

【专题报告】

作者简介:高丽云(1977-),女,湖北浠水人,博士,副教授,研究方向:环境与健康。

activated protein kinase, MAPK) 通路等相互交叉, 共同起调控作用。TCDD 与雌二醇 (estradiol, E_2) 共刺激时, 雌激素受体 α (estrogen receptor α , $ER\alpha$) 可促进 AhR 下游靶基因转录及 $ER\alpha$ 与自身靶基因的结合^[12]。 E_2 可增强 $ER\alpha$ 和妊娠特异性 β_1 糖蛋白 (pregnancy-specific β_1 -glycoprotein, SP1) 的相互作用, 引起酰基甲酰磷酸合成酶/天冬氨酸转酰基甲酰转移酶/氨甲酰天冬氨酸脱水酶 (carbamyl phosphate synthetase, aspartate transcarbamylase and dihydroorotase, CAD) 基因的表达。TCDD 可激活 AhR, 激活的 AhR 可抑制 CAD 与 $ER\alpha$ -SP1 相互作用, 同时 AhR 可募集 $ER\alpha$ 到自身的启动子上, 从而抑制 CAD 基因的表达^[6]。另外, TCDD 可激活 MAPK 的胞外信号调节激酶、p38 和 c-Jun N 端激酶的这 3 个通路, 共同调节细胞的生长、分化、对环境的应激适应及炎症反应等多种重要的细胞生理、病理过程。研究表明, AhR 通过激活 MAPK 通路各成员发挥作用, 但 AhR 与 MAPK 通路相互作用的具体机制尚不清楚^[13-14]。

2 TGF- β 信号通路

TGF- β 是一类具有多种生物学活性的细胞因子, 参与调节细胞的增殖、分化、发育和凋亡等多种生命活动^[13]。Smads 蛋白分子由 400 ~ 500 个氨基酸残基构成, 是细胞内重要的 TGF- β 信号传导和调节分子, 它们可以将细胞因子信号直接由细胞膜转导入细胞核内^[15]。

有学者发现, TGF- β 家族成员 TGF- β_3 是唇腭裂最为关键的基因之一, 还发现 TGF- β_3 对小鼠胚胎腭融合具有促进作用^[16]。有研究者在用 TGF- β_3 基因敲除小鼠建立的腭裂模型中发现了类似现象, 敲除 TGF- β_3 基因后腭中嵴上皮细胞的丝状伪足消失, 导致腭裂; 在该模型中补充外源性的 TGF- β_3 后, 发现, 腭中嵴上皮细胞的丝状伪足恢复, 腭突融合^[17-18]。这表明 TGF- β_3 在腭中嵴上皮细胞的丝状伪足中有着重要的作用。TCDD 不能直接影响 TGF- β_3 信号通路。周扬^[19]在总结分析大量文献的基础上发现, TGF- β 可激活 Smads 家族成员, 从而激活或抑制其靶基因的转录。蒲亚兰等^[20-21]研究发现, TCDD 可显著上调腭板融合关键时期 (胚胎生长的第 14.5 天) 的胎鼠腭突组织中 TGF- β_3 基因的表达, TCDD 组胎鼠腭突组织中 TGF- β_3 mRNA 和蛋白表达水平在第 13.5、14.5 和 15.5 天时均较对照组显著升高, 证实了 TCDD 在腭板融合的各个主要时段均可显著上调胎鼠腭突组织中 TGF- β_3 的表达水平, 进而确认 TGF- β_3 参与 TCDD 诱导的腭裂的发生。柴茂洲等^[22]研究发现, 胎鼠腭突组织中 TGF- β_3

mRNA 表达水平在第 13.5 天无明显变化, 在第 14.5、15.5 天明显降低。与上述研究结果不一致, 可能的原因有: (1) 所用诱导剂不完全相同。柴茂洲等人用的是 TCDD 和地塞米松 2 种诱导剂, 而蒲亚兰等人仅用 TCDD 1 种诱导剂, 这也提示 TCDD 和地塞米松对 TGF- β_3 信号通路的联合作用机制与 TCDD 单独对 TGF- β_3 信号通路的作用机制可能有所不同。(2) 所用 TCDD 剂量不同。柴茂洲等人应用 TCDD 的剂量为 $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 蒲亚兰等人应用 TCDD 的剂量为 $64 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。(3) 灌胃的次数不同。柴茂洲等从第 10 天时开始给予 TCDD, 连续灌胃 3 d; 而蒲亚兰等从第 10 天开始给予 TCDD, 仅灌胃 1 次。这些均提示, TGF- β 信号通路在 TCDD 诱导的腭裂中发挥重要的作用。

3 Wnt/ β -catenin 信号通路

Wnt 信号通路主要参与细胞的增殖、分化及程序性细胞死亡等, 近年来其研究逐渐成为热点。Wnt 是由小鼠的 Int-1 基因及果蝇中的 wingless 基因组合而来的, Wnt 信号传导途径有 3 种: (1) 经典 Wnt 途径, 通过稳定核内 β -catenin 激活靶基因, β -catenin 是细胞黏附分子家族的重要成员, 可以介导细胞间的黏附, 维持正常上皮细胞的极性和完整性^[23]; (2) Planer 细胞极性通路; (3) Wnt/钙离子通道^[24]。

IWATA 等^[25]总结了大量文献后发现, 19 个 Wnt 家族成员中有 12 个 (Wnt10a、Wnt10b、Wnt2、Wnt4、Wnt16、Wnt2b、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7b、Wnt9a、Wnt11) 在小鼠侧腭突发育过程中呈现独特的时空表达, 并与唇腭裂的发生密切相关。HE 等^[26]研究发现, Wnt/ β -catenin 信号通路可以通过 TGF- β_3 控制腭突融合, 在敲除 *Catnb* 的小鼠中出现腭裂畸形的同时还伴有 TGF- β_3 表达的下调, 当加入外源性的 TGF- β_3 生物因子时腭突融合。这提示在腭裂发生过程中 TGF- β 和 Wnt 信号通路存在交互作用。郭庶等^[27]认为, 在多种细胞中经典 Wnt 信号通路能够特异性上调 AhR 的转录与表达, AhR 也可对经典 Wnt 信号通路起到上调或下调的作用。斑马鱼尾鳍再生实验也证明了 AhR 信号通路会影响 Wnt 信号通路, 通过 mRNA 微阵列分析发现, TCDD 可以活化 AhR2 并上调 R-脊椎蛋白 1 (recombinant r-spondin 1, RSPO1), 激活 Wnt 信号通路, 影响斑马鱼尾鳍修复^[28]。另外, TCDD 可促进糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 磷酸化, 从而减少 β -catenin 的表达, 诱导大鼠大脑皮层神经细胞凋亡, 神经细胞的凋亡可能与经典 Wnt 信号通路下调有关^[29]。

目前,关于 TCDD 如何通过 Wnt/ β -catenin 信号通路导致腭裂发生的机制研究尚不完善,随着研究深入,人们对于 Wnt/ β -catenin 信号通路在 TCDD 诱导小鼠腭裂中发挥的作用将会有更加深入的了解,这将为腭裂的预防及治疗做出巨大贡献。

4 EGFR 信号通路

EGFR 是一种多功能糖蛋白,EGFR 及其配体一起在信号传导系统中发挥作用^[30]。SPARTA 等^[31]在纯化小鼠颌下腺神经生长因子时发现,表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)是一种含有 53 个氨基酸残基的单链多肽类物质,EGF 可促进新生小鼠提早开眼、长牙等。张怡等^[30]研究发现,EGFR 敲除小鼠暴露于 TCDD 后会发生腭裂,这可能是 TCDD 通过 EGFR 通路发挥的作用。ABBOTT 等^[32]研究发现,小鼠暴露于 TCDD 后,腭中嵴上皮细胞出现异常增殖,同时,EGFR 基因在此细胞持续表达。另有研究发现,随着胚胎的成熟,EGF 基因的表达也增加;TCDD 处理小鼠胚腭突细胞后 EGF 的表达下降^[33]。以上研究结果提示,EGFR 信号通路异常可引起腭中嵴上皮细胞异常增殖和分化,导致腭裂的发生。

5 结语与展望

TCDD 为剧毒物质,环境中含量极低,但其结构稳定,半衰期长,长期接触可造成体内蓄积而引起机体的慢性毒害作用。TCDD 主要是通过 AhR、TGF- β_3 /Smad、Wnt/ β -catenin 和 EGFR 信号通路来发挥其毒性作用。这些信号传导通路在小鼠胚腭突细胞的增殖、分化过程中发挥重要作用,这些信号传导通路如果发生异常,会导致小鼠胚腭突细胞生长、分化异常,从而引起包括腭裂在内的多种疾病的发生。目前,TCDD 在腭裂方面的研究多数是对某一信号通路变化的研究,缺乏对机体内多种信号网络变化的监测。尽管有大量关于 TCDD 诱导腭裂发生机制的研究,但仍无法解释先天性腭裂发生的确切机制。未来学者们可通过监测更加连续的完整的信号网络及进一步深入研究 AhR、TGF- β_3 /Smad、Wnt/ β -catenin 和 EGFR 等信号通路在 TCDD 诱导小鼠腭裂中的交互作用以揭示腭裂的发病机制,为腭裂防治提供理论依据。

参考文献:

[1] GAO L, WANG Y, YAO Y, *et al.* 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin mediated cleft palate by mouse embryonic palate mesenchymal cells[J]. *Arch Oral Biol*,2016,71:150-154.

[2] VIJAYAN V, UMMER R, WEBER R, *et al.* Association of WNT pathway genes with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate[J]. *Cleft Palate Craniofac J*,2018,55(3):335-341.

[3] 黄超,陈凝,杨明嘉,等. 二噁英类化合物的毒性作用机制及其生物检测方法[J]. *生态毒理学报*,2015,10(3):50-62.

[4] LIU X, QI J, TAO Y, *et al.* Correlation of proliferation, TGF- β_3 promoter methylation, and Smad signaling in MEPM cells during the development of ATRA-induced cleft palate[J]. *Reprod Toxicol*, 2016,61:1-9.

[5] NIE X, LIANG L, XI H, *et al.* 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin induces premature senescence of astrocytes via WNT/ β -catenin signaling and ROS production[J]. *J Appl Toxicol*, 2015,35(7):851-860.

[6] PROCHÁZKOVÁ J, STRAPÁČOVÁ S, SVRŽKOVÁ L, *et al.* Adaptive changes in global gene expression profile of lung carcinoma A549 cells acutely exposed to distinct types of AhR ligands[J]. *Toxicol Lett*,2018,292:162-174.

[7] SAKURAI S, SHIMIZU T, OHTO U. The crystal structure of the AhRR-ARNT heterodimer reveals the structural basis of the repression of AhR-mediated transcription[J]. *J Biol Chem*, 2017,292(43):17609.

[8] GARDELLA K A, ISRAEL M, FANG G, *et al.* Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT) isoforms control lymphoid cancer cell proliferation through differentially regulating tumor suppressor p53 activity[J]. *Oncotarget*,2016,7(10):10710-10722.

[9] MIMURA J, YAMASHITA K, NAKAMURA K, *et al.* Loss of teratogenic response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in mice lacking the Ah (dioxin) receptor[J]. *Genes Cells*,1997,2(10):645-654.

[10] 汤乃军,董丽,刘静,等. 2,3,7,8-四氯二苯并二噁英对人芳香烃受体和转化生长因子 α mRNA 表达的影响[J]. *中华预防医学杂志*,2008,42(1):21-24.

[11] 李承浩,何苇,蒙田,等. 二恶英干扰腭中嵴上皮极性及其拮抗作用的动物实验[J]. *中华口腔医学杂志*,2014,49(12):719-723.

[12] YANG S C, WU C H, TU Y K, *et al.* Exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin increases the activation of aryl hydrocarbon receptor and is associated with the aggressiveness of osteosarcoma MG-63 osteoblast-like cells[J]. *Oncol Lett*,2018,16(3):3849-3857.

[13] DOMÍNGUEZ-ACOSTA O, VEGA L, ESTRADA-MUÑOZ E, *et al.* Activation of aryl hydrocarbon receptor regulates the LPS/IFN γ -induced inflammatory response by inducing ubiquitin-proteasomal and lysosomal degradation of RelA/p65[J]. *Biochem Pharmacol*, 2018,155:141-149.

[14] IIDA M, FUJII S, UCHIDA M, *et al.* Identification of aryl hydrocarbon receptor signaling pathways altered in TCDD-treated red seabream embryos by transcriptome analysis[J]. *Aquat Toxicol*, 2016,177:156-170.

[15] PETITI J P, SOSA L, PICECH F, *et al.* Trastuzumab inhibits pituitary tumor growth modulating the TGF β /SMAD2/3 pathway[J]. *Endocr Relat Cancer*,2018,25(10):837-852.

[16] SARPER S E, KUROSAKA H, INUBUSHI T, *et al.* Runx1-Stat3-Tgfb3 signaling network regulating the anterior palatal development[J]. *Sci Rep*,2018,8(1):11208.

[17] OZTURK F, LI Y, ZHU X, *et al.* Systematic analysis of palatal transcriptome to identify cleft palate genes within TGF- β_3 -knock-out mice alleles: RNA-Seq analysis of TGF- β_3 mice[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14 (1): 113.

[18] GILBERT J, KARSKI M, SMITH T D, *et al.* Transforming growth factor-beta 3 therapy delays postoperative reossification and improves craniofacial growth in craniostomotic rabbits [J]. *Cleft Palate Craniofac J*, 2016, 53 (2): 210-221.

[19] 周扬. TGF- β /Smad 信号通路的研究及其在肿瘤中的作用[J]. 中国处方药, 2014, 12 (1): 126-128.

[20] 蒲亚兰, 刘丽玲, 甘立强, 等. 二噁英诱导胎鼠腭裂组织中 TGF- β_3 表达变化[J]. 中国公共卫生, 2011, 27 (9): 1203-1205.

[21] 蒲亚兰, 刘丽玲, 甘立强, 等. 四氯二苯二噁英致胎鼠腭裂作用机制的初步探讨[J]. 中华整形外科杂志, 2011, 27 (6): 448-453.

[22] 柴茂洲, 李承浩, 何永红, 等. 四氯二苯对二恶英和地塞米松诱导小鼠腭裂及转化生长因子- β_3 和受体活化样激酶 5 的表达[J]. 华西口腔医学杂志, 2010, 28 (4): 356-360.

[23] JIANG X, MAK P Y, MU H, *et al.* Disruption of Wnt/ β -catenin exerts antileukemia activity and synergizes with FLT3 inhibition in FLT3 -mutant acute myeloid leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24 (10): 2417-2429.

[24] APATI A, BEREZ T, SARKADI B. Calcium signaling in human pluripotent stem cells [J]. *Cell Calcium*, 2016, 59 (2/3): 117-123.

[25] IWATA J, SUZUKI A, YOKOTA T, *et al.* TGF β regulates epithelial-mesenchymal interactions through WNT signaling activity to control muscle development in the soft palate [J]. *Development*, 2014, 141 (4): 909-917.

[26] HE F, XIONG W, WANG Y, *et al.* Epithelial Wnt/ β -catenin signaling regulates palatal shelf fusion through regulation of Tgf β_3 expression [J]. *Dev Biol*, 2011, 350 (2): 511-519.

[27] 郭庶, 向明灯, 李良忠, 等. AhR 与 Wnt 信号通路及其交互作用研究进展[J]. 生命的化学, 2015, 35 (5): 657-662.

[28] STOICK-COOPER C L, WEIDINGER G, RIEHLE K J, *et al.* Distinct Wnt signaling pathways have opposing roles in appendage regeneration [J]. *Development*, 2007, 134 (3): 479-489.

[29] TAO G, XUE Q, LUO Y, *et al.* Isoflurane is more deleterious to developing brain than desflurane: the role of the Akt/GSK3 β signaling pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 7919640.

[30] 张怡, 安义, 张玉奎. EGFR 信号网络在非综合征型腭裂发生中的作用[J]. 内蒙古中医药, 2013, 31 (22): 90-91.

[31] SPARTA B, PARGETT M, MINGUET M, *et al.* Receptor level mechanisms are required for epidermal growth factor (EGF)-stimulated extracellular signal-regulated kinase (ERK) activity pulses [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290 (41): 24784-24792.

[32] ABBOTT B D, BIRNBAUM L S. TCDD-induced altered expression of growth factors may have a role in producing cleft palate and enhancing the incidence of clefts after coadministration of retinoic acid and TCDD [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1990, 106 (3): 418-432.

[33] CAMPION C M, LEON CARRION S, MAMIDANNA G, *et al.* Role of EGF receptor ligands in TCDD-induced EGFR down-regulation and cellular proliferation [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 253: 38-47.

(本文编辑: 孟 月)

《新乡医学院学报》2020 年征订启事

《新乡医学院学报》(Journal of Xinxiang Medical University)创刊于 1984 年,是新乡医学院主管主办、国内外公开发行的综合性医学学术期刊。国际标准连续出版物号:ISSN 1004-7239,国内统一连续出版物号:CN 41-1186/R。现为月刊,每月 5 日出版,大 16 开本,每期 100 页。本刊设有专家论坛、专题报告、国家自然科学基金专题评述、基础研究、临床研究、综述等栏目。编辑部对来稿审理及时并严格执行“三审制”,对国家级、省部级科研基金项目资助的研究性论文优先发表。

本刊为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、中国精品科技期刊、中国高校优秀科技期刊、河南省一级期刊,目前被《中国学术期刊(光盘版)全文检索数据库》、《万方数据-数字化期刊群》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、英国《公共卫生数据库》(Global Health)、《中国学术期刊文摘》、《中国医学文摘》、《中国药学文摘》等国内外权威性数据库、文摘期刊收录,标志着在本刊发表的论文将有机会被国内外著名检索系统收录,这对提高作者知名度及论文的影响力不无裨益。欢迎国内外医药工作者踊跃投稿。欢迎广大订户前往当地邮局订阅,邮发代号:36-145,每期定价 10.00 元,全年 120.00 元。编辑部地址:河南省新乡市金穗大道东段新乡医学院学报编辑部,邮政编码:453003。电话:0373-3029086,传真:0373-3831371,网址:www.xxyxyxb.com, E-mail:xxyxyxb@163.com。

本刊编辑部