

出國報告（出國類別：國際會議）

2013 年國際毒物學會議(ICT 2013)

服務機關：國防醫學院生物及解剖學研究所

姓名職稱：藍心婕 助理教授

出國期間：102 年 6 月 29-7 月 4 日

報告日期：102 年 7 月 17 日

摘要

國際毒物學會議(International Congress of Toxicology, 簡稱 ICT)是毒物學研究的盛會。今年由國際環境研討會組織(EOMICS)，以及南韓毒理學會(KSOT)與南韓環境致癌物學會(KEMS)共同主辦。本次會議的主題是：從基礎科學研究到臨床與環境的結果，許多著名的專家學者根據此主題以及現今在毒物學研究所面臨的挑戰進行討論。本次的會議中，有來自超過 100 個國家的 2,000 位以上與會者，在高品質的首爾世貿會議中心(COEX)發表許多有教育意義的演講。本人很幸運獲得國家科學委員會的經費補助，得以參與此次盛會，並且在第三天的會議中，參加以內分泌干擾物為主題的海報論文展示，題目為「研究雙酚 A 對胎盤 JEG-3 細胞在荷爾蒙合成方面的調控機制」。在意見交流的過程得到許多正面的回應與建言，對此研究題目的發展極有幫助。此外，本會議的各國學者亦提及關於食物安全與環境藥品等相關議題，這也是台灣近年來多次發生危機的事件，相關的科學進展與風險評估值得我們投注更多的資源來探討，這也是同時具有基礎研究與臨床應用價值的未來重要趨勢。

目次

封面.....	第 0 頁
摘要.....	第 1 頁
目次.....	第 2 頁
內文.....	第 3-10 頁
一、目的.....	第 3 頁
二、過程.....	第 3-6 頁
三、心得.....	第 6-8 頁
四、建議事項.....	第 9 頁
五、照片附錄.....	第 10-11 頁

目的

近年來各種金屬物質與人工合成化合物被廣泛的應用，但是卻造成環境與各式動植物的毒害，因此毒物學的研究逐漸受到國際的重視。國際毒物學會議(ICT)讓全世界各地的研究人才集於一堂，並分為多種主題，包含：超基因調控、訊息傳遞、致癌機轉、金屬汙染、食品科學、內分泌干擾物等。藉由專題演講、學術的論文發表、海報展示等方式，讓與會者能廣泛地汲取新知、交換意見，甚至當面向權威教授請益，以獲得新的靈感與啟發。由於本人成為獨立的研究人員，開始建立實驗室僅兩年多，參與環境荷爾蒙的相關研究才起步，但有一些初步的研究成果，因此期待經由此次機會與該領域的各國精英見習，並聆聽建言，交換觀點，作為將來發展研究主題與指導學生的養分，對往後的研究進展幫助極大。

過程

此國際性的毒物學研討會議(ICT) 每三年一次在世界不同的地區舉辦，因此去年(2012 年)開始便以在網路上得知此會議的各項資訊。本人便於國科會研究計畫申請案中，提出參與會議的需求與經費規畫，也十分幸運於去年底得以順利通過獲得經費。因此，在今年的一月底完成會議的線上註冊與海報論文上傳，並且在 2013 年 3 月 14 日收到大會的論文接受同意函。本人於 2013 年 6 月 29 日上午搭乘中華航空 CI0160 班機由桃園中正機場起飛，在傍晚順利抵達首爾。隔天再由首爾市區搭乘捷運系統抵達 COEX 世貿會議中心，完成會議報到手續，並順利取得大會識別證與議程手冊等資料，而且也參與了毒物學會的開幕與歡迎儀式，陸續見識了在這個領域中，各國學者的風采。第二天起，每天八點鐘起床梳洗出門後，自住宿的 Hotel Revira 步行到達會場約九點鐘，便開始在各個會場穿梭聽演講。由於此會議期間，每日早上九點到十點是共同的主題演講 (Keynote Lecture)，接著便是分為四到六個不同的研究主題，分別在區隔開的數個議場中，進行不同的主題演講。為了盡一己所能去挖寶與學習，我必須在前一天先以大會手冊瞭解各式主題，以便當天能正確選擇自己最有興趣的主題聆聽。

在第二天(7/1)，我選擇了關於”食品化學的風險評估”這項主題。主講人當中分別來自德國、南韓與中國大陸，他們分別就自己國內的食品安全之風險評估做了討論。結果我發現，一直以來食品與食品添加物的安全性在歐美國家均有較嚴格的法令規範，但是在亞洲國家，由於文化與消費習慣的差異，食品製造與

販售的過程往往非常多元，也較難以管控，但近幾年來的多項食品危機事件的爆發，讓中國與南韓也開始關注這項議題，並發展出較有系統的風險評估機制，但我想如何正確有效地落實執行，或許才是最重要的事情。此外，在此演講中，也提及食品包裝原料可能汙染食品本身的問題，關於這些與食物直接接觸的化學原料(通常為塑膠製品)是如何轉移或是轉移多少到食物上，也是各方面的學者們近期關注到的議題。

在第三天(7/2)早上的主題演講中，來自美國的權威學者 Linda S. Birnbaum 給與會者一個非常好的研究信念與鼓勵，他提到了自己對於毒化物的學術研究，也提到了這些毒化物對生物與人類的影響。但更重要的是，他認為我們的身體是天生的，我們的基因無法改變，所以我們要努力改變的應當是環境。人類目前身處在一個自行創造的環境許久，每天接觸許多自然界不會存在的化學物質，這些物質的風險與影響就是這個領域的科學家面臨的課題。而接下來的個別議題演講中，我選擇了”化合物致癌過程中的超基因失控(epigenetic dysregulation)”這個主題，此研究範圍是我較熟悉的細胞增生領域，主要探討細胞在接受外在刺激之後，在基因修飾的層次發生了哪些變化，而使細胞逐漸癌化。其中有來自美國哥倫比亞大學的教授與中國大陸的學者，分別都提到了特定基因的 DNA 上，因化學藥品的刺激而出現了一些甲基化(methylation)的改變。而這樣的改變將導致某些細胞分裂相關基因的大量活化，進而使原本正常的細胞開始不正常的增生與分裂，也就是誘發癌症的機轉。此外，在這場講演中，還有一位南韓檀國大學的學者提到關於癌細胞與胚胎幹細胞(embryonic stem cells)之間的比較。他發現兩者之間有某些共通的特性與基因表現，因此針對這些癌化的細胞加以改變其基因修飾，確實可以改變癌細胞的生長狀況。在這個演講主題中，各位學者均對超基因(epigenetic)層級的調控進行闡述，這項研究觀點是近年來的新興趨勢，他們的發現與分享十分新穎有趣。

接著在七月二日當天下午，也是我進行海報論文發表的問答時間，發表的題目是「研究雙酚 A 對胎盤 JEG-3 細胞在荷爾蒙合成方面的調控機制」。內容主要在探討環境汙染物質雙酚 A (BPA)對於胎盤細胞 (JEG-3 cells)的影響，以及如何影響的分子機制。我們的研究成果顯示，即使在人體血清中就可以測得的低濃度雙酚 A 影響下，胎盤細胞雖然正常生長不會死亡，但其荷爾蒙基因的表現已被改變，荷爾蒙分泌量也受到了影響，此研究提供了內分泌干擾物質導致懷孕失敗或流產的可能原因。在這段期間，我與來自各國的學生、教授、研究人員等，

進行許多的成果分享與意見交換。包括來自中國大陸、日本、德國、泰國等地的學者，對我的研究主題感到有興趣。在我逐步介紹我們的發現時，他們也顯出驚喜與讚賞，因為關於雙酚 A 對訊息路徑的影響這方面的研究，所知確實不多，而我們的初步成果提供了一些新的知識，多位教授紛紛表示十分有趣。而在此過程中，我也有幸與數位來自台灣的權威學者相遇，包括台大林榮耀教授。另外我還抽空與附近同是以”內分泌干擾物質”為主題的海報主講人交換心得。其中一位來自日本東京大學的博士班學生的海報，研究關於農藥內含戴奧辛類化合物 TCDD 對乳癌細胞的影響，其中也討論到關於雌性激素受體 (ER) 的作用機制。另外，我也在重金屬污染議題的海報中，看到關於鎘對腎臟細胞的毒性，而作用機制可能與非常著名的細胞週期基因 P53 有關，還可能進一步誘發細胞凋亡的路徑。這幾天在海報論文的展示會場，一直可見各方學者互相討論、論述已見、分享心得，而且最重要的是，我們可以在近距離的面談中，認識原本只在論文 paper 中存在的學者，拓展了自己在該領域的視野與人脈。

在第四天(7/3)的議程中，我參加的是自己很有興趣的主題，關於草藥與營養補充品的功效及毒性研究，在這個主題中，可想而知，有來自亞洲的台灣榮總鄧昭芳醫師(Jou-Fang Deng)與香港學者發表了演講。但非常有趣的是，還有一位來自南非的 Vanessa Steenkamp 教授，講述了關於南非傳統藥草的疾病預防能力，這是我從未接觸過的新知識，果然關於藥草或是食補，各個地區都有自己獨特的傳統與典故。但是這位南非學者也提到與中草藥同樣的觀點，那就是-藥也就是毒，以草藥治病其實就是以毒攻毒，所以以草藥為研究主題，為的是透徹地了解它們可以解的毒以及可能產生的毒。此外，還有一位來自美國哈佛醫學院的學者，則是關注於某些藥草與藥草製品所含有的重金屬或農藥污染，由於現今許多藥草可以人工栽培而非野生，因此栽種過程的農藥、殺蟲劑、或土地污染，便連帶影響了這些藥草作物，但偏偏許多藥草在萃取以及製成藥方的過程中，都將這些污染物質更加濃縮了，這樣的情況對中草藥製品的愛好者來說，確實需要更加的謹慎注意。此外，這一天的海報論文也有一些有趣的主题，像是關於神經與學習記憶方面的毒性研究。眾所周知，神經細胞是非常脆弱且難以修復的，它可以因為自由基離子的攻擊、氧化壓力的增加而死亡，所以凡是可能誘發細胞如上述過程的藥物，就可能造成神經毒性，因此這個主題的研究非常多元又有趣。有中國學者研究金屬錳對大鼠學習與記憶的影響，有日本與美國學者研究軟骨藻酸(domoic acid)對老鼠神經行為的改變，有中國學者發現長期暴露於鉛將導致老

鼠出現類似阿茲海默症的神經退化疾病，更有南韓學者發現給予小鼠高脂肪飲食可能導致神經細胞發炎反應並出現蛋白質斑塊累積。其中最值得注意的是，我所研究的環境荷爾蒙毒物，雙酚 A (BPA) 也被日本東大的教授研究發現，將會誘發大鼠的海馬迴神經改變，甚至還有刺激動物出現躁動行為的傾向。在同一時間，還有關於放射線與自由基毒性的海報，以及與發炎反應相關的各種毒物研究。

在第五天 (7/4) 的議程中，主要討論一些環境風險的評估以及新藥開發的過程，相關的研究涉及較多的環境工程與藥物動力評估，是我非常不擅長的領域，加上預定班機時間緊迫的關係，僅能稍微在議場逗留一小時後，便出發前往金浦機場，於中午時間搭乘華航 CI0261 的班機返回台北松山機場。所幸，這天也是本次會議的最後一天，許多學者已紛紛返國離開，與會人數較以往幾天數量較少，且所有議程在中午十二點結束，畫下句點，所以我應該也沒有錯過太多重要的訊息。在返台的班機上，仔細閱讀會議手冊並整理這幾天所獲得的知識，感覺非常充實而滿足。

心得

此行前往南韓首爾，過程中遇到許多人事物，僅擷取部分心有所感的幾項事件，分述於下：

1. 語言與學習態度的重要性：一般認為現今南韓與日本的發展，應該在台灣之上。在首爾參與會議的這幾天，發現除了在議場與專業人士進行學術交流以外，其他時間在首爾生活時(餐飲、超商購物等)，發現南韓人的英語聽說能力並不特別出色。此外我在議場中，嘗試與南韓或是日本學生討論海報論文時，也發現他們的英語表達能力比較有限。我在台灣指導研究生僅兩年，也曾抱怨學生的英文程度不佳，在科學研究與吸收新知方面，會增加很多的阻力。但是此行的經驗，讓我改變了想法，其實許多亞洲國家學生的英文程度都差不多，台灣的學生其實也沒有特別差，不需要認為語言基礎就一定是阻礙。反而在求知與學習的態度上，幾位日本與南韓學生讓我印象深刻，他們雖然英語能力有限，但仍勇敢表達，並且利用各種方式，例如肢體語言或是額外的書面資料輔助說明，不會因為害怕就畫地自限。反觀與會的台灣或大陸學生，明顯數量較少，對於交流與討論的機會也較不積極。我想，雖然在現今的學術環境下，非英語國家的研究人員還是必須努力熟練這個共通的語言文字，但是只要有追求知識與科學的熱忱，便足以支持這些亞洲學生花更多的精神與時間來鑽研發現。一旦他對這件事情懷有熱情與

喜愛，再困難艱深的隔閡，他自己都會設法打破，如同喜歡電腦遊戲，就一定會想辦法尋找出破關的秘技一樣！所以身為指導老師，也許我們應該更努力的，不光是強迫學生念英文 paper，而是設法啟發他對科學研究的熱情與動力吧?! 另外，值得一提的是，許多南韓當地的店員與學生都對學習中文抱有高度的興趣。當知道我說中文時，都非常高興熱切地一直跟我說他們會的中文。其中，有許多當然是中國大陸的留學生或移民，但另外也有很多是道地的韓國人，且已學習中文多年，或是曾到中國工作，國語說得非常流利標準，令人讚嘆。我想近年來中國大陸的快速發展與經濟開放，大概是最大的誘因，所以不只是韓國在一窩蜂地學中文，而是全亞洲都在學中文，甚至是全世界都在這股中國化的浪潮中了！

2. 中草藥的相關研究: 在我的刻板印象當中，藥草的研究幾乎是亞洲國家的專利，而且是較為小眾的一個研究領域，但這次的會議使我完全改觀，事實上世界各地都有自己獨特的植物與傳統，都有一套長久以來的治病秘方，只是時間長或短、藥草數目多或少而已。其實在古早的歐洲也有女巫以藥草替人治病，甚至到今日都還有各種植物精油，或是花草茶堪稱療效，所以或許我們不該畫地自限，或是將之歸類於迷信不夠科學。事實上，科學這一件事是所有研究者追尋的真理，而許多傳統的東西，並非直接等於不科學，只是還沒有人用科學的方法仔細地去驗證或鑽研罷了。在這次的研討會中，我就聽到幾個非常有趣的研究，將一些古老傳統的藥物，進行創新科學的研究。所以，雖然身為科學家，仍然要永遠保有開放的胸襟，對任何的領域、任何的未知都保有好奇心與興趣，才是最合宜的態度。另外，在草藥類製品的評估方面，這也是台灣近期熱門的話題，各種中藥或植物的萃取物，從綠藻、酵母菌、冬蟲夏草，到綠茶、大蒜、人蔘、靈芝等，都可以是健康保健食品的材料。雖然天然原料萃取物看似比人工合成維他命來得自然健康，但是這些天然原料絕大部分也是人工栽培出來的，也可能有農藥、殺蟲劑等污染，更糟糕的是在它們萃取純化的過程，到底能大量保留的是有益身體但結構不穩定容易流失分解的健康元素，還是製造過程中的有害污染物呢？當然，今日的社會環境不可能讓我們自己種菜、自己種米、不可能凡事親力親為，自給自足，所以我們總是難以避免要接觸到一些可能的毒化物。但是關於這個議題的討論，讓我得到的感想就是，與其去吃一些製作過程不明的萃取膠囊或錠，也許直接去喝綠茶、優酪乳，或是直接吃大蒜、各式蔬果還比較新鮮又安心吧！

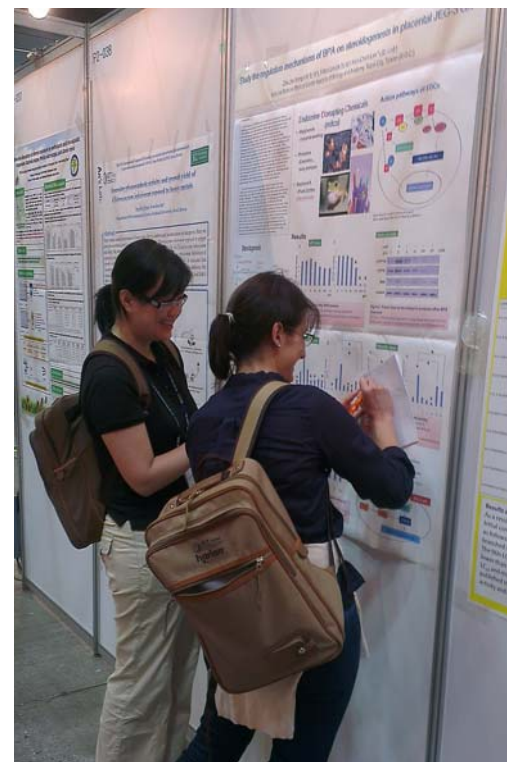
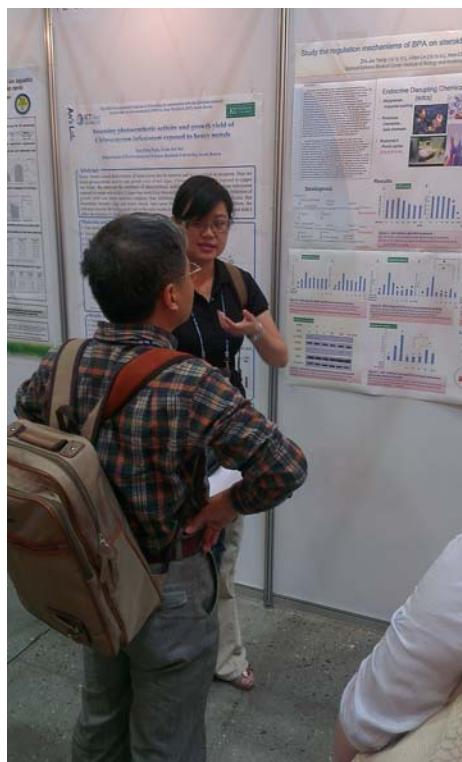
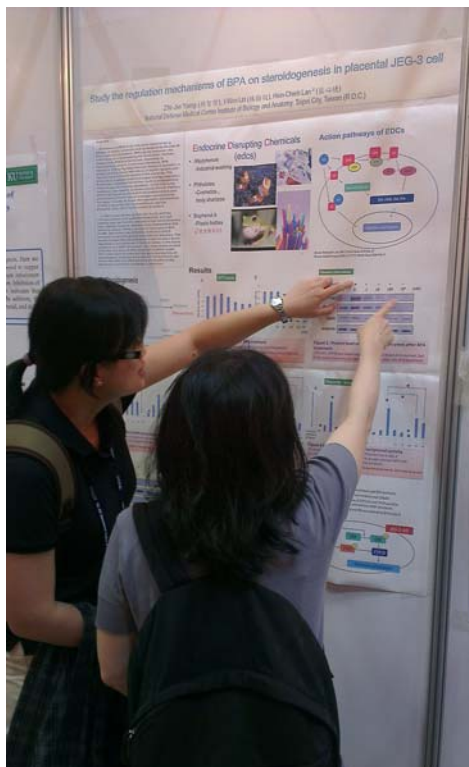
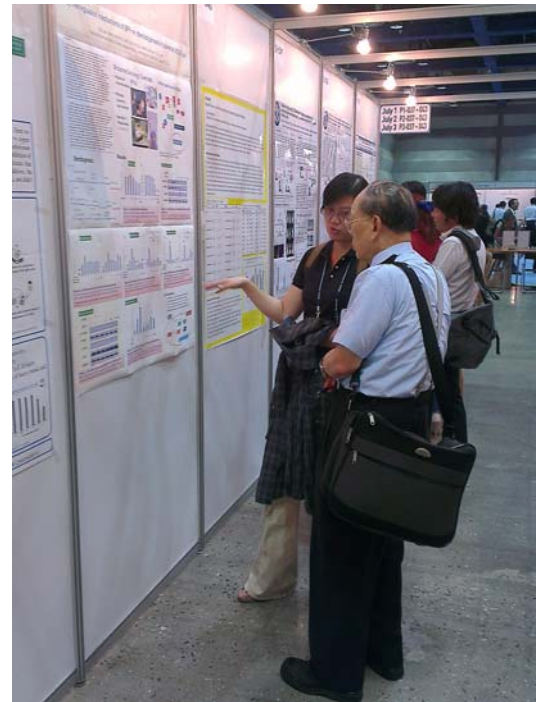
3. 毒化物的多樣性與廣泛性:在本次會議中，光是毒化物就分為許多種類與效用，像是重金屬毒化物、環境農藥汙染物、食品添加物、放射線、致癌物、神經性毒物……等，數量非常多之外，範圍也非常多元，甚至是高油脂飲食，或是原本認為有益身體的中草藥，也潛藏某些對人體的不良影響。誇張一點來說，幾乎是食衣住行，任何日常生活的活動中，都可能使自己暴露於毒物的風險中，也難怪有許多從事毒物研究的專家學者，生活非常小心謹慎，絕少外食盡量自己帶便當。而且，綜合這些研究的發現，我的感想是，似乎一個毒化物也經常具有多重的傷害能力。以我目前所研究的雙酚 A 來說，它被認為是一個環境荷爾蒙，具有生殖方面的毒性，但是越來越多的研究發現，事情並沒有那麼單純，這個化合物進入體內之後，除了干擾內分泌與生殖系統之外，甚至還影響了神經系統，使動物的大腦和行為也發生了變化。再以重金屬鎘來說，原先認為它是個難以代謝排出的物質，會累積於肝臟與骨頭中，造成疼痛與細胞壞死，但是近年來的研究更發現，它還具有致癌的風險，更容易造成腎臟細胞的病變。根據這些資訊的揭露，我想人們對於毒化物確實應該更加謹慎小心，對於明確已知是具有毒性的物質，盡可能不要接觸，因為它可能危害你身體的多重器官；對於未知毒性的物質，也要避免長時間大量的暴露機會，因為不管任何物質，只要過量都是危險的。或許有很多人覺得，如此神經質的生活著太過辛苦了，也可能覺得毒化物學者過於危言聳聽，但是，知識是逐漸累積的成果，當我們真的知道越多，就更有機會選擇避免。其實也就在幾十年前，人們都還普遍相信 DDT 是非常棒，人畜無害的殺蟲劑呢！所以與其說毒化物研究專家是危言聳聽的一群人，我更寧願相信，其實，這些用心進行毒物研究的科學家們，許多都是這個世界上願意對抗商業利益，選擇比較孤獨的先知吧？！

建議

1. 希望在出國參加研討會的經費補助上，能給新進的研究人員，或是研究生（無論是碩士或博士）更多一些機會。對年輕的研究者來說，發現研究的樂趣，找到研究的靈感與方向是非常重要的，但是這些剛起步的新進人員或是研究生，相較於資深的學者而言，通常又是經濟狀況較不充裕的一群。因此，希望相關機構能盡量增加這方面的經費補助，相信對台灣的科學研究，會有正面的影響。

2. 對於食品添加物或保健食品的監督制度，應強制建立自我檢查制度，政府也應該更公正透明並加入學術單位參與檢驗。雖然食品產業的商業利益龐大，但食品是人民的生存與健康之本，無論如何不容妥協。既然政府重視人民健康，推廣休閒運動且廣設運動中心，接下來應在食品與藥品安全方面更加關注，除了建立完整制度加強稽查之外，也應投注更多資源在此領域中，一旦有政府資源與相關檢驗產業的加入，便能吸引更多的人力投入該領域。

相關照片附錄



Abstract No. AF0366

Chronic Exposure to Cadmium Induces p53-dependent Apoptosis Specifically in Renal Tubules of Mice

Jin-Yong Lee¹, Maki Tokumoto^{1,2}, Yasuyuki Fujiwara¹, Masahiko Satoh¹

¹ School of Pharmacy, Aichi Gakuin University, Nagoya, Japan; ² Showa Pharmaceutical University, Tokyo, Japan

Introduction

BACKGROUNDS

We have demonstrated that cadmium (Cd)-induced apoptosis may relate to overaccumulation of p53, which is due to the suppression of p53 degradation through inhibition of expressions of ubiquitin-conjugating enzyme genes, Ube2d family in rat proximal tubular cells (NRK-52E cells)¹.

Ube2d family
E2 ubiquitin-conjugating enzymes

p53
A target protein of Ube2d family; an inducer of apoptosis

¹Tokumoto M, Fujiwara Y, Shimada A, Hasegawa T, Seko Y, Nagase H, Setoh M. Cadmium toxicity is caused by accumulation of p53 through the down-regulation of Ube2d family genes in vitro and in vivo. *J. Toxicol. Sci.*, 36, 191-200, 2011.

PURPOSE

In this study, we examined the effects of chronic exposure to Cd on the localization of p53 and apoptosis in kidney and liver of mice.

Results & Discussions

1. Renal & hepatic toxicity by Cd exposure

2. Localization of p53 and apoptosis

Methods

1. Animals and treatment

- Animals: Five weeks old female C57BL/6J mice
- Exposure to Cd: Feeding of diet containing 300 ppm Cd, for 12 months

2. Toxicity evaluations

- Renal toxicity: Blood urea nitrogen (BUN) level and blood creatinine (Cre) level
- Hepatic toxicity: Blood GOT & GPT level GOT: Glutamic oxaloacetic transaminase GPT: Glutamic pyruvic transaminase

3. Analyses of expressions

- mRNA level: Real-time RT-PCR
- p53 protein level: ELISA

4. Localizations of p53 and apoptosis

- Samples: 5 μ m serial sections of kidney and liver
- Localization of p53: Immunostaining with anti-p53 antibody
- Localization of apoptosis: TUNEL staining

4. Localization of p53 and apoptosis

6 month exposure

Effect of low dose BPA on early differentiation of hESCs into mammary epithelial cells

Lingqing Yang¹, Lingfeng Luo², Desheng Wu¹, Haiyan Huang¹, Jianjun Liu¹, Wenchang Zhang^{*2}, Zhixiong Zhuang^{*1}

^{*}Corresponding author: zxxhuang2007@126.com and wenchang2008@126.com

¹Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518020, China

²Key Laboratory of Environment and Health, Fujian Medical University, Fuzhou 510080, China

Introduction

Data from multiple sources indicate that the amount of bisphenol A (BPA) to which humans are exposed may cause adverse health effects and this has raised concerns among regulatory agencies all over the world. It has been previously reported that Bisphenol A (BPA) can disturb the development of mammary structure and increase the risk of breast cancer in experimental animals.

Human embryonic stem cells (hESCs) are being used to understand the complex molecular and cellular events that occur in early development and disease progression and also have a wide application in the research of epigenetics, pathophysiology and toxicology.

In this study, an *in vitro* model of human embryonic stem cell (hESC) differentiation into mammary epithelial cells was applied to investigate the effect of low dose BPA on the early stages of mammosgenesis.

Results

Mammospheres or acini structures were generated *in vitro* from X-01 cells after the cells were cultured in the differentiation culture system for 3-5 days. By day 12, the cells were fixed to detect the expression of human mammary gland cell lineage-specific markers. The immunofluorescence results showed that the cells were positive for CK18 and E-cadherin. Consequently, we named these characterized cells induced differentiated mammary epithelial cells (IDMECs).

Low-Dose Arsenic Exposure Diminished Osteoblast Differentiation from Bone Marrow Cells *in Vitro* and *in Vivo*

Cheng Tien Wu¹, Tung-Ying Lu¹, Kuo-Tong Huang^{1,2}, Rong-Sen Yang³, Shing Hwa Liu¹

¹ Institute of Toxicology, College of Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

² Department of Internal Medicine, National Taiwan University Hospital and National Taiwan University College of Medicine, Taipei, Taiwan.

³ Department of Orthopedics, College of Medicine and Hospital, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

Abstract:

Arsenic is widely distributed in the environment as the essential nutrient in the air, soil or drinking water. In humans, it can be absorbed via digestive tract, skin exposure or inhalation, and then distribute to the target tissues such as hair, liver, lung, kidney, spleen and bone. Previous reports indicated that long-term exposure to arsenic in drinking water enhanced the incidence of chronic diseases like as peripheral vascular and neuronal disease, endocrine disorders as diabetes and the hematopoietic system. However, the effects of arsenic on bone marrow cells differentiation and bone mass changes remain unclear. Here, we searched by *in vitro* and *in vivo* experiments to explore the effects of low-dose arsenic exposure on osteoblast differentiation and bone mass changes. Established in 0.5 to 1.0 μ M arsenic as primary bone marrow cells, which did not affect the cell viability, decreased osteoblast differentiation markers like as alkaline phosphatase (ALP) activity, bone morphogenetic protein 2 (BMP-2), osteocalcin (OCN) expression, and osteonectin glycosaminoglycan. Furthermore, the *in vivo* results also displayed that arsenic activates the protein expressions of phosphorylated ERK, nuclear factor κ B (NF- κ B) and p53, and also up-regulates the protein expression of BMP-2. Pre-treated with ERK inhibitor (PD98059) consequently reversed the arsenic-induced osteoblast differentiation and mineralization. The animal experiments showed that treatment with 0.05 and 0.5 ppm arsenic triple in drinking water for 3 months (12 weeks) to rats, osteoblast differentiation capacity were obviously decreased in dose dependent manner. The μ CT image also shows lower trabecular bone area formed after exposure to low-dose arsenic. Taken together, these findings suggest that arsenic exposure is capable of inducing the osteoporosis via an ERK signaling pathway.

Methods and materials:

Primary osteoblast cultures and cell viability assay

Fig. 4. Inhibition of ERK phosphorylation reversed BMSCs differentiation.

Fig. 4. BMSCs were treated with the 0.5-1.0 μ M As₂O₃ and/or pERK inhibitor, PD98059 (20 μ M) for 5 to 14 days. Osteoblast differentiation markers, BMP-2 and OCN, were detected by the real-time RT-PCR (A) and (B), respectively. Data are presented as means $\pm$ SEM (n=3) for three independent experiments. **P* < 0.05, Control group vs. As₂O₃ treatment group. #*P* < 0.05, 1.0 μ M As₂O₃ treatment group vs. 1.0 μ M As₂O₃ + pERK inhibitor treatment group. DM: differentiation medium.