

◇ 预防医学研究 ◇

父源性十溴联苯醚暴露下调雄性小鼠睾酮水平和精子数

戴瑞雪, 翟金霞, 任 征, 丁承辉, 林浩飞, 李玉荣, 李 俊

摘要 目的 观察父源性(F_0 代雄性小鼠)十溴联苯醚(PBDE-209)暴露对胎鼠(F_1 代)体格发育状况及出生后70(PND70)天 F_1 代雄性小鼠脏器系数、睾酮水平、精子数和睾丸组织形态的影响。方法 4周龄雄性小鼠,按小鼠每日体重进行灌胃染毒,随机分为玉米油组(0 mg/kg)、低剂量组(100 mg/kg)、中剂量组(300 mg/kg)和高剂量组(500 mg/kg),连续染毒6周。染毒结束前1 d与健康雌鼠1:2合笼,观察 F_1 代胎鼠体格发育和PND70天 F_1 代雄性小鼠脏器系数、睾酮水平、精子数和睾丸组织形态变化。结果 高剂量组 F_1 代胎鼠体重、体长和肛殖距(肛门到生殖器距离)降低($P < 0.05$),雌雄比增加($P < 0.05$);与玉米油组比较,高剂量组PND70天雄性小鼠睾丸系数、附睾系数、肝脏系数、肾脏系数、附睾尾精子数和血清睾酮水平明显降低($P < 0.05$);雄性仔鼠HE染色显示中、高剂量组精子数目减少,间质间隙明显增宽,基底室出现空腔,支持细胞和间质细胞数减少等。结论 F_0 代雄性小鼠暴露PBDE-209可能会影响 F_1 代子鼠体格发育,还可能会使PND70天雄性小鼠的精子数、睾酮水平降低,以及睾丸形态结构发生改变。

关键词 PBDE-209; 子鼠; 胎鼠; PND70; 睾酮; 精子数

中图分类号 R 994

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2015)10-1438-05

多溴联苯醚(polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)作为一种重要的阻燃剂被广泛应用于纺织、塑料及电子等工业以及日用品中^[1]。PBDEs共有209种同系物,常见的3种是五溴联苯醚(penta-BDEs)、八溴联苯醚(octa-BDEs)和十溴联苯醚(PBDE-209)。在使用的阻燃剂总量中,PBDE-209超过80%。研究^[2-4]表明,PBDE-209影响机体的免疫系统、神经系统、内分泌系统和生殖系统。研究^[5]表明PBDE-209对子代也具有重要影响。王志新等^[6]指出PBDE-209可导致小鼠体外受精率降

低,影响受精卵的早期发育,呈剂量效应关系,但是关于 F_0 代雄性小鼠暴露PBDE-209对其子代影响的研究极少。该研究利用PBDE-209作为受试物,通过对 F_0 代雄性ICR小鼠经灌胃染毒,初步探讨PBDE-209对 F_1 代胎鼠体格发育及出生后70(PND70)天雄性小鼠睾酮水平、精子数和睾丸组织形态的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 PBDE-209(优级纯,美国Alfa Aesar公司,货号L04656);睾酮ELISA试剂盒(上海源叶生物科技有限公司)。

1.2 动物 清洁级健康4周龄ICR雄性小鼠44只,体重27~32 g,8周龄雌性ICR小鼠88只,体重32~35 g,安徽省实验动物中心提供。

1.3 实验设计

1.3.1 F_0 代小鼠处理 实验动物经适应性饲养1周,随机分为4组,即玉米油组(0 mg/kg)、低剂量组(100 mg/kg)、中剂量组(300 mg/kg)、高剂量组(500 mg/kg),按小鼠每日体重进行灌胃染毒。小鼠自由饮食、饮水,环境温度25℃左右,12 h光照/12 h黑暗。每天早上八时开始染毒,每日染毒1次,连续染毒6周。染毒结束前,与雌鼠合笼。

1.3.2 吸收胎数、活胎数及 F_1 代胎鼠生长发育与雌雄比的检测 F_0 代染毒结束前,随机选取各组雄鼠各6只,与雌鼠按1:2比例合笼,合2 d休1 d,持续2周。次日九时前检查雌鼠阴道,发现阴栓即为受孕0天。受孕第18天时,孕鼠脱颈椎处死,剖腹检查,取胎鼠称重和胎盘重,计算活胎总数、每窝活胎数等,并检查外观,测量体重、体长、尾长、肛殖距(肛门到生殖器距离),计算雌雄比。

1.3.3 PND70天 F_1 代子鼠的解剖与形态学 F_0 代小鼠染毒结束前,选取5只 F_0 代小鼠,按上述方法进行合笼,交配结束后,弃去雄鼠和未怀孕的雌鼠,子鼠在出生后第4天,为维持 F_1 子鼠营养均衡性,进行标准化,保持每窝8只子鼠(雌鼠4只,雄鼠4只),剔除不足8只的窝。子鼠在PND21天断奶,将母鼠和雌性子鼠脱颈椎处死,雄性子鼠则继续饲

2015-05-08 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1408085MH192);安徽医科大学博士科研资助基金(编号:XJ201201)

作者单位:安徽医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系,合肥 230032

作者简介:戴瑞雪,女,硕士研究生;

翟金霞,女,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:zhai-jinxia@sina.com

养至 PND70 天,眼球取血,然后脱颈椎处死,冰浴上取睾丸、附睾、脑、肝、肾等脏器并称量重量,同时取附睾尾计数精子,睾丸行 HE 染色。

1.3.4 F₁ 代子鼠 PND70 天精子计数 按方法^[7]计数精子,即在 37 °C 小烧杯中剪碎附睾尾,使精子自由游出(约 5 min),取适量精子悬液滴入计数板,计算精子总数。

1.3.5 ELISA 法检测 F₁ 代子鼠 PND70 天血清睾酮的含量 取出存放于 -80 °C 的血清样本,室温条件下放置 30 min,试剂盒放置 20 min;参照试剂盒说明书操作,计算出相应睾酮含量,由于睾酮值不呈正态分布,经对数转换后进行分析。

1.4 统计学处理 使用 Excel 对实验数据进行建库,采用 SPSS 16.0 软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组数据间比较采用单因素 ANOVA 方差分析,组间两两比较采用 LSD 法检验。

2 结果

2.1 PBDE-209 染毒雄性小鼠与其合笼雌鼠的生育能力及 F₁ 胎鼠的影响

2.1.1 PBDE-209 染毒雄性小鼠对受孕数、生育率、吸收胎数、活胎数、每窝平均活胎数的影响 PBDE-209 染毒组受孕数、生育率均高于玉米油组,每窝平均活胎数高于玉米油组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。染毒组均出现吸收胎,低剂量组和高剂量组均为 1 例,中剂量组 3 例和 1 例发育迟缓,见表 1。

表 1 PBDE-209 染毒雄性小鼠对受孕数、生育率、吸收胎数、活胎数和发育迟缓例数的影响

项目	玉米油组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
交配只数(n)	12	12	12	12
受孕数(n)	7	8	11	8
生育率(%)	58.33	66.67	91.67	66.67
吸收胎数(n)	0	1	3	1
活胎总数(n)	93	112	156	111
每窝平均活胎数(n)	13.29	14.00	14.18	13.88
发育迟缓(n)	0	0	1	0

2.1.2 PBDE-209 染毒雄性小鼠对 F₁ 代胎鼠体格

发育及雌雄比的影响 高剂量组胎鼠体重、身长、肛殖距均明显低于玉米油组,差异有统计学意义($F = 3.23, 3.01, 3.17, P < 0.05$);尾长和胎盘重量差异无统计学意义($F = 1.435, 0.450, P > 0.05$),见表 2。平均每窝雌鼠数明显增多、雄鼠数明显减少、平均每窝雌雄比增加,差异无统计学意义($F = 2.03, 1.73, 2.82, P > 0.05$),组间两两比较中显示,与玉米油组比较,中剂量组和高剂量组的平均每窝雌鼠数和雌雄比差异有统计学意义($P < 0.05$),高剂量组的平均每窝雄鼠数与玉米油组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

2.2 PBDE-209 染毒雄性小鼠对其 F₁ 代雄性子鼠的影响

2.2.1 PBDE-209 染毒雄性小鼠对 F₁ 代 PND70 天雄性子鼠体重及脏器系数的影响 对 PND70 天雄性仔鼠的体重及各脏器系数进行分析,显示体重均低于玉米油组($F = 2.93, P > 0.05$),与玉米油组比较,高剂量组差异有统计学意义($P < 0.05$);肾脏系数($F = 2.36, P > 0.05$)和肝脏系数($F = 5.53, P < 0.05$)明显降低,与玉米油组比较,高剂量组的肾脏系数和低、高剂量组肝脏系数差异有统计学意义($P < 0.05$),脑系数、脾系数和心系数差异无统计学意义($F = 1.98, 0.95, 2.95, P > 0.05$),见表 4。

2.2.2 PBDE-209 染毒雄性小鼠对 F₁ 代 PND70 天雄性子鼠睾丸系数、附睾系数、精子数和血清睾酮水平的影响 解剖 PND70 天 F₁ 代雄性子鼠,与玉米油组比较,中剂量组和高剂量组睾丸系数($F = 5.38, P < 0.01$)和附睾系数($F = 10.82, P < 0.01$)降低,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。F₁ 代精子数和睾酮水平随着染毒剂量的增加而降低,差异无统计学意义($F = 1.836, 2.798, P > 0.05$),高剂量组与玉米油组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 5。

2.2.3 PBDE-209 染毒雄性小鼠对 F₁ 代 PND70 天雄性子鼠睾丸组织形态学的影响 玉米油组(图 1A)生精小管排列整齐,形态规则,精子数目较多,各级生精细胞排列有序而紧密,形态正常,睾丸支持

表 2 PBDE-209 染毒雄性小鼠对胎鼠体格发育的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	玉米油组(n=7)	低剂量组(n=8)	中剂量组(n=11)	高剂量组(n=8)
体长(mm)	25.128 2 ± 1.43	24.901 3 ± 1.28	24.813 3 ± 1.00	24.579 7 ± 1.63*
体重(g)	1.457 9 ± 0.14	1.426 6 ± 0.14	1.440 2 ± 0.16	1.398 1 ± 0.13*#
尾长(mm)	14.165 4 ± 1.10	13.977 9 ± 1.01	14.232 3 ± 1.78	13.938 3 ± 1.03
胎盘(g)	0.099 0 ± 0.02	0.177 8 ± 0.13	0.103 2 ± 0.02	0.121 2 ± 0.13
肛殖距(mm)	2.437 4 ± 0.59	2.413 3 ± 0.50	2.344 1 ± 0.52	2.245 2 ± 0.37*

与玉米油组比较: * $P < 0.05$; 与中剂量组比较: # $P < 0.05$

表3 PBDE-209 染毒雄性小鼠对胎鼠性别的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	玉米油组 (n=7)	低剂量组 (n=8)	中剂量组 (n=11)	高剂量组 (n=8)
平均每窝雌鼠数(n)	5.714 3 ± 2.50	7.500 0 ± 2.39	8.363 6 ± 2.66*	8.375 0 ± 2.07*
平均每窝雄鼠数(n)	7.571 4 ± 1.81	6.500 0 ± 2.39	5.818 2 ± 1.54	5.500 0 ± 2.00*
平均每窝雌雄比	0.810 0 ± 0.42	1.258 8 ± 0.54	1.541 8 ± 0.65*	1.787 5 ± 0.99*

与玉米油组比较: * P < 0.05

表4 PBDE-209 染毒雄性小鼠对 F₁ 雄性子鼠脏器系数的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	玉米油组 (n=7)	低剂量组 (n=8)	中剂量组 (n=9)	高剂量组 (n=7)
体重(g)	47.806 7 ± 1.916 3	47.268 0 ± 2.863 5	45.686 7 ± 2.750 5	44.313 3 ± 2.179 9*
大脑系数(%)	0.753 4 ± 0.000 4	0.725 6 ± 0.000 9	0.820 3 ± 0.000 9	0.759 6 ± 0.000 8
肾脏系数(%)	0.820 7 ± 0.109 1	0.734 0 ± 0.108 0	0.729 6 ± 0.052 4	0.680 0 ± 0.129 3*
肝脏系数(%)	5.567 8 ± 0.366 0	4.616 5 ± 0.376 3 [△]	5.381 4 ± 0.750 4 [#]	4.614 5 ± 0.703 4** [△]
脾脏系数(%)	0.251 7 ± 0.000 6	0.266 1 ± 0.000 4	0.255 3 ± 0.000 4	0.286 7 ± 0.000 3
心脏系数(%)	0.542 7 ± 0.000 6	0.483 0 ± 0.000 7	0.561 8 ± 0.001 0	0.618 0 ± 0.001 2

与玉米油组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与低剂量组比较: [#]P < 0.05; 与中剂量组比较: [△]P < 0.05

表5 PBDE-209 染毒雄性小鼠对 F₁ 雄性子鼠睾丸系数、附睾系数、精子数、睾酮的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	玉米油组 (n=7)	低剂量组 (n=8)	中剂量组 (n=11)	高剂量组 (n=8)
体重(g)	47.806 7 ± 1.916 3	47.268 0 ± 2.863 5	45.686 7 ± 2.750 5	44.313 3 ± 2.179 9*
睾丸系数(%)	0.338 4 ± 0.034 1	0.310 3 ± 0.032 1	0.295 1 ± 0.011 3**	0.271 7 ± 0.040 2**
附睾系数(%)	0.121 4 ± 0.013 4	0.111 0 ± 0.007 9	0.102 7 ± 0.007 9**	0.088 6 ± 0.004 9**
精子数(×10 ⁶ /ml)	34.730 0 ± 3.251 7	31.800 0 ± 2.041 2	31.230 0 ± 3.636 4	29.560 0 ± 1.847 5*
睾酮(pg/ml)	2.667 5 ± 0.045 4	2.660 8 ± 0.059 5	2.612 2 ± 0.075 6	2.550 0 ± 0.035 7* [#]

与玉米油组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与低剂量组比较: [#]P < 0.05

细胞均匀分布在曲细精管周围,排列紧密。低剂量组(图1B)支持细胞数量和形态无明显改变;中剂量组(图1C)精子数目有所减少,睾丸支持细胞数量减少,细胞排列不紧密,支持细胞之间间隙变大。高剂量组(图1D)精子数目减少,间质间隙明显增宽,生精细胞间隙增大,支持细胞和间质细胞数减少。

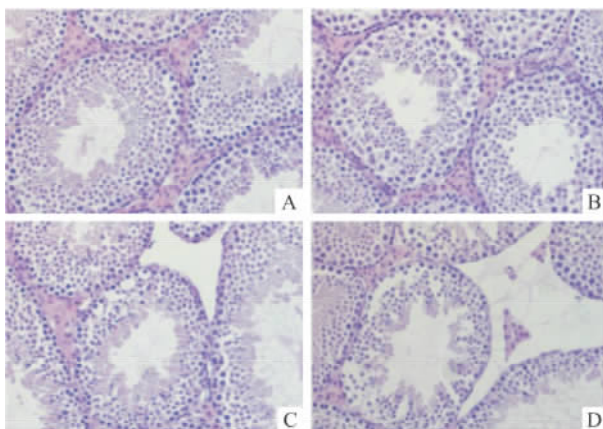


图1 PBDE-209 染毒雄性小鼠对 F₁ 代 PND70 天雄性小鼠睾丸形态学的影响 HE × 400

A: 玉米油组; B: 低剂量组; C: 中剂量组; D: 高剂量组

3 讨论

我国是 PBDEs 生产和使用大国^[8]。流行病学

资料^[9]显示, PBDEs 已经被证明在环境介质和生物样本,包括人体生物样本中检测出,并且含量呈上升趋势。PBDE-209 属于内分泌干扰物,对生物的生殖系统、神经系统和免疫系统有严重的损伤作用。对生殖系统的影响,特别是对雄性生殖系统的影响逐渐引起重视。前期研究^[10]表明 PBDE-209 可以引起雄性小鼠睾丸和附睾脏器系数的降低,同时精子数和睾酮水平随着暴露剂量的增加显著降低。研究^[11-12]表明亲代低剂量暴露 PBDE-209 不仅影响 F₀ 代的生长和生殖,也会改变 F₁ 代的性腺、甲状腺激素以及神经行为学的改变。与 He et al^[10]结果一致,该研究显示染毒雄性小鼠致雌鼠受孕数增加,子鼠出生数量增加,并且各染毒组均出现吸收胎,中剂量组出现 3 例;染毒组胎鼠的体重、体长和肛殖距均低于玉米油组,并且雌鼠数明显增加,雄鼠数明显降低,平均每窝雌雄比显著增加,这些结果表明 F₀ 代暴露 PBDE-209 可能对 F₁ 代胎鼠体格发育以及性别的形成具有影响。

目前为止,为数极少的关于 F₀ 代 PBDE-209 染毒对 F₁ 代影响的研究中 F₀ 代处理方式集中在孕期和孕前期暴露。比如梁辰等^[5]报道,孕期暴露 PBDE-209 可影响雌性子代大鼠的生殖发育。本研究主要是用 PBDE-209 染毒雄性小鼠,在对雌鼠没

有继续染毒的情况下观察 F₁ 代 PND70 天雄性小鼠的发育、睾酮水平、精子数和睾丸形态学的影响。结果显示体重和经体重校正后的睾丸系数、附睾系数、肾脏系数、肝脏系数显著降低; 大脑系数、脾脏系数和心脏系数增加, 差异无统计学意义。以上结果表明 PBDE-209 染毒雄性小鼠可能对 PND70 天小鼠的脏器系数具有一定的影响。进一步研究显示精子数和血清睾酮含量显著降低, 支持细胞和间质细胞数减少, 支持细胞与生精细胞间隙增宽。Tseng et al^[13] 指出 PBDE-209 孕期暴露可引起 PND71 天的雄性小鼠精子 H₂O₂ 含量增加以及 DNA 损伤。王志新等^[14] 发现外源性暴露 PBDE-209 可使小鼠精子 DNA 损伤, 引起精子 DNA 链断裂, 呈剂量-效应关系。但目前关于 PBDE-209 染毒 F₀ 代雄性小鼠对 F₁ 代影响的机制尚不清楚。

综上所述, PBDE-209 染毒雄性 F₀ 代小鼠可能与其合笼雌性小鼠的生育能力及 F₁ 代胎鼠体格发育产生影响, 出现吸收胎和发育迟缓, F₁ 代胎鼠的体格发育指标低于玉米油组, 雌雄比增加, 并且 F₁ 代 PND70 天雄性小鼠的精子数和血清睾酮水平降低, 由于本研究样本量有限, 需要大样本量作进一步的研究, 其机制还有待深入探讨。

参考文献

- [1] Labunska I, Harrad S, Wang M, et al. Human dietary exposure to PBDEs around E-waste recycling sites in Eastern China [J]. Environ Sci Technol, 2014, 48 (10): 5555-64.
- [2] 李祥, 汤艳, 李华, 等. BDE-209 对雌性大鼠卵巢抗氧化系统的影响 [J]. 工业卫生与职业病, 2012, 38 (1): 1-3.
- [3] Zhang Z, Zhang X, Sun Z, et al. Cytochrome P450 3A1 mediates 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether-induced reduction of spermatogenesis in adult rats [J]. PLoS One, 2013, 8 (6): e66301.
- [4] Lv Q Y, Wan B, Guo L H, et al. *In vitro* immune toxicity of polybrominated diphenyl ethers on murine peritoneal macrophages: apoptosis and immune cell dysfunction [J]. Chemosphere, 2015, 120: 621-30.
- [5] 梁辰, 何晓雯, 谢欣, 等. 十溴联苯醚孕期暴露对雌性子代大鼠生殖发育的影响 [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2012, 32 (11): 1461-5.
- [6] 王志新, 段华英, 王玲, 等. 十溴联苯醚对小鼠受精卵发育的影响 [J]. 中山大学学报(医学科学版), 2011, 32 (1): 51-5.
- [7] Ernest S R, Wade M G, Lalancette C, et al. Effects of chronic exposure to an environmentally relevant mixture of brominated flame retardants on the reproductive and thyroid system in adult male rats [J]. Toxicol Sci, 2012, 127 (2): 496-507.
- [8] 翟金霞, 王兴华, 张照祥, 等. 十溴联苯醚(BDE-209)染毒对雄性 BALB/c 小鼠睾丸毒性作用 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2011, 29 (4): 294-8.
- [9] Zou Y, Christensen E R, Zheng W, et al. Estimating stepwise debromination pathways of polybrominated diphenyl ethers with an analogue Markov Chain Monte Carlo algorithm [J]. Chemosphere, 2014, 114: 187-94.
- [10] He J, Yang D, Wang C, et al. Chronic zebrafish low dose decabrominated diphenyl ether (BDE-209) exposure affected parental gonad development and locomotion in F1 offspring [J]. Ecotoxicology, 2011, 20 (8): 1813-22.
- [11] Koenig C M, Lango J, Pessah I N, et al. Maternal transfer of BDE-47 to offspring and neurobehavioral development in C57BL/6J mice [J]. Neurotoxicol Teratol, 2012, 34 (6): 571-80.
- [12] Ernest S R, Wade M G, Lalancette C, et al. Effects of chronic exposure to an environmentally relevant mixture of brominated flame retardants on the reproductive and thyroid system in adult male rats [J]. Toxicol Sci, 2012, 127 (2): 496-507.
- [13] Tseng L H, Hsu P C, Lee C W, et al. Developmental exposure to decabrominated diphenyl ether (BDE-209): effects on sperm oxidative stress and chromatin DNA damage in mouse offspring [J]. Environ Toxicol, 2013, 28 (7): 380-9.
- [14] 王志新, 段华英, 王玲, 等. 外源性 BDE-209 对小鼠精子 DNA 的损伤 [J]. 南方医科大学学报, 2011, 31 (1): 108-12.

Decrease of testosterone levels and sperm count in male offspring by paternal exposed to decabromodiphenyl ether

Dai Ruixue, Zhai Jinxia, Ren Zheng, et al

(Dept of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To observe the physical development of fetal mice (F₁ fetal mice) and the organ coefficient, testosterone levels, sperm count and testicular tissue morphology of F₁ male offspring after birth 70 (PND70) days by the paternal (F₀ male mice) exposing to decabromodiphenyl ether (PBDE-209). **Methods** 4-week-old male mice were infected according to the daily body weight and divided into the corn oil group (0 mg/kg), low dose group (100 mg/kg), middle dose group (300 mg/kg) and high dose group (500 mg/kg) randomly. Mice were

exposed to PBDE-209 by gavage for 6 weeks. They were put together with healthy female mice for copulation as the ratio 1 : 2 before the end of gavage. To observe the physical development of F₁ fetal mice and the organ coefficient, testosterone levels, sperm count and testicular tissue morphology of F₁ male offspring after birth 70 (PND70) days.

Results In the high dose group, the body weight, length and anogenital distance (distance between the anus to the genitals) of F₁ fetal mice were reduced ($P < 0.05$), and the ratio of female verse male increased ($P < 0.05$); compared with the control group, the testis coefficient, epididymis coefficient, liver coefficient and kidney coefficient of the high-dose group PND70 male offspring were decreased ($P < 0.05$), and the sperm count in the tail of epididymal and serum testosterone levels were reduced significantly ($P < 0.05$); in the middle and high dose groups, the number of sperm count was reduced, the interstitial space was widened significantly, vacuolus appeared in the base compartment, and the number of sertoli cells and leydig cells was reduced in the male fetal mice by HE staining. **Conclusion** F₀ male mice exposed to PBDE-209 may affect the physical development of F₁ fetal mice, and may cause the reduction of sperm count and testosterone levels and testicular morphological change of PND70 male offspring.

Key words PBDE-209; offspring; fetal mice; PND70; testosterone; sperm count

(上接第 1347 页)

- [11] Culley D J, Baxter M G, Yukhananov R, et al. Long-term impairment of acquisition of a spatial memory task following isoflurane-nitrous oxide anesthesia in rats [J]. *Anesthesiology*, 2004, 100 (2): 309 - 14.
- [12] Wilder R T, Flick R P, Sprung J, et al. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort [J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(4): 796 - 804.
- [13] Kalkman C J, Peelen L, Moons K G, et al. Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure [J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(4): 805 - 12.
- [14] Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8 (7): 519 - 29.
- [15] Kato H, Nakajima S, Saito Y, et al. mTORC1 serves ER stress-triggered apoptosis via selective activation of the IRE1-JNK pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(2): 310 - 20.

JNK contributes to the proliferation inhibition of the rat fetal neural stem cells triggered by EI

Zhou Lei, Yang Zeyong, Li Yuanhai

(Dept of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To explore the general anesthetic EI on the rat fetal neural stem cell proliferation (NSCs) and the role played by JNK in the influence. **Methods** The cultured rat fetal NSCs were randomly divided into 6 groups ($n = 8$ each): normal group (group N); fat milk group (group F); EI groups (including 8.12, 9.80, 12.04 mmol/L EI), 9.80 mmol/L EI group + 20 μ mol/L SP600125 group (group EISP). After incubated for 12 hours, the cellular effects of EI and cell viability were evaluated by MTT reduction assay. The apoptotic rate of the rat NSCs were determined by flow cytometry, and the expression of protein Caspase-3 was observed by Western blot.

Results There was no statistical difference in cell viability, apoptotic rate and protein expression of Caspase-3 in group N and group F. EI group had higher cell apoptotic rate ($P < 0.01$), protein expression of Caspase-3 ($P < 0.05$), but lower cell viability than group N ($P < 0.01$). And significant differences were found between three doses of EI groups ($P < 0.05$). Compared with EI group, lower cell apoptotic rate ($P < 0.01$), protein expression of Caspase-3 but higher cell viability were observed in group EISP ($P < 0.05$). **Conclusion** JNK plays an important role in EI-induced cytotoxicity possibly in a dose-dependent manner.

Key words fetal neural stem cell; emulsified isoflurane; JNK; proliferation inhibition; apoptosis