

文章编号:1000-5641(2011)06-0065-10

三丁基锡对热带爪蟾蝌蚪 甲调基因 mRNA 表达的影响

曹庆珍, 朱攀, 袁静, 张小利, 刘俊奇, 黄民生, 施华宏
(华东师范大学环境科学系 上海城市化过程与生态恢复重点实验室, 上海 200062)

摘要: 用三丁基锡(TBT)对热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*)NF51 阶段蝌蚪进行 48 h 和 96 h 暴露. 结果显示, 50 ng · L⁻¹ 和 200 ng · L⁻¹ TBTCI 暴露对胚胎的存活率没有影响. 50 ng · L⁻¹ TBTCI 暴露组 TRβ 和 DI3 mRNA 在蝌蚪尾巴中的表达比对照组增加了 1~2.3 倍. 200 ng · L⁻¹ TBTCI 暴露组 48 h 时, TSHβ mRNA 在蝌蚪尾巴中的表达比对照组上调了 2.0 倍. 96 h 后, TBTCI 暴露组的 RXRα mRNA 在脑和尾中的表达均比对照组减少了约 0.4 倍, 而 RXRβ mRNA 在尾巴中的表达上调了 5.9 倍. 96 h 后, 50 ng · L⁻¹ TBT 暴露组 MCT8 mRNA 在尾部的表达上调了 3.2 倍, 而 200 ng · L⁻¹ 组在脑部的表达是对照组的 0.23 倍. PPARγ mRNA 在 TBTCI 暴露组蝌蚪脑和尾中的表达均比对照组增加了 1~2 倍. 上述结果表明, TBT 能引起蝌蚪多个甲调基因 mRNA 表达的变化, 并具有明显的组织差异性. 这些 mRNA 涉及到甲状腺激素的合成、运输、转化和作用等多个过程, 表明 TBT 对爪蟾具有甲状腺激素干扰效应. 同时, 通过对一些相关 mRNA 的检测表明, TBT 可能通过与维甲酸核受体(RXR)结合而对蝌蚪产生甲状腺激素干扰效应. 由此可见, 分子指标在筛选甲状腺激素干扰物的过程中不仅具有快速灵敏的特点, 而且有助于解析污染物的致毒作用模式.

关键词: 爪蟾; TBT; 甲调基因表达

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1000-5641.2011.06.008

Effects of tributyltin on mRNA expressions of thyroid hormone response genes in *Xenopus tropicalis* tadpoles

CAO Qing-zhen, ZHU Pan, YUAN Jing, ZHANG Xiao-li,
LIU Jun-qi, HUANG Min-sheng, SHI Hua-hong

(Shanghai Key Laboratory of Urbanization Processes and Ecological Restoration,
Department of Environment Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: *Xenopus tropicalis* tadpoles (NF51) were exposed to TBT for 48 and 96 h, respectively. Exposures to 50 and 200 ng · L⁻¹ TBTCI showed no effects on the survival rate of tadpoles. The expression of TRβ and DI3 mRNA were significantly increased in the tails by 1~2.3

收稿日期:2010-12

基金项目:国家自然科学基金(20877023);国家科技重大专项(2009ZX07317-006)

第一作者:曹庆珍,女,硕士研究生. E-mail:zhen13953954115@126.com.

通讯作者:施华宏,男,副教授,研究方向为生态毒理学. E-mail:hhshi@des.ecnu.edu.cn.

fold in the groups treated with $50 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBTCl. The expression of TSH β mRNA was increased in the tails by 2 fold after 48 h of exposure. RXR α mRNA was decreased by 0.4 fold in the brains and tails, and RXR β mRNA was increased by 5.9 fold in the tails after 96 h of exposure. MCT8 mRNA was increased by nearly 3 fold in the tails in $50 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBT treatment group and decreased by 3 fold or so in the brains in $50 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBT treatment group after 96 h of exposure. These results suggest that TBT can result in the changes of multiple mRNA expressions and show high tissue-specific differences. These mRNA are involved in the synthesis, transportations, transformations and actions, which indicate that TBT shows thyroid hormone disrupting effects. The changes of related mRNA expressions indicate that TBT might disrupt the thyroid hormone system of tadpoles by binding with retinoid X receptor. Therefore, biomarkers are not only cost-effective and sensitive endpoints in screening the thyroid disrupting chemicals but also useful in identifying the mode of action of contaminants.

Key words: *Xenopus tropicalis*; TBT; thyroid hormone response genes expressions

0 引 言

20 世纪 60 年代开始,有机锡化合物作为金属有机化合物的一种被广泛应用于杀虫剂、除草剂、防污漆和聚氯乙烯合成的热、光稳定剂催化剂等.其中用于海洋船体防污的三丁基锡(TBT)涂料最多,它对海洋污损生物具有良好的杀生效果,被称为海洋杀生剂.但它的广泛运用也造成了全球范围内水域的普遍污染^[1],世界各地的海水、底泥和生物中都发现了有机锡化合物的存在^[2].

大量调查资料表明,TBT 在环境中仅处于 $1 \sim 2 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 的极低质量浓度水平,就会对海洋浮游生物、软体动物和某些鱼苗等敏感的水生生物产生慢性和急性毒性^[3].TBT 对生物的毒性作用主要包括免疫毒性、生殖毒性和神经毒性等,并会通过食物链的富集影响生态系统^[4].同时,TBT 还是一种典型的环境内分泌干扰物,其最显著的特征是能引起腹足类的性畸变现象^[5,6].环境中许多化学污染物可以影响生物体甲状腺激素(THs)的合成、分泌、运输、作用和代谢等过程,这类污染物被统称为甲状腺激素干扰物(TDCs).本课题组前期研究发现,环境浓度的 TBT($25 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBTCl)能对非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)幼蛙甲状腺组织结构造成严重损伤,表明 TBT 是一种潜在的甲状腺激素干扰物^[7].然而,人们对 TBT 的甲状腺激素干扰机制还知之甚少.

两栖类变态发育过程是由甲状腺激素专门调控的.甲状腺激素进入靶细胞后与甲状腺激素核受体(TR)结合为复合物,然后与变态相关的靶基因的 TR 反应元件(TRE)作用,调控靶基因的表达并最终影响变态发育的过程^[8],这些在变态过程中受甲状腺激素调节的基因被称为甲调基因.因此,甲调基因可以作为筛选甲状腺干扰物的有效分子标志物,同时还可用于分析污染物的致毒作用模式.

热带爪蟾(*X. tropicalis*)是发育生物学中一种新的模式动物,由于个体小、生活周期短和基因组结构简单而较非洲爪蟾更有研究优势.本文以热带爪蟾蝌蚪为模型,通过环境浓度 TBT 短期暴露,检测 TBT 对蝌蚪的甲调基因及其他相关基因的 mRNA 的影响,确定 TBT 的甲状腺激素干扰效应,并探讨其可能的干扰致毒作用模式,同时,为运用热带爪蟾快速筛选环境甲状腺激素干扰物提供科学依据.

1 材料与方 法

1.1 试剂

氯化三丁基锡(TBTCl; CAS: 1461-22-9; 97%)购自 Merck 公司;二甲基亚砜(DMSO)购自 Sigma-Aldrich 公司;Trizol 裂解液和 SYBR Premix Ex Taq(Perfect Real Time, Takara)购自上海皓嘉科技发展有限公司;RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas)购自深圳中晶生物有限公司;引物由上海赛百盛基因技术有限公司合成。

1.2 胚胎的获取和蝌蚪的饲养

挑选性成熟热带爪蟾 14 对,采用人工注射 hCG 的方法诱导产卵. 每只爪蟾都进行 2 次注射,待蛙抱对产卵结束后收集胚胎,将产卵较好的 3 对蛙的胚胎混合,待其孵化后饲养至 NF 51 阶段. 蝌蚪饲养条件如下:室温 25 °C,明暗周期 12 h/12 h;自来水经活性炭和微孔过滤系统处理后进入养殖箱循环,硬度 150~250 mg · L⁻¹ (CaCO₃),余氯浓度低于 3 μg · L⁻¹,pH 7.0~8.0,溶解氧浓度高于 5 mg · L⁻¹. 挑选达到 NF 51 阶段发育良好的蝌蚪用于实验.

1.3 暴露实验

根据 Nieuwkoop 等(1956)的方法判断蝌蚪的发育阶段,在 5 L 的玻璃缸(20 cm × 20 cm × 20 cm)内加 4 L 经活性炭和微孔过滤系统处理过的自来水,每缸放 20 只 NF 51 阶段的蝌蚪. TBTCl 用 DMSO 助溶,暴露浓度为 50 ng · L⁻¹ 和 200 ng · L⁻¹,对照组加等量的 DMSO. 温度和光照同上,每天早、中和晚各喂鱼饲料(惠弘水族开发有限公司)一次. 实验共设 1 个对照组和 2 个暴露组. 每组 4 缸,共 12 缸,每天半换液 1 次,分别在 48 h 和 96 h 取样分析.

1.4 RNA 的提取

分别在 48 h 和 96 h 从每缸取 5 只蝌蚪,将脑部或尾部组织分别合并,各取约 0.1 g 作为 1 个样品. 在 0.1 g 组织中加入 1 mL Trizol 裂解液并匀浆,在匀浆液中加入 200 μL 氯仿抽提 RNA;静止 5 min 后再在 4 °C 下经 12 000 r/min 冷冻离心 15 min,移取上清液,加入 500 μL 异丙醇沉淀 RNA;再次冷冻离心后去上清液,取底部 RNA 沉淀,再加入 75 % 乙醇 1 mL 清洗 2~3 次. 最后室温下自然晾干 RNA 10 min,加 20 μL 的 DEPC 水溶解 RNA, -70 °C 保存.

1.5 cDNA 的合成

在 RNA/DNA 定量分析仪上测 RNA 的光吸收值,检测其纯度. 根据 260 nm 处的光吸收值计算进行逆转录时加入 RNA 的体积. 加入等量 RNA 后再加入 DEPC 水至 11 μL,然后加入 1 μL 的 OligdT 混匀,放到 PCR 仪中 72 °C 变性 5 min. 暂停,取出置于冰上 2 min. 在超净工作台上每个样品中依次加入 4 μL 逆转录缓冲液、2 μL dNTP、1 μL 逆转录酶和 1 μL 逆转录酶抑制剂,制备混合液,然后在每个 PCR 管中加入 8 μL 混合液,混匀后放到 PCR 仪中继续进行逆转录,设置 37 °C 5 min,42 °C 60 min,70 °C 10 min,10 °C 暂时保存等程序. 最后,取出保存于 -40 °C.

1.6 实时定量 PCR

用 SYBR green 荧光染料进行实时定量 PCR. 引物是用 Primer Express 3.0 软件进行设计(见表 1),然后委托上海赛百盛基因技术有限公司合成. 目的基因(TR α , TR β , DI2, DI3, TSH β , b/zip, RXR α , RXR β , RXR γ , MCT8 和 PPAR γ)和内参基因(EF1 α)的扩增效率

基本一致, $E > 99\%$, $R^2 > 0.985$.

表 1 热带爪蟾 (*Xenopus tropicalis*) 蝌蚪甲状腺基因引物列表

Tab. 1 The thyroid hormone response genes primers of *Xenopus tropicalis* tadpoles

基因	上游引物序列	下游引物序列	基因编号	大小/bp
TR α	CGTCGCACCATCCAGAAGA	CAGCCATCGTACTTGCATGAA	NM_001045796.1	56
TR β	TGTGCTGCGGCTACCA	CACGAGTGAGTGATCGTTGCA	NM_001045805.1	56
DI2	CAATGGCGCCGAATGC	CCAATAGGAAGCTGTTCCACACA	NM_001197232.1	61
DI3	GGGCACCGCCATGT	CTTCTCTCCCCTTCATCAATG	NM_001113667.1	60
TSH β	ATATATCCACAGGACAGTGACCATTC	TGGGTAGGAAAAGAGCGGATT	XM_002942789.1	67
b/zip	CTGGGACAAGAGACGCAAGAAC	CCGGCGCTTCTCTCTTGA	XM_002939110.1	58
RXR α	TCATGTCCACGCCAGAAAAA	CCGACAATGCTGACAACGAT	NM_001079195.1	66
RXR β	CGGTGTGAGGTGACCGTAAGA	GATGCGCTGGCAGCAAA	NM_001015937.2	56
RXR γ	TGAAGCGGGAAGTTCAAGAAG	CCGCCTCGGTGTCCTCT	XM_002933753.1	60
MCT8	GCTAGCCATGGGAATGATCTTTT	GCAGCCGAGTCTGTCTGTGA	XM_002931827.1	67
PPAR γ	CCCGCGAGTTCCTCAAGAG	CGAACTTGGGCTCCATGAA	XM_002943726.1	60
EF1 α	GGGCAAGGCTCCTTCA	CGCTCGGCTTCAGTTTGT	NM_001016692.2	54

将 cDNA 稀释到同一浓度 $50 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 再制备 PCR 混合液. 按样品的量制备混合液, 依次加入 SYBR^Premix Ex Taq(Takara, 含有 DNA 聚合酶、Buffer、dNTP 和 SYBR^Green I 等试剂) $10 \mu\text{L}$ 、上游引物 $0.4 \mu\text{L}$ 、下游引物 $0.4 \mu\text{L}$ 、ROX 校正液 $0.4 \mu\text{L}$ 和 RNase-free 水 $6.8 \mu\text{L}$. 然后, 按照实验设计小心加入 $18 \mu\text{L}$ 混合液到每个八联管加样孔中. 最后, 每个孔中加入 $2 \mu\text{L}$ 的 cDNA, 混匀. 加样完毕盖好管盖, 按顺序放入 7300 型实时荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司) 中, 然后设定程序: 第一步, $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s; 第二步, 40 个循环: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 31 s. 最后运行程序即可.

1.7 数据统计与分析

本实验采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法比较浓度组的样品和对照组的样品目标基因之间的相对表达差异, 数据以平均值 \pm 标准差表示, $n = 4$. 然后用 SPSS 16.0 软件中的 ANOVA 中的 HSD-Tukey 检验方法进行差异分析, 然后用 OriginPro 8.0 作图.

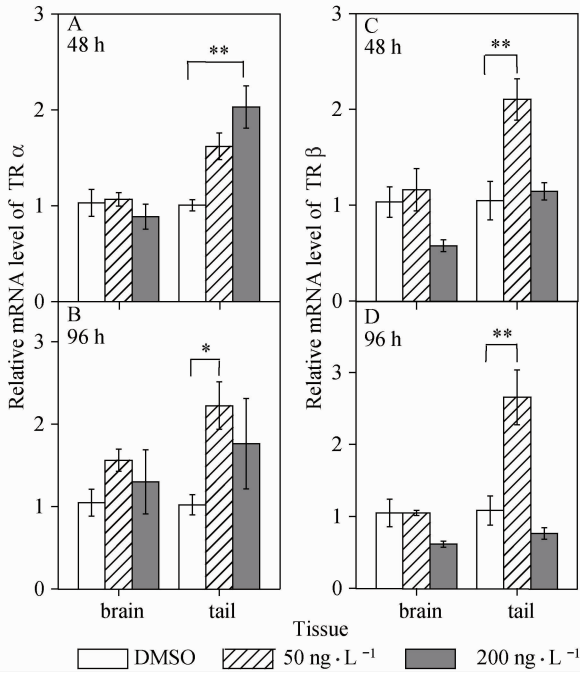
2 结果与讨论

2.1 TBTCI 对 TR α 、 β mRNA 的影响

48 h 和 96 h 后, 对照组和暴露组蝌蚪的存活率均为 100%. 暴露组 TR α mRNA 在尾部的表达比对照组有明显的增加, $50 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBTCI 暴露组 TR β mRNA 在尾巴的表达比对照组增加了的 1~2 倍 (见图 1).

本课题组前期研究发现, 环境浓度的 TBT ($25 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBTCI) 能对非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 幼蛙甲状腺组织结构造成严重损伤, 表明 TBT 是一种潜在的甲状腺激素干扰物^[5]. 这些 mRNA 涉及到甲状腺激素的合成、运输、转化、合成和代谢等多个过程. 其中, TR 是甲状腺信号途径中的关键分子, 爪蟾的 TR 有 α 和 β 两种亚型, 在不同的发育阶段表达水平不同, 并且其表达水平与甲状腺激素水平密切相关^[9]. 污染物能通过影响甲状腺激素水平或其它途径引起 TR mRNA 表达发生变化, TR mRNA 的表达水平是评价甲状腺干扰作用的重要分子标志物. 已有研究表明, 四溴双酚 A 是典型的甲状腺激素干扰物, 能上调非洲爪蟾

TH 基因的表达^[10],本实验结果也表明,TBT 能诱导蝌蚪尾巴中 TR α 、 β mRNA 的上调,而对脑部 TR mRNA 的表达没有明显影响.这一方面说明 TBT 能干扰 TR mRNA 的表达,另一方面说明这种干扰作用具有组织差异性.



注: * 表示 $P < 0.5$, ** 表示 $P < 0.01$

图 1 TBT 对热带爪蟾 (*Xenopus tropicalis*) 蝌蚪 (NF51) 脑和尾巴 TR α 和 TR β mRNA 表达的影响

Fig. 1 Effects of tributyltin on TR α and TR β mRNA expressions in the brains and tails of *Xenopus tropicalis* tadpoles

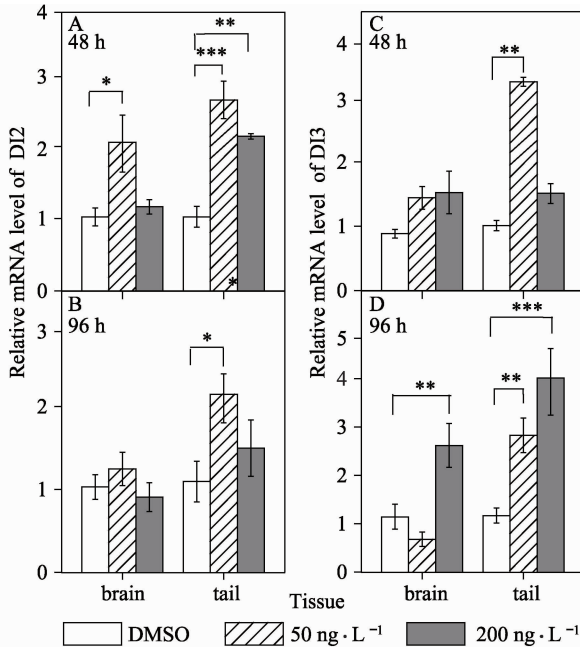
2.2 TBTCI 对脱碘酶 mRNA 的影响

48 h 后, 50 ng·L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组 DI 2 和 DI 3 mRNA 在脑部和尾巴的表达比对照组均有不同程度的增加, 在脑部的表达与对照组相比上调了 1.1 倍, 在尾部则上调了 1.2~2.3 倍. 96 h 后, 200 ng·L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组的 DI 3 mRNA 在尾巴的表达比对照组增加了 3.0 倍(见图 2).

脱碘酶(IDs)是 THs 在动态循环过程中非常重要的一类酶,它能够催化体内 THs 脱碘转化过程,调控甲状腺激素的合成和转运.本实验结果显示,50 ng·L⁻¹ 的 TBT 对蝌蚪的脑部和尾巴的 DI 2 和 DI 3 mRNA 均有不同程度的诱导作用.尤其在 96 h 暴露后,200 ng·L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组 DI 3 mRNA 在尾巴的表达比对照组增加了 3.0 倍.这说明 TBT 对脱碘酶基因具有诱导作用,特别是在尾巴部位诱导最明显,可能影响蝌蚪尾巴以后的生长和吸收.

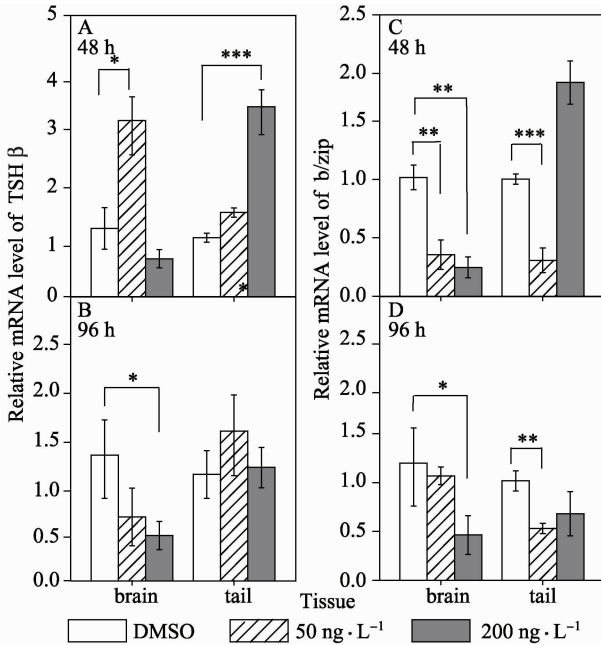
2.3 TBTCI 对 TSH β 和 b/zip mRNA 的影响

48 h 后,TSH β mRNA 在 200 ng·L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组的蝌蚪尾中的表达比对照组增加了 2.1 倍,与其在 50 ng·L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组的蝌蚪脑部表达是一致的.96 h 后,TSH β mRNA 在 200 ng·L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组在蝌蚪脑部的表达则比对照组减少了 0.53 倍;200 ng·L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组的 b/zip mRNA 在脑部和尾巴中的表达均比对照组减少了 0.51 倍(见图 3).



注: *表示 $P < 0.5$, **表示 $P < 0.01$, ***表示 $P < 0.001$

图2 TBT对热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*)蝌蚪(NF51)脑和尾巴DI2和DI3 mRNA表达的影响
Fig. 2 Effects of tributyltin on DI2 and DI3 mRNA expressions in the brains and tails of *Xenopus tropicalis* tadpoles



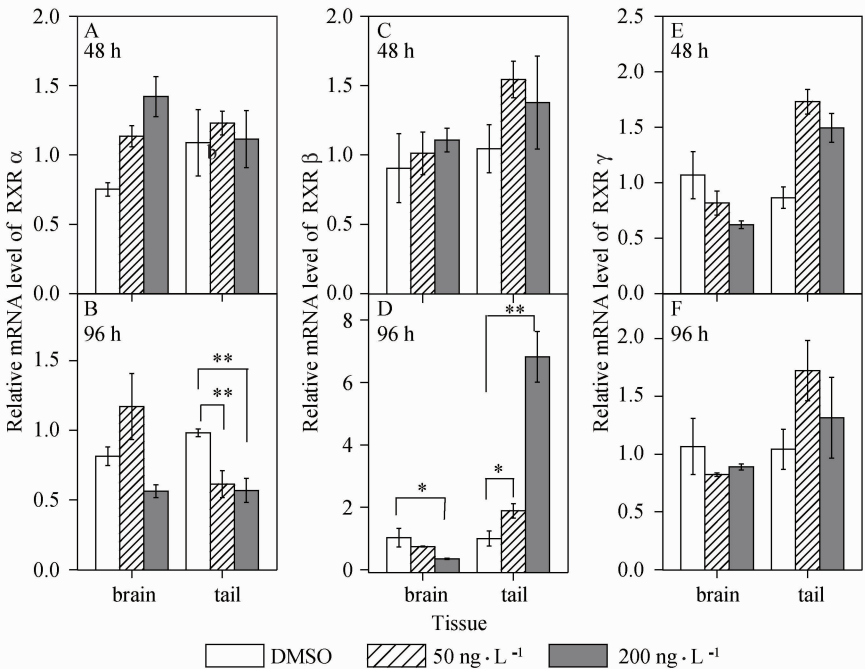
注: *表示 $P < 0.5$, **表示 $P < 0.01$, ***表示 $P < 0.001$

图3 TBT对热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*)蝌蚪(NF51)脑和尾巴TSH β 和b/zip mRNA表达的影响
Fig. 3 Effects of tributyltin on TSH β and b/zip mRNA expressions in the brains and tails of *Xenopus tropicalis* tadpoles

促甲状腺素(TSH)能够刺激甲状腺分泌甲状腺激素,但同时又受到机体甲状腺激素水平的反馈调控;b/zip 是一种与变态相关的 TR 靶基因反应元件.有研究显示,TSH 和 b/zip 的 mRNA 表达可以作为检测甲状腺干扰干扰效应的分子标志物^[11,12].Helbing 等研究了爪蟾蝌蚪脑中 TSH mRNA 表达,结果发现,T4 和 T3 暴露不同程度地抑制了 TSH mRNA 的表达^[13];Opitz 等发现另一种甲状腺抑制剂——乙撑硫脲(ETU, 25 mg · L⁻¹ 和 50 mg · L⁻¹)可明显增强爪蟾脑中 TSH mRNA 的表达^[14].本实验结果显示,TBT 对蝌蚪尾巴中 TSH β mRNA 有诱导作用,对蝌蚪脑部 TSH β mRNA 有抑制作用;对 b/zip mRNA 在脑部和尾中都有明显抑制作用,表明 TBT 可能改变了蝌蚪的甲状腺激素水平.

2.4 TBTCI 对 RXR mRNA 的影响

48 h 后,RXR γ mRNA 在 200 ng · L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组在蝌蚪脑中的表达比对照组减少了 0.48 倍.96 h 后,TBTCI 暴露组的 RXR α mRNA 在脑和尾中的表达均比对照组减少了约 0.4 倍,200 ng · L⁻¹ 的 TBTCI 暴露组的 RXR β mRNA 则在脑部表达比对照组减少了 0.51 倍,而在尾巴中表达则比对照组增加了 5.9 倍(见图 4).



注: * 表示 $P < 0.5$, ** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$

图 4 TBT 对热带爪蟾 (*Xenopus tropicalis*) 蝌蚪(NF51)脑和尾巴 RXR mRNA 表达的影响

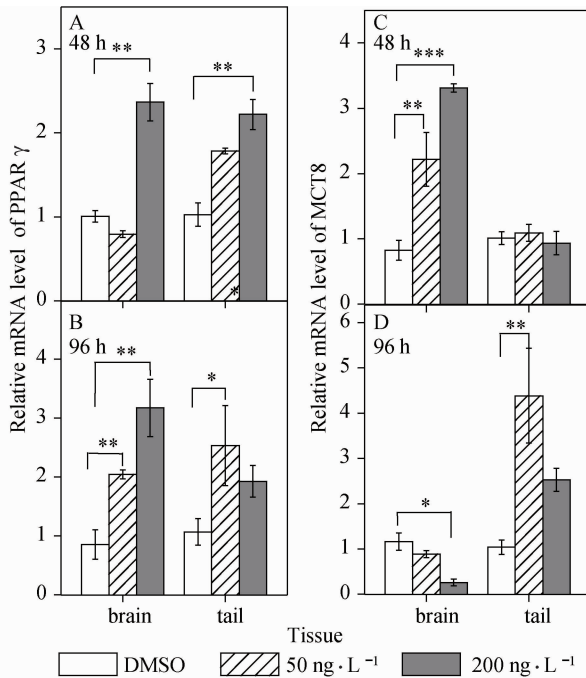
Fig. 4 Effects of tributyltin on RXR mRNA expressions in the brains and tails of *Xenopus tropicalis* tadpoles

RXRs 是维生素 A 衍生物 9-顺视黄酸的核受体,可与 TR 形成 TR-RXR 异二聚体.有研究认为甲状腺激素的作用是通过异二聚体中 TR 成分激活转录的,在此过程中 RXR 是一个沉默的伴侣(silent partner)^[15].但也有研究显示,RXR 不是沉默伴侣,可以通过结合其配体调节 TR-RXR 的活性,从而影响两栖类的变态发育^[16].Nishikawa 等^[17]指出 TBT 与 RXR 具有极强的结合能力.Iwamuro 研究表明,抗甲状腺激素干扰物双酚 A 能下调 RXR γ

基因的表达^[18]. 本文结果也表明, $200 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBTCI 暴露组对蝌蚪脑中 RXR β 和 γ mRNA 的表达有抑制作用, 说明 TBT 可能通过与 RXR 受体结合而干扰了甲状腺信号通路.

2.5 TBTCI 对 PPAR γ 和 MCT8 mRNA 的影响

48 h 和 96 h 后, $200 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBTCI 暴露组 PPAR γ mRNA 在蝌蚪脑和尾巴中的表达比对照组均增加了 1~2 倍. 48 h 后, TBTCI 暴露组 MCT8 mRNA 在蝌蚪脑部的表达比对照组明显增加, 上调了 1~2.3 倍, 而在尾巴中没有变化; 96 h 后, $200 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBTCI 暴露组 MCT8 mRNA 在脑部的表达是对照组的 0.23 倍, 而其在 $50 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ TBTCI 暴露组尾中的表达比对照组增加了 3.2 倍(见图 5).



注: * 表示 $P < 0.5$, ** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$

图5 TBT对热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*)蝌蚪(NF51)脑和尾巴 PPAR γ 和 MCT8 mRNA 表达的影响
Fig. 5 Effects of tributyltin on PPAR γ and MCT8 mRNA expressions in the brains and tails of *Xenopus tropicalis* tadpoles

过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)是调节目标基因表达的核内受体转录因子超家族, 可与 RXR 结合形成异二聚体 PPAR-RXR^[19]. 在本实验中 PPAR γ mRNA 在 48 h 和 96 h 暴露后, 在蝌蚪脑和尾巴中比对照组均有明显增加, 进一步表明 TBT 有可能与 RXR 相结合. MCT8 是细胞间转运甲状腺激素的特殊蛋白^[20,21]. 暴露组 MCT8 mRNA 在尾巴中也有明显增加, 表明 TBT 能够引起甲状腺激素向细胞转运的过程.

3 结 论

本文运用 TBT 对热带爪蟾 NF 51 阶段蝌蚪进行短时间暴露. 结果表明, TBT 能引起蝌蚪头部和尾部多个甲调基因 mRNA 表达的变化, 但 mRNA 的表达具有明显的组织差异性. 这些 mRNA 涉及到甲状腺激素的合成、运输、转化、合成和代谢等多个过程, 表明 TBT 对爪

蟾具有甲状腺激素干扰效应。同时,通过对一些相关基因 mRNA 的表达的检测表明 TBT 可能通过与 RXR 结合而对蝌蚪产生甲状腺激素干扰效应。由此可见,分子指标在筛选甲状腺激素干扰物的过程中不仅具有快速灵敏的特点,而且有助于解析污染物的致毒作用模式。

[参 考 文 献]

- [1] CHAMP M A. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits [J]. *Sci Total Environ*, 2000, 258: 21-71.
- [2] HALL L W. Tributyltin environmental studies [J]. *Mar Pollut Bull*, 1988, 19: 431-438.
- [3] CARLSSON G, KULKARNI P, LARSSON P, et al. Distribution of BDE-99 and effects on metamorphosis of BDE-99 and -47 after oral exposure in *Xenopus tropicalis* [J]. *Aquat Toxicol*, 2007, 84: 71-79.
- [4] RUDEL H, MÜLLER J, STEINHANSEN J, et al. Retrospective monitoring of organotin compounds in freshwater fish from 1988 to 2003: Results from the German environmental specimen bank [J]. *Chemosphere*, 2007, 66 (10): 1884-1894.
- [5] SHI H H, HUANG C J, YU X J, et al. Generalized system of imposex and reproductive failure of females in gastropods along the coastal waters of Mainland China [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 2005, 304: 179-189.
- [6] OEHIMANN J, BENEDETTO P D, TILLMANN M, et al. Endocrine disruption in prosobranch mollusks: evidence and ecological relevance [J]. *Ecotoxicology*, 2007, 16: 29-43.
- [7] 王蕾, 刘青坡, 郭素珍, 等. TBT 对非洲爪蟾甲状腺组织的影响 [J]. *华东师范大学学报:自然科学版*, 2008(6): 75-81.
- WANG L, LIU Q P, GUO S Z, et al. Effects of tributyltin on thyroid histology of *Xenopus laevis* [J]. *Journal of East China Normal University: Natural Science*, 2008(6): 75-81.
- [8] SHI Y B, RITCHIE J W, TAYLOR P M. Complex regulation of thyroid hormone action: multiple opportunities for pharmacological intervention [J]. *Pharmacol Therapeut*, 2002, 94(3): 235-251.
- [9] KRAIN L P, DENVER R J. Developmental expression and hormonal regulation of glucocorticoid and thyroid hormone receptors during metamorphosis in *Xenopus laevis* [J]. *Endocrinol*, 2004, 181(1): 91-104.
- [10] JAGNYSCH O, OPITZ R, LUTZ I, et al. Effects of tetrabromobisphenol A on larval development and thyroid hormone-regulated biomarkers of the amphibian *Xenopus laevis* [J]. *Environ Res*, 2006, 101: 340-348.
- [11] HUANG H, CAI L, REMO B F, et al. Timing of metamorphosis and the onset of the negative feedback loop between the thyroid gland and the pituitary is controlled by type II iodothyronine deiodinase in *Xenopus laevis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(13): 7348-7353.
- [12] CAI L, BROWN D D. Expression of type II iodothyronine deiodinase marks the time that a tissue responds to thyroid hormone 2 induced metamorphosis in *Xenopus laevis* [J]. *Dev Biol*, 2004, 266(1): 87-95.
- [13] HELBING C C, BAILEY C M, JI L, et al. Identification of gene expression indicators for thyroid axis disruption in a *Xenopus laevis* metamorphosis screening assay. Part 1. Effects on the brain [J]. *Aquat Toxicol*, 2007, 82 (4): 227-241.
- [14] OPITZ R, LUTZ I, NGUYEN N H, et al. Analysis of thyroid hormone receptor beta mRNA expression in *Xenopus laevis* tadpoles as a means to detect agonism and antagonism of thyroid hormone action [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2006, 212(1): 1-13.
- [15] 裘佳, 陈虹, 黄秉仁. 甲状腺激素受体在调节靶基因转录中的激活和抑制作用 [J]. *生命的化学*, 2009, 29(3): 370-373.
- QIU J, CHEN H, HUANG B R. Transcriptional activation and repression regulation in target gene by thyroid hormone receptors [J]. *Life Chem*, 2009, 29(3): 370-373.
- [16] LI D, YAMADA T, WANG F, et al. Novel roles of retinoid X receptor (RXR) and RXR ligand in dynamically modulating the activity of the thyroid hormone receptor/RXR heterodimer [J]. *Biol Chem*, 2004, 279(9): 7427-7437.

- [17] NISHIKAWA J. Imposex in marine gastropods may be caused by binding of organotins to retinoid X receptor [J]. *Mar Biol*, 2006, 149: 117-124.
- [18] IWAMURO S, YAMADA M, KATO M, et al. Effects of bisphenol A on thyroid hormone-dependent up-regulation of thyroid hormone receptor α and β and down-regulation of retinoid X receptor γ in *Xenopus* tail culture[J]. *Life Sci*, 2006, 79: 2165-2171.
- [19] BORDJI K, GIRLLASEA J P, GOUZE J N, et al. Evidence for the presence of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α and γ and retinoid receptor in cartilage PPAR γ activation modulates the effects of interleukin- 1β on rat chondrocytes [J]. *Biol Chem*, 2000, 275: 12243-12250.
- [20] FRIESEMA E C, GANGULY S, ABDALLA A, et al. Identification of momocarboxylate transporter 8 as a specific thyroid hormone transporter [J]. *Biol Chem*, 2003, 278(41): 40128-40135.
- [21] FRIESEMA E C, KUIPER G G, JANSEN J, et al. Thyroid hormone transport by the human momocarboxylate transporter 8 and its rate-limiting role in intracellular metabolism [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(11): 2761-2772.

(上接第 46 页)

- [25] YANG X Y, OTTO S R, AL-DURI B. Concentration-dependent surface diffusivity model (CDSDM): Numerical development and application[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2003, 94(3): 199-209.
- [26] LANGMUIR I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids[J]. *J Am Chem Soc*, 1916, 38(11): 2221-2295.
- [27] FREUNDLICH H M F. Uber die adsorption in losungen[J]. *Z Phys Chem (Leizig)*, 1906, 57A: 385-470.
- [28] BEHERA S K, KIM J H, GUO X J, et al. Adsorption equilibrium and kinetics of polyvinyl alcohol from aqueous solution on powdered activated carbon[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 153(3): 1207-1214.
- [29] SEKAR M, SAKTHI V, RENGARAJ S. Kinetics and equilibrium adsorption study of lead (II) onto activated carbon prepared from coconut shell[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2004, 279(2): 307-313.
- [30] JAGTAP S, THAKER D, WANJARI S, et al. New modified chitosan-based adsorbent for defluoridation of water [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2009, 332(2): 280-290.
- [31] 刘福强,陈金龙,费正皓,等. 复合功能超高交联吸附树脂对氨基萘酚磺酸的静态吸附热力学及动力学[J]. *应用化学*, 2003, 20(12): 1123-1128.
- LIU F Q, CHEN J L, FEI Z H, et al. Thermodynamics and kinetics of the adsorption of amino-naphthol sulfonic acid onto a new bi-functional hypercrosslinked polymeric adsorbent[J]. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 2003, 20(12): 1123-1128.
- [32] 解建坤,岳钦艳,于慧,等. 污泥活性炭对活性艳红 K-2BP 染料的吸附特性研究[J]. *山东大学学报:理学版*, 2007, 42(3): 64-70.
- XIE J K, YUE Q Y, YU H, et al. Adsorptive properties of sludge activated carbon to brilliant red K-2BP[J]. *Journal of Shandong University: Natural Science*, 2007, 42(3): 64-70.
- [33] 陈志刚,刘成宝,张勇,等. 膨胀石墨对油田含油废水的动态吸附[J]. *机械工程材料*, 2006, 30(5): 81-83.
- CHEN Z G, LIU C B, ZHANG Y, et al. Dynamic adsorption of expanded graphite for oil in waste water of oil field[J]. *Materials for Mechanical Engineering*, 2006, 30(5): 81-83.