

双酚 A 与早发性卵巢功能不全相关性的研究进展

陈宝红

【关键词】 双酚 A; 卵巢功能不全, 早发性; 卵巢储备; 作用机制

doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2022.11.024

早发性卵巢功能不全(primary ovarian insufficiency, POI)是指女性在40岁以前出现卵巢功能减退,主要表现为月经异常(闭经、月经稀发或频发)、促性腺激素水平升高、雌激素水平波动性下降,导致患者生育力低下甚至不孕,远期可能并发心血管疾病、骨质疏松症、认知障碍等,对患者的生活质量和身心健康产生不可忽视的负面影响^[1]。既往研究^[2]显示,POI的发病率达1%~7%,而且近年来呈上升趋势。由于缺少全球范围内大样本量的流行病学调查,POI的实际发病率可能远高于此。POI病因复杂,常见的有遗传因素、免疫因素、医源性因素和环境因素,但目前仍有一半以上的POI患者病因不明。因此,迄今尚无确切有效的方法恢复卵巢功能,对于POI的治疗,仅能以缓解症状的雌孕激素替代治疗(hormone replacement therapy, HRT)为主^[3]。对于大多数患者的生育要求,目前所采取的辅助生殖技术和生育力保存等方法也存在技术、伦理、安全、费用等诸多问题。因此,POI的防治已成为生殖内分泌领域的难题。由于POI的发病机制不明,目前已知的遗传、免疫等因素相对复杂且较难控制,探讨环境因素对于POI发生、发展的影响具有重要意义。双酚A(bisphenol A, BPA)是一种环境内分泌干扰物(environmental endocrine disruptors, EED),作为世界上年产量最多的化学制品之一,广泛存在于人们的日常生活中,暴露于机体后可发挥雌激素样活性,对生殖健康产生负面影响。既往研究^[3]显示,BPA暴露会影响卵泡的生长发育,降低卵母细胞的质量,干扰颗粒细胞类固醇激素的分泌,造成卵巢功能减退,可能与POI的发生和发展存在一定联系。本文旨在总结BPA与POI发生的相关性及其作用机制,为POI的防治提供参考。

1 BPA的性质及暴露现状

BPA学名2,2-二(4-羟基苯基)丙烷,简称二酚基丙烷,于1891年由俄国化学家Dianin首次合成,作为环氧树脂、聚碳酸酯等高分子材料合成的重要有机化工原料,被应用至饮用水瓶、婴儿奶瓶、食品包装材料内里、金属表面涂层等的生产中。高温、酸性或者碱性条件可促使BPA分子从聚碳酸酯或环氧树脂中释放出来,再通过食物、饮水或者其他环境介质暴露,经皮肤、呼吸系统或消化系统等多种途径进入人体。BPA在人体内被胃肠道吸收,经肝脏代谢,最后通过尿液排出体外^[3]。有研

究^[4]表明,在饮用水、空气粉尘等环境介质,某些食品塑料包装袋、奶瓶、纸杯等日用品,人体血液、尿液、卵泡液、唾液、乳液等生物样品中均可检测出BPA。由此可见,BPA对人类的暴露无处不在。

BPA的化学结构与雌二醇(estradiol, E₂)和己烯雌酚(diethylstilbestrol, DES)相似,具有弱雌激素效应,是一种普遍存在的EED。自20世纪30年代英国化学家Dodds发现BPA的拟雌激素活性后,一直到20世纪八九十年代,BPA的生理毒性才开始受到生物医疗领域学者们的关注。大量实验研究^[5]表明,BPA可以产生母体毒性和胚胎毒性,低剂量的BPA暴露同样会产生不良的生物学效应。2018年Lee等^[6]采用液相色谱联用质谱(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)技术对韩国六所大学附属医院的318对母亲-新生儿的母亲血清、母亲尿液、胎盘血、母乳、脐带血和新生儿尿液标本进行了BPA水平检测,结果79.5%~100%的母体和胎儿样本中检测到了BPA。上述研究均显示BPA对人类的暴露依然非常广泛。

2 BPA与POI的关系

POI发病的本质即卵巢功能的减退。既往试验研究^[3]显示,产前、围产期和产后接触BPA均会影响胎儿卵巢的发育,诱发卵巢形态异常和损害卵巢功能,特别是原始卵泡的形成,造成卵巢储备功能降低。但目前,国内外关于BPA与POI相关性的流行病学调查鲜有报道,且已有的研究并未证实BPA暴露与POI的发病具有相关性。土耳其一项关于30例POI患者与30位健康不孕女性的病例对照研究采用LC-MS技术检测了受试者血液BPA的水平,结果发现,POI患者血BPA水平高于对照组,但其差异不具有统计学意义^[7]。国内一项关于159例POI患者和186名健康妇女的病例对照研究采用高效液相色谱联用质谱(high performance liquid chromatography, HPLC-MS)技术进行尿液BPA水平检测,并测定了研究对象血液黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)和抗缪勒管激素(anti-mullerian hormone, AMH)的水平,研究结果并未提示BPA与POI发病之间存在关联,FSH和AMH水平也没有与BPA相关的趋势,但LH与BPA水平呈正相关^[8]。考虑到样本量的限制,上述报道的结论并不能完全否定BPA与POI发生之间的相关性,仍需要大样本量的病例对

照研究进一步证实。

3 BPA与POI发生可能相关的卵巢毒性

3.1 BPA对卵泡形成、生长和发育的影响 目前认为,POI主要与以下4种机制相关:①原始卵泡形成受阻;②原始卵泡过度激活;③卵泡闭锁增加;④卵泡生长受阻,导致排卵障碍^[9]。研究已表明,BPA不仅可以影响原始卵泡的组装,导致原始卵泡形成失败,并能刺激原始卵泡的启动募集,加速原始卵泡向初级卵泡的转变,而且可以诱导卵泡的闭锁,减少卵巢储备,可能与POI的发病存在相关性。

3.1.1 BPA影响原始卵泡的形成 在哺乳动物中,雌性动物出生时的原始卵泡是有限的,这个原始卵泡池代表了雌性的整个生殖寿命,原始卵泡的形成需要经历生殖细胞的有丝分裂、生殖细胞巢的崩解、原始卵泡的组装,任何一个环节出现障碍都会影响雌性的生殖能力。既往研究^[10-11]表明,在啮齿动物中,低剂量的BPA暴露会对原始卵泡形成的各个阶段产生不利影响,降低卵巢储备。Zhou等^[10]将新生小鼠的卵巢暴露于不同剂量的BPA(0.1 g/mL、1 g/mL、5 g/mL和10 g/mL)进行体外培养,结果发现在出生后第4、8天,所有剂量的BPA处理均显著增加了生殖细胞的百分比,并降低了原始卵泡的百分比。Zhang等^[11]的实验研究同样发现,当新生小鼠卵巢在体外暴露于10或100 μmol/L的BPA时,生殖细胞巢崩解和原始卵泡组装显著减少。Hunt等^[12]在灵长类动物中进行了相关的研究,通过口服和皮下植入两种方式将BPA暴露于7月龄的恒河猴胚胎,结果发现与啮齿类动物类似,BPA的暴露会导致卵巢上裸露的卵母细胞数量显著增加。上述体外和体内研究显示,BPA暴露会通过抑制生殖细胞巢的崩解、影响原始卵泡的组装,减少原始卵泡的形成。

3.1.2 BPA促进原始卵泡的启动募集 原始卵泡是卵巢唯一的储备形式,原始卵泡形成后处于静息状态,被启动募集的原始卵泡可进入生长阶段,逐渐发育为初级卵泡、次级卵泡和成熟卵泡,这是一个持续且不可逆转的过程。Rodriguez等^[13]对Wistar幼鼠从PND1到PND7饲喂BPA[BPA 20组:20 mg/(kg·d),BPA 0.05组:0.05 mg/(kg·d)],结果发现,与对照组相比,BPA20组卵巢的原始卵泡显著减少,生长卵泡显著增加。赵倩^[14]将出生第4天C57BL/6雌鼠的卵巢组织,置于不同浓度(0.1 μmol/L、1.0 μmol/L、10 μmol/L)的BPA中进行体外培养10天,结果发现暴露于1.0 μmol/L和10 μmol/L浓度BPA的C57BL/6雌鼠卵巢组织原始卵泡数量较对照组显著减少,而初级卵泡数量较对照组增加。上述体外和体内研究显示,BPA可以刺激原始卵泡的启动募集,促进原始卵泡向初级卵泡的转变,导致卵巢储备减少。

3.1.3 BPA诱导卵泡闭锁、凋亡增加 Li等^[15]采用腹腔注射途径将21日龄的雌性Wistar大鼠分别暴露于不同浓度的BPA(10 mg/kg、40 mg/kg和160 mg/kg),结果发现大鼠原始卵泡及各级生长卵泡数量均显著减少。Patel等^[16]对Sprague-Dawley大鼠从孕6天至1年服用不同浓度的BPA[2.5 μg/(kg·d)、

25 μg/(kg·d)、250 μg/(kg·d)、2 500 μg/(kg·d)和25 × 10³ μg/(kg·d)],结果发现暴露于25 μg/(kg·d)和250 μg/(kg·d) BPA的大鼠,其子代在出生后21天时原始卵泡、初级卵泡、窦卵泡及所有正常卵泡的数量较对照组均显著减少。上述研究结果显示,BPA暴露不仅诱导母代大鼠卵泡的闭锁和凋亡,导致各级生长卵泡数目的减少,而且母代妊娠期间的暴露对其子代也会产生相同的卵巢毒性。

3.2 BPA对卵母细胞减数分裂的影响 成熟的、可受精的卵母细胞是女性具备生育能力不可或缺的前提条件。卵母细胞在成熟的过程中需经历两次减数分裂。以往的研究^[17-18]表明,BPA暴露可导致卵母细胞第一次减数分裂前期纺锤体形态异常和染色体排列错乱,影响卵母细胞减数分裂的进程,阻滞卵母细胞的成熟,导致非整倍体卵子的发生,与女性卵母细胞的发育潜能呈负相关。美国一项关于人体细胞体外培养的试验,将卵母细胞暴露于不同浓度的BPA(20 ng/mL、200 ng/mL或20 mg/mL)培养30 h,结果发现BPA暴露导致进展至第二次减数分裂中期(MII期)的卵母细胞减少,退化卵母细胞增加,双极纺锤体和染色体对齐的发生率显著下降^[17]。Teng等^[18]将猪卵母细胞在不同浓度BPA(200 μmol/L、250 μmol/L)培养44 h,结果发现BPA处理卵母细胞的异常率较对照组明显增高,主要表现为卵母细胞纺锤体形态和染色体排列异常。上述研究均说明BPA对卵母细胞减数分裂成熟有不良影响,会导致可受精卵母细胞的数量下降,影响生育力。

3.3 BPA对颗粒细胞类固醇激素分泌的影响 颗粒细胞是卵巢主要的功能细胞,在原始卵泡的形成、卵泡的生长发育、类固醇激素的分泌以及排卵中都具有重要作用。姚燕如等^[19]于取卵日收集了行体外受精/卵胞质内单精子显微注射的54例卵巢储备功能低下(diminished ovarian reserve,DOR)的患者和67例非DOR患者的卵泡液,采用酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)技术测定受试者卵泡液中BPA浓度及激素水平,结果发现DOR组较非DOR组卵泡液中BPA浓度显著升高,AMH、P和E₂水平显著降低。马明月等^[20]将20只妊娠SD大鼠于妊娠第5~20天,分别按不同浓度的BPA[0 mg/(kg·d)、10 mg/(kg·d)、50 mg/(kg·d)、250 mg/(kg·d)]进行灌胃染毒,结果发现50 mg/kg和250 mg/kg组仔鼠出生28~36 d期间,LH、FSH和E₂水平明显降低。上述研究表明,BPA暴露会通过降低颗粒细胞类固醇激素的分泌来干扰卵巢正常功能的维持。

4 BPA与POI发生可能相关的分子机制

4.1 BPA通过弱雌激素作用产生内分泌干扰效应 BPA的化学结构与E₂和DES相似,对雌激素受体(estrogen receptor,ER)具有高亲和力,可以通过与体内的E₂争夺靶细胞上的ER,干扰正常的内分泌机制。BPA与核雌激素受体(nuclear estrogen receptor,nER)结合后,发挥类似于雌激素的生物效应,通过信号通路调控芳香化酶P450(aromatase P450,P450arom)的表达,影响雌激素的分泌,而且可以诱导ER亚型的形成,致使基因的特

异表达,造成组织形态和功能的异常^[21]。BPA 除与 nER 结合外,还可以与膜雌激素受体(membrane estrogen receptor, mER)结合,通过特定的信号通路,促进卵母细胞、颗粒细胞 Ca^{2+} 的内流,更加快速地发挥生物效应,影响甾体激素的分泌^[22]。BPA 通过与不同细胞 nER 和 mER 结合后,激活其介导的特定信号通路,干扰正常的内分泌机制。

4.2 BPA 通过表观遗传学改变产生卵巢毒性 目前,已有许多关于 BPA 通过表观遗传学改变引起生殖细胞遗传变异的研究报道。Santangeli 等^[23]将斑马鱼暴露于不同浓度的 BPA (5、10 和 20 $\mu\text{g/L}$) 处理 3 周,结果表明,5 $\mu\text{g/L}$ 的 BPA 暴露可以通过组蛋白修饰介导的染色质结构变化,下调促进卵母细胞成熟的信号,加快成熟卵泡的凋亡。Yu 等^[24]通过对鸡卵巢的体外培养研究发现,暴露于 BPA 加速了卵母细胞减数分裂前期 I 的进展,可能与 Dazl 和 Stra 8 和 ER β 信号通路的低甲基化有关。因此,表观遗传学改变也是 BPA 发挥卵巢毒性的分子机制之一。

4.3 BPA 通过氧化应激产生卵巢毒性 BPA 具有特定剂量水平的氧化毒性和致癌作用^[25]。Wang 等^[26]对成年雄性 SD 大鼠通过灌胃的方式进行 BPA 染毒,研究发现 BPA 会导致大鼠肝脏硫氧还蛋白过氧化物酶 2(peroxidase 2, prdx2) mRNA 的表达减少,并呈剂量依赖性,提示 BPA 暴露可以通过促进氧化应激干扰正常的生理反应,prdx2 可能是反映其氧化损伤敏感的生物学指标。Teng 等^[18]将猪卵母细胞在不同浓度的 BPA (200 $\mu\text{mol/L}$ 、250 $\mu\text{mol/L}$) 中培养 44 h, 结果发现, BPA 暴露导致凋亡抑制基因 bcl-xL 的表达下调,引起细胞凋亡增加。上述研究提示, BPA 可以通过导致氧化应激系统失衡发挥卵巢毒性。

4.4 BPA 通过干扰信号通路产生卵巢毒性 卵母细胞与其周围包裹的颗粒细胞之间的信息传递依赖于信号分子,如磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/丝苏氨酸蛋白激酶(serine-threonine protein kinase, Akt) 信号通路,通过激酶、磷酸酶和转录因子等多种信号分子和张力蛋白同系物(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN) 负调控因子,一起调节细胞增殖、迁移和代谢,对原始卵泡的生长与闭锁平衡起着重要作用^[27]。Hu 等^[28]研究发现, BPA 暴露会通过下调 PTEN 的表达,导致小鼠卵巢中的原始卵泡过早激活和过度启动。赵倩^[14]将 C57BL/6 雌鼠的卵巢组织暴露于 BPA 进行体外培养,结果亦显示, BPA 暴露可能通过 PI3K/Akt 信号通路过度激活原始卵泡。由此可见, BPA 可以通过信号通路发挥卵巢毒性。

综上所述, BPA 作为塑料制品生产的添加剂,已经成为全球年产量最多的化工原料之一,广泛存在于人们的日常生活中。目前, BPA 对生殖系统的危害,尤其对卵巢的毒性作用引起越来越多的关注。上述研究表明, BPA 暴露可能通过雌激素受体、表观遗传学、氧化应激、信号通路表达等分子机制影响卵泡的生长发育、卵母细胞的数量和质量、类固醇激素的分泌,导致卵巢储备功能降低,在一定程度上提示 BPA 可能与 POI 的发病存在潜在的联系。但目前的研究多以动物实验研究为主,而

且各研究中所选择的 BPA 的暴露方式、剂量、时间、物种、检测方法各有不同。国内外也尚缺乏关于 BPA 与 POI 发生风险相关性的流行病学调查。如果能够构建人体内 BPA 的代谢模型,通过高效便捷的检测手段对体内 BPA 水平进行预测,可为流行病学调查提供更为有利的证据。因此,需要有更多的学者在该领域继续进一步的研究和探讨,旨在呼吁社会对 EED 进行更为规范和严格化的检测和管理,以期减少 POI 等生殖内分泌疾病的发生。

参考文献

- [1] WEBBER L, DAVIES M, ANDERSON R, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency[J]. Hum Reprod, 2016, 31(5): 926-937.
- [2] 程姣姣, 阮祥燕, 冯欣, 等. 生育力保护保存与早发性卵巢功能不全的防治[J]. 临床药物治疗杂志, 2018, 16(3): 1-5.
- [3] PIVONELLO C, MUSCOGIURI G, NARDONE A, et al. Bisphenol A: an emerging threat to female fertility[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2020, 18(1): 1-33.
- [4] HUANG R P, LIU Z H, YIN H, et al. Bisphenol A concentrations in human urine, human intakes across six continents, and annual trends of average intakes in adult and child populations worldwide: a thorough literature review[J]. Sci Total Environ, 2018, 626: 971-981.
- [5] 李明洋. 双酚 A 的两副面孔[J]. 新材料产业, 2019(1): 75-78.
- [6] LEE J, CHOI K, PARK J, et al. Bisphenol A distribution in serum, urine, placenta, breast milk, and umbilical cord serum in a birth panel of mother-neonate pairs[J]. Sci Total Environ, 2018, 626(1): 1494-1501.
- [7] ÖZEL, ŞULE, TOKMAK A, et al. Serum levels of phthalates and bisphenol-A in patients with primary ovarian insufficiency[J]. Gynecol Endocrinol, 2019, 35(4): 1-4.
- [8] LI C, CAO M, QI T, et al. The association of bisphenol A exposure with premature ovarian insufficiency: a case-control study[J]. Climacteric, 2020, 24(1): 95-100.
- [9] VABRE P, GATIMEL N, MOREAU J, et al. Environmental pollutants, a possible etiology for premature ovarian insufficiency: a narrative review of animal and human data[J]. Environ Health, 2017, 16(1): 1-18.
- [10] ZHOU C, WANG W, PERETZ J, et al. Bisphenol A exposure inhibits germ cell nest breakdown by reducing apoptosis in cultured neonatal mouse ovaries[J]. Reprod Toxicol, 2015, 57: 87-99.
- [11] ZHANG T, LI L, XUN S Q, et al. Di-(2-ethylhexyl) phthalate and bisphenol A exposure impairs mouse primordial follicle assembly in vitro[J]. Environ Mol Mutagen, 2014,

- 55(4): 343 – 353.
- [12] HUNT P A, LAWSON C, GIESKE M, et al. Bisphenol A alters early oogenesis and follicle formation in the fetal ovary of the rhesus monkey[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(43): 17525 – 17530.
- [13] RODRÍGUEZ H A, SANTAMBROSIO N, SANTAMARÍA C G, et al. Neonatal exposure to bisphenol A reduces the pool of primordial follicles in the rat ovary[J]. *Reprod Toxicol*, 2010, 30(4): 550 – 557.
- [14] 赵倩. 双酚 A 对新生小鼠始基卵泡体外生长的影响及作用机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2014.
- [15] LI Y, ZHANG W, LIU J, et al. Prepubertal bisphenol A exposure interferes with ovarian follicle development and its relevant gene expression[J]. *Reprod Toxicol*, 2014, 44: 33 – 40.
- [16] PATEL S, BREHM E, GAO L, et al. Bisphenol A exposure, ovarian follicle numbers, and female sex steroid hormone levels: results from a CLARITY – BPA study[J]. *Endocrinology*, 2017, 158(6): 1727 – 1738.
- [17] MACHTING E R, RON I T, COMBELLE S, et al. Bisphenol – A and human oocyte maturation in vitro. [J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(10): 2735 – 45.
- [18] TENG W, JUN H, XING D, et al. The toxic effects and possible mechanisms of Bisphenol A on oocyte maturation of porcine in vitro[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(22): 32554 – 32565.
- [19] 姚燕如, 瞿鑫兰, 张铭, 等. 卵泡液中双酚 A 浓度与卵巢储备功能下降的相关性[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2017, 38(5): 762 – 764, 793.
- [20] 马明月, 张玉敏, 裴秀丛, 等. 孕期暴露双酚 A 对子代雌性大鼠卵巢类固醇激素合成的影响[J]. *工业卫生与职业病*, 2015(1): 7 – 10.
- [21] SIFAKIS S, ANDROUTSOPOULOS V P, TSATSAKIS A M, et al. Human exposure to endocrine disrupting chemicals: effects on the male and female reproductive systems[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2017, 51: 56 – 70.
- [22] 晏佩佩, 潘晓燕, 王雪楠, 等. 双酚 A 对雌性生殖器官的影响及作用机制[J]. *中国医学科学院学报*, 2013, 35(6): 683 – 683.
- [23] SANTANGELI S, MARADONNA F, GIOACCHINI G, et al. BPA – induced deregulation of epigenetic patterns: effects on female zebrafish reproduction[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21982.
- [24] YU M, XU Y, LI M, et al. Bisphenol A accelerates meiotic progression in embryonic chickens via the estrogen receptor β signaling pathway[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2018, 259: 66 – 75.
- [25] YAO D, HH A, HAO W A, et al. Bisphenol A exposure, interaction with genetic variants and colorectal cancer via mediating oxidative stress biomarkers [J]. *Environ Pollut*, 2021, 287: 117630.
- [26] WANG X, ZHANG Z, DONG H B, et al. Effect of bisphenol A on antioxidant capacity in male rats [J]. *Progr Mod Biomed*, 2011, 11(8): 1420 – 1423.
- [27] CHEN C, LI S, HU C, et al. Protective effects of puerarin on premature ovarian failure via regulation of Wnt/ β – catenin signaling pathway and oxidative stress[J]. *Reprod Sci*, 2020, 28(4): 982 – 990.
- [28] HU Y, YUAN D Z, WU Y, et al. Bisphenol a initiates excessive premature activation of primordial follicles in mouse ovaries via the PTEN signaling pathway [J]. *Reprod Sci*, 2018, 25(4): 609 – 620.

(2021 – 11 – 16 收稿)

(本文编校: 张迪, 崔月婷)