DOI:10.16016/j.2097-0927.202302085

BDE-209 暴露通过 STAT3 信号通路促进三阴性乳腺癌细胞的迁移

谢尚富,卢林明,江孟晓,王 琪,支 慧 241002 安徽 芜湖,皖南医学院病理解剖教研室

[摘要] **目的** 通过检测在人体中含量较高的新型污染物——十溴联苯醚(BDE-209)暴露对三阴性乳腺癌细胞 MDE-MB-231 迁移能力的影响,探讨 BDE-209 暴露对三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)发展的影响及其可能的作用机制。**方法** 将 TNBC 细胞 MDA-MB-231 分为 3 组:空白对照组(仅含 DMEM 高糖培养液)、溶剂对照组(含 2%DMSO 的 DMEM 高糖培养液)、BDE-209 暴露组(在 DMEM 高糖培养液中加入 0.02、0.2、2、20、200、2 000 ng/mL BDE-209),暴露 24 h 后采用 CCK-8 实验根据半数抑制浓度(IC_{50})确定 BDE-209 的暴露浓度。划痕实验与 Transwell 小室检测 BDE-209 暴露对 MDA-MB-231 细胞迁移能力的影响。运用 Western blot 和细胞免疫组织化检测信号转导和转录活化因子 3(signal transducers and activators of transcription 3,STAT3)及其磷酸化(p-STAT3)的表达水平。采用小鼠荷瘤实验检测 BDE-209 暴露对于 TNBC 肿瘤组织中 STAT3 的表达与活化的影响。**结果** 与空白对照组比较,BDE-209 暴露即可显著提高 MDA-MB-231 细胞的迁移能力($P<0.01$),且呈剂量依赖效应。Western blot 和细胞免疫组化检测结果显示,BDE-209 暴露显著提高 TNBC 肿瘤细胞 STAT3 及 p-STAT3 的表达($P<0.05$)。TNBC 荷瘤小鼠结果表明 STAT3 及 p-STAT3 在 BDE-209(200 ng/mL)暴露后 TNBC 细胞形成的肿瘤组织中表达量均显著提高。以 STAT3 抑制剂(STAT3-IN-1)抑制 STAT3 信号通路后,BDE-209 暴露后增加 MDA-MB-231 的迁移能力受到显著抑制($P<0.001$)。**结论** BDE-209 暴露可通过上调 STAT3 的表达与活化增加 TNBC 细胞的迁移能力,促进 TNBC 的转移。

[关键词] BDE-209;三阴性乳腺癌;迁移能力;STAT3

[中图法分类号] R730.23; R737.9; R994.6 [文献标志码] A

Decarbromodiphenyl ether (BDE-209) exposure promotes migration of triple-negative breast cancer cells through STAT3 signaling pathway

XIE Shangfu, LU Linming, Jiang Mengxiao, WANG Qi, ZHI Hui Department of Pathology, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui Province, 241002, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the exposure of decarbromo diphenyl ether (BDE-209), a new persistent organic pollutant (POP) with the highest level in human body, on the migration of triple-negative breast cancer (TNBC) cell line MDE-MB-231, and explore the effects of its exposure on the development of TNBC and underlying mechanism in the process. **Methods** MDA-MB-231 cells were divided into blank control group (high glucose DMEM), solvent control group (2%DMSO in high glucose DMEM) and BDE-209 exposure groups (0.02, 0.2, 2, 20, 200 and 2 000 ng/mL BDE-209 in high glucose DMEM). In 24 h after culture, CCK-8 assay was used to determine the IC_{50} value of BDE-209. Scratch wound assay and Transwell assay were employed to determine the effect of BDE-209 exposure on migration ability of MDA-MB-231 cells. The protein levels of signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3) and its phosphorylation level (p-STAT3) were detected with Western blotting and immunocytochemical assay. The effect of BDE-209 exposure on the expression and activation of STAT3 in tumor-bearing mice with transplantation of 4T1 cells. **Results** BDE-209 exposure significantly promoted the migration of MDA-MB-231 cells, in a dose-dependent manner, when compared with blank control cells ($P<0.01$). Western blotting and immunocytochemical assay

[通信作者] 支 慧,E-mail:zhi_hui01@hotmail.com

2097-0927/Copyright © 2023, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

showed that BDE-209 exposure enhanced the expression of STAT3 and p-STAT3 in MDA-MB-231 cells ($P<0.05$). In tumor-bearing mice, the expression levels of STAT3 and p-STAT3 were obviously enhanced in the TNBC tissues after exposure to 200 ng/mL BDE-209. While, treatment of STAT3 inhibitor STAT3-IN-1 could notably suppress the migration of MDA-MB-231 cells induced by BDE-209 exposure ($P<0.001$). **Conclusion** BDE-209 exposure promotes the migration ability of TNBC cells *via* up-regulation and activation of STAT3, and thus improve the metastasis.

[**Key words**] decarbromodiphenyl ether (BDE-209); triple-negative breast cancer; migration; STAT3

Corresponding author: ZHI Hui, E-mail: zhi_hui01@hotmail.com

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是雌激素受体、孕激素受体和人类表皮生长因子受体-2表达均为阴性的一类乳腺癌[1]。与其他类型的乳腺癌相比,TNBC恶性程度高,患者的预后差[2]。TNBC的发生与多种危险因素有关,如肥胖、婚育状况、遗传因素等。新近研究发现,环境污染物暴露也是导致乳腺癌发生的重要因素之一[3]。

十溴联苯醚(decaborminated diphenyl ether, BDE-209)作为一种含有10个溴原子的芳香族化合物,是持久性有机污染物中的高溴化合物。因其具有良好的阻燃性能和价格便宜等特点,已成为生产量和使用量最大的溴化阻燃剂,在全球范围内大量使用。近年来,BDE-209在全球范围内被广泛检出,在人体中有较高含量的蓄积[4],在脂肪组织以及乳汁中均可检测到[5-6]。流行病学调查数据显示BDE-209的暴露是乳腺癌发生的危险因素[7]。BDE-209暴露可通过抑制乳腺癌细胞的凋亡,促进乳腺癌的发生发展[8]。然而,既往研究多采用较高的暴露浓度,远超过职业暴露人群血液中BDE-209的最大蓄积量(约200 ng/mL)[9],因而实验结果未能较好地反映出BDE-209暴露引发的毒性效应。

TNBC作为恶性度高的一类乳腺癌,患者的预后差与其易转移直接相关。造成TNBC易发生转移的原因与其肿瘤细胞较强的迁移能力有关[10-11]。然而,BDE-209的暴露是否会影响TNBC乳腺癌细胞的迁移能力尚不清楚。本研究观测人体暴露浓度的BDE-209对TNBC细胞MDA-MB-231迁移能力的影响及作用机制,初步探讨其潜在的促进TNBC转移的毒性效应。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

将BDE-209(纯度95.9%, Ehrenstorfer, Germany)溶解于DMSO,至BDE-209的终浓度为2 mmol/L,常温避光保存。使用前以培养基稀释至实验浓度。人TNBC细胞株MDA-MB-231、小鼠TNBC细胞株4T1购自中科院细胞库,高糖DMEM与0.25%胰酶购自GIBICO公司,胎牛血清购自NSERA公司,CCK-8检测试剂、Phospho-STAT3 (Tyr727)购自碧云天生物技术有限公司,STAT3抑制剂(STAT3-IN-1)购自Selleck公司,EliVision免疫组化试剂盒购自迈新公司,Transwell小室购自康宁公司。

1.2 实验动物

SPF级6周龄BALB/c小鼠(雌鼠)12只,购自长沙天勤生物技术有限公司。动物喂养于皖南医学院实验动物中心SPF级动物实验室,每2天更换垫料,自由摄食饮水。

1.3 实验分组

细胞实验分3组:空白对照组(BC,只加DMEM高糖培养液)、溶剂对照组(VC,加入含2% DMSO的DMEM高糖培养液)和BDE-209暴露组(BDE-209,在DMEM高糖培养液中加入不同浓度的BDE-209)。

成瘤实验:小鼠按随机数字表法分为对照组($n=6$)和BDE-209组($n=6$),其中对照组小鼠注入4T1细胞,实验组小鼠注入BDE-209暴露后的4T1细胞。

STAT3抑制剂实验:将MDA-MB-231细胞分为3组,分别是空白对照组(BC,只加DMEM高糖培养液)、BDE-209组(在DMEM高糖培养液中加入BDE-209)和抑制剂组(BDE-209 + STAT3-IN-1,细胞经STAT3抑制剂STAT3-IN-1处理后,在DMEM高糖培养液中加入BDE-209)。

1.4 CCK-8检测

收集对数生长期的MDA-MB-231细胞,制备成5×10^5/mL的细胞悬液。按实验分组(空白对照组、溶剂对照组、BDE-209暴露组)将细胞悬液加入96孔板置于培养箱中37 ℃、5% CO_2条件下培养,24 h后空白对照组加入DMEM高糖培养液,溶剂对照组加入含2%DMSO的DMEM高糖培养液,BDE-209暴露组中加入含有不同浓度BDE-209的DMEM高糖培养液。根据暴露人群血液中BDE-209的最大含量(200 ng/mL)[9]将BDE-209的暴露浓度设置为0.02、0.2、2、20、200和

2 000 ng/mL。暴露 24 h 后,加入 10 μL/孔 CCK-8 试剂,于培养箱内培育 1 h,用酶标仪于 450 nm 波长处检测溶液光密度值[D(450)]。

1.5 划痕实验

将 MDA-MB-231 细胞铺入 6 孔板中,待细胞融合度达 80%后加入不同浓度的 BDE-209(0.02、0.2、2、20、200 ng/mL),暴露 24 h 后垂直板底划直线,PBS 清洗漂浮的细胞后立即拍照记录。随后将 6 孔板置于 37℃、5%CO_2 培养箱中培养,24 h 后弃去培养上清,以 PBS 清洗 3 次后拍照记录。用 Image J 软件计算空白划痕的面积,按照公式[(0 h 的划痕面积-24 h 后的划痕面积)/ 0 h 的划痕面积]计算各组细胞的迁移距离,再与 BC 组对比,得到相对迁移距离。以此评判划痕的愈合情况。

1.6 Transwell 小室实验

将生长状态良好的 MDA-MB-231 细胞用无血清高糖 DMEB 培养基重悬至 6×10^5 个/mL。Transwell 小室置于 24 孔板中,取 200 μL 细胞悬液加入 Transwell 小室内。在小室外(下室)加入 600 μL 含不同浓度 BDE-209 的培养液,37℃、5%CO_2 培养箱中培养。24 h 后取出小室,弃上清,PBS 清洗后用棉签轻轻擦拭小室底部,加入甲醇固定 10 min,再以 PBS 清洗,最后用 2%结晶紫染色 5 min,选取 5 个视野拍照并计数。

1.7 细胞免疫

将盖玻片置于 6 孔板中,板中铺入 MDA-MB-231 细胞制备细胞爬片。将各组细胞爬片以 PBS 清洗后用 4%甲醛固定 30 min,预冷的 PBS 洗清后加入 0.1%的 Triton X-100,20 min 后以 PBS 清洗 3 次,加入 1% BSA 封闭 1 h 后滴加 STAT3 孵育 1 h,清洗后加入 HRP 标记二抗,室温孵育 30 min,PBS 冲洗后封片,镜下观察,采集图片。

1.8 Western blot 检测 STAT3、p-STAT3 表达

收集空白对照组、溶剂对照组及 BDE-209 暴露组细胞,RIPA 裂解细胞提取蛋白,BCA 检测蛋白浓度后加入 5×上样缓冲液,煮沸使蛋白变性。将蛋白进行 PGAE 电泳后湿转至 PVDF 膜,5%脱脂奶粉封闭 1 h,加入一抗 GAPDH(1∶2000)、STAT3(1∶1 000)、p-STAT3(1∶1 000),β-actin(1∶2 000)4 ℃孵育过夜,TBST 冲洗后,加入 HPR 标记二抗(1∶5 000),室温下孵育 1 h,TBST 洗膜后用 ECL 化学发光试剂盒显色,显影。实验均重复 3 次。

1.9 荷瘤模型构建

4T1 细胞经 200 ng/mL 的 BDE-209 暴露 24 h 后,将 4T1 乳腺癌细胞制备成细胞悬液,用完全培养基混合均匀,按 1×10^4/mL 的细胞悬液接种于实验组 BALB/c 小鼠右侧第 2、3 对乳头下脂肪垫。每天观察小鼠的进食状态、毛色、及肿瘤结节生长情况,见小鼠右侧第 2 乳垫位置出现质硬结节认为建模成功。

1.10 抑制 STAT3 信号

将 STAT3 抑制剂(STAT3-IN-1)用 DMSO 溶解至终浓度为 1 mmol/L,再以 PBS 稀释至 100 μmol/L,-20 ℃保存。在 MDA-MB-231 培养液中加入 1 μmol/L STAT3-IN-1 预处理,24 h 后再进行 BDE-209 暴露,24 h 后弃去上清,取细胞以划痕实验和 Transwell 小室实验检测细胞的迁移能力。

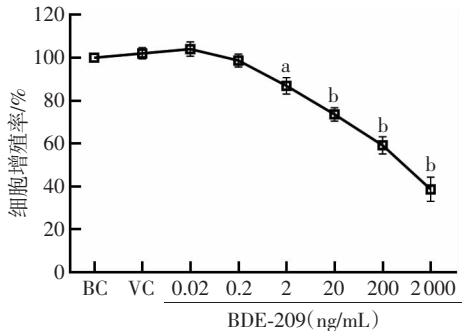
1.11 统计学分析

采用 OringinPro 8.0 统计软件处理结果,经正态性检验,数据均符合正态分布,定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 来表示,两组之间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BDE-209 抑制 MDA-MB-231 细胞活力

使用 CCK-8 检测不同浓度 BDE-209(0.02、0.2、2、20、200、2 000 ng/mL)暴露 24 h 后 MDA-MB-231 细胞活力的变化。结果显示,0.02、0.2、2、20 及 200 ng/mL 浓度组 MDA-MB-231 细胞的活力降低不到 30%,但 2 000 ng/mL BDE-209 暴露后的 MDA-MB-231 活力下降 56.81%(图 1)。根据 IC_{50} 值将 BDE-209 的暴露浓度定为 0.02、0.2、2、20、200 ng/mL。

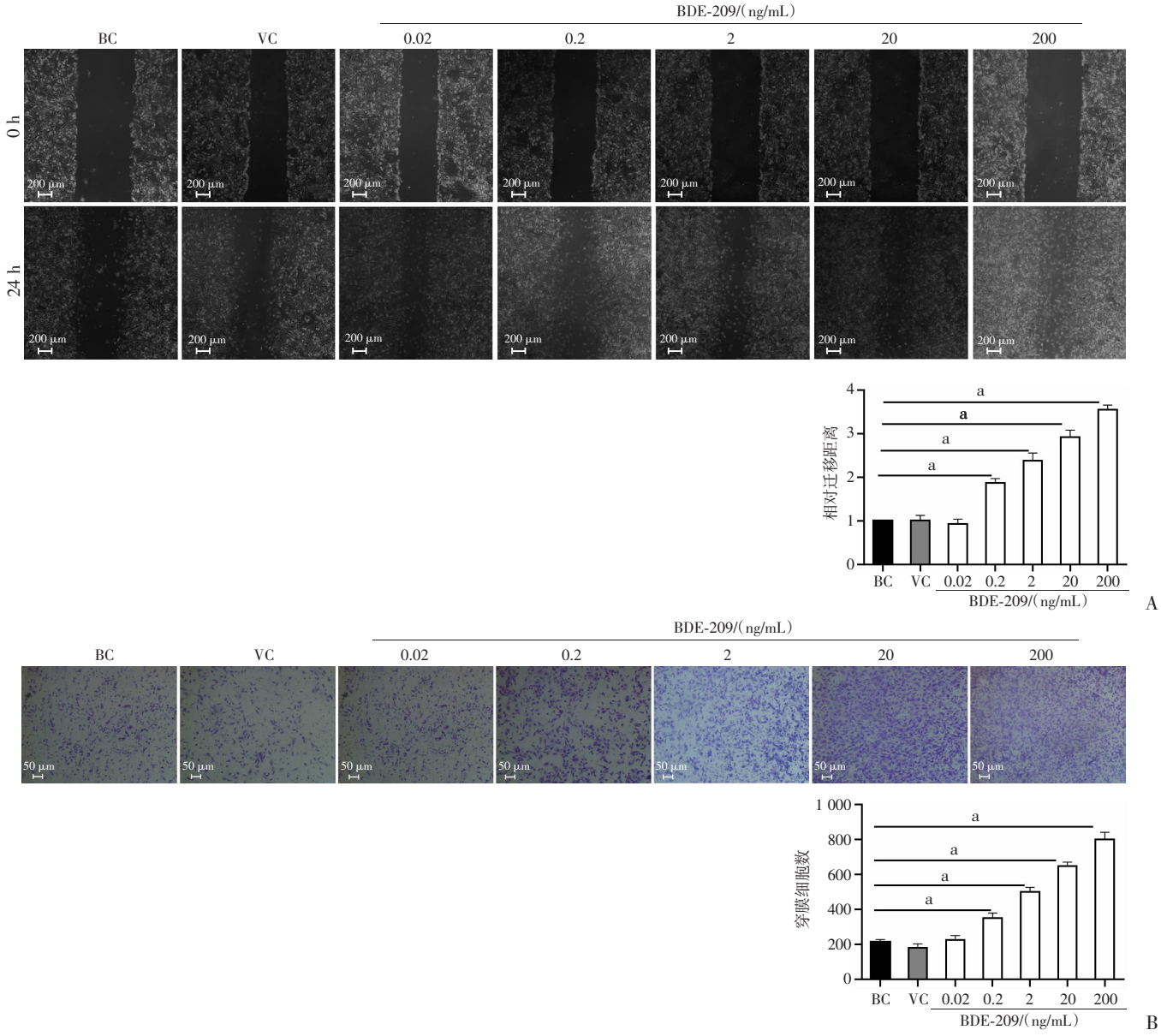


a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 BC 组比较

图 1 CCK-8 检测 BDE-209 对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

2.2 BDE-209 暴露促进 MDA-MB-231 细胞的迁移能力

MDA-MB-231 细胞经 BDE-209 暴露 24 h 后,细胞划痕实验结果表明,与空白对照组相比,2、20 与 200 ng/mL BDE-209 暴露后的划痕面积明显减小,即细胞的相对迁移距离显著提高($P<0.01$,图 2A)。Transwell 小室试验结果显示,与对照组相比,2、20 与 200 ng/mL BDE-209 暴露 24 h 后,穿膜细胞数目显著增加($P<0.01$,图 2B)。



a:$P<0.01$

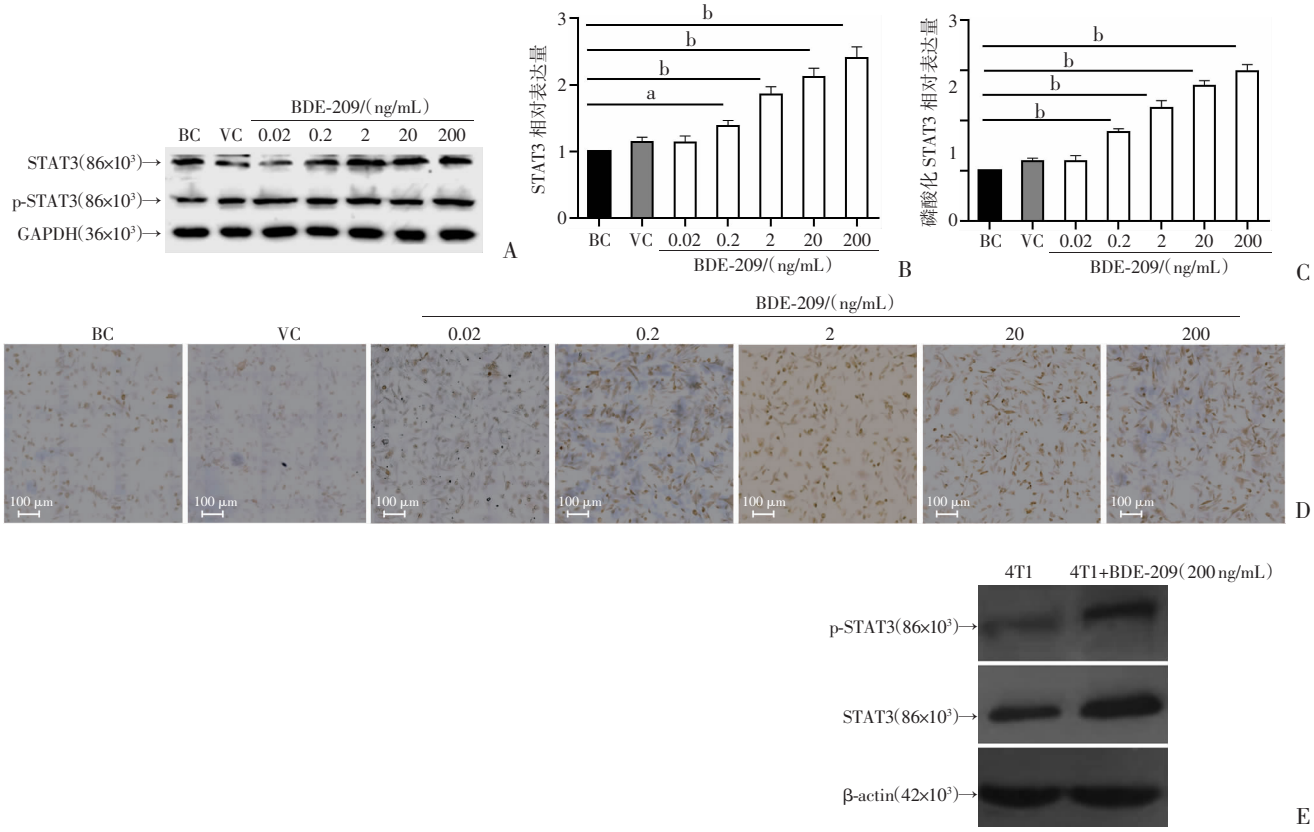
A:划痕愈合实验;B:Transwell 实验

图 2 BDE-209 暴露促进 MDA-MB-231 细胞迁移

2.3 BDE-209 暴露上调 STAT3 的表达

Western blot 结果显示,BDE-209 暴露不仅能提高 STAT3 的表达水平,更是能提高磷酸化 STAT3 的表达量,且 BDE-209 对 STAT3 表达水平的影响呈现剂量依赖效应(图 3A~C)。细胞免疫组化实验结果显示,与空白对照组相比,BDE-209 暴露 24 h 后,MDA-MB-231 细胞中的 STAT3 的表达量显著提高(图 3D)。

自小鼠腋下脂肪垫注入细胞第 4 天开始,乳腺处触摸到硬块,代表 TNBC 移植瘤模型构建成功。随着时间的推移,相对于对照组小鼠,BDE-209 组小鼠进食状态欠佳,毛色杂乱无光,偶见脱毛,活动减少,体型消瘦。7 d 后,取出结节,Western blot 结果显示由 BDE-209 暴露后的 TNBC 肿瘤细胞形成的乳腺癌结节内 STAT3 的表达量及磷酸化均高于对照组(图 3E)。



a: $P<0.05$, b: $P<0.01$

A:Western blot 检测 BDE-209 暴露后的 STAT3 和磷酸化 STAT3 的表达水平;B:BDE-209 暴露后的 STAT3 的相对表达变化;C:BDE-209 暴露后的磷酸化 STAT3 的相对表达变化;D:免疫组化检测 BDE-209 暴露后的 STAT3 在 MDA-MB-231 细胞中的表达;E:BDE-209 组小鼠肿瘤组织中 STAT3 和磷酸化 STAT3 的表达水平

图 3 BDE-209 暴露促进 STAT3 在 MDA-MB-231 细胞的表达及磷酸化

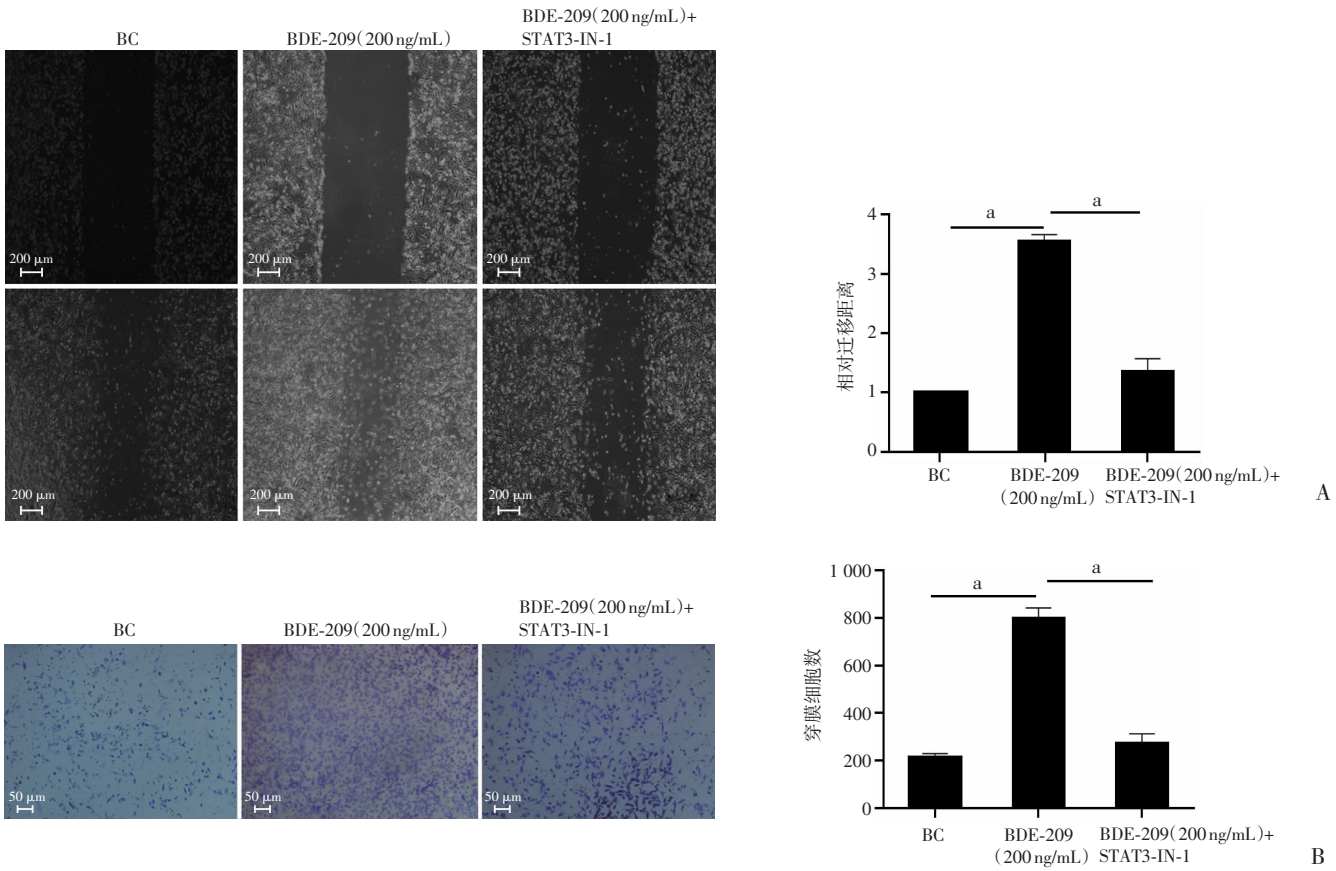
2.4 抑制 STAT3 有效减弱 BDE-209 促进 MDA-MB-231 细胞迁移的能力

用 1 μmol/L STAT3 抑制剂(STAT3-IN-1)对 MDA-MB-231 细胞进行预处理后,再对细胞进行 200 ng/mL BDE-209 暴露 24 h。细胞划痕实验结果表明,与 BDE-209 组相比,STAT3 抑制剂组(BDE-209+STAT3-IN-1)细胞的迁移能力显著抑制($P<0.01$,图 4A)。Transwell 实验结果显示,与 BDE-209 组相比,BDE-209+STAT3-IN-1 组的穿膜细胞数明显减少($P<0.01$,图 4B)。

3 讨论

持久性有机污染物暴露已被证实与乳腺癌的发生发展密切相关。如 PCB-77、PCB-169 的暴露与乳腺癌的转移呈正相关[12],多氯代二噁英(PCDD)的暴露水平更是与乳腺癌的淋巴转移密切相关[13]。细胞实验证实全氟辛酸((Perfluorooctanoic Acid, PFOA)的暴露可增强乳腺癌细胞的迁移能力[14]。BDE 因具有雌激素干扰效应,其家族成员(如 BDE-47、BDE-209)在人体的蓄积被确定为诱发乳腺癌的危险因素[15]。机制研究认为 BDE 的暴露可以通过刺激乳腺癌细胞的增殖,促进乳腺癌的发生发展[16]。BDE-209 作为 BDE 家族中在人体中含量较高的成员[17],虽然被发现可以促进雌激素受体阳性表达的乳腺癌细胞的增殖[18],但是对于雌激素受体为阴性的 TNBC 细胞是否有影响,尚未见报道。

TNBC 是一种特殊类型的乳腺癌,相较于其他类型的乳腺癌肿瘤细胞,TNBC 肿瘤迁移能力强。部分持久性有机污染物的暴露被发现不仅可以促进 TNBC 细胞的增殖,更是可增强 TNBC 细胞的转移能力。如二噁英暴露不仅可通过激活芳香烃受体促进 TNBC 细胞迁移,还可通过促进上皮间质转化,增加乳腺癌细胞的迁移能力[19]。与 BDE 结构相似的多氯联苯(Polychlorinated biphenyls, PCB)被发现不仅可以促进



a:$P<0.01$

A:划痕愈合实验观察抑制 STAT3 后 BDE-209 暴露对 MDA-MB-231 迁移能力的影响;B:Traswell 小室实验检测抑制 STAT3 后 BDE-209 暴露对 MDA-MB-231 迁移能力的影响

图 4 抑制 STAT3 显著降低由 BDE-209 促进的 MDA-MB-231 细胞迁移能力

雌激素受体阳性的乳腺癌细胞 MCF-7 的转移,还可以通过激活 ROCK,提高 TNBC 细胞 MDA-MB-231 的迁移能力[20]。作为在脂肪组织中的蓄积量较高的 BDE-209,虽然被认为与乳腺癌的发生发展有关[7],但少量的机制研究报道仅证实 BDE-209 可通过雌激素干扰效应促进雌激素受体阳性的乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖[18]。本研究结果表明,0.2 ng/mL 的 BDE-209 暴露即可显著促进 TNBC 细胞 MDA-MB-231 的迁移,而且伴随着暴露剂量的增加,BDE-209 促进 TNBC 肿瘤细胞迁移能力的效应更为明显。这一结果提示 BDE-209 暴露可剂量依赖性地增加 MDA-MB-231 细胞的迁移能力,促进 TNBC 肿瘤组织的发展。

STAT3 是 STAT 家族的成员,作为 JAK-STAT 信号通路的重要调节因子,STAT3 的表达及活化被发现与多种肿瘤的发生发展有关。临床研究证实 STAT3 在 TNBC 肿瘤组织中高表达,且 TNBC 组织中 STAT3 磷酸化(活化)程度与 TNBC 临床分期密切相关[21]。机制研究发现被激活的 STAT3 不仅可与 survivin 启动子结合,促进乳腺癌细胞的增殖[22];还可通过上调金属基质蛋白酶(MMP2)、Twist 等下游靶基因的表达促进肿瘤组织的侵袭性生长[23-24]。因而,STAT3 的表达及活化被认为是导致 TNBC 预后不良的关键因素。有研究证实持久性有机污染物暴露可促进 STAT3 的活化。如 KOIKE 等[25]发现 penta-BDE 的暴露可显著促进支气管上皮细胞 STAT3 的激活。KOZLOVA 等[26]发现多溴联苯醚 DE-71 暴露可显著提高雄性小鼠脑组织中 STAT3 的表达。本研究结果表明,BDE-209 暴露后 STAT3 的表达与活化在 MDA-MB-231 细胞与 TNBC 肿瘤组织中均显著提高;抑制 STAT3 后,BDE-209 暴露提高的 MDA-MB-231 细胞的迁移能力受到了显著的抑制,提示 BDE-209 暴露促进 MDA-MB-231 迁移能力的效应依赖于 STAT3 的表达与活化。STAT3 的活化受到细胞因子的调控,如 IL-6。ZHANG 等[27]发现 BDE-209 的暴露可以显著增加 Beas-2B cells 生成的 IL-6 含量。因此,我们推测 BDE-209 暴露诱发 STAT3 在 MDA-MB-231 细胞的活化可能与其诱导的 IL-6 表

达量增加有关。

综上所述,本研究结果证实 BDE-209 暴露可显著促进 TNBC 细胞 MDA-MB-231 的迁移能力,其作用机制与 STAT3 的表达及磷酸化密切相关。这揭示了 BDE-209 长期暴露导致的生物学毒性特征,丰富了对 BDEs 环境健康风险的认识,为新污染物的管控提供了依据。

参考文献:

[1] NEDELJKOVIC M, DAMJANOVIC A. Mechanisms of chemotherapy resistance in triple-negative breast cancer—how we can rise to the challenge[J]. Cells, 2019, 8(9): 957. DOI: 10.3390/cells8090957.

[2] GARRIDO-CASTRO A C, LIN N U, POLYAK K. Insights into molecular classifications of triple-negative breast cancer: improving patient selection for treatment[J]. Cancer Discov, 2019, 9(2): 176-198. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-1177.

[3] KOUAL M, TOMKIEWICZ C, CANO-SANCHO G, *et al*. Environmental chemicals, breast cancer progression and drug resistance[J]. Environ Health, 2020, 19(1): 117. DOI: 10.1186/s12940-020-00670-2.

[4] JI X W, DING J, XIE X C, *et al*. Pollution status and human exposure of decabromodiphenyl ether (BDE-209) in China[J]. ACS Omega, 2017, 2(7): 3333-3348. DOI: 10.1021/acsomega.7b00559.

[5] GUO J Q, MIAO W B, WU C H, *et al*. Umbilical cord serum PBDE concentrations and child adiposity measures at 7 years[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2020, 203: 111009. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111009.

[6] ZHAO X Z, SHI Z X. Legacy brominated flame retardants in human milk from the general population in Beijing, China: Biomonitoring, temporal trends from 2011 to 2018, and nursing infant's exposure assessment[J]. Chemosphere, 2021, 285: 131533. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.131533.

[7] HE Y F, PENG L, ZHANG W C, *et al*. Adipose tissue levels of polybrominated diphenyl ethers and breast cancer risk in Chinese women: a case - control study[J]. Environ Res, 2018, 167: 160-168. DOI: 10.1016/j.envres.2018.07.009.

[8] BRITO P M, BISCAIA S M P, DE SOUZA T L, *et al*. Oral exposure to BDE-209 modulates metastatic spread of melanoma in C57BL/6 mice inoculated with B16 - F10 cells [J]. Chemosphere, 2020, 260: 127556. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.127556.

[9] FENG Y, HU Q L, MENG G, *et al*. Simulating long-term occupational exposure to decabrominated diphenyl ether using C57BL/6 mice: Biodistribution and pathology [J]. Chemosphere, 2015, 128: 118-124. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.01.012.

[10] HWANG K T, KIM J, JUNG J, *et al*. Impact of breast cancer subtypes on prognosis of women with operable invasive breast cancer: a population-based study using SEER database[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(6): 1970-1979. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2782.

[11] YIN L, DUAN J J, BIAN X W, *et al*. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress[J]. Breast Cancer Res, 2020, 22(1): 1-13. DOI: 10.1186/s13058-020-01296-5.

[12] PIEROZAN P, JERNEREN F, KARLSSON O. Perfluorooctanoic acid (PFOA) exposure promotes proliferation, migration and invasion potential in human breast epithelial cells[J]. Arch Toxicol, 2018, 92(5): 1729-1739. DOI: 10.1007/s00204-018-2181-4.

[13] KOUAL M, CANO-SANCHO G, BATS A S, *et al*. Associations between persistent organic pollutants andrisk of breast cancer metastasis[J]. Environ Int, 2019, 132: 105028. DOI: 10.1016/j.envint.2019.105028.

[14] SAKAI G, HIRAO-SUXUKI M, KOGA T, *et al*. Perfluorooctanoic acid (PFOA) as a stimulator of estrogen receptor-negative breast cancer MDA-MB-231 cell aggressiveness: Evidence for involvement of fatty acid 2-hydroxylase (FA2H) in the stimulated cell migration[J]. J Toxicol Sci. 2022;47(4):159-168. doi: 10.2131/jts.47.159.

[15] BENOIT L, KOUAL M, TOMKIEWICZ C, *et al*. Impact of mixtures of persistent organic pollutants on breast cancer aggressiveness[J]. Environ Int, 2022, 170: 107615. DOI: 10.1016/j.envint.2022.107615.

[16] KANAYA N, BERNAL L, CHANG G, *et al*. Molecular mechanisms of polybrominated diphenyl ethers (BDE-47, BDE-100, and BDE-153) in human breast cancer cells and patient-derived xenografts[J]. Toxicol Sci, 2019, 169(2): 380-398. DOI: 10.1093/toxsci/kfz054.

[17] LI X Y, LIU J H, ZHOU G Q, *et al*. BDE-209 and DBDPE induce male reproductive toxicity through telomere-related cell senescence and apoptosis in SD rat[J]. Environ Int, 2021, 146: 106307. DOI: 10.1016/j.envint.2020.106307.

[18] LI Z H, LIU X Y, WANG N, *et al*. Effects of decabrominated diphenyl ether (PBDE-209) in regulation of growth and apoptosis of breast, ovarian, and cervical cancer cells[J]. Environ Health Perspect, 2012, 120(4): 541-546. DOI: 10.1289/ehp.1104051.

[19] SHAN A Q, LENG L, LI J, *et al*. TCDD-induced antagonism of MEHP-mediated migration and invasion partly involves aryl hydrocarbon receptor in MCF_7 breast cancer cells[J]. J Hazard Mater, 2020, 398: 122869. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122869.

[20] LIU S J, LI S T, DU Y G. Polychlorinated biphenyls (PCBs) enhance metastatic properties of breast cancer cells by activating rho-associated kinase (ROCK)[J]. PLoS One, 2010, 5(6): e11272. DOI: 10.1371/journal.pone.0011272.

[21] YU T J, LIU Y Y, LI X G, *et al*. PDSS1-mediated activation of CAMK2A-STAT3 signaling promotes metastasis in triple-negative breast cancer[J]. Cancer Res, 2021, 81(21): 5491-5505. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-21-0747.

[22] CAVALCANTE R S, ISHIKAWA U, SILVA E S, *et al*. STAT3/NF-κB signalling disruption in M2 tumour-associated macrophages is a major target of PLGA nanocarriers/PD-L1 antibody immunomodulatory therapy in breast cancer[J]. Br J Pharmacol, 2021, 178(11): 2284-2304. DOI: 10.1111/bph.15373.

[23] YANG C C, YU H C, CHEN R, *et al*. CXCL1 stimulates migration and invasion in ER^- negative breast cancer cells *via* activation of the ERK/MMP2/9 signaling axis[J]. Int J Oncol, 2019, 55(3): 684-696. DOI: 10.3892/ijo.2019.4840.

[24] DIMRI S, MALHOTRA R, SHET T, *et al*. Noncanonical pS727 post translational modification dictates major STAT3 activation and downstream functions in breast cancer[J]. Exp Cell Res, 2020, 396(2): 112313. DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.112313.

[25] KOIKE E, YANAGISAWA R, TAKIGAMI H, *et al*. Penta- and octa-bromodiphenyl ethers promote proinflammatory protein expression in human bronchial epithelial cells *in vitro*[J]. Toxicol Vitro, 2014, 28(2): 327-333. DOI: 10.1016/j.tiv.2013.10.014.

[26] KOZLOVA E V, DENYS M E, BENEDUM J, *et al*. Developmental exposure to indoor flame retardants and hypothalamic molecular signatures: sex-dependent reprogramming of lipid homeostasis[J]. Front Endocrinol, 2022, 13: 997304. DOI: 10.3389/fendo.2022.997304.

[27] ZHANG Y N, MAO P, LI G Y, *et al*. Delineation of 3D dose-time-toxicity in human pulmonary epithelial Beas-2B cells induced by decabromodiphenyl ether (BDE209)[J]. Environ Pollut, 2018, 243(Pt A): 661-669. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.09.047.

(收稿:2023-02-15;修回:2023-05-31)

(编辑 汪勤俭)