

砷暴露及雌激素受体拮抗剂对雌、雄胎鼠 AEC II 内 ER β 表达的影响^{*}

杨梦平¹, 车望军², 程亚龄¹, 熊林森¹, 张 浩^{1 Δ}

1. 四川大学华西公共卫生学院 环境卫生与职业医学系(成都 610041); 2. 昆明市疾病预防控制中心(昆明 650022)

【摘要】 目的 观察砷暴露及雌激素受体拮抗剂(IC182,780)对雌、雄胎鼠肺泡 II 型上皮细胞(AEC II)内雌激素受体 β (ER β)表达的影响。**方法** 孕 19~20 d ICR 小鼠剖腹取胎鼠,分离、纯化雌性组和雄性组胎鼠 AEC II。四甲基吡唑蓝(MTT)法确定亚砷酸钠(NaAsO_2)染毒 AEC II 细胞的剂量。将 AEC II 细胞分为以不同剂量(低、中、高) NaAsO_2 染毒的砷暴露组,培养 24 h;另取 AEC II 细胞为联合暴露组,分别加入二甲基亚砷(DMSO)(溶剂对照组)、 NaAsO_2 5 $\mu\text{mol/L}$ (单独砷染毒组)、 NaAsO_2 (5 $\mu\text{mol/L}$) + IC182,780 (1×10^{-4} mol/L)(砷+拮抗剂组),培养 24 h;均设空白对照组(不加任何试剂)。24 h 后,砷暴露组行流式细胞术测凋亡率,砷暴露组、联合暴露组行实时荧光定量 PCR 法和 Western blot 检测胎鼠 AEC II 内 ER β mRNA 和蛋白的表达水平。**结果** AEC II 纯度达 $(87.0 \pm 2.5)\%$ 。MTT 法将 0.5(低)、1.25(中)、5(高) $\mu\text{mol/L}$ 的浓度设置为染毒剂量。砷暴露组中:雌、雄中、高剂量组细胞凋亡率均高于空白对照组($P < 0.05$),而雌、雄各剂量组间比较差异无统计学意义。雌性中、高剂量组 ER β mRNA 和蛋白表达水平高于空白对照组($P < 0.05$)和同剂量组雄性($P < 0.05$);雄性各剂量组 ER β mRNA 和蛋白表达水平与空白对照组比较差异无统计学意义。联合暴露组中:雌性单独砷染毒组 ER β mRNA 和蛋白表达水平高于砷+拮抗剂组($P < 0.01$)及同剂量组雄性($P < 0.05$),且高于空白对照组和溶剂对照组($P < 0.05$),雄性各组间比较差异无统计学意义;雌、雄其余各组间比较差异无统计学意义。**结论** 砷暴露可使雌性胎鼠 AEC II 内 ER β 表达上调且高于雄性,此过程可被雌激素受体拮抗剂阻断。

【关键词】 胎鼠 肺泡 II 型上皮细胞 雌激素受体 β 雌激素受体拮抗剂 亚砷酸钠

Gender-dependent Expression of ER β in AEC II of Fetal Mice Exposed to Arsenic and Estrogen Receptor Antagonist
YANG Meng-ping¹, CHE Wang-jun², CHENG Ya-ling¹, XIONG Lin-sen¹, ZHANG Hao^{1 Δ} . 1. Department of Environmental Health and Occupational Medicine, West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Center for Disease Control and Prevention of Kunming, Kunming 650022, China
 Δ Corresponding author, E-mail: 9947888@qq.com

【Abstract】 Objective To determine the effects of arsenic and estrogen receptor antagonist (IC182,780) on the expression of estrogen receptor beta (ER β) in alveolar II epithelial cells (AEC II) of female and male mice. **Methods** Nineteen or twenty day fetus mice were obtained through caesarean section of ICR mice. Purified AEC II cells were separated from the female and male fetus, respectively, and confirmed using immunofluorescence staining. The cells were exposed to sodium arsenite (NaAsO_2) at a low, medium, or high dosage determined by MTT and cultured for 24 h. The NaAsO_2 (5 $\mu\text{mol/L}$) exposed cells were compared with those treated (for 24 h) with dimethyl sulfoxide (DMSO) or IC182,780 (1×10^{-4} mol/L). Apoptosis rates of the cells were measured by flow cytometry. Real-time fluorescence quantitative PCR method and Western blot technique were used to detect the expression of ER β mRNA and protein in AEC II. **Results** Purity of AEC II cells reached $(87.0 \pm 2.5)\%$. NaAsO_2 exposure was set at a concentration of 0.5 (low), 1.25 (medium), and 5 (high) $\mu\text{mol/L}$. The cells exposed to medium and high dosage of NaAsO_2 had higher apoptosis rates than the blank controls ($P < 0.05$), without sex differences. Female cells exposed to medium and high dosage of NaAsO_2 had higher levels of expressions of ER β mRNA and protein than the blank controls ($P < 0.05$) and male cells exposed to the same dosage of NaAsO_2 ($P < 0.05$). No significant differences were found in the expressions of ER β mRNA and protein between the exposed male cells and the blank controls. IC182,780 lowered the expression levels of ER β mRNA and protein in the female exposed cells ($P < 0.01$). **Conclusion** Arsenic exposure increases expressions of AEC II's ER β , more so in female cells than in male cells. This can be blocked by estrogen receptor antagonists.

^{*} 国家自然科学基金(No. 81160340)和昆明市卫生科技人才培养项目暨“十百千”工程(No. 2016-SW(省)-65)资助

Δ 通信作者, E-mail: 9947888@qq.com

【Key words】

Fetal mice

AEC II

Estrogen receptor β

Estrogen receptor antagonist

Sodium arsenite

雌激素及雌激素受体 (estrogen receptor, ER), 已成为探讨肺癌性别差异研究的焦点, 而对固醇类雌、雄激素及其拮抗剂作用机制的研究, 再次成为医药工业实现肺癌治疗个体化的重点方向^[1]。作为肺腺癌发生起源的鼠肺腺癌干细胞在体外可分化为 II 型上皮细胞 (AEC II)^[2], 从而使 AEC II 在肺腺癌发生中的作用也备受关注。美国疾病预防控制中心 (CDC) 和国际癌症研究机构 (IARC) 已经将砷确定为第一类致癌物^[3]。砷暴露人群中女性肺癌的发病率明显高于男性^[4]。对砷诱导雌鼠发生肺腺癌的进一步研究表明, 砷暴露可致雌鼠肺组织中雌激素受体连接相关基因、类固醇代谢相关酶、肺癌发生相关基因的表达显著增加^[5], 砷具有雌激素效应^[6]。以上结果提示, 雌激素受体可能作用于砷导致的肺癌发生性别差异的过程。目前对 ERβ 在肺肿瘤组织和细胞中的表达水平及其性别差异的研究资料较少, 结果也缺乏一致性。正常肺组织中雌激素受体的分布以 ERβ 为主, ERα 很少或不存在^[7-8]。国内外关于肺泡 AEC II 染毒致雌激素受体表达变化及其性别差异的研究十分罕见, 本研究以原代培养的 AEC II 为细胞模型, 应用不同剂量亚砷酸钠 (NaAsO₂) 与雌激素受体拮抗剂 (ICI182,780) 同时作用于细胞, 从基因和蛋白水平综合分析不同性别来源的 AEC II 内 ERβ 的表达规律, 为进一步阐明砷致肺癌发生性别差异的具体机制提供实验依据, 并为流行病学结果提供新的证据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、材料

SPF 级孕 19~20 d ICR 小鼠, 购于成都达硕生物科技有限公司, 许可证号: SCXK(川)2008-24。胰蛋白酶和 I 型胶原酶 (美国 Sigma), DMEM/F12 无酚红培养基 (美国 Hyclone), 胎牛血清 (Gibco), ICI182,780 (浓度 > 99%), ANNEXIN V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒 (大连美仑), FastFire qPCR PreMix (北京天根), 一抗: ERβ 兔抗小鼠 (Abcam 公司), 二抗: HRP 标记的山羊抗兔 (博士德生物)。CO₂ 培养箱、低温离心机、酶标仪、核酸测定仪 (Thermo), 流式细胞仪 (BD), 实时荧光定量 PCR 仪、凝胶成像系统 (Bio-Rid)。

1.2 方法

1.2.1 AEC II 的分离和纯化 参考郑金旭等^[9]的 AEC II 原代培养方法。孕鼠经剖腹取胎鼠, 区分性别后, 分为雌性组和雄性组, 分别取肺组织, 0.25% 胰酶联合 I 型胶原酶 (含 0.1% DNaseI) 消化 20 min, 过滤细胞悬液, 1 500 r/min, 离心 5 min, 弃上清, 培养液重悬沉淀。将细胞悬液转移至小鼠 IgG 包被的无菌培养瓶中, 置于 37 °C、50 mL/L CO₂ 的培养箱中孵育, 45 min 后吸出未贴壁细胞的培养液接种于另一 IgG 包被的无菌培养瓶中, 如此反复 3 次, 最终吸出的未贴壁细胞即为纯 AEC II, 转移至无菌培养瓶中, 培养箱内继续培养 24 h。

1.2.2 AEC II 纯度鉴定 培养 AEC II 至贴壁, 体积分数 4% 多聚甲醛固定, 山羊血清封闭细胞表面抗原, 以稀释度 1:100 的兔抗小鼠 SP-C 蛋白一抗 4 °C 孵育过夜, 按 1:100 稀释度滴加 FITC 标记的羊抗兔 IgG 二抗, 室温避光孵育 1 h, 最后 DAPI 避光染核 5 min。荧光倒置显微镜下观察 SP-C 蛋白表达情况, 计算 AEC II 纯度。

1.2.3 MTT 法确定 NaAsO₂ 对 AEC II 细胞的染毒剂量 纯化后的雌、雄鼠 AEC II 调整细胞密度为 1×10⁶ mL⁻¹, 接种至 96 孔板, 培养 24 h 至贴壁。以含 NaAsO₂ 终浓度为 0.5、1.25、5、10、20、40、100、400 μmol/L 的培养基染毒 24 h, 不含 NaAsO₂ 为空白对照组, 每组设置 6 个重复。5 mg/mL MTT 溶液处理细胞 4 h, 加入 DMSO 于摇床上低速振荡溶解结晶。酶标仪检测 570 nm 处的吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率, 以确定 NaAsO₂ 低、中、高染毒剂量。

1.2.4 细胞染毒及分组 AEC II 培养 24 h 后, 倒掉培养液, 更换为新鲜的含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基。砷暴露组以不同剂量 (低、中、高) NaAsO₂ 染毒, 培养 24 h; 联合暴露组分别加入 0.1% DMSO (溶剂对照组)、NaAsO₂ 5 μmol/L (单独砷染毒组)、NaAsO₂ (5 μmol/L) + ICI182,780 (1×10⁻⁴ mol/L) (砷+拮抗剂组), 培养 24 h; 均设空白对照组 (不加任何试剂)。

1.2.5 流式细胞术检测 AEC II 细胞凋亡 砷暴露组染毒 24 h 后 (空白对照组不染毒), 参照 ANNEXIN V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒, 流式细胞仪上检测该组细胞的凋亡率。

1.2.6 实时荧光定量 PCR 检测 AEC II 细胞 ERβ

基因的表达水平 砷暴露组、联合暴露组细胞染毒 24 h 后(空白对照组不染毒),TRIzol 法分别提取各组细胞总 RNA。核酸定量测定仪检测 RNA 在 260、280 nm 处的 A 值, A_{260}/A_{280} 为 1.85~2.02。参照 Thermo Scientific Revert Aid First strand cDNA Synthesis Kit 反转录试剂盒合成 cDNA。Primer-BLAST 软件设计上、下游引物 $ER\beta$ F:5'-AGAGAGTAGCCGGAAGCTGA-3', R:5'-AGAA GCATCAGGAGGTTGGC-3', 扩增产物长度 126 bp; β -actin (内参) F:5'-ACAGCTGAGAGGG AAATCGTG-3', R: 5'-AGAGGTCTTTACGGA TGTCAACG-3', 扩增产物长度 274 bp。参照 FastFire qPCR PreMix, 总体系 20 μ L, 反应条件: 95 $^{\circ}$ C, 1 min; 95 $^{\circ}$ C, 5 s, 55 $^{\circ}$ C, 10 s, 72 $^{\circ}$ C, 15 s, 共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因的相对表达量。

1.2.7 Western blot 检测 AEC II 细胞 $ER\beta$ 蛋白表达水平 砷暴露组、联合暴露组细胞染毒 24 h(空白对照组不染毒)后,离心、沉淀、弃上清,估算细胞压积加入适量 RIPA 裂解液,冰上裂解 30 min, 4 $^{\circ}$ C, 12 000 r/min 离心 5 min。BCA 法测总蛋白浓度计算蛋白上样量。配制 SDS-PAGE 凝胶,电泳、转膜后,5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入稀释比例 1:1 000 的 $ER\beta$ 一抗,4 $^{\circ}$ C 封闭过夜, TBST 洗膜 5 min $\times$ 3 次,加入稀释比例 1:2 500 的二抗,室温孵育 1 h, TBST 洗膜 10 min $\times$ 3 次。参照碧云天 ECL 发光试剂盒,凝胶成像系统采集图像,以 β -actin 为内参对照,用 Image J 软件分析图像每个条带的积分光密度(integrated optical density, IOD)值,以各个蛋白与内参蛋白 β -actin 的 IOD 比值表示蛋白的相对表达水平。

1.2.8 统计学方法 数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。多组间比较采用 One Way ANOVA,两两比较时采用 SNK 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AEC II 的形态特征、产量及纯度

纯化后的胎鼠 AEC II 培养 18~24 h,镜下观察可见细胞开始伸展贴壁,呈圆形或立方形,细胞逐渐融合,胞核明显,表现为岛状生长。每 6 只胎鼠分离培养的 AEC II,细胞计数可达 $(10\pm5)\times10^6$ mL⁻¹。计算 SP-C 蛋白表达阳性率, AEC II 纯度达 $(87.0\pm2.5)\%$,满足实验要求。

2.2 MTT 法确定 NaAsO₂ 染毒剂量

如图 1 所示,不同性别来源的 AEC II 经 NaAsO₂ 染毒后,随 NaAsO₂ 浓度的升高,细胞存活率逐渐降低($P<0.05$),性别间差异无统计学意义。当 NaAsO₂ 浓度大于 5 μ mol/L 时,细胞存活率呈快速下降趋势,在 NaAsO₂ 浓度为 10 μ mol/L 时细胞存活率仅为 50%左右。为保证 AEC II 有较高的存活率,最终将 0.5(低)、1.25(中)、5(高) μ mol/L 的浓度设置为染毒剂量。

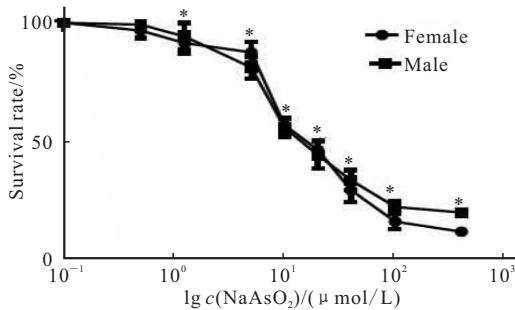


图 1 NaAsO₂ 染毒 24 h 后雌、雄 AEC II 的存活率
Fig 1 Survival rates (%) of female and male AEC II after 24 h exposure to NaAsO₂

* $P<0.05$, vs. control group of the same sex. Logarithmic transformation of drug concentration was presented

2.3 砷暴露组胎鼠 AEC II 细胞凋亡率

见附表,雌、雄中、高剂量砷暴露组细胞凋亡率均高于各自空白对照组($P<0.05$),而雌、雄各剂量砷暴露组间比较差异无统计学意义。

附表 雌、雄砷暴露组 AEC II 细胞凋亡率/%
Table Apoptosis rates of AEC II by sex/%

Group	n	Female	Male
Control	6	5.23 $\pm$ 1.33	5.27 $\pm$ 0.16
Low-dose	6	4.76 $\pm$ 0.34	5.15 $\pm$ 0.48
Medium-dose	6	8.26 $\pm$ 0.68 Δ	7.47 $\pm$ 1.27 Δ
High-dose	6	11.17 $\pm$ 2.05 Δ	9.80 $\pm$ 0.46 Δ

Δ $P<0.05$, vs. control group of the same sex

2.4 砷暴露组胎鼠 AEC II 内 $ER\beta$ mRNA 和蛋白的相对表达

见图 2、图 3。雌性低、中、高剂量组 $ER\beta$ mRNA 表达水平高于空白对照组($P<0.05$);雌性中、高剂量组 $ER\beta$ 蛋白表达水平高于空白对照组($P<0.05$);雌性中、高剂量组 $ER\beta$ mRNA 和蛋白表达高于同剂量组雄性($P<0.01$);雄性各剂量组 $ER\beta$ mRNA 和蛋白表达水平与空白对照组比较差异无统计学意义。

2.5 联合暴露组胎鼠 AEC II 内 $ER\beta$ mRNA 和蛋白的相对表达

见图 3、图 4。雌性单独砷染毒组 ERβ mRNA 和蛋白表达水平高于砷+拮抗剂组($P<0.01$),且高于空白对照组和溶剂对照组($P<0.05$);雌性空白对照组与溶剂对照组比较差异无统计学意义,雄性各组间比较差异无统计学意义;雌性单独砷染毒组 ERβ mRNA 和蛋白表达高于雄性($P<0.05$),雌、雄其余各组间比较差异无统计学意义。

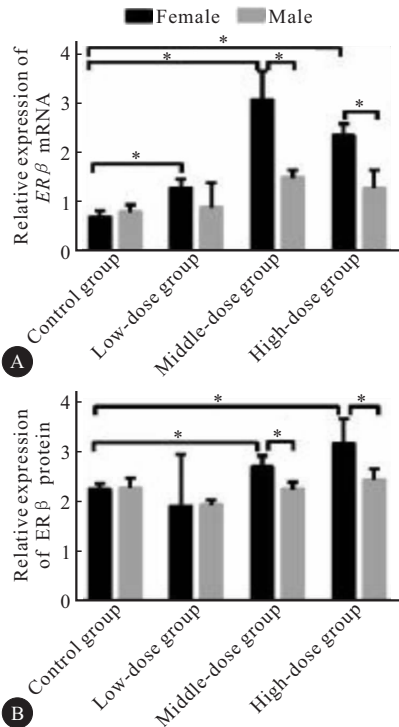


图 2 砷暴露组 AEC II ERβ mRNA(A)和蛋白(B)的表达
Fig 2 Expressions of ERβ mRNA (A) and protein (B) in AEC II exposed to arsenite
* $P<0.05$

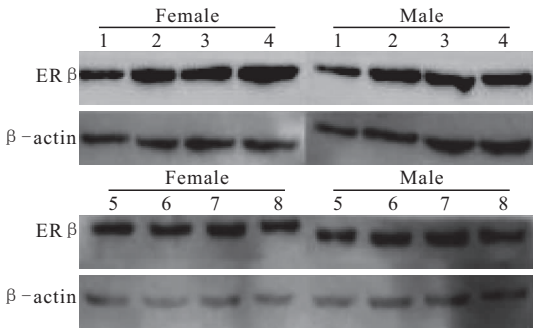


图 3 不同处理组 AEC II 细胞 ERβ 蛋白表达
Fig 3 ERβ protein in AEC II by group
1, 5; Control group; 2, 3, 4; 0.5, 1.25, 5 μmol/L NaAsO₂ group, respectively; 6; DMSO group; 7; 5 μmol/L NaAsO₂ group; 8; 5 μmol/L NaAsO₂+ICI182,780 group

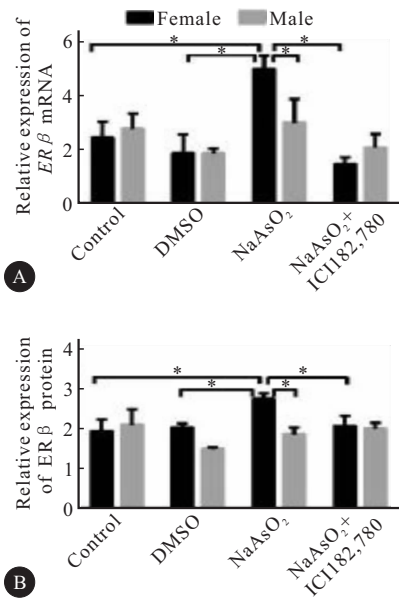


图 4 联合暴露组 AEC II ERβ mRNA(A)和蛋白(B)的表达
Fig 4 Expressions of ERβ mRNA (A) and protein (B) in AEC II exposed to combined treatment
* $P<0.05$

3 讨论

内分泌干扰物(EDCs)主要通过模拟天然激素与配体结合或通过抑制天然激素与配体的结合^[10-11],进而影响激素信号在细胞、组织、器官的传递,导致机体功能失调。砷作为环境雌激素活性物质可能通过与 ERβ 受体结合形成砷-ERβ 复合物增强 ERβ 的表达,干扰 ER 信号通路,进而影响肺癌的发生发展。

据相关报道,ICR 小鼠对砷及砷化物染毒更为敏感^[12]。本次研究以雌激素水平差异相对较小的新生 ICR 雌、雄胎鼠为研究对象,重点观察 ERβ 在 AEC II 内表达有无性别差异。实验结果显示,砷暴露组雌、雄对照组间 ERβ mRNA 和蛋白表达差异无统计学意义,说明在无亚砷酸钠暴露的情况下,雌、雄胎鼠 AEC II 内 ERβ 表达水平一致。砷染毒后,雌性各剂量组 ERβ mRNA 表达水平均升高,且中、高剂量组高于雄性;ERβ 蛋白数据结果与 mRNA 表达水平总体趋势一致;雌性中、高剂量组 ERβ 蛋白表达高于空白对照组,且高于同剂量组雄性。提示对于雌激素样活性环境致癌物砷,雌性胎鼠 AEC II 比雄性反应更敏感。TOKAR 等^[13]在 2011 年发表的对 CD1 鼠的全生命期砷暴露的致癌实验也表明,雌鼠的腺瘤和腺癌的发生率存在剂量反应关系且与对照组的差异有统计学意义,而雄鼠

则两者均无。本次细胞实验结果显示,雄性各剂量组 $ER\beta$ mRNA 和蛋白表达水平与对照组比较差异无统计学意义,与其动物致癌实验结果相吻合。

加入拮抗剂的目的是为了验证砷的雌激素效应对 $ER\beta$ 表达水平的影响。本研究发现联合暴露组中,雌性砷+拮抗剂组 $ER\beta$ mRNA 和蛋白表达水平低于单独砷染毒组,说明 ICI182,780 阻断了砷对雌鼠 AEC II 内 $ER\beta$ 基因和蛋白的上调作用,进一步明确了 $ER\beta$ 在这种调节过程中的作用。而雄性单独砷染毒与砷+拮抗剂组比较差异无统计学意义,这可能与砷对雄鼠 AEC II 的毒性作用具有延迟性有关,也可能是雄性 AEC II 对 $NaAsO_2$ 不敏感或细胞本身代谢机制所致,具体原因有待进一步研究。

本研究砷暴露组细胞凋亡结果显示,雌性各组 AEC II 细胞凋亡率与雄性比较差异无统计学意义。短期砷染毒并未发现细胞凋亡率之间存在性别差异,这与 $ER\beta$ 性别表达不一致,而雌性砷+拮抗剂组和雄性砷+拮抗剂组 $ER\beta$ 表达差异无统计学意义,所以再检测联合暴露组的凋亡率就意义不大。本次实验初步探索了细胞凋亡与 $ER\beta$ 在砷暴露下表达变化是否一致,后续长期砷染毒致细胞恶性转化实验中,拮抗剂对细胞凋亡的影响将会体现出来,而砷是否通过 $ER\beta$ 影响细胞凋亡发生性别差异也将得到印证。

另外,本研究中雄性各剂量砷染毒组 $ER\beta$ 的基因和蛋白表达水平与对照组比较差异无统计学意义,而前期细胞实验结果发现^[14],在 AEC II 染毒 24 h 后,雄性各剂量砷染毒组 $ER\alpha$ mRNA 和蛋白表达水平均高于对照。这可能是砷特异性诱导了 $ER\alpha$ 、 $ER\beta$ 表达水平及其在细胞内分布的变化,从而改变了 $ER\alpha$ 、 $ER\beta$ 介导的雌激素信号通路的生物学效应,最终导致了雄性 AEC II 内两种受体表达水平的不同。越来越多的证据也表明,雌激素的作用不是通过某一亚型受体介导的作用,而是 $ER\alpha$ 和 $ER\beta$ 两者介导作用的平衡^[15]。本次研究为阐明环境污染物致肺癌发生性别差异的具体机制提供了线索,但雌激素受体拮抗剂能否用于肺癌治疗个体化,仍需要更多的实验和临床证据。

参 考 文 献

[1] GOCHFELD M. Framework for gender differences in human

- and animal toxicology. *Environ Res*,2007,104(1):4-21.
- [2] KIM CF, JACKSON EL, WOOLFENDEN AE, *et al.* Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell*,2005,121(6):823-835.
- [3] NG JC, WANG J, SHRAIM A. A global health problem caused by arsenic from natural sources. *Chemosphere*,2003,52(9):1353-1359.
- [4] VAHTER M, AKESSON A, LIDÉN C, *et al.* Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environ Res*,2007,104(1):85-95.
- [5] SHEN J, LIU J, XIE Y, *et al.* Fetal onset of aberrant gene expression relevant to pulmonary carcinogenesis in lung adenocarcinoma development induced by in utero arsenic exposure. *Toxicol Sci*,2007,95(2):313-320.
- [6] WALVEKAR RR, KANE SV, NADKARNI MS, *et al.* Chronic arsenic poisoning: a global health issue—a report of multiple primary cancers. *J Cutan Pathol*,2010,34(2):203-206.
- [7] SCHWARTZ AG, PRYSAK GM, MURPHY V, *et al.* Nuclear estrogen receptor beta in lung cancer: expression and survival differences by sex. *Clin Cancer Res*,2005,11(20):7280-7287.
- [8] 廖永德,付向宁,周 晟,等. 雌激素受体在肺腺癌和鳞状细胞癌中的表达研究. *骨科*,2003,27(6):307-308.
- [9] 郑金旭,黄振杰,汤 艳,等. 构建原代分离培养与鉴定小鼠肺泡 II 型上皮细胞的方法及模型. *中国组织工程研究*,2010,14(15):2761-2764.
- [10] SONNENSCHN C, SOTO AM. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *J Steroid Biochem Mol Biol*,1998,65(1/2/3/4/5/6):143-150.
- [11] MUELLER SO, KORACH KS. Mechanisms of estrogen receptor-mediated agonistic and antagonistic effects// METZLER M. *Endocrine Disruptors-Part I. The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer, Berlin: 2001,3L:1-25.
- [12] WU JP, CHANG LW, YAO HT, *et al.* Involvement of oxidative stress and activation of aryl hydrocarbon receptor in elevation of CYP1A1 expression and activity in lung cells and tissues by arsenic: an *in vitro* and *in vivo* study. *Toxicol Sci*,2009,107(2):385-393.
- [13] TOKAR EJ, DIWAN BA, WARD JM, *et al.* Carcinogenic effects of “whole-life” exposure to inorganic arsenic in CD1 mice. *Toxicol Sci*,2011,119(1):73-83.
- [14] 熊林森,许文丽,杨梦平,等. 亚砷酸钠暴露对胎鼠肺泡 II 型上皮细胞雌激素受体 α 表达的差异研究. *现代预防医学*,2017,44(4):692-696.
- [15] NEMENOFF RA, WINN RA. Role of nuclear receptors in lung tumourigenesis. *Eur J Cancer*,2005,41(16):2561-2568.

(2017-12-21 收稿,2018-03-16 修回)

编辑 吕 熙