体数目增加的现象,但对编码血液睾丸屏障(BTB)蛋白的基因的分析显示了BPA对血液睾丸屏障的形成有一定抑制作用,这不利于精子发生或对已形成精子有损害作用。这项研究报道的BPA效应指标中存在矛盾,也缺少对精子数量或质量的评估,难以直接判断BPA对生精功能的影响。

Zhang等<sup>[40]</sup>虽然从PND3才开始对CD-1小鼠进行BPA暴露处理(20  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和40  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),但是持续到PND21、35、49时,发现2个长时间暴露组的睾丸组织学结构发生异常,精子数量和精液质量也显著降低,但是PND21组没有出现类似的效应。

整体来看,文献中有关BPA对实验鼠雄性生殖发育影响的数据出现诸多不一致的结果,即便在实验设计相似的情况下也出现了这样的现象,而且不良效应的有无好像与鼠的品系或暴露方式没有明确的关系。

## 3 妊娠期-哺乳期BPA暴露的影响(Effects of exposure to BPA from gestation to lactation)

妊娠期与哺乳期的长期暴露是研究化学物质生殖毒性必须要考虑的实验设计。本文共收集到16篇关于此时期内BPA暴露对雄性生殖系统发育影响的文献,主要信息统计在表3中。

有5篇文献报道了整个妊娠期至哺乳期的暴露研究。Liu等<sup>[41]</sup>对ICR小鼠进行饮水BPA暴露(10、100和1000  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),结束后小鼠睾丸器官系数略有降低,但在电镜下观察到100  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  BPA引起睾丸中精原细胞、Sertoli细胞、Leydig细胞及肾小管周围肌样细胞形态异常及凋亡。Cardoso等<sup>[42]</sup>对Wistar大鼠进行了相似的BPA暴露研究(2.5  $\text{mg}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),至PND90检测到大鼠性激素分泌与调节功能受损。Gómez等<sup>[43]</sup>则进行了低剂量的饮水暴露(3  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),至PND35时也检测到了BPA引起了大鼠睾丸组织学损伤,生精小管管腔面积减少。另有研究使用灌胃暴露的方式处理大鼠,

表 2 哺乳期 BPA 暴露对实验鼠的雄性生殖系统发育的影响  
Table 2 Developmental effects of lactational exposure to BPA on the male reproductive system in laboratory rats or mice

文献 Reference	动物 Animal	给药时期/方式 Administration period/route	剂量/ ( $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\text{ bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ) Dosage/ ( $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\text{ bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )	检测 时间 Analysis time	效应 Effects							综合评价 Comprehensive evaluation
					睾丸质量 Testis mass	附睾质量 Epididymis mass	附属腺、外生殖器 Accessory glands and external genitalia	肛殖距 Anogenital distance	睾丸组织学 结构 Testicular histology	精子参数 Sperm parameters	性激素水平 Sex hormone levels	
[31]	瑞士白化小鼠 Swiss albino mice	PND1 ~ 21/灌胃 PND1 ~ 21/ig	300, 900, 3 000	PND240	-	/	/	↓ (3 000)	↓ (3 000)	↓	-	✓
[32]	ICR 小鼠 ICR mice	PND2 ~ 22/灌胃 PND2 ~ 22/ig	10, 5 000	PND75	↑ (5 000)	/	/	/	↓	/	/	✓
[33]	ICR 小鼠 ICR mice	PND1 ~ 21/ 皮下注射 PND1 ~ 21/sc	10, 100, 5 000	PND22	/	/	/	/	↓	/	/	✓
[23]	Wistar 大鼠 Wistar rats	PND1 ~ 21/灌胃 PND1 ~ 21/ig	50	PND60	↓	/	/	↓	/	/	T ↓	✓
[34]	SHN 小鼠 SHN mice	PND1 ~ 5/ 皮下注射 PND1 ~ 5/sc	0.5, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$	PND70	/	/	/	/	-	↓ (50)	/	✓ (50)
[35]	Holtzman 大鼠 Holtzman rats	PND1 ~ 5/ 皮下注射 PND1 ~ 5/sc	100, 200, 400, 800, 1 600	PND125	/	/	/	/	↓ (400, 1 600)	↓ (200 ~ 1 600)	T ↑ (400)	✓ (200 ~ 1 600)
[36]	ICR 小鼠, Wistar 大鼠 ICR mice, Wistar rats	PND1 ~ 11 /皮下注射 PND1 ~ 11/sc	小鼠 Mice 0.05, 0.5, 2.5, 5; 大鼠 Rat 0.5, 5, 50, 300 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$	PND49 PND56	-	/	/	/	/	↓	/	✓
[37]	SD 大鼠 SD rats	PND1 ~ 5/ 皮下注射 PND1 ~ 5/sc	300	PND21 PND84	-	/	/	/	-	/	/	×
[38]	SD 大鼠 SD rats	PND1 ~ 9/ 皮下注射 PND1 ~ 9/sc	0.024, 0.12, 0.6, 3 $\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$	PND10 PND35 PND150	-	-	/	/	-	/	-	×
[39]	SD 大鼠 SD rats	PND15 ~ 30 /皮下注射 PND15 ~ 30/sc	50	PND31	↑	/	/	/	↓	/	-	✓





续表 3

文献 Reference	动物 Animal	给药时期/方式 Administration period/route	剂量/ ( $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ) ( $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )	检测 时间 Analysis time	效应 Effects							综合评价 Comprehensive evaluation	
					睾丸质量 Testis mass	附睾质量 Epididymis mass	附属腺、外生殖器 Accessory glands and external genitalia	肌间距 Anogenital distance	睾丸组织学 结构 Testicular histology	精子参数 Sperm parameters	性激素水平 Sex hormone levels		
[45]	Long-Evans 大鼠	GDI ~ PND9/灌胃	4, 40, 400	PND23	/	/	/	/	/	/	/	FSH ↓; LH-	×
[46]	Long-Evans rats Fischer 344 大鼠	GDI ~ PND9/ig GD3.5 ~ PND22/饮水	0.5, 50	PND35 PND360	-	/	-	-	-	-	-	-	×
[48]	Fischer 344 rats SD 大鼠	GD3.5 ~ PND22/dw GD6 ~ PND21/饮水	330, 3 300	PND35 PND90	-	/	-	-	-	-	-	T ↑	✓
[49]	SD rats CD-SD 大鼠	GD6 ~ PND21/dw GD6 ~ PND21/灌胃	2.5, 25, 250, 2 500, 25 000	PND365/730	-	-	-	/	/	/	-	-	×
[50]	CD-SD rats CD-SD 大鼠	GD6 ~ PND21/ig GD6 ~ PND15 GD6 ~ PND21/灌胃	2.5, 8, 25, 80, 260, 840, 2 700	PND80/90 PND80/90	/	/	/	/	/	/	-/-	-/-	×
[51]	Wistar 大鼠	GD6 ~ PND21/ig GD7 ~ PND22/灌胃	25, 250, 5 000	PND22	-	-	-	-	↓	/	/	/	✓
[52]	Wistar rats Wistar 大鼠	GD7 ~ PND22/ig GD7 ~ PND22/灌胃	25, 250, 1 800	PND22 PND105 PND240	-	/	-	-	/	-	/	↓(25) /	× ✓(25)
[53]	Wistar rats ICR 小鼠	GD7 ~ PND22/ig GD6 ~ PND20/灌胃	4 000	PND240 PND63 PND252	-	-	-	/	/	/	/	T ↑; LH-; FSH-; E2- /	×
[54]	ICR mice Holtzman 大鼠	GD6 ~ PND20/ig GD12 ~ PND21/灌胃	1.2, 2.4	PND75	-	↑	/	/	/	↓	/	T ↓; LH ↓; FSH ↓; E2 ↓	✓
[55]	Holtzman rats Long-Evans 大鼠	GD12 ~ PND21/ig GD12 ~ PND21/灌胃	2.5, 25	PND90	-	/	/	/	/	/	/	T-	✓
[56]	Long-Evans rats Wistar 大鼠	GD12 ~ PND21/ig GD18 ~ PND5/皮下注射	500, 5 000	PND90	/	/	/	/	/	/	/	LH ↑(500)	×
[57]	Wistar 大鼠	GD18 ~ PND5/皮下注射 GD18 ~ PND5/sc	500, 5 000	PND90	/	↓(5 000)	↑(5 000)	/	/	↓	/	T ↑	✓

注: dw, 饮水; ig, 灌胃; si, 皮下植入; sc, 皮下注射; ↑, 促进作用; ↓, 抑制作用; -, 无明显作用; /, 未检测; ×, 综合认为有效; ✓, 综合认为无效; GD, 孕期天数; PND, 产后天数; T, 睾酮; Gn-RH, 促性腺激素释放激素; LH, 促黄体生成素; FSH, 促卵泡生成素; E2, 雌二醇; 括号中为有效应的剂量, 没有注明剂量的表示所有剂量都产生效应。

Note: dw, drinking water; ig, intragastric administration; si, subcutaneous implant; sc, subcutaneous injection; ↑, promoting effect; ↓, inhibiting effect; -, no obvious effect; /, not detected; ✓, comprehensively considered effective; ×, comprehensively considered no effect; GD, gestation day; PND, postnatal day; T, testosterone; Gn-RH, gonadotrophin releasing hormone; LH, luteinizing hormone; FSH, follicle stimulating hormone; E2, estradiol; the effective dose is shown in parentheses; when all doses produce effects, it will not be specifically labeled.

断乳后大鼠的生殖器官发育显著受损,睾丸及附睾质量减少、AGD降低,且T浓度也降低<sup>[23]</sup>。而Okada和Kai<sup>[44]</sup>设计了一种特殊的给药方式,将定量BPA(100  $\mu\text{g}$ 、5 mg)装入医用聚乙烯管皮下植入小鼠体内,使化合物以一定速度持续释放。暴露结束后虽然雄性子代睾丸、附睾和附属腺的相对质量没有明显变化,但生精小管中观出现生殖细胞脱落、细长精子数量减少,且BPA表现出对T合成低剂量促进而高剂量抑制的双向剂量-效应影响。相较前3项研究,Okada和Kai<sup>[44]</sup>的研究克服了饮水给药过程中药物摄入量不稳定、代谢转化的问题,所使用的药物剂量可能更接近于理想模型。

此外,另有11篇文献研究了部分妊娠期至哺乳期BPA暴露的效应。Sadowski等<sup>[45]</sup>在GD1~PND9对Long-Evans大鼠灌胃BPA(4、40和400  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),断乳后发现BPA仅引起了促卵泡生成素(FSH)降低。Spöndly-Nees等<sup>[46]</sup>在着床期开始至哺乳期结束(GD3.5~PND22)对Fischer 344大鼠进行饮水低剂量BPA暴露(0.5  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和50  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),但无论在发育早期(PND35)或晚期(PND365)检测均未发现生殖系统受到明显损害。另一些从着床期之后进行暴露的研究也报道了不同的结果。Meng等<sup>[47]</sup>自GD6对C57BL/6小鼠进行饮水BPA暴露(15  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和150  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),至PND49时虽然未检测到睾丸、附睾质量的变化,但引起了生精小管萎缩、生精细胞紊乱和管腔精子减少等病变,并在高剂量组观察到精子数量降低、畸形率提高。Kobayashi等<sup>[48]</sup>的研究用相同方式处理大鼠,无论剂量高低,检测时间早晚,雄性子代都未表现出明显的生殖损伤。除饮水暴露外,使用灌胃途径给药的研究也得到不一致的结果。美国国家毒理学计划(NTP)曾对BPA进行了一项系统的研究:在GD6~PND21对CD-SD大鼠灌胃BPA(2.5、25、250、2 500和25 000  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )并在PND365或者PND730进行多指标检测,发现BPA对相关生殖器官的发育及生精功能均没有明显的影响<sup>[49]</sup>。Delclos等<sup>[50]</sup>同样进行了大范围剂量的研究,在GD6~21的孕期暴露结束后持续至PND15、21对CD-SD大鼠灌胃BPA(2.5、8、25、80、260、840和2 700  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),发育成熟后没有检测到生殖器官形态异常或生精功能损伤。Christiansen等<sup>[51]</sup>对Wistar大鼠灌胃BPA(0.025、0.25和5  $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),暴露结束后,虽然BPA没有影响睾丸、附睾、

腹侧前列腺、精囊、膀胱小腺、肾上腺和甲状腺等器官的质量,但引起了AGD降低。Hass等<sup>[52]</sup>进行了同样的实验设计,在多个发育期均未检测到BPA对生殖器官的显著影响,仅发现低剂量BPA表现出抑制精子生成的作用。Watanabe等<sup>[53]</sup>对ICR小鼠灌胃BPA(4  $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),在9周龄及36周龄时检测到T增加的异常变化。Salian等<sup>[54]</sup>在GD12~PND21对Holtzman大鼠进行了低剂量BPA灌胃暴露(1.2  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和2.4  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),PND75检测到大鼠精子数量与活动能力降低,而Nanjappa等<sup>[55]</sup>对Long-Evans大鼠进行的同时期灌胃研究(2.5  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和25  $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ )也发现BPA抑制了类固醇生成酶的表达。围产期(GD14~PND7)暴露也是研究关注的重要窗口之一。Oliveira等<sup>[56]</sup>在GD18~PND5对Wistar大鼠皮下注射BPA(0.5  $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ 和5  $\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})^{-1}$ ),发现在PND90,BPA同样没有明显影响性激素的分泌与调节。Campos等<sup>[57]</sup>进行了相同暴露期与剂量的研究,在PND90时检测到BPA抑制生精小管的发育与精子生成的阳性结果,但同时T水平升高,这些指标之间存在矛盾。

通过以上分析,发现妊娠期-哺乳期BPA暴露研究比哺乳期暴露研究呈现更多的矛盾结果。以T水平这一单一指标为例,11项妊娠期-哺乳期BPA暴露研究中,6项报道BPA对T水平没有影响,2项报道BPA导致T降低,3项报道BPA导致T升高(表4)。Goodman等<sup>[58-59]</sup>在综述BPA对大鼠生殖和发育影响的文献时也发现,不同研究间存在诸多矛盾的结果;通过评价研究的质量控制,作者认为矛盾的结果可能与不严格的质量控制有关,所以即便有阳性的结果也不足以确定BPA是否影响大鼠的生殖和发育。本文参考Goodman提出的方法,根据实验方法描述是否详细规范、统计检验方法是否合理、统计单元设置是否正确以及是否设置了阳性对照等4项要求,对以上涉及T水平的11项研究进行质量控制的评价(表4)。结果表明,仅有1项研究能够满足所有4项要求,而其他研究仅满足4项要求中的2项或者3项。值得注意的是,多项研究均未使用“窝/笼”作为统计单元,而以实验动物个体作为统计单元,这在发育毒性的研究中是不可接受的。因此,综合实验质量评价结果,可以认为目前这些文献因为缺乏严格的质量控制,所得到的结果尚不能对妊娠-哺乳期BPA暴露是否影响T水平乃至雄性生殖系统发育给出明确的结论。

#### 4 讨论与展望 (Discussion and perspective)

本文分析了妊娠期、哺乳期以及妊娠期-哺乳期BPA暴露对雄鼠生殖系统发育影响的文献,以睾丸和附睾的质量、睾丸组织学结构、附属腺和外生殖器参数、AGD、精子参数和性激素水平等6项指标为标准,综合评价了各研究的结果及与实验设计的关系,发现妊娠期BPA暴露对雄性生殖系统发育影响的研究给出了比较一致的阳性结果,而哺乳期暴露研究的结果呈现阳性和阴性的矛盾。这些现象似乎指示妊娠期暴露的影响比哺乳期暴露的影响更加明显。然而,当BPA暴露从妊娠期延长至哺乳期,发现对雄性生殖系统发育的影响非但没有像单独妊娠期暴露那样得出比较一致的阳性结果,反而出现了更多的阴性结果。这种现象在逻辑上好像是不合理的。考虑到使用不同暴露方式可能导致BPA在体内经历不同的代谢过程,导致BPA在生物体组织中的浓度差异<sup>[60]</sup>,本文尝试分析暴露方式与矛盾结果的关系。然而,上述分析表明暴露方式以及动物品系、剂量等其他实验设计因素与阴性、阳性结果之间没有明确的关系,即便相似甚至相同的实验设计下也出现了不同的结果。如前文所述,我们分析妊娠-哺乳期暴露的部分研究在

实验的质量控制方面存在一定的缺陷,所以更倾向于用实验质量控制不严格来解释目前文献中出现的矛盾结果。也就是说,尽管目前有关BPA暴露对雄性生殖系统发育影响的数据很多,但是因实验质量控制问题导致的矛盾结果并不能给出明确的结论。总体来看,BPA对睾丸和附睾的质量、睾丸组织学结构、附属腺和外生殖器参数、AGD、精子参数和性激素水平等较为宏观的雄性生殖毒性指标的影响即便存在也相对较弱,因此微弱的实验条件的差异甚至是相同实验条件下只是质量控制的差异就可导致结果的不同。

为获得低剂量BPA是否影响雄性生殖系统发育这一问题的更有说服力的结果,今后的研究中务必加强实验质量的控制,尤其需要选择合适的统计方法和统计单元并适当增加样本量。另外,除关注睾丸和附睾的质量、睾丸组织学结构、附属腺和外生殖器参数、AGD、精子参数、性激素水平等传统的和粗放的雄性生殖毒性指标外,需要开发和使用细胞和分子层面的指标,建立更为敏感的研究方法,以在更精细的水平识别BPA对雄性生殖系统发育的损伤,这也正是目前化学品毒性测试面临的课题和未来发展的方向。

表4 实验质量评价:妊娠-哺乳期BPA暴露对鼠睾酮(T)水平的影响

Table 4 Evaluation of experimental quality: Effects of exposure to BPA from gestation to lactation on testosterone (T) levels in laboratory rats or mice

文献 Reference	T变化情况 Change of T level	实验方法描述 Experimental method description	统计检验 Statistical test	统计单元 Statistical unit	阳性对照 Positive control	质量控制评价 Quality control evaluation
[43]	-	√	√	×	×	
[44]	-	√	√	×	×	
[46]	-	×	√	×	√	
[50]	-	√	√	×	×	
[55]	-	√	√	×	×	
[49]	-	√	√	√	√	
[42]	↓	√	√	×	×	
[54]	↓	√	√	×	√	
[48]	↑	√	√	×	×	
[53]	↑	√	√	×	×	
[57]	↑	√	√	×	×	

注: ↑, T相相对照升高; -, T相相对照无显著变化; ↓, T相相对照降低; √, 符合该标准; ×, 不符合该标准; 质量控制评价中深色表示该项研究符合的质量控制标准数较多, 浅色则表示较少。

Note: ↑, T level is higher than the control; -, T level has no significant change compared to the control; ↓, T level is lower than the control; √, it meets this standard; ×, it does not meet this standard.; the darker color in the quality control evaluation indicates that the research meets more quality control standards, and the lighter color indicates less.

通讯作者简介:秦占芬(1971—),女,博士,研究员,主要研究方向为环境物质的内分泌干扰作用及相关的发育毒性,主要关注不良效应的早期分子和细胞事件并以此开发更为敏感和快速的毒性测试方法。

#### 参考文献(References):

- [1] Rochester J R. Bisphenol A and human health: A review of the literature [J]. *Reproductive Toxicology*, 2013, 42: 132-155
- [2] Inoue K, Kato K, Yoshimura Y, et al. Determination of bisphenol A in human serum by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical detection [J]. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 2000, 749(1): 17-23
- [3] Takeuchi T, Tsutsumi O. Serum bisphenol A concentrations showed gender differences, possibly linked to androgen levels [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 291(1): 76-78
- [4] Rubin B S. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects [J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, 127(1-2): 27-34
- [5] Matuszczak E, Komarowska M D, Debek W, et al. The impact of bisphenol A on fertility, reproductive system, and development: A review of the literature [J]. *International Journal of Endocrinology*, 2019, 2019: 4068717
- [6] Mínguez-Alarcón L, Hauser R, Gaskins A J. Effects of bisphenol A on male and couple reproductive health: A review [J]. *Fertility and Sterility*, 2016, 106(4): 864-870
- [7] United States Food and Drug Administration (US FDA). Update on bisphenol A for use in food contact applications [R]. Rockville: United States Food and Drug Administration, 2010
- [8] Tyl R W, Myers C B, Marr M C, et al. Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats [J]. *Toxicological Sciences*, 2002, 68(1): 121-146
- [9] Piprek R P. *Molecular Mechanisms of Cell Differentiation in Gonad Development* [M]. Cham: Springer International Publishing, 2016: v-ix
- [10] Pask A. The reproductive system [J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2016, 886: 1-12
- [11] Hong J, Chen F, Wang X L, et al. Exposure of preimplantation embryos to low-dose bisphenol A impairs testes development and suppresses histone acetylation of StAR promoter to reduce production of testosterone in mice [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2016, 427: 101-111
- [12] Rahman M S, Kwon W S, Karmakar P C, et al. Gestational exposure to bisphenol A affects the function and proteome profile of F1 spermatozoa in adult mice [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2017, 125(2): 238-245
- [13] LaRocca J, Boyajian A, Brown C, et al. Effects of in utero exposure to bisphenol A or diethylstilbestrol on the adult male reproductive system [J]. *Birth Defects Research Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, 2011, 92(6): 526-533
- [14] Quan C, Wang C, Duan P, et al. Prenatal bisphenol A exposure leads to reproductive hazards on male offspring via the Akt/mTOR and mitochondrial apoptosis pathways [J]. *Environmental Toxicology*, 2017, 32(3): 1007-1023
- [15] Lv Y, Li L L, Fang Y H, et al. In utero exposure to bisphenol A disrupts fetal testis development in rats [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 246: 217-224
- [16] Abdel-Maksoud F M, Ali F A Z, Akingbemi B T. Prenatal exposures to bisphenol A and di (2-ethylhexyl) phthalate disrupted seminiferous tubular development in growing male rats [J]. *Reproductive Toxicology*, 2019, 88: 85-90
- [17] Timms B G, Howdeshell K L, Barton L, et al. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra [J]. *PNAS*, 2005, 102(19): 7014-7019
- [18] Gupta C. Reproductive malformation of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals [J]. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine*, 2000, 224(2): 61-68
- [19] Schwartz C L, Christiansen S, Vinggaard A M, et al. Anogenital distance as a toxicological or clinical marker for fetal androgen action and risk for reproductive disorders [J]. *Archives of Toxicology*, 2019, 93(2): 253-272
- [20] Ullah A, Pirzada M, Jahan S, et al. Prenatal BPA and its analogs BPB, BPF, and BPS exposure and reproductive axis function in the male offspring of Sprague Dawley rats [J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2019, 38(12): 1344-1365
- [21] Yang Q T, Sui X X, Cao J J, et al. Effects of exposure to bisphenol A during pregnancy on the pup testis function [J]. *International Journal of Endocrinology*, 2019, 2019: 1-8
- [22] Tanaka M, Nakaya S, Katayama M, et al. Effect of prenatal exposure to bisphenol A on the serum testosterone concentration of rats at birth [J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2006, 25(7): 369-373
- [23] Henafy H M A, Ibrahim M A, Abd El Aziz S A, et al. Oxidative stress and DNA methylation in male rat pups provoked by the transplacental and translactational expo-



- sure to bisphenol A [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(4): 4513-4519
- [24] Ma L, Yu H Y, Wang X, et al. The effects of maternal exposure to BPA during pregnancy on the male reproductive system and the testicular microRNA expression profile [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(14): 17290-17302
- [25] Vilela J, Hartmann A, Silva E F, et al. Sperm impairments in adult vesper mice (*Calomys laucha*) caused by in utero exposure to bisphenol A [J]. *Andrologia*, 2014, 46 (9): 971-978
- [26] Olukole S G, Lanipekun D O, Ola-Davies E O, et al. Maternal exposure to environmentally relevant doses of bisphenol A causes reproductive dysfunction in F1 adult male rats: Protective role of melatonin [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26 (28): 28940-28950
- [27] Uchtmann K S, Taylor J A, Timms B G, et al. Fetal bisphenol A and ethinylestradiol exposure alters male rat urogenital tract morphology at birth: Confirmation of prior low-dose findings in CLARITY-BPA [J]. *Reproductive Toxicology*, 2020, 91: 131-141
- [28] Wistuba J, Brinkworth M H, Schlatt S, et al. Intrauterine bisphenol A exposure leads to stimulatory effects on Sertoli cell number in rats [J]. *Environmental Research*, 2003, 91(2): 95-103
- [29] Shi M X, Sekulovski N, MacLean J A, et al. Prenatal exposure to bisphenol A analogues on female reproductive functions in mice [J]. *Toxicological Sciences*, 2019, 168 (2): 561-571
- [30] Wei Y Y, Han C, Geng Y M, et al. Maternal exposure to bisphenol A during pregnancy interferes testis development of F1 male mice [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(23): 23491-23504
- [31] Kalb A C, Kalb A L, Cardoso T F, et al. Maternal transfer of bisphenol A during nursing causes sperm impairment in male offspring [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2016, 70(4): 793-801
- [32] 解美娜, 李锋杰. 哺乳期接触双酚A对子代小鼠睾丸线粒体的影响[J]. *卫生研究*, 2014, 43(6): 962-966  
Xie M N, Li F J. Effects of bisphenol A exposure during lactation on testicular mitochondria in male mouse offspring [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2014, 43(6): 962-966 (in Chinese)
- [33] Xie M N, Bu P L, Li F J, et al. Neonatal bisphenol A exposure induces meiotic arrest and apoptosis of spermatogenic cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(9): 10606-10615
- [34] Aikawa H, Koyama S, Matsuda M, et al. Relief effect of vitamin A on the decreased motility of sperm and the increased incidence of malformed sperm in mice exposed neonatally to bisphenol A [J]. *Cell and Tissue Research*, 2004, 315(1): 119-124
- [35] Salian S, Doshi T, Vanage G. Neonatal exposure of male rats to bisphenol A impairs fertility and expression of Sertoli cell junctional proteins in the testis [J]. *Toxicology*, 2009, 265(1-2): 56-67
- [36] Toyama Y, Yuasa S. Effects of neonatal administration of  $17\beta$ -estradiol,  $\beta$ -estradiol 3-benzoate, or bisphenol A on mouse and rat spermatogenesis [J]. *Reproductive Toxicology*, 2004, 19(2): 181-188
- [37] Nagao T, Saito Y, Usumi K, et al. Reproductive function in rats exposed neonatally to bisphenol A and estradiol benzoate [J]. *Reproductive Toxicology*, 1999, 13(4): 303-311
- [38] Kato H, Furuhashi T, Tanaka M, et al. Effects of bisphenol A given neonatally on reproductive functions of male rats [J]. *Reproductive Toxicology*, 2006, 22(1): 20-29
- [39] Brouard V, Guénon I, Bouraima-Lelong H, et al. Differential effects of bisphenol A and estradiol on rat spermatogenesis' establishment [J]. *Reproductive Toxicology*, 2016, 63: 49-61
- [40] Zhang G L, Zhang X F, Feng Y M, et al. Exposure to bisphenol A results in a decline in mouse spermatogenesis [J]. *Reproduction, Fertility, and Development*, 2013, 25 (6): 847-859
- [41] Liu X L, Chen X Y, Wang Z C, et al. Effects of exposure to bisphenol A during pregnancy and lactation on the testicular morphology and caspase-3 protein expression of ICR pups [J]. *Biomedical Reports*, 2013, 1(3): 420-424
- [42] Cardoso N, Pandolfi M, Lavalle J, et al. Probable gamma-aminobutyric acid involvement in bisphenol A effect at the hypothalamic level in adult male rats [J]. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2011, 67(4): 559-567
- [43] Gámez J M, Penalba R, Cardoso N, et al. Low dose of bisphenol A impairs the reproductive axis of prepuberal male rats [J]. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2014, 70(1): 239-246
- [44] Okada A, Kai O. Effects of estradiol-17beta and bisphenol A administered chronically to mice throughout pregnancy and lactation on the male pups' reproductive system [J]. *Asian Journal of Andrology*, 2008, 10(2): 271-276
- [45] Sadowski R N, Park P, Neese S L, et al. Effects of perinatal bisphenol A exposure during early development on radial arm maze behavior in adult male and female rats [J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2014, 42: 17-24
- [46] Spöndly-Nees E, Boberg J, Ekstedt E, et al. Low-dose



- exposure to bisphenol A during development has limited effects on male reproduction in midpubertal and aging Fischer 344 rats [J]. *Reproductive Toxicology*, 2018, 81: 196-206
- [47] Meng Y, Lin R, Wu F J, et al. Decreased capacity for sperm production induced by perinatal bisphenol A exposure is associated with an increased inflammatory response in the offspring of C57BL/6 male mice [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018, 15(10): 2158
- [48] Kobayashi K, Kubota H, Ohtani K, et al. Lack of effects for dietary exposure of bisphenol A during in utero and lactational periods on reproductive development in rat offspring [J]. *The Journal of Toxicological Sciences*, 2012, 37(3): 565-573
- [49] United States Department of Health and Human Services (NIEHS). National Toxicology Program research report on the CLARITY-BPA core study: A perinatal and chronic extended-dose-range study of bisphenol A in rats [R]. Morrisville: NIEHS, 2018
- [50] Delclos K B, Camacho L, Lewis S M, et al. Toxicity evaluation of bisphenol A administered by gavage to Sprague Dawley rats from gestation day 6 through postnatal day 90 [J]. *Toxicological Sciences*, 2014, 139(1): 174-197
- [51] Christiansen S, Axelstad M, Boberg J, et al. Low-dose effects of bisphenol A on early sexual development in male and female rats [J]. *Reproduction*, 2014, 147(4): 477-487
- [52] Hass U, Christiansen S, Boberg J, et al. Low-dose effect of developmental bisphenol A exposure on sperm count and behaviour in rats [J]. *Andrology*, 2016, 4(4): 594-607
- [53] Watanabe S, Wang R S, Miyagawa M, et al. Imbalance of testosterone level in male offspring of rats perinatally exposed to bisphenol A [J]. *Industrial Health*, 2003, 41(4): 338-341
- [54] Salian S, Doshi T, Vanage G. Perinatal exposure of rats to bisphenol A affects the fertility of male offspring [J]. *Life Sciences*, 2009, 85(21-22): 742-752
- [55] Nanjappa M K, Simon L, Akingbemi B T. The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of steroidogenic capacity in rat leydig cells [J]. *Biology of Reproduction*, 2012, 86(5): 135-146
- [56] Oliveira I M, Romano R M, de Campos P, et al. Delayed onset of puberty in male offspring from bisphenol A-treated dams is followed by the modulation of gene expression in the hypothalamic-pituitary-testis axis in adulthood [J]. *Reproduction, Fertility, and Development*, 2017, 29(12): 2496-2505
- [57] Campos P D, Oliveira I M, Sena de Souza J, et al. Maternal bisphenol A exposure disrupts spermatogenesis in adult rat offspring [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2019, 82(3): 163-175
- [58] Goodman J E, Witorsch R J, McConnell E E, et al. Weight-of-evidence evaluation of reproductive and developmental effects of low doses of bisphenol A [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2009, 39(1): 1-75
- [59] Goodman J E, McConnell E E, Sipes I G, et al. An updated weight of the evidence evaluation of reproductive and developmental effects of low doses of bisphenol A [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2006, 36(5): 387-457
- [60] Upmeier A, Degen G H, Diel P, et al. Toxicokinetics of bisphenol A in female DA/Han rats after a single i.v. and oral administration [J]. *Archives of Toxicology*, 2000, 74(8): 431-436 ◆