

DOI: 10.13376/j.cbls/2023104

文章编号: 1004-0374(2023)07-0935-12

邻苯二甲酸酯的生殖毒性及分子机制研究进展

邱爽¹, 宋明明¹, 刘畅^{1,2*}

(1 中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 211198; 2 重庆中国药科大学创新研究院, 重庆 401135)

摘要: 近年来, 工业化、城市化的发展以及消费主义的盛行加重了环境污染(如辐射、重金属污染、空气污染、有机污染等)。这类有害污染物对生物体甚至对其后代造成健康威胁, 进而引起全球关注。这类有害的环境污染物被定义为一类干扰体内天然血源性激素的合成分泌, 扰乱机体稳态, 阻碍生殖发育的内分泌干扰物(endocrine-disrupting chemicals, EDCs)。邻苯二甲酸酯(phthalate esters, PAEs)作为内分泌干扰物中广泛使用的一种, 在多种环境介质中分布存在。该文总结了PAEs的来源和用途, 总结了其对生殖系统的毒性效应, 并对其分子作用机制进行了探讨。机体暴露于PAEs后, 核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、核因子-κB(nuclear factor κB, NF-κB)以及磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/AKT信号通路在氧化应激、炎症、凋亡和癌症过程中的作用已被众多研究所证明。未来的研究可以聚焦于这些分子靶标的药物研发上, 以减少PAEs引起的毒性作用。

关键词: 邻苯二甲酸酯; 生殖毒性; 核因子E2相关因子2; 核因子-κB; 磷脂酰肌醇-3-激酶

中图分类号: [Q89]; R99; X5 **文献标志码:** A

Research progress on reproductive toxicity and molecular mechanism of phthalates esters

QIU Shuang¹, SONG Ming-Ming¹, LIU Chang^{1,2*}

(1 School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China;

2 Chongqing Innovation Institute of China Pharmaceutical University, Chongqing 401135, China)

Abstract: In recent years, progressive industrialization, urbanization, and consumerism have led to environmental pollution (such as radiation, heavy metal pollution, air pollution, organic pollution, etc.). Such harmful pollutants pose a threat to the health of organisms and even their offspring, causing global concern. Endocrine-disrupting chemicals are defined as a group of widespread exogenous agents that interfere with the synthesis, secretion, transport, metabolism, binding action, or elimination of natural blood-borne hormones that are present in the body and are responsible for homeostasis, and reproduction and developmental processes. As a widely used endocrine disruptors, the phthalate esters (PAEs) are extensively distributed in many environmental matrices. The article provides an overview of the sources and applications of PAEs, summarizes their toxic effects on the reproductive system, and discusses their molecular mechanisms of action. In various studies, the role of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), nuclear factor κB (NF-κB), and phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) /AKT signaling pathways in oxidative stress, inflammation, apoptosis, and cancer after exposure to PAEs have been demonstrated. Future research should focus on drug development of these molecular targets to reduce the toxic effects caused by PAEs.

Key words: phthalate esters; reproductive toxicity; Nrf2; NF-κB; PI3K

收稿日期: 2022-11-09; 修回日期: 2022-12-15

基金项目: 国家重点研发计划子课题(2021YFF0702000); 国家自然科学基金重大研究计划培育项目(92057112)

*通信作者: E-mail: changliu@cpu.edu.cn; Tel: 13515100092

环境是人类健康和社会发展的一个重要决定因素。当前,全球环境污染已成为困扰世界各国的突出问题。Wild^[1]于2005年提出了暴露组学的概念,这是一个研究机体在环境暴露累积后,从出生到死亡伴随的一系列生物反应的学科。近年来,特别是对人群暴露于内分泌干扰物(endocrine-disrupting chemicals, EDCs)的研究得到了全球空前重视。EDCs被定义为一类干扰体内激素的合成、分泌、运输,扰乱机体稳态,阻碍生殖发育的外源性物质。而邻苯二甲酸酯(phthalate esters, PAEs)是最常见的EDCs之一。国内外已有研究结果表明,PAEs可产生类激素的效应,在动物体中表现出生殖发育毒性、诱变性、致癌性和致畸性。PAEs的化学结构和性腺激素十分相似,具有干扰激素信号以及具有与内分泌受体结合的能力,因此,生殖系统是PAEs干扰的主要内分泌系统^[2]。本文主要从PAEs对机体的生殖毒性研究及其分子机制研究等进行评述,为后续减弱或消除PAEs对于机体的毒性研究提供新策略。

1 PAEs理化性质及其来源分布

塑料制品在生产过程中需要增塑剂,而PAEs是最典型的增塑剂和环境EDCs^[3]。PAEs主要是由1,2-苯二甲酸酯构成的一类无色或微黄色,具有油性、无味的物质^[4]。PAEs的结构取决于二烷基或芳基形成的侧链数量,其溶解度随着链的延长而降低。目前,PAEs已被许多研究确定为塑料中对健康最有害的化学添加剂之一^[5]。在商业上有十几种PAEs,本文列举了工业产品中最常见的PAEs,如表1所示。高分子量PAEs(>300 Da),包括邻苯二甲酸二异壬酯(di-isononyl phthalate, DINP)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)、邻苯二甲酸二正己酯(di-hexyl phthalate, DHP)和邻苯二甲酸二异癸酯(di-isodecyl phthalate, DIDP)已被应用于建筑材料、服装家具、医药物品以及食品包装中,并添加于聚氯乙烯塑料中增加产品的柔韧性^[6]。低分子量的PAEs(<300 Da),如邻苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)、邻苯二甲酯(dimethyl phthalate, DMP)、邻苯二甲酸二异丁酯(di-isobutyl phthalate, DIBP)和邻苯二甲酸二正丁酯(dibutyl phthalate, DBP),主要作为合成稳定剂,应用于个人护理产品、工业溶剂以及作为香料添加剂^[7]。由于与塑料基质的可逆结合,PAEs会从塑料中渗出,污染环境。

人们可以通过摄入、吸入和皮肤接触等途径暴露于PAEs。本文列出了尿液、血液、血清或组织中一些常见的检测到的PAEs及其代谢物,如表2所示。虽然已经了解到PAEs的暴露来源可能来自非塑料产品(例如香水和化妆品),但塑料被广泛认为是主要的暴露来源,尤其是通过饮食^[8]。Kawa等^[3]研究发现,摄入的PAEs主要存在于人体脂肪组织和生物液体中,如尿液、血清、牛奶和羊水等。近年来,随着商业需求的增加,PAEs产量逐年增多(全球每年PAEs消费量为600~800万吨),PAEs已被认为是世界上最丰富的环境污染物之一^[9]。除此之外,PAEs的亨利常数低、蒸汽压降低、沸点高,它们可以牢固附着在不同的环境基质中,由于远距离的大气迁移而分布在世界各地^[10]。

综上所述,PAEs是塑料工业中最典型以及最常见的EDCs,且分布广泛。PAEs产品和人类的日常生活紧密关联,这使得人类暴露在PAEs环境中。因其化学性质和结构相似性,PAEs调节机体发育,导致代谢失衡,这将会对机体健康造成严重危害。

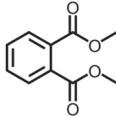
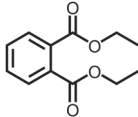
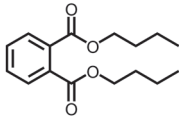
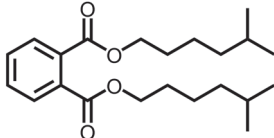
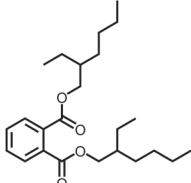
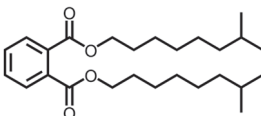
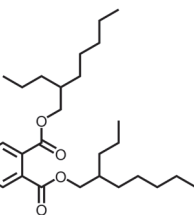
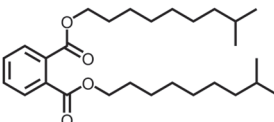
2 PAEs对机体生殖毒性研究现状

PAEs的广泛应用和暴露引起了人们对机体健康的担忧。研究表明,接触PAEs与各种疾病有关,但是与生殖障碍的相关性最为显著^[11]。

2.1 PAEs对男性生殖毒性的研究

体外研究表明,40、80和160 μmol/L DEHP显著抑制雄性Sprague-Dawley大鼠的睾丸间质细胞活力,呈现剂量依赖性降低。同时,40、80 μmol/L DEHP可以显著增加早期凋亡以及晚期凋亡细胞,表明DEHP会诱导大鼠的睾丸间质细胞凋亡^[12]。与此同时,10 mg/L和100 mg/L DBP显著抑制大鼠睾丸支持细胞的存活,DBP对鼠睾丸支持细胞增殖的抑制作用呈现剂量依赖性。随着剂量的递增,细胞凋亡率呈现剂量依赖性的升高。细胞内凋亡小体显著增加,细胞核发生了明显的形态学变化^[13]。另外,在人类婴儿期和青春期间长时间接触PAEs,增殖的睾丸支持细胞可能导致睾丸毒性^[14-15]。睾丸间质细胞和睾丸支持细胞的生长和发育一旦遭到破坏将会导致其他疾病,例如睾丸重量下降、精子发生障碍和外生殖器畸形(肛门-生殖器距离缩短、尿道下裂和隐睾)。这些症状在动物中被统称为邻苯二甲酸酯综合征,在人类中被称为睾丸发育不良综合征。在另一项研究中也证实了这一点^[16],大鼠在怀孕和哺乳期间,分别暴露在250 mg/(kg·d)、500 mg/

表1 工业产品中最常见的PAEs

名称	缩写	分子结构	分子量(Da)	理化性质	应用范围
邻苯二甲酸二甲酯 dimethyl phthalate	DMP		194.19	无色液体, 溶于有机溶剂	杀虫剂、驱虫剂、固体推进剂、增塑剂
邻苯二甲酸二乙酯 diethyl phthalate	DEP		222.24	25℃时, 透明液体, 燃烧会产生有毒气体	增塑剂、赋形剂(化妆品、洗涤剂 and 喷雾剂)
邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	DBP		278.35	无色液体, 有刺激性气味, 非常有毒	乙烯基泡沫增塑剂、道路锥体材料
邻苯二甲酸二异庚酯 di-isoheptyl phthalate	DIHP		362.50	液体, 吸入有毒	塑化剂
邻苯二甲酸(2-乙基)己酯 di 2-ethyl hexyl phthalate	DEHP		390.56	无色黏性液体, 可溶于油, 不溶于水	增塑剂、赋形剂(医药和化妆品制剂)
邻苯二甲酸二异壬酯 di-isononyl phthalate	DINP		418.61	油状液体, 致癌	塑化剂
邻苯二甲酸(2-丙基)庚酯 di (2-propylheptyl) phthalate	DHPH		446.66	无色黏性液体	增塑剂和软化剂(聚氯乙烯材料)、DEHP和DINP的替代品
邻苯二甲酸二异癸酯 di-isodecyl phthalate	DIDP		446.66	几乎无味无色液体	增塑剂(塑料、薄膜和涂料)

(kg·d) 和 750 mg/(kg·d) 的 DBP 环境中, 可导致子代的附性器官的重量、睾丸重量降低以及剂量依赖性的肛门 - 生殖器距离缩短。2015 年, Swan 等^[17] 招募孕妇进行了一项前瞻性队列研究, 分析妊娠早期 PAEs 暴露新生儿肛门 - 生殖器距离变化情况。结果表明, 三种 DEHP 代谢物 (MEHP、MEOHP、MEHHP) 中, MEHP 暴露与男性肛门 - 生殖器距离之间存在负相关, 但在女性中没有。综上所述, PAEs 影响男孩生殖器发育, 并有极大可能在其生长过程中产生不利影响。

前列腺的发育是由其细胞增殖、分化和凋亡决定的, 而这又取决于睾酮含量和睾酮 / 雌二醇比率。PAEs 起到抗雄激素的作用, 破坏了雌二醇和睾酮之间的激素平衡, 导致前列腺细胞异常增殖。Radke 等^[18] 研究发现, 男性暴露于 DEHP、DINP 和 DIBP 与机体睾酮水平降低之间存在关联。此外, 多项研究证明 PAEs 对男性精子质量有所影响。DEHP 及其代谢物 (MEHP、MEHHP、MCMHP 和 MEOHP) 以及 BBzP 及其代谢物 (MBzP) 会导致精液总量减少、睾酮水平降低, 以及精子典型形态增加, 如精

表2 尿液、血液、血清或组织中检测到一些常见的PAEs及其代谢物

PAEs	缩写	代谢物	缩写
邻苯二甲酸二甲酯 di-methyl phthalate	DMP	邻苯二甲酸单甲酯 mono-methyl phthalate	MMP
邻苯二甲酸二乙酯 di-ethyl phthalate	DEP	邻苯二甲酸单乙酯 mono-ethyl phthalate	MEP
邻苯二甲酸二正丁酯 di-n-butyl phthalate	DBP/DnBP	邻苯二甲酸单正丁酯 mono-n-butyl phthalate	MBP/MnBP
邻苯二甲酸二异丁酯 di-isobutyl phthalate	DIBP	邻苯二甲酸单异丁酯 mono-isobutyl phthalate	MIBP
邻苯二甲酸二辛酯 di-n-octyl phthalate	DOP	邻苯二甲酸单(3-羧基丙基)酯 mono (3-carboxypropyl) phthalate	MCPP
邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 di (2-ethylhexyl) phthalate	DEHP	邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯 mono (2-ethylhexyl) phthalate	MEHP
		邻苯二甲酸单(2-乙基-5-羧基戊基)酯 mono (2-ethyl-5-carboxypentyl) phthalate	MECPP
		邻苯二甲酸单(2-乙基-5-羟基己基)酯 mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate	MEHHP
		邻苯二甲酸单(2-乙基-5-氧己基)酯 mono (2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate	MEOHP
邻苯二甲酸二异壬酯 di-isononyl phthalate	DINP	邻苯二甲酸单异壬酯 mono isononyl phthalate	MINP
		邻苯二甲酸单(羧基辛基)酯 mono (carboxyisooctyl) phthalate	MCIOP
		邻苯二甲酸单(氧代异壬基)酯 mono (oxoisononyl) phthalate	MOINP
		邻苯二甲酸单(羟基异壬基)酯 mono (hydroxyisononyl) phthalate	MHINP
邻苯二甲酸丁苄酯 butyl benzyl phthalate	BBP/BBzP	邻苯二甲酸单苄酯 mono benzyl phthalate	MBzP
邻苯二甲酸苄丁酯 benzyl butyl phthalate	BzBP	邻苯二甲酸单苄酯 mono benzyl phthalate	MBzP
邻苯二甲酸二异癸酯 di-isodecyl phthalate	DIDP	邻苯二甲氧基异壬酸酯 mono (carboxyisononyl)phthalate	MCNP

子头的异常百分比、精子非整倍体以及精子运动速度改变等^[19]。根据一项研究发现,大多数不育男性的年龄在25~35岁之间,并且不育男性的PAEs水平显著高于生育男性^[20]。此外,Vickram等^[21]研究发现,高浓度PAEs(包括DEHP、DBP)会影响锌的代谢,且锌是精子发生所需的微量元素,这可能是PAEs导致男性不育的一个重要原因。另一项美国的病例对照研究还显示,母亲在怀孕期间使用化妆品频率越高,儿子在20~29岁时被诊断出患睾丸癌的风险更高^[22],这可能与化妆品中含有PAEs密切相关。

2.2 PAEs对女性生殖毒性的研究

大多数研究发现,PAEs对女性也表现出显著

的毒性作用,其对卵巢功能及其调节均有负面影响。研究报道,在秀丽隐杆线虫中,暴露于10 mg/L的DEHP会减少卵母细胞的数量,并导致卵母细胞中DNA损伤^[23]。此外,DEHP通过氧化应激阻止卵母细胞减数分裂,进而干扰卵母细胞的成熟和活化进程^[23]。产前暴露于20 mg/kg、200 mg/kg和500 mg/kg的DEP、DEHP、DnBP、DINP、DIBP和BBzP的PAEs混合物会阻碍大鼠和小鼠的排卵进程以及干扰雌二醇合成^[24]。在体重指数较高的女孩中观察到较高水平的PAEs^[25]。接触PAEs会导致女孩性早熟,其表型和肥胖类似^[26]。

子宫内膜异位症也是女孩暴露PAEs的不良症状之一。子宫内膜异位症是子宫外子宫内膜样组织

的异常生长,可导致不孕和严重的盆腔疼痛,也可导致子宫内膜和腹腔的相关激素变化。在Cai等^[27]的荟萃分析研究中,MEHHP代谢物水平与女性子宫内膜异位症的患病风险显著相关。值得注意的是,在亚组分析中,该相关性在亚洲人群中显著。此外,Chou等^[28]评估了123名子宫内膜异位症阳性女性和78名对照患者尿液中的PAEs浓度(MnBP、MEHP、MBzP、MEOHP和MEHHP),发现MnBP与子宫内膜异位相关。另一方面,PAEs还与女性早产有关。PAEs代谢物水平每增加一个单位,女性早产几率就增加20%~30%或更大^[29]。Radke等^[29]研究证明,DEHP、DBP和DEP三种PAEs与早产有中度相关性。此外,接触PAEs还会导致胎儿出生后体重下降。Golestanzadeh等^[30]研究证明,产前接触PAEs的代谢物MEP与较低的出生体重有显著关联。

大量研究表明,许多PAEs能够结合并激活雌激素受体(estrogen receptor, ER)。2004年,Sarah Josh等^[31]发现邻苯二甲酸单酯与ER的亲合力更强,可与受体形成额外氢键。2005年,Takeuchi等^[32]研究发现22种PAEs中有9种对ER α 的雌激素活性高于由ER α 的天然配体 β -雌二醇诱导的最大活性。由此可见,PAEs跟机体自身激素竞争十分强烈,导致后续信号通路阻断,干扰机体正常生长发育。此外,Fu等^[33]研究报道指出,DEHP和MECPP与乳腺癌和子宫肌瘤患病风险有着显著正相关。Jadhao等^[34]研究证实,长期暴露于DEHP会导致乳腺癌细胞的膜糖蛋白表达增加,提示DEHP可诱导乳腺癌细胞血管生成并导致转移。

综上所述,研究数据表明PAEs导致广泛的男性生殖障碍,如睾丸发育不良综合征、前列腺细胞异常增殖以及精子质量降低、睾丸癌的风险增加等等。另一方面,PAEs导致女性生殖健康受损,其影响女性卵巢功能,并导致生殖器官癌症的发生发展。令人担忧的是,PAEs对女性健康影响甚至会产生跨代效应。PAEs对机体的生殖毒性机制研究将在下文介绍,以期减弱或消除PAEs毒害作用,并为未来相关研究提供重要依据。

2.3 PAEs对机体生殖毒性的机制研究

2.3.1 下丘脑-垂体-性腺轴(hypothalamic-pituitary-gonadal, HPG)

下丘脑神经元在弓形核和室周区产生神经信号^[35]。它们控制促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)的合成。下丘脑视前区释放的GnRH与垂体前叶GnRH受体结合。这一过程

导致丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和环磷酸腺苷(cAMP)信号通路的激活,并促进垂体前叶促性腺激素黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)的分泌^[36]。FSH触发卵巢中卵泡的生长发育以及睾丸中精子的产生。FSH和LH可以刺激性激素的分泌,如类固醇激素——抗缪勒管激素和蛋白质激素——胰岛素样生长因子3。抗缪勒管激素对于抑制男性的中肾旁管发育以及抑制女性的多个卵泡发育至关重要。

如图1所示,HPG轴通过正负反馈回路调节生殖激素水平。较高水平的性腺激素抑制下丘脑分泌GnRH和腺垂体分泌促性腺激素,高水平的雌二醇会刺激腺垂体分泌LH。HPG轴的主要功能之一是调节类固醇生成。固醇生成过程的第一步是胆固醇合成。胆固醇是所有类固醇激素(包括性激素)的前体分子。类固醇生成的必需酶包括来自线粒体和内质网的细胞色素P450和羟类固醇脱氢酶。这些酶可以将类固醇前体转化为最终激素,如睾酮、二氢睾酮、孕酮和雌二醇。睾酮对于内生殖器的形态分化和维持精子发生是必不可少的。二氢睾酮与男性外生殖器的分化以及男性第二性征有关。雌二醇和孕酮是产后女性生殖系统发育以及卵巢周期、妊娠分娩所必需的激素^[36]。

PAEs可以作用于HPG轴的下丘脑分泌GnRH,进一步影响垂体分泌LH和FSH,导致血液循环里的类固醇减少,而类固醇激素可以通过HPG轴的

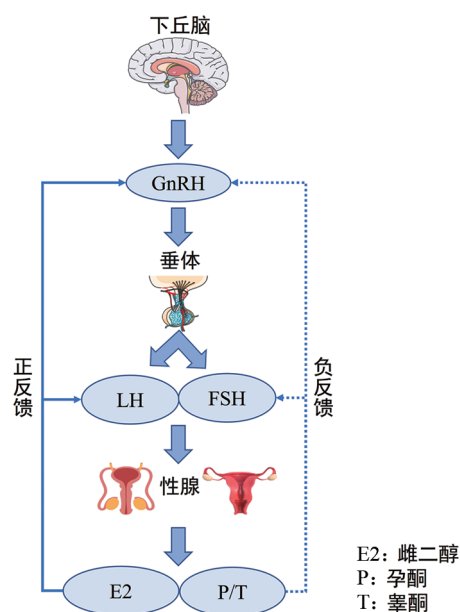


图1 下丘脑-垂体-性腺轴

反馈调节机制,使得雌二醇和睾酮减少,最终导致生殖功能障碍^[37]。此外,Ha等^[38]发现,随着DEHP剂量的增加,Sprague-Dawley大鼠的睾酮、FSH和LH水平降低。在大鼠和小鼠中,较高的PAEs暴露与*Gnrhr*、*Fshr*和*Lhr*的基因表达增加有关。相反,暴露于较低水平的PAEs与大鼠和小鼠中*Lhr*和*Fshr*的基因表达降低有关^[38-39],这进一步影响类固醇生成。此外,在一项病例对照研究中,研究人员对173名原发性卵巢功能不全患者和246名对照者进行抽样调查。结果发现,尿中PAEs浓度与雌激素浓度呈负相关,与FSH浓度呈正相关。表明接触PAEs可能足以减少卵巢雌激素的产生,从而通过正反馈增加FSH的产生^[40]。在另一项研究中,也证实了这点,DEP处理的小鼠血液中FSH和LH水平增加,而雌激素水平降低^[41]。另外,Cao等^[40]发现,女性尿液中PAEs代谢产物浓度的增加与卵巢早衰的发生概率增加具有正相关。此外,其代谢产物与反应卵巢功能指标的雌二醇/FSH比值降低相关。上述研究结果可能会相互矛盾,需要进一步研究以阐明其具体作用机制。综上所述,PAEs通过改变机体激素和甾体生成酶的水平干扰HPG轴,从而对男性和女性的生殖系统产生毒副作用。

2.3.2 性激素受体

PAEs干扰类固醇激素合成的原因在于其类似的化学结构。PAEs苯环对照类固醇A环,而类固醇A环是与受体结合的配体一部分。研究表明,PAEs可以与雄激素受体(androren receptor, AR)、ER(ER α 、ER β)相互作用。PAEs与ER的相互作用导致雌激素信号激活,这是PAEs在生殖系统中诱导毒性作用的一个相关机制。ER的激活负责生精细胞凋亡^[42]。DEHP暴露后,卵巢中ER α 和ER β 表达减少,这可能与DEHP诱导卵巢发育延迟或DEHP引起ER激活后的负反馈有关^[43]。在Chebbi等^[44]的研究中,只有DBP和BBP等短链PAEs具有雌激素活性。而且短链PAEs可通过激活ER严重的危害人类健康,如荷尔蒙紊乱、生殖和神经系统失调以及癌症。

四种PAEs(DBP、BBP、DEHP和DIBP)具有共同的抗雄激素作用,都会对男性生殖器官和胎儿发育期间的性别分化产生不利影响^[45]。Kim等^[46]报道,AR的下调可能在DBP诱导的阴茎发育中断中发挥重要作用。此外,AR的下调与DBP诱导的其他生殖毒性作用有关,包括尿道下裂^[47]、前列腺形态发生延迟^[48]。Takeuchi等^[32]使用转染人ER α

和ER β 表达载体的中国仓鼠卵巢细胞进行报告基因检测的研究表明,烷基链长度从C3到C6的PAEs同时诱导ER α 介导的转录活性,并抑制ER β 介导的活性。

2.3.3 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ

更多的研究表明,PAEs可以通过影响过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)途径诱导生殖毒性的发生^[49]。Meling等^[50]和Zhang等^[51]研究表明,PAEs是有效的PPAR激动剂,可以增加DNA的合成,从而诱导生殖系统癌症的发生。DEHP还通过影响部分PPAR γ 途径,进而影响假孕兔的黄体活性^[52]。在Shoaito等^[53]研究中,MEHP对PPAR γ 的活性产生了U型剂量反应效应,导致脂质代谢和人胎盘绒毛滋养层分化的紊乱。PPAR γ 是DEHP诱导的原代子宫内膜细胞炎症的相关受体。体内实验也证实了这一点,怀孕小鼠DEHP暴露后,PPAR γ 途径被激活^[54]。绒毛外滋养层细胞侵袭是胚胎发育的一个重要过程,Gao等^[55]发现,MEHP可以通过PPAR γ 途径抑制这一过程。

2.3.4 PI3K/AKT信号通路

PI3K/AKT信号转导是PAEs诱导生殖系统和非生殖系统毒性的主要途径之一。Wang等^[13]研究证实,PI3K/AKT/mTOR信号转导与DBP诱导的大鼠睾丸支持细胞凋亡有关,体现在PI3K1和AKT活性的降低、mTOR通路的抑制以及参与细胞凋亡的PTEN蛋白的表达增加。在DBP诱导的胚胎尿道下裂中,细胞凋亡减少,自噬增加,凋亡和自噬之间存在串扰^[56]。而适当细胞凋亡作为胚胎发育的关键,Djavaheri-Mergny等^[56]认为避免细胞凋亡的自噬可能是DBP引起尿道下裂的机制之一。然而,Fu等^[57]研究认为,低剂量DEHP暴露后通过抑制PI3K/AKT/mTOR信号通路从而激活自噬可能是对抗DEHP诱导的睾丸毒性的保护机制。Zhang等^[58]研究发现,小鼠子宫DEHP暴露后,PI3K/AKT/mTOR作为修复机制被激活,以维持小鼠睾丸细胞的凋亡来减少睾丸损伤。以上研究均表明,PAEs通过PI3K/AKT信号转导通路诱导生殖毒性,而相关结论是否存在关联还需后续研究继续验证。DEHP还通过上调大鼠下丘脑中的胰岛素样生长因子1,并通过PI3K/AKT/mTOR诱导女性性早熟^[59]。

2.3.5 Nrf2信号通路

在正常情况下,核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)通过结合 Kelch

样 ECH 关联蛋白 1 (keap1) 在细胞质中处于沉默状态。暴露于 Nrf2 激活剂后, Nrf2 与 Keap1 分离, 导致 Nrf2 从细胞质易位到细胞核, 附着到抗氧化响应元件 (antioxidant response element, ARE), ARE 位于染色质上解毒酶的启动子区。因此, Nrf2/Keap1/AE 途径的激活促进抗氧化剂和解毒酶的表达, 如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽、NAD(P)H- 醌氧化还原酶 1 以及血红素加氧酶 1 等^[60]。DEHP 诱导的氧化应激导致 Nrf2 信号的上调^[61]。Zhang 等^[62] 研究发现, DBP 依赖于 Nrf2 途径诱导线粒体损伤和生殖细胞死亡。此外, Zhao 等^[63] 研究发现, Nrf2 的激活导致睾丸中的 Notch 信号通路抑制。当 Nrf2 信号通路增强时, Notch1、发状分裂相关增强子 1 (hairy and enhancer of split 1, Hes1) 表达减少, 导致生精中断以及睾酮生成抑制。

2.3.6 NF- κ B 信号通路

妊娠小鼠暴露 DBP 后, 可能依赖于 NF- κ B 机制导致雄性后代小鼠早熟^[64]。Cho 等^[65] 研究表明, 人子宫内膜基质细胞暴露于 DEHP 后, ER α 的表达上调会诱导 MAPK 和核因子 - κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 活化, 从而导致氧化应激产生。Zhang 等^[66] 的研究结果同样表明, DBP 对 ER 的作用与 NF- κ B-波形蛋白信号通路有关。波形蛋白是一种参与胆固醇从细胞质转移到线粒体外膜过程中的必需蛋白

质, 用于类固醇激素的生物合成。此外, 体外模型的发现证实 NF- κ B 参与 DBP/MBP 诱导的波形蛋白转录增加的过程^[67]。

2.3.7 其他机制

Prados 等^[68] 研究发现, 妊娠小鼠灌胃 300 mg/(kg·d) DEHP 后, 其雄性后代的精子浓度明显降低, 且整个基因组的甲基化水平显著升高, 这表明怀孕期间暴露于 DEHP 可能会影响后代精子 DNA 启动子区的甲基化。研究报道, PAEs 芳基侧链链长可能是 PAEs 具有发育和繁殖毒性的一个重要因素^[69]。直链 PAEs 中, C5-C6 生殖毒性最大, C4 或 C7 中等。在支链 PAEs 中, 碳链的分支和不饱和增加了毒性效果, 而碳链成环并不增加毒性^[70]。此外, 研究发现, 芳基烃受体参与了 DEHP 诱导的精子生成中断^[71]。生精细胞经 DEHP 处理后, 芳基烃受体和芳基烃受体核易位体在细胞核内积累增加, 这与芳基烃受体和芳基烃受体核易位体二者聚合体的靶基因如 *CYP1A1*、*CYP1A2* 和 *CYP1B1* 的表达增强一致。

3 PAEs 的其他毒性研究

大量研究表明, 接触 PAEs 还会导致诸多不良后果, 如呼吸系统疾病、儿童肥胖和神经心理障碍等 (图 2)。

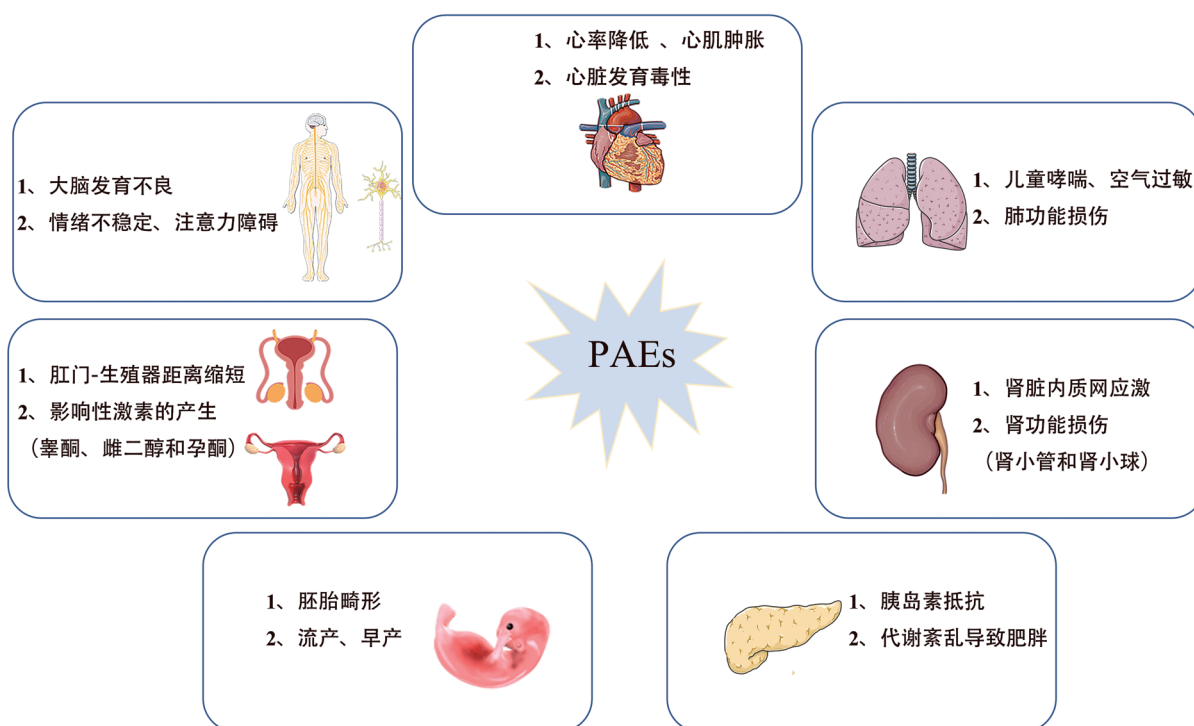


图2 邻苯二甲酸酯对机体的毒性效应

3.1 心脏损伤研究

近年来,围产期暴露 DEHP 和 MEHP 引发的心脏发育毒性引起了越来越多的关注。研究发现,DEHP 诱导斑马鱼胚胎心脏畸形。低浓度 (0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 以及高浓度 (120~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的 DEHP 暴露会导致斑马鱼胚胎心包水肿,并降低其心率,这表明 DEHP 暴露对心脏系统的发育有较高风险^[72-73]。此外,Abd-Elhakim 等^[74]研究发现,DEHP 通过维持大鼠体内心脏肿瘤坏死因子 α 中度水平以及升高 p53 水平,加重了大鼠的心脏损伤。另外,DEHP 会导致鹌鹑心肌线粒体损伤、纤维紊乱以及心肌肿胀或坏死^[75]。PAEs 对心血管功能的潜在影响可能是多因素的。

3.2 肺损伤研究

2017 年,Li 等^[76]研究发现,BBzP 暴露与儿童哮喘风险显著相关。与出生后暴露相比,出生前暴露 BBzP 与儿童哮喘风险有更强的相关性。此外,研究报道发现,其中几种化学物质的尿液代谢物与儿童特异性疾病和呼吸相关疾病的发生风险增加相关。怀孕女性产前尿液中 DINP 代谢物 MCIOP 以及 DIDP 代谢物 MCNP 的浓度与后代较差的肺功能相关以及哮喘和空气过敏的发生几率增加相关^[77]。与此同时,DBP 暴露与气道中的氧化应激和 II 型免疫反应相关,这可能促进小鼠气道高反应性的发展^[78-79]。综上所述,PAEs 的机体代谢水平和肺功能损伤有强相关性。

3.3 肾损伤研究

低水平 DEHP (250 mg/kg) 可抑制 Nrf2 信号通路,并通过氧化应激诱导肾损伤,抑制未折叠蛋白反应信号通路,诱导肾脏内质网应激^[80]。Zhao 等^[80]研究发现,随着 DEHP 浓度的增加,鹌鹑的肾小管和肾小球损伤程度逐渐增加,呈剂量依赖性反应。且高剂量的 DEHP 处理组 (500 mg/kg 和 1 000 mg/kg) 会改变鹌鹑肾脏的肾小球滤过功能。另外,DEHP 可导致大鼠肾脏氧化物和抗氧化物状态之间的失衡,导致谷胱甘肽过氧化物酶活性和超氧化物歧化酶的活性降低^[81]。此外,研究发现,DEHP 会导致马氏珠母贝肾脏中谷胱甘肽的含量增加,总抗氧化能力、超氧化物歧化酶活性、谷胱甘肽活性和谷胱甘肽过氧化物酶的活性均受到抑制。根据 Chen 等^[82]的 Logistic 分析和多元线性回归分析发现,肾功能参数 (白蛋白 / 肌酐比值、 β_2 微球蛋白和 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶) 均与 6 种 PAEs 的代谢物呈正

相关。

3.4 中枢神经损伤研究

目前已有大量证据表明 DEHP 对神经发育、行为和认知有不良影响。Zaitso 等^[83]研究发现,接触 DEHP 会导致小鼠胚胎大脑的脂质代谢组发生变化,从而导致异常的小鼠胚胎神经发育以及促进神经系统疾病的发生。此外,胚胎接触 DBP 和 DEP 可能会表现出明显的生长迟缓,并且会影响大脑发育,以至于影响其成年后情绪、注意力等问题,甚至引发焦虑和抑郁^[84]。学龄儿童和青少年注意力缺陷障碍、学习障碍和社会行为障碍的患病几率与其尿液中 DEHP、DBP、BBP 和 DEP 四种 PAEs 代谢物浓度呈正相关^[85]。在出生前后暴露与人类相当水平浓度的 PAEs 混合物的大鼠,表现出较低的认知灵活性,这一结果与前额叶皮质中的较少突触数量相关^[86]。这些结果提示,PAEs 对中枢神经的影响会导致严重的智力障碍和行为障碍。

3.5 代谢紊乱研究

长期接触 PAEs 及其氧化代谢物可能会破坏机体正常代谢。据报道,儿童暴露 PAEs 后,肥胖风险显著增加^[30]。在 Ribeiro 等^[87]的荟萃分析研究中,MECPP 在机体内的水平与成人肥胖呈显著正相关。此外,另一项荟萃研究分析显示,PAEs 暴露与 2 型糖尿病风险之间存在显著正相关^[88]。在针对少数民族人群的研究中,Gaston 等^[89]发现尿中 MnBP 和 MIBP 与代谢异常呈正相关,而代谢异常因性别而异。总之,PAEs 会破坏机体正常代谢,会促进成人和儿童的肥胖。

3.6 其他致癌研究

除上述毒性作用外,PAEs 还参与癌症的发生发展。DEHP 及其代谢产物 MEHP 可影响细胞周期蛋白依赖激酶 4、细胞周期蛋白激酶抑制剂 1A 和谷胱甘肽过氧化物酶等基因的调节表达^[90]。此外,在非小细胞肺癌中,DEHP/MEHP 暴露与上皮-间充质转化之间存在联系^[91],该过程可能参与各种肺部疾病的纤维化前阶段。另外一项体外研究表明,DEHP 暴露可通过促进肝癌细胞的增殖、凋亡、非依赖性生长、迁移和侵袭,从而加快肝脏的癌变^[92]。另一项研究报告,DEHP 和幽门螺杆菌共存可能会增加幽门螺杆菌的毒性并诱导胃上皮细胞凋亡,从而促进胃肿瘤的发生^[93]。这些研究结果表明,PAEs 可以促进侵袭性腺癌、非小细胞肺癌、肝癌以及胃肿瘤等突变过程的发生。

4 讨论与展望

PAEs 在环境中广泛分布。它们对生态系统和公共健康的潜在影响引起了公众的关注,尤其是研究数据的表明,孕妇、新生儿和婴儿极易受到内分泌干扰物的影响^[94]。与成人相比,新生儿血脑屏障功能不全,且没有成熟的保护机制,如 DNA 修复机制、完整的肝脏代谢功能以及完善的免疫系统,PAEs 极大可能对新生儿大脑发育产生不利影响。妊娠期接触 PAEs,不仅影响相关个体并持续一生,还通过表观遗传机制跨代影响后代。由此可见,PAEs 对人体的危害影响甚远。因此,急需采取行动以消除这些潜在的有害影响。

综上所述,PAEs 被认为具有破坏生殖激素(包括睾酮和孕酮)稳态的功能,这是它们通过 PPAR 等信号通路与生物分子相互作用的结果。其中包括了生育能力下降、睾丸重量减轻、附属性器官的变异和几种女性生殖障碍等。确定 PAEs 对生殖健康产生有害影响的确切机制和靶分子,对于机体自身保护或降低其有害毒性十分必要。根据已有研究报道发现,PAEs 可以通过影响特定受体或通过活性氧自由基的产生刺激细胞反应,随后激活下游信号通路,对 PI3K/AKT、Nrf2 和 NF- κ B 等信号转导途径均有影响。由此可见,抗氧化治疗可以作为减少 PAEs 对机体生殖健康有害影响的有效方法。

一方面,PAEs 对生殖作用的现有知识仍存在不一致或不足。例如,不同性别的儿童接触 PAEs 与肛门-生殖器距离变化之间存在不一致的结果。研究还发现,不同种类的 PAEs 可以延迟青春期或诱导性早熟发生。上文还提及不同种类及浓度的 PAEs 影响 HPG 轴垂体 FSH 和 LH 的分泌存在相反结果等。目前,依旧缺乏研究证明 PAEs 暴露与前列腺癌和睾丸癌发生有直接关系,需要进一步的研究以了解 PAEs 是否以及如何诱发男性生殖癌。另一方面,有假设认为,啮齿动物和人类之间 PAEs 的靶标受体不同,这可能会导致从动物模型中获得的结论很难推广到人类^[95]。DEHP 作为最广泛使用的 PAEs,通过影响上述受体和信号转导,其生殖毒性、致癌性和代谢紊乱的潜力得到了更多的讨论,这并不意味着其他 PAEs 的影响更低。为有效预防 PAEs 给人类和动物生殖带来的不利影响,有必要扩大 PAEs 对雄性和雌性 HPG 系统影响的分子表达和细胞内机制的现有知识体系。本文重点综述的是实验研究(体外和体内),而后续需要更多的临床

研究和流行病学调查来探讨其毒性靶点机制。

[参 考 文 献]

- [1] Wild CP. Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14: 1847-50
- [2] Monneret C. What is an endocrine disruptor? *C R Biol*, 2017, 340: 403-5
- [3] Kawa IA, Masood A, Fatima Q, et al. Endocrine disrupting chemical Bisphenol A and its potential effects on female health. *Diabetes Metab Syndr*, 2021, 15: 803-11
- [4] Begum TF, Carpenter D. Health effects associated with phthalate activity on nuclear receptors. *Rev Environ Health*, 2022, 37: 567-83
- [5] Hahladakis JN, Velis CA, Weber R, et al. An overview of chemical additives present in plastics: migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *J Hazard Mater*, 2018, 344: 179-99
- [6] Dodson RE, Camann DE, Morello-Frosch R, et al. Semivolatile organic compounds in homes: strategies for efficient and systematic exposure measurement based on empirical and theoretical factors. *Environ Sci Technol*, 2015, 49: 113-22
- [7] Kademoglu K, Giovanoulis G, Palm-Cousins A, et al. *In vitro* inhalation bioaccessibility of phthalate esters and alternative plasticizers present in indoor dust using artificial lung fluids. *Environ Sci Technol Lett*, 2018, 5: 329-34
- [8] Gkrillas A, Dirven H, Papadopoulou E, et al. Exposure estimates of phthalates and dioxin from foods and personal care products in comparison with biomonitoring data in 24-hour urine from the Norwegian EuroMix biomonitoring study. *Environ Int*, 2021, 155: 106598
- [9] Pivnenko K, Eriksen MK, Martín-Fernández JA, et al. Recycling of plastic waste: presence of phthalates in plastics from households and industry. *Waste Manag*, 2016, 54: 44-52
- [10] Lenoir A, Boulay R, Dejean A, et al. Phthalate pollution in an Amazonian rainforest. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2016, 23: 16865-72
- [11] Benjamin S, Masai E, Kamimura N, et al. Phthalates impact human health: epidemiological evidences and plausible mechanism of action. *J Hazard Mater*, 2017, 340: 360-83
- [12] Sun Y, Shen J, Zeng L, et al. Role of autophagy in di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP)-induced apoptosis in mouse Leydig cells. *Environ Pollut*, 2018, 243: 563-72
- [13] Wang H, Wang J, Zhang J, et al. Role of PI3K/AKT/mtor signaling pathway in DBP-induced apoptosis of testicular sertoli cells *in vitro*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2017, 53: 145-50
- [14] Saab Y, Oueis E, Mehanna S, et al. Risk assessment of phthalates and their metabolites in hospitalized patients: a focus on di- and mono-(2-ethylhexyl) phthalates exposure from intravenous plastic bags. *Toxics*, 2022, 10: 357

- [15] Cargnelutti F, Di Nisio A, Pallotti F, et al. Effects of endocrine disruptors on fetal testis development, male puberty, and transition age. *Endocrine*, 2021, 72: 358-74
- [16] Mylchreest E, Cattley RC, Foster PM. Male reproductive tract malformations in rats following gestational and lactational exposure to di(n-butyl) phthalate: an antiandrogenic mechanism? *Toxicol Sci*, 1998, 43: 47-60
- [17] Swan SH, Sathyanarayana S, Barrett ES, et al. First trimester phthalate exposure and anogenital distance in newborns. *Hum Reprod*, 2015, 30: 963-72
- [18] Radke EG, Braun JM, Meeker JD, et al. Phthalate exposure and male reproductive outcomes: a systematic review of the human epidemiological evidence. *Environ Int*, 2018, 121: 764-93
- [19] Wang YX, Zeng Q, Sun Y, et al. Semen phthalate metabolites, semen quality parameters and serum reproductive hormones: a cross-sectional study in China. *Environ Pollut*, 2016, 211: 173-82
- [20] Rana R, Joon S, Kumar Jain A, et al. A study on the effect of phthalate esters and their metabolites on idiopathic infertile males. *Andrologia*, 2020, 52: e13720
- [21] Vickram S, Rohini K, Srinivasan S, et al. Role of Zinc (Zn) in human reproduction: a journey from initial spermatogenesis to childbirth. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 2188
- [22] Ghazarian AA, Trabert B, Robien K, et al. Maternal use of personal care products during pregnancy and risk of testicular germ cell tumors in sons. *Environ Res*, 2018, 164: 109-13
- [23] Yin J, Liu R, Jian Z, et al. Di (2-ethylhexyl) phthalate-induced reproductive toxicity involved in DNA damage-dependent oocyte apoptosis and oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 163: 298-306
- [24] Zhou C, Gao L, Flaws JA. Prenatal exposure to an environmentally relevant phthalate mixture disrupts reproduction in F1 female mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 318: 49-57
- [25] Binder AM, Corvalan C, Calafat AM, et al. Childhood and adolescent phenol and phthalate exposure and the age of menarche in Latina girls. *Environ Health*, 2018, 17: 32
- [26] Newbold RR. Impact of environmental endocrine disrupting chemicals on the development of obesity. *Hormones (Athens)*, 2010, 9: 206-17
- [27] Cai W, Yang J, Liu Y, et al. Association between phthalate metabolites and risk of endometriosis: a meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16: 3678
- [28] Chou YC, Chen YC, Chen MJ, et al. Exposure to mono-n-butyl phthalate in women with endometriosis and its association with the biological effects on human granulosa cells. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 1794
- [29] Radke EG, Glenn BS, Braun JM, et al. Phthalate exposure and female reproductive and developmental outcomes: a systematic review of the human epidemiological evidence. *Environ Int*, 2019, 130: 104580
- [30] Golestanzadeh M, Riahi R, Kelishadi R. Association of exposure to phthalates with cardiometabolic risk factors in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2019, 26: 35670-86
- [31] Sarath Josh MK, Pradeep S, Adarsh VK, et al. *In silico* evidences for the binding of phthalates onto human estrogen receptor α , β subtypes and human estrogen-related receptor γ . *Mol Simula*, 2014, 40: 408-17
- [32] Takeuchi S, Iida M, Kobayashi S, et al. Differential effects of phthalate esters on transcriptional activities via human estrogen receptors α and β , and androgen receptor. *Toxicology*, 2005, 210: 223-33
- [33] Fu Z, Zhao F, Chen K, et al. Association between urinary phthalate metabolites and risk of breast cancer and uterine leiomyoma. *Reprod Toxicol*, 2017, 74: 134-42
- [34] Jadhao M, Chen CL, Liu W, et al. Endoglin modulates TGF β R2 induced VEGF and proinflammatory cytokine axis mediated angiogenesis in prolonged DEHP-exposed breast cancer cells. *Biomedicines*, 2022, 10: 417
- [35] Harter CJL, Kavanagh GS, Smith JT. The role of kisspeptin neurons in reproduction and metabolism. *J Endocrinol*, 2018, 238: R173-83
- [36] Hlisníková H, Petrovičová I, Kolena B, et al. Effects and mechanisms of phthalates' action on reproductive processes and reproductive health: a literature review. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17: 6811
- [37] Sedha S, Lee H, Singh S, et al. Reproductive toxic potential of phthalate compounds—state of art review. *Pharmacol Res*, 2021, 167: 105536
- [38] Ha M, Guan X, Wei L, et al. Di-(2-ethylhexyl) phthalate inhibits testosterone level through disturbed hypothalamic-pituitary-testis axis and ERK-mediated 5 α -reductase 2. *Sci Total Environ*, 2016, 563-564: 566-75
- [39] Lv Y, Dong Y, Wang Y, et al. Benzyl butyl phthalate non-linearly affects rat Leydig cell development during puberty. *Toxicol Lett*, 2019, 314: 53-62
- [40] Cao M, Pan W, Shen X, et al. Urinary levels of phthalate metabolites in women associated with risk of premature ovarian failure and reproductive hormones. *Chemosphere*, 2020, 242: 125206
- [41] Ara C, Asmatullah, Ramzan N, et al. Black coffee mitigates diethyl phthalate disrupted folliculogenesis, reduced gonadotropins, and ovarian lesions in female albino mice. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2022, 29: 47254-66
- [42] Alam MS, Ohsako S, Matsuwaki T, et al. Induction of spermatogenic cell apoptosis in prepubertal rat testes irrespective of testicular steroidogenesis: a possible estrogenic effect of di(n-butyl) phthalate. *Reproduction*, 2010, 139: 427-37
- [43] Mu X, Liao X, Chen X, et al. DEHP exposure impairs mouse oocyte cyst breakdown and primordial follicle assembly through estrogen receptor-dependent and independent mechanisms. *J Hazard Mater*, 2015, 298: 232-40
- [44] Chebbi M, Beltifa A, Alibi S, et al. Estrogenic hazards of short chain phthalates and bisphenols found in cosmetic products. *Int J Environ Health Res*, 2022, 32: 252-63
- [45] EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids (CEP), Silano V, Barat Baviera JM, et al.

- Update of the risk assessment of di-butylphthalate (DBP), butyl-benzyl-phthalate (BBP), bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), di-isononylphthalate (DINP) and di-isodecylphthalate (DIDP) for use in food contact materials. *EFSA J*, 2019, 17: e05838
- [46] Kim TS, Jung KK, Kim SS, et al. Effects of in utero exposure to di(n-butyl) phthalate on development of male reproductive tracts in Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health A*, 2010, 73: 1544-59
- [47] Zhao S, Li D, Bei XY, et al. Maternal exposure to di-n-butyl phthalate (DBP) promotes epithelial-mesenchymal transition via regulation of autophagy in uroepithelial cell. *Toxicology*, 2018, 406-407: 114-22
- [48] de Mello Santos T, da Silveira LTR, Rinaldi JC, et al. Alterations in prostate morphogenesis in male rat offspring after maternal exposure to di-n-butyl-phthalate (DBP). *Reprod Toxicol*, 2017, 69: 254-64
- [49] Wang Y, Chen B, Lin T, et al. Protective effects of vitamin E against reproductive toxicity induced by di (2-ethylhexyl) phthalate via PPAR-dependent mechanisms. *Toxicol Mech Methods*, 2017, 27: 551-9
- [50] Meling DD, De La Torre KM, Arango AS, et al. Phthalate monoesters act through peroxisome proliferator-activated receptors in the mouse ovary. *Reprod Toxicol*, 2022, 110: 113-23
- [51] Zhang X, Cheng C, Zhang G, et al. Co-exposure to BPA and DEHP enhances susceptibility of mammary tumors via up-regulating Esr1/HDAC6 pathway in female rats. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 221: 112453
- [52] Parillo F, Maranesi M, Brecchia G, et al. *In vivo* chronic and *in vitro* acute effects of di(2-ethylhexyl) phthalate on pseudopregnant rabbit corpora lutea: possible involvement of peroxisome proliferator-activated receptor γ . *Biol Reprod*, 2014, 90: 41
- [53] Shoaito H, Petit J, Chissey A, et al. The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) in mono (2-ethylhexyl) phthalate (MEHP)-mediated cytotrophoblast differentiation. *Environ Health Perspect*, 2019, 127: 27003
- [54] Tang C, Deng Y, Duan H, et al. The effect of maternal exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate on fetal cardiac development in mice. *J Appl Toxicol*, 2018, 38: 834-42
- [55] Gao F, Hu W, Li Y, et al. Mono-2-ethylhexyl phthalate inhibits human extravillous trophoblast invasion via the PPAR γ pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 327: 23-9
- [56] Djavaheri-Mergny M, Maiuri MC, Kroemer G. Cross talk between apoptosis and autophagy by caspase-mediated cleavage of Beclin 1. *Oncogene*, 2010, 29: 1717-9
- [57] Fu G, Dai J, Li Z, et al. The role of STAT3/p53 and PI3K-Akt-mTOR signaling pathway on DEHP-induced reproductive toxicity in pubertal male rat. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 404: 115151
- [58] Zhang J, Yao Y, Pan J, et al. Maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) activates the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in F1 and F2 generation adult mouse testis. *Exp Cell Res*, 2020, 394: 112151
- [59] Shao P, Wang Y, Zhang M, et al. The interference of DEHP in precocious puberty of females mediated by the hypothalamic IGF-1/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 181: 362-9
- [60] Chen J, Zhang Z, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its prevention by Nrf2: current status. *Diabetes Metab J*, 2014, 38: 337-45
- [61] Amara I, Scuto M, Zappalà A, et al. *Hericium Erinaceus* prevents DEHP-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis in PC12 cells. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 2138
- [62] Zhang G, Yang W, Jiang F, et al. Perk regulates Nrf2/ARE antioxidant pathway against dibutyl phthalate-induced mitochondrial damage and apoptosis dependent of reactive oxygen species in mouse spermatocyte-derived cells. *Toxicol Lett*, 2019, 308: 24-33
- [63] Zhao Y, Li MZ, Shen Y, et al. Lycopene prevents DEHP-induced Leydig cell damage with the Nrf2 antioxidant signaling pathway in mice. *J Agric Food Chem*, 2020, 68: 2031-40
- [64] Ma T, Zhou Y, Xia Y, et al. Maternal exposure to di-n-butyl phthalate promotes the formation of testicular tight junctions through downregulation of NF- κ B/COX-2/PGE(2)/MMP-2 in mouse offspring. *Environ Sci Technol*, 2020, 54: 8245-58
- [65] Cho YJ, Park SB, Han M. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces oxidative stress in human endometrial stromal cells *in vitro*. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 407: 9-17
- [66] Zhang C, Gong P, Ye Y, et al. NF- κ B-vimentin is involved in steroidogenesis stimulated by di-n-butyl phthalate in prepubertal female rats. *Toxicol Res (Camb)*, 2018, 7: 826-33
- [67] Li Y, Hu Y, Dong C, et al. Vimentin-mediated steroidogenesis induced by phthalate esters: involvement of DNA demethylation and nuclear factor κ B. *PLoS One*, 2016, 11: e0146138
- [68] Prados J, Stenz L, Somm E, et al. Prenatal exposure to DEHP affects spermatogenesis and sperm DNA methylation in a strain-dependent manner. *PLoS One*, 2015, 10: e0132136
- [69] Čtveráčková L, Jančula D, Raška J, et al. Structure-dependent effects of phthalates on intercellular and intracellular communication in liver oval cells. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 6090
- [70] 宫雅雯, 李圆龙, 崔彤, 等. 邻苯二甲酸酯对男性(雄性)生殖毒性的研究进展. *中国计划生育学杂志*. 2021, 29: 629-34
- [71] Zhao Y, Lin J, Talukder M, et al. Aryl hydrocarbon receptor as a target for Lycopene preventing DEHP-induced spermatogenic disorders. *J Agric Food Chem*, 2020, 68: 4355-66
- [72] Mu X, Chen X, Liu J, et al. A multi-omics approach reveals molecular mechanisms by which phthalates induce cardiac defects in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Pollut*, 2020, 265: 113876
- [73] Pu SY, Hamid N, Ren YW, et al. Effects of phthalate acid esters on zebrafish larvae: development and skeletal morphogenesis. *Chemosphere*, 2020, 246: 125808
- [74] Abd-Elhakim YM, Abdo Nassan M, Salem GA, et al. Investigation of the *in-vivo* cytotoxicity and the *in silico*

- prediction of MDM2-p53 inhibitor potential of *Euphorbia peplus* methanolic extract in rats. *Toxins (Basel)*, 2019, 11: 642
- [75] Zhang H, Zhao Y, Cui JG, et al. DEHP-induced mitophagy and mitochondrial damage in the heart are associated with dysregulated mitochondrial biogenesis. *Food Chem Toxicol*, 2022, 161: 112818
- [76] Li MC, Chen CH, Guo YL. Phthalate esters and childhood asthma: a systematic review and congener-specific meta-analysis. *Environ Pollut*, 2017, 229: 655-60
- [77] Berger K, Eskenazi B, Balmes J, et al. Prenatal high molecular weight phthalates and bisphenol A, and childhood respiratory and allergic outcomes. *Pediatr Allergy Immunol*, 2019, 30: 36-46
- [78] Wang X, Han B, Wu P, et al. Dibutyl phthalate induces allergic airway inflammation in rats via inhibition of the Nrf2/TSLP/JAK1 pathway. *Environ Pollut*, 2020, 267: 115564
- [79] Zhou S, Han M, Ren Y, et al. Dibutyl phthalate aggravated asthma-like symptoms through oxidative stress and increasing calcitonin gene-related peptide release. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 199: 110740
- [80] Zhao Y, Du ZH, Talukder M, et al. Crosstalk between unfolded protein response and Nrf2-mediated antioxidant defense in di-(2-ethylhexyl) phthalate-induced renal injury in quail (*Coturnix japonica*). *Environ Pollut*, 2018, 242: 1871-9
- [81] Erkekoglu P, Giray BK, Kızılğün M, et al. Di (2-ethylhexyl) phthalate-induced renal oxidative stress in rats and protective effect of selenium. *Toxicol Mech Methods*, 2012, 22: 415-23
- [82] Chen J, Zhou X, Zhang H, et al. Association between urinary concentration of phthalate metabolites and impaired renal function in Shanghai adults. *Environ Pollut*, 2019, 245: 149-62
- [83] Zaitso K, Asano T, Kawakami D, et al. Metabolomics and data-driven bioinformatics revealed key maternal metabolites related to fetal lethality via di(2-ethylhexyl)phthalate exposure in pregnant mice. *ACS Omega*, 2022, 7: 23717-26
- [84] Lucaccioni L, Trevisani V, Passini E, et al. Perinatal exposure to phthalates: from endocrine to neurodevelopment effects. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 4063
- [85] Zhang Q, Chen XZ, Huang X, et al. The association between prenatal exposure to phthalates and cognition and neurobehavior of children-evidence from birth cohorts. *Neurotoxicology*, 2019, 73: 199-212
- [86] Kougiyas DG, Sellinger EP, Willing J, et al. Perinatal exposure to an environmentally relevant mixture of phthalates results in a lower number of neurons and synapses in the medial prefrontal cortex and decreased cognitive flexibility in adult male and female rats. *J Neurosci*, 2018, 38: 6864-72
- [87] Ribeiro C, Mendes V, Peleteiro B, et al. Association between the exposure to phthalates and adiposity: a meta-analysis in children and adults. *Environ Res*, 2019, 179: 108780
- [88] Shoshtari-Yeganeh B, Zarean M, Mansourian M, et al. Systematic review and meta-analysis on the association between phthalates exposure and insulin resistance. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2019, 26: 9435-42
- [89] Gaston SA, Birnbaum LS, Jackson CL. Synthetic chemicals and cardiometabolic health across the life course among vulnerable populations: a review of the literature from 2018 to 2019. *Curr Environ Health Rep*, 2020, 7: 30-47
- [90] Cavalca AMB, Aquino AM, Mosele FC, et al. Effects of a phthalate metabolite mixture on both normal and tumoral human prostate cells. *Environ Toxicol*, 2022, 37: 2566-78
- [91] Rafael-Vázquez L, García-Trejo S, Aztatzi-Aguilar OG, et al. Exposure to diethylhexyl phthalate (DEHP) and monoethylhexyl phthalate (MEHP) promotes the loss of alveolar epithelial phenotype of A549 cells. *Toxicol Lett*, 2018, 294: 135-44
- [92] Hsu YL, Tsai EM, Hou MF, et al. Obtusifolin suppresses phthalate esters-induced breast cancer bone metastasis by targeting parathyroid hormone-related protein. *J Agric Food Chem*, 2014, 62: 11933-40
- [93] Lin CH, Wu CY, Kou HS, et al. Effect of di(2-ethylhexyl) phthalate on *Helicobacter pylori*-induced apoptosis in AGS cells. *Gastroenterol Res Pract*, 2013, 2013: 924769
- [94] Zhu F, Huang M, Jiao J, et al. Environmental exposure to perchlorate, nitrate, and thiocyanate in relation to obesity: a population-based study. *Environ Int*, 2019, 133: 105191
- [95] Mohammadi H, Ashari S. Mechanistic insight into toxicity of phthalates, the involved receptors, and the role of Nrf2, NF- κ B, and PI3K/AKT signaling pathways. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021, 28: 35488-527