

# 饮水型砷暴露引起广泛性焦虑障碍及血浆外泌体特异性 miRNAs 研究

尹紫月<sup>1</sup>, 郭林楠<sup>1</sup>, 雷炜星<sup>1</sup>, 郭雪峰<sup>1</sup>, 崔钧贺<sup>2</sup>, 余启明<sup>1</sup>, 张磊<sup>1</sup>, 王娜<sup>1</sup>

1. 桂林医学院公共卫生学院, 广西 桂林 541000; 2. 东北大学生命科学与健康学院

**摘要:**目的 了解饮水型砷暴露致广泛性焦虑障碍 (Generalized anxiety disorder, GAD) 的作用, 探索血浆外泌体 miRNAs 的特异性改变。方法 将 16 只 SPF 级 wistar 雄性大鼠随机分到正常组和染砷组, 每组 8 只, 染砷组饮用水中的 NaAsO<sub>2</sub> 浓度 0.10 mg/L, 两组均可自由饮水。共染毒 21 天, 分别用旷场和高架十字迷宫实验检测染毒的第 0、7、14、21 天的行为学, 以评估 GAD 样行为; 实验结束后, 提取两组大鼠的血浆外泌体 miRNAs 进行测序, 并运用实时荧光定量 PCR 验证差异 miRNAs 的表达情况。结果 染毒后的第 21 d 染砷组的体重低于正常组 ( $t=7.950, P<0.001$ )。旷场实验结果显示, 与正常组相比, 染砷组的总路程减少 ( $t=2.213, P=0.044$ ), 修饰次数增加 ( $t=-4.704, P<0.001$ ), 跨格次数 ( $t=4.340, P=0.001$ ) 和站立次数减少 ( $t=4.496, P=0.001$ ); 高架十字迷宫实验结果显示, 与正常组相比, 染砷组的开臂次数 ( $t=3.614, P=0.003$ ) 和开臂时间 ( $t=4.775, P<0.001$ ) 减少, 闭臂次数 ( $t=-2.486, P=0.026$ ) 与闭臂时间增加 ( $t=-6.862, P<0.001$ ), 砷暴露引起了大鼠 GAD 样行为。实时荧光定量 PCR 结果显示, 与正常组相比, 染砷组中的 miR-99b-3p、miR-9a-5p、miR-218a-5p 表达均上调; miR-425a-3p、miR-378a-3p、miR-155-5p 表达均下调 ( $P<0.05$ )。GO、KEGG 基因富集分析结果显示, 差异血浆外泌体 miRNAs 可能通过内吞作用、MAPK 通路、Ras 信号通路、cAMP 信号通路、mTOR 信号通路、凋亡来参与 GAD 的发生发展。结论 饮水型砷暴露可以引起大鼠的 GAD 样行为, 外泌体 miR-99b-3p、miR-9a-5p、miR-218a-5p、miR-425a-3p、miR-378a-3p、miR-155-5p 可能参与调节饮水型砷暴露致 GAD 的过程。

**关键词:** 饮水型砷暴露; 广泛性焦虑障碍; 血浆外泌体 miRNAs

中图分类号: R-33; R123 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2025)04-622-07

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202410452

## Generalized anxiety disorder and plasma exosome-specific miRNA induced by drinking-water arsenic exposure

YIN Zi-yue\*, GUO Lin-nan, LEI Wei-xing, GUO Xue-feng, CUI Jun-he, YU Qi-ming, ZHANG Lei, WANG Na

\* School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541000, China

**Abstract:** **Objective** To examine the impact of drinking water arsenic exposure on the development of generalized anxiety disorder (GAD) and to investigate specific changes in plasma exosomal miRNAs. **Methods** Sixteen male SPF-grade Wistar rats were randomly divided into two groups: control and arsenic. Each group consisted of 8 rats. The arsenic group was exposed to 0.10 mg/L. All groups had unrestricted access to drinking water. The rats were exposed to arsenic for a duration of 21 days. Behavioral assessments using the open field and elevated plus maze tests were conducted on days 0, 7, 14, and 21 to evaluate GAD-like behavior. At the end of the experiment, plasma exosomal miRNAs were extracted from both groups of rats. Sequencing was performed, and the expression levels of differentially expressed miRNAs were validated using real-time quantitative PCR. **Results** On the 21st day after arsenic exposure, the arsenic group exhibited lower body weight compared to the control group ( $t=7.950, P<0.001$ ). In the open field test, the arsenic group showed a decrease in total distance traveled ( $t=2.213, P=0.044$ ), an increase in rearing frequency ( $t=-4.704, P<0.001$ ), an increase in grid crossings ( $t=4.340, P=0.001$ ), and a decrease in standing frequency ( $t=4.496, P=0.001$ ) compared to the control group. In the elevated plus maze test, the arsenic group exhibited a decrease in the number of entries into the open arms ( $t=3.614, P=0.003$ ) and a decrease in time spent in the open arms ( $t=4.775, P<0.001$ ), while showing an increase in the number of entries into the closed arms ( $t=-2.486, P=0.026$ ) and an increase in time spent in the closed arms ( $t=-6.862, P<$

基金项目: 国家自然科学基金 (82160642); 广西自然科学基金 (2021GXNSFBA196014, 2024JJA140974)

作者简介: 尹紫月 (1997—), 女, 硕士在读, 研究方向: 环境流行病学、精神流行病学

通信作者: 王娜, E-mail: wangna2413@163.com

0.001) compared to the control group. These results indicate GAD-like behavior in the rats exposed to arsenic. Real-time quantitative PCR revealed that the expression levels of miR-99b-3p, miR-9a-5p, and miR-218a-5p were upregulated, while the expression levels of miR-425a-3p, miR-378a-3p, and miR-155-5p were downregulated in the arsenic group compared to the control group ( $P < 0.05$ ). Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis of the differentially expressed plasma exosomal miRNAs indicated their potential involvement in GAD development through processes such as endocytosis, MAPK pathway, Ras signaling pathway, cAMP signaling pathway, mTOR signaling pathway, and apoptosis. **Conclusion** Drinking water arsenic exposure can induce GAD-like behavior in rats. Plasma exosomal miRNAs, including miR-99b-3p, miR-9a-5p, miR-218a-5p, miR-425a-3p, miR-378a-3p, and miR-155-5p, may be involved in the regulation of GAD development induced by drinking water arsenic exposure.

**Keywords:** Drinking water type arsenic exposure; Generalized anxiety disorder; Plasma exosome miRNAs

广泛性焦虑障碍 (Generalized anxiety disease, GAD) 是焦虑障碍 (anxiety disorders) 的一种,以过分警觉、自主神经功能兴奋和持续明显的紧张不安等情绪表现为主,伴有眉头紧锁、面肌扭曲、姿势紧张等特征性行为改变<sup>[1]</sup>。且有研究发现,GAD 的发生与脑卒中、血脂异常呈正相关<sup>[2]</sup>,反复发作的 GAD 患者可能出现记忆功能下降、人格功能改变、一定的自杀倾向,严重影响到了患者的生活质量。砷是一种神经毒物,近年来有研究发现,约 20% 的地方性砷中毒病人有神经症状,抑郁占 8.47%、焦虑伴抑郁占 4.61%<sup>[3]</sup>。在前期对巴彦卓尔市开展的流行病学调查显示,水砷暴露、砷中毒均增加人群患 GAD 的风险<sup>[4]</sup>。动物实验结果也显示,亚慢性砷暴露可引起正常小鼠焦虑样行为<sup>[5]</sup>。并且通过饮用水摄入砷是人群摄入砷的主要途径之一<sup>[6]</sup>,因此,饮水型砷暴露引起的机体神经系统损伤受到了全球范围内的普遍关注。

外泌体 (Exosomes) 是细胞分泌的一种胞外微小包裹 (small extracellular vesicle, sEV),内含丰富蛋白质、DNA、mRNA、miRNA 等,可在细胞间进行物质传递,并参与多种神经系统疾病病理学过程<sup>[7]</sup>。它广泛存在于血液、尿液、唾液、脑脊液和乳汁等体液中。并且外泌体可通过血脑屏障,此外,血浆和脑脊液中的外泌体含量可反映持续的神经过程<sup>[8]</sup>,可以作为神经系统疾病发生发展的生物标志物。而与血浆、唾液或其他生物液体相比,外泌体 miRNA 高度丰富<sup>[9]</sup>。有研究表明外泌体 miRNA 异常对神经系统疾病,如抑郁<sup>[10]</sup>、帕金森<sup>[11]</sup>等有影响。

本研究拟通过动物实验验证饮水型砷暴露引起大鼠 GAD 样行为,检测血浆外泌体 miRNAs 的差异表达,进一步分析血浆外泌体 miRNAs 发挥作用的信号通路。为砷暴露引起 GAD 的机制探索提供思路,为 GAD 的预防提供依据。

## 1 对象与方法

### 1.1 实验对象及伦理声明 健康雄性 Wistar 大鼠 30

只,SPF 级,体重 ( $355.18 \pm 6.60$ ) g,购买于广州维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号: NO. 3359754033。该研究得到了桂林医学院伦理委员会的批准 (GLMC202103366)。

**1.2 实验设计** 30 只大鼠在实验开始之前,预养 1 周,接着进行旷场实验,记录每只大鼠的水平得分和垂直得分,并相加总得分。取评分相近的大鼠 16 只,按照随机数字表随机分为正常组和染砷组,每组 8 只大鼠,同组同笼喂养。饮用水中  $\text{NaAsO}_2$  含量依据根据中国饮用水标准 GB 5749-2022,饮用水中无机砷的限值为 0.01 mg/L ( $10 \mu\text{g/L}$ ),水中的  $\text{NaAsO}_2$  浓度超过标准限制值的 10 倍称为高砷饮水<sup>[12]</sup>,可造成严重的砷中毒情况,因此将染砷组大鼠饮用的水中  $\text{NaAsO}_2$  的含量设置为 0.10 mg/L,正常组为自来水,两组均可自由饮水。给予每只鼠每天定量饲料 25 g,每日喂食时记录每笼剩余粮量。实验期间进行体重的测量,染毒 21 d 后麻醉、腹主动脉采血,提取血浆外泌体进行 miRNAs 测序,并通过实时荧光定量 PCR 进行验证,通过 GO 和 KEGG 基因富集分析差异 miRNAs 调控 GAD 可能的信号通路。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 行为学测试** 于染毒的 7 d、14 d、21 d 三个时点,进行旷场实验 (openfield test, OFT) 和高架十字迷宫 (elevated plus-maze, EPM) 实验检测两组大鼠 GAD 样行为。

**1.3.2 血浆外泌体分离** 染毒实验结束后,选用含有 EDTA 的抗凝管对 wistar 大鼠进行腹主动脉采血。采血结束后,室温静置 30 min 后,先以  $1\ 000 \sim 2\ 000 \times g$ ,  $20^\circ\text{C}$  离心 10 min,提取上清至新管;室温,  $10\ 000 \times g$  离心 20 min;转移上清至新管,加入 1/3 体积的 RiboTMexosome Isolation reagent (for plasma or serum);颠倒混合,直至完全混匀样本;放入  $4^\circ\text{C}$  冰箱静置 30 min;  $4^\circ\text{C}$ ,  $15\ 000 \times g$  离心 2 min;小心地吸去上清,沉淀即为血浆外泌体,保存于  $-80^\circ\text{C}$ 。

**1.3.3 miRNAs 的测序及分析** 根据上述步骤,提取对照和染砷组大鼠的血浆外泌体,送上海伯豪生物技

术有限公司进行纯化和测序分析;使用 QIAseq miRNA 试剂盒提取血浆外泌体 miRNAs 后用 Qubit® 2.0 荧光计定量,并于 IlluminaNovaSeq 6000 上进行测序。筛选出差异表达的 miRNAs。使用 edgeR 对两组差异的 miRNAs 进行分析,得到  $P < 0.05$ , Fold - change  $> 2$  的 miRNAs。

**1.3.4 实时荧光定量 PCR** 使用 TRIzol 试剂从血浆外泌体中提取总 RNA。利用 NCBI 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查询 miRNAs 序列设计引物,并由上海生工生物工程股份有限公司合成引物。miRNAs 的表达情况用  $2^{-\Delta\Delta ct}$  方法进行相对定量分析,所有 miRNA 均以 U6 为内参基因。

**1.3.5 差异 miRNAs 靶基因的 GO、KEGG 富集分析** 利用 miRTarBase、miRanda 数据库,预测两组差异的 miRNAs 的靶基因,利用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库对靶基因进行基因组百科全书 (KEGG) 和基因本体 (GO) 富集分析,对差异 miRNAs 调控的靶基因进行功能富集。使用“微信” (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 在线工具对图片进行绘制。GO 富集分析包括三个部分,生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF)。

**1.4 统计学分析** 用 SPSS 28.0 软件进行统计分析。数据正态性检验采用 Kolmogorov - Smirnov 检验。计量资料若服从正态分布,采用  $\bar{x} \pm s$  来描述;采用  $t$  检验对两组同一时间的体重、行为学得分进行比较,miRNAs 进行差异分析。若资料不服从正态分布,用秩和检验进行比较。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 大鼠的一般情况** 大鼠染毒 21 d 后,对两组大鼠的体型、精神以及活动状态等进行了分析,与正常组比较,染毒组大鼠饮水、食量减少,精神萎靡、情绪低落、反应迟钝,皮毛光泽度降低。从图 1 可观察到每周饲料平均剩余情况,造模开始前预养周,每笼大鼠均未产生饲料剩余情况。造模期间,正常组均未产生饲料剩余,但染毒组开始出现饲料剩余,以第二周剩余最为明显,平均每只剩余 2.3 g。

**2.2 大鼠体重变化** 对第 0/7/14/21 d 两组大鼠进行  $t$  检验,染毒前,两组大鼠的体重基本相同,染毒 21 d,两组大鼠体重差异有统计学意义,结果显示染毒组大鼠的平均体重低于正常组 (见表 1)。从图 2 也能观察到,随着染毒时间推移,两组大鼠的体重虽然均增加,但与正常组相比,染毒组大鼠的体重增长缓慢。

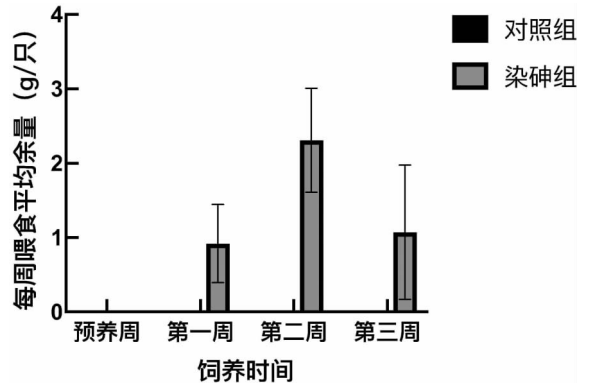


图 1 两组大鼠饲料剩余量变化

Fig. 1 Changes in body weight of the two groups of rats at different time points

表 1 两组大鼠不同时点体重变化 (g,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The changes of body weight at different time points for two groups of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 16, g$ )

染毒时间	正常组 (n=8)	染毒组 (n=8)	t 值	P 值
第 0 d	349.36 ± 6.40	351.76 ± 7.14	-0.708	0.491
第 7 d	381.23 ± 5.10	373.90 ± 9.44	1.933	0.074
第 14 d	424.11 ± 7.09	389.76 ± 8.54	8.745	<0.001
第 21 d	469.86 ± 17.79	417.02 ± 6.05 <sup>a</sup>	7.950	<0.001

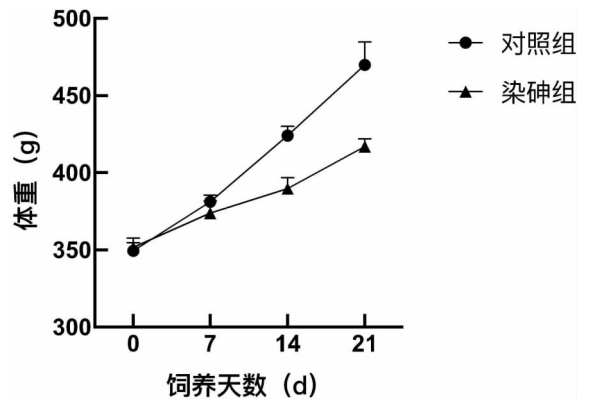


图 2 两组大鼠不同时点体重变化

Fig. 2 Changes in body weight of the two groups of rats at different time points

**2.3 各组旷场实验结果比较** 染毒 21 d 后,对两组大鼠旷场实验结果进行  $t$  检验,结果显示与正常组相比,21 d 染毒组大鼠的总路程、跨格次数、站立次数均减少和修饰次数增加,见表 2。

**2.4 各组高架十字迷宫实验结果比较** 染毒 21 d 后,对两组大鼠高架十字迷宫实验结果进行  $t$  检验,与正常组相比,染毒组的开臂次数和开臂时间减少,闭臂次数与闭臂时间增加,见表 3。

**2.5 血浆外泌体的形态鉴定** 血浆分离物在透射电镜下呈现出球形扁平膜囊、伴有“茶托”样,为外泌体的经典外形。纳米颗粒跟踪分析 (NTA) 结果显示,分

表 2 两组大鼠旷场实验结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 The results of openfield experiment for two groups of rats( $\bar{x} \pm s$ )

组别	总路程(mm)	跨格次数(次)	站立次数(次)	修饰次数(次)
正常组(n=8)	28 052. 791 ±1 743. 819	19. 125 ±3. 136	48. 625 ±11. 831	2. 125 ±0. 834
染砷组(n=8)	25 923. 885 ±2 089. 084	11. 250 ±4. 062	24. 625 ±9. 379	3. 875 ±0. 640
t 值	2. 213	4. 340	4. 496	-4. 704
P 值	0. 044	0. 001	0. 001	<0. 001

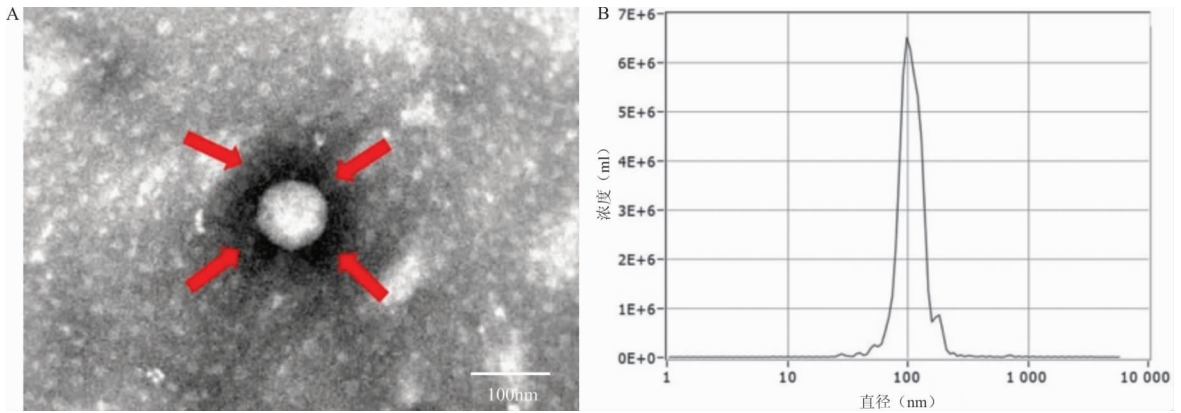
表 3 两组大鼠高架十字迷宫实验结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 The results of the elevated plus maze experiment for two groups of rats( $\bar{x} \pm s$ )

组别	开臂次数(次)	闭臂次数(次)	开臂时间(s)	闭臂时间(s)
正常组(n=8)	8. 12 ±2. 35	6. 62 ±1. 50	9. 36 ±1. 88	173. 17 ±13. 50
染砷组(n=8)	4. 25 ±1. 9	8. 37 ±1. 30	5. 46 ±1. 32	237. 46 ±22. 7
t 值	3. 614	-2. 486	4. 775	-6. 862
P 值	0. 003	0. 026	<0. 001	<0. 001

离物粒径分布在 30 ~ 150 nm 之间,且在 110 nm 处有粒径分布峰值,显示分离物大小较为均一。进一步提

示,外泌体提取试剂盒可成功分离出血浆外泌体,且粒径集中在 110 nm 左右。见图 3A/B。



注:A:透射电镜 4X 下外泌体形态观察,红色箭头为外泌体的经典外形 - 球形扁平膜囊,伴有“茶托”样;B:外泌体粒径分布统计。

图 3 外泌体鉴定

Fig. 3 Identification of Exosomes

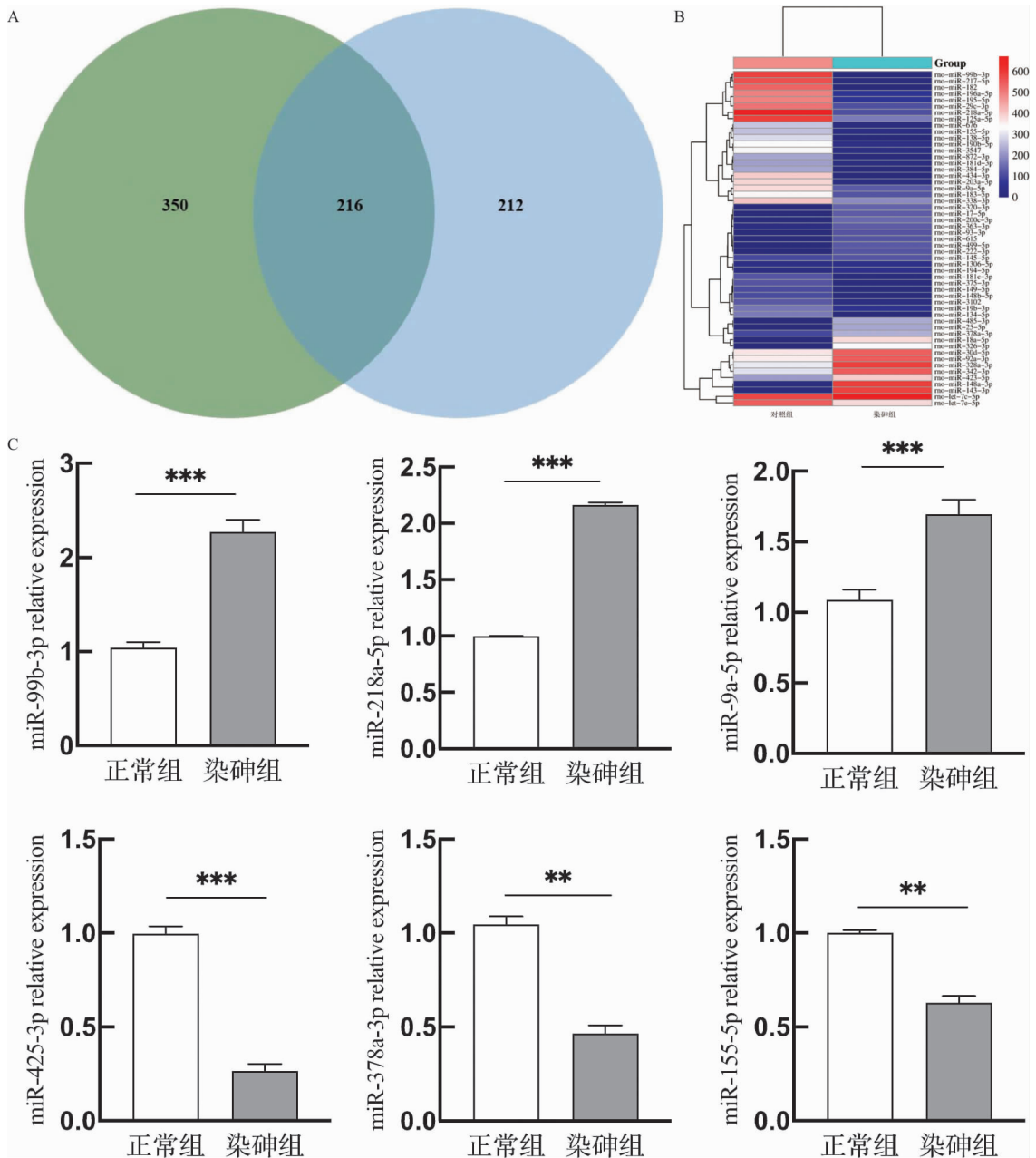
**2.6 血浆外泌体 miRNAs 测序及结果分析** 通过二代测序结果可知,在正常大鼠的血浆外泌体和染砷大鼠的血浆外泌体中 miRNAs 的种类分别是 566 种和 377 种,其中共同表达的 miRNAs 有 216 种,见图 4A。差异表达的有 471 种。并将两组外泌体中差异较大的 55 个 miRNAs 制成热图。见图 4B。对差异倍数最大的 6 个 miRNAs(miR - 99b - 3p、miR - 9a - 5p、miR - 218a - 5p、miR - 425a - 3p、miR - 378a - 3p、miR - 155 - 5P)进行 q - PCR 验证。见图 4C。

**2.7 GO、KEGG pathway 基因富集分析** 通过采用 miRTarBase、miRanda 这两个数据库,对上述有明显差异的 6 个 miRNAs 进行靶基因预测,再对这 6 个交集中的靶基因再取交集,共有 662 个靶基因。见图 5A。并对其 GO、KEGG 分析,结果显示,生物学过程中 GO 富集主要为化学突触传递和对外来神经刺激

的反应等;细胞组分 GO 富集主要为质膜整体成分、神经元反应等;分子功能 GO 富集主要为经递质受体活性、多巴胺神经递质受体活性等。KEGG 富集分析气泡图可知,这 6 个差异性血浆外泌体 miRNAs 可以通过内吞作用、MAPK 通路、Ras 信号通路、cAMP 信号通路、mTOR 信号通路、凋亡参与 GAD 的调控。见图 5B/C。

### 3 讨论

砷是大自然中常见的一种对人体健康具有损害作用的重要类金属元素、环境毒物和已确认的人类致癌物<sup>[13]</sup>。本研究中,采用含亚砷酸钠(0.10 mg/L)的饮用水喂养健康雄性 Wistar 大鼠,采用旷场和高架十字迷宫实验检测到染砷组大鼠表现出 GAD 样行为。证实了饮水型砷暴露会引起焦虑样行为的改变。但



注:A:外泌体 miRNAs 种类 VENN 图;B:外泌体 miRNAs 差异表达热图;C:Real - TimePCR 检测血浆外泌体差异 mAiRNAs 表达。

图 4 miRNAs 在染砷组和正常组中的表达谱及差异表达

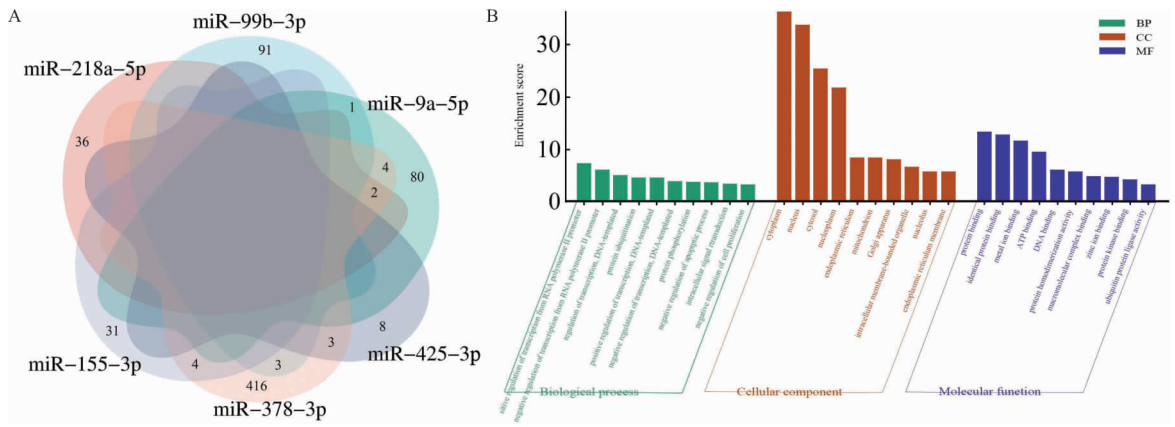
Fig. 4 Expression profiles and differential expression of miRNAs in the arsenic - exposed group and the control group

其中的具体的发病机制尚不清楚,有待进一步探索。

外泌体广泛分布于许多体液中,且可以在细胞间传递生物信息<sup>[14]</sup>。本研究通过生物信息学分析发现,在正常和染砷组血浆外泌体中有 471 种差异表达的 miRNAs ,对差异倍数最大的 6 个 miRNAs 进行 q - PCR 验证,结果显示 miR - 99b - 3p 、miR - 9a - 5p 、miR - 218a - 5p 表达上调;miR - 425a - 3p、miR - 378a - 3p、miR - 155 - 5P 表达下调。对上述差异表达的 miRNAs 进行 GO、KEGG 分析可知,外泌体 miRNAs 可能通过内吞作用、MAPK 通路、Ras 信号通路、cAMP 信号通路、mTOR 信号通路、凋亡等调控

GAD 的发生发展。

有研究发现,miR - 99b - 3p 在胃癌<sup>[15]</sup>、肾细胞癌<sup>[16]</sup>等癌症中发挥着调节作用;miR - 9a - 5p 可通过炎症反应、细胞增殖和凋亡等过程参与癫痫的发作<sup>[17]</sup>;miR - 218a - 5p 的过表达与大鼠急性胆汁淤积性肝损伤有关<sup>[18]</sup>;临床研究发现,miR - 425a - 3p 可通过 MAPK/Wnt 信号通路参与重度抑郁症的发生<sup>[19]</sup>;检测阿尔兹海默症患者血清外泌体 miRNAs 发现,miR - 378a - 3p 表达失调并通过调节细胞衰老参与此疾病的发生发展<sup>[20]</sup>;miR - 155 - 5P 通过调节 SKP2/IKKβ 轴参与阿尔兹海默症的发病<sup>[21]</sup>。但尚未



注:A:6个差异外泌体 miRNAs 靶基因 VENN 图;B:预测靶基因 GO 分类图;C:预测靶基因 GO 分类图。

图 5 血浆外泌体差异 miRNAs 预测靶基因 GO、KEGG 分类图

Fig. 5 GO and KEGG classification diagrams of predicted target genes for differentially expressed miRNAs in plasma exosomes

见以上 miRNAs 或外泌体 miRNAs 与 GAD 的关系,因此,深入探讨差异血浆外泌体 miRNAs 与 GAD 的关系具有重要价值。而对以上通路研究发现,检测焦虑和抑郁症失调的蛋白组,发现 5-HT 受体和 SERT 内吞作用在焦虑和抑郁症的发生发展中起着重要的作用<sup>[22]</sup>,与本研究生信分析结果相一致;有研究表明,依兰精油<sup>[23]</sup>可以改变 ERK1/2 和 cAMP 反应元件结合蛋白的磷酸化水平,并通过调节小鼠 MAPK 通路来逆转 m-CPP 产生的焦虑行为;RC3 是一种突触后蛋白,在空间学习和焦虑情绪中起着重要的作用,它可以通过抑制 Ras-ERK1/2 信号轴,负向调节海马神经元分化<sup>[24]</sup>;高脂饮食诱导的肥胖可能通过抑制 AMPK、促进 mTOR 磷酸化以抑制自噬而导致小鼠出现抑郁和焦虑样行为<sup>[25]</sup>;越来越多的证据表明焦虑症与睡眠剥夺之间存在关联,褪黑素可以通过改善细胞凋亡来减轻焦虑样行为<sup>[26]</sup>。以上通路均可能调控 GAD 的发生发展。

综上所述,研究结果表明饮水型砷暴露可导致 GAD 的发生,染砷组血浆外泌体与正常组相比,共有 6 个差异表达的 miRNAs。对相应的靶基因进行功能富集可知,差异血浆外泌体 miRNAs 可能通过内吞作用、MAPK 通路、Ras 信号通路、cAMP 信号通路、mTOR 信号通路、凋亡通路调控 GAD 的发生发展。本研究通过动物实验验证饮水型砷暴露确实可以引起 GAD 的发生,进一步从动物层面上探讨血浆外泌体 miRNAs 调控 GAD 发生的潜在机制。但上述血浆外泌体 miRNAs 及相关的通路是如何参与 GAD 的调控机制还有待进一步探索与验证。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

[1] 崔克. 焦虑障碍患者焦虑素质及临床特征相关性研究[J]. 中国

神经免疫学和神经病学杂志,2017,24(4):302-304.

Cui K. Association study of anxiety quality and clinical characteristics in patients with anxiety disorders [J]. Chinese Journal of Neuroimmunology and Neurology, 2017, 24(4): 302-304. (In Chinese)

[2] Zhang L, Lei WX, Tan SK, et al. Associations between GAD/depression and stroke and dyslipidemia among middle aged and old rural residence in Bayannaer, China [J]. Journal of Preventive Medicine & Healthcare, 2021, 54(4): 213-215.

[3] Sen D, Sarathi Biswas P. Arsenicosis: is it a protective or predisposing factor for mental illness? [J]. Iranian Journal of Psychiatry, 2012, 7(4): 180-183.

[4] Wang N, Zhang L, Cao M, et al. Association between Arsenic and generalized anxiety disorder: A cross-sectional study [J]. Women Health Care and Issues. 2021, 4(4): 1-5.

[5] Chang CY, Guo HR, Tsai WC, et al. Subchronic Arsenic exposure induces anxiety-like behaviors in normal mice and enhances depression-like behaviors in the chemically induced mouse model of depression [J]. BioMed Research International, 2015, 2015: 159015.

[6] 许玉艳,王群,付晓莘,等. 食品中砷的暴露评估研究进展[J]. 中国农学通报,2014,30(34):187-192.

Xu YY, Wang Q, Fu XP, et al. Research progress of the Arsenic exposure in food [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(34): 187-192. (In Chinese)

[7] Mukherjee B, Bindhani B, Saha H, et al. Platelet hyperactivity, neurobehavioral symptoms and depression among Indian women chronically exposed to low level of arsenic [J]. Neurotoxicology, 2014, 45: 159-167.

[8] Mustapic M, Eitan E, Werner JKJ, et al. Plasma extracellular vesicles enriched for neuronal origin: a potential window into brain pathologic processes [J]. Frontiers in Neuroscience, 2017, 11: 278.

[9] Gheinani AH, Vögeli M, Baumgartner U, et al. Improved isolation strategies to increase the yield and purity of human urinary exosomes for biomarker discovery [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 3945.

[10] De gonzalo-Calvo D, Van der meer RW, Rijzewijk LJ, et al. Serum microRNA-1 and microRNA-133a levels reflect myocardial steatosis in uncomplicated type 2 diabetes [J]. Scientific

- Reports, 2017, 7(1): 47.
- [11] Cao XY, Lu JM, Zhao ZQ, et al. MicroRNA biomarkers of Parkinson's disease in serum exosome-like microvesicles [J]. *Neuroscience Letters*, 2017, 644: 94-99.
- [12] 佚名.《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2022)正式发布,2023年4月1日实施[J]. *给水排水*, 2022, 58(4): 112.  
Anonym. The Standard for Drinking Water Quality (GB5749-2022) was officially released and implemented on April 1, 2023 [J]. *Water & Wastewater Engineering*, 2022, 58(4): 112. (In Chinese)
- [13] 周晴,陈伟,席淑华.砷致癌机制研究进展[J]. *中华地方病学杂志*, 2017, 36(12): 933-936.  
Zhou Q, Chen W, Xi SH. Progress in Arsenic carcinogenesis [J]. *Chinese Journal of Endemiology*, 2017, 36(12): 933-936. (In Chinese)
- [14] Skotland T, Ekroos K, Kauhanen D, et al. Molecular lipid species in urinary exosomes as potential prostate cancer biomarkers [J]. *European Journal of Cancer*, 2017, 70: 122-132.
- [15] Chang S, Gao Z, Yang Y, et al. miR-99b-3p is induced by vitamin D3 and contributes to its antiproliferative effects in gastric cancer cells by targeting HoxD3 [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 400(8): 1079-1086.
- [16] 田亚萍,张明威,葛京平,等.肾透明细胞癌患者血清细胞外囊泡中 miR-99b-3p 水平检测的临床价值[J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(3): 178-181.  
Tian YP, Zhang MW, Ge JP, et al. Clinical value of serum extracellular vesicles miR-99b-3p levels in patients with clear cell renal cell carcinoma [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2021, 39(3): 178-181. (In Chinese)
- [17] He S, Chen ZY, Xue CJ, et al. MiR-9a-5p alleviates ventilator-induced lung injury in rats by inhibiting the activation of the MAPK signaling pathway via CXCR4 expression downregulation [J]. *International Immunopharmacology*, 2022, 112: 109288.
- [18] Oda S, Hirabuki Y, Takeuchi T, et al. Plasma miR-218a-5p as a biomarker for acute cholestatic liver injury in rats and investigation of its pathophysiological roles [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2021, 41(10): 1537-1552.
- [19] Lopez JP, Fiori LM, Cruceanu C, et al. MicroRNAs 146a/b-5 and 425-3p and 24-3p are markers of antidepressant response and regulate MAPK/Wnt-system genes. *Nat Commun* 8: 15497 [J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 15497.
- [20] Dong ZW, Gu HJ, Guo Q, et al. Profiling of serum exosome miRNA reveals the potential of a miRNA panel as diagnostic biomarker for Alzheimer's disease [J]. *Molecular Neurobiology*, 2021, 58(7): 3084-3094.
- [21] Wang W, Gu XH, Li M, et al. MicroRNA-155-5p targets SKP2, activates IKK $\beta$ , increases A $\beta$  aggregation, and aggravates a mouse Alzheimer disease Model [J]. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 2022, 81(1): 16-26.
- [22] Deo N, Redpath G. Serotonin receptor and transporter endocytosis is an important factor in the cellular basis of depression and anxiety [J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2022, 15: 804592.
- [23] Peng Z, Wang H, Zhang R, et al. Gastrodin ameliorates anxiety-like behaviors and inhibits IL-1[ $\beta$ ] level and p38 MAPK Phosphorylation of hippocampus in the rat model of posttraumatic stress disorder [J]. *Physiological Research*, 2013, 62(5): 537.
- [24] Ryoo K, Hwang SG, Kim KJ, et al. RC3/neurogranin negatively regulates extracellular signal-regulated kinase pathway through its interaction with Ras [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2015, 402(1): 33-40.
- [25] Li Y, Cheng YJ, Zhou Y, et al. High fat diet-induced obesity leads to depressive and anxiety-like behaviors in mice via AMPK/mTOR-mediated autophagy [J]. *Experimental Neurology*, 2022, 348: 113949.
- [26] Wang XT, Wang ZX, Cao J, et al. Melatonin ameliorates anxiety-like behaviors induced by sleep deprivation in mice: Role of oxidative stress, neuroinflammation, autophagy and apoptosis [J]. *Brain Research Bulletin*, 2021, 174: 161-172.

收稿日期:2024-10-29

## (上接第 621 页)

- [11] He YF, Zhang RB, Song XX, et al. Inorganic Arsenic exposure increased expression of Fas and Bax gene in vivo and vitro [J]. *Gene*, 2018, 671: 135-141.
- [12] He Y, Zhang R, Chen J, et al. The ability of Arsenic metabolism affected the expression of lncRNA PANDAR, DNA damage, or DNA methylation in peripheral blood lymphocytes of laborers [J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2020, 39(5): 605-613.
- [13] Akhigbe RE, Akhigbe TM, Adegbola CA, et al. Toxic impacts of Arsenic bioaccumulation on urinary Arsenic metabolites and semen quality: A systematic and meta-analysis [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024, 281: 116645.
- [14] Hwang JH, An GJ, Kim CH, et al. Trivalent arsenicals induce skin toxicity through thiol depletion [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2024, 492: 117115.
- [15] Wu HT, Kalia V, Niedzwiecki MM, et al. Metabolomic changes associated with chronic Arsenic exposure in a Bangladeshi population [J]. *Chemosphere*, 2023, 320: 137998.
- [16] Martinez VD, Vucic EA, Becker-Santos DD, et al. Arsenic exposure and the induction of human cancers [J]. *Journal of Toxicology*, 2011, 2011(1): 431287.
- [17] Guan Q, Lin HR, Miao L, et al. Functions, mechanisms, and therapeutic implications of METTL14 in human cancer [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2022, 15(1): 13.
- [18] Wei BJ, Shan YH, Du ZL, et al. Identifying circulating tumor DNA mutations associated with neoadjuvant chemotherapy efficacy in local advanced breast cancer [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2022, 194(9): 3961-3973.
- [19] Datkhile KD, Durgawale PP, Patil MN, et al. Impact of polymorphism in base excision repair and nucleotide excision repair genes and risk of cervical cancer: a case-control study [J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 2022, 23(4): 1291-1300.
- [20] Hashemzahi A, Ghadyani M, Asadian F, et al. Association of polymorphisms in nucleotide excision repair pathway genes with susceptibility to cutaneous melanoma [J]. *Klinicka Onkologie: Casopis Ceske a Slovenske Onkologicke Spolecnosti*, 2021, 34(5): 350-355.

收稿日期:2024-11-14