·环境与职业卫生·

# 苯并芘和 2,2',4,4'- 四溴联苯醚联合暴露对乳腺上皮细胞生物学行为的影响

潘松英[1,2],姜念[1,2],唐永君[1,2],冯振宁[1,2],马晨璐[1,2],何应旭[1,2],陈晓龙[1,2],刘慧[1,2],庞伟毅[1,2,3]
1.广西环境暴露组学与全生命周期健康重点实验室,桂林医科大学,广西 桂林 541199;
2.桂林医科大学公共卫生学院,广西 桂林 541199;3.桂林医科大学人文管理学院,广西 桂林 541199

**摘要:目的** 探讨环境中广泛共存的内分泌干扰物——苯并芘(benzo[a]pyrene, B[a]P)与 2,2',4,4'- 四溴联苯醚(2,2',4,4'-tetrabromobiphenyl ether,BDE-47)联合暴露对乳腺上皮细胞增殖、迁移和侵袭等细胞生物学行为的影响及其可能的致瘤作用机制。**方法** 以人源性乳腺上皮 MCF-10A 细胞为研究对象,1μM B[a]P 与梯度浓度 BDE-47 单独以及联合处理 MCF-10A 细胞后,采用流式细胞术分别检测细胞的周期及凋亡的变化情况;采用 CCK-8 法、划痕实验和 Transwell 小室分别检测细胞增殖及迁移侵袭能力;并采用蛋白质印记法检测上皮间质转化(epithelial-to-mesenchymal Transition,EMT)相关标志物和 β- 连环蛋白(β-catenin)的蛋白表达水平。**结果** 与对照组相比,流式细胞术结果显示,B[a]P 和 BDE-47 单独及联合暴露均导致 G0/G1 期细胞比例显著降低,S 期和 G2/M 期细胞比例显著升高($P<0.05$),但未诱导 MCF-10A 细胞发生显著凋亡($P>0.05$)。细胞周期蛋白依赖性激酶 CDK4、Cyclin D1 表达显著升高($P<0.05$),CDK6 表达水平无显著性差异($P>0.05$)。CCK-8 结果显示,B[a]P 和 BDE-47 单独及联合暴露均可显著增强细胞活力,且联合暴露后效应更强。划痕实验和 Transwell 小室结果显示,单独以及联合染毒后均使细胞的迁移和侵袭能力增强($P<0.05$),且联合暴露组更显著。蛋白质印记法结果显示,EMT 上皮相关蛋白 E-cadherin 和 ZO-1 表达均下调($P<0.05$),而间充质相关蛋白 N-Cadherin、Vimentin 和 Snail 表达均显著上调($P<0.05$)。Wnt 通路关键组分蛋白 β-catenin 表达上调($P<0.05$)。**结论** B[a]P 和 BDE-47 联合暴露促进乳腺上皮细胞增殖、迁移和侵袭能力,且联合作用的效应更强,可能通过 Wnt/β-catenin 信号通路诱导乳腺上皮细胞 EMT 过程发挥致瘤作用。

**关键词**:乳腺上皮细胞;苯并芘;2,2',4,4'- 四溴联苯醚;联合暴露;致癌作用
**中图分类号**:R114;R737.9 **文献标志码**:A **文章编号**:1003-8507(2026)01-62-09
**DOI**:10.20043/j.cnki.MPM.202507333

# Effects of combined exposure of benzo[a]pyrene and 2,2´,4,4´-tetrabromobiphenyl ether on biological behavior of mammary epithelial cells

PAN Song-ying*, JIANG Nian, TANG Yong-jun, FENG Zhen-ning, MA Chen-lu, HE Ying-xu, CHEN Xiao-long, LIU Hui, PANG Wei-yi
*Guangxi Key Laboratory of Environmental Exposomics and Entire Lifecycle Health, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541199, China*

**Abstract: Objective** To investigate the effects of combined exposure of benzo[a]pyrene (B[a]P) and 2,2´,4,4´-tetrabromobiphenyl ether (BDE-47), which widely coexist in the environment as endocrine-disrupting chemicals, on the proliferation, migration and invasion of mammary epithelial cells and their possible tumorigenic mechanisms. **Methods** Human mammary epithelial MCF-10A cells were treated with 1 μM B[a]P and gradient concentrations of BDE-47, alone or in combination. Cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry. Cell proliferation, migration and invasion were detected by CCK-8 method, scratch test and Transwell chamber. Protein expression levels of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) related markers and β-catenin were detected by Western blot. **Results** Compared with control group, flow cytometry results showed that exposure to B[a]P and BDE-47 alone and in combination significantly decreased the proportion of G0/G1 cells and significantly increased the proportion of S and G2/M cells ($P<0.05$), but did not induce apoptosis in MCF-10A cells ($P>0.05$). The expression of cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) and CyclinD1 increased significantly ($P<0.05$), and CDK6 expression level had no significant difference ($P>0.05$). CCK-8 results showed that B[a]P and BDE-47, both alone and in combination, significantly enhanced cell viability, with the combined exposure producing a stronger effect ($P<0.05$). Scratch wound and Transwell

**基金项目**:国家自然科学基金项目(81560526);广西自然科学基金资助(2023GXNSFAA026322,2022GXNSFBA035659)
**作者简介**:潘松英(1997—),女,硕士,住院医师,研究方向:环境化学物与肿瘤
**通信作者**:刘慧,E-mail: huihuiabcd@126.com;庞伟毅,E-mail: p.weiyi@live.cn;刘慧与庞伟毅为共同通信作者

assays demonstrated that both single and combined exposures enhanced cell migration and invasion ($P$<0.05), with the combined exposure group showing the most pronounced effects. Western blot analysis showed that EMT-related epithelial-associated proteins E-cadherin and ZO-1 were down-regulated ($P$<0.05), while mesenchymal associated proteins N-Cadherin, Vimentin and Snail were up-regulated ($P$<0.05), and the protein level of β-catenin was also increased ($P$<0.05), suggesting activation of the Wnt/β-catenin signaling pathway. **Conclusion** Combined exposure of B[a]P and BDE-47 promoted proliferation, migration and invasion of mammary epithelial cells, and the combined effect was stronger, which may induce EMT process of mammary epithelial cells through Wnt/β-catenin signaling pathway to play a tumorigenic role.

**Keywords**: Mammary epithelial cells; Benzo[a]pyrene; 2,2′,4,4′-tetrabromobiphenyl ether; Combined exposure; Carcinogenesis

乳腺癌是威胁女性生命和生活质量的常见恶性肿瘤，也是全球女性癌症死因之首，普遍观点认为异常的激素信号激活是乳腺癌发生的关键危险因素[1]。新近研究表明，人造化学品中环境内分泌干扰物（environmental endocrine disrupting chemicals, EDCs）可能通过模拟或干扰正常的雌激素功能，增加乳腺癌的风险[2]。

苯并芘（benzo[a]pyrene, B[a]P）和 2,2,4,4'- 四溴联苯醚（2,2,4,4'-tetrabromobiphenyl ether, BDE-47）。BDE-47 均为常见的 EDCs，能够在进入靶细胞后与体内激素竞争性受体结合，扰乱机体内分泌系统的正常代谢。B[a]P 作为多环芳烃化合物的典型代表，是多环芳烃类环境污染物中最常见且毒性作用最强的污染物，废弃物或燃料燃烧过程是其产生的主要来源[3]。BDE-47 因具备优良的阻燃性能而被广泛应用于塑料制品、室内装饰材料及电子产品等领域[4]。近年来，B[a]P 和 BDE-47 在全球范围内均被广泛检出，在室内粉尘中检测 B[a]P 浓度为（175 ± 350）μg/kg、BDE-47 含量介于 2.7 ~ 14 610 μg/kg，可生物蓄积作用于母乳、血液、脂肪组织中并发挥类雌激素作用[5-7]。流行病学调查数据显示，BDE-47 在人体组织中的含量范围为 0.5 ~ 196 μg/kg，血液中为 0.4 ~ 145.2 μg/kg，而在母乳中的含量为 0.48 ~ 272 μg/kg[5,8]。现有研究表明，暴露于 BDE-47 能显著增强乳腺癌 MCF-7 细胞的迁移与侵袭能力[9]，但 B[a]P 和 BDE-47 联合暴露在乳腺癌致癌的早期阶段的毒性效应及其潜在的作用机制罕见报道。本研究以人乳腺上皮 MCF-10A 细胞为研究对象，拟通过 B[a]P 和 BDE-47 联合染毒检测细胞的周期分布及凋亡情况、细胞增殖、迁移侵袭能力及 Wnt 通路核心组件 β-catenin 蛋白和 E-cadherin、N-Cadherin 及 Vimentin 蛋白等 EMT 标志物的表达，探讨 B[a]P 和 BDE-47 联合暴露对乳腺上皮细胞的分子生物学影响及其可能致瘤作用机制。

## 1　材料与方法

**1.1　主要试剂与材料**　将 B[a]P（纯度≥96%，Sigma-Aldrich，America）、BDE-47（纯度为 95.9%，CSNpharm）分别溶解于二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide, DMSO），使其终浓度为 100 mmol /L，常温避光保存。使用前以培养基稀释至所需浓度。人乳腺上皮细胞 MCF-10A 细胞购自于中国普诺赛公司，胎牛血清购自 Gibco 公司，胰蛋白酶、DMSO 购自索莱宝公司，E-cadherin、N-Cadherin 等抗体购自 Proteintech，CCK-8 试剂盒购自 Dojindo 公司，细胞凋亡试剂盒、细胞周期试剂盒购自联科生物公司，全波长扫描式多功能微孔板读数仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司，流式细胞仪购自 BD FACSCanto 公司。

**1.2　细胞培养**　MCF-10A 细胞在含有 10%胎牛血清和 1%的青霉素 - 链霉素的 DMEM 培养基中于 37℃、5%$CO_2$ 培养箱中进行培养。待细胞贴壁生长后，弃掉培养基，用 PBS 洗涤 2 ~ 3 次，根据实验目的进行染毒处理。

**1.3　细胞周期实验**　胰酶消化并收集细胞，制备成细胞悬液，调整密度为 $2 \times 10^5$ 个细胞接种于 6 孔板，待完全贴壁后，更换 1μM B[a]P，1μM BDE-47、10μM BDE-47、100μM BDE-47 及 1μM B[a]P+1μM BDE-47、1μM B[a]P+10μM BDE-47、1μM B[a]P+100μM BDE-47 浓度培养基，放置培养箱中培养 24、48 和 72 h。染毒结束后弃去培养基，用 PBS 洗涤并收集的细胞沉淀，-20℃固定过夜。次日用 PBS 洗涤，加入 1ml DNA 染色液，避光孵育 30 min，上机检测。

**1.4　细胞凋亡实验**　收集处理后的细胞，制备成细胞悬液、接种于 6 孔板，待完全贴壁后，更换含 1μM B[a]P、10μM BDE-47、1μM B[a]P+10μM BDE-47 培养基，以 DMSO 为对照，放置培养箱中培养 24、48 和 72 h。染毒结束后弃去培养基，用预冷的 PBS 洗涤并收集的细胞沉淀，将细胞悬浮于 500 μl 结合缓冲液中，加入 5 μl 的 Annexin Ⅴ-PITC 和 10 μl 的碘化丙啶，充分混匀后，在 4℃避光条件下孵育 5 min 后上机检测。

**1.5　CCK-8 检测**　收取处于对数生长期的 MCF-10A 细胞从正常培养基中取出，接种于 96 孔板中，细胞贴壁 12 h，观察细胞密度和状态以符合实验要求后，更换含 100pM ~ 100 μM BDE-47 浓度梯度培养基，以 DMSO 为对照。设置 3 个复孔、放置培养箱中培养 24、48 和 72 h。染毒结束后弃去培养基，向每孔加入 10%的 CCK-8 试剂，在 37℃避光条件下反

应 1 h，于 450 nm 处读取光密度 D 值。

1.6　划痕实验　胰酶消化并收集处理后细胞，制成单细胞悬液后接种于 6 孔板，当细胞融合度达到 85%～95%时，进行划痕。用 100μl 枪头，在孔内每隔 1cm 画条平行线，共 3 条平行线，随后更换 1μM B[a]P、10μM BDE-47、1μM B[a]P+10μM BDE-47 浓度培养基，放置培养箱中培养 24 h。染毒结束后在倒置显微镜下观察拍照。

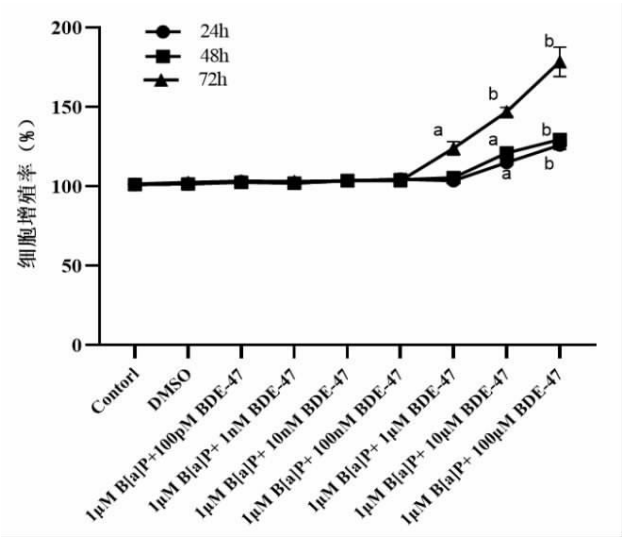
1.7　Transwell 迁移与侵袭实验　收集处于对数生长期的 MCF-10A 细胞，更换染毒培养基后培养 24h，用 500 μl 胰蛋白酶消化后收集细胞悬液。取出预先激活的小室，在下室加入 600μl 马血清的 DMEM/F12 和 200μl 用无血清培养基悬浮细胞后放回培养箱培养。24 h 后，弃去培养基并用 PBS 清洗两遍，每孔加入 600μl 4%的多聚甲醛固定 30 min。然后用超纯水洗涤 2～3 遍，加入 600μl 0.1%结晶紫染色 30 min，洗净至液体变淡蓝色，在显微镜下随机选取 5 个视野观察并拍照。侵袭实验中将 matrigel 基质胶提前解冻至 4℃，用预冷无菌枪头吸取 100μl 工作液均匀地加入 Transwell 小室中，在 37℃培养箱中凝固 2～4 h。其余步骤与 Transwell 迁移实验相同。

1.8　蛋白质印记实验　用 1μM B[a]P、10 μM BDE-47、1 μM B[a]P+10 μM BDE-47 处理 MCF-10A 细胞 24 h 后收集细胞沉淀，RIPA 裂解细胞提取总蛋白，BCA 测定蛋白浓度。制备 10%SDS-PAGE 胶，加载样品后进行电泳，将蛋白转移到 PVDF 膜上，用 TBST 洗膜 1 min，封闭于 5% BSA 中室温摇匀 1～2 h，分别加入 N-Cadherin、Vimentin、E-cadherin、ZO-1、Snail、CyclinD1、CDK4、CDK6 和 β-catenin 一抗（1∶1 000）4℃孵育过夜，TBST 洗涤 3 次，加入二抗（1∶5 000）室温孵育 1h，TBST 洗膜，最后进行发光显影。实验重复 3 次。

1.9　统计分析　利用 SPSS 25.0 进行统计分析，连续变量以（均值 ± 标准差）表示，采用单因素方差分析，组间两两比较采用 Tukey-Kramer 检验，双侧检验，检验水准 α=0.05。细胞周期、细胞凋亡实验数据使用 FlowJo 10.8.1 软件分析。划痕实验、Transwell 实验、Wb 实验用 ImageJ 软件分析处理。采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件作图。

## 2　结　果

2.1　B[a]P 和 BDE-47 联合暴露对 MCF-10A 细胞增殖的影响　各梯度浓度 BDE-47 和 1 μM B[a]P 联合暴露处理 MCF-10A 细胞 24、48 和 72h，设置 0.1%溶剂作为对照组。CCK8 结果显示，与对照组相比，在 1 μM B[a]P 与 10 μM、100 μM BDE-47 联合暴露均显著提高细胞活力（$P<0.05$）；在联合暴露 72h，1μM BDE-47 联合暴露组也观察到细胞活力显著上升（$P<0.05$）。见图 1。




注：$^{a}P<0.05$；$^{b}P<0.01$。

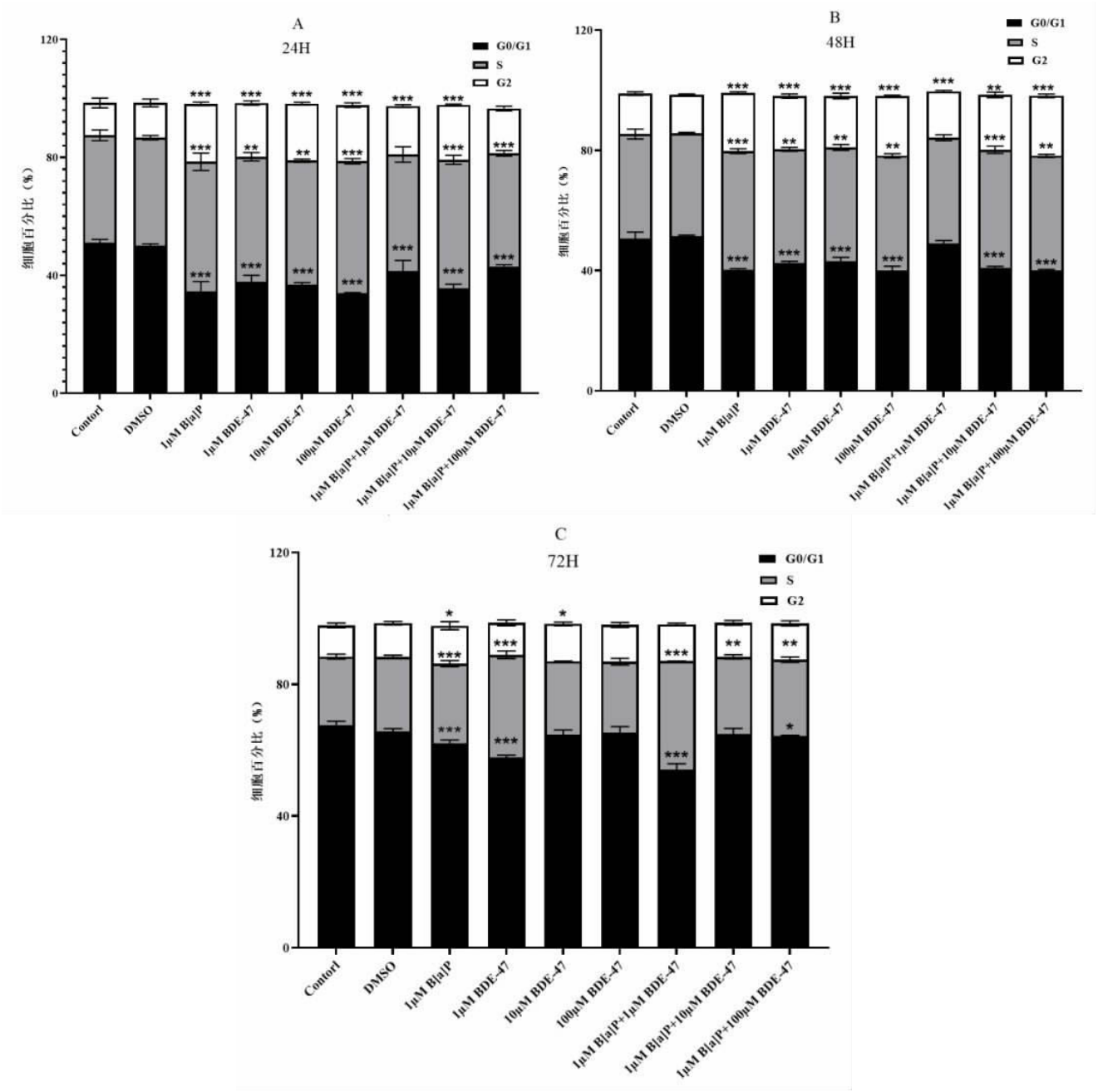
**图 1**　B[a]P 和 BDE-47 联合暴露 24、48 和 72 h 对 MCF-10A 细胞增殖能力的影响

**Figure 1**　Effects of co-exposure to B[a]P and BDE-47 on the proliferation capacity of MCF-10A cells at 24 h, 48 h, and 72 h

2.2　B[a]P 和 BDE-47 联合暴露对 MCF-10A 细胞周期的影响　结果显示，与对照组相比，在染毒 24h 后各个浓度组 G0/G1 期细胞比例降低，单独暴露组以及 1μM B[a]P 和 10μM BDE-47 联合暴露组 S 期细胞比例均增加，各个浓度组 G2/M 期细胞比例呈现大幅度上升（$P<0.05$）；在染毒 48 和 72 h 后同样细胞 G0/G1 期比例降低，S 期和 G2/M 期呈现不同程度的上升。见图 2。

2.3　B[a]P 和 BDE-47 联合暴露对 MCF-10A 细胞凋亡的影响　结果显示，与对照组相比，染毒组凋亡细胞呈现轻微的下降趋势，但无统计学差异，表明各染毒组对 MCF-10A 凋亡的细胞数无明显改变（$P>0.05$）。见图 3。

2.4　B[a]P 和 BDE-47 对 MCF-10A 细胞迁移、侵袭能力的影响　划痕实验结果表明，与对照组相比，各暴露组细胞的划痕愈合面积显著增加，愈合率分别提升至（85.33% ± 3.109%）、（79.35% ± 1.448%）和（89.79% ± 1.398%）（$P<0.05$），表明细胞迁移能力增强。此外，联合暴露组（B[a]P+BDE-47）的愈合面积显著大于 BDE-47 单独暴露组（$P<0.05$）。Transwell 结果表明，与对照组相比，各处理组穿膜细胞数量明显增多（$P<0.05$）；与 BDE-47 单独暴露组相比，联合暴露组的迁移与侵袭能力均显著增强（$P<0.05$）。见图 4。




注：$^{*}P<0.05$；$^{**}P<0.01$；$^{***}P<0.001$；A 为 24h；B 为 48h；C 为 72h。

**图 2**　流式细胞仪检测 B[a]P 和 BDE-47 联合暴露对 MCF-10A 细胞周期的影响

**Figure 2**　Flow cytometry analysis of the effects of co-exposure to B[a]P and BDE-47 on the cell cycle distribution of MCF-10A cells

**2.5　B[a]P 和 BDE-47 对 MCF-10A 细胞周期蛋白的影响**　结果显示，1μM B[a]P 和 10μM BDE-47 联合暴露 24 h 后，与对照组相比，CDK6 蛋白表达有轻微上调，但无统计学差异（$P>0.05$）。CyclinD1、CDK4 的蛋白水平均明显上调（$P<0.05$）。与 B[a]P 单独暴露相比，联合暴露组 CDK4 和 CyclinD1 表现出更高的表达水平（$P<0.05$）。见图 5。

**2.6　B[a]P 和 BDE-47 联合暴露诱导 MCF-10A 细胞恶性表型的潜在作用机制**　为探究 B[a]P 和 BDE-47 联合暴露诱导 MCF-10A 细胞增殖、迁移侵袭等恶性表型可能的潜在作用机制，我们进一步检测 B[a]P 和 BDE-47 联合暴露 24 h 后细胞中 EMT 标志物（N-Cadherin、Vimentin、Snail、E-Cadherin、ZO-1）和 Wnt 通路关键蛋白 β-catenin 的表达情况。与对照组相比，三个处理组中 MCF-10A 细胞的 E-Cadherin 和 ZO-1 表达显著下降，而 N-Cadherin、Vimentin、Snail 表达显著升高（$P<0.05$）。Wnt 通路关键组分蛋白 β-catenin 表达上调（$P<0.05$）。与单独暴露相比，N-Cadherin、Vimentin 和 Snail 表达上调（$P<0.05$），E-Cadherin 和 ZO-1 表达显著下调（$P<0.05$）。见图 6。

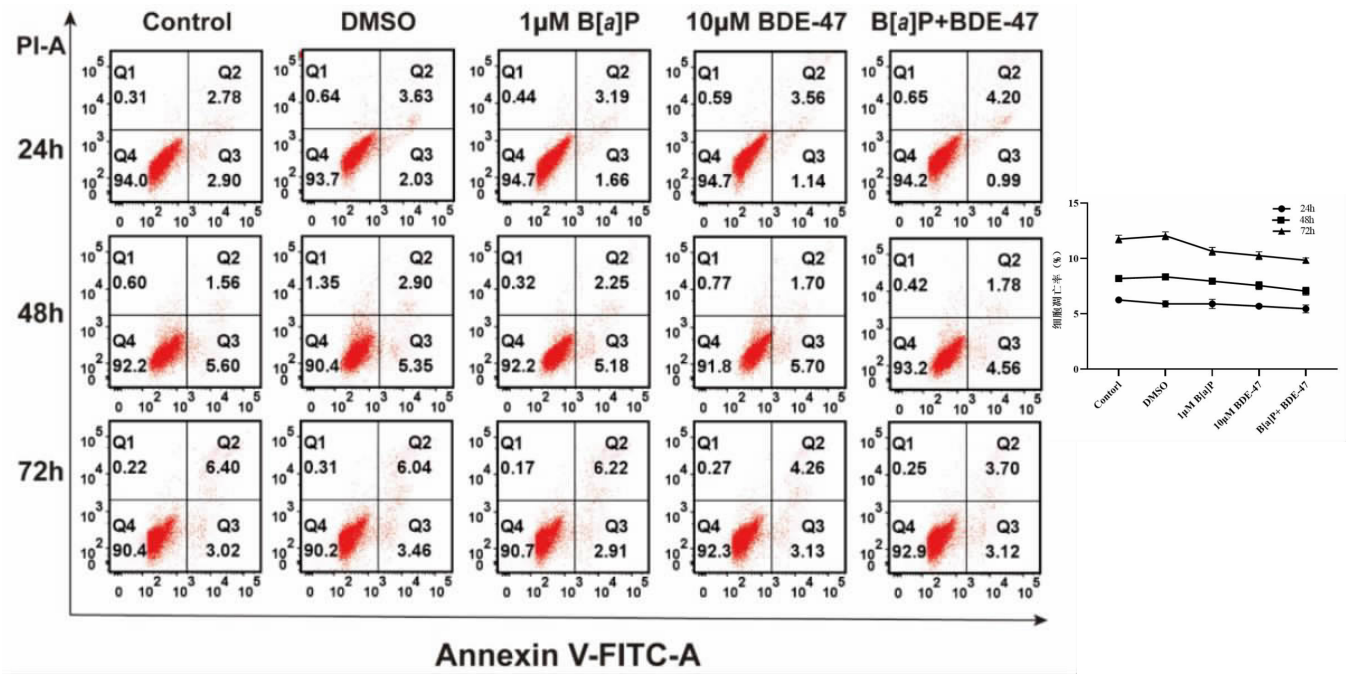
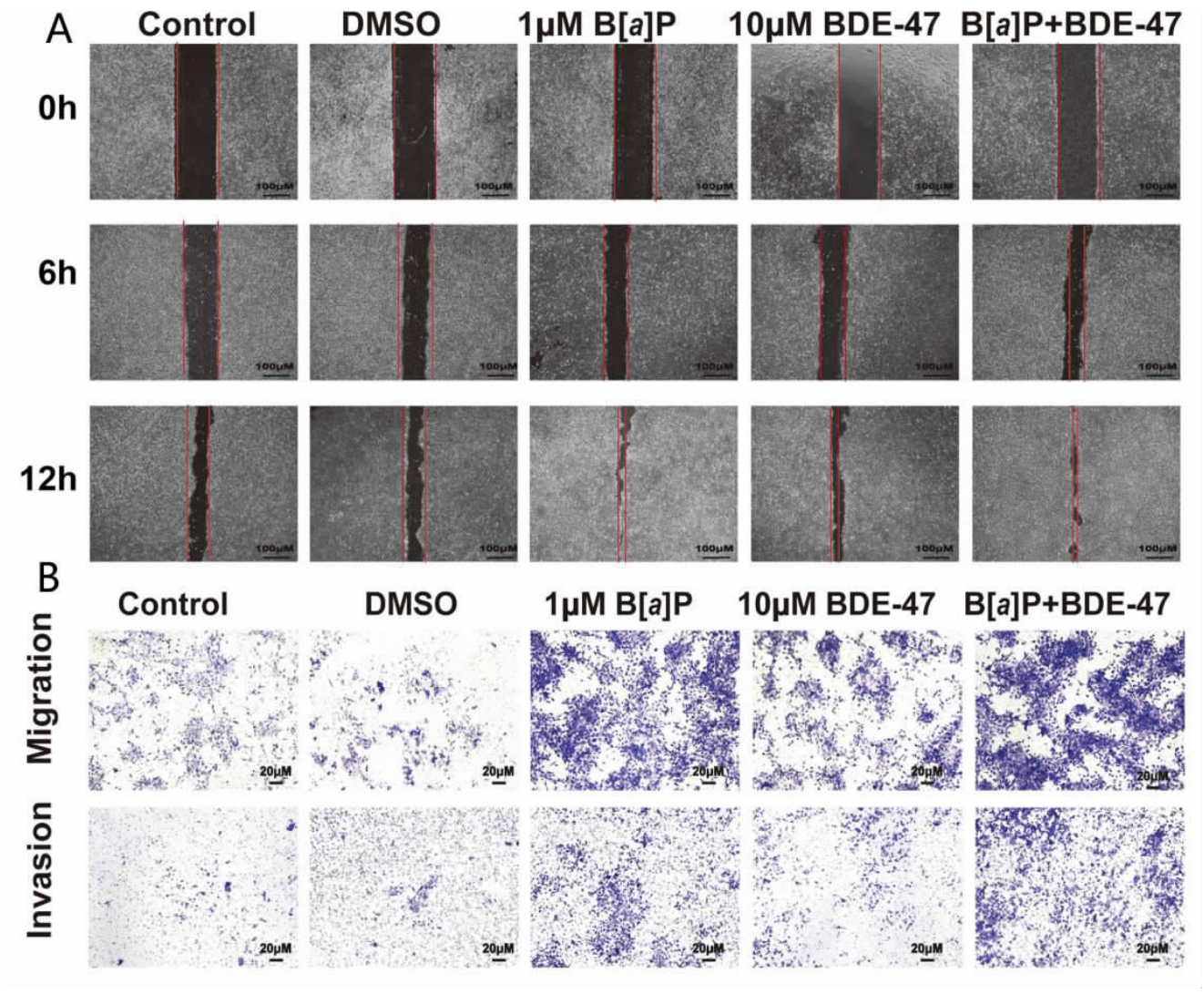
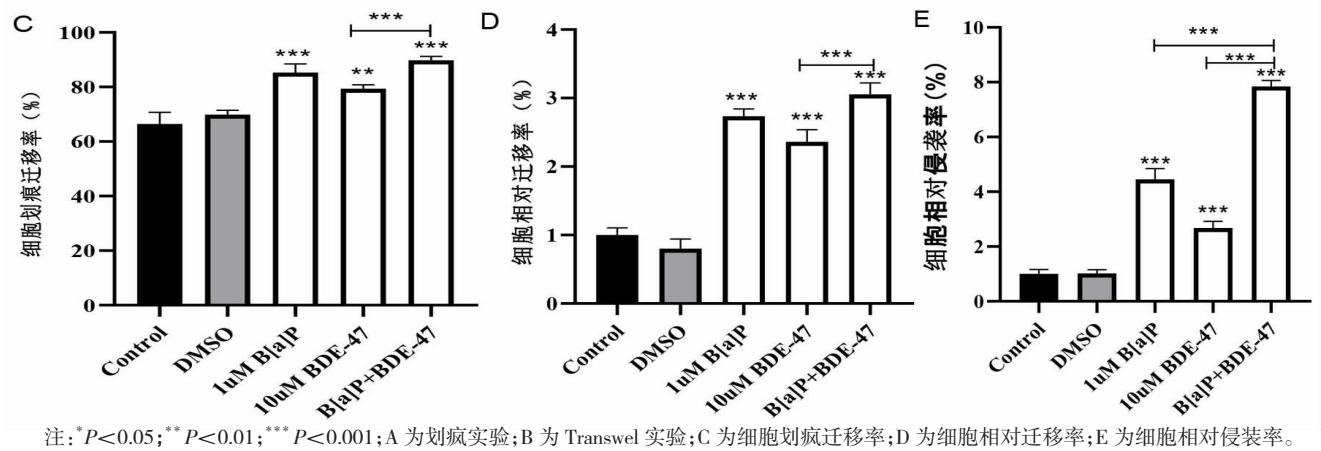



图 3 B[a]P 和 BDE-47 联合暴露 24、48 和 72h 对 MCF-10A 细胞凋亡的影响

**Figure 3** Effects of co-exposure to B[a]P and BDE-47 on apoptosis of MCF-10A cells at 24 h, 48 h, and 72 h

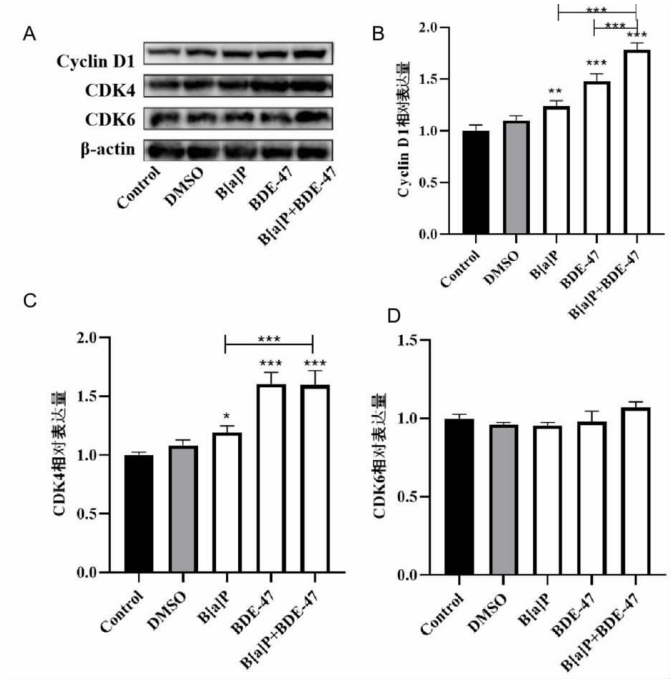





注：*$P$<0.05；**$P$<0.01；***$P$<0.001；A 为划痕实验；B 为 Transwel 实验；C 为细胞划痕迁移率；D 为细胞相对迁移率；E 为细胞相对侵装率。

**图 4**　划痕实验和 Transwell 实验检测 B[a]P 和 BDE-47 联合暴露对 MCF-10 细胞迁移、侵袭能力的影响

**Figure 4**　Scratch assay and Transwell assay assessing the effects of co-exposure to B[a]P and BDE-47 on the migration and invasion abilities of MCF-10 cells




注：A 为蛋白免疫印迹图、B 为 CyclinD1 蛋白相对表达量、C 为 CDK4 蛋白相对表达量、D 为 CDK6 蛋白相对表达量；*$P$<0.05，**$P$<0.01，***$P$<0.001。

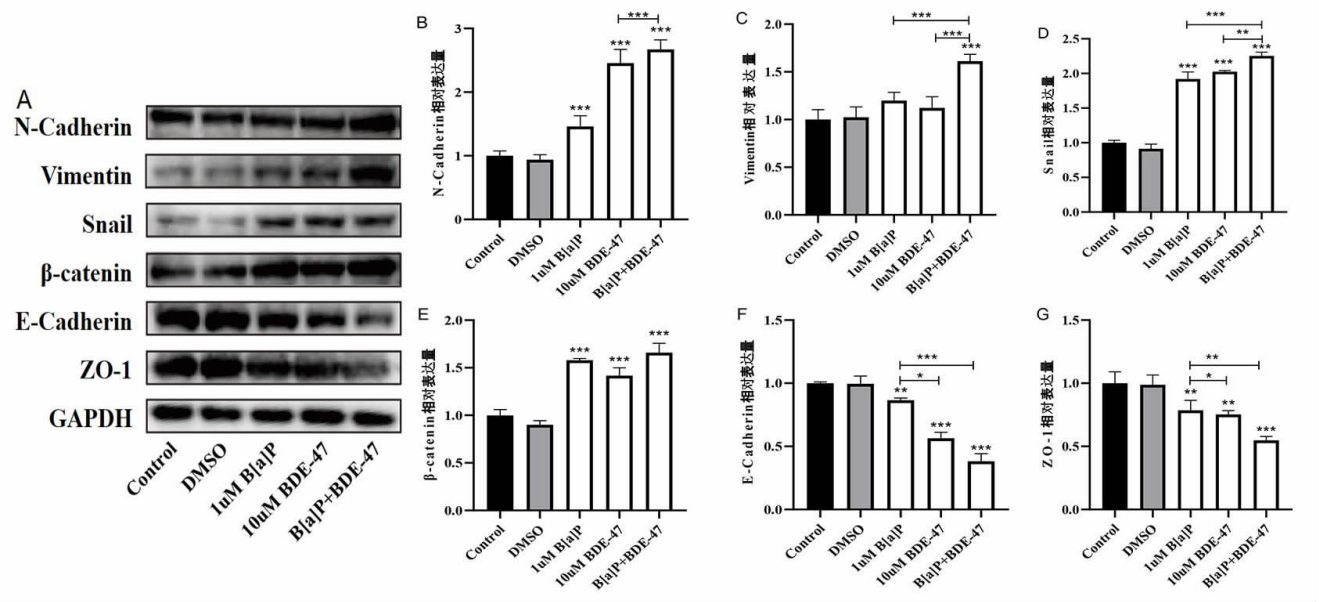
**图 5**　B[a]P 和 BDE-47 联合暴露对 MCF-10A 细胞周期蛋白表达水平的影响

**Figure 5**　Effects of co-exposure to B[a]P and BDE-47 on cell cycle regulator protein expression in MCF-10A cells

## 3　讨　论

研究发现，暴露于环境污染物，特别是具有内分泌干扰特性的污染物，已被证实会提高乳腺癌的发病风险。作为典型的环境内分泌干扰物，B[a]P 能够与雌激素受体结合，诱导细胞色素 P450 酶系的表达，生成 DNA 反应性代谢物及氧自由基，从而引发基因突变并产生致癌效应[10]。已有研究显示，空气中累积的 B[a]P 长期暴露与乳腺癌风险升高以及肉瘤、肝脏和肺肿瘤发病率的增加显著相关[11]。BDE-47 由于具有半衰期长、难以降解等物理特性，易在生态环境中蓄积，形成长期暴露趋势；体内外实验均证实，BDE-47 不仅表现出神经毒性、肝毒性和免疫毒性，还具有内分泌干扰作用及潜在致癌性[12-13]。事实上，作为多环芳烃代表物质的 B[a]P 与作为多溴二苯醚之一的 BDE-47，在环境中常以较高浓度共存。尽管关于 BDE-47 毒性作用的研究较为广泛，但关于 B [a]P 与 BDE-47 在致癌早期阶段联合暴露的研究报道较少。MCF-10A 细胞源自人类纤维囊性乳腺组织，保留正常乳腺上皮细胞特性，能够代谢污染物并引发与致癌转化相关的细胞损伤，因此可用于评估化学物质诱导肿瘤转化的相关表征[14]。基于此，本研究采用 MCF-10A 细胞作为体外模型，评估 B[a]P 与 BDE-47 联合暴露对乳腺上皮细胞分子生物学行为的影响。

乳腺癌作为一类雌激素依赖性肿瘤，其与 BDE-47 的关联备受关注。目前关于 BDE-47 与乳腺癌关系的研究结论尚不一致。一项病例对照研究显示，乳腺癌患者血清中 BDE-47 浓度显著升高；然而另一项病例对照研究则未发现 BDE-47 暴露会显著增加乳腺癌风险[15-16]。值得注意的是，BDE-47 在体内被证实可发挥部分雌激素样作用。有研究指出，尽管 BDE-47、BDE-99 和 BDE-209 等多溴二苯醚同系物单独暴露对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖无促进作用，但在与 β- 雌二醇共同暴露时，能够增强后者对细胞增殖的促进作用[17]。本研究结果显示，在使用 1 μmol/L B[a]P 联合 10 μmol/L BDE-47 处理 MCF-10A 细胞时，与单独 B[a]P 暴露相比，联合暴露使细胞增殖效应更为显著。该结果与 Jing 等[18]的研究结论不一致，后者认为 B[a]P 与 BDE-47 联合暴露对正常人肝细胞的生长和存活无影响。此种差异可能源于细胞类型的特异性：乳腺上皮细胞的恶性转化主要涉及雌激素受体信号的异常激活及细胞周期调控失常等因素；




注：A 为蛋白免疫印迹检测细胞 EMT 相关蛋白的表达；B 为 N-Cadherin 蛋白相对表达量；C 为 Vimentin 蛋白相对表达量；D 为 Snail 蛋白相对表达量；E 为 β-catenin 蛋白相对表达量；F 为 E-Cadherin 蛋白相对表达量；G 为 ZO-1 蛋白的相对表达水平；$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

**图 6**　B[a]P 和 BDE-47 联合暴露对 MCF-10A 细胞 EMT 相关蛋白表达水平的影响

**Figure 6**　Effects of co-exposure to B[a]P and BDE-47 on EMT-related protein expression in MCF-10A cells

而肝细胞的癌变则可能更多与氧化应激、炎症反应等机制有关。由此可见，BDE-47 在生物体内可能仅发挥部分雌激素样效应。

细胞增殖与细胞周期密切相关，破坏正常的细胞周期调控是环境内分泌干扰物诱发致癌效应的重要机制之一。研究表明，细胞周期蛋白依赖性激酶（cyclin dependent kinase，CDK）及其抑制蛋白在不同检查点参与细胞周期调控，其中 CyclinD1 可与 CDK4 和 CDK6 结合并激活其活性，调控细胞从 G0/G1 期向 S 期过渡，同时增强雌激素与其受体的结合能力[19]。本研究结果显示，B[a]P 和 BDE-47 单独及联合暴露均导致 MCF-10A 细胞 G0/G1 期比例下降，S 期和 G2/M 期比例显著上升，提示两者单独及联合暴露可改变细胞周期分布并促进细胞周期进程。周期蛋白检测结果进一步显示，B[a]P 和 BDE-47 可显著上调 CyclinD1 和 CDK4 表达，并促进 MCF-10A 细胞增殖，该结果与 Wang 等[20]的研究一致。CyclinD1 作为调控细胞从 G1 期进入 S 期的关键因子，在约 50%～70%的乳腺癌中呈现高表达[21]。此外，CDK4 在侵袭性乳腺癌中亦呈高表达，其表达水平与患者较差的总体生存率、无复发生存率及不良预后密切相关，提示该蛋白在乳腺癌发生与发展过程中发挥核心作用[22]。

本研究还发现，BDE-47 暴露可促进 MCF-10A 细胞的迁移和侵袭能力，与黄裔腾等[9]在 BDE-47 处理乳腺癌 MCF-7 细胞中观察到的迁移与侵袭能力增强结果一致。B[a]P 与 BDE-47 联合暴露进一步显著增强了 MCF-10A 细胞的迁移和侵袭能力，且联合暴露效应更为显著。已有研究表明，长期低剂量慢性暴露于 100 pmol/L 4- 甲基亚硝胺基 -1-3- 吡啶基 -1- 丁酮与 100 pmol/L B[a]P 可诱导细胞癌变，伴随癌症干细胞样细胞群体增多和上皮 - 间质转化激活，该过程在癌前及恶性病变的发生与维持中具有重要作用，并为雌激素受体阴性乳腺上皮细胞的致癌转化提供了间充质干细胞样特性的实验依据[23]。普遍认为，肿瘤的侵袭和迁移与 EMT 密切相关，EMT 是乳腺癌转移过程中的关键步骤[24-25]。本研究初步证实，BDE-47 处理的 MCF-10A 细胞中 N-Cadherin 和 Vimentin 蛋白表达上升，E-Cadherin 蛋白表达下降，提示 BDE-47 可诱导 MCF-10A 细胞发生 EMT 样改变，与黄裔腾等[9]在 MCF-7 细胞中的研究结果一致。钙粘蛋白作为细胞表面黏附分子，通过钙依赖性相互作用介导细胞间连接，其胞质端与 β-catenin 在膜下斑块结合[26]。β-catenin 的酪氨酸磷酸化可导致其从 E-cadherin 复合物中解离，削弱细胞黏附并增强细胞的迁移与侵袭能力[27]。尽管本研究未检测磷酸化 β-catenin 的表达水平，但在 B[a]P 和 BDE-47 暴露的 MCF-10A 细胞中，E-Cadherin 表达下降与细胞迁移和侵袭能力增强相关。已知 Wnt/β-catenin 信号通路在肿瘤恶性进展中参与调控细胞增殖、迁移、侵袭等多种生物学行为，并与 EMT 过程密切相关[28]。本研究同时检测了 Wnt 通路关键分子 β-catenin 的蛋白表达，发现其总蛋白水平显著上调，初步提示 β-catenin 信号通路可能参与 B[a]P 与 BDE-47 联合诱导的乳腺上皮细胞 EMT 样改变及其侵袭迁移过程。然而，本研究仍存在一定局限性：一方面，缺乏从上皮样形态向间质样形态转变的直接细胞形态学证据；另一方

面，尚需通过荧光素酶报告基因实验进一步验证 Wnt/β-catenin 信号通路的活化及其下游靶基因的转录活性。

综上所述，B[a]P 和 BDE-47 暴露促进乳腺上皮细胞增殖、迁移和侵袭，且联合暴露表现出更强的联合效应，可能通过 Wnt/β-catenin 信号通路诱导乳腺上皮细胞 EMT 过程发挥致瘤作用。

**利益冲突声明**　本研究不存在任何利益冲突

## 参考文献


[1] Boyne DJ, Friedenreich CM, McIntyre JB, et al. Endogenous sex hormone exposure and repetitive element DNA methylation in healthy postmenopausal women [J]. Cancer Causes & Control, 2017, 28(12): 1369-1379.

[2] Shanle EK, Xu W. Endocrine disrupting chemicals targeting estrogen receptor signaling: identification and mechanisms of action [J]. Chemical Research in Toxicology, 2011, 24(1): 6-19.

[3] Gao ML, Zheng A, Chen L, et al. Benzo(a)pyrene affects proliferation with reference to metabolic genes and ROS/HIF-1α/HO-1 signaling in A549 and MCF-7 cancer cells [J]. Drug and Chemical Toxicology, 2022, 45(2): 741-749.

[4] Zhang JY, Chen L, Xiao L, et al. Polybrominated diphenyl ether concentrations in human breast milk specimens worldwide [J]. Epidemiology, 2017, 28(Suppl 1): S89-S97.

[5] Petro EML, Covaci A, Leroy JLMR, et al. Occurrence of endocrine disrupting compounds in tissues and body fluids of Belgian dairy cows and its implications for the use of the cow as a model to study endocrine disruption[J]. Science of the Total Environment, 2010, 408 (22): 5423-5428.

[6] Choi S, Ekpe OD, Sim W, et al. Exposure and risk assessment of Korean firefighters to PBDEs and PAHs via fire vehicle dust and personal protective equipment [J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(1): 520-530.

[7] Ossai CJ, Iwegbue CMA, Tesi GO, et al. Distribution, sources and exposure risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils, and indoor and outdoor dust from Port Harcourt city, Nigeria [J]. Environmental Science. Processes & Impacts, 2021, 23 (9): 1328-1350.

[8] Petreas M, She JW, Brown FR, et al. High body burdens of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) in California women [J]. Environmental Health Perspectives, 2003, 111(9): 1175-1179.

[9] 黄裔腾，陈炯玉，吴库生，等. 2,2′,4,4′-四溴联苯醚对人乳腺癌细胞 MCF-7 细胞生物学行为影响 [J]. 中华肿瘤防治杂志，2019，26(6)：380-384.
Huang YT, Chen JY, Wu KS, et al. Effects of 2,2′,4,4′-tetrabromodiphenyl ether on cell biological behavior in MCF-7 breast cancer cell [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2019, 26(6): 380-384.(In Chinese)

[10] Rodgers KM, Udesky JO, Rudel RA, et al. Environmental chemicals and breast cancer: An updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms [J]. Environmental Research, 2018, 160: 152-182.

[11] Amadou A, Praud D, Coudon T, et al.Risk of breast cancer associated with long-term exposure to benzo [a]pyrene (B [a]P) air pollution: Evidence from the French E3N cohort study [J]. Environ. Int, 2021, 149: 106399.

[12] Tian LL, Zhou N, Zhao N, et al. Low level exposure to BDE-47 facilitates the development of prostate cancer through TOP2A/LDHA/lactylation positive feedback circuit [J]. Environmental Research, 2024, 263(Part 2): 120094.

[13] Wei JT, Li XN, Xiang L, et al. Metabolomics and lipidomics study unveils the impact of polybrominated diphenyl ether-47 on breast cancer mice[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 390: 121451.

[14] Tang Y, Feng Z, Ma C, et al. Chronic exposure to B [a]P induces malignant transformation of breast epithelial cells through the mechanism via TGF-β signaling pathway [J]. Food Chem Toxicol, 2025, 203: 115574.

[15] Xie BM, Lin XQ, Wu KS, et al. Adipose tissue levels of polybrominated diphenyl ethers in relation to prognostic biomarkers and progression-free survival time of breast cancer patients in eastern area of southern China: A hospital-based study [J]. Environmental Research, 2023, 216(Pt 4): 114779.

[16] Holmes AK, Koller KR, Kieszak SM, et al. Case-control study of breast cancer and exposure to synthetic environmental chemicals among Alaska Native women[J]. International Journal of Circumpolar Health, 2014, 73(1): 25760.

[17] Kwiecińska P, Wróbel A, Gregoraszczuk EŁ. Combinatory effects of PBDEs and 17β-estradiol on MCF-7 cell proliferation and apoptosis[J]. Pharmacological Reports, 2011, 63(1): 189-194.

[18] An J, Yin L, Shang Y, et al. The combined effects of BDE47 and B[a]P on oxidatively generated DNA damage in L02 cells and the possible molecular mechanism[J]. Mutat Res, 2011, 721(2): 192-198.

[19] Zheng ZY, Chen AR, Jaehnig EJ, et al. NF1-depleted ER+ breast cancers are differentially sensitive to CDK4/6 inhibitors [J]. Science Translational Medicine, 2025, 17(813): eadq5492.

[20] Wang LL, Zou W, Zhong YF, et al. The hormesis effect of BDE-47 in HepG2 cells and the potential molecular mechanism [J]. Toxicology Letters, 2012, 209(2): 193-201.

[21] Cai ZJ, Wang JR, Li YD, et al. Overexpressed cyclin D1 and CDK4 proteins are responsible for the resistance to CDK4/6 inhibitor in breast cancer that can be reversed by PI3K/mTOR inhibitors [J]. Science China. Life Sciences, 2023, 66(1): 94-109.

[22] Liu R, Wang X, Branigan TB, et al. BET bromodomain inhibition reverses CDK4/6 inhibitor resistance in estrogen receptor-positive breast cancer via induction of miR-34a-5p [J]. Clinical Cancer Research, 2025, 7: 10.

[23] Fararjeh AS, Tu SH, Chen LC, et al.Long-term exposure to extremely low-dose of nicotine and 4- (methylnitrosamino)-1- (3-pyridyl) -1-butanone (NNK)induce non-malignant breast epithelial cell transformation through activation of the a9-nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling pathway [J]. Environmental Toxicology, 2019, 34(1): 73-82.

[24] Zhou J, Qiu S, Yang X, et al. Hypoxia-Induced PRMT1 lactylation drives vimentin arginine asymmetric dimethylation in tumor metastasis[J]. Adv Sci(Weinh), 2025, 30: e09861.

[25] 曹佳，王晶，石斌，等. 脆性 X 智力障碍蛋白靶向 DDX5 调控 Wnt/β-catenin 信号通路促进乳腺癌细胞上皮-间质转化发生 [J]. 四川大学学报(医学版)，2024，55(5)：1138-1149.


（下转第 134 页）

supervision institutions in China [J]. Chinese Journal of Health Policy, 2022, 15(2): 46-53.(In Chinese)

[5] 张春华,许登科,龙江,等. 2019—2021 年重庆市县级疾病预防控制中心人力资源现状及公平性评价 [J]. 中国公共卫生,2023,39(12):1620-1624.
Zhang CH, Xu DK, Long J, et al. Human resource allocation in centers for disease control and prevention at county-level and its Equity in Chongqing municipality,2019-2021:an online survey [J]. Chinese Journal of Public Health, 2023, 39 (12): 1620-1624. (In Chinese)

[6] 伯贞艳,姜雨欣,邹锟,等. 四川省妇幼保健机构卫生资源配置城乡差异分析——基于基尼系数和集聚度[J]. 中国循证医学杂志,2025,25(1):42-49.
Bo ZY, Jiang YX, Zou K, et al. Analysis on urban-rural difference of health resource allocation in maternal and child health institutions in Sichuan province based on Gini coefficient and agglomeration degree [J]. Chinese Journal of Evidence-Based Medicine, 2025, 25 (1): 42-49.(In Chinese)

[7] 谷雨,孟群. 基于 DEA-Tobit 法的卫生监督执法效率及其影响因素研究[J]. 中国卫生统计,2021,38(3):368-370.
Gu Y, Meng Q. Evaluating the efficiency of health supervision and law enforcement of China and its influencing factors by using DEA-Tobit method[J]. Chinese Journal of Health Statistics, 2021, 38 (3): 368-370.(In Chinese)

[8] 孔德晨,杜伟,姜楠,等. 我国健康服务生产效率测算研究综述[J]. 中国医院统计,2024,31(6):467-472.
Kong DC, Du W, Jiang N, et al. Review of research on measuring productivity of health services in China [J]. Chinese Journal of Hospital Statistics, 2024, 31(6): 467-472.(In Chinese)

[9] 高凯丽,王紫红,高山. 基于 DEA 模型的我国中医医院运营效率的综合评价[J]. 现代预防医学,2022,49(4):690-694, 705.
Gao KL, Wang ZH, Gao S. Comprehensive Evaluation of Operational Efficiency of Traditional Chinese Medicine Hospitals in China Based on DEA Model [J]. Modern Preventive Medicine, 2022, 49 (4): 690-694, 705.(In Chinese)

[10] 佚名. 2023 年我国卫生健康事业发展统计公报[J]. 中国病毒病杂志,2024,14(5):416-424.
Anonym. Statistical communique on the development of China's health and health undertakings in 2023 [J]. Chinese Journal of Viral Diseases, 2024, 14(5): 416-424.(In Chinese)

[11] 张云博,侯贤斌,王丽荣,等. 2019-2022 年云南省卫生健康监督员配备及装备配置情况分析 [J]. 中国卫生标准管理,2024,15(10):56-61.
Zhang YB, Hou XB, Wang LR, et al. Analysis of health care supervisors and equipment configuration in Yunnan province from 2019 to 2022[J]. China Health Standard Management, 2024, 15(10): 56-61.(In Chinese)

[12] 王丹蕾,王坤,邱五七,等. 我国卫生健康监督机构人员队伍建设现状分析[J]. 中国公共卫生管理,2023,39(5):617-620.
Wang DL, Wang K, Qiu WQ, et al. Analysis of the status quo of personnel construction of health supervision institutions in China[J]. Chinese Journal of Public Health Management, 2023, 39 (5): 617-620.(In Chinese)

[13] 郭丽芳,田庆丰,马兰,等. 基于集聚度的我国卫生监督员公平性分析[J]. 现代预防医学,2020,47(1):168-172.
Guo LF, Tian QF, Ma L, et al. Fairness analysis of health supervision based on agglomeration degree, China [J]. Modern Preventive Medicine, 2020, 47(1): 168-172.(In Chinese)

[14] 朱依曦,冯语盈. 基于 DEA 模型与面板 Tobit 的我国公共卫生资源配置效率研究 [J]. 中国卫生政策研究,2022,15(12):54-59.
Zhu YX, Feng YY. A study on public health resource allocation efficiency in China: Based on DEA model and Panel Tobit [J]. Chinese Journal of Health Policy, 2022, 15(12): 54-59.(In Chinese)

[15] 陈莉华,张荣兵,李蓉,等. 2015-2022 年云南省传染病突发公共卫生事件流行特征分析 [J]. 疾病监测,2023,38(9):1081-1086.
Chen LH, Zhang RB, Li R, et al. Epidemiological characteristics of public health emergencies caused by infectious diseases in Yunnan, 2015-2022 [J]. Disease Surveillance, 2023, 38 (9): 1081-1086.(In Chinese)

[16] Wang HM, Sun J, Shi YF, et al. Driving the effectiveness of public health emergency management strategies through cross-departmental collaboration: Configuration analysis based on 15 cities in China[J]. Front Public Health, 2022, 10: 1032576.

[17] Odone A, Buttigieg S, Ricciardi W, et al. Public health digitalization in Europe [J]. European Journal of Public Health, 2019, 29 (Supplement_3): 28-35.

**收稿日期**:2025-08-12

(上接第 69 页)

Cao J, Wang J, Shi B, et al. Fragile X mental retardation protein targets DDX5 to regulate the Wnt/β-catenin Signaling Pathway and Promote Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast Cancer Cells [J]. Journal of Sichuan University (Medical Science), 2024, 55(5): 1138-1149.(In Chinese)

[26] Alsharif S, Sharma P, Bursch K, et al. Keratin 19 maintains E-cadherin localization at the cell surface and stabilizes cell-cell adhesion of MCF7 cells [J]. Cell Adhesion & Migration, 2021, 15(1): 1-17.

[27] Dai XY, Xin YL, Xu WZ, et al. CBP-mediated Slug acetylation stabilizes Slug and promotes EMT and migration of breast cancer cells[J]. Science China. Life Sciences, 2021, 64(4): 563-574.

[28] 杜沛静,虎恩喜,陶翔,等. 超级增强子介导 GSE1 的转录并通过 Wnt/β-catenin 信号通路促进乳腺癌细胞增殖的机制[J]. 实用医学杂志,2025,41(18):2796-2805.
Du PJ, Hu EX, Tao X, et al. Super-enhancer-mediated GSE1 activation drives breast cancer proliferation through Wnt/β-catenin signaling [J]. The Journal of Practical Medicine, 2025, 41 (18): 2796-2805.(In Chinese)

**收稿日期**:2025-07-23