

· 基础医学 ·

NTN1 调控 ERK 信号通路拮抗 PCBs 暴露致视网膜神经节细胞发育异常

张舒纯¹, 张 昕¹, 李景云², 池 霞^{1,3}, 童梅玲^{1*}¹南京医科大学附属妇产医院(南京市妇幼保健院)儿童保健科, ²医学研究中心, 江苏 南京 210004; ³南京医科大学儿科学院, 江苏 南京 210029

[摘 要] 目的:研究轴突导向因子-1(netrin-1, NTN1)在拮抗多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs)暴露致视网膜神经节细胞 RGC-5 发育异常的作用及机制。方法:采用 RT-qPCR 和 Western-blot 检测 PCBs 暴露后 RGC-5 细胞的 NTN1 及 ERK 信号分子的表达水平;利用 NTN1 小干扰 RNA 及 NTN1 过表达慢病毒感染 RGC-5 细胞,分别为 si-NTN1 组和 NTN1 过表达+PCB₁₂₅₄组,同时设立阴性对照组、空载慢病毒+PCB₁₂₅₄组、PCB₁₂₅₄组和空白组,采用 CCK-8 法检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞周期、细胞凋亡,RT-qPCR 及 Western blot 检测 ERK 信号分子的表达水平。结果:①PCB₁₂₅₄暴露后,RGC-5 细胞内 NTN1 及 p-ERK 的表达显著减少;②NTN1 沉默会导致 RGC-5 细胞活力降低和 S 期阻滞;NTN1 沉默显著抑制 ERK 信号分子的磷酸化;③NTN1 过表达可以挽救 PCB₁₂₅₄ 暴露后 RGC-5 细胞的增殖活力,使 S 期细胞比例减少,同时 ERK 磷酸化水平升高。结论:NTN1 可以通过调控 ERK 信号通路来拮抗 PCB₁₂₅₄ 暴露所致的视网膜神经节细胞增殖能力下降,使 S 期细胞比例减少,缓解 PCBs 对视网膜发育的毒性作用。

[关键词] NTN1;RGC-5 细胞;PCB₁₂₅₄;ERK 信号通路;细胞增殖**[中图分类号]** R779.1**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2021)04-496-07

doi:10.7655/NYDXBNS20210404

NTN1 antagonizes the abnormal development of retinal ganglion cells caused by PCBs exposure by regulating ERK signaling pathway

ZHANG Shuchun¹, ZHANG Xin¹, LI Jingyun², CHI Xia^{1,3}, TONG Meiling^{1*}¹Department of Child Health Care, ²Department of Medical Research Center, the Affiliated Obstetrics and Gynecology Hospital of Nanjing Medical University (Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital), Nanjing 210004; ³Institute of Pediatrics, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects and mechanisms of netrin-1 (NTN1) in antagonizing polychlorinated biphenyls (PCBs) toxicity in retinal ganglion cells RGC-5. **Method:** RT-qPCR and Western blot were used to detect the expression levels of NTN1 and ERK signaling molecules in RGC-5 cells after exposure to PCB₁₂₅₄; NTN1 small interfering RNA and NTN1 overexpression lentivirus were used to transfect RGC-5 cells, and control groups were set as negative control group and empty lentivirus group, and treated with or without PCB₁₂₅₄. Cell proliferation was detected by CCK-8 assay, cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry, and expression levels of ERK signal molecules were detected by RT-qPCR and Western blot. **Results:** ①After exposure to PCB₁₂₅₄, the expression levels of NTN1 and p-ERK in RGC-5 cells were significantly reduced. ②NTN1 silencing reduced RGC-5 cell proliferation and led to S phase arrest; NTN1 silencing significantly inhibited the phosphorylation of ERK signaling molecules. ③NTN1 overexpression rescued the proliferation of RGC-5 cells after PCB₁₂₅₄ exposure, reduced the proportion of S phase cells, and increased the phosphorylation level of ERK. **Conclusion:** NTN1 can regulate the ERK signaling pathway to antagonize the decline in the proliferation of retinal ganglion cells caused by PCB₁₂₅₄ exposure, reduce the proportion of S-phase cells, and alleviate the toxic

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81670900);江苏省重点研发计划社会发展项目(BE2018615);南京市科技发展一般项目(YKK19115)

*通信作者(Corresponding author), E-mail:meilingtong111@126.com

effects of PCB₁₂₅₄ on retinal development.

[Key words] NTN1;RGC-5;PCB₁₂₅₄;ERK signaling pathway;cell proliferation

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(04):496-502]

多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs),作为一种常见的环境污染物,会对儿童的视觉发育造成影响。研究表明,误食PCBs污染的食物会导致子代出现眶周水肿、视力下降、视功能减低等表现^[1-2]。前期实验表明,PCBs暴露可导致子代斑马鱼畸形率和死亡率明显升高,子代斑马鱼视网膜形态异常,导致其视动反应敏感性降低,抑制视网膜神经节细胞的增殖并促进其凋亡^[3-4],PCB₁₂₅₄可以通过抑制miR-182的表达来影响RGC-5细胞的增殖和凋亡^[5]。然而,PCBs暴露导致视网膜尤其是神经节细胞发育异常的具体机制尚不明确。轴突导向因子-1(netrin-1, NTN1)作为一种神经轴突导向因子,在胚胎发育中发挥重要的调控作用。NTN1可通过介导视神经乳头,与视神经发育密切相关,其缺失会造成视神经乳头发育不良,细胞减少,视杯发育不全^[6-7]。因此,本研究以视网膜神经节细胞RGC-5为研究对象,探讨NTN1在PCBs暴露致子代视网膜神经节细胞发育异常中的作用机制,从而为环境污染物暴露致子代视网膜发育异常的防治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

视网膜神经节细胞株RGC-5购自美国ATCC细胞库。DMEM高糖培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、青链霉素、0.25%胰酶(Thermo公司,美国);PCB₁₂₅₄、Lip3000、聚凝胺(polybrene)(Sigma公司,美国);ERK、p-ERK抗体和山羊抗兔辣根过氧化物酶标抗体(CST公司,美国)、GAPDH抗体(武汉三鹰生物技术有限公司)、β-actin和NTN1抗体(Abcam公司,美国);CCK-8试剂盒(同仁公司,日本);细胞周期检测试剂盒(苏州宇恒生物科技有限公司);总RNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司);cDNA反转录试剂盒(Thermo公司,美国);NTN1过表达慢病毒及小干扰RNA(上海吉玛制药技术有限公司);NTN1扩增引物(上海捷瑞生物工程有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

配制含10%胎牛血清、1%青链霉素的DMEM高

糖培养液培养大鼠RGC-5细胞,置于37℃、含5%CO₂细胞培养箱中,待细胞长至80%融合时传代。调整细胞密度为5×10⁶个/L接种至6孔板内,待细胞长至70%融合时进行染毒或转染。

1.2.2 PCB₁₂₅₄染毒液配制及染毒

PCB₁₂₅₄以甲醇为助溶剂配制浓度为1.0 g/L的储备液备用,4℃冰箱储存。前期研究得出PCB₁₂₅₄对RGC-5细胞半数致死量(LC₅₀)为3.409 mg/L(数据未发表),使用DMEM完全培养基将1.0 g/L的储备液稀释成4个工作浓度,分别是0.625、1.250、2.500和5.000 mg/L,并设立空白对照组及0.01%甲醇对照组。

1.2.3 小干扰RNA转染细胞及慢病毒感染细胞

调整细胞浓度为5×10⁶个/L接种至6孔板内,待细胞长至70%融合时使用NTN1小干扰RNA借助Lip3000进行转染,小干扰RNA序列见表1。用于过表达的慢病毒构建体和阴性对照载体,按制造商的说明进行细胞感染。融合度为40%时,RGC-5细胞感染了阴性对照慢病毒(lv-NC, 1×10⁹ TU/mL)或NTN1慢病毒(lv-NTN1, 1×10⁹ TU/mL)并与5 μg/mL Polybrene混合。感染24 h后,将细胞置于新鲜培养基中,并用嘌呤霉素筛选出稳转细胞株。

1.2.4 RGC-5细胞功能检测

细胞计数后接种于96孔板,每孔4 000个细胞,贴壁培养12 h后按不同实验目的处理。每组设5个平行孔,设对照孔和空白孔,每孔加入CCK-8试剂10 μL,孵育2 h后,在酶标仪上测定450 nm处的吸光度。细胞活力=(实验组吸光度值-空白吸光度值)/(对照组吸光度值-空白吸光度值)×100%,计算出各组细胞活力百分比来反映细胞的增殖能力。使用细胞DNA含量检测试剂盒及流式细胞仪检测细胞周期。使用凋亡双染试剂盒和流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.2.5 RT-qPCR检测NTN1的mRNA表达

在染毒或转染48 h后用TRIzol裂解细胞,按试剂盒提取步骤,提取和纯化总RNA并测定浓度。利用反转录试剂盒配制反应体系将样品反转录为cDNA,反应条件为25℃ 5 min, 42℃ 60 min, 70℃ 5 min, 4℃ 10 min。根据试剂盒说明,使用SYBR

green 配制反应体系,在 PCR 扩增仪上对目的基因 NTN1 和内参基因 GAPDH 进行扩增。以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算实验组目的基因相对于对照组目的基因的表达倍数。实验重复 3 次,取均值。引物序列见表 1。

表 1 引物及小干扰 RNA 设计
Table 1 Sequences of PCR Primers and siRNA

名称	序列 5'→3'
NTN1 引物	上游:CCGAAAATCAAGCCCCTCAA 下游:TGTCTGCCACGATGCCACTC
β -actin 引物	上游:GAGAGGGAAATCGTGCGT 下游:GGAGGAAGAGGATGCGG
si-NTN1	上游:GCAUCCCGGACUUUGUCAATT 下游:UUGACAAAGUCCGGAUGCTT
si-NC	上游:UUCUCCGAACGUGUCACGUTT 下游:ACGUGACACGUUCGGAGAATT

1.2.6 Western blot 检测 NTN1 及 ERK 信号通路相关蛋白的表达

在染毒或转染 RGC-5 细胞 48 h 后,收集细胞提取总蛋白检测 NTN1、p-ERK 和 ERK 的蛋白表达。将等量的样品在 10%SDS-PAGE 凝胶上进行电泳,120 V 恒压电泳,300 mA 恒流转膜 90 min,室温 5% 脱脂奶粉溶液封闭 2 h,4 ℃ 孵育一抗过夜,TBST 洗膜后二抗常温孵育 90 min,最后使用 ECL 发光液,暗室胶片曝光。实验均重复 3 次,取平均值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS25.0 进行统计分析。实验结果以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据比较采用单因素方差分析,LSD-*t* 检验进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

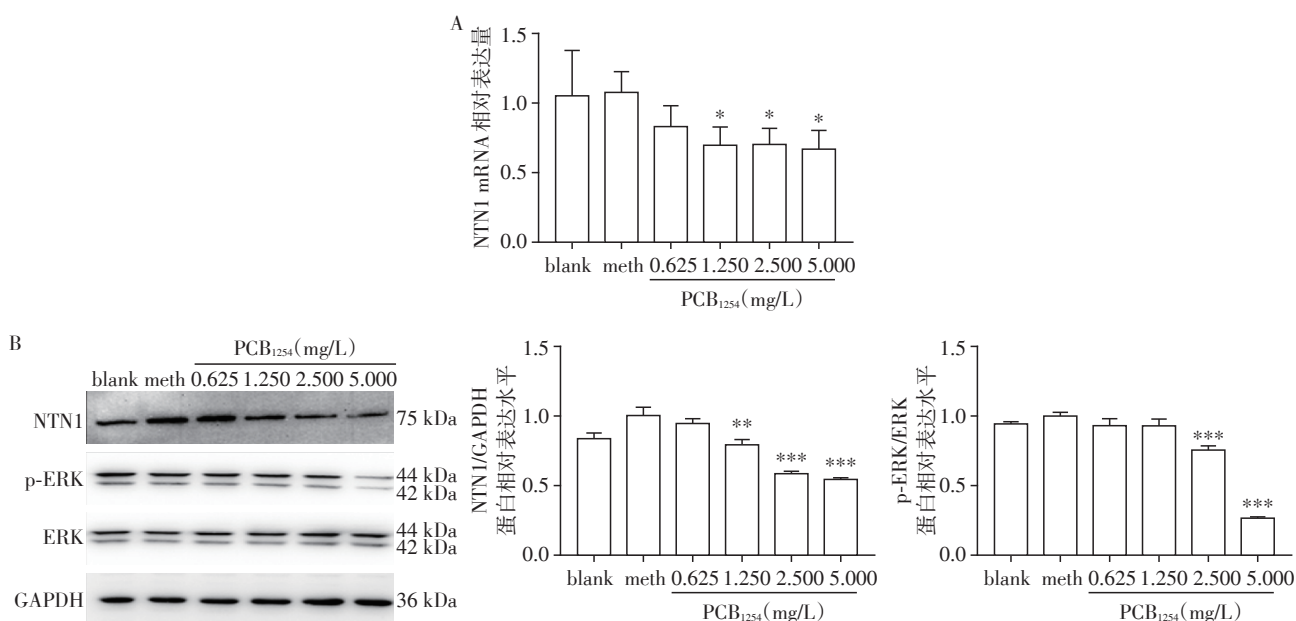
2 结果

2.1 PCB₁₂₅₄ 暴露对 RGC-5 细胞中 NTN1 表达水平和 ERK 通路的影响

RT-qPCR 结果显示,与溶剂对照组(meth 组)相比,PCB₁₂₅₄ 暴露后 NTN1 mRNA 表达降低($P < 0.05$, 图 1A);Western blot 结果显示,与溶剂对照组(meth 组)相比,NTN1 及 p-ERK 的蛋白表达量均降低,当 PCB₁₂₅₄ 暴露浓度为 2.5 mg/L 时,NTN1 及 p-ERK 水平较对照组降低显著,但总 ERK 表达量基本不变,差异有统计学意义,在 5 mg/L 组中差异更明显(图 1B)。提示 PCBs 暴露可能通过降低 NTN1 的表达从而抑制 ERK 信号分子的磷酸化。

2.2 沉默 NTN1 对 RGC-5 细胞功能及 ERK 信号通路的影响

采用 NTN1 小干扰 RNA 转染细胞,RT-qPCR 及 Western blot 方法检测转染效率,结果显示,沉默组 NTN1 mRNA 和蛋白表达与对照组(si-NC 组)比较均明显下降,提示转染成功,差异有统计学意义(图 2A、B)。细胞周期检测结果显示,沉默组 S 期细胞



A: 不同浓度 PCB₁₂₅₄ 暴露后各组细胞内 NTN1 的 mRNA 表达水平($n=9$); B: 不同浓度 PCB₁₂₅₄ 暴露后各组细胞内 NTN1 及 ERK 信号通路分子(ERK 信号分子磷酸化水平)的蛋白表达水平($n=3$)。与溶剂对照组(meth 组)比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

图 1 PCB₁₂₅₄ 暴露后对 RGC-5 细胞中 NTN1 的表达水平和 ERK 通路的影响

Figure 1 Effects of PCB₁₂₅₄ exposure on NTN1 expression level and ERK pathway in RGC-5 cells

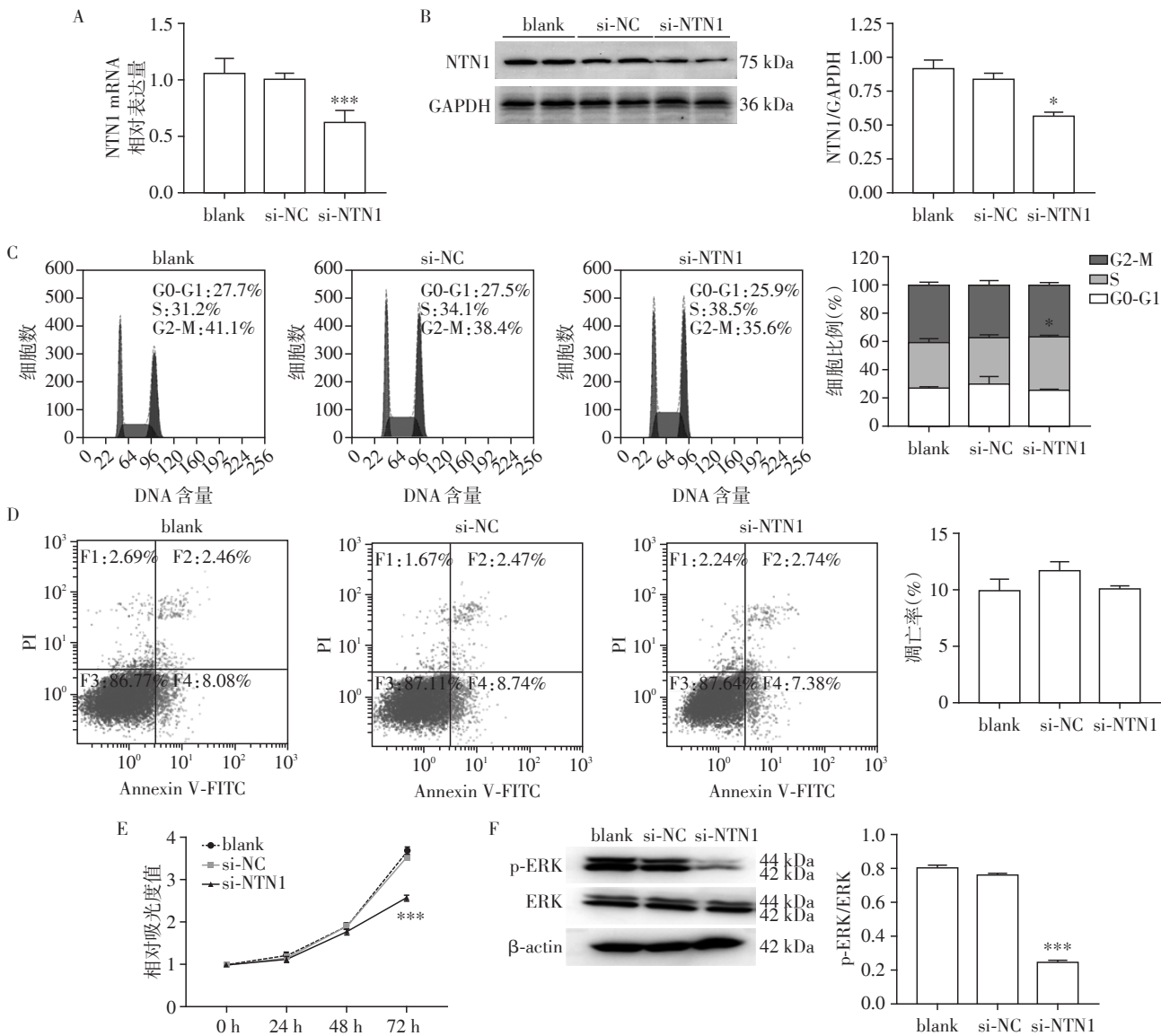
比例高于si-NC组,差异有统计学意义(图2C),提示NTN1沉默可能使细胞停滞于S期。细胞凋亡检测结果显示,沉默组与对照组相比无明显差异(图2D),提示NTN1沉默对RGC-5细胞的凋亡无明显影响。CCK-8实验结果表明,与si-NC组相比,72 h时沉默组中吸光度值相对倍数低于阴性对照组,差异有统计学意义(图2E),提示NTN1沉默抑制了RGC-5细胞的增殖能力。

ERK信号通路蛋白水平检测结果显示,沉默组p-ERK表达下降,而总ERK水平不变,差异有统计学意义(图2F),提示NTN1有可能通过ERK信号通

路来发挥作用。

2.3 过表达NTN1对PCB₁₂₅₄暴露后RGC-5细胞功能及ERK信号通路的影响

采用NTN1过表达慢病毒感染细胞,利用RT-qPCR及Western blot检测感染效率,结果显示,lv-NTN1组NTN1 mRNA及蛋白表达水平与lv-NC组比较均明显升高,提示NTN1成功(图3A、B)。细胞周期实验结果显示,lv-NTN1+PCB组S期细胞比例低于lv-NC+PCB组,差异有统计学意义(图3C),提示NTN1过表达可以逆转PCB₁₂₅₄对细胞增殖及周期的影响。CCK-8结果显示,与空白组(blank)相比,PCB



A: NTN1 沉默后各组细胞内 NTN1 的 mRNA 表达水平(n=9); B: NTN1 沉默后各组细胞内 NTN1 的蛋白表达水平(n=3); C: NTN1 沉默后的细胞周期变化(n=3); D: NTN1 沉默后的细胞凋亡变化(n=3); E: NTN1 沉默后的细胞增殖变化(n=5); F: NTN1 沉默后对 p-ERK 及 ERK 信号分子的影响(n=3)。与 si-NC 组比较, *P < 0.05, ***P < 0.001。

图2 沉默NTN1对RGC-5细胞功能及对ERK信号通路的影响

Figure 2 Effect of NTN1 silencing on RGC-5 cell function and ERK signaling pathway

暴露组显著降低了RGC-5细胞的增殖能力;与lv-NC+PCB组相比,NTN1过表达减轻了PCB₁₂₅₄的毒性作用,提高了RGC-5细胞的增殖能力,差异有统计学意义(图3D)。本研究进一步利用Western blot方法检测了各组ERK信号通路蛋白的表达,结果显示,lv-NTN1+PCB组较lv-NC+PCB组p-ERK表达升高,而总ERK水平不变,差异有统计学意义(图3E),提示NTN1可能通过ERK磷酸化水平调节PCBs暴

露后视网膜神经节细胞的功能。

3 讨论

随着社会经济和现代医学的发展,受环境因素、遗传因素等影响的儿童先天性遗传性眼病等的发生率逐步增高。视网膜功能异常与儿童眼病的发生发展密切相关。任何异常的视觉环境(包括环境污染)都可能影响视觉系统的正常发育,导致视

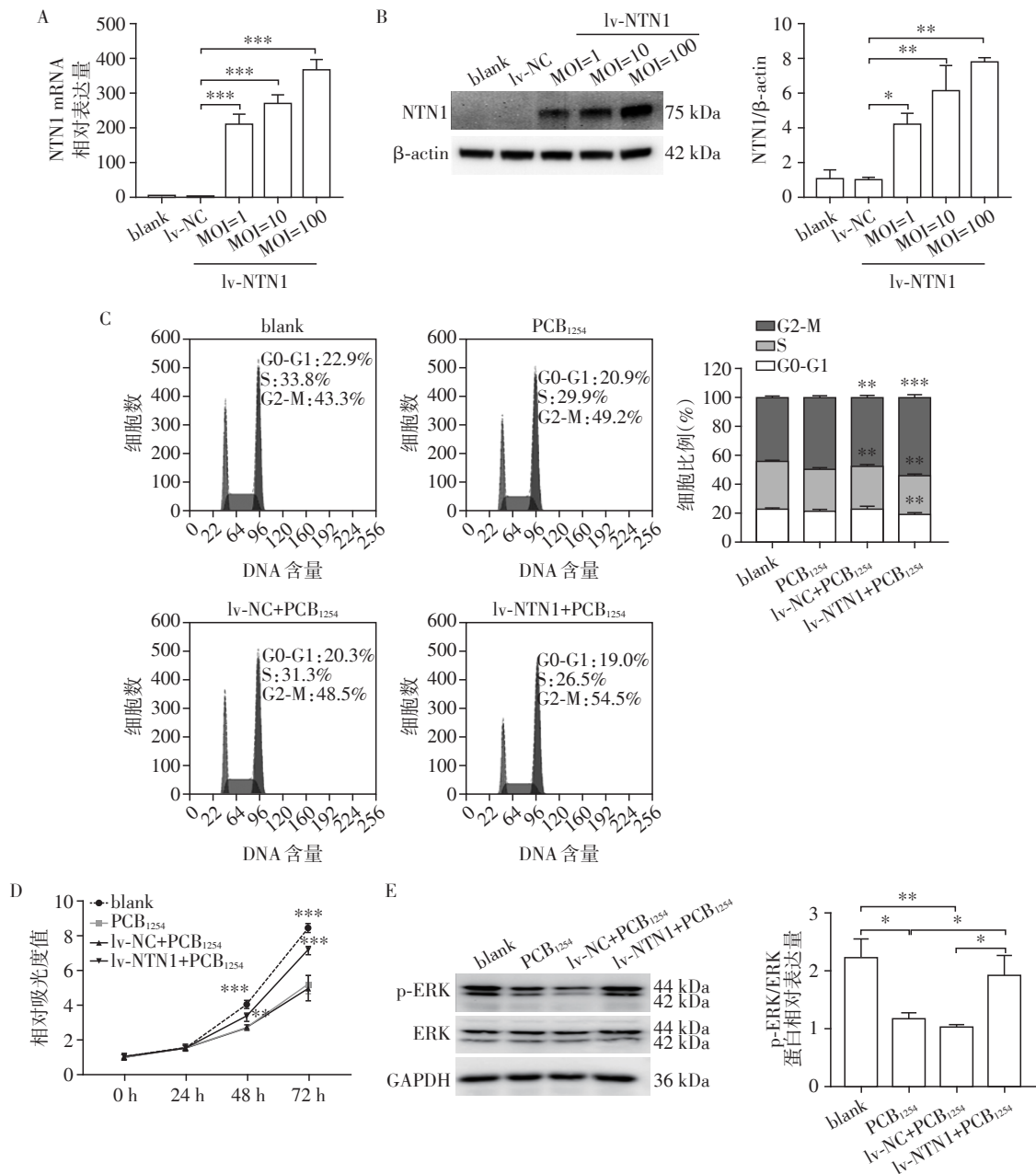


图3 过表达NTN1对PCB₁₂₅₄暴露后RGC-5细胞功能及对ERK信号通路的影响

Figure 3 Effects of overexpression of NTN1 on RGC-5 cell function and ERK signaling pathway after PCB₁₂₅₄ exposure

网膜功能障碍和视力减退^[8]。环境化学污染物对儿童眼健康危害日益受到重视,弱视儿童血铅水平显著高于视力正常儿童;母孕期暴露有机溶剂可导致子代视觉感知障碍^[2,8-9]。究其原因:①0~6岁是儿童视网膜发育和视功能形成的关键时期,②儿童对环境污染较成人易感且对污染物耐受性差^[10-11]。因此,探索环境污染对儿童视网膜发育的影响和机制,有助于阐明儿童眼病的发生机制,为儿童眼病的防治提供新思路。

PCBs作为一种常见的环境污染物,具有毒性高、半挥发性、长期残留性等特点,并持续存在于土壤、水体、空气及食物(肉类、鱼类、母乳)中。尽管PCBs已被禁止生产,但在环境中仍可以长期存在。在我国,PCBs的污染现状已不容忽视,大多数沿海地区海水中的PCBs浓度均高于国际标准(30 ng/L)^[12];长江入海口表层沉积物中PCBs的质量分数平均值为41.65 ng/L^[13]。环境中的PCBs可以通过食物链蓄积在生物体中,且可以通过胎盘屏障导致子代暴露,通过原型或其代谢产物发挥毒性作用。“米糠油”事件导致新生儿眶周水肿、视力下降;美国也曾报道食用PCBs污染的密西根湖鱼导致儿童视觉识别记忆功能受损^[2,9]。更有研究显示,即使低水平的PCBs通过胎盘转移到胎儿也可能引起长期的神经系统损害^[14-15]。本课题组前期研究结果亦证实,胚胎期斑马鱼暴露PCBs后导致斑马鱼幼鱼视网膜厚度增加,细胞排列紊乱,细胞数量减少,且会导致幼年斑马鱼视动反应行为异常^[3-4];PCBs暴露会减慢RGC-5的增殖和分裂,诱导RGC-5凋亡^[16]。因此,深入研究胚胎期PCBs暴露与子代视网膜发育的机制研究已十分必要。

文献表明,醋酸铅可致大鼠脑组织中神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)表达异常^[17]。低浓度甲醛可致大鼠肺和脑中NGF表达量显著上调,而高浓度甲醛作用下大鼠肺和脑中NGF表达量反而下降^[18]。PCB处理的大鼠海马中紧密连接蛋白和BDNF减少^[19],提示化学污染物会导致神经生长因子表达异常。本研究结果亦表明,2.5 mg/L以下浓度PCBs暴露后NTN1表达下调。NTN1作为Netrin家族的一员,是最早发现的可溶性神经导向因子之一,在神经系统的发育过程中为神经元和轴突的靶向迁移提供信号。在神经系统发育过程中,NTN1可刺激神经元和神经轴突的生长和定位,引导神经元和轴突到达靶体,对胚胎发育过程中细胞增殖、迁移、形态发生和血管新生等功

能发挥重要的调控作用。眼中NTN1主要在视杯中表达,其蛋白定位在胞外,功能域是“NTR”。文献表明,在视觉系统中,NTN1在视网膜神经节细胞的轴突生长和靶区分支中起关键作用,NTN1可以影响视觉电路的形成,在功能性视觉系统发展的关键阶段以多种方式塑造突触前和突触后树突的形态^[20];NTN1基因可通过介导视神经乳头,与视神经发育密切相关^[7];NTN1基因缺失会造成视神经乳头发育不良,细胞减少,视杯发育不全^[6]。通过小干扰RNA过表达慢病毒感染RGC-5细胞使得NTN1沉默,结果发现视网膜神经节细胞的增殖能力受到抑制,细胞周期停滞于S期,这一结果与本课题组前期研究PCBs对视网膜神经节细胞的损伤作用基本一致,提示NTN1作为一种神经轴突导向因子可能参与调控PCBs暴露导致视网膜神经节细胞的发育异常。

已有研究报道NTN1对MAPK信号通路有影响,MAPK通路有4种主要的分支路线:ERK、JNK、p38/MAPK和ERK5。本研究组在前期实验中检测了PCBs暴露后MAPK明星通路的主要分子表达水平,ERK信号通路的差异结果一致性较好。ERK是MAPK信号通路中的一员,通过磷酸化多种底物蛋白来调节细胞多种生理过程,如细胞的生长、分裂、增殖、凋亡等。因此,本研究选择ERK信号通路作为进一步研究的对象。NTN1可以通过调控ERK信号通路发挥生物学作用^[21]。NTN1激活ERK信号通路减弱了缺氧-葡萄糖剥夺(OGD)诱导的细胞死亡和神经元凋亡,保护神经元免受脑卒中诱导的细胞凋亡^[22];NTN1还可以通过激活高糖处理的角膜上皮细胞中ERK和EGFR的磷酸化,调节糖尿病小鼠神经纤维再生^[23]。本研究发现,PCBs暴露和NTN1沉默可以降低ERK磷酸化水平,抑制细胞增殖能力,使细胞周期停滞在S期,而NTN1过表达增加了PCBs暴露后视网膜神经节细胞的磷酸化ERK的表达,恢复了细胞增殖能力,使S期细胞比例减少,提示NTN1过表达可以缓解PCBs对视网膜发育的毒性作用。

本研究探讨了NTN1在PCBs暴露致视网膜神经节细胞发育异常中的作用,但调控机制的研究尚浅,仍需进一步在动物水平深入研究。

[参考文献]

- [1] BERGHUIS S, BOS A F, SAUER P J, et al. Developmental neurotoxicity of persistent organic pollutants: an update on childhood outcome [J]. Arch Toxicol, 2015, 89 (5):687-709

- [2] TILL C, WESTALL C A, KOREN G, et al. Vision abnormalities in young children exposed prenatally to organic solvents[J]. *Neurotoxicology*, 2005, 26(4): 599–613
- [3] WANG Y P, HONG Q, QIN D N, et al. Effects of embryonic exposure to polychlorinated biphenyls on zebrafish (*Danio rerio*) retinal development [J]. *J Appl Toxicol*, 2012, 32(3): 186–193
- [4] ZHANG X, HONG Q, YANG L, et al. PCB₁₂₅₄ exposure contributes to the abnormalities of optomotor responses and influence of the photoreceptor cell development in zebrafish larvae [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2015, 118: 133–138
- [5] 张晓倩, 张 昕, 李 楠, 等. miR-182 在多氯联苯 (PCB₁₂₅₄) 暴露后视网膜神经节细胞内的表达及意义 [J]. *南京医科大学学报 (自然科学版)*, 2017, 37(1): 35–39
- [6] DEINER M S, KENNEDY T E, FAZELI A, et al. Netrin-1 and DCC mediate axon guidance locally at the optic disc: loss of function leads to optic nerve hypoplasia [J]. *Neuron*, 1997, 19(3): 575–589
- [7] DEINER M S, SRETAVAN D W. Altered midline axon pathways and ectopic neurons in the developing hypothalamus of netrin-1- and DCC-deficient mice [J]. *J Neurosci*, 1999, 19(22): 9900–9912
- [8] CARLTON J, KALTENTHALER E. Amblyopia and quality of life: a systematic review [J]. *Eye (Lond)*, 2011, 25(4): 403–413
- [9] JIMÉNEZ B I, BOON M Y, KHUU S K. Exposure to organic solvents used in dry cleaning reduces low and high level visual function [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0121422
- [10] SOBIENIECKI A, GUTOWSKA I, MACHALIŃSKA A, et al. Retinal degeneration following lead exposure - functional aspects [J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2015, 69: 1251–1258
- [11] TILL C, WESTALL C A, ROVET J F, et al. Effects of maternal occupational exposure to organic solvents on offspring visual functioning: a prospective controlled study [J]. *Teratology*, 2001, 64(3): 134–141
- [12] 刘敏霞, 杨玉义, 李庆孝, 等. 中国近海海洋环境多氯联苯 (PCBs) 污染现状及影响因素 [J]. *环境科学*, 2013, 34(8): 3309–3315
- [13] 黄 宏, 尹 方, 吴 莹, 等. 长江口表层沉积物中多氯联苯残留和风险评价 [J]. *同济大学学报 (自然科学版)*, 2011, 39(10): 1500–1505
- [14] RIVA E, GRANDI F, MASSETTO N, et al. Polychlorinated biphenyls in colostral milk and visual function at 12 months of life [J]. *Acta Paediatr*, 2004, 93(8): 1103–1107
- [15] FAROON O, JONES D, DE ROSA C. Effects of polychlorinated biphenyls on the nervous system [J]. *Toxicol Ind Health*, 2000, 16(7/8): 305–333
- [16] WEI N, ZHANG X, HONG Q, et al. The sonic hedgehog signaling pathway is suppressed following PCB (1254) exposure during retinal development [J]. *Environ Toxicol*, 2019, 34(3): 340–347
- [17] 张 荣, 牛玉杰, 赵春芳, 等. 醋酸铅对大鼠脑组织神经生长因子表达的影响 [J]. *卫生毒理学杂志*, 2004, 18(3): 134–137
- [18] 吴 凯, 杨 旭, 徐东群, 等. 气态甲醛暴露对神经生长因子表达影响的体内实验 [J]. *环境科学学报*, 2008, 28(7): 1413–1418
- [19] SELVAKUMAR K, BAVITHRA S, KRISHNAMOORTHY G, et al. Impact of quercetin on tight junctional proteins and BDNF signaling molecules in hippocampus of PCBs-exposed rats [J]. *Interdiscip Toxicol*, 2018, 11(4): 294–305
- [20] NAGEL A N, MARSHAK S, MANITT C, et al. Netrin-1 directs dendritic growth and connectivity of vertebrate central neurons in vivo [J]. *Neural Dev*, 2015, 10(14): 14
- [21] ZHANG X, CUI P, DING B, et al. Netrin-1 elicits metastatic potential of non-small cell lung carcinoma cell by enhancing cell invasion, migration and vasculogenic mimicry via EMT induction [J]. *Cancer Gene Ther*, 2018, 25(1/2): 18–26
- [22] CHEN J, DU H, ZHANG Y, et al. Netrin-1 prevents rat primary cortical neurons from apoptosis via the DCC/ERK pathway [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 387
- [23] ZHANG Y, CHEN P, DI G, et al. Netrin-1 promotes diabetic corneal wound healing through molecular mechanisms mediated via the adenosine 2B receptor [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5994

[收稿日期] 2020-08-08