

· 论 著 ·

2,2',4,4'-四溴联苯醚对小鼠3T3-L1细胞分化的影响研究

海且木汗·阿布杜热曼, 阿依古丽·阿力木, 李美艳, 王永治, 王嘉穗, 刘早玲

新疆医科大学公共卫生学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: **目的** 研究2,2',4,4'-四溴联苯醚(BDE-47)对小鼠胚胎成纤维细胞3T3-L1分化的影响,为揭示环境肥胖因素的作用规律提供依据。**方法** 将3T3-L1细胞分为5组BDE-47干预组(25、18.75、12.5、7.5、2.5 $\mu\text{mol/L}$)、阳性对照组(加1 $\mu\text{mol/L}$ 2,4-噻唑烷二酮)和阴性对照组(加0.1%二甲亚砜),诱导分化第8 d油红O染色处理并检测吸光度值(OD)观察脂肪细胞脂滴聚集情况;采用三酰甘油(TG)酶法测定细胞培养液的TG含量;采用RT-PCR法测定脂联素和过氧化物酶体增殖子激活受体 γ (PPAR γ)的mRNA表达。**结果** 7组3T3-L1细胞油红O染色阳性面积、OD值、TG含量及脂联素和PPAR γ 的mRNA表达量差异均有统计学意义($P<0.05$)。不同浓度BDE-47组的油红O染色阳性面积、OD值均高于阴性对照组($P<0.05$)。18.75 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组TG含量高于阴性对照组($P<0.05$)。25、18.75、12.5、7.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组和阳性对照组PPAR γ 的mRNA相对表达量均高于阴性对照组($P<0.05$);12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组PPAR γ 的mRNA相对表达量均高于25、18.75、7.5、2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组和阳性对照组($P<0.05$)。12.5、7.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组和阳性对照组脂联素的mRNA相对表达量均高于阴性对照组($P<0.05$);12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组脂联素的mRNA相对表达量均高于25、18.75、2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组($P<0.05$)。不同浓度BDE-47组的PPAR γ 和脂联素mRNA表达量近似倒“U”型分布。**结论** BDE-47对小鼠3T3-L1细胞分化起促进作用,低浓度的BDE-47可能通过激活PPAR γ 活性诱导脂肪细胞分化。

关键词: 肥胖; 2,2',4,4'-四溴联苯醚; 脂肪细胞分化; 过氧化物酶体增殖子激活受体 γ

中图分类号: R114 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087(2021)06-0573-06

Effects of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether on differentiation of mouse 3T3-L1 cells

Haiqiemuhan Abudureman, Ayiguli Alimu, LI Meiyang, WANG Yongzhi, WANG Jiasui, LIU Zaoling

School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China

Abstract: Objective To investigate the effects of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) on the differentiation of mouse embryonic fibroblasts-3T3-L1, so as to provide the basis for revealing the mechanism of environmental obesity factors. **Methods** The 3T3-L1 cells were divided into five BDE-47 intervention groups (25, 18.75, 12.5, 7.5 and 2.5 $\mu\text{mol/L}$), a positive control group (1 $\mu\text{mol/L}$ 2,4-thiazolidinedione) and a negative control group (0.1% dimethyl sulfoxide) for the induction of differentiation. The lipid droplet accumulation in adipocytes was observed by oil red O staining treatment and detection of optical density (OD) on the eighth day of differentiation. Triglyceride (TG) content was measured using the histiocyte TG enzymatic assay kit. The mRNA expression of adiponectin and peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR γ) was measured by RT-PCR. **Results** The positive areas of oil red O staining, OD values, TG content and mRNA expression of adiponectin and PPAR γ in 3T3-L1 cells were significantly different among seven groups ($P<0.05$). The positive areas of oil red O staining and OD values in the BDE-47 groups with different

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2021.06.007

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2019D01C209)

作者简介: 海且木汗·阿布杜热曼, 硕士在读

通信作者: 刘早玲, E-mail: zaolingliu@foxmail.com

concentrations were higher than those in the negative control group ($P < 0.05$). The 18.75 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 group had higher TG levels than the negative control group ($P < 0.05$). The mRNA expression of PPAR γ in the 25, 18.75, 12.5, and 7.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 groups and the positive control group was higher than that in the negative control group ($P < 0.05$). The mRNA expression of PPAR γ in the 12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 group was higher than that in the 25, 18.75, 7.5, 2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 group and the positive control group ($P < 0.05$). The mRNA expression of adiponectin in the 12.5, 7.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 group and the positive control group was higher than that in the negative control group ($P < 0.05$). The mRNA expression of adiponectin in the 12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 group was higher than that in the 25, 18.75, 2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 group ($P < 0.05$). The mRNA expression of PPAR γ and adiponectin in the different concentration groups of BDE-47 distributed like inverted "U" shape. **Conclusion** BDE-47 can promote the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. Low concentration of BDE-47 may induce adipocyte differentiation by activating PPAR γ .

Keywords: adiposity; 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether; adipocyte differentiation; peroxisome proliferator- γ

肥胖是脂肪细胞数目增多和单个脂肪细胞体积增大,即脂肪细胞异常分化的结果^[1]。脂肪细胞分化需要多种核转录因子的参与,过氧化物酶体增殖子激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ , PPAR γ)是目前公认最重要的转录因子,在脂肪细胞分化过程中不可或缺^[2]。2, 2', 4, 4'-四溴联苯醚(2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether, BDE-47)是添加型溴代阻燃剂,由于阻燃效率高、价格适中,被广泛应用于电子产品、塑料和装饰材料。BDE-47因与产品以非共价键形式结合,易散逸到环境中导致集体暴露^[3];具有强亲脂性和生物富集能力,易富集在生物肌肉和脂肪组织中^[4]。作为环境内分泌干扰物,BDE-47可能通过激活 PPAR γ ,促进脂肪细胞分化,降低血清胰岛素水平及损伤肝细胞胰岛素敏感性,干扰机体糖脂代谢,从而导致肥胖、胰岛素抵抗、2型糖尿病等代谢相关疾病^[5]。有研究显示,BDE-47在一定浓度范围内引起脂肪细胞异常分化,但其分子机制尚不明确^[6]。本研究通过建立小鼠胚胎成纤维细胞 3T3-L1 分化模型,分析 BDE-47 对 3T3-L1 细胞分化的影响,为揭示环境肥胖因素的作用规律提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 生物安全柜(KS-12型,美国 Thermo Fisher 公司),二氧化碳培养箱(Galaxy-17OR,美国 Thermo Fisher 公司),None Drop 2000 核酸蛋白分析仪(美国 Thermo Fisher 公司),台式高速冷冻离心机(5415R型,德国 Eppendorf 公司),实时定量 PCR 仪(Quant Studio TM 6 Flex Real-Time PCR System,美国 Applied Biosystems 公司),3T3-L1 细胞株(中科院上海细胞库),DMEM 高糖培养基、新生小牛血清、胎牛血清、青霉素/链霉素溶液、胰蛋白酶、磷

酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)均购自美国 Hyclone 公司,BDE-47($\geq 98\%$,中国上海源叶化学品有限公司),2, 4-噻唑烷二酮(2, 4-thiazolidinedione, TZD,上海麦克林生化科技有限公司),MTT 粉剂(美国 MT 公司),油红 O 染色液、二甲基亚砜(DMSO)均购自美国 Sigma 公司,3-异丁基-1-甲基-黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX)、地塞米松(dexamethasone, DEX)、胰岛素均购自北京索莱宝科技有限公司,三酰甘油(TG)酶法测定试剂盒(南京建成生物工程研究所),反转录试剂盒(美国 Thermo Fisher 公司),RT-PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 3T3-L1 细胞维持在 DMEM 高糖完全培养基里(含 10% 新生小牛血清、1% 青霉素/链霉素溶液),置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、95% 相对湿度的细胞培养箱培养,细胞生长至 70%~80% 时传代,定期换液。

1.2.2 MTT 法检测细胞活力 MTT 法是一种表现细胞存活率和细胞生长状态的方法,活细胞的线粒体中琥珀酸脱氢酶能将 MTT 还原为不溶于水的紫色结晶物并沉积于细胞中,而死细胞不具有此功能^[7]。小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞按 1×10^5 个/孔的密度接种于 96 孔细胞培养板中,100 μL /孔,5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h。细胞贴壁后,加入不同浓度的 BDE-47 (12.5、25、50、100、150、200 $\mu\text{mol/L}$),正常对照组不作干预处理,同时设置空白培养基对照组,每组设 5 个复孔。各组干预 1、6、12、24、48 h 后,每孔加入 10 μL MTT 溶液(5 mg/mL),继续培养 4 h。终止培养后小心吸去孔内培养液,每孔加入 150 μL DMSO 溶液,使结晶物充分溶解。在酶标仪 490 nm 处测量各孔的吸光度值(optical density, OD)。计算细胞活力,细胞活力(%) = (实验组 OD - 空白组

OD) / (正常组 OD-空白组 OD) ×100%。

1.2.3 细胞分组及诱导分化 细胞分为药物干预组、阳性对照组和阴性对照组。诱导方案为经典鸡尾酒法 (methylisobutylxanthine, dexamethasone and insulin, MDI)^[8], 包括 DMEM 高糖完全培养基、0.5 mmol/L IBMX、1 μmol/L DEX 和 1.67 μmol/L 胰岛素。小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞按 1×10⁵ 个/孔的密度接种于 6 孔板, 2 mL/孔。细胞接触抑制后, 换新鲜培养基融合培养 2 d。第 3 d (即分化第 0 d) 换成含有 MDI 的分化培养基培养, 药物干预组加入 0.1% DMSO 和不同浓度的 BDE-47 (25、18.75、12.5、7.5、2.5 μmol/L), 阳性对照组加入 1 μmol/L TZD, 阴性对照组加入 0.1% DMSO。分化第 2 d 换仅含有 1.67 μmol/L 胰岛素的 DMEM 高糖培养基继续培养, 每隔 2 d 换一次液, 直到分化第 8 d 实验结束。

1.2.4 油红 O 染色法观察细胞诱导分化 在细胞分化第 8 d 进行油红 O 染色处理, 观察细胞分化情况。用预冷的 PBS 清洗细胞 2 次, 每次 5 min。加入 4% 多聚甲醛室温下固定 1 h, 弃去固定液。加入 1~2 mL 油红 O 稀释液 (油红 O 染液: 去离子水=3:2), 使其完全覆盖细胞表面, 室温下染色 1 h, 弃去染色液, 用 PBS 冲洗 3 次。在倒置显微镜下观察拍照, 采用 Image Pro plus 6.0 软件分析油红 O 染色阳性面积。吸去 PBS, 加入 60% 异丙醇, 在室温条件下放置 30 min, 将液体转移至 96 孔板, 在酶标仪 510 nm 处测定 OD 值, 反映细胞的分化程度 (每组设 3 个复孔)。

1.2.5 测定 TG 含量 第 8 d 将分化的 3T3-L1 细胞用预冷的 PBS 洗涤 2 次, 每孔加入 200 μL 组织细胞裂解液, 待细胞充分裂解后按 TG 酶法测定试剂盒说明书操作: 将细胞裂解液和 TG 标准品各 2.5 μL 加入 96 孔板, 每孔再加入 250 μL 工作液, 以蒸馏水作为空白对照组 (每组设 3 个复孔), 小心混匀后 37 °C 孵育 10 min, 在酶标仪 510 nm 处测定各组 OD 值, 计算培养液中细胞分泌的 TG 含量。

1.2.6 RT-PCR 测定 PPAR γ 和脂肪因子脂联素的 mRNA 表达 各组细胞分化第 8 d, 每孔加入预冷的 1 mL Trizol 提取总 RNA, 按照反转录试剂盒说明书完成 cDNA 合成, 反应条件: 65 °C 孵育 5 min, 冰上冷却, 2 000×g 离心 30 s, 42 °C 孵育 60 min, 70 °C 孵育 5 min 后终止反应。RT-PCR 反应条件: 94 °C 预变性 30 s, 94 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s, 40 个循环。采用 primer 5 程序设计引物序列, 所有引物由上海生物工程有限公司合成, 引物序列见表 1, β -

表 1 RT-PCR 反应引物序列

基因	序列	长度(bp)
β -actin	F:AGAGGAAATCGTGCCTGACATCAAAGAG R:GATGCCACAGGATTCCATACCCAAGAAGG	209
Adiponectin	F:GCCTGGAGAAGCCGCTTATGTG R:TGCCAGT GCTGCC GTCATAATG	137
PPAR γ	F:CGCCAAGGTGCTCCAGAAGATC R:GGTGAAGGCTCATGTCTGTCTCTG	104

actin 作为内参基因。反应结束后采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法分析 PCR 扩增产物的相对表达量。

1.3 统计分析 采用 SPSS 22.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布的采用均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 描述, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 Tukey 法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 7 组 3T3-L1 细胞活力比较 干预 1、6、12、24、48 h 后 7 组小鼠 3T3-L1 细胞活力差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。BDE-47 浓度大于 100 μmol/L 时, 1、6、12、24 和 48 h 的细胞活力均低于正常组 ($P<0.05$); BDE-47 浓度小于 50 μmol/L 时, 1、6、12、24 和 48 h 的细胞活力与正常对照组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$); BDE-47 浓度为 50 μmol/L 时, 24 h 和 48 h 的细胞活力低于正常对照组 ($P<0.05$)。因此, 本研究选择 25 μmol/L 为 BDE-47 最高干预剂量。见表 2。

2.2 7 组 3T3-L1 细胞油红 O 染色面积和 OD 值比较 诱导分化前 3T3-L1 细胞呈梭形, 胞质无脂滴。加入诱导剂后细胞逐渐收缩呈圆形, 分化第 8 d 呈“戒环样”脂肪细胞。阴性对照组积累的脂滴及成熟的脂肪细胞数少, 大部分细胞处于未分化状态; 阳性对照组脂滴较多, 成熟的脂肪细胞数多、体积较大; 12.5、7.5 μmol/L BDE-47 组成熟的脂肪细胞均多于 25 μmol/L BDE-47 组, 18.75、2.5 μmol/L BDE-47 组的脂滴密度大, 2.5、25 μmol/L BDE-47 组分散的脂滴较多, 成熟的脂肪细胞数较少。

7 组 3T3-L1 细胞油红 O 染色阳性面积和 OD 值差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。进一步两两比较发现, 25、18.75、12.5、7.5、2.5 μmol/L BDE-47 组和阳性对照组的阳性面积均高于阴性对照组 ($P<0.05$); 25、7.5、2.5 μmol/L BDE-47 组的阳性面积均低于阳性对照组 ($P<0.05$); 25、7.5、2.5 μmol/L BDE-47 组的阳性面积均低于 12.5 μmol/L BDE-47

组 ($P<0.05$)。25、18.75、12.5、7.5、2.5 $\mu\text{mol/L}$ ($P<0.05$)。见表 3。
BDE-47 组和阳性对照组的 OD 值均高于阴性对照组

表 2 7 组 3T3-L1 细胞活力比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	1 h	6 h	12 h	24 h	48 h
正常对照组($n=3$)	100.00±0.02	100.00±0.07	100.00±0.02	100.00±0.01	100.00±0.04
BDE-47 浓度($\mu\text{mol/L}$)					
12.5($n=3$)	100.00±0.05	99.51±0.05	100.00±0.01	99.11±0.01	97.15±0.05
25($n=3$)	100.00±0.04	100.00±0.04	97.24±0.04	97.42±0.01	95.80±0.02
50($n=3$)	100.00±0.03	94.92±0.02	94.34±0.01	94.54±0.01 ^a	78.67±0.01 ^a
100($n=3$)	77.11±0.11	86.21±0.07 ^a	79.57±0.09 ^a	79.16±0.02 ^a	69.93±0.01 ^a
150($n=3$)	60.24±0.13 ^a	40.92±0.04 ^a	63.75±0.07 ^a	72.85±0.01 ^a	65.82±0.01 ^a
200($n=3$)	54.60±0.12 ^a	41.43±0.09 ^a	58.71±0.11 ^a	62.04±0.01 ^a	53.02±0.02 ^a
F 值	19.555	66.931	25.107	321.071	149.230
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: a 表示与正常对照组比较 $P<0.05$ 。

表 3 7 组 3T3-L1 细胞油红 O 染色面积、OD 值和 TG 含量比较

组别	脂滴数	总面积(μm^2)	阳性面积(μm^2)	OD 值	TG(mmol/L)
BDE-47 浓度($\mu\text{mol/L}$)					
25($n=3$)	1 786	36 524.55	41.94±1.70 ^{abc}	1.83±0.05 ^a	0.62±0.02
18.75($n=3$)	1 586	55 896.99	47.55±0.68 ^a	1.86±0.09 ^a	0.68±0.05 ^a
12.5($n=3$)	1 642	73 956.87	48.79±0.77 ^a	2.36±0.14 ^a	0.64±0.02
7.5($n=3$)	1 142	75 876.28	39.20±1.77 ^{abc}	2.06±0.18 ^a	0.64±0.06
2.5($n=3$)	1 082	79 200.48	33.37±0.13 ^{abc}	2.00±0.04 ^a	0.57±0.03 ^a
阳性对照组($n=3$)	2 030	79 604.86	48.37±2.16	1.91±0.14 ^a	0.62±0.02
阴性对照组($n=3$)	1 160	45 238.92	28.85 ±0.45	1.24±0.45	0.57±0.02
F 值			76.205	9.790	4.095
P 值			<0.001	<0.001	0.014

注: a 表示与阴性对照组比较 $P<0.05$; b 表示与阳性对照组比较 $P<0.05$; c 表示与 12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组比较 $P<0.05$ 。

2.3 7 组 3T3-L1 细胞 TG 含量比较 7 组 3T3-L1 细胞上清液 TG 含量差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。进一步两两比较发现, 18.75 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组的 TG 含量高于阴性对照组 ($P<0.05$), 2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组的 TG 含量低于 12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组 ($P<0.05$)。见表 3。

2.4 7 组 3T3-L1 细胞 PPAR γ 和脂肪因子脂联素的 mRNA 表达量比较 7 组 3T3-L1 细胞 PPAR γ 和脂联素 mRNA 表达量差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。进一步两两比较发现, 25、18.75、12.5、7.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组和阳性对照组 PPAR γ 的 mRNA 相对表达量均高于阴性对照组 ($P<0.05$); 25、18.75、12.5、

7.5、2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组 PPAR γ 的 mRNA 相对表达量均低于阳性对照组 ($P<0.05$); 12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组 PPAR γ 的 mRNA 相对表达量均高于 25、18.75、7.5、2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组和阳性对照组 ($P<0.05$)。12.5、7.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组和阳性对照组脂联素的 mRNA 相对表达量均高于阴性对照组 ($P<0.05$); 12.5、7.5、2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组脂联素的 mRNA 相对表达量均高于阳性对照组 ($P<0.05$); 12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 组脂联素的 mRNA 相对表达量均高于 25、18.75、2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47 ($P<0.05$)。不同浓度 BDE-47 PPAR γ 和脂联素的 mRNA 表达量近似倒“U”型。见表 4。

表4 7组细胞 PPAR γ 、脂联素的 mRNA 表达量比较 ($\bar{x}\pm s$, $2^{-\Delta\Delta Ct}$)

组别	PPAR γ	脂联素
BDE-47浓度($\mu\text{mol/L}$)		
25($n=3$)	1.64 \pm 0.15 ^{abc}	0.73 \pm 0.06 ^c
18.75($n=3$)	2.14 \pm 0.19 ^{abc}	1.03 \pm 0.08 ^c
12.5($n=3$)	3.73 \pm 0.34 ^{ab}	1.84 \pm 0.15 ^{ab}
7.5($n=3$)	2.32 \pm 0.21 ^{abc}	1.66 \pm 0.13 ^{ab}
2.5($n=3$)	1.56 \pm 0.14 ^{bc}	1.16 \pm 0.09 ^{bc}
阳性对照组($n=3$)	3.10 \pm 0.27 ^{ac}	0.82 \pm 0.06 ^{ac}
阴性对照组($n=3$)	1.00 \pm 0.08	1.00 \pm 0.08
F值	58.230	54.013
P值	<0.001	<0.001

注: a表示与阴性对照组比较 $P<0.05$; b表示与阳性对照组比较 $P<0.05$; c表示与12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组比较 $P<0.05$ 。

3 讨论

本研究建立5个不同浓度的BDE-47暴露模型,观察3T3-L1细胞向脂肪细胞分化及脂肪细胞分化相关基因的表达,研究不同剂量BDE-47对3T3-L1细胞分化的影响。前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞后,细胞形态由梭形转变为圆形或椭圆形,细胞开始合成TG,以脂滴形式储存在胞质内。2.5~12.5 $\mu\text{mol/L}$ (较低浓度)BDE-47干预组表现出明显的脂滴累积,当BDE-47浓度大于12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时,脂滴开始减少。12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组脂质积累明显增加,18.75 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组TG含量最高,与相关研究结果^[9-10]一致。提示BDE-47增加TG合成,促进脂肪细胞的分化过程。

PPAR γ 是配体激活的转录因子^[11],在转录水平上能够促进脂肪细胞分化,增加脂肪细胞数量,使脂肪组织中的相关基因表达升高,任何可能影响PPAR γ 基因正常表达,扰乱其活性的因素均可能造成脂肪细胞分化异常^[12-13]。本研究结果显示,7.5~25 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组PPAR γ 的mRNA相对表达量均高于阴性对照组,12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组PPAR γ 的mRNA相对表达量高于阳性对照组及25、18.75、7.5、2.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组,且近似倒“U”型。有研究证实,用BDE-47处理3T3-L1细胞第8天引起PPAR γ 转录水平增加^[8]。BDE-47在生物体内可以转化为毒性更强的5-OH-BDE-47和5-MeO-BDE-47等代谢产物,其化学结构与PPAR γ 配体四溴双酚A(tetrabromobisphenol A, TBBPA)十分相似^[14]。BDE-47及其代谢产物与PPAR γ 有效结

合^[15],通过弱激活PPAR γ 诱导脂肪细胞分化,增加PPAR γ 2表达^[16]。

脂联素是脂肪细胞分泌的脂肪因子^[17],在代谢调节和维持全身能量稳态中具有重要作用^[18]。脂肪细胞分化过程中PPAR γ 激活剂能够促进脂联素表达量上调,增强胰岛素敏感性^[19]。25 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组脂联素的mRNA相对表达量低于阴性对照组,12.5 $\mu\text{mol/L}$ BDE-47组脂联素的mRNA相对表达量均高于阴性对照组、阳性对照组;不同浓度的BDE-47组脂联素的mRNA相对表达与PPAR γ 的一致。YANG等^[20]研究也发现,低浓度的BDE-47处理3T3-L1细胞会影响PPAR γ 和脂联素的mRNA表达。

本研究证实BDE-47增加TG合成,上调PPAR γ 和脂联素mRNA表达,不同剂量BDE-47对3T3-L1细胞的影响近似倒“U”型曲线关系,低浓度的BDE-47可能通过激活PPAR γ 活性诱导脂肪细胞分化,增加脂肪细胞数量及体积,引起肥胖,进而导致2型糖尿病等代谢相关疾病。

参考文献

- [1] JUNG H O, FATIH K, JUNG I L, et al.Artemisia princeps inhibits adipogenic differentiation of 3T3-L1 pre-adipocytes via down-regulation of PPAR γ and MAPK pathways [J].Prev Nutr Food Sci, 2019, 24 (3): 299-307.
- [2] FARMER S R.Regulation of PPAR gamma activity during adipogenesis [J].Int J Obes (Lond), 2005, 29 (Suppl.1): S13-S16.
- [3] 马武仁, 卿颖, 李子琪, 等.食品中典型持久性有机污染物暴露及毒性通路研究进展 [J].中华预防医学杂志, 2019, 53 (6): 645-652.
- [4] WISEMAN S B, WAN Y, CHANG H, et al.Polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated/methoxylated analogs: environmental sources, metabolic relationships, and relative toxicities [J].Mar Pollut Bull, 2011, 63 (5/6/7/8/9/10/11/12): 179-188.
- [5] 翟金霞, 童世庐.多溴联苯醚的健康效应研究进展 [J].中华预防医学杂志, 2016, 50 (6): 559-562.
- [6] SALES L B, KAMSTRA J H, CENIJN P H, et al.Effects of endocrine disrupting chemicals on *in vitro* global DNA methylation and adipocyte differentiation [J].Toxicology In Vitro, 2013, 27 (6): 1634-1643.
- [7] 于雪.利用MTT/MTS法和细胞成像技术评价fHMSN的载药性及AC对细胞增殖的影响 [D].长春:吉林大学, 2017.
- [8] TUNG E W Y, BOUDREAU A, WADE M G, et al.Induction of adipocyte differentiation by polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in 3T3-L1 Cells [J/OL].PLoS One, 2014, 9 (4): e94583. [2021-03-31].https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24722056/.DOI: 10.1371/journal.pone.0094583.
- [9] KASSOTIS C, HOFFMAN K, STAPLETON H M.Characterization

- of adipogenic activity of house dust extracts and semi-volatile indoor contaminants in 3T3-L1 cells [J]. Environ Sci Technol, 2017, 51 (15): 8735-8745.
- [10] YANG C, ZHU L, KANG Q, et al. Chronic exposure to tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) aggravates hepatic steatosis and liver fibrosis in diet-induced obese mice [J/OL]. J Hazard Mater, 2019, 378: 120766. [2021-03-31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31226595/>. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120766.
- [11] MARION-LETELLIER R, SAVOYE G, GHOSH S. Fatty acids, eicosanoids and PPAR gamma [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 785: 44-49.
- [12] AL-GHADBAN S, DIAZ Z T, SINGER H J, et al. Increase in leptin and PPAR- γ gene expression in lipedema adipocytes differentiated *in vitro* from adipose-derived stem cells [J/OL]. Cells, 2020, 9 (2): 430. [2021-03-31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32059474/>. DOI: 10.3390/cells9020430.
- [13] WANG Y, WANG X H, LI R X. Interaction between peroxisome proliferator-activated receptor gamma polymorphism and overweight on diabetic retinopathy in a Chinese case-control study [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8 (11): 21647-21652.
- [14] 宋琪, 司婧, 张蕴晖. 孕期多溴联苯醚暴露与胎儿发育不良关联的研究进展 [J]. 环境与职业医学, 2017, 34 (12): 1105-1110.
- [15] FANG M L, WEBSTER T F, FERGUSON P L, et al. Characterizing the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR γ) ligand binding potential of several major flame retardants, their metabolites, and chemical mixtures in house dust [J]. Environ Health Perspect, 2015, 123 (2): 166-172.
- [16] KAMSTRA J H, HRUBA E, BLUMBERS B, et al. Transcriptional and epigenetic mechanisms underlying enhanced *in vitro* adipocyte differentiation by the brominated flame retardant BDE-47 [J]. Environ Sci Technol, 2014, 48 (7): 4110-4119.
- [17] 杨晓萌, 周丽平, 邓洁琳, 等. 脂联素降低右侧星状神经节活性抑制心肌梗死后室性心律失常 [J]. 中华心律失常学杂志, 2020, 24 (1): 66-72.
- [18] ISHTIAQ S M, RASHID H, HUSSAIN Z, et al. Adiponectin and PPAR: a setup for intricate crosstalk between obesity and non-alcoholic fatty liver disease [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2019, 20 (3): 253-261.
- [19] SHERRIER M, LI H S. The impact of keto-adaptation on exercise performance and the role of metabolic-regulating cytokines [J]. American J Clin Nutr, 2019, 110 (3): 562-573.
- [20] YANG C X, WONG C M, WEI J T, et al. The brominated flame retardant BDE 47 upregulates purine metabolism and mitochondrial respiration to promote adipocyte differentiation [J]. Sci Total Environ, 2018, 644: 1312-1322.

收稿日期: 2021-01-04 修回日期: 2021-03-31 本文编辑: 田田

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《预防医学》杂志开展优秀论文评选活动

《预防医学》杂志创刊于1989年9月,月刊,由浙江省科学技术协会主管,浙江省预防医学会主办,浙江省疾病预防控制中心《预防医学》编辑部编辑出版。是中华预防医学会系列杂志、中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、《中国学术期刊影响因子年报》统计源期刊、WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)和日本科学技术振兴机构数据库(JST)收录期刊。

《预防医学》是预防医学与公共卫生学综合类学术期刊,为回馈广大作者、读者朋友多年来对本刊的支持,激励卫生健康专业技术人员科技创新和论文创作热情,本刊2021年继续开展优秀论文评选活动。邀请编委会专家每期盲选评出月度优秀论文,在《预防医学》杂志和网站(www.zjfyxzz.com)公布获奖名单,给第一作者颁发荣誉证书。并从月度优秀论文中评选年度特等奖1名,奖励3000元;一等奖2名,奖励1500元;二等奖3名,奖励1000元;三等奖5名,奖励800元。

《预防医学》编辑部