中国毒理学会第十次全国毒理学大会

2023年4月8日-11日
（广东·珠海）

目　　次

临床毒理、应急与中毒救治 …… T01
环境、生态毒理 …… T02
药物毒理与安全评价 …… T03
食品毒理与风险评估 …… T04
放射及特种毒理 …… T05
工业毒理与职业卫生 …… T06
神经毒理、药物依赖 …… T07
农药、化妆品与新化学品毒理 …… T08
纳米与新材料毒理 …… T09
生物毒素毒理 …… T10
饲料与兽医毒理 …… T11
靶器官毒理 …… T12
生殖与发育毒理 …… T13
遗传毒理与致癌 …… T14
系统毒理学与生物标志 …… T15
毒物代谢与毒代动力学 …… T16
毒理学替代法与转化毒理 …… T17
毒性通路与分子毒理 …… T18
分析毒理与计算毒理 …… T19
毒性病理学研究 …… T20
其他 …… T21

T01-0002

分析目标导向性血液灌流对急性百草枯中毒患者的疗效

孙 明，吴 超，赵春云，姚成洲，吴晶晶
（徐州医科大学附属宿迁医院/南京鼓楼医院集团宿迁医院，江苏 宿迁 223800）

摘要：目的 基于百草枯的靶器官毒理代谢机制，对中毒患者实施目标导向性血液灌流治疗的临床效果探究。**方法** 研究时段：2018年2月至2021年12月，对象：我院收治的66例急性百草枯中毒患者，将其按照治疗方式的不同分为3组，组别名称分别为：A组（n=20，常规治疗）、B组（n=24，3次血液灌流治疗）、C组（n=22，持续目标导向性血液灌流治疗），对比3组患者的临床治疗效果。**结果** 3组急性百草枯中毒患者在治疗后的PaO2指标、APACHE Ⅱ评分相比较来说，C组明显优于A、B组，差异有显著性，$P<0.05$；与A、B组急性百草枯中毒患者相比，C组急性百草枯中毒患者在治疗后的生存率明显较高，$P<0.05$。**结论** 在对急性百草枯中毒患者进行治疗的过程中，根据百草枯中毒的靶器官损伤机制，采用持续目标导向性血液灌流的治疗方法，其救治效果较为明显，可在临床中应用、推广。

关键词： 百草枯；靶器官；中毒患者；持续目标导向性；血液灌流；治疗效果

基金项目： 江苏省“333高层次人才培养工程”科研基金（BRA2018262）

作者简介： 孙 明，副院长兼急诊医学科主任，副主任医师，急诊医学硕士生导师，急诊医学博士生，中国认证毒理学家，主要从事急危重症及中毒救治，E-mail：wch7992475@163.com

T01-0003

肝功能与血常规联合检测在燃煤型砷中毒肝损伤诊断中的价值分析

王 祺[1]，田 宇[2]，黎国秀[2]，马 璐[1]，潘兰兰[2]，罗道朋[1]，程 丽[2]，尹明刚[2]，阮 璇[2]，张爱华[1*]
（1. 贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室、公共卫生与健康学院，贵州 贵阳 550025；
2. 贵州省黔西南州兴仁县雨樟镇中心卫生院，贵州 兴仁 562300）

摘要：目的 肝损伤是燃煤污染型砷中毒（简称燃煤型砷中毒）主要健康损害之一，常态化检测砷中毒患者肝损伤情况对防止病情进展及保护砷中毒患者生命健康有重要意义；血常规是健康体检常检指标，有助于发现全身性疾病的早期迹象，对疾病的诊断和治疗具有重要价值。为常态化了解该病区砷中毒现症患者的健康状况及肝损伤情况，并为砷中毒肝损伤的早期诊断及病情变化提供参考依据，本研究追踪检测贵州兴仁雨樟镇燃煤型砷中毒病区砷中毒肝损伤患者肝功能和血常规指标，分析其联合检测对燃煤型砷中毒肝损伤的诊断价值。**材料和方法** 以贵州兴仁雨樟镇燃煤型砷中毒病区为调查点，根据WS/T 211-2015《地方性砷中毒诊断标准》确定砷中毒患者226例为砷中毒组，进一步参照GBZ 59-2010《职业性中毒性肝病诊断标准》分为砷中毒无肝损伤组（114例）和砷中毒肝损伤组（112例），同时选择无燃用高砷煤史，且其他条件与病区相近的上坝田村95例健康居民为对照组，采用全自动生化分析仪和血细胞分析仪分别检测血清肝功能和血常规指标，比较3组间各指标水平；采用受试者工作特征（ROC）曲线下面积（AUC）分析肝功能、血常规及其肝功能与血常规联合检测对砷中毒肝损伤的诊断价值。**结果** 肝功能检测结果：与对照组和砷中毒无肝损伤组比较，砷中毒肝损伤组肝功能指标总胆红素（TBIL）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸氨基转移酶（AST）和谷氨酰转肽酶（GGT）含量均升高（P均<0.05）。血常规检测结果：与对照组比较，砷中毒无肝损伤组和肝损伤组平均红细胞血红蛋白含量、平均血小板体积和血小板分布宽度升高，血小板计数、血小板压积降低，砷中毒肝损伤组白细胞计数、中性粒细胞计数、中性粒细胞数百分比、血红蛋白浓度、红细胞计数、红细胞压积和平均红细胞体积均升高，淋巴细胞数百分比降低（P均<0.05）；与砷中毒无肝损伤组比较，砷中毒肝损伤组白细胞计数、中性粒细胞计数、中性粒细胞数百分比、血红蛋白浓度、红细胞计数、红细胞压积、平均红细胞体积、平均血小板体积和血小板分布宽度均升高（P均<0.05）。ROC曲线分析结果：肝功能

与血常规联合检测诊断砷中毒肝损伤的AUC、灵敏度和特异度分别为0.944、87.5%、90.4%，其诊断价值及灵敏度优于肝功能和血常规单独检测。**结论** 该病区燃煤型砷中毒肝损伤患者白细胞、红细胞及血红蛋白升高，血小板减少且体积异常，肝功能与血常规联合检测可提高燃煤型砷中毒肝损伤的诊断效能，将其应用于病区砷中毒人群的常态化健康监测对早期发现和诊断肝损伤并及时采取针对性防治措施有重要临床意义。

关键词： 砷中毒；煤；肝损伤；肝功能；血常规；受试者工作特征（ROC）曲线

基金项目： 国家自然科学基金（U1812403）；国家自然科学基金（81872569）；国家自然科学基金（81430077）

作者简介： 王 祺，E-mail：675143056@qq.com

通讯作者： 张爱华，E-mail：aihuagzykd@163.com

T01-0004

新冠肺炎炎症风暴的机理和诊治研究

吴方晖，宋云扬

（防化研究院，北京 102205）

摘要： 炎症风暴定义为由多种因素触发机体循环中细胞因子水平迅速升高和免疫细胞过度活化并危及生命的全身炎症综合征。新冠病毒感染引发的炎症风暴是导致COVID-19病情危重症和死亡的重要原因，病情发展迅速，死亡率高，需要深入研究其作用机理和防治对策。

COVID-19危重症表现为血管渗漏、凝血紊乱，肌酐升高、肝酶表达水平改变，循环休克、急性呼吸窘迫和多器官系统衰竭。在病情急剧加重的进程中，细胞因子风暴占主导地位，SARS-CoV-2可能主要作用于淋巴细胞，尤其是T淋巴细胞，还能干扰细胞因子信号传导并助长细胞因子风暴。重症肺炎常常表现为复杂的免疫功能紊乱：一方面为炎症介质过度释放引起的炎症风暴，血清中促炎因子和促炎趋化因子水平显著提高，例如白介素IL-1、IL-6、肿瘤坏死因子（TNF）、IP-8、单核细胞趋化蛋白（MCP-1）、γ干扰素（IFN）；另一方面固有免疫功能减弱和T细胞凋亡造成的免疫抑制，抗炎细胞因子（IL-4、IL-10、IL-13等）作用降低。炎症因子募集更多免疫细胞，造成级联反应，进一步释放大量的细胞因子和炎性介质，会形成免疫系统和外来病原菌的抗衡，若短时间内致病菌无法被清除，炎症因子会启动适应性免疫。当机体仍不能有效地清除病原菌时，大量淋巴细胞会因为过度激活而凋亡，此时机体的细胞因子仍不断地释放，但免疫细胞无法被迅速动员，最终机体免疫功能紊乱引起严重的综合症状。因此对于细胞因子在炎症风暴中的作用值得认真研究。

对于出现炎症风暴的危重患者必须立刻进行抢救，目前可以分为中西医两种手段，大型医院通常急救会用人工通气辅助、体外膜肺氧合、血液净化疗法、人工肝系统等对症联合治疗措施，血液净化疗法、人工肝其对于清除炎症介质有明确作用，能够阻断细胞因子风暴。抗炎联合免疫调理治疗也是重要的诊治方法，合理使用糖皮质激素可以有效降低SARS患者病死率，又不会造成继发感染等并发症。除了糖皮质激素，还有多种药物如免疫抑制剂可用于治疗细胞因子风暴。有些新型药物也在研究和临床应用中，如细胞黏附分子/P2Y6信号通路是介导炎症反应的关键通路，使用P2Y6抑制剂既可以减轻炎症反应和肺部损伤，又不会降低致病菌清除能力；新型抗体药物可以阻断细胞因子风暴，调节补体分子水平表达，如抗IL-6受体抗体托珠单抗，有较好应用前景。西医研究表明某些配方可以降低肺组织中IL-4，IL-6，IL-8，IL-10，ICAM-1等多种细胞因子水平，调整CD4+/CD8+比例，降低Th1/Th2细胞因子等，对于防治新冠肺炎炎症风暴有积极作用。

关键词： 新冠肺炎；炎症风暴；细胞因子

通讯作者： 吴方晖，E-mail：Wufanghui2050@163.com

T01-0005

自动和人工制片对外周血染色体畸变分析结果影响的调查与分析

杨学琴[1]，李丽梅[1]，陈钰婷[1]，高朝贤[1]，惠长野[1]，刘征宇[1]，郭颖言[1]，路凯旋[2]，易　娟[1]
（1. 深圳市职业病防治院，深圳　518020；2. 河北北方学院医学检验学院卫生检验与检疫专业，张家口　075000）

摘要：目的　为适应大规模辐射事故剂量估算和辐射工作人员健康检查的快速反应，染色体畸变分析过程的全面自动化是大势所趋，采用自动图像系统和自动制备技术。了解2021年深圳市放射工作人员健康检查外周血染色体畸变分析结果为基础数据，分析性别，年龄、在岗状态和制片方式等因素对染色体畸变的影响，探讨与人工制片，自动制片的优势和面对的问题，为提高辐射遗传学检测水平提供理论基础和科学依据。 **方法**　通过深圳市职业病防治院体检系统和检验系统，采集我市放射工作人员健康检查外周血染色体畸变结果及相关信息，进行统计回归分析。 **结果**　2021年深圳市放射工作人员体检共6529人次，其中男性4519人次，女性2010人次，不同年龄组之间dic+r、ace、染色体型总畸变有显著性变化（$P<0.05$）随着年龄的增加畸变逐渐增高。上岗前，在岗，和离岗前三组，各个畸变类型（ace、dic+r、总畸变率）在三组之间无显著差异（$P>0.05$）。不同制片方式在dic+r、ace、总畸变均有显著差异（$P<0.05$），自动制片的畸变率高于人工制片。制片方式和年龄是影响畸变结果的重要因素，其中自动制片危险度OR=1.936。**结论**　与手工制备技术相比，自动制备技术更快、更方便，质量控制更稳定，更有利于规范化。同时，自动制备技术的染色体畸变率高于手工制备技术，提示需要进一步完善标准，重新建立剂量反应曲线，并对外周血淋巴细胞自发染色体畸变背景值进行重新评估。

关键词：手工染色体制备技术；自动染色体制备技术；染色体畸变分析；外周血淋巴细胞
基金项目：广东省医学科技研究基金（A2022230）；深圳市医学重点学科建设基金（SZXK068）
通讯作者：杨学琴，E-mail：15013833053@139.com

T01-0006

基于新型可视化生物传感技术的汞暴露高通量生物监测体系的构建

马冰蟾[1,2]，朱德龙[1,3]，林怡然[4]，易　娟[1]，惠长野[1]
（1. 深圳市职业病防治院，病理毒理所；2. 华中科技大学公共卫生学院；3. 广东医科大学公共卫生学院；4. 深圳市职业病防治院，理化检测所）

摘要：目的　基于合成生物学及代谢工程手段，构建响应汞的四色全细胞生物传感器，应用于汞职业暴露人群的尿汞检测，建立汞暴露高通量生物监测体系用于汞中毒的快速筛查。**材料和方法**　以天然的汞抗性mer操作子为设计蓝本，搭建了紫色杆菌素及其中间体的vioABCDE/vioABCE/vioABDE/vioABE合成基因簇，并置于汞响应的MerR调控蛋白的下游，开发汞全细胞生物传感器。通过对四种不同输出信号的传感器的色素稳定性、时间-响应关系、剂量-响应关系、金属选择性等性能的测试，优化传感器遗传学组件。进一步将此传感器应用于汞职业暴露人群尿汞的定性及定量检测，探索替代肌酐检测进行校正的做法，建立汞中毒的快速筛查方法。**结果**　1. 4种色素信号的汞生物传感器的构建：基于大肠杆菌底盘，成功构建了以紫色（deoxyviolacein，DV）、深蓝色（violacein，V）、绿色（prodeoxyviolacein，PDV）、蓝色（proviolacein，PV）四种呈色化合物为可视化信号的全细胞生物传感器。2. 四种传感器性能考察：DV＞V＞PDV ≈ PV。 DV和V的最佳检测时间均为4 h，对除汞外的多种金属无响应。DV的检测限（limit of detection，LOD）（0.024 nmol·L^{-1}）低于V的LOD（0.687 nmol·L^{-1}），对汞的线性响应范围（0.732～23.4 nmol·L^{-1}，R^2=0.984）较V（0.74～5.94 nmol·L^{-1}，R^2=0.948）更宽。后续尿汞检测选用DV作为传感信号。3. 尿汞的定性及定量检测：不同肌酐含量的尿液、纯化水以及人工尿液的基质效应差异显著；优化后确定尿液添加量为

10%，LOD为0.086 nM，线性响应范围为1.57～100 nmol·L^{-1}，R^2=0.989。4. 汞中毒快筛方法建立：总检测时间为4 h，无需肌酐校正，利用96孔板可进行高通量快速筛查，超过职业性汞接触限值的检出率为85%，假阴性为7%。**结论** 基于紫色杆菌素分支代谢途径，构建了4种不同输出信号的全细胞传感器，经检测体系性能优化后可用于尿汞的定性及定量检测，并成功建立了职业性汞中毒的高通量筛查方法。

关键词： 汞中毒；尿汞；生物传感；紫色杆菌素；比色法

基金项目： 国家自然科学基金（82073517）；广东省自然科学基金（2019A1515011989）；广东省自然科学基金（2021A1515012472）

通讯作者： 惠长野，E-mail：hcy_sypu@163.com

T01-0007

核应急医学救援策略探讨

陈海燕[2]，詹艳艳[1]，陈文悦[1]，侯雨含[1]，马 楠[1]，卞华慧[1]，王优优[1]，陈炜博[1]，王小侠[1]，冯骏超[1]，姚 振[1]，王珍珍[1]，戴 宏[1]，张玉松[1]，蒲汪旸[1]，曹 毅[2]，刘玉龙[1]

（1. 苏州大学附属第二医院，江苏 苏州 215004；2. 苏州大学医学部公共卫生学院，江苏 苏州 215123）

摘要：目的 通过对国内外核应急医学救援救治相关法律法规标准的梳理及实践的总结概括，初步提出了核应急医学救援救治的策略。**方法** 主要采用调研和比对，对国内外核应急医学相关法律法规标准、既往相关文献和救治实践经验进行研究。**结果** 梳理了核应急医学救援救治的文献及实践经验，结果表明，就核应急医学体系建设而言，国家要在顶层设计上规划好核应急医学救援管理体系和运行机制；就核应急医学救援救治实践而言，要做好核应急医学救援救治工作，必须认识到辐射监测及危害评估是先导，辐射防护是保障，放射医学和临床医学必须相结合，多学科及多单位必须沟通合作。**结论** 核应急医学救援救治应注重理论与实践相结合，坚持多学科沟通及多单位合作的总策略。院前救援坚持救命第一、及时处理、避免扩散、科学救援、心理援助、分类后送的原则；院内救治坚持“综合救治”为主的原则，联合放射医学、临床医学、基础医学及其他相关学科专业的优势，全身治疗与局部治疗并重，躯体治疗和心理治疗同步，综合应用多种新技术等。

关键词： 核应急医学；院前救援；院内救治；策略

通讯作者： 刘玉龙，E-mail：yulongliu2002@126.com

T01-0008

氮芥在组织和细胞中的分布及其直接作用靶点鉴定

孟文琪，张鑫月，陈佳胜，吉 翔，孙铭学，裴志鹏，徐庆强，肖 凯

（海军军医大学防化医学教研室，上海 200433）

摘要：目的 氮芥与芥子气同属糜烂性毒剂，是一种难防难治的化学毒剂。氮芥最先作为化学战剂被开发出来，后陆续应用于淋巴瘤、白癜风、肾病综合征等疾病的治疗。氮芥的毒理机制尚不完全清楚，深入且清晰的呈现氮芥在组织和细胞中的分布，明确其直接作用靶点，对于氮芥的毒性机制和抗毒药物研究有极大的推动作用。**材料和方法** 基于活性的蛋白质分析技术（Activity-based protein profiling，ABPP）是一种以化合物为中心的靶点鉴定方法。ABPP主要基于2022年诺贝尔化学奖“生物正交化学和点击化学”。**结果** 1）通过化学法合成三个带有炔基的氮芥衍生物HNP-1、HNP-2、HNP-3，筛选出毒性变化最小的HNP-1。将HNP-1与细胞共孵育或涂抹于小鼠皮肤表面后，通过Click反应可发现：氮芥可以广泛结合到胞浆和细胞核中，且细胞核中荧光强度显著强于细胞核外，但在小鼠皮肤染毒的情况下，小鼠表皮细胞核中几乎无荧光

信号。2)进一步开展实验鉴定芥类毒剂在人皮肤组织中高活性蛋白。通过与华山医院皮肤科合作,收集了12例人皮肤样本,将人皮肤组织匀浆后与不同浓度氮芥活性探针HNP-1共孵育。根据荧光胶实验结果可知,标记强度随着毒剂浓度增大而增大,根据荧光条带与考马斯亮蓝条带对比,有一定的选择性,说明毒剂可以特异性地标记蛋白质,其中在40~50、70kDa附近标记效果明显。以Abundance Ratio: medium/low、Abundance Ratio: high/low小于2和P-value 小于0.05作为筛选标准进行筛选,鉴定出与芥类毒剂结合活性高的蛋白质69个(图8),包括线粒体相关蛋白ABAT、CARS2、CYC1、SLC25A13等10个,免疫调节相关蛋白CD39、CD45、CD248、DPP7、HLA-E等8个蛋白。**结论** 通过本研究明确了氮芥在小鼠和人皮肤组织中的分布情况,较为全面的阐明了与氮芥结合活性较高的皮肤蛋白,对后续皮肤毒理机制研究有较大的推动作用。

关键词: 氮芥; 基于活性的蛋白质分析技术; 皮肤组织; 细胞成像

通讯作者: 孟文琪, E-mail: wenqimeng@smmu.edu.cn; 肖　凯, E-mail: kaixiaocn@163.com

T01-0009

miR-146a-5p介导人脐带间充质干细胞外泌体改善芥子气肺损伤的作用与机制

裴志鹏, 徐庆强, 孟文琪, 孙铭学, 肖　凯
(海军军医大学, 上海　200433)

摘要: 目的 芥子气(sulfur mustard, SM)是外军装备的主要毒剂,也是最有可能被用于化学恐怖袭击的毒剂,目前中毒机制不明,无特效药物。肺是芥子气损伤的主要靶器官之一,减轻急性肺损伤是救治的关键。干细胞及外泌体技术为芥子气肺损伤治疗带来了新方向。本研究通过体、内外实验分析人脐带间充质干细胞外泌体(HucMSC-EVs)在芥子气肺损伤中的治疗作用并鉴定其发挥作用的关键miRNA组分与作用机制。**材料和方法** 应用超速离心法收集纯化干细胞培养上清中的外泌体并进行鉴定。以芥子气染毒的小鼠为模型,通过组织病理切片染色、肺组织湿干重比、肺泡灌洗液总蛋白浓度等评价HucMSC-EVs在芥子气肺损伤中的治疗效果,通过转录组测序分析并验证miR-146a-5p在其中发挥关键作用;以小鼠巨噬细胞为模型,通过转录组学分析miR-146a-5p作用靶点,并通过免疫荧光、免疫印迹、免疫组化和实时荧光定量等方法,在体内和体外两个层面分析过表达或抑制HucMSC-EVs中miR-146a-5p分子对芥子气肺损伤炎症的影响与调控机制。**结果** HucMSC-EVs可减轻芥子气所致肺组织的炎性浸润、降低肺组织湿干重比等重要肺损伤指标,有效改善芥子气诱发的肺损伤。根据miRNA成分分析、转录组测序分析,结合生物信息学与细胞活力实验,筛选鉴定出miR-146a-5p是HucMSC-EVs发挥作用的关键分子。与HucMSC-EVs相比,过表达miR-146a-5p的HucMSC-EVs可显著降低TNF-α、IL-1β等促炎因子表达,升高抗炎因子IL-10,减轻炎症反应。miR-146a-5p介导HucMSC-EVs作用于TRAF6,抑制TRAF6表达,影响TLR4/NF-κB信号通路,减轻芥子气肺损伤中的炎症反应。**结论** 本研究探索了HucMSC-EVs治疗芥子气致急性肺损伤的效应,发现其通过miR-146a-5p作用于TRAF6,抑制TLR4/NF-κB信号通路减轻芥子气肺损伤中的炎症反应。本研究为HucMSC-EVs在芥子气治疗领域的应用打下了坚实基础,为理解芥子气中毒机制提供了新思路。

关键词: 芥子气; 肺; 人脐带间充质干细胞外泌体; miR-146a-5p

通讯作者: 裴志鹏, E-mail: peizhipeng_cpu@163.com

T01-0010

Successful treating two cases of inhalation chlorfenapyr poisoning

Yong Zhu[1], Qi Zhao[1], Xiaoxiao Meng[1], Xian Zhu[1], Guanhua Zhu[2], Qiuhai Lin[1], Jian Shen[1], Tao Wang[1], Daonan Chen[1], Xiaoyan Zhang[1], Juanni Hu[2], Rui Tian[1], Ruilan Wang[1]

(1. Department of Critical Care Medicine, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University, School of Medicine, Shanghai 201620, China; 2. Department of Clinical Pharmacy, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 201620, China)

Abstract: Chlorfenapyr is a new type of insecticide that has been widely used in recent years. Due to the lack of clinical knowledge and the lack of special antidotes, chlorfenapyr poisoning has a high mortality rate. In this paper, we retrospectively analyzed the clinical data of two patients with inhalation chlorfenapyr poisoning. The two patients mainly presented with nausea and vomiting and were discharged after symptomatic comprehensive treatment treatments such as blood purification, improvement of cellular energy metabolism, acid suppression and stomach protection, liver protection, hydration and diuresis, and laxative. During the treatment, we continuously detected the changes of chlorfenapyr and its metabolites in the patient´s blood, urine, feces, saliva, and dialysis liquid, and the results showed that hemoperfusion and hemodialysis could significantly clear chlorfenapyr and its metabolites in the blood, and chlorfenapyr metabolites could be excreted from the patient´s urine, feces, and saliva. In conclusion, in the treatment of chlorfenapyr poisoning, in addition to actively applying blood purification to remove the toxins, diuretic and laxative methods can also be used to promote the elimination of chlorfenapyr metabolites and improve the survival rate of patients.

Key words: Chlorfenapyr; insecticide; poisoning; blood purification.

Corresponding author: Ruilan Wang, E-mail: wangyusun@hotmail.com; Rui Tian, E-mail: thunder021@hotmail.com

T02-0001

Association between N-Nitrosodimethylamine exposure and cognitive impairment

Wei Liu[1], Jia Huang[1], Guanqin Huang[1], Peter S. Spence[2], Jianjun Liu[1]

(1. Shenzhen Key Laboratory of Modern Toxicology, Shenzhen Medical Key Discipline of Health Toxicology (2020-2024), Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, 518055, China; 2. Department of Neurology, School of Medicine, and Oregon Institute of Occupational Health Sciences, Oregon Health & Science University, Portland, Oregon 97239, United States)

Abstract: BACKGROUND N-Nitrosodimethylamine (NDMA) is a contaminant of food, drinking water, cigarette smoke and pharmaceuticals and is also generated from dietary intake of amines, nitrates and nitrites. While recognized as a probable human carcinogen, there is also interest but little study of whether nitrosamines such as NDMA have adverse effects on the brain and behavior. **METHODS and RESULTS** This study determined the presence and concentration of NDMA in food items consumed by elderly Chinese residents of Shenzhen (n=383) with normal cognition (NC), cognitive de-

cline (CD) and mild cognitive impairment (MCI). NDMA had an average over-standard rate of 3.32% (27/813) in food items and an average detection rate of 55.4% (212/383) in human urine samples. Cognitive impairment was significantly associated ($P<0.05$) with sex, educational levels, length of residence in Shenzhen, household registration, passive smoking, rice, fresh vegetables, bacon products. The median estimated daily intake (EDI) of NDMA was determined to be 6.63 ng/kg−bw/day. Median urinary NDMA concentrations corresponded to 0 μg/L (MCI), 0.27 μg/L(CD) and 0.32 μg/L (NC); this significant negative correlation with cognitive impairment ($P<0.05$) suggests group-related metabolic differences that require exploration. Animal behavior experiments found that sub-chronic treatment of mice with NDMA significantly reduced performance on a standard learning and memory test. **CONCLUSIONS** Taken together, there appears to be a relationship between human and murine cognition but the association requires further study, notably the metabolic fate of NDMA.

Key words: N-nitrosodimethylamine; cognitive impairment; risk assessment; formaldehyde; mouse; elderly

Foundation item: This work was supported by Shenzhen Basic Research Project of Science and Technology Plan (JCYJ20190807103401672); This work was supported by Shenzhen Basic Research Project of Science and Technology Plan (JCYJ20200109143431341); and Shenzhen Key Medical Discipline Construction Fund (SZXK069)

Corresponding author: Jianjun Liu, E-mail: junii8@126.com; Peter S. Spencer, E-mail: spencer@ohsu.edu

T02-0002

香菇多糖拮抗亚砷酸钠诱导小鼠肝毒性作用研究

杨　渊，宋　爽，刘永莲，刘春燕

（贵州医科大学公共卫生学院毒理学系，环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵州 贵阳 550025）

摘要：目的 探讨香菇多糖（Lentinan，LNT）对亚砷酸钠诱导小鼠肝毒性的干预效应。**方法** 采用健康雄性C57BL/6小鼠作为实验对象，分为4组，即对照组，亚砷酸钠（Sodium Arsenite，SA）染毒组，LNT干预+SA染毒组和LNT干预对照组。小鼠经SA（10.0 mg/kg·bw，隔日1次）灌胃染毒14天后，收集肝组织和血清样本。苏木精-伊红（HE）染色评估肝组织病理损害特征；酶联免疫吸附试验（ELISA）、流式细胞术（FC）和蛋白质印迹法（WB）检测肝功能、氧化应激指标、CD4+辅助性T细胞17型（Th17）和炎症因子水平。**结果** 与对照组相比，砷染毒组小鼠肝组织病理损伤和肝功能指标ALT（8.78±0.76 vs 5.47±0.49）、AST（12.42±1.87 *vs* 7.14±0.57）水平上调，FC显示肝组织Th17细胞含量升高（67.70±4.94 *vs* 7.36±1.50），ELISA显示肝组织抗氧化剂GSH下降（593.40±23.25 *vs* 730.94±30.81）、氧化损伤产物MDA（74.56±7.63 *vs* 49.90±6.42）和炎症细胞因子IL-17A（162.48±10.75 *vs* 118.53±7.92）和IL-1β（512.50±24.78 *vs* 462.48±22.15）水平升高（$P<0.05$），而与砷染毒组相比，LNT干预后则显示明显拮抗效应（$P<0.05$）。WB结果显示，与砷染毒组相比，LNT干预组小鼠肝组织IL-17A（0.47±0.08 *vs* 0.89±0.11）和NLRP3（0.80±0.09 *vs* 1.09±0.16）炎性小体表达水平明显降低（$P<0.05$）。**结论** 香菇多糖减轻亚砷酸钠所致的小鼠肝损伤，可能与Th17-IL-17A炎症信号的抑制有关。

关键词： 砷；肝毒性；香菇多糖；炎症；免疫调节

基金项目： 国家自然科学基金（81960597）；贵州省科学技术基金［2020］1Y359；贵州省公共卫生与预防医学一流学科建设项目（2017［85］号）

作者简介： 杨　渊，博士、教授，主要从事环境毒理学研究。

通讯作者： 杨　渊，E-mail：yang1977yuan@sohu.com

Antagonism of Lentinan on sodium arsenite induced hepatotoxicity in mice

YANG Yuan, SONG Shuang, LIU Yong-lian, LIU Chun-yan

(The Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education, Department of Toxicology, School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

Abstract: OBJECTIVE To explore the intervention effects of Lentinan on sodium arsenite (SA) induced hepatotoxicity in mice. **METHODS** Healthy male C57BL/6 mice were used as experimental subjects, which were divided as 4 groups, that was control, SA treatment group, Lentinan intervention + SA exposure group, and Lentinan intervention control. Following the mice were administrated orally by SA (10.0 mg/kg·bw, once every other day) for 14 days, hepatic tissues or serum samples were collected. Hematoxylin-eosin (HE) was used to evaluate the characteristics of hepatic pathological damage. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Flow Cytometry (FC) and Western-blotting (WB) was used to detect the levels of hepatic function, oxidative stress, CD4+ type 17 helper T cells (Th17), and inflammatory cytokines. **RESULTS** Compared to control group, arsenic exposure group showed hepatic pathological injury and the upregulated ALT (8.78±0.76 *vs* 5.47±0.49) or AST (12.42±1.87 *vs* 7.14±0.57), and FC experiments showed the increased Th17 content (67.70±4.94 *vs* 7.36±1.50), ELISA showed that the decreased GSH (593.40±23.25 *vs* 730.94±30.81) and the increased levels of MDA (74.56±7.63 *vs* 49.90±6.42), proinflammatory cytokines IL-17A (162.48±10.75 *vs* 118.53±7.92) or IL-1β (512.50±24.78 *vs* 462.48±22.15) in hepatic tissues ($P<0.05$), while were significantly antagonized by Lentinan intervention ($P<0.05$). Compared to SA exposure group, WB analysis showed Lentinan intervention significantly reduced the expressional levels of IL-17A (0.47±0.08 *vs* 0.89±0.11) and NLRP3 inflammasome (0.80±0.09 *vs* 1.09±0.16) in hepatic tissues ($P<0.05$). **CONCLUSION** *Lentinan* alleviates SA-induced hepatic injury in mice, may be involved in the inhibitions of Th17-IL-17A inflammatory signaling.

Key words: Arsenic; Hepatotoxicity; Lentinan; Inflammation; Immunomodulation

Foundation item: Natural Science Foundation of China (grant nos. 81960597), Guizhou Science and Technology Foundation [2020]1Y359, First-class discipline construction project of Public health and preventive medicine of Guizhou Province(2017[85])

Corresponding author: Yang Yuan, E-mail: yang1977yuan@sohu.com

T02-0003

微塑料暴露对雄性小鼠生殖毒性的研究

何 倩

（遵义医科大学）

摘要：微塑料是指塑料制品废物降解，直径小于5 mm的颗粒，随着经济水平提高及环境污染加重，研究表明微塑料可在低等生物和水生生物中导致生殖毒性和胚胎发育障碍，生活中发现微塑料已经是无处不在，可能在我们呼吸的空气中，可能混在土壤里，也可能在深海沟中。而相关研究报道人体内血液、胎盘、大便都发现了无处不在的微塑料。而微塑料引起的男性生殖毒性机制尚不明确，本研究旨在通过代谢组和转录组学的应用，在体内和体外进一步探讨暴露于微塑料的毒性途径。在体外，小鼠精母细胞GC-2spd细胞

用浓度为12 μg/mL、粒径为0.05 μm、氨基-0.05 μm染毒处理24小时，在体内，雄性BALB/C小鼠分为3组，分别为对照（生理盐水）组、0.05 μm、氨基-0.05 μm，每组10只小鼠，经灌胃染毒剂量为6 mg/kg·bw，时间3个月。染毒完毕后用透射电子显微镜观察睾丸超微结构损伤，苏木素-伊红（HE）染色分析睾丸组织病理改变，ELISA检测小鼠血清中睾酮、LH（黄体生成素）和FSH（促卵泡刺激素）含量，此外，精子活力下降、精子畸形率增加。通过亚急性染毒暴露微塑料后，体外和体内实验结果表明，微塑料暴露抑制GC-2spd细胞增殖，降低精子活力。代谢组学分析表明，微塑料暴露可干扰三羧酸循环、脂质代谢、氨基酸代谢等，转录组学分析表明，微塑料暴露后主要引起醛固酮合成和分泌、甾体类激素合成、细胞色素P450参与的外源性物质代谢及药物代谢，综合组学分析，微塑料显著增加了细胞内和线粒体ROS，诱导的差异表达基因主要表达细胞色素P450途径富集的代谢中，其中CYP11a1、CYP1b1、HSD17b3、HSD11b1是变化最显著的基因，微塑料暴露可引起精母细胞损伤、能量代谢紊乱，芳香族化合物合成减少，导致睾酮激素合成减少，可能参与了男性生殖毒性的机制。

关键词：微塑料；生殖毒性；睾酮

通讯作者：何　倩，www.1040630015@qq.com

T02-0004

METTL3介导m^{6}A RNA甲基化在氯化镉诱导肝脏损伤中的作用研究

王慧祺，谭明雪，李道传，陈　雯，陈丽萍
（中山大学公共卫生学院）

摘要：目的　探讨N-6甲基腺苷（m^{6}A）修饰及相关RNA甲基化酶在氯化镉诱导的肝脏损伤中的作用及其可能机制。**方法**　采用Dot-blot法检测氯化镉染毒3月、6月和9月小鼠肝脏的m^{6}A RNA甲基化的总体水平，并采用实时荧光定量PCR（Q-RT-PCR）和免疫印迹检测10种RNA甲基化相关酶的表达水平。构建肝细胞特异性高表达甲基转移酶3（methyltransferase-like 3，METTL3）基因的小鼠模型。分别用0 mg/ L、10 mg/L和100 mg/L的氯化镉对雄性8周龄的野生型（WT）小鼠与肝细胞特异性高表达METTL3（METTL3-OE）小鼠进行饮水染毒6个月。染毒结束后，采用HE染色、天狼星红染色与油红O染色评估小鼠肝脏损伤水平，采用Q-RT-PCR检测小鼠肝脏中促纤维化基因的表达水平，利用Comparative Toxicogenomics Database（CTD）数据库、M6A2Target数据库和Ingenuity Pathway Analysis（IPA）软件进行生物信息学分析。**结果**　与对照组相比，染毒3个月小鼠肝脏的m^{6}A水平升高了54.68%，染毒6个月和9个月的m^{6}A修饰水平分别降低了26.37%和49.33%。相关性分析显示小鼠肝脏的m^{6}A水平降低与肝脏损伤程度呈负相关，提示m^{6}A RNA甲基化在氯化镉致肝脏损伤的发生发展中起作用。Q-RT-PCR和免疫印迹表明METTL3的表达随染毒时间的延长显著下降，提示METTL3介导的m^{6}A修饰可能参与了氯化镉诱导的肝脏损伤。成功构建了METTL3-OE小鼠，表型观察发现该小鼠在肝组织的结构和功能上和WT小鼠无差别。染毒后，病理检查显示10 mg/L剂量组的WT小鼠肝脏的脂质变性程度比对照组增加了77.78%（$P<0.05$），100 mg/L剂量组增加了2.56倍（$P<0.05$），而METTL3-OE小鼠肝脏的脂质变性程度均低于WT小鼠。此外，天狼星红染色显示100 mg/L剂量组的WT小鼠肝脏的肝纤维化阳性面积比对照组小鼠增加了9.95%（$P<0.05$），而促纤维化基因的mRNA水平与对照组相比均升高，而METTL3-OE小鼠肝脏并未观察到纤维沉积，促纤维化基因的表达水平也没有明显变化，表明METTL3高表达减轻了氯化镉诱导的肝脏损伤。CTD数据库检索发现260个镉肝毒性相关基因，进一步利用M6A2Target数据库筛选到76个既受METTL3调控又和镉肝毒性相关的靶基因，并在氯化镉染毒小鼠肝脏进行验证，且这些基因被富集到Sirtuin信号通路、凋亡通路、自噬和P53通路。**结论**　m^{6}A RNA甲基化在氯化镉诱导的肝脏损伤中起作用，主要由METTL3介导。过表达METTL3减轻了氯化镉诱导的肝毒性，可能是通过调控肝细胞凋亡、自噬或干扰脂质代谢相关通路实现的。

关键词：m^{6}A RNA甲基化；氯化镉；肝脏损伤；METTL3

通讯作者：陈丽萍，E-mail：chliping@mail.sysu.edu.cn

T02-0005

蛋白磷酸酶2A在六价铬诱导小肠损伤中的作用研究

钟石原，吴靖楠，李道传，陈 雯，陈丽萍
（中山大学公共卫生学院）

摘要：目的 利用肠上皮细胞特异性敲除Ppp2r1a基因（编码PP2A Aα亚基）的小鼠模型揭示Cr(VI)诱导小肠损伤的关键分子事件，补充Cr(VI)诱导肠毒性的毒作用模式。**材料和方法** 构建肠上皮细胞特异性敲除Ppp2r1a基因的小鼠模型，并对8周龄的雄性野生型（WT）小鼠和杂合子（HE）小鼠以饮水方式进行Cr(VI)染毒，剂量设置为0 ppm、5 ppm、20 ppm及80 ppm，染毒时间为28天。利用H&E和AB-PAS染色观察Ppp2r1a基因敲除对小肠肠上皮结构和功能的影响，采用FITC荧光法检测小鼠肠道通透性。从CTD数据库（Comparative Toxicogenomics Database）获取Cr(VI)肠毒性数据，使用IPA（Ingenuity Pathway Analysis）软件分析差异基因的生物学功能。采用免疫组化和Tunel染色评估小鼠小肠上皮细胞的增殖与凋亡情况。**结果** HE小鼠小肠组织中PP2A Aα的mRNA表达水平比WT小鼠降低了（54.43±16.65）%，且荧光仅表达在肠上皮细胞，表明肠上皮细胞特异性敲除Ppp2r1a基因小鼠模型构建成功。Cr(VI)染毒小鼠的小肠绒毛萎缩发生融合，HE小鼠绒毛缩短更加明显，但在六价铬刺激下，HE小鼠的隐窝增生不如WT小鼠明显，提示PP2A Aα的表达降低加重了六价铬诱导的肠上皮损伤并抑制了隐窝细胞增殖。Cr(VI)染毒WT小鼠小肠绒毛上杯状细胞数量分别增加23.66%、31.95%和61.71%（P-trend＜0.05），小肠通透性升高了20.61%（$P<0.05$），而HE小鼠的变化幅度不如WT小鼠明显，WT小鼠的肠道粘液分泌蛋白Muc2（Mucin 2）的没有明显改变，HE小鼠的Muc2表达随剂量增加呈下降趋势，PP2A对肠上皮细胞响应Cr(VI)暴露诱导的屏障损伤具有重要作用。CTD数据库获得Cr(VI)肠毒性相关基因1099个，IPA软件分析发现Hippo信号通路的主要效应分子YAP1（Yes1 Associated Transcriptional Regulator）和PP2A的关联最强，因此推测PP2A可能通过YAP1影响Cr(VI)诱导的肠毒性。进一步检测发现Cr(VI)暴露导致WT小鼠小肠组织，特别是隐窝组织中的YAP1高表达。隐窝中的Ki67阳性细胞分别增加了20.56%、55.08%和77.60%（*P*-trend＜0.05），而HE小鼠中的改变不明显，提示Cr(VI)暴露诱导YAP1表达升高进而刺激隐窝细胞增殖，而PP2A Aα表达降低抑制了六价铬诱导小肠隐窝细胞的异常增殖。此外，Tunel染色显示HE小鼠凋亡细胞数量高于WT小鼠，表明PP2A Aα表达下调抑制了YAP1表达，抑制了肠道隐窝对肠道上皮的更新和损伤修复，加重了小肠毒性。**结论** 六价铬短期重复染毒损伤了小鼠肠隐窝和绒毛结构以及肠道屏障功能，刺激小肠隐窝细胞的异常增殖；PP2A在六价铬致小肠损伤中起重要作用，可能通过激活YAP1/Hippo信号通路影响肠上皮细胞的增殖修复和细胞凋亡。

关键词： 六价铬；蛋白磷酸酶2A；小肠损伤；YAP1；Hippo信号通路

通讯作者： 陈丽萍，E-mail：chliping@mail.sysu.edu.cn

T02-0007

环境内分泌干扰物致甲状腺疾病的发病机制

郑木聪，许 洁，俞 捷
（遵义医科大学公共卫生学院，遵义 563000）

摘要： 甲状腺疾病是内分泌系统常见的疾病，严重危害人体健康，其中甲状腺的功能损害受到各界广泛关注。随着农业生产力的提高和现代工业的发展，许多合成化学物质（如塑料袋，增塑剂，洗涤剂，芳香剂等）逐渐进入人们的视野。环境内分泌干扰物（ Environmental Endocrine Disruptors，EEDs），又称环境激素、内分泌活性化合物，是一种通过污染的水源、食物或经皮肤吸收进入机体后，干扰有机体内分泌激素的合成、释放、转运、与受体结合、代谢，进而使有机体或其后代的内分泌系统功能紊乱的外源性化学物质，是

一种亲脂性污染物，其作为有毒物质广泛存在于人们的生产生活中，主要通过饮食、皮肤、口腔和呼吸道粘膜进入人体并在体内蓄积，当机体长期、微量摄入EEDs后，由于其具有迟发性，一般若干年后才会出现各种疾病症状，影响机体的神经内分泌系统稳态，目前有众多研究证实EEDs与甲状腺疾病的高发有密切联系，但它们的生物学机制尚未阐明，此文章将从人群调查、动物和细胞实验系统阐述各种环境内分泌干扰物（EEDs）与甲状腺疾病的联系及参与甲状腺疾病发生发展的相关机制：（1）直接破坏甲状腺；（2）干扰甲状腺激素的合成、释放和清除过程；（3）降低甲状腺球蛋白（Tg）的合成与分泌；（4）破坏下丘脑-垂体-甲状腺（HPT）轴的反馈调节机制；（5）代谢活化后抑制甲状腺过氧化物酶（TPO）的活性；（6）作为甲状腺激素类似物，与甲状腺激素受体、甲状腺激素结合蛋白结合；（7）使与甲状腺功能相关的基因表达异常，激活AKT、ERK-COX2及BRAF/MAPK信号通路；（8）干扰甲状腺激素受体（TR）的翻译过程，使其构象改变。

关键词： 环境内分泌干扰物；双酚A；壬基酚；多氯联苯；甲状腺疾病；甲状腺肿瘤；甲状腺功能减退症；作用机制

通讯作者： 俞　捷，E-mail：737717694@qq.com

T02-0008

环境内分泌干扰物暴露致甲状腺功能紊乱及机制研究进展

何　洁，郑木聪，许　洁，俞　捷
（遵义医科大学公共卫生学院，遵义　563000）

摘要： 甲状腺相关疾病是世界各地人群最常见疾病之一，对人类健康有着潜在的破坏性。流行病学调查显示，除地域和营养因素之外，甲状腺相关疾病的发病率仍飞速增长，但病因尚不明确。近年来，较多研究聚焦环境内分泌干扰物（Environmental endocrine disruptors，EEDs）与其发病关系。多溴联苯醚、邻苯二甲酸二乙基己酯、双酚A、壬基酚等常见EEDs被认为在儿童、普通人群、孕妇及青春期人群的甲状腺疾病发生发展中产生负面作用。我们总结了部分常见EEDs暴露对甲状腺毒作用的研究，发现EEDs可诱发的甲状腺相关疾病有甲状腺癌、甲状腺肿、甲状腺炎、甲状腺功能亢进（甲亢）及甲状腺功能减退（甲减）等。且其在甲状腺疾病发生发展过程中的影响主要有以下三个方面：（1）损伤甲状腺结构：①破坏线粒体；②使甲状腺滤泡上皮细胞复层化。（2）破坏甲状腺功能：①造成甲状腺激素合成与分泌障碍，破坏下丘脑−垂体−甲状腺轴的正常功能；②干扰体内正常的雌激素信号，改变促甲状腺激素水平；③抑制甲状腺细胞释放甲状腺球蛋白；④降低碘化钠共转运体、甲状腺过氧化物酶以及脱碘酶和转甲状腺素水平。（3）潜在机制：①EEDs竞争性结合T3、T4受体；②扰乱下丘脑−垂体−甲状腺轴；③激活ERK、Akt通路，推进甲状腺疾病发展进程；④氧化应激；⑤调节原癌基因（k−Ras）、抑癌基因（PTEN）及甲状腺TSHR基因的表达。⑥通过钙库操纵的Ca2+进入促进钙内流，从而诱导甲状腺细胞自噬等。可见EEDs与甲状腺疾病的发生发展密切相关，且关系错综复杂。因此，本文综述了EEDs与甲状腺疾病的关系，阐明EEDs如何影响甲状腺疾病的

关键词： 甲状腺；环境内分泌干扰物；T3；T4；内分泌干扰；激素紊乱

通讯作者： 俞　捷，E-mail：737717694@qq.com

T02-0009

细颗粒物暴露致肝脏脂质代谢紊乱的易感性研究及机制初探

胡人杰[1,2], 章 璐[1,2], 秦 丽[1,2], 丁 皓[3], 李 冉[1,2], 顾唯佳[1,2], 陈如程[1,2], 张蕴晖[4], Sanjay Rajagoplan[5], 张克忠[6], 孙庆华[1,2], 刘翠清[1,2]

(1. 浙江中医药大学公共卫生学院, 浙江 310053; 2. 浙江省大气污染与健康国际科技合作基地, 浙江 310053; 3. 浙江省生态环境科学设计研究院, 浙江 310053; 4. 公共卫生安全教育部重点实验室, 复旦大学公共卫生学院, 上海 200032; 5. *Harrington Heart and Vascular Institute, University Hospital Cleveland Medical Center, USA 44106*; 6. *Center for Molecular Medicine and Genetics, Wayne State University School of Medicine, USA 48202*)

摘要: 背景 目前研究表明细颗粒物(PM2.5)暴露与肝脏脂质代谢紊乱密切相关。然而,尚无系统研究评估PM2.5暴露代谢毒性的年龄差异,其潜在机制尚未阐明。**目的** 本研究旨在评估幼年(3周龄)、成年(8周龄)和中老年(12月龄)鼠对PM2.5暴露代谢毒性的易感性,并探究潜在的分子机制。**材料和方法** 将三个不同生命阶段的C57BL/6小鼠同时在全身吸入暴露系统中进行为期8周的浓缩PM2.5或过滤空气(FA)暴露。研究评估了小鼠的体重、摄食量、总食物利用率、体脂成分、葡萄糖耐量和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。小鼠安乐死后,收集血清和肝脏样本以检测血清脂质谱和肝功能。苏木精-伊红染色法(H&E)和油红O染色法用于评估肝细胞结构和肝脏脂质沉积水平;借助脂质组学确定肝脏中的脂质代谢物,通过转录组学对脂质代谢通路进行分析,用实时荧光定量PCR和蛋白免疫印迹进行验证并对机制进行初探。**结果** PM2.5暴露未引起幼年和成年鼠基本体格指标出现显著改变,但显著抑制了中老年鼠的体重增加、降低脂肪含量和总食物利用率。对中老年鼠肝脏进一步研究发现PM2.5暴露增强脂肪分解并抑制了脂肪生成的3-磷酸甘油(G3P)途径。此外,PM2.5暴露减弱肝脏脂肪酸代谢和过氧化物酶体依赖的初级胆汁酸生物合成。最后,PM2.5暴露通过增加甘油磷脂合成和扰乱鞘脂代谢来破坏肝脏磷脂代谢稳态。**讨论** 中老年鼠对PM2.5暴露所致的肝脏脂质代谢紊乱更为易感。这些结果为PM2.5代谢毒性机制及易感人群防护提供了重要依据。

关键词: 细颗粒物; 中老年鼠; 脂质代谢; 转录组学; 脂质组学

通讯作者: 刘翠清, E-mail: liucuiqing@zcmu.edu.cn

T02-0011

Thiophanate-methyl induces notochord toxicity by activating PI3K-mTOR pathway in zebrafish (Danio rerio) embryos

Xiaofang Che

(Ganzhou Key Laboratory for Drug Screening and Discovery, School of Geography and Environmental Engineering, Gannan Normal University, Ganzhou, 341000, China)

Abstract: Thiophanate-methyl (TM), a typical pesticide widely used worldwide, was detected in rivers, soil, and fruits and vegetables. Thus, it is urgent to identify the potential harm of TM residual to non-target organisms and its molecular mechanisms. Here, we used zebrafish to evaluate TM toxicity. TM exposure induced developmental toxicity, including inhibited hatchability, reduced heart rates, restrained spontaneous locomotion, and decreased body length. Furthermore, we observed obvious toxicity in the notochord and detected an increased expression of notochord-related genes (shha, col2a, tbxta) by in situ hybridization in zebrafish larvae. In addition, calcein staining, alkaline phosphatase

(ALP) activity analysis, and anatomic analysis indicated that TM induced notochord-toxicity. We used rescue experiments to verify whether the PI3K-mTOR pathway involved in the notochord development was the cause of notochord abnormalities. Rapamycin and LY294002 (an inhibitor of PI3K) can relieve notochord-toxicity caused by TM, including phenotypic and genetic abnormalities. In summary, TM might induce notochord toxicity by activating the PI3K-mTOR pathway in zebrafish.

1. Introduction

Thiophanate-Methyl (TM) is a broad-spectrum insecticide to prevent and treat diseases of crops. It is widely used as an agricultural and industrial fungicide in multiple countries. TM is unstable in plants and converted to carbendazim to a certain extent. The residues of carbendazim can cause embryotoxicity, teratogenesis, and endocrine disruption, and have been reported in soil, groundwater, and fruits and vegetables. TM is common in the environment, has broad toxicity, and endangers many species. Therefore, investigating the environmental residues of TM and its associated mechanism is essential for environmental risk and human health assessment.

Notochord plays an important role in embryonic axial elongation and spinal development, crucial for locomotion. providing developmental signals to surrounding tissues, guiding the differentiation and development of surrounding tissues.

The wide use of TM results in environmental residues that threaten human health. However, there have been few studies about notochord toxicity and the molecular mechanism of TM toxicity. we show that the PI3K−mTOR pathway may be the mechanism by which TM causes notochord abnormalities, providing a new therapeutic target for notochord− degeneration diseases.

2 **Materials and methods**

2.1 Chemicals and reagents

Thiophanate-methyl, Calcein reagent, ALP activity kit, Hematoxylin and Eosin reagent.

2.2 **Methods**

Paraffin sectioning and Hematoxylin and Eosin (H&E) staining, ALP activity detection, Mineralization analysis, In situ hybridization,

3 **Results**

3.1 Acute toxicity and tail malformation caused by TM

TM induced developmental toxicity in zebrafish embryos at 1.5 mg/L, inducing a curved notochord, decreased body length, and significantly restrained locomotory activity with concentration-dependent characteristics. The vertebral column is the central axis of the skeleton in all vertebrates, responsible for body support and locomotion. An injured notochord results in decreased locomotion and foraging difficulties, leading to death in severe cases.

3.2 Notochord toxicity was induced by TM exposure

Compared with the control, exposure to TM caused abnormal fluctuations in the notochord with local bright spots protruding with unsmooth surfaces. At the same time, V-shaped sarcomere appeared disordered in the injured notochord region. Since muscle is attached to the notochord; the damaged notochord induced muscle tissue disorder.

3.3 TM causes the collapse of vacuolar cells in the notochord

The fluorescence images of the notochord and the H&E results showed that TM changed the internal structure of the notochord, including the morphology of vacuolar cells. TM induced the collapse and fragmentation of vacuolar cells at discrete positions.

3.4 TM up-regulated notochord-related genes

In situ hybridization showed that the expression of col2a, shha, and tbxta genes was significantly

up-regulated in the TM group. Furthermore, the treated group showed different shades of color at the notochord, suggesting that the genes´ expression levels are region-dependent. In conclusion, TM up-regulated notochord gene expression.

3.5 TM resulted in incomplete bone mineralization

The mineralization of the skeleton is essential to support body movement. TM exposure reduced bone mineralization be visualized clearly in calcein staining, including the number of vertebrae and vertebrae area. These data suggest that notochord abnormalities caused by TM in the early stage affect bone mineralization in the later stage. Alizarin red staining was used to reflect the levels of bone mineralization. The deformities of skeleton segmentation and poor bone mineralization in vertebrae were observed in adult zebrafish treated with TM for 90 dpf by alizarin red staining, indicated that TM caused osteogenesis abnormalities and long-term exposure to TM had a potential risk of osteoporosis.

3.6 PI3K-mTOR signaling pathway inhibitors rescue abnormal notochord

PI3K-mTOR pathway is key in notochord growth regulation. For instance, PI3K-AKT pathway gene expression is up-regulated in chordoma, while an inhibitor of PI3K-mTOR inhibits breast cancer-induced osteolysis in mice. Furthermore, PI3K inhibitors cause the spinal cord curvature of zebrafish, but the inhibition of mTOR activity can rescue notochord defects. In our study, PI3K-mTOR pathway inhibitors can relieve and treat chordoma.

4 **Conclusion**

In conclusion, TM induced developmental and notochord toxicity through the PI3K-mTOR pathway in zebrafish, including curved notochord, up-regulated expression of notochord genes, and poor vertebral mineralization. Our results underline the relevance of the PI3K-mTOR pathway in notochord development. Moreover, PI3K is a promising future target therapy in notochord disease. Furthermore, our results are important for researching pesticide residues and their environmental risk assessment.

Corresponding author: Xiaofang Chea, E-mail:1622326321@qq.com

T02-0012

淡化海水对雄性大鼠生殖健康影响

段 链，王 翀

（中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所）

摘要：目的 本研究针对反渗透技术处理淡化海水存在的硼含量偏高问题，以硼引起雄性生殖毒性为切入点，探讨长期饮用淡化海水对雄性大鼠生殖健康的影响。**方法** 选用SPF级成熟雄性SD大鼠60只，随机分为3组，每组20只，以模拟人群实际暴露方式的经口直接暴露（自由饮用），连续暴露90天；淡化水组大鼠自由饮用反渗透处理的淡化海水出厂水，硼组大鼠自由饮用以去离子水配制硼含量与淡化水中硼含量相同的硼水样，对照组大鼠自由饮用去离子水；从睾丸、附睾、生精小管的组织形态、精子质量、睾丸标志性酶、生育力等方面多层次分析其对雄性生殖的健康影响；通过转录组分析差异基因，结合与雄性生殖相关的HPG轴和PKC通路，对其可能产生雄性生殖影响的机制进行初步探讨。**结果** 分别在暴露30、60、90天对精子活性及睾丸标志酶进行测试发现，精子活性指标中精子活性（sperm motility，MOT）变化较为明显。淡化水组暴露30、60天MOT明显低于对照组（30天 $P<0.001$、60天 $P<0.01$），90天无明显差异；硼组暴露30天MOT低于对照组（$P<0.01$），60天、90天无明显差异。睾丸标志酶中与精子发生和精子运动有关的睾丸酶也发生了显著变化，90天暴露后淡化水组及硼组的SDH、MDH和GAPD活性均低于对照组（SDH淡化水组 $P<0.01$、硼组 $P<0.001$；MDH淡化水组 $P<0.05$、硼组 $P<0.01$；GAPD淡化水组、硼组 $P<0.05$）；在暴露

60天时，淡化水组及硼组G6PDH、α-GPDH、LDH-X和HAase活性均低于对照组（淡化水组、硼组G6PDH，$P<0.001$；α-GPDH，$P<0.01$；LDH-X，$P<0.001$；HAase淡化水组$P<0.01$、硼组$P<0.05$），但暴露90天时，无统计学差异（ICDH和HAase），或暴露组的相应值高于对照组（G6PDH和LDH-X）。转录组差异基因分析与对照组相比，淡化水组的差异基因在涉及雄性生殖的生物过程中显著富集，CFTR、rnf17、tdrd5、nup210l、cfap43、pdilt等显著下调。硼组的结果表明，高硼饮用水单独引起的基因差异主要存在于炎症因子和免疫反应的调节中，分子功能的富集主要分布在核糖体结构成分、酰基转移酶活性等方面，暴露组PKC和下游因子p-CREB的表达低于对照组。然而，与男性生殖相关的HPG轴调节的血浆激素没有显著变化。**结论** 在本研究暴露条件下，长期饮用淡化海水不会影响睾丸、附睾和生精小管等男性生殖器官的组织形态、精子形态和生育能力。然而，长期饮用淡化海水可能会影响精子的产生和活动，这与影响精子活力、睾丸酶和与精子产生相关的基因有关。淡化水组和硼组结果之间的比较表明，淡化水中可能存在一些其他成分（例如生产过程中的一些添加剂）对雄性生殖健康产生影响，有待进一步探讨。

关键词： 海水淡化；硼；男性生殖；精子活性

通讯作者： 段　链，E-mail：duanlian@nieh.chinacdc.cn

T02-0013

尿锌浓度与血脂异常及其亚型的关联：来自中国多民族队列（CMEC）研究的基线数据

钟建琴，刘磊磊，张林源，徐子轩，彭　莲，赵小兰，杨倩媛，杨婷婷，徐德淦，洪　峰

（1. 贵州医科大学公共卫生与健康学院，环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵阳　550025；
2. 贵阳市疾病预防控制中心，贵阳　550003）

摘要：目的 本研究旨在阐明中国少数民族居民尿锌浓度与血脂异常及其亚型患病风险的关系。**方法** 基于“西南区域少数民族聚集地世居自然人群队列研究”的基线调查数据，选择10 620名研究对象纳入本次研究中，采用Logistic回归分析、剂量-反应关系、分层分析以及敏感性分析评估尿锌浓度与血脂异常及其亚型之间的关系。**结果** 经过混杂因素调整后，二元Logistic回归分析结果显示：与尿锌Q1组相比，Q2、Q3和Q4组血脂异常的优势比和95%置信区间别为1.091（0.963，1.237）、1.151（1.051，1.304）和1.393（1.230，1.579）（P趋势<0.001）；Q2、Q3和Q4组高甘油三酯血症优势比和95%置信区间分别为1.130（0.979，1.306）、1.283（1.113，1.480）和1.483（1.287，1.709）（P趋势<0.001）；Q2、Q3和Q4组高低密度脂蛋白胆固醇血症参与者的优势比和95%置信区间分别为1.166（0.945，1.439）、1.238（1.007，1.522）和1.381（1.126，1.695）（P趋势<0.002）。本研究发现尿锌浓度与高胆固醇血症和低高密低脂蛋白胆固醇血症患病风险无关，剂量-反应结果显示尿锌浓度与血脂异常、高甘油三酯血症和高低密度脂蛋白胆固醇血症之间呈非线性关系（P趋势<0.001）。分层分析结果表明在男性、≥60岁、苗族、高血压、糖尿病和BMI≥24.0 kg/m2的亚组人群中，尿锌浓度与血脂异常、高甘油三酯血症和高低密度脂蛋白胆固醇血症患病风险呈正相关（$P<0.05$）。在剔除了自我报告的血脂异常、癌症和心血管疾病（冠心病、中风和心脏病）的敏感性分析结果中仍发现，尿锌浓度与血脂异常、高甘油三酯血症和高低密度脂蛋白胆固醇血症之间患病风险有关。**结论** 我们的研究提供了一些可能的证据，表明尿锌浓度升高与血脂异常、高甘油三酯血症、高LDL-C血症的患病风险增加有关。

关键词： 尿锌浓度；血脂异常；高甘油三酯血症；高胆固醇血症；高低密度脂蛋白胆固醇血症；低高密度脂蛋白胆固醇血症

作者简介： 钟建琴，E-mail：zjq1397678823@163.com

通讯作者： 洪　峰，E-mail：fhong@gmc.edu.cn

T02-0014

Omega-3脂肪酸对大气污染健康危害的预防作用

陈 浩[1], 佟海燕[2], James M. Samet[2], 邹云锋[1]
（1. 广西医科大学公共卫生学院；2. 美国环境保护署）

摘要：近年来我国大气污染治理成果显著，空气质量总体较前明显改善，但是污染物浓度水平依然偏高且部分污染物（如：臭氧）浓度有持续升高的趋势。文献报道大气污染暴露同呼吸系统、心血管系统和神经系统疾病的发病率和死亡率高度相关。如何减轻大气污染暴露产生的健康危害是环境健康领域的一个研究热点问题。一般认为，大气污染暴露导致健康危害的主要作用机制包含氧化应激和炎症反应，鱼油中的omega-3多不饱和脂肪酸（Omega-3 polyunsaturated fatty acids，N3-PUFA）具有多个不饱和碳碳双键且其脂代谢产物具有炎症消退功能，因此膳食补充具有抗氧化和抗炎症作用的N3-PUFA极有可能是一项切实有效的预防大气污染健康危害的措施。报告人实施了一系列研究，系统探讨了N3-PUFA缓解大气污染暴露产生肺功能与心血管系统危害的作用。在一项定组实验中，报告人团队招募了体内含有高N3-PUFA或低N3-PUFA的研究对象，并观察大气污染物暴露对其肺功能与心血管指标的影响是否具有差异。此项研究首次报告N3-PUFA可以减轻低浓度PM2.5和臭氧暴露对人体肺功能和心血管指标的有害影响。该研究还发现在人体内具有高水平N3-PUFA时，低水平大气NO_2暴露没有对健康指标产生明显影响，甚至可以改善肺功能和心血管指标。在另一项随机对照试验中，报告人发现年轻健康受试者在膳食补充鱼油后，其体内N3-PUFA水平及其炎症消退介质显著升高，且可明显改善急性臭氧暴露对肺功能和血压的有害影响。报告人进一步实施了机制研究，深入探讨microRNA在大气污染心血管系统危害的作用机制且发现N3-PUFA可能通过调节血液microRNA表达缓解大气污染物暴露对心血管系统危害。该系列研究提示膳食中的N-3 PUFA可以减轻大气污染暴露引发的健康危害，为我国大气污染健康危害的防治措施提供了重要科学依据。

关键词：大气污染；PM2.5；臭氧；鱼油；Omega-3多不饱和脂肪酸；呼吸系统；心血管系统；膳食干预

通讯作者：陈 浩，E-mail：chenhao0725@126.com

T02-0015

慢性氟砷联合染毒对大鼠骨骼中TRAF-6介导的NF-κB途径相关蛋白表达的影响

聂 婵，胡君伟，王冰洁，李 浩，杨 兴，洪 峰
（贵州医科大学公共卫生与健康学院，环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵阳 550025）

摘要：目的 探讨TRAF-6介导的NF-κB途径在氟砷联合染毒大鼠骨骼毒性信号通路OPG/RANK/RANKL中的调控作用。**材料和方法** 以清洁级Wistar大鼠为研究对象，随机分成16组，分别为对照组（F_0As_0）、低氟组（F_5As_0）、中氟组（$F_{10}As_0$）、高氟组（$F_{20}As_0$）、低砷组（$F_0As_{2.5}$）、中砷组（$F_0As_{5.0}$）、高砷组（$F_0As_{10.0}$）、低氟低砷组（$F_5As_{2.5}$）、低氟中砷组（$F_5As_{5.0}$）、低氟高砷组（$F_5As_{10.0}$）、中氟低砷组（$F_{10}As_{2.5}$）、中氟中砷组（$F_{10}As_{5.0}$）、中氟高砷组（$F_{10}As_{10.0}$）、高氟低砷组（$F_{20}As_{2.5}$）、高氟中砷组（$F_{20}As_{5.0}$）、高氟高砷组（$F_{20}As_{10.0}$），每组12只，雌雄各半。以不同浓度的NaF（5、10、20 mg/kg）和$NaAsO_2$（2.5、5、10mg/kg）溶液灌胃染毒6个月。实验结束后，收集大鼠骨骼样本，检测骨密度、骨氟（Bone Fluorine，BF）、骨砷（Bone Arsenic，BAs）含量及光镜下观察骨组织病理学形态改变。酶联免疫吸附法检测各组大鼠骨组织RANKL、RANK、TRAF-6、NF-κB、NFAT-c1蛋白含量。实时荧光定量PCR检测TRAF-6、NF-κB、NFAT-c1 mRNA表达情况。**结果** 慢性氟中毒大鼠骨氟含量随染氟剂量的增加而逐渐增加，骨砷在染砷组明显高于F_0As_0。慢性氟中毒大鼠骨密度随染氟剂量增加而降低，骨组织呈骨质疏松表现；砷染毒组大鼠骨密度及骨组织病理学检测与对照组无明显差异。氟与RANKL、RANK、TRAF-6、NF-κB、NFAT-c1表达呈正相关关系（$P<0.05$）。砷与

RANK、TRAF-6、NF-κB、NFAT-c1表达呈负相关关系（$P<0.05$）。氟砷联合暴露对RANKL、TRAF-6、NF-κB、NFAT-c1的表达存在交互作用（$P<0.05$）。氟砷联合组各蛋白含量低于单纯氟染毒组及砷染毒组蛋白含量之和，表现为拮抗作用。**结论** 氟和砷均可影响大鼠骨骼TRAF-6介导的NF-κB途径中相关基因及蛋白的表达。氟砷联合染毒主要表现为氟的主效应，砷参与了氟致大鼠骨骼毒性作用。氟砷联合暴露对骨骼毒性的交互作用表现为拮抗作用。

关键词： 氟；砷；骨；TRAF-6；NF-κB

通讯作者： 洪　峰，E-mail：fhong@gmc.edu.cn

T02-0017

MAPK/ERK及PI3K/AKT信号通路参与乙醛在人肺上皮细胞和肝星状细胞中诱导的毒性效应

张靖妮[1,2,3,4]，王红娟[1,2]，陈　欢[1,2]，刘　勇[3,4]，王　安[3,4]，侯宏卫[1,2]，胡清源[1,2]

（1. 国家烟草质量监督检验中心，郑州　450001；2. 烟草生物学效应重点实验室，郑州　450001；3. 中国科学院合肥物质科学院安徽光学精密机械研究所，合肥　230031；4. 中国科学技术大学，合肥　230026）

摘要：目的 人群中烟酒共依赖的现象较为常见，乙醛既是酒精的代谢物，也是卷烟烟气中含量最高的羰基化合物，可分别导致肝和肺损伤。为探讨乙醛对肝和肺的同时空毒性风险效应及机制的差异，本研究开展了相同剂量梯度下乙醛作用于正常肺细胞和肝细胞的毒性作用和相关信号通路调控机制研究。**材料和方法** 人肺支气管上皮细胞（BEAS-2B cells）和人肝星状细胞（human hepatic stellate cells，HHSteCs）分别暴露于乙醛（0.5～20 mmol·L^{-1}）中24 h后，检测乙醛造成的细胞毒性及遗传毒性，即毒性效应终点为细胞活性、DNA加合物水平、DNA单/双链断裂和染色体损伤。并测定了MAPK/ERK及PI3K/AKT通路中关键信号蛋白p38MAPK、ERK、PI3K和AKT蛋白水平的变化，以及分别使用这四种信号蛋白的抑制剂与乙醛共同作用后细胞活性的变化。**结果** （1）在乙醛暴露结束后BEAS-2B细胞和HHSteCs活性显著下降，DNA-蛋白质交联率、γH2AX水平、彗星时刻及双核微核率呈剂量依赖性上升，两种细胞在相同剂量范围下表现出相似的细胞损伤效应。表明乙醛在BEAS-2B细胞和HHSteCs中诱导了相似的细胞毒性上趋势及DNA加合物的形成、DNA单/双链断裂、染色体损伤即遗传毒性上升趋势。（2）关键信号蛋白p38MAPK、ERK、PI3K和AKT的表达和磷酸化水平均在乙醛暴露后的BEAS-2B细胞上显著上调；但在HHSteCs中仅ERK蛋白的表达和磷酸化水平显著上升，其他三个信号的蛋白水平和磷酸化水平均下降。表明MAPK/ERK及PI3K/AKT通路在乙醛暴露后的BEAS-2B细胞中均被激活；而在HHSteCs中，只有ERK信号被激活，PI3K/AKT通路和MAPK信号均被抑制。（3）当四种关键蛋白的任一抑制剂与乙醛共同处理BEAS-2B细胞和HHSteCs时，细胞活性相比于乙醛单独作用时显著恢复，表明抑制了PI3K/AKT或MAPK/ERK信号通路后，乙醛引起的细胞毒性作用被抑制。**结论** 本研究发现乙醛在BEAS-2B细胞和HHSteCs中引起相似的细胞毒性和遗传毒性效应，以及PI3K/AKT和MAPK/ERK信号通路参与毒性的诱导，但两种信号通路在两种细胞中的激活状态存在差异，即关键信号蛋白上游可能通过不同的调控体系发挥作用，为吸烟或饮酒相关的肺和肝损伤提供了机制性见解。

关键词： 乙醛；细胞毒性；遗传毒性；BEAS-2B；HHSteCs；MAPK/ERK，PI3K/AKT

通讯作者： 侯宏卫，E-mail：qsfctc@163.com；胡清源，E-mail：huqy1965@163.com

T02-0018

环状RNA circ_0089282调控炭黑纳米颗粒诱导的肺部DNA损伤

张 晗，周汉宇，张 楠，贾阳阳，丘妙韵，姚树为，陈昕童，邱 岚，李赛凤，周 芸，蒋义国
（广州医科大学公共卫生学院，广州 511436）

摘要：目的 探索环状RNA对DNA损伤的调控在环境浓度的炭黑纳米颗粒（CBNPs）浓度暴露致肺急性损伤的机制，进以阐明表观遗传对遗传学的相互作用。**材料和方法** 根据环境中人体CBNPs的实际暴露浓度分别染毒人支气管上皮细胞系 16HBE 和 BASE-2B，同时经气管滴注染毒小鼠，构建CBNPs致DNA损伤的体内外模型。采用Western blot和中性彗星实验检测DNA双链断裂指标，评估CBNPs染毒的人支气管上皮细胞和小鼠肺部DNA损伤水平。通过高通量测序挑选验证差异表达的环状RNA circ_0089282，在联合CBNPs暴露下，通过RNA干扰和过表达、流式细胞术、Western blot、免疫荧光等，检测细胞周期和DNA损伤指标，探讨circ_0089282在DNA损伤中的作用。采用生物信息学分析、RNA pulldown实验进一步确定circ_0089282与RNA结合蛋白FUS以及下游DNA修复蛋白DNA Lig4的相互作用关系，并通过共转染实验进行验证。**结果** 体内外实验结果显示，接近实际环境的CBNPs暴露可引起DNA双链断裂。且CBNPs引起的DNA损伤水平随染毒浓度的增加而升高。与对照组相比，高通量测序筛选出的差异表达的环状RNA circ_0089282在CBNPs暴露组中高表达。功能实验发现，干扰circ_0089282后联合CBNPs暴露，DNA损伤水平较对照组升高；过表达结果与之相反，表明 circ_0089282 可减轻 CBNP 诱导的人支气管上皮细胞 DNA 损伤反应。结合RNA Pulldown实验和生物信息学分析结果发现，circ_0089282可直接结合RNA结合蛋白FUS，并存在正向调控关系；同时circ_0089282可调控DNA修复蛋白DNA Lig4发挥促修复功能。与单独干扰circ_0089282和FUS相比，共同干扰circ_0089282和FUS后DNA Lig4的表达更低，且DNA双链断裂程度加重，证实circ_0089282通过直接结合FUS调控DNA Lig4的表达，从而在DNA损伤过程中起到促进DNA修复的作用。**结论** CBNPs暴露可引起肺部DNA损伤。在CBNPs致DNA损伤过程中，circ_0089282可通过调控DNA修复蛋白促进修复从而发挥减轻DNA损伤的作用。本研究帮助揭示了纳米颗粒物致肺损伤中的表观遗传与遗传学的相互作用机制。

关键词： 炭黑纳米颗粒物；环状RNA；DNA损伤；DNA修复

基金项目： 国家自然科学基金（82130095）；国家自然科学基金（81872652）；国家自然科学基金（82173483）

通讯作者： 蒋义国，E-mail：jiangyiguo@vip.163.com；周 芸，E-mail：yunz@gzhmu.edu.cn

T02-0019

头孢噻呋对猪粪厩肥中微生物群落及耐药基因的影响

马文瑾，田校源，寇紫艳，徐向月，霍美霞，黄玲利
（国家兽药安全性评价（环境）实验室（HZAU），国家兽药残留基准实验室（HZAU），
华中农业大学动物医学院，武汉 430071）

摘要：目的 动物粪便被认为是抗生素抗性细菌（ARB）和抗生素抗性基因（ARGs）的主要储存库，粪便中存在的抗生素可能会引起广泛的毒性作用，并促进ARB和ARGs的选择。好氧堆肥可以有效去除粪便中的抗生素，但是不能完全去除ARGs。头孢噻呋（CEF）由于具有抗菌活性强的β-内酰胺环被广泛应用于治疗动物细菌性疾病，对环境存在巨大的潜在风险。然而，CEF在好氧堆肥过程中的迁移转化及对微生物群落结构和ARGs的影响迄今不明，无法评估其环境安全性。**材料与方法** 使用传统好氧堆肥法研究猪粪中CEF在堆肥过程的消散及对微生物和ARGs的影响。建立粪便样品前处理方法，使用UPLC-MS/MS对粪便中的CEF进行检测，研究CEF在堆肥过程中的降解特性；根据欧洲药品管理局（EMA）指南，计算CEF的

土壤环境暴露浓度。利用宏基因组测序，分析堆肥过程中微生物群落结构变化、ARGs的丰度变化及两者与环境因子间的相关性。**结果** CEF在堆肥的高温期快速降解，降解半衰期（DT50）为1.12天。对环境中的CEF在土壤中的暴露浓度进行预测，计算出初始暴露浓度为136 μg·kg^{-1}，代入DT50值进行修正级风险评估，土壤中的暴露浓度为1.73 μg·kg^{-1}。在好氧堆肥过程中，CEF对粪便理化性质影响较小，微生物的菌群结构随时间变化，其中变形菌门、放线菌门、厚壁菌门、拟杆菌门是优势菌门；主要存在的ARGs为四环素类、氨基糖苷类和多药耐药类耐药基因。堆肥10天后，与对照组相比，粪便中存在CEF会导致变形菌门丰度降低，并且部分ARGs丰度呈现出先减少后增加的趋势。对堆肥过程中环境因子、MGEs、微生物和ARGs相关性进行分析，发现pH和C/N是影响ARGs分布的主要因素，厚壁菌门和变形菌门是ARGs的主要宿主菌，可移动元件intI1与部分ARGs存在正相关，对ARGs在环境中的转移起到重要作用。**结论** 本研究揭示了CEF在堆肥中的降解规律及对堆肥过程微生物群落的影响。CEF在堆肥高温期迅速降解，好氧堆肥可以有效去除猪粪中的CEF，降低CEF进入土壤环境中的风险，不需要进行后续的生态效应评估。但是好氧堆肥不能降低粪便中的致病菌和ARGs，并且粪便中存在的CEF会产生选择压力导致变形菌门和部分ARGs在堆肥结束后丰度增高，增加ARGs转移风险。

关键词： 头孢噻呋；好氧堆肥；微生物群落；抗生素抗性基因

通讯作者： 黄玲利，E-mail：huanglingli@mail.hzau.edu.cn

T02-0020

替米考星在环境中的迁移转化规律研究

徐向月，林旭东，田校源，霍美霞，马文瑾，黄玲利

（1. 国家兽药安全性评价（环境）实验室（HZAU），2. 国家兽药残留基准实验室（HZAU），
3. 华中农业大学动物医学院，武汉 430071）

摘要：目的 环境中暴露的兽药会产生微生态效应、植物毒性和非靶标生物的生态毒性，甚至进入食物链对公共健康和人类安全产生潜在危害，被认为是一种新兴的环境污染物。替米考星（TIL）作为畜禽专用抗生素，被广泛用于家畜肺炎、家禽支原体病和泌乳动物乳房炎等疾病的防治。但其在动物体内吸收较少，大部分随粪尿排出体外，对环境造成潜在风险。本研究通过开展了自然条件下猪粪好氧堆肥和温室条件下蔬菜盆栽种植试验，考察了TIL在环境中的迁移转化规律规律，为TIL的环境风险评估提供参考。**材料与方法** 建立了UPLC-MS/MS检测方法分析猪粪、土壤及蔬菜TIL的浓度；采集新鲜猪粪，进行自然条件下的好氧堆肥，监测堆肥过程TIL的浓度及理化性质变化，揭示TIL的降解特性；采用温室盆栽种植模式，在粪便或堆肥产品处理的土壤中种植樱桃小萝卜和生菜，监测施肥过程中土壤及成熟期蔬菜中的TIL浓度，揭示TIL在粪便-土壤-蔬菜体系中的迁移转化规律。**结果** 建立了粪便、土壤及蔬菜中TIL的UPLC-MS/MS检测方法，检测限为5 μg/kg，定量限为10 μg/kg，回收率为55.89~99.10%，日内变异系数和日间变异系数均小于15%；在30 d的好氧堆肥过程中，TIL的降解百分比为83.21%，降解半衰期为9 d；堆体温度呈现明显的中温、高温、冷却和腐熟阶段，堆体的含水量维持在50%~65%之间，pH由弱酸性转变为碱性；堆肥样品的种子发芽指数（GI）呈现上升的趋势，当堆肥＞6 d时，GI%＞70%，堆肥样品符合有机肥料的标准，与对照组相比，堆肥初期TIL可能对种子发芽有一定程度的抑制作用。施肥过程中，TIL在蔬菜土壤中的降解半衰期为12.60 d~19.25 d，与新鲜猪粪施肥组相比，堆肥产品施肥组中TIL降解更快；蔬菜种类对TIL的降解没有显著影响。在新鲜粪便和堆肥产品处理的土壤条件下，成熟期的生菜和樱桃小萝卜中均未检测到TIL。**结论** 本研究揭示了TIL在养殖环境中的迁移转化规律，证明好氧堆肥可以有效去除猪粪中的TIL，降低其在环境中的暴露风险。TIL在施肥中降解较慢，持久性较强，在土壤中的迁移降解特性与暴露浓度相关，其对环境微生态风险还需进一步研究。

关键词： 替米考星；好氧堆肥；施肥；迁移转化；风险评估

通讯作者： 黄玲利，E-mail：huanglingli@mail.hzau.edu.cn

T02-0021

AHLs对抗生素胁迫下厌氧发酵中甲烷/氮代谢的调节作用

周 亲[1,2,3,4]，孙永学[4]，黄玲利[1,2,3]
〔1. 国家兽药安全性评价(环境)实验室(HZAU)，2. 国家兽药残留基准实验室(HZAU)，
3. 华中农业大学动物医学院；4. 国家兽药安全性评价实验室(SCAU)〕

摘要：目的 环境中抗生素残留物可严重影响功能微生物群落。厌氧环境中的微生物群落在氮和碳循环中发挥着重要作用。微生物群落借助群体感应表现出复杂环境适应性。本实验中，我们研究了AHLs在厌氧环境中调节微生物氮和碳循环对抗生素的反应，并推测AHLs的关键调节途径，为修复环境提供新思路。**材料方法** 本实验采用实验室独立设计小型厌氧发酵罐。模型设置空白对照组(CK组)、土霉素(OTC)组(OT组OTC 10.0 mg/L)和AHLs附加组(HO组OTC 10.0 mg/L + AHLs：500 nmol/L)。将产生气体收集并量化，测量发酵产物理化指标。高效液相色谱串联质谱法检测AHLs含量。通过宏基因组分析功能基因结构差异特征，探究差异变化中的重要枢纽基因，推测AHLs调节的关键调控通路，注释样品中重组菌株基因组，为关键调控通路的预测提供证据。**结果** 整个厌氧发酵过程中，CK组的累积产气量低于其他两组。在第20天，HO组总碳消耗比例高于OT组。加药前样品中，AHLs在三组检测到了相近的微量浓度。OT组C8-HSL、C10-HSL对土霉素添加产生响应。样品中，反硝化更容易受到OTC/AHL的影响。硝酸还原酶，硝酸盐/亚硝酸盐还原酶对OTC/AHLs敏感。甲烷代谢通路对抗生素和AHLs比较敏感，甲基辅酶M还原酶是OTC/AHLs的主要响应者。构建结构方程可知，OTC/AHLs是氮/甲烷代谢基因结构的主要影响因素。模型中共同枢纽基因注释到生物膜形成相关系统，其中起到决策作用的多个通路可被AHLs所调控。从样品中获取的重组基因组同时注释到群体感应、生物膜形成和碳氮代谢。**结论** 本论文一定程度证实了AHLs对厌氧微生物抗生素响应可能具备的调控作用，AHLs减弱了抗生素对部分功能菌群的抑制作用。在刚受到抗生素污染的环境中微生物群落可能借助AHLs类群体感应缓解抗生素产生的影响。厌氧条件下AHLs可能通过调控谷氨酸代谢酶或硝态氮/亚硝态氮转运蛋白来影响抗生素胁迫下功能菌群的改变。借助AHLs调控微生物氮循环能够进一步优化利用畜禽养殖业高抗粪污厌氧发酵产能。生物膜形成、甲基化趋化蛋白和鞭毛合成可能是AHLs调控作用的主要影响通路，这些通路都与生物膜的定植和增殖过程相关。可进一步借助AHLs调控机制为利用生物絮膜污水系统处理高抗污水提供指导。

关键词： 群体感应；厌氧；宏基因组；氮代谢；甲烷代谢

通讯作者： 黄玲利，E-mail：huanglingli@mail.hzau.edu.cn；孙永学，E-mail：sunyx@scau.edu.cn

T02-0022

探讨PI3K/AKT信号通路在MC-LR长期低剂量暴露致小鼠肾脏损伤中的作用

梁小芳[1]，杨 越[2]，褚晗玉[1]，杨 飞[1,2]
（1. 南华大学衡阳医学院公共卫生学院，湖南省典型环境污染与健康危害重点实验室，
湖南 衡阳 421001；2. 中南大学湘雅公共卫生学院，湖南 长沙 410078）

摘要：目的 探讨MC-LR长期低剂量暴露对小鼠肾脏的毒性作用及其潜在的分子机制。**方法** 建立MC-LR长期低剂量染毒动物模型，将40只C57BL/6小鼠随机分成四组，分别给予含0、1、60和120 μg/L MC-LR的饮用水染毒12个月。监测小鼠体重和肾脏重量，观察小鼠肾脏组织损伤，检测小鼠肾功能指标BUN和SCr、检测炎症因子IL-6、TNF-α和IL-10的mRNA表达水平以及PI3K/AKT通路蛋白的相对表达水平。**结果** 各组小鼠体重变化的总体趋势一致，肾脏绝对质量和肾脏指数也无明显改变。与对照组相比，60和120 μg/L染毒组小鼠出现肾结构损伤，BUN和SCr水平显著上升。促炎因子IL-6和TNF-α水平在60和120 μg/L染毒组中上调，抗炎因子IL-10在所有染毒组中下降。p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的蛋白相对表达

量均在60和120 μg/L染毒组上升。**结论** MC-LR长期低剂量暴露可调控肾脏PI3K/AKT信号通路，激活炎症反应，诱导小鼠肾脏结构和功能损伤。

关键词： MC-LR；肾脏损伤；炎症；PI3K/AKT信号通路

基金项目： 湖南省重点研发项目（2022SK2089）；湖南省重点研发项目（2019SK2041）；湖南省优秀青年基金（2020JJ3053）；湖湘青年英才计划（2021RC3107）；国家自然科学基金（81773393）

通讯作者： 杨　飞，E-mail：phfyang@usc.edu.cn

T02-0023

PI3K/AKT/mTOR/SREBP1信号通路在MC-LR慢性染毒致肝脏损伤及脂质合成紊乱中的作用及机制

褚晗玉[1]，杨　越[2]，郑水林[3]，梁小芳[1]，唐　艳[1]，杨　飞[1,2]

（1. 南华大学公共卫生学院，湖南 衡阳　421001；2. 中南大学湘雅公共卫生学院，湖南 长沙　410000；3. 长沙市疾病预防控制中心，湖南 长沙　410000）

摘要：目的 探讨PI3K/AKT/mTOR/SREBP1信号通路在MC-LR慢性染毒对肝脏损伤、脂质合成的作用及其分子机制。**方法** 构建MC-LR慢性染毒体内模型，选取20只雄性C57BL/6小鼠，通过饮水方式用0、1、60或120 μg/L浓度的MC-LR染毒12个月。构建MC-LR染毒体外模型，将HL7702细胞分为对照组，MC-LR染毒组（50 μmol/L），PI3K抑制剂LY294002组（10 μmol/L），LY294002+MC-LR组。LY294002预处理1 h，MC-LR染毒处理24 h。在体内模型中评估小鼠肝脏组织病理损伤，检测肝酶、脂质指标。在体内外模型中检测小鼠肝脏及HL7702细胞中脂质合成相关酶的表达水平，PI3K/AKT/mTOR/SREBP1通路的蛋白表达情况。**结果** 在体内模型中我们发现：与对照组相比，60和120 μg/L染毒组小鼠肝脏肝细胞脂肪变性、灶性坏死伴炎性细胞浸润；AST、ALT、TG和TC水平在60、120 μg/L染毒组显著升高，存在剂量依赖性，且差异具有统计学意义。小鼠肝脏脂质合成基因SREBP-1c、SCD1、DGAT1及FASN的mRNA表达水平在60和120 μg/L染毒组中均升高；p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR和SREBP1的蛋白表达水平在60和120 μg/L染毒组上调，且差异具有统计学意义。在体外模型中我们发现：在HL7702细胞中，上述脂质合成基因的mRNA表达水平在MC-LR组呈升高趋势而在MC-LR+LY294002组中显著下降，差异均具有统计学意义；上述蛋白的表达水平也同样在MC-LR组上调而在MC-LR+LY294002组中显著下调，且差异具有统计学意义。**结论** MC-LR慢性染毒通过激活PI3K/AKT/mTOR/SREBP1通路引起肝脏损伤及脂质合成紊乱，本研究可为预防、诊断和治疗MC-LR引起的脂质合成紊乱及肝脏疾病提供科学依据。

关键词： 微囊藻毒素-LR；肝脏；脂质代谢；PI3K/AKT/mTOR通路

基金项目： 湖南省优秀青年基金项目（2020JJ3053）；湖南省重点研发项目（2022SK2089）；湖南省重点研发项目（2019SK2041）；湖湘青年英才计划项目（2021RC3107）；国家自然科学基金（81773393）

通讯作者： 杨　飞，E-mail：phfyang@usc.edu.cn

T02-0024

低剂量MC-LR长期暴露致小鼠肠道菌群紊乱加剧屏障损伤

杨　越[1]，刘文亚[1]，蔡丹平[2]，褚晗玉[2]，杨　飞[2]

（1. 中南大学湘雅公共卫生学院，湖南 长沙　410078；2. 湖南省典型环境污染与健康危害重点实验室，南华大学公共卫生学院，衡阳医学院，湖南衡阳　421001）

摘要：目的 本研究拟通过体内实验探讨低剂量MC-LR长期暴露致小鼠肠道菌群紊乱加剧屏障损伤的

作用及机制。**方法** 采用不同浓度的MC-LR(0、1、60、120 μg/L)经饮用水染毒小鼠12个月;通过基因组和代谢组测序技术分对粪便肠道菌群的α和β多样性及肠道菌群相关代谢产物进行分析;筛选MC-LR处理组与对照组间差异显著的微生物及其相关代谢产物;qPCR及WB检测结直肠组织紧密连接蛋白表达改变情况。**结果** 在门水平上,拟杆菌门(62%)和厚壁菌门(33%)是肠道中的主要优势菌门。在属水平上,大约有40%的微生物注释到了40个丰度最高的属。Chao1、香农指数和辛普森指数结果显示,长期暴露MC-LR对小鼠粪便中的肠道微生物的α多样性无显著影响。PCoA结果显示MC-LR引起了小鼠肠道微生物组成的显著差异。在属水平上,Turicibacter菌属、Clostridium菌属和Capnocytophaga菌属的相对丰度均显著增加,Ruminococcus属,益生菌Lactococcus等菌属的相对丰度则显著下降。在代谢组结果中发现,长期暴露MC-LR可导致关键代谢物L-cystine表达水平显著增加,L-glutamic acid的表达水平显著降低,提示其很可能与差异菌属共同参与了MC-LR所导致的结直肠慢性炎症及纤维化发生。进一步的qPCR及WB结果显示,结直肠组织紧密连接相关基因(ZO-1、Occludin和Claudin1)表达下降,表现出明显的屏障损伤现象。**结论** MC-LR长期暴露能够引起小鼠肠道微生物及其代谢产物的组成改变,使肠道微生物稳态失衡,引起一些关键菌和代谢物的相对丰度变化,进而加剧小鼠肠道屏障损伤发生。

关键词: MC-LR; 肠道菌群; 菌群多样性; 紧密连接; 屏障损伤

基金项目: 湖南省优秀青年基金项目(2020JJ3053);湖南省重点研发项目(2022SK2089);湖南省重点研发项目(2019SK2041);湖湘青年英才计划项目(2021RC3107);国家自然科学基金(81773393)

通讯作者: 杨 飞, E-mail: phfyang@usc.edu.cn

T02-0025

妥曲珠利及其主要代谢物在环境中的迁移和毒性研究

霍美霞, 马文瑾, 徐向月, 林旭东, 黄玲利

(国家兽药安全性评价(环境)实验室(HZAU), 国家兽药残留基准实验室(HZAU),
华中农业大学动物医学院, 武汉)

摘要: 目的 妥曲珠利(TOL)是三嗪类新型广谱抗球虫药,广泛应用于畜禽养殖业。由于TOL在动物肠道内不能完全被吸收,约80~90%的TOL以妥曲珠利亚砜(TOLS)和妥曲珠利砜(PON)两种代谢产物的形式经粪便排出体外,造成环境污染,进而危害人类健康。**材料和方法** 本研究采用高效液相色谱和质谱联用技术研究了TOL及其主要代谢物在堆肥、土壤和蔬菜中的降解和迁移,并通过单因素实验和土壤淋溶实验进一步探究TOL及其主要代谢物在土壤中的降解因素和迁移特性;采用宏基因组测序技术和土壤酶活性检测技术检测TOL及其主要代谢物对粪便和土壤中微生态的影响,并根据植物生长指标分析TOL及其主要代谢物对植物生长的毒性作用。**结果** TOLS在田间好氧堆肥过程(80 d)中发生显著降解,降解半衰期(DT50)为59.74 d,但TOL和PON的降解不显著。TOL,TOLS和PON在施肥土壤中0~14d迅速降解,后期(14~90 d)降解缓慢,DT50为28.17~346.50 d。进一步分析药物初始浓度、土壤含水量和粪便添加量对土壤中TOL,TOLS和PON降解的影响,发现土壤含水量是影响三种药物在土壤中降解的主要因素,土壤含水量越高,药物的降解半衰期越短(DT50为11.00~19.25 d)。TOL及其主要代谢产物在土壤中吸附性强,迁移率低,药物主要积累在土壤的0~6cm表层。三种药物中,只有PON可以从土壤表层迁移到生菜和萝卜中,残留浓度分别为2.64~70.02 $\mu g \cdot kg^{-1}$和0~2.80 $\mu g \cdot kg^{-1}$。TOL及其主要代谢产物对好氧堆肥过程中的细菌群落结构和抗生素抗性基因丰度没有显著影响,但药物会通过降低土壤脲酶和碱基磷酸酶的活性,增加过氧化氢酶活性显著影响土壤中的营养物质循环,对土壤的微生态产生负面影响。此外,TOL及其主要代谢产物具有植物毒性,对生菜和萝卜的田间种子发芽抑制率分别为8.33%和26.74%,对根伸长长度的抑制率分别为25.88%和34.45%。**结论** TOL及其主要代谢物在好氧堆肥过程中不能有效降解,进而导致药物从堆肥中迁移到土壤和蔬菜中,对土壤微生态和植物生长都产生不利影响。TOL及其主要代谢物的

环境生态风险和人类健康风险需要进一步评估。

关键词：妥曲珠利；降解；迁移；微生态；植物毒性

通讯作者：黄玲利，E-mail：huanglingli@mail.hzau.edu.cn

T02-0026

MC-LR对高脂小鼠胃损伤作用及作用机制

姜媛娟[1]，杨　越[2]，梁小芳[1]，褚晗玉[1]，杨　飞[1,2]

（1. 南华大学公共卫生学院，湖南 衡阳　421001；2. 中南大学湘雅公共卫生学院，湖南 长沙 410000）

摘要：目的　研究拟通过MC-LR和高脂饮食联合处理，探讨其对高脂饮食诱导的小鼠胃的损伤的作用及其机制。**方法**　选取15只雄性C57BL/6小鼠，随机分成对照组，高脂组，高脂+MC-LR组，高脂组采用高脂饲料喂养8周构建高脂小鼠模型，高脂+MC-LR组通过饮水方式用120 μg/L浓度的MC-LR染毒8周，HE观察各组小鼠胃组织病理损伤，qPCR检测NF-κB、IL-10、IL-1β、TNF-α、TGF-β1的基因表达水平，WB检测JAK2、STAT3总蛋白及磷酸化蛋白表达水平。**结果**　HE结果显示对照组小鼠胃组织粘膜结构完整，未见炎性细胞浸润，高脂组粘膜各层排列不整齐，损伤累及胃小凹及胃腺体，可见中性粒细胞、单核细胞浸润。高脂+MC-LR组粘膜结构排列紊乱，失去完整性及连续性，可见部分区域粘膜上皮层缺失，损伤多累及胃粘膜深部腺体，可见大量中性粒细胞、单核细胞、浆细胞浸润。高脂组、高脂+MC-LR组胃组织的NF-κB、IL-1β、TNF-α、TGF-β1的基因表达水平均高于对照组（$P<0.05$），高脂+MC-LR组表达水平高于高脂组（$P<0.05$）。高脂组、高脂+MC-LR组胃组织的p-JAK2/JAK2和p-STAT3/ STAT3蛋白相对表达水平均高于对照组（$P<0.05$），高脂+MC−LR组表达水平高于高脂组（$P<0.05$）。**结论**　MC-LR可能通过JAK2/STAT3通路加重高脂饮食引起的胃损伤及胃组织炎症反应。

关键词：MC-LR；高脂小鼠；胃损伤；JAK2/STAT3通路

基金项目：湖南省重点研发项目（2022SK2089）；湖南省重点研发项目（2019SK2041）；湖南省优秀青年基金（2020JJ3053）；湖湘青年英才计划（2021RC3107）；国家自然科学基金（81773393）

通讯作者：杨　飞，E-mail：phfyang@usc.edu.cn

T02-0027

行为生态毒理学在环境保护中的作用

肖云峰[1,2]，石佳琦[1]，朱秋梦[1]，张　昕[1]，吕　玮[1]

（1. 内蒙古医科大学药学院，呼和浩特　010110；2. 内蒙古医科大学新药安全评价研究中心，内蒙古医科大学药学院，呼和浩特　010110）

摘要：化学物质会影响人类和野生动物的行为，由于当今技术和计算的进步，科学家们现在越来越意识到，各种各样的污染物和其他环境压力源对陆地和水生生态系统的生物行为和随后的生态结果产生了严重的不良影响，除此之外由于缺乏标准化的毒性方法导致监管生态毒理学时没有充分考虑行为这一影响因素，这反过来又导致许多行为生态毒理学研究被排除在化学风险评估之外。为了提高对监管毒理学/风险评估中行为生态毒理学的挑战和机遇的认识，本文主要讨论现今行为生态毒理学在环境保护中的应用现状以及如何加强应用的措施建议。

关键词：行为生态毒理学；污染；环境保护

T02-0029

靶向干预PPARγ缓解$PM_{2.5}$诱导3T3-L1前脂肪细胞脂质生成的机制研究

陈圆圆[1,2], 苗 轲[1], 曹亚强[1], 顾 雯[1,2], 王 超[1], 邓富昌[1], 戴宇飞[2], 唐 宋[1,3]
(1. 中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所, 北京 100021; 2. 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050; 3. 南京医科大学全球健康中心, 江苏南京 211166)

摘要: 背景和目的 相较于遗传、饮食等传统致肥胖因素,近年来越来越多的研究聚焦于环境外源化学物暴露的致肥胖作用,并提出了"环境肥胖激素"的概念。PM2.5是当今影响健康的主要因素之一,其成分复杂,含有多种内分泌干扰物,如邻苯二甲酸二丁酯、双酚A、多氯联苯等,与肥胖的发生发展密切相关。PPARγ作为一种核转录因子,是已知环境肥胖激素的作用靶点,其激活是肥胖发生的始动因素。因此,本研究拟通过运用多组学技术探讨PM2.5暴露对3T3-L1细胞脂肪生成的影响并揭示潜在的分子生物学机制。材料和方法:采用小鼠3T3-L1前脂肪细胞,给予不同浓度PM2.5暴露构建脂质生成模型,采用拮抗剂T0070907构建PPARγ干预模型。荧光法检测脂肪酸摄取水平,油红O染色法检测细胞内脂质含量,高内涵检测细胞内游离脂肪酸含量,双荧光素酶报告基因检测PPARγ的转录活性,WB和qRT-PCR检测脂肪生成相关基因(Pparg,Adipoq,Plin 1,Fabp4)和蛋白(PPARγ,Fabp4,CD36)表达水平,转录组学检测全基因谱图和脂质组学检测脂质代谢谱。**结果** 与对照组相比,中、高剂量PM2.5(5、10 μg/mL)暴露8天后,细胞脂肪酸摄取水平显著增加,细胞内游离脂肪酸含量和脂质积累量增多,表明PM2.5促进3T3-L1细胞脂肪生成。转录组学和脂质组学分析表明PM2.5暴露后,细胞基因转录谱和脂质代谢谱都受到广泛扰动。功能富集分析发现过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)途径和甘油磷脂(如PI 36:3、PE 32:2和PC 39:8)和鞘脂(如SM 35:1和SM 39:0)代谢在细胞脂肪生成过程中显著改变。报告基因和WB等结果表明,PM2.5诱导和激活PPARγ核转位在脂肪生成中发挥重要作用。进一步使用PPARγ拮抗剂(T0070907)干预后能显著减弱由PM2.5诱导的PPARγ通路激活和脂质代谢重塑。**结论** PM2.5暴露通过激活PPARγ促进3T3-L1细胞脂肪生成,揭示了PM2.5诱导肥胖的生物分子机制,为预防空气污染物暴露致肥胖提供科学依据。

关键词: 空气污染; PPARγ; 脂质蓄积; 转录学组; 脂质组学

基金项目: 国家自然科学基金(21707132);国家自然科学基金(22206178);国家自然科学基金(82273677)

通讯作者: 唐 宋, E-mail: tangsong@nieh.chinacdc.cn

T02-0030

兽用消毒剂环境安全性研究进展

林旭东, 马文瑾, 徐向月, 霍美霞, 寇紫艳, 黄玲利
(1. 国家兽药安全性评价(环境)实验室(HZAU), 2. 国家兽药残留基准实验室(HZAU),
3. 华中农业大学动物医学院,武汉 430071)

摘要: 目的 兽用消毒剂是兽医临床大量使用的用于杀灭传播媒介上病原微生物,使其达到无害化要求的试剂。随着我国养殖水平的提高,科学规模化饲养的普及和对畜禽常见疾病预防相关认识程度的不断提高,消毒剂的用量逐年增加,消毒剂及其副产物在环境中的暴露量不断增大,带来了一系列的环境影响,包括生态毒性以及诱导微生物产生抗性,甚至诱导病原菌的共耐药现象,加速耐药基因的传播,间接影响人类健康。**方法** 本文通过系统调研兽医临床主要消毒剂以及消毒副产物在环境中的暴露现状,分析了其吸附降解行为特性、生态毒性、诱导微生物产生耐药性以及抗性基因等研究方法、技术手段及主要结果,总结了其在环境中的安全性研究现状,为开展消毒剂环境风险评估和制定科学防范措施奠定基础。**结果** 消毒剂以及消毒副产物大多不会保留于土壤之中,而是会随着径流和淋溶进入水环境,其中季铵盐类消毒剂由于

具有阳离子电荷，有吸附到土壤的趋势。普遍存在的消毒剂和消毒剂副产物不仅会对动植物造成生态毒性，也会对人类产生负面影响。不同消毒剂及副产物由自身理化性质、含水介质特性、地下水水化学条件等影响因素共同影响其迁移转化过程。消毒剂在环境中可能会对动植物等非目标生物造成影响，影响植物的种子萌发和生长发育，其对植物的毒性受植物种类和消毒剂种类影响。许多消毒剂副产物对动物具有致癌性、致畸性和致突变性等一系列有害作用。消毒剂到达一定浓度会使环境中菌群多样性明显降低，改变优势菌种，降低微生物多样性。消毒剂暴露影响了细菌耐药表型以及基因型的变化，使消毒剂与抗生素产生了共同耐药性。消毒剂的不当使用会对人类和动物健康造成潜在危害。目前为止，还没有明确的标准和方法来确定微生物是否对消毒剂具有耐药性，同时也缺乏相应的监测体系，这些将是我们未来工作的重中之重。**结论** 根据现有研究现状，提出存在的问题及需要深入开展的工作方向。对消毒剂暴露量和环境行为的总结可以帮助我们了解其潜在的环境威胁，对消毒剂生态毒理学的研究可以探究其对人和动物的影响，对消毒剂和抗生素共同耐药的深入研究可以为其耐药机制研究提供借鉴，为耐药性防范措施提供理论基础。建议谨慎使用消毒剂，避免消毒剂造成的环境影响。

通讯作者：黄玲利，E-mail：huanglingli@mail.hzau.edu.cn

T02-0031

骨稳态失衡在$PM_{2.5}$诱发骨质疏松中的作用研究

李三多[1,2]，杨思佳[1,2]，葛钦文[3]，袁文华[4]，陈佳丽[4]，王萍儿[4]，章　璐[1,2]，胡人杰[1,2]，
曾庆贺[3]，金红婷[4]，刘翠清[1,2]
（1. 浙江中医药大学公共卫生学院，浙江　310053；2. 浙江省大气污染与健康国际科技合作基地，
浙江　310053；3. 浙江中医药大学第一临床医学院，浙江　310053；
4. 浙江中医药大学骨伤研究所，浙江　310053）

摘要：目的 本研究旨在观察细颗粒物（$PM_{2.5}$）对骨质疏松的影响并探讨其作用机制。**材料和方法** 选用正常小鼠及摘除卵巢诱导的骨质疏松小鼠，对其进行$PM_{2.5}$暴露，用Micro-CT对骨密度进行检测，观察$PM_{2.5}$暴露对骨质疏松的影响；收集骨髓细胞进行转录组测序，对作用通路进行筛选。培养原代破骨细胞和成骨细胞系（MC3T3-E1），用不同浓度$PM_{2.5}$刺激的巨噬细胞上清作为条件培养基，对破骨前体细胞和前成骨细胞进行干预。用ELISA方法检测条件培养基中TNF-α的含量，用分子生物学方法探究$PM_{2.5}$刺激对破骨前体细胞和前成骨细胞分化能力的影响，并对动物转录组学结果进行验证；使用TRAP染色评估$PM_{2.5}$暴露对破骨细胞形成的影响。**结果** 在体状态下，$PM_{2.5}$暴露使正常小鼠骨密度显著降低，骨质疏松小鼠骨密度进一步降低。在离体水平，$PM_{2.5}$暴露引起巨噬细胞TNF-α表达显著增加。条件培养基干预破骨前体细胞后，破骨分化标志基因（如Traf6、Nfatc1、c-Fos）的mRNA和蛋白表达水平显著上升，破骨细胞总数也显著增加。而在条件培养基干预前成骨细胞后，成骨分化标志基因（如Alp、Runx2、Sp7）表达量显著下降。转录组测序GO富集分析发现成骨代谢相关十条通路均出现下调，并在细胞水平得到验证。蛋白互作网络分析表明与软骨内骨形态发生相关（如Matn1，Matn4，Comp等）、免疫效应过程相关（如Cxcl10，Oasl1，Ifit3等）、线粒体呼吸链复合物组装相关（如Ndufa1，Ndufa2，Ndufb3等）差异表达基因可能是PM2.5暴露对骨骼系统影响的关键基因。分子水平检测显示，骨形态相关分子matn1和matn4的表达量在前成骨细胞中显著下调，在破骨前体细胞中未明显改变；免疫效应相关分子（如Irf7、Oasl1、Ifit3等）表达在前成骨细胞中显著下调，在破骨前体细胞中则显著上调；线粒体呼吸链复合物组装相关分子（如Ndufs6、Ndufa1、Ndufa2等）表达水平在破骨前体细胞中显著上调，在前成骨细胞中则显著降低。**结论** $PM_{2.5}$暴露可能会通过促进破骨细胞生成和抑制成骨细胞形成，导致骨稳态紊乱、促发骨质疏松。这些结果为阐释PM2.5的骨损伤机制和探寻干预措施提供了重要实验依据。

关键词：细颗粒物；骨质疏松；骨稳态；破骨分化；成骨分化

通讯作者：刘翠清，E-mail：liucuiqing@zcmu.edu.cn

T02-0032

Long non-coding RNA LINC01480 is activated by Foxo3a and promotes HQ-induced TK6 cells apoptosis via inhibition of PI3K/AKT signaling pathway

Abstract: With the deepening of research, more and more evidences show that long noncoding RNAs (lncRNAs)play a vital biological role in the body damage caused by environmental pollutants, but there are few studies on the role and mechanism of lncRNAs in benzene and its metabolite Hydroquinone (HQ).Long non-coding RNA LINC01480 is a newly discovered lncRNA,which is related to the immune micro-environment of some tumors,but its specific function remains unknown.Therefore, in order to investigate the role and the related molecular mechanism of LINC01480 in HQ-induced apoptosis of TK6 cells.Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to examine the expression of LINC01480 after short-term exposure to HQ. Gain-of-function and loss-of function experiments were conducted to investigate the biological functions of LINC01480 in HQ induced apoptosis of TK6 cells. The nuclear-cytoplasmic fractionation experiment, dual-luciferase reporter assays, chromatin immunoprecipitation (ChIP) assay, and rescue experiments were performed to uncover the detailed mechanism of LINC01480 in TK6 cells apoptosis by HQ. In the present study, the expression of LINC01480 was significantly increased in a dose-effect relationship in HQ short-term exposure.Compared with the control group, the apoptosis induced by HQ was significantly reduced and the relative survival rate of TK6 cells increased after silencing LINC01480, while the cells overexpressing LINC01480 were more sensitive to HQ toxicity.Further research found that LINC01480 promoted HQ-induced apoptosis by inhibiting the activation of PI3K/AKT signaling pathway.Furthermore, ChIP and Luciferase reporter assays showed that transcription factor Foxo3a promote LINC01480 transcription by binding to the promoter region of LINC01480. Collectively, these findings suggested that Foxo3a-mediated transcription of LINC01480 promoted HQ-induced apoptosis via inhibiting the activation of PI3K/AKT signaling pathway, implicating LINC01480 as a possible target for intervention in HQ exposure.

Key words: Hydroquinone; LINC01480;PI3K/AKT signaling pathway; Foxo3a; apoptosis

T02-0033

时钟基因*Bmal1*敲除和聚苯乙烯微塑料暴露对小鼠肝脏代谢影响的协同作用研究

李 婷[1,2], 顾唯佳[1,2], 王瑞晴[1,2], 李三多[1,2], 章 璐[1,2], 李 冉[1,2], 孙庆华[1,2], 刘翠清[1,2]

（1. 浙江中医药大学公共卫生学院，杭州 310053；2. 浙江省大气污染与健康国际科技合作基地，杭州 310053）

摘要：目的 探讨时钟基因Bmal1与聚苯乙烯微塑料（PSMP）对小鼠肝脏代谢影响的协同作用。**方法** 将8周龄野生型和肝脏Bmal1特异性敲除（liver-specific Bmal1 knockout mice，LBKO）的C57BL/6小鼠按体重随机分至4组：野生型对照（WT）组、野生型PSMP（PSMP）组、LBKO对照（KO）组和LBKO PSMP（KO-PSMP）组。使用粒径小于等于6 μm的PSMP与双蒸水超声混匀30分钟，配置灌胃混悬液，PSMP组以0.2 mg/kg浓度灌胃，对照组给予相应体积的双蒸水。连续灌胃24周，记录小鼠体重与饮食情况。暴露期间进行GTT试验，暴露结束后分别在授时因子时间（ZT）0和ZT12两个时间点取材，收集血清和肝脏组织；Real time-PCR检测肝脏昼夜节律、胆固醇代谢、自噬与线粒体氧化磷酸化相关基因的表达。**结果** 24周PSMP暴露对小鼠体重、摄食量均无明显影响，也未引起小鼠糖代谢出现显著改变，仅节律基因Rev-erbα

的表达水平在ZT0时显著增高。肝脏Bmal1敲除后，小鼠糖耐量出现显著改善，但该作用呈年龄依赖性消失；肝脏节律基因Clock、Per1、Per2、Cry1、Cry2、Rorα、Rev-erbα出现不同程度表达水平或时相紊乱，胆固醇代谢相关基因Cyp8b1、Cyp7b1在ZT12表达显著增加，伴有自噬基因Atg3在ZT0和ZT12显著降低。KO-PSMP组小鼠在PSMP暴露第4周糖耐量显著改善，PSMP暴露结束后，肝脏线粒体氧化磷酸化相关基因Ndufc1、Ndufaf8、Ndufs6、Uqcr10、Cox5a的表达显著加强，提示肝脏线粒体功能增强。**结论** 肝脏Bma1敲除将引起肝脏生物节律紊乱，但联合PSMP暴露可能会增强肝脏线粒体氧化磷酸化水平。

关键词： 聚苯乙烯微塑料；时钟基因Bmal1；线粒体氧化磷酸化

基金项目： 国家自然科学基金面上项目（81973001）；国家自然科学青年基金面上项目（81904027）

通讯作者： 刘翠清，E-mail：liucuiqing@zcmu.edu.cn

T02-0034

Beclin1基因杂合性缺失在砷暴露诱发神经毒性中的作用研究

李丹阳[1,2]，黄黎霜[1,2]，孙　威[1,2]，程淑群[1,2]，夏茵茵[1,2]，邹　镇[2,3]，蒋学君[2,4]，陈承志[1,2]

（1. 重庆医科大学，公共卫生学院，劳动卫生与环境卫生学教研室；2. 重庆医科大学，环境与人群健康研究中心；3. 重庆医科大学，生命科学院；4重庆医科大学，公共卫生实验教学中心）

摘要：目的 探讨自噬相关基因beclin 1杂合性缺失在砷暴露引发小鼠神经毒性中潜在作用。**方法** 将SPF级C57BL/6J健康成年雌性野生型小鼠（*beclin 1*$^{+/+}$）和beclin 1杂合性缺失小鼠（*beclin 1*$^{+/-}$）随机分为*beclin 1*$^{+/+}$对照组、*beclin 1*$^{+/+}$砷暴露组、*beclin 1*$^{+/-}$对照组和*beclin 1*$^{+/-}$砷暴露组，每组各12只。其中，砷暴露小鼠予以50 mg/L砷饮水暴露90天，对照小鼠给予等量无菌纯水。分别测定小鼠运动协调性、空间识别记忆能力及焦虑样行为改变；测定各组小鼠神经电生理变化情况；H&E、尼氏染色、银染法分别观察小鼠脑组织形态改变；免疫荧光法检测神经元细胞数量；高尔基染色法观察神经元树突棘变化；Western blot法检测突触相关蛋白的表达水平。**结果** 与对照组相比，砷暴露导致*beclin 1*$^{+/+}$小鼠的运动协调能力、空间学习记忆能力出现明显下降，同时表现出焦虑样行为（$P<0.05$），而砷处理的*beclin 1*$^{+/-}$小鼠未呈现显著的神经行为学损伤。H&E和尼氏染色结果显示，*beclin 1*$^{+/+}$砷暴露组小鼠皮层神经元和尼氏体数量显著减少，细胞形态明显改变，同时银染色显示海马齿状回部神经元明显丢失且结构紊乱，并伴有细胞萎缩。而*beclin 1*$^{+/-}$砷暴露小鼠中上述病理学损伤均显著改善。*beclin 1*$^{+/+}$砷暴露组神经元明显减少，小胶质细胞和星形胶质细胞显著增多，而*beclin 1*$^{+/-}$砷暴露组则神经元的丢失和 小胶质细胞、星形胶质细胞过度激活状态都明显减轻。高尔基染色结果显示，砷暴露后神经元树突分支和树突棘的数量减少，该损害效应在*beclin 1*$^{+/-}$砷暴露小鼠中却显著改善。同时，砷处理可导致*beclin 1*$^{+/+}$小鼠脑电图频率和振幅减弱，而beclin1杂合性缺失可使砷暴露小鼠的脑电图恢复至接近正常状态。砷暴露还引起突触相关蛋白SNAP25和Syntaxin1A表达显著下调，而beclin 1杂合性缺失后可明显逆转上述两种突触相关蛋白的表达抑制效应。**结论** Beclin1基因杂合性缺失可减轻砷暴露引起的神经毒性作用，可能是未来防治砷神经毒性的潜在干预靶点。

关键词： 亚砷酸盐；Beclin 1；自噬；神经毒性

通讯作者： 陈承志，E-mail：chengzhichen@cqmu.edu.cn；蒋学君，E-mail：xuejunjiang@cqmu.edu.cn

T02-0035

微囊藻毒素-LR与亚硝酸钠联合暴露在小鼠肾脏结构和功能损伤中的作用

吴春蕊，郭 星，张慧珍
（郑州大学公共卫生学院，郑州 450001）

摘要：目的 富营养化水体中微囊藻毒素-LR（microcystin-LR，MC-LR）与亚硝酸盐类共存，且亚硝酸盐可促进藻类生长从而加重富营养化，两者可能共同危害人类健康。MC-LR与亚硝酸盐均可导致肾脏毒性，MC-LR可以通过氧化应激、细胞凋亡和细胞骨架破坏等机制引起多种动物的肾脏毒性，亚硝酸钠也可以诱导氧化应激引发各种肾脏损伤，但两者联合暴露后产生的肾脏毒性效应尚不清楚。因此，本研究的目的是探讨MC-LR与亚硝酸钠联合暴露对小鼠肾脏结构和功能的影响，并评估MC-LR与亚硝酸盐长期暴露对肾脏的健康风险。**材料和方法** 选取Balb/c小鼠24只随机分为对照组、MC−LR组、NaNO2组、MC-LR+Na-NO_2组，每组6只，设置MC-LR浓度为100 μg·L^{-1}，$NaNO_2$浓度为300 mg·L^{-1}。小鼠以自由饮水暴露MC-LR以及NaNO2 6个月后称重处死，取小鼠肾脏进行称重，HE染色观察小鼠肾脏病理组织变化，血清肾功能指标检测试剂盒检测小鼠血清中血尿素氮、肌酐含量，RT-PCR实验检测小鼠肾脏组织中KIM-1和NGAL的mRNA表达水平，Western blot实验检测小鼠肾脏组织中KIM−1和NGAL的蛋白表达水平。**结果** 微囊藻毒素-LR与亚硝酸钠联合暴露引起小鼠肾脏重量增加、肾脏系数增大；引起肾脏发生淋巴细胞浸润、肾小球结构破坏、鲍曼囊缩小等病理性改变；造成肾功能的损伤，导致肾损伤指标肌酐含量增加，以及肾损伤标志物KIM-1和NGAL的表达异常。**结论** 微囊藻毒素-LR与亚硝酸钠联合暴露产生肾毒性能够引起小鼠肾脏结构和功能的损伤。

关键词： 微囊藻毒素-LR；亚硝酸钠；联合毒性；肾损伤

通讯作者： 张慧珍，E-mail：huizhen18@126.com

T02-0036

草甘膦对环境中非靶标昆虫的安全性评估

冯 漂[1]，李凡池[1,2]，李 兵[1,2]
（1. 苏州大学基础医学与生物科学学院，苏州 215123；2. 苏州大学蚕桑研究所，苏州 215123）

摘要：目的 草甘膦是全球农业生产中用量最多的除草剂，其对田间非靶标生物物种多样性的影响逐渐受到全球生态学家的关注。本研究利用鳞翅目模式昆虫—家蚕，评估草甘膦对田间非靶标昆虫的影响。**材料和方法** 家蚕5龄第3天浸叶法添食草甘膦（2975.20 mg/L）至上簇，解剖处理48 h个体的中肠，用于RNA-Seq分析并采用qPCR法验证数据准确性，熟蚕期进行白僵菌侵染实验，徘徊期第3天采用电子显微镜鉴定血淋巴中的白僵菌菌丝，检测酚氧化酶（PO）活性，检测PO合成相关基因转录水平。**结果** 本研究在草甘膦暴露家蚕的中肠中共检测到125个转录水平有显著差异的基因（Q＜0.05），其中上调53个，下调72个，GO分析表明DEGs主要富集在细胞组分、生物过程和分子功能，KEGG分析表明差异基因主要与氧化应激，营养物质代谢以及免疫防御通路相关，包括氧化应激相关基因Cat和Jafrac1；营养物质代谢相关基因Fatp和Scpx；值得关注的是免疫防御通路相关基因中编码丝氨酸蛋白酶抑制剂2的基因serpin-2和编码糜蛋白酶类丝氨酸蛋白酶的基因LOC732967转录下调，分别为对照组的0.69和0.67倍，编码C型凝集素11的基因CTL11转录为对照组的0.22倍，编码角质层蛋白的基因CPR4和编码真菌蛋白酶抑制剂F的基因LOC101738162转录下调，分别为对照组的0.60和0.57倍，这些差异基因表明草甘膦可能干扰家蚕抗真菌的能力。进一步真菌侵染实验表明，草甘膦处理组白僵菌侵染后死亡率提高4.35倍（P＜0.001），PO介导的黑化反应是机体防御的重要途经，显微镜观察发现草甘膦处理组血淋巴中包裹白僵菌的黑色素显著少于对照组，而且白僵菌孢子增值明显，PO活性和合成关键基因转录水平均显著下调，表明PO合成受阻是草甘

膦暴露导致家蚕免疫能力降低的直接原因。**结论** 本研究发现草甘膦通过干扰昆虫酚氧化酶级联反应导致对真菌的感染性增加，暗示草甘膦使用地区使用真菌类杀虫剂会有更好的效果，但对非靶标经济昆虫的威胁同样是值得关注的，这些结果为草甘膦的生物安全性评价提供了重要参考。

关键词： 草甘膦；昆虫；RNA-Seq；生物多样性

基金项目： 国家自然科学基金项目（32172795）；国家现代农业产业技术体系项目（CARS-18-ZJ0106）

通讯作者： 李　兵，E-mail：lib@suda.edu.cn

T02-0037

m^6A修饰去甲基化酶FTO在砷诱发应激颗粒中的调控作用研究

虞子樱[1,2]，陈若楠[1,2]，周丽晓[1,2]，程淑群[1,2]，夏茵茵[1,2]，蒋学君[2,3]，邹　镇[2,4]，陈承志[1,2]

（1. 重庆医科大学，公共卫生学院，劳动卫生与环境卫生学教研室；2. 重庆医科大学，环境与人群健康研究中心；3. 重庆医科大学，公共卫生实验教学中心；4. 重庆医科大学，生命科学院）

摘要：目的 探讨m^6A修饰去甲基化酶FTO对砷诱发应激颗粒中的调控作用，为了解应激颗粒相关机制及干预靶点提供新见解和新思路。**方法** 以野生型、FTO敲除和过表达人BEAS-2B细胞为受试对象，分别设置对照组和500 μmol·L^{-1}砷10 min、30 min、60 min处理组。染毒结束后，采用Dot Blot方法检测m^6A修饰总水平；采用细胞免疫荧光和Western Blot方法检测应激颗粒相关指标改变；观察应激颗粒标志性蛋白表达水平以及应激颗粒与m^6A荧光共定位情况；Western Blot方法和QPCR方法分别检测m^6A相关调控因子蛋白表达水平及mRNA表达水平。**结果** 砷处理BEAS-2B细胞后，Western Blot结果显示，与对照组相比应激颗粒标志物EIF2α、G3BP1蛋白表达水平明显升高（$P<0.05$），并呈现显著的时间-效应关系。细胞免疫荧光结果发现，砷暴露后G3BP1免疫荧光强度随时间增加逐渐增强，且应激颗粒形成显著增多，差异有统计学意义（$P<0.05$）；并且，砷暴露后细胞m^6A和G3BP1免疫荧光共定位明显增强。Dot Blot结果发现，m^6A修饰总水平在砷暴露后呈现显著上调趋势（$P<0.05$），m^6A去甲基化酶FTO在蛋白和mRNA表达水平均下调（$P<0.05$）；m^6A结合蛋白IGF2BP1在蛋白和mRNA表达水平均呈下调趋势（$P<0.05$）；上述效应均可随时砷暴露时间的延长而显著增强。重要的是，在FTO敲除和过表达细胞中，砷诱发的应激颗粒指标G3BP1表达和EIF2α表达上调均出现显著调控改变。**结论** m^6A去甲基化酶FTO参与调控砷诱发的应激颗粒形成过程；靶向干预FTO表达有望成为改善砷所致应激颗粒的新策略。

关键词： 应激颗粒；m^6A；FTO

通讯作者： 陈承志，E-mail：chengzhichen@cqmu.edu.cn；邹　镇，E-mail：zouzhen@cqmu.edu.cn

T02-0038

AMD相关多胺代谢紊乱在环境$PM_{2.5}$暴露致小鼠神经损伤中的作用机制

王欢欢

（杭州师范大学）

摘要：背景 随着社会和工业产业的不断发展，环境和空气污染及其对人类健康的严重威胁受到广泛关注。越来越多证据显示空气污染已成为人群神经损伤的重要危险因素，其中颗粒物（particle matter，PM）$PM_{2.5}$是导致神经功能障碍的主要毒性物质。课题组系列研究已证实，环境$PM_{2.5}$慢性暴露损伤小鼠学习记忆能力，神经元凋亡是此过程中关键事件。细胞内多胺代谢稳态是神经细胞维持正常功能的生理过程之一，多胺代谢障碍是否参与$PM_{2.5}$暴露致神经损伤及其分子机制仍未阐明。**目的** 本研究将就$PM_{2.5}$暴露神经毒性的具体作用及其量效、时效关系进行深入挖掘，系统研究S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶（S-adenosylmethio-

nine decarboxylase，AMD）相关多胺代谢作为靶点在$PM_{2.5}$暴露特异性神经元凋亡及小鼠认知能力损伤中的作用机制。**方法和材料** 采用C57BL/6小鼠环境$PM_{2.5}$全身暴露动物模型，行为学法检测小鼠认知能力变化，脑组织样本检测神经元凋亡、自噬等相关分子通路改变；采用$PM_{2.5}$提取物处理原代神经元细胞模型，评价AMD相关多胺代谢功能紊乱在$PM_{2.5}$暴露神经毒理作用中的分子机制。**结果** 1、首先，对$PM_{2.5}$暴露小鼠脑组织样本转录组分析发现，$PM_{2.5}$暴露可导致神经细胞内AMD表达下降，代谢组结果也显示甲硫氨酸、亚精胺（spermidine，SPD）等AMD相关关键多胺水平显著变化，提示AMD活性变化或是空气污染致神经损伤的重要靶点。2、随后，小鼠于不同浓度环境$PM_{2.5}$进行不同时程暴露，结果显示$PM_{2.5}$暴露可呈剂量和时间依赖性造成小鼠学习、记忆及空间探索能力的损伤，并引起海马、皮层区域神经元的凋亡和神经细胞AMD活性的下降，而抑制AMD活性可模拟由$PM_{2.5}$处理引起的神经元凋亡。3、接下来，以AMD代谢产物SPD喂饲小鼠可缓解$PM_{2.5}$暴露致小鼠认知能力下降及神经元的凋亡，体外细胞实验结果还显示SPD的抗神经细胞凋亡作用与调节线粒体功能密切相关。4、最后，利用药理学手段调节神经元凋亡、自噬等过程，发现神经元AMD活性下降及相关多胺代谢障碍，可导致细胞内自噬-溶酶体流功能紊乱，或是$PM_{2.5}$暴露致神经元凋亡的重要分子细胞机制；SPD对$PM_{2.5}$暴露致神经元凋亡的保护作用，十分可能通过参与溶酶体功能调节而对线粒体自噬过程并无影响。**结论** $PM_{2.5}$暴露致神经细胞AMD相关多胺代谢障碍，或是环境污染致神经细胞凋亡的重要分子机制。

关键词：颗粒物2.5（$PM_{2.5}$）；神经元凋亡；S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶（AMD）；亚精胺（SPD）；线粒体自噬

通讯作者：王欢欢，E-mail：huanval@hznu.edu.cn

T02-0039

Gestation and lactation triphenyl phosphate exposure disturbs offspring gut microbiota in a sex-dependent pathway

Juntong Lin

(School of Public Health, Dongguan Key Laboratory of Environmental Medicine, Guangdong Medical University, Guangdong, 523-808, China)

Abstract: Triphenyl phosphate (TPhP) is an Organophosphate flame retardant (OPFR) that has been widely used in many commercial products. Following its widely usage, its health risk has been concerned. In this study, mice were exposed to TPhP (1 mg/kg) during pregnancy and lactation (E0-PND21), the effect of TPhP on gut microbiota and its role in TPhP mediated lipid metabolism disturbance of offspring was investigated. Our results showed that TPhP disturbed the gut microbiota in dam or offspring at different extent, with male offspring experiencing major effects. Both the composition, abundance or network of gut microbiome was affected in male offspring. In male offspring expression of genes along gut-liver axis including FXR, CYP7A1, SREBP-1c and ChREBP was significantly up-regulated, and expression of SHP, FGF15 and ASBT was significantly down-regulated. Consistent with this, lipid accumulation in the liver, and increased level of triglyceride, total cholestrol and total bile acid in the serum was observed. The changed abundance of Ruminococcaceae, Clostridiaceae, and Bacteroidaceae shows strong correlation with disturbed lipid metabolism in male offspring. Our research showed that indirect TPhP exposure during early life stage could affect the gut microbiota and gene expression along gut-liver axis in offspring at sex-dependent pathways, with males experiencing more effects.

Key words: triphenyl phosphate; gut microbiota; sexually dimorphic; gut-liver axis

Corresponding author: Juntong Lin, E-mail: address: ljtongzi@163.com

T02-0040

基于非靶代谢组学和机器学习的砷中毒生物标志物挖掘和风险评估

张 进，马 璐，陈 雄，王大朋，李博岩，张爱华
（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室/公共卫生与健康学院，贵阳 550025）

摘要：目的 长期暴露于砷污染的环境中可能会导致砷中毒。当前，砷中毒的的诊断方法主要是以皮肤损伤程度为依据，但是很少基于被广泛验证的代谢标志物。因此，我们希望通过非靶向代谢组学挖掘潜在的砷中毒生物标志物，结合机器学习算法实现疾病的风险评估。**材料和方法** 我们从贵州省招募105例燃煤型砷中毒患者（其中按照症状分轻、中和重度组，每组各35人），又从相邻的无污染地区招募了60人作为对照组。通过一台超高效液相色谱联用质谱仪（ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer，UHPLC-MS/MS）对研究对象的血浆进行分析，获得代谢物谱。然后，通过统计学方法对得到的代谢物进行分析，找出差异代谢物，通过通路富集确认和疾病相关的代谢途径变化。最后，结合机器学习算法和代谢标志物建立砷中毒的风险评估模型。**结果** 我们发现了143个和砷中毒相关的代谢物，这些物质在砷中毒患者的血浆中表现出显著的上/下调现象。这些物质主要和人体的一碳代谢和抗氧化防御系统相关。我们通过迭代的变量选择筛选出对疾病判别贡献最大的52个代谢物，并结合线性判别分析（linear discriminate analysis，LDA）算法建立了疾病的风险评估模型。在我们的招募的患者中，对砷中毒患者的识别达到了100%的准确率，对不同症状的患者的判别准确率也达到了81.8%。**结论** 我们的发现揭示了砷中毒患者体内存在大量的失调代谢物，主要涉及一碳代谢和抗氧化防御相关的通路，这些发现为砷中毒的致病机制研究和疾病防控提供理论依据。基于代谢标记物和机器学习的砷中毒风险评估模型为疾病的早期筛查提供可能的技术支持。

关键词： 砷中毒；代谢组学；生物标志物；生物信息学；机器学习

通讯作者： 张爱华，E-mail: aihuagzykd@163.com

T02-0041

m^6A去甲基化酶FTO介导的氧化损伤在砷诱发学习记忆功能损害中的作用

王芳红[1,2]，李丹阳[1,2]，蔡学梅[1,2]，程淑群[1,2]，夏茵茵[1,2]，蒋学君[2,3]，邹 镇[2,4]，陈承志[1,2]
（1. 重庆医科大学，公共卫生学院，劳动卫生与环境卫生学教研室；2 重庆医科大学，环境与人群健康研究中心；3 重庆医科大学，公共卫生实验教学中心；4. 重庆医科大学，生命科学院）

摘要：目的 探讨m^6A修饰去甲基化酶FTO介导的氧化损伤在砷诱发学习记忆功能损害中的作用，以期为寻求新的干预策略提供新靶点和新思路。**方法** 以野生型、FTO敲除和过表达人SH-SY5Y细胞为受试对象，分别予以不同浓度（0、1、2.5、5 μmol·L^{-1}）和时间砷暴露，测定氧化损伤指标和m^6A修饰相关指标。将野生型和FTO敲入（$FTO^{+/+}$）转基因C57BL/6J小鼠予以不同浓度饮水砷染毒，采用水迷宫和Y迷宫分别测定小鼠学习记忆功能改变，运用H&E、尼氏染色、银染和FJC染色检测脑组织病理学改变，同时检测氧化损伤和m^6A修饰相关指标变化。**结果** 流式细胞术分析结果发现，砷暴露导致SH-SY5Y细胞活性氧水平明显升高，线粒体膜电位显著降低；与对照组相比，砷处理组HO-1、GCLM和DNA损伤标志物γ-H2AX蛋白表达升高（$P<0.05$）；砷暴露组m^6A修饰总水平较对照组显著上调（$P<0.05$），m^6A修饰甲基转移酶（METTL3、METTL 14 、METTL 16、RBM15/15B、WTAP、VIRMA和CBLL1）和去甲基化酶ALKBH5的蛋白和mRNA表达水平则未发现显著性改变，而m^6A去甲基化酶FTO在蛋白和mRNA表达水平均发生明显下调（$P<0.05$）。与野生型细胞相比，FTO敲除后 砷引发的HO-1、GCLM和γ-H2AX蛋白表达升高趋势更为显著，且FTO敲除细胞线粒体活性氧生成明显增加（$P<0.05$）；反之，FTO过表达明显逆转砷所致的氧化损伤效应。水迷宫和Y迷宫的结果显示，砷暴露导致小鼠学习、认知和空间记忆能力明显减退，并导致脑组织发生明显

病理损伤，主要表现为尼氏小体减少，银染神经元纤维变形和神经元数量减少；同时，砷暴露引发了小鼠脑组织明显的氧化损伤。而FTO敲入砷暴露小鼠学习记忆功能和氧化损伤效应与对照组相比无明显差异。**结论** m^6A去甲基化酶FTO可调控砷诱发的氧化损伤及学习记忆功能损害效应，靶向干预FTO表达有望成为改善砷的神经毒性的新策略。

关键词： m^6A；氧化损伤；砷

通讯作者： 陈承志，E-mail：chengzhichen@cqmu.edu.cn；邹 镇，E-mail：zouzhen@cqmu.edu.cn

T02-0042

m^6A去甲基化酶FTO调控“铁自噬”在砷诱发小胶质细胞活化的作用

孙 威[1,2]，李丹阳[1,2]，黄黎霜[1,2]，程淑群[1,2]，夏茵茵[1,2]，蒋学君[2,3]，邹 镇[2,4]，陈承志[1,2]

（1. 重庆医科大学，公共卫生学院，劳动卫生与环境卫生学教研室；2. 重庆医科大学，环境与人群健康研究中心；3. 重庆医科大学，公共卫生实验教学中心；4. 重庆医科大学，生命科学院）

摘要：目的 探讨m^6A修饰去甲基化酶FTO调控“铁自噬”在砷诱发小胶质细胞活化中的作用，以期为干预砷的神经毒性提供新思路和新靶点。**方法** 以鼠源BV-2细胞和人源HMC3细胞为受试对象，分别予以不同浓度和时间砷暴露，测定小胶质细胞活化水平，“铁自噬”以及m^6A修饰相关基因和蛋白表达。同时，构建FTO敲除和过表达细胞，观察“铁自噬”蛋白表达改变。分别予以野生型、FTO敲入转基因小鼠不同浓度饮水砷暴露，测定“铁自噬”蛋白表达改变和小胶质细胞活化水平。**结果** 砷暴露导致细胞M1型标志物CD86表达升高，M2型标志物CD206表达下降，并促使小胶质细胞活化标志物IBA1表达显著升高（$P<0.05$）；砷处理可引起细胞“铁自噬”关键指标Ferritin、NCOA4和PCBP1的mRNA和蛋白水平表达显著下降（$P<0.05$），而p62、LC3B、LAMP1和FPN表达显著上调（$P<0.05$）；同时，砷处理导致细胞内游离铁含量增多，且与单独砷暴露细胞相比，去铁胺DFO联合处理可显著增加细胞活力（$P<0.05$）。砷暴露还导致了m^6A修饰水平显著升高，促使去甲基化酶FTO蛋白表达明显下降（$P<0.05$）。重要的是，FTO敲除可加剧砷所致Ferritin表达下降，而FTO过表达细胞Ferritin表达下降趋势被显著逆转，恢复至接近正常水平（$P<0.05$）。此外，砷暴露可导致小鼠脑组织小胶质细胞IBA1表达上升和Ferritin蛋白表达下降，并明显激活自噬相关蛋白（$P<0.05$），而砷暴露的FTO敲入转基因小鼠Ferritin蛋白表达与对照小鼠相比无显著差别，且小胶质细胞过度活化状态亦得到显著改善。**结论** m^6A修饰去甲基化酶FTO参与调控砷诱发的“铁自噬”，继而影响砷所致小胶质细胞过度活化，靶向干预FTO有望成为调控砷所致小胶质细胞活化的新措施。

通讯作者： 陈承志，E-mail：chengzhichen@cqmu.edu.cn；邹 镇，E-mail：zouzhen@cqmu.edu.cn

T02-0043

真实室内VOCs通过扰动造血稳态引发肺淋巴细胞失衡

张京旭[1]，于红燕[1]，盘若男[1]，晋小婷[1]，郑玉新[1]

（青岛大学公共卫生学院，青岛 266071）

摘要：目的 世界卫生组织已证实，室内空气污染是室外的5倍以上。据统计，人类80%～90%的时间都处于室内环境，并且68%的疾病与室内空气污染有关。作为一类典型的气态污染物，挥发性有机污染物（VOCs）的室内浓度明显高于室外，且与呼吸及心血管系统疾病的发生发展密切相关，严重危害人体健康。由于VOCs具有易挥发、来源多样、成分复杂，导致国内外研究多局限在VOCs的单一组分，不能反映真实环境室内VOCs的联合毒性效应。肺脏作为VOCs暴露的首要靶器官，存在多种造血干细胞，可进一步分化为不同免疫细胞达到免疫防御的作用。因此，研究室内VOCs对肺脏造血免疫功能的扰动及其机理对于探究

肺相关疾病的发生发展及机制有重要意义。**材料与方法** 本研究团队通过搭建的真实环境室内VOCs暴露平台，以装修用油漆作为VOCs发生源，对6周龄小鼠进行暴露，综合评价室内VOCs暴露对肺和骨髓造血免疫稳态及肺损伤的影响。**结果** 运用多通道荧光流式技术，首次明确了室内VOCs暴露引起淋巴细胞的异常改变。针对不同时间室内VOCs暴露对肺免疫影响的研究发现，四周室内VOCs暴露导致肺间质淋巴细胞异常增加，而八周暴露后，肺间质淋巴细胞数目减少。对于上游造血功能，室内VOCs暴露过程中，肺造血功能由活跃转为抑制，提示造血紊乱是室内VOCs暴露致肺组织淋巴细胞改变的重要原因之一。进一步探索VOCs引起肺免疫改变的机制发现，VOCs暴露降低肺间质CXCL10浓度，减轻了肺组织淋巴细胞的浸润；促进IL-13分泌，介导了组织修复及纤维化的发生。**结论** 本研究首次揭示了真实室内VOCs联合暴露通过扰乱多部位免疫和造血稳态促进肺纤维化的发展，进一步揭示了肺纤维化过程中潜在的健康风险和机制。

关键词： 挥发性有机污染物；肺脏；造血；免疫；细胞因子

通讯作者： 晋小婷，E-mail：xtjin@qdu.edu.cn

T02-0044

纳米聚苯乙烯短期和长期暴露会扰乱小鼠的粪便微生物及其代谢特征

潘雪艳

（广东医科大学）

摘要：背景 塑料制品的大量使用后所产生的废物，可以被自然因素降解为微塑料和纳米塑料颗粒，通过食物链富集并被人体摄入。尽管塑料污染对生态的影响众所周知，但没有研究表明纳米塑料长期暴露过程后对机体微生物菌群的影响。**方法** 13月龄的C57BL/6J雌鼠以0、1、10mg/kg剂量口服暴露于PS-NPs，暴露时长为9个月。暴露期间，每周对雌鼠进行称重，并每月收集雌鼠的新鲜粪便，对暴露9个月的肠道微生物谱进行测序分析。计算了 Alpha 和 Beta 多样性。使用 Metastats 方法分析了不同分类水平的肠道微生物群的组成变化，最后和代谢组学的结果进行spearman联合分析。**结果** 短期暴露（1个月）对雌鼠的菌群多样性并没有影响，随着暴露时间和暴露剂量的增加，雌鼠肠道菌群的Alpha多样性也随之增加，随着暴露时长的增加，Beta多样性差异越大。优势菌门并未发生改变，优势菌属组成在长期暴露后却发生了明显变化：Turicibacter是短期暴露后的优势菌属，但在长期暴露后丰度减少，不再是优势菌属。而无论短期暴露和长期暴露Bifidobacterium均会减少。Escherichia-Shigella和Ralstonia这两种潜在的致病菌属在长期暴露于PS-NPs后丰度显著增加（$P<0.05$）。Spearman相关性分析发现，这些受到扰动的菌群与能量代谢、氨基酸代谢以及维生素合成等代谢途径相关的代谢物存在密切联系。**结论** 我们发现了短期和长期PS-NPs暴露后小鼠（中年-老年）的共同和不同的肠道微生物特征，已确定的微生物属可能有助于深入了解长期PS-NPs暴露对机体健康的危害作用。

关键词： 纳米聚苯乙烯；肠道微生物；Escherichia-Shigella；Ralstonia

通讯作者： 潘雪艳，E-mail：982665251@qq.com

T02-0045

维生素C在纳米二氧化钛加重苯醚甲环唑所致斑马鱼神经发育毒性中的作用机制研究

刘春兰[1]，王晶宇[2]，邹　黎[2]，池　霞[2]，朱建胜[2]

（1. 南通大学公共卫生学院，南通　226019；2. 南京医科大学附属妇产医院，南京　210004）

摘要：目的 二氧化钛纳米颗粒（n-TiO2）是最常用的纳米材料之一，可增加水生环境中有机污染物的生

物蓄积和毒性。本研究旨在阐明n-TiO2和苯醚甲环唑(DIF)联合暴露引起斑马鱼神经毒性及维生素C(VC)在其中的作用机制。**方法** 利用斑马鱼在体实验,将受精后4到96小时的斑马鱼暴露于n-TiO2(100 μg/L)、DIF(0、0.1和0.5 mg/L)及其混合物。通过电镜观察n-TiO2在斑马鱼脑组织中的蓄积,并检测溶液和斑马鱼体内的n-TiO2和DIF含量,采用毒理学方法评价斑马鱼的发育毒性,运用行为分析系统和神经元标记的转基因斑马鱼(HuC:egfp和hb9:egfp)评价斑马鱼的神经毒性,采用ELISA、吖啶橙染色和qRT-PCR等方法检测氧化应激、凋亡及神经发育等相关基因及信号通路的分子表达,并通过维生素C(VC)进一步分析氧化应激和凋亡在n-TiO2和DIF致斑马鱼神经毒性中的作用。**结果** (1)n-TiO2和DIF的含量检测:n-TiO2和DIF混合暴露时,两者在溶液中含量随着时间的推移而减少;斑马鱼幼鱼的脑组织中可检测到n-TiO2,且幼鱼中n-TiO2(DIF)的含量随着DIF(n-TiO2)剂量的增加而增加。(2)n-TiO2和DIF对斑马鱼的一般发育毒性:n-TiO2可加剧DIF所致的斑马鱼死亡率、畸形率、异常心率及行为的增加。(3)n-TiO2和DIF对斑马鱼的神经毒性:n-TiO2可加重DIF所致的斑马鱼中枢神经元和运动神经元异常及神经发育相关基因(elavl3等)表达降低,提示n-TiO2可加剧DIF所致的斑马鱼神经毒性。(4)氧化应激和凋亡在n-TiO2和DIF所致斑马鱼神经毒性中的作用:DIF可引起ROS蓄积、抗氧化酶(SOD等)及相关基因(sod1等)表达的异常、凋亡相关基因(p53等)表达降低、脑组织中凋亡小体增加,同时n-TiO2可加重这些异常效应,表明n-TiO2和DIF可能通过诱导氧化应激和凋亡引起斑马鱼神经毒性。(5)VC对n-TiO2和DIF所致斑马鱼神经毒性的保护作用:VC可显著抑制n-TiO2和DIF诱导的氧化应激和凋亡,缓解神经元异常,明显改善异常行为,进一步确认了氧化应激和凋亡在n-TiO2和DIF诱导的神经毒性中的关键作用。**结论** n-TiO2可增强DIF在斑马鱼脑组织中蓄积,通过诱导氧化应激和凋亡,促使神经元发育异常,最终导致行为异常。研究结果有助于阐明n-TiO2和DIF暴露的神经毒性机制,为纳米材料的联合毒性提供新的思路和预防策略。

关键词: 纳米二氧化钛; 苯醚甲环唑; 神经毒性; 氧化应激; 凋亡; 维生素C

基金项目: 国家自然科学基金(82103877)

通讯作者: 朱建胜, E-mail: jianshengzhu@njmu.edu.cn

T02-0046

Selenium attenuates the association of co-exposure to arsenic, cadmium, and lead with cognitive function among Chinese community-dwelling older adults

Bei-Jing Cheng[1,2], Jie Sheng[1], Hong-Li Wang[1], Yuan Wang[1], Hong-Juan Cao[1], Xiu-De Li[1], Ting-Ting Zhou[1], Xiang-Long Meng[1], Huan-Huan Nie[1], Su-Fang Wang[1], Dong-Mei Zhang[3], Gui-Mei Chen[3], Fang-Biao Tao[1,3], Lin-Sheng Yang[1]

(1. School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China; 2. Key Laboratory of Environmental Medicine Engineering, Ministry of Education, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China; 3. School of Health Services Management, Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China)

Abstract: Background Toxic metal exposures and/or alterations in essential metal homeostasis are known to cause cognitive impairment. However, the effects of interactions between the toxic-and the essential-metal mixture on cognitive function are poorly understood. **METHODS** We aimed to identify the joint association of blood concentrations of arsenic (As), cadmium (Cd), and lead (Pb) with cognitive function in older adults, along with the potential effect modification by blood essential metals including selenium (Se), zinc (Zn), and copper (Cu). In this cross-sectional study of 1000 older adults, cognitive function was assessed by the Mini-Mental State Examination (MMSE). Blood concentrations

of As, Cd, Pb, Se, Zn, and Cu were measured using inductively coupled plasma mass spectrometry. Linear regression and Bayesian kernel machine regression (BKMR) models were applied to assess the individual and joint associations of As, Cd, and Pb with cognitive function, and to examine whether Se, Zn, and Cu (individually and as a mixture) modified these associations. **RESULTS** Linear regression and BKMR models both showed negative associations of Cd and Pb with MMSE scores and a positive association of Se with MMSE scores. In addition, higher blood concentrations of the toxic-metal mixture (As, Cd, and Pb) were significantly associated with decreased MMSE scores in a dose-response pattern, and Pb had the highest contributor within the mixture. The negative associations of Pb alone and the toxic-metal mixture with MMSE scores became weaker at higher concentrations of Se, especially when Se was greater than the median (89.18 μg/L). **CONCLUSIONS** Our findings support that Se can attenuate the negative associations of exposure to single Pb or the As−, Cd−, and Pb− mixture with cognitive function. As this is the first human study on the protective effect of blood Se against the adverse effect of the toxic-metal mixture on cognitive function, future studies are needed.

Key words: Cognitive function; Selenium; Toxic metals; Modification; Older adults

Corresponding author: Lin-sheng Yang, E-mail: yanglinsheng@ahmu.edu.cn

T02−0047

基于UHPLC-QTOF-MS的非靶向代谢组学评估4-硝基苯酚对秀丽隐杆线虫毒性影响

王　佳，尹洁晨，李维溪，施盈弛，刘　冉

（东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室；公共卫生学院；东南大学；南京　210009）

摘要：目的　4-硝基苯酚（4-NP）作为一种内分泌干扰物，能够引起机体生殖，免疫，神经系统等毒性，因其广泛使用在环境中无处不在而逐渐受到人们的关注。**方法**　本研究以秀丽隐杆线虫为模式生物，基于非靶向代谢组学评估环境相关浓度4-NP的毒性作用。方法：根据急性毒性试验，并结合4-NP在环境中实际暴露水平选取有代表性的环境相关浓度（8 ng/L、8 μg/L）作为本研究的暴露浓度，将同步化的L1期野生型N2线虫暴露于不同浓度的4-NP及M9溶剂（对照组）中，20℃下恒温培养染毒48 h。观察各组生殖、发育、运动行为及氧化应激等毒性指标，包括后代数目、子宫内受精卵数目、瞬时排卵率、生殖细胞数目；体长、体宽；头摆、身体弯曲；体内ROS水平。采用基于超高效液相色谱−四极杆飞行时间质谱（UHPLC-QTOF-MS）的非靶向代谢组学分析技术检测线虫体内内源性差异代谢物，并对显著差异代谢物进行通路富集分析。**结果**　野生型N2秀丽隐杆线虫自L1期暴露于4-NP 48 h后，与对照组相比，8 ng/L和8 μg/L组后代数目减少；瞬时排卵率降低；每个性腺臂总生殖细胞数目减少；头摆、身体弯曲次数减少；体内ROS水平升高；只有在8 μg/L组观察到子宫内受精卵数目减少；体长、体宽降低。非靶向代谢组学分析结果显示，经T检验等分析，取变量重要性（variable importance in projection，VIP）＞1、$P<0.1$为筛选条件，8 ng/L组得到376种差异代谢物，8 μg/L组得到217种差异代谢物，其中有46种差异代谢物富集在差异通路上。不同暴露组共富集到11条差异通路，涉及到碳水化合物代谢、氨基酸代谢、脂质代谢及内分泌系统：淀粉和蔗糖代谢、磷酸戊糖途径、氨基糖和核苷酸糖代谢、戊糖和葡萄糖醛酸转换、半乳糖代谢、丙酮代谢、赖氨酸生物合成、β-丙氨酸代谢、色氨酸代谢、甘油脂代谢、雌激素信号通路。**结论**　4-NP暴露后诱导秀丽隐杆线虫代谢谱及相关代谢通路发生改变，进而导致线虫繁殖、发育、运动行为和氧化应激损伤，该研究为4-NP的安全性评估提供潜在的毒理学证据。

关键词：4-NP；秀丽隐杆线虫；非靶向代谢组学；通路分析

通讯作者：刘　冉，E-mail：ranliu@seu.edu.cn

T02-0048

氟诱导Ostn基因异常甲基化通过CNP/cGMP通路参与大鼠不同类型氟骨症及蛋氨酸干预研究

廖玉丹，杨梦兰，潘雪莉
（贵州医科大学公共卫生与健康学院，环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵州 贵阳 550000）

摘要：目的 探讨Ostn基因甲基化及表达异常通过CNP/cGMP通路介导成骨分化在不同类型氟骨症发生中的作用及蛋氨酸干预对其甲基化的影响。**材料与方法** 氟骨症病因清楚、病变复杂多样（骨硬化、骨质疏松、骨软化），并受营养因素的影响，但发生机制未明。课题组前期采用标准饲料及低钙低蛋白偏食饲料、20 mg/kg 氟化钠（NaF）灌胃5个月，建立骨硬化（OS）、骨质疏松/骨软化型（OP）氟骨症大鼠，同时设立正常对照组（NC）和偏食饲料对照组（MC）。mRNA 测序联合靶向亚硫酸盐测序（TBS）筛选出差异甲基化基因，并选择其中甲基化差异TOP 1的骨泌素（Ostn）基因展开研究。在已采用TBS检测Ostn甲基化水平的基础上，进一步验证Ostn在不同类型氟骨症大鼠骨中的mRNA及蛋白表达。采用正常培养液和低钙低蛋氨酸培养液（简称为低营养培养液）培养大鼠骨髓间充质干细胞（rBMSCs），300 μmol/L NaF处理并诱导其成骨分化7 d，同时设立正常对照组（N0）与低营养对照组（L0），从体外验证Ostn基因甲基化水平及其表达。生信分析筛选获得OSTN可能调控的信号通路：C型利钠肽（CNP）/环磷酸鸟苷（cGMP）通路，从体内外检测CNP/ cGMP通路蛋白表达。过表达/抑制rBMSCs中Ostn，验证OSTN对CNP/ cGMP通路的调控作用及对成骨分化和矿化能力的影响。采用蛋氨酸（Met）干预不同类型氟骨症大鼠，观察Met对Ostn甲基化及表达的影响。**结果** 动物实验结果显示OS组与NC组比较，大鼠骨中Ostn基因低甲基化高表达；OP组与NC组、MC组比较，均为高甲基化低表达（P均<0.05）。体外实验结果与动物实验结果一致，Ostn基因在正常营养氟暴露成骨细胞中低甲基化高表达（与N0组比较，$P<0.05$），在低营养条件下高甲基化低表达（分别与N0和L0比较，P均<0.05）。CNP/ cGMP通路蛋白在大鼠及成骨细胞中均显示正常营养条件下的氟暴露激活了CNP/ cGMP通路，促进成骨分化及矿化；而低营养条件下，抑制了CNP/ cGMP通路及成骨分化和矿化。过表达/抑制Ostn逆转了不同营养条件下氟暴露成骨细胞中CNP/ cGMP通路及成骨分化和矿化异常。Met干预逆转了OS组大鼠骨中Ostn基因低甲基化高表达，而对OP组未见影响。**结论** 正常营养条件下氟诱导Ostn基因低甲基化高表达，低营养条件下氟诱导Ostn基因高甲基化低表达；Ostn基因可通过CNP/cGMP通路调节成骨分化参与不同类型氟骨症的发生；Met干预可逆转骨硬化型氟骨症大鼠Ostn基因低甲基化高表达。

基金项目：国家自然科学基金（81960575）；贵州省卫生健康委科学技术基金（gzwkj2021-421）

通讯作者：潘雪莉，E-mail：xuelipan@gmc.edu.cn

T02-0049

多环芳烃芴通过调节肾上腺素水平诱导斑马鱼肌肉毒性

卢 晨，马进泽，田贵游
（赣南师范大学地理与环境工程学院，药物筛选研究中心，赣州 341000）

摘要：多环芳烃（PAHs）是典型持久有机污染物，广泛存在于汽车废气以及石油、煤炭等有机物的不完全燃烧产物中。2017年，美国环保署（USEPA）将芴（Fluorene）等16种典型多环芳烃化合物列为环境中的优先控制污染物。与此同时，芴还被世界卫生组织国际癌症研究机构认定为第三类致癌物。此前的研究表明，芴会影响人的内分泌系统，且具有致癌，致畸，致突变等特性，但其致毒机理研究还不清楚。在我们前期研究中发现，芴暴露会导致斑马鱼体轴弯曲和肌肉发育异常。而肾上腺素受体抑制剂能够减轻其肌肉发育异常现象。因此，本研究主要围绕芴如何调节肾上腺素水平，从而导致斑马鱼肌肉毒性进行研究，为评价芴

的生物毒性，以及肌病的发病机制提供新的依据。

本研究采用肌肉组织荧光标记的斑马鱼，设置0，2，5，8 mg/L暴露浓度进行研究。在72小时（hpf）统计死亡率，畸形率以及用激光共聚焦显微镜观察肌肉组织表型。用数据库Swiss target prediction对芴进行分子对接，寻找其潜在靶点。检测不同浓度芴暴露72 hpf后斑马鱼体内肾上腺素水平，以确定芴暴露后对该激素水平的影响。收集芴和肾上腺素暴露后斑马鱼胚胎进行转录组测序。根据转录组测序结果，寻找芴和肾上腺素上调和下调基因的合集，用q-PCR方法进行验证。在此基础上，进一步进行Western Blot分析，确定相关机制。

通过本研究我们发现芴暴露导致斑马鱼出壳率降低，心率下降，死亡率升高，72 hpf 半致死浓度为23.62 mg/L；通过荧光拍照发现芴暴露后斑马鱼肌肉发育异常，肌节缩短，肌细胞宽度减小，且脊柱弯曲；通过检测发现肾上腺素含量升高，进一步验证结果显示，一定浓度肾上腺素处理后能够得到与芴暴露后相同肌肉表型；同时，肌源性转录因子表达上调。

基于以上结果，我们推测芴通过靶向肾上腺素受体，产生内分泌干扰效应，诱导机体分泌大量肾上腺素。而高水平的肾上腺素影响肌源性转录因子表达，溶解肌源性纤维，从而诱发斑马鱼肌肉毒性。

关键词： 芴；肾上腺素；肌肉毒性

通讯作者： 卢　晨，E-mail：Luchnir@outlook.com

T02-0050

围出生期双酚A暴露以性别特异性方式导致子代小鼠胰岛素抵抗和肝脏脂质沉积

卢智田[1]，张慧红[1]，宋　佳[1]，吴　帆[1]，张　岩[2]，李文学[2]，杨光宇[2]，朱　伟[2]，张　波[1]

（1. 南方医科大学公共卫生学院食物与健康安全研究中心，广州 广东　510515；
2. 广州市疾病预防控制中心毒理与生化检验部，广州 广东　510440）

摘要：目的　探究围出生期暴露于双酚A（BPA）对不同性别子代肝脏代谢的影响及机制。**材料和方法**　怀孕的C57BL/6J小鼠从妊娠第6天（GD6）到出生后第21天（PND21）通过饮水暴露于溶剂或50 μg/kg体重/天BPA（BPA50）或500 μg/kg体重/天BPA（BPA500）。仔鼠在PND21断乳，喂食普通饲料（ND）或高脂肪饮食（HFD）。PND33实施糖耐量和胰岛素耐量试验，PND36收集仔鼠组织并检测仔鼠肝脏和血清生化指标。取部分肝组织病理学切片和转录组学分析。**结果**　BPA暴露未改变PND36小鼠体重。与ND组相比，雄性小鼠ND+BPA50组、ND+BPA500组空腹血浆胰岛素浓度升高（$P<0.05$），雄性和雌性小鼠ND+BPA50组胰岛素耐量均下降（$P<0.05$）；与HFD组相比，雄性小鼠HFD+BPA50组、HFD+BPA500组空腹血浆胰岛素浓度升高（$P<0.05$），雄性和雌性小鼠HFD+BPA50组、HFD+BPA500组葡萄糖耐量和胰岛素耐量均下降（$P<0.05$）。与ND组相比，雄性和雌性小鼠ND+BPA50组血浆TG水平上升（$P<0.05$），血浆TC和肝脏TG水平均无差异；与HFD组相比，雄性和雌性小鼠HFD+BPA50组血浆TG、TC和肝脏TG水平均增加（$P<0.05$）。油红O染色显示，与ND组相比，雄性和雌性小鼠ND+BPA50组和ND+BPA500组红染区域面积均无差异；与HFD组相比，HFD+BPA50组红染区域面积增加（$P<0.05$）。转录组学分析表明，在雌性小鼠中，BPA暴露后给予HFD导致*Pparg*和*cd36*表达水平增加（$P<0.05$），Cpt1a表达水平下降（$P<0.05$）；在雄性小鼠中，BPA暴露同时增加了*Srebp1c*、*Gpat*和*Cpt1a*表达水平（$P<0.05$）。差异基因GO功能富集分析显示，BPA暴露改变了雌性小鼠不饱和脂肪酸代谢、脂肪酸生物合成、脂肪酸代谢、葡萄糖代谢等过程；BPA暴露改变了雄性小鼠碳水化合物生物合成、脂代谢、葡萄糖代谢、酮体代谢等过程。**结论**　围出生期BPA暴露损害子代小鼠糖代谢功能，加重子代小鼠肝脏脂质沉积，且可通过作用于不同生物学过程造成性别差异。总之，在发育关键窗口期暴露于环境内分泌干扰物会以性别和剂量特异性方式重编程子代小鼠肝脏，导致子代小鼠对代谢负荷敏感性增加，代谢性疾病风险升高。

关键词： 双酚A；肝脏；代谢性疾病；性别差异

基金项目： 国家自然科学基金面上项目（81773403）；广东省重点领域研发计划（2019B020210003）；

广州市医学重点学科建设项目(2021202312)

通讯作者: 张 波, E-mail: cnzhangbo@126.com;朱 伟, E-mail: gzcdc_zhuw@gz.gov.cn

T02-0051

生命早期BPA暴露诱导小鼠肝脏代谢紊乱及转录调控改变

吴 帆[1], 张慧红[1], 卢智田[1], 宋 佳[1], 王 敏[1], 张 岩[2], 李文学[2], 杨光宇[2], 朱 伟[2], 张 波[1]
(1. 南方医科大学公共卫生学院食物安全与健康研究中心, 广州 510515;
2. 广州市疾病预防控制中心毒理与生化检验部, 广州 510440)

摘要: 目的 探究生命早期BPA暴露对成年后肝脏代谢的影响及机制。**材料** 使用C57BL/6J小鼠,母鼠怀孕第6天(GD6)到断乳(PND21)经饮水暴露BPA,浓度为500μg/kg BW/day,断乳后至成年(PND91)给予仔鼠高脂饮食(HFD),将雄性仔鼠分为4组,分别为BPA溶剂对照组、BPA暴露组、HFD对照组、BPA + HFD暴露组,每组8只,均来自不同窝别。 **方法** 记录仔鼠体重,计算肝脏器指数,检测血浆中糖脂生化指标,评价仔鼠基本代谢情况;通过qPCR检测脂代谢关键基因和DNA甲基转移酶和去甲基化酶的基因表达情况;油红O染色评价肝脏脂质沉积情况。结果 雄性仔鼠中,BPA暴露后刚出生时(PND1)肝脏系数高、体重增加($P<0.05$),导致在成年后(PND91)血清中胰岛素含量以及曲线下面积(AUC)升高($P<0.05$);油红O染色结果显示,与HFD对照组相比,PND91仔鼠肝脏中脂质沉积增多。对脂代谢关键基因的检测发现,与对照组相比,PND1时肝脏中调控脂质合成的基因*Acaca*、*Fasn*、*Scd1*表达均升高($P<0.05$);脂代谢关键核转录因子基因*Chrebp*、*Srebp1c*、*Pparγ*、*Pparα*表达升高($P<0.05$);脂质转运基因*Cd36*、*Fabp1*表达升高($P<0.05$);参加脂肪酸β氧化的基因Cpt1a表达升高($P<0.05$)。给予HFD饮食后,与HFD对照组相比,成年后PND91仔鼠肝脏*Acaca*、*Srebp1c*、*Pparγ*和 *Cd36*表达均升高($P<0.05$)。在加入HFD饮食后,脂代谢基因转录情况与PND1不一致,可能BPA介导了基因的DNA甲基化情况的改变。通过检测PND1和PND91仔鼠肝脏中DNA甲基化关键基因的表达情况发现,PND1时,肝脏中DNA去甲基酶基因*Tet2*、*Tet3*转录水平高于对照组($P<0.05$);PND91时各基因表达无差异($P>0.05$)。结论 BPA暴露后造成PND1仔鼠肝脏脂代谢基因DNA甲基化改变,去甲基酶发挥主要作用;加入HFD至成年后激发脂代谢基因的转录潜能,使仔鼠脂质代谢更易发生紊乱导致肝脏脂质沉积。

关键词: 双酚A; 脂代谢; DNA甲基化; 生命早期暴露

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81773403);广东省重点领域研发计划(2019B020210003);广州市医学重点学科建设项目(2021202312)

通讯作者: 张 波, E-mail: cnzhangbo@126.com;朱 伟, E-mail: gzcdc_zhuw@gz.gov.cn

T02-0052

优先控制抗抑郁药药物筛选体系的建立

张 晗, 井原贤, 田中宏明, 陈景文
(大连理工大学环境学院)

摘要: 目的 近年来,抗抑郁药在全世界的消耗增长迅速,低浓度的抗抑郁药在环境水体中被广泛检出。有研究表明30 ~ 60 ng/L的抗抑郁药即可引起鱼类行为异常。然而,针对种类众多的抗抑郁药,哪一种需要被优先关注仍然未知。本研究通过高通量检测抗抑郁药物生物活性的体外检测方法,检测抗抑郁药物的生物活性,结合药物消耗、尿液排泄率、人均用水量等参数,构建英国和日本水环境中抗抑郁药物生物活性的预测模型,最终筛选需要在英国和日本需要优先控制的抗抑郁药物。**材料和方法** 抗抑郁药生物活性的体

外检测方法开发将含有人源血清素转运体(hSERT)或斑马鱼源SERT(zSERT)的质粒转染进HEK293细胞,将细胞暴露于SERT的特异性荧光底物APP和抗抑郁药。APP和抗抑郁药会产生竞争性抑制,通过酶标仪检测APP的荧光强度(激发波长488 nm,发射波长525 nm),可定量检测药物对SERT的体外生物活性(IC_{50})。DrugBank网站检索发现抗抑郁药共有32种,基于本研究开发的体外方法,我们检测了27种抗抑郁药对hSERT和zSERT的生物活性。**结果** 本研究检测了27种抗抑郁药对hSERT和zSERT的生物活性。结果发现药物对zSERT更加敏感,即IC_{50}, zSERT<hSERT,这表明抗抑郁药可能对鱼类的危害高于对人类。抗抑郁药物间的生物活性差异最大超过1000倍,这表明只监测抗抑郁药的浓度,不足以评价抗抑郁药的生态风险。**结论** 本研究建立了优先控制抗抑郁药药物筛选体系,筛选了对水生生物存在潜在生态风险的抗抑郁药,研究结果表明药物对受体活性存在种间差异。本研究筛选的抗抑郁药物为环境监测和毒性实验提供了理论依据。

通讯作者: 张　晗, E-mail: hanzhang@dlut.edu.cn

T02-0054

circRNA_KIF26B通过miR-346-3p介导肺泡上皮细胞衰老在微塑料所致肺部损伤中的作用机制研究

罗杭君[1], 肖　甜[2], 孙小雪[1], 施伟庆[2], 鹿奎奎[2], 陈东亚[2], 卞　倩[1,2]

(1. 南京医科大学公共卫生学院, 南京　211166;
2. 江苏省疾病预防控制中心毒理与风险评估研究所, 南京　210009)

摘要: 目的 探讨circRNA_KIF26B通过miR-346-3p介导肺泡上皮细胞衰老在聚苯乙烯微塑料(PS-MPs)致肺部炎症损伤中的作用及机制。**材料和方法** 将6~8周龄雄性SD大鼠以口鼻吸入方式暴露于新鲜空气、低剂量(0.5 mg/m^3)、中剂量(1.0 mg/m^3)、高剂量(2.0 mg/m^3)粒径为100 nm的PS-MPs共35天,于第7、28、35天检测大鼠肺功能水平;染毒结束后,H&E染色观察大鼠肺组织病理变化,β半乳糖苷酶染色观察肺组织衰老情况,检测支气管肺泡灌洗液(BALF)中IL-6、IL-8水平及肺组织中circRNA_KIF26B、p21、p16和p27水平。用0、100、200、400 μg/mL 100nm PS-MPs处理小鼠肺泡上皮(MLE12)细胞48 h,qRT-PCR检测细胞circRNA_KIF26B、miR-346-3p水平,ELISA检测培养液中炎症因子IL-6、IL-8水平,Western blot检测细胞衰老相关蛋白p21、p16、p27水平,FISH检测circRNA_KIF26B在细胞内定位;应用circRNA_KIF26B siRNA、miR-346-3p mimic以及circRNA_KIF26B siRNA和miR-346-3p inhibitor共转染MLE12细胞后再用PS-MPs染毒细胞,检测MLE12细胞以上相同指标的变化。**结果** 与对照组相比,PS-MPs暴露组大鼠气道阻力升高,出现肺功能障碍;肺间质大量炎性细胞浸润,肺泡结构破坏;肺组织中衰老细胞数增加,circRNA_KIF26B、p21、p16和p27水平升高, BALF中IL-6和IL-8水平显著升高。随着PS-MPs染毒浓度增加,MLE12细胞中circRNA_KIF26B、p21、p16、p27水平升高,炎症因子IL-6、IL-8水平增加;circRNA_KIF26B主要定位于细胞质且circRNA_KIF26B和miR-346-3p具有调控关系。下调circRNA_KIF26B或上调miR-346-3p可拮抗PS-MPs所致细胞p21、p16、p27表达水平的升高以及IL-6、IL-8的分泌;此外,通过挽救实验在MLE12细胞中下调circRNA_KIF26B基础上同时抑制miR-346-3p表达,可逆转circRNA_KIF26B siRNA引起的细胞衰老和炎症作用的减弱。**结论** PS-MPs暴露引起circRNA_KIF26B升高,抑制miR-346-3p表达调控p21诱导肺泡上皮细胞衰老,参与了PS-MPs引起肺部炎症损伤。

关键词: 聚苯乙烯微塑料; 环状RNA; 细胞衰老; 肺部炎症; 肺功能障碍

基金项目: 国家自然科学基金(82273680);江苏省自然科学基金(BK20211374)

通讯作者: 卞　倩, E-mail: bianqian@jscdc.cn

T02-0056

氧化应激下SESTRIN2/AMPK/ULK1通路激活和溶酶体功能障碍在$NaAsO_2$致肝损伤中的作用研究

毕顶念，胡 勇
（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室）

摘要：目的 利用饮水型砷中毒大鼠肝损伤模型，结合体外提取的大鼠原代肝实质细胞，探究氧化应激、应激诱导蛋白2/AMP依赖的蛋白激酶/自噬启动激酶1（SESTRIN2/the 5′-AMP activated protein kinase/Unc-51 like kinase 1，SESTRIN2/AMPK/ULK1）通路、溶酶体功能以及坏死在砷致肝损伤中的作用，为砷中毒的致病机制研究提供实验依据。**材料和方法** 24只大鼠随机分为空白组、低、中、高浓度组，每组6只，分别自由饮用0、25、50、100 mg/L亚砷酸钠水溶液24周，建立砷中毒大鼠肝损伤模型。体外提取大鼠原代肝实质细胞，分别采用NAC、Leupeptin或P62-siRNA预处理细胞后，8 μmol/L $NaAsO_2$染毒24 h。采用比色法测定大鼠肝组织和原代肝实质细胞丙氨酸氨基转移酶（Alanine aminotransfer，ALT）、碱性磷酸酶（Alkaline phosphatase，ALP）、总胆汁酸（Total bile acid，TBA）含量以及脂质过氧化物（ Lipid Peroxidation，LPO）、总抗氧化能力（Total antioxidant capacity，T-AOC）和过氧化氢酶（Catalase，CAT）水平；ELISA法检测溶酶体相关膜蛋白2（Lysosomal associated membrane protein 2，LAMP2）、组织蛋白酶B（Cathepsin B，CTSB）、酸性磷酸酶（Acid phosphatase2，ACP2）含量；实时荧光定量PCR（Realtime PCR，RT-qPCR）检测Sestrin2、肝激酶B1（Liver kinase B1，LKB1）、Ampk、Ulk1、微管相关蛋白1轻链3（Microtubule-associated protein 1 light chain 3，LC3）、P62、受体相互作用蛋白激酶1（Receptor-interacting protein kinase 1，RIPK1）、受体相互作用蛋白激酶3（Receptor-interacting protein kinase 3，RIPK3）转录表达；免疫组化检测肝组织SESTRIN2、LKB1、p-AMPK、p-ULK1、LC3、P62、RIPK1、RIPK3蛋白表达，蛋白免疫印迹法（Western blot，WB）检测原代细胞SESTRIN2、LKB1、p-AMPK、p-ULK1、LC3II/LC3I、P62、RIPK1、RIPK3的蛋白表达量。**结果** 与空白组相比，染砷组ALT、ALP、TBA和LPO含量均升高，CAT、T-AOC、LAMP2、CTSB、ACP含量均降低，提示$NaAsO_2$导致了肝损伤、氧化应激和溶酶体功能障碍；NAC处理后可减轻上述现象，P62 siRNA处理可缓解肝损伤，而Leupeptin处理后可加重溶酶体功能障碍和肝损伤。RT-qPCR、免疫组化和WB结果显示：染砷组Sestrin2、AMPK、ULK1、LC3、P62、RIPK1和RIPK3的转录和蛋白表达水平与空白组相比均增高，NAC处理能逆转这种现象；而Leupeptin处理可增加LC3、P62、RIPK1和RIPK3的转录和蛋白表达水平；采用P62 siRNA处理后，RIPK1和RIPK3的转录和蛋白表达水平均降低。**结论** $NaAsO_2$可诱发氧化应激损伤肝脏，其机制可能是$NaAsO_2$诱发的氧化应激激活了SESTRIN2/AMPK/ULK1自噬通路，同时损伤溶酶体功能导致自噬降解受阻，P62表达增加，最终可能诱发坏死，损伤肝脏。

关键词： 砷中毒；SESTRIN2/AMPK/ULK1通路；氧化应激；溶酶体功能；肝损伤

通讯作者： 胡 勇，E-mail：67652125@qq.com

T02-0057

磷酸三苯酯对幼年雄性小鼠肥胖的影响及其机制

李天兰，何昊祺，杜博海，路映邯，李 杏，李 丽，石 明
（广东医科大学公共卫生学院，广东 东莞 523808）

摘要：目的 探究磷酸三苯酯（ triphenyl phosphate，TPHP）对幼年雄性小鼠肥胖的影响及其机制。**方法** 4周龄大的BALB/c小鼠分为对照组（玉米油）、低剂量组（1 mg/kg BW）、中剂量组（10 mg/kg BW）和高剂量组（150 mg/kg BW），TPHP灌胃处理60天后采血，进行血常规和血生化分析；称取腹股沟脂肪重量，计算脂肪组织脏器系数；采用HE染色评估小鼠脂肪组织脂肪细胞数量和大小变化；应用Western Blot法和

qRT-PCR定量分析过氧化物酶体增殖物激活受(Peroxisome proliferators-activated receptor gamma，PPARγ)、CCAAT/增强子结合蛋白(CCAAT/enhancer binding proteins alpha，C/EBPα)、脂肪酸结合蛋白4(Fatty acid-binding protein 4，Fabp4)和脂联素(Adiponectin)等的表达情况。体外培养并诱导3T3-L1前脂肪细胞成脂分化，同时用TPHP(0，0.1，1，10 μmol·L^{-1}) 处理 3T3-L1 前脂肪细胞 10天。采用CCK-8法检测TPHP对3T3-L1前脂肪细胞活力的影响，采用油红O染色法检测3T3-L1前脂肪细胞脂滴的生成情况，采用GPO-PAP酶法检测3T3-L1前脂肪细胞甘油三酯(Triglyceride，TG)的含量，采用 Western Blot 法和qRT-PCR法检测成脂分化相关基因PPARγ、C/EBP、Fabp4和Adiponectin的表达情况。 **结果** 1)雄性小鼠的脂肪组织脏器系数各剂量组与对照组相比均有增加($P<0.05$)，而雌性雄鼠各剂量组之间没有明显差异。2) 血生化分析显示，高剂量组的雄性小鼠的血清甘油三脂与高密度脂蛋白与对照组相比明显升高($P<0.05$)。3) 脂肪组织HE染色显示中高剂量组的雄性小鼠脂肪细胞体积更大，数量更少，与对照组有明显差异。4) WB与qRT-PCR结果均显示成脂分化相关基因 PPARγ、C/EBP、adiponectin、Fabp4 的蛋白和mRNA的表达水平也表现出不同程度的上调。综上，TPHP可以引起幼年雄性小鼠体内脂质的累积，导致小鼠肥胖的发生。5) 体外实验CCK-8检测结果显示，0 μmol·L^{-1} ~ 10 μmol·L^{-1}的 TPHP 对 3T3-L1 前脂肪细胞处理24 h和10天后的活力均没有影响。6) 油红 O 染色、TG 含量测定以及成脂分化相关基因检测结果显示，与对照组相比，不同剂量的 TPHP 处理 3T3-L1 前脂肪细胞10天后，细胞内脂滴、TG 生成增加，成脂分化相关基因 PPARγ、C/EBP、adiponectin、Fabp4 的蛋白和mRNA表达水平也表现出不同程度的上调。体外实验证明TPHP可以促进 3T3-L1 前脂肪细胞的成脂分化以及脂质的积累。 **结论** TPHP可以通过上调成脂分化相关通路基因增加幼年雄性小鼠体内脂质的积累，促进肥胖的发生。

关键词： 磷酸三苯酯；3T3-L1前脂肪细胞；肥胖；成脂分化

基金项目： 国家自然科学基金(82103891)；广东省自然科学基(2020A1515010521)；广东医科大学学科建设项目(4SG22003G)

通讯作者： 石　明，E-mail：shiming@gdmu.edu.cn

T02-0058

双酚 F 对前脂肪细胞成脂分化的影响及初步机制探讨

何昊祺，杜博海，张艳超，王玉涵，李　丽，石　明
(广东医科大学公共卫生学院，广东 东莞 523808)

摘要：目的 1.明确不同浓度的双酚 F(Bisphenol F，BPF)对小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞成脂分化的影响；2. 探讨雌激素受体(Estrogen receptor，ER)和磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶B(Phosphatidylinositol 3-kinase/Protein kinase B，PI3K/AKT)信号通路在BPF促进3T3-L1前脂肪细胞成脂分化中的作用。**方法** 体外培养并诱导 3T3-L1 前脂肪细胞成脂分化，同时用不同剂量的 BPF 处理 3T3-L1 前脂肪细胞 8 天。采用 CCK-8 法检测 BPF对3T3-L1前脂肪细胞活力的影响，采用油红 O 染色法检测 3T3-L1前脂肪细胞脂滴的生成情况，采用GPO-PAP酶法检测3T3-L1前脂肪细胞甘油三酯(Triglyceride，TG)的含量，采用 qRT-PCR法检测成脂分化相关基因的mRNA表达情况，采用Western Blot法检测3T3-L1前脂肪细胞测成脂分化相关蛋白的表达情况。使用分子对接技术检测BPF与ER的结合能力，并使用 ER 拮抗剂ICI 182780和PI3K抑制剂LY 294002探讨ER介导的PI3K/AKT信号通路在BPF促进3T3-L1前脂肪细胞成脂分化中的作用。 **结果** 1) CCK-8结果显示，低于40 μmol·L^{-1}的BPF对3T3-L1前脂肪细胞的活力没有明显影响。2) 油红O染色、TG含量测定以及成脂分化相关基因检测结果显示，与对照组相比，不同剂量的BPF处理3T3-L1前脂肪细胞8天后，细胞内脂滴、TG 生成增加，成脂分化相关基因PPARγ、C/EBP、adiponectin、Fabp4的mRNA和蛋白表达水平也表现出不同程度的上调。3) 分子对接结果表明，BPF和ER具有一定的结合强度，其结合能与BPA和ER的结合能相似。4) ER 拮抗剂和 PI3K 抑制剂结果表明，使用ER拮抗剂ICI

182780不仅可以降低BPF对3T3-L1前脂肪细胞脂滴和TG生成的促进作用，还可以抑制BPF对成脂分化相关基因的mRNA和蛋白表达水平的上调。使用PI3K抑制剂LY 294002同样能降低BPF对3T3-L1前脂肪细胞脂滴和TG生成的促进作用，抑制BPF对成脂分化相关基因的mRNA和蛋白表达水平的上调。5）使用ER拮抗剂ICI 182780后，BPF对p-PI3K和p-AKT蛋白表达水平的上调作用被抑制。**结论** 1. BPF可以促进3T3-L1前脂肪细胞的成脂分化。2. BPF可以通过ER和PI3K/AKT信号通路促进3T3-L1前脂肪细胞成脂分化。3. ER能参与BPF对PI3K/AKT信号通路的激活。

关键词：双酚F；3T3-L1前脂肪细胞；成脂分化；雌激素受体；PI3K/AKT信号通路

基金项目：国家自然科学基金（82103891）；广东省自然科学基金（2020A1515010521）；广东医科大学学科建设项目（4SG22003G）

通讯作者：石 明，E-mail：shiming@gdmu.edu.cn

T02-0059

反硝化调节子的筛选及其在含抗菌药养殖废水中的修复潜力

王 美[1,2]，周 童[1]，梁 仪[1]，神舒晴[1]，孙永学[1]

（1. 华南农业大学兽医学院，国家兽药安全评价（环境评估）实验室，广东省兽药研制与安全评价重点实验室，广州 510642；2. 浙江农林大学动物科技学院·动物医学院，浙江省畜禽绿色生态健康养殖应用技术研究重点实验室，动物健康互联网检测技术浙江省工程实验室，动物医学与健康管理浙江省国际科技合作基地，中澳动物健康大数据分析联合实验室，杭州 311300）

摘要：抗菌药的广泛应用导致水污染成为制约水产养殖业可持续发展的关键问题。生物反硝化被视为修复环境污染的低成本手段，部分反硝化菌在高水平抗菌药应激下依然维持优异的脱氮性能，解析反硝化菌的环境适应行为有助于寻找新型生态修复策略。Paracoccus denitrificans能够适应复杂环境变化，近年来发现sRNAs在该过程中至关重要。本研究分别采用转录组与全基因组测序手段，结合微生物共培养技术挖掘P. denitrificans在抗菌药胁迫下的功能调节子及其在污染生境中的修复潜力。结果显示在细菌处于对数期时，氟苯尼考（FF）极大地降低了其生长速度与生物膜形成能力（抑制比例为38.6%），使得硝酸盐还原过程被抑制了82.4%，而亚硝酸盐的积累量达到了控制组的21.9倍。在FF的作用下，反硝化功能基因nirS、norB、nosD、nosZ的表达显著下调（$P<0.001$），此外，预测到42个差异表达sRNAs。其中，FF使得sRNA Pda200的表达量达到了控制组的10倍左右。序列比对表明，282个假定sRNAs的同源片段可分布于64个菌科，参与调节P. denitrificans的大量代谢途径，有助于促进菌体对抗菌药的压力适应。在多种抗菌药处理下，Pda025、Pda040、Pda200、Pda247和Pdi004均能够稳定转录并参与对特定药物的应答。靶标预测显示，氧化亚氮还原酶编码基因nosZ与Pda200存在紧密的碱基互补配对关系。在FF单独处理下，nosZ与Pda200的表达变化密切相关，均在P. denitrificans的不同生长阶段被显著抑制（$P<0.01$）。从污染沉积物中分离并鉴定到两株携带完整反硝化酶的高效反硝化菌，分别命名为Pseudomonas sp. SB-1和Thauera sp. WB-2。将它们与P. denitrificans共同组成Alpha-、Beta-与Gamma-Proteobacteria型反硝化聚生体，可有效提高整体的抗菌药耐受性、活性与脱氮性能。通过与工程菌pBBR-Pda200/Top10共培养，验证了在FF处理条件下，Pda200显著升高了菌株Pseudomonas sp. SB-1与Thauera sp. WB-2的反硝化功能基因napB、napA与norB的表达（$P<0.05 \sim 0.001$）。综上所述，Pda200可作为不同类型反硝化菌在抗菌药压力下的功能增强剂，通过强化常见细菌的代谢功能，有助于实现微生物制剂对含抗菌药污水的高效治理。

关键词：反硝化菌；废水处理；抗菌药；生态修复

通讯作者：王 美，E-mail：meiwang@zafu.edu.cn；孙永学，E-mail：sunyx@scau.edu.cn

T02-0060

PM2.5暴露诱导小鼠肺纤维化及相关机制研究

马 璇
（潍坊医学院公共卫生学院，潍坊 261053）

摘要：目的 探究PM2.5暴露诱导小鼠肺纤维化及相关机制。**方法** 40只SPF级C57BL/6小鼠随机分为四组，分别为对照组、低剂量PM2.5组（0.5 mg/kg）、中剂量PM2.5组（5 mg/kg）及高剂量PM2.5组（8 mg/kg），每组10只，利用气管滴注的方法给予等体积生理盐水（对照组）和PM2.5混悬液（三个PM2.5暴露组），每3天一个周期，共15个周期，最后一个周期结束继续喂养两周后，禁食过夜，于第二天摘眼球取血，并迅速取出肺组织。小鼠眼球全血进行血常规检测，根据小鼠肺组织质量及体重，计算脏器系数，利用HE染色和Masson染色观察小鼠肺组织结构变化及纤维化程度，利用谷胱甘肽（GSH）、丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒检测相应指标变化，实时荧光定量PCR检测α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）、Ⅰ型胶原（COL-Ⅰ）蛋白及E-钙黏蛋白（E-cadherin）相对表达量。**结果** 与对照组相比，PM2.5暴露组小鼠白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞都出现升高的趋势，其中高剂量PM2.5组小鼠三类细胞的细胞数与对照组相比，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。PM2.5暴露组小鼠肺脏系数与对照组相比，呈现降低的趋势，高剂量PM2.5组与对照组相比，差异有统计学意义（$P<0.05$）。HE染色结果显示，对照组小鼠肺泡结构完整且分布均匀，肺泡间隔正常，肺泡壁无增厚现象，无明显蓝色胶原沉积，肺组织中没有明显变化；PM2.5暴露组小鼠，随着PM2.5暴露剂量的增加，肺组织病理变化逐渐加重，肺泡间隔增厚，肺泡结构破坏增加，肺泡腔内出现红细胞和大量炎症细胞，蓝色胶原沉积逐渐增多。不同剂量PM2.5暴露可导致小鼠肺组织GSH水平逐渐降低，与对照组相比，差异均具有统计学意义（$P<0.05$），中、高剂量PM2.5组SOD水平与对照组相比，显著降低（$P<0.05$）；不同剂量PM2.5暴露可导致MDA水平呈升高趋势，中、高剂量PM2.5组MDA水平与对照组相比，差异有统计学意义（$P<0.05$）。PM2.5暴露组小鼠肺组织α-SMA和COL-Ⅰ mRNA相对表达量升高，其中高剂量PM2.5组二者的水平与对照组相比，差异有统计学意义（$P<0.05$）；高剂量PM2.5组小鼠肺组织E-cadherin mRNA相对表达量降低，与对照组相比，差异有统计学意义（$P<0.05$）。**结论** 不同剂量PM2.5暴露均可导致小鼠炎症反应及氧化应激；中、高剂量PM2.5暴露可能通过加重氧化应激，进而导致肺纤维化。

关键词： PM2.5；肺纤维化；氧化应激

通讯作者： 马 璇，E-mail：maxuanxx00@163.com

T02-0061

不同昼夜节律时间点双酚A暴露对小鼠肝脏脂质代谢影响

王 敏[1]，卢智田[1]，李旭东[1]，张慧红[1]，吴 帆[1]，庄润璇[1]，张 岩，李文学[2]，杨光宇[2]，朱 伟[2]，张 波[1]
（1. 南方医科大学公共卫生学院食物安全与健康研究中心，广东 广州 510515；
2. 广州市疾病预防控制中心毒理与生化检验部，广东 广州 510440）

摘要：目的 肝脏脂质代谢呈现昼夜变化，昼夜节律影响环境化学物的肝毒性。观察不同光照时间点（ZT）双酚A（BPA）暴露对小鼠肝脏、血液脂质代谢指标影响的差异，探索昼夜节律核心基因在BPA干扰肝脏脂质代谢中的作用机制。**方法** 首先选用35只雌性C57BL/6J小鼠在24 h光照周期内（光照/黑暗为12 h/12 h），每隔4 h处死5只，收集肝脏组织，检测昼夜节律核心基因Rev-erbα、Bmal1、Clock及调控脂代谢关键转录因子基因Srebp1c、Chrebp在24 h内不同昼夜节律时间点的表达。为观察ZT3（光照开始3 h后）和ZT15（光照结束3 h后）两个时间点BPA染毒的肝脏毒性，30只雌性C57BL/6J小鼠随机分为6组，每个时间点设置对照组、BPA 50 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$和BPA 500 $\mu g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$组。经口灌胃，每日灌胃1次，连续4周。实

验期间小鼠自由饮食，每周测量体重，实验结束后在ZT3收集血浆测定生化指标；分离肝组织检测肝脏甘油三酯（TG）含量、昼夜节律核心基因和脂代谢基因mRNA表达水平。**结果** 小鼠肝脏Rev-erbα、Bmal1和Clock以及Srebp1c、Chrebp转录水平呈现24 h昼夜节律。ZT3和ZT15 BPA暴露染毒4周均未引起小鼠体重、血浆葡萄糖、血浆总胆固醇、血浆低密度脂蛋白胆固醇和血浆TG明显改变（P> 0.05），ZT3染毒时50 μg·kg^{-1}·d^{-1} BPA引起染毒组小鼠血浆高密度脂蛋白胆固醇含量降低（P<0.05）。ZT15染毒时50 μg·kg^{-1}·d^{-1} BPA引起小鼠肝脏TG含量增加（P<0.05）。ZT3和ZT15染毒对靶基因表达的影响呈现相反的趋势，相比于每个染毒时间点的对照组，ZT3染毒引起Srebp1c表达下调，ZT15染毒引起*Chrebp*、*Srebp1c*、*Acc1*表达上调（P<0.05）。ZT3染毒引起*Bmal1*的*mRNA*表达上调、*Rev-erba*表达下调，而ZT15染毒引起Bmal1表达下调（P<0.05）、*Rev-erba*表达上调。 **结论** 不同昼夜节律时间点BPA暴露对小鼠肝脏脂代谢的影响不同，活动期染毒加重肝脏脂质沉积，可能的机制是干扰*Rev-erb*α和*Bmal1*构成的昼夜节律反馈环路，上调调控脂质合成的核受体*Srebp1c*和*Chrebp*及其靶基因*Acc1*表达水平，促进肝脏脂质沉积。

关键词：双酚A；脂质代谢；昼夜节律

通讯作者：张 波，E-mail：cnzhangbo@126.com；朱 伟，E-mail：gzcdc_zhuw@gz.gov.cn

T02-0062

矢车菊素-3-O-葡萄糖苷对双酚A诱导的肝脏脂质代谢紊乱的干预作用机制

刘瑞菁[1,2]，刘柏平[1]，金玉龙[1]，田灵敏[2]，蒋鑫炜[2]，孙建霞[3]，白卫滨[2]

（1. 华南农业大学材料与能源学院生物基材料与能源教育部重点实验室，广东 广州 510642；2. 暨南大学食品安全与营养研究院，广东 广州 510632；3. 广东工业大学轻工化工学院，广东 广州 510090）

摘要：目的 双酚A（BPA）是一种全球广泛使用的工业化学品，广泛用于生产聚碳酸酯及环氧树脂等材料，随着时间的延长，可迁移释放至空气、土壤以及水体中，并通过呼吸、饮用水以及食物等多种途径暴露于人体中。已有研究发现，肝脏脂质代谢的紊乱与BPA暴露有着密切的联系，因此，在这种暴露无法避免的情况下，从食源性物质中寻找缓解BPA诱导的脂质代谢紊乱的功能活性成分具有重要意义。矢车菊-3-O-葡萄糖苷（C3G）是自然界中最丰富的一种花色苷，研究表明，C3G具有抗氧化、抗炎及心血管功能等多种生物活性。本研究旨在通过联合非靶向脂质代谢，深入探讨C3G对BPA诱导的肝脏脂质代谢紊乱的保护作用机制。**材料和方法** 24只雄性SD大鼠随机分为对照组、BPA（90 mg/kg bw）组、BPA（90 mg/kg bw）+C3G（100 mg/kg bw）共3组，实验结束后，通过HE染色进行组织形态学分析，采用全自动生化分析对肝脏功能标志物进行检测。采用UPLC-MS对肝脏中脂质组成及变化进行分析，RT-PCR和Western Blot方法检测肝脏中脂质合成等关键基因及蛋白表达水平进行检测。**结果** C3G显著提高了大鼠肝脏中SOD水平、显著下调8-异前列腺素（8-iso-PGF2α）这一脂质氧化标志物的水平；同时，C3G显著下调了血清中AST及ALT、LDL-C、TC和TG水平；进一步的研究发现，C3G显著下调脂质积累相关基因*Acc1*，*Srebp1*，*Srebp-1c*，*Fasn*，*Ppar*γ，*Hmgcr*，*Fatp1*，*FASN*以及*PPAR*α等的表达，显著上调脂质分解关键基因AMPKα，CPT1，and ACOX1表达；最后脂质组学分析显示，C3G可调节BPA暴露诱导的大鼠肝脏中甘油三酯、磷脂及胆固醇酯等水平。**结论** C3G的补充可以显著调节BPA暴露诱导的肝脏脂质代谢紊乱及肝损伤，本研究为C3G在减少或缓解肝损伤及相关种代谢性疾病方面的作用提供了新的见解，从而为开发食源性的保肝产品提供一定的理论基础。

关键词：矢车菊素-3-O-葡萄糖；肝脏保护；双酚A；脂质组学；脂质代谢

T02-0063

TPHP对HEK293细胞的毒性作用及其机制研究

杜博海，李天兰，何昊祺，卢先柱，张　威，李　丽，石　明
（广东医科大学公共卫生学院，广东 东莞 523808）

摘要：目的 研究TPHP对HEK293细胞的毒性作用，探讨TPHP潜在肾毒性的机制，为TPHP的毒作用机理提供理论依据。**方法** 1）TPHP以0.0001~1000 μmol·L^{-1} TPHP染毒HEK293细胞12 h、24 h、48 h、72 h后，用CCK-8方法检测细胞活力。2）以0、1、10、100 μmol·L^{-1} TPHP染毒HEK293细胞24 h后，用流式细胞仪检测凋亡水平。3）以0、1、10、100 μmol·L^{-1} TPHP染毒HEK293细胞24 h后，Western Blot检测细胞铁死亡、自噬、凋亡相关关键蛋白。4）以0、1、10、100 μmol·L^{-1} TPHP染毒HEK293细胞24 h后，检测丙二醛（MDA）水平，研究TPHP对HEK293细胞氧化应激的影响。5）TPHP染毒HEK293细胞后进行mRNA poly转录组测序。 **结果** 1）CCK-8结果显示，与对照组相比，各组的细胞活力呈剂量依赖性受到抑制（P<0.05）。2）流式细胞术检测细胞凋亡结果显示，与对照组相比，1、10、100 μmol·L^{-1} TPHP处理组总凋亡率和晚期凋亡率无显著性差异（P>0.05）；与对照组相比，10 μmol·L^{-1} TPHP处理组的早期凋亡率显著受到抑制（P<0.05）。3）Western Blot检测分析结果表明，与对照组相比，100 μmol·L^{-1} TPHP处理组GPX4、Bax蛋白水平显著下降（P<0.05）；LC3Ⅱ/Ⅰ、p62蛋白水平显著增加（P<0.05）。提示TPHP可能促进HEK293细胞发生自噬、铁死亡，可能抑制凋亡的发生。 4）氧化应激实验结果表明，与对照组相比，100 μmol·L^{-1} TPHP处理组MDA水平显著升高（P<0.05）。 5）转录组测序结果显示，与对照组相比，100 μmol·L^{-1} TPHP处理组的差异表达基因共1304个，其中上调基因707个，下调基因597个，KEGG通路富集分析主要涉及的关键通路包括MAPK信号通路，PI3K-Akt信号通路等。 **结论** TPHP暴露会产生肾毒性，并且可能通过MAPK、PI3K-Akt通路促进人胚肾细胞HEK293发生自噬。

关键词： TPHP；HEK293细胞；肾毒性；自噬
基金项目： 广东省自然科学基金（2020A1515010521）；广东医科大学学科建设项目（4SG22003G）
通讯作者： 石　明，E-mail：shiming@gdmu.edu.cn

T02-0064

mir-155通过Smad5调控骨髓间充质干细胞在镉致骨质疏松中的作用及机制研究

莫丽君[1]，李冬丽[1]，王照洁[1]，吴　璐[2]，卫秦芝[1]，刘启展[2]，杨杏芬[1]
（1. 南方医科大学公共卫生学院，食物安全与健康研究中心，广东广州 510515；
2. 南京医科大学公共卫生学院，江苏南京 211166）

摘要：目的 探讨mir-155通过靶向Smad5调控成骨分化在镉致骨质疏松的作用，以揭示镉致骨损伤的分子机制，为寻找镉诱导健康危害的早期生物标志物和发现新的预防和治疗措施提供新线索。**方法** 首先用不同浓度的氯化镉（$CdCl_2$）处理人源骨髓间充质干细胞株（hBMSCs），ALP和茜素红染色观察不同时间点的成骨分化情况，qRT-PCR检测miR-155、靶基因Smad5及成骨转录因子Runx2、Osterix的表达水平。通过特异性抑制物miR-155inhibitor下调mir-155进行挽救性实验，此外，双荧光素酶报告基因检测miR-155与Smad5 mRNA的3´UTR区域结合。在上述细胞研究的基础上，观察SD大鼠在$CdCl_2$诱导骨质疏松中miR-155的变化及调控机制，分离大鼠骨髓间充质干细胞，microCT扫描、HE和TRAP染色大鼠股骨，ELISA检测大鼠血清骨转化指标BALP、BGP和TRACP-5b，qRT-PCR检测大鼠血清、骨组织、骨髓间充质干细胞中miR-155的表达，Western Blot检测骨组织中靶基因Smad5及Runx2、Osterix的蛋白表达。在不同镉水平暴露人群中进行进一步的随访研究，qRT-PCR检测血清中mir-155的表达，探索mir-155作为镉诱导骨质疏松的生物标志物的可行性。**结果** $CdCl_2$抑制骨髓间充质干细胞的成骨分化，使miR-155表达水平

升高；抑制miR-155表达则可以阻断$CdCl_2$诱导的变化。双荧光素酶报告基因检测证实miR-155与靶基因Smad5直接相互作用。$CdCl_2$染毒致大鼠骨小梁丢失和骨小梁结构损伤，同时抑制大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化，骨形成标志物BALP和BGP的表达降低；染毒组大鼠血清、骨组织、骨髓间充质干细胞中miR-155高表达，而大鼠骨组织中靶基因Smad5及Runx2、Osterix的蛋白表达降低。镉暴露人群中也发现mir-155高表达。**结论** 本研究结果显示miR-155通过靶向Smad5调控成骨分化在镉致骨质疏松的作用机制，提示miR-155可能是镉诱导骨质疏松的早期生物标志物。

关键词： 镉暴露；骨质疏松症；骨髓间充质干细胞；miR-155

基金项目： 国家自然科学基金（8187120072）；广东省自然科学基金（2018A0303130222）

通讯作者： 杨杏芬，E-mail：xfyang@vip.163.com

T02-0065

m^6A修饰在PM2.5中高分子量多环芳烃N21aP诱导肺CYP1A1表达中的调控作用研究

王 超[1]，沈洁淼，王 丽，张 雯，龚 兴，王守林

（现代毒理学教育部重点实验室，南京医科大学公共卫生学院，南京 211166）

摘要：目的 萘[2,1-a]芘（N21aP）是一种六环的高分子量PAH，是本课题组前期发现的CYP1A1的新底物，具有强的致突变性。我们在研究N21aP的肺损伤效应的同时，发现N21aP可上调小鼠肺组织CYP1A1的表达，但具体机制尚不明确。细胞色素P450酶，尤其是CYP1A1在PAHs终致癌物的形成中最为关键。因此，研究N21aP对CYP1A1的诱导作用及其调控机制对深入阐明其毒效应十分重要。芳烃受体（AhR）是PAH调控CYP酶表达的经典通路。近年来，m^6A修饰已成为基因表观遗传调控研究的热点，但m^6A修饰在外源化学物调控CYP酶中的作用尚未有报道。因此，本研究旨在阐明N21aP通过m^6A修饰诱导CYP1A1表达的调控作用及机制。**材料和方法** 通过构建分子对接模型，结合环境样本PM2.5中PAHs含量检测，构建HBE细胞和C57BL6小鼠急性吸入染毒模型，采用Dot Blot和MeRIP qRT-PCR检测整体m^6A水平和cyp1a1 mRNA m^6A水平，并通过m^6A甲基化抑制剂DAA和METTL3-METTL14异二聚体抑制剂SAH的干预予以验证，通过生物信息学预测和荧光素酶报告基因试验筛选和鉴定cyp1a1上的m^6A位点。**结果** （1）根据PAHs的分子结构和分子量的复杂程度，可分为低、中、高分子量PAHs（LMW、MMW和HMW PAHs）。16种优控PAHs多为低分子量且仅占环境样品中PAHs致癌和致突变总风险的一部分，MW>300的HMW-PAHs也存在显著的致突变效应。通过优化HMW-PAHs的检测方法，对江苏省13市的PM2.5样品中PAHs含量测定发现，N21aP约为BaP的1/3。经气管滴注N21aP（2 mg/kg）染毒28天的小鼠肺脏中，出现肺泡间质增厚，肺泡结构破坏，明显的炎性浸润，部分肺脏可见异常结节和实质改变，且肺呼吸功能严重下降，在染毒肺脏组织中检测到二醇环氧代谢产物和DNA加合物。（2）分子对接模型发现AhR受体主要与4环和5环PAHs产生较强的结合，而6环的PAHs因体积太大，几乎不能与AhR受体结合，而N21aP染毒小鼠肺脏蛋白也验证这一结果，而m^6A甲基转移酶METTL14的表达增加，进而提高cyp1a1 mRNA的m^6A修饰水平，阅读蛋白IGF2BP3通过KH结构域识别cyp1a1 3′-UTR区的（cyp1a1-5218）甲基化位点，增强cyp1a1 mRNA的稳定性，导致CYP1A1表达的增加。**结论** 本研究从既往研究中被忽视的HMW-PAHs中筛选到的CYP1A1新的代谢底物N21aP，既可诱导CYP1A1的表达，又可被其代谢活化产生DNA损伤及呼吸系统毒性。以N21aP为代表的HMW-PAHs主要是通过m^6A修饰而非AhR途径调控CYP1A1表达，可能是一种CYP1A1的全新调控机制，可为认识HMW-PAHs的健康危害提供理论依据。

关键词： 多环芳烃；细胞色素P450酶1A1；萘[2,1-a]芘；m^6A修饰；呼吸系统毒性

基金项目： 国家自然科学基金（82173562）；国家自然科学基金（82273584）；国家自然科学基金（81903353）；国家自然科学基金（91743205）

作者简介： 王 超，wangchao@njmu.edu.cn

通讯作者： 王守林，E-mail：wangshl@njmu.edu.cn

T02-0066

有机磷阻燃剂斑马鱼急性暴露毒性效应及机制研究

张淑怡[1,2], 邵子津[2,3], 闫文彦[1,2], 刘　娟[2], 苗　轲[2], 顾　雯[2], 王　超[2], 张少平[2], 唐　宋[1,2]
（1. 南京医科大学全球健康中心，南京　211166；2. 中国疾病预防控制中心环境与人群健康重点实验室
中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所；3. 中国医科大学公共卫生学院）

摘要：目的　探索有机磷阻燃剂（organophosphate flame retardants，OPFRs）在斑马鱼体内的蓄积情况，以及对斑马鱼胚胎的毒性效应，并阐明效应的分子机制。**材料和方法**　以斑马鱼为模式动物，选择野生型AB系5~6月龄成年斑马鱼获取胚胎，进行胚胎急性毒性暴露，暴露物质为16种有机磷阻燃剂，每次1~3种OPFRs分批进行，分别设置溶剂对照组（0.01% DMSO）和药物处理组（OPFRs浓度设置均为0.1、1、10、100、500、1000 μmol·L^{-1}），暴露时间为受精后2~120 h（2~120 hpf），每个浓度组样本量为60颗健康正常的受精卵，设置3个平行，期间监测分析斑马鱼胚胎存活率、半数致死浓度（LC50）、孵化率、120 hpf心率及畸形等毒性终点指标。收集120hpf斑马鱼幼鱼样本待后续检测分析。**结果**　斑马鱼胚胎存活率随OPFRs暴露浓度升高而降低，磷酸三间甲苯酯（TMCP）浓度至10 μmol·L^{-1}，磷酸三苯酯（TPHP）、磷酸甲苯二苯酯（CDPP）、磷酸三（叔丁基苯基）酯（TBPHP）、磷酸三正丁酯（TnBP）、磷酸三-（2-丁氧基乙基）酯（TBOEP）至100 μmol·L^{-1}，2-乙基己基苯基磷酸酯（EHDPP）、3-异丙苯基二苯基磷酸酯（3IPPDPP）、磷酸三（2-氯丙基）酯（TCIPP）、磷酸三异丁酯（TiBP）至500 μmol·L^{-1}，磷酸三甲苯酯（TCrP）至1000 μmol·L^{-1}时，死亡率为100%。16种OPFRs对斑马鱼幼鱼的120 h半数致死浓度（120 h ~ LC50），由低到高分别为：3IPPDPP<TMCP<TCrP<CDPP<EHDPP<TPHP<TnBP<TBPHP<TBOEP<TCIPP<TiBP< 磷酸三丙酯（TPrP）<间苯二酚双（磷酸二苯酯）（RDP）<磷酸三甲酯（TMP）<磷酸三（2-氯乙基）酯（TCEP）<磷酸三（2-乙基己基）酯（TEHP）。其中10种OPFRs对斑马鱼胚胎孵化率有抑制作用（P<0.05），作用由强到弱排序分别为：3IPPDPP>TMCP>TiBP>CDPP>TPHP>TnBP>TBOEP>TCIPP>TBPHP>TPrP>TCrP>TCEP>RDP>TEHP>TMP>EHDPP。形态学观察发现，TDMPP对斑马鱼的致畸作用主要体现在心包水肿、脊柱弯曲、躯干水肿、躯干缩短和卵黄囊水肿等。斑马鱼幼鱼120 hpf心率随OPFRs暴露浓度升高而降低，TBOEP（10 μmol·L^{-1}）、EHDPP（10、100 μmol·L^{-1}）、3IPPDPP（10、100 μmol·L^{-1}）、TCEP（1000 μmol·L^{-1}）和对照组比较差异有统计学意义（P<0.05）。**结论**　斑马鱼胚胎/幼鱼在早期暴露于部分OPFRs后导致发育迟缓、诱导畸形，目前观测到的主要的毒作用靶器官为心脏。

关键词：有机磷阻燃剂；急性毒性；生长发育；斑马鱼

通讯作者：唐　宋，E-mail：tangsong@nieh.chinacdc.cn

T02-0067

砷氟暴露对大鼠结肠屏障与炎症及肠道菌群结构与功能的毒性作用

田晓琳[1,2#], 杨玲玲[1#], 阎小艳[1]
（1. 山西医科大学公共卫生学院，山西 太原　030001；2. 浙江中医药大学公共卫生学院，
浙江 杭州　310053）

摘要：目的　本研究通过对砷氟单独及联合暴露所致肠道毒性损伤研究，分别评估砷氟暴露下结肠组织结构与功能的毒性损伤程度及肠道菌群的变化情况。以肠道损伤为切入点，为明确砷、氟暴露毒性作用机制提供新型理论依据。**材料和方法：**本实验采用大鼠子代饮水型单独及联合砷与氟暴露的方法，将动物分为四组：对照组（饮用蒸馏水）、砷染毒组（75 mg/L 亚砷酸钠）、氟染毒组（100 mg/L 氟化钠）、砷氟联合染毒组（100 mg/L 氟化钠+75 mg/L亚砷酸钠）。子代大鼠暴露至四月龄并采集生物样品。对大鼠结肠组织进行组织病理学观察，并采用PAS染色试剂盒观察结肠组织杯状细胞的分布情况。通过qRT-PCR、免疫荧光分

别评估结肠组织中紧密链接蛋白及炎性因子mRNA与蛋白的表达。最终，采用16srDNA微生物组测序手段进行肠道微生物组结构的评估。**结果** 1、砷氟单独及联合暴露损害结肠组织结构，表现为腺体萎缩，炎性浸润及杯状细胞减少。2 破坏肠道屏障，表现为结肠紧密连接蛋白 ZO-1、Occludin及Claudin1、Claudin 4、Claudin 8、Claudin 12等基因与蛋白水平表达的减少。3、促进肠道炎症的发生，表现为结肠促炎因子TNF-α，IL-1β表达水平的增加。4、砷氟单独及联合暴露改变门水平与属水平优势菌丰度，具体为门水平Firmicutes显著下降与Bacteroidota显著上升，及属水平Ligilactobacillus丰度的下降与Firmicutes_unclassified、Bacteroides丰度的上升。**结论** （一）砷氟单独及联合暴露导致结肠组织结构损伤，减少屏障紧密连接蛋白基因与蛋白水平的表达，增加肠道促炎因子在结肠组织的分布及表达。（二）砷氟单独及联合暴露导致门水平与属水平肠道菌群的失衡。

关键词： 砷；氟；肠道毒性；肠道菌群

通讯作者： 阎小艳，E-mail：yanxiaoyan@sxmu.edu.cn

#共同第一作者

T02-0068

环境铅暴露与中老年人10年动脉粥样硬化性疾病的发生风险相关

莫丽芬，陈林全，范翠华，宋 佳，黄海斌，万 宇，熊莉莉，杨杏芬

（南方医科大学公共卫生学院食物安全与健康研究中心）

摘要：目的 铅在环境中广泛分布，尽管既往研究报道了铅的心血管毒性，但是其对动脉粥样硬化性心血管疾病（ASCVD）的影响仍不甚清楚。因此，本研究旨在探讨环境铅暴露与中老年人群10年ASCVD发病风险的关系。**材料和方法** 选取来自中国华南地区、年龄在35～74岁的中老年研究对象共838例（男性301例，女性537例），且排除可能存在职业性铅暴露的研究对象。通过问卷调查收集研究对象的基线信息、疾病史、用药史、生活方式，通过健康体检来收集研究对象的生理生化指标信息。采用ICP-MS检测血铅浓度。应用China-PAR模型计算10年ASCVD发病风险评分，并划为低危（< 5.0%）、中危（5.0～9.9%）和高危（≥10%）三类。应用广义线性模型（GLM）和logistic回归模型估计血铅的四分位数（Q）与10年ASCVD发病风险之间的关系。另外，对具有不同特征的人群进行亚组分析。**结果** 研究对象血铅的总体水平为1.92 ug/L（IQR：1.16～48.78 ug/L），10年ASCVD发病风险的预测评分为3.30%（IQR：1.70～6.00%）。10年ASCVD发病风险的预测评分随着血铅Q的增加而增加（P<0.001），并且血铅的暴露水平越高，10年ASCVD发病风险的中、高危人群的比例越高。在完全调整了年龄、性别、吸烟状况、饮酒状况、体力活动、高血压、2型糖尿病、痛风、血脂异常、BMI、心率、血镉和颈动脉斑块后，处于血铅Q3分位的研究对象与Q1分位的研究对象相比，其10年ASCVD发病风险等级的优势比（OR）为2.64（95% CI：1.05～6.61，P=0.038）。亚组分析显示，男性、年龄＜60岁、高血压患者、吸烟者和内膜增厚者的10年ASCVD发病风险等级相对较高。**结论** 环境铅暴露与中老年人群10年ASCVD发病风险增高存在相关性。

关键词： 环境铅暴露；血铅；ASCVD；发病风险；中老年人

基金项目： 国家自然科学基金（81872642）；国家自然科学基金（82073599）

通讯作者： 杨杏芬，E-mail：yangalice79@smu.edu.cn

T02-0069

肠道菌群积极参与体内砷代谢：一项利用*as3mt*突变型斑马鱼的研究

钟晓婷

（广东医科大学）

摘要：目的 砷是最有毒的致癌物质之一。由于工业化和城市化快速发展，砷通过各种途径进入水圈和

土壤圈，导致生态环境中的砷污染日益严重。这些砷可以被水生生物吸收并通过生物转化和积累保留在体内，进一步转移到食物链的更高层次。据报道，人们从食物中接触到的砷量超过从饮用水中摄取的砷量，达到目前环境保护局规定的最大污染水平。通过饮用水和食物长期接触砷与人类一系列疾病密切相关。无菌的砷甲基转移酶敲除（As3mt-KO）小鼠的首次构建揭示了肠道菌群在体内可发挥缓解砷毒性的作用，然而，肠道菌群在体内参与砷生物转化的确切贡献尚未明确。**方法** 野生型斑马鱼（有砷甲基转移酶）和*as3mt*-KO斑马鱼（无砷甲基转移酶）各90尾分别随机分为3组：对照组，砷暴露组和抗生素+砷组，每组30尾鱼。亚砷酸钠浓度设置为100 μg/L（环境剂量水平）。暴露30天后，将斑马鱼冰冻处死后解剖采集肠道、皮肤和肌肉组织。对于体内砷蓄积分析，选取皮肤或肌肉组织（n=6）用于总砷浓度和砷形态的测定；对于宿主代谢分析，选取肌肉组织（n=6）用于广靶代谢组学分析；对于肠道微生物分析，选取肠道及内容物（n=6）进行DNA提取和16S rRNA测序。**结果** 在三种不同砷暴露条件下，两种基因型斑马鱼的砷蓄积、宿主代谢谱和肠道菌群响应均存在显著差异。基于砷浓度和构建结构方程模型表明，肠道微生物群对组织总砷（tAs）生物积累和无机砷（iAs）代谢的贡献率分别为44.0%和18.4%。相关分析表明，在分离宿主砷代谢作用后，组织CtAs和iAs与肠道菌群多样性（chao1，ace，simpson和shannon_entropy指数）呈更显著的负相关关系，与肠道菌群结构呈更强的相关关系（$P<0.05$）；更多的细菌属（如g_Shewanella，g_Cetobacterium，g_Ensifer和g_Defluviimonas等）和功能代谢途径（甘氨酸，丝氨酸和苏氨酸代谢，药物代谢−细胞色素P450等）与CtAs和iAs呈显著相关关系（$P<0.05$），以上结果提示肠道菌群在减少组织砷蓄积发挥了积极作用。此外，抗生素和砷的共同暴露显著增加组织中砷的蓄积（$P<0.05$）。**结论** *as3mt*-KO斑马鱼是评估砷在体内积累的具有高度生物重复性的一个稳健和可靠的模型。首次发现在不同砷暴露条件下，as3mt的改变显著影响宿主代谢和肠道微生物，并可能引起体内对iAs代谢的变化。肠道菌群积极参与体内砷代谢，在避免外源性砷暴露方面起关键作用，为未来研究体内生物解毒提供一定的参考和支持。滥用抗生素会增加水产品中重金属积累，甚至增加食品安全风险。

关键词： 砷；肠道微生物；砷甲基转移酶；基因敲除；斑马鱼；广靶代谢组学

通讯作者： 钟晓婷，E-mail：15622131660@163.com

T02-0070

环境相关浓度睾酮对秀丽隐杆线虫代谢谱影响的代谢组研究

施盈弛[1]，王　佳[1]，尹洁晨[1]，李维溪[1]，刘　冉[1]

（1. 东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室；公共卫生学院；东南大学；南京　210009）

摘要：目的 睾酮作为典型的类固醇激素之一，能够在多种环境介质中被检出，在极低的暴露水平下即可对生物体的健康造成损害，影响机体正常的内分泌功能。本研究以秀丽隐杆线虫作为模型，利用非靶向代谢组学技术研究环境相关浓度睾酮暴露对秀丽隐杆线虫代谢谱的影响，揭示秀丽隐杆线虫体内可能受到影响的代谢物及代谢通路，以期为进一步研究环境相关浓度睾酮对机体的毒性作用提供科学线索。**方法** 选取环境相关浓度0.1，1以及10 μg·L^{-1}作为本研究的暴露浓度，将同步化后L1期秀丽隐杆线虫（Caenorhabditis elegans，C.elegans）暴露于环境相关浓度睾酮48 h，通过超高效液相色谱串联质谱（UPLC-MS/MS）技术检测初级代谢产物，采用正交偏最小二乘法判别分析（partial least squared discriminant，PLS-DA）多元统计分析方法对代谢产物进行分析，观察生物体代谢活动的变化，筛选出环境相关浓度睾酮暴露后的差异代谢物并进行KEGG通路富集。**结果** 取变量重要性（variable importance in projection，VIP）>1及$P<0.05$作为有意义的差异代谢物，分别得到409种（control VS 0.1 μg·L^{-1}）、219种（control VS 1 μg·L^{-1}）、697种（control VS 10 μg·L^{-1}）差异代谢物，其中共有差异代谢物有六个，包括：N8-乙酰半胱、N-乙酰基-N-甲酰基-5-甲氧基钟烯胺、N-乙酰基聚赖氨酸、苯芸香酮、4-甲氧基查耳酮以及2-（4-丙烯基-2，6-二甲氧基苯氧基）-1-（3，4，5-三甲氧基苯基硅烷）-1-丙醇。对各暴露组显著差异代谢物筛选并对代谢通路进行富集分析，其中泛酸与辅酶A的生物合成、鞘脂类代谢、脂肪酸降解以及甘油磷脂代谢途径受到明显干

扰，脱磷酸辅酶A、辅酶A、鞘氨醇、神经酰胺以及磷脂酰乙醇胺在这些代谢途径中发挥重要作用。**结论**：环境相关浓度睾酮暴露会导致秀丽隐杆线虫代谢谱的显著变化，产生显著变化的代谢通路主要和能量及脂质代谢相关，为进一步研究环境相关浓度睾酮对机体的毒性作用提供科学线索。

关键词：睾酮；秀丽隐杆线虫；代谢组学

通讯作者：刘 冉，E-mail：ranliu@seu.edu.cn

T02-0071

健康体检人群血浆多金属暴露与主动脉钙化的关联性研究

王 甜[1]，温 莹[2]，刘 冉[1]，黄素丽[2]

（1. 东南大学公共卫生学院，江苏 南京 210009；2. 深圳市疾病预防控制中心，广东 深圳 518055）

摘要：目的 在健康人群中探讨血浆多种金属暴露水平与主动脉钙化的关联性。**方法** 966名研究对象均来自2012年~2017年于中山大学附属第八人民医院接受常规健康体格检查的人群。通过问卷调查、体格检查等收集研究对象的人口学特征，生活方式及生理生化指标，采集研究对象的血浆，采用电感耦合等离子体质谱仪检测13种金属的浓度。采用特定钙化标尺对主动脉弓钙化程度进行评估。影像学检查到钙化灶即可判断为钙化，钙化灶面积介于0至50%之间则为轻至中度钙化，钙化面积≥50%则为重度钙化。运用二元logistic回归模型分析血浆金属浓度与主动脉钙化风险之间的关联性，LASSO回归筛选与钙化风险相关的重要金属，限制性立方样条图分析血浆金属浓度与钙化风险的剂量反应关系。**结果** 研究对象的平均年龄为60岁，男性占比58.28%，钙化，在总人群中比例为43.89%，其中中度钙化者的比例为40.58%，重度钙化者的比例为3.31%。与无钙化组相比，主动脉钙化组人群的血浆钴的浓度降低，而血浆钼的浓度升高，差异具有统计学意义（P均<0.05）。校正混杂因素后，logistic回归单金属模型结果显示，与最低分位浓度相比，血浆锰浓度的最高分位以及血浆铝的第三分位与主动脉钙化风险增加相关，[OR（95%CI）分别为1.66（1.13，2.44）；1.81（1.22，2.68）]，而血浆镁及铜的第三分位与主动脉钙化风险下降相关，[OR（95%CI）分别为0.66（0.44，0.97）；0.65（0.44，0.97）]。进一步采用LASSO回归后发现，血浆钙、锰及砷与主动脉钙化风险增加相关，而血浆镁、铜以及钴与主动脉钙化风险下降相关。进一步分层分析发现，男性人群中血浆锰浓度的增加与主动脉钙化风险增加呈线性的剂量反应关系（非线性关联 P=0.016，剂量-反应关系 P=0.055）。**结论** 血浆锰以及铝可能是主动脉钙化的危险因素，尤其是在男性人群中高水平的血浆锰与主动脉钙化风险增加相关，而血浆镁、铜可能是主动脉钙化的保护因素。

关键词：主动脉钙化；血浆金属；锰；铝；镁；铜

基金项目：国家自然科学基金（81973004）；广东省自然科学基金（2019A1515011959）；深圳市医学重点学科（SZXK067）

通讯作者：刘 冉，E-mail：ranliu@seu.edu.cn；黄素丽，E-mail：huangsuli420@163.com

T02-0072

内质网应激与p53在$NaAsO_2$诱导肝细胞凋亡中的作用

刘春燕，张爱华

（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室、公共卫生与健康学院，贵州 贵阳 550025）

摘要：目的 探讨内质网应激与p53在砷致肝细胞凋亡中的作用。**方法** 不同浓度（2.5、5、10、20 μmol·L^{-1}）$NaAsO_2$染毒L-02细胞24 h，western blot检测内质网应激、p53及凋亡相关蛋白的表达水平，免疫荧光检测内质网应激及p53相关蛋白的分布情况。梯度离心分离内质网、线粒体和细胞核，western blot检测内质网

应激及p53相关蛋白的表达水平。内质网应激抑制剂4-苯基丁酸(4-phenyl butyrate，4-PBA)、p53抑制剂(Pifithrin-α，PFTα)预先2 h加入，随后NaAsO2染毒24 h，western blot检测内质网应激及p53相关蛋白的表达水平，Annexin V-FITC/PI双染，流式细胞仪检测细胞凋亡率，ELISA检测GSH、protein-SH水平。**结果** 与对照组比较，随着$NaAsO_2$染毒剂量的增加，内质网应激关键蛋白GRP78、ATF4、CHOP、EI24表达水平显著增加，p53(Ser15)、p53(Ser392)磷酸化水平和p53(lys382)乙酰化水平显著增加。与20 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$组比较，4-PBA降低了20 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$诱导的p53(Ser392)磷酸化水平、p53(lys382)乙酰化水平、p53在细胞核中的表达水平、EI24在线粒体中的表达水平和细胞凋亡。与20 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$组比较，PFTα降低了EI24在线粒体中的表达水平，抑制了20 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$诱导的细胞凋亡，但对$NaAsO_2$诱导的GSH、protein-SH水平无显著影响。与5 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$组比较，PFTα显著增强了5 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$诱导的GRP78、ATF4、CHOP表达，加剧了$NaAsO_2$诱导的GSH、protein-SH消耗，增强了5 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$诱导的细胞凋亡，但PFTα对5 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$诱导的EI24表达无显著影响。**结论** $NaAsO_2$通过内质网应激诱导p53活性，而激活的p53反过来也可调节内质网应激反应，低浓度$NaAsO_2$激活的p53通过缓解NaAsO2诱导的内质网应激抵抗细胞凋亡，高浓度$NaAsO_2$激活的p53通过加重$NaAsO_2$诱导的内质网应激反应促进细胞凋亡。

关键词：内质网应激；p53；$NaAsO_2$；凋亡

基金项目：国家自然科学基金(U1812403)；国家自然科学基金(81430077)

通讯作者：张爱华，E-mail：aihuagzykd@163.com

T02-0073

miR-30b-3p靶向SLC11A2在氢醌致TK6细胞铁死亡中作用研究

卢钊鸿

(广东医科大学公共卫生学院)

摘要：目的 探讨miR-30b-3p及其靶蛋白SLC11A2在氢醌致TK6细胞中的作用研究。**材料和方法** 培养TK6细胞，根据处理不同分为溶剂对照组、氢醌染毒组、铁死亡抑制剂组、铁死亡抑制剂氢醌染毒组、miR-30b-3p空载体对照组、miR-30b-3p模拟物组、miR-30b-3p空载体氢醌染毒组、miR-30b-3p模拟物氢醌染毒组、SLC11A2蛋白抑制剂组、SLC11A2蛋白抑制剂氢醌染毒组。应用透射电镜观察各组细胞线粒体结构，应用免疫印迹法(Western blot)检测各组细胞SLC11A2、SLC7A11、GPX4的表达，应用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测各组细胞miR-30b-3p、SLC11A2 mRNA的表达，应用亚铁离子检测试剂盒、活性氧检测试剂盒、丙二醛(MDA)检测试剂盒检测各组细胞亚铁离子、活性氧、丙二醛(MDA)水平，应用双荧光素酶报告基因系统检测荧光，应用CCK8法检测细胞增殖。**结果** 染毒组细胞增殖水平较溶剂对照组低，溶剂对照组线粒体透射电镜未呈铁死亡征象，氢醌染毒组呈铁死亡征象；氢醌染毒组MDA含量、亚铁离子含量较溶剂对照组高；氢醌染毒组SLC11A2蛋白表达较溶剂对照组高，SLC7A11、GPX4、miR-30b-3p水平较溶剂对照组低。铁死亡抑制剂氢醌染毒组、miR-30b-3p模拟物氢醌染毒组和SLC11A2蛋白抑制剂氢醌染毒组MDA含量、ROS含量、亚铁离子含量、SLC11A2蛋白表达较氢醌染毒组低，SLC7A11、GPX4蛋白表达较氢醌染毒组高。miR-30b-3p模拟物氢醌染毒组SLC11A2的mRNA表达和蛋白表达较氢醌染毒组低；miR-30b-3p过表达抑制了SLC11A2的3′-UTR-荧光素酶报告基因的表达，但突变构建体对miR-30b-3p免疫。铁死亡抑制剂氢醌染毒组、miR-30b-3p模拟物氢醌染毒组和SLC11A2蛋白抑制剂氢醌染毒组细胞增殖水平较氢醌染毒组高。**结论** 氢醌染毒TK6细胞通过减少miR-30b-3p并靶向增加SLC11A2表达，亚铁离子释放增加，活性氧增加，导致膜脂质过氧化，使细胞发生铁死亡。

关键词：氢醌；miR-30b-3p；SLC11A2；铁死亡

通讯作者：卢钊鸿，E-mail：1296626872@qq.com

T02-0074

贵州燃煤型砷中毒病区砷暴露的健康风险评估

姚茂琳，张爱华，曾奇兵，罗 鹏，梁 冰，李 军，潘雪莉
（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室、公共卫生与健康学院毒理学系，贵州 贵阳 550025）

摘要：目的 开展贵州燃煤污染型地方性砷中毒（简称燃煤型砷中毒）病区居民环境砷暴露的健康风险评估，以期为多途径和剂量水平暴露的环境砷污染健康风险管理提供流行病学证据，为制定环境砷暴露限值、优化地砷病的防控策略提供参考。**材料和方法** 以中国最典型的燃煤型砷中毒病区之一——贵州省黔西南州兴仁县雨樟镇为调查点。参考环境污染物健康风险评估框架进行当地居民环境砷暴露的健康风险评估：1. 暴露评估：根据1998～2020年间5次对该地区外环境介质、食物中总砷含量的检测数据，估算当地人群不同时期经呼吸道和消化道两个途径的砷慢性日均暴露量（CDI）、终身日平均暴露剂量（LADD）和累积砷暴露量（CA）。2. 皮肤损伤特征及其与砷暴露的剂量-反应关系评估：临床医生根据《地方性砷中毒诊断标准》对478名调查对象的砷中毒病情和皮肤损伤进行诊断，通过Logistic回归模型、R语言CMS数据分析工具包、贝叶斯基准剂量分析系统（BBMD）分析砷中毒病区居民砷暴露水平与典型的皮肤损伤之间的剂量-反应关系，估算砷暴露致皮肤损伤的基准剂量（Benchmark dose，BMD）及其95%可信区间下限（BMDL）。3. 风险特征分析：估算危害指数（HI）评价燃煤砷暴露的非致癌效应风险；计算燃煤砷暴露所致皮肤癌、肺癌和膀胱癌的终生超额风险（R）和年超额病例数（EC）。**结果** 1. 砷中毒病区人群的CDI和LADD分别从1998年的35.32 μg/（kg·d）、15.14 μg/（kg·d）下降至2020年的4.66 μg/（kg·d）、2.17 μg/（kg·d），CA的中位数为19564.57（569.00～25382.72）mg。2. 在不同病情的砷中毒患者中掌跖部皮肤角化、皮肤色素沉着和皮肤色素脱失改变混合发生；砷暴露人群中掌跖部皮肤角化和皮肤色素沉着的发生率均为80.0%，皮肤色素脱失发生率为77.4%；对年龄、性别、吸烟、饮酒和BMI进行校正后，发砷和累积砷暴露水平每增加一个四分位数，皮肤损伤发生的风险分别增加1.91（1.52～2.40）倍和3.893（2.86～5.30）倍；发生皮肤损伤的发砷和累积砷暴露量的BMDL10分别为0.12 μg/g和932.57mg。 3. 从1998年至2020年，砷中毒病区村人群的HI从1177.47下降至155.33，暴露于砷的R皮肤癌从1.95E-02下降至2.80E-03、R肺癌和膀胱癌从3.35E-01下降至4.80E-02，因砷暴露患皮肤癌、肺癌和膀胱癌的年超额病例数共减少了43人。**结论** 砷中毒病区的综合防控措施切实降低了当地的环境砷污染水平、人群砷暴露水平和居民的健康风险，但既往的砷累积暴露对人群健康的持续损害仍需高度重视；本研究最大可接受的累积砷暴露水平为935 mg，人群健康监测的参考发砷限值为0.12 μg/g。

关键词： 砷中毒；煤；皮肤；健康风险评估；综合防控措施
基金项目： 国家自然科学基金（81430077）；国家自然科学基金（U1812403）
通讯作者： 张爱华，E-mail：aihuagzykd@163.com

T02-0075

环境镉暴露与非吸烟中老年人群高血压患病风险的关联性分析

陈林全，宋 佳，黄海斌，万 宇，莫丽芬，熊莉莉，杨杏芬
（南方医科大学食物安全与健康研究中心，广州 510515）

摘要：目的 探讨环境镉暴露与非吸烟中老年人群高血压（HP）患病风险的潜在联系。**方法** 基于2019年在中国南方地区开展的环境镉暴露与疾病发生风险的横断面研究，从环境高镉暴露地区和低镉暴露地区随机招募非吸烟中老年人群。纳入标准：（1）从不吸烟；（2）年龄40～75周岁；（3）当地居住年限≥15年；（4）以当地种植的水稻和蔬菜为主要食物。排除职业重金属暴露人群。根据倾向评分匹配法中的最邻近匹配法，将两地区的非吸烟中老年人群按照年龄和性别的1∶1匹配，最终将492名非吸烟中老年人纳入分析。取

得研究对象知情同意后，对其进行问卷调查（基本信息、生活行为习惯、疾病史和用药史）、体格测量（身高、体重、血压）、空腹采血及中段晨尿采集，ICP-MS测定血镉（BCd）和尿镉（UCd）含量，后者用尿肌酐（UCr）校正。具有下列任一特征的为HP患者：（1）收缩压（SDP）≥140 mmHg和（或）舒张压（DBP）≥90 mmHg者；（2）有HP病史者；（3）服用降压药者。服用降压药者的SBP+15mmHg，DBP+10 mmHg。利用χ2检验、独立样本t检验和非参数检验比较两地区研究对象的基本信息、血镉及尿镉水平；单因素Logistic回归分析确定HP的潜在影响因素，多因素Logistic回归进行LnBCd、LnUCd与HP的关联性分析。**结果** 匹配后，两地区之间年龄和性别均没有统计学差异（*P*年龄=0.219，*P*性别=0.433）。高镉暴露地区的BCd和UCd浓度分别为5.94（2.90，11.06）μg/L和6.78（4.10，14.73）μg/g UCr；低镉暴露地区的BCd和UCd浓度分别为0.08（0.06，0.12）μg/L和0.11（0.08，0.16）μg/g UCr；高镉暴露地区和低镉暴露地区高血压患病率分别为64.2%和58.1%，差异无统计学意义（*P*>0.05），然而两地区的SBP、DBP差异均有统计学意义（*P*<0.001），高镉暴露地区SBP和DBP分别为149.57±23.05和78.04±14.88 mmHg，低镉暴露地区SBP和DBP分别为140.44±22.14和87.57±12.75 mmHg。单因素分析结果显示，年龄、BMI、血清总蛋白增高是HP的危险因素（*P*<0.05）。多因素logistic回归校正年龄、BMI、血清总蛋白后，每增加一个LnBCd浓度单位，患HP的风险增加11.2%（95% CI：2.0%~21.2%）；每增加一个LnUCd浓度单位，患HP的风险增加12.0%（95% CI：2.7%~22.2%）。**结论** 环境镉暴露水平升高可能会增高非吸烟中老年人群高血压患病风险。

关键词： 镉；高血压；非吸烟；中老年人

通讯作者： 陈林全，E-mail：Linquan96_smu@163.com

T02-0077

微宇宙技术及其在生态毒理学研究中的应用

侯　银，魏　超，刘欣宇，闫振广，郑　欣

（中国环境科学研究院 环境基准与风险评估国家重点实验室，北京　100012）

摘要： 微宇宙作为能够在受控条件下研究外来污染物在种群、群落以及生态系统水平上的生态效应的一种技术方法，可用来模拟自然生态系统，在生态毒理学和生态风险评估研究中得到广泛应用。本文首先简要介绍了微宇宙定义、标准化水生微宇宙构建方法以及微宇宙的主要类型；其次，将从数据库检索的近几年微宇宙技术相关的文章作为样本，运用知识图谱软件 VOSviewer对样本中的关键词频次进行分析，可知微宇宙技术的研究热点的演变及其在相关研究领域中的应用，重点总结了微宇宙技术运用于农药包括典型杀虫剂、除草剂和杀菌剂的生态毒理学或生态风险评估的最新研究进展，此外，梳理了该技术在其他化学品生态效应的研究进展，对比分析了通过微宇宙技术与其他方法获得的安全阈值。最后提出了4个亟需探究的方向：①采用微宇宙对农药进行的研究中，大多数采用单一农药暴露机制，今后可对混合农药在生态群落水平上产生的效应开展深入研究；②多数研究中的微宇宙仅包含藻类，轮虫和大型溞等浮游动物，未囊括底栖生物和微生物群落，因此可能对污染物在底泥中沉积产生的危害评估不足，需要构建涵盖更多生态位生物的微宇宙，使得微宇宙种群结构和功能更加完善；③利用高效、快速、准确的生物监测技术如DNA宏条形码技术监测微宇宙中浮游动物群落组成，建立微宇宙中DNA宏条形码与物种丰度之间的定量关系；④目前微宇宙技术多用于农药的生态危害评估研究，采用微宇宙技术对备受关注的新污染物包括持久性有机污染物、药物与个人护理品、内分泌干扰物和纳米材料开展研究。

关键词： 微宇宙技术；标准化水生微宇宙；生态效应；安全阈值

通讯作者： 郑　欣，E-mail：1119518293 @qq.com

T02-0078

四氯双酚A对斑马鱼肠道发育毒性作用及其机制研究

胡 颖
（赣南师范大学）

摘要：四氯双酚A（TCBPA）是双酚A（BPA）的卤代衍生物，作为一种阻燃剂被广泛用于各种建筑材料、涂料和电子产品中。TCBPA在环境中也有广泛的分布，包括水里、土壤里、甚至生物体体内。然而，目前有很多研究报道了BPA及其类似物的生物毒性作用，尤其是内分泌干扰特性，但是缺乏针对TCBPA毒性效应的研究，因此这些衍生物对生态环境和人类产生潜在的风险难以评估。

本课题选用模式生物斑马鱼为研究模型，将胚胎暴露于0.1 mg/L、0.3 mg/L、0.5 mg/L的TCBPA中至受精后5 dpf（days post fertilization，dpf），分别统计了斑马鱼肠道形态大小、杯状细胞数量、组织学变化和脂质沉积情况。其次，本研究检测了8种肠道发育相关基因gata5、myh11a、cyp3a65等mRNA表达水平，用以评估TCBPA对肠道发育的毒性效应。最后，转录组测序结果结合肠道发育不全（intestinal dysplasia）相关靶点进一步地阐述了其毒性诱发的机制。

结果表明通过钙黄绿素染色给药后的斑马鱼肠道形态呈现出显著性的变化。具体表现为随着浓度的增加，肠道逐渐变得细长。苏木精-伊红染色结果表明经过TCBPA处理，斑马鱼的前肠肠腔与对照组相比变小，肠褶皱的高度与紧密程度也降低；尼罗红染色揭示了随着药物处理的浓度增加脂质沉积程度逐渐降低；阿尔辛蓝染色展现了杯状细胞数量与TCBPA暴露浓度呈现负相关。实时荧光定量PCR结果表明与正常对照组相比，TCBPA处理组的gata5、pdx1、fabp2、nkx2.2a、cyp8b1、cdx1b基因表达量降低，myh11a、cyp3a65基因的表达量升高。综合转录组测序结果结合肠道发育不全相关靶点揭示了TCBPA可能通过PIK3CA/AKT途径介导了斑马鱼肠道发育不全。

综上可知，本研究发现了TCBPA对斑马鱼的肠道发育的影响并探讨了其潜在的机制。

关键词：四氯双酚A；肠道发育；斑马鱼；PIK3CA/AKT途径

通讯作者：胡 颖，E-mail：hy939900@126.com

T02-0079

PM2.5中HMW-PAH新组分DBfkT的发现及呼吸毒性研究

王 丽，李 胜，陈珂佳，张 迪，王少卓，龚 兴，夏 蓉，陈 超，王 超，王守林
（现代毒理学教育部重点实验室，南京医科大学公共卫生学院，南京 211166）

摘要：目的 PM2.5成分复杂，多环芳烃（PAHs）是其重要毒性组成部分，而其细颗粒物特性则使MW较大的PAHs更易被吸附，其中潜在的MW大于302的PAHs鲜有研究，它们在环境介质中的分布状况尚不清楚。因此，全面筛选PM2.5中潜在的、具有较大毒性潜能的高分子量PAHs（HMW-PAHs），对深入阐明PM2.5毒性、优化PAHs优先管控目录具有重要意义。**方法** （1）通过合成HMW-PAHs标准品和气相色谱-串联质谱技术筛查、鉴定PM2.5中新型HMW-PAH。（2）基于分子印迹固相萃取-气相色谱-串联质谱法构建PM2.5中新发现HMW-PAH的精确定量方法。（3）采集大气PM2.5样本进行新发现HMW-PAH的污染特征分析。（4）通过检测特征源样本和主成分分析（PCA）进行新发现HMW-PAH污染来源解析，并进一步以新发现HMW-PAH和PM2.5浓度相关性为线索，在反向气流轨迹分析和浓度权重轨迹分析基础上，进行新发现HMW-PAH的迁移分析。（5）小鼠28天气管滴注染毒初步评估新发现HMW-PAH的呼吸毒性。**结果** （1）PM2.5样本经总PAHs提取、二级质谱筛查发现，PM2.5中存在种类丰富的MW328-PAHs，通过与标准品比对，样品加标和程序空白确证，鉴定出一种丰度相对较高的MW328-PAH，即二苯并（f，k）四苯（DBfkT）。（2）利用构建的定量方法，对江苏省2019年全年PM2.5中DBfkT进行检测，DBfkT的检出率为83.2%，平均

浓度为0.03 ng/m^3。(3)DBfkT浓度呈现明显的季节特征,表现为冬季>春季>秋季>夏季,并且这种变化在地理位置上呈现由东南方向向西北方向逐渐递增的趋势。(4)来源解析显示,在污染严重的冬季,PM2.5中的DBfkT主要来自于煤炭燃烧,与当地的活动及邻省的污染迁移有关。(5)小鼠气管滴注染毒结果显示,与对照组相比,染毒组小鼠气道狭窄指数(Phen)和呼吸暂停时间(PAU)明显增加,气道松弛时间(Tr) 明显缩短,肺泡结构破坏,肺组织炎症因子tnf-α、il-1β以及趋化因子ccl2、cxcl8的RNA表达增加,肺组织IL-1β、TGF-β和P65蛋白表达增加,肺组织DNA损伤标志性蛋白γ-H2AX表达增加;肺组织EMT相关蛋白E-Cadherin表达下降,而N-Cadherin和Vimentin表达增加。(5)小鼠肺组织非靶向代谢组学检测提示,染毒组小鼠花生四烯酸通路高度富集、其次为视黄醇代谢通路。**结论** 课题组首次从PM2.5中鉴定出一种含量相对丰富的MW328-PAH,即DBfkT。PM2.5中的DBfkT在冬季污染明显加重,主要来自于煤炭燃烧,可能与我国冬季煤炭供暖活动有关。DBfkT能引起小鼠呼吸功能损伤、肺部炎症和DNA损伤,且具有恶性转化的潜能,毒性较大,应引起重视。

关键词: PM2.5; 高分子量多环芳烃(HMW-PAH); 二苯并(f,k)四苯(DBfkT); 污染特征; 呼吸毒性

基金项目: 国家自然科学基金(82173562);国家自然科学基金(81973091);国家自然科学基金(91743205)

通讯作者: 王　丽, E-mail: wangli8407@njmu.edu.cn,王守林, E-mail: wangshl@njmu.edu.cn

T02-0081

亚砷酸钠通过PI3K/Akt途径促进3T3-L1脂肪细胞产生胰岛素抵抗的分子机制研究

蔡林李[1], 杨秀丽[1], 雷理超[1], 杨祥青[1], 李汕梅[1], 梁　冰[1,2]

(1. 贵州医科大学基础医学院药理学教研室, 贵阳　550025; 2. 环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵阳 550025)

摘要: 目的 探讨亚砷酸钠是否能促进3T3-L1脂肪细胞胰岛素抵抗及其与PI3K/Akt信号通路的相关性。**方法** 以地塞米松(DEX)诱导3T3-L1前体脂肪细胞建立胰岛素抵抗模型:将3T3-L1细胞分化为成熟的脂肪细胞。加入不同浓度的DEX(0.0625 ~ 1 μmol/L)分别诱导24 h ~ 120 h,葡萄糖氧化酶法测定细胞葡萄糖摄取量(ISGU),确定胰岛素完全抵抗浓度、亚抵抗浓度、最佳诱导时间;以不同浓度$NaAsO_2$(0.0625 ~ 16 μmol/L)作用3T3-L1细胞96 h,采用MTT法检测细胞活性,选择对细胞活性无影响的$NaAsO_2$浓度;将3T3-L1细胞分为正常组、胰岛素亚抵抗组(0.1 μmol/L DEX)、胰岛素完全抵抗组(0.5 μmol/L DEX)、$NaAsO_2$联合DEX组(0.1 μmol/L DEX联合0.0625 ~ 1 μmol/L $NaAsO_2$),分别作用72 h ~ 120 h,采用葡萄糖氧化酶法测定细胞ISGU,确定最佳联合浓度及最佳联合时间。模型建立成功后,对游离脂肪酸(FFA)及PI3K/Akt信号通路相关蛋白的表达进行检测。**结果** ISGU检测发现,0.5 μmol/L DEX为胰岛素完全抵抗浓度,0.1 μmol/L DEX为胰岛素亚抵抗浓度,最佳诱导时间为96 h;MTT检测发现,0.0625 ~ 1 μmol/L的$NaAsO_2$浓度作用96 h后对3T3-L1细胞无活性影响;后续将以上$NaAsO_2$浓度与0.1 μmol/L DEX联合后,ISGU检测发现0.25、0.5、1 μmol/L $NaAsO_2$与0.1 μmol/L DEX能够促进3T3-L1细胞胰岛素抵抗的发生,同时其联合后的最佳抵抗时间为96 h;以0.25、0.5、1 μmol/L $NaAsO_2$与0.1 μmol/L DEX联合后,作用96 h,刺激3T3-L1细胞产生胰岛素抵抗,通过测定FFA含量发现,与正常组比较,$NaAsO_2$与DEX联合后FFA含量呈浓度依耐性增多;胰岛素信号通路相关蛋白表达检测发现:与正常对照组比较,0.25、0.5、1 μmol/L $NaAsO_2$联合0.1 μmol/L DEX组的P-IR、PI3K、PDK2、P-AKT、GLUT4蛋白表达减少,P-IRS-1、P-FOXO1蛋白表达增加。**结论** 本研究初步阐明砷能促进胰岛素抵抗的发生,且PI3K/Akt信号通路可能参与$NaAsO_2$联合DEX促进3T3-L1细胞产生胰岛素抵抗。

关键词: 亚砷酸钠; 3T3-L1脂肪细胞; 胰岛素抵抗; PI3K信号通路

基金项目: 国家自然科学基金(81760575);贵州省卫生健康委科学技术基金(gzwkj2021-426)

通讯作者: 梁　冰, E-mail: bliang163@163.com

T02-0082

亚砷酸钠联合胰岛素致HepG2细胞胰岛素抵抗的分子机制

安仙蓉[1]，蔡林李[1]，杨秀丽[1]，管俊欢[1]，吴琴姑[1]，杨 慧[1]，梁 冰[1,2]
（1. 贵州医科大学基础医学院药理学教研室，贵阳 550025；2. 环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵阳 550025）

摘要：目的 探讨亚砷酸钠（$NaAsO_2$）联合胰岛素致HepG2细胞胰岛素抵抗的分子机制。**方法** 以HepG2细胞为研究对象制备胰岛素抵抗模型：以10～6～10～9 mol/L胰岛素分别作用细胞24 h和48 h，葡萄糖氧化酶法（GOD-POD）检测葡萄糖消耗量，选择胰岛素作用的最佳浓度及时间。$NaAsO_2$对HepG2细胞毒性观察：不同浓度$NaAsO_2$（5～500 μmol/L）作用HepG2细胞24 h，MTT法检测细胞毒性，选择NaAsO2联合胰岛素的最佳剂量。设阴性对照组、10～7 mol/L胰岛素抵抗组、10～8 mol/L胰岛素组、10～8 mol/L胰岛素和不同浓度$NaAsO_2$（5、15、30 μmol/L）联合组分别作用细胞24 h和48 h。采用GOD-POD法检测葡萄糖消耗量选择胰岛素最佳联合浓度及时间；对糖代谢相关指标：已糖激酶、丙酮酸激酶、糖原含量进行检测；Western Blot法检测胰岛素信号通路及糖代谢相关蛋白的表达变化。**结果** 检测不同浓度胰岛素作用HepG2细胞24 h后胰岛素抵抗最明显，10～7 mol/L胰岛素作为胰岛素抵抗浓度，10～8 mol/L胰岛素为联合给药组胰岛素浓度，24 h作为最佳抵抗时间；检测$NaAsO_2$的细胞毒性发现：不同浓度的$NaAsO_2$（5～500 μmol/L）作用HepG2细胞24 h后，5、15、30 μmol/L$NaAsO_2$对HepG2细胞活性无影响，因此将以上$NaAsO_2$浓度作为联合给药浓度；将$NaAsO_2$浓度与10～8 mol/L胰岛素联合后，GOD-POD检测发现5、15、30 μmol/L $NaAsO_2$联合10～8 mol/L胰岛素能够促进HepG2细胞胰岛素抵抗，最佳联合时间为24 h；以5、15、30 μmol/L $NaAsO_2$与10～8 mol/L胰岛素联合后，作用24 h，刺激HepG2细胞产生胰岛素抵抗，测定糖代谢指标发现，与正常组比较，$NaAsO_2$与胰岛素联合后已糖激酶、丙酮酸激酶活性降低，糖原含量减少；胰岛素信号通路相关蛋白表达发现：与正常对照组比较，5、15、30 μmol/L NaAsO2联合10～8 mol/L胰岛素的P-IR、PI3K、P-AKT、GLUT4蛋白表达减少，P-IRS-1、P-FOXO1、P-GSK3β蛋白表达增加。**结论** $NaAsO_2$联合胰岛素可致HepG2细胞产生胰岛素抵抗，其分子机制与抑制胰岛素信号通路进而影响糖代谢有关。

关键词： 亚砷酸钠；胰岛素；胰岛素抵抗；胰岛素信号通路；糖代谢
基金项目： 国家自然科学基金（81760575）；贵州省卫生健康委科学技术基金（gzwkj2021-426）
通讯作者： 梁 冰，E-mail：bliang163@163.com

T02-0083

α-硫辛酸通过调节自噬对砷致大鼠胰腺损伤的保护作用

杨秀丽[1]，万亭池[1]，蔡林李[1]，覃 川[1]，赵丹妮[1]，陈 红[1]，安仙蓉[1]，梁 冰[1,2]
（1. 贵州医科大学基础医学院药理学教研室，贵阳 550025；2. 环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵阳 550025）

摘要：目的 砷是一种环境毒物和已确认的人类致癌物。在慢性砷中毒地区，已有研究证实糖尿病的发病率增加与砷密切相关，但其关系尚未完全阐明。α-硫辛酸是一种有机硫化合物，在糖脂代谢及螯合金属方面发挥重要作用。本研究拟基于自噬评价α-硫辛酸对砷致大鼠胰腺损伤的保护作用。**方法** 实验以SD大鼠作为研究对象，实验分为对照组（蒸馏水），亚砷酸钠组（$NaAsO_2$，8 mg/kg），α-硫辛酸高、中、低剂量组（60、30、15 mg/kg），$NaAsO_2$+自噬抑制剂氯喹组（8+30 mg/kg），自噬诱导剂雷帕霉素组（30 mg/kg），自噬诱导剂雷帕霉素+α-硫辛酸组（1 mg/kg+60 mg/kg），连续灌胃给予等量蒸馏水、亚砷酸钠溶液和不同浓度的α-硫辛酸溶液12周，于9～12周灌胃氯喹溶液和雷帕霉素溶液。每周称一次体重并记录，统计4、8、12周体

重；在12周末进行葡萄糖耐量试验；12周末麻醉大鼠，剪取毛发，电感耦合等离子体质谱仪检测毛发砷含量；心脏取血分离得到血清，检测血清胰岛素和糖化血清蛋白含量；取胰腺组织，苏木精-伊红染色法观察胰腺组织病理改变；透射电镜观察胰腺自噬体形成情况；免疫荧光标记法观察胰腺自噬通量；Western blot法检测自噬通路蛋白PI3K、Akt、mTOR、LC3、Beclin-1、P62表达情况。**结果** 砷中毒大鼠体重降低；毛发砷含量增加；葡萄糖耐量异常，血清胰岛素和糖化血清蛋白含量异常，胰腺组织病理损伤。α-硫辛酸干预后，大鼠体重有所恢复；毛发砷含量降低；改善葡萄糖耐量异常；血清胰岛素和糖化血清蛋白含量得到恢复；胰腺组织病理损伤有所缓解。蛋白检测发现，NaAsO2组Beclin-1和LC3蛋白表达增加，P62蛋白表达降低；自噬通量增加；自噬体形成增加。α-硫辛酸可下调Beclin-1和LC3蛋白表达，上调P62蛋白表达，抑制$NaAsO_2$诱导的自噬通量；自噬体形成减少且抑制由雷帕霉素诱导的自噬蛋白表达和自噬体形成。检测自噬通路蛋白结果显示α-硫辛酸可能通过影响自噬PI3K/Akt/mTOR信号通路抑制$NaAsO_2$诱导的自噬，从而保护大鼠胰岛功能损伤。**结论** α-硫辛酸可以通过影响PI3K/Akt/mTOR通路抑制$NaAsO_2$诱导的胰腺细胞自噬，从而保护NaAsO2引起胰腺损伤。

关键词：α-硫辛酸；亚砷酸钠；胰腺；自噬

基金项目：国家自然科学基金（81760575）；贵州省卫生健康委科学技术基金项目（gzwkj2021-426）

T02-0084

摘要：目的 砷（As）是一种自然界中广泛存在的有毒类金属元素，其引起的健康问题受到了广泛关注。砷可通过皮肤、呼吸道和食物等进入人体，其中饮水摄入是人类主要的砷暴露途径。进入人体的砷会对组织器官造成损伤，诱发炎症和组织功能紊乱，引起呼吸系统、消化系统、生殖系统和神经系统等疾病，长期处于砷暴露环境还可能增加患肝癌、肾癌、皮肤癌和肺癌等多种癌症的风险。目前研究认为，砷造成的毒性作用与其引发的机体氧化应激密切相关。本研究以小鼠为实验材料，探讨亚慢性和慢性砷暴露对氧化应激以及脂质代谢的影响，为防治砷造成的健康问题提供实验依据。**方法** 建立亚慢性砷暴露小鼠模型，SPF小鼠适应性喂养一周后随机分为三组，对照组饮用蒸馏水，低砷组及高砷组分别饮用5 mg/L及15 mg/L的$NaAsO_2$水溶液，染毒56 d后终止实验，戊巴比妥钠麻醉小鼠后分离脏器，计算脏体比，测定血清中脂代谢指标，肝肾中氧化反应指标，脂代谢及炎症因子基因表达情况，肝肾组织切片后进行HE染色，观察病理变化。其次建立慢性砷暴露小鼠模型，对照组饮用蒸馏水，低砷组及高砷组分别饮用5 mg/L及50 mg/L的$NaAsO_2$水溶液，染毒150 d，其余实验与上一部分相同。**结果** 在亚慢性砷中毒及慢性砷中毒小鼠模型中，与对照组相比，染毒组小鼠的每日饮水量、最终体重、肝脏和肾脏组织的脏器系数均无显著性变化；由饮水量计算低砷组和高砷组小鼠的日均砷摄入量分别为1.02 mg/kg·BW和2.43 mg/kg·BW，组间差异显著；染毒组小鼠肝脏、肾脏和小肠组织中过氧化氢（H_2O_2）和丙二醛（MDA）含量升高，还原型谷胱甘肽（GSH）含量降低，总超氧化物歧化酶（T-SOD）活性降低，且高砷组与对照组相比均显著改变；与此同时，染毒组小鼠肝脏、肾脏和小肠出现组织结构损伤。这些结果表明，砷暴露可导致小鼠肝脏、肾脏和小肠组织的氧化应激和氧化损伤，并表现剂量依赖效应。在小鼠肝脏组织炎性细胞浸润的同时检出炎症相关因子TNF-α mRNA表达增加，提示砷暴露导致的ROS爆发还会引起小鼠肝脏组织的炎症反应。检测血脂水平和肝脏中脂代谢相关基因的表达发现，低砷组血脂无异常，高砷组血清总胆固醇（T-CHO）显著增高，低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）水平升高，高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）水平降低；RT-qPCR结果显示，砷组小鼠肝脏中脂质合成基因PPARγ的mRNA表达量升高，脂质分解基因CPT-1A和PPARα的mRNA表达量降低，提示脂质积累与相关基因的表达有关。对肝脏组织中的胰岛素受体后信号转导始动基因（IRS2）和葡萄糖转运蛋白（GLUT2）的表达量进行检测，未发现砷组肝脏中IRS2和GLUT2表达量的显著改变，说明砷暴露对糖稳态的影响不明显。**结论** 在不同品系（ICR和C57BL/6）小鼠中，砷暴露均会引起肝脏、肾脏和小肠组织的氧化应激和氧化损伤，延长砷暴露时间和提高砷暴露浓度会显著增强砷的毒性效应，即砷对机体的损伤具有剂量和时间依赖性。另外，ROS的积累还引发了肝脏的炎症反应与糖脂代谢扰动。砷致脂代谢紊乱可能与上调脂质合成基因SREBP-1c、PPARγ和下调脂质分解基因CPT-1A、PPARα有关。对比亚慢性和慢性砷

暴露实验中低砷组的实验结果，可以发现：在亚慢性实验中，低砷组小鼠的饮水量和体重没有显著变化，而慢性砷暴露实验中，低砷组小鼠的饮水量和体重显著下降，据此推断，随砷暴露时间的延长，砷摄入使小鼠的消化和吸收功能损伤，机体代谢异常，导致体重下降。此外，亚慢性砷暴露导致了脂代谢紊乱的发生，但葡萄糖稳态未受影响，而慢性砷暴露实验中，糖脂代谢均有异常，据此认为，砷致糖脂代谢紊乱的发生可能有先后顺序，可能脂代谢紊乱发生在前，糖代谢紊乱发生在后。

关键词： 砷；小鼠；氧化应激；组织病变；脂质代谢

T02-0085

环境雌激素调控CARMN介导的DNA损伤修复在宫颈癌变中的作用和机制

张 兴，王适之
（东南大学）

摘要： 环境雌激素是环境内分泌干扰物中具有雌激素样活性的一类物质，广泛存在于环境、食物、空气、化妆品、医药、农药、塑料或其他物质中，可通过食物经消化方式进入机体后生物蓄积，模拟体内雌激素生物作用，扰乱机体正常内分泌功能，增加雌激素反应组织的疾病发生率。**目的** 探究环境雌激素对宫颈癌发生发展的影响，阐明环境雌激素对宫颈癌变的分子机制。**方法** 配制环境雌激素BPA、E2、DES、4-NP、DBP和DEHP工作液，并使其处理宫颈上皮细胞，观察对宫颈上皮细胞恶性转变的影响。雌激素受体ERα过表达和敲低联合使用环境雌激素调节剂和降解剂处理宫颈上皮细胞和宫颈癌细胞，检测宫颈上皮细胞和宫颈癌细胞增殖、周期和凋亡的影响，同时检测lncRNA CARMN的表达变化。免疫荧光和彗星实验检测细胞DNA损伤程度。**结果** 低浓度环境雌激素处理后，宫颈上皮细胞增殖变快、凋亡减少，且随时间推移，CARMN表达逐步下调。这种促增殖的效应在ERα敲减后显著降低。CARMN可通过结合TFAP2α调控ERα表达，ERα可在环境雌激素存在的情况下联合SP1抑制CARMN的表达，二者存在负反馈调控关系。此外，免疫荧光实验联合彗星实验结果显示，CARMN过表达可显著促进宫颈癌细胞的DNA损伤，但在低剂量环境雌激素处理时细胞DNA损伤程度略下降。**结论** 根据研究结果，低剂量环境雌激素通过激活ERα核转位，负调控抑癌基因CARMN表达，增强细胞DNA损伤修复、抑制细胞凋亡，促进宫颈上皮细胞增殖，最终导致宫颈癌变。

关键词： 环境雌激素；lncRNA；DNA损伤

作者简介： 张 兴，E-mail：230208402@seu.edu.cn
通讯作者： 王适之，E-mail：shizhiwang2009@seu.edu.cn

T02-0086

ERα基因对PM2.5诱导的非小细胞肺癌细胞增殖作用研究

田 蕾，张亚萍，刘晓华，刘焕亮，袭著革，林本成
（军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所，天津 300050）

摘要： 肺癌是当今世界上最常见的恶性肿瘤之一，并且成为各种癌症致死的首要原因之一。非小细胞肺癌（non-smallcelllung cancer，NSCLC）约占全部肺癌的80%。大量流行病学研究发现，NSCLC的发病有明显的性别差异，尤其是腺癌。雌激素受体（ER）的表达与肺癌的发生发展密切相关。雌激素受体是细胞核受体家族成员之一，它可以和脂溶性的雌激素结合，并通过传导到核内的信号通路，发挥多种生物学功能。国内外研究提示女性肺癌的独特特点可能与雌激素有关。雌激素主要通过雌激素受体发挥作用。雌激素受体是类固醇激素核受体家族配体依赖性反式转录调节蛋白，主要包括ERα和ERβ。越来越多研究发

现，雌激素受体在NSCLC发生发展的过程中起到重要作用，且可能与表皮生长因子存在相互串扰的作用，故雌激素有可能成为非小细胞性肺癌治疗、诊断及预后的新靶点。**目的** 探究ERα基因对PM2.5诱导的人非小细胞肺癌细胞的增殖作用及其机制研究。**方法** 使用免疫印迹法和Real-Time PCR法筛选肺腺癌细胞系，选用ERα高表达细胞系A549。重组质粒siRNA-ERα转染人肺癌细胞A549，建立ERα基因敲减模型，检测PM2.5干预及ERα基因下调对A549细胞增殖、迁徙能力和侵袭能力的影响。蛋白免疫印迹检测PM2.5干预及ERα基因下调对A549细胞的ERα蛋白、PI3K、AKT、p-AKT蛋白水平的影响。**结果** 细胞培养48 h和72 h时，PM2.5组细胞增殖率显著高于Ctrl组（$P<0.05$）。同时在72 h时，siRNA-ERα+PM2.5组增殖能力明显低于PM2.5组。PM2.5干预可引起细胞中ERα、AKT、p-AKT表达量的显著上调（$P<0.05$）。同时与PM2.5组相比，siRNA-ERα+PM2.5组和siRNA-ERα组ERα、PI3K、AKT以及p-AKT表达量均显著下降（$P<0.05$）。PM2.5处理可使A549细胞的迁移能力和侵袭能力显著增强（$P<0.05$）。与对照组相比，siRNA-ERα+PM2.5组在48 h迁徙能力和侵袭能力均显著增强（$P<0.05$），但同时显著低于PM2.5组（$P<0.05$）。**结论** 干扰ERα基因可抑制PM2.5诱导的肺癌细胞A549增殖、迁徙和侵袭能力，促进细胞死亡，其作用机制可能是影响了PI3K/AKT信号通路的关键因子的表达，抑制了PI3K/AKT信号通路活性。

关键词： PM2.5；ERα；PI3K/Akt 信号通路；非小细胞肺癌；增殖

通讯作者： 林本成，E-mail：linbencheng123@126.com；袭著革，E-mail：zhugexi2003@sina.com

T02-0087

反应性星形胶质细胞在超细颗粒物诱导的突触损伤中的作用

李　奔，常晓菡

（山西医科大学公共卫生学院，山西 太原 030001）

摘要：目的 流行病学调查和体内外毒理学研究同时表明，大气细颗粒物暴露增加人群患缺血性中风、阿尔茨海默病（AD）和帕金森病（PD）等神经退行性疾病的风险。在此过程中，反应性星形胶质细胞被强烈激活，但其作用尚不清楚。本研究旨在探索超细颗粒物（PM0.2）诱导星形胶质细胞向A1型转化进而介导突触损伤的作用机制。**材料与方法** 从新生24 h内的ICR小鼠大脑皮层中提取混合胶质细胞和神经元细胞。混合胶质细胞被随机分为对照组、低中高染毒组（3、10、30 μg/ml）、米诺环素抑制剂组和N-乙酰-L-半胱氨酸（NAC）抑制剂组，神经元被随机分为对照组、染毒组、补体3a受体（C3aR）抑制剂组。利用能量色散光谱仪（EDS）对单个PM0.2样品进行表征；酶联免疫试剂盒评价每个样品的脂多糖水平；采用RT-PCR、Western Blot检测PM0.2对星形胶质细胞A1/A2表型特异基因（A1：Serping1，C3，Amigo2，Psmb8，Ggta1，Srgn，H2-T23，Ligp1，Ugt1a，Gbp2，H2-D1，Fbln5，Fkbp5；A2：S100a10，Cd109，Emp1，Tm4sf1，Clcf1，B3gnt5，Slc10a6，Sphk1，CD14，Ptx3，Ptgs2）及蛋白（C3和S100a10）表达水平的影响，分析PM0.2暴露后胶质细胞中特异性突触生长因子（GPC4、GPC6、SPARCL1、THBS1、THBS2）的mRNA的表达情况，及小胶质细胞因子（TNF-α、C1q、IL-1α、IL-1β）的表达情况和神经元中PSD95、SYP基因和蛋白的表达水平；采用免疫荧光染色评估混合胶质细胞中小胶质细胞（CD68）的激活。最后评价米诺环素、NAC和C3aR抑制剂对上述指标的影响。**结果** PM0.2暴露活化小胶质细胞，进而分泌TNF-α、C1q、IL-1α、IL-1β等细胞因子，促进星形胶质细胞向A1型转化，A1特异性基因及C3蛋白表达明显增加，具有剂量反应关系，而A2型基因和S100a10蛋白未见明显改变；PM0.2暴露诱导的A1型星形胶质细胞丧失了促进神经元突触发生的能力（THBS 1/2显著增加，SPARCL1显著降低），并通过分泌C3介导神经元突触损伤；米诺环素干预可部分阻断A1分型，改善PM0.2诱导的突触损伤；此外NAC同样改善了PM0.2诱导的神经损伤，但未阻断A1分型。**结论** A1型星形胶质细胞-C3信号通路在PM0.2暴露诱导的突触损伤中发挥关键作用。

关键词： PM0.2；反应性星形胶质细胞；补体3；突触损伤

通讯作者： 李　奔，E-mail：LBen@sxmu.edu.cn

T02-0088

肿瘤巨噬细胞源性外泌体lncRNA *CRETBC*在吸烟促进膀胱癌恶性进展中的作用及机制研究

郑 瑞，肖艳萍，毛贞光，杜牧龙，王美林，张正东
（南京医科大学公共卫生学院环境基因组学实验室，南京 211166）

摘要：目的 吸烟是影响膀胱癌恶性进展的重要危险因素之一，但多为人群关联性研究，机制尚不明确。本研究旨在探讨肿瘤巨噬细胞源性外泌体lncRNA介导吸烟促进膀胱癌恶性进展的作用及机制。**材料和方法** 基于肿瘤基因组图谱、膀胱癌专病队列和组织芯片技术，识别吸烟促进膀胱癌恶性进展中特异性lncRNA。采用PMA、IL-4和IL-13诱导人单核细胞THP-1细胞极化为M2型巨噬细胞，通过光学显微镜、Western blot、流式细胞术等技术鉴定M2型巨噬细胞。将大鼠肝S9代谢活化4-氨基联苯（4-ABP）以模拟在体状态下膀胱的香烟烟雾暴露模式，通过细胞共培养、外泌体荧光标记、孵育等实验，观察外泌体lncRNA在吸烟促进膀胱癌恶性表型的毒性作用。进一步通过高通量测序、生物信息学分析方法及外泌体相关实验，探讨肿瘤巨噬细胞源性外泌体lncRNA参与吸烟促进膀胱癌恶性进展的分子机制。**结果** 采用肿瘤基因组图谱、组织芯片技术和专病队列的联合分析发现，lncRNA *CRETBC*特异性高表达于吸烟型膀胱癌、肌层浸润性膀胱癌患者的组织及血浆中，且高表达组患者生存较差（HR=1.34，P=0.034）。为进一步探究其机制，采用经大鼠肝S9代谢活化的4-ABP分别刺激非肌层浸润性和肌层浸润性膀胱癌细胞，发现细胞内lncRNA *CRETBC*表达水平均没有显著改变，而是由于代谢活化的4-ABP刺激肿瘤相关M2型巨噬细胞所分泌的高表达lncRNA *CRETBC*的外泌体，进入膀胱癌细胞所致。将外泌体lncRNA *CRETBC*与膀胱癌细胞孵育后，膀胱癌细胞增殖、侵袭与迁移等恶性能力显著增强；抑制外泌体合成后，细胞恶性进展表型得到回复。FISH实验结果显示，与活化的4-ABP外泌体共孵育后lncRNA *CRETBC*主要富集膀胱癌细胞质中；通过高通量测序、基因集富集分析、生物信息学预测以及外泌体实验验证发现，外泌体lncRNA *CRETBC*通过竞争性结合miR-143-3p，靶向调控糖酵解关键基因ENO1表达水平，通过上调PIK3AP1表达量从而增强PI3K/Akt信号通路磷酸化水平，促进膀胱癌细胞糖酵解能力，进而参与膀胱癌恶性进展。**结论** 外泌体lncRNA *CRETBC*可能通过介导吸烟促进膀胱癌恶性进展，将为膀胱癌个体化预防与干预提供新的理论依据和重要线索

关键词：膀胱癌；吸烟；外泌体；lncRNA；M2型巨噬细胞

通讯作者：张正东，E-mail：zdzhang@njmu.edu.cn

T02-0089

LncRNA SNHG5通过激活p38 MAPK通路在稀土氧化钕致雄性生殖功能损伤中的作用研究

王姝蕊，卜 宁，马宇鹏，高艳荣，赵宇航，王素华
（包头医学院公共卫生学院，内蒙古包头 014010）

摘要：目的 钕是一种稀土元素，长期暴露于氧化钕（Nd_2O_3）环境会造成生物蓄积产生慢性毒性，从而引发更多的职业健康问题。研究已证明非编码RNA在精子发生的过程中发挥重要作用。因此，探讨lncRNA SNHG5在稀土氧化钕致雄性生殖功能损伤中的作用及分子机制研究，可为男性不育症诊断与治疗的早期生物标志提供科学依据。**方法** 1）动物实验：不同剂量Nd_2O_3采用非暴露式气管滴注方法对C57BL/6J雄性小鼠染毒，小鼠两侧睾丸均用微量注射器经皮睾丸注射shRNA-lncRNA SNHG5-AAV9型腺病毒转染试剂。计数精子数量并观察精子存活和精子畸形情况；ICP-MS法检测小鼠睾丸组织中Nd的含量；HE染

色检测睾丸组织病理形态学改变并做量化分析；TUNEL检测组织样本中细胞凋亡的情况；qRT-PCR、Western blot检测睾丸组织中lncRNA SNHG5、Caspase-3、Bcl-2、Bax、p38和p-p38的基因和蛋白表达水平。2）细胞实验：不同剂量Nd2O3处理GC-2spd（ts）细胞24 h及48 h，lncRNA SNHG5 siRNA对细胞进行干预，TUNEL检测各组凋亡情况；qRT-PCR、WB测p38 MAPK通路相关蛋白和凋亡相关蛋白表达量。**结果** 病理学结果显示，染毒组小鼠睾丸组织中Nd含量显著升高，精子数量下降，精子存活率、精子畸形率呈现升高趋势，生精小管出现不同程度的损伤，腺病毒组生精小管损伤程度有所减缓；睾丸组织与GC-2细胞均表现出lncRNA SNHG5表达增加，Active Caspase-3、Bax和p-p38蛋白表达水平显著增加，Bcl-2蛋白水平显著降低；敲低lncRNA SNHG5，细胞凋亡和p38 MAPK通路相关蛋白表达降低，Bcl-2蛋白水平增加，差异有统计学意义（$P<0.05$）。**结论** 1）Nd_2O_3可使lncRNA SNHG5表达水平上升，引起雄性小鼠生精小管和精子质量受损，GC-2spd（ts）细胞凋亡；2）LncRNA SNHG5通过激活p38 MAPK信号通路，促进小鼠生殖功能损伤及GC-2spd（ts）细胞凋亡。

关键词： 稀土Nd_2O_3；LncRNA SNHG5；信号通路；细胞凋亡；GC-2spd（ts）

基金项目： 国家自然科学基金（82073524）

通讯作者： 王素华，E-mail：bt_wangsuhua@163.com

T02-0090

吸烟增加*RB1*突变负担通过抑制烟草代谢通路参与膀胱癌发生

毛贞光，肖艳萍，郑　瑞，王美林，张正东

（南京医科大学公共卫生学院，南京　211166）

摘要：目的 分析膀胱癌突变特征筛选出吸烟致膀胱癌特异性驱动突变基因，并探究其致膀胱癌的机制。**材料和方法** 从The Cancer Genome Atlas（TCGA）数据库获取膀胱癌患者的外显子测序数据及完整的临床资料，并根据吸烟史将患者分为吸烟组（N=288）和非吸烟组（N=111）。利用R语言（v4.0.1）的“MafTools”包，分别识别吸烟组和非吸烟组的突变特征。通过Fisher′s精确检验获取吸烟组与非吸烟组差异突变基因，并根据Integrative Onco Genomics（intOGen）数据库筛选出驱动基因。将吸烟组患者根据驱动基因突变状态分为突变组和非突变组，通过Gene set enrichment analysis（GSEA）探究可能的分子信号转导通路。**结果** 吸烟与非吸烟膀胱癌患者中最多的突变类别均为单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP），其中C>T突变在SNP占比最多。相对于非吸烟组，吸烟组患者的肿瘤突变负担水平整体呈上升趋势（P<0.05），并且肿瘤突变负担与吸烟包年数呈正相关（r=0.224，P<0.05）。我们发现在吸烟组中存在与吸烟相关的突变特征SBS 4，这可能是造成吸烟组突变负担增加的原因。进一步分析了吸烟组与非吸烟组差异突变基因，共识别出103个差异突变基因。并结合intOGen数据库筛选出了驱动基因RB1（P<0.05），其在吸烟组中突变率为非吸烟组的两倍。生存分析显示，吸烟组RB1基因突变影响膀胱癌患者预后（P=0.031）。单细胞测序结果显示，RB1主要在膀胱癌上皮细胞中表达。进一步GSEA结果显示，RB1突变抑制P450烟草代谢通路上的核心基因UGT1A10，UGT1A6，AKR1C1表达，抑制该通路被激活。**结论** 吸烟诱导上皮细胞RB1突变负担增加，通过抑制烟草代谢途径导致烟草物质过量在体内积累，进而参与膀胱癌发生与发展。

关键词： 吸烟；膀胱癌；RB1突变；烟草代谢途径P450；突变特征

通讯作者： 张正东，E-mail：zdzhang@njmu.edu.cn

T02-0091

吸烟与烟草致癌物代谢相关基因遗传变异交互作用与膀胱癌风险的关联性分析

肖艳萍，毛贞光，郑 瑞，王美林，张正东
（南京医科大学公共卫生学院，南京 211166）

摘要：目的 探究吸烟与烟草致癌物代谢相关基因遗传变异与膀胱癌发生风险的关系，为预防膀胱癌发生发展及膀胱癌提供理论依据。**背景** 吸烟是膀胱癌的主要环境危险因素。烟草中含有大量有害物质，经人体肝脏代谢活化后可参与膀胱癌的发生发展。然而，烟草致癌物代谢相关基因的遗传变异与膀胱癌风险的关系尚不明确。**材料和方法** 选取580例膀胱癌患者和1,101例健康对照作为研究对象。根据既往研究总结出43个与烟草致癌物代谢相关通路相关的基因，采用Logistic回归方法分析烟草致癌物代谢相关基因的单核苷酸多态性（SNPs）与膀胱癌发病风险的关联。采用eQTL分析探究在膀胱癌患者中不同基因型对其宿主基因表达水平的影响。采用交互作用分析寻找吸烟膀胱癌患者特异性SNPs并运用联合分析和分层分析探究目标SNPs和吸烟状态对膀胱癌易感性的影响。使用南京膀胱癌、癌症基因组图谱（TCGA）和人类蛋白质图谱（HPA）数据库计算目标SNP宿主基因的表达水平。**结果** 在调整年龄和性别后，与AKR1C2 rs7087341 T等位基因相比，A等位基因可以显著降低膀胱癌罹患风险（OR=0.84，95% CI=0.72～0.97，P=1.86×10^{-2}），且rs7087341与吸烟状态存在交互作用且可增加膀胱癌发生风险（OR=1.43，95% CI=1.11～1.83，P=5.04×10^{-3}）。与携带TT等位基因患者相比，*AKR1C2*在携带TA和AA基因型患者中表达水平显著降低且随着A等位基因数量的增加，*AKR1C2*表达水平降低。联合分析结果显示，*AKR1C2* rs7087341 A等位基因在吸烟者中的保护作用是在非吸烟者中的2.96倍（ΔOR=2.96，P<0.05）。与正常组织相比，*AKR1C2*在膀胱癌组织中表达水平升高（P<0.05）；与非吸烟患者相比，AKR1C2在吸烟患者中表达水平升高（P<0.05）。**结论** AKR1C2 rs7087341 T>A与吸烟的交互作用可以增加膀胱癌发生风险，可通过降低其位于烟草致癌物代谢相关通路的宿主基因*AKR1C2*的表达水平降低膀胱癌发生风险，该结果对膀胱癌遗传机制的研究具有一定的指导作用。

关键词：吸烟；烟草致癌物代谢；*AKR1C2*；膀胱癌；遗传变异

通讯作者：张正东，E-mail：zdzhang@njmu.edu.cn

T02-0092

有机磷阻燃剂致肺部损伤的毒作用机制研究

朱欢欢，张慧琳，周美玉，张正东，储海燕
（南京医科大学公共卫生学院）

摘要：目的 探究有机磷阻燃剂（OPFRs）的肺毒性效应及潜在毒作用机制。**材料和方法** 从2011～2012年美国国家健康和营养检查调查（NHANES）数据中提取了987名年龄大于20岁的参与者，采用样本加权线性回归模型探究尿液OPFRs代谢物水平与肺功能的关联性。使用比较毒物基因组学数据库（CTD）、ToxCast和GeneCards数据库、基因富集分析和分子对接模型构建有害结局路径（AOP）框架，并基于证据权重（WoE）对此框架进行评估。**结果** 我们发现三种氯代阻燃剂（Cl-OPFRs）代谢物水平与肺功能下降显著相关。自然对数转换的尿液中磷酸二（1,3-二氯异丙基）酯（BDCIPP）和磷酸二（2-氯乙基）酯（BCEP）水平每升高一个单位，用力肺活量（FVC）分别下降91.52、79.34 ml。对数转换的BCIPP每升高一个单位，第一秒用力呼气容积（FEV1）、FVC、最大呼气峰流速（PEF）、最大中期流速（FEF25-75%）分别降低130.86、153.56、302.26和148.24 ml。此外，尿液BDCIPP/BCEP/BCIPP与肺功能间的负相关性在暴露于香烟烟雾的人群中更为显著。AOP框架结果显示，BDCIPP、BCEP和BCIPP及其母体化合物[磷酸三（1,3-二氯-2-丙基）酯（TDCIPP）、三（2-氯乙基）磷酸酯（TCEP）和磷酸三（2-氯异丙基）酯（TCIPP）]可能通过影

响IL-6水平(分子起始事件,MIE),激活JAK/STAT信号通路诱导气道重塑(关键事件,KEs),最终导致肺功能下降(不良结局,AO)。此AOP框架亦可被香烟烟雾所扰动。**结论** 氯代阻燃剂可能通过IL-6/JAK/STAT3通路引起肺部损伤。

关键词: 有机磷阻燃剂; 香烟烟雾; 肺功能; 有害结局路径; 风险评估

通讯作者: 储海燕, E-mail: chy_grape@njmu.edu.cn

T02-0093

中国空气中有机磷阻燃剂的分布与风险评估

周美玉, 朱欢欢, 张慧琳, 王美林, 张正东, 储海燕*
(南京医科大学公共卫生学院)

摘要: 目的 近年来,有机磷阻燃剂(OPFRs)在空气、水、土壤中广泛检出。本研究旨在探讨空气中OPFRs的分布情况并进行风险评估,为OPFRs所致健康危害的预防及相关政策的制定提供依据。**方法** 从PubMed、Web of Science和MEDLINE数据库中提取中国不同地区空气中OPFRs的气固分配、浓度及其影响因素的数据。采用风险评估模型评估空气中OPFRs的非致癌和致癌风险。基于比较毒理基因组学数据库(CTD)、GO和KEGG富集分析,构建有害结果路径(AOP)框架。利用2011~2018年美国国家健康与营养调查(NHANES)数据采用多元回归模型分析尿液OPFRs代谢产物(m-OPFRs)与不良结局之间的相关性。**结果** 本研究共纳入36篇文章,发现72±24%的OPFRs分布在空气颗粒相中,而华中地区颗粒相中OPFRs(PM-OPFRs)浓度最高(中位浓度10507 pg/m3)。颗粒相中,氯代OPFRs(Cl-OPFRs)污染水平最高,占总浓度的63±10%;Cl-OPFRs(PM-Cl-OPFRs)浓度与颗粒物浓度和温度呈正相关,与相对湿度呈负相关。人群暴露风险评估模型显示中国不同地区儿童和成人的危害商数(HQs)均远低于1,危害指数(HIs)略高于1.00E-06,提示人群暴露于Cl-OPFRs存在潜在的致癌风险。此外,AOP框架显示PM-Cl-OPFRs暴露可影响激素的生物合成、氧化应激、癌症相关信号等生物学过程,对生物的生殖系统产生潜在的致癌风险。我们发现尿液Cl-OPFRs代谢物水平与卵巢癌和子宫癌风险呈正相关,与乳腺癌呈负相关,但在男性生殖系统肿瘤中未发现类似结果。**结论** Cl-OPFRs是最主要的类型。健康风险评估结果表明主要分布在空气颗粒相中,且发现Cl-OPFRs与女性生殖系统肿瘤相关。

关键词: 有机磷阻燃剂; 气固分配; 有害结果路径; 健康风险评估

通讯作者: 储海燕, E-mail: chy_grape@njmu.edu.cn

T02-0094

Ultraviolet light activates PMK-1/p38 MAPK signaling via MOM-4 and JKK-1 in Caenorhabditis elegans

Jing MA[1], Xinghao JIANG[2], An Yarui[3], Jin Danli[3], Yin Xiaodie[3], Jian ZHANG[1], Ajing XU[1]
(1. Department of Pharmacy, Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, 1665Kongjiang Road, Shanghai 200092, China; 2. School of Information Security Engineering, Shanghai JiaoTong University, 800Jianchuan Road, Shanghai 200240, China Shanghai, PR, China 3. College of Science, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai, 200093, China)

Abstract: P38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) plays an important role in innate immunity and is activated by ultraviolet (UV) radiation. However, the molecular mechanism underlying UV stress remains unclear. In this study, we reported that UV activated PMK-1/p38 MAPK signaling

via JKK-1 and MOM-4 in Caenorhabditis elegans. In C. elegans, different UV radiation doses resulted in PMK-1 phosphorylation. However, pmk-1 mutants failed to demonstrate an altered survival time in response to UV when compared with wild-type worms. Further analysis showed that JKK-1, but not SEK-1 mutants, displayed impaired PMK-1 activation following UV irradiation, suggesting that JKK-1 is the upstream MAP2K for the activation of PMK-1 in C. elegans under UV stimulation. UV-induced activation of PMK-1 was markedly reduced in MOM-4, but not in NSY-1 and DLK-1 mutant worms, suggesting that MOM-4 is the upstream MAP3K regulator of PMK-1 activation in response to UV stress in C. elegans. Additionally, daf-16 mutants displayed a shorter life span under UV stress, but UV-induced activation of PMK-1 was not markedly reduced in daf-16 and age-1 mutant worms. Our results revealed the signaling pathway involved in PMK-1 activation in C. elegans in response to UV radiation.

T02-0095

低密度脂蛋白-胆固醇(LDL)水平与砷酸、二甲基胂酸和一甲基胂酸的关联：基于2003-2020年NHANES数据库人群的研究结果

屈 灿，黄瑞雪

（中南大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系，长沙 410078）

摘要：目的 砷污染是一个全球性的公共卫生问题。总胆固醇(TC)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)升高是心血管疾病的危险因素，但关于尿总砷(包括各形态砷)水平与LDL-C之间关系的资料有限。为探讨两者之间的关联，本研究利用美国成年人健康与营养调查数据库(NHANES)中的人群调查数据开展了尿总砷及各形态砷与血液TC和LDL-C的相关性分析。**材料与方法** 以NHANES数据库中2003年至2020年的20岁以上的成人为研究对象，提取并整合尿总砷、砷酸(AA)、二甲基胂酸(DMA)、一甲基胂酸(MMA)、TC、LDL-C和其他关键协变量数据。根据人口学特征指标将研究对象分组，采用t检验、方差分析等方法比较各组人群尿总砷的差异。分别将尿总砷按四分位数分为四组，采用多元线性回归分析探究尿总砷浓度梯度与TC、LDL-C浓度的线性关系。随后将尿总砷浓度划分为70%与30%，80%与20%以及四分位数的浓度组，以各分组类型中尿总砷浓度最低组为参照组，采用logistic回归模型探究尿总砷水平与人群TC、LDL-C的关系，并调整年龄、性别、BMI、肌酐等多种协变量。最后采用logistic回归模型探究形态砷与人群TC、LDL-C水平的相关性。**结果** 本研究共纳入6633名20岁的成年人，该人群的中位尿总砷水平为7.86 μg/L，尿总砷四分位数浓度梯度与TC呈正相关，β(95%CI)为2.42(1.48, 3.36)，也与LDL-C呈正相关，β(95%CI)为0.94(0.13, 1.76)。与尿总砷浓度处于20%的低砷组相比，处于80%的高砷组TC的OR(95%CI)为1.34(1.13，1.59)，处于80%的高砷组LDL-C的OR(95%CI)为1.36(1.15，1.62)。在形态砷与TC、LDL-C相关性分析中，砷酸与TC的OR(95%CI)为1.35(1.02，1.79)，DMA与LDL-L的OR(95%CI)为1.20(1.03，1.41)，MMA与LDL-L的OR(95%CI)为1.30(1.11，1.52)。**结论** 尿总砷与血液TC、LDL-C浓度呈正相关，尿总砷及形态砷(砷酸、DMA、MMA)浓度处于较高水平的人较处于低水平的成人TC、LDL-C水平处于危险范围的可能性更高。预防砷及砷类物质的接触可能有助于控制成人TC和LDL-C水平。

关键词： NHANES；砷；形态砷；低密度脂蛋白胆固醇

通讯作者： 黄瑞雪，E-mail：huangruixue@csu.edu.cn

T02-0096

肠道菌群联合代谢组揭示微塑料诱导的雄性生殖障碍作用机制

周 燕，田坤明
（遵义医科大学公共卫生学院）

摘要：目的 以肠道菌群和代谢组学多组学联合分析角度出发，揭示微塑料所致雄性生殖障碍潜在作用机制。**材料和方法** 30只4周龄小鼠随机分为对照组、微塑料组、氨基修饰微塑料组，每组10只。使用粒径为0.05 μm的微塑料及氨基修饰微塑料连续灌胃染毒84天后，取小鼠粪便进行16S rRNA检测、单侧附睾进行精子质量的评估、睾丸进行组织病理学分析以及代谢组学检测。**结果** 电镜结果表明两种微塑料粒径大小均为0.05 μm左右；Zeta电位结果表明氨基修饰微塑料组呈正电荷。与对照组相比，微塑料造成精子数量和精子活力显著降低并使精子畸形率显著上升，微塑料染毒后也导致睾丸病理损伤，特别值得注意的是，氨基修饰微塑料所致雄性生殖毒性更为严重。16S rRNA测序分析表明，经微塑料染毒后肠道菌群组成包括门水平和属水平发生紊乱，与对照组相比，Klebsiella，Candidatus_Arthromitus，Streptococcus等菌群丰度在染毒组中显著上升，Blautia， norank_f__Muribaculaceae，Parabacteroides等菌群丰度在染毒组中显著下降。PLS-DA表明对照组与染毒组显著分离；睾丸代谢物聚类分析表明，对照组和染毒组在脂质代谢水平上显著不同；组间差异代谢物也集中在脂质代谢水平，包括PC，PE，PI，LysoPC，LysoPE等代谢物的丰度具有显著差异。肠道菌群与代谢组联合分析表明，Blautia，Klebsiella与多个脂质代谢物具有相关关系。肠道菌群与睾丸代谢组网络图分析表明，Parabacteroides与大部分脂质代谢物连接且呈强烈相关关系。**结论** 综上所述，本研究从微生物组学和代谢组学的角度证实，微塑料所致的雄性生殖毒性可由肠道菌群介导的靶器官脂代谢紊乱所致。

关键词： 微塑料；雄性生殖毒性；肠道菌群；代谢组学；脂质代谢

通讯作者： 周 燕，E-mail：yirudeyouxiang@163.com；田坤明，E-mail：nonstandstill@163.com

02-0097

黄曲霉毒素B1通过AHR/TLR4/STAT3轴诱发结直肠炎症的机制研究

周 骏[1]，张砾文[1]，程 东[2]，张翠丽[1]，曾 涛[1]，宋福永[1]，谢克勤[1]，赵秀兰[1]
（1. 卫生毒理与营养学系，公共卫生学院，山东 250012；2. 卫生毒理科，卫生检验研究所，山东省疾病预防与控制中心，山东 250014）

摘要：目的 前期调研发现，山东地区私榨花生油受黄曲霉毒素B1（AFB1）污染较为严重（污染平均值36.62 μg/kg，国家标准20 μg/kg），由此造成的人群健康风险不容忽视。以往毒理学研究侧重于AFB1的致癌效应，对其亚急性暴露（家庭桶装花生油食用周期）引起的负面健康效应了解较少。我们基于近期国内外报道的“AFB1与芳香烃受体的配体-受体关系”开展了AFB1亚急性暴露的毒性效应与机制研究。**材料和方法** 对Balb/c雄性小鼠（*n*=60）进行AFB1亚急性经口暴露（0，5，25，50 μg/kg bw/d，30 d），通过H&E、PAS、免疫荧光染色法，分析AFB1毒性效应的靶器官与组织病理特征。建立体外共培养系统，通过生化毒理检测、流式细胞分析、ELISA等方法，验证发生组织浸润的免疫细胞与肠道上皮损伤间的因果关系。通过多组学联用推断AFB1活化巨噬细胞的早期关键事件与分子起始事件。通过免疫印迹法对AHR/TLR/STAT3轴核心蛋白及下游炎性效应蛋白（NF-κB、NLRP3、iNOS、COX2等）进行定量分析。进一步通过阻断剂/激活剂干预、过表达质粒转染法探究AHR→TLR4→STAT3的上下游调控关系。**结果** 低剂量AFB1引起小鼠结肠炎及肝脏脂肪化病变。肠道炎性病灶处出现上皮损伤、固有层退化、CD11b+髓系免疫细胞聚集、CD68+CD80+单核/巨噬细胞浸润、活性氧与一氧化氮升高等表型。体外环境中，巨噬细胞受AFB1活化后转化为阿米巴形态，胞吞作用加强。共培养系统中，活化巨噬细胞可通过分泌TNF-a等免疫因子引起肠道上皮损

伤。多组学联用分析发现巨噬细胞白三烯E4、TNF-a、IL-6水平上调、细胞外基质相关蛋白下调(如ECT2/MXRA5)、粘附性相关蛋白下调(如TSP1)、细胞迁移相关蛋白MY18A上调、线粒体呼吸链及STAT蛋白在转录水平发生扰动。巨噬细胞处于炎性应激状态并发生化感迁移。AHR、TLR4蛋白显著上调,STAT3与p-STAT Ser727(线粒体活性氧安全阀)显著下调。炎性相关蛋白NF-κB、iNOS、COX2、NLRP3及免疫相关蛋白IDO-2、ICAM-1等均呈上调趋势。干预实验发现AHR位于TLR4上游,TLR4或通过MyD88及TRIF下调STAT3水平。**结论** 低剂量AFB1亚急性暴露具有较强的肠损伤效应。AFB1可通过AHR/TLR4/STAT3轴活化巨噬细胞,引起炎性分泌并造成肠道上皮损伤。TLR4下游MyD88/TRIF可能介导了STAT3/p-STAT3(Ser727)的下调。P-STAT3 (Ser727)蛋白下调可能引起了巨噬细胞线粒体活性氧应激,是AFB1活化巨噬细胞诱发结直肠炎症的早期关键事件。

关键字: 黄曲霉毒素B1; 芳香烃受体; Toll样受体; 结肠炎; 巨噬细胞

通讯作者: 周 骏, E-mail: zhjccm@sdu.edu.cn

T02-0098

分子结构和水化学条件对多/全氟烷基物质在水汽气溶胶中富集的影响机理

李 尧
(无锡市疾病预防控制中心)

摘要: 通过自主设计和组装气溶胶(液相) 发生装置,考察了 12 种传统和新型PFASs在气溶胶中的富集行为。发现无论在单一体系还是PFAS混合体系,随着碳链长度的增加, PFASs 在气溶胶中的富集因子增大。 为了考察化学结构对 PFASs 在水-气溶胶之间转运行为的影响, 首次利用偏最小二乘法和 15 种量子化学结构描述符建立了定量结构-性质关系模型(Quantitative StructureProperty Relationship, QSPR)。 模拟结果显示, 4 种结构描述符控制影响了PFASs 在气溶胶中的富集,分别是分子偶极矩(μ),分子质量(MW),分子体积(V)和分子表面电势的最大值(Vs, max)。 我们还通过实验的方式发现,水环境中普遍存在的无机盐和腐殖酸可以促进 PFASs 在气溶胶中的富集。但是在水环境中广泛存在的表面活性剂,十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate,SDS)和十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)却对 PFASs 在气溶胶中的富集起抑制作用。 有趣的是, PFOS 的新型替代品 F-53B在 12 种 PFASs 中具有最高的富集因子,表明其具有较强的由水环境迁移至大气环境的潜力。

通讯作者: 李 尧, E-mail: optimas91@126.com

T02-0099

锰暴露激活cGAS-STING通路抑制Tau蛋白自噬降解致神经毒性

刘菁菁, 张 鑫, 张志敏, 钟诗音, 王 慧
(兰州大学公共卫生学院卫生毒理学研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 目的 重金属是公认的全球性环境污染物。重金属污染是当前影响人类健康和畜禽产品安全的重要因素之一,也是国际上的难点和热点研究课题。锰是一种存在于空气、土壤、水和食物中的天然金属,也是人类和畜禽生长发育必需的微量元素。 但同时锰也是一种环境重金属污染物,在较高的暴露水平下,也是一种公认的神经毒素。长期锰暴露可导致类似帕金森病的神经退行性疾病。Mn2+是cGAS-STING通路的第二个激活剂,诱导自噬是cGAS-STING通路的原始功能。然而,锰的神经毒性机制目前尚不完全清楚。**材料与方法** 饮水中添加高剂量氯化锰(200 mg/L),连续暴露5周,通过长期锰暴露建立锰神经毒性小鼠模型。Mn2+刺激BV2细胞,建立锰暴露细胞模型。实验结束后,收取BV2细胞和脑组织进行转录组学分

析，并应用Western blot和免疫荧光进行验证。通过CRISPR/Cas9基因编辑技术敲除BV2细胞的cGAS和STING基因，抑制cGAS-STING通路。**结果** Mn2+刺激BV2细胞后的转录组学结果显示，IFi47等干扰素、IL1β等细胞因子、Ccl5等趋化因子、Apol9等干扰素刺激基因大量表达，说明Mn2+刺激可能激活了cGAS-STING通路。Western blot和免疫荧光显示锰暴露小鼠模型脑组织cGAS、STING、p-STING、TBK1、IRF3表达显著升高，进一步确定锰暴露激活了cGAS-STING通路。脑组织转录组学结果显示自噬起始信号PI3P脂质的效应分子WIPI1大量表达，与自噬密切相关的Apelin信号通路为主要的生物通路，锰暴露可能诱导了自噬激活，我们通过Western blot和免疫荧光对该结果进行了验证。结果显示，模型组脑组织中自噬相关的关键蛋白（Beclin-1、LC3、p62、PINK1）及Tau和p-Tau表达强烈升高。p62升高提示锰暴露能够引起自噬溶酶体降解功能出现障碍。抑制cGAS-STING通路，Tau表达显著降低。提示锰暴露可能通过激活cGAS-STING通路抑制Tau蛋白自噬降解，进而引发了锰的神经毒性作用。**结论** 锰暴露激活了cGAS-STING通路，锰神经毒性可能与过度激活cGAS-STING通路抑制Tau蛋白自噬降解有关。

关键词：锰；神经毒性；cGAS-STING通路；自噬

通讯作者：王　慧，E-mail：huiwang@lzu.edu.cn

T02-0102

双酚 P 暴露造成 C57BL/6 小鼠肠道微生物紊乱并通过 LPS/TLR4/NF-κB 通路引起肠道炎症及屏障损伤

马纳纳，马　雕，刘　霞，赵立宁，马　蕾，马　丹，董四君
（河北大学生命科学学院，中国河北省保定市）

摘要：目的 双酚 A（BPA）是全球生产及使用量最高的化学品之一，但具有广泛的毒性。双酚 P（BPP，4，4′-（1，4-苯二异丙基）双酚）因具有很多优良的性能而被广泛用作 BPA 的替代品之一，已经在多种环境及人体中被检测到。饮食暴露是 BPP 暴露人体的最主要方式，但是它是否对肠道菌群及肠道屏障的造成影响仍不清楚。因此本研究通过三批动物实验，采用层层推进的验证方式，目的是验证不同暴露时长和不同浓度 BPP 通过饮食暴露对肠道微生物菌群组成及群落结构的影响，以及对肠道屏障功能造成的影响及作用机制进行探究。**材料方法** 本研究通过对小鼠粪菌微生物 16S rRNA测序和生物信息学分析，回肠和结肠组织病理学分析（苏木精和伊红染色，AB-PAS 染色），血清及粪菌 ELSA 相关指标测定，RNA 提取和实时荧光定量 PCR（RT-qPCR），蛋白质印迹法（WB），回肠和结肠组织巨噬细胞的免疫荧光分析，肠道细菌荧光原位杂交（FISH）等方法确保实现该研究目的。**结果** 第一批用 Control，BPP（30 μg/kg bw/day）组暴露 C57BL/6 小鼠 9 周，发现 BPP 组与对照组相比，体重增加，肠道微生物种群受到干扰。初步探索了 BPP 的长期暴露对小鼠体重及肠道微生物的影响；第二批动物实验，用 NC，L（0.3 μg/kg bw/day BPP），M（30 μg/kg bw/day BPP），H（3000 μg/kg bw/day BPP）暴露C57BL/6小鼠5周，与NC组相比，M和H组肠道微生物，体重发生显著变化。粪便中脂多糖（LPS）的过度产生，进而激活LPS/TLR4/NF-κB 信号通路引发炎症反应，减少粘液的分泌和紧密连接蛋白的表达，显著增加肠道通透性，促进细菌移位导致肠道屏障破坏。探索了不同浓度 BPP 暴露评测目前环境水平及更大剂量浓度下对肠道微生物及肠道屏障功能的影响；第三批动物实验，用抗生素组合消除肠道微生物后，血清中脂多糖（LPS）的含量显著降低，肠道炎症及损伤都有所缓解，进步验证 BPP 暴露对机体肠道微生物及其肠道屏障的作用机制。**结论** 一定浓度的 BPP 经口暴露能够造成小鼠肠道微生物紊乱，并通过 LPS/TLR4/NF-κB 通路引发肠道炎症及肠道屏障破坏。该研究将为 BPP 使用和管控提供参考数据，为 BPP 与人类疾病预防提供新见解。

关键词：BPP；BPA 类似物；微生物菌群；肠道炎症；屏障功能

通讯作者：马纳纳，E-mail：1968124948@qq.com

T02-0111

STAT3/RORγt、STAT5/Foxp3基因甲基化在交通相关PM2.5及其不同组分引起哮喘加重炎症中的作用

张志红[1,2]，孔玮璨[1,2]，王谦雨[1,2]，刘楠楠[1,2]，王 丹[1]，王彩红[1,2]，赵会超[1]，王 静[1]
（1. 山西医科大学环境卫生学教研室，山西 太原；2. 山西医科大学黄河流域生态公共卫生安全研究中心）

摘要：目的 从DNA甲基化角度探讨交通相关PM2.5及其不同组分诱导哮喘加重炎症反应中的作用，对哮喘加重的作用机制、治疗和预防提供参考。**材料和方法** 进行哮喘人群定组研究，测定大气PM2.5的浓度及其多环芳烃、重金属和水溶离子组分，检测哮喘人群血浆中多环芳烃及重金属的浓度，血浆和鼻粘液中多种细胞因子水平，及哮喘患者血中Treg和Th17细胞占比和STAT3、RORγt、STAT5、Foxp3的mRNA表达，分析大气PM2.5及其组分对哮喘人群肺功能和炎症因子的影响。建立PM2.5诱导的大鼠哮喘加重模型，检测肺组织STAT3、RORγt、STAT5、FOXP3基因启动子区各位点甲基化水平，以及肺组织中STAT3、RORγt、STAT5、FOXP3基因和蛋白表达量和肺泡灌洗液中IL-17、TGF-β、IL-10细胞因子的表达量。PM2.5及不同组分、甲基化抑制剂5-Aza干预Jurkat T细胞，检测细胞中STAT3、STAT5、RORγt、Foxp3启动子区域甲基化表达水平，STAT3、STAT5、RORγt、Foxp3蛋白和基因表达水平以及细胞因子TGF-β、IL-10含量。**结果** 混合效应模型分析发现，PM2.5与哮喘患者肺功能V50/25显著相关。PM2.5中As每增加1 ng/m^3，FEV1/FVC降低3.84%。PM2.5中BaA、BaP、BbF与肺功能IC呈显著负相关；BpE、DBA、Pb、Cl-与Treg、Th17、Treg/Th17以及鼻粘液中IL-23和TGF-β含量显著相关。动物实验中PM2.5染毒后肺组织STAT3、RORγt基因启动子区甲基化水平降低，STAT5、FOXP3基因启动子区甲基化水平升高；STAT3、p-STAT3、RORγt蛋白和mRNA表达升高，STAT5、p-STAT5、FOXP3蛋白和mRNA表达降低；细胞因子IL-17表达升高，IL-10、TGF-β表达降低。PM2.5及其不同组分染毒Jurkat T细胞后，STAT3、RORγt基因启动子区域甲基化水平较对照组均降低，Foxp3基因启动子区域甲基化水平较对照组升高；STAT3、RORγt的蛋白和mRNA表达增高，STAT5、Foxp3蛋白和mRNA表达降低，细胞培养上清中TGF-β、IL-10含量降低；STAT3、RORγt启动子区域部分位点甲基化率与相关基因表达呈负相关；甲基化抑制剂5-Aza处理后，STAT3/STAT5、RORγt/Foxp3基因甲基化逆转，且细胞上清液中TGF-β含量升高。**结论** 交通相关PM2.5及其不同组分可改变STAT3/RORγt、STAT5/Foxp3的甲基化水平，引起Th17/Treg失衡，加重哮喘发作。

关键词：甲基化；STAT3/RORγt；STAT5/Foxp3；IL-10；TGF-β

通讯作者：张志红，E-mail：zzh1973@sxmu.edu.cn

T02-0119

Molybdenum and cadmium co-induce mitophagy and mitochondrial dysfunction via ROS-mediated PINK1/Parkin pathway in Hepa1-6 cells

He Bai , Fan Yang , Wenjuan Jiang , Aiming Hu , Huifeng Chang , Yiling Zhang ,Lu Jiang , Shixuan Lin , Zengting Lu , Caiying Zhang , Huabin Cao
(College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, No. 1101 Zhimin Avenue, Economic and Technological Development District, Nanchang 330045 , Jiangxi, PR China)

Abstract: Excessive molybdenum (Mo) and Cadmium (Cd) can adversely affect health status. However, the correlation between mitophagy and mitochondrial dysfunction caused by Mo and Cd and the underlying mechanisms are still unknown. The aim of this study was to investigate the relationship between mitophagy and mitochondrial dysfunction via the ROS-mediated PINK1 / Parkin pathway caused by Mo and Cd. Here, Hepa1-6 cells were incubated with $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot 4H_2O$ (600.0 μmol·L^{-1}

Mo), $CdCl_2$ (10.0 μmol·L^{-1} Cd), and the combination of reactive oxygen species (ROS) scavenger (N-acetyl-L-cysteine, NAC, 100.0 μmol·L^{-1}), or mitophagy inhibitor (Cyclosporin A, CsA, 1.0 μmol·L^{-1}) for 24 h. Results revealed that Mo or/and Cd elevated the level of intracellular ROS and malon-dialdehyde (MDA) content, reduced superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities. Additionally, Mo or/and Cd could observably increase the percentage of cells with low membrane potential and decrease the content of ATP, elevate the number of autophagosomes and LC3 puncta, upregulate the mRNA and protein levels of LC3Ⅱ/LC3Ⅰ, Parkin, Pink1, VDAC1, downregulate mRNA and protein levels of P62. Moreover, treatments with NAC could significantly alleviate the changes of the above factors co-induced by Mo and Cd, and CsA intensify the changes of the above factors. In summary, our results reveal that Mo and Cd co-exposure can cause oxidative stress and mitophagy via the ROS-mediated PINK1/Parkin pathway in Hepa1−6 cells, and inhibition of mitophagy aggravates Mo and Cd co-induced mitochondrial dysfunction.

Key words: Molybdenum; Cadmium; Mitophagy; Oxidative stress; Mitochondrial dysfunction

Corresponding author: Huabin Cao, E-mail: Chbin20020804@jxau.edu.cn

T02−0137

2,4-二氯酚的类/抗雌激素活性及其作用机制研究

胡 艳，黄德军

（兰州大学生命科学学院院/甘肃省环境生物监测与修复重点实验室，兰州 730000）

摘要：目的 探究环境污染物2,4-二氯酚（2,4-DCP）的生殖毒性效应，并揭示其致毒机制，为科学认识和深入研究环境雌激素对种群的危害提供新的思路。**材料与方法** 本研究以原始生殖细胞（PGCs）被绿色荧光（GFP）标记的幼年和成年雌性斑马鱼为材料，利用毒性测试、组织学分析、荧光定量PCR和流式细胞术等方法，分别评价环境浓度的2,4-DCP（10,20和40 μg/L）对PGCs增殖和卵泡发生的影响；根据雌激素受体（Esrs）的转录变化，分析可能介导2,4-DCP发挥类/抗雌激素活性的Esrs类型；再利用CRISPR/Cas9技术构建的esr2a敲除斑马鱼模型，探讨Esr2a在2,4-DCP影响PGCs增殖和卵泡发生过程中的作用；最后，通过分子对接、定点突变、双荧光素酶报告和ELISA等实验，揭示2,4-DCP发挥类/抗雌激素效应的潜在作用机制。**结果** 在幼年斑马鱼中，2,4-DCP暴露使PGCs数量增多，主要表现为GFP面积增大、PGCs标记基因（vasa和dnd）表达上调，以及雌性性比增多，同时，esr2a的转录水平显著增加；Esr2a功能缺失导致PGCs数量减少，且逆转了2,4-DCP对PGCs数量的影响；分子对接结果表明2,4-DCP可以直接绑定Esr2a，另外，双荧光素酶报告结果证实2,4-DCP可以通过Esr2a/ERE（雌激素应答元件）依赖的方式诱导vasa和dnd启动子的转录活性。在成年斑马鱼中，2,4-DCP暴露使PV（卵黄发生前）期卵泡比例增加，而FG（完全发育）期卵泡比例降低，表明2,4-DCP暴露使卵泡发生阻滞，同时，40 μg/L 2,4-DCP暴露还导致累计产卵量显著减少，这是卵泡发生阻滞的直接后果；在分子水平上，HPG轴基因*gnrh3*、*fsh*β、*cyp19b*、*fshr*和*cyp19a*的转录，以及VTG（卵黄蛋白原）水平降低，同时，脑和卵巢中的esr2a转录水平显著降低；进一步在*esr2a*突变体中的研究发现，与WT相比，其卵泡发生阻滞且产卵量降低，另外，*fsh*β、*cyp19b*和*cyp19a*的转录，以及VTG水平降低，这与2,4-DCP暴露后的结果一致。**结论** 在幼年斑马鱼中，2,4-DCP表现出类雌激素效应，其潜在作用机制为通过与Esr2a结合来诱导vasa和dnd转录，进而导致PGCs数量及随后的雌性性别比例增加；在成年雌性斑马鱼中，2,4-DCP表现出抗雌激素效应，其潜在作用机制为通过抑制esr2a转录，进而使HPG轴基因转录和VTG水平下调，最终导致卵泡发生阻滞及随后的繁殖力降低。

关键词： 原始生殖细胞（PGCs）；卵泡发生；雌激素受体；雌性化；繁殖能力

通讯作者： 黄德军，E-mail：huangdj@lzu.edu.cn

T02-0166

Identification of Aflatoxin B1/ Reactive oxygen species related genes and their effect on liver cancer using bioinformatic analysis

Hayam Hamdy[1,2], Yi Yang[1], Cheng Cheng[1], Qizhan Liu[1]

(1. Center for Global Health, The Key Laboratory of Modern Toxicology, Ministry of Education, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; 2. Department of Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, New Valley University, New Valley, Egypt)

Abstract: PURPOSE Oxidative stress is involved in all aspects of tumor development and progression, but it is also frequently involved in anti-cancer therapies. The link between oxidative stress (OS) and carcinogenesis is well known, but poorly understood. Furthermore, few studies on the role of OS in the development of HCC have been conducted; however, the relationship between OS and the pathogenesis of liver cancer is gaining attention. The aim of this study is to identify the genes responsible for the oxidative stress caused by aflatoxin B1 (AFB1) exposure and their effects on liver cancer. **MATERIALS and METHODS** The expression profiles of AFB1 were downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO), and differentially expressed genes (DEGs) were identified by the GEO2R tool. Up- and down regulated genes as a result of AFB1 exposure were selected, and a heatmap showing their expression level was visualized using srploot. The identified DEGs were then subjected to gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses by using the Shing Go database for the determination of their biological functions and signaling pathways. This analysis helped in understanding the molecular mechanisms underlying AFB1 toxicity. The reactive oxygen species related gene sets were downloaded from the GSEA database. Identification of common interacting genes between differentially expressed AFB1 related genes and ROS gene sets was visualized by a Venn diagram using Fun-Rich software. To study the interacting AFB1/ ROS related genes in hepatocellular carcinoma patients, the HCCDB, UALCAN, and human protein atlas databases were. By using R software, the cox regression for the AFB1/ROS combined genes was used to identify the hazard ratio of AFB1/ROS interacting genes in liver cancer patients from TCGA database, the significant high-risk genes were selected and GO, KEGG pathway enrichment analysis. Identification of amino acids composition for the PCNA as a high-risk significant gene in HCC patients was performed using MEGA-X software and the comparison was performed in human and cancer resistant species. **RESULTS** FABP1, HAO1, MSRA, MAP3K5, RRM2B, PCNA, and DUOX2 were identified as genes that interact with AFB1/ ROS, and it was found that those genes were significantly changed in live cancer patients, and the cox regression analysis in liver cancer patients revealed that the PCNA, MSA, and HAO1 genes had a risk association result. The PCNA gene had an increasing risk value in patients with liver cancer, with expression increasing in a tumor grade-dependent manner. while the others, MSRA and HAO1, have significant lower risk values and their expressions decrease in a tumor grade-dependent manner. On the protein level, the immunohistochemistry of the PCNA protein revealed a difference in protein staining from low into high in liver cancer patients compared to non-detected controls, while the protein staining for MSRA and HAO1 proteins remained unchanged. The GO for PCNA correlated genes in liver cancer patients showed that they are highly enriched in spliceosomes and DNA related pathways, while the MSRA and HAO1 correlated genes were highly expressed in the peroxisomal matrix. The KEGG for the interacting PCNA genes had enrichment pathways on cell cycle, DNA replication, and repair pathways; for the MSRA and HAO1 correlated genes, the enriched

KEGG pathways were found to be related to metabolic pathways. Finally, comparing the amino acid composition between the naked mole rat, blind mole rat, and elephant that were regarded as cancer resistant species and humans, it was found that glycine, proline, and serine amino acids had differences in their frequencies between human and cancer resistant species. **CONCLUSION** PCNA, as an AFB1/ROS related gene, could be used as an independent prognostic indicator for HCC and its progression on the tumor grade level and it is related to spliceosome and cell cycle related pathways. Therefore, it is beneficial to monitor the prognosis of HCC patients resulting from AFB1 exposure using PCNA, and could potentially serve as biomarkers for early detection and targeted therapy. Further research is needed to fully understand the mechanisms behind these interactions and their implications for liver cancer treatment.

Key words: Aflatoxin B1; Reactive Oxygen Species; Hepatocellular carcinoma; Multi-omics

Foundation item: This work was supported by the Natural Science Foundations of China (81730089); and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (2019)

Corresponding author: Qizhan Liu, E-mail: drqzliu@hotmail.com

T02-0173

燃煤砷暴露与心血管疾病风险的关联：血管内皮损伤的潜在作用

于 清，王文娟，张爱华

（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室/公共卫生与健康学院毒理学系，贵阳 550025）

摘要：目的 基于人群探索燃煤砷暴露对与心血管疾病风险的关联性，进一步探讨血管内皮损伤在其中的中介效应。**材料和方法** 以贵州省雨樟镇燃煤型砷中毒病区为调查点，根据《地方性砷中毒诊断标准》（WS/T 211-2015）确定了244名砷中毒患者，同时选取无燃用高砷煤史且生活习惯相近167名健康居民作为对照组。通过高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱仪检测三价砷（As^{3+}）、五价砷（As^{5+}）、一甲基砷（MMA）、二甲基砷（DMA）的含量，并计算其百分占比（As^{3+}%、As^{5+}%、MMA%、DMA%），同时计算一甲基化率（PMI）、二甲基化率（SMI）、无机砷（iAs）和总砷（tAs）。根据血浆致动脉粥样硬化指数（AIP）和弗雷明汉风险指数（FRS）评估心血管疾病风险。通过酶联免疫吸附试验检测内皮一氧化氮合酶（eNOS）、内皮粘附分子1（ICAM1）、血管内皮生长因子（VEGF）的水平，高效液相色谱-串联四级杆质谱检测非对称二甲基精氨酸（ADMA）浓度。**结果** logistics回归分析结果显示：燃煤型砷中毒人群AIP和FRS指数显著高于对照组。相关性分析结果显示：FRS指数与MMA、MMA%呈正相关，与DMA%、SMI水平呈负相关（$P<0.05$）；AIP指数与DMA、MMA、MMA%、iAs、tAs、As^{3+}呈正相关，与SMI呈负相关关系（$P<0.05$）。砷中毒组ADMA、ICAM1、VEGF显著高于对照组，Kruskal-Wallis H检验进一步两两比较结果显示：轻度、中度和重度砷中毒组ADMA和VEGF水平均显著高于对照组，而重度砷中毒组人群ICAM1水平显著高于对照组和轻度砷中毒组（$P<0.05$），且随着MMA、DMA、iAs和tAs的增加，ICAM1呈增加趋势（$P<0.05$）。ADMA与MMA和MMA%呈正相关，与SMI和DMA%呈负相关（$P<0.05$）。限制性立方样条分析结果显示：ADMA与SMI、ICAM1与tAs、eNOS与As^{5+}和As^{5+}%、ICAM1和As^{5+}之间均具有非线性关系（P-nonlinear<0.05）。进一步logistics回归分析显示：ADMA、ICAM1与AIP和FRS均具有正相关性（$P<0.05$）。VEGF水平与AIP之间具有非线性关系（P-nonlinear<0.05）。中介分析结果显示：ADMA在AIP与DMA%、AIP与MMA、AIP与SMI、FRS与DMA%、FRS与MMA、FRS与SMI的关联中起部分中介作用，并且在AIP与MMA%和AIP与SMI两对关联中具有完全中介效应；ICAM1在AIP与MMA、AIP与tAs、AIP与DMA、AIP与iAs和FRS与MMA中具有部分中介作用。**结论** 砷暴露和砷甲基化代谢能力降低可能通过内皮损伤影响心血管疾病风险的升高。

关键词： 砷暴露；甲基化代谢；心血管疾病风险；内皮损伤

基金项目： 国家自然科学基金（81872569）；国家自然科学基金（81430077）

通讯作者： 张爱华，E-mail：aihuagzykd@163.com

基于轨迹起始点设计和扩展的改进采样策略及其在多因素混合物体系中的应用

丁婷婷，刘树深
（同济大学环境与科学工程学院，上海 200092）

摘要：环境中各种污染物的共存导致了复杂的混合物，其生态毒性受到各种因素的影响，探索哪些因素是诱导多因素混合物体系毒性大小的重要因素使重要的科学问题。GSA-qHTS研究框架是将全局敏感性分析（GSA）的计算能力与定量高通量筛选（qHTS）的实验效率相结合用以筛选诱导低剂量复杂混合物毒性的重要因素的有效手段。然而该研究框架所设计的混合物样本中各因素水平出现的次数不相等会导致基本效应（EE）的重要性不对称问题。我们先前的研究创建了能够实现因素水平等频次采样的混合物设计新方法（EFSFL），然而该方法因轨迹起始点的设计和扩展方法的不足仍然存在总是有多个相同浓度组成的重复混合物样本的问题，因此需要加以改进以获得有限轨迹下最多的混合物样本，提高设计的有效性。为此，本研究基于拉丁超立方采样（LHS）的全面性和均匀性等优势，以LHS产生的样本点作为多轨迹起始点，对轨迹起始点的扩展方法进行优化，构建了不产生重复混合物样本的高效LHS-EFSFL混合物设计新方法。将LHS-EFSFL应用于沙颍河流域中10个优控污染物（6种抗生素和4种农药）在5个效应浓度水平（EC10~EC50）下的十元混合物体系中，设计了110个不同浓度组成的混合物样本，说明了该设计方法的有效性。以青海弧菌Q67为受试生物，通过高通量毒性试验并应用EE方法，揭示了十元混合物毒性是由2种抗生素和2种农药控制的；发现了混合物可按12 h的毒性大小分明显为Zone-A和Zone-B两个区域，且Zone-A混合物表现出随时间先增大（0.25~6 h）后减小（6~12 h）的时间依赖毒性特征，而Zone-B混合物则表现出毒性随时间增大而增大的规律变化。各因素之间存在交互作用，而加和模型预测也表明因素间存在拮抗相互作用。总的来说，本研究通过对轨迹起始点的设计和扩展进行改进，提出了更有效的采样策略，它避免了重复混合物样本的产生，提高了混合物设计的有效性，各因素在相同的效应浓度水平下基于EE方法识别的重要因素有更可靠的结果，为混合物毒性研究提供了新方法，同时对简化混合物毒性研究进而实现现实混合物毒性预测具有重要意义。

关键词：采样策略；轨迹起始点；基本效应；时间毒性；重要因素；多因素混合物

通讯作者：刘树深，E-mail：ssliuhl@263.net

环境标准限值浓度亚砷酸钠抑制斑马鱼幼鱼神经发育行为

朱原慧[1,2]，景 楠[1]，金庭旭[1]，黄海茹[1]，魏园杰[1]，杨乾磊[1]，吉贵祥[2]，安 艳[1]
（1. 苏州大学苏州医学院公共卫生学院，江苏 苏州 215021；2. 生态环境部南京环境科学研究所，江苏 南京 210042）

摘要：目的 通过用国内外各类环境标准限值浓度砷对斑马鱼进行生命早期暴露染毒，探讨各类环境标准限值浓度砷对斑马鱼胚胎期、幼苗期、幼鱼期神经发育的作用及可能机制。**材料和方法** 0、5、10、50、150和500 μg/L亚砷酸钠（$NaAsO_2$）于产卵后4小时染毒斑马鱼胚胎，于24小时检测斑马鱼胚胎期胎动，染毒至6天时，使用标志中枢神经的转基因斑马鱼Tg（huc：GFP）检测特征性中枢神经荧光蛋白表达并进行荧光强度定量，使用标志运动神经的转基因斑马鱼Tg（hb9：eGFP）检测特征性运动神经荧光蛋白表达并进行运动神经分支长度荧光定量，同时检测6天时斑马鱼幼苗期的运动行为学，用转录组学测序检测$NaAsO_2$染毒至6天时改变的差异基因，并进行相关转录组学分析。$NaAsO_2$染毒至30天时，进行斑马鱼幼鱼期社交偏好、旷场、新水箱实验的行为学检测，50天时进行浅滩实验、新物体实验的检测。用qPCR验证6天和30天斑马鱼的神经发育相关差异基因。用R语言绘制6天、30天斑马鱼行为学和神经发育相关差异基因热图。**结果** 环境标准限值浓度$NaAsO_2$染毒后，斑马鱼胚胎期胎动减少，斑马鱼幼苗期的6天运动行为降低，中枢和运动神经标志性蛋白表达减少，随着染毒浓度的增加，改变的差异基因数逐渐增多，GO分类的结果表明，

$NaAsO_2$染毒对细胞组分、分子功能和生物学过程均有不同程度的影响，且$NaAsO_2$暴露可引起C型凝集素受体信号通路、FoxO信号通路、MAPK信号通路和凋亡信号通路等通路的改变。qPCR结果显示，6天幼苗期和30天幼鱼期斑马鱼的神经发育相关基因fosab、egr1、egr2a、ier2b和klf2a表达显著下降。另外，$NaAsO_2$染毒显著抑制斑马鱼幼鱼的社交行为、增加焦虑行为、斑马鱼幼鱼对新物体的好奇行为也减少。**结论** 环境标准限值浓度$NaAsO_2$染毒对斑马鱼可抑制斑马鱼神经发育，表现为斑马鱼胚胎期胎动减少、幼苗期运动行为降低、幼鱼期社交行为减少，对新物体探索减少和焦虑行为增加，这可能与神经发育相关基因fosab、egr1、egr2a、ier2b、klf2a和klf2b的表达下降有关。

关键词：亚砷酸钠；环境标准限值浓度；神经发育毒性；斑马鱼生长发育期

基金项目：国家自然科学基金（81872646）；国家自然科学基金（81811540034）；国家自然科学基金（81573173）

通讯作者：吉贵祥，E-mail：jgx@nies.org；安　艳，E-mail：dranyan@126.com

芳烷基胺N-乙酰基转移酶1在亲代暴露邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯致子代睡眠稳态失衡中的作用

蔡　杨，梁悦悦，李晓璐，宁　夏，洪　运，赵　帅，赵玲俐，韦　田

（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，环境毒理学安徽省普通高校重点实验室，安徽 合肥 230032）

摘要：目的 增塑剂邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯（DEHP）在环境中普遍存在，具有生殖发育、神经、内分泌干扰等毒性，并被列为2B类致癌物。最近流行病学研究发现人体DEHP内暴露浓度与青少年睡眠时长呈负相关，但DEHP致睡眠稳态失衡的作用机制尚不清楚。本研究利用模式生物果蝇探索DEHP暴露对亲代及子代睡眠稳态的影响。**材料和方法** 本研究使用W1118果蝇经食DEHP（0.01%，0.1%，1%；v/v）暴露后使用DAM2 Drosophila Activity Monitor监测果蝇亲代自身以及子代睡眠活动，并利用ShinyR-DAM和Metlab软件分析果蝇运动睡眠指标；ELISA检测DEHP暴露致子代果蝇褪黑素含量；转录组测序筛选DEHP暴露致子代睡眠障碍的关键因子，并实时荧光定量（qRT-PCR）和蛋白质印迹法（Western Blot）验证。**结果** DAM2监测结果显示亲代果蝇DEHP暴露引起亲代及子代运动能力增高，睡眠时长减少，且子代果蝇出现睡眠碎片化；ELISA结果显示DEHP暴露引起子代果蝇体内褪黑素含量显著降低（10%～45%）；转录组结果提示睡眠相关色氨酸代谢通路芳烷基胺N-乙酰基转移酶1（AANAT1）下调，且进一步验证发现子代AANAT1 mRNA、蛋白水平表达量及活性均降低。**结论** DEHP暴露引起亲代和子代果蝇睡眠时长缩短，并出现睡眠片段化。研究发现DEHP会导致子代体内褪黑素显著降低，进一步发现褪黑素合成途径关键限速酶AANAT1 mRNA、蛋白及酶活性均下调，说明DEHP暴露通过抑制褪黑素合成途径关键限速酶AANAT1途径引起子代睡眠障碍。本研究不仅拓展人们对DEHP引起睡眠失衡的认识，还可能为环境因素引发的睡眠障碍机制研究提供的新思路。

关键词：邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯；睡眠稳态；子代；芳烷基胺N-乙酰基转移酶1；黑腹果蝇

通讯作者：韦　田，E-mail：weitfield@126.com

非成像视觉通路介导下环境浓度PBDEs致斑马鱼仔鱼抑郁样效应

曹　淼，徐　挺，尹大强

（同济大学环境科学与工程学院，上海 200092）

摘要：目的 抑郁是全球最大的健康挑战之一。虽然单胺类神经递质理论仍然是抑郁病理学的主导假

说，但其有效性和可靠性备受质疑。近些年来新的抑郁致病因素，如昼夜节律紊乱引起了广泛关注。时间疗法，尤其是以非成像视觉通路（non-image-forming visual pathway，NIF）为主要靶点的光疗法，进而成为流行的抑郁临床治疗手段。NIF通路从黑视蛋白出发，将光信号投射至中枢节律器–视交叉上核SCN，并直接或间接影响昼夜节律系统和多个情绪相关脑区，对抑郁有重要调控作用。多溴联苯醚（PBDEs）是一种重要的溴化阻燃剂，虽然PBDEs已经逐渐被斯德哥尔摩公约限制，但由于其持久性和生物蓄积性仍在环境中有较高浓度的分布。视觉毒性是PBDEs的特征毒性，但现有研究主要聚焦于成像系统，尚未涉及NIF通路。因此，本研究旨在探讨PBDEs对NIF系统的影响，考察PBDEs致斑马鱼仔鱼抑郁样效应中NIF通路所扮演角色。**材料和方法** 本研究以斑马鱼为受试生物，将斑马鱼胚胎暴露分别于2.5 μg/L和25 μg/L环境浓度的代表性PBDEs—2，2′，4，4′-四溴联苯醚（BDE-47）中，对照组为含0.1% DMSO的Hanks溶液。暴露从4 hpf开始每日更换50%体积的暴露液，根据实验要求对5～7 dpf斑马鱼仔鱼进行收集采样。鉴于NIF通路与昼夜节律系统紧密相关，本研究在白天和夜晚分设时间点进行采样研究。主要实验方法包括荧光定量PCR、免疫荧光、Viewpoint行为学测试、原位杂交、免疫酶联反应等。**结果** 本研究发现BDE-47暴露对关键非成像视蛋白-黑视蛋白（OPN4）的影响存在显著的昼夜差异性，具体表现为暴露组的哺乳动物同源基因opn4.1 与对照组相比白天升至140%～160%，夜晚跌落至70%（p均小于0.05）。这样的双向变化进一步沿着NIF通路传递至SCN中的神经肽和时钟基因，并影响了临近5-HT系统和褪黑素受体。然而，其他抑郁相关因素的变化却是单向的，包括趋触性、睡眠、serta，htr1aa 和 aanat2基因等。借助显微注射黑视蛋白拮抗剂AA92593，研究进一步证实BDE-47所造成的抑郁样效应同时存在黑视蛋白介导的直接和间接作用，其中对抑郁样关键基因serta、htr1aa的影响可能受黑视蛋白直接光夹带作用的调节。**结论** 本研究首次报道了环境浓度的PBDEs污染物暴露下非成像视觉系统介导的神经毒性机制。这不仅是对传统成像视觉工作的延伸，也表明PBDEs的视觉损害可能具有深刻而复杂的健康影响。此外，本研究为抑郁症和PBDEs暴露之间的流行病学相关性提供了机制线索。

关键词：多溴联苯醚PBDEs；非成像视觉系统；抑郁；黑视蛋白；昼夜节律

通讯作者：徐 挺，E-mail：xuting@tongji.edu.cn

TAK-242预处理改善热射病大鼠心功能损伤及心肌炎症

陈丹丹[1]，田 密[2]，徐 涛[1]，朱玲勤[2]，李光华[1,2]

（1. 宁夏医科大学基础医学院生理学系；2 宁夏医科大学公共卫生与管理学院，宁夏 银川 750004）

摘要：目的 探讨TAK-242预处理对热射病（heat stroke，HS）大鼠心功能损伤及心肌炎症的影响。**方法** 将32只雄性SD大鼠随机分为对照组、TAK-242组、HS组与HS+TAK-242组，每组8只。建模前30 min，TAK-242组和HS+TAK-242组大鼠腹腔注射TAK-242（3 mg/kg），对照组和TAK-242组大鼠置于环境温度（25±1）℃中，HS组和HS+TAK-242组大鼠置于预设温度（40±0.5）℃、湿度65%±5%的人工仿真气候动物舱内直至直肠温度达到42℃，转移至温度至环境温度中恢复12 h。期间，各组大鼠均禁食禁水，采用肛温计每30 min检测1次核心体温；超声检测心功能指标左室每搏量（stroke volume，SV）、心输出量（cardiac Output，CO）、舒张期左室后壁厚度（left ventricular posterior wall thickness during diastole，LVPWd）和收缩期左室后壁厚度（left ventricular posterior wall thickness during systole，LVPWs）；HE染色检测大鼠心肌组织病理学形态结构；RT-qPCR及Western blotting检测大鼠心肌组织TLR4和NF-κB mRNA及蛋白表达水平；ELISA检测大鼠血清中TNF-α、IL-6和IL-1β含量。**结果** 超声检测结果显示，对照组大鼠SV、CO、LVPWd和LVPWs正常；与对照组比较，TAK-242组大鼠SV、CO、LVPWd和LVPWs无明显差异，HS组大鼠SV、CO明显降低（$P<0.01$），LVPWd与LVPWs明显增厚（$P<0.01$）；与HS组比较，HS+TAK-242组SV、CO增加，LVPWd和LVPWs降低（$P<0.05$）；HE染色结果显示，对照组心肌结构规则，纹理清晰，心肌细胞呈梭形，细胞核居中，肌间未见炎性细胞；与对照组相比，TAK-242组未见显著差异，HS组见部分心肌细胞排列紊乱、形态不规则或模糊不清，部分胞质深染、心肌细胞肥大，细胞间质可见大量炎症细胞浸润；HS+

TAK-242组见心肌细胞排列较HS组整齐，肥大的心肌细胞数量减少，细胞间质仍可见水肿及炎症细胞浸润，但较HS组减轻。与对照组比较，TAK-242组大鼠心肌组织中TLR4、NF-κBmRNA及蛋白相对表达水平无明显差异，HS组大鼠心肌组织中TLR4和NF-κBmRNA及蛋白相对表达水平明显增高（$P<0.05$）；与HS组比较，HS+TAK-242组大鼠心肌组织中TLR4和NF-κB mRNA及蛋白相对表达水平明显降低（$P<0.05$）；与对照组比较，TAK-242组大鼠血清中TNF-α、IL-6和IL-1β含量无明显差异，HS组TNF-α、IL-6和IL-1β含量显著增加（$P<0.01$）；与HS组相比，HS+TAK-242组TNF-α、IL-6和IL-1β显著减少（$P<0.01$）。**结论** TLR4抑制剂TAK-242预处理可改善热射病大鼠心功能损伤，其机制可能与抑制TLR4/NF-κB信号通路介导的心肌组织炎症反应相关。

关键词：TAK-242；热射病；心功能；心肌组织；炎症反应

基金项目：国家自然科学基金（82060050）；宁夏自然科学基金（2022AAC03190）

通讯作者：李光华，E-mail：ghlee0404@163.com

m^6A去甲基化酶FTO在砷暴露诱发小鼠神经行为损害中的调控作用研究

陈若楠[1,2]，虞子樱[1,2]，程淑群[1,2]，夏茵茵[1,2]，蒋学君[2,3]，邹　镇[2,4]，陈承志[1,2]

（1. 劳动卫生与环境卫生学教研室，公共卫生学院，重庆医科大学，重庆　400016；2环境与人群健康研究中心，重庆医科大学，重庆　400016；3公共卫生实验教学中心，重庆医科大学，重庆　400016；4生命科学院，重庆医科大学，重庆　400016）

摘要：目的　探讨m^6A修饰去甲基化酶FTO参与调控砷所致神经行为损害效应，以期为砷神经毒性的防治工作寻求干预的新靶点。**方法**　以成年健康雄性野生型C57BL/6J小鼠、FTO敲入转基因小鼠为受试对象，分别予以不同剂量（0、10 mg/L）饮水砷暴露90天，通过O迷宫、旷场实验、三箱社交实验、强迫游泳实验和转轮棒实验分别评估砷暴露对小鼠神经行为学的影响。**结果**　O迷宫结果显示，与对照组小鼠相比，砷暴露组野生型小鼠出现明显的焦虑样行为，而砷暴露FTO敲入小鼠组未出现显著焦虑样行为；旷场实验结果发现，野生型暴露组小鼠在中央区域停留时间、中央区域运动距离、运动总路程均显著少于对照组（$P<0.05$），而FTO敲入小鼠予以砷暴露后其运动功能与对照组相比并无显著差异；三箱社交实验结果显示，野生型砷暴露组小鼠的社交时间及次数明显低于对照组（$P<0.05$）；而且，野生型砷暴露组小鼠在强迫游泳实验中的活动总时间亦显著低于对照组（$P<0.05$）；但砷暴露FTO敲入小鼠社交行为较对照组相比无显著改变，且未出现明显的抑郁样行为。转轮棒实验结果同样发现，砷暴露导致野生型小鼠运动协调和耐力明显减弱，而FTO敲入小鼠则未出现这些行为损害效应。**结论**　亚慢性饮水砷暴露可以引发小鼠神经行为学损害，FTO可能是干预砷所致神经行为损害的新靶点。

关键词：砷暴露；FTO；神经行为学

通讯作者：陈承志，E-mail：chengzhichen@cqmu.edu.cn；邹　镇，E-mail：zouzhen@cqmu.edu.cn

整合miRNA-mRNA分析揭示发育性砷暴露诱导的小鼠肝脏脂质代谢失调

陈　欣，武瑞瑞，吴恒超，王惠惠，徐苑苑

（中国医科大学公共卫生学院慢病环境基因组学研究室，辽宁 沈阳　110122）

摘要：目的　发育期砷暴露可导致子代小鼠肝脏病变和脂质代谢失调，但相关机制尚不清楚。**方法**　本研究以C57BL/6J小鼠为研究对象，建立涵盖发育阶段的终生砷暴露模型。雄性子代小鼠分别于断乳（4周龄）和持续饮用含砷水至85周龄时收取肝脏组织。油红和HE染色观察4周龄和85周龄小鼠肝脏脂质沉积和病理改变，TG生化试剂盒检测肝脏中甘油三酯含量。对4周龄小鼠肝脏进行miRNA芯片检测和mRNA

测序，利用生物信息学方法分析差异miRNAs（Differentially Expressed miRNAs，DEMs）及其差异靶基因（Differentially Expressed Target Gene，DETG）的生物学功能，并构建发育期砷暴露特异性的miRNA-mRNA互作调控网络。应用RT-qPCR对miRNA芯片和mRNA测序结果进行验证。RT-qPCR和Western blot对生物功能学注释相关基因进行表达水平的检测。**结果** 发育期砷暴露引起85周龄小鼠肝脏出现脂质沉积，同时甘油三酯含量升高；4周龄小鼠肝脏未发生病理改变。根据miRNA微阵列和mRNA测序，发现86个miRNA和136个mRNA存在差异表达。预测DEMs调控的潜在靶基因，随后成功构建靶向47个DETG组成的miRNA-mRNA调控网络。功能注释提示DEMs及其DETG在脂肪酸代谢通路中显著富集。RT-qPCR分析证实了miRNA微阵列和mRNA测序的结果。与对照组相比，发育期砷暴露小鼠肝脏脂肪酸降解基因Pparα、Acox1、Ehhadh、Acsl和外源性脂肪酸转运相关基因Fabp5表达显著升高（$P<0.05$），而脂肪酸从头生成相关基因Srebp1和Fasn表达降低（$P<0.05$）。**结论** miRNAs及其靶基因参与了发育期砷暴露断乳小鼠肝脏的脂肪酸代谢紊乱，增加成年期肝脏脂肪酸代谢相关疾病的易感性。

关键词：发育期暴露；砷；miRNA-mRNA整合分析；脂质代谢

基金项目：国家自然科学基金（82022063）；国家自然科学基金（81573187）；国家自然科学基金（81830099）；国家自然科学基金（82103889）

通讯作者：徐苑苑，E-mail：yyxu@cmu.edu.cn

黑碳通过DNA甲基化促进肺上皮细胞恶性增殖的机制研究

陈 岳

（天津医科大学）

摘要：目的 探讨黑碳对肺上皮正常及肿瘤细胞增殖的影响，深入揭示黑碳通过DNA甲基化改变促进肺上皮细胞恶性增殖的分子机制，为有效评价大气细颗粒物毒性组分的健康风险和毒性机制提供科学依据。**材料和方法** 通过透射电子显微镜技术、原子力显微镜技术、Zeta电势等对不同黑碳材料进行表征；黑碳暴露小鼠后，应用HE染色和免疫组化技术来对小鼠肺组织进行组织学分析，检测小鼠肺组织5 mc和5 hmc的水平，并通过Dot blot检测小鼠肺组织中DNA水平；通过Western Blot检测DNMT1、DNMT3A和TET1、TET2的蛋白水平。利用MTT和BrdU筛选不同黑碳对肺癌细胞系A549和肺正常上皮细胞系BEAS-2B的促增殖浓度；使用划痕实验和Transwell实验来评估黑碳对细胞迁移和侵袭能力的影响；采用流式细胞仪来检测黑碳对细胞周期的作用；通过Dot blot和Western Blot检测细胞5 mc、5 hmc、DNA甲基化转移酶和DNA去甲基化酶的表达。进一步对小鼠组织和细胞DNA样本进行全基因组甲基化测序（MeDIP-seq）和RNA-seq检测，获得差异表达基因，应用生物信息学手段进行关联分析，并通过基因功能分析、通路分析、聚类分析等筛选出与细胞恶性增殖相关的差异甲基化并差异表达的基因并进行验证。**结果** 大部分黑碳具有良好的分散性和生物兼容性。黑碳体内暴露后引起了小鼠肺组织损伤、充血，并且Printex U和SA4B两种黑碳增强了小鼠肺组织DNA甲基化水平，在低浓度暴露下促进了A549细胞和BEAS细胞的增殖和周期，增强了氧化应激水平，并且Printex U还促进了A549细胞的迁移和侵袭。Printex U和SA4B在促增殖浓度暴露下增强了A549细胞和BEAS细胞的DNA甲基化水平，改变了DNMT酶和TET酶的蛋白表达水平。机制方面，黑碳暴露引起了细胞转运和分解代谢相关基因的差异甲基化改变。**结论** Printex U和SA4B这两种黑碳颗粒通过DNA甲基化促进了正常肺上皮细胞BEAS-2B和肺癌细胞A549增殖和周期，并增强了A549细胞的侵袭和迁移，并且引起了细胞运输和分解代谢相关通路基因的差异甲基化改变，深入的机制探索为有效评价大气细颗粒物毒性组分的健康风险和毒性机制提供科学依据。

关键词：大气颗粒物；黑碳；表观遗传；DNA甲基化；增殖

通讯作者：陈 岳，E-mail：chenyue831106@126.com

纳米塑料致肠毒性和屏障损伤:基于类器官、动物和细胞研究

程艳萍，梁戈玉
（东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室，江苏 南京 210009）

摘要:背景 近些年来由于塑料制品的广泛应用和大量生产,以及新冠病毒席卷全球,大量的塑料垃圾和医疗废物排放进了环境。微塑料和纳米塑料是塑料的一种危险形式,其污染成了新型环境问题,引起重点关注。其中纳米塑料由于尺寸小,易迁移,易吸附等特质被人体通过多种途径摄入体内,可穿越生物屏障进入机体多个器官系统、组织和细胞中。通过摄入受污染的食物和水是最主要的接触方式,容易引发胃肠健康危害。**方法** 本研究通过采取40 nm聚苯乙烯微球(PS-NPs),在类器官、动物以及细胞水平上探讨了纳米塑料的肠毒性以及对屏障的损伤作用。**结果** 体外培养小肠类器官,光学显微镜下观察并记录7天生长情况,通过HE染色和肠道特异性标记物(Villin、Muc2、Lysozyme、Chromogranin A)的免疫荧光染色显示小肠类器官具有与体内肠道一致的细胞组成和生理结构,且具有关键功能。将PS-NPs暴露于类器官96 h后,显示类器官活力明显下降,ROS生成增多,细胞凋亡增加,且肠屏障的渗透性增加,肠绒毛(Villin)、粘蛋白(Muc2)、紧密连接(ZO-1、Occludin、Claudin)和凋亡蛋白(Caspase-9)表达均发生改变。另外,亚急性毒性实验显示PS-NPs导致小鼠肠道组织轻微水肿,炎症细胞浸润以及腺体增生。血清和肠组织ELISA检测显示LDH、ROS、IL-6、IL-1β、TNF-α、LPS、DAO和D-lactate含量升高。TUNEL染色显示PS-NPs暴露组小鼠肠道凋亡水平升高。免疫组化显示PS-NPs暴露组小鼠肠道Villin、ZO-1、Occludin、Claudin和E-cadherin表达下降,Muc2升高。AB-PAS染色显示PS-NPs可使小鼠肠道粘液分布改变。在细胞水平,用PS-NPs处理肠上皮细胞(IEC-6、MODE-K)后,细胞活性下降,氧化应激水平升高,炎症和凋亡增加,且肠损伤相关蛋白(Villin、Muc2、ZO-1、Occludin和E-cadherin)表达改变。而抗氧化剂NAC处理后肠屏障损伤有所恢复。**结论** 纳米聚苯乙烯可引起肠毒性,可通过诱导氧化应激损伤肠道屏障。

关键词: 纳米塑料；肠类器官；肠屏障；氧化应激；炎症；凋亡

通讯作者:梁戈玉,E-mail：2250152552@qq.com

1,4 萘醌-黑炭颗粒对巨噬细胞外捕网释放及IL33生成的影响

崔 原，肖倩倩，袁约瑟，莊溢濛，李泽康，郝卫东，蒋建军，孟庆贺，魏雪涛
（北京大学医学部）

摘要：目的 环境PM2.5对公众健康的影响已成为全世界关注的主要问题。许多研究表明,即使在非常低的水平下,PM2.5仍然对公众健康构成威胁。二次颗粒物是由一次颗粒物与空气和环境中的其他成分之间通过物理或化学反应产生的,二次颗粒物的特性会发生变化。1,4-萘醌吸附的黑炭(1,4 NQ-BC)是PM2.5的重要组分,也是一种典型的二次颗粒物。巨噬细胞外捕网(METs)是巨噬细胞捕获和摧毁入侵病原体的手段,从而行使先天性免疫功能。程序性坏死是一种程序性细胞死亡方式,伴随着细胞膜完整性的破坏和细胞内容物的释放,从而诱发炎症反应。值得注意的是,IL33是一种重要的炎性因子。然而,目前还没有关于1,4 NQ-BC暴露后程序性坏死和METs之间的串扰机制的研究,也没有关于1,4 NQ-BC是如何调控IL33生成机制的研究。**材料和方法** 在我们的研究中,我们选择RAW264.7细胞作为研究对象。采用了CCK8、AO/EB染色、SYTOX Green染色、荧光探针、qPCR、免疫荧光、蛋白免疫印迹和蛋白质组学等实验方法。**结果及结论** 我们的实验发现,在正常生理条件下,当巨噬细胞接受外部刺激(如病原体等,在本实验中使用的是PMA)时,它们会形成METs,捕获并杀死病原体,从而行使先天性免疫功能。然而,暴露于1,4 NQ-BC可导致巨噬细胞发生程序性坏死,并伴随着ROS和胞浆钙离子水平的增加,以及炎症因子和趋化因子的表达紊乱,并阻止METs的形成,导致巨噬细胞失去部分捕获和杀死病原体的功能,从而削弱先天性免疫功能。值得注意的是,程序性坏死的抑制恢复了METs的形成,表明程序性坏死抑制了METs的形成。

本研究首次探讨了程序性坏死和METs之间的串扰机制。此外，1，4 NQ-BC可以通过铁蛋白轻链（FTL）上调IL33的表达水平。

关键词：1，4 萘醌-黑炭；巨噬细胞；外捕网；程序性坏死；IL33

通讯作者：魏雪涛，E-mail：weixt@bjmu.edu.cn

全氟癸酸通过促进β-catenin入核诱导巨噬细胞M2极化

崔臻妍，吴一华，夏大静

（浙江大学医学院公共卫生学院卫生毒理学系，杭州 310058）

摘要：目的 全氟癸酸（PFDA）被广泛应用于消防泡沫，不沾锅涂层，纺织业以及食品加工业等产业。由于其自身的难降解性，PFDA在环境中通过食物链的延伸不断累积，并产生生物放大效应。PFDA已经被证实具有生殖与发育毒性，并在其他各种代谢类疾病当中发挥着重要的作用。PFDA还被认为可以通过影响肿瘤微环境，促进肿瘤的发生发展，但相关机制尚不明确。本研究探索了PFDA通过影响肿瘤微环境中的巨噬细胞进而促进肿瘤转移的内在机制，为探索肿瘤防治的潜在靶点提供理论支持。**方法** 将巨噬细胞系RAW264.7暴露于不同浓度的PFDA处理24 h，采用CCK-8及EDU增殖实验探究PFDA对细胞活力的影响，用Western blot、PCR、免疫荧光以及流式细胞术等方法检测细胞M2标记物有关表达。使用生信分析、核质分离探究PFDA促进巨噬细胞M2极化的机制。采用划痕试验以及Transwell侵袭实验探索PFDA诱导的巨噬细胞在促进卵巢癌迁移侵袭方面的作用。此外，以卵巢癌腹腔转移瘤的小鼠模型，探究PFDA通过调控肿瘤微环境中的巨噬细胞促进肿瘤转移的作用及机制。**结果** CCK-8及EDU试验显示，不同暴露浓度（0，2，4，8，16 μmol·L^{-1}）PFDA处理24 h后RAW264.7细胞活力未发生明显变化。进一步探究PFDA处理后细胞M2标记物水平，发现细胞的M2标记物（ARG1，CD163等）水平明显增加，提示细胞在PFDA处理下向M2型极化。生信分析表明，β-catenin可能在PFDA促巨噬细胞极化过程中发挥重要作用。进一步核质分离以及免疫荧光显示，PFDA处理后，β-catenin由细胞质向细胞核内位移。使用ICG001抑制β-catenin入核后，PFDA处理后增高的M2标记物水平回复到原有水平，表明PFDA可能通过促进β-catenin入核从而促进巨噬细胞M2极化。进一步划痕与Transwell实验发现，卵巢癌细胞A2780与SKOV3在和PFDA诱导的M2型巨噬细胞共培养后，肿瘤细胞迁移侵袭被促进。体内动物实验研究结果表明，在肿瘤微环境中，PFDA处理组小鼠的转移瘤数量最多，提示PFDA可促进肿瘤的进展和转移。**结论** PFDA可以激活β-catenin，并促进β-catenin入核，进而诱导巨噬细胞M2极化。极化的M2型巨噬细胞在肿瘤微环境中发挥促肿瘤的功能。

关键词：全氟癸酸；β-catenin；M2极化，肿瘤转移

通讯作者：夏大静，E-mail：dxia@zju.edu.cn；吴一华，E-mail：georgewu@zju.edu.cn

出生前后砷暴露与六岁儿童情绪问题的关系：一项出生队列研究

戴一鸣，张济明，王 铮，邬春华，周志俊

（复旦大学公共卫生学院，教育部公共卫生安全重点实验室，上海 200032）

摘要：背景 已有不少研究发现砷暴露与儿童智力发育和神经行为存在关系，但大多研究局限于横断面研究。同时关注出生前与儿童期砷暴露对儿童情绪问题影响的研究较少，且结论尚不统一。**目的** 研究儿童出生前和儿童期尿中砷浓度和情绪问题的关系，为了解砷暴露对儿童生长发育的影响和预防儿童情绪问题提供科学依据。**材料与方法** 选取射阳小型出生队列中389对孕妇儿童作为研究对象，采用电感耦合等离子体质谱法（inductively coupled plasma mass spectrometry，ICP-MS）检测孕妇和6岁儿童尿中的砷浓

度。根据孕妇和儿童尿中砷的中位浓度，识别儿童出生前后砷暴露的不同趋势分组。在儿童随访时，使用儿童行为量表（Child Behavior Checklist，CBCL）评估儿童的神经行为问题，根据量表的不同维度得分评估儿童多动/注意力不集中、焦虑抑郁情绪问题等多维度神经行为。使用广义线性模型探究孕妇和儿童尿中砷浓度以及砷暴露趋势分组与儿童行为量表各维度得分的关系。**结果** 孕妇和儿童尿中砷浓度的检出率都为100.00%，砷浓度的中位值分别为22.22、33.86 μg/L。广义线性模型结果发现，在6岁女童中，6岁时的尿砷浓度与焦虑抑郁问题得分呈显著性正相关（β=0.71，95% CI：0.12~1.31，*P*=0.018），而孕妇尿中砷浓度并未发现与儿童行为量表各维度得分的显著性关联。在出生前后砷暴露浓度的趋势分组中，将“持续低”组作为参照组，我们发现“低-高”组（β=3.40，95% CI：−3.60~10.39，*P*=0.341）相较于“持续高”组（β=0.35，95% CI：−5.84~6.54，*P*=0.912）对儿童行为量表总分的影响更为显著，即使不具有统计学意义。**结论** 在本研究的剂量下，儿童高浓度尿砷可能与儿童的焦虑抑郁问题发生相关，并且这种关联存在性别差异，在女童中更为显著。

关键词：砷；出生前后暴露；儿童行为量表；情绪问题

作者简介：戴一鸣，男，博士生，E-mail：20111020031@fudan.edu.cn

通讯作者：周志俊，E-mail：zjzhou@fudan.edu.cn

环境老化对聚苯乙烯纳米塑料与氯丹的联合毒性效应的影响

杜婷婷，余　翔，李　通，吴李君

（安徽大学物质科学与信息技术研究院，安徽 合肥 230601）

摘要：目的 随着塑料污染的日益严重，危害更大的小尺寸纳米塑料正在成为全球关注的一类新兴污染物，其环境行为和生物效应备受关注。由于纳米塑料具有较高的比表面积及较强的疏水性，其会富集和载带污染物进行迁移、扩散，同时也更容易被生物摄取，从而增加对生物体的毒性作用。然而，一旦纳米塑料进入环境，环境老化，这一不可避免的过程，如何影响纳米塑料与污染物的联合毒性效应，目前仍不清楚。因此，本研究考察了环境光老化对聚苯乙烯纳米塑料与氯丹对秀丽隐杆线虫的生长、发育及繁殖的影响。**材料和方法** 将聚苯乙烯（PS）纳米塑料悬浮液置于光反应仪中进行模拟自然老化，制备老化的聚苯乙烯（APS）纳米塑料悬浮液，通过扫描电子显微镜、透射电子显微镜、傅里叶红外光谱、X射线光电子能谱、接触角测量仪及动态光散射仪等表征手段对老化前后纳米塑料的物理化学性质和团聚状态进行表征。以秀丽隐杆线虫为模式生物，对纳米塑料和/或氯丹暴露后的线虫存活率、寿命和生殖腺细胞凋亡进行测定。同时，利用高内涵系统对纳米塑料在线虫的体内分布进行测量。**结果** 纳米塑料经过模拟环境老化后，粒径减小、表面含氧官能团增加、亲水性增加。聚苯乙烯纳米塑料与氯丹共同暴露的条件下线虫的致死率显著上升、寿命显著减少、生殖腺细胞凋亡显著增加，老化前后的聚苯乙烯纳米塑料共暴露组致死率、寿命之间没有显著差异，但随着氯丹浓度的升高，老化后APS与氯丹共同暴露组生殖腺细胞凋亡数量显著高于PS与氯丹共同暴露组。从体内分布结果可以看出APS与氯丹共同暴露组与PS与氯丹共同暴露组体内总量相同，但更容易在线虫后端积累。在所有模拟线虫体内外pH条件下，发现APS与氯丹共存在时，其ζ电位更负，且水合粒径远低于PS与氯丹共存在时。**结论** 环境老化显著增加了聚苯乙烯纳米塑料与氯丹对秀丽隐杆线虫的生殖毒性。老化的聚苯乙烯纳米塑料相比于原始聚苯乙烯纳米塑料具有更好的稳定性，使其更容易在线虫体内发生迁移，从而更容易到达线虫后端，进而增加其对线虫的生殖毒性。本研究为评估真实环境中纳米塑料的生态毒性风险提供理论依据。

关键词：纳米塑料；氯丹；联合毒性；秀丽隐杆线虫；环境老化

通讯作者：杜婷婷，E-mail：dutingting@ahu.edu.cn

交通污染对人体外周血基因组甲基化、转录组、蛋白质组、代谢组的影响研究

杜喜浩，张庆丽，诸心蕾，姜宜萱，蔡 婧，陈仁杰，阚海东
（复旦大学公共卫生学院）

摘要：目的 交通污染暴露会引起心血管疾病的死亡率或发病率的升高。然而，有关交通污染对人体健康影响的作用机制尚不清楚。本研究采用高通量检测技术，系统性的分析交通污染急性暴露对人体外周血基因组甲基化、外泌体转录组、蛋白质组以及代谢组的影响，并识别潜在生物标志物以及通路。**方法** 本研究采用随机交叉对照设计，志愿者以随机顺序先后暴露于交通污染较重的路口以及远离交通污染的公园，两次暴露实验的洗脱期为至少14天，每次暴露活动合计4小时。暴露结束后1小时内，采集志愿者外周血，进行基因组甲基化、外泌体转录组、蛋白质组和代谢组检测。使用OPLS-DA探索交通污染暴露所致两组之间的总体差异；采用线性混合效应模型（linear mixed-effect，LME）筛选两组之间差异分子，接着对所筛选到的各组学差异分子，应用Ingenuity pathway analysis（IPA）软件进行通路富集分析，从而探索交通污染暴露对机体通路变化的影响。**结果** 合计56名志愿者完成了两次暴露实验，马路组超细颗粒物、黑炭、二氧化氮以及一氧化碳的平均浓度分别约为公园组的2~4倍，交通污染暴露引起各组学中数千种物质出现显著性改变，合计筛选到3703个差异分子（FDR<0.05）。具体结果如下：（1）交通污染对人体外周血基因组DNA甲基化影响：交通污染急性暴露导致68个CpG位点甲基化水平的显著性变化，其中17个CpG位点位于基因启动子，23个CpG位点位于基因体区域，28个CpG位点位于基因其它区域。差异CpG位点所注释到的基因主要与免疫应答、炎性反应以及心血管相关信号等通路紊乱有关。（2）交通污染对人体外周血外泌体转录组影响：OPLS-DA分析结果显示，马路组与公园组样本出现明显分离，交通污染急性暴露合计引起3449个外泌体mRNA显著改变，与公园组相比，马路组中2508个外泌体mRNA显著性升高，941个外泌体mRNA显著性降低。交通污染导致生长因子信号通路的紊乱，包括生长激素信号、血小板衍生生长因子信号等。（3）交通污染对人体外周血蛋白质组影响：交通污染合计引起58个蛋白质出现显著性改变，马路组中36个蛋白质明显升高，22个蛋白质显著降低。交通污染急性暴露引起多个心血管代谢病相关蛋白变化，比如，与公园组相比，马路组髓过氧化物酶升高7.35%（95% CI：3.39%，11.47%），C反应蛋白升高13.84%（95%CI：10.13%，17.67%）。通路富集分析结果显示，这些差异蛋白质主要与急性期反应、免疫应答、凝血与补体激活等通路有关。（4）交通污染对人体外周血代谢组影响：交通污染暴露后，合计筛选到128个差异代谢物。与公园组相比，马路组中93个代谢物明显升高，35个代谢物明显降低。这些代谢物主要与氨基酸代谢、葡萄糖代谢以及脂肪酸代谢有关。**结论** 交通污染暴露引起了志愿者外周血不同组学分子的显著性改变，包括DNA甲基化、外泌体mRNA、蛋白质以及代谢物的改变，这些差异分子与免疫应答、炎性反应、心血管相关信号等通路的关联最为密切。本研究为揭示交通急性污染的可能作用机制提供了支持性证据，并为未来探索交通污染暴露对人体健康效应的影响及机制研究提供了新的方向和思路。

关键词：交通污染；基因组DNA甲基化；外泌体转录组；蛋白质组；代谢组

作者简介：杜喜浩，E-mail：duxihao@fudan.edu.cn；
通讯作者：阚海东，E-mail：kanh@fudan.edu.cn；陈仁杰，E-mail：chenrenjie@fudan.edu.cn

NLRP3 inflammasome in macrophages is involved in ozone-induced lung injury by mediating mitochondria homeostasis imbalance

Pengwei Ma, Yuan Xue, Xinyi Miao, Xiangbing Kong, Mengyuan Li, Qiao Zhang, Yuefei Jin, Qihong Deng, Feifei Feng
(College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: OBJECTIVE Ambient ozone (O_3) is a very serious air pollutant in summer, which is

closely associated with the morbidity and mortality of respiratory diseases. However, it is still ill-defined on the mechanism of O_3-induced lung diseases. In this study, we investigated the role of NLRP3 inflammasome in lung macrophages in ozone-induced airway hyperresponsiveness (AHR) and pulmonary inflammation in a mouse model. **METHODS** The NLRP3$^{-/-}$, Caspase1$^{-/-}$ knockout mice and C57BL/6 wide type mice (WT) were exposed to filtered air (FA) or O_3 (1 ppm, 3 hours), 24 hours after exposure the AHR and lung inflammation including total white cells, macrophages, and cytokines/chemokines in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), as well as lung inflammatory pathological changes in mice were detected. Then indicators of mitochondrial homeostasis in alveolar macrophages of different mice, such as the number and shape of mitochondria, mitochondrial ROS, mitochondria DNA (mtDNA) copy number, fusion and homeostasis protein of mitochondria, were determined. **RESULTS** Compared with WT mice, the AHR, pulmonary function and lung inflammatory pathological changes were alleviated, the number of white cells and macrophages, the levels of TNF-α, CXCL1 and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in BALF were significantly decreased in NLRP3$^{-/-}$ and Caspase1$^{-/-}$ mice after O_3 exposure. Furthermore, in alveolar macrophages from O_3-exposed NLRP3$^{-/-}$ and Caspase1$^{-/-}$ mice, the number of mitochondria and the expression of mitochondrial ROS were reduced, while mtDNA copy number and the levels of mitochondrial fusion protein OPA1 and mitochondrial homeostasis protein NRF1 were significantly increased compared with those in alveolar macrophages in WT mice after O_3 exposure. **CONCLUSION** NLRP3 inflammasome in macrophages may be involved in ozone-induced airway hyperresponsiveness and pulmonary inflammation by mediating mitochondria homeostasis imbalance.

Key words: Ozone; Airway hyperresponsiveness; Pulmonary inflammation; NLRP3 inflammasome; Mitochondria; Macrophage

Corresponding author: Feifei Feng, E-mail: feifeifeng@zzu.edu.cn

Stereoselectivity of progeny neurodevelopmental abnormalities caused by exposure to flufiprole during pregnancy

高贝贝, 夏彦恺
（南京医科大学公共卫生学院, 南京 211166）

Abstract: OBJECTIVES To identify the higher risk enantiomer of neurodevelopmental abnormalities in offspring due to exposure to flufiprole enantiomers during pregnancy. To illuminate the mechanism of stereoselective difference in the effects of flufiprole enantiomers on neural development in children. **MATERIALS and METHODS** 1. To exploring the relationship between flufiprole enantiomers exposure during pregnancy and neurodevelopmental abnormalities in offspring by a large prospective birth cohort; 2. Based on the actual exposure levels obtained from the population study, the mice model of poisoning was constructed to verify the results of the population study; 3. The differential target subunits and active sites of the flufiprole enantiomer on γ-aminobutyrate receptor (GABAAR) were further located by combining the hippocampal neural stem cells of offspring mice with Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture combing with Activity-based Protein Profilings. **RESULTS** R-flufiprole exposure during pregnancy was positively correlated with neurodevelopmental abnormalities, but S-flufiprole does not have the same effect. Further animal experimental and SILAC-ABPPs results suggest that exposure to flufiprole enantiomers during pregnancy can lead to stereoselective neurodevelopmen-

tal abnormalities in progeny by influence of GABAAR subunits. **CONCLUSIONS** The differential target subunits and active sites of the flufiprole enantiomer on GABAAR caused stereselective neurodevelopmental abnormalities. This study will provide a direct basis for the formulation of early, precise prevention and intervention of flufiprole enantiomers, as well as providing a reference for the management policy of chiral pesticides.

Key words: Flufiprole; Stereoselective; Neurodevelopmental disorder; γ-aminobutyrate receptor; Target identification

通讯作者：夏彦恺，E-mail：yankaixia@njmu.edu.cn

全氟或多氟烷基化合物质激活FXII并引起凝血酶原活化

高雨柔[1,2]，刘 倩[1]，周群芳[1,2]，江桂斌[1,2]

（1. 环境化学与生态毒理学国家重点实验室，中国科学院生态环境研究中心，北京 100085；
2. 中丹学院，中国科学院大学，北京 100049）

摘要：研究背景 全氟或多氟烷基化合物（per-and polyfluoroalkyl substances，PFASs）是一类环境中广泛存在的持久性有机化合物，代表性化合物全氟辛烷磺酸（PFOS）、全氟辛酸（PFOA）及其替代品在人体血液中被频繁检出，因此，PFASs引起的血液毒性效应值得关注。PFASs与血浆关键酶原的相互作用是评估这类化合物血液毒性效应的重要方面。FXII作为凝血级联反应的起始蛋白酶原，是一种接触激活型酶原，易被外源物质活化导致机体凝血反应被过度激活。活体实验表明PFASs暴露会导致血栓标志物表达上升，本实验室前期研究也表明此类化合物能够通过结合FXII从而激活血管舒缓素-激肽系统，然而当前针对PFASs引起凝血功能障碍的分子机制尚不明确。**目的** 本研究旨在比较探究PFOS、PFOA及其4种替代品，包括：6:2氯代多氟醚基磺酸盐（6:2 Cl-PFESA）、六氟环氧丙烷二聚酸（HFPO-DA）、六氟环氧丙烷三聚酸（HFPO-TA）与六氟环氧丙烷四聚酸（HFPO-TeA），与FXII之间的相互作用及其在体外引起凝血酶原剪切激活的能力。**材料和方法** （1）分子对接和动力学模拟：采用Gaussian 16软件包分析FXII与6种PFASs之间的相互作用模式，并以库仑力和兰纳-琼斯势加和量化评估分子间相互作用力；（2）将人血浆暴露于待测化合物，在37℃条件下孵育后，使用蛋白质免疫印迹法检测体系中凝血酶原的活化。**结果** （1）柔性分子对接和动力学模拟结果表明，6种PFASs均可与FXII结合，且亲和力大小顺序为PFOS > 6:2 Cl-PFESA，PFOA > HFPO-TeA > HFPO-TA > HFPO-DA；（2）PFOS与FXII模拟结合位点的关键残基为Phe-377，Arg-413，His-488，Gln-489，Gly-542，Ser-544，Trp-567，Gly-568；（3）蛋白质免疫印迹实验表明6种PFASs均可引起凝血酶原剪切激活。**结论** 本研究表明PFASs具有结合激活FXII从而导致凝血酶原剪切激活的能力，该研究发现为这类化合物干扰凝血功能的分子机制解析提供了毒理学证据。

关键词：PFASs；FXII；凝血酶原；血栓

通讯作者：刘 倩，E-mail：qianl@rcees.ac.cn

基于转录组学初步探讨PM2.5长期暴露致青春期雌性大鼠甲状腺功能改变的潜在作用机制

韩小凤[1]，吴卫东[1]，姚三巧[1]，邓律飞[1]，苏亚光[1]，李海斌[1]，张丰泉[2]，许 洁[2]，姜 静[2]，董新文[1]

（1. 新乡医学院公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室；2. 新乡医学院公共卫生学院公共卫生与预防医学实验教学中心）

摘要：目的 构建暴露于PM2.5环境下甲状腺组织损伤模型，利用转录组学探究甲状腺疾病机制，发现

暴露在PM2.5环境中导致甲状腺疾病的生物标志物。**方法** 选取SPF级SD雌性大鼠32只，平均体重60±20 g，随机分成4组（*n*=8）：对照组（C，0 mg/kg ）、PM2.5中剂量组（M，10 mg/kg）、高剂量组（H，20 mg/kg）和恢复组（R，20 mg/kg，暴露35天，后14天不暴露），剂量组隔两天暴露一次PM2.5，49天后采用HE染色分析甲状腺组织病理变化，ELISA测定血清、血浆和尿液中甲状腺激素和尿碘水平。提取甲状腺RNA测序，获得转录组数据，对大鼠甲状腺中存在的差异基因进行筛选分析，包括GO功能注释，KEGG富集分析。**结果** 发现经过PM2.5处理的大鼠甲状腺滤泡腔大小增加，滤泡上皮细胞数量减少。血清三碘甲状腺原氨酸、甲状腺素、促甲状腺激素水平明显降低。促甲状腺激素受体和甲状腺过氧化物酶水平显著降低（$P<0.05$），促甲状腺激素释放激素受体和促甲状腺激素β水平均升高（$P<0.05$）。通过转录组学数据分析，共检测到暴露组和对照组差异基因202个（66个上调，136个下调）；恢复组和对照组276个差异基因（168个上调，108个下调）；恢复组和暴露组137个差异基因（101个上调，36个下调）。GO功能注释与分析结果显示，差异基因主要参与了趋化因子受体结合、类固醇激素受体活性、蛋白结合、氧化磷酸化等分子功能；细胞成分主要为内质网膜组成成分、横纹肌和肌纤维等；生物过程主要为T细胞分化、对原生动物的防御反应、生热作用等。KEGG富集分析差异基因主要参与IL-17信号通路、FoxO信号通路、TNF信号通路、CGMP-PKG信号通路、PPAR信号通路等和机体免疫、炎症反应、氧化应激、能量代谢、细胞凋亡有关的通路上。**结论** 长期暴露于PM2.5会影响大鼠甲状腺激素及其受体水平，从而扰乱甲状腺激素稳态，引起甲状腺病变。转录组学技术检测到不同比较组之间存在差异基因，其中IL-17信号通路和FoxO信号通路可能在暴露于PM2.5环境下所致甲状腺损伤中发挥作用。

关键词： PM2.5；甲状腺；大鼠；转录组学

基金项目：国家自然科学基金-河南省联合基金培育项目资助（U2004102）；国家自然科学基金-河南省联合基金重点项目资助（U1904209）；河南省自然科学基金青年基金项目（202300410312）资助

通讯作者：董新文，E-mail：dongxinwen118@yeah.net

盐析辅助分散液液微萃取联合气相色谱法检测尿液中一溴一氯乙酰胺

郝亚梅，周　闰，杨　丽，黄春华，陈丽梅，朱晶颖，朱　迅，王倩倩，刘文卫，丁新良
〔无锡市疾病预防控制中心（南京医科大学附属无锡疾病预防控制中心），无锡　214023〕

摘要：目的 研究表明，一溴一氯乙酰胺（bromochloroacetamide，BCAcAm）在不同国家和地区饮用水中广泛存在，且具有较强的细胞毒性和遗传毒性，但目前尚无血液、尿液等生物样本中BCAcAm相关检测方法，无法准确评估其人群内暴露水平。因此，本研究采用盐析辅助分散液液微萃取（salting-out assisted dispersive liquid-liquid microextraction，SA-DLLME）联合气相色谱法（gas chromatography，GC）建立了一种快速、可靠检测尿液中BCAcAm的方法，将为BCAcAm人群健康风险评估提供技术支撑。**方法** 本研究利用单因素实验对SA-DLLME萃取条件进行筛选和优化。通过比较甲基叔丁基醚（methyl tert butyl ether，MTBE）、乙酸乙酯、二氯甲烷和正己烷的萃取效率确定萃取剂，通过比较甲醇、乙腈和丙酮的分散效果确定分散剂，并对最终选择的萃取剂用量（100，110，120和130 μL）和分散剂用量（0，1，3，5，10和15 μL）进行优化。通过加入氯化钠（NaCl）减少溶剂分层中的乳化现象，提高萃取效率，并对其添加量（0，10，20，30，40和50 mg）进行优化。在200 μL尿液样品中直接加入萃取剂、分散剂和NaCl，通过涡旋使其分散均匀，并对涡旋时间（1，3，5，7和10 min）进行优化。以10000 r/min离心4 min，完成后将离心管静置一段时间，并对静置时间（0，1，3，5和7 min）进行优化。静置完成后立即取上层有机相通过气相色谱仪对目标化合物进行分离和测定。**结果** 通过实验条件优化，确定选择MTBE作为萃取剂、用量为120 μL，甲醇作为分散剂、用量为5 μL，NaCl添加量为30 mg，涡旋时间和静置时间均为5 min。在此条件下，得到方法线性范围为1.0～150.0 μg/L，标准曲线为 $y=93.05x-14.97$、相关系数 $r>0.999$，检出限为0.167 μg/L，定量限为0.5 μg/L，回收率84.20%～92.17%，日内精密度和日间精密度分别为1.95%～4.29%和5.54%～9.82%。在最

优实验条件下，测定了以BCAcAm的环境污染水平6.15 μg/L饮水染毒63天的小鼠尿液样品，所检出的平均浓度为4.705 μg/L，表明所建立的SA-DLLME-GC方法可以快速、可靠地检测尿液中的BCAcAm。**结论** 本研究基于盐析辅助分散液液微萃取联合气相色谱法建立了尿液中BCAcAm的检测方法，该方法简便、灵敏、重复性好，可满足尿液中BCAcAm的快速测定。

关键词：一溴一氯乙酰胺；尿液；气相色谱；分散液液微萃取

通讯作者：丁新良，E-mail：dingxinliang@njmu.edu.cn

《两栖动物变态发育试验》(OECD 231)的改进研究

何益得[1]，周 威[1]，秦占芬[2,3]

（1. 南京工业大学环境科学与工程学院，南京 211816；2. 中国科学院生态环境研究中心环境化学与生态毒理学国家重点实验室，北京 100085；3. 中国科学院大学，北京 100049）

摘要：目的 目前，筛查甲状腺干扰物(TDCs)的两栖动物变态发育试验(AMA)(OECD 231)存在暴露时间长(21天)、假阳性率高且特异性低等缺陷，因此需要建立能够快速准确筛选TDCs的新方法。在前期工作的基础上本课题组开发出了T3诱导非洲爪蛙变态试验方法(TiXMA)以快速准确筛查TDCs。**材料与方法** 使用甲状腺激素(TH)合成抑制剂甲巯咪唑(MMI)和高氯酸钠(SP)来验证其准确性及敏感性：选取形态大小一致的NF52期非洲爪蛙蝌蚪，随机分配至装有4L去氯水的玻璃缸中，设置处理组为对照组，T3组(1 nmol/L)，T3与MMI共暴露组(0、5、25、125 mg/L)，T3与SP共暴露组(0、20、100、500 mg/L)，每组三个平行。暴露时的光照条件为明暗光照周期12h/12h，暴露期间水温保持在22±1℃，每24 h换一次水。暴露24h后检测肠中TH响应基因的表达，以确定测试化学品是否与甲状腺激素受体或甲状腺激素(TH)信号中其他因子相互作用干扰TH信号通路；暴露96h后检测体重、形态学终点(包括头部面积(HA)、嘴宽(MW)、单侧脑宽/脑长(ULBW/BL)、后肢长/吻泄长(HLL/SVL)和体重(BW))、脑中基因tshb以及甲状腺细胞组织学。**结果** 从形态学上分析，MMI和SP对T3诱导发育有显著性抑制作用；当T3和MMI/SP共同暴露时，与单独T3暴露相比，MMI/SP暴露显著上调了tshb基因的表达，促进作用显著，可能是因为TSH的分泌受到了TH的反馈调节；甲状腺细胞组织学结果显示，与单独T3暴露相比，MMI/SP暴露显著缩小了甲状腺组织胶质面积，抑制作用显著。**结论** 1 nmol/L浓度的T3能够诱导非洲爪蟾蝌蚪变态，TH拮抗剂甲巯咪唑(MMI)和高氯酸钠(SP)能够在个体形态水平和分子水平抑制T3诱导的变态发育。本模型选取的分子指标及形态学指标可以准确评估污染物的TH信号干扰作用，且能够大大缩短了药物暴露时间，使暴露时间从21天缩短到4天，是对OECD 231测试方法的优化。

通讯作者：何益得，E-mail：heyd@njtech.edu.cn；秦占芬，E-mail：qinzhanfen@rcees.ac.cn

基于组合指数及剂量减少指数评估重金属二元混合毒性作用及组分的贡献

贺梦颖，莫凌云

（桂林理工大学环境科学与工程学院，广西 桂林 541004）

摘要：目前，重金属污染已成为全球性的环境问题，对人类健康造成极大的威胁，引起了世界的广泛关注。20世纪60年代至今，世界各地已频繁爆发重金属污染事件，如日本近海湾发生的绿色牡蛎事件、水俣病(汞污染)和骨痛病(镉污染)等都是由重金属污染引起的。众所周知，实际环境体系中污染物的低剂量混合暴露是一种普遍现象，不同化合物组成的化学混合物产生的累积与毒性相互作用具有潜在的生态环境与健康风险。利用单个化合物组分的浓度-时间-效应信息评估或预测不同浓度组成的混合物的毒性效应，是目前化学混合物毒性研究的常用方法。

目前，较为常用的混合物联合毒性的定量评估方法主要有相互作用模型（interaction，IAI）、浓度加和（concentration addition，CA）模型、独立作用（independent addition，IA）模型、两阶段预测（two stage prediction，TSP）模型等，其中CA模型和IA模型较为常用。一般认为CA适用于组分的作用模式相似的混合物，IA则适用于组分的作用模式相异的混合物；然而，这2种模型也存在不足：1、不能直观定量地表征混合物毒性相互作用；2、传统模型存在依赖组分作用模式，在现实环境中由于污染物的作用模式的不确定性，从而无法准确选择CA和IA模型进行预测，如何选择相异标准这也是目前的难点。

Chou 和Talaly提出基于以半数效应方程为基础组合指数（Combination index，CI），CI方法不依赖于混合物组分作用模式，且只需精确测定两个实验点就能得出浓度-效应曲线的完整信息。不同浓度水平下的CI可定量地表达整条混合物射线毒性相互作用的变化规律，并应用剂量减少指数（DRI）进一步分析组分对相互作用的贡献大小。本文以蛋白核小球藻为指示生物，研究Cd^{2+}、Cr^{6+}和Pb^{2+}两两混合的混合物毒性作用，采用CI及DRI评估二元混合物的毒性相互作用及组分贡献大小。结果表明：Cd^{2+}的浓度占比逐渐减小且浓度水平较高时，其与Cr^{6+}混合逐渐呈现拮抗作用，而与Pb^{2+}混合逐渐呈现协同作用。Cd^{2+}与Pb^{2+}混合时，Cd^{2+}的浓度占比越大且浓度水平较高时，Cd^{2+}的贡献越大；而Cd^{2+}与Cr^{6+}混合时，Cr^{6+}的浓度占比越大且浓度水平较低时，Cr^{6+}的贡献越大。

关键词：组合指数；组分贡献大小；剂量减少指数；重金属；蛋白核小球藻

基金项目：国家自然科学基金（22266012）

通讯作者：莫凌云，E-mail：molingyun123@126.com

基于蛋白质组学分析金属混合暴露对人脐带间充质干细胞功能的影响

胡玉鑫，何佳霖，马　悦，白冬玲，娄　彬，徐苑苑

（中国医科大学公共卫生学院，辽宁 沈阳　110122）

摘要：目的　分析多种金属混合暴露对人脐带间充质干细胞（MSCs）功能的影响，为间充质干细胞生物学有效性的质量控制提供参考。**方法**　以辽宁省沈阳市28～35岁、当地连续居住至少两年的单胎妊娠孕产妇新生儿脐带组织为研究对象。利用电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）检测34例组织中10种（Be、V、Cr、Mn、Co、As、Se、Sr、Cd和Ba）金属含量。根据每种金属最小风险水平（MRL）及组织内暴露剂量计算金属混合暴露潜在风险指数（RI），并根据RI值小于第一四分位数（Q1）和大于第三四分位数（Q3）划分为低暴露组和高暴露组，从两组样本中分离培养脐带MSCs。细胞传代至第3代后，通过倒置显微镜观察细胞形态、流式细胞仪检测表面标志物，及三向分化法鉴定分化功能。利用TMT法对低、高暴露组细胞进行蛋白质组学检测，通过生物信息学方法对差异表达蛋白功能进行分析。应用全自动毛细管电泳免疫印迹法对差异表达蛋白进行验证。**结果**　新生儿脐带组织中金属含量分别为Be（0.02～7.37 ng/g）、V（0.01～5.30 ng/g）、Cr（9.57～1114.55 ng/g）、Mn（0.03～183.39 ng/g）、Co（0.01～19.76 ng/g）、As（0.01～262.08 ng/g）、Se（0.05～154.63 ng/g）、Sr（0.02～45.77 ng/g）、Cd（0.01～381.86 ng/g）和Ba（0.3～325.07 ng/g）。对RI值进行Shapiro-Wilk正态性检验结果显示，妊娠期金属混合暴露的风险水平呈正态分布（P> 0.05）。生物学特性鉴定结果显示，分离培养的细胞呈成纤维状贴壁生长；细胞表面高表达CD73、CD90和CD105，低表达CD45和CD34；具有向脂肪细胞、成骨细胞以及软骨细胞分化潜能，符合MSCs标准。蛋白质组学检测结果表明低、高暴露组细胞存在69个蛋白差异表达。GO富集分析显示，该蛋白集合参与细胞增殖信号通路、羧酸生物合成、结构分子活性调控等生物学过程；KEGG信号通路分析显示，该蛋白集合主要富集于药物代谢P450信号通路、癌症相关信号通路、MSCs免疫调节功能相关信号通路；进一步通过GSEA分析结果显示，与MSCs免疫调节功能相关的补体系统信号通路（NOM p = 0，FDR q = 0）、粘附分子信号通路（NOM p = 0，FDR q = 0.006）以及花生四烯酸信号通路（NOM p = 0.005，FDR q = 0.050）发生显著改变。免疫印迹法分析结果显示，与低暴露组相比，高暴露组补体因子H（CFH）表达显著减低（P<0.05）、环氧合酶2

(COX2)表达显著升高(P<0.05)。**结论** 金属混合暴露可能影响脐带MSCs免疫调节功能,降低其生物学有效性。

关键词: 金属混合暴露; 蛋白质组学分析; 脐带间充质干细胞; 免疫调节功能

基金项目: 国家自然科学基金(82022063); 国家自然科学基金(81573187)

通讯作者: 徐苑苑,E-mail: yyxu@cmu.edu.cn

3种农药及其混合物对秀丽线虫致死和亚致死终点联合毒性研究

黄 朋[1,2], 刘树深[1,2]

(1. 长江水环境教育部重点实验室,同济大学, 上海 200092; 2. 污染控制与资源化国家重点实验室,同济大学, 上海 200092)

摘要: 农药等有毒化学品对环境的污染已成为一个全球性问题。涕灭威(ALD)、甲胺磷(MET)、三唑磷(TAP)及其混合物经常在地表水中被检测到,而关于它们的联合毒性却鲜有报道。因此,有必要开展农药对受试生物的混合物联合毒性研究,为混合物生态风险评估提供帮助。此外,生物的不同毒性终点(致死和亚致死)对毒性的表征至关重要。然而,对于混合物中致死终点和亚致死终点(如寿命和繁殖)之间的关系还没有系统的研究。而在生态风险评估中选取物种毒性终点的不同可能导致风险评估结果的不同,但同时进行多个毒性终点的研究将耗费更多的成本。那么同一受试生物不同毒性终点之间有什么内在关系,需要我们进一步去探讨,以更好地服务于生态风险评估。

在本研究中,我们以上述3种农药作为环境污染物研究对象,采用直接均分射线法(EquRay)法和均匀设计射线法(UD-ray)分别进行二元和三元混合物设计。以与人体基因相似性高达70%的秀丽线虫作为受试生物,通过线虫致死微板毒性分析法和线虫寿命和繁殖抑制微板毒性分析法分别进行单一农药及其二元和三元致死毒性、寿命和繁殖抑制毒性实验。采用组合指数法对混合物毒性相互作用进行评估。结果表明,3种农药及其二元和三元混合物对线虫致死以及寿命和繁殖具有显著的剂量-效应关系。对于寿命和繁殖毒性终点来说,当线虫暴露于一定致死效应混合物浓度下侥幸存活的线虫寿命和繁殖将受到较大影响,并且这种影响在低于致死剂量一个数量级时都可能发生。通过3个终点的毒性相互作用研究我们发现混合污染物对秀丽线虫毒性相互作用具有混合物和混合物各组分浓度比依赖现象。且同一混合物体系对不同终点表现出的毒性相互作用具有显著性差异。本研究通过对秀丽线虫3个终点进行多个混合物体系联合毒性研究获取的毒性数据将为农药混合物环境风险评估提供基础数据支撑。

关键词: 直接均分射线设计; 均匀设计射线; 亚致死终点; 混合物毒性评估; 组合指数

通讯作者: 刘树深,E-mail: ssliuhl@263.net

组蛋白修饰在低剂量全氟化合物干扰睾丸类固醇激素合成中的作用机制研究

韩薛婧娉, Md Nur Alam, 黄清育

(中国科学院城市环境研究所, 厦门 361021)

摘要: 目的 全氟辛酸(PFOA)和全氟辛烷磺酸(PFOS)是两种环境内分泌干扰物,可通过影响睾丸类固醇激素合成相关基因的表达干扰激素合成,但其影响基因表达的机制尚不明晰。组蛋白修饰可调控基因的转录表达,并与类固醇激素合成密切相关。因此,本研究通过探索组蛋白修饰在PFOA/PFOS干扰睾丸类固醇激素合成中的作用,旨在揭示低剂量PFOA/PFOS暴露导致雄性生殖内分泌紊乱的表观遗传机制。**材料与方法** 雄性大鼠分别暴露于0.015和0.15 mg/kg/d的PFOA和PFOS两个月。采用LC-MS/MS测定大鼠血清、睾丸中的PFOA和PFOS含量;放射免疫法测定血清中的类固醇激素含量。RT-PCR和West-

ern blot分析大鼠睾丸中类固醇激素合成相关基因的表达水平。利用基于LC-MS的蛋白质组学技术分析大鼠睾丸的组蛋白修饰谱，并利用Western blot对组蛋白修饰变化进行验证。染色质免疫沉淀（ChIP）-PCR法分析类固醇激素合成相关基因启动子区域的组蛋白修饰水平。**结果** 暴露后，大鼠血清、睾丸中的PFOA和PFOS浓度均显著升高，表明PFOA/PFOS可穿透血睾屏障并在睾丸中蓄积。此外，低剂量PFOA/PFOS暴露提高了血清中孕酮、睾酮、雌二醇的水平。PFOA暴露后，睾丸中StAR上调，而CYP11A1、3β-HSD、CYP17A1和17β-HSD均下调。8种组蛋白修饰水平均显著降低，Star启动子区域的组蛋白H3K9me1/3水平也下降。PFOS暴露后，睾丸中StAR、CYP11A1、3β-HSD上调，而CYP17A1和17β-HSD下调。Cyp11a1、Hsd3b基因启动子上的H3K18ac、H3K9ac水平均升高。**结论** 低剂量PFOA暴露可通过抑制睾丸组蛋白H3K9甲基化，激活激素合成限速基因Star的表达，最终导致类固醇激素水平升高；而PFOS则通过增强H3K9和H3K18的乙酰化，激活Cyp11a1、Hsd3b基因表达，从而促进睾丸类固醇激素合成。本研究从组蛋白修饰层面揭示了低剂量全氟化合物暴露干扰雄性生殖内分泌的表观遗传机制。

关键词：全氟化合物；低剂量暴露；睾丸类固醇激素合成；组蛋白修饰；表观遗传机制

通讯作者：黄清育，E-mail：qyhuang@iue.ac.cn

健康大学生短期大气颗粒物暴露诱导痰免疫细胞类型和功能分析

李　娟，安　珍，宋　杰，吴　辉，吴卫东
（新乡医学院）

摘要：目的 探究大气颗粒物短期暴露对健康人群呼吸道免疫细胞类型和功能的影响。**材料和方法** 基于开展的健康大学生固定组群研究，从中选取3名大学生，研究空气污染对健康成人痰液中免疫细胞的影响。所有志愿者均为非吸烟者，无其他疾病。收集3名志愿者在不同空气污染时期（2020年9月和2021年4月，即高污染时期和低污染时期）的痰液，共获得六份样本，高污染时间三份样本为实验组，低污染时期样本为对照组。按照课题组前期实验方法提取痰液中细胞，质检合格后，按照要求制成单细胞悬液，并构建测序文库。**结果** 新乡市采样期间2020年12月PM2.5和PM10浓度范围分别为17～152 μg/m^3、38～289 μg/m^3，均值分为86 μg/m^3、135 μg/m^3；2021年4月污染26~117 μg/m^3、58~180 μg/m^3，均值分别为48 μg/m^3、102 μg/m^3。因此，两个采样时段大气污染物特别是颗粒物污染水平呈现出冬季污染高，春季污染水平下降的趋势。痰液中获取36626个细胞进行后续分析，巨噬细胞均为主要细胞类型，占比例均可达90%以上，其次为T细胞、DC细胞、B细胞和NK细胞，后两者最少。巨噬细胞可进一步分为14个细胞亚群，且巨噬细胞差异基因主要富集在趋化因子信号通路、TNF信号通路、MAPK信号通路、Toll样受体信号转导通路、Th17细胞分化、IL-17信号通路、铁死亡通路和NF-κB信号通路等。T细胞分为3个亚群，T1亚群主要富集在氧化还原反应；T2亚群涉及NOD样受体通路、Th1和Th2细胞分化、Th17细胞分化、趋化因子信号通路；T3亚群差异基因主要富集在DNA复制、核苷酸剪切修复、细胞衰老等。DC细胞的2个亚群中DC1亚群差异基因富集在氧化磷酸化、抗原呈递过程、内质网蛋白加工处理等，DC2亚群细胞主要涉及蛋白泛素化降解、1L-17信号通路、趋化因子通路和NF-κB信号通路。**结论** 大气颗粒物短期暴露可以影响健康大学生痰液免疫细胞类型组成及功能

关键字：大气颗粒物；诱导谈；巨噬细胞；T细胞；DC细胞

通讯作者：李　娟，E-mail：lijuanxxmu@126.com

氧化应激在微囊藻毒素暴露对大鼠肝脏细胞凋亡中的作用研究

李尚春，王丽梅，王艳芳，徐 涵，花枝锦，王鹏飞，张青碧
（西南医科大学，公共卫生学院）

摘要：目的 微囊藻毒素（Microcystins，MCs）是由富营养化水体产生的一种蓝藻毒素，具有很强的肝毒性。然而，目前MCs诱导肝毒性的机制尚未完全阐明。本研究旨在建立MCs染毒Wistar大鼠模型，探讨氧化应激在MCs暴露对大鼠肝脏细胞凋亡中作用及调控机制。**材料和方法** 将健康雄性Wistar大鼠随机分为生理盐水组、低剂量组（25 μg MC-LR/kg组）、中剂量组（50 μg MC-LR/kg 组）、高剂量组（75 μg MC-LR/kg组），尾静脉注射24 h后，检测大鼠肝脏组织病理改变，氧化防御系统影响以及细胞凋亡相关基因的转录水平和蛋白表达水平。 **结果** （1）MC-LR暴露可对大鼠肝脏组织造成不同程度的病理损伤，主要表现为肝细胞脂肪变性，炎症性细胞浸润，肝细胞坏死，胞核碎裂，亦可见片状出血，红细胞溢出，并呈现剂量依赖效应。（2）与对照组相比，肝脏组织中SOD的活性在高剂量组显著降低，其余各组无显著变化；高剂量组GPX活性显著升高，其余各组无显著变化；与对照组相比，高剂量组中MDA和GSH含量显著增加，其余各组无显著变化；各MC-LR剂量组中CAT、GST和GR酶的活性无显著性变化。（3）基因表达结果：与对照组相比，大鼠肝脏组织中p53，apaf1和bax的mRNA表达水平在中剂量组或高剂量组中显著上调，而低剂量组无明显差异；低剂量组中cyt-c和caspase9 mRNA显著上调，其余各组无显著差异；中剂量组或高剂量组caspase6的mRNA表达水平明显下调，而低剂量组无明显差异；低剂量组或中剂量组caspase7和bcl-2的mRNA表达水平显著上调，而在高剂量组无明显差异；caspase3和parp的mRNA表达水平在各MC-LR剂量组中均明显下调；caspase8的转录水平在各剂量组中均无明显变化。（4）蛋白表达结果：与对照组相比，BAX、p53、Cleaved-caspase9、Caspase3和Cleaved-PARP表达水平在各剂量组中均显著上调；在低剂量或中剂量组中Cleaved-caspase3蛋白表达水平显著上调，而高剂量组无明显差异。中剂量组或高剂量组Bcl-2蛋白表达水平显著下调。各剂量组中Caspase9蛋白表达水平无明显差异。**结论** MC-LR暴露可引起大鼠肝脏组织出现不同程度的病理损伤，且呈现剂量依赖性；MC-LR暴露后可破坏大鼠肝脏组织的抗氧化系统平衡，诱导氧化应激；凋亡参与了MC-LR诱导大鼠肝脏损伤的调控。本研究将为微囊藻毒素暴露对人类肝脏毒性危害的预防和治疗提供理论依据。

关键词：微囊藻毒素；氧化应激；细胞凋亡；肝脏

通讯作者：张青碧，E-mail：qingbizhang@126.com

磷酸三苯酯对雄鼠致肥胖作用的影响及其机制

李天兰，何昊祺，杜博海，李 杏，李 丽，石 明
（广东医科大学公共卫生学院，广东 东莞 523808）

摘要：目的 探究磷酸三苯酯（triphenyl phosphate，TPHP）对雄鼠致肥胖作用的影响及其机制。 **方法** 4周龄大的BALB/c小鼠分为对照组（玉米油）、低剂量组（1 mg/kg BW）、中剂量组（10 mg/kg BW）和高剂量组（150 mg/kg BW），TPHP灌胃处理60天后采血，进行血常规和血生化分析；称取腹股沟脂肪重量，计算脂肪组织脏器系数；采用HE染色评估小鼠脂肪组织脂肪细胞数量和大小变化；应用qRT-PCR定量分析成脂分化通路、甘油三酯合成和分解相关酶、脂肪组织分泌的脂肪因子和炎症因子等基因表达情况。体外培养并诱导3T3-L1前脂肪细胞成脂分化，同时用TPHP（0，0.1，1，10 μmol·L^{-1}）处理3T3-L1前脂肪细胞10天。采用CCK-8法检测TPHP对3T3-L1前脂肪细胞活力的影响，采用油红O染色法检测3T3-L1前脂肪细胞脂滴的生成情况，采用GPO-PAP酶法检测3T3-L1前脂肪细胞甘油三酯（Triglyceride，TG）的含量，采用Western Blot和qRT-PCR法检测成脂分化通路蛋白PPARγ、C/EBP和Fabp4的表达情况。**结果** 1）雄性小鼠的脂肪组织脏器系数各剂量组与对照组相比均有增加（$P<0.05$），而雌性雄鼠各剂量组之间没

有明显差异。2）血生化分析显示，高剂量组的雄性小鼠的血清总胆固醇与高密度脂蛋白与对照组相比明显升高（$P<0.05$）。3）脂肪组织HE染色显示中高剂量组的雄鼠脂肪细胞体积更大，数量更少，与对照组有明显差异。4）qRT-PCR结果显示成脂分化通路基因和甘油三酯合成相关基因的mRNA表达水平表现出不同程度的上调。综上，TPHP可以引起雄鼠体内脂质的积累，导致小鼠肥胖的发生。5）体外实验CCK-8检测结果显示，0 μmol·L^{-1} ~ 10 μmol·L^{-1}的TPHP对3T3-L1前脂肪细胞处理24h和10天后的活力均没有影响。6）油红O染色、TG含量测定以及成脂分化相关基因检测结果显示，与对照组相比，不同剂量的TPHP处理3T3-L1前脂肪细胞10天后，细胞内脂滴、TG生成增加，成脂分化相关基因PPARγ、Fabp4的蛋白和mRNA表达水平也表现出不同程度的上调。体外实验证明TPHP可以促进3T3-L1前脂肪细胞的成脂分化以及脂质的积累。**结论** TPHP可以通过上调成脂分化相关通路基因和合成甘油三酯的相关酶的表达，以增加雄鼠体内脂质的积累，促进肥胖的发生。

关键词：磷酸三苯酯；3T3-L1前脂肪细胞；肥胖；成脂分化

基金项目：国家自然科学基金（82103891）；广东省自然科学基（2020A1515010521）；广东医科大学学科建设项目（4SG22003G）

通讯作者：石　明，E-mail：shiming@gdmu.edu.cn

NFE2L1通过影响*SNAIL1*基因表达参与砷致人支气管上皮细胞恶性转化

李永芳，孙　汝，房　昕，阮益辉，胡玉鑫，王惠惠，皮静波，徐苑苑

（中国医科大学公共卫生学院，辽宁 沈阳　110122）

摘要：目的 砷是国际癌症中心确认的I类致癌物，长期无机砷暴露能够增加肺癌的发病风险。核转录因子E2相关因子1（NFE2L1）是应激反应枢纽分子，可能在癌症发生中具有重要作用。本研究旨在利用体外恶性转化细胞模型探讨NFE2L1在无机砷致肺癌发生中的潜在作用和可能机制。**材料和方法** 人支气管上皮细胞（BEAS-2B）暴露于0.1 μmol·L^{-1}亚砷酸钠36周，利用细胞增殖实验、软琼脂克隆形成实验、划痕愈合实验和裸鼠荷瘤评估细胞是否发生恶性转化；利用RT-qPCR和Western Blot检测目标基因和蛋白表达；通过慢病毒转染构建长型NFE2L1稳定敲除（*NFE2L1-L-KD*）或过表达（*NFE2L1-L-OE*）细胞，结合实验目的给予相应处理。**结果** 砷暴露36周BEAS-2B细胞显现恶性转化表型，表现为细胞增殖能力增强，软琼脂克隆形成能力增强，划痕愈合能力增强以及裸鼠荷瘤能力增强。显微镜下观察，恶转细胞丢失铺路石形状、呈梭型分布，为典型上皮-间充质转化（EMT）形态特征；EMT核心调控因子*SNAIL1*的mRNA水平升高，*E-CADHERIN*的mRNA水平下降（$P<0.05$）；进一步评估恶性转化过程中*SNAIL1*和*E-CADHERIN*的mRNA水平，发现*SNAIL1*在恶性转化过程中逐渐升高，而*E-CADHERIN*在恶转过程中逐渐下降，提示恶性转化细胞伴随EMT发生。同时，NFE2L1-L的蛋白表达也随着砷暴露时间的延长而逐渐上升，提示NFE2L1-L可能参与恶性转化。利用构建的*NFE2L1*-L-KD细胞和Scramble细胞给予砷暴露36周，发现与Scramble细胞相比，NFE2L1-L-KD细胞软琼脂克隆形成能力下降，划痕愈合能力下降；EMT样细胞形态改善；*SNAIL1*的mRNA表达下降，E-Cadherin的蛋白表达上升（$P<0.05$），提示*NFE2L1-L*敲除抑制了砷诱导的恶性转化及EMT。为了明确NFE2L1促进恶性转化的内在机制，分别在*NFE2L1-L-KD*和*NFE2L1-L-OE*细胞中检测EMT核心分子*SNAIL1*和*E-cadherin*的表达。与Scramble细胞相比，*NFE2L1-L-KD*细胞*SNAIL1*的mRNA表达下降，E-cadherin的蛋白表达上升（$P<0.05$）；相反，NFE2L1-L-OE细胞SNAIL1的mRNA表达升高，E-cadherin的蛋白表达下降（$P<0.05$）。JASPAR数据库预测发现NFE2L1与*SNAIL1*启动子区有潜在结合靶点，为典型ARE序列，提示NFE2L1可能转录调控*SNAIL1*。**结论** NFE2L1可能通过转录调控*SNAIL1*影响EMT，进而参与砷致BEAS-2B细胞恶性转化。

关键词：无机砷；恶性转化；NFE2L1；EMT

基金项目：国家自然科学基金（82022063）；国家自然科学基金（81573187）；国家自然科学基金（81703172）

通讯作者：徐苑苑，E-mail：yyxu@cmu.edu.cn

抗生素及其抗性菌在秀丽线虫诱胖效应中的非靶向代谢组学证据

李 卓，于振洋，尹大强
（同济大学环境科学与工程学院，上海 200092）

摘要：目的 抗生素作为一种新污染物，可从环境介质转移到生物体内积累，甚至通过膳食（如鱼肉、鸡肉等）直接影响人类。流行病学研究表明，抗生素暴露与肥胖呈正相关，而其诱胖机制尚需更系统的研究。同时，环境抗生素密切关联的耐药菌（ARB）也普遍存在于环境样本和人类食物来源中。本研究选用盐酸四环素为代表通过检测代谢相关指标结合非靶向代谢组学方法探讨抗生素及其耐药菌（ARB）及组合通过饮食暴露对秀丽线虫的诱胖效应，并围绕代谢变化探究潜在机理，为抗生素和ARB的风险评估提供进一步的理论支持。**材料与方法** 秀丽线虫在线虫生长培养基（NGM）上20℃培养，采用裂解液获得同步化虫卵。正常食物来源大肠杆菌OP50在LB培养基中37℃培养。同时，载有tetA的大肠杆菌抗性菌株BL21（DE3）即ARB在含有TCH的LB培养基中于37℃培养。本研究暴露方式有三种：（1）线虫喂食OP50暴露于含有TCH的NGM培养基中，标为NBTN。（2）线虫喂食ARB在未添加TCH的NGM培养基上培养，标为RBCN。（3）线虫喂食ARB的同时暴露于含有TCH的NGM培养基，标为RBTN。暴露后均对线虫的体长、体宽与代谢指标进行检测，并进行非靶向代谢组学分析。**结果与讨论** TCH暴露增加秀丽线虫甘油三酯含量，而ARB无显著影响。同时，TCH和ARB组合暴露也增加甘油三酯的含量，但增加水平低于TCH的单独暴露，显示出拮抗作用。脂质代谢结果表明，TCH单独暴露增加线虫GPAT、ATGL、脂肪酶、ACS活性以及FA-CoA和ACA的含量，ARB单独暴露增加GPAT活性以及FA-COA和ACA的含量。然而，TCH和ARB同时暴露与ARB单独暴露刺激效应相似，这表明ARB对秀丽线虫脂肪代谢具有显著影响。值得注意的是，TCH和ARB同时暴露小于ARB单独暴露刺激效应表明TCH和ARB的拮抗作用。ARB对秀丽线虫的影响以及与TCH的拮抗作用都表明细菌及其代谢的变化对宿主代谢的影响。秀丽线虫代谢组学分析结果表明，TCH和ARB均扰乱嘌呤代谢以及胰岛素调控，其与高糖饮食、肥胖和糖尿病等疾病密切相关。此外，TCH和ARB均下调赖氨酸生物合成及其降解，说明它们通过降低脂肪利用率来促进脂肪积累。值得注意的是，ARB单独暴露也影响线虫嘌呤代谢、cAMP信号通路、cGMP−PKG等信号通路。细菌代谢组学分析结果表明，ARB的差异代谢物显著涉及三羧酸循环和脂肪酸代谢，这与线虫代谢组学变化相似。同时，还观察到戊糖和葡萄糖醛酸相互转化、乙醛酸和二羧酸代谢的变化。因此，ARB的代谢变化导致宿主的能量供应发生变化，也部分解释了其诱胖效应以及在秀丽线虫中与TCH的相互作用。**结论** TCH单独暴露表现出诱胖效应。ARB单独暴露并没有显著效应。TCH和ARB联合暴露表现出诱胖效应，也表现出TCH与ARB的拮抗作用。生化指标和非靶向代谢组学分析解释了拮抗作用的潜在机理，也指出氨基酸、羧酸和苯衍生物在肥胖效应中的重要作用。

关键词：四环素；秀丽线虫；诱胖效应；非靶向代谢组学

通讯作者：于振洋，E-mail：yuzhenyang3227@tongji.edu.cn

Selenium alleviates cadmium-induced mitophagy through FUNDC1-mediated mitochondrial quality control pathway in the lungs of sheep

Shixuan Lin , Fan Yang , Mingwen Hu , Jing Chen, Guiping Chen, Aiming Hu, Xiong Li, Danghua Fu, Chenghong Xing, Zhiwei Xiong, Yunhui Wu, Huabin Cao
(College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, No. 1101 Zhimin Avenue, Economic and Technological Development District, Nanchang 330045 , Jiangxi, PR China)

Abstract: Cadmium (Cd) is a poisonous metal element that causes mitochondrial dysfunction. Selenium (Se) can reduce the damage of Cd to various organs of animals, but the protective mechanism

of Se in Cd-induced lung injury has not been fully elucidated. For purpose of further illustrating the specific mechanism of Se alleviated Cd-triggered pulmonary toxicity, 48 sheep were divided into 4 groups, of which the sheep in the treatment group were taken 1 mg/kg body weight (BW) of Cd, 0.34 mg/kg BW of Se, and 0.34 mg Se + 1 mg/kg BW of Cd by intragastric administration for 50 d, respectively. The results indicated that Cd caused inflammatory cell infil-tration and alveolar wall thickening, which facilitated mitochondrial vacuolation and formation of mitophago-somes in lung tissues. Simultaneously, Cd treatment impaired the antioxidant capacity of sheep lung tissue. Additionally, Cd treatment down-regulated the expression levels of mitochondrial biogenesis and mitochondrial fusion, but up-regulated the levels of mitochondrial fission and mitophagy mediated by FUNDC1. Moreover, the immunofluorescence co-localization puncta of LC3B/COX IV, LC3B/FUNDC1 were increased after Cd treatment. Nevertheless, co-treatment with Se improved effectively the above variation caused by Cd exposure. In summary, Se could mitigate Cd-generated mitophagy through FUNDC1-mediated mitochondrial quality control pathway in the lungs of sheep.

Key words: Cadmium; Selenium; Mitophagy; FUNDC1; Mitochondrial quality control

Corresponding author: Huabin Cao, E-mail: chbin20020804@jxau.edu.cn

微塑料与己烯雌酚对斑马鱼的内分泌干扰效应和繁殖毒性

林欣宇，杨先海，刘会会

（南京理工大学环境与生物工程学院，南京 210094）

摘要：水体重微塑料污染是一个公认的环境问题，已成为全球、公众和政治关注的话题。水中的微塑料类似于大气中的悬浮颗粒，其有害影响不仅取决于颗粒本身，还取决于附着在其表面的有害物质。纳米塑料和其他污染物在环境中的共存已经引起了广泛的关注，但有关它们共同暴露的生物毒性信息有限，尤其是有关内分泌干扰效应方面的研究尚缺乏。

本研究以粒径为70 nm的纳米聚苯乙烯（NPS）为代表性的微塑料，以己烯雌酚（DES）为代表性的内分泌干扰化合物，以成年斑马鱼为试验生物，旨在探讨NPS和DES共同暴露对斑马鱼的内分泌干扰效应和生殖毒性。通过肝体指数、性腺指数、性激素浓度、卵黄原蛋白浓度、产卵情况、后代的形态等一系列重要指标，揭示NPS和DES在单独和联合暴露时对斑马鱼内分泌系统、繁殖性能、后代畸形率的影响。

结果表明，NPS和DES单独暴露均降低了肝体指数和性腺指数，并改变了性腺的细胞成熟度。更糟糕的是，NPS和DES的共同暴露加剧了对鱼类肝脏和性腺的损害。这两种污染物分别抑制了性激素和卵黄蛋白原的分泌。DES的抑制作用呈剂量依赖关系，NPS的抑制作用弱于DES，两者联合作用对性激素和卵黄原蛋白的分泌呈加性作用。但NPS不影响鱼体内甲状腺激素含量，对DES暴露引起的甲状腺激素降低也无显著影响。此外，它们的共同暴露使累积产卵量从1031个减少到306个，产卵次数从12次减少到8次。受精率和孵化率分别降低了30.9%和40.4%。胚胎畸形率为65.0%，这显著高于DES暴露组和NPS暴露组（分别为55.7%和30.8%）。子代发育异常主要表现为心包囊肿、脊柱弯曲和生长迟缓。

关键词：聚苯乙烯微塑料；己烯雌酚；性激素；产卵量；畸形率

基金项目：国家自然科学基金（22176097）

通讯作者：刘会会，E-mail：hhliu@njust.edu.cn

大气颗粒物脂质效应筛选

刘惠楠
（中国科学院生态环境研究中心）

摘要：肥胖成为日益流行的公共卫生问题，为遗传和环境因素的共同作用。空气污染仍然是重要的环境污染来源。大气组分复杂，是不同来源、不同大小和组成的有机和无机固体颗粒和液体的混合物。项目拟采用来源于美国国家标准局的标准大气颗粒物，括城市来源的大气颗粒物1648a、柴油机颗粒物2975和燃煤颗粒物2693，通过实验室的脂质累积模型筛选影响脂代谢干扰的大气污染来源和关键组分，并进行机制探究。从三个方面开展研究：一是建立体外脂质累积模型，包含白色脂肪细胞（3T3-L1）分化模型和肝脏脂质累积模型。二是检测不同来源大气颗粒物/组分的暴露对脂质含量的影响（包括脂滴的生成和甘油三酯含量检测）。三是检测不同来源大气细颗粒物/组分对脂肪生成或脂质代谢相关蛋白/基因表达的影响。

研究发现大气来源颗粒物1648a在200 μg/mL的暴露浓度下，可以促进白色脂肪细胞分化过程中脂滴的积累。柴油机颗粒物2975在100 μg/mL暴露下白色脂肪细胞内甘油三酯含量显著增加，提示柴油机颗粒物能够有效促进脂肪细胞分化，增加细胞中脂质累积。通过HepG2细胞模型，进一步研究大气颗粒物对肝脏脂质生成的影响，发现三种颗粒物单独暴露、或与油酸共暴露模拟高脂饮食的都对肝脏细胞甘油三酯含量没有影响。对柴油机颗粒物进行甲醇提取后进行暴露发现，100 μg/mL甲醇相柴油机颗粒物2975与油酸共暴露组的肝脏细胞中甘油三酯的含量增加，且具有统计学差异。因此得出甲醇相柴油机颗粒物2975可有效促进 HepG2 细胞对油酸的摄取，并导致细胞内甘油三酯的累积。而其中是哪种有机物质发挥着主要的成脂累积效应还有待进一步探究。

关键词：大气细颗粒物；脂质代谢；脂肪细胞分化；肝脂累积

通讯作者：刘惠楠，E-mail：hnliu_st@rcees.ac.cn

反转明暗周期对小鼠抑郁样行为的影响及其机制研究

刘倩怡，孟庆贺，郝卫东
（北京大学公共卫生学院）

摘要：目的 为了适应12∶12小时的明暗周期，大多数生物进化出了一种内源性昼夜节律系统来预测环境的变化。如果环境光照不再维持12∶12小时的明暗周期，例如轮班工作，则会导致环境和内部昼夜节律的去同步，从而导致一系列健康问题。流行病学研究表明，轮班工作与抑郁症风险增加有关，但由于混杂因素的干扰（如饮食、运动、个人疾病史、易感性等），无法确定环境光紊乱在轮班所致抑郁中的作用，本研究旨在探讨反转明暗周期对抑郁样行为的影响，并对其中的机制进行深入探究，从而为抑郁症的预防和治疗靶点提供参考。**材料和方法** 76只雄性C57BL/6J小鼠随机分为光照正常组（Normal Light Group，NL组）和昼夜节律紊乱组（Circadian Disruption Group，CD组），NL组维持12∶12小时明暗周期（8∶00开灯，20∶00关灯；白色LED灯，约300lux），CD组每6天反转12∶12小时明暗周期以模拟轮班，完成8次明暗反转后，分6个时间点处死动物。采用旷场试验（OFT）检测动物的自主活动能力；采用强迫游泳试验（FST）和悬尾试验（TST）检测动物的抑郁状态；使用Clocklab记录动物的一般运动活动；使用ELISA方法检测小鼠血清皮质酮（CORT）含量；使用免疫组化方法检测视交叉上核（SCN）内 c-fos蛋白的节律性表达；使用使用免疫荧光方法检测大脑外侧下丘脑（LH）内食欲肽A（OX-A）的节律性表达，中缝背核（DRN）内OX-A、五羟色胺（5-HT）的节律性表达。**结果** CD组小鼠在FST和TST中的固定不动时间延长，表明反转明暗周期使动物出现抑郁样行为。CD组小鼠的一般运动活动在每次反转明暗周期后都经历从环境去同步到再同步的变化，并且随着反转次数的增加，再同步的速率减慢，此外，CORT出现双峰表达和24小时节律性丧失，这均表明内源性昼夜节律系统可能出现失调。为了进一步确定反转明暗周期是如何通过内源性昼夜节律系统介导抑

郁发生，我们检测了中央生物钟SCN的神经活动情况，发现CD组SCN-cfos昼夜振荡的平均水平和振幅降低。SCN可以向与抑郁发生密切联系的大脑核团—LH发出投射，而LH可以向与抑郁发生密切联系的大脑情绪调节核团—DRN发出投射。因此，我们检测了LH OX-A的表达，发现CD组OX-A昼夜振荡的平均水平出现下调，并且其向DRN的投射减少，同时，DRN 5-HT的昼夜节律表达也出现平均振荡水平的降低和振幅下降。据此我们推测，反转的明暗周期导致SCN中昼夜节律振荡的自适应性振幅降低，但SCN的长期振幅衰减导致其向LH的输出发生不利变化，从而破坏了OX-A能神经元的活性，导致OX-A对DRN的投射减弱，从而使DRN中5-HT出现下调，进而诱发抑郁样行为。**结论** 反转的明暗周期导致抑郁样行为的出现，并可能是通过SCN-LH-DRN途径介导。

关键词：光；抑郁症；小鼠；轮班；SCN-LH-DRN途径

通讯作者：刘倩怡，E-mail：2111210113@stu.pku.edu.cn

IL33通过NPM1介导成纤维细胞激活参与矽尘诱导的肺纤维化

王　月，程德敏，孙文青，刘　易，倪春辉
（南京医科大学公共卫生学院）

摘要：目的 自然界中游离二氧化硅（SiO_2）分布广泛，在95%的矿石中均存在含量不等的游离SiO_2。目前在全球范围内，SiO_2粉尘接触普遍存在于多种作业环境和领域中。由于吸入结晶SiO_2粉尘引起的矽肺病是世界范围内最重要的职业病类型之一。白细胞介素33（IL-33）是一种多效性细胞因子，可通过受体ST2促进伤口愈合和组织修复。然而，IL-33参与矽肺进展的机制需要进一步探索。**材料和方法** 在动物水平上，气管内滴注游离SiO_2粉尘悬浮液和博来霉素溶液（BLM）建立两种肺纤维化小鼠模型，小鼠肺组织切片H&E染色、Masson染色和天狼猩红染色评估纤维化严重程度，碱水法检测肺组织羟脯氨酸含量，评估胶原沉积水平。通过qRT-PCR，Western blot，免疫荧光分析来检测肺组织中纤维化标志物和关键分子IL33的表达水平。在细胞水平上，使用外源性IL33处理的肺成纤维细胞（MRC-5和PMLFs）体外模型，通过染色质免疫沉淀技术（ChIP）、功能损失和功能回复实验或与矽尘处理的肺上皮细胞（BEAS-2B）共培养检测成纤维细胞活化标志分子及关键分子ERK、AP-1、核仁磷酸蛋白1（NPM1）的表达水平，验证基因之间的相互作用。CCK8和EDU试剂盒检测成纤维细胞增殖活力，细胞划痕检测成纤维细胞的迁移水平。此外，通过在矽肺小鼠模型中静脉注射小干扰RNA（siRNA）脂质体，探讨靶向IL33信号通路的主要下游靶点NPM1的抗纤维化的潜力。**结果** 我们的实验结果显示，在游离SiO_2粉尘和BLM建立的肺纤维化小鼠模型中，矽尘和BLM处理组表现出典型的纤维化结节和异常的肺泡结构特点。同时，与对照组相比，在这两种纤维化小鼠的肺组织中，IL33的表达显著上调。在机制方面，研究表明，矽尘可以刺激肺上皮细胞分泌IL33，并通过ERK/AP-1/NPM1信号通路进一步促进肺成纤维细胞的激活、增殖和迁移。此外，使用负载si-NPM1的脂质体可以显著抑制矽尘诱导的肺纤维化进展。**结论** 肺成纤维细胞中NPM1受到IL33/ERK/AP-1信号通路的调控参与矽肺病进展。提示制定针对NPM1的靶向治疗方案可能是开发新型抗肺纤维化药物的有效策略。

关键词：IL33；NPM1；ERK/AP-1信号通路；脂质体siRNA；游离SiO_2；矽肺病

通讯作者：刘　易，E-mail：liuyinjmu@163.com；倪春辉，E-mail：chni@njmu.edu.cn

Norethindrone Suppress the Germ Cell Development via Androgen Receptor Resulting in Male Bias

龙小冰[1,2], 史文俊[1,2], 姚崇瑞[1,2], 李思颖[1,2], 张金阁[1,2], 卢志杰[1,2], 马栋栋[1,2], 蒋宇霞[3], 应光国[1,2]

(1. SCNU Environmental Research Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Chemical Pollution and Environmental Safety & MOE Key Laboratory of Theoretical Chemistry of Environment, South China Normal University, Guangzhou 510006, China; 2. School of Environment, South China Normal University, University Town, Guangzhou 510006, China; 3. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Introduction Norethindrone (NET) is widely used and detected in surface waters, affecting gonad development and sexual differentiation in fish. However, the toxicological mechanisms of sexual differentiation are not well understood. Here, we investigated the effects of NET and androgen receptor (AR) antagonist flutamide (FLU) on gonadal differentiation in zebrafish from 21 dpf (days post-fertilization) to 49 dpf. The aim of this study was to investigate the molecular initiation and key events of the NET during sexual differentiation in zebrafish. **Materials and methods** To investigate the molecular initiation event, the zebrafish were exposed to the mixtures of NET and androgen receptor antagonist flutamide (FLU) from 21 dpf to 49 dpf. The experimental setup consisted of following exposure treatments: solvent control (SC, 0. 002% (v/v) of DMSO), NET alone exposure of 5 $ng \cdot L^{-1}$ (NET-L), 50 $ng \cdot L^{-1}$ (NET-M) and 500 $ng \cdot L^{-1}$ (NET-H). FLU alone exposure of 5 $\mu g \cdot L^{-1}$ (FLU-L), 50 $\mu g \cdot L^{-1}$ (FLU-M) and 250 $\mu g \cdot L^{-1}$ (FLU-H), and their mixture exposure consisting of 5 $ng \cdot L^{-1}$ (NET-L) +5 $\mu g \cdot L^{-1}$ (FLU-L), 50 $ng \cdot L^{-1}$ (NET-M) +50 $\mu g \cdot L^{-1}$ (FLU-M), and 50 $ng \cdot L^{-1}$ (NET-H) + 250 $\mu g \cdot L^{-1}$ (FLU-H). The effects of NET and FLU on transcription of biomarker genes in germ cells and gonadal histopathology were detected in zebrafish during sexual differentiation. Meanwhile, the zebrafish androgen receptor (AR) was constructed to further analyze the interactions between NET and AR by molecular docking. These studies can help us to better understand the ways in which NET affects sex differentiation in zebrafish. **Results** The results showed that NET caused male bias, while FLU resulted in female bias at 49 dpf. The NET and FLU mixtures significantly decreased the percentage of males compared to the NET single exposure. Molecular docking analysis showed that FLU and NET had similar docking pocket and docking posture with AR resulting in forming the same hydrogen bonds with Thr334 of AR. These results indicated that NET caused male bias via AR, which suggested that binding to AR was the molecular initiating event of sex differentiation. Moreover, NET strongly decreased transcription of biomarker genes (dnd1, ddx4, dazl, piwil1 and nanos1) involved in germ cell development, while FLU significantly increased transcription of these target genes. NET and FLU mixtures reduced the effect on transcription of germ cell development related genes compared to NET single exposure. Similarly, there was an increase in the number of juvenile oocytes, which was consistent with the female bias in the combined groups. **Conclusions** Overall, NET suppressed the germ cell development via androgen receptor resulting in male bias. We suggested that binding to the AR was likely the molecular initiation event, and inhibition of germ cell development might be the key event induced by NET during the sex differentiation. Sexual abnormalities in fish have important implications for the dynamic balance of fish in the ecosystem. Studying the mechanisms of action and harmful outcome pathways of environmental hormones on fish sex differentiation will be important for scientific assessment of the ecological risk of environmental hormones on fish populations. Therefore, it is needed to further investigate the harmful out-

come pathways of sex differentiation induced by progestins on fish.

Key words: Molecular initiation event; Norethindrone; Germ cells; Androgen receptor; Molecular docking

Corresponding author: WJ Shi, E-mail: wenjun.shi@m.scnu.edu.cn

m^{6}A去甲基化酶FTO在砷诱发肠道微环境稳态失衡中的调控作用研究

卢朝虹[1,2], 陈若楠[1,2], 程淑群[1,2], 夏茵茵[1,2], 蒋学君[2,3], 邹　镇[2,4], 陈承志[1,2]

（1. 劳动卫生与环境卫生学教研室，公共卫生学院，重庆医科大学；2. 环境与人群健康研究中心，重庆医科大学；3. 公共卫生实验教学中心，重庆医科大学；4. 生命科学院，重庆医科大学，重庆　400016）

摘要：目的　探讨m^{6}A修饰去甲基化酶FTO参与调控砷所致肠道微环境稳态失衡中的作用，以期为砷肠道毒性的防治工作寻求干预的新靶点。**方法**　以成年健康雌性野生型C57BL/6J小鼠、FTO敲入转基因小鼠为受试对象，分别予以不同剂量（0、10 mg/L）饮水砷暴露90天。染毒结束后，采用H&E、AB-PAS染色法观察小鼠肠组织的组织病理学改变，Western blot法和qPCR法检测紧密链接蛋白、免疫炎症、内分泌、肠道消化酶相关指标的表达，以评估FTO在砷暴露诱发小鼠肠道微环境稳态失衡中的调控作用。**结果**　结果显示，与对照组小鼠相比，砷暴露诱发了明显的肠道组织损伤，出现肠道粘膜萎缩，隐窝脱落，绒毛断裂；且杯状细胞数量显著减少，而FTO敲入小鼠予以砷暴露后组织形态学结构完整，杯状细胞数量未出现明显改变；Western blot实验结果发现，与对照组小鼠相比，野生型砷暴露组小鼠肠道紧密连接蛋白Occludin、E-cadherin和ZO-1的表达显著降低（$P<0.05$）；qPCR实验结果发现，与对照组相比，野生型砷暴露组小鼠Th1相关免疫指标Tbet、Ifn-γ表达显著升高（$P<0.05$），而Th2相关免疫指标Gata3、Il-10表达显著降低（$P<0.05$）；炎症因子Tnf-α和Il-1β的表达亦出现显著性增加（$P<0.05$）；内分泌相关指标Htr3a、Htr3b、nAchr、Crh和Npy的表达显著降低（$P<0.05$）；肠道消化酶Alkaline phosphatase的表达显著升高（$P<0.05$），Maltose的表达显著降低（$P<0.05$）。而在砷暴露FTO敲入小鼠中上述维持肠道微环境稳态的指标与对照组相比并无显著差异。**结论**　亚慢性饮水砷暴露可以引发小鼠肠道微环境功能紊乱，FTO可能是干预砷所致肠道微环境稳态失衡的新靶点。

关键词：砷暴露；m^{6}A修饰去甲基化酶FTO；肠道微环境稳态

通讯作者：陈承志，E-mail：chengzhichen@cqmu.edu.cn；邹　镇，E-mail：zouzhen@cqmu.edu.cn

miR-31a-5p靶向crebbp在油雾颗粒物诱导肺纤维化中的机制研究

聂慧鹏，刘焕亮，田　蕾，石　玥，刘　璇，来文庆，袭著革，林本成

（军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所，天津　300050）

摘要：油雾颗粒物（Oil mist particulate matter，OMPM）是指工业生产及机械设备运行过程中产生的以液态形式悬浮于大气中的颗粒物质，来源于设备运行中使用的各类油料，能够通过呼吸道和皮肤等方式进入人体。国内外相关研究显示，由OMPM造成的空气污染已成为危害劳动者健康的主要危险因素之一，但其对人体造成的危害尚无详细研究报道。**目的**　本研究旨在探讨miR-31a-5p介导OMPM暴露导致肺纤维化的分子调控作用，并对其作用机制进行研究。**方法和结果：**构建不同浓度（0 mg/m^3、50 mg/m^3、100 mg/m^3）OMPM暴露大鼠染毒模型，每天6.5小时，连续42天进行染毒实验。病理和透射电镜观察结果显示OMPM暴露导致大鼠肺部发生炎症反应，胶原纤维沉积，肺部严重损伤。ELISA结果显示OMPM暴露组大鼠肺组织促炎因子（IL-1β、IL-6、TNF-α）与氧化应激指标MDA升高，SOD和GSH-Px降低。Western blot和RT-qPCR结果显示纤维化指标（CTGF、FGF2、PDGF、TIMP-1）表达显著升高，基质金属蛋白酶（MMP-2、

MMP-9、MMP-13)表达显著降低,同时OMPM暴露导致Collagen-Ⅰ、Collagen-Ⅲ和α-SMA的蛋白表达水平显著升高,表明OMPM暴露导致大鼠肺纤维化的发生。转录组学测序分析发现OMPM暴露导致miR-31a-5p表达出现明显差异,KEGG通路主要富集在MAPK、Melanogenesis、Rap1、Wnt、Neurotrophin以及TGF-β等信号通路,生物信息学分析预测发现crebbp含有miR-31a-5p的潜在结合位点,双荧光素酶实验验证crebbp是miR-31a-5p作用的靶基因。与对照组相比,OMPM暴露导致大鼠肺组织中纤维化信号通路关键因子TGF-β、p-Smad2、p-Smad3、Wnt和β-catenin的蛋白表达显著升高,且高浓度OMPM暴露组的表达显著高于低浓度OMPM暴露组。表明OMPM诱导的肺纤维化可能是由激活TGF-β和Wnt/β-catenin信号通路诱导发生的。体外水平构建不同浓度(0,5,10,20,30,40 mg/m^3)OMPM暴露细胞染毒模型,RLE-6TN细胞转染miR-31a-5p过表达载体后进行OMPM暴露1小时,结果发现miR-31a-5p过表达能够有效增加miR-31a-5p的表达,其靶基因crebbp的表达随着miR-31a-5p表达上调被显著抑制,纤维化指标及纤维化信号通路关键因子的表达与OMPM暴露浓度呈剂量依赖性关系,从OMPM暴露浓度为10 mg/m^{3}开始,纤维化指标及纤维化信号通路关键因子的表达随OMPM浓度的升高而显著升高,miR-31a-5p过表达能够显著抑制其升高。**结论** OMPM暴露导致大鼠肺组织氧化应激和炎症反应发生,miR-31a-5p通过靶向crebbp调控Wnt/β-catenin和TGF-β信号通路介导大鼠肺纤维化的发生和发展。

关键词:油雾颗粒物; 肺纤维化; Wnt/β-catenin信号通路; TGF-β信号通路; miR-31a-5p

通讯作者:袭著革,E-mail:zhugexi2003@sina.com; 林本成,E-mail:linbencheng123@126.com

MEHP通过调控EMT促进乳腺癌MCF-7细胞增殖和迁移

王 佳, 吴宇洁, 叶 汇, 蔡红雨, 邱晓暄, 古力杰乃提·艾尼瓦尔, 齐 雯, 叶 琳
(吉林大学公共卫生学院, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 明确环境内分泌干扰物邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯(MEHP)对乳腺癌细胞增殖和迁移的影响以及上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)在其中的作用。**材料和方法** 乳腺癌MCF-7细胞使用含10% FBS和2.5%胰岛素的DMEM培养基常规培养,给予梯度浓度MEHP暴露24 h,采用CCK-8法检测MCF-7细胞存活率,并设置实验分组为空白对照组(0 μmol·L^{-1} MEHP)、溶剂对照组(0.1% DMSO)、0.1 μmol·L^{-1} MEHP组、1 μmol·L^{-1} MEHP组、10 μmol·L^{-1} MEHP组和100 μmol·L^{-1} MEHP组。流式细胞术和CCK-8法检测细胞增殖情况;划痕实验和Transwell实验检测细胞迁移情况;Western Blot法检测细胞增殖和迁移以及EMT关键蛋白表达水平。采用IBM SPSS 24.0软件分析处理数据,组间比较采用单因素方差分析, EMT关键蛋白与乳腺癌细胞增殖、迁移水平相关性检验采用Pearson相关分析。**结果** MEHP暴露后,暴露组MCF-7细胞存活率显著升高,处于S期细胞比例增加($P < 0.05$);1 μmol·L^{-1}、10 μmol·L^{-1}和100 μmol·L^{-1} MEHP组细胞迁移距离显著高于对照组($P < 0.05$);10 μmol·L^{-1}和100 μmol·L^{-1} MEHP组细胞周期相关蛋白Cyclin D1和c-MYc蛋白表达水平增加($P < 0.05$);1 μmol·L^{-1}、10 μmol·L^{-1}和100 μmol·L^{-1} MEHP组细胞迁移相关蛋白MMP-2和MMP-9蛋白表达水平显著高于对照组,TIMP2蛋白表达水平显著低于对照组($P < 0.05$);EMT关键分子N-Cad、Snail和Vimentin蛋白表达水平升高,E-Cad蛋白表达水平降低($P < 0.05$);相关分析结果显示,Snail和Vimentin与MMP2蛋白表达水平显著正相关,相关系数分别为0.542($P < 0.05$)和0.398($P < 0.05$);Snail与TIMP2蛋白表达水平呈负相关,相关系数为−0.726($P < 0.05$)。**结论** MEHP暴露可促进乳腺癌MCF-7细胞增殖和迁移,EMT关键分子可能通过调控增殖和迁移相关蛋白在MEHP促进乳腺癌细胞增殖和迁移中发挥重要作用。

关键词:上皮-间质转化; MEHP; 乳腺癌; 增殖; 迁移

通讯作者:齐 雯, E-mail: qiwen@jlu.edu.cn;叶 琳, E-mail: jlyelin@163.com

纳米二氧化硅暴露耗竭血清载脂蛋白A-I诱导心血管损伤

刘旭挺，宋　杨
（中国科学院生态环境研究中心，北京　100085）

摘要：随着纳米科学的不断进步和纳米工业的快速发展，纳米材料被广泛应用于人类生产生活中的各个领域。同时，空气污染的日益加剧也增加了纳米颗粒的日常暴露，对人类的健康产生潜在的危害。近年来，随着人们对纳米安全的关注，不断有研究表明，极细小颗粒物的呼吸暴露和心血管疾病之间存在相关性。由于纳米材料和机体复杂的相互作用，纳米材料诱导心血管疾病的潜在机制仍有待探究。在本研究中，我们关注到纳米二氧化硅和机体中生物分子的相互作用，首次阐述了纳米颗粒通过吸附并耗竭功能性蛋白质从而诱导心血管损伤的机制。我们发现，呼吸暴露的纳米二氧化硅能够在肺泡中吸附肺表面活性物质，随后穿过气血屏障，进入血液循环。肺表面活性物质的包裹能够显著促进纳米二氧化硅在血液中吸附载脂蛋白A-I。蛋白质的吸附显著缓解了纳米二氧化硅的细胞毒性和促炎效应；但由于纳米二氧化硅在血液中的快速清除，血液中的载脂蛋白A-I被不断耗竭。长期呼吸暴露纳米二氧化硅的小鼠更易产生心血管损伤，而载脂蛋白A-I模拟肽的补充则显著缓解了该损伤。因此，本研究首次证实了纳米二氧化硅在体内吸附并耗竭载脂蛋白A-I从而促进心血管损伤，为探究纳米颗粒诱导的毒性效应提供了新的思路。

通讯作者：宋　杨，E-mail：yangsong@rcees.ac.cn

丙戊酸通过抑制DNA复制损伤应答机制杀伤PAHs诱导的乳腺肿瘤作用研究

苏本玉，张凤梅，董　超，凤志慧
（山东大学公共卫生学院职业与环境健康学系，济南　250012）

摘要：目的　多环芳烃（PAHs）是一类常见的环境污染物，其中部分化合物具有较强的致癌作用，PAHs所致乳腺癌是威胁女性健康主要的公共卫生问题，如何有效地防治乳腺癌是该研究领域的重要课题。本课题组前期研究证明丙戊酸（VPA）增敏羟基脲（HU）杀伤乳腺癌细胞，但其分子机制尚不清楚。在HU诱导产生单断端DNA双链断裂、引发细胞周期阻滞中，复制蛋白A2磷酸化（pRPA2）参与同源重组（HR）修复；检查点激酶1（Chk1）参与细胞周期阻滞，因此本研究将探讨pRPA2介导的HR修复和Chk1介导的细胞周期阻滞是否参与VPA增敏HU杀伤肿瘤的分子机制。**方法**　建立环境致癌剂7，12-二甲基苯并[a]蒽（DMBA）诱导的乳腺癌细胞和动物模型，以及建立pRPA2突变（mu-pRPA2）和PPP2R2A敲除细胞系。在细胞和动物水平检测肿瘤细胞的生存能力、DNA损伤、细胞周期阻滞、调控DNA损伤修复和细胞周期的关键蛋白水平。通过免疫组织化学实验检测pRPA2、PPP2R2A和pChk1在人乳腺癌组织芯片上的表达水平，分析其与乳腺癌患者生存之间的关系。**结果**　在细胞和动物水平上发现：（1）HU处理后，VPA能进一步显著降低肿瘤组织细胞的存活率，加剧DNA损伤、减少细胞周期S期阻滞。深入的研究提示联合处理使HR修复关键蛋白pRPA2和Rad51、细胞周期检查点激酶（pChk1和WEE1/pCDK1）下调。（2）突变pRPA2能显著降低VPA对HU的增敏作用，揭示VPA引起的HU增敏依赖于pRPA2。VPA和HU联合处理降低核酸内切酶MUS81表达水平，导致HU所致单断端DNA双链断裂处的DNA切除修复能力降低。敲除MUS81可使VPA增敏HU杀伤肿瘤的作用显著下降。（3）抑制Chk1能显著降低VPA对HU的增敏作用，揭示VPA依赖于Chk1发挥HU增敏。VPA处理增加磷酸酶PP2A B调节亚基PPP2R2A的表达水平，且PPP2R2A和Chk1在同一个蛋白复合物上，PPP2R2A能促进pChk1去磷酸化，说明VPA通过PPP2R2A调控pChk1的磷酸化。敲除PPP2R2A可显著降低VPA对HU的增敏作用。对PPP2R2A的进一步研究发现，PPP2R2A D197和N181这两个氨基酸位点对Chk1磷酸化和VPA调控细胞周期的作用至关重要。（4）乳腺癌组织芯片结果显示，pRPA2高表达、PPP2R2A低表达和pChk1高表达的患者生存期明显较差。**结论**　VPA通过下调MUS81-pRPA2信号轴影响HR修复能力，通过干预PPP2R2A-Chk1信号轴影响细胞周期S期阻滞来实

现增敏HU杀伤肿瘤的作用。

关键词：乳腺癌；丙戊酸；pRPA2；MUS81；PPP2R2A；Chk1；细胞周期；HR修复

基金项目：国家自然科学基金（81472800）；山东省科技发展计划（2019GSF108083）；山东省自然科学基金（ZR2020MH330）

通讯作者：凤志慧，E-mail：fengzhihui@sdu.edu.cn

母源性镉暴露对子代稀有鮈鲫胚胎发育的毒性研究

苏良霞

（武汉轻工大学动科学院，武汉 430023）

摘要：水体中镉的母源传递对水生态环境健康安全威胁极大。为研究母源性镉暴露对子代稀有鮈鲫（Gobiocypris rarus）胚胎的发育毒性，将雌雄稀有鮈鲫分别在不同浓度（空白对照：0 μg·L^{-1}、Cd5 ：5 μg·L^{-1}、Cd10：10 μg·L^{-1}）的镉溶液中暴露28 d，随后移至清水中进行随机配对，观察产卵情况，并记录其产卵间隔、产卵量、受精数、孵化数、畸形数等繁殖与发育参数，并检测稀有鮈鲫仔鱼体内活性氧（ROS）、抗氧化应激酶活与基因转录水平的变化。结果显示，：5 μg·L^{-1}和10 μg·L^{-1}的镉暴露会导致其产卵间隔延长，受精率降低，但单次产卵量增加，并且对子代稀有鮈鲫胚胎有明显的致畸作用（心包囊肿、脊椎弯曲和尾部畸形等）。此外，在母源性镉暴露下，稀有鮈鲫仔鱼体内抗氧化酶活性被不同程度的增强或减弱，但其ROS与抗氧化酶基因（Gpx-1、Cat、Mn-sod、Gclc）水平显著性升高。结果表明，环境浓度镉暴露仍会影响稀有鮈鲫的繁殖活动，且会造成子代稀有鮈鲫胚胎发育畸形。这一现象可能与母源性镉暴露激活子代稀有鮈鲫体内抗氧化应激系统密切相关。

关键词：母源性；镉；稀有鮈鲫；畸形；活性氧；抗氧化应激

通讯作者：苏良霞，E-mail：suliangxia027@126.com

Nrf2在无机砷暴露致巨噬细胞炎症因子表达异常中的作用研究

苏 彤，陈艳楠，王惠惠，皮静波，徐苑苑

（中国医科大学 公共卫生学院 慢病环境基因组学研究室，沈阳 110122）

摘要：目的 砷（As）是广泛存在于自然界中的一种类金属元素，其化合物具有致癌性。有研究表明，砷可通过影响免疫器官的发育及免疫细胞的生成干扰机体的免疫功能，进而引起一系列免疫性相关疾病的发生和发展。巨噬细胞作为机体免疫系统的重要一员，是固有免疫应答和适应性免疫应答的重要组成，在细胞吞噬、抗原提呈、组织修复等多方面发挥重要作用。有研究报道，巨噬细胞是砷暴露导致免疫系统受损的主要靶细胞，长期无机砷暴露可能会引起巨噬细胞功能改变，但其具体机制尚未明确。Nrf2（Nuclear factor E2-related factor 2，也称 NFE2L2）是体内重要的核转录因子，在维持机体的氧化还原稳态方面发挥着不可或缺的功能。以往研究表明，无机砷可激活Nrf2介导的适应性抗氧化反应，然而关于无机砷是否通过诱导巨噬细胞中Nrf2信号通路的活化，进而影响巨噬细胞功能的研究却未见报道。本研究应用髓系单核细胞Nrf2特异性敲除小鼠的腹腔巨噬细胞和骨髓巨噬细胞，研究Nrf2在无机砷暴露致巨噬细胞功能障碍中的作用。**方法** 以髓系细胞Nrf2特异性敲除小鼠的原代腹腔巨噬细胞和原代骨髓巨噬细胞为研究对象，通过RT-qPCR法和蛋白免疫印迹法，检测无机砷对巨噬细胞炎症因子、Nrf2及其下游基因的表达、以及对LPS刺激后反应能力的影响。检测在Nrf2缺失条件下，巨噬细胞炎症因子表达的变化情况，以及砷处理后，巨噬细胞对LPS反应性的变化。**结果** 无机砷能够诱导原代巨噬细胞的炎症因子Il-6，Il-1β，Ccl2和Tnf-α的表达显著升高（$P < 0.05$），且钝化该细胞对LPS的反应性；无机砷能够诱导巨噬细胞Nrf2及其下游基因Gclm

和Ho-1的表达（$P < 0.05$）。此外，Nrf2缺失可促进巨噬细胞炎症因子的表达（$P < 0.05$），并缓解无机砷处理对巨噬细胞LPS刺激的钝化作用。**结论** 无机砷暴露通过活化Nrf2导致巨噬细胞炎症因子表达异常并钝化巨噬细胞对LPS的反应性。

关键词：Nrf2；无机砷；巨噬细胞；炎症因子

资助项目：国家自然科学基金（82073513）；辽宁省科技厅自然科学基金计划项目（2022-MS-215）

通讯作者：苏　彤，E-mail：TongSu1995@163.com

人类肺泡II型上皮细胞的非靶向代谢组学揭示了谷氨酰胺促进二氧化硅诱导的上皮-间质转化过程

孙　珺，张睿佳，陈保卫

（中山大学海洋科学学院南方海洋科学与工程广东实验室，珠海　519082；中山大学生命科学学院生物控制国家重点实验室，广州　510275）

摘要：上皮-间质转化（EMT）有助于矽肺中的纤维化过程。然而，矽肺中EMT的分子发生机制尚不明确，导致矽肺的治疗有限。为了完善矽肺的分子机制，我们利用非靶向代谢组学研究了二氧化硅诱导的人肺泡II型上皮细胞发生EMT的分子机制。我们的研究结果表明，二氧化硅暴露浓度的增加导致了更多的差异代谢物（DMs），并且促进了谷氨酰胺相关代谢，以及明显上调了α-酮戊二酸（α-KG）脱氢酶的表达水平。此外，细胞培养中过量的谷氨酰胺可有效促进EMT的发生。总的来说，我们的研究结果表明在矽肺发生过程中，谷氨酰胺主要是通过α-KG和琥珀酸加速EMT过程。本研究为揭示矽肺的分子机制提供了新的视角。

关键词：矽肺；EMT；代谢组学；谷氨酰胺；α-酮戊二酸（α-KG）脱氢酶

通讯作者：陈保卫，E-mail：chenbw5@mail.sysu.edu.cn

新型双酚S衍生物对3T3-L1细胞成脂分化的干扰作用及分子机制

孙振东[1]，周群芳[1,2]，江桂斌[1,2]

（1. 国科大杭州高等研究院，环境学院，杭州　310024；2. 中国科学院生态环境研究中心，环境化学与生态毒理学国家重点实验，北京　100085）

摘要：目的 新型双酚S（Bisphenol S，BPS）衍生物作为一类在多种环境介质和人体样本中逐渐被检出，且具有潜内分泌干扰效应的新污染物，其健康风险值得关注。已有研究表明，BPS对过氧化物酶体增值激活受体γ（Peroxisome proliferator-activated receptor gamma，PPARγ）具有结合与激活作用，并促进脂肪细胞分化。考虑到新型BPS衍生物与母体化合物结构的相似性，本研究基于3T3-L1细胞分化模型，探讨新型BPS衍生物对3T3-L1前体脂肪细胞分化的影响及分子机制。**材料和方法** 首先基于3T3-L1前体脂肪细胞分化模型，从分化开始进行不同浓度BPS及其11种衍生物暴露细胞8天，通过检测暴露终点时细胞内甘油三酯含量和分化相关基因表达水平，评估BPS衍生物对细胞分化的影响；采用PPARγ配体竞争结合实验和PPARγ介导的荧光素酶报告基因实验，分析BPS衍生物对PPARγ受体的结合与激活作用，初步揭示此类化合物干扰3T3-L1细胞分化的分子机制。**结果** 基于3T3-L1前体脂肪细胞分化模型的研究显示，与BPS类似，11种衍生物中BPS-MAE、BPS-MPE、BPS-DAE、TGSA、BPSIP、D-90、DBSP可显著促进促进脂肪细胞生成和脂质累积，导致调控脂肪细胞分化的关键核转录因子PPARγ以及成熟脂肪细胞生物标志基因perilipin、FABP4和adiponectin的转录水平均显著增加。有2种BPS衍生物DD-70和TDP可以抑制3T3-L1前体脂肪细胞分化和脂质累积，下调相关基因转录和蛋白表达水平，而DDS和DPS对细胞分化没

有明显影响。与其它一些常见的环境致肥胖物质类似，BPS和其中9种衍生物对PPARγ核受体表现出不同程度的直接结合或激活作用，另有2种衍生物可以促进脂肪细胞生成但不能直接与PPARγ相互作用。这些研究结果表明，BPS及其衍生物可能通过PPARγ核受体或其它分子途径干扰3T3-L1细胞分化为成熟脂肪细胞。BPS及其衍生物的成脂分化干扰效应差异显示，化合物结构因子在其生物学功能调控中具有重要作用。**结论** 本研究BPS的一些衍生物可能产生与BPS类似甚至更强的成脂干扰效应，其作为BPA替代品的使用造成的环境污染与人体暴露可能对机体脂代谢产生干扰，从而引发肥胖相关的健康风险。

通讯作者：周群芳，E-mail：zhouqf@rcees.ac.cn

次氯酸钙与三种季铵盐消毒剂对青海弧菌Q67的毒性机制及联合毒性

陶梦婷[1,2]，刘树深[1,2]，张 瑾[3]

（1. 长江水环境教育部重点实验室，同济大学，上海 200092；2. 污染控制与资源化国家重点实验室，同济大学，上海 200092；3. 安徽省水污染控制与废水资源化重点实验室，安徽建筑大学，合肥 230601）

摘要：自COVID-19爆发以来含氯消毒剂和季铵盐消毒剂被广泛使用，故对环境生物可能会产生毒性和联合毒性。**目的** 本文旨在探究这两类典型消毒剂的毒性、致毒机制和相互作用。**材料与方法** 选择次氯酸钙（CAL）和三种季铵盐消毒剂（苯扎溴铵（BEN）、双十二烷基二甲基溴化铵（DID）、度米芬（DOM）和十四烷基二甲基苄基氯化铵（TET），）作为毒性测试物质，采用直接均分射线法（EquRay）设计了CAL和三种季铵盐消毒剂的二元混合体系。应用以青海弧菌Q67（Vibrio qinghaiensis sp.-Q67，Q67）为指示性生物的时间微板毒性分析法获得四种消毒剂及其混合物的毒性数据，并通过观察各消毒剂对Q67细胞和生物大分子的损伤情况，探讨单一消毒剂对Q67的毒性机制。但对于CAL的毒性和毒性机制，采用我们之前工作中报道的结果。根据之前工作中的结果，CAL的毒性随暴露时间的延长有增强趋势，且其可通过破坏细胞、DNA和蛋白质结构对Q67产生毒性。各二元混合物组分间的相互作用采用基于浓度加和（CA）模型的拟合归零法进行评估。拟合归零法可更清楚的反映模型预测结果与实验结果之间的偏差，能实现协同与拮抗的定量评估，通过将实验观测置信区间和模型预测曲线投影到拟合的剂量效应曲线上得以实现。**结果** 3种季铵盐消毒剂在不同暴露时间下对Q67具有相似的毒性特性，BEN（pEC50 = 4.97 ~ 5.11）、DOM（pEC50 = 4.76 ~ 4.90）和TET（pEC50 = 4.97 ~ 5.20）对Q67的毒性随着暴露时间的延长变化不大，但毒性都较明显，它们可以破坏Q67细胞结构，并导致Q67的DNA变性。CAL和三种季铵盐消毒剂的二元混合物在不同暴露时间下表现出浓度比依赖毒性和明显的拮抗作用，即CAL与三种QAC的混合后毒性会减弱。其中，CAL与DOM、TET之间的拮抗作用强于BEN。**结论** 3种季铵盐消毒剂对Q67的毒性具有持续性，尽管其毒性随着暴露时间的延长变化不大，但长期暴露仍然具有明显毒性。此外，它们对Q67的毒性通过破坏细胞结构和导致DNA变性产生。在相同消毒效果时，建议使用DOM和TET，以降低可能存在的环境毒性风险，因为这两种消毒剂与CAL的拮抗作用更强。

关键词：含氯消毒剂；季铵盐消毒剂；毒性机制；拟合归零法；拮抗作用

通讯作者：刘树深，E-mail：ssliuhl@263.net

空气污染物暴露与抑郁症发生的相关性

田莲田

（四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院卫生毒理与病理学系，四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院分子毒理四川省教育厅重点实验室）

摘要：抑郁症是所有情感障碍中最常见的病症，以持续的情绪低落、快感缺失为主要临床症状，伴随社

会功能丧失甚至自杀倾向，是致残率和致死率都很高的疾病，成人终生患病几率高达10%～20%，给个人和家庭带来极大的压力，也给社会带来巨大的疾病负担。近年来，随着我国社会和经济不断发展，生活节奏的加快，以及生活工作压力的增加，抑郁症发病日益增多，成为严重困扰人们身心健康的疾病，给国家带来很大的社会经济负担，也愈发成为当今我国公共卫生事业的重要问题。

同时，随着城市化和工业化进程不断加速推进，空气污染日益严重，并且这一环境问题已经呈现全球化趋势。除了造成诸如呼吸道及心血管系统常见疾病之外，有假设认为空气污染对中枢神经系统也有相当影响。欧美国家已有较多研究支持这一观点，既往研究普遍发现情绪障碍、认知功能障碍、神经退行性疾病等与长期暴露于污染的空气环境中有关；近年来其他发展中国家如印度也有类似研究发表。然而，针对中国人群的研究较少，尚无明确结论，因此值得更进一步的探索。国内有研究显示PM2.5可以加重人群抑郁症状。同时，室内使用固体染料导致的室内空气污染也有证据显示可能增加抑郁症发生，侧面反映了空气污染与抑郁症的关系。进一步按种类对大气污染物的分析发现，不同的污染物与抑郁症可呈现不同关系，如有研究认为PM_{10}、O_3、CO、SO_2与抑郁症不呈现相关性，而NO_2暴露则与抑郁症显著相关；也有不同研究发现，室外空气暴露中的常见污染物PM2.5、SO_2、NO_2均与抑郁症发生率显著相关。还有分析显示，一定浓度的NO_2和SO_2不仅与抑郁症发生相关，这种相关性甚至与季节有关系，与其他季节相比，这种相关性在冬季显著增强。不同的结果或许与研究的样本异质性（如样本大小、性别）、采样时间点（如不同季节）、不同地区、性别等因素有关。这些研究所呈现的不同结果，首先提示我们空气污染物与情感障碍类疾病或许具备相关性，并且这种相关性值得进行更加深入细化的研究；其次，通过对空气污染物成分的分析可以明确能够导致抑郁症的物质，在后续机制研究中，可以用特定成分在动物模型中进行染毒，探索其与抑郁症发生/抑郁症的严重程度之间的关系。

关键词：空气污染物；抑郁症；PM2.5

通讯作者：田莲田，E-mail：ltian0875@163.com

3D培养下全氟辛酸（PFOA）及其替代物全氟丁酸（PFBA）对乳腺癌细胞MDA-MB-231恶性程度的影响

王　环，徐　挺，尹大强

（同济大学环境科学与工程学院，上海　200092）

摘要：目的　全氟烷基化合物（PFAS）具有环境持久性、生物累积性和远距离环境迁移能力，可对多个器官系统产生毒性作用，其对人类的直接或间接毒性作用已引起广泛关注。然而，目前关于PFAS对乳腺癌影响的分子机制尚不明确，需要更多的研究来提供证据和支持。本研究采用3D培养的GelMA水凝胶探究PFOA和PFBA对三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231增殖、迁移和侵袭表型及机制的影响，从而为PFAS污染物治理及乳腺癌的防治提供理论依据。**材料和方法**　使用GelMA水凝胶构建3D细胞培养模型，通过CCK8检测三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231的增殖情况，建立PFAS暴露前后诱导增殖的剂量-时间-效应关系；利用Transwell小室和SEM观测实验，对细胞的侵袭和迁移能力进行评价；利用分子生物学技术（基因和蛋白表达及免疫荧光）探究细胞Hippo通路关键基因和蛋白表达和磷酸化情况。**结果**　MDA-MB-231细胞在GelMA水凝胶中生长良好，存活率超过95%。0.1和1 $\mu mol \cdot L^{-1}$的PFOA引发MDA-MB-231细胞显著增殖而PFBA不发生显著影响，2种PFAS均能显著改变细胞周期，使细胞在S期累积，但对细胞凋亡没有明显影响。同时，PFOA和PFBA调节了MDA-MB-231细胞中的Hippo通路和EMT过程，2种PFAS改变了Hippo通路上游关键基因的表达，WB结果表明PFOA处理下LATS1和MST1/2磷酸化水平显著下调，YAP磷酸化程度下降而入核量增多，而PFBA暴露下，LATS1和MST1/2的磷酸化程度发生显著上调，而YAP磷酸化程度没有发生显著变化并且没有入核现象的发生。分子生物学和表型实验分别说明PFOA增加了MDA-MB-231细胞的恶性迁移和侵袭程度，这揭示了PFOA可能具有更强的促进肿瘤恶性迁移和侵袭的能力。两种PFASs的不同性质改变了Hippo信号通路的关键基因表达，然而只有PFOA显著抑制了Hippo信号的中心

效应子YAP的磷酸化，并启动了下游靶基因的转录激活。**结论** 本研究通过GelMA水凝胶培养模型证明了环境相关PFOA对MDA-MB-231细胞的恶性促进风险，并提出了Hippo信号通路在相关影响中的意义。短链PFBA表现出诱导非侵袭性细胞迁移的趋势，其中的原因可能还需要进一步的研究和关注。我们的研究为3D细胞培养在新污染物的毒理学测试和评估中的应用提供了一个范例。

关键词：PFAS；三阴性乳腺癌；3D细胞培养；Hippo通路

通讯作者：徐 挺，E-mail：xuting@tongji.edu.cn

巨噬细胞特异性Nrf2缺失对动脉粥样硬化病变的影响及机制

许晓戈，刘翠杰，徐苑苑，皮静波，王惠惠
（中国医科大学 公共卫生学院 慢病环境基因组学研究室，沈阳 110122）

摘要：目的 动脉粥样硬化作为一种病理基础参与心肌梗死和脑卒中的发生，对人类健康和生活造成极大危害。动脉粥样硬化发生发展过程中，巨噬细胞参与摄取氧化型低密度脂蛋白（oxidized low-density lipoprotein，oxLDL）形成泡沫细胞并发生炎症反应。核转录因子NF-E2相关因子2（Nuclear factor erythroid 2-related factor 2，NFE2L2，Nrf2）通过调控抗氧化酶、Ⅱ相解毒酶和炎症因子的转录表达对抗氧化应激和炎症反应。以往研究表明，在动脉粥样硬化小鼠疾病模型中，Nrf2全身敲除后动脉粥样硬化程度减轻，机制研究发现Nrf2通过调控肝细胞内CD36影响脂代谢；而移植Nrf2敲除鼠骨髓细胞后动脉粥样硬化程度加重，提示不同细胞内Nrf2在动脉粥样硬化过程中发挥不同作用。本研究应用巨噬细胞Nrf2特异性缺失的ApoE$^{-/-}$小鼠，研究巨噬细胞Nrf2在动脉粥样硬化发生发展中的作用及机制。**方法** Nrf2-LoxP；ApoE$^{-/-}$与Lysozyme2-Cre；ApoE$^{-/-}$工具鼠杂交获得巨噬细胞特异性Nrf2敲除（Nrf2（M）-KO；ApoE$^{-/-}$）小鼠及同窝出生的对照（Nrf2-LoxP；ApoE$^{-/-}$）小鼠。常规饲养26～28周，收集小鼠基础指标，并检测血浆脂蛋白胆固醇水平；主动脉组织进行大体油红染色，主动脉根进行石蜡和冰冻包埋后分别做H&E、免疫组化和冰冻油红染色；提取Nrf2（M）-KO和对照小鼠腹腔巨噬细胞，oxLDL处理6 h，检测Nrf2、炎症因子、趋化因子和脂蛋白受体的mRNA水平；应用Transwell检测MCP-1对原代腹腔巨噬细胞的趋化作用。**结果** ApoE基因缺失背景下，与对照组相比，巨噬细胞特异性Nrf2缺失对小鼠的血糖、体重、血压、血脂基础指标没有明显影响；Nrf2（M）-KO；ApoE$^{-/-}$小鼠的主动脉油红染色显示斑块面积增加（$P<0.05$）；主动脉根内膜增厚、胆固醇结晶增加、巨噬细胞浸润增加及平滑肌细胞向内膜迁移增加；主动脉根冰冻切片油红面积增加。oxLDL处理腹腔巨噬细胞6 h，Nrf2缺失促进炎症因子Il-6、Il-1β、Tnf-α和趋化因子Ccl2的mRNA表达水平（$P<0.05$）；腹腔巨噬细胞经MCP-1趋化处理后，Nrf2缺失促进巨噬细胞经Transwell的迁移（$P<0.05$）。**结论** ApoE基因缺失背景下，巨噬细胞Nrf2缺失加重小鼠的动脉粥样硬化病变程度，促进oxLDL诱导的巨噬细胞炎症因子和趋化因子表达升高且促进巨噬细胞被趋化水平。

关键词：动脉粥样硬化；巨噬细胞；炎症反应；Nrf2

基金项目：国家自然科学基金（82073513）；沈阳市科技局中青年科技创新人才支持计划项目（RC210296）

通讯作者：王惠惠，E-mail：hhwang@cmu.edu.cn

过量铜暴露小鼠肝脏和海月水母水螅体的保守应答机制-谷胱甘肽代谢

王 静[1,2]，马雪琪[2]，刘 青[1]，高 翔[1]，王永芳[2]，夏王晓[4]，华晓雨[2]，杨积顺[5]，沈钰新[3]，郝瑞荣[1]，肖 良[2]
（1. 山西农业大学动物科技学院，山西 030801；2. 中国人民解放军海军军医大学，上海 200433；3. 海军军医大学第一附属医院长海医院放射科，上海 200433；4. 西安医科大学基础转化医学研究所，西安 710021；5. 中国人民解放军海军特色医学中心，上海 200052）

摘要：目的 铜（Cu）在机体中的吸收代谢具有一定的限度，一旦超过机体承受能力Cu就会在体内蓄积，

进而对机体造成不可逆转的损伤，且这种损伤具有普遍性。而且不同物种对于过量铜暴露的响应机制是否存在保守性还不明确。本研究将探究铜暴露下海月水母（*Aurelia coerulea*）水螅体和小鼠肝脏的应答机制及其异同。**材料与方法** 首先，将*A. coerulea*水螅体和小鼠模型分别暴露于0 ~ 30.0 mg/L和0 ~ 300 mg/L的Cu^{2+}，以评估铜对其生存状态和小鼠肝脏组织病理学变化的影响。转录组学分析暴露于3.0 mg/L Cu^{2+}的水螅体和暴露于300 mg/L Cu^{2+}的小鼠肝脏中差异表达的基因和富集途径，同时使用BLAST、结构生物学和实时定量PCR（RT-qPCR）比较分析过量铜暴露下*A. coerulea*水螅体和小鼠在分子组成和响应机制上的异同。**结果** 结果表明过量铜暴露时，*A. coerulea*水螅体和小鼠的生存状态均发生明显变化。3.0 mg/L Cu^{2+}暴露4 h内，*A. coerulea*水螅体达到了最大损伤程度。此时谷胱甘肽代谢途径被激活以保护细胞免受氧化损伤。而在小鼠上，当Cu^{2+}浓度超过30.0 mg/L时，小鼠体重显著下降，并开始出现死亡个体。HE染色结果显示铜能够损伤小鼠肝脏组织，且组织病变程度随着铜浓度的增加而加重，暴露于300 mg/L Cu^{2+}的小鼠肝组织受损更加严重，表现为片状变性、肝细胞坏死和核溶解消失。转录组测序结果表明，300 mg/L Cu^{2+}组小鼠肝脏细胞死亡主要由吞噬体和Toll样信号通路介导。此外，我们发现谷胱甘肽代谢在*A. coerulea*水螅体和小鼠的铜暴露应答中都发生了显著变化，可能是通过降低GSH/GSSG的比率加速消耗ROS，以及GST催化转运Cu^{2+}至体外，以此抵御ROS的损伤，但*A. coerulea*水螅体内激活细胞死亡的途径还有待于明确。另外，*A. coerulea*水螅体和小鼠在谷胱甘肽代谢通路上有两个相同的位点，上面富集到的差异基因序列相似性分别高达41.05% ~ 49.82%和43.61% ~ 45.99%。其中，*A. coerulea*水螅体GSTK1和小鼠Gsta2的结构中有一个保守区，但总体差异很大。**结论** 尽管哺乳动物在铜诱导的细胞死亡方面有更复杂的调控网络，但谷胱甘肽代谢在亲缘关系较远的*A. coerulea*水螅体和小鼠中是一种保守的铜响应机制。

关键词：铜暴露；海月水母；小鼠模型；保守响应机制；谷胱甘肽代谢

作者简介：王　静，E-mail：W20200915@hotmail.com

通讯作者：肖　良，E-mail：hormat830713@hotmail.com；郝瑞荣，E-mail：hrr823229@126.com；沈钰新，E-mail：shenyx2015@163.com

GPX4 utilization by selenium is required to alleviate cadmium-induced ferroptosis and pyroptosis in sheep kidney

Li Wang, Fan Yang, Mingwen Hu, Guiping Chen, Yun Wang, Haotian Xue, Danghua Fu, He Bai, Guoliang Hu, Huabin Cao

(Jiangxi Provincial Key Laboratory for AnimalHealth, Institute of Animal Population Health, College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, Jiangxi, China)

Abstract: Cadmium (Cd), a persistent and harmful heavy metal in the environment, can accumulate in the kidneys and cause nephrotoxicity. Selenium (Se) is a beneficial natural element that alleviates the toxicity of Cd. To ascertain the relationship between theprotective mechanism of Se against Cd nephrotoxicity and ferroptosis and pyroptosis,we randomly divided 48 sheep into four groups and treated them with Cd chloride and/or sodium selenite for 50 days. The data confirmed that Cd apparently resulted in impaired kidney histology and function, depletion of GSH and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate contents and CAT and SOD activities, elevation of MDA level,as well as the reduction in selenoprotein mRNA (GPX1, GPX4, TXNRD1, SELP) levels and GPX4 protein level and immunofluorescence intensity. Meanwhile, Cd induced ferroptosis by causing iron overload, up-regulating PTGS2, NCOA4, TFR1, and LC3B mRNA levels and PTGS2 and LC3B-II/LC3B-I protein levels, reducing SLC7A11 and FTH1 mRNA and protein levels, and enhancing the immunofluorescence co-localization of FTH1/LC3B. Moreover, it was also found that Cd triggered pyroptosis, which was evidenced by the increase of NLRP3 immunohistochemical positive signal, GSDMD-N immunofluorescence intensity,

IL-1β and IL-18 release and the levels of pyroptosis related mRNA (NLRP3, ASC, Caspase-1, GSDMD, IL-1β and IL-18) and proteins(NLRP3, Caspase-1p20, GSDMD-N, IL-1β and IL-18). Notably, Se increased the expression level of GPX4 and the transcription factors TFAP2c and SP1, and ameliorated Cd-induced changes in aforementioned factors. In conclusion, GPX4 utilization by Se might be required to alleviate Cd-induced ferroptosis and pyroptosis in sheep kidney.

Key words: cadmium; Ferroptosis; kidney; Pyroptosis; selenium; sheep

Corresponding author: Huabin Cao, E-mail：chbin20020804@jxau.edu.cn

circ_009773在纳米氧化钕诱导的DNA损伤中的功能和调控网络的鉴定

王亚丽，刘 凌，张 霞，陈世杰，黄丽华
（包头医学院公共卫生学院，内蒙古包头）

摘要：目的 研究circ_009773在NPs-Nd2O3致人支气管上皮细胞（16HBE）DNA损伤过程中的功能，及与其相关的ceRNA网络在NPs-Nd2O3诱导的16HBE细胞DNA损伤过程中的潜在机制。**方法** 采用EDU和LDH试剂盒检测NPs-Nd2O3对16HBE细胞增殖和细胞毒性的影响。通过RNA测序（RNA-seq）筛选出差异表达的circRNA，使用QRT-PCR对候选circRNA进行验证。用Sanger测序和普通RT-PCR凝胶电泳实验鉴定其环状特征。FISH及胞质胞核分离实验对circRNA的定位进行检测。ROS检测NPs-Nd2O3染毒16HBE后，细胞中活性氧簇的生成情况。采用彗星实验法和western blot法检测DNA损伤情况。采用基因本体论（GO）分析和京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路分析进一步注释mRNA的功能。CircRNA-miRNA-mRNA相互作用网络被用来呈现潜在的调控机制。**结果** 不同剂量的NPs-Nd2O3染毒16HBE细胞6 h、12 h、24 h、48 h和72 h后，随着染毒时间和浓度的增加16HBE的细胞毒性和DNA损伤是逐渐增加的。在40 μg/ml NPs-Nd2O3作用48 h后，16HBE细胞表现出更为严重的DNA损伤，此浓度送检测序后发现circ_009773下调明显且在NPs-Nd2O3暴露的16HBE细胞中平均表达水平低于对照组。通过对circ_009773亲本基因的注释，探讨了其母基因的功能，最终发现circ_009773的亲本基因主要富集于DNA损伤和修复通路中。功能实验表明circ_009773可以抑制NPs-Nd2O3诱导16HBE细胞DNA损伤。基于1个DEcircRNAs、74个DEmiRNAs和208个DEmRNAs构建了circ_009773相关的ceRNA网络。蛋白-蛋白相互作用（protein-protein interaction）网络和模块分析确定了与DNA损伤和修复相关的主基因。**结 论** 本研究 发现NPs-Nd2O3可以引起16HBE发生细胞毒性及DNA损伤反应。在这一过程中Circ_009773通过circRNA-miRNA-mRNA网络发挥抑制DNA损伤的作用。Circ_009773功能的探索及其相关ceRNA网络图的可视化为NPs-Nd2O3诱导DNA损伤研究提供了新的视角。

通讯作者：黄丽华，E-mail：huanglihua@btmc.edu.cn

三氯卡班通过调控亲代斑马鱼circSGOL1干扰肠-脑-性腺轴起源诱导子代胚胎发育异常

王泽君，陈书雅，赵晨曦，张心叶，王慧利
（苏州科技大学，环境科学与工程学院，苏州 215009）

摘要：背景与目的 氯卡班（TCC）是一种广泛使用的具有急性毒性的抗菌成分，能够阻止脂肪酸的合成和微生物细胞膜的形成。在中国TCC的河流、沉积物及鱼类和鸟类等生物中广泛检测到。研究表明TCC可以通过影响细胞周期进程、破坏小鼠神经元细胞的自噬和干扰雌激素受体的信号转导来破坏小鼠卵母细

胞的成熟。此外，本课组先前的研究发现斑马鱼暴露于TCC后，会出现较高的胚胎死亡率，还出现孵化和卵黄吸收延迟，血管发育中断，免疫细胞数量和聚集功能显著降低等现象。然而，潜在的TCC毒性机制仍不明确，特别是其对亲本后代（F0-f1）。**材料与方法** 作为一个多通道的双向调节网络，肠-脑轴不仅影响神经和免疫系统功能，还通过内分泌途径作用于性腺。肠道和大脑可以通过迷走神经的传出纤维和传入纤维交换信号，也可以依靠血液中的免疫因子穿透血脑屏障和中枢神经系统。肠道微生物代谢产物和胃饥饿素驱动性别特异性基因表达，调节代谢和器官节律，将不活跃的性激素转化为活跃状态，从而调节性激素和生育能力。因此，本研究以斑马鱼为模型生物，从肠-脑-性腺轴的角度研究TCC毒性效应和及其潜在的分子机制。**结果** 实验结果证明了慢性TCC（225 μg/L）暴露能够通过诱导肠道菌群紊乱影响成年斑马鱼的生长和发育。肠道菌群失调导致肠-脑-性腺轴内的功能障碍。这产生了一系列的神经和运动行为异常，以及生殖毒性，反应在亲代性腺的病理损伤和F1代幼鱼发育畸形中。F1代幼鱼的异常发育归因于circSGOL1的上调诱导的细胞凋亡。这种上调影响了hnRNP A1蛋白的活性和定位，进而促进促凋亡相关基因的过度表达，最终导致胚胎早期发育过程中的凋亡。**结论** 本研究系统地阐明了亲代-子代间TCC毒性机制，并为慢性TCC毒性的早期风险预警和控制提供了重要的理论指导，也丰富了它们之间复杂相互作用的理解，为TCC诱导的生殖毒性提供了治疗靶点和途径。

关键词：三氯卡班；肠-脑-性腺轴；生殖毒性；circSGOL1；hnRNP A1蛋白；F0-F1斑马鱼

基金项目：国家自然科学基金（31770552）；苏州科技大学科研启动基金（332211209）

通讯作者：王慧利，E-mail：whuili@163.com

乙草胺对斜生栅藻-铜绿微囊藻竞争关系的影响研究

王子康，刁金玲

（中国农业大学 理学院，北京 100193）

摘要：本实验通过单独培养斜生栅藻或铜绿微囊藻，以及二藻共同培养，探究不同藻种间的竞争行为以及共存条件。同时对培养体系进行乙草胺暴露处理，探究不同物种对于乙草胺敏感性的差异，以及乙草胺对竞争行为的影响和乙草胺胁迫下对浮游植物共存的影响。结果表明，在单独培养的条件下，0.010 mg/L的乙草胺显著抑制了斜生栅藻的生长，但是对铜绿微囊藻的生长没有影响。在斜生栅藻和铜绿微囊藻共同培养的体系中，无乙草胺的情况下，斜生栅藻为优势物种，而铜绿微囊藻为也能维持一定的种群规模并呈现增长趋势。然而在乙草胺处理后，斜生栅藻的优势被大大削弱，于3日后达到环境容纳量后生长出现停滞。铜绿微囊藻变为优势物种，且增长势头强劲。这表明乙草胺能够改变淡水湖泊中藻的优势物种更替，这可能成为有害藻华爆发的推动力之一，影响淡水生态系统的稳定。被试物种均为浮游植物，是最简单的生产者，它们之间的竞争策略主要包括资源竞争和干扰竞争。本实验通过物种对氮元素同化的能力表征资源竞争的情况，通过铜绿微囊藻分泌的微囊藻毒素MC-LR的含量表征干扰竞争的情况，并对比乙草胺的存在与否对两种竞争策略的干扰。通过凯氏定氮法测定了藻的含氮量。结果表明，乙草胺的存在导致斜生栅藻的含氮量升高，说明乙草胺刺激了栅藻对氮的同化。培养基中的氮元素主要为硝态氮，其次为铵态氮。结果显示在乙草胺暴露下，斜生栅藻单独培养中的谷氨酰胺合成酶上升，而斜生栅藻与铜绿微囊藻共同暴露下硝酸盐还原酶上升。结果表明在单独培养和共同培养下刺激斜生栅藻氮元素同化的通路不同，表明乙草胺胁迫下，栅藻的氮资源同化随着种间竞争强度的升高而发生适应性改变。无乙草胺的情况下，MC-LR的含量在共培养的微囊藻细胞中上调，表明栅藻带来的竞争威胁导致微囊藻合成更多毒素用于对抗。但是乙草胺的加入导致共培养体系中微囊藻毒素合成的下降，这表明乙草胺会干扰微囊藻的干扰竞争策略。

关键词：斜生栅藻；铜绿微囊藻；乙草胺；竞争；生态毒理学

通讯作者：刁金玲，E-mail：jinling@cau.edu.cn

柠檬酸酯类增塑剂干扰脂代谢诱导肥胖和脂肪肝发生的效应及机制研究

翁 丹
（南京理工大学环境与生物工程学院）

摘要：肥胖已成为当代最具挑战的全球性公共健康问题，给国家医疗系统造成沉重负担。研究发现塑料的大量使用可能与肥胖的大流行相关。柠檬酸酯类增塑剂，包括乙酰柠檬酸三丁酯（Acetyl tributyl citrate，ATBC）和乙酰柠檬酸三乙酯（Acetyl Triethyl Citrate，ATEC），目前被认为是安全的化合物，用来替代传统的邻苯二甲酸酯类增塑剂，广泛用于食品和药品的包装、日化和儿童相关塑料制品的生产，但其高迁移率以及在环境介质中的高检出率和检出浓度，引起人们对其潜在暴露风险的担忧。

本研究利用细胞、分子和动物等不同层次的研究体系，对环境相关浓度ATBC和ATEC的生物学效应进行了研究。我们首先在细胞水平（*in vitro*）对ATBC和ATEC的安全性进行了评估，发现低浓度的ATBC和ATEC（3、10、30和100 μmol·L^{-1}）处理鼠源和人源肝细胞，对细胞活性和增殖无明显影响，但能显著促进细胞中甘油三酯的积聚，同时诱导细胞中脂质从头合成（de novo lipogenesis，DNL）信号通路关键基因（SREBP-1c、ACC1、ACLY、FAS、SCD-1）和调控脂质吸收的关键基因（FABP4和CD36）的转录表达，表明ATBC和ATEC能在细胞水平上干扰脂代谢平衡，促进细胞内脂质合成和吸收进而导致脂质积聚的增加。

我们进一步在动物水平（*in vivo*）探究了ATBC和ATEC的生物学效应。通过将ATBC和ATEC添加到小鼠饲料中以模拟饮食暴露模型，C57BL/6J雄鼠在用环境相关浓度（0.01，1 和1000 μg/kg/day）的 ATBC和ATEC饮食暴露8到14周后，相较于control对照组，小鼠体重增长率增加，体脂率上升，白色脂肪细胞变大，血清中游离脂肪酸（FFA）和胆固醇（TC）水平显著上升，小鼠肝脏中甘油三酯含量明显增加，表明ATBC和ATEC具有促进肥胖和脂肪肝发生的效应。进一步利用转录组测序和qRT-PCR检测小鼠肝组织中相关基因的表达，发现ATBC或ATEC暴露能影响脂质代谢相关信号通路，包括类固醇生物合成通路、PPAR信号通路，胰岛素信号通路，脂肪酸延伸和降解信号通路以及胆固醇代谢通路等，显著上调了调控脂代谢的多个基因，包括Scd1，Fasn和Elovl7等。

综上，我们发现环境相关浓度的ATBC或ATEC能促进细胞中甘油三酯的积聚，中长期的饮食暴露会增加小鼠的体重增长率，小鼠的体脂含量，促进脂肪细胞变大，升高小鼠血脂水平，并诱导脂肪肝的发生，表明柠檬酸酯类增塑剂ATBC和ATEC可能具有致肥效应，属于潜在的环境致肥化合物（environmental obesogen）。考虑到柠檬酸酯类增塑剂使用量和使用范围的日益增加，及其很高的环境检出率和检出浓度，我们急需对其生物学效应和安全性进行全面系统的评估。

关键词：增塑剂；乙酰柠檬酸酯；环境致肥因子；代谢干扰物

通讯作者：翁 丹，E-mail：danweng@njust.edu.cn

微塑料加重哮喘小鼠过敏性炎症反应的机制研究

夏 青，胡龙吉，魏 源，曾凡美，贺 淼
（中国医科大学，辽宁省环境健康损害评价与研究重点实验室）

摘要：目的 塑料广泛应用于生产生活，塑料分解产生的直径小于5 mm塑料碎片和颗粒称为微塑料，其环境污染问题已引起全球关注。研究发现空气中的微塑料比水、食物或土壤中的微塑料对公众健康造成的风险更大。本研究将探讨吸入聚苯乙烯（polystyrene，PS）微塑料对过敏性气道炎症的影响。**材料和方法** 正常小鼠和经卵蛋白（Ovalbumin，OVA）诱导的哮喘小鼠，通过气管滴注不同剂量PS（PS1：2×10^6个，PS2：2×10^7个），每两周一次，共4次，末次染毒后24 h，检测肺功能，解剖后心尖取血，取肺泡灌洗液（Bronchoalveolar lavage fluid，BALF），计数BALF中炎性细胞数目，肺组织进行HE、PAS染色，观察病理改变，测定BALF中细胞因子以及血清中卵清蛋白特异性免疫球蛋白（OVA-IgG1和OVA-sIgE）水平，检测肺组织

TLR2/TLR4-MyD88受体信号通路和相关细胞因子表达。**结果** PS导致正常和哮喘小鼠气道通气阻力升高，呼吸频率加快，肺容积下降，呼吸能力下降，且高剂量PS组对肺功能的损害程度高于低剂量组。PS使正常小鼠肺组织结构异常，炎症细胞浸润，肺泡壁增厚，气道上皮细胞增殖；哮喘小鼠肺组织嗜酸性粒细胞浸润，杯状细胞增生。PS使正常和哮喘小鼠BALF中炎性细胞（嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞）数量增加；尤其哮喘小鼠嗜酸性粒细胞数量显著增多。PS使正常和哮喘小鼠BALF中嗜酸性粒细胞趋化因子（Eotaxin）、白细胞介素（IL）-5、IL-12、IL-13、CXC趋化因子（LIX）、单核细胞趋化蛋白（MCP）-1、MCP-3、CCL趋化因子（MDC）、胸腺活化调节趋化因子（TARC）、肿瘤坏死因子（TNF-α）水平升高。PS使哮喘小鼠血清中OVA-IgG1、OVA-sIgE水平显著升高。PS使正常和哮喘小鼠肺组织Toll样受体（TLR）2、TLR4、髓系分化因子（MyD）88、肿瘤坏死因子受体相关因子（TRAF）6、核因子（NF）-κB及TNF-α的基因和蛋白表达升高。**结论** PS经TLR2/TLR4-MyD88信号通路使哮喘小鼠的过敏性炎症反应加重。

关键词：微塑料；吸入；肺组织；嗜酸性粒细胞；过敏性炎症反应

基金项目：辽宁省民生科技计划项目（2021020348-JH2/103）

通讯作者：贺　淼，E-mail：mhe@cmu.edu.cn

生命早期营养-有毒元素暴露对婴儿肠道菌群定殖的影响

熊仕茂，尹乃毅，崔岩山

（中国科学院大学，资源与环境学院）

摘要：目的 生命早期是人体肠道菌群定殖和发育的关键窗口期。环境化学物质能穿过胎盘屏障进入脐带血和羊水，发育中的胎儿直接暴露于各种环境化学物质。本研究探索产前营养-有毒元素暴露对婴儿肠道菌群定殖的影响，为肠道菌群作为长期、低剂量环境化学物质暴露的靶器官提供科学依据。**材料和方法** 2021年9月至2022年6月在北京大学人民医院妇科盆底门诊招募146对母婴。门诊现场采集母亲头发样品119例用于评估婴儿产前营养-有毒元素的暴露水平，产后3个月和产后6个月随访收集母婴粪便样品144对，利用16S rRNA测序和LC-MS/MS测定肠道菌群的组成、多样性及其代谢产物。采用线性回归模型明确产前营养-有毒元素暴露与婴儿肠道菌群α多样性的关联，置换多因素方差分析比较各元素低、中、高浓度暴露组间肠道菌群β多样性（unweighted_UniFrac）的差异。**结果** 所有头发样品中均检出不同浓度的营养-有毒元素，多种元素之间浓度呈正相关，如砷元素和铁元素，斯皮尔曼相关系数范围为0.19～0.48（$P<0.05$）。线性回归模型结果显示，婴儿肠道菌群α多样性Shannon指数与产前暴露于汞和铜元素呈负相关，与暴露于硒元素呈正相关。根据分娩方式、喂养方式和婴儿性别进行分层回归分析，发现多种营养-有毒元素与婴儿肠道菌群α多样性存在关联。婴儿肠道菌群β多样性与产前暴露于铝元素相关。但婴儿肠道菌群对元素的干扰有一定的修复能力，在第二次随访时各元素暴露组间多样性未有明显差异。研究还发现母婴肠道菌群多样性之间存在显著差异，且差异有随着婴儿月龄增加变小的趋势，表现为婴儿肠道菌群丰度上升，菌群结构向母亲样本靠近（$P<0.05$）。此外，在两次随访的婴儿粪便代谢产物中发现90种可能与肠道菌群相关的差异代谢产物（如异戊酰基肉碱、芥子酸胆碱、消退素E2和丙氨酰-L-酪氨酸等）（Fold Change > 1.5，$P<0.05$），其中9种表现为上调，81种表现为下降。**结论** 产前营养-有毒元素暴露可能影响婴儿肠道菌群的组成，特别是汞、铜、硒和铝等元素，是婴儿肠道菌群定殖的重要影响因素。提示生命早期肠道菌群对外界扰动的敏感性，仍需进一步的研究阐明这些改变作为暴露的生物标志物及其对生长发育的影响。

关键词：生命早期；营养-有毒元素暴露；婴儿肠道菌群；多样性和稳定性；代谢产物

基金项目：国家自然科学基金（42277431）

通讯作者：熊仕茂，E-mail：xiongshimao21@mails.ucas.ac.cn

甲氰菊酯的神经毒性效应及其机制

修文谣，马军国
（河南省水生态毒理与健康防护国际联合实验室，河南师范大学，新乡 453007）

摘要：目的 研究并阐明甲氰菊酯的神经毒性效应及机制，为其生态风险评估及合理规范使用提供理论参考。**材料与方法** 选择环境相关浓度甲氰菊酯（0.45、1.35 μg/L）暴露黄河鲤鱼，观察鲤鱼行为变化，于第7、14天取鱼脑组织样品，在生化和分子水平检测鱼脑神经系统相关指标，并通过组织切片观察鱼脑组织变化情况。**结果** 甲氰菊酯暴露能改变鲤鱼行为，引起鲤鱼脑组织紧密连接蛋白和相关基因（claudin-1、occludin和zonula occludens-1）表达异常，干扰鲤鱼脑组织乙酰胆碱酯酶（AChE）和Na^+-K^+-ATP酶活性，导致内源性大麻素系统相关基因cnr、DUSP1和nr3c1异常表达，并引起多巴胺（DA）、乙酰胆碱（ACh）、γ-氨基丁酸（GABA）、5-羟色胺（5-HT）和谷氨酸盐（Glu）等神经递质含量改变，提示甲氰菊酯暴露可能破坏鲤鱼血脑屏障，打破神经递质平衡，诱导神经炎症并激活神经元免疫反应。此外，甲氰菊酯暴露还促进鲤鱼脑组织活性氧（ROS）含量升高，诱导超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）活性改变，显著提高丙二醛（MDA）、8-羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）和蛋白质羰基含量，说明甲氰菊酯暴露能诱导鲤鱼脑氧化应激，并造成鱼脑脂质、DNA和蛋白损伤。另外，甲氰菊酯暴露后鲤鱼脑线粒体自噬相关基因（PINK1、mfn2、parkin、tax1bp1、p62、ndp52、nbr1a、optn、atg3、atg5、LC3、ulk1、beclin1、tfeb、atg9）和凋亡相关基因（p53、bax、bcl-2、caspase-8、caspase-9、caspase-3）表达均发生显著变化，提示甲氰菊酯可能诱发神经元线粒体自噬，并导致凋亡。组织学观察结果发现甲氰菊酯暴露可能引起鱼脑组织病理损伤。**结论** 甲氰菊酯暴露能改变鲤鱼行为并诱发神经毒性，氧化应激、神经炎症、神经元线粒体自噬和凋亡可能参与其中。

关键词：甲氰菊酯；黄河鲤；神经毒性；作用机制

*Lias*基因高表达对细颗粒物所致小鼠肺损伤的影响作用

徐光翠，赵英政，吕梦迪，高启禹，张丰泉，安 珍，吴卫东
（新乡医学院公共卫生学院，河南 新乡 453003）

摘要：目的 氧化应激和炎症被认为是细颗粒物（PM2.5）引起机体毒性的重要机制。氧化应激的强度和造成机体受损的程度受体内抗氧化系统的影响和制约。为了模拟人体内存在的不同抗氧化状态，课题组运用具有较高抗氧化基线水平的抗氧化小鼠模型（$Lias^{High/High}$），探讨内源性抗氧化水平对PM2.5所致小鼠肺损伤的量效关系及作用机理。**材料和方法** $Lias^{High/High}$和野生型（WT）小鼠分别随机分为PM2.5暴露组和对照组（n=10）。PM2.5暴露组和对照组小鼠经气管滴注分别给予PM2.5和生理盐水，每天一次，连续7天。末次染毒24 h后处死小鼠，收集肺泡灌洗液（BALF）、血清和肺。ICP-MS检测金属成分；HE染色观察肺形态学变化；ELISA法检测BALF和血清IL-1β、IL-6、TNF-α和MCP-1水平；比色法检测血清T-AOC、肺MDA和SOD2水平，荧光探针法检测肺ROS含量；q-PCR法分析肺相关指标mRNAs表达水平；免疫组织化学法检测肺组织Nrf2和p38 MAPK表达，免疫荧光法检测肺组织Nrf2表达，Western Blotting检测肺线粒体中LIAS蛋白的表达。**结果** PM2.5样品含有16种金属成分，其中Zn、Fe、Al、Pb四种元素的质量浓度最高。WT和$Lias^{High/High}$对照组小鼠肺组织未见明显异常。与WT对照组比较，WT暴露组肺泡间隔显著增宽，有明显的淋巴细胞、浆细胞浸润；与WT暴露组比较，$Lias^{High/High}$暴露组肺间隔明显变窄，淋巴细胞、浆细胞浸润明显减少。与WT对照组比较，WT暴露组小鼠肺ROS和MDA含量显著上升，血清T-AOC和肺SOD2水平显著下降；BALF和血清IL-1β、MCP-1和TNF-α水平明显升高（P<0.05）；与WT暴露组比较，LiasHigh/High暴露组小鼠肺组织ROS含量明显降低，血清T-AOC和肺SOD2含量明显升高，BALF IL-6、TNF-α和血清IL-1β、TNF-α含量明显下降（P<0.05）。与WT对照组比较，WT暴露组小鼠肺Nrf2、HO-1、CAT和p38 MAPK mRNA表达水平显著上升，Lias表达水平明显降低（P<0.05）；与WT暴露组小鼠比较，LiasHigh/High暴露

组小鼠肺Nrf2、HO-1和CAT mRNAs表达水平明显降低（$P<0.05$）；Nrf2、LIAS、GCLC和p38 MAPK蛋白的变化和其基因变化一致。**结论** PM2.5暴露可引起小鼠肺损伤，机体抗氧化/氧化应激水平与肺损伤程度之间有量效关系，即Lias基因高表达可缓解小鼠PM2.5暴露所致的肺损伤。新的小鼠模型有助于拓宽抗氧化治疗的应用范围，有利于抗氧化剂的筛选和确定抗氧化干预靶点。

关键词：细颗粒物；硫辛酸合成酶；内源性抗氧化能力；抗氧化小鼠模型；肺损伤

利用肺芽尖祖类器官研究PM2.5发育毒性及机制

王　润[1]，徐升敏[2]

（1. 中国科技大学环境科学与光电技术学院，安徽 合肥 230026；2. 安徽大学物质科学与信息技术研究院，安徽 合肥 230601）

摘要：目的 空气污染仍然是全球公众健康的一大威胁，胚胎发育期是对外来物质最为敏感的时期。流行病学研究显示，在胎儿发育的关键时期和整个怀孕期间接触空气污染会影响胎儿肺部发育并对新生儿的肺功能产生长期影响。然而，由于缺乏可靠的体外模型，PM2.5暴露对胎儿肺发育的毒性及其机制仍然不是十分清楚。我们利用人胚胎干细胞系H9（hESCs）诱导的肺芽尖祖类器官（LPOs）为体外研究模型，模拟胎儿肺发育早期阶段的过程，并且评估PM2.5对早期胎肺发育的关键阶段的毒性效应。**材料和方法** ① 构建hESCs来源的LPOs体外模型；② 不同浓度的PM2.5（0、12.5和25 μg/mL）的暴露处理早期胎肺发育的不同阶段，包括从hESCs持续暴露至LPOs，从hESCs暴露至定型内胚层（definitive endoderm，DE）以及从DE暴露处理至前肠内胚层（anterior foregut endoderm，AFE）；③ 通过CCK-8、EdU、qRT-PCR、Western blot及免疫荧光实验分析PM2.5对早期肺发育过程的影响，阐述PM2.5的肺发育毒性及其可能的作用机制。**结果** 12.5、25和50 μg/mL的PM2.5暴露处理hESCs 24 h、48 h和72 h，发现12.5和25 μg/mL的PM2.5暴露处理并不产生明显的细胞毒性，随后选取了12.5和25 μg/mL来进一步评估PM2.5对LPOs形成的影响。结果显示，25 μg/mL PM2.5显著降低了LPOs的增殖能力，并且肺近端分化关键转录因子SOX2和肺内胚层标志物NKX2.1的基因表达水平显著降低，而12.5 μg/mL PM2.5诱导远端分化关键转录因子SOX9 mRNA显著上调，说明PM2.5暴露会影响胎肺发育早期的近远端分化。随后进一步分析发现25 μg/mL PM2.5暴露显著影响了DE的形成，qRT-PCR和Western blot结果显示，PM2.5暴露处理显著抑制了DE中关键转录因子SOX17和FOXA2的mRNA和蛋白质表达水平。同时，DE至AFE分化阶段进行PM2.5处理也能明显影响AFE的细胞活力和3D球体的形成效率，然而PM2.5的暴露仅仅导致NKX2.1 mRNA表达的下调，并不影响SOX2 mRNA的表达。此外，长期暴露于PM2.5对胎肺早期发育的影响与Wnt/β-catenin信号通路相关。 **结论** PM2.5可通过抑制Wnt/β-catenin信号通路影响胎肺早期发育，进一步揭示了产前暴露于PM2.5对胎儿呼吸系统发育具有重大健康风险。

关键词：PM2.5；早期肺发育；肺芽尖祖类器官；Wnt/β-catenin信号通路

通讯作者：徐升敏，E-mail：shmxu@ahu.edu.cn

肠源性褪黑素在纳米氧化锌致神经行为损伤中的改变

杨灿桃[1,2]，卢朝虹[1,2]，蒋学君[2,3]，夏茵茵[1,2]，邹　镇[2,4]，程淑群[1,2]，陈承志[1,2]

（1. 劳动卫生与环境卫生学教研室，公共卫生学院，重庆医科大学；2. 环境与人群健康研究中心，重庆医科大学；3. 公共卫生实验教学中心，重庆医科大学；4. 生命科学院，重庆医科大学，重庆 400016）

摘要：目的 探讨纳米氧化锌（ZnONPs）暴露是否影响肠道来源褪黑素的合成、转运及生理功能，为纳米氧化锌的健康损害和安全性评价奠定基础。**材料和方法** 将64只8周龄成年雄性C57BL/6J健康小鼠随

机平均分为四组(0、6.5、13、26 mg/kg/day),持续灌胃暴露30天后,采用旷场实验、转棒疲劳实验和高架十字实验观察小鼠神经行为的改变;采用转录组测序分析脑组织中mRNA表达水平;采用qPCR法检测白天和夜间的褪黑激素相关基因芳基胺N-乙酰转移酶(Aanat)、褪黑激素受体1A(*Mt1/Mtnr1a*)、褪黑激素受体1B(*Mt2/Mtnr1b*)和神经肽Y(Npy)在十二指肠、空肠、回肠和结肠的表达。**结果** 与对照组比较,行为学结果显示,ZnONPs口服暴露会导致成年小鼠白天的运动活动受到抑制和运动协调和平衡能力受到损害,以及诱发焦虑样行为的增加;脑组织转录组测序分析显示,在白天时段,ZnONPs暴露后,92.85%基因重叠,当差异倍数>2且$P<0.05$时,共筛选出718个差异基因,其中有380个基因上调,338个基因下调,涉及生物过程、细胞组分、分子功能三个类别,通过GO功能富集和KEGG通路富集分析,主要被富集到了多巴胺运输、神经元分化和细胞钙离子稳态,神经活性配体-受体相互作用、cAMP信号通路和钙信号通路,富集到这些通路上的基因有Npy, Tph2, Ucn and Ido1 等;脑组织转录组测序分析显示在夜间时段,ZnONPs暴露后,94.18%基因有重叠,当差异倍数>2且$P<0.05$时,共筛选出133个差异基因,其中有63个基因上调,70个基因下调,通过GO功能富集和KEGG通路富集分析,主要与炎症反应、信号转导以及神经信号传导密切相关,富集到这些通路上的基因有C3, Il_1β, Ucn and 5tr2a 等;在十二指肠、空肠、回肠和结肠部位,ZnONPs导致肠道来源的褪黑素限速酶Aanat、膜受体Mt1和Mt2以及Npy在白天和夜间的表达明显减少。**结论** ZnONPs可能通过改变脑组织转录组基因的表达水平以及干扰不同肠段内褪黑素的合成、转运以及生理功能,进一步影响神经行为功能。

关键词:纳米氧化锌; 肠源性褪黑素; 神经行为损伤; 转录组测序

通讯作者: 陈承志,E-mail: chengzhichen@cqmu.edu.cn;程淑群,E-mail: 871222238@qq.com

肺癌干细胞模型的建立及其在环境污染物肺毒性探究中的应用

杨珺涵[1,2], 杨仁君[1,2], 殷诺雅[1,2], Francesco Faiola[1,2]

(1. 环境化学与生态毒理学国家重点实验室,中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085;
2. 资源与环境学院,中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 肺癌,作为全球范围内最常见的一种癌症类型,其高发病率和死亡率吸引了众多学者研究与其相关的各种致病因素。其中,大量的流行病学研究,各种细胞、动物模型研究已经表明环境污染物,尤其空气污染物是肺癌发生、发展的一大风险因素。这些污染物在通过呼吸、皮肤接触、饮食摄入进入人体后,诱发氧化应激、炎症反应、DNA损伤、表观遗传、代谢以及相关信号通路的改变,最终增加癌症发生的风险。目前,针对环境污染物和肺癌的关系研究均未重点考虑肿瘤细胞内部的差异性,而是把其看作一个均一的整体。实际上,在癌组织中还存在一类特别的细胞群体——癌症干细胞,环境污染物和癌症干细胞之间的关系研究目前还不充分。癌症干细胞是指肿瘤细胞中能够自我更新、维持干性的一小部分细胞,并且具有分化为其他异质性肿瘤细胞的能力,在增强肿瘤异质性和可塑性的同时,可以参与到癌症的发生、发展、恶化、转移等多过程中。更为重要的是,人体内的癌症干细胞通常处于相对静止的细胞周期,因此以增殖旺盛的癌细胞为靶向的常规疗法对此类细胞并不会发生作用,采取常规疗法后,仍然存在于体内的癌症干细胞则会在一系列包括环境污染物在内的刺激下,导致癌症的再次发生。因而,为阐明环境污染物对癌症干细胞的影响机制,亟需建立一个稳定高效的肺癌症干细胞毒理学研究模型。目前获取癌症干细胞的方法包括:(1)基于不同癌症干细胞表面的特异性蛋白来进行免疫磁珠分选和流式分选;(2)基于癌症干细胞通过表达ATP结合盒转运蛋白来拒染核染料 Hoechst 33342的特性来进行荧光筛选;(3)基于无血清培养基成球实验富集癌症干细胞;(4)利用诱导多能干细胞技术对肿瘤细胞进行重编程,使其获得干性状态,再筛选出其中的癌症干细胞。应用上述方法获取肺癌症干细胞并且建立相关肺癌症干细胞毒理学研究模型,可以为环境污染物的促肺癌发生机制相关研究提供条件。

关键词:肺癌; 环境污染; 癌症干细胞; 重编程; 诱导多能干细胞

通讯作者: 殷诺雅,E-mail: nyyin@rcees.ac.cn

无锡市社区人群三卤甲烷暴露与血清肝功能指标的关联性研究

杨　丽[1]，陈丽梅[1]，郝亚梅[1]，周　闰[1]，朱晶颖[1]，朱　迅[1]，王倩倩[1]，李修竹[1]，钱燕华[1,2]，丁新良[1]
〔1. 无锡市疾病预防控制中心（南京医科大学附属无锡疾病预防控制中心），无锡　214023；
2. 无锡市第五人民医院，无锡　214011〕

摘要：目的　本研究以尿液THMs含量作为内暴露生物标志物，探讨无锡市社区人群THMs暴露与血清肝功能指标的关联性，并探讨影响尿液THMs暴露水平的因素。**方法**　2020年12月~2021年9月，采用多阶段分层抽样的方法在无锡市锡山区、惠山区和新吴区各抽取3个社区，按性别（男/女）和年龄（18～、30～、40～、50～、60～79岁）分层，每层随机抽取4人，合计360人。根据纳入标准（在调查前12个月内在无锡市居住6个月以上，无遗传性疾病、HIV感染或艾滋病的社区人群）和排除标准（排除居住在功能区中的居民，如军队、学校、养老院等）确定研究对象后，对其进行现场问卷调查、体格检查和尿液采集。采用顶空固相微萃取气相色谱法（headspace solid phase microextraction gas chromatography，HSPE-GC）测定尿液中四种THMs［三氯甲烷（chloroform，TCM）、二氯一溴甲烷（bromodichloromethane，BDCM）、一氯二溴甲烷（dibromochloromethane，DBCM）和三溴甲烷（bromoform，TBM）］的浓度，后三者之和合并为溴代三卤甲烷（bromo-trihalomethanes，Br-THMs），四者之和合并为总三卤甲烷（total trihalomethanes，TTHMs）；谷丙转氨酶检测试剂盒测定血清谷丙转氨酶（alanine aminotransferase，ALT）、谷草转氨酶（aspartate aminotransferase，AST）、碱性磷酸酶（alkaline phosphatase，ALP）和谷氨酰转氨酶（glutamine transaminase，GGT）；亚硝酸盐法测定血清总胆红素（total bilirubin，TBIL）和直接胆红素（indirect bilirubin，IBIL）［间接胆红素（direct bilirubin，DBIL）为TBIL减去IBIL］；双缩脲比色法测定总蛋白（total protein，TP）；溴甲酚绿法测定白蛋白（albumin，ALB）。排除尿液体积＜10mL和尿液THMs浓度低于检出限的，最终纳入182名研究对象进行后续分析。采用多元线性回归探索影响尿液THMs的因素，运用广义线性模型（generalized linear models，GLMs）和广义加性模型（generalized additive models，GAMs）分析尿液THMs浓度与血清肝功能指标ALT、AST、ALP、GGT、TBIL、IBIL、DBIL、TP和ALB之间的关系。**结果**　多元线性回归分析结果提示洗碗和洗澡方式会显著影响尿液THMs水平。GLMs分析结果显示混杂因素校正前后，DBCM与ALT、AST、TBIL、TP之间均存在显著的正相关（$P<0.05$），Br-THMs和TTHMs与ALT、AST、TBIL、IBIL、TP和ALB也存在显著的正相关（$P<0.05$），在校正混杂因素之后，TTHMs也与DBIL存在显著的正相关。而THMs与ALP和GGT均不存在显著的相关关（$P>0.05$），不管是否校正混杂因素。运用GAMs进一步分析这些关联，结果显示，尿液DBCM和ALT之间具有线性关系，Br-THMs和TTHMs与AST、TBIL、IBIL和TP之间也具有线性关系，其他的表现为更复杂的非线性关系。**结论**　THMs暴露与血清肝功能指标具有相关关系，随着THMs暴露增加，血清各肝功能指标水平随之增加。洗碗和洗澡方式会影响尿液THMs水平，识别这些影响因素对减少THMs暴露具有重要意义。

关键词：消毒副产物；三卤甲烷；肝功能指标；暴露生物标志物；尿液

通讯作者：丁新良，E-mail：dingxinliang@njmu.edu.cn

基于病例对照研究的重金属暴露与食管癌发病关联分析

杨培琰，刘　冉
（东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室，江苏 南京 210009）

摘要：背景　食管癌作为典型的环境相关肿瘤，其发病具有典型的区域聚集特征。随着工业化和城镇化的发展，环境重金属污染对人类健康构成了严重威胁。本研究拟通过对食管癌高发区江苏省淮安市食管癌患者进行基于病理对照研究的重金属组学检测，以期为识别食管癌患者重金属内暴露特征和深入探索重金属诱导的食管癌发病机制提供相关参考。**方法**　随机选取在江苏淮安食管癌高发现场的131例食管癌患

者，按年龄（±2岁）和性别进行1∶1匹配。通过问卷调查收集研究对象的人口学特征和信息，同时采集每位受试者的血清和尿液样本。用电感耦合等离子质谱仪（ICP-MS）检测血清和尿液中24种金属元素水平，应用条件logistic回归、LASSO回归、单元素和多元素模型评估金属元素与食管癌发病风险之间相关性，用贝叶斯核函数回归模型（BKMR）评估重金属元素的联合效应。**结果** 血清中铁（Fe）、镍（Ni）、镉（Cd）和钡（Ba）元素水平升高，锌（Zn）元素水平降低；尿液中钴（Co）、铜（Cu）和Cd元素水平升高，而Fe、Zn和砷（As）元素水平降低。将8个元素纳入多因素模型，Cd是混合模型中对食管癌发病贡献水平最高的元素，Cd与Zn呈负相关关系，Cd对食管癌发病呈正相关，而Zn对食管癌发病呈负相关，Cd和Zn对食管癌发病有显著的交互作用。**结论**：江苏省淮安地区食管癌患者血清和尿液均存在高Cd低Zn的重金属内暴露特征，且高Cd低Zn对食管癌发病可能具有联合作用。

关键词：食管癌；重金属；环境暴露；联合作用

Compound probiotics alleviate cadmium-induced intestinal dysfunction and microbiota disorders in broilers

Shuqiu Yang , Zhonghua Xiong , Tianfang Xu , Chengcheng Peng , Aiming Hu ,
Wenjuan Jiang , Zhiwei Xiong, Yunhui Wu , Fan Yang, Huabin Cao
(Jiangxi Agricultural University, No. 1101 Zhimin Avenue, Economic, and Technological Development District, Nanchang 330045, Jiangxi, PR China)

Abstract: Cadmium (Cd), a common environmental pollutant, seriously threatens the health of intestine. This research aimed to investigate the effects of compound probiotics (CP) on intestinal dysfunction and cecal microbiota dysregulation induced by Cd in broilers. A total of 240 1-day-old Arbor Acre (AA) broilers were randomly assigned to four groups. After 120 days of feeding, the jejunum tissues and cecal contents were sampled for jejunum histopathological observation, the intestinal barrier and inflammatory factors related mRNA and pro-teins examinations, and intestinal microbiota analysis. The results showed that Cd could cause jejunal villus damage and inflammatory cells infiltration, down-regulate the mRNA levels of intestinal barrier related genes (ZO-1, ZO-2, ZO-3, Claudin1, Claudin3, Claudin4, Occludin, and E-cadherin) and inflammatory factor related genes (IL-1β, IL-18, IFN-γ, NF-κB), and the protein levels of Claudin1, ZO-1, Occludin, but up-regulate the Claudin2, IL-2, IL-4 and IL-10 mRNA levels. However, the addition of CP could effectively improve these changes. In addition, 16S rRNA gene sequencing analysis showed that compared with the Cd group, supple-mentation CP increased the abundance of Lactobacillales, Clostridiales, Firmicutes, together with regulations on the pathways responsible for energy metabolism, translation and amino acid metabolism. In conclusion, CP could improve intestinal barrier damage and intestinal microbiota disturbance induced by Cd.

Key words: Compound probiotics; Cadmium; Intestinal barrier; Microbiota; Broiler

Corresponding author: Fan Yang, E-mail: yfan@jxau.edu.cn; Huabin Cao, E-mail: chbin20020804@jxau.edu.cn

新型穿透光催化反应器对制药废水毒性去除的效能及机制研究

杨　文，江瑞若
（陆军防化学院生物防护系）

摘要：目的　随着抗生素生产量和使用量的持续增加，大量抗生素污染物进入水体，产生抗性细菌和抗性基因，并且已经在全球范围内表现出了严重的生态和人类健康问题。在抗生素药品生产和使用过程中，抗生素生产废水是产量最大浓度最高的一类水体，由于其COD高、硫酸盐浓度高和抗生素浓度高，并且溶液中有较多的相关物质残留（某些相应药品的异构体或降解中间物）的特点，常规处理方法对其毒性（抗菌性）处理效能较差，开发高效具有针对性的抗生素生产废水毒性处理技术显得至关重要。本研究以氨苄青霉素（AMP）为模型抗生素污染物，拟开发一种新型穿透光催化反应器，实现抗生素生产废水毒性快速高效去除，并结合相关分析方法实现其机理解析。**材料与方法**　以金黄色葡萄球菌作为标准菌株，根据短期暴露健康参考值的要求，结合毒理学常规实验标准，以在WBS-100型号的微生物浊度测定仪培养4 h进行染毒，期间进行每10 min一次的于580 nm下光密度测试，结合测定结果得出处理前后水体剩余毒性效价值。通过ECOSAR（生态结构-活性关系预测模型）进行降解物质及产物的毒性预测，通过高分辨液相色谱−飞行时间−质谱联用技术（UPLC-QTOF-MS）分析降解产物结构，进而得出新型穿透光催化反应器高效实现毒性关键污染物毒性去除的机理。**结果与结论：**构建新型光催化穿透系统，以C3N4-MoS2/3DG作为光阳极，Pt/C空气电极作为阴极，水体以穿透模式进入进行毒性去除实验研究。实际毒性效价实验表明，新型处理系统对AMP进行处理，210 min内处理液即可达到无毒范围（−10%＜细菌抑制率＜10%），ECOSAR实验模型所得出结果与实际毒性效价实验结果相吻合。通过UPLC-QTOF-MS分析得出AMP关键药性官能团（6-氨基青霉烷酸（6-APA）、7-氨基头孢酸（7-ACA）、氨基和羧基）在降解过程均断链脱落。通过污染物的降解中间产物分析、ECOSAR计算分析及药理学分析得出，关键药效官能团的高效断裂是决定污染物毒性高效去除的关键步骤。基于以上结论，本研究构建了一种新型光催化系统实现了清洁能源驱动下抗生素污染物的高效脱毒，实验研究-色谱质谱分析-模型计算相结合的研究方式同时为后续毒性机理解析提供了一定的研究思路。

关键词：制药废水；金黄色葡萄球菌；模型计算；穿透光催化反应器

通讯作者：杨　文，E-mail：yangwen_bnu@163.com

新型二维纳米材料黑磷对斑马鱼的心血管毒性效应及分子机制

杨晓溪[1]，韦艳宏[2]，曲广波[1]，江桂斌[1]
（1. 中国科学院生态环境研究中心，环境化学与生态毒理学国家重点实验，北京　10085；
2. 中山大学，公共卫生学院，广州　510080）

摘要：目的　作为一种具有天然褶皱结构的新型二维纳米材料，黑磷（Black phosphorus，BP）展现出了独特的光电特性，在半导体、光电设备、生物医药等领域得到了广泛应用。BP的广泛应用不可避免地会释放到环境中，对人类和动物具有潜在的危害。随着BP在生物医药、抗菌、吸附剂制备等领域展现出的应用潜力，BP材料进入到水环境中的趋势非常明显且迅速，然而其对水环境的污染不得而知，其水生生物毒性效应尚不明确。本研究利用斑马鱼心血管毒性筛查模型，探讨小尺寸黑磷对生物体血管发育的影响及作用机制。**材料和方法**　针对BP材料，采用透射电镜、电位测定仪等，对材料进行尺寸及形态的表征；采用野生型斑马鱼胚胎进行不同浓度小尺寸BP暴露，通过检测卵膜附着物及卵膜结构变化，探究小尺寸BP与卵膜的相互作用；对存活率、孵化率及发育畸形进行统计，评估小尺寸BP的发育毒性作用；利用转基因心血管特征斑马鱼模型，基于高内涵分析技术，通过检测小尺寸BP暴露后各类血管的发育情况，探讨BP对心血管系统的毒性效应；检测血管发育相关基因表达水平，研究BP心血管毒性作用的分子机制；利用转录组学测序

技术，明确心血管毒性作用关键基因及作用通路。**结果** 基于卵膜附着物普通光学成像及扫描电镜结果，发现小尺寸BP可附着于卵膜表面，对卵膜结构的透射电镜结果显示，BP暴露不会对卵膜结构造成损伤。不同浓度小尺寸BP暴露对死亡率、孵化率均无影响，但可引起卵黄水肿、心率下降。基于心血管特征转基因斑马鱼，通过高内涵进行各类血管成像，发现BP可对主静脉和尾静脉发育产生影响，且心血管发育相关基因及红细胞分化相关基因显著下调。基于转录组学分析，发现BP暴露后核糖体合成相关基因及信号通路显著富集。以上研究结果表明，小尺寸BP可引起斑马鱼出现明显的血管发育畸形，其作用机制与血管发育、红细胞分化及核糖体合成基因相关。**结论** 基于本研究结果，发现小尺寸BP可通过调控血管发育、红细胞分化及核糖体合成相关基因，对斑马鱼产生明显的心血管发育毒性，其毒性风险值得关注。本研究结果可为BP材料的健康风险及安全性评估提供科学依据。

关键词：小尺寸黑磷；心血管毒性；红细胞分化；核糖体合成

通讯作者：韦艳宏，E-mail：weiyh9@mail.sysu.edu.cn；曲广波，E-mail：gbqu@rcees.ac.cn

HIF-1α调控m6A修饰在吸烟促进肺癌进展中的作用机制

杨 益[1]，成 诚[1]，何 斌[2]，杜 璇[3]，夏海博[1]，王佩雯[1]，吴 蒙[1]，吴 昊[2]，刘起展[1]

（1. 南京医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，现代毒理学教育部重点实验室，南京 211166；
2. 南京医科大学第一附属医院江苏省人民医院急诊科，南京 211166；3. 南京医科大学
第一附属医院江苏省人民医院胸心外科，南京 211166）

摘要：目的 探讨HIF-1α调控m6A修饰在香烟烟雾提取物（CSE）促进肺癌细胞恶性程度和吸烟促进肺癌恶性进展中的作用和分子机制。**材料和方法** 2% CSE慢性处理HBE细胞40代构建恶转细胞系T-HBE。Western blot和qRT-PCR实验检测HIF-1α、METTL3、CDK2AP2、Cyclin E1和CDK2蛋白及mRNA水平。比色法和m^6A dot blot实验检测整体m^6A水平。meRIP-Seq和RNA-Seq分析CSE处理后存在m6A修饰并有差异表达的基因。双荧光素酶报告基因和ChIP检测HIF-1α对METTL3的调控作用。RIP实验检测METTL3对CDK2AP2的调控作用。慢病毒构建HIF-1α和METTL3敲低稳转细胞系，pcD-METTL3转染构建过表达细胞系。EdU、流式细胞术和CCK8检测细胞增殖能力。Transwell和克隆形成实验检测细胞恶性程度。雌性BALB/C nude裸鼠用于检测不同处理肺癌细胞成瘤能力。不同吸烟程度人群肺癌组织检测HIF-1α、METTL3和CDK2AP2水平。**结果** 人群临床资料分析和样本实验结果表明，吸烟肺癌患者晚期临床分期（Ⅲ-Ⅳ）、淋巴结转移和远端转移占比更高，肿瘤长径更长。免疫组化和H&E染色显示吸烟肺癌肿瘤增殖能力更强，结节数更多。CSE处理T-HBE和A549细胞后，细胞发生G_1/S期转化，增殖能力变强，Cyclin E1、CDK2和整体m6A水平升高。联合meRIP-Seq和RNA-Seq分析发现CDK2AP2的5′UTR区存在m^6A修饰。双荧光素酶报告基因和ChIP实验表明HIF-1α激活METTL3转录。敲低HIF-1α和METTL3，发现阻滞了由CSE所致T-HBE细胞和A549细胞的上述改变，导致整体m^6A水平降低，G_1/S期转化被阻滞，CDK2AP2水平升高及Cyclin E1和CDK2水平降低，细胞增殖能力和恶性程度降低。在低表达HIF-1α稳转T-HBE和A549细胞系中同时过表达METTL3，逆转了由低表达HIF-1α引起的整体m^6A水平降低，G_1/S期转化被阻滞，CDK2AP2水平升高及Cyclin E1和CDK2水平降低，细胞增殖能力和恶性表型也得到逆转。裸鼠成瘤实验表明下调HIF-1α导致细胞成瘤能力降低，过表达METTL3逆转了这一现象。在吸烟肺癌肿瘤组织中，HIF-1α和METTL3水平升高，CDK2AP2水平降低，实验结果和GEO和TCGA数据库分析结果表明METTL3和CDK2AP2表达水平呈负相关。**结论** HIF-1α通过调控METTL3调节CDK2AP2的m^6A修饰和水平，促进肿瘤细胞增殖，在吸烟促进肺癌恶性进展中发挥重要作用。

关键词：吸烟；肺癌；HIF-1α；m^6A修饰；细胞周期

通讯作者：刘起展，E-mail：drqzliu@hotmail.com；吴 昊，E-mail：drwuhao@njmu.edu.cn

草甘膦和气候变暖对丽斑麻蜥的体温调节的影响研究

余思敏，刁金玲
（中国农业大学 理学院，北京 100193）

摘要：化学污染和气候变暖是对爬行动物的两大威胁，而且这两个因素之间可以相互作用。已有的研究结果证明，爬行动物尚可通过各种可塑性方式应对气候变化。然而草甘膦除草剂的污染暴露通过各种潜在的毒理学作用对爬行动物抵抗气候变化相关应激源的能力构成了新挑战，特别是通过影响爬行动物适应环境变化的生理和行为可塑性模式。因此我们设计交叉实验，设置不同除草剂暴露（对照、环境相关浓度的除草剂）×不同环境温度（对照温度处理、升温3℃处理）实验组，对丽斑麻蜥进行60天的环境模拟暴露实验，丽斑麻蜥（Eremias argus）是一种生活在草原上的小型卵生爬行动物。暴露期结束后通过测量丽斑麻蜥的热偏好体温和收集活动体温数据，计算它们的体温调节准确度，同时测定了丽斑麻蜥肝脏解毒代谢酶、氧化应激系统、脑组织非靶向代谢组等，以扩展在草甘膦和气候变暖相互作用因素下对爬行动物生态风险评估的理解。结果如下，无草甘膦污染的升温处理组丽斑麻蜥调整了生理水平（热休克蛋白含量、脑组织磷脂和鞘脂含量升高）和行为策略（晒背频率减少）来应对环境温度的升高，对照温度下草甘膦处理组丽斑麻蜥脑组织受到氧化损伤以及组氨酸代谢异常，体温调节准确度下降。升温处理下草甘膦暴露组丽斑麻蜥对体温的调节能力未受到影响。这些结果表明表明在小幅度升高的环境温度下，丽斑麻蜥会通过行为体温调节策略和生理可塑性对适度的热扰动保持体温稳态。草甘膦的暴露以负面的方式影响丽斑麻蜥的体温调节准确度，但环境温度升高后，通过一些温度依赖性解毒机制丽斑麻蜥反而不会受到草甘膦的毒性作用，但是草甘膦的微妙毒理学影响可能会越来越多地限制这一物种的行为反应。此外，全球变暖情景中极端气候情况骤增，蜥蜴能否会因此受到生存挑战，以及环境污染与动物热生理学之间的关系值得进一步探索。

关键词：丽斑麻蜥；草甘膦；行为可塑性；气候变暖

通讯作者：刁金玲，E-mail：jinling@cau.edu.cn

FTO蛋白SUMO化修饰异常在砷诱发DNA氧化损伤中的作用

张弘扬[1]，虞子樱[1]，王芳红[1]，李丹阳[1]，卢朝虹[1]，孙　威[1]，杨灿桃[1]，张云霄[1]，李　庚[1]，
陈忠文[1]，陈若楠[1]，吴　旭[1]，李仁杰[1]，陈　倩[1]，邱景富[1]，邹　镇[2]，陈承志[1]
（1. 重庆医科大学公共卫生学院；2. 重庆医科大学生命科学研究院，重庆 400016）

摘要：目的　探索m6A修饰去甲基化酶FTO在砷暴露诱发的肺DNA氧化损伤中的可能作用机制，以期为砷暴露诱发肺损伤的防治工作寻求潜在的干预靶点。**方法**　本研究以C57BL 6/J小鼠和BEAS-2B人肺支气管上皮细胞为受试对象，分别构建了砷体内/外暴露模型，采用流式细胞技术、彗星实验、qPCR、Dot blot、Western blot和免疫荧光技术等方法检测了小鼠肺组织和BEAS-2B细胞的DNA氧化损伤、m^6A修饰和SUMO化修饰水平，并在过表达或敲低FTO的基因小鼠和BEAS-2B细胞中对上述指标进一步验证。**结果**　流式细胞技术、彗星实验和Dot blot实验结果发现，砷体内/外暴露导致了肺组织/细胞严重的DNA氧化损伤和显著的m6A修饰水平增加；qPCR和Western blot实验结果显示，FTO表达显著降低，而其他常见甲基转移酶和去甲基化酶水平无明显变化。值得注意的是，免疫荧光实验结果表明，砷暴露会诱导FTO蛋白发生SUMO化修饰，且呈剂量依赖性的升高；与此同时，在过表达FTO的基因小鼠和BEAS-2B细胞中，砷暴露导致的DNA氧化损伤水平明显降低；相反，在敲低FTO的基因小鼠和BEAS-2B细胞中，砷暴露导致的DNA氧化损伤水平更加严重。更重要的是，在利用SUMO抑制剂和FTO sumo化位点突变下调SUMO化修饰之后，过表达或敲低FTO对砷体外暴露导致的DNA氧化损伤的调控作用消失。**结论**　砷暴露引起FTO蛋白SUMO化修饰异常增高，下调FTO蛋白表达，进而通过m^6A修饰显著增加DNA氧化损伤水平，靶向干预FTO蛋白SUMO化修饰可显著改善砷暴露诱发的DNA氧化损伤。

关键词：砷暴露；DNA氧化损伤；SUMO化修饰；m^6A修饰；FTO

通讯作者：邱景富，E-mail：jfqiu@126.com；z邹 镇，E-mail：ouzhen@cqmu.edu.cn；陈承志，E-mail：chengzhichen@cqmu.edu.cn

新型溴化阻燃剂1，2-双(2，4，6-三溴苯氧基)乙烷的甲状腺毒性及机制

张 琼[1,2]，王振余[1,2]，肖倩倩[1,2]，葛建鸿[1,2]，王晓芸[1,2]，江宛渝[1,2]，袁约瑟[1,2]，莊溢濛[1,2]，孟庆贺[1,2]，蒋建军[1,2]，郝卫东[1,2]，魏雪涛[1,2]

（1. 北京大学公共卫生学院；2. 食品安全毒理学研究与评价北京市重点实验室，北京 100019）

摘要：目的 探讨新型溴化阻燃剂1,2-双(2,4,6-三溴苯氧基)乙烷[2-Bis (2,4,6-tribromophenoxy) ethane,BTBPE]甲状腺毒性作用,以及BTBPE引起甲状腺毒性的分子机制。**方法** 选择60只雄性SD大鼠,随机分组后分别给予5%羧甲基纤维素、2.5,25和250 mg/kg b.w. BTBPE、10 mg/kg b.w. 丙基硫氧嘧啶(Propylthiouracil,PTU,阳性对照),1次/天,持续30天。处死大鼠后检测血生化指标、血清甲状腺激素水平,观察甲状腺HE病理切片。选择甲状腺滤泡上皮细胞系Nthy-ori 3-1,分别用1‰ DMSO、0.25和2.5 mg/L BTBPE处理24小时,观察细存活率。采用免疫印迹和RT-qPCR法检测大鼠甲状腺和Nthy-ori 3-1细胞中甲状腺激素合成和调节蛋白的蛋白和基因水平及其转录因子表达情况。使用单因素方差分析和Dunnett's T进行各组间均数比较,$P<0.05$表示差异具有统计学意义。**结果** 与对照组比较,PTU组大鼠体重降低,而250 mg/kg b.w. BTBPE组体重升高;25 mg/kg b.w. BTBPE组大鼠脾脏湿重降低($P<0.05$)。与对照组比较,BTBPE和PTU处理后大鼠血清游离四碘甲状腺原氨酸(FT4)和总游离四碘甲状腺原氨酸(TT4)降低($P<0.05$);除PTU组大鼠甲状腺滤泡细胞肥大,滤泡明显变窄,胶质减少,滤泡上皮折叠,呈现乳头状增生外,250 mg/kg BTBPE组大鼠甲状腺滤泡上皮也呈现乳头状增生。此外,250 mg/kg b.w. BTBPE和PTU可导致大鼠甲状腺激素合成的关键蛋白TG和NIS蛋白表达及Tg和Tpo的基因水平降低($P<0.05$)。250 mg/kg b.w. BTBPE和PTU均可导致大鼠甲状腺Pax8、Ttf1和Ttf2基因表达降低,同时PAX8和TTF2蛋白水平下降($P<0.05$)。体外实验结果显示,0.025、0.25、2.5、25和250 mg/L BTBPE不会明显抑制Nthy-ori 3-1细胞的增殖活性。但2.5 mg/L BTBPE可导致Nthy-ori 3-1细胞TG和NIS蛋白表达降低,PAX8、TTF1和TTF2蛋白水平下降($P<0.05$)。**结论** BTBPE可导致大鼠甲状腺激素FT4和TT4水平降低和甲状腺滤泡上皮乳头状增生,显示出其甲状腺毒性。BTBPE导致的大鼠甲状腺毒性可能与转录因子PAX8、TTF1和TTF2低表达引起的甲状腺激素合成蛋白TG、NIS和TPO表达降低有关。

关键词：新型溴化阻燃剂；1,2-双(2,4,6-三溴苯氧基)乙烷；甲状腺素合成调控蛋白；甲状腺激素

通讯作者：魏雪涛，E-mail：weixt@bjmu.edu.cn

基于三维肝细胞球研究全氟辛酸引起的肝毒性

张睿佳[1]，陈保卫[2]，栾天罡[1,3]

（1. 水产动物疫病防控与健康养殖全国重点实验室，中山大学生命科学学院，广州 510275；
2. 南方海洋科学与工程广东省实验室，中山大学海洋科学学院，珠海 510006；
3. 广东工业大学环境科学与工程学院，广州 510006）

摘要：模拟活体系统中真实的细胞状态和形态,对于使用细胞模型来解决有毒污染物的有害影响至关重要。在这项研究中,使用非靶向代谢组学方法分析不同浓度的全氟辛酸(PFOA)处理后三维人正常肝脏细胞球体(3D L-02)中的代谢特征。细胞通过超低吸附培养3天后，L-02细胞可形成均匀的细胞球体(例如,球形指数>0.9),并在随后的11天内保持稳定。PFOA造成的3D L-02细胞球体的细胞毒性高度依赖于

暴露持续时间和浓度。非靶向代谢组学的结果分析表明，300 μmol·L^{-1} PFOA处理10天的3D L-02细胞球体中的差异代谢产物的数量（*n*=59）大于处理时间4天（*n*=17）。仅在300 μmol·L^{-1} PFOA处理10天的3D细胞球体组中，发现了6种与氨基酸代谢相关的代谢途径，而在2D L-02细胞和暴露4天的3D L-02球体中则没有发现。PFOA对谷氨酰胺代谢的抑制显著降低了谷胱甘肽（GSH）的产生，相应地增加了3D L-02细胞球体中活性氧的水平。相反，谷氨酰胺的补充增加了细胞内GSH的产生和L-02细胞的活力，表明谷氨酰胺代谢在PFOA的慢性毒性作用中起着关键作用。我们的研究表明，目前基于3D细胞模型的综合毒理学方法可能是稳健的，适用于解决有毒污染物的慢性不良影响。

关键词：全氟辛酸；三维培养；非靶向代谢组学；谷氨酰胺

含氯消毒剂有效氯衰减率探讨

张文凯[1,2]，付　婷[2]，李怡君[2,3]，吉兆华[2]，邵中军[2]，龙　泳[2]

（1. 陕西中医药大学公共卫生学院，陕西 咸阳　712099；2. 空军军医大学军事预防医学系军队防疫与流行病学教研室，特殊作业环境危害评估与防治教育部重点实验室，陕西 西安　710032；3. 包头医学院公共卫生学院，内蒙古 包头　014040）

摘要：目的　探究含氯消毒剂在存放过程中时间和温度对有效氯含量的影响。**方法**　选取84消毒剂，测量5种温度下，连续静置保存12周有效氯的含量变化。测量方法为国标GB/T 36758-2018《含氯消毒剂卫生标准》规定的碘量法。使用0.1 mol硫代硫酸钠分析滴定液、100 g/L的碘化钾、5 g/L淀粉、2 mol/L硫酸对84消毒剂（以次氯酸钠为主要成分）进行测量。消毒液配比：将消毒剂原液稀释20倍待测。稳定性测定：将消毒剂进行初次有效氯测定之后置于4℃、10℃、20℃、30℃、37℃保存，每隔7天分别检测记录5种保存温度下，消毒剂中的有效氯含量，以此方法连续测量12周。使用SAS9.4绘制浓度的等高拟合曲线对测定结果进行数据分析。**结果**　初始有效氯含量为72.31 g/L经过4℃、10℃、20℃、30℃、37℃保存12周之后浓度分别下降至59.90 g/L，58.13 g/L，55.60 g/L，45.72 g/L，38.63 g/L，降解率分别为17.16%，19.61%，23.10%，36.77%，49.34%。浓度的等高拟合曲线显示温度与浓度坡度呈负相关，意味着温度越高，同等有效氯浓度可保存的周数越少，降解率增高，说明高温会促使有效氯含量降解速率增加。此外，在4℃、10℃、20℃、30℃、37℃环境下前五周有效氯分别降解16.17%、15.68%、16.17%，23.45%、29.95%，之后的七周时间有效氯分别降解0.99%、3.93%、6.93%、13.32%、19.39%，前五周的有效氯降解速度高于之后七周。并且30℃、37℃环境下有效氯含量在之后七周仍然保持一定的降解速率，4℃、10℃、20℃环境下后七周有效氯降解趋于平稳并且三者比较接近。**结论**　84消毒剂在5种温度下随时间延长其有效氯含量均呈现下降趋势，放置温度越高，有效氯浓度下降趋势越明显。此外，84消毒剂在前五周降解速度更快说明高浓度下降解更加迅速，随后逐渐达到临界点。

关键词：含氯消毒剂；碘量法；有效氯；稳定性

DEHP暴露对成年人甲状腺激素水平的影响及机制

张雪婷，苏子涵，钱鸿昊，王　佳，苗晓涵，朱　莹，杨　苗，张天悦，杨悦文，宫赫励，叶　琳

（吉林大学公共卫生学院，吉林 长春　130021）

摘要：目的　明确邻苯二甲酸（2-乙基己基酯）（DEHP）暴露与成年人甲状腺激素水平的关联，探讨雌激素受体（ERs）-Notch信号通路在DEHP暴露影响人体甲状腺功能中的作用。 **材料和方法**　选取长春市某三甲医院体检的一般成年人（排除甲状腺疾病、肝肾疾病等）作为研究对象（*n*=312），经知情同意后采集其晨尿和外周血。使用高效液相色谱串联质谱法（HPLC-MS/MS）检测尿液中DEHP代谢产物（MEHP，MEHHP，

MEOHP，MECPP和MCMHP）的水平；采用ELISA法检测血清中甲状腺激素的水平；使用Real-Time PCR法测定血中甲状腺球蛋白（TG），钠碘离子转运体（NIS），促甲状腺激素受体（TSHR），转甲状腺素蛋白（TTR），甲状腺过氧化物酶（TPO），ERs（ERα，ERβ和GPR30）和Notch信号通路相关基因（Notch1，Notch4，Jagged1和DLL4）的mRNA表达水平；建立两个药代动力学模型估计人群每日摄入量（EDI）和危险指数（HQ）；使用多元线性回归分析各指标间的相关性；使用Process中介效应模型和Spearman相关验证ERs-Notch信号通路在DEHP影响成年人甲状腺激素水平中的作用。**结果** 研究对象5种DEHP代谢产物的检出率为97.1%~100%。ΣDEHP的中位数浓度为42.52 μg/L（37.00 μg/g肌酐），其中MCMHP水平最高（14.90 μg/L，13.43 μg/g肌酐）。DEHP的EDI范围为0.27~54.18 μg/kg/day（体积模型）和0.24~55.52 μg/kg/day（肌酐模型）。研究对象HQ大于1的占0.3%。回归模型控制混杂因素后，FT4，TT3，TT4和TSHR的水平与MEHP浓度显著负相关，β（95%CI）分别是−0.127（−0.244，−0.010），−0.343（−0.460，−0.226），−0.190（−0.307，−0.073）和−0.226（−0.343，−0.109）；NIS与MCMHP水平显著负相关，β（95%CI）是−0.504（−0.614，−0.394）；TG与∑DEHP，ERα与MEOHP，DLL4与MECPP之间均为显著正相关，β（95%CI）分别是0.316（0.226，0.406），0.263（0.163，0.363）和0.608（0.518，0.698）。Spearman分析结果显示，ERα与DLL4，TG与TT4，NIS与TT3显著正相关，TSHR和NIS与FT3显著负相关（$P<0.05$）。中介效应结果显示，ERα在MEHHP与FT4关联中有中介作用，中介比例为24.86%。**结论** 成年人普遍暴露于DEHP，DEHP可能通过干扰甲状腺激素合成代谢相关基因的表达影响人群甲状腺激素水平，ERα-Notch通路可能在其中发挥作用。

关键词：雌激素受体α；成年人；DEHP；甲状腺激素

基金项目：国家自然科学基金（81972996）；吉林大学研究生创新项目（2022038）

通讯作者：叶 琳，E-mail：jlyelin@163.com

姜黄素改善低氧致小鼠学习记忆障碍和突触损伤的海马代谢组学研究

赵子瑜[1,2]，周 杨[1]，董小铷[1]，曹子鹏[1]

（1. 空军军医大学军事预防医学系军队劳动与环境卫生学教研室，特殊作业环境危害评估与防治教育部重点实验室，陕西 西安 710032；2. 陕西中医药大学公共卫生学院，陕西 咸阳 712046）

摘要：目的 研究姜黄素改善低氧致小鼠学习记忆障碍的作用及机制。**材料和方法** 3周龄C57BL/6雄性小鼠分为常氧组、低氧组、低氧+姜黄素200 mg/kg组、低氧+姜黄素400 mg/kg组，采用高原环境模拟舱暴露2周（氧分压为72～75 mmHg）制备小鼠学习记忆损伤模型。通过水迷宫和条件恐惧实验评估小鼠学习记忆能力，使用高尔基染色法观察海马神经元树突棘形态改变，利用透射电镜技术观察海马突触超微结构变化，通过Western Blot法检测N-甲基-D-天门冬氨酸受体亚型1（NMDAR1）和突触后致密蛋白-95（PSD-95）表达，利用LC-MS代谢组学技术对小鼠海马组织代谢轮廓进行检测，结合多元统计分析筛选差异代谢物。**结果** 与常氧组相比，低氧组小鼠水迷宫实验中平台周边探索距离、穿越平台次数、目标象限停留时间减少（$P<0.05$），条件恐惧实验中僵直时间减少（$P<0.05$），海马神经元树突棘密度降低（$P<0.05$），突触超微结构被破坏，NMDAR1和PSD-95表达下降（$P<0.05$）。与低氧组相比，低氧+姜黄素200 mg/kg组和低氧+姜黄素400 mg/kg组小鼠水迷宫实验平台周边探索距离、穿越平台次数、目标象限停留时间增加（$P<0.05$），条件恐惧实验僵直时间增加（$P<0.05$），海马神经元树突棘密度增加（$P<0.05$），突触超微结构基本恢复正常，致密性增加，数量增加（$P<0.05$），NMDAR1和PSD-95表达增加（$P<0.05$）。代谢组学结果分析显示姜黄素干预可回调低氧暴露小鼠海马中20种代谢物，涉及苯丙氨酸代谢、糖代谢、胆汁酸合成等6条代谢通路。**结论** 姜黄素干预可以有效改善低氧导致的学习记忆障碍、海马神经元树突棘密度下降以及突触损伤，与其调节低氧暴露小鼠海马苯丙氨酸代谢、糖代谢、胆汁酸合成等代谢过程有关。

关键词：姜黄素；低氧；学习记忆；突触损伤；非靶向代谢组学；苯丙氨酸代谢；胆汁酸合成；糖代谢

通讯作者：曹子鹏，E-mail：474546398@qq.com

TBEP和TCEP通过改变WNT和NOTCH通路破坏人类ESC运动神经元分化

郑媛媛[1]，代致远[2]，张方荣[1]，聂海峰[1]，李新玉[1]，徐升敏[1]，吴李君[1,2]
（1. 信息材料与智能感知安徽省实验室，物质科学与信息技术研究院，安徽大学，安徽 合肥 230601；
2. 合肥物质科学研究院，中国科学院，合肥 安徽 230000）

摘要：目的 TBEP和TCEP是典型的非卤代和卤代有机磷酸酯阻燃剂，在环境和人体中已经被频繁检测到，引起人们的广泛关注和担忧。动物实验证实，TBEP和TCEP暴露会导致斑马鱼幼体的运动行为损伤和中枢神经基因的转录异常。然而，目前还没有TBEP 和 TCEP对人类运动神经元（MN）发育影响的研究数据。而MN正常发育对于人体活动和生存是必须的。因此，本研究的目的是基于hESC衍生的MN分化模型，研究TBEP和TCEP对人类运动神经元分化的毒性及其毒性背后的可能机制。**材料和方法** 通过培养和诱导hESC分化建立了高效的MN分化模型。MN的生成过程大致可分为4个阶段，包括神经上皮（MN）细胞、运动神经元祖细胞（pMN）、未成熟MNs和成熟MNs。**结果** TBEP能够刺激hECSs向NEs分化，而TCEP 则没有。然而，TBEP和 TCEP都能促进下一阶段pMN祖细胞的形成。出乎意料的是它们随后又破坏了pMN祖细胞向MN的生成。特别是，TBEP 从50 μmol·L^{-1}开始上调pMN祖细胞生成，而TCEP只有在浓度高达100 μmol·L^{-1}时才可以。此外，TBEP 在浓度低至25 μmol·L^{-1}时抑制了MNs的产生。而TCEP仅当其浓度高达50 μmol·L^{-1}时，才显著抑制 MN 的生成。进一步毒性机制分析表明，TBEP通过上调NOTCH和下调WNT信号通路来干扰MN分化，而TCEP通过抑制NOTCH和下调WNT信号通路来抑制MN分化。**结论** 这些结果表明TBEP表现出比TCEP更强的神经发育毒性，说明非卤化OPFRs可能表现出比卤化OPFRs更高的发育神经毒性。

关键词： TBEP；TCEP；神经发育毒性；人源运动神经元分化模型；WNT；NOTCH

通讯作者：吴李君，E-mail：ljw@ipp.ac.cn

职业稀土暴露与肺功能改变的横断面调查

周彩兰，王　婷，何之洲，刘　莉，志　强，段化伟
（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所，内蒙古自治区综合疾病预防控制中心）

摘要：背景 流行病学研究提示，长期职业稀土元素（REEs）暴露与工人罹患尘肺病有关。但稀土元素对肺功能参数的调查研究确很少见。**目的** 为了评估稀土元素暴露是否会影响肺功能，并确定发挥主要作用的稀土元素。**方法** 在内蒙古地区的一家稀土矿和食品厂的213名工人进行横断面研究。对工作环境的稀土元素浓度进行检测，在工人体检时收集肺功能数据。采用独立样本 *t*检验、Mann-Whitney U检验和chi-squared检验来比较两组人群之间的基本特征和肺功能参数的差异。采用Q-gcomp（quantile g-computation）回归法来评估REEs对肺功能的了联合效应，并确定在其中起重要作用的REEs。**结果** 环境检测结果显示，该矿厂环境中检出的稀土主要以轻稀土为主，大部分REEs的检出率和几何均值浓度均大于食品厂，稀土铈（Ce）、镧（La）和钕（Nd）的浓度最高，几何均值浓度分别是40.75、21.69和 13.73 μg/m^3。对照组和暴露组的肺功能指标比较中，发现用力肺活量（Forced vital capacity，FVC））、第1秒用力呼气容积（Forced Expiratory Volume in the first second，FEV1）和最大呼气流量（Peak expiratory flow，PEF）等主要指标在稀土厂工人中均出现不同程度的降低，经年龄、BMI、吸烟和饮酒等协变量校正后，结果均具有统计学意义。对两组工人的工龄进行了分层，发现暴露组的FEV1、FVC和PEF都低于对照组，但无统计学差异（$P>0.05$）。Q-gcomp结果表明，环境中REEs与FEV1、FVC和PEF的联合效应都呈负相关关系。**结论** 基于该横断面调查，我们发现与对照组相比，稀土工人肺功能下降明显，可能与稀土暴露有关，而Ce、Pr和Nd可能是影响呼吸系统的关键元素。

关键词：稀土；肺功能；横断面调查

通讯作者：段化伟，E-mail：huaweiduan@126.com

场地土壤污染物环境与毒性数据库

周 蓉，卜元卿，虞 悦
（国家环境保护农药环境评价与污染控制重点实验室，生态环境部南京环境科学研究所，南京 210042）

摘要：环境与毒性数据是场地土壤污染物风险评估的基础，但目前我国场地土壤污染物风险评估工作的数据主要来源于国外的数据库，国内可公开查询的环境与毒性数据库较少，提供毒性数据有限，本土化数据和数据信息缺乏。为解决我国土壤污染物风险评估和基准推导主要参考国外数据库的“卡脖子”风险，解决多源异构数据清洗、数据归一化和本土化技术难点，亟需建立可交互的土壤污染物环境与毒性数据库和共享平台，为我国土壤风险评估和管理提供有效的基础数据支撑。本研究采用前后端分离的分层架构体系，分别构建了场地土壤环境和毒性基础数据库管理系统和场地土壤环境和毒性应用数据库平台。其中基础数据管理系统主要用于原始数据的收集和管理，具有数据上传、审核、评价、查看、删除等功能。本研究在借鉴国外已有指南的基础上，充分结合我国土壤污染风险评估相关技术要求，建立了土壤污染物毒性数据查询收集、数据筛选和数据质量评价的程序和方法，按照数据筛查方法，通过基础数据管理系统收集了重金属、无机物、挥发性有机物和半挥发性有机物、农药类、二噁英及类似物、恶臭类、含能化合物，放射性污染物、石油烃类和其它新污染物共10类408种污染物的54000余条数据，涵盖的数据类型包括化学污染物环境数据、健康毒性数据、生态毒性数据以及放射性污染物环境数据和健康毒性数据。利用人工校对加计算机自动替换功能，对库内多源异构数据进行了清洗，并对生态毒理学数据涉及的2028种生物物种进行了标准化和本土化信息的补充。数据应用平台通过与基础数据管理系统的联动，可实现对库内数据的多维度条件检索。针对生态毒理学数据，开发了用于数据在线分析的物种敏感度分布（SSD）计算模型并集成到数据应用平台，利用一键式操作，可对条件检索出的生态毒性数据进行在线自动分析，获得污染物的生态风险评估参数HCx，实现了风险评估应用参数的智能化转化。本研究构建了能够实现场地土壤污染物环境与毒性数据分类管理与共享的数据管理系统和应用平台，在收集国外公开数据库数据的基础上，进一步补充本土化数据，通过多源异构数据清洗以及本土化指标信息的补充，形成了具有本土化特征的场地土壤污染物风险评估数据集，实现了土壤污染物风险评估环境数据、健康毒性数据、生态毒性数据一体化查询，不仅降低了国外数据资源“卡脖子”的风险，也推动了风险评估数据的本土化发展，实现了的风险评估参数实时更新与优化。

关键词：土壤污染物；风险评估；基础数据管理系统；数据应用平台；毒性数据

通讯作者：周 蓉，E-mail：zhourong@nies.org

大气细颗粒物经自噬溶酶体途径致PC-12细胞PD病理标志蛋白α-synuclein异常聚集

朱晶颖
〔无锡市疾病预防控制中心（南京医科大学附属无锡疾病预防控制中心），214000〕

摘要：背景 广泛的流行病学研究表明，暴露于细颗粒物（空气动力学直径≤2.5微米［PM2.5］）与神经退行性疾病风险的增加有关，但其机制尚未阐明。α-突触核蛋白（alpha-synuclein，α-Syn）在脑中异常沉积是帕金森病（Parkinson′s disease，PD）的病理标志，可能是PM2.5的潜在毒作用靶点。**目的** 本研究旨在通过体外实验探究PM2.5引起α-Syn异常聚集的分子机制。**方法** 通过滤膜采样，获取某地区常年细颗粒物，按照以0，25，50，100，200 μg/mL PM2.5对PC-12细胞染毒，利用活性氧（ROS）试剂盒和高内涵细胞成像分析系统，检测氧化应激水平，利用real-time qPCR和western blot方法，测定PD及自噬相关分子的表达情况。**结果** 100μg/mL以上的PM2.5可显著上调ROS水平，PD相关基因PINK1与PARKIN mRNA

水平在高剂量组显著升高，同时，PM2.5 可在蛋白水平上剂量依赖性升高病理性蛋白α-Syn的表达量。通过自噬流检测，PM2.5 暴露可呈剂量依赖地将自噬标志物LC-3Ⅰ转化为LC-3Ⅱ，表明自噬体增多，同时自噬反应底物p62 显著性增高，提示自噬流阻滞，自噬功能障碍。**结论** 研究结果表明，PM2.5暴露可增加氧化应激，其可能通过引起自噬流功能障碍，引起PD病理性标志蛋白α-Syn降解减少，进而引起神经功能的早期损伤。本研究可为PM2.5暴露对PD相关病理效应和机制提供基础数据。

关键词： 大气细颗粒物；自噬；帕金森病；氧化应激；α-突触核蛋白

通讯作者： 朱晶颖，E-mail：peanut_snoopy@126.com

中国壬基酚人体水质健康基准推导和风险评估

义家威[1,2]，李　霁[1]，张加文[1]，罗晶晶[1]，艾舜豪[1,2]，刘征涛[1]

（1. 环境基准与风险评估国家重点实验室，中国环境科学研究院，北京　100012；2. 生命科学学院，南昌大学，南昌　330047）

摘要： 壬基酚（NP）是一种典型的内分泌干扰物，有着广泛的应用。由于其持久性和毒性，对生态环境和人类健康构成严重威胁。目前的研究报告了保护水生生物的水质标准和潜在的生态风险评估，但保护人类健康的水环境质量标准（AWQC）和人体健康风险评估尚待确定。本研究旨在概述中国地表淡水中NP暴露状况，得出人类健康AWQC并评估健康风险。NP在东部地区广泛存在，浓度高于中西部地区，并且与其他国家相比，全国壬基酚水平相对较高。通过确定性方法得出的水和水产品消费的国家人类健康AWQC为0.41微克每升，仅水产品消费为22.23微克每升。根据暴露参数，发现地区和城乡之间的AWQC存在显著差异，在确定AWQC时应考虑这一点。通过概率方法计算的AWQC与通过确定性方法确定的AWQC相当。与其他标准相比，本研究中推荐的AWQC较低，可以为水生生物和人类健康提供足够的保护。根据风险商的结果，没有发现饮用水摄入壬基酚对健康的风险，6个省的地表淡水中壬基酚水平超过了建议的AWQC。本研究有助于壬基酚相关标准的制定和管理。

关键词： 壬基酚，水环境质量标准，健康风险，地表水

作者简介： 义家威，E-mail：yjw361618919

基于不同土壤类型的我国各省土壤重金属污染评估

张加文[1]，刘征涛[1]，田　彪[1]，李　霁[1]，罗晶晶[1]，王旭升[1,2]，艾舜豪[1,3]，王晓南[1]

（1. 环境基准与风险评估国家重点实验室，中国环境科学研究院，北京　100012；2. 污染控制与资源化国家重点实验室，同济大学环境科学与工程学院，上海　200092；3. 生命科学学院，南昌大学，南昌　330047）

摘要： 生态风险可能因非生物因素（如土壤性质和元素的背景值）而显著不同。本研究提出了一个风险综合评估框架，用于推导出适用于不同土壤类型的重金属土壤质量基准值（SQC），并在多区域尺度上评估我国各省重金属生态风险。通过建立归一化和物种敏感性分布模型，得到我国31个省份Cd、Pb、Zn、As、Cu、Cr、Sb、Ni的248个SQC值，这些SQC低于中国标准值（Cd除外），尤其是重庆As和广东Ni的SQC（超过六倍）。这些SQC考虑了土壤类型和背景值，有效降低了空间异质性带来的不确定性。使用导出的SQC值，采用三级生态风险评估（ERA）方法对我国陆地环境中重金属的定性和定量生态风险进行综合评估。三级ERA结果显示，中国大部分地区处于可控风险水平。土壤中重金属的生态风险具有空间分布格局，中度或高度风险主要分布在我国南部和东部沿海地区，低度生态风险主要分布在西北地区。应考虑针对中国南部和东部沿海地区土壤中重金属的缓解措施。与传统的ERA方法相比，新方法得出了更定量的结论：我国生态风险总体平均概率分别为2.42%（Cd）、2.82%（Pb）、12.17%（Zn）、14.89%（As）、10.42%

(Cu)、32.20%(Cr)和8.88%(Ni)。本研究对影响风险评估结果的因素进行了分析,结果表明,区域土壤重金属含量往往表现出较强的空间异质性,因此城市发展历史、采样位置、分析误差是风险评估中不可避免的影响因素。新的风险综合评估框架可以有效降低区域不确定性,为降低土壤污染生态风险提供有价值的启示和科学依据。

关键词: 归一化模型; 土壤性质; 元素背景值; 风险评估; 多区域尺度

作者简介: 张加文,E-mail: zhangjiawen201@mails.ucas.ac.cn, 18794843239

通讯作者: 刘征涛,E-mail: liuzt@craes.org.cn;王晓南,E-mail: wangxn@craes.org.cn

鄱阳湖邻苯二甲酸酯的人体健康水质基准研究

艾舜豪[1,2], 王晓南[1], 张加文[1], 王旭升[1,3], 义家威[1,2], 李 霁[1], 刘征涛[1,2]

(1. 环境基准与风险评估国家重点实验室,中国环境科学研究院, 北京 100012; 2. 生命科学学院, 南昌大学, 南昌 330047; 3. 污染控制与资源化国家重点实验室,同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092)

摘要: 邻苯二甲酸酯(PAEs)被我国以及多个其他国家列为优先控制污染物,制定其人体健康水质基准在我国有着重要意义。以鄱阳湖为研究对象,采集分析了11种食用鱼体以及水体中6种PAEs(邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸丁基苄酯(BBP)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)、邻苯二甲酸正二辛酯(DnOP))的组成分布,结合我国本土人群食鱼量、饮水量等暴露参数,推导了研究区域6种PAEs的人体健康水质基准。结果表明,DMP、DEP、DBP以及DEHP在鄱阳湖中普遍存在,这4种PAEs在所有样品中均有检出,其中DBP和DEHP是最主要的两种污染物。PAEs的生物累积系数(BAF)与其正辛醇-水分配系数(Kow)存在显著正相关,得到其回归曲线方程为:log BAF (L/kg) = 0.103 log Kow + 2.158 (r^2 = 0.940, P< 0.05)。6种目标污染物的人体健康水质基准分别为 9.4×10^3 (DMP)、5.0×10^2 (DEP)、4.2×10^1 (DBP)、1.1 (BBP)、8.6×10^{-2} (DEHP)、2.0 (DnOP) μg/L。用商值法进行健康风险评价,结果表明,鄱阳湖DEHP的暴露水平对人体健康存在较高的风险。

关键词: 人体健康水质基准; 邻苯二甲酸酯; 生物累积系数; 健康风险

作者简介: 艾舜豪,E-mail: aishunhao@foxmail.com

中国9个淡水湖泊氨氮分布及生态风险评价

罗晶晶[1], 王晓南[1], 李 霁[1], 张加文[1], 张 聪[2], 刘征涛[1]

(1. 环境基准与风险评估国家重点实验室,中国环境科学研究院, 北京 100012; 2. 海油环境科技(北京)有限公司, 北京 100027)

摘要: 随着工业和经济的发展,地表水中的氨氮污染日益受到世界各国的关注。研究了2014-2022年中国9个淡水湖总氨氮(TAN)和未结合氨分子(NH3)的历史含量。采用3种不同的分类方法(汛期、季节和地理分布)分析了TAN和NH3的浓度变化。TAN浓度在汛期先下降后上升,夏季浓度较低,冬季浓度较高。NH3的变化趋势与TAN相反。2014-2022年,9个淡水湖的TAN和NH3浓度均呈下降趋势。氨氮与10个水质参数和4个污染排放与处理参数的相关分析表明,TAN与总磷(总氮)的相关系数分别为0.44(0.43)。TAN年均浓度与总排放量(废水处理投入)的相关系数分别为0.35(0.53)。结合一系列水生物种的生态毒性数据,采用风险熵和联合概率曲线方法对湖泊中TAN和NH3的生态风险进行了评价。2014 - 2022年,5%的物种在TAN和NH3的急性生态风险中受影响的概率低于0.01,而在TAN和NH3的慢性生态风险中

受影响的概率分别为0.003 ~ 0.030和0.04 ~ 0.14。慢性生态风险高于急性生态风险，且随着时间的推移生态风险呈下降趋势，但滇池等高原湖泊的生态风险较高，应予以重视。

关键词： 氨氮；浓度变化；相关性分析；水质标准；生态风险评价

作者简介： 罗晶晶，E-mail：13007433018@163.com

通讯作者： 刘征涛，E-mail：liuzt@craes.org.cn；王晓南，E-mail：wangxn@craes.org.cn

重金属胁迫下石油污染场地微生物群落组成及其降解潜力

王旭升[1,2]，王晓南[1]，吴　凡[1]，张加文[1]，艾舜豪[1,3]，刘征涛[1,2]

（1. 环境基准与风险评估国家重点实验室，中国环境科学研究院，北京　100012；2. 污染控制与资源化国家重点实验室，同济大学环境科学与工程学院，上海　200092；3. 生命科学学院，南昌大学，南昌　330047）

摘要： 石油碳氢化合物、半挥发性有机化合物（SVOCs）和重金属（HMs）在石油化工污染场地引发了重大的生态风险。在多重污染的压力，特别是重金属污染压力下自然修复的效率往往不尽如人意。本研究旨在验证长期污染和修复后，原位微生物群落在不同浓度重金属输入条件下表现出显著差异的生物降解效率的假设。因此，我们开展了石油污染土壤中重金属的调查，发现重金属在不同生态群中的作用存在显著差异，污染土壤pH值退化指标与pH值密切相关。通过对试验区不同群落石油污染降解功能基因的研究，发现了天然微生物群落降解能力在环境影响下的改变，并利用模型解释了各因素对石油污染降解功能的影响。这些结果表明，石油污染场地的重金属污染大大降低了其自然修复的效率，原位利用适当的微生物可能有助于有效抵抗重金属的压力并不断降解石油污染物。

关键词： 石油污染土壤；重金属；共生网络；微生物群落；降解途径

作者简介： 王旭升，E-mail：2111427@tongji.edu.cn

通讯作者： 刘征涛，E-mail：liuzt@craes.org.cn；王晓南，E-mail：wangxn@craes.org.cn

T03-0001

苯巴比妥钠作为全身麻醉剂对实验动物的影响

郭凯凯，冯　童，王鹏辉

（海南医学院）

摘要：目的　麻醉药物对于避免实验动物遭受不同程度的疼痛，以及保证实验过程的顺利进行等方面都具有重要意义。我们试图阐明苯巴比妥钠作为一种全身性的麻醉剂，在不同浓度和不同剂量条件下对于雌性BALB/c小鼠的安全性和有效性。**材料与方法**　以不同浓度（2%、5%、10%）的苯巴比妥钠注射液，随机对雌性BALB/c小鼠进行腹腔注射。苯巴比妥钠注射液的注射剂量分别为：75 mg/kg、100 mg/kg、125 mg/kg、150 mg/kg和200 mg/kg。根据小鼠最初发生翻正反射的时间和持续状态，记录不同组小鼠进入麻醉的速度以及进入麻醉后的持续时间。苯巴比妥钠的麻醉效果评分还分别通过夹尾反射、前肢和后肢收缩反射以及眼睑反射等方面进行评估。**结果**　苯巴比妥钠对于雌性BALB/c小鼠的麻醉效果呈现出明显的剂量依赖性。低浓度剂量组诱导镇静、催眠作用，而高浓度剂量组诱导麻醉作用。腹腔注射苯巴比妥钠的中位麻醉剂量（AD50）分别为2% ~ 125 mg/kg和10% ~ 75 mg/kg组合，半数致死剂量（LD50）为10% ~ 150 mg/kg组合。其中，呼吸抑制可能是处于麻醉状态中小鼠死亡的主要原因。5%浓度的苯巴比妥钠在剂量为125 mg/kg和150 mg/kg时，麻醉速度快，麻醉维持时间适中，并且有足够的麻醉深度。因此，可在外科手术实验中使用。**结论**　通过实验我们发现，单独使用苯巴比妥钠进行腹腔注射可以为雌性BALB/c小鼠提供适当的全身麻醉。而在实验过程中的各项数据表明，苯巴比妥钠的浓度和剂量都会影响麻醉的效果。根据外

科手术实验的需要，我们推荐5% ~ 125 mg/kg和5% ~ 150 mg/kg作为苯巴比妥钠麻醉小鼠的合适浓度-剂量组合。

关键词： 苯巴比妥钠；浓度；剂量

T03-0002

脂质组学和宏基因组学揭示AEE缓解ApoE$^{-/-}$小鼠高脂血症的机制

路晓荣，刘希望，李世宏，秦 哲，白莉霞，葛文博，杨亚军，李剑勇
（中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所/甘肃省新兽药重点实验室/农业农村部兽药开发重点实验室）

摘要：目的 脂质代谢异常引起的高脂血症是多种心血管疾病的主要诱因。阿司匹林丁香酚酯（aspirin eugenol ester，AEE）是基于前药阿司匹林和丁香酚，通过酯化作用合成的新型药用化合物。前期研究表明，AEE对高脂血症具有很好的治疗效果。本次研究中，利用脂质组学和宏基因组学的方法探究AEE缓解ApoE$^{-/-}$小鼠高脂血症的作用机制。**材料和方法** 本研究采用C57BL/6J小鼠，及基于该小鼠的ApoE$^{-/-}$小鼠。分组如下：正常组（C57BL/6J小鼠，n=6，饲喂维持饲料），模型组和AEE给药组（ApoE$^{-/-}$小鼠，n=6，饲喂高脂饲料）。AEE灌胃给药干预10周后，进行样本采集及检测。**结果** 血脂水平检测发现，与正常组相比，模型组的血清TC和LDL-C水平显著上调（P<0.01），AEE干预后，与模型组相比，给药组的TC和LDL-C水平显著下调（P<0.01）。肝脏脂质组结果显示，AEE通过降低肝脏中10个PEs和12个SMs的浓度，调节甘油磷脂代谢通路、鞘脂信号通路、NF-κB信号通路来缓解高脂血症。盲肠内容物宏基因组结果表明，AEE改变了肠道微生物群的组成，调节了脂质转运和代谢功能，以及胆汁酸和次级胆汁酸的代谢。脂质组学与宏基因组学联合分析结果表明，在AEE缓解小鼠高脂血症过程中，Verrucomicrobia，Verrucomicrobiales，Candidatus_Gastranaerophilales 和 Candidatus_Melainabacteria的丰度与SM（d18:1/18:0）和PE（16:0/18:1）浓度呈显著正相关。综上所述，这些结果表明AEE抗高脂血症的作用与肠道菌群及肝脏脂质密切相关。**结论** AEE通过影响肠道菌群和肝脏脂质来有效缓解小鼠高脂血症，且主要通过甘油磷脂代谢途径和胆汁酸代谢相关途径来发挥作用。

关键词： AEE；高脂血症；脂质组学；宏基因组学

作者简介： 路晓荣，E-mail：LUXR1993@163.com
通讯作者： 李剑勇，E-mail：lijy1971@163.com

T03-0004

AEE可抑制炎症并通过促进胆固醇逆转运缓解RAW264.7巨噬细胞泡沫化

刘亚娴，杨亚军，刘希望，李世宏，白莉霞，葛文博，秦 哲，李剑勇
（中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所/甘肃省新兽药重点实验室/农业农村部兽药开发重点实验室）

摘要：目的 探讨阿司匹林丁香酚酯（aspirin eugenol ester，AEE）对氧化低密度脂蛋白（ox-LDL）诱导的小鼠巨噬细胞（RAW264.7）泡沫化的作用机制。**材料与方法** 本实验分为模型组（ox-LDL，80 μg/mL）、空白对照组和AEE预处理组（80 μmol·L^{-1}）。采用油红O染色法和BODIPY染色法检测细胞泡沫化程度；试剂盒检测细胞内TC、FC含量；荧光标记ox-LDL法检测细胞对ox-LDL的摄取程度；RT-qPCR检测ABC1、ABCG1、CD36、PPAR-γ 和 NF-κB p65 mRNA表达；细胞免疫荧光和Western blot检测ABCA1、SR-BI、ABCG1、CD36、PPAR-γ、NF-κB p65蛋白表达；ELISA检测TNF-α、IL-1β、IL-6水平。**结果** 与空白对照组相比，模型组细胞体积增大，胞质中明显可见红色脂滴；阳性细胞数显著增加（P<0.01）；TC、FC含量显著升高（P<0.01）；ox-LDL摄取显著增加（P<0.01）；CD36和NF-κB p65 mRNA和蛋白表达显著升高（P<0.01），

TNF-α mRNA显著降低（$P<0.01$），IL-1β和IL-6 mRNA无显著差异（$P>0.05$）；ABCA1、ABCG1、PPAR-γ mRNA和蛋白表达显著降低（$P<0.01$），SR-BI mRNA和蛋白表达无显著差异（$P>0.05$）。与模型组相比，AEE预处理组细胞内红色脂滴数量显著减少（$P<0.01$）；阳性细胞数显著减少（$P<0.01$）；TC、FC含量显著降低（$P<0.01$）；ox-LDL摄取显著增加（$P<0.01$）；CD36和NF-κB p65 mRNA和蛋白表达显著降低（$P<0.01$），IL-1β和IL-6 mRNA无显著差异（$P>0.05$）；ABCA1、ABCG1和PPAR-γ mRNA和蛋白表达显著升高（$P<0.01$），SR-BI mRNA和蛋白表达无显著差异（$P>0.05$）。**结论** AEE促进胆固醇代谢和发挥抗炎作用可能是通过CD36、PPAR-γ、NF-κB信号通路来缓解巨噬细胞泡沫化。

关键词： AEE；巨噬细胞泡沫化；PPAR-γ；胆固醇逆转运；NF-κB

T03-0005

整合“谱-毒”关系和网络毒理学发现淫羊藿致肝损伤的潜在毒性成分

赵　祯，王俏蕾，杜金法，李会军

（中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室，江苏 南京　210009）

摘要：目的 淫羊藿（Epimedii Folium，EF）具有补肾阳、强筋骨、祛风湿等功效，临床上广泛运用于骨科疾病。由于其相关复方制剂壮骨关节丸、仙灵骨葆胶囊所引起的肝损伤不良反应频发，淫羊藿的临床应用受到一定的限制。本研究通过构建淫羊藿指纹图谱与细胞肝毒性的“谱-毒”关系，并利用网络毒理学构建淫羊藿的“成分-靶点”毒性作用网络，整合两种分析手段预测并发现淫羊藿致肝损伤的潜在毒性物质基础。**材料和方法** 采用HPLC法建立11批不同基原的淫羊藿提取物的指纹图谱；通过CCK8法测定各批次淫羊藿提取物对小鼠正常肝细胞AML12的细胞毒性并得出IC_{50}值；采用灰色关联分析法建立“谱-毒”关系，发现淫羊藿中候选肝毒性成分；建立“淫羊藿成分-成分靶点-肝毒性靶点”的毒性作用网络，筛选出淫羊藿中与肝毒性靶点关联较强的物质；整合两种结果后，发现淫羊藿致肝损伤的毒性成分。**结果** 建立淫羊藿提取物指纹图谱，共标定16个共有峰；经Q-TOF/MS鉴定及对照品比对解析了部分共有峰的成分信息，再根据灰色关联度大小排序，发现16（未知）、6（朝藿定A）、15（淫羊藿次苷Ⅱ）、8（朝藿定B）、14（2″-O-rhamnosyl ikariside Ⅱ）、10（朝藿定C）和13（2″-O-鼠李糖基淫羊藿次苷Ⅱ）号共有峰均与AML12细胞毒性的IC_{50}值具有较强的相关性；经类药性筛选得到92个淫羊藿的化学成分，经OMIM等数据库发现肝损伤的疾病靶点共2483个；构建毒性作用网络，推测出淫羊藿中致肝毒性的候选成分为槲皮素、大黄素、脱水淫羊藿素、朝藿定B、箭藿苷A等24个，潜在致毒靶点132个，核心靶点20个，主要包括CCND1、CDK1、TP53、MYC、HSP90AA1；对靶点功能进行GO富集，涉及核受体活性、配体激活转录因子活性、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、细胞周期蛋白等分子条目，KEGG分析涉及脂质代谢、PI3K-AKT、P53、化学致癌受体激活、细胞等信号通路；整合分析得到淫羊藿致肝毒性的成分可能为朝藿定B、淫羊藿次苷Ⅱ、淫羊藿次苷Ⅰ、淫羊藿素等。**结论** 淫羊藿致肝损伤的物质基础成分复杂，多集中于异戊烯基类黄酮化合物，本研究为淫羊藿中具固有性肝毒性的成分发现及致肝损伤的毒性机制提供了一定的参考依据。

关键词： 淫羊藿；药源性肝损伤；谱-毒关联；网络毒理学；异戊烯基类黄酮

基金资助： 国家自然科学基金（82174070）

通讯作者： 李会军，E-mail：cpuli@163.com

T03-0006

Mice kidney Wildly-Target metabolomics after the exposure to cantharidin through oxidative stress combined with network pharmacology

Tianmu He[1,2], Xiaofei Li[1,2], Jianyong Zhang[3]

(1. School of Basic Medical Sciences, Guizhou medical University, Guiyang 550025, China; 2. School of Basic Medical Sciences, Zunyi medical University, Zunyi 563000, China; 3. School of Pharmacy and Key Laboratory of Basic Pharmacology Ministry Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine Ministry of Education, Zunyi Medical University, Zunyi, 563000, China)

Abstract: BACKGROUND Cantharidin (CTD) is principal bioactive component of traditional Chinese medicine Mylabris for clinical treatment of tumors. But CTD clinical application is limited due to nephrotoxicity and the mechanism remains obscure. **METHODS** Mice serum creatinine (SCr) and blood urea nitrogen (BUN) levels were detected after exposed to CTD(1.5mg/kg) for 14 d. H&E stanning of kidney sections was used for observing renal pathological changes. An accurately quantification based widely-targeted mice kidney metabolomics using Ultra-Performance Liquid Chromatography-Quadrupole-Time of Flight-Tandem mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS/MS) and UPLC-quadrupole-linear ion trap (QTRAP)-MS/MS were utilized to detect metabolic profiles change. Then metabolite network pharmacology and cell experiments were utilized to investigate the nephrotoxicity mechanism combined with metabolomics results. **RESULTS** SCr and BUN levels were increased with renal injury in mice exposed to CTD. A total of 76 differential metabolites including free fatty acid (18:1), ubiquinone-1, and ADP were detected in mice. Four metabolic pathways including tyrosine and pyrimidine metabolism were disturbed. Furtherly, network pharmacology indicated that CTD could activate oxidative phosphorylation and oxidative stress (OS), of which NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 12(NDUFA12), nuclear factor erythroid 2-related factor 2(NRF2), and Kelch-like ECH-associated protein 1(KEAP1) may be therapy targets of CTD-induced nephrotoxicity. Subsequently, HK-2 cell experiments showed that CTD could reduce superoxide dismutase and increase malondialdehyde levels. **CONCLUSIONS** Tyrosine and pyrimidine metabolism could be disturbed by CTD, leading to oxidative phosphorylation and OS of nephrotoxicity.

Key words: cantharidin; metabolomics; network pharmacology; nephrotoxicity; oxidative stress

Corresponding author: Jianyong Zhang, E-mail: zhangjianyong2006@126.com

T03-0007

药物毒理与安全评价体系下临床检验实验室仪器设备的规范化管理与使用

张 谦

（内蒙古医科大学药学院）

摘要：随着药物毒理与安全评价体系的发展，各临床检验实验室配备的高精尖仪器越来越多，其在药物毒理与安全评价体系研究的环境控制、数据采集、样品分析和质量控制中发挥越来越重要的作用。但如何保证仪器设备的平稳运行和检测数据的准确性成为严峻的问题。仪器设备的管理和使用是良好实验室管理规范的重要组成部分，是得到真实、可靠数据的保证，能保证研究课题的科学、完整与可追溯，是药物毒理与安全评价体系实验室各项课题良好运行的基础，也是保证仪器的正常状态、延长仪器的使用寿命，节约药物毒理与安全评价体系运行成本的重要举措。临床检验实验室是药物毒理与安全评价体系研究机构中精

密分析仪器最集中的实验室之一，其仪器设备的规范化管理是药物毒理与安全评价体系中仪器设备规范化最重要的组成部分。临床检验实验室仪器设备的规范化建设水平直接反应药物毒理与安全评价体系实验室仪器设备的管理水平，也能反映整个药物毒理与安全评价体系实验室的规范化水平。其也是我国药物毒理与安全评价体系研究机构与国外先进药物毒理与安全评价体系实验室的差距之一。符合药物毒理与安全评价体系规范的仪器设备管理体系是对仪器设备的购置、接收、安装、培训、使用、维护、计量、检定等全过程的严格管理，有规章制度、有标准、有检查监督、有记录。纳入药物毒理与安全评价体系管理规范的组成部分，并经相关部门认证。通过仪器设备规范化建设，应该达到研究评价单位应保证本实验室所配备仪器设备的种类和数量可满足所申报的评价项目。保证仪器设备处于良好的工作状态，有相应的校准、质控和计量认证资料做保证。保证仪器设备的量程、准确度、精度、不确定度、回收率、灵敏度、线性范围等参数应符合有关标准及溯源依据。仪器设备应有完善的档案管理制度，档案内容齐全、完整，档案管理正规有序。对仪器检测的全程实施质量控制，对检测数据保证其溯源性，对异常结果提出合理的解释说明。用于数据采集、传输、储存、处理、归档等的计算机化系统（或者包含有计算机系统的设备）应当进行验证。计算机化系统所产生的电子数据应当有保存完整的稽查轨迹和电子签名，以确保数据的完整性和有效性；对于仪器设备，应当有标准操作规程详细说明各仪器设备的使用与管理要求，对仪器设备的使用、清洁、保养、测试、校准、确认或者验证以及维修等应当予以详细记录并归档保存。

关键词：药物毒理与安全评价体系；临床检验实验室；仪器设备；规范化管理

通讯作者：张　谦，E-mail：89259584@qq.com

T03-0008

Bibliometric and Visual Analysis of Nephrotoxicity Research Worldwide

Jingwen Ao[1], Cancan Duan[2], Jianyong Zhang[1,2]

(1. School of Pharmacy, Zunyi medical University, Zunyi 563000, China; 2. Key Laboratory of Basic Pharmacology Ministry Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine Ministry of Education, Zunyi medical University, Zunyi 563000, China)

Abstract: BACKGROUND Nephrotoxicity of drugs contributes to acute kidney injury with high mortality and morbidity, which crucially limits the application and drug development. Although many publications of nephrotoxicity have been conducted globally, there need a scientometric study to systematically analyze the intellectual landscape and frontiers research trends. **METHODS** Publications of nephrotoxicity from 2011 to 2021 were collected to perform bibliometric visualization using VOSviewer and CiteSpace software based on the Web of Science Core Collection. **RESULTS** A total of 9,342 documents were analyzed, which were primarily published in the USA (1,861), China (1,724), Egypt (701), and for institutions, King Saud University (166) had the most publications. Food and Chemical Toxicology, PLoS One, and Antimicrobial Agents and Chemotherapy were productive journals, primarily concentrating on the mechanisms of nephrotoxicity and renoprotective in cisplatin and antibiotics, especially in oxidative stress. Burst detection suggested that the nephrotoxicity of cisplatin, piperacillin-tazobactam, vancomycin, and cadmium are frontiers research. **CONCLUSIONS** This study firstly provides an updated perspective on strategies and mechanisms of nephrotoxicity and renoprotective. This perspective may benefit researchers in choosing suitable journals and collaborators, and assist them in the deeply understanding of the nephrotoxicity hotspots and frontiers.

Key words: acute kidney injury; bibliometrics; nephrotoxicity mechanism; renoprotective strategies

Corresponding author: Jianyong Zhang, E-mail: zhangjianyong2006@126.com

T03-0009

钩吻物质作用基础和毒作用机制研究

左梦婷，马 骁，黄思娟，黄崇银，齐雪佳，赵雪娇，刘兆颖
（湖南农业大学动物医学学院，湖南 长沙 410128）

摘要：目的 钩吻（Gelsemium）是马钱科植物葫蔓藤属全草，是世界著名的大毒植物。目前，我国已有大量钩吻中毒病例，临床中毒多以呼吸系统和神经系统症状为主。然而，钩吻的毒性机制并不明确，且存在明显的种属差异，对人和老鼠有剧毒，但对猪和羊有促进生长的作用。钩吻已经在我国兽医临床使用，而动物食品中的残留对人会产生毒性，因此钩吻的物质作用基础和毒性应被高度关注。本研究基于钩吻的物质基础研究，了解其在不同种属体内的吸收、代谢、分布和排泄情况。同时，进行钩吻的亚急性与急性毒性试验，对钩吻在耐受剂量下使用的安全性进行系统评价，也为钩吻毒性机制的阐明奠定基础，该研究对钩吻的开发与临床应用有重大意义。**材料和方法** 第一，将钩吻全草饲喂给动物，采集各样本进行质谱检测，了解钩吻的体内代谢情况，同时，将钩吻醇提物与不同动物肝微粒体进行孵育，了解其在不同动物的体外代谢；第二，大鼠灌胃耐受剂量的钩吻21天后，取脑、血及各组织样品，利用代谢组学、蛋白质组学技术、组织病理学和生化检测等技术对其安全性进行整体评价；第三，大鼠灌胃中毒剂量的钩吻，采集样品，通过质谱检测了解急性毒性下钩吻生物碱的组织分布情况，基于免疫荧光、透射电镜等技术探究钩吻对动物脑部的影响，通过解救药物的使用和脑部氨基酸的检测，结合临床中毒症状分析钩吻毒作用机制。**结果** 体内共鉴定了44种吸收的天然产物和27种代谢产物，主要的代谢途径都是氧化和与葡萄糖醛酸结合的二相代谢反应。在体外，34种原型成分共鉴定13种代谢物，不同种属间差异小。亚急性毒性实验中未见明显器官病变和生化指标异常，钩吻活性成分分布广泛且可透过血脑屏障。基于肠道内容物代谢组学，色氨酸的生物合成、胆汁酸的合成和胆汁分泌代谢途径稍受影响。血浆代谢组学结果显示尿酸显著升高。脑代谢组学检测结果显示吡哆醛水平降低，相关酶的表达也发生变化，进而扰乱神经递质GABA/Glu的平衡，影响较小时身体可通过自我调节恢复，影响严重时神经递质的不可逆失衡导致严重的神经毒性甚至死亡。急性毒性试验中钩吻有效成分分布广泛，脑部c-fos蛋白表达增加，透射电镜观察脑部神经细胞有一定的损伤，线粒体膜电位降低。NMDA、巴氯酚和肌氨酸对钩吻毒性均有良好的解救效果，氨基酸检测结果表明中毒后各脑区谷氨酸浓度升高，而巴氯酚和肌氨酸可恢复谷氨酸水平。**结论** 体内代谢结果表明羊和雌鼠容易吸收和代谢钩吻成分，而猪和雄鼠对钩吻成分相对不敏感；体外代谢表明种属差异不大，推测代谢与毒性种属差异没有直接联系。在耐受剂量下，钩吻不会产生蓄积毒性。钩吻的毒性机制推测为：有效成分进入机体到达脑部引起机体的低氧反应，导致Glu的大量释放，使神经递质GABA/Glu转化失衡，进而介导严重的兴奋性毒性而引起后续的细胞损伤。

基金项目： 国家自然科学基金（31972737）

作者简介： 左梦婷，E-mail：zuomengting@aliyun.com

通讯作者： 刘兆颖，E-mail：liu_zhaoying@hunau.edu.cn（Z.Y. Liu）

T03-0010

三环类抗抑郁药诱导肝损伤的共性机制研究

牟文清，柏兆方
（解放军总医院第五医学中心肝病医学部研究所）

摘要：目的 特异质性药物性肝损伤（idiosyncratic drug-induced liver injury，IDILI）在肝病学实践中很常见，甚至有时候在某些情况下是致命的。越来越多的证据表明，三环类抗抑郁药（tricyclic antidepressants，TCA）在临床应用中可诱导特异质性药物性肝损伤，但其潜在机制仍知之甚少。我们试图确定三环

类抗抑郁药诱导的肝毒性的分子机制，并促进了提高三环类抗抑郁药 生物安全性的潜在方法。**材料和方法** 我们通过MCC950（一种选择性 NLRP3 抑制剂）预处理和Nlrp3敲除（*Nlrp3*$^{-/-}$）的小鼠骨髓巨噬细胞（BMDMs）评估了几种常见的三环类抗抑郁药对NLRP3炎症小体的特异性。同时，在*Nlrp3*$^{-/-}$小鼠中证实了NLRP3炎症小体在三环类抗抑郁药去甲替林诱导的肝毒性中的作用。**结果** 我们在这里报道了去甲替林，一种常见的三环类抗抑郁药，在轻度炎症状态下以 NLRP3炎症小体依赖性方式诱导特异质肝毒性。同时，在体外研究中，去甲替林直接触发炎症小体激活，表现为caspase-1活化，IL-1β分泌和GSDMD介导的细胞焦亡，而这种变化可以被 MCC950预处理或 Nlrp3 缺乏完全阻断。从机制上讲，去甲替林处理触发了线粒体损伤和随后的线粒体活性氧（mtROS）产生，从而导致NLRP3炎性体的异常激活；选择性线粒体ROS抑制剂预处理显著抑制了去甲替林触发的NLRP3炎症小体激活。值得注意的是，暴露于包括丙咪嗪（imipramine）、阿米替林（amitriptyline）和普罗替林（protriptyline）在内的其他三环类抗抑郁药也会引发NLRP3炎性体的异常激活，并伴随随后的炎性细胞因子产生。**结论** 总的来说，我们的研究结果表明，NLRP3炎症小体可能是三环类抗抑郁药的关键靶点，并表明抗抑郁药的三环核心结构可能导致其异常激活，这是三环类抗抑郁药诱导的肝损伤发病机制中的一个重要因素

关键词：特异质肝毒性；三环类抗抑郁药；去甲替林；NLRP3炎症小体

作者简介：牟文清，E-mail：muwq1995728@outlook.com

通讯作者：柏兆方，E-mail：baizf2008@hotmail.com

T03-0011

烫刺猥皮多肽RHPYFYAPELLYF的急性毒理学研究

韩 君

（北京康仁堂药业有限公司，北京 101301）

摘要：目的 前期研究了烫刺猥皮多肽RHPYFYAPELLYF（RHP-LYF）对巨噬细胞形态和炎症因子的影响，缺少多肽RHP-LYF的急性毒理学研究，本研究旨在对多肽体内外的毒理学进行研究。**材料和方法** 体外采用CCK8细胞增值检测方法，体内用Bliss法计算半数致死量，开展急性毒理学研究，20只ICR小鼠被随机分为治疗组5只雄性和5只雌性和对照组5只雄性和5只雌性，15天后进行小鼠体重、器官系数和临床生物化学分析和组织分析学的研究，所有数据以平均值±标准误差表示，对照组和实验组之间的显著差异用学生*t*检验计算，接受低于0.05的*p*值为显著性。**结果** 用不同浓度的多肽RHP-LYF处理小鼠巨噬细胞系RAW264.7细胞72小时，CCK8结果显示，当多肽RHP-LYF浓度低于200 ng/mL时并不会抑制细胞生长。但是当多肽RHP-LYF的浓度为200～800 ng/mL时，它能稍微抑制细胞生长，并呈浓度依赖性。小鼠的半数致死量LD50=91.907 mg/kg，LD50（Feiller校正）95%的可信限=81.022～107.31 mg/kg，LD5=70.982 mg/kg，LD95=119 mg/kg，选择70 mg/kg剂量浓度单次尾静脉注射给药，注射后，小鼠观察了15天，治疗组与生理盐水的小鼠相比，给予的剂量治疗组的雄性和雌性小鼠的体重都没有明显的差异。70 mg/kg注射小鼠15天后，仔细称量其器官（肝脏、左和右肾、心脏、肺、脾脏、大脑、子宫和卵巢、左和右睾丸）的重量，与对照组相比，该剂量施用后，系数指数没有明显的变化。与对照组相比，尾静脉注射多肽的小鼠的临床生化指标（ALT、AST、BUN和CER）没有统计学意义上的变化，所有血液生化值都属于正常生理值的范围。尸体时的大体检查没有发现任何与治疗相关的变化。对照组和多肽组的重要器官（心、肝、脾、肺、肾、脑、睾丸和卵巢）没有变化。因此，在多肽尾静脉注射的小鼠中没有与治疗相关的组织病理学变化。**结论** 研究表明烫刺猬皮多肽RHP-LYF尾静脉注射10 mg/kg能够在体内抑制炎症因子的分泌，并且具有安全性，为相关动物药多肽的研发应用提供了理论依据。

关键词：烫刺猥皮；多肽；急性毒理学

通讯作者：韩 君，E-mail：729229056@qq.com

T03-0012

基于功能代谢组学的斑蝥素致肾毒性机制研究

张建永[1], 刘璟贤[2], 王启益[1], 何天目[2], 李晓飞[2]
(1. 遵义医科大学药学院,基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室,
贵州 遵义 563000; 2. 遵义医科大学基础医学院, 贵州 遵义 563000)

摘要: 目的 基于功能代谢组学阐明斑蝥素(cantharidin,CTD)致肾毒性的生化机制。**方法** 采用CTD给药大鼠的体内广泛靶向代谢组学技术,进一步结合CTD联合油酰乙醇胺(N-Oleoylethanolamine,OEA))干预HK-2细胞的体外实验研究斑蝥素致肾毒性机制。**结果** 斑蝥素给药后,大鼠血清中肌酐和尿素氮含量增加。病理结果显示CTD可导致大鼠肾组织出现血管壁纤维化,淋巴细胞炎性浸润和肾脏上皮细胞玻璃化等病理变化。广泛靶向代谢组学分析发现 CTD 可引起大鼠肾组织代谢轮廓改变, 呈"量-毒"关系,并筛选到OEA,N-花生四烯酸甘氨酸等19个差异代谢物。这些差异代谢物进一步干扰了丙氨酸代谢,色氨酸代谢和甘油磷脂代谢。根据VIP值和FC值,筛选出OEA为功能代谢标志物。采用蛋白免疫印迹技术发现CTD干预后,大鼠肾组织上游酶磷脂酶 A2(Phospholipase A2,PLA2G1B),N-酰基磷脂酰乙醇胺特异性磷脂酶D(N-Acylphosphatidylethanolamine-Hydrolyzing Phospholipase D,NAPE-PLD),和溶血磷脂酶 D(Ecto-nucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 2,ENPP2)蛋白表达量增加。此外,细胞实验结果表明,OEA和CTD干预后,HK-2 细胞中乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)的水平升高,NAPE-PLD和过氧化物酶体增殖物激活受体 α(peroxisome proliferators-activated receptors α,PPARα)蛋白表达量增加。**结论** 采用功能代谢组学发现OEA在内的19种差异性代谢物,这些差异代谢物进一步扰乱了丙氨酸代谢和甘油磷脂代谢,其作用机制与CTD导致NOE、NAPEPLD和PPARα的水平增加有关。

关键词: 斑蝥素; 肾毒性; 功能代谢组学; 代谢标志物

通讯作者: 张建永, E-mail: zhangjianyong2006@126.com; 李晓飞, E-mail: lixiaofei35@zmu.edu.cn

T03-0013

基于网络毒理学发现雷公藤致肝损伤的潜在毒性物质及作用机制

王俏蕾, 赵 祯, 杜金法, 李会军
(中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 江苏 南京 210009)

摘要: 目的 中药雷公藤Tripterygii Radix为卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 的干燥根,具有祛风除湿、活血通络、消肿止痛、杀虫解毒的作用,临床上作为中药免疫抑制药物,广泛用于治疗风湿性疾病、肾病及皮肤病等,疗效确切,但其对肝脏等的毒副作用也备受关注。本研究拟利用网络毒理学构建雷公藤的"药物-活性成分-疾病靶点"毒性作用网络,筛选并发现雷公藤致肝损伤的潜在毒性物质,预测其作用靶点及信号通路,进一步探讨其引起肝损伤的可能作用机制。**材料和方法** 通过中药系统药理数据库及分析平台(TCMSP)收集雷公藤的候选化合物,合并、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、人类基因综合分析数据库(GeneCards)及遗传药理学与药物基因组学数据库(PharmGkb)三个靶点数据库中引发肝损伤的疾病靶点数据集,并通过维恩图筛选雷公藤致肝损伤的潜在靶点,借助Cytoscape(Version 3.9.1)软件建立"雷公藤成分-成分靶点-肝毒性靶点"的毒性作用网络,利用STRING数据库进行共有靶点蛋白相互作用(PPI)网络分析,通过生物学信息注释库(DAVID)对靶点进行GO及KEGG富集通路分析,发现雷公藤中致肝损伤的候选毒性成分。**结果** TCMSP中经生物利用度(OB > 30%)及类药性(DL > 0.18)筛选得到51个雷公藤的化学成分,合并OMIM、GeneCards及PharmGkb三个数据库中的疾病靶点共8183个;构建毒性作用网络,推测出雷公藤中致肝毒性的候选成分为雷公藤甲素、雷公藤内酯醇、雷酚萜醇、雷公藤内酯二醇酮、常春藤皂苷元、豆甾醇等27个,潜在致毒靶点58个;对靶点功能进行GO富集,涉及DNA-结合转录因子

结合、核受体、配体激活型转录因子等关键靶蛋白，参与调控化学致癌受体激活、PI3K-Akt、TNF、细胞凋亡、IL-17等信号通路，这些生物过程和信号通路介导了雷公藤致肝损伤的潜在机制。**结论** 雷公藤致肝损伤的物质基础成分复杂，该机制过程具有多靶点、多通路、多选择性，本研究为雷公藤中具固有性肝毒性的成分发现及致肝损伤的毒性机制提供了一定的参考依据。

关键词： 雷公藤；中药相关肝损伤；网络毒理学

基金资助： 国家自然科学基金（82174070）

通讯作者： 李会军，E-mail：cpuli@163.com

T03-0014

新冠病毒疫苗恒河猴重复肌肉注射给药4周毒性试验伴随免疫原性试验

万　斌，张烜溪，向俊杰，刘孟涛，郑美玲，周　妮，陈　科，余璐云，李继洪

（重庆美莱德生物医药有限公司药物安全评价研究中心）

摘要：目的 通过对恒河猴连续4周给予不同剂量的新冠病毒疫苗，观察其可能引起的毒性反应；判断毒性靶器官或靶组织，确定未观察到不良反应的剂量水平（NOAEL）；同时评价免疫原性；为其他毒性试验、临床试验、临床不良反应监测与防治提供参考。**材料和方法** 选取2.9~4.1岁的恒河猴40只，雌雄各半，随机分成4组，分别为疫苗高、低剂量组、裸颗粒对照组、生理盐水对照组，每组各10只动物，分别在D1、D15、D29肌肉注射给药1次。临床观察：每天观察2次，给药后密切观察6 h。体重、摄食量：每周称体重和摄食量。体温：D0、D1药前、D1给药后5 h和24 h、D15药前、D15给药后5 h、D29药前、D29给药后5 h、D43检测。眼科、心电图、血液学、血生化、免疫球蛋白、补体、CRP、尿液、细胞因子、淋巴细胞亚群、免疫原性：药前、给药期结束、恢复期结束检测。解剖、骨髓涂片、脏器重量和系数、组织病理：给药期结束、恢复期结束进行。**结果** 临床观察、体重、摄食量、眼科、心电图、血液学、血生化、尿液、免疫球蛋白、补体、CRP、淋巴细胞亚群、脏器重量和系数：各剂量组与生理盐水对照组比较均未见异常（$P>0.05$）。体温：D1给药后24 h高剂量组雄性动物和D29给药后5 h裸颗粒对照组雌性动物体温均升高，与生理盐水对照组比较有统计学差异（$P<0.05$），但均在正常值范围内波动。细胞因子：给药期结束，各剂量组和裸颗粒对照组IL-5均高于生理盐水对照组，有统计学差异（$P<0.05$）。免疫原性：给药期结束、恢复期结束：各剂量组动物新冠病毒IgG抗体个体阳性率均为100%，且抗体滴度范围基本相同。大体解剖：各动物组织脏器均未见明显异常改变。镜下观察：在给药期结束，各剂量组动物的脾白髓淋巴细胞增生、生发中心扩大，病变发生率和程度均呈剂量相关性；在恢复期结束，各剂量组动物脾脏病变基本恢复正常。**结论** 在本试验条件下，新冠病毒疫苗重复肌肉注射每2周一次，共三次给予恒河猴2剂/100 μg、1剂/50 μg，在给药期内和恢复期内未见受试物给药相关的毒性反应；故新冠病毒疫苗重复肌肉注射4周给予恒河猴的NOAEL剂量为2剂/100 μg，且未见与受试物相关的明显毒性靶器官。

关键词： 新冠病毒疫苗；恒河猴；重复给药；NOAEL

通讯作者： 李继洪，E-mail：lijihong@medleader.com.cn

T03-0015

新冠病毒mRNA疫苗恒河猴重复肌肉注射免疫原性及免疫毒性探索试验

潘　婷，万　斌，周　妮，周　超，石林峻，李继洪

（重庆美莱德生物医药有限公司药物安全评价研究中心）

摘要：目的 本试验评估新冠病毒mRNA疫苗对恒河猴的免疫原性，为后续药理毒理试验提供参考。

材料和方法 恒河猴12只(4♀8♂),分为4组,新冠病毒mRNA疫苗各剂量组分别为5 μg/只、25 μg /只、75 μg /只、150 μg/只,于D1、D15、D29免疫。(1)临床观察:免疫后密切观察6 h,每天观察2次。(2)体重、摄食量:免疫前、免疫后每周称1次。(3)体温:免疫前1天及每次免疫前1 h和免疫后5 h、24 h、48 h、D43测体温。(4)眼科、心电图、尿液检测:免疫前、免疫D30、D43检测。(5)血液学(含凝血)、血清生化(IgM、IgG)、细胞因子(流式法)、特异性抗体(ELISA法)、中和抗体检测(假病毒中和法):免疫前、免疫D15、D29、D43检测。**结果** (1)临床观察:各剂量组各动物均未观察到任何不良反应和异常体征。(2)体重:免疫后7天各剂量组动物体重均一过性下降(0.06 kg~0.20 kg);其余时间点各组动物体重均无明显变化。(3)摄食量、眼科、心电图、尿液、血液学(含凝血)、血生化:各剂量组各动物未见明显异常。(4)体温:第一次免疫后各剂量组(5 μg/只、25 μg /只、75 μg /只、150 μg/只)5 h升高幅度分别为0.5、0.7、0.9、1.2℃,第二次免疫后5 h升高幅度分别为0.5、0.7、0.9、0.5℃,24 h恢复正常,其他时间点动物体温未见明显异常。(5)免疫球蛋白:与免疫前比较,D15各剂量组IgM、IgG均升高,但无统计学差异($P>0.05$)。(6)细胞因子:与免疫前比较,D15 25 μg /只、75 μg /只、150 μg /只剂量组IL-6明显增加($P<0.05$),IL-2、IL-4、IL-5、TNF-α、IFN-γ未见明显改变。(7)抗体:与免疫前比较,D15各剂量组新冠病毒IgG抗体滴度(GMT在3.7~4.3)以及新冠病毒Delta株(假病毒)中和抗体滴度(GMT在1.9~2.7)均明显升高,阳性率100%。试验过程所有动物均较好耐受,未见免疫毒性相关的症状和体征。**结论** 在本试验条件下,恒河猴重复肌肉注射给予新冠病毒mRNA疫苗5 μg/只、25 μg /只、75 μg /只、150 μg /只,免疫3次,每2周1次,给药期及恢复期临床观察、体重、摄食量、体温、眼科、心电图、血液学(含凝血)、血清生化、尿液均未见异常;首次免疫后14天产生明显免疫原性,新冠病毒IgG抗体检测阳性率100%,对新冠病毒Delta株(假病毒)具有良好的中和活性,所有动物均未见免疫毒性相关的症状和体征。

关键词: 新冠疫苗; 恒河猴; 免疫原性; 免疫毒性

通讯作者: 李继洪, E-mail: lijihong@medleader.com.cn

T03-0016

新冠病毒mRNA疫苗恒河猴单次给药毒性试验

万 斌, 张烜溪, 郑美玲, 陈 科, 余璐云, 李继洪
(重庆美莱德生物医药有限公司药物安全评价研究中心)

摘要: 目的 通过对恒河猴单次肌肉注射新冠病毒mRNA疫苗后观察14天,观察其可能引起的毒性反应,包括毒性反应的性质、程度、剂量-反应关系、时间-反应关系和可逆性等;判断毒性靶器官或靶组织;为评价临床使用的安全性提供参考。**材料和方法** 选取3.6~4.1岁的恒河猴6只,雌雄各半,按体重、性别随机分成3组,分别为生理盐水对照组、空白LNP对照组、疫苗组,每组各2只动物(♀、♂各半),双侧前肢三角肌多点肌肉注射给予生理盐水、空白LNP、疫苗(4剂/400 μg),给药体积均为2 mL/只。临床观察:给药后密切观察6 h,以后每天观察1次,连续观察14天。体重:药前、给药D2、D3、D7、D14称体重。摄食量:药前、给药D1~D2、D3~D4、D7~D8、D12~D13称摄食量。体温:药前、给药0.5 h、5 h、24 h、D3、D7、D14检测。眼科、心电图、血液学、血生化、尿液:药前、给药D3、D7、D14检测。所有动物均在给药D15用3 %戊巴比妥钠溶液,体积1 mL/kg,在前肢头静脉注射麻醉后放血实施安乐死,并进行大体解剖及肉眼观察,发现异常情况进行组织病理学检查。**结果** 临床观察:各组动物均未观察到任何不良反应和异常体征。体重:在给药D2,疫苗组♂3#、♀6#动物,空白LNP对照组♂2#、♀5#动物,生理盐水对照组♀4#动物的体重均一过性降低,降低幅度≤0.16 kg;各组动物其余时间点的体重均随时间变化稳定增加,增加幅度基本一致。摄食量:各组动物摄食量均未见异常。体温:给药后疫苗组动物体温均一过性升高,其中♂3#动物在给药0.5 h体温开始升高,在给药D3达到最高至39.7 ℃,升高幅度为1.2 ℃;♀6#动物在给药5 h体温达到最高至39.7 ℃,升高幅度为0.9 ℃;各组动物其余时间点的体温均未见异常。眼科、心电图:各组动物眼科和心电图检查均未见异常。

血液学、血生化、尿液：各组动物血液学（含凝血）、血生化、尿液各指标均未见异常。大体解剖：大体解剖观察，各动物组织脏器均未见异常改变。**结论** 在本试验条件下，新冠病毒mRNA疫苗单次肌肉注射给予恒河猴4剂/400 μg，给药体积2 mL，在15天观察期内所有动物均出现一过性的体温升高，但未见动物死亡，故新冠病毒mRNA疫苗单次肌肉注射给予恒河猴的最大耐受剂量（MTD）为4剂/400 μg。

关键词： 新冠病毒疫苗；恒河猴；单次给药；MTD

通讯作者： 李继洪，E-mail：lijihong@medleader.com.cn

T03-0017

雷公藤甲素SD大鼠生精障碍模型的建立

令狐莉，张　庆，田　慧，李继洪
（重庆市美莱德生物医药有限公司药物安全评价中心）

摘要：目的 本试验拟采用不同剂量的雷公藤甲素建立SD大鼠生精障碍模型，为后续研究药物对生精功能损伤的保护作用提供造模剂量。**方法** 雄性SD大鼠24只，年龄7周龄~ 8周龄，随机分为4组，分别为溶媒对照组、模型低剂量组（雷公藤甲素60 μg/kg）、模型中剂量组（雷公藤甲素120 μg/kg）、模型高剂量组（雷公藤甲素240 μg/kg）。各模型组每天一次腹腔注射给予相应剂量雷公藤甲素，连续给药14天；同时溶媒对照组每天一次腹腔注射给予0.9%氯化钠注射液，连续给药14天。于末次给药后一天，用0.4%戊巴比妥钠10 mL/kg腹腔注射麻醉后解剖。观察指标：1）一般观察：对于出现毒性反应的动物应密切观察，描述动物出现毒性反应的指征、出现毒性反应的时间、毒性反应持续的时间、动物死亡的时间等；2）体重测定：1周/次、解剖前需测定一次；3）睾丸、附睾重量及指数：对睾丸、附睾及脑重进行测量，并计算体重脏器指数（g/100g体重）及脑脏器指数（g/g脑）；4）精子活动度及精子重量：取右侧附睾尾，迅速称重后，用精子分析仪对各组大鼠精子进行分析，计数各组大鼠快速、中速、慢速及静止精子百分比，精子计数及单位重量精子数量。**结果** 一般观察：各组大鼠给药后均自主活动正常、精神状态良好，未见其它毒性症状；体重：各模型组大鼠体重均随时间变化稳定增加，且与溶媒对照组相比，未见显著性差异（P>0.05）；生殖器官重量及指数：与溶媒对照组相比，模型高剂量组大鼠的睾丸重量降低（P<0.01），其余各组脑重，附睾重与对照组相比无显著性差异（P>0.05）；与溶媒对照组相比，模型高剂量组大鼠的睾丸/体重指数、睾丸/脑指数、附睾/脑指数降低（分别为P<0.01、P<0.01、P<0.05），其余各组雄鼠睾丸、附睾脏体及脏脑指数与对照组相比无显著性差异（P>0.05）；精子数量、精子活动率和活力：与溶媒对照组相比，各模型组雄鼠快速、中速、慢速及静止精子百分比，精子计数及单位重量精子数量，精子活动率无显著性差异（P>0.05）。**结论** 在本试验条件下，雄性SD大鼠每天给药1次，连续14天腹腔注射60 μg/kg、120 μg/kg、240 μg/kg雷公藤甲素。仅在240 μg/kg条件下观察到生殖功能损害，主要表现为SD大鼠的睾丸重量、睾丸/体重指数、睾丸/脑指数、附睾/脑指数的降低；未见对SD大鼠精子数量、精子活动率和活力有明显影响。

关键词： 雷公藤甲素；生精障碍模型；造模剂量

通讯作者： 李继洪，E-mail：lijihong@medleader.com.cn

T03-0018

新型抗生素艾地普林对人体肠道菌群微生物毒理学的研究

王俊豪，刘春贝，张志浩，李　洁，田　玉，谷宇锋，郝海红
（华中农业大学国家兽药残留基准实验室，武汉　430070）

摘要：目的 艾地普林是一种新型二氢叶酸还原酶抑制剂，具有抗菌谱广、毒性低、安全性高、药代动力

学优良等特点。艾地普林作为一种新开发的药物，在临床应用中具有巨大的潜力和研究价值，有关其毒理学，药理学已在先前的研究中进行了评估。然而对其微生物学安全性评价的相关研究仍较匮乏，对人体肠道菌群定植屏障和抗生素耐药性发展的影响在很大程度上是未知的。因此本研究的目的在于评估艾地普林对人体肠道菌群的微生物安全性。**材料和方法** 本研究通过将低中高三种浓度的艾地普林添加到含有人体肠道菌群的恒化器模型中。在给药前后利用气相色谱法监测肠道菌群代谢产物七种短链脂肪酸的含量变化、利用涂板计数法监测五种肠道优势微生物的数量变化以及优势菌群对艾地普林耐药率的变化。通过连续三天接种鼠伤寒沙门氏菌来判断肠道微生物群的定植屏障是否被破坏。在此基础上通过16S测序技术分析给药前后模型中肠道菌群物种水平的丰度变化。**结果** 我们的结果表明，低剂量的艾地普林对人体肠道菌群的定植屏障功能没有显著影响。然而，在长期暴露于较高水平的艾地普林后，会显著破坏肠道菌群的定植屏障功能并增加耐药菌的比例。16S测序的结果也表明，较高水平的艾地普林会导致肠道菌群结构发生显著的变化，尤其是对脆弱拟杆菌和均匀拟杆菌。我们的研究通过模拟人体肠道微生物群环境，首次在体外评估了艾地普林的微生物安全性，并根据兽医注册国际协调会的相关文件计算出了艾地普林的每日允许摄入量。**结论** 本研究评估了艾地普林对人体肠道微生物群的微生物安全性。先前研究的艾地普林毒理学每日允许摄入量（1.44 μg/kg.bw/day）远低于我们的结果。因此，需要更多的药理学研究和微生物安全性评估工作来确定艾地普林的最终每日允许摄入量，我们的研究为艾地普林在兽医临床实践中的应用奠定了坚实的基础。

关键词：艾地普林；恒化器；肠道微生物群；微生物学安全性；定植屏障

通讯作者：郝海红，E-mail：haihong_hao@aliyun.com

T03-0019

抗马杜霉素和盐霉素双特异性抗体的制备及免疫分析方法的建立

黄婧洁，李建成

（中国农业大学动物医学院药理学与毒理学实验室）

摘要：马杜霉素（Maduramicin，MAD）和盐霉素（Salinomycin，SAL）均属于聚醚类离子载体抗生素（polyether ionophore antibiotics，PIAs），常用于抗球虫且不易产生耐药性，但该类药物具有强细胞毒性，应严格控制其用量和动物性食品中的残留量。目前已有针对MAD和SAL的多克隆抗体、单克隆抗体和基因工程抗体的报道。目的 为了提高现有单残留检测法的检测效率，有效控制该类抗生素的细胞毒性，材料与方法 本文通过药物诱变的方法构建四体瘤杂交体系，通过免疫Balb/c小鼠，旨在采用杂交-杂交瘤技术制备抗MAD和SAL的双特异性单克隆抗体（BsMAb），其结构与常规单克隆抗体相似，可以应用于多组分免疫分析，与单组分免疫分析方法和其他仪器方法相比表现出极大的优势，并合成了马杜霉素-异硫氢酸荧光素已二胺衍生物（MAD-EDF）和盐霉素-异硫氰酸荧光素异构体（SAL-FITC）两种荧光示踪剂，这两种示踪物可以同时结合BsMAb，与未标记的分析物竞争抗体。 通过优化示踪物和抗体的最适工作浓度，成功建立了一种多残留荧光偏振免疫分析方法。结果 该方法整个检测时间不超过15 min，对MAD的检测限为4.43 ng/mL，IC50为0.38 ng/mL，线性范围为4.01 ~ 17.22 ng/mL，对SAL的检测限为4.17 ng/mL，IC_{50}为0.24 ng/mL，线性范围为3.79 ~ 18.31 ng/mL，除SAL与甲基盐霉素有50%的交叉反应率外，与其他聚醚类药物无明显交叉反应。检测到鸡肉中MAD添加回收率在77.31%-88.62%之间，SAL添加回收率在79.54% ~ 89.33%之间，日间日内变异系数均小于15%，该多残留方法可用于鸡肉产品中MAD和SAL的同时检测。结论 通过建立的多残留荧光偏振免疫分析方法检测抗MAD和SAL的双特异性抗体，可用于实际样品中MAD和SAL的同时检测，为多残留检测提供一种新方法、新思路。

关键词：马杜霉素；盐霉素；四体杂交瘤细胞；双特异性单克隆抗体；荧光偏振免疫分析方法

作者简介：黄婧洁，E-mail：h15081883875@163.com

通讯作者：李建成，E-mail：horse20@cau.edu.cn

T03-0020

XFY豚鼠局部封闭涂皮试验

陈 倩，余璐云，潘经媛，李继洪
（重庆美莱德生物医药有限公司药物安全评价研究中心）

摘要：目的 评价XFY是否对哺乳动物引起皮肤变态反应及其程度。**材料和方法** 采用局部封闭涂皮法（BT）进行试验，选用普通级，Hartley豚鼠40只，雄性，体重范围为300 g~400 g，随机分为受试物组20只，阴性对照组用生理盐水10只和阳性对照组1-氯2，4-二硝基苯10只。诱导时受试物浓度为0.8 g/mL、阳性物浓度为0.7%的1-氯2，4-二硝基苯溶液。激发时受试物浓度为0.6 g/mL、阳性物浓度为0.5%的1-氯2，4-二硝基苯。各组均给予0.2 mL。在进行诱导试验前24 h将豚鼠背部脊柱左侧的被毛去掉，进行激发试验前24 h将豚鼠背部脊柱右侧的被毛去掉，去毛范围约3 cm×3 cm。诱导接触：受试物组、阴性对照组及阳性对照组分别在去毛区皮肤上涂抹0.2 mL的受试物、生理盐水和1-氯2，4-二硝基苯溶液，用二层纱布和一层玻璃纸覆盖，再用无刺激胶布封闭固定6 h后将涂抹物洗去。第7天和第14天分别以同样方法重复一次诱导；激发接触：末次诱导后14天，受试物组、阴性对照组及阳性对照组分别在去毛区皮肤上涂抹0.2 mL的受试物、生理盐水和1-氯2，4-二硝基苯溶液，用二层纱布和一层玻璃纸覆盖，再用无刺激胶带封闭固定6 h后将敷贴的涂抹物洗去，于24 h和48 h后观察皮肤反应，并对其评分。**结果** 在激发24 h和48 h后观察阴性对照组和受试物组豚鼠皮肤反应均未见红斑和水肿，致敏率均为0；在激发24 h后观察阳性对照组豚鼠皮肤反应出现红斑和水肿，在激发48 h后观察豚鼠皮肤反应仅出现红斑，致敏率均为100%；据致敏强度分级，受试物组及阴性对照组均为弱致敏性，对照组为极强致敏性。**结论** 在本试验条件下，该XFY对哺乳动物皮肤致敏率为0，未引起皮肤变态反应。

关键词： 皮肤；变态反应；诱导；激发

通讯作者： 李继洪，E-mail：Lijihong@medLeader.com.cn

T03-0021

5%葡萄糖注射液作为溶剂介质对体外溶血试验的影响

李 莹，潘佳雯，徐维祥，李子轲
（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北廊坊 065500）

摘要： 溶血指各种因素导致的红细胞破损破裂，血红蛋白溢出的现象。体外溶血性试验是血液学检测一项非常有意义的筛选试验，是药物进入临床研究前安全性评价中的重要组成部分，其目的是通过观察是否发生溶血现象及其程度，来判断药物或相关制剂对血液中红细胞的影响。生理盐水作为红细胞的等渗溶液，是体外溶血试验的常用阴性溶剂介质，然而在临床应用上，许多药物制剂会使用葡萄糖作为溶剂，虽然在临床应用上，5%葡萄糖的安全性和等渗性已得到验证，但在体外溶血试验中，其对不同的试验体系会产生不同的影响。

首先，葡萄糖溶液作为溶剂介质时，其检测结果会受到种属差异的影响，产生假阳性结果。这种差异在易引起严重溶血的受试物中影响较小，对于产生部分溶血的受试物则会对试验结果有较大干扰。有研究者通过使用不同种属的红细胞，发现红细胞悬液与5%葡萄糖注射液共孵育后，兔红细胞不发生溶血，人和猴红细胞发生部分溶血。本机构之前的研究结果也显示，使用5%葡萄糖注射液作为溶剂介质时，兔红细胞检测到的校正OD值为0.033，人红细胞检测到的校正OD值为0.898。这种现象的不同表明，红细胞的某些物理特性存在种属差异，即在非免疫性溶血实验中要考虑种属因素，防止假阳性结果的发生。

其次，葡萄糖溶液作为溶剂介质会使多类阳性药物产生假阴性结果。有研究者分别以生理盐水生理盐水和5%葡萄糖溶液为溶剂介质进行溶血试验，比较阳性组（灭菌注射用水）溶血程度（545 nm下检测所得OD值）。结果显示，生理盐水组的OD值高于葡萄糖组，且葡萄糖组内红细胞发生细胞间粘附、聚集成团现

象。推测为5%葡萄糖溶液具有较高的粘度特性，能使混悬的红细胞聚集成团甚至发生沉降，在体外溶血试验中降低药物暴露量，从而产生假阴性结果。

基于此，我们认为在体外溶血试验中，应优先选择生理盐水作为阴性对照，当必须使用5%葡萄糖作为溶剂介质时，推荐不使用人红细胞作为实验系统。虽然静脉输用5%葡萄糖注射液的安全性已为临床实践确证，但在体外溶血试验中，以葡萄糖作为溶剂介质对试验结果造成的影响仍需要更多的探索，特别是与人红细胞悬液混合后的“假阳性”结果应予以合理解释。

关键词：5%葡萄糖注射液；溶血试验；人红细胞

T03-0022

口鼻吸入给药引起大鼠呼吸系统适应性改变病例分析

潘佳雯，郭明刚，徐维祥，蒙 雨，李子轲，韦 娜
（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北 廊坊 065500）

摘要：目的 研究吸入制剂的安全性评价试验中，SD大鼠经口鼻吸入给药后呼吸系统相关组织器官的适应性病变的发生类型、比例和程度，为吸入制剂的临床前毒理研究评价提供背景参考资料。**材料和方法** 研究对象为2021-2022年度间，在本机构完成呼吸系统局部刺激性试验后的阴性对照组（生理盐水）的SD大鼠，选取处于给药末期及恢复期结束的120只SD大鼠，对其呼吸系统各组织器官（鼻、喉、气管、双侧支气管，肺等）的病理切片进行镜检，对镜下结果进行统计分析。**结果** 适应性病变主要见于肺部轻微的吞噬细胞聚集（发生比例6/120），鼻部轻微的鼻泪管可见分泌物（发生比例6/120）、嗅上皮嗜酸性小滴聚集（发生比例4/120）。此外鼻部还可见其他少量适应性病变，如鼻粘膜炎性细胞轻微浸润（发生比例1/120）、鼻中隔粘液细胞轻微增生（发生比例1/120）等。其中，吞噬细胞、嗜酸性小滴聚集在给药末期、恢复期结束均匀分布；可见分泌物在给药末期、恢复期结束均可见，且给药结束发生比例（5/120）高于恢复期结束发生比例（1/120）；炎性细胞浸润及粘液细胞增生发生于恢复期结束。吸入给药途径造成的肺部巨噬细胞聚集通常考虑为是由不溶性颗粒引起的非特异性聚集，但恢复期需注意是否伴随有炎性细胞浸润等其他症状，这是非特异性聚集及药理/毒性作用引起特异性聚集的区分点。鼻泪管可见分泌物，多见于给药末期，由于部分动物对吸入给药途径的感官刺激性过于敏感，即可能通过呼吸模式反射性改变起到保护自身的作用，例如咳嗽、喷嚏、支气管收缩、通气量减少及分泌粘液等；如只单独存在粘液分泌增多，则可考虑为是适应性改变。嗅上皮嗜酸性小滴聚集，也是SD大鼠对口鼻吸入给药途径轻微刺激所致的较为常见的适应性病变，但需注意病变程度及发生范围，如嗅上皮细胞出现重度病变且延伸至鼻中隔，则需考虑存在受试物相关性。鼻粘膜炎性细胞浸润及鼻中隔粘液细胞增生，由于发生比例过低，考虑为个体动物的应激性病变。**结论** 口鼻吸入的给药方式可引起大鼠肺部、鼻部等呼吸道组织镜下出现适应性改变。在吸入制剂安全性评价试验中，需谨慎区分与药物所致病变相类似的一些适应性病变，只有对药物进行更客观的评价，才能更好的提供临床使用安全性的参考信息。

关键词：口鼻吸入；制剂安全性试验；适应性病变

T03-0023

GLP体系下蒙药急性毒性实验研究进展

刘 静
（内蒙古医科大学药学院新药安全评价研究中心）

摘要：蒙医药是我国四大民族医药体系之一，具有独特完整的理论体系，如三根学说、七素学说、六基症

理论等。蒙药是指在蒙医理论指导下发展出来的，用于预防、治疗、诊断疾病并具有康复和保健作用的物质，来源于蒙古族民间药，通常包括植物药、动物药和矿物药，以植物药为主，其中的化学成分是其发挥药效作用的物质基础，而蒙药复方化学成分则更为复杂。蒙药在临床使用之前，还要根据预防、治疗、保健的不同需要，在蒙医基础理论、七素三秽学说指导下，减少其毒性和烈性，制成一定的剂型，才能充分发挥药效。

随着人们健康意识的不断提高，人们对蒙药的应用越来越广泛，因此发现蒙药安全性评价不完善，严重制约了蒙药的安全使用及蒙医药的现代化发展。蒙药急性毒性试验是指动物一次或24小时内多次接受一定剂量的受试物蒙药，监测在一定时间内所出现的毒性反应，主要目的为：了解受试药急性毒性的强度、为药效学研究提供剂量参考、为临床毒副反应的监测及解救提供参考依据、为长期毒性、蓄积毒性试验选择剂量提供依据以及用于质量控制等。王坤等对蒙药蓝刺头及其复方制剂进行急性毒性研究，蒙药蓝刺头及其复方对小鼠机体无损害现象，未发生明显急性毒性反应，为临床用药安全提供参考；特日格乐等观察蒙药方剂三味阿拉坦其其格对小鼠的急性毒性反应和动物死亡情况发现，小鼠体质量在给药3d后恢复正常，组织病理切片显示，肝脏空泡变性、椭圆形细胞增生病变、脾脏淋巴细胞凋亡等病变可能与药物使用有关；李淑艳等考察蒙成药巴特日七味丸不同提取部位对临床常见7种致病菌的体外抗菌活性，并对筛选出的有效活性部位进行急性毒性评价，结果表明巴特日七味丸不同提取部位均具有抗菌活性，其乙酸乙酯-正丁醇部位活性较强，并且急性毒性较低，其作用机制有待于进一步研究。

急性毒性试验处在蒙药毒理研究的早期阶段，是新药在临床前毒理学研究的第一步，对阐明蒙药的毒性作用和了解其毒性靶器官具有重要意义。目前蒙医多种方剂中经常用其他药效相似的药材代替有毒药材入药，比如与三味阿拉坦其其格散药效相似的藏药三味蔷薇散中用波棱瓜子代替木鳖子入药。为了保证临床药效及安全性，对蒙药进行进一步的毒性研究或毒性成分的探讨具有重要意义。

关键词：蒙药；药物安全性评价；急性毒性实验

通讯作者：张　谦，E-mail：89259584@qq.com

T03-0024

细胞疗法治疗心血管疾病致心律失常的主要机制

张建新，潘佳雯，徐维祥，李子轲

（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北 廊坊　065500）

摘要：细胞疗法按照细胞种类可以分为干细胞治疗和免疫细胞治疗，临床上多用于血液类疾病、器官移植、心血管系统疾病、肝脏疾病、神经系统疾病和肿瘤的治疗。研究表明细胞疗法常见的心脏毒性包括致小鼠、大鼠及小型猪的心律失常、心动过速、心力衰竭和心血管死亡等，其中以心律失常最为常见。本文对干细胞治疗和免疫细胞治疗心血管疾病导致的心律失常的产生机制进行综述。

干细胞疗法常见的干细胞种类包括骨髓干细胞、间充质干细胞、骨骼肌干细胞和胚胎干细胞等，干细胞移植后潜在的致心律失常风险主要与细胞电生理相关：(1)移植干细胞的电表型不成熟，干细胞与心肌细胞间桥接“失联”，导致心肌细胞中最主要表达的与心律失常相关的细胞间连接蛋白43(Connexin43，Cx43)的表达异常和电耦合减弱；(2)间充质干细胞与心肌细胞间隙也存在功能性的Cx43，间充质干细胞与心肌细胞的细胞间连接可能产生不利的电生理后果从而影响Cx43的表达；(3)干细胞与心肌细胞耦联能够影响心肌细胞的电生理特性，从而会导致心肌细胞释放促心律失常的底物或细胞因子从而引起心律失常。此外，干细胞疗法导致的心律失常还与细胞异常的自动节律性相关，如胚胎干细胞形成了自发跳动的心肌细胞的类胚体，移植胚胎干细胞的起搏节律可能会干扰心脏自身的窦性节律从而导致心律失常。

嵌合抗原受体T(CAR-T)细胞疗法是免疫疗法的重要部分，多用于治疗癌症和心脏功能障碍。CAR-T细胞疗法的副作用主要包括细胞因子释放综合症(CRS)和免疫效应细胞相关神经毒性综合症(ICANS)等主要并发症。CRS是一个主要的全身炎症过程，这是由于增殖和活化的CAR-T细胞产生大量细胞因子，其中多个白细胞介素和免疫细胞促进炎症反应。CRS和肌钙蛋白升高会导致危及生命的心血管并发症，包括低

血压、休克、心动过速、心律失常、左心室功能障碍、心力衰竭和心血管死亡，心律失常是其主要并发症之一。

随着细胞疗法的应用日益广泛，深入了解其导致心脏毒性的机制并提前干预和预防潜在心脏毒性也势在必行。

关键词：干细胞治疗；免疫细胞治疗；心律失常

作者简介：张建新，E-mail：zhangjianxin@safeglp.com

通讯作者：李子轲，E-mail：lizike@safeglp.com

T03-0025

药物的临床前安全性评价

石佳琦[1]，韩运祺[1]，朱秋梦[1]，张 昕[1]，吕 玮[1]，肖云峰[2]

（内蒙古医科大学药学院，呼和浩特 010110）

摘要：药物临床前安全性评价指采用大于临床用药剂量，或长于临床用药时间给动物用药，发现并评价药物对动物机体潜在毒性作用，毒性表现，靶器官损伤的可逆性。药物安全性是指按规定的适应证、用法用量使用药物后，在人体产生毒副作用的程度。药物安全性评价是指综合评价药物在正常使用情况下的不良事件发生率、严重性、关联强度、因果关系等，旨在全面提供药物安全性信息。其重要性主要体现在：①药物上市前的安全性评价结果是药物上市许可的重要依据；②上市后药物安全性评价结果有助于发现罕见和长期使用后的不良反应，并可监测药物在特殊人群（老年人、儿童、孕妇、严重疾病、特殊类型的疾病患者）使用的安全性。药物临床前安全性评价需要在良好实验室规范（GLP）条件下进行，研究内容包括药物的一般毒性反应、免疫毒性、致癌性、生殖毒性、发育毒性、致突变性与遗传毒性等。新药临床试验必须符合人体医学研究伦理准则。出于对与疾病的预防、诊断和治疗目的的新药研究都包含有风险和责任。任何国家的伦理、法律和法规都不允许减少或取消对受试者所规定的保护。谨慎地实施研究可能影响采取科学研究方法的选择。对新药临床试验药物安全性的警戒意识和专业知识欠缺，不了解新药的安全性不仅和其主要成分有关，也与主要成分的分解产物和副产物，以及药物制剂中的溶剂、稳定剂、色素、赋形剂等有一定关联。发现受试药物多次给药后，动物对药物产生的毒性作用医l学教l育网搜集整理，为临床用药安全性和毒副作用观察提供信息。发现动物出现毒性作用时，药物毒理作用所累及的器官或组织，为临床用药的毒副作用监测及新药开发时进行药物结构改造提供依据。了解药物对机体的毒性作用是否可恢复，及其恢复的程度和所需时间。为新药的进一步研究提供取舍依据，并为指导临床合理用药提供依据。经过最近十几年的快速发展，伴随着我国药物研发从单纯的仿制走向新药创制，药物临床安全性评价技术平台的建设、政策法规、以及学术团体的建设都取得了长足的进步。

关键词：药物安全性评价；药物临床试验；安全性

Preclinical safety evaluation of drugs

Shi Jia-qi[1], HAN Yun-Qi[1], ZHU Qiu-meng[1], ZHANG Xin[1], LV Wei[1], XIAO Yun-feng[2]

(1. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, 010110, China; 2. Center for New Drug Safety Evaluation, College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, 010110, China)

Abstract: Preclinical safety evaluation of drugs refers to the use of drugs greater than the clinical dose or longer than the clinical medication time to give drugs to animals, and discover and evaluate the potential toxic effects, toxicity manifestations, and reversibility of target organ damage on the animal body. Drug safety refers to the degree of toxic side effects in the human body after using the drug ac-

cording to the prescribed indications and dosage. Drug safety evaluation refers to the comprehensive evaluation of the rate, severity, strength of association, causal relationship, etc. of adverse events of drugs under normal use, aiming to comprehensively provide drug safety information. Its importance is mainly reflected in: (1) the pre-market safety evaluation results of drugs are an important basis for drug marketing authorization; (2) The results of post-marketing drug safety evaluation are helpful to detect adverse reactions after rare and long-term use, and can monitor the safety of drugs in special populations (the elderly, children, pregnant women, patients with serious diseases, and patients with special types of diseases). The preclinical safety evaluation of drugs needs to be carried out under good laboratory practice (GLP) conditions, and the research content includes general toxicity, immunotoxicity, carcinogenicity, reproductive toxicity, developmental toxicity, mutagenicity and genotoxicity of drugs. Clinical trials of new drugs must comply with ethical guidelines for human medical research. Research into new drugs for the prevention, diagnosis, and treatment of diseases involves risks and responsibilities. Ethics, laws and regulations in any country do not allow the reduction or removal of the protections imposed on subjects. Careful implementation of research may influence the choice of scientific research methods to be adopted. The lack of vigilance awareness and professional knowledge of drug safety in new drug clinical trials, and the lack of understanding of the safety of new drugs is not only related to its main components, but also related to the decomposition products and by-products of the main components, as well as solvents, stabilizers, pigments, excipients, etc. in pharmaceutical preparations. It was found that after multiple administrations of the tested drug, the toxic effects of animals on the drug were collected and sorted out by the medical || education and education network to provide information for clinical drug safety and observation of toxic side effects. When toxic effects are found in animals, the organs or tissues affected by the toxicological effects of drugs provide a basis for monitoring the toxic side effects of clinical drugs and the structural transformation of drugs during the development of new drugs. Find out if the toxic effects of the drug on the body can be recovered, and to what extent and how long it will take. It provides a basis for the further research of new drugs and provides a basis for guiding the rational clinical use of drugs. After more than ten years of rapid development, with China´s drug research and development from simple generic to new drug creation, the construction of drug clinical safety evaluation technology platform, policies and regulations, and the construction of academic groups have made great progress.

Key words: drug safety evaluation; Drug clinical trials; security

T03-0026

肠道微生物群对药物的疗效和毒性的影响

朱秋梦[1], 石佳琦[1], 张　昕[1], 吕　玮[1], 肖云峰[1,2]

（1. 内蒙古医科大学药学院，呼和浩特　010110；2. 内蒙古医科大学新药安全评价研究中心，内蒙古医科大学药学院，呼和浩特　010110）

摘要：药物反应的个体内和个体间差异是药物治疗失败、药物毒性甚至患者死亡的主要原因之一。了解驱动药物疗效和毒性变化的机制，并应用合适的方法来改善药物作用结果是至关重要的。随着基因组学和代谢组学等组学的快速发展，肠道微生物群已成为了解人体对药物反应的焦点。肠道微生物群是一组复杂的微生物，与宿主以相互共生的方式居住在胃肠道中。肠道微生物群的个体间组成是非常动态的，肠道微生物群的个体间组成和值也差异很大。在过去的十年中，大量的研究表明，肠道微生物群可以改变药物的疗效和毒性，肠道微生物群的正常组成、代谢和空间分布在宿主的稳态中起着不可或缺的作用。药物特

别是民族用药物，可以改变肠道微生物群的组成、代谢和空间分布，以（部分）达到治疗效果，特别是那些不能被吸收或表现出生物利用度较差的药物。肠道微生物群和肝脏对异源生物的代谢也可能会产生协同作用，因为肠道微生物群可以将异源生物转化为可以进一步进行肝脏代谢的中间产物。异种生物可以通过直接结合和调节宿主的免疫系统，直接或间接地与肠道微生物群相互作用。一方面，药物可以在组成和功能上改变肠道微生物群；另一方面，肠道微生物群可以通过化学方式转化药物。因此，药物的药理作用和毒性作用受到肠道微生物群的高度影响。而且由于肠道微生物群的变化，这种改变的程度因人而异，差异很大。肠道微生物群的个性化操作是纠正异常药物反应的重要途径。根据肠道微生物群的代谢组学能力精确地调整剂量可最大化的实现药物的合理应用。同时也要考虑药物使用的时间，因为昼夜节律在肠道微生物群的成分和功能波动上起着重要作用，可以显著影响药物的毒性调节肠道微生物群代谢物。本文将叙述肠道微生物群在提高药物疗效，降低药物毒性方面产生的作用。

关键词：肠道微生物群；药物疗效；药物毒性；不良反应

Effects of gut microbiota on drug efficacy and toxicity

ZHU Qiu-meng[1], Shi Jia-qi[1], ZHANG Xin[1], LV Wei[1], XIAO Yun-feng[1,2]

(1. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, 010110, China; 2. Center for New Drug Safety Evaluation, College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, 010110, China)

Abstract: Intra-and inter-individual differences in drug response are one of the main causes of drug failure, drug toxicity and even death. It is critical to understand the mechanisms that drive changes in drug efficacy and toxicity, and to apply appropriate methods to improve drug outcomes. With the rapid development of omics such as genomics and metabolomics, the gut microbiota has become the focus of understanding the body´s response to drugs. The gut microbiota is a complex group of microorganisms that inhabit the gastrointestinal tract in symbiotic fashion with the host. The inter-individual composition of the gut microbiota is very dynamic, and the composition and values of the gut microbiota vary greatly between individuals. Over the past decade, numerous studies have shown that the gut microbiota can alter the efficacy and toxicity of drugs, and that the normal composition, metabolism, and spatial distribution of the gut microbiota play an integral role in host homeostasis. Drugs, especially ethnographic drugs, can alter the composition, metabolism and spatial distribution of the intestinal microbiota in order to (partially) achieve therapeutic effects, especially those that cannot be absorbed or show poor bioavailability. The gut microbiota and liver metabolism of heterologous organisms may also have a synergistic effect, as the gut microbiota can convert heterologous organisms into intermediates that can be further metabolized by the liver. Xenobiotes can interact directly or indirectly with the gut microbiota by directly binding to and modulating the host´s immune system. On the one hand, drugs can alter the gut microbiota in composition and function; The gut microbiota, on the other hand, can chemically transform drugs. Therefore, the pharmacological and toxic effects of the drug are highly influenced by the intestinal microbiota. And because of changes in the gut microbiota, the extent of this change varies greatly from person to person. Personalized manipulation of the gut microbiota is an important way to correct abnormal drug responses. Precise dose adjustment according to the metabolomic capacity of the gut microbiota can maximize the rational use of drugs. The timing of drug use should also be considered, as circadian rhythms play an important role in fluctuations in the composition and function of the gut microbiota, which can significantly affect the toxicity of drugs that regulate the metabolites of the gut microbiota. The role of the gut microbiota in improving drug efficacy and reducing drug toxicity will be described here.

Key words: intestinal microbiota, drug efficacy, drug toxicity, adverse reactions

T03-0027

基于三种模式对附子4种炮制品的急性毒性初步研究

郝丽丽[1]，张　鹏[2]，魏洪鑫[3]，宁钧宇[2]，高　珊[2]
（1. 北京市朝阳区疾病预防控制中心，北京　100021；2. 北京市疾病预防控制中心/食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室，北京　100013；3. 北京积水潭医院，北京　100035）

摘要：目的　采用啮齿类动物小鼠、秀丽隐杆线虫和细胞3种模式对中药附子的4种炮制品（黑顺片、白附片、淡附片、炮附片）的水提物粉末进行急性毒性初步研究。**材料和方法**　对昆明种小鼠进行经口灌胃给药；黑顺片和白附片使用霍恩氏法，给药量均为2.15、4.64、10、21.5 g/kg BW；淡附片和炮附片使用限量法，给药量分别为17.2 g/kg BW和20 g/kg BW。对野生型秀丽隐杆线虫进行液体染毒；染毒终浓度为黑顺片和淡附片0.31、0.63、1.25、2.5、5 g/L；白附片和炮附片0.78、1.56、3.13、6.25、12.5 g/L。对293细胞使用CCK-8法进行急性毒性检测，染毒终浓度均为0.08、0.16、0.31、0.63、1.25、2.5、5 g/L。**结果**　昆明种小鼠急性经口毒性试验结果为：黑顺片LD_{50}为6.81g/kg BW（34.15 g生药/kg BW）；白附片雌性小鼠LD_{50}为12.6 g/kg BW（77.02 g生药/kg BW），雄性小鼠LD50为10.8 g/kg BW（66.01 g生药/kg BW）；淡附片最大耐受剂量（Maximum Tolerated Dose，MDT）>17.2 g/kg BW（>241.6 g生药/kg BW）；炮附片MDT>20.0 g/kg BW（>39.5 g生药/kg BW）。秀丽隐杆线虫LC_{50}分别为：黑顺片0.72 g/L（3.61 g生药/L）；白附片32.52 g/L（198.78 g生药/L）；淡附片0.33 g/L（4.64 g生药/L）；炮附片2291 g/L（4526.21 g生药/L）。293细胞LC50分别为：黑顺片7.92 g/L（39.71 g生药/L）；白附片49.18 g/L（300.62 g生药/L）；淡附片14809 g/L（207987.99 g生药/L）；炮附片20008 g/L（39520.75 g生药/L）。**结论**　附子的4种炮制品中，黑顺片对小鼠和细胞急性毒性最大。长期或大量服用附子对人的健康影响值得关注。

关键词：黑顺片；白附片；淡附片；炮附片；急性毒性；模式生物；替代方法

通讯作者：高　珊，E-mail：gaoshan1010@tom.com

T03-0028

SD大鼠静脉注射HYH2006 14天重复给药毒性试验

卢素云，蒋飞荣，杨鹏飞，潘任桃，邓友田
（湖南安生美药物研究院有限公司，410125）

摘要：目的　SD大鼠连续静脉注射不同剂量HYH2006，考察受试物可能引起毒性反应的性质、程度、量效和时效关系及可逆性，为临床试验中的试验设计、毒性反应的监测及解救措施和临床用药提供参考。**方法**　选用SPF级SD大鼠64只，雌雄各半，按性别体重随机分为4组，分别为Vehicle组、HYH2006低、中、高剂量组，每组16只。按5mL/kg体积尾静脉注射给药，每日1次，连续给药14天，停药恢复期为7天。给药末期按计划解剖32只大鼠，恢复期末按计划解剖32只大鼠，雌雄各半。检查项目包括：一般临床观察、体重、摄食量测定；血液学、血液生化、电解质、凝血、脏器系数测定；大体观察，组织病理学检查。**结果**　（1）给药期间，由于药物原因，HYH2006中剂量组出现1只动物死亡（1雄），HYH2006高剂量组出现3只动物死亡（1雌2雄），恢复期未出现动物死亡，所有动物均按计划实行安乐死。（2）体重、摄食：试验期间HYH2006各剂量组与同期Vehicle组比较，雌雄动物整体、雌性动物、雄性动物均无统计学差异。（3）血液检查：血液学检测中HCT%、Lym%、RBC等与同期Vehicle组比较有统计学差异，但无剂量-效应关系，故认为该变化无毒理学意义；血液生化检测中ALP、TP、ALT、TBIL等指标与同期Vehicle组比较有统计差异，但无明显量效关系，无明显毒理学意义，BUN、Cr有明显的下降趋势且具有量效关系，静脉注射HYH2006可能会对动物的肾脏产生影响；凝血检测中PT与同期Vehicle组比较有统计学差异，但无明显的量效关系，故认为该变化无毒理学意义；电解质检测显示Na^+含量与同期Vehicle组比较有统计学差异，但无明显的量效关系，故认为该差异无毒

理学意义；雌雄整体动物肾脏脏器系数有统计学差异，但无明显的剂量效应关系，结合组织病理学检查结果，未发现有毒理学意义的病理改变，故认为该差异无毒理学意义。(4)给药期死亡动物大体解剖观察未见明显异常，给药末期及恢复期末解剖的Vehicle组及各给药组动物送检的脏器表面及切面的颜色、大小、质地均未见明显改变；显微镜下组织形态学观察发现各组别动物部分脏器可见组织病理学改变，但HYH2006各剂量组与Vehicle组比较，病变类型及病变动物数量、病变程度未见明显差异，判定为大鼠背景性病理改变，与受试物无关，故认为该变化无明显毒理学意义。**结论** 在本试验条件下，SD大鼠静脉注射HYH2006 14天，停药恢复7天，Vehicle组和HYH2006低剂量组未出现动物死亡，HYH2006中剂量组出现1只动物死亡(1雄)，HYH2006高剂量组出现3只动物死亡(1雌2雄)，所有存活动物体重、摄食量、血液学指标、血液生化指标、凝血指标、血液电解质、脏器系数、组织病理学均未见明显异常，但BUN、Cr有明显的下降趋势且具有量效关系。静脉注射化合物HYH2006可能会对大鼠肾脏产生影响。

通讯作者：卢素云，E-mal：lusuyun1019@163.com；邓友田，E-mal：38404269@qq.com

T03-0029

胃肠道毒性评价体外模型研究进展

李英奇，魏丽萍，王 雁，姜欣蓓，史祎敏，常 艳
（益诺思生物技术南通有限公司，南通 226100）

摘要：胃肠道毒性评价是新药非临床研究中极为重要的一个环节，但目前仍以动物实验为主，体外模型能在可控和可重复的条件下进行高通量测试，并且具有较好的预测人类体内环境的能力，已被广泛用于研究复杂的体内反应。在本文中，总结了常规体外胃肠道模型、胃肠道类器官模型和微流控芯片的研究进展。

经典胃肠道细胞培养是人胎儿小肠分离的原代培养物与肠腺癌的永生化细胞系，这些培养系统为研究细胞生物学提供了重要的方法，但传统细胞培养模型无法表示复杂的三维(3D)组织。类器官培养模型能够更好模仿体内的生理环境，并且在细胞数量、形态、增殖和分化方面表现出显著改善。传统单一的胃肠道类器官由于缺乏与其他基质细胞、免疫细胞及微生物之间的相互作用，无法真实模仿复杂的肠胃道。为了进一步改进，建立了胃肠道类器官与基质细胞、神经细胞、免疫细胞、细菌细胞共培养类器官。与基质细胞共培养类器官模型增加了胃的所有细胞成分的数量，提高了类器官培养的存活率。与神经细胞共培养类器官模型显示出神经元活动并能够控制胃窦组织的收缩。与免疫细胞共培养类器官模型能够诱导和促进肠上皮与肠干细胞再生。与细菌细胞共培养类器官模型抗炎能力提高。多类器官融合系统，可以模拟与其他器官之间的相互作用，已建立了肠道与肝脏类器官共培养模型，肠道、肝脏与肾脏类器官共培养模型和肠、肝、皮肤与肾共培养模型。但类器官技术的均一性及重现性有限，难以用于毒性筛选或高通量测试。微流控芯片与其他类器官相比更接近人类体内环境，增加了肠道屏障功能并维持了微生物多样性，可用于正常肠道的代谢、营养、感染和药代动力学研究。微流控芯片与3D生物打印技术的结合也是微流控芯片的较大发展，生物打印可以模拟体内组织的几何形状与位置，重现人体器官组织的复杂微结构。然而，微流控芯片必须添加更多细胞亚型、微生物组、代谢物等，来增加与人相关性。

总而言之，这些模型都是有价值的平台，可以用于胃肠道疾病建模，也可作为药物毒性筛选平台。它们有助于减少动物模型的使用并降低制药行业的成本。随着精细技术的发展，可以预见，胃肠道体外模型将会成功模拟与体内一致的生理和病理环境，促进体外毒性评价研究的进展。

通讯作者：李英奇，E-mal：yqli-1@innostar.cn

T03-0030

OECD GLP 第23号文件对国内GLP机构可能产生的影响

杨昌雄，王　勇
（益诺思生物技术南通有限公司，南通　226133）

摘要： QAU作为GLP体系中不可缺少的部分，对机构运行和试验实施过程中的质量保证起到了关键作用。随着OECD GLP 第23号文件（质量保证和GLP）于2022年7月18日发布，替代了原有的OECD GLP 第4号文件，国内部分GLP机构的质量体系可能会因此受到影响。本文通过对OECD 23号文件的学习并结合笔者自身的GLP机构从业经验，查询相关的参考文献，整理归纳出OECD 23号文件对国内GLP机构可能产生的五方面的影响。

1）该法规的生效，对GLP机构中影响最大的是QA人员，所以笔者认为组织一次QA全员的新法规培训是很有必要的，可以将新法规中的重点、要点进行解读，尤其关注和现有做法不同的地方。2）QAP（Quality Assurance Program）的定义在法规中的明确，一定程度上促使GLP机构更加完善质量保证体系。比如如何让QAP成为一种持续的内部质量监控、如何保持QA的独立性、如何实施质量保证活动等，都需要建立QAP相关的SOP以详述。3）法规中明确了基于风险的QAP和风险管理的相关内容，采用基于风险的方法，可以提升QAP的价值。对此，就需要机构建立相应的程序，规定风险评估的关注点、风险识别、风险管理的流程等。建议检查机构内基于试验和基于过程的检查环节是否需要基于风险进行调整；还需要对QA人员进行基于风险方面的培训，转变观念，了解风险评估的生命周期，将风险管理意识带入到QA工作中。4）新法规中提到了对QAP的检查，QA工作应该是GLP工作实施的标杆，不是“法外之地”。QA对SOP和法规的遵从性及其工作的态度可以反映出机构整体GLP的合规程度。对QAP的检查包括TFM的检查、外方（委托方、监管机构等）检查、机构内/机构间的相互检查、第三方专业机构的检查等多种形式，上述检查程序均需有SOP规定，并形成记录。5）机构中SOP，尤其是QA相关的SOP也可能需要调整。部分SOP参考了OECD GLP 第4号文件，在23号文件生效后，相关SOP中描述则可能需要调整；另外SOP中对于QA的检查类型、检查环节、检查范围、检查深度、关键环节、执行检查、检查记录、检查报告等程序，均需视情况进行相应的修订。

OECD GLP 第23号文件和OECD GLP 第4号文件比较，不难发现新法规更具参考价值，它提供了更广泛、更全面、更实际的操作指导，也体现了OECD对GLP体系中QA工作的重视。也希望国内GLP机构的QA同仁紧跟时代脚步，踏踏实实为中国GLP事业添砖加瓦。

作者简介： 杨昌雄，研究实习员，本科，主要从事非临床安全性评价质量保证工作，E-mail：cxyang@innostar.cn

通讯作者： 王息 勇，E-mail：ywang@innostar.cn

T03-0031

浅谈GLP体系下QA对供试品管理的检查

徐书颖，王　勇
（益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通　226133）

摘要： 供试品是整个非临床试验研究的基础，供试品的管理、配制及分析如果出现问题都可能会直接影响GLP试验结果。

QA对供试品管理的检查主要分为试验方案的检查、现场检查、报告资料的检查。

试验方案的检查：1. 核对方案中供试品信息的正确性。很多时候前期方案不能明确供试品信息，如细胞类供试品往往在实验开始前才能到达，又或者长毒试验不能确保整个试验周期是否会有供试品批号等信

息更新。为避免不必要的偏离，可在方案中说明“该部分信息以方案变更形式呈现”或者“信息更新记录在原始记录中，并在总结报告中呈现”。2. 配制方法的可行性。所配制的浓度范围是否经过验证，药量的计算是否准确。3. 给药制剂保存条件和定性信息是否正确。

现场检查：供试品管理工作流程中，大致可分为：接收、留样、保存、分发、配制、取样、分析、回收、处理。其中，接收、留样、保存、分发、回收、处理主要在于“量”和“保存条件”；另外，供试品为精麻药等管制药品或者具有放射性的同位素药品时，应进行特殊的管理和保存；配制、取样、分析主要在于“操作的合规性”和“交叉污染的控制”。配制、取样、分析过程中还需关注理论药量的计算、给药制剂稀释倍数的计算是否准确，配制条件、仪器/量具是否检定有效，分析仪器是否经过3Q验证，仪器的日常维护记录、人员培训记录、试验记录是否及时、准确、完整，标签信息、保存条件是否正确等等。这些环节可以根据风险控制，划分到相应的基于试验、基于过程、基于设施的三种检查分类中分别进行检查。

报告资料的检查：可以分为供试品资料和给药制剂浓度分析资料。除了试验记录与方案和报告之间的一致性审核外，供试品资料审核阶段相比于现场检查阶段，可以更全面的看出供试品使用过程中“量”的变化过程；给药制剂浓度分析资料可关注仪器参数设置、审计追踪，数据处理、分析等方面。

综上所述，QA可从以上的检查关注点对供试品管理全过程制定检查列表，进行细致、深入的检查，保证非临床安全评价结果真实、可靠、准确。

作者简介：徐书颖，助理实验师，本科，主要从事非临床安全性评价质量保证工作，E-mail：syxu@innostar.cn

通讯作者：王 勇，E-mail：ywang@innostar.cn

T03-0032

静脉注射、马甲穿脱及重复采血对食蟹猴临床病理学指标影响

赵 琪[1,2]，李彩云[1]，陈 琰[3]，刘永涛[1]，汪溪洁[1,2]

（上海益诺思生物技术股份有限公司1. 中国医药工业研究总院，2. 上海 201203，益诺思生物技术海门有限公司，3. 海门 226133）

摘要：目的 非人类灵长类动物被广泛应用于新药非临床安全性评价研究中。在这些研究中，静脉注射是常用的给药方式，无创遥测系统常用于心血管安全性和药理学评价，同时动物常需要重复采集血液样本进行各种分析。而静脉注射、马甲穿戴和重复采血均可能引起食蟹猴的应激反应，从而导致食蟹猴临床病理学指标的改变。本研究旨在研究上述操作对食蟹猴临床病理学指标的影响。**方法** 将20只猴子（10只/性别）分别于第1天和第10天静脉滴注0.9%氯化钠注射液。每只动物于每次给药前穿上马甲，于每次给药后24 hr脱下马甲。每只动物分别于每次给药前、给药后2 min、24 hr、48 hr、72 hr和168 hr采集血液样本进行分析。**结果** 与给药前（D-1）值相比，给药后可见网织细胞（RET%和RET#）增加，红细胞（RBC、HGB和HCT）减少。红细胞的减少和网织细胞的增加被认为与重复采血有关。给药后2 min或24 hr，白细胞（WBC、NEUT#和NEUT%）和血小板（MPV和PDW）增加。给药后2分钟至72小时，AST、DBIL、CK、CRP和hsTnI升高，P降低。**结论** 静脉注射、马甲穿戴和重复采血可引起食蟹猴部分临床病理学指标的改变，研究人员在进行数据分析时应注意这些指标的改变可能与操作应激有关。

关键词：食蟹猴；静脉注射；马甲；重复采血；临床病理

作者简介：赵 琪，E-mail：qzhao@innostar.cn

通讯作者：汪溪洁，E-mail：xjwang@innostar.cn

T03-0033

头孢哌酮舒巴坦钠和美洛西林舒巴坦钠相关的住院患者急性肾损伤风险预测模型的开发

张瑞秋，李　晓
〔山东第一医科大学第一附属医院（山东省千佛山医院）临床药学科，济南　250014〕

摘要：目的　急性肾损伤（acute kidney injury，AKI）是临床使用头孢哌酮舒巴坦钠和美洛西林舒巴坦钠后常见的不良反应之一，本研究将基于电子病历数据，确定住院患者应用两种抗菌药物后发生AKI的相关风险因素并建立预测模型，评估患者使用该药物的AKI发生风险，以预防AKI的发生。**方法**　回顾性分析了2018年1月至2020年12月山东第一医科大学第一附属医院所有使用头孢哌酮舒巴坦钠和美洛西林舒巴坦钠的成年住院患者。通过住院电子病历系统（electornic medical record，EMR）收集其一般资料、临床诊断、基础疾病和实验室检查结果等相关信息，采用Logistic回归的机器学习方法，构建可预测AKI发生风险的预测模型。模型的训练严格采用十倍交叉验证来提高其准确性，并通过受试者操作特征（receiver operating characteristic curve，ROC）曲线及其曲线下面积（area under the curve，AUC）评估模型性能。**结果**　在这项回顾性研究中，共纳入8767例使用头孢哌酮舒巴坦钠病例，其中1556例患者在使用该药后发生AKI，发生率为12.73%。共265例患者在使用美洛西林舒巴坦钠后发生AKI，发生率为9.18%。在头孢哌酮舒巴坦钠研究队列中，通过多因素分析确定了心力衰竭、脑卒中、慢性肾功能不全、合并使用非甾体抗炎药等20个预测因子（$P<0.05$），并纳入logistic预测模型，其预测模型的AUC为0.831（95%CI：0.818～0.844），特异度和灵敏度分别为76.1%和74.7%。在美洛西林舒巴坦钠研究队列中，通过多因素分析确定了脑卒中、合并使用利尿剂等9个预测因子（$P<0.05$），其预测模型的AUC为0.742（95%CI：0.708～0.775），特异度和灵敏度分别为74.2%和60.7%。**结论**　住院患者药源性AKI的发生可能与多种肾毒性药物的联合治疗以及既往慢性肾病史相关，临床医生应仔细观察具有上述特征的患者。基于机器学习的AKI预测模型在预测使用头孢哌酮舒巴坦钠或美洛西林舒巴坦钠的成年住院患者发生的AKI方面具有较好的预测性能。在临床实践中可能有助于识别高危患者，降低AKI发生率，改善患者预后。

关键词：急性肾损伤；头孢哌酮舒巴坦钠；美洛西林舒巴坦钠；风险因素；机器学习；预测模型

通讯作者：李　晓，E-mail：lixiao1688@163.com

T03-0034

基于HEK293细胞的不同温度条件对药物作用离子通道的影响研究

杜春燕[1,2]，邢红艳[2]，张玉卿[1,2]，赵　琪[2]，张艺哲[2]，汪溪洁[1,2]
（1. 中国医药工业研究总院，2. 上海益诺思生物技术股份有限公司，上海　201203）

摘要：目的　建立在生理温度下采用全细胞膜片钳技术测定人胚肾细胞（HEK293）转染表达的hERG钾电流和Nav1.5钠电流的方法，研究不同温度条件下西沙必利、红霉素和氧化苦参碱对hERG钾通道以及利多卡因、奎尼丁和美西律对Nav1.5钠通道的作用。**方法**　在室温或生理温度（33℃、35℃和37℃）条件下，采用全细胞膜片钳技术记录不同浓度的西沙必利（0.01、0.03、0.1、0.3μmol·L−1）、红霉素（30、100、300、1000 μmol·L^{-1}）和氧化苦参碱（10、30、100、300 μmol·L^{-1}）作用于hERG-HEK293细胞后Ikr的变化以及利多卡因（3、10、30、100 μmol·L^{-1}）、奎尼丁（10、30、100、300 μmol·L^{-1}）和美西律（10、30、100、300 μmol·L^{-1}）作用于Nav1.5-HEK293细胞后I_{Na}的变化，研究生理温度条件下上述药物对I_{kr}和I_{Na}作用的浓度依赖性以及半数抑制浓度（IC_{50}）。**结果**　hERG钾通道抑制剂西沙必利在不同温度条件下均对转染的I_{kr}电流有浓度依赖性的抑制作用，IC_{50}值分别为0.083、0.092、0.089、0.083 μmol·L^{-1}；大环内酯类抗生素红霉素在室温、生理温度条件下对Ikr均有浓度依赖性的抑制作用，且生理温度下测得的IC_{50}值与室温相比存在显著性差异（$P<0.05$或$P<0.01$），分别为411.22、262.96、142.51、238.89 μmol·L^{-1}；生物碱氧化苦参碱在室温条件下，其

IC_{50}值>300 μmol·L^{-1}，在生理温度下可浓度依赖性地抑制 I_{kr}，IC_{50}值为244.76、131.85、220.04 μmol·L^{-1}；抗心律失常药物奎尼丁和美西律在不同温度条件下均对转染Nav1.5通道的INa有浓度依赖性地抑制作用，IC_{50}分别为122.08、91.27、39.02、64.21 μmol·L^{-1}，162.87、84.39、73.6、75.7 μmol·L^{-1}。结果显示红霉素、氧化苦参碱、美西律以及奎尼丁在室温和35℃条件下对 I_{kr}或 I_{Na}的阻断作用差异具有显著性（$P<0.05$），提示四种药物均为温度敏感型药物且文献报道相符，相反西沙必利和利多卡因在任何温度条件下对 I_{kr}或 I_{Na}的阻断作用差异无显著性（$P>0.05$），提示其为非温度敏感型药物且与文献报道相符。**结论** 在生理温度条件下采用全细胞膜片钳技术可以测定HEK293细胞的hERG钾通道电流和Nav1.5钠通道电流，非温度敏感型药物在不同温度条件下对 I_{kr}或 I_{Na}作用无明显差异，温度敏感型药物在不同温度条件下对 I_{kr}和 I_{Na}的抑制作用略有差异，提示温度敏感型药物临床前安全性评价中应在接近生理温度条件下研究药物对离子通道的作用，以更准确地反应药物在人体内对离子通道的作用。

关键词： HEK293；生理温度；IC_{50}；温度敏感型药物

作者简介： 杜春燕，E-mail：cydu98316@163.com

通讯作者： 汪溪洁，E-mail：xjwang@innostar.cn

T03-0035

浅谈QA对动物供应商的检查要点

张文婕，王 勇

（益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通 226133）

摘要： 实验动物作为药物GLP试验中的主要“实验系统”，其质量的好坏对于试验质量有着重要的影响。所以，做好动物供应商的考察评估，把好动物供应商产品的质量关对于GLP机构来说具有重要意义。QAU作为机构的质量保证部门需重视对动物供应商的考察。

选择动物供应商之前，要先对供应商做一个初步了解，满足初步要求的供应商可以再进一步采用现场检查的方式进行实地考察。参与现场检查的人员可由机构的相关学科专家、兽医团队及QA人员共同组成。检查的关注点可包括以下方面：

首先，选择的动物供应商应具有“实验动物生产许可证”资质。供应商是否获得该证可以作为判断实验动物质量的首要依据。其次，对供应商的基本信息及公司的运营状况做详细了解，主要包括：公司名称、地址、公司成立时间、公司资质、公司联系人、联系方式、规模、动物饲养设施面积大小或可容纳动物数量、饲养设施是否经过环评认证、仪器设备及动物设施管理措施、可提供的动物品种/品系，等等。通过对供应商的经营状态及生产能力做详细了解，以便为后续决定是否采购该供应商的动物及购买数量提供依据。然后，我们需要重点关注的便是对动物质量的考察，主要包括：动物种源、更新种源时间、传代管理、动物质量检测指标及频率、饲料/垫料/饮水检测及检测指标、发现的动物常见疾病及处理、动物个体/群体档案管理、近半年内的动物质量检测报告，等等。通过对这些方面进行考察，以综合判断该供应商的动物质量。此外，对于动物设施管理如饲养设施内的温湿度控制、光照时长、饲料/垫料管理、饮水、笼具/玩具管理、饲养室清洁消毒程序，等等，也是考察动物供应商的重要指标。也可以同时参考国家发布的《实验动物管理条例》或实验动物通用质量标准等文件以帮助综合评判。

综上，机构在选择动物供应商时，要在保证动物质量的前提下选择优势较强的动物供应商。对于考察合格的供应商需及时更新至供应商列表中。首次从考察合格的供应商采购动物时，应尽量先少量购买，在动物到达后密切观察动物状态，一旦发现动物出现异常需由兽医及时处理。

机构要将动物供应商的管理作为机构管理的一部分，建立完善的动物供应商管理流程，择优选择满足试验需求的实验动物，以确保GLP试验结果的准确和可靠。

作者简介： 张文婕，助理实验师，本科，主要从事非临床安全性评价质量保证工作，E-mail：wjzhang@innostar.cn

通讯作者： 王 勇，E-mail：ywang@innostar.cn

T03-0036

浅谈现阶段如何做好GLP环境下的QA

高嘉政，王　勇
（益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通　226133）

摘要：随着GLP行业的不断发展，行业法规的日益完善，对于QA工作的开展将会越来越有利，但仍然有一些常见问题不容忽视，阻碍着质量保证工作的顺利开展。如何在困难中寻求突破，避免对QA的工作造成困扰，这需要我们进一步的思考。

首先，在现阶段，QA面临着知识储备问题。一方面是GLP法规理论的相关知识。由于各个GLP法规不断更新且存在一定差异，造成大家对法规的解读深浅不一。QA应该不断去自我研读法规，与其他QA共同学习讨论和经验分享，提升QA对法规文件理解的深度，以及对法规文件之间差异的识别。另一方面是专业技术知识。专业技术知识对于QA的日常现场检查、报告审核等工作都有举足轻重的作用。但由于创新药物的品类、检测方法、检测指标更新换代快，对于QA专业技术知识的积累和提升带来了不小的压力。QA应该不断汲取最新的专业技术知识、指导原则，同时参加相关前沿性、专业技术性的培训，不断提升自我，以在保证GLP遵从性的同时也能发现更多科学性的问题。

其次是日常工作中的沟通问题。沟通是QA最频繁的工作内容之一。由于专业技术人员对GLP理解存在差异，往往会出现他们与QA不能进行有效沟通、各执一词的情况；或是因为专业技术知识的理解问题，让QA难以与专业技术人员共情。为解决这样的矛盾点，应该加强专业技术人员入职培训和周期性培训中法规理论知识内容的培训，树立专业技术人员的GLP意识，并不断强化。同时，QA也应该不断夯实自己的基础专业技术知识，在日常工作中与专业技术人员通过不断沟通交流，以提升试验质量为导向，消融两者之间的观点差异，形成更为良好的工作氛围。

最后就是作为公司员工，如何在保证质量的前提下，协助技术部门提高效率。QA应该做好日常工作中发现的易错和偏离统计，并与专业技术人员分享，帮助专业技术人员形成“第一次就把事情做对”、“防患于未然”的理念。还可以鼓励和协助专业技术人员合规的前提下进行技术创新、流程优化，持续促进质量体系、试验质量、工作效率的不断提升。

在现代技术不断革新、质量管理体系不断发展的大环境下，作为 QA也需要在完成日常工作的同时，不断提升综合素质和业务能力，为公司和GLP行业的发展贡献力量。

作者简介：高嘉政，助理实验师，本科，主要从事非临床安全性评价质量保证工作，E-mail：jzgao@innostar.cn

通讯作者：王　勇，E-mail：ywang@innostar.cn

T03-0037

如何促进GLP质量体系的持续改进

李腊梅，孙　昊，潘秋兰，许柳婷，王思铭，吴紫君，叶冠聪，郭健敏，雷夏凌，杨　威
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：GLP质量体系建立的目的旨在促进试验数据的质量和有效性，以确保所进行的试验研究能够持续有效地运行，它不是一成不变的。为了保证标准操作规程（SOP）的持续合规性和适用性，应当建立GLP质量体系的持续改进方法。下文将围绕促进GLP质量体系的持续改进的方法进行初步探讨。

改进的方法应是基于事实的决策方法，并且是可闭环的循环方法。针对质量管理体系与试验工作脱

节，存在的写一套，做一套的问题，此方法尤为适用。循环的关键环节包括：(1)已发生或潜在问题的检测(2)根本原因分析(3)纠正和预防措施(4)变更控制(4)有效性审查。问题可以是第三方监督机构检查时提出的不符合项或任何可能影响GLP研究及其过程的因素，也可以是QA的日常活动时发现的问题或潜在问题，或者是通过使用某些监控系统识别并捕获到的问题。根本原因分析可使用帕累托图、5 why分析法等分析工具来掌握影响质量的主要本质因素。对于已经发生的不符合情况，可以通过及时采取措施以消除问题的方式来解决，而那些基于风险评估或者反馈信息的情况，可以采用与纠正措施相同的方法来进行预防。在对某些研究的有效性进行短期和长期监测的过程中，如果发现系统、设施、人员或工作方式的改变，应当实施变更控制。变更可能由多种活动引发，如试验研究采用新技术或设施扩建/改造等。变更管理可以帮助控制计划或预防措施的顺利实施。循环的关键环节应确保生成并保留详细的文档，研究机构根据问题的性质，分析现有数据，产生可用于监控单个改进活动或改进整个系统的整体有效性的数据以达到有效性审查的目的。

改进的方法应全员参与。只有领导重视，各部门积极配合才能不断加强全员意识。

质量体系的持续改进能够对质量管理体系的运作做出动态评价，也可及时对质量管理体系文件进行相应的补充与完善。

作者简介：李腊梅，E-mail：qau@lewwin.com.cn

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0038

LW2206-01对食蟹猴单次给药毒性试验研究

李玉姣，黄远铿，黄 浪，郭健敏，杨 威

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：目的 观察单次静脉给予受试物LW2206-01后，对食蟹猴可能产生的毒性反应及其严重程度，主要毒性靶器官或靶组织及其损害的可逆性，探索无毒反应剂量，给临床设计人用安全剂量和主要监测指标提供参考，为单次给药进行风险评价。**方法** 选用经适应性观察符合要求的食蟹猴30例，按性别和体重随机分为3组，分别为阴性对照组（A组）、溶媒对照组（B组）、LW2206-01组（C组），10只/组，雌雄各半。分组后按照设定要求静脉注射给予相应的受试物，每例动物给药1次。动物单次给药后，连续观察至少4小时，给药后每天至少进行1次动物临床观察，持续观察6周。给药后详细记录所有动物的死亡情况、中毒症状及中毒反应的起始时间、严重程度、持续时间、是否可逆等。同时按计划进行食蟹猴体重、肛温、眼科检查、心电图检查测定；并按计划进行临检血液采集、尿液采集以进行血液学、凝血功能、生化学、尿常规检查。**结果** (1)临床观察、体重、摄食量、肛温、血液学及凝血功能、生化学、尿常规、心电图检查、骨髓检查、眼科检查、脏器重量及脏器系数、组织病理学检查等均未见出现与受试物相关的具有毒性学意义的改变；(2)病理学检查方面，大体病理学和组织病理学检查均未见与受试物相关的异常变化。**结论** 受试物LW2206-01溶媒、LW2206-01以20 mL/kg剂量对食蟹猴单次静脉注射给药后，对临床观察、体重、摄食量、肛温、血液学及凝血功能、生化学、尿常规、心电图检查、骨髓检查、眼科检查、脏器重量及脏器系数、组织病理学检查等指标均未见与受试物相关的具有毒性学意义的变化。受试物LW2206-01溶媒、LW2206-01对食蟹猴单次静脉注射给药的NOAEL为20 mL/kg。

关键词：静脉给药；食蟹猴；单次

作者简介：李玉姣，E-mail：liyujiao@lewwin.com.cn

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com

T03-0039

LW2152滴眼液对新西兰兔连续1个月多浓度滴眼重复给药毒性试验研究

伍辽桦，黄远铿，李玉姣，郭健敏，杨　威

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：目的　观察连续4周重复滴眼给予受试物LW2152滴眼液后，对新西兰兔所产生的毒性反应及其严重程度（不良反应的性质、暴露和剂量与时间的关系，随暴露延长对代谢过程的影响，药物蓄积可能引起的各脏器、组织的毒性损害），主要的毒性靶器官或靶组织及其损害的可逆性，探索无毒反应剂量，为其它安全性评价实验和临床用药提供基础数据，为重复给药进行风险评价。**方法**　选用经适应性观察符合要求的新西兰兔60例，按体重和性别均衡随机分为6组，分别为阴性对照组（A组）、LW2152滴眼液0%浓度组（B组）、LW2152滴眼液0.5%浓度组（C组）、LW2152滴眼液1%浓度组（D组）、LW2152滴眼液1.5%浓度组（E组）、LW2152滴眼液2%浓度组（F组），每组10只动物，雌雄各半（给药末期处理6例/组，恢复期处理4例/组）。LW2152滴眼液0%、0.5%、1%、1.5%、2%浓度组每天给药量分别为0、12、24、36、48mg/只。动物分组后按给药剂量以及动物体重进行给药。各受试物、阴性对照品滴眼给药，每天给药12次，连续重复给药1个月（共给药28次），恢复观察4周。试验中按计划进行临床观察、体重、肛温、眼科检查、血液学、凝血功能、生化学、尿常规、脏器重量及脏器系数、骨髓检查、病理组织学检查等。**结果**　（1）临床观察、体重、肛温、血液学、凝血功能、血液生化学、尿常规、骨髓细胞分类、脏器重量及脏器系数、眼科检查（眼局部刺激性评分、荧光素钠检查、裂隙灯显微镜检查、眼底检查、瞳孔直径测定、瞳孔反射功能检查、眼压测量）等均未见与受试物相关的具有毒性学意义的改变。（2）组织病理学检查结果：LW2152滴眼液0%、0.5%、1%、1.5%、2%浓度均可引致新西兰兔出现不同程度眼结膜杯状细胞减少的变化，减少程度无剂量关系，恢复期4周后，各组眼结膜杯状细胞减少的变化有所恢复，但未完全恢复。**结论**　LW2152滴眼液0%、0.5%、1%、1.5%、2%浓度组分别以0mg/只动物（100 μL/眼/次，0%×12次）、12 mg/只动物（100 μL/眼/次，0.5%×12次）、24 mg/只动物（100 μL/眼/次，1%×12次）、36 mg/只动物（100 μL/眼/次，1.5%×12次）和48 mg/只动物（100 μL/眼/次，2%×12次）剂量对新西兰兔连续1个月（28天）滴眼重复给药：①对临床观察、体重、肛温、血液学、凝血功能、血液生化学、尿常规、骨髓细胞分类、脏器重量及脏器系数、眼科检查（眼局部刺激性评分、荧光素钠检查、裂隙灯显微镜检查、眼底检查、瞳孔直径测定、瞳孔反射功能检查、眼压测量）等均未见与受试物相关的具有毒性学意义的改变。②LW2152滴眼液0%、0.5%、1%、1.5%、2%浓度均可引致新西兰兔出现不同程度眼结膜杯状细胞减少的变化，减少程度无剂量关系，恢复期4周后，各组眼结膜杯状细胞减少的变化有所恢复，但未完全恢复。

作者简介：伍辽桦，E-mail：wuliaohua@lewwin.com.cn

通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com

T03-0040

药物非临床安全性评价解剖病理学数据差错原因和风险控制要点

胡文元[1]，郑少秋[1,2,3]，闫振龙[1]，钱　庄[1]，陈晓俊[1]，钟小群[1]，胡　静[1]，李一昊[1]，彭瑞楠[1]，王　娅[1]，李　慧[1]，葛建雅[1]，缪成贤[1]，邵　薇[1]，张亚群[1]，吕建军[1]，李　华[1]

（1. 益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通　226133；2. 江西中医药大学，江西 南昌　330103；3. 长三角药物高等研究院，长三角药学高等工程学院，江苏 南通　226133）

摘要：在药物非临床安全性评价毒理学试验中，经常会遇到各种各样无法解释的与受试物相关的新病

变或先前研究中与受试物相关的病变未出现又或同一受试物在不同试验中的解剖病理学结果发生明显变化等非预期情况，这些解剖病理学数据或结果的非预期改变在监管人员审核申报资料时要进行独立评估，并立即向监管机构报告，以避免延迟或影响药物临床试验的正常开展和进一步开发。因此，解剖病理学数据对受试物的后续临床试验和使用至关重要。解剖病理学数据主观性强，需要经验丰富的专题病理学家对其他相关研究数据进行综合分析，以提供对受试物毒性和（或）药理学作用的全面讨论，专题病理学家的诊断和结论才能准确的、完整地反映在解剖病理学报告中。而且需要专题负责人、专题质量保证人员、毒理学家和专题病理学家加强交流和合作来减少差错和控制风险。本文简要介绍了药物非临床安全性评价毒理学试验中病理解剖、取材和组织切片等病理学数据潜在差异和病理诊断差错的常见原因，在解剖病理学报告定稿前发现其潜在的差错，并采取选择通过GLP认证的试验机构、经验丰富的专题病理学家、开展组织病理学同行评议、在解剖病理学报告定稿前进行解剖病理学数据和解释的审阅及非标准指标或模型的使用等相应的有效风险控制措施，以减少和控制解剖病理学数据出现差错，不断提高药物非临床安全性评价毒理学试验解剖病理学数据和报告的质量。以期为提高我国药物非临床安全性评价解剖病理学数据质量和风险控制提供一定参考。

关键词：药物非临床安全性评价；解剖病理学；毒理学试验；差错原因；风险控制

T03-0041

利用巴马小型猪Ⅱ期褥疮模型对LW2159凝胶的临床前研究评价

刘 伟，黄远铿，许能果，郭健敏，杨 威

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：目的 压力性损伤是由于强烈和/或长期存在的压力或压力联合剪切力导致的皮肤和/或软组织的局部损伤，常表现为完整皮肤或开放性溃疡。在我国压力性创伤常称作“褥疮”。本研究旨在利用小型猪建立Ⅱ期褥疮模型，在创面使用LW2159凝胶，同时与上市对照品比较，评价该药物的安全性及有效性。为临床用药和药物开发提供基础数据和理论支持。**方法** 使用自制的压力性创伤装置，对巴马小型猪进行Ⅱ期褥疮模型的造模。试验选用经适应性观察符合要求的Ⅱ期褥疮模型小型猪24例，对小型猪进行造模，按褥疮部位评分和性别均衡随机分为4组，分别为模型对照组（A组）、上市品对照组（B组）、LW2159低剂量组（C组）、LW2159高剂量组（D组），每组6例动物，雌雄各半。LW2159低、高剂量组分别给予不同剂量的LW2159凝胶，上市品对照组给予上市对照品LW2159凝胶R。A组动物不给药，仅对造模部位皮肤消毒、包扎。B、C、D组于造模第2天开始每天对小型猪进行涂皮给予对应的受试物，给药面积涵盖造模部位（覆盖于创面及创面边缘0.5cm位置）。连续给药21天。试验期间对体重、肛温、血液学及凝血功能、生化学、主要脏器病理学检查等安全性指标和创面愈合率、α-SMA和Ki-67但白表达等药效学指标进行监测。**结果** ①LW2159凝胶的低、高剂量组、上市对照品LW2159凝胶R组对小型猪连续给药21天，对体重、肛温、血液学及凝血功能、生化学、主要脏器病理学检查（造模部位除外）均未见具有毒理学意义的改变。②B、C、D三组受试物对褥疮压伤创面部位皮肤观察评分未见明显改善。B、C、D三组于给药D8、D15、D22褥疮压伤创面愈合率比A组高，差异具有统计学意义（$P<0.05$或0.01），但各给药组间未见明显量效关系。B组、C组、D组均可明显增加褥疮压伤模型小型猪创面的Ki-67表达（$P<0.05$或0.01）。B、C、D三组对小型猪Ⅱ期褥疮模型引起损伤均有一定的修复作用，均具有促进新生血管的形成，促进成纤维细胞增生，胶原纤维再生的作用，且对小型猪Ⅱ期褥疮模型创面的改善程度：D组＞B组＞C组＞A组。**结论** 综上所述：在本试验条件下，①LW2159凝胶的低、高剂量组、上市对照品组对小型猪连续给药21天，对体重、肛温、血液学及凝血功能、生化学、主要脏器病理学检查（造模部位除外）均未见具有毒理学意义的改变。②LW2159凝胶高剂量组对Ⅱ期褥疮模型小型猪的创面愈合效果最佳。

关键词： 褥疮；小型猪；创面修复

作者简介： 刘　伟，E-mail：liuwei@lewwin.com.cn

通讯作者： 杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com

T03-0042

LW1920滴眼液对Beagle犬连续13周滴眼重复给药毒性试验研究

许能果，黄远铿，刘　伟，郭健敏，杨　威

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：目的　LW1920滴眼液是ROCK激酶抑制剂长效滴眼液，是用于治疗青光眼的1类新药，本研究通过观察连续13周滴眼重复给予LW1920滴眼液后，对Beagle犬所产生的毒性反应及其严重程度，主要的毒性靶器官或靶组织及其损害的可逆性，探索无毒反应剂量，为其它安全性评价实验和临床用药提供基础数据，为重复给药进行风险评价。**方法**　试验选用适应性观察合格并且用0.5%荧光素钠及裂隙灯显微镜、眼底照相机进行双眼检查合格（无眼睛刺激症状、角膜缺陷和结膜损伤）的Beagle犬56只，按体重和性别均衡随机分为4组，分别为阴性对照组（A组）、LW1920滴眼液低剂量组（B组）、LW1920滴眼液中剂量组（C组）、LW1920滴眼液高剂量组（D组），每组14只动物，雌雄各半（其中给药中期处理2例/性别/组，给药末期处理3例/性别/组，恢复期处理2例/性别/组）。LW1920滴眼液低、中、高剂量分别为0.025mg/只动物（50 μL/眼/次，0.0125%×2次）、0.05 mg/只动物（100 μL/眼/次，0.0125%×2次）、0.1 mg/只动物（100 μL/眼/次，0.025%×2次），采用同体左右眼给药方式，连续给药13周，恢复期观察1个月。试验中按计划进行临床观察、体重、肛温、眼科检查（眼局部刺激性反应评分、荧光素钠染色检查、裂隙灯显微镜检查、眼底检查、眼压测定、泪膜破裂时间（双眼）检查、瞳孔直径测定、瞳孔反射功能检查、FVEP、FERG检查）、心电图、血压、血液学、凝血功能、生化学、尿常规、脏器重量及脏器系数、骨髓检查、病理组织学检查等。**结果**　（1）临床观察、体重、肛温、血液学、凝血功能、血液生化学、尿常规、心电图、血压检查、骨髓细胞分类、脏器重量及脏器系数、眼科检查（裂隙灯显微镜检查、眼底检查、泪膜破裂时间（双眼）检查、瞳孔直径测定、瞳孔反射功能检查、FVEP、FERG检查）等均未见与受试物相关的具有毒性学意义的改变；（2）病理学检查方面，LW1920滴眼液可引起Beagle犬角膜产生较轻微的刺激性病变，表现为具有可逆性的角膜上皮细胞变性（绝大部分均为轻微或轻度）；（3）眼科检查方面，可引起与受试物药效学作用相关的眼压降低；中、高剂量可引起与受试物作为ROCK激酶抑制剂药理作用相关的眼局部刺激性反应，主要表现为结膜、虹膜充血性变化及相关变化，此外荧光素钠染色检查发现的部分给药组动物角膜出现荧光斑还提示角膜上皮细胞形态学变化。**结论**　LW1920滴眼液在0.1 mg/只动物（100 μL/眼/次，0.025%×2次）剂量下可引起与受试物药理药效作用相关的眼压降低、眼局部轻度刺激性变化，停药后均可恢复；判断长期重复给药不会造成器质性的变化、功能的影响，因此认为这种变化无毒理学意义，在临床使用中，不会出现严重副作用。因此LW1920滴眼液对Beagle犬滴眼重复给药的NOAEL为0.1 mg/只动物（100 μL/眼/次，0.025%×2次）。

作者简介： 许能果，E-mail：xunengguo@lewwin.com.cn

通讯作者： 杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0043

LW2151-02对Beagle犬连续4周舌下重复给药毒性试验

黄 浪，黄远铿，伍辽桦，郭健敏，杨 威
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：目的 观察连续4周重复舌下给予受试物LW2151-02舌下片后，对Beagle犬所产生的毒性反应及其严重程度，主要毒性靶器官或靶组织及其损害的可逆性，探索无毒反应剂量，为其它安全性评价实验和临床用药提供基础数据，为重复给药进行风险评价。**方法** 选用经适应性观察符合要求的Beagle犬50例，按体重和性别均衡随机分为5组，分别为阴性对照组（A组）、空白含片组（B组）、静脉+口服组（C组）、LW2151-02低剂量组（D组）、LW2151-02高剂量组（E组），每组10只动物，雌雄各半。LW2151-02低、高剂量分别以舌下给药方式给予LW2151-02 1片和3片（以LW2151-01、LW2151-03计，给药剂量分别为6 mg/犬+25 mg/犬，18 mg/犬+75 mg/犬）；静脉+口服组（C组）以静脉注射给药+口服给药方式给予剂量为1.8 mg/kg+30 mg/kg的LW2151-01、LW2151-03；A组以静脉注射给药+口服给药方式给予6%丙二醇+明胶空心胶囊，B组以舌下给药方式给予LW2151-02空白舌下片。每天给药1次，连续给药4周，恢复观察4周。试验中按计划进行临床观察、体重、摄食量、肛温、眼科检查、心电图、血压、血液学、凝血功能、生化学、尿常规、脏器重量及脏器系数、骨髓检查、病理组织学检查等。**结果** （1）体重、摄食量、肛温、血液学及凝血功能、生化学、心电图、血压、尿常规、骨髓、眼科检查、脏器重量及脏器系数等均未见出现与受试物相关的具有毒性学意义的改变；（2）临床观察方面，受试物LW2151-01、LW2151-03连续4周静脉+口服重复给药，可引起给药期部分动物出现拉稀便或软便的现象，但以软便为主，症状较轻，结合摄食量、体重、胃肠道病理学检查结果均未见明显异常，倾向于认为变化没有毒理学意义；（3）病理学检查方面，各组织脏器未产生与受试物相关的异常改变；舌下给药方式对舌下黏膜未见刺激性反应的变化。**结论** （1）受试物LW2151-02对Beagle犬连续4周舌下重复给药的NOAEL为3片/犬（以LW2151-01、LW2151-03计，剂量为18 mg/犬+75 mg/犬）；舌下给药未见出现局部刺激性反应。（2）受试物LW2151-01、LW2151-03以1.8 mg/kg+30 mg/kg剂量连续4周静脉+口服重复给药，可引起给药期动物出现拉稀便或软便的现象，但以软便为主，症状较轻，结合摄食量、体重、胃肠道病理学检查结果均未见明显异常，倾向于认为变化没有毒理学意义。体重、摄食量、肛温、血液学及凝血功能、生化学、心电图、血压、尿常规、骨髓、眼科检查、脏器重量及脏器系数、病理学检查等均未见出现与受试物相关的具有毒性学意义的改变，因此，受试物LW2151-01、LW2151-03对Beagle犬连续4周静脉+口服重复给药的NOAEL为1.8 mg/kg+30 mg/kg。

作者简介：黄 浪，E-mail：1757437206@qq.com
通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com

T03-0044

疫苗安全评价试验的检查关注点

吴紫君，孙 昊，潘秋兰，许柳婷，王思铭，李腊梅，郭健敏，杨 威
（广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990）

摘要：2019年12月我国首次发现新型冠状病毒（新冠病毒）的存在，随后新冠疫情在全国及全球爆发。疫苗被认为是人类面对病毒感染最有效的预防手段，因此在新冠疫情爆发初期，我国及国内多家生物技术企业即布局了多条技术路线研发新冠疫苗，并在科技部、卫健委等的大力支持下快速推进。为使新冠疫苗

能安全并快速地投入临床使用，新冠疫苗的非临床安全性评价研究在其中发挥着重要作用。

目前，新冠疫苗的研发路线多为灭活疫苗、减毒活疫苗、重组亚单位疫苗、重组病毒载体疫苗、脱氧核糖核酸（DNA）疫苗和核糖核酸（RNA）疫苗。针对不同类型的疫苗，结合本研究院对新冠疫苗的安全评价研究经验，在试验中的检查关注点主要有以下几点：

（一）运输、贮存与使用的温度。为保证疫苗的活性，疫苗的一般需要冷藏或冷冻保存，不同类型的疫苗在不同温度保存下的有效期不尽相同，通常mRNA疫苗相对不稳定，对温度更敏感，因此在接收委托方送样前，需提前与委托方清楚了解疫苗的特性及其运输、贮存与使用时的温度条件。在接收时，重点留意保温运输箱的温度及运输过程中的温度记录，检查运输过程的温度是否符合疫苗保存温度的要求；在核对信息时，可先将疫苗放置于合适温度的贮存位置，有特殊贮存要求的（如避光等）需同时满足，再以尽量快的速度完成信息核对，若数量较大则可采用分批核对的方法；在使用时，需留意室温下保存的有效时间，给药操作需在有效时间内完成，如不能在规定时间内完成，可使用保温箱并放置温度计或温度记录仪作温度监测，避免活性成分降解失效。

（二）使用与回收处理。疫苗作为生物制品，存在一定的生物活性，在使用与回收时需注意其是否具有生物危害性并在相应生物安全级别的实验室与生物安全柜中进行试验。相关的试验废弃物与疫苗瓶如有需要应按要求进行高温高压灭活后再作医疗废物处理。

（三）人员防护。试验期间，试验人员需按防护级别做好个人防护，包括防护衣与防护用具，同时机构应提前做好应急方案，以应对试验人员不慎被沾有疫苗的针头所伤等情况。

作者简介：吴紫君，硕士，E-mail：1062435377@qq.com

通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei@lewwin.com.cn；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0045

LW2172对Beagle犬4周经口重复给药毒性研究

黄远铿，许能果，黄　浪，刘　伟，李玉姣，郭健敏，杨　威

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：目的　LW2172为BET抑制剂，拟利用其能够减弱多个关键炎症因子表达的作用，计划开发为治疗免疫系统疾病新药。本研究观察连续4周重复经口给予受试物LW2172后，对Beagle犬所产生的毒性反应及其严重程度，主要毒性靶器官或靶组织及其损害的可逆性，探索无毒反应剂量，为其它安全性评价实验和临床用药提供基础数据，为重复给药进行风险评价。**方法：**选用经适应性观察符合要求的Beagle犬40例，按体重和性别均衡随机分为4组，分别为阴性对照组、受试物LW2172低（5 mg/kg）、中（10 mg/kg）、高（20 mg/kg）剂量组，每组10只动物，雌雄各半。每天经口给药1次，连续给药4周，恢复观察4周。试验中按计划进行临床观察、体重、摄食量、肛温、眼科检查、心电图、血压、血液学、凝血功能、生化学、尿常规、脏器重量及脏器系数、骨髓检查、病理组织学检查等。**结果**　（1）LW2172低剂量（5 mg/kg）未引起Beagle犬出现具有毒理学意义的改变。（2）LW2172中剂量（10 mg/kg）：可引起雌性、雄性Beagle犬血液学红系指标的RDW-CV、RDW-SD指标升高，凝血功能的FIB指标升高，TT指标缩短。（3）LW2172高剂量（20 mg/kg）：可增加Beagle犬拉稀便、软便的频率，引起Beagle犬产生呕吐反应，除拉稀便现象于恢复期仍未完全恢复其它反应均可恢复；可引起雌性Beagle犬偶见咳嗽、活动减少，给药期体重增长稍为缓慢，并引起2例Beagle犬分别于给药末期死亡；引起雌性、雄性Beagle犬血液学红系指标的RDW-CV、RDW-SD指标升高，凝血功能的FIB指标升高，TT指标缩短，生化学K指标轻微降低、骨髓MONO%指标升高、胸腺重量降低等变化；引起雄性Beagle犬白细胞分类中LYMPH%、MONO%升高，NEUT%降低，网织红细胞升高、成熟度降低，个

别动物PLT、PCT指标降低；引起动物肺脏、脾脏和肝脏空泡化巨噬细胞（或肝脏kupffer细胞）增多，肠腺扩张伴腺上皮的再生以及胸腺淋巴细胞减少等病变，最终引起2例雌性动物死亡，死亡动物还可见胃肠道出血、肺水肿、出血及炎症的变化；恢复期时仅见肝脏空泡化kupffer细胞轻微增多。**结论** 受试物LW2172对Beagle犬连续28天经口重复给药的NOAEL为5 mg/kg。结合受试物特点综合判断，中、高剂量组所出现的上述毒性反应主要为受试物对机体的免疫抑制作用以及继发性的不良反应，与受试物的药效作用放大相关，在临床研究时，需严格控制用量，建议临床使用时密切关注患者用药时后的反应情况，特别是胃肠道反应，并监测血常规、凝血功能及肝功的变化，以便及时作出处理。

关键词： Beagle犬；重复给药；安全性

作者简介：黄远铿，高级工程师，E-mail：huangyuankeng@lewwin.com.cn

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com

T03-0046

多肽类药物生物分析检测策略及案例分析

林俊粒，张家伟，盛亚丽，颜国伟，郭健敏，杨 威

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：多肽是由氨基酸经肽键连接而成的一类化合物，其在连接方式上与蛋白质相同，通常将含有氨基酸数量50个以下的氨基酸序列称为多肽。将多肽药物在分子量、稳定性、生物活性、特异性、免疫原性等方面与小分子及大分子药物比较，可以说多肽类药物综合了小分子药物和大分子药物的优点。随着生物医药领域对多肽药物研究的深入，近年来，多肽药物研究取得了划时代的进展，已成为国内外各药企新药研发的重要方向之一。在新药研发过程中，生物分析贯穿药物发现、临床前IND研究及临床NDA研究的始终，对于多肽类药物的生物分析有其特点也有其挑战。

多肽生物分析常用到的方法主要包括配体结合法（LBA法）和LC-MS/MS法。对于LBA的方法，在多肽药物的分析方法建立中，由于多肽的分子量小，结构不是很复杂，使得多肽表位数目有限，往往具有类半抗原的性质，抗体难以产生或效价极低，这都为LBA法生物分析关键试剂抗体的制备带来很大的挑战。另外很多多肽药物是内源性物质的类似物，需要特异性非常高的抗体试剂才能区分内源性和外源性分子，这也给LBA法抗体的制备带来很大的挑战。LBA法多肽生物分析的应对策略是采用大分子抗原作为载体与多肽进行偶联免疫的策略，并尝试不同的免疫佐剂来激发机体免疫反应，产生抗体。

相对于LBA来说，LC-MS/MS具有以下优点，一般不需要关键试剂，样品使用量低，线性范围宽，选择性好（能与体内大量的内源性蛋白质区分开），节省时间（可以在一次LC -MS分析中同时定量多个分析物，），定量准确度高（有内标校正了关键试剂在分析过程中的变异），在一种基质或物种中开发的方法通常可以很容易地转移到另一种基质或物种中；有效的色谱分离使基质效应最小化。由于多肽一般半衰期短，生物活性高因而给药剂量偏低，对于LC-MS/MS法定量分析多肽药物面临灵敏度和检测下限的挑战。另外，多肽在离子化时，主要表现为带多电荷，多肽的多电荷同时存在，表现为碎片多，使灵敏度降低，这给多肽LC-MS/MS方法开发带来难度。近年来，莱恩医药完成多个多肽类药物的药理药代毒理研究，在LC-MS/MS多肽药物生物分析积累了丰富的经验。

关键词：多肽类药物；生物分析；LC-MS/MS；LBA

作者简介：林俊粒，工程师，药代毒代总监，E-mail：linjunli@lewwin.com.cn

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

LW2003凝胶阴道给药生殖毒伴随毒代动力学研究设计及案例分析

林俊粒，张家伟，盛亚丽，颜国伟，郭健敏，杨　威
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：目的和方法　按照ICH S5的要求开展LW2003凝胶阴道给药生殖毒性试验研究，并以大鼠和新西兰兔胚胎-胎仔发育毒性试验伴随毒代和大鼠围产期发育毒性试验伴随毒代为例进行探讨。生殖毒二段伴随毒代通过对受孕和未孕动物进行阴道给药，并在首次给药和末次给药进行毒代采血，末次毒代采血完后对动物进行再次给药取胎盘组织、羊水、胎仔、子宫、卵巢，未孕动物取子宫和卵巢用于LW2003浓度检测，比较药物在受孕动物和未孕动物全血和生殖器官的药代动力学特征，判断药物是否可透过胎盘屏障；大鼠三段通过检测母鼠和仔鼠血液、母鼠乳汁以及仔鼠组织中药物浓度，判断药物是否可透过血乳屏障。**结果和结论**　在本试验条件下，大鼠生殖毒二段伴随毒代结果提示给药剂量在15.3 mg/kg~61.2 mg/kg之间的SD大鼠全血中LW2003暴露量与给药剂量呈良好的线性关系。药物可透过胎盘屏障进入羊水和胎仔，其中药物在羊水中的浓度低于全血中的浓度，在子宫、卵巢、胎盘、胎仔的浓度均高于全血中的浓度，各组织平均浓度与血药浓度的比值在14.02~323.11之间；药物在受孕动物和未孕动物的子宫的暴露量无明显差异，药物在受孕动物卵巢的浓度明显低于未孕动物。新西兰兔生殖毒二段伴随毒代结果提示给药剂量在8 mg/kg~32 mg/kg之间的新西兰兔全血暴露量均与给药剂量比基本一致。药物在受孕动物的子宫、卵巢、胎盘均有较高浓度分布，在胎仔和羊水中有少量分布，提示有少量药物可透过胎盘屏障进入羊水和胎仔；药物在受孕动物和未孕动物的子宫和卵巢的暴露量无明显差异，各剂量组药物在全血和组织中的暴露量均存在个体差异。大鼠生殖毒三段伴随毒代结果提示给药剂量在15.3 mg/kg~61.2 mg/kg之间的母鼠全血中LW2003暴露量与给药剂量比基本一致。药物可透过血乳屏障，且随着剂量的增加，母鼠乳汁中的浓度也增加。药物在仔鼠全血和主要脏器（心、肝、脾、肺、肾、子宫、睾丸）均有药物分布，且母鼠剂量越高，仔鼠的药物分布浓度越高。

关键词： LW2003凝胶；生殖毒伴随毒代；阴道给药

作者简介：林俊粒，工程师，药代毒代总监，E-mail：linjunli@lewwin.com.cn
通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0047

LW21106对SD大鼠单次经口给药毒性试验研究

牛慧君[1]，柳　璐[1]，雷夏凌[1]，郭健敏[1]，杨　威[1,2]
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：目的　观察LW21106以最大给药剂量灌胃给药后，在14天内SD大鼠所产生的急性毒性反应及死亡情况，探索其最大耐受剂量，并初步寻找可能的毒性靶器官，为其进一步的研究开发及临床剂量设计提供参考信息。**方法**　试验选用适应性观察合格的SD大鼠40只，按体重均衡随机分为2组，分别为阴性对照组（A组）、LW21106组（B组，15.2 g /kg），20只/组，雌雄各半。动物分组后均为灌胃给药，20 mL/kg/次，一日两次给药，每次至少间隔5小时，给药后连续观察至少4小时，以后每天观察1～2次，持续观察2周。进行动物临床观察内容：外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、排泄物性状、饮食情况、中毒反应和死亡情况等。给药后详细记录所有动物的死亡情况、中毒症状及中毒反应的起始时间、严重程度、持续时间、是否可逆等。

中毒症状观察内容参照《药物单次给药毒性研究技术指导原则》中附录一。同时按计划进行体重、摄食量检查。试验期间如发现动物死亡或处于濒死状态，及时进行大体解剖检查，并固定异常脏器，进行组织病理学检查。存活动物按计划进行大体解剖检查，异常脏器固定后进行组织病理学检查。**结果** (1)LW21106在灌胃给药后，大部分动物出现自主活动减少，部分动物出现了闭眼的现象，上述变化均可以在给药后4h内恢复正常，即为一过性的变化；个别动物出现了肛周污浊、软便的现象，可认为与一天内大剂量给予粘稠的受试物有关。(2)SD大鼠死亡情况结果：试验期间，LW21106组动物没有出现死亡。(3)SD大鼠摄食量、体重结果：试验期间，LW21106组给药后雌雄动物摄食量保持平稳；给药后雄动物体重保持正常增长，雌性动物的增重高于阴性对照组，但增长幅度较小，无毒理学意义。(4)SD大鼠病理检查结果：LW21106组全部动物大体解剖观察均未见异常。**结论** 在本试验条件下：LW21106以15.2g药粉/kg(最大给药剂量)以一日内2次灌胃给予SD大鼠后，雌雄动物出现了一过性的自主活动减少、闭眼、肛周污浊、软便的现象，LW21106对SD大鼠经口单次给药的最大耐受剂量＞15.2g药粉/kg。

作者简介：牛慧君，E-mail：3035510989@qq.com

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

LW21106对SD大鼠连续6个月重复经口给药毒性预实验

牛慧君，雷夏凌，柳 璐，郭健敏，杨 威

(1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990)

摘要：目的 观察连续28天灌胃给予LW21106后，SD大鼠产生的可能毒性反应及其严重程度、量效和时效关系，初步判断毒性靶器官和靶组织，为大鼠6个月重复给药毒性试验的剂量设计及主要检测指标提供参考。**方法** 试验选用经观察合格的SD大鼠40只，按体重和性别均衡随机分为4组，分别为阴性对照组、LW21106低、中、高剂量组(分别为4.2、8.2、14.1 g/kg)，10只/组，雌雄各半。动物分组后各组均以15 mL/kg的剂量按体重进行灌胃给药，每天给药1次，连续给药28天。试验期间，每天观察动物的外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、粪便性状、死亡情况等，按计划测定动物摄食量及体重，每周按体重调整给药量。在第29天处死全部存活动物，进行血液学、凝血功能、血液生化学、病理学等各项检查。**结果** 各组动物的临床观察、摄食量、体重均无明显异常。血液学及凝血功能结果表明雌性动物低、中、高剂量组RET、RET%、LFR%升高，高剂量组RDW-SD升高，RBC、FIB降低；雄性动物高剂量组RDW-SD、RET、RET%、LFR%升高。血液生化学结果表明雄性动物中、高剂量组EO、EO%降低；骨髓细胞分类结果表明雌性动物高剂量组MONO%、BASO%升高；脏器重量及脏体系数、脏脑系数结果表明受试物高剂量组雌性动物脾脏的脏器重量、脏体系数、脏脑系数增加。组织病理学检查可见LW21106高剂量组动物7例动物(7/10)脾脏轻微到轻度淤血，其中个别动物髓外造血增加，其中雌性动物发生动物数量较雄性动物多。**结论** LW21106连续28天给予SD大鼠后，高剂量组血液学、生化学、雌性动物脾脏出现明显的异常变化，在后续的6个月长毒试验中，考虑降低受试物给药剂量，并持续关注相关指标的变化。

作者简介：牛慧君，E-mail：3035510989@qq.com

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0048

LW2209凝胶经阴道多次给药局部刺激性试验

覃超梅[1], 柳　璐[1], 雷夏凌[1], 郭健敏[1], 杨　威[1,2]
(1. 广东莱恩医药研究院有限公司,广东省药物非临床评价研究企业重点实验室,国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心,广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心, 广东 广州　510990;
2. 广州华博生物制药研究所, 广东 广州　510990)

摘要: 目的　观察新西兰兔阴道多次给予LW2209凝胶后,阴道是否产生刺激反应,并与参比制剂比较,供临床用药时参考。**方法**　选用观察合格的雌性新西兰兔18只,按体重随机分为阴性对照组、受试物组、参比制剂组,每组6只。受试物组给予LW2209凝胶,参比制剂组给予LW2209凝胶R,受试物组和参比制剂组动物均经阴道给药,给药体积为1.0 mL/只,给药浓度为1.0×105IU/g,阴性对照组动物将给药器插入阴道但不给药,每次给药与粘膜至少接触4小时,隔日1次,共给药10次。给药前固定动物,固定架尾部提高,令动物臀部倾斜向上,给药器插入阴道深处(约5 cm),将药物推进阴道。试验期间,每天至少观察1次各例动物的状态,主要包括动物的外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、粪便性状等;第1次给药后2、4 h、每天给药前及末次给药后24小时、48小时、72小时、7天、14天观察动物给药部位是否出现充血、水肿和分泌物等情况。每周对动物进行一次称重。末次给药后24 h和14天分别取3只兔进行解剖,取子宫、卵巢、阴道进行病理学检查。**结果**　1. 试验期间各组每例动物外观特征、行为活动、呼吸及粪便性状等均未见明显异常。2. 试验期间各组动物的体重未见明显异常变化。3. 试验期间各组动物给药局部未见充血、水肿和分泌物等情况。4. 大体解剖观察:阴性对照组有1/3例动物卵巢呈白色,受试物组有1/3例动物阴道呈暗红色,其余动物阴道、子宫和卵巢均未见异常。4组织病理学检查:(1)末次给药后24 h,阴性对照组有2/3例动物阴道口阴道炎,中度至重度弥散性混合/中性粒细胞浸润,变化主要在阴道口,推测为给药时给药器机械刺激所致。个别动物可见子宫颈黏膜层轻度淤血,子宫黏膜层局部轻度弥散性中性粒细胞浸润。受试物组有3/3例动物阴道口阴道炎,中度弥散性单核/中性粒细胞浸润,变化主要在阴道口,推测为给药时给药器机械刺激所致。参比制剂组有1/3例动物阴道口阴道炎,中度弥散性单核/中性粒细胞浸润,个别动物伴有阴道口轻度出血、中度水肿,变化主要在阴道口,推测为给药时给药器机械刺激所致。(2)末次给药后14天,阴性对照组有1/3例动物阴道口阴道炎,中度广泛性单核细胞浸润,阴道中度水肿,轻度多灶性单核炎细胞浸润;1/3例动物子宫被摸水肿,中度炎症,子宫颈黏膜层轻微淤血,卵巢坏死性肉芽肿,为给药时的机械刺激未完全恢复。受试物组有2/3例动物阴道口阴道炎,轻度至中度弥散性单核细胞浸润,为给药时的机械刺激未完全恢复,与受试物无关。参比制剂组有1/3例动物阴道口阴道炎,中度弥散性中性粒细胞浸润,个别动物阴道轻度水肿,为给药时的机械刺激未完全恢复。**结论**　在本试验条件下,受试物LW2209凝胶和参比制剂LW2209凝胶R对新西兰兔多次阴道给药,均未见对兔阴道引起刺激性反应。试验结果平行比较,未见明显差异。

作者简介: 覃超梅,专题负责人,E-mail:qinchaomei@lwwin.com
通讯作者: 杨　威,E-mail:yangwei0719@163.com;郭健敏,E-mail:hihiqinqin@vip.qq.com

吸入用LW2206溶液对新西兰兔呼吸系统刺激性试验

覃超梅[1], 柳　璐[1], 雷夏凌[1], 郭健敏[1], 杨　威[1,2]
(1. 广东莱恩医药研究院有限公司,广东省药物非临床评价研究企业重点实验室,国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心,广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心, 广东 广州　510990;
2. 广州华博生物制药研究所, 广东 广州　510990)

摘要: 目的　观察新西兰兔多次接触吸入用LW2220溶液后对呼吸系统的刺激程度,为临床用药提供参考。**方法**　选用观察合格的新西兰兔12只,按性别和体重随机分为阴性对照组、受试物组,每组6只,雌雄各

半。阴性对照组给予0.9%氯化钠注射液,受试物组给予吸入用LW2206溶液,采用压缩雾化器将药液进行雾化再给药,各组每次加入雾化杯中加入量的均为2 mL,使用连接管将雾化器和压缩雾化吸入机,将呼吸面罩与雾化器连接,再将动物置于固定架中固定,将呼吸面罩戴在动物面部,雾化气流出口尽可能对准鼻孔,最后打开雾化器进行雾化吸入给药,给药时间约为8 min。每天给药1次,连续给药14天。试验期间,每天观察1次各例动物的状态,主要包括动物的外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、粪便性状等;每天给药前及末次给药后24小时、48小时、72小时、14天观察并记录动物给药部位的情况。每周对动物进行一次称重。末次给药后24 h和14天分别取3只兔采用丙泊酚乳状注射液麻醉后颈总动脉放血安乐死,大体解剖观察动物鼻部、咽喉、气管、支气管和肺组织有无充血、红肿等现象,确定每只动物呼吸道黏膜刺激反应级。 分别取鼻部、咽喉、气管、支气管和肺组织固定于10%的中性福尔马林溶液,并进行组织病理学检查。**结果** 1.试验期间各组每例动物外观特征、行为活动、呼吸及粪便性状等均未见明显异常。2.试验期间各组动物的体重未见明显异常变化。3.大体解剖观察:各组动物鼻部、咽喉、气管、支气管和肺组织无充血、红肿等现象,呼吸道黏膜刺激反应级为0级。4.组织病理学检查:给药结束受试物组1例动物动物(1/3)肺脏轻度细支气管腔嗜酸性粒细胞聚集,管腔周围淋巴细胞增生,病变发生率低,偶发,判断为动物自发性病变,其余各例动物鼻部、咽喉、气管、支气管和肺组织均未见明显异常变化。恢复期观察14天后各组均有1例动物(1/3)气管轻度或中度混合型炎细胞散在性浸润,判断为动物自发性病变,其余各例动物鼻腔、气管和肺脏均未见明显异常变化。**结论** 在本试验条件下,新西兰兔雾化吸入给予吸入用LW2206溶液,给药体积为2ml,每天给药1次,连续给药14天,鼻部、咽喉、气管、支气管和肺组织未见明显异常刺激性反应。

第一作者:覃超梅,专题负责人,E-mail:qinchaomei@lwwin.com

通讯作者:杨 威,E-mail:yangwei0719@163.com;郭健敏,E-mail:hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0049

LW2156注射液豚鼠全身主动过敏性试验研究

黄羽静[1], 柳 璐[1], 雷夏凌[1], 郭健敏[1], 杨 威[1,2]

(1. 广东莱恩医药研究院有限公司,广东省药物非临床评价研究企业重点实验室,国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心,广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心, 广东 广州 510990;
2. 广州华博生物制药研究所, 广东 广州 510990)

摘要: 目的 观察豚鼠接触LW2156注射液后是否产生过敏性反应,并与参比制剂比较,评价LW2156注射液的过敏反应,为临床用药提供依据。**方法** 试验选用合格的Hartley豚鼠56只,按性别和体重随机6组,阴性对照组(0.9%氯化钠注射液)、阳性对照组(1%白蛋白),每组8只动物,雌雄各半,其余每组10只动物。设阴性对照组(0.9%氯化钠注射液)、阳性对照组(1%白蛋白溶液)、受试物一LW2156注射液高、低剂量组和受试物二(参比制剂)LW2156注射液R高、低剂量组。致敏期受试物一和受试物二、高低剂量组均腹腔给药,给药体积为0.5 mL/只,隔日一次,共三次。上述各组分别于末次致敏后第14天和第21天选取阴、阳性对照组的4例豚鼠和其余剂量组的5例动物进行静脉快速激发,给药体积1.0 mL/只,各组动物激发期剂量为致敏剂量的2倍。根据过敏反应发生率和发生程度判断其全身主动过敏性。**结果** 阴性对照组动物均未见明显异常反应,反应症状为阴性(-)。阳性对照组动物全部死亡,过敏反应为极强阳性(++++),过敏反应发生率为100%。经静脉快速给予药物后,3/10例受试物一高剂量组动物和8/10例受试物二高剂量组动物出现排粪、排尿、竖毛现象,与各组单次静脉快速注射给药的未致敏豚鼠反应现象类似,可判断为类似过敏反应症状;受试物一和受试物二低剂量组均未见明显异常反应。故受试物一高、低剂量组和受试物二高、低剂量组的动物均未见明显过敏反应,过敏反应为阴性(-)。**结论** 综上所述,在本试验条件下,受试物一LW2156注射液和受试物二(参比制剂)LW2156注射液R(剂量分别为0.1 mg/只和0.05 mg/只)的豚鼠全身主动过敏性试验均未见明显过敏反应,过敏反应均为阴性(-)。试验结果平行比较,未见明显差异。

作者简介:黄羽静,专题负责人,E-mail:1239895486@qq.com

通讯作者:杨 威,E-mail:yangwei0719@163.com;郭健敏,E-mail:hihiqinqin@vip.qq.com

LW2184对SD大鼠28天重复给药毒性实验研究

黄羽静[1]，柳　璐[1]，雷夏凌[1]，杨　威[1,2]
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：目的　观察连续28天灌胃给予LW2184后，SD大鼠产生的可能毒性反应及其严重程度、量效和时效关系，初步判断毒性靶器官和靶组织，为大鼠6个月重复给药毒性试验的剂量设计及主要检测指标提供参考。**方法**　试验选用经观察合格的SD大鼠40只，按体重和性别均衡随机分为4组，分别为阴性对照组（0 mg/mL）、LW2184低、中、高剂量组（2.43、4.86、9.90 g/kg），10只/组，雌雄各半。动物分组后各组均以15 mL/kg的剂量按体重进行灌胃给药，每天给药2次，每次间隔5小时，连续给药28天。试验期间，每天观察动物的外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、粪便性状、死亡情况等，按计划测定动物摄食量及体重，每周按体重调整给药量。在第29天处死全部存活动物，进行血液学、凝血功能、血液生化学、病理学等各项检查。具体观察和检查包括以下内容：临床观察、摄食量、体重、血液学、凝血功能、血液生化学、骨髓细胞分类、尿常规、病理组织学等检查。**结果**　各组动物的临床观察、摄食量、体重均无明显异常。血液学及凝血功能结果表明中剂量组雌性动物RET、RET%明显升高，高剂量组雌性动物RET、RET%、HFR、IRF明显升高，LFR明显降低，以上反应有较明显剂量关系，认为与受试物相关，在大鼠6个月重复给药毒性试验中建议关注相关指标的变化。血液生化学、骨髓细胞分类检查、尿常规检查结果表明各组均无明显异常。大鼠脏器重量、脏器系数结果表明：高剂量组雌性动物子宫的脏器重量明显增加，脾脏的脏器重量和脏器系数明显增加，低、中、高剂量组的左肾上腺脏器重量和脏脑系数明显降低。大鼠病理学系统检查结果表明：各组动物器官组织均未见明显异常组。**结论**　LW2184连续28天给予SD大鼠后，① LW2184颗粒4.86、9.90 g/kg剂量组雌性动物出现RET、RET%明显升高的变化；②2.43、4.86、9.90 g/kg剂量组雌性动物的左肾上腺重量明显减轻，9.90 g/kg剂量组雌性动物脾脏、子宫重量明显升高，以上反应有较明显剂量关系，认为与受试物相关，在大鼠6个月重复给药毒性试验中建议关注相关指标的变化。

作者简介：黄羽静，专题负责人，E-mail：1239895486@qq.com
通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

LW21104注射液新西兰兔溶血性试验研究

黄羽静[1]，雷夏凌[1]，郭健敏[1]，杨　威[1,2]
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：目的　观察LW21104注射液体外溶血试验中是否有溶血和红细胞凝聚作用，评价其溶血性情况，并与参比制剂比较，供临床用药时参考。**方法**　选用合格的新西兰兔1只，采血前固定动物，剃去其中一侧兔耳中动脉采血部位的毛，且用碘伏消毒采血部位，采血量10 mL。脱纤血液，离心，用0.9%氯化钠注射液配成2%的红细胞混悬液。试验设5组，分别为阴性对照组、阳性对照组、受试物一组、受试物二组、受试物三（参比制剂）组。采用试管内给药，向盛有2%红细胞混悬液的各管中分别加入不等量的受试物一或受试物二或受试物三（参比制剂）。各组的药液管均在恒温箱37℃±0.5℃温育3小时且肉眼观察各个时间点的溶血情况。**结果**　肉眼观察：阴性对照管未出现溶血和凝聚现象，阳性对照管在15 min内即出现溶血现象，受试物一各支药液管在2小时内均未见溶血或红细胞凝聚现象，在药后3小时出现红细胞凝聚现象，振摇后所有药液管细胞均能均匀分散；故判断受试物一各支药液管为假凝聚。受试物二各支药液管在2小时内均未

见溶血或红细胞凝聚现象，在药后3小时出现红细胞凝聚现象，振摇后所有药液管细胞均能均匀分散；故判断受试物二各支药液管为假凝聚。受试物三各支药液管在2小时内均未见溶血或红细胞凝聚现象，在药后3小时出现红细胞凝聚现象，振摇后所有药液管细胞均能均匀分散；故判断受试物三各支药液管为假凝聚。**结论** 综上所述，在本试验条件下，受试物一LW21104注射液和受试物二LW21104注射液和受试物三（参比制剂）LW21104注射液R试验结果为阴性（给药浓度为100 IU/mL）。试验结果平行比较，未见明显差异。

作者简介：黄羽静，专题负责人，E-mail：1239895486@qq.com

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

浅谈鞘内给药非临床安全性评价的关注点

黄羽静[1]，柳 璐[1]，雷夏凌[1]，郭健敏[1]，杨 威[1,2]

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：鞘内给药（Intrathecal Injection）是通过腰穿将药物直接注入蛛网膜下腔，从而使药物弥散在脑脊液中，并很快达到有效的血药浓度。鞘内给药，不经过血脑屏障可使药物随脑脊液循环自然到达蛛网膜下腔各脑池，并弥散在整个脑室系统，短期反复给药，可使药物维持一定的有效浓度。当前对于神经系统肿瘤、难治性疼痛等病症，鞘内给药成为首选甚至必选的给药途径。

鞘内给药包括单次给药、多次给药和连续给药等。主要给药途径有经枕骨大孔植管给药、腰椎穿刺直接给药和腰椎穿刺植管给药等。对于需要单次给药和多次给药的试验，给药途径的优先选用顺序是腰椎穿刺直接给药、腰椎穿刺植管给药和经枕骨大孔植管给药；对于需要连续给药的试验，推荐使用腰椎穿刺植管的给药方法，常借助用皮下埋植渗透泵或体外携带程控泵实现连续给药。鞘内注射可使用的动物有大小鼠、兔、犬、猴等。

鞘内给药方法：将动物侧卧或俯卧，动物背部注射局部剃毛。根据不同动物种属，可选择在第七、六、五、四节腰椎靠近该腰椎棘突左或右侧壁处进针，针刺方向与椎板垂直，针尖穿过皮肤及皮下组织后，再向内可触及第六腰椎的椎骨板，然后将针体稍微偏向头侧使针尖滑入椎板间孔，继续进针约2-3mm，便有一个很微弱的突破感，此时针尖已落入蛛网膜下腔，以尾巴出现颤动或突然侧向甩动（多见）或后肢抽动为穿刺成功的标志。突破蛛网膜下腔的时候一定要掌握好力度，用力过猛容易刺伤动物脊髓，而且会引起动物剧烈的后肢抽动，导致进针失败。

清醒状态下鞘内注射药物会使动物处于应激状态，所以一般选择麻醉后进行鞘内注射给药。多选择丙泊酚作为麻醉药物，特别是需要对动物疼痛行为进行检测的试验。丙泊酚作用时间短，动物苏醒较快；丙泊酚无镇痛作用，不会对动物的疼痛反应产生影响，在鞘内给药后15分钟即可进行可靠的痛觉行为学检测。采用丙泊酚麻醉无需特殊的麻醉装置，如特殊的动物麻醉机，且对实验室污染极小；丙泊酚经腹腔给药，给药方便、剂量及麻醉维持时间 具有良好的可控性。

动物给药及恢复期间应每日对注射部位进行观察，给药结束及恢复期结束时，剖杀动物取给药部位脊髓进行组织学检查。

作者简介：黄羽静，专题负责人，E-mail：1239895486@qq.com

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0050

药物光毒性试验方法简介

沈　琳[1]，柳　璐[1]，郭健敏[1]，杨　威[1,2]
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：光毒性是指药物吸收的光能量在皮肤中释放导致皮肤损伤的作用，是光敏反应中最常见的一种反应。在临床使用过程中发现，越来越多的药物被发现会引起光毒性反应，但在药物安全性评价过程中，针对其光毒性试验的研究开展还比较少，药物光毒性评价理应以重视。本文通过查阅相关指导原则以及有关光安全性评价研究的文献，对现行的光毒性评价试验方法进行简要归纳，以期为科研工作者开展药物光毒性评价试验提供一定的理论依据。

在开展受试物的光毒性评价试验前，可先对其紫外可见吸收光谱进行考察：在290～700nm的波长范围内，受试物的摩尔消光系数（MEC）小于1000 L/mol/cm时，一般认为受试物不具有足够的光反应性来产生光毒性。评价光毒性的试验方法主要包括光化学反应法、体外光毒性试验法和体内光毒性试验法。

目前较为常用的光化学反应评估方法为ROS试验法，其原理是光化学反应会产生ROS（超氧阴离子和单线态氧）激发药物诱导产生光毒性，通过监测暴露在模拟阳光下受试物的光化学反应可以对药物潜在光毒性进行预测，试验设计主要参考日本替代法验证中心发布的ROS试验方案进行。

现行经过验证的体外光毒性试验方法有3T3中性红摄取光毒性试验法（3T3 NUR-PT）、红细胞光毒性试验法（RBC-PT）以及重组人体皮肤模型光毒性试验法（H3D-PT），其中3T3 NUR-PT已通过欧洲替代方法验证中心验证并收录进OECD化学物质毒性试验指南，是目前应用最为广泛的体外光毒性试验法，但在我国尚未获得相关监管部门的认可。

体内光毒性试验法可分为全身用药体内光毒性试验和皮肤用药体内光毒性试验，在设计体内光毒性试验时，建议重点关注动物种属选择、研究周期以及光照条件等方面，结合相关文献信息总结：在动物选择方面，猪、兔、豚鼠、大鼠、小鼠等动物种属均有被用于进行体内光毒性试验，但在选择时应考虑动物光照敏感性、耐热性等因素；研究周期设计时应考虑到受试物重复给药和/或反复光照射可能会增强光毒性反应，建议采用临床给药途径，参考临床给药频率，合理选择可行的单次或几天的给药期限；照射时间点最好结合药代动力学信息，选择在Tmax附近的时间点进行照射；光源一般选择UVA（320 nm～400 nm）或UVA+UVB（290 nm～320 nm），当光源含有UVB时，照射剂量、辐照度、照射时长的设计应以UVA为准。

现行的光毒性评价试验方法有很多，科研工作者可根究实际情况设计药物光毒性评价试验。一般来说，在初步评估评估药物光毒性时，首先考察其紫外可见吸收光谱，其次对受试物的体内分布情况进行评估，初步获知人体风险后，必要时再进行进一步的光毒性试验，包括体外、体内或临床试验，根据3R原则，为减少动物的使用，应优先考虑非动物试验方法进行光安全性评价。

作者简介：沈　琳，硕士，E-mail：734531853@qq.com
通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0051

滴眼液溶血性试验案例分享

蔡萍英[1]，吴少华[1]，郭健敏[1]，杨　威[1,2]
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州　510990）

摘要：目的　LW2169滴眼液为一种可降低成年人开角型青光眼或高眼压症患者的药物，本次通过体外

溶血试验考察其是否有溶血和红细胞凝聚作用，评价其溶血性情况，并与参比制剂比较，供临床用药时参考。**方法** 试验设4组，分别为阴性对照组、阳性对照组、受试物组、参比制剂组。采用试管内给药，每组受试物均设置10支受试物管，其中5支为平行管，向盛有2%红细胞混悬液的各管中分别加入不等量的受试物或参比制剂。各组的药液管均在恒温箱37℃±0.5℃温育3小时且肉眼观察各个时间点的溶血情况，并进行记录及拍照。**结果** 肉眼观察：阴性对照管未出现溶血和凝聚现象；阳性对照管在15min内即出现溶血现象；受试物各药液管在3小时内均未见溶血或红细胞凝聚现象；参比制剂药液管在15分钟内均未见溶血或红细胞凝聚现象，药后30分钟7/10支药液管出现红细胞凝聚现象，药后45分钟8/10支药液管出现红细胞凝聚现象，3小时观察结束后振摇所有药液管红细胞均能均匀分散。显微镜观察：取小滴凝聚物置于载玻片上，盖上盖玻片置于显微镜下观察，接着在盖玻片边缘滴加2滴0.9%氯化钠注射液，可见凝聚物在玻片上被冲散。**结论** 本试验条件下，受试物LW2169滴眼液和参比制剂体外溶血试验结果为阴性。试验结果平行比较，受试物与参比制剂未见明显差异。

作者简介：蔡萍英，专题负责人，E-mail：2686809861@qq.com

通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T03-0053

重组C因子检测银杏叶提取物注射液细菌内毒素的方法学研究

王文佳，江世杰，何华红，李 薇

（广州市药品检验所）

摘要：目的 由于鲎资源严重衰竭及遵循动物实验的“3R原则”，本研究通过建立银杏叶提取物注射液的重组C因子细菌内毒素检测方法，为制定鲎试剂的替代方法提供依据。**方法** 根据《中国药典》2020年版四部附录9251 细菌内毒素检查法应用指导原则-重组C因子法方法的要求，对银杏叶提取物注射液进行重组C因子方法学研究，通过标准曲线的可靠性试验，取3批银杏叶提取物注射液，分别加BET水稀释至400倍和800倍，同时制备内毒素标准曲线。分别移取100 μl供试品溶液，加入96孔板，每个浓度4孔。向其中2孔供试品孔中加入10 μl 5 EU/ml的CSE，作为供试品加标对照（PPC）。于0 min和60 min读数，激发波长和发射波长分别为380 nm和445 nm，增益值为medium，孵育温度为37℃。绘制标准曲线对应的log，拟合计算曲线函数。并用鲎试剂动态显色法、家兔法对银杏叶提取物注射液进行对比研究。**结果** 重复进行5次标准曲线的可靠性试验，r均在0.99以上，说明呈良好的线性关系，标准曲线的回归方程为$\lg T=2.7656\sim0.2820\lg C$，$r=-0.9994$，空白对照达限时间低于细菌内毒素标准曲线最低点，符合《中国药典》对标准曲线可靠性试验规定。金纳多注射液稀释至400倍及以下浓度进行试验，回收率均在《中国药典》规定的50～200%范围内，符合药典规定，并与动态显色法和热原法结果一致，具有较好的一致性和重现性。 **结论** 本研究为重组C因子检测中药注射液细菌内毒素的方法学和标准的建立提供了实验依据，表明该方法可以作为替代传统细菌内毒素检测的方法。

关键词：重组C因子；质量标准；细菌内毒素；银杏叶提取物注射液

T03-0054

眼用腺相关病毒基因治疗药物临床前安全性评价研究进展和考虑要点

谢金华[1,2]，李嫚琪[1,2]，张 鹏[2]，陈 涛[1,2]，赵晓东[1]，孟 永[2]，李 华[1,2]

（1. 中国医药工业研究总院上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203；
2. 益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通 226000）

摘要：腺相关病毒（adeno-associated virus，AAV）含有多种血清型，应用于眼部的AAV至少有9种。

截至目前，在Clinical trials.gov中注册的眼用AAV基因治疗药物研究共有64项，7项已完成并得到相关数据，涉及黄斑变性、视网膜色素变性、先天性黑矇等多种眼底疾病。国内在研7项，其中NR082，国内第一例AAV基因治疗药物，于2021年完成1/2/3期第一阶段临床试验首例患者入组及给药，用于治疗Leber遗传性视神经病变；朗信生物旗下的AAV2-RPE65基因治疗制剂LX101眼用注射液于2022年4月获临床试验许可。随着AAV基因治疗药物研究的深入，其不良反应的报道也越来越多，2017年上市的Luxturna出现多种发生率大于5%的不良反应，这使得大家更加重视眼用AAV基因治疗药物的临床前安全性评价。根据该类药物的特点，其临床前安全性研究的考虑要点总结如下：

药物：AAV基因治疗产品的安全性评价研究应综合考虑产品本身的特点和临床应用，应依据概念验证研究数据设计该药物安全性评价研究试验。给药途径需与预期临床给药途径一致，同时应进行生物分布研究，以评估载体及目的基因从给药部位到靶组织和其它组织的分布、持久性和清除率。在研眼用AAV基因治疗药物一般为眼内给药，应开展局部耐受性试验。除常规观察指标外，还需考虑增加合适的观察指标，如生物活性细胞因子分泌、异常/异位增生性病变、免疫原性/免疫毒性等。需要分析基因组改变（载体或遗传物质整合进基因组、对基因组编辑等）的特征，并评估相关潜在风险。必要时还应考虑产品中脱落的可能性及生殖毒性风险。对于任何异常眼科表现及损害，都应确定其频率、严重程度、潜在原因和临床意义。研究设计应足够全面，以便能够识别、表征和量化潜在的局部和全身毒性、其即时和潜在的消退，以及剂量水平与这些表现的关系。

动物选择：需考虑动物与人类的眼结构、免疫反应差异。所选动物和/或模型应证明对研究中的AAV基因治疗产品的生物学反应类似于人类的预期反应，可以选择野生型、免疫缺陷型、人源化或其它基因修饰的动物。至少采用一种相关动物种属开展一般毒理学试验，必要时考虑更多动物种属。

试验时长：需考虑到药物载体发挥作用持续性、导入基因表达的相关性等特点，确定试验时长。

综上，眼用AAV基因治疗产品临床前安全性评价需尽可能完善，以确保其临床使用的安全性。

关键词：腺相关病毒；基因治疗；临床前安全性评价

基金项目：江苏省创新能力建设计划科技公共服务平台项目（BM2021002）

通讯作者：李　华，E-mail：hli@innostar.cn

T03-0055

Hepatic enzyme induction in toxicology study

Jinge Zhao, Xiaoxiao Wang, Lei Guo*, Susan

[McPherson, Toxicology department of WuXi AppTec (Suzhou) Co., Ltd., Suzhou, China]

Abstract: The functions of liver as a conditional system capable of relatively rapid responses to a variety of stimuli. In a 14-days oral dose study in rats, it was noted that the systematic exposure on Day 1 was 15 folds than that on Day 14, with slight increase (39%-76%) in relative/absolute liver weight and minimal to moderate centrilobular hepatocellular hypertrophy. The test article was proven to be a potentially CYP3A4 and CYP2B6 inducer in CYP induction potential study. Hepatic enzyme induction is generally an adaptive response, but it is also a focus in toxicology study. Through summarizing a number of studies conducted at our testing facility, liver enlargement, typically 10±50% (but often higher), has been associated with the stimulation of drug metabolism, liver weight increases were all associated with histological evidence of hypertrophy. Toxicity may occur when liver responses exceed adaptive changes or induced enzymes generate toxic metabolites. Both the dose and the duration of xenobiotic exposure will influence the type and degree of toxicity, and there is often preferential susceptibility to the toxicity based on the intralobular location of hepatocytes. Hepatic effects that are considered adverse include death, abnormal clinical chemistry parameters, obvious functional organ impairment and hepatocyte necrosis. It was concluded that, morphological features of hepatic enzyme induction range

from adaptive physiological responses characterized by liver weight increases with or without hepatocellular hypertrophy to adverse pathological effects. These must be taken into consideration when evaluating study data and assessing the toxicological significance of the study findings.

Corresponding author: Lei Guo, E-mail: guo_lei@wuxiapptec.com

T03-0056

STING激动剂类药物的体外细胞因子释放试验研究的一般考虑

邓新贤，魏 倩，马元元，刘 斌
〔成都华西海圻医药科技有限公司（国家成都新药安全性评价中心），四川 成都 610041〕

摘要： STING（干扰素基因刺激因子，stimulator of interferon genes）蛋白是I型IFN生成过程中的中心蛋白，在先天免疫调控中起重要作用，STING激动剂已成为近几年创新药领域的研发热点。对抗肿瘤来说，STING信号通路能够激活免疫系统对肿瘤的杀伤活性，尤其是在T细胞介导的肿瘤免疫过程中起枢纽作用。研究人员已经在结肠癌、黑色素瘤、缺乏端粒酶等多种癌症相关疾病中检测到cGAS-STING途径可有效抑制癌细胞转移。近期的研究发现，NK细胞依赖性肿瘤排斥反应在很大程度上也依赖于非肿瘤细胞STING的激活。相关机制研究均给了靶向STING进行抗肿瘤药物开发巨大的前景。

细胞因子释放综合征为靶向免疫细胞过度活化，短时间内快速且大量的炎症性细胞因子释放，是免疫调节类药物普遍的不良反应。STING激动剂可激活I型干扰素等细胞因子的分泌以及抗病毒和抗肿瘤免疫相关蛋白的表达，因此，STING激动剂的细胞因子释放综合征研究也逐渐引起了研究者的关注。

体外细胞因子试验试验（Cytokine Release Assay，CRA）是基于药物作用机制和作用靶点，利用体外实验系统评估候选药物诱发细胞因子释放的潜在风险。在体外细胞因子释放试验研究中，与大多数蛋白类药物相比，STING激动剂有以下特点：1、STING激动剂会针对某些细胞因子激活表达，并且呈现一定的量效关系，如激动状态下的STING蛋白能通过NF-kB途径促进下游TNF、IL-6等的合成；2、STING激动剂的半衰期短，细胞因子释放的最佳检测时间点存在差异；3、实验方法的选择不同，抗体类药物多采用固相法及液相法相结合进行风险评估，STING激动剂多为小分子化合物，其结构的不同导致选择的实验方法也不同。

综上所述，由于免疫调节剂类药物的靶点和作用机制复杂多样，CRA的方法设计需要充分考虑各方面的因素。测试系统中药物存在方式，合适的阳性对照、药物刺激时间，需检测的细胞因子个性化选择等；STING激动剂特征性的激发某些细胞因子表达，评判阈值如何设定，检测结果如何解析等问题均是STING激动剂类药物的体外细胞因子释放试验研究中所面临的挑战，在试验设计中应充分考虑以上因素。

关键词： STING；激动剂；细胞因子释放综合征

通讯作者： 邓新贤，E-mail：xinxiandeng@glpcd.com

T03-0057

小核酸药物非临床安全性评价关注点及案例分享

李蕊彤，张 瑶，刘 斌，岑小波
（成都华西海圻医药科技有限公司）

摘要： 药物特点：小核酸药物主要包含反义寡核苷酸（ASO）、小干扰RNA（siRNA）、核酸适配体（aptamer）等。小核酸药物血浆清除快，在肾脏、肝脏、脾脏浓度最高且清除慢；通过核酸酶代谢，原药及代谢产物由肾脏排泄。其毒性靶器官多为肝脏、肾脏、脾脏；通常可见血液学、血凝相关指标异常，多器官炎细胞浸润细胞因子、趋化因子释放；毒性反应具有种属差异性。

关注点：非临床安全性评价需考察啮齿类及非啮齿类两个种属，多为小鼠或大鼠以及犬或猴，至少一个种属需要具有药理学反应，如无相关种属可选择替代模型；重点关注肝脏、肾脏相关指标（包括但不限于肝功、肾功、脏器重量、大体积剖观察等），增加免疫原性、免疫毒性、细胞因子/趋化因子等检测指标；增加作用/毒性靶器官的组织药物浓度、尿液浓度（如有必要）检测，关注原药及其代谢产物暴露特征，恢复期结束时靶组织药物浓度需有一定程度降低；长期给药中应考察药效终点指标，以验证药物能否与靶基因结合产生药理作用；一般需要进行遗传毒性试验、生殖毒性试验、制剂安全试验、致癌性试验（如有必要）；对于通过肝脏代谢、肾脏排泄的小核酸药物，安全药理试验中应考虑补充肝脏和肾脏安全药理试验。

案例分享：食蟹猴重复给药毒性试验，设计对照组及W0001 50、150、450 mg/kg组，每周给药1次、连续给药5次，停药恢复26周。ICR小鼠重复给药毒性试验，设计对照组及W0001 100、300、900 mg/kg组，每周给药1次、连续给药5次，停药恢复13周。试验期间对动物进行临床观察、体重、摄食量、眼科、血液学、血液生化、细胞因子（IL-2、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ）及组织病理学检查，并伴随毒代动力学检查及肝脏、肾脏组织药物浓度检测。食蟹猴重复给药毒性试验另对体温、心电图、血压、尿液、补体（C3、C4）、免疫复合物（CIC）、免疫细胞表型（CD3+、CD4+、CD8+）、免疫球蛋白（IgA、IgM、IgG）及抗药抗体进行检测。食蟹猴及小鼠试验中各指标均未见异常或有毒理学意义的改变；食蟹猴在50~450 mg/kg剂量范围内、ICR小鼠在100~900 mg/kg剂量范围内，其血浆中W0001反义链及其代谢产物总量（以下简称W0001总量）的暴露量无明显性别差异，其增加与剂量增加基本成比例，连续给药5次无明显蓄积。停药后，食蟹猴及ICR小鼠肝脏、肾脏中W0001总量浓度较给药结束时明显降低。在该试验条件下，食蟹猴及ICR小鼠的无毒性反应剂量（NOAEL）分别为450 mg/kg、900 mg/kg。W0001的安全药理试验（小鼠伴随肝脏药物浓度检测）、遗传毒性试验、制剂安全试验均为阴性结果。

关键词： 小核酸药物；非临床安全性评价；关注点；案例分享

通讯作者： 李蕊彤，E-mail：ruitongli@glpcd.com

T03-0058

盐酸小檗碱对PM2.5暴露致小鼠肺损伤的保护作用研究

赵佳丽

（潍坊医学院）

摘要：目的 探讨盐酸小檗碱（Berberine hydrochloride，BBR）PM2.5暴露诱导小鼠肺损伤的保护作用及机制。**方法：**将40只C57BL/6小鼠按照随机数字表分4组：对照组（超纯水灌胃、生理盐水气管滴注）、BBR组（50 mg/kg BBR灌胃、生理盐水气管滴注）、PM2.5组（超纯水灌胃、8 mg/kg PM2.5混悬液气管滴注）、BBR+PM2.5组（50mg/kg BBR灌胃、8 mg/kg PM2.5混悬液气管滴注），处理45天，最后一次处理结束后，禁食过夜，摘眼球取血并颈椎脱臼处死，立即取出肺组织。HE染色观察小鼠肺组织结构变化。小鼠血液细胞分析仪分析小鼠血液中的中性粒细胞（Mon）、白细胞（WBC）、淋巴细胞（Lymph）的数目和百分比。总超氧化物歧化酶（T-SOD）、谷胱甘肽（GSH）及丙二醛（MDA）试剂盒检测三者水平变化。免疫蛋白印迹法检测小鼠肺组织中白介素-6（IL-6）、白介素-1β（IL-1β）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）及凋亡分子B淋巴细胞瘤（BCL-2）、天冬氨酸半胱氨酸酶-3（Caspase3）、天冬氨酸半胱氨酸酶-9（Caspase9）蛋白的表达情况。**结果** 对照组和BBR组的小鼠肺组织结构正常，肺泡腔清晰可见，无异常出血和炎性细胞浸润。PM2.5组小鼠肺组织结构紊乱，肺泡壁明显变厚，可见肺泡及肺间质有出血和大量的炎性细胞浸润。BBR预处理后，肺组织结构趋于正常，肺泡壁明显变薄，可见少量的出血和炎性细胞浸润。与对照组相比，PM2.5组小鼠血液中的Mon、WBC、Lymph的细胞数目和百分比显著升高（$P<0.05$），BBR预处理可。使小鼠血液中的Mon、WBC、Lymph的细胞数目和百分比显著降低（$P<0.05$）。PM2.5暴露可使小鼠肺组织T-SOD、GSH水平降低，MDA水平升高，与对照组相比差异有统计学意义（$P<0.05$）。BBR预处理后，T-SOD、GSH水平升高，

MDA水平降低。PM2.5暴露可导致小鼠肺组织中IL-6、IL-1β、TNF-α蛋白表达水平显著升高，同时凋亡分子的表达水平也显著升高，与对照组相比，均有显著性差异（$P<0.05$），BBR预处理可降低IL-6、IL-1β、TNF-α蛋白表达水平，同时也降低BCL-2、Caspase3、Caspase9蛋白水平，与PM2.5组相比，差异有统计学意义（$P<0.05$）。**结论** 盐酸小檗碱可能通过抑制氧化应激，降低炎症反应，进而缓解PM2.5导致的肺损伤。

关键词：盐酸小檗碱；PM2.5；氧化应激；炎症反应；肺损伤

通讯作者：赵佳丽，E-mail：wjkzjl1218@163.com

T03-0059

基于非靶向代谢组学探讨头孢曲松钠对小鼠肝脏代谢谱的影响

赖成泽

（广东医科大学）

摘要：目的 抗生素是指由微生物或高等动植物在生活过程中所产生的具有抗病原体或其他活性的一类次级代谢产物。头孢曲松钠，作为一种β-内酰胺类抗生素被广泛使用。由于我国抗生素管理松散，市面上购买抗生素并不需要医师处方，因此抗生素滥用情况越来越多。肝脏作为各种内源性化合物和药物生物转化的主要器官，易受到进入人体的各种药物和代谢产物的损伤；而抗生素所导致肝损伤相关药品不良反应（ADR）是临床常见的不良反应之一，严重者可发生肝衰竭甚至死亡。目前关于头孢曲松钠导致肝脏损伤的代谢变化及其代谢通路的改变尚不清楚，系统地鉴定其作用后的肝脏代谢谱及其相关通路的变化有助于我们了解其致病机制。因此，本实验基于代谢组学，探究头孢曲松钠对肝脏的代谢功能造成的影响，并联合微生物组学方法，探究微生物在其中所起的重要作用。**材料和方法** 采用16只4周龄特异性无病原体C57BL/6雄性小鼠作为实验模型，随机分为抗生素组（连续给予0.2 ml浓度为400 mg/ml的头孢曲松钠抗生素溶液灌胃8天，每天灌胃2次，两次灌胃间隔时间为8 h）和对照组（使用无菌水灌胃，其他同上）。每天评估小鼠生理情况、记录体重和食物摄入量并收集小鼠粪便。灌胃结束60天后，处死小鼠并分类收集脏器。使用H&E染色对小鼠肝脏的组织损伤进行评价，利用16S rRNA测序技术对小鼠粪便微生物进行检测；利用LC/MS-MS对小鼠肝脏进行代谢组学检测，采用R、SPSS等软件进行数据分析，以$P<0.05$为差异有统计学意义。**结果** 头孢曲松钠处理后：①体重增长速度和食物消耗量均显著增高；肝索结构紊乱，肝细胞体积增加，肝细胞有丝分裂率增加以及出现双核，同时支链氨基酸与芳香类氨基酸比值下降。②肝脏中脂类及类脂分子（脂肪酸和氧化脂肪酸）、神经酰胺（Cer）和鞘磷脂（SM）的浓度全部上调；不饱和脂肪酸的生物合成与亚油酸代谢通路的显著受到影响。③与氧化应激相关的代谢物质发生改变（半胱氨酸、谷胱甘肽、黄素腺嘌呤二核苷酸、肌苷等物质下调，十二烷基苯磺酸上调）。④α-多样性显著下降；Bacteroidetes、Proteobacteria升高，Firmicutes减少。⑤微生物相关的脂质代谢的相关通路及青霉素和头孢菌素的生物合成通路发生了改变。**结论** ①头孢曲松钠处理后宿主代谢发生扰动，肝脏出现一定的病理损伤，可能与肝脏脂质紊乱与肠道菌群多样性的降低有关。②头孢曲松钠会破坏肝脏的氧化还原系统，影响了肠道菌群的脂质代谢功能，并关联着肝脏中的脂质代谢。③头孢曲松钠导致肝脏中的脂质堆积可能与耐药菌的富集有关。

关键词：肝脏；代谢组学；头孢曲松钠

通讯作者：赖成泽，E-mail：lcz1307472032@163.com

T03-0060

药物毒理与安全评价

赵利媛
（安徽中医药大学，安徽 230000）

摘要：药物诱导的毒性是药物开发失败或者撤市的主要因素之一，基于毒性风险的评估在药物筛选早期就已经开始，但是仍有一部分药物毒性风险直到临床试验阶段才被发现，说明早期对于毒理的研究还不够充分，因此这方面的研究愈来愈受到关注。药物的安全性评价贯穿药物发现和开发中的多个学科及技术手段，对于药物进入临床试验至关重要，毒理学研究可以通过药物毒性作用来对药物进行定性定量评价，从而预测人类的安全暴露。其包含两大任务：一是通过技术支撑加快药物开发，即遵照非临床研究质量管理规范（GLP）进行药物安全性评价研究；二是为毒性研究提供新技术/新方法。近年来在细胞周期调控、细胞凋亡、细胞癌变、细胞迁移和分化等基本生物学过程中所取得的快速发展为药物毒理学家提供了许多崭新的研究领域。临床前毒理学研究一般在动物模型中开展：啮齿类和非啮齿类，啮齿类通常为鼠类，非啮齿类多为猴和犬。在动物研究中使用较高剂量可以将模型检测毒性的灵敏度最大限度地表现出来，其给药的方式和频率需与临床保持一致。药物毒理又涵盖一般毒理、遗传毒性、生殖和发育毒性（DART）以及对致癌潜力的评估，对于生殖和发育毒性的评估，研究显示兔子作为非啮齿动物模具有许多监管优势，不过，近年来迷你猪在毒理学研究中更多地被犬和兔取代。物种的选择还需考虑药物的其他因素，如靶亲和力、表达模式和药理学交叉反应性……除此之外，应特别关注药物对靶器官的毒性损害，肾脏、心脏和肾脏是候选药物最常见的毒理学靶器官，一般与病理学相结合，探究其毒性机制。严重的药害事件使人们认识到新药临床前药物毒理学研究的重要意义。对此美国食品药品监督管理局（FDA）发布了一系列相关指导原则，对某些具有潜在治疗风险的产品实施叫停规则，维护药物监管环境，旨在为我国新药的研发提供参考。

关键词：药物毒理；安全评价；临床前；GLP

通讯作者：赵利媛，E-mail：lyzhao.hm@simm.ac.cn

T03-0061

生物技术药物心脏毒性的研究进展

张玉卿[1,2]，赵 琪[2]，杜春燕[1,2]，邢红艳[2]，张艺哲[2]，汪溪洁[1,2]
（1. 中国医药工业研究总院，2. 上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203）

摘要：生物技术药物是一类采用DNA重组技术或其他创新生物技术生产的治疗药物，临床广泛用于治疗肿瘤、心脑血管、类风湿性关节炎等疾病。当前研究发现，嵌合抗原受体T细胞免疫疗法（Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy，CAR-T cells）、免疫检查点抑制剂（Immune Checkpoint Inhibitors，ICIs）、酪氨酸激酶抑制剂（Tyrosine Kinase Inhibitors，TKIs）等生物技术药物在临床上出现了左室射血分数下降、爆发性心肌炎、心力衰竭等一系列心脏毒性不良反应，且在临床表现和机制上不同于传统小分子药物。在对已上市生物技术药物的非临床安全性评价实验进行分析总结后发现，其安全药理学研究并不完善，缺乏适当的心功能检测方法以及对生物技术药物致心脏毒性机制的探索，因此需要开发用于预测生物技术药物心脏毒性的新技术、新方法以减少临床用药心脏毒性的产生，提高患者的生存质量，并为临床医师对存在心功能障碍的癌症患者提供一定的用药参考。本文总结了目前已上市的酪氨酸激酶抑制剂、免疫检查点抑制剂以及细胞治疗产品等生物技术药物所引起的心脏毒性的临床表现、心脏毒性机制的研究进展以及临床前阶段心脏毒性评价的新技术、新方法、新模型，通过对比各模型的建立方法及生理或病理表现，揭示不同模型在发病机制、病变特点以及适用情况方面的差异，有效填补临床前研究的漏洞，确保临床前模型与临床输出的相关性，为生物技术药物的临床前评价提供实验数据，以便更准确的预测心脏毒性，延长患者

生存周期，改善患者的生存质量。

关键词：生物技术药物；非临床安全性评价；心脏毒性

作者简介：张玉卿，E-mail：zhangyuqing202103@163.com

通讯作者：汪溪洁，E-mail：xjwang@innostar.cn

T03-0062

毒代动力学研究的影响因素及不足

王 丽，张文婕，高嘉政，徐书颖，杨昌雄，王 勇

（益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通 226133）

摘要：毒代动力学是药代动力学在全身暴露评价中的延伸，也是非临床安全性评价研究的重要组成部分，在理解毒性试验结果、与临床数据比较用于评估人体用药获益风险时可提高毒理学数据的价值。所以，在GLP（Good Laboratory Practice）实验室进行的毒性研究，其伴随的毒代动力学的操作及产生的数据均需符合GLP的要求。与毒代动力学相关的实验操作包括：动物的种属选择、不同类型毒性试验（急毒、长毒、生殖等不同类型）、不同类型的给药方式、不同的剂量水平以及毒代血液采集时间点的选择。上述实验条件的改变对原形化合物及其代谢产物的血浆（血清或全血）的浓度均有影响，毒代数据上表现的是AUC、C_{max}和C_{Time}等毒代动力学常用参数的变化。毒代动力学研究在新药研发的过程中，已经逐步成为药物安全性评价的核心环节，可以为后期临床试验提供更加科学、更加丰富的数据支持。但是，在目前的毒代动力学评估中，还存在着不少的问题：1）在毒代计算参数的选择上，目前主要是以AUC、C_{max}和C_{Time}这三项指标来评价毒代动力学，这是否能满足评价药物原形及其代谢产物在动物体内的暴露量情况；2）采样的时间点是否能满足研究的要求。不同的种属及给药方式，药物在体内的暴露情况可能不一样，如何选择采样的时间点来满足试验的要求；3）AUC、C_{max}和C_{Time}，这些指标均是药物体内行为的反映，虽然与药物摄入量直接相关，但并非药物的体内确切暴露量。

T03-0064

治疗性DNA疫苗非临床评价研究关注点

许赫雷，高 杰，陈 爽，李子轲，韦 娜，董延生

（国科赛赋河北医药技术有限公司）

摘要：治疗性DNA疫苗是在基因治疗技术的基础上，通过电转枪等方式，将DNA质粒递送到人体细胞内，编码抗原蛋白，激活人体细胞免疫和体液免疫，清除已被如人类免疫缺陷病毒（HIV）、乙型肝炎病毒（HBV）、人乳头瘤病毒（HPV）等病毒感染的细胞和HBV、HPV等感染病毒。在各种形式的治疗性DNA疫苗中，由于其安全性、易于制备、稳定性、允许重复给药而不失去效力和诱导抗原特异性免疫而成为疫苗开发的潜在有前途方法。结合目前处于临床研究GX-188E、VGX-3100的治疗HPV的DNA疫苗探讨非临床评价关注点。治疗HPV的DNA疫苗，其主要策略是增加DC对HPV抗原的摄取，改善DC的加工和HPV抗原的呈递，以及增强DC和T细胞的相互作用。了解受试物作用机制，寻找与药效学相似的相关动物种属，针对HPV治疗疫苗研究常选用C57小鼠和恒河猴。同时考虑动物的给药方式，转染效率是DNA疫苗有效性的一个关键决定因素，主要障碍是细胞内传递的低效率，通过标准的肌肉注射递送往往不能满足剂量需求，结合药效研究阶段最佳接种方法，最大限度模拟临床，多采用注射后的电穿孔设备（通过低电压电流提高转染效率，这会在细胞膜上产生微小的破裂，使质粒得以进入），产生最高数量的抗原特异性CD8+T细胞和最强的抗肿瘤反应。在剂量选择上，考虑疫苗浓度、给药体积及结合力，如小鼠肌肉注射最大可行体积（即最

大可行剂量)设置高剂量。在接种次数以及间隔、恢复期上,考虑前期靶脏器生物分布情况,结合基因治疗产品的特点,最大限度涵盖接种后的最大暴露和消除。在检测指标上,结合DNA治疗疫苗的作用机制,如应考察基因治疗产品中载体和导入基因在体内的转录/翻译(相关表达蛋白如HPV疫苗HPV系列蛋白、hXCL1蛋白等)、生物分布(脏器内浓度)、存续情况以及免疫原性和免疫毒性,如HPV疫苗靶向E6和E7蛋白,ELISpot检测评估脾脏与外周血T细胞、DC细胞等淋巴细胞迁移与增殖情况等。在病理学中,因最常见的不良事件是给药部位的反应,电穿孔设备介导DNA传递往往引起肌肉注射部位病变,需合理分析排除干扰。

关键词: 治疗性DNA疫苗; 非临床评价

T03-0065

皮下彩色多普勒超声在毒理学试验中的应用

郑莹莹, 陈　爽, 李子轲, 韦　娜, 董延生
(国科赛赋河北医药技术有限公司, 河北 廊坊　065500)

摘要:目的　彩色多普勒超声诊断常规应用于血管疾病、腹腔内脏、心脏、小器官(甲状腺、眼球等)以及妇产科等疾病的诊断,作为主要或辅助的检测手段。本试验通过彩色超声诊断仪监测皮下注射的受试物在动物皮下吸收情况,辅助判断受试物在皮下吸收降解程度与时效关系,为受试物的安全性评价提供参考信息。**材料与方法**　本试验将54只比格犬随机分为溶剂对照组、受试物低、高剂量组,共3组。单次给药,采用多点注射,每个位点约0.2 mL,间隔为0.5~1 cm。给药后每周进行1次彩超检查,量取各注射位点受试物体积,观察其降解吸收情况。**结果**　给药后1周,各组可通过超声诊断仪检测到受试物在皮下有残留的动物比例为:受试物低、高剂量组分别可见13/18、13/18例;给药后2周受试物低、高剂量组分别可见8/18、15/18;以上时点溶剂对照组所有动物均未检测到。各组动物注射部位及周围皮下组织可见均匀回声,未见明显异常改变;受试物可见回声的密度与结缔组织相似,且呈扁平状,单独位点直径约为0.3~0.7cm,同一视野下偶见多位点,间距约0.5cm左右(与注射间距),或多个位点相接,直径约1.0~3.0cm不等。**讨论**　试验中观察到随着受试物在机体的吸收过程,注射部位可见皮下椭圆形注射位点,机体吸收过程较慢,受试物本身状态在短期内未发生明显变化。在原注射点皮下进行超声检测发现,多数位点不可见,在周围进行超声可探测到,受到动物皮下具有游离性质的影响,使得超声检测手段不易对点进行准确追踪,且多个位点相连接也可说明此情况。给药后2周,注射点周围组织超声未发现明显异常改变和不良反应。**结论**　彩色超声诊断应用于皮下注射填充剂的吸收降解与时效关系中,通过影像的方式进行监测和记录,便于直观地观察到受试物的填充效用与降解情况,也与毒代、病理组织学检查等常规的安全性评价手段,同时为受试物的非临床安全性评价提供更多有效的参考信息,该方法也可为需要判断动物给药后皮下是否有受试物残留或观察降解情况提供新的技术手段。

关键词: 彩色多普勒超声; 降解; 临床前安全性研究

T03-0067

瘙痒介质研究进展

宋云扬, 刘艳丽, 吴方晖, 阴忆烽
(国民核生化灾害防护国家重点实验室, 北京　102205)

摘要: 瘙痒是一种可以立即引起抓挠反应的主观感觉,大多数的皮肤病以及系统性疾病都伴有瘙痒症状的出现。长期的慢性瘙痒严重影响人们的生活质量,目前由于其发生机制尚不完全清楚,因此缺乏较为有效完善的治疗方法。目前,除组胺(Histamine)、5-羟色胺(5-HT)、白介素-2(IL-2)、白三烯B4(LTB4)、血

小板活化因子和乙酰胆碱等一些被大家熟知的瘙痒介质外，近年来的研究还揭示了P物质（SP）、阿片样肽和蛋白酶在瘙痒的病理生理过程中也起着重要作用。根据致痒机制的不同，这些瘙痒介质可分为两大类：组胺依赖的痒觉信号通路引发瘙痒的和非组胺依赖的痒觉信号通路致痒的。

组胺依赖性痒觉信号通路是通过对机械热刺激不敏感的神经纤维群（CMi）传导的，组胺通过与组胺H1/H4受体结合，激活磷脂酶C（PLC）和磷脂酶A2（PLA2），从而导致瘙痒，组胺介导的瘙痒与瞬时受体电位香草酸亚型1（TRPV1）通道密切相关。5-HT也是组胺依赖性致痒介质，不仅可以激活肥大细胞释放组胺，而且本身也可以导致瘙痒的发生，它能够引起较弱但是持久的瘙痒反应。SP是广泛分布在细神经纤维内的一种神经肽，可以产生皮疹、风疹以及瘙痒等症状，其在人体引发的反应主要是由肥大细胞释放组胺介导的。前列腺素（PG）是一类具有多种生理作用的不饱和脂肪酸，其可增强对组胺、SP和蛋白酶类等致痒介质的敏感性，在瘙痒产生的过程中起到协同作用。前列腺素E1（PGE1）可以降低组胺引发的瘙痒的阈值，从而增强痒感。

非组胺依赖性痒觉信号通路是由一类对机械热敏感的C类纤维（CMHs）介导的，组胺拮抗剂并不能对此通路引起的瘙痒起到阻断作用。该通路致痒介质可分为非蛋白酶类和蛋白酶类，其中非蛋白酶类主要包括氯喹（CQ）、内皮素-1（ET-1）和白介素-31（IL-31）等，蛋白酶类包括胰蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、组织蛋白酶S和藜豆蛋白酶等，丝氨酸蛋白酶可以增强特应性皮炎中痒觉的产生。组织蛋白酶S可以通过激活蛋白酶激活受体2（PAR2受体）和PAR4而导致炎症性皮肤瘙痒。藜豆蛋白酶是黧豆豆荚毛刺的蛋白提取物，为一种半胱氨酸蛋白酶类，可以通过非组胺依赖性痒觉信号通路诱发瘙痒。蛋白酶类非组胺依赖性致痒剂通过蛋白酶激活受体激活PLC，再激活TRPV1通道或瞬时受体电位离子通道A1型（TRPA1）的开放，从而使神经元激活诱导瘙痒的发生，它不但可以作用于C纤维末梢，而且能够直接激活中枢感受器引起剧烈瘙痒。

关键词： 瘙痒；组胺；蛋白酶

通讯作者： 阴忆烽，E-mail：syyfeng@126.com

T03-0068

CP001口服给药对清醒Beagle犬呼吸及心血管系统的影响

林 鹤

〔沈阳沈化院测试技术有限公司安全评价中心（国家沈阳新药安全评价中心）〕

摘要：目的 通过口服给药观察CP001对清醒Beagle犬呼吸及心血管系统的影响，为其临床研究及安全用药提供参考。**方法** 试验使用8条Beagle犬，雌雄各半。试验设置CP001低、中、高三个剂量组，给药剂量分别为33、100、300mg/kg，相当于小鼠药效学有效剂量等效剂量的4、12及36倍，同时设置阴性对照组。试验采用交叉设计，共4个给药周期，两次给药间隔至少7天。EMKA马甲遥测系统采集给药前1小时以及给药后24小时数据。对给药前30min及给药后1、2、3、6、12、18、24 h各检测点呼吸频率、潮气量、收缩压、舒张压、平均动脉压、心率、PR间期、QT间期、QRS波群时限及QTcB数据进行分析。**结果** （1）呼吸：各检测时间点各给药组动物呼吸频率、潮气量等指标与空白对照组比较均无统计学差异（P>0.05）；（2）血压：各检测时间点各给药组动物收缩压、舒张压、平均动脉压等血压指标与空白对照组比较均无统计学差异（P>0.05）；（3）心电图：各检测时间点各给药组动物心率、PR间期、QT间期、QRS波群时限及QTcB等指标与空白对照组比较均无统计学差异（P>0.05）。**结论** 在本试验条件下，经口服给予CP001（33、100、300 mg/kg）对清醒Beagle犬心血管系统和呼吸系统相关指标无明显影响。

T03-0069

CDX2表观遗传编程抑制Muc2表达介导产前地塞米松治疗所致雌性子代肠道菌群定植异常和胆汁淤积性肝损伤

路小倩，陈蓓迪，徐　丹，汪　晖
（武汉大学基础医学院药理系/发育源性疾病湖北省重点实验室，武汉　430071）

摘要：目的　越来越多的研究表明，孕期不良环境暴露可通过影响子代肠道菌群从而导致疾病易感。既往研究已证实孕期地塞米松暴露（prenatal dexamethasone exposure，PDE）可致子代成年后多疾病易感，但其对子代肠道菌群的影响及其与多疾病易感性的关系仍不清楚。本研究结合临床产前地塞米松治疗人群、PDE大鼠模型和细胞实验，旨在证实PDE对子代肠道菌群定植的影响，阐明其宫内编程机制并探讨其远期危害。**材料和方法**　本研究收集了147例临床1周龄及6月龄婴幼儿粪便样本并进行16S rRNA测序。受孕Wistar大鼠于孕9天（gestational day，GD9）至GD20每天皮下注射0.2 mg/kg 地塞米松，获取子代GD20、出生后2周（postnatal week，PW2）和PW12结肠组织，同时收集其PW2、4、6、12粪便进行16S rRNA测序；进一步用地塞米松处理LS174T细胞进行机制研究。最后，检测PW20雌性子代肝损伤相关指标、胆汁酸代谢谱及肠道菌群，伪无菌鼠移植对照组或PDE组粪便后检测相同指标。**结果**　产前地塞米松治疗后1周龄和6月龄婴幼儿肠道菌群组成出现显著的性别差异性变化，且表现出有益菌减少致病菌增多的特点。PDE动物模型证实，雌性子代在出生后多时间点肠道菌群组成显著改变，且其肠道内有益菌/致病菌定植失衡，而雄性子代变化不明显。dbRDA分析发现PDE雌性子代肠道菌群组成改变与肠道黏蛋白（由Muc2编码）缺乏显著相关。追溯至宫内发现，PDE雌性胎鼠糖皮质激素受体（glucocorticoid receptor，GR）激活，组蛋白去乙酰化酶HDAC11表达上调而Muc2表达降低，且Muc2核转录激活因子CDX2启动子区H3K14ac水平及表达在出生前、后持续降低。细胞水平上，系列干预实验（如过表达CDX2、敲低HDAC11或GR）均可明显逆转上述地塞米松对杯状样细胞的不良效应。最后，我们发现PDE雌性成年子代大鼠和移植了PDE组粪便的成年伪无菌鼠血清TBA、ALT、AST和ALP水平显著升高，肝脏表现出细胞水肿和排列紊乱等肝损伤相关病理性改变，且疏水性初级胆汁酸水平升高，而参与胆汁酸转化的有益菌 Lactobacillus johnsonii丰度降低并伴随有胆碱水解酶基因表达的降低。**结论**　PDE雌性后代肠道菌群异常定植，其机制为宫内地塞米松通过激活GR/HDAC11信号影响肠杯状细胞CDX2的启动子区组蛋白乙酰化水平及其表达，后者可致靶基因Muc2 低表达并延续至出生后，继而影响肠道菌群的定植和组成。肠道菌群组成改变所致胆汁酸转化受阻导致PDE雌性成年子代肝脏胆汁淤积性肝损伤发生。本研究发现了生命早期肠道菌群定植的新影响因素-肠道发育编程改变，可为探寻菌群相关胎源性疾病的发生机制及早期防治提供新思路。

关键词：地塞米松；肠道菌群；黏蛋白-2；表观遗传编程；胆汁淤积性肝损伤
基金项目：国家自然科学重点基金（82030111）；国家重点研发计划（2020YFA0803900）
通讯作者：汪　晖，E-mail：wanghui19@whu.edu.cn

T03-0070

基于L5178Y体外pig-a基因突变检测方法的建立与初步验证

何伟伟[1]，周长慧[1]，李嫚琪[1]，许瀚林[1,2]，常　艳[1]，王晓炜[3]
（1. 中国医药工业研究总院，上海益诺思生物技术股份有限公司，上海　201203；
2. 上海工程技术大学，上海　201620；3. 深圳市药品检验研究院，深圳　518057）

摘要：目的　使用小鼠淋巴瘤L5178Y细胞，建立体外Pig-a基因突变检测方法并进行初步验证。**方法**　首先使用苯并芘（Benzopyrene，B[a]P）与甲基磺酸乙酯（Ethyl methylate，EMS）分别作为4 h+S9和24 h-

S9条件下的阳性对照品，进行体外Pig-a基因突变检测方法的建立。在验证部分，选用不同作用机制的化合物4-硝基喹啉-1-氧化物（4-Nitroquinoline-1-oxide，4-NQO）、依托泊苷（Etoposide，ETO）、甲基亚硝基脲（Methylnitrourea，MNU）对该方法进行初步验证；**结果** 方法建立部分，与阴性对照组相比，B[a]P与EMS浓度组的Pig-a基因突变率呈浓度依赖性升高且为阴性对照组Pig-a基因突变率的两倍，判定B[a]P与EMS Pig-a基因突变试验结果为阳性，与文献报道一致，Pig-a基因突变检测方法成功建立；方法验证部分，与阴性对照组相比，已知致突变化合物（4-NQO和MNU）的Pig-a基因突变率呈浓度依赖性增加，且大于1个浓度组的Pig-a基因突变率超过阴性对照的2倍，4-NQO和MNU为阳性结果；DNA修复抑制剂ETO的Pig-a基因突变率与阴性对照组相比无明显差异，ETO为阴性结果。以上结果初步验证了本课题建立的Pig-a基因突变方法的有效性。**结论** 本文建立了基于L5178Y体外Pig-a基因突变检测方法，并采用3种化合物对体外Pig-a基因突变试验方法进行了初步验证。

关键词： L5178Y；Pig-a；基因突变；验证

T03-0071

iNKT17细胞在炔雌醇诱导的胆汁淤积性肝损伤中发挥致病性作用

李忻昱[1]，孔伟超[1]，邹梦芝[1]，张陆勇[2]，王欣之[1]

（1. 中国药科大学药物科学研究院新药筛选中心，南京 210009；2. 中国药科大学药物科学研究院新药筛选中心，南京210009；广东药科大学新药研发中心，广州 510006）

摘要：目的 IL-17与肝内胆汁淤积（Intrahepatic cholestasis，IHC）炎症密切相关，靶向IL-17可改善小鼠胆汁淤积。恒定自然杀伤T（invariant natural killer T，iNKT）细胞在小鼠肝脏优势聚集，通过分泌Th1、Th2、Th17型细胞因子参与肝脏疾病的发生发展。因此，本研究探究iNKT17细胞在炔雌醇（ethinylestradiol，EE）诱导的IHC中的作用机制。**材料和方法** C57BL/6小鼠连续给以EE 3、5、7天后，流式细胞术检测肝脏iNKT细胞分泌的Th1/Th2/Th17型细胞因子、Treg细胞的比例和iNKT细胞表面趋化因子受体CXCR3和CXCR6的表达。将EE和RORγt抑制剂地高辛联用，采用iNKT细胞缺陷的Jα18$^{-/-}$小鼠给以EE，EE和IL-17联用，EE和IL-17$^{-/-}$iNKT细胞回输，EE和野生型iNKT细胞回输后，比较不同组别的胆汁淤积性肝损伤程度和肝脏白细胞招募的变化。采用CXCL10$^{-/-}$小鼠给以EE，观察胆汁淤积性肝损伤和肝脏招募的iNKT细胞比例。**结果** EE诱导了iNKT17细胞的激活和扩增，导致肝脏iNKT17/Treg失衡。Jα18$^{-/-}$小鼠和RORγt抑制剂地高辛减轻EE诱导的胆汁淤积性肝毒性，并下调了IL-17信号通路。相反，给以Jα18$^{-/-}$小鼠EE和重组IL-17，则再次诱发胆汁淤积性肝损伤，并增加肝脏中性粒细胞和单核细胞的浸润。Jα18$^{-/-}$小鼠回输IL-17$^{-/-}$iNKT细胞后给以EE，与回输野生型iNKT细胞相比，肝脏毒性减弱，招募的肝脏中性粒细胞和单核细胞减少。上述结果表明，iNKT17细胞在炔雌醇诱导的胆汁淤积性肝损伤中发挥了致病性作用。iNKT17细胞的招募和激活可能是由于其表面CXCR3的高水平表达。CXCL10的缺乏改善了EE诱导的胆汁淤积性肝损伤，减少了肝脏CXCR3^{+}iNKT细胞并抑制了RORγt的表达。**结论** iNKT17细胞通过CXCR3介导的招募和激活在EE诱导的胆汁淤积性肝损伤中起着关键作用。研究结果为胆汁淤积性肝脏疾病提供了新的机制和干预靶标，为胆汁淤积的药物开发和合理防治提供支撑。

关键词： 炔雌醇；胆汁淤积性肝损伤；iNKT17细胞；RORγt；CXCR3

通讯作者： 张陆勇，E-mail：lyzhang@cpu.edu.cn，王欣之，E-mail：wangxz@cpu.edu.cn

T03-0072

热毒宁注射液治疗小儿急性上呼吸道感染疗效和安全性的Meta分析

陈 灏，宋延平，乔 园
（陕西省中医药研究院，西安 710003）

摘要：目的 系统评价热毒宁注射液治疗小儿急性上呼吸道感染的临床疗效与安全性。**方法** 检索各大数据库，在中国知网（CNKI）、万方数据库（Wanfang）、维普中文期刊（VIP）、Pubmed、Embase上检索2012年1月1日至2022年2月1日发布的关于热毒宁注射液治疗小儿急性上呼吸道感染的随机对照实验。Review manager 5.3软件被用于进行风险偏倚评价和Meta分析。**结果** 总共纳入了27个相关文献，合计4298个病例，其中观察组2167例，对照组2131例。Meta分析结果显示，与对照组相比，观察组能有效提高小儿上呼吸道感染的临床疗效[OR=4.67，95CI（3.70，5.91），$P<0.00001$]，明显缩短了发热时间[OR=−1.28，95CI（−1.55，−1.01），$P<0.00001$]、咳嗽缓解时间[OR=−1.11，95CI（−1.38，−0.83），$P<0.00001$]、咽痛消失时间[OR=−1.32，95CI（−1.53，−1.11），$P<0.00001$]、鼻塞消失时间[OR=−0.90，95CI（−1.18，−0.63），$P<0.00001$]，降低了不良反应发生率[OR=0.24，95CI（0.16，0.38），$P<0.00001$]，且未发生严重不良反应，差异均具有统计学意义。**结论** 基于现有证据，与利巴韦林注射液相比，热毒宁注射液能有效提高小儿急性上呼吸道感染的临床疗效，改善各种症状，降低不良反应发生率。但仍需要大样本的系统评价指导临床实践。

关键词： 热毒宁注射液；小儿急性上呼吸道感染；疗效；安全性；系统评价；Meta分析

T03-0073

小分子药物代谢产物的非临床安全性评价策略和实例

蒋天翼
（罗氏中国创新中心）

摘要： 药物非临床安全性评价通常着眼于母体药物，即通过比较母体药物在实验动物种属与人体中的系统暴露量来评估非临床中提示的风险对于临床实验的指导意义。对于小分子药物而言，其代谢产物也需要充分评估以保障人体用药的安全性。

需要注意的是小分子药物在动物种属和人体中的代谢特征可能存在量或质的区别。因此根据具体情况可能需要对这些代谢产物进行非临床安全性评估甚至专门的安全性实验。通常需要关注的终点为一般毒性、遗传毒性、生殖毒性、致癌性等。

本文结合具体案例，探讨小分子药物研发中代谢产物非临床安全性评价的关注要点。本文特别提出代谢产物的评估需要贯穿于药物发现和开发阶段，分步进行，并特别关注与人体相关的代谢产物。

关键词： 药物非临床安全性评价；小分子；代谢产物；动物种属

通讯作者： 蒋天翼，E-mail：tianyi.jiang@roche.com

T03-0074

西维来司他钠致体外循环下心外术后患者肝功能异常不良反应分析

杜鹏强，周玗洁，倪 铭，邵贝贝，黄晓婧，马永成，王爱凤
（阜外华中心血管病医院药学部，河南 郑州 450003）

摘要：目的 分析西维来司他钠致肝功能异常药品不良反应（ADR）的特点规律，提高临床使用西维来

司他钠的安全性。**方法** 采用回顾性研究方法，利用合理用药软件筛选我院2022年1月1日至2022年3月15日使用西维来司他钠发生肝功能异常的患者，结合病历资料和药品不良反应判定标准对数据进行分析。**结果** 使用西维来司他钠的患者78例，肝功能异常患者经ADR关联性评价5例可能相关，均为体外循环下心外术后患者，主要表现为天门冬氨酸转移酶、丙氨酸氨基转移酶升、胆红素升高。**结论** 建议临床使用西维来司他钠时，应关注患者疾病状态、合并用药，并严密观察肝功能各项指标变化趋势。

关键词：西维来司他钠；肝功能异常；药品不良反应

Analysis of adverse reactions of abnormal liver function in patients after extracardiac surgery under cardiopulmonary bypass induced by Sivelestat sodium

Du Pengqiang, Zhou Yujie, Ni Ming, Shao Beibei, Huang Xiaojing, Ma Yongcheng, Wang Aifeng
(Department of Pharmacy, Fuwai Central China Cardiovascular Hospital, Zhengzhou 450003, China)

Abstract: OBJECTIVE To analyze the characteristics and regularity of adverse drug reactions (ADR) caused by abnormal liver function which caused by sivelestat sodium, and improve the safety of clinical use of sivelestat sodium. **METHODS** A retrospective research method was conducted to screen patients with abnormal liver function in our hospital from January 1, 2022 to March 15, 2022 who used sivelestat sodium, combined with medical records and adverse drug reaction criteria to analyze the data. **RESULTS** There were 78 patients used civelestat sodium, 5 patients with abnormal liver function were possibly related by ADR correlation evaluation, all patients were after extracardiac surgery under cardiopulmonary bypass, the main manifestations were the increase of aspartate transferase, alanine aminotransferase and bilirubin. **CONCLUSION** It is recommended that when using sivelestat sodium clinically, attention should be paid to the patient´s disease state, concomitant medication, and closely observe the trend of changes in various indicators of liver function.

Key words: sivelestat sodium; abnormal liver function; adverse drug reactions

T03-0075

Species difference in toxicokinetics and safety assessment of senecionine N-oxide in a UDP-glucuronosyltransferase 1A4 humanized mouse model

Yan Chen[1], Yingying Tang[1], Pei Liu[1], Jinyuan Wang[1], Weiqian Wang[1], Changhong Wang[1,2], Li Yang[1,2], Aizhen Xiong[1,2], Zhengtao Wang[1,2]
(1. The MOE Key Laboratory for Standardization of Chinese Medicines and the SATCM Key Laboratory for New Resources and Quality Evaluation of Chinese Medicines, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201210, China; 2. Shanghai R & D Center for Standardization of Traditional Chinese Medicines, Shanghai 201210, China)

Abstract: Species difference of organisms in metabolizing enzymes may significantly alter their pharmacokinetics, efficacy and safety of drugs or herbal products, which enlarges the gaps between pre-clinical data and clinical observation and more importantly misleads the safety assessment of the

evaluated substances. Pyrrolizidine alkaloids (PAs)-containing herbs are highly concerned due to their hepatotoxicity. PAs are normally existed in the tertiary amines and N-oxides (PA N-oxides) forms, yet the latter are less evaluated for their toxicokinetics. As a continuation of our investigation into the safety assessment of PAs-containing herbal medicines, the toxicity and toxicokinetic characteristics of senecionine N-oxide (a representative toxic PA N-oxide) were investigated by using the UDP-glucuronosyltransferase 1A4 humanized (hUGT1A4) mouse model and compared with that in the wild-type mice in parallel. As results, the toxicity caused by senecionine N-oxide exposure is obviously decreased in hUGT1A4 mice as approved by pathology and biochemistry assays. A N-glucuronidation adduct is exclusively identified in the hUGT1A4 mice yet is absent in the wild-type mice. In vitro studies proved that senecionine N-oxide is firstly reduced to the corresponding tertiary alkaloid (senecionine) and then underwent N-glucuronidation via UGT1A4. The variation in toxicokinetic characters is also observed between hUGT1A4 mice and the wild-type mice with a notably enhanced clearance of senecionine N-oxide and senecionine, and accordingly the less formation of the pyrrole-protein adducts in hUGT1A4 mice, which finally led to the detoxification of senecionine N-oxide exposure in hUGT1A4 mice. Our results provided the first in vivo toxicity data and toxicokinetic characteristics of senecionine N-oxide in humanized animal model and revealed that UGT1A4 plays an important role in the detoxification of senecionine N-oxide as well. The N-glucuronidation maybe a promising biphasic metabolic pathway of PA N-oxides distributing in medicinal herbs.

Key words: Pyrrolizidine alkaloid N-oxides; UGT1A4; N-glucuronidation; Species difference; Toxicokinetics; Safety assessment

Correspondence author: Li Yang, E-mail: yl7@shutcm. edu. cn; Aizhen Xiong, E-mail: aizhenxiong@shutcm.edu.cn; Zhengtao Wang, E-mail:ztwang@shutcm.edu.cn

T03-0076

磺胺嘧啶银纳米微粒合并温敏凝胶用于深二度烫伤感染的有效性、安全性研究

刘晓亚，范海洋，孟志云，吴卓娜，顾若兰，朱晓霞，甘　慧，窦桂芳
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所、深圳市儿童医院）

摘要：研究背景　磺胺嘧啶银是一种广谱抗菌药物，具有磺胺嘧啶的抗菌作用和银的收敛作用，广泛应用于烧烫伤感染的局部治疗。磺胺嘧啶银溶解度较低（7.8 mg/mL）且具有光敏感性，需要多次给药以维持伤口部位有效治疗浓度，频繁清创-换药给患者带来了巨大痛苦。因此提高磺胺嘧啶银的溶解度，降低给药频率对提高患者顺应性，促进磺胺嘧啶银的临床应用有重要意义。**目的**　探究纳米化技术用于提高磺胺嘧啶银溶解度的可行性，并评估磺胺嘧啶银纳米微粒的体内外毒性。筛选温敏敷料作为载体以实现喷涂给药，降低患者痛苦，并对载磺胺嘧啶银微粒温敏凝胶的体内外有效性、安全性进行评估。**材料和方法**　选择高压均质法制备磺胺嘧啶银纳米微粒，并对其粒径和稳定性进行分析，透析袋法比较纳米化后磺胺嘧啶银溶解度的变化。采用浓度梯度法探究磺胺嘧啶银纳米微粒的急性毒性，以改良Karber法计算其半数致死量（LD50）。以泊洛沙姆407/188作为温敏凝胶基质，甘油为保湿剂，通过正交实验法筛选出温敏凝胶最优处方。分别对载药凝胶的相变特性、微观结构、体外安全性和体外药物释放进行分析。选取金黄色葡萄球菌，铜绿假单胞菌和大肠埃希菌作为受试菌种，测定磺胺嘧啶银纳米微粒的抗菌性能。利用精准控温烫伤仪构建小鼠深二度烫伤感染模型，分析不同磺胺嘧啶银形态给药组中小鼠的创口菌落计数、创口愈合率、结痂脱落事件和病理学指标的变化，从而比较不同给药组的抗菌促愈合性能的差异。**结果**　磺胺嘧啶银纳米微粒的平均直径为291.7 nm，稳定性良好，5 min内溶出度达到90%。磺胺嘧啶银纳米微粒的LD50为252.1

mg/kg，远大于局部治疗所需剂量。银离子体内蓄积主要在肝脏和脾脏，少量在脑中蓄积。细胞毒性结果表明磺胺嘧啶银纳米微粒较原料药毒性显著升高，以温敏凝胶为载体可显著降低磺胺嘧啶银纳米微粒的细胞毒性。磺胺嘧啶银纳米微粒对铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度仅为原料药的一半。载磺胺嘧啶银温敏凝胶在32℃时可在皮肤迅速成膜，由液态转变为半固体的凝胶状态，实现喷涂给药以减轻患者痛苦。将载药温敏凝胶用于小鼠深二度烫伤感染模型，创口部位菌落显著降低，结痂可在7天内脱落，14天内创口愈合率可达到85%，优于市售磺胺嘧啶银乳膏。**结论** 磺胺嘧啶银纳米化可显著改善其溶解度，半数致死量相当于临床拟用剂量的4～5倍，安全性高。载磺胺嘧啶银纳米微粒泊洛沙姆温敏凝胶可有效降低磺胺嘧啶银的潜在细胞毒性，保留抗菌性能并显著促进创口愈合，有望成为磺胺嘧啶银的理想制剂。

关键词：磺胺嘧啶银；温敏凝胶；纳米化；创口修复；急性毒性

作者简介：刘晓亚，E-mail：liuxy2949@163.com

通讯作者：窦桂芳，E-mail：dougf@bmi.ac.cn；甘 慧，E-mail：ganh2003@163.com

T03-0077

BC92食蟹猴重复静脉给药28天毒代动力学试验

杨朝旭，孙晴镁，董新威，王金成

（浙江大学药物安全评价研究中心，杭州 浙江 310058）

摘要：目的 通过对食蟹猴连续29天每周一次（共给药5次）静脉输注BC92（双特异性抗体），测定其体内系统暴露水平，评价与暴露量相关的动力学参数以及给药剂量之间的关系，为解释BC92毒性试验结果和临床安全性评价提供参考。**方法** 40只食蟹猴随机分成4组，每组雌雄各5只，设置低、中、高3个剂量组（剂量分别为30、100、300 mg/kg）和溶媒对照组。每周一次，连续28天（共给药5次）重复静脉注射给予BC92或溶媒对照。其中首次给药（D1）和第5次给药（D29）后在不同时间点对食蟹猴进行采血用于毒代动力学试验。**结果** 食蟹猴首次（D1）、第5次（D29）给予相同剂量的BC92后，各剂量组雌雄动物间C_{max}、$AUC_{(0-t)}$未见明显差异（C_{max}（雄/雌）=0.9～1.0，$AUC_{(0-t)}$（雄/雌）=0.8～1.0）。首次和连续28天（D29）给予BC92后，在30～300 mg/kg剂量范围内，雌雄食蟹猴体内BC92的$AUC_{(0-t)}$和C_{max}均随剂量增加而增大，暴露量增加比例与剂量增加比例基本一致。食蟹猴重复静脉给予BC92 28天后，各剂量组（30、100和300 mg/kg）BC92的$AUC_{(0-t)}$（D29/D1）分别如下：雄性食蟹猴为1.4、1.6、1.8，雌性食蟹猴为1.4、1.4、1.8。与D1相比，BC92低、中、高剂量组雌雄动物重复给药后体内BC92的$AUC_{(0-t)}$差异均小于2倍。食蟹猴重复静脉给予BC92 28天后，各剂量组（30、100和300 mg/kg）BC92的C_{max}（D29/D1）分别如下：雄性食蟹猴为0.8、1.2、1.8，雌性食蟹猴为1.4、1.4、1.6。与D1相比，BC92低、中、高剂量组动物重复给药后体内BC92的C_{max}差异均小于2倍。**结论** 综上所述，本试验条件下，食蟹猴首次（D1）、第5次（D29）给予30、100和300 mg/kg的BC92后，各剂量组雌雄动物间C_{max}、$AUC_{(0-t)}$未见明显差异。食蟹猴首次（D1）、第5次（D29）给药后，各剂量组雌雄动物的暴露量均随剂量增加而增大。与首次（D1）给药相比，第5次（D29）给药后BC92低、中、高剂量组雌雄动物体内BC92的暴露量差异$AUC_{(0-t)}$（D29/D1）和C_{max}（D29/D1）均小于2倍，提示重复给予BC92后体内基本无蓄积。

关键词：食蟹猴；双特异性抗体；毒代动力学

通讯作者：王金成，E-mail：wangjincheng@zju.edu.cn

T03-0116

丙泊酚中/长链脂肪乳注射液体外红细胞溶血性试验

刘　可，彭冬冬，刘学武，王小青，姜德建
〔湖南普瑞玛药物研究中心有限公司 湖南省实验动物中心（湖南省药物安全评价研究中心），
湖南 长沙　410329〕

摘要：目的　由于丙泊酚中/长链脂肪乳注射液为脂肪乳剂，使用常规体外溶血性试验方法离心后上层仍呈乳状液，干扰紫外分光光度计对上层液体吸光度的检测，因此常规方法不适用于评价脂肪乳剂的体外溶血性。本项研究采用破乳剂对脂肪乳破乳后检测上层液体的吸光度，观察丙泊酚中/长链脂肪乳注射液给予实验兔体外红细胞的溶血性反应，为临床用药提供参考资料。**材料和方法**　取检疫合格的实验兔1只，雌性，耳中央动脉取血，制备2%红细胞悬液备用。采用无水乙醇-浓盐酸作为破乳剂，使脂肪乳剂破乳、澄清，用紫外分光光度法测定血红素在破乳环境下的吸光度。采用紫外可见分光光度计在相应波长处测定受试物稀释液、受试物稀释液破乳液、血红素水溶液、血红素水溶液破乳液、血红素加受试物及血红素加受试物破乳液的吸光度，以确定最大吸收波长。在确定的波长处验证破乳剂的破乳作用，同时进行破乳比及破乳剂中无水乙醇与浓盐酸比例的优化，以确定破乳剂的组成比和破乳比。体外溶血性试验取试管7支，其中阴性对照1管，阳性对照1管，受试物（10.0 mg/mL）5管。按相应配比依次加入2%红细胞悬液和0.9%氯化钠注射液、纯水，混匀后于37℃水浴30 min，然后分别加入不同量的药液。摇匀后于37℃水浴3h，然后将各管溶液置入干燥离心管中离心，取受试物各管适量的上层液体，加入破乳剂，观察各管的颜色变化，并测试各管吸光度值。**结果**　破乳剂中血红素的最大吸收波长在400 nm处。破乳剂与受试物稀释液以18∶1（*V/V*）混合时，其吸光度值为0.0052。18倍的破乳剂无水乙醇-浓盐酸（199∶1）能充分破坏脂肪乳，使之澄清。阴性对照各管均红细胞下沉，上层液体无色澄明，无溶血；观察结束时振摇管底沉淀，红细胞可分散，无红细胞凝聚。阳性对照各管均溶液澄明红色，管底无红细胞残留，完全溶血。丙泊酚中/长链脂肪乳注射液受试物各管均红细胞下沉，上层呈乳白色液体，取受试物各管适量的上层液体加入18倍的破乳剂后呈澄清透明液体；观察结束时振摇管底无红细胞凝聚。分光光度法显示丙泊酚中/长链脂肪乳注射液受试物各管加入破乳剂后溶血率均小于5%。**结论**　在本试验条件下，丙泊酚中/长链脂肪乳注射液对实验兔体外红细胞未见明显的溶血性和红细胞凝聚反应。

关键词：脂肪乳注射液；体外溶血；破乳剂

通讯作者：刘　可，E-mail：liuke@hnse.org

TIL细胞产品临床前安全性评价研究要点

卜志超，孙　伟，魏　兴，李晓旭，李茜茜，柳清清，李子轲，韦　娜
（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北 廊坊　065500）

摘要：肿瘤作为一类严重危害人类生命健康的疾病，在过去的几年里，人们探索了多种免疫疗法并取得了成功。但在实体瘤患者的治疗中，由于不同类型实体瘤的异质性大以及T细胞无法有效归巢到肿瘤部位被认为是影响疗效的主要原因。肿瘤浸润性淋巴细胞（Tumor-infifiltrating lymphocytes，TILs）治疗因其具有多靶点、肿瘤趋向和较低的脱靶毒性，不但可以用于高度耐药患者的治疗，同时能联合其他免疫药物并增加其疗效而被认为是最有潜力的实体瘤细胞治疗类型之一。

TILs作为一种含有T细胞、B细胞、自然杀伤细胞等多种淋巴细胞群的异质性群体，现有的非临床研究方法及标准在TILs细胞产品的评价上存在一定的局限性，需要进行多角度的非临床研究评价策略和方法的探索。在这篇综述中，我们简要介绍了TILs免疫疗法的历史，并讨论了TILs在实体肿瘤治疗中的非临床发展现状。基于TILs产品的特性以及治疗策略，对TILs产品非临床研究实施过程中的具体技术问题进行讨

论。相比于构建简单、周期短的CDX(Cell line derived xenografts)模型,保留了肿瘤组织原有的非肿瘤基质和微环境的PDX(Patient derived xenografts)模型更能体现TILs产品的特性。但由于PDX模型原始肿瘤的主要来源为手术切除,建模难度高且不能反复获取,必要时可采用鼠源TILs进行概念论证,同时结合临床试验(Investigator Initiated Trial,IIT)研究为TILs产品积累较多的临床安全性和疗效数据等。组别除常规溶剂对照组、荷瘤模型对照组、TILs不同剂量组别外,还需增加与IL-2联用组别,以尽可能模拟临床给药方式来评价TILs治疗产品的安全性。

但拥有较多优点的同时也面临样本要求高、持久性低、培养难度大、疗效受限等挑战,同时因需与高剂量白介素-2联用而带来的细胞因子风暴、免疫抑制等不良反应。因此,进行非临床安全性研究时除需设计以上组别外,还需增加白介素-2荷瘤模型对照组,以便全面评价由此带来的其他不良反应。

综上,本篇概述了TILs产品作为一种治疗实体瘤的个性化方法的潜力以及临床前研究的关注要点。由于TILs疗法迅速的发展,不断的有新的思路及新的技术进入该领域,人们对于抗肿瘤免疫治疗以及TILs疗法安全性评价的科学认识也在不断深入。因此,对TILs产品非临床研究的要求和关注点也会不断更新,期待给患者带来更多帮助。

关键词:TILs;非临床研究;安全性

通讯作者:韦 娜,E-mail:weina@safeglp.com

生物标志物联合检测在药物性肾损伤评价中的意义

陈佳靓,李一飞,金若敏,姚广涛

(上海中医药大学药物安全评价研究中心,上海 201203)

摘要:药物性肾损伤是指肾脏对治疗剂量药物产生的不良反应和因药物过量、长期或不合理应用而出现的毒性反应。传统实验室检查手段,如BUN、CR等生化指标或病理检查,可以判断肾损伤发生,但往往缺乏敏感性,不能判断毒性作用的早期效应和不同类型的肾损伤。

为与最佳治疗阶段同步,同时更深入地理解药物的不良反应,探讨药物引起肾损伤机制,研究者从转录组学、蛋白组学、代谢组学、基因序列、脂质沉积、炎症介质等方面,陆续发现了多种有预测价值的新型肾损伤标志物:β2-微球蛋白(β2-MG)、半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白C(Cys C)、肾损伤分子-1(KIM-1)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、白介素-18(IL-18)、肝脏型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)、视黄醇结合蛋白(RBP)、N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)、尿神经因子(Netrin-1)等敏感性均优于BUN和CR。2010年,FDA和EMEA认可了尿总蛋白(uTP)、白蛋白(ALB)、β2-MG、Cys C、KIM-1、三叶因子(TFF3)、丛生蛋白(CLU)等标志物用于药物性肾损伤的早期评估。

肾损伤标志物各具特点又都有不足,很难同时具有较高的敏感性和特异性,药物性肾损伤也表现出多部位多形式的特点,生物标志物联合应用势在必行。但是联合检测又要面对大量的肾损伤标志物筛选和组合,怎样的标志物组合能够最大程度“取长补短”使联合检测发挥高于单一标志物的检验效能,如何高效应用这些标志物或其组合于药物的安全性评价和警示药物性肾损伤是亟待解决的问题。

本课题组以不同机制的肾毒性化学药物为模型药物,在传统的动物毒性试验基础上,结合统计学分析,筛选及优化不同生物标志物组合,通过与经典肾功能检测指标和病理学观察比较,探讨生物标志物联合检测对药物性肾损伤评价的意义,寻求适用于药物性肾损伤评价的推荐组合,为临床前药物研发及临床用药过程中对药物性肾损伤的评价和警示提供保障。研究结果表明,多标志物联合检测能够显著提高对肾损伤的检验效能,血清CysC+NGAL和尿液uNGAL+KIM-1+IL-18可作为潜在组合用于药物性肾损伤,包括中药诱导的肾损伤的评价。同时相关组合的可靠性还需进一步验证和评价。

关键词:生物标志物;联合检测;药物性肾损伤;评价

作者简介:陈佳靓,工程师,主要从事中药新药及药理毒理学研究,E-mail:409786396@qq.com

通讯作者:姚广涛,E-mail:yaoguangtao1969@126.com

胡蔓藤碱乙对HCT116细胞mRNA表达及m6A甲基化修饰的影响

陈梦婷，吴亚娇，鲍文强，李楚涛，张东城，张　健，朱　安
（福建医科大学消化道恶性肿瘤教育部重点实验室，福建 福州　350108）

摘要：目的　钩吻具有消肿止痛功效，但同时可引发肠道毒副作用。胡蔓藤碱乙是其主要毒性成分，但对肠道的毒性机制尚不明确。在本研究中我们假设胡蔓藤碱乙可能改变HCT116人结肠癌细胞中RNA m6A的修饰，进行高通量m6A MeRIP-seq和mRNA-seq，以揭示胡蔓藤碱乙诱导的HCT116细胞毒性的潜在分子机制。**方法**　（1）使用400 μmol·L^{-1}胡蔓藤碱乙处理HCT116细胞48 h。（2）用Trizol试剂裂解细胞，提取总RNA并测量其浓度及完整性。（3）从总RNA中分离出mRNA并进行片段化，进行高通量m6A MeRIP-seq和mRNA-seq，对差异基因进行富集。（4）对测序数据进行分析，分析其m6A调控因子改变。（5）对差异基因进行GO和KEGG功能和通路注释。（6）使用分子对接观察钩吻素己与m6A调控因子的结合模式。**结果**　（1）胡蔓藤碱乙处理后，筛选出4516个差异表达mRNA，3430个差异m6A修饰mRNA，1401个差异共表达基因。功能富集和mRNA表达量结果均发现胡蔓藤碱乙可导致细胞骨架、紧密连接和粘附连接异常。（2）m6A修饰位点集中在终止密码子和3′UTR区域，motif序列为RRACH（R=A/G，H=A/U/C）。（3）86.7%的m6A修饰发生在非保守区域。13.6%的m6A修饰基因为疾病相关基因。（4）检测出11个差异表达的m6A调控因子，其中m6A识别蛋白IGF2BP3显著下降，导致其靶向调控的IQGAP3等细胞骨架、紧密连接和粘附连接相关基因表达紊乱，加速mRNA降解，存储和翻译减少。（5）分子对接显示胡蔓藤碱乙可与多种m6A调控因子稳定结合，从而参与毒性靶基因调控。**结论**　胡蔓藤碱乙的肠道毒性机制与m6A表观修饰异常有关，所靶向的细胞骨架、紧密连接、粘着连接基因的存储、翻译和降解发生紊乱。

关键词：胡蔓藤碱乙；m6A修饰；转录组；紧密连接；细胞骨架

通讯作者：朱　安，E-mail：zhuan@fjmu.edu.cn

法规动向监管对于GLP设施运营的重要性

公小兵
〔徕博科医药研发（上海）有限公司，上海　201318〕

摘要：法规动向监管（Regulatory Intelligence Management），顾名思义就是侦测监管部门发布的政策法规文件动向，并针对这些政策动向对于GLP机构运营的影响所做的应对措施的管理。众所周知，GLP机构运营的基本原则就是按照GLP法规要求运行管理，最常见的如我国NMPA GLP法规（第34号文件），OECD GLP法规以及美国FDA GLP（Part58）法规等。在我国除了以上基本GLP法规之外，GLP机构还需要同时遵守药监部门发布的其他法规政策文件，比如国家药监局颁布的2020年第74号文件《药品记录于数据管理要求》；以及2023年第15号文件《药物非临床研究质量管理规范认证管理办法》等。随着时代的进步，科学技术的不断发展，监管法规也得到了进一步改进和完善，从而促进一些新的政策法规文件的产生或修订。例如OECD在2021年9月新发布的22号一致性文件《GLP数据完整性》以及2022年6月修订的23号一致性文件《质量保证和GLP》以替代之前发布的4号文件。因此，新的政策法规或修订对于机构的日常运行会带来新的要求和挑战，而机构是否有成体系的受控机制及时的监测这些法规动向并管理这些政策动向带来的影响，就变得尤为重要了。

本文主要从法规动向监管的流程建立、人员组成、信息来源、影响评估、制定应对策略以及实施应对方案等几个方面来阐述GLP机构如何建立成体系的受控机制来有效管理法规动向监管；以及对于已识别的法规变化，如何降低其对机构运行的产生的影响。

一、建立流程（SOP）。GLP机构内部应当建立适当的法规动向监管标准操作流程，明确人员构成，人员职责，以及具体流程包括但不限于：定期收集并提交相关的法规动向汇总；与相关人员定期审阅已提交的

法规动向汇总;识别出有影响的法规变化;制定并沟通应对策略(变更控制);实施应对策略等。

二、人员构成。法规动向侦测收集人员:最好由机构内部较为熟悉国内外GLP相关政策法规的人员组成。法规动向审阅小组:通常为受到潜在影响的机构内部各部门负责人或指定人员。应对策略制定/执行人员:通常为机构内各部门负责人或指定人员。

三、信息来源。信息来源可以多元化,建议主要关注监管机构的官方网站/公众号,或订阅法规监管第三方外包服务,FDA警告信或其他公开制裁,公开的Q&A,出版物,以及互联网等。

四、影响评估。当审阅小组识别出对机构有影响的法规变化,那么应该有相关的人员来评估该影响的风险性(risk assessment),基于风险评估等级来决定是否以及如何制定应对策略。

五、制定应对策略。应对策略(action plan)需要分配到具体的执行人员以及完成的目标时间结点,并且制定的策略能够比较有效的持续跟踪,以免忘记。通常可以通过变更控制来驱动管理。可考虑是否需要新建或更新机构内相关的SOPs? 是否需要员工的重新培训? 是否需要调整现有流程等。

六、实施方案。由具体的应对策略执行人员按照计划中的时间结点完成每一个应对策略。

综上所述,GLP机构内部建立法规动向监管的管理流程是十分必要的,它能及时有效的识别到新的政策法规或是修订的政策法规要求,并且能够将监管机构的书面政策要求经过机构内部审阅核实,风险评估等,将有影响的条款快速准确的落实到机构内部的文件体系、操作流程、人员培训中,避免了法规监管方面的风险,从而提高了整个GLP机构对于国内国外不同的政策法规的遵从性。

通讯作者: 公小兵, E-mail: 359610182@qq.com

前列腺癌诊断生物标记物研究进展

许 丽[1,2], 郭 隽[1,2], 孙祖越[1,2]

(1. 上海市生物医药技术研究院 中国生育调节药物毒理检测中心, 上海 200032; 2. 国家卫生健康委员会计划生育药具重点实验室, 上海 200032)

摘要: 前列腺腺体中正常组织细胞受到各类致癌因素影响,导致前列腺腺泡细胞异常无序生长,形成前列腺癌(Prostate cancer,PCa)。前列腺癌在全球范围内发病率逐年增高,现占据世界范围内男性所有恶性肿瘤发病率的第二位,我国新发前列腺癌中转移性肿瘤占比约70%。前列腺癌起病隐匿且生长较缓慢,身体一旦出现症状,通常属较晚期的进展性前列腺癌。因此,在患病早期诊断前列腺癌对于疾病的诊疗具有重要的意义。生物标志物用于诊断和监测前列腺癌源于上世纪60~70年代,其中前列腺特异抗原(prostate-specific antigen,PSA)是美国食品药品监督管理局批准的第一个肿瘤标志物,血清中PSA水平>4.0 ng/mL视为升高,在血清PSA>10 ng/ml时,表示前列腺系统血-上皮细胞屏障破溃,患者出现前列腺癌的概率升高。游离PSA(free PSA, fPSA)和总PSA(total PSA, tPSA)作为常规项目通常需要同时检测。前列腺癌患者尿液中的肌氨酸含量对于诊断具有重要意义,且尿液中基质金属蛋白酶9具有较强特异性。尿液中PCA3mRNA检测也也为诊断前列腺癌的敏感指标之一。在发生前列腺癌疾病后,精液中的GSTP1基因会出现甲基化,分析其中是否存在 GSTP1 基因甲基化是诊断患者前列腺癌的有效方式之一。亦有报道,血清中糖类抗原199(CA199)、β2 微球蛋白(β2-MG)对于诊断前列腺癌也具有一定参考价值。前列腺癌患者血清和尿液中中miRNA-107表达明显升高。前列腺小体外泌蛋白(prostatic exosomal protein,PSEP)是一种由正常及前列腺癌上皮细胞或者前列腺转移癌所分泌的一种合成颗粒,可通过ELISA法对尿液中PSEP水平检测结合PSA含量综合判定前列腺癌,避免误诊造成的过度医疗。

综上,利用生物标记物诊断前列腺癌,可以达到尽早发现、尽早控制、尽早治疗额效果,能够有效地降低因为前列腺癌死亡的患者数量,同时避免误诊对患者造成过度治疗,为前列腺癌患者的生命健康安全提供更加有效的保障,提高对患者早期前列腺癌的检测能力。

关键词: 前列腺癌; 生物标记物; 前列腺特异抗原

作者简介: 许 丽, E-mail: lucifer2412@163.com

通讯作者: 孙祖越, E-mail: sunzy64@163.com

共同第一作者: 郭 隽, E-mail: june_guo@163.com

基于药菌互作的肠道微生物毒理学评价

王俊豪，田　玉，宋　可，谷宇锋，郝海红
（华中农业大学国家兽药残留基准实验室，武汉　430070）

摘要：抗菌药在治疗细菌感染方面发挥着极其重要的作用，但其不合理的使用却造成了动物性食品中的药物残留。药物残留不仅加剧了细菌多重耐药性现象的产生，而且对人类肠道微生物群造成了诸多不利的影响，对人类健康和公共卫生造成了极大地威胁。特别是近年来，肠道微生物群被发现与宿主健康、疾病以及功能代谢具有十分密切的联系。然而由于肠道微生物群组成的多样性和复杂性，截至目前抗菌药与肠道微生物群相互作用对宿主机体健康与肠道代谢的影响仍不清晰。此外，人类食品中抗菌药残留对人体肠道微生物群定植屏障和耐药性的影响也是当前公共卫生关注的焦点，主要表现为肠道稳态被破坏，致病菌过度增殖引发肠道炎症和疾病，同时诱导肠道细菌产生耐药性，这不仅增加了临床用药的消耗，也极大地增加了治疗失败的风险。因此，需要进一步探究抗菌药与肠道微生物群相互作用的潜在机制，并对抗菌药残留在人类肠道中的安全性进行毒理学评估，以确定其在人类食品中的安全性。本文综述了近年来抗菌药对肠道微生物群组成和功能以及作用菌群后对机体多种代谢（脂类，短链脂肪酸，葡萄糖等）的影响，讨论了肠道微生物群代谢药物的方式和作用，并推荐了评估抗菌药残留对肠道微生物毒理学评价的一般步骤，以期全面，系统地评估抗菌药的安全性并确定其微生物可接受日摄入量（microbiological acceptable daily intake，mADI）。

关键词：抗菌药；肠道微生物群；微生物学安全性；毒理学评价

通讯作者：郝海红，E-mail：haihong_hao@aliyun.com

人脐带间充质干细胞裸鼠体内成瘤性试验

候　仁，庞　聪，张同辉，周　文，崔艳君，田义超，周　莉
（湖北天勤生物科技有限公司武汉分公司，武汉　430075）

摘要：目的　采用BALB/c裸鼠经左前肢腋下皮下单次注射接种人脐带间充质干细胞，随后连续观察16周，了解其是否有皮下结节的形成或/和有肿瘤转移的倾向，以确定其对动物是否具有成瘤性，为其它临床前研究和临床研究提供参考。**方法**　选择36只BALB/c裸鼠，按体重随机分为3组，分别为阴性对照组、阳性对照组和受试物组，每组12只，均为雌性。上述各组动物均以0.2 mL/只经左前肢腋下皮下单次注射对应的人胚肺成纤维细胞（阴性对照组）、人宫颈癌细胞（阳性对照组）和人脐带间充质干细胞；除阳性对照组剂量为1×10^6 cells/只外，阴性对照组和受试物组剂量均为1×10^7 cells/只；注射后连续观察16周。试验期间，每天观察动物的一般状况，定期进行成瘤观察、称量体重和摄食量；观察期结束按计划安乐死并解剖动物，解剖时大体观察动物脏器/组织病变、称量脏器重量并计算脏器系数，进行病理切片检查；观察期内，对于注射部位出现直径约为2 cm结节的动物进行安乐死解剖，并按观察期结束要求内容同法操作。**结果**　试验过程中无动物死亡或/和濒死；除阳性对照组部分动物（8/12）因肿瘤体积过大（结节＞2 cm）提前进行安乐死外；其他各组动物均按照计划安乐死。试验期间，受试物组所有动物在D6~D16给药部位陆续出现囊性脓包，质软，游离，至D19~D21陆续恢复；D30~D85给药部位出现白色条状物，少数动物（2/12）在D91恢复正常外，其余动物（10/12）在D86~D92陆续发展为散在白色颗粒/斑点，至观察期末（D112）并未完全消失。上述症状发生在受试物接种局部，发生率为83%，考虑与受试物相关。组织病理学结果发现部分动物（9/12）给药局部可见皮下纤维结缔组织增生/纤维囊肿，并不具备肿瘤的组织病理学形态，亦未见接种细胞增生。综合分析原因可能为受试物制剂局部刺激性导致的组织纤维化。**结论**　在本试验条件下，阴性对照组细胞不具成瘤性的同时阳性对照组细胞具有成瘤性，试验系统可靠、本试验有效；与受试物相关的异常改变仅为接种部位纤维结缔组织增生，其成瘤观察与大体剖检和组织病理学检查的结果一致，且均表明给药部位皮下组

织及各脏器组织均无肿瘤形成及接种细胞转移。提示，BALB/c裸鼠经前肢腋下皮下单次注射1×10^7个人脐带间充质干细胞/只无进行性结节生长，不具成瘤性。

作者简介：候 仁，E-mail：houren@topgenebio.com

通讯作者：周 莉，E-mail：zhouli@topgenebio.com

气液暴露系统对苯甲酸槟榔碱气溶胶的体外细胞毒性的评估

楚 明，胡 浩，卢 禁

（深圳市合元科技有限公司，生命和健康科学实验室，518103）

摘要：目的 传统的咀嚼槟榔果已被证明可诱发口腔粘膜纤维化（OSF），导致口腔细胞炎症从而增加罹患口腔癌的风险。从槟榔中提取的主要成分，槟榔碱表现出一些药理活性，比如抗寄生虫，助消化，治腹泻等。与咀嚼槟榔相比，槟榔碱的肺部吸入给药具有很多优势，比如避免了口嚼，快速吸收，高生物利用度，从而可能减少咀嚼槟榔所引入的口腔癌风险。为评价槟榔碱的体外吸入毒性，我们开发了气溶胶发生装置，结合气溶胶暴露系统（CULTEX®RFC），评价了苯甲酸槟榔碱（ABA）气溶胶的急性体外毒性。**材料和方法** 不同浓度的ABA溶解在载体溶剂PG和VG中，用自主研发的气溶胶发生装置在抽吸模式（55毫升，3秒抽吸和30秒间隔）下雾化苯甲酸槟榔碱雾化液。对比了未稀释和经过过滤空气（1 L/min）稀释的气溶胶在CULTEX®RFC暴露系统中苯甲酸槟榔碱的沉积，及暴露系统中PG/VG的热裂解产物甲醛，乙醛和丙烯醛的生成。测量了稀释和未稀释条件下的气溶胶的颗粒大小分布。利用在气液暴露界面上培养的A549细胞评估苯甲酸槟榔碱（ABA）气溶胶的急性体外毒性。**结果** 优化的暴露时间（换算成雾化器的雾化量）为300口，其空气暴露的细胞活性大于89.2%。不同浓度的ABA在以PG/VG为载体雾化液中对雾化后的气溶胶粒径大小无显著影响。稀释后的气溶胶的颗粒大小显著的比未稀释时的大。稀释后的气溶胶在暴露腔中显示出不稳定的ABA沉积及波动的甲醛和丙烯醛的生成，导致不稳定的细胞活性。而未稀释的气溶胶中ABA以剂量依赖的方式沉积在暴露腔中，甲醛，乙醛和丙烯醛的生成也呈现剂量依赖的趋势，随后A549细胞的形态发生改变，从而导致剂量依赖的细胞毒性。**结论** 未稀释的气溶胶，ABA及PG/VG热裂解产物甲醛，乙醛，丙烯醛以剂量依赖的形式沉积在暴露腔体中，改变了A549细胞形态，导致了剂量依赖的细胞毒性。结果显示，未稀释的暴露系统更适合于评估ABA气溶胶的体外吸入毒性。

关键词：CULTEX®RFC气液暴露；体外细胞毒性；A549细胞；苯甲酸槟榔碱；未稀释暴露；气溶胶；PG/VG；粒径；肺部吸入给药；雾化

通讯作者：楚 明，E-mail：chuming@chinafirstunion.com；胡 浩，E-mail：huhao@chinafirstunion.com；卢 禁，E-mail：13842062044@163.com

苯并芘致癌的表观遗传学机制

胡玉霞，杜晓鹂，曹晓东，李 君，张 谦，肖云峰，王跃武，刘 静，张 微，王 芳，邢煜舒

（内蒙古医科大学，内蒙古呼和浩特市土默特左旗内蒙古医科大学）

摘要：苯并芘[benzo(a) pyrene，BaP]是多环芳烃类化合物代表性的致癌物，广泛存在于人们的生产和生活环境中。流行病学调查提示BaP与肺癌、膀胱癌、皮肤癌和乳腺癌等的发生密切相关。目前大量研究证实表观遗传学的改变与肿瘤发生密切相关。表观遗传学被定义为不依赖于DNA序列变化的基因活性的可遗传改变，表观遗传学机制主要包括：DNA甲基化异常、组蛋白修饰、非编码RNA、染色质重塑等。

BaP在体内经过代谢转化形成BPDE，该物质与DNA亲核位点鸟嘌呤的环胺基端共价结合，形成BPDE-DNA加合物，引起DNA碱基突变，从而激活相关癌基因引起细胞的恶性转化和肿瘤发生。近来研究发

现BaP可改变DNA甲基转移酶活性，降低基因组总体DNA甲基化水平，这种异常表观遗传模式会导致基因组的不稳定，进而引发广泛的编码蛋白的表达异常。研究发现基因组CpG位点的5-甲基化胞嘧啶是BaP的优先结合位点，其可能是苯并芘导致肺癌发生的一个目标靶点。诸多研究表明miRNA在BaP致癌中发挥重要作用：研究发现BaP可诱导miRNA（miR-25、miR-15a、miR-16、miR-92、miR-125b、miR-141和miR-200a）过度表达，而这些miRNA在多发性骨髓瘤细胞中表达上调。有研究报道，乳腺癌MCF-7细胞暴露BaP后可出现广泛的组蛋白H3K9乙酰化；BaP暴露可改变组蛋白去乙酰化酶的活性。BaP作用HeLa细胞后可诱导H3K4甲基化和H3K9乙酰化。BaP可诱导组蛋白家族成员H2AX c-端139位丝氨酸残基被磷脂酰肌醇3-激酶（P13K）样家族成员磷酸化形成γ-H2Ax增加，且存在时间剂量依赖关系，γH2Ax可以募集其他DNA修复蛋白到损伤位点，形成焦点（foci）结构，共同完成DNA修复过程。研究表明对大鼠侧脑室重复注射BaP染毒，观察海马病理学改变，发现BaP可增加大鼠海马细胞染色质边集，进一步证明BaP可影响染色质的结构。

BaP作为国际公认的Ⅰ类致癌物，其致癌机制仍不明确。由于肿瘤的发生是多步骤、多病因的，其发生发展过程中仍有许多环节尚不明确。DNA甲基化及组蛋白修饰等多种表观遗传学改变是可逆的，并且常发生在癌症早期，使早期诊断和治疗癌症成为可能。随着表观遗传学研究的深入，结合精准医学的概念，深入研究BaP诱导癌症的表观遗传学作用机制以及相关分子标志物，可为癌症的预防、早期诊断和有效治疗提供全新的思路。

通讯作者：胡玉霞，E-mail：15648116658@163.com

LW2047注射液对SD大鼠一般行为活动的影响试验研究

黄雪映，张文强，蒙飞彪，邓应华，郭健敏

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990）

摘要：目的 为确保LW2047注射液使用的安全性，根据《药物安全药理学研究技术指导原则》进行LW2047注射液对大鼠一般行为活动的影响试验研究，拟为LW2047注射液的临床研究提供安全依据。**方法** 根据SD大鼠的体重、性别及FOB观察结果随机均衡分为6组，即阴性对照组，LW2047注射液低、中、高（1.8、3.6、7.2 U/kg）剂量组，LW2047注射液R低、高（3.6、7.2 U/kg）剂量组，每组10只，雌雄各半；单次皮下注射给药。观察给药后30 min、1 h、2 h、4 h、24 h对大鼠一般行为活动、自主神经功能、体温以及非自主性运动、神经肌肉功能、神经系统兴奋性、感觉运动功能的影响，并根据FOB观察中产生的连续性资料、等级性资料及描述性资料按观察指标分类转换评分。**结果** LW2047注射液高剂量给药后约2 h及LW2047注射液R高剂量给药后约4 h各有1例动物出现活动减少的现象，推断与给药后引起的低血糖反应有关，为药物药效作用的放大。与阴性对照组相比，LW2047注射液低、中、高剂量组、LW2047注射液R低、高剂量组于给药前和给药后30 min、1 h、2 h、4 h、24 h的自发活动转换评分、自主神经功能转换评分、非自主性运动转换评分、神经肌肉功能转换评分、神经系统兴奋性转换评分、感觉运动功能转换评分以及体温均未见明显差异。**结论** 在本专题研究条件下，LW2047注射液在1.8、3.6、7.2 U/kg剂量下给药后对SD大鼠自发活动、自主神经功能、非自主性运动、神经肌肉功能、神经系统兴奋性、感觉运动功能及体温均未见有毒理学意义的影响。

关键词：大鼠；安全药理；一般行为活动

基金项目：广州市基础与应用基础研究项目（202002030156）；广州市基础与应用基础研究项目（202002030249）

作者简介：黄雪映，科研人员，主要从事安全药理和毒理学研究，E-mail：haungxueying@lewwin.com.cn

通讯作者：郭健敏，E-mail：guojianmin@lewwin.com.cn

LW2206-01对清醒食蟹猴呼吸及循环系统的影响试验研究

黄雪映，张文强，蒙飞彪，邓应华，郭健敏
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，
国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价
与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990）

摘要：目的 LW2206-01在临床上拟用于搭配体外循环治疗仪，通过引出患者血液实现MSC体外治疗。本研究目的在于通过对清醒食蟹猴单次静脉注射给予LW2206-01，评价其对呼吸及循环系统的影响，为LW2206-01的临床应用提供参考。**方法** 根据体重和性别将食蟹猴随机均衡分为阴性对照组、溶媒对照组、LW2206-01组（20 mL/kg），每组6例动物，雌雄各半；动物穿戴好遥测设备且呼吸校正完毕后，按设定的剂量单次静脉注射给药。监测给药后30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h时间点动物的Ⅱ导联心电、呼吸、体温、无创血压等生理数据，并进行统计分析，每个时间点的数据为5 min内数据平均值。**结果** 在本试验中，各试验组动物给药前、给药后临床观察均未见异常；LW2206-01对清醒食蟹猴给药前、给药后30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h时间点的收缩压、舒张压、平均压、呼吸频率、心率、潮气量、吸气与呼气持续时间比、体温、R-R间期、P-R间期、QT间期、QRS时限、ST段平均电压值、T波最大电压值、校正的QT间期（QTcF）等检测指标均未见具有毒理学意义的改变。**结论** 在本专题研究条件下，LW2206-01在20 mL/kg剂量下单次静脉注射给药后对清醒食蟹猴呼吸及循环系统未见有毒理学意义的影响。

关键词：食蟹猴；呼吸及循环系统；毒理学

基金项目：广州市基础与应用基础研究项目（202002030156）；广州市基础与应用基础研究项目（202002030249）

作者简介：黄雪映，科研人员，主要从事安全药理和毒理学研究，E-mail：haungxueying@lewwin.com.cn

通讯作者：郭健敏，E-mail：guojianmin@lewwin.com.cn

外泌体非临床安全性评价设计的一般考虑

贾玉玲，胡一珍，傅 鹏
（国科赛赋（深圳）新药研发科技有限公司）

摘要：外泌体是由细胞分泌的直径约为30～150 nm的囊泡，属于细胞外囊泡的一种，可以包含细胞的许多成分，包括DNA、RNA、脂质、代谢物以及胞质和细胞表面蛋白。因其可反应出亲本细胞的大部分生物学效应，被认为是潜在的治疗药物。但外泌体的非临床安全性评价研究还没有特定的指导原则，在进行非临床安全性评价试验设计时需参考ICH M3（R2）、ICH S6（R1）和ICH S9等ICH相关指导原则，以及细胞和基因治疗产品相关指导原则，并按照“Product by Product”的原则进行试验设计。现将非临床安全性评价中拟开展的试验类型和试验设计时一般关注点进行简述：

1、单次和多次给药毒性试验中，毒性指标的检测时间点和检测频率要根据外泌体在不同组织器官中的分布和持续情况设计，必要时可考虑适当延长恢复期或设置多个恢复期观察的时间点；

2、若基因改造的细胞分泌的外泌体装载了重组表达的DNA或RNA等需开展遗传毒性试验，如细菌的回复突变试验（Ames试验）、哺乳动物细胞的染色体畸变试验和体内试验（通常在小鼠身上进行微核试验）；

3、致癌性试验包括在转基因模型中进行的短期研究（6个月）和其他长期研究；

4、生殖和发育毒性试验，即对雌性和雄性生育能力、胚胎-胎仔发育的影响，如果考虑到儿童使用，则应开展幼龄动物的毒性研究，需重点关注外泌体在生殖系统的分布和蓄积情况；

5、免疫原性和免疫毒性试验：外泌体膜蛋白的基因修饰后可能会增加免疫原性的风险，另外外泌体中复杂的组分（如细胞表面蛋白）也可能导致机体过敏反应、细胞因子释放等免疫毒性风险；常见方法是通过

评估多次给药毒性研究中的免疫反应参数来评估；

6、局部毒性试验，根据临床拟用途径在可能接触到的部位开展；

7、安全药理试验：外泌体兼具纳米药物特点，可能容易通过多个生物屏障，从而可能增加中枢神经毒性风险。

通讯作者：傅　鹏，E-mail：fupeng@safeglp.com

大鼠重复静脉注射人脐带间充质干细胞的安全性研究

贾远源，姜海娇，孔晟宇，秦　雯，于　娜，李俊博，刘兆泉，赵毛毛，常　宁，姚宝玉，江田景
（沈阳沈化院测试技术有限公司）

摘要：目的　观察重复给予人脐带间充质干细胞对SD大鼠产生的毒性反应。**材料和方法**　人脐带间充质干细胞进行细菌、真菌和支原体检测，细胞形态学鉴定，细胞成活率检测，成骨、成脂和成软骨诱导分化鉴定，细胞表面抗原CD34、CD44、CD45、CD73、CD105检测。合格后，将其重复经尾静脉注射给予SPF级SD大鼠，共72只，按体重随机分为4组，分别为人脐带间充质干细胞低、中和高剂量组以及阴性对照组。阴性对照组和人脐带间充质干细胞高剂量组24只，低和中剂量组12只，雌雄各半。低、中和高剂量组给药量分别为1、3和6×10^6个/只，阴性对照组给予同体积的0.9% NaCl注射液。每隔3天给药1次，共给药5次，恢复期14天。试验期间，进行一般临床症状和注射部位刺激性反应观察、详细症状观察、眼科检查、摄食量和体重称量。给药期末及恢复期末进行血常规、血凝、血清生化和组织病理学检查，特别关注免疫器官重量的变化及毒性反应；检测CD^{3+}、CD^{4+}和CD^{8+}T淋巴细胞百分含量，计算CD^{4+}与CD^{8+}T淋巴细胞比值。**结果**　人脐带间充质干细胞未对SD大鼠的CD^{3+}T淋巴细胞百分含量以及CD^{4+}/CD^{8+}T淋巴细胞比值产生影响；未对动物体重、体重增重及摄食产生影响；眼科检查和症状观察均未见异常，注射局部未见刺激性反应；血液学、血清生化、血凝、免疫器官重量、免疫器官检查均未见人脐带间充质干细胞相关毒性。组织病理学检查发现人脐带间充质干细胞高剂量组可引起雌雄性大鼠肺脏异物肉芽肿，恢复期未见恢复。**结论**　根据本试验结果，以6×10^6个/只剂量的人脐带间充质干细胞重复给予SD大鼠，可对雌雄性大鼠的肺脏产生一定毒性，且不可恢复；以3×10^6个/只剂量的人脐带间充质干细胞重复给予SD大鼠，未见任何毒性反应。根据以上结果，认为人脐带间充质干细胞对雌雄性SD大鼠的NOAEL值为：雄性大鼠：3×10^6个/只；雌性大鼠：3×10^6个/只。

关键词：人脐带间充质干细胞；毒性；大鼠

基金项目：中央引导地方科技发展资金（区域创新体系建设）（2022JH6/100400056）

通讯作者：姚宝玉，E-mail：yaobaoyu@sinochem.com；江田景，E-mail：jiangtianjing@sinochem.com

国内首个CiPA研究支持药物L21心脏毒性安全性评价

李晓瑜[1]，王功新[2]，郝国梁[2,3,4]
（1. 重庆大学；2. 河南斯高电生理研究院有限公司；3. 新乡医学院第一临床学院；
4. 牛津大学生理解剖与基因系）

摘要：目的　L21为国外Merck公司开发用于治疗内分泌疾病的激素释放受体小分子激动剂，目前处于国外临床II期开发阶段，其同类的药物均出现了心电监测QT间期延长的临床不良事件。基于ICH-S7的安全药理研究发现，L21的hERG通道具有阻滞效应（IC_{50}=4.2 μmol·L^{-1}），在4～40 mg/kg剂量下比格犬安全药理实验中出现6～11%的QTc延长。为充分评估L21及其优化前药L23的心脏风险（尖端扭转室速Tdp导致的恶性心率失常）。本研究采取国内首套CiPA（体外致心率失常综合风险评估）平台，作为IND申报与豁免临床TQT研究的关键支持性依据。**材料方法**　①膜片钳检测（Molecular devices，USA）：首先在稳转表

达hERG、Nav1.5、Kv4.3、Cav1.2、KCNQ1/E1、Kir2.1的细胞系检测L21对各通道电流作用，并结和FDA推荐的Ord人心肌计算模型进行预测心脏电生理。此外，在iPSC-CMs细胞检测L21对动作电位的影响。②多通道电标测（MappingLab，UK）实验：在离体心脏进行场电位及模拟ECG Ⅱ导联记录。③高分辨荧光标测（MappingLab，UK）实验：记录动作电位信号，分析动作电位时程及传导变化。④细胞层水平微电极阵列MEA（MappingLab，UK）试验：检测各组对iPSC-CMs细胞FPD影响。**结果** ①L21对hERG电流抑制的IC_{50}大于10 μmol·L^{-1}，对Nav1.5-peak电流、Kv4.3电流、Cav1.2电流、Nav1.5-late电流、KCNQ1/E1电流、Kir2.1电流抑制的IC_{50}均大于30 μmol·L^{-1}。②L21 QT有轻度延长作用10%，但对QTc、FPD及FPDc的影响均小于10%。③L21延长动作电位时程10%，但心室有效不应期延长15%，vERP/APD增加，提示该浓度下TdP风险较小。④不同浓度的L21对APA和RMP的影响均无显著性差异，对APD50和APD90的影响均小于5%。⑤L21对iPSC-CMs自发节律下的RR间期略有缩短，对FPD及FPDcf有一定的延长，但均无显著性统计学差异，均未提示有致TdP风险，对iPSC-CMs相关电生理无影响。**结论** ICHS7/E14过分依赖hERG通道及密集心电图检测，而非Tdp的特异性指标，导致很多有价值的药物在临床前开发阶段过早被放弃（如hERG及QT双阳性）；因此ICH的CiPA工作组呼吁综合性全面评估心率失常风险。本研究为国内首个综合利用CiPA技术平台的药物非临床全面心脏安全性评估，充分证明了L21在临床导致Tdp的整体风险较低。目前此药物已获得国家药监局的1.1类新药IND临床批件（无心脏安全性方面的发补要求），同时完成的临床I期动态心电图监测也进一步证明L21的安全性。本研究充分开发了CiPA研究平台（膜片钳技术、荧光标测技术及多通道电生理检测技术等），显示其在药物研发领域有着重要的应用价值，并日益获得学术界，工业界及审评机构的广泛认可。

关键字： CiPA 心脏风险；药物安全性；光电标测

抗新冠病毒鼻喷雾剂SD大鼠重复滴鼻给药2周毒性研究

林可可，张同辉，周 文，崔艳君，庞 聪，苏 敏，田义超，周 莉
（湖北天勤生物科技有限公司武汉分公司，武汉 430075）

摘要：目的 本试验通过重复滴鼻给予SD大鼠抗新冠病毒鼻喷雾剂2周，观察其可能引起的毒性反应，了解可能潜在的毒性靶器官，判断无毒反应的安全剂量，同时评价毒代动力学特征，为临床用药风险评估提供参考信息。**方法** 主试验组设置SPF级SD大鼠150只，按体重随机分为5组，分别为阴性对照组（氯化钠注射液）、辅料对照组（鼻喷雾剂辅料溶液）及受试物低（6.7±0.2 mg/kg）、中（10.1±0.3 mg/kg）和高（13.4±0.3 mg/kg）剂量组，每组30只；同时伴随毒代卫星低、中和高剂量组，每组10只，均雌雄各半。每天滴鼻给药1次，连续给药14天，末次给药结束后恢复14天；检测指标包括：一般症状观察、体重、摄食量、眼科、血液学、凝血、血液生化、电解质、尿液、脏器重量和系数、毒代参数、大体剖检及组织病理学检查等。**结果** 各剂量组大鼠体重、摄食量、眼科、血液学、凝血、血生化、电解质、尿液和脏器重量及系数均未见受试物相关的明显异常；主要毒性表现为：辅料对照组、受试物低、中和高剂量组动物呼吸道局部刺激反应（流涕、流涎、喷嚏和呼吸音重）发生例数和频率明显增加，上述症状辅料对照和受试物各剂量组之间无明显差异，停药后很快恢复；辅料对照组、低、中及高剂量组动物鼻腔可见轻微或轻度急性炎症反应，表现为分泌物增多，以中性粒细胞及浆液性渗出为主，呼吸上皮轻微或轻度混合型炎细胞/单个核细胞浸润，辅料对照组和受试物各剂量组病变程度及病变例数无明显差别；受试物中和高剂量组雌性动物可见鼻粘膜轻微或轻度杯状细胞肥大/增多，高剂量组雌性动物病变例数和病变程度更明显；恢复2周上述鼻腔病变可完全恢复。受试物首末次给药AUC_{0-t}增加的比例低于剂量增加的比例，总体无明显性别差异，且在体内无蓄积。**结论** 在本试验条件下，SD大鼠滴鼻给药2周给予抗新冠病毒鼻喷雾剂的未见不良反应的剂量水平（NOAEL）为10.1±0.3 mg/kg（中剂量），为药效等效剂量的10.1±0.3倍，临床拟用剂量的306.9±7.9倍。

作者简介： 林可可，E-mail：linkeke@topgenebio.com
通讯作者： 周 莉，E-mail：zhouli@topgenebio.com

阿克曼氏菌预防抗生素相关性腹泻的分子机制研究

刘慎夤，倪善红，任怡霖，张　展
（南京医科大学公共卫生学院，现代毒理学教育部重点实验室）

摘要：目的　抗生素滥用是当今公共卫生面临和亟待解决的重大问题之一，引发了细菌耐药、生态污染、抗生素相关性腹泻（antibiotic-associated diarrhea，AAD）等诸多不良反应。本文旨在揭示不同抗生素诱导的腹泻模型小鼠肠道菌群结构功能及机体代谢变化情况；探讨灭活阿克曼氏菌（Akkermansia muciniphila，Akk）及其外膜蛋白Amuc_1100对AAD的预防作用及机制，以此为灭活Akk对AAD的预防性治疗提供参考。**材料和方法**　采用氨苄青霉素（11.2 g/kg·BW）和盐酸林可霉素（3 g/kg·BW）处理雄性Balb/c小鼠构建AAD模型。用灭活Akk（1.5×10^8 CFU）、Amuc_1100（3 μg）预防性给药两周。观察小鼠体重变化及腹泻情况；评估小鼠脏器指数及结肠病理改变；通过实时荧光定量PCR检测小鼠肠道中炎症因子、肠道屏障、水电解质转运等基因的表达；运用16S rRNA测序技术进行肠道菌群分析，描述小鼠肠道菌群特征；基于代谢组学分析，绘制血清代谢图谱。**结果**　两种抗生素诱导的AAD小鼠均出现了精神萎靡、反应迟钝以及腹泻症状，而灭活Akk或Amuc_1100可显著改善AAD小鼠腹泻状态评分（$P<0.001$）和结肠损伤。在盐酸林可霉素诱导的AAD小鼠肠道中，TNFα、IL1β和IL6表达显著上调（$P<0.01$），灭活Akk或Amuc_1100则通过下调TNFα、IFNγ、IL1β和IL6的表达来抑制肠道炎症；Amuc_1100还显著逆转了氨苄青霉素诱导的AAD小鼠结肠中IL10的下调（$P<0.05$）。在盐酸林可霉素诱导的AAD小鼠肠道中ZO-1、OCLN、CLDN4和Muc2的表达显著下调，而灭活Akk或Amuc_1100通过上调这些基因的表达以此恢复肠道屏障功能。灭活Akk或Amuc_1100还通过上调GPR109A、SLC5A8、AQP4、SLC26A3和NHE3来增强水和电解质的吸收。OPLS-DA分析显示，各组之间的血清代谢组存在明显差异，盐酸林可霉素和氨苄青霉素诱导的AAD小鼠中分别鉴定出39种和18种不同的差异代谢产物。AAD小鼠肠道菌群以变形菌门为主，未观察到灭活Akk或Amuc_1100对肠道菌群结构存在显著影响，但它们能显著降低枸橼酸杆菌的丰度（$P<0.001$）。通过PICRUSt分析发现，灭活Akk或Amuc_1100也重塑了肠道菌群的代谢功能，柠檬酸循环、生物素代谢和RIG-I样受体信号等通路显著富集。**结论**　灭活Akk及其外膜蛋白Amuc_1100可调节AAD小鼠的肠道菌群和血清代谢谱，显著改善其腹泻症状及肠道炎症，提示灭活Akk是AAD预防潜在的干预靶点。

关键词：抗生素；阿克曼氏菌；炎症反应；肠道屏障；代谢组学

作者简介：刘慎夤，E-mail：syin_liu@stu.njmu.edu.cn
通讯作者：张　展，E-mail：zhanzhang@njmu.edu.cn

LW2227对清醒食蟹猴心血管系统的影响试验研究

蒙飞彪[1]，张文强[1]，邓应华[1]，黄雪映[1]，郭健敏[1,2]
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广州　510990；2. 广州湾区生物医药研究院，广州　510990）

摘要：目的　考察LW2227对清醒食蟹猴呼吸及心血管系统的影响，为其它安全性试验或临床试验提供基础依据。**方法**　选用经适应性观察符合要求的食蟹猴24例，按性别和体重均衡随机分为4组，阴性对照组（A组）、LW2227低剂量组（B组）、LW2227中剂量组（C组）和LW2227高剂量组（D组），每组6例动物，雌雄各半。设定LW2227低、中、高剂量分别为20 mg/kg、60 mg/kg、180 mg/kg，动物采用静脉注射给药的方式，单日给药1次，给药容积为10 mL/kg，给药速率控制在20 mL/kg/h，阴性对照组给予相应的0.9%氯化钠注射液。使用EMKA无创动物生理遥测仪器监测动物给药前、给药后0.5 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h、48 h、72 h、120 h、168 h时间点动物的Ⅱ导联心电、呼吸、体温、无创血压等生理数据进行统计分析。**结果**　①给

药前各组动物临床观察均未见异常，动物的血压、呼吸、体温、心电各项指标数值相近，未见明显差异。②给药后各组动物临床观察均未见异常；LW2227低、中、高剂量组对清醒食蟹猴给药后0.5 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h、48 h、72 h、120 h、168 h时间点的收缩压、舒张压、平均压、呼吸频率、心率、潮气量、吸气与呼气持续时间比、体温、PR间期、QT间期、QRS时程、ST段平均电压值、T波最大电压值、校正的QT间期（QTcF）等检测指标均未见具有毒理学意义的影响。**结论** 在本试验研究条件下，受试物LW2227在剂量为20 mg/kg、60 mg/kg、180 mg/kg下对清醒食蟹猴呼吸及心血管系统未见有毒理学意义的影响。

关键词： 食蟹猴；心血管系统；EMKA无创动物生理遥测技术

作者简介： 蒙飞彪，专题负责人，主要从事安全药理学试验研究，E-mail：mengfeibiao@lewwin.com.cn

通讯作者： 郭健敏，E-mail：guojianmin@lewwin.com.cn

临床前眼科药效和安评注意点-眼内炎

孟 永，钱仪敏，苏 航，李 华

（益诺思生物技术南通有限公司，上海益诺思生物技术股份有限公司）

摘要： 近年来伴随着眼科显微手术技术而迅猛发展的生物药，眼科给药方式从玻璃体腔到视网膜下注射，再到最新的脉络膜上腔给药，每次都具有里程碑意义。在大幅降低了患者致盲率的同时，监察机构也注意到其风险的存在，在使用Brolucizumab后观察到眼内炎症发生率增加，前不久FDA因眼内炎症发生率高而拒绝了Abicipar pegol，可见眼内炎已成为眼科临床前安评的一票否决的关键因素。

眼内炎可分为感染性眼内炎、非感染性眼内炎，其中非感染性眼内炎又可以分为内源性和外源性，药物引起的眼内炎属于外源性性眼内炎。在临床眼科非感染性眼内炎并不陌生，早在上世纪90年代就有一个专属名称毒性眼前节综合征（Toxic anterior segment syndrome TASS），其定义由非感染物质进入眼前节导致术后无菌性炎症，造成眼内组织的毒性损伤。由于近年来抗体类药物经玻璃体腔给药，术后发生无菌性眼内炎，如今的毒性眼前节综合征（TASS）已经不在局限在眼前节，玻璃体腔均可发生TASS。根据TASS的发病时间可以分为急性和迟发性。TASS发展常常比较迅猛（12～48小时以内），近年来随着AAV基因治疗和抗体类药物增多，迟发性TASS的报道逐渐增多。对所有临床前药研人员和眼科医师来说都很有必要认识和了解TASS。随着眼科手术技术将球内引入新的物质和药物，这些都可能增加TASS的发生。TASS的组织病理学特征眼组织的急性炎症反应-细胞凋亡、坏死和细胞外组织破坏。流行病学对TASS病因调查发现，TASS发生的主要原因有：手术器械污染、眼内注射物和患者个体因素。手术器械污染造成眼内炎在临床前研究尤为严重，其包括术中污染、术后显微器械清洗不净、含酶去污剂、高压灭活温度低、内毒素、金属离子、眼内灌注液、硅化注射器等因素；眼内注射物包括：药物成分、内毒素、杂质、防腐剂、PH值、渗透压、自由基、重金属等；患者个体因素也是造成眼内炎症反应易感因素之一，2型糖尿病、慢性缺血性心脏病、高血压、高脂血症，慢肾衰及预存抗体患者。TASS尚需与感染性眼内炎症进行鉴别诊断，通过病史、发作时间、眼部特征可以进行鉴别，对于迟发型毒性反应与感染性眼内炎需要眼内液细菌培养予以鉴别诊断。如何预防眼内炎无论在临床还是临床前都是重中之重，除了合格的眼内注射物，我们尚需要术前、术中、术后全流程跟进：术前筛查：预存抗体（ADA）、排除眼科禁忌症（泪囊炎、睑缘炎、结膜炎、泪道阻塞、角膜炎）、眼科专科检查（眼前节、眼后节）、局部预防感染措施、系统免疫抑制）；术中：手术室消毒、手术器械消毒、洗手消毒、手术野消毒贴膜铺巾、结膜囊冲洗、手术穿刺口（微创、新/旧刀、位置、切口结构、大小、长短、隧道长度、切口自闭\渗漏\开放）、严格显微手术无菌操作、专业的显微手术操作技巧（反复穿刺器械频繁进出球内、术中暴力牵拉眼球、手术时间、术后眼压…）、术中耗材（BSS/粘弹剂/针/管道/药）、硅化注射器正确使用（对温度、冻融、运输、震动、光线的控制）、玻切机/超乳机正确操作/管道连接；术后预防手术麻醉角膜炎、干眼症、眼压监测及术后常规防感染3天措施。更加重要的是在眼内给药的手术过程中，需要整个手术团队严格执行无菌操作、把控每一个细节，唯有如此才能最大程度的控制眼内炎症的发生。

通讯作者： 李 华，E-mail：hli@innostar.cn

OAB对Beagle犬心血管、呼吸系统的影响

彭冬冬，陈相池，文　贤，王小青，张宗利，刘学武
（湖南普瑞玛药物研究中心有限公司，湖南 长沙　410331）

摘要：目的　OAB临床拟用于阿尔茨海默病（Alzheimer´sdisease，AD）的治疗。本试验目的在于观察OAB经口灌胃给药对Beagle犬心血管、呼吸系统的影响，为OAB临床试验提供参考；同时观察阳性药盐酸异丙肾上腺素注射液对清醒犬心血管、呼吸系统的心电、血压、呼吸的影响，以评价Physiotel digital遥测系统的可靠性。**方法**　选用已植入T11R-F4型血压植入子的Beagle犬6只，雌雄各半，采用拉丁方设计，设空白对照组、OAB干混悬剂低、中、高剂量组（10.4、26.0、187 mg/kg，分别相当于临床等效剂量的2、5、36倍）及盐酸异丙肾上腺素注射液组（1 mg/kg），空白对照组、OAB低、中、高剂量组按10 mL/kg经口灌胃给药，盐酸异丙肾上腺素注射液组按2 mL/kg皮下注射，采用Physiotel digital遥测系统采集动物给药前基础值及给药后5 min、15 min、30 min、1 h、1.5 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h、24 h内的心电、血压及呼吸参数。**结果**　OAB低、中、高剂量组动物心率、QT间期、QTcf间期、PR间期、T波等心电指标在给药后与空白对照组比较虽有统计学差异，但给药后心电指标的变化与给药时间及剂量无明显相关性。OAB低、中、高剂量组动物血压、呼吸指标与空白对照组比较虽在给药前后时间点有一定统计学差异，但各给药组各时间点指标与给药前变化不大，且与给药时间及剂量无明显相关性，无毒理学意义。Beagle犬经皮下注射盐酸异丙肾上腺素注射液，给药后1 h、1.5 h心率有明显加快的趋势，给药后5 min～6 h的S-T段均明显抬高，给药后5 min～12 h血压（舒张压、收缩压、平均压）均明显降低，给药24 h内最大吸气流量（PIF）、最大呼气流量（PEF）均明显下降，提示盐酸异丙肾上腺素注射液能引起Beagle犬心率加快、S-T段抬高，血压降低，呼吸通气量下降诱发呼吸急促。**结论**　在本试验条件下，OAB低、中、高剂量（10.4、26.0、187 mg/kg，分别相当于临床等效剂量的2、5、36倍）对心血管及呼吸系统均无明显影响；Physiotel digital遥测系统可灵敏检测到心血管、呼吸系统的相关变化，可用于清醒动物心血管呼吸系统安全药理学研究。

关键词：Beagle犬；OAB；心血管；呼吸系统；系统验证

作者简介：彭冬冬，E-mail：pengdongdong@hnse.org
通讯作者：刘学武，E-mail：liuxuewu@hnse.org

MicroRNAs在药物性肾损伤评价中的意义

陈佳靓，甄滢滢，舒　畅，陈恒清，姚广涛
（上海中医药大学药物安全评价研究中心，上海　201203）

摘要：目的　通过建立庆大霉素、顺铂和环孢素A诱导的大鼠肾损伤模型，采用qRT-PCR检测，结合ROC曲线分析及Logistic回归方法，考察相关miRNAs在模型动物肾脏组织和外周血中的表达量及变化相关性，深入探究外周血miRNAs用于评价药物性肾损伤的可行性。**方法**　1. 采用miRwalk在线预测软件对筛选出的miRNAs进行靶基因预测和Pathway分析，明确与急性肾损伤密切相关的miRNAs进行后续研究。2. 建立庆大霉素、顺铂和环孢素A诱导的大鼠肾损伤模型，检测不同取样时间点血清、尿液样本及血脂含量，并对各处理时间点的肾脏样本切片进行HE染色，光镜下观察肾脏组织病理学改变。3. 通过qRT-PCR方法检测不同时间点动物模型肾脏和外周血miRNAs的表达量，并且采用双变量相关分析方法评价miRNAs在模型动物肾脏和外周血中的变化相关性。4. 采用ROC曲线分析外周血BUN、CR及miRNAs对不同毒性机制药物性肾损伤模型的检验价值；通过Logistic回归模型，结合ROC曲线，分析比较miRNAs联合传统肾功能指标的检验效能，筛选可用于评价药物性肾损伤的潜在生物标志物。**结果**　1. 根据文献检索结果结合生物信息学分析，初步选择miRNA-21、miRNA-192、miRNA-210及miRNA-34a作为急性肾损伤候选miRNAs生物标志物进行后续研究。2. miRNAs作为生物标志物评价药物性肾损伤的可行性研究；生

化指标及病理学检测结果显示，庆大霉素、顺铂和环孢素A可诱导大鼠肾损伤模型，且随时间延长，损伤程度加重；miRNA-21和miRNA-34a在三个药物性肾损伤模型的肾脏组织和血浆中的表达均不同程度上调。3. miRNA-21和miRNA-34a在药物性肾损伤肾脏组织与相应血浆中的表达水平具有显著的相关性，血浆miRNAs表达水平变化可反映肾组织中miRNAs的表达水平变化情况，提示血浆miRNA-21和miRNA-34a有可能成为评价药物性肾损伤的潜在生物标志物。4. Logistic回归及ROC曲线分析表明，不同药物性肾损伤模型外周血miRNA-21、miRNA-34a的ROC-AUC均高于BUN、CR；miRNA-21、miRNA-34a与BUN、CR联合检测可以更好地评价药物性肾损伤。**结论** 外周血miRNA-21和miRNA-34a具有作为跨组织评价药物性肾损伤的潜在生物标志物的潜力。此外，miRNA-21、miRNA-34a与BUN、CR联合检测对诊断药物性肾损伤具有更好的敏感性和特异性。综上，miRNAs在评价药物性肾损伤中具有明确的可行性和深入研究价值。

关键词： miRNAs；Logistic回归；ROC曲线；药物性肾损伤；评价

作者简介： 陈佳靓，工程师，主要从事中药新药及药理毒理学研究，E-mail：409786396@qq.com

通讯作者： 姚广涛，E-mail：yaoguangtao1969@126.com

ZY002中药复方凝胶家兔阴道重复给药13周毒性试验

宋清清，刘 晶

（江苏省药物研究所有限公司）

摘要：目的 ZY002中药复方凝胶，临床拟用为阴道给药，治疗妇科宫颈高危HPV。按《药物重复给药毒性研究技术指导原则》要求，本实验通过家兔连续13周阴道给予受试物ZY002中药复方凝胶，检测其潜在的毒性，并通过4周恢复期观察，预测可能引起的临床不良反应，包括不良反应的性质、程度、量效和时效关系、可逆性等；提示临床试验中需重点监测的指标或毒副反应；为临床试验中解毒或解救措施提供参考。**材料** ZY002（临床浓度）、ZY002（2.5倍临床浓度）、ZY002（5倍临床浓度）、ZY002（空白样品）、新西兰兔。**方法** 按照《药物重复给药毒性试验技术指导原则》以及相关指导原则要求，分别选择临床浓度，2.5倍临床浓度，及5倍临床浓度的ZY002中药复方凝胶进行给药，给药体积为1 ml/只，相当与临床等效剂量的3.3，7.5，15.7倍（人平均体重按70kg，兔平均体重按2.5kg计）。设空白对照组，给予等体积的空白对照ZY002（空白样品）。每天1次，阴道内推注，连续91天。试验过程中观察并记录动物行为、体征表现；每周称体重、称摄食量一次；给药末期和恢复期各进行一次尿液检测；给药末期、恢复期结束分别麻醉后腹主动脉放血处死各组10只、5只动物，作血液、血液生化、血凝和电解质指标测定，系统解剖并称脏器重量，计算脏器系数，取脏器组织进行病理学检查。**结果** 各组动物在整个试验期间均未出现死亡。各组兔一般状况良好，行为活动、粪便性状等均未见与给予受试物相关的毒性反应。体重结果显示，各剂量组兔体重在给药和恢复期间增长正常。各剂量水平的受试物对动物摄食量均无明显影响。临床病理学结果显示受试动物血液学、血液生化学、凝血、电解质和尿液等各项指标均未发现与给药明显相关的异常变化。解剖病理学结果显示：各脏器重量及系数未发现与给予受试物明显相关的异常变化，大体观察及显微镜下观察亦未发现与给予受试物相关的病理改变。**结论** 综上所述，在本试验条件下，每天给药1次，连续91天阴道给予临床浓度，2.5倍临床浓度，及5倍临床浓度的ZY002中药复方凝胶，停药恢复4周。各剂量组兔一般状态、体重及摄食量、血液学、血生化、尿常规、脏器系数及组织病理学检查均未见与受试物相关的毒性反应。

关键词： ZY002；长期毒性试验；无毒反应剂量

作者简介： 宋清清，E-mail：songqingqing@jsglp.net

通讯作者： 刘 晶，E-mail：liujing@jsglp.net

幼龄大鼠给予芩暴红止咳口服液的非临床安全评价方法探索

苏　萍，杨依霏，何　隽，张海静，王丽芳，夏　冰，赵春晖，宫　平，刘　婷
（中国中医科学院中药研究所，北京　100700）

摘要：目的　本文以载入《中国药典》且市场占有量较大的芩暴红止咳口服液为受试物，针对中药特点，从多指标观察幼龄大鼠连续灌胃给予芩暴红止咳口服液13周可能引起的毒性反应和毒性靶器官，为临床应用提供参考，亦为中药儿科用药的非临床安全评价方法提供借鉴。**方法**　SD大鼠，雌雄各半，适应性饲养22天后，雌雄1∶1进行交配，发现阴栓认为交配成功，交配成功的雌鼠随之进入妊娠期（GD0），雌鼠从GD18天开始进行分娩观察至仔鼠出生（PND0）。仔鼠于出生第20日龄，按体重随机分为空白对照组和芩暴红止咳口服液低、中、高剂量组，每组40只，雌雄各半。仔鼠于出生第21日龄，低、中、高剂量组分别灌胃给予芩暴红止咳口服液12.3、24.6和49.2 g生药/kg剂量（相当于幼儿临床剂量的7.9、15.8、31.5倍），连续给药13周，停药后观察4周。对照组给予等体积超纯水。分别于给药4周、13周和恢复4周，取部分动物观察并检查下述指标：一般症状、体重及摄食量、身体发育指标（顶臀长、胫骨长、骨密度）、生殖器官发育（包皮分离时间、阴道开口时间、激素水平）、神经行为学指标（平面翻正、空中翻正、听觉惊愕、前肢悬挂、爬杆实验、自主活动、避暗实验、穿梭实验）、免疫学指标（免疫球蛋白G（IgG）、免疫球蛋白M（IgM）、CD3、CD4、CD8）、眼科检查、尿常规、血液学指标、血液生化学指标、脏器系数、组织病理学等。**结果**　① 中药因服用剂量较大，常规1次/天的给药频率较难实现充分的暴露量，可根据经验增加给药频率。本实验中2次/天给药，未见动物死亡，所有动物临床状态良好。② 因给药剂量较大，可能对动物的摄食产生一定影响，从而影响其体重及生长发育。可适当增加体重和摄食量的测定频率。本实验2次/周测定动物体重和摄食量，各剂量组均未见与受试物相关的明显改变。③很多中药对神经系统、免疫系统、生殖系统的影响较大，应适当增加相关的检测指标，并通过预实验锁定可能的靶器官。本实验受试物对大鼠感觉功能、运动协调和学习记忆能力、骨密度、免疫功能、生殖器官发育及功能等均未见明显影响。④常规指标测定时，应注意与可能的靶器官配合，适当增加相应的生理、生化检测指标。本实验受试物对大鼠尿量、饮水量、尿定性指标、血液学指标和血液生化学指标均未见与受试物相关的明显改变。⑤根据临床适用人群，可增加检测时间点，防止错过敏感期。本实验根据受试物的适用年龄段，增加了1个月的检测时间点。在各个时间点下，均未见与受试物相关的组织病理学改变。**结论**　以多时间点、多指标体系可对中药复方制剂芩暴红止咳口服液进行非临床安全评价，高剂量暴露量可达幼儿临床剂量的31.5倍；重复给药13周，动物反应良好。

关键词：幼龄大鼠；芩暴红止咳口服液；非临床安全评价

作者简介：苏　萍，E-mail：suping1223@126.com
通讯作者：刘　婷，E-mail：ltbit@163.com

基于代谢组学的首乌藤导致肝损的研究

谈泽烨，周　桂，周　昕
（上海中医药大学附属龙华医院）

摘要：目的　首乌藤可安神养血，在临床上使用频次、疗程和剂量都远超首乌根。首乌根的不良反应已为大家所熟知，作为同一植物不同药用部位的首乌藤的不良反应却为大家所忽视。本研究发现了首乌藤可能的导致肝损伤的代谢通路，为临床安全合理应用首乌藤奠定基础。**材料与方法**　将20只雄性C57小鼠（6周龄）适应性饲养一周后，设为空白对照组、肝损模型组、首乌藤组以及LPS诱导的首乌藤组。后两组连续灌胃首乌藤水煎液（75 g/kg）29天，LPS诱导组在第29天，于灌胃前2 h尾静脉注射溶于生理盐水的脂多糖0.5 mg/kg，模型组在第29天灌胃溶于橄榄油的ANIT 80 mg/kg，24小时后处死小鼠取材。采用非靶标代谢组学对小鼠肝脏进行代谢物的检测，并使用MetaboAnalyst和KEGG对数据进行生信分析，包括质检分析、

单变量统计分析、多元统计分析、相关性分析、系统聚类分析以及KEGG分析。**结果** 正负离子模式合并后鉴定 469 种代谢物，其中正负离子模式鉴定到的代谢物数量为300种，负例子模式鉴定到的代谢物为169种。空白组对模型组总差异代谢数量为39个；空白组对首乌藤组为7个；LPS诱导的首乌藤组为46个。PCA 主成分分析结果显示，在正负离子模式下，模型组与空白组差异较大，首乌藤组与空白组差异较小，但是LPS诱导以后的首乌藤组与模型组较大。KEGG 富集通路图分析可知，空白组对首乌藤组、LPS诱导的首乌藤组比较空白组，这两者显著性差异代谢通路均为ABC transporter，而首乌藤组对比空白组却不是ABC transporter。通过对KEGG 通路的差异代谢物聚类热图分析可知：空白组对比首乌藤组、LPS诱导的首乌藤组对比空白组，这两者显著性差异代谢物为甜菜碱，可以下调空白组的甜菜碱，而首乌藤组对比空白组却对甜菜碱没有影响。分析各组别中甜菜碱的含量可知：模型组甜菜碱含量最低，LPS诱导首乌藤组次之，然后是首乌藤组，最高的是空白组。**结论** 差异代谢物分析和PCA 主成分分析结果都表明，模型组的药物（ANIT）较大影响了代谢水平，首乌藤对代谢水平影响较小，但是LPS诱导以后的首乌藤对代谢水平影响较大。KEGG分析得到，LPS诱导的首乌藤组和ANIT组一样对ABC 转运体代谢通路有显著的影响。分析各组别中甜菜碱的含量可知首乌藤能降低甜菜碱的含量，LPS诱导以后使甜菜碱含量下降更多。综合可得出首乌藤可能通过影响ABC转运体通路抑制甜菜碱的转运造成肝损。为临床更加安全合理应用首乌藤提供参考，对首乌藤的肝毒性评价具有一定的指导意义。

关键词： 首乌藤；代谢组学；肝毒性；ABC转运体；甜菜碱

通讯作者： 谈泽烨，E-mail：1637739772@qq.com

耐喹诺酮类药物革兰氏阴性菌的适应性研究进展

王邦娟[1]，陈 杨[1]，黄璐璐[1]，刘理慧[1]，刘振利[1,2]，程古月[1,2]

（1. 华中农业大学农业部畜禽产品质量安全风险评估实验室，武汉 430070；2. 华中农业大学国家兽药残留基准实验室（HZAU）、农业部食品兽药残留检测重点实验室，武汉 430070）

摘要： 随着临床上抗菌药物的不合理使用，革兰氏阴性菌对喹诺酮类药物（FQ）的耐药性已经成为全球关注的问题。革兰氏阴性菌对FQ的耐药主要是因为细菌喹诺酮类药物耐药决定区（QRDR）的靶点突变（gyrA、gyrB、parC和parE）或者质粒介导的喹诺酮耐药（PMQR）（由qnr、aac（6′）-Ib-cr、qepA和oqxAB参与）。在没有抗生素的情况下，当细菌获得了耐药性，通常伴随着与敏感菌的竞争能力的降低，这种能力的降低称之为产生了适应性代价，表现为细菌生长速率、毒性和转移能力等适应性表型的减弱。例如耐FQ的肺炎克雷伯菌GyrB S431P、ParC S80I突变、淋病奈瑟菌ParC D86N 突变、大肠杆菌GyrB F458V和/或A468P、GyrA ΔS83突变以及外排泵QepA和OqxAB的过度表达均会使耐药菌株的适应性降低，导致其竞争力下降，无法在细菌种群中持续存在，这也是为什么有学者提出利用此机制有望逆转细菌的耐药性。另一方面，一些耐药机制或耐药组合不会产生适应性代价。例如兰俊芳等发现qnrA、qnrB和qnrS 基因对细菌不产生适应性代价，而是增加了细菌的生长适应性。Machuca 等发现与野生型大肠杆菌ATCC 25922或仅含有GyrA S83L的突变体相比，突变体GyrA S83L加上ParC S80R，以及GyrA S81L加上GyrA D87N的组合增强了细菌适应性。Toth 等发现gyrA和parC的QRDR突变组合（GyrA S83F-GyrA D87G-ParC S80I）会使伤寒沙门氏菌耐药株比敏感株适应性强。同时，有适应性代价的耐药菌株可以通过代偿突变恢复甚至增强其适应性。例如，有研究发现淋病奈瑟菌株通过多药外排泵MtrCDE的调控基因mtrR-79的突变来补偿 ParC D86N突变产生的适应性代价；大肠杆菌通过调控基因ΔmarR 的突变来补偿GyrA S83L/D87N或ParC S80I产生的适应性代价；OqxAB阳性大肠杆菌的适应性代价则可以通过染色体非QRDR补偿突变（ParE I444F、GyrA A119E）来恢复。总的来说，细菌适应性在氟喹诺酮耐药进展中扮演重要的角色，当细菌在含有能提高适应性的突变和无抗生素作用的情况下能进一步发展为临床耐药。因此，本文系统的分析了革兰氏阴性菌耐喹诺酮药物的不同机制对其适应性变化的影响，并对耐药菌适应性的研究方法

进行总结，以期为耐喹诺酮类药物革兰氏阴性菌的新型治疗方案提供一定参考。

关键词： 革兰氏阴性菌；喹诺酮；耐药性；适应性；适应性代价；补偿突变；适应性测量

通讯作者： 程古月，E-mail：chengguyue@mail.hzau.edu.cn

浅谈安全性评价过程中专题负责人应具备的能力

王俊巍，王丽娟，谢颖琪
（美迪西普亚医药科技（上海）有限公司）

摘要： 专题负责人是临床前安全性评价研究的核心，现通过实际工作中遇到的问题与经验，从SD应具备的各种能力等方面阐述如何作好一名合格的SD。

众所周知，专题负责人（以下简称为SD）是药物非临床试验的单一控制点，SD是整个试验项目的核心，越来越多的药学、兽医学等专业的毕业生成为SD的一员，那么，想成为一名称职的SD需要什么样的能力呢？

首先，要有对SD工作的热爱，才能主动的去学习相关的知识。SD要了解国内外法规及新药申报政策。国内外的法规政策是SD试验及剂量设计的依据。

其次，SD要了解药物安全评价研究的各个环节并掌握研究各环节的SOP，以确保试验研究符合SOP要求。想成为一个SD容易，想成为一个好的SD比较难，因为SD所涉猎的学科较多，从化学、药理学、毒理学、兽医学等。比如耗食量异常的判断，是个体差异，是毒性反应，还是由于打扫笼具造成了饲料打湿；比如对动物房十二项指标的了解，有助于SD对环境偏差进行评估。总之，SD首先要自己掌握研究的各个环节，才能在试验开展的时候应对各种突发状况，并做出正确的合理的处理措施。

再者，SD还要具有良好的沟通能力，具有一定的口头文字交流的技巧。因为SD要与机构负责人、研究人员、质量保障部门及委托方之间进行协调，以确保研究在符合各方要求的条件下能够顺利进行。沟通的目的不是为了自己讲出来就好，而是要让一同沟通的人明白说什么，让他知道他需要怎么做，或者对于委托方，明白委托方想怎么做，为什么这么做。

最后，SD还要有强大的抗压能力。SD常常内忧外患，供试品还未到就要方案终稿，中途改想法，制剂验证没做完，推迟试验动物超龄，开始试验发现溶媒迟迟不到货等等，所以SD需要在繁忙的工作中理一理思绪，做好时间管理，像清单式完成一件划掉一个，能够在多个项目着急的情况下，统筹时间，按项目的轻重缓急或者先易后难的顺序按时保质保量的完成项目。

总之，作为SD，要不断地、深入得领悟GLP的精神，加强自身的责任意识和提高相关的专业知识及技能水平，才能够在研究中得到相对准确的结论，成为一名称职的SD。

关键词： 专题负责人；GLP试验；非临床安全性评价

通讯作者： 王俊巍，E-mail：junweiwang@medicilon.com.cn

幼龄SD大鼠经鼻给予YP001连续30天重复给药毒性试验

王　佩，许　林，王小青，姜德建
（湖南普瑞玛药物研究中心有限公司，湖南 长沙　410329）

摘要：目的　观察幼龄SD大鼠经鼻给予不同剂量YP001，连续给药30天，并经58天停药恢复期，评价受试物对幼年期动物潜在的一般毒性及对其生长发育的潜在毒性，了解其毒性反应的靶器官及其损害的可逆性，为临床用药方案提供一般毒性评价和儿科用药的临床前实验资料。**材料和方法**　选取检疫合格的SD大鼠母鼠15只及仔鼠150只，按母鼠体重随机分为5组，分别为空白对照组、阴性对照组、YP001低、中、高剂量组（剂量分别为0.02 mg/kg，0.06 mg/kg及0.20 mg/kg）。各组3只母鼠及其所抚育仔鼠30只，仔鼠雌

性各半，按0.2 mL/kg体积滴鼻给药，连续给药30天，首次给药为出生后第10日（PND10）。分别于断乳后（PND21）解剖15只母鼠进行大体观察，异常脏器进行病理检查。给药末期（PND40）、恢复期（PND98）按计划分别解剖100、50只大鼠，雌雄各半。检查项目包括：一般临床观察；发育、神经反射、行为学检测；体重、体重变化、摄食量测定；尿常规、血液学、血液生化、凝血及电解质检查、眼科检查；脏器、脏脑系数测定；组织病理学检查；骨密度检测；胫骨长度检测；血清免疫球蛋白检测；血清激素检测；肝药酶活力检测等。**结果** ①一般临床观察：给药期间各给药组动物呈镇静状态，平均约6 h苏醒，随着给药时间延长，动物的维持镇静状态的时间缩短，给药末期低、中剂量未出现睡眠，高剂量基本2h内恢复正常。②体重、摄食量：YP001可引起大鼠体重及摄食量下降。③临床检验：YP001对幼龄大鼠血液学指标、血清生化指标、电解质指标、凝血指标及尿常规指标均无明显影响。④发育、反射、行为学指标：YP001对幼龄大鼠下门齿萌出、睁眼、张耳、睾丸下降、包皮分离等体表特征发育成熟时间，听觉惊愕、翻正反射和负向趋地性反射，协调性和自主活动均无明显影响，高剂量的YP001，可使幼龄大鼠阴道张开时间推迟。⑤生长指标和骨密度：高剂量的YP001，可使幼龄大鼠胫骨长度、身长尾长、骨钙含量及单位面积骨钙含量降低。⑥脏器、脏脑系数、脏器重量：高剂量的YP001，可使幼龄SD大鼠的脏器重量减轻。⑦眼科检查：YP001对幼龄大鼠眼科检查无明显影响。⑧肝药酶、血清球蛋白及激素指标：YP001对肝药酶、血清球蛋白、促皮质激素、雄激素、雌激素、孕激素、甲状腺激素T3和T4未见明显影响，高剂量的YP001可使生长激素升高。⑨雄鼠生殖能力和雌鼠动情周期：YP001对雄鼠生殖能力和雌鼠动情周期均无明显影响。⑩大体解剖和病理检查：本次试验未见动物中途死亡。YP001各剂量组动物与同期空白对照组和阴性对照组比较，未见明显差异，未发现有毒理学意义的病理改变。**结论** 本试验条件下，出生后第10日（PND10）的幼龄SD大鼠经鼻给予YP001连续30天，YP001高剂量可使大鼠胫骨长度、身长尾长、骨钙含量及单位面积骨钙含量降低，阴道张开时间推迟，脏器重量减轻，未见明显毒性反应剂量（NOAEL）为中剂量0.06 mg/kg，约为儿童临床剂量的10～30倍（按公斤剂量计算）。

关键词： 重复给药毒性；幼龄SD大鼠；生长激素；骨钙含量

作者简介： 王 佩，E-mail：wangpei@hnse.org

通讯作者： 姜德建，E-mail：jaingdejian@hnse.org

大鼠骨缺损模型的建立与验证

王瑞琪，霍莹莹，任晓风，李佩云，贾艳丽，李子轲，陈 瑛，董延生

（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北 廊坊 065500）

摘要：目的 大鼠骨缺损模型是评价药物对骨生长发育毒性或药物对骨折药效的良好方法之一，本研究以手术构建大鼠股骨骨缺损模型，通过X光扫描、血液学检测和骨CT与骨弯曲强度检测方法验证骨缺损模型的构建效果及骨缺损的自然恢复情况，为骨缺损的研究和治疗提供参考。**材料与方法** 本试验共选取检疫合格的120只SD大鼠进行试验，雌雄各半，按体重随机分成空白对照组和骨缺损模型组。用高速颅骨钻在骨缺损模型组大鼠左右两侧股骨处打磨出约4×2×1 mm（长×宽×深）的皮质缺损，空白对照组大鼠不进行股骨缺损构建，其他操作与骨缺损模型组相同。手术后在骨缺损部位均匀灌注氯化钠注射液0.8 mL/kg/侧。造模当天定义为第1天（D1），各组动物恢复至D2、D21、D50天时，每组各取雌雄各半的20只动物进行X射线扫描检测、血液学检测，之后将这部分动物安乐死并解剖取材，左侧股骨进行骨CT与骨弯曲检测，右侧股骨进行组织病理检测。**结果** D2时，与空白对照组相比，骨缺损模型组动物股骨手术部位的X射线照片呈现明显的约4×2×1 mm（长×宽×深）阴影，提示手术成功构建了骨缺损模型；在血液学检测中，与空白对照组相比，骨缺损模型组的碱性磷酸酶（ALP）、天冬氨酰转氨酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、纤维蛋白酶原（Fgb）有显著差异（$P<0.05$）；在骨CT与骨弯曲检测方面，与空白对照组相比，骨缺损模型组动物的皮质骨体积分数、骨表面积骨体积比、骨表面积密度、皮质骨厚度、皮质骨矿物密度、最大载荷、最大变形、弯曲刚度、弹性模量和弯曲应力均有显著差异（$P<0.05$）；D21与D50时，与空白对照组相比，骨缺损模型组动物的

X射线扫描检测、血液学检测，骨CT与骨弯曲检测结果无明显差异（P>0.05）。在组织病理检测方面，D2至D50，空白对照组的坐骨神经周围组织和股骨未见明显病理变化；骨缺损模型组动物在D2时坐骨神经周围组织多有急性炎症（7/10例雌性，7/10例雄性），股骨手术部位均呈皮质轻微缺损（10/10例雌性，10/10例雄性）；D21时，骨缺损模型组少数动物的坐骨神经周围组织轻微出血（0/10例雌性，1/10例雄性），部分动物股骨部位皮质轻微缺损（6/10例雌性，9/10例雄性），且有部分动物股骨部位皮质呈轻微至轻度新骨形成（6/10例雌性，8/10例雄性）；D50时，骨缺损模型组动物的坐骨神经周围组织与股骨未见明显病理变化。**结论** 本试验成功建立了大鼠骨缺损模型，并对骨缺损构建后50天中的自然恢复情况进行了验证。该实验系统和方法成立，为以后的新药临床前评价研究积累了经验。

关键词：骨缺损；X射线检测；骨CT与骨弯曲；血液检测；组织病理

作者简介：王瑞琪，E-mail：lipeiyun@safeglp.com

通讯作者：陈　瑛，E-mail：chenying@safeglp.com；董延生，E-mail：dongyansheng@safeglp.com

CXCR3在药源性胆汁淤积性肝损伤中的作用机制

孔伟超[1]，张陆勇[2]，王欣之[1]

（1. 中国药科大学药物科学研究院新药筛选中心，南京　210009；2. 中国药科大学药物科学研究院新药筛选中心，南京210009；广东药科大学新药研发中心，广州　510006）

摘要：目的 炎症在胆汁淤积性肝损伤（cholestatic liver injury，CLI）中起着驱动和促进作用。CXCR3是活化、促进淋巴细胞分化并募集进入发炎肝脏的主要受体，其表达可指示炎症活动、疾病进展和药物疗效，在多种CLI中发挥关键作用。因此，本研究探究CXCR3在α-萘异硫氰酸酯（α-naphthylisothiocyanate，ANIT）和雷公藤甲素（triptolide，TP）诱导CLI中的作用机制。**材料和方法** C57BL/6小鼠给以ANIT或TP后，流式细胞术检测肝脏中表达CXCR3的$CD4^+$T细胞、NK细胞、iNKT细胞及它们分泌的Th1/Th2/Th17型细胞因子。通过LC-MS/MS检测和分析C57BL/6小鼠和$CXCR3^{-/-}$小鼠的肝脏胆汁酸代谢谱。通过QPCR和Western blot检测和比较C57BL/6小鼠和$CXCR3^{-/-}$小鼠的肝脏氧化应激和内质网应激通路。**结果** $CXCR3^{-/-}$小鼠给以ANIT或TP后CLI减轻。在ANIT诱导的CLI中，CXCR3主要表达在分泌IL-4的NK细胞表面；在TP诱导的CLI中，CXCR3主要表达在分泌IFN-γ的NK细胞和分泌IFN-γ、IL-17的iNKT细胞表面。CLI模型组小鼠肝脏胆汁酸代谢紊乱，游离型和结合型胆汁酸均升高，$CXCR3^{-/-}$小鼠胆汁酸代谢趋于对照组水平。ANIT模型组小鼠肝脏内质网应激上调，$CXCR3^{-/-}$小鼠抑制ANIT上调的肝脏内质网应激。TP模型组小鼠肝脏氧化应激增加，AKT磷酸化、Egr1上调，氧化应激和上述靶标在$CXCR3^{-/-}$小鼠肝脏中均被抑制。**结论** CXCR3通过招募NK、iNKT细胞，诱导其分泌细胞因子，扰乱胆汁酸代谢，促进内质网应激、氧化应激，从而在药源性CLI中起着关键作用。研究结果为胆汁淤积性肝脏疾病提供了新的机制和干预靶标，为CLI的药物开发和合理防治提供支撑。

关键词：α-萘异硫氰酸酯；雷公藤甲素；胆汁淤积性肝损伤；CXCR3；胆汁酸代谢；氧化应激；内质网应激

通讯作者：张陆勇，E-mail：lyzhang@cpu.edu.cn；王欣之，E-mail：wangxz@cpu.edu.cn

Molybdenum and Cadmium Co-induce Mitochondrial Quality Control Disorder via FUNDC1-Mediated Mitophagy in Sheep Kidney

Yunhui Wu, Fan Yang, Guangbin Zhou, Qi Wang, Chenghong Xing, He Bai, Xin Yi, Zhiwei Xiong, Shuqiu Yang, Huabin Cao

(Jiangxi Provincial Key Laboratory for Animal Health, Institute of Animal Population Health, College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, China)

Abstract: Molybdenum (Mo), fundamental trace mineral for animals and plants, but undue Mo damages animal health. Cadmium (Cd) is a toxic heavy metal that exists in the environment. Nevertheless, the mechanism of Mo and Cd on mitochondrial quality control are still indistinct. The objective of this research was to explore the effects of mitophagy on mitochondrial quality control via the FUNDC1-mediated by Mo and Cd in sheep kidney. Forty-eight 2-month-old sheep were stochastically divided into four groups, as shown below: control group, Mo [45 mg/kg body weight (BW)] group, Cd (1 mg/kg BW) group and Mo (45 mg/kg BW)+Cd (1 mg/kg BW) group, with 50 days feed technique. The results showed that Mo or/and Cd attract an unbalance of trace minerals and vacuoles and granular degeneration of renal tubular epithelial cells, and increase the number of mitophagosomes and vacuole-mitochondria and LC3 puncta and MDA and H_2O_2 contents, and decrease ATP content in the kidney. Moreover, Mo or/and Cd treatment could upregulate the mRNA levels of FUNDC1, LC3A, LC3B, PGAM5, DRP1, FIS1 and MFF , and the protein levels of FUNDC1, p-FUNDC1, LC3Ⅱ/LC3Ⅰ, DRP1, MFF and FIS1, downregulate the mRNA levels of MFN1, MFN2, OPA1, PGC-1, SIRT1, SIRT3, FOXO1 and FOXO3, and the protein levels of MFN1, MFN2, OPA1 and PGC-1α. Notably, variations of above-mentioned factors in Mo and Cd group were more obvious than in Mo or Cd groups. T aken together, these results displayed that Mo and Cd co-treatment might induce mitochondrial quality control disorder via FUNDC1-mediated mitophagy in sheep kidney.

Key words: molybdenum; cadmium; mitophagy; mitochondrial quality control; sheep; kidney

Corresponding author: Huabin Cao, E-mail: chbin20020804@jxau.edu.cn

SD大鼠经口灌胃给予XP001连续4周重复给药毒性伴随毒代动力学试验

尹广明，曾令锋，刘学武，王小青，姜德建

（湖南普瑞玛药物研究中心有限公司，湖南 长沙 410329）

摘要：目的 观察SD大鼠经口灌胃给予不同剂量XP001，连续给药4周的重复给药毒性反应及严重程度，判断毒性反应的靶器官及其损害的可逆性，预测受试物可能引起的临床不良反应，为临床用药提供参考资料。**材料和方法** 选取检疫合格的SD大鼠152只，雌雄各半，体重180.1～220.0g，按性别、体重随机分为4组，每组30只动物，雌雄各半，分别为溶媒对照组和XP001低、中、高剂量组（75、375、1875 mg/kg），按15 mL/kg体积灌胃给药，每日1次，每周7天，连续给药4周。给药末期（第4周末）及恢复期末（第8周末）按计划分别解剖80只、40只SD大鼠。检查项目包括：一般临床观察；体重、摄食量测定；临床检验、眼科检查、骨髓涂片；脏器/脏脑系数测定；组织病理学检查。**结果** ①一般临床观察：SD大鼠连续4周经口灌胃给予XP001，期间XP001各剂量组动物外观体征、行为活动及动物的一般状况等均未发现明显异常，眼科检查未见明显异常；XP001高剂量组4F03号动物于给药D28发现死亡，大体观察可见肾脏可见灰色点状斑纹，临床观察显示体重下降且自主活动减少。②体重、摄食量：1875 mg/kg的XP001可引起大鼠体重及摄食量下

降。③临床检验：375 mg/kg的XP001可引起雌性动物DBIL升高；1875 mg/kg可引起ALT、ALP、BUN、GGT、TBIL、DBIL、Neu%升高，Eos%降低，雄性动物AST升高，雌性动物RET%、Lym%降低。④对尿常规、脏器系数及脏脑系数的影响：375、1875 mg/kg的XP001可引起大鼠肝脏脏器/脏脑系数增大，1875 mg/kg的XP001可引起胸腺、子宫、卵巢脏器/脏脑系数减小。⑤骨髓检查：375、1875 mg/kg的XP001可引起粒细胞系统比例升高，1875 mg/kg还可引红细胞系统比例升高、淋巴细胞系统比例降低。⑥大体解剖和病理检查：375、1875 mg/kg的XP001可引起动物胸骨骨髓细胞数目减少，肺泡巨噬细胞增加，1875 mg/kg的XP001可引起肾脏皮质和/或髓质的肾小管和/或集合管坏死，胸腺皮质易染体巨噬细胞增加、皮质/髓质淋巴细胞数目减少。**结论** SD大鼠连续4周经口灌胃给予XP001，其对SD大鼠的主要毒性靶器官为肾脏、胸腺、肺脏及胸骨骨髓；临床长期用药时需重点检测肝功能、肾功能、血象及血生化指标的变化，其未见明显毒性反应剂量（NOAEL）均为75 mg/kg。

关键词：重复给药毒性；组织病理学；临床检验；NOAEL

作者简介：尹广明，E-mail：yinguangming@hnse.org

通讯作者：姜德建，E-mail：jaingdejian@hnse.org

基于斑马鱼模型探讨黄藤素对马兜铃酸诱导的心衰治疗作用及其药理机制

袁　薇，胡　颖，陆辉强

（药物筛选研究中心，赣南师范大学）

摘要：鱼腥草等许多中药含马兜铃酸，该化合物被证明具有肾毒性、致癌性风险。相对于广为认知的毒性而言，马兜铃酸对心脏的毒理作用研究较为罕见。本课题在选用与人类基因组高度相似的模式生物斑马鱼探讨该毒物对心脏的毒性作用，并通过基于高通量筛选技术成功挖掘到一种植物来源的生物碱黄藤素具有显著地回救马兜铃酸诱导的心脏毒性，最后探讨其药理机制。

具体而言，本课题选用模式生物斑马鱼为研究模型，将受精后24小时（days post fertilization，dpf）的幼鱼暴露于10 μM/L的马兜铃酸中至3 dpf，分别观测给药后心脏的形态、组织学变化、每博输出量和血流速度。此外，本研究检测了两种ATP酶的活力，包括钠钾泵和钙镁泵，以期观测心肌能量代谢的变化。随后本研究综合分析了临床相关的心衰病人转录组测序结果，包括单细胞测序结果进一步地阐述了其毒性诱发和药物回救机制。

实验结果表明：黄藤素恢复了马兜铃酸诱导的斑马鱼心脏的形态；HE切片展示了其组织学变化；每博输出量和血流速度都得来了恢复。此外，黄藤素上调了由马兜铃酸诱导的两种ATP酶的活力的下降，揭示了黄藤素恢复心肌能量代谢的平衡。转录组测序结果阐明了黄藤素对马兜铃酸诱导的心衰治疗作用通过上调EGFR途径作用，进一步研究表明该化合物的关键作用是通过抑制IκB/IKK活性发挥的。

综上可知，本研究探讨黄藤素对马兜铃酸诱导的心衰治疗作用并揭示其激活EGFR途径的药理机制。

关键词：黄藤素；马兜铃酸；心衰；激活EGFR途径；斑马鱼

通讯作者：袁　薇，E-mail：yuanweiwork2013.163com

食蟹猴肌肉注射重复6周给予LNP-mRNA疫苗毒性研究

岳　岩，刘宇洋，鲁　静，窦德虎，张雪峰

（江苏鼎泰药物研究（集团）股份有限公司，江苏 南京　211800）

摘要：目的 本试验LNP（脂质纳米颗粒）包裹的mRNA疫苗（简称疫苗），临床拟用于新型冠状病毒的预防，旨在观察其毒性反应特征及引起的免疫反应，为临床试验设计提供参考。**材料和方法** 选取40只食蟹猴，雌雄各半，按体重随机分成4组，分别为溶媒对照组、空LNP对照组、疫苗低、高剂量组，5只/性别/组。肌肉注射每2周1次，共3次（n+1），停药恢复4周。评价指标包括临床观察、体重、体温、摄食情况、心电图、

临床病理、病理学，伴随毒代动力学（LNP新分子）、生物分布、免疫原性、免疫毒性、安全药理、局部刺激性试验。**结果** 生物分布：1）全血：疫苗组首、末次给药后变化趋势基本一致，30 min目的RNA片段含量最高，呈剂量相关性且随时间延长呈消除趋势，但末次给药后目的RNA片段含量基本低于首次。2）组织：疫苗组目的RNA片段主要分布于给药部位、腹股沟淋巴结、脾脏；此外，高剂量组动物腹股沟脂肪、颌下淋巴结、给药部位远端皮肤、附睾、脑中亦可检出；上述组织目的RNA片段随时间延长呈消除趋势。免疫原性：疫苗组动物给药后各时间点均出抗S-RBD抗体，检出率均为10/10，随时间延长滴度值呈上升趋势。LNP新分子：疫苗组新分子血清暴露量均未见明显性别差异；暴露量增加比例整体低于剂量增加比例；与首次给药后相比，末次给药后均未见明显暴露增加。试验期间，各组动物均可耐受。溶媒对照组未见明显异常，与之相比，主要改变有：给药部位：各剂量组每周期给药后均可见给药部位肿胀，1～4天即恢复。镜下主要可见肌纤维/皮下单个核细胞浸润、纤维化和混合性炎症，血管周围单个核细胞浸润，肌纤维/真皮坏死。炎症反应：各剂量组动物首、末次给药后第2天均可见CRP、FIB、WBC、#NEUT、#MONO升高，#LYMPH、#EOS降低；每周期给药后IL-6升高；上述改变考虑与LNP相关。体温升高：高剂量组雄雌动物可见每周期给药后6 h～24 h体温升至峰值，至给药后48 h呈恢复趋势。此外，疫苗组还可见胸腺皮质淋巴细胞减少。**结论** 综上所述，本试验条件下，疫苗组均可见给药次数依赖性的免疫应答产生。疫苗相关改变为体温一过性升高，给药部位刺激性反应及胸腺相关改变；LNP相关改变为炎症反应。停药4周，可见恢复趋势。因此，认为疫苗能够耐受的剂量为高剂量。

关键词：食蟹猴；mRNA疫苗；LNP；新型冠状病毒；炎性反应；局部刺激

通讯作者：张雪峰，E-mail：zhangxuefeng@tri-apex.com

食蟹猴皮下注射重复4周给予GalNac-siRNA药物毒性研究

张文杰，岳 岩，鲁 静，窦德虎，张雪峰
（江苏鼎泰药物研究（集团）股份有限公司，江苏 南京 211800）

摘要：目的 本试验中GalNac（N-乙酰半乳糖胺）修饰的化学合成双链小干扰RNA（siRNA），具有降血压作用，临床拟用于心血管疾病的治疗。本试验目的在于通过GalNac-siRNA食蟹猴皮下注射重复给药毒性试验，并伴随安全药理、局部刺激性、免疫毒性试验，观察其毒性反应及其可逆程度或可能的延迟毒性反应，确定毒性靶器官，探索未见不良反应剂量（NOAEL）或最大耐受剂量（MTD）。同时通过伴随毒代动力学试验，了解受试物在食蟹猴体内的毒代动力学特征，为临床试验设计提供依据。**材料和方法** 本试验选取40只食蟹猴，雌雄各半，按照体重随机分成4组，分别为溶媒对照组、GalNac-siRNA低、中、高剂量组，5只/（性别×组），皮下注射重复给药4周（Q2W×3），每组前三只动物于给药期末进行解剖（D30），剩余动物停药恢复8周后解剖（D85）。评价指标包括临床观察（笼旁观察及详细观察）、体重、体温、摄食情况、眼科检查、心电图、临床病理学、大体解剖肉眼观察、脏器重量及系数、组织病理学并伴随安全药理、局部刺激、免疫毒性（淋巴细胞分型、细胞因子释放和补体活化）和药代动力学试验。**结果** 药代动力学结果显示，溶媒对照组动物各时间点血清中正义链（SS）和反义链（AS）浓度均低于定量下限；各剂量组雄雌动物主要药代动力学参数未见明显性别差异；血浆暴露量增加比例与剂量增加比例基本一致；与首次给药（D1）相比，重复给药后（D29）未见血浆暴露量增加。在上述药物血浆暴露基础上，溶媒对照组动物未见明显异常，与之相比给药组主要改变如下：1）高剂量组雌性动物给药后D30可见红系相关指标（RBC、HBG、HCT）下降，雄性动物可见ALP升高；2）各剂量组动物组织病理学均可见腋窝和肠系膜淋巴结窦内巨噬细胞轻微至轻度空泡化。上述红系指标和ALP变化为轻度一过性改变，组织病理学改变考虑为GalNac-siRNA积累于淋巴结所致，且均呈现恢复趋势，故认为非不良反应。其它评价指标未见明显异常。**结论** 综上所述，在本试验条件下，食蟹猴皮下注射重复给予GalNac-siRNA，认为未见毒性反应剂量（NOAEL）为高剂量。

关键词：食蟹猴；重复给药毒性试验；GalNac-siRNA

通讯作者：张雪峰，E-mail：zhangxuefeng@tri-apex.com

转录组学在非临床心脏毒性评价中的应用

赵 斌，刘 斌，岑小波
〔成都华西海圻医药科技有限公司（高新区机构），610041〕

摘要：自2005年ICH E14和S7B指导原则发布以来，已上市药物很少再因QT间期延长的不良反应而导致撤市，同时，上市后的非抗心律失常药物导致TdP的报告也显著减少。但一些药物的心脏毒性问题依然严峻，特别是抗肿瘤药物。对于制药公司来说，在药物开发的早期，即非临床研究中检测候选药物的潜在心脏毒性是至关重要的。尽管病理学、血生化检查和心电图检查是目前非临床研究中评价心脏毒性的主要工具，但由于心脏安全问题而退出临床研究的大量案例表明，非临床研究需要一个更敏感的检测工具。在临床诊断中，已有使用转录组作为生物标志物来改进心脏毒性诊断方法的应用，但其广泛应用受限，主要是由于心内膜活检的风险和并发症增加的可能。但非临床毒理学研究的终点是病理解剖，且仅需获取极少量的心脏组织即可进行心脏转录组学研究。从而，转录组学在非临床研究中作为药物心脏毒性风险评估的应用前景更为广阔。

在这项应用中，我们旨在利用真核有参转录组学方法检测临床已知报道有心脏毒性的药物对大鼠的影响，发现心脏毒性的潜在基因组生物标志物。为实现这一目标，我们采用RNA测序（RNA-seq）技术，通过表达差异统计和聚类分析，差异基因功能注释和富集分析，显示这些差异基因的功能与趋化作用、组织再生、细胞增殖的正向调节、细胞组织和形态发生事件有关。在这些基因中，Timp1、Fhl1、Spp1、Ccl7和Reg3b都显示出显著上调，表现出高表达水平。这些确定的基因将作为药物对大鼠心脏毒性潜在的转录组生物标志物，但后续还需要进行明确的验证研究以确定其稳定性和敏感性。

关键字：心脏毒性；转录组学

通讯作者：赵 斌，E-mail：Binzhao@glpcd.com

DT301：食蟹猴静脉输注重复给药7周恢复4周毒性试验伴随毒代动力学、免疫原性、安全药理、局部刺激性试验

赵伟亚，李德利，鲁 静，窦 德虎，张雪峰
（江苏鼎泰药物研究（集团）股份有限公司，江苏 南京 211800）

摘要：目的 DT301为抗体偶联药物（ADC），临床拟用于肿瘤治疗。本试验通过食蟹猴静脉输注重复给药7周（Q3W×3），停药恢复4周，伴随免疫原性、安全药理、局部刺激性和毒代动力学试验，探索DT301系统暴露下的毒性反应特征及可逆性，为后续试验提供参考。**材料与方法** 选取40只食蟹猴，按照体重随机原则分成4组，包括溶媒对照组（氯化钠注射液）及DT301 低、中、高剂量组（5只/组/性别）。静脉输注给药（15 min/只），每3周给药1次，连续3次，分别于给药期末（D50）和恢复期末（D78）实施计划剖检。评价指标包括临床观察、体重、摄食情况、体温、心电图、眼科检查、临床病理、淋巴细胞分型、循环免疫复合物、大体解剖肉眼观察、脏器重量及系数和组织病理学检查，并伴随毒代动力学（血清中总抗、ADC及血浆中小分子药物）。**结果** 溶媒对照组各时间点及供试品组首次给药前血清中总抗、ADC及血浆中小分子药物浓度均低于定量下限。各供试品组雄雌动物体内暴露量（AUC_{0-t}及C_{max}）未见明显性别差异；首、末次给药后各组动物体内总抗和ADC暴露量基本一致。仅个别动物部分时间点的血浆中可检测到游离小分子。除溶媒对照组外，各供试品组均可见ADA检出。在上述基础上，给药期末高剂量组动物临床观察可见干呕/呕吐、黑便和肿胀（眼/口鼻/下颌）等，体重降低，摄食下降或废食。临床病理可见血液学白系指标（WBC、#BASO和#NEUT等）和红系指标（RBC、HGB和HCT等）降低，PLT升高；血清生化TP、ALB、GLB和IgG降低；凝血指标PT缩短。大体解剖肉眼观察可见胸腺小及其脏器重量及系数降低；中高剂量组动物组织病理学改变均见于胃、胸腺和骨髓组织改变，低剂量组仅见胸腺改变，毒性改变呈一定的剂量-反应关系，停药4周可见恢复或

恢复趋势。**结论** 在本试验条件下，食蟹猴重复7周静脉输注给予低、中、高剂量DT301（Q3W×3），停药恢复4周，最高非严重毒性反应剂量（HNSTD）为中剂量，最大耐受剂量（MTD）为高剂量。主要改变见于高剂量组动物胃肠道、体重降低、摄食下降或废食、血液学、血清生化和和凝血常规，中高剂量组动物胸腺、胃和骨髓组织病理学改变，毒性靶器官为胸腺、胃和骨髓。停药后，以上毒性改变均可见恢复或恢复趋势。

关键词：食蟹猴；重复给药毒性试验；抗体偶联药物

通讯作者：张雪峰，E-mail：zhangxuefeng@tri-apex.com

舒泰50联合盐酸赛拉嗪对SD大鼠的麻醉效果研究

钟小嫚，冉艳洪，王俐梅

（广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省眼科药物创制与评价工程技术研究中心，广州 510990）

摘要：目的 本研究旨在探索SD大鼠应用舒泰50和盐酸赛拉嗪进行复合麻醉的麻醉效果，以期为药物非临床安全性评价研究中大鼠选择使用非吸入性麻醉剂提供参考依据。**材料和方法** 选择6~10周龄的SPF级SD大鼠，共设立3个试验组（n≥10）：舒泰12.5 mg/kg IM+盐酸赛拉嗪25.0 mg/kg IM（A组）、舒泰12.5 mg/kg IM+盐酸赛拉嗪30.0 mg/kg IM（B组）、舒泰5.0 mg/kg IM和盐酸赛拉嗪30.0 mg/kg IM（C组）。各组SD大鼠IM盐酸赛拉嗪约3 min后，再IM舒泰50，然后记录动物的麻醉开始时间（指出现侧卧或趴卧、抽搐、翻正反射消失时间）、诱导时间（指注射开始到疼痛消失时间）、维持时间（指疼痛消失到出现疼痛时间）和麻醉过程中的生理表现。若动物麻醉深度过深或麻醉1h后仍未苏醒，则及时给与等体积盐酸苯恶唑加快动物苏醒。**结果** 1）各组动物给与不用剂量舒泰和盐酸赛拉嗪后在3～6 min内均表现出侧卧或趴卧、抽搐、翻正反射消失。2）在麻醉诱导方面，A、B、C组动物的麻醉诱导时间分别为11.10±4.48 min、7.13±2.59 min、16.08±11.24 min，其中B组与A组相比差异显著（$P<0.05$），与C组相比无差异（$P>0.05$），说明提高盐酸赛拉嗪剂量能缩短麻醉诱导时间。3）在维持麻醉方面，A、B、C组动物的麻醉维持时间分别为55.10±5.67 min、57.63±3.62 min、53.38±12.38 min，其中B组与A组相比无差异（$P>0.05$），与C组相比差异显著（$P<0.05$），说明提高舒泰剂量能延长麻醉维持时间。4）各组动物在IM舒泰均会有部分动物出现后肢短暂震颤抽搐、呼吸和心跳抑制的情况，死亡率约10～20%，此外在麻醉期间全部动物均会表现出尿失禁症状直至动物苏醒。**结论** 综上，SD大鼠可使用舒泰12.5 mg/kg IM和盐酸塞拉嗪5.0~30.0 mg/kg IM进行复合麻醉，其具有麻醉诱导快、维持时间长、镇痛肌松效果强等优点，但偶发动物死亡，表明舒泰联合盐酸赛拉嗪对SD大鼠进行麻醉的安全剂量范围续仍有待进一步摸索。

关键词：舒泰；盐酸赛拉嗪；复合麻醉；SD大鼠

基于多元线性回归分析的12批次首乌藤的肝毒性评价

周 桂，谈泽烨，周 昕

（上海中医药大学附属龙华医院）

摘要：目的 首乌藤可安神养血，在临床上使用频次、疗程和剂量都远超首乌根。首乌根的不良反应已为大家所熟知，作为同一植物不同药用部位的首乌藤的不良反应却为大家所忽视。本研究探讨了首乌藤中肝毒性成分与不同产地的关系，为临床安全合理应用首乌藤奠定基础。**材料与方法** 采用HPLC法，建立十二批次不同产地的首乌藤指纹图谱，色谱柱为Extend-C18 773450-902（4.6×250 mm，5 μm），流动相0.1%磷酸水和甲醇，梯度洗脱，检测波长280 nm；柱温30℃，进样量5 μL；采用MetaboAnalyst网站绘制十二批次首乌藤的聚类热图和PCA图；在一组SMMC-7721细胞中加入没食子酸、顺式二苯乙烯苷、反式二苯乙烯

苷、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素、大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷和大黄素甲醚等不同单体，另一组SMMC-7721细胞中加入不同单体的基础上再加入LPS，采用CCK8法对两组细胞进行细胞存活率测定，并采用SPSS27.0软件对12批次首乌藤潜在的肝毒性进行多元线性回归分析。**结果** 建立了首乌藤的高效液相指纹图谱，确定7个共有峰，通过对照品保留时间定位指认没食子酸、顺式二苯乙烯苷、反式二苯乙烯苷、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷和大黄素共6个成分。聚类热图和PCA图能较好地对不同来源的首乌藤进行分类，说明不同产地的首乌藤样品在品质上存在差异。CCK8的结果表明，在没食子酸、顺式二苯乙烯苷、反式二苯乙烯苷、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素、大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷和大黄素甲醚的影响下，SMMC-7721细胞的平均存活率分别为87.18%、86.47%、93.68%、78.74%、48.17%、63.23%、76.03%；在LPS诱导后，细胞平均存活率变为76.16%、79.62%、71.78%、71.15%、33.21%、60.14%、73.98%。多元线性回归分析的结果显示，S6批次的首乌藤潜在肝毒性最强，其次是S9、S10、S2、S1、S12、S7、S8、S5、S11、S4、S3。**结论** 建立的HPLC指纹图谱及成分差异的分析结果能较好地辨认首乌藤的质量差异，细胞实验表明LPS联用可以加强这些单体的肝毒性，提示首乌藤导致的肝损可能是特异质肝损，利用多元线性回归分析对12个批次的首乌藤进行肝毒性评价，为临床更加安全合理应用首乌藤提供参考，对首乌藤的肝毒性评价具有一定的指导意义。

关键词：首乌藤；肝毒性；多元线性回归

通讯作者：周　桂，E-mail：1412688043@qq.com

阿普唑仑诱导线粒体功能障碍的蛋白质组学分析

朱思庆，石晶晶，张　毅，靳　倩，石　童，李丽琴
（国民核生化灾害防护国家重点实验室，北京　102205）

摘要：目的 采用蛋白组学方法研究阿普唑仑重复使用对下丘脑组织蛋白质表达的影响，筛选下丘脑在阿普唑仑导致认知障碍等不良反应中的差异蛋白和调控途径，探讨其可能机制。**方法** 将C57小鼠随机分成对照组和阿普唑仑组，阿普唑仑组小鼠给予阿普唑仑灌胃给药（ED_{50}：1.84 mg/kg），每天1次，连续21 d，对照组给予同体积生理盐水。通过一体化智能行为系统评估小鼠的学习记忆水平。使用数据非依赖性采集（DIA）技术的质谱分析方法鉴定两组样本蛋白质的表达情况，并对其进行GO富集、KEGG通路富集分析，构建差异蛋白互作网络图。**结果** 与对照组比较，阿普唑仑组小鼠的学习记忆水平显著降低（$P<0.01$）。蛋白组学结果显示共鉴定出蛋白1884种。与对照组比较，阿普唑仑组小鼠下丘脑差异表达蛋白（FC>2或<0.5且$P<0.05$）共有121种，其中41个蛋白表达上调，80个蛋白表达下调。差异蛋白GO富集分析显示阿普唑仑主要参与小鼠下丘脑的突触调节、电压门控阳离子通道活动、甘氨酸等氨基酸代谢生物学过程。KEGG通路富集分析显示，阿普唑仑显著影响肾素-血管紧张素系统、肾素分泌、神经活性配体-受体相互作用、胆固醇代谢、果糖和甘露醇代谢等代谢途径，主要与Hedgehog、FoxO等关键信号通路相关。另外，ATP合酶、细胞色素c氧化酶VI、线粒体载体蛋白、醛脱氢酶、丙酮酸载体蛋白、琥珀酸脱氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等线粒体功能相关蛋白的表达水平发生显著变化。**结论** 阿普唑仑重复使用主要影响下丘脑线粒体相关蛋白的表达，诱导线粒体功能障碍，导致相关能量代谢通路紊乱，从而可能产生认知障碍等不良反应。

关键词：阿普唑仑；蛋白质组学；线粒体；能量代谢；认知障碍

通讯作者：李丽琴，E-mail：llq969696@163.com

对ADCC进行检测的基于细胞的TRF方法的开发、评估与应用

朱 霄，秦秋平，任 进，宫丽崑
（中国科学院上海药物研究所药物安全性评价研究中心，211203）

摘要：目的 抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用（ADCC）涉及抗体药物与靶细胞表面的抗原表位特异性地结合，之后NK细胞借助其表面的FcγRⅢ受体与结合在靶细胞上的特异性抗体的Fc段结合，活化NK细胞，释放细胞毒物质杀伤靶细胞，导致靶细胞裂解。SK-BR3是人乳腺癌细胞系，细胞表面过度表达人类表皮生长因子受体2（HER2）。Trastuzumab（anti-HER2）是抗HER2的单克隆抗体，T-DM1是抗HER2的抗体偶联药物（ADC），能介导SK-BR3靶细胞与NK效应细胞之间的ADCC。我们的目的是构建基于细胞的时间分辨的荧光（TRF）分析方法用于检测Trastuzumab（anti-HER2）和T-DM1诱导的ADCC，并对开发的方法进行评估与应用。**方法** 疏水性荧光配体BATDA（bis（acetoxymethyl）2，2′：6′，2″-terpyridine-6，6″-dicarboxylate）通过细胞膜转运进入SK-BR3靶细胞内，并被酯酶水解成亲水性配体TDA（2，2′：6′，2″-terpyridine-6，6″-dicarboxylic acid），实现对靶细胞的标记。加入系列稀释的抗体Trastuzumab（anti-HER2）/T-DM1与工程化的NK-92效应细胞，温育1h后，靶细胞发生裂解，TDA被释放到上清中。离心后，在微孔板中每孔加入20 μL Eu溶液与2 μL离心上清液，TDA与加入的Eu形成稳定且具有高强度荧光的螯合物EuTDA，测定每孔在612 nm处的荧光值，用4-参数logistic模型对荧光值与对数转换的抗体浓度进行曲线拟合和数据处理，得到EC50数值。其后，对方法的准确性、精密度、线性、特异性进行评估，并与涉及使用Luciferase标记靶细胞的检测方法进行对比。最后，利用开发的分析方法，评估了几种糖基化工程修饰的抗HER-2的ADC的ADCC活性。**结果** Trastuzumab（anti-HER2）和T-DM1都能特异性地靶向SK-BR3产生ADCC效应将Trastuzumab（anti-HER2）和T-DM1梯度稀释至多个浓度点（从400 nmol·L^{-1}到0.00226 nmol·L^{-1}），每个稀释样品为6复孔，超过80%样品的CV%≤20%，批内精密度满足接受标准。将Trastuzumab（anti-HER2）和T-DM1的浓度分别设置在600，500，400，300，200 nmol·L^{-1}时，对应的稀释度为150%，125%，100%，75%，50%，各做三个批次。三个批次不同稀释度样品所得的EC_{50}比值的CV%≤20%，各稀释度样品所得的平均EC_{50}比值与理论值的偏差≤30%，批间精密度和准确度满足接受标准。此外，Trastuzumab（anti-HER2）方法在50%～150%的EC_{50}比值区间呈现线性，而T-DM1方法在75%～150%的EC_{50}比值区间呈现线性。其后，Trastuzumab（anti-HER2）分别使用BATDA方法与涉及Luciferase的方法进行检测，得到ADCC的EC_{50}值分别为0.178 nmol·L^{-1}与0.171 nmol·L^{-1}，二者结果相当。T-DM1使用BATDA方法检测得到ADCC的EC_{50}均值为0.222 nmol·L^{-1}，也与文献报道的EC_{50}<0.364 nmol·L^{-1}很接近。另外，使用BATDA方法检测三种ADC，显示它们的ADCC活性存在差异，揭示抗体Fc糖基的修饰会影响抗体的ADCC活性。**结论** 我们构建的基于细胞的时间分辨的荧光分析方法能够准确评估Trastuzumab（anti-HER2）和T-DM1诱导的ADCC的活性，类似的方法学可以外推到其他的治疗性抗体，应用于抗体药物的开发，帮助筛选出具有理想的ADCC活性的抗体。

通讯作者：秦秋平，E-mail：qpqin@cdser.simm.ac.cn；任 进，E-mail：jren@cdser.simm.ac.cn；宫丽崑，E-mail：lkgong@cdser.simm.ac.cn

JDW对清醒Beagle犬心血管和呼吸系统的影响

陈健钊，周成浩，张超恒，郭秋平
（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：目的 JDW临床拟用于哮喘的治疗。本研究应用emkaPACK 4G大动物无创生理信号遥测系统，检测Beagle犬在清醒状态下给予JDW后对心血管和呼吸系统等指标的影响，为JDW的临床试验提供基础依据。**方法** 选取24只检疫合格的成年Beagle犬，雌雄各半，于给药前1周进行穿戴马甲适应性训练，

马甲内不安装传感器，但使用相同重量物体对马甲进行配重。训练后以动物不撕咬马甲为训练合格标准，将训练合格动物随机分为4组，即阴性对照组、JDW低、中、高剂量组，每组6条Beagle犬，雌雄各半。给药途径采用胶囊饲喂，JDW低、中、高剂量分别设定为0.4 g/kg、1.6 g/kg、3.2 g/kg，阴性对照组给予空胶囊。于给药前一天，对胸廓及尾根部剃毛。给药当天，将试验动物连接好心电电极、血压传感器、温度传感器、呼吸绑带，穿戴好马甲并对系统进行调试。给药前对遥测设备穿戴并调试完毕后，监测Beagle犬心电、血压、呼吸等指标约半小时，待其稳定并未见明显异常后，记录约10分钟平稳图形作为给药前原始图形；之后饲喂Beagle犬相应剂量的受试物或空胶囊，记录给药时间。然后继续动态监测和记录心电、血压、呼吸等指标，连续监测至给药后6小时。对给药前、给药后15 min、30 min、1 h、2 h、3 h、4 h、5 h、6 h的无创血压（包括收缩压（SP）、舒张压（DP）、平均压（MP））、Ⅱ导联心电图（包括QRS时程、PR间期、QT间期、校正的QT间期（QTcF）、ST段、T波电压、心率）、呼吸（呼吸频率、潮气量）、体温数据进行分析。**结果** ①各组动物给药前、后一般状态均未见明显异常。②JDW低、中、高剂量组对清醒Beagle犬的收缩压、舒张压、平均压、QRS时程、PR间期、QT间期、校正的QT间期（QTcF）、ST段、T波电压、心率、呼吸频率、潮气量、吸气与呼气持续时间比、体温等检测指标与阴性对照组比较未见毒理学意义的改变。**结论** 本研究条件下，JDW低、中、高剂量为0.4 g/kg、1.6 g/kg、3.2 g/kg，按等效体表面积折算法折算，约相当于人临床使用剂量的1、4、8倍时，单次饲喂给药后与阴性对照组相比，对清醒Beagle犬的血压、心电、呼吸、体温各项指标均未见毒理学意义的改变。

关键词：哮喘；无创生理信号遥测系统；心血管和呼吸系统

通讯作者：郭秋平，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

THZ丸Beagle犬连续9个月给药的长期毒性试验

陈洁君，周成浩，张铭辉，郭秋平

（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东　广州　510240）

摘要：目的 THZ丸为具有活血化瘀、行气止痛等作用的中成药。本试验观察THZ丸对Beagle犬连续9个月经口给药后的毒性反应及毒性反应的可逆性，为THZ丸的临床应用提供动物试验资料。**方法** 试验选取检疫合格的动物，按体重、性别随机分为阴性对照组、THZ丸低剂量组、THZ丸中剂量组、THZ丸高剂量组4组，低、中、高剂量组分别给予0.64 g/kg、1.6 g/kg、3.2 g/kg的THZ丸，阴性对照组给予与高剂量组相应数量的空白胶囊，均采用胶囊饲喂给药，每天给药1次，连续给药9个月，停药观察1个月。试验期间，每天进行1次一般状态观察；每周测定体重并根据体重调整给药量，每两周进行1次肛温检查；于检疫期、给药后1个月、给药后3个月、给药后6个月、给药后9个月和恢复期进行血液学及凝血功能、血液生化学、尿常规、心电图、眼科等检查；并于给药后3个月、给药后9个月、恢复期进行骨髓像、组织病理学等检查。**结果** ①给药后3个月、给药后6个月、给药后9个月，3.2 g/kg组动物的TCHO、ALP轻微升高，停药1个月后可恢复。其它指标未见与受试物相关的明显改变。②0.64 g/kg组、1.6 g/kg组动物的一般状态观察、体重、肛温、血液学及凝血功能、血液生化学、尿常规、心电图、眼科、脏器重量及系数、骨髓像、组织病理学等均未见与受试物相关的明显改变。**结论** 在本试验条件下，THZ丸连续给药9个月Beagle犬的无毒反应剂量（NOAEL）为1.6 g/kg（中剂量），相当于临床用量的14倍。3.2 g/kgTHZ丸可引起动物的TCHO、ALP轻微升高，停药后可恢复。

关键词：Beagle犬；长期毒性试验

通讯作者：郭秋平，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

受试物A对银屑病模型小鼠损伤皮肤的改善效果

杜青云，彭子倫，郭秋平
（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：目的 为了探讨不同成分受试物A对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样皮肤的改善效果和止痒作用。**方法** 选取检疫合格的8～9周龄的BALB/c小鼠随机分为空白组、模型组、受试物A各组，每组10只，雌雄各半，采用咪喹莫特诱导银屑病模型建立，将小鼠背部剃毛，形成2 cm×3 cm的皮肤暴露区，每日上午对除空白组以外的其他各组小鼠皮肤暴露区涂抹62.5 mg咪喹莫特，5 h后对受试物A各组涂抹对应受试物A，空白组和模型组涂抹等量生理盐水，分别于造模第1、3、5、7 d给药2 h后对小鼠皮损处进行PASI评分和皮肤瘙痒测试，7 d后处死动物，取皮损位置进行HE染色，观察组织病理学变化，进行病理学组织积分和炎症细胞浸润（Baker）评分。**结果** 造模7d后，与空白对照组相比，模型组小鼠PASI评分、皮肤瘙痒测试、Baker评分明显增加（$P<0.01$），体重未见明显变化；与模型组相比，受试物AE、F、H、I组PASI评分明显降低（$P<0.05$），其余各组未见明显变化，受试物AB、C、F组皮肤瘙痒测试结果明显减少（$P<0.05$），受试物AI组有明显降低趋势，其余各组未见明显变化，受试物AI组Baker评分明显降低（$P<0.05$），受试物AF组Baker评分有明显降低趋势，其余各组未见明显变化；受试物AA、B、C、G组动物体重明显降低（$P<0.05$），受试物AD、E、F、H、I组体重未见明显变化。**结论** 综合各结果分析可知，当前试验条件下，小鼠银屑病模型复制成功，受试物AF、I有改善银屑病样小鼠的损伤皮肤的作用，有轻微止痒效果。

关键词：银屑病模型；BALB/c小鼠；咪喹莫特；炎症细胞浸润

通迅作者：郭秋平，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

吴茱萸汤对Beagle犬连续28天经口给药长期毒性试验研究

李日许，郭秋平
（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：目的 通过对Beagle犬连续28天经口给予经典名方吴茱萸汤浸膏，观察其产生的毒性反应及其严重程度，主要的毒性靶器官或靶组织及其损害的可逆性，确定无毒反应剂量，为其后续试验研究提供参考数据。**方法** 选取检疫合格6~8月龄的Beagle犬40只，雌雄各半，按性别体重随机均衡分成4组，阴性对照组给予动物饮用水，吴茱萸汤低、中、高剂量组分别按0.6 g/kg、1.8 g/kg、5.5 g/kg给予吴茱萸汤浸膏溶液，各组均以10 mL/kg等容积灌胃的方式每天给药1次，连续灌胃28天，再进行28天的恢复期观察。试验期间每天对Beagle犬进行观察，定期进行常规指标检查：体重、肛温、眼科、尿液、血液学、凝血功能、血液生化学、心电图、病理组织学。**结果** 给药期间吴茱萸汤的中、高剂量组Beagle犬出现稀便、软便、呕吐等胃肠道异常，体重减轻，血液学指标PLT的升高及RET、RET（%）降低，凝血功能指标APTT延长，血生化指标Tbil上升及GLU下降，心电图指标P-R间期、Q-T间期、QTc延长及ST MID、心率下降，肝脏颜色改变、胆囊体积增大及胸腺萎缩等异常，异常程度呈明显剂量相关性，以上症状于恢复期减轻或消失，表明本试验条件下吴茱萸汤的中、高剂量对Beagle犬的胃肠道、血液学、凝血功能、血生化及肝、胆囊、胸腺产生不良影响。**结论** 在本研究条件下，吴茱萸汤无毒反应剂量（NOAEL）为0.6 g/kg（相当于1.73 g生药/kg，按体表面积折算相当于人临床用量的1.1倍）。

关键词：吴茱萸汤；Beagle犬；长期毒性试验

通讯作者：郭秋平，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

经典名方的相关政策法规解读及非临床安全性评价要点

周成浩，陈洁君，郭秋平
（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：中医药发展至今已经诞生了成百上千的具有广泛临床应用基础、疗效确切、明显特色优势的中药复方制剂；其中经典名方作为中药复方制剂的典型代表，在药品注册方面取得了新的突破，但同时也伴随着研究挑战，尤其是在非临床安全性评价研究方面。本文旨在探讨当前经典名方的非临床安全性评价的实施策略。

《中药注册管理补充规定》第七条明确规定："来源于古代经典名方的中药复方制剂，是指目前仍广泛应用、疗效确切、具有明显特色与优势的清代及清代以前医籍所记载的方剂。"国家重视古代经典名方的研发并给予了政策上的大力支持。在行政管理方面，《中华人民共和国中医药法》中明确规定：生产符合国家规定条件的来源于古代经典名方的中药复方制剂，在申请药品批准文号时，可以仅提供非临床安全性研究资料。在科技管理方面，科技部"重大新药创制科技重大专项"立项大力支持"中药经典名方开发"课题，基于中医典籍的经典名方研发得到进一步深入推进。在注册管理方面，《中药注册分类及申报资料要求》中注册分类新增了"古代经典名方中药复方制剂"的注册分类，包括3.1按古代经典名方目录管理的中药复方制剂和3.2其他来源于古代经典名方的中药复方制剂。按照《中医药法》和《中药注册分类及申报资料要求》等，古代经典名方中药复方制剂需完成非临床安全性研究支持上市许可申请，以发挥中医药原创优势，促进古代经典名方向中药新药的转化。

经典名方制剂的非临床安全性评价研究应参照现行中药复方制剂非临床安全性研究的技术要求，在通过《药物非临床研究质量管理规范》（GLP）认证的机构进行，应严格执行GLP规范要求。非临床安全性研究综述应为所申请药物的非临床安全性评估提供综合性和关键性评价。分析各项非临床安全性试验结果，综合分析及评价各项试验结果之间的相关性，种属和性别的差异性。出现毒性时应结合处方组成、临床应用经验、相关文献资料、功能主治、应用人群等进行详细分析，分析说明是否支持申请品种的上市申请，并将非临床安全性评价结果作为上市后风险控制计划和上市后临床安全性评价的重要参考信息。

关键词：经典名方；中药复方制剂；中药注册分类；非临床安全性评价

通讯作者：郭秋平，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

早期接触头孢曲松钠对肝脏代谢的长期影响

赖成泽
（广东医科大学）

摘要：目的 抗生素可以通过许多途径进入水和土地环境，其残留进入人体后可能与人体微生物群相互作用并导致许多疾病。环境中抗生素残留的摄入对早期生命来说是不可避免的。与生命后期相比，生命早期的肠道菌群更容易受到疾病、抗生素和饮食变化等干扰。然而，肠道微生物的紊乱可导致肠道代谢紊乱，进而产生有毒有害物质通过肠-肝轴进入肝脏。目前关于抗生素导致肝脏损伤的代谢变化及其代谢通路的改变尚不清楚，系统地鉴定其作用后的肝脏代谢谱及其相关通路的变化有助于我们了解其致病机制。因此，本实验基于代谢组学，以头孢曲松钠为例证明了头孢曲松钠引起肝损伤的可能性，显示了头孢曲松钠处理后肝脏的整体代谢情况，并为进一步研究头孢曲松钠引起肝脏损害的机制提供了理论框架。**材料和方法** 采用48只4周龄特异性无病原体C57BL/6雄性小鼠作为实验模型，随机分为抗生素组（连续给予0.2 ml浓度为400 mg/ml的头孢曲松钠抗生素溶液灌胃8天，每天灌胃2次，两次灌胃间隔时间为8 h）和对照组（使用无菌水灌胃，其他同上）。干预完毕后，使用正常饲料饲养小鼠两个月作为其恢复期，并每天评估小鼠生理情况、记录体重、食物摄入量并收集小鼠粪便。应用非靶向代谢组学（包括脂质组学）研究粪便和肝脏代

谢组学的变化，并结合粪便短链脂肪酸和胆汁酸的靶向测定。最后，对代谢与肠道微生物组之间的相关性进行了研究。**结果** 头孢曲松钠处理后：①小鼠体重增长速度和食物消耗量均显著增高；肝索结构出现紊乱，肝细胞体积增加，肝细胞有丝分裂率增加以及双核细胞数量增加。②在肝脏代谢组中，脂肪酸增加，抗氧化物和支链氨基酸减少。在粪便代谢组中，总胆汁酸增加（初级胆汁酸增加而次级胆汁酸减少）；总粪便短链脂肪酸没有显著变化，但丁酸减少。③：通路富集分析发现，肝脏和粪便中的能量代谢、脂质代谢和碳水化合物代谢紊乱。④：相关性分析提示头孢可能首先改变肠道微生物组（如破坏其正常结构，降低其丰度和微生物网络的稳定性），然后改变肠道代谢进而导致肝脏代谢紊乱。**结论** ①早期使用头孢曲松钠可能导致肝脏病理改变和代谢紊乱。②早期使用头孢曲松钠可能会改变肠道微生物组结构，导致粪便代谢紊乱，减少丁酸并增加总胆汁酸。③肠道微生物组可能介导早期使用头孢曲松钠引起的肝脏疾病。

关键词： 头孢曲松钠；肝脏；代谢组学；脂类组学

通讯作者： 赖成泽，E-mail：lcz1307472032@163.com

T04-0001

Theaflavin-3,3´-digallate might affect leptin-deficient nonalcoholic fatty liver disease via lipid metabolism regulated by Fads1/Pparδ/Fabp4 axis and gut microbiota

Cheng Zhou[1], Wenji Zhang[2], Luyun Zhang[1], Fan Wu[1], Yan Wang[1], Susu Yu[1], Xinyue Peng[1], Wenli Cheng[1], Min Li[1], Xiaoying Pan[2], Zhenrui Huang[2], Wenjuan Zhang[1]

(1. Department of Toxicology, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou, China; 2. Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, China)

Abstract: Objective Theaflavin-3, 3′-digallate (TF3), a kind of polyphenol compound extracted from black tea, has been reported to produce an effect on hypoglycemic and anti-lipid deposition *in vitro*. In this study, the function and novel mechanism of TF3 were investigated in protecting NAFLD *in vivo*. Materials and Methods C57BL/6J mice were the control group with saline (WT), and ob/ob mice were randomized into five groups, including the model group with saline (ob/ob), the positive group with polyene phosphatidyl choline of 3000 μL/kg (ob/ob + PPC), low TF3 group with the dose of 5 mg/kg (ob/ob + L-TF3), middle TF3 group with the dose of 10 mg/kg (ob/ob + M-TF3) and high TF3 group with the dose of 20 mg/kg (ob/ob + H-TF3). The intraperitoneal injection administration was performed every day for 4 weeks. The serum and tissue samples were obtained at the end of the experiment. Then the biochemical and histological analyses, transcriptome sequencing and 16S rRNA sequencing were performed further. Results TF3 treatment prevented body weight and waistline gain, reduced lipid accumulation, and alleviated liver function injury, as well as decreased serum lipid levels and TG levels in livers in ob/ob mice, with no side effects. Furthermore, the transcriptome sequencing of liver tissue showed that TF3 treatment corrected the expression profile of livers in ob/ob mice compared with that of the model group. It was interesting to note that TF3 might regulate lipid metabolism via the Fads1/Pparδ/Fabp4 axis. In addition, 16S rRNA sequencing demonstrated that TF3 increased the abundance of Prevotellaceae_UCG-001, norank_f_Ruminococcaceae, and GCA-900066575 and significantly decreased that of Parvibacter. Conclusion The effects of TF3 on NAFLD might be related to lipid metabolism regulated by the Fads1/PPARδ/Fabp4 axis and gut microbiota, as a promising candidate for the prevention and therapy of NAFLD.

Key words: TF3; Non-alcoholic fatty liver disease; RNA sequencing; 16s rRNA; Lipid metabolism

Foundation item: This work was supported by the National Natural Science Foundation of China

(81903319); Natural Science Foundation of Guangdong Province of China (2021A1515011220)

Correspondence: Zhenrui Huang, E-mail: huangzhenrui@gdaas. cn; Wenjuan Zhang, E-mail: zwj2080@126.com

T04-0002

极低烟碱卷烟的体外毒理学评价

王红娟，李　俊，陈　欢，付亚宁，侯宏卫，胡清源
（国家烟草质量监督检验中心，郑州　450001）

摘要：目的　吸烟是全球范围内的一个重要公共健康问题，与罹患多种疾病的风险增加有关。降低卷烟中的烟碱含量被认为是一种通过降低吸烟者依赖程度来减少吸烟对健康不利影响的策略。化学萃取是降低卷烟中烟碱含量的方法之一，本研究基于4种使用化学萃取法制备的不同烟碱含量的极低烟碱卷烟，对极低烟碱卷烟相对于常规卷烟的体外毒性风险进行评价。**材料和方法**　①经化学萃取法制备的4种极低烟碱卷烟和1种常规卷烟。常规卷烟烟碱含量为0.81 mg/cig，经化学萃取制备的4种极低烟碱卷烟的烟碱含量分别降至0.19，0.09，0.1，0.06 mg/cig。②0，20，40，60，80，100，120，140，160，180 μg/mL的卷烟烟气冷凝物（CSC）处理人支气管上皮细胞系NCI-H292细胞24 h，CCK8法检测细胞存活率。③根据细胞存活率曲线，使用0，20，40，60，80 μg/mL的CSC处理NCI-H292细胞24 h，采用EdU掺入法检测细胞增殖，JC-1探针检测线粒体膜电位变化，CellEvent Caspase3/7 Green荧光检测试剂（Thermo Fisher）检测Caspase3/7活性，Dihydroethidium荧光探针检测活性氧水平，免疫荧光检测DNA双链断裂标志物γH2AX水平。**结果**　①40～180 μg/mL的CSC处理24 h剂量依赖性地诱导NCI-H292细胞存活率下降，4种极低烟碱卷烟CSC的半抑制浓度（IC_{50}）分别为97.8±3.5，121.2±4.2，95.3±4.8，114.1±5.3 μg/mL，常规卷烟CSC的IC50为130.3±7.1 μg/mL，其中3种极低烟碱卷烟CSC的IC_{50}值显著低于常规卷烟。极低烟碱卷烟CSC的IC50与其烟碱含量无关。②80 μg/mL的剂量下，4种低烟碱卷烟CSC诱导的细胞增殖率下降程度、活性氧水平显著大于常规卷烟（$P<0.05$），3种低烟碱卷烟CSC诱导的γH2AX水平显著大于常规卷烟（$P<0.05$）。③在检测剂量范围内，所有卷烟CSC均剂量依赖性地引起线粒体膜电位下降，但4种极低烟碱卷烟CSC诱导线粒体膜电位下降程度与常规卷烟无显著差异（$P>0.05$）。④在检测剂量范围内，所有卷烟CSC均未显著诱导Caspase3/7活性上升（$P>0.05$）。**结论**　经化学萃取法制备的极低烟碱卷烟可损伤人支气管上皮细胞，其毒性机制与细胞增殖抑制、线粒体损伤、氧化应激和DNA损伤有关。在相同暴露剂量下，极低烟碱卷烟产生的毒性大于常规卷烟。烟碱含量在0.06～0.19 mg/cig的范围内对极低烟碱卷烟的毒性不起决定作用。

关键词：极低烟碱卷烟；化学萃取法；细胞增殖；活性氧；γH2AX

通讯作者：侯宏卫，E-mail：qsfctc@163.com；胡清源，E-mail：huqy1965@163.com

T04-0003

缬草根（提取物）对SD大鼠致畸作用的试验研究

李文立，张紫虹，胡帅尔，杨美玲，唐　娇，陈壁锋，黄志彪
（广东省疾病预防控制中心）

摘要：目的　观察妊娠SD大鼠接触缬草根（提取物）后，引起致畸的可能性，为人群安全食用缬草根（提取物）提供依据。**材料和方法**　缬草根（干品）经浸泡、水提、过滤、浓缩处理后，19.5公斤缬草根（干品）制得10.9公斤缬草根（提取物）。试验方法依《食品安全国家标准》进行。选用性成熟SPF级雄雌性大鼠，1∶2比

例合笼交配，次日早晨对雌鼠检查阴栓，以查出阴栓日为受孕零天。将受孕大鼠随机分为3.50、7.00、14.00 g/kg BW缬草根（提取物）剂量组，即低、中、高剂量组和阴性对照组，每组不少于16只。大鼠于受孕的第6～15天以2.0 ml/100g BW的灌胃量给予不同剂量的受试物，阴性对照组每天灌胃给予2.0 ml/100g BW纯净水。于受孕的第0天、给予受试物第1天、给予受试物期间每3天及处死当天称孕鼠体重；于受孕第20天处死孕鼠，剖腹取出子宫，称子宫连胎重，对所有处死的孕鼠进行大体解剖检查，逐一记录胎鼠性别、体重、体长及外观异常情况。活胎外观检查后，每窝约1/2胎鼠用95%乙醇固定，用茜素红溶液染色骨骼进行胎鼠枕骨、脊柱骨、胸骨、肋骨、盆骨、四肢骨的骨骼检查；约1/2胎鼠用Bouins液固定，对胎鼠头部（脊髓）、胸部和腹部的内脏进行检查。**结果** 1.各剂量组孕鼠体重增长正常；2.各剂量组受孕率、黄体数、着床数及平均活胎数与阴性对照组比较，差异均无统计学意义；各剂量组活胎、吸收胎及死胎百分率与阴性对照组比较，差异均无统计学意义；各剂量组胎鼠体重、体长与阴性对照组比较，差异均无统计学意义；3.各剂量组胎鼠外观检查、枕骨、脊柱骨、骨盆、四肢骨骼、肋骨检查、内脏检查均未见异常，各剂量组胸骨骨化中心缺失与阴性对照组比较，差异均无统计学意义；4.各剂量组胎鼠的各项畸胎率（外观、骨骼、内脏）及总畸胎率，与阴性对照组比较差异均无统计学意义；5.各剂量组孕鼠的各项窝畸形发生率（外观、骨骼、内脏）及总的窝畸形发生率与阴性对照组比较，差异均无统计学意义。**结论**：在本实验条件下，未发现缬草根（提取物）对大鼠具母体毒性、胚胎毒性和致畸作用。受试样品缬草根（提取物）对大鼠致畸试验的未观察到有害作用剂量（NOAEL）为14.00 g/kg BW，相当于缬草根（干品）剂量25.00 g/kg BW。

关键词：缬草根（提取物）；SD大鼠；致畸

通讯作者：李文立，E-mail：LWL13650744269@126.com

T04-0004

基于PBTK模型和体外实验评估镉暴露的健康风险

张阳春[1]，刘子祺[1]，王紫微[1]，高 欢[1]，汪雨晴[1]，崔梦醒[1]，彭宏浩[1]，肖勇梅[1]，靳 远[2]，于典科[2]，陈 雯[1]，王 庆[1]

（1. 中山大学公共卫生学院卫生毒理学系；2. 青岛大学公共卫生学院）

摘要：目的 镉（Cd）是一种常见的环境污染物，可造成包括肾脏在内的多器官损伤。为预防Cd诱导的肾脏毒性，国际权威机构通过流行病学研究设定了Cd的健康指导值。但能否通过体外试验得出Cd诱导肾脏毒性的人体等效剂量（HED），并且HED是否符合当前的指导值仍有待研究。**方法** 采用ROS探针检测、彗星实验、细胞周期检测、流式细胞术检测凋亡等实验，评价Cd诱导的肾小管上皮细胞毒性，并计算相应的BMDL10；使用电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）检测Cd染毒肾小管上皮细胞中Cd的含量；使用基于生理学的毒代动力学模型（PBTK模型）和蒙特卡洛模拟计算的男性和女性的HED，用于评价该方法获得的HED是否符合当前的健康指导值，并且评估Cd暴露的健康风险。**结果** 在Cd诱导肾脏毒性的AOP中，基于各关键事件（KE）在不同性别中的所计算的HED值存在差异：在女性中，由KE2（DNA损伤）、KE3（细胞周期阻滞）和KE4（细胞凋亡）得出的HED（μg/kg/周）分别为0.20（2.5～97.5百分位数：0.09～0.48）、0.52（0.24～1.26）和2.73（1.27～6.57）；男性中的HED分别为0.23（0.10～0.49）、0.60（0.27～1.30）和3.11（1.39～6.78）。其中，HEDKE4（女性）接近欧洲食品安全局设定的每周耐受摄入量（2.5 μg/kg/周）。我们进一步基于HEDKE4（女性）计算各地区的接触限值（MOE），结果显示生活在Cd污染地区的人群的MOE更高，其引起的肾毒性风险应引起关注。**结论** 我们的研究发现：基于Cd诱导肾损伤MOA的体外衍生HED与EFSA设定的基于健康的指导值之间存在良好的相关性。然而，就目前研究中报告的人群Cd暴露水平而言，仍有必要采取措施降低环境中的Cd含量及其摄入量，以降低健康风险，特别是对敏感人群和生活在Cd污染地区的人群。本研究基于计算机模型和体外实验工具，为环境化学物的风险评估提供新的方法。

关键词：镉；体外-体内外推；基于生理学的毒代动力学模型；风险评估

通讯作者：王 庆，E-mail：wangq27@mail.sysu.edu.cn

T04-0005

食品中河豚毒素超灵敏检测的AuNPs@MOF基双模式生物传感方法

刘 厦，高志贤
（军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所，天津 300050）

摘要：河豚毒素（Tetrodotoxin，TTX）是一种小分子非蛋白类神经性毒素，也是一种强毒性的生物碱，主要存在于河豚鱼等鲀科鱼类和其他生物的体表或体内，是海产品中毒事件中的重要致毒因子之一。因此，亟需建立一种超灵敏、可靠、简便的食品中痕量河豚毒素检测新方法，为保障食品安全和人类健康提供技术支撑。本研究利用高活性的金纳米颗粒（Gold nanoparticles，AuNPs）和高稳定性的金属有机框架（Metal-organic framework，MOF）材料，通过水热合成法制备了一种AuNPs掺杂的MOF纳米复合材料（AuNPs@MOF）。本方法以AuNPs@MOF作为荧光猝灭剂和拉曼增强基底，以Cy3（cyanine-3）染料标记的核酸适配体（Cy3-适配体）作为识别元件、荧光和拉曼探针分子，构建了一种荧光和表面增强拉曼散射（Surface-enhanced Raman scattering，SERS）双模式适配体传感方法。本方法优化了实验条件，包括材料用量和反应时间等，在最佳实验条件下，采用荧光和SERS双模式定量检测食品中河豚毒素。研究结果表明，反应前后变化的荧光和SERS强度与河豚毒素浓度的对数呈现良好的线性关系，检测范围为5个数量级，并分别获得超高检测灵敏度（19 pmol/L和25 pmol/L）。选择五种常见的海洋生物毒素作为检测干扰物，评价了本方法良好的特异性。采用加标法对河豚鱼肉和蛤蜊肉样品中的加标河豚毒素进行了定量分析，荧光模式测得的加标回收率在97%~108%之间，RSDs低于5%；SERS模式测得的加标回收率在95%~107%，RSDs低于8%。此外，本方法还成功用于检测天然河豚毒素污染的河豚鱼和蛤蜊样品，双模式检测结果与商业ELISA试剂盒的结果一致，证实了该传感方法在实际样品检测中的可行性和应用性。本方法提出的AuNPs@MOF纳米材料基双模式生物传感方法，已成功用于超灵敏检测食品中痕量河豚毒素，可为后续开发多模式和多应用的传感平台提供了新思路。

关键词：AuNPs@MOF纳米材料；河豚毒素；双模式；超灵敏检测
基金项目：国家自然科学基金（81973050）
通讯作者：刘 厦，E-mail：liushaxq@163.com

T04-0006

药食同源物质蜂蜜急性毒性和致突变性研究

聂燕敏，张 维，李子南，张 鹏，谭壮生，魏洪鑫，郝丽丽，高 珊
（北京疾病预防控制中心/食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室，北京 100013）

摘要：目的 通过体内、体外及模式生物等方法，初步研究蜂蜜的急性毒性和潜在的致突变性。**材料和方法** 同时采用3种模式研究蜂蜜急性毒性，应用小鼠霍恩氏法行急性经口毒性试验；通过CCK-8（细胞计数试剂）法计算分析蜂蜜对人肾上皮细胞系（293细胞）的急性毒性；应用秀丽隐杆线虫进行蜂蜜急性毒性研究。通过组合实验研究蜂蜜的致突变性，分别为哺乳动物红细胞微核试验、体外哺乳类细胞TK基因突变试验、以及细菌回复突变试验。**结果** 蜂蜜小鼠急性经口毒性半数致死剂量LD50及95%可信区间为：雌性小鼠：LD50 92.6 g/kgBW（63.6～135.0 g/kgBW）；雄性小鼠：LD50 92.6 g/kgBW（57.0～150.0 g/kgBW）；蜂蜜人肾上皮细胞系（293细胞）急性毒性半数致死浓度LC_{50}为464.213 g/L；浓度0、31.25、62.5、125、250、500 g/L蜂蜜处理线虫24 h，线虫死亡率分别为：0、4.55、2.08、0、100、100%，通过Probit模型计算得到线虫急性毒性LC_{50}为176.963g/L。在加与不加S9混合液的条件下，8、40、200、1000、5000 μg/皿5个浓度组的5种菌株（TA97、TA98、TA100、TA102、TA1535）的回复突变菌落数与自发回复突变菌落数相近，致变比（MR值）均小于2；7.5、15、30 g/kgBW 蜂蜜剂量组的小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率与阴性对照组相比，差

异均无统计学意义（P>0.05）；1.25、2.50、5.00 mg/mL蜂蜜处理小鼠淋巴瘤细胞（L5178Y）总突变频率（T-MF值）与阴性对照组相比未见明显增加，增加倍数均在1倍以内。**结论** 依据食品安全国家标准，蜂蜜急性毒性分级判定为实际无毒，应用体外细胞及秀丽隐杆线虫，初步得到急性毒性参考值；细菌回复突变试验、哺乳动物红细胞微核试验、体外哺乳类细胞TK基因突变试验均为阴性；在本实验条件下，药食同源物质蜂蜜未见明显的急性毒性及致突变性。

关键词： 药食同源；蜂蜜；急性毒性；致突变性；秀丽隐杆线虫

通讯作者： 高 珊，E-mail：gaoshan1010@tom.com

T04-0007

沙棘籽原花青素提取物大鼠亚急性经口毒性研究

夏 莹，曲 敏

（湖北省疾病预防控制中心，应用毒理湖北省重点实验室）

摘要：目的 原花青素是植物中广泛存在的一大类多酚化合物的总称，原花青素广泛存在于植物的皮、壳、籽、核、花、叶中。沙棘籽中提取的原花青素具有超强的抗氧化、消除自由基的作用，保护脂质不发生过氧化损伤；保护和稳定维生素c，帮助其吸收和利用。本试验为了确定大鼠在28天内经口重复接触沙棘籽原花青素提取物是否引起的毒性效应，了解剂量-反应关系、毒作用靶器官，得出28天经口最小观察到有害作用剂量（LOAEL）或未观察到有害作用剂量（NOAEL）。**材料与方法** 采用SPF级Wistar大鼠对沙棘籽原花青素提取物进行28天灌胃试验，根据沙棘籽原花青素提取物理化性质，设置阴性对照组和沙棘籽原花青素提取物低、中、高三个剂量组，各组剂量分别为：0 g/kg BW、0.59 g/kg BW、1.17 g/kg BW、3.51 g/kg BW；每组雌雄动物各10只。各剂量组与阴性对照组比较，以 $P<0.05$ 判断为显著性差异。整个试验期间，每天观察一次动物的一般临床表现，每周称量体重、摄食量，计算每周每只动物摄食量和食物利用率。进行眼部检查、临床检查、病理学检查和脏器称重。**结果** 1. 在整个观察期间，各组动物一般情况良好，无死亡及其他异常表现；阴性对照组和高剂量组动物眼科检查亦未见异常。2. 雌、雄各剂量组与阴性对照组比较，差异均无显著性。3. 雌、雄各剂量组与阴性对照组比较，血液学各项指标均无显著性差异。4. 雌性：与阴性对照组比较，中剂量组大鼠甘油三酯（TG）降低，差异有显著性（$P<0.05$），但无剂量-反应关系，且在本实验室该品系正常值范围内（雌：TG 0.22~1.32 mmol/L），故认为此变化无毒理学意义。雄性：与阴性对照组比较，高剂量组大鼠谷草转氨酶（AST）降低，差异有显著性（$P<0.05$），但在本实验室该品系正常值范围内（雄：AST≤154.6 U/L），且AST降低无临床意义，故认为此变化无毒理学意义。5. 雌、雄各剂量组与阴性对照组比较，尿液常规检验各指标均无显著性差异。6. 低、中、高剂量组各脏器重量、脏器系数与阴性对照组比较，均无显著性差异。7. 各组动物各脏器眼观均未见异常高剂量组及对照组病变表现为肝脏少量炎性细胞浸润、少量肝细胞空泡化、肾间质少量炎性细胞浸润、少量肾小管钙盐沉积、局部肺骨化生、膀胱内物质沉积。这些类型病变均为大鼠常见自发性病变，无明显生物学意义，未见受试物引起的毒性反应。**结论** 在本试验条件下，沙棘籽原花青素提取物大鼠28天经口毒性试验未观察到有害作用的剂量（NOAEL）为3.51 g/kg BW。

T04-0008

基于危害驱动策略的元素类污染物膳食累积风险评估：以重庆市为例

陈佳辉[2]，陈京蓉[1]，冯 萍[1]，罗书全[1]，张华东[1]，严晓峰[3]，练雪梅[2]，霍 娇[1,2,3]

（1. 重庆市疾病预防控制中心，重庆 400042；2. 重庆医科大学公共卫生学院，重庆 400016；
3. 重庆市公共卫生医疗救治中心，重庆 400016）

摘要：背景及目的 化学物累积风险评估是食品安全风险评估的重要研究方向，其主要难点在于实际暴

露的复杂性。在本研究中，将以重庆市为例，使用危害驱动策略（hazard-driven criteria）对居民膳食元素类污染物暴露进行累积风险评估。本研究提供了一种基于毒作用模式（mode of action，MOA）和有害结局路径（adverse outcome pathway，AOP）的累积风险评估示例，以期进一步促进累积风险评估方法学研究，并为现阶段评估和管理方式提供思考。**方法** 利用2016—2021年重庆市10类食品中重金属元素含量监测数据，采用危害驱动策略筛选评估物质和关键效应，应用证据权重等方法来收集、权衡和整合现有的重金属元素毒性证据，构建共同AOP。结合中国健康与营养调查项目中2018年重庆市膳食消费量数据，采用概率评估方法，通过蒙特卡洛模拟法分别计算元素类污染物联合暴露产生的累积风险进行评估。**结果**：确定以共同有害结局——肾脏损伤作为评估终点，纳入的评估元素为铅、镉、汞。重庆市市售食品中铅、镉和总汞的平均值含量范围分别为0.0064~0.0838、0.0014 ~0.2283、0.0010 ~0.0192 mg/kg，总检出率分别为29.8%、54.4%、22.3%。在不同年龄人群中，铅、镉和总汞的膳食联合暴露人均综合暴露边界（total margin of exposure，MOET）值范围为0.49~0.85，高暴露水平（P95）人群的铅、镉和总汞的膳食联合暴露MOET范围为0.16 ~0.33，其中7~17岁人群铅、镉和总汞的MOET最低。按性别分组可见，男性铅、镉和总汞膳食联合暴露的MOET值（0.17~0.71）低于女性（0.18~0.74）。按地区分组可见，城市铅、镉和总汞的膳食MOET均值（0.57~0.73）高于农村（0.56~0.72），高暴露水平（P95）两组的铅、镉和总汞的膳食联合暴露MOET值范围均为0.18~0.27。对重庆市不同年龄、性别、地区人群的累积风险评估结果表明，所有年龄、性别、地区组MOET值均小于1。**结论** 根据评估结果显示，重庆市居民可能存在经膳食铅、镉、汞联合暴露而导致肾脏损伤的潜在健康风险。随着累积风险评估方法的应用，对于不同物质联合暴露造成的健康风险值得进一步关注。

关键词：铅；镉；汞；危害驱动；累积风险评估；概率评估

通讯作者：霍　娇，E-mail：lamarhj@126.com

T04-0009

叶酸对N-亚硝基化合物诱导大鼠胃黏膜炎症损伤和细胞凋亡失衡的干预作用及机制研究

车　俐[1]，梁　媛[1]，王　莉[1,2]，孙榕静[1]，余　佳[1]，王丹丹[1]，龚家敏[1]，程遂志[1,2]，杨清清[1]，刘振中[1]

（1. 川北医学院公共卫生学院，四川 南充　637100；2. 川北医学院药学院，四川 南充　637100）

摘要：目的 探讨叶酸对N-亚硝基化合物典型代表N-甲基-N′-硝基-N-亚硝基胍（MNNG）诱导大鼠胃黏膜炎症损伤和细胞凋亡失衡的干预作用及机制。**材料和方法** 将30只SPF级雌性SD大鼠随机分成对照组（DMSO+生理盐水）、模型组（25 mg/kg MNNG）、叶酸低剂量组（25 mg/kg MNNG + 1.25 mg/kg）、叶酸中剂量组（25 mg/kg MNNG + 2.5 mg/kg）、叶酸高剂量组（25 mg/kg MNNG + 5 mg/kg），以自由饮水的方式给药，12周后处死大鼠。H&E染色观察大鼠胃组织病变情况；TUNEL染色评价胃粘膜细胞凋亡情况；采用RT-qPCR和ELISA法分别检测胃黏膜中炎性标志物IL-6、IL-8、TNF-α、IL-1β、IL-18 mRNA及含量；采用RT-qPCR和Western Blot法分别检测NF-κB通路、NLRP3炎症小体、凋亡表型、PI3K/AKT通路相关基因和蛋白水平。**结果** 与对照组相比，模型组出现胃黏膜上皮细胞脱落、炎性细胞浸润、胃腺排列紊乱、细胞增生明显等病理损伤；与模型组相比，叶酸剂量组以上病理损伤程度随叶酸剂量的增加依次减轻。模型组IL-6、IL-8、TNF-α水平与对照组相比明显升高（$P<0.01$，$P<0.001$），叶酸干预后以上炎症因子水平明显降低。与对照组相比，模型组IKKα、p-IKKα、p-IκBα、p65、p-p65蛋白表达量明显上升，IκBα蛋白表达量明显下降（$P<0.001$）；与模型组相比，叶酸剂量组IKKα、p-IKKα、p-IκBα、p65、p-p65蛋白表达量降低，IκBα蛋白表达量明显升高（$P<0.001$）。MNNG染毒可有效激活NLRP3炎症小体，而叶酸可干预MNNG引起的NLRP3、ASC、pro Caspase-1、Caspase-1、IL-1β、IL-18水平上升。在细胞凋亡方面，叶酸可抑制MNNG引起的Bax、Caspase-3、Cleaved Caspase-3表达量明显降低及Bcl-2表达量急剧升高。TUNEL结果显示叶酸可缓解MNNG暴露引起的胃黏膜细胞凋亡失衡。MNNG染毒可有效激活PI3K/AKT通路，而叶酸干预可上调PTEN表达量，下调PI3K、AKT、p-AKT、mTOR表达量。**结论** 本研究首次探究了MNNG与NLRP3炎症小

体之间的关系及叶酸在此过程中发挥的作用，得出MNNG暴露可有效激活NF-κB/NLRP3和PI3K/AKT通路促进胃黏膜炎症和导致胃黏膜细胞凋亡失衡，而叶酸可通过逆转该过程发挥对胃黏膜的保护作用，预防N-亚硝基化合物致胃黏膜上皮细胞癌变的发生。

关键词：MNNG；叶酸；炎症；凋亡；NF-κB/NLRP3；PI3K/AKT

基金项目：四川省科技厅应用基础项目（2020YJ0382）；四川省卫健委应用普及项目（19PJ199）

通讯作者：刘振中，E-mail：liuzhenzhong@nsmc.edu.cn

T04-0010

2-乙酰基-4-四羟基-丁基咪唑（THI）对大鼠脾脏免疫细胞的影响

袁 悦，原黎兰，赵 喆，郝卫东

（北京大学公共卫生学院毒理学系，食品安全毒理学研究与评价北京市重点实验室，北京 100191）

摘要：目的 探究Ⅲ类焦糖色的主要副产物2-乙酰基-4-四羟基-丁基咪唑（THI）对大鼠脾脏免疫细胞分型和功能的影响，为阐明THI的免疫毒性提供资料。 **方法** 选取50只健康成年的SPF级雌性SD大鼠，随机分为5组，每组10只，进行THI经口灌胃染毒，剂量分别为0、0.1、0.5、2.5和5 mg/kg bw，连续染毒30天后麻醉处死，记录大鼠体重和脾脏湿重并测定脏器系数，使用刀豆蛋白A诱导的淋巴细胞转化试验测定脾脏T淋巴细胞增殖能力，使用乳酸脱氢酶（LDH）法测定脾脏自然杀伤（NK）细胞的活性，使用流式细胞术分析脾脏中T淋巴细胞和各亚群的比例，以及B淋巴细胞、巨噬细胞和NK细胞的比例。 **结果** THI各剂量组大鼠的体重与对照组相比无明显变化，脾脏湿重和脏器系数也未出现明显差异。淋巴细胞转化试验结果显示，2.5和5 mg/kg THI染毒可使大鼠脾脏T淋巴细胞增殖能力降低。LDH法的结果分析表明，各剂量组大鼠脾脏NK细胞活性与对照组相比无明显差异。流式细胞术结果显示，5 mg/kg THI染毒可使大鼠脾脏中T淋巴细胞的比例降低，但T淋巴细胞中$CD4^+CD8^-$和$CD4^-CD8^+$型T细胞亚群的比例无明显变化；巨噬细胞和NK细胞的比例在2.5和5 mg/kg剂量组升高，B淋巴细胞的比例未出现明显差异。 **结论** THI可降低大鼠脾脏T淋巴细胞的增殖能力，影响脾脏中各免疫细胞的分型，降低脾脏T淋巴细胞并升高巨噬细胞和NK细胞的比例。

关键词：2-乙酰基-4-四羟基-丁基咪唑；脾脏；免疫细胞

基金项目：国家自然科学基金（82073586）

作者简介：袁 悦，E-mail：2011210121@bjmu.edu.cn

通讯作者：郝卫东，E-mail：whao@bjmu.edu.cn

T04-0011

竹荪多糖对高脂诱导非酒精性脂肪肝小鼠肝脏AMPK/CPT1通路的影响

胡 婷，禄 菊，罗 鹏

（贵州医科大学公共卫生与健康学院，贵阳 550025）

摘要：目的 探讨竹荪多糖对高脂诱导非酒精性脂肪肝小鼠肝脏脂质沉积及AMPK/CPT1通路的影响。 **方法** 6周龄SPF级C57BL/6J雄性小鼠（18～20 g）40只，随机分为2组：ND组（正常对照组）12只和HFD组（高脂饮食组）28只。16周后，ND组及模型组随机各抽取4只小鼠行肝脏油红O染色，证实NAFLD病变形成，造模成功后，HFD组随机分为3组：HFD组（高脂饮食组），DIP-L组（高脂饮食+竹荪多糖低剂量组），DIP-H组（高脂饮食+竹荪多糖高剂量组），每组8只。DIP-L、DIP-H组分别给予竹荪多糖200 mg/kg/d、400 mg/kg/d灌胃，ND组及HFD组予以生理盐水灌胃。灌胃量10 mL/kg/d，持续6周。实验终点，取各组

小鼠血清及肝组织测定TC、TG、FFA等指标；油红O染色观察肝脏组织中脂质沉积变化；qRT-PCR法和Western blot检测肝脏AMPK、CPT1、CD36 mRNA及蛋白的相对表达量。**结果** 与正常对照组组相比，HFD组小鼠体重升高（$P<0.05$），DIP各组较HFD组降低（$P<0.05$）。HFD组小鼠肝脏体积相比正常组稍大，表面呈暗黄色、被膜拉紧，肝脏边缘圆润，相比HFD组，两个DIP治疗组小鼠肝脏在上述几个方面的性状均有一定程度的好转。油红O染色结果显示，两个DIP治疗组明显改善肝脏组织的病变程度和脂质沉积。生化结果显示，与HFD组相比，两个DIP治疗组均降低NAFLD小鼠血清和肝组织中的TG、TC和FFA水平（$P<0.05$）。qRT-PCR结果显示，与正常对照组相比，HFD组肝脏组织中AMPK、CPT1 mRNA表达量均明显下调（$P<0.05$），而CD36 mRNA明显上调（$P<0.05$）；DIP干预后，肝脏组织中AMPK、CPT1 mRNA表达水平较HFD组明显上升（$P<0.05$），CD36 mRNA明显下调（$P<0.05$）。Western blot结果说明，对比正常对照组，HFD组小鼠pAMPK/AMPK、CPT1蛋白表达降低（$P<0.05$），CD36蛋白表达上升（$P<0.05$）。与HFD组相比，两个DIP治疗组小鼠pAMPK/AMPK、CPT1蛋白表达上升（$P<0.05$），CD36蛋白表达降低（$P<0.05$）。**结论** 竹荪多糖能够上调NAFLD小鼠肝脏中p-AMPK/AMPK及CPT1并下调CD36，提示竹荪多糖能够调控AMPK/CPT1通路，加强脂肪酸的氧化过程，从而改善肝脏脂质沉积。

关键词：竹荪多糖；NAFLD；脂代谢；AMPK/CPT1通路；小鼠

基金项目：国家自然科学基金（82173642）；贵州省教育厅项目（黔教合KY字[2022]218）

通讯作者：罗　鹏，E-mail：luopeng@gmc.edu.cn

T04-0012

维生素B6营养状况对2-乙酰基-4-四羟基丁基咪唑（THI）引起外周血淋巴细胞减少作用的影响

原黎兰[1]，赵　喆，袁　悦，肖倩倩，郝卫东

（北京大学公共卫生学院毒理学系；*食品安全毒理学研究与评价北京市重点实验室，北京　100191）

摘要：目的 焦糖色又称焦糖色素，是在食品中被广泛应用的天然色素之一，2-乙酰基-4-四羟基丁基咪唑（THI）是氨法生产焦糖色素时产生的一种副产物。有研究指出，THI可以引起小鼠外周血白细胞总数和淋巴细胞数可逆性下降，维生素在其中可起到保护作用。本研究初步探究不同维生素B6营养状况下THI引起小鼠外周血淋巴细胞下降的作用，为进一步研究其免疫毒性提供信息。**方法** 6周龄SPF级BALB/C雌鼠随机分为维生素B6正常（6 mg/kg）饲料、维生素B6缺乏（0.5 mg/kg）饲料及维生素B6增强（12 mg/kg）饲料喂养组，适应性喂养5天后，分别进行THI（0、0.5、2.5、12.5 mg/kg）经口灌胃染毒30天。通过白细胞计数仪计数外周血中白细胞总数及淋巴细胞数，通过流式细胞术检测外周血以及胸腺中T淋巴细胞分型。**结果** 与对照组相比，维生素B6正常喂养组，THI 2.5及12.5 mg/kg染毒组的外周血白细胞数及淋巴细胞数均有明显下降（$P<0.05$），维生素B6缺乏喂养组，THI各染毒组的外周血白细胞数及淋巴细胞数均有明显下降（$P<0.05$）；维生素B6增强喂养组，仅THI 12.5 mg/kg染毒组的外周血白细胞数及淋巴细胞数有明显下降（$P<0.05$）。流式细胞术分析发现，THI染毒组胸腺中T细胞比例（尤其是成熟T淋巴细胞）剂量依赖性升高（$P<0.01$），与对照组相比，THI染毒组外周血中$CD3^+$T细胞比例明显降低（$P<0.01$），$CD4^+CD8^-$ T细胞比例也有明显降低（$P<0.01$），$CD4^-CD8^+$ T细胞比例没有明显变化。在维生素B6正常和缺乏组中，NK细胞和B细胞的数量出现剂量依赖性下降（$P<0.05$）。**结论** THI会引起小鼠外周血白细胞数及淋巴细胞数减少，成熟T细胞出现剂量依赖性下降，补充维生素B6对THI的毒性有一定程度的保护作用。

关键词：2-乙酰基-4-四羟基丁基咪唑；淋巴细胞数；维生素B6

基金项目：国家自然科学基金（82073586）

作者简介：原黎兰，E-mail：yuanlilan@pku.edu.cn

通讯作者：郝卫东，E-mail：whao@bjmu.edu.cn

T04-0013

基于非动物测试的新技术方法预测塑化剂干扰人体肝脏脂质代谢效应

施妙盈，田亚茹，张倩男，李永宁，杨 辉，贾旭东
（国家食品安全风险评估中心，北京 100021）

摘要：邻苯二甲酸二乙基己基（DEHP）是一种广泛使用在食品包装材料中的塑化剂。近年来，DEHP干扰脂质代谢作用引起了高度关注，有动物实验表明DEHP可通过影响免疫细胞分化而造成肝脏脂质代谢紊乱。但由于动物外推人体的不确定性，DEHP潜在基于人体脂质代谢干扰作用的量效关系尚不明确，利用可靠的动物实验替代法预测人体毒性是解决问题的关键。基于生理毒代动力学（PBTK）模型的反向剂量法是国际上新兴的新技术方法（NAMs）之一，该方法通过整合毒效动力学和毒代动力学数据，将基于体外模型的浓度-反应曲线转换为基于人体的外暴露剂量-反应曲线，并以其为基础计算化合物的人体安全暴露水平出发点，为风险评估提供信息。**目的** 本研究旨在利用基于人源肝脏-巨噬细胞的体外模型和基于PBTK模型的反向剂量法预测DEHP诱导肝脏脂质代谢紊乱的人体外暴露剂量水平。**方法** 利用人源肝脏细胞（HepG2）以及人源单核细胞（THP-1）分化巨噬细胞共培养体外细胞模型获得DEHP及其代谢产物MEHP基于脂肪酸吸收及脂质堆积的浓度-反应曲线。根据DEHP及MEHP暴露特点，使用计算机模拟参数及文献参数建立PBTK模型，通过对比体内毒代动力学数据验证模型预测的准确性。基于已验证的PBTK模型，利用反向剂量法将体外细胞模型中获得的浓度-反应曲线转换为人体外暴露剂量-反应曲线，预测不同外暴露情景下DEHP潜在干扰人体肝脏脂质代谢的效应。**结果** DEHP和MEHP在肝脏-巨噬细胞共培养模型中引起剂量依赖性的脂肪堆积效应且MEHP毒性效力大于DEHP。DEHP及MEHP经口暴露的人体PBTK模型预测结果与文献报道的体内数据拟合良好，误差在1.5倍之内。体外肝脏-巨噬细胞共培养模型和基于PBTK模型的反向剂量法可用于预测DEHP干扰肝脏脂质代谢的外暴露剂量-反应曲线，综合考虑DEHP和MEHP的体外相对毒性效力及MEHP体内外毒性效应浓度相对大小，MEHP可能在DEHP导致人体肝脏脂质代谢紊乱中起主导作用。**结论** 研究表明整合体外肝脏脂质代谢数据和基于PBTK模型的反向剂量法可用于预测DEHP干扰肝脏脂质代谢的人体效应，为使用基于动物实验替代法的NAMs进行塑化剂危害评估提供了原理证明。

关键词：塑化剂；肝脏脂质代谢；PBTK模型；反向剂量法；动物实验替代法

通讯作者：贾旭东，E-mail：jiaxudong@cfsa.net.cn

T04-0014

哺乳期母体倒千里光碱暴露诱导母乳成分及子代大鼠糖脂代谢稳态改变

戴永国[1,2]，汪 晖[1,2]，郭 喻[1,2]
（1. 武汉大学基础医学院药理学系，湖北 武汉 430071；2. 发育源性疾病湖北省重点实验室，湖北 武汉 430071）

摘要：目的 吡咯里西啶生物碱（pyrrolizidine alkaloids，PAs）是一种植物来源的毒素，可通过污染谷物、凉茶、牛奶、蜂蜜等多种食物及膳食补充剂而对人类健康构成威胁。尽管PAs对成人的毒性特性及机制已受到广泛关注，但仍然缺乏关于生命早期PAs暴露对个体短期与长期危害以及潜在机制的探讨。在这项研究中，我们重点关注哺乳期母体暴露于一种典型毒性PA——倒千里光碱（retrorsine，RTS）对母乳成分及子代长期糖脂代谢的影响。**材料与方法** RTS（≥98.0%）购买于Sigma公司。9周龄雌性和雄性SPF级Wistar大鼠购买于北京维通利华实验动物技术有限公司。所有的动物实验由武汉大学动物实验中心动物管理与使用委员会审查和批准（IACUC NO. 2018118）。雌性大鼠受孕后自然分娩。子代出生后第1天（postnatal day 1，PD1）至PD22，母鼠每天灌胃给予5 mg/kg RTS。PD20采集母鼠乳汁进行非靶向代谢组学分

析。部分幼崽于PD22时进行安乐死，剩余幼崽正常饲养至成年（PD84）时进行安乐死；然后，收集血和肝脏并检测糖脂代谢相关指标。**结果** 代谢组学分析显示，母乳中的代谢产物模式在对照组和RTS暴露组中显著不同，并鉴定出114个差异代谢物。这些母乳差异代谢物在RTS暴露组中大部分的含量降低，主要为脂质和类脂分子；而RTS及其衍生物菘蓝千里光碱（isatidine）在RTS暴露的母乳中大量存在。此外，母体RTS暴露增加了哺乳期幼崽的血清谷草转氨酶（aspartate transaminase，AST）、谷丙转氨酶（alanine transaminase，ALT）和碱性磷酸酶（alkaline phosphatase，AKP）活性，但这些肝功能指标（AST、ALT和AKP）在成年子代中恢复正常。有趣的是，母体RTS暴露幼崽的血糖水平较低，但成年雄性子代的血糖水平较高。母体RTS暴露还导致幼崽和成年子代的高甘油三酯血症、肝脏脂肪变性和糖原含量降低。进一步发现肝脏过氧化物酶体增殖物激活受体α（peroxisome proliferator-activated receptor α，PPARα）-成纤维细胞生长因子21（fibroblast growth factors 21，FGF21）轴在母体RTS暴露的幼崽和成年子代中持续受到抑制。**结论** 哺乳期母体RTS暴露下，较低的母乳脂质含量引起的PPARα-FGF21轴抑制及母乳中RTS引起的幼崽肝毒性损伤可能损害幼崽葡萄糖和脂质代谢稳态，而PPARα-FGF21轴的持续抑制可能进一步导致成年子代的糖脂质代谢紊乱。

关键词：倒千里光碱；哺乳期暴露；母乳成分；糖脂代谢；PPARα-FGF21轴

基金项目：国家自然科学基金（82030111）

通讯作者：郭　喻，E-mail：guoy@whu.edu.cn

T04-0015

塑化剂邻苯二甲酸二环己酯（DCHP）对脂质代谢的干扰效应研究

田亚茹[1,2]，杨　辉[2]，杨杏芬[1]，吴永宁[2]，贾旭东[2]

（1. 南方医科大学公共卫生学院，食物安全与健康研究中心，广东省热带病重点实验室，广州　510515；2. 国家食品安全风险评估中心，北京　100021）

摘要：背景 邻苯二甲酸二环己酯（dicyclohexyl phthalate，DCHP）作为塑料加工等的重要助剂，可通过食品污染造成人体暴露并引发健康危害。塑化剂是一类内分泌干扰物，对机体脂质代谢具有显著影响，但DCHP对于机体整体脂质代谢的干扰效应及作用机制尚不清楚。目的 阐明塑化剂DCHP对不同细胞类型的脂质代谢干扰作用及其在机体整体水平的效应结局。**材料与方法** 采用脂质探针及活细胞高内涵成像分析研究细胞脂质摄取及堆积情况；利用人源单核-巨噬细胞分化模型，研究DCHP及其主要代谢产物邻苯二甲酸单环己酯（Monocyclohexyl phthalate，MCHP）对M2型巨噬细胞分化的影响。利用RNA测序研究细胞转录组学水平改变。利用单细胞测序研究小鼠肝脏和脂肪组织细胞构成及功能改变。构建巨噬细胞Pparg基因条件性敲除小鼠模型，通过28天经口重复染毒试验，验证PPAR信号通路对巨噬细胞分化及脂质代谢的影响。**结果** DCHP和MCHP剂量依赖地促进HepG2细胞的脂质摄取和脂质堆积，且代谢产物MCHP效应强于原型DCHP；在人源单核-巨噬细胞分化模型中，MCHP显著抑制M2型分化标志基因CD209的表达，同时促进脂质代谢关键调节蛋白CD36的表达。转录组学分析显示，胆固醇代谢和PPAR信号通路是MCHP在肝细胞中的主要作用靶点。小鼠肝脏及脂肪组织的单细胞测序结果显示，肝细胞代谢、巨噬细胞及脂肪细胞的分化在DCHP经口暴露后均发生显著改变。**结论** DCHP及其主要代谢产物MCHP可能通过激活PPAR信号通路影响胆固醇代谢，并干扰肝细胞和巨噬细胞的脂质代谢平衡。DCHP的膳食暴露可能会对人体肝脏脂质代谢产生不良效应，且巨噬细胞在DCHP诱发机体整体脂质代谢紊乱中可能具有关键作用。

关键词：塑化剂；邻苯二甲酸二环己酯；巨噬细胞；脂质代谢

通讯作者：杨杏芬，E-mail：xfyang@vip.163.com；吴永宁，E-mail：wuyongning@cfsa.net.cn；贾旭东，E-mail：jiaxudong@cfsa.net.cn

T04-0019

肉苁蓉提取物安全性毒理学研究

胡雄飞，卢文婷，陈志莲，张丽娜，杨秀鸿
（湖南省职业病防治院毒理室，长沙 410007）

摘要：目的 植物化学物质是植物中含有除必须营养成分外的、具有不同保健功能的一类物质，属于低分子量的生物活性物质。肉苁蓉提取物中含有多种活性成分，对人体的有益作用明显，目前发现其具有润肠通便、增强细胞免疫功能、护肝等保健功效。本次研究通过对其急性毒性、短期毒性及遗传毒性评价，为产品的保健功能开发奠定一定的科学基础。**方法** 采用大鼠急性经口毒性试验和90天经口毒性试验评价肉苁蓉提取物的一般毒性，采用3项致突变试验（Ames试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验以及体外哺乳细胞染色体畸变试验）评价肉苁蓉提取物的遗传毒性，试验方法均按国家标准进行。Ames试验组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌。菌株分别为TA97、TA98、TA100、TA102，均由美国MOLTOX公司提供，经本实验室鉴定符合要求。体外哺乳细胞染色体畸变试验中国仓鼠肺（CHL）细胞株，购自中国科学院细胞库（中国上海）。**结果** 肉苁蓉提取物对雌、雄性小鼠的急性经口半数致死剂量（LD_{50}）均大于10 g/kg；3项致突变试验（Ames试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验以及体外哺乳细胞染色体畸变试验）的结果均为阴性；90天经口毒性试验实验期间各剂量组动物活动正常，口鼻未见分泌物异常，瞳孔大小正常。动物进食、饮水基本正常，粪便性状正常，未见明显行为改变和中毒表现，亦未见动物死亡。受检样品对大鼠血液学和血液生化指标均无明显影响，大鼠肝脏、脾脏和肾脏脏器重量及脏器系数均正常，病理检查未见脏器明显异常。**结论** 通过本次试验研究受检样品对动物的一般毒性和遗传毒性，我们未观察到其所致损害作用。据此推断，该受检样品具有较高的食用安全性，在推荐剂量范围内使用是安全的，我们可进一步开展相关功能学研究。

关键词： 安全性评价；急性毒性；遗传毒性；90 d喂养试验

T04-0023

母乳中全氟/多氟烷基化合物的健康风险评估

苏佳惠[1,2]，周群芳[1,2]，江桂斌[1,2]
（1. 环境化学与生态毒理学国家重点实验室，中国科学院生态环境研究中心，北京 100085；
2. 资源与环境学院，中国科学院大学，北京 100049）

摘要： 全氟或多氟烷基化合物（per-and polyfluoroalkyl substances，PFASs）是一类在日常生活中常见的物质，在纸张、纺织品、食品包装等消费品的生产过程中广泛应用，代表性化合物全氟辛烷磺酸（PFOS）和全氟辛酸（PFOA）及其替代品在环境样品与人体血液、尿液、母乳等中均有检出。女性在妊娠期接触PFASs不仅对母体本身具有不利影响，还可能通过胎盘转运和母乳喂养影响下一代的健康。研究表明，孩子在出生后第一年更容易受到PFASs的影响，而母体血液中的PFOA水平也被发现与婴儿出生后第一年的体重具有相关性。母乳是婴儿2岁前的主要饮食，也是婴儿暴露PFASs的主要途径，因此母乳中PFAS水平可能在一定程度上可以反映儿童早期暴露状况与潜在健康风险。**目的** 本研究旨在通过分析母乳中四种主要PFAS，包括：全氟辛烷磺酸（PFOS）、全氟辛酸（PFOA）、全氟己烷磺酸（PFHxS）与全氟壬酸（PFNA），预测婴儿出生前两年中体内的累积浓度，由此评估受污染母乳喂养可能带来的健康风险。**材料和方法** 母乳中四种PFASs含量数据来源于已发表的文献，各阶段的计算通过动力学模型模拟得到。评估的内容包括通过分析文献数据模拟计算母亲妊娠期间的日摄入量和血液水平、母体子宫暴露水平、婴儿的日摄入量水平，以及婴儿在前两年特定时间段的血液PFASs水平。研究进一步选择四个不同的毒性终点或毒性作用通路，初步计算婴儿日摄入量的最低风险水平（MRL）。**结果** （1）5个国家或地区的母乳样品中PFHxS和PFNA残留造成的健康风险是普遍的，包括甲状腺疾病、发育和免疫疾病；（2）婴儿血液中4种PFASs浓度在

母乳喂养6个月时达到最高水平；(3)成人的MRL值不适用于儿童，尤其是PFHxS和PFNA的安全摄入值被低估1个数量级。**结论** 现有母乳中PFASs残留可能引起婴儿不良发育风险，尤其是PFHxS和PFNA污染引起的健康危害需要加强关注。

关键词： PFASs；母乳喂养；发育风险；最低风险水平

通讯作者： 周群芳，E-mail：zhouqf@rcees.ac.cn

T04-0036

基于CRISPR/Cas技术对食源性病原菌的分子诊断

白津榕

（四川大学华西公共卫生学院，成都 610041）

摘要： 随着现代食品加工工业的发展，食源性病原菌感染的危害已经给人类带来很多方面的问题。病原菌的快速检测和准确诊断是保障食品安全的重要手段。传统的检测方法耗时耗力，而且易出现假阴性或假阳性结果。因此，发展快速、准确、灵敏的分子诊断技术变得尤为重要。基于CRISPR/Cas的分子诊断技术可以通过检测外源DNA序列来实现对食源性病原菌的检测和鉴定，具有快速、准确、灵敏、特异性强等优势，因此近年来备受关注。目前，以CRISPR/Cas技术为基础，结合荧光、比色、电化学发光、表面增强拉曼光谱（SERS）等生物传感器平台对食源性病原菌的分子诊断被广泛研究，这些方法有其各自优势。在荧光检测方面，通过引入具有光启动功能的核酸探针，利用Cas12a酶在靶标DNA序列特异性切割时释放出荧光信号的特征，实现对病原菌的高效检测。该方法具有高信噪比、易于检测的特点。基于CRISPR/Cas的比色检测是一种功能强大的即时检测（POCT）方法，如CRISPR/Cas系统可以借助Cas13a酶的RNA裂解活性，直接将靶标RNA转录为与自身程序相配的RNA结构，进而触发比色反应产生可见信号。该方法无需大型分析仪器，可直接用肉眼观察。电化学发光通常是利用碳纳米管电极上修饰多糖，再结合CRISPR/Cas系统对电化学信号的产生。该方法灵敏度高、检测范围广。基于CRISPR/Cas的SERS平台于2020年开始被研究，该方法可实现现场检测，装置便携，具有对水无干扰、特异性强的特点。当然，基于CRISPR/Cas的检测技术仍存在操作步骤较为复杂的局限性，包括核酸扩增和反应过程，该过程增加了交叉污染和假阳性率的风险。因此，一种利用CRISPR-Cas12a驱动的人工自催化核酸正反馈网络已被构建，该方法实现了无扩增和实时检测靶基因的目的。未来，我们可以更深入地挖掘CRISPR/Cas系统的潜力，在设计新型探针、选择更好的信号转导途径、提高检测灵敏度和便捷性等方面开展更为精准、高效的食源性病原菌的分子诊断技术研究，以期为食品安全领域的保障提供更为坚实的支持。

关键词： CRISPR/Cas；食源性病原菌；核酸诊断；食品安全；生物传感器

通讯作者： 白津榕，E-mail：baijinrong01@hotmail.com

低剂量矮壮素对植入后胚胎生长激素的动态影响研究

巴音达拉·夏格德尔，马 龙，吴宗振

（新疆医科大学卫生毒理学教研室）

摘要：目的 既往研究表明，矮壮素在体内和体外均能引起胚胎生长加速，胚胎生长激素水平升高。为了进一步研究更低剂量下矮壮素对胚胎生长发育的影响，为矮壮素的安全性评价提供更新的数据。我们探究了安全限值内的矮壮素对生长发育第11天和13天的胚胎生长发育指标以及胚胎生长激素的影响。**材料和方法** 采用雌性和雄性SD大鼠交配后，以精子检出之日为胚胎发育第0天（GD 0）。从GD0开始，孕鼠经口暴露剂量为0，0.05，0.5和5 mg/kg.bw的矮壮素，每日记录孕鼠体重。分别在GD11和GD13对孕鼠施行

安乐死，获得胚胎。在体视显微镜下测量胚胎头长和顶臀长作为胚胎生长指标，用Brown′s 评分法评估胚胎的体屈，心脏，前、中、后脑，尾神经管，视觉、听觉和嗅觉器官，腮弓，上、下颌突，前、后枝芽以及体节等发育指标。用ELISA检测GD 11和GD 13整体胚胎的生长激素（GH）水平。**结果** 从GD0到GD13，各剂量组孕鼠体重差异无统计学意义。但是从GD11开始，孕鼠体重出现了随着矮壮素剂量增加而逐渐升高的趋势。同时，矮壮素处理组GD11和GD13胚胎头长和顶臀长也明显增大，呈剂量-效应关系。孕鼠体重逐渐增大可能与胚胎体型增大有关。各剂量组胚胎发育指标差异无统计学意义。在GD11胚胎中，从0.05 mg/kg·bw剂量开始，胚胎GH含量与对照组相比明显增加，并且呈现剂量-效应关系。而在GD13胚胎中，各剂量组胚胎GH含量无明显差异。**结论** 矮壮素在GD11和13均表现出对胚胎生长的促进作用，但从GD13开始，矮壮素对GH的促进作用消失。GD13开始，胎盘发育趋向成熟，母体供给的GH增多，可能掩盖了矮壮素对胚胎自身GH的调节作用。矮壮素在ADI水平（0.05 mg/kg.bw）剂量下能引起胚胎GH升高，胚胎体型增大，提示矮壮素的安全指导值可能需要重新审视。

关键词：胚胎生长发育；矮壮素；生长激素

通讯作者：巴音达拉·夏格德尔，E-mail：bydlxagder@126.com

高内涵筛选技术在检测食品中基因毒性物质的应用研究

高鹏霞[1,2]，龚梦强[1,3]，李 治[1]，马 波[1]，徐 华[1]，王莉莉[1]，谢剑炜[1]

（1. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所抗毒药物与毒理学国家重点实验室，北京 100850；
2. 河北科技大学，石家庄 050018；3. 长江大学农学院，荆州 434022）

摘要：目的 针对复杂食品基质中基因毒性物质的体外测试方法目前仍较匮乏，本研究应用高内涵筛选（high-content screening，HCS）技术，构建可筛查基因毒性物质的生物标志物组合分析盘，实现对食品中基因毒性物质的筛查检测。**材料和方法** 采用HCS技术，选用关联不同DNA损伤修复途径的生物标志物γ-H2AX、p-H3、p53和Rad51构建组合分析盘。将12种具有不同作用机制的基因毒性模型化合物（DNA加合物、纺锤体毒剂、激酶抑制剂、核苷类似物）分别暴露A549细胞、Rad51-EGFP-SW480细胞和HepG2细胞，对暴露后的生物标志物p53、Rad51以及γ-H2AX和p-H3进行了检测并考察其量效关系。将建立的生物标志物组合盘，应用于食品基质中基因毒性物质的检测。选择了茶、咖啡、西红柿汁、小白菜汁和菠菜汁等五种食品基质，用无血清无抗生素的培养基按1∶10、1∶100、1∶1000梯度稀释后直接暴露或与基因毒性模型化合物共同暴露上述三种细胞，考察食品基质对四种生物标志物的检测影响，以及该标志物组合盘是否适用于食品中潜在基因毒性物质的筛查检测。**结果** DNA损伤修复生物标志物γ-H2AX和DNA修复生物标志物Rad51这两个指标的检测结果呈现相同的变化趋势，致染色体断裂化合物和激酶抑制剂均能引起两者的升高，且呈现剂量依赖效应，两者组合考察可提高基因毒性筛查的准确度；γ-H2AX和p53蛋白具相关性，对于多数基因毒性化合物，p53的最低检测有效浓度低于γ-H2AX和Rad51的最低有效浓度，组合考察p53提高了筛查的灵敏度；纺锤体毒剂则引起p-H3的升高，激酶抑制剂引起p-H3的降低，均呈现剂量依赖效应，将γ-H2AX与p-H3组合可有效区分毒作用模式不同的基因毒性化合物。食品基质对检测生物标志物γ-H2AX、p-H3和p53均无影响。与基因毒性模型化合物共同孵育后可观测到p53、Rad51、γ-H2AX和p-H3荧光强度的增加，表明该生物标志物组合盘可用于检测食品基质中的基因毒性物质。**结论** 基于生物标志物组合盘的HCS技术可应用于检测复杂食品基质中的基因毒性物质，并可区分其主要作用机制及DNA损伤修复途径。

关键词：高内涵筛选；基因毒性；生物标志物；食品；筛查

基金项目：国家自然科学基金项目（21974151）

通讯作者：谢剑炜，E-mail：xiejw@bmi.ac.cn；徐 华，E-mail：huarxu@163.com

鹅膏毒肽的不同靶器官细胞毒性差异及其机制研究

龚梦强[1,2]，高鹏霞[1,3]，徐　华[1]，马　波[1]，王莉莉[1]，李　治[1]，吴剑峰[1]，谢剑炜[1]
（1. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所抗毒药物与毒理学国家重点实验室，北京　100850；
2. 长江大学农学院，荆州　434022；3. 河北科技大学，石家庄　050018）

摘要：目的　鹅膏毒肽（amanitin，AMA）是全世界范围内蘑菇中毒致死的主要因素，其毒理机制的不完善，导致现有治疗策略缺乏有效性。临床研究结果表明，AMA对心脏、肝脏、肾脏、胃肠道、血液系统及神经系统等器官均有不同程度的损伤。本研究旨在利用多种人源细胞系探索AMA对不同靶器官毒性差异的机制。**材料与方法**　以不同浓度梯度的α、β、γ-AMA（0.3，1，3，10，30，100 μmol·L^{-1}）处理7种人源细胞，分别为人肝癌细胞HepG2、人脐静脉内皮细胞HUVEC、人神经母细胞瘤SH-SY5Y、人胃癌细胞BGC-823、人心肌细胞AC16、人结直肠癌细胞HCT-8和人非小细胞肺癌细胞A549。采用CCK-8法确定AMA在不同细胞系中的IC_{50}；并通过光镜观察细胞死亡形态，应用不同细胞死亡通路关键效应分子的抑制剂，以明确AMA诱导的细胞死亡方式；应用免疫荧光和免疫印迹法（Western Blot）检测介导AMA摄取的有机阴离子转运多肽（OATP1B3）和Na^+-牛磺胆酸共转运多肽（NTCP）的表达水平。**结果**　CCK-8结果显示，α-AMA对HepG2、HUVEC、SH-SY5Y、BGC-823等毒性敏感细胞系的IC_{50}分别为8 μmol·L^{-1}、6 μmol·L^{-1}、9 μmol·L^{-1}、8 μmol·L^{-1}；对AC16、HCT-8、A549等毒性不敏感细胞系的IC_{50}均大于100 μmol·L^{-1}。光镜结果显示，α-AMA处理后细胞发生皱缩，形成凋亡小体，且泛caspase抑制剂Z-VAD-FMK（50 μmol·L^{-1}）能逆转α-AMA细胞毒性，提示AMA导致细胞的死亡方式可能为凋亡。免疫荧光分析及Western Blot结果显示，敏感细胞系OATP1B3和NTCP的蛋白表达水平显著高于不敏感细胞系。**结论**　AMA对不同细胞系的毒性存在显著差异，其机制可能与OATP1B3和NTCP的表达水平不同相关。

关键词：鹅膏毒肽；细胞毒性；细胞死亡方式；凋亡；转运多肽
基金项目：国家自然科学基金（81803567）
通讯作者：吴剑峰，E-mail：ammswjf@163.com；李　治，E-mail：lz880722@163.com

母体围产期高盐饮食导致子代非酒精性脂肪肝病中肠道菌群及其胆汁酸DCA的作用机制

郭　晴
（湖北医药学院）

摘要：目的　（1）研究母体围产期（孕期和哺乳期）高盐饮食暴露对母体和子代肠道菌群的影响；（2）进一步针对母体围产期高盐饮食暴露导致子代产生的非酒精性脂肪肝病（Non-alcoholic fatty liver disease，NAFLD）表型，阐明子代肠道菌群和胆汁酸DCA在其中的作用通路；（3）子代VSL#3、DCA和奥贝胆酸（obeticholic acid，OCA）干预验证子代肠道菌群和胆汁酸DCA在母体围产期高盐饮食暴露导致子代产生NAFLD表型的作用机制。**材料和方法**　（1）为研究母体高盐饮食暴露对母体和子代肠道菌群的影响，将实验动物分为2组，分别为对照组（0.5% NaCl）和母体围产期高盐饮食（4% NaCl）暴露。（2）为研究子代肠道菌群和胆汁酸DCA在母体围产期高盐饮食暴露导致的子代NAFLD表型中的作用通路将实验动物分为2组，分别为对照组和母体围产期高盐饮食暴露；（3）鉴于益生菌（VSL#3包含乳杆菌属、双歧杆菌属和链球菌）具有恢复微生物稳态及降低NAFLD病理的作用，分别采用VSL#3、DCA和FXR激活剂（OCA）干预子代，阐明肠道菌群及DCA在母体围产期高盐饮食致子代NAFLD的机制。在第3周断乳时，采集母体和子代粪便、血及肝脏组织。采用HE染色观察子代肝脏病理结构；采用qPCR法测定子代小鼠肝脏脂合成基因（*Srebp1c*、*Acc*和*Tnf*α）和促炎症细胞因子基因（*Tnf*-α和*Il-6*）的表达；采用酶标仪比色法检测肝脂（TC和

TG）和血脂（TC、TG、LDL和HDL）的含量；采用16S rRNA法检测子代小鼠粪便肠道菌群；采用UHPLC-MS/MS法检测子代小鼠粪便胆汁酸。**结果** （1）母体肠道菌群分析显示，与对照组相比，母体围产期高盐饮食暴露导致母体肠道菌群拟杆菌属（Bacteroides）的丰富度增加。子代肠道菌群分析显示，与对照组相比，母体围产期高盐饮食暴露导致子代小鼠肠道菌群Bacteroides的丰富度增加。（2）与对照组比，母体围产期高盐饮食导致子代NAFLD病变，增加子代粪便Bacteroides丰富度和DCA含量，降低肝FXR信号通路基因（*Cyp7a1*、*Fxr*和*Shp*）表达。（3）母体高盐饮食+子代VSL#3减轻子代NAFLD表型，降低肝FXR通路下游（*Srebp1c*、*Acc*和*Tnfα*）基因表达；在母体高盐饮食+子代VSL#3基础上给予子代DCA则上调肝FXR通路下游（*Srebp1c*、*Fas*、*Acc*、*Tnfα*和*Il6*）基因表达；给予FXR激活剂OCA则下调肝FXR通路下游基因表达。**结论** 母体围产期高盐饮食增加子代粪便Bacteroides和DCA水平，与子代FXR信号通路改变有关。

关键词：高盐饮食；益生菌VSL#3干预；DCA干预；OCA干预

通讯作者：郭 晴，E-mail：295100071@qq.com

食品污染物神经毒性的分类研究

郝雨婷[1,2]，薛 峤[1]，刘 娴[1]，张爱茜[1,2,3]

（1. 中国科学院生态环境研究中心，北京 100085；2. 中国科学院大学，中丹学院，北京 100049；
3. 中国科学院大学资源与环境学院，北京 100049）

摘要：目的 神经性疾病，如阿尔兹海默症和其他痴呆症，已成为人类死亡的第七大致死原因，通过食品摄入与接触是引发神性疾病的一个重要途径。研究表明食品中检出的多种污染物具有神经毒性，如部分重金属与神经退行性疾病的发生显著有关，一些食品添加剂及农药兽药残留物等也被证实可诱导神经系统损伤。虽然食品相关化学品暴露引发的神经毒性效应已有大量研究，但目前对于这些化学品与神经毒性之间的构效关系研究仍鲜见报道。**材料和方法** 在本研究中，我们进行了食品污染物与神经毒性的构效关系研究。我们收集了已有食品化学品的神经毒性数据，采用不同分子指纹表征化学品的结构特征，利用多种机器学习方法建立了化学品结构与神经毒性的分类预测模型。**结果** 所有模型的质量和预测性能均经过内部验证和外部测试，最终筛选出了最优模型，并由此获得了与神经毒性密切相关的警示子结构。**结论** 本研究建立的分类模型可以作为食品风险评估中新型或未知污染物神经毒性预测的有效工具，警示子结构可快速高效的识别具有神经毒性风险的食品污染物。

关键词：食品污染物；神经毒性；分类模型；风险评估

通讯作者：张爱茜，E-mail：aqzhang@rcees.ac.cn

研究肠道菌群-宿主相互作用的体外和基于计算机模拟新方法

靳 婧，邢福国

（中国农业科学院农产品加工研究所/中国农业农村部农产品收储运加工质量安全控制重点实验室，
北京 100193）

摘要：近年来，人们越来越认识到肠道微生物可能在宿主健康、疾病和食源性化学危害物的毒性方面发挥重要作用。肠道微生物群受到许多因素的影响，例如饮食、年龄和化学暴露等。肠道菌群与食源性化学物质的相互作用是双向的，因为这些化学物质会影响肠道微生物群，例如抗生素和杀虫剂，但肠道微生物群也可以代谢这些化学物质，从而影响它们对宿主的最终影响。例如肠道细菌将三聚氰胺转化为氰尿酸盐，氰尿酸盐与三聚氰胺和尿酸一起形成肾结石，导致肾脏毒性。而肠道菌群中的土氏克雷伯菌，能够将三聚氰胺转化为三聚氰酸，从而阐明了肠道菌群在三聚氰胺引发肾脏毒性中的作用机理。人类和动物经常接触

摄入食物中的化学物质。尽管几乎所有的器官和组织都会暴露于通过肠道吸收的食物中的化合物，但肠道是首个暴露其暴露剂量最高的器官。

在过去几十年中，研究人员增加了在动物替代实验3R原则（替代、减少和改进）框架内开发新方法的研究进程。例如，包括美国国家研究委员会出版了题为“21世纪毒性测试：愿景和战略”一书，以及在欧盟（EU）通过REACH（化学品注册、评估、授权和限制）立法，旨在更好地保护人类健康和环境免受化学品暴露风险。这两项举措都促进并支持使用化学物质危害和风险评估的替代测试策略，以减少对动物的测试次数。从那时起，许多研究表明，基于体外和计算机模拟的新方法（NAM）如何应用于获得化学毒性方面的新的发现，而无需进行动物实验。例如，将来自体外测定的浓度响应数据与基于生理学的动力学模型相结合，通过反向剂量测定，从而实现了定量的体外到体内外推（QIVIVE），基于体外和计算机模拟预测这种方法研究了包括发育毒性、肝脏或肾脏毒性在内的多种靶器官毒性。这种体外模型的使用不仅能够应用于机制方面的研究，它还提供了一种以非侵入性的方式研究物种间和个体间差异的方法，而无需使用动物或人类研究。这符合目前发展毒理学新方法的需要。近年来，科研人员致力于开发不同类型的体外和计算机模型系统，这些系统可以模拟肠道和其他器官环境。这些体外和计算机模型有助于我们理解食物源化学危害物对肠道和其他靶器官的影响。本综述概述了体外和基于计算机的新方法（NAM）在无需使用动物或人类研究的情况下以非侵入性方式研究肠道菌群-宿主相互作用方面的最新应用。

关键词：新方法学；体外模型；计算机模拟；肠道菌群-宿主相互作用；基于生理学的代谢动力学模型

作者简介：靳　婧，E-mail：jinjing@caas.cn

通讯作者：邢福国，E-mail：xingfuguo@caas.cn

26周短期致癌试验替代模型构建及硝酸镧致癌性评价

敬海明，李子南，高　珊，杜宏举，杨　庆，聂燕敏，张　鹏，郑　珊，仝国辉，齐丽娟，
张　维，宁钧宇，李国君
（北京市疾病预防控制中心/北京市食物中毒诊断溯源技术重点实验室，北京　100013）

摘要：目的　稀土元素镧（La）在一定剂量下已被证实具有神经毒性、免疫毒性和细胞毒性等，但慢性毒性和致癌性相关的研究报道还非常有限。本研究拟应用人源性ras转基因小鼠CB6F1（+）（C57-ras转基因小鼠）及其同窝阴性鼠CB6F1（−）构建26周短期致癌试验替代模型，并同时对硝酸镧（Ⅲ）六水合物（La（NO_3）3·$6H_2O$）的慢性毒性和致癌性进行评价。**方法**　受试物La（NO_3）$_3$·$6H_2O$以0、6.25、12.5、25、50 mg/kg bw剂量灌胃给予250只雄性CB6F1（+）小鼠（50只/组，雌雄各半），或以0、25 mg/kg bw剂量灌胃给予60只CB6F1（−）小鼠（30只雌性/组，雌雄各半），连续26周。阳性对照组以n-甲基-n-亚硝基脲（MNU）单次腹腔注射（75 mg/kg bw）的方式造模。研究期间每天检查1次临床体征及死亡情况，特别注意肿瘤的发生情况。收集死亡率、器官系数、生化和血液学指标及组织病理学检查信息等，计算并统计肿瘤发生的时间、肿瘤发生率、肿瘤组织学分布、肿瘤潜伏期等。**结果**　MNU处理的阳性组小鼠试验过程中因肿瘤死亡的发生率明显增加，CB6F1（+）与CB6F1（−）分别为58.2%与25%；CB6F1（+）小鼠的首次因肿瘤死亡时间比CB6F1（−）小鼠早3周左右；雌、雄性CB6F1（+）小鼠的肿瘤发生率约为80%与68%，分别高于雌、雄性CB6F1（−）小鼠的50%与55%；CB6F1（+）和CB6F（−）小鼠肿瘤组织学类型无差异，均以胸腺淋巴瘤为主，其他包括胃肠道腺瘤/癌、肺腺瘤、子宫囊性增生/腺癌、直肠淋巴瘤、淋巴结淋巴瘤等。受试物各剂量组的小鼠均未见肿瘤样病变或肿瘤病变，但与对照组相比，50 mg/kg bw剂量组的雄性小鼠体重减轻，肝功能相关指标ALT、AST和ALP明显升高（$P<0.05$）。**结论**　C57-ras转基因小鼠较其同窝阴性鼠具有更高的致癌敏感性，适宜作为致癌试验替代模型；在本实验条件下，La（NO_3）$_3$·$6H_2O$以50 mg/kg bw灌除了给予CB6F1小鼠26周，对肝功能有一定的毒性效应，但无致癌性；据上判断La（NO_3）$_3$·$6H_2O$慢性毒性的最小观察到有害作用剂量（lowest observed adverse effect level，LOAEL）为50 mg/kg体重，致癌性的未观察到有害作

用剂量(no observed adverse effect level, NOAEL)为50 mg/kg bw。

关键词: 硝酸镧六水合物($La(NO_3)^3 \cdot 6H_2O$); C57-ras转基因小鼠; n-甲基-n-亚硝基脲(MNU); 慢性毒性; 短期致癌试验

基金项目: 国家重点研发计划(#2018YFC1603102); 国家重点研发计划(#2018YFC1602700)

通讯作者: 宁钧宇, E-mail: njy_med@hotmail.com;李国君, E-mail: ligj@bjcdc.org

TST 90天经口毒性试验研究

李明丹

(湖南普瑞玛药物研究中心有限公司)

摘要: 目的 本试验对TSR长期大剂量给样毒性反应进行研究,对其安全性进行评价,为人体合理补充铷元素提供依据。**方法** 90天经口毒性试验选用SD大鼠120只(SPF级),雌雄各半,按性别体重随机分为阴性对照组和TSR低、中、高剂量组、阴性对照组卫星组、TSR高剂量组卫星组,每组20只,雌雄各半。受试样品低、中、高剂量分别设为0.50 mg/kg.bw、0.33 mg/kg.bw、0.17 mg/kg.bw(分别相当于人体拟推荐食用量的300、200、100倍)。每天观察并记录大鼠的一般表现、行为、中毒表现和死亡情况等。每周称重,并根据体重变化调整给样量,阴性对照组给予同等剂量纯水,每天一次,连续给样90天。所有大鼠第1~4周每周称重两次,4周后每周及解剖前称重一次,计算每周间隔前后体重增重;所有动物每周加食两次,记录加料量、剩余量和撒食量,计算每周平均摄食量及总摄食量,根据体重增重计算大鼠每周及总食物利用率。试验中期、试验末期、恢复期分别对动物进行眼科检查、尿液、血液学及血液生化学指标检测、大体解剖观察及组织病理学检查。**结果** 试验期间大鼠未出现明显毒性反应和死亡;各给样组大鼠体重、摄食量、体重增重、食物利用率、血液生化学、眼睛、尿液、脏器湿重值、脏/体比值、大体解剖及病理组织学观察等,除个别剂量组单一性别的大鼠存在非剂量~反应的统计学显著性差异(试验组和卫星组也不一致)外,各项检测指标均在本实验室正常值范围内。与同期阴性对照组比较,中、高剂量组雌性大鼠的WBC值呈现剂量依赖性增加,总值平均增加1.4倍;卫星组雄性大鼠高剂量组试验中期WBC值增加,总值平均增加1.5倍,恢复期WBC值降低,总值平均降低1.6倍;而雄性大鼠各剂量组、卫星组雌性大鼠高剂量组WBC值均无显著性差异,各给样组各试验期WBC五分类Neu%、Lym%、Mon%、Eos%、Bas%均无明显变化。故不认为雌性大鼠中、高剂量组及卫星组雄性大鼠高剂量组WBC值的改变是受试样品毒性所致。**结论** 综合上述检验结果,此次试验未发现TSR有明显毒性作用。

关键词: 90天经口毒性; 铷元素; 血液学

通讯作者: 李明丹, E-mail: limingdan@hnse.org

基于细胞毒性分析的活性蓖麻毒素及相思子毒素筛查鉴定方法

李 治[1], 马 波[1], 龚梦强[1,2], 郭 磊[1], 王莉莉[1], 徐 华[1], 谢剑炜[1]

(1. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所, 抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 北京 100850;
2. 长江大学农学院, 荆州 434022)

摘要: 蓖麻毒素(ricin)与相思子毒素(abrin)同属II型核糖体失活蛋白(ribosome inactivating protein, RIP),毒性强、易获取、隐蔽性强、无特效抗毒剂等特点使其成为潜在的重要生化战剂和生物恐怖物质。因此,发展二者的快速灵敏检测方法具有十分重要的军事和社会意义。**目的** 利用蓖麻毒素及相思子毒素细胞毒性极强的特点,构建基于细胞毒性分析的复杂基质中活性毒素高灵敏筛查鉴定方法。**方法** 以不同浓度梯度毒素(0.01~100 ppb)暴露HepG2、A549、HEK-293、HeLa等多种人源细胞系,采用CCK-8法测定毒

素的半数抑制浓度（IC_{50}）及检测限（LOD），进行毒性敏感细胞系的筛选与评价；利用毒素特异性中和抗体提高检测方法的特异性，评价中和抗体对毒素细胞毒性的抑制效果，优化中和抗体使用浓度；考察不同稀释度茶、咖啡、蔬果汁、牛奶、蛋白粉、血浆等复杂基质对细胞活力的影响，明确各类基质的检测适用条件；评价毒素与基质复合体系对检测方法的影响。**结果** 不同细胞系对毒素敏感性差异显著，同一细胞系对两种毒素敏感性亦存在差异。其中，HeLa细胞对蓖麻毒素和相思子毒素的检测最为灵敏，LOD分别达0.2 ppb和0.025 ppb，且增殖速度快、易于培养，是用于检测的理想细胞。利用毒素特异性中和抗体（终浓度10 μg/mL），可实现蓖麻毒素、相思子毒素及其它细胞毒性物质的区分鉴定。单独基质在1∶10至1∶1000稀释时对细胞存活率均无显著影响。除牛奶在1∶10稀释时能够抑制毒素的细胞毒性，其余基质对检测体系无显著影响。**结论** 本研究构建的检测方法无需复杂前处理，仅通过简单稀释即可用于复杂基质中蓖麻毒素及相思子毒素的区分鉴定，灵敏度达ppb水平，同时可评价毒素活性，解决现有筛查技术易受基质干扰、需要复杂前处理、依赖于大型仪器、难以快速通量筛查并评判毒素活性、灵敏度不高等问题。

关键词： 蓖麻毒素；相思子毒素；细胞毒性；复杂基质；中和抗体

基金项目： 国家自然科学基金（81803567）；国家重点研发计划（2018YFC1602405）

通讯作者： 徐　华，E-mail：huarxu@163.com；谢剑炜，E-mail：xiejw@bmi.ac.cn

山茱萸食用安全性毒理学评价

刘　辉，卢银让，岳永杰，何　薇，马书言，马　帆

（陕西省疾病预防控制中心毒理检验与评价所，西安　710054）

摘要：目的 对山茱萸（陕西省汉中市佛坪县产）进行食用安全性毒理学评价。方法 参考食品安全国家标准（GB15193.3-2014、GB15193.4-2014、GB15193.5-2014、GB15193.8-2014、GB15193.22-2014），对山茱萸进行急性经口毒性试验 、三项遗传毒性实验（细菌回复突变试验、哺乳动物红细胞微核试验及小鼠精原细胞染色体畸变试验）和28天经口毒性试验。结果 山茱萸对昆明小鼠及SD大鼠的LD50>20g/kg.BW，依据急性毒性分级标准评价为实际无毒级。三项遗传毒性试验结果均为阴性，未见明显遗传毒性。28天经口毒性试验各组动物总体生长状况良好，各试验组检验指标结果与阴性对照组比较差异无统计学意义，且均在本实验室正常值范围内；对大鼠体重、进食量和食物利用率、血常规、生化指标、尿液指标、脏器重量和脏/体比均未发现与受试物相关的病理组织学改变和特异性损伤表现，大体解剖未见异常。结论 山茱萸在该条件下未见明显急性经口毒性、遗传毒性以及亚急性毒性作用，为其纳入食药物质目录提供可靠的科学数据。

关键词： 佛坪山茱萸；食药物质；毒理学；安全性评价

通讯作者： 刘　辉，E-mail：153982596@QQ.com

基于胆碱能受体报告细胞分析的乙酰胆碱酯酶抑制剂高通量筛查方法

马　波，李　治，徐　华，谢剑炜，王莉莉

（军事医学研究院毒物药物研究所，抗毒药物与毒理学国家重点实验室，北京　100850）

摘要： 筛查和精准表征已知及潜在的乙酰胆碱酯酶（AChE）抑制剂，如有机磷农药、神经性毒剂、阿尔兹海默症（AD）治疗药物等，对于环境、食品安全的预警、潜在毒性物质的识别、中毒的精准救治以及更高效AD新药的研究都具有重要的意义。**目的** 鉴于AChE抑制剂主要通过抑制AChE活性，增加神经突触间隙乙酰胆碱（ACh）水平，过度激活神经突触后膜胆碱能受体，产生毒理学或药理学效应，本课题拟构建基于胆碱能受体报告细胞分析的AChE抑制剂高通量筛查方法。**材料和方法** 构建稳定表达人毒蕈碱胆碱受体3

(M3)和融合到增强型绿色荧光蛋白(EGFP)C端的NFATc1的U2OS细胞系(M3：NFATc1-EGFP U2OS)，利用高内涵平台评价该细胞系对于ACh的浓度响应范围，以NFATc1-EGFP核转位程度量化M3受体激活效应。构建由AChE、ACh以及报告细胞系组成的检测系统，以报告细胞系NFATc1-EGFP核转位定量分析结果为依据，评价不用ACh浓度、不同AChE浓度以及不同酶-底物反应时间对反应体系的影响，优化检测体系。利用报告细胞系统检测有机磷农药，神经性毒剂以及AD治疗药物等AChE抑制剂，评价检测灵敏度。利用报告细胞系统定量检测AChE抑制剂诱发的细胞、亚细胞形态结构、信号通路与靶蛋白的变化，获得AChE抑制剂特有的细胞表型谱特征。**结果** 构建的报告细胞检测系统可成功用于有机磷农药、神经性毒剂以及AD药物等AChE抑制剂的检测筛选，其中对有机磷农药对氧磷的检测限为1 nmol·L^{-1}，对神经性毒剂VX的检测限为30 pM，对AD药物多奈哌齐的检测限为1 nmol·L^{-1}。同时利用该检测系统发现，不同类别AChE抑制剂的细胞表型特征存在较大差异，提示不同类别AChE抑制剂除共性结合抑制AChE外，还可能具有差异性细胞靶点。**结论** 与传统方法相比，本研究构建的报告细胞检测系统具有通量高、灵敏度高、时间和试剂消耗成本低等优点。尤其是，该检测系统不仅能够测定待测物对AChE的抑制活性，还能为潜在毒性物质的筛查识别提供更为丰富的细胞表型特征，为AChE抑制剂的筛查和表征提供了全新的手段。

关键词：胆碱酯酶抑制剂；有机磷农药；神经性毒剂；胆碱能受体；报告细胞系

基金项目：国家自然科学基金(82201939)；国家重点研发计划(2018YFC1602405)

通讯作者：王莉莉，E-mail：wangll63@126.com；谢剑炜，E-mail：xiejw@bmi.ac.cn

Crosstalk between Mfn2-mediated mitochondria associated membranes disorder and autophagy induced by molybdenum and cadmium in sheep heart

Chengcheng Peng , Shuqiu Yang, Fan Yang , Zhiwei Xiong , Qiang Liu , Shuxian Liao , Kai Huang , Wengen Wan , Huabin Cao

(College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, No. 1101 Zhimin Avenue, Economic and Technological Development District, Nanchang 330045 , Jiangxi, PR China)

Abstract: To investigate the crosstalk of mitochondria associated membranes (MAMs) disorder and autophagy co-induced by molybdenum (Mo) and cadmium (Cd) in sheep hearts. A total of 48 sheep were randomly divided into 4 groups: control group, Mo group, Cd group and Mo + Cd group. The intragastric administration lasted for 50days. The results showed that Mo or/and Cd exposure could cause morphological damage, imbalance of trace elements and antioxidant function, Ca^{2+} concentration decreased markedly, and significantly increase the contents of Mo or/and Cd in myocardium. Additionally, the mRNA and protein levels of endoplasmic reticulum stress (ERS) related factors and mitochondrial biogenesis related factors were altered by Mo or/and Cd, as well as the content of ATP, inducing ERS and mitochondrial dysfunction. Meanwhile, Mo or/and Cd could lead to the alteration of expression level of MAMs-related genes and proteins, and the distance between mitochondria and endoplasmic reticulum (ER), resulting in MAMs disorder. Moreover, Mo or/and Cd exposure upregulated the mRNA and protein levels of autophagy related factors. In conclusion, our results revealed that Mo or/and Cd exposure caused ERS, mitochondrial dysfunction and structural MAMs disruption, ultimately leading to auto-phagy in sheep hearts, and the effects of Mo and Cd co-exposure were more obvious.

Key words: Mitochondria associated membranes; Autophagy; Molybdenum; Cadmium

Corresponding author: Huabin Cao, E-mail: chbin20020804@jxau.edu.cn

房县黄酒酿造用小曲中辣蓼草应急风险评估

曲　敏
（湖北省疾病预防控制中心）

摘要：目的　湖北省食品安全风险评估专家委员会产品安全组组织开展了房县黄酒酿造用小曲中辣蓼草的应急风险评估工作，以期为辣蓼草在房县黄酒酿造用小曲中使用的食用安全性提供科学依据。**方法**　依据现行《新食品原料安全性审查管理办法》的规定，对房县黄酒酿造用小曲中辣蓼草开展植物学鉴定、成分分析、毒理学资料检索，综合评估房县黄酒酿造用小曲中辣蓼草的食用安全性。**结果**　小曲酿酒自晋代第一次记载以来，迄今已有1600多年历史，辣蓼在小曲生产中不可或缺。据文献，我国有113种蓼属植物，常见的有：辣蓼、红蓼、酸模叶蓼等。辣蓼和红蓼的形态较为接近，古代典籍记载中多有将辣蓼混淆为红蓼。与红蓼相比，辣蓼植株较矮小，花朵颜色较浅，呈白色或淡红色。经武汉理工大学采用DNA条形码技术鉴定房县黄酒产业发展中心两次送检样品依次为红蓼和酸模叶蓼。辣蓼的活性成分为黄酮，总黄酮提取量为6.0847 mg/g。辣蓼的LD_{50}为128.3 g/kg，属实际无毒级。以牛耳枫与辣蓼制得的枫蓼制剂（辣蓼含量占1/3）小鼠急性经口毒性试验LD_{50}大于45 g/kg，属实际无毒级，枫蓼制剂大鼠30天喂养实验的NOAEL为10 g/kg（相当于辣蓼剂量3.33 g/kg）。辣蓼可富集土壤中的锰，叶部锰的富集量最高，可达3.7 g/kg，应关注辣蓼原料的锰含量。红蓼的果实水红花子LD_{50}为160 g/kg。水红花子提取的黄酮化合物中，花旗松素浓度超过500 μg/mL时，可导致细胞存活率下降，无遗传毒性。人群资料显示，1例因服用辣蓼30 g出现恶心、呕吐等不良反应，1例因服用水红花子50 g出现皮肤过敏等不良反应。辣蓼草用于黄酒生产的接种剂原料至今有30年以上的食用历史，在京东、天猫商城等电商网站均有标识含辣蓼的房县黄酒销售。房县黄酒制曲工艺：稻米→清洗→沥干→粉碎+辣蓼（粉碎）+水→拌料→灭菌→冷却→接入三级酒曲菌种（曲母）→控温控湿培养→成曲干燥→粉碎→包装。假定成人每日饮用黄酒上限为2 kg，按照实际工艺可摄入0.030 g辣蓼，则辣蓼的暴露量为0.0005 g/kg；30天喂养试验辣蓼的NOAEL值（3.33 g/kg）是黄酒中辣蓼暴露量的6660倍。

由于辣蓼的毒理学数据有限，以及缺乏成分、污染物检测数据，所鉴定的植物品种与地方标准中所列的品种并不相同，因此本评估报告具有局限性，仅供参考，后续如果能够补充相关数据后，有待进一步完善修订本评估报告。

关键词：辣蓼草；安全性评估；应急风险评估

通讯作者：曲　敏，E-mail：328473726@qq.com

肠道菌群在对羟基苯甲酸酯加重高脂饮食诱发非酒精性脂肪肝中的作用及机制研究

任怡霖，倪善红，刘慎夤，张　展
（南京医科大学公共卫生学院，现代毒理学教育部重点实验室）

摘要：目的　由于饮食模式和成分的变化，非酒精性脂肪肝（nonalcoholic fatty liver disease，NAFLD）发病率显著增加，已经成为一个严重的公共卫生问题。对羟基苯甲酸甲酯（methylparaben，MeP）和对羟基苯甲酸乙酯（ethylparaben，EtP）是食品中常见的防腐剂，研究表明MeP和EtP长期暴露能扰乱肠道菌群，诱发肠道炎症，但是它们对NAFLD的影响尚不清楚。本实验旨在探究MeP和EtP对高脂饮食（high-fat diet，HFD）诱导NAFLD的影响及分子机制。**材料和方法**　分别用MeP和EtP（100 mg/kg·BW/day）处理雌性C57BL/6J小鼠12周，第5周起给予HFD，持续8周，构建NAFLD模型。通过小鼠体重、脏器系数、糖耐量实验等表型评估MeP和EtP对HFD诱发NAFLD的加剧作用；通过qPCR探讨对MeP和EtP对肝脏糖脂代谢相关基因表达的影响；通过16S rRNA测序探究MeP和EtP对小鼠肠道菌群结构和功能的影响；通过代

谢组学解析MeP和EtP对小鼠血清代谢谱的影响。**结果** MeP加剧了HFD喂养小鼠的体重、肝脏和脂肪质量的增加。EtP暴露能显著上调糖异生相关基因的表达，下调糖酵解相关基因的表达，从而加重HFD诱导的糖耐量受损。MeP和EtP暴露能显著上调脂肪生成分化（Adrp）、脂肪酸摄入（CD36）、脂肪酸β氧化（Acaa1a、Cpt1a）和脂肪生成（PPARγ、Srebf1、Acaca、Fasn）相关基因的表达，加剧肝脏脂肪变性，增加血清和肝脏中的甘油三酯和总胆固醇含量。此外，它们还能上调IL6和TNFα（$P<0.05$），进而加重肝脏炎症。非靶向代谢组学显示，HFD、MeP或者EtP可显著改变小鼠血清代谢谱；HFD联合MeP或EtP处理后，小鼠花生四烯酸（arachidonic acid，AA）代谢通路显著富集，其中11种代谢物（如11，12-EET）的含量显著下降（$P<0.05$）。在正常饮食和HFD条件下，MeP和EtP都能改变肠道微生物群的结构和功能。PICRUSt分析显示，MeP和EtP处理显著影响肠道菌群的AA代谢和甘油脂代谢通路。肠道菌群与血清代谢物的相关性分析显示，肠道菌（Escherichia-Shigella、Bacteroides等）和血清中的AA代谢物（19（S）-HETE、11，12-EET等）之间存在显著关联。**结论** 食品防腐剂长期暴露能通过肠道菌群依赖性的AA代谢通路加剧HFD诱导NAFLD。

关键词：对羟基苯甲酸酯；高脂饮食；非酒精性脂肪肝；肠道微生物群；代谢组学

作者简介：任怡霖，E-mail：renyilin1220@163.com

通讯作者：张 展，E-mail：zhanzhang@njmu.edu.cn

湖北省鸡肉生产链沙门氏菌的耐药性和分子分型

隋雨欣，吴翠蓉，刘理慧，黄璐璐，陈 杨，郝海红，潘源虎，刘振利，程古月

（华中农业大学国家兽药残留基准实验室（HZAU）、农业部食品兽药残留检测重点实验室，武汉 430070）

摘要：目的 本研究的目的是初步了解中国湖北省鸡肉生产链中沙门氏菌的污染和耐药情况。**材料** 以2019年至2020年从中国湖北省六个城市的农场、屠宰场和零售市场收集的1149份鸡源和相关环境源样本作为材料。**方法** 采用选择性培养和PCR鉴定、抗菌药物敏感性试验、全基因组测序（WGS）、多位点序列分型（MLST）技术对鸡生产链中样品进行沙门氏菌的分离鉴定、耐药性检测和分子分型分析。**结果** 发现沙门氏菌在农场、屠宰场、零售市场的总分离率分别为4.68%（28/598）、12.21%（47/385）和9.64%（16/166）。屠宰场动物样本中沙门氏菌的分离率（23.70%，32/135）远高于农场（3.72%，7/188）和市场（8.14%，7/86）。53株非克隆沙门菌中共检出17种血清型，其中Meleagridis（26.42%，14/53）为优势血清型。湖北省鸡肉生产链中的沙门氏菌对TET（73.58%，39/53）、OFL（69.81%，37/53）、FFC（60.38%，32/53）和AMP（39.62%，21/53）具有较高的耐药率，与这些药物在中国畜牧业的广泛使用一致。来自农场的动物源分离株比来自环境源分离株具有更高的耐药率，几乎一半的菌株（49.06%，26/53）具有多重耐药性（MDR）。WGS显示，在三个环节的22个非克隆优势血清型菌株中都存在10种耐药基因（tetA，blaTEM，parC，qnrS1，floR，aac（6′）-Iy，aph（6）-Id，aph（3″）-Ib，aac（6′）-Iaa and sul2）和7类毒力基因。MLST分析显示ST463是最常见的类型（28.30%，15/53）。MLST测定的沙门氏菌ST型和WGS测定的血清型具有一对一的相关性。最小生成树分析显示，农场和屠宰场、屠宰场和市场、动物样本和环境样本中存在沙门氏菌交叉污染。**结论：**在分离株中发现的血清型、耐药谱、耐药基因和毒力基因的多样性和高流行性揭示了鸡生产链中沙门氏菌传播和感染的风险，同时证明了WGS、MLST和表型分析在食源性致病菌溯源和耐药性分析中的互补作用。本研究还发现沙门氏菌耐药性的产生与细菌本身的特性、耐药基因的传播和药物使用情况等密切相关，因此，标准和有效的监测对于预防和控制沙门氏菌耐药性的出现和传播非常重要。

关键词：沙门氏菌；血清型；抗生素；耐药性；多位点序列分型；全基因组测序

通讯作者：程古月，E-mail：chengguyue@mail.hzau.edu.cn

饮食与前列腺癌究进展

郭　隽[1,2]，陈丽芬[1,2]，孙祖越[1,2]
（1. 上海市生物医药技术研究院 中国生育调节药物毒理检测中心，上海　200032；
2. 国家卫生健康委员会计划生育药具重点实验室，上海　200032）

摘要：随着人口的老龄化，患有早期前列腺癌（Prostate cancer，PCa）的男性人数成上升趋势。目前，迫切需要预防癌症的发生或延缓这一器官的癌变进程。有证据表明，营养可能在前列腺癌的预防和/或进展中发挥重要作用，饮食因素在前列腺癌致病因素的研究中，除激素、环境、年龄、种族因素外，十分重要的影响因素之一。膳食脂肪，特别是动物和饱和脂肪的高摄入量（约40%的总脂肪摄入量），与前列腺癌风险增加有关。食物中饱和脂肪的摄入使雄激素的合成增加。饱和脂肪高消耗者死于前列腺癌的危险性较低消耗者明显增高。IGF信号通路是膳食脂肪促进前列腺癌发生发展的主要调控通路之一。碳水化合物摄入引起的前列腺癌进展与肥胖和高胰岛素血症有关，单糖或双糖的高消耗可能通过IGF-1炎症和激活促进前列腺癌进展。酒精也被证明为影响前列腺癌发病率的因素之一，随着总酒精摄入量的增加，前列腺癌不良后果的发生率有增加的趋势。补充维生素A可能造成前列腺癌发病率上升，基线循环视黄醇浓度越高，前列腺癌风险越高。前列腺锌离子浓度与恶性前列腺细胞的发生、发展有密切关系。锌离子含量在前列腺癌向雄激素非依赖性发展过程中降低。铜稳态紊乱的证据是各种恶性肿瘤中血清浓度升高，可能与Cu参与细胞增殖有关。已证实硒在前列腺中的作用，在前列腺增生和前列腺癌中硒的水平都高出约60%。饮食致癌物质，如过熟肉类中的杂环胺和性类固醇激素，特别是雌激素，是前列腺癌的候选病因。牛奶、钙和乳制品中的钙摄入量一直与前列腺癌的风险增加有关，在健康专业人员随访研究中，高钙与低钙摄入与重度前列腺癌风险增加89%相关。肠道菌群可间接受肠道菌群修饰的细胞因子和免疫细胞或从肠道吸收进入体循环的细菌代谢物和成分（即“微生物-肠道-前列腺轴”）的影响。

综上，饮食与前列腺癌的发生发展密切相关，在前列腺癌的预防和治疗中，膳食模式，营养素摄入以及肠道菌群对全身营养状态，前列腺癌的发生发展均具有重要的影响，是防止前列腺癌风险控制的关键点。

关键词：前列腺癌；饮食因素；肠道菌群

作者简介：郭　隽，E-mail：june_guo@163.com
通讯作者：孙祖越，E-mail：sunzy64@163.com
共同第一作者：陈丽芬，E-mail：chenlifenclf@163.com

基于Nrf2-ARE信号通路探讨缫丝水改善老龄大鼠肝脏氧化应激的作用

杨　慧，覃辉艳，陈华凤，傅伟忠，李庆波，张洁宏
（广西壮族自治区疾病预防控制中心，广西 南宁　530028）

摘要：目的　探讨缫丝水对老龄大鼠肝脏氧化应激的改善作用，初步探讨缫丝水能否通过上调核因子NF-E2相关因子（nuclear factor-E2-related factor 2，Nrf2）发挥改善氧化应激的作用。**材料和方法**　采用16月龄老龄大鼠，根据血清丙二醛（malonaldehyde，MDA）含量将大鼠分层随机分为3个受试剂量组和1个阴性对照组，每组10只。剂量组分别给予500、250、125 mg/kg BW剂量的缫丝水，阴性对照组给予纯水，每天灌胃一次，连续灌胃30天。实验结束后，采用试剂盒检测各组大鼠肝组织中脂质氧化产物MDA、蛋白质氧化产物蛋白质羰基、抗氧化物质还原型谷胱甘肽（reduced glutathione，GSH）的含量和超氧化物岐化酶（superoxide dismutase，SOD）、过氧化氢酶（catalase，CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）三种抗氧化酶的活性，采用荧光定量PCR检测老龄大鼠肝组织SOD、CAT、GSH-Px、GSH及Nrf2的mRNA表达水平，ELISA检测Nrf2核蛋白表达水平。**结果**　与阴性对照组比较，缫丝水能降低老龄大鼠肝组织中的MDA含量（$P<0.05$），提高老龄大鼠肝组织中的抗氧化酶SOD、CAT和GSH-PX活性（P

<0.05 或 $P<0.01$），对蛋白质羰基和GSH含量无影响（$P>0.05$）；缫丝水能提高老龄大鼠肝组织中CAT、GSH、GSH-Px 1、Nrf2-1、Nrf2-2、SOD1mRNA表达水平及Nrf2核蛋白表达水平（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），对SOD2和SOD3mRNA表达水平无影响（$P>0.05$）。**结论** 缫丝水可能通过上调Nrf2蛋白表达提高SOD、CAT和GSH-Px表达水平，改善老龄大鼠肝脏氧化应激。

关键词： 缫丝水；氧化应激；Nrf2-ARE信号通路

通讯作者： 杨 慧，E-mail：yangh19890407@163.com

马乳酒样乳杆菌的安全性评估

袁 媛

（湖北省疾病预防控制中心）

摘要：目的 系统评估马乳酒样乳杆菌（Lactobacillus kefiranofaciens）的食用安全性。**方法** 依据现行《新食品原料安全性审查管理办法》的规定，对马乳酒样乳杆菌开展成分分析、卫生学检验、毒理学试验，结合使用人群、食用历史和不良反应调查结果，综合评估马乳酒样乳杆菌作为新食品原料在除婴幼儿外的其他人群推荐摄入量为（0.6～2.0）×10^{10} CFU/天的情况下的食用安全性。**结果** 马乳酒样乳杆菌属于乳杆菌科，乳杆菌属，是一种可以普遍高产开菲尔多糖的乳酸杆菌，是开菲尔粒中胞外多糖的主要产生菌。马乳酒样乳杆菌可以在一定程度上促进肠道有益菌的生长，抑制有害菌繁殖，从而调节肠道菌群结构，保护肠道健康。马乳酒样乳杆菌ZW3送检冻干粉三批次活菌数均值为3.83×10^{10} CFU/g；乳酸菌的胞外多糖是乳酸菌次级代谢产物。重金属、致病菌指标进行检测，检测结果中致病菌符合相关规定中的限量标准。毒理学安全性评价试验和毒力试验表明，马乳酒样乳杆菌LD_{50}大于10.0 g/kg BW，属实际无毒级；三项遗传毒性试验（哺乳动物红细胞微核试验、Ames试验、体外哺乳动物染色体畸变试验）结果为阴性，未发现遗传毒性。根据申报物质的食用情况（食用历史和食用方式）、实验室检测结果、未见人群不良反应报道、估计摄入量数据以及查阅的国内外资料，经综合评估后认为，马乳酒样乳杆菌作为新食品原料按（0.6～2.0）×10^{10} CFU/天的推荐食用量，使用方式作为发酵菌种可用于发酵乳、乳制品中，作为益生菌菌种可用于功能性食品、保健食品等。未发现该原料作为上述食品成分存在明显的健康风险。

关键词： 马乳酒样乳杆菌；安全性评估；新食品原料

通讯作者： 袁 媛，E-mail：514510637@qq.com

DEHP促进BMSCs成脂分化干扰小鼠脂肪-骨骼代谢平衡

张一帆，郑刘根，雷昌亭，张砾文，谢克勤，赵秀兰

（山东大学公共卫生学院卫生毒理与营养系，山东 济南 250012）

摘要：目的 通过体内外实验研究邻苯二甲酸二（2-乙基）己酯（DEHP）对脂肪-骨骼代谢平衡的干扰作用及其机制。**材料和方法** 整体动物实验中，雌性C57小鼠随机分为对照组、0.025 mg/kg·bw DEHP组、0.05mg/kg·bw DEHP组、5 mg/kg·bw DEHP组，动物经口暴露DEHP。实验结束，采用XR-600型双能X线骨密度测量仪测量骨密度（BMD）后处死动物，分离股骨和胫骨分别进行micro CT三维骨结构分析、硬组织切片荧光标记骨矿化速率分析，骨骼脱钙制作切片进行HE染色、番红-固绿染色和骨钙素（OCN）及脂滴包被蛋白（Perilipin）免疫组化染色，采用ELISA检测血清骨代谢标志物。体外实验中，分离小鼠骨髓间充质干细胞（BMSCs）进行培养与鉴定，成骨/成脂诱导过程中同时给予不同剂量的DEHP/MEHP处理，观察对BMSCs细胞成脂-成骨分化平衡干扰的剂量效应关系。成脂和成骨分化分别采用培养液碱性磷酸酶（ALP）检测、细胞油红O染色、ALP染色及茜素红染色，以及成脂、成骨分化相关蛋白和PI3K-Akt-mTOR通路蛋白

的表达进行评价，并进一步通过抑制PI3K和Akt观察PI3K-Akt-mTOR通路激活在DEHP干扰BMSCs分化中的作用。**结果** 低剂量（0.025 mg/kg·bw和0.05 mg/kg）DEHP暴露引起小鼠骨量丢失和骨代谢异常，其中0.05 mg/kg·bw DEHP暴露组小鼠骨密度降低最为明显，伴随脂肪含量增加、血清TG升高、血清骨代谢标志物P1NP、TO/BGP降低及NTX增加。Micro CT检测显示，低剂量DEHP暴露小鼠骨小梁形态结构改变，表现为小鼠股骨BV/TV、Tb.Th、Tb.N、Conn.D、BS/TV显著降低、BS/BV显著增加，胫骨Tb.Th、Tb.N显著降低；荧光标记显示股骨骨组织矿化沉积指标MAR、MS/BS、BFR/BS显著降低；HE染色和免疫组化结果显示股骨骨小梁减少，骨髓腔脂滴增多，成骨细胞数量和面积减少。体外实验观察到DEHP/MEHP明显促进BMSCs成脂分化、抑制其成骨分化，BMSCs培养基及细胞内ALP含量降低、细胞脂滴增加及矿化结节形成减少，均呈剂量效应关系；分别采用PI3K和Akt抑制剂阻断PI3K-Akt-mTOR通路能明显抑制BMSCs的成脂分化。**结论** 雌性小鼠长期低剂量暴露DEHP可干扰脂肪-骨骼代谢平衡进而降低骨密度，并与PI3K-Akt-mTOR通路激活密切相关。

关键词： DEHP；BMSCs；成脂分化；成骨分化；脂肪-骨骼代谢平衡

基金项目： 国家自然科学基金（82073587）；山东省重点研发计划（重大科技创新工程）项目（2020CXGC10604）

通讯作者： 赵秀兰，E-mail：zhao.xl@sdu.edu.cn

T05-0001

抑制p38MAPK信号通路缓解睾丸辐射损伤及机制研究

杨　娟[1,2]，舒　鑫[1,2]，曾俊文[1,2]，邓　榕[1,2]，杨子豪[1,2]，曾慧红[3]，邵立健[1,2]

（1. 南昌大学公共卫生学院职业卫生学教研室，江西 南昌　330006；2. 南昌大学公共卫生学院预防医学重点实验室，江西 南昌　330006；3. 南昌大学基础医学院组织胚胎学教研室，江西 南昌　330006）

摘要：目的 为有效预防睾丸生殖系统的辐射损伤，建立睾丸辐射损伤模型，应用RNA-seq技术发现潜在损伤机制，探索及验证靶向抑制p38MAPK信号通路能否缓解睾丸辐射损伤，为睾丸辐射损伤防护提供新思路和新方法。**方法** 建立不同剂量x-射线全身辐射致小鼠睾丸损伤和全身辐射后不同时间点小鼠睾丸损伤模型；建立p38MAPK抑制剂SB203580缓解辐射致睾丸损伤模型。利用HE染色观察附睾和睾丸组织结构、分析生精小管面积和周长。利用TUNEL染色检测睾丸细胞凋亡情况。利用免疫组织化学染色观察睾丸组织PLZF、SOX9、BrdU阳性细胞数和p-p38MAPK的表达。利用RNA-seq技术检测和分析辐射后睾丸组织中的差异表达基因并进行富集分析。利用qPCR技术检测睾丸中Mapk14、Mef2c、MAX、Atf2、Ddit3和Ap1m1等基因表达。利用蛋白印迹检测辐射后睾丸组织中p38MAPK和p-p38MAPK的蛋白表达量。**结果** 睾丸损伤与电离辐射存在剂量反应关系，4Gy和6Gy导致睾丸指数与体积、生精小管的面积和管径减小，精子质量降低，$SOX9^+$细胞数增加（$P<0.05$）。6Gy照射后24 h和7d，$PLZF^+$、$BrdU^+$细胞数减少，$SOX9^+$细胞数增加（$P<0.05$）；照射后7 d和6 w，TUNEL+细胞数增加（$P<0.05$）；照射后6 w和8 w，睾丸指数和体积、生精小管管径和面积减少，精子质量降低（$P<0.05$）。小鼠辐射后睾丸组织中862个基因表达升高，107个基因表达下降。qPCR验证GO富集的p38MAPK信号通路相关基因表达显著升高（$P<0.05$）。照射后4 w睾丸中p-p38MAPK表达量显著升高（$P<0.05$），辐射激活睾丸p38 MAPK通路。SB203580抑制p38 MAPK后辐射小鼠的精子数量、生精小管面积和直径及SOX9+细胞数增加（$P<0.05$），SB203580可改善睾丸辐射损伤。**结论** 电离辐射可损伤睾丸和附睾组织，导致精子质量显著降低，辐射导致睾丸组织损伤呈辐射剂量和时间依赖性；电离辐射能显著改变睾丸组织基因表达，其中p38MAPK信号通路呈现激活状态；p38MAPK信号通路抑制剂SB203580可部分改善辐射导致的睾丸组织损伤，加速精子质量的恢复。

关键词： 电离辐射；睾丸；p38MAPK信号通路；RNA-Seq；细胞增殖

通讯作者： 邵立健，E-mail：lshao@ncu.edu.cn

T05-0002

氡暴露小鼠肺组织免疫细胞反应与损伤研究

王美玉[1,2]，王志鑫[2]，郭浩鑫[2,3]，刘奔波[2]，陈 果[2,3]，杨陟华[2]，王易龙[2]，朱茂祥[1,2,3]
（1. 河北大学生命科学学院，河北 保定 071002；2. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京市放射生物学重点实验室 100850；3. 南华大学公共卫生学院，湖南 衡阳 421001）

摘要：目的 观察小鼠氡暴露致小鼠损伤过程中肺组织B淋巴细胞（B lymphocytes，BLC）、巨噬细胞（Macrophages，MΦ）、T淋巴细胞（T lymphocytes，TLC）及其亚群等免疫细胞变化，为氡暴露损伤与防护研究提供实验依据。**方法** Balb/c雌性小鼠（6～8周，18±2 g）随机分为4个对照组和4个染氡组，每组10只。染氡组小鼠置于多功能氡室进行氡吸入染毒，染毒室氡浓度控制在120000Bq/m3，14 h/次/d；对照组小鼠置于氡室外的同一房间饲养。分别在染氡后第7d（换算成累积氡暴露量为15WLM）、15d（换算成累积氡暴露量30WLM）、30 d（换算成累积氡暴露量60WLM）和60d（换算成累积氡暴露量120WLM）。采用EMKA清醒动物呼吸功能检测系统检测小鼠呼吸功能；血常规检测小鼠静脉血中淋巴细胞变化；处死后取部分肺组织制备成单细胞悬液，流式细胞术检测巨噬细胞、淋巴细胞及其亚群等免疫细胞比例变化；另取部分肺组织制备切片进行组织病理观察。**结果** （1）肺功能检测结果除15 d组小鼠呼气时间、松弛时间、呼吸频率增加，潮气量、呼气量、最大吸气流量、最大呼气流量等显著降低外，其他氡暴露组与对照组无明显差别。（2）肺组织病理学切片观察到氡染毒小鼠出现肺泡隔增宽、破裂，肺泡上皮细胞坏死、脱落，红细胞渗出，间质可见淋巴细胞、巨噬细胞等炎性细胞浸润等病理变化，并随暴露时间延长变化更明显。（3）小鼠氡暴露后早期（30 d内）白细胞及其分类细胞（淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞等）显著降低。（4）氡暴露小鼠早期（15 d内）T淋巴细胞数量（$CD3^+$）显著增高，其中$CD4^+$亚群比例增高显著，而$CD8^+$亚群比例则明显降低；进一步分析表明，$CD4^+$亚群中，主要是早期活化指标CD69和CD28表达增高，而相应指标在$CD8^+$亚群中表达均无明显变化；氡暴露后早期（30 d内）B淋巴细胞和巨噬细胞减少。**结论** 氡暴露小鼠观察到不同程度肺损伤，且早期肺组织炎性反应明显，主要表现在T淋巴细胞$CD4^+$亚群的增加和活化。

关键词： 氡暴露；肺损伤；免疫细胞反应；T淋巴细胞$CD4^+$和$CD8^+$亚群

通讯作者：朱茂祥，E-mail：zhumx2016@126.com

T05-0003

辐射诱导肺泡上皮细胞外泌体在T细胞活化中的作用

王志鑫[1]，王美玉[1,2]，郭浩鑫[3]，刘奔波[1]，陈 果[3]，王易龙[1]，杨陟华[1]，朱茂祥[1,2,3]
（1. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京市放射生物学重点实验室 100850；2. 河北大学生命科学学院，河北 保定 071002；3. 南华大学公共卫生学院，湖南 衡阳 421001）

摘要：目的 探讨^{60}Co γ射线照射小鼠肺泡上皮细胞（MLE-12）产生的外泌体（IR-exo）对T淋巴细胞的活化作用与机制。**材料和方法** 实时荧光定量PCR和流式细胞术检测不同剂量（0、4、6、8Gy）^{60}Co γ射线照射后MLE-12细胞抗原提呈相关分子（MHC Ⅰ、MHC Ⅱ、CD80、CD86、ICAM-1、CCR7）表达水平；超速离心法提取外泌体，并利用蛋白免疫印迹法（Western Blot，WB）、纳米颗粒跟踪分析技术（Nanoparticle Tracking Analysis，NTA）和透射电子显微镜（Transmission Electron Microscope，TEM）对其形态和特征等进行定性定量分析；磁珠分选的C57BL/6N小鼠脾脏来源的初始T淋巴细胞（naive T lymphocyte，Tn），并通过与γ射线照射（6Gy）MLE-12细胞产生的IR-exo共培养，分别于12 h、24 h后检测T细胞亚群（CD3、CD4、CD8）和活化增殖指标（CD28、CD69、CD152、Ki-67）变化。**结果** （1）不同剂量γ射线照射MLE-12细胞诱导抗原提呈相关分子mRNA和细胞表面蛋白表达水平均显著增高，且呈剂量依赖性升高。（2）γ射线照射后MLE-12细胞产生的外泌体（IR-exo）数量增加，NTA和TEM分析显示外泌体为典型一面凹陷茶托样结构，直径范围30～150 nm；WB结果检测到CD63、CD81、TSG101等外泌体特异性标志物在外泌体中高表达。

(3)IR-exo与Tn共培养结果表明,与对照组相比,$CD3^+$细胞中,CD28表达数量在12、24 h时均明显增加,CD69表达数量在24 h时增加;$CD4^+$ T细胞亚群中,24 h时表面CD28、CD69表达量增加,而CD152表达降低;$CD8^+$ T细胞亚群中,$CD69^+$、$CD152^+$细胞数量在12、24 h时均增加,表面CD28表达量和$CD28^+$细胞数量在24 h增加。**结论** 辐射诱导小鼠肺上皮细胞抗原提呈相关分子高表达,并可能通过外泌体对T细胞进行活化。

关键字:电离辐射; 肺上皮细胞; 外泌体; T淋巴细胞; 抗原提呈

通讯作者:朱茂祥,E-mail:zhumx2016@126.com

T05-0004

m^6A甲基化修饰调控上皮-间质转化在放射性肺损伤发生发展中的作用及机制研究

冯 阳, 曹建平, 焦 旸

(苏州大学医学部放射医学与防护学院国家重点实验室, 江苏 苏州 215123)

摘要: 目的 放射性肺损伤是胸部肿瘤放射治疗后常见并发症,包括放射性肺炎和放射性肺纤维化。上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition,EMT)在放射诱导肺损伤进程中起着至关重要的作用,然而,所涉及的机制还未完全阐明。N^6-甲基腺苷(m^6A)是真核mRNA中最丰富的可逆性甲基化修饰,参与调控多种生物过程。本研究探讨m^6A修饰在放射性肺损伤EMT进程中的作用及机制。**材料和方法** 采用比色法检测受照肺细胞中m^6A甲基化水平;采用Western blot检测照射前后肺细胞内METTL3表达水平;采用Western blot检测敲低METTL3后受照肺细胞内E-cadherin、Vimentin、α-SMA表达水平;采用CCK8、克隆形成及LDH实验等检测METTL3对受照肺细胞的增殖情况及细胞死亡的影响;利用DCFH-DA荧光探针检测敲低METTL3后辐照肺细胞内ROS水平。C57小鼠尾静脉注射AAV9-shMETTL3,两周后建立C57小鼠放射性单侧肺损伤模型,分别于两个月、四个月后通过H&E、Masson染色等方法检测C57小鼠肺损伤情况,并通过Western blot检测敲低METTL3后小鼠肺组织内E-cadherin、Vimentin、α-SMA表达水平。**结果** 比色法及Western blot结果显示:照射后m^6A甲基化水平升高,其甲基转移酶METTL3表达增加,敲低METTL3后抑制了电离辐射引起的EMT的发生。CCK8、克隆形成及LDH实验结果表明:敲低METTL3后促进受照肺细胞增殖,细胞死亡减少;活性氧实验结果显示:敲低METTL3后可以降低肺细胞内电离辐射诱导产生的ROS水平。动物模型结果表明:敲低METTL3后小鼠肺损伤减轻,胶原沉积减少,且抑制了EMT的发生。**结论** 敲低METTL3可通过抑制EMT进程从而减轻放射性肺损伤,这为放射性肺损伤的防治提供了新的策略。

关键词:电离辐射; EMT; 放射性肺损伤; N^6-甲基腺苷(m^6A); METTL3

通讯作者:焦 旸,E-mail:jiaoyang@suda.edu.cn; 曹建平,E-mail:jpcao@suda.edu.cn

T05-0005

钽-锆金属有机框架材料用于肿瘤放射动力学免疫联合治疗研究

李 涛, 高明权, 李 蓉

(陆军军医大学军事预防医学系, 重庆 400038)

摘要: 目的 通过制备一种钽-锆金属有机框架材料,能实现肿瘤的近红外、CT及光声三模态成像,并具有材料的放射动力学性能,能激活cGAS-STING通路高表达PD-L1,通过联合aPD-L1,实现对骨肉瘤的有效抑制并能够成功抑制肿瘤转移。**方法** 通过溶剂热法制备锆金属有机框架材料,在此基础上引入钽金属,得到钽-锆金属有机框架材料。通过扫描电镜及透射电镜对材料的形貌结构和粒径进行分析,并通过一系列

的检测手段证明材料制备成功。进一步通过体外和细胞水平实验证明材料在X-ray的照射下具有高的活性氧和单线态氧的产生能力。并进行NIR、CT和光声肿瘤三模态成像能力验证。通过细胞实验证明材料在X-ray照射下可以激活cGAS-STING通路高表达PD-L1。最后通过肿瘤远端模型和肺转移模型证明材料在联合aPD-L1的条件下的肿瘤治疗效果。**结果** 1. 通过一系列材料表征证明制备的钽-锆金属有机框架材料为米粒形，在不同溶液中具有良好的分散性，且具有均一的粒径分布。2. 通过近红外光活体成像，CT成像和光声成像证明钽-锆金属有机框架材料具有肿瘤三模态成像能力。3. 通过体外对总ROS，单线态氧及羟基自由基的检测，证明钽的引入让整个金属有机框架材料具有显著放射动力学性能。4. 钽的引入让整个金属有机框架材料在细胞水平具有明显的杀死肿瘤细胞能力。5. 通过基因测序证明材料能激活cGAS-STING通路高表达PD-L1。6. 通过肿瘤远端模型和肺转移模型证明材料在联合aPD-L1的条件下的肿瘤治疗效果。7. 通过动物溶血实验以及主要器官的HE染色结果表明材料没有明显的组织毒性。**结论** 通过将钽引入到锆金属有机框架材料上，得到米粒形结构的均一纳米颗粒，让整材料具有肿瘤三模态成像能力，同时材料具有放射动力学性能，能联合aPD-L1实现对骨肉瘤的有效抑制并能够成功抑制肿瘤转移。

T05-0006

CircT04B8.5通过氧化应激发挥对线虫放射性损伤的促进作用

林 菲，王 婷，张 超

（南方医科大学基础医学院生化教研室，广东 广州 510515）

摘要：目的 本文旨在讨论circT04B8.5对线虫放射损伤的促进作用及其分子机制。**材料和方法** 对线虫进行200Gy电离辐射，结合放射损伤相关数据库，对差异表达的候选基因进行验证，筛选出上调最明显的F19B10.4。利用CRISPR/Cas9技术构建F19B10.4敲除株线虫M263、M264、M265，经qPCR对F19B10.4水平验证后获得放射损伤线虫模型M265。对M265线虫进行circRNA分析，对辐照后候选circRNA的表达量进行检测，结合KEGG信号通路分析结果，筛选出上调最明显的circT04B8.5，并进行成环验证。分别给予不同辐射剂量（0 Gy、50 Gy、100 Gy、200 Gy），qPCR分别检测M265、野生型线虫中circT04B8.5的表达情况，探究circT04B8.5的表达情况与F19B10.4、电离辐射的关系。构建circT04B8.5i-M265线虫，给予不同的辐射剂量后，检测其48小时的生存率并确定最佳辐射剂量100 Gy；检测接受100 Gy辐射的circT04B8.5沉默线虫株的8天生存率，观察circT04B8.5对放射后线虫生存率的影响。利用H2DCFDA荧光探针检测辐照后circT04B8.5沉默线虫株体内的ROS水平，探究circT04B8.5对辐照后线虫体内ROS水平的影响。分别给予M265线虫及野生型线虫200 Gy的电离辐射，利用qPCR分别检测与氧化应激相关基因SOD2、SKN1、HSF1、DAF-16、LGG-1的表达情况；分别给予M265线虫、野生型线虫0 Gy、50 Gy、100 Gy、200 Gy的电离辐射，qPCR检测SOD2的表达情况，初步探究circT04B8.5放射增敏作用的分子机制。**结果** 通过辐射后线虫RNA水平及放射损伤相关数据库的分析，结合qPCR检测结果，筛选出辐射后上调最明显基因——F19B10.4。构建F19B10.4敲除线虫模型，qPCR结果表明F19B10.4在M265线虫中下调最明显，因此选择M265线虫为放射损伤线虫模型。circRNA转录组测序及KEGG信号通路分析结果显示，circT04B8.5在M265辐照后上调最明显，且主要与信号转导、细胞生长等通路相关。qPCR结果及线虫48 h生存率、8天生存率结果显示，circT04B8.5在M265线虫中表达上调且高剂量辐射对其表达上调具有明显作用，且能降低线虫在高剂量辐射下的生长能力。ROS水平检测结果以及qPCR分析结果表明，circT04B8.5能促进辐照后线虫体内ROS水平，且很可能通过下调SOD2促进ROS的积累。**结论** circT04B8.5可能通过下调体内SOD2的表达水平，增加ROS的积累，从而发挥对线虫在电离辐照下的生存能力的抑制作用，增加其放射敏感性。

通讯作者：张 超，E-mail：zhangchao1558@126.com

T05-0007

Hsa_circ_0005232在放射性心肌细胞损伤中抑制细胞凋亡作用研究

王 婷，林 菲，张 超
（南方医科大学基础医学院生化教研室，广东 广州 510515）

摘要：目的 本文旨在讨论在放射性心肌细胞损伤中hsa_circ_0005232对心肌细胞凋亡的抑制作用。**材料和方法** 20Gy定点辐照小鼠心脏以制备放射性心脏损伤的小鼠模型，将处理组与正常组的小鼠心脏组织进行circRNA转录组测序，筛选出40个差异表达的circRNA，找到下调最明显的mmu_circ_0000823，并进行qPCR成环验证及人源序列比对，在AC16细胞中筛选最佳辐照剂量。mmu_circ_0000823的人类同源序列是hsa_circ_0005232，分别构建hsa_circ_0005232的过表达质粒和沉默质粒，包装慢病毒后感染AC16细胞，筛选稳转细胞株。利用4Gy最佳剂量X射线照射各种稳转株细胞，将辐照前后的稳转株细胞进行CCK8实验、TUNEL实验、caspase酶活性检测实验及Annexin V-APC/PI细胞凋亡实验。采用生信分析预测hsa_circ_0005232可与miR_133a_3p相结合，miR_133a_3p又可与近60个mRNA的3′UTR区结合，采用FISH、qPCR验证。找到靶点PIK3C2A-3′UTR后，利用双荧光素酶实验验证结合。采用WB实验观察PIK3C2A蛋白对PI3K/AKT/mTOR信号通路关键蛋白及其磷酸化蛋白的影响。在体内实验部分，制备放射性心脏损伤的小鼠模型（方法同上），检测小鼠心脏功能，分别在辐照后4w、8w、12w、16w摘取心脏，并提取RNA、总蛋白，制备冰冻切片。采用qPCR、WB、HE、masson、IHC等实验观察辐照前后mmu_circ_0000823表达差异、PIK3C2A蛋白及PI3K/AKT/mTOR信号通路蛋白表达情况，以及辐照对心肌细胞纤维化的影响。**结果** 在放射性心脏损伤的小鼠模型中，心脏组织的mmu_circ_0000823是下调表达最明显的circRNA，mmu_circ_0000823与人体心脏组织高度富集的hsa_circ_0005232序列同源性达到88%，4Gy辐照细胞后hsa_circ_0005232呈显著下调表达。细胞凋亡功能实验表明，辐照后过表达hsa_circ_0005232可抑制细胞凋亡，反之亦然。FISH实验结果显示hsa_circ_0005232可以与miR_133a_3p相结合，双荧光素酶报告实验证实miR_133a_3p也可与PIK3C2A-3′UTR结合。PIK3C2A蛋白表达下调可导致PI3K/AKT/mTOR信号通路磷酸化蛋白降低，反之亦然。小鼠体内实验证实，辐照后小鼠心脏组织mmu_circ_0000823表达下调，小鼠心脏功能指标下降，PIK3C2A蛋白表达下调，同时PI3K/AKT/mTOR信号通路关键蛋白及其磷酸化蛋白降低，心肌纤维化增加。**结论** hsa_circ_0005232可作为miR_133a_3p海绵影响PIK3C2A蛋白及PI3K/AKT/mTOR信号通路，在心肌细胞放射性损伤中发挥着关键作用，通过明显抑制心肌细胞凋亡，充当保护心肌细胞的重要分子。X射线照射后，过表达hsa_circ_0005232可减少辐照引起的心肌细胞凋亡。

通讯作者：张 超，E-mail：zhangchao1558@126.com

T05-0008

The aberrant expression of monomethyltransferase SET8 correlates with poor prognosis and radiation-mediated invasion/metastasis in lung adenocarcinoma

Quan Li, Yuni Zhang, Aihua Shen, Pan Zhang, Hang Huang, Huixiao Hu, Junfang Yan, Burong Hu
(Department of Radiation Medicine, School of Public Health and Management, Wenzhou Medical University, Wenzhou, 325035)

Abstract: OBJECTIVE Tumor invasion/metastasis is the primary cause of poor prognosis in lung adenocarcinoma (LUAD) and confers radiation resistance to tumor cells, reducing radiotherapy effects.

Recently, studies reported that monomethyltransferase SET8 is strongly linked to tumor invasion/metastasis. Therefore, our studies aimed to explore the potential impact of SET8 on LUAD prognosis and invasion/metastasis. **MATERIALS and MEHODS** LUAD patients´transcriptomic data and clinical information from TCGA were acquired to explore the relationship between SET8 expression and LUAD invasion/metastasis using bioinformatics methods (including differential expression analysis, cluster analysis, functional enrichment analysis, etc.). The results were subsequently validated by experiments (including CRISPR/Cas9 technology, cell radiation, Wound-healing assay, etc.). Furthermore, the role of SET8 in the radiation-induced invasion/metastasis of LUAD was further validated. **RESULTS** Higher SET8 expression appeared in LUAD patients with metastasis and was correlated with poor prognosis. SET8 knockout significantly inhibited the invasion/metastasis capacity of lung adenocarcinoma cells. 28 invasion/metastasis genes and signaling pathways (p53 and FoxO) were identified as being potentially regulated by SET8 in LUAD. Ionizing radiation could induce LUAD cell invasion/metastasis and SET8 expression. **CONCLUSIONS** SET8 could be a biomarker and therapeutic target for LUAD prognosis, invasion/metastasis, and radiotherapy. Keywords: SET8, Lung adenocarcinoma, Cancer prognosis, Invasion and metastasis.

Corresponding author: Burong Hu, E-mail:brhu@wmu.edu.cn

T05-0009

低剂量电离辐射对HBE细胞氧化损伤及修复的影响研究

周林倩[1,2], 黄伟旭[1], 蔡丽娜[1,3], 柯伟奕[1,3], 张灵钰[1,2], 蔡雅诗[1,4], 张素芬[1], 杨 萍[2], 邹剑明[1], 陈慧峰[1]

（1. 广东省职业病防治院,广东省职业病防治重点实验室, 广东 广州 510300; 2. 广州医科大学公共卫生学院, 广东 广州 511436; 3. 广东药科大学公共卫生学院, 广东 广州 510006; 4. 南方医科大学公共卫生学院,广东 广州 510515）

摘要:目的 探讨低剂量电离辐射对HBE细胞氧化应激及DNA氧化损伤修复的影响。 **方法** 将HBE细胞分为0、50、100、200 mGy组,以剂量率为50 mGy/min的X射线照射后分别培养24 h和48 h,采用MTT法检测细胞存活率,采用试剂盒检测谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)的含量; 采用免疫酶联吸附实验检测8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的水平;采用实时荧光定量聚合酶链式反应方法检测DNA 损伤修复相关基因PPP2R2D和TP53基因转录水平的变化。 **结果** LDIR辐照后24 h,各剂量组细胞存活率的差异无统计学意义(P>0.05);各剂量组MDA含量较对照组均显著升高(P<0.05);各剂量组GSH含量呈现剂量依赖性降低(P<0.05);各剂量组8-OHdG含量呈现剂量依赖性升高(P<0.05);各剂量组PPP2R2D基因mRNA表达水平均显著升高,50 mGy时达到峰值(P<0.05);50 mGy组TP53基因mRNA表达水平均显著高于对照组(P<0.05)。辐照后48 h,各剂量组细胞的存活率在50 mGy达到最高(P<0.05),呈现先升后降的趋势;50 mGy组细胞MDA含量显著低于对照组(P<0.05);100 mGy组细胞GSH含量显著高于对照组(P<0.05);50 mGy组细胞8-OHdG含量显著低于对照组(P<0.05);50 mGy组细胞PPP2R2D和TP53基因mRNA表达水平显著高于对照组(P<0.05)。**结论** LDIR可影响HBE细胞氧化-抗氧化水平以及DNA损伤修复相关基因的表达。特别在50 mGy辐射剂量下,辐射后48 h可使HBE细胞氧化损伤水平降低,DNA损伤修复基因转录水平增加,细胞存活率升高。

关键词:低剂量电离辐射; 氧化-抗氧化; 氧化损伤修复

通讯作者:陈慧峰, E-mail:hfchen2001@163.com

T05-0010

氧化应激在不同剂量X射线诱导小鼠肝脏氧化损伤中的作用研究

蔡丽娜[1,2]，张素芬[1]，黄伟旭[1]，张灵钰[1,3]，蔡雅诗[1,4]，周林倩[1,3]，陈慧峰[1]，邹剑明[1]，余日安[2]，杨宇华[1]
（1. 广东省职业病防治院，广东 广州 5103002；2. 广东药科大学公共卫生学院，广东 广州 510006；3. 广州医科大学公共卫生学院，广东 广州 511436；4. 南方医科大学公共卫生学院，广东 广州 510515）

摘要：目的 探讨氧化应激在不同剂量X射线诱导小鼠肝组织氧化损伤水平及相关细胞因子mRNA转录水平的影响作用。**方法** 将C57BL/6J雄性小鼠随机分为对照组、0.8Gy、1.6Gy、4Gy剂量组，每组6只小鼠。采用X射线对各剂量组小鼠进行全身单次辐照。辐射后24 h，检测小鼠肝脏组织病理学变化；测定小鼠血清AST和ALT水平；检测肝脏组织超氧化物歧化酶（SOD）活性、丙二醛（MDA）和还原型谷胱甘肽（GSH）含量和8-OHdG水平；实时荧光定量PCR方法检测肝脏组织NF-κB p65、TGF-β1 mRNA表达水平；采用Pearson相关分析氧化应激及氧化损伤指标与NF-κB p65、TGF-β1 mRNA表达水平的相关性。**结果** 与对照组相比，不同剂量辐射后24 h，光镜下观察对照组肝小叶、肝索、中央静脉的结构清晰，无明显病变；0.8Gy小鼠肝细胞轻度水肿，少数中央静脉出现淤血；1.6Gy与4Gy组小鼠均出现肝细胞轻度水肿，肝窦轻度狭窄，中央静脉、汇管区均出现淤血。与对照组相比，4Gy组小鼠血清AST、ALT水平均显著升高（$P<0.05$）。与对照组相比，各剂量组小鼠肝脏MDA、SOD、GSH水平均显著升高（$P<0.05$），呈剂量-反应关系。与对照组相比，各剂量组小鼠肝脏8-OHdG水平呈逐渐升高趋势，1.6Gy、4Gy组小鼠肝脏8-OHdG水平均显著增加（$P<0.05$）。与对照组相比，1.6Gy、4Gy组小鼠肝脏NF-κB p65和TGF-β1 mRNA表达水平均显著升高（$P<0.05$）。相关分析结果显示，肝脏组织中MDA、SOD、GSH、8-OHdG水平与NF-κB p65、TGF-β1 mRNA表达水平呈显著正相关（$P<0.05$）。**结论** 不同剂量X辐射可通过氧化损伤水平诱导小鼠肝组织损伤。肝组织中NF-κB p65、TGF-β1 mRNA表达升高与肝组织氧化应激及氧化损伤水平相关。

关键词： 放射性肝损伤；氧化-抗氧化；氧化损伤

通讯作者： 杨宇华，E-mail：13925003634@163.com；余日安，E-mail：yuriantj@163.com

T05-0011

放射性肺损伤的病理变化及机制研究

高 雪，牛世英，丛昌盛，姜一帆，张鑫辉，孙美丽，张月英
〔山东第一医科大学（山东省医学科学院）临床与基础医学院，山东 济南 250117〕

摘要：目的 通过对小鼠胸部进行不同剂量及不同周期的X线照射，探讨放射性X线导致小鼠肺部损伤的病理变化及具体机制。**材料和方法** 将75只C57BL/6小鼠，采用6MV的X射线对小鼠进行单次胸部照射，照射位置在头部以下，剑突以上，剂量率为2Gy/min，按照不同照射剂量随机分为5组：Control组：15只小鼠，不作任何处理；8Gy照射组：15只小鼠，小鼠全肺一次性接受8Gy射线照射，其余条件同Control组相同；12Gy照射组：15只小鼠，小鼠全肺一次性接受12Gy射线照射，其余条件同Control组相同；16Gy照射组：15只小鼠，小鼠全肺一次性接受16Gy射线照射，其余条件同Control；20Gy照射组：15只小鼠，小鼠全肺一次性接受20Gy射线照射，其余条件同Control组相同。分别于5w，6w和7w后对小鼠进行解剖。通过RT-PCR技术检测肺组织中ACE2在mRNA水平的表达，采用HE染色法观察各组肺组织的病理改变，免疫荧光观察巨噬细胞极化，免疫组化技术检测肺组织中炎症因子IL-6和TNF-α的表达变化，Western blot检测NF-κB p65和P-NF-κB p65的表达情况。**结果** RT-PCR结果显示：与Control组相比，ACE2整体上呈现下降的趋势，且5周，20Gy照射剂量组小鼠肺组织中ACE2下降最明显。HE染色结果显示：随着照射剂量的增加，肺泡结构的破坏程度越来越大，毛细血管扩张充血明显，炎细胞浸润也越来越明显；随着造模周期的

增加，纤维化程度明显，在7周时，20Gy照射剂量组小鼠肺组织中已出现明显的成纤维细胞。免疫荧光结果显示：与Control组相比，模型组M1型巨噬细胞表达上调，炎症明显。免疫组化结果显示：与Control组相比，模型组炎症因子IL-6和TNF-α表达明显升高。Western Blot结果显示：与Control组相比，模型组P-NF-κB p65表达明显增高，NF-KB p65表达无明显变化。**结论** 放射性X线可导致肺部的炎症反应，激活NF-κB信号通路，促进巨噬细胞向M1型极化，并抑制ACE2表达。

关键词：放射性肺损伤；巨噬细胞极化；毒性损伤；病理机制

通讯作者：张月英，E-mail：zhangyueying828@126.com

T05-0012

长链非编码RNA LNC CRYBG3通过eEF1A1-MDM2-p53通路调控非小细胞肺癌的放射敏感性

吴安庆，唐家馨，戴迎初，黄 浩，聂 晶，胡文涛，裴海龙，周光明

（苏州大学苏州医学院放射医学与防护学院，苏州大学放射医学与辐射防护国家重点实验室，苏州 215123）

摘要：目的 非小细胞肺癌（Non-small cell lung cancer，NSCLC）是最常见的肺癌类型，大部分NSCLC患者需要接受局部放疗。然而，NSCLC细胞固有的放射抗性是限制有效放疗的主要障碍。长链非编码RNA LNC CRYBG3，在NSCLC中高表达，能够与eEF1A1结合，诱导MDM2表达来增多，进而促进癌细胞转移。MDM2是p53的负调控因子，而p53在对癌细的放射敏感性有着重要的调控作用。因此，本研究旨在阐明LNC CRYBG3对NSCLC放射敏感性的作用，并确定其是否与MDM2-p53通路有关。**方法** 以A549（p53野生型）和H1299（p53缺陷型）细胞为模型，通过转染LNC CRYBG3 shRNA，建立LNC CRYBG3稳定低表达的A549-shLNC CRYBG3和H1299-shLNC CRYBG3细胞。使用4Gy X射线照射A549-shLNC CRYBG3和H1299-shLNC CRYBG3细胞，并检测照射后细胞的克隆形成率，利用流式细胞实验及Western Blot检测照射后细胞的凋亡率和凋亡相关蛋白的表达。使用p53 siRNA敲低A549-shLNC CRYBG3细胞中的p53表达，使用p53过表达质粒在H1299-shLNC CRYBG3细胞中过表达p53，研究4Gy X射线照射后，LNC CRYBG3与p53对以上两种细胞放射敏感性的影响。**结果** 4Gy X射线照射后，A549-shLNC CRYBG3细胞的克隆形成率明显降低；但是，敲低LNC CRYBG3对H1299细胞的克隆形成没有影响。另外，抑制A549细胞中LNC CRYBG3的表达后，X射线诱导的细胞凋亡明显增多，凋亡相关蛋白Bcl-2减少，Bax和p53增多，DNA损伤修复相关蛋白γH2AX表达增多，而LNC CRYBG3敲低对H1299细胞的凋亡没有影响。将A549细胞中的p53敲低后，发现LNC CRYBG3表达减少不再影响细胞的放射敏感性，而在H1299-shLNC CRYBG3细胞中过表达p53后，其放射敏感性增加，说明LNC CRYBG3可能通过p53相关通路调控NSCLC细胞的放射敏感性。在A549-shLNC CRYBG3细胞中过表达LNC CRYBG3，发现其放射敏感性降低，而抑制MDM2或eEF1A1的表达，能够消除过表达LNC CRYBG3诱导的放射抗性。**结论** 抑制LNC CRYBG3的表达，能够增强p53野生型NSCLC细胞的放射敏感性，LNC CRYBG3对放射敏感性的调控与eEF1A1-MDM2-p53通路相关。

关键词：非小细胞肺癌；长链非编码RNA；放射敏感性；p53

基金项目：国家自然科学基金（82073480）；国家重点研发计划（2018YFC0115704）

通讯作者：裴海龙，E-mail：hlpei@suda.edu.cn；周光明，E-mail：gmzhou@suda.edu.cn

T05-0013

铜离子转运蛋白参与辐射损伤的调控作用及机制研究进展

王议贤，曹建平
（苏州大学苏州医学院放射医学与防护学院 放射医学与辐射防护国家重点实验室，
江苏省放射医学协同创新中心）

摘要：铜离子转运蛋白（CTR）是一系列参与机体铜离子吸收、转运、利用、贮存以及清除等铜离子稳态调控的复杂体系，在铜离子参与调控氧化应激、能量产生、黑色素形成、神经肽生物发生和结缔组织成熟等进程中发挥重要作用。电离辐射诱导铜离子转运蛋白表达上的改变影响了铜离子在细胞内的分布，即铜离子在受照射的细胞和组织中积聚并伴有高亲和力铜吸收转运蛋白（CTR1）表达的显著上调、以及铜外排转运蛋白（ATP7A）的丢失，从而激活了胞内的氧化还原反应，加重了正常组织的辐射损伤。与此同时，一种新的细胞死亡方式：铜死亡（Cuproptosis）已成为现如今的研究热点。铜死亡是细胞体内依赖于铜离子并受其调控的新型细胞死亡方式。CTR会促进电离辐射后铜死亡的发生，它使得大量的铜离子蓄积于胞内，而后与线粒体呼吸中三羧酸循环的脂酰化成分直接结合，并且铜离子的结合会导致脂酰化修饰的三羧酸循环相关酶寡聚化形成聚集体，促使脂酰化蛋白异常聚集以及铁硫簇蛋白的丢失，从而发生蛋白质毒性应激最终导致细胞死亡，这不同于以往发现的细胞死亡方式。猜测电离辐射引起CTR1表达上调以及ATP7A的降解导致细胞辐射敏感性增加很可能是通过铜死亡途径所介导，提示我们放射损伤的发生发展与CTR介导的铜离子稳态调控密切相关。现对几种关键铜稳态蛋白及其之间的相互作用、CTR介导的铜离子稳态调控在正常组织辐射损伤中发挥的生物学功能和调控机制的研究以及与铜死亡的关系进行全面综述，以更好地应对放射性损伤，为正常组织辐射损伤的防护提供更加完善的解决方案。

关键词：铜离子转运蛋白；铜离子稳态调控；电离辐射；放射性损伤；铜死亡

通讯作者：王议贤，E-mail：1354785276@qq.com

T05-0014

ATM-Nrf2通路在辐射旁效应中的调控作用及机制研究

朱子豪
（南华大学）

摘要：目的 研究γ射线辐照后辐射旁效应对 HepG2 细胞的影响，探讨ATM-Nrf2通路参与调控辐射诱导辐射旁效应的相关机制。 **方法：**实验采用人肝癌 HepG2细胞，利用转移辐射条件刺激液模式建立辐射诱导的细胞旁效应模型，用 1、3、5、7、9 μmol·L^{-1} KU60019抑制 ATM。实验分组为（1）：空白组（NC组）、辐射旁效应组（ICM组）、辐射旁效应＋KU60019组（ICM+KU60019组）、单纯辐照组（IR组）。MTT 法检测细胞存活率；生长曲线实验检测细胞增殖能力；微核实验检测细胞内微核形成数；流式细胞仪检测细胞凋亡；用微板法测定超氧化物歧化酶（SOD）活性和丙二醛（MDA）含量；用活性氧试剂盒检测细胞内活性氧水平；荧光分光光度法测定线粒体膜电位（MMP）；Western blot 检测 ATM、p-ATM、Nrf2、HO-1、Bax、Bcl2、Cleaved-caspase3 蛋白表达水平。**结果** 1. 7μmol/L KU60019作用HepG2细胞24、48、72小时，与空白组相比，细胞存活率降低（P<0.05）；与辐射旁效应组相比，ICM+KU60019组细胞存活率明显下降（P<0.05）。2. 与空白组相比，辐射旁效应组、IR组细胞生长速度、SOD活力、线粒体膜电位降低，细胞内ROS、MDA含量、微核形成数、细胞凋亡率升高（P<0.05）；与辐射旁效应组相比，ICM+KU60019 组细胞的生长速度、SOD 活力、线粒体膜电位降低（P<0.05），细胞内ROS、MDA含量、微核形成数、细胞凋亡率升高。3. 与空白组相比，辐射旁效应组、辐照组ATM、p-ATM、Nrf2、HO-1、Bax、Cleaved-caspase3 蛋白表达明显增加，IR组表达最高（P<0.05），Bcl2蛋白表达明显下降，辐照组表达最低（P<0.05）。与辐射旁效应组相比，ICM+

KU60019组ATM蛋白表达稍下降，p-ATM、Nrf2、HO-1表达明显下降（$P<0.05$），Bax、Cleaved-caspase3等蛋白表达明显增高，Bcl2蛋白表达明显下降。**结论** 1. 辐射旁效应使细胞发生氧化损伤，细胞存活率、细胞内SOD活力、细胞增殖能力、线粒体膜电位降低，细胞内微核形成数，ROS、MDA含量升高。2. 辐射旁效应促使细胞发生凋亡，凋亡蛋白Bax、Cleaved-caspase3表达增加，激活PI3K家族DNA损伤修复蛋白ATM，ATM激活后，其调控的下游AKT被激活，辐射损伤以及辐射产生的ROS等损伤因子激活Nrf2，下游抗氧化酶HO-1表达增加，发挥抗氧化作用。3. ATM-Nrf2通路参与辐射旁效应的调控，抑制ATM导致DNA损伤修复受到抑制，加重细胞氧化损伤，提高细胞辐射敏感性，使细胞内微核率、凋亡率增加，细胞增殖受到抑制。

关键词： ATM；Nrf2；ATM 抑制剂（KU6001）；辐射旁效应

通讯作者：朱子豪，E-mail：714043459@qq.com

T05-0015

转录组学和代谢组学联合分析耐辐射食管癌细胞的差异代谢途径

王渟雅，焦 旸，曹建平

（苏州大学放射医学与防护学院，放射医学与辐射防护国家重点实验室，苏州 215123）

摘要：目的 利用转录组学和代谢组学联合分析常规分割照射条件下耐辐射食管癌细胞的代谢差异。**方法** （1）采用TE-1食管癌细胞循环照射2Gy/Fx，根据细胞恢复状态及时调整照射频率，累计剂量达30Gy，构建食管癌耐辐射细胞株（TE-1 RR），克隆形成实验检测其放射敏感性。（2）代谢组学分析TE-1 RR与TE-1细胞的代谢产物差异。（3）转录组学分析TE-1 RR与TE-1细胞的基因表达差异。（4）针对差异基因和差异代谢物的关联分析TOP20结果绘制相关性矩阵图；计算基因表达量和代谢物响应强度数据间的相关性；进行关联网络图的绘制，最后将差异基因与差异代谢产物同KEGG数据库映射，获得它们共同参与的通路调控信息。**结果** （1）克隆形成实验结果表明：TE-1 RR细胞与母本TE-1细胞的辐射增敏比为0.349，证明耐辐射细胞株构建成功。（2）LC/MS代谢组学分析结果显示：与TE-1细胞相比，TE-1 RR细胞中共有279种差异代谢物，其中100种差异代谢物下调，179种代谢物上调。对TE-1 RR与TE-1细胞进行差异代谢物的KEGG通路富集分析后，发现嘌呤、嘧啶等遗传分子及谷氨酰胺代谢途径等是耐辐射食管癌细胞中差异富集较为明显的代谢通路。（3）转录组学分析发现，493个差异基因上调，1228个差异基因下调，转录组学KEGG富集分析结果显示：血管平滑肌收缩的负调控、微小RNA、肌动蛋白细胞骨架的调节等是耐辐射食管癌细胞中差异富集较为明显的信号通路。（4）代谢组学与转录组学联合分析差异代谢产物及基因，结果显示耐辐射食管癌细胞主要在肌动蛋白细胞骨架的调节、Ras信号通路、Rap1信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶-蛋白激酶B等信号通路有富集。**结论** 通过成功构建耐辐射的食管癌TE-1 RR细胞后，代谢组学和转录组学测序分析差异表达的代谢产物与基因。耐辐射食管癌细胞代谢以及转录水平的变化可能与肌动蛋白细胞骨架的调节、Ras信号通路、Rap1信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶-蛋白激酶B等信号通路有关。

关键词： 食管癌；耐辐射细胞；代谢组学；转录组学

T05-0016

miR-21/CREBL2在放射性肺纤维化中的作用机制研究

李 杰，郝玉徽

（陆军军医大学创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室，陆军军医大学军事预防医学系防原医学教研室，重庆 400038）

摘要：目的 放射性肺纤维化（radiation-induced pulmonary fibrosis，RIPF）是胸部肿瘤放射治疗与核辐

射事故大剂量照射人员常见并发症之一，而RIPF确切机制尚未明确，临床上尚缺乏有效的治疗措施。我们前期研究发现短链非编码miR-21对放射所致小鼠肺损伤具有明显的促进作用。本研究的目的是评估miR-21对小鼠RIPF的影响并探索其下游靶分子和潜在的分子机制。**材料和方法** 通过基因芯片和双荧光素酶实验筛选miR-21的下游靶分子；构建miR-21基因敲除小鼠；建立RIPF小鼠模型：使用钴源对小鼠胸部进行一次性照射总剂量为15Gy的γ射线，剂量率为0.65Gy/min，照射后分别于0周，8周，16周观察小鼠肺纤维化情况和miR-21及其下游分子的变化。**结果** micro-CT检查发现，野生小鼠从辐照后8周开始，肺部出现少量的磨玻璃样影、透光度减低，16周表现出大量的肺泡结构破坏、蜂窝组织样改变；相反的，基因敲除小鼠肺组织的磨玻璃样改变和蜂窝组织样改变明显减少，肺组织的透光度好于野生小鼠。此外，肺组织病理染色（苏木精-伊红染色、马森染色、天狼猩红染色和Ⅰ型胶原蛋白组织化学染色）研究发现，野生小鼠辐照模型于16周出现大量的肺泡闭锁、肺泡间隔结构改变、细胞外基质沉积和胶原蛋白呈条锁样排列；基因敲除小鼠辐照模型可以明显减轻上述病理变化。双荧光素酶实验结果证实miR-21可以通过与CREBL2结合减少其表达。野生小鼠RIPF模型中，miR-21在辐照后8周和16周的肺组织中表达升高，而CREBL2在辐照后表达明显下降；miR-21基因敲除小鼠RIPF模型进一步表明，CREBL2在辐照后8周和16周的肺组织中表达明显升高。**结论** 这些结果表明miR-21可能通过抑制CREBL2引起细胞外基质的沉积和胶原蛋白的表达增加，从而促进放射性肺纤维化的发生发展。

关键词：miR-21；CREBL2；γ射线；胶原蛋白；放射性肺纤维化

基金项目：重庆市基金（2022NSCQ-MSX4675）、国家重点实验室基金（SKLZZ201903）

作者简介：李　杰，E-mail：lijie_cqhld@163.com

通讯作者：郝玉徽，E-mail：yuhui_hao@126.com

T05-0017

没食子酸-卵磷脂复合物诱导氧化应激增强辐射所致A549细胞增殖的作用

范斯琪，管文菲，蒙　娥，刘珈彤，王志成

（吉林大学公共卫生学院 国家卫健委放射生物学重点实验室，吉林 长春　130021）

摘要：目的 研究没食子酸-卵磷脂复合物（gallic acid-Lecithin complex，GA-LC）对X射线照射所致肺癌A549细胞增殖的作用及其机制。**方法** 利用CCK-8法检测细胞不同浓度（0、0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3和0.35 mg·mL^{-1}）GA-LC处理A549细胞后增殖活性，并确定GA-LC的半抑制浓度（IC_{50}）。GA-LC预处理A549细胞后，给予4 Gy X射线照射，利用CCK-8法检测各组细胞增殖，并利用2′，7′-二氢二氯荧光素二乙酸酯（DCFH-DA）探针、罗丹明123和Annexin Ⅴ-7-AAD凋亡试剂盒染色，流式细胞术检测ROS水平、线粒体膜电位（mitochondrial membrane potential，MMP）和凋亡率的变化，利用线粒体探针Mito-Tracker观察线粒体形态变化。实验分为对照组，GA-LC组，4 Gy组和GA-LC+4 Gy组。**结果** 与0 mg·mL^{-1}浓度GA-LC相比，0.15、0.2、0.25、0.3和0.35 mg·mL^{-1}的GA-LC处理后细胞增殖活性明显降低（$P<0.05$），GA-LC对A549细胞的IC_{50}为0.1711 mg·mL^{-1}。与对照组相比，GA-LC组、4 Gy和GA-LC+4 Gy组细胞增殖和MMP明显降低，而GA-LC组和GA-LC+4 Gy组ROS水平和凋亡率明显增加（$P<0.05$，$P<0.01$）；与GA-LC+4 Gy组相比，对照组、GA-LC和4 Gy组细胞增殖、ROS水平、MMP和凋亡率均具有统计学差异（$P<0.05$，$P<0.01$）。Mito-Tracker染色后，荧光显微镜下可见绿色荧光，与对照组相比，GA-LC、4 Gy和GA-LC+4 Gy组细胞绿色荧光增加，且以GA-LC+4 Gy组增加最明显，暗示线粒体膜通透性增加。**结论** 没食子酸-卵磷脂复合物可以促进X射线诱导肺癌A549细胞增殖抑制，与其诱导氧化应激、促进线粒体通透性增加、膜电位降低，进而诱导细胞凋亡有关。

关键词：没食子酸-卵磷脂复合物；X射线；氧化应激；细胞凋亡；线粒体膜电位

通讯作者：王志成，E-mail：1412718062@qq.com

T05-0018

低剂量辐射降低PM2.5对肺泡上皮细胞损伤的作用与机制

王 丽，崔红丽，贾 臻，田宏远，郑清照，孙雪桐，王志成
（吉林大学公共卫生学院 国家卫健委放射生物学重点实验室，吉林 长春 130021）

摘要：目的 探讨低剂量辐射（low dose radiation，LDR）是否可以降低PM2.5对肺泡上皮细胞MLE-12的损伤作用及其作用机制。**方法** 采用CCK8法筛选PM2.5（25、50、100、200、400和800 μg/mL）对MLE-12细胞的作用浓度，建立PM2.5致肺泡上皮细胞损伤模型，并利用光学显微镜观察细胞形态变化。采用75 mGy X射线照射MLE-12细胞，6 h后进行PM2.5处理，罗丹明123染色流式细胞术检测线粒体膜电位（mitochondrial membrane potential，MMP）变化，Western Blot检测凋亡和EMT相关蛋白的表达。实验分为Control、PM2.5（25 μg/mL）、LDR（75 mGy）和LDR+PM2.5组。**结果** CCK8结果显示，MLE-12细胞增殖能力呈PM2.5浓度依赖性降低（$P<0.05$），根据细胞活力的变化，选取25 μg/mL作为PM2.5致肺损伤体外模型的暴露浓度。同时，光学显微镜下可见，PM2.5暴露后的MLE-12细胞形态发生变化，随着PM2.5暴露浓度的升高，MLE-12细胞由无方向性呈卵圆形紧密排列的上皮样细胞形态转变为有方向性的呈长梭形松散分布的间质细胞样形态。流式细胞术结果显示，与Control组相比，PM2.5组MMP显著降低，LDR组MMP显著升高（$P<0.05$）；与PM2.5组相比，LDR+PM2.5组MMP显著升高（$P<0.05$）。Western Blot结果显示，与Control组相比，PM2.5组caspase-3和Bax蛋白表达增加，而LDR组两种蛋白表达降低，且低于PM2.5组两种蛋白表达；同时，PM2.5组EMT相关蛋白E-cadherin表达降低，N-Cadherin和Vimentin表达增加，而LDR组E-cadherin表达增加，N-Cadherin和Vimentin表达降低。**结论** PM2.5引起肺泡上皮细胞发生形态学的改变，凋亡和EMT表型增加，而LDR能够减轻PM2.5对肺泡上皮细胞的损伤作用，可能与降低凋亡和EMT的作用有关。

关键词： 低剂量辐射；肺泡上皮细胞；PM2.5；上皮间质转化

通讯作者： 王志成，E-mail：2781432166@qq.com

T05-0019

羟基脲联合辐射对沉默ATRX的A549细胞凋亡及周期的影响

尹彩云，胡沛芸，张晨阳，李秋月，王志成
（吉林大学公共卫生学院 国家卫健委放射生物学重点实验室，吉林 长春 130021）

摘要：目的 探讨羟基脲（hydroxyurea，HU）联合电离辐射对沉默α-地中海贫血/精神发育迟滞综合征X染色相关蛋白（ATRX）的A549细胞周期进程及凋亡的影响及分子机制。**方法** 利用RNA干扰（RNA interfering，RNAi）构建稳定沉默ATRX的A549细胞模型（ATRXlow-A549），并利用Western Blotting验证沉默效率，以NC-A549细胞为阴性对照。HU预处理后，进行8 Gy X射线照射，24 h后采用PI单染和Annexin V-PE/7-ADD双染，流式细胞术检测周期进程和细胞凋亡；采用RNA-seq检测沉默ATRX后细胞基因的表达，并采用Western blotting法检测CDC25B、Cyclin B1和Cdk1蛋白的表达。实验分为对照组（Control）、羟基脲组（HU）、照射组（8 Gy）和羟基脲+照射组（HU+8 Gy）。**结果** Western Blotting显示，与NC-A549细胞相比，ATRXlow-549细胞中ATRX蛋白表达明显降低。流式细胞术结果显示，与对照组相比，NC-A549细胞中HU组细胞G_0/G_1期百分比明显增加，S期和G_2/M期百分比明显降低（$P<0.05$），8 Gy组G_0/G_1和S期百分比明显降低，G_2/M期百分比明显增加（$P<0.01$），而HU+8 Gy组G_0/G_1期明显降低，S和G_2/M期百分比明显增加（$P<0.01$）；而ATRXlow-A549细胞的周期变化规律与NC-A549细胞相似。与NC-A549细胞相比，8 Gy组G_0/G_1期细胞百分比明显增加，G_2/M期细胞百分比明显降低，而HU+8 Gy组的S期细胞百分比明显增加（$P<0.05$，$P<0.01$）。与对照组相比，NC-A549细胞和ATRXlow-A549细胞中HU、8 Gy组和HU+

8 Gy组凋亡明显增加；与NC-A549细胞相比，HU和HU+8 Gy组凋亡率明显增加（$P<0.05$）。RNA-seq检测差异基因的表达，KEGG Pathway富集分析显示，ATRX沉默后基因差异表达涉及细胞周期调节等，以c-Myc、Esp1、Cdc20、Plk1、CycA/B、Cip1和PCNA等为主。Western blotting显示，在NC-A549和ATRXlow-A549细胞中CDC25B、Cyclin B1和Cdk1在HU组、8 Gy和HU+8 Gy组明显降低，且与NC-A549相比，对照组和HU组3种蛋白表达稍降低，而8 Gy和HU+8 Gy组则明显增加。**结论** HU和辐射均可导致沉默ATRX的A549细胞周期进程异常和凋亡，二者联合效应更强；涉及到周期调控因子、特别是CDC25B/Cyclin B/Cdk1通路的调控。

关键词：电离辐射；羟基脲；细胞周期阻滞；细胞凋亡；α-地中海贫血/精神发育迟滞综合征X染色相关蛋白

通讯作者：王志成，E-mail：1299809336@qq.com

T05-0020

AKT在辐射旁效应中的调控作用及机制研究

邓蒸蒸

（南华大学公共卫生学院）

摘要：目的 研究γ射线辐照后辐射旁效应对HepG2细胞的影响，探讨AKT参与调控辐射诱导辐射旁效应的相关机制。**材料和方法** 实验采用人肝癌HepG2细胞，利用转移辐射条件刺激液模式建立辐射诱导的细胞旁效应模型，用0.5、1、1.5、2 μmol·L^{-1} MK2206抑制AKT。实验分组为：空白组（NC组）、辐射旁效应组（ICM组）、辐射旁效应＋MK2206组（ICM＋MK2206组）、单纯辐照组（IR组）。MTT法检测细胞存活率；生长曲线实验检测细胞增殖能力；微核实验检测细胞内微核形成数；流式细胞仪检测细胞凋亡；用微板法测定超氧化物歧化酶（SOD）活性和丙二醛（MDA）含量；用活性氧试剂盒检测细胞内活性氧水平；荧光分光光度法测定线粒体膜电位（MMP）；Western blot检测AKT、p-AKT、Nrf2、HO-1、Bax、Bcl2、Cleaved-caspase3蛋白表达水平。**结果** （1）2 μmol·L^{-1} MK2206作用HepG2细胞24、48、72小时，与空白组相比，细胞存活率降低（$P<0.05$）；与ICM组相比，ICM+MK2206组细胞存活率明显下降（$P<0.05$）。（2）与空白组相比，辐射旁效应组、IR组细胞生长速度、SOD活力、线粒体膜电位降低，细胞内ROS、MDA含量、微核形成数、细胞凋亡率升高（$P<0.05$）；与辐射旁效应组相比，ICM+MK2206组细胞的生长速度、SOD活力、线粒体膜电位降低（$P<0.05$），细胞内ROS、MDA含量、微核形成数、细胞凋亡率升高。（3）与空白组相比，辐射旁效应组、辐照组p-AKT、Nrf2、HO-1、Bax、Cleaved-caspase3蛋白表达明显增加，IR组表达最高（$P<0.05$），Bcl2蛋白表达明显下降，辐照组表达最低（$P<0.05$）。与辐射旁效应组相比，ICM＋MK2206组Bax、Cleaved-caspase3蛋白表达明显增高，p-AKT、Nrf2、HO-1、Bcl2蛋白表达明显下降（$P<0.05$）。**结论** （1）辐射旁效应使细胞发生氧化损伤，细胞存活率、细胞内SOD活力、细胞增殖能力、线粒体膜电位降低，细胞内微核形成数，ROS、MDA含量升高。（2）辐射旁效应促使细胞发生凋亡，凋亡蛋白Bax、Cleaved-caspase3表达增加，激活PI3K家族DNA损伤修复蛋白ATM，ATM激活后，其调控的下游AKT被激活，辐射损伤以及辐射产生的ROS等损伤因子激活Nrf2，下游抗氧化酶HO-1表达增加，发挥抗氧化作用。（3）抑制AKT可抑制其调控的Nrf2表达。（4）ATM-AKT-Nrf2通路参与辐射旁效应的调控，抑制AKT导致DNA损伤修复受到抑制，加重细胞氧化损伤，提高细胞辐射敏感性，使细胞内微核率、凋亡率增加，细胞增殖受到抑制。

关键词：AKT；Nrf2；AKT抑制剂（MK2206）；辐射旁效应

通讯作者：邓蒸蒸，E-mail：1439593217@qq.com

T05-0021

5 G手机辐射对小鼠中枢神经系统的影响

周桂强[1,2], 薛一哲[1], 张兆文[1], 秦佟洲[1], 郭 玲[1], 来盼盼[1], 高 鹏[1], 王 星[1], 黄志飞[1,2],
臧宇航[1], 荆云涛[1], 丁桂荣[1]
(1. 空军军医大学军事预防医学系辐射防护医学教研室,西安 710032; 2. 潍坊医学院公共卫生学院,
潍坊 261053)

摘要: 目的 探讨3.5 GHz通讯频率的5 G手机辐射对小鼠中枢神经系统的影响。**方法** 将36只成年雄性C57BL/6小鼠(6~8周龄)随机分为Sham组和3.5 GHz组,每组18只。3.5 GHz组小鼠连续35 d(1 h/d)全身暴露于功率密度为50 W/m2的5 G手机辐射。采用开放旷场实验、高架十字迷宫评估小鼠的焦虑情绪,强迫游泳实验和悬尾实验评估小鼠的抑郁情绪,Y迷宫和新物体识别实验评估小鼠学习记忆能力。ELISA实验检测小鼠血清中脑损伤标志物神经元特异性烯醇化酶(NSE)和S100钙结合蛋白B(S100B)的含量。比色法检测小鼠大脑皮层氧化应激标志物超氧化物歧化酶(SOD)活力和丙二醛(MDA)含量。伊文思蓝(Evans Blue,EB)荧光实验检测小鼠血脑屏障的通透性。Western blot检测血脑屏障紧密连接相关蛋白ZO-1,Occludin,Claudin-11和缝隙连接相关蛋白Connexin 43的表达水平。**结果** 与Sham组相比,3.5 GHz组小鼠开放旷场总运动距离无显著差异(P>0.05),中央区停留时间显著降低(P<0.05);3.5 GHz组小鼠高架十字迷宫开放臂停留时间百分比和开放臂进入次数呈降低趋势,但无统计学差异(P>0.05),提示3.5 GHz组小鼠产生了焦虑样行为。3.5 GHz组小鼠强迫游泳僵直时间呈升高趋势,但无统计学差异(P>0.05);悬尾实验僵直时间显著升高(P<0.05),提示3.5 GHz组小鼠产生了抑郁样行为。3.5 GHz组小鼠Y迷宫新异臂停留时间百分比和新异臂进入次数无显著差异(P>0.05);新物体识别实验新物体辨别指数无显著差异(P>0.05),提示3.5 GHz组小鼠学习记忆能力较sham组没有明显改变。ELISA结果发现,3.5 GHz组小鼠血清NSE和S100B含量较Sham组显著升高(P<0.0001),提示3.5 GHz手机辐射会导致小鼠大脑损伤。比色法实验结果显示,3.5 GHz组小鼠T-SOD和MDA含量较Sham组均无显著差异(P>0.05),提示3.5 GHz手机辐射不会导致小鼠大脑皮层产生氧化应激损伤。与Sham组相比,3.5 GHz组小鼠大脑皮层EB渗出明显增多(P<0.0001),提示5 G手机辐射可导致小鼠血脑屏障通透性增加。Western blot结果显示,与Sham组相比,3.5 GHz组小鼠大脑皮层Occludin蛋白水平均显著降低(P<0.05),ZO-1、Claudin-11和Connexin 43蛋白水平较Sham组无明显变化(P>0.05)。**结论** 上述结果提示,3.5 GHz频率的5 G手机辐射连续照射小鼠35 d,可诱导小鼠产生焦虑和抑郁样行为,而不会改变小鼠的学习记忆能力。辐射还可导致小鼠大脑皮层血脑屏障通透性增加,其机制可能与5 G手机辐射诱导的血脑屏障紧密连接相关蛋白Occludin减少有关。

关键词: 手机辐射; 血脑屏障; 5G手机; 中枢神经系统; 小鼠

通讯作者: 丁桂荣,E-mail:dingzhao @fmmu. edu. cn

T05-0022

低剂量电离辐射对眼晶状体上皮细胞增殖、迁移的影响及其机制的初步探究

王 萍, 田 梅
(中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所 辐射防护与核应急中国疾病预防控制中心重点实验室,
北京 100088)

摘要: 流行病学研究已经发现低剂量电离辐射可以诱导眼晶状体混浊,但其发病机制还未完全了解,推测可能与晶状体上皮细胞异常的增殖、迁移行为有关。在本研究中,人晶状体上皮细胞HLE-B3接受了0、0.05、0.075、0.1、0.2、0.5、2Gyγ射线照射。采用CCK-8法检测细胞增殖能力,流式细胞仪检测细胞周期变

化，transwell检测细胞迁移能力，以及western blot检测与细胞增殖相关的β-catenin及其下游靶基因cyclin D1、c-myc的蛋白表达水平变化。CCK-8结果显示，照射后24 h、48 h和72 h，低剂量辐射促进了细胞增殖，而照后48 h、72 h，较高剂量（2gy）抑制了细胞增殖，照后7天，低剂量辐射仍能促进细胞增殖；细胞周期实验结果显示相比于正常组，在照射后24h，大部分低剂量点G1期细胞减少，s期细胞增多，48 h，所有低剂量点G_1期细胞显著减少，s期细胞显著增加；transwell结果显示，照射后8 h和48 h，低剂量辐射也增强了细胞迁移能力；同样，在低剂量照射后8 h、24 h和48 h，β-catenin及其下游靶基因的蛋白表达水平也显著升高。本研究初步阐明了低剂量电离辐射可以促进晶状体上皮细胞增殖和迁移，并可能与β-catenin信号通路被激活相关。

关键词：低剂量电离辐射；晶状体上皮细胞；细胞增殖；细胞迁移；β-catenin

T05-0023

GATA3的m^6A修饰在放射性肺纤维化发生发展中的作用机制

衣峻萱，王　蕊，魏新锋，王铭蔚，徐维强，金顺子
（吉林大学公共卫生学院，国家卫健委放射生物学重点实验室，长春　130021）

摘要：目的　从体外探究GATA3的m^6A修饰对放射性肺纤维化进程的调控机制，为防治临床肿瘤放疗并发症提供新的治疗靶点。**材料与方法**　首先，分别给予人肺上皮细胞系（A549）和小鼠肺上皮细胞系（MLE-12）单次10 Gy（剂量率为1 Gy/min）和6 Gy（剂量率为0.75 Gy/min）X射线辐照，建立体外放射性肺纤维化（RIPF）模型。采用比色法定量检测总RNA的m^6A水平；采用qRT-PCR法检测细胞中GATA3、VIRMA、ACTA2、Collagen-1、TGF-β/Smad2和WNT/β-catenin通路相关mRNA的表达变化；采用Western blot法检测细胞中GATA3、VIRMA、α-SMA、Collagen-1、TGF-β/Smad2和WNT/β-catenin通路相关蛋白的表达水平；采用MeRIP-qPCR法检测体外细胞模型中GATA3 mRNA上m^6A的富集情况。**结果**　体外RIPF模型验证结果显示，肌成纤维细胞标志物α-SMA的蛋白和mRNA水平显著升高，这表明照射后肺上皮细胞向肌成纤维细胞分化。与此同时，Collagen-1的mRNA和蛋白水平显著增强，说明ECM的积聚增强，说明体外RIPF模型建立成功。进一步研究发现，辐射诱导RNA甲基化酶VIRMA上调，增强总RNA的m^6A水平，GATA3 mRNA上m^6A的富集增加，促进GATA3的转录，进而诱导TGF-β/Smad2通路和WNT/β-catenin通路的激活，α-SMA和Collagen-1表达升高，进而促进胶原蛋白的堆积，最终促进肺纤维化形成。**结论**　VIRMA通过诱导GATA3的mRNA发生m^6A修饰，促进GATA3的转录和翻译，进而诱导TGF-β/Smad2和WNT/β-catenin通路被激活，促进成纤维细胞向肌层纤维细胞的转化，细胞外基质过度堆积，促进RIPF发生与发展。

关键词：GATA3；m^6A修饰；VIRMA；放射性肺纤维化

T05-0024

LDR预照射对HDR抑瘤效应的影响及其DNA损伤修复机制

魏新锋，王　蕊，衣峻萱，王铭蔚，金顺子
（吉林大学公共卫生学院，国家卫健委放射生物学重点实验室，长春　130021）

摘要：目的　利用肿瘤细胞与淋巴细胞的共培养模型，探讨低剂量辐射（LDR）预照射对大剂量辐射（HDR）抑制肿瘤细胞存活的影响及其DNA损伤修复机制，旨在为提高临床肿瘤放疗疗效提供新的理论依据。**方法**　首先，建立A549细胞（肺癌）和Jurkat细胞（淋巴细胞）共培养模型，将其分为Control组、LDR组（100 mGy）、HDR组（20 Gy）和LDR+HDR组（照射间隔时间为6 h）。其次，采用CCK8法检测共培养模型受照后A549细胞增殖变化；采用流式细胞术检测共培养模型受照后A549细胞凋亡水平的变化；采用qRT-

PCR法检测共培养体系受照后A549细胞DNA损伤修复途径NHEJ标志分子Ku80、DNA-PKcs和XRCC4的mRNA和蛋白表达；最后，使用DNA-PKcs激动剂VND3207建立A549细胞DNA-PKcs过表达模型，解析LDR预照射对HDR抑瘤效应影响的DNA损伤修复机制。**结果** 细胞增殖实验和凋亡检测结果显示，A549细胞和Jurkat细胞共培养照射后24 h，与Control组相比，LDR组细胞存活率无明显变化，LDR+HDR组和HDR组细胞存活率明显降低，同时凋亡率显著升高，且LDR+HDR组细胞存活率低于HDR组（$P<0.05$），而且凋亡率显著高于HDR组（$P<0.05$），表明LDR预照射可以增强HDR对肿瘤细胞的增殖抑制作用和细胞杀伤作用。DNA损伤修复途径相关实验结果显示，LDR+HDR组和HDR组NHEJ修复途径相关分子Ku80、DNA-PKcs和XRCC4 mRNA表达水平相比于Control组显著降低（$P<0.01$），且LDR+HDR组表达水平明显低于HDR组（分别为$P<0.05$，$P<0.05$，$P<0.01$）。与Control组相比，LDR+HDR组和HDR组Ku80、DNA-PKcs和XRCC4蛋白表达有所下降，并且与HDR组相比，LDR+HDR组5种分子蛋白表达更低。提示LDR预照射后，DNA损伤修复受到显著抑制。DNA-PKcs激动剂作用后的结果显示，VND3207处理A549细胞2 h后将其与Jurkat细胞共培养，照射后LDR组、LDR+HDR组和HDR组细胞存活率高于Control组，且LDR+HDR组细胞存活率略高于HDR组；Control组、LDR组和HDR组细胞凋亡率无明显差异，LDR+HDR组细胞凋亡率低于Control组、LDR组和HDR组；且在使用VND3207后，LDR+HDR组NHEJ相关分子Ku80、DNA-PKcs和XRCC4 mRNA和蛋白表达均高于HDR组，说明在共培养条件下，LDR增强HDR抑瘤效应的机制与DNA损伤修复息息相关。**结论** 肺癌细胞与T淋巴细胞共培养条件下，LDR预照射可以增强HDR对肿瘤细胞的生长抑制，其机制与DNA损伤修复有关。

关键词： 低剂量辐射；肺癌；淋巴细胞；抑瘤作用；DNA损伤修复

通讯作者： 金顺子，E-mail：jinsz@jlu.edu.cn

T05-0026

转录因子COUP-TFⅡ对肺腺癌细胞辐射抗性的影响

王 蕊，衣峻萱，魏新锋，王铭蔚，金顺子

（吉林大学公共卫生学院，国家卫健委放射生物学重点实验室 130021）

摘要：目的 探讨鸡卵清蛋白上游启动子转录因子Ⅱ（Chicken Ovalbumin Upstream Promoter Transcription Factor Ⅱ，COUP-TFⅡ）对神经纤毛蛋白1（Neuropilin1，NRP1）的转录调控作用，进而阐明其对肺腺癌细胞辐射抗性的影响。**方法** 首先，构建肺腺癌细胞的辐射抗性模型（命名为H1299-RR），采用分次大剂量X射线照射的方法，即每次6 Gy，共照射5次，总剂量为30 Gy，照射剂量率分别为0.75 Gy/min。采用细胞克隆形成实验和CCK8实验检测辐射抗性模型是否构建成功。其次，采用qRT-PCR法和Western Blot法检测构建成功的辐射抗性细胞模型中COUP-TFⅡ和NRP1的mRNA和蛋白表达水平。随后，利用瞬时转染法将siRNA-COUP-TFⅡ片段转染进H1299和H1299-RR细胞内，构建COUP-TFⅡ的敲低模型，qPCR法和Western Blot法检测COUP-TFⅡ和NRP1的mRNA和蛋白表达水平。最后，利用JASPAR网站预测出转录因子COUP-TFⅡ与NRP1基因启动子区之间的结合位点，设计并合成引物，通过染色质免疫共沉淀（ChIP-qPCR）实验检测转录因子COUP-TFⅡ对NRP1基因启动子的调控作用。**结果** 克隆形成实验结果显示，在0、2、4、6和8 Gy的照射剂量下，H1299-RR细胞的存活率相较于亲本细胞均有显著地升高。CCK8实验检测亲本细胞和辐射抗性细胞的增殖能力结果显示，不同剂量照射后，辐射抗性细胞有更高的细胞存活率和增殖能力。以上两个实验证实辐射抗性细胞模型构建成功。qRT-PCR法和Western Blot法检测构建成功的辐射抗性细胞模型中COUP-TFⅡ和NRP1的mRNA和蛋白表达结果显示，H1299-RR细胞内的COUP-TFⅡ和NRP1的mRNA和蛋白表达量均较H1299细胞升高。这提示COUP-TFⅡ和NRP1均参与肺腺癌细胞辐射抗性的形成。瞬时转染siRNA-COUP-TFⅡ后，qRT-PCR结果显示，H1299和H1299-RR细胞内COUP-TFⅡ的mRNA表达量均降低，NRP1的mRNA表达量也降低。Western Blot

实验结果与qRT-PCR结果一致。ChIP-qPCR实验结果显示，在H1299和H1299-RR细胞中转录因子COUP-TFⅡ结合在NRP1基因启动子区，且在H1299-RR细胞中转录因子COUP-TFⅡ的富集增多，说明COUP-TFⅡ在H1299-RR细胞中发挥了重要的转录调控作用，促进了NRP1基因的转录。**结论** 转录因子COUP-TFⅡ结合于NRP1基因启动子区，正向促进NRP1的转录，进而参与肺腺癌细胞辐射抗性的形成。

关键词：转录因子COUP-TFⅡ；NRP1；肺腺癌细胞；H1299；辐射抗性

通讯作者：金顺子，E-mail：jinsz@jlu.edu.cn

T05-0027

沉默ATRX对辐射诱导的Ⅱ型肺泡上皮细胞发生EMT的作用及机制

徐维强，秦丽晶，崔红丽，贾　臻，王　丽，田宏远，王志成

（吉林大学公共卫生学院 国家卫健委放射生物学重点实验室，吉林 长春　130021）

摘要：目的 靶向沉默Ⅱ型肺泡上皮细胞A549中α-地中海贫血/精神发育迟滞综合征X染色相关蛋白（ATRX），探讨辐射诱导上皮-间充质转化（EMT）的作用及相关分子机制。**方法** 利用shRNA建立稳定沉默ATRX的A549细胞模型，分别命名为A549-NC和A549-ATRXlow。给予2 Gy和10 Gy X射线照射后，采用免疫荧光检测骨架蛋白F-actin的表达；采用划痕实验检测细胞的迁移能力；采用Western blotting检测EMT相关蛋白E-cadherin、N-cadherin、Vimentin和α-SMA的表达。**结果** Western blottint检测慢病毒转染后A549-ATRXlow细胞中ATRX蛋白表达明显降低，表明成功建立了ATRX沉默的A549细胞模型；10 Gy照射后24 h，A549-NC和A549-ATRXlow细胞的细胞骨架蛋白表达量均有增加，与A549-NC细胞比较，A549-ATRXlow细胞F-actin表达明显增加，并且细胞体积明显膨大；在2 Gy照射后的24 h，与A549-NC细胞比较，A549-ATRXlow细胞迁移能力显著增强（$P<0.05$）；在10 Gy照射后的24和48 h，A549-ATRXlow细胞迁移能力增强非常显著（$P<0.01$）；Western blotting结果显示，与A549-NC细胞比较，A549-ATRXlow细胞经2和10 Gy照射后24和48 h，E-cadherin表达降低，N-cadherin、Vimentin和α-SMA表达增加。**结论** 靶向沉默ATRX能够促进A549细胞辐射诱导EMT的发生，增强细胞的迁移能力。

关键词：ATRX；电离辐射；Ⅱ型肺泡上皮细胞；上皮-间充质转化

通讯作者：王志成，E-mail：zhicheng@jlu.edu.cn

T05-0028

电离辐射可诱导血管内皮细胞发生GATA4介导的细胞早衰

刘萌萌，田　梅，高　玲，刘青杰

（中国疾病控制预防中心辐射防护与核安全医学所，辐射防护与核应急中国疾病预防控制中心重点实验室，北京　100088）

摘要：目的 流行病学数据表明，心脏和血管系统暴露于电离辐射会增加心血管疾病发病风险。研究发现血管内皮细胞对电离辐射较为敏感，被认为是辐射诱导心血管疾病的关键靶点。目前，电离辐射诱导内皮细胞早衰的晚期生物效应在急性组织损伤发病机制中的作用的研究尚不明确。因此，本研究观察电离辐射诱导的血管内皮细胞早衰现象并探索相关机制。**材料和方法** 人脐静脉内皮细胞（EA.hy926）给予2 Gy、4 Gy的X射线照射，照射后3天，7天收集细胞进行β-半乳糖苷酶染色。人脐静脉内皮细胞（EA.hy926）给予2 Gy、4 Gy的X射线照射后3天，提取蛋白利用 western blot方法检测衰老标志蛋白P21和P16的表达水平变化，并利用实时荧光定量（PCR）法对衰老相关分泌表型（SASP）因子mRNA表达水平进行相对定量检测。利用 western blot方法检测2 Gy、4 Gy X射线照射人脐静脉内皮细胞（EA.hy926）后3

天SQSTM1/p62蛋白，及GATA4蛋白表达水平变化。**结果** 人脐静脉内皮细胞（EA.hy926）在X射线照射后3天和7天，β-半乳糖苷酶（SA-β-gal）染色阳性细胞数量较未处理组显著增加（F=26.34，F=75.78，$P<0.05$）；人脐静脉内皮细胞（EA.hy926）在X射线照射后3天，衰老标志蛋白p21、P16较未处理组蛋白表达量增加（F=44.41，F=75.94，$P<0.05$）；衰老相关分泌表型（SASP）因子IL-6，IL-8的mRNA相对表达量较未处理组显著增加（t=6.28，t=4.12，t=68.85，t=41.07，$P<0.05$）；在X射线照射后3天，SQSTM1/p62蛋白表达水平下降（F=37.72，$P<0.05$），GATA4蛋白表达水平升高（F=31.84，$P<0.05$）。**结论** 电离辐射可诱导血管内皮细胞发生细胞早衰，并激活p62/GATA4早衰相关通路。

关键词：电离辐射；内皮细胞；衰老；p62；GATA4

通讯作者：高 玲，E-mail：gaoling@nirp.chinacdc.cn

T05-0029

多组学联合的放射性肺损伤生物标志物研究

郭洪娟，曹建平

（苏州大学放射医学与防护学院，放射医学与辐射防护国家重点实验室）

摘要：目的 本研究旨在探讨SD大鼠放射性肺损伤模型的肺组织中mRNA和肺泡灌洗液中代谢产物的变化，以筛选出放射性肺损伤特异的生物标志物，并优化获得组合标志物，从转录和代谢的角度探讨放射性肺损伤新的分子机制。**方法** 将24只雄性SD大鼠随机分为三组（每组8只），分别为：未照射组、照射组（10 Gy、20 Gy），麻醉后行右肺单次X射线照射，建立放射性肺损伤模型。照后一周，处死大鼠，采集肺组织进行有参转录组测序，采集肺泡灌洗液进行LC/MS非靶向代谢组学检测，并对差异mRNA和差异代谢产物进行生物信息学联合分析。通过H&E染色和透射电镜观察照射后肺组织的形态学改变，通过ELISA检测大鼠血清中炎症因子含量、肺组织和肺泡灌洗液中SM含量，采用RT-PCR检测肺组织中ppp2r2b转录水平，采用Western blot检测肺组织中PP2A表达水平。**结果** 有参转录组测序在受照射大鼠肺组织中共检测到411种差异mRNA，其中Oas1i、Ckap2l、Bard1、Wdr54、Mmp13等25种差异mRNA是两照射组所共有的，差异mRNA显著富集于细胞周期、细胞因子与受体相互作用等信号通路。LC/MS非靶向代谢组学在受照射大鼠肺泡灌洗液中共检测到135种差异代谢产物，其中鞘磷脂SM、磷脂酰甘油PG、甘油磷脂酸PA等12种差异代谢产物是两照射组所共有的，差异代谢产物显著富集于坏死性凋亡、甘油磷脂代谢等信号通路。将差异mRNA和差异代谢产物同时向KEGG数据库映射，发现嘌呤代谢、鞘脂代谢等12条共同的信号通路，其中ppp2r2b和SM关联于鞘脂信号通路。与对照组相比，照射组大鼠肺组织炎细胞浸润、细胞形态改变，血清中IL-1β、IL-6、TNF-α、TGF-β1水平无明显变化，肺组织和肺泡灌洗液中SM含量降低，肺组织ppp2r2b转录下调，PP2A的表达无明显变化。**结论** 受照射大鼠肺组织的mRNA和肺泡灌洗液的代谢产物发生改变，不同剂量组中差异mRNA和差异代谢产物具有一定的共性和特异性，可以作为放射性肺损伤候选标志物。关联到SM和ppp2r2b的鞘脂信号通路可能涉及电离辐射诱导的细胞凋亡，提示我们可以从转录和代谢的角度探讨放射性肺损伤新的分子机制。

关键词：电离辐射；放射性肺损伤；转录组测序；差异代谢产物；鞘脂代谢

通讯作者：郭洪娟，E-mail：2227223023@qq.com

T05-0030

基于单细胞测序挖掘巨噬细胞参与放射性肝损伤的分子机制

袁 楠[1]，周凯笑[1]，冯 爽[2]，张 琦[1]，王利利[3]，焦 旸[1]
（1. 省部共建放射医学与辐射防护国家重点实验室；苏州大学医学部放射医学与防护学院；2. 中国人民解放军海军军医大学附属第三医院，肿瘤放射治疗科；3. 苏州大学附属第一医院，肿瘤放射治疗科）

摘要：目的 肝脏是辐射敏感性器官，由电离辐射引起的肝脏辐射损伤是肝癌及其他上腹部恶性肿瘤放射治疗过程中主要的剂量限制性毒性反应，制约了肝癌放疗及基于放疗的综合治疗的发展。巨噬细胞是肝脏的关键细胞组分之一，在维持肝脏正常生理稳态当中发挥极为重要的作用。本研究采用单细胞测序技术探讨放射性肝脏损伤发生进展过程中巨噬细胞发挥的生物学作用及潜在机制。**方法** C57BL/6J小鼠采用小动物精准照射装置进行全肝单次30Gy X射线照射，建立放射性肝损伤小鼠模型。2w后肝脏损伤情况经透射电镜、肝功能检测及组织病理学检查测定。随后采用10×Genomics单细胞转录组测序技术进行巨噬细胞亚型分析、拟时序分析并结合生物信息学分析初步进行差异基因功能富集。**结果** C57BL/6J小鼠全肝经30Gy X射线单次照射，2w后可见肝脏损伤的发生，病理表现为：与正常对照组相比，受照肝细胞核大小不一、肝血窦扩张、细胞皱缩，及胞质破损。电镜检测肝细胞超微结构可见细胞线粒体肿胀、线粒体嵴线断裂、细胞核大小不一、肝血窦扩张等。血生化分析血清ALT与AST，尽管与未受照对照相比差异不显著，但仍可见二者水平均有所增高。单细胞转录组测序分析结果发现：与对照组相比，在受照组肝巨噬细胞（kupffer cell，KCs）中，KCs倾向于从M2型向M1型转化，提示正常情况下M2占比较高，而放射性肝损伤发生伴随有M1细胞显著增多。经拟时序分析发现，在M2型KCs向M1转化的过程中，根据差异倍数及差异显著性检验结果筛选出30个差异表达基因，提示其可能参与辐射诱导KCs的M2型向M2型转化。进一步进行KEGG分析发现，30个差异表达基因中Cybb、Fos、Hmox1、Hspa1a、Hspa1b、Jund、Nr4a1与细胞信号传导有关；而通过对M1与M2型KCs进行GSVA分析，显示差异基因主要富集于与铁死亡、谷胱甘肽代谢、脂代谢与胆固醇代谢等代谢相关通路。**结论** 单次大剂量局部照射可成功诱导C57BL/6J小鼠放射性肝损伤的发生；单细胞测序分析小鼠肝组织揭示代谢相关通路介导的KCs的极化可能与放射性肝损伤的发生有关。

关键词：放射性肝损伤；10×Genomics单细胞测序；肝巨噬细胞；巨噬细胞极化

作者简介：袁 楠，E-mail：20214220051@stu.suda.edu.cn
通讯作者：焦 旸，E-mail：jiaoyang@suda.edu.cn

T05-0031

维生素B12（VB12）辐射防护作用及机制的研究

王 茜，朱 巍，焦 旸，曹建平
（苏州大学放射医学与防护学院）

摘要：目的 电离辐射作为放射诊断和放射治疗的重要技术手段被广泛应用，同时放射治疗中肺，肠等正常组织也会发生一定程度的损伤，且缺乏有效的治疗手段。维生素B12结构复杂，存在形式多样。维生素B12缺乏与多种退行性疾病相关，但其与电离辐射导致的放射性肺、肠损伤的关系尚不清楚。本研究拟探讨维生素B12（VB12）在电离辐射中的防护作用及其机制。**材料和方法** 用氰钴胺和羟钴胺进行实验研究，利用紫外可见光吸收光谱探索VB12在电离辐射照射前后的变化；采用CCK8及克隆形成实验检测VB12对受照肺细胞及肠上皮细胞的增殖情况；采用LDH释放实验检测VB12对受照肺细胞及肠上皮细胞LDH释放率的影响；采用氧自由基探针检测VB12对受照肺细胞及肠上皮细胞内ROS水平的影响；采用细胞凋亡实验检测电离辐射后VB12对受照肺细胞及肠上皮细胞凋亡率的影响。**结果** 紫外可见光吸收光谱

显示，与对照组相比，X射线照射VB12后，其最大吸收峰降低，并且向长波长方向移动。CCK8及克隆形成实验结果显示，VB12可促进电离辐射后肺细胞及肠上皮细胞的增殖。LDH释放实验结果显示，VB12可减少电离辐射后肺细胞及肠上皮细胞的LDH释放率。ROS实验结果表明VB12可降低电离辐射后肺细胞及肠上皮细胞的ROS水平。细胞凋亡实验结果显示，VB12可减缓受照肺细胞及肠上皮细胞的凋亡率。**结论** 维生素（VB12）可减少受照肺细胞及肠上皮细胞的LDH释放率，清除电离辐射引起的ROS，减缓细胞的凋亡率，促进细胞增殖。综上所述维生素B12（VB12）具有一定的辐射防护作用，这为临床放射治疗的防护提供了新的途径。VB12的辐射防护机理有待进一步研究。

关键词：电离辐射；放射损伤；维生素B12（VB12）

通讯作者：曹建平，E-mail：jpcao@suda.edu.cn

T05-0032

Regulation of radiation-induced bystander effects by primary cilium through TGF-β1 signaling

Pei Qu[1,2], Zhiang Shao[1,2], Jinpeng He[1,2], Yanan Zhang[1,2], Dong Lu[1,2], Wei Wang[3], Jufang Wang[1,2], Nan Ding[1,2]

(1. Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou, 730000, China; 2. College of Life Science, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China; 3. Department of Urological Surgery, The Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, 730000, China)

Abstract: Many studies have indicated that tumor growth factor-beta (TGF-β) signaling mediates radiation-induced bystander effects (RIBEs). The primary cilium (PC) coordinates several signaling pathways including TGF-β signaling to regulate diverse cellular processes. But whether the PC participates in TGF-β1 induced RIBEs remains uncover. The cellular TGF-β1 levels were detected by western blot and the secretion of TGF-β were measured by ELISA kit. The ciliogenesis was altered by serum starvation, CytoD treatment, or IFT88 siRNA transfection, separately, and was detected by immunofluorescence staining. The TGF-β1 signaling was interfered by LY2109761, a TGF-β1 receptor 1 (TβR1) inhibitor, or TGF-β1 neutral antibody. The DNA damages were induced by radiated conditional medium (RCM) from irradiated cells or TGF-β1 treatment and were reflected by p21 expression, 53BP1 foci, and γH2AX foci. Compared with un-irradiated control, both A549 and Beas-2B expressed and secreted more TGF-β1 after both carbon ions and X-ray irradiation. RCM collected from irradiated A549 cells 6 h post radiation and 24 h caused an increase of DNA damage in cocultured Beas-2B cells while blockage of TGF-β signaling by TβR1 inhibitor or TGF-β1 neutral antibody alleviates the effect. Furthermore, RCM induced DNA damages were aggravated by impaired PC of bystander cells and weakened by prolonged PC. However, PC inhibition exacerbated DNA damage was rescued by the blockage of TGF-β1 signal pathway. Our data uncovered the mediating role of PC during RIBE through TGF-β1 signal pathway in Beas-2B cells.

Key words: Ionizing radiation; radiation-induced bystander effects; primary cilium; TGF-β1; cell cycle

T05-0033

AP-1调节三阴性乳腺癌细胞放射敏感性的作用研究

赵伽慧[1], 左　丹[2], 谢凯丽[2], 苏琛贺[2], 刘雅文[1], 何　欢[1,2]
(1. 吉林大学公共卫生学院,流行病与卫生统计学,130021; 2. 吉林大学公共卫生学院国家卫生健康委员会放射生物学重点实验室,130021)

摘要:目的　AP-1 (Activator Protein 1)在TNBC中高表达,并在其发生发展和侵袭过程具有重要作用。在多种肿瘤中已报道AP-1与肿瘤放射抗性相关,但其在TNBC中与辐射照射的关系鲜有报道。因此,通过本研究探索AP-1与TNBC细胞辐射敏感性的关系,为改善TNBC治疗局限性提供理论基础。**材料和方法:**采用Western blot实验检测辐照后TNBC细胞(BT549,MDA-MB-231)中c-Jun/AP-1表达水平的改变;采用CCK8法、细胞克隆形成实验技术检测经不同剂量X射线(0/2/4/6Gy)辐照后TNBC细胞的存活能力;探索利用AP-1抑制剂(T5224)或c-Jun siRNA沉默AP-1后,通过CCK8法检测TNBC细胞在不同辐照计量条件下的存活能力。**结果**　不同计量辐照(0/2/4Gy)后,利用CCK-8检测不同时间点(24 h、48 h、72 h和96 h)TNBC细胞的存活能力,结果显示照射后24 h细胞存活率略高于未照射组(0Gy);辐照48 h后TNBC细胞增殖能力均被显著性抑制,如4Gy照射后48 h、72 h和96 h,BT549的细胞存活率分别为71.16±2.47%($P<0.05$)、64.44±5.49%($P<0.05$)和54.52±6.84%($P=0.001$)。可见辐照4天后TNBC细胞仍有~50%存活。另外,Western blot结果显示,辐射照射能够刺激c-Jun表达并具有剂量依赖性,c-Jun/AP-1参与到了细胞辐照响应过程中。然后,利用siRNA沉默TNBC细胞中c-Jun的表达水平,辐照后(2Gy或4Gy)72 h利用CCK-8法检测细胞的存活情况,结果显示,与单独照射组相比,沉默c-Jun能够更加显著地抑制TNBC细胞存活,说明c-Jun低水平表达能增强细胞的辐射敏感性。然后,利用AP-1抑制剂(T5224, 10 μmol·L^{-1})处理细胞6小时后联合辐射照射,结果观察到加DMSO(对照组)的细胞,在经过不同剂量辐射照射后并没有影响细胞的存活;在10 umol·L^{-1} T5224处理后,细胞的存活率随照射剂量的增加而明显被抑制,如4Gy照射24小时后细胞生存率71.45±1.43%($P=0.001$);6Gy照射24小时后细胞生存率59.41±5.82%($P=0.001$)。**结论:**本研究发现c-Jun参与到辐射响应过程中,并且其高水平表达与TNBC细胞的辐射抗性有关,抑制c-Jun/AP-1对TNBC细胞具有放射增敏作用;本研究证明T5224联合辐射照射增强抑制TNBC细胞增殖的作用,为T5224成为TNBC患者的临床放射性治疗的增敏剂提供体外试验依据。

关键词:三阴性乳腺癌; 辐射敏感性; AP-1

通讯作者:何　欢,E-mail:hehuan@jlu.edu.cn;刘雅文,E-mail:ywliu@jlu.edu.cn

T05-0034

SGLT抑制剂根皮苷对放射性肠损伤的影响及其作用机制

焦文霖, 刘　畅, 于　迪, 李　铮, 刘竣天, 程云云, 申延男
(吉林大学公共卫生学院国家卫健委放射生物学重点实验室)

摘要:目的　探究SGLT抑制剂根皮苷对正常肠细胞(HIEC、IEC)和结肠癌细胞(HCT116)辐射损伤效应作用及其机制,为放射性肠损伤治疗提供新的理论依据。**材料和方法**　HIEC、IEC、HCT116细胞各分为对照组、不同浓度根皮苷处理组、照射组(4 Gy)和不同浓度根皮苷联合X射线照射组。利用CCK-8法筛选出根皮苷对细胞的半抑制浓度(IC_{50}),继而以IC50浓度作用于细胞,并给予4 Gy X射线照射,经不同浓度根皮苷预处理24 h和48 h后,分别采用CCK-8法检测细胞的增殖率,利用DCFH-DA探针,流式细胞术检测根皮苷对辐射诱导的不同细胞的ROS水平变化;利用Mitotracker Green检测辐照前后的线粒体膜完整性的变化;利用罗丹明123和JC-1检测不同细胞辐照后的线粒体膜电位变化;利用流式细胞术分别检测药物处理以及联合照射的细胞凋亡和周期变化;利用免疫荧光法检测辐照前后细胞内DNA损伤相关蛋白γH2AX

的表达变化。**结果** 在电离辐射24 h后HIEC和IEC细胞内SGLT1和SGLT2蛋白水平明显升高，同时细胞凋亡水平升高、细胞周期发生G_2/M期阻滞，线粒体膜电位增高，促进ROS生成，线粒体膜被破坏；而在根皮苷处理后，可以有效降低辐照后细胞凋亡和细胞周期阻滞水平、细胞ROS生成水平、促进了线粒体膜完整性，而在HCT116细胞照射后，根皮苷可以提高细胞凋亡水平和抑制细胞增殖活性；γH2AX检测结果显示根皮苷处理组的辐照后HIEC细胞核内DNA双链断裂所产生的荧光斑点数量比单纯照射组细胞内荧光斑点数量减少。**结论** SGLT抑制剂根皮苷可以抑制正常肠细胞的辐射损伤效应。因此，通过研究SGLT1和SGLT2对正常肠细胞辐射敏感性的影响，为寻找新的肠道辐射防护剂提供新思路，为提高放射性肠损伤治疗效果提供新途径。

关键词：放射性肠损伤；根皮苷；钠依赖性葡萄糖协同转运蛋白；氧化应激

通讯作者：申延男，E-mail：ynshen@jlu.edu.cn

T05-0035

miR-184靶向调控STC2影响宫颈癌细胞辐射敏感性

刘竣天[1]，程云云[1]，孙宝胜[2]，申延男[1]

（1. 吉林大学公共卫生学院国家卫健委放射生物学重点实验室；2. 吉林省肿瘤医院）

摘要：目的 从辐射敏感miR-184途径研究提高宫颈癌细胞放射敏感性，并探讨其可能的分子机制，期望为提高宫颈癌的放疗效果提供新思路。**方法** 通过生物信息学预测工具，预测miR-184的潜在靶基因为STC2，同时构建了STC2荧光素酶报告质粒和miR-184表达质粒；并用双荧光素酶报告基因分析实验和western blot验证miR-184与STC2的靶基因关系；用qPCR法检测辐射诱导miR-184的表达变化和STC2的蛋白表达变化；用CCK-8法和集落形成实验检测外源性增加miR-184联合辐射对宫颈癌细胞（SiHa、ME180）增殖作用的影响；通过γH2AX Foci免疫荧光法检测过表达增加或抑制靶基因联合辐射对宫颈癌细胞DNA双链断裂的影响。**结果** 8Gy X射线照射后宫颈癌细胞的miR-184表达显著下调，而STC2蛋白表达增高；瞬时转染miR-184模拟物 48h后可以显著上调宫颈癌细胞的miR-184表达水平；与单纯照射组相比，外源性增加miR-184联合X射线照射有效地抑制了宫颈癌细胞的增殖作用；与单纯照射组相比，外源性增加miR-184联合X射线照射促进了Hela细胞的DSB的γH2AX foci形成；生物信息学预测显示，miR-184的可能靶点为STC2，STC2 3′UTR区存在于miR-184的种子区互补的序列；双荧光报告基因分析显示，miR-184可以显著抑制STC2 3′UTR野生型的报告基因活性，而不能抑制STC2 3′UTR突变体的报告基因活性；Western blot实验结果显示，miR-184可以下调宫颈癌细胞内STC2蛋白的表达；与单纯照射组相比，下调STC2表达联合X射线照射明显抑制了宫颈癌细胞的增殖活性和DNA损伤修复能力。**结论** miR-184是电离辐射抑制基因，并对宫颈癌细胞起生长抑制作用和辐射敏感作用。因此，miR-184可能是潜在放疗靶点之一，如果miRNA调节宫颈癌放疗敏感性的具体作用机制能得以阐明，miRNAs联合放疗将成为一种非常具有潜力和临床应用价值的治疗手段。

关键词：miR-184；STC2；宫颈癌细胞；辐射敏感性

通讯作者：申延男，E-mail：ynshen@jlu.edu.cn

T05-0036

5G手机辐射对小鼠生殖系统的影响

张兆文，周桂强，郭 玲，秦佟洲，来盼盼，王 星，荆云涛，黄志飞，丁桂荣

（空军军医大学军事预防医学系辐射防护医学教研室，西安 710032）

摘要：目的 探讨5G手机辐射（3.5 GHz）对成年雄性小鼠生殖系统的影响。**方法** 将36只健康成年雄

性C57BL/6小鼠(6～8周龄)随机分成Sham组和3.5 GHz组,每组18只。动物暴露或假暴露于3.5 GHz(5G手机辐射常用频段之一)电磁辐射中,每天1 h,连续暴露35 d,手机辐射的功率密度为50 W/m²。照射结束后第二天进行取材,通过显微镜下计数的方法检测精子数量和畸形率评估精子质量;通过流式细胞技术检测精子存活率和凋亡率评估精子质量;通过苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠睾丸组织形态;通过蛋白免疫印迹(Western Blot)检测睾丸组织中GDNF、SCF含量的变化评估支持细胞的分泌功能;通过伊文思蓝(Evans Blue,EB)荧光显色和血睾屏障紧密连接相关蛋白(ZO-1和Occludin)的蛋白含量评估血睾屏障的通透性;酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清中促性腺激素释放激素(GnRH)、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、睾酮(T)的水平。**结果** 与Sham组相比,3.5 GHz组小鼠的体重、睾丸大小、睾丸系数等数据无统计学差异(P>0.05);精子数量和畸形率、精子存活率和凋亡率无显著改变(P>0.05);HE染色结果显示,3.5 GHz组小鼠睾丸组织结构与Sham组相比无明显变化(P>0.05);伊文思蓝荧光实验发现两组小鼠生精小管内均无明显伊文思蓝染液渗出;Western Blot结果显示,3.5 GHz组小鼠睾丸组织内GDNF、SCF、ZO-1和Occludin蛋白水平与Sham组相比无显著差异(P>0.05);ELISA检测结果显示,与Sham组相比,3.5 GHz组小鼠血清中GnRH和T的含量显著降低(P<0.01),FSH和LH含量显著升高(P<0.01)。**结论** 上述结果表明,在本实验条件下,3.5 GHz手机辐射对小鼠精子质量、睾丸组织形态、睾丸支持细胞分泌功能和血睾屏障无明显影响,但可导致性激素水平紊乱。

关键词:手机辐射; 生殖; 精子; 血睾屏障; 性激素

通讯作者:丁桂荣,E-mail:dingzhao@fmmu.edu.cn

T05-0037

IGF1系统参与辐射诱导的HSC的激活

陈思含, 高嘉璐, 王路平, 陈晶蓉, 黄　意, 程云云

(吉林大学公共卫生学院国家卫生健康委员会放射生物学重点实验室, 130021)

摘要: 目的 肝脏纤维化作为放射性肝损伤(RILD)的最终转归,在这一过程中HSC细胞的活化是诱发肝纤维化的核心环节,因此,以HSC为靶标的治疗措施逐渐成为抗肝纤维化的重要方法。HSC作为对放射线相对敏感的肝非实质细胞,其复杂的活化机制的阐清对于预防和治疗RILD意义重大。IGF1系统各因子主要产生于肝脏组织,能够调控肝脏功能的正常发挥,并在HSC激活中的作用初见端倪,但其在RILD过程中诱导HSC活化的作用及精细的作用机制尚不明确。因此,明确IGF1系统参与辐射诱导的HSC的激活,对于对阐明RILD的形成机制意义重大。**材料和方法** 本研究首先通过RT-qPCR法检测了2.22 Gy/min剂量率下10Gy照射后24 h和48 h HSC-T6细胞的激活情况及在此条件下细胞中IGF1系统各因子的表达量变化。**结果** 辐照后24h HSC活化的标志基因α-SMA和Collagen1基因mRNA表达量均极显著升高(P<0.01),48 h后细胞中α-SMA和Collagen1基因mRNA表达量显著升高(P<0.05)。此外,以往很多报道表明HSC激活后TGF-β的表达增加,因此本研究也对此进行了验证,结果显示HSC-T6细胞辐照24 h及48 h后TGF-β的mRNA表达水平均极显著增高(P<0.01),初步表明10GyX射线辐照条件引起了HSC-T6细胞的激活,进一步检测结果显示,辐照后48 h IGF1、IGF1R及IGFBP5和IGFBP7的mRNA表达量均显著高于未照射组(P<0.05)。**结论** 以上结果初步说明IGF1系统参与了辐射诱导的HSC细胞的激活。

关键字:放射性肝损伤(RILD); 肝纤维化; HSC; IGF1系统

通讯作者:程云云,E-mail:chengyy@jlu.edu.cn

T05-0038

BAPN调节宫颈癌细胞辐射敏感性的作用机制

李 铮，刘竣天，于 迪，焦文霖，刘 畅，程云云，申延男
（吉林大学公共卫生学院国家卫健委放射生物学重点实验室）

摘要： BAPN是一种细胞赖氨酰氧化酶（LOX）的抑制剂。LOX是存在于细胞中的铜依赖性氨基酸氧化酶，它作用于细胞外基质胶原和弹性蛋白的赖氨酸残基，并使其产生分子交联。BAPN可以阻断LOX酶活性，影响其再合成和分泌释放，从而抑制LOX介导的肿瘤细胞侵袭能力。**目的** 探究BAPN对宫颈癌细胞（Hela、SiHa）增强辐射敏感性作用及其机制，为宫颈癌放化疗联合治疗提供新的理论依据。**材料与方法** 首先，采用CCK-8法检测在宫颈癌细胞中BAPN的IC_{50}，确定BAPN对2种宫颈癌细胞的增值抑制作用；采用qRT-PCR和Western blotting法检测BAPN对Hela和SiHa宫颈癌细胞中LOX mRNA和蛋白表达水平；采用克隆形成法检测BAPN对辐照前后Hela和SiHa宫颈癌细胞存活率的影响；采用γH2AX荧光斑点法检测BAPN对辐照前后Hela和SiHa宫颈癌细胞中DNA损伤修复水平；采用流式细胞术检测BAPN对辐照前后宫颈癌细胞凋亡水平的变化。**结果** CCK-8实验结果显示，Hela和SiHa细胞对应的BAPN IC_{50}分别为30 $nmol \cdot L^{-1}$、45 $nmol \cdot L^{-1}$；qRT-PCR和Western blotting实验结果表明，处理BAPN后宫颈癌细胞中LOX mRNA和蛋白表达水平显著降低，并且呈剂量依赖性；克隆形成实验结果表明，相对于单纯照射组，BAPN处理组的辐照后宫颈癌细胞存活率明显下降；γH2AX检测结果显示BAPN处理组的辐照后细胞核内DNA双链断裂所产生的荧光斑点数量比单纯照射组细胞内荧光斑点数量增加；流式细胞术检测细胞凋亡结果显示，相比于单纯照射组，BAPN处理组的辐照后细胞凋亡明显增加。**结论** BAPN可以促进宫颈癌细胞的辐射效应。因此，通过研究BAPN对宫颈癌细胞辐射敏感性的影响，为寻找新的肿瘤细胞辐射增敏剂提供新思路，为提高宫颈癌放射治疗效果提供新途径。

关键词： BAPN；LOX；宫颈癌细胞；辐射敏感性

通讯作者： 申延男，E-mail：ynshen@jlu.edu.cn

T05-0039

电离辐射致敏肠上皮细胞易感新冠病毒的分子机制及其防治新技术研究

王 成[1,2]
（1. 陆军军医大学创伤、烧伤与复合伤研究国家重点实验室，重庆 400038；2. 陆军军医大学军事预防医学系防原医学教研室，重庆 400038）

摘要： 新冠肺炎疫情在全球范围内持续蔓延，严重威胁人类健康。临床研究发现，放射治疗是新冠病毒感染的高风险因素，但是具体机制尚不明确。除了人体免疫功能下降，受辐照细胞的病毒易感性增强可能是导致该现象的潜在原因。基于以上推断，我们使用新冠病毒棘突蛋白假病毒感染人结肠癌上皮细胞株Caco-2，并在此基础上进行电离辐射干预。实验结果显示，电离辐照可显著增加新冠假病毒感染。为探讨辐照致敏细胞易感病毒的分子机制，我们开展细胞转录组测序研究，通过GO和KEGG富集分析发现电离辐照可激活细胞鞘磷脂代谢信号通路；其中，将鞘磷脂催化降解为神经酰胺的酸性鞘磷脂酶ASM明显上调。进一步实验证实，电离辐射上调ASM后导致肠上皮细胞内神经酰胺蓄积，增强细胞脂筏依赖的病毒内吞作用，促进新冠病毒感染。使用脂筏形成抑制剂甲基-β-环糊精和金雀异黄素以及ASM沉默均可在体外显著抑制电离辐射导致的强化病毒感染。此外，ASM抑制剂阿米替林可在体内外有效抑制电离辐射对肠上皮的致敏作用。为保护肠上皮免受新冠病毒侵袭，我们以人体肠道特有的先天免疫功能为切入点，发现肠道先天免疫多肽防御素5在体内与肠上皮细胞人血管紧张素转换酶2（ACE2）受体共定位。已知，新冠病毒主要通过表面棘突蛋白结合ACE2受体实现肠上皮黏附，进而侵入并破坏细胞。通过结构效应关系研究，我

们发现防御素5能够以76.2 nmol·L^{-1}的高亲和力结合ACE2，封闭受体蛋白的配体结合结构域关键位点Asp30、Lys31、Met82，从而干扰棘突蛋白黏附，抑制新冠病毒感染。外源性补充人体防御素5多肽因而是防治电离辐射致敏肠上皮细胞感染新冠病毒的有效方案。

通讯作者：王　成，E-mail：wangctmmu@126.com

T05-0040

铀中毒的线粒体分子靶标及机制探究

于立冰，李文靖，褚　健，陈　春，李希建，唐　伟，夏斌元，熊忠华
（中国工程物理研究院材料研究所，四川 绵阳　621907）

摘要：背景　铀矿开采、核燃料循环及军事活动可能导致铀释放到环境中，对生态环境和人类健康构成威胁。肾脏是铀最主要的沉积器官和最敏感的毒性靶器官。迄今的研究结果显示氧化应激及线粒体功能损伤与铀的毒性密切相关，但相关的分子靶标和分子机制仍未探明。本文旨在寻找铀中毒过程中关键的线粒体分子靶标。**方法**　为寻找铀的靶蛋白，我们全面评估了铀酰离子对线粒体能量代谢中10种关键酶的活性的影响，使用DFT理论计算推测铀酰离子与可能靶蛋白的结合位点，并且使用冷冻电镜三维重构技术尝试解析铀酰离子与靶蛋白结合的分子结构。**结果**　铀酰离子显著抑制牛心线粒体呼吸链复合物Ⅳ（细胞色素c氧化酶）和复合物Ⅴ（ATP合酶）。以上抑制作用在人肾近曲小管细胞（受铀影响最严重的肾脏部位）的线粒体中得到了验证。测得半抑制浓度（IC_{50}）约为1 mg/L，与已知铀中毒时的肾脏积累水平相当。**结论**　线粒体呼吸链复合物Ⅳ和Ⅴ可能是铀中毒的关键分子靶标。铀对这两种酶的抑制作用可以解释已知的细胞毒性效应（包括线粒体膜电位的降低和活性氧的增加）。本研究可为设计基于分子靶标的新型解毒剂提供思路，同时为开展超铀锕系元素（如乏燃料中存在的镎、钚和镅等）的分子毒理学研究奠定基础。

部分结果已发表于：Uranium inhibits mammalian mitochondrial cytochrome c oxidase and ATP synthase. Environmental Pollution 2021，271，116377

关键词：铀；人肾近曲小管细胞；线粒体；呼吸链复合物；冷冻电镜

基金项目：国家自然科学基金青年项目（22006140）；国家自然科学基金青年项目（21703214）；中国工程物理研究院创新发展基金（CX20200017）；中国工程物理研究院创新发展基金（PY20200100）

通讯作者：于立冰，E-mail：libing.yu@foxmail.com

T05-0041

放射性肺纤维化中的转录因子调控及其RNA甲基化修饰机制

金顺子
（吉林大学公共卫生学院，国家卫健委放射生物学重点实验室，长春　130021）

摘要：目的　从体外和体内角度探讨放射性肺纤维化进程中转录因子GATA3对其靶基因NRP1的调控及其m^6A的修饰机制，为放射性肺损伤的治疗提供新的分子靶点。**材料与方法**　首先，选取8周龄，体重在18~22 g的C57BL/6J小鼠40只，按随机数字表法将小鼠分为对照组和模型组（照射后4周、8周、16周和24周），其中照射组采用20 Gy（剂量率为2.0 Gy/min）X射线全胸辐照的方法建立放射性肺纤维化（RIPF）小鼠模型。其次，在体外给予人肺上皮细胞系（A549）单次10 Gy（剂量率为1 Gy/min）X射线辐照，建立体外RIPF细胞模型。利用Masson、H&E染色法和免疫组化法观察组织病理变化；采用碱水解法测定羟脯氨酸（Hyp）含量；采用比色法定量检测总RNA的m^6A水平；采用qRT-PCR法检测组织和细胞中GATA3、NRP1、VIRMA、ACTA2、Collagen-1以及EMT标志物、TGF-β/Smad2和WNT/β-catenin通路相关mRNA的表达变

化；采用Western blot法检测组织和细胞中GATA3、NRP1、VIRMA、α-SMA、Collagen-1以及EMT标志物、TGF-β/Smad2和WNT/β-catenin通路相关蛋白的表达水平；采用MeRIP-qPCR法检测体外细胞模型中GATA3 mRNA上m^6A的富集情况；利用免疫荧光法检测GATA3入核情况；利用CHIP-qPCR法检测体外细胞模型中GATA3蛋白与NRP1启动子区域结合情况。**结果** 鉴定小鼠RIPF模型结果显示，与对照组相比照射4周和8周后，可见肺泡间隔增宽，肺泡完整性降低，肺纹理轻度增粗，出现少量胶原沉积，Hyp含量升高显著，照射16周和24周后，可见大片肺组织间质内细胞增多，肺组织细胞内Collagen-1和α-SMA呈明显高表达状态，成纤维细胞向肌层纤维细胞的转化，细胞外基质过度堆积，大片蓝色胶原沉积，明显的局部灶纤维化区域，Hyp含量达到最高，说明RIPF小鼠模型构建成功。体外RIPF模型验证结果显示，肌成纤维细胞标志物α-SMA和ECM标志物Collagen-1的蛋白和mRNA水平显著升高，说明体外RIPF模型建立成功。进一步研究发现，辐射诱导RNA甲基化酶VIRMA上调，增强总RNA的m^6A水平，GATA3 mRNA上m^6A的富集增加，上调GATA3基因和蛋白水平表达，并且GATA3蛋白入核明显增多，作为转录因子与NRP1启动子区域结合，NRP1表达量升高，进而诱导EMT的发生，激活下游TGF-β/Smad2和WNT/β-catenin信号通路，α-SMA和Collagen-1表达升高，促进胶原蛋白的堆积，最终促进肺纤维化形成。**结论** VIRMA通过诱导GATA3的mRNA发生m^6A修饰，促进转录因子GATA3入细胞核，进而增强其转录和翻译，并与NRP1启动子区域结合正向调控NRP1基因，诱导EMT的发生，激活下游信号通路，促进RIPF的发生与发展。

关键词： GATA3；NRP1；m^6A修饰；VIRMA；放射性肺纤维化

T05-0042

ILCs通过CCR10信号调控辐射诱导放射性皮肤损伤

毛艺文，陶 蕊，曹小平，陈 妮，王 栋，赵 烨

（安徽医科大学基础医学院核医学教研室，安徽省合肥市蜀山区梅山路81号，安徽 合肥 230032）

摘要：目的 先天性淋巴细胞（Innate lymphoid cells，ILCs）是近年来发现的一群具有获得性免疫功能的固有淋巴细胞，同时具有固有免疫和获得性免疫特性，皮下丰富的ILC在固有免疫中起重要作用。急性放射性皮肤损伤（ARD）是最常见的放疗并发症。研究表明，固有淋巴细胞ILC2与皮肤炎性疾病的发生密切相关，并调节皮肤创伤的愈合。CCL27/CCR10趋化信号可调节淋巴细胞在皮肤免疫中的平衡，降低炎性反应。因此，本研究使用CCR10的基因敲除鼠（$CCR10^{+/-}$和$CCR10^{-/-}$）来探讨ILCs是否通过CCR10信号调控辐射诱导放射性皮肤损伤。**方法** 本研究使用转基因鼠为研究对象，分别以5Gy单次照射和6×5Gy分割累计照射小鼠皮肤组织，观察照射后放射性皮肤损伤的发生和分级，采用ELISA方法检测小鼠皮肤和血液中CCL27，IL-1β和TNF-α的浓度，并同时取部分皮肤组织进行HE染色，观察照射组与未照射组的炎症程度。同时检测皮肤内CCL27含量和ILC2上下游细胞因子的变化，分析CCR10+ILC2的活化情况，以了解ILC2细胞经CCL27/CCR10信号对ARD的调控作用。构建了免疫联体小鼠模型，检测辐照对远端分泌的影响。同时，采集癌症放疗患者外周血，流式检测外周血中T淋巴细胞、B淋巴细胞、NK细胞和固有淋巴细胞放疗前后的变化水平。**结果** $CCR10^{-/-}$小鼠在照射后表现出更多的皮肤炎症和更严重的病理变化。脾脏和血液中不同基因型小鼠的ILCs无显着差异。单次照射能够诱导CCR10敲除小鼠分泌CCL27并同时促进IL-1β的升高。分割照射能够造成小鼠皮肤角质形成细胞受损，进而使其分泌CCL27减少，但IL-1β的分泌增加明显。在放疗患者外周血中，T淋巴细胞、B淋巴细胞、NK细胞在放疗后均显著降低，放射治疗后ILC2在ILCs中所占比例较放疗前升高。而ILC1和ILC3在放疗前后变化不明显。**结论** 本研究结果表明ILCs可以通过CCR10调节放射性皮炎的发生发展，这可能是降低放射性皮炎严重程度的潜在治疗靶点。

关键词： 放射治疗；放射性皮肤损伤；趋化因子受体10；固有淋巴细胞

T05-0043

The roles of radiation-responsive proteins in regulating cellular radiosensitivity

Hang Wang, Tingting Liu, Yuanyuan Chen, Yanyong Yang
(Department of Radiation Medicine, Naval Medical University)

Abstract: Proteins responsive to ionizing radiation are critical for repairing radiation induced cellular injuries. In this study, we introduced our finding that Transglutaminase 2 (TG2) and PRDM15 were extensively activated and directly participate in the repairment of DNA double strand break (DSB). For instance, TG2 was phosphorylated at T162 site in a DNA-PKcs dependent manner after DSB induction, which triggered a rapid nuclear translocation and further aggregation to DSB sites. After the recruitment to DSB sites, TG2 directly bound to Topoisomerase IIα (TOPOIIα) through its TGase domain, which was proved as a critical step necessary for DSB repair. Glucosamine, a specific targeting molecule, could block the interaction between TG2 and TOPOIIα to significantly inhibit DSB repair, which was successfully used to enhance the efficacy of radiotherapy on lung cancers. We also performed a CRISPR Cas9 whole genome screening to identify novel targets involving radiosensitivity. We also hope that our series of work could be potentially applied in cancer radiotherapy in future.

Key words: Radiation responsive proteins; Radiosensitivity; DNA damage repair

Corresponding author: Yanyong Yang, E-mail: yyyang2010@163.com

T05-0044

白藜芦醇通过AMPK/SIRT7/HMGB1调控轴增强皮肤电离辐射防护研究

金　漪，刘婕妤，梁枭婷，刘幸源，周　良
（南方医科大学公共卫生学院毒理学系，广州　510000）

摘要：目的　探讨白藜芦醇诱导SIRT7促进DNA损伤修复以增强皮肤电离辐射防护功能的分子机制。**材料和方法**　以正常人体角质形成细胞HaCaT为研究对象，采用CCK8细胞增殖实验、克隆形成实验、免疫荧光和彗星电泳实验明确电离辐射对角质形成细胞功能和DNA损伤程度的影响及白藜芦醇发挥皮肤电离辐射防护作用的浓度。通过去乙酰化酶活性检测明确白藜芦醇对SIRT7去乙酰化酶活性的激活作用，同时敲减SIRT7后评估白藜芦醇皮肤电离辐射防护功能对SIRT7的依赖性。使用AMPK抑制剂和激活剂探究AMPK在白藜芦醇诱导SIRT7酶活性中发挥的作用。而后通过Co-IP结合质谱分析寻找并验证SIRT7的互作因子HMGB1，通过IP、细胞核细胞质分离实验研究SIRT7对HMGB1乙酰化水平和核质转运的影响。最后，开展动物实验验证以上结论。**结果**　研究发现，1 μmol·L^{-1}白藜芦醇具有在电离辐射照射后维持角质形成细胞活力和促进DNA损伤修复的作用，且该作用依赖于SIRT7。IP和去乙酰化酶活性检测显示白藜芦醇处理能显著增强SIRT7的酶活性，且该作用由AMPK磷酸化介导。质谱分析筛选出SIRT7的互作因子HMGB1，其在核内作为DNA分子伴侣参与DNA损伤修复，敲减其表达可增加电离辐射照射后角质形成细胞的DNA损伤程度。IP和WB结果显示，敲减SIRT7后HMGB1的乙酰化水平上升，过表达SIRT7后HMGB1的乙酰化水平下降。细胞核细胞质分离实验表明，电离辐射照射后HMGB1在细胞核内的分布增多，而敲减SIRT7后，HMGB1在核内分布显著减少。动物实验发现，电离辐射照射后小鼠皮肤出现发红脱皮，HE染色发现病理损伤，20 μmol·L^{-1}白藜芦醇处理可显著改善以上症状，且WB和IHC结果均显示白藜芦醇组γ-H2AX水平下降，SIRT7蛋白水平上升，HMGB1核分布增加。**结论**　白藜芦醇通过AMPK磷酸化

激活SIRT7的去乙酰化酶活性，活性增强的SIRT7进一步调控HMGB1核质转位促进DNA损伤修复，从而发挥皮肤电离辐射防护的功能。

关键词：白藜芦醇；皮肤电离辐射防护；SIRT7；HMGB1

通讯作者：周 良，E-mail：zhzliang@smu.edu.cn

T05-0045

辐射通过肠道菌群-LCA-INSR轴促进高脂肪饮食所致肝损伤的时空调节作用机制

潘慧及[1]，周美玲[1,2]，鞠 昭[1,2]，罗金华[1]，金 静[1]，申良方[3]，周平坤[2]，黄瑞雪[1]

（1. 中南大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系，长沙 410078；2. 中国人民解放军军事研究院辐射医学研究所，北京市放射医学重点实验室，北京 100850；3. 中南大学湘雅医院肿瘤科，长沙 410008）

摘要：目的 非酒精性脂肪性肝病（NAFLD）是一种进行性肝脏疾病，涵盖从肝脂肪变性到肝纤维化的一系列疾病。高脂肪饮食（HFD）可诱发NAFLD。电离辐射广泛用于医学诊断和治疗，也是职业环境中常见的危险因素。不同剂量的辐射暴露是否对HFD诱导的NAFLD有影响尚不清楚。**材料与方法** 本研究采用雄性C57BL/6小鼠，分成四组，分别是正常组，HFD肝损伤组，低到高辐射暴露（0.1Gy-10Gy腹部照射）+ HFD肝损伤组，高到低辐射暴露（10Gy-0.1Gy腹部照射）+ HFD肝损伤组。使用超高效液相色谱检测胆汁酸浓度，采用抗生素/益生菌治疗和粪便微生物群移植（FMT）实验探究益生菌在调节肝脏对高剂量辐射和HFD处理的共同暴露反应中的作用，免疫印迹分析相关蛋白表达，H&E免疫组织化学（IHC）和IF染色观察组织病理变化与目的蛋白表达情况，16S rRNA微生物组测序进行肠道微生物菌群检测。**结果** 肠道微生物群组成在接受或没有接受放射处理的小鼠中具有显著差异。具体而言，在同时暴露于高到低剂量辐射和HFD治疗的小鼠中，拟杆菌/厚壁菌的比例，嗜粘杆菌、球菌和梭菌科的丰度显著降低。FMT进一步验证了肠道微生物群在调节肝脏对高到低剂量辐射和HFD处理的共同暴露反应中的作用。肠道微生物组分析显示，在同时暴露于高到低剂量辐射和HFD处理的小鼠中，血浆石胆酸（LCA）水平升高。在抗生素和益生菌治疗后，LCA胆汁酸浓度显着降低，并在肝组织中促进INSR / PI3K / Akt胰岛素信号传导。**结论** 高到低辐射和HFD的共同暴露通过肠道微生物群-LCA-INSR轴加重了HFD诱导的NAFLD。益生菌补充剂是防止辐射和HFD诱导的肝损伤共同暴露的潜在方法。本研究提出了具有潜在HFD诱导损伤的人群在暴露于从高到低辐射的情况时应更加注意预防肝损伤的新见解。

基金项目：国家自然科学基金（82273581）；国家自然科学基金（82073486）；国家自然科学基金（U1803124）；湖南省重点研发（R&D）计划（2021SK2026）；湖南省自然科学基金（2019JJ40397）；湖南省卫生健康委员会科研项目（202112010058）

通讯作者：黄瑞雪，E-mail：huangruixue@csu.edu.cn

T05-0046

RNA m^6A 甲基化阅读蛋白YTHDF2调控食管鳞癌放射敏感性的作用研究

李振妍[1]，吕小立[1]，王利利[2]，张 琦[1]，曹建平[1]，焦 旸[1]

（1. 省部共建放射医学与辐射防护国家重点实验室、苏州大学医学部放射医学与防护学院；2. 苏州大学附属第一医院，肿瘤放射治疗科）

摘要：目的 初步探索RNA m^6A甲基化修饰与食管鳞癌放射敏感性的相关性及其参与调控食管鳞癌放射敏感性的作用与机制。**材料和方法** 通过挖掘TCGA数据库寻找与食管鳞癌患者放射治疗疗效相关的RNA m^6A甲基化相关的蛋白——YTHDF2，并在体内外水平进行验证。在两株人食管鳞癌细胞TE-1和

KYSE-30中上调/下调YTHDF2后，通过细胞克隆形成、细胞凋亡、DNA双链断裂损伤、细胞周期、ROS等实验，验证YTHDF2对食管鳞癌细胞放射敏感性的作用。采用过表达YTHDF2的KYSE-30细胞构建食管鳞癌裸鼠移植瘤模型，分别与对照组进行10 Gy X射线放射治疗，检测YTHDF2在体内水平对食管鳞癌放射敏感性的作用。**结果** 通过TCGA数据库，筛选出34例食管鳞癌患者样本（24例放疗后完全缓解组以及10例放疗后病情进展组）进行分析，得到与食管鳞癌患者放射治疗疗效相关的RNA m^6A甲基化相关的差异蛋白YTHDF2（$P<0.05$）。经4 Gy或6 Gy辐照后，TE-1和KYSE-30细胞中m^6A总水平先升高，6 h后降低；YTHDF2的蛋白水平也呈现剂量-时间依赖的先升高，6 h后降低。与对照组相比，过表达YTHDF2后，TE-1细胞受照后细胞的克隆形成能力增强（放射增敏比SER=0.89）、细胞凋亡率下降（TE-1：$P<0.01$，KYSE-30：$P=<0.01$）、活性氧水平显著下降（TE-1：$P<0.05$，KYSE-30：$P<0.01$）、DNA双链断裂程度减轻。反之亦然。采用裸鼠移植瘤模型进行体内研究进一步证实，过表达YTHDF2可显著降低食管鳞癌裸鼠的放射敏感性：与未照射裸鼠移植瘤对照组相比，单纯照射组肿瘤体积逐渐缩小至50%左右，而过表达YTHDF2组的移植瘤受照后肿瘤体积则几乎无变化。**结论** m^6A甲基化修饰与食管鳞癌的放射敏感性有关；RNA m^6A甲基化阅读蛋白YTHDF2可能参与了对食管鳞癌放射敏感性的调控作用，涉及的详细的分子机制有待进一步的深入研究。

关键词：放射敏感性；食管鳞癌；m^6A甲基化修饰；YTHDF2

通讯作者：焦　旸，E-mail：jiaoyang@suda.edu.cn

T05-0047

肠道菌群与放射性骨髓造血系统损伤的相关性初探

任嘉溦[1]，沈佳琪[1]，袁　楠[1]，莫　韦[1]，张　琦[1]，祁小飞[2]，曹建平[1]，焦　旸[1]

（1. 省部共建放射医学与辐射防护国家重点实验室、苏州大学医学部放射医学与防护学院；
2. 苏州大学附属第一医院血液病科）

摘要：目的 探讨肠道菌群与放射性骨髓造血系统损伤的相关性。**材料和方法** 首先，采用3 Gy X射线（RS-2000 Pro，能量160 keV，平均剂量率1.225 Gy/min），对Balb/C小鼠进行全身照射建立骨髓型放射病小鼠模型；通过动态检测体重、血常规、主要造血组织器官病理变化等指标，确定不同照射剂量下小鼠放射性骨髓造血系统损伤的发生及严重程度。其次，通过16S rRNA基因测序的方法分析上述小鼠模型粪便及盲肠内容物中的菌群变化。**结果** 经3 Gy X射线全身照射后，小鼠体重逐渐下降，在第3天达到最低体重，后逐渐恢复；小鼠外周血五分类检测发现，受照后小鼠外周血白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞数目也逐渐下降，并在照后第3天达到最低值，后逐渐恢复；小鼠骨髓病理染色表明，3 Gy X射线全身照射后，有明显的出血，且在照后第3天骨髓损伤情况最为严重；脾脏则在照射后出现白髓减少、红髓萎缩等情况。16S rRNA基因测序分析发现，3 Gy全身辐照后，肠道菌群失衡，生物多样性减少（$P<0.05$）；在照后第3天，与对照组小鼠相比，小鼠体内的变形菌门的相对丰度大幅增加（$P<0.05$），厚壁菌门/拟杆菌门的比值也有所增加（$P<0.05$），拟杆菌属的相对丰度也特异性增高（$P<0.05$）。**结论** 3 Gy X射线全身辐照后可导致显著的小鼠放射性骨髓造血系统损伤；受照小鼠肠道菌群中变形菌门、厚壁菌门/拟杆菌门比值、拟杆菌属发生显著变化，推测其可能与放射性骨髓造血系统损伤的发生、进展有关。后续将进行详细而深入的机制学研究，从而全面揭示肠道菌群在放射性骨髓造血系统损伤发生发展过程中的作用与机制。

关键字：电离辐射；骨髓造血系统；肠道菌群；16S rRNA测序

基金项目：本项目由省部共建放射医学与辐射防护重点实验室内部协作基金项目（GZN1202101）；国家自然科学基金联合重点项目（U1967220）

作者简介：任嘉溦，E-mail：20204220016@stu.suda.edu.cn

通讯作者：焦　旸，E-mail：jiaoayng@suda.edu.cn

T05-0048

电离辐射出血综合征的临床特点及其研究进展

冉新泽，王鑫淼，冉 曦，龙 爽
（陆军军医大学全军复合伤研究所，重庆 400038）

摘要：机体受到一定剂量射线照射后，临床上很容易引起出血（Hemorrhage）现象，其发生机制比较复杂，与一般的出血相比，电离辐射引起的出血，在其病理、临床、出血的严重程度等方面虽有一定的特点和规律，但因机制复杂，救治困难，故将电离辐射后的出血为电离辐射出血综合征（IRBS）。

轻度急性骨髓型放射病患者，临床上一般无肉眼可见的出血，中度以上急性骨髓型放射病患者，则随着受照剂量的不同，出现不同程度的出血，根据日本广岛长崎原爆受害者的资料统计看，在爆心1KM和5KM内的幸存者，皮肤及黏膜出血的发生率分别是49%和0.5%，说明其出血的程度与受照射的剂量之间呈正相关。极重度以上急性放射病时，患者死亡时间比较早，一般观察不到IRBS。中度以上急性骨髓型放射病患者，临床出血的特点有一定的规律性，如在照射后2至4天，患者皮肤粘膜会出现点状出血。后来因骨髓增生低下以及外周血血小板水平的进一步降低，血小板功能减退，血管壁通透性的改变又导致全身多发性出血，临床出血表现将进一步加重，出血为斑状或片状。

IRBS的发生过程中，血小板的减少和功能障碍是主要原因之一，它是由电离辐射导致骨髓损伤发展的结果，如何提高血小板的数量与功能，对于IRBS的治疗有着重要意义。我室的研究认为，血小板生成过程主要包括造血干细胞分化为巨核祖细胞，巨核祖细胞可进一步分化为成熟巨核细胞，成熟巨核细胞最终释放血小板，而巨核细胞的分化成熟则是血小板产生的最关键步骤。促血小板生成素（TPO）虽然是强有力的促进血小板产生的物质，但有见效时间长及生物抗性问题，我室研究发现，将生长激素和促血小板生成素发挥作用的肽段相结合，可同时能促进巨核细胞的恢复并减少产生血小板所需要的时间。最新研究还表明，即使是接触低剂量的电离辐射，如介入放射科的工作人员，其血小板水平也会有降低，因此研究电离辐射后血小板的恢复有着重要意义。

通讯作者：冉新泽，E-mail：ranxinze@163.com

T05-0050

RH005对小鼠急性放射病治疗作用及机制研究

叶雨萌，王勇懿，李小宇，郝延辉，左红艳，李 杨
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所）

摘要：目的 急性放射病（acute radiation syndrome，ARS）是指机体在短时间内一次或几次受到大剂量（>1Gy）电离辐射引起的全身性疾病。大于8Gy射线照射后的重度骨髓型放射病及肠型和脑型放射病尚难以救治存活，因此，重度骨髓型放射病的治疗是亟待解决的问题。RH005是一类自主研发的重组蛋白类药物，前期已基本完成其药学、一般药理学、毒理学和药代动力学研究，表明其安全性高。初步药效学研究表明RH005具有抗炎、抗凋亡作用，提示其可能对ARS具有治疗作用。此研究旨在探讨RH005对小鼠急性放射病的治疗作用及，并初步探讨其机制。**方法** 采用8Gy 60Co γ射线单次全身照射小鼠建立ARS模型，照射后24小时腹腔注射给药，每天1次，连续给药3天。通过30d存活率和中位存活时间及照射后4、8、11d对小鼠进行肺功能评价、头部MRI、炎性细胞因子检测、血常规、小肠、肺、脑和骨髓组织病理学改变观察及小鼠小肠、肺、脑组织细胞凋亡，探讨RH005对于ARS小鼠治疗作用。继之，采用免疫印迹检测TLR信号通路及关键分子表达，探讨RH005治疗作用的可能机制。**结果** RH005可提高照射后小鼠存活率，延长中位生存时间；改善照射后小鼠肺功能；减轻照射后小鼠脑区坏死；显著降低照射后小鼠血液及小肠、肺、脑中炎性细胞因子TNF-α、IL-1β等表达；对于血常规无显著作用；显著减轻照射后小鼠小肠、肺及脑组织病理

改变，对于骨髓病变无显著减轻作用；显著减轻小鼠小肠、肺及脑组织细胞凋亡。免疫印迹结果表明RH005显著下调TLR信号通路中关键分子TLR2、Myd88、IκBα及NFκB的表达。**结论** RH005对小鼠急性重度骨髓型放射病具有治疗作用，其作用机制可能涉及RH005显著抑制TLR信号通路活化，进而调控炎性细胞因子的表达。

关键词：照射；急性放射病；RH005；炎性细胞因子

通讯作者：叶雨萌，E-mail：1085008298@qq.com

T05-0051

RT-03对于放射性肠损伤治疗作用及机制研究

王勇懿，叶雨萌，李小宇，左红艳，郝延辉，李　杨
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所）

摘要：目的 小肠对电离辐射高度敏感，腹部和盆腔恶性肿瘤患者局部放疗后，通常会引发放射性肠损伤（Radiation induced Intestinal Injury，RⅢ）。迄今，RⅢ机制尚未阐明，缺乏有效的诊断及预防措施。RT-03是自主研发的重组蛋白类药物，其生物学活性包括抗炎、抗细胞凋亡、促进损伤修复以及抗纤维化等，推测其可能对RⅢ具有治疗作用，本研究旨在探讨RT-03对小鼠RⅢ的治疗作用及其机制。**方法** 采用12Gy 60Co γ射线单次腹部照射建立小鼠RⅢ局部照射模型，于照射后24腹腔注射给药，5 μg/kg，每日一次，连续药三天后停药。分别于给药后3、7及14d，通过小鼠体重、病理改变观察、放射免疫法检测炎性细胞因子、TUNEL法检测小肠隐窝细胞凋亡、ki67免疫组化法检测细胞增殖，探讨RT-03对于RⅢ的治疗作用及其机制。**结果** 12Gy腹部照射后小鼠体重显著降低，RT-03给药能显著改善照射后小鼠体重减轻；照射后小鼠小肠绒毛出现断裂、倒伏、高度缩短，隐窝出现空化和深度变浅，RT-03显著减轻照射后小鼠小肠的病理改变，且显著增加绒毛高度、隐窝深度；照射后小鼠小肠组织和血清中炎性细胞因子TNF-α及IL-1β含量显著增多，RT-03能够显著降低小鼠小肠及血清中炎性细胞因子TNF-α及IL-1β的含量；照射后3天小鼠小肠隐窝凋亡细胞显著增多，增殖细胞显著减少，RT-03可显著降低RⅢ小鼠小肠隐窝凋亡细胞，显著促进隐窝细胞增殖。**结论** RT-03减轻小鼠RⅢ。

关键词：电离辐射；放射性肠损伤；RT-03；炎性细胞因子；凋亡；增殖

通讯作者：王勇懿，E-mail：770157375@qq.com

T05-0052

Multiple functions of BCCIP roles in maintaining genomic instability

Wanyi Wu, Caiyong Ye, Guangming Zhou
(State Key Laboratory of Radiation Medicine and Protection, School of Radiation Medicine and Protection, Institute of Space Life Sciences, Medical College of Soochow University, Collaborative Innovation Center of Radiological Medicine of Jiangsu Higher Education Institutions, Suzhou 215123, China)

Abstract: Ionizing radiation induced BCCIP dependent repair, which is required to interact with BRCA2 and p21. BCCIP also showed other functions such as cell cycle regulation, proliferation, and tumorigenesis. Those functions are dependent on the protein level and isoforms of BCCIP. BCCIP deficiency inhibits homologous repair significantly in cell lines. Mosaic and heterozygous Bccip deletions have been shown to cause chronic inflammation in mice and lead to B-lymphoma and liver cancer. A transient Bccip down-regulation is not only sufficient, but also necessary for medulloblastoma develop-

ment in mice. BCCIP down-regulation with normal p53 is associated with a poor outcome of head and neck cancer. Thus, a partial BCCIP deficiency is a risk factor for tumorigenesis. We show a BCCIP′s DNA damage repair independent function. We found that a fraction of mammalian BCCIP localizes in the nucleolus and regulates 60S ribosome biogenesis. Both abrogation of BCCIP nucleolar localization and impaired BCCIP and eIF6 interaction can compromise eIF6 recruitment to the nucleolus and 60S ribosome biogenesis. BCCIP is vital for a pre-rRNA processing step that produces 12S pre-rRNA, a precursor to the 5.8S rRNA. However, a heterozygous Bccip loss was insufficient to impair 60S biogenesis in mouse embryo fibroblasts, but a profound reduction of BCCIP was required to abrogate its function in 60S biogenesis. These results suggest that BCCIP is a critical factor for mammalian pre-rRNA processing and 60S generation. Consideration that dysregulation of ribosome biogenesis causes tumorigenesis, the function of BCCIP role in ribosome biogenesis is another resource for tumorigenesis.

Key words: Ionizing radiation, Genomic instability, tumorigenesis, BCCIP, Ribosome

Corresponding author: Caiyong Ye, E-mail: a caiyongye@suda.edu.cn; Guangming Zhou, E-mail: gmzhou@suda.edu.cn

T05-0053

电离辐射对小肠类器官生物学特性的影响研究

李小宇，王勇懿，叶雨萌，郝延辉，左红艳，李 杨
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所）

摘要：目的 小肠对电离辐射高度敏感，放射性小肠损伤是放射病救治失败的重要原因之一。小肠类器官是由小肠干细胞衍生的一种体外模型，与传统的2D细胞培养比较，可以更好地模拟肠道的结构、功能、生理和遗传等特性。本文旨在探讨电离辐射对小鼠小肠类器官生物学特性的影响。**方法** 分离C57BL/6小鼠小肠隐窝，培养至第5 d后进行传代，传代后第1 d天将小肠类器官随机分为对照组和照射组，照射组暴露于^{60}Coγ射线进行梯度照射，剂量选用5 Gy和10 Gy。分别在照射后第1 d、3 d、5 d观察各组类器官的生长状态，通过形态学分析计各组类器官的出芽率和表面积，并用CellTiter 3D细胞化学发光法检测类器官的增殖活性；在照射后1h收集各组类器官，制作冰冻切片，用γ-H2AX免疫荧光染色观察类器官DNA损伤水平；在照射后6h收集类器官，制作冰冻切片，用TUNEL法检测类器官凋亡；分别在照射后第1 d、3 d、5 d收集类器官，制作冰冻切片，用免疫荧光染色观察Clu$^+$干细胞的变化规律。**结果** γ射线照射显著抑制小肠类器官的生长，与对照组相比，照射组类器官在照射后第1 d、3 d、5 d出芽率减少（$P<0.01$）、表面积减小（$P<0.05$）、增殖活性降低（$P<0.05$），且10 Gy组较5 Gy组受到的抑制作用更为显著；γ射线照射后类器官出现DNA损伤，且10 Gy组较5 Gy组损伤更严重；γ射线照射后类器官出现凋亡，且10 Gy组较5 Gy凋亡细胞更多；对照组Clu$^+$干细胞在第1 d数量最多，照射组Clu$^+$干细胞数量在第3 d较多。**结论** 电离辐射显著抑制小鼠小肠类器官细胞增殖活性，导致DNA损伤和细胞凋亡，Clu$^+$干细胞在照射后数量增多，可能参与电离辐射损伤后修复。

关键词： 小肠类器官；增殖活性；DNA损伤；细胞凋亡；Clu$^+$干细胞

通讯作者：李小宇，E-mail：358830385@qq.com

T05-0054

外泌体蛋白血管生成素样4通过抑制乏氧微环境下的铁死亡介导非小细胞肺癌的放射抵抗

张育红，刘兴隆，曾　靓，潘　燕，白　杨，邵春林，张江虹
（复旦大学放射医学研究所，上海　200032）

摘要：目的　乏氧介导的辐射抵抗是临床非小细胞肺癌（NSCLC）放射治疗不良预后的主要原因，但其潜在的分子机制尚不清楚。本研究试图探索血管生成素蛋白4（ANGPTL4）如何通过介导铁死亡通路，在乏氧肺癌细胞及肺癌微环境中介导辐射抵抗的分子机制。**材料和方法**　选择人非小细胞肺癌A549和H1299细胞，检测不同氧气状态下细胞水平和外泌体内ANGPTL4蛋白的变化及其对肺癌细胞辐射抵抗性的影响。同时构建ANGPTL4敲低表达和高表达、铁死亡关键蛋白GPX4敲低表达细胞株，利用基因调控技术、克隆形成实验、细胞内脂质过氧化水平及系列标记蛋白测定探索ANGPTL4蛋白通过调控铁死亡途径与辐射抗性之间的相关性。并采用体内异种移植模型来探索乏氧外泌体蛋白ANGPTL4传递乏氧辐射抵抗信号介导常氧肺癌组织辐射抗性的作用和分子机制。**结果**　肿瘤微环境中乏氧信号对辐射生物学效应产生至关重要的作用。ANGPTL4蛋白在乏氧NSCLC细胞中的表达水平明显高于常氧状态下的肺癌细胞。常氧状态下ANGPTL4的上调或乏氧状态下ANGPTL4的下调与非小细胞肺癌和异种移植肿瘤的辐射抵抗性显著正相关。同时，GPX4诱导的铁死亡抑制和脂质过氧化降低与乏氧微环境诱导的辐射抵抗有关。此外，乏氧除通过诱导肺癌细胞内ANGPTL4蛋白高表达外，还促进其分泌进入微环境，以外泌体包裹的方式被邻近的常氧细胞吸收，进而导致这些旁观者细胞以一种依赖GPX4的方式产生辐射抗性。**结论**　乏氧诱导的ANGPTL4至少通过胞内ANGPTL4和外泌体ANGPTL4两条平行途径引起NSCLC的放射耐药，提示ANGPTL4可能作为提高NSCLC疗效的治疗靶点。

关键词：乏氧微环境；外泌体蛋白；血管生成素样蛋白4；铁死亡；辐射抵抗

通讯作者：张江虹，E-mail：zjh551268@fudan.edu.cn

T05-0056

DTPA对钚在肝细胞中转移情况影响的初步探究

崔双双，董娟聪，程　娇，刘红艳，李幼忱
（中国辐射防护研究院，山西太原，030006）

摘要：目的　钚是后处理职业人员的主要职业危害因素之一，也是辐射防护关注的重点。为了评估职业人员所受到的危害程度，需要进行内照射剂量估算。钚摄入后常使用DTPA进行促排治疗，但使用DTPA会影响钚的生物动力学从而影响内照射剂量估算结果。目前有关钚的肝脏生物动力学研究主要是对职业人员进行数据分析以及动物实验外推至人。但是人员个体和物种间的差异导致数据存在较大不确定性。目前已有研究利用体外细胞模型开展钚的转移情况探究，但主要是针对呼吸道开展，且所用钚染毒剂量较高（0.56 μg/10^6细胞），不适用于现有实验条件。本研究通过体外细胞钚染毒开展DTPA对钚在肝细胞中转移情况研究，观察DTPA对肝细胞排出钚的影响，为内照射剂量估算提供数据支持。同时，针对国内现有实验条件，使用低剂量钚染毒，为钚生物动力学研究提供新的思路。**方法**　人正常肝细胞系（L-02）经含钚培养基（6.7×10^{-4} μg/10^6细胞）染毒培养24 h后收集细胞，使用ICP-MS进行测量细胞中钚含量。经过对该测量过程优化，现测量过程包括肝细胞培养4天后加钚染毒、收集肝细胞并计数、细胞浓硝酸消解以及ICP-MS测量钚含量等步骤。优化实验过程后ICP-MS的测量误差由16%降至5%以内，满足实验要求。将染毒后的细胞分别在+/−DTPA情况下培养2 h、4 h、8 h、24 h和48 h并测量细胞中的钚含量。**结果**　肝细胞中的钚

含量随染毒时间延长而增加。观察不同时间点染毒肝细胞对钚的排出情况，发现无DTPA组肝细胞中钚含量由每1×10^{6}个细胞89.750±2.662 pg降至31.530±2.189 pg，减少了64.869%，而DTPA组由每1×10^{6}个细胞89.750±2.662 pg降至21.917±1.862 pg，减少了75.580%。**结论** 本研究利用肝细胞中痕量钚的检测方法证实了DTPA降低了细胞中的钚含量，无DTPA组与DTPA组的钚含量比值为1.256±0.177。

关键词：钚；肝细胞；ICP-MS

通讯作者：李幼忱，E-mail：liyc69@163.com

T05-0057

线粒体参与电离辐射诱导的细胞损伤研究

冉 曦，舒利琼，张立群

（陆军军医大学第二附属医院检验科，重庆 400037）

摘要：射线对细胞的损伤作用通常分为直接和间接两种，直接作用指射线直接引起的生物大分子电离等损伤，间接作用指放射后持续高水平的氧化应激。间接损伤作用的主要致伤因素是活性氧自由基（ROS），射线通过水的电离只能诱导短暂的ROS产生（10秒左右），但已明确放射后存在持续增加的氧化应激，表明放射后的ROS还有其他来源。已有研究表明，线粒体是细胞内ROS的主要来源，且ROS与放射诱导的氧化应激密切相关。通过用多种特异性的线粒体ROS指示剂检测，发现在放射后线粒体产生的ROS持续增加。持续增加的氧化应激可导致细胞内抗氧化剂的过度消耗，并导致线粒体的进一步损伤和产生更多的ROS，从而形成恶性循环，增加细胞死亡的风险。

过多的ROS可导致线粒体膜的损伤，引起线粒体膜通透性增加。线粒体膜通透性增加会促使线粒体依赖的细胞促凋亡分子细胞色素C释放到胞质中，激活caspase 9依赖性的细胞凋亡通路，引起受损细胞的凋亡。而线粒体膜通透性持续增加又会导致mtDNA释放到细胞质中，释放的mtDNA可被细胞内环鸟苷酸腺苷酸合成酶识别，进而诱导环鸟苷酸腺苷酸合成酶-干扰素基因刺激因子（cGAS-STING）炎症通路的激活，炎症反应也是导致放射后细胞损伤的重要机制。除了典型的细胞凋亡外，线粒体还参与其他形式的细胞死亡，包括坏死、焦亡、铁死亡等。而一些抑制线粒体氧化应激的制剂能显著改善放射后的细胞死亡情况，进一步证明了线粒体在放射诱导的细胞死亡中发挥着关键作用。

放射损伤后，持续的高ROS水平环境还会导致细胞的远期损伤效应。而细胞衰老是放射后极易被忽视的一种变化，放射可引起线粒体功能障碍和线粒体数量增加，这两种现象在衰老细胞中普遍存在。而持续的ROS产生能促进二次放射后的细胞衰老，加重二次放射损伤效应；放射诱导的ROS也可扩散到细胞核并导致持续的细胞核基因组不稳定，并可能会引起肿瘤的发生。

通讯作者：冉 曦，E-mail：ranxi2010@163.com

T05-0058

氡暴露对健康的影响

杨 莉，苟 巧

（中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所）

摘要：氡是一种天然的放射性气体，是土壤和岩石中铀和钍的衰变产物，在空气中无处不在。据估计，氡约占每年平均自然本底辐射的一半。氡的已知同位素约有40种，其中，氡-222和氡-220具有重要的现实意义。氡-222是镭的衰变产物，也是氡中含量最多的同位素，其物理半衰期为3.823天。氡-220是钍的衰变产物，其物理半衰期是55.6秒。随着α粒子的发射，这些同位素会变成不同的元素，即氡子体。氡及其子

体可在吸入或吞食时进入人体。大多数吸入的氡是呼出的。然而，少量的氡及其子体可能留在肺中，经历放射性衰变，并释放α粒子，导致肺损伤，甚至肺癌。目前在关于氡暴露与肺癌风险之间关系的流行病学研究中，大多数对地下矿工和一般人群的综合研究数据显示氡暴露与肺癌的风险成比例的显著增加。因此，世界卫生组织认为氡是仅次于吸烟的第二大肺癌病因。此外，由于即使是低浓度的氡暴露也会导致肺癌风险的小幅增加，因此需要制定国家氡政策，以减少肺癌的风险并提高公众的认识。氡是否可导致肺癌以外的其他疾病尚不清楚。由于人体吸入氡具有独特的生物动力学特性，到达特定器官的有效辐射剂量远低于肺部所接受的辐射剂量。氡主要通过释放α粒子对人体产生影响，所以外界接触氡几乎不会引起健康问题。因此，在评估氡暴露与肺癌以外的疾病之间的可能联系时，这种关系的理论基础是薄弱的。许多关于氡暴露与恶性血液肿瘤关系的研究已有报道。虽然一些研究表明氡可能导致白血病，但许多其他研究并没有显示统计学意义，而另一些研究甚至报告了负相关。因此，氡暴露可能导致白血病的观点通常不被认为是科学事实。氡暴露与中枢神经系统肿瘤之间的关系也没有定论。根据Ruano Ravina等的系统综述，在18项研究中，一些研究显示氡与中枢神经系统的癌症有关，而大多数研究没有显示出任何影响。氡暴露与甲状腺癌、皮肤癌、头颈癌、胃癌、心脏病以及生殖、胎儿和遗传效应之间的关系也未得到科学证明。氡暴露可导致肺癌，但其与肺癌以外疾病的关系仍存在争议。大众传媒和相关专家应在科学证据的基础上不断向公众传递准确的信息。在向公众提供信息时，大众传媒或相关专家需要秉持有许多研究支持的平衡观点，而不是只关注一两个研究。

关键词：氡；肺癌；肿瘤；健康

作者简介：杨　莉，E-mail：yangli06202021@163.com

通讯作者：苟　巧，E-mail：gouqiao@nirp.chinacdc.cn

T05-0059

DNA-染色体损伤组学

李　冲，刘　明，廖佳韬，苏锋涛

（复旦大学附属肿瘤医院，上海　200032）

摘要：当前，以高通量数据采集和分析为特点的多组学技术，正广泛地应用于DNA-染色体异常研究之中，借助不同的DNA序列捕获技术以及测序文库策略，可以直接或间接地获取DNA-染色体损伤修复过程中的关键事件及遗传特征。

电离辐射或环境污染物，会引起DNA不同程度、特征的损伤（碱基损伤、DNA链的断裂、团簇损伤等），针对损伤末端的结构特点、化学成分的不同，借助不同的功能酶，可以构建DNA损伤测序技术，实现在全基因组层面对损伤位点的精准定位、损伤程度及对基因功能影响的解读。此外，DNA遗传信息的精准复制和转录是中心法则的核心内容，也是引起DNA损伤的两个主要生物学事件，针对复制过程中有新的核苷序列的合成，和转录过程中形成DNA-RNA-DNA R-loop结构等特点，相关测序技术也在快速发展和优化。DNA损伤后的应激修复，也是放射生物学研究的核心议题，DNA损伤后，从染色体层面看，DNA结合蛋白，会启特定位点氨基酸残基的磷酸化、乙酰化、甲基化等的修饰，传递修复信号，改变局部DNA折叠的紧密程度，启动特定的DNA损伤修复基因的表达。针对这些表观修饰，抗体技术联合测序技术发展出的表观基因组学，也正迅速渗透到该研究领域。同时，评估损伤修复后的DNA序列的变化，染色体高级结构的改变，以及染色体丢失等的评估，在组学层面，也正在快速、深入地推进。

上述针对不同损伤特征，融合DNA测序技术，发展起来的损伤测序组学，在DNA、染色体等不同层面，为我们提供了新的评估损伤修复的手段，成为经典放射生物学研究的有益补充，成为我们进一步探索细胞损伤修复的奥秘的有力武器。

关键词：DNA损伤修复；染色体；表观基因组；高通量测序

T05-0060

血浆Hp作为小鼠重症放射损伤和骨髓移植时机选择早期指标的实验研究

周仕香[1]，李亚琼[1]，贺乐欣[1]，陈 敏[2]，厉卫红[1,3]，肖 婷[2]，官 健[2]，戚振华[1]，王 琪[1]，李思远[1,3]，周平坤[1]，王治东[1,3]

（1. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所放射生物学研究室，北京市放射生物学重点实验室，北京 100850；2. 南方医科大学南方医院放射科，广东 广州 510080；3. 华南大学衡阳医学院军事科学院研究生联合培养基地，湖南 衡阳 421001）

摘要：目的 本研究旨在从系统免疫反应的角度探索一种更好的重症放射损伤早期生物标志物，以满足大批量核辐射伤员早期诊断和重症伤员早期识别的需求。**材料方法** 用9周龄C57BL/6J雌性小鼠构建不同剂量γ射线的全身照射（TBI）和致死剂量的局部照射（PBI）小鼠模型。在致死剂量全身照射前30 min腹腔注射辐射防护药氨磷汀或受照后进行骨髓移植构建致死性放射损伤救治小鼠模型。通过Elisa实验检测上述小鼠受照后不同时间点血浆Hp蛋白水平动态变化。采用Student′s *t*检验/双尾检验比较两组间的差异；采用多元线性回归Hp浓度与放射剂量之间的相关性；ROC曲线用于分析生物标志物能否区分两组不同样本；生存曲线采用对数秩检验分析。数据以mean±SD呈现。*P*值<0.05为显著性，*P*值<0.01为高度显著性。**结果** 在本研究中，我们发现小鼠血浆Hp水平在1Gy-10Gy照射后早期呈剂量依赖性升高，可作为早期剂量评估的分子指标，并于第2天开始回落。在致死剂量（8Gy和10Gy）照射后的第3、5天，我们检测到小鼠血浆Hp呈现显著的二次升高。照射前腹腔注射辐射防护药物在保护小鼠免于死亡的同时有效抑制了血浆Hp二次升高。最重要的是，10Gy致死性照射后1、3、5天对小鼠进行骨髓移植均可以显著提高30天存活率，同时有效促进二次增加的Hp水平回落。**结论** 我们的研究表明Hp不仅可以作为放射损伤的早期分子标记物，而且可以作为致死性放射损伤生物标记物以及骨髓移植时机选择和治疗效果评估的重要指标，从系统免疫的角度为急性放射损伤的诊断和治疗带来新的科学发现。

关键词： 结合珠蛋白（Hp）；急性放射综合征（ARS）；骨髓移植；生物标志物

通讯作者： 王治东，E-mail：wangzhidong1977@126.com；周平坤，E-mail：birm4th@163.com

T05-0061

Establishment of a new detection method based on radiosensitive protein PIG3 aptamer combined with electrochemical impedance spectroscopy biosensor

Haozheng Li[1], Chenjun Bai[2]

(1. School of Public Health, University of South China, Hengyang, 421200; 2. Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850)

Abstract: OBJECTIVE TP53I3(PIG3) is a radiation-sensitive protein discovered and reported in our laboratory. By screening its specific aptamer through SELEX and combining it with electrochemical impedance technology, we established a new method for the detection of radiation-sensitive proteins, thus realizing a rapid, convenient, low-cost and highly sensitive detection of radiation-sensitive proteins. **METHODS** Design and synthesize a primary library of single-stranded DNA (ssDNA) containing 35 random bases, and obtain the specific aptamers G9 and G15 of the PIG3 after 7 rounds of screening by microplate SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment). Analyze the

secondary structures of G9 and G15 and determine their binding and affinity. The lower limit of detection of PIG3 by double aptamer sandwich (ELONA) method. A new method for constructing electrochemical impedance spectroscopy aptamer biosensor to detect PIG3. **RESULT** The specific aptamers G9 and G15 of PIG3 were obtained after seven rounds of screening. It was determined that the full-length sequences of G9 and G15 are the key structural folding sequences constituting the recognition. The dissociation constants (Kd) of G9 and G15 detected by Biolayer interferometry (BLI) were KdG9= 1.41 nmol·L^{-1} and KdG15=5.62 nmol·L^{-1}. The double aptamer sandwich (ELONA) determined that there was a linear relationship between the concentration of PIG3 in the range of 1−10 ng/μL, and successfully constructed an EIS aptamer sensor, realizing the specific detection of PIG3. **CONCLUSION** We screened the specific aptamers G9 and G15 of the radiosensitive protein PIG3 by microplate SELEX method, and established a double-aptamer sandwich (ELONA) method for PIG3 (LOD: 1ng/μL). At the same time, combined with EIS electrical impedance biosensor, we constructed a new method for radiation dose assessment based on PIG3 specific aptamer binding electrical impedance biosensor. At present, this project is still in progress. In the next experiment, we will identify the detection sensitivity of this method and confirm its detection efficiency as a radiation biological dosimeter.

Key words: aptamer; electrochemical impedance spectroscopy; radiation damage detection

Corresponding author: Chenjun Bai, E-mail: bccjcc1990@aliyun.com

T05-0062

使用数据封装筛选和基于剂量梯度的多区域放射影像组学技术预测乳腺癌患者辐射诱导的急性皮肤毒性：一项多中心研究

李夏东

（浙江大学医学院附属杭州市肿瘤医院，放射治疗科，杭州 310002）

摘要：目的 放射性皮炎是乳腺癌放射治疗患者最常见的副作用之一。急性并发症对乳腺癌患者的肿瘤治疗和生活质量有相当大的影响。在本研究中，我们旨在利用新的数据封装筛选和基于多区域剂量梯度的放射影像组学技术，基于乳腺癌患者的治疗前计划计算机断层扫描（CT）图像、临床特征和放疗剂量学信息，开发一种新的高精度定量机器学习工具，用于在放射治疗前预测乳腺癌患者辐射诱导的皮炎（≥2级）的发生。**材料和方法** 回顾性收集了214例来自中国3个癌症中心的乳腺癌患者的CT图像、临床特征和放疗剂量学信息。我们绘制了3个计划靶区（PTV）剂量相关的感兴趣区域，包括100%（PTV_100PD）、105%（PTV_105PD）、108%（PTV_108PD）处方剂量所覆盖的照射体积，以及3个皮肤剂量相关的感兴趣区域，包括SKIN_20Gy、SKIN_30Gy和SKIN_40Gy（即皮肤内20 Gy、30 Gy、40 Gy等剂量线所覆盖的照射体积）。从绘制的6个计划靶区共提取了4280个放射影像组学特征，并纳入29个临床和放疗剂量学特征，采用多变量逻辑回归方法和5折交叉验证的梯度增强决策树（gradient boosting decision tree（GBDT））算法，结合基于随机森林的数据封装筛选方法建立预测模型。在训练数据集里训练模型，最后在验证数据集里进行模型验证。**结果** 在5折交叉验证GBDT模型中，有症状的放射性皮炎（≥2级）的最佳预测因子是20个放射影像组学特征以及8个临床和放疗剂量学变量的组合。该模型在训练和验证数据集中的曲线下面积（AUC）分别高达0.998［95% CI：0.996−1.0］和0.911［95% CI：0.838−0.983］。并从这些最佳预测因子中确定了前12个最重要的预测特征。**结论** 基于多区域剂量梯度的GBDT机器学习框架与基于随机森林的数据封装筛选方法相结合，可以实现对乳腺癌放疗患者急性放射性皮炎（≥2级）的高精度预测。

关键词：放射性皮炎；乳腺癌；放射治疗；机器学习

通讯作者：李夏东，E-mail：lixiadong2019@outlook.com

T05-0064

RPRM敲除调控铁死亡改善电离辐射诱导的神经元损伤

施文玉[1], 王 进[2], 周 舟[2], 杨红英[2], 张力元[1]
（1. 苏州大学附属第二医院放射治疗科；2. 苏州大学放射医学与防护学院，放射医学与防护国家重点实验室，江苏省高校放射医学协同创新中心）

摘要：目的 放射治疗作为广泛应用于脑及头、颈部肿瘤的重要治疗手段，在提高患者生存率，延长患者生存期的同时，可能造成放射性脑损伤致使患者表现出放射性认知障碍等迟发型副作用。本课题组前期研究中发现RPRM敲除减轻全脑照射造成的小鼠长期海马神经发生抑制和放射性认知损害。鉴于神经元损伤在放射性认知损害中扮演重要作用，本研究旨在探索神经元铁死亡是否参与放射性脑损伤，RPRM敲除减轻放射性认知障碍是否与此有关。**方法** RPRM敲除C57BL/6小鼠和野生型小鼠经全脑10 Gy X射线照射造成放射性认知功能损害。通过Western Blot及RT-qPCR检测海马组织、原代神经元和HT22细胞中，铁死亡相关指标包括4-HNE、Gpx4、SCD1和铁代谢指标Fpn、Tfr1、Fth的表达。通过对脑片行普鲁士蓝染色检测铁沉积，FerroOrange染色检测细胞中Fe2+含量。通过C11-BODIPY检测细胞脂质过氧化。通过免疫荧光标记Tuj1检测原代神经元形态变化。通过克隆形成率、CCK8检测HT22的放射敏感性。**结果** 野生型小鼠在全脑照射后24、48和72 h，海马组织中脂质过氧化产物4-HNE水平增加，铁死亡负向调控蛋白Gpx4和SCD1表达降低，铁蛋白受体Tfr1及铁蛋白Fth表达增加而铁转运蛋白Fpn在照后72小时降低，且照后10天海马区出现铁沉积。与野生型小鼠相比，RPRM敲除小鼠受照后海马组织中4HNE水平较低，Gpx4和SCD1表达恢复，Tfr1和Fth表达降低，Fpn表达增加且铁沉积减少，表明RPRM敲除可抑制受照海马组织铁死亡。由于脑片上显示受照后4HNE和神经元标志蛋白（NeuN）的分布基本一致，提示发生铁死亡的细胞类型主要为神经元细胞。进一步体外研究发现，野生型小鼠原代神经元细胞受照后脂质过氧化水平显著增加，且Gpx4及SCD1表达降低，而RPRM缺失的神经元细胞受照后ROS水平明显较低，脂质过氧化较少，细胞中Fe^{2+}含量也较低。此外，与野生型神经元相比，使用铁死亡抑制剂和敲除RPRM基因可显著增加神经元照后Tuj1标记的神经元突触、恢复其轴突长度，降低磷酸化tau蛋白水平，表明RPRM敲除可通过抑制铁死亡保护受照原代神经元细胞的形态和功能。并且机制研究发现，与野生型神经元不同，敲除RPRM的原代神经元受照后72 h，SCD1蛋白表达水平未降低。SCD1是负向调控铁死亡的重要蛋白。抑制SCD1可显著增加原代神经元细胞脂质过氧化。而过表达SCD1的HT22细胞受照后与对照组相比，克隆形成率和细胞增殖活性增加，ROS水平显著降低，脂质过氧化减少。这些结果表明SCD1参与了RPRM对受照神经元铁死亡的调控机制。然而实验结果发现过表达SCD1降低脂质过氧化程度有限，提示RPRM敲除对铁死亡的抑制还存在其他重要机制。RPRM敲除的原代神经元受照后，与野生型相比其Nrf2蛋白表达水平增加，且出现明显的核转运。Nrf2调控的抗氧化因子HO1，在野生型神经元照后24小时达到峰值随后降低，与此不同的是，RPRM缺失的神经元照后HO1表达持续增加，这与Nrf2的变化一致。并且，抑制了RPRM敲除的神经元细胞的SCD1和Nrf2后，其照射诱导的脂质过氧化显著增加。**结论** 电离辐射可诱导神经元细胞发生铁死亡，RPRM敲除通过抑制铁沉积，减少不饱和脂肪酸氧化及上调GPX4介导的抗氧化体系等多方面抑制铁死亡，进而保护受照神经元细胞的形态和功能，RPRM敲除对铁死亡的抑制作用主要与调控SCD1抑制多不饱和脂肪酸的氧化以及调控Nrf2介导的抗氧化基因的转录有关。

通讯作者：施文玉，E-mail：shiwenyv@163.com

T05-0065

低剂量辐射通过PA-PYCR1轴促进高脂饮食诱导的肠道微生物群导致的代谢功能紊乱

鞠　昭[1,2]，郭佩玉[1]，向　婧[1,2]，雷日丹[1]，任国峰[3]，周美玲[1]，杨先丹[1]，周平坤[2]，黄瑞雪[1]
（1. 中南大学湘雅公共卫生学院，劳动卫生与环境卫生学系，410078；2. 军事医学科学院放射医学研究所，放射生物学重点实验室，北京　100850；3. 中南大学湘雅公共卫生学院，营养与食品卫生学系，410078）

摘要：目的　探讨高脂饮食（HFD）行为和环境低剂量辐射（LDR）的共同暴露对代谢功能紊乱的作用，旨在以应对HFD与LDR暴露驱动的代谢损害提出新的干预途径和治疗策略。**材料和方法**　将雄性C57BL/6小鼠分为对照组、高脂饮食喂养的HFD组、暴露于0.05Gy剂量辐射的LDR组以及HFD和LDR共同暴露组，于暴露后第7周、第14周和第21周对肠道微生物群、粪便代谢组和血浆代谢组等多组学进行分析，于暴露后第21周利用苏木素-伊红和免疫组化染色、免疫荧光、酶联免疫吸附实验及电子显微镜检测了各组小鼠的代谢相关参数和组织损伤情况，同时还分析了与变化明显的代谢物相关的酶基因和细胞因子表达情况。结合粪便微生物群移植和抗生素干预试验，进一步探究肠道微生物对LDR在HFD诱导的代谢损伤中的作用。最后在肝癌细胞和脂肪细胞中敲低吡咯啉-5-羧酸还原酶1（PYCR1）或用吡咯烷甲酸（PA）处理以探究其在胰岛素抵抗中的作用机制。**结果**　HFD和LDR共同作用加剧了小鼠的代谢损伤，改变了肠道微生物群，并伴随着PA水平上升和PYCR1表达增多，移植共同暴露于HFD和LDR的代谢功能障碍小鼠的粪便微生物群会导致代谢功能障碍、胰岛素抵抗和PYCR1表达的增加。在机制上，血浆中PA水平的增加可以诱导肝脏中PYCR1的表达，进一步抑制IRS-1/Akt/mTOR信号通路，从而加剧HFD诱导的肥胖和代谢功能紊乱。**结论**　LDR通过肠道微生物群-PA-PYCR1轴，在PA水平增加和副沙门氏菌丰度降低的介导下，加剧了HFD对宿主代谢功能的不利影响，表明了对肠道微生物群、PA和PYCR1的调控在代谢性疾病的新型预防和治疗策略中可能具有重要价值。

关键词：低剂量辐射；高脂饮食；肠道菌群；代谢功能障碍

通讯作者：黄瑞雪，E-mail：huangruixue@csu.edu.cn

T05-0066

超小氧化铪纳米颗粒负载ATR抑制剂协同增强放射治疗效果并激活抗肿瘤免疫

刘瑞雪[1]，谷战军[2]，杜江锋[1]
（1. 山西医科大学第一医院，030001；2. 中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室
中国科学院高能物理研究所，100049）

摘要：目的　放射治疗是临床肿瘤治疗的重要手段，但放射治疗由于对正常组织的毒副作用和肿瘤组织的放射抵抗性面临着许多挑战。本研究设计了具有高水平疏水层的超小氧化铪纳米颗粒（HfO_2 NPs）将疏水的VE-822（ATRi）送入肿瘤细胞，一方面HfO_2 NPs作为放疗增敏剂可以引起肿瘤细胞严重的DNA损伤，另一方面VE-822阻止肿瘤细胞损伤修复，二者协同达到显著的肿瘤杀伤效果并可以有效地激活抗肿瘤免疫，同时可以降低辐照剂量保护周围正常组织免受辐射损伤。**材料和方法**　通过高温热解法制备了油相超小HfO_2 NPs，并通过疏水相互作用对VE-822进行负载（HfO_2@VE-822）。采用透射电镜、紫外分光光度计、傅立叶红外光谱仪对其形貌、尺寸、表面修饰等进行表征。通过CCK-8细胞活性检测、红细胞溶血实验、体重变化、脏器指数、血常规、血生化、主要脏器HE染色对其生物安全性进行评估。体外实验中，通过细胞增殖曲线、细胞死活检测、细胞凋亡实验、克隆形成实验评价HfO_2@VE-822的放射治疗效果。通过间接免疫荧光实验、蛋白免疫印迹实验和细胞周期检测评价HfO_2@VE-822对放射治疗后DNA损伤的影响。体内实

验中，经瘤内注射HfO_2@VE-822联合放射治疗，通过肿瘤生长曲线评价其放疗增敏效果。采用流式细胞术分析小鼠肿瘤、外周血和脾脏中总T细胞、效应T细胞、毒性T淋巴细胞以及Treg细胞的水平评价HfO_2@VE-822对放射治疗后机体抗肿瘤免疫的影响。**结果** 通过高温热解法成功合成了尺寸均一的油相超小HfO_2 NPs（~5 nm），并将亲脂性VE-822负载到疏水层中，成功构建了纳米复合药物系统。体外研究结果证实，HfO_2@VE-822联合放射治疗可以逆转放疗诱导的G_2/M期阻滞，进一步放大放射治疗对肿瘤细胞的杀伤效果。在体内研究中，HfO_2@VE-822有效地增强了放射治疗对肿瘤的杀伤作用，并通过cGAS/STING途径有效激活了机体的抗肿瘤免疫效应。**结论** 本课题将纳米无机放疗增敏剂和DNA损伤修复抑制剂相结合，二者协同用于肿瘤放疗增敏。体内外研究结果证实该策略有望实现局部放射治疗效果的增强并激活抗肿瘤免疫以应对复发肿瘤，具有广阔的生物医学应用前景。

关键词：放射治疗；纳米药物；DNA损伤修复；ATRi；抗肿瘤免疫

通讯作者：杜江锋，E-mail：dujf@sxmu.edu.cn

T05-0067

辐射诱导的P62-GATA4相关细胞早衰及相关机制研究

高 玲，刘萌萌，陈 婕，田 梅，刘青杰

（中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所辐射防护与核应急中国疾病预防控制中心重点实验室，北京 100088）

摘要：目的 细胞早衰是指细胞在DNA损伤、氧化应激、抗肿瘤药物等因素作用下发生增殖能力和生理功能的下降，同时细胞形态和功能发生变化，提前出现退行性改变，属于病理性衰老。目前辐射可诱导不同类型的细胞发生早衰已比较明确，但辐射所诱导的细胞早衰在不同细胞和组织中都不尽相同，且辐射诱导细胞早衰的具体调控机制并未完全阐明。因此，探索辐射诱导的细胞早衰及相关机制可为抗早衰研究提供理论基础。**方法** 利用不同类型的射线照射不同类型细胞后，从细胞形态学、细胞增殖能力、溶酶体数量变化、β-半乳糖苷酶染色等多个方面，鉴定辐射是否诱导细胞发生早衰的比例增加。进一步检测细胞早衰相关蛋白p53/p21、p16及p62的表达变化，及相关信号通路上下游分子变化情况。**结果** 4Gy X射线可诱导A549细胞发生早衰，通过Beclin1介导的自噬调控细胞早衰的发生，即电离辐射引起的早衰部分依赖于自噬。且A549细胞和小鼠体内细胞因子IL-6、IL-8的mRNA表达发生改变，引起SASP早衰发生，且可使得$Beclin1^{+/-}$小鼠体内自噬蛋白Beclin1与SASP早衰通路p62、GATA4蛋白表达发生改变。不同剂量UVB照射可诱导原代黑素细胞和Hacat细胞发生细胞早衰，且p62及GATA4等蛋白表达发生改变。**结论** 4Gy X射线通过Beclin1-p62-GATA4-SASP通路诱导A549细胞发生自噬并导致早衰的发生。UVB部分依赖于选择性自噬通路ATM/ATR-P62-GATA4诱导原代黑素细胞和Hacat细胞发生早衰。

关键词：X射线；细胞早衰；自噬；UVB；p62-GATA4

基金项目：国家自然基金（31570852）；国家自然基金（82273551）；北京市自然科学基金（7202139）；北京市自然科学基金（7162137）

T05-0072

机械力调控的YAP/TAZ在辐射导致的勃起功能障碍中的作用

纪敏涛

（苏州大学放射医学与防护学院 放射医学与辐射防护国家重点实验室）

摘要：目的 勃起功能障碍（erectile dysfunction，ED），也称为阳痿，其特征是无法保持足够的阴茎勃起

硬度以完成性活动。ED最常用的药物是磷酸二酯酶5型抑制剂(PDE5i),其与PDE5的催化位点结合,以阻断平滑肌中cGMP的降解,从而增强cGMP对平滑肌松弛的影响,延长勃起,如西地那非和他达拉非等。然而,约30%的ED患者被归类为PDE5i的"无应答者",这激发了寻找新疗法的兴趣。**材料和方法** 本研究使用了单细胞核RNA测序、不同类型的经典ED模型,如前列腺辐照模型、双侧神经损伤模型和去势模型、YAP/TAZ基因敲除小鼠模型、RNA测序、细胞机械力调节方法(包括控制细胞外基质、细胞密度和细胞拉伸)和临床相关的真空负压装置及冲击波疗法。**结果** 我们使用单细胞核RNA测序、不同类型的经典ED模型,如前列腺辐照模型、双侧神经损伤模型和去势模型,发现在ED发生过程中YAP/TAZ均表现出明显的下降。通过采用YAP/TAZ基因敲除的小鼠模型,我们发现其表现出勃起功能障碍,以上证明了YAP/TAZ在ED中的作用。接着,我们利用RNA测序和多种细胞机械力调节方法(包括控制细胞外基质、细胞密度和细胞拉伸)发现机械力可以调控平滑肌细胞YAP/TAZ的水平,进而影响勃起功能。我们使用临床经典治疗方法真空负压疗法和冲击波疗法来验证我们的结果,发现真空负压疗法和冲击波疗法可以通过调控机械力-YAP/TAZ通路治疗ED。最后,我们收集了接受真空负压疗法治疗的患者临床数据,进一步证实了靶向"mechano-YAP/TAZ"可以显著治疗ED患者的勃起功能。**结论** 本研究确定了勃起控制的第二层,即NO-cGMP激活引起的阴茎平滑肌细胞松弛后,海绵体中的血液流入通过拉伸阴茎平滑肌细胞促进机械力刺激,进而激活YAP/TAZ以维持阴茎平滑肌细胞松弛,这对于勃起功能障碍的新机制及治疗新策略提供了全新的视野。

关键词: 勃起功能障碍; 力学传导通路; YAP/TAZ; 辐射

通讯作者: 纪敏涛, E-mail: mtji@suda.edu.cn

T05-0074

YAP/NRP1对肺腺癌细胞辐射抗性的影响及作用机制

王铭蔚, 王　蕊, 衣峻萱, 魏新锋, 金顺子

(吉林大学公共卫生学院,国家卫健委放射生物学重点实验室, 长春　130021)

摘要: 目的 探讨YAP/NRP1对肺腺癌细胞辐射抗性的影响及作用机制,为肺癌放射治疗提供新靶点。**方法** 首先,给予两种肺腺癌A549和H1299细胞单次6 Gy的X射线照射,重复5次,总剂量30 Gy,剂量率分别为1.02 Gy/min和0.75 Gy/min,建立A549-RR和H1299-RR辐射抗性细胞模型,通过克隆形成、CCK8、细胞形态变化以及流式细胞术对辐射抗性模型细胞进行鉴定。其次,通过qPCR法以及Western Blot法检测两种RR细胞中YAP与NRP1的mRNA和蛋白的表达变化。通过免疫荧光实验和Western Blot法检测两种RR细胞YAP入核情况。构建YAP干扰和过表达质粒,使用细胞瞬时转染实验,在A549和H1299亲本细胞及RR细胞中分别转染干扰和过表达YAP质粒后,通过qPCR法以及Western Blot法检测YAP与NRP1的mRNA和蛋白的表达变化。**结果** 两种肺腺癌细胞连续被照射五次后,与亲本细胞相比,辐射抗性模型细胞集落形成数量明显增多,细胞存活分数增高、细胞形态发生改变、细胞增殖能力增强、细胞周期分布发生改变,说明辐射抗性模型细胞建立成功。与亲本细胞相比,A549-RR和H1299-RR细胞中YAP与NRP1的mRNA($P<0.01$)和蛋白表达量均明显增加。检测YAP的入核情况发现,在A549-RR和H1299-RR细胞中YAP核内表达明显增加。在亲本细胞过表达YAP后,A549细胞中NRP1的mRNA($P<0.05$)和蛋白表达量减少,H1299细胞中NRP1的mRNA($P<0.05$)和蛋白表达量基本不变。而在A549-RR和H1299-RR细胞中过表达YAP后,NRP1的mRNA($P<0.01$)和蛋白表达量均明显增加。在亲本细胞和RR细胞中干扰YAP后,NRP1的mRNA($P<0.01$)和蛋白表达量均降低。**结论** 辐射促进肺腺癌细胞YAP进入细胞核,进而调控辐射抵抗基因NRP1的表达变化,从而增强细胞的辐射抗性能力。

关键词: 电离辐射; YAP; NRP1; 肺腺癌细胞; 辐射抗性

通讯作者: 金顺子, E-mail:jinsz@jlu.edu.cn

T05-0075

WEE1联合放疗通过cGAS/STING-STAT3-IRF3通路影响肿瘤微环境的调节

摘要：目的 本研究首次提出使用WEE1抑制剂联合放疗通过cGAS/STING-STAT3-IRF3途径影响肿瘤微环境，系统阐明WEE1抑制剂联合放疗造成的DNA损伤对cGAS/STING-STAT3-IRF3通路的调节，对肿瘤微环境中MDSC（髓系来源的抑制性细胞）的影响。**方法** 使用MDA-MB-231细胞，A549细胞和HT29细胞分别给予2GY，12GY和20GY的X射线辐照，进行细胞周期试验。使用WEE1抑制剂联合放疗作用于MDA-MB-231细胞，A549细胞和HT29细胞，放疗剂量分别为2GY，12GY和20GY，使用EDU试剂盒检测肿瘤细胞辐照后的DNA损伤修复，增殖的变化。在肿瘤细胞对照组与实验组中western-blot实验检测cGAS/STING-STAT3-IRF3通路上相关蛋白yH2AX，TBK1，P-TBKI，STING，P-STING，IRF3，P-IRF3，P-STATE3和CGAS表达变化情况。免疫荧光双标实验检测肿瘤细胞对照组与实验组中目标分子表达变化情况。建立小鼠荷瘤模型，检测小鼠生存时间和肿瘤体积变化情况。流式细胞仪检测小鼠荷瘤实验中CD11B、LY6C、CD45、IFN-γ、CD8a等多个免疫相关分子差异性表达情况。**结果** 细胞周期实验结果显示WEE1抑制剂联合放疗组较对照组相比，能够有效抑制细胞周期G_2/M期，抑制肿瘤细胞增殖，抑制蛋白激酶的表达，促使受损DNA未经修复而直接进入有丝分裂，具有显著的肿瘤抑制作用。小鼠荷瘤实验中WEE1抑制剂联合放疗组较对照组相比，小鼠肿瘤体积明显缩小，小鼠生存时间明显延长。小鼠荷瘤实验流式细胞术检测小鼠肿瘤组织中CD8T细胞的浸润及IFN-γ的分泌水平，WEE1抑制剂联合放疗组较对照组明显升高。免疫荧光双标实验结果显示WEE1抑制剂联合放疗组较对照组相比，抑制WEE1减少放疗后MDSC在肿瘤微环境的浸润。Western-blot实验结果显示抑制WEE1可以通过STATE3明显下调TBK1，P-TBKI，STING，P-STING，IRF3，P-IRF3，P-STAT3和CGAS表达情况，表明WEE1抑制剂联合放疗引起的放疗抵抗作用与cGAS/STING-STAT3-IRF3通路有关。**结论** WEE1靶向治疗联合放疗能够改善抑制性肿瘤微环境，有效缓解放疗抵抗。WEE1抑制剂和放射治疗联合应用比单独处理明显抑制了肿瘤的生长，联合治疗对肿瘤达到了明显的抑制效应。联合应用WEE1抑制剂和放射治疗有助于下调肿瘤微环境内的免疫抑制淋巴细胞。WEE1抑制剂联合放疗通过cGAS/STING-STAT3-IRF3途径影响肿瘤微环境。

关键词： 肿瘤微环境；放疗抵抗；放疗治疗；MDSC

T05-0077

Rosiglitazone Rescued Irradiation-induced Cognitive Impairments by Suppressing Oxidative Stress via the Muscarinic Acetylcholine Receptor/GluA1 Pathway in Male Mice

Ziqing Zhang[1], Suhe Dong[2], Sinian Wang[2], Hao Zhang[2], Zhongmin Chen[2], Hao Zeng[2], Shuangjing Chen[2], Yan Lu[2], Qisheng Jiang[2], Fengsheng Li[2], Shimin Yin[2]

[1. The Postgraduate Training Base of Jinzhou Medical University (The PLA Rocket Force Characteristic Medical Center), Beijing, China; 2. The PLA Rocket Force Characteristic Medical Center, Beijing, China]

Abstract: OBJECTIVE As one of the conventional treatments for primary or metastatic brain tumors, cranial radiotherapy unavoidably caused serious damage to the central nervous system as well. The decrease of hippocampal neurogenesis and differentiation as well as the increase of oxidative stress and inflammation were closely involved in the cognition impairment. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), as kinds of ligand-activated transcription factors, could be anti-inflammation and play a neuroprotective role in the nervous system. PPARγ agonist has been reported to play a neu-

roprotective role, but the underlying mechanisms remain elusive. **METHODS** Rosiglitazone was selected as a PPARγ ligand in irradiated mice. The mice were given whole brain irradiation at a dose rate of 4 Gy/min and irradiation dose of 26Gy. Rosiglitazone (5 mg/kg/day) and PBS gastric administration in volume 200 μL as well as Atropine sulfate monohydrate (1 mg/kg/day) and PBS intraperitoneal injection in volume 100 μL was performed the day before irradiation and continuously until the mice are sacrificed. Morris water maze (MWM) and passive avoidance memory (step-down task) were performed to detect the cognitive ability. Western blot (WB) and RT-qPCR were used to monitor GluA1 protein expression and phosphorylation level. H&E and immunofluorescence were performed to monitor the structure of hippocampus. In order to reflect the level of oxidative stress, we used MDA detection kit to determine the concentration of malondialdehyde in hippocampal tissue and flow cytometry to determine the content of reactive oxygen species in cells. Hippocampal neuron line HT22 was used to evaluate and verify the efficiency and mechanism of Rosiglitazone *in vitro*. **RESULTS** MWM showed that irradiation group had fewer times crossing the platform and time to find the platform increased. Irradiation plus rosiglitazone group alleviated this condition. The step-down task showed that the latency stay time of the irradiation group was significantly lower compared with the control group on the 9th day after irradiation ($P<0.001$). Meanwhile, the latency residence time of irradiation plus rosiglitazone group was significantly longer than the irradiation group ($P<0.001$). The Western Blot showed GluA1 and phosphorylated GluA1 (p-GluA1) decreased in the irradiation group but increased after administration of rosiglitazone, which tended to be consistent with the control group. After administration of rosiglitazone and atropine, the expression level of GluA1 and p-GluA1 decreased and tended to the irradiation group. H&E staining showed that the number of layers of hippocampal neurons in irradiation group decreased, the arrangement was disordered, the cells swelled and disordered, and exhibited irregular shapes, with the glial cells proliferated obviously. The immunofluorescence of hippocampal tissue and cells showed that the fluorescence intensity of GluA1 decreased after irradiation, which was significantly alleviated after Rosiglitazone treatment. Muscarinic acetylcholine receptor antagonist atropine sulfate (AS) abolished the effects of rosiglitazone on GluA1 and p-GluA1 expression. Flow cytometry showed that 12 h after 8 Gy irradiation, reactive oxygen species (ROS) release was increased, and rosiglitazone blocked this effect in HT22 cells. **CONCLUSION** Whole-brain irradiation caused cognitive impairments in mice, which was rescued after oral administration of rosiglitazone. Rosiglitazone inhibits oxidative stress induced by irradiation, maintains the activity of muscarinic acetylcholine receptor and recruits GluA1 to the postsynaptic membrane in male mice.

Key words: Rosiglitazone; ionizing radiation; cognitive impairments; muscarinic acetylcholine receptor; GluA1

Corresponding authors: Qisheng Jiang, E-mail: jqs598@sina. com; Fengsheng Li, E-mail: lifs0624@163.com; Shimin Yin, E-mail: yin_shi_min@126.com

T05-0078

贫铀通过 ETHE1/Nrf2 通路引起肾线粒体功能障碍

柳随义，舒　畅，李文润，冉永红，郝玉徽
（陆军军医大学军事预防医学系防原医学教研室，重庆　400038）

摘要：目的　探讨贫铀（depleted uranium，DU）急性肾脏损伤的分子机制。**方法**　(1)用不同浓度的DU处理HK-2细胞4 h后，用JC-1试剂盒检测细胞内线粒体膜电位的变化；使用ATP检测试剂盒测量三磷

酸腺苷含量；用钙黄绿素-氯化钴猝灭法测定mPTP的开放程度；用荧光显微镜测定ROS的产生；(2)用不同浓度的DU(0、2.5、5、10 mg/kg)染毒大鼠72 h后，取肾组织，检测ATP，测定肾组织活性线粒体的耗氧率，测定LDH活性和MDA含量，用透射电子显微镜观察线粒体损伤情况。(3)WT和ETHE1(±)小鼠腹腔注射5 mg/kg DU 48 h后，取肾组织，HE染色观察，检测肾组织中ATP和MDA的含量，并观察ETHE1(±)和DU暴露对氧化应激和线粒体功能的影响，用免疫组织化学方法检测肾组织中Nrf2的表达。(4)WT和Nrf2(−/−)小鼠腹腔注射5 mg/kg DU 48 h后，分别取肾组织和血清，用HE染色观察，通过测定血清Cr和BUN水平评价肾功能。检测MDA与ATP含量，评价Nrf2基因敲除和DU暴露对小鼠肾脏氧化应激和线粒体功能的影响。以上数据以均数±标准差(n=6)表示，上述数据采用单因素方差分析和Tukey′s多重比较检验，以P<0.05，代表具有显著性差异。**结果** DU可引起HK-2细胞线粒体及大鼠肾脏线粒体功能障碍，且随着剂量和时间的增加而加重；ETHE1(±)小鼠Nrf2及其下游抗氧化因子HO-1和NQO1表达上调，加重了DU所致的氧化应激、线粒体功能障碍和肾脏损伤。而在NRF2(−/−)小鼠中，DU所致的氧化应激、线粒体功能障碍和肾脏损伤也均加重。**结论** DU通过ETHE1/Nrf2途径导致肾细胞氧化应激和抗氧化失衡，进一步导致线粒体功能障碍，最终导致肾毒性的机制。首先，DU暴露导致ETHE1表达下调。ETHE1表达下调通过氧化应激激活(MDA和ROS积聚，LDH活性增加)，导致线粒体功能障碍(ATP水平和MMP值降低，MPTP开放增加)，最终导致肾脏损伤。另一方面，ETHE1表达的降低可以通过负反馈增加Nrf2相关途径相关分子(HO-1和NQO1)的表达，激活机体的抗氧化防御系统，抑制DU诱导的氧化应激。然而，DU最终会导致肾细胞氧化应激和抗氧化失衡，进一步导致线粒体功能障碍，从而导致DU的肾毒性。

关键词： 贫铀；肾毒性；分子机制；ETHE1(±)；Nrf2(−/−)；基因编辑老鼠

基金项目： 国家自然科学基金(81972972)

通讯作者： 郝玉徽，E-mail：yuhui_hao@126.com

T05-0079

萝卜硫素调控p62/Keap1/Nrf2信号通路对放射性损伤的防治效应

刘静文，王明科，黄 骁，杨积顺

(海军军医大学海军特色医学中心)

摘要： 核动力舰艇采用核动力装置解决了动力问题，使之续航时间、航行速度及活动海域等都超过常规舰艇，极大提高了海军部队战斗力。但核动力舰艇核反应堆裂变过程及核事故可产生大量核辐射，给人体健康带来损害。此外，在受核污染的海洋中，海洋生物通过受核辐射污染的食物和水摄取放射性废物，会造成海洋生物本身及共生微生物严重损害。海月水母(Aurelia coerulea)作为一种海洋低等多细胞无脊椎动物已逐渐成为海洋生物环境适应性研究的理想模式生物。研究发现，海月水母也是理想的辐射损伤耐受模型。分析核辐射导致海月水母水螅体的损伤效应，将对核辐射损伤的机理阐述、辐射损伤新靶点的发现以及防治措施研究提供参考。随着放射线在医疗领域广泛应用，射线对正常组织的损伤受到越来越多的关注。放射性皮肤损伤、放射性肺损伤、放射性脑损伤和放射性肝损伤等已成为肿瘤患者放疗常见并发症，严重影响患者生存质量和临床预后。自噬可降解和去除细胞内有害的蛋白质和受损的细胞器，维持生物体稳态，防御应激反应。p62作为细胞自噬的重要受体蛋白，参与泛素蛋白酶体系统和自噬−溶酶体系统两种蛋白降解过程。Keap1-Nrf2信号通路是机体抵抗内外环境氧化和有害刺激的重要防御性传导通路。当细胞受亲电体、活性氧ROS刺激或p62聚集时，Keap1构象会发生改变，通过结合p62自噬降解，引起Nrf2发生磷酸化或者完全解离，进入核内作用于ARE进而激活抗氧化基因和自噬相关基因表达，又可促进p62的生成，形成正反馈环路。Nrf2通过诱导数个与活性氧清除、解毒、DNA损伤修复和线粒体功能相关基因的表达，有望成为辐射耐受基因。放射治疗可导致DNA损伤并诱导肿瘤细胞凋亡，放射损伤中自噬被激活，通过调控自噬信号通路及相关蛋白如p62的表达可发挥放射损伤防护作用。萝卜硫素(Sulforaphane)作为Nrf2

激活剂，在十字花科植物中含量较丰富，通过激活Nrf2/ARE信号通路或者调节机体内相应酶的活性，减少ROS的产生达到抗氧化的效果，还可激活细胞内的抗衰信号因子Nrf2抑制或减轻炎症。但目前国内外关于萝卜硫素防治放射性损伤的研究尚少。下一步我们将构建海月水母水螅体的辐射损伤耐受模型，通过在海月水母水螅体中敲除或过表达p62/Keap1/Nrf2基因，并用萝卜硫素作为Nrf2激动剂，探讨p62/Keap1/Nrf2信号通路在放射性损伤中的作用及萝卜硫素通过调控p62/Keap1/Nrf2通路对放射性损伤的防治效应。

关键词：萝卜硫素；放射性损伤；海月水母；自噬；p62/Keap1/Nrf2信号通路

通讯作者：王明科，E-mail：wmke021@163.com；杨积顺，E-mail：jasunyang@foxmail.com

绿茶提取物EGCG防治急性放射性肠损伤的前瞻性Ⅱ期临床研究

陈列松，蔡　尚，田　野
（苏州大学附属第二医院）

摘要：目的　放射性肠损伤是腹、盆部肿瘤放射治疗（放疗）的最主要治疗副反应之一，不仅会降低患者的生活质量，严重者还会导致放疗中断，影响肿瘤治疗疗效。然而，目前放射性肠损伤缺乏有效的防治手段。我们前期开展动物实验，证实绿茶提取物表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）具备防治放射性肠损伤的潜能。在此基础上，我们进一步开展前瞻性Ⅱ期临床试验（ChiCTR2100053703），初步评估EGCG防治放射性肠损伤的有效性。**材料和方法**　入组在我科接受根治性或辅助性放疗，并经细胞学或组织学证实的宫颈癌和子宫内膜癌患者，放疗同步口服EGCG。主要研究终点为急性放射性肠损伤的发生率，放射性肠损伤的诊断与分级使用RECIST1.1标准进行评估。**结果**　2022年2月至2023年1月共入组患者37例，其中30例为宫颈癌患者，其余7例为子宫内膜癌患者。随访发现，没有患者发生3度及以上的急性放射性肠损伤。绝大多数（28例，75.7%）患者仅发生0或1度的急性放射性肠损伤，不需要特殊干预。同时，2度急性放射性肠损伤的发生率为24.3%（9例），远低于文献报道的60%至80%，也低于我科前期一项观察性临床试验中报道的65%。**结论**　研究结果初步提示，在腹、盆部肿瘤放疗时同步口服EGCG可以降低急性放射性肠损伤的发生率和严重程度，对放射性肠损伤的发生、发展具有较好的防治作用。EGCG有望成为临床防治放射性肠损伤的潜在手段。

关键词：放射性肠损伤；绿茶提取物；表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）

通讯作者：田　野，E-mail：dryetian@126.com

心包辐射剂量可能与4级淋巴细胞减少密切相关并影响接受根治性同步放化疗的局晚期食管癌患者预后

陈先燕[1]，田小曼[2]，张轩薇[1]，邓倩月[1]，王　敏[1]，周晓娟[1]，徐　泳[1]，周　麟[1]，
邹炳文[1]，刘咏梅[1]，敖　睿[2]，卢铀[1]，宫友陵[1]
（1. 四川大学华西医院肿瘤中心胸部肿瘤科和国家生物治疗重点实验室，四川　610041；
2. 四川省人民医院肿瘤科，四川　610072）

摘要：目的　免疫系统可能影响预后，而淋巴细胞减少症是同步放化疗（CCRT）期间的一个常见副作用。局部晚期食管癌（LA-EC）根治性照射会暴露大量的血管和心脏容积，我们假设淋巴细胞减少症与心脏和心包的剂量有关，并影响患者的预后。**方法和材料**　我们确定了2011年至2021年期间接受根治性CCRT的190名LA-EC患者。获得心脏、心包和肺部的剂量参数，并进行多变量分析将临床因素和剂量参数与总生存（OS）相关联。收集CRT之前和期间的淋巴细胞数（ALC）、血小板（PLT）、白细胞（WBC）、中性

粒细胞(ANC)、中性粒细胞-淋巴细胞比率(NLR)和血小板-淋巴细胞比率(PLR)。4级(G4)淋巴细胞减少症被定义为CCRT期间淋巴细胞最低值<0.2 10^3/mL,并用来对淋巴细胞最低值二分类。对血液学毒性与OS的相关性进行了多因素分析。进行Logistic逐步回归以确定剂量参数和G4淋巴细胞减少症之间的关系。最后,绘制预测G4淋巴细胞减少的列线图并对该模型进行内外部验证。**结果** 所有患者的中位随访时间为27.5个月(12.0~118.0个月)。Cox分析显示,较高的心包V_{30}(PV_{30})与较差的OS相关(HR=1.013,95%CI 1.001~1.026,*P*=0.039)。PV_{30}>55.3%和PV_{30}≤55.3%的中位生存时间分别为24.0个月和54.0个月(*P*=0.004)。在血液学毒性的多因素分析中,G4淋巴细胞减少与OS的恶化有关(HR=2.042,95%CI 1.335~3.126,*P*=0.001)。训练集100名患者中30名(30%)有G4淋巴细胞减少症。最终模型由IVA期(*P*=0.017)、PLR(*P*=0.008)、心脏V_{50}(*P*=0.046)和PV_{30}(*P*=0.048)构建。验证集的90名患者中有28名(31%)经历了G4淋巴细胞减少。ROC曲线显示,内外部验证的AUC值分别为0.775和0.843。**结论** 根治性CCRT期间较高的心包辐射剂量可能通过导致G4淋巴细胞减少从而影响LA-EC患者的预后。需要进一步的前瞻性研究来证实这些发现,特别是在免疫检查点抑制剂治疗的时代。

关键词:局晚期食管癌;同步放化疗;心包辐射剂量;淋巴细胞减少症

通讯作者:陈先燕,E-mail:Chen.xy98@foxmail.com;宫友陵,E-mail:drgongyouling@hotmail.com

辐射诱导表达的短肽ATMLP通过调控脂质代谢调节肺癌辐射敏感性的机制研究

戴迎初,裴海龙,周光明

(苏州大学医学部放射医学与防护学院国家重点实验室,江苏 苏州 215123)

摘要:目的 肺癌是一种复杂性疾病,涉及较多癌基因和抑癌基因在多个层次和水平上的变异,并且这些基因突变受到了相关调控因子在多个水平进行调控。随着测序技术以及实验和生物信息学工具的改进,越来越多的证据表明lncRNA在肺癌发生发展及治疗的抵抗中扮演着重要的角色。尽管lncRNA最初被定义为非编码RNA,但许多lncRNA实际上包含翻译成肽的ORF。我们发现辐射诱导表达的lncRNA AFAP1-AS1翻译一个定位于线粒体的短肽ATMLP,并探讨了其在调控脂质代谢及肺癌放疗抵抗中的作用。**材料和方法** 通过代谢组学分析检测代谢物的变化;通过油红染色和BODIPY 493/503荧光染色检测过表达/敲除ATMLP细胞内脂滴水平;通过Western blot检测电离辐射对ATMLP蛋白表达的影响;通过油红染色和BODIPY 493/503荧光染色检测受照细胞内脂滴水平;通过细胞增殖和克隆形成实验检测过表达/敲除ATMLP细胞的增殖能力和克隆形成能力;通过转录组学测序分析ATMLP调控的相关信号通路和靶分子;通过Western blot检测过表达/敲除ATMLP细胞内AKT和AMPK的表达及磷酸化修饰。**结果** 代谢组学分析显示ATMLP调节肺癌细胞脂质代谢;油红染色和BODIPY 493/503荧光染色结果表明ATMLP促进细胞内脂滴增加;Western blot结果显示电离辐射诱导ATMLP的表达;细胞增殖及克隆形成实验结果表明敲除ATMLP抑制肺癌细胞增殖,降低细胞克隆形成率;X射线照射后,KO组细胞增殖和克隆形成率进一步降低;转录组测序及Western blot结果显示ATMLP促进AKT的磷酸化。**结论** 敲除ATMLP可通过抑制AKT激活减少肺癌细胞内脂滴水平,从而抑制细胞增殖并增加辐射敏感性,这为肺癌的治疗提供了新的靶点。

关键词:电离辐射;lncRNA;脂质代谢;肺癌;ATMLP

通讯作者:裴海龙,E-mail:hlpei@suda.edu.cn;周光明,E-mail:gmzhou@suda.edu.cn

重度肺功能受损的非小细胞肺癌的胸部放疗：疗效及放射性肺炎预测

邓倩月[1]，张英杰[2]，梅　婷[1]，杨雪玺[1]，陈先燕[1]，宫友陵[1]
（1. 四川大学华西医院肿瘤中心胸部肿瘤科和国家生物治疗重点实验室，四川　610041；
2. 四川大学华西医院放射物理中心，四川　610041）

摘要：目的　肺癌合并慢性阻塞性肺疾病或肺间质疾病的患者常常有治疗前肺功能障碍。目前尚不确定肺功能受损的肺癌患者的标准治疗方案，这些患者可能无法耐受手术或同步放化疗。我们的目的是评价胸部放疗对不能切除的基线重度肺功能障碍的非小细胞肺癌的疗效，并评估急性重度放射性肺炎（SARP）的发生。**方法**　我们回顾性地收集了170例病理确诊为非小细胞肺癌并有治疗前重度肺功能障碍的患者，将其分为放疗组和非放疗组。记录并分析所有患者的临床因素和生存情况。放疗组记录并分析其剂量-体积直方图及SARP发生情况。研究终点为总生存（OS）和SARP的发生。使用Cox回归分析评估不同因素对OS的影响。对放疗组患者采用Logistic回归、ROC曲线和Kaplan-Meier分析评估各因素对SARP的预测价值。**结果**　放疗组的中位OS为21.6月（95%CI 19.5.1～23.7月），非放疗组为8.9月（95% CI 6.5～11.4月）（HR：0.504，95% CI 0.364～0.697，P<0.001）。COX分析显示，影响预后的独立因素包括化疗（HR：0.221，95%CI 0.149～0.329，P<0.001）和放疗（HR：0.589，95%CI 0.399～0.869，P=0.008）。多因素Logistic回归分析表明患侧肺V_{10}（iV_{10}）是SARP的独立预测因子，ROC曲线显示iV_{10}的曲线下面积为0.785。根据平均iV_{10}对患者进行分组，iV_{10}高水平组比iV_{10}低水平组发生SARP机率更高（HR：5.33，95%CI 1.99～14.29，P=0.003）。**结论**　胸部放疗可能与不能手术的合并严重肺功能障碍的非小细胞肺癌患者的临床获益相关，多因素分析表明，iV_{10}（> 50.7%）可能和这些患者发生SARP有关。

关键词：重度肺功能障碍；非小细胞肺癌；预测因素；急性重度放射性肺炎

通讯作者：邓倩月，E-mail：sqqsys@126.com；宫友陵，E-mail：gongyouling@hotmail.com

基于蛋白质组分析电磁脉冲损伤大鼠血脑屏障的分子机制研究

高　鹏，林艳云，郝　悦，郭奇彦，李　静，丁桂荣，郭国祯
（空军军医大学军事预防医学系辐射防护医学教研室，陕西 西安　710032）

摘要：目的　探究电磁脉冲（Electromagnetic pulse，EMP）暴露对大鼠脑皮层组织蛋白表达谱的影响，挖掘并分析与EMP损伤血脑屏障（Blood-brain barrier，BBB）密切相关的功能蛋白及信号通路。为EMP防护和临床应用提供实验依据。**材料和方法**　以健康雄性SD大鼠为研究对象，随机分为假辐照组和EMP辐照组。EMP辐照参数为：电场强度1200 kV/m，脉宽40 ns，脉冲次数800次，重复频率10 Hz。辐照后3 h剥离大鼠脑组织并沿中切切分左右半球。其中脑右半球应用白蛋白免疫组化法观察EMP辐照后大鼠BBB通透性；左半球分离脑皮层后提取总蛋白，利用TMT标记蛋白组学定量技术鉴别EMP辐照后大鼠脑皮层组织差异表达蛋白（DEPs）并进行生物信息学分析。**结果**　白蛋白免疫组化结果表明，EMP辐照组6只大鼠脑皮层处，均出现血管外白蛋白渗出，而假辐照组未观察到明显的白蛋白渗出，说明EMP辐照后大鼠BBB通透性增加。蛋白质组学结果显示，EMP辐照后大鼠脑皮层组织中共鉴别出515种DEPs，其中246个上调，269个下调。GO功能富集结果表明，DEPs主要定位于细胞质、神经元、囊泡和细胞膜，主要发挥蛋白结合和调节分子活性的功能，参与细胞成分组装及其调控、蛋白定位、突触信号调节和物质转运及其调节等。KEGG通路富集分析结果显示，DEPs显著富集到长时程增强、缝隙连接、Ras信号途径等，其中与BBB通透性相关的紧密连接和黏附斑通路也存在明显富集。蛋白质相互作用网络分析显示，EMP辐照后，连接度大的DEPs中与BBB关系密切的有Caveolin-1、GFAP、AQP4等。**结论**　EMP暴露后大鼠BBB通透性增加，脑皮层组织蛋白表达谱发生明显改变，其中与BBB密切相关的DEPs包括多种细胞骨架蛋白、物质转运载体和星形胶质细胞标记物，涉及多条与细胞连接和物质转运相关的通路。提示EMP损伤BBB的机制可能

与增强血管内皮细胞跨膜转运和改变星形胶质细胞功能有关。

关键词：电磁脉冲；血脑屏障；蛋白质组学；生物信息学分析

通讯作者：高 鹏，E-mail：gaopeng1@fmmu.edu.cn

辐射诱导的蛙皮多肽减轻放射性皮肤损伤机制研究

耿凤豪[1]，钟 力[2]，张 杰[3]，曹建平[2]，张舒羽[1]

（1. 四川大学华西基础医学与法医学院，成都 610041；2. 苏州大学医学版放射医学与防护学院，苏州 215123；3. 空军军医大学军事预防医学系辐射防护医学教研室，陕西 西安 710032）

摘要：目的 放射性皮肤损伤是肿瘤放射治疗和辐射事故等常见并发症，目前暂无特效药物治疗。蛙类具有极强适应性，可耐受长期高剂量电离辐射。本研究旨在探索青蛙皮肤组织诱导辐射抗性的发生机制和潜在多肽类药物研发价值。**材料和方法** 通过转录组测序检测受照黑斑蛙皮肤基因差异性表达及富集特征；采用多肽组学研究受照蛙皮内源性多肽表达改变情况；利用链霉亲和素-生物素系统富集蛙肽-蛋白复合物后经质谱筛选蛙肽的直接作用靶点，采用表面等离子共振技术、分子对接等方法进行验证；通过脂质组学研究蛙肽对受照皮肤细胞脂质代谢的影响。**结果** 与哺乳类动物相比，黑斑蛙皮肤显示出更强辐射抗性，仅在50Gy照射组出现显著皮肤损伤；转录组测序结果表明辐射引起蛙皮多种内肽酶和肽酶活性改变；多肽组学结果鉴定到多条差异性上调多肽。放射生物学实验筛选出4条有效促进放射复合伤愈合的多肽（命名为RIFSP-1/2/3/4）；细胞生物学实验证实RIFSP-2可经巨胞饮作用进入体外培养的人皮肤细胞系，可显著影响受照人皮肤细胞线粒体功能和细胞骨架稳态。进而行FITC-RIFSP-2亚细胞定位发现其可富集在内质网上；互作蛋白质组学结果表明生物素标记RIFSP-2可能与受照皮肤细胞中包含内质网硬脂酰辅酶A去饱和酶（stearoyl-CoA desaturase 1，SCD1）在内的42种蛋白质发生特异性结合；分子对接和免疫共沉淀结果同样证实RIFSP-2可与SCD1结合；而非靶脂质代谢组学结果提示RIFSP-2具有抑制受照皮肤细胞多不饱和脂肪酸合成的作用（SCD1为该过程限速酶）；RIFSP-2和SCD1抑制剂MF438预处理均可提高受照皮肤细胞中性脂肪含量，MF438预处理也可削弱RIFSP-2减少受照皮肤细胞死亡的作用。此外，免疫共沉淀及表面等离子共振实验证实均证实RIFSP-2与干扰素刺激因子（STING）之间无直接作用，但RIFSP-2预处理可抑制辐射引起的STING磷酸化激活，在体研究表明RIFSP-2仅可促进STING野生型小鼠放射复合伤愈合，对STING敲除小鼠无明显影响。**结论** RIFSP-2可经巨胞饮作用入胞并靶向抑制SCD1减少受照皮肤细胞多不饱和脂肪酸合成，进而影响STING激活介导的细胞死亡和组织损伤，在防治放射性皮肤损伤中具有良好临床应用价值。

通讯作者：张舒羽，E-mail：zhangshuyu@scu.edu.cn

恩格列净对辐射致小鼠造血系统辐射损伤的防护作用研究

霍启东，李文璇，王欣悦，岳同鹏，董银萍，李德冠

（中国医学科学院北京协和医学院放射医学研究所天津放射医学与分子核医学重点实验室）

摘要：目的 造血系统由骨髓造血干细胞和不同发育时期的造血细胞共同组成，受到辐射会发生损伤，功能受损，降低患者生活质量甚至危及生命。恩格列净是一种新型降糖药物，除了能够降低血糖外，还能够减轻组织氧化应激，降低机体炎症水平。为了探究恩格列净是否对小鼠造血系统辐射损伤有防护作用，采用体内外实验进行评估。**材料和方法** 体外检测恩格列净对骨髓细胞活力、细胞凋亡和细胞中活性氧含量的影响，体内检测恩格列净对小鼠外周血和造血干祖细胞数量的影响。**材料和方法** 体外无菌取小鼠骨髓细胞，分别加入不同浓度恩格列净溶液，最终给药浓度为250、500和1000 nmol/L。给药1小时后给予1Gy

X射线照射，随后将细胞培养18小时，使用生物发光试剂cell-titer检测骨髓细胞活力。收集细胞，分别加入DCFH-DA、Annexin V-FITC/PI利用流式细胞术检测骨髓细胞活性氧和细胞凋亡。体内实验中在恩格列净给药一小时后给予小鼠4Gy全身照射，9天后检测外周血及单侧股骨细胞计数，造血干祖细胞比例、数量及克隆形成能力。**结果** 细胞活力结果显示，与对照组相比，恩格列净对体外骨髓细胞无毒性；与照射组相比，250nmol/L和500nmol/L恩格列净处理的体外骨髓细胞活力显著增加。流式结果显示，与照射组相比，三个浓度的恩格列净都能使体外骨髓细胞中的活性氧水平显著降低，500 nmol/L的恩格列净还能够显著降低体外骨髓细胞凋亡。体内实验中，恩格列净可增加受照小鼠外周血及单侧股骨计数，提升造血干祖细胞数量、比例及克隆形成能力。**结论** 实验结果提示恩格列净能够减轻辐射引起的造血系统损伤，可能通过降低细胞活性氧水平，抑制细胞凋亡发挥作用。

关键词： 恩格列净；辐射防护；细胞活力；细胞凋亡；DNA损伤

通讯作者： 李德冠，E-mail：lideguan@irm-cams.ac.cn

槐角提取物抗辐射损伤的作用研究

李文璇，王欣悦，霍启东，岳同鹏，董银萍，董　辉，李德冠
（中国医学科学院 北京协和医学院放射医学研究所 天津放射医学与分子核医学重点实验室）

摘要：目的 为了筛选辐射损伤防护药物，我们观察了槐角提取物是否存在辐射损伤防护作用，并对其作用机制进行初步探讨。**方法** DPPH法体外测定槐角提取物的自由基清除能力。体外无菌分离小鼠骨髓细胞，给予不同浓度槐角提取物，孵育30 min后给予1 Gy X射线照射，18 h后通过CellTiter-Lumi™ 发光法检测细胞活力检测骨髓细胞的细胞活力。在照射前30 min给予骨髓细胞槐角提取物，照射剂量为1.0 Gy，培养18小时后，使用流式细胞术检测细胞凋亡以及活性氧水平。用小肠上皮细胞IEC-6，加入不同浓度槐角提取物，孵育30 min 后给予9 Gy X射线照射培养18 h后，通过cck-8检测IEC-6细胞活力。采用student t-text对数据进行统计学分析，$P<0.05$表示差异有统计学意义。**结果** 槐角提取物具有较强的自由基清除能力（$P<0.05$）。骨髓细胞活力检测结果显示，槐角提取物对骨髓细胞无毒性作用，照射后骨髓细胞活力显著下降（$P<0.05$），加入0.001 mg/ml的槐角提取物后细胞活力显著上升（$P<0.05$）；骨髓细胞流式检测发现，照射组凋亡率以及活性氧水平显著升高（$P<0.05$），0.001 mg/ml槐角+照射组的细胞凋亡和活性氧水平显著降低（$P<0.05$）；IEC-6细胞实验结果显示，槐角提取物对IEC-6细胞无毒性作用，照射后IEC-6的细胞活力显著降低（$P<0.05$），给予0.005和0.01 mg/ml的槐角提取物均可以明显提高受照IEC-6细胞的细胞活力（$P<0.05$）。**结论** 槐角提取物具有较强的抗氧化作用，可通过抑制细胞凋亡和氧化应激减轻辐射诱导的骨髓损伤，下一步将开展体内实验探讨辐射防护机制。

关键词： 电离辐射；槐角提取物；骨髓细胞；细胞凋亡；活性氧

通讯作者： 李德冠，E-mail：lideguan@irm-cams.ac.cn

免疫相关遗传背景影响粒子束-树状细胞联合疗法的转移抑制效果

马立秋[1,2]，隋　丽[1,2]，刘建成[1,2]，王巧娟[1,2]，汪　越[1,2]，文佳玲[1,2]，任旺财[1,2]，温尚民[1,2]，郭　刚[1,2]
（1. 中国原子能科学研究院，北京　102413；2. 国防科技工业抗辐照应用技术创新中心，北京　102413）

摘要： 尽管重离子束放疗对于局部肿瘤有着非常好的疗效，但是远端转移癌的发生通常是和预后不佳相关联的，因此转移抑制作为重要的课题亟待被解决。前期研究已经证实粒子束−树状细胞联合疗法具有较好的抗转移效力，但该联合疗法是否具有普适性还不是很清楚。为了查明联合疗法的普适特性，将癌细胞（骨肉肿LM8细胞，肺癌LLC细胞，大肠癌Colon-26细胞，大肠癌Colon-26MGS细胞）分别接种于同系小

鼠(C3H/He,C57BL/6J,BALB/c)的大腿皮下。癌细胞移植7天后,对生成的局部肿瘤施以碳重离子束(290 MeV/n, 6 cm SOBP, 2 Gy)照射。在照射后1.5天,经尾静脉将来源于上述3种不同品系小鼠骨髓来源的未成熟树状细胞分别注入各自品系小鼠体内。2周后对小鼠实施肺摘除术,随后对肺部转移瘤的数目进行统计。为了阐明联合疗法的抗转移机制,未成熟树状细胞和经碳重离子束(290 MeV/n, mono-energy, LET 70~80 kev/μm, 2 Gy或者6 Gy)照射后的癌细胞进行体外共培养后,利用流式细胞技术以$CD11c^+CD40^+$双阳性细胞群的占比为指标对树状细胞的活化水平进行分析。研究结果表明,通过实施粒子束放疗联合树状细胞免疫治疗,LM8以及LLC细胞的荷瘤小鼠(C3H/He和C57BL/6J)的肺部转移得到了显著的抑制,然而Colon-26和Colon】26MGS细胞的荷瘤小鼠(BALB/c)并没有显示出任何转移抑制效果。更进一步的机制研究验证了粒子束-树状细胞联合疗法的抗转移效果受宿主免疫相关遗传背景倾向(Th1或Th2)的影响,而非肿瘤种类或特性的影响。

Octavius 4D 1500 DVH重建模型的系统构建验证及基于该模型对三维γ法则的评估

马阳光, 刘乐乐, 裴运通, 顾 浩, 郭跃信
(郑州大学第一附属医院放射治疗部,郑州大学第一附属医院放疗一科)

摘要:目的 系统建立及评估VeriSoft DVH模型并基于此模型探讨三维γ法则在剂量验证评估方面应用的可靠性。**方法** 由测试及经验设定Octavius 4D模体相对电子密度为1.106。SSD=85 cm时,投照4、6、8、10、12、15、20、25、26 cm^2方形野,同时测量各射野百分深度剂量曲线(PDD)。在机架角为零、射野为10 cm2方野时投照200 MU,使用1500阵列测量并由Octavius 4D重建模体中心轴深度剂量曲线及1500阵列横向离轴曲线,由模体中心点重建剂量与计划平均剂量的平均偏差确定KDVH值。基于上述PDD、KDVH建立Octavius 4D 1500 DVH重建模型。而后验证模型准确性:分别使用固定(零度)及匀速旋转机架射野(16 cm^2方野,500 MU剂量)照射由固体水、Razor电离室、EBT3胶片、自制泡沫板构建的均质、非均质模体,由原计划信息、Octavius 4D测量结果、VeriSoft DVH重建结果验证DVH重建模型准确性。而后选取肺癌Monaco计划20例,用VersaHD投照并用Octavius 4D 1500测量。将Octavius 4D实测、计划剂量在10%阈值、3%/3 mm~1%/1 mm任意组合下做全局、局部三维γ分析。而后用DVH模型由Octavius 4D实测剂量与患者计划信息重建并评估各器官DVH偏差。最后将上述偏差同不同评估条件下的Octavius 4D三维γ通过率做相关性分析。**结果** Razor、EBT3测量及DVH重建剂量与计划剂量偏差小于4.46%,所建立DVH重建模型准确可靠。全局γ在3%/3 mm、3%/2 mm标准评估时,分别检测出0、3例剂量过大测试例。PTV、CTV、GTV平均剂量偏差较小。心脏V_{30} Gy、V_{40} Gy及患侧肺最大剂量平均偏差较大,分别为9.27%、14.25%、9.51%。心脏平均剂量偏差与所有γ评估通过率均呈极强相关,靶区中仅GTV平均剂量表现出中等强度相关性。**结论** DVH重建模型构建方法可行,所构建DVH重建模型准确可靠。基于Octavius 4D模体三维γ评估会使剂量验证出现假阴性,不能完全发现剂量偏差过大病例,建议将其与VeriSoft DVH重建模型共同用于剂量验证评估。

关键词: 剂量体积直方图重建模型; 剂量验证; 三维γ评估; 肺癌

通讯作者: 马阳光, E-mail: mayangguang_2002@126.com; 刘乐乐, E-mail: liule818@126.com; 裴运通, E-mail: 406173732@qq.com; 顾 浩, E-mail: howgood@126.com; 郭跃信, E-mail: guoyx0371@126.com

电离辐射诱导的长链非编码RNA CRYBG3通过细胞力学传导途径调控肺癌的生长与侵袭

舒银银，畅　磊
（苏州大学）

摘要：在肿瘤的发生、发展及侵袭转移过程中，肿瘤细胞通过力学感受器接收外界物理力学信号，并由细胞骨架系统产生相对应的细胞内部物理力学系统和信号传递系统构成的肿瘤微环境发挥着重要作用，目前，电离辐射的生物学效应是目前肿瘤放疗应用的基础，但是，电离辐射对肿瘤组织物理力学及微环境的影响仍不清楚，因此关于电离辐射效应和细胞力学机械转导通路是否存在联系亟待解决。

在本实验研究中，首先在组织水平上，通过原子力显微镜对X射线辐照后的肿瘤组织进行检测，发现电离辐射能够导致肿瘤组织的硬度降低，进一步发现电离辐射诱导产生的长链非编码RNA CRYBG3能够影响肿瘤组织的软硬度，在肿瘤组织内过表达lncRNA CRYBG3能够显著降低其硬度，而lncRNA CRYBG3的敲低则能增加肿瘤组织的硬度。与此同时，lncRNA CRYBG3能够显著抑制YAP/TAZ的活性，过表达lncRNA CRYBG3后，YAP进入细胞质的比例增加，YAP/TAZ的靶基因CTGF、CYR61和ANKRD1的mRNA表达水平明显降低，相反，lncRNA CRYBG3的敲低则能显著增强YAP/TAZ的转录活性；在细胞克隆形成实验以及在移植瘤模型中发现，敲低lncRNA CRYBG3能够显著增加肺癌细胞的克隆形成能力及侵袭转移，随后发lncRNA CRYBG3能够通过破坏细胞骨架抑制YAP/TAZ活性，实验发现lncRNA CRYBG3能够解聚F-actin，从而削弱YAP/TAZ转录活性，而通过使用聚合骨架药物来恢复细胞骨架结构，与此同时YAP/TAZ活性而得到修复。

本实验从机制上探究了电离辐射对肿瘤细胞力学传导信号通路的影响，电离辐射诱导的lncRNA CRYBG3可以通过干扰机械转导通路来抑制YAP/TAZ的转录活性，从而限制肺癌细胞的增殖、侵袭和转移。

关键词：机械转导；YAP/TAZ；长链非编码RNA；电离辐射

通讯作者：舒银银，E-mail：yinyin_shu@163.com

自组装全反式维甲酸纳米材料联合放疗的抗肿瘤策略及机制探究

孙　昊，宋慧娟，蔡　慧，梁　鑫，张馨予，王　彦，刘　强
（中国医学科学院放射医学研究所）

摘要：目的　临床中，辐射耐受的肿瘤类型放疗疗效往往较差。谷胱甘肽作为一种内源性抗氧化剂，是辐射耐受的一大原因。以消耗谷胱甘肽的方式减弱肿瘤的辐射耐受被认为是一种有效的策略。本课题以全反式维甲酸和肉桂醛为原料自主合成新型纳米材料PCPDA@ATRANPs，拟以消耗谷胱甘肽的方式增大辐射诱导的铁死亡，提高肿瘤的放疗疗效。**材料和方法**　1. RAFT聚合法合成肉桂醛前药并装载维甲酸。2. 核磁、质谱等验证材料组份及化学性质表征。3. 细胞克隆形成和EDU荧光实验测定各处理组细胞存活率及细胞增殖能力。4. 构建荷瘤鼠模型，对各处理组的小鼠肿瘤体积变化及生存率进行统计分析，其药代动力学及肿瘤靶向能力同步进行。5. 免疫组化实验检测肿瘤组织的增殖及铁死亡情况。6. 荧光探针试剂盒检测各组ROS及谷胱甘肽（GSH）含量变化。7. 透射电镜、BODIPY-C11、免疫印迹实验等检测细胞抗氧化及铁死亡标志物。8. CRISPR-Cas 9技术构建NRF2敲除细胞系，检测PDPCA@ATRA NPs对NRF2敲除前后细胞系的影响。9. 构建慢病毒回补NRF2细胞系，检测其对NRF2回补前后细胞系的影响。 10. 核质分离及荧光素酶报告基因系统验证其对NRF2转录作用的影响。11. 通过敲除及过表达铁死亡基因验证PDPCA@ATRA NPs的作用通路。**结果**　1-2. 结果表明合成的肉桂醛前药成分单一且成功装载维甲酸。3. PDPCA@ATRA NPs纳米材料联合辐射有效抑制了A549细胞的克隆形成能力及增殖能力。4. 与单照组相比，联合组肿瘤体积得到有效控制且生存率较高，药代动力学良好且具有较好的肿瘤靶向作用。5. 免

疫组化实验结果显示联合组中Ki67蛋白表达降低而4-羟基壬烯醛(4-HNE)表达升高。6. 联合组中检测出更高水平的ROS和更低水平的GSH。7. 联合组中观察到最为显著的铁死亡形态:线粒体膜密度增大,线粒体嵴减少等。联合组具有更高水平的脂质过氧化及丙二醛含量且NRF2, xCT及GPX4发生显著下调。8. 与野生A549细胞相比,NRF2敲除细胞系中PDPCA@ATRA NPs促进铁死亡及辐射增敏效果下降或消失。9. NRF2回补后PDPCA@ATRA NPs促进铁死亡水平及辐射增敏效果得到恢复。10. 核质分离及荧光素酶报告系统结果显示PDPCA@ATRA NPs有效抑制了NRF2的转录水平。11. PDPCA@ATRA NPs通过NRF2-GSH-GPX4信号通路发挥辐射增敏作用。**结论** PDPCA@ATRA NPs纳米材料能有效克服肿瘤的辐射抗性,从生物机制来说,通过对NRF2-GSH-GPX4信号通路的抑制促进辐射诱导铁死亡,其作为放疗增敏剂具有较大的开发潜力。

关键词:纳米材料; 放射治疗; 谷胱甘肽; 铁死亡; NRF2

通讯作者:孙 昊,E-mail: sunhaofs@163.com

超高剂量率质子束致差异细胞生物效应实验研究

汪 越, 隋 丽, 马立秋, 王巧娟, 刘建成, 温尚民

(中国原子能科学研究院国家原子能机构抗辐照应用技术创新中心, 北京 102413)

摘要: 目的 常规质子放疗以1Gy/min的剂量率辐照人体,并对径迹穿过的组织造成损伤,而近期研究表明超高剂量率(FLASH)质子放疗以数十Gy/s剂量率的质子高效杀伤癌细胞的同时,还能够相对保护正常组织。为探究该方法在癌症治疗中存在的技术优势,研究拟验证超高剂量率质子束致正常组织及癌细胞的不同生物效应并探究其机制。**材料和方法** 研究选取正常人肝细胞WRL63及人肝癌细胞HepG2为研究对象,剂量选择为肝癌治疗中常用的4Gy,设置对照组(NC)、常规剂量率辐射组(IR,0.8Gy/min)及超高剂量率辐射组(FLASH,20Gy/s),在照后24/48/72 h后检测细胞增殖、凋亡及周期等指标。为满足实验条件需求,研究基于中国原子能科学研究院100MeV强流质子回旋加速器上的中能质子辐射生物实验终端,基于适配函数法的理论模型设计加工了质子射程调制装置,通过大气法拉第筒和剂量胶片监测与诊断束流强度,最终获得了剂量率>20Gy/s的可控均匀中能质子束,建立了适用于超高剂量率质子束辐照细胞的实验装置及方法。**结果** 结果显示,在细胞增殖水平上对于正常细胞,FLASH组相较NC、IR组表现出显著的促生长作用;对于癌细胞,IR组相对NC组增殖减缓,而FLASH组完全抑制生长,增值率下降。在细胞凋亡水平上对于正常细胞,各辐照组均出现显著的凋亡率增高,但FLASH组显著低于IR组;而癌细胞组中FLASH组凋亡率远高于IR组。在细胞周期水平上两种细胞各组均存在显著差异。进一步分析表明,FLASH可导致正常细胞与癌细胞活性氧ROS水平差异,而ROS低剂量具有信号转导和促进增殖的作用,而中剂量时可以通过反应性氧中间物ROI诱导线粒体,激活神经毒素MPTP诱导细胞凋亡;还可以通过调控细胞周期检测点进一步调控细胞周期。因此ROS极有可能是实现质子FLASH正常组织保护效果的关键因素。**结论** 研究结果证实了质子FLASH对于正常组织的保护效果和癌细胞的杀伤效果,同时证实了研究所采用的射程调制等实验方法与实验平台的有效性。其生物效应机制可以由氧效应相关的ROS解释,通过氧效应产物与线粒体和信号通路相互作用结果,对细胞的周期、增殖及凋亡进行调控,具有深入挖掘研究的科学价值。

关键词:质子; FLASH; 细胞凋亡; 活性氧

通讯作者:隋 丽,E-mail: lisui@ciae.ac.cn

竹节参皂苷Ⅳa对小鼠辐射损伤的防护作用研究

王成芳，邵　帅，苟　巧
（中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所，辐射防护与核应急中国疾病预防控制中心重点实验室，北京　100088）

摘要：目的　研究竹节参皂苷Ⅳa（CHS-Ⅳa）对Balb/c小鼠辐射损伤的防护作用。**材料和方法**　SPF级雄性Balb/c小鼠，7周龄，体重19～21g，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司（SYXK（京）2019-0030），在中国疾病预防控制中心（SYXK（京）2019-0050）SPF级动物房IVC系统每笼5~6只饲养，动物福利伦理审查编号中疾控辐动［2021］004号。60只雄性Balb/c小鼠，随机分成假照射组（Sham）、照射对照组（IR）、阳性药+IR组（氨磷汀，购自于Tocris Bioscience公司，150 mg/kg，腹腔注射）和CHS-Ⅳa+IR组（CHS-Ⅳa购自于宝鸡市辰光生物科技有限公司，20、10、5 mg/kg，灌胃给药），每组10只，照射前给药1次，后经6.5 Gy 60Co γ射线全身照射，剂量率1.0 Gy/min，记录照射后30天内小鼠的存活情况，绘制存活曲线，计算各组小鼠存活率。48只雄性Balb/c小鼠，随机分成假照射组（Sham）、照射对照组（IR）、CHS-Ⅳa +IR组（CHS-Ⅳa 10 mg/kg），每组6只，照前1 h给药后经4.0 Gy 60Co γ射线照射，照射后第3、5天分别取外周血、胸腺、脾、肝脏，计算胸腺（脾）指数，检测外周血象变化、血浆中炎症因子IFN γ的浓度（IFN γ试剂盒购自于上海帛龙生物科技有限公司）、肝脏组织中超氧化物歧化酶SOD的活性和还原性谷胱甘肽GSH含量变化（检测试剂盒购自于北京索莱宝科技有限公司）。**结果**　Balb/c小鼠受6.5 Gy 60Co γ射线照射后，30天的存活率为50%，10 mg/kg的CHS-Ⅳa+IR组小鼠的存活率为100%，CHS-Ⅳa显著提高了受照小鼠的存活数量和时间。血细胞分析结果显示，照后第5天，CHS-Ⅳa+IR组的外周血中白细胞和淋巴细胞数量显著高于IR组（$P<0.05$）。CHS-Ⅳa+IR组的外周血浆中炎症因子IFN γ的浓度显著低于IR组（$P<0.01$）。小鼠受照后第3、5天的胸腺指数和脾指数显著降低，CHS-Ⅳa则显著提高了小鼠照后3天的胸腺指数（$P<0.05$），CHS-Ⅳa+IR组小鼠受照后第3天的脾指数，以及受照后第5天的胸腺指数和脾指数均有升高，但与IR组比较，并无统计学差异。小鼠受照后第3、5天肝脏中SOD活性和GSH含量均降低，CHS-Ⅳa+IR组的SOD活性和GSH含量则显著高于IR组（$P<0.05$）。**结论**　CHS-Ⅳa可显著提高受6.5 Gy γ射线照射小鼠的30天存活率，其抗辐射作用机制可能与其增强免疫功能，降低炎症反应，提高抗氧化酶SOD活性和GSH含量有关。

关键词：电离辐射；竹节参皂苷Ⅳa；辐射防护；抗氧化酶

通讯作者：苟　巧，E-mail：gouqiao@nirp.chinacdc.cn

P53介导的线粒体途径通过抑制BTG2促进氡诱导肺癌中的机制研究

王　进，徐　茜，李建祥
（苏州大学苏州医学院公共卫生学院）

摘要：目的　放射性氡及其子体被认为是继吸烟之后导致肺癌的第二位危险因素，也是不吸烟者中的第一位危险因素。肿瘤抑制基因TP53的变异能够通过不同的方式促进人类癌症的发生与发展，在几乎所有类型的人类癌症中都能观察到TP53基因的突变。本课题以TP53野生型人支气管上皮细胞（BEAS-2B细胞）构建长期氡暴露模型，探讨p53通过线粒体途径介导氡致肺癌的作用机制。**方法**　对不同浓度氡暴露的小鼠肺组织分别进行HE染色，观察肺部病理改变，提取DNA进行线粒体DNA拷贝数测定，提取蛋白进行p53蛋白表达测定；体外实验，构建TP53基因敲除和长期染氡致细胞恶性转化模型。通过软琼脂克隆形成实验分析各组细胞的克隆形成能力，采用EdU和CCK-8细胞增殖实验观察各组细胞的增殖能力，划痕实验和transwell实验分析各组细胞的迁移能力，通过流式细胞术分析各组细胞的线粒体膜电位改变，分离细胞质和线粒体蛋白测定促凋亡蛋白BAX、抗凋亡蛋白BCL2和Cyt-c的表达差异，同时提取DNA检测线粒体DNA拷贝数变异情况。对各组细胞进行高通量测序，利用R语言“Mfuzz”包，对各组细胞的表达数据进行转

录组表达模式聚类分析，以筛选TP53基因敲除和染氡处理协同作用的受影响基因。进一步验证关键基因表达，并通过敲低和过表达检测MOMP相关分子标志物BAX和Cyt-c以及细胞线粒体膜电位和细胞凋亡水平改变。**结果** HE染色结果显示，不同剂量染氡组小鼠肺组织中出现不同程度的病理性改变，且线粒体DNA拷贝数显著增加，p53蛋白的表达量降低，呈现剂量-效应关系。BEAS-2B细胞长期氡暴露后，TP53敲除和单独染氡组细胞凋亡率降低、软琼脂克隆形成率增加、细胞的增殖能力和迁移能力增强。线粒体功能也发生了相应变化，表现为BCL2蛋白表达增多，线粒体凋亡蛋白BAX的减少以及Cyt-c的增多，线粒体膜电位升高和线粒体DNA拷贝数增加。与Rn和TP53组相比，二者联合组线粒体的改变显著高于单独处理组。基于生物信息学分析，筛选与线粒体改变和TP53异常相关性最强的基因，即抗增殖肿瘤抑制基因BTG2。氡暴露能够显著降低细胞和肺组织BTG2蛋白表达。在TP53野生型细胞中敲低BTG2后线粒体中的BAX显著降低而Cyt-c显著升高，细胞凋亡水平降低，线粒体膜电位升高。过表达BTG2能够显著挽救TP53敲除引起的MOMP、线粒体膜电位和细胞凋亡的降低。**结论** TP53的下调促进了氡的致癌作用，而P53介导的线粒体途径中BTG2的下调在氡诱发的肺癌中起着重要作用。

关键词：氡暴露；TP53；恶性转化；线粒体膜电位；线粒体外膜通透性

通讯作者：王 进，E-mail：Jin.Wang93@outlook.com

基于RNA-Seq分析质子辐射与微重力对成骨细胞的差异表达基因

王巧娟，隋 丽，刘建成，马立秋，汪 越，温尚民

（1. 中国原子能科学研究院，北京 2102413；2. 国家原子能机构抗辐照应用技术创新中心，北京 2102413）

摘要：目的 我国载人航天已初步进入空间站时代，空间环境对航天员健康的影响越来越受到人们的重视。已有的航天数据表明，长期处于空间站环境会对航天员机体的多个生理系统产生影响，特别是会导致严重的骨质流失，增加航天员骨折风险。空间环境是辐射与微重力并存的环境，二者对骨质流失的影响已成为值得关注的科学问题，特别是空间站环境中剂量当量贡献较高的质子辐射，更是值得我们关注。**材料与方法** 以小鼠胚胎成骨细胞MC3T3-E1为研究对象，利用我院的HI-13串列加速器提供的22 MeV质子和三维回转仪模拟微重力环境，先模拟微重力培养细胞2天再质子照射4 Gy后，加入TRIzol，提取细胞总RNA，用二代高通量测序手段对对照组、辐射组、微重力组和微重力+辐射组的RNA进行转录组测序，以$P<0.05$和差异倍数大于2为筛选条件，筛选出三种处理方式的差异表达基因（DEGs），并利用GO富集和KEGG富集进行分析。**结果** 筛选出辐射组的DEGs有214个，微重力组的DEGs有237个，微重力+辐照组的DEGs有208个，其中模拟微重力+辐射组特异性差异表达基因有124个。GO分析结果表明，辐射与微重力条件下，在生长因子活性、Wnt蛋白结合、钙离子结合等功能发生了显著变化，提示空间环境下造成骨质流失可能与这些功能改变有关。KEGG分析结果表明，辐射与微重力特有的差异表达基因在PI3K-AKT和MAPK信号通路上明显富集，这表明辐射与微重力条件下可能通过激活PI3K-AKT和MAPK信号通路，从而影响MC3T3-E1细胞的增殖，这可能是微重力与辐射协同条件下，成骨细胞增殖抑制更明显的原因之一。**结论** 通过转录组测序分析，得到了MC3T3-E1细胞在质子辐射、模拟微重力、质子辐射+微重力三种处理条件下的DEGs，以及质子辐射与微重力条件下的特异性基因124个，并分析了这些差异表达基因在GO功能和KEGG信号通路的富集情况，为深入理解空间环境对骨质流失的影响提供了基础数据。

关键字：质子辐射；模拟微重力；MC3T3-E1细胞；骨质流失；差异表达基因

通讯作者：隋 丽，E-mail：lisui@ciae.ac.cn

UV radiation-induced peptides from frog skin confer protection against cutaneous photodamage through suppression of MAPK signaling

杨婷仪[1], 耿凤豪[1], 唐孝友[1,2], 于祖祥[1], 刘玉兰[3], 宋　斌[1], 张舒羽[1,2,3]
(1. 四川大学华西基础医学与法医学院, 成都　610041; 2. 西藏大学医学院, 拉萨　850002;
3. 核工业集团四一六医院(成都医学院第二附属医院), 成都　610051)

Abstract: Background: Skin exposure to ultraviolet light (UV) in daily life is a major dermatological problem since ultraviolet radiation intensity is markedly increasing. However, an excellent chemical peptide defense system resulted from a secular evolution in naked amphibian skin, which had directly experienced various stimulus factor. **OBJECTIVE** We sought to investigate the skin adaptability and resistance of dark-spotted frog (P. nigromaculatus) to the short–term ultraviolet B (UVB) exposure, identify the functional frog skin polypeptides and characterize their role in the protection against skin photodamage. **METHODS** We established an inducibility model of P. nigromaculatus by UVB irradiation with low dose fractionation (600 mJ/cm^2). Peptidomics screened the functional peptides in frog skin responding to UVB. The antioxidant ability of these biopeptides was first detected by ABTS scavenging test, and the photo-protection of skin cells, human keratinocytes (HaCaT) and fibroblasts (WS1) after 30 mJ/cm^2 UVB exposure were measured by ROS probe, CCK-8 and LDH release assay, Annexin V-FITC/PI apoptosis detection. The protective effect against photoaging (10 mJ/cm^2 irradiation twice) was also determined on human fibroblasts by SA-β-gal staining, the wound-healing promotion ability detected by in vitro cell scratch assay and in vivo with mice endowed 10 J/cm^2 irradiation. To reveal the action mechanism, peptide distribution was detected by FITC-labeled peptide probethe global gene changes in peptide-treated fibroblasts after irradiation were determined by RNA-seq. Furthermore, we made peptide modifications by TAT protein transduction domain (PTD) conjugation to peptides for the enhancement of the protective effects. **RESULTS** P. nigromaculatus skin was found a well tolerance for series of low dose UVB exposure. Frog skin was induced by UVB exposure and thus we identified a series of skin peptides, defined them as UV-induced frog skin peptides (UIFSPs). UIFSPs confirmed with ABTS free radicals scavenging activity. Moreover, UIFSPs conferred significant protection against UVB-induced oxidative stress, cytotoxicity and apoptosis. UIFSPs also alleviated skin photoaging and accelerated the wound healing. We found UIFSPs internalized into human fibroblasts in a time-dependent manner. Intriguingly, the protective effects of UIFSPs were further augmented by peptides coupled with TAT sequences. In vivo, TAT conjugated UIFSPs prevented mice skin photodamage and accelerated the wound healing post 10 J/cm2 UVB irradiation. Based on the RNA-seq analysis, we found that UIFSP treatment can power biosynthesis and negatively control small GTPase mediated signal transduction. We also used the MAPKs agonists co-cultured with fibroblasts pretreated with UIFSPs. The results revealed that UIFSP inhibited the UVB-induced activation of MAPK signaling in human fibroblasts, thereby prevented from skin photodamage. **CONCLUSION** Taken together, the findings of this study provide a basis for the study of the photoprotective effect of UIFSPs and suggest the practicable alternative that potential therapeutic agents can be mined from creature organisms characterized with biological strange ability.

Key words: ultraviolet (UV) radiation; ultraviolet B (UVB); photodamage; frog; skin

通讯作者：张舒羽，E-mail：zhangshuyu@scu.edu.cn

铀气溶胶暴露诱导细胞凋亡和线粒体功能障碍

张连东[1], 褚 健[1], 谭晓宏[1,2], 于立冰[1], 唐 伟[1]
（1. 中国工程物理研究院材料研究所, 四川 绵阳 621907; 2. 武汉理工大学安全科学与应急管理学院, 湖北 武汉 430070）

摘要: 随着军工、核电等行业的发展,导致铀的排放并沉积于环境中,铀材料或其生产副产品向环境的释放对人类健康以及整个环境安全构成严重威胁。而铀气溶胶对人类的毒性还远未被了解。已有研究表明,铀气溶胶具有很强的肺毒性,可导致肺纤维化、气管支气管淋巴结纤维化和肿瘤的发展。尽管如此,对其毒理学行为和与决定潜在有害结果的细胞机制的了解有限,而且阐明不足。在本研究中,我们研究了二氧化铀悬浮颗粒和铀酰离子对人肺细胞的氧化损伤和线粒体功能障碍的影响。二氧化铀暴露引起了细胞浓度依赖性的活力下降,二氧化铀的半抑制浓度(IC_{50})为302 $\mu mol \cdot L^{-1}$,比相同浓度的可溶性铀酰离子更有毒性。二氧化铀诱导浓度依赖性的细胞凋亡,导致细胞膜损伤,膜内的磷脂酰丝氨酸外翻到细胞表面。二氧化铀可进入细胞,引起线粒体损伤,线粒体活性氧的产生过多,线粒体膜电位去极化,氧化磷酸化的ATP产量降低,最终导致细胞凋亡和肺毒性。该研究确定了铀气溶胶诱导的细胞凋亡和线粒体功能障碍,为实际场景中的铀暴露的不良后果提供了新的见解。

关键词: 二氧化铀; 颗粒毒性; 细胞凋亡; 氧化损伤; 线粒体

电离辐射诱导的DNA损伤影响细胞可压缩性

张 艳, 付琪镔, 黄土琛, 刘 洋, 张子昂, 王宇成
（中山大学中法核工程与技术学院, 珠海 519082）

摘要: 目的 放射治疗是目前癌症治疗的主要手段之一。电离辐射诱导的DNA损伤是癌症治疗起效的关键机制。细胞力学特性影响细胞的运动、侵袭和转移以及基因组的完整性等重要的细胞功能与生理过程。辐射诱导的DNA损伤响应是如何影响细胞力学特性以及细胞力学特性又如何影响DNA损伤机制尚不明确,需要进一步探究。**材料和方法** 在这项研究中,首先通过自主建立的超声驻波微流芯片装置准确测量悬浮细胞的可压缩性,研究了电离辐射对细胞力学特性的影响。进一步研究了辐射诱导的DNA损伤响应对细胞力学性质影响。抑制辐射诱导的DNA损伤响应后测量细胞可压缩性变化。同时,通过改变细胞力学特性后测量辐射诱导的 DNA 损伤情况。最后,从细胞核和细胞质的角度研究辐射诱导细胞可压缩性变化过程中所涉及的机制。**结果** 电离辐射后细胞可压缩性显着增加,可压缩性变化随细胞类型和辐射剂量而不同。通过药物抑制细胞DNA损伤响应过程后,结果显示其抑制了辐射诱导的可压缩性的变化。相同的,药物 blebbistatin 降低细胞核上的应力后,细胞压缩系数增大,辐射诱导的 DNA 损伤也发生了降低。此外,实验表明,辐射降低了细胞核中H3K9me3染色强度,但对 F-肌动蛋白没有影响。**结论** 电离辐射诱导细胞发生细胞力学特性变化,DNA损伤响应。细胞可压缩性变化的原因之一是辐射诱导的DNA损伤响应引起的染色质去凝聚。研究揭示了X射线诱导的DNA损伤响应与癌细胞力学特性之间的相互影响机制,为深入理解电离辐射诱导的生物效应提供新的思路。

关键词: 电离辐射; 细胞可压缩性; DNA损伤响应; 染色质结构

通讯作者: 付琪镔,E-mail: fuqibin@mail.sysu.edu.cn

Orchestration of the balance in liver metabolism by c-Fos

Zhisen Zhang, Lei Chang
(State Key Laboratory of Radiation Medicine and Protection, School of Radiation Medicine and Protection (SRMP) of Soochow University)

Abstract: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a dietary disease associate with obesity and diabetes mellitus, which can develop into nonalcoholic steatohepatitis (NASH) without effective restrictions. However, there is no therapies available. People who favor high calories food and sugar water are more susceptible to NAFLD, which may due to the disequilibrium of lipid accumulation and metabolism. Many HCC patients express c-Fos, a component of the AP-1 transcription factor. Here, we found that when treated with high fat diet, liver specific c-Fos knock out could alleviate the body weight gain and lipid aggregation through inhibiting the sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) cleavage. SREBP-1c is a core transcription factor that regulate the lipid synthesis, and the cleaved SREBP-1c could translocate into nucleus to orchestrate the de novo lipogenesis (DNL) related genes such as Fasn, Scd-1. Our data identifies the component of AP-1 transcription factor, c-Fos as a key regulator upstream of lipid synthesis and provide a potential target for the NAFLD treatment. **METHODS** Animals: The c-Fos$^{fl/fl}$, Alb^{CreERT2} mice were maintained on a C57BL/6J background, and crossed to generate the c-Fos$^{\Delta Li}$ mice. Mice were housed in a specific pathogen-free facility, with normal or high fat diet (60% kCal/fat HFD,D12492, Research Diets) and water ad libitum, in a 12 hr light/12 hr dark cycle. If not indicated specifically, 6–8 weeks male mice was fed with HFD. **HISTOLOGY** H&E staining were performed using standard procedures. qRT-PCR/Immunoblot Analysis: qRT-PCR was performed on Life Technologies ViiA 7 with SYBR mix. Relative expression levels were calculated using the ΔCt-method. All the data were normalized to 36b4, a house keeping gene. Western Blot analysis was performed with standard protocols and following antibodies: β-Actin, Srebp1. **CONCLUSION** Liver specific knock out of c-Fos could prevent mice from non-alcoholic fatty liver disease through downregulating the cleavage of SREBP1 and its target genes that control the de novo lipogenesis.

Key words: NAFLD; c-Fos; SREBP-1c

Corresponding author: Lei Chang, E-mail: changlei@suda.edu.cn

电离辐射敏感的血清蛋白 IGFBP-3 的发现及其来源研究

危文俊[1], 白　皓[1,2], 王菊芳[1]
（1. 中国科学院近代物理研究所，兰州　730000；2. 中国科学院大学，北京　100049）

摘要：目的　电离辐射广泛存在于自然环境以及空间环境中，随着我国载人航天事业的高速发展，空间辐射对航天员身体健康的危害将成为一个不可避免的问题。此外，随着核能与核技术在军事、工业、医学和自然科学等领域的广泛应用，意外辐射事件对职业与非职业人群的健康影响也急需更有效的诊断和治疗措施。本研究的目的是筛选和鉴定对低 LET 和高 LET 电离辐射敏感的血清蛋白分子，并且对其中有较好的剂量-效应关系和随时间变化的稳定性的蛋白分子 IGFBP-3 的来源和产生机制进行探索。**材料和方法**　本研究利用蛋白抗体芯片对碳离子（高 LET）和 X 射线（低 LET）全身照射小鼠 24 h 后血清蛋白表达谱进行检测，从中筛选出 IGF-1、IGF-2、IGFBP-1 和 IGFBP-3 等候选生物标志物分子，并进一步利用 ELISA 法进行验证，发现关键蛋白分子 IGFBP-3。为进一步研究 IGFBP-3 的辐射敏感性，利用 ELISA 法对 X 射线、碳离子和质子辐照小鼠的血清 IGFBP-3 的剂量效应和时间效应进行验证。为研究辐照后血清中上升的 IGFBP-3

的来源，本研究采用 WB 和 IHC 两种方法分析了全身照射后各个主要器官组织的 IGFBP-3 蛋白水平，并进一步通过局部照射实验对肝脏 IGFBP-3 对电离辐射的响应进行研究。随后，本研究采用 WB、IF 和 ELISA 法对辐照后 3 种肝脏主要细胞及其培养基上清的 IGFBP-3 蛋白水平进行检测，对肝脏中主要响应于电离辐射而释放 IGFBP-3 的细胞进行鉴定。利用 GdCl3 诱导的小鼠 Kupffer 细胞耗竭/抑制模型，对上述推论进行验证。接下来，利用 siRNA-Trp53 和 P53 抑制剂，对辐照后 Kupffer 细胞中 P53 对 IGFBP-3 的调控作用进行探索。**结果** 在全身照射后，小鼠血清和肝脏 IGFBP-3 水平显著升高。主要器官组织中只有肝脏的 IGFBP-3 水平升高，且肝脏中 IGFBP-3 的分子量与血清中的 IGFBP-3 分子量一致，提示电离辐射暴露后血液中升高的 IGFBP-3 主要来自肝脏。对于局部照射，头部、胸部、腹部照射均可引起小鼠血清 IGFBP-3 水平显著上升，其中腹部照射升高水平高于全身照射，但头部和胸部照射引起血清 IGFBP-3 增幅小于腹部和全身照射。头部、胸部照射不能引起肝脏 IGFBP-3 水平上升，提示头部或胸部的组织或细胞也参与产生并分泌 IGFBP-3，但其分泌的 IGFBP-3 量小于肝脏。肝脏细胞系中只有 MKC 细胞（Kupffer 细胞）的 IGFBP-3 能响应于电离辐射而升高，并在其培养基上清中检测到。对小鼠 Kupffer 细胞进行抑制/耗竭能够抑制电离辐射引起的血清和肝脏 IGFBP-3 水平上升。抑制 P53 可抑制 MKC 细胞中 IGFBP-3 蛋白表达水平的上升。**结论** 本研究筛选并鉴定了一种对电离辐射敏感的血清蛋白 IGFBP-3，并发现辐射暴露后血清中升高的 IGFBP-3 主要来源于肝脏的 Kupffer 细胞，并且其上调受 P53 调控。血液中 IGFBP-3 的检测将为我们在电离辐射暴露情况下的分诊和剂量评估提供一种快速和微创的方法。

关键词：电离辐射；生物标志物；IGFBP-3；Kupffer 细胞；P53

通讯作者：危文俊，E-mail：weiwenjun@impcas.ac.cn；白 皓，E-mail：baihao@impcas.ac.cn；王菊芳，E-mail：jufangwang@impcas.ac.cn

T06-0002

铬酸盐生物暴露和遗传损伤间关系：免疫炎症的修饰和调节

胡贵平[1]，龙昌茂[2]，张亚丽[2]，洪诗怡[2]，苏泽康[2]，张桥鉴[2]，陈 丹[1]，郑 湃[2]，
王 丽[3]，王天成[4]，余善法[5]，贾 光[2]
（1. 北京航空航天大学医学科学与工程学院，北京 100191；2. 北京大学公共卫生学院，北京 100191；
3. 包头医学院公共卫生学院，内蒙古 包头 014040；4. 北京大学第三医院，北京 100191；
5. 河南医学高等专科学校，河南 郑州 451191）

摘要：目的 六价铬及其化合物是人类I类致癌物，可造成多种遗传损伤。然而，很少研究同时关注核基因组和线粒体基因在铬酸盐暴露中的可能变化。本研究拟从多层次探索铬酸盐生物暴露和遗传损伤间关系，并分析了免疫炎症改变的中介作用。**材料和方法** 按照课题组一贯的纳入排除标准，纳入铬酸盐职业接触动态队列（OCEDCC）中1249名受试者，包括639名铬酸盐暴露者和610名对照者；通过问卷调查收集研究对象的基本信息，采用全血铬作为内暴露标志物，检测反映染色体损伤的微核率、氧化DNA损伤标志物尿8-羟基-2′-脱氧鸟苷（8-OHdG）和线粒体DNA拷贝数以反映不同层次的遗传损伤。同时，测定血清高敏性C反应蛋白（CRP）和补体1q（C1q）含量以评价系统炎症水平。**结果** 对照组和暴露组的血铬平均浓度分别为1.26（1.19～1.32）和7.68（7.28～8.11）μg/L（$P<0.001$）。与对照组相比，铬酸盐接触组CRP和C1q水平显著下降，而外周血双核淋巴细胞微核率及尿8-OHdG水平均显著升高。接触组线粒体DNA拷贝数略高于对照组，但未发现统计学差异（$P>0.05$），散点图显示全血铬与遗传损伤之间可能存在非线性关联。多元线性回归发现，随血铬水平的升高，外周血双核淋巴细胞微核率和尿8-OHdG均随之升高，而线粒体DNA拷贝数只在血铬第四分位表现较大差异。同时，全血铬的升高可降低免疫炎症标志物（CRP和C1q）水平。相关分析发现，血铬与遗传损伤指标呈显著正相关，而与免疫炎症标志物呈显著负相关。中介分析发现，全血铬与MNF之间4.97%的关联是由血清CRP介导，全血铬与尿8-OHdG之间11.58%的关联是由血清C1q介

导。**结论** 六价铬暴露可能会引起多种类型的遗传损伤，这种损伤的发生可能受机体免疫炎症状态的影响。

关键词：铬酸盐；遗传损伤；免疫炎症；生物标志物；中介效应

基金项目：国家自然科学基金（U2004202）；国家自然科学基金（82003427）；国家自然科学基金（81872598）

通讯作者：贾　光，E-mail：jiaguangjia@bjmu.edu.cn

T06-0003

线粒体自噬在TDI致职业性哮喘炎性损伤中的作用

黎　韩，杜一洋，何　秀

（贵州医科大学公共卫生与健康学院，贵州 贵阳 550025）

摘要：目的 甲苯二异氰酸酯（TDI）是一种重要的化工有机合成中间体，在自然条件下就可以从油漆、广告牌、泡沫制品等工业产品中逸出，是诱发职业性哮喘的主要原因之一，已列入国家法定职业病目录。长期暴露在TDI环境中，机体的免疫功能会受到不同程度的影响，并导致肺部炎症、肺功能降低及肺纤维化损伤，然而目前仍缺乏有效治疗药物。线粒体自噬紊乱对促发炎症及纤维化反应起着重要的作用，而莲心碱（Lie）对线粒体自噬具有特异性抑制作用。因此本研究通过TDI暴露的BALB/c小鼠构建职业性哮喘动物模型，探究TDI所致的炎性损伤及线粒体自噬变化情况；应用线粒体自噬抑制剂Lie干预TDI暴露小鼠，明确线粒体自噬在TDI致BALB / c小鼠肺组织炎性损伤中的作用，为进一步研究TDI致职业性哮喘的免疫毒作用及干预机制提供科学依据。**方法** 将60只雄性BALB/c小鼠随机分为溶剂对照组（Ctrl）、TDI暴露组、TDI+ Lie低、中、高组（TDI+20、40、60 mg/kg Lie）及Lie干预组（60 mg/kg），每组10只。采用第1、8天在小鼠双侧耳背皮肤致敏，第15、18、21天超声雾化吸入的方法构建TDI暴露小鼠模型，采用每天腹腔注射相应剂量的Lie溶液进行干预，21天后对实验动物进行处死、取材。收集肺泡灌洗液（BALF），并用ELISA试剂盒检测BALF中IL-4、IL-5、IL-13及IL-25的含量；HE染色检测肺组织的炎症损伤情况；Western Blot检测肺组织中自噬相关蛋白Pink和Parkin的表达情况。**结果** 与Ctrl组相比，TDI组BALF中IL-4、IL-5、IL-13及IL-25的分泌明显增加，差异具有统计学意义（$P<0.01$）；HE染色显示TDI组肺组织炎性细胞浸润增多，气道黏膜皱褶及气道平滑肌增厚；Western Blot结果显示，与Ctrl组相比，TDI组Pink和Parkin蛋白的表达明显增加。与TDI组相比，TDI+ Lie组BALF中IL-4、IL-5、IL-13及IL-25的分泌量明显减少，差异具有统计学意义（$P<0.01$）；HE染色显示Lie能够减轻TDI导致的肺组织损伤；Western Blot结果显示，与TDI组相比，TDI+ Lie高剂量干预组Pink和Parkin蛋白表达明显降低，且差异具有统计学意义（$P<0.05$）。**结论** TDI通过线粒体自噬影响肺组织炎性损伤，抑制线粒体自噬能够有效缓解TDI导致的肺组织炎性损伤。

关键词：甲苯二异氰酸酯；炎性损伤；线粒体自噬；莲心碱

基金项目：贵州省中医药管理局项目（QZYY-2021-044）；国自然地区科学基金（82260635）；贵州医科大学校博士科研启动基金（校博合 J 字［2020］37号）；贵州医科大学国自然培育项目（20NSP060）

通讯作者：何　秀，E-mail：hex-gzmu@outlook.com

T06-0004

自噬介导铁死亡在苯诱导大鼠血液毒性中的作用

董双燕，杨晓涵，张晓霞，厉　铭，李　超，孟祥敬，贾　强

（山东省职业卫生与职业病防治研究院，山东第一医科大学（山东省医学科学院），山东 济南 250062）

摘要：目的 探讨自噬介导铁死亡在苯诱导大鼠血液毒性中的作用。**方法** 100只Wistar大鼠随机分为

4组：对照组、染苯组、染苯组+铁死亡抑制剂组和染苯组+自噬抑制剂组，每组20只。染苯组按照200 μl/100 g大鼠给药量于背部皮下注射苯油混合物，染毒剂量为800 mg/kg；对照组注射等量玉米油；抑制剂组按照400 μl/100g大鼠给药量进行腹腔注射，剂量为10 mg/kg，每周注射三次，连续注射4周。于第0、7、14、21、28天观察大鼠体重变化，并内眦静脉取血，用血细胞计数仪检测各组大鼠白细胞（WBC）数量、红细胞（RBC）数量和血红蛋白（Hgb）水平变化。染毒四周后，HE染色法观察各组大鼠股骨的病理学变化；铁离子试剂盒检测各组大鼠血清Fe^{2+}含量；丙二醛（MDA）试剂盒检测各组大鼠血清MDA含量；Western Blot法检测各组大鼠股骨骨髓单个核细胞（BMMNCs）铁死亡相关蛋白（TFRC、、ACSL4、GPX4、FTH1）和自噬相关蛋白（p62、LC3B）的表达水平。 **结果** 与对照组相比，染毒21天、28天后的模型组大鼠体重下降显著（$P<0.05$）。在第14天、第21天、第28天，染苯组大鼠外周血WBC数量较对照组显著下降（$P<0.05$），提示大鼠造血障碍毒性模型建立成功；股骨病理结果显示，与对照组比，染苯组大鼠造血细胞减少；与对照组比，染苯组大鼠血清中MDA水平、Fe^{2+}水平显著增高。Western Blot结果显示，与对照组相比，染苯组大鼠BMMNCs TFRC、ACSL4、LC3B蛋白表达水平显著增高，GPX4、p62、FTH1蛋白表达水平显著降低；与染苯组比，自噬抑制剂和铁死亡抑制剂组大鼠MDA、Fe^{2+}水平、TFRC、ACSL4、LC3B蛋白表达显著性降低，GPX4、FTH1、p62显著增高。 **结论** 苯可诱导大鼠造血障碍，自噬抑制剂3MA可抑制苯诱导的大鼠骨髓细胞铁死亡水平，减轻苯诱导的大鼠造血障碍；铁死亡抑制剂Fer-1也减轻了苯诱导的大鼠造血障碍。提示自噬介导的铁死亡在苯诱导大鼠血液毒性发生中有重要作用。

关键词：苯；铁死亡；自噬

通讯作者：贾 强，E-mail：15154128081@163.com

T06-0005

石化工人BTX暴露与脂代谢紊乱及相关疾病的关联性研究

李宗欣，崔 颖，吉鹏磊，廖其龙，张 岩，刘 岩，杜 睿，陈青飞，肖勇梅，邢秀梅
（中山大学公共卫生学院，广州 510080）

摘要：背景 苯、甲苯、二甲苯（BTX）作为典型的苯系物，广泛存在于生活和工作环境中。BTX均具有较强的亲脂性，研究发现较低剂量下即可对人体健康产生多种危害，包括脂代谢紊乱（disturbance of lipid metabolism，DLM）。脂代谢紊乱与糖尿病、心血管疾病以及脂肪肝等多种常见代谢性疾病密切相关。目前关于BTX与DLM的风险评估和剂量反应关系的研究证据仍十分有限，BTX混合物对DLM的总体效应和其中的高风险物质尚不清晰。**目的** 分析BTX与DLM相关指标之间的关联性与剂量反应关系；探究BTX混合暴露对DLM的总体效应并识别关键污染物。**方法：**2020年在广东省某大型石化公司开展流行病学调查，共收集1636名员工的基本信息包括血清总胆固醇（TC）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、腰围（WC）和腰臀比（WHR）等指标；收集2003-2020年该公司作业场所BTX浓度并计算BTX的累积暴露量（Cumulative Exposure Dose，CED，mg/m^3·年）；运用多重线性回归模型与logistic回归模型分析BTX CED与DLM相关指标的关联性；限制性立方样条（Restricted Cubic Spline，RCS）探索单污染物的剂量-反应曲线；应用加权分位数和（Weighted Quantile Sum，WQS）回归模型计算BTX混合物对DLM及相关指标的总体效应及关键污染物。**结果** 在校正苯、二甲苯和协变量后，甲苯累积暴露量与TC、LDL-C、WC、WHR水平成正相关；与血脂异常和中心型肥胖的比值比及95%可信区间[OR（95%CI）]分别为1.024（1.001，1.047）、1.030（1.001，1.061）；二甲苯累积暴露量与WC和WHR之间呈显著的U型非线性剂量-反应关系，二甲苯累积暴露量与脂肪肝的OR（95%CI）为1.025（1.006，1.044），且BMI对二甲苯累积暴露量与脂肪肝的相关性存在交互作用（Pinteraction<0.001）。WQS分析表明BTX混合暴露与血脂异常存在显著正向关联OR（95%CI）为1.272（1.004，1.611），且甲苯累积暴露量对总效应的贡献最大（80.3%）。**结论** 石化工人长期低浓度暴露于BTX混合物与血脂异常显著相关，提示BTX暴露可能导致脂代谢紊乱，其中甲苯可能是关键污染物。

关键词：苯系物；混合暴露；脂代谢紊乱；代谢性疾病
基金项目：国家自然科学基金面上项目（81973076）；国家自然科学基金面上项目（81973006）
通讯作者：邢秀梅，E-mail：xingxm3@mail.sysu.edu.cn

T06-0006

线粒体分裂抑制剂Mdivi-1减轻TDI诱导的人支气管上皮细胞NLRP3炎性小体活化

张晓霞，杨晓涵，董双燕，厉　铭，李　超，孟祥敬，贾　强
〔山东第一医科大学（山东省医学科学院），山东省职业卫生与职业病防治研究院，山东 济南　250062〕

摘要：目的　探讨线粒体过度分裂对甲苯二异氰酸酯（TDI）诱导人支气管上皮细胞（HBECs）NLRP3炎性小体激活的影响。**方法**　（1）制备TDI-人血清白蛋白（HSA）偶联物，分别采用Gutmann法和BCA蛋白定量法测定偶联物中TDI和HSA的水平。（2）以不同浓度TDI-HSA（0、40.00、80.00、和120.00 mg/L）处理HBECs 12 h，采用荧光探针法检测细胞中活性氧（ROS）水平，酶联免疫吸附法（ELISA）检测细胞上清液中IL-18和IL-β的水平，蛋白质印迹法（Western blot）检测NLRP3炎性小体相关蛋白（ASC、NLRP3、Caspase1）的表达水平以及线粒体分裂蛋白DRP1、融合相关蛋白MFN2、OPA1的表达水平。（3）采用线粒体分裂抑制剂Mdivi-1（10 μmol/L）预处理HBECs 2 h后，再用TDI−HSA（120.00 mg/L）染毒12 h，检测细胞中ROS及IL-18、IL-1β的水平，测定NLRP3炎性小体相关蛋白ASC、NLRP3、Caspase1，线粒体分裂蛋白DRP1，以及融合相关蛋白MFN2、OPA1的表达水平。**结果**　（1）合成的TDI-HSA偶联物中TDI和HSA质量浓度分别为22.80 μg/L、2 120.00 μg/L，摩尔比为4.19。（2）与对照组相比，随着TDI−HSA染毒剂量的增加，HBECs细胞中ROS水平和IL-18、IL-1β水平明显增加，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与对照组相比，中（80.00 mg/L）、高（120.00 mg/L）剂量TDI-HSA组NLRP3炎性小体相关蛋白ASC、NLRP3、Caspase1的表达水平增加（$P< 0.05$）。（3）与TDI-HSA染毒组（120.00 mg/L）相比，TDI+Mdivi-1组HBECs细胞中ROS和IL-18、IL-β水平明显降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；NLRP3炎性小体相关蛋白ASC、NLRP3、Caspase1的表达明显降低，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。**结论**　TDI可以剂量依赖性方式促进HBECs线粒体过度分裂及融合抑制，促进NLRP3炎性小体活化。采用线粒体分裂抑制剂Mdivi-1处理HBECs后，可显著抑制NLRP3炎性小体的活化，表明TDI诱导的线粒体过度分裂是NLRP3炎性小体活化的重要原因。

关键词：甲苯二异氰酸酯；人支气管上皮细胞；线粒体；线粒体分裂抑制剂；炎性小体
作者简介：张晓霞，E-mail：13785351295@163.com
通讯作者：贾　强，E-mail：jiaqiang5632@163.com

T06-0007

罗布麻宁（Apocynin）对二氧化硅诱导矽肺大鼠的干预作用

刘　芳，贾　强，厉　铭，宋招远，胡晨阳，薄存香
〔山东省职业卫生与职业病防治研究院，山东第一医科大学（山东省医学科学院），山东 济南　250062〕

摘要：目的　探讨NADPH氧化酶抑制剂罗布麻宁（Apocynin）对二氧化硅（SiO_2）诱导的大鼠矽肺模型的干预作用，并探讨其干预矽肺纤维化的可能作用机理，为治疗矽肺药物的开发提供新思路。**材料和方法**　24只6～8周SD雄性大鼠随机分为对照组、模型组、Apocynin干预组，每组8只。采用一次性非暴露式气管滴注1.0 mL 50 mg/mL SiO_2混悬液的方法建立大鼠矽肺模型，对照组大鼠予同样方法灌注等量生理盐水，

Apocynin干预组大鼠于SiO_2造模后第二天开始腹腔注射罗布麻宁 50 mg/kg，一周三次。期间，观察大鼠的一般状况，于28 d后处死大鼠。解剖大鼠肺组织，HE和Masson染色分别观察各组大鼠肺组织病理学变化；检测肺组织NADPH氧化酶（NOX）、活性氧（ROS）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性及丙二醛（MDA）水平；酶联免疫（Elisa）法测定肺组织肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、白细胞介素-1β（IL-1β）及IL-6表达；碱水解法检测羟脯氨酸（HYP）水平；Western Blot法检测肺组织转化生长因子β1（TGF-β1）、E-钙粘蛋白（E-cad）及α平滑肌肌动蛋白（α-SMA）的表达水平。**结果** SiO_2暴露28 d后，模型组大鼠体重降低，肺组织出现明显的炎性浸润及纤维化，肺系数、TNF-α、IL-1β、IL-6及TGF-β1水平均高与对照组（P<0.05）；与模型组比较，Apocynin干预后的肺组织损伤结构明显改善，肺系数、TNF-α、IL-1β、IL-6及TGF-β1水平明显降低，差异有统计学意义（P<0.05）；与模型组相比，Apocynin干预组可降低矽肺大鼠肺组织MDA、NOX及ROS水平，增加GSH-Px活性，差异有统计学意义（P<0.05）。此外，Apocynin亦可显著降低矽肺大鼠肺组织HYP和α-SMA表达，增加E-cad水平，差异均有统计学意义（P<0.05）。**结论** Apocynin可能通过降低MDA、NOX及ROS水平，增加抗氧化酶GSH-Px活性，减少肺组织TNF-α、IL-1β、IL-6及TGF-β1炎性因子释放，抑制矽肺大鼠胶原沉积和上皮间质转化（EMT）过程在矽肺大鼠体内发挥抗炎和抗纤维作用。

关键词：矽肺；纤维化；罗布麻宁；NADPH氧化酶；EMT

通讯作者：刘 芳，E-mail：liufang2020318@163.com

T06-0008

低剂量镉暴露对肝细胞氧化-抗氧化及铁死亡基因转录水平的影响

柯伟奕[1,2]，陈慧峰[1]，周林倩[1,3]，蔡丽娜[1,2]，张灵钰[1,3]，蔡雅诗[1,4]，闫雪华[1]，余日安[2]

（1. 广东省职业病防治院，广东 广州 510300；2. 广东药科大学公共卫生学院，广东 广州 510006；3. 广东药科大学公共卫生学院，广东 广州 510006；4. 南方医科大学公共卫生学院，广东 广州 510515）

摘要：目的 探讨低剂量镉长期暴露对肝细胞氧化-抗氧化水平及铁死亡相关基因转录水平的影响。**方法** 以人肝细胞L-02和人肝癌细胞HepG2为研究对象，用不同浓度$CdCl_2$处理L-02和HepG2细胞24 h，MTT法计算细胞存活率；用0.5 μmol/L和1.0 μmol/L $CdCl_2$处理细胞，每周染毒两次，染毒24小时，连续两周；采用WST-1和TBA法分别检测细胞SOD和MDA；采用实时荧光定量PCR法检测细胞中铁死亡相关基因谷胱甘肽过氧化物酶4（Glutathione peroxidase 4，GPX4）和溶质载体家族7成员11（Solute carrier family 7 member 11，SLC7A11）的mRNA表达水平；采用Pearson相关分析氧化应激水平与GPX4、SLC7A11 mRNA转录水平之间的相关性。**结果** MTT实验结果显示，给予不同浓度的$CdCl_2$处理L-02和HepG2细胞24 h后，不同组别L-02细胞活力无明显差异（P>0.05）；当$CdCl_2$浓度为2.0～14.0 μmol/L时，HepG2细胞活力随着$CdCl_2$浓度的增加而下降（P<0.05），根据实验结果，选择0.5 μmol/L和1.0 μmol/L的$CdCl_2$作为后续实验剂量。氧化应激结果表明，$CdCl_2$染毒L-02细胞1周后，与对照组相比，SOD活力和MDA水平间的差异不明显（P>0.05）；染毒2周后，SOD活力降低，1.0 μmol/L组细胞MDA水平升高（P<0.05）。$CdCl_2$染毒HepG2细胞1周后，SOD活力和MDA水平间无明显差异（P>0.05）；染毒2周后，SOD活力呈现下降的趋势，1.0 μmol/L组细胞MDA水平升高（P<0.05）。实时荧光定量PCR结果表明，$CdCl_2$染毒L-02细胞1周后，与对照组相比，铁死亡相关基因GPX4和SLC7A11 mRNA水平间无明显差异（P>0.05）；染毒2周后，GPX4和SLC7A11 mRNA水平呈现剂量依赖性下降（P<0.05）。$CdCl_2$染毒HepG2细胞1周后，与对照组相比，GPX4和SLC7A11 mRNA水平间无明显差异（P>0.05）；染毒2周后，0.5 μmol/L $CdCl_2$组细胞GPX4和SLC7A11 mRNA水平间无明显差异（P > 0.05），而1.0 μmol/L^{-1} $CdCl_2$组细胞GPX4和SLC7A11 mRNA水平显著降低（P<0.05）。相关分析结果显示，$CdCl_2$处理2周后，L-02细胞SOD活力、MDA水平与GPX4、SLC7A11 mRNA表达水平呈显著相关（P<0.05），而HepG2细胞只有MDA水平与GPX4、SLC7A11 mRNA转录水平呈显著相关（P<0.05）。**结论** 低剂量镉长期暴露可诱导肝细胞发生氧化

应激，引起铁死亡相关基因GPX4、SLC7A11转录水平的改变，肝细胞中GPX4、SLC7A11 mRNA表达下降与肝细胞氧化-抗氧化水平相关。研究提示铁死亡可能参与低剂量镉暴露诱导的肝细胞损伤。

关键词：镉；低剂量；铁死亡；氧化应激

通讯作者：闫雪华，E-mail：yanxh2004@126.com；余日安，E-mail：yuriantj@163.com

T06-0009

己酮可可碱调节S1PR1修复内皮糖萼在氯气致急性肺损伤中的作用

赵晨茜，刘　瑞，任晓婷，刘江正，于卫华，王　钊，吴　昊，海春旭，张晓迪
（空军军医大学军事预防医学系军事毒理学与防化医学教研室，陕西省自由基生物学与医学重点实验室，特殊作业环境危害评估与防治教育部重点实验室，陕西 西安　710032）

摘要：目的　氯气（Cl2）属窒息性毒剂，中毒事件频发，致急性肺损伤（ALI）甚至窒息死亡，缺乏特效救治药物。本研究探讨己酮可可碱（PTX）对Cl2损伤的干预作用，为药物研发和临床救治提供研究思路。**材料和方法**　氯气购自常州市京华气体有限公司，实验分为：（1）40只雄性SD大鼠随机分为5组，设为对照组、1 h组、3 h组、6 h组和12 h组，观察Cl2损伤时间效应关系；（2）40只雄性SD大鼠随机分为5组，设为对照组、Cl2暴露组、PTX（50 mg/kg）组、PTX（100 mg/kg）组、PTX（200 mg/kg）组，探讨PTX干预机制。（3）大鼠肺微血管内皮细胞（PMVEC）设为对照组、Cl_2暴露组（100ppm×15 min）、Cl_2暴露（100ppm×15 min）+PTX（40 nmol·L^{-1}）组、PTX（40nM）组。大鼠染毒剂量为400ppm×15 min，染毒后立即腹腔注射PTX干预给药，对照组给予同等条件下空气暴露和生理盐水注射。细胞染毒后继续培养1 h进行相关实验。采用透射电镜、H&E染色和免疫荧光观察病理与形态学变化；分子对接实验预测PTX和S1PR1的结合方式；实时定量PCR方法检测相关分子mRNA表达；蛋白质印迹法检测蛋白水平；酶联免疫吸附实验（ELISA）测定血清和肺泡灌洗液（BALF）中相关分子的含量，同时观察肺通透性的变化。**结果**　（1）Cl_2损伤后3 h，透射电镜下可见肺实变，肺组织炎细胞浸润；血清中eNOs含量显著降低、ET-1以及BALF中炎症因子含量显著增高（$P<0.05$）。（2）分子对接结果显示PTX可通过静电作用与S1PR1-RAT结合。与暴露组相比，50 mg/kg PTX剂量组肺实变减轻、红细胞和炎症细胞数量减少明显，糖萼主要构成部分得到修复；肺组织中S1PR1和HPA mRNA表达水平显著改善（$P<0.05$）；血清S1P含量以及S1PR1免疫荧光强度显著升高（$P<0.05$）；BALF中eNOs与糖萼的主要成分HS、CS和Syndecan-1含量改善，ET-1以及炎症因子含量显著降低（$P<0.05$）。此外，代表内皮功能的内皮细胞特异性分子-1（ESM-1）给药后显著降低，同时肺通透性显著改善（$P<0.05$）。（3）PTX 40 nmol·L^{-1}干预细胞后，S1PR1蛋白含量显著恢复，炎症因子显著降低，与体内实验结果一致。**结论：**PTX在体内可与S1PR1结合，通过调控炎症因子进而修复内皮糖萼，降低肺血管通透性。PTX对Cl_2引起的ALI有一定的干预作用。研究为Cl_2中毒特效药筛选提供了研究思路和理论依据。

关键词：氯气；急性肺损伤；己酮可可碱；S1PR1；糖萼

通讯作者：张晓迪，E-mail：zhangxiaodi@fmmu.edu.cn

T06-0010

DEP及关键有机组分靶向氧感受器介导的无氧代谢致心肌缺氧损伤的研究

张　泽，殷　昊，吴　柳，晋小婷，郑玉新
（青岛大学公共卫生学院，青岛　266071）

摘要：目的　柴油机性能优越，被广泛应用于道路交通、工程机械以及农用机械，其产生的大量柴油机尾气颗粒物（DEP）是空气污染的重要来源之一。DEP暴露的潜在人群庞大，是重要的环境与职业健康危害因

素。流行病学研究表明，DEP暴露与心血管疾病密切相关；DEP作用的关键心血管疾病类型、关键组分及特异性作用机制研究具有重要职业卫生意义。**材料和方法** 本研究基于CTDbase数据库，系统性评价筛选DEP及关键组分影响的关键心血管疾病类型。采用生物信息学分析、分子对接技术分析，结合构建细胞模型，明确了DEP作用关键心血管疾病的关键组分、作用靶点以及通路。**结果** 研究发现，DEP及关键组分与多种心血管疾病类型相关，缺血性心脏病（IHD）为重要关联的疾病类型；DEP组分中多环芳烃（PAH）组分与DEP扰动IHD通路一致性最强；HIF-1信号通路以及糖酵解通路是关联性最强的毒性作用通路。通过构建的心肌细胞缺血缺氧模型筛选发现，PAH中Bap组分明显上调HIF-1α蛋白水平以及无氧代谢水平，并促进心肌细胞缺氧损伤，与DEP的效应具有一致性。同时，相比其它PAH组分，Bap与HIF-1α蛋白关键调控酶——氧感受器PHD2与FIH1自由结合能最强。Bap通过结合PHD2与FIH1，抑制其羟基化能力，诱导HIF-1α蛋白稳定性以及水平增加。**结论** 综上所述，IHD是DEP暴露响应的关键心血管疾病类型，有机组分Bap是DEP引发IHD的关键组分，Bap通过结合氧感受器上调心肌细胞HIF-1α水平，调控无氧代谢增加，促进心肌细胞缺氧损伤。本研究为污染物作用心血管疾病的关键组分研究提供了重要途径，为DEP作用的关键心血管疾病类型、关键效应组分及特异性靶点与机制提供了重要科学数据。

关键词：柴油机尾气颗粒物；心肌缺氧损伤；HIF-1α；氧感受器；无氧代谢

通讯作者：晋小婷，E-mail：2019026545@qdu.edu.cn

T06-0011

miR-92a-3p/TOB1参与氢醌诱导人淋巴母细胞恶性转化增殖与周期的改变

宣 梅，唐焕文

（广东医科大学公共卫生学院，广东 东莞 523808）

摘要：目的 探讨miR-92a-3p通过靶向TOB1抑制细胞周期参与氢醌诱导TK6细胞恶性转化的作用与机制。**材料和方法** 在课题组前期构建连续19周暴露于氢醌（20 μmol·L^{-1}）可诱导TK6细胞发生恶性转化（HQ19细胞），对照组为PBS溶剂对照（PBS19细胞）的基础上，qRT-PCR检测PBS19、HQ19的miR-92a-3p表达情况，通过慢病毒技术构建稳定敲低miR-92a-3p恶性转化TK6细胞株，分组分别为阴性空载体对照组PBS19-miR-NC、HQ19-miR-NC，敲低组PBS19-anti-miR-92a-3p、HQ19-anti-miR-92a-3p。应用生物信息学方法分析miR-92a-3p与潜在靶基因TOB1的位点结合情况，qRT-PCR检测各组细胞的TOB1转录水平，以及Western blot检测TOB1的表达情况，构建含靶基因TOB1的3′-UTR野生型或突变型双荧光素酶报告基因质粒，检测miR-92a-3p与TOB1是否存在结合关系。CCK8检测各组细胞增殖率，流式细胞术检测各组的细胞凋亡率，细胞周期改变。Western blot检测MMP-9蛋白水平，周期相关蛋白CDK1、cyclinB1，以及PI3K/AKT信号通路的表达。**结果** HQ19细胞株的miR-92a-3p表达水平高于PBS19细胞株，Western blot显示敲低miR-92a-3p的细胞株TOB1蛋白表达显著上升。双荧光素酶报告基因实验显示，在转入miR-92a-3p mimic后，野生型TOB1 3′-UTR的荧光素酶活性较对照组明显降低，而突变型TOB1 3′-UTR无明显改变。CCK8结果显示，敲低miR-92a-3p组增殖活性明显降低。细胞凋亡率结果显示敲低miR-92a-3p后不影响细胞凋亡，但可增加氢醌诱导细胞凋亡的敏感性。细胞周期结果显示，敲低miR-92a-3p组细胞周期阻滞发生在G_2/M期。Western blot结果显示，细胞周期蛋白CDK1、cyclinB1上升，p-PI3K、pAKT蛋白表达显著下降。**结论** miR-92a-3p低表达可增加HQ19对HQ诱导细胞凋亡率的敏感性，miR-92a-3p通过TOB1使HQ19的细胞周期阻滞在G_2/M期，并激活PI3K/AKT信号通路。

关键词：氢醌；恶性转化；miR-92a-3p

作者简介：宣 梅，E-mail：876049747@qq.com

通讯作者：唐焕文，E-mail：thw@gdmu.edu.cn

T06-0012

循环系统炎症介导职业性炭黑暴露致肺癌发病风险增加的机制研究

张建中，李　鑫，程文婷，李燕婷，唐敬龙，郑玉新
（青岛大学公共卫生学院，青岛　266000）

摘要：目的　炭黑是一种以胶体颗粒形式存在的纯元素碳，广泛用作轮胎和其他橡胶制品的增强剂，以及印刷油墨、涂料和塑料颜料等行业。由于其粒径较小，因此在工业生产过程中易被人体吸入并沉积到肺部深处。炭黑使用广泛，其风险评估一直是备受关注的公共卫生问题。以往关于炭黑引起癌症的研究主要集中在动物实验水平，人群研究证据不足。基于此，研究团队利用在体-离体生物感受细胞模型（ex vivo biosensor assay）探究长期职业性炭黑颗粒物暴露后的系统环境增加癌症发生风险的潜在机制。**材料和方法**　以10名炭黑包装厂工人、9名柴油机试车工（阳性对照组）和10名当地水厂工人（阴性对照组）为研究对象。通过收集研究对象的血浆，对人原代支气管上皮细胞按一定比例随机盲法处理。通过微量样本多指标流式蛋白定量技术及液相色谱串联质谱对工人血清的炎性因子及尿液中多环芳烃代谢产物进行测量。基于高通量测序技术，利用生物信息学方法对工人血浆处理后原代支气管上皮细胞的功能扰动进行描述。通过蛋白互作网络分析发现系统环境改变引起的关键基因变化及其与系统环境因素之间的相关性。通过加权基因共表达网络分析（WGCNA）研究细胞整体基因表达水平的改变与系统环境因素之间的关联。基于流式细胞术对细胞周期改变及胞内ROS的产生进行体外验证。**结果**　基因集富集分析（GSEA）提示长期职业暴露于柴油机尾气和炭黑颗粒后的系统环境均可诱导上皮间充质转化、缺氧等癌症相关通路的激活。循环炎症细胞因子（MIP-1β、TNF-α、CRP）与炭黑暴露引起的关键基因（CDC20和PLK1）表达密切相关。此外，原癌基因CDC20表达水平与外周血中的细胞分裂阻滞微核终点之间有较强关联（rho=0.591，$P<0.001$）。与CB暴露（rho=0.65，$P<0.001$）及循环炎症因子（MIP-1β：rho=0.59，$P<0.05$）有较强相关性的基因模块其主要调控染色体分离、核分裂和细胞器分裂等细胞周期相关通路。流式细胞术结果显示炭黑组血浆处理后，原代支气管上皮细胞的G2/M期细胞比例显著升高。**结论**　CB暴露后的系统环境将通过循环炎症因子影响细胞周期。长期职业性炭黑暴露后系统环境会激活癌症相关通路，增加肺癌的风险并影响肺癌的预后。本研究为进一步了解职业性纳米颗粒吸入暴露对肺部的间接影响提供了依据。

关键词：炭黑；柴油机尾气颗粒；系统环境；肺癌

通讯作者：郑玉新，E-mail：yxzheng@qdu.edu.cn；唐敬龙，E-mail：tangjinglong@qdu.edu.cn

T06-0013

自噬障碍介导肺表面张力改变在聚六亚甲基胍（PHMG）吸入暴露致肺纤维化过程中的机制研究

李　鑫，张建中，唐敬龙，郑玉新
（青岛大学公共卫生学院，青岛　266000）

摘要：目的　聚六亚甲基胍（polyhexamethylene guanidine，PHMG）是一种具有广谱抗菌作用的高分子胍类化合物。近十年来，其呼吸毒性受到广泛关注。据报道，PHMG吸入暴露已致67万人罹患肺部疾病，1.4万人死亡。然而，PHMG在我国仍被广泛使用，年产量逐年增长，且其吸入暴露致肺部疾病的作用机制仍不明确。本研究旨在探究PHMG吸入暴露致肺纤维化的健康效应与毒性机制，为规范合理使用PHMG提供科学建议。**材料和方法**　模拟真实暴露环境，构建PHMG吸入暴露致肺纤维化的小鼠模型，使用肺功能和受限液滴表面张力测量法在体内及体外实时观察并定量评估PHMG引起的肺表面张力改变。使用10×单细胞测序分析PHMG吸入暴露对肺内细胞亚群和功能基因的扰动作用。使用免疫荧光及免疫组化等探

究自噬过程在PHMG致肺纤维化过程中的具体作用机制。**结果** 真实环境PHMG气溶胶吸入暴露引起小鼠肺部发生炎症反应、胶原沉积及肺纤维化。肺功能检测发现，PHMG吸入暴露引起呼吸系统弹性阻力升高，呼吸系统顺应性等指标降低，表明在PHMG致肺纤维过程中，肺表面张力持续性升高。受限液滴表面张力测量法的体外研究进一步证实，在真实环境的暴露浓度下，PHMG诱导肺表面张力升高，这与动物病理结果中观察到的肺泡萎缩塌陷具有良好的相关性，提示持续升高的表面张力可能是引起肺纤维化的重要诱因。10×单细胞测序结合流式验证发现PHMG吸入暴露引起肺内上皮细胞数量及功能基因集出现明显改变。透射电镜观察肺组织及小鼠原代II型肺泡上皮细胞发现PHMG暴露引起板层小体肿胀，磷脂及肺表面活性蛋白分泌减少。10×单细胞测序结合高通量测序发现PHMG暴露引起肺组织及Ⅱ型肺泡上皮细胞自噬相关通路及自噬基因集紊乱，免疫荧光及免疫组化等验证发现PHMG引起Lc3b-Ⅱ及P62表达升高，表明PHMG暴露引起自噬流阻断。进一步检测溶酶体发现，PHMG暴露通过质子效应导致Ⅱ型肺泡上皮细胞溶酶体pH值降低及损伤，影响自噬小体与溶酶体的融合，引起自噬障碍。**结论** 真实环境PHMG吸入暴露引起Ⅱ型肺泡上皮细胞自噬障碍，进而引起板层小体肿胀及肺表面张力升高，最终诱发肺纤维化。本研究首次从表面张力的角度，探究PHMG吸入暴露致肺纤维化的分子机制，为肺纤维化的研究提供了新的方向及干预手段。

关键词：PHMG；肺纤维化；自噬障碍；表面张力

通讯作者：郑玉新，E-mail：yxzheng@qdu.edu.cn；唐敬龙，E-mail：tangjinglong@qdu.edu.cn

T06-0014

N，N-二甲基甲酰胺通过激活NLRP3炎症小体导致小鼠急性肝损伤

张秀凝，曾 涛

（山东大学公共卫生学院卫生毒理与营养学系，山东 济南 250012）

摘要：目的 研究NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3（NLRP3）炎症小体在N，N-二甲基甲酰胺（DMF）导致的小鼠急性肝损伤中的作用。**材料和方法** C57BL/6小鼠单次经口灌胃DMF诱导小鼠急性DMF肝损伤，评价DMF急性暴露后不同时间点小鼠肝损伤情况和NLRP3炎性小体关键蛋白的改变；并进一步比较野生型小鼠和NLRP3$^{-/-}$小鼠DMF染毒后肝损伤的差异。采用全自动生化仪测定小鼠血清中ALT和AST活性；采用HE染色观察肝组织病理学改变；采用Elisa试剂盒检测血清中炎性因子白介素-1β（IL-1β）、白介素-6（IL-6）和肿瘤坏死因子α（TNF-α）的水平；采用Western Blot测定NF-κB和NLRP3炎症信号通路关键蛋白的表达水平。**结果** 与对照组小鼠相比，DMF暴露小鼠血清AST/ALT水平在12h和24h时间点无明显变化（$P>0.05$），但48 h时间点血清ALT和AST活性均显著增加（$P<0.05$）。HE染色结果显示，DMF暴露12 h肝组织开始出现轻度炎性浸润，在48 h可见肝细胞局灶性坏死。ELISA测定结果显示，与对照组相比，DMF暴露小鼠血清中TNF-α和IL-6水平显著升高，在48 h组达到最高（$P<0.05$），而血清IL-1β仅在48 h组显著增加（$P<0.05$）。此外，DMF暴露12h就能够引起小鼠肝脏NF-κB和NLRP3信号通路活化，表现IkBα和NF-κB磷酸化水平、NLRP3蛋白水平、以及Caspase-1和IL-1β裂解水平显著增加。野生型和NLRP3$^{-/-}$小鼠DMF急性染毒48 h模型结果显示，与野生型小鼠相比，NLRP3敲除能够轻度改善DMF暴露后引起的小鼠血清中ALT和AST活性和炎性因子TNF-α、IL-6和IL-1β水平的增加（$P<0.05$）；HE染色可以观察到肝组织炎性浸润水平显著减轻；Western Blot结果显示NLRP3敲除能够显著减弱DMF暴露引起炎性信号通路的活化，表现为IkBα磷酸化水平、iNOS和IL-1β等蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）。**结论** NLRP3炎症小体激活参与了DMF诱导的小鼠急性肝损伤的发病。

关键词：N，N-二甲基甲酰胺；肝损伤；NLRP3；NF-κB

通讯作者：曾 涛，E-mail：zengtao@sdu.edu.cn

T06-0015

三甲基氯化锡致小鼠海马线粒体损伤和神经元细胞凋亡的影响机制

王 莉[1,2], 王 月[1], 吴思雅[1], 凡 钦[1], 刘振中[1]
（1. 川北医学院公共卫生学院，四川 南充 637000；2. 川北医学院药学院，四川 南充 637000）

摘要：目的 探讨三甲基氯化锡（TMT）对小鼠海马线粒体损伤及神经元细胞凋亡的影响及潜在作用机制。**方法** 将昆明种雄性小鼠随机分组后染毒，建立不同剂量和不同染毒时间的动物模型。对剂量组小鼠进行水迷宫实验观察TMT致小鼠学习记忆功能障碍情况；提取受试小鼠海马组织，对其进行蛋白质组学分析筛选差异蛋白，选取与线粒体密切相关的SUCLG1、ND5、NDUFA4L2及COA7进行重点研究，采用PCR及Western blot检测其mRNA及蛋白表达的变化；并用透射电镜观察海马组织线粒体形态；根据蛋白组学结果对ATG5及Bax进行了检测，并通过TUNEL染色观察染毒小鼠海马神经元的凋亡情况。**结果** 与对照组相比，各染毒组小鼠在水迷宫中显示的逃避潜伏期延长，1.00 mg/kg、4.64 mg/kg TMT组逃避潜伏期有显著差异（$P<0.01$ or $P<0.001$），而2.15mg/kg TMT组其逃避潜伏期也有所延长，但无显著差异（$P>0.05$）；根据蛋白组学分析SUCLG1、ND5、NDUFA4L2、COA7、ATG5、Bax表达有明显差异；PCR结果显示，小鼠海马SUCLG1、COA7 mRNA水平显著上调（$P<0.01$），NDUFA4L2、ND5 mRNA水平显著下调（$P<0.001$）；ATG5 mRNA表达水平随TMT染毒剂量的增加及染毒时间的延长而逐渐降低（$P<0.05$ or $P<0.001$），Bax mRNA在各剂量组及时间组的表达水平均显著高于对照组（$P<0.01$ or $P<0.001$）；Western blot结果显示，SUCLG1、COA7蛋白表达升高（$P<0.001$），NDUFA4L2、ND5蛋白表达水平降低（$P<0.01$ or $P<0.001$）；ATG5蛋白表达量均显著降低（$P<0.001$），而Bax蛋白表达在各剂量组均显著升高（$P<0.001$）；透射电镜显示TMT致使小鼠海马线粒体肿胀、结构缺陷；TUNEL染色结果显示，随着剂量越高阳性细胞数量越多且呈明显的棕褐色，凋亡细胞增加。**结论** TMT可致小鼠海马受损造成认知功能障碍，蛋白组学筛选出SUCLG1、COA7、NDUFA4L2、ND5与小鼠海马神经元线粒体损伤有密切关系以及ATG5和Bax与神经元凋亡紧密相连，本研究也进一步证明了其线粒体损伤和神经元凋亡与TMT染毒剂量和时间有显著的关系。因此TMT的神经毒性机制可能与海马神经元线粒体损伤以及神经元凋亡有一定的关系。

关键词：TMT；海马神经元；线粒体损伤；细胞凋亡；SUCLG1；ND5；NDUFA4L2；COA7；ATG5；Bax

基金项目：四川省科技厅应用基础项目（2020YJ0382）；四川省卫健委应用普及项目（19PJ199）

通讯作者：刘振中，E-mail：liuzhenzhong2004@163.com

T06-0017

自噬在磷酸三苯酯所致的免疫毒性中的作用及机制研究

李 杏，张 威，李天兰，曹静怡，李 丽，石 明
（广东医科大学公共卫生学院，广东 东莞 523808）

摘要：目的 从体内实验和体外实验探讨自噬在磷酸三苯酯（Triphenyl phosphate，TPHP）所致的免疫毒性中的作用及其机制。**方法** 体外实验选择Raw264.7巨噬细胞作为研究对象，用不同剂量（0、12.5、25、50、100、200和400 μmol·L^{-1}）的TPHP处理24 h后，采用光学显微镜观察细胞的形态变化，采用CCK-8法检测细胞活力，采用LDH法检测细胞LDH释放情况；通过透射电镜观察Raw264.7中的自噬小体和自噬溶酶体；采用免疫荧光法和共聚焦显微镜观察细胞中LC3B的表达情况；qRT-PCR定量分析自噬相关基因表达水平；Western Blot法检测自噬相关蛋白的表达情况以及检测自噬通路PI3K/AKT/mTOR相关蛋白的磷酸化水平。体内实验选择4周龄BALB/c小鼠，经不同浓度（0、1、10和150 mg/kg BW）的TPHP连续灌胃60 d。每天观察小鼠的状态并记录体重。最终一次灌胃结束后处死小鼠，收集脾脏，称重并计算脏器系数，

用流式细胞术检测脾脏中淋巴细胞的数目和比例，HE染色观察脾脏的病理变化，采用qRT-PCR定量分析脾脏中自噬相关基因表达水平；Western Blot法检测脾脏中自噬相关蛋白的表达情况。 **结果** 1）体外实验结果发现，随着TPHP剂量增加，Raw264.7细胞的细胞活力呈现剂量依赖性降低，且Raw264.7细胞释放的LDH水平随暴露剂量升高呈剂量依赖性升高，说明TPHP对Raw264.7细胞具有明显的细胞毒性作用。采用透射电镜可观察到100 μmol·L^{-1}的TPHP会导致细胞中自噬溶酶体增加。 TPHP会导致Raw264.7巨噬细胞内自噬相关基因LC3B、Beclin1、ATG5、ATG7、P62的表达水平呈现剂量依赖性升高，同时LC3B、ATG5、P62蛋白的表达情况也呈现类似的趋势，但Beclin1没有明显的变化。免疫荧光结果也发现LC3B表达呈现剂量依赖性的增加。Western Blot结果显示p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT呈现下降的趋势，p-mTOR/m-TOR呈现升高的趋势。2）体内实验结果发现，与对照组相比，TPHP暴露会导致脾脏脏器系数降低。但HE染色结果显示脾脏没有明显的病理改变。尽管流式细胞术检测显示脾脏中$CD3^+$ T细胞、$CD8^+$ T细胞和CD19B细胞均没有明显的变化，但是qRT-PCR结果发现TPHP处理后，脾脏组织中的自噬相关相关基因LC3B、ATG5和ATG7的表达明显增加，而Beclin1和P62没有明显的变化。Western Blot结果与PCR检测一致。**结论** TPHP会导致Raw 264.7巨噬细胞和脾脏发生自噬，且自噬相关通路PI3K/Akt/mTOR通路被激活，这表明TPHP可能通过PI3K/Akt/mTOR通路促进了Raw 264.7巨噬细胞发生自噬。

关键词： 磷酸三苯酯；自噬；免疫毒性；Raw264.7巨噬细胞；脾脏

基金项目：国家自然科学基金（82103891）；广东省自然科学基金（2020A1515010521）；广东医科大学学科建设项目（4SG22003G）

通讯作者：石 明，E-mail：shiming@gdmu.edu.cn

T06-0018

中性粒细胞脱颗粒在铅引起早期心肌损伤中的作用研究

农骐郢[1]，黄红梅[1]，吴燕君[1,2]，赵 娜[1]，黄永顺[1]

（1. 广东省职业病防治院，广东省职业病防治重点实验室，广东 广州 510300；2. 南方医科大学公共卫生学院，广东 广州 510515）

摘要：目的 探索中性粒细胞脱颗粒在铅引起早期心肌损伤中的作用及机理。**材料与方法** 收集铅冶炼厂工人的全血和基本资料。建立铅暴露组小鼠模型，暴露14天和28天后收集血清。从野生型小鼠骨髓中提取中性粒细胞，分别使用生理盐水和不同浓度醋酸铅溶液刺激中性粒细胞1 h和2 h。使用电感耦合等离子体质谱仪检测工人血铅水平和小鼠血细胞铅浓度。酶联免疫吸附法和全自动生化仪检测各组血清中的中性粒细胞脱颗粒标志物：髓过氧化物酶（Myeloperoxidase，MPO）、中性粒细胞弹性蛋白酶（Neutrophil elastase，NE）水平；以及血清早期心肌损伤标志物：肌钙蛋白Ⅰ（Cardiac troponin Ⅰ，CTn Ⅰ）、心肌酶水平。免疫印迹法检测胞内MPO及其相关通路蛋白的表达。H&E染色和免疫组化观察小鼠心脏组织病理变化和cTn I表达水平。**结果** （1）人群方面：按照血铅水平将其分成3组：<100 μg/L（*N*=28）、100～300 μg/L（*N*=29）、>300 μg/L（*N*=25）。结果发现与血铅浓度小于100 μg/L的工人相比，血铅浓度大于300 μg/L的工人血浆中MPO和NE水平升高（$P<0.001$，$P<0.05$），提示铅暴露使得工人血清中的中性粒细胞脱颗粒标志物（MPO，NE）水平升高。（2）动物实验方面：在体内暴露28天后，与对照组相比，10 mg/kg铅暴露组小鼠血清中MPO（182.6 ng/mL vs 265.3 ng/mL）和NE（462.1 ng/mL vs 640.6 ng/mL）水平明显升高（P均<0.05）。此外，铅暴露显著上调血清cTn I（29.1 pg/mL vs 324.2 pg/mL）、肌酸激酶同工酶（357.85 U/L vs 609.4 U/L）水平，在暴露14天和28天后，小鼠血清中cTn I与NE水平均呈现正相关关系（$P<0.001$，$P<0.05$）。免疫组化显示与对照组相比，铅暴露组小鼠心脏组织内cTn Ⅰ表达减少，心肌细胞受损，cTn Ⅰ释放到外周血中，导致血清cTn Ⅰ水平升高。H&E病理切片结果显示铅暴露尚未引起病理变化，这提示铅暴露会带来早期心肌损伤的风险，且MPO和NE可能在铅引起早期心肌损伤中起作用。进一步对铅暴露小鼠使

用MPO抑制剂(4-ABAH)和NE抑制剂(sivelestat sodium hydrate)治疗,发现10 mg/kg铅暴露组小鼠与对照组相比,血清中cTnⅠ水平增加(34.75 pg/mL vs 44.70 pg/mL),而经过治疗后,MPO抑制剂4-ABAH(14.32 pg/mL vs 44.70 pg/mL)和NE抑制剂sivelestat治疗组(18.89 pg/mL vs 44.70 pg/mL)的cTnⅠ水平与铅暴露组相比显著降低(P均<0.05)。(3)体外细胞实验中,铅可刺激中性粒细胞上清液中MPO和NE水平升高,胞内MPO表达量降低,ERK 1/2信号及其磷酸化信号蛋白表达升高。**结论** 铅通过ERK 1/2信号通路诱导中性粒细胞脱颗粒上调血清cTnⅠ水平,增加早期的心肌损伤风险。

关键词: 铅; 中性粒细胞脱颗粒; 心肌损伤; 职业性铅暴露

作者简介: 农骐郢,E-mail:qiyingnong@outlook.com

通讯作者: 黄永顺,E-mail:ysh_huang@126.com

T06-0020

miR-133a对矽肺大鼠肺纤维化的干预作用

陈彦达, 张华仕, 谢　英, 陈志军, 沙　焱

摘要: 目的 探讨miR-133a在矽肺大鼠纤维化中的干预作用。**方法** 利用targetscan查询micro133a的获得调节的基因,进行双荧光素酶报告系统验证。将48只健康雄性SD大鼠随机分为4组:空白对照组,矽肺模型组组,agomirNC无关序列对照组, agomiR-133a干预组,每组各12只。对照组大鼠通过气管滴注1 mL生理盐水。其余各组通过气管滴注1 mL SiO_2混悬液(100 mg/mL)。miR-133a干预组大鼠在造模后第29、32、35、38、41、44、47天经尾静脉注射3 nmol agomir-133a。无关序列对照组大鼠在相同时间经尾静脉注射agomirNC 30 nmol。造模后75天统一麻醉处死大鼠,大鼠肺组织用HE染色观察病理结构和Masson染色观察纤维化程度,,计算各组大鼠肺脏器系数,检测肺组织中羟脯氨酸(HYP)含量。western检测各组大鼠FGFR1,E-cadherin表达水平。**结果** 生物信息学筛选发现micro133a能够调节成纤维细胞生长因子受体1(fibroblast growth factor receport,FGFR1),利用双荧光素酶系统确认了miR−133a对FGFR1的调节作用。肺组织病理学结果显示,对照组大鼠肺泡壁和肺泡间隔完整,无炎性细胞,无纤维化增生;模型组和agomirNC组大鼠肺泡结构破坏,肺泡壁增厚,大量炎性细胞浸润,大量胶原纤维增生和细胞性结。agomiR-133a干预组大鼠肺泡和肺泡壁结构明显改善,轻度纤维化,少量胶原纤维,细胞性结节数量明显减少。与空白对照组相比,模型组、agomirNC组和agomir-133a干预组大鼠肺脏器系数、肺组织中HYP含量增加,与模型组及agomirNC组比较,agomir-133a干预组大鼠肺脏器系数、肺组织中HYP含量均明显降低,差异均有统计学意义(P<0.01) miR-133a能降低矽肺大鼠肺组织中FGFR1表达,增加E-cadherin表达,减轻矽肺大鼠的EMT过程。**结论**:通过尾静脉注射agomiR-133a的方法,可以减轻矽肺大鼠的纤维化。

关键词: miR-133a;大鼠; 矽肺; 纤维化; FGFR1

基金项目: 广东省自然科学基金(2018A0303130226);广东省自然科学基金(2019A1515011679);深圳市科技计划(JCYJ20180306170245327);深圳市科技计划(JCYJ20190808175009522);中国煤矿尘肺病防治基金(201906J030)

T06-0021

职业性慢性镉暴露新型肾损伤生物标志物DKK3的筛选及其SP3调控机制研究

邓耀棠[1], 欧嘉怡[1,2], 周家圳[1], 赵志强[1], 李国樑[1], 李新华[3], 陈　平[3], 刘莉莉[1]

(1. 广东省职业病防治院, 广州　510300; 2. 广州医科大学公共卫生学院, 广州　511436; 3. 广东省韶关市职业病防治院, 韶关　512026)

摘要: 目的 探索尿DKK3蛋白能否作为职业性慢性镉暴露肾损伤敏感的生物标志物,并从其上游SP3

蛋白调控探讨镉暴露后尿DKK3蛋白水平升高的机制。**方法** 选取广东某金属冶炼厂329名镉接触工人为研究对象，收集其职业史、人口学特征资料及生物学样本，ICP-MS检测尿镉水平，ELISA检测尿DKK3以及经典肾损伤生物标志物水平，探索镉内暴露水平与尿DKK3蛋白间的关系并与尿β_2-MG等蛋白水平进行比较；构建亚慢性镉暴露大鼠肾损伤动物模型，同样检测肾脏和尿液镉水平，以及尿DKK3等蛋白水平，进一步验证职业人群的初筛结果；利用HK-2染镉细胞模型，采用ChIP-seq、RT-qPCR和Western blotting探索镉暴露后DKK3蛋白表达异常的分子机制。**结果** 接镉工人中，尿DKK3、β_2-MG、KIM-1和NGAL蛋白与尿镉水平均呈现正相关关系（RDKK3=0.15，Rβ_2-MG=0.09，RKIM-1=0.03，RNGAL=0.05）。将工人尿镉水平进行四分位分组后，Q4组的尿DKK3和NGAL水平与Q1组间的差异具有统计学意义（P<0.05），而尿β_2-MG和KIM-1无统计学差异（P>0.05）。在镉致肾小管早期损伤的动物模型中，同样地，高暴露组大鼠尿DKK3和NGAL水平与对照组间的差异有统计学意义（P<0.01或P<0.05），且总体呈现随染毒剂量升高而上升的趋势，而尿β_2-MG和KIM-1无统计学差异（P>0.05）。在体外模型中，HK-2细胞镉染毒后，DKK3的mRNA和蛋白表达水平均随染毒剂量增大而上升（P<0.05）；ChIP-seq分析结果提示SP3参与DKK3基因的转录，干扰SP3后DKK3的mRNA和蛋白表达水平均下调。**结论** 尿DKK3蛋白对职业性慢性镉暴露肾脏健康可能有早期预警作用，可作为候选的新型肾小管损伤生物标志物进一步探索；其作用机制涉及SP3转录调控DKK3，引起尿DKK3蛋白水平升高。

关键词： 职业镉暴露；早期肾损伤；生物标志物；转录调控

通讯作者： 刘莉莉，E-mail：619028971@qq.com

T06-0022

小胶质细胞激活在铅加重阿尔茨海默症模型小鼠学习记忆能力损伤中的作用和机制

黄定帮，陈丽旋，向 阳，纪秋怡，陈开举，易沐诗，张晓顺，孟晓静
（南方医科大学公共卫生学院职业卫生和职业医学系，广州 51015）

摘要：目的 重金属的职业和环境暴露与阿尔茨海默症（AD）的发病息息相关，铅是生活和职业环境中最常见的重金属毒物之一，以往研究表明铅可导致细胞内金属稳态改变以及促进小鼠AD的发生发展，但铅对AD模型中小胶质细胞的作用尚不清楚。本研究主要探讨铅对APP/PS1双转基因鼠的学习记忆能力的影响及作用机制。 **材料和方法** 动物实验：分为WT-Control组、WT-Pb组、APP/PS1 Control组、APP/PS1-Pb组，其中两个Control组给予灭菌去离子水，两个Pb组给予饮用含铅（100ppm）灭菌去离子水。使用Morris水迷宫检测APP/PS1小鼠铅染毒后的学习记忆能力；透射电镜观察线粒体形态改变；JC-1检测组织线粒体膜电位；细胞实验：使用BV-2小胶质细胞和HT-22海马神经元进行实验，细胞分为对照组、Aβ_{1-42}组、Pb组、Aβ_{1-42}+Pb组，铅和Aβ_{1-42}的处理浓度均为10 μmol·L^{-1}；CCK-8检测细胞活力；ICP-MS检测组织和细胞铜浓度；Seahorse XFe检测线粒体呼吸作用；Mitosox检测线粒体氧化应激；Western Blot检测铜转运蛋白CTR1和ATP7A的表达；免疫荧光和ELISA检测小胶质细胞激活及炎症因子释放情况。 **结果** 1. 饮水摄入100ppm醋酸铅15周后，各组小鼠体重无差异（P>0.05）；2. 水迷宫实验结果表明：铅暴露组的APP/PS1小鼠与对照组的APP/PS1小鼠相比逃避潜伏期延长（P<0.05），穿台次数降低（P<0.05）；2. 铅暴露组的APP/PS1小鼠海马区线粒体出现肿胀、嵴结构消失等形态学改变，线粒体膜电位下降（P<0.05）；3. 铅暴露组的APP/PS1小鼠海马区铜浓度升高（P<0.05）；4. BV2/HT-22共培养模型中，Aβ_{1-42}+Pb组的HT-22细胞与Aβ_{1-42}组相比，细胞活力下降（P<0.001）；5. 与Aβ_{1-42}组相比，Aβ_{1-42}+Pb组的BV2细胞iNOS表达升高（P<0.05），培养上清中的炎症因子TNF-α和IL-6浓度升高（P<0.05）；6. 与Aβ_{1-42}组相比，Aβ_{1-42}+Pb组中，线粒体呼吸能力下降（P<0.05），线粒体氧化应激升高，细胞铜含量升高（P<0.05），铜转运蛋白ATP7A表达下降（P<0.05），CTR1表达上升（P<0.05）；7. 线粒体氧化应激清除剂Mito-TEMPO可减少BV-2细胞的激活；8. 铜螯合剂可恢复线粒体功能和降低线粒体氧化应激，并降低BV-2细胞的激活。 **结论** 铅引起小胶质细胞

铜蓄积加重线粒体氧化应激，导致小胶质细胞激活并释放炎症因子，加重海马神经损伤，促进AD的发展。

关键词： 铅；小胶质细胞；铜；阿尔茨海默症

基金项目： 国家自然科学基金（81920108030）；国家自然科学基金（81773378）；国家自然科学基金（81973071）；国家自然科学基金（81773473）

通讯作者： 孟晓静，E-mail：xiaojingmeng@smu.edu.cn

T06-0023

$CD4^+$组织驻留型记忆T细胞在矽肺纤维化进展中的作用机制

伍秀林，贺杨洋，陈颖慧，袁浩洋，游一川，陈　杰，李　超

（中国医科大学公共卫生学院尘肺研究室）

摘要：目的 职业性矽尘暴露可导致矽肺，特征性表现为肺部慢性炎症和不可逆转的纤维化。肺内矽尘反复刺激诱导T细胞浸润和记忆T细胞产生。T细胞尤其是$CD4^+$辅助性T细胞在矽肺进展中发挥重要作用，然而，这些细胞是循环细胞还是组织驻留细胞尚不明确。本研究意在深入探讨$CD4^+$组织驻留型记忆T细胞（tissue resident memory T cell，T_{RM}）在矽肺纤维化进展中的作用机制，以期为矽肺治疗提供有效依据。**材料和方法** 使用野生型C57BL/6J小鼠，构建实验性矽肺模型，通过流式细胞术分析$CD4^+T_{RM}$细胞数目和黏附分子表达，研究$CD4^+T_{RM}$细胞在矽肺纤维化进展中的作用。使用Rag1基因敲除小鼠，通过免疫细胞过继回输技术构建T细胞特异性小鼠模型，研究$CD4^+$ T_{RM}细胞在矽尘所致肺部免疫反应中的作用。使用野生型小鼠构建实验性矽肺模型，分别在不同时间给予小鼠FTY720抑制淋巴细胞迁移，研究肺$CD4^+$ T_{RM}细胞的来源；使用野生型小鼠，构建实验性矽肺模型，给予小鼠IL-7抗体抑制肺Foxp3-$CD4^+$ T_{RM}细胞的发育和功能，研究以IL-7为分子靶点调控$CD4^+$ T_{RM}细胞构成对矽肺纤维化进展阻抑作用。**结果** 随着实验性矽肺纤维化进展，$CD4^+$ T_{RM}细胞在肺部聚集。通过表面分子CD69和CD103可将$CD4^+$ T_{RM}细胞定义为功能不同的亚群。免疫细胞过继回输实验证明，矽尘侵入后肺$CD4^+$ T_{RM}细胞较外周循环的效应T细胞或初始T细胞介导的炎症反应更迅速、严重。我们还证实，矽尘诱导的$CD4^+$ T_{RM}细胞来自循环且具有增殖性。我们以肺内$CD4^+$ T_{RM}细胞为研究对象，给与小鼠IL-7中和抗体处理，可减少致病性$CD4^+$ T_{RM}细胞，减轻矽尘诱导的肺纤维化。**结论** $CD4^+$ T_{RM}细胞在矽尘所致肺部免疫反应中发挥重要作用，趋化因子受体CXCR6介导的外周循环$CD4^+$ T细胞聚集是$CD4^+$ T_{RM}细胞的重要来源，以IL-7为分子靶点调控肺$CD4^+$ T_{RM}细胞的构成可延缓矽肺进展。

关键词： 矽肺；矽尘；组织驻留记忆T细胞；炎症；纤维化

通讯作者： 李　超，E-mail：lichao@cmu.edu.cn

T06-0024

星形胶质细胞源外泌体miR-378a-3p调控SLC7A11在铅暴露致神经损伤中的机制研究

王伟轩，师　凡，郝　瀚，赵宇威，李佳楠，张艳淑

（华北理工大学公共卫生学院）

摘要：目的 探讨星形胶质细胞源外泌体miRNA调控神经元细胞铁死亡在铅暴露致神经损伤中作用，以期为铅的神经毒性机制研究提供理论依据。**方法** 分别用0、10、20、40 $\mu mol \cdot L^{-1}$醋酸铅处理原代星形胶质细胞24 h后提取细胞上清液中的外泌体，并对其进行miRNAs测序分析。通过免疫荧光、western blot、

透射电镜检测星形胶质细胞分泌的外泌体。将星形胶质细胞分泌的外泌体标记与神经元细胞系HT22细胞共培养，检测神经原细胞吸收外泌体情况；用电镜观察HT22细胞中线粒体形态；应用相应试剂盒检测HT22细胞中的Fe^{2+}浓度、脂质ROS水平和脂质氧化水平；应用Western Blot法检测Gpx4、SLC7A11、4HNE蛋白的表达情况。 原代星形胶质细胞，转染miR-378a-3p mimic和inhibitor后提取外泌体并且与神经元细胞共培养，检测神经元细胞铁死亡情况。**结果** 与对照组比较，铅暴露后星形胶质细胞分泌大量外泌体，直径约50～100 nm。miRNA测序分析铅暴露后星形胶质细胞外泌体中135种miRNA明显上调，变化最明显miRNA分别是miR-378a-3p，miR-144-3p，miR-378a-5p和miR-26a-5p等。富集分析结果显示miRNA调控的靶基因主要富集在铁死亡等信号通路上。生物信息学分析结果显示SCL7A11是miR-378a-3p调控的主要蛋白之一。星形胶质细胞分泌的外泌体可以被HT22细胞吸收，降低神经细胞存活率，铁死亡抑制剂DFO可减缓其导致的存活率降低。应用铅暴露的星形胶质细胞源外泌体处理HT22细胞后，细胞内亚铁离子增多，线粒体体积减少和膜密度增加，GSH含量降低，丙二醛含量增加，脂质ROS水平和4HNE表达增加。铅暴露的星形胶质细胞源外泌体降低了HT22细胞中SLC7A11和Gpx4蛋白，其中SLC7A11变化最为显著。原代星形胶质细胞转染miR-378a-3p mimic后，其外泌体处理的HT22细胞中SLC7A11 mRNA表达降低，且降低了HT22细胞存活率和GSH水平，MDA水平升高，促进HT22细胞铁死亡。原代星形胶质细胞转染miR-378a-3p inhibitor后，趋势与miR-378a-3p mimic相反。**结论** 铅暴露可以导致星形胶质细胞源外泌体miR-378a-3p表达升高，外泌体被神经元细胞吸收后导致SLC7A11蛋白表达降低进而导致铁死亡的发生。

关键词：铅暴露；星形胶质细胞；外泌体miRNA；神经元细胞；铁死亡

通讯作者：张艳淑，E-mail：yanshu_zhang@163.com

T06-0025

电磁辐射和低频噪声联合暴露对作业人员认知功能的影响

梁 鹏[1]，李曾磊[1]，李江静[2]，韦 静[3]，李 静[3]，张晟豪[4]，徐胜龙[3]，刘朝晖[5]，王 晋[3]

（1. 空军军医大学第二附属医院康复科；2. 空军军医大学第二附属医院麻醉科；3. 空军军医大学军事预防医学系辐射防护医学教研室；4. 空军军医大学第二附属医院神经外科；5. 空军军医大学第二附属医院骨科）

摘要：目的 随着全球工业化、信息化建设的不断推进，作业环境中电磁辐射、低频噪声等物理因子存在强度不断增加，对作业人员的身心健康造成的不良影响日益引起人们的高度重视。大量勘测证据表明作业环境中电磁辐射、低频噪声因素常常伴随而生、同时存在，作业人员总是不可避免的同时暴露于电磁辐射和低频噪声这种复杂环境中，尤其是在电子对抗、雷达、通信、技侦等军事作业环境中。无论是长期电磁辐射暴露还是长期低频噪声暴露，这种暴露对人体健康带来的潜在不利影响都值得引起人们的重视，但是其联合暴露对作业人员脑认知功能的影响尚还缺乏深入研究，本研究旨在探讨电磁辐射和低频噪声对脑认知功能的影响及其交互作用。**材料和方法** 研究对象为40名青年男性在校大学生，通过随机分层方法进行随机分组，每组10人。入组前均通过听力测试且无听力相关疾病史，每名入组志愿者听力水平正常，采用电磁辐射和低频噪声两因素两水平析因设计的研究方法，所有实验均在屏蔽室内进行。通过NASA-TLX主观量表、n-back任务范式和fNIRS成像技术来测量和评估其脑力负荷水平。**结果** 在n-back任务负荷下，NASA-TLX主观量表发现低频噪声强度的主效应显著，作业环境强度的低频噪声暴露会显著增强作业人员脑力负荷水平。行为学绩效发现电磁辐射强度（430MHz、10.75 W/m^2）和低频噪声强度（0～200Hz、73dB）具有协同的交互作用，联合暴露会显著延长作业人员准确完成任务所需的反应时间。fNIRS成像技术同样发现电磁辐射和低频噪声联合暴露具有协同的交互作用，联合暴露会显著增加背外侧前额叶脑区的激活水平。**结论** 电磁辐射（430MHz、10.75 W/m^2）和低频噪声（0～200Hz、73dB）持续暴露30 min存在显著的交互作用，在这种联合暴露条件下可以引起作业人员脑力负荷水平显著增加甚至是认知功能改变。

关键词：电磁辐射；低频噪声；脑力负荷；fNIRS；n-back
作者简介：梁　鹏，E-mail：addresses：2606463323@qq.com
通讯作者：王　晋，E-mail：wangjinn@fmmu.edu.cn

T06-0026

Dynamics of the inhibitory immune checkpoint TIM-3 in mouse pulmonary phagocytes after silica exposure

赵有亮，曲雅倩，段眉秀，郝长付，姚　武
（郑州大学公共卫生学院）

Abstract: AIM Silicosis is an occupational disease caused by long-term inhalation of silica particles at work, which is incurable and seriously endangers the health of workers. The pathogenesis of silicosis is closely related to the imbalance of pulmonary immune microenvironment, in which pulmonary phagocytes play an important role. As an emerging immunomodulatory factor, it is not clear whether immune checkpoint T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3 (TIM3) participate in silicosis by regulating the function of pulmonary phagocytic cells. **METHODS** In this study, we examined the plasma levels of soluble TIM-3 in silicosis patients and investigated the dynamic changes of the immune checkpoint TIM-3 in pulmonary macrophages, dendritic cells (DCs), and monocytes during the development of silicosis in mice. The experimental silicosis model of mice was established by intratracheal instillation, then the lung tissues were collected for analysis after 7, 28, and 56 days of instillation. Flow cytometry was used to identify alveolar macrophages (AMs), interstitial macrophages (IMs), $CD11b^+$ DC, $CD103^+$ DC, $Ly6C^+$, and $Ly6C^-$ monocytes in mouse lung tissues, and the expression of TIM-3 were analyzed. The global expression of TIM-3 in the lung was also monitored by qRT-PCR, WB, and IHC technologies. **RESULTS** Data showed that soluble TIM-3 was significantly increased in the plasma of silicosis patients, and its level was positively correlated with silicosis grade. In silicosis mice, the expression of TIM-3 and its ligand Glectin-9 was upregulated in lung tissue. For pulmonary phagocytes, the effect of silica exposure on TIM-3 expression was cell-unique and temporally dynamic. In macrophages, the expression of TIM-3 in AM increased after 28 days and 56 days of silica instillation, while the expression of Tim-3 in IM decreased at all time points compared with the control. In DCs, silica exposure only caused a decrease in the expression of TIM-3 in $CD11b^+$ DCs. In monocytes, TIM-3 dynamics in $Ly6C^+$ and $Ly6C^-$ monocytes were generally consistent during silicosis development, with a significant decrease after 7 and 28 days of silica exposure. **CONCLUSION** Our results suggest that TIM-3 may mediate the progression of silicosis by reprogramming the phenotype and function of pulmonary phagocytes, which may provide new insights into the pathogenesis of silicosis.

Key words: Occupational silica exposure; Silicosis; Immune checkpoint; TIM-3; Pulmonary phagocytes

Corresponding author: YAO Wu，E-mail：yaowu@zzu.edu.cn

T06-0027

CHI3L1参与二氧化硅诱导的肺部炎症与纤维化调控

唐 琼[1], 刘 芳[1], 全艺帆[1], 厉 铭[1], 李 超[1], 邢 晨[2], 贾 强[1], 薄存香[1], 张振玲[1]
〔1. 山东第一医科大学(山东省医学科学院), 山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250000;
2. 济南市疾病预防控制中心, 山东 济南 250000〕

摘要:目的 探索CHI3L1在二氧化硅诱导的肺部炎症与纤维化的作用,以及白藜芦醇对CHI3L1表达的作用。**方法** 体内实验采用雄性无特殊病原体级SD大鼠24只,随机分为对照组、模型组、白藜芦醇50 mg/kg组和白藜芦醇100 mg/kg组,模型组经一次性非暴露气管性方法气管滴注二氧化硅混悬液1 ml (50 mg/ml),对照组同法滴注1 ml生理盐水。造模28天后通过灌胃法给予白藜芦醇,一天一次,持续28天后处死大鼠收集肺组织用于观察病理学变化,检测羟脯氨酸,白介素-1β,肿瘤坏死因子-α,转化生长因子-β1, Ⅰ型胶原蛋白,α肌动蛋白,波形蛋白,钙黏蛋白E和CHI3L1的表达水平。体外实验以50 μg/ml的二氧化硅刺激大鼠肺泡巨噬NR8383细胞系24小时后,用免疫荧光抗体染色观察细胞状态,收集细胞培养上清检测白介素-1β,肿瘤坏死因子-α的表达,收集细胞沉淀用于检测CHI3L1和转化生长因子-β1的蛋白表达。**结果** 体内实验结果显示,与对照组相比,模型组的蛋白免疫印迹结果显示,钙黏蛋白E显著下降($P<0.05$),波形蛋白、CHI3L1、转化生长因子-β1、I型胶原蛋白和α平滑肌肌动蛋白的表达均明显升高($P<0.05$),而白藜芦醇升高或者抑制了这些指标的表达(P<0.05)。病理分析和酶联免疫吸附剂测定结果显示模型组的Szapiel评分、羟脯氨酸含量、白介素-1β、肿瘤坏死因子-α的表达均明显升高($P<0.05$),而白藜芦醇抑制了这些指标的表达($P<0.05$)。体外结果显示,二氧化硅刺激NR8383的免疫荧光结果显示,二氧化硅使NR8383激活,细胞呈现黏附能力增强并出现明显聚集($P<0.05$)。蛋白免疫印迹结果显示,二氧化硅组的CHI3L1蛋白表达低于对照组($P<0.05$),转化生长因子-β1高于对照组($P<0.05$),白藜芦醇降低了转化生长因子-β1的表达($P<0.05$),5 $\mu mol \cdot L^{-1}$、10 $\mu mol \cdot L^{-1}$和20 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 升高了CHI3L1蛋白的表达($P<0.05$)。酶联免疫吸附剂测定结果显示二氧化硅组的白介素-1β、肿瘤坏死因子-α的表达均明显升高($P<0.05$),而白藜芦醇显著降低其表达($P<0.05$)。**结论** CHI3L1可能参与二氧化硅诱导的肺部炎症与纤维化调控,白藜芦醇不仅在早期有效增加CHI3L1的表达,晚期还抑制CHI3L1的激活与分泌。

关键词: 矽肺; NR8383; CHI3L1; 肺纤维化; 白藜芦醇

T06-0028

Exposure characteristics and inhalation risk of submicron particles in a gasoline station-a pilot study

Xiangjing Gao, Peng Wang, Yiyao Cao, Weiming Yuan, Xiaoming Lou and Zhen Zhou
(Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310051, China)

Abstract: OBJECTIVE Gasoline is the primary fuel and widely used in worldwide. The submicron particles containing complex harmful substances emitted at gasoline stations have not been comprehensive investigated. This study aimed to clarify the exposure characteristics and inhalation risk of submicron particles in a gasoline station. **METHODS** The temporal variations in particle concentrations and size distributions were measured by real-time system. The inhalation risk quantitatively through estimating the dosage of submicron particles deposited in nasal cavity, olfactory, lung, and brain. The dosage of submicron particles deposited in different area was analyzed using a software based on computational fluid dynamics model and the value of environmental monitoring (including the number concentration (NC) and size distribution of particles). **RESULTS** Mass concentration (MC) and NC during work-

ing hours were higher than background levels. Submicron particles gathered predominantly at 10.4 and 100 nm during working times. The dosages of submicron particles deposited in the olfactory were 0.131×10^{-3}, 0.06, and 0.12 mg on 1 working day, 5 years, and 10 years, respectively, of which 0.026×10^{-3}, 0.012, and 0.024 mg may reach the human brain. Approximately 0.014, 6.388, and 12.776 mg of submicron particles reached human lungs on one working day, 5 years, and 10 years, respectively. **CONCLUSION** The outcomes of the study suggest that the workers at this gasoline station were exposed to high concentrations of submicron particles. Large quantities of inhaled submicron particles can be deposited in lung and brain tissues. This study provides baseline data on submicron particles at gasoline stations and provides a critical basis for investigating the risk of diseases in longitudinal epidemiological studies.

Key words: gasoline; submicron particles; inhalation risk; occupational exposure

Corresponding author: Xiangjing Gao, E-mail: xjgao@cdc.zj.cn

T06-0029

骨髓间充质干细胞来源的外泌体通过HMGB1 /NF-κB通路抑制炎症减轻爆炸性肺损伤

何　婧[1], 邓　萌[1], 姚　武[1], 郭永华[1], 司惠芳[1], 邓雪丹[1], 张乘鹏[1], 李世宇[1], 姚三巧[2], 任文杰[2], 郝长付[1,3]

（1. 郑州大学公共卫生学院，劳动卫生与环境卫生学，河南 郑州　450001；2. 新乡医科大学公共卫生学院，河南 新乡　453000；3. 郑州大学公共卫生学院，儿童青少年卫生学，河南 郑州　450001）

摘要：目的　中国占全球煤矿死亡率的70%以上，瓦斯爆炸是煤矿中最具灾难性的事故类型，而爆炸性肺损伤是死亡的主要原因之一。间充质干细胞（mesenchymal stem cells，MSCs）属于成体干细胞，具有高效的自我复制能力，并具有分化潜力。MSCs具有向组织损伤或炎症部位迁移的能力，MSC输入后易在肺内发生滞留，因此也为MSC治疗呼吸系统疾病提供有利条件。研究表明骨髓来源的间充质干细胞（bone marrow-derived mesenchymal stem cells，BMSCs）及外泌体bone marrow stem cells derived exosomes（BMSCs-Exo）能够通过抗炎对急性肺损伤产生保护作用，但对爆炸性肺损伤的干预作用研究较少。本课题旨在研究 BMSCs及BMSCs-Exo对瓦斯爆炸所致肺损伤的干预作用，并进一步探索其发挥保护作用的分子机制，以期为爆炸性肺损伤的治疗提供新的思路。**方法**　建立大鼠瓦斯爆炸肺损伤模型，爆炸后半小时内通过尾静脉注射BMSCs及BMSCs-Exo，然后于爆炸后72 h处死大鼠，收集肺组织。通过检测肺病理改变、炎症因子、血管内皮等相关指标评价BMSCs和BMSCs-Exo的治疗效果。**结果**　组织学分析显示，骨髓间充质干细胞及外泌体减轻了瓦斯爆炸对大鼠造成的肺损伤；ELISA和qRT-PCR结果表明，BMSCs和BMSCs-Exo抑制了气体爆炸引起的细胞因子风暴；我们还通过qRT-PCR、Western blot和免疫组化检测了血管内皮细胞损伤标志物，发现BMSCs和BMSCs Exo上调了闭塞带1和血管内皮钙粘蛋白，下调了血管内皮细胞生长因子和von Willebrand因子。另外，BMSCs和BMSCs-Exo可以抑制瓦斯爆炸引起的高迁移率蛋白B1的增加，并抑制了NF-κB的激活，提示BMSCs和BMSCs-Exo可以通过调节HMGB1/NF-κB通路来抑制爆炸性肺损伤模型的炎症反应。**结论**　BMSCs和BMSCs-Exo可以抑制细胞因子风暴，减少血管内皮损伤，保持血管内皮屏障的完整性，并通过HMGB1/NF-κB信号通路影响炎症的持续性，减轻瓦斯爆炸引起的爆炸性肺损伤。

关键词：间充质干细胞；外泌体；炎症；HMGB1；爆炸性肺损伤

通讯作者：何　婧，E-mail：15932291792@163.com

T06-0030

来自骨髓间充质干细胞的外泌体通过抑制细胞凋亡、自噬和焦亡减轻大鼠的爆炸性肺损伤

邓 萌[1], 何 婧[1], 郝长付[2], 郭永华[1], 司惠芳[1], 邓雪丹[1], 张乘鹏[1], 李世宇[1], 姚三巧[3], 任文杰[4], 姚 武[1]
(1. 郑州大学公共卫生学院,劳动卫生与环境卫生学, 河南 郑州 450001; 2. 郑州大学公共卫生学院,儿童青少年卫生学, 河南 郑州 450001; 3. 新乡医学院公共卫生学院, 河南 新乡 453000; 4. 新乡医学院, 河南 新乡 453000)

摘要:目的 肺爆震伤主要是指爆炸形成的高能量冲击波作用于人体造成的急性肺损伤,其中以呼吸道、耳、消化道等器官最易受伤,但肺脏为最敏感的靶器官之一。骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymstem cells,BMSCs)及其外泌体(BMSCs-exo)因其在损伤愈合、免疫调节和基因治疗方面的重要意义而成为现代生物学研究的热点。本研究旨在探讨BMSCs和BMSCs-exo对大鼠爆炸性肺损伤的影响,为进一步探索相关临床治疗提供新的思路。**材料和方法** 将50只SD大鼠随机分为对照组、爆炸模型组、溶剂对照组、间充质干细胞治疗组、外泌体治疗组,一组十只。采用新乡医学院自行设计的管道式爆炸装置,将大鼠放入特制鼠笼内进行爆炸,治疗组于爆炸后30分钟内尾静脉注射浓度为2×10^6个/ml的间充质干细胞或50 μg/ml 外泌体。爆炸72 h后处死大鼠,左肺进行10%多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,右肺-80℃保存。苏木素-伊红(HE)染色观察肺组织瓦斯爆炸后病理改变;生化试剂盒测定氧化应激指标;末端标记法(TUNEL)检测肺组织细胞凋亡情况;蛋白印记(Western blot)、免疫组织化学染色、免疫荧光法检测凋亡、自噬及焦亡相关指标蛋白表达。**结果** 通过组织病理学以及MDA和SOD含量的变化,我们发现BMSCs和BMSCs-exo显著降低了肺部氧化应激和炎症浸润。BMSCs和BMSCs-exo处理后,cleaved caspase 3、Bax等凋亡相关蛋白显著降低,Bcl-2/Bax比值显著升高; Nlrp3、GSDMD、cleaved caspase 1、IL-1β、IL-18等焦亡相关蛋白水平降低;自噬相关蛋白beclin1和LC3下调,P62上调。**结论** 瓦斯爆炸导致大鼠肺组织发生凋亡、自噬及焦亡,骨髓间充质干细胞及其外泌体对瓦斯爆炸导致的肺损伤有保护作用。这些结果为BMSCs和BMSCs-exo治疗爆炸性肺损伤提供了治疗前景。

关键词: 骨髓间充质干细胞; 外泌体; 肺损伤; 凋亡; 自噬; 焦亡

通讯作者:邓 萌,E-mail: dengmeng819025371@163.com

T06-0031

白介素11介导的ERK通路调控糖酵解在矽肺纤维化中的作用机制研究

谢毓佳, 徐以菊, 顾 沛, 张影蝶, 尤肖洁, 陈卫红, 马继轩
(华中科技大学同济医学院公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 武汉 430030)

摘要: 目的 探讨白介素11(IL-11)介导的ERK通路调控的糖酵解过程在矽肺纤维化中的作用及其机制。**材料和方法** 实验随机将雄性C57BL/6小鼠分为溶剂组,石英染尘组和石英+IL-11中和抗体组。通过气管滴注石英粉尘悬液构建小鼠矽肺模型,通过给予外源性IL-11中和抗体构建IL-11干预模型。在各组中分别于染尘7天,28天和84天后随机处死8只小鼠,收集肺泡灌洗液(BALF)和肺组织。通过免疫荧光检测IL-11受体(IL-11Rα)在肺组织中的定位。采用Western Blot检测肺组织中糖酵解关键酶的表达水平,采用ELISA检测BALF中的乳酸水平。通过TGF-β1处理成纤维细胞构建成纤维细胞活化模型,检测细胞增殖、迁移能力,IL-11、纤维化因子的表达水平,以及ERK通路的激活情况。同时分别建立IL-11干预(Anti-IL-11)、ERK通路干预(U0126)和糖酵解干预(2-DG)模型,检测成纤维细胞中糖酵解水平的变化以及纤维化因子的表达水平,评估成纤维细胞活化过程中IL-11/ERK通路调控的糖酵解的作用。**结果** 在小鼠矽肺模

型中，IL-11Rα与成纤维细胞的标志物存在共表达，小鼠肺组织中参与糖酵解过程的转运蛋白（GLUT1），糖酵解关键酶（HK2、PFK1、PKM2和LDHA）以及BALF中的乳酸表达水平升高；而IL-11中和抗体的使用可缓解上述变化，抑制糖酵解水平的增强。在TGF-β1激活的成纤维细胞中，纤维化因子（FN、COL1A1和a-SMA）的表达水平升高，同时IL-11的RNA和蛋白水平均升高，ERK通路被激活。IL-11中和抗体的使用可阻断ERK通路，抑制成纤维细胞的增殖、迁移，并降低纤维化因子的表达水平。使用ERK通路的阻断剂后，成纤维细胞的活化受到抑制，细胞外基质的产生能力受损。并且抑制IL-11或阻断ERK通路可抑制糖酵解关键酶的表达以及减少细胞葡萄糖摄取量以及乳酸产生量。糖酵解的阻断剂可减少成纤维细胞中纤维化因子的生成。**结论**　拮抗IL-11可通过阻断ERK信号通路，抑制成纤维细胞中的糖酵解过程，进而缓解矽肺纤维化的发生发展。

关键词：矽肺；IL-11；ERK通路；糖酵解；纤维化

通讯作者：陈卫红，E-mail：wchen@mails.tjmu.edu.cn；马继轩，E-mail：maj@hust.edu.cn

T06-0032

IL-11介导的ERK/HIF-1α通路在矽肺纤维化中的作用机制研究

谢毓佳，徐以菊，顾　沛，张影蝶，尤肖洁，陈卫红，马继轩

（华中科技大学同济医学院公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系，武汉　430030）

摘要：目的　探讨IL-11介导的ERK/HIF-1α通路在矽肺纤维化中的作用及其机制。**材料和方法**　实验选择雄性C57BL/6小鼠，将小鼠分为溶剂对照组，石英染尘组和石英+IL-11拮抗组。通过气管滴注石英粉尘悬液构建小鼠矽肺模型，通过给予IL-11中和抗体构建IL-11拮抗模型。在染尘后7天，28天和84天后在各组中随机处死8只小鼠并收集小鼠肺组织。采用Western Blot和免疫荧光检测小鼠肺组织中HIF-1α的表达水平，通过免疫荧光观察P-ERK和HIF-1α在小鼠肺组织中的定位情况。使用TGF-β1处理成纤维细胞（NIH/3T3）24 h构建成纤维细胞活化模型，同时匹配空白对照组、IL-11抑制组和ERK通路阻断组，通过Western Blot检测细胞中HIF-1α的表达水平。建立HIF-1α的干预模型，通过CCK-8检测细胞的增殖情况，通过划痕实验检测细胞的迁移情况，以及通过Western Blot检测纤维化因子的表达水平，探究成纤维细胞活化过程中HIF-1α的作用。**结果**　与溶剂对照组相比，在染尘7天、28天和84天后，石英染尘组小鼠肺组织中HIF-1α的蛋白表达水平均显著升高；而使用IL-11中和抗体进行拮抗后，HIF-1α的蛋白表达水平显著降低。免疫荧光显示在矽肺小鼠肺组织中，HIF-1α的表达水平升高，并且与P-ERK存在共定位。在TGF-β1构建的成纤维细胞活化模型中，HIF-1α的表达水平升高，而抑制IL-11或阻断ERK通路均可降低成纤维细胞中HIF-1α的表达水平。并且阻断ERK通路后，成纤维细胞中HIF-1α的翻译水平降低，蛋白降解速度加快。使用HIF-1α的抑制剂后，成纤维细胞的增殖能力和迁移能力被抑制，纤维化因子（FN、COL1A1和α-SMA）的表达水平降低。**结论**　阻断IL-11/ERK通路可通过降低HIF-1α的表达抑制成纤维细胞的活化，进而拮抗石英导致的肺部纤维化。

关键词：矽肺；纤维化；IL-11；ERK通路；HIF-1α

通讯作者：陈卫红，E-mail：wchen@mails.tjmu.edu.cn；马继轩，E-mail：maj@hust.edu.cn

T06-0047

TLR4/MyD88/NF-κB信号通路在瓦斯爆炸脑冲击伤中的作用及姜黄素的保护效应研究

邓律飞[1]，苏亚光[1]，韩小风[1]，姚三巧[1]，吴卫东[1]，曹 佳[2]，孙 磊[2]，李海斌[1]，白义春[1]，田林强[3]，李润之[4]，任文杰[5]，董新文[1]

（1. 新乡医学院公共卫生学院；2. 中国人民解放军陆军军医大学军事预防医学院；3. 新乡医学院创伤骨科研究所；4. 中国煤炭科工集团重庆研究院有限公司火灾爆炸防治研究分院；5. 新乡医学院健康中原研究院）

摘要：目的 探讨TLR4/MyD88/NF-κB信号通路在瓦斯爆炸（GE）脑冲击伤大鼠脑组织神经炎症的调控机制以及姜黄素的保护性作用。**方法** 选取SPF级SD雄性大鼠90只，体重为250±20 g。根据爆炸前随机分为对照组30只；GE模型组30只；干预组（GE +姜黄素）30只；每组在24 h、72 h、7 d三个时间点各10只。对照组进行常规培养，满足12小时的黑白昼夜循环，以标准的清洁级饲料和水进行喂养。模型组和干预组进行瓦斯爆炸冲击，采用含瓦斯9.0%的100 m^3空气为瓦斯爆炸当量，将大鼠置于真实巷道内距离爆炸源200 m建立GE模型。有姜黄素干预的组别爆炸完毕后隔一天灌胃100 mg/kg/ d姜黄素，隔日1次，持续7 d，将各组大鼠分别在24 h、72 h、7 d处死留取组织进行实验。采用HE染色对大鼠脑组织进行病理观察，ELISA检测血清中白细胞介素-1β（IL-1β）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）、NOD样受体蛋白3（NLRP3）水平，Western Blot、qPCR检测大鼠脑组织中Toll样受体4（TLR4）、髓样分化因子88（MyD88）、核因子-κB p65（NF-κB p65）、白介素-6（IL-6）、IL-1β含量。**结果** GE可引起大鼠脑组织不同程度病理学改变，如血管损伤、凋亡细胞和炎性细胞增多等。ELISA结果显示，与对照组相比，各时间点GE组血清IL-1β、TNF-α、NLRP3水平均升高（$P<0.05$）；干预组与模型组比较，血清中IL-1β、TNF-α、NLRP3水平显著降低（$P<0.01$）；Western Blot、qPCR结果显示：与对照组相比，GE组各炎性因子蛋白相对表达量及mRNA表达显著升高（$P<0.01$），GE诱发了脑神经炎症反应的发生，对大鼠脑组织产生神经损伤，炎性因子上调。与GE组相比，干预组各时间点的炎性因子及TLR4/MyD88/NF-κB蛋白相对表达量及mRNA表达均出现不同程度的降低（$P<0.05$），说明姜黄素对GE造成的脑损伤有保护性作用。**结论** 上述研究表明姜黄素可能通过TLR4/MyD88/NF-κB通路调节脑内神经炎性因子水平，对瓦斯爆炸导致的大鼠脑冲击伤起到保护性作用。

关键词： 瓦斯爆炸；姜黄素；神经炎症；脑损伤；TLR4/MyD88/NF-κB信号通路

基金项目： 国家自然科学基金-河南省联合基金培育项目资助（U2004102）；国家自然科学基金-河南省联合基金重点项目资助（U1904209）；河南省自然科学基金青年基金项目（202300410312）资助

通讯作者： 董新文，E-mail：dongxinwen118@yeah.net

亚慢性锰暴露致大鼠纹状体组蛋白H3乙酰化修饰水平改变的研究

敖春艳，刘 颖，唐顺芳，赵 华，曾家敏，班佳奇，李 军

（贵州医科大学公共卫生与健康学院，环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵阳 550025）

摘要：目的 锰是机体维持正常生理功能所必需的微量元素之一，但是过量的锰暴露则会引起锰中毒，出现类帕金森病的临床症状，并且呈不可逆进行性发展，导致严重的神经退行性疾病。然而，目前关于锰中毒的机制尚未完全阐明。近年来，组蛋白乙酰化在神经退行性疾病的发病机制中发挥重要作用。因此，本研究拟通过建立亚慢性锰中毒动物模型，筛选响应锰暴露的组蛋白H3乙酰化修饰位点，为进一步探讨组蛋白H3乙酰化修饰在锰致大鼠神经毒性机制研究提供科学依据。**方法** 按体重将40只SPF级雄性SD大鼠（80 ~ 100 g）随机分为4组，分别为空白对照组（灭菌纯水）、低剂量染锰组（5 mg/kg）、中剂量染锰组（10

mg/kg)、高剂量染锰组(15 mg/kg),$MnCl_2 \cdot 4H_2O$和灭菌纯水按0.2 ml/100 g进行腹腔注射,5 d/w,1次/d,连续16周。染毒结束后采用液相二级质谱联用(LC-MS-MS)筛选纹状体中响应锰暴露的组蛋白H3乙酰化修饰位点,并用免疫印迹法(western blot)进行验证;采用电感耦合等离子质谱(ICP-MS)检测纹状体中锰含量;采用person相关系数进行相关性分析。**结果** 1.锰中毒大鼠纹状体差异性组蛋白H3乙酰化修饰位点的筛选:按高剂量染锰组蛋白相对表达量较空白对照组升高或降低1.5倍且$P<0.05$进行筛选,结果发现,纹状体中响应锰暴露的组蛋白H3乙酰化上调位点有H3K18ac、H3K9ac、H3K14ac、H3K23ac、H3K56ac、H3K79ac,下调位点有H3K27ac、H3K36ac。2.锰中毒大鼠纹状体差异性组蛋白H3乙酰化修饰位点的验证:与空白对照组比较,H3K79ac修饰水平在各染锰组中均升高,H3K9ac、H3K14ac、H3K18ac、H3K56ac修饰水平在中、高剂量染锰组升高;H3K27ac、H3K36ac修饰水平在各染锰组均降低,差异均具有统计学意义($P<0.05$);各组H3K23ac蛋白表达无明显改变。3.锰中毒大鼠纹状体中组蛋白H3乙酰化修饰水平与锰含量的相关性分析:纹状体H3K18ac修饰水平与锰含量呈正相关关系,H3K27ac、H3K36ac修饰水平与锰含量呈负相关关系(P均<0.05)。**结论** 亚慢性锰暴露可致大鼠纹状体中组蛋白H3K18ac修饰水平升高,H3K27ac、H3K36ac修饰水平降低,其与锰含量分别呈正负相关关系,组蛋白H3乙酰化修饰水平的改变可能在锰致大鼠神经系统损伤中发挥重要作用。

关键词: 锰中毒; 大鼠; 组蛋白乙酰化; 纹状体

基金项目: 国家自然科学基金(81960578)

通讯作者: 敖春艳,E-mail: 2723368922@qq.com

TDI暴露引起肺部炎性损伤及肠道菌群紊乱

苟煜轩, 何　秀

(贵州医科大学, 贵州 贵阳　550025)

摘要: 目的 甲苯二异氰酸酯(TDI)是一种重要的化工有机合成中间体,在自然条件下就可以从油漆、广告牌、泡沫制品等工业产品中逸出,是诱发职业性哮喘的主要原因之一,已列入国家法定职业病目录。长期暴露在TDI环境中,机体的免疫功能会受到不同程度的影响,并导致肺部炎症、肺功能降低及肺纤维化损伤,然而目前仍缺乏有效治疗药物。探究TDI哮喘发生发展的分子机制,寻找治疗的潜在靶点显得十分迫切。肠道与肺同属于黏膜免疫系统,肠道菌群能够通过"肠-肺"轴,参与肺部炎性改变,但TDI哮喘中肠道菌群如何变化,与炎症反应之间呈何种关系尚不清楚。因此本研究采用TDI暴露的BALB/c小鼠构建职业性哮喘动物模型,从"肠-肺"轴角度出发,探究肠道菌群在TDI哮喘中的作用,为TDI哮喘机制研究提供新的方向及干预靶点。**方法** 将20只雄性BALB / c小鼠随机分为溶剂对照组(Ctrl)、TDI暴露组,每组10只。采用第1、8天在小鼠双侧耳背皮肤致敏,第15、18、21天超声雾化吸入的方法构建TDI暴露小鼠模型,收集小鼠粪便,21天后对实验动物进行处死、取材。收集肺泡灌洗液(BALF),并用ELISA试剂盒检测BALF中IL-4、IL-5、IL-13及IL-25的含量;Western Blot检测肺组织TLR4/NFkB/MYD88炎性通路变化情况,HE、PAS染色检测肺、结肠炎性损伤情况;收集粪便进行16rs菌群检测测定BALB/c小鼠菌群变化情况。**结果** 与Ctrl组相比,TDI组BALF中IL-4、IL-5、IL-13及IL-25的分泌明显增加,差异具有统计学意义($P<0.01$);HE染色显示TDI组肺炎性细胞浸润增多,气道黏膜皱褶及气道平滑肌增厚;Western Blot结果显示,与Ctrl组相比,TDI组TLR4/NFkB/MYD88蛋白的表达明显增加。与Ctrl组相比,TDI哮喘模型小鼠出现肠绒毛变短、肠肌层变薄、杯状细胞数量减少和炎性细胞浸润等病理改变;TDI组菌群组成发生明显变化,多种菌属水平降低,其中以巴恩斯氏菌丰度变化最为显著,且巴恩斯氏菌与所有变化的炎性因子呈负相关关系,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 肠道菌群紊乱可能激活TLR4/NFkB/MYD88信号通路参与炎症因子的释放促进TDI哮喘中的发生发展,肠道菌群紊乱可能是TDI哮喘干预的新靶点。

关键词: 甲苯二异氰酸酯; 哮喘; 肠道菌群; "肠-肺"轴

基金项目：贵州省中医药管理局项目（QZYY-2021-044）；国自然地区科学基金（82260635）；贵州医科大学校博士科研启动基金（校博合 J 字［2020］37号）；贵州医科大学国自然培育项目（20NSP060）

通讯作者：何 秀，E-mail：hex-gzmu@outlook.com

稀土暴露职业人群外周血细胞改变的研究

何之洲[1]，王 婷[1]，刘 莉[1]，周彩兰[1]，志 强[2]，高 昇[2]，段化伟[1]
（1. 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所；2. 内蒙古自治区综合疾病预防控制中心）

摘要：目的 稀土元素在航天、新能源领域中有非常广泛的应用，其相关产业的职业危害有必要引起足够关注。本研究旨在通过职业人群现场调查，获取职业场所粉尘中稀土元素的浓度水平，评估稀土职业人群外周血细胞和主要组分的改变，探讨稀土职业暴露对作业工人外周血细胞的影响。**方法** 选择暴露于稀土粉尘的稀土精选矿工人作为暴露组，选取当地食品加工厂工人作为对照组，共纳入213名研究对象，其中暴露组103人，对照组110人。利用定点采样和个体采样收集工作场所粉尘，采样膜经酸消解后，用电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）进行定量。对所选企业及暴露人群进行问卷调查，内容包括一般人口学资料、健康状况、吸烟与饮酒史、职业史以及个人防护情况等信息。采集研究对象的空腹静脉血2 mL，采用全自动血液细胞分析仪检测外周血血细胞计数以及血红蛋白水平。近似正态分布的变量两组间均数比较采用*t*检验；多组间均数比较采用单因素方差分析，组间均数两两比较采用LSD-t检验。不服从正态分布的变量经自然对数转换后进行分析。组间率的比较采用χ2检验。**结果** 1、根据现场调查，产生稀土粉尘的车间主要有焙烧车间、水浸车间、碳沉车间。其它车间不产生稀土粉尘或者稀土粉尘浓度极低，故选择这三个车间进行研究。2、对工作场所中的稀土元素进行评估发现暴露组工作场所稀土元素水平显著高于对照组。暴露组工厂中的镧（La）、铈（Ce）、镨（Pr）、钕（Nd）四种元素的浓度最高，是该工厂稀土粉尘的主要成分，占粉尘中稀土总质量的96.52%。3、血细胞分析结果发现暴露组白细胞及中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性细胞计数水平均高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。暴露组的红细胞计数和血红蛋白水平低于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。暴露组的白细胞和中性粒细胞水平均在接尘工龄5.8年内最高，在不同工龄段的差异有统计学意义（$P<0.05$）。**结论** 1、稀土选矿企业产生粉尘的车间主要在焙烧车间、水浸车间、碳沉车间。2、工作场所粉尘中镧（La）、铈（Ce）、镨（Pr）、钕（Nd）四种元素是该工厂稀土粉尘的主要成分。3、稀土粉尘职业暴露对外周血细胞计数可能存在一定影响，需要进一步的研究确认。

关键词：稀土粉尘；稀土职业暴露；外周血象

基金项目：中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所青年基金；内蒙古自治区自然基金（2019MS08071）

通讯作者：段化伟，E-mail：duanhw@niohp.chinacdc.cn

六氟环氧丙烷寡聚物（HFPO oligomers）发育心脏毒性对比及机制探讨

仲淑萍，董其轩，徐晓慧，郑玉新，姜启晓
（青岛大学公共卫生学院）

摘要：目的 六氟环氧丙烷寡聚物（HFPO oligomers），包括六氟环氧丙烷二聚体（HFPO-DA），六氟环氧丙烷三聚体（HFPO-TA），六氟环氧丙烷四聚体（HFPO-TeA）等，属于全氟烷基类化合物的替代品，替代的初衷是其生物蓄积性及毒性均低于其替代的化合物，如全氟辛酸（PFOA）。但是，近年来已有相当数量的研究显示，HFPO oligomers也具有类似于PFOA的毒性效应，甚至在某些情况下毒性效应高于PFOA。本课题组既往已阐明PFOA的发育心脏毒性，但HFPO oligomers是否具有类似效应，以及不同寡聚物间效应

的对比均少有报道，故本研究基于课题组成熟的鸡胚模型，评价HFPO-DA，HFPO-TA和HFPO-TeA的发育心脏毒性及暴露后内暴露水平，并进行相互对比及与PFOA对比，并以慢病毒在体沉默方法探讨其作用机制。**材料和方法** 购入受精鸡蛋及HFPO-DA，HFPO-TA，HFPO-TeA，PFOA，以气室注射的方法在鸡胚发育开始前进行染毒，后将鸡蛋在全自动孵育箱中孵育至孵化，在孵化24小时内以33 mg/kg戊巴比妥钠腹腔注射麻醉，行心电测量术后断头处死，取血清和心脏，血清以LC/MS-MS测内暴露水平，心脏以组织病理学评价形态改变。在进一步机制研究中，以过氧化酶活化增生受体alpha（PPARalpha）沉默慢病毒实现鸡胚中PPARalpha的在体沉默，以之揭示PPARalpha在发育心脏毒性中的作用。**结果** HFPO-DA，HFPO-TA，HFPO-TeA发育暴露均能在鸡胚诱导出类似于PFOA的发育心脏毒性，表现为孵化后雏鸡心率的升高和右心壁厚度的降低，但作用强度有所不同，HFPO-DA毒性作用弱于PFOA（需要更大剂量达到类似PFOA的毒性效果），HFPO−TA与PFOA基本等同，而HFPO−TeA作用强于PFOA（仅需大约1/10染毒剂量即可达到类似PFOA的毒性效果）。PPARalpha的在体沉默有效地保护了HFPO oligomers所诱导的上述毒性，提示HFPO oligomers诱导发育心脏毒性仍依赖于PFOA的经典分子靶点PPARalpha。血清LC-MS/MS结果显示，同剂量发育暴露后雏鸡血清中HFPO-DA，HFPO-TA，HFPO-TeA水平较为相近，大致呈HFPO−DA<HFPO-TA<HFPO-TeA的趋势，而所有HFPO oligomers的血清水平均远低于同剂量暴露的PFOA血清水平。**结论** HFPO oligomers暴露仍然能在鸡胚引起类似于PFOA的发育心脏毒性，短链的HFPO-DA毒性弱于PFOA，而长链的HFPO-TeA毒性甚至强于PFOA。应用HFPO oligomers作为PFOA替代物时，仍有影响生物体心脏正常发育的风险，且其作用靶点仍包括PPARalpha。相关毒性及深入的作用机制尚需进一步深入研究。

关键词：六氟环氧丙烷寡聚物；发育心脏毒性；鸡胚；慢病毒沉默；过氧化酶活化增生受体alpha

通讯作者：姜启晓，E-mail：jiangq@qdu.edu.cn

工业区居民重金属暴露与肾功能指标的关系

袁静宜，赵慧君，牛俊杰，鲁翼雯，沈悦恬，陈　鸿，匡兴亚
（同济大学医学院/同济大学附属杨浦医院职业病科，上海　200090）

摘要：目的 通过工业区与对照区大气PM2.5中重金属质量浓度的检测、居民体内重金属蓄积量及肾功能指标水平的测定，探讨上海市某工业区居民环境重金属暴露与肾功能指标的关系。**方法** 选择某工业园区内A社区为工业区、某生活园区内B社区为对照区，于2020年在A、B两社区设置采样点，各采集96份大气PM2.5样品，采用电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）测定样品中的重金属含量；选择A社区居民176人、B社区居民163人，采用问卷调查收集两区居民一般资料，测定血中尿素氮（BUN）、尿酸（UA）、肌酐（Cr）、尿中肾损伤分子-1（Kim-1）、N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶（NAG）、微量白蛋白（mALB）、胱抑素C（Cys-C）、视黄醇结合蛋白（RBP）、β2-微球蛋白（β2-MG）及尿镉、尿铅水平，通过Spearman相关分析尿镉、尿铅与肾功能指标间的关联。**结果** 工业区大气PM2.5中的镉、铅质量浓度显著高于对照区（$P<0.05$）；工业区居民尿镉（0.75 μg/g Cr）、尿铅（2.2 μg/g Cr）水平高于对照区居民（0.49、1.54 μg/g Cr）（$P<0.05$）；Kim-1（1. 92 ng/L）、mALB（17.90 mg/g）、Cys-C（0.76 mg/L）、NAG（18.40 mg/g）四项早期肾损伤指标水平显著高于对照区居民（1.49 ng/L、8. 40 mg/g、0. 66 mg/L、14. 60 mg/g）（$P<0.01$），且均随尿镉、尿铅水平升高而升高；Kim-1、Cys-C、NAG含量与尿镉（r=0.081、0.071、0.155）、尿铅（r=0.154、0.075、0.029）水平呈正相关（$P<0.01$），mALB含量与尿镉水平呈正相关（r=0.077，$P<0.01$）。**结论** 工业区居民尿镉、尿铅水平似与某些肾功能损伤指标有关，提示低剂量镉、铅环境暴露可能造成肾功能损伤。

人肺巨噬细胞气-液界面暴露汽油发动机尾气诱导的自噬水平变化

李国梁，周玉梅，鱼 涛，张雪艳，戴宇飞，李 斌，宾 萍
（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所，北京 100050）

摘要：目的 探讨人肺巨噬细胞气-液界面（Air-liquid interface，ALI）暴露汽油发动机尾气（Gasoline engine exhaust，GEE）诱导的自噬水平变化，评估GEE对人肺巨噬细胞自噬功能的影响。**方法** 用Tedlar气袋收集洁净空气和GEE，将GEE和洁净空气分别按照VGEE∶V洁净空气 = 1∶10、1∶5的体积比进行稀释，实验分为空白对照组、洁净空气组、1∶10GEE稀释组、1∶5GEE稀释组和未稀释GEE组。除了空白对照组，其余各组均利用ALI体外染毒技术，在染毒流量为25mL/min，37℃水浴条件下，对生长在ALI插件多孔膜上的人肺巨噬细胞（Alveolar macrophage，AM）持续染毒60min。利用CCK-8（Cell counting kit-8）法测定细胞的相对存活率，电镜观察空白对照组、洁净空气组和未稀释GEE组细胞结构变化，Western Blot测定各组细胞LC3、p62蛋白表达水平。各组间采用单因素方差分析进行统计学检验，方差齐用LSD法进行各组间的两两比较，方差不齐则用Dunnett-t法。**结果** ①AM细胞相对存活率呈剂量依赖性下降趋势，洁净空气组、1∶10 GEE稀释组、1∶5 GEE稀释组和未稀释GEE组AM细胞相对存活率分别为（99.31±4.77）%、（80.37±3.49）%、（77.68±1.50）%、（40.89±1.59）%。②空白对照组、洁净空气组和未稀释GEE组电镜观察结果显示，洁净空气组和未稀释GEE组ALI染毒1 h后，细胞核膜萎缩，线粒体肿胀并伴有嵴消解和断裂现象，且未稀释GEE组较洁净空气组出现数量明显增多的自噬小体，自噬小体内吞噬了众多膜泡状结构。空白对照组则未发现异常变化。③LC3Ⅱ/Ⅰ比值在空白对照组与洁净空气组之间无显著差异，而GEE各稀释组均显著高于洁净空气组（$P<0.05$）；p62相对表达水平在空白对照组与洁净空气组之间无显著差异，仅未稀释GEE组p62相对表达水平显著低于洁净空气组（$P<0.05$）。**结论** AM细胞ALI暴露GEE可诱导自噬水平显著升高，并存在一定的剂量-效应关系。

关键词： 汽油发动机尾气；气-液界面；人肺巨噬细胞；自噬

通讯作者： 李国梁，E-mail：1628869398@qq.com；宾 萍，E-mail：binping@niohp.chinacdc.cn

H3K18ac在锰致大鼠海马氧化损伤中的作用及姜黄素的干预研究

刘 艳，陈 志，明 倩，赵 华，田鸿儒，班佳奇，李 军
（贵州医科大学公共卫生与健康学院，环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵阳 550025）

摘要：目的 过量接触锰会诱导机体发生氧化应激，姜黄素具有抗氧化特性并在某些神经退行性疾病中发挥神经保护作用。然而锰中毒机制目前尚不完全明确且无特效药物，因此本研究旨在从表观遗传学角度探讨锰致大鼠海马氧化损伤的作用机制，同时观察姜黄素对锰暴露大鼠海马损伤的改善作用，为锰中毒的防治提供新思路。**材料和方法** SPF级雄性SD大鼠（80～100g）90只，随机分为6组：对照组（腹腔注射无菌纯水），低、中、高锰组（分别腹腔注射5、10和15 mg/kg $MnCl_2 \cdot 4H_2O$），治疗组（腹腔注射15 mg/kg $MnCl_2 \cdot 4H_2O$，经口给予400 mg/kg姜黄素治疗），姜黄素组（经口给予400 mg/kg 姜黄素）。染毒5天/周，1次/天，连续16周。染毒结束后用1%戊巴比妥麻醉后处死大鼠，取血浆及海马检测超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽（GSH）活性及丙二醛（MDA）含量；外周血单个核淋巴细胞及海马检测组蛋白H3第18位赖氨酸乙酰化（H3K18ac）修饰水平；取海马做病理学检查，检测海马中锰含量和氧化应激基因铜锌超氧化物歧化酶（SOD1）、锰超氧化物歧化酶（SOD2）、过氧化物酶6（PRX6）与谷胱甘肽转移酶omega 1（GSTO1）的mRNA转录及蛋白表达水平及氧化应激基因启动子区H3K18ac富集水平。**结果** 1. 随着锰暴露剂量增加，大鼠海马中锰含量增加，海马组织细胞发生变性坏死、结构破坏和数量减少；2. 锰暴露可升高海马及外周血单个核淋巴细胞中H3K18ac修饰水平，抑制海马中SOD1、SOD2、PRX6、GSTO1基因mRNA与蛋白表达，降低海马中SOD2、PRX6、GSTO1基因启动子区H3K18ac富集水平，使海马及血浆中

SOD、GSH、CAT活性降低，MDA含量上升；3. 海马与外周血单个核淋巴细胞中H3K18ac修饰水平成正相关，海马与血浆中SOD、GSH、CAT活性及MDA含量成正相关。4. 姜黄素可明显降低锰暴露大鼠海马中锰含量，增加SOD1蛋白表达水平，改善海马病理组织学变化，升高血浆及海马中SOD、GSH、CAT活性，降低MDA含量；姜黄素未明显改变锰暴露大鼠海马中氧化应激相关基因SOD1、SOD2、PRX6、GSTO1启动子区的H3K18ac富集水平。**结论** 锰可能是通过降低氧化应激基因SOD2、PRX6、GSTO1启动子区H3K18ac富集水平来抑制基因表达，致使大鼠发生氧化损伤；姜黄素对锰致大鼠海马氧化损伤有一定拮抗作用；锰暴露模型中可用外周血中H3K18ac修饰水平及抗氧化物和MDA水平指示其在海马组织中的水平。

关键词： 锰；氧化应激；H3K18ac；姜黄素

基金项目： 国家自然科学基金（81960578）

通讯作者： 刘　艳，E-mail：1772910332@qq.com

整合ATAC-seq和RNA-seq分析确定矽肺发病的关键转录因子

祁远梦，姚　武

（郑州大学 公共卫生学院，450001）

摘要：目的 矽肺的发病过程涉及转录水平相关的许多基因表达的改变，这是由染色质可及性决定的。因此，本研究通过染色质开放性测序技术（Assay for Targeting Accessible-Chromatin using high-throughput sequencing，ATAC-seq）和转录组高通量测序技术（RNA-sequencing，RNA-seq）的联合分析以确定矽肺发病中基因调控网络的核心转录因子及其驱动因素。**方法** 采用ATAC-seq测序技术研究矽肺小鼠肺组织中染色质可及性变化，耦合RNA测序分析染色质可及性与基因表达的关系。基因本体论（GO）分析用于阐明矽肺小鼠的生物学过程以及信号通路的改变。利用String及Cytoscape构建蛋白-蛋白相互作用网络并筛选出关键基因及预测关键转录因子，建立完整和受损肺组织中的关键转录因子调控网络。**结果** 我们在矽肺小鼠的肺组织中发现了染色质易接近性增强的差异表达峰有287个，染色质易接近性减弱的差异表达峰有907个。通过KEGG对差异表达峰邻近基因进行通路富集分析，分别取显著富集的前20个条目，其中共有9条直接或间接与纤维化疾病相关，包括PI3K-AKT、MAPK、Hippo、TNF以及IL-17等信号通路。在矽肺小鼠肺组织中，1079个基因被上调，248个基因被下调。有趣的是，ATAC-seq耦合RNA-seq分析发现，ATAC-seq减弱区域中差异上调的相关基因为20个，差异下调的相关基因有16个。随后，进一步分析了所有Overlap基因涉及的信号通路以及基因功能，发现上调的差异基因主要涉及胶原三聚物、细胞外基质和细胞外空间等信号通路，下调的差异基因主要涉及黏蛋白型o-聚糖生物合成、GnRh分泌、以及P53信号通路等。利用String、Cytoscape筛选出排名靠前的10个hub转录因子，包括MyoD、NeuroD1、Ap4、Tcf21、Atoh1、Tcf12、Fra1、Fra2、Atf3以及JunB，这些转录因子可能在矽肺发生的过程中发挥重要作用。**结论** 我们的研究表明，染色质可及性的改变可能是矽肺发病的初始机制

关键词： 矽肺；ATAC-seq；RNA-seq；染色质可及性；转录因子

通讯作者： 姚　武，E-mail：18137668325@163.com

基于转录组学和蛋白组学联合分析初步探讨瓦斯爆炸致大鼠脑损伤的潜在作用机制

苏亚光[1]，邓律飞[1]，韩小风[1]，姚三巧[1]，吴卫东[1]，曹　佳[2]，孙　磊[2]，丁春节[1]，李海斌[1]，白义春[1]，田林强[3]，李润之[4]，任文杰[5]，董新文[1]

（1. 新乡医学院；2. 中国人民解放军陆军军医大学军事预防医学院；3. 新乡医学院创伤骨科研究所；4. 中国煤炭科工集团重庆研究所有限公司火灾爆炸防治研究分院，5. 新乡医学院健康中原研究院）

摘要：目的 为了探明瓦斯爆炸（GE）对大鼠脑损伤的机制研究，基于有参转录组学和TMT蛋白组学联

合分析技术，初步探讨GE致大鼠创伤性脑损伤的潜在作用机制。**材料和方法** 选取SPF级SD大鼠90只，体重为250±20 g，随机将大鼠分为对照组30只，GE模型组30只和干预组（GE+姜黄素）30只，将GE模型组大鼠置于真实巷道内实施瓦斯爆炸，使用含瓦斯9.0%的100m3空气为瓦斯爆炸当量，将其置于距离爆炸源200 m建立GE模型。爆炸后取出大鼠脑组织，采用HE染色对大鼠脑组织进行病理观察，ELISA检测IL-11β、TNF-α含量。应用有参转录组学技术和TMT蛋白组学技术进行检测，对瓦斯爆炸脑损伤差异基因进行筛选分析，包括GO功能注释、KEEG分析和构建差异蛋白网络调控图。**结果** 瓦斯爆炸引起大鼠脑组织不同程度的病理学改变，如炎性细胞增多，血管损伤等。模型组ELISA结果与对照组相比，模型组IL-11β、TNF-α表达显著上升，差异具有统计学意义（$P<0.01$）。模型组和对照组相比，共检测到242个显著差异的基因（上调57个，下调185个）和233个蛋白（上调142个，下调91个）。GO功能注释和功能分析显示，这些显著的差异基因参与的生物过程主要有对苯丙胺的反应，纹状体发育，神经肽信号通路，对吗啡的反应等。KEGG分析显示，显著的差异基因主要参与cAMP信号通路，多巴胺能突触，神经活性配体受体相互作用等神经系统相关的通路上。其中有显著性差异的前10个基因或蛋白分别是：P06907，Mpz，F1M7Z2，Iqca，O35078，Dao，Q9Z2X5，Homer3，Q811Q2，Clic6。相关的蛋白和基因主要参与多巴胺能突触，苯丙胺成瘾，突触可塑性调节，D2多巴胺受体结合等过程。**结论** 瓦斯爆炸可导致大鼠脑神经炎症反应的发生，产生神经损伤。应用有参转录组学和TMT蛋白组学联合分析发现，多巴胺能突触和cAMP信号通路可能在瓦斯爆炸致脑损伤过程中发挥重要作用。

关键词： 瓦斯爆炸；大鼠；脑损伤；转录组学；蛋白组学

基金项目： 国家自然科学基金-河南省联合基金培育项目资助（U2004102）；国家自然科学基金-河南省联合基金重点项目资助（U1904209）；河南省自然科学基金青年基金项目（202300410312）资助

通讯作者： 董新文，E-mail：dongxinwen118@yeah.net

IGF2BP1重塑支链氨基酸代谢和脂肪酸氧化在苯致造血损伤中的作用

王婧宇，韩 琳，刘紫妍，张 微，张 磊，荆佳茹，高 艾

（首都医科大学公共卫生学院）

摘要：目的 苯是主要的空气污染物和人类一级致癌物，研究表明，长期暴露于低浓度的苯也会导致造血损伤。因此，寻找苯致造血损伤的防治靶点尤为关键。我们之前在低浓度苯暴露工人和苯中毒患者，和急性髓系白血病（AML）队列中发现，胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白1（IGF2BP1）的表达显著降低，提示我们IGF2BP1可能是介导造血损伤的关键分子。因此，本研究旨在通过构建IGF2BP1过表达动物模型，探索靶向IGF2BP1对苯造血毒性是否有缓解作用，并应用多组学联合分析IGF2BP1介导苯毒性的作用机制，为苯暴露人群的健康监护和疾病防治提供实验依据。**材料和方法** 应用全身暴露动态吸入染毒方式对C57BL/6J雄性小鼠进行苯染毒，构建苯致造血损伤模型。尾静脉注射IGF2BP1过表达腺相关病毒载体，构建IGF2BP1过表达小鼠模型，苯染毒后检测造血相关指标血常规，造血干祖细胞比例及关键造血因子表达变化，同时进行骨髓转录组学和血浆代谢组学的联合检测，功能富集分析筛选IGF2BP1调控的关键代谢通路及相关代谢酶和代谢产物，探索IGF2BP1过表达对苯造血毒性的缓解作用及其可能的机制。最后，在苯暴露人群中验证IGF2BP1，关键代谢酶及造血因子的表达，探索其作为标志物的可能性。**结果** 与对照组相比，苯暴露小鼠外周血中白细胞，血小板和粒细胞计数显著降低，流式细胞术结果显示，骨髓造血干祖细胞比例失调，表明苯致造血损伤模型构建成功。IGF2BP1的表达在苯暴露小鼠的外周血，骨髓细胞和造血干细胞中显著降低。过表达IGF2BP1可显著改善苯暴露导致的外周血细胞计数降低，造血干祖细胞比例失调和造血因子表达下降，提示我们IGF2BP1过表达对苯致造血损伤具有缓解作用。机制上，我们通过骨髓转录组和血浆代谢组联合分析发现，苯暴露导致支链氨基酸代谢和脂肪酸氧化通路显著富集，提示我们代谢重塑可能是苯致造血损伤的关键机制。另外，IGF2BP1通过调控代谢酶BCAT1和CPT1A的表达介导苯致

代谢重塑。我们在苯暴露人群中对以上基因的表达进行了验证，结果与动物实验一致。**结论** IGF2BP1通过调控代谢酶BCAT1和CPT1A的表达，对支链氨基酸代谢和脂肪酸氧化通路进行重编程，进而介导苯致造血损伤。IGF2BP1可能是苯毒性的关键调控分子和疾病防治靶点。

关键词： 苯暴露；造血毒性；IGF2BP1；代谢重编程

基金资助： 国家自然科学基金（82073520）

作者简介： 王婧宇，E-mail：wangjy316@foxmail.com

通讯作者： 高 艾，E-mail：gaoai428@ccmu.edu.cn

Polycyclic aromatic hydrocarbons and metals co-exposure induce ribosomal DNA copy number amplification

Yanhua Wang, Liya Zhang, Huige Yuan, Zhizhou He, Yong Niu, Yufei Dai, Huawei Duan*

(National Institute for Occupational Health and Poison Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050)

Abstract: Background: The ribosomal DNA (rDNA) are highly repetitive in eukaryotic genomes and plays an essential role in maintaining genome stability. So far, alterations of rDNA from airborne pollutants exposure remain unclear. Nasal epithelial cell has been an accessible surrogate for evaluating respiratory impairment from the multiple classes of pollutants in the real word. **METHODS** We developed a mixture-centered biomarkers study among 768 subjects from a particle emission in Eastern China. We identified the mixed exposure of PAHs and metals by environmental and biological monitoring. We selected urinary 8-hydroxy-2´-deoxyguanosine (8-OHdG) as the marker of DNA oxidative damage, collected nasal samples, and measured their rDNA copy number (rDNA CN) in our population. We used the multiple linear regression to explore the response between each exposure and rDNA CN. The adaptive elastic net (adENET) regression and bayesian kernel machine regression (BKMR) models were performed to pick out the most significant exposure factors, and assess the hybrid effect and interactions of multiple pollutants. Mediation analyses were set out to assess the roles of 8-OHdG in the associations between exposure analytes and rDNA CN. **RESULTS** The exposure-response between the mixed PAHs and metals emission on nasal 5S and 45S rDNA CN amplification were found. PAHs and Ni in the mixture played a substantial role in expanding nasal rDNA. In addition, the 8-OHdG partially mediated impacts of PAHs and Ni exposure on nasal rDNA CN amplification. **CONCLUSION** Our findings suggested that DNA oxidative stress might trigger rDNA instability induced by inhaled PAHs and metals.

Key words: PAHs; Metals; rDNA copy number; DNA oxidative stress

Foundation item: This research was supported by National Natural Science Foundation of China (82103888); This research was supported by National Natural Science Foundation of China (82073525); National Key R&D Program of China (2022YFC2503203)

Corresponding author: Huawei Duan, E-mail: duanhw@niohp.chinacdc.cn

二甲双胍通过RIPK1调控线粒体质量控制减轻苯胺诱导的肝损伤

王 玥
（哈尔滨医科大学劳动卫生教研室）

摘要：目的 基于苯胺致肝损伤中RIPK1介导的线粒体质量控制失调，探究二甲双胍对苯胺致肝损伤发挥保护作用的分子机制。**方法** 将32只SPF级健康雄性C57BL/6小鼠随机分为对照组、苯胺低剂量组、苯胺中剂量组、苯胺高剂量组，每组8只。苯胺染毒组分别每周腹腔注射一次15.5、31、62 mg/kg苯胺建立苯胺染毒模型，对照组每周腹腔注射一次注射等量生理盐水。13周后各组小鼠摘眼球取血进行肝损伤生化指标检测，取肝组织HE染色进行病理组织学检查，采用qRT-pcr检测肝组织中的程序性坏死关键分子mRNA表达水平。使用0、0.5、1、2 mmol/L浓度二甲双胍的完全培养基，分别处理苯胺染毒AML12细胞12、24、48 h后，CCK-8检测细胞活性差异，每组重复3次，选出最适浓度。1 mmol/L二甲双胍处理苯胺染毒后的AML12细胞，WB检测程序性坏死关键分子以及线粒体质量控制关键分子蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较，苯胺染毒组小鼠出现肝细胞呈现无序排列、肿胀、核浓缩，出现坏死灶。同时与对照组比较，苯胺染毒组小鼠出现肝损伤指标变化（P值均<0.05），且肝组织中程序性坏死关键分子蛋白相对表达水平和mRNA表达水平均升高（P值均<0.05），并且这种变化具有浓度剂量效应。苯胺暴露可诱导肝组织和肝细胞中线粒体质量控制关键分子Drp1、RB蛋白相对表达水平和mRNA表达水平均升高（P值均<0.05），并且诱导Drp1活化和RB蛋白的线粒体转位增强。线粒体上RB蛋白与Drp1直接交互作用，并参与MLKL相关程序性坏死复合物的形成，与苯胺诱发的肝细胞程序性坏死有关。与苯胺染毒组细胞比较，二甲双胍处理组程序性坏死相关蛋白相对表达水平和mRNA表达水平均下降（P值均<0.05）。**结论** 体内实验中苯胺诱导小鼠肝脏中出现RIPK1介导的线粒体质量控制失调，在体外实验的苯胺所致小鼠肝细胞损伤发生发展过程中，二甲双胍可抑制程序性坏死关键分子RIPK1的表达，进而调控线粒体质量控制系统减轻肝损伤。

关键词： 二甲双胍；肝损伤；苯胺；程序性坏死；线粒体质量控制

通讯作者： 王 玥，E-mail：wangyue@hrb.edu.cn

焊接烟尘中超细颗粒物致人支气管上皮细胞氧化损伤的机制研究

应梦超，陶功华，杨 韵，洪新宇，肖 萍
（上海市疾病预防控制中心，上海 200336）

摘要：目的 焊接烟尘是电焊工作场所的主要职业危害因素之一，大量的流行病学及体内外实验研究表明，焊接烟尘中PM10和PM2.5均可导致职业人群体内的氧化应激反应，但关于超细颗粒物（UFP）的氧化损伤效应及机制则鲜见报道。NF-E2 相关因子2（Nrf-2）是氧化应激反应中的关键转录因子，其介导的Nrf-2/ARE信号通路作为机体抗氧化与抗异种生物胁迫最主要的细胞防御机制之一，对于氧化损伤性疾病的预防有着重要的作用。本研究在模拟工作环境中采集焊接烟尘样本并分离出超细颗粒物的组分，以人支气管上皮细胞（16HBE）作为研究对象，开展细胞氧化应激损伤、相关炎症因子及Nrf-2/表达水平的检测分析，旨在阐明Nrf-2/ARE信号通路在焊接烟尘UFP短期暴露条件下的氧化损伤效应及作用机制，为加深对焊接烟尘毒性机制的理解以及为今后疾病预防控制及卫生决策提供实验室依据。**材料和方法** 1. 采用13级撞击式颗粒物切割器进行焊接烟尘颗粒物的采集并对切割粒径在0.1 μm以下采样滤膜进行回收；2. 将回收后的滤膜进行超声处理，并对所提取的金属粒子进行成分分析；3. 采集样本经灭菌处理后开展对16HBE的染毒试验，以0～500 μg/ml的浓度进行4 h细胞染毒。染毒后，采用MTT法检测细胞活性、荧光探针法分析氧化损伤标志物ROS、ELISA法分析炎症因子IL-1β，IL-6，TNF-α及Nrf-2蛋白表达水平。**结果** 1. 焊接UFP成分分析显示，Zn，Mn，Ba，Fe四种金属离子占焊接烟尘UFP总含量的80%以上；2. 16HBE细胞活性与焊接烟尘UFP样本浓度构成量效关系，并在浓度达到100 μg/ml时显著降低；3. 胞内ROS的含量水平随UFP浓

度增加呈现增高趋势，并在CV_{50}的染毒浓度时较对照组提升了1.87倍；4. 随着UFP暴露浓度的增高，细胞炎症因子IL-6、TNF-α及Nrf-2表达水平均呈剂量依赖性升高趋势。**结论** 焊接工艺所产生的焊接烟尘UFP能够诱导人正常支气管上皮细胞ROS表达及抗氧化重要信号因子Nrf-2的表达上调，表明其对机体能够造成氧化及炎症损伤。综合UFP的纳米级粒径，本研究认为在相关职业场所从事焊接工作时，应加强相关人员防护意识，并选用防护级别更加高的防护措施，以应对烟尘中UFP组分所造成的损伤。

关键词：焊接烟尘；氧化损伤；Nrf-2信号通路；超细颗粒物

通讯作者：肖　萍，E-mail：xiaoping@scdc.sh.cn

多环芳烃暴露人群中二羟环氧苯并[a]芘脱氧鸟苷加合物与DNA氧化损伤关系研究

张雪薇[1,2]，郭　玲[3]，王　凯[2]，段化伟[2]

（1. 中国医科大学，沈阳　110001；2. 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所；3. 北京市科学技术研究院城市安全与环境科学研究所）

摘要：目的 探究多环芳烃（PAHs）暴露与暴露工人血中二羟环氧苯并[a]芘脱氧鸟苷加合物（BPDE-dG）的剂量效应关系，分析BPDE-dG加合物与DNA氧化损伤标志物的关系。**材料和方法** 采用横断面调查的方法，以华东地区某焦化厂473名男性焦炉作业工人为暴露组，以距离焦化厂3 km以外的氧气氧气场的无PAHs职业暴露的166名男性工人为对照组。收集研究对象的全血样本和班后尿液，使用全血样本样本进行DNA的提取。检测两组人群工作场所空气中PAHs和苯并[a]芘（BaP）的浓度。采用液相色谱-三重四级杆质谱法测定研究对象全血DNA中BPDE-dG加合物水平。采用高效液相色谱法测定研究对象DNA氧化损伤标志物，尿中尿丙二醛（MDA）和8-羟基-脱氧鸟苷（8-OHdG）。**结果** 将暴露组分为低暴露组和高暴露组两个亚组，对照组和两个亚组工作场所空气中PAHs的浓度分别为55.01（15.07，68.44）、675.3（403.8，2839.97）、4905.4（701.94，9991.52）ng/m^3，呈从低到高的趋势，且差异具有统计学意义（$P<0.01$）。BaP含量分别为0.81（0.1，1.47）、65.62（27.08，248.46）、606.48（57.29，972.6），呈从低到高的趋势，且差异具有统计学意义（$P<0.01$）。血中BPDE-dG水平与PAHs水平相关（$r=0.14$，$P<0.01$），呈剂量反应关系升高；血中BPDE-dG水平与BaP水平相关（$r=0.15$，$P<0.01$），呈剂量反应关系升高。在排除身体质量指数、年龄、吸烟、饮酒和工龄等混杂因素的影响后，我们发现尿中MDA水平IQR（431.14 nmol/ml，肌酐）增加与血BPDE-dG水平增加6.49%相关；尿中MDA水平IQR（0.99 μmol/mol，肌酐）增加与血BPDE-dG水平增加14.25%相关。**结论** BPDE-dG加合物水平与PAHs和BaP水平呈正相关性，暴露工人氧化损伤的生物标志物尿中MDA水平和尿中8-OHdG与血液中的BPDE-dG水平呈剂量-效应关系。

关键词：苯并[a]芘；二羟环氧苯并[a]芘脱氧鸟苷；丙二醛；8-羟基-脱氧鸟苷；剂量效应关系

基金项目：中国疾控中心职业卫生所职业健康风险评估与国家职业卫生标准制定，国家自然科学基金（82073525）

通讯作者：段化伟，E-mail：huaweiduan@126.com

姜黄素通过组蛋白H3K27乙酰化调节锰致SH-SY5Y细胞氧化应激损伤

赵　华，刘　颖，杨　跃，班佳奇，李　军

（贵州医科大学公共卫生与健康学院/环境污染与疾病监控教育部重点实验室）

摘要：目的 长期接触锰会导致神经退行性疾病，但其机制尚不清楚。氧化应激被认为是锰致神经毒性

的主要原因之一。课题组前期研究发现组蛋白乙酰化调节氧化应激可能在锰诱导大鼠神经毒性中发挥重要作用。因此，本研究探讨姜黄素（Cur）通过去乙酰化转移酶（HDAC3）调控H3K27ac修饰水平在锰致SH-SY5Y细胞氧化应激损伤中的干预作用及机制，为锰中毒预防和治疗措施提供思路和依据。**材料和方法** 根据预实验结果，以400 μmol/L$MnCl_2 \cdot 4H_2O$（简称锰）处理SH-SY5Y细胞24 h作为染锰组；用15 μmol/L组蛋白去乙酰化酶激动剂（ITSA）预处理细胞2 h，再400 μmol/L锰处理细胞24 h作为ITSA+锰组；锰+Cur组细胞经400 μmol/L锰处理后给予10 μmol/L Cur溶液干预24 h。采用试剂盒法检测细胞MDA水平，SOD、CAT和GSH-Px酶活性；qPCR法检测氧化应激相关基因SOD2、CAT、GSTO1mRNA转录水平，Western-blot检测组蛋白H3K27ac修饰水平、HDAC3、SOD2、CAT、GSTO1蛋白表达水平；定量染色质免疫沉淀（CHIP）技术检测氧化应激相关基因启动子区H3K27ac富集水平。**结果** 1. 与对照组相比，染锰组MDA含量明显升高，SOD、CAT及GSH-Px酶活性降低（$P<0.05$）；HDAC3蛋白表达升高，H3K27ac修饰水平降低，氧化应激基因（SOD2、CAT、GSTO1）mRNA转录水平和蛋白表达均降低（$P<0.05$）；SOD2、CAT、GSTO1基因启动子CHIP1区/CHIP2区的H3K27ac富集水平均明显下降（$P<0.05$）。2. 与染锰组比较，ITSA+锰组MDA含量增加，SOD酶活性降低（$P<0.05$）；HDAC3蛋白表达水平升高，H3K27ac修饰水平降低（$P<0.05$）；SOD2、CAT、GSTO1基因mRNA转录水平和蛋白表达均降低（$P<0.05$）；SOD2、GSTO1基因启动子CHIP2区H3K27ac富集水平明显减少（$P<0.05$）。3. 与染锰组比较，锰+Cur组MDA含量有所降低，SOD、CAT、GSH-Px酶活性升高（$P<0.05$），HDAC3蛋白表达水平降低，H3K27ac修饰水平升高（$P<0.05$）；CAT、SOD2、GSTO1基因mRNA转录及蛋白表达水平均升高（$P<0.05$）；CAT、SOD2、GSTO1基因启动子CHIP2区H3K27ac富集水平也明显增加（$P<0.05$）。**结论** 姜黄素可以通过下调锰处理的SH-SY5Y细胞HDAC3水平，缓解锰所致的SH-SY5Y细胞氧化应激相关基因（SOD2、CAT、GSTO1）启动子区H3K27ac富集水平降低，增加SOD2、CAT、GSTO1的mRNA转录水平及蛋白表达水平，提升SOD、CAT、GSH-Px酶活性，降低细胞脂质过氧产物MDA含量，改善锰所诱导的氧化应激损伤。去乙酰化转移酶HDAC3是锰致细胞氧化应激损伤的可能干预靶点。

关键词：锰；姜黄素；氧化应激；组蛋白乙酰化；HDAC3

基金项目：国家自然科学基金（81960578）

通讯作者：赵 华，E-mail：474475080@qq.com

T07-0001

锰诱导的α-突触核蛋白过表达干扰Rab26依赖性自噬促进突触前损伤囊泡堆积导致海马神经元突触毒性的机制研究

马 卓，刘 宽，张瑞丰，谢子欣，刘 巍，邓 宇，李 昕，徐 斌

（中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室，辽宁 沈阳 110122）

摘要：目的 过度的锰（Manganese，Mn）暴露会破坏海马神经元突触功能，引起损伤突触囊泡（Synapstic vesicles，SVs）堆积，进而导致突触毒性和小鼠学习记忆功能障碍。有研究表明，Rab26依赖性自噬的失调是受损SVs无法及时清除的关键。我们推测这与锰诱导的α-突触核蛋白（α-Syn）过表达有关。为了研究Mn诱导的α-Syn表达增强干扰Rab26依赖性自噬启动的具体机制，我们建立了动物及细胞的染毒模型。**方法** 利用雄性C57BL/6小鼠，腹腔注射0～100 μmol/kg Mn，持续6周后，检测小鼠学习与记忆损伤，观察Mn诱导的突触毒性和损伤SVs堆积之间的关系；接下来，采用shRNA干扰技术，抑制小鼠海马原代培养神经元α-Syn的表达（LV-α-Syn shRNA），以100 $\mu mol \cdot L^{-1}$ Mn处理后，分析Rab26依赖性自噬启动和损伤SVs堆积情况。**结果** 动物实验发现：与对照组相比，100 μmol/kg Mn暴露组小鼠的突触毒性具有剂量-效应依赖性关系（$P<0.05$），电镜下突触囊泡数量增加（$P<0.05$），损伤突触囊泡数量增加（$P<0.05$）；与50 μmol/kg Mn暴露组相比，100 μmol/kg Mn暴露组小鼠海马神经元内Rab26与Atg16L1相互作用降低（$P<$

0.05)。细胞实验发现:与对照组相比,0～100 μmol·L^{-1} Mn处理组海马神经元突触毒性、损伤突触囊泡数量变化以及Rab26依赖性自噬启动情况与动物实验结果一致。然而,与Mn处理组相比,LV-α-Syn shRNA和Mn处理组神经元内损伤突触囊泡数量下降(P<0.01),Rab26与Atg16L1相互作用增强(P<0.05),突触前自噬水平及突触损伤情况均有所缓解(P<0.05)。**结论** Mn诱导的α-Syn蛋白过表达通过降低Rab26与Atg16L1相互作用,影响突触前Rab26依赖性自噬的启动,使损伤的突触囊泡在突触前端堆积,进而导致突触毒性及学习记忆功能障碍。

关键词:锰; 突触毒性; 突触前自噬; α-突触核蛋白过表达

基金项目:中国博士后科学基金(2021MD703906);2020年辽宁省高等学校创新人才支持计划

通讯作者:徐　斌,E-mail: bxu10@cmu.edu.cn

T07-0002

锰诱导的PINK1蛋白亚硝基化对神经细胞线粒体生成的影响

刘　宽, 刘祉祺, 刘卓凡, 马　卓, 贾芸菲, 邓　宇, 刘　巍, 徐　斌

(中国医科大学, 辽宁 沈阳　110122)

摘要:目的 人体过量锰暴露可以导致锰中毒,表现为类似帕金森病的症状。锰诱导的PINK1蛋白亚硝基化可以抑制PINK1/Parkin介导的线粒体自噬活化,但是锰诱导的PINK1蛋白亚硝基化对线粒体生成的影响及其分子机制尚未明确。**材料和方法** 利用Wister大鼠腹腔注射15,30,60 mg/kg的氯化锰溶液,持续六周建立锰中毒动物模型,评价锰对大鼠神经细胞及其线粒体的损伤以及线粒体生成水平;然后通过培养原代神经元,以特异性诱导型一氧化氮合酶抑制剂1400W作为干预,验证PINK1 蛋白亚硝基化在锰干扰线粒体生成中发挥的作用及其分子机制。**结果** 在体内实验中,我们发现染锰组大鼠出现神经行为学异常以及神经细胞线粒体损伤,我们还发现15,30 mg/kg锰暴露可以激活线粒体生成,而线粒体生成在60 mg/kg组却受到了抑制,且60 mg/kg组的PINK1蛋白亚硝基化水平明显上升。在体外实验中我们发现了相同的结果,原代神经元中的线粒体生成水平在100 μmol·L^{-1} 锰处理后明显上升,而在200 μmol·L^{-1}锰处理后明显下降,且200 μmol·L^{-1}锰处理组的PINK1蛋白亚硝基化水平明显上升。我们还发现200 μmol·L^{-1}锰处理组的ZNF746蛋白表达水平明显增加,这并非由于ZNF746的基因表达增加,而是由于PINK1蛋白亚硝基化抑制其激酶活性,导致其下游的ZNF746磷酸化水平和泛素化水平均明显下降,进而导致ZNF746入核增多,抑制了PPARGC1A介导的线粒体生成。而1400W可以通过抑制PINK1蛋白亚硝基化,缓解200 μmol·L^{-1}锰处理造成的线粒体生成障碍与神经元损伤。**结论** 锰诱导的PINK1蛋白亚硝基化降低了ZNF746的磷酸化水平和泛素化水平,导致ZNF746入核并抑制PPARGC1A介导的线粒体生成。本研究揭示了PINK1蛋白亚硝基化在锰干扰神经细胞线粒体生成中的重要作用,为锰中毒及其他神经退行性疾病的发病机制提供了新的见解,同时为特效药物的研发提供了可靠的靶点。

关键词: 锰; 神经毒性; 蛋白亚硝基化; 线粒体生成

基金项目:国家自然科学基金(81773377);2020年辽宁省高等学校创新人才支持计划

通讯作者:刘　宽,E-mail: lk_cmu@163.com

T07-0003

三丁基锡诱导多囊卵巢综合征对雄性后代神经发育的影响及其机制

蔡浩星, 陈明月, 高　洋, 何承勇, 左正宏

(厦门大学,细胞应激生物学国家重点实验室, 福建 厦门　361102)

摘要:目的 三丁基锡(TBT)作为海洋防污漆的成分被广泛应用,通过食物链富集可转移到人体内,在

污染严重地区，居民日均摄入量可高达上百微克。我们前期发现，TBT暴露可引起母鼠多囊卵巢综合征（PCOS）；在人群研究中，PCOS患者的后代神经发育障碍发病率更高。产前生殖细胞的环境暴露能够通过表观遗传机制影响长期健康。TBT暴露引起的肥胖可以通过DNA甲基化在F1，F2和F3代中遗传。本研究利用TBT诱导的PCOS大鼠模型，探索对其雄性后代（F1-F3）的神经发育的影响及其机制。**方法** 幼鼠哺乳期皮下注射100 ng/kg TBT诱导PCOS。成年后，与未暴露的雄鼠交配，产生F1，F2，F3代。观察三代雄性子鼠的神经毒性效应，包括出生后35-56天的行为学和脑组织病理学表型，并探索其潜在作用机制。**结果与讨论** 与对照组相比，TBT诱导PCOS雄性后代（F1-F3）①在黑白箱试验中，在白箱中停留的时间显著更少，意味着更焦虑；在新事物认知试验中，对新事物探索的时间更短，认知指数更低，意味着认知更差。我们认为TBT诱导PCOS母鼠会影响雄性后代的神经发育且表型可遗传。②脑体比增加；并发现海马CA1和CA3区细胞排列更松散。由于海马CA1区主要执行认知功能，CA3区是与情绪和情感相关的，可能是TBT诱导PCOS母鼠后代认知下降和焦虑的重要器官。③TBT诱导PCOS母鼠雄性后代（F1-F3）海马DNMTs表达发生改变，说明该传代效应可能与DNA甲基化相关。④血脑屏障（BBB）的破坏是许多神经系统疾病的始动环节。BBB处的内皮细胞呈现出由复杂的蛋白质复合物形成的精细连接网络，这些蛋白质形成紧密连接、粘附连接和黄斑粘附。我们发现TBT诱导PCOS母鼠雄性后代海马粘附相关的基因和蛋白表达水平下降，启动子甲基化水平升高。因此，TBT诱导PCOS雄性后代（F1-F3）神经发育异常的表观遗传效应可能通过海马血管BBB内皮细胞粘附相关基因启动子CpG岛甲基化水平介导的。**结论** TBT诱导PCOS母鼠F1，F2，F3代雄性焦虑和认知下降，与DNA甲基化有关。可能的机制是细胞粘附相关基因DNA启动子甲基化升高，影响海马血管BBB内皮细胞粘附，导致CA1和CA3区细胞排列更松散，进而影响了后代的情绪与认知。

关键词：三丁基锡；多囊卵巢综合征；神经发育；表观遗传

基金项目：国家自然科学基金（31971234）

通讯作者：左正宏，E-mail：zuozhenghong@xmu.edu.cn

T07-0004

慢性镉暴露通过激活lncRNA Gm10532/m^{6}A甲基化/FIS1轴介导线粒体分裂和功能紊乱诱导认知功能损伤

邓 平，揭 晟，何旻蒂，陈纯海，余争平，皮会丰

（陆军军医大学军队劳动卫生学教研室，电磁辐射医学防护教育部重点实验室）

摘要：目的 镉是一种使用广泛并且已对环境造成严重污染的重金属。目前研究表明，镉进入人体后可通过血脑屏障，损伤神经系统，导致认知功能障碍等神经系统疾病发生，但机制尚不明确。本文以Neuro-2a细胞、原代海马神经元和小鼠为研究模型，探讨慢性镉暴露导致认知功能损伤的作用机制。**材料和方法** 本文以重金属Cd为研究对象，暴露Neuro-2a细胞（1、2、4 μmol/L^{-1}，72 h）及原代海马神经元细胞（0.5、1、1.5 μmol/L^{-1}，72 h）建立细胞染毒模型，C57BL/6J小鼠（8周）饮水（0.6 mg/L）暴露6个月建立动物研究模型。采用微阵列芯片及TMT蛋白组学技术检测Cd对神经细胞的基因及蛋白表达水平的改变；采用CCK8，JC-1和ATP试剂盒分别检测Cd对细胞增殖、膜电位和ATP水平的影响，采用流式细胞术检测Cd对细胞线粒体ROS的影响；利用FISH技术和qPCR技术检测LNC Gm10532的分布和表达；利用ActD检测RNA的稳定性，利用meRIP和RIP技术检测METTL14蛋白及LNC Gm10532与细胞RNA的结合水平；利用神经行为实验组合检测Cd暴露对小鼠神经行为的影响，电镜和氧化应激指标明确镉暴露小鼠大脑中线粒体形态及氧化应激水平变化。**结果** 本研究发现慢性Cd暴露促进细胞过量线粒体ROS产生、降低线粒体膜电位和减少ATP含量导致线粒体受损，神经细胞死亡。将4 μmol/L^{-1} $CdCl_2$处理72 h的Neuro-2a细胞及对照细胞进行微阵列芯片分析，发现并验证排名第一位的LNC Gm10532在镉暴露条件下表达显著提高。抑制

Gm10532明显拮抗慢性Cd暴露诱导的线粒体功能障碍和神经毒性。并且LNC Gm10532通过招募m^6A修饰酶METTL14，增强Fis1 mRNA的m^6A修饰水平，稳定Fis1 mRNA，从而增加其表达导致线粒体分裂增多。进一步研究发现镉暴露小鼠学习记忆功能受损及其大脑中LNC Gm10532显著增高并且与学习记忆检测相关指标呈负相关与Fis1表达呈正相关。此外，与对照组相比镉暴露组小鼠大脑神经细胞中线粒体明显过度分裂并且氧化应激相关指标显著增高。**结论** 本研究发现lncRNA Gm10532/m^6A甲基化/FIS1轴在慢性镉暴露的神经毒性中起重要作用，揭示了慢性镉神经毒性的一个新的表观遗传调控机制。

关键词：镉；神经毒性；lncRNA Gm10532；m^6A甲基化；FIS1

通讯作者：皮会丰，E-mail：pihuifeng2010@163.com

T07-0005

壬基酚致情绪和认知功能障碍及MiR-542-3p/TLR4调控细胞焦亡的体内外研究

张钰婕[1]，唐　兰[1]，罗　娅[1]，马丽娜[1]，俞　捷[1]，许　洁[1]
（遵义医科大学公共卫生学院，贵州 遵义　563000）

摘要：目的 探索并明确壬基酚（Nonylphenol，NP）灌胃染毒后，大鼠运动能力、中脑黑质区神经细胞焦亡以及NP是否通过miR-542-3p/TLR4/NLRP3调控网络致焦亡的发生。**方法** （一）动物实验：将36只SD大鼠分为：空白组（玉米油，Control）、NP组（80 mg/kg·bw/day，NP）、阳性组（脂多糖，LPS），每组12只。（1）Y迷宫、矿场、疲劳转棒实验判断NP暴露后大鼠空间学习/记忆与运动能力的改变。（2）HE、荧光、透射电镜观察NP暴露后大鼠黑质区病理组织及超微结构的改变。（3）Western Blot/RT-PCR检测TLR4、NLRP3、pro-caspase-1/caspase-1、GSDMD-N与ASC oligomer/monomer的蛋白/基因表达；（二）细胞实验：分组：mimics NC组、miR-542-3p mimics组、mimics NC+NP组与miR-542-3p mimics + NP组。（1）免疫荧光检测BV2细胞中ASC蛋白表达。（2）Western Blot/RT-PCR检测miR-542-3p、TLR4、NLRP3、GSDMD、caspase-1与IL-1β的蛋白/基因表达。**结果** （一）动物实验：（1）与对照组相比，NP组大鼠进入Y迷宫新臂与矿场中央的频数降低（$P<0.05$）；对照组、NP组与LPS组大鼠在转棒上的持续时间依次减少（$P<0.05$）。（2）NP与LPS组黑质区神经细胞排列紊乱，形态异常，细胞肿胀，质膜破裂、淡染，核固缩/坏死；NP与LPS组黑质区小胶质细胞被激活，表现为胞体增大，突起变粗变少甚至回缩呈“阿米巴”样；NP与LPS组小胶质细胞包膜破坏，胞质肿胀；细胞核不规则，异染色质减少、边聚于核膜，核膜界限断裂且伴空泡化；损伤线粒体数量增多。（3）对照组相比，NP与LPS组黑质区TLR4、NLRP3、caspase-1、GSDMD与IL-1β蛋白/基因表达增加（$P<0.05$）。（二）细胞实验：（1）相对于mimics NC+NP组，miR-542-3p mimics+NP组ASC荧光强度明显降低（$P<0.05$）。（2）NP暴露可使miR-542-3p的表达量减少，miR-542-3p过表达可抑制NP暴露引起的miR-542-3p的下调（$P<0.05$）。与mimics NC相比，过表达miR-542-3p可使TLR4、NLRP3与caspase-1 mRNA表达量减少（$P<0.05$）；相对于mimics NC+NP组，过表达miR-542-3p则能抑制NP暴露导致的TLR4、NLRP3与IL-1β mRNA表达量增加（$P<0.05$）。（3）与mimics NC组相比，NP暴露则可使TLR4、NLRP3、caspase-1及IL-1β蛋白增加（$P<0.05$）；与mimics NC+NP组相比，转染miR-542-3p则能显著抑制NP暴露所引起的TLR4、NLRP3、caspase-1及IL-1β蛋白增加。以上结果表明过表达miR-542-3p可通过抑制TLR4减轻NP诱导的BV2小胶质细胞焦亡的发生。**结论** NP暴露致大鼠空间学习记忆力及全身运动能力下降，中脑黑质区小胶质细胞激活伴焦亡发生，NP通过下调miR-542-3p减弱对TLR4的调节作用诱发了小胶质细胞焦亡的发生。

关键词：壬基酚；焦亡；BV2小胶质细胞；miR-542-3p；TLR4；NLRP3

通讯作者：许　洁，E-mail：649904039@qq.com

T07-0006

HIF-1α调控细胞自噬参与氯化钴致神经细胞损害中的作用及机制

汤建平，李艳君，刘 绪，于广霞，郑馥荔，郭振坤，张雅婷，邵文亚，吴思英，李煌元
（福建医科大学公共卫生学院，福建 福州 350122）

摘要：目的 钴是阿尔茨海默病（AD）的潜在环境风险诱因之一，自噬异常是神经退行性疾病的潜在分子机制，但其与环境神经毒物作用的关系不明。本研究旨在进一步研究钴暴露诱导的神经损害过程中细胞自噬相关的分子机制，并探讨HIF-1α在钴暴露过程中对细胞自噬的调控作用及机制。**材料和方法** （1）以人脑神经胶质瘤H4细胞作为主要研究对象，应用不同浓度氯化钴（$CoCl_2$）（0，100，200，400 μmol·L^{-1}）处理24 h，运用蛋白质免疫印迹检测HIF-1α及自噬相关蛋白的变化情况。（2）应用流式细胞术检测ROS和JC-1含量的变化情况。（3）通过蛋白质免疫印迹检测自噬关键蛋白的表达水平验证自噬的改变，并用自噬抑制剂巴佛洛霉素（BafA1）与$CoCl_2$联合处理分析其对自噬流以及下游生物学效应的影响。（4）应用HIF-1α小干扰RNA（siHIF-1α）构建HIF-1α敲低的H4细胞株，氯化钴处理后应用流式细胞术检测ROS和JC-1含量的变化情况。（5）应用ROS 调节剂（N-乙酰半胱氨酸、H_2O_2 以及褪黑激素）联合处理分析ROS对$CoCl_2$引起的自噬流损伤的影响。（6）应用蛋白质免疫印迹检测敲低HIF-1α后，$CoCl_2$暴露对自噬标志蛋白及AD相关病理性蛋白的影响。**结果** 与对照组相比，不同浓度$CoCl_2$暴露能够导致HIF-1α、自噬标志蛋白以及AD相关病理性标志蛋白表达升高。BafA1与$CoCl_2$联合处理分析结果进一步发现$CoCl_2$诱导的神经毒性是由自噬流通量受损引发的。机制研究表明，$CoCl_2$暴露极大地激活了HIF-1α表达，从而促进了ROS的过度产生。ROS 调节剂联合处理实验的结果表明，升高的 ROS参与$CoCl_2$诱导的自噬流损伤，从而导致细胞自噬的缺陷无法消除AD相关病理蛋白的沉积，进一步加剧$CoCl_2$诱导的神经毒性。此外，敲低HIF-1α后有效地减弱了细胞内ROS水平，并且能够拮抗$CoCl_2$暴露引起的自噬标志蛋白及AD相关病理性蛋白表达水平升高。提示HIF-1α能够通过升高细胞内ROS的水平来调控细胞自噬从而参与$CoCl_2$引起的神经毒性。**结论** $CoCl_2$暴露能够通过激活HIF-1α的表达促使细胞内ROS的水平升高，进一步诱导细胞自噬流损伤引起神经毒性。

关键词： 氯化钴；HIF-1α；神经毒性；自噬；阿尔茨海默病

基金项目： 国家自然科学基金（81973083）；国家自然科学基金（81903352）；福建省自然科学基金重点项目（2020J02021）

通讯作者： 李煌元，E-mail：lhy@fjmu.edu.cn

T07-0007

基于人神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞的烟碱体外毒理学评价

李 俊，王红娟，陈 欢，侯宏卫，胡清源
（国家烟草质量监督检验中心，郑州 450001）

摘要：目的 烟碱是卷烟烟气中的重点关注成分，吸入后主要作用于中枢神经系统，目前对于烟碱的体外毒性评价研究多为单一或少量指标的评价。因此，本研究拟基于人神经母细胞瘤细胞SH-SY5Y系统性评价烟碱的体外毒性风险，具体涉及细胞毒性、遗传毒性、氧化应激、线粒体损伤、细胞凋亡等，并探讨其毒性来源的可能机制。**材料和方法** ①0，1，10，100，1000，2000，3000，5000，10000 μmol·L^{-1}烟碱处理人神经母细胞瘤细胞系SH-SY5Y细胞24 h，显微镜下观察细胞，CCK8法检测细胞存活率。②根据细胞存活率曲线，使用0，1，10，100，1000，2000 μmol·L^{-1}烟碱处理SH-SY5Y细胞24 h，采用EdU掺入法检测细胞增殖，LDH释放法检测细胞膜损伤，JC-1探针检测线粒体膜电位变化，Western Blot检测凋亡标志物Cleaved Caspase3水平，Dihydroethidium荧光探针检测活性氧水平，免疫荧光检测DNA双链断裂标志物γH2AX水平，PI染色法检测细胞周期，吖啶橙（AO）和LysoTracker Deep Red探针检测细胞内酸性细胞器变化。③

平板克隆法检测0，1，10，100，1000，2000 μmol·L^{-1}烟碱处理SH-SY5Y细胞7天后的克隆形成率。**结果** ①2000～10000 μmol·L^{-1}烟碱处理24 h剂量依赖性地诱导SH-SY5Y细胞存活率下降，烟碱对SH-SY5Y细胞的半抑制浓度（IC_{50}）为6066±439 μmol·L^{-1}。②1000、2000 μmol·L^{-1}烟碱诱导SH-SY5Y细胞内酸性细胞器体积、γH2AX水平显著增加（P<0.05），细胞克隆形成率显著下降（P<0.05）。③在检测剂量范围内，烟碱未显著诱导细胞膜损伤以及细胞周期、Cleaved Caspase3水平、活性氧水平、线粒体膜电位的变化（P>0.05）。④2000 μmol·L^{-1}烟碱诱导SH-SY5Y细胞出现空泡化现象，细胞内空泡与酸性细胞器共定位，液泡型H^+-ATPase抑制剂Bafilomycin A1可逆转细胞空泡化现象，表明空泡来源于酸性细胞器。**结论** 烟碱在较高剂量下对神经细胞产生细胞毒性，在检测的细胞毒性剂量范围内未诱导氧化应激、细胞膜损伤、线粒体损伤和细胞凋亡，但引起DNA损伤和酸性细胞器膨胀。然而，在长期暴露（7天）下，100 μmol·L^{-1}烟碱并未导致显著的细胞毒性，表明在生理相关浓度（1 μmol·L^{-1}）下，烟碱产生的毒性作用有限。此外，烟碱诱导的酸性细胞器膨胀可能是其产生细胞毒性和遗传毒性的潜在机制。

关键词： 烟碱；SH-SY5Y；细胞毒性；遗传毒性；酸性细胞器

通讯作者： 侯宏卫，E-mail：qsfctc@163.com；胡清源，E-mail：huqy1965@163.com

T07-0008

Neurotransmitter disturbances caused by methylmercury exposure: interaction by microbiota-gut-brain

Fang Chen[1], Ping Li[1,2], Aihua Zhang[1], Wenjuan Wang[1]

(1. The Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education, School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China)

Abstract: PURPOSE The fetal and early postnatal periods have been identified as the developmental stages in which offspring are most vulnerable to cognitive deficits as a result of methylmercury (MeHg) exposure. MeHg exposure disrupts neurotransmitter metabolites and is associated with increased susceptibility to neurological responses. However, the neurotoxic mechanism underlying the MeHg-induced disruption of neurotransmitter metabolism requires further exploration. The present study aimed to assess the association between human exposure to low concentrations of MeHg and neurotransmitter metabolites and to verify this cause-effect relationship using rat models treated with different doses of MeHg. **METHOD** Thirty-six Sprague-Dawley (female:male= 2:1) rats weighing 200–220 g were purchased from Guizhou Medical University. rats were randomly divided into four groups of six rats each and were administered 4 mg/kg/d NaCl (control group) or 0.6 mg/kg/d, 1.2 mg/kg/d, or 2.4 mg/kg/d MeHg by oral gavage. The treatments were performed from gestational day 5 (GD5) to postnatal day 21 (PND21). At PND21, one female pup was randomly selected from each litter in each group (a total of six pups were selected from each group), and biological samples were collected (fresh feces, brains, and blood) after sodium pentobarbital anesthesia. **RESULT** 1. The human study suggested that maternal exposure to MeHg altered neurotransmitter profiles in neonatal cord blood, including key neurotransmitters in the tryptophan and tyrosine pathways. Specifically, there were significant negative associations between total cord blood mercury concentration (THg) and tryptophan (Trp), 5-hydroxytryptamine (5-HT), levodopa (L-dopa), dopamine (DA), glycine (Gly), and γ-aminobutyric acid (GABA). 2. In the animal study, maternal administration of MeHg led to behavioral changes in dams. Morrris water maze test showed that the MeHg treatment impairment of learning and memory in pups. Besides,

the Nissl staining results showed that he number of Nissl-positive hippocampal neurons in the CA1 region of rats was lower in the MeHg-treated groups. H&E staining showed that MeHg-treated group damaged intestinal mucosa, disordered arrangement of glands in colon. Similarly, the number of neurons in the hippocampal vertebrae was reduced, the arrangement was disordered in the MeHg-treated groups. With evidence of neurobehavioral deficits as well as reduced the expression of tight junction protein Claudin-1, Occludin, ZO-1 in the colon and hippocampus. Plasma neurotransmitter results showed that the neurotransmitters Trp, 5-HT, DA, Gly, and GABA exhibited dose-dependent relationships in the population-based study, and these relationships were replicated in the rat model. 3.16S rRNA sequencing analysis suggested that the α and β diversity were significantly altered by MeHg treatment in feces. Specifically, the MeHg caused up-regulated F/B ratio (Firmicutes/ Bacteroidetes), and down-regulated the A/P ratio (Actinobacteria/ Proteobacteria) at phylum level, while MeHg caused up-regulated Prevotella_9, Alloprevotella, Parabacteroides, Helicobacter and Roseburia , and down-regulated Lachnospiraceae_UCG-010, and Ruminococcaceae_UCG-005 at genus level. Moreover, two unclassified bacteria (Muribaculaceae_unclassified and Bacteroidetes_unclassified) were significantly reduced in the MeHg-treated groups, while Chlamydia was absent in the MeHg-treated groups. 4. Mediation analysis to identify the connections among the alterations in THg, gut microbiota, and neurotransmitter metabolites induced by MeHg treatment, the results indicated that MeHg-induced microbial changes partially contribute to the changes of neurotransmitter metabolites. **CONCLUSION** In summary, our findings indicate that cognitive deficits caused by maternal MeHg exposure may be associated with disturbed gut microbiota at the abundance level, alterations in gut-brain-related metabolites at the functional level, and neurotransmitter disturbances. These findings strengthen our mechanistic understanding of the effects of maternal MeHg on cognitive function and the role of the microbiota-gut-brain axis in the neurotoxicity associated with environmental contaminants.

Key words: Methylmercury; Neurotransmitter metabolism; Cognitive function; Gut barrier; Gut-brain axis

Foundation item: The National Natural Science Foundation of China (82160606); The National Natural Science Foundation of China (U1812403); The National Natural Science Foundation of China (81703191); Excellent Young Talents Plan of Guizhou Medical University (2022−105).

Corresponding authors: Wenjuan Wang, E-mail addresses: reality0337@126.com

T07−0009

丙烯酰胺轴突病中线粒体损伤诱导的促轴突变性因子SARM1激活与程序性坏死机制之间交互作用的研究

王 帅，宋福永

（山东大学公共卫生学院卫生毒理与营养学系，山东 济南 250012）

摘要：目的 丙烯酰胺（ACR）是常见的工业原料和食品污染物，可诱导职业人群和实验动物发生逆行死亡性轴突病。然而，ACR诱导轴突变性机制仍不清楚。SARM1是促轴突变性关键分子。研究表明，SARM1可定位线粒体、影响线粒体自噬，并与程序性细胞死亡途径互作、决定细胞命运。本研究拟以线粒体损伤为切入点，探讨ACR诱导的轴突变性过程中SARM1激活与程序性坏死信号通路之间的机制联系，以期阐明ACR诱导轴突损伤的可能机制，并为ACR中毒性神经病的防治提供新靶点。**材料和方法** 1. 建模。选用Wistar大鼠和C57BL/6-Sarm1^{em1cyagen}小鼠染毒ACR，以SARM1抑制剂Berberine、程序性坏死抑制剂Nec-1、自噬激活剂Rapamycin干预，建立动物模型及干预模型，监测神经行为、电生理改变。选用

N2a细胞，建立ACR染毒剂量、时间-反应细胞模型。2.轴突变性研究。利用电镜、病理及细胞图像评价轴突损伤，WB、免疫荧光检测SARM1表达、亚细胞定位。3.程序性坏死通路研究。利用WB、TUNEL、免疫组化及荧光检测凋亡、程序性坏死相关蛋白，细胞反应类型。4.线粒体损伤及线粒体自噬研究。利用电镜、WB、免疫荧光、ROS及活细胞成像检测线粒体形态、动力学、膜通透性、ROS产生及线粒体自噬改变，LC3 turnover评价自噬流。**结果** 1. ACR染毒动物出现典型的后肢运动障碍。2. ACR染毒动物脊髓和坐骨神经中SARM1表达上调，且轴突出现明显变性坏死。而利用药物和基因敲除手段抑制SARM1活性，能有效缓解ACR引起的神经损伤。SARM1聚集于线粒体。3. ACR诱导下运动神经元程序性坏死相关分子上调，但Nec-1保护作用不明显。线粒体相关非经典程序性坏死信号通路激活。PGAM5、DRP1在线粒体累积，促进坏死体靶向线粒体。4. ACR染毒影响线粒体动力学，促进线粒体分裂，膜通透性增加，ROS产生增加，且线粒体自噬标志分子累积。5. Rapamycin干预能减轻动物神经损伤，同时减少线粒体SARM1富集，并抑制程序性坏死，缓解ACR诱导的线粒体结构与动力学异常。**结论** ACR激活SARM1依赖性轴突变性，且上调的SARM1富集于线粒体。SARM1的程序性坏死调控信号通路激活，加重线粒体损伤。PGAM5将坏死体靶向线粒体，促进线粒体分裂。线粒体自噬作为应激保护反应被激活。Rapamycin增强线粒体自噬，维持线粒体质量，抑制轴突变性，减轻神经损伤。

关键词：acrylamide；dying-back neuropathy；mitophagy；necroptosis；rapamycin；SARM1

基金项目：国家自然科学基金（82173552）；国家自然科学基金（81673209）

作者简介：王　帅，E-mail：shuaiw@mail.sdu.edu.cn

通讯作者：宋福永，E-mail：fysong3707@sdu.edu.cn

T07-0010

聚苯乙烯纳米塑料对小鼠大脑血脑屏障及神经细胞的影响

单　姗，张一帆，赵慧文，赵秀兰

（山东大学公共卫生学院，济南　250012）

摘要：研究目的 微塑料（Microplastics，MPs）是尺寸小于5 mm的塑料颗粒，包括尺寸在1 nm至1000 nm的纳米塑料（Nanoplastics，NPs）。通过动物对环境中MPs的摄取，以及在食品加工、包装中的污染等，MPs已广泛进入了人类日常消费的食品中。有证据表明MPs可被人体吸收并进入血液循环及机体组织。采用水生生物进行的研究表明，神经系统是MPs敏感的作用靶点。但MPs是否能够透过哺乳动物的血脑屏障并导致神经毒性尚不清楚。本研究采用50 nm聚苯乙烯纳米塑料（polystyrene Nanoplastics，PS-NPs）作为MPs的代表，观察了MPs对小鼠血脑屏障（blood-brain barrier，BBB）的损害作用，以及对小胶质细胞和神经元细胞的损伤。同时，采用体外细胞实验的方法阐明MPs神经毒性的潜在机制，以期为MPs对哺乳动物和人类健康的潜在威胁提供可以借鉴的依据。**材料与方法** 体内实验采用小鼠经口染毒PS-NPs 7 d，首先观察PS-NPs对小鼠血脑屏障通透性的改变，以及在脑组织中蓄积的情况。其次，脑组织切片病理染色并观察小胶质细胞激活和神经元损伤情况。体外实验采用永生化人脑微血管内皮细胞（human cerebral microvascular endothelial cell，hCMEC/D3）探究PS-NPs损伤BBB的潜在机制。同时，采用BV2小鼠小胶质细胞和HT-22小鼠海马神经元细胞观察PS-NPs对小胶质细胞和神经元细胞的影响，以及激活小胶质细胞对神经元的损伤作用。**实验结果** 体内实验结果表明，PS-NPs（0.5～50 mg/kg.bw）诱导BBB通透性增加，并在小鼠脑内呈剂量依赖性累积。此外，PS-NPs被小胶质细胞吞噬，导致小胶质细胞激活以及神经元损伤。体外实验结果表明，PS-NPs可以被hCMEC/D3细胞吞噬并蓄积在细胞中，导致细胞活力下降、活性氧（reactive oxygen species，ROS）产生、核因子kappa-B（nuclear factor kappa-B，NF-κB）激活、培养基中肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factors α，TNF-α）水平升高以及程序性坏死（Necroptosis）。同时，PS-NPs暴露导致hCMEC/D3形成的紧密连接（tight junction，TJ）受到损伤，表现为跨内皮细胞电阻值（transendothelial electrical resistance，TEER）下降和紧密连接组分闭合蛋白（Occludin）表达减少。此外，

PS-NPs暴露导致BV2细胞显著激活，导致ROS大量产生、TNF-α和IL-1β大量释放；采用BV2细胞激活的条件培养基培养HT-22，观察到激活小胶质细胞释放的神经毒性物质导致了HT-22细胞形态变化和细胞活力下降。**结论** PS-NPs可使小鼠BBB通透性增加，进入并蓄积在大脑组织中，激活小胶质细胞并诱导神经元发生退行性病变。PS-NPs可以通过细胞旁途径和细胞内吞途径透过脑微血管内皮细胞单层，导致内皮细胞程序性坏死。同时，BV2细胞吞噬PS-NPs并显著激活，释放出大量炎性因子，导致HT-22细胞形态改变和细胞活力下降，提示微塑料可能通过激活小胶质细胞损伤神经元。

关键词：微塑料；神经毒性；血脑屏障；小胶质细胞；程序性坏死

通讯作者：赵秀兰，E-mail：zhao.xl@sdu.edu.cn

T07-0011

二硫化碳通过程序性坏死机制损伤大鼠多巴胺能神经元，引起帕金森样症状

刘志丹，宋福永

（山东大学公共卫生学院，济南 250012）

摘要：目的 帕金森病是全球范围内第二常见的神经退行性疾病，同时也是增长最快的神经退行性疾病。流行病学研究揭示帕金森病新发病例数量的快速增加与环境污染密切相关。帕金森病目前尚无有效治疗手段，基于基因修饰或毒素的啮齿动物模型被广泛应用于帕金森病机制及治疗研究，但很少能复制帕金森病临床及病理特征。二硫化碳（CS2）是一种常用的工业有机溶剂，在过去的职业中毒病例报告及横断面研究中被认为可以引起帕金森样疾病，但尚未证实。本研究利用动物试验验证CS2暴露是否可以引起大鼠典型的帕金森样运动症状及病理改变，探究CS2引起多巴胺能神经元损伤的可能机制，以期促进帕金森病病因研究。**材料和方法** 本研究选用Wistar大鼠，进行持续8周灌胃给药CS2，建立亚慢性暴露剂量模型，记录震颤现象，并进行步态评分及转棒实验。然后利用电镜、免疫荧光及免疫印迹实验检测黑质致密部多巴胺能神经元损伤及α-synuclein聚集以验证帕金森病病理特征，通过TUNEL实验及细胞死亡相关蛋白表达以探讨多巴胺能神经元丢失途径。并使用SH-SY5Y细胞系探讨了程序性坏死抑制剂NEC-1对CS2暴露的保护作用。**结果** 1. 神经行为学研究显示CS2暴露大鼠表现出运动迟缓及全身静止性震颤等典型帕金森样运动症状。2. 神经病理检测发现，CS2暴露致大鼠黑质致密区多巴胺能神经元显著损伤，表现为神经元数量显著减少，致密区范围缩小并伴有线粒体及突触丢失。3. CS2暴露致大鼠黑质致密区多巴胺能神经元出现路易体改变，表现为α-synuclein显著堆积并发生过度磷酸化修饰。4. CS2暴露致大鼠黑质致密区多巴胺能神经元程序性坏死通路激活，表现为MLKL及其磷酸化表达显著增加，TUNEL检测显示细胞显著死亡。5. CS2暴露可引起SH-SY5Y细胞系程序性坏死，并且可以被NEC-1挽救。**结论** 本研究证实二硫化碳作为一种环境危险因素，可以通过引起大鼠多巴胺能神经元丢失导致帕金森样症状，这种神经元丢失是通过程序性坏死驱动的。本研究建立了一种潜在的可靠的帕金森病环境危险因素暴露模型，促进了帕金森病病因研究。

关键词：二硫化碳；帕金森病；环境危险因素；多巴胺能神经元；α-synuclein；程序性坏死

基金项目：国家自然科学基金（82173552）；国家自然科学基金（81673209）

通讯作者：宋福永，E-mail：Fysong3707@sdu.edu.cn

T07-0012

CDK5在1-溴丙烷诱导肥胖小鼠认知功能障碍中的作用及其机制研究

宋铭雪，赵秀兰
（山东大学公共卫生学院，山东 济南 250012）

摘要：目的 职业接触1-溴丙烷（1-BP）可引起神经系统功能障碍。最新研究发现高脂膳食（HFD）能进一步加重神经毒物诱导的神经损伤。细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶5（CDK5）在神经元中特异性表达，参与中枢神经系统轴突生长、突触传递以及神经元的分化和凋亡等过程。在病理刺激下，神经元内钙离子内流激活calpain，可将p35切割成p25和p10片段，致使CDK5过度激活，进而磷酸化下游关键蛋白，参与神经炎症反应，诱导神经元死亡。本研究拟通过比较正常体重和肥胖动物接触低水平神经毒物（1-BP）后神经损伤差异，观察CDK5的表达和激活情况，探讨与神经元线粒体损伤和程序性坏死信号通路之间的机制联系，以期为肥胖和低剂量环境毒物联合暴露致神经损伤的防治提供新的防治策略。**材料和方法** ①模型建立：采用C57小鼠经高脂饲料喂养制备肥胖动物模型，然后进行90天的低剂量1-BP慢性染毒，利用迷宫试验和新物体识别试验评价学习记忆能力。②神经细胞损伤和神经炎症的检测：利用免疫组化观察大脑海马组织神经元损伤、胶质细胞的数量和形态学改变，透射电镜评价动物海马组织中神经元线粒体损伤情况，Western blot检测大脑Insulin/IRS/PI3K/AKT通路、calpain-CDK5信号通路的检测、NLRP3炎性小体通路、程序性坏死相关蛋白的变化。③线粒体损伤、线粒体自噬以及calpain-CDK5信号通路的检测：采用电镜、WB、免疫荧光、ROS及活细胞成像验证线粒体形态、动力学、膜通透性及线粒体自噬改变，以及calpain-CDK5通路关键分子表达与活性的变化。**结果** ①肥胖动物呈现脑内胰岛素抵抗，联合1-BP暴露表现出对脑内胰岛素信号通路损伤的协同作用；②肥胖加重低剂量1-BP染毒动物的学习记忆损伤与焦虑行为；③肥胖染毒动物大脑组织calpain-CDK5信号通路激活程度高于正常体重染毒动物，伴随明显的炎症反应及神经元丢失；④肥胖染毒动物大脑组织程序性坏死相关分子蛋白表达明显上调；⑤肥胖加重1-BP染毒对线粒体动力学的影响，表现为线粒体关键调控分子DRP1表达增加与磷酸化，线粒体分裂增加，且PINK1-Pakin介导的线粒体自噬通路激活。 **结论** ①肥胖可增强低水平1-BP暴露的神经毒性，诱导小鼠认知功能障碍。②肥胖导致脑内胰岛素信号紊乱，激活calpain-CDK5信号通路，引起线粒体功能受损，进而诱导炎性反应和神经元程序性坏死，最终导致神经元丢失。

关键词：1-溴丙烷；CDK5；线粒体损伤；神经炎症
项目资助：国家自然科学基金（81872654）

T07-0013

自噬-溶酶体途径在MeHg致SH-SY5Y细胞衰老中的作用及褪黑素干预研究

宋 爽，陈 雄
（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室，公共卫生与健康学院，毒理学系，贵阳 550025）

摘要：目的 甲基汞（MeHg）是一种神经毒物，可引起多种神经系统疾病的发生。最新研究表明，MeHg在引起神经毒性的同时亦伴随神经细胞自噬流受阻，而靶向自噬-溶酶体途径对神经退行性疾病具有一定的干预效果。此外，褪黑素是一种主要由松果腺分泌的激素，对神经系统具有保护作用。因此，本研究旨在构建MeHg致SH-SY5Y细胞衰老模型，并在此基础上探讨自噬-溶酶体途径在MeHg致SH-SY5Y细胞衰老及褪黑素干预中的作用。**材料和方法** 采用不同剂量MeHg（0、0.125、0.25、0.5 μmol/L）处理人神经母细胞瘤细胞（SH-SY5Y）48 h以及采用1 mmol/L褪黑素预处理24 h后，CCK-8法检测细胞活性；β-半乳糖苷酶染色（SA-β-gal）法检测衰老细胞数量；蛋白免疫印迹法（Western blot）检测衰老蛋白p16、自噬相关分子p62、LC-3Ⅰ、LC-3Ⅱ蛋白以及溶酶体相关蛋白LAMP1的表达；溶酶体红色荧光探针和溶酶体绿色荧光探

针分别检测溶酶体数量和溶酶体pH值变化情况；电镜观察溶酶体以及自噬小体的变化。**结果** 与对照组相比，β-半乳糖苷酶染色阳性细胞数量随MeHg浓度的升高而增多，p16和p62蛋白水平及LC-3Ⅱ与LC-3Ⅰ蛋白水平的比值随MeHg浓度的升高而增高，LAMP1蛋白水平随MeHg浓度的升高而降低，溶酶体红色及绿色荧光探针的荧光强度均随MeHg浓度的升高而降低。在0.5 μmol/L MeHg作用下，1 mmol/L褪黑素预处理24 h可明显抑制p16蛋白的表达及衰老细胞数量，改善自噬通量及细胞溶酶体活性。**结论** 以上研究结果表明，在本研究条件范围内，MeHg可能通过损伤溶酶体功能和抑制溶酶体生物发生，进而引起SH-SY5Y细胞衰老；而褪黑素可能通过促进溶酶体生物发生从而缓解MeHg对SH-SY5Y细胞的毒性作用，该研究可为MeHg诱导神经毒性的新疗法提供实验依据。

关键词：甲基汞；神经毒性；褪黑素；细胞衰老；自噬-溶酶体途径

基金项目：国家自然科学基金（U1812403）

作者简介：宋 爽，E-mail：781509950@qq.com

通讯作者：陈 雄，E-mail：scicelnat_cx@163.com；

T07-0014

The Role of miR-219a-5p regulating NMDAR in Nonylphenol-induced cognitive dysfunction and synaptic plasticity impairment

Huawen Yu, Na Fu, Ya Luo, Jie Yu, Jie Xu

(School of Public Health, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000)

Abstract: OBJECTIVE To determine whether nonylphenol exposure leads to cognitive impairment in rats and changes in synaptic plasticity and miR-219a-5p, NMDAR expression in hippocampus through animal experiments. Exploring the role of miR-219a-5p in regulating NMDAR in neuronal synaptic plasticity damage in hippocampus caused by nonylphenol through cell experiments. **METHODS** *In vivo*, 30 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into two groups: control group(C, corn oil), NP group(80 mg/kg/day), 15 rats in each group, NP exposed for 90 days. (1)Water maze, New Position Recogntion and New object Recognition; (2)High performance liquid chromatography(HPLC) was used to detect NP content, Morphological changes of hippocampus were observed by Nissl staining;(3) The content of neurotransmitters was detected by ELISA, and the morphology and ultra fine structure of synaptic plasticity in hippocampus were observed by Golgi staining and electron microscopy;(4)Western Blot/PT-PCR was used to detect the protein/gene expression of CaMK Ⅱ, GAP-43 and NMDAR1, NMDAR2A, NMDAR2B. *In vitro*: Grouping: blank control group, mimics NC group, miR-219 mimics group, NP group (70 μmol/L NP), NP+mimics NC group, NP+miR-219 mimics group. (1) Glu and GABA were detected by ELISA. (2) Ultrafine synaptic structures in hippocampal nerves were observed by electron microscopy. (3) The expression of CaMK Ⅱ and GAP-43 was detected by immunofluorescence. (4) The protein expression of CaMK Ⅱ, GAP-43 and NMDAR1, NMDAR2A, NMDAR2B was detected by Western Blot. **RESCULT** *In vivo*, compared with the control group,(1)The NP accumulation in hippocapus of NP group was significantly increased(t=−6.431, P<0.05); (2)Water maze: the escape latency of the NP group was significantly lower than the control group after the third day (t=5.285, P<0.05). New object/new position recognition experiment: The NP group's memory index of new things and recognition index of new things were less than 50% (tNew thing=6.586, tNew position=4.289, P<0.05), and NP group, the ratio of exploration times to new objects/new locations decreased (tew object = 2.679,tnew position=8.020, P<0.05); (3) Nerve cells in NP group is arranged irregularly; (4) ELISA experiment: Glu and GABA levels in hippocampal tissue were reduced in the NP group (tGlu=

2.865, tGABA=3.201, *P*<0.05); (5) Golgi staining: The dendritic arrangement of the NP group was disordered, the number of dendritic spines was sparse, and the density of dendritic spines was significantly reduced (*t*=11.990, *P*< 0.05). Transmission electron microscope: Compared with the control group, with an increase of NP exposure dose, the number density of synapses per unit area decreased, the length of the synaptic active zone was shortened (*t*=8.253, *P*<0.05), and the length of postsyn aptic density decreased (tthickness =5.139, t length=3.024, *P*<0.05); (6) Western blot and RT-PCR : compared with the control group, the protein/mRNAs level of NMDAR1, NMDAR2A, NMDAR2B, CaMKII and GAP-43 in the NP group decreased (*P*<0.05). *In vitro*,(1) NMDAR1, NMDAR2A, NMDAR2B protein was significantly reduced in the miR-219 mimics group and increased in the miR-219 inhibitor group (FNMDAR1 = 71.597, FNMDAR2A = 21.513, FNMDAR2B=10.554,*P*<0.05), indicating that the miR-219a-5p cell model was successfully constructed; (2) The contents of Glu, GABA in NP group and NP+mimics NC decreased (*P*<0.05), and the NP+miR-219 mimics group was higher than the NP group (*P*<0.05), indicating that miR-219 can inhibit the Decrease of Glu and GABA due to NP exposure; (3) In synaptic plasticity, the length of the synaptic active zone, the thickness of the postsynaptic dense, and the length of the postsynaptic dense were shortened in the NP group, NP+mimics NC,and NP+miR-219 mimics group (*P*<0.05). NP group Was lower than those in the NP+miR-219 mimics group (*P*<0.05); (4) The protein expressions of NMDAR1, NMDAR2A and NMDAR2B in NP group, miR-219 mimics group, and NP+miR-219 mimics group were decreased (*P*<0.05) , and NP+miR-219 mimics group was higher than those in the NP group (*P*<0.05).The protein expressions of synapse-related proteins (CaMKⅡ and GAP-43) compared with the control group,the NP+miR-219 mimics group was higher than those in the NP group (*P*<0.05). **CONCLUSION** NP exposure can cause cognitive dysfunction and decrease of neurotransmitters in rats, and lead to synaptic plasticity impairment, as well as a decrease in miR-219a-5p and NMDAR expression. MiR-219a-5p inhibits the expression of NMDAR, thereby reducing the role of synaptic plasticity damage of NP on hippocampal neurons.

Key words: Nonylphenol; Hippocampal neurons; Synaptic Plasticity; NMDAR; miR-219

Corresponding author: Jie Xu, E-mail: 649904039@qq.com

T07-0015

纳米银经自噬-溶酶体通路诱导神经炎症效应及其机制

尚梦婷，牛书彦，常晓茹，郭孟昊，吴天舒，张　婷，唐　萌，薛玉英
（东南大学公共卫生学院；环境医学与工程教育部重点实验室）

摘要：目的　探索纳米银（AgNPs）诱导的神经炎症和自噬-溶酶体通路之间的关系，阐明AgNPs引起的神经毒性机制。**材料和方法**　体内研究中，对ICR小鼠进行尾静脉注射AgNPs后，通过HE染色、免疫组化、免疫荧光等方法观察AgNPs引起的体内神经毒性和神经炎症。体外研究中，以BV2细胞为模型，用流式细胞术检测细胞凋亡和ROS，同时检测LDH水平探究AgNPs细胞毒性效应；通过流式细胞术检测胶质细胞表型比例、ELISA检测IL-1β水平、WB和免疫荧光检测炎症相关蛋白表达；Ad-mCherry-GFP-LC3Ⅱ观察AgNPs对小胶质细胞自噬流的影响，并使用WB检测自噬相关蛋白改变；使用流式细胞术检测溶酶体酸性囊泡改变，免疫荧光观察溶酶体膜通透性变化并使用WB检测溶酶体膜相关蛋白改变；同时我们应用自噬抑制剂和自噬诱导剂探讨自噬通量受损与AgNPs诱导神经炎症之间的关系。**结果**　暴露AgNPs的小鼠大脑皮质未出现严重的病理异常，AgNPs增加了小鼠大脑的促炎表型极化、炎症水平，并增加了自噬相关蛋白的表达。AgNPs引起BV2细胞促炎表型极化和炎症反应；AgNPs不仅引发BV2细胞的自噬发生，而且改变自噬通量；AgNPs通过降低溶酶体相关膜蛋白的水平、促进溶酶体膜通透性和改变溶酶体酸性环境来抑制自

噬体-溶酶体融合并损害溶酶体功能。此外，我们使用自噬刺激剂预处理增强了BV2细胞自噬发生并延缓了AgNPs诱导的神经炎症，而自噬抑制剂并没有改善AgNPs引起的神经炎症。AgNPs通过抑制自噬体与溶酶体的融合来阻碍自噬通量，从而加重AgNPs诱导的神经毒性。此外，由于自噬小体降解过程的阻断，BV2细胞暴露于AgNPs会导致自噬体的增加。**结论** 本研究揭示了AgNPs诱导自噬和溶酶体相关蛋白的失调，导致自噬通量受损，触发AgNPs诱导的神经炎症。我们的研究结果表明溶酶体可能是AgNPs诱导的神经毒性的潜在细胞内靶细胞器。本研究为金属NPs暴露引起的神经毒性机制提供了一个新的视角。

关键词：AgNPs；神经炎症；自噬体-溶酶体途径

基金资助：国家自然科学基金（82273674）；国家自然科学基金（81573186）

通讯作者：尚梦婷，E-mail：smt_2smt@163.com

T07-0016

α-突触核蛋白转移至星形胶质细胞后通过Nurr1/NF-κB介导神经炎症参与甲基苯丙胺诱导的神经毒性

王小涵，黄 俭，谷慈航，黎 宽，谢绮芊，凌浩森，罗文钰，邱平明

（南方医科大学法医学院，广东 广州 510515）

摘要：目的 探讨甲基苯丙胺（methamphetamine，METH）能否诱导α-突触核蛋白（α-synuclein，α-syn）转移至星形胶质细胞，并在星形胶质细胞中通过Nurr1/NF-κB介导神经炎症，从而引起神经毒性作用。**方法** 建立慢性METH滥用C57小鼠模型，通过新物体识别、水迷宫等行为学实验检测动物学习记忆情况，ELISA检测海马脑区IL-1β、TNF-α等炎症因子水平，Western blot和免疫荧光检测海马脑区α-syn、GFAP、Nurr1、NF-κB、BDNF、MAP2等蛋白表达；利用腺相关病毒特异性过表达小鼠海马脑区星形胶质细胞中Nurr1水平，再按相同方法给予METH，并重复检测上述指标。原代培养C57小鼠神经元和星形胶质细胞，先用METH分别处理单独培养的细胞，通过Western blot和免疫荧光检测α-syn表达，再用METH处理神经元/星形胶质细胞共培养模型，通过Western blot和免疫荧光检测α-syn转移情况；外源性加入重组α-syn处理原代培养的星形胶质细胞，通过Western blot和免疫荧光检测Nurr1和NF-κB表达水平，ELISA检测培养基中IL-1β、TNF-α等炎症因子水平；将经过外源性α-syn处理的星形胶质细胞与原代神经元共培养，通过Western blot和免疫荧光检测MAP2、PSD-95、Synaptophysin、Synapsin1表达；使用Nurr1激动剂C-DIM12预处理原代培养的星形胶质细胞后，再添加重组α-syn，并重复检测相应指标。**结果** METH作用后上调了α-syn表达并诱导其从神经元转移至星形胶质细胞，在星形胶质细胞引起Nurr1水平降低，使其与NF-κB结合减少，NF-κB大量入核导致IL-1β、TNF-α水平升高，引起神经元MAP2、PSD-95、Synaptophysin、Synapsin1表达下降，神经元形态异常，小鼠学习记忆能力受损；而过表达星形胶质细胞Nurr1水平后，可减轻上述病理改变。**结论** 在METH诱导的神经毒性中，α-syn不仅在神经元原位发挥直接的神经毒性损伤，其还可转移至星形胶质细胞，进而通过Nurr1/NF-κB介导神经炎症展现间接的神经毒性作用。

关键词：甲基苯丙胺；神经毒性；α-突触核蛋白；Nurr1；NF-κB；神经炎症

基金项目：国家自然科学基金（81971786）；国家自然科学基金（82171881）

通讯作者：邱平明，E-mail：qiupmfy@126.com

T07-0017

MC-LR和亚硝酸钠联合暴露对小鼠神经认知功能的影响

张宗鑫，张冰玉，张慧珍
（郑州大学公共卫生学院，郑州 450001）

摘要：目的 水体富营养化的发生会导致蓝藻水华暴发，蓝藻细胞聚集并产生微囊藻毒素，对水生环境和生物健康产生毒性作用。同时水中的无机氮在缺氧条件下可被转化为亚硝酸盐。因此，微囊藻毒素和亚硝酸盐可以同时存在于水体中。微囊藻毒素-LR（microcystin-leucine-arginine，MC-LR）被认为可以进入大脑并诱导神经毒性，而亚硝酸盐是否可以加剧神经毒性还有待进一步探究。本研究旨在探究MC-LR与Na-NO2单独及联合作用对Balb/c小鼠神经认知功能的影响。**材料与方法** 将24只Balb/c小鼠分为4组，每组6只，将MC-LR（100 μg·L^{-1}）与$NaNO_2$（300 mg·L^{-1}）以自由饮水的方式单独及联合作用于Balb/c小鼠6个月。6个月后，分别通过行为学实验观察小鼠神经行为的改变、H&E染色与Nissl染色观察小鼠海马组织形态的变化以及RT-PCR检测小鼠海马组织BACE1和ADAM10 mRNA表达水平，及Western Blot实验观察Aβ蛋白的表达水平。以此探究MC-LR与$NaNO_2$单独及联合暴露对小鼠海马的损伤作用及其对神经认知功能的影响。**结果** Morris水迷宫实验结果显示：MC-LR染毒组小鼠在目标象限的停留时间减少。海马组织病理切片结果表明，MC-LR暴露可损伤小鼠海马组织，可见神经元细胞排列紊乱、数量减少、Nissl小体减少和空泡增多；随后我们发现MC-LR暴露可促进海马组织中Aβ沉积。染毒组小鼠海马组织AD相关基因BACE1相比对照组mRNA表达水平升高，ADAM10 mRNA表达水平与对照组相比表达降低。$NaNO_2$暴露后结果与MC-LR暴露后结果基本一致。且联合暴露比单独暴露损伤更为明显。**结论** MC-LR与$NaNO_2$均可导致小鼠海马损伤以及会使神经认知功能受到一定影响，且联合暴露后影响更强。

关键词：微囊藻毒素-LR；亚硝酸钠；海马损伤；神经认知功能障碍

通讯作者：张慧珍，E-mail：huizhen18@126.com

T07-0018

SIRT1抑制SCCPs活化星形胶质细胞的机制研究

张子阳，丁文洁，赵子轩，赵新元，吴启运
（南通大学公共卫生学院职业医学与环境毒理学系）

摘要：目的 探究短链氯化石蜡（SCCPs）对中枢神经系统的影响，阐明SIRT1在SCCPs诱导星形胶质细胞活化模型中的作用及调控机制。**材料和方法** 构建SCCPs小鼠灌胃暴露模型，收集小鼠半脑行石蜡切片，用TUNEL和NeuN双染检测神经元凋亡，尼氏染色观察神经元形态，免疫印迹和免疫组化检测脑组织GFAP、iNOS表达。构建星形胶质细胞（C6）活化模型，用CCK-8法筛选合适的染毒浓度和时间。通过Edu染色、检测细胞周期增值相关蛋白、细胞计数绘制增值曲线等方法检测C6增值情况。收集细胞蛋白，免疫印迹检测GFAP、iNOS和SIRT1蛋白表达。同时用qRT-PCR检测GFAP、iNOS和SIRT1 mRNA表达水平。从转录、蛋白质合成、蛋白质降解角度解析SCCPs调控SIRT1的分子机制最后用免疫沉淀法结合蛋白质谱法寻找与SIRT1相作用的上下游靶分子。**结果** 实验发现，SCCPs暴露可以活化小鼠大脑星形胶质细胞，诱导神经元凋亡。体外C6细胞模型显示SIRT1表达随SCCPs暴露剂量先增加后降低，但SIRT1表达被抑制后，星形胶质细胞活化程度明显加深，说明SCCPs暴露后SIRT1表达增加可能是机体的应激后保护作用。进一步研究发现，SCCPs暴露只上调SIRT1蛋白水平，并未影响SIRT1 mRNA水平。蛋白质稳定性实验发现SCCPs暴露抑制SIRT1的降解，且降低其泛素化水平。更进一步的研究表明，USP10介导SIRT1的泛素化调控。**结论** SCCPs能够激活星形胶质细胞，诱发神经元凋亡；同时SCCPs会激活机体保护机制，通过降低SIRT1去泛素化促进其表达上调，在一定程度上抑制星形胶质细胞活化水平。

关键词：短链氯化石蜡；星形胶质细胞活化；SIRT1；去泛素化

通讯作者：张子阳，E-mail：zhangziyang2021@yeah.net

T07-0019

大脑类器官模型在神经毒性研究中的应用进展与挑战

王志秋，黄 琰，卜 迁

（四川大学华西公共卫生学院卫生毒理与病理学系，四川 成都 610041）

摘要：中枢神经系统是人体最复杂、毒性效应最敏感的系统之一。现有的神经毒性研究模型主要有原代神经细胞培养和实验动物模型，由于2D细胞模型复杂度低，无法模拟神经系统的组织结构和空间连接，而实验动物模型在遗传背景和细胞类型特异性方面与人类中枢神经系统存在巨大差异，如TBR2+中间祖细胞在小鼠胚胎12.5天后几乎不表达，而在人脑发育过程中表达极其丰富。近年来，随着人干细胞分化技术的进展，人大脑类器官（Cerebral organoids）模型被成功建立，其具有十余种神经细胞类型、能够自我组装形成特征性脑室区和大脑皮质的复杂结构，能够模拟胚胎发育过程中人大脑的结构和电生理特性，成为了神经毒性评价潜在的理想模型。

近年来，多个研究团队基于人大脑类器官模型，结合单细胞测序、免疫荧光、流式细胞术、3D成像等技术研究了甲基苯丙胺、尼古丁、酒精、丙戊酸、碳纳米管和微塑料等多种化合物的神经毒性，如人大脑类器官暴露甲基苯丙胺，导致星形胶质细胞激活和神经炎症的发生；结合微流控芯片技术能够提高大脑类器官成熟度，发现了尼古丁导致神经元分化与迁移异常，为妊娠期避免烟草暴露提供了科学证据。本课题组基于人大脑类器官模型结合RNA测序技术，揭示了食源性丙烯酰胺暴露与Nrf2介导的通路激活、神经分化障碍和Tau蛋白过度磷酸化有关；发现了重金属镉激活星形胶质细胞、诱导神经炎症和抑制神经细胞纤毛形成的神经发育毒性机理；阐明了纳米银通过损害纤毛组装和细胞骨架形成而引起的神经毒性。此外，将人群队列研究结果与大脑类器官暴露方法相结合，能够进行深入的风险评估，如内分泌干扰物暴露于大脑类器官的研究中发现自闭症谱系通路异常，与队列研究及动物实验数据相互印证，建立了流行病学证据与实验证据结合的新模式。

目前，尽管大脑类器官模型在毒理学领域应用逐渐广泛，但仍具有诸多挑战。如人大脑类器官缺乏血管网络，尺寸小和成熟度低，研究结果是否能够外推到成年大脑仍不清楚。另一方面，大脑类器官的细胞多样性仍不足，如缺少小胶质细胞和少突胶质细胞等。未来将通过优化大脑类器官培养方案或结合微流控系统促进其成熟，融合小胶质细胞等增加细胞多样性，利用单细胞测序技术挖掘大脑发育过程中对毒性物质敏感的细胞类群等方面优化大脑类器官。随着大脑类器官分化技术的进步和微流控技术、新材料的应用，大脑类器官模型将在神经毒性研究领域得到更广泛的应用。

通讯作者：卜 迁，E-mail：buqian7978@scu.edu.cn

T07-0020

基于人大脑类器官模型探讨环丙沙星神经毒性及其分子机制

刘哈晓雨[1,2,3]，代艳萍[1]，卜 迁[1]，岑小波[1,3]

〔1. 四川大学华西医院；2. 烟台大学；3. 成都华西海圻医药科技有限公司（国家成都新药安全性评价中心）〕

摘要：目的 环丙沙星（Ciprofloxacin，CPFX）是第三代喹诺酮类药物，具有广谱抗菌活性和良好的杀菌作用，作为经典抗生素药物广泛应用于临床。环丙沙星化学结构中的氟原子使得其亲脂性增加，组织渗透力增强，增强药效的同时也增加了其血脑屏障穿透性，造成神经毒性，影响胎儿神经发育。越来越多临床报

道显示环丙沙星引发广泛神经系统不良反应，包括癫痫、精神错乱、重度抑郁症、焦虑、躁狂发作等，然而其产生神经毒性的分子机制尚不清楚，本研究旨在应用3D人大脑类器官模型探究环丙沙星的神经发育毒性及其分子机制。**方法** 通过人诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cells，iPSCs）定向分化大脑类器官模型，于分化第42天，对大脑类器官的皮质结构、细胞类型等进行鉴定。随后进行14天环丙沙星药物暴露。参照临床口服环丙沙星后患者脑组织药物浓度，设置空白对照组以及低、中、高剂量组（分别为：2 μmol·L^{-1}，20 μmol·L^{-1}，100 μmol·L^{-1}）。类器官经不同浓度环丙沙星暴露后，收集各组样本进行蛋白免疫印迹、免疫荧光、实时荧光定量PCR等分子生物学实验，研究其神经发育毒性及分子机制。**结果** （1）与对照组相比，环丙沙星暴露组大脑类器官凋亡细胞数目显著增多，并呈现剂量依赖性；（2）与对照组相比，环丙沙星暴露组大脑类器官星形胶质细胞标记物GFAP阳性细胞数目随剂量增加而递减；（3）环丙沙星低、中剂量组神经前体细胞标志物PAX6、皮层深层标志物CTIP2阳性细胞数目占比显著增多，类器官分化出现增殖异常；（4）环丙沙星高剂量组表现出显著的线粒体毒性，包括mtDNA的累积，超氧化物歧化酶（SOD）表达升高，过氧化反应增多，线粒体应激相关基因ATF4，CHOP表达增高等等。**结论** 本研究发现低中剂量的环丙沙星会促进神经元异常分化；而高剂量会引起神经发育过程中的线粒体毒性和细胞凋亡；此外，环丙沙星还会抑制星形胶质细胞发育。本研究提示人干细胞分化大脑类器官模型是一种优良的体外神经发育毒性研究模型，可广泛应用于药物神经发育毒性研究，弥补了传统动物模型和2D细胞模型的不足，为药物神经毒性的分子毒性机制研究提供新工具。

关键词：大脑类器官；环丙沙星；干细胞；神经毒性

T07-0021

基于免疫途径探讨甲基苯丙胺成瘾合并HIV相关认知功能障碍的毒理机制

曹舒清[1]，张钰婧[2]，陈　梦[3]

（山西医科大学 1. 法医学院；2. 公共卫生学院；3. 第一临床医学院）

摘要：目的 甲基苯丙胺（METH）作为我国滥用最广泛的精神兴奋性毒品，具有极强的成瘾性。据流行病学调查显示，毒品成瘾者的HIV感染率呈显著上升趋势，约占全部AIDS病例的15%～20%，但毒品成瘾与HIV/AIDS引发的认知功能障碍（HAND）是否存在基因水平的生物学联系尚不清楚。因毒品成瘾者与AIDS患者同样存在着明显的免疫功能下降问题，我们推测免疫相关途径也许在METH成瘾合并HIV/AIDS中发挥重要作用。**方法** 通过比较毒物基因组学数据库获取METH成瘾的毒物作用基因，利用GEO数据库筛选HAND相关数据集GSE28160，对样本进行标准化处理后，以$P<0.05$且$|\lg FC|>1$为筛选条件获取差异表达基因。将交集基因作为METH成瘾合并HAND的作用基因，进行GO和KEGG生物富集分析。再利用ImmunAI算法对样本进行免疫细胞浸润水平分析，并通过Immport数据库和GeneCards数据库映射作用基因，获得免疫相关作用基因，通过Pearson分析其表达相关性，获取相互相关基因作为Hub基因。利用HPA数据库，分析Hub基因翻译蛋白在人体组织细胞中的主要表达情况。最后，选择METH成瘾合并HAND的数据集GSE41952和miRDB、miRWalk数据库筛选调控Hub基因上游的miRNA，通过配对样本t检验验证获得的核心miRNA的表达差异，同时绘制ROC曲线。**结果** 共获得163个METH成瘾合并HAND作用基因，生物富集分析结果显示其主要富集于神经活性配体-受体相互作用、突触囊泡周期、逆行内源性大麻素信号传导和苯丙胺成瘾信号通路。免疫浸润结果显示，HAND组差异基因表达与CD4-naiveT细胞、nTreg细胞和iTreg细胞浸润水平正相关，与Tgd细胞和Tc细胞浸润水平负相关。映射获得12个免疫相关作用基因，通过Permean检验筛选出相互相关（$P<0.05$）的Hub基因CD14、L1CAM、CHGA、FGF13。经基因翻译蛋白定位显示，L1CAM和CHGA均在人体神经细胞胞质差异表达，前者涉及整个中枢神经系统和周围神经系统，后者则与神经内分泌细胞关系紧密。将数据库分析获得的284条差异miRNA和数据集分析获得的47条频次大于中位数的miRNA取交集后获得一条核心miRNA（hsa-miR-449a），验证结

果显示其在METH成瘾合并HAND者中高水平表达且可以对其进行较好区分(AUC=0.855，$P<0.01$)。**结论** METH成瘾和HIV/AIDS相关认知功能障碍之间具有强相关性，与成瘾相关的多重毒理机制在其中发挥关键作用，而免疫途径尤其是T细胞病理生理情况与成瘾后神经生物学活动关系紧密。

关键词：甲基苯丙胺；药物成瘾；认知功能障碍；系统毒理学

通讯作者：曹舒清，E-mail：charles0705@163.com

T07-0022

铜通过抑制突触后cAMP/PKA/Creb通路诱导MN9D细胞的氧化应激和细胞焦亡

周 倩，张 颖，卢 璐，施 伟，张 虎，浦跃朴，尹立红

（东南大学公共卫生学院 环境医学工程教育部重点实验室，南京 210009）

摘要：目的 国内外研究表明，长期接触铜会增加患帕金森病的风险。我们前期的研究显示，铜暴露诱导小鼠黑质致密部焦亡相关蛋白表达明显增加和多巴胺能神经元缺失。在此项研究中，通过设立不同浓度梯度的铜染毒组来探讨铜对MN9D细胞cAMP/PKA/Creb通路和焦亡相关蛋白的影响，从而为研究铜诱导多巴胺能神经元退化提供可能的分子机制。**方法** 以MN9D细胞为靶细胞，设立$CuSO_4$染毒组(10、20、80 $\mu mol \cdot L^{-1}$)和对照组。采用CCK-8法检测染毒6、12、24、36、48、60小时后MN9D细胞的增殖活性，电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法检测染毒48 h后MN9D细胞内铜元素含量，Western Blot法检测cAMP水解酶(PDE4D)、cAMP、PKA、Creb、p-Creb的表达。通过检测铜染毒48小时后丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、总谷胱甘肽和GSSG(GSH-PX)含量、活性氧ROS的强度和Nrf2、NQO1、HO-1抗氧化蛋白的表达来探讨铜对MN9D细胞氧化应激的影响。采用Western Blot和qPCR法检测焦亡相关蛋白NLRP3、Caspase1、ASC、Cleaved caspase1的表达，细胞免疫荧光法检测GSDMD的表达，JC-1探针法检测线粒体膜电位的改变，并通过检测乳酸脱氢酶(LDH)的释放百分比探讨铜对MN9D细胞膜的毒性作用。利用PDE4抑制剂(Roflupram)和PKA抑制剂(H-89)的预处理的MN9D细胞探讨铜诱导的MN9D细胞氧化应激和细胞焦亡是否依赖于cAMP/PKA/Creb通路。**结果** ICP-MS结果表明铜染毒48小时后，MN9D细胞内铜含量以剂量依赖性的方式增加($P<0.05$)，同时，MN9D细胞增殖活性有明显降低($P<0.05$)。此外，铜诱导PDE4D上调，cAMP、PKA、p-Creb/Creb的表达下降($P<0.05$)。铜激活MN9D细胞的氧化应激，导致丙二醛含量升高、GSH-PX含量降低、ROS的强度升高以及Nrf2、NQO1、HO-1表达上调($P<0.05$)。铜诱导炎症小体和焦亡相关蛋白NLRP3、Caspase1、ASC、Cleaved caspase1的表达上调、GSDMD免疫荧光强度增加、线粒体膜电位下降和LDH释放百分比增加($P<0.05$)。Roflupram预处理后，铜诱导的氧化应激水平下降，炎症小体和焦亡相关蛋白表达下调($P<0.05$)，同时，H-89预处理后，铜诱导的氧化应激水平增加，炎症小体和焦亡相关蛋白表达上调($P<0.05$)。**结论** 铜诱导MN9D细胞氧化应激和炎症小体介导的细胞焦亡，这可能与铜引起突触后cAMP、PKA、Creb信号转导失调有关。

关键词：铜；MN9D细胞；氧化应激；细胞焦亡

通讯作者：尹立红，E-mail：23229470@seu.edu.cn

T07-0023

丁酸钠在铅诱导的神经毒性中的作用及机制

李韵婷，刘安飞，陈开举，陈丽旋，黄定帮，李立凡，孟晓静
（南方医科大学公共卫生学院，广州 510000）

摘要：目的 本研究旨在探究丁酸钠在铅诱导的神经毒性中的作用及机制，为铅中毒的防治提供新的思路。**材料和方法** 1. 动物实验：(1)将40只4周龄SPF级C57BL/6J小鼠，随机分为对照组(正常饮水)；低剂量铅暴露组(50ppm)；中剂量铅暴露组(100ppm)；高剂量铅暴露组(200ppm)，每组10只，处理12周后，旷场实验与水迷宫实验检测小鼠神经行为学改变，液相色谱-质谱联用(LC-MS)技术检测小鼠血清中短链脂肪酸含量。(2)将32只4周龄SPF级C57BL/6J雄性小鼠随机分为对照组、铅组(100ppm氯化铅)、丁酸钠组(50 mg/kg/day)、丁酸钠+铅组，每组8只，处理12周，旷场实验和Morris水迷宫实验检测小鼠神经行为改变；HE染色观察小鼠海马区病理改变。2. 细胞实验：10 μmol·L^{-1}氯化铅、0.5 mmol·L^{-1}丁酸钠、10 μmol·L^{-1}氯化铅+0.5 mmol·L^{-1}丁酸钠，分别处理HT22细胞和BV2细胞24 h，Q-PCR检测Acss2、ACLY、PSD95、BDNF、IL-1β、TNF-α、IL-6的mRNA水平，Western blot 检测Acss2、P300、H3K27ac、H3K9ac、p-STAT3、p-JAK2的蛋白水平。**结果** 1. 动物实验表明：(1)100ppm铅处理组的小鼠在水迷宫中表现为逃避潜伏期增加，平台象限运动距离、运动时间、穿越平台次数减少(P<0.05)，海马区出现病理改变及IL-1β、TNF-α、IL-6蛋白升高(P<0.05)，丁酸、异丁酸、丙酸、己酸出现不同程度下降趋势，其中丁酸随染毒浓度升高出现剂量依赖性下降(P<0.05)；(2)联合丁酸钠处理后，与铅处理组相比，逃避潜伏期降低，平台象限运动距离、运动时间、穿越平台次数增加，海马区组织病理改变得到改善，IL-1β、TNF-α、IL-6蛋白降低(P<0.05)；2. 细胞实验结果表明：(1)铅处理使BV2细胞IL-1β、IL-6的mRNA水平升高(P<0.05)，p-STAT3、p-JAK2蛋白水平增高，联合丁酸钠处理后可降低IL-1β、IL-6 mRNA水平，并降低p-STAT3、p-JAK2表达；(2)铅处理时海马神经元HT22细胞的组蛋白乙酰化水平降低，乙酰辅酶A合成基因ACSS2的mRNA及蛋白水平出现下降(P<0.05)，乙酰转移酶P300的蛋白水平下降，神经功能相关基因BDNF、PSD95的mRNA表达下调，联合丁酸钠处理后可以改善这些基因以及蛋白的表达水平，具有统计学差异(P<0.05)。**结论** 铅暴露可引起小鼠体内丁酸含量减少，导致小鼠神经系统炎症，学习记忆损伤，而联合丁酸钠处理后可缓解铅引起的神经炎症及学习记忆损伤。

关键词：铅；丁酸钠；神经炎症；学习记忆
基金项目：国家自然科学基金(81973071)；国家自然科学基金(81773473)
通讯作者：孟晓静，E-mail：xiaojingmeng@smu.edu.cn

T07-0024

邻苯二甲酸酯(PAEs)暴露与认知功能障碍的相关性和机制研究

余泳泉[1,2]，王雨成[1]，张 迪[2]
（1. 东南大学公共卫生学院，环境医学工程教育部重点实验室；2. 南京医科大学公共卫生学院，现代毒理学教育部重点实验室，南京 210000）

摘要：目的 分析邻苯二甲酸酯(PAEs)混合暴露与人群认知功能障碍的相关性，揭示诱发机体认知功能障碍的关键PAEs毒性组分；通过构建关键组分染毒模型，探究其与认知功能损害的潜在作用机制。**材料和方法** 选取NHANES数据库2011～2014年60岁及以上成年人作为研究对象(836例)。采用HPLC-ESI-MS/MS检测人群尿中12种PAEs代谢物含量，通过即时回忆(IR)、延迟回忆(DR)、动物流畅性测验(AF)和数字符号替换测验(DSST)评价人群认知功能。采用logistic回归分别分析PAE代谢物单体与认知功能障碍发生的相关性；采用主成分分析(PCA)联合加权分位数和回归(WQSR)评价PAEs代谢物混合暴露与认

知功能障碍发生的相关性，并筛选其中权重最高的PAE代谢物作为关键组分候选物。在此基础上，利用候选组分构建小鼠染毒模型，通过水迷宫实验检测小鼠记忆认知功能变化；采用光镜技术观察小鼠海马组织病理形态；利用转录组测序技术检测小鼠海马组织mRNA改变，结合生物信息学分析，筛选和验证关键分子及通路。**结果** ①单暴露分析发现仅有MBzP与IR、DR、AF和DSST认知功能评价障碍的发生均显著相关（OR分别为2.53，2.26，2.89和2.82）。②PCA将12种PAE代谢物分成DHEP类，非DEHP的高分子量类和低分子量类三个主成分；并发现仅有低分子量类混合暴露与DSST认知损伤相关（OR：1.93）。③WQSR进一步证实仅有低分子量类PAE主成分的混合暴露与DSST认知损伤相关（OR：1.56），且WQS评分权重最高的化合物为MBzP。④其他认知损伤结局的WQSR分析发现，虽然无统计学差异WQS评分权重最高的化合物也均为MBzP。⑤以MBzP的母体化合物邻苯二甲酸丁基苄酯（BBP）构建小鼠染毒模型，发现BBP可延长小鼠水迷宫潜伏期，降低平台穿梭次数，影响其记忆认知功能。⑥BBP可使小鼠海马区神经细胞出现核固缩、结构疏散、染色变浅、肿胀及断裂等病理表型，降低CA1和DG区神经元数量。⑦转录组测序发现BBP可上调海马神经细胞炎症因子相关通路（cytokine-cytokine receptor interaction pathway），下调神经递质受体相关通路（neuroactive ligand-receptor interaction pathway），qPCR进一步验证了上述关键通路及分子表达改变。**结论** BBP可作为诱发机体认知功能障碍的关键PAEs组分，通过激活海马神经细胞炎症相关通路，影响神经递质受体的表达，引起小鼠认知功能损伤。

关键词：邻苯二甲酸酯；认知功能障碍；邻苯二甲酸丁基苄酯；海马神经元；转录测序

基金项目：国家自然科学基金（82003494）

通讯作者：余泳泉，E-mail：yyqaion@sina.com

T07-0025

大鼠瑞芬太尼自身给药模型的建立与验证

李佩云，贾艳丽，李子轲，陈 瑛，董延生

（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北 廊坊 065500）

摘要：目的 大鼠自身给药模型是评价药物精神依赖潜能的方法之一，本研究以瑞芬太尼作为阳性训练药物，建立并验证固定比率（Fixed ratio，FR）10程序下的大鼠自身给药模型，为评价可用于静脉途径给药的中枢神经系统药物精神依赖潜能提供技术平台。**材料与方法** 本试验共选取检疫合格的20只雄性SD大鼠进行试验，试验所需要的主要仪器有大鼠操作行为实验系统、电子天平等。首先对上述动物进行颈静脉插管手术，成功建立静脉通路并恢复正常状态后采用瑞芬太尼（0.3 mg/kg/injection）作为训练药物在FR1下进行自身给药训练，每天训练1 h，大鼠在训练期内触有效鼻触（左鼻触）可获得约5 ~ 7 s（根据体重计算）的药物注射，此时作为线索的鼻触灯亮20 s，笼灯灭，随后进入20 s的不应期（在此期间笼灯灭，触有效鼻触也不能获得药物，测试系统记录鼻触次数）。大鼠触无效鼻触（右鼻触）始终不能获得药物，也无伴随线索出现；如果给药次数连续三天内变异系数在±20%以内，且有效鼻触次数/无效鼻触次数> 2，认为给药行为稳定，则FR值增加至FR10。当大鼠在FR10程序下对瑞芬太尼形成稳定的自身给药行为后，进行氯化钠注射液的替代训练，待动物自身给药行为消退后即动物触有效鼻触次数为小于替代前自身给药稳定阶段有效鼻触次数的30%，即判定消退完成；再用阳性药瑞芬太尼训练形成稳定的自身给药行为。**结果** 本试验条件下，动物完成了由FR1-FR10的自身给药训练，并且达到了稳定阶段。氯化钠替代阶段的有效鼻触次数、无效鼻触次数、给药次数分别为（48 ± 6.07，15 ± 2.07，3 ± 0.30）；恢复瑞芬太尼训练后有效鼻触次数、无效鼻触次数、给药次数分别为（476 ± 99.76，9 ± 3.67 ，27 ± 2.68）；氯化钠注射液替代阶段的有效鼻触次数与再次用阳性药瑞芬太尼训练的有效鼻触次数有显著差异（P<0.001），而氯化钠注射液替代阶段的无效鼻触次数与再次用阳性药瑞芬太尼训练的无效鼻触次数无明显差异（P>0.05）。**结论** 通过氯化钠注射液和瑞芬太尼给药次数、有效鼻触次数和无效鼻触次数结果分析，本试验成功建立并验证了FR10程序下的瑞芬太尼自

身给药模型，为药物临床前精神依赖性评价研究提供了一定的基础和经验。

关键词：自身给药；瑞芬太尼；有效鼻触次数；无效鼻触次数

作者简介：李佩云，E-mail：lipeiyun@safeglp.com；贾艳丽，E-mail：jiayanli@safeglp.com

通讯作者：陈　瑛，E-mail：chenying@safeglp.com；董延生，E-mail：dongyansheng@safeglp.com

T07-0026

大鼠咪达唑仑辨别模型的建立与验证

王　野，贾艳丽，杨　蒙，王瑞琪，李子轲，陈　瑛，董延生

（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北 廊坊　065500）

摘要：目的　药物辨别模型是种研究药物辨别刺激性质的行为学实验方法，可用于中枢神经系统药物的滥用潜能评估。咪达唑仑辨别刺激具有药理学选择性，只有以γ-氨基丁酸（GABA）为靶点的中枢神经系统药物才能产生与训练药物咪达唑仑产生相似的主观效应，因此这类受试物需采用咪达唑仑作为训练药物，对其进行辨别测试，以明确其药理学性质。本研究旨在以咪达唑仑为训练药物，建立大鼠在固定比率（Fixed ratio，FR）10程序下的药物辨别模型，并进行验证。**材料和方法**　试验用20只SPF级SD大鼠（雌雄各半）通过大鼠操作行为实验系统进行训练。期间所有大鼠依次进行食物训练、药物辨别训练及替代测试。食物训练开始采用FR1程序，即鼻触响应1次得到1次食物强化，设定左右鼻触均为有效鼻触，大鼠在同一程序下连续2天在30分钟内获得100次食物，FR值逐渐增加直至FR10。完成食物训练的大鼠在FR10下进行药物辨别训练，第1周每天给药顺序为MSSMSMM，第2周反之，即SMMSMSS（M指咪达唑仑，S指氯化钠注射液，以2周为1个训练周期，每个训练周期结束变更训练顺序，每天训练30分钟。训练前10分钟在大鼠腹腔注射咪达唑仑（1.0 mg/kg）或等容积的氯化钠注射液，以大鼠在连续6 ~ 8天有效鼻触率 ≥ 80%时，进行辨别测试。在测试期前10分钟腹腔注射相同训练剂量的咪达唑仑或氯化钠注射液。若大鼠在至少一个MSMS测试顺序下的鼻触正确率均 ≥ 80%，则用不同剂量的咪达唑仑（0.1，0.18，0.32，0.56，1.0 mg/kg）替代训练剂量的咪达唑仑（1.0 mg/kg）进行替代测试。**结果**　所有大鼠经过（46.58 ± 13.85）天的辨别训练后进行辨别测试，在MS测试中，大鼠对咪达唑仑鼻触的反应正确率分别为（98.43 ± 2.38）%、（1.40 ± 2.03）%，提示大鼠形成了稳定的药物辨别行为；在替代测试中，0.1、0.18、0.32、0.56、1.0 mg/kg咪达唑仑的鼻触正确率分别为（6.60 ± 22.91）%、（20.00 ± 37.02）%、（36.15 ± 43.34）%、（69.10 ± 39.03）%和（96.10 ± 9.05）%，提示咪达唑仑产生的辨别刺激效应呈剂量依赖性。**结论**　在GLP体系下建立了大鼠咪达唑仑药物辨别模型并验证成功，可测试药物所产生的主观效应是否与已知的滥用药物（咪达唑仑）相似，能够比较准确地评估受试药物依赖性倾向潜力。

关键词：咪达唑仑；药物辨别；药物滥用；精神依赖

作者简介：王　野，E-mail：wangye@safeglp.com；贾艳丽，E-mail：jiayanli@safeglp.com

通讯作者：陈　瑛，E-mail：chenying@safeglp.com；董延生，E-mail：dongyansheng@safeglp.com

T07-0027

非人灵长类自身给药模型的建立及应用

陈　瑛，贾艳丽，王　野，李子轲，董延生

（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北 廊坊　065500）

摘要：非人灵长类动物在亲缘关系上与人最为接近，在生理、解剖及行为等方面与人类高度相似；其较长的生命周期也更适合长时程的药物成瘾研究，可以更好地模拟人类成瘾及复吸的病理进程，在成瘾研究

中具有无可替代的重要地位。以非人灵长类动物为试验对象建立的自身给药模型是最能够模拟人类药物滥用的行为的成瘾金标准模型。

首先将麻醉好、消毒好已备皮猴的四肢以仰卧位置于加热垫上并固定于手术台上。优先选择股静脉为插管入口(如必要也可以选择颈静脉)建立静脉插管通路,即将一条医用硅橡胶管与动物的静脉系统相连接,通过布背心、金属背心、保护管与输液泵形成一个密闭的输液系统。动物恢复正常状态后进入自身给药训练,期间动物踏动物笼内的踏板,信号接收到计算机,按照科研人员设定的实验程序,即动物的体重、实验方法、决定每次药物的注射量并响应动物的踏板要求自动控制蠕动泵注射一次。即通过设定的给药程序训练,猴完成一定操作(如踏板)后可获得药物奖赏,对于具有精神依赖性潜能的药物,药物的正性强化作用所带来的欣快感强化了猴继续踏板行为,最终通过不断的药物强化,猴学会了主动觅药(即自身给药)。此外,自身给药系统操作装置可保证猴在猴笼内自由活动,可避免因活动受限干扰主观反应,同时伴随试验方法要求给予条件反射的刺激条件(光源、声源刺激),更能反映动物的自主行为,通过行为反应达到试验目的。当动物在限定时间内给药次数不断增加至连续3天变异在20%以内,且有效踏板次数远高于无效踏板次数(一般低于10),提示模型建立成功。

本机构目前已成功建立了阿片类药物(如吗啡、瑞芬太尼等)非人灵长类自身给药模型。该模型在药物开发和成瘾研究中得到了广泛的应用,如通过这种方法可观察到猴的主观觅药行为,借以评价药物精神依赖性潜力的大小;治疗成瘾药物的开发、成瘾的中枢机制研究等。此外,还可以使用固定比率、累进比率程序评价药物奖赏效应的强度等,具有重大的科学价值。

关键词:非人灵长类;自身给药模型;建立;应用

作者简介:陈 瑛,E-mail: chenying@safeglp.com

通讯作者:董延生,E-mail: dongyansheng@safeglp.com

T07-0028

盐酸吗啡注射液:SD大鼠腹腔注射重复给药条件性位置偏爱试验

王 陈, 彭苗苗, 鲁 静, 窦德虎, 张雪峰

(江苏鼎泰药物研究(集团)股份有限公司, 江苏 南京 211800)

摘要:目的 《药物非临床依赖性研究技术指导原则》推荐药物依赖性试验中采用条件性位置偏爱试验评价受试物是否能够产生奖赏效应。吗啡是典型的阿片受体激动剂,具有依赖性强、神经毒性大的特点,可用于研究药物潜在的依赖性。本试验旨在通过腹腔注射给予SD大鼠盐酸吗啡注射液,建立条件性位置偏爱试验的方法,用于评价受试物的依赖性潜力。**材料和方法** 选取雄性SD大鼠40只,分成4组,包括氯化钠注射液组、盐酸吗啡注射液10 mg/kg、15 mg/kg和20 mg/kg组,每组10只。氯化钠注射液组大鼠连续12天腹腔注射给予氯化钠注射液,盐酸吗啡注射液10 mg/kg、15 mg/kg和20 mg/kg组在D1、D3、D5、D7、D9、D11分别腹腔注射给予相应剂量的盐酸吗啡注射液,D2、D4、D6、D8、D10、D12腹腔注射给予氯化钠注射液,均为每天1次。D13对大鼠进行条件性位置偏爱测试,评价指标包括伴药箱和非伴药箱的停留时间、停留时间百分比、停留次数和总路程。**结果** 与氯化钠注射液组相比,盐酸吗啡注射液15 mg/kg组大鼠在伴药箱的停留时间和停留时间百分比显著增加($P<0.01$),而在非伴药箱的停留时间和停留时间百分比显著降低($P<0.01$);盐酸吗啡注射液10和20 mg/kg组大鼠伴药箱和非伴药箱停留时间、停留时间百分比、停留次数及总路程均未见统计学差异。**结论** 综上所述,SD大鼠腹腔注射重复给予15 mg/kg盐酸吗啡注射液后表现出对伴药箱的偏爱,提示盐酸吗啡注射液组大鼠出现了精神依赖性行为,表明在本试验条件下成功建立了条件性位置偏爱试验的方法,可用于评价受试物的依赖性潜力。

关键词:药物依赖性; 盐酸吗啡注射液; 条件性位置偏爱试验

通讯作者:张雪峰,E-mail:zhangxuefeng@tri-apex.com

T07-0029

盐酸吗啡注射液:SD大鼠皮下注射重复给药自然戒断试验

王 陈，魏晓燕，鲁 静，窦德虎，张雪峰
（江苏鼎泰药物研究（集团）股份有限公司，江苏 南京 211800）

摘要：目的 《药物非临床依赖性研究技术指导原则》推荐药物依赖性试验中采用戒断试验评价受试物长期重复给药后突然停药是否会产生戒断症状。吗啡是典型的阿片受体激动剂，具有依赖性强、神经毒性大的特点，适用于药物依赖性研究。本试验目的在于通过采用剂量递增法连续4周（每天给药2次）皮下注射给予SD大鼠盐酸吗啡，停药后观察动物体重变化及戒断症状，建立大鼠自然戒断试验方法，用于评价受试物的依赖性潜力。**材料和方法** 选取SD大鼠24只，共分成2组（12只/组，雌雄各半），包括氯化钠注射液组、盐酸吗啡注射液组。采用剂量递增法连续给药4周（2次/天），盐酸吗啡注射液剂量为D1~D4 5 mg/kg，D5~D8 10 mg/kg，D9~D12 15 mg/kg，D13~D16 20 mg/kg，D17~D20 30 mg/kg，D21~D24 40 mg/kg，D25~D28 50 mg/kg；氯化钠注射液组大鼠给药容量、给药时间和给药频率与同期盐酸吗啡注射液组保持一致。停药后连续7天称重并对所有动物进行戒断症状评分。**结果** 停药后7天内，盐酸吗啡注射液组大鼠戒断症状评分均显著高于氯化钠注射液组（$P<0.01$）；盐酸吗啡注射液组大鼠戒断症状评分于停药后第2天（D30）最高，随后戒断症状评分整体呈下降趋势。体重变化率结果显示：氯化钠注射液组大鼠体重变化率除D29外均为正数，表明氯化钠注射液组大鼠体重呈正常增长趋势；盐酸吗啡注射液组大鼠体重变化率均为负数，表明盐酸吗啡注射液组大鼠体重呈下降趋势；盐酸吗啡注射液组大鼠7天的体重变化率均显著小于氯化钠注射液组（$P<0.05$，$P<0.01$），体重变化率与戒断症状评分的变化趋势基本一致。**结论** 综上所述，在本试验条件下盐酸吗啡注射液组大鼠戒断症状评分均显著高于氯化钠注射液组，盐酸吗啡注射液组大鼠体重呈下降趋势而氯化钠注射液组大鼠体重呈正常增长趋势，提示盐酸吗啡注射液组大鼠出现了典型的戒断症状，形成了躯体依赖性；表明在本试验条件下成功建立了大鼠自然戒断试验方法，可用于评价受试物的依赖性潜力。

关键词：药物依赖性；盐酸吗啡注射液；戒断症状评分；体重变化百分率；自然戒断试验

通讯作者：张雪峰，E-mail：zhangxuefeng@tri-apex.com

T07-0030

铁死亡在血脑屏障功能障碍中的作用及机制研究进展

陈晓姝[1]，于功昌[2]
（1. 山东省职业卫生与职业病防治研究院，济南 20062；2. 山东第一医科大学山东省医学科学院颈肩腰痛医院，济南 20062）

摘要： 血脑屏障（BBB）是内皮细胞的选择性半渗透层，保护中枢神经系统免受血液循环中有害物质的影响。BBB功能障碍是神经系统疾病中观察到的早期病理生理学改变，但目前很少有治疗BBB功能障碍的方法。有研究表明，脂质过氧化和铁积累都与屏障功能障碍有关，尤其是紧密连接蛋白的表达。铁死亡是由铁介导的脂质过氧化累积，引起的一种新的细胞死亡模式，在神经系统疾病中的发挥重要作用，近年来引起了越来越多的关注。因此，研究铁死亡和BBB功能障碍之间的关系可能会为脑病的治疗提供新的靶点与思路。

关键词：铁死亡；血脑屏障；紧密连接；脂质过氧化；铁积累

作者简介：陈晓姝，E-mail：1158784345@qq.com
通讯作者：于功昌，E-mail：yugongchang@sdfmu.edu.cn

T07-0031

咖啡因所致宫内发育迟缓子代高脂饮食后通过肠道菌群-IL-17A-脑轴诱导自闭症行为

王婷婷，徐 丹
（武汉大学药学院，武汉 430071）

摘要：咖啡因是一种广泛存在的精神活性药物，现已成为一种与人类活动密切相关的新型环境污染物。目前，孕期咖啡因暴露（pregnant caffeine exposure，PCE）现象普遍，是引起子代宫内发育迟缓（intrauterine growth retardation，IUGR）的重要诱因。据报道，IUGR患儿出生后自闭症谱系障碍（autism spectrum disorder，ASD）易感，且高脂饮食与ASD行为恶化之间存在直接联系。然而，其发生机制并不清楚。我们通过“PCE+出生后高脂饮食诱导”建立了胎源性ASD大鼠模型，证实雄性和雌性PCE子代在高脂饮食下均出现典型ASD样行为。我们研究发现，PCE+高脂饮食子代肠道黏蛋白和Muc2表达显著降低，提示肠道粘液屏障发生损伤。同时，PCE+高脂饮食子代肠道菌群组成改变，其中Escherichia_coli丰度增加，且Escherichia_coli水平与社交能力和刻板重复行为这些ASD核心症状密切相关。进一步机制研究发现，Escherichia_coli丰度增加可诱导结肠Th17细胞分化及其分泌的IL-17A增多，这使得通过外周循环进入海马组织的IL-17A增多，继而引起海马神经元突触受损和ASD发生。菌株移植实验揭示Escherichia_coli介导的IL-17A增加可能是胎源性ASD的核心机制。进一步的相关性分析发现外周血IL-17A或可作为胎源性ASD的预警标志物。总之，PCE和高脂饮食均是ASD的潜在危险因素，Escherichia_coli介导的IL-17A可能通过肠-脑轴在胎源性ASD中发挥重要作用。

通讯作者：徐 丹，E-mail：xuyidan70188@whu.edu.cn

T07-0032

金属联合暴露诱导HT22细胞氧化应激和损伤突触可塑性

施 伟，张 颖，卢 璐，周 倩，张 虎，浦跃朴，尹立红
（东南大学公共卫生学院 环境医学工程教育部重点实验室，江苏 南京 210009）

摘要：目的 脑中锌、铜和铁等必需微量金属的代谢平衡对正常生理功能发挥至关重要的作用。近年来，越来越多的研究表明锌、铜和铁的稳态失衡与神经退行性疾病密切相关。然而，很少有研究表明这三种金属的联合效应。本研究旨在研究金属联合暴露对小鼠海马神经元（HT22细胞）突触可塑性的影响。**材料与方法** 本研究以HT22细胞作为靶细胞，设立对照组（予以同等体积完全培养基处理）、$Fe_2(SO_4)_3$（0.3 mg/L Fe）、$ZnSO_4$（1 mg/L Zn）、$CuSO_4$（1 mg/L Cu）和金属混合物处理组（0.3 mg/L Fe+1 mg/L Zn+1 mg/L Cu）。采用CCK-8法检测染毒6、12、24、48 h后HT22细胞增殖活性，电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）检测染毒48 h后细胞中Cu、Fe、Zn含量，配制标准溶液的浓度为0.0、5.0、10.0、50.0、100.0、500.0、1000.0 μg/L。染毒48 h后，采用ROS、MDA、GSH-Px检测试剂盒检测HT22细胞内活性氧（ROS）水平、脂质过氧化物丙二醛（MDA）含量、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）的抗氧化酶活性，Western Blot法检测突触相关蛋白的表达水平。**结果** 染毒24、48 h后，金属混合物处理组细胞增殖活性的差异均有统计学意义（均 $P<0.05$）。锌、铜和铁共暴露可诱导HT22细胞的氧化应激。具体而言，金属混合物诱导活性氧（ROS），促进脂质过氧化物丙二醛（MDA）的表达水平，降低谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）的抗氧化酶活性。此外，突触泡膜素（SYP）、脑源性神经营养因子（BDNF）和突触后致密蛋白-95（PSD-95）的表达水平降低。从机制上讲，金属混合物诱导的活性氧（ROS）可能导致突触功能障碍。此外，金属的联合暴露具有协同的神经毒性作用，比金属单独染毒诱导的神经毒性更严重。**结论** 综上，金属联合暴露可显著促进氧化应激，并导致突触可塑性降低。锌、铜和铁共暴露可能诱导神经毒性，具体机制尚待进一步研究。

关键词：金属混合物；神经毒性；突触可塑性；氧化应激
作者简介：施　伟，E-mail：220213970@seu.edu.cn
通讯作者：尹立红，E-mail：lhyin@seu.edu.cn

T07-0033

Tet调控AMPARs膜转位介导突触可塑性在环境重金属导致认知障碍中的作用及机制研究

欧阳璐[1,2]，李　琦[1,2]，杨　硕[1,2]，饶绍奇[1,2]，苏　芮[1,2]，朱燕慧[1,2]，谢　杰[1,2]，杜桂花[1,2]，周繁坤[1,2]，冯昶[1,2]，范广勤[1,2]
（1. 南昌大学公共卫生学院，南昌　330006；2. 江西省预防医学重点实验室，南昌　330006）

摘要：目的　探讨低剂量铅（Pb）、汞（Hg）、镉（Cd）三种重金属混合暴露对大鼠认知行为范式的影响及Tet调控AMPARs膜转位介导突触可塑性在其中的作用机制，为阐明低剂量重金属混合暴露的神经毒性及其机制提供依据。**方法**　孕期至断乳（Postnatal day 23，PND23）饮水暴露单金属（Pb、Cd、Hg），两金属混合液（Pb + Cd、Pb + Hg、Cd + Hg），三种重金属混合液（Pb + Cd + Hg），建立不同组合模式的重金属暴露模型。通过综合性认知行为范式实验（旷场实验、高架实验、新物体识别实验、Y迷宫自主交替实验、Y迷宫新异臂实验、Morris水迷宫）评价低剂量重金属暴露对大鼠趋避行为、短时及长时学习记忆的影响；应用膜片钳技术检测Pb + Cd + Hg混合暴露对脑片AMPARs介导兴奋性突触后电流（excitatory postsynaptic current，EPSC）、长时程增强（long term potential，LTP）、长时程抑制（long term depression，LTD）的影响；通过Western blot、免疫荧光检测AMPA型谷氨酸受体1（glutamate receptor 1，GluA1）和2（GluA2）蛋白表达及GluA1在神经元树突及突触后膜膜转运情况，并进一步测定GluA1膜转位调控蛋白TET（ten-eleven translocation）蛋白家族表达水平；原代海马神经元培养基中加入低剂量Pb + Cd + Hg建立低剂量重金属混合暴露体外模型，敲低TET3水平后应用膜片钳、Western blot、免疫荧光等检测TET3调控GluA1膜转位在重金属暴露致突触稳态失调中的作用。**结果**　提取各项认知行为范式实验核心指标，以空白对照组为基准构建综合性认知行为雷达图，呈现为以单独Pb、Pb + Cd、Pb + Cd + Hg综合认知行为损伤逐步增加趋势（$P<0.05$）；脑片膜片钳进一步证实Pb + Cd + Hg暴露降低了EPSC幅度，抑制了LTP和LTD。随后，WB、免疫荧光检测发现，Pb + Cd + Hg混合暴露降低海马各区GluA1表达，明显减少树突及突触后膜GluA1共定位点，Pb + Cd + Hg暴露组TET3表达水平较空白对照组明显增加。体外海马神经元细胞外液添加TTX和Bicuculline诱导GluA1膜转运，出现Pb + Cd + Hg暴露抑制GluA1膜转运，干扰突触稳态过程，而敲低TET3，突触后膜GluA1转位水平明显增加。**结论：**低剂量铅、镉、汞混合暴露可导致大鼠综合认知行为障碍，这可能与TET3调控GluA1膜转位介导的突触可塑性异常相关。

关键词：重金属；学习记忆；突触可塑性；Tet；AMPARs
基金项目：国家自然科学基金（21966022）；国家自然科学基金（81673222）；国家自然科学基金（81903360）；江西省自然科学基金重点项目（20192ACB20025）
通讯作者：范广勤，E-mail：fanguangqin@ncu.edu.cn

T07-0035

孕期咖啡因暴露致子代海马神经元突触发育损伤的胆固醇代谢编程机制

骆名翠[1,3]，王婷婷[1,3]，戴诗韵[2,3]，鲁梦溪[1,3]，宜怡雯[2,3]，张 帅[1,3]，汪 晖[2,3]，徐 丹[1,3]
（1. 武汉大学中南医院药学部，武汉大学药学院，武汉 430071；2. 武汉大学基础医学院药理学系，武汉 430071；3. 湖北省发育源性疾病重点实验室，武汉 430071）

摘要：目的 孕期咖啡因暴露（Prenatal caffeine exposure，PCE）可引起子代神经发育毒性。本研究旨在阐明PCE所致雄性子代海马神经元突触发育损伤的海马胆固醇宫内编程机制。**方法** 受孕Wistar大鼠从孕9～20天给予120 mg/kg·d咖啡因灌胃。部分孕鼠于孕20天（GD20）麻醉后剖腹取胎鼠和胎海马，另一部分孕鼠自然生产，仔鼠于4周（PW4）和PW12进行行为学检测，随后麻醉处死并取海马组织。子代海马进行透射电镜和高尔基染色，同时检测海马组织、胎海马原代星形胶质细胞及培养基总胆固醇水平，子代海马突触功能相关基因（Snap25和PSD95）及脂筏标志基因（Cav-1和Flot-1）、胆固醇代谢通路基因（SREBP2、HMGCR、ABCG1、ABCA1和APOE）、过氧化物酶体增殖物激活受体γ（PPARγ），miR-130b/301b簇及糖皮质激素受体（GR）等的表达改变。胎海马原代星形胶质细胞给予不同浓度皮质酮或咖啡因，和/或GR siRNA，和/或miRNA inhibitor处理，同前检测相应指标改变。**结果** 出生后4周和12周PCE组雄性子代大鼠对新事物的认知指数下降且在开放臂的停留时间减少。PCE组GD20及出生后子代海马均出现神经元突触小泡显著减少，树突复杂性、树突长度、总树突棘密度及蘑菇型树突棘密度降低，神经元突触蛋白基因PSD95和Snap25表达下降，脂筏标志基因Cav-1和Flot-1表达抑制，而海马总胆固醇水平升高。PCE组海马原代星形胶质细胞内总胆固醇含量升高，胆固醇外排率下降，细胞GR及miR-130b/301b簇表达升高，胆固醇转运受体ABCG1及PPARγ表达均从宫内持续降低至出生后。皮质酮处理胎海马原代星形胶质细胞得到相似结果，使用GR siRNA，miRNA inhibitor处理星形胶质细胞后以上改变均出现显著逆转，同时神经元突触及脂筏损伤得到一定程度改善。**结论** PCE致雄性子代海马GR/miR-130b/301b簇/PPARγ/ABCG1通路激活，介导海马星形胶质细胞向神经元的胆固醇转运减少，使神经元内胆固醇不足引起海马神经元突触发育损伤。且此通路改变能延续到出生后，最终导致子代认知和情感障碍性疾病易感。

关键词：胆固醇；海马；突触；糖皮质激素

通讯作者：徐 丹，E-mail：xuyidan70188@whu.edu.cn

T07-0036

LIMK1调控树突棘动态在低剂量铅、镉和汞混合暴露所致大鼠行为障碍中的作用

周繁坤[1,2]，欧阳璐[1,2]，李 琦[1,2]，杨 硕[1,2]，饶绍奇[1,2]，苏 芮[1,2]，朱燕慧[1,2]，程 慧[1,2]，黎玲玲[1,2]，谢 杰[1,2]，杜桂花[1,2]，冯 昶[1,2]，范广勤[1,2]
（1. 南昌大学公共卫生学院，南昌 330006；2. 江西省预防医学重点实验室，南昌 330006）

摘要：目的 探讨单丝氨酸蛋白激酶1（LIMK1）调控的树突棘动态改变在低剂量重金属铅、镉和汞混合物暴露引起的不同年龄段大鼠神经行为中的作用机制，为阐明环境低剂量重金属复合污染致神经毒性机制及可能干预靶点提供依据。**方法** 通过出生到老年期的正常大鼠模型，观察不同脑区树突棘在整个生命周期的动态变化特征。随后建立从胚胎到成年期的饮水暴露浓度梯度低剂量铅、镉、汞混合大鼠模型。分别在仔鼠新生期、断乳期、青春期以及成年期，通过系列行为功能检测仔鼠神经行为能力，Glogi-cox染色分析仔鼠不同脑区树突棘形态，Western blot分析LIMK1及其通路蛋白的表达。在体外原代培养的海马神经元上，共聚焦观察树突棘形态，Western blot和免疫荧光检测F-actin/G-actin平衡、LIMK1及其通路表达。并

进一步运用慢病毒转染和抑制剂干预LIMK1后，观察神经元树突棘的变化。**结果** 低剂量重金属混合物暴露引起了不同年龄段大鼠神经行为损伤。在整个生命周期中，树突棘密度动态变化特征表现为在出生后早期快速增加，由新出生迅速增加至断乳时达到峰值，经由青春期逐渐进入成年期的过程中，树突棘逐渐减少，到老年期进一步修剪降低。而低剂量重金属暴露改变了正常发育进程中树突棘动态变化规律。与树突棘变化一致，低剂量重金属混合物可浓度依赖性地引起不同年龄段大鼠脑组织LIMK1磷酸化程度（p-LIMK1/LIMK1）下降。且在不同年龄发育进程中，LIMK1磷酸化程度在对照组大鼠脑组织出现先上升后下降，而这一趋势在低剂量重金属混合暴露后出现变化。在检测的p-Cofilin/ Cofilin和F-actin/G-actin平衡中也观察到了一致的结果。在原代培养海马神经元进行p-LIMK1慢病毒（HBLV-pLIMK1）转染提高LIMK1磷酸化程度的同时，神经元树突棘密度、p-Cofilin/ Cofilin和F-actin/G-actin比值增加。而使用LIMK1有效抑制剂BMS-5处理时，结果与慢病毒（HBLV-pLIMK1）转染相反，进一步加重了低剂量重金属引起的神经元树突棘改变。**结论** LIMK1通过调控树突棘动态在低剂量重金属混合物暴露引起的神经行为障碍中发挥关键作用。

关键词：重金属；混合暴露；LIMK1；行为障碍；树突棘动态

基金项目：国家自然科学基金（81673222）；国家自然科学基金（21966022）；国家自然科学基金（81903360）；江西省自然科学基金重点项目（20192ACB20025）；江西省自然科学基金（20192BAB215048）；江西省“双千计划”项目（jxsq2019201097）

通讯作者：范广勤，E-mail：fanguangqin@ncu.edu.cn

T07-0037

重金属混合物暴露大鼠的血清非靶向代谢组学分析

谢　杰[1,2]，欧阳璐[1,2]，李　琦[1,2]，杨　硕[1,2]，燕凌宇[1,2]，刘培山[1,2]，李佳俊[1,2]，万　欣[1,2]，杜桂花[1,2]，周繁坤[1,2]，冯　昶[1,2]，范广勤[1,2]

（1. 南昌大学公共卫生学院，南昌　330006；2. 江西省预防医学重点实验室，南昌　330006）

摘要：目的 单个重金属铅（Pb）、镉（Cd）和汞（Hg）暴露对神经认知功能障碍的作用已被广泛研究。人通常同时暴露于多种重金属混合物中，本团队率先报道低剂量Pb、Cd和Hg混合物暴露会产生新的不同于两种重金属的协同神经细胞毒性，并对大鼠的神经行为功能造成损害。然而，目前对Pb、Cd和Hg混合物诱发神经认知功能损害机制的研究较少。众所周知，血清中失调的代谢物与神经认知功能障碍有关，被认为是神经认知功能障碍的初始因素或伴随因素。因此，明确重金属Pb、Cd和Hg混合物暴露对大鼠血清代谢谱的影响有助于发现新的生物标志物以及对重金属混合物神经毒性机制建立新的认识。**方法** 本研究首先建立低剂量重金属Pb、Cd和Hg混合物暴露大鼠模型，利用非靶向代谢组学技术筛选和分析大鼠暴露于Pb、Cd和Hg混合物后，血清中含量发生改变的代谢物以及涉及的代谢通路。**结果** 非靶向代谢组学共检测到5053种小分子物质，PLS-DA分析显示在Pb、Cd和Hg混合物暴露组和对照组动物血清代谢物之间存在明显的差异。进一步筛选含量改变的代谢物发现，与对照组相比，Pb、Cd和Hg混合物暴露组大鼠血清中73种代谢物含量增加，133种代谢物含量减少。对差异代谢物分类发现排名前三的代谢物种类为苯环型化合物、有机杂环化合物、苯丙酸类及聚酮类化合物。差异代谢物定位预测分析显示排名前三的组织器官分别为表皮、前列腺和海马组织。我们进一步对差异代谢物进行功能注释发现差异代谢物与机体代谢、环境信息处理、细胞过程和生物系统等有关。此外，我们还对差异代谢物进行通路富集分析发现，差异代谢物主要涉及不饱和脂肪酸的生物合成、亚油酸代谢、苯丙氨酸代谢和色氨酸代谢等代谢相关通路。我们进一步对色氨酸代谢过程进行分析发现，Pb、Cd和Hg混合物暴露组大鼠血清N-乙酰-5-羟色胺含量升高，犬尿酸（Kynurenic acid，KA）和喹啉酸（Quinolinic acid，QA）含量降低，KA/QA比值下降。**结论** 重金属Pb、Cd和Hg混合物暴露可改变大鼠血清代谢谱，其对色氨酸代谢的影响可能与重金属混合物导致的神经退行性疾

病、神经精神类疾病有关。

关键词：重金属混合物；神经毒性；血清代谢物；代谢组学

基金项目：国家自然科学基金（81673222）；国家自然科学基金（21966022）；国家自然科学基金（81903360）；江西省自然科学基金重点项目（20192ACB20025）；江西省自然科学基金（20192BAB215048）；江西省“双千计划”项目（jxsq2019201097）

通讯作者：范广勤，E-mail：fanguangqin@ncu.edu.cn

T07-0038

真实环境大气细颗粒物激活小胶质细胞引起抑郁样小鼠嗅球神经元凋亡的机制研究

季晓亚，刘 蕊，唐敬龙，郑玉新

（青岛大学公共卫生学院，山东 青岛 266021）

摘要：目的 本文基于真实环境大气细颗粒物（PM）暴露系统研究急性吸入暴露PM对抑郁样小鼠嗅球的毒性效应及其毒性机制，以期为高浓度PM暴露导致的以嗅球损伤为潜在早期症状和标志的抑郁症的早期诊断和干预治疗提供一定的科学依据。**方法** 在动物实验中，6周龄C57BL小鼠PM组、对照组各40只暴露于石家庄的真实环境大气细颗粒物暴露系统。采用旷场实验评估PM对小鼠精神状况的影响。HE染色、透射电镜观察PM对小鼠嗅球组织、细胞超微结构的影响。转录组测序分析PM导致嗅球损伤的主要通路，利用免疫荧光检测PM对嗅球中与主要信号通路相关的小胶质细胞激活状态的影响。通过ex-vivo生物感受器，探讨PM导致嗅球损伤的间接作用。在神经元-小胶质细胞共培养体系中，采用Annexin V-FITC/PI、ELISA和WB进一步证明PM导致嗅球神经元损伤的毒性机制。**结果** 在旷场实验中，PM暴露小鼠表现出运动路程明显缩短、中心停留时间明显减少的抑郁样行为。HE、TUNEL染色和透射电镜发现PM可以进入抑郁样小鼠嗅球组织促进神经元凋亡，导致嗅球中突触小球、僧帽细胞减少。在嗅球和ex-vivo生物感受器的KEGG通路富集分析中发现PM暴露激活TNFα炎症通路，且在IBA-1免疫荧光染色发现PM对嗅球TNFα炎症通路的显著富集可能是其激活小胶质细胞所致。细胞实验进一步证实了PM可以显著促进小胶质BV2细胞中TNFα的mRNA表达和分泌，且在BV2+N2a共培养体系中BV2经PM暴露对N2a细胞具有促凋亡的趋势，同时明显上调N2a细胞中TNFR1、caspase3蛋白的表达量。**结论：**真实环境颗粒物急性吸入暴露可以导致小鼠产生抑郁样行为，且通过直接作用或系统性炎症过度激活小胶质细胞分泌炎症因子TNFα，引发凋亡通路导致嗅球神经元凋亡。

关键词：大气细颗粒物；抑郁；嗅球；神经元凋亡；小胶质细胞；TNFα

基金项目：国家自然科学基金重点项目（92043202）；国家自然科学基金重大研究计划集成项目（91943301）

通讯作者：唐敬龙，E-mail：tangjinglong@qdu.edu.cn

T07-0039

组织蛋白酶B介导NLRP3小体在砷致小胶质细胞炎症激活中的作用

刘 吉[1]，皮若铮[1]，张哲昱[1]，方惠民[1]，杨 丹[1]，张爱华[2]，孙宝飞[1,2]

（贵州医科大学1. 基础医学院人体解剖学教研室，2. 环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵州 贵阳 550025）

摘要：目的 长期接触无机砷可损害记忆、学习、智力和认知功能。无机砷暴露可诱导部分神经元死亡、

脑内胶质细胞凋亡、神经炎症和神经变性。已有证据表明高反应性的小胶质细胞(microglia)可能导致神经元功能异常和认知缺失。本实验旨在探究组织蛋白酶B（CTSB）介导NLRP3小体在砷致小胶质细胞(BV-2)炎症激活中的作用。为进一步探索砷致神经系统损伤提供基础。**方法** 取处于对数生长期的BV-2细胞,分别暴露于终浓度为0、2、4、8 μmol/L亚砷酸钠（$NaAsO_2$）溶液培养24 h,检测NaAsO2对BV-2细胞活性的影响,测定各组细胞内CTSB和细胞焦亡相关蛋白NLRP3、Caspase-1、IL-18、IL-1β的表达水平,流式细胞仪检测胞内溶酶体膜稳定性。设置CTSB抑制剂组（5 μmol/L CA074-Me +8 μmol/L $NaAsO_2$、10 μmol/L CA074-Me+8 μmol/L $NaAsO_2$）,检测两组细胞内炎症相关蛋白NLRP3、Caspase-1和IL−1β、IL−18的表达水平。**结果** 与对照组比较,各染砷组细胞抑制率增高,呈现剂量-效应关系,溶酶体减少,差异有统计学意义;BV−2细胞胞内CTSB、NLRP3、IL-1β、IL-18、Caspase-1表达增高,差异有统计学意义;与对照组8 μmol/L $NaAsO_2$）比较,抑制剂组BV-2细胞胞内CTSB、NLRP3、IL-1β、IL-18、Caspase-1水平均降低,差异有统计学差异。**结论** NaAsO2可能通过诱导小胶质细胞内CTSB水平的上升,介导NLRP3炎症小体激活小胶质细胞,促其释放炎性因子,致神经细胞损伤。

关键词:亚砷酸钠; 小胶质细胞; 组织蛋白酶B; 炎症因子

资助项目:国家自然科学基金项目(U1812403),省部共建地方病及民族区域性疾病防控协同创新中心项目;贵州省卫健委(gzwkj2021-432)

通讯作者:孙宝飞,E-mail:sunbaofei@sina.com

T07−0040

醋酸铅对人诱导多能干细胞神经分化过程及脑类器官的毒性作用研究

王 伟, 王 彤, 高 雨, 孙蓉丽, 梁戈玉, 尹立红, 浦跃朴, 张 娟

（东南大学公共卫生学院,环境与医学工程教育部重点实验室, 南京 江苏 210009）

摘要:目的 铅是广泛存在于自然界中的环境持久性污染物,可以在机体内蓄积。中枢神经系统作为其靶器官,在神经发育的早期阶段最容易受到影响,并且铅引起人类早期神经分化过程的毒性效应及机制尚不明确。本研究通过构建人诱导多能干细胞(human induced Pluripotent Stem Cells,hiPSCs)诱导分化拟胚体(Embryoid bodies,EBs)以及脑类器官模型,探索醋酸铅对多能干细胞期、三胚层分化期和脑类器官的毒性作用。**材料和方法** 分别用含0 μmol/L、0.1 μmol/L、0.5 μmol/L、1.0 μmol/L、醋酸铅的细胞培养液处理hiPSCs细胞及EBs 7天,CCK-8法检测细胞增殖活力,使用流式细胞仪检测细胞凋亡率及周期分布情况,使用RT-qPCR法检测hiPSCs多能性基因的表达情况及EBs三胚层(内胚层、中胚层和外胚层)特异性分化基因的表达情况。另外,提取EBs DNA对其外显子进行捕获及测序,同样进行单核苷酸多态性(SNP)、插入缺失标记(InDel)、染色体结构变异(SVs)和融合基因分析。脑类器官使用0 μmol/L、0.5 μmol/L、1.0 μmol/L和2.5 μmol/L醋酸铅处理60天。通过免疫荧光标记GFAP,MAP2,GABA,VGLUT1,CTIP2,SATB2,BRN2,TBR1等神经标志物,对类脑发育进行检测。**结果** 凋亡结果显示hiPSCs凋亡率与醋酸铅染毒浓度存在剂量反应关系(P<0.05);在醋酸铅的作用下,hiPSCs细胞周期主要阻滞在G_1与S期,G_2/M期细胞率显著下降;RT-qPCR结果显示醋酸铅会影响hiPSCs多能性因子的表达,其中相比于对照组,醋酸铅染毒组Sox2基因表达降低,而Nanog基因表达升高(P<0.05);EBs外胚层(Dlk1),中胚层(Cxcr4,Gata6,Foxa2,Sox17),内胚层(Hand1,Mixl1,Sava)mRNA的表达都显著降低,说明醋酸铅抑制EBs向三胚层的自发分化。外显子测序结果发现,与对照组相比,醋酸铅染毒EBs组增加了2632个SNP突变;,以非同义突变最多,其中碱基改变形式以G>A/C>T、A>G/T>C为主;InDel检测共发现1502个插入缺失,其中以移码突变最多;SVs变异检测发现增加83个结构变异,以染色体缺失、染色体插入为主;由于染色体插入和缺失等产生37个融合基因。免疫荧光检测显示,与对照组相比,各染毒组脑类器官神经标志物表达均出现不同程度的下调。**结论** 低浓度醋酸铅染毒可抑制hiPSCs的多能性,干扰EBs向三胚层的自发分化,导致神经

发育相关基因发生突变并影响脑类器官的正常发育。本研究为铅暴露引起的早期胚胎神经发育毒性的作用与机制提供了新的线索，为神经毒性的替代毒理学研究提供了新的思路。

通讯作者：张 娟，E-mail：101011288@seu.edu.cn

T07-0041

RNA结合蛋白STAU1参与BDE47诱发铁死亡相关性阿尔兹海默症的PP2A-B56δ调控机制研究

钱 波，郑兆轩，杨 蕾，高云璐，王明珠，林育纯，林忠宁
（分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室，厦门大学公共卫生学院，厦门 361102）

摘要：目的 铁死亡是一种铁依赖性脂质过氧化物积累所导致的调节性细胞死亡，近期研究发现铁死亡与阿尔茨海默症（AD）的发病密切有关，溴系阻燃剂2，2′，4，4′-四溴二苯醚（BDE47）是诱发AD的潜在环境危险因素，但分子机制尚待研究。**材料方法** 本研究构建BDE47的体内外暴露和干预模型，结合转录组、代谢组、生信分析等技术，探索铁死亡在AD中的作用。Aβ和TAU蛋白等错误折叠蛋白堆积诱发的神经细胞过度应激是AD发生的主要病理特征，真核启动因子2α（EIF2α）/激活转录因子4（ATF4）介导的未折叠蛋白反应（UPR）能够通过促进细胞的抗氧化能力发挥应激保护作用。本研究进一步探索EIF2α/ATF4介导的UPR与铁死亡相关分子的串扰，及其在BDE47暴露诱导AD中的调控机制。**结果** 研究结果显示，BDE47经由特异性诱发铁死亡加剧AD的病理进展，且铁死亡抑制剂（维生素E）可缓解AD的表型。机制上，BDE47暴露抑制EIF2α/ATF4信号通路的级联激活，造成胱氨酸/谷氨酸逆向转运体（Xc−）的SLC7A11亚基表达下调和GSH耗竭；UPR激活剂可缓解BDE47诱导的铁死亡，而ATF4敲低表达能够增加细胞的铁死亡敏感性。研究发现蛋白磷酸酶2A（PP2A）亚基B56δ的mRNA（PPP2R5D）是Staufen双链RNA结合蛋白1（STAU1）介导的mRNA衰减功能的关键底物。BDE47暴露抑制了STAU1调控的PPP2R5D衰减功能，导致B56δ累积介导p-EIF2αS51去磷酸化从而抑制EIF2α/ATF4信号通路的级联激活。**结论** 本研究揭示了一种铁死亡相关的AD病理机制，阐明RNA结合蛋白STAU1经由调控PP2A-B56δ的mRNA稳定性介导UPR激活，参与BDE47诱导的铁死亡依赖性AD进程。结果为环境暴露相关神经退行性疾病中STAU1/PP2A-B56δ/UPR信号轴的生物标志筛查和靶向干预提供新的依据。

关键词：RNA结合蛋白STAU1；PP2A-B56δ亚基；铁死亡；阿尔兹海默症；BDE47
基金项目：国家自然科学基金（81874272）；国家自然科学基金（82073588）

通讯作者：林忠宁，E-mail：linzhn@xmu.edu.cn

T07-0042

HDAC3去乙酰化p65介导的cGAS-STING通路在砷致星形胶质细胞活化中的作用机制

罗道朋，孙宝飞，张爱华
（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室，公共卫生与健康学院毒理学系，
贵州 贵阳 550025）

摘要：目的 通过构建砷中毒大鼠模型和星形胶质细胞染砷模型，探讨HDAC3去乙酰化p65介导的cGAS-STING信号通路在砷致星形胶质细胞活化中的作用机制。**方法** 健康清洁级Wistar大鼠32只随机分为4组，每组8只，亚砷酸钠染毒剂量分别为2.5、5、10 mg/kg/d，对照组给予去离子水，每周灌胃6天，连续灌胃4个月。染毒结束后，检测砷中毒大鼠神经行为学变化；ELISA检测脑脊液炎症因子IL-1β、IL-6、

TNFα表达；观察海马区病理改变及超微结构变化；免疫荧光检测海马GFAP、iNOS表达；PCR和Western Blot分别检测海马组织HDAC3、p65、cGAS、STING mRNA和蛋白表达。构建大鼠原代星形胶质细胞染砷模型，观察星形胶质细胞形态变化；检测细胞活性；免疫荧光检测GFAP、iNOS表达；Western Blot检测HDAC3、p65、cGAS、STING蛋白表达；ELISA检测培养基上清炎症因子表达；利用RNAi技术敲低p65基因，检测染砷后HDAC3、p65、cGAS、STING蛋白表达；利用cGAS抑制剂（Quinacrine）预处理，检测染砷后GFAP、iNOS荧光强度以及培养基上清炎症因子表达。**结果** 体内实验结果显示，与对照组比较，砷中毒大鼠认知记忆能力降低；脑脊液炎症因子IL-1β、IL-6、TNFα表达升高，差异有统计学意义；砷中毒大鼠海马区细胞尼氏体减少，线粒体出现不同程度损伤；海马区GFAP和iNOS荧光强度显著增加，海马组织HDAC3、p65、cGAS、STING转录及蛋白水平均升高，差异有统计学意义。体外实验结果显示，与对照组比较，随着染砷浓度升高，细胞活性明显降低，呈现剂量-效应关系；染砷后星形胶质细胞GFAP、iNOS荧光强度显著增加；HDAC3、p65、cGAS、STING蛋白表达升高，培养基上清中炎症因子表达均升高，差异有统计学意义；与单纯染砷组比较，敲低p65后，星形胶质细胞p65、cGAS、STING蛋白表达降低，差异有统计学意义；cGAS抑制剂处理组星形胶质细胞GFAP、iNOS荧光强度降低，培养基上清炎症因子表达降低，差异有统计学意义。**结论** 砷暴露通过激活星形胶质细胞cGAS-STING信号通路，星形胶质细胞活化，产生促炎因子，这可能是砷致神经毒性的重要机制之一。

关键词：砷；神经毒性；星形胶质细胞活化；炎症因子

基金项目：国家自然科学基金项目（U1812403），省部共建地方病及民族区域性疾病防控协同创新中心项目

通讯作者：张爱华，E-mail：aihuagzykd@163.com

T07-0043

P2X3受体拮抗剂CPS151对小鼠FOB试验的影响

朱狄峰，袁晨星，郭城城，张　慧，翁勤洁

（浙江大学药学院药物安全评价研究中心，浙江 杭州　310058）

摘要：目的 CPS151是一种P2X3受体拮抗剂药物，前期研究表明CPS151可通过阻断三磷酸腺苷启动P2X3受体产生的钙离子内流，可减少咳嗽的发生，治疗慢性咳嗽。试验采用功能观察组合试验（FOB法）评价CPS151对Balb/c小鼠中枢神经系统的影响，为该类药物临床试验和应用提供参考。**方法** 取检疫合格的BALB/c小鼠50只，雌雄各半。根据性别和体重，采用分层随机法分成5个试验组，即溶媒对照组，阳性对照组和CPS151低、中、高剂量组（30 mg/kg、150 mg/kg、300 mg/kg），溶媒对照组给予0.5% MC，阳性对照组给予20 mg/kg剂量的盐酸氯丙嗪溶液。给药方式为一次性灌胃给药，给药容量为10 mL/kg。分别于给药前和给药后1 h、6 h和24 h对各组动物进行一次功能观察组合试验，包括笼内观察、开场观察、手持观察、操作性观察。观察指标包括一般体征、行为方面、神经方面、自主体征及体温等多方面指标。对相应指标进行量化评分，并比较各剂量组与溶媒对照组的显著性差异，考察药物对小鼠中枢神经系统的影响。**结果** 盐酸氯丙嗪注射液为中枢多巴胺受体的阻断剂，对中枢神经系统有较强的抑制作用。阳性对照组给予20 mg/kg剂量的盐酸氯丙嗪溶液，给药后1 ~ 6 h逐渐出现明显影响小鼠一般体征、行为方面、神经方面、自主体征、体温方面的症状，主要表现在觉醒、手指接近、头部接触、惊恐、惊恐反应、位置被动反应、视觉位置、对挟按尾巴的敏感性降低，僵住症症状增加，体位平伏，直立、自主活动减少，握力、身体张力、腹部张力、肢体张力减弱，耳廓反射、后肢反射、空间翻正反射、地板翻正反射反应降低，呼吸变缓，体温降低等，阳性对照组动物给药24 h后上述症状基本恢复。与溶媒对照组相比，供试品CPS151低、中和高剂量组动物笼内观察、开场观察、手持观察、操作性观察过程中一般体征、行为方面、神经方面、自主体征及体温等多方面指标均未见显著性差异。**结论** 在本试验条件下，单次灌胃给予30 mg/kg、150 mg/kg和300 mg/kg的CPS151对BALB/c小鼠中枢神经系统一般体征方面、行为方面、神经方面、自主体征方面及体温均无明显影响。

关键词：P2X3受体拮抗剂；安全药理；中枢神经系统；功能观察组合试验
作者简介：朱狄峰，毒理研究部主任，E-mail：zhudf@zju.edu.cn
通讯作者：翁勤洁，E-mail：wengqinjie@zju.edu.cn

T07-0044

Copper exposure aggravates motor phenotype via inhibiting mitophagy in SOD1G93A transgenic mice

Huan Zhang, Chuanyue Gao, Deguang Yang, Lulin Nie, Kaiwu He, Chongyang Chen, Shangming Li, Guangqin Huang, Li Zhou, Jianjun Liu, and Xifei Yang

Abstract: BACKGROUD Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is an age-dependent and incurable neurodegenerative disease. It is pathologically characterized by selective degeneration of motor neurons resulting in a catastrophic loss of motor function. Previous studies showed that excess copper (Cu) might have a role in ALS etiology. **OBJECTIVE** however, the underlying mechanism remains incompletely elucidated. Therefore, we aimed to investigate the neurotoxicity and underlying mechanism of Cu exposure in female ALS mice with SOD1G93A gene mutation. **METHODS and RESULTS** after three months of treatment with low-dose Cu exposure (0.13 PPM copper chloride drinking water), the ALS mice displayed increased movement disorder via multiple behavioral methods, including pole climbing, rotarod, hanging, grip, and gait analysis. Concurrently, Cu exposure worsened muscle fibrosis, aggravated spinal motor neuron loss and coincided with neuroinflammation. The proteomic analysis further showed that differentially expressed proteins among wild-type mice (WT), ALS mice, and Cu-treated ALS mice were mainly involved in muscle contraction, ATP metabolic processes, immune responses, peroxisomes, mitochondrial electrons respiratory transport chain, GMP biological processes, and were co-related with disturbances in energy metabolism, which was reflected in mitochondrial dysfunction in ALS mice. Moreover, Cu treatment reduced the expression of mitochondrial function-related proteins, consistent with the results determined by proteomic analysis. **CONCLUSION** our findings showed that Cu exposure aggravates motor dysfunction and pathological changes in ALS mice via mitochondrial dysfunction.

Key words: Amyotrophic lateral sclerosis; copper; mitophagy; Motor performance

Correspondence: Dr. Xifei Yang, Shenzhen Center for Disease Control and Prevention. Email: xifeiyang@gmail.com

T07-0045

铜暴露诱导小鼠认知障碍、神经元细胞氧化损伤和铜死亡

张 颖，周 倩，卢 璐，施 伟，张 虎，浦跃朴，尹立红
（东南大学公共卫生学院 环境医学工程教育部重点实验室，南京 210009）

摘要：目的 环境流行病学研究表明铜暴露是神经退行性疾病的危险因素。作为必需微量元素，铜参与体内关键过程，包括线粒体呼吸，电子转移和铁摄取，抗氧化防御，神经递质合成和代谢等。然而，铜超载可以诱导氧化应激和细胞毒性，从而导致不良结局态。在这项研究中，我们旨在探讨铜暴露对小鼠认知功能、神经元细胞氧化应激以及铜死亡的影响。**方法** 将30只4周龄雄性C57BL/6J小鼠自由饮水铜暴露3个月。

采用Morris水迷宫试验分析小鼠的学习记忆能力，ICP-MS分析小鼠海马组织、尿液和血清铜水平，ELISA分析海马组织氧化应激水平，免疫组化分析海马组织病理损伤和NeuN抗体的表达，TUNEL分析细胞凋亡水平，Western blot检测蛋白表达情况。在体外采用海马神经元HT22对细胞活性、凋亡、氧化应激水平、Nrf2/Keap1信号通路相关蛋白，以及铜死亡相关蛋白表达进行验证。**结果** 水迷宫结果显示小鼠定位导航和空间探索的目标象限潜伏期和平台潜伏期明显增加（$P<0.05$），ICP-MS结果显示海马组织铜含量和尿铜水平增加（$P<0.05$），血清铜差异无统计学意义。HE染色结果显示铜暴露导致海马神经元病理损伤，ELISA结果表明细胞凋亡和氧化应激水平增加（$P<0.05$），Western blot结果显示Nrf2/Keap1信号通路相关蛋白Nrf2、HO-1和NQO1表达增加（$P<0.05$），Keap1表达减少，铜死亡相关蛋白FDX1和Fe-S表达减少（$P<0.05$），酯酰化DLAT和蛋白毒性应激标志物HSP70表达增加（$P<0.05$）。体外研究与动物研究结果一致。**结论** 铜暴露诱导小鼠认知功能障碍，促进铜在脑组织积累和尿液排泄；铜诱导小鼠海马组织氧化损伤，激活Nrf2/HO-1/NQO1抗氧化防御系统；铜暴露促进神经细胞死亡可能和铜死亡信号通路的激活有关。

关键词：铜；认知障碍；氧化应激；铜死亡

基金项目：国家自然科学基金资助项目（82073516）

作者简介：张　颖，女，博士研究生，主要从事环境与健康研究

通讯作者：尹立红，E-mail：lhyin@seu.edu.cn

T07-0046

NPS的滥用现状与治理方案的研究

宋健文，刘　斌

（广东司法警官职业学院，广东 广州　510520）

摘要：近十年以来，“第三代新型毒品”—新精神活性物质（NPS）的快速涌现逐步改变了世界毒品滥用格局。当前，无论是全球范围还是在我国境内，NPS滥用形势不容乐观，并对公共卫生和社会治安造成不容忽视的现实危害。通过对我国当前NPS滥用治理现状的研究，发现在NPS滥用的治理上存在诸多问题：列管不全面，列管效果低，检测、鉴定存在瓶颈，戒毒工作仍有不足，违法犯罪隐蔽性强，打击难度大，对NPS界定不同，国际协作存在困难，以及社会大众对NPS的认知度不高等。为应对这些困境，建议通过完善NPS管制立法，创新多模式列管，建立新方法、新技术，完善戒毒回归管理，加强行业间合作，完善NPS的违法犯罪的打击，加强NPS类毒品预防宣传教育等方面予以应对。

关键词：第三代新型毒品；新精神活性物质；滥用形势；治理对策

作者简介：宋健文，男，硕士，广东司法警官职业学院副教授、教研室主任、司法鉴定人、主检法医师、外科医师，研究方向为法医鉴定、冰毒成瘾康复。

通讯作者：刘　斌，男，硕士，广东司法警官职业学院教授、科研处处长，研究方向为法学、马克思主义理论与思想政治教育，监狱、强制隔离戒毒工作理论与实务等。

T07-0047

小胶质细胞耗竭对PQ诱导的神经炎症及多巴胺能神经元死亡的影响

杨慧明，张晓峰

（哈尔滨医科大学公共卫生学院）

摘要：研究背景与目的 神经炎症反应在神经退行性变的发生发展过程中发挥重要作用，课题组前期研究发现百草枯（PQ）活化小胶质细胞（MG）介导神经炎症反应早于多巴胺能神经元的变性死亡。耗竭MG

能否抑制PQ诱导的神经炎症反应及其对PQ诱导神经毒性作用的影响，及在此过程中星形胶质细胞（AS）的反应目前尚未报道。**方法** 借助PQ诱导PD小鼠模型，利用集落刺激因子1受体抑制剂PLX3397耗竭MG。PQ组小鼠腹腔注射PQ，每周2次，连续6周。PLX3397+PQ组小鼠于PQ染毒前7天经口灌胃PLX3397每日1次，以后每2日1次，直至染毒结束。染毒结束后，采用旷场实验、转棒实验和悬挂实验对小鼠进行神经行为学检测；对中脑组织切片进行组织病理学观察，并采用免疫组化法或免疫荧光法对多巴胺能神经元、MG和AS进行检测；Western Blot法检测中脑组织相关炎症因子、MG和AS标志物的表达水平。**结果** 神经行为学检测结果表明，与正常对照组比较，PQ组小鼠运动总距离和直立探究次数明显减少、杆上悬挂时间和掉落潜伏期明显缩短（$P<0.05$），总静止时间明显延长（$P<0.05$）；而与PQ组比较，PLX3397+PQ处理组小鼠上述行为学改变明显缓解（$P<0.05$）。组织病理学观察显示PQ组中脑组织神经元细胞出现肿胀和核固缩，神经元数目明显减少，而PLX3397+PQ联合处理可减轻神经元细胞的损伤。与正常对照组比较，PQ染毒的中脑组织切片中IAB-1阳性表达的细胞数显著增多，且细胞分枝变少变粗，IL-6、TNF-α和IL-1β表达水平增高，TGF-β、IL-10和Arg-1表达水平减少（$P<0.05$）；而与PQ组比较，PLX3397+PQ联合处理组阳性表达IBA-1的细胞很少，除IL-10表达水平未见明显改变外，上述炎症因子表达水平在PLX3397+PQ联合处理组均呈现显著的回调（$P<0.05$）。此外，PQ染毒的中脑组织中A1型AS标志C3及其活化产物GDNF表达水平上调，A2型AS标志S100A10及其活化产物mBDNF表达水平下调（$P<0.05$），且可观察到AS胞体增大和突起变短、变粗的形态学变化；而与PQ组相比，PLX3397+PQ联合处理使C3和GDNF表达水平降低、S100A10和mBDNF表达水平升高（$P<0.05$）。**结论** 小胶质细胞耗竭能明显减轻PQ诱导的神经炎症反应及神经毒性作用。

关键词：百草枯；小胶质细胞；神经炎症；星形胶质细胞

通讯作者：张晓峰，E-mail：zhanghyd@163.com

T07-0048

孕哺期双酚S暴露致雄性子代小鼠出现自闭样行为

张 幸，龚宏扬，宋园园，孙明宽

（南京医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，南京 211166）

摘要：目的 双酚S（Bisphenol S，BPS）是一种被广泛使用的增塑剂，具有神经发育毒性。孕哺期BPS暴露会导致子代行为异常，而这些被观察到的行为异常与自闭症的部分临床特征相似，如社交行为缺陷、认知能力缺陷和焦虑样行为等。自闭症作为神经发育性疾病，其主要临床特征是社交能力缺陷、兴趣受限和重复限制样行为，且普遍伴有焦虑和痉挛。目前，关于孕哺期BPS暴露是否会导致子代出现自闭样行为仍然未知。因此，本研究通过建立孕哺期BPS暴露模型，以孕期丙戊酸暴露模型为阳性对照模型，探究孕哺期BPS暴露是否导致子代出现自闭样行为。**材料和方法** 本研究通过在孕哺期使用BPS（0、50和500 μg/kg BW。）处理C57BL/6母鼠，建立BPS暴露动物模型。阳性对照模型的母鼠于孕12.5天注射丙戊酸（500 mg/kg BW.）。建模期间定期记录孕鼠与仔鼠体重。分别对雄性和雌性仔鼠进行三箱社交试验、自我梳理实验、埋珠实验和旷场实验。**结果** 孕哺期BPS暴露对孕鼠和仔鼠的体重均无明显影响。三箱社交实验结果显示，在社交能力测试阶段，500 μg/kg BPS暴露组雄性仔鼠嗅探陌生鼠1（S1）的时间较嗅探另一侧空笼子的时间无明显差异，且嗅探S1的时间较对照组雄性仔鼠明显减少。在社交新颖性偏好阶段，500 μg/kg BPS暴露组雄性仔鼠嗅探陌生鼠2（S2）的时间较嗅探S1的时间无明显差异，且嗅探S2的时间较对照组雄性仔鼠明显减少。自我梳理实验和埋珠实验用于评估重复限制样行为。在自我梳理实验中500 μg/kg BPS暴露组雄性仔鼠的自我梳理时间较对照组雄性仔鼠明显增长。埋珠实验结果也显示，从第15分钟开始，500 μg/kg BPS暴露组雄鼠仔鼠埋珠数量明显多于对照组雄性仔鼠。焦虑样行为使用旷场实验进行评估，我们观察到500 μg/kg BPS暴露组雄性仔鼠进入旷场中心区域的潜伏期较对照组雄性小鼠明显增长，且进入旷场

中心区域的次数明显减少。500 μg/kg BPS暴露组雄性仔鼠的行为改变与阳性对照模型中的丙戊酸暴露组雄性仔鼠的行为改变相似。此外，在各项测试中，暴露组雌性小鼠行为较对照雌性小鼠行为均未见明显异常。**结论** 孕哺期高剂量BPS暴露会导致雄性子代小鼠出现自闭症样行为。

关键词：双酚S；自闭症；社交能力；社交新颖性偏好；重复限制样行为；焦虑样行为

基金项目：科技部项目-国家科技创新2030（2021ZD0204001）

通讯作者：孙明宽，E-mail：sunmk@njmu.edu.cn

T07-0049

基于多种体外模型比较评估新型环境污染物的神经发育毒性

李时畅[1,2]，殷诺雅[1,2]，杨仁君[1,2]，Francesco Faiola[1,2]

（1. 中国科学院生态环境研究中心，北京 100085；2. 中国科学院大学资源与环境学院，北京 100049）

摘要：目的 广泛的研究已经证实了环境污染与神经系统疾病的关联性和因果关系。特别是，发育中的神经系统更容易受到外界干扰，甚至导致成年后的永久损伤。美国环境对儿童健康结果影响（Environmental influences on Child Health Outcomes，ECHO）的研究报告称，大量新型环境化合物在孕妇体内被广泛检出。基于此背景，本研究旨在探究环境中广泛赋存的新型环境化合物的潜在神经发育毒性并比较常见的体外毒性测试模型。**材料和方法** 研究选择了ECHO研究中识别的三类、共19种新型环境化合物，包括新烟碱杀虫剂（Neonicotinoids，NEOs）、有机磷酸酯阻燃剂（Organophosphate esters，OPEs）和合成酚类抗氧化剂（Synthetic phenolic antioxidants，SPAs）。本研究使用了三种广泛应用的体外毒理学测试模型，包括两种永生化细胞系大鼠嗜铬细胞瘤细胞系PC12和人神经母细胞瘤细胞系SK-N-SH，以及人神经干细胞（Neural stem cells，NSCs）。本研究在环境相关暴露水平下（100 nmol·L^{-1}和 1 μmol·L^{-1}）筛选了19种NEOs、OPEs和SPAs的神经毒性作用，并在PC12、SK-N-SH和NSC三种体外毒性测试模型中基于转录组测序、实时荧光定量PCR、免疫荧光染色以及细胞增殖实验等方法比较分析了这些新型环境化合物的神经发育毒性，并阐释其潜在的毒性作用机制。**结果** 研究发现在19种化合物中，氯噻啉（IMZ）、环氧虫啶（CYC）和磷酸三（1，3-二氯异丙基）酯（TDCIPP）在环境相关浓度下表现出更强的神经毒性作用。IMZ、CYC和TDCIPP破坏了NSCs的维持并通过激活NF-κB信号通路促进上皮-间充质转化从而促进NSCs分化。此外，研究结果表明IMZ、CYC和TDCIPP干扰了NSCs的神经分化过程，体现为抑制神经元的分化，而促进向星形胶质细胞的分化。然而，在另外两种永生化细胞系模型，SK-N-SH和PC12中没有观察到明显的毒性作用。通过对比这三种神经发育毒性评估模型发现NSCs对环境化合物暴露的响应更加灵敏。**结论** 我们的研究结果表明作为传统新烟碱类杀虫剂、有机磷酸酯阻燃剂的新型替代物，特别是IMZ、CYC和TDCIPP，在环境相关浓度下可能干扰发育中的神经系统，并可能与胎儿神经管缺陷以及神经元分化发育不良相关。因此，仍需更多关注这些环境中广泛赋存的新型环境化合物的神经发育风险，并提供相应的使用建议和采取合适的管控措施。

关键词：新烟碱杀虫剂；有机磷酸酯阻燃剂；合成酚抗氧化剂；神经发育毒性；体外模型

通讯作者：Francesco Faiola，E-mail：faiola@rcees.ac.cn

T07-0058

铅暴露致BDNF/TrkB通路对SH-SY5Y细胞NMDAR1的作用机制研究

李雨露，杨海涛，王海华，鱼 涛，陈 宵，刘 黎，张 意，段爱茹，乔梦芸，吴思雨，
吕书俊，肖经纬，李 斌

（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所，北京 100050）

摘要：目的 探讨在铅暴露情况下，BDNF/TrkB通路通过调控PI3K/AKT以及PLC/PKC途径对SH-

SY5Y细胞NMDAR1的作用机制研究。**方法** 1、设置不同浓度梯度的铅溶液分别处理细胞，CCK-8法检测细胞的增殖活性并确定最终染毒浓度与时间。2、铅染毒后，Western Blot 检测PI3K、PKC以及NMDAR1的蛋白表达情况。2、不同浓度梯度抑制剂K252a处理细胞，CCK-8法检测细胞的增殖活性并最终确定K252a浓度。4、不同浓度铅溶液与K252a联合作用，Western Blot 检测PI3K、PKC以及NMDAR1的蛋白表达情况。**结果** 根据CCK-8结果确认铅染毒梯度为0、50、100、200 μmol/L；染毒时间为48 h；SH-SY5Y细胞随着染毒浓度的增加，NMDAR1、PI3K以及PKC的蛋白表达显著上调（$P<0.05$）；NMDAR1的蛋白表达量分别是0.21±0.05、0.32±0.09、0.38±0.08、0.61±0.21，PI3K的蛋白表达量分别是0.11±0.06、0.27±0.04、0.44±0.04、0.64±0.12，PKC的蛋白表达量分别是0.10±0.07、0.18±0.04、0.43±0.12、0.68±0.15，尤其在200 μmol/L Pb染毒组，其蛋白的相对表达量分别是对照组的3倍，6倍以及7倍，差异均具有统计学意义；根据CCK-8确定K252a溶液的作用浓度为200 nmol/L；Pb与K252a联合作用后，细胞中的NMDAR1、PI3K以及PKC的蛋白表达随着染毒剂量的增加逐渐上升（$P<0.05$），NMDAR1的蛋白表达量分别是0.19±0.10、0.21±0.12、0.35±0.14、0.50±0.12，PI3K的蛋白表达量0.21±0.06、0.22±0.09、0.47±0.03、0.78±0.10，PKC的蛋白表达量分别是0.28±0.06、0.33±0.06、0.53±0.05、0.82±0.14，其中200 μmol/L Pb+200 nmol/L K252a组增加明显，其蛋白的相对表达量分别是对照组的2.6倍，3.7倍，2.9倍，其差异具有统计学意义。**结论** 铅染毒后，BDNF/TrkB通路可能通过PI3K/Akt信号通路以及PLC/PKC信号通路影响NMDAR1的表达。

关键词： 细胞增殖；脑源性神经营养因子-酪氨酸受体激酶B信号通路；磷脂酶C-蛋白激酶C信号通路；磷脂酰肌醇3激酶-苏氨酸激酶信号通路；铅染毒；SH-SY5Y细胞

通讯作者：李 斌，E-mail：libin@niohp.chinacdc.cn

T07-0059

miR-671/CDR1as调控在慢性铅暴露致阿尔茨海默症过程中作用机制的初步探讨

杨海涛，李雨露，刘 黎，鱼 涛，王海华，陈 宵，张 意，乔梦芸，段爱茹，吕书俊，吴思雨，肖经纬，李 斌

（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所，北京 100050）

摘要：目的 探索miR-671/CDR1as调控在慢性铅暴露致阿尔茨海默症（AD）过程中的可能作用机制，为进一步研究慢性铅暴露致AD的发病机制及临床诊治干预靶点的选择提供理论参考价值。**方法** 将52只C57BL/6J雄性小鼠随机分为对照、低、中和高剂量组，每组13只，染毒周期10个月，醋酸铅染毒浓度分别为：0、1、2和4 g/L，以此构建慢性铅暴露AD小鼠模型。**采用** Morris水迷宫检测小鼠的空间学习和记忆能力；HE染色观察小鼠海马组织细胞形态结构变化；免疫荧光染色观察小鼠海马区Aβ和p-tau蛋白沉积情况；ICP-MS检测小鼠血铅和海马铅含量；Western blot检测小鼠海马组织中APP、BACE1、tau、p-tau、Aβ、NF-κB和AGO2等蛋白的表达水平；qRT-PCR检测小鼠海马组织中APP、BACE1、tau、NF-κB、AGO2、miR-671和CDR1as等基因的表达水平；通过核质分离试剂盒对小鼠海马组织神经细胞进行核质分离，并检测总的、胞质和胞核中NF-κB蛋白的表达水平。**结果** Morris水迷宫结果显示，小鼠的空间学习和记忆功能呈剂量依赖性下降，表现为无明确探索目的、探索轨迹混乱，平均逃避潜伏期延长，穿越平台的次数减少和第一次到达平台的时间增加，尤其是在高剂量组中，与对照组相比，差异有统计学意义（$P<0.05$）；AD相关基因和蛋白的表达水平逐渐增加，且高剂量组APP、BACE1、p-tau和Aβ蛋白表达水平显著高于对照组（$P<0.01$）；胞质NF-κB蛋白水平呈剂量依赖性下降，在高剂量组中差异明显（$P<0.05$），而胞核NF-κB蛋白表达水平升高，尤其是高剂量组，与对照组相比，统计学差异显著（$P<0.01$）；小鼠海马组织细胞中miR-671表达水平随着染毒剂量的增加逐渐上升，其中高剂量组增加明显（$P<0.01$），其相对表达量约是对照组的17倍和22倍。CDR1as的表达水平降低趋势显著（$P<0.01$）；AGO2基因和蛋白表达水平呈剂量依赖性升高，尤其是高剂量组，与对照组相比，统计学差异显著（$P<0.01$）。**结论** 慢性铅暴露损伤小鼠空间学习与记忆能力；

慢性铅暴露可促进miR-671和AGO2蛋白的表达水平上升，并可能通过促进miR-671与CDR1as互补结合以诱导AGO2蛋白对CDR1as进行切割致其表达水平的下降，以进一步调控NF-κB的核迁移过程，从而参与慢性铅暴露致AD的发病进程。

关键词： 铅；神经毒性；阿尔茨海默症；学习和记忆；miR-671/CDR1as；NF-κB

通讯作者： 杨海涛，E-mail：yht1997666@163.com

人脐带间充质干细胞注射液静脉给药对实验动物中枢神经系统的影响

徐 阎[1,2]，马 睿[1,2]，路显达[1,2]，王馨婕[1,2]，徐德璐[1,2]

（1. 天津天诚新药评价有限公司，天津 300301；2. 天津市新药非临床评价技术工程中心，天津 300301）

摘要：目的 本试验通过人脐带间充质干细胞静脉注射液对实验动物中枢神经系统的影响，确定可能关系到人的安全性的非期望药理作用。**方法** 40只SD大鼠，设置4个组，分别为空白对照组、人脐带间充质干细胞静脉注射液低、中、高剂量组，每组10只，雌雄各半。给药剂量：人脐带间充质干细胞静脉注射液低、中、高剂量设计为2.0×10^6、6.0×10^6、1.2×10^7 cells /kg。给药方式：尾静脉给药。给药周期：单次给药。检查指标：笼内观察包括动物清醒无运动、动物笼内运动、竖毛、发声、理毛、攻击同笼动物；手持观察包括从笼内移出的抵抗、皮肤颜色、眼睑闭合程度、眼球突出度、流涎；开放场观察包括觉醒、平衡性、体位、自主活动、共济失调步态、肌张力减退步态、抽搐、惊厥、扭体、异常行为、尾巴位置、竖毛、理毛、直立、排尿、尿液颜色、排便、排便粘稠度、呼吸、震颤、弓背、搔抓、死亡；操作性观察包括接近反应、接触反应、惊恐反应、夹尾反应、声音反应、网格测试、视觉定位、握力、角膜反射、耳廓反射、身体张力、屈曲反射、瞳孔反射、泪液分泌、翻正反射、攻击性、异常出声功能；体温检查。**结果** （1）定性观察指标：与空白对照组比较，2.0×10^6、6.0×10^6、1.2×10^7 cells /kg剂量组动物在觉醒情况、运动活动、肌张力、自主生理体征和反射方面，未见与药物有关的差异。（2）定量观察指标：低、中、高剂量组动物各时间点体温无明显变化。**结论** SD大鼠尾静脉给予剂量达到1.2×10^7 cells /kg的人脐带间充质干细胞注射液，未见药物对动物中枢神经系统行为及体温产生明显影响。

“肠道菌群-肠-脑”轴在葛根素缓解双酚S神经毒性中作用

吴梓瑶，阚雅琪，覃美琳，曾怀才

（桂林医学院公共卫生学院，广西 桂林 541199）

摘要：目的 观察双酚S（BPS）对成年雄性C57BL/6小鼠神经系统和结肠的影响，探讨“肠道菌群-肠-脑”轴在葛根素（PUE）缓解BPS神经毒性中作用。**方法** 将36只6～7周龄雄性C57BL/6小鼠随机分为对照组、BPS组（50 mg/kg bw BPS）、PUE+BPS组（150 mg/kg bw PUE+50 mg/kg bw BPS），每组12只，持续处理小鼠7周。Morris水迷宫评价BPS的神经毒性；HE染色法观察大脑和结肠形态变化；RT-qPCR和Western Blot检测突触蛋白相关基因、结肠粘膜屏障相关基因的表达水平；16S rDNA测序技术分析肠道菌群变化。**结果** 在5天的定位航行测试中，从训练的第3天开始，BPS组小鼠找到平台的时间较对照组长；与BPS组相比，BPS+PUE组从第4天开始缓解上述延迟。BPS组的海马CA1区锥体细胞细胞层明显减少及细胞形态改变，DG区颗粒细胞神经元细胞趋向分散，排列不规则，PUE+BPS组的上述组织学变化有所缓解。BPS下调了海马内突触蛋白相关基因（SYN1、SYP、PSD-95）和BNDF、TrkB、CREB基因的表达；PUE缓解了这种下调。BPS暴露导致结肠杯状细胞减少和炎性细胞广泛浸润，PUE同样缓解了这种效应。BPS降低了结肠黏膜屏障相关蛋白ZO-1，OCLN和CLD1的含量，而PUE可缓解BPS对结肠黏膜屏障的损伤。16S rDNA肠道菌群检测显示，在门水平，BPS暴露增加了小鼠体内厚壁菌门的丰度，降低了拟杆菌门的丰度。在属的水平上，梭状芽孢杆菌XIVa在BPS组中的相对丰度增加。PUE+BPS组与BPS组的菌群相比

更接近于对照。**结论** 葛根素可通过“肠道菌群-肠-脑”轴缓解BPS的神经毒性。

关键词：双酚S；神经毒性；葛根素；肠道菌群

基金项目：国家自然科学基金（82160629）；广西区自然科学基金（2021JJA140831）；广西青年人才专项（桂科-AD20238055）

通讯作者：曾怀才，E-mail：zenghuaicai@126.com

基于代谢组学和转录组学的整合分析揭示镉暴露对小鼠神经干细胞甘油磷脂代谢的影响

李奕希，张济明，周志俊，常秀丽

（复旦大学公共卫生学院，上海 200032）

摘要：目的 镉（Cadmium，Cd）作为具有高毒性的环境中典型的重金属污染物，可通过饮水、食物和吸烟等途径进入人体，几乎所有人体内都存在这种有毒重金属。长期低剂量接触镉可通过损伤血脑屏障（BBB）进入中枢神经系统，并长期蓄积下来而导致中枢神经系统损伤。本研究从镉对神经干细胞毒效应角度出发，分析了镉对神经干细胞增殖、分化的影响的潜在分子机制。**方法** 研究以原代小鼠SVZ区神经干细胞（mNSCs）为研究对象，使用1.5 μmol·L^{-1}的氯化镉处理细胞24 h后，采用超高效液相色谱-质谱测定细胞代谢组学、RNA测序技术测定基因转录水平，溶血磷脂酰乙醇胺（LPE）干预后采用活细胞线粒体染料MitoTracker™ Green标记测定线粒体形态、MitoSOX™ Red活细胞染料测定线粒体内活性氧、Edu法检测细胞增殖、细胞免疫荧光检测分化等。**结果** 经镉处理后，mNSCs中代谢物和转录本发生显著变化，分别鉴定出110个差异代谢物和2135个差异表达基因。差异代谢物主要涉及甘油磷脂代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、精氨酸生物合成、乙醛酸和二羧酸代谢。同时，转录组学数据显示膜功能和信号转导受到干扰。此外，整合代谢组学和转录组学分析提示，甘油磷脂代谢可能是镉对mNSCs影响的主要代谢通路，尤其降低了磷脂酰乙醇胺（PE）的水平，改变了PE代谢相关酶（Chka，Pnpla6，Pla2g4a，Pla2g6 and Pla2g7，Etnk1，Cept1和Pisd等）的表达水平。更有趣的是，补充LPE减少了镉诱导的mNSCs线粒体活性氧产生和线粒体碎片化，也改善了神经干细胞增殖抑制和分化异常。**结论** 基于整合组学分析，镉暴露干扰特定的生化通路，如甘油磷脂代谢。总的来说，多组学分析是揭示表型相关的下游生化通路改变的有力工具，有助于更好地理解镉诱导的神经毒性的分子机制。

通讯作者：常秀丽，E-mail：xlchang@fudan.edu.cn

Syntaxin17改善甲基苯丙胺导致的轴突囊泡运输障碍的作用及机制

陈静蓉，高 蓉，王 军

（南京医科大学公共卫生学院现代毒理学教育部重点实验室神经毒理研究室）

摘要：目的 甲基苯丙胺（methamphetamine，Meth）是苯丙胺类兴奋剂典型代表，可引起多种神经退行性病变，表现为神经元内囊泡、病理性蛋白的过度累积，但机制不明。动力蛋白Dynein/Dynactin通过逆向运动将自噬体、内体等囊泡运往溶酶体中降解，该过程紊乱将导致囊泡、病理性蛋白过度累积的发生。因此，该研究拟从Syntaxin17（Stx17）促进自噬体-溶酶体融合的角度，阐述Meth作用于Stx17可能引发的动力蛋白转运异常，为Meth引起囊泡、病理性蛋白的过度累积提供科学解释。**方法** 将孕18天的SD大鼠处死后，取胎鼠脑皮层进行原代神经元培养，构建Meth染毒细胞模型（900 μM，24 h），以腺病毒为载体，将Stx17高表达。Meth作用后，免疫荧光法检测Stx17和LC3之间的定位情况；合并感染Stx17高表达的腺病毒和mRFP-Dynein腺病毒，单通道观察神经元轴突中动力蛋白的逆向运动情况。**结果** Meth作用后，自噬

体成熟过程被抑制，Dynein及Stx17表达显著降低；通过活细胞单通道拍摄，发现Dynein逆向运输速率明显下降；而高表达的Stx17促进自噬体成熟，进而增强Dynein逆向运输。**结论** Meth引起的自噬体轴突逆向运输障碍是囊泡及病理性蛋白积聚的重要机制，其中Stx17在调节自噬体成熟，促进自噬体-溶酶体融合过程中发挥重要作用，可作为潜在的干预靶点，发挥Meth毒性的干预作用。

关键词：甲基苯丙胺；Syntaxin 17；自噬体成熟；轴突运输

通讯作者：陈静蓉，E-mail：CJR3849@163.com；高　蓉，E-mail：gaorong@njmu.edu.cn；王　军，E-mail：wangjun@njmu.edu.cn

CYP2E1依赖的丙烯酰胺神经损伤与NMDAR介导的突触后可塑性关系研究

陈　宵，张　意，段爱茹，乔梦芸，吕书俊，吴思雨，杨海涛，李雨露，肖经纬，李　斌
（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所 毒理室，北京　100050）

摘要：目的 丙烯酰胺（Acrylamide，ACR）是确认的人类神经毒素，具有“行业广泛性”和“人群普遍性”的特点。然而，参与丙烯酰胺及其代谢物环氧丙酰胺（Glycidmide，GA）的神经毒性的潜在机制极其复杂且存在争议。本研究将丙烯酰胺神经损伤锁定在突触这个构成神经毒效应发生的中心环节，并揭示了以NMDAR为核心的突触后可塑性关键蛋白的改变以及与认知障碍相关的下游通路的改变。**方法** 将pWSLV-07-Cyp2e1过表达质粒及未插入CYP2E1基因片段的pWSLV-07空载质粒转染细胞，构建CYP2E1过表达HepG2 E47细胞株与低表达HepG2 C34细胞株，与人神经母细胞瘤细胞SH-SY5Y分别建立HepG2 E47/SH-SY5Y和HepG2 C34/SH-SY5Y体外共培养系统并通过检测CYP2E1和Cyp2e1表达以及SH-SY5Y细胞内ACR和GA含量以验证模型构建成功。CCK-8法检测ACR不同剂量（0、50、100、150、200、250和500 μg/ml）和不同染毒时间（24 h、48 h、72 h）对两种共培养系统中SH-SY5Y细胞存活率的影响同时利用透射电镜观察染毒前后突触（突触数量、突触囊泡、AZD及NND等）和线粒体微结构的变化。用Western Blotting法检测SH-SY5Y中突触后可塑性损伤关键蛋白NMDAR、CaMKⅡ、PSD-95以及下游信号通路蛋白CREB、ERK1/2、BDNF的表达水平。同时利用激光共聚焦显微镜（LSCM）动态监测染毒过程中[Ca^{2+}]的快速波动情况以了解NMDAR通道的开放程度。**结果** ①相较HepG2 C34/SH-SY5Y共培养系统，HepG2 E47/SH-SY5Y中CYP2E1和Cyp2e1表达显著升高（$P<0.05$）且ACR和GA含量也差异明显（$P<0.05$），模型构建成功。②根据CCK-8结果确认后续实验ACR染毒浓度梯度为0、50、100和150 μg/ml，染毒时间为24 h。随着染毒浓度升高，与对照组相比，两组共培养系统中SH-SY5Y细胞死亡率增加、突触微结构异常（突触结构模糊、突触小泡数量减少、AZD和NND增加等）、线粒体出现损伤性变化且Ca^{2+}-ATPase和Na^{+}-K^{+}-ATPase活性下降（$P<0.05$），且上述变化在HepG2 E47/SH-SY5Y中明显加重，表明ACR诱导的神经毒性可能与代谢效率（包括CYP2E1活性）有关。③随着染毒剂量的增加，与对照组相比，两组共培养系统中突触后膜关键蛋白PSD-95表达减少，CaMKII和NMDAR磷酸化程度增加（$P<0.05$），下游认知障碍相关信号通路中ERK1/2、CREB、PI3K、AKT以及BDNF等蛋白被显著抑制（$P<0.05$）。同时ACR还引发了细胞内[Ca^{2+}]的快速剂量和时间依赖性增加，其变化可影响上述关键蛋白的表达。**结论** ACR及其代谢产物可对神经元细胞的突触后可塑性产生损伤作用，主要分子机制涉及增加NMDAR的开放概率和钙离子过载，进而导致下游认知相关信号通路的关闭和突触功能障碍的发生。由CYP2E1催化的ACR代谢物GA，在诱发突触后可塑性损伤方面比ACR原型的毒性更大。

关键词：丙烯酰胺；环氧丙酰胺；N-甲基D-天冬氨酸受体；突触后可塑性；细胞共培养

通讯作者：陈　宵，E-mail：chenxiao@niohp.chinacdc.cn

基于UHPLC-QE-MS、GC-MS、QTRAP的鱼藤酮染毒大鼠粪便、肠道、纹状体组织代谢组学差异分析

葛 维，钟 力，张启夫，刘浩银，单耀辉，程 晋，叶 枫，张 玺，王晓刚，赵远鹏，但国蓉，陈明亮，赛 燕
（陆军军医大学（第三军医大学）军事预防医学系防化医学教研室）

摘要：目的 探讨基于超高效液相色谱-四级杆静电场轨道阱质谱（UHPLC-QE-MS）、气-液相质谱（GC-MS）、液质联用仪复合型三重四级杆+线性离子阱质谱（QTRAP）多组织样本的慢性鱼藤酮染毒大鼠粪便、肠道组织、纹状体组织代谢组学差异。**材料和方法** 将24只SPF级SD大鼠随机分为对照组和慢性鱼藤酮染毒（Rot）组，每组12只。Rot组建立鱼藤酮慢性染毒模型，对照组除不进行鱼藤酮染毒，其余步骤一致。30天后旷场实验检测造模情况，而后大鼠处死，心尖采血，断头取纹状体，开腹取小肠、粪便，分别对粪便进行肠道菌群非靶向代谢组学检测，肠道、纹状体组织进行短链脂肪酸靶向代谢组学和高通量靶标定量组学检测。通过采用主成分分析（PCA）、正交偏最小二乘法判别分析法（OPLS-DA）寻找差异性代谢物，通过火山图、箱型图、受试者工作特征曲线（ROC）进行分析，最后通过京都基因与基因组百科全书（KEGG）库分析差异性代谢物及代谢通路，最终获得在两组间具有统计学差异的代谢通路。使用Elisa实验验证血清、肠道、纹状体组织进行炎症因子IL-6、TNF-α和脑肠肽Gas、VIP、Ghrelin的变化。**结果** PCA和OPLS-DA结果显示两组大鼠代谢轮廓显著差异，在大鼠粪便肠道菌群非靶向代谢组学中，类固醇合成代谢通路富集程度最高、烟酸和烟酰胺代谢通路影响因子最大；在大鼠肠道组织短链脂肪酸靶向代谢组学中，乙酸的表达在两组中差异有统计学意义（$P<0.05$）；在肠道组织高通量靶标定量组学中，半胱氨酸和甲硫氨酸代谢富集程度最高、牛磺酸和亚牛磺酸代谢影响因子最大；在纹状体组织高通量靶标定量组学中，半胱氨酸和甲硫氨酸代谢富集程度最高、维生素B6代谢影响因子最大。在血清、肠道、纹状体组织Elisa检测中显示IL-6、TNF-α表达均显著升高，Gas、VIP、Ghrelin均显著降低。**结论** 通过基于代谢组学的方法有效的区分了慢性鱼藤酮染毒前后代谢变化，其中肠道组织、纹状体组织的半胱氨酸和甲硫氨酸代谢通路均存在差异代谢物富集程度最高的表现，且鱼藤酮染毒前后炎症因子显著升高、脑肠肽显著降低。可以通过筛选出的差异代谢物及相关差异代谢通路和基于肠-脑轴的代谢分析用于对鱼藤酮中毒机制的研究及相关防治策略的制定。

关键词： 鱼藤酮；代谢组学；肠-脑轴

通讯作者： 赛 燕，E-mail：Sai2000cn@163.com

慢性锰暴露对大鼠运动和认知行为造成的影响及TREM2的表达变化

郭永华，司惠芳，姚 武，郝长付
（郑州大学公共卫生学院，中国河南省郑州市，450001）

摘要：目的 锰是生命活动的必需微量元素之一，但过量摄入也会产生毒性损伤作用。由于锰及其化合物是重要的工业原料，所以广泛于各种工业制造及锰矿开采中接触到锰及其化合物，因此职业接触和环境污染接触锰及其化合物而引起的健康问题已经受到广泛关注。虽然目前大剂量的接锰已经较少，但是锰的低剂量长期暴露仍然存在。有研究已经表明锰的低剂量长期持续暴露也会导致神经毒性损伤，但是目前造成神经损伤的相应机制仍不明确，锰神经毒性效应的有效生物标志物也还未完全开发。因此本研究旨在探讨锰造成神经毒性损伤的机制及潜在的效应生物标志物。**材料和方法** 本研究将36只SD大鼠随机分为四组，分别通过腹腔注射的方法进行0、5、15和25 mgMn/kg的剂量染锰，隔天定时进行一次染锰，每周定时称重，持续8周。通过旷场和Morris水迷宫测试评估对运动和学习记忆的影响。通过电感耦合等离子体质谱仪测定纹状体、海马中的锰浓度。通过Western Blot和qRT-PCR测定纹状体和海马组织中TH、NeuN和TREM2的蛋白和mRNA水平。**结果** 锰暴露大鼠的脑纹状体和海马中锰浓度高于对照组。锰暴露会造成大鼠的运动和学习记忆功能缺陷。锰处理大鼠的脑组织中TH、NeuN、和TREM2的蛋白和mRNA表达水平

显著低于对照组大鼠。且TREM2的蛋白和mRNA表达水平与脑锰含量呈明显的负相关。**结论** 锰暴露会导致大鼠运动和认知功能损伤，可使脑组织中TREM2表达含量下降且呈现一定剂量—反应关系，提示可能是锰致神经毒性的机制之一，且TREM2可能是锰神经毒性潜在的效应标志物。

关键词：锰暴露；行为改变；TREM2

通讯作者：郝长付，E-mail：haochangfu@126.com

甲基苯丙胺戒断致小鼠抑郁样行为及肠屏障损伤中的作用和机制研究

胡妙洋，王　茜，高　蓉，王　军

（南京医科大学公共卫生学院现代毒理学教育部重点实验室神经毒理研究室）

摘要：目的 甲基苯丙胺（Methamphetamine，Meth），俗称“冰毒”，是一种人工合成的外周和中枢神经系统兴奋剂，长期滥用导致严重的神经性及精神性疾病。多项研究指出，Meth滥用者抑郁症患病率显著高于健康人群，且焦虑、抑郁样情绪在Meth戒断者中长期存在。除大脑外，其滥用造成的损伤可累积多个器官，其中肠道损伤是其在体内毒性作用的重要表型。“肠脑”疾病研究表明，肠道损伤和稳态破坏可能在精神性疾病中发挥重要作用。5-HT作为大脑和肠道共有的神经递质，其90%以上存在于肠道，在调节肠道的多种生理功能及介导抑郁症的发生、发展中作用关键，但Meth戒断引起的抑郁样改变与肠道损伤的关系及5-HT在该过程中的作用尚不明确。基于此，本研究探讨了Meth戒断后基于5-HT作用的两种器官之间的“crosstalk”，以期为Meth戒断后的抑郁样行为提供干预的新策略及靶点。**材料与方法** 将C57BL/6小鼠随机分为三组（对照组，Meth戒断组，5-HT受体拮抗剂帕利哌酮干预组）。Meth戒断模型建立后，收集粪便进行菌群16s rRNA基因测序。借助LC-MS/MS检测小鼠血清中5-HT及其代谢物水平，western-blotting检测5-HT受体表达变化情况，通过H&E染色观察小鼠结肠组织病理改变，利用AB-PAS法评价结肠上皮杯状细胞数目及黏液分泌情况，系统评价小鼠肠上皮屏障功能。**结果** 与对照组小鼠比，Meth戒断组小鼠出现焦虑、抑郁样行为，血清中5-HT及其代谢终产物5-HIAA显著降低。菌群16s rRNA基因测序结果显示，Meth戒断小鼠菌群构成发生明显变化，表现为疣微菌门丰度降低，其中阿克曼菌属水平持续下降并伴随肠屏障损伤、肠道5-HT2A和5-HT7受体水平显著升高等现象。在使用5-HT受体拮抗剂干预后，明显改善Meth引起的小鼠抑郁样行为，并促进肠粘膜屏障修复及菌群重建。**结论** Meth戒断诱发小鼠焦虑、抑郁样行为，伴随菌群稳态失衡、肠屏障损伤及5-HT代谢失调。5-HT受体拮抗剂可通过5-HT代谢途径减轻Meth戒断的抑郁样行为和肠道损伤。这为Meth滥用后抑郁样疾病发生的干预提供了新的方向，亦为肠与脑之间可能的crosstalk提供了依据，具有积极的理论及应用价值。

关键词：甲基苯丙胺；抑郁样行为；肠屏障；5-HT；5-HT受体

通讯作者：胡妙洋，E-mail：humiaoyyy@163.com；王　茜，E-mail：morean1207@163.com；高　蓉，E-mail：gaorong@njmu.edu.cn；王　军，E-mail：wangjun@njmu.edu.cn

线粒体相关DAMPs在神经退行性疾病发生发展中的作用

周星悦，张晴鹏，杨程颖，陆子葳，逯晓波，巫生文，杨敬华，靳翠红

（中国医科大学公共卫生学院卫生毒理教研室，沈阳　110122）

摘要：神经退行性疾病（neurodegenerative diseases，NDDs）是一种慢性进行性神经系统损害性疾病，主要由神经元和其髓鞘随着时间的推移而逐渐丧失或恶化所致，主要包括阿尔兹海默症（Alzheimer′s disease，AD）、帕金森病（Parkinson′s disease，PD）、肌肉萎缩性侧索硬化症（Amyotrophic lateral sclerosis，ALS）、小脑性共济失调等。神经退行性疾病发病机制十分复杂，其中遗传性病例占5%，而散发性病例

达95%。研究发现细胞的异常代谢和炎症可能是神经退行性病变的早期重要标志。线粒体是神经细胞的主要代谢供能细胞器，其损伤可能直接导致神经细胞功能异常，线粒体损伤相关分子模式（mitochondrial damage-associated molecular patterns，MTDs）是损伤相关分子模式（damage-associated molecular patterns，DAMPs）的一类，指线粒体中的某些成分和代谢产物可以作为DAMPs释放到细胞质或细胞外环境，激活免疫系统并产生促炎级联反应，是机体自身细胞应激后所释放的内源性分子。主要包括线粒体DNA（mtDNA）、心磷脂、三磷酸腺苷（ATP）、线粒体甲酰肽等。MTDs在受到外界刺激后释放，可以激活机体内的免疫细胞，活化机体固有免疫反应，诱导炎症的发生，并调控交错复杂的下游通路，反馈性促进神经损伤，最终引起或加重神经退行性改变。最近一些研究指出了MTDs与神经退行性病变有着密切关联，其诱发的相关代谢异常在神经退行性疾病中的发展过程发挥着重要作用。由此提示，MTDs可能是细胞异常代谢和炎症反应中的一种重要中介物质，潜在地影响神经退行性疾病的发生发展。MTDs在神经退行性疾病中的调控已成为重要的研究热点，有望为寻找神经退行性疾病的预防与治疗可能作用靶点提供科学基础和线索。

关键词：神经退行性疾病；神经炎症；线粒体；DAMPs；MTDs

基金项目：国家自然科学基金项目（81673223）；辽宁省教育厅课题（LJKMZ20221173）

通讯作者：靳翠红，E-mail：chjin@cmu.edu.cn

白藜芦醇对铅致HT-22细胞氧化损伤的影响

易 湘，韦若昆，韦佩祁，袁海燕，区仕燕，姜岳明，李少军

（广西医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，广西 南宁 530021）

摘要：目的 本研究通过建立细胞铅中毒模型，探讨白藜芦醇对铅致HT22细胞损伤的影响，以期探寻铅致神经退行性病变防治的新机制。**材料与方法** 处于生长期的HT22细胞分别经0、12.5、50、200 μmol/L醋酸铅染毒24 h后（或经40 μmol/L白藜芦醇预处理1 h且染200 μmol/L醋酸铅24 h后），采用流式细胞术、试剂盒、Western Blot测定细胞线粒体膜电位、细胞凋亡率、氧化应激相关指标、SIRT1、自噬相关蛋白及凋亡相关蛋白表达情况。**结果** 与对照组比较，12.5、50、200 μmol/L染铅组HT-22细胞ROS生成量增加、脂质过氧化水平升高、凋亡率升高，50、200 μmol/L染铅组HT-22细胞膜电位水平降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；与对照组比较，50、200 μmol/L染铅组HT-22细胞MDA含量增加，12.5、50、200 μmol/L染铅组HT-22细胞SOD、GSH-Px活力降低（$P<0.01$）；与对照组比较，50、200 μmol/L染铅组HT-22细胞SIRT1蛋白表达降低，PARP、c-PARP、自噬相关蛋白LC3 Ⅱ/Ⅰ、Beclin-1、P62、ATG5和凋亡相关蛋白BAX、Caspase3、C-Caspase3、AIF等表达增加，而200 μmol/L染铅组BCL2蛋白表达下降（$P<0.05$或$P<0.01$）。与染铅组比较，白藜芦醇预处理可使染铅HT-22细胞的存活率增加（$P<0.01$）；；与染铅组比较，白藜芦醇预处理可使染铅HT-22细胞ROS生成量减少、脂质过氧化水平降低、膜电位水平升高、凋亡率降低，MDA含量降低和SOD、GSH-Px活力增加（$P<0.01$）；与染铅组比较，白藜芦醇预处理可使染铅HT-22细胞SIRT1蛋白表达增加、PARP蛋白表达下降，自噬相关蛋白P62表达下降、ATG5表达增加，凋亡相关蛋白BAX表达下降、BCL2表达增加（$P<0.01$）。**结论** 铅暴露可通过抑制HT22细胞SIRT1蛋白表达激活激活自噬和氧化应激作用但自噬流受阻，进而导致细胞存活率降低。而而白藜芦醇可通过激活SIRT1拮抗铅所致氧化应激作用，缓解铅所致HT-22细胞损伤作用。

关键词：铅；白藜芦醇；SIRT1；氧化应激；凋亡

基金项目：国家自然科学基金（82160626）；国家自然科学基金（81803281）；广西自然科学基金（2018GXNSFBA050060）

通讯作者：李少军，E-mail：lishaojun0613@163.com

产前PM2.5暴露与婴幼儿肠道细菌定植和认知发育的关联研究

刘 洋，张蕴晖
（复旦大学公共卫生学院）

摘要：目的 研究旨在评估产前PM2.5暴露对新生儿肠道细菌定植和婴幼儿认知发育的影响，以及肠道细菌在其中的作用。**材料与方法** 本研究依托上海亲子队列随机选取361对母婴。产前个体PM2.5暴露水平通过高时空分辨率（1 km × 1 km）预测模型评估得来。采用16S rRNA对新生儿粪便测序，并在2、6、12和24月龄时采用《年龄与发育进程问卷-第三版》（ASQ-3）评估婴幼儿神经发育水平。采用多重线性回归模型分析产前PM2.5暴露与儿童神经发育关联。应用线性判别分析（LEfSe）分析产前PM2.5高低暴露组间差异菌群，并使用随机森林模型验证用于预测可疑神经发育迟缓（SDD，低于均值两个标准差）的特异性OTUs标记。**结果** 63名2月龄儿童被定义为SDD。产前PM2.5每升高1 μg/m3与ASQ总分（β=−2.549，95%CI：−4.676，−0.422）、沟通能区（β=−0.494，95%CI：−0.934，−0.055）、个人-社会能区（β=−0.494，95%CI：−0.989，0.000）和解决问题能区（β=−0.567，95%CI：−0.929，−0.206）得分降低有关，且产前PM2.5浓度每升高1 μg/m^{3}显著增加2月龄儿童SDD发生风险（OR=1.167，95%CI：1.051，1.305）。产前PM2.5低暴露组在属水平上共富集了35个类群，高暴露组富集10个类群。在45个与PM2.5相关的类群中，瘤胃球菌属（Ruminococcus_gnavus.group）、罗姆布茨菌属（Romboutsia）、伯克霍尔德氏菌属（Burkholderiaceae_Caballeronia_Paraburkholderia），严格梭菌属（Clostridium.sensu.strato1）和布劳特氏菌属（Blautia）为SDD组的特征菌属。此外，随机森林模型结果显示：纳入瘤胃球菌属、罗姆布茨菌属、伯克霍尔德氏菌属、严格梭菌属和布劳特氏菌属的模型，具有较强的区分早期SDD的分类潜力（AUC=74.1%）。**结论** 产前PM2.5暴露与肠道菌群的定植有关，并影响子代认知发育。新生儿菌群中的瘤胃球菌属、罗姆布茨菌属、伯克霍尔德氏菌属，严格梭菌属和布劳特氏菌属可能是识别婴幼儿神经发育迟缓的生物标志。

关键词：出生队列；细颗粒物；PM2.5；神经发育迟缓；肠道菌群

通讯作者：张蕴晖，E-mail：yhzhang@shmu.edu.cn

甲基苯丙胺戒断引起导致小鼠外周免疫紊乱及抑郁样行为

娄新宇，高 蓉，王 军
（南京医科大学公共卫生学院现代毒理学教育部重点实验室神经毒理研究室）

摘要：目的 甲基苯丙胺（methamphetamine，Meth），是冰毒的主要成分，属于苯丙胺类中枢兴奋剂。Meth滥用及戒断对机体免疫系统有长久的损伤作用且增加罹患抑郁症等精神相关疾病的机率，而关于两者联系的研究少见。因此，该研究拟从外周免疫紊乱与中枢神经炎症关系的角度，阐述Meth戒断导致的外周免疫紊乱与抑郁症之间的联系，从而为Meth戒断引起的抑郁样行为提供科学解释。**方法** 建立Meth戒断小鼠模型，利用高架十字、旷场、强迫游泳等行为学实验观察小鼠抑郁相关行为，借助流式细胞术观察Meth给药期和戒断期小鼠脾脏和外周血免疫细胞构成和亚群比例，利用ELISA和QPCR分别检测血清和脑组织中细胞因子的表达水平。**结果** Meth戒断组小鼠表现出明显的焦虑、抑郁样行为；通过多色流式分析，发现在Meth给药期及Meth戒断期小鼠脾脏和外周血中辅助性T细胞比例与对照组比显著升高；而辅助性T细胞亚群中调节性T细胞比例在Meth戒断期明显下降；同时在Meth戒断期，小鼠血清和脑组织中促炎细胞因子IFN-γ、TNF-α等水平上升，抑炎细胞因子IL-10表达下降。**结论** Meth戒断引起小鼠明显的焦虑抑郁样行为和外周免疫抑制功能损伤，因而外周免疫的干预为Meth戒断引起的抑郁可能会提供新的方向及干预靶点，具有重要的应用价值。

关键词：甲基苯丙胺；抑郁；外周免疫；神经炎症

通讯作者：娄新宇，E-mail：xinyualan@163.com；高 蓉，E-mail：gaorong@njmu.edu.cn；王 军，E-mail：wangjun@njmu.edu.cn

慢性沙林暴露致认知功能损伤的机制研究

石晶晶，刘东鑫，靳 倩，朱思庆，张 毅，王 陈，李丽琴
（国民核生化灾害防护国家重点实验室，北京 102205）

摘要：沙林（GB，o -异丙基甲基氟磷酸盐）是一种强效有机磷（OP）神经毒剂，是一种具有代表性的化学武器，对人类的健康存在巨大威胁。目前关于沙林的研究主要集中在高剂量暴露引起的急性毒性，对其慢性毒性机制的研究基本处于空白。本研究通过连续21 天皮下注射0.4 × LD_{50}（40 μg/kg）建立沙林重复低剂量染毒大鼠模型。水迷宫结果显示沙林暴露后大鼠出现持续学习记忆功能障碍，高尔基染色结果表明认知损伤大鼠海马中树突棘密度降低。为了进一步了解沙林染毒导致认知损伤的分子机制，对对照组和沙林暴露后恢复21天组大鼠的海马组织进行全转录组测序。与对照组相比，沙林染毒大鼠海马样本中共发现1035个差异表达的信使RNA（DEmRNAs）、44个差异表达的微小RNA（DEmiRNAs）、305个差异表达的长链非编码RNA（dif-lncRNAs）和412个差异表达的环状RNA（dif-circRNAs）。京都基因（GO）与基因组百科全书（KEGG）显示，通路主要富集在有认知缺陷的神经退行性疾病中，例如，阿尔兹海默症，帕金森症等。差异基因的PPI网络结果表明关键基因主要参与神经元突触可塑性。根据差异RNA之间严格的上下调控关系以及相互作用关系，构建了并分析了circRNA/ lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA网络，网络中上调的Circ_Fmn1导致miR-741-3p、miR-764-3p和miR-871-3p表达下调，对应的靶mRNA KIF1A、PTPN11、SYN1和MT-CO3表达上调。同时，Circ_Cacna1c的下调导致miR-10b-5p和miR-18a-5p的上调，进而导致调控靶mRNA CACNA1C、PRKCD和RASGRP1的下调。这两种途径的平衡是维持突触功能稳定的关键，平衡的破坏最终导致慢性沙林暴露导致的学习记忆障碍，这些结果首次揭示了沙林暴露大鼠的ceRNA网络，提示特定的ceRNA网络可能参与了慢性沙林暴露致认知功能障碍的发病机制。这些新发现的网络揭示了慢性沙林暴露的潜在生物标志物或治疗靶点，也为其他有机磷毒物的分子机制提供了新的见解。

关键词：沙林；认知损伤；全转录组；circRNA；lncRNA；miRNA；ceRNA

6-OHDA诱导的小鼠PD模型的建立与验证

宋 晨，李佩云，贾艳丽，李子轲，陈 瑛，董延生
（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北 廊坊 065500）

摘要：目的 帕金森病（Parkinson′s disease，PD），是一种世界范围内普遍存在的神经系统退行性疾病，临床上以静止性震颤、运动迟缓、肌强直和姿势平衡障碍为主要特征。帕金森患者不仅给自己的家庭带来了沉重的生活负担，也为国家带来巨大的社会经济负担。通过脑立体定位手术在C57BL/6J小鼠左侧黑质脑区注射6-OHDA是建立帕金森模型经典方法之一，本研究旨在通过上述方法建立并验证帕金森模型，为抗帕金森药物的药效学研发提供技术平台。**材料与方法** 选择检疫合格的20只雄性C57BL/6J小鼠进行试验，试验所需要的主要仪器有单臂数显脑立体定位仪、纳升微量操作泵、转圈视频分析系统、电子天平、注射器等。将1 μL的6-OHDA（3 mg/mL）吸入微量注射泵，按照坐标注射到左侧黑质脑区（前囟前后，Anteriorposterior，AP：−2.9 mm，中缝左右，Mediolateral，ML：−1.1 mm，颅骨向下，Dorsalventral，DV：−4.5 mm）。注射速度为200 nL/min，注射完毕后静置约5 min以便于6-OHDA充分扩散和吸收。将微量注射针取出，对颅骨表面完成清创和消毒处理，用3M组织胶粘合动物头皮。术后第7天，将术后存活的动物腹腔给予安非他命（5 mg/kg，ip）10 ± 2 min后，随后放入旋转测试仪器中，记录40 min内小鼠的旋转圈数。**结果** 术后因动物创伤较大，体重较低，死亡1只动物，共存活19只C57BL/6J小鼠。安非他命诱导转圈结果显示，所有动物病侧旋转总圈数为（388 ± 26）r，病侧平均旋转圈数为（9.7 ± 0.7）r/min，健侧旋转总圈数为（14 ± 4）r，健侧平均旋转圈数为（0.4 ± 0.1）r/min，净圈数均值为（9.34 ± 0.7）r/min。**结论** 在本试验条件下，为避免术后动物可能存在创伤大，抵抗力低导致死亡的情况，建议选择体重为25 g以上的健康动物纳入试验。

因动物可能存在个体差异，而黑质脑区较小，6-OHDA造模可能存在偏差，安非他命诱导旋转测试的指标可以选择特定的范围，（如筛选动物净圈数均值为6 ~ 15 r/min）。本试验筛选出16只造模成功的动物进行后续帕金森药效学试验。

关键词：6-OHDA；帕金森；黑质；旋转圈数

作者简介：宋　晨，E-mail：songchen@safeglp.com

通讯作者：陈　瑛，E-mail：chenying@safeglp.com；董延生，E-mail：dongyansheng@safeglp.com

突触生成相关基因DNA低羟甲基化在孕期1-硝基芘暴露诱发成年雄性仔鼠焦虑样行为中的作用

赵　婷[1]，陈晓希[1]，朱妍妍[1]，路　雪[1]，钱庆华[1]，陈会茹[2]，孟秀红[2]，王　华[1]，王　博[1]，徐德祥[1]

（1. 安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系；2. 安徽医科大学环境毒理实验室）

摘要：目的　探讨突触生成相关基因DNA低羟甲基化在孕期1-硝基芘（1-NP）暴露诱发雄性子代焦虑样行为中的作用。**方法**　本研究由四部分组成。实验一：探讨孕期1-NP暴露对成年雄性仔鼠焦虑样行为的影响。ICR孕鼠全孕期每天给予不同剂量1-NP（0，10，100 μg/kg）灌胃处理。高架十字迷宫和旷场实验评价成年雄性仔鼠焦虑样行为。高尔基染色和免疫荧光检测1-NP对成年雄性仔鼠腹侧海马突触复杂性的影响。实验二：探讨孕期1-NP暴露对胎鼠海马发育的影响。部分孕鼠全孕期每天给予不同剂量1-NP（0，10，100 μg/kg）灌胃处理。孕第18天（gestational day，GD18）剖杀孕鼠，检测雄性胎鼠海马突触相关蛋白表达。部分孕鼠于GD0至GD13每天给予不同剂量的1-NP（0，10，100 μg/kg）灌胃处理，GD14剖杀孕鼠，检测胎鼠前脑突触生成相关基因mRNA表达和DNA羟甲基化修饰水平，同时检测胎鼠前脑TET酶活性及其辅因子α-酮戊二酸（α-ketoglutarate，α-KG）的含量。实验三：探讨α-KG预处理对1-NP诱发胎鼠前脑和成年雄性仔鼠海马突触损伤的保护作用。ICR孕鼠分为四组：Ctrl、α-KG、1-NP和α-KG+1-NP组。GD14剖杀部分孕鼠，检测胎鼠前脑突触生成相关基因和突触蛋白的表达水平。部分孕鼠自然分娩，检测成年雄性仔鼠腹侧海马突触复杂性。实验四：探讨α-KG预处理对1-NP诱发成年雄性仔鼠焦虑样行为的保护作用。ICR孕鼠分为四组：Ctrl、α-KG、1-NP和α-KG+1-NP组。高架十字迷宫和旷场实验评价成年雄性仔鼠焦虑样行为。**结果**　孕期1-NP暴露诱发成年雄性仔鼠焦虑样行为；1-NP诱发成年雄性仔鼠腹侧海马突触复杂性损伤；1-NP处理组胎鼠前脑和成年雄性仔鼠腹侧海马突触标志蛋白Gephyrin表达显著降低；1-NP处理组胎鼠前脑Gephyrin生成相关基因Nrg1和ErbB4的mRNA表达水平降低。进一步检测1-NP对胎鼠前脑Nrg1和ErbB4羟甲基化修饰的影响。结果发现：1-NP处理组胎鼠前脑Nrg1基因2个CpG位点和ErbB4基因3个CpG位点5-羟甲基胞嘧啶（5hmC）水平降低。1-NP处理组胎鼠前脑TET酶活性和α-KG含量显著降低；α-KG补充减轻1-NP诱发的胎鼠前脑Nrg1和ErbB4下调，减轻成年雄性仔鼠腹侧海马Gephyrin突触蛋白降低和突触复杂性损伤；α-KG补充改善成年雄性仔鼠焦虑样行为。**结论**　生命早期1-NP暴露部分通过改变海马突触可塑性表观遗传重编程诱发成年雄性子代焦虑样行为。

关键词：1-硝基芘；焦虑样行为；突触可塑性；DNA羟甲基化

通讯作者：王　博，E-mail：wangbdev@126.com

生命早期双酚AP暴露对小鼠神经行为的影响及机制研究

吴小蓉，李世奇，张美佳，柏胜军，范 赟，马 轩，秦玉峰
（南京医科大学公共卫生学院，南京 211166）

摘要：目的 双酚AP（BPAP）作为双酚A（BPA）的替代物开始被大量用于工业生产。目前BPAP已在多种环境介质和生物样本中检出，并且BPAP能够穿过血脑屏障，但其对神经系统所造成的健康风险尚未被系统研究。本研究从表型异常、形态结构改变再到分子水平的基因表达改变三个层面初步阐明生命早期BPAP暴露影响小鼠神经行为的机制。**方法** 7周龄C57B/6J雌鼠从交配前7天开始至哺乳期结束（约7周）通过饮水暴露于BPAP（0、0.4 mg/kg/day）。小鼠6周龄时，采用旷场实验、埋珠实验、高架十字迷宫实验、悬尾实验、蔗糖偏好实验、新物体识别实验、三箱社交实验来评估小鼠的行为改变；通过脾脏流式细胞术检测小鼠外周炎症情况；通过H&E染色和尼氏染色评估海马组织的形态学；通过全脑转录组测序（RNA-seq）、海马单细胞核转录组测序（snRNA-seq）和实时荧光定量PCR（RT-qPCR）从分子层面评估生命早期BPAP暴露对成年小鼠大脑以及海马基因转录谱的改变；最后通过免疫荧光检测小胶质细胞激活情况。**结果** 旷场、高架十字迷宫以及埋珠实验结果显示，处理组小鼠进入中央区的次数显著减少、运动速度和运动距离都显著降低、在开放臂停留时间有减少趋势、埋珠指数较对照组显著增加，表明处理组小鼠存在焦虑样行为；蔗糖偏好实验和悬尾实验结果显示，处理组小鼠糖水偏好指数在第24 h时显著降低、雄性小鼠后4 min不动时间显著增加，提示处理组小鼠存在抑郁样行为；新物体识别实验结果显示，处理组对新异物体的偏好指数显著低于对照组，提示学习记忆能力受损；社交性测试和社交新颖性测试结果显示，暴露组小鼠认识功能受损。脾脏流式细胞术结果显示，BPAP暴露增加了巨噬细胞（mø）和树突状细胞（DC）的比例。BPAP暴露导致小鼠海马神经元大量丢失。RNA-seq和snRNA-seq结果显示，BPAP暴露导致小鼠神经发育、行为和炎症相关基因表达失调。snRNA-seq分析结果还显示，星形胶质细胞和小胶质细胞的基因表达对BPAP暴露的反应更为敏感。此外，免疫荧光结果显示，BPAP暴露上调了小胶质细胞特异性标志物Iba-1水平。**结论** 生命早期BPAP暴露可能通过激活海马小胶质细胞，重编程神经行为及炎症相关基因表达，导致成年小鼠焦虑样行为和抑郁样行为改变，以及学习记忆和认知功能下降。

关键词： 双酚AP；生命早期；神经行为；炎症；小胶质细胞

通讯作者： 秦玉峰，E-mail：qiny@njmu.edu.cn

聚丙烯微塑料和DEHP联合暴露诱发幼鼠出现神经退行性疾病早期症状及分子机制

杨 戈，龚存义，郑欣悦，胡 菲，李 敏，陈新月，李 睿
（华中师范大学生命科学学院，湖北 武汉 430079）

摘要：目的 尺寸在1μm至5mm之间的塑料颗粒被称为微塑料，是引起强烈关注的一类新兴污染物。然而，目前对婴幼儿最常接触到的聚丙烯微塑料（polypropylene microplastics，PP-MPs）的健康影响的评估还远远不够。另一方面，作为塑料加工中使用的典型增塑剂，邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯（DEHP）在环境中极易与微塑料共存，造成联合暴露。现有研究表明，单独暴露于微塑料或DEHP可能会诱发动物的神经毒性，但二者的联合效应和分子机制仍未探明。因此，本研究旨在探索PP-MPs和/或DEHP暴露对幼鼠神经系统的毒性效应及潜在的分子机制，希望可以为婴幼儿因暴露于PP-MPs和DEHP而引发神经系统疾病防控提供理论参考。**材料和方法** 研究对象分为8组幼年小鼠，分别为对照组、低/中/高PP-MPs组（5/20/80 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ PP-MPs），低/中/高PP-MPs+DEHP组（5/20/80 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ PP-MPs+250 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ DEHP）。通过行为学实验分析（水迷宫）、乙酰胆碱酯酶（AChE）和氧化应激指标（ROS，MDA，GSH）含量检测、大脑组织病理观察（H&E染色，Nissl染色，透射电镜）来评估神经毒性效应。随后通过对照组、高PP-

MPs组、高PP-MPs+DEHP组幼鼠大脑组织转录组测序筛选PP-MPs和/或DEHP暴露致幼鼠神经毒性的潜在机制。最后通过qRT-PCR、Western blot和免疫荧光进行定量及表达模式分析以验证。**结果** PP-MPs和/或DEHP暴露可诱导幼鼠神经毒性效应，表现为：认知记忆功能障碍的发生，大脑中AChE含量的下调，氧化应激水平的上调，以及海马体CA3区域的病理损伤。神经毒性效应不仅随PP-MPs浓度增加而逐渐加重，而且可在联合暴露于PP-MPs和DEHP时表现出加性或协同效应。转录组学分析显示PP-MPs和/或DEHP暴露可显著改变幼鼠大脑中参与应激反应、内质网蛋白质加工、神经炎症相关通路的基因表达谱。进一步开展定量分析揭示，PP-MPs和/或DEHP暴露可抑制幼鼠大脑中热休克转录因子（HSF1）介导的热休克反应活性（HSPA5，HSP70等），同时可增强未折叠蛋白反应标志蛋白活性（CHOP，XBP1S），进而上调幼鼠大脑中的凋亡水平和神经炎症。**结论** 暴露于PP-MPs和/或DEHP可通过抑制幼鼠大脑由HSF1介导的热休克反应活性，从而降低细胞的应激耐受性和加重内质网中蛋白折叠负担来促进神经元凋亡和神经炎症，导致幼鼠大脑组织的病理损伤，最终诱导其神经认知功能障碍的发生。

关键词： 聚丙烯微塑料；DEHP；幼鼠；神经毒性；联合效应；热休克反应

通讯作者： 李　睿，E-mail：ruili@ccnu.edu.cn

孕哺期镧暴露对子代大鼠海马PERK信号通路的影响

王运利，苏梦琦，何秀秀，刘金璇，杨敬华
（中国医科大学公共卫生学院卫生毒理学教研室，辽宁 沈阳）

摘要：目的 镧（Lanthanum，La）损害学习记忆能力，但其神经毒作用机制仍未得到完全阐明。内质网稳态在神经细胞维持正常功能中发挥着重要作用。当内质网应激强度过大或持续时间过长，未折叠蛋白反应不足以重建内质网稳态，则可导致神经细胞损害。本研究通过观察孕哺期La暴露对子代大鼠海马内质网应激PERK信号通路的影响，为寻找有效干预La神经毒作用的分子靶点提供新的思路。**材料和方法** 将32只成年雌性Wistar大鼠随机分为对照和0.125%、0.25%、0.5% La组，按照1∶1的比例与雄性进行合笼交配，以次日晨发现阴栓或阴道分泌物镜检有精子者定为受孕，并记为妊娠日（GD）第0天。从GD第0天开始，对雌性大鼠分别进行不同剂量（0%、0.125%、0.25%、0.5%）LaCl3饮水染毒处理，直至哺乳期结束。采用Morris水迷宫试验测定子代大鼠空间学习记忆能力，采用尼氏染色技术测定子代大鼠海马神经元尼氏体水平，采用Western blot法测定子代大鼠海马PERK信号通路蛋白Bip、PERK、p-PERK、eIF2α、p-eIF2α、ATF4、CHOP的表达水平。**结果** La暴露组子代大鼠在Morris水迷宫定位航行试验中逃避潜伏期和游泳总距离增加，在空间探索实验中目标象限停留时间和进入平台次数减少，学习记忆能力受损。随着La暴露剂量的增加，子代大鼠海马组织CA1区、CA3区、DG区神经元尼氏体水平逐渐降低，各组间均有统计学差异（$P<0.05$）。随着La暴露剂量的增加，子代大鼠海马组织PERK、eIF2α蛋白表达水平不变，而Bip、p-PERK、p-eIF2α、ATF4、CHOP蛋白表达水平升高，各组间均有统计学差异（$P<0.05$）。**结论** 孕哺期La暴露导致子代大鼠海马神经细胞损伤、学习记忆能力降低，这可能与内质网应激PERK信号通路异常激活有关。

关键词： 镧；海马；内质网应激；PERK信号通路
基金项目： 国家自然科学基金（81773469）

通讯作者： 杨敬华，E-mail：jhyang@cmu.edu.cn

褪黑素通过肠道菌群对氟暴露子代大鼠记忆损伤的改善作用研究

杨晓倩，毛 杰，王 妍，阎小艳，赵 倩
（山西医科大学公共卫生学院）

摘要：目的 初步探讨褪黑素（melatonin，MEL）能否改善氟暴露引起的子代大鼠记忆损伤及肠道菌群在其中的作用。**材料和方法** 选用8周龄 Sprague-Dawley大鼠12只（雌：雄 = 2：1），随机分为对照组（control，c组）（6只）、氟组（fluoride，f组）（6只），c组和f组大鼠分别自由饮用普通纯净水和含100 mg/L氟化钠的纯净水，2个月后各组雌雄鼠以2：1合笼，子代大鼠出生当天（Postnatal day，PND）记为PND0。PND21断乳时，将f组子代大鼠分为F组、F+MEL组（FM组），并继续氟暴露；c组子代大鼠分为C组、MEL组。MEL于每晚19：00～20：00间以20 mg/kg灌胃给予，每组各6只。PND60，采用新事物识别实验观察子代大鼠记忆能力；采用16S rDNA测序技术检测粪便样本中菌群结构变化情况。**结果** 与C组相比，F组子代大鼠鉴别指数（discrimination index，DI）显著降低（$P<0.05$）；与F组相比，FM组子代大鼠DI指数显著增加（$P<0.05$）。肠道菌群物种分析结果显示：α多样性无统计学差异（$P>0.05$）；β多样性差异有统计学意义（$R^2=0.39$，$P<0.001$）。在门水平上，厚壁菌门相对丰度在F组明显升高，在FM组明显下降；拟杆菌门相对丰度在F组明显下降，在FM组明显增加（$P<0.05$）。属水平上，杜氏杆菌属、双歧杆菌属的相对丰度在F组显著降低，FM组显著增加；未分类木杆菌属、单球菌属的相对丰度在F组显著增加，FM组显著降低（$P<0.05$）。线性判别分析（linear discriminant analysis effect size，LEfSe）结果显示，C组优势菌属为候选单胞生糖菌、毛螺菌属、迷踪菌属、颤螺菌属和热酸菌属，F组优势菌属为未分类的木杆菌属、肠鼠杆菌和叶杆菌属，FM组的优势菌属为异根瘤菌-新根瘤菌-副根瘤菌-根瘤菌。**结论** MEL可改变氟暴露子代大鼠的肠道菌群结构，进而改善氟暴露所致子代大鼠的记忆损伤。

关键词： 氟；褪黑素；记忆损伤；肠道菌群

通讯作者： 赵 倩，E-mail：qianzhao2020@sxmu.edu.cn

锑通过铁自噬诱导神经元细胞铁死亡的机制研究

于莎莉，王 瑞，秦子玉，吴启运，张子阳，赵新元
（南通大学公共卫生学院环境卫生学教研室）

摘要：目的 解析铁自噬在锑诱导神经元铁死亡中的作用及机制。**方法** 建立小鼠锑体内暴露模型及PC12细胞体外暴露模型，结合铁死亡特异性抑制剂Fer-1干预模型，通过免疫荧光、免疫组化、荧光探针及免疫印迹等方法检测铁死亡相关指标及小鼠神经损伤与细胞毒性相关指标，明确神经元铁死亡在锑诱导的神经毒性中的作用。体内外检测铁蛋白的表达和降解速率，结合自噬抑制模型，明确锑对神经元铁自噬的影响。构建腺病毒载体，特异性在小鼠神经元上过表达FTH1蛋白，体内外干预自噬，在此基础上构建锑暴露模型，检测细胞和动物模型中海马区神经元铁离子浓度，铁死亡经典生化和分子指标，明确铁自噬在锑诱导神经元铁死亡中的关键作用。最后，通过基因干扰，鉴定锑暴露后介导铁蛋白降解的自噬受体。**结果** 锑暴露可诱导小鼠海马区神经元和PC12细胞发生铁死亡，抑制铁死亡有效降低锑的神经毒性。锑暴露促进铁蛋白降解，过表达铁蛋白及抑制自噬可显著抑制锑诱导的神经元铁死亡。抑制NCOA4有效抑制锑暴露介导的铁蛋白降解和铁死亡。**结论** 锑通过NCOA4依赖的方式激活铁自噬导致神经元细胞铁死亡。

关键词： 锑；铁自噬；铁蛋白降解；铁死亡；神经元细胞

通讯作者： 赵新元，E-mail：zhaoxinyuan@ntu.edu.cn

肠道菌群多样性改变介导的Notch信号通路激活在铅神经毒性中的作用研究

张建彬，苏　鹏，赵　芳，王迪雅，孙亚菲，芦嘉桥，沈学锋，骆文静
（空军军医大学预防医学系劳动与环境卫生学教研室，陕西 西安　710032）

摘要：目的　铅作为一种重要的工业毒物和环境污染物，严重影响机体的健康。铅暴露对神经系统的危害及产生的远期效应尤为突出。本研究试图从铅对神经干细胞的损伤角度着手，探究铅暴露诱导的肠道菌群改变与神经干细胞损伤的关系，阐明Notch信号通路在其中发挥的作用，为铅神经毒性的防护提供理论依据和有效的干预靶点。**材料和方法**　通过醋酸铅饮水的方式建立铅暴露模型，观察铅暴露对神经系统认知功能以及海马脑区神经干细胞的影响；通过Western blot检测用自噬相关通路以及Notch信号通路的改变，应用Notch抑制剂DAPT对Pb暴露小鼠进行干预，观察Notch信号通路与自噬发生的潜在关系；利用16S rRNA测序对铅暴露模型小鼠的粪便进行微生物结构分析，筛选差异较大的肠道菌群；通过肠道菌群移植的方式对铅暴露后的小鼠肠道菌群进行干预，观察肠道菌群移植后，神经干细胞Notch信号通路与自噬发生的改变。**结果**　铅暴露能够引起小鼠认知功能、空间学习记忆能力降低；铅暴露能通过激活Notch信号通路诱导神经干细胞自噬的发生，应用Notch通路抑制剂DAPT可以有效降低铅的神经系统毒性；铅暴露能引起肠道炎症反应、屏障损伤以及肠道菌群多样性改变。纠正肠道菌群改变，能够通过影响Notch信号通路降低铅对神经干细胞的损伤效应和神经毒性。**结论**　Pb暴露导致认知功能障碍的主要原因是神经干细胞损伤，这一过程部分依赖于Notch通路和肠道菌群失调。

关键词：肠道菌群；Notch通路；铅暴露；神经毒性

产前PFASs暴露对婴幼儿神经发育的影响及肠道菌群介导的机制研究

张李一，周钰涵，张蕴晖
（复旦大学公共卫生学院）

摘要：目的　评估产前全氟及多氟烷基化合物（PFASs）暴露与婴幼儿肠道菌群、肠道菌群成熟度及婴幼儿神经发育之间的关联。**材料与方法**　依托上海亲子队列，本研究纳入789对母儿，通过采集脐血样本，采用超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法，检测脐血血清中16种PFASs。通过《年龄与发育进程问卷-第三版》（ASQ-3）评估婴幼儿2、6、12及24月龄神经发育水平。在儿童出生后48小时内采集胎粪样本，并在儿童2、6、12、24月龄收集婴幼儿粪便样本，使用16s rRNA测序，基于OTU构建菌群alpha多样性指标（Shannon指数、Simpson指数、Chao 1指数和ACE指数），根据随机森林模型模拟婴幼儿年龄别菌群作为菌群成熟度指标。通过广义线性模型（GLM）评估PFASs暴露对婴幼儿神经发育的影响，采用线性混合效应模型及GLM评估PFASs暴露与婴幼儿肠道菌群alpha多样性和菌群成熟度的关联，通过多变量线性回归模型分析PFASs暴露与菌属的关联，利用GLM评估不同时期肠道菌群alpha多样性、暴露相关差异菌属相对丰度与婴幼儿神经发育水平的关联，使用Sobel检验进行中介分析。**结果**　脐血PFASs浓度与6月龄婴儿ASQ总分、沟通能区得分和粗大动作能区得分降低显著相关。线性混合效应模型结果显示，PFASs暴露与婴幼儿alpha多样性指标增加有关。胎粪菌群的Shannon、Simpson、Chao1、ACE均与6月龄婴儿ASQ总分、沟通能区得分及个人社会能区得分呈显著负相关。中介模型结果显示婴幼儿胎粪菌群Shannon、Simpson指数是短链PFAS暴露与6月龄婴儿沟通能区得分的中间变量，中介率分别为18.09%和19.39%。脐血短链PFASs暴露每增加一个ln单位，胎粪菌群成熟度增加0.161（95%CI：0.011，0.311），胎粪菌群成熟度与6月龄婴儿沟通能区得分的降低有显著关联（β=−1.344，95%CI：−2.371，−0.317）。在特征菌群分析中，传统长链PFASs暴露与胎粪无害梭状芽孢杆菌丰度升高相关，无害梭状芽孢杆菌的丰度与6月龄婴儿ASQ总分、沟通能区及个人社会能区得分的降低显著相关；短链PFAS暴露与胎粪丹毒梭菌丰度升高有关，丹毒梭菌相对丰度与6月龄婴儿沟通能区得分呈负相关。**结论**　产前PFASs暴露影响胎粪菌群

的定植及婴幼儿菌群发育，胎粪菌群alpha多样性可能介导了PFASs与较低的神经发育得分的关联，无害梭状芽孢杆菌和丹毒梭菌可能是PFASs神经毒性的特征菌属。

关键词：出生队列；PFASs；神经发育；肠道菌群

通讯作者：张蕴晖，E-mail：yhzhang@shmu.edu.cn

褪黑素通过MTR1受体调控BMAL1-SIRT1信号通路在鱼藤酮诱导的多巴胺神经元线粒体稳态失衡中的保护作用

张启夫，单耀辉，葛 维，刘浩银，程 晋，叶 枫，王晓刚，赵远鹏，但国蓉，陈明亮，赛 燕
（陆军军医大学军事预防医学系防化医学教研室）

摘要：目的 探讨MTR1受体调控的BMAL1-SIRT1信号通路在褪黑素改善鱼藤酮诱导的多巴胺神经元线粒体稳态失衡中的作用和机制。**材料和方法** 1. 60只6～8周龄雄性SPF级SD大鼠随机分为三组：对照组（CON）、鱼藤酮染毒组（ROT）和褪黑素预处理组（MLT+ROT），每组20只；动物染毒28天后，通过旷场实验、转棒试验检测大鼠行为学变化。大鼠麻醉处死，取纹状体组织，进行多巴胺神经元存活、多巴胺含量、ATP含量和线粒体DNA拷贝数检测，检测TH蛋白、线粒体动力学与自噬蛋白表达。血清用于褪黑素含量检测。取纹状体和下丘脑检测生物节律蛋白的表达。2. 构建PC12细胞染毒模型，设置对照组（CON）、鱼藤酮暴露组（ROT）、褪黑素预处理组（MLT+ROT）、褪黑素组（MLT），分别使用褪黑素受体MTR1的抑制剂lunzidole和siRNA敲低MTR1，siRNA敲低BMAL1，SIRT1抑制剂EX527检测对鱼藤酮诱导多巴胺神经元线粒体稳态失衡的影响。**结果** 动物实验显示：（1）与对照组相比，鱼藤酮暴露组大鼠运动能力和协调性显著下降；（2）纹状体组织存活多巴胺神经元数量及多巴胺含量显著减少，伴有ATP和mtDNA拷贝数降低。纹状体组织TH蛋白，OPA1/MFN2，DRP1，PGC-1α/TFAM，P62的蛋白和mRNA的表达水平降低，LC3B蛋白表达水平增加，差异均有统计学意义（$P<0.05$）；（3）血清褪黑素含量显著降低，下丘脑及纹状体组织生物节律蛋白BMAL1，p-BMAL1表达降低，ac-BMAL1蛋白表达升高。PC12细胞实验显示：（1）与对照组相比，鱼藤酮染毒24小时后，MTR1表达降低且具有浓度依赖性。（2）褪黑素预处理后，MTR1表达较鱼藤酮染毒组显著增加。（3）较褪黑素预处理组，luzindole和MTR1-siRNA干预后，细胞内ATP含量，线粒体膜电位MMP和mtDNA拷贝数显著降低；OPA1/MFN2，DRP1，PGC-1α/TFAM、P62蛋白及其mRNA水平显著降低，LC3B蛋白和mRNA水平升高；BMAL1，p-BMAL1表达显著降低，ac-BMAL1表达显著增加；MTR1表达降低，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。（4）与褪黑素预处理组比较，BMAL1敲低显著减少细胞内ATP含量，MMP，mtDNA拷贝数，OPA1/MFN2，DRP1，PGC-1α/TFAM、P62蛋白表达降低，LC3B蛋白表达增加。（5）与褪黑素预处理组相比，EX527干预PC12细胞后细胞内ATP、MMP和mtDNA拷贝数显著减少，PGC-1α/TFAM，OPA1/MFN2，P62，DRP1表达降低，LC3B表达增加，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。**结论** 褪黑素可能通过MTR1介导BMAL1-SIRT1信号通路对鱼藤酮诱导的多巴胺神经元线粒体稳态失衡具有保护作用，为鱼藤酮诱导的类PD病的防治提供了新的作用靶点和理论依据。

关键词：褪黑素；褪黑素受体；生物节律；鱼藤酮；线粒体

通讯作者：赛 燕，E-mail：Sai2000cn@163.com

T08-0001

新一代风险评估框架下的皮肤致敏预测毒理学工具发展

罗凌丽

摘要：根据我国新化妆品法规的具体要求，在2024年5月1日以后需要提交完整安全性评估报告，对于有数据缺口的物质或新原料的研发筛查，行业亟需替代毒理学工具帮助解决实际操作的问题。皮肤过敏以及可能引起的过敏性接触性皮炎（ACD）是化妆品成分和产品需要重点研究的主要不良效应之一，本文介绍了在毒理学数据缺口存在时，应用下一代风险评估（NGRA）来预测皮肤致敏性，无论是计算机毒性模拟数据、体外数据、化学数据或历史体内数据，都可以汇总入NGRA进行皮肤致敏评估，并且生成的任何新数据都有针对性地解决评估中的数据缺口问题和达成目标。

T08-0002

氟他胺在UV/O_3/PMS体系中的转化行为及风险评估：理论与实验研究

李晓帆[1]，王　宁[1]，吕国春[3]，张永磊[1]，陈彦奇[1]，刘晓钰[1]，孙孝敏[1]，祝凡平[2]
（1. 山东大学环境研究院，青岛　266237；2. 山东大学山东省水污染控制与资源再利用重点实验室，青岛　266237；3. 四川农业大学环境科学学院，成都　611130）

摘要：随着科学技术的进步，越来越多新兴微污染物在水生环境和污水处理厂中被检测到，它们由各种人类活动释放到水环境中，对水生生物乃至人类健康造成日益增长的不利影响，包括来自饮用水源的直接风险和水生环境的间接风险。药物具备水相检出率高和可生化性差的特点，成为关键的新兴污染物之一。目前，多组分协同氧化处理工艺（多种氧化剂与光源或催化剂联合氧化技术）已被证明对药物废水有广泛的应用前景，然而药物化合物在实际降解过程的转化机制尚不清楚，这对其环境风险评价至关重要。本研究联用计算化学和实验模拟手段，全面研究了UV/O_3/PMS（过一硫酸盐，HSO_5^-）方法去除水中氟他胺（FLU）的可行性，重点关注转化行为和风险评估。结果表明，UV/O3/PMS法对FLU的氧化性能优于单氧化和双氧化体系，40 min内FLU去除率达到83.7%。此外，与非自由基（O_3和$^1O_2$）氧化相比，自由基（·OH和SO_4^-·）氧化在FLU的引发反应路径表现出更优越的反应可行性。其中，·OH氧化反应通道主要为FLU的α和β-H转移，而SO_4^-·氧化路径则为酰胺取代基的邻位碳加成。在H_2O_2、H_2O、O_2和·OH的参与下，FLU经氢迁移、羟基化、去甲基化和分解反应形成11种转化产物。风险评估结果表明大多数转化产物对水生生物的急/慢性毒性逐渐降低，但其残留的发育毒性不容忽视。另外，FLU在天然水和高级氧化过程中的水环境持久性被进一步评估。这些发现有助于提高人们对新兴微污染物在水环境中转化行为的基本认识，并为基于·OH和SO_4^-·的高级氧化技术在水处理中的实际应用提供理论支持。

关键词：氟他胺；臭氧；过一硫酸盐；转化机制；风险评估

作者简介：孙孝敏，E-mail：sxmwch@sdu.edu.cn
通讯作者：祝凡平，E-mail：zhufanping@sdu.edu.cn

T08-0003

化妆品安全评估中安全性情报的进展和探讨

焦雅培，张　辉，王先浩，李晓彤，苏　蓓，韩婷婷，杨素珍
（山东福瑞达生物股份有限公司）

摘要：随着科学技术的发展和人民生活水平的提高，化妆品已进入普通家庭成为美化生活的必需品。

为了保障化妆品的安全性，国家药监局关于发布《化妆品安全评估技术导则（2021版）》的公告中明确表明，自2022年1月1日起，化妆品注册人、备案人申请特殊化妆品注册或者进行普通化妆品备案前必须依据《技术导则》的要求开展化妆品安全评估，提交产品的安全评估简化版的资料；自2024年5月1日后化妆品注册人、备案人依据《技术导则》的要求提交产品的安全评估完整版的资料。因此化妆品安全评估报告成为化妆品产品注册备案中必不可少的一部分。目前在简化版的完整版安全评估报告中，主要评估依据为《化妆品安全技术规范》、CIR/CFR/SCCS/JCIA等国内外权威机构评估结论、《已使用原料目录》中历史最高使用量、原料在本企业已上市（至少三年）的相同使用方法产品中的浓度（即：本企业的历史使用浓度）。但是也有部分成分并不满足上述四种评估依据，此时就需要其他权威机构或者毒理数据来进一步对原料成分进行评估。除此之外，在2024年5月1日后开始使用完整版的安全评估报告时，上述评估依据中涉及最高使用量的方法不能使用，这就大大限制了安全评估报告中的评估方法依据。因此寻找评估依据也是目前迫在眉睫的重要工作之一，本综述从权威机构的评估结论、毒理学相关数据两个方面收集了目前化妆品安全评估的安全情报，主要包括矿油、矿脂、月桂酸牛磺酸钠、紫芝提取物、紫苏提取物等11种成分，为我国化妆品安全评价的深入研究提供了有价值的参考资料。

关键词： 化妆品安全性评价；权威机构评估结论；毒理学数据

通讯作者： 焦雅培，E-mail：1372698210@qq.com；张 辉，E-mail：93901586@qq.com

T08-0004

JHY体外哺乳类动物细胞染色体畸变试验

余璐云，陈 倩，潘经媛，李继洪
（重庆美莱德生物医药有限公司药物安全评价研究中心）

摘要：目的 研究JHY是否对体外哺乳类动物细胞染色体产生致突变性，为JHY的使用安全提供评价。**材料和方法** 本试验细胞株采用中国仓鼠肺细胞（CHL），受试物组设5 μL/mL、2.5 μL/mL和1.25 μL/mL 3个剂量组，各组均包括加和不加代谢活化系统（S9 mix）混合液，另设阴性对照组无血清的培养液和不加S9 mix的阳性对照组甲磺酸乙酯（EMS）10 μL/mL，加S9 mix时阳性对照组用环磷酰胺（CP）15 μg/mL。将各组剂量对细胞进行染毒6 h后清洗细胞，再培养至24 h，收获细胞前4 h用秋水仙素进行阻断细胞周期，培养结束后收集细胞并制片染色，各剂量组观察100个分散良好的中期分裂相，各组的染色体畸变率用c2检验进行统计学处理。**结果** 受试物在加和不加S9 mix的条件下各剂量均无肉眼可见沉淀，且对细胞无毒性作用。在不加S9 mix的条件下受试物组5 μL/mL、2.5 μL/mL和1.25 μL/mL分别与阴性对照组相比，无显著性差异（P>0.05）；阳性对照组细胞发生畸变率显著高于阴性对照组（P<0.01）。在加S9 mix的条件下，受试物组5 μL/mL、2.5 μL/mL和1.25 μL/mL分别与阴性对照组相比，无显著性差异（P>0.05）；阳性对照组细胞发生畸变率显著高于阴性对照组（P<0.01）。**结论** 在本试验条件下，该JHY对体外哺乳类细胞染色体无致突变作用。

关键词： 细胞；染色体；突变

通讯作者： 李继洪，E-mail：Lijihong@medLeader.com.cn

T08-0005

Application of Defined Approaches (DA) in China New Chemical Registration

Bin Zhu[1], Robert Hoke[2], Joseph Tobin[2], John O′Connor[2]

(1. DuPont China Holding Company Ltd., Shanghai, China; 2. DuPont de Nemours, Inc., Wilmington, DE, USA)

Abstract: China´s new chemical management regulation, MEE Order No. 12, requires a holistic health and environmental risk assessment on all new chemical substances in the Chinese market based on substance volume and hazard. A tiered data requirement on specific human health and environmental (fate and ecotoxicity) endpoints has been mandated for hazard identification in the guidance of the new chemical substance registration. Historically, the registration of a new chemical substance in China relies heavily on data generated from in vivo studies. Notably, according to the new guidance, in vitro data can now be used for skin irritation, eye irritation and skin sensitization endpoints, provided a clear conclusion can be drawn for hazard identification i.e. unambiguous UN GHS classification. While many in vitro methods have been used for chemical registration across the globe, their use in China is limited. Among others, one barrier is how data generated from an in vitro testing battery can be integrated and interpreted to address regulatory requirements. The defined approaches (DA), consisting of a fixed data interpretation procedure (DIP) used to interpret data generated with a defined set of information sources, can be practically applied to fulfill requirements under new chemical registration. The OECD guideline on DA for skin sensitisation (GL 497) published in 2021 provides the first example of using a set of in silico, in chemico and in vitro data to address hazard identification (sensitizer/non-sensitizer) and potency categories (Cat. 1A/1B). More recently, the OECD guideline on DA for serious eye damage and eye irritation (GL 467) describes approaches to identify eye irritation hazard, specifically for non-surfactant chemicals. The merit of GL 467 is its ability to predict the middle the middle category (GHS Cat. 2), thus providing a complete hazard identification for regulatory purpose (note that the subcategory of eye irritation Cat. 2 is optional under GHS). As a part of Integrated Approach for Testing and Assessment (IATA) framework, one key feature of DA is using standardized procedures to generate & interpret data, thus facilitating mutual acceptance of data (MAD) and acceptance by regulators. Although limitations exist (i.e., on individual information sources or DA per se), these examples promise useful application of DA in the regulatory decision-making process under new chemical registration in China.

Key words: defined approach; *in vitro* data; new chemical registration

T08-0006

海藻糖对毒死蜱导致小鼠自闭与抑郁样行为的保护作用

涂　英，杨咏咏，游明丹

（贵州医科大学公共卫生与健康学院，贵阳　550025）

摘要：目的　观察海藻糖（Trehalose，Tre）对神经发育期毒死蜱（Chlorpyrifos，CPF）暴露导致的小鼠自闭与抑郁样行为的影响，并探讨可能的机制。**材料和方法**　将交配成功的母鼠随机分为Ctrl组、1 mg/kg

CPF组、1 mg/kg CPF+2 g/kg Tre组、2 g/kg Tre组。Ctrl组灌胃给予纯玉米油；1 mg/kg CPF组和1 mg/kg CPF+2 g/kg Tre组在孕哺期灌胃给予CPF；1 mg/kg CPF+2 g/kg Tre组和2 g/kg Tre组在雄性仔鼠出生后第14天开始腹腔注射Tre至出生后第42天，每周三次。分别于出生后第24、28、32、36、40和41天分别进行雄性仔鼠理毛、T迷宫、埋珠、三箱、强迫游泳和悬尾实验。出生后第43天剥离海马组织。运用Western Blot方法检测雄性仔鼠海马组织中TLR4、MLKL蛋白和自噬相关蛋白LC3Ⅱ/Ⅰ、P62的表达。**结果** 在理毛实验和T迷宫实验中，CPF组仔鼠理毛的时间及重复进入同一臂的次数多于对照组（$P<0.05$），而Tre + CPF组仔鼠理毛时间及重复进入同一臂的次数少于CPF组（$P<0.05$）。在埋珠实验中，CPF组仔鼠埋珠的数量多于对照组（$P<0.05$），而与CPF组相比，Tre处理减少了仔鼠埋珠的数量（$P<0.05$）。在三箱实验第二阶段（适应阶段），各组仔鼠在两个侧室的停留时间无变化（$P>0.05$）；在第三阶段（社交行为实验），与对照组相比，CPF减少仔鼠在陌生小鼠1（Stranger1，S1）室停留时间，增加仔鼠在空笼子（Empty，E）室的停留时间（$P<0.05$），而与CPF组相比，Tre处理增加了仔鼠在S1室的停留时间，减少仔鼠在E室的停留时间（$P>0.05$）；在第四阶段（社会新奇偏好测试），CPF组的仔鼠在S1室的停留时间多于陌生小鼠2（Stranger2，S2）室（$P<0.05$），CPF + Tre组仔鼠在S1室的停留时间少于S2室但差异无统计学意义（$P>0.05$），另外，与对照组相比，CPF暴露减少了仔鼠在S2室停留的时间，而与CPF组相比，Tre处理增加了仔鼠在S2室停留的时间。强迫游泳与悬尾实验发现CPF增加了小鼠的不动时间，而Tre减少了小鼠的不动时间（$P<0.05$）。Western Blot实验结果显示，与对照组相比，CPF组海马TLR4、MLKL、P62蛋白表达升高（$P<0.05$），而与CPF组相比，Tre处理降低了海马TLR4、MLKL、P62蛋白表达（$P<0.05$），另外，CPF+Tre组LC3II/I相对表达量与CPF组相比增加（$P>0.05$）。**结论** Tre可改善神经发育期CPF暴露导致的小鼠自闭和抑郁样行为，其机制可能与抑制TLR4激活，减少坏死性凋亡，促进自噬降解有关。

关键词：毒死蜱；海藻糖；自闭样行为；抑郁样行为；TLR4；MLKL；自噬

基金项目：中国自然科学基金（82260630）；贵州省自然科学基金（ZK[2022]396）；贵州省教育厅青年科技人才成长项目（KY[2022]217）

通讯作者：游明丹，E-mail：mdyou_gzmu@outlook.com

T08-0007

上海市女性消费人群常用驻留类化妆品暴露量调查

陈 田[1,2]，汤 杨[1,2]，佘媛媛[1,2]，李 竹[1,2]，崔文广[1,2]，孙广文[1,2]，陈 健[1,2]，周利红[1,2]

（1. 上海市疾病预防控制中心公共服务与健康安全评价所，上海 200336；2. 国家药品监督管理局化妆品监测评价重点实验室，上海 200336）

摘要：目的 调查上海市女性消费人群对常用驻留类化妆品的使用情况和使用习惯，为化妆品安全评估工作提供关键暴露参数。**方法** 本研究为横断面研究。2021年8月至12月期间抽取上海市女性化妆品消费者进行问卷调查，记录14天调查期内护肤水、精华液、护肤乳、面霜、眼霜、防晒霜等六类产品的使用情况，并使用差量法计重。**结果** 本研究共纳入309例有效样本量。每款产品平均每日和每次使用量第90百分位数（P90）分别是：护肤水2.47g和1.61g、精华液0.84g和0.69g、乳液1.62g和1.03g、面霜0.89g和0.80g、眼霜0.23g和0.21g、防晒霜0.68g和0.97g，总体低于国外人群。此外，年龄<45岁者防晒霜平均每次使用量更高；不同肤质、敏感性皮肤与否对选定化妆品的使用量没有影响。**结论** 本土人群的化妆品暴露参数与国外人群不同，为保证化妆品安全评估的准确性，建议参考本土人群的暴露数据。

关键词：化妆品安全评估；每日暴露量；驻留类；女性消费者；上海

通讯作者：周利红，E-mail：zhoulihong@scdc.sh.cn

Investigation on exposure to commonly used leave-on cosmetics among female consumers in Shanghai

CHEN Tian, TANG Yang, SHE Yuanyuan, LI Zhu, CUI Wenguang, SUN Guangwen, CHEN Jian,ZHOU Li-hong

(Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract: OBJECTIVE To investigate the actual use of skin care products commonly used by female consumers in Shanghai, and provide key exposure parameters for the safety assessment of cosmetics in China. **METHODS** From August to December 2021, female cosmetic consumers in Shanghai were selected to conduct a questionnaire survey, and then the usage of 6 types of products including skin lotion, essence, skin lotion, face cream, eye cream, and sunscreen during the 14-day survey period was recorded, and the total use of different products was obtained by differential weighing. **RESULTS** A total of 309 samples were included in this study. The 90th percentile (P90) of the mean amount applied per day and per application of each product were 2.47g and 1.61g for skin lotion, 0.84g and 0.69g for serum, 1.62g and 1.03g for lotion, 0.89g and 0.80g for cream, 0.23g and 0.21g for eye cream, 0.68g and 0.97g for sunscreen, which were generally lower than data from European, American and Japanese populations. In addition, the average amount of sunscreen used per time was higher in those aged <45 years; different skin types, sensitive skin or not had no effect on the amount of these skin care products. **CONCLUSION** The exposure to skin care products of the local population is different from the data from the foreign population. It is recommended to use these data of the local population to carry out cosmetic safety assessment to improve the accuracy.

Key words: Cosmetic safety assessment; Daily exposure; Leave-on; Female consumers; Shanghai

Corresponding Author: ZHOU Li-hong, E-mail: zhoulihong@scdc.sh.cn

T08-0008

稻蟹共养模式下苯醚甲环唑田间消散及对中华绒螯蟹安全性研究

于丽娜

（生态环境部固体废物与化学品管理技术中心，北京　100029）

摘要：本论文以苯醚甲环唑为对象，结合稻蟹共养田实际半衰期和对稻田养殖的中华绒螯蟹毒性数据，开展在稻蟹共养水生生态系统的农药风险评估。

在辽宁盘锦稻蟹共养田苯醚甲环唑施药计量为每小区（50 m^2）施药量为45 g a.i./ha，消解动态结果表明，稻田水中（pH=6.3±0.1）苯醚甲环唑最高检出量出现在施药当天，最高检出浓度分别为0.003 mg/L。苯醚甲环唑在稻蟹共养田水中检出量低于稻田土壤中的检出量，在稻田水中半衰期3.4天。

急性毒性研究结果表明，中华绒螯蟹暴露于100 mg/L苯醚甲环唑96小时，未出现死亡或中毒症状，对中华绒螯蟹急性毒性为低毒。中华绒螯蟹分别暴露于0.05 mg/L和0.5 mg/L苯醚甲环唑药液中28天，结果发现，在剂量处理下，苯醚甲环唑未造成中华绒螯蟹死亡，对供试蟹体重增长率也无显著性影响。苯醚甲环唑在中华绒螯蟹不同组织的生物富集结果表明，在不同组织富集性存在差异，表现出鳃中富集最高，BCF值接近11，属于中等富集性；而可食用组织肝胰腺和肌肉中富集量相对较低，均属于低富集性，但被人们喜欢食用的肝胰腺中富集的苯醚甲环唑高于肌肉组织。

以稻蟹共养田间的苯醚甲环唑消解动态实测数据替代模型默认的保守数据，利用TOP-RICE模型在稻

蟹共养水生生态系统里高级的风险进行评估，结果表面苯醚甲环唑RQ小于1，在稻蟹共养田的风险均可接受，表明施用该药对防治水稻病害的风险可接受。说明苯醚甲环唑在稻蟹共养田合理使用，对养殖的中华绒螯蟹安全，不会造成严重危害。

关键词： 苯醚甲环唑；稻蟹共养；中华绒螯蟹；水生生态系统风险评估；TOP-RICE模型

T08-0021

MEK1/ERK信号通路在溴氰菊酯致神经元线粒体凋亡的机制研究

韦乐幸，陈 阳，吴敏嘉，马佩璇，黄晓薇
（广西医科大学公共卫生学院毒理学系，广西环境与健康研究重点实验室，广西高校高发疾病预防与控制研究重点实验室，广西壮族自治区 南宁 530021）

摘要：目的 探讨丝裂原活化蛋白激酶激酶1/细胞外调节蛋白激酶（MEK1/ERK）信号通路在溴氰菊酯（Deltamethrin）致神经元线粒体凋亡的作用机制。 **材料和方法** MTT法确定溴氰菊酯对HT22细胞毒性的时间-效应和剂量-效应关系。采用0，2，10，50 μmol 溴氰菊酯处理小鼠海马神经元HT22细胞48 h，通过流式细胞术检测细胞凋亡水平，荧光染色成像检测细胞核及线粒体形态、线粒体膜电位，Western Blot检测线粒体凋亡相关蛋白表达的变化。利用RNA-seq测序对关键分子通路进行筛选，实时荧光定量PCR和Western Blot方法验证通路关键蛋白其神经元线粒体凋亡的调控作用。**结果** 与正常对照组相比，溴氰菊酯10，50 μmol染毒组早期凋亡率、晚期凋亡和总凋亡率均显著升高（$P<0.05$），2 μmol染毒组无显著变化（$P>0.05$）；10，50 μmol染毒组线粒体膜电位降低，线粒体逸散、断裂，细胞核萎缩，呈现剂量-反应关系（$P<0.05$）；线粒体凋亡相关蛋白Bax，Cyt-C，Caspase-3及剪切性型表达均上升，Bcl-2表达下降（$P<0.05$）。RNA-seq检测发现DM 50 μmol组MEK1/ERK信号通路富集表达与对照组相比有显著差异，DM 50 μmol组MEK1相关基因和蛋白表达显著上调（$P<0.05$）；ERK基因表达不变（$P>0.05$），蛋白表达升高（$P<0.05$）。将MEK1敲降后DM染毒致神经元线粒体凋亡现象显著缓解，凋亡率下降，线粒体膜电位下降得到缓解，线粒体凋亡相关蛋白Bax，Cyt-C，Caspase-3表达回落（$P<0.05$）。**结论** DM可导致神经元线粒体凋亡，该作用与MEK1的异常激活而非ERK有关。

关键词： 溴氰菊酯；线粒体凋亡；MEK1/ERK信号通路；神经毒性
基金项目： 国家自然科学基金（21966010）
通讯作者： 黄晓薇，E-mail：xwhuang82@ 163.com

T08-0023

不同类别非持久性有机化学品的暴露评估是否尽然相同？——从尿液浓度变异度和可预测性的角度探究

高天睿，黄以超
（安徽医科大学公共卫生学院，合肥 230032）

摘要：目的 本研究采用高通量靶向定量分析人群内暴露非持久性有机化学品水平随时间的变化情况，阐明在各类非持久性有机化学品暴露的研究设计时，不同时点尿液中各类有机化学品的变异度和可预测性，最终提供各类非持久性有机化学品暴露评估参考依据。**材料和方法** 本研究使用高效液相色谱-串联质谱法检测了连续三天来自11名参与者（5名女性和六名男性）的158个连续现场样本中59种最常见的非持久性化学物质（6种对羟基苯甲酸酯，14种双酚，1种三氯生，7种二苯甲酮，2种二氯酚，13种邻苯二甲酸酯代谢物和16种抗氧化剂）的尿浓度，其中33个样本为晨尿样品。参与者是22至27岁之间的大学生，在3天

试验期间，记录参与者饮食模式，参与者每天排尿4～5次。尿液中各物质浓度采用尿比重仪调整后经过对数转换的浓度，使用多级随机效应模型计算各分组变异与总变异的比率。采用线性回归模型来确定参与者尿液中的定点样本和24小时尿液收集的浓度与几个预测因素之间的关联。**结果** 我们在所有尿液样本中发现49种化学物质的检出率超过70%。主成分分析显示人与人之间的差异大于个体内部的差异。用于评估目标化学物重复性的组内相关系数（ICC）表明，无论采用何种采样方法，二氯酚类、大多数对羟基苯甲酸酯类、二苯甲酮类和三氯生均表现出中等至较高的重现性（0.445<ICC<0.969），对24 h采集的FMVs具有较高的预测能力。此外，大多数邻苯二甲酸盐、双酚和抗氧化剂显示出较低的ICC值。研究表明，FMV样本可能足以评估人类对羟基苯甲酸酯、二苯甲酮、三氯生和二氯酚的暴露情况，而多次连续收集尿液可能有利于评估大多数邻苯二甲酸酯、双酚和抗氧化剂的暴露情况。**结论** 综上所述，在研究设计中，考虑到采样类型、采集时间和人口统计特征，使用晨尿而不是24小时或现场尿液样品时需要更加谨慎。本研究为人类暴露风险的评估和实际暴露的流行病学研究提供了重要的理解，也为广泛的化学品暴露研究提供了参考依据。

关键词：暴露评估；变异度；预测性；非持久性有机化合物；邻苯二甲酸酯类；双酚类

通讯作者：黄以超，E-mail：yichao.huang@ahmu.edu.cn

广州市人群化妆品消费量调查

邓俊锋[1]，吴　震[2]，刘天扬[1]，廖伟作[1]，尹欣欣[1]，卢晓丹[1]，杨杏芬[1]，何志妮[1]

（1. 南方医科大学公共卫生学院，国家药品监督管理局化妆品安全评价重点实验室，广东 广州　510515；
2. 广东省药品检验所，广东 广州　510663）

摘要：目的 调查广州市人群化妆品消费情况，并与国外人群化妆品消费量数据对比，为我国化妆品暴露评估提供工具和科学基础。 **方法** 设计并派发电子问卷，收集化妆品的消费频率及消费量信息，采用消费率（%）、消费频次（次/周）、单位面积消费量（mg/cm2）及每周消费量（g）描述结果。于某高校间隔一周开展两次消费量调查并记录调查期间受访者的化妆品实际消费情况以评价问卷的信效度。于广州市越秀、海珠、天河及白云四区开展正式调查，采用卡方检验及Mann-Whitney U检验比较不同性别组间消费率、消费频次及消费量的差异；并对比广州市人群与国外人群化妆品消费情况。 **结果** 1、本研究共招募79名志愿者进行问卷信效度评价。分析结果显示两次重复调查结果没有统计学差异；问卷调查结果与化妆品实际消费情况具有相关性。2、正式调查共纳入2013份有效问卷，受访对象集中在20~40岁；男性726名（36.1%）；女性1287名（63.9%）。护手霜等护肤品及粉底液等彩妆用品在女性中的消费率显著高于男性；而牙膏等个人护理品的消费率在男性和女性间则无显著差异。每周消费频次最高的前三种化妆品为洗手液（P50=14.00次/周）、牙膏（P50=14.00次/周）、香皂（P50=7.00次/周）；单位面积消费量最高的前三种化妆品为牙膏（P50=22.64 mg/cm^2）、眼部精华（P50=20.18 mg/cm^2）、眼霜（P50=12.50 mg/cm^2）；每周消费量最高的前三种化妆品为洗手液（P50=30.94 g）、沐浴露（P50=16.24 g）、牙膏（P50=15.12 g）。3、广州市人群有13种化妆品（女性11种、男性2种）的消费频次显著高于法国人群，有31种化妆品（女性23种、男性8种）的消费频次显著低于法国人群；而广州市成年人洗发水、沐浴露、洁面乳及面霜每日消费量均显著低于欧洲、南美洲及非洲成年人。 **结论** 本问卷所获得的化妆品消费量信息稳定可靠，能准确描述受访者的化妆品消费情况，为开展中国人群化妆品消费量调查提供了工具。在广州市开展了大规模的化妆品消费量调查，发现女性化妆品消费量整体高于男性。对比广州人群与国外人群化妆品消费量数据，发现广州人群化妆品消费情况有别于其他国家，提示了开展本土化妆品消费量调查十分必要。

关键词：化妆品；消费量；调查问卷

基金项目：广东省药品监督管理局科技创新项目（2022YDZ11）；广东省药监局重点实验室项目（2022ZDZ09）

通讯作者：何志妮，E-mail：13533783297@163.com

6-Benzylaminopurine causes lipid dyshomeostasis via disruption

龚桂圯

Abstract: 6-Benzylaminopurine (6-BA) is ubiquitous in agricultural production and is accessible to humans through diets. The modulation of lipid metabolism by 6-BA has been previously demonstrated in plants and oleaginous microorganisms. Therefore, whether it alters lipid homeostasis in other living organisms requires further investigation. In this study, doses ⩾ 10 mg 6-BA/L caused malformation of the yolk sac, steatosis, and other hepatopathies in zebrafish larvae. Exposure to 25 mg 6-BA/L resulted in increased levels of triglyceride and total cholesterol. Results of transcriptomic analysis indicated that 6-BA alters genes associated with fatty acid and glycerophospholipid metabolism. Among them, the expression levels of hmgcra, elovl7b, and apobb.2 were downregulated, whereas those of lpcat3, bco1l, cyp7al, fabp1b.1, elp6, pde6ha, apoa4b.2_2, sgk1, dgkaa, and mogat2 were upregulated. Correspondingly, a study of the metabolome identified lysophosphatidylcholine (LPC) as the major differentially expressed metabolite in response to 6-BA treatment. Therefore, abnormal accumulation of LPCs and dyshomeostasis of glycerophospholipid metabolism were identified as potential mechanisms causing the toxicity of 6-BA, which should be assessed to understand the risks of 6-BA and the products contaminated by it.

个人护理产品整体混合物对青海弧菌Q67产生时间依赖性激效

顾中玮[1]，刘树深[1,2]

（1. 同济大学环境科学与工程学院，长江水环境教育部重点实验室，上海 200092；2. 同济大学环境科学与工程学院，污染控制与资源化国家重点实验室，上海 200092）

摘要：引言 商用PCPs是指在市场上销售的配方产品，如典型的商用护肤品。本研究选择5个不同暴露时间，选取4类30种个人护肤产品对青海弧菌Q67进行发光抑制毒性测试。本研究的目的是：（1）通过时间依赖微板毒性法（t-MTA）测试30种PCPs在不同暴露时间对Q67的Hormesis；（2）总结含有Hormesis剂量-效应信息的变化规律。**材料与方法** 30种PCPs包括13种精华水、5种柔肤水、10种爽肤水和2种卸妆水。本研究采用相对浓度法，将每个产品原液相对浓度设为1和储备液浓度为不同稀释倍数（dilution multiple，dm）的1/dm或dm^{-1}相结合来表示。所有溶液均用Milli-Q水配制，现配现用。采用时间依赖微板毒性分析法（t-MTA）测试 PCPs对青海弧菌Q67的发光抑制毒性。**结果** 结果表明，随着暴露时间的增加，产生Hormesis的PCPs数量逐渐增加。此外，有三种CRC类型的变化规律：（a）13种PCPs的CRCs从单调的S型曲线变为非单调的J型曲线；（b）6种PCPs的CRCs一直呈现S型曲线；（c）11种PCPs一直呈现J型CRCs。此外，产品随着暴露时间增加而Hormesis增强，并且大部分产品在12h的Hormesis最大。**结论** 结果表明，有13种PCPs的CRC从单调的S形曲线变为非单调的J形曲线，有6种PCPs的CRC一直呈现S形曲线，有9种PCPs一直呈现J形CRCs。

关键词： Hormesis；个人护理产品；整体混合物；时间依赖性

通讯作者： 刘树深，E-mail：ssliuhl@263.net

基于表观遗传学农药毒性机制的研究进展

郭文丽，段慢慢，赵文甜，徐　昊，杨　慧，叶德兴，王成菊
（中国农业大学理学院，北京　100091）

摘要：随着化学农业快速发展，农药使用量持续增加，农药对环境生物的毒性问题也日益引起关注。农药可导致生物群体出现癌症、生殖和发育异常、神经系统和免疫系统功能受损等毒性效应。近年来研究表明，表观遗传修饰能够调节与生物毒性效应相关的基因表达。表观遗传学是研究基因表达调控的一门学科，研究的是不改变DNA序列而通过某些机制引起可遗传基因表达调控。表观遗传修饰主要分为DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA和染色质重塑等，它们可以调节基因表达，在个体发育、细胞分化、衰老等方面发挥重要作用。环境因素（如营养状况、生活方式、环境污染和药物暴露等）可诱导表观遗传修饰，并通过调控基因表达导致细胞增殖、凋亡、分化和转移等异常变化，最终对生物体产生不良效应。已有研究证实农药可影响生物表观遗传，如阿特拉津、草甘膦、狄氏剂、百草枯等，这些农药会通过影响DNA甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA等表观遗传此时方式导致生物神经毒性和发育毒性，并可能通过亲代的精子对后代产生跨代遗传毒性效应，导致后代出现生殖、神经和免疫系统等异常。由于生物长期暴露在农药中，可能会造成由表观遗传变化引起未知机制的毒性效应，因此基于表观遗传修饰研究农药毒性机制不仅可以揭示分子水平上的农药毒性机制和生物对农药毒性的应对机制，并且还可以作为潜在的生物标志物评估农药对生物产生的剂量暴露水平及其毒性影响。本文综述了表观遗传学在农药毒性机制研究中的进展，重点讨论了DNA甲基化在农药毒性机制研究中的作用，并探讨了DNA甲基化与组蛋白修饰和非编码RNA之间的协同作用，为进一步探究农药毒性机制提供重要参考。在未来的研究中，可以通过建立表观遗传毒性评估指标和方法、优化检测技术和工具、开展生态系统和人体健康风险评估等措施，来全面评估和预测农药的表观遗传毒性。

关键词：表观遗传学；农药；毒性机制；DNA甲基化

通讯作者：王成菊，E-mail：wangchengju@cau.edu.cn

矮壮素致大鼠肝脂肪变性作用

康陈萍，肖倩倩，王晓霞，郝卫东
（北京大学公共卫生学院毒理学系，食品安全毒理学研究与评价北京市重点实验室，北京　100191）

摘要：目的　探究植物生长调节剂矮壮素围青春期暴露对大鼠肝脏脂肪变性的影响，为其风险评估和安全使用提供依据。**方法**　选取健康离乳SD大鼠，于出生后21天至60天进行矮壮素经口染毒，剂量为0、20、75和200 mg/kg bw。染毒结束后动物麻醉处死，检测大鼠血糖及血脂等的变化水平，通过肝组织甘油三酯水平检测及油红O染色评价肝脏中脂质积累情况。**结果**　200 mg/kg矮壮素围青春期暴露可引起大鼠体重增重降低。75及200 mg/kg矮壮素染毒组大鼠血清中谷丙转氨酶水平明显升高（$P<0.01$），同时200 mg/kg矮壮素染毒组大鼠血清中碱性磷酸酶水平明显升高（$P<0.01$），提示矮壮素围青春期暴露可引起大鼠肝脏损伤。生化检测及油红O染色结果显示，75 mg/kg矮壮素染毒可引起大鼠血清及肝组织中甘油三酯水平明显升高（$P<0.01$），而200 mg/kg矮壮素染毒组大鼠肝组织中甘油三酯水平较对照组明显降低（$P<0.01$），提示矮壮素可引起大鼠肝脏脂质代谢紊乱。HE染色结果显示75及200 mg/kg矮壮素均可诱导大鼠肝脏局灶性坏死伴炎性浸润，其中75 mg/kg矮壮素染毒组大鼠肝脏出现明显空泡变性或气球样变。**结论**　矮壮素围青春期暴露具有一定的肝脏毒性效应，可诱导大鼠肝脏脂肪变性并伴有一定的炎症反应。

关键词：矮壮素；肝脂肪变性；脂质代谢

作者简介：康陈萍，E-mail：kcp0185@pku.edu.cn
通讯作者：郝卫东，E-mail：whao@bjmu.edu.cn

肠道菌群在孕期农药暴露与妊娠期贫血关联中的作用

刘赵枫，于姝敏，邓思婷，管权权，夏彦恺
（南京医科大学公共卫生学院，南京 211166）

摘要：目的 妊娠期贫血（Gestational Anemia，GA）是孕晚期最常见的妊娠期并发症之一，是影响全球的重要公共卫生问题。研究表明环境化学物暴露是GA的重要影响因素，且GA的发生与肠道菌群密切相关。本研究分析孕期农药暴露、肠道菌群及GA三者之间的关联，探讨孕期农药暴露是否通过改变肠道菌群从而影响GA的发生，为GA的防治提供流行病学依据。**材料和方法** 收集孕中期孕妇的血清样本，基于气相色谱串联质谱平台（Gas Chromatography-Mass Spectrometry，GC-MS）检测孕妇血清35种农药暴露水平。检测孕妇孕晚期红细胞和血红蛋白水平，并进行孕晚期贫血发病诊断。采用广义线性回归模型（Generalized Linear Model，GLM）分析孕期单一农药暴露与孕晚期红细胞和血红蛋白水平、贫血发病风险的关联。采用16S r RNA基因测序技术检测孕晚期孕妇肠道菌群并运用线性判别效应（Linear discriminant analysis Effect Size，LEfSe）识别差异菌属；使用中介效应模型探讨肠道菌群在孕期农药暴露与妊娠期贫血关联中的中介作用。**结果** 孕妇血清中35种农药的平均浓度范围为0.04～2.44 ng/mL，其中21种农药的检出率超95%。使用GLM模型分析发现，孕期beta-HCH和Phosphamidon暴露水平与红细胞水平降低有关（β=−0.04，95%CI：−0.06，−0.01；β=−0.03，95%CI：−0.06，−0.003）；35种农药单一暴露均未发现与血红蛋白水平有统计学关联；孕期Dimethipin暴露水平与贫血发病风险增加有关（OR=1.40；95%CI：1.02，1.92）。孕期肠道菌群组成在贫血组与非贫血组间存在差异，Blautia和Rothia菌属在贫血组中丰度降低，Christensenellaceae丰度增加并且孕期农药暴露与孕期肠道菌群丰度存在关联。使用中介效应进一步分析显示，肠道菌群可在农药暴露致妊娠期贫血过程中起中介作用，其中Blautia在Pentachloroaniline致贫血发病风险增加的过程中起正向介导作用（NIE=1.3E−02，95%CI：4.9E−04，3.0E−02）；Rothia在Dimethipin致贫血发病风险增加的过程中起负向介导作用（NIE=−1.9E−02，95%CI：−4.4E−02，−6.2E−04）；Ruminococcaceae在Diphenamid致孕晚期红细胞水平降低的过程中起正向介导作用（NIE=3.0E−03，95%CI：1.4E−04，7.3E−03）。**结论** 孕妇存在多种农药暴露。孕期农药beta-HCH、Phosphamidon和Dimethipin与红细胞水平降低以及妊娠期贫血发病风险增加有关。孕期农药暴露是妊娠期贫血的环境危险因素。孕期肠道菌群丰度与农药暴露水平及妊娠期贫血相关。特定肠道菌属介导了农药Pentachloroaniline、Diphenamid和Dimethipin降低红细胞和血红蛋白水平致妊娠期贫血的过程，可能是孕期农药暴露致妊娠期贫血的中间环节。

关键词： 妊娠期贫血；农药；肠道菌群；孕期暴露；GC-MS

通讯作者： 夏彦恺，E-mail：yankaixia@njmu.edu.cn

枸杞多糖对2,4-二氯苯乙酸暴露所致大鼠肾损伤的保护作用

马 钰，罗晓琪，王晓岚，王恒泉，杨惠芳，周 健
（宁夏医科大学公共卫生与管理学院职业卫生与环境卫生系；宁夏环境因素与慢性病控制重点实验室）

摘要：目的 探讨2,4-二氯苯乙酸（2,4-D）染毒对初断乳雄性大鼠肾组织的损伤机制及枸杞多糖（LBP）的保护作用。**材料** 2,4-D标准品（纯度为99%），LBP（纯度为80%）。TUNEL荧光法检测试剂盒，谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）检测试剂盒，丙二醛（malonaldehyde，MDA）检测试剂盒，超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）检测试剂盒。**方法** 24只SPF级初断乳雄性SD大鼠，随机分为4组，即对照组（Control，去离子水）、2,4-D组（75mg/kg 2,4-D）、LBP组（50mg/kg LBP）、2,4-D+LBP组（75mg/kg 2,4-D+50mg/kg LBP），每组6只。每天经口灌胃1次，连续染毒28 d。每隔2d测量体重1次，染毒结束后取肾脏称重并计算脏器系数；采用HE染色法观察各组大鼠肾脏的病理学变化；使用TUNEL荧光

染色法检测肾脏细胞凋亡情况。**结果** (1) 各组大鼠体重稳定增长,各组大鼠体重变化差异无统计学意义(P>0.05);2,4-D组大鼠肾脏器系数与对照组比较无明显差别,即差异无统计学意义(P>0.05)。(2)与对照组比较,2,4-D组肾脏组织细胞呈现病理改变,组织内可见红细胞,弥漫性细胞增生,基膜变厚,肾小球细胞胞质染色加深,胞核呈不规则形态,近曲小管上皮细胞变性,管壁增厚,胞质边界不清,游离面刷状缘结构消失,管腔内出现红细胞;对比2,4-D组,2,4-D+LBP组,组织细胞排列相对整齐,肾小球结构完整,近曲小管细胞数量虽减少,形态结构相对完整,胞质边界清晰,可见刷状缘。(4)大鼠血清中SOD、GSH-Px及MDA检测结果发现,与对照组相比,2,4-D组和2,4-D+LBP组大鼠血清中SOD和GSH-Px含量下降(P<0.01),2,4-D组MDA含量升高(P<0.05);与2,4-D组比较,LBP组和2,4-D+LBP组血清中SOD和GSH-Px含量均升高(P<0.01),而MDA含量降低(P<0.01)。(5)与对照组相比,大鼠肾脏TUNEL荧光染色2,4-D组细胞凋亡率升高(P<0.01),有统计学意义。对比单独使用2,4-D染毒组,大鼠肾脏2,4-D+LBP组细胞凋亡率下降(P<0.05),有统计学意义。**结论** 经2,4-D染毒后可导致大鼠肾脏的损伤,且通过枸杞多糖的干预对其有缓解及保护作用,且2,4-D可能使肾脏组织细胞凋亡但其具体凋亡途径有待深入探讨。

关键词: 2,4-二氯苯氧乙酸; 肾脏; 凋亡; 枸杞多糖

基金项目: 宁夏自然科学基金(2022AAC03169);2021 年宁夏医科大学优势学科群建设项目

作者简介: 马　钰,E-mail:1639474269@qq.com

通讯作者: 周　健,E-mail: zhounxyc@126.com

典型拟除虫菊酯农药的免疫毒性研究

牟邵雨, 马军国

(河南师范大学河南省水生态毒理与健康防护国际联合实验室, 新乡　453007)

摘要: 目的 研究并揭示典型拟除虫菊酯农药甲氰菊酯(Fenpropathrin)对黄河鲤(Cyprinus carpio)的免疫毒性及机制,为其非靶标生物健康风险评估提供理论参考。**材料与方法** 以黄河鲤为实验模型,选择环境相关浓度的甲氰菊酯(0.45、1.35 μg/L)暴露鲤鱼14天,取鲤鱼肾脏和脾脏组织样品,检测其免疫相关指标,并对肾脏进行高通量测序和生物信息学分析,同时采用组织切片方法检测肾和脾组织学变化情况。**结果** 甲氰菊酯暴露改变鲤鱼肾和脾超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性,造成活性氧(ROS)和丙二醛(MDA)含量升高,说明一定浓度的甲氰菊酯暴露能诱导鲤鱼肾和脾氧化应激;甲氰菊酯暴露后鲤鱼肾和脾免疫和炎症相关指标,溶菌酶(LYZ)、免疫球蛋白M(IgM)、补体3(C3)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白介素-1β(IL-1β)、转化生长因子-β(TGF-β)、白介素-10(IL-10)的含量均发生明显变化,提示甲氰菊酯暴露可能引发鲤鱼肾和脾免疫反应;通过转录组测序和生物信息学分析发现,与对照组相比,0.45 μg/L甲氰菊酯暴露后,鲤鱼肾脏有1730个差异表达基因,1.35 μg/L暴露组肾脏有1669个差异表达基因,GO功能分析显示差异表达基因主要富集在生物过程、细胞组分和分子功能,KEGG分析显示mTOR、AMPK、Toll-like受体等信号通路显著富集;组织学检测发现,甲氰菊酯暴露能引起鲤鱼肾、脾组织损伤。**结论** 环境相关浓度甲氰菊酯暴露能诱导鲤鱼肾和脾氧化应激、产生免疫毒性,多条免疫相关信号通路参与其中,因此,有必要重视自然水体甲氰菊酯对非靶标生物的潜在健康风险。

关键词: 甲氰菊酯; 黄河鲤; 免疫毒性; 分子机制

针对皮肤护理产品的皮肤致敏潜力筛选

裴 瑶[1,2], 周群芳[1,2], 江桂斌[1,2]
(1. 环境化学与生态毒理学国家重点实验室,中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085;
2. 资源与环境学院,中国科学院大学, 北京 100049)

摘要:研究背景 过敏性接触性皮炎(Allergic contact dermatitis, ACD)是由于长时间或反复接触过敏原引起的迟发性Ⅳ型超敏疾病。ACD的病程主要分为两个阶段,致敏阶段与激发阶段。OECD将皮肤致敏的机制进一步划分为4个关键事件与最终的不良结局,基于四个关键事件,目前有多种体内、体外及计算毒理学的研究方法,用于受试物致敏潜力的评价与判断。其中,针对关键事件3的人细胞系激活实验(human cell line activation test,h-CLAT)是目前体外评价致敏潜力使用最广泛的方法,其主要关注受试物接触树突状细胞后,是否上调共刺激分子CD86、黏附分子CD54的表达来判断受试物的致敏潜力。本工作围绕一系列皮肤护理品样品,利用h-CLAT评价一系列皮肤护理产品的致敏潜力。**材料和方法** 22种不同品牌与用途的皮肤护理样品分别从不同的用户处收集(3款面部补水产品,6款面部精华,6款面部乳霜,4款身体乳,3款护手霜),利用pH=6.5中性汗液溶解和浸提样品,浸提后得到的汗液浸提液,利用细胞培养基稀释到一定浓度后,暴露于体外培养的类树突状细胞:人急性单核细胞性白血病细胞(THP-1)。与受试物共暴露48 h后,加入荧光标记抗体对CD54和CD86进行免疫荧光染色,通过流式细胞仪(LSR II, BD Pharmingen,USA)测定前述两种分子表达上调情况来判定受试物是否具有致敏性。**结果** 22种受试产品中,共6种产品表现致敏潜力,即暴露细胞后,细胞CD54或CD86的表达与溶剂对照组相比,上调大于200%或150%。同时,针对不同产品的CD54与CD86表达规律进行总结,展示了5种不同的表达规律,剂效关系的差异性展现了致敏过程中,样品暴露引发CD86与CD54表达的复杂性。**结论** 本研究一方面对于皮肤护理产品致敏风险的评价及相关产品管理规范具有重要指导意义,另一方面也为日用品中一些可疑成分的皮肤致敏机制探索提供了研究思路。

关键词: 皮肤护理品; 人细胞系激活实验; 皮肤致敏效应

通讯作者: 周群芳,E-mail: zhouqf@rcees.ac.cn

基于证据权重框架的药代动力学模型替代啮齿动物亚慢性吸入试验

王雅帆, 帅 怡
(先正达(中国)投资有限公司,上海)

摘要:在农药登记管理较成熟的国家和地区,啮齿动物亚慢性吸入毒性试验是农药登记注册要求审核的毒理学资料。由于呼吸生理学、解剖学和生物化学方面的物种差异,对啮齿动物吸入试验的解析具有挑战性。在对农药产品进行人类安全风险评估时,如缺乏啮齿动物重复剂量吸入试验的数据,许多评审机构如我国农业农村部农药检定所,美国环保局(US EPA)等,会依靠经口试验得出的毒性终点进行吸入途径风险评估。然而对于新的农药活性成分,该毒性终点尚未建立国际通用的豁免条件或替代方法。基于证据权重法的框架,先正达开发了一种新方法(NAMs)用于替代传统啮齿动物重复剂量吸入毒性试验。本报告将介绍不同暴露途径下大鼠体内动力学试验数据的联合应用,及药代动力学(Pharmacokinetics,PK)房室模型的建立。PK模型采用层级法建模:使用来自静脉注射(i.v.)、口服(p.o.)灌胃法给药的大鼠体内动力学试验数据,分别通过PK模型进行拟合、训练,并使用训练后的模型拟合出口服膳食给药剂量,与体内试验数据进行比较以验证模型准确度。将PK模型与多路径粒子剂量测定模型(MPPD)耦合,结合大鼠24小时吸入(IHL)试验数据,获得总吸入沉积率、一级吸入吸收率等参数,量化经口和经吸入暴露途径之间的PK差异。通过比较来自不同暴露途径的单剂量暴露,了解不同给药途径下化合物的系统暴露水平。结合已有亚慢性经口毒性试验数据,可知该终点所对应的系统中的浓度,再根据PK模型中各暴露途径的代谢动力学数据,

可推导出相同系统效应对应的吸入暴露等效给药剂量，亦是可用于安全风险评估的吸入终点。先正达开发的该NAMs方法，基于证据权重法的框架，用于已知接触刺激物亚慢性吸入试验的减免，并已被美国 EPA采用。研究表明，该模型可以扩展到其他没有局部效应的非挥发性化合物使用，且不需要不确定因子矫正。虽然该方法可以有效减少动物使用，但仍然依赖于体内试验数据来了解吸入途径暴露下化合物的PK特性。未来会进一步探索体外方法和计算机模拟方法替代动物试验。

关键词：药代动力学模型；农药；吸入毒性；NAMs

通讯作者：王雅帆，E-mail：stephanie.wang@syngenta.com

生命早期氨基甲酸酯类农药暴露与儿童体格生长、神经发育的关系

张济明[1]，王　铮[1]，戴一鸣[1]，郭剑秋[1]，吕沈亮[1]，齐小娟[1]，卢大胜[2]，梁卫玖[3]，邬春华[1]，常秀丽[1]，周志俊[1]

（1. 复旦大学公共卫生学院，上海　200032；2. 上海市疾病预防控制中心，上海　200336；
3. 上海市长宁区疾病预防控制中心，上海　200051）

摘要：背景　氨基甲酸酯类农药被广泛应用于农业生产中，克百威是用量最大的品种，此类农药对生态环境及人群健康的影响引起广泛关注。本研究基于射阳小型出生队列命早期氨基甲酸酯类农药的暴露负荷及其对儿童体格生长、神经发育水平的影响，以及对脐带血中甲状腺激素、性激素水平的影响。**方法**　采用气相色谱串联质谱法检测产前孕妇、3岁龄儿童、7岁龄儿童尿样中呋喃酚浓度，采用电化学发光法检测脐带血中甲状腺激素浓度，采用化学发光法检测脐带血中性激素浓度，采用测量法获取儿童体格生长指标，分别采用格塞尔量表、韦氏量表评估3岁龄儿童、7岁龄儿童神经发育水平。 采用广义线性模型分析氨基甲酸酯类农药暴露影响因素、生命早期氨基甲酸酯类农药暴露与体格生长、神经发育指标的关系，采用广义估计方程分析生命早期氨基甲酸酯类农药的暴露的健康效应和各年龄阶段间健康效应的差异。**结果**　全部孕期尿样（n=1100）、96.8%的3岁龄儿童尿样（n=377）、97.3%的7岁龄儿童尿样（n=413）中检出呋喃酚，浓度几何均值分别为0.81 μg/L、0.65 μg/L、0.75 μg/L。孕期暴露水平与新生儿头围Z评分显著负相关（β=−0.035，P=0.013），与脐带血中促甲状腺激素水平显著负相关（β=−1.146，P=0.029），与3岁龄儿童应物能区发育商（β=−0.755，P=0.003）、应人能区发育商（β=−0.341，P=0.032）、平均发育商（β=−0.349，P=0.047）显著负相关。其中应物能区模型性别交互项为统计学显著（P=0.006）。孕期暴露水平与3岁龄女童应物能区（β=−0.693，P=0.032）、语言能区（β=−0.382，P=0.008）、应人能区（β=−0.391，P=0.001）发育商呈负相关。孕期暴露水平与7岁龄身高Z评分模型的性别交互项显著（P=0.047）。3岁龄暴露水平与3岁龄语言能区发育商（β=−0.121，P=0.008）、平均发育商（β=−0.059，P=0.035）显著负相关，与7岁龄身高Z评分（β=−0.014，P=0.036）、操作能区发育商（β=−0.178，P=0.014）、智力商数（β=−0.131，P=0.038）负相关。3岁龄女童暴露水平与操作能区发育商负相关（β=−0.203，P=0.010）。7岁龄暴露水平与操作能区发育商呈负相关（β=−0.135，P=0.037）。生命早期暴露水平与7岁龄儿童体重Z评分（β=−0.765，P=0.002）、BMI Z评分（β=−0.579，P=0.007）、操作能区发育商（β=−0.089，P=0.034）、智力商数（β=−0.064，P=0.049）负相关。各年龄阶段间未见效应差异。**结论**　研究对象广泛暴露于氨基甲酸酯类农药，孕期暴露水平可能与新生儿甲状腺功能存在关联。生命早期氨基甲酸酯类农药暴露与儿童体格生长、神经发育过程相关，

基金项目：国家自然科学基金（82073501）；国家自然科学基金（81611130087）；上海市“科技创新行动计划”启明星项目（23YF1407700）

通讯作者：周志俊，E-mail：zjzhou@fudan.edu.cn

中国与OECD成员国对化学农药原药登记中毒理数据和试验指南要求的比较

Nan Zhang, Dominique Renault-Billault, Alessa Ignarski, Lirong Chen, Birgit Neumann, Jing Ma, Zi Liu, Vickie Shang, Katrin Bender, Li Zhang, Jens Peter Lampe Venoe
（拜耳作物科学（中国）有限公司）

摘要： 2017年11月1日起，农业部开始实施2569号公告《农药登记资料要求》，其中对化学农药原药登记的毒理学数据（包括试验种类和试验物种）都进行了清晰的要求，相对应试验指南的国家标准《农药登记毒理学试验方法》也于2018年2月1日起开始实施。为了保证人体健康安全和环境安全，实现中国与OECD成员国数据互认（MAD）并将中国创新化学农药原药推向全球市场，本研究对中国与OECD成员国的毒理数据和试验指南要求进行了全面系统的比较。

在毒理学数据要求方面，中国与OECD监管框架的要求基本一致，其中包括急性毒性、遗传毒性、慢性毒性和致癌性（大鼠和小鼠）、生殖毒性（大鼠和兔子）、致畸性和迟发性神经毒性等。某些毒理终点和毒理方法存在差异，例如中国要求进行亚急性吸入试验，并由此得到吸入途径的可接受操作暴露水平（AOEL）进行施药人员健康风险评估，而OECD成员国通常不要求此试验（除非有可预见的吸入毒性）；OECD成员国要求在亚慢性试验中使用大鼠、小鼠和狗三个物种，以确定最敏感物种，而中国针对此试验并未进行物种要求；OECD成员国对代谢物毒性的试验基于QSAR/分组/交叉参照，且对无预测结论的代谢物要求急性、亚急性（28天）和遗传毒性试验，而中国尚无指南，当前也一般要求亚慢性（90天）试验；其他差别也可以见于急性神经毒性、代谢和毒物动力学试验或 内分泌干扰作用评价方法等。

在毒理学试验指南中方面，中国试验指南的起草在很大程度上参照OECD 试验指南，但具体的试验方法和观察指标也有差异，比如基于更为保守的毒性分类标准，中国急性毒性的试验指南一般要求更高的限量剂量和每组动物数量；吸入试验的试验指南参考旧版OECD 试验指南，因此测试物的颗粒物理化学和观察指标均存在较大差别；其他差别也可以见于致癌性、生殖毒性、代谢和毒动试验或 内分泌干扰作用等。

尽管中国与OECD成员国对化学农药原药登记在毒理方面的要求仍存在差异，但通过全面系统的比较，在对毒理数据和试验指南方面均可以认为其功能性是相当的，均涵盖了相似的评估方法指标及健全的评估能力。当然，为了中国与OECD成员国MAD问题的解决 ，目前的评估仍需要扩展，包括环境方面数据及实验指南的要求等。此外，具体的数据质量仍然要基于各个实验室对试验指南的理解和执行水平。

关键词： 毒理；OECD；MAD；试验指南；化学农药原药；登记要求

通讯作者： Nan Zhang，E-mail：nan.zhang4@bayer.com

阿特拉津暴露对大鼠肝脏铁代谢的影响

赵浩堂，霍颖超，叶 汇，房孝祺，崔建伟，刘春贺，赵天宇，姚曦月，董明欣，张月竹
（吉林大学公共卫生学院，吉林 长春 130021）

摘要：目的 阿特拉津（atrazine，ATR）是一种广泛使用的除草剂，作为一种环境内分泌干扰物可蓄积在肝脏中并影响肝脏功能。肝脏是机体铁代谢最重要的器官，本研究旨在探索ATR暴露对大鼠肝脏铁代谢的影响。 **材料与方法** 选择40只成年SPF级雄性wistar大鼠，随机平均分为空白对照组（玉米油）、低剂量组（0.5 mg/kg/d ATR）、中剂量组（5 mg/kg/d ATR）和高剂量组（50 mg/kg/d ATR）。每日定时进行灌胃染毒，持续染毒90天。采用HE染色进行肝脏组织病理学检查；采用比色法检测血清铁水平、总铁结合力（TIBC）、肝脏组织铁水平；采用Real-Time PCR法和Western blot法分别检测肝脏中铁代谢关键基因铁调素（Hepcidin）、二价金属转运蛋白（DMT1）、膜铁转运蛋白1（FPN1）mRNA表达水平和蛋白表达水平。**结果** HE染色结果显示，对照组大鼠肝小叶结构正常，肝细胞板排列均匀，肝细胞形态正常；低剂量组组出现轻度脂肪变性，同时有一定的炎性细胞浸润；中剂量组出现明显的脂肪变性空泡，同时肝细胞板的排列出现紊乱；

高剂量组炎症细胞浸润明显，细胞排列紊乱，脂肪空泡多且明显，部分细胞呈现坏死形态。与对照组相比，ATR染毒组大鼠血清铁水平随着染毒剂量的增加而增加（$P<0.05$）；血清总铁结合力则随着染毒剂量的增加减少（$P<0.05$）；肝脏铁水平随ATR剂量增加而增加（$P<0.05$）。与对照组相比，ATR染毒组大鼠肝脏Hepcidin蛋白和mRNA表达水平随ATR染毒剂量升高而升高（$P<0.05$）；FPN1蛋白和mRNA表达水平则随ATR染毒剂量升高而逐渐降低（$P<0.05$），DMT1蛋白和mRNA表达水平随着ATR染毒剂量增加而逐渐下降（$P<0.05$）。**结论** ATR暴露可以引起大鼠肝脏脂肪变性、细胞坏死等形态学改变，导致大鼠血清和肝组织的铁水平升高，并降低了血清的总铁结合力。同时，ATR暴露后大鼠肝脏Hepcidin基因表达上调，FPN1和DMT1的基因表达下调，ATR可能通过调控肝脏Hepcidin等铁代谢关键基因的表达影响肝脏的铁代谢过程。

关键词：阿特拉津（ATR）；肝脏；铁代谢

项目资助：国家自然科学基金青年基金（82203992）；吉林省科学技术厅青年成长科技计划项目（20220508077RC）；吉林大学白求恩计划项目（2022B46）

通讯作者：张月竹，E-mail：jlzhangyz@163.com

T09-0001

纳米二氧化硅通过TFEB调控肝细胞自噬功能紊乱的机制研究

王　继，朱　叶，张宇康，李艳博，周显青，孙志伟

（首都医科大学，公共卫生学院，卫生毒理与卫生化学学系，北京 100069）

摘要：目的 自噬功能紊乱是纳米材料的重要毒性机制，转录因子EB（TFEB）是调节自噬-溶酶体途径的关键分子。课题组前期研究发现纳米二氧化硅诱导肝细胞自噬功能紊乱，但具体机制不清。本论文研究纳米二氧化硅通过TFEB调控肝细胞自噬功能紊乱的分子机制，为其毒性机制研究和安全性评价提供理论依据。**材料和方法** 以人正常肝细胞L-02为模型，透射电镜下观察纳米二氧化硅的细胞摄取、细胞内分布和对亚细胞器的损伤；利用CCK8试剂盒检测细胞毒性；免疫荧光联合应用激光共聚焦显微镜观察纳米二氧化硅对TFEB核转移的影响；利用CRISPR-Cas9技术构建TFEB敲除（KO）L-02细胞系，研究TFEB在纳米二氧化硅诱导自噬过程中的作用；采用RNA-seq，并利用生物信息学结合人类自噬数据库（Human Autophagy Database）关联分析，筛选纳米二氧化硅通过TFEB调控自噬功能紊乱的关键基因；利用免疫共沉淀（Co-IP）验证TFEB调控的关键靶分子在纳米二氧化硅诱导自噬过程中的功能。**结果** 纳米二氧化硅被细胞摄取后可产生细胞毒性，抑制L-02细胞增殖并存在剂量和时间效应；纳米二氧化硅增强肝细胞内自噬体的积累并促进TFEB转移入核；纳米二氧化硅通过促进TFEB核转移激活自噬，敲除TFEB抑制了纳米二氧化硅诱导的自噬；纳米二氧化硅激活TFEB的机制依赖于内质网应激的PERK信号通路激活，而不是通过经典的mTOR信号通路抑制；纳米二氧化硅通过TFEB可上调HSPB8、ATG4D、CTSB和CTSD自噬溶酶体基因的转录表达；HSPB8是纳米二氧化硅通过TFEB调控自噬的关键基因，HSPB8与BAG3和HSC70相互作用形成CASA复合物，进而靶向泛素化的蛋白到自噬体中，以CASA（chaperone-assisted selective autophagy）依赖的方式激活自噬，促进自噬体合成；纳米二氧化硅损伤溶酶体功能，阻断自噬体降解，最终诱导自噬功能紊乱。**结论** 纳米二氧化硅通过激活内质网应激的PERK信号通路促进TFEB核转移，进而上调HSPB8转录表达，促进HSPB8与BAG3和HSC70相互作用形成CASA复合物，诱导分子伴侣HSPB8辅助选择性自噬，增强自噬体合成，加剧自噬体积累，诱导肝细胞自噬功能紊乱。

关键词：纳米二氧化硅；细胞自噬；转录因子EB；内质网应激；肝细胞

通讯作者：王　继，E-mail：wangji@ccmu.edu.cn

T09-0002

铅基钙钛矿纳米颗粒的脑神经毒性效应机制研究

谷战军，梅林强
（中国科学院高能物理研究所，北京 100049）

摘要：近年来，铅基卤化物钙钛矿纳米颗粒（Pb PNPs）因其优异的光电性能被广泛应用于太阳能电池、光电探测器和晶体管等领域，同时被认为是下一代光电材料的理想替代品。但是Pb PNPs相对较差的稳定性和易降解性导致其中铅离子容易释放到环境中，而目前仍然缺乏对其暴露后不可忽视的生物毒理效应的研究。在这里，我们通过结合先进的同步辐射（SR）和传统分析技术，阐明了典型溴铅铯钙钛矿纳米颗粒（$CsPbBr_3$ PNPs）经鼻腔暴露后在小鼠体内的生物分布、化学转化及神经毒性机制。首先同步辐射显微X射线荧光扫描（SR-μXRF）、电感耦合等离子体质谱和行为学数据表明，$CsPbBr_3$ PNPs在海马中聚集，并能够诱发海马体中钙超载，最终造成海马依赖的学习、记忆和认知行为的严重损害。同时，SR的X射线吸收近边光谱（SR-XANES）分析也揭示了$CsPbBr_3$ PNPs可以在不同的生理环境中逐渐转化为可溶性和不溶性的铅化合物。正是由于$CsPbBr_3$ PNPs中Pb^{2+}的持续释放的作用，其神经毒性要高于常见的可溶性铅化合物醋酸铅（$Pb(Ac)_2$）。同时，通过对细胞中$CsPbBr_3$ PNPs的毒性机制研究得到以下结论：$CsPbBr_3$ PNPs主要通过大胞饮和小窝吞噬的途径进入细胞并经囊泡转运到溶酶体中，在这一过程中释放的铅离子一方面导致细胞内Ca^{2+}超载，另一方面在细胞中产生大量高毒性活性氧（ROS），细胞中钙过载和ROS激增可激活线粒体中Caspase 3凋亡通路，最终导致神经细胞凋亡。我们的这一工作为Pb PNPs的神经效应和机制提供了重要的见解，同时也对Pb PNPs在实际应用转化过程中的安全防护提出了更高的要求。

关键词：钙钛矿纳米颗粒；同步辐射技术；钙过载；神经毒性

通讯作者：谷战军，E-mail：zjgu@ihep.ac.cn

T09-0004

自噬在多壁碳纳米管致肺上皮细胞铁死亡的研究机制

朱 琳，田坤明
（遵义医科大学公共卫生学院）

摘要：目的 多壁碳纳米管（MWCNT）是一种广泛应用于各个领域的纳米材料。研究发现MWCNT具有明显的呼吸毒性，然而其毒性作用机制还有待进一步深入研究。本研究通过MWCNT染毒肺上皮细胞（BEAS-2B），阐明自噬在MWCNT诱导BEAS-2B细胞铁死亡中的作用，并进一步揭示PGC-1α/TFAM通路介导的线粒体生物合成在自噬BEAS-2B细胞铁死亡中的作用。**方法** 本研究采用不同浓度（0 μg/cm²、5 μg/cm²、10 μg/cm²、20 μg/cm²）的MWCNT的暴露BEAS-2B细胞。CCK-8检测活性；采用Westernblot对自噬相关蛋白LC3，P62，线粒体生物合成相关蛋白AMPK，TFAM，PGC-1，铁死亡相关蛋白GPX4、XCT；MDA、GSH、SOD、ATP的试剂盒检测MWCN染毒细胞内含量变化，反应铁死亡的水平；二氢乙锭（DHE）荧光探针检测BEAS-2B细胞ROS；JC-1探针对细胞的MMP进行检测。采用慢病毒载体ATG5和自噬激动剂RAPA转染BEAS-2B细胞探究自噬在MWCNT所致BEAS-2B细胞铁死亡中的作用；siRNA和慢病毒载体转染BEAS-2B细胞调控PGC-1的表达，探究PGC-1α/TFAM通路自噬在MWCNT所致BEAS-2B细胞铁死亡中的保护作用；**结果** （1）MWCNT诱导BEAS-2B细胞发生铁死亡并导致线粒体功能损伤 CCK8实验发现BEAS-2B细胞活性染毒时间和染毒浓度依赖的降低（$P<0.05$或$P<0.01$），并在24和10 μg/cm²浓度组时细胞的生存率约为50%；MWCNT暴露导致细胞内的SOD、GSH消耗和MDA、ROS的增多；MWCNT组中AMPK，TFAM，PGC-1，GPX4，XCT蛋白表达水平降低明显。（2）自噬诱导BEAS-2B细胞发生铁死亡并严重影响线粒体功能 慢病毒载体转染BEAS-2B细胞72 h下调ATG5的表达后，有效的抑制了细胞的死

亡，AMPK，TFAM，PGC-1，GPX4，XCT蛋白表达水平明显升高，自噬激动剂RAPA干预细胞后，与MWCNT组相比，AMPK，TFAM，PGC-1，GPX4，XCT蛋白表达水平明显降低。(3)线粒体生物合成调控MWCNT所致BEAS-2B细胞发生铁死亡 siRNA转染BEAS-2B细胞下调PGC-1的表达后，细胞内的SOD、GSH消耗和MDA、ROS的增多；严重影响了线粒体功能并促进细胞发生铁死亡。siRNA转染组中，AMPK，TFAM，PGC-1，GPX4，XCT蛋白表达水平降低明显。慢病毒载体转染BEAS-2B细胞上调PGC-1的表达后，与MWCNT组相比，细胞内的SOD、GSH得以恢复，同时降低了MDA、ROS在细胞体内的堆积，进而恢复线粒体功能。慢病毒载体转染组中，与MWCNT组相比，AMPK，TFAM，PGC-1，GPX4，XCT蛋白表达水平明显升高。**结论** 自噬通过PGC-1依赖的线粒体生物合成调控MWCNT所致BEAS-2B细胞发生铁死亡进而导致肺损伤。

关键词：多壁碳纳米管；铁死亡；自噬；BEAS-2B细胞；PGC-1α/TFAM

作者简介：朱　琳，E-mail：zhulin2278609283@163.com

通讯作者：田坤明，E-mail：nonstandstill@163.com

T09-0005

肠道菌群在黑磷量子点诱导小鼠肾脏免疫损伤中的机制研究

阮锋凯，曾　洁，刘常乾，尹涵颖，左正宏，何承勇

（厦门大学，细胞应激生物学国家重点实验室，福建 厦门 361102）

摘要：目的 黑磷量子点（BPQDs）是一种新型0维纳米材料，随着其应用范围增多，其生物安全性也越来越受关注。我们前期发现BPQDs急性暴露可以直接导致肾脏损伤（He et al. 2020. Small）。肠道是纳米材料暴露的主要器官之一，肠道菌群在BPQDs诱导的肾脏损伤中的作用值得探究。本研究探索BPQDs可否通过影响肠道菌群间接诱发肾脏损伤及其机制。**方法** 选择8～10周龄雄性Balb/c小鼠，处理组给予BPQDs（0.1和1 mg/kg/d）灌胃28天，挽救组给予益生菌VSL#3和罗伊氏乳酸杆菌（L.reu）干预以及短链脂肪酸乙酸干预。① 收集小鼠肾脏、肠道、肠道内容物；② HE和糖原染色观察肠道病理变化，HE染色观察肾脏组织病理变化；③ 16S宏基因组测序检测小鼠肠道内容物菌群构成；④ GC-MS检测小鼠肠道内容物中短链脂肪酸水平；⑤ 流式细胞仪检测肾脏组织$CD4^+$ T细胞和$CD8^+$ T细胞比例变化；⑥ELISA和qPCR检测小鼠血清和肾脏组织中$CD4^+$ T细胞和$CD8^+$ T细胞相关细胞因子和marker基因水平；⑦Masson染色和WB检测肾脏组织中纤维化水平；⑧ WB检测肾脏组织中NF-κB信号通路相关蛋白表达水平。**结果** 与对照组小鼠相比，① 暴露组小鼠肾小球和肾小管面积增大，血尿酸和肌酐显著升高，提示BPQDs暴露可诱导肾脏损伤，益生菌和乙酸干预可挽救该效应；② HE和糖原染色显示暴露组小鼠肠道组织无明显损伤，肾脏组织出现炎性细胞浸润，益生菌和乙酸干预组小鼠肾脏炎症减轻；③ 16S rDNA测序显示暴露组小鼠肠道内容物中拟杆菌门比例下降，乳酸杆菌属比例下降；④ GC-MS检测结果显示暴露组小鼠肠道内容物中乙酸、丁酸等短链脂肪酸含量下降，益生菌和乙酸干预组小鼠肠道内容物中乙酸水平回升；⑤ 流式细胞术、ELISA和qPCR结果显示暴露组小鼠肾脏中Th17细胞比例及其炎症因子水平显著升高，益生菌和乙酸干预可挽救该效应；⑥ Masson染色和WB检测肾脏组织纤维化水平升高，NF-κB信号通路激活，益生菌和乙酸干预组小鼠肾脏纤维化水平下降，NF-κB通路阻断。**结论** BPQDs暴露可引起肠道菌群构成改变和肾脏免疫损伤，主要涉及肠道益生菌比例下降和短链脂肪酸代谢紊乱，肾脏Th17细胞比例升高；益生菌和乙酸干预可减轻BPQDs暴露引起的肠道短链脂肪酸代谢紊乱，间接调控肾脏免疫损伤。调节肠道菌群稳态是减轻BPQDs暴露诱导肾脏损伤的可行策略。

关键词：黑磷；量子点；肠道菌群；肾脏损伤；短链脂肪酸；乳酸杆菌

基金项目：国家自然科学基金（31971234）；国家自然科学基金（32071301）

通讯作者：何承勇，E-mail：hecy@xmu.edu.cn

T09-0006

机器学习预测纳米金属氧化物诱导的肺毒性

黄 杨[1], 李雪花[1], 李瑞宾[2], 陈景文[1]
（1. 工业生态与环境工程教育部重点实验室，大连理工大学环境学院，大连 116024；2. 放射医学与防护国家重点实验室，苏州大学放射医学与防护科学院，苏州 215123）

摘要： 全球每年约有150万吨纳米材料废物进入环境，危害人类健康。纳米颗粒组成的超细颗粒物极容易悬浮在空气中，被人类吸入。因此肺部是纳米颗粒进入人体的主要途径，和其毒性作用的主要靶器官。面向纳米呼吸暴露导致的“人民生命健康”重大需求，需要发展纳米材料肺部健康风险高效评估方法。依赖活体动物实验的评价方法具有伦理问题、效率低下和机理不明等局限性。亟需发展计算毒理学模型替代动物实验。本研究基于高通量细胞测试和动物实验，构建了涵盖37种纳米材料理化性质、细胞毒性和动物毒性的数据库；开发了预测纳米材料诱导免疫细胞死亡和炎症效应的机器学习模型，测试集预测准确率分别达到96%和90%；模型的实验验证方面，选择了建模数据集范围之外的新材料对其免疫细胞毒性和炎症效应分别进行实验检测，然后将实验数据与两个模型预测结果相比对。经验证，免疫毒性和炎症效应模型对全新的实验数据预测准确率高达91%和86%。结构-效应关系分析和细胞内成像实验结果共同表明，溶酶体中释放的有毒离子是MeONPs诱导免疫细胞毒性的重要决定因素。材料的ζ-电位、电负性和尺寸也是预测纳米毒性的关键特性。机器学习分析、密度泛函理论（DFT）计算和实验结果共同说明，细胞摄取，溶酶体损伤及组蛋白酶cathepsin B释放是金属氧化物造成炎症的关键事件。本研究通过人工智能和机器学习实现了金属氧化物诱导免疫毒性和炎症效应的高通量准确预测，并识别和证明了毒性机理。该研究开发的软件平台操作便利，可实现大批量纳米产品风险预测，为未来实现以计算模拟替代大规模动物实验提供了可能。

关键词： 纳米材料；肺部毒性；免疫细胞；机器学习；大数据；计算毒理学

作者简介： 黄 杨，E-mail：huangyang1230@mail.dlut.edu.cn
通讯作者： 李雪花，E-mail：lixuehua@dlut.edu.cn

T09-0007

肠肝轴和脂质代谢在纳米二氧化钛经口暴露所致肝脏毒性中的作用

陈章健，贾 光
（北京大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系，北京 100191）

摘要：目的 纳米二氧化钛（TiO_2）常作为增白剂添加到多种食品中，在消费者中已产生了广泛的低剂量长期经口暴露，识别其人体暴露后的潜在毒性效应具有重要意义。既往研究认为肝脏可能是纳米TiO_2经口暴露后毒作用的靶器官，同时由于纳米TiO_2具有良好的抗菌性而容易对肠道菌群稳态造成破坏，因此通过肠肝轴诱导肝脏毒性可能是纳米TiO_2经口毒性的关键通路，但目前尚缺乏相关深入研究。本研究旨在探讨纳米TiO_2经口暴露所致肝脏毒性及肠肝轴和脂质代谢在其中发挥的关键作用。**材料和方法** 首先对纳米TiO_2的理化性质进行详细表征，包括形状、晶型和尺寸等。然后利用动物实验，在与人群暴露相似的低剂量长期经口暴露模式下，对24只3周龄雄性清洁级SD大鼠适应性喂养一周后，随机分为4组，每天灌胃给予0、2、10、50 $mg \cdot kg^{-1}$ bw（体重）纳米TiO_2。重复染毒90天后进行肝脏毒性评价，包括肝脏组织病理和肝脏损伤相关血生化指标检测。同时，利用16S rDNA测序技术对肠道菌群的组成和结构进行分析。通过高效液相-质谱（HPLC-MS）平台进行肠肝轴主要组织器官包括粪便、血清和肝脏组织的非靶向代谢组学检测，并利用生物信息学分析其中的内在联系。**结果** ①纳米TiO_2晶型为锐钛矿，近球形，平均粒径为29 ± 9 nm。②纳米TiO_2经口染毒后在消化道的吸收率很低，并未发现在大鼠肝脏内蓄积但可以导致大鼠肝脏毒性，主要表现为肝细胞脂肪变性，血清中总胆红素（TBIL）、谷丙转氨酶（ALT）和谷草转氨酶（AST）下降。③同时纳

米TiO2经口暴露后可以导致大鼠肠道菌群结构改变，16S rDNA测序结果发现纳米TiO_2染毒组大鼠肠道菌群的α和β多样性呈剂量依赖性增加。相比对照组，纳米TiO_2染毒组（10 mg·kg^{-1} bw）大鼠罗伊氏乳杆菌（*Lactobacillus_reuteri*）丰度增加，罗姆布茨菌（*Romboutsia*）丰度下降。④纳米TiO_2经口染毒90天可以导致大鼠肠肝轴代谢改变。粪便、血清和肝脏代谢组学结果一致发现，纳米TiO_2（50 mg·kg^{-1} bw）可以导致大鼠肠肝轴中磷脂酰胆碱（Phosphatidylcholines，PCs）的含量改变并影响甘油磷脂代谢通路。⑤同时，肝脏和血清中脂质过氧化产物丙二醛（MDA）含量显著增加，且与代谢组学中发现的大部分差异代谢物显著正相关。血清中肠道菌群产物脂多糖（LPS）的含量也显著增加。**结论**　纳米TiO_2低剂量长期经口摄入可以诱导大鼠肝脏毒性和肠道菌群紊乱。肠肝轴在纳米TiO_2所致大鼠肝脏毒性中发挥关键作用。脂质过氧化所致的脂质代谢紊乱可能是纳米TiO_2通过肠肝轴诱导大鼠肝脏毒性的重要机制之一。

关键词：纳米二氧化钛；肝脏毒性；肠道菌群；肠肝轴；脂质代谢

通讯作者：贾　光，E-mail：jiaguangjia@bjmu.edu.cn

T09-0008

RNA m^{6}A修饰差异调控纳米材料诱导的肺损伤

阮锋凯，曾　洁，尹涵颖，刘常乾，左正宏，何承勇
（厦门大学，细胞应激生物学国家重点实验室，福建 厦门　361102）

摘要：目的　纳米材料的广泛应用于食品、化妆品、生物医药等领域，可能通过饮食、饮水、呼吸等途径暴露于人体，具有潜在健康风险。量子点和金属纳米材料是两类常见的纳米材料，其安全性仍有待进一步研究。RNA m6A甲基化调控多种生理过程，但其在纳米材料诱导的损伤中作用和机制不明（Michaela et al.，2018，Science，361，1346）。**方法**　①体外实验中，利用肺上皮细胞对量子点（BPQDs，GOQDs，CdSe/ZnS QDs，InP/ZnS QDs）和金属及金属氧化物纳米材料（$nTiO_2$，nAg，nZnO，nFe_2O_3，nCuO）诱导细胞损伤及m^{6}A甲基化水平行筛查；②结合MRIP-seq和RNA-seq测序及生化和分子生物学技术，检测不同纳米材料暴露后的损伤效应及受m^{6}A调节的通路；③利用小干扰RNA或者抑制剂干预m^{6}A通路及其上游通路后，检测对纳米材料诱导肺损伤的影响；④体内实验中，利用气管滴注的方式，将小鼠肺组织暴露于不同纳米材料及结合小分子抑制剂干预，检测纳米材料暴露对肺组织损伤的影响及其与m^{6}A甲基化的关系。**结果**　①体外实验中，BPQDs，$nTiO_2$，nFe_2O_3，nZnO等均可诱导细胞内整体甲基化水平升高以及细胞损伤发生；②结合多组学测序和生化检测，我们发现BPQDs通过下调去甲基化蛋白ALKBH5表达，从而调节RNA m^{6}A升高，硒离子稳态、脂氧合酶通路和花生四烯酸代谢通路相关分子SELLOW，COX6B2，NDUFB9和GPX4 mRNA发生m^{6}A修饰，后者被YTHDF2蛋白识别后发生降解，进而诱导肺细胞铁死亡（Ruan et al.，2021，Small Methods，5，2001045）。而$nTiO_2$通过脂质活性氧依赖性的方式激活p-ERK1/2增强甲基化蛋白METTL3的稳定性，进而促进m^{6}A水平升高，其中TGF-β通路、炎症通路中抑制性分子AMH和MUC5B被m^{6}A修饰，而后被YTHDF2识别并降解，进而促进肺炎症反应（Ruan et al.，2022，Environmental Pollution，119986）；③利用小干扰RNA或者抑制剂干预ALKBH5和METTL3表达及其上游通路后，均可减轻BPQDs和$nTiO_2$诱导的肺损伤；脂质抗氧化剂Fer-1干预是减轻BPQDs和$nTiO_2$诱导的肺损伤的可行策略。④气管滴注将小鼠肺组织暴露于$nTiO_2$，可在肺组织中检测到m^{6}A甲基化水平升高、ERK1/2通路、炎性因子通路、TGF-β通路和激活等肺损伤指标；而且Fer-1干预可减轻$nTiO_2$暴露诱导的肺损伤。**结论**　不同类型纳米材料可通过改变甲基转移酶或者去甲基转移酶表达控制基因m^{6}A甲基化修饰水平介导肺损伤的发生，Fer-1干预可作为不同纳米材料诱导肺损伤的有效干预手段，对纳米材料的安全性评估和防护提供潜在干预策略。

关键词：RNA m^{6}A；铁死亡；肺；纳米材料；炎症

基金项目：国家自然科学基金（32071301；国家自然科学基金（31971234）；国家重点研发计划（2017YFA0205201）

通讯作者：何承勇，E-mail：hecy@xmu.edu.cn

T09-0009

BPQDs诱导的体内外肺损伤效应及其机制研究

曾 洁，阮锋凯，吴鸣涛，许佳滢，左正宏，何承勇
（厦门大学，细胞应激生物学国家重点实验室，福建 厦门 361102）

摘要：目的 黑磷量子点（BPQDs）是一种新型0维纳米材料，由于其优异的理化性质，在电子、能源和生物医学等领域具有广泛应用前景，其生物安全性也越来越受关注。RNA m^6A甲基化修饰，可调节RNA加工和控制广泛生物学过程，其在纳米材料毒性调控中作用以及生物安全性评估中的潜在应用值得研究。铁死亡是一种新型的细胞死亡方式，其是否参与BPQDs诱导的细胞损伤尚未清楚。呼吸暴露是纳米材料最常见的方式，BPQDs导致的肺部体内外毒性及其机制，特别是RNA m6A甲基化和铁死亡在其中的作用值得研究，且有助于BPQDs的生物安全性评估。**结果** 体内：（1）BPQDs单次气管滴注并观察其肺损伤效应。发现24 h小鼠肺损伤评分显著上升、支气管变厚、完整的肺泡数量减少并出现肺组织免疫浸润。观察3 h、6 h、12 h、24 h肺泡洗液中中性粒细胞、巨噬细胞的比例，发现24 h肺中的中性粒细胞显著上升。（2）通过透射电镜观察肺组织的细微结构，发现型肺泡中板层小体的数量剂量依赖性上升。（3）透射电镜观察及流式技术检测发现中性粒细胞的数量在24 h显著上升，（4）肺表面活性蛋白SP-A、SP-D和IL-1β的表达量显著上升。体外：（1）采用多种肺细胞对多种量子点材料进行生物安全性筛查，发现BPQDs通过抑制去甲基化酶ALKBH5的蛋白表达，显著提升肺细胞中的RNA m^6A甲基化总体水平，提示BPQDs通过RNA m^6A甲基化修饰影响下游生物学反应；（2）采用 m^6A-seq和RNA-seq联合分析发现，BPQDs暴露影响肺细胞中谷胱甘肽代谢、细胞硒离子反应和线粒体功能等铁死亡相关生物途径，提示BPQDs可能导致肺细胞发生铁死亡；（3）生化实验发现BPQDs暴露导致细胞脂质过氧化、GSH耗竭、铁过载和GPX4表达下调，且效应可以被铁死亡抑制剂挽救，进一步证实BPQDs暴露会导致肺细胞铁死亡；（4）抑制ALKBH5表达，可促进铁死亡发生，联合BPQDs处理，铁死亡发生进一步加剧，证实了RNA m^6A甲基化修饰参与调控铁死亡发生。**结论** 在体内，BPQDs的气管滴注使得小鼠急性肺损伤。并可能用过促进肺表面活性蛋白SP-A和SP-D促进先天免疫反应。在体外，肺细胞中，BPQDs通过降低去甲基化酶ALKBH5表达升高铁死亡相关基因mRNA m^6A修饰，后者被YTHDF2识别并发生降解，最终诱导铁死亡。本研究为生物安全性评估提供了一种新思路和新指标，对于纳米材料安全性评价和纳米毒理学领域发展具有重要意义。

关键词：黑磷量子点；RNA修饰；肺损伤；毒性机制
基金项目：国家自然科学基金（31971234）；国家自然科学基金（32071301）
通讯作者：左正宏，E-mail：zuozhenghong@xmu.edu.cn；何承勇，E-mail：hecy@xmu.edu.cn

T09-0010

TFEB Coordinates Autophagy and Pyroptosis as Hepatocyte Responses to zinc oxide nanoparticles

Xingyao Pei[1], Daowen Li[2], Shusheng Tang[1]
(*1. Department of Pharmacology and Toxicology, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Yuanmingyuan West Road No.2, Haidian District, Beijing 100193, China; 2. Tianjin Key Laboratory of Agricultural Animal Breeding and Healthy Husbandry, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Tianjin Agricultural University, Jinjing Road No.22, Xiqing District, Tianjin 300384, China)*

Abstract: Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) have been widely utilized in the fields of daily ne-

cessities, clinical diagnosis, drug delivery and agricultural production. While, the progressive exposure to ZnO NPs may pose a great threat to the public health. Liver has been known as a critical toxic target organ of ZnO NPs, which have been shown to mediate hepatocyte inflammation and death. However, the question whether ZnO NPs lead to hepatocyte pyroptosis has not been answered yet. and the effect of autophagy on ZnO NPs-induced pyroptosis remains a mystery. This study has confirmed that the autophagy and pyroptosis simultaneously initiated by ZnO NPs were interrelated and the autophagy was identified as a protective response. The NLRP3 inflammasome assemble and the classical Caspase-1/GSDMD-dependent pyroptosis induced by ZnO NPs was modulated by autophagy. In this process, the TFEB gene editing, altered the tendency of ZnO NPs-induced pyroptosis via the regulation of autophagy, lysosomal biogenesis and TRAF6 level. Thus, we have found the TFEB-mediated global regulation of autophagy-lysosome-pyroptosis in respond to ZnO NPs for the first time. These new clues refreshed the cognition related to the liver toxicity mechanism of ZnO NPs, further stressing new insights for the risk assessment of ZnO NPs. Based on this additional implication, targeting TFEB may provide a potential therapy strategy for the autophagy deficient disease and end-stage inflammation in clinical practice.

Key words: ZnO NPs; autophagy; pyroptosis; TFEB; lysosomal biogenesis

Foundation item: Project supported by the National Natural Science Foundation of China (31972740); China Postdoctoral Science Foundation (2021M700708); Research Project of Tianjin Education Commission (2019KJ034) and Talent Cultivation Program of China Agricultural University

Corresponding author: Xingyao Peia, Email: xingyaopei@163.com

T09-0011

SIRT1下调介导纳米聚苯乙烯诱导肺纤维化的分子机制

步文霞，赵子轩，王　瑞，赵新元，唐　娟

（南通大学公共卫生学院职业医学与环境毒理学系）

摘要：目的　明确SIRT1下调在聚苯乙烯纳米塑料（PS-NPs）引起的肺泡上皮细胞（AECs）线粒体功能障碍和肺纤维化中的作用，阐明PS-NPs损伤AECs线粒体功能的上游分子事件，揭示SIRT1下调参与上述分子事件的作用方式和调控机制。**材料和方法**　使用咽后壁滴注法建立小鼠PS-NPs呼吸道暴露模型，通过Masson染色和天狼星红染色等方法评估肺组织纤维化水平，检测AECs中SIRT1表达水平及线粒体功能变化。构建体外PS-NPs暴露AECs模型，检测细胞毒性与线粒体功能相关指标，明确PS-NPs对线粒体功能的影响。检测PS-NPs对SIRT1表达的影响，并从转录、翻译、蛋白质降解等角度阐明SIRT1的调控机制。应用蛋白质谱技术结合免疫沉淀等方法明确SIRT1的相互作用蛋白。最后，通过体内外过表达SIRT1来验证其下调介导PS-NPs诱导AECs线粒体自噬功能障碍及肺纤维化的作用。**结果**　4周PS-NPs呼吸道暴露可引起小鼠肺组织发生肺纤维化，AECs线粒体功能障碍及SIRT1表达下调。PS-NPs可以诱导体外肺泡上皮细胞活力下降、线粒体功能障碍和SIRT1下调。而在小鼠肺AECs上特异性过表达SIRT1能有效减轻PS-NPs诱导的肺纤维化和线粒体功能障碍。体外过表达SIRT1减轻PS-NPs诱导的细胞毒性和线粒体损伤。PS-NPs促进SIRT1经由蛋白酶体降解，提示PS-NPs通过泛素蛋白酶体降解调控SIRT1表达。通过蛋白质谱及免疫共沉淀对SIRT1的互作蛋白鉴定PHB2（线粒体自噬受体）是SIRT1的新互作蛋白。SIRT1抑制剂或PS-NPs暴露增加了PHB2的乙酰化水平，提示SIRT1作为PHB2的乙酰基转移酶，调控PHB2的乙酰化。**结论**　纳米塑料促进SIRT1蛋白酶体降解，继而诱导线粒体损伤，肺泡上皮细胞受损，最终促进肺纤维化发生。该过程可能与PHB2乙酰化调控有关。

关键词：纳米塑料；肺纤维化；沉默调节蛋白1；线粒体自噬

通讯作者：步文霞，E-mail：buwenxia02@163.com

T09-0014

miR-125b-2-3p/HO-1介导的铁死亡在纳米二氧化硅致心肌损伤中的作用

李学燕[1,2], 徐海琳[1,2], 赵新颖[1,2], 李 妍[1,2], 吕松青[1,2], 李艳博[1,2], 郭彩霞[1,2], 孙志伟[1,2]
（1. 首都医科大学公共卫生学院, 北京 100069; 2. 首都医科大学环境毒理学北京市重点实验室, 北京 100069）

摘要:目的 研究纳米二氧化硅(SiNPs)诱导心肌损伤的作用及分子机制,探讨SiNPs能否通过诱导心肌细胞铁死亡导致心肌损伤,并对铁死亡调控机制进行探索。**方法** 体内实验采用非暴露式气管内滴注方式构建SiNPs亚慢性暴露Wistar大鼠模型,32只大鼠随机分为四组:对照组、低、中、高剂量组,对照组滴注生理盐水,剂量组滴注SiNPs悬液,浓度分别为1.5、3.0、6.0 mg/kg·bw,每周一次,共12次,观察心肌损伤,检测心肌铁死亡指标;体外实验使用人心肌AC16细胞,分别以0、12.5、25、50、100 μg/mL SiNPs染毒24 h,进行体外心肌细胞毒性实验研究,同时使用铁死亡抑制剂Fer-1(1.25 μmol·L^{-1},预处理2 h)、HO-1 siRNA和miR-125b-2-3p mimic进行干预处理,探讨SiNPs诱导心肌细胞铁死亡的分子机制。**结果** 体内实验结果表明,SiNPs导致Wistar大鼠心肌损伤,与对照组相比,心肌损伤标志物CK-MB和cTnT水平在SiNPs暴露后明显升高(P<0.05);大鼠心肌ROS、MDA水平明显升高(P<0.05),血清GSH含量下降;血清总Fe和Fe^{2+}含量均显著升高,且高剂量SiNPs暴露后心肌Fe^{2+}含量明显升高(P<0.05);心肌铁储存蛋白FTH1和FTL明显降低,脂质过氧化关键分子ACSL4明显升高,SLC7A11明显降低(P<0.05),GPX4呈下降趋势。体外实验结果也显示,SiNPs导致AC16细胞和线粒体内的Fe^{2+}水平升高;细胞内脂质ROS、MDA含量升高,而GSH含量和GPX4表达明显降低(P<0.05);细胞内TfR、DMT、FTH1、FTL、ACSL4和SLC7A11表达均明显升高,GPX4表达则明显降低(P<0.05)。机制研究发现,Fer-1干预可显著逆转SiNPs诱导的心肌细胞铁死亡;干扰HO-1表达或过表达miR-125b-2-3p后细胞内Fe^{2+}水平及ACSL4、FTH1和FTL的表达均明显降低(P<0.05)。**结论** SiNPs暴露造成Wistar大鼠心肌损伤,与铁超载和组织脂质过氧化有关;铁死亡是SiNPs诱导心肌损伤的重要方式;miR-125b-2-3p靶向HO-1调控SiNPs诱导心肌细胞发生铁死亡。

关键词:纳米二氧化硅; 心肌损伤; 铁死亡; HO-1; miR-125b-2-3p

基金项目:国家自然科学基金(82173551);国家自然科学基金(82073591);国家自然科学基金(81872648)

通讯作者:李艳博,E-mail: ybli@ccmu.edu.cn;郭彩霞,E-mail: guocx@ccmu.edu.cn

T09-0015

线粒体传递——对抗环境神经毒物的细胞间新型防御策略

郑馥荔, 林新培, 罗周嵩, 王 蔚, 常翔宇, 陈 诚, Michael Aschner, 郭振坤, 蔡 萍, 邵文亚, 于广霞, 胡红, 吴思英, 李煌元
（福建医科大学公共卫生学院预防医学系, 福州 350122）

摘要:目的 环境毒物引起的神经退行性损伤已经引起了人们对其潜在毒性的巨大关注。与此同时,细胞-细胞串扰及其在环境胁迫下的作用也越来越受到人们的关注。其中,线粒体从供体细胞转移到受体细胞是在各种应激和/或疾病条件下新发现的细胞内防御策略。我们最近已经证明钴及其纳米颗粒(CoNPs)是阿尔茨海默病(AD)的危险因素,主要体现为Tau过度磷酸化、β淀粉样蛋白聚集和神经炎症。另一方面,我们发现CoNPs还可诱导线粒体损伤和细胞缺陷。然而细胞间线粒体传递在CoNPs致AD样改变中发挥的作用及分子机制并不明确。**材料与方法** 采用Wistar鼠、C57BL/6鼠、秀丽线虫和神经细胞等体内外实验模型探讨CoNPs的毒作用及分子机制;以体外共培养、共孵育模型模拟神经细胞间的交流,探讨线粒体传递对CoNPs所致神经损害的防御机制。**结果** 在CoNPs处理后,我们首次观察到神经元细胞和星形胶质细胞

之间线粒体转移。星形胶质细胞可以通过隧道纳米管(TNTs)将健康的线粒体转移到神经元,并帮助对抗CoNPs诱导的神经元线粒体损伤,进而抑制其凋亡。这种线粒体转移防御策略在二氧化钛、多壁碳纳米管等多种纳米材料中得到了进一步的验证。PI3K/AKT通路触发了TNTs的形成和随之启动的防御系统。另一方面,我们观察到胶质细胞的线粒体可以通过微囊泡(MVs)转移到受体神经元。CoNPs处理后的胶质细胞所释放的MVs (CoMVs)的尺寸明显大于对照组(CtlMVs),且前者含有更多的线粒体。进一步我们确认,这些MVs中所含的线粒体具有功能。通过将MVs与CoNPs处理的神经元共孵育,研究MVs对受体神经元的影响。用MVs孵育可恢复神经元线粒体功能和细胞活力;反之,去除了线粒体的MVs不能发挥上述积极作用。通过利用立体定向技术荧光特异性标记小鼠海马神经元线粒体和星形细胞线粒体在体内检测上述线粒体转移。**结论** 我们首次在体外和体内研究了线粒体传递策略在纳米材料处理神经细胞中的作用。我们证实了神经细胞之间线粒体传递的两种主要方式:TNTs和MVs,在的环境应激中发挥作用,为神经退行性疾病的预防和治疗提供了新的目标,为环境污染物致健康损害的机制及防治靶点研发提供理论依据。

关键词:线粒体传递; 纳米材料; 神经毒性; 隧道纳米管(TNTs); 微囊泡(MVs)

基金项目:国家自然科学基金(81903352);国家自然科学基金(81973083);国家自然科学基金(22006019);福建省科技创新联合项目(2019Y9020)

通讯作者:郑馥荔,E-mail: f.zheng@fjmu.edu.cn;李煌元,E-mail: lhy@fjmu.edu.cn

T09-0016

肠道微生物和代谢重塑在纳米硒蛋白缓解溃疡性结肠炎中的作用机制研究

王瑞瑞, 杨美婷, 石　明 ,唐　志

(广东医科大学公共卫生学院,东莞市环境医学重点实验室)

摘要:目的 溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis,UC)是一种与肠道菌群失调和肠内稳态失衡密切相关的慢性非特异性炎症性肠病。近年来,探究其发病机制及寻找有效防治药物的进展仍不理想;微量营养素硒(Se)是一种成熟的抗氧化剂,纳米硒蛋白(Se@HS)具有显著的抗氧化特性和抗炎活性,但其对治疗溃疡性结肠炎的作用机制尚未明确。本研究探讨Se@HS对溃疡性结肠炎的干预作用,并进一步探讨肠道微生物和代谢重塑在其干预作用中的潜在机制。**材料和方法** 采用2.5%葡聚糖硫酸钠(DSS)建立溃疡性结肠炎模型;将8周龄雌性小鼠随机分为对照组、模型组、Se@HS低剂量组(0.02 mg/kg/d)和Se@HS高剂量组(0.1 mg/kg/d)。对低剂量组和高剂量组灌胃一周,一周后,除对照组外,其余组别均进行造模,并继续灌胃。分别在造模后第3、5、8天收集各组小鼠粪便,储存在−80℃备用;实验期间观测小鼠体重及粪便情况,进行疾病活动指数(DAI)评分;自造模第11天后处死存活小鼠,HE染色观察结肠病理情况,qPCR检测结肠组织TNF-α、IL-10、claudin-1、claudin-2的mRNA表达;提取粪便样品中的DNA,进行微生物16S rRNA基因测序分析;取小鼠结肠组织进行气相色谱-质谱(GC-MS)非靶向代谢组检测。**结果** UC小鼠实验模型在疾病症状上与UC临床表现基本一致;本研究发现高剂量Se@HS可明显缓解小鼠的溃疡性结肠炎症状:改善小鼠体重减轻,缓解小鼠腹泻和便血程度,减轻结肠组织炎症损伤;与模型组相比,TNF-α、claudin-2表达降低,IL-10、claudin-1表达升高($P<0.05$);微生物16S rRNA测序结果表明,模型组小鼠肠道微生物多样性降低,补充Se@HS使肠道菌群多样性显著增加($P<0.05$);模型组门水平厚壁菌门、疣微菌门丰度减少,属水平阿克曼氏菌(AKK菌)、瘤胃菌属和经黏液真杆菌属丰度降低,Se@HS干预后以上菌群的相对丰度都得到了增加,其中高剂量组AKK菌的增加更显著。结肠组织代谢组学结果提示,嘌呤代谢物在Se@HS干预后显著上调。值得注意的是,本研究发现AKK菌与嘌呤代谢物呈显著正相关($P<0.01$)。**结论** Se@HS能显著缓解DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎,且肠道微生物群和代谢重塑在Se@HS改善小鼠急性结肠炎中发挥着重要作用。特别地,Se@HS可能主要通过AKK菌参与肠道代谢反应,从而改善肠道黏膜屏障功能。

关键词:溃疡性结肠炎; 纳米硒蛋白; 肠道微生物; 代谢重塑; 代谢组学

作者简介:王瑞瑞,E-mail: xxxxrr0601@163.com

通讯作者:唐　志,E-mail: ztang@gdmu.edu.cn

T09-0017

基于生物信息学分析聚苯乙烯纳米塑料诱导肺损伤的作用机制

张天翊，杨 圣，葛毅凌，万 昕，朱雨欣，李 洁，尹立红，浦跃朴，梁戈玉
（环境医学工程教育部重点实验室，东南大学公共卫生学院，江苏 南京 210009）

摘要：目的 探究纳米塑料诱导的呼吸毒性及其潜在机制。**材料与方法** 我们使用聚苯乙烯纳米塑料（PS-NPs）作为暴露物处理BEAS-2B细胞。根据细胞活力的检测结果，我们选择了0 μg/cm²、7.5 μg/cm²和30 μg/cm² PS-NPs处理组分别作为对照组，低剂量组和高剂量组并进行RNA-seq。找出低剂量组和高剂量组中变化的共同差异基因，进行生物信息学分析找到纳米塑料诱导BEAS-2B细胞损伤的关键通路和分子，然后结合来自GEO数据集的肺损伤的动物实验数据进行联合分析。最后，通过qRT-PCR在两种人肺上皮细胞（包括BEAS-2B和HPAEpiC细胞）中验证关键基因。**结果** 与对照组相比，7.5 μg/cm²和30 μg/cm² PS-NPs暴露组中共有1812个差异基因变化趋势一致；对差异基因行KEGG和GO分析，结果显示氧化应激相关通路被大量富集；DCFH-DA染色结果证实纳米塑料暴露24 h后显著增加BEAS-2B和HPAEpiC细胞氧化应激水平；利用DAVID在线网站预测调控差异基因的10个关键转录因子，并结合Genecards数据库筛选出9个氧化应激相关的转录因子（BACH1，SOX9，FOXO3，GATA2，GATA6，STAT3，PBX1，NFE2，FOXO4）和所有差异基因，构建氧化应激相关的TF-mRNA调控网络；结合GEO数据库，我们从大鼠肺组织的微阵列分析中获得16个候选基因。在与TF-mRNA调控网络的基因取交集后，确定氧化应激相关基因TNFRSF12A（也称为 Fn14、TWEAKR、CD266）是RNA-seq数据和GEO数据中趋势一致的关键基因。最后，在两种人肺上皮细胞（包括BEAS-2B和HPAEpiC细胞）中验证9个转录因子和TNFRSF12A。qRT-PCR结果显示，10个基因的表达与RNA-seq中表达趋势一致。**结论** 纳米塑料可能通过激活氧化应激诱导肺损伤，TNFRSF12A作为一种参与调节氧化应激的明星分子，可能是纳米塑料引起的肺损伤的一个关键靶点。

关键词：纳米塑料；肺损伤；RNA-seq；氧化应激

通讯作者：梁戈玉，E-mail：tyi_zhang@163.com

T09-0018

纳米材料靶向胞内特定蛋白阻碍有丝分裂的纳米生物学机制研究

李 洋，喻学锋，李红昌
（中国科学院深圳先进技术研究院）

摘要： 细胞凋亡是纳米材料诱发的较为常见的毒副作用，但以前的研究多认为其是由于纳米材料较大的比表面积诱导细胞损伤如胞内ROS升高引起的。尽管纳米材料诱导的细胞周期阻滞之前有过报道，但其潜在的分子机制在很大程度并未报道。近期我们发现纳米磷可作为特异靶向细胞内中心体及PLK1激酶，引起有丝分裂异常及相应的细胞凋亡这一新颖而独特的纳米生物学效应。机制上，相关效应与纳米材料诱导的胞内氧化应激无关，而是纳米磷通过非致死性溶酶体泄漏效应直接与PLK1相互作用，从而诱导PLK1聚集体的形成，限制了中心体对PLK1的招募和激活。功能上，PLK1的失活及缺失导致中心体在有丝分裂中的不稳定，引发中心体破碎并最终导致细胞死亡。基于上述作用和机制，纳米磷在小鼠肿瘤模型中表现出了良好的抗肿瘤能力。本研究首次系统的探索了纳米材料诱发细胞周期障碍的原因，明确纳米磷可特异靶向中心体激酶PLK1并用作DNA checkpoint抑制剂，为纳米磷潜在的医学应用及后续的药物开发奠定基础。

本论文为提出了纳米材料可具有明确的胞内外分子靶点，为纳米“核心”药物开发开创了先河。并暗示在纳米药物的开发中，应注重探索纳米材料自身固有的、特定的生物学性质和特异的生物靶标，为基于分子

细胞生物学的纳米“核心”药物开发奠定了基础。

关键词：纳米毒性，细胞周期障碍，中心体，蛋白靶向，纳米磷

通讯作者：李　洋，E-mail：yang.li@siat.ac.cn

T09-0020

纳米炭铁混悬注射液的抗肿瘤活性与安全性评价

杨胜韬[1]，黄源芳[2]，曾　诚[2]，唐小海[2]

（1. 西南民族大学化学与环境学院，成都 610041；2. 四川瀛瑞医药科技有限公司，成都 610095）

摘要：目的 铁死亡是近年来备受重视的肿瘤治疗途径。通过铁死亡抑制肿瘤的纳米药物多数结构较为复杂，在规模化生产和提高批次间产品的一致性方面存在较大的困难。本研究通过简单的合成工艺制备纳米炭铁混悬注射液，诱导肿瘤铁死亡，实现肿瘤的高效抑制，并对产品进行安全性评价。**方法** 将纳米炭与硫酸亚铁混合配伍制备纳米炭铁混悬注射液。用细胞模型测定纳米炭铁对细胞活力、羟基自由基、超微结构的变化。瘤内注射后测量肿瘤体积和质量、小鼠生存期、纳米炭铁的生物分布与瘤内铁含量、肿瘤羟基自由基水平、凋亡水平、氧化应激、基因差异分析等。静脉注射和瘤内注射后测量小鼠体重、血生化、血常规、组织病理切片等。**结果** 纳米炭铁混悬注射液水合粒径为190 nm，分散液稳定性高，铁以二价形式存在。纳米炭铁对肿瘤细胞活力的抑制具有明显的剂量效应，引起细胞羟基自由基水平升高。纳米炭铁可以进入细胞。瘤内注射后，纳米炭铁主要富集在肿瘤内，滞留时间超过14天，不引起其他组织器官铁含量显著升高。纳米炭铁显著抑制肝癌模型、结肠癌模型等肿瘤的生长，荷瘤小鼠的生存期有明显延长。纳米炭铁导致肿瘤羟基自由基水平上升、凋亡显著、谷胱甘肽消耗和脂质过氧化，证明产生了严重的铁死亡。纳米炭铁导致铁死亡相关基因变化，同时引起炎症相关基因变化。纳米炭铁在较低剂量下具有良好的生物安全性，对小鼠体重增加的影响小。血生化和血常规制备变化较小，主要为AST下降、ALP上升等。主要脏器的组织病理学特征无明显变化。**结论** 纳米炭铁诱导肿瘤铁死亡，对多种肿瘤具有抑制作用，安全性较高。纳米炭铁已经获批开展临床试验研究，有望为肿瘤患者提供新的治疗药物。

关键词：纳米炭铁；铁死亡；肿瘤治疗；C-13标记；安全性

通讯作者：杨胜韬，E-mail：yangst@pku.edu.cn；唐小海，E-mail：pharmmateceo@aliyun.com

T09-0021

大气超细颗粒物难溶碳核心停止暴露后干扰细胞内铁稳态

赵可达，杨紫云，李心怡

（河南省新乡市红旗区金穗大道601号新乡医学院，河南 新乡 453000）

摘要：目的 大气颗粒物中粒径在100 nm以下的颗粒物被称为超细颗粒物（UFPs），UFPs与人类活动密切相关且浓度波动剧烈，且更易深入并沉积在肺部，带来更高的健康风险。其巨大的比表面积可能与机体中的生物大分子相互作用，但是，对于纳米颗粒物的强吸附性对细胞内铁稳态的影响，未见相关报道。因此，本研究以碳黑（CB14）为难溶碳核心模型，旨在揭示肺部沉积的难溶碳核心对铁稳态的影响。**材料与方法** 为确定模型颗粒物对细胞铁铁稳态的影响情况，分别设置C-C为对照组和4个处理组（CB-C、C-FAC、CB-FAC、CB+FAC），暴露支气管上皮细胞（BEAS-2B）4小时后利用ICP-MS检测细胞中非血红素铁和锌元素的水平。结合LDH（Beyotime，Beijing，C0017）方法检测处理组对细胞膜完整性的影响。**结果** 碳核心暴露可导致细胞内铁含量增加。处理组暴露后，细胞外LDH水平与对照组无显著异常，表明细胞膜完整无显著异常，且细胞内锌元素水平无显著增加，处理组中细胞内非血红素铁水平显著高于对照组，非血红素铁水

平依次为：C-C<CB-C<C-FAC<CB+FAC<CB-FAC。结果表明，CB14暴露导致细胞内铁含量显著高于对照组，CB14与FAC共暴露组细胞内铁含量高于FAC单独暴露组，表明碳黑可导致细胞内铁含量增加。对于CB导致细胞内活性氧水平增加的原因，推测可能是CB14暴露后可能上调细胞铁摄入相关蛋白的表达水平，从而在停止暴露后导致铁摄入增加。首先，CB14对细胞膜完整性和细胞内锌元素水平无显著影响，排除CB14通过细胞膜通透性影响细胞内铁水平。第二，CB和FAC共同暴露后，细胞内铁含量显著高于FAC单独暴露，表明CB可增加细胞对铁的摄入，可能通过"特洛伊木马"效应导致细胞铁含量增加。第三，先后暴露CB14及FAC后细胞内非血红素铁水平显著CB和FAC共同暴露组，具体机制需进一步进行研究。**结论** 大气颗粒物中难溶碳核心可干扰细胞内铁稳态，可能通过上调细胞铁摄入相关蛋白的表达水平，从而在停止暴露后导致铁摄入增加。

T09-0022

氧化石墨烯的体内转运、蓄积和清除特征：表面化学修饰和尺寸效应影响

汪 冰，陈 伟，梁姗姗，方 昊，杨 璞，郑令娜，王 萌，丰伟悦
（中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室，中国科学院高能物理研究所，北京 100049）

摘要：氧化石墨烯（Graphene oxide，GO）是由碳原子紧密排列组成，只有一个原子层厚度的二维层状晶体，具有良好的亲水性和生物相容性，在水和气体有机溶剂中可形成稳定的悬浊液，表面具有丰富和含氧基团，通过共价键、疏水作用、氢键作用等与药物分子和其他大分子作用，易于修饰和功能化，非常适于在生物医学领域应用。氧化石墨烯（graphene oxide，GO）是通过对石墨烯进行氧化处理获得的，它保留了石墨烯大的平面结构和大的比表面积，同时引入了亲水基团，如环氧基、羟基（存在于片的顶面和底面）以及羧酸基团（存在于边缘）。这些亲水基团可以通过氢键、静电作用、π-π堆积和共价键与其他物质相互作用，使得GO成为生物活性分子的潜在载体平台，因此，GO被用作石墨烯的潜在替代品，以取代其生物应用，在药物输送、癌症治疗和治疗诊断学等生物医学方面都有广阔的应用前景。因此，氧化石墨烯在体内吸收、分布、转运、清除，即ADME和在此过程中引发的潜在毒性效应研究就显得尤为迫切和重要。本工作研究了聚乙二醇（PEG-）和聚乙烯吡咯烷酮（PVP-）修饰的GO（GO-PEG）

氧化石墨烯（GO）纳米片在无论在工业领域还是大量生物医学应用中都显示出了优异的物理、化学和生物性能，具有巨大的应用前景，了解其在体内的生物分布及其代谢行为对碳纳米材料的生物安全应用意义重大。在前期的研究中，我们采用了稀土元素标记的方法研究了表面不同化学修饰的GO在动物体内的分布、转运和排出（ADME）动力学特征，并发现GO可以经肾脏通过尿液排出体外。本年度我们重点研究了尺寸不同的PEG修饰的GO（70 nm 和300 nm）在肾脏的排出过程和生物学效应。研究发现两个尺寸的GO（s-GO和l-GO）都可经肾脏通过尿液排出，l-GO在肾脏的分布比例高于s-GO。例如，l-GO（300 nm）在暴露后24 h，肾脏的分布可达11%，随时间延长，含量逐渐下降；在暴露后28 d，肾脏中仅有0.6%的GO，表明其在肾脏中可以被清除。LA-ICP-MS成像结果和红外显微成像表明l-GO在肾脏皮质和肾盂中呈现不均匀的分布模式。进一步的TEM成像观察到在肾小管上皮细胞和肾小管管腔中含有大量GO纳米材料，也表明其可以通过肾脏途径被排出。血清生化分析的结果表明，GO经肾脏排出的过程中，对肾脏功能有一定的影响，尾静脉注射15 mg/kg s-GO和l-GO导致小鼠血清肌酐的含量显著升高，并呈现尺寸依赖性。此外，GO经肾脏排出的过程诱导了肾脏有机阳离子和有机阴离子转运体mRNA表达量明显升高。体外细胞实验研究表明，s-GO和l-GO对人源肾脏细胞，包括肾小球血管内皮细胞（HRGEC），肾小球足细胞（Human podocyte）和肾小管上皮细胞（HK-2）都呈现出剂量和时间依赖性的细胞毒性效应。当暴露剂量为50 μg/mL，作用24 h后，s-GO和l-GO显现出明显的细胞毒性，并且l-GO较s-GO细胞毒性效应更为明显。

T09-0023

YAP/TFRC/ALOXE3通路参与石墨烯量子点致铁死亡和炎症的机制研究

吴添舒，王馨语，陈　敏，陈思远，范徐清，郁云博，郑雯欣，苏普麦提玉，孔　璐，唐　萌
（环境医学工程教育部重点实验室，东南大学公共卫生学院，南京　210009）

摘要：目的　本文研究氨基修饰的石墨烯量子点（A-GQDs）诱发小鼠海马体和体外培养的小鼠小胶质细胞（BV2细胞）铁死亡和炎性反应的分子调控机制。**方法**　采用病理染色、免疫组化和ELISA试剂盒检测0.1和1 mg/kg BW A-GQDs鼻腔暴露28天后小鼠海马区铁死亡效应和神经炎症，通过腹腔注射1 mg/kg BW铁死亡特异性抑制剂Ferrostain-1（Fer-1）验证；应用CCK8、荧光探针、ELISA、qRT-PCR和WB方法，结合慢病毒转染技术在BV2细胞上探索A-GQDs导致铁死亡并诱发炎性反应的分子机制。**结果**　鼻腔滴注1 mg/kg BW的A-GQDs导致小鼠大脑海马区神经细胞死亡数量、亚铁离子和脂质过氧化水平显著增高，以及小胶质细胞激活和促炎性因子含量增多，这些效应均能被Fer-1缓解，提示A-GQDs导致的小胶质细胞铁死亡可能是其诱发神经炎症的原因之一。我们进一步在BV2细胞上发现A-GQDs导致细胞发生铁死亡后会释放高迁移率组蛋白1（HMGB1），进而增加TNF-α的分泌。通过基因芯片数据，我们聚焦到A-GQDs可能影响了Hippo通路，在观察到A-GQDs暴露的BV2细胞内Hippo通路核心因子YAP的核转移后，通过下调和上调BV2细胞中YAP的表达，我们发现p38 MAPK促进的YAP核转移在A-GQDs诱发铁死亡中发挥关键作用。入核的YAP转录调控转铁蛋白受体蛋白（TFRC）和花生四烯酸脂氧合酶3（ALOXE3）表达增高，前者导致细胞内二价铁含量显著增高，后者则显著提升了细胞内MDA含量和ACSL4表达。**结论**　A-GQDs暴露促进p38 MAPK磷酸化进而导致YAP1核位移并调控TFRC和ALOXE3的转录表达，通过诱导细胞内铁超载和脂质过氧化促发小胶质细胞铁死亡，铁死亡细胞进而释放促炎性因子导致神经炎症。

关键词：海马体；小胶质细胞；铁超载；脂质过氧化；HMGB1；p38 MAPK
基金项目：国家自然科学基金面上项目（82103884）
通讯作者：吴添舒，E-mail：ninatswu@seu.edu.cn

T09-0024

纳米材料生物转化及其免疫效应：毒性影响及潜在应用

彭国涛[1,2]
（1. 同济大学环境科学与工程学院，污染控制与资源化研究国家重点实验室，东方医院医工交叉研究院，上海　200092；2. 同济大学长江水环境教育部重点实验室，上海污染控制与生态安全研究院，上海　200092）

摘要：纳米材料可以通过口服、吸入、皮肤接触等方式进入生物体，引发潜在的毒性效应；而工程性纳米材料因其独特的小尺度特性、大比表面积、免疫调节性能等表现出巨大的生物医学应用潜力。免疫系统作为人体健康的第一道防线，参与外源物质的识别与清除，影响大部分疾病的进程与治疗。因而，全面解析纳米材料的生物转化及其免疫效应对深入理解纳米材料的生物安全性、指导功能性纳米材料的设计与应用具有重要的科学意义。一方面，纳米材料可通过不同暴露路径诱发生物体炎症反应及免疫响应，而生物体可通过降解纳米材料缓解其引发的毒性效应。作者最近的研究表明，氧化石墨烯通过干扰肠道菌群进而诱导斑马鱼2型免疫应答，调节宿主先天免疫系统的发育和功能；而肠道内皮细胞可通过一氧化氮/过氧亚硝酸盐路径降解氧化石墨烯，从而缓解纳米材料引发的肠道炎症。纳米材料也可经皮肤接触，产生活性氧自由基，进而引发皮肤氧化胁迫及炎症反应，进一步降低生物体对其他环境污染物的耐受性。另一方面，纳米材料可通过生物转化诱导免疫细胞极化及免疫记忆，表现出潜在的纳米医学应用潜力。以人体原代免疫细胞为模型，作者研究发现，低浓度氧化石墨炔可诱导M2巨噬细胞向M1巨噬细胞极化，调节细胞因子的释放，最终通过一氧化氮/过氧亚硝酸盐氧化路径在M1巨噬细胞内发生降解，表现出了纳米材料在肿瘤免疫治疗

中的潜力。此外，生物友好型二硫化钼纳米材料通过在巨噬细胞中转化为生物可利用的钼酸根离子，参与细胞酶的合成，进而诱发巨噬细胞的先天免疫特性，表明纳米材料可作为新型免疫佐剂用于疫苗的研发。因此，全面解析纳米生物界面（nano-bio interface）行为，聚焦纳米材料与免疫系统的相互作用关系，对深入剖析纳米材料对人体健康的毒性效应，指导功能性纳米材料的安全性（safer-by-design）及功能性设计（functional-by-design）具有重要的科学意义。

关键词： 纳米-生物界面；免疫系统；纳米生物安全性；纳米医学

通讯作者： 彭国涛，E-mail：guotaopeng@tongji.edu.cn

T09-0025

微/纳塑料聚苯乙烯和邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯联合暴露改变小鼠肠道菌群内稳态并触发认知能力下降

闫 峻，韩 洁，贾 瑞，李 康，林本成，刘晓华，袭著革
（军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所）

摘要：目的 环境微/纳塑料吸附污染物复合暴露的生物安全性评估资料非常有限。本研究旨在探讨聚苯乙烯（PS）吸附邻苯二甲酸二（2-乙基）己酯（DEHP）复合暴露对小鼠神经行为的影响及潜在机制。**材料和方法** 采用雄性C57BL/6N小鼠，分别给予PS（粒径50，500和5000 nm），DEHP以及PS吸附DEHP的复合溶液，连续口服暴露90天。通过旷场、水迷宫等行为学实验对小鼠的行为和记忆能力进行评价。利用组织病理学观察小鼠脑和肠组织病理变化；通过ELISA、免疫组化和免疫荧光法检测样本中炎性因子、内分泌水平及相关蛋白表达；利用高通量测序及靶向代谢组学技术分析肠道菌群结构、菌群代谢产物及神经递质水平。**结果** 与对照组和单独PS或DEHP暴露相比，联合暴露尤其是50 nm PS与DEHP复合暴露能导致小鼠出现焦虑行为和学习记忆能力下降，破坏血脑屏障和肠屏障，并诱导神经和肠道炎症。海马和结肠中神经递质5-羟色胺（5-HT）和5-羟基吲哚乙酸（5-HIAA）水平显著升高（$P<0.05$），乙酰胆碱（ACH）、多巴胺（DA）、雄激素受体（AR）和雌激素受体（ERα）水平显著降低（$P<0.05$）；血清中皮质醇（COR）和促肾上皮质激素释放激素（CRH）水平显著增加、睾酮（T）水平显著降低（$P<0.05$）。同时，一些肠道菌群，如Ileibacterium、Acetitomaculum、Desulfovibrio和Oligella及其代谢产物发生特异性改变，并且与神经行为异常、血脑屏障损伤、炎症、神经递质和内分泌水平呈显著相关性。**结论** PS和DEHP联合暴露增强了单独PS和DEHP暴露的神经毒性效应，尤其是50 nm PS与DEHP联合暴露能导致小鼠焦虑行为和学习记忆能力下降，而肠道菌群及其代谢产物的改变在PS和DEHP联合暴露诱发神经毒性中起关键作用。PS与DEHP联合暴露能够通过改变肠道菌群内稳态，进而通过肠-脑轴途径触发神经行为异常及认知能力下降。本研究为PS与环境污染物复合暴露对生物体神经毒性评估及相关机制提供线索，也为环境污染防控提供毒理学资料。

关键词： 微/纳塑料；PS；复合暴露；DEHP；神经毒性；肠-脑轴

作者简介： 闫 峻，E-mail：yanjying@sina.cn
通讯作者： 袭著革，E-mail：zhugexi2003@sina.com

T09-0026

纳米氧化铜通过氧化应激触发内质网应激诱导大鼠肝脏毒性的机制研究

刘焕亮，来文庆，田 蕾，李 康，袭著革，林本成
（军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所，天津 300050）

摘要：目的 纳米氧化铜（Nano-CuO）的毒性效应近年来受到广泛关注，但是有关Nano-CuO引发的氧

化应激与内质网应激(ERS)之间的关联及其机制的研究较少。本研究中,我们结合体内和体外实验研究了Nano-CuO通过氧化应激触发ERS导致雄性大鼠肝脏毒性及大鼠肝脏细胞系BRL-3A细胞凋亡的机制。**材料与方法** 体内实验中,Wistar雄性大鼠随机分为空白对照组,生理盐水溶剂对照组及10 μg/g体重的Nano-CuO暴露组,连续鼻内滴注60 d,采集血清及肝脏组织用于后续检测。体外实验中,不同浓度的Nano-CuO(0,5,10,20 μg/mL)与BRL-3A细胞共培养24 h后,收集细胞进行相关指标检测。**结果** 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)检测发现,暴露组大鼠肝组织中Cu元素的含量显著升高,说明Nano-CuO呼吸暴露可转运至肝脏组织中,并且导致血清中肝功能生化指标ALT、AST、BIL显著升高,而ALP显著下降,表明Nano-CuO引发了肝脏功能损伤。组织病理学及超微结构观察发现肝脏组织出现了明显的局部灶性坏死,炎性细胞浸润、一定程度的脂肪沉积及细胞亚结构的破坏;同时,TUNEL染色发现Nano-CuO可致肝组织发生大量细胞凋亡。上述结果表明Nano-CuO暴露对大鼠的肝脏结构和功能均造成了损伤,并引发了细胞凋亡。为了研究其作用机制,我们检测了肝组织中氧化应激指标MDA、GSH、GSH-PX、SOD、iNOS及炎性因子MCP-1、IL-1、IL-1β、TNF-α、IL-6的水平,发现Nano-CuO暴露可致肝脏组织发生氧化应激和炎性反应;RT-qPCR和Western blot实验检测了大鼠肝脏组织中ERS激活途径PERK/ATF6/IRE1相关关键因子和细胞凋亡通路相关因子CHOP、JNK、Caspase-12的mRNA与蛋白的表达情况,发现Nano-CuO暴露引发了过度的ERS反应,从而诱导了细胞凋亡。体外实验发现,不同浓度的Nano-CuO(0,5,10,20 μg/mL)与BRL-3A细胞共培养24 h后,可致细胞存活率显著降低、ROS和线粒体膜电位水平显著上升,并引发了细胞凋亡;同样ERS激活通路及细胞凋亡相关因子的mRNA与蛋白表达水平发生了显著变化;而在20 μg/mL的Nano-CuO处理组中加入抗氧化剂NAC(5 mmol·L^{-1})后,则能够显著抑制上述损伤效应的发生,说明氧化应激机制发挥了重要作用。**结论** Nano-CuO鼻腔滴注可转运至大鼠肝脏组织,使肝脏细胞产生大量的ROS等自由基,触发了氧化应激,破坏了内质网的稳态平衡,进而激发了ERS,诱发了细胞凋亡,最终导致大鼠肝脏结构和功能的损伤。

关键词:纳米氧化铜;氧化应激;内质网应激;肝脏毒性;细胞凋亡

作者简介:刘焕亮,E-mail: tjliuhuanliang@126.com

通讯作者:林本成,E-mail: linbencheng123@126.com;袭著革,E-mail: Zhugexi2003@sina.com

T09-0027

褪黑素对纳米炭黑颗粒致线粒体功能障碍诱发胎盘细胞铁死亡的保护作用

李　劲, 徐泽桦, 申河清

(厦门大学公共卫生学院, 福建 厦门 361102)

摘要:目的 本研究旨在探讨不同粒径的纳米炭黑颗粒(CBNPs)暴露导致胎盘细胞的损伤是否有差异及其可能的分子的机制,同时探究褪黑素的保护作用。**方法** (1)通过100 μg/mL, 30 nm和120 nm CBNPs处理胎盘细胞系HTR8-SVneo后,检测线粒体功能相关的指标;(2)检测铁死亡相关指标,并使用铁死亡干预剂(Ferrostastin-1)进行挽救实验;(3)使用褪黑素进行干预后,检测线粒体功能相关指标及铁死亡相关指标。**结果** (1)30 nm和120 nm CBNPs均能引起ROS水平升高,线粒体膜电位的下降,P62,LC3Ⅱ,PINK1蛋白水平的升高,激活miR-17/TXNIP/NLRP3信号通路,但仅30 nm的颗粒能引起mtDNA拷贝数的下降,而120 nm CBNPs不引起mtDNA拷贝数的变化;(2)仅30 nm的炭黑纳米颗粒能引起GPX4蛋白水平的下降,GSH:GSSG比值下降,MDA水平升高,而120 nm的处理并不改变这些指标。Ferrostastin-1干预能够回复30 nm CBNPs处理后细胞的GPX4蛋白的表达水平及GSH:GSSG比值,降低ROS、MDA的水平。(3)褪黑素预处理能够改善CBNPs引起的线粒体功能障碍,表现为:抑制ROS的升高,升高线粒体膜电位,抑制miR-17/TXNIP/NLRP3信号通路,升高mtDNA拷贝数。同时褪黑素也降低了P62,LC3Ⅱ,PINK1蛋白的表达水平。**结论** 30 nm CBNPs导致胎盘细胞线粒体功能障碍进而诱发了铁死亡,与线粒体自噬密切相关;同时120 nm虽然也能引起线粒体功能障碍,但效应没有30 nm CBNPs明显且并不能引起

细胞铁死亡，表明CBNPs的毒性有明显的的粒径依赖性，粒径更小的CBNPs能引起更严重的胎盘细胞的损伤。同时，褪黑素的干预能够很好地缓解CBNPs引起的胎盘细胞损伤。

关键词：纳米炭黑；线粒体功能障碍；铁死亡；胎盘细胞；褪黑素

基金项目：国家自然科学基金（22076158）

通讯作者：申河清，E-mail：hqshen@xmu.edu.cn

T09-0028

miR-1a-3p/Twinfilin 1在轮胎磨损颗粒吸入暴露致肺损伤中的作用机制研究

李燕婷，石 腾，李 鑫，张建中，季晓亚，郑玉新，唐敬龙

（青岛大学公共卫生学院，山东 青岛 266071）

摘要：目的 随着汽车需求量的不断增加以及新能源车辆的快速发展，与燃烧相关的初级排放不断减少而轮胎磨损和刹车制动磨损等过程中产生的污染物在移动源污染总量中所占的比例正逐年增加，轮胎磨损颗粒（Tire wear particle，TWP）成为近年来日益受到关注的新型交通来源污染物。因此，本研究拟对TWP吸入暴露致肺损伤的表现及其表观遗传学机制进行初步探索。**方法** 使用7周龄野生型C57BL/6小鼠，经手持式液体气溶胶肺递送装置产生TWP气溶胶并将其输送到肺部。对照组给予生理盐水，暴露组染毒剂量分别为0.125、0.5、1 mg/kg，单次染毒后正常饲养28天。末次称重后使用强迫振荡呼吸技术测定小鼠肺功能，采集支气管肺泡灌洗液，行组织病理学检查探究TWP吸入暴露产生的肺部损伤类型。选取人正常肺支气管上皮（BEAS-2B）细胞进行TWP染毒，通过双荧光素酶报告基因检测miRNA与其靶向mRNA的结合作用，并通过细胞转染、细胞骨架染色、免疫荧光等实验分析细胞骨架重排在TWP诱导肺损伤中的调控作用。**结果** TWP吸入暴露可能引起小鼠PV-loop曲线降低，组织弹性减弱以及肺功能参数FVC、FEV0.1、FVC/FEV0.1、PEF降低，提示出现限制性通气功能障碍。随着暴露剂量的增加，小鼠肺部出现肺泡狭窄、肺泡壁增厚、纤维组织增生等病理改变，同时伴随E-cadherin蛋白的显著下调以及胶原的沉积，进一步说明TWP吸入暴露可致纤维化样损伤。经测序发现，暴露组小鼠肺组织miRNA表达谱发生显著变化，其中miR-1a-3p的下调水平明显高于其他miRNA，同时其靶向mRNA-Twinfilin 1表达明显增加。TWP处理BEAS-2B细胞后，Twinfilin 1表达增多，细胞骨架表现出肌动蛋白微丝稀疏的外观，同时细胞迁移速率也明显增加，而沉默内源性的twinfilin-1则逆转了这一变化，提示miR-1a-3p/twinfilin-1轴在TWMP所引起的细胞骨架重排和细胞迁移中起着至关重要的作用。**结论** 本研究首次报道了轮胎磨损微塑料颗粒引起的呼吸系统毒性及其作用机制。miR-1a-3p通过靶向细胞骨架调节蛋白twinfilin 1抑制F-肌动蛋白的形成，从而影响细胞骨架重排，导致TWP诱导的限制性通气功能障碍以及肺纤维化样改变。此外，其他类型的非编码RNA在疾病发病机制中的作用以及可能的新的表观遗传机制也需要进一步探索。虽然我们目前正处于解释表观遗传学在TWP致肺损伤中所起作用的非常早期的阶段，但是本研究的发现可能会使我们更好地理解这一关键过程。

关键词：轮胎磨损颗粒；吸入暴露；纤维化样损伤；表观遗传；细胞骨架重排

基金项目：国家自然科学基金（92043202）；国家自然科学基金（91943301）；国家自然科学基金（81872651）

通讯作者：唐敬龙，E-mail：tangjinglong@qdu.edu.cn

T09-0029

Nrf2自适应调节缓解纳米银诱导的氧化应激相关的肝细胞损伤

郭孟昊，张文丽，牛书彦，尚梦婷，常晓茹，吴添舒，张　婷，唐　萌，薛玉英
（东南大学公共卫生学院 环境医学与工程教育部重点实验室）

摘要：目的 银纳米粒子（AgNPs）因其出色的广谱抗菌活性而被广泛用于工农业和医疗等领域。但其广泛使用引发人们对健康风险的思考和关注，肝脏是AgNPs积累作用的主要目标器官之一。本研究建立HepG2和L02细胞的AgNPs暴露模型，旨在探究AgNPs对肝脏的毒性作用，以补充相关的毒性机制数据。**材料和方法** 用10% FBS的DMEM和PBS中配制浓度为2000 μg/mL的PVP-AgNPs（15 nm）储存液，超声后利用马尔文粒度仪和分光光度仪进行表征检测和紫外吸收峰检测，电镜下观察形态大小。将HepG2和L02细胞在20、40、80和160 μg/mL的AgNPs中暴露12、24或48 h，检测细胞活力、ROS水平、DNA损伤情况、凋亡水平、自噬水平、Nrf2通路变化和细胞周期变化。随后添加NAC和Nrf2 siRNA干预，观察其对AgNPs毒性的影响。**结果** 检测表明PVP-AgNPs为平均直径为21.31±4.00 nm的球形颗粒，在400～430纳米有特定的吸收峰，在PBS和10%FBS DMEM中的水合粒径为69.63±1.0 nm和70.28±1.46 nm，相应的Zeta电位为−3.14±0.45 mV和−3.86±0.34 mV，说明其在不同介质中有一定的团聚性。暴露48 h时HepG2和L02细胞的存活率以浓度依赖的方式明显下降，凋亡水平明显上调，BAX和Caspase3表达升高，BCL2水平降低。此外，HepG2细胞在12、24和48 h时均检测到ROS增多，而L02细胞仅在12 h时检测到ROS爆发。同时，48 h时检测到两种细胞内Nrf2和HO-1上调，keap1下调，表明抗氧化系统失去平衡。γH2AX水平上调，表明DNA损伤。LC3B和p62表达升高，表明自噬通量受阻。细胞周期检测显示，AgNPs以剂量依赖的方式诱导HepG2细胞停滞在G2/M期，细胞周期抑制蛋白p53和p21水平增加，G_2/M期标记蛋白CyclinB1水平下降。然而，AgNPs提高了L02细胞在G0/G1期的比例，p53和p21的蛋白水平升高，G_0/G_1期标志蛋白CyclinD1水平下降。NAC预处理缓解了抗氧化系统的失衡，并抑制了AgNPs在HepG2和L02细胞中诱导的凋亡、DNA损伤和周期停滞。Nrf2 siRNA预处理后，AgNPs诱导的ROS和细胞凋亡水平进一步升高，但细胞周期停滞得到缓解，表明在AgNPs诱导的肝毒性中，Nrf2的上调导致了细胞周期阻滞，以供细胞进行DNA修复等活动，是细胞的自我保护行为。**结论** AgNPs诱导HepG2和L02细胞的氧化还原失衡、凋亡、DNA损伤、自噬和细胞周期阻滞，NAC能够减弱AgNPs的毒性，Nrf2通过阻滞细胞周期为细胞提供了一定的保护。

关键词：纳米银；氧化应激；凋亡；Nrf2；细胞周期阻滞
基金项目：国家自然科学基金（82273674）；国家自然科学基金（81573186）
通讯作者：郭孟昊，E-mail：guomenghaoforever@163.com

T09-0030

外泌体的临床前安全性评价考虑要点

魏丽萍，李嫚琪，谢金华，何伟伟，李英奇，陶巧玉，许瀚林，常　艳
（中国医药工业研究总院，上海益诺思生物技术股份有限公司，上海　201203）

摘要：外泌体是由细胞主动释放到细胞外环境的脂质双层囊泡，来源广泛，携带多种分子，可参与机体多种生理和病理过程。近年来，外泌体作为纳米药物或纳米药物递送系统用于疾病治疗显示出广阔的应用前景。外泌体作为治疗药物具有较高的安全性和较低的免疫原性，外泌体作为内源性生物载体具有较好的生物相容性。但由于外泌体的纳米尺寸、复杂组分，及靶向修饰等特殊性，其安全性评价不能完全采用传统毒理学方法。外泌体非临床研究尚无特定指导原则，临床前评价经验较少，临床前试验设计需结合欧洲健康与疾病微囊和外泌体网络（European Network on Microvesicles and Exosomes in Health and Disease,

ME-HaD)对基于外泌体安全性研究的建议,参照细胞及基因治疗产品相关指导原则,并按照“product by product”的原则进行试验设计。评估产品的整体风险时,应考虑各种因素对产品风险的影响,比如细胞的来源、操作程度、培养时间、存活情况和代次,外泌体的储存条件,物理性及化学性处理或基因修饰/改造对外泌体特性的改变程度,使用方式以及预处理等多方面因素。需要根据给药方式进行相应的安全性评价,包括溶血、刺激性和过敏反应的评估。对于外泌体的安全性研究,应分别从其作为治疗药物和药物载体两个角度来考虑。当外泌体作为治疗药物时,除常规一般毒性评价基本内容外,还需特殊考虑由于其纳米尺寸可能带来的神经毒性和生殖毒性风险,外泌体的复杂组分或基因修饰所导致的免疫原性和免疫毒性风险,及可能存在携带致瘤信号的风险。此外,不同物种及不同来源(自体、同种异体、异体、异种)的外泌体生物功能有较大的差异,必须考虑组织相容性的潜在影响。当外泌体作为药物载体时,除外泌体作为药物的特殊考虑点外,还需就不同类型的包载药物(如生物制品、化学药或基因治疗药物)特点开展全面的安全性评价。另外,外泌体作为载体可能导致装载药物的转运模式发生变化,其体内药代动力学行为均可能发生明显变化,进而引起有效性与安全性方面的改变,需选择合适的标记、量化方法,运用一种或多种追踪方法来充分评估在毒性剂量下,全身和/或局部组织的暴露量、组织分布和清除(必要时)以及潜在的蓄积风险。

关键词:外泌体; 临床前; 安全性评价

基金项目:上海市科委研发平台项目21DZ2291000

作者简介:魏丽萍,博士研究生,E-mail: lpwei@innostar.cn;李嫚琪,硕士研究生,E-mail: mqli@innostar.cn

通讯作者:常 艳,E-mail: ychang@innostar.cn

T09-0031

mRNA疫苗递送系统研究概况

刘婉沂, 林俊粒, 盛亚丽, 杨 威, 郭健敏

(1. 广东莱恩医药研究院有限公司,广东省药物非临床评价研究企业重点实验室,国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心,广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心, 广东 广州 510990;
2. 广州华博生物制药研究所, 广东 广州 510990)

摘要: 信使RNA(messenger RNA,mRNA)疫苗是第三代核酸疫苗,可通过相应抗原蛋白的表达刺激机体产生特异性免疫反应,达到免疫治疗目的。与DNA疫苗相比,mRNA无需入核即可表达,无整合到宿主基因组的风险,通过修饰调控mRNA结构/序列和选择不同的递送系统,可调节体内mRNA的半衰期和免疫原性等,mRNA可多次翻译,凭借其平台化的生产方式,具有易于开发且生产工艺相对稳定等特性,针对任意序列已知的目标蛋白,可在短时间内合成其mRNA,节省药物研发时间,具有安全性好、制备效率高、生产快捷等优点,特别适用于研发高变异性病毒疫苗,广泛应用于蛋白替换疗法、传染病以及肿瘤治疗中。COVID-19疫苗mRNA1273在SARS CoV-2基因组序列发布后仅用了63天进入一期临床试验,且用于预防传染病和癌症治疗的mRNA疫苗临床前和临床试验研究报告的相继发布,突出了这种疫苗技术的快速、动态和多功能开发方面的潜力以及现有mRNA疫苗技术平台的可靠性和有效性。然而mRNA分子稳定性较差,易被核酸酶降解而难以有效内化;mRNA分子较大、携带的负电荷多,自身难以有效跨膜进入胞内表达;mRNA自身的免疫原性使其易在表达前被免疫系统清除,裸mRNA递送效率极低,因而mRNA疫苗递送系统的选择至关重要。脂质纳米粒(LNPs)是目前临床进展最快的mRNA递送技术,大部分获得授权使用的新冠mRNA疫苗均采用LNPs作为载体。其他纳米载体分别有基于蛋白/多肽、聚合物、无机材料的纳米载体,更有在纳米颗粒中加入靶向细胞表面分子的抗体或核酸适配体构成的靶向递送系统。通过对递送系统材料进行筛选可显著提高mRNA的递送效率。近年来mRNA疫苗技术取得了快速进展,但是目前对mRNA疫苗作用机制的了解尚不全面,且安全性尚需较长时间观察,加强mRNA疫苗的递送特异性和加强

质量控制是mRNA疫苗长远发展的关键。本文主要对近年来mRNA疫苗递送系统的研究概况进行综述，以期对mRNA疫苗的长远发展提供参考。

关键词：mRNA疫苗；递送系统；脂质纳米粒

作者简介：刘婉沂，硕士，E-mail：liuwanyi@lewwin.com.cn

通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T09-0032

氧化石墨烯的横向尺寸对其肾脏清除途径及肾损伤的影响

陈　伟[1,2]，汪　冰[1]，丰伟悦[1]

（1. 中国科学院高能物理研究所，纳米生物效应与安全性重点实验室，北京　100049；
2. 中国科学院大学，北京　100049）

摘要：目的　肾脏清除是纳米材料从体内排出的主要途径之一。以前的研究发现，具有生物医学应用潜力的氧化石墨烯纳米片（Graphene Oxide nanosheets，GOs）能够通过肾脏大量排出。然而，横向尺寸如何影响GO在肾脏中的清除途径——包括肾小球滤过、肾小管分泌和重吸收，仍然是未知的。因此，迫切需要进一步理解氧化石墨烯纳米片的横向尺寸对其肾脏排泄以及与肾脏相互作用的影响。**材料和方法**　氧化石墨烯纳米片（s-GO约70 nm和l-GO约300 nm）；稀土元素标记；荧光标记；激光剥蚀-电感耦合等离子体质谱；同步辐射显微红外成像；小动物活体成像技术等。**结果**　研究发现两个尺寸的GO都能经肾脏由尿液排出。s-GO可以经肾小球滤过排出，而l-GO则主要通过近端肾小管分泌排出，其肾脏清除率比s-GO快。肾小管上皮细胞的转运体可能介导了GO经肾小管分泌途径的清除。近端肾小管上皮细胞对l-GO的摄取和外排均高于s-GO。与对照组和s-GO处理的小鼠相比，表达在近端肾小管基底膜上的摄取相关的有机阴离子转运体Oat1和Oat2的mRNA表达水平明显上调。但没有发现顶端外排转运体Mdr1和Mrp4 mRNA的明显变化，这意味着GO在肾脏中长期积累的潜在风险。在GO的肾脏清除过程中，15 mg/kg的s-GO和l-GO都造成了明显的肾脏损伤，但损伤部位不同。即s-GO造成明显的肾小球基底膜变化，而l-GO则诱导更明显的肾小管损伤，包括肾小管上皮细胞坏死、刷状缘消失、管型形成等。这些组织病理学变化伴随着白蛋白尿和肾小球滤过率（GFR）的降低。特别是肾小管损伤的生物标志物Kim1和Ngal的mRNA水平在l-GO处理的小鼠中略有增加。此外，炎症细胞因子Ccl2和Tnfa mRNA水平上升了约1.8～3.5倍，表明高剂量的s-GO和l-GO暴露后可能会诱导肾脏炎症。在利用与肾排泄相关的三种典型肾细胞（人肾小球内皮细胞、人肾足细胞和人近端肾小管上皮细胞）研究GOs的横向尺寸对其细胞毒性的影响中发现，高剂量GO诱导细胞活力下降和凋亡增加，细胞内LDH释放，ROS水平升高以及GSH/GSSG比例下降，另外还伴随着线粒体膜电位下降和促炎症细胞因子TNF-A和IL-18的增加。同时，l-GOs比s-GOs具有更明显的细胞毒性，意味着GOs对肾脏细胞的横向尺寸依赖性的毒性。**结论**　这项研究表明，GOs的横向尺寸影响了其与不同肾脏区的相互作用、肾脏排泄途径和潜在的肾脏损伤。

关键词：肾小球滤过；肾小管分泌；氧化石墨烯；肾脏排泄机制；选择性肾损伤；横向尺寸

作者简介：陈　伟，E-mail：achenw@ihep.ac.cn；汪　冰，E-mail：bwangbing@ihep.ac.cn

通讯作者：丰伟悦，E-mail：cfengwy@ihep.ac.cn

T09-0033

纳米氧化锌颗粒对斑马鱼幼鱼神经系统毒性的影响

刘 永，郭家彬，彭 辉
（解放军疾病预防控制中心，北京 100071）

摘要：目的 阐明纳米氧化锌颗粒对斑马鱼幼鱼神经发育毒性的效应及其机制。**方法** 受精4.5 h的斑马鱼胚胎暴露于不同浓度（0.2、1、2.5 mg/L）的ZnO NPs（直径<50 nm）溶液6 d。使用体视显微镜观察发育相关指标，动物运动轨迹跟踪系统（EthoVision XT，Noldus）观察运动行为改变，试剂盒检测氧化应激和神经递质相关指标水平，Tunel矢状位全鱼染色检测细胞凋亡情况，QT-PCR检测神经发育、视网膜发育和干细胞分化相关mRNA水平。**结果** ZnO NPs高浓度暴露引起胚胎孵化率和幼鱼存活率降低，胚胎活动率和心率受到抑制。幼鱼的运动行为发生改变，表现为速度和移动距离减少，转角角度、转角速度和曲折度增加，光暗转换期间的反应敏感性降低。ZnO NPs引起超氧化物歧化酶活性下降和丙二醛含量增加等氧化应激反应，乙酰胆碱酯酶活性和多巴胺含量升高等神经递质水平发生改变。Tunel染色发现胃肠道细胞凋亡较为明显，同时Caspase3含量增加；脑部未见明显细胞凋亡。神经发育（elavl3、mbp、syn2a、lfng、olig2、gfap）、视网膜发育（pax2a、pax6a、six3a、six6a、lhx2b、rx1）和干细胞分化（foxg1a、her5、her6、shha、sox2）等相关mRNA水平上调。**结论** ZnO NPs导致斑马鱼胚胎孵化率、幼鱼存活率、胚胎活动率和心率等发生改变，运动行为异常，神经递质水平改变，神经发育、视网膜发育和干细胞分化mRNA水平上调，引起斑马鱼幼鱼神经毒性。

关键字：ZnO NPs；斑马鱼；胚胎发育；运动行为；细胞凋亡；神经毒性

通讯作者：彭 辉，E-mail：ph1996@126.com

T09-0034

典型纳米材料肝毒性特征及其分子机制

随着纳米科技的迅猛发展，纳米材料毒性研究和安全性评价成为公共卫生和纳米医学领域亟待解决的重要科学问题。肝脏作为机体最大的解毒器官，极有可能是纳米生物事件发生的主要场所。因小尺寸效应，通过各种途径暴露后，纳米材料极易滞留在肝脏，深入阐明基于纳米特性的肝毒性特征及其机制是开展健康风险评估和毒性评价的重要问题之一。以“双碳战略”中新型纳米材料的暴露风险和毒作用机制为切入点，针对含碲化镉的发光纳米材料，阐明细胞内应激反应（氧化应激和内质网应激）在引起靶器官损伤中的作用，提出内质网应激可作为毒作用的早期效应指标；发现量子点通过诱导肝脏氧化应激进一步激活炎症小体可导致肝脏炎症性损伤作用的特征；在亚细胞水平发现量子点线粒体分裂融合抑制和线粒体自噬水平降低介导的线粒体损伤累积，进而诱导线粒体依赖的细胞凋亡在其引起肝细胞损伤中的作用规律。通过上述研究明确量子点致肝损伤作用及其调控肝损伤信号通路的关键分子及标志物。此外，我们还探索了“双碳战略”中典型新能源材料的环境毒理效应。从石墨烯与环境污染物相互作用角度出发，选取氧化石墨烯（GO）和典型环境污染物微囊藻毒素（MCLR）为研究对象阐明“载体效应”对材料生物安全性的影响，研究发现GO通过吸附MCLR形成的复合物GO-MCLR由于氧化程度升高、表面缺陷水平降低表现出相较于单一材料更强烈的细胞毒效应，并诱发细胞凋亡和铁死亡共同作用的毒性特征，提出石墨烯在环境中的“毒物载体效应”概念，为评价包括石墨烯在内典型环境污染物的环境暴露风险和复合毒性提供新依据。以上研究基于生物医学应用和双碳战略的公共卫生问题，以可持续发展为工作主线，开展解析其肝脏毒性效应和机制的研究，为全面认识典型纳米材料肝毒性效应规律，解决纳米材料安全性评估程序中的关键问题提供重要依据。

T09-0035

铁死亡关键通路在纳米氧化铁诱导的细胞毒性中的作用研究

高金玲[1]，周会鸽[2]，陈春英[2]，唐敬龙[1]
（1. 青岛大学公共卫生学院职业卫生与环境卫生学系；2. 国家纳米科学中心纳米生物效应与安全性重点实验室）

摘要：目的 铁死亡是通过铁离子紊乱造成的脂质过氧化物积累引起细胞氧化性损伤的一种细胞死亡新方式。纳米氧化铁颗粒作为一种外源性的铁剂，在工业、医疗以及生活中存在诸多的暴露来源。本研究关注纳米氧化铁进入细胞后，对细胞内铁代谢过程的扰动以及对细胞铁死亡过程的影响，相关结果对于理解纳米氧化铁颗粒引起的细胞毒性具有重要意义。**材料和方法** 本研究中利用超小氧化铁纳米颗粒，对MDA-MB-231细胞进行染毒，利用同步辐射技术X射线近边吸收谱解析纳米氧化铁颗粒在细胞中的代谢过程以及细胞内铁化学形态的变化。利用免疫蛋白印迹以及荧光定量PCR的方法对铁代谢关键基因和蛋白的表达情况进行了定量分析，结合高内涵分析技术、流式细胞术以及生物电镜等手段确定细胞内铁死亡的激活状态。**结果** 超小氧化铁纳米颗粒进入细胞内，逐渐由Fe_3O_4形态转化成Fe-COO-的形态，也就是以铁蛋白的形式储存在细胞内。在铁元素价态转化的过程中，Fe^{2+}也是其存在的主要形式之一，暴露24小时后，细胞内铁元素主要以铁蛋白形式存在，仅保留部分超小Fe_3O_4纳米颗粒形态。铁蛋白基因表达与作用时间存在时间依赖关系，TfR 的表达逐渐降低，FTH 的蛋白表达逐渐增加。部分纳米氧化铁颗粒可通过转铁蛋白介导进入细胞内。氧化铁纳米颗粒暴露后，细胞内谷胱甘肽消耗增加，GPX4活力降低，细胞内过氧化脂质堆积，细胞线粒体皱缩，脊结构减少，提示铁死亡过程被激活。**结论** 纳米氧化铁颗粒暴露细胞后，可导致胞内铁过载的发生，使铁代谢紊乱。谷胱甘肽消耗，活性氧累积到膜上形成脂质过氧化物诱导细胞铁死亡通路激活。本研究为纳米氧化铁颗粒毒性评价提供研究基础，也为职业场所中因暴露氧化铁颗粒引起机体损伤提供新的研究思路。

关键词：铁死亡；纳米氧化铁；铁代谢；细胞毒性

通讯作者：唐敬龙，E-mail：tangjinglong@qdu.edu.cn；陈春英，E-mail：chenchy@nanoctr.cn

T09-0036

PRKCSH在肺癌中的潜在作用：生物信息学分析和纳米氧化锌的案例研究

雷日丹，周美玲，张树生，罗金华，屈　灿，王　银，郭佩玉，黄瑞雪
（中南大学湘雅公共卫生学院，湖南 长沙　410078）

摘要：目的 PRKCSH，也称为葡萄糖苷酶IIβ，通过在严重环境压力下以p53依赖性方式调节细胞周期，从而促进肺肿瘤发生。然而，癌细胞中PRKCSH水平显着增加的预后价值和分子机制尚不清楚。**材料与方法** 分析来自癌症数据库的生物信息学数据生成癌症中PRKCSH表达变化的生物学概况。并使用小干扰RNA构建A549和HepG2的PRKCSH基因敲除细胞系，使用流式细胞术，双荧光素酶报告基因分析，免疫荧光染色和共聚焦激光显微镜，蛋白质免疫印迹分析和coIP等方法研究纳米氧化锌暴露对A549和HepG2细胞的影响。**结果** 我们发现较高的PRKCSH 表达与肺癌患者较差的预后和大多数免疫细胞类型的更大浸润相关。特别是，PRKCSH表达与肺癌组织中的STAT6（r=−0.31，P< 0.001）。我们进一步发现PRKCSH 缺陷促进A549细胞中氧化锌纳米颗粒（Nano ZnO）处理后的G_2/M期停滞。关于机制，PRKCSH缺陷可能诱导 STAT6易位至细胞核，通过与−365 bp至+126 bp的p53启动子区域结合来激活p53表达。最终，激活的p53有助于纳米氧化锌诱导肺癌细胞的G_2/M停滞。**结论** 我们通过分析来自癌症数据库的生物信息学数据以及PRKCSH和STAT6表达之间的关系，生成了癌症中PRKCSH表达变化的生物学概况。此外，我们证明PRKCSH缺陷可能诱导STAT6易位至细胞核，这可能激活p53表达并导致纳米氧化锌诱导

的肺癌细胞 G_2/M 停滞。G2/M 细胞周期检查点对肺癌预后至关重要，靶向 PRKCSH 表达以抑制 STAT6/p53 通路的激活是治疗肺癌的一种有前途的治疗策略。此外，我们的研究结果突出了其他分子靶标，这些靶标可能有助于为肺癌患者提供改进的治疗方法和更准确的预后。然而，未来应该进行额外的研究，例如使用 PRKCSH 基因敲除小鼠或 STAT6 基因敲除小鼠来进一步验证这一发现。

通讯作者：黄瑞雪，E-mail：huangruixue@csu.edu.cn

T09-0037

从小分子到纳米载体和“红细胞搭便车”：有效性与毒性的平衡

周军年，岳 文，裴雪涛

（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，华南生物医药研究院华南干细胞与再生医学研究中心，北京 100850）

摘要：我们长期关注干细胞诱导分化过程中关键蛋白质分子的生物学功能及调控机制研究，包括 TGF-β1 信号通路、干性调控因子 c-Myc、微小染色体维持蛋白 7（MCM7）、蛋白激酶 A 等，并在此基础上开展基于纳米技术、干细胞技术的药物特异性靶向递送和治疗的相关前沿技术研究。

三氧化二砷（ATO）已被证明能成功治疗急性早幼粒细胞白血病（APL），最近有报道显示其在包括肝癌在内的实体瘤中具有治疗潜力。虽然其较好契合了传统中医药“以毒攻毒”的理念，但与此同时，其治疗窗口较窄，低剂量使用的细胞毒性不完全清晰还是在一定程度上阻碍了其在临床的广泛使用。我们研究结果首次揭示了 ATO 通过靶向血清应答因子（SRF）/DNA 解旋酶（MCM7）复合物抑制 MCM7 转录，该复合物又作为调节 MCM7 表达的重要调节因子这样一个自反馈途径，也提示着其对正常机体细胞的一个新的毒性作用机制（Cell Death and Diseases，2019）。

转录因子 c-Myc 是调控干细胞命运的关键蛋白，但也是公认的“难以成药”靶点之一。因此，c-Myc 的调控和干预手段一直是国际竞争的前沿与热点方向之一，相关靶向研究一旦取得重要进展，就会受到广泛关注，并引起干细胞、肿瘤和药物研发领域进一步的突破。我们独辟蹊径从癌症干细胞模型的功能筛选入手，在自主合成化合物库中寻找抑制干性的小分子，再通过组学和药物学等相关分析，从机理上验证其是否靶向 c-Myc。通过上述创新性策略，研究团队获得了抑制 c-Myc 的新型小分子化合物 CU27。其作用机制与第一代 c-Myc 抑制剂（10058-F4/10074-G5）相似（结合到 c-Myc bHLH 结构域上阻断 Myc-Max 异二聚体形成），但抑制干细胞的活性是前者的 10 倍以上，且体内治疗效果显著，可通过促进癌症干细胞分化增加索拉菲尼敏感性，使其有望克服临床转化瓶颈（Advanced Science，2022）。

在此基础上，我们采用了纳米载体进行递送相关小分子和生物大分子。

TGF-β1 因子对于正常机体细胞是一把双刃剑。早期抑制肿瘤发育，但在肿瘤进展晚期通过 EMT 促进肿瘤干细胞产生。我们通过建立的干细胞模型首次表明 miR-125b 能够抑制肝癌细胞 EMT 相关特性，包括耐药、迁移和肿瘤干细胞产生。并发现，miR-125b 在这一过程中至少通过靶向 SMAD2 和 SMAD4 基因发挥抑制作用，其中 SMAD2 为我们发现和鉴定的 miR-125b 新靶基因。相比于以往的研究，我们进行了 miR-125b 治疗肿瘤的实验研究，在裸鼠异体移植模型中，借助于可以用于体内核酸转染的非脂质体类纳米载体，将人工合成的 miR-125b 片段成功导入到人肝癌细胞来源的原发肿瘤组织中，经过一个月的治疗后发现，miR-125b 治疗组中的 CD13 肿瘤干细胞显著性下调，肝癌细胞转移受到明显抑制（Hepatology，2015）。我们也采用最新的纳米脂质体材料 CRISPRMAX，将生物活性酶 PKA 直接递送到细胞内部，并进行了细胞 EMT 状态、耐药性等评估，建立了一种快速递送活性生物酶到细胞内部并评价其生物学功能的复合纳米体系（Pharmaceutics，2020）。

上述纳米载体递送策略在组织原位或细胞模型中效率较高，但纳米载体在静脉中“长途跋涉”后，可能大部分被肝脏和脾脏的巨噬细胞吞噬，很难到达肺部等其他目标靶器官，更别提发挥靶向治疗作用，如果一味的增加输注纳米载体的浓度，会使得细胞毒性显著增加。

基于此，我们借助于“红细胞搭便车技术”建立了纳米“赋能”红细胞，并以阻断新冠病毒入侵宿主细胞为目标进行构建。采用介孔硅纳米载体负载抑制新冠病毒入侵关键酶抑制剂，并偶联ACE2抗体于载体表面，获得可以精准靶向ACE2+细胞的纳米载体，将该纳米载体与红细胞共孵育，获得治疗性“赋能”红细胞。该红细胞经过静脉注射后，可首先富集于肺部，通过肺部远端毛细血管的挤压变形，红细胞释放其“搭载”的纳米载体，纳米载体特异性结合ACE2+细胞，通过内吞作用进入溶酶体后，在酸性环境下特异性降解，抑制剂释放，抑制目标蛋白酶活性，阻断病毒进入细胞。

纳米“赋能”红细胞治疗的优势：1）安全性可靠：红细胞引导肺器官靶向，ACE2抗体偶联纳米载体精准靶向ACE2+细胞给药，避免影响肺部其它细胞正常功能；介孔硅材料生物相容性好，是FDA批准的食品添加剂，且100～500 nm之间的纳米粒可通过呼吸排出体外，无体内代谢沉积。2）有效性有保证：我们的治疗策略为宿主细胞靶向的普适性抗病毒策略，理论上病毒序列变异与否影响不大。3）便捷性：和基因改造的红细胞相比，本方法制备相对便捷，从纳米载药开始只需要2～3天。（unpublished）

关键词：小分子化合物；纳米递送药物载体；红细胞搭便车；靶向治疗；细胞毒性

作者简介：周军年，E-mail：zhoujunnian@scrm.org.cn

通讯作者：岳　文，E-mail：yuewen@bmi.ac.cn；裴雪涛，E-mail：peixt@bmi.ac.cn

T09-0038

慢性纳米二氧化钛粒子暴露致果蝇运动能力异常及机制研究

张　幸，宋园园，孙明宽

（南京医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，南京　211166）

摘要：目的　纳米二氧化钛粒子（titanium dioxide nanoparticles，TiO_2 NPs）是一种被广泛用于消费品制造的纳米材料，具有神经毒性。发育期TiO2 NPs暴露导致多种行为异常。但环境相关剂量TiO_2 NPs暴露是否会导致运动能力异常及相关机制仍然未知。因此，本研究通过建立慢性TiO_2 NP暴露模型，探讨环境相关剂量TiO_2 NPs暴露是否会导致运动能力异常，并分析其可能机制。**材料和方法**　自P0代胚胎期开始，果蝇（W^{1118}）通过食物长期暴露于TiO_2 NPs（0、5、10、15和20 mg/kg）。分析不同代系果蝇的成蛹率、羽化率、蛹的大小和重量。ICP-MS检测不同代系三龄幼虫体内的钛含量。于三龄幼虫阶段和羽化后的第五天，对不同代系的果蝇进行运动活性测试。免疫荧光法观察F3代三龄幼虫神经肌肉接头（neuromuscular junction，NMJ）结构。对三龄幼虫的体壁肌肉进行RNA-Seq测序检测受TiO_2 NPs暴露所影响的基因，并进行qRT-PCR对其进行验证。**结果**　结果显示，慢性暴露于20 mg/kg TiO_2 NPs会显著降低F4代果蝇的成蛹率和羽化率，且在F4代，15 mg/kg和20 mg/kg暴露组蛹的大小和重量较对照组明显减小（$P<0.05$）。ICP-MS结果显示，P0-F3代，暴露组幼虫体内钛含量均高于对照组；在F3代，20 mg/kg暴露组幼虫体内Ti含量约为对照组幼虫的5倍。在运动活性测试中发现，在F3代，20 mg/kg暴露组幼虫爬行距离较对照组出现明显减少，且20 mg/kg暴露组的雄性成蝇的运动距离较对照组也出现明显减少，运动能力并未恢复（$P<0.05$）。免疫荧光结果显示，在F3代，20 mg/kg暴露组幼虫的6/7号肌肉bouton数量、大小及NMJ的分支长度较对照组明显减少，且20 mg/kg暴露组幼虫的4号肌肉bouton数量仅为对照组幼虫的69.4%（$P<0.05$）。此外，通过对F3代20 mg/kg暴露组和对照组幼虫的体壁肌肉进行RNA-Seq测序，发现69个基因上调和78个基因下调，其中包含了与NMJ发育密切相关的cyp6a17、frac、kek2、gba1a、hⅡ和list等基因。通过qRT-PCR进一步分析，发现与对照组相比，20 mg/kg暴露组的cyp6a17和frac的基因表达水平明显下降，而gba1a、hⅡ和list的基因表达水平明显增高（$P<0.05$）；kek2基因表达水平下降，但无统计学差异。**结论**　慢性高剂量TiO_2 NPs暴露会改变NMJ发育相关基因表达，进而使NMJ结构发育受损，最终导致果蝇的运动能力异常。

关键词：纳米二氧化钛粒子；运动能力；神经肌肉接头；基因表达

项目资助：南京医科大学引进人才科研启动项目（NMUR20210002）

通讯作者：孙明宽，E-mail：sunmk@njmu.edu.cn

T09-0039

肠道微生物紊乱介导的纳米氧化铜致斑马鱼免疫毒性效应的机制研究

徐不凡[1]，张璐瑶[1]，吴永宁[1,2]，李国梁[1]
（1. 陕西科技大学食品科学与工程学院，西安 710000；2. 国家食品安全风险评估中心，北京 100022）

摘要：随着纳米材料在多个领域的广泛应用，其在环境中的积累使得公众对于纳米颗粒的毒性和环境影响的关注度持续增加。其中纳米氧化铜因其优越的抗菌性能，被广泛应用于食品包装、生物医药和生活用品中等，尽管纳米氧化铜颗粒（CuO-NPs）诱导的免疫毒性效应已被报道，但关于CuO-NPs免疫毒性机理的研究依旧匮乏，CuO-NPs的抗菌性是否会造成动物肠道菌群紊乱进而引发免疫毒性效应仍未可知。本研究在对成年野生型斑马鱼进行为期21天的CuO-NPs环境相关浓度（0 mg/L，0.1 mg/L，1.0 mg/L）暴露后，通过肠道组织qRT-PCR分析、肠道内容物靶向代谢组学分析和16sRNA测序，探究肠道菌群、肠道菌群代谢物和免疫毒性之间的关系，并试图揭示CuO-NPs基于肠道菌群紊乱诱导的免疫机制。我们的研究结果表明，首先，环境浓度的CuO-NPs的暴露显著降低了斑马鱼的体长和体重，延缓了斑马鱼的发育；造成了斑马鱼肠道组织损伤（肠道肌层、绒毛长度、杯状细胞个数以及形态都受到不同程度的影响）；同时斑马鱼肠道相关免疫基因表达水平显著变化、免疫生物标志物溶菌酶活性的降低和乳酸脱氢酶活性的增加，均显示了CuO-NPs诱导的免疫毒性效应。其次我们发现参与维持免疫系统稳定的肠道菌群代谢物短链脂肪酸（SCFAs）中乙酸、丙酸和戊酸含量显著降低；而SCFAs的主要来源肠道微生物菌群也在结构和丰度上发生了显著变化。最后，皮尔森相关性分析结果显示肠道菌群丰度、SCFAs含量及免疫基因表达变化存在一定相关性，进一步支持“纳米氧化铜—肠道微生物—免疫”三者之间的互作效应，从而证实了肠道菌群紊乱介导的CuO-NPs致机体免疫异常的机制。研究结果可为深入揭示斑马鱼毒性机制提供新的视角，为维持鱼类肠道健康，提升水产动物健康养殖水平提供理论依据，为纳米颗粒的环境安全性研究提供新思路。

关键词：纳米氧化铜毒性；斑马鱼；肠道微生物菌群；肠道免疫；短链脂肪酸

通讯作者：徐不凡，E-mail：Xubf98@163.com

T09-0053

*Nfe2l2/Nrf2*可通过干扰红细胞抗氧化能力及促凝活性增加TiO_2NPs暴露致小鼠静脉血栓形成

边义莹，皮静波
（中国辽宁省沈阳市沈北新区蒲河路77号中国医科大学，110122）

摘要：目的 纳米二氧化钛（Titanum dioxide nanoparticles，TiO_2NPs）因其独特的理化性质，如光催化活性、较高的稳定性、耐腐蚀性等被广泛的应用于日常生活当中，同时也引起了公众对其潜在健康危害的关注。血栓形成（Thrombosis）是造成全球疾病负担的主要因素，也是导致死亡的主要原因。据统计，全世界约有四分之一的人死于血栓。相关研究发现，TiO_2NPs可引起细胞内活性氧自由基（Reactive oxidation stress，ROS）的升高，ROS的升高也是静脉血栓形成机制之一。核转录因子Nfe2l2（也被称为Nrf2）介导的抗氧化反应是抗氧化应激系统中研究最多的调节机制之一。在这里，我们证明了TiO_2NPs暴露可导致红细胞磷脂酰丝氨酸（Phosphatidylserine，PS）的暴露和其促凝血活性的增加，从而诱发小鼠静脉血栓形成，Nrf2在其中发挥着重要的作用。**方法** 我们首先通过给予小鼠TiO_2NPs（25 mg/kg，静脉注射）暴露，并建立小鼠静脉血栓模型；同时收取小鼠的新鲜血液，使用流式细胞仪检测红细胞内的ROS、PS暴露、微囊泡（Microvesicles，MV）及使用血细胞分析仪检测红细胞计数等指标；并通过光学显微镜、共聚焦显微镜观察小鼠红细胞形态学、红细胞聚集及红细胞PS的产生情况。**结果** Nrf2的缺失加剧了TiO_2NPs暴露的小鼠静脉血

栓形成。此外，与对照组相比，Nrf2缺失小鼠在给予纳米二氧化钛暴露后红细胞数量和形态学发生了明显的改变。同时，暴露于TiO_2NPs后，小鼠红细胞的PS暴露、MVs生成和ROS产生都有所增加。但是，超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GPX）和过氧化氢酶（CAT）的活性却下降。此外，通过检测了凝血酶生成增加和红细胞形态的变化来衡量Nrf2缺失小鼠红细胞暴露于TiO_2NPs后的促凝血活性。**结论** Nrf2缺失通过干扰红细胞抗氧化能力及促凝活性来促进TiO_2NPs诱导的小鼠静脉血栓形成。

关键词：纳米二氧化钛；静脉血栓；红细胞；Nfe2l2/Nrf2

通讯作者：边义莹，E-mail：yybian@cmu.edu.cn；皮静波，E-mail：jbpi@cmu.edu.cn

纳米-生物相互作用与纳米材料体内代谢行为

曹明晶，陈春英

（中国科学院纳米生物效应与安全重点实验室，国家纳米科学中心，北京　100190）

摘要：纳米技术的发展日新月异，带来了巨大的社会效益和美好前景。我们陶醉于此的同时，也关注于纳米材料可能对人体造成的毒性效应。纳米材料与生物微环境、生物屏障和生物分子之间的复杂动态的相互作用是引起纳米生物效应的关键过程，这种纳米-生物相互作用是影响纳米材料的体内代谢行为和命运的重要因素，如生物分布、积累、降解和清除。针对纳米-生物相互作用研究中存在的研究挑战：缺乏多尺度、高灵敏的原位分析方法研究在单细胞和单分子水平纳米材料的代谢行为，我们综合运用X射线科学的原位表征技术、高分辨活体荧光成像、蛋白质组学、理论模拟计算等方法，建立了对纳米材料在体内的生物分布和化学形态的高灵敏、高分辨的原位表征方法，实现了单细胞中观察纳米材料的空间定位，揭示了体内纳米材料的代谢及生物化学转化行为。

同时，关于纳米-生物相互作用研究的工作证实了纳米材料在体内可被生物利用，这一新的代谢行为。我们发现，源自二硫化钼纳米材料的钼元素掺入钼酶中增强其活性，从而在体内得到利用。首先该纳米材料在蛋白冠的介导作用下被肝脏和脾脏捕获，然后被Ⅰ相代谢酶和活性氧成分氧化成钼酸根，最终参与钼辅助因子的生物合成，在两种主要的钼黄素酶（醛氧化酶和黄嘌呤氧化还原酶）中生物利用。这一新发现引发了我们的思考：这种代谢行为是其他纳米材料所共有的吗？纳米药物的生物利用对生物体有益还是有害？接着，我们通过研究纳米-靶器官的相互作用，探索了锰基纳米疫苗佐剂的体内代谢过程，并证明了它们在肝脏和肾脏中的生物利用。我们的工作阐明了纳米结构、代谢行为、生物活性和安全性之间的关系，指导纳米药物的设计优化，并支持临床转化。

通讯作者：曹明晶，E-mail：caomj@nanoctr.cn；陈春英，E-mail：chenchy@nanoctr.cn

RuO_2 alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in zebrafish (*Danio rerio*)

Xiaofang Chea[1], Yong Huang[1,2], Zhou Liua, Kun Jiaa, Keyuan Zhonga, Huiqiang Lua[3]

(1. Ganzhou Key Laboratory for Drug Screening and Discovery, School of Geography and Environmental Engineering, Gannan Normal University, Ganzhou 341000, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Gannan Normal University, Ganzhou 341000, China; 3. Jiangxi Key Laboratory of Developmental Biology of Organs, Jinggangshan University, Ji´an 343009, China)

Abstract: Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic intestinal disease with destruction, which

threatens the health of animals and humans. Traditional therapies for the treatment of IBD have limited efficacy. Thus, there is an urgent need for novel therapies that can effectively treat IBD. RuO_2, an antioxidant, has various biological activities, including anti-inflammatory activity. However, its effects on experimental colitis remain unknown. Zebrafish (Danio rerio) was used to explore the therapeutic effect and mechanism of RuO_2 on dextran sulfate sodium sulfate (DSS) induced colitis. We found that RuO_2 saved the phenotype of neutrophil infiltration into the intestinal epithelium and downregulated the high expression levels of inflammatory-related genes interferon-γ (IFN-γ), pro-inflammatory cytokines (interleukin-1β (IL-1β), interleukin-8 (IL-8), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)) and apoptosis-related genes (bcl2-associated X (bax) and b-cell lymphoma-2 (bcl2)) in DSS group. Histological analysis showed that RuO_2 alleviated pathological damage to colon tissue and rescued the number of goblet cells to release acidic mucus to protect the gut. Our findings show that RuO_2 can effectively treat colitis and provide a novel medicine for the treatment of colitis.

Key words: nanoparticle; anti-intestinal inflammation; mucus barrier; goblet cells; therapy

Corresponding author: Keyuan Zhong, E-mail: zkygeo@163.com

nZnO通过AMPK-ULK1自噬轴促进成骨分化增强骨再生机制研究

陈 秀，顾爱华

（南京医科大学公共卫生学院现代毒理学教育部重点实验室，江苏 南京 211166）

摘要：目的 纳米氧化锌（nZnO）颗粒因其抗菌、抗炎、生物相容性好、化学稳定性等特点，在生物医学研究中受到广泛关注。nZnO可以加速骨骼生长和矿化，还能释放锌离子抑制细菌生长。这些生物学特性使nZnO在骨科应用中具有相当大的潜力，但是nZnO诱导骨再生的具体机制尚未完全阐明。**材料和方法** 细胞实验，MC3T3-E1细胞给予nZnO（5 μg/mL）处理72 h，用ALP、茜素红染色、qRT-PCR、免疫印迹和免疫荧光等方法检测成骨细胞分化情况，并用电镜、药物干预和慢病毒敲除等方法探索潜在机制；体内实验，构建颅骨缺损模型，选取6～8周龄雄性C57BL/6J小鼠，距离矢状缝中部1 mm处，双侧形成直径约4 mm的圆形缺损。在缺损处填充甲基丙烯酰化明胶（GelMA）、间充质干细胞（MSCs）、nZnO或药物干预。通过CT扫描、组织病理切片分析骨再生情况。 **结果** ① nZnO能促进成骨细胞分化：本研究发现nZnO处理MC3T3-E1细胞，细胞成骨分化相关指标（Runx2、OPN、SP7）表达水平升高，碱性磷酸酶（ALP）活力增强，钙沉淀增多。② nZnO可能通过激活自噬来促进成骨分化：nZnO处理MC3T3-E1细胞中自噬小体数量增多，自噬标志物ATG3、ATG7和LC3蛋白水平升高。③ nZnO通过活化AMPK-ULK1自噬轴激活自噬：在nZnO处理MC3T3-E1细胞中发现AMPK以及ULK1磷酸化水平增加。敲低AMPK时，自噬和成骨分化活性被抑制。④ 动物实验结果发现，手术后8周，nZnO处理组的骨缺损比对照组小得多，定量分析显示，nZnO处理组的单位组织体积/骨体积（BV/TV）显著高于对照组。组织学分析显示，与对照组相比，nZnO处理组在缺损的边缘和中心有更多的类骨质和新形成的骨组织。⑤ 此外，AMPK抑制剂干预可消除nZnO的促骨再生作用。提示AMPK-ULK1自噬轴在nZnO促骨再生中发挥重要作用。 **结论** 本研究发现AMPK-ULK1自噬轴在nZnO促成骨细胞分化和骨再生中发挥重要作用，为骨缺损的治疗提供新的靶点和线索。

关键词：纳米氧化锌；骨再生；自噬；AMPK；ULK1

通讯作者：顾爱华，E-mail：aihuagu@njmu.edu.cn

纳米SiO_2颗粒蛋白冠形成降低细胞毒性

陈燕红，刘颖琪，唐　娟，韦海燕，陈　刚
（南通大学公共卫生学院环境卫生学教研室）

摘要：目的　大气和水等环境介质中广泛存在着微米和纳米颗粒物，这些颗粒物可以通过消化道和呼吸道进入血液循环系统被细胞摄取。颗粒物跟血液和呼吸道中蛋白质形成蛋白冠。本研究探讨纳米颗粒蛋白冠形成后对细胞毒性的影响。**材料和方法**　透射电子显微镜观察纳米SiO_2颗粒和与胎牛血清（FBS）孵育后纳米颗粒形成的蛋白冠形状；激光粒度检测仪检测纳米SiO_2颗粒在含FBS培养基中Zeta电位；考马斯亮蓝染色SDS-PAGE凝胶法分析同一剂量SiO_2与含不同浓度血清的培养基共孵育后吸附蛋白质量的改变以及不同剂量SiO_2在同一血清浓度下吸附蛋白质量的变化。蛋白组学法分析SiO_2纳米颗粒吸附血清蛋白质的成分。细胞计数，细胞核荧光染色，乳酸脱氢酶（LDH），溶酶体示踪荧光染色，细胞活性氧荧光染色等方法评价SiO_2颗粒蛋白冠形成后的细胞毒性。**结果**　纳米SiO_2颗粒与FBS共孵育后，透射电镜下可见薄衣状纳米颗粒蛋白冠形成；纳米SiO_2颗粒在含不同浓度的FBS培养基中其Zeta电位绝对值明显降低，说明蛋白冠的形成降低了纳米SiO_2颗粒物的分散度；纳米SiO_2与FBS形成的蛋白冠经蛋白组学分析有近300种蛋白质；100 μg/ml浓度的纳米处理含不同浓度FBS的DMEM培养基培养BEAS-2B细胞24 h，细胞活性随着培养基中FBS的浓度增加而降低，培养基中LDH的含量随着FBS浓度的增加而降低；溶酶体示踪染色发现无或低浓度FBS培养的细胞中，溶酶体颗粒形成较快并较多，说明蛋白冠的形成延缓和减少细胞吸收纳米SiO_2颗粒；使用网格蛋白介导的胞饮作用抑制剂Pitstop2降低了细胞活性氧含量，说明细胞纳米SiO_2颗粒进入细胞部分通过网格蛋白介导的胞饮作用。**结论**　纳米颗粒与血清蛋白形成蛋白冠，降低了纳米颗粒在液体中的分散度，延缓和减少了细胞吸收，从而降低了细胞的毒性。

关键词：纳米SiO_2；蛋白冠；细胞毒性；胞饮

通讯作者：陈　刚，E-mail：chengang@ntu.edu.cn

有害结局路径策略在纳米毒理学研究中的发展和应用

丁晓萌，张　婷
（东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室，南京　210009）

摘要：人造纳米材料（Engineering nanomaterials，ENMs）生产和使用的增加引起了不同利益攸关方群体对其人类和环境健康影响的关注。基于有害结局路径（Adverse outcome pathway，AOP）的毒性评估和预测的发展是纳米毒理学和安全性评估领域的新范式转变，可解决当前和未来的纳米材料安全测试挑战。AOP发展的关键步骤是确定分子起始事件（molecular initiating events，MIEs），从而将应激源的理化性质与其诱导的毒性级联反应联系起来。就纳米材料而言，其尺寸、形状等结构特征以及氧化程度、官能团等化学性质可能是其进入生物环境后影响MIEs、改变毒性潜力的关键。纳米材料AOP框架的构建需要开发定量结构-活性关系（QSAR）等预测方法，以支持MIEs的分类和跨物种识别。关键事件（Key events，KEs）描述了在MIE和不良结局（Adverse Outcome，AO）之间顺序发生的亚细胞、细胞、组织和器官水平上的基本生物学事件。由经合组织ENMs工作组开展了一项题为“Advancing Adverse Outcome Pathway Development for Nano-material Risk Assessment and Categorization”的工作，该项目通过文献回顾和典型案例研究开发了一种从现有纳米毒理学文献中识别KEs的系统方法，并展示了如何将KEs的数据整合到潜在的AOs以指导完整的纳米材料AOPs的开发，其中普适性策略包括以下三步：1）从文献中大量报告筛查生物端点；2）比对现有AOPs数据库，从关键生物学端点识别可能用于评估KEs；以及3）基于因果推断将识别出的KEs上下游串联以构建线性AOPs用于解决ENMs的风险评估。然而，高度可信Nano-AOPs框架构建需要突破现有AOPs的局限性。关于ENMs在不同靶器官毒性作用的高质量毒理学数据相对匮乏。从高质

量毒理学数据获取的角度来看，未来ENMs毒性效应评价或机理研究至少应做到以下几点：(1)提高相关实验技术和标准的标准化水平；(2)明确跨物种的毒性途径以及有害的生物效应；(3)进一步促进外推效应的评估。此外，量化AOP是当前该领域的挑战之一。在确保ENMs毒性体外测试方法的可靠性、可重复性和可及性的基础上，可以使用精确的计算毒理学方法，如机器学习和模式识别，通过靶向ENMs在细胞和组织水平的有害结果，定量评估ENMs在典型暴露场景下的暴露特性。总之，AOP框架作为有效开发ENMs替代毒性测试策略的重要支持工具，我们期望将其与其他毒理学方法相结合，以期快速、准确地建立纳米毒理学的基础设施，从而通过从细胞、动物模型到种群水平的迭代，为公共卫生风险评估策略做出贡献。

关键词：纳米材料；有害结局路径(AOP)；定量构效关系(Nano-QSAR)；风险评估

通讯作者：张 婷，E-mail：zhangting@seu.edu.cn

纳米ZnO晶面依赖的形态转化与毒性效应

张 相[1]，汤 杰[1]，王 喆[1]，李灵香玉[1]，王亚韡[1,2]

(1. 国科大杭州高等研究院 环境学院，杭州 310024；2. 中科院生态环境研究中心，北京 100085)

摘要：随着纳米材料被越来越广泛的应用，其在生产、使用、消费和处理处置过程中不可避免地释放到环境，并发生化学形态转化。据统计，全球范围内n-ZnO年产量已达到31500～34000 t，其中8～20%最终将进入环境。研究表明，n-ZnO具有优良的抗菌性，使得其在化妆品、个人卫生用品等商品中被大量应用，其在释放和暴露后的化学形态转化以及对人体健康和环境的影响已引起越来越多的关注。近些年，基于晶面调控策略选择性地暴露特定晶面，制备由不同晶面组成的特定形貌纳米颗粒已成为纳米材料可控合成的重要途径。不同晶面的原子排列和面密度通常不同，其原子结构和表面能也不相同，导致不同晶面的物化性质存在很大差异。与其他物质相互作用时，不同晶面表现出不同的性能，存在晶面依赖的健康风险，常称为晶面效应。本研究制备了{1010}非极性晶面的纳米氧化锌(即ZnO-1010)和{0001}极性晶面的纳米氧化锌(即ZnO-0001)，比较了不同晶面纳米氧化锌的稳定性和毒性效应差异。

结果显示，ZnO-1010在汗液中可保持高度稳定，不发生化学形态转化，而相同条件下ZnO-0001转化成$Zn_3(PO_4)_2 \cdot 4H_2O$和$Na(ZnPO_4) \cdot H2O$，且由于稳定性改变导致抗菌活性表现出差异。上述结果表明，暴露晶面能影响纳米材料的环境行为与毒性效应，在开展纳米材料生态风险评价时需要将暴露晶面纳入考虑范畴。

口服暴露铅基钙钛矿纳米颗粒的胃肠道毒性研究

梅林强[1,2]，谷战军[2]

(1. 山东大学齐鲁医院，济南 250012；2. 中国科学院高能物理研究所，北京 100049)

摘要：近年来，铅基卤化物钙钛矿纳米颗粒(Pb PNPs)因其优异的光学和电子性能被广泛应用于太阳能电池、光电探测器、晶体管和X射线成像等领域，同时被认为是下一代光电材料的候选者。但是Pb PNPs相对较差的稳定性和易降解性导致其中铅离子容易释放到环境中，而目前仍然缺乏对其暴露后不可忽视的生物毒理效应的研究。在这里，我们通过结合先进的同步辐射(SR)、16S rRNA高通量基因测序和传统的生物化学分析方法，研究了典型溴铅铯钙钛矿纳米颗粒($CsPbBr_3$ PNPs)经口服暴露后在小鼠胃肠道中分布、化学转化、胃肠道损伤及对粪便中肠道菌群平衡的影响。体内实验结果表明，$CsPbBr_3$ PNPs可造成小鼠结肠炎症状的产生，同时小鼠肠道通透性增加表明肠道屏障受损。同步辐射显微X射线荧光扫描(SR-μXRF)和H&E组织病理结果表明，$CsPbBr_3$ PNPs明显分布在胃、小肠和结肠组织中并对胃粘膜、小肠绒毛和结肠的固有层组织完整性造成明显的损伤。同时，SR的X射线吸收近边光谱(SR-XANES)分析也揭示了$CsPbBr_3$ PNPs可以在不同的生理环境中逐渐转化为可溶性和不溶性的铅化合物。正是由于$CsPbBr_3$

PNPs中Pb^{2+}的持续释放的作用，其胃肠道毒性可能高于常见的可溶性铅化合物醋酸铅（$Pb(Ac)_2$）。最后，16S rRNA高通量基因测序结果显示，$CsPbBr_3$ PNPs能够诱导小鼠结肠中肠道菌群失衡，特别是与肠道炎症、肠道屏障、调节免疫相关的菌群丰富度发生明显改变。上述研究结果表明，口服暴露$CsPbBr_3$ PNPs后，由于其纳米结构和缓慢释放铅离子的行为，使其能够进入胃肠道组织并对其造成损伤而增加肠道通透性，更重要的是，造成的肠道菌群失衡会导致进一步的胃肠道系统损伤。我们的这一工作为Pb PNPs的胃肠道毒性提供了重要的见解，同时也对Pb PNPs在实际应用转化过程中的安全防护提出了更高的要求。

关键词：钙钛矿纳米颗粒；同步辐射技术；分布和转化；胃肠道毒性；肠道菌群

通讯作者：梅林强，E-mail：meilinqiang123@163.com

氧化铁纳米颗粒引起血管内皮细胞铁死亡及机理研究

孟　洁

（中国医学科学院基础医学研究所）

摘要：铁死亡（Ferroptosis ）是一种铁依赖性的，区别于细胞凋亡、细胞坏死、细胞自噬的新型的细胞程序性死亡方式。铁死亡主要是在二价铁或酯氧合酶的作用下，催化不饱和脂肪酸发生脂质过氧化，从而诱导细胞死亡。据报道，铁死亡是缺血-再灌注损伤、肿瘤等疾病的主要诱因。其中内皮细胞铁死亡与疾病发生发展密切相关。

氧化铁纳米颗粒通常由氧化铁核心及表面修饰构成，是最早研究和应用于临床的纳米颗粒之一。氧化铁纳米颗粒大多通过静脉注射的方式应用到体内，就不可避免地要与血管内皮细胞接触。我们比较了二巯基丁二酸（DMSA）修饰的Fe_3O_4（DMSA-Fe_3O_4）、DMSA-Fe_3O_4和PSC-Fe_2O_3纳米颗粒对内皮细胞铁死亡的影响。研究结果显示不同表面修饰和核心的氧化铁纳米颗粒引起不同的内皮细胞效应。DMSA-Fe_3O_4和DMSA-Fe_2O_3可以引起脂质过氧化，引起内皮细胞铁死亡。利用抗氧化剂、TGFβ抑制剂和铁螯合剂可以有效抑制氧化铁纳米颗粒引起的内皮细胞铁死亡。PSC-Fe_2O_3不被内皮细胞吞噬，对细胞活性无显著影响，但引起内皮细胞间质转分化，利用抗氧化剂可以有效抑制纳米颗粒引起的内皮细胞间质转分化。

氧化铁纳米颗粒导致小鼠肺部炎症损伤的机制研究

孙　媛，袁文科，陈玉玮，许　丹，贺　淼

（中国医科大学）

摘要：目的　随着纳米技术的快速发展，人们在日常生活中广泛接触纳米颗粒。氧化铁纳米颗粒（Fe_2O_3 NPs）普遍存在于轨道交通系统和工业生产中，对人体健康构成极大威胁。本研究将探讨Fe_2O_3 NPs对肺部炎症损伤的机制。**材料和方法**　C57BL/6野生型（wild type，WT）和$Rag1^{-/-}$（T、B细胞缺失）小鼠经气管滴注Fe_2O_3 NPs（300 μg/mice），每周1次，共4次，设立IL-33阳性对照，末次染毒24 h后检测肺功能，解剖并采集肺泡灌洗液（Bronchoalveolar lavage fluid，BALF），计数BALF中炎性细胞数目，取肺组织分别进行HE、PAS和Masson染色，观察病理改变。分析肺组织2型固有淋巴细胞（ILC2s）细胞数目，测定BALF中炎性细胞因子水平，检测肺组织Toll样受体信号通路和相关细胞因子表达。**结果**　Fe_2O_3 NPs导致WT小鼠和$Rag1^{-/-}$小鼠肺部炎症反应，肺组织炎症细胞浸润和胶原蛋白沉积，BALF中白细胞数量增加（中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞），白细胞介素（IL）-6、IL-13和胸腺基质淋巴生成素（TSLP）等细胞因子水平上调，肺组织Toll样受体（TLR）2、TLR4及下游髓系分化因子（MyD）88、核因子（NF）-κB和肿瘤坏死因子（TNF-α）的基因和蛋白表达显著增加（$P<0.05$），且$Rag1^{-/-}$小鼠的炎症反应相比于WT小鼠显著减弱（$P<0.05$），相关炎症细胞因子水平和Toll样受体信号通路表达显著降低（$P<0.05$）。与对照组相比，Fe_2O_3 NPs

显著增加肺组织中ILC2s水平（$P<0.05$），且Rag1$^{-/-}$小鼠肺组织的ILC2s含量明显高于WT小鼠。**结论** Fe_2O_3 NPs导致小鼠肺部炎症损伤，主要依赖于T细胞和B细胞，而ILC2s的作用不明显。

关键词：氧化铁纳米颗粒；淋巴细胞；肺损伤；亚慢性炎症

基金项目：国自然面上项目（42077396）

通讯作者：贺 淼，E-mail：mhe@cmu.edu.cn

沉积超小Pt纳米颗粒的Au纳米棒（Au@Pt）在小鼠体内的分布和毒理学效应

温 涛[1]，杨爱云[2]，孟 洁[1]，刘 健[1]，王建华[2]，许海燕[1]

（1. 中国医学科学院基础医学研究所；2. 首都儿科研究所）

摘要：目的 基于贵金属铂（Pt）的纳米结构是一种颇有前途的纳米材料，可用于催化剂、传感器和治疗。然而，对含铂纳米颗粒的毒性研究仍不充分，在本研究中我们对含铂纳米颗粒在小鼠体内的分布、毒性效应和生物相容性进行研究。**材料和方法** 我们制备了以金纳米棒为核、表面沉积超小Pt纳米颗粒的核壳结构Au@Pt NRs，通过单次静脉注射到健康C57BL/6小鼠体内。在注射Au@Pt NRs（6 mg/kg铂原子）后第1天、第8天和第16天，收集小鼠血液和组织，采用原子吸收光谱和透射电镜观察其在小鼠体内的分布和含量变化，使用苏木精-伊红（HE）染色观察脏器组织中的损伤情况，使用过氧化氢酶检测试剂盒、血细胞分析仪和血生化等分析小鼠体内的氧化应激变化、炎症情况和对肝肾功能的影响。**结果** 我们观察到在注射材料后的第1天、第8天和第16天，Au@Pt NRs在脾、肝、肺、心、肾、骨髓及脑中均有分布，且主要积聚在肝脏和脾脏中。通过组织的元素分布扫描图可以看到Au@Pt NRs在生理环境中会被降解，且Pt比Au释放更慢，造成Au在器官内的蓄积程度高于Pt。组织中的过氧化氢酶活性在Au@Pt NRs暴露初期略有升高，随后降至正常水平。HE染色可见短时间内组织中有少量炎症细胞浸润，并随着时间有所恢复。血液生化及肝肾功能指标显示Au@Pt NRs处理后小鼠的参数在正常范围内波动，但无明显影响。**结论** 静脉注射的Au@Pt NRs主要分布于小鼠肝脏和脾脏，且两周内对器官功能没有显著的毒性作用；同时，Au@Pt NRs能够在小鼠体内降解，Pt的蓄积程度低于Au的蓄积，表明Au@Pt NRs具有一定的安全性，在生物医学应用中具有应用潜力。

关键词：贵金属纳米颗粒；分布；毒性；氧化应激；静脉注射

通讯作者：温 涛，E-mail：went@ibms.pumc.edu.cn；许海燕，E-mail：xuhy@pumc.edu.cn

基于转录组学探究黑磷纳米片对革兰氏阳性细菌生长的影响

熊志强[1,2]，张雪娇[1,2]，赵 青[1,2]

（1. 广东省科学院生态环境与土壤研究所，广州 510650；2. 中国科学院沈阳应用生态研究所，
中国科学院污染生态与环境工程重点实验室，沈阳 110016）

摘要：背景 黑磷纳米片（BP）的广泛应用和规模化生产，其潜在的生态风险越来越受到人们的关注。细菌毒性的研究可为BP的风险评估提供重要信息。尽管有报道称BP对革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌均具有毒性且对革兰氏阳性菌的毒性更大，但迄今为止对其分子调控机制知之甚少。材料：本研究通过超声剥离的方式制备二维纳米BP，以革兰氏阳性细菌为受试对象。**目的** 通过测定不同浓度BP胁迫后细菌的生长曲线、菌落生长、细菌细胞膜形态等生理生化指标，结合转录组测序技术，系统地探讨了BP对细菌生长的影响，并解析其潜在的分子调控机制。**结果** 基于生长曲线我们发现，BP纳米片对细菌的生长抑制作用具有浓度依赖性，在100 μg mL^{-1}时，BP对细菌的生长抑制率为27.73%。但基于结合平板涂布结果我们发现，BP的杀菌率高达99.83%。两者结果之间的差异说明BP纳米片可诱导少量细胞死亡，使大多数细胞处

于活而不可培养状态(VBNC)。基于转录组测序,我们在转录水平上发现BP纳米片处理显著下调了与细胞膜结构、DNA修复、呼吸链以及代谢在内的多条通路。在BP胁迫下,细菌细胞通过降低自身代谢能力,减少细胞呼吸以维持细胞自身活性。同时,呼吸链中电子转移的抑制也与ROS的产生有关。处于VBNC状态的细菌在去除胁迫的环境条件下具有复苏繁殖的可能。**结论** 本研究通过探究BP对革兰氏阳性菌影响的效应机制,不仅强调了BP纳米片对环境和人类健康的潜在风险,而且还强调了在评估新兴纳米材料的危害和毒性时,需要从细菌生长状态的多方面进行考量,VBNC状态作为细菌响应外界胁迫的一种自身适应性机制,其需要在毒理学评价种受到重视。

关键词:黑磷纳米片; 转录组测序; VBNC; 毒理; 风险评估

通讯作者:张雪娇,E-mail: zhangxuejiao@iae.ac.cn; 赵 青,E-mail: zhaoqing@iae.ac.cn

聚苯乙烯纳米塑料和微塑料在水蚤体内的积累动力学及向糠虾的营养转移

Qi Yu, Tom A.P. Nederstigt, Zhuang Wang, Juan Wu, Aranka Kolmas, Thijs Bosker, Zuzanna Filipiak, Willie J. G. M. Peijnenburg, Martina G. Vijver

(生态环境部华南环境科学研究所)

摘要: 微纳塑料颗粒是当前国际上重点关注的新污染物之一,其营养转移是领域关注的前沿问题。颗粒尺寸大小是可能影响颗粒态污染物生物蓄积和营养级迁移的潜在因素,目前微纳塑料颗粒以粒径为主导因素的食物链累积动力仍鲜有研究。本文研究了不同尺寸聚苯乙烯颗粒(PSPs)在水蚤Daphnia magna体内的生物富集,及其随后迁移到捕食者糠虾Limnomysis benedeni体内的情况,阐明了PSPs在水生系统中的归趋与其颗粒尺寸(26、500和4800 nm)的相关关系。用暴露于8 mg/L PSPs(8.3×10^{11}个颗粒/mL 26 nm PSPs、1.2×10^{8}个颗粒/mL 500 nm PSPs和1.3×10^{5}个颗粒/mL 4800 nm PSPs)的D. magna投喂L. benedeni 16小时,随后糠虾经历48小时净化(即无投喂)。根据微纳颗粒在生物体内质量浓度结果发现,4800 nm PSPs在D. magna体内的质量浓度是26 nm和500 nm PSPs的4 ~ 10倍。D. magna对26 nm PSPs(1.7 ± 0.4 L/g·h)和4800 nm PSPs(1.7 ± 0.4 L/g·h)的吸收速率常数显著高于对500 nm PSPs(0.7 ± 0.1 L/g·h)的吸收速率常数($P < 0.05$)。据估算,仅有1 ~ 5%被D.magna摄入的PSPs被转移到L. benedeni体内。值得一提的是,研究发现颗粒尺寸越大,PSPs在食物链中的转移程度越高。对于26 nm、500 nm和4800 nm的PSPs,在L. benedeni体内的消除速率常数分别为0.03 ± 0.03、0.1 ± 0.2和0.2 ± 0.8 L/g·h,并且彼此之间没有显著差异。荧光显微镜观察显示,PSPs主要分布在L. benedeni的胃和肠道中,未发现进入其他组织脏器。此外,所有PSPs暴露组基于生物中积累的颗粒质量浓度计算的营养级迁移因子(TTF)均小于1,这证明在捕食者中未观察到生物放大想象。综上表明,微纳塑料颗粒可以沿着水蚤-糠虾的食物链迁移,但不会发生生物放大;颗粒尺寸大小会影响其生物积累和营养级迁移程度,故在评估微纳塑料在水生环境中的生物蓄积和归趋时不能忽视颗粒尺寸这一重要因素。

关键词:聚苯乙烯颗粒; 水生食物链; 生物分布; 吸收速率常数; 消除速率常数

通讯作者: Qi Yu,E-mail: q.yu@aliyun.com

T10-0001

Analysis of Jellyfish Stomolophus meleagris toxin mediates sting-induced delayed toxicity systemic inflammatory response and cytokines-storms based on transcriptome

Yichao Wang, Liang Xiao

(Faculty of Naval Medicine, Naval Medical University, Shanghai 200433)

Abstract: Background The mechanism of system damage and systemic hypercytokinemia secondary to sting-induced delayed toxicity syndrome caused by Jellyfish Stomolophus meleagris toxin remains to be defined. The aim of the current study was to elucidate the molecular mechanism by integrative analysis of transcriptome. **METHODS** Animal model of delayed S. meleagris envenomation was established and evaluated. Hematological tests and H&E staining were performed on animal model. Transcriptomic analysis were investigated for animal model and cells. The interaction of TE with membrane of RAW264.7 cells was assessed by immunofluorescence staining. CCK8 assay was used to detect cytotoxicity. Cytokines levels were determined with QRT-PCR. The effect of Dexamethasone on TE-induced cytokines release and inflammatory activation in macrophages cells were investigated by WB and QRT-PCR. DXMS as a inhibitor, was used for intervention experiments. **RESULTS** The animal and cell model of delayed injury were established. TE bound to the membrane of the RAW264.7 cells and resulted in activation of p65-related molecules and TE-induced secretion of pro-inflammatory cytokines in macrophages cells. DXMS as suppression intervene, could antagonize DJES and decrease the cytokine secretion. **CONCLUSIONS** These results provide a new insight into the mechanism of the delayed inflammatory activity of tentacle extraction (TE) of Jellyfish Stomolophus meleagris, which involves the activation of p65 signaling pathway. Our findings might facilitate the development of new molecules directed at the p65, a potential key target for controlling delayed S. meleagris envenomation syndrome (DJES). DXMS is an effective therapeutic agent for DJES, and inflammatory response plays an important role in DJES.

Key words: Delayed S. meleagris envenomation syndrome; Nuclear factor-κB; Pro-inflammatory cytokines; p65

T10-0002

长三角地区真菌毒素风险评估

韩 铮

（上海市农业科学院）

摘要：目的 通过研究长三角地区不同农产品中真菌毒素的污染水平，结合人群血液和尿液中真菌毒素的暴露情况，揭示长三角地区人群由于真菌毒素污染而导致的安全风险。**材料和方法** 收集长三角地区（上海、江苏、浙江、安徽）的小麦、玉米、稻谷、番茄、桃等不同的粮食和果蔬产品720份，通过液相色谱串联质谱（LC-MS/MS）精准定量技术和液相色谱-飞行时间质谱（LC-TOF/MS）非靶向筛查技术，研究长三角地区不同农产品中真菌毒素的污染情况；研究建立人体血液和尿液中26种真菌毒素（含生物标志物）的LC-MS/MS精准检测技术，考察长三角地区不同人群（260名）的血液、尿液中真菌毒素生物标志物的暴露种类和浓度水平；鉴于真菌毒素的种类的多样性和联合污染的特性，采用MOET和HI模型，通过生物标志物的暴露情况系

统评价了不同真菌毒素联合暴露导致的累积健康风险。**结果** 长三角地区的主要食用农产品中存在不同程度的多种真菌毒素污染，污染率超过90%，黄曲霉毒素B1（AFB1）、脱氧雪腐镰刀菌烯醇（DON）和赭曲霉毒素A（OTA）存在样品超出限量标准的情况。在人体的血尿样品中检测到了AFB1，伏马毒素B1（FB1），玉米赤霉烯酮（ZEN），DON以及OTA等多种真菌毒素及相关生物标志物，具有一定的安全隐患。联合风险评价结果发现AFB1和FB1具有累积安全风险，其中AFB1起主导作用；ZEN和DON也具有联合危害效应。12份同时含有ZEN和DON的样品，单独评价单一毒素，不存在安全风险，但是联合评价ZEN和DON，则产生了一定的安全隐患。**结论**：尽管长三角地区真菌毒素在农产品中的污染水平总体不高，但是仍给该地区农产品质量安全和居民身体健康带来了一定的隐患。

关键词：真菌毒素；风险评估；长三角地区

通讯作者：韩　铮，E-mail：hanzheng@saas.sh.cn

T10-0003

蓖麻毒素对小鼠肝脏毒作用研究

孙宇浩[1,2]，武晓伟[1]，赵思言[1]，李文丹[1]，刘　颖[1]

（1. 中国人民解放军陆军防化学院，北京　102205；2. 中国人民解放军第32102部队，山东 莱阳 265200）

摘要：目的 本研究旨在观察小鼠蓖麻毒素中毒后的肝脏形态与功能的动态变化规律，并对蓖麻毒素导致小鼠肝脏损伤的毒作用机制进行初步探索。**材料和方法** 将80只6周龄雄性昆明种小鼠随机分为染毒组和对照组。染毒组进行腹腔注射蓖麻毒素染毒，染毒剂量20 μg/kg，注射容积约0.1 ml，对照组注射等量生理盐水。分别于染毒后1.5 h、3 h、12 h、24 h、48 h观察小鼠状态，并处死部分动物（*n*=8），采集血清检测ALT、AST、TNF-α、IL-6水平；取小鼠肝脏，观察形态变化、称重、计算肝体比并进行组织病理学实验。**结果** 1. 小鼠一般状态：随染毒时间的延长，小鼠体重明显下降，状态萎靡。2. 血清学结果：（1）肝功能指标：ALT于染毒后3小时起升高，12小时显著升高，24小时降至对照水平，48小时显著低于对照水平；AST在染毒后24小时起升高，48小时与24小时水平无显著差别。（2）炎症指标：TNF-α在染毒后1.5小时即显著升高，持续至染毒后48小时，血清水平随染毒后时间延长无显著变化；IL-6在染毒1.5小时即升高，染毒3小时进一步升高，随后血清水平随时间延长无显著变化。3. 肝脏指标：（1）肝重：染毒12小时后，染毒组小鼠肝脏重量显著高于对照组，24小时降至对照组肝重以下，48小时肝重进一步下降，显著低于对照组；（2）肝体比：染毒12小时，染毒组肝/体比显著高于对照组；（3）组织病理学：染毒1.5小时肝组织发生炎细胞浸润，3小时肝组织炎细胞浸润加重，12小时肝细胞显著水肿，24小时部分肝细胞凋亡，48小时大量肝细胞坏死。**结论** 结合实验结果，初步推断蓖麻毒素通过激活炎症细胞，上调TNF-α、IL-6等重要细胞因子的表达水平，进一步激活炎症细胞，形成炎症的“瀑布效应”，进而诱导肝组织结构严重损伤，伴随血液中转氨酶水平显著变化。炎症反应可能是蓖麻毒素导致小鼠肝损伤的关键因素。

关键词：蓖麻毒素；肝损伤；炎症

通讯作者：刘　颖，E-mail：liuyinglyzy@163.com

T10-0004

生物毒素研究进展

摘要： 中医学有关“毒”的记载最早可追溯至《黄帝内经》，如《素问·生气通天论》曰：“清静则肉腠闭拒，虽有大风苛毒，弗之能害。”《素问·五常政大论》曰：“夫毒者，皆五行标盛暴烈之气所为也。”东汉许慎编著的《说文解字》记载：“毒，厚也，害人之草。”在古代人们对毒认知停留在草药上，认为毒是有毒的草药，随着社

会的进步与发展，对于毒的认知也越来越清晰，明·汪机《本草汇编》曰："药，谓之木、鱼、虫、禽兽之类，以能攻病，皆谓之毒"；在清代光绪三十四年间编撰的《辞源》中"毒"的释义有三：①恶也，寒也；②痛也，苦也；③物之能害人者皆曰毒。本文对生物毒素的种类（动物毒素、植物毒素、微生物毒素、海洋毒素）、危害、医药、农业、作用机制、靶点等热门研究领域作一综述，同时对生物毒素的未来前景进行分析总结，生物毒素化学成分复杂，可能对机体产生不同程度的损害，而且部分的损害是不可逆的，这主要源于对生物毒素的认知局限、对其产生治疗作用或毒性的物质机制及其作用机制不明确，为此，文章主要通过查阅相关文献，旨在加强国内生物毒素的研究与发展，对生命化学、化学生物学、化学生态学、医学、药物学、环境科学等均有重要意义，通过现代化技术使得生物毒素可以在医药、农业、环境、生物等领域发挥其有益的作用，为人类的进步作出贡献。

关键词 生物毒素；作用机制；前景

Abstract： Chinese medicine about "poison" can be traced back to the earliest "Yellow Emperor´s Classic of Internal Medicine", such as "Su Wen-angry Tong Tian Lun" said: "quiet, the flesh coup closed to reject, although there is a big wind harsh poison, not the ability to harm." The Suwen-five permanent political theory said: "Poison, all the five elements of the standard Sheng violent gas also." The "Shuowen Jiezi" compiled by Xu Shen in the Eastern Han Dynasty recorded: "Poison, thick, is also harmful to the grass." In the ancient times, people´s perception of poison was limited to herbal medicine, and they thought that poison was a poisonous herb, but with the progress and development of society, the perception of poison became clearer and clearer. The definition of "poison" in the "Dictionary" compiled in the Qing Dynasty in the 34th year of the Guangxu era has three meanings: (1) evil, cold; (2) pain, bitter; and (3) things that can harm people are called poison. In this paper, we present a review of biotoxin types (animal toxins, plant toxins, microbial toxins, marine toxins), hazards, medicine, agriculture, mechanism of action, targets and other popular research areas, as well as an analysis of the future prospects of biotoxins. This is mainly due to the limited knowledge of biotoxins, the unclear mechanism of their therapeutic effect or toxicity, and their mechanism of action. The aim is to strengthen the research and development of biotoxins in China.

Key ward: biotoxin; mechanism of action; prospect

T10-0005

AhR/CYP1B1信号通路在AFB1遗传毒性的作用研究

陈玉婷，王欢欢，唐焕文
（广东医科大学，广东 东莞 523808）

摘要：目的 黄曲霉毒素B1（Aflatoxin B1，AFB1）是已知的人类致癌物，可被细胞色素P450（CYP）1A2和3A4代谢活化。在之前的一项研究中，AFB1可诱导过表达人CYP1B1的酵母菌菌株发生染色体重排。然而，芳烃受体（Aryl hydrocarbon receptor，AhR）的潜在作用以及经CYP1B1催化的AFB1代谢产物仍需进一步验证。**方法** 本研究采用慢病毒载体感染人正常肝细胞（L-02）细胞和人淋巴母细胞（TK6）细胞，构建过表达人CYP1B1的细胞，分别命名为L-02- hCYP1B1和TK6-hCYP1B1。AFB1染毒细胞后，分析微核的形成、γ-H2AX（指示双链DNA断裂）以及AhR、ARNT和CYP1B1的表达。核质分离试验分析AFB1处理后AhR、ARNT和CYP1B1的核易位情况。LC-MS测定AFB1与人CYP1B1同工酶微粒体孵育后的CYP1B1代谢产物。**结果** AFB1对L-02-hCYP1B1和TK6-hCYP1B1细胞的诱导作用明显强于亲代（L-02-

NC和TK6-NC)细胞,而(E)-2,3′,4,5′-tetramethoxystilbene(CYP1B1选择性抑制剂)预处理细胞后可显著抑制AFB1的微核诱导作用。在AFB1-CYP1B1微粒体共孵育体系中,可检测到AFB1的稳定代谢产物AFM1。此外,在L-02和TK6细胞中,AFB1明显增高AhR、ANRT和CYP1B1的蛋白水平,并引起以上蛋白的核易位,此核易位作用可被AhR抑制剂BAY-218阻断。**结论** 人CYP1B1能够通过AhR信号通路代谢活化AFB1。

关键词:AFB1; 芳烃受体; CYP1B1; 遗传毒性; 代谢活化

作者简介:陈玉婷,E-mail: yutingchen@gdmu.edu.cn

通讯作者:唐焕文,E-mail: thw@gdmu.edu.cn

T10-0006

HO-1通路在T-2毒素心脏氧化应激中的作用及其机制研究

王 篪, 张 丽, 何 俊, 郭家彬

(中国人民解放军疾病预防控制中心, 北京 10071)

摘要: 目的 T-2毒素是粮食作物中广泛存在的环境污染物,对机体多个系统产生健康危害。本课题研究T-2毒素对心脏的毒性作用以及HO-1调控T-2毒素心脏氧化损伤的机制。**方法** 采用体内体外试验相结合的方法进行研究。30只C57BL/6小鼠随机分为3组,每组10只,依次灌胃给予0、3、5 mg/kg的T-2毒素,24 h后动物取血和心脏组织,检测血清中的肌钙蛋白(cTn-1)和肌酸激酶同工酶(CK-MB)的含量,以及心脏组织中丙二醛含量和GSH/GSSH,RT-PCR和Western Blot检测氧化应激通路相关分子HO-1、GPX-4、xCT的表达。体外试验以人源心肌细胞AC16为模型,不同剂量的T-2毒素(0~80 ng/ml)染毒24 h后,检测细胞毒性包括细胞生存率、LDH漏出、ATP含量和氧化应激指标如GSH/GSSG和丙二醛的含量;同时采用RT-PCR和Western Blot法检测细胞内氧化应激相关分子HO-1、GPX-4、xCT的表达。其后,应用HO-1特异性抑制剂锡原卟啉(Snpp)预处理后再T-2毒素给药,观察上述指标的改变。**结果** 体内试验结果显示,动物给药24 h后,与对照组相比,T-2毒素给药组血清中肌钙蛋白和肌酸激酶同工酶含量升高,心脏组织中丙二醛含量升高,GSH/GSSH下降;RT-PCR和Western Blot结果显示T-2毒素可显著下调HO-1、GPX-4、xCT的mRNA和蛋白表达量。体外试验结果显示T-2毒素以剂量依赖性方式降低AC16细胞的细胞生存率,其IC_{50}为16.17 ng/ml;ATP含量与GSH/GSSG随染毒剂量的增加而显著下降,MDA含量随染毒剂量增加而显著上升;T-2毒素可显著下调细胞中HO-1、GPX-4、xCT mRNA和蛋白表达量。HO-1抑制剂Snpp加大了T-2毒素对AC16细胞的毒性作用, ATP含量和GSH/GSSG进一步下降,丙二醛含量进一步上升。并且Snpp处理之后的细胞HO-1、GPX-4、xCT的mRNA和蛋白表达量进一步下调。**结论** T-2毒素可导致心脏氧化损伤和HO-1的抑制,HO-1的抑制可进一步加大T-2毒素的心脏毒性。HO-1在调节T-2毒素心脏毒性中发挥了重要作用,可能成为防治T-2毒素心脏损伤的重要靶点。

关键词:HO-1; T-2毒素; 氧化应激; 锡原卟啉

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFC1602602)

T10-0007

Hippo信号通路在慢性低剂量石房蛤毒素暴露致小鼠认知损伤中的作用

李深盼, 陈 效, 孙 倩, 钟佳成, 黄海燕, 刘云岗, 刘建军

(深圳市疾病预防控制中心深圳市现代毒理学重点实验室)

摘要: 石房蛤毒素(STX)是麻痹性贝类毒素(PSTs)中毒性最强的物质之一,广泛存在于各种海鲜贝类

组织中，然而其慢性毒作用研究较少。课题组前期在人群膳食暴露风险评估中，发现深圳市居民有长期接受低剂量PSTs暴露的风险，并通过蛋白质组学研究在低剂量STX暴露3个月的小鼠海马组织中富集到Hippo信号通路，该通路中Ppp1C蛋白表达上升且具有剂量效应关系，为了进一步验证Hippo信号通路在STX神经毒性中的作用，我们将1.5 μg/kg STX剂量组以自由饮水方式延长暴露至6个月，通过行为学测试、病理学分析发现小鼠认知功能下降且海马CA1区受损。此外，STX可以诱导小鼠海马组织及N2a细胞中磷酸化Tau、Ppp1C及其下游蛋白YAP1表达上调，且暴露6个月的蛋白表达比3个月更显著，同时经500 nmol·L^{-1}以下剂量的STX处理24 h后YAP1定位于细胞质且p-YAP1-S127蛋白表达上调，这表明Hippo信号通路被激活，当Ppp1C蛋白被低表达后，YAP1及p-YAP1-S127蛋白表达被减弱，这些结果强调了Ppp1C和YAP1细胞质滞留在慢性低剂量STX神经毒性中的作用。

关键词： 石房蛤毒素；认知损伤；Hippo信号通路；PPP1C；YAP1

基金项目： 深圳市基础研究学科布局项目（JCYJ20180508152311822）；深圳市医学重点学科建设经费资助项目（SZXK069）；深圳市医疗卫生三名工程项目（SZSM201611090）

通讯作者： 刘建军，E-mail：junii8@126.com

LPS激活ROS-NLRP3炎症小体诱导鸡肠道损伤作用研究

常轶聪，刘芳萍

（东北农业大学动物医学学院，黑龙江 哈尔滨 150030）

摘要：目的 脂多糖（LPS）是大肠杆菌等革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分之一，其大量产生可诱发机体发生全身性炎症或多器官障碍综合征。ROS的过量产生不仅会诱导氧化应激还被证明与细胞凋亡和NLRP3炎症小体的激活等方面息息相关。因此，本研究旨在探讨LPS激活ROS-NLRP3炎症小体诱导鸡肠道损伤的作用研究，为肠道损伤的研究和防治提供了理论基础和科学依据。**材料和方法** 将1日龄雏鸡适应性饲养7 d后，随机分为两组，即对照组和LPS组。LPS组鸡腹腔注射60 mg/kg LPS溶液，对照组注射等体积生理盐水，12 h后采集血液和肠组织检测肠组织损伤、ROS类物质、氧化应激、屏障功能、细胞凋亡、炎症反应及NLRP3炎症小体相关因子的水平。**结果** 肠组织石蜡切片HE染色结果显示，对照组肠绒毛结构完整，形态清晰；LPS组肠绒毛破碎严重，可见大量炎性细胞浸润，血管结构模糊，并且在管腔内可见坏死组织。扫描电镜观察结果显示，对照组肠绒毛排列整齐，呈指状，表面有大小不一的皱褶，微绒毛排列紧密并可见散落的杯状细胞；LPS组肠绒毛表面粗糙不平，结构混乱，失去正常指状形态。与对照组相比，LPS组血浆DAO活性和MDA含量极显著升高，且肠组织GSH含量、T-SOD和GSH-Px活性极显著降低（P< 0.01）；在LPS的作用下，肠组织紧密连接蛋白ZO-1、occludin和claudin-1的蛋白表达极显著降低（P< 0.01）；同时，LPS极显著升高了肠组织TLR4蛋白表达、NF-κB p65的活化、IL-6、IL-8和TNF-α mRNA表达，并极显著降低了IL-10 mRNA表达（P< 0.01）；LPS组肠组织凋亡抑制因子bcl-2 mRNA表达极显著降低，凋亡促进因子bax和caspase-3 mRNA表达极显著升高（P< 0.01）；重要的是，LPS引起了肠组织ROS类物质（H_2O_2和NO）含量的极显著升高，并极显著增加了NLRP3和caspase-1的表达和活化进而导致IL-1β和IL-18 mRNA表达和含量的下降（P< 0.01）。**结论** 本研究发现LPS能够引起鸡肠黏膜损伤并通过降低紧密连接蛋白的表达从而破坏肠道屏障功能。LPS还诱导肠组织发生氧化应激、细胞凋亡和炎症反应。重要的是，ROS类物质和NLRP3炎症小体在LPS的刺激下明显升高从而促进了IL-1β和IL-18的分泌。

关键词： 脂多糖；活性氧；NLRP3；肠道损伤；鸡

基金项目： 国家自然科学基金项目（31472241）

作者简介： 常轶聪，讲师，博士，E-mail：yicongchang@126.com。

通讯作者： 刘芳萍，教授，博士，博士生导师，E-mail：fangpingliu@126.com。

海月水母主要毒素分子的动态变化及金属蛋白酶对变态发育的影响研究

陈锦红，耿晓宇，马雪琪，于菲菲，王明科，肖　良，杨积顺
（海军军医大学海军特色医学中心）

摘要：动物毒液被认为是研究分子进化的独特生物系统，毒液在动物自身防护上历来备受关注，而生物毒素在自身生命调节和进化中起到的作用仍是个谜。水母（Jellyfish）是一类生活在海洋的多细胞浮游动物，主要包括海月水母、沙海蜇、霞水母等。大部分水母体内毒素丰富，主要包括金属蛋白酶和磷脂酶A2。近年来，由于气候变暖、海水富营养化等原因导致的全球海域水母暴发性增长被称为海洋第二大生态灾难，严重影响了沿海渔业、旅游业和医疗行业。变态发育是水母的基本生命特征之一，也是造成水母爆发的重要途经之一，由于横裂是水母变态发育发生的起点，且横裂结盘的数量直接取决于水母的数量。因此，横裂、尤其是早期横裂是变态发育的关键。通过研究水母变态发育的发生机理，抑制关键的早期横裂发生过程以及减少碟状体释放数量是控制水母数量、减少水母危害的重要策略。前期我们课题组收集水螅体进行全基因组学测定，同时构建50 μmol·L^{-1}的5-甲氧基-2-甲基吲哚诱导体系，分别诱导了海月水母水螅体、早期横裂体、晚期横裂体、碟状体，收集不同阶段的样本提取总RNA并送转录组学测定。从转录组结果来看，毒素分子在全基因组数据中占比明显，且毒素分子在整个变态发育过程中呈动态变化，而金属蛋白酶分子在毒素中占比较大，且早期横裂体的金属蛋白酶分子表达量较水螅体阶段显著增加。基质金属蛋白酶是一个大家族，因其需要Ca^{2+}、Zn^{2+}等金属离子作为辅助因子而得名，大量文献表明，金属蛋白酶是水母毒素中的关键成分，参与机体组织重构。我们认为金属蛋白酶作为水母毒素中的主要毒素，参与了水母的变态发育过程。目前关于毒素对生物的遗传进化、疾病治疗应用上的研究尚少，未来关于影响毒素在生物体内动态变化的环境因素及毒素在蛰伤防控及材料学上的应用还有待进一步研究。

关键词：海月水母；毒素；金属蛋白酶；变态发育

通讯作者：杨积顺，E-mail：jasunyang@foxmail.com

沙门氏菌中主要毒力因子的研究进展

储锦华[1]，刘理慧[1]，隋雨欣[1]，陈　杨[1]，程古月[1,2]
（1. 华中农业大学农业部畜禽产品质量安全风险评估实验室（武汉），武汉　430070；2. 华中农业大学国家兽药残留基准实验室（HZAU）、农业部食品兽药残留检测重点实验室，武汉　430070）

摘要：沙门氏菌（Salmonella）是引起我国食源性疾病爆发的主要病原菌之一，是全球细菌性胃肠炎的主要病因。其血清型众多，目前已报道超过2600种，不同血清型沙门氏菌对人和动物的致病性不同。沙门氏菌的致病性是由于大量毒力相关因子相互作用的结果，主要有毒力岛毒力因子、质粒毒力因子、结构性毒力因子（包括菌毛和鞭毛）、肠毒素毒力因子等。沙门氏菌毒力岛（Salmonella pathogenicity island，SPI）是一段含有毒力相关基因的、不稳定的位于染色体上的DNA片段。迄今已经发现24个SPI，研究最广的为SPI-1～SPI-6以及SPI-19。其中，参与肠道感染阶段的毒力基因位于SPI-1和SPI-2中，其余的SPI参与沙门氏菌在宿主细胞内存活、菌毛表达、镁和铁摄取、多重抗生素耐药性和全身感染发展等生理学过程。沙门氏菌毒力质粒（Salmonella virulence plasmid）spv操纵子大小为6.8 kb，广泛存在于临床重要血清型沙门氏菌中，含有spvRABCD 5个基因，主要与血清抗性、粘附与定居、沙门氏菌在肠外组织细胞以及巨噬细胞内存活和生长等有关。在细菌感染过程中，菌毛对宿主的识别、定殖和生物膜的形成至关重要，被认为是介导沙门氏菌与宿主肠上皮相互作用和粘附的主要细胞器，其主要包含agf、bfp、pil、fim等基因。沙门氏菌的鞭毛使其能在波动环境中前行，其主要包含fliC、fljB、flpA等基因。沙门氏菌的外毒素可分为细胞毒素和肠毒素两种类型。其中肠毒素基因（stn）可以通过调节OmpA的膜定位来维持细菌细胞膜的组成和完整性，从而增强菌株致病性。沙门氏菌基因组、血清型和毒力的高度多样性从而增加了沙门氏菌感染的复杂性，

治疗沙门氏菌感染的难度也正在逐渐增加，有必要开发新的治疗策略。病原体的全基因组测序（WGS）已成为一种成本低，易于使用的基因分型工具，在研究食源性疾病暴发中的细菌毒力方面具有极好的潜力。本文系统介绍沙门氏菌主要的毒力因子以及各自编码的分泌系统和/或毒力基因及其功能，进一步分析毒力基因与毒力的关系，同时讨论了全基因组测序（WGS）预测毒力水平的可行性，有助于探究沙门氏菌中各种毒力因子与宿主相互作用的机制，从基因层面上理解沙门氏菌病，为沙门氏菌病预防和治疗提供新思路。

关键词：沙门氏菌毒力岛；沙门氏菌毒力质粒；毒力因子；肠毒素；全基因组测序

通讯作者：程古月，E-mail：chengguyue@mail.hzau.edu.cn

多组学剖析立方水母纲水母毒素的生物活性及应用前景探讨

耿晓宇，陈锦红，华晓雨，王明科，肖　良，杨积顺
（海军军医大学海军特色医学中心）

摘要：水母（jellyfish）是广泛分布于全球各海域的无脊椎浮游动物，被认为是对人类危害最大的海洋生物，每年约有高达1.5亿人次的水母蜇伤。部分水母刺丝中包裹毒液，由于毒液成分复杂及活性多样，可引发局部至全身多种症状。目前由于技术限制，关于水母毒素的研究一直相对滞后，至今水母毒素的成分、作用机理等仍未厘清，水母蜇伤仍缺乏特效治疗。近年来，基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等组学技术不断发展，使得从分子水平上揭示水母毒素的作用机制成为可能，关于水母毒液的生物活性研究也在不断深入。本文我们对公共文献数据库CNKI、万方、维普、Pubmed中近20年立方水母纲（Cubozoa）毒液成分的相关文献进行了检索，涉及毒液的组学分析及大鼠、小鼠、豚鼠、家兔等物种的心脏、肝脏、肾脏、肺等器官毒性反应。研究表明，立方水母纲水母毒液成分尚未完全确定，根据已知毒素的同源性，目前已鉴定170多种潜在毒素蛋白。鉴定出超250种蛋白质中最大分子量为220kDa，毒素蛋白家族中CfTX为立方水母纲特有。基因组学研究发现，ATP2B1、MBTPS1、MBTPS2等基因与毒液选择性细胞富集有关，其中ATP2B1是立方水母纲箱水母诱导细胞死亡的必要条件。活性研究发现，立方水母纲水母毒液可影响正常细胞内的合成、代谢等生命活动，诱导细胞膜破裂、膜电位改变等，并可导致疼痛、炎症、皮肤感染、心血管衰竭、死亡等现象。此外，最近研究表明，立方水母纲水母毒液可作为发现新分子的一种选择，并可能为一些疾病的治疗或模型的构建提供新思路，如箱水母毒液提取物已被证实可以增加神经元的连接，为治疗神经退行性疾病提供了必要条件。近年来，多组学技术可以从多个分子水平对水母毒液诱导的细胞反应进行综合分析，但这部分研究还刚刚起步。总之，组学技术极大促进了立方水母纲水母毒液的生物活性及应用价值研究。立方水母纲水母毒液具有丰富多样的生物活性使其可能成为新一代治疗或诊断方法，如毒液成分可以调控ATP2B1作为新一代的抗高血压策略。然而，目前组学研究仍不够深入，水母毒液的具体成分还有待破译。同时受纯化技术的影响，极少有水母毒液中单一成分的活性研究，很大程度上限制了毒液的应用转化。此外，立方水母纲水母毒液在不同海域、不同物种之间及个体之间存在着较大差异仍无法解释。随着多组学技术的应用及相关技术的发展，深入研究立方水母纲水母毒液的成分及生物活性必将进一步促进其毒性机制的阐明及临床应用。

关键词：组学；立方水母纲；生物毒素；生物活性

通讯作者：杨积顺，E-mail：jasunyang@foxmail.com

牙周梭杆菌BCT调控肥大细胞脂代谢异常促进食管癌转移初探

郭辛鑫，刘　冉
（东南大学公共卫生学院/环境医学工程教育部重点实验室，南京　210000）

摘要：背景　食管癌是常见的预后不良的恶性肿瘤之一。微生物在肿瘤的发生发展、治疗和预防中的意义重大，除了微生物的直接作用，由他们引起的免疫系统、代谢的改变也间接发挥了作用。肥大细胞作为先天免疫的第一道防线，其在肿瘤的进展中的双重作用引起了广大关注。**目的**　明确牙周梭杆菌（Fp）毒力基因BCT激活肥大细胞致代谢异常在食管癌转移中的作用。**材料和方法**　构建Fp毒力基因BCT重组蛋白；BCT与肥大细胞（HMC-1）共培养，CCK8分析BCT对HMC-1增殖的影响；β-hexosaminidase以及Western blot实验分析HMC-1的激活状态；RT-QPCR分析相关基因的表达识别BCT激活HMC-1后的功能；LC-MS/MS分析BCT作用后HMC-1的代谢变化；Transwell实验分析BCT与HMC-1共培养对食管癌细胞EC109的作用。**结果**　①CCK8结果显示低浓度BCT处理HMC-1 24 h后，（0.00001 ng/mL ~ 0.1 ng/mL）对HMC-1的活性没有影响，1 ng/mL、10 ng/mL、100 ng/mL的BCT均增加了HMC-1的活性。②β-hexosaminidase结果显示10 μg/mL促进了β-hexosaminidase的释放，而WB测定TPSB2的表达结果显示1 ng/mL BCT就促进了HMC-1的表达；③代谢结果显示与对照组相比，BCT影响了HMC-1的代谢改变。细胞中主要差异代谢的物质有胆固醇、鹅去氧胆酸、胆酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸等，上清中主要的差异代谢物质有十八碳酯、12-羟基二十碳四烯酸、二十二碳六烯酸、异棕榈酸等，通过对代谢物富集通路的分析发现BCT主要导致HMC-1细胞组氨酸代谢、初级脂肪酸合成、不饱和脂肪酸合成、鞘脂代谢、甘油磷脂代谢等异常，HMC-1上清主要为初级脂肪酸合成、不饱和脂肪酸合成、脂肪酸合成、丙酮酸代谢等；④Transwell实验发现10 ng/mL BCT处理的HMC-1促进了EC109细胞的侵袭和迁移；⑤RT-QPCR分析了BCT处理后HMC-1 MMP9、HRH2-4、VEGF、IL6、IL8的表达，结果发现10 ng/mL BCT增加了MMP9、HRH3、IL6的表达，降低了IL8、HRH2、HRH4、VEGF的表达；**结论**　BCT激活了HMC-1并导致了脂代谢的异常，BCT激活后的HMC-1促进食管癌的转移与MMP9有关。因此，靶向Fp的BCT可能影响肿瘤免疫进而预防肿瘤转移，其具体机制有待进一步研究。

关键词：食管癌；牙周梭杆菌；BCT；肥大细胞；脂代谢
基金项目：国家自然科学基金（82173479）
通讯作者：刘　冉，E-mail：ranliu@seu.edu.cn

Endoplasmic reticulum-mitochondria coupling attenuates vanadium-induced apoptosis via IP3R in duck renal tubular epithelial cells

Junjun Peng, Chengcheng Peng, Li Wang, Huabin Cao, Chenghong Xing, Guyue Li, Guoliang Hu, Fan Yang
(Jiangxi Agricultural University, No. 1101 Zhimin Avenue, Economic and Technological Development District, Nanchang 330045, Jiangxi, PR China)

Abstract: Vanadium (V) is necessary for the health and growth of animals, but excessive V has harmful effects on the ecosystem health. Endoplasmic reticulum (ER)-mitochondria coupling as a membrane structure connects the mitochondrial outer membrane with the ER. The mitochondria-associated ER membrane (MAM) is a region of the ER-mitochondria coupling and is essential for normal cell function. Currently, the crosstalk between ER-mitochondrial coupling and apoptosis in the toxic mechanism of V on duck kidney is still unclear. In this study, duck renal tubular epithelial cells were incubated with different concentrations of sodium metavanadate ($NaVO_3$) and/or inositol triphosphate receptor (IP3R)

inhibitor 2-aminoethyl diphenyl borate (2-APB) for 24 h. The results showed that V could significantly increase lactate dehydrogenase (LDH) release, the mitochondrial calcium level and the numbers of the fluorescent signal points of IP3R; shortened the length ER-mitochondria coupling and reduced its formation; markedly upregulate the mRNA levels of MAM-related genes and protein levels, causing MAM dysfunction. Additionally, V treatment appeared to upregulate pro−apoptotic genes and downregulate anti−apoptotic genes, followed by cell apoptosis. The V-induced changes were alleviated by treatment with IP3R inhibitor. In summary, V could induce the dysfunction of ER-mitochondrial coupling and apoptosis, and inhibition of ER-mitochondrial coupling could attenuate V-induced apoptosis in duck renal tubular epithelial cells.

Key words: Vanadium; Endoplasmic reticulum-mitochondria coupling; Inositol triphosphate receptor;Apoptosis; Renal tubular epithelial cell; Duck

Corresponding author: Fan Yang, E-mail: yfan@jxau.edu.cn

黄曲霉毒素B1通过诱发线粒体异常和自噬体形成介导肠道毒性的机制研究

吴亚娇，鲍文强，张东城，李楚涛，陈梦婷，张 健，朱 安
（福建医科大学消化道恶性肿瘤教育部重点实验室，福建 福州 350108）

摘要：目的 黄曲霉毒素B1（AFB1）是真菌产生的强毒性Ⅰ类致癌物，其被机体摄食后首先暴露于消化道，故肠道结构完整性对其发挥屏障作用至关重要，但AFB1对肠道的毒效应和毒性机制尚不明确。本研究拟基于人肠细胞和模式生物秀丽隐杆线虫，从线粒体异常和自噬体形成角度揭示AFB1所致的肠道毒性机制。**方法** （1）利用Pharmmapper钩钓AFB1可能作用的毒性靶标。（2）使用0～200 μmol·L^{-1} AFB1处理HCT116细胞后检测细胞活力。（3）50 μmol·L^{-1} AFB1处理HCT116细胞72 h后进行MeRIP-seq，筛选差异表达基因。（4）AFB1处理HCT116细胞72 h，检测LDH、ROS、Ca^{2+}含量和ATP酶活性。（6）检测线粒体活性和膜电位，评价线粒体结构和功能完整性。（7）TEM观察自噬体生成，检测线粒体能量代谢、分裂融合和自噬体相关基因表达水平。（8）检测AFB1对线虫寿命的影响。（9）AFB1处理线虫后检测其体长和体宽。（10）检测线虫头部摆动和身体弯曲频率。（11）检测线虫在热应激条件下的存活时间，及其热应激相关基因表达水平。（12）检测线虫肠道ROS水平，及其氧化应激相关基因表达水平。（13）通过亮蓝指示剂评价线虫肠道渗透性，检测肠道结构相关基因表达水平。**结果** （1）通过预测钩钓出228个AFB1的毒性蛋白靶点。MeRIP-seq筛选出2289个差异共表达基因，生信富集结果包含细胞连接、自噬和线粒体等靶标。（2）AFB1显著抑制细胞存活率；LDH释放水平增加；胞内ROS蓄积增加，胞内钙超载，ATP酶活性下降。（4）线粒体活性和线粒体膜电位均下降。（5）TEM可见自噬体形成，线粒体能量代谢、分裂融合和自噬相关基因表达异常。（6）线虫寿命显著缩短，体长体宽下降，生长发育被抑制。（7）头部摆动和身体弯曲频率下降，运动行为受抑制。（8）线虫在热应激条件下的生存时间缩短，10个热应激相关基因的mRNA的表达异常。（9）肠道ROS蓄积增加，12个氧化应激相关基因表达异常。（10）亮蓝染料经肠道渗透至体腔，提示肠道渗透性增强，29个肠道结构相关基因的mRNA表达异常。**结论** 黄曲霉毒素B1对人肠上皮细胞和线虫肠道有明显的毒效应，可致氧化应激损伤和肠道渗透性增强，其毒性机制涉及线粒体结构和功能异常，以及自噬体形成。

关键词：黄曲霉毒素B1；肠道毒性；渗透性；线粒体；自噬体
基金项目：国家自然科学基金（82104520）；福建省自然科学基金（2021J05045）
通讯作者：朱 安，E-mail：zhuan@fjmu.edu.cn

Selenium alleviates cadmium-induced aging via mitochondrial quality control in the livers of sheep

Zhiwei Xiong, Fan Yang, Tianfang Xu, Yan Yang, Feibing Wang, Guangbin Zhou, Qi Wang, Xiaowang Guo, Chenghong Xing, He Bai, Jing Chen, Yunhui Wu, Shuqiu Yang, Huabin Cao
(Jiangxi Agricultural University, No. 1101 Zhimin Avenue, Economic and Technological Development District, Nanchang 330045, Jiangxi, PR China)

Abstract: Cadmium (Cd) is a heavy metal with toxicity that induces mitochondrial dysfunction and aging, and selenium (Se) can alleviate its toxicity. However, the underlying mechanism of Se alleviating Cd-induced aging in sheep livers deserves further study. This study was to explore the protective mechanism of Se on the Cd-induced aging in the livers of sheep. A total of forty-eight sheep weighing about 10 kg were randomly divided into four groups: control group, Se group [0.34 mg Se·kg−1·body weight (BW)], Cd group (1 mg Cd·kg·BW), and Se + Cd group (0.34 mg Se·kg−1·BW +1 mg Cd·kg−1·BW). The results showed that Cd caused vacuolization, granule denaturation, and mitochondrial vacuolization in hepatocytes. Furthermore, the levels of catalase (CAT), total superoxide dismutase (T-SOD), glutathione (GSH) and adenosine triphosphate (ATP) in liver mitochondria were down regulated, but the levels of hydrogen peroxide (H_2O_2) and malonaldehyde (MDA) were up-regulated under Cd treatment. Besides, the cyclin-dependent kinase inhibitor 1 (P21) immunohistochemistry positive signal and the puncta of immunofluorescence co-locations of E3 ubiquitin ligase Parkin (Parkin)/ cytochrome c oxidase IV (COX IV) and light chain 3B (LC3B)/COX IV were increased under Cd stress. Moreover, Cd exposure decreased the levels of mitochondrial biogenesis and fusion related factors and minichromosome maintenance protein 2 (MCM2), but increased the levels of mitochondrial fission, mitophagy, and cell aging related factors. However, the variations mentioned above caused by Cd were effectively ameliorated by Se co-treatment. In conclusion, Se might alleviate Cd-induced aging via regulating mitochondrial quality control in sheep livers.

Key words: Cadmium; Selenium; Liver; Aging; Mitochondrial quality control; Sheep

Corresponding author: Huabin Cao, E-mail: chbin20020804@jxau.edu.cn

T11-0001

IBC逆转肺炎克雷伯菌对黏菌素硫酸盐耐药性的作用方式

耿　响，刘希望，李剑勇
（中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所/农业农村部兽用药物创制重点实验室/
甘肃省新兽药工程重点实验室）

摘要：目的　试验通过研究异补骨脂查尔酮（Isobavachalcone，IBC）对耐黏菌素硫酸盐黏菌素硫酸盐（Colistin sulfate，CS）的肺炎克雷伯菌（KP2105）的生物被膜、膜稳定性、氧化应激及产H_2S等方面的研究，探讨IBC对逆转肺炎克雷伯菌耐药性的作用机制。**方法**　通过棋盘法验证IBC对CS的增敏作用，溶血性实验与细胞毒性考察IBC的安全性，结晶紫染色法检测IBC对肺炎克雷伯菌生物被膜生成的影响，膜完整性、膜流动性实验考察IBC对细胞膜的影响，用3，3′-二乙基氧杂羰花青碘检测IBC对内膜质子梯度的影响，采用增强型ATP检测试剂盒、BCECF-AM与DCFH-DA荧光探针确定IBC对细胞的氧化应激，使用醋酸铅试纸检测IBC对细菌产H2S产量的影响。**结果**　棋盘法结果显示，IBC在8 μg/mL时，可以将细菌对CS的MIC

由＞256 μg/mL降至1 μg/mL，并且IBC在≤128 μg/mL时，没有明显的溶血性和细胞毒性；在0.5×MIC、1×MIC、2×MIC和4×MIC浓度时，有明显的降低生物被膜产生的作用；在含有0.5×MIC、1×MIC、2×MIC和4×MIC IBC的培养基孵育2 h后，细菌细胞膜随着IBC浓度的升高，呈现随浓度增高的细胞膜破裂与膜流动性降低的趋势；在0.5×MIC、1×MIC、2×MIC和4×MIC浓度处理下，呈现随浓度增高的对质子动力势的破坏趋势；在IBC与CS联合使用时，对内外细胞内外ATP均有随浓度而提升的提高趋势，并且联合使用的趋势比IBC单独使用情况下更明显；在0.5×MIC、1×MIC、2×MIC和4×MIC浓度处理下，能够明显抑制ΔpH的增高趋势和提高ROS的量，同时，随着IBC浓度的增加，细菌产H_2S的量也随之增加。**结论** IBC在8 μg/mL时，可以将CS对肺炎克雷伯菌的MIC由＞256 μg/mL降低至1 μg/mL，并且毒性较小。其增敏的作用机制可能为通过破坏细胞的膜稳态，降低膜的流动性，增加CS进入细胞的量。IBC进入细胞后，可以破坏质子动力势，增加细胞内外的ATP含量，同时抑制ΔpH增加，增强细胞的氧化应激，增多产H2S的量。

关键词：肺炎克雷伯菌；IBC；抗菌增敏；耐药性

作者简介：耿 响，E-mail：gengxiang180@163.com

通讯作者：李剑勇，E-mail：lijy1971@163.com

T11-0002

Protective effect of dimethyl fumarate against NLRP3/Caspase-1/ GSDMD signaling-drived hippocampal neuronal pyroptosis response to T-2 toxin

Xinyu Liua, Xingyao Peib, Daowen Lia

(a Tianjin Key Laboratory of Agricultural Animal Breeding and Healthy Husbandry, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Tianjin Agricultural University, Jinjing Road No.22, Xiqing District, Tianjin, 300384, China; b Department of Pharmacology and Toxicology, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Yuanmingyuan West Road No.2, Haidian District, Beijing, 100193, China)

Abstract: T-2 toxin, as a trichothecene mycotoxin widely distributed in nature, is usually found in human cereal food, animal feed and other animal by-products, causing food contamination and mammal poisoning, which posing challenges to human health. Our previous results suggest that T-2 toxin-induced neuroinflammation and high mobility group B1 protein (HMGB1) played a critical role in T-2 toxin-induced oxidative stress, neuroinflammation and neuronal apoptosis. Furthermore, we have provided much evidences in vivo and in vitro that the brain is an important target organ on mycotoxin-mediated neurotoxic phenomenon and neurodegenerative diseases. We demonstrated that T-2 toxin induced NLRP3/ Caspase-1/ GSDMD mediated-pyroptosis. Moreover, the palliative effect of knockout sequence of HMGB1 provided more details for T-2 toxin-induced pyroptosis. Importantly, we confirmed that Dimethyl fumarate (DMF), as a novel inhibitor of GSDMD, could alleviate pyroptosis induced by T-2 toxin in an GSDMD targeting manner. Our data found a new function of DMF and suggested a novel therapy strategy against mycotoxin-triggered neuronal inflammation, which leads to varieties of neurological diseases.

Key words: T-2 toxin; pyroptosis; dimethyl fumarate; inflammasome; GSDMD

Foundation item: China Postdoctoral Science Foundation (2021M700708); and Research Project of Tianjin Education Commission (2019KJ034)

Corresponding author: Daowen Lia, E-mail: lidaowen@tjau.edu.cn

T11-0003

大蒜素对黄曲霉毒素B1诱导奶牛肝细胞毒性损伤的缓解作用

马 立，金 鑫，海思娆，陈佳雯，赵 畅，冯士彬，李 玉，王希春
（安徽农业大学动物科技学院，合肥 230036）

摘要：黄曲霉毒素（Aflatoxin B1，AFB1）是指在黄曲霉和寄生曲霉的生长过程中产生的一类毒性代谢物。AFB1能够通过扰乱蛋白的合成和体内代谢的过程，导致肝毒性、生长迟缓、生物畸形和消化道紊乱，还会导致细胞基因发生突变，从而引起癌症的发生。大蒜素（Allicin）是一种含硫的生物活性化合物，具有浓烈大蒜的气味。Allicin是近年来被证实抗氧化效果出众的保护剂，具有保护肝脏，增强抗氧化酶的活性。目前关于AFB1对奶牛肝细胞的毒性机制及Allicin的保护效应的文献报道较少。因此本试验以奶牛肝细胞为研究对象，从凋亡和氧化应激角度研究AFB1对奶牛肝细胞的毒性作用机制及Allicin的保护效应，为临床上黄曲霉毒素的防控提供了新思路。**目的** 本试验旨在研究AFB1对奶牛肝细胞的毒性作用机制及Allicin对AFB1致奶牛肝细胞损伤的缓解作用。**材料和方法** 采用CCK-8测细胞活率，确定以45 μM AFB1和15 μM Allicin单一及联合染毒奶牛肝细胞24 h。通过倒置显微镜观察细胞形态、生长状况；TEM观察细胞超微结构变化；流式细胞仪检测细胞凋亡率；ELASA检测氧化与抗氧化酶活性指标；全自动生化分析仪检测细胞上清液肝功能相关指标；WB和qRT-PCR检测凋亡相关分子的蛋白表达水平和基因相对表达量。**结果** 与对照组相比，AFB1组细胞数量显著减少、培养液中出现大量细胞碎片、超微结构被破坏，细胞凋亡率极显著升高（$P<0.01$），肝功能指标谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST）、碱性磷酸酶（ALP）极显著上升（$P<0.01$），丙二醛（MDA）、8-羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）表达量极显著上升（$P<0.01$），超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）的活性极显著降低（$P<0.01$），半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3（Caspase-3）、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶8（Caspase-8）、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶9（Caspasae-9）mRNA相对表达量和蛋白表达水平均极显著增加（$P<0.01$）。与AFB1组相比，AFB1+Allicin组的细胞数量显著增多，超微结构的破坏得到缓解，细胞凋亡率极显著降低（$P<0.01$），AST、ALP、ALT均极显著性降低（$P<0.01$），GSH-Px、CAT、SOD活性极显著增加（$P<0.01$），Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 mRNA相对表达量和蛋白表达水平均极显著降低（$P<0.01$）。**结论** AFB1可通过氧化应激损伤奶牛肝细胞，并最终导致细胞凋亡的发生。Allicin能缓解AFB1对奶牛肝细胞造成的损伤，保护细胞完整性、降低细胞凋亡率。

关键词：AFB1；奶牛肝细胞；细胞凋亡；大蒜素；氧化应激

通讯作者：王希春，E-mail：wangxichun@ahau.edu.cn

T11-0004

常见霉菌毒素降解菌的筛选鉴定与初步应用

海思娆，汪 洋，陈佳雯，马 立，赵 畅，李 玉，冯士彬，王希春
（安徽农业大学动物科技学院，合肥 230036）

摘要：霉菌毒素是由各种霉菌在生长过程中产生的有毒次级代谢产物，主要污染农产品及饲料，对人和动物健康造成严重威胁。玉米赤霉烯酮（ZEA）、脱氧雪腐镰刀菌烯醇（DON）和黄曲霉毒素B1（AFB1）是农产品及饲料中最常见的三种霉菌毒素。迄今为止，有关霉菌毒素脱毒方法较多，其中生物降解法具有专一性、条件温和、不破坏营养成分，且不造成二次污染等优点。据报道，牛对霉菌毒素的耐受性明显高于其他动物，因此可假定牛体内有可降解霉菌毒素的益生菌或酶等物质。在此基础上，本课题组以前期分离的大别山黄牛肠道的13株菌为对象，通过体外试验研究其对ZEA、DON、AFB1的降解效果，并筛选霉菌毒素高效降解菌，进行小鼠体内试验。通过体外试验筛选出两株菌对ZEA降解效果显著，分别为2号菌和5号菌，降解率达到97.25%和84.02%。通过染色镜检及16 S rDNA鉴定2号菌为枯草芽孢杆菌，5号菌为蜡样芽

孢杆菌。选用72只5周龄雄性小鼠，随机分成6组，分别为Ⅰ组（ZEA）、Ⅱ组（2号菌）、Ⅲ组（2号菌+ZEA）、Ⅳ组（5号菌）、Ⅴ组（5号菌+ZEA）、Ⅵ组（生理盐水），每只小鼠灌胃量为0.2 mL，ZEA浓度为40 mg/kg BW，菌液浓度为109 CFU/mL。21 d后每组小鼠进行称重，摘眼球采血，分离血清，检测血清生化指标、免疫球蛋白含量、激素水平；同时进行解剖，测定肝脏、脾脏、睾丸的脏器指数、睾丸组织氧化与抗氧化指标，制作睾丸组织切片。试验结果显示：各组小鼠肝脏指数与对照组相比无显著变化；与Ⅵ组相比，Ⅰ组ALT、AST、ALP活性显著升高（$P<0.05$），脾脏指数、睾丸指数及TP、ALB、GLB含量显著降低（$P<0.05$），Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ组生化指标较Ⅰ组均显著改善（$P<0.05$）。相较于对照组，各组免疫球蛋白含量都有不同程度升高（$P<0.01$）。Ⅰ组血清睾酮含量极显著低于其他组（$P<0.01$），炎性细胞因子和雌二醇含量极显著高于其他组（$P<0.01$）。与Ⅵ组相比，I组睾丸组织MDA升高（$P<0.01$），SOD、CAT活性降低（$P<0.01$）；Ⅲ、Ⅴ组相对于Ⅰ组有显著改善（$P<0.01$）。睾丸病理切片I组损伤严重，其他组有不同程度改善。

综上所述，枯草芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌能可高效降解ZEA，提高小鼠免疫机能，有效缓解ZEA造成的睾丸损伤，改善睾丸组织抗氧化能力与激素水平，显著降低ZEA的生殖毒性。本研究成果可以为畜牧业霉菌毒素生物脱毒技术提供参考，减少畜禽毒素中毒引起的经济损失。

关键词：玉米赤霉烯酮；芽孢杆菌；小鼠；生化指标；免疫机能；生殖毒性

通讯作者：王希春，E-mail：wangxichun@ahau.edu.cn

T11-0005

基于线粒体途径激活JNK通路探究ZEA诱导猪ESCs凋亡的分子机制

陈佳雯，赵 杰，马 立，海思娆，冯士彬，李 玉，赵 畅，王希春
（安徽农业大学动物科技学院，合肥 230036）

摘要：玉米赤霉烯酮（Zearalenone，ZEA）是农产品及饲料中检出率较高的一种类雌激素样霉菌毒素。研究表明，ZEA具有生殖毒性，可损害后备母猪和成年母猪的生殖系统，导致生育能力下降，严重影响了养猪业的健康发展。目前，国内外对ZEA生殖毒性的研究主要集中在猪卵母细胞与颗粒细胞中，对猪子宫内膜基质细胞（Endometrial stromal cells，ESCs）毒性损伤的研究鲜有报道。因此，本试验以ESCs为研究对象，基于线粒体途径激活JNK通路探究ZEA诱导猪ESCs凋亡的分子机制。首先采用CCK-8法检测细胞存活率确定ZEA与抑制剂的最适浓度；透射电镜观察ESCs超微结构；激光共聚焦显微镜检测细胞生长状态及Cyt C的表达与分布；流式细胞术检测细胞凋亡率、线粒体膜电位、ROS以及Ca^{2+}水平变化；采用qRT-PCR技术检测JNK通路基因以及凋亡相关基因相对表达量；WB检测JNK通路蛋白以及凋亡相关蛋白表达水平，综合评价ZEA对猪ESCs的毒性损伤及其分子作用机制。结果显示：激光共聚焦显微镜观察可见随着ZEA浓度增加，Calcein-AM染色后红色荧光与绿色荧光比值增高，表明死细胞较活细胞比例增加；透射电镜观察可见细胞出现皱缩，线粒体断裂，染色质聚集，细胞膜受损等情况，表明ZEA呈剂量依赖性损伤猪ESCs细胞与超微结构；流式细胞仪观察可见，与对照组相比，ZEA组ROS、Ca^{2+}水平及细胞凋亡率极显著升高（$P<0.01$），MMP极显著下降（$P<0.01$），抑制剂组无显著变化（$P>0.05$）；与ZEA组相比，添加抑制剂后ROS、Ca^{2+}水平及细胞凋亡率极显著下降（$P<0.01$），MMP极显著上升（$P<0.01$）；免疫荧光观察可见ZEA组Cyt C释放明显；qRT-PCR与WB检测可见，与对照组相比，ZEA组Mfn 1、Mfn 2基因与蛋白表达水平极显著降低（$P<0.01$），Fis 1与Drp 1、Bax/Bcl-2、Caspase 3、Caspase 9、JNK及核蛋白p-JNK基因与蛋白表达水平极显著升高（$P<0.01$）；与ZEA组相比，添加抑制剂后Mfn 1、Mfn 2基因与蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$），Fis 1、Drp 1、Bax/Bcl-2、Caspase 3、Caspase 9、JNK及核蛋白p-JNK基因与蛋白表达水平显著或极显著下降（$P<0.05$或$P<0.01$）。

综上所述，猪ESCs暴露于ZEA中，可造成细胞产生过量的ROS、Ca^{2+}，导致细胞MMP下降，细胞凋亡率升高，引起细胞线粒体分裂，激活JNK信号通路后诱导细胞凋亡。当抑制线粒体途径后，可有效缓解ZEA

对猪ESCs的损伤作用，减少细胞凋亡。

关键词：玉米赤霉烯酮；猪子宫内膜基质细胞；线粒体分裂；JNK信号通路；细胞凋亡

通讯作者：王希春，E-mail：wangxichun@ahau.edu.cn

T11-0006

Nrf2-Keap1通路在砷铜联合诱导小鼠肝损伤中的作用机制研究

何　婷[1]，刘忠华[1,2]，钟高龙[1]，李元旭[1]，全锦雯[1]，刘思颖[1]，余文兰[1,2]

（1. 华南农业大学兽医学院，广州　510642；2. 华南农业大学实验动物中心，广州　510642）

摘要：本研究旨在探讨Nrf2-Keap1通路在砷铜联合诱导小鼠肝损伤中的作用机制，为进一步开展砷铜毒性分子机制研究奠定基础。试验选取36只6周龄的C57/6J雄鼠（包括Nrf2-WT和Nrf2-KO小鼠），随机分为6组；野生对照组（WT）、Nrf2敲除组（KO）、野生砷组（5ppm· As，WTA）、野生铜组（1.3ppm·Cu，WTC）、野生砷铜联合组（1.3ppm·Cu & 5ppm·As，WTAC）及Nrf2敲除砷铜联合组（1.3ppm·Cu & 5ppm·As，KOAC），每组6只，所有小鼠均通过自由饮水方式摄入相应浓度的砷和铜。处理60d后，采集肝组织，通过切片观察肝脏组织病理学变化，利用RT-qPCR、Western-blot技术检测肝组织中Nrf2-Keap1通路及线粒体途径凋亡相关基因和蛋白表达水平，免疫组化及免疫荧光技术检测Nrf2，Bax和HO-1在组织中的定位及表达情况。结果显示，与野生对照组（WT）相比，砷组（WTA）和铜组（WTC）均会诱导肝细胞的损伤，肝脏出现炎性细胞浸润及肝细胞解体，与WTA和WTC组相比，砷铜联合组（WTAC）会进一步加剧肝组织损伤，肝细胞出现大量的空泡化和细胞坏死；此外，相较WT组，WTAC组会诱导肝细胞发生凋亡，促凋亡相关指标（Caspase3，Casapse9，Cytc，Bax和Bak）的表达和肝组织分布显著增加（$P<0.05$），抑凋亡基因Bcl-2表达呈现显著下调的趋势（$P<0.05$）；同时肝脏Nrf2-Keap1通路中抗氧化相关基因和蛋白（HO-1，CAT，Nrf2）表达显著上升（$P<0.05$），Keap1显著下调（$P<0.05$），Nrf2和HO-1在肝组织分布也显著增加（$P<0.05$）。为进一步研究探讨Nrf2在砷铜联合暴露中的作用，我们引入了Nrf2-KO小鼠作相同处理，结果发现与WTAC组相比，Nrf2敲除后砷铜联合（KOAC）处理会诱导肝脏发生更严重的损伤，线粒体途径促凋亡相关基因（Caspase3，Casapse9，Cytc，Bax和Bak）的表达显著增加（$P<0.05$），抑凋亡基因Bcl-2的表达量显著降低（$P<0.05$），同时抗氧化相关基因（HO-1和CAT）的表达水平显著降低（$P<0.05$）。以上研究表明，砷铜联合暴露可通过Nrf2-Keap1通路诱导肝细胞凋亡和氧化应激造成小鼠肝脏损伤。

关键词：Nrf2；砷；铜；氧化应激；凋亡

作者简介：何　婷，硕士，主要从事畜禽代谢病研究，E-mail：1320716507@qq.com

通信作者：余文兰，E-mail：yuwenlan1989@scau.edu.cn

T11-0007

氟对睾丸组织及间质细胞铁死亡的影响及核黄素的干预研究

李　想，杨　婕，程陈凯，付伟祥，王俊东，张建海

（山西太谷，中国）

摘要：目的　接触过量氟化物可能导致动物睾丸组织的炎症和氧化应激，损害雄性的生育能力。铁死亡是铁依赖性的脂质过氧化累积导致的一种新的细胞死亡形式，是否参与调控氟引起的睾丸组织损伤尚未有报道。核黄素（Ribo）是一种良好的抗氧化剂，已被证明可以减少许多疾病的损害，但核黄素是否可以减少氟诱导的睾丸氧化应激尚不清楚。前期研究发现，敲除IL-17A可以减弱氟引起的睾丸损伤。因此，本实验的目的是探讨氟是否会诱导睾丸组织的铁死亡，以及补充核黄素是否能缓解氟诱导的铁死亡。**方法**　将32

只野生型(WT)和32只IL-17A敲除型(IL-17A$^{-/-}$)C57BL/6J小鼠均随机分为四组包括,对照组(0.9%NaCl)、NaF组(24 mg/kg bw氟化钠)、Ribo组(5 mg/kg bw Ribo)、NaF+Ribo组(24 mg/kg bw NaF+5 mg/kg bw Ribo),共8组,每组8只小鼠,灌胃给药(0.1 mL/10 g小鼠体重)13周。采用普鲁士蓝染色法观察小鼠睾丸组织铁含量变化和分布情况;ELISA技术检测小鼠血清中铁调素含量;生化试剂盒检测睾丸组织中铁含量、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、还原型谷胱甘肽(GSH)及氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量的变化;采用qRT-PCR技术对睾丸组织中胱氨酸/谷氨酸反向转运体系统(Xc-系统),铁代谢及其他关键基因mRNA表达水平进行检测;采用Western blotting和免疫荧光检测小鼠睾丸组织中TFRC的含量变化。使用0、0.125、0.25、0.5和1 mmol·L^{-1} NaF、0.04 mmol·L^{-1} Ribo、200 nmol·L^{-1} Lip-1、5 μmol·L^{-1} DFO以及1 mmol·L^{-1} NaF+0.04 mmol·L^{-1} Ribo/200 nmol·L^{-1} Lip-1/5 μmol·L^{-1} DFO对TM3细胞处理24 h。采用MTT法对细胞活力进行检测;采用qRT-PCR、Western blotting和免疫荧光技术对TM3细胞中铁死亡关键基因蛋白进行检测。通过DHE探针检测睾丸组织和TM3细胞活性氧(ROS)水平。**结果** NaF处理可以增加骨氟和牙氟含量,而补充核黄素则没有影响。补充核黄素可以缓解氟引起的氟斑牙严重程度、精子质量下降以及GSSG含量和间质细胞中铁含量增加。补充核黄素和敲除IL-17A并没有减少氟化物诱导的间质细胞ROS过度产生。补充核黄素可以缓解氟诱导的TFR1 mRNA表达的增加,但Western blotting和免疫荧光结果都显示,氟对睾丸组织中TFRC的表达没有影响。根据体内实验的结果,我们发现睾丸组织中的间质细胞对氟化物暴露更敏感,因此我们推测睾丸组织的间质细胞发生了铁死亡。qRT-PCR的结果显示,不同浓度的氟可以导致TFR1、Ferroportin、Nrf2和VDAC3的mRNA表达水平的变化。MTT结果显示,1 mmol·L^{-1} NaF处理24 h后,TM3细胞的活力明显下降,Ribo、Lip-1和DFO可以缓解氟引起的细胞活力下降和TFRC、FTH、GPX4和xCT的蛋白表达异常的情况。DHE探针检测表明,补充核黄素可以减少氟引起的ROS的积累。**结论** 过量的氟可引起间质细胞的铁死亡,导致精子质量下降,生殖功能受损。核黄素可以通过调节胱氨酸/谷氨酸反向转运系统和铁代谢来缓解氟诱导的间质细胞铁死亡。

T11-0008

邻苯二甲酸酯破坏微生物群-屏障-免疫交互导致十二指肠毒性的机制研究

杨天宁, 李金龙

(东北农业大学动物医学学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:目的 邻苯二甲酸酯是常见的塑化剂,邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)是一种常用的邻苯二甲酸酯类化合物,是世界范围内普遍使用的增塑剂,被EPA列为环境内分泌干扰物。肠道具有免疫功能、屏障功能、消化吸收功能等,是首过代谢的重要途径,然而微生物群落和肠道功能的关系仍然需要进一步探索。本研究旨在探究邻苯二甲酸酯诱导的微生物群-屏障-免疫交互的破坏导致十二指肠毒性的作用机制。**材料和方法** 我们通过不同剂量组(D250、D500、D750)和对照组(Con和Vcon组)的鹌鹑灌胃45天后分离十二指肠肠段进行研究,随后通过石蜡切片染色、ELISA、荧光定量PCR、Western blot等方法检测相关指标,并通过16S rDNA高通量测序分析十二指肠内的微生物种群变化。**结果** DEHP处理组的十二指肠损伤严重程度升高,绒毛长度与隐窝深度的比值显著降低,紧密连接蛋白的表达水平均显著下降。DEHP处理组的抗氧化功能紊乱,而且Nrf2抗氧化功能和TLR4-NF-κB-p65通路及相关mRNA和蛋白水平均有不同程度的增加。并且DEHP处理组的IL-1β、IL-18含量显著增加。DEHP处理组的抗菌肽mRNA表达量、腺苷脱氨酶活性和脂多糖含量显著增加、溶菌酶的水平急剧下降。16S rDNA分析表明变形杆菌和类杆菌是Vcon组的优势菌群,而D750组的变形杆菌增加了19.2%,类杆菌减少了6.8%。作为属水平上的优势菌,D750组的白色沉积杆菌(32.8%)和乳酸杆菌(25.11%)的丰度百分比下降,而慢生根瘤菌(20.7%)和甲基韦氏杆菌(6.2%)的丰度百分比增加。LEfSe分析的LDA得分表明,17个分类单元显著影响D750组微生物区系的生物学特征。功能预测分析表明,DEHP诱导的微生物群落的变化可能会影响宿主的新陈代谢、遗

传信息处理等。**结论** 亚慢性暴露于DEHP可导致鹌鹑十二指肠的屏障缺陷，其中十二指肠的损伤体现在绒毛长度与隐窝深度的比值和紧密连接蛋白的减少。DEHP还通过作为生物屏障的菌群失调导致了抗菌防御系统的崩溃，LPS的大量存在导致了TLR4受体的激活。此外，DEHP激活了氧化应激，协同TLR4-NFκB途径引起的炎症反应，促进了十二指肠的损伤。本研究为邻苯二甲酸酯对微生物群-屏障-免疫交互的影响提供了基础。

关键词：邻苯二甲酸酯；十二指肠；肠道屏障；菌群失调

作者简介：杨天宁，E-mail：B210601018@neau.edu.cn

通讯作者：李金龙，E-mail：Jinlongli@neau.edu.cn

T11-0009

番茄红素通过Nrf2/Keap-1/NLRP3/Caspase-1通路对DEHP暴露导致肾脏细胞焦亡改善作用的研究

李木子，李金龙

（东北农业大学 动物医学学院，黑龙江 哈尔滨 150030）

摘要：目的 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)是一种具有环境持久性和生物累积性的增塑剂，广泛用于各种塑料制品中，肾脏作为重要的代谢器官，也是其靶器官之一。番茄红素(LYC)作为一种天然类胡萝卜素已被证明具有强大的抗氧化能力和强大的肾脏保护作用。由于DEHP暴露会导致多器官的氧化应激和炎症反应，但其机制尚不清楚。因此本研究旨在研究氧化应激和经典细胞焦亡途径之间的串扰在番茄红素减轻DEHP诱导的肾损伤中的作用。**材料和方法** 将140只3周龄的ICR小鼠，适应性饲养一周后，随机分成水(Con组)、玉米油(VCon组)、5 mg/kg番茄红素(L组)、500 mg/kg DEHP(D5组)、1000 mg/kg DEHP(D10组)、500 mg/kg DEHP+5 mg/kg番茄红素(DL5组)、1000 mg/kg DEHP+5 mg/kg番茄红素(DL10组)共7组，每日称量体重并记录以调整灌胃剂量，连续灌胃28天，期间小鼠自由饮食饮水。小鼠末次灌胃后，禁食禁水12 h，眼球取血离心，保存血清。剥离小鼠肾脏用于组织学及后续指标的测定。**结果** 通过组织病理学和超微结构观察，发现番茄红素缓解了DEHP暴露引起的肾小管上皮细胞脱落，Bowman′s空间增大，部分肾小球萎缩，肾脏线粒体空泡化和嵴断裂等现象。ELISA结果显示番茄红素降低了DEHP暴露诱导的组织中两种肾脏损伤标志物，肾损伤分子-1(Kim-1)和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)的含量增加，降低了血尿素氮(Bun)、肌酐(Cre)和尿酸(Uric)三个生化指标的异常升高，同时降低了氧化活性标志物和炎症指标的增加。荧光实时定量PCR、免疫组化和Western blot实验结果显示番茄红素恢复了DEHP暴露导致的核因子E2相关因子2(Nrf2)的核转移及其下游靶基因mRNA和蛋白(NQO1、SOD2、CAT、Keap-1)的表达紊乱，并且补充番茄红素可以抑制DEHP暴露诱导的Caspase-1/NLRP3经典细胞焦亡通路相关蛋白(NLRP3、ASC、Caspase-1、IL18、IL1β)激活和肾脏炎症反应。**结论** DEHP暴露导致肾组织损伤和氧化应激，同时激活Nrf2通路和NLRP3炎症小体，导致经典细胞焦亡通路的激活。番茄红素可能通过Nrf2/Keap-1/NLRP3/Caspase-1通路之间的正反馈串扰改善以上这些变化。本研究为兽医临床中防治环境污染物对肾脏造成的损伤提供了新的理论依据。

关键词：邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯；番茄红素；肾脏损伤；细胞焦亡；氧化应激

通讯作者：李金龙，E-mail：Jinlongli@neau.edu.cn

T11-0010

转铁蛋白受体介导的铁死亡参与邻苯二甲酸盐酯致小鼠睾丸血睾屏障损伤

赵 一，李金龙
（东北农业大学动物医学学院，黑龙江 哈尔滨市 150030）

摘要：目的 邻苯二甲酸酯是一种有机化合物，经常用于塑料大棚、杀虫剂以及聚乙烯塑料中。邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)是使用范围最广的邻苯二甲酸酯之一，作为常见的内分泌干扰物，其在环境中广泛分布。DEHP环境蓄积效应会造成男性生殖器官损伤和功能障碍，干扰生精过程，从而导致不良妊娠结局。铁死亡是近年来研究的热点，也是一种细胞程序性死亡新形式。本研究的目的是为了探究邻苯二甲酸酯诱导雄性生殖毒性的潜在机制及其与铁死亡的关系。**材料与方法** 本研究的体内试验部分以21日龄的雄性ICR小鼠为受试对象，随机分成5组(空白对照组、溶媒对照组以及DEHP低、中、高剂量组)，灌胃处理28天后，观察小鼠临床状况、生殖器形态学、精子相关参数、氧化应激和抗氧化功能、血睾屏障结构和功能改变。本试验的体外部分以小鼠睾丸支持细胞系(TM4细胞)和原代支持细胞(SCs细胞)为研究对象，首先将细胞分为4组(空白对照组以及MEHP低、中、高剂量组)，然后在培养体系中进行转铁蛋白受体(TfRC) siRNA(siTfRC)转染，分别检测细胞结构和功能的变化。**结果** 体内试验表明，DEHP暴露引起小鼠体重、进食量、肛殖距和睾丸脏器系数降低，诱导小鼠睾丸生精细胞结构损伤，精子DNA和蛋白损伤、活性下降、畸形率增加、运动能力和受精能力下降。DEHP诱导支持细胞结构损伤，分泌功能紊乱，血睾屏障结构和功能损伤，细胞连接相关蛋白水平改变。DEHP诱导小鼠睾丸氧化应激产物增加和抗氧化酶活性下降，谷胱甘肽代谢紊乱，总铁和亚铁离子水平上调，铁死亡相关指标改变。体外试验表明，MEHP诱导TM4细胞超微结构损伤，细胞活率下降，凋亡水平、细胞内ROS和脂质过氧化物增加，抗氧化酶活性减少，血睾屏障功能紊乱，细胞质和线粒体内Fe^{2+}水平上调，铁死亡相关指标改变。同时，敲低TfRC能够通过降低Fe^{2+}和脂质过氧化水平来抑制MEHP诱导的支持细胞铁死亡和血睾屏障受损。**结论** DEHP暴露可通过上调TfRC诱导小鼠睾丸氧化损伤，引起脂质过氧化产物累积，破坏支持细胞内铁稳态，诱导铁死亡，进而引起小鼠睾丸支持细胞结构和功能受损。本研究为医学及兽医临床中雄性生殖毒性的防治提供新的靶点，并且为有效的保障畜禽生产和繁殖提供了新的思路。

关键词：邻苯二甲酸酯；转铁蛋白受体；支持细胞；铁死亡；血睾屏障

作者简介：赵 一，E-mail：zhaoyi@neau.edu.cn
通讯作者：李金龙，E-mail：Jinlongli@neau.edu.cn

T11-0011

线粒体胞吐在DEHP诱导鹌鹑颗粒细胞线粒体稳态失衡中的作用机制研究

马香玉，李金龙，李雪楠
（东北农业大学 动物医学学院，黑龙江 哈尔滨 150030）

摘要：目的 邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯(DEHP)是一种环境内分泌干扰物，其在环境中的累积效应会造成雌性生殖系统的损伤和功能障碍，干扰卵泡发育过程，从而导致不良妊娠结局。颗粒细胞(GCs)是卵巢的主要功能细胞，线粒体是其中最丰富的细胞器，如果线粒体功能下降，可能会影响GCs的质量，进而导致卵母细胞甚至卵巢的衰老。本研究旨在探讨迁移体介导的线粒体胞吐在DEHP诱导禽类GCs线粒体稳态失衡中的调控作用，阐明DEHP诱导禽类雌性生殖毒性的潜在机制，对有效开发和利用卵泡资源，提高家禽的繁殖性能具有重要意义。**材料和方法** 以8日龄的雌性日本鹌鹑为受试对象，随机分成5组(空白对照组、溶媒对照组以及250 mg/kg DEHP、500 mg/kg DEHP和750 mg/kg DEHP组)，灌胃处理45天后，观察鹌鹑卵巢形态结构与颗粒细胞超微结构变化，检测卵巢组织中DEHP及其代谢产物的残留量、血清性激素

水平、性激素分泌和线粒体质量控制相关调控因子表达。**结果** 通过组织病理学和超微结构观察，发现DEHP暴露导致卵巢组织中成熟卵泡的数量和体积明显减少，卵泡膜细胞与颗粒细胞边界不清晰，细胞核染着色浅，卵泡膜细胞排列紊乱，卵巢颗粒细胞层厚度降低，颗粒细胞出现线粒体损伤（线粒体体积密度减小，线粒体嵴减少、空泡化，受损线粒体百分比增加），线粒体胞吐现象；ELISA和Western blot结果显示，DEHP暴露导致HPOA轴性激素分泌相关调控因子表达紊乱和性激素合成障碍；免疫荧光、分子对接和Western blot结果表明，DEHP暴露激活线粒体胞吐（MYO19、KIF5B和TSPAN4）、线粒体动力学（OPA1、DRP1、MFN1和MFN2）和线粒体自噬（Parkin、LC3B、P62）等线粒体质量控制相关调控因子的表达。**结论** DEHP暴露可通过上调KIF5B/MYO19/DRP1调控线粒体运输、定位和及分裂，从而介导受损线粒体的迁移，扰乱细胞内线粒体的稳态维持，进而引起鹌鹑卵巢颗粒细胞结构和功能受损。本研究探讨家禽GCs和卵泡发育的调控机制，对有效开发和利用卵巢中的卵泡资源，提高家禽的繁殖性能具有重要意义。

关键词：邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯；卵巢颗粒细胞；线粒体胞吐；迁移小体

通讯作者：李雪楠，E-mail：lixuenan@neau.edu.cn

T11-0012

镉通过调控MAPK-ATF5-线粒体UPR信号通路触发肝细胞凋亡和铁死亡的分子机制研究

代重山，汤树生，王战辉，沈建忠

（中国农业大学 动物医学院 兽医分子毒理学方向）

摘要：重金属镉是一种广泛存在于环境中的有毒污染物，严重威胁动物和人类健康。镉暴露可产生严重的肝毒性，但精确的分子机制尚不清楚。本研究旨在通过动物和细胞试验探究镉诱导细胞凋亡和铁死亡的分子机制。8周龄C57BL/6小鼠（雄性）每天口服按照5、10和20 mg/kg体重灌胃硫酸镉，连续灌胃14 d后，小鼠血清和肝脏组织被收集，用于生化指标和蛋白表达检测；人L02细胞被用作建立硫酸镉体外细胞毒性模型，不同剂量硫酸镉联合药理药理学或基因干预处理24 h后，细胞活力、凋亡、铁死亡及相关蛋白标志物被检测。结果发现，与对照组相比，硫酸镉暴露可导致小鼠肝组织发生明显的坏死和炎症反应，同时显著抑制肝脏组织中ATF5、CLPP、Hsp60、GPX4、SLC7A11、Bcl-2等蛋白表达，显著上调磷酸化（p）-JNK、Bax、p-p38等蛋白表达。在体外，镉暴露可剂量依赖性诱导L02细胞凋亡和铁死亡，与对照组相比，镉暴露可剂量依赖性下调ATF5、CLPP、Hsp60、GPX4、SLC7A11、Bcl-2等蛋白表达，剂量依赖性上调p-JNK、Bax、p-p38等蛋白表达。铁死亡抑制剂Fer-1和抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸（NAC）显著降低镉暴露诱导的L02细胞毒性；药理学抑制JNK信号通路显著抑制ATF5蛋白表达，加剧镉暴露诱导的L02细胞凋亡和铁死亡；药理学水平激活ATF-5表达，显著抑制镉暴露诱导的L02细胞凋亡和铁死亡；相反，基因水平干扰ATF5表达显著加剧镉暴露诱导的铁死亡和凋亡。综上，我们的研究首次揭示MAPK-ATF5-线粒体UPR信号通路参与调控镉暴露诱导的凋亡和铁死亡，为临床治疗镉中毒提供了重要的理论依据。

关键词：镉；铁死亡；凋亡；MAPK-ATF5-线粒体UPR信号通路

通讯作者：代重山，E-mail：daichongshan@cau.edu.cn；沈建忠，E-mail：sjz@cau.edu.cn

T11-0013

饲料源重金属镉胚胎毒性研究进展

李金龙，李雪楠，朱士勇，代雪艳，汤怡曦
（东北农业大学 动物医学学院，黑龙江 哈尔滨 150030）

摘要：镉（Cadmium，Cd）是一种具有强致畸性和致癌性的重金属，对胚胎发育存在潜在威胁。研究镉对早期胚胎发育的毒性效应可为防治环境镉污染、提高物种质量和数量提供科学依据。

镉具有长达10～30年左右的半衰期和50年之久的生物富集时间。少量镉进入机体即可在肝脏、肾脏和骨骼等多器官中积累，从而对呼吸、免疫、生殖、中枢神经系统和胚胎发育造成毒性损伤。镉对受精卵发生的影响与早期胚胎致死和植入失败有关。在胚胎发生的特定阶段暴露于镉会导致腹体壁闭合不全、神经管畸形等异常现象的发生。研究表明，镉对多种物种具有胚胎毒性作用。

鸡胚由于具有对环境毒物敏感、可体外培养以及胚胎发育不受外界和母源因素干扰等优点被应用在毒理学研究中。本文从卵内试验与细胞试验两方面，综述了镉致鸡胚胎毒性的细胞生物学及分子生物学机制。镉会导致鸡胚胎死亡、畸形、生长迟缓和功能不全。一方面，镉导致鸡胚颅顶骨（PA）和额骨（FR）凹陷等典型发育缺陷。研究表明，镉通过下调早期神经嵴细胞迁移标志物（Pax7和HNK1）的表达，上调钙粘蛋白（E-cadherin、N-cadherin、Cadherin 6B）的表达水平，阻碍颅神经嵴细胞的迁移。镉通过抑制骨矿化相关因子（ALP、Runx2、OC3、Col1α-1、Col2α-1）的表达，阻碍颅面神经嵴成骨细胞的发育，从而抑制颅骨的形成。镉主要通过抑BMP/Smads和Wnt/β-catenin信号通路的活性，影响鸡胚器官形态发生、发育进程以及骨骼系统发育等生物学过程。BMP4激活剂的添加能够阻止镉对BMP/Smads信号通路活性的抑制，同时减轻镉暴露对Wnt/β-catenin信号通路活性的抑制，表明BMP/Smads和Wnt/β-catenin信号通路在鸡胚颅面神经嵴发生过程中具有协同作用。镉能够扰乱线粒体生物发生和动力学稳态（线粒体数量减少、线粒体空泡变性，降低线粒体膜电位），导致内质网功能障碍（内质网肿胀、断裂，内质网和线粒体膜融合引发线粒体自噬），表明镉通过ERS-UPR-自噬依赖途径诱导了颅神经嵴细胞损伤。另一方面，镉通过诱导HH-17期鸡胚过度凋亡从而导致鸡胚发生腹体壁闭合不全。研究表明，镉通过激活AKT1抑制了Foxo1的表达，促进细胞凋亡，并导致鸡胚抗氧化防御体系损伤，ROS的产生增加。镉通过下调Mdm2和Pax3的表达，从而扰乱p53泛素化进程，导致鸡胚细胞凋亡加剧。胚蛋注射维生素C能够提高镉污染种蛋的孵化率，降低畸形率，并通过缓解抗氧化防御系统损伤，颉颃镉导致的鸡胚腹体壁闭合不全。

关键词：镉；鸡胚；胚胎毒性；颅面骨神经嵴；BMP/Wnt信号通路

通讯作者：李金龙，E-mail：Jinlongli@neau.edu.cn

T11-0014

RNA m^6A甲基化修饰在玉米赤酶烯酮（ZEA）所致的小鼠睾丸损伤中的作用研究

宝力格，李继昌
（东北农业大学动物医学学院，黑龙江 哈尔滨 150030）

摘要：目的 玉米赤霉烯酮（Zearalenone，ZEA），是一种由多种镰刀菌产生的非甾体雌激素霉菌毒素。ZEA不仅对公众健康有害，而且还会降低受污染产品的销量，对社会及畜牧业造成巨大的经济损失。RNA m6A甲基化修饰对哺乳动物的精子发生过程至关重要，机体暴露于环境内分泌干扰物等环境毒物中，可引起其总RNA m^6A修饰水平的改变并引起相关损伤，故本研究旨在RNA m^6A甲基化修饰的表观遗传学层面去探究ZEA对雄性睾丸及精子的损伤机制研究，更加深入的探究ZEA致病过程中微观层面的生物机制，能更加系统的完善ZEA导致睾丸损伤所引起的雄性不育的致病机制。**材料和方法** 通过不同攻毒剂量组（ZEA20、ZEA40、ZEA80）和对照组（Con和Vcon组）对Balb/C雄鼠进行灌胃30天后，分离睾丸及附睾组织

进行研究，通过石蜡切片染色、ELISA、精子吖啶橙染色、精子数量及质量评价、及使用CASA系统测量精子速度和线性的模式、睾丸组织总体m^6A测定比色法检测睾丸及精子的各项指标，综合研判ZEA暴露所致的睾丸发育损伤，进一步探究ZEA导致小鼠睾丸损伤与RNA m^6A甲基化修饰之间的相互联系。**结果** 与对照组相比ZEA攻毒组明显出现睾丸及精子损伤，攻毒组曲细精管生精上皮细胞形态紊乱，出现不同程度的空泡，支持细胞和间质细胞结构不清晰，生精小管中成熟的精子数量下降。攻毒组小鼠的精子浓度和运动性能均显著降低，精子畸形率则显著上升，荧光染色发现精子DNA损伤也较为明显。ELISA结果显示，ZEA攻毒组的血清睾酮（T）及雌二醇（E_2）含量均发生显著性变化。从m^6A修饰调控角度来检测，与对照组相比，ZEA攻毒组的睾丸组织中总体RNA m^6A甲基化修饰水平极显著性降低。**结论** ZEA可导致Balb/C小鼠睾丸发生损伤，生精小管成熟精子减少，干扰精子运动性能且导致畸形率升高。同时影响体内性激素水平，以及导致RNA m^6A甲基化修饰发生改变。本研究证明了ZEA引起雄性生殖紊乱，而m^6A甲基化修饰水平的改变为接下来的试验提供了有力的基础，ZEA所引起的RNA m^6A甲基化修饰是否是引起睾丸损伤的具体原因有待进一步研究。

关键词：玉米赤酶烯酮；RNA甲基化；m^6A；睾丸损伤

作者简介：宝力格，E-mail：baolige1992@126.com

通讯作者：李继昌，E-mail：lijichang@neau.edu.cn

T11-0015

骆驼源龙舌兰芽孢杆菌的分离及安全性评价

王银龙

（国科赛赋河北医药技术有限公司）

摘要：（目的）芽孢杆菌是天然肠道菌群的一部分，由于其广泛的生物学作用，一直以来受到极大的关注。骆驼是荒漠地区的特殊物种，对极端环境有极好的适应能力，但由于长期缺乏充足的营养，易导致肠道菌群及代谢紊乱而患各种疾病。抗生素作为饲料添加剂长期使用给畜禽业造成了严重的危害，相反益生菌在控制致病菌感染、增强机体免疫等方面具有极大的优势，从本源动物体内分离的益生菌能更好适应本体动物胃肠道，本研究从健康骆驼粪便中分离出有益生功能的芽孢杆菌，以替代抗生素，促进饲料的转化吸收，达到健康养殖的目的。**方法与结果** 1. 以饲养过程中没有添加抗生素的成年骆驼的新鲜粪便为菌源，通过形态学鉴定、生化鉴定、16S rRNA测序，获得一株枯草芽孢杆菌和一株龙舌兰芽孢杆菌，分别命名为LTF6、LTF7。两株菌株对各种不良环境均具有不同程度的耐受能力，均可以抑制大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌的生长，且对氨苄西林等8种临床常用的抗生素敏感，没有溶血活性，且在2 h后均能快速进入对数生长期。2. 挑选出一株抗逆性好、对大肠杆菌抑制作用强的芽孢杆菌LTF7进行体内安全性检测。24只SPF雄性昆明小鼠，体重约20±2 g，随机分为对照组和试验组（LTF7），分别灌胃无菌PBS溶液和1×10^8 CFU/mL的LTF7菌悬液各0.2 mL，连续14 d。对小鼠外表形态、精神状态和排泄物均无影响，体重与对照组相比没有差异（$P>0.05$），剖检后，所有小鼠腹部器官均无明显眼观病理变化，试验组与对照组器官指数无差异，试验组白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数量均在正常范围内，血清ALT、TP和BUN无差异（$P>0.05$），H.E染色观察肝脏、肾脏组织，显微镜下未见明显眼观病理变化，腹腔注射试验中，两组小鼠增重无差异（$P>0.05$），体内脏器无眼观病理变化。**结论** 从骆驼粪便中分离得到一株具有益生特性和安全性的龙舌兰芽孢杆菌LTF7。

关键词：芽孢杆菌；益生菌；抗生素；安全性

通讯作者：王银龙，E-mail：1830171142@qq.com

DNA甲基化在AFB1诱导的肉鸡肝脏中的作用及姜黄素干预的影响

刘芮萌，张艺馨，孙继超，魏高强，赵新荣，张秀英
（东北农业大学动物医学学院）

摘要：目的 黄曲霉毒素B1（AFB1）因其毒性大、污染范围广而被认为是毒性最大的黄曲霉毒素，国际癌症研究机构（IARC）将其列为“Ⅰ类致癌物”。姜黄素（Curcumin）是一种从姜黄中提取的多酚类化合物，具有多种药理作用，还具有保护肝脏细胞的强大潜力，可用于缓解AFB1的毒性。DNA甲基化是一种表观遗传修饰模式，在调控基因表达方面起着关键作用。5-甲基胞嘧啶（5-mC）的变化可以代表DNA甲基化的变化。一般来说，DNA甲基转移酶（DNMTs）可以催化DNA甲基化，DNMTs家族只有DNMT1、DNMT3a和DNMT3b显示出甲基转移酶的活性。在本试验中，探讨了表观遗传学DNA甲基化在AFB1诱导的肉鸡肝脏中的作用以及姜黄素的保护作用。采用RT-PCR、Western blot、HPLC等技术，研究姜黄素通过影响肉鸡肝脏中DNA甲基转移酶、DNA整体甲基化水平来缓解AFB1肝脏毒性的可能性。本研究结果为丰富AFB1致肝毒性机制及其防治提供了重要的理论依据。**材料和方法** Real-Time PCR检测不同处理组肉鸡肝脏DNMT1、DNMT3a、DNMT3b的基因表达量；Western blot检测不同处理组肉鸡肝脏DNMT1、DNMT3a、DNMT3b的蛋白表达量；HPLC检测DNA整体甲基化水平；使用统计学软件SPSS 26.0计算在试验中获得的数据。**结果** AFB1组肉鸡肝脏的DNA整体甲基化水平低于对照组，无显著性，姜黄素干预后肝脏的DNA整体甲基化水平有所提高。摄入AFB1明显抑制了肉鸡肝脏中DNMT1、DNMT3a和DNMT3b的mRNA表达（$P<0.05$），而cur+AFB1组中DNMT1、DNMT3a和DNMT3b的mRNA表达明显增加（$P<0.05$）。DNA甲基转移酶（DNMT1、DNMT3a和DNMT3b）的蛋白表达水平与mRNA水平的趋势一致。结果表明，AFB1可以通过下调DNMTs的表达来诱导肝脏损伤，而姜黄素通过增加肉鸡肝脏中DNMTs的表达来保护肝脏免受AFB1诱导的肝脏毒性。**结论** AFB1会引起肉鸡肝脏DNA整体甲基化水平、DNMTs表达下调；姜黄素可以通过提高DNA整体甲基化水平以及DNMTs的表达来缓解AFB1诱导的肉鸡肝脏损伤，从而对肝脏提供保护作用。

通讯作者：刘芮萌，E-mail：774713109@qq.com

铅镉单独和联合染毒对大鼠BRL-3A肝细胞凋亡的影响

薛俊姝，殷中琼
（四川农业大学动物医学院天然药物研究中心，四川 成都 611130）

摘要：目的 本试验研究铅镉单独和联合染毒对大鼠BRL-3A肝细胞凋亡的影响。**方法** 通过建立铅镉单独和联合染毒大鼠BRL-3A肝细胞模型，经CCK-8法和DAPI法测定不同浓度的铅镉单独和联合染毒在不同时间对大鼠BRL-3A肝细胞活性和凋亡的影响；进一步探究铅镉单独和联合处理细胞12 h后，对细胞凋亡率、ROS、线粒体膜电位和线粒体凋亡途径相关蛋白Bcl-2、Bax、Cyt c、Cleaved caspase-3和Caspase-9表达水平的影响。**结果** 10 μM、20 μM和40 μM醋酸铅、2.5 μmol·L^{-1}、5 μmol·L^{-1}和10 μmol·L^{-1}氯化镉以及10+2.5、20+5、40+10 μmol·L^{-1}醋酸铅和氯化镉联合处理大鼠BRL-3A肝细胞3、6、12 h后，与对照组相比，细胞活性呈现先升高后降低；处理12 h后，与对照组相比，铅镉单独和联合处理组显著抑制细胞活性，细胞凋亡率显著升高（$P<0.05$），呈现剂量效应关系，铅镉联合处理组细胞活性显著低于铅镉单独处理组，其细胞凋亡率显著高于铅镉单独处理组，呈现联合毒性效应；与对照组相比，铅镉单独和联合处理组细胞ROS水平显著增加（$P<0.05$），线粒体膜电位显著下降（$P<0.05$），并呈现剂量效应关系，同时线粒体凋亡途径相关蛋白Bax、Cyt c、Cleaved caspase-3和Caspase-9表达水平显著升高（$P<0.05$），Bcl-2表达水平显著降低（$P<0.05$）。**结论** 铅镉单独和联合染毒，通过降低大鼠BRL-3A肝细胞活性，升高细胞内活性氧水平，降低线粒体膜电位水平，升高与线粒体凋亡相关蛋白的表达水平，最终通过线粒体途径诱导肝细胞凋亡。

关键词：铅镉单独和联合染毒；大鼠BRL-3A肝细胞；线粒体；损伤；细胞凋亡

作者简介：薛俊姝，硕士研究生，主要从事基础兽医学研究。

通讯作者：殷中琼，E-mail：yinzhongq@163.com

大蒜辣素对肉鸡CYP3A4的表达及其酶动力学的影响

袁何玲，吕　茜，王晓明，黄金虎，王丽平

（南京农业大学动物医学院）

摘要：目的　大蒜辣素具有较好的抗菌、抗氧化和抗癌等活性，有望作为一种抗生素替代品用于畜禽养殖业，但其对肝脏药物代谢酶的影响尚不清楚。本研究旨在探究大蒜辣素对肉鸡CYP3A4酶活性、mRNA和蛋白表达及酶动力学的影响，为其在生产实践中的合理使用提供参考。**材料与方法**　120只1日龄AA肉鸡随机分为对照组（基础日粮组）、大蒜辣素低剂量组（40 mg/kg）和高剂量组（80 mg/kg），处理组每天2次，连续42天于饲料中添加大蒜辣素。每组肉鸡分别在第14、28和42天时，随机采集10只鸡肝脏组织，钙离子沉淀法提取肝微粒体，采用HPLC检测大蒜辣素对CYP3A4酶活性的影响；采用real-time RT-PCR和Western blot方法检测大蒜辣素对CYP3A4 mRNA和蛋白表达的影响；进一步采用体外探针药物法测定大蒜辣素对CYP3A4酶的抑制动力学参数。另外，肉鸡在大蒜辣素处理至28天时每组分别随机选取8只鸡，按照10 mg/kg·bw单剂量灌胃给与氨苯砜溶液，采用Cocktail探针法探究CYP3A活性的变化。**结果**　高、低剂量大蒜辣素处理至14天时CYP3A4酶活性分别极显著升高为对照组的1.8倍和1.1倍（$P<0.01$），而处理至28和42天时分别极显著降低为对照组的0.8和0.9倍（$P<0.001$），并呈剂量依赖性；但高、低剂量大蒜辣素处理至14天时 CYP3A4 mRNA表达量与对照组相比无显著差异（$P>0.05$），处理至28和42天时分别显著降低为对照组的0.7倍和0.5倍（$P<0.05$）；高、低浓度大蒜辣素分别处理至14、28和42天时CYP3A4蛋白表达和相应基因表达的变化趋势基本一致；大蒜辣素对CYP3A4的半数抑制浓度（IC_{50}）为57.31 μmol·L^{-1}，抑制常数（K_i）为85.53 μmol·L^{-1}，并对CYP3A4呈现非竞争性抑制作用，且其对CYP3A4酶活性的抑制作用呈现一定的时间和浓度依赖性。氨苯砜的药代动力学结果表明，与对照组相比，高剂量大蒜辣素处理显著增加氨苯砜的药时曲线下面积AUC（7.92±1.03 h·mg/L vs 12.88±1.35 h·mg/L，$P<0.05$），且高、低剂量大蒜辣素均显著降低氨苯砜的清除率CLz（1.70±0.26 L/h/kg vs 0.91±0.07 L/h/kg vs 0.96±0.15 L/h/kg，$P<0.05$），平均驻留时间（MRT）、C_{max}、T_{max}、表观分布容积（V_z）、半衰期（$T_{1/2}$）等药动学参数与对照组相比虽有一定变化，但差异不显著（$P>0.05$）。**结论**　大蒜辣素对CYP3A4酶活性表现为双向作用，即短时间处理时为诱导作用，长时间处理时为抑制作用。该研究结果提示大蒜辣素长期应用会对肉鸡CYP3A4产生复杂影响，临床应注意其介导的药物相互作用，避免产生不良反应，同时该研究结果也为兽药饲料添加剂的安全性评价提供研究范式和参考。

关键词：大蒜辣素；CYP3A4；肝微粒体；肉鸡；氨苯砜

基金项目：江苏省自主创新项目（CX（22）3039）

通讯作者：王丽平，E-mail：18336060391@163.com

JNK信号通路与细胞凋亡在内毒素诱导雏鸡肝损伤中的作用研究

原　亮，刘佳睿，刘芳萍

（东北农业大学动物医学学院，哈尔滨　150030）

摘要：目的　内毒素（Lipopolysaccharides，LPS）是多种革兰氏阴性菌细胞壁的组成成分。在养殖业发展中畜禽易受革兰氏阴性菌感染，菌体裂解而释放大量内毒素，进入肝脏后引起肝脏的损伤。本文运用

LPS诱导雏鸡肝损伤模型，旨在探讨JNK信号通路及细胞凋亡在LPS诱导的肝损伤中的作用，为进一步研究细菌感染性肝损伤的机制奠定理论基础。**材料和方法** 将12只21日龄雏鸡随机分为对照组和LPS组，禁食12 h后腹腔注射LPS（60 mg·kg^{-1}），对照组注射等量生理盐水，12 h后心脏采血处死。分离血清检测血清转氨酶活性；肝脏用10%福尔马林固定液固定，H&E染色法进行肝脏病理组织学观察；采用Western Blot法测定肝组织中JNK信号通路上游ASK1、MKK4和MKK7蛋白表达及磷酸化水平，JNK蛋白及下游c-Jun蛋白表达及磷酸化水平；采用Hoechst 33258染色法检测细胞凋亡；应用Western Blot法检测抗凋亡蛋白Bcl-2及促凋亡蛋白Bax和caspase-3的表达。结果 血清转氨酶活性结果显示，与对照组相比，LPS组血清转氨酶活性极显著上升（P<0.01）。H&E染色结果显示，对照组肝细胞形态正常，结构完整，肝索清晰；LPS组有大量炎性细胞浸润和出血点、肝索紊乱，核固缩。Western blot结果显示，与对照组相比，LPS组JNK信号通路上游ASK1、MKK4和MKK7蛋白表达和磷酸化水平极显著升高（P< 0.01）；LPS组JNK蛋白及其下游c-Jun蛋白表达和磷酸化水平极显著升高（P< 0.01），表明LPS可以激活JNK信号通路，使其上下游蛋白表达和磷酸化水平升高。Hoechst 33258染色结果表明，对照组细胞核荧光均匀形态完整，与对照组相比，LPS组相对荧光强度极显著升高（P< 0.01），并且出现核固缩。Western blot结果显示，与对照组相比，LPS组Bcl−2表达量极显著降低、Bax和caspase-3表达量极显著升高（P< 0.01），表明在LPS诱导的雏鸡肝损伤中发生细胞凋亡。**结论** LPS可以激活JNK信号通路，使其上下游蛋白表达和磷酸化水平升高，肝细胞凋亡，造成雏鸡肝损伤。

关键词： JNK信号通路；细胞凋亡；内毒素；肝损伤；雏鸡

基金项目：国家自然科学基金（31472241）

作者简介：原 亮，博士生，E-mail：2650502676@qq.com

通讯作者：刘芳萍，E-mail：fangpingliu@126.com

虾青素缓解黄曲霉毒素B1对猪IPEC-J2细胞氧化应激的作用

张 晶，田 乐，金永成，王传奇，付玉蓉，于 浩

（吉林大学 动物科学学院 吉林省东北寒区畜禽饲料与饲养重点实验室，吉林 长春 130062）

摘要： 虾青素（AST）是类胡萝卜素中的叶黄素类，天然虾青素具有抗氧化、抗炎和抗癌等生理功能。黄曲霉毒素B1（AFB1）作为饲料中常见的真菌毒素具有强烈的致癌性。黄曲霉毒素B1对猪的肝脏、生殖器官、免疫器官以及肠道等均有毒性作用。因此，以猪小肠上皮细胞（IPEC-J2）为研究对象，探究虾青素缓解黄曲霉毒素B1对IPEC-J2细胞氧化应激的作用。猪IPEC-J2细胞活力通过CCK8试剂盒进行测定。与对照组相比，通过不同浓度的AFB1（1 ~ 80 M）作用IPEC-J2细胞，当10 μmol·L^{-1} 的AFB1作用IPEC-J2细胞24 h后细胞活力极显著下降；当不同浓度的AST（5 ~ 100 μmol·L^{-1}）作用IPEC-J2细胞24 h后细胞活力未下降。因此，选择AFB1（10 μmol·L^{-1}）和不同浓度的AST（5 ~ 100 μmol·L^{-1}）共同处理IPEC-J2细胞24 h。结果显示，与AFB1（10 μmol·L^{-1}）组相比，浓度为10 ~ 100 μmol·L^{-1}的AST处理可以缓解AFB1（10 μmol·L^{-1}）诱导细胞活力的下降。当AST浓度为80 μmol·L^{-1}时，猪IPEC-J2细胞活力最大。因此选择AFB1（10 μmol·L^{-1}）和AST（80 μmol·L^{-1}）共同处理IPEC-J2细胞24 h。结果表明，与AFB1组相比，AFB1+AST组显著提高了谷胱甘肽（GSH）和超氧化物歧化酶（SOD）活性，降低了IPEC-J2细胞中乳酸脱氢酶（LDH）、活性氧（ROS）和丙二醛（MDA）水平。综上所述，黄曲霉毒素B1（10 μmol·L^{-1}）降低细胞活力和抗氧化能力，诱导猪小肠上皮细胞氧化应激的发生；虾青素（80 μmol·L^{-1}）能够起到缓解作用。本研究结果为虾青素缓解黄曲霉毒素B1对猪IPEC-J2细胞氧化应激的作用提供理论基础。

关键词：虾青素；黄曲霉毒素B1；猪小肠上皮细胞；氧化应激

基金项目：国家自然科学基金（U21A20251）

作者简介：张 晶，教授，E-mail：zhang_jing99@jlu.edu.cn；田 乐，研究生，E-mail：letian20@mails.jlu.

edu.cn
通讯作者：于 浩，E-mail：yu_hao@jlu.edu.cn

脱氢乙酸钠对大鼠成骨细胞增殖、分化和矿化的影响

张 蒙，陈 新，张雨梅
（扬州大学兽医学院，江苏 扬州 225100）

摘要：目的 脱氢乙酸钠是一种广泛应用于食品、饲料和化妆品等行业的防腐添加剂。研究报道脱氢乙酸钠能够阻碍细胞内的维生素K（VK）循环，影响VK依赖性蛋白的γ-羧基化。而VK依赖蛋白在机体血液凝固和骨骼矿化中发挥至关重要的作用，但目前关于脱氢乙酸钠对于成骨细胞的影响还未见报道。**方法** 不同浓度的脱氢乙酸钠（0.2、0.5、1.0、2.0和5.0 mmol·L^{-1}）处理大鼠成骨ROS细胞3 d和7d后，MTT检测细胞活性，ALP染色检测碱性磷酸酶活性，WB检测成骨细胞分化蛋白RUNX2、COL1A、维生素循环相关蛋白VKORC1和VKORC1L1以及矿化相关羧基化蛋白BGP、MGP、GRP、Gas6；处理7天和14天后，茜素红染色检测细胞矿化能力。**结果** 与对照组相比，2.0和5.0 mmol·L^{-1} 脱氢乙酸钠处理3 d和7d后的细胞活性均显著降低，其他剂量组无明显影响；1.0～5.0 mmol·L^{-1} 脱氢乙酸钠处理3 d和7d后，均显著抑制成骨细胞ALP的表达。0.2～2.0 mmol·L^{-1}脱氢乙酸钠在第7和14天均显著降低成骨细胞矿化结节的形成且具有剂量效应关系。与对照组相比，脱氢乙酸钠处理3 d，0.2～5.0 mmol·L^{-1}剂量组的成骨细胞相关分化蛋白RUNX2均升高；0.5～5.0 mmol·L^{-1}处理组COL1A蛋白表达显著下降；0.5～5.0 mmol·L^{-1}剂量组成骨细胞VKORC1、VKORC1L1以及羧基化相关蛋白BGP、MGP、GRP、Gas6 均显著下降。与对照组相比，0.5～2.0 mmol·L^{-1}脱氢乙酸钠处理7天后RUNX2、COL1A 蛋白表达均显著下降；各剂量组（0.2～2.0 mmol·L^{-1}）VKORC1、VKORC1L1以及相关羧基化蛋白BGP、MGP、GRP、Gas6均呈极显著下降。**结论** 脱氢乙酸钠能够抑制成骨细胞矿化，且可能与抑制成骨分化和影响成骨细胞维生素K循环有关。

关键词： 脱氢醋酸钠；VK依赖蛋白；成骨细胞；矿化

T12-0001

线粒体靶向干预药物调节LonP1依赖的TDP-43降解，减轻四氯化碳诱导的小鼠肝脏纤维化

单淑林，宋福永*
（山东大学公共卫生学院卫生毒理学系，山东 济南 250012）

摘要：目的 肝纤维化是由持续性肝损伤引起的一种自身修复反应，可导致肝硬化及肝癌，目前仍缺乏有效治疗措施。线粒体功能障碍被认为是肝纤维化发展的关键事件，而线粒体基质蛋白酶LonP1对于维持线粒体正常功能发挥着重要作用。近期研究发现，LonP1可能会通过降解在线粒体上异常累积的TDP-43干扰神经退行性疾病。然而，线粒体损伤依赖的LonP1是否也能通过调节TDP-43的累积参与肝纤维化国内外尚未见报道。本研究通过建立四氯化碳诱导的小鼠肝纤维化模型，检测肝脏中LonP1及TDP43的表达、线粒体损伤、cGAS-STING信号通路、巨噬细胞及肝星形细胞激活的改变，探讨LonP1介导的TDP-43降解在肝纤维化中的作用及其分子机制。**材料和方法** 1. 利用C57/BL6小鼠建立三种模型。① CCl_4诱导肝纤维化时间-反应关系模型。② 线粒体氧化应激抑制剂（MitoQ）干预模型。③ 线粒体分裂抑制剂（Mdivi-1）干预模型。2. 取血清检测AST、ALT水平；取肝脏制备石蜡及超薄切片，分别用于病理和透射电镜观察；qPCR分析胞浆中线粒体DNA含量；免疫荧光检测TDP-43累积及巨噬细胞对肝星形细胞活化的影响；肝脏匀浆提取蛋白，Western Blot检测相关分子表达。**结果** 1. CCl_4染毒后ALT、AST水平显著升高，HE及天狼猩红染色分别显示炎性浸润及胶原纤维堆积；干预后肝功酶下降，细胞损伤减轻，结果支持抑制线粒体损伤

能有效减轻CCl_4诱导的肝纤维化。2. 透射电镜发现CCl4染毒引起线粒体肿胀、嵴紊乱且观察到纤维化肌束堆积；干预后线粒体结构恢复且肌束减少。3. Western Blot显示CCl_4染毒引起LonP1显著下降，同时免疫荧光结果显示TDP-43的线粒体累积，qPCR分析显示胞浆线粒体DNA含量明显上升；干预后LonP1水平增加，TDP-43累积减少，胞浆线粒体DNA含量下降，提示线粒体靶向干预药物促进LonP1依赖的TDP-43降解。4. CCl_4染毒后cGAS-STING通路关键分子表达增加；干预后能有效抑制其表达，提示促进LonP1依赖的TDP-43降解能减轻免疫反应。5. CCl_4染毒能引起巨噬细胞表面受体TREM2的表达增加，且免疫荧光结果显示F4/80与Desmin共染增强；干预后抑制TREM2，且共染显著减弱，提示促进LonP1依赖的TDP-43降解能缓解巨噬细胞激活引起的肝星形细胞活化。**结论** CCl_4慢性染毒引起小鼠肝纤维化，并抑制LonP1依赖的TDP-43降解，加重肝损伤。线粒体靶向干预药物通过激活LonP1，抑制TDP-43的线粒体累积，能减轻线粒体损伤，进而抑制免疫反应及巨噬细胞激活诱导肝星形细胞活化，最终保护CCl_4诱导的小鼠肝纤维化。

关键词： 肝纤维化；LonP1；TDP-43；线粒体损伤；cGAS-STING

基金项目： 国家自然科学基金（82173552）；山东省重点研发计划项目（2018GSF118013）资助

通讯作者： E-mail：fysong3707@sdu.edu.cn

T12-0002

内源性H2S通过调控Nrf2通路拮抗聚苯乙烯微塑料引发的肝毒性及机制研究

肖 芳*，李思文，马 羽，叶淑姿，郭 荣，苏 莹，罗思嘉，魏 莱，袁 煜，曾 元

（中南大学湘雅公共卫生学院卫生毒理系，湖南 长沙 410011）

摘要 现报道称微塑料可致生态系统中的生物生理变化、生长发育繁殖障碍，继而降低了生态系统的多样性，从而破坏生物间的物质循环和能量流动，影响到整个生态系统。**目的** 明确微塑料对小鼠肝毒性效应及其内源性H2S对其是否起保护作用。**方法** 本研究以C57BL/6J为研究对象，聚苯乙烯微塑料（直径=5 μm）为受试物，连续灌胃30天（20 mg/kg b.w.），并以HNaS为内源性H2S供体在微塑料灌胃前1小时进行腹腔注射（75 μmol/kg/day）。**结果** 发现微塑料可富集于肝脏中，并伴随着氧化和炎性损伤现象的发生。与此同时，透射电镜明确肝细胞存在典型的凋亡现象发生。而体外细胞证实聚苯乙烯暴露后可升高凋亡阳性细胞比例，并伴有线粒体膜电位下降。发现内源性H2S对聚苯乙烯毒性效应有保护作用，其可以缓解以上所描述的生物学变化。此外，发现Nrf2在聚苯乙烯诱发肝细胞毒性过程中略有升高，但是从免疫荧光结果中观察到Nrf2主要是聚集在细胞质中，并未进行核移位。同时发现Nrf2敲低后会加剧聚苯乙烯微塑料对肝细胞的毒性作用。相反进行内源性H2S干预后，可显著的增加Nrf2的核移位，并且伴随着抗氧化能力的提升。**结论** 微塑料对可通过扰乱Nrf2信号通路引起肝脏氧化平衡失调进而导致肝损伤，而内源性H2S可促Nrf2核位移从而拮抗微塑料的肝毒性效应。

通信作者： 肖 芳，教授，博士研究生导师，E-mail：fangxiao@csu.edu.cn

T12-0003

烯丙基甲基二硫醚对二甲基甲酰胺诱导小鼠急性肝损伤的保护作用研究

李龙霞，刘 宏，张秀凝，谢克勤，曾 涛

（山东大学公共卫生学院卫生毒理与营养学系，山东 济南 250012）

摘要：目的 研究烯丙基甲基二硫醚（AMDS）对二甲基甲酰胺（DMF）诱导急性肝损伤的保护作用及可能机制。**材料和方法** 雄性ICR小鼠适应性喂养1周后随机分为4组，即对照组，DMF模型组（3 g/kgbw）、

DMF+低剂量AMDS干预组(25mg/kg bw)和DMF+AMDS高剂量干预组(50/kgbw),每组10只。AMDS干预组小鼠连续5天灌胃给予相应剂量的AMDS,对照组和DMF模型组给予相同体积的玉米油。第4天,DMF模型组和AMDS干预组小鼠经口灌胃给予3g/kg bw的DMF,对照组给予相同体积的生理盐水。48 h后处死小鼠,眼球取血并分离肝脏称重,制备肝脏石蜡切片进行HE染色,采用生化试剂盒检测小鼠血清转氨酶活性,采用Elisa、免疫组化及免疫荧光染色、Westernblot、qPCR等方法检测小鼠肝脏巨噬细胞数量、巨噬细胞极化marker分子的mRNA水平、以及NLRP3炎性小体通路关键分子的蛋白和mRNA的表达。**结果** 与对照组相比,DMF模型组小鼠死亡2只(死亡率20%),DMF组存活小鼠肝脏出现明显的坏死及炎细胞浸润,肝重和肝脏系数显著增加(P<0.01),小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活性显著增加(P<0.01)。AMDS可以显著抑制DMF诱导的小鼠肝细胞坏死和血清转氨酶活性升高,且干预组小鼠无死亡。AMDS明显抑制了DMF诱导的小鼠血清炎性因子包括肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白介素6(IL-6)及IL-1β分泌增加(P<0.05)和肝脏中性粒细胞浸润。免疫组化、qPCR及F4/80和iNOS免疫荧光双染显示AMDS能够抑制DMF诱导的小鼠肝脏巨噬细胞募集和M1型极化。Westernblot结果显示AMDS抑制了DMF诱导的小鼠肝脏NLRP3炎性小体通路NLRP3、ASC、caspase1、IL-1β等蛋白水平的增加。此外,AMDS能够改善DMF诱导的小鼠肝脏还原型谷胱甘肽(GSH)水平的下降(P<0.01)、以及丙二醛(MDA)和4-羟基壬烯醛(4HNE)加合物水平的增加(P<0.01),并显著减轻DMF诱导的小鼠肝脏核转录因子2相关因子(NRF2)、γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ-GCSc)、NADPH醌氧化还原酶1(NQO1)、血红素氧合酶1(HO1)、超氧化物歧化酶(SOD)等蛋白水平的增加。**结论** AMDS可以显著减轻DMF暴露导致的小鼠急性急性肝损伤,其机制可能与抑制肝脏中NLRP3炎性小体的激活和氧化应激有关。

关键词: 烯丙基甲基二硫醚; 二甲基甲酰胺; NLRP3炎性小体; 氧化应激

通讯作者: 曾　涛: E-mail: zengtao@sdu.edu.cn

T12-0004

铜诱导L02细胞炎症损伤及代谢谱改变

卢 璐, 张 颖, 张 虎, 周 倩, 施 伟, 浦跃朴, 尹立红*

(东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室, 江苏 南京 210009)

摘要: 目的 近年来,铜的健康风险受到人们的高度关注。铜可通过生物富集作用进入人体,被吸收后首先蓄积于肝脏。研究表明,摄入超过人体可耐受剂量的铜会对肝脏产生炎性损伤。因此,本研究旨在建立铜暴露的L02细胞模型,并采用高通量质谱技术(UPLC-MS/MS)检测L02细胞的代谢产物变化,以探讨铜诱导肝脏炎症的潜在机制。 **方法** 以人正常肝细胞(L02细胞)为靶细胞,暴露于不同浓度硫酸铜(0,5,25,125 μmol·L^{-1})。采用显微镜观察细胞形态,CCK-8法检测细胞增殖活性,电感耦合等离子体质谱(Inductively coupled plasma mass spectrometry,ICP-MS)法检测各组细胞铜元素含量。采用Western blot检测细胞炎症因子IL-6、IL-1β和炎症小体NLRP3的蛋白表达水平,采用RT-qPCR检测IL-6、IL-1β和NLRP3的基因表达水平,结果采用SPSS 23.0和the GraphPad Prism 7软件进行分析。采用UPLC-MS/MS进行非靶向代谢组学分析,原始数据经XCMS软件进行峰提取和峰对齐,SIMCA-P 11.0软件进行多元变量统计分析。采用Metaboanalyst 3.0软件、KEGG数据库进行代谢通路分析。**结果** 与对照组相比,硫酸铜暴露24h后,L02细胞增殖活性明显降低(P<0.05);细胞形态发生改变,排列稀疏,细胞体积减小;Cu元素含量显著升高(P<0.05);WB和RT-qPCR结果显示,IL-6、IL-1β和NLRP3的蛋白和基因相对表达水平均升高,并呈现剂量依赖性(P<0.05)。OPLS-DA模型显示,各铜染毒组均能与对照组明显区分开,且高染毒组细胞代谢谱变化最为显著。多元变量统计分析共鉴定出46种差异内源性代谢物,主要有棕榈酸、油酸、胆酸、L-谷氨酸等,与不饱和脂肪酸合成相关的占78%。代谢通路分析结果显示,铜染毒后,L02细胞不饱和脂肪酸的生物合成、氨基酸和糖苷酸代谢、果糖和甘露糖代谢、初级胆汁酸的生物合成、脂肪酸生物合成、淀粉

和蔗糖的代谢、柠檬酸循环、谷氨酰胺和谷氨酸代谢均收到影响。**结论** 铜染毒可能诱导L02细胞炎性损伤，且脂肪酸代谢失调可能参与铜诱导的L02细胞炎症过程，具体机制有待进一步实验探究。

关键词：铜；肝；L02细胞；炎症；代谢组学

通讯作者：尹立红，E-mail: lhyin@seu.edu.cn

T12-0005

Identifying serum metabolites and gut bacterial species associated with nephrotoxicity caused by arsenic and fluoride exposure

Xiaolin Tian[1,2], Xushen Chen[2], Xuefen Ren[2], Xiaoyan Yan[1]

(1. School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi, PR China; 2. School of Public Health, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang, PR China. School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001)

Abstract: OBJECTIVES Co-contamination of arsenic (As) and fluoride (F) is widely distributed in groundwater, which are known risk factors for the nephrotoxicity. Emerging evidence has linked environmentally associated nephrotoxicity with the disturbance of gut microbiota and blood metabolites. **METHODS** In this study, we generated gut microbiota and blood metabolomic profile and identified multiple serum metabolites and gut bacteria species, which were associated with kidney injury on rat model exposed to As and F alone or combined. **RESULTS** Arsenic and fluoride exposure increased creatinine level. Abnormal autophagosomes and lysosome were observed and the autophagic genes were enhanced in kidney tissue after As and F exposure. The metabolome data showed that As and F exposure remarkably altered the serum metabolites associated with the proximal tubule reabsorption function pathway, with glutamine and alpha-ketoglutarate level significantly decreased. Furthermore, Phosphatidylethanolamine (PE), the key contributor of autophagosomes, was decreased significantly in all exposed groups during the screen of autophagy-animal pathway. Multiple altered gut bacterial microbiota at phylum and species levels post As and F exposure were associated with targeted kidney injury. Meanwhile, our analysis indicated that arsenic and fluoride co-exposure possessed an interactive influence on gut microbiota. **CONCLUSIONS** As and F co-exposure leads to the disruption of serum metabolic and gut microbiota profiles. Multiple metabolites and bacterial species are identified and associated with nephrotoxicity, which have potential to be developed as biomarkers of As and/or F-induced kidney damage.

Key words: arsenic; fluoride; metabolomics; gut microbiota; kidney injury

Corresponding author: Xiaoyan Yan, E-mail: yanxiaoyan@sxmu.edu.cn

T12-0006

磷酸三苯酯通过激活TLR4/ERK/NF-κB通路诱导Raw264.7巨噬细胞功能紊乱

张 威，李 杏，刘仪娃，张春梅，李 丽，石 明*

（东莞市环境医学重点实验室，广东医科大学公共卫生学院，广东 东莞 523808）

摘要：目的 磷酸三苯酯（Triphenyl phosphate，TPHP）是目前常用的一种有机磷阻燃剂，目前在饮用

水、室内灰尘中被广泛检测。研究报道TPHP可引起神经毒性和生殖毒性，但是关于其对免疫系统影响的研究比较少。本研究主要目的是探究TPHP对Raw264.7巨噬细胞功能的影响，并探讨潜在的机制。**材料和方法** 将Raw264.7巨噬细胞暴露于不同浓度的TPHP中，采用CCK8法检测TPHP对Raw264.7巨噬细胞活力的影响，采用流式细胞术检测M1型巨噬细胞（$F4/80^+CD11c^+$）的表达情况；采用RT-PCR检测炎症介质（IL-6、iNOS）和抗原提呈基因（CD80、CD86、H2-Aa、H2-K1）的变化；采用流式细胞术检测巨噬细胞吞噬能力改变；采用Western Blot法检测TLR4、MAPK通路（ERK1/2、JNK、P38）和NF-κB蛋白的磷酸化水平。**结果** ① CCK8检测发现，随着TPHP浓度的增加，Raw264.7巨噬细胞存活率呈剂量依赖性降低。② 对照组相比，12.5、25和50 $\mu mol \cdot L^{-1}$ TPHP处理组显著诱导Raw264.7巨噬细胞$F4/80^+CD11c^+$表型（$P<0.05$）；25和50 μM TPHP处理组显著上调炎性介质IL-6和iNOS的mRNA水平（$P<0.05$）；50 $\mu mol \cdot L^{-1}$ TPHP处理组显著上调抗原提呈基因CD80、CD86、H2-Aa的mRNA水平（$P<0.05$）；25和50 $\mu mol \cdot L^{-1}$ TPHP处理组显著增强巨噬细胞吞噬能力（$P<0.05$）。③ Western Blot结果表明，TPHP处理组的TLR4及其辅助受体CD14蛋白表达水平显著增加（$P<0.05$）；TPHP处理组的TLR4下游ERK/NF-κB通路显著激活，包括p-p65/p65和p-ERK/ERK蛋白水平的增加（$P<0.05$）。④ TLR4受体抑制剂TAK-242显著抑制TPHP诱导的F4/80+CD11c+表型（$P<0.05$），下调炎症介质IL-6和iNOS和抗原递呈相关基因CD80，CD86和H2-Aa的mRNA水平表达（$P<0.05$）。⑤ Western Blot结果表明TAK-242显著抑制TPHP诱导的ERK/NF-κB通路激活（$P<0.05$）。**结论** TPHP暴露会导致巨噬细胞功能紊乱，可能是通过激活TLR4介导的ERK/NF-κB信号通路所致，从而对人们的健康造成威胁。

关键词： 磷酸三苯酯；巨噬细胞；吞噬作用；炎症介质；抗原提呈

基金项目： 国家自然科学基金（82103891）；广东省自然科学基金（2020A1515010521）；广东医科大学学科建设项目（4SG22003G）

通讯作者： 石　明，E-mail：shiming@gdmu.edu.cn

T12-0007

Integrated microbiome and metabolome analysis reveals interplay between urine bacteria and metabolites in arsenic-induced bladder damage

Xushen Chen[1,2], Ying Cheng[3], Xiaolin Tian[1,3], Yulan Qiu[3], Xuefeng Ren[1,2]

(1. School of Public Health, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang, PR China; 2. Department of Epidemiology and Environmental Health, School of Public Health and Health Professions, University at Buffalo, Buffalo, NY, United States; 3. School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi, PR China)

Abstract: BACKGROUND Environmental inorganic arsenic (iAs) pollution has become a global public health problem, and it is well documented that exposure to iAs through drinking water is one of the key risk factors for bladder cancer. There are accumulating studies exploring the changes of urinary microbiome and metabolome in many diseases of the genitourinary system. However, the relationship among bladder damage, disrupted profiles of microbiome and metabolome induced by iAs exposure is less clearly understood. Objectives: We investigatedthe role of urinary microbiome and metabolome in arsenic-induced bladder damage through a rat model in which offspring rats were exposed to low (30 mg/L $NaAsO_2$) or high (100 mg/L $NaAsO_2$) iAs from early life (in utero and childhood) to puberty. **METHODS** We used H&E staining to evaluate and quantify the pathological changes of bladder, and combined 16S rDNA sequencing and mass spectrometry-based metabolomics profiling to examine the

impact of iAs exposure on the urinary microbiome and metabolic profiles. **RESULTS** The H&E staining and quantification results confirmed pathological bladder damage in iAs exposure groups, and more severe effects were noticed in the high iAs group and male rats. Through urinary microbiome sequencing, six and seven featured bacteria genera were identified in female and male offspring, respectively. In the female offspring, the urinary metabolomic analysis showed thatthe abundance of Menadione, Pilocarpine, N-Acetylornithine and Prostaglandin B1 were significant higher in iAs exposure groups, especially in high iAs group. In the male offspring, the abundance of Deoxyinosine, Biopterin and 1-Methyluric acid were significantly higher in high iAs groups. In addition, correlation analysis identified that the differential bacteria genera were highly correlated with thefeatured urinary metabolites. **CONCLUSIONS** Inorganic arsenic exposure not only induces bladder damage, but also disturbs the urinary microbiome composition and associated metabolic profiles in offspring rats, indicating that perturbations of the urinary microbiome and differential metabolites may be developed as biomarkersfor iAs-induced bladder damage or even bladder cancer.

Key words: inorganic arsenic; bladder damage;urinary microbiome; urinary metabolome; biomarker

Corresponding author: Xuefeng Ren, E-mail: xfren@zcmu.edu.cn

T12-0008

谷氨酰胺代谢改变介导孕期强的松暴露所致子代软骨发育不良及成年骨关节炎易感

李庆贤[1], 汪 晖[2,3], 陈廖斌[1,3]

（1. 武汉大学中南医院骨科；2. 武汉大学基础医学院药理学系；3. 发育源性疾病湖北省重点实验室，武汉 430071）

摘要：目的 作为妊娠期应用最为广泛的糖皮质激素之一，强的松的胎儿器官发育毒性及其远期疾病风险尚不明确。本研究旨在探究PPE对雌性子代大鼠软骨发育的影响及其远期效应，并证实谷氨酰胺代谢改变在其中的作用。**方法** Wistar大鼠在孕0-20天（GD0~20）分别给予强的松（0.25 mg/(kg·d)）灌胃。雌性子代大鼠在宫内（GD20）、出生后12周（PW12）、PW24-28长距离跑步刺激后检测关节软骨形态学和谷氨酰胺代谢相关指标。在体外，用不同浓度强的松及其活性形式强的松龙（Pred）处理雌性大鼠原代软骨细胞，检测软骨细胞功能和谷氨酰胺代谢相关指标，以阐明其分子机制。**结果** 孕期强的松暴露（prenatal prednisone exposure，PPE）组雌性胎鼠血Pred浓度明显高于强的松浓度。与对照组相比，PPE组子代在PW12时软骨细胞外基质（ECM）合成减少，且在长距离跑步刺激后软骨 Mankin's评分明显升高，追溯至宫内GD20时也观察到PPE胎鼠下肢短缩、软骨增殖区长度降低而肥大区增宽及ECM合成减少等软骨发育不良表现。体外实验表明，Pred而不是强的松可引起谷氨酰胺通量及其代谢物乙酰辅酶A和α-酮戊二酸含量降低，并抑制软骨标志基因COL2A1、ACAN的H3K9ac及H3K27ac水平及表达，减少胎软骨细胞ECM合成，并导致软骨细胞氧化损伤。动物实验表明，在GD20和PW12，PPE组软骨标志基因COL2A1、ACAN的H3K9ac及H3K27ac水平及其表达降低，谷氨酰胺酶1（GLS1）和谷氨酸脱氢酶1（GLUD1）蛋白水平降低而mRNA水平没有明显变化。进一步发现，GLS1和GLUD1定位于线粒体，而与对照组相比，PPE组和Pred组软骨细胞线粒体密度降低及功能障碍，线粒体生物发生调控因子PGC-1α水平明显受到抑制。在体外，激活PGC-1α或给予糖皮质激素受体（GR）抑制剂RU-486处理可明显纠正上述Pred对胎软骨细胞的不良效应。最后，我们发现GR与PGC-1α启动子区直接结合，且PPE组胎软骨DNA甲基化酶DNMT3B蛋白水平及PGC-1α启动子区的DNA甲基化水平比对照组明显升高。**结论** PPE导致雌性子代大鼠软骨发育不良及出生后OA易感，其机制为Pred通过GR抑制PGC-1α介导的软骨线粒体生物发生从而降低谷氨酰胺通量，最终导致ECM合成功能障碍。而PGC-1α启动子区高DNA甲基化编程是导致出生前后PGC-

1α持续性表达抑制及软骨低质量表型的关键原因。本研究结果为研究强的松孕期用药安全性及制定胎源性OA的早期防治策略提供理论与实验依据。

关键词：软骨发育；骨关节炎；谷氨酰胺代谢；线粒体生物发生；孕期强的松暴露

基金项目：国家重点研发计划（No.2020YFA0803900）

通讯作者：陈廖斌，E-mail：lbchen@whu.edu.cn

T12-0009

香烟烟雾中的5-HMF靶向诱导肺泡巨噬细胞GSDMD活化致COPD患者气道2型炎症形成的分子机制

夏　蓉[1,2]，傅　恒[1]，张　迪[2]，龚　兴[2]，季明辉[2]，姚　欣[1,*]，王守林[2,*]

（1. 南京医科大学第一附属医院，2. 南京医科大学公共卫生学院，江苏　南京　211166）

摘要：目的　COPD的病理机制十分复杂，其中气道炎症是COPD最重要的病理特征，而不同的环境刺激因素及个体差异可引发不同特点的气道炎症，临床上约10~40%COPD病人表现为以嗜酸性粒细胞增加为特征的2型炎症特征，相较于中性粒细胞炎症，伴有2型炎症的COPD病人肺气肿程度更严重，且急性加重频率更高，但其具体临床特征及发生机制尚不明确。5-羟甲基-2-糠醛（5-HMF）是本课题组前期从香烟烟雾提取物中分离出的可引发小鼠2型炎症相关特征指标嗜酸性粒细胞（EOS）计数及IgE水平升高的新组分。本研究旨在明确5-HMF在COPD患者气道2型炎症形成中的重要作用、具体表型及分子机制。**方法**　利用小动物雾化吸入装置构建5-HMF长期动式吸入染毒模型，基于多因子检测芯片测定炎症因子表达水平；通过流式细胞分析仪检测肺泡灌洗液（BALF）及肺组织中炎症细胞的变化，探究5-HMF呼吸暴露所致的2型炎症反应特征。采用Western blot、多重免疫荧光及扫描电镜观察GSDMD的裂解情况、活化部位及其胞膜打孔能力；利用GSDMD抑制剂进行干预，比较干预前后染毒模型中2型炎症特征的改变，明确GSDMD在5-HMF暴露所致气道2型炎症中的重要作用及机制。**结果**　5-HMF长期呼吸暴露后，小鼠除出现通气功能下降、肺气肿、炎性细胞浸润等典型COPD表现外，还伴有BALF中EOS、IgE、2型炎症关键细胞因子IL-33水平升高，以及肺组织中IL-33靶向调控的参与2型免疫反应的2型固有淋巴细胞（ILC2）增多等气道2型炎症特征。进一步研究发现，5-HMF可选择性诱导小鼠肺泡巨噬细胞中的GSDMD活化，导致胞膜孔洞形成，从而造成其细胞来源的IL-33释放增多；抑制GSDMD活性后，体内外模型中IL-33释放水平均显著降低，且小鼠模型肺组织中ILC2随之减少，气道中EOS数目及IgE表达水平均显著降低。**结论**　香烟烟雾中的有机组分5-HMF是促进气道2型炎症的形成的重要环境因素；5-HMF可通过选择性诱导肺泡巨噬细胞内GSDMD裂解活化，造成胞膜破坏，从而促进IL-33被动释放到胞外参与调控2型免疫反应，进而引发气道2型炎症。研究结果可为吸烟的危害评估提供新的线索，并有助于阐明COPD患者2型炎症形成的重要潜在机制，为疾病的精准诊疗提供关键理论基础。

关键词：5-羟甲基-2-糠醛；气道2型炎症；GSDMD；肺泡巨噬细胞；IL-33

基金项目：国家自然科学基金项目（91743205、81973091）

通讯作者：姚　欣，E-mail：yaoxin@njmu.edu.cn；王守林，E-mail：wangshl@njmu.edu.cn

T12-0010

5-HMF在糖尿病胰岛功能障碍发展中的暴露风险及分子机制研究

李书书[1,2,3]，夏　蓉[1,3]，周云财[1]，龚　兴[3]，季明辉[3]，杨　涛[1]，王守林[3]

（1. 南京医科大学第一附医院，2. 南京市妇幼保健院，3. 南京医科大学公共卫生学院，江苏　南京　211166）

摘要：目的　烟草和不良膳食摄入是糖尿病的重要环境危险因素，其中5-羟甲基-2-糠醛（5-HMF）是近期

备受关注、存在于高糖食品热加工过程中的重要物质，同时也是本课题组前期从香烟烟雾提取物中分离出的可引发小鼠血糖升高的新组分，但关于人群 5-HMF 内暴露的研究很少，且其导致糖尿病的作用机制仍尚不明确。本研究旨在明确人群 5-HMF 内暴露与糖尿病的关联，及其导致糖尿病发展的分子作用机制。**方法** 开展大样本的病例对照研究采用倾向性分析联合 Logistic 回归明确 5-HMF 内暴露与糖尿病的关联；开展人群 OGTT 采用 Spearman 明确 5-HMF 与胰岛功能或胰岛抵抗的关联；利用小鼠雾化吸入装置构建 5-HMF 长期动式吸入染毒模型，基于多因子检测芯片测定炎症因子表达水平；基于在体通过 IPGTT、IRT 和 ITT，明确 5-HMF 暴露引起胰岛分泌功能受损。基于原代胰岛通过 GSIS 和灌流实验，探讨 5-HMF 致 β 细胞的葡萄糖刺激胰岛素分泌受损情况。采用 Western blot、免疫荧光及透射扫描电镜观察胰岛的数量、GSDMD 的胞膜打孔能力；利用 GSDMD 抑制剂进行干预，比较干预前后染毒模型中胰岛分泌能力，明确 GSDMD 在 5-HMF 暴露所致胰岛功能障碍的重要作用及机制。**结果** 人群病例对照研究发现 5-HMF 内暴露与糖尿病患病风险值存在剂量反应关系，随着内暴露水平增加，风险度逐渐上升（P=0.002），且与低暴露 5-HMF 的人群相比，极高 5-HMF 暴露水平的人群 T2DM 的患病风险显著提高（OR = 1.73，95% CI：1.31 - 2.29）。人群 OGTT 结果提示 5-HMF 暴露水平与胰岛功能显著负相关（A：r=-0.685，B：r=-0.485，P< 0.05）。此外，5-HMF 长期呼吸暴露后，小鼠胰岛素分泌功能受损，还伴有炎症因子 IL-1β 等升高；胰腺组织的 HE 和原代胰岛的透射/扫描电镜揭示胰岛素分泌受损与胰岛数量无关，而是与胰岛本身的分泌功能相关，且小鼠胰岛表面存在因 GSDMD 活化导致的胞膜孔洞形成，激活 Caspase-1/Gsdmd/IL-1β 轴；抑制 GSDMD 活性后，体内外模型中小鼠胰岛的胰岛素分泌正常。**结论** 人群 5-HMF 内暴露是通过破坏胰岛功能从而促进糖尿病发展的重要环境危害因素，可通过诱导原代胰岛内 GSDMD 裂解活化和胞膜破坏，从而激活 Caspase-1/Gsdmd/IL-1β 轴促进 IL-1β 释放到胞外引发葡萄糖刺激的胰岛素分泌受损。研究结果为吸烟与糖尿病的关联提供病因学研究，并有助于 5-HMF 危险度评价模式的建立，也为疾病的预防、健康风险评估及危害控制策略提供重要参考。

关键词： 5-羟甲基-2-糠醛；糖尿病；胰岛功能；Caspase-1/Gsdmd/IL-1β

基金项目： 国家自然科学基金项目（81803198）；江苏省自然科学基金项目（BK20180187）

通讯作者： 杨 涛，E-mail：yangt@njmu.edu.cn；王守林，E-mail：wangshl@njmu.edu.cn

T12-0011

巨噬细胞源性外泌体经由 STING 信号促进肝细胞炎症-衰老表型的体外试验研究

巨噬细胞源性外泌体经由 STING 信号促进肝细胞炎症-衰老表型的体外试验研究

吴佳燊，何禹桥，魏悦悦，韩 钰，林育纯，林忠宁*

（分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室，厦门大学公共卫生学院，厦门 361102）

摘要：目的 代谢相关脂肪性肝病（MAFLD）主要表现为肝脏炎症和脂质蓄积，且可经由肝脏区域免疫中巨噬细胞介导肝细胞脂毒性损伤和糖脂代谢异常。线粒体 DNA（mtDNA）作为损伤相关分子模式激活干扰素应答刺激物 cGAMP 相互作用体 1（STING）信号，参与诱导肝细胞炎症性损伤。本研究拟探讨脂毒性暴露诱导巨噬细胞源性外泌体（iMD-Ex）对肝细胞 STING 信号及其衰老表型的调控机制。**材料和方法** 胆碱缺乏饮食（CD）喂养 C57BL/6 小鼠建立 MAFLD 模型；H2O2 暴露建立 HepaRG 细胞衰老模型；棕榈酸（PA）暴露构建脂毒性 HepaRG 与 THP-1 细胞共培养模型。超速离心法分离对照组（cMD-Ex）和 PA 组（iMD-Ex）THP-1 细胞外泌体。**结果** （1）CD 组小鼠肝组织中 p21、STING 和 IL-6 表达增高；（2）H_2O_2 组 HepaRG 细胞中 SA-β-gal 染色阳性增加、细胞周期 S 期阻滞，衰老和 SASP 相关基因上调，p21 蛋白水平增高；（3）与巨噬细胞共培养的 PA 组 HepaRG 细胞中 SA-β-gal 染色阳性增多，总 mtDNA 升高，p-STING^{Ser365}/STING、p-TBK1^{Ser172}/TBK1、p-IRF3^{Ser386}/IRF3、p21 蛋白水平升高；（4）与 cMD-Ex 组相比，iMD-Ex 组 Hepa-

RG细胞SA-β-gal阳性染色、线粒体分裂增多，胞质mtDNA增加，STING信号通路蛋白、p21、VDAC1、p-Drp1^{Ser616}、Drp1蛋白水平增加，BAX蛋白减少，PAS染色减少，TC和TG水平升高。**结论** 脂毒性微环境诱导巨噬细胞源性外泌体释放，经由VDAC1-mtDNA-STING信号轴促进肝细胞糖脂代谢异常；为探明巨噬细胞-肝细胞间通讯介导炎症-衰老通路调控的分子机制和MAFLD靶向干预提供线索。

关键词： 巨噬细胞源性外泌体；细胞间通讯；肝细胞衰老；STING信号通路；MAFLD

基金项目： 国家自然科学基金项目（Nos.81973082；82073588）

通讯作者： 林忠宁，E-mail：linzhn@xmu.edu.cn；

基于脂质组学的斑蝥素致小鼠肝毒性的作用机制研究

李　珊

（遵义医科大学）

摘要：目的 斑蝥素（Cantharidin，CTD）是存在于斑蝥体内的一种天然防御性化合物，具有消肿破瘀，解毒消炎等功效，临床常用于治疗各种肿瘤疾病。目前，斑蝥素类上市中药大品种已成为临床联合化疗的主流用药。然而，斑蝥素有剧毒，常因使用不当导致肝肾等毒性的发生，以肝毒性最为严重。目前，CTD致肝毒性机制尚不清楚，极大地制约了其临床应用，因此亟须厘清CTD致肝毒性的毒理机制。本研究从脂质角度深入探索CTD致小鼠肝毒性的毒理作用机制，以期为扩大CTD的临床用药及新药研发提供参考。**材料和方法** 本研究采用不同剂量CTD灌胃给药雄性Balb/c小鼠14天，建立CTD致肝毒性模型。采用UH-PLC-QE-MS脂质组学技术检测高剂量组小鼠肝脏组织中脂质代谢物的变化。采用多元统计分析脂质代谢物轮廓的改变，进一步筛选差异脂质代谢物，分析差异脂质代谢物参与的代谢通路及参与脂质代谢的关键酶的变化。采用分子对接技术对脂质代谢相关酶进行预测，进一步采用分子生物学技术及免疫组织化学技术分析CTD对脂质代谢通路上关键酶的影响。此外，采用不同剂量CTD干预HepaRG细胞建立细胞毒性模型，进一步采用分子生物学技术验证脂质代谢通路上关键酶的变化，深入挖掘CTD致小鼠肝毒性的作用机制。**结果** CTD灌胃给药小鼠14天后，发现小鼠体内脂质代谢发生明显改变。脂质组学发现，CTD可导致小鼠肝脏脂质代谢物轮廓发生显著改变。与对照组相比，共有265个脂质差异代谢物发生改变，主要包括甘油磷脂、甘油酯、鞘脂、脂肪酸和甾醇五大类，以甘油磷脂类代谢改变最为显著。进一步经过MetaboAnalyst分析发现包括甘油磷脂代谢通路在内的7条代谢通路发生显著改变。因此，本研究分析了CTD对小鼠肝脏及HepaRG细胞中甘油磷脂代谢通路的影响，证明CTD可通过影响甘油磷脂的水平导致脂质代谢紊乱发生肝毒性。**结论** CTD通过抑制小鼠体内甘油磷脂代谢导致脂质变性、脂质代谢紊乱发生肝毒性。

关键词：斑蝥素；肝毒性；脂质组学；甘油磷脂；

通讯作者： 李　珊，E-mail：2366942192@qq.com

曲西立滨抑制AKT-mTOR信号通路拮抗二乙基亚硝胺诱导的大鼠肝癌

张翠丽，曾　涛，赵秀兰，宋福永，谢克勤*

（山东大学齐鲁医学院公共卫生学院卫生毒理与营养学系）

摘要：目的 曲西立滨（triciribine，TCBN）是AKT的特异性抑制剂，探讨TCBN对二乙基亚硝胺（diethylnitrosamine，DEN）诱导的大鼠肝癌的保护作用。**材料和方法** 雄性Wistar大鼠，随机分为：对照组、TCBN组、DEN组、TCBN+DEN组。TCBN组和TCBN+DEN组大鼠给予TCBN（0.5 mg/kg，ip，5次/周）16周，TCBN给药2周后，DEN组和TCBN+DEN组大鼠灌胃DEN（10 mg/kg，5次/周）14周。通过肿瘤发生率、肝脏表面癌结节数目、AFP免疫组化评价TCBN的干预效果，使用Western blot检测了对照组、TCBN组大鼠

肝组织及DEN组、TCBN+DEN组大鼠肿瘤组织和癌旁组织中AKT、p-AKT(Ser-473)、mTOR、p-mTOR以及TSC2、p-TSC2、4-E-BP1和p-4-E-BP1的蛋白表达水平。**结果** 与对照组大鼠相比,DEN组大鼠肝癌发生率为100%,TCBN干预后肝脏表面癌结节数目明显较少,最大癌结节直径明显缩小。AFP免疫组化结果表明,TCBN显著降低了AFP的表达水平。与对照组相比,TCBN组大鼠肝组织中p-AKT(Ser-473)的表达显著降低,为对照组的23%,但DEN组大鼠肝癌结节中p-AKT(Ser-473)的表达水平是对照组的3.6倍,TCBN干预后癌结节中p-AKT(Ser-473)的表达水平是DEN组癌结节中表达水平的33%,TCBN干预后癌旁组织中p-AKT(Ser-473)的表达水平是DEN组癌旁组织中表达水平的40%。另外,DEN组大鼠肿瘤组织中m-TOR及下游靶分子TSC-2和4-E-BP1的磷酸化水平也显著增加;TCBN处理显著抑制了AKT、m-TOR和TSC-2和4-E-BP1的磷酸化。**结论** 曲西立滨显著肝癌了DEN诱导的大鼠肝癌,其机制可能是抑制了AKT-mTOR信号通路。

关键词: 曲西立滨; 二乙基亚硝胺; 肝癌; AKT,mTOR

通讯作者: 张翠丽, E-mail:zcuilisdu@sdu.edu.cn);谢克勤, E-mail: keqinx@sdu.edu.cn

T13-0001

环境相关剂量多溴联苯醚孕期暴露致雄性子代睾丸发育不良的作用机制

赵天鑫, 刘国昌, 唐向亮, 李 典, 赵晶璐, 周 锐, 束方鹏, 贾 炜, 伏 雯, 夏慧敏
(广州市妇女儿童医疗中心)

摘要:目的 多溴联苯醚(PBDEs)是一类广泛使用的溴化阻燃剂,PBDEs暴露可导致雄性哺乳动物睾丸损伤。PBDE-99是商用PBDEs混合物的主要成分,本研究旨在探讨环境相关低剂量的PBDE-99孕期暴露对睾丸发育的影响及其中涉及的作用机制。**材料和方法** 采用ICR小鼠进行动物实验,通过灌胃的方式将妊娠的ICR雌鼠暴露于环境相关水平的PBDE-99,运用毒理学、分子生物学、生物信息学等手段评估雄鼠子代睾丸发育情况。体外实验采用睾丸间质细胞系TM3细胞进行研究,将其浓度暴露于梯度浓度PBDE-99,通过细胞生物学、分子生物学、生物信息学等技术分析其中涉及睾丸间质细胞损伤的机制。**结果** 环境相关剂量PBDE-99孕期暴露导致雄性子代睾丸发育不良,包括肛门生殖指数和睾丸器官系数显著降低,隐睾发病率增加,睾丸组织形态受到破坏。对各组睾丸组织进行转录组测序,生物信息学分析显示,在所有PBDE-99暴露组中,类固醇生成障碍均显著富集。通过ELISA、qPCR及免疫组化等实验检测到PBDE-99暴露后,睾酮水平、睾酮调节因子的表达以及CYP11A1阳性和11β-HSD1阳性睾丸间质细胞的数量均显著减少。在体外研究中,转录组学分析和验证实验表明,PBDE-99暴露上调睾丸间质细胞活性氧水平,激活ERK1/2途径,抑制泛素化降解途径,最终诱导睾丸间质细胞凋亡。**结论** 孕期暴露于环境相关水平的PBDE-99可通过诱导睾丸间质细胞凋亡,造成类固醇生成障碍,从而导致雄性睾丸发育不良。

关键字: 睾丸发育; 睾丸间质细胞; 类固醇激素合成; 孕期暴露; 多溴联苯醚

通讯作者: 赵天鑫, E-mail: txzhaos@163.com

T13-0002

聚苯乙烯微塑料(PS-MPs)破坏血睾屏障完整性的氧化应激机制研究

沈炼桔, 魏跃新, 吴雨昊, 吴盛德, 刘 星, 华 燚, 张德迎, 魏光辉*
(重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科,儿童泌尿生殖发育与组织工程重点实验室)

摘要: 目的 探索PS-MPs致生精功能损伤的病因及分子机制,为政府制定环保政策及临床诊疗男性不

育提供科学的实验依据。 **材料和方法** 成年Balb/c雄鼠随机分为5组，分别为正常对照组、20 mg/kg·bw4 μmPS-MPs暴露组、40 mg/kg·bw4μmPS-MPs暴露组、20 mg/kg·bw 10 μm PS-MPs暴露组和40 mg/kg. bw 10 μm PS-MPs暴露组，通过灌胃的方式给予PS-MPs，1次/天，连续暴露28天。Sertoli细胞随机分为5组，分别为正常对照组、50 mg/L 4μmPS-MPs暴露组、100 mg/L 4μmPS-MPs暴露组、50 mg/L 10μmPS-MPs暴露组、100 mg/L 10 μmPS-MPs暴露组，暴露24 h。对睾丸组织进行RNA测序。HE染色检测睾丸和附睾的组织形态学变化，分析精子数量和质量；生物素示踪实验检测睾丸BTB完整性；WB和IF睾丸组织和Sertoli细胞中BTB相关连接蛋白（ZO-1、occludin、N-cadherin、β-catenin、Cx43）的表达水平和定位；IHC和/或IF检测睾丸组织和Sertoli细胞中细胞骨架（F-actin和tubulin）的结构改变；WB检测肌动蛋白结合蛋白（actin binding proteins，ABPs）Arp3和Eps8、mTORC1及mTORC2信号通路相关指标（Rictor、p-rps6、rps6、Akt、p-Akt、MMP9）的表达改变。Sertoli细胞在PS-MPs暴露的同时给予NAC处理，再次检测BTB相关连接蛋白、细胞骨架、Arp3和Eps8、mTORC1及mTORC2信号通路相关指标的表达改变。**结果** PS-MPs暴露后损伤生精功能（精子数量减少，畸形率增加）是源于血睾屏障（blood-testis barrier，BTB）完整性受损。PS-MPs暴露可导致睾丸组织和Sertoli细胞的细胞骨架破坏，肌动蛋白丝的截短和BTB完整性的破坏，归因于Arp3和Eps8（两种最重要的肌动蛋白结合蛋白）的差异表达。结合转录组测序结果，我们证实PS-MPs暴露导致活性氧（reactive oxygen species，ROS）水平升高，破坏了mTORC1和mTORC2之间的平衡（mTORC1活性升高，mTORC2活性降低）。NAC干预后，Sertoli细胞中的连接蛋白表达以及mTORC1和mTORC2之间的活性恢复正常。**结论** PS-MPs通过ROS爆发诱导mTORC1和mTORC2的失衡，改变肌动蛋白结合蛋白的表达谱，导致F-actin结构紊乱，破坏BTB完整性，最终造成生精功能障碍。

关键词： MPs；血睾屏障；mTOR；ROS

通讯作者： 魏光辉，E-mail：u806806@cqmu.edu.cn

T13-0003

槲皮素抑制邻苯二甲酸酯类混合物暴露致大鼠睾丸组织氧化损伤的机制研究

刘丽兰，邓儒雅，周稳进，林　敏，夏玲姿，高海涛*

（温州医科大学公共卫生与管理学院预防医学系，浙江　温州　325035）

摘要： 研究背景 邻苯二甲酸酯类（Phthalate esters，PEs）塑化剂是公认的环境内分泌干扰物，可导致睾丸、肝脏、脾脏等组织氧化损伤，影响其正常生理功能。人群不可避免的长期暴露于PEs，面临氧化损伤风险。槲皮素（Quercetin，Que）是黄酮类化合物，具有强抗氧化性性能。**目的** 研究槲皮素（Que）对3种邻苯二甲酸酯类混合物（MPEs）暴露致大鼠睾丸组织氧化损伤的抑制作用及机制。材料和方法 40只雄性SD大鼠随机分对照组、MPEs组、MPEs+L-Que组、MPEs+M-Que组、MPEs+H-Que组。MPEs经口暴露剂量为900 mg/kg/d，Que的干预剂量分别为10-，30-，90 mg/kg/d，对照组大鼠灌胃等容量的赋形剂（0.5%羧甲基纤维素钠）。连续干预30d后，采血，取血清；测量肛殖距，解剖动物，取睾丸、附睾等雄性生殖器官，称重。试剂盒检测血清睾酮、促黄体生成素（LH）、卵泡刺激素（FSH）及睾丸组织丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）；H&E染色，观察睾丸组织病理结构；Western Blot及免疫荧光检测睾丸组织中Nrf2、Keap1和HO-1等蛋白的表达水平。**结果** 与对照组相比，MPEs组大鼠肛殖距、睾丸、睾丸系数、附睾及附睾系数均显著减小（$P<0.05$）；血清睾酮、FSH和LH水平显著下降（$P<0.01$）；睾丸组织曲细精管萎缩，精细胞发育停滞，睾丸间质细胞增生等；睾丸组织中Nrf2、MDA、SOD、CAT和HO-1均显著升高（$P<0.01$），而Keap1显著降低（$P<0.01$）；与MPEs组相比，MPEs+H-Que组大鼠睾丸、睾丸系数、附睾、附睾系数，血清睾酮、LH和FSH均显著升高（$P<0.05$）；睾丸组织病理结构明显改善；MPEs+M-Que组和MPEs+H-Que组睾丸组织中MDA、SOD、CAT、Nrf2和HO-1水平显著下降（$P<0.05$），而Keap1显著升高（$P<0.05$）。**结论** 槲皮素可抑制MPEs暴露所导致的大鼠睾丸组织氧化损伤，其机制可能与槲皮素直接清除自由基，降低MPEs诱导的睾丸氧化应激，恢复Nrf2信号通路的调节有关。

关键词： 槲皮素；邻苯二甲酸酯；睾丸；氧化损伤；Nrf2信号通路

基金项目： 国家自然科学基金（81903321）；浙江省自然科学基金（LY22H260002）；温州市科技局项目（Y2020098）

作者简介： 刘丽兰，硕士研究生，E-mail: 1787375288@qq.com

通讯作者： 高海涛，E-mail: haitaogao@wmu.edu.cn，E-mail: gaohaitaosky@139.com

T13-0005

多氯联苯138哺乳期暴露对小鼠子宫发育的影响及机制研究

阮金鹏，马文溯，肖 敏，唐 晨，何承勇，左正宏

（厦门大学，细胞应激生物学国家重点实验室，福建 厦门 361102）

摘要：目的 多氯联苯（PCBs）是一种持久性有机污染物和环境内分泌干扰物，虽然已经被禁止生产和使用，但其在环境及人体中仍广泛存在，对人类健康造成重大威胁。研究表明，PCBs暴露会导致内分泌紊乱，但有关PCBs哺乳期暴露对子宫发育的影响鲜有报道。本研究使用环境及人体中最为常见的3种PCBs单体中的PCB138对哺乳期雌性小鼠进行暴露，探究环境水平PCB138在生命早期暴露是否会影响小鼠子宫发育。**方法** 选择10-12周龄C57BL/6小鼠，交配后产生子代，对出生后第3天（PND3）至PND21雌性仔鼠进行颈部皮下注射处理。处理组给予PCB138（0.5，5，50 μg/kg/d）颈部皮下注射，对照组给予玉米油注射。仔鼠断奶后分笼饲养至6个月，在发情间期进行收样。① 取小鼠血清检测雌激素、孕激素水平；②HE染色观察子宫组织病理变化、炎性细胞浸润情况；③ 天狼星红和Masson染色观察子宫组织纤维化情况，WB检测子宫组织中纤维化相关蛋白表达水平；④ WB检测子宫组织中雌激素受体α（ERα）和孕激素受体（PGR）信号通路相关蛋白表达水平；⑤ WB检测子宫组织中NF-κB信号通路相关蛋白表达水平；⑥ WB检测子宫组织中TGFβ/Smad信号通路相关蛋白表达水平。**结果** 与对照组小鼠相比，① 暴露组小鼠子宫腔上皮细胞变薄，腺体膨大；② HE染色显示暴露组小鼠子宫组织出现炎性细胞浸润；③天狼星红和Masson染色显示暴露组小鼠子宫出现纤维化，胶原沉积相关蛋白α-SMA和Collagen Ⅰ表达水平升高；④ 血清激素水平检测结果显示暴露组小鼠血清雌激素水平明显下降，WB结果显示暴露组小鼠子宫ERα、PGR信号通路相关蛋白表达水平异常；⑤ WB结果显示暴露组小鼠子宫NF-κB信号通路激活；⑥ WB检测子宫TGFβ/Smad信号通路被激活。**结论** PCB138哺乳期暴露可引起小鼠激素紊乱，干扰ERα和PGR的表达，引起子宫腔上皮细胞变薄、子宫腺体膨大，诱发子宫炎症和纤维化。

关键词： 多氯联苯；PCB138；子宫；腺体；炎症；纤维化

基金项目： 国家自然科学基金面上项目（No.3197110088，No.42177411）

通讯作者： 左正宏，E-mail：zuozhenghong@xmu.edu.cn

T13-0006

环境内分泌干扰物暴露引起心脏发育毒性的研究进展

杨晓莲，许 洁，俞 捷

（遵义医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生教研室，遵义 563006）

摘要： 环境内分泌干扰物（EDCs）可结合机体中的不同受体，因其能模拟或拮抗内源性激素活性，又称为环境雌激素，主要由人类的生产和生活活动排放到环境中，通过空气、饮食或皮肤等途径进入人体，干扰各组织器官正常功能而引发免疫、生殖、发育和神经等毒性效应，从而导致机体病变。心脏是脊椎动物胚胎发育过程中形成的第1个器官，提供机体全部生命活动所需的能量。EDCs暴露可影响心脏发育的整个过

程，造成心脏形态结构发育不全，进而阻碍了心脏血液外周循环，不能维持正常的外周循环压力，血液进入到外周组织，细胞受阻，影响物质交换，不能发挥供氧和物质营养的作用，从而引发心脏功能下降。

本文综述了包括多溴联苯醚类、壬基酚、二恶英类、双酚类、有机磷酸酯类等环境中常见几类主要EDCs暴露致心脏发育毒性的结果及相关机制，包括氧化应激、炎症反应、细胞信号转导、心脏发育相关转录调控因子表达改变、芳香烃受体和雌激素受体等受体介导途径和细胞凋亡，以及其他机制包括Ca+稳态破坏、自噬、miRNA表达改变、线粒体生物能受损和表观遗传修饰等多途径致使线粒体损伤和膜室结构改变，心肌细胞形态变化和死亡，心脏形态结构发育异常，从而影响心脏正常功能的研究现况，了解EDCs在心脏发育的各阶段过程中暴露产生的各类后果及心脏发育的影响程度，为EDCs的毒性机制研究及防治心脏相关疾病提供理论基础和研究方向，减少因EDCs所致的心血管损害提供科学依据。

关键词： 环境内分泌干扰物；心脏发育毒性；心脏形态结构；心脏功能

通信作者： 俞　捷，E-mail：Xujie360@hotmail.com

T13-0007

砷暴露通过m6A甲基化修饰影响卵巢卵泡发育

陈益钦，张文辉，孙　涵，王文祥
（福建医科大学公共卫生学院，福州　35000）

摘要：目的　探讨砷暴露对卵巢卵泡发育的影响及其机制，以期为环境砷污染所致生殖毒性的相关研究提供理论依据。**方法**　40只清洁级初断乳雌性Wistar大鼠，21日龄，体重（58.87±3.96）g。按体重随机分成4组，每组10只，暴露于0、0.3、0.9和2.7mg/kg As3+至性成熟。测定大鼠血清及卵巢内砷含量；检测大鼠的动情周期，取卵巢称重并计算脏器系数；观察卵巢组织学变化并计算各级卵泡构成比；测定血清AMH、FSH和LH水平；测定卵巢卵泡发育相关基因的mRNA和蛋白表达水平；测定m6A甲基转移酶和去甲基酶的mRNA与蛋白表达水平。进一步采用新生大鼠卵巢离体培养模型探讨砷暴露对卵巢卵泡发育的影响。**结果**　与对照组相比，高剂量组的卵巢和血清砷水平显著升高（3.70 μg/g v.s. 0.11 μg/g，$P<0.001$；403.75 μg/L v.s. 8.57 μg/L；$P<0.001$）；各剂量组的卵巢脏器系数均无显著差异（$P>0.05$）；中、高剂量组动情前期显著延长（$P<0.05$），且高剂量组的动情周期总时长也显著延长（$P<0.05$）；与对照组相比，高剂量组的卵巢卵泡构成比发生显著改变（$P<0.001$）；与对照组相比，各剂量组的血清激素水平无显著改变，但FSH成上升趋势（$P<0.05$）；与对照组相比，中剂量组的卵泡发育相关因子GDF9、BMP15、ID4显著上升（$P<0.05$），高剂量组的GDF9显著上升（$P<0.05$），此外，卵巢内AMH、SCF的mRNA表达呈下降趋势；与对照组相比，卵巢内m6A甲基转移酶METTL3和METTL4的蛋白表达显著下降（$P<0.05$），去甲基酶ALKBH5也显著下降（$P<0.05$），但FTO表达无显著差异（$P>0.05$）。离体卵巢培养模型显示砷暴露影响卵巢卵泡发育，具体表现为BMP15、ID4、JAG2等卵泡发育相关因子表达显著上升（$P<0.05$），且其m6A甲基化变化情况与动物模型类似。**结论**　断乳至性成熟期砷暴露可通过影响卵巢卵泡的发育进而影响卵巢储备，这可能与卵巢内m6A甲基化修饰改变有关。

关键词： 砷；卵巢卵泡；卵泡发育相关基因；m6A甲基化

通信作者： 王文祥，E-mail: wangwenxiang@fjmu.edu.cn

T13-0008

葡萄糖可通过CCM3基因调节上皮性卵巢癌中的细胞铁死亡

李雨蒙[1]，刘晓玲[2]，梁日梅[3]，王彩梅[2]，蔚　佳[1]，刘　耘[4]，孙　易[1*]
（1. 桂林医学院，2. 桂林医学院附属医院，3. 汕头大学，4. 唐山市中心医院）

摘要：目的　探讨不同高浓度葡萄糖下铁死亡对卵巢癌细胞增殖和迁移能力的影响以及CCM3基因在

其中可能发挥的作用。**方法** 结合体内外实验，以不同高浓度的葡萄糖体外培养卵巢癌A2780细胞24h，通过平板克隆、细胞划痕和transwell实验监测卵巢癌细胞的增殖和迁移能力变化；通过Calcein AM/PI 双染试剂盒对A2780细胞进行双重染色检测卵巢癌细胞的死亡情况；采用JC-10检测卵巢癌细胞的线粒体膜电位变化；用组织铁试剂盒将高价铁转化成亚铁从而测定A2780卵巢癌细胞中的铁含量；用western blot评估GPX4、COX2和CCM3等蛋白给糖干预24h后表达水平的变化；通过裸鼠皮下成瘤实验评估A2780细胞肿瘤形成情况，同时给生成的肿瘤组织进行HE染色以评估荷瘤小鼠的血管生成能力。**结果** 与正常受试者随机血糖临界上限（11.1mM）相比，体外高浓度葡萄糖处理24h后的卵巢癌细胞其增殖、迁移及侵袭能力均受到不同程度的抑制，并伴有细胞死亡、线粒体膜电位异常、细胞内的铁异常积累等现象。在western blot实验中，随着体外给糖浓度的升高，铁死亡关键调节因子GPX4的表达水平被下调，COX2的表达水平增加，同时与细胞凋亡相关的蛋白CCM3表达水平降低。当给予铁死亡诱导剂ML385时也出现相似结果，即GPX4表达水平下调，COX2表达水平上调，但CCM3的表达水平呈相反趋势。在裸鼠皮下成瘤实验中观察肿瘤生长情况和血管生成水平发现给糖组并未有显著性差异，这可能是由于小鼠的操作和个体差异；而ML385处理组随着干预浓度的升高，卵巢癌细胞的生长能力和血管生成水平由于引起细胞铁死亡而受到抑制。**结论** 高浓度葡萄糖可能通过CCM3基因诱导卵巢癌A2780细胞发生铁死亡，并以不同于ML385处理的方式最终导致细胞凋亡从而影响其增殖和迁移能力。

关键词： 卵巢癌；葡萄糖；铁死亡；CCM3

通信作者： 孙 易，E-mail: sunyide163@163.com

T13-0009

新型阻燃剂干扰胎盘类固醇激素合成损害妊娠结局

洪佳彬，蒋萌珠，王 瑶，张 晶，唐焕文，刘小山
（广东医科大学公共卫生学院，东莞 广东）

摘要： 有机磷阻燃剂是继常用阻燃剂多溴联苯醚禁用后使用量逐年上升的一类新型阻燃剂。磷酸三苯酯（TPhP）是环境或生物样本中检出率最高的有机磷阻燃剂之一，其健康风险危害逐渐受到关注。流行病学调查发现TPhP 和它的代谢产物DPhP可在胎盘蓄积，妊娠期孕妇尿液中TPhP 或DPP的浓度与不良妊娠结局如流产、低出生体重呈正相关关系。有研究证实TPhP 具有过氧化物酶体增殖物激活受体（PPARγ）结合活性，可激活PPARγ提高胎盘滋养层细胞孕酮分泌水平。但是TPhP透过胎盘毒性诱导发育毒性的效应及其潜在机制依然未知。我们利用具有合胞体滋养层细胞特征的JEG-3细胞，研究了TPhP干扰类固醇激素水平的作用和机制。利用脂质代谢组学分析，我们发现TPhP干扰细胞脂质代谢，胞内甘油三脂、游离脂肪酸、磷脂酸水平上调，磷脂酰丝氨酸、磷脂酰乙醇胺、鞘磷脂水平下调，进一步油红O实验提示TPhP可诱导JEG-3细胞脂质沉积。同时，TPhP显著上调孕酮水平。对PPARγ及其调控的脂代谢相关蛋白水平检测结果提示脂质合成或转运蛋白水平SCREBP1、ACC、CD36蛋白水平显著上调。TPhP染毒后细胞PPARγ蛋白水平下调，但胞质胞核分离实验结果显示TPhP可促进PPARγ入核。用PPARγ特异性抑制剂GW9662干预后，TPhP诱导的脂质沉积、内质网应激和凋亡可得到缓解，提示TPhP激活PPARγ干扰脂质代谢和激素水平。考虑到类固醇激素由胆固醇代谢而成，CD36可受PPARγ调控，负责游离脂肪酸和低密度脂蛋白摄入，我们进一步研究了PPARγ/CD36信号通路在TPhP干扰类固醇激素合成中的作用。研究结果显示TPhP促进脂质沉积的同时，胞内胆固醇水平、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白水平上升，类固醇激素如孕酮、糖皮质激素、醛固酮、雌二醇水平上调。GW9662或siCD36单独干预后，胆固醇水平恢复正常，类固醇激素如孕酮、糖皮质激素水平回复正常。对类固醇激素合成通路上基因表达分析结果显示，TPhP可显著上调*3βHSD1*，*17βHSD1*，*CYP11A*，*CYP19*和*CYP21*基因表达水平，GW9662或siCD36单独干预后，上调的基因表达水平恢复正常水平。以上结果提示TPhP可干扰胎盘滋养层细胞类固醇激素合成，PPARγ/

CD36信号通路参与了TPhP介导的类固醇激素干扰效应。

关键词：阻燃剂；胎盘；类固醇激素；妊娠结局

通信作者：E-mail: thw@gdmu.edu.cn；刘小山，E-mail: liuxshan@gdmu.edu.cn

T13-0010

新西兰兔静脉注射给予注射AN21035胚胎-胎仔发育毒性试验

柳雪艳，苏　爽，潘佳雯，李晓旭，韦　娜，董延生*

（国科赛赋河北医药技术有限公司，河北　廊坊　固安　065000）

摘要：目的　AN21035静脉注射液临床拟用于辅助肝脏造影检查。本试验对新西兰兔静脉注射给予AN21035注射液，从妊娠新西兰兔胚胎着床（GD6）至硬腭闭合（GD19）阶段给药，观察对妊娠动物、胚胎及胎仔发育的影响，为临床研究提供参考信息。**方法**　本试验将交配成功的雌兔随机分为溶剂对照组，AN21035低、中、高剂量组，以交配成功当天记为妊娠第0天（GD0），各组孕兔于GD6 ~ GD19分别静脉注射给予300 μL/kg的0.9%氯化钠注射液，75、150、300 μL/kg的AN21035，每天给药1次。每组各24只雌鼠，除未孕动物，实际妊娠并用于统计分析的孕兔分别为23、23、24、23只。试验期间，每天观察各组雌兔的一般状态；于GD0、3、6、10、14、17、21、24、28测定体重；GD0、6、14、21、26测定摄食量；GD28对各组孕兔实施安乐死并进行大体解剖观察，称取妊娠子宫重、卵巢重（总）、胎盘重（总）、空子宫重、活胎重，记录黄体数、着床腺数、吸收胎数、死胎数、活胎数。检查记录各组所有活胎的性别、体重、顶臀长、外观畸形等，对各组胎兔脏器进行检查，并对溶剂对照组及AN21035高剂量组胎仔的固定内脏、骨骼进行相关检查。**结果**　试验期间，各组孕兔未见与受试物相关的毒性症状，给药后至解剖取样前均可见自主活动正常，精神状态良好，皮毛清洁，未见阴道出血及流产，亦未见其他毒性症状。GD28观察期结束，对各组孕兔进行大体解剖观察，其子宫、卵巢、胎盘等主要脏器均未见肉眼可见异常改变。各组孕兔黄体数、着床腺数、早期吸收胎数、晚期吸收胎数、吸收胎总数、死胎数、活胎数、吸收胎孕兔百分率、死胎孕兔百分率、妊娠率、着床后丢失率、总丢失率、妊娠子宫重、胎盘重（总）、空子宫重、卵巢重（总）、子宫和卵巢的脏体系数均未见与受试物相关的明显异常改变。各组胎兔性别比、胎兔总重、胎兔均重、胎仔均身长、外观检查指标、总内脏变异率和畸形率、窝别内脏变异率及畸形率、胎兔窝枕骨骨化程度各阶段百分比、窝骨化数及骨骼变异及畸形率均未见与受试物相关的明显异常改变。**结论**　在本试验条件下，新西兰孕兔于GD6 ~ GD19静脉注射给予75、150、300 μL/kg的AN21035。试验期间，未见与受试物相关的死亡/濒死情况，各组孕兔一般状态、体重、摄食量、生殖功能及胚胎形成、胎仔生长发育相关指标未见受试物相关的明显异常改变。

关键词：新西兰兔；妊娠动物；胚胎-胚仔发育

通讯作者：董延生，Tel：13121335997，E-mail：dongyansheng@safeglp.com

T13-0011

膳食重（类）金属暴露与精液质量的关联性

张文辉，陈益钦，徐　倩，王文祥*

（福建医科大学公共卫生学院，福州　35000）

摘要：目的　探讨膳食、精浆内重（类）金属与精液质量低下发生风险的关联，以期为育龄男性的膳食指导提供理论依据。**方法**　采用病例对照研究，选取2021年1-11月在福建省妇幼保健院生殖中心进行辅助生殖的男性作为研究对象，通过半定量膳食频率问卷收集膳食摄入情况，参照我国第五次总膳食研究计算膳

食重(类)金属每日摄入量。采用Spearman相关性分析探讨指标两两之间的关联性;利用logistic回归分析来探讨引起精液质量低下风险的因素。利用ICP-MS测定精浆中重(类)金属元素含量。用Spearman相关性分析评估精浆重(类)金属元素与精液质量参数及与每日膳食摄入量的相关性。利用OPLS-DA分析不同元素权重重要性排序值,LASSO回归筛选影响效应最大的重(类)金属;二元Logistic回归评估其与精液质量二分类结果的关系及利用RCS分析评估两者剂量-反应关系。**结果** 共纳入481名研究对象,对照组273例、精液质量低下组208例。与对照组相比,精液质量低下组的年龄和BMI更大(P<0.05);膳食iAs、Hg、Cd、Cu、Pb、Mn、Zn的日均摄入量更高(P<0.05)。调整协变量后,iAs(OR=2.25;95%CI:1.31-3.87)、Cu(OR=2.23;95%CI:1.31-3.81)和Mn(OR=2.20;95%CI:1.28-3.78)的膳食摄入量与发生精液质量低下的风险相关。共纳入438名研究对象,对照组242例、精液质量低下组196例。与对照组相比,精液质量低下组的精浆As、Cu含量更高(P<0.01和P=0.04)。OPLS-DA显示VIP大于1的有As、Tl和Zn,LASSO回归模型提示As(OR=1.55;95%CI:1.24-1.99)和Co(OR=2.39;95%CI:1.38-5.41)是精液质量低下的危险因素。联合OPLS-DA和LASSO回归发现As对精液质量低下发生的贡献度最大。二元logistics回归提示精浆As增加精液质量低下的发生风险(OR=3.08;95%CI:1.71-5.54)。在2.69-3.83 μg/L时,精浆As对精液质量具有兴奋效应(OR<1,P<0.05),当其超过3.83 μg/L时各精液质量参数低于标准的发生风险将增大(OR>1,P<0.05)。**结论** 膳食无机砷、锰和铜摄入量与精液质量低下的发生风险有关。精浆砷蓄积对精液质量表现出毒物兴奋效应,低浓度时为兴奋效应,高浓度引起发生精液质量低下的风险增加。

关键词: 膳食; 重金属; 类金属; 精液质量; 砷

通讯作者: 王文祥, E-mail: wangwenxiang@fjmu.edu.cn

T13-0012

聚苯乙烯纳米颗粒与邻苯二甲酸二-(2-乙基己基)酯共暴露对雄性生殖系统的毒性作用及机制研究

蔡学梅, 孙 威, 蒋学君, 虞子樱, 夏茵茵, 程淑群, 毛乐娇, 罗诗月, 唐世鑫, 许商成, 邹 镇, 陈承志, 邱景富, 周丽晓

(重庆医科大学)

摘要: 目的 探索纳米塑料(NPs)和邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)共同暴露对雄性生殖系统的毒性影响。**材料和方法** 研究以C57BL/6J小鼠为研究对象,以聚苯乙烯纳米颗粒(PSNPs)和DEHP为受试物。将小鼠随机分为对照组,PSNPs组,L-DEHP组,H-DEHP组,PSNPs+L-DEHP组和PSNPs+L-DEHP组。处理35天后,采用血球计数板计数法检测精子浓度、活力和畸形率;H&E染色评估睾丸和附睾组织学改变;转录组测序评估和筛选睾丸中表达变化的基因;RT-qPCR验证睾丸组织中显著改变的基因并测定附睾组织中重要的基因表达情况。**结果** 研究结果显示,本研究所用低剂量PSNPs未引起精子质量显著改变,而DEHP或PSNPs与DEHP联合处理则导致精子质量下降。此外,与单独DEHP处理组相比,联合处理组的毒性作用显著增强,主要表现为精子参数以及睾丸和附睾的组织学改变更明显。睾丸转录组分析显示免疫反应、细胞质模式识别受体信号通路、蛋白泛素化、氧化应激、细胞坏死、ATP合成和细胞呼吸链相关基因的表达显著改变。RT-qPCR证实*Cenpb*、*Crisp1*和*Mars*在睾丸中的表达水平显著改变,同时,与附睾功能相关的基因Aqp9和Octn2在附睾中表达下调,且上述基因的表达差异主要体现在联合处理组。**结论** DEHP可诱发雄性生殖毒性,而PSNPs会加剧该毒性效应。研究发现有助于提升人们对这些污染物的认知并推动对人体相关防护措施的制定。

关键词: NPs; DEHP; 生殖毒性

通讯作者: 周丽晓, E-mail:lixiaozhou@cqmu.edu.cn

T13-0013

新冠疫苗对SD大鼠的全周期生殖与发育毒性研究

陈虹宇，王汉蓉，刘　斌，岑小波
（成都华西海圻医药科技有限公司）

摘要：目的　在动物福利“3R”原则和节约时间成本的前提下，SD大鼠多次肌肉注射新冠疫苗，评价其对大鼠生殖功能的毒性或干扰作用，对妊娠/哺乳雌鼠以及胚胎和子代发育的影响，为临床研究提供参考信息。**方法**　252只SD大鼠随机分3组：阴性对照、佐剂对照及疫苗组（1人份剂量），每组28只雄/56只雌鼠，其中每组雌鼠设2个亚组，即剖宫产和分娩亚组。每组各6只雄鼠和12只雌鼠（6只/亚组）用于抗体的检测。采用肌肉注射给药，分别于雄鼠交配前第7、3、1周及交配期第2周各给药1次（共4次），于雌鼠交配前第7、3、1周及妊娠期第6、13天各给药1次（共5次），分娩亚组雌鼠另于哺乳期第7天加强免疫1次（共6次）。试验期间，每天观察动物的临床症状和注射部位刺激性，定期测定体重、摄食量、性周期。雄鼠：分别与2个亚组雌鼠按1∶1合笼交配，交配周期结束后进行剖解，测定生殖脏器重量并进行组织病理学检查，评价精子计数、活动度及精子形态。卫星雄鼠于首次给药前、交配前及解剖前采集血样。剖宫产亚组：于妊娠期第20天对雌鼠施以安乐死后进行剖检，称量生殖脏器重量，计数活胎、死胎数；检查胎鼠的性别、体格指标，并对其外观、骨骼及内脏的畸形或变异进行评价。卫星雌鼠于首次给药前、交配前及妊娠期第20天自静脉采集血样，其胎鼠于解剖前自心脏采集血样。分娩亚组：记录雌鼠的妊娠天数、分娩及哺育情况，离乳后进行安乐死和大体解剖，评价其生育力及胚胎发育；记录仔鼠的外观、性别及存活情况，定期检测体重、生理和体格发育、感觉和反射机能，评价子代的学习和记忆能力（Morris水迷宫）、自发活动（Open-field法），待子代性成熟后考察其生育力及妊娠情况，并进行剖检和脏器称重。卫星雌鼠于首次给药前、交配前及哺乳期第21天采集血样，仔鼠于出生后第21天采集血样。**结果**　试验期间，各组动物一般状态、体重及摄食量、性周期及哺育泌乳情况均未见明显异常，各组大鼠脏器重量、生育力及胚胎形成指标基本相当。佐剂对照和疫苗组大鼠可见注射部位肌肉白色斑块，组织病理学检查可见注射部位肌肉混合炎性细胞浸润及纤维组织增生。亲代及其子代对疫苗抗原均能产生高水平的结合抗体和具有较强活性的中和抗体。雄鼠：各组雄鼠精子分析、生殖脏器的重量及其组织病理学检查均未见明显异常。剖宫产亚组：各组胎仔外观和体格发育良好，其骨骼、内脏未见药物相关的畸形或异常。分娩亚组：各组仔鼠体重与出生天数呈线性增长，子代的生理和体格发育指标、感觉和反射机能等呈现与系统生长发育相关的改变，其学习和记忆能力、自发活动、脏器重量及生殖功能均未见明显异常。**结论**　本研究根据疫苗特性，整合标准生殖Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ段试验的终点，设计并实施新冠疫苗对SD大鼠的全周期生殖与发育毒性研究，在临床1人份剂量下，未见其对SD大鼠生育力和子代发育的不良反应，亦未见胚胎致死性和胎仔致畸性风险，同时该疫苗对SD大鼠具有良好的免疫原性。以上结果提示新冠疫苗对雌鼠及其子代有较好的安全性，为其临床的安全使用提供重要的参考信息。

关键词：疫苗；全周期；生殖毒性；发育毒性

通讯作者：陈虹宇，E-mail：hongyuchen@glpcd.com

T13-0014

矮壮素对TM3细胞睾酮合成的影响及1.6

王晓霞，肖倩倩，康陈萍，郝卫东
（北京大学公共卫生学院毒理学系，食品安全毒理学研究与评价北京市重点实验室，北京　100191）

摘要：目的　矮壮素（Chlormequat chloride，CCC）是一种应用广泛的植物生长调节剂。我们前期的研究发现，CCC可引起青春期雄性大鼠发育延迟、精子参数异常和睾酮合成降低等。本研究旨在探讨CCC对

小鼠睾丸间质细胞系(TM3)睾酮合成的影响及机制。**方法** 采用不同浓度的CCC(0、3.125、12.5、50、200和800 μg/mL)处理TM3细胞24小时,用MTT法检测细胞毒性;采用Elisa检测细胞上清的睾酮水平,RT-qPCR检测睾酮合成相关基因的表达水平;采用流式细胞术检测细胞周期,线粒体膜电位,细胞凋亡水平;采用WB和RT-qPCR检测内质网应激(ERS)相关蛋白和基因的表达水平;采用Flou-4 AM和Rhod-2 AM荧光探针分别检测细胞质和线粒体内的钙离子水平;采用内质网和线粒体荧光探针,经激光共聚焦显微镜共定位分析CCC对TM3细胞内质网-线粒体结构偶联(MAMs)的影响。采用ERS抑制剂(4-PBA)和CCC共同处理TM3细胞,检测ERS相关蛋白和基因的表达、细胞凋亡及相关蛋白的水平和睾酮含量。**结果** 不同浓度CCC处理的TM3细胞活力均大于80%;50、200和800 μg/mL CCC处理可引起TM3细胞睾酮合成降低;800 μg/mL染毒组的睾酮合成相关基因水平(Star、Hsd3b2和Tspo)降低;200和800 μg/mL染毒组GRP78和CHOP的蛋白和基因表达增加;各剂量组的细胞周期和线粒体膜电位无明显变化,50、200和800 μg/mL染毒组的细胞凋亡水平增加,且800 μg/mL CCC可引起Bax、Caspase-3、PARP和Caspase-9的蛋白表达增加,Bcl2的蛋白表达降低;200和800 μg/mL CCC可引起细胞质内的钙离子水平增加,而各剂量组线粒体内的钙离子水平较对照组降低,且800 μg/mL CCC使细胞内钙调蛋白和钙调神经磷酸酶的水平增加;CCC可引起MAMs相关蛋白(Mfn2和VDAC1)的表达降低,且内质网与线粒体的共定位系数(Pearson's和Manders系数)降低也间接反应MAMs数量减少;与CCC染毒组比较,4-PBA+CCC处理组睾酮水平增加,GRP78蛋白水平和细胞凋亡水平降低。**结论** CCC可引起TM3细胞睾酮合成降低,其机制可能与ERS介导的细胞凋亡和钙离子稳态失衡有关。

关键词: 矮壮素; TM3细胞; 睾酮; 内质网应激

基金项目: 国家自然科学基金(82204082)

通讯作者: 郝卫东, E-mail: whao@bjmu.edu.cn

T13-0016

氧化铁纳米颗粒的生殖毒性研究进展

宋泽丽, 王业丰, 段怀龙, 李凤婷

(益诺思生物技术南通有限公司)

摘要: 氧化铁纳米颗粒(Iron oxide nanoparticles, IONs)因其独特的超顺磁性、磁热效应、和类过氧化物酶活性,广泛应用于生物医学领域,如磁性靶向药物载体、磁共振成像、免疫治疗和肿瘤热疗等。随着INOs应用的增加,INOs潜在的暴露人群与日俱增,其潜在的健康风险也日益受到关注。体外研究和动物实验显示,IONs具有生殖毒性,可导致精子和卵泡的数量及活力下降,以及对睾丸、精囊、前列腺和卵巢的直接损伤。本文将通过梳理现有的毒理学证据对INOs的生殖毒效应和潜在机制通路做扼要综述。

氧化应激和线粒体损伤是IONs引发生殖毒性的重要原因。IONs可以引起精子线粒体和膜被破坏,以及卵母细胞中的线粒体空泡化和嵴扭曲等超微结构损伤。IONs被精子或卵母细胞细胞摄入后,其颗粒内部的铁容易以离子化的形式溶出,从而增加细胞内游离铁的水平,而游离铁可以通过芬顿反应和哈伯-韦斯反应形成活性氧(Reactive oxygen species, ROS)。过量的ROS积累会引起线粒体膨大并产生非特异性孔道,导致线粒体内部的细胞色素C经孔道流失到胞质中与Apsf-1蛋白结合,使得Caspase-9酶原活化,进而激活下游的Caspase-3,使细胞发生凋亡。

内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)也是IONs引发生殖毒性的重要机制。细胞受到氧化应激后,内质网内未折叠蛋白或错误折叠蛋白增多,诱发ERS。持续或过强的ERS,一方面可以进一步增强氧化应激,引起多细胞器的损伤和细胞坏死;另一方面,ERS激活的未折叠蛋白反应,通过其下游的c-Jun氨基末端激酶通路来诱导细胞凋亡。

除了对生殖细胞的损伤外,IONPs还通过损伤Sertoli细胞,限制激素及其他化合物进出睾丸,从而抑制精子的发生过程,导致睾丸功能障碍。此外,IONPs暴露也会使睾丸间质细胞中蛋白激酶C蛋白增高,激活

细胞外调节蛋白激酶信号通路，触发环氧化酶2上调，从而抑制间质细胞中StAR基因的表达，减少睾酮的生成或分泌。

综上所述，IONs的生殖毒性机制可能与氧化应激、线粒体损伤、细胞凋亡和内质网应激等多方面因素有关。

关键词： 氧化纳米颗粒；生殖毒性；氧化应激；线粒体损伤

通讯作者： 宋泽丽，E-mail：zlsong@innostar.cn

T13-0017

DNA甲基化和CREB/CREM通路在妊娠期镉暴露对雄性子代睾丸损伤的作用

徐学明，杜修帅，卢志兰，陈锴炜，刘　瑾

（福建医科大学公共卫生学院，福州　350122）

摘要：目的　探讨妊娠期镉暴露对子代睾丸生长发育和精子发生的代际和跨代影响，以及DNA甲基化和CREB/CREM通路在其中的作用。**方法**　成年SD孕鼠随机分为4组（F0代），用氯化镉（0、0.5、1.0、2.0 mg/kg/day）灌胃染毒至分娩，产生F1代。F1代雌鼠与健康雄鼠交配，得F2代，同法得F3代。收集子代雄鼠收集睾丸、血清及精子，HE染色测量睾丸曲细精管直径；电镜观察睾丸超微结构；采用芯片检测基因启动子区DNA甲基化，qRT-PCR和Western blot检测CREB/CREM通路相关因子及DNA甲基转移酶的mRNA、蛋白表达量。**结果**　① F1代0.5 mg/kg和1mg/kg组曲细精管直径增大，2 mg/kg组减小；在F2代1mg/kg组增大，2 mg/kg组减小。② 电镜下F1代和F2代2 mg/kg组睾丸均观察到生精细胞细胞间隙变大，初级精母细胞核固缩、胞质坏死，次级精母细胞水肿、溶酶体增多、细胞器密度降低，精子溶酶体增多。③ F1代56天睾丸组织全基因启动子区组甲基化芯片结果显示，与对照组相比，2 mg/kg 镉剂量组睾丸组织1634个基因发生差异甲基化，CREB/CREM通路的转录因子CREB和CREM基因启动子区发生高甲基化。④ F1代GREM蛋白在0.5 mg/kg组表达升高；F2代中2 mg/kg组 *Greb*与 *Cremm* RNA均显著升高。F3代 *Creb* mRNA也在2 mg/kg组表达升高，⑤ F2代 *Dnmt1* mRNA在1mg/kg组降低，*Dnmt3a* mRNA在各染毒组均降低，*Dnmt3b* mRNA在1 mg/kg和2 mg/kg组降低。F3代 *Dnmt1* mRNA在2 mg/kg组降低，*Dnmt3a* mRNA在各染毒组均降低。**结论**　妊娠期镉暴露对子代睾丸组织的生殖毒性具有代际和跨代效应。妊娠期镉暴露对子代睾丸生殖毒性作用可能与睾丸组织启动子区甲基化改变有关。妊娠期镉暴露对子代精子发生的跨代毒性作用可能与CREB/CREM信号通路改变有关。

关键词： 镉；DNA甲基化；睾丸生精细胞；跨代效应

通讯作者： 刘　瑾，E-mail：liujin@fjmu.edu.cn

T13-0018

miR-206/133b簇介导父体咖啡因暴露所致睾丸损伤与生殖功能改变

孔梓宇[1]，柳　毅[1]，汪　晖[1,2]

（1. 武汉大学基础医学院药理学系；2. 发育源性疾病湖北省重点实验室，武汉　430071）

摘要：目的　当代生育期准父母的慢性应激现象凸显，然而有关父体慢性应激对父系生育力的影响迄今未得到系统阐明。本研究基于团队前期母系生育力变化的研究成果和临床上成年男性血GC与生殖功能的相关性分析结果，以父体咖啡因暴露（paternal pre-pregnant caffeine exposure，PPCE）作为慢性应激模型，对雄性大鼠自身睾丸和生殖功能的影响及其血睾屏障机制进行探究，并证实糖皮质激素（glucocorti-

coid，GC）在其中发挥的关键作用。**材料和方法** 首先，通过对百余例临床成年男性血皮质醇含量与生殖指标（精子数、运动率、畸形率、DNA碎片化指数、性激素水平等）进行相关性分析，判断糖皮质激素与男性生殖功能的关系。进一步，通过灌胃的方式给予8周龄成年雄性大鼠15、30、60 mg/（kg·d）咖啡因2个月，建立PPCE模型，并检测F0代生殖功能、睾丸血睾屏障功能与精子相关指标以及上游机制指标。同时，通过给予TM4支持细胞不同浓度（0、0.1、1、10、100μM）咖啡因与（0、250、500、1000、2000 nM）皮质酮判断并证实皮质酮对支持细胞的影响。最终，通过灌胃给予RU486建立GR拮抗的PPCE大鼠模型，通过loxP-Cre重组系统建立睾丸支持细胞特异性Nr3c1敲除的PPCE小鼠模型，分别证实GR在PPCE模型下参与介导自身睾丸血睾屏障损伤的机制。**结果** 临床分析结果表明，血高糖皮质激素水平可能与低精子数和高精子DNA碎片化率相关。动物整体水平上，我们发现与对照组相比，PPCE组成年大鼠生殖功能发生改变、精子质量下降、睾丸生精小管形态发生改变，缝隙连接蛋白CX43的mRNA表达下降，miR-206与miR-133b的表达量显著升高，并靶向抑制CX43的表达。体外机制验证实验表明，PPCE组GR表达升高，且减少了对甲基化酶DNMT3A的招募，从而促进了206/133b簇的表达。体外细胞实验表明，皮质酮给药可导致TM4支持细胞GR、miR-206簇、CX43的mRNA与蛋白表达显著降低，而咖啡因不能引起上述改变。细胞干预实验表明，“GR/DNMT3A/miR-206 cluster”通路可能介导了皮质酮所致支持细胞CX43表达下降。整体动物干预实验表明，拮抗GR或敲除GR后PPCE组睾丸与精子的上述相关指标发生不同程度逆转。**结论** PPCE导致雄性成年大鼠睾丸损伤，精子质量降低，生殖功能发生改变，其机制为慢性应激导致的高GC过度激活GR，并通过招募DNMT3A的间接方式和结合GRE的直接方式降低miR-206/133b簇的甲基化水平，使其表达升高，并靶向抑制CX43的mRNA表达。本研究在体外细胞水平和整体动物干预水平分别确证了上述机制，首次阐明高GC介导PPCE所致成年雄性大鼠生殖功能损伤的血睾屏障损伤机制，并针对长期摄入咖啡因的适龄男性提供了防治靶点，预防慢性应激所致的男性生殖功能损伤。

关键词：父体咖啡因暴露；睾丸损伤；miR-206/miR-133b；糖皮质激素；组织特异性基因敲除

通讯作者：汪 晖，E-mail：wanghui19@whu.edu.cn

T13-0019

纳米聚苯乙烯暴露对小鼠睾丸间质细胞的毒性作用

孙章贝，文伊倩，张大雷
（南昌大学基础医学院，南昌 330006）

摘要：目的 微塑料污染已经引起人们的高度关注。微塑料广泛存在于各种环境介质，并可通过多种途径进入动物和人体，从而对生态环境和人类健康产生潜在威胁。实验动物研究表明，纳米微塑料可以在睾丸组织中积累，导致睾酮合成减少和生精功能障碍。本研究旨在探讨纳米微塑料对小鼠睾丸间质细胞的毒性作用及其可能的毒性机制，为进一步揭示微塑料对生殖健康的影响提供研究基础。**材料和方法** 利用体外培养的TM3小鼠间质细胞系，添加不同浓度（0、50、100、150 μg/mL）的聚苯乙烯纳米颗粒（PS-NPs）处理24 h后，观察PS-NPs暴露对间质细胞活性、氧化应激、线粒体功能、凋亡、睾酮合成以及细胞膜完整性的影响。**结果** 我们的结果表明，PS-NPs（20 nm）可被内化进入到TM3间质细胞中，并导致细胞活力呈浓度依赖性降低。此外，PS-NPs暴露诱导了TM3细胞氧化应激，细胞内活性氧产生显著增加，而超氧化物歧化酶活性和谷胱甘肽水平显著下降。同时，PS-NPs处理能够导致线粒体膜电位崩塌，影响线粒体DNA拷贝数，并诱导TM3间质细胞凋亡。靶向代谢组学的结果也表明PS-NPs引起了TM3细胞能量代谢紊乱。而且，暴露于PS-NPs引起了类固醇合成相关基因StAR、P450scc和17β-HSD的表达下调，并显著减少了TM3细胞睾酮的合成和分泌。此外，PS-NPs能够聚积在细胞膜上，破坏质膜的完整性，导致乳酸脱氢酶释放显著增加。全细胞膜片钳的结果也表明PS-NPs引起了TM3细胞膜电位的去极化。**结论** 体外暴露于PS-NPs可通过诱导氧化应激、线粒体功能紊乱、细胞凋亡和膜结构损伤，从而对间质细胞产生细胞毒性作用并抑制睾

酮的合成。

关键词：纳米聚苯乙烯；间质细胞；氧化应激；线粒体功能；生殖毒性

通讯作者：张大雷，E-mail：zhangdalei@ncu.edu.cn

T13-0020

从代谢组学的角度看杀螟硫磷对秀丽隐杆线虫减数分裂介导的生殖毒性

李维溪，王　佳，尹洁晨，施盈弛，刘　冉

（东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室，公共卫生学院，东南大学，南京　中国　210009）

摘要：目的　杀螟硫磷（FNT）是一种有机磷杀虫剂，多用于水稻、小麦、果蔬、茶树等植物的虫害防护。有研究报道，FNT可在水、土壤等生态环境中被广泛检测，亦发现在蔬菜水果、家禽肉类等食物中有残留超标的情况；且FNT对生物群落具有生殖和内分泌毒性，可影响生物的生殖发育，但其具体的生殖毒性机制和生殖毒性剂量效应仍不清楚。**方法**　我们使用秀丽隐杆线虫模型，基于非靶向代谢组学分析FNT暴露后的代谢变化，并从代谢组学结果进一步分析其具体的生殖毒性机制；最后利用基准剂量（BMD）方法评估了其生殖毒性剂量效应。**结果**　暴露环境相关浓度的FNT后，野生型线虫的后代数目、生殖细胞数量明显减少，性腺发育延迟，其中生殖细胞数目最为敏感。同时，非靶向代谢组学研究表明，FNT暴露引起了线虫体内代谢紊乱，导致皮质醇和褪黑激素的合成显著减少；而通过中介分析发现，这两种激素在FNT对生殖细胞数量的影响中起着间接作用。我们使用Spearman分析进一步发现，这两种激素的水平与雄性激素受体nhr-69的表达呈明显的负相关，并通过调控nhr-69介导的减数分裂途径影响精子形成。此外，利用BMD进行拟合发现：明确了以秀丽线虫生殖细胞数目为效应的整体生殖毒性 BMDL10为0.411 μg/L；以 him-5 雄虫减数分裂区的生殖细胞数为效应的雄性生殖毒性 BMDL10 为 0.396 μg/L，均远低于WHO水规定的饮用水中FNT的最大限值（8 μg/L）。**结论**　该研究表明，FNT可以通过抑制皮质醇和褪黑激素的分泌来影响雄性激素受体的表达，从而进一步介导减数分裂途径影响精子的形成，发挥生殖毒性；同时，利用BMD拟合的BMDL10为FNT的生态风险评估提供了更具保护性的参考剂量。

关键词：FNT；秀丽隐杆线虫；非靶向代谢组学；nhr-69；BMD

通讯作者：刘　冉，E-mail：ranliu@seu.edu.cn

T13-0021

雌激素受体2a和2b介导有机磷阻燃剂TDMPP对斑马鱼的性别发育雌性化影响的研究

武希玲，宋唯一

（徐州医科大学，公共卫生学院，环境与健康重点实验室）

摘要：磷酸三（2，6-二甲基苯基）酯（TDMPP）是一种新兴的有机磷阻燃剂，存在于多种环境介质中。此前，有体外研究表明TDMPP对雌激素受体ERα具有激动作用，同时也有报道称TDMPP暴露会影响雌性大鼠的生殖能力，导致性早熟，发情周期紊乱等异常现象，但目前仍缺乏其对生殖系统雌性化影响的系统性研究。本研究利用斑马鱼不具备性别决定基因的特点，在其性腺分化及发育的关键时期，即15 dpf（受精后第15天）至120 dpf，将其暴露于TDMPP，并在各个重要的发育节点进行组织学检测，以研究TDMPP对性腺发育的不利影响。芳香化酶是内源雌激素（E2）的重要来源，而敲除芳香化酶*cyp19a1a*后会导致E2在体内低表达，斑马鱼进而呈现出全雄性表型。暴露于TDMPP（0.5和5 μM）会诱导芳香化酶突变品系（*cyp19a1a-/-*）的卵巢形成，表明其对性腺分化的雌性化影响。此外，TDMPP还通过推迟青春期的启动、延

缓性成熟、损害配子发生等途径干扰生殖功能。同时在120 dpf后进行停药挽救处理，发现纯合突变体的卵巢逆转为精巢，组织学检测发现诱导出的卵泡发生凋亡并伴有精子生成，TDMPP带来的雌性化影响随之消失。为了进一步探索TDMPP的雌性化作用机制，我们进行了分子对接和荧光素酶报告基因实验，发现TDMPP对斑马鱼的雌激素核受体（nERs，*esr1*、*esr2a*和*esr2b*）都存在激动作用。同时，通过使用一系列斑马鱼nERs突变品系进行验证，发现了*esr2a*和*esr2*b在介导TDMPP的雌性化效应中不可或缺的作用。最后，为了探索TDMPP激活受体后下游的信号机制，我们利用生殖细胞特异表达EGFP的转基因鱼系［*Tg*（*vas*：*EGFP*）］，在性腺分化的关键时间点（25 dpf）提取性腺RNA进行qRT-pcr，发现TDMPP对性腺分化的影响与雌性化基因的上调和雄性化基因的下调有关。综上所述，本研究为TDMPP对生殖系统的类雌激素作用及其分子作用机制提供了明确的遗传学证据。

关键词：环境内分泌干扰物；斑马鱼；TDMPP；类雌激素效应；性别分化

通讯作者：武希玲，E-mail：wxlfromsd@163.com

T13-0022

Single-cell RNA sequencing reveals cell landscape following antimony exposure during spermatogenesis in Drosophila testes

Jun Yu[1], Zhiran Li[1], Qiuru Huang[1], Yangbo Fu[1], Juan Tang[2], Chi Sun[3], Peiyao Zhou[2], Lei He[1], Feiteng Sun[1], Xinmeng Cheng[1], Li Ji[1], Hao Yu[1], Yi Shi[1], Zhifeng Gu[4], Fei Sun[1], Xinyuan Zhao[2]

(1. Institute of Reproductive Medicine, Medical School of Nantong University, Nantong University, Nantong 226001, China; 2. Department of Occupational Medicine and Environmental Toxicology, Nantong Key Laboratory of Environmental Toxicology, School of Public Health, Nantong University, Nantong 226019, China; 3. Department of Geriatrics, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong University, Nantong 226001, China; 4. Department of Rheumatology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong University, Nantong 226001, China)

PURPOSE Antimony (Sb), is thought to induce testicular toxicity, although this remains controversial. This study investigated the effects of Sb exposure during spermatogenesis in the Drosophila testis and the underlying transcriptional regulatory mechanism at single-cell resolution. **MATERIALS and METHODS** Single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) was performed to characterize testicular cell composition and identify the transcriptional regulatory network after Sb exposure in Drosophila testes. Immunofluorescence and quantitative real-time PCR (qRT-PCR) were used to test the expression patterns/levels in Drosophila testes, respectively. **RESULTS** Firstly, we found that flies exposed to Sb for 10 days led to dose-dependent reproductive toxicity during spermatogenesis. scRNA-seq analysis revealed that Sb exposure influenced various testicular cell populations, especially in GSCs_to_Early_Spermatogonia and Spermatids clusters. Importantly, carbon metabolism was involved in GSCs/early spermatogonia maintenance and positively related with SCP-Containing Proteins, S-LAPs, and Mst84D signatures. Moreover, Seminal Fluid Proteins, Mst57D, and Serpin signatures were highly positively correlated with spermatid maturation. Pseudotime trajectory analysis revealed three novel states for the complexity of germ cell differentiation, and many novel genes (e.g., Dup98B) were found to be expressed in state-biased manners during spermatogenesis. **CONCLUSIONS** Collectively, this study indicates that Sb exposure negatively impacts GSC maintenance and spermatid elongation, damaging spermatogenesis homeostasis via multiple signatures in Drosophila testes and therefore supporting Sb-

mediated testicular toxicity.

Key words: Antimony; GSC maintenance; Spermatid elongation; Drosophila testis; Single-cell RNA sequencing.

Corresponding author: Jun Yu, E-mail: yujun9117@126.com

T13-0023

Decabromodiphenyl ether induces the chromosome association disorder of spermatocytes and deformation failure of spermatids in mice

Jinglong Xue[a,b], Xiangyang Li[a,b], Leqiang Gao[a,b], Yue Zhang[a,b], Yan Wang[a,b], Moxuan Zhao[a,b], Xianqing Zhou[a,b]

(a. Department of Toxicology and Hygienic Chemistry, School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China; b. Beijing Key Laboratory of Environmental Toxicology, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: PURPOSE Decabromodiphenyl ether (BDE-209) as a common brominated flame retardant is widespread in the environment. Although BDE-209 has been shown to induce male reproductive toxicity, the exact mechanism is unclear. This study aimed to investigate the mechanisms of male reproductive toxicity caused by BDE-209. **MATERIALS** and **METHODS** 48 male mice were divided into two groups after a week of acclimation. The treatment group was given 75 mg/kg/d BDE-209 by gastric gavage for 50 days, and the control group was given the same amount of corn oil. After the 50-day exposure period, 12 mice were randomly selected from each group, sacrificed under deep anesthesia; the remaining male mice were continued to be raised for 50 days without any treatment, and then they were sacrificed. Morphological change of testis tissues structure was determined using the Periodic Acid-Schiff stain (PAS). The protein expressions were determined using Western Blot and Immunofluorescence.The experimental data were analyzed using the SPSS 25.0 program, and the independent samples T-test was used to compare the significant differences between the two groups. **RESULTS** BDE-209 induced DNA damage, decreased the expression of the promoter of meiosis Sohlh1, meiosis related-factors L3MBTL2, MILI, CDK2, and Cyclin A, and synaptonemal complex elements SYCP1 and SYCP3, and caused spermatogenic cell apoptosis, resulting in a decrease in sperm quantity and quality. Furthermore, BDE-209 downregulated the levels of ubiquitin ligases APC/C, increased the expression of MIWI in the cytoplasm of elongating spermatids, and decreased the nuclear levels of RNF8, ubiquitinated (ub)-H2A/ub-H2B, and PRM1/PRM2, while increasing H2A/H2B nuclear levels in spermatids. The reproductive toxicity was persistent for 50 days following the withdrawal of BDE-209 exposure. **CONCLUSION** The results suggested that BDE-209 inhibits the initiation of meiosis by decreasing the expression of Sohlh1. Furthermore, the reduced expression of L3MBTL2 inhibited the formation of chromosomal synaptonemal complexes by depressing the expression of meiosis regulators affecting the meiotic progression, and also inhibited histone ubiquitination preventing the replacement of histones by protamines, by preventing RNF8 from entering nuclei, which affected the evolution of spermatids into mature sperm.

Key words: BDE-209; Meiosis; L3MBTL2; Sperm; RNF8; Histone ubiquitination

Corresponding author: Xianqing Zhou, E-mail: xqzhou@ccmu.edu.cn

T13-0024

肽类GLP-1受体激动剂的生殖和发育毒性特征

王春明[1], 张 龙[2], 牛张明[2]
(1. 德睿智药(苏州)新药研发有限公司; 2. 杭州德睿智药科技有限公司)

胰高血糖素样肽1受体(GLP-1R)激动剂具有出色的降血糖作用,虽然已有多个肽类GLP-1R激动剂被批准用于治疗II型糖尿病和/或肥胖,但是以GLP-1R为靶点的新型降糖药仍是研发热点。本文将对已上市的5种肽类GLP-1R激动剂的非临床生殖和发育毒性特征进行概述。

【艾塞那肽】大鼠I段:未见对生育力的损害。大鼠和家兔II段:在临床暴露水平(Clinicalexposurelevel, CEL)母体均出现活动减少、体重和摄食量降低等,大鼠在30倍CEL可见胚胎发育缓慢、骨化降低、骨骼和内脏畸形及胚胎死亡,家兔在15倍CEL可见胚胎多处骨骼和内脏畸形。大鼠III段:在25倍CEL母鼠可见活动减少、体重和摄食量降低;在250倍CEL可见胎仔死亡增加、F1代雄性哺乳时间降低和雌性性发育延迟,在2500倍CEL可见散发骨畸形。

【利拉鲁肽】大鼠I段:未见对生育力的影响。大鼠和家兔II段:在接近CEL,大鼠可见胚胎异常(肾脏错位、血管异常、不规则骨化、口咽畸形和脐疝),家兔可见胚胎重量降低、不规则骨化和/或骨骼异常。大鼠III段:在接近CEL可见难产、F1和F2代胎仔重量降低。

【阿必鲁肽】小鼠I段:未见对生育力的影响。小鼠II段:在39倍CEL,母体可见体重和摄食量降低及动情周期延长,胎仔可见死亡率增加和弯曲肋骨。小鼠III段:母体在接近CEL分娩死亡率增加,在39倍CEL可见体重和摄食量降低以及脱水;F1代在CEL可见着床位点减少及出生后体重降低,在39倍CEL可见性发育迟缓;F2代在CEL可见活胎仔减少。

【度拉鲁肽】大鼠I段:未见对雄性大鼠生育力的影响,雌性大鼠在45倍CEL可见动情间期延长及黄体、着床位点和活胎数减少。大鼠和家兔II段:大鼠在15倍CEL可见母体和胎仔体重降低,在45倍CEL可见着床后丢失增加、活胎数减少及多处骨化不全;家兔在4倍CEL可见母体体重减轻,在13倍CEL可见畸胎和骨骼异常。大鼠III段:在16倍CEL,母体可见体重增长缓慢,F1代体型小和体重低发生率增加、雄性性发育迟缓、雌性出现学习记忆受损。

【司美格鲁肽】大鼠I/II段:未见对雄性大鼠生育力的影响;雌性大鼠可见动情周期延长和黄体减少,在CEL出现胚胎死亡、胎仔发育迟缓、骨骼和内脏畸形。家兔和食蟹猴II段:在CEL均出现母体体重增长缓慢;家兔在CEL可见着床后丢失增加、胎仔胸骨和脚趾骨以及肝脏和肾脏畸形;食蟹猴在5倍CEL可见散发畸形。食蟹猴III段:在3倍CEL可见早期胚胎丢失。

上述肽类GLP-1R激动剂在动物体内均出现不同程度的生殖和发育毒性,但是对人的生殖和发育的影响的数据仍然有限,需要积累更多的上市后数据及探索生殖和发育毒性的机制。

关键词: GLP-1R; 激动剂; 生殖和发育毒性

通讯作者: 王春明, E-mail: chunming@mindrank.ai, E-mail: 15306136986@163.com

T13-0025

母鼠孕期缺铁对雄性子代小鼠青春期的影响

孙煜坤, 刘海燕, 郝长付
(郑州大学公共卫生学院儿少卫生学系,河南省郑州市科学大道100号,450001)

摘要:目的 通过建立母鼠孕期缺铁模型,观察雄性子代小鼠青春期发育的体重和生殖器变化情况,检测与青春期发育相关基因的表达水平,初步探究母鼠孕期膳食缺铁对其雄性子代青春期发育的影响。**方法** 雌雄5对8周龄C57BL/6J小鼠,随机分组后合笼,每日早1上8:00检查是否产生阴栓,观察到雌性小鼠有阴栓后随机分入缺铁组和对照组,对照组(CON)孕鼠给予标准饲料喂养,缺铁组(ID)孕鼠给予缺铁饲料喂

养，待分娩后，缺铁组改为标准饲料喂养至子代小鼠青春期发育完成。记录雄性子代小鼠出生后第7、14、21、28天体重和阴茎完全剥离时日龄、体重。通过HE染色病理切片观察雄性子代小鼠睾丸结构的差异。通过Q-PCR实验检测母鼠孕期缺铁对雄性子代小鼠体内调控青春期发育基因的表达水平变化。**结果** 实验组小鼠出生后第7天、14天、21天、28天体重均低于对照组（$P<0.05$），阴茎完全剥离时缺铁组小鼠日龄（33.25±0.50）高于对照组（31.00±0.00）（$P<0.05$），此时缺铁组小鼠体重（15.06±0.98）低于对照组（18.70±0.44）（$P<0.05$）。HE病理切片显示，光镜下可见对照组睾丸精曲小管排列整齐，层次清楚，结构正常，生精细胞致密；缺铁组睾丸生精细胞排列稍稀疏，生成精子减少。缺铁组小鼠下丘脑中DLK1、POMC、Lepr基因表达水平低于对照组（$P<0.05$），缺铁组小鼠睾丸中Cyp1b1基因表达水平低于对照组（$P<0.05$）。**结论** 母鼠孕期缺铁会延迟雄性子代小鼠青春期发育，并阻碍雄性子代小鼠青春期完成前的机体生长发育。

关键词： 孕期缺铁；青春期发育；雄性小鼠

通讯作者： 郝长付，E-mail：13633822867@126.com

T13-0026

Analysis of the association between phthalates and spontaneous abortion—a propensity score-matched nested case-control study

Lin Tao

(School of Public Health, Zunyi Medical University, Zunyi City, Guizhou Province)

Abstract: OBJECTIVE To study the association between phthalates (PAEs) and spontaneous abortion in northern Guizhou. **METHODS** The study population was drawn from some rural areas of Zunyi City, Guizhou Province and was voluntary, aged 20 to 35 years. See Figure 1 for details. The study population was matched using a 1:4 propensity score (caliper value=0.02). 2. Correlations between various metabolites were analyzed by spearman correlation. 3. Logistic analysis of case controls.4. Threshold concentrations of significant risk factors were predicted and validated. **RESULTS** 1. The subject of this study is similar to other pregnant women in rural areas of Guizhou province. 2.The metabolites showed moderately strong correlations ($r>0.6$, $P<0.001$) and 1-2 times higher concentrations of PAE (Q1—Q3) in the spontaneous abortion group than in the normal pregnancy group, except for MECPP, for which there was no correlation. Logistic analysis showed that MMP, MEP, MIBP MBP and MECPP were risk factors for the occurrence of spontaneous abortion (OR>1, $P<0.05$). 4. PAE showed a trend of dose-relationship with the occurrence of spontaneous abortion. **CONCLUSION** Exposure of pregnant women to PAE environment increases the occurrence of spontaneous abortion and has a dose-related trend. This study suggests the need to be with other clinical indicators in the prediction of spontaneous abortion.

Key words: PAE (Phthalic acid esters); spontaneous abortion; PSM (Propensity score matching), RCS (Restricted cubic spline); ROC (receiver operating characteristic curve)

Corresponding author: Lin Tao, E-mail: 2921496832@qq.com

T13-0027

环境环境内分泌干扰物导致的儿童性早熟及其在成年后子宫内膜异位症中发生发展中的作用

李楠，段雨含，张 琨
（吉林大学 第二医院，吉林 长春 130000）

摘要：环境内分泌干扰物（EDCs）是一种外源性干扰人体内分泌系统的化学物质，它们通过摄入、累积等各种途径，并不直接作为有毒物质给生命体带来异常影响，而是类似雌激素对生物体起作用，即使数量极少，也能让生物体的内分泌失衡，出现种种异常现象。子宫内膜异位症是一种雌激素依赖性的妇科疾病，对许多妇女的生育能力、身体健康和整体生活质量有持久的影响。越来越多的证据表明，EDCs可能在病因学上参与了该疾病的发展和严重程度。EDCs存在于各种材料中，如杀虫剂、金属、食品添加剂或污染物，以及个人护理产品。人体通过食物、灰尘和水的摄入，吸入空气中的气体和颗粒，以及通过皮肤接触EDCs。随着社会工业化的发展，人们暴露于外源性化学物质的机会越来越多，广泛使用并因此持续暴露于EDCs会对生殖能力产生负面影响，而且EDCs还可能导致动物和人类的跨代生殖异常。EDCs可以通过胎盘从孕妇转移到发育中的胎儿，并通过母乳转移到幼儿。孕妇和儿童是受发育接触影响最脆弱的人群，接触EDCs的影响可能要到晚年才会明显。鉴于胎儿和婴儿的敏感性增加，旨在评估子宫内、儿童和青春期的暴露是否会增加成年后子宫内膜异位症的风险的研究还很少。基于这些原因，本文将对儿童EDCs暴露对成人生殖道疾病后续发展的潜在作用，特别关注与子宫内膜异位症相关疾病的因果关系进行综述，并提出对未来的一些展望，以期加强人们对暴露于EDCs风险的认识并为预防子宫内膜异位症提供依据。

关键词：环境内分泌干扰物；子宫内膜异位症；性早熟；生殖毒性

通讯作者：张 琨，E-mail：zk303@jlu.edu.cn

T13-0028

新型有机磷阻燃剂TDMPP通过雌激素受体esr2a/2b干扰斑马鱼性腺分化

宋唯一
（徐州医科大学公共卫生学院）

摘要：磷酸三（2，6-二甲基苯基）酯（TDMPP）作为一种新型的有机磷阻燃剂，已多种环境介质中被检测出。体外研究已证明TDMPP具有雌激素活性，但目前尚缺乏其对生殖系统的类雌激素影响及作用机制的研究。本研究首先应用CRISPR/Cas9技术构建了对环境雌激素更敏感的低雌激素斑马鱼模型（cyp19a1a-/-），其能够很好的用于筛查TDMPP对生殖发育的影响。随后，应用该斑马鱼模型进行为期105天的TDMPP暴露，探索其对性腺分化及发育的负面影响。敲除卵巢芳香化酶基因cyp19a1a大幅下调内源雌激素（E2）水平，进而导致全部纯合突变个体均表现为雄性表型。TDMPP（0.5和5μM）长期处理可以挽救cyp19a1a-/-的全雄表型，诱导卵巢形成，表明TDMPP对斑马鱼性别分化具有雌性化影响。此外，长期暴露于TDMPP还导致青春期启动推迟、性成熟延缓、配子发生损伤、繁殖力降低等不良影响。体外分子对接和报告基因实验表明，三种雌激素核受体（nERs）均可与TDMPP结合并被其激活。对全部三个nERs进行敲除发现，esr2a和esr2b缺失能够挽救TDMPP对性腺分化的类雌激素影响，说明esr2a和esr2b介导了TDMPP的雌性化效应。进一步分析表明，TDMPP对性别分化的影响与雌性相关基因的上调和雄性相关基因的下调有关。综上所述，本研究为TDMPP对生殖系统的类激素影响及其分子作用机制提供了明确的遗传学证据。

关键词：内分泌干扰物；斑马鱼；TDMPP；类雌激素影响；性腺分化

通讯作者：宋唯一，E-mail：songweiyi798@xzhmu.edu.cn，Tel：15852156621

T13-0029

妊娠期镉暴露通过O-GlcNAc修饰调节胎盘滋养层细胞合体化

刘 娟[1], 邓中原[3], 刘晶晶[1], 冯 颖[1], 李玉侠[2], 邵 璇[2,4], 王雁玲[2,4], 宁钧宇[1]
(1. 北京市疾病预防控制中心,食品中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013; 2. 中国科学院动物研究所干细胞与生殖生物学国家重点实验室,北京100101; 3. 郑州大学农学院, 河南 郑州 450001
4. 中国科学院大学, 北京 101408)

摘要: 镉是一种环境中普遍存在的重金属元素,在工业化社会不断发展的过程中,镉污染在全球范围内呈现上升趋势。镉会通过饮食等方式进入人体并在体内蓄积进而对肝脏、肾脏等多种器官造成严重损害。已有报道显示妊娠期间镉暴露会导致胎盘中镉的蓄积进而影响胎盘发育与功能,但具体的机制尚不清楚。本研究的目的是探究妊娠期镉暴露影响胎盘发育与功能的具体分子机制。胎盘合体滋养层细胞介导母胎之间营养物质、气体和代谢废物的交换,对妊娠维持至关重要,因此我们采用BeWo细胞体外合体化模型探究镉暴露对胎盘发育与功能的影响,结果发现妊娠期间镉暴露会调控胎盘中HBP代谢通路从而降低胱硫醚-γ-裂解酶(CSE)蛋白的O-GlcNAc修饰,进而抑制H2S气体的产生,从而促进雄激素受体二聚化,进一步导致胎盘滋养层细胞的过度合体化。在镉暴露孕鼠模型中,镉暴露会影响HBP代谢通路进而导致胎盘结构异常。在人胎盘原代滋养层细胞自发合体化模型中,镉处理抑制了CSE的O-GlcNAc修饰水平及H2S的产量,相应地,滋养层细胞过度合体化。上述结果表明,镉通过抑制CSE的O-GlcNAc修饰可促进雄激素诱导的滋养层细胞合体化,过度的合体化则导致了胎盘发育与功能的异常。这项发现为揭示镉暴露影响胎盘发育与功能的机制研究奠定了基础,也为今后的临床诊断提供了理论依据与指导建议。

关键词: 镉; 滋养层细胞合体化; O-GlcNAc修饰; CSE

通讯作者: 王雁玲, E-mail: wangyl@ioz.ac.cn; 宁钧宇, E-mail: njy_med@hotmail.com

T13-0030

Prenatal transfer of BDE-99 results in disruption of maternal thyroid hormone and offspring developmental toxicity in Sprague-Dawley rat

Limei Chen[1,2], Xun Zhu[1,2], Xianchao Du[1,2], Xinliang Ding[1,2]
(1. Wuxi Center for Disease Control and Prevention, China; 2. Research Base for Environment and Health in Wuxi, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Wuxi 214023, China)

Abstract: OBJECTIVES To explore the effect of a low dose BDE-99 that gives similar serum levels those reported in humans to dose on Sprague-Dawley rat and fetal development. **METHODS** Pregnant SD rats were exposed to 0, 0.2, 2.0 or 20 mg/kg/day of BDE-99 from gestation day 1 to 21. The impact of BDE-99 on maternal, fetal and offspring thyroid status (total and free thyroxine (TT4, FT4), triiodothyronine (TT3, FT3) and thyroid stimulating hormone (TSH) and offspring growth up to postnatal day (PND) 42 were assessed. **RESULTS** Maternal serum FT4 levels were significantly decreased in all exposure groups, and TSH was also decreased in highest dose group. No significant differences were found in TSH or other thyroid hormone levels in the offspring. All BDE-exposed groups showed small but statistically significant decreases in body weight in male offspring on PND 14, 28 and 42. The placentalweight of BDE-99-exposed groups was significantly higher thanin the control group. **CONCLUSIONS** Our findings confirm adverse effects of prenatal exposure to BDE-99 on maternal thyroid hormone status and on fetal and postnatal growth.

Key words: BDE-99; Sprague-Dawleyrat; thyroid hormone; development toxicity

Corresponding author: Limei Chen, E-mail: chenlimei919@163.com

T13-0039

鱼藤酮通过激活PERK-eIF2α/CHOP信号通路致小鼠睾丸生殖细胞凋亡的机制研究

田 密[1], 陈丹丹[2], 朱玲勤[1], 李光华[1,2]
（宁夏医科大学1. 公共卫生与管理学院；2. 基础医学院）

摘要：目的 本研究通过鱼藤酮暴露下睾丸细胞内质网中PERK-eIF2α/CHOP信号通路的激活情况，以及其在小鼠睾丸生殖细胞凋亡中的作用，以此来探讨鱼藤酮暴露对男性生殖功能的影响。**方法** 将40只4周龄ICR雄性小鼠按体重随机分为四组：对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组，其中低、中、高剂量组分别予2mg/kg、4mg/kg、8mg/kg鱼藤酮溶于玉米油中进行灌胃染毒，对照组给予同等量的纯玉米油灌胃，每天1次，连续28天。于末次染毒24小时后处死小鼠，测量各组小鼠睾丸脏器指数、精液浓度、精子畸形率；检测外周血清睾酮（T）水平以及睾丸组织匀浆中的超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽酶（GSH）活性及丙二醛（MDA）含量；HE染色评估睾丸组织；TUNEL法检测睾丸生殖细胞的凋亡情况；Western blot检测通路相关蛋白GRP78、PERK、p-PERK、eIF2a、p-eIF2a、CHOP及凋亡相关蛋白Bax、bcl-2、caspase3表达水平。结果各组间睾丸脏器指数无明显统计学差异（$P>0.05$）；与对照组相比，高剂量组小鼠精子浓度显著降低，精子畸形率增加，差异有统计学意义（$P<0.05$）；随着鱼藤酮染毒剂量的升高，小鼠外周血清睾酮（T）含量呈降低趋势，小鼠睾丸组织匀浆中SOD、GSH活性下降，MDA含量上升，差异有统计学意义（$P<0.05$）；HE结果显示：与对照组比较，中剂量组和高剂量组小鼠睾丸组织均出现生精上皮变薄、结构紊乱。可见腔内的生精细胞脱离和脱落，管腔内致密的镜子堆积明显减少。TUNEL结果表明：与对照组比较，中剂量组中小鼠睾丸组织TUNEL阳性细胞数目显著增多，高剂量组增多更为明显，凋亡率随着浓度的增高而上升，且差异具有统计学意义（$P<0.05$）；Western blot检测：与对照组相比，中剂量组、高剂量组GRP78、p-PERK、p-eIF2a、CHOP、Bax、caspase-3蛋白表达显著增加，bcl-2蛋白表达显著下降，差异有统计学意义（$P<0.05$），GRP78、PERK蛋白表达增加不明显，差异无统计学意义（$P>0.05$）；**结论** 鱼藤酮暴露可导致雄性小鼠睾丸损伤，鱼藤酮能造成小鼠睾丸细胞氧化应激发生，并可能通过内质网激活PERK-eIF2α/CHOP信号通路诱导生殖细胞凋亡从而导致雄性小鼠精子数量与质量的下降。

关键词： 鱼藤酮；睾丸；内质网应激；PERK-eIF2α/CHOP信号通路；凋亡
基金项目： 宁夏自然科学基金（2022AAC03171）
通讯作者： 朱玲勤，E-mail：zhulingqin1217@163.com

T13-0052

孕期慢性应激通过NMDAR/cAMP/PKA信号通路致子代认知发育损伤机制

王 瑞，李 叶，朱家姝，李泓谕，杨德广，沈卓恒，付有娟，刘红娅，关素珍
（宁夏医科大学公共卫生与管理学院，宁夏环境因素与慢性病控制重点实验室，宁夏 银川市 750004）

摘要：目的 探讨N-甲基-D-天门冬氨酸受体（NMDAR）/环磷酸腺苷（cAMP）/cAMP依赖性蛋白激酶（PKA）信号通路在孕期慢性应激所致子代大鼠认知发育损伤的作用机制。**材料与方法** 选用健康未受孕SPF级成年SD大鼠（雌鼠32只，雄鼠24只），将雌鼠随机分成对照组和模型组，每组16只，雄鼠随机分为模型交配组16只和对照交配组8只。采用28 d慢性不可预知温和应激（在应激第7天合笼交配）建立孕期慢性应激大鼠模型。采用放射免疫测定法检测应激前1天和应激第1、7、14、21、28天孕鼠血浆皮质酮水平。子鼠在出生当天记为PND0（postnatal day 0），PND42采用糖水偏好实验、旷场试验、Morris水迷宫实验测定子鼠认知发育变化。采用透射电镜染色进行子鼠脑海马组织学观察；RT-PCR和Western Blotting测定子鼠脑海马组织NMDAR/cAMP/PKA信号通路相关基因和蛋白的表达情况。**结果** 与对照组相比，模型组

血浆皮质酮浓度升高（$P<0.05$），提示母鼠处于应激状态。与对照子鼠组相比，模型子鼠组1%蔗糖偏爱百分比降低，水平、垂直运动得分降低，跨越平台次数减少（P均<0.05）。模型子鼠组中海马组织NMDAR/cAMP/PKA信号通路相关基因NR2B、PSD95、CaMKII和CREBmRNA相对表达均低于对照子鼠组（$P<0.05$）。模型子鼠组中NMDAR/cAMP/PKA信号通路相关蛋白NR2B、PSD95、cAMP、PKA、p-CaMKII/CaMKII、cAMP、PKA、p-CREB/CREB蛋白相对表达均低于对照子鼠组（$P<0.05$）。**结论** 孕期慢性应激致子代认知发育损伤的机制可能与NMDAR/cAMP/PKA信号通路传导有关。

关键词：孕期慢性应激；子代；认知损伤；NMDAR/cAMP/PKA信号通路

通讯作者：王　瑞，E-mail：wangrui990224@163.com

T13-0054

产前慢性应激诱导子代Th17/Treg细胞失衡与PI3K/Akt/NF-κB信号通路激活有关

李　叶，关素珍

（宁夏医科大学）

摘要：目的 本研究基于CUMS模型，通过对慢性应激模型组和对照组子代脾脏组织的转录组测序分析，筛选出与孕期慢性应激导致子代免疫损伤密切相关的候选基因和通路，探讨子代Th17/Treg细胞失衡的可能机制。**方法** 建立孕期慢性不可预知温和应激（chronic unpredictable mild stress model，CUMS）大鼠模型，在应激前1天和应激第7、14、21、28天对两组母鼠行内眦静脉采血后测定血浆皮质酮浓度、采用AB-plex大鼠细胞因子7 - Plex检测试剂盒检测血浆中7种常见炎症细胞因子（IL-1β、IL-6、IFN-γ、TNF-α、MCP-1、RANTES、IL-17A）的水平。在仔鼠出生后第42天（postnatal day 42，PND42），每组随机抽取8只，采用酶联免疫吸附法（ELISA）检测仔鼠血清中TGF-β、IL-6、IL-17和TNF-α的浓度；并取脾脏组织，进行转录组测序以鉴定仔鼠脾脏中不同的基因表达模式。PCR验证子代脾脏PI3K/AKT/NF-κB信号通路的表达。**结果** 妊娠期慢性应激大鼠血浆皮质酮水平升高。模型组母鼠血浆IL-1β、IL-6水平升高，仔鼠血清IL-6、TNF-α、TGF-β水平升高，并且母鼠与仔鼠细胞因子水平具有相关性。与模型组仔鼠脾细胞中RORγt表达上调和FOXP3表达下调相一致，我们的数据表明产前应激暴露可增加Th17细胞数量，减少Treg细胞数量。在仔鼠脾脏中，共有100个lncRNA和407个mRNA存在差异表达。GO和KEGG分析表明，这些失调的lncRNA和mRNA参与了重要的生物学过程和通路，其中免疫应答是高度富集的通路。产前应激致子代的mRNA表达谱发生了显著变化，lncRNA-mRNA共表达网络显示Gng3在产前应激子代的mRNA表达谱中起核心作用。PCR结果验证了差异表达的mRNA可能通过激活与GNG3相关的PI3K/Akt/NF-κB通路而导致Th17/Treg失衡。**结论** 总之，我们的研究结果表明产前应激致子代的mRNA表达谱发生了显著变化，差异表达的mRNA可能通过激活PI3K/Akt/ NF-κB通路导致Th17/Treg失衡。

关键词：SD大鼠；孕期应激；RNA测序；免疫；Th17/Treg平衡；PI3k/Akt/NF-κB

通讯作者：李　叶，E-mail：15797899122@163.com

T13-0060

GR/miR1224介导IUGR成年雌性子代胎源性胰岛素抵抗发生的肝脏编程机制

寇　皓[1,3]，郭晓玲[2]，汪　晖[2,3]*

（1. 武汉大学中南医院药学部，武汉　430071，湖北；2. 武汉大学基础医学院药理学系，武汉　430071，湖北；3. 发育源性疾病湖北省重点实验室，武汉　430071，湖北）

摘要：目的 宫内发育迟缓（IUGR）子代出生后糖耐量受损和二型糖尿病易感。本研究旨在观察孕期咖

啡因暴露(PCE)所致IUGR雌性子代大鼠出生前、后不同年龄段糖代谢表型和胰岛素敏感性的动态变化,证实胎源性胰岛素抵抗(IR)的宫内起源。**材料与方法** Wistar母鼠孕(GD)9~20天,灌胃给予30和120 mg/kg·d咖啡因。收集孕20日及出生后不同周龄雌性子代血清和肝组织。建立大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)肝样细胞定向分化模型,采用不同浓度CORT(300、600、1200 nM)处理48小时检测相关指标。**结果** 与对照组相比,PCE组雌性子代出生后基础血糖、血胰岛素和胰岛素抵抗指数(IRI)均呈现先逐渐降低(PW16、PW24)后升高(PW40、PW52)的时间动态变化,同时糖耐量和胰岛素耐量在PW24增强之后出现进程性降低。PCE组GD20雌性胎鼠血皮质酮水平、GR和miR-1224表达升高,胰岛素信号通路(InsR、Akt1/2、Glut2)和AGEs-RAGE信号通路表达均下调;PW24、36、52呈现出血皮质酮水平、GR及miR-1224表达降低,而AGEs-RAGE信号通路及其相关炎性因子(TNF-α/IL-6)、胰岛素信号通路表达先升高后降低。细胞水平发现,皮质酮浓度依赖性升高GR和miR-1224表达,降低胰岛素信号通路、葡萄糖摄取、AGEs-RAGE信号通路表达,而沉默GR或miR-1224可分别逆转以上改变,同时双荧光素酶报告实验证实miR-1224可直接结合于InsR 3′UTR而正向调控其表达。低生理浓度皮质醇可降低细胞GR/miR-1224表达,升高胰岛素信号通路、葡萄糖摄取、AGEs-RAGE信号通路及TNF-α/IL-6表达,而外源性AGEs处理则可通过升高AGEs-RAGE信号通路、TNF-α/IL-6表达并逆转低生理浓度皮质醇所致的上述改变。**结论** PCE可致雌性IUGR子代出生后早期胰岛素敏感、后期高血糖/胰岛素为特征的IR。其发生机制与宫内高浓度糖皮质激素诱导GR/miR-1224高表达介导子代出生后糖皮质激素依赖性肝脏胰岛素信号通路高表达及后续AGEs-RAGE蓄积,后者通过负反馈抑制肝脏胰岛素信号通路及葡萄糖摄取功能,最终导致IR发生有关。

关键词: 咖啡因; 宫内发育迟缓; 胰岛素抵抗; 糖皮质激素; 晚期糖基化终产物

项目基金: 国家自然科学基金(81703631)

通讯作者: 汪 晖, E-mail:wanghui19@whu.edu.cn

干细胞毒理学在环境污染物毒性效应和机制评估中的应用

Francesco Faiola[1,2]*, 杨仁君[1,2], 殷诺雅[1,2]

(1. 环境化学与生态毒理学国家重点实验室,中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 资源与环境学院,中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 随着世界经济的发展、科技的进步和人类物质需求的日益增长,许多新型化学品被合成、制造和应用,2023年,在美国CAS登记注册的化学品已经超过2亿,并且以每年约0.12亿的速度持续增长,这些化学品的随意使用和排放造成了日益严重的污染问题。环境污染是造成新生儿缺陷的重要原因,WHO报道显示,2022年,世界范围内具有先天缺陷的新生儿比例高达6%,当年约有41万新生儿在5岁之内死于先天缺陷,因此亟需建立高效、精准的环境污染物发育毒性效应与机制研究方法。

毒理学的研究长期以来非常依赖动物模型。然而动物实验存在着通量低、成本高、发育毒性研究难度高的缺点,并且由于物种间的差异,基于动物实验得到的结果并不都适用于人类。为弥补这些不足,人们开发了体外细胞实验作为动物实验的补充,这些体外细胞实验大多基于人体癌细胞,条件简单可控、成本低、并且可实时检测,能够很好的作为毒性初筛模型,不过由于癌细胞本身存在大量的突变,生理功能异常,越来越多的研究显示其不能很好的反应人体真实情况,也不适用于发育毒性研究。近年来干细胞毒理学的兴起为补齐现有毒理学模型的短板提供了条件,由于相关模型使用的人多能干细胞可以在体外近乎无限增殖并维持正常核型,因此容易满足大规模毒性筛查的需要,并且相关细胞均为正常细胞,能够贴切反应人体真实情况。此外,这些细胞还具有多向分化潜能,可分化为成体所有类型细胞,不仅适合人体早期发育毒性研究,还能用于特定类型细胞的发育/功能毒性研究。基于人多能干细胞的优势,我们致力于搭建一个以干细胞相关模型为基础的研究平台,用于评估环境污染物的毒性效应和机制。

我们在研究中建立了多种模拟人体胚胎发育过程、脏器发育过程以及生理功能的毒理学研究模型,开

发了发育毒性数据库和相关分析方法、研发了高通量发育毒性检测手段，建立了毒理学大数据可视化分析方法，形成了集细胞培养、不同脏器分化、多种毒性检测和毒性数据处理为一体的成套分析平台。基于干细胞毒理学研究平台，揭示了纳米颗粒物、多溴联苯醚类、双酚类、零苯二甲酸酯类、新烟碱类和有机磷类化合物对人体不同细胞或发育过程的毒性效应，为相关化合物的安全使用提供了参考。

关键词： 干细胞毒理学；环境污染物；人多能干细胞

通讯作者： Francesco Faiola，E-mail：faiola@rcees.ac.cn

腺苷代谢在钼暴露致精子生成障碍中的作用和机制

汤苗苗[1,2]，管昱盛[1,2]，陈敏健[1,2*]

（1. 南京医科大学公共卫生学院生殖毒理实验室，南京 211166；2. 南京医科大学公共卫生学院全球健康中心，南京 211166）

摘要：目的 日趋严重的重金属污染可能影响精子生成，既往研究局限于少数已知毒性的重金属。我们的前期研究基于人群重金属暴露组和代谢组联合分析筛选出钼暴露-腺苷代谢-精子生成障碍的关键关联，而钼的男性生殖毒性及其机制尚不清楚。**方法** 依据人群暴露水平建立覆盖对应男性生殖各阶段的8、11、56周龄小鼠整体动物钼染毒模型，建立关键腺苷代谢（上游代谢酶 NT5E、腺苷本身和下游腺苷 A1 受体）的逆转模型；采用ICP-MS分析尿液和睾丸的钼内暴露水平；通过组织病理学、CASA分析、TUNEL实验和交配实验观察小鼠生殖指标；采用Western-blot和RT-PCR分析凋亡基因表达；采用UPLC-QE分析下丘脑、血清和睾丸的代谢组改变。建立小鼠精母细胞（GC-2细胞）体外钼染毒模型和代谢干预模型，检测增殖、凋亡和凋亡基因表达，阐明靶细胞分子毒性机制。**结果** 小鼠染毒模型发现，尿液和睾丸钼元素水平剂量依赖上升。病理学检查发现钼特异性地损伤了睾丸组织。CASA分析发现精子数量和前进性精子比例下降，精子畸形率上升。交配实验发现染毒组的吸收胎数量上升，分娩数下降。TUNEL实验发现小鼠睾丸存在凋亡的加剧。Western-blot和RT-PCR分析发现睾丸中Bax、Caspase-9、Caspase-3的基因表达染毒后上升。通过覆盖下丘脑-血清-睾丸的整合代谢组学分析发现，腺苷代谢紊乱、睾丸氧化应激发生和氧化型谷胱甘肽染毒后上升为钼染毒后的关键代谢改变。上述动物模型发现的毒性效应一定程度被腺苷代谢逆转所恢复。体外GC-2细胞染毒模型发现，钼染毒对GC-2细胞增殖无明显影响，促进了细胞凋亡并导致凋亡基因表达上升，与体内实验结果一致，并且上述效应在腺苷代谢逆转组被恢复。**结论** 本研究阐明了钼元素通过腺苷代谢致精子生成障碍的作用和机制，为钼暴露的男性生殖毒性提供了新的科学依据。

关键词： 代谢组；暴露组；钼；腺苷代谢；精子生成障碍

通讯作者： 陈敏健，E-mailmianjianchen@njmu.edu.cn

AHR-mediated m^{6}A RNA methylation contributes to $PM_{2.5}$-induced cardiac malformations in zebrafishlarvae

Cheng Ji, Yizhou Tao, Xiaoxiao Li, Yan Jiang, Tao Chen *

(School of Public health, Suzhou medical college, Soochow University, Suzhou, China)

Abstract: OBJECTIVES Growing evidence indicates that $PM_{2.5}$ exposure inhibits heart development, but the underlying mechanisms remain elusive. In the current study, we aimed to test the hypothesis that m^{6}A RNA methylation plays a critical role in the cardiac developmental toxicity of $PM_{2.5}$. **METHODS** Zebrafish embryos were exposed to extractable organic matter (EOM) from $PM_{2.5}$ in the presence/absence of

betaineor CH223191, and heart malformations were observed under a microscope. m6A RNA methylation was evaluated by using immunostaining and methylated RNA immunoprecipitation sequencing. Gene knockdown or overexpression was achieved by morpholino or mRNA injection. We then examined ROS production, mitochondrial damage and apoptosis in heart area or isolated hearts. **RESULTS** In this study, we demonstrated that extractable organic matter (EOM) from $PM_{2.5}$ significantly decreased global m^6A RNA methylation levels in the heart of zebrafish larvae, which were restored by methyldonor betaine. Betaine also attenuated EOM-induced ROS overgeneration, mitochondrial damage, apoptosis and heart defects. Furthermore, we found that the aryl hydrocarbon receptor (AHR), which was activated by EOM, directly repressed the transcription of methyltransferase METTL14 and METTL3. EOM also induced genomic-wide m^6A RNA methylation changes, and we focused on the aberrant m^6A methylation changes which were alleviated by AHR inhibitor CH. Apoptosis is one of the top enriched signaling pathways, and the expression levels of *traf4a* and *bbc3* were upregulated by EOM but returned to the control levels by forced expression of METTL14. Moreover, knockdown of either *traf4a* or *bbc3* attenuated the EOM-induced ROS overproduction and apoptosis. **CONCLUSION** Our results indicate that $PM_{2.5}$ induces m^6A RNA methylation changes via AHR-mediated METTL14 downregulation, which upregulates *traf4a* and *bbc3*, leading to apoptosis and cardiac malformations.

Key words: m^6A RNA methylation; heart development; $PM_{2.5}$; zebrafish; AHR

Corresponding authors: Dr. Tao Chen, E-mail: tchen@suda.edu.cn

聚苯乙烯纳米塑料导致小鼠卵巢纤维化的研究

代文杰，许 博，刘 玲，杨 宏，裴秀英*，付旭锋*

（宁夏医科大学生育力保持教育部重点实验室，银川 宁夏 750004）

摘要：目的 塑料由于使用方便和价格便宜等特点被广泛使用于日常生活，其进入环境后会在各种条件下被降解为微塑料（MPs，<5 mm）和纳米塑料（NPs，≤100 nm）。NPs因其极小的尺寸且易富集在生物体表面并穿透细胞膜，而且已有研究表明容易通过消化系统、呼吸系统和皮肤屏障进入人体。目前，已在海水、空气、食物，甚至人体组织中检测到NPs，并且已有大量的毒理学研究表明NPs会导致多器官的损害。据统计，人类通过多种暴露途径平均每周会摄入0.1-5 g塑料微粒，并且女性广泛使用各类化妆品增加了纳米塑料的暴露机会。目前，关于环境中NPs的毒性研究大多集中在水生生物上，但对哺乳动物的生殖毒性尤其是雌性生殖系统的影响仍然不明确。因此，了解NPs对哺乳动物雌性生殖系统的影响以及明确其潜在的毒理机制具有重要意义。**材料和方法** 本研究以雌性ICR小鼠为动物模型，以10 mg/kg /d剂量的50 nm聚苯乙烯纳米塑料颗粒（PS-NPs）连续灌胃30天，通过检测动物动情周期、卵巢病理切片、卵泡计数、血清雌激素（E2）、促黄体生成素（FSH）水平、产仔率和卵巢颗粒细胞相关功能基因FSHR 、CYP19A1的表达来评价卵巢形态结构和功能的变化；检测卵巢组织中丙二醛（MDA）、谷胱甘肽（GSH）和过氧化物歧化酶（SOD）水平以评价卵巢氧化应激程度；ELISA和WB检测血清和卵巢中IL-6、IL-1β和TNF-α等炎性因子水平；Masson染色、天狼星红染色以及通过免疫组化与Western Blotting检测了卵巢中胶原酶-I（Collagen Ⅰ）和α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）的表达评价卵巢纤维化指标。**结果** 研究发现PS-NPs暴露后导致小鼠动情周期紊乱、雌激素（E2）水平降低，促黄体生成素（FSH）水平升高、卵巢中生长卵泡数量的减少、闭锁卵泡与黄体数目增加和小鼠产仔率降低，并且引起卵巢颗粒细胞功能相关基因FSHR和CYP19A1表达降低。此外，发现PS-NP暴露会导致卵巢氧化应激和炎症水平增加，并且明显促进了卵巢间质的的纤维化。**结论** PS-NPs暴露可引起小鼠卵巢氧化应激和炎症反应的增加并导致卵巢纤维化，提示PS-NPs的潜在雌性生殖毒性效应，为进一步探究NPs对女性生殖健康的影响提供基础。

关键词：纳米塑料（NPs）；雌性生殖毒性；卵巢纤维化
基金项目：宁夏重点研发计划项目（2022BEG03084）
通讯作者：裴秀英，E-mail: peixiuying@163.com；付旭锋，E-mail: fuxufeng100@163.com

LW2127滴眼液对幼龄SD大鼠发育毒性和生殖毒性试验研究

邓应华[1]，张文强[1]，蒙飞彪[1]，黄雪映[1]，郭健敏[1,2*]
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；2. 广州湾区生物医药研究院，广东 广州 510990）

摘要：目的 LW2127滴眼液为儿童预防近视使用的眼科药物，为考察其安全性，本研究选用21日龄SD大鼠连续40天滴眼给药后，对大鼠的生长发育和生殖毒性的影响研究。**方法** 选用21日龄SD大鼠为研究对象，随机分为阴性对照组、LW2127滴眼液0.1 mg/ml（0.01%）、0.2 mg/ml（0.02%）、0.4 mg/ml（0.04%）组（剂量分别为0.002 mg/只/天、0.004 mg/只/天、0.008 mg/只/天）；PND21起开始按给10 μL/眼，左右两侧连续滴眼给药40天，给药期间对各组动物一般状况、体重、生长发育、体长、眼科、动情周期等指标进行检查。给药结束后挑选部分动物合笼交配，待所有雌性动物交配成功后检测雄性动物生育力、精子情况和生殖器官，雌性动物于GD15剖取生殖器官进行组织病理学观察，计算交配率、生育力和妊娠指标检查。另外购买健康雄性大鼠与剩余雌性大鼠合笼交配，雌性大鼠于GD20进行剖杀，检测妊娠指数，胎仔检查发育情况、外观、骨骼、内脏等指标。**结果** LW2127滴眼液各剂量组给药后对幼鼠临床观察、体重、摄食量、体长测量、生理发育指标、眼科检查、眼压、动情周期均未见具有毒理学意义的改变；对雄性大鼠生育力、精子的数量、活动度、形态、生殖器官重量和组织结构未见具有毒理学意义的影响；对雌性大鼠交配成功率、生育力、平均着床数（率）、窝活胎数（率）、吸收胎数（率）、死胎数（率）、平均总黄体数、着床数（率）、着床前丢失数（率）、着床后死亡率等妊娠指标未见具有毒理学意义的影响；对胎仔外观形态、骨骼发育、内脏发育均未见具有毒理学意义的改变。**结论** LW2127滴眼液21日龄大鼠连续给药40天发育毒性和生殖毒性的NOAEL为0.008 mg/只/天，浓度为0.4 mg/ml（0.04%）；给药期间对幼鼠生长和发育未见明显影响、停药后对雌性和雄性大鼠生育力、对雌性动物受孕的胚胎、胎仔发育毒性未见明显影响。

关键词：幼龄动物毒性试验；生殖毒性试验；重复给药
基金项目：广州市基础与应用基础研究项目（202002030156）；广州市基础与应用基础研究项目（202002030249）
作者简介：邓应华，Tel：15011908995，E-mail：dengyinghua@lewwin.com.cn
通讯作者：郭健敏，Tel：13602461030，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

淡化海水中过量硼对雄性大鼠生殖的影响

段 链，王 超，顾 雯，石 莹，张 淼，陈圆圆，邓富昌，王盟盟，龙玥含，唐 宋，王 翀*
（中国疾病预防控制中心环境与人群健康重点实验室，中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所，北京 100021）

摘要：目的 探讨因反渗透技术导致淡化海水中硼过量对雄性生殖的毒性及其潜在的毒理机制。材料淡化海水来自我国东部黄海附近的一家淡化水工厂；由于硼在自然界只以其化合物形式存在，因此本研究使用硼砂（$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$）配制含硼溶液。**方法** 建立淡化海水和等量硼的90天亚慢性动物模型，通过分析30、60和90天染毒对精子功能［精子畸形率、精子活性（MOT）］、睾丸标志酶［异柠檬酸脱氢酶（ICDH）、

α-甘油磷酸脱氢酶(α-GDPH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、透明质酸酶(HAase)、山梨醇脱氢酶(SDH)、乳酸脱氢酶同工酶(LDH-X)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)、3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPD)]、促性腺激素、靶器官转录组及生育力的影响来综合评价长期饮用淡化海水对雄性大鼠生殖健康的影响。**结果** 淡化海水组和硼组血清和睾丸中硼浓度在三个暴露时间均显著高于对照组(P<0.001),但两组间及不同暴露时间之间并无统计学意义。淡化海水组暴露30天和60天的MOT显著低于对照组($P_{淡化海水30D,60D}$<0.01),但硼组MOT仅在暴露30天低于对照组($P_{硼30D}$<0.05)。淡化海水组及硼组中与精子和睾丸能量代谢相关的LDH-X、GAPD和MDH活性在暴露早期(30天)显著升高,但LDH-X和MDH在长期暴露(90天)明显降低,提示淡化海水中硼短期暴露可能通过影响精子能量而影响精子活性,并且LDH-X和GAPD可能作为硼早期暴露的标志酶。此外,两暴露组MDH、SDH、LDH-X、G-6-PDH活性在暴露90天后受到不同程度的下调,推测淡化海水中的硼可能导致雄性大鼠睾丸细胞和精子的能量代谢异常,影响间质细胞的功能,从而影响睾丸和精子的功能。90天睾丸基因转录组分析富集到与雄性生殖过程相关的5条通路(精子发生、精子细胞发育、精子细胞分化、雄性传代和生殖细胞发育)上共有的3个差异基因(Dazl、Spef2、Strbp)在淡化海水组显著下调。**结论** 本研究证实了淡化海水中过量的硼可在血液和睾丸中富集。低剂量长时间硼暴露可以降低MOT及与精子发生和功能相关睾丸酶(SDH、MDH、G-6-PDH和LDH-X)活性,长期饮用淡化海水对促性腺激素无明显不良影响,并推测淡化海水中可能存在其他成分导致雄性大鼠精子发生相关基因下调或对雄性生殖产生负面影响。因此,长期饮用淡化海水不会对生殖功能造成显著影响。

关键词: 淡化海水;硼;睾丸标志酶;促性腺激素;转录组;雄性生殖

通讯作者: 段 链, E-mail: duanlian@nieh.chinacdc.cn; 王 翀, E-mail: wangchong@nieh.chinacdc.cn

双酚A与子宫内膜异位症相关性不孕的研究进展

段雨含, 李 楠, 张 琨

(1. 吉林大学第二医院检验科; 2. 吉林大学第二医院研究中心, 吉林 长春 130000)

摘要: 双酚A(Bisphenol A,BPA)作为一种可干扰机体内源性激素的环境内分泌干扰物,广泛存在于塑料制品中,影响机体的生殖、胚胎发育、神经及免疫系统、肿瘤发生等。子宫内膜异位症(endometriosis,EMS)是育龄妇女的一种雌激素依赖性慢性炎症性疾病,呈现为子宫腔外存在功能性子宫内膜的异质性病变,造成慢性盆腔疼痛和不孕不育。流行病学及动物体外实验研究表明BPA与EMS存在一定的关联,主要为神经和生殖毒性:成年期诱导神经炎症和变性,窦性卵泡及卵母细胞的数量减少,增加子宫内膜细胞的活性,改变子宫内膜的形态等。产前、围产期和青春期BPA暴露则增加成人EMS的发病率,且发病机制与成年后BPA暴露导致的EMS有所不同,本文从发育期和非发育期BPA暴露总结其对EMS相关不孕之发生发展的影响。非发育期BPA通过雌激素受体(ER-α,ER-β)途径、G蛋白偶联雌激素受体(GPER,GPR30)途径、氧化应激、表观遗传学等通路发挥内分泌干扰效应,参与EMS相关不孕。BPA与ER-α/ER-β结合后再与靶基因的雌激素反应元件(ERE)结合,调节雌激素依赖性基因表达;GPER/GPR30与BPA结合,激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、磷酸肌醇3激酶(PI3K)、即早基因(c-fos)信号通路及MMP-2、MMP-9等细胞因子引起下游信号级联放大反应,参与子宫内膜细胞的迁移侵袭。这两种途径的激活最终影响卵巢内类固醇生成和代谢分解过程,引起不孕。在氧化应激方面,BPA通过雌激素受体信号途径降低子宫内膜抗氧化酶的表达而增加活性氧的产生,诱导子宫内膜细胞的促炎状态。在表观遗传学方面,BPA通过WD重复结构域5/甲基胞嘧啶双加氧酶2(WDR5/TET2)的相互促进而上调子宫内膜ERβ的表达,促进EMS的发展;另外非编码RNA、DNA甲基化及组蛋白修饰等也参与子宫内BPA引发的表观遗传学发病机制。而发育期BPA则可以永久性地改变子宫的基因组,影响机体雌激素调节基因的表达;另外BPA作用的重要靶标下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴被干扰后造成儿童青春期启动异常和成人生殖障碍,孕前和出生前胎盘暴露BPA甚至导致未来几代人的"预暴露",产生远期影响。基于流行病学及病理生理学多学科领域,BPA暴露可能通

过上述发生发展机制影响EMS相关不孕，未来可利用新兴技术代谢组学检测，并进行多层面样本交叉分析EMS相关不孕患者的血清、尿液及组织中BPA的表达及含量，为探究BPA暴露对EMS相关性不孕患者的风险评估提供科学数据支持。

关键词：双酚A；子宫内膜异位症；环境内分泌干扰物；雌激素；不孕

线粒体相关内质网膜在孕前母体肥胖致子宫内膜蜕膜化损伤中的作用研究

鄂一闻，龙　菁，李伟轲，高茹菲*
（生殖与发育教育部国际联合实验室/重庆医科大学公共卫生学院）

摘要：目的　近年来，全球肥胖人口数量急剧上升。课题组前期结果显示，肥胖损伤子宫内膜蜕膜化过程，蜕膜细胞代谢异常，但机制尚不清楚。线粒体相关内质网膜在ATP生成及维持线粒体动态平衡中扮演重要角色。因此，本文旨在探究线粒体相关内质网膜是否参与高脂饮食损伤子宫内膜蜕膜化过程。**材料及方法**　1）构建高脂饮食诱导的C57BL/6J肥胖小鼠模型以及高脂诱导的KM小鼠原代子宫内膜基质细胞（ESCs）蜕膜化模型；2）记录高脂饮食诱导12周的小鼠体重变化、运用Western Blot方法检测蜕膜细胞中蜕膜化标志分子HOXA10、BMP2和MMP2的表达、运用鬼笔环肽染色观察蜕膜细胞的骨架、运用BODIPY染色观察蜕膜细胞中脂滴含量；3）运用JC-1染色观察蜕膜细胞中线粒体膜电位、运用FLUO-4和RHOD-2染色观察蜕膜细胞中线粒体与内质网中钙离子浓度、运用Seahorse方法检测蜕膜细胞产生的ATP含量及蜕膜细胞的氧气消耗速率；4）运用TOM20免疫荧光染色和mito tracker red染色观察蜕膜细胞中线粒体的形态、运用Western Blot方法及免疫荧光检测线粒体融合与分裂标志分子MFN1、MFN2、OPA1、DRP1和MFF的表达、运用透射电镜观察线粒体长度、数量以及线粒体相关内质网膜的距离、运用TOM20与BIP免疫荧光双染检测内质网与线粒体的共定位；5）通过质粒过表达线粒体相关内质网膜连接子处理高脂诱导的蜕膜细胞，运用透射电镜观察线粒体上述指标、运用Western Blot方法及免疫荧光检测上述蜕膜化标志分子和线粒体融合与分裂标志分子的表达。**结果**　1）高脂饮食诱导的C57BL/6J肥胖小鼠模型以及高脂诱导的KM小鼠的ESCs蜕膜化模型构建成功；2）高脂导致蜕膜细胞的细胞核皱缩、细胞仍呈现梭形、细胞内脂滴增多、蜕膜标志分子表达降低；3）高脂导致蜕膜细胞的线粒体膜电位升高、内质网和线粒体中的钙离子浓度的比例明显下降、产生的ATP含量显著降低；4）高脂导致蜕膜细胞的线粒体碎片化增加、线粒体相关内质网膜距离增加、线粒体与内质网共定位显著减少；5）过表达线粒体相关内质网膜连接子后，高脂诱导的蜕膜细胞中线粒体碎片化减少、线粒体相关内质网膜距离缩短、蜕膜化和线粒体融合与分裂标志分子表达恢复、细胞核增大、细胞呈上皮样改变、脂滴含量减少。**结论**　线粒体相关内质网膜结构在孕前母体肥胖致子宫内膜蜕膜损伤过程中伴有重要作用。

关键词：肥胖；蜕膜化；线粒体相关内质网膜

通讯作者：高茹菲，E-mail：gao_ru_fei@cqmu.edu.cn

血清全氟化合物特征暴露与区域脂肪分布的关联研究

范　赟，李　治，李世奇，钱　鸿，袁　琴，秦玉峰，夏彦恺，陆春城*
（南京医科大学公共卫生学院，南京　211166）

摘要：目的　全氟化合物（Per and polyfluoroalkyl substance，PFAS）是环境中普遍存在的一类有机污染物，已被报道可能与不良脂肪代谢相关。本研究基于大样本量人群，探讨8种血清全氟化合物暴露与区域脂肪分布的相关性。**材料和方法**　本研究纳入完成血清全氟化合物检测和双能X线吸收法测定（Dual X-ray absorptiometry，DXA）的研究对象。采用固相萃取-高效液相色谱-涡轮-离子喷雾电离-串联质谱（SPE-

HPLC-TCI-MS/MS)检测了8种血清PFAS内暴露水平(PFOA,PFOS,PFHxS,PFDeA,PFNA,n-PFOA,n-PFOS,Sm-PFOS),运用DXA评估身体各区域脂肪含量,主要包括躯干脂肪,A区脂肪,G区脂肪,腰部皮下脂肪,腹部总脂肪和内脏脂肪。本研究采用多重线性回归模型探索了PFAS与不同年龄(20-39岁;39-59岁)和不同性别人群各区域脂肪含量之间的关系;同时,基于各区域脂肪含量建立脂肪分布评分,评估其与PFAS的关联。此外,本研究探讨了不同结构特异性的PFAS与各区域脂肪分布的关系。最后,本研究首次探索了不同PFAS特征暴露组合对区域脂肪分布的潜在影响。**结果** 本研究共纳入4362名研究对象,其实男性2276人,女性2086人。结果发现单一PFAS暴露与区域脂肪之间存在显著相关性。PFOS与39-59岁女性的躯干脂肪正相关。PFOS、PFHxS、PFDeA、PFNA、n-PFOA暴露可能增加了39-59岁女性内脏脂肪囤积风险。在20-39岁的男性中,PFOA、PFDeA和PFNA的浓度与A区/G区脂肪比值的显著增加相关。在男性中,暴露于全部PFSAs和长链PFSAs与腹部脂肪减少显著相关;而暴露于短链PFSAs与39-59岁女性腹部脂肪增加显著相关。**结论** 血清PFAS特征暴露与区域脂肪分布呈正相关,中年女性人群中效应尤其显著。本研究为PFAS对人群脂肪代谢的潜在毒性效应提供了新证据,为PFAS的代谢毒性风险评估提供了理论依据,但是关于PFAS影响脂肪囤积及其性别特异性的生物学机制有待进一步探索。

关键词: 全氟化合物; 特征暴露; 区域脂肪分布; 结构特异性; 性别差异

通讯作者: 陆春城, E-mail: chunchenglu@njmu.edu.cn

妊娠期镉暴露通过抑制胎盘雌激素合成损害胎肝发育

傅艺婷, 朱华龙, 王 华*

(安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系, 环境毒理学安徽高校省级重点实验室, 安徽 合肥)

摘要:目的 镉是一种发育毒物,损害胎盘功能和胎儿发育。然而,妊娠期环境镉暴露对胎儿肝脏的影响及机制尚不清楚。本研究通过动物实验和细胞实验来探讨胎盘源雌二醇在妊娠期镉暴露损害胎肝发育中的作用及其机制。**方法** 动物实验由3个部分组成:实验1,CD-1孕鼠在GD8-GD17分别经饮水暴露50和150 mg/L氯化镉,对照组饮用RO水。实验2,从GD8到GD17,CD-1孕鼠经腹腔注射补充雌二醇(15 μg/kg/d)。实验3:在GD7,对CD-1孕鼠行卵巢切除术。所有实验孕鼠在GD18剖杀,收集胎盘、胎肝,检测胎肝增殖和血管生成相关指标以及胎盘雌激素合成酶表达。细胞实验由2个部分组成:实验1,给予人胎盘滋养层JEG-3细胞氯化镉(20μM)处理0、2、8和12 h,检测雌激素合成酶及PERK信号。实验2,给予JEG-3细胞PERK活性抑制剂GSK2606414预处理,再给予氯化镉处理,检测PERK信号以及雌激素合成酶。**结果** 研究发现妊娠期高剂量镉暴露显著降低胎肝重量和胎肝系数,下调胎肝增殖和血管生成中关键蛋白PCNA、Ki67和VEGF-A的表达,并降低胎盘和胎肝中雌二醇浓度。母体妊娠期补充雌二醇显著缓解镉引起的胎肝重量和胎肝系数降低,逆转镉诱导的胎肝增殖抑制和血管生成关键蛋白表达下调。另外,镉暴露明显下调胎盘雌激素合成酶(CYP17A1和17β-HSD)表达,而对胎肝雌激素合成酶表达没有影响。基于卵巢切除(OVX)小鼠实验,母体卵巢来源的雌二醇对镉损害胎肝发育没有明显影响。此外,镉暴露激活胎盘PERK信号通路,抑制PERK活性缓解镉下调雌激素合成酶CYP17A1和17β-HSD表达。**结论** 妊娠期母体镉暴露通过激活PERK信号抑制胎盘雌激素合成,进而损害胎儿肝脏发育。本研究提示胎盘源性雌二醇对环境毒物引发的胎肝发育不良具有保护作用,为研究环境毒物通过破坏胎盘-胎肝轴阻碍胎肝发育提供理论依据。

关键词: 镉 ;胎盘雌激素; 胎肝发育; 卵巢切除

基金项目:国家自然科学基金项目(82273664和81973079);国家重点研发计划项目(2022YFC2702904);安徽省自然科学基金项目(2008085J38);高校拔尖人才学术资助项目(gxbjZD2020059);安徽省学术技术带头人后备人选科研基金项目(2020H208)

通讯作者: 王 华, E-mail: wanghuadev@126.com

孕期暴露全氟己烷磺酸(PFHxS)的发育毒性研究

黄以超
(安徽医科大学公共卫生学院，合肥 230032)

摘要：目的 人群流行病学证据发现孕期暴露PFHxS可增加小于胎龄儿的发生风险。然而，在哺乳动物中其发育毒性机制尚未见报道。本研究首次建立多种剂量下的PFHxS孕期暴露动物模型；构建孕期暴露PFHxS的发育毒性剂量反应关系；观察孕期PFHxS不同剂量暴露的不良出生结局；进一步阐明PFHxS诱发不良出生结局的毒性机制。**方法** 采用贴合人群暴露的方式，在孕第7天(GD7)-GD17经口灌胃给予ICR孕鼠PFOS发育毒性相当剂量(0.3，0.03，0 mg/kg bw)和低于一般人群相关暴露水平(0.3，0.03，0 μg/kg bw)的PFHxS，首次成功构建了孕期不同剂量下PFHxS暴露致不良出生结局的动物模型和发育毒性的剂量反应关系。采用转录组和代谢组联合分析来探究PFOS发育毒性相当水平致不良出生结局的毒性机制；结合转录组和选择性剪接(AS)转录本联合评估孕期暴露于低剂量PFHxS对胎儿发育的影响及机制。**结果** LC-MS/MS检测内暴露水平结果均提示，PFHxS可穿过胎盘屏障到达胎儿，并且呈现出剂量效应关系。高剂量组暴露结果显示，与对照组胎鼠相比，高暴露组中导致胎鼠死亡率增加。脂质组学和转录组学数据共同表明，高剂量PFHxS暴露通过上调胎盘中关键脂质转运蛋白(*fabp2*，*fabp3*，*fatp1*和*fatp2*)导致胎盘脂质稳态显著破坏，包括胎盘总脂质积累，磷脂和甘油脂代谢失调。以上结果提示，孕期暴露于高剂量的PFHxS可能部分通过干扰胎盘脂质代谢稳态进而导致胎鼠死亡率增加。此外，我们还发现孕期间暴露于低剂量PFHxS可诱发胎儿宫内生长受限(IUGR)，表现为胎鼠的体重和身长减少($P<0.01$)。组织病理学结果提示胎盘发育障碍，表现为迷路层面积减小，血窦面积和胎盘血管发育指标CD34减少。进一步的胎盘组织转录组和AS转录本联合分析指出，低剂量暴露会破坏胎盘发育、增殖、代谢和运输等关键生物过程。以上结果均提示，孕期暴露于与环境相关的低剂量PFHxS可能通过损害胎盘发育诱发IUGR。**结论** 本研究填补了孕期暴露PFHxS诱发不良出生结局的发育毒性作用及其机制研究空白，为明确发育源性疾病环境病因及其可能机制提供理论依据。未来将在前瞻性安徽“长颈鹿”母婴队列中开展关联和机制验证研究。

关键词： 发育毒性；孕期暴露；全氟己烷磺酸

通讯作者： 黄以超，E-mail：yichao.huang@ahmu.edu.cn

支持细胞Atg5缺失增强镉损害小鼠睾丸精子发生的易感性

李黛鑫，熊永伟，王 华*
(安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系；环境毒理学安徽高校省级重点实验室；安徽 合肥)

摘要：目的 镉是一种环境污染物，损害睾丸生殖细胞发育和精子发生。支持细胞自噬是维持自身功能和生殖细胞发育的必要条件。本研究探讨支持细胞自噬缺失对镉损害精子发生易感性的影响及其机制。**方法** 本研究包括体内动物实验和体外细胞实验。体内动物实验：实验1，构建支持细胞自噬相关基因*Atg5*敲除小鼠，用适龄*Amh-Cre+/Atg5*$^{F/W}$雄鼠和*Atg5*$^{F/F}$雌鼠进行合笼以产生基因型为*Amh-Cre+/Atg5*$^{F/F}$(即*Atg5*$^{-/-}$)子代雄鼠。实验2，为了探究支持细胞自噬*Atg5*缺失对镉损害小鼠睾丸精子发生易感性的影响及机制，将*Atg5*$^{-/-}$雄鼠和野生型雄鼠分别以饮水方式暴露氯化镉(0和100 mg/L)，5周(一个生精周期)后剖杀小鼠，取附睾进行精子质量评价；取睾丸用于分子实验检测。体外细胞实验：实验1，为了探究镉暴露对支持细胞WT1和视黄醛脱氢酶ALDH1A1表达的影响，小鼠睾丸支持细胞(TM4细胞株)经$CdCl_2$(20 μM)处理0、2、8和24 h。实验2，为了探究Wt1过表达对镉下调ALDH1A1表达的影响，给予TM4细胞pEX3-Wt1质粒过表达预处理24 h后$CdCl_2$处理24 h；收集以上细胞并检测WT1和ALDH1A1蛋白表达水平。结果 本研究发现，支持细胞*Atg5*敲除加剧镉诱导小鼠生精小管中空泡化增加，且支持细胞Atg5缺失显著加重镉所致小鼠精子数量减少、精子活力降低和精子畸形率增加。相应地，*Atg5*$^{-/-}$联合镉处理引起小鼠睾丸生殖细胞特异

性标志物MVH蛋白表达进一步下调。此外，支持细胞*Atg5*敲除加重镉降低睾丸精母细胞数量，且*Atg5*$^{-/-}$联合镉处理引起睾丸减数分裂相关蛋白STRA8和SYCP3水平明显降低。进一步研究发现，支持细胞*Atg5*敲除加重镉下调小鼠睾丸中视黄酸（RA）水平；*Atg5*$^{-/-}$联合镉处理引起小鼠视黄酸受体（RARα）蛋白表达明显下调。而且，镉暴露进一步下调支持细胞*Atg5*缺失小鼠睾丸视黄醛脱氢酶ALDH1A1和ALDH1A2蛋白表达。通过ChEA3数据库（https://maayanlab.cloud/chea3/）预测Aldh1a1和Aldh1a2上游转录因子发现，WT1在所有预测转录因子中排名最高。研究结果也证实，支持细胞*Atg5*敲除显著加重镉下调睾丸*WT1*表达。为了进一步验证WT1是否直接调控ALDH1A1表达，在TM4细胞进行pEX3-Wt1质粒过表达处理。结果显示，*Wt1*过表达逆转镉下调ALDH1A1蛋白表达。综上所述，支持细胞*Atg5*敲除通过下调WT1表达加重镉阻断小鼠睾丸视黄酸信号。**结论** 支持细胞Atg5缺失可能通过抑制WT1介导的视黄酸合成增强镉损害小鼠睾丸精子发生的易感性。

关键词： 镉；支持细胞；精子发生；Atg5敲除；WT1

基金项目： 国家重点研发计划（2022YFC2702904）；国家自然科学基金（81973079和81473016）

通讯作者： 王 华，E-mail：wanghuadev@126.com

DT002：SD大鼠肌肉注射给药围产期发育毒性试验

李玲娜，万治民，鲁 静，窦德虎，张雪峰*

（江苏鼎泰药物研究（集团）股份有限公司，江苏 南京 211800）

摘要：目的 DT002为LNP（脂质纳米颗粒）包裹的mRNA疫苗，临床拟用于新型冠状病毒的预防。本试验旨在通过肌肉注射给予雌性SD大鼠DT002，评价其对妊娠大鼠或哺乳期母体及其胚胎和子代发育的影响，并伴随免疫原性试验，了解其在妊娠大鼠体内的免疫应答及抗体传递给子代的情况，为临床研究提供参考。**方法** 选取雌性SD大鼠99只随机分为6组，分别为氯化钠注射液、LNP和DT002主试验组（25只/组）和卫星组（8只/组）。雌鼠合笼前分别于D1、D8、D15给药，于D21合笼交配，交配成功雌鼠分别于GD6及GD20各给药1次。各组交配成功率≥75%时，停止合笼，余下F0代未交配成功动物执行解剖。交配成功雌鼠至GD25仍未分娩，则于当天解剖。完成分娩的雌鼠于PND21解剖。F1代仔鼠于在出生后4天均窝，每窝保留4雌4雄；于PND21每窝仅保留1雌1雄；分别于剔除当天、交配成功（F1代交配雄鼠）、合笼期结束（F1代未交配成功动物）、GD15（F1代妊娠动物）解剖。主试验组F0代雌鼠评价指标包括临床观察、体重、摄食量、妊娠天数、分娩观察、产仔数、出产率、死亡率、肉眼观察及异常组织/脏器组织病理学检查。主试验组F1代仔鼠评价指标包括临床观察、体重、摄食量、妊娠期增重、生理及反射发育指标平均达标时间、性成熟达标体重、平衡协调能力（游泳行为和游泳时间）、自发活动、穿梭箱试验、出生存活率、性别比、外观畸形比率、4日存活率、离乳率、交配成功前的合笼天数、交配成功率、妊娠率、窝仔参数、肉眼观察及异常组织/脏器组织病理学检查。卫星组动物分别于首次给药前、GD7、GD20（给药前）、PND21采集F0代雌鼠血液，于PND21采集F1代仔鼠的血液，并制备血清用于免疫原性检测。**结果** 免疫原性：本试验中仅DT002组妊娠动物GD7、GD20分别有4/7、5/7例动物检出抗S-RBD抗体，PND21全部母鼠和仔鼠均检出抗S-RBD抗体。整个试验过程中，氯化钠注射液组动物均未见明显异常，与之相比，其余组别动物主要可见给药部位于每次给药后出现持续2～4天的轻度肿胀改变。**结论** 本试验条件下，分别于合笼前（1次/周，共3次）、胚胎着床GD6及妊娠晚期GD20，通过肌肉注射给予F0代雌性SD大鼠DT002，F0代母鼠及F1代仔鼠的生殖与发育均未见明显不良反应，主要可见给药部位出现不排除LNP相关性的可逆的肿胀改变。F0代母鼠给予DT002后均可见免疫应答产生，产生的抗S-RBD抗体均可传给子代。

关键词： SD大鼠；mRNA疫苗；LNP；新型冠状病毒；围产期毒性试验

通讯作者： 张雪峰，E-mail：zhangxuefeng@tri-apex.com

成年雄鼠暴露邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯通过影响线粒体鞘中核黄素的转化降低精子活力

李晓璐，梁悦悦，宁　夏，蔡　杨，洪　运，赵　帅，赵玲俐*
（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，环境毒理学安徽省普通高校重点实验室，安徽　合肥　230032）

摘要：目的　邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯（DEHP）是一种常用的塑化剂，在大气、土壤和水体中广泛分布，可通过饮食，皮肤，呼吸道进入机体。DEHP可导致精子活力下降，但机制尚不清楚。多数研究集中在DEHP对精子发生过程的影响，但与精子活力直接相关的是尾部的运动。本研究主要关注DEHP通过破坏成熟精子尾部线粒体鞘功能降低精子活力的机制。**材料与方法**　8周龄ICR雄性小鼠适应性喂养1周后，以0/5/50/500 mg/kg/d的DEHP剂量每天早上固定时间给药，给药35天（一个生精周期），建立雄性小鼠暴露DEHP的模型。第36天上午剖杀，睾丸液氮冻存，附睾分为头和尾分别剪碎在37℃生理盐水中制备精子悬液，用擦镜纸和胶头滴管过滤多余组织，吸取精子悬液，离心之后弃上清，保留精子沉淀，液氮冻存，放置-80℃保存，用于后期检测。通过HPLC-MS检测睾丸和附睾中DEHP的代谢物含量；使用精子活力分析仪、附睾和睾丸的组织病理切片说明DEHP对精子活力的抑制作用；利用ATP检测试剂盒、透射电镜、mtDNA，探索DEHP对精子尾部线粒体鞘产能的抑制作用；使用ELISA、酶活性试剂盒、WB的方法，评价核黄素蓄积在线粒体鞘产能降低中的作用。**结果**　HPLC-MS检测发现雄性小鼠暴露DEHP，其代谢物可到达睾丸和附睾。精子活力分析实验发现，与对照组相比DEHP暴露组小鼠附睾头和附睾尾部的精子活力和速度下降，并具有统计学意义；附睾头部和尾部的精子数量和浓度呈下降趋势，精子畸形率呈上升趋势，但没有统计学差异。电镜结果显示DEHP使附睾尾部精子线粒体内室扩张、基质变稀、空泡占比增加、光密度下降，但精子尾部的外周致密纤维和轴丝结构没有明显改变。ATP检测发现，与对照组相比DEHP暴露组精子ATP的浓度下降。急性染毒实验结果显示，DEHP对血清中核黄素含量无影响，但精子中核黄素含量升高。**结论**　DEHP通过降低精子尾部线粒体中核黄素的转化，阻碍电子传递链产生ATP，导致精子活力降低，本研究的完成为男性精子活力下降的预防提供研究思路。

关键词：邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯（DEHP）；精子活力；线粒体鞘；核黄素

通讯作者：赵玲俐，E-mail：zhaolingli@ahmu.edu.cn

纳米聚苯乙烯塑料颗粒引起雄性生殖功能损伤的机制研究

李妍莉，胡润之，隋瑗伊，韦海燕，唐　娟，陈　刚*
（南通大学公共卫生学院环境卫生学教研室）

摘要：目的　塑料制品在人类生产和生活环境中广泛存在。塑料制品在经过物理、化学和生物学作用后能降解为微塑料颗粒，微塑料颗粒可进一步降解为纳米塑料颗粒。微塑料和纳米塑料颗粒在水、大气和食品中存在，通过消化道和呼吸道进入人体内。已有研究表明，微塑料和纳米塑料颗粒能引起大鼠和小鼠雄性生殖功能的损伤，如精子总数降低、睾酮水平降低等。本研究探讨纳米聚苯乙烯塑料颗粒引起血睾屏障损伤和睾酮合成减少的分子机制。**材料和方法**　透射和扫描电子显微镜观察纳米塑料颗粒的形状，傅里叶红外光谱测定仪分析纳米塑料颗粒的成分，Zeta电位仪检测纳米塑料颗粒在不同缓冲液中的Zeta电位。以50μg/kg小鼠尾静脉注射纳米聚苯乙烯塑料颗粒连续2天，实时荧光PCR和Western blot方法分别检测相关基因mRNA和蛋白质表达水平的变化。不同浓度的纳米聚苯乙烯塑料颗粒处理小鼠TM4支持细胞和TM3间质细胞后，用实时荧光PCR和Western blot等方法检测相关基因的mRNA和蛋白质水平表达变化。ELISA方法检测小鼠血清和睾丸组织睾酮水平。**结果**　本研究所用的纳米塑料颗粒成分为聚苯乙烯，颗粒粒径18.65 nm，在含10% FBS细胞培养基中Zeta电位绝对值明显下降。纳米聚苯乙烯塑料颗粒引起小鼠

睾丸和TM4细胞的紧密连接相关蛋白ZO-2，Occludin和claudin-11的蛋白质表达水平明显降低，但是其mRNA水平没有改变。纳米聚苯乙烯塑料颗粒引起了细胞的内质网应激，从而诱导内质网未折叠蛋白反应。纳米聚苯乙烯塑料颗粒激活未折叠蛋白反应的IRE1α/XBP1s/CHIP途径，CHIP作为泛素化降解的E3泛素连接酶，其表达水平增加促进了ZO-2，Occludin和claudin-11的蛋白质降解。纳米聚苯乙烯塑料颗粒作用于小鼠后，小鼠血清和睾丸组织中的睾酮浓度明显降低。纳米聚苯乙烯塑料颗粒明显抑制了睾酮合成的关键蛋白StAR基因的mRNA和蛋白质的表达水平。在小鼠睾丸和TM3细胞中，纳米聚苯乙烯塑料颗粒诱导ERK1/2 MAPK和AKT途径的磷酸化增加，磷酸化的ERK1/2 MAPK和AKT促进mTOR/4E-BP1 途径的磷酸化，磷酸化4E-BP1促进HIF-1α mRNA翻译成蛋白质，HIF-1α作为转录因子抑制StAR的转录，从而使小鼠睾丸和TM3细胞中StAR mRNA和蛋白质水平降低。**结论** 1. 纳米聚苯乙烯塑料颗粒通过激活IRE1α/ XBP1s通路促进CHIP E3泛素连接酶介导的紧密连接蛋白降解。2. 聚苯乙烯纳米塑料颗粒通过ERK1/2 MAPK和AKT通路诱导HIF-1α mRNA翻译增加，HIF-1α作为转录因子抑制小鼠睾丸间质细胞的StARmRNA的表达。我们的研究结果揭示了纳米聚苯乙烯塑料颗粒破坏血睾屏障和抑制睾酮合成的分子机制。

关键词：纳米聚苯乙烯塑料颗粒；生殖功能损伤；紧密连接；睾酮合成

通讯作者：陈 刚，E-mail：chengang@ntu.edu.cn

镉暴露诱发机体炎症反应对儿童外周血降钙素水平的影响

林 桐[1]，霍 霞[2]，黄 宇[1]，刘志平[1]，徐锡金[1]

（1. 汕头大学医学院环境医学与发育毒理学实验室；2. 暨南大学环境学院环境医学与发育毒理学实验室）

摘要：目的 探讨环境镉暴露诱发机体免疫炎症对儿童降钙素水平的影响。**方法** 研究对象选择3~7岁儿童，平均年龄为5.01±0.85岁，其中，暴露组儿童112名，参照组儿童117名。在流行病学调查的基础上，进行体质测量采样；石墨炉原子吸收光谱法测定尿液中镉水平；酶联免疫吸附法检测血清降钙素水平；全自动血液分析仪Sysmex XE-2100测定外周血白细胞及其亚群计数；Luminex 200多功能流式点阵仪检测血清IL-1β、IL-4、IL-6、GM-CSF、TNF-α水平。**结果** 暴露组儿童尿镉水平高于参照组（$P<0.01$），暴露组儿童白细胞计数、单核细胞计数、中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、IL-4水平均高于参照组（$P<0.05$），血清降钙素和GM-CSF因子水平低于参照组，且3~岁儿童降钙素水平低于参照组同年龄段组（$P<0.05$）；Spearman相关性分析显示，尿镉水平与单核细胞计数呈正相关，与GM-CSF因子水平、身高和身体质量指数（BMI）呈负相关（$P<0.05$）；多元线性回归分析显示，降钙素水平与尿镉水平、中性粒细胞计数、单核细胞计数、白细胞计数和身体质量指数（BMI）呈负相关，与GM-CSF因子水平呈正相关（$P<0.05$）。**结论** 镉暴露诱发机体产生免疫炎症反应，可以通过降低降钙素水平影响体内重要组织器官功能的健康发育，致使各个生理系统发育水平下降，为进一步探讨污染物暴露影响儿童生长发育的机制过程提供了基础。

关键词：尿镉；炎症；降钙素；细胞因子；生长发育；儿童

通讯作者：徐锡金，E-mail：xuxj@stu.edu.cn

同源重组修复异常在青春期1-硝基芘暴露致小鼠精子质量下降中的作用

刘佳宇，刘宇琳，朱欣欣，李修亮，高 蓝*

（安徽医科大学卫生毒理学系，合肥 230032）

摘要：目的 1-硝基芘（1-NP）是大气细颗粒物关键毒性组分。目前全球范围内男性精子质量逐年下降，与大气环境污染呈负向关联。课题组前期研究发现1-NP暴露使小鼠精子质量下降，但其机制尚未阐明。

材料和方法 为探究青春期1-NP暴露对雄性小鼠精子质量的影响，将30只ICR雄鼠随机分为对照组和处理组，连续灌胃35天，分别暴露玉米油或1-NP（10 μg/kg，i.g.），最后一次暴露后24 h剖杀动物，取附睾并收集精子悬液，使用精子计数仪检测精子数量和精子活力；同时采用免疫组织化学，精母细胞染色质铺展及免疫荧光，免疫印迹，MNase敏感性实验等分子生物学方法进行机制探讨。**结果** 研究发现，同对照组相比，1-NP暴露组小鼠的饮食饮水、体重、睾丸相对重量、精子活力均未发生显著变化，而1-NP暴露组小鼠的附睾重量及附睾相对重量下降，精子数量降低、生精小管发育受损；进一步研究发现生精小管中精原细胞的细胞增殖标记物PCNA并无明显变化，提示青春期1-NP暴露致小鼠精子质量下降的机制与精原细胞增殖无关，但HE染色及免疫荧光结果显示1-NP暴露使精母细胞标记物SYCP3阳性细胞数增加，圆形精子细胞数量减少；随后通过精母细胞染色质铺展实验发现精母细胞阻滞在减数分裂粗线期，且DNA双链断裂特异性标记物γ-H2AX在生殖细胞及粗线期精母细胞常染色体表达上调，提示DSB修复异常；WB结果表明同源重组修复蛋白RAD51表达下调，并且帮助DSB同源重组修复的组蛋白去乙酰化酶SIRT6蛋白表达下调；同时采用MNase敏感性实验检测染色质凝集状态，发现同对照组相比1-NP暴露组精母细胞染色质结构更加紧密，使得DNA修复蛋白无法正常募集。**结论** 以上研究结果表明青春期1-硝基芘暴露引起雄性小鼠同源重组修复蛋白表达降低从而导致精母细胞减数分裂粗线期阻滞及精子数量降低，提示同源重组修复异常和染色质结构改变可能在其中发挥重要作用。此研究为1-NP暴露致精子质量下降和精子发生障碍的机制提供新的研究思路。

关键词： 生殖、发育、遗传毒理；1-硝基芘（1-NP）；精子发生；同源重组修复

项目资助：国家自然科学基金青年项目（82003492）

通讯作者： 高　蓝，E-mail：gaolanahmu@ahmu.edu.cn，E-mail：18735131710@163.com

全氟辛酸暴露对小鼠肝脏损伤的机制研究

刘文娇，钱骏榆，段　星**，李思鸿**，牛　冬**

（浙江农林大学动物科技学院、动物医学院）

摘要：目的 全氟辛酸（perfluorooctane sulfonate，PFOA）是一种新型持续性有机污染物（POPs），是全氟有机物（PFCs）中的代表性化合物之一，因其良好的疏水疏油性、化学和热稳定性而被广泛应用于诸多工业和民用产品中。PFOA的生物蓄积性强，具有引起生物体脂肪代谢紊乱、能量代谢障碍、诱导过氧化产物作用及胚胎毒性等多种毒性。因此，本研究以断奶期PFOA暴露的小鼠为模型，研究PFOA暴露诱导肝损伤的机制，为食品中全氟类化合物的安全评估提供科学依据。**材料与方法** PFOA以2.5 mg/kg/day饮水饲喂于断奶小鼠，连续饲喂28天后，采用组织病理学，丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）、总抗氧化能力（T-AOC）、过氧化氢酶（CAT）和谷胱甘肽（GSH）酶活性与含量测定，荧光定量PCR法和免疫印迹法等分子生物学技术，探讨PFOA暴露下断奶小鼠的肝毒性机制。**结果** （1）组织病理学结果显示，PFOA导致断奶小鼠肝脏肝索消失，细胞质内出现空泡变性，呈现严重的肝损伤；（2）与对照组相比，PFOA暴露可引起断奶小鼠采食量减少，体重下降；（3）PFOA暴露可引起小鼠肝脏的抗氧化储备显著下降，主要体现为肝脏中MDA含量显著上调、GSH含量、CAT酶活性以及T-AOC（总抗氧化能力）下降；（4）PFOA暴露可引起小鼠肝脏的线粒体裂变蛋白（DRP1和FIS1）和融合蛋白（MFN1和MFN2）mRNA表达下降，提示PFOA暴露过程中肝细胞线粒体稳态失衡；同时PFOA暴露小鼠的肝脏中LC3 mRNA表达降低，提示PFOA暴露过程中肝细胞自噬过程受到抑制。**结论** PFOA暴露通过降低肝脏的抗氧化储备导致线粒体稳态失衡，从而造成肝脏自噬水平降低，进而导致肝损伤。

关键词： 全氟辛酸；PFOA；氧化应激；线粒体；自噬

基金项目： 浙江省自然科学基金重点项目（LZ22C010003）；浙江省“高层次人才特殊支持计划”科技创新领军人才项目（2021R52043）；浙江省自然科学基金项目（Q23C180007）

通讯作者： 牛　冬，E-mail：dniu@zafu.edu.cn；李思鸿，E-mail：lisihong@zafu.edu.cn；段　星，E-mail：duanxing@zafu.edu.cn

孕期暴露双酚AF对SD大鼠的生殖毒性初探

刘 玺，徐 菁，洪新宇
（上海市疾病预防控制中心，上海 200336）

摘要：目的 探讨孕期暴露双酚AF（BPAF）对SD（Sprague Dawley）大鼠的生殖毒性，包括对大鼠的母体毒性以及对胎鼠睾丸结构及睾酮合成的影响，并得到经口给予BPAF在妊娠大鼠体内的浓度-时间曲线。**材料和方法** 交配成功的SD大鼠在妊娠（GD）第6-19日通过口服管饲法接受0（溶剂玉米油）、25、50、100、200或400 mg/kg/天剂量的BPAF。其中25-100 mg/kg染毒组妊娠大鼠在GD4染毒前及染毒后48 h内进行多次采血，用液相色谱-质谱方法检测妊娠大鼠染毒后血浆中的BPAF浓度。观察染毒期间所有剂量组妊娠大鼠的状态，GD20对母鼠麻醉后取血检测生化指标和激素水平等，剖宫检查黄体数、活胎数、吸收胎数和死胎数，收集胎鼠血浆检测BPAF浓度。筛选雄性胎鼠收集血浆检测激素水平，固定胎鼠睾丸制备病理切片，观察形态。**结果** 25-100 mg/kg染毒组中妊娠大鼠GD4一次染毒后血浆BPAF浓度在0-2 h内迅速上升，约在8-12 h达到血药浓度峰值；与溶剂对照组相比，50、100 mg/kg剂量组孕鼠雌激素显著升高、总胆固醇和高密度脂蛋白显著降低，25-100 mg/kg剂量组孕鼠睾酮均显著降低、促甲状腺激素均显著升高（$P<0.05$）；与溶剂对照组相比，100-400mg/kg剂量组中妊娠大鼠体重增重显著下降，400 mg/kg剂量组妊娠大鼠出现流产和死亡症状，着床数和活胎数均有降低，吸收胎增多并且具有显著性差异（$P<0.05$）；胎鼠血浆可检测出BPAF，且浓度随妊娠母鼠染毒剂量的增大而升高。100-400 mg/kg剂量组均可观察到胎鼠睾丸生精小管内生殖细胞融合形成合胞体，个别生殖细胞空泡化。各剂量组雄性胎鼠血浆睾酮与对照组相比没有显著差异。**结论** 建立了液相色谱-质谱检测血浆中BPAF的方法，血浆中BPAF的最低检出限为0.03 ng/mL，定量限为0.1 ng/mL。BPAF可通过胎盘屏障转运至胎鼠；较低剂量的BPAF具有母体毒性，25或50 mg/kg剂量BPAF即可干扰妊娠大鼠的性激素、促甲状腺激素的分泌和脂质代谢；胚胎毒性随剂量-效应关系，100 mg/kg剂量BPAF即可影响胎鼠睾丸形态学变化。

关键词： 双酚AF（BPAF）；生殖毒性；胎鼠；睾丸；性激素

通讯作者： 刘 玺，E-mail：liuxi@scdc.sh.cn；徐 菁，E-mail：xujing@scdc.sh.cn；洪新宇，E-mail：hongxinyu@scdc.sh.cn

ROS介导的SIRT6泛素化降解在微囊藻毒素-LR致小鼠精原细胞增殖阻滞中的作用

刘宇琳，李修亮，朱欣欣，刘佳宇，高 蓝*
（安徽医科大学卫生毒理学系，合肥 230032）

摘要：目的 我国多地微囊藻毒素污染超过WHO限值，其中微囊藻毒素-LR（microcystins-LR，MC-LR）是最常见的类型。前期研究结果发现MC-LR暴露会降低精子质量，但其具体机制尚未阐明。本研究试图阐明ROS介导的SIRT6泛素化降解在MC-LR致小鼠精原细胞增殖阻滞中的作用。**材料与方法** 本研究将24只4周龄ICR雄鼠随机分为对照和处理组，分别通过腹腔注射连续28天暴露生理盐水或MC-LR（2 μg/kg），取右侧附睾精子计数，同时检测睾丸组织增殖指标PCNA、DNA损伤标志γH2AX及SIRT6的表达水平。体外采用GC-1细胞系建立体外MC-LR（5 μM）暴露模型，检测PCNA、γH2AX及SIRT6的表达水平，流式细胞数检测细胞周期和细胞内ROS水平，免疫共沉淀检测SIRT6和USP10的相互作用及SIRT6的泛素化水平。此外，使用抗氧化剂NAC和蛋白酶体抑制剂MG132验证ROS介导的SIRT6泛素化降解在MC-LR致小鼠精原细胞增殖阻滞中的作用。**结果** 与对照组相比，MC-LR暴露降低小鼠精子数量，损伤生精小管发育。免疫组化和WB检测结果表明MC-LR可以在睾丸组织和GC-1细胞中蓄积，MC-LR暴露抑制

睾丸精原细胞和GC-1细胞的增殖。流式细胞数结果显示，MC-LR暴露会使GC-1细胞周期阻滞于G2/M期，WB结果也显示相关周期蛋白表达明显降低。相比对照组，体内外暴露MC-LR引起小鼠睾丸和GC-1细胞DNA损伤标志γH2AX水平明显升高。同时，研究发现MC-LR暴露降低睾丸和GC-1细胞SIRT6的水平，使GC-1细胞ROS水平升高，引起氧化应激。免疫共沉淀结果表明，MC-LR暴露使USP10与SIRT6相互作用减弱。随后发现，NAC干预后能够缓解PCNA的降低。**结论** 综上所述，本研究结合动物实验和体外细胞实验，阐明MC-LR可能诱导睾丸精原细胞产生过量ROS，抑制USP10与SIRT6相互作用导致SIRT6泛素化降解增加，致精原细胞DNA损伤，引起细胞周期阻滞，抑制精原细胞的增殖，最终导致精子数量的降低。

关键词： MC-LR；精子质量；SIRT6；ROS

基金项目： 国家自然科学基金青年项目（82003492）

通讯作者： 高　蓝，E-mail：gaolan@ahmu.edu.cn

铅暴露致炎作用对儿童外周血沉默信息调节蛋白6水平的影响

刘志平[1]，霍　霞[2]，黄　宇[1]，林　桐[1]，徐锡金[1]

（1. 汕头大学医学院环境医学与发育毒理学实验室，2. 暨南大学环境学院环境医学与发育毒理学实验室）

摘要：目的 探讨环境铅暴露诱发机体免疫炎症对儿童沉默信息调节蛋白6（SIRT6）水平的影响。**材料和方法** 募集218名3-6岁儿童，平均年龄为5.00±0.87岁，其中暴露组与参照组儿童各109名。在流行病学调查的基础上进行体质测量采样，石墨炉原子吸收光谱法测定全血中铅水平，酶联免疫吸附法检测血清SIRT6，全自动血细胞仪Sysmex XE-2100测定外周血白细胞、单核细胞、淋巴细胞和嗜酸性粒细胞指数，多功能流式点阵仪Luminex200测定血清IL-4、IFN-γ、TNF-α、TNF-β水平。**结果** 暴露组儿童血铅水平高于参照组（$P<0.05$），暴露组儿童身体质量指数（BMI）低于参照组（$P<0.05$），暴露组儿童单核细胞计数、淋巴细胞计数，单核细胞百分比，IL-4、TNF-α水平均高于参照组（$P<0.05$），血清SIRT6、IFN-γ、TNF-β水平均低于参照组（$P<0.05$）；Spearman相关分析显示，血铅水平与单核细胞计数呈正相关，与BMI呈负相关，SIRT6水平与嗜酸性粒细胞百分比呈负相关，与IFN-γ呈正相关（$P<0.05$）；多元线性回归分析显示SIRT6与IFN-γ水平正相关，与TNF-α水平负相关（$P<0.05$）；校正混杂因素后，SIRT6水平的降低与血铅水平的升高相关（$P< 0.05$）。**结论** 铅暴露诱发机体发生的免疫炎症反应，可以通过降低具有应激反应蛋白去乙酰化酶、单ADP核糖基转移酶和去脂肪酰化酶功能的SIRT6水平影响儿童体质的健康发育，为进一步探讨环境污染物暴露影响核转录因子NF-κB参与的炎症、免疫应答、衰老和凋亡的调控过程中机制提供了依据。

关键词： 沉默信息调节蛋白6；血铅；炎症细胞；细胞因子；儿童

通信作者： 徐锡金，E-mail：xuxj@stu.edu.cn

浅谈凝胶剂阴道给药对生殖毒性研究的关注点

柳　璐[1]，雷夏凌[1]，郭健敏[1*]，杨　威[1,2*]

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东　广州　510990；2. 广州华博生物制药研究所，广东　广州　510990）

摘要：由于阴道有丰富的毛细血管和淋巴管，且阴道没有明确的神经末梢，给药时患者的疼痛刺激小，对于特定的疾病和药物是有效的药物释放部位。所以可通过将药物置于阴道内，通过阴道粘膜吸收进入局部或全身血液循环来达到局部或全身治疗的目的。如杀菌消毒、避孕、引产、流产、替代治疗、子宫内膜异位症、治疗妇科肿瘤，治疗HPV或HSV感染，甚至是可以实现蛋白质、多肽类药物给药等的一种给药系统。

研究者根据不同的治疗目的制备成多种多样的药物剂型供临床使用。近年来，凝胶剂应用研究引起了国内外学者的重视具有生物粘附、良好的生物相容性，药物可粘附在阴道粘膜上，从凝胶缓慢地扩散到粘膜。

凝胶剂指药物与适宜的辅料制成的均一、混悬或乳剂型的乳胶稠厚液体或半固体制剂。根据基质的形态分别称胶浆剂、混悬型凝胶剂、乳胶漆。凝胶剂按分散系统分为单相凝胶剂和两相凝胶剂。

单相凝胶剂系药物以分子分散于凝胶基质中形成的凝胶。外用凝胶剂一般均是有机高分子化合物的单相凝胶，单相凝胶分为水性凝胶与油性凝胶。水性凝胶基质有纤维素衍生物、卡波姆和和海藻酸盐、西黄耆胶、明胶、淀粉等加水、甘油或丙二醇构成。油溶性凝胶基质由聚氧乙烯、胶体硅、铝皂、锌皂、脂肪油和液体石蜡组成。临床上应用的较多的是水性凝胶。

水性凝胶具有以下特点：1，高分子基质以物理交联形成网状结构，网格中充满不能自由流动的溶剂，表现出弹性或黏弹性的半固体制剂；2，对温度等外界条件敏感，温度升高呈液体，冷至一定温度又会可逆地形成凝胶；3，具有溶胀性、脱水收缩性、触变性、粘合性，利用凝胶的这些性质控制药物的释放和对皮肤或黏膜的黏附；4，具有易涂展、舒适感、无油腻易洗除，能吸收组织渗出液，不妨碍皮肤的正常生理功能，具有一定的保水作用而促进药物透皮作用，但润滑作用差，易失水和霉变。两相凝胶剂

两相凝胶系药物胶体小粒子均匀分散于高分子网状结构的液体中，具有触变性应用于阴道内给药的凝胶主要是功能水凝胶。粘膜粘附水凝胶是弱交联的聚合物，与水接触能膨胀并于粘膜表面扩展。它们能与吸收处的膜紧密粘着，将药物释放系统定位于某部位，并能延长滞留时间。虽然阴道上皮因没有产生粘液的腺体细胞，不是严格意义上的粘膜上皮，但它浸润于含有宫颈粘液的阴道液体中，这样粘膜粘着就可发生。粘膜粘着有三个步骤：(1)受表面能效应和扩展过程的影响；(2)通过聚合物-粘膜接触面的聚合物链从缠绕状态解开；(3)暴露的活动部位与组织大分子结合。干的水凝胶粘着于潮湿组织相当牢固，从组织表面吸收水使表面脱水，并使表面压力降低，就像锚一样吸附于粘膜表面，从而延长了药物在局部的作用时间。阴道凝胶的研究应用有着不同的治疗目的。具有良好的临床应用前景。

由于凝胶剂阴道给药近距离接触生殖系统，即在进行生殖毒性研究时，在药物上市前应完成全段的生殖毒性研究，并进行相应的伴随毒代动力学研究，考察受试物是否可透过血-胎盘屏障、血-乳汁屏障，为临床用药提供指导。根据受试物拟定临床适应症的特点，还应增加对动物的性激素水平、仔代动物的学习记忆等方面进行研究，最大可能的暴露出受试物的生殖毒性。

现动物凝胶剂阴道给药方式还是不够方便，需要研制适合凝胶给药的特殊装置，阴道反复给药容易造成机械刺激性，需要使用柔软的工具进行给药，减少刺激性。使用工具需制定特定长度，防止不断触碰子宫颈导致流产。因凝胶剂流动性强，给完药后需要对阴道进行封闭一段时间，防止药物流出，该工具特征需柔软、无刺激性、且不与受试物发生反应，不影响受试物吸收。相信随着阴道系统给药吸收机制深入的研究及药用高分子材料的发展，以及更多的药物研究工作者的努力，不久的将来会有稳定的、给药更方便的、生物利用度更高的凝胶制剂问世

随着药用高分子材料的发展，阴道给药凝胶制剂的发展迅速，将会成为一种具有发展前景的阴道给药制剂。

通讯作者：杨 威，Tel：18928860179，(020)22698388，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，Tel：13602461030，(020)22698392，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

孕期黄曲霉毒素暴露与新生儿生长迟缓的相关性研究

卢晓丹[1]，钟延旭[2]，卫秦芝[1]，杨杏芬[1]，何志妮[1*]

(1.南方医科大学公共卫生学院，广东 广州 510515；2.广西壮族自治区疾病预防控制中心，广西 南宁 530000)

摘要：目的 以广西壮族自治区某市食用散装花生油的孕妇及其新生儿为研究对象，检测黄曲霉毒素B1(Aflatoxin B1，AFB1)的暴露水平，探究该地区孕期黄曲霉毒素暴露与新生儿生长迟缓之间的相关性。

方法 选定分娩前在广西某市居住2个月以上并于当地市人民医院分娩单胎的研究对象为孕妇及其新生儿为研究对象。通过问卷调查收集研究对象的基本信息，采集孕妇妊娠晚期外周血及新生儿脐带血，采用酶联免疫吸附法（ELISA）测定血清中黄曲霉毒素B1白蛋白加合物（AFB1-albumin adduct，AFB1-Alb）水平。基于新生儿身高、体重等体格指标，根据世界卫生组织儿童生长发育标准（2006年版）计算新生儿生长发育Z评分，采用Spearman相关性分析探索孕期AFB1暴露与新生儿生长迟缓的相关性。**结果** 本研究共纳入新生儿305例，男婴166例（54.4%），女婴139例（45.6%），其中早产儿共101例（33.1%）。血清中AFB1-Alb水平检测结果显示孕妇外周血血清的AFB1-Alb水平范围为0.03-15.48 ng/mL（$\bar{x}$±s：4.74±3.55 ng/mL），新生儿脐带血血清中AFB1-Alb的范围为0.03-13.60 ng/mL（$\bar{x}$±s：4.07±3.46 ng/mL）。根据计算所得Z评分结果，新生儿中发育迟缓（LAZ<-2）28例（9.6%），低体重（WAZ<-2）60例（19.7%），消瘦（WLZ<-2）66例（21.6%）。根据新生儿脐带血中AFB1-Alb中位数（3.72 ng/mL）将研究对象分高/低暴露组进行Mann-Whitney U检验及卡方检验，发现新生儿生长发育Z评分在两组间均无统计学差异，高暴露组新生儿发育迟缓比例升高、低体重及消瘦的比例降低但差异无统计学意义。经Spearman相关性分析发现，新生儿AFB1-Alb水平与年龄别身长（LAZ）显著相关（r=0.113，P<0.05），与年龄别体重（WAZ）、身长别体重（WLZ）均无统计学关联；但孕妇与新生儿血清中AFB1-Alb水平显著正相关（r=0.816，P<0.01），新生儿血红蛋白水平、碱性磷酸酶（ALP）水平与其Z评分呈显著正相关（P<0.01），黄曲霉毒素估计每日摄入量（EDI-AFs）与WAZ、LAZ呈显著正相关（P<0.01）。此外，性别分层后对新生儿血清中AFB1-Alb水平与Z评分之间的相关性进行分析，结果发现同一性别下不同AFB1暴露水平新生儿的Z评分无统计学差异。**结论** 该地区人群孕期黄曲霉毒素暴露较为普遍，孕期AFB1暴露可抑制新生儿身高发育。

关键词：黄曲霉毒素；孕期暴露；生长迟缓

项目资助：广州市科技计划项目（202102021046）。

通讯作者： 何志妮，E-mail：xiaodan_lu4139@163.com

孕期低剂量全氟己烷磺酸PFHxS暴露对胎儿发育的影响

吕　佳，徐晶晶，黄以超*

（安徽医科大学公共卫生学院，合肥　230032）

摘要：目的 全氟己烷磺酸（PFHxS）是人群中最常检测到的全氟和多氟烷基物质之一。人群流行病学证据孕期暴露PFHxS可增加小于胎龄儿的发生风险。然而，在哺乳动物中其发育毒性机制尚未见报道。我们评估了妊娠期接触极低剂量PFHxS（比以前报告的全氟辛烷磺酸PFOS或全氟辛酸PFOA低一个数量级）对胎儿发育的影响，并结合选择性剪接（AS）和基因表达（GE）联合分析并进行机制探讨。**方法** 从妊娠第7天（GD7）-GD17，经口灌胃给予ICR孕鼠低于一般人群暴露剂量的0、0.03和0.3μg/kg/day BW的PFHxS。在GD18天麻醉剖杀，收集母血、胎盘和胎血等生物材料并记录母体一般情况和胎儿发育表型。采用液相色谱-串联质谱法（LC-MS/MS）检测PFHxS分布并观察其剂量反应关系。通过H&E和CD34表征胎盘组织病理表型。进一步通过多组学联合即AS和GE联合分析来揭示mRNA质量和数量的破坏。**结果** 首次建立了孕期于低于一般人群剂量的PFHxS暴露诱发宫内生长受限（IUGR）模型，其特征为胎儿体重和体长减少（P<0.01）。PFHxS跨胎盘分布结果提示，PFHxS能够透过胎盘屏障并呈现出剂量依赖性转移。胎盘组织病理学显示胎盘发育障碍，表现为迷路层面积、血窦面积减少和胎盘血管发育指标CD34降低。结合GE和AS联合分析指出，孕期暴露PFHxS导致胎盘发育、增殖、代谢和运输等关键生物过程受损。**结论** 孕期暴露于低于环境相关剂量的PFHxS可能通过损害胎盘发育导致IUGR。我们的发现证实了流行病学发现，并呼吁未来关注这种持久性污染物在生命早期发育阶段的健康风险，并为毒理学研究中从定量和定性组学方法理解基因表达提供了新的方法。这项工作还质疑PFHxS作为PFOS和PFOA的安全替代品的适用性。

关键词： PFHxS；妊娠期暴露；发育毒性；胎盘；可变剪接；基因表达

通讯作者： 黄以超，E-mail：yichao.huang@ahmu.edu.cn

母体孕期DEHP暴露，子代二次打击后免疫细胞分化异常的机制

宁 夏，洪 运，李晓璐，梁悦悦，蔡 杨，赵 帅，赵玲俐*
（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，环境毒理学安徽省普通高校重点实验室，安徽 合肥 230032）

摘要：目的 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)是一种广泛用于聚氯乙烯产品的增塑剂，通过饮食、皮肤接触及呼吸道暴露、在体内累积，影响肝肾、睾丸和卵巢功能障碍。母体孕期DEHP暴露导致子代不良出生结局和免疫抑制。目前研究主要集中在对自身免疫系统的影响，课题组前期研究发现母体孕期暴露于DEHP的青春期子代小鼠骨髓细胞微核率增加，但子代免疫细胞分化是否受到影响还不清楚。本研究旨在评价DEHP母体孕期暴露的子代再次暴露DEHP后对子代免疫细胞分化的影响及其机制。**材料与方法** 按照子代不同生长时段，不同暴露时间分为二次打击组、母代暴露组和子代暴露组，通过血常规、骨髓涂片、流式细胞术检测ICR小鼠孕期母体DEHP暴露对子代免疫细胞分化的影响；蛋白质免疫印迹法(WB法)探究干扰素基因刺激因子STING、酶联免疫法探究I型干扰素基因IFN在母体孕期暴露DEHP影响子代小鼠免疫细胞分化中的作用。**结果** 母体孕期DEHP暴露对子代的免疫细胞有不同程度上的影响，二次打击较母代暴露和子代暴露对子代免疫细胞影响更为剧烈。血常规中中性粒细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞二次打击呈明显上升趋势且有意义，总淋巴计数二次打击下降趋势较其他组下降更显著；流式细胞术显示母体孕期DEHP暴露对子代的单核细胞数量上升，树突状细胞数量下降；WB法显示母代暴露组子代胸腺中STING蛋白表达下调且有意义，二次打击组子代骨髓中STING蛋白表达下调；骨髓微核实验和骨髓涂片结果显示二次打击组子代骨髓微核产生增多，骨髓细胞分化异常。**结论** 从二次打击和孕期的角度，分析子代再次接触DEHP会加剧母体孕期DEHP暴露影响的子代免疫细胞分化。阐明母体孕期暴露DEHP使子代STING活性下降、信号通路受阻，IFN基因表达下调，最终导致子代免疫细胞分化异常的机制。我们为母体孕期DEHP暴露影响子代免疫细胞分化机制提供新的思路，也为通过减少孕期接触环境污染物，预防DEHP引起的子代免疫细胞分化异常提供理论基础。

关键词： 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯；免疫细胞分化；cGAS-STING-IFN信号通路；二次打击

通讯作者： 赵玲俐，E-mail：zhaolingli@ahmu.edu.cn

2,4-二氯酚通过抑制Esr2a信号导致雌性斑马鱼生殖障碍

胡 艳，漆永梅，黄德军*
（兰州大学生命科学学院院/甘肃省环境生物监测与修复重点实验室，兰州 730000）

摘要：目的 探究雌激素受体2a(Esr2a)信号在环境污染物2,4-DCP暴露所致雌性斑马鱼生殖障碍中的作用机制，为科学认识和深入研究环境雌激素对鱼类种群的危害提供新思路。**材料与方法** 环境浓度的2,4-DCP(10，20和40 μg/L)对成年(受精后6个月，6 mpf)雌性斑马鱼连续暴露21天，每天与正常雄性斑马鱼进行交配，记录产卵数量；21天暴露结束后取卵巢组织，HE染色后分析各级卵泡比例；ELISA分析雌激素(E2)和卵黄蛋白原(VTG)水平；荧光定量PCR检测脑和卵巢中HPG轴相关基因及esrs的转录水平；同时，记录6 mpf esr2a敲除斑马鱼的产卵数量，分析各级卵泡比例，检测E2和VTG水平及脑和卵巢中HPG轴相关基因转录水平。**结果** 2,4-DCP暴露使PV期(卵黄发生前)卵泡比例增加，而FG期(完全发育)卵泡比例降低，表明2,4-DCP暴露使卵泡发生阻滞；同时，40 μg/L 2,4-DCP暴露还导致累计产卵量显著降低，这是卵泡发生阻滞的直接后果；在分子水平上，VTG水平降低，HPG轴相关基因gnrh3、fshβ、cyp19b、fshr和cyp19a的转录及脑和卵巢中的esr2a转录水平也均降低，这与卵泡发生阻滞的结果一致；进一步在esr2a突变体(6 mpf)中发现，与WT相比，其卵泡发生阻滞且产卵量降低，fshβ、cyp19b和cyp19a的转录，以及VTG水平都降低，这与2,4-DCP暴露后的结果一致。**结论** 在成年雌性斑马鱼中，2,4-DCP表现出抗雌激素效应，其潜在作用机制为通过抑制esr2a转录，进而使HPG轴基因转录和VTG水平下调，最终导致卵泡

发生阻滞及随后的繁殖力降低。

关键词：卵泡发生；雌激素受体；抗雌激素效应

通讯作者：黄德军，E-mail：huangdj@lzu.edu.cn

α-酮戊二酸改善孕期环境砷暴露所致成年子代肝脏脂质沉积

钱庆华，宋亚平，张　予，薛　豪，赵　婷，庹陵晋，汪　岩*，徐德祥*
（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，安徽　合肥　230032）

摘要：目的　探讨α-酮戊二酸（α-ketoglutaric acid，α-KG）对孕期砷（Arsenic，As）暴露致成年子代肝脏脂质沉积的潜在保护效应，重点阐明α-KG通过宫内表观遗传重编程逆转砷在脂质代谢中发挥的抑制作用。**材料和方法**　小鼠胚胎肝细胞连续暴露于5 μM $NaAsO_2$至第六代进行如下实验，荧光探针染色结合细胞流式分析检测线粒体膜电位，Seahorse评估活细胞的耗氧率，Western blotting检测电子呼吸链复合体相关蛋白表达，LC-MS/MS检测细胞α-KG含量。动物实验在课题组前期建立的孕期砷暴露致成年子代肝脏脂质沉积的模型基础上，进行α-KG灌胃干预，将48只孕鼠随机分到四组，其中对照组和α-KG组全孕期饮用三蒸水，As和As+α-KG组饮用含NaAsO2（15 mg/L）的三蒸水。α-KG灌胃补充浓度为2 g/Kg·b.w.。GD18取胎肝，LC-MS/MS检测胎肝全基因组5hmC水平和α-KG含量，比色法检测胎肝TET酶活性。剩余孕鼠自然分娩，正常饲养并监测体重，PND190取肝脏，H&E染色和油红O染色观察肝脏脂质沉积情况，ACE-seq法检测特定基因启动子位点5hmC水平，qRT-PCR和Western blotting检测基因和蛋白的表达情况，LC-MS/MS检测肝脏酰基肉碱、脂肪酸和脂质相对含量。**结果**　小鼠胎肝细胞长期接触砷导致线粒体膜电位显著下调；抑制细胞线粒体呼吸功能；降低细胞α-KG含量。动物实验显示α-KG补充可缓解雌性成年子代肝脏总甘油三酯以及减轻肝脏病理变化和脂质沉积，说明α-KG保护孕期砷诱导的肝脏脂质沉积；补充α-KG可以改善孕期砷暴露诱导的胎肝α-KG含量降低、TET酶活性下降、全基因组的DNA羟甲基化水平下调；ACE-seq结果显示补充α-KG可回复孕期砷暴露诱导的雌性成年子代肝脏β-氧化相关基因*Cpt1*αDNA羟甲基化水平；qRT-PCR和Western blotting结果显示α-KG可逆转孕期砷诱导的雌性成年子代肝脏CPT1α的表达下调；代谢组学结果显示α-KG保护孕期砷诱导的雌性成年子代肝脏脂肪酸和脂质代谢紊乱；阐明孕期砷暴露降低子代小鼠胎肝α-KG含量进而影响TET酶活性，抑制*Cpt1*α基因启动子区域羟甲基化水平，降低*Cpt1*α基因表达从而抑制脂酰辅酶A向酰基肉碱的转化，阻止游离脂肪酸β-氧化进程，最终导致肝脏大量脂质堆积。**结论**　补充α-KG可逆转孕期砷暴露诱导的成年子代肝脏脂质堆积。

关键词：砷；α-酮戊二酸；DNA羟甲基化；β-氧化；Cpt1α；肝脏脂质沉积
项目资助：国家自然科学基金重点项目（81930093）。

通讯作者：徐德祥，E-mail：xudex@126.com，汪　岩，E-mail：yanwang829@ahmu.edu.cn

父代镉暴露以性别依赖方式引起子代糖脂代谢紊乱

谭璐璐，熊永伟，张　进，王　华*
（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系；环境毒理学安徽高校省级重点实验室，安徽　合肥）

摘要：目的　生命早期不良环境因素暴露引起成年后易患慢性疾病。然而，父代环境镉暴露对子代糖脂代谢的影响及其机制尚不清楚。本研究主要探讨父代不同剂量镉暴露对子代肝脏糖脂代谢的影响。**方法**　5周龄C57BL/6N雄鼠被随机分为对照组、低镉组和高镉组，分别饮水给予0、10或100 mg/L CdCl2溶液。所有雄鼠饲养至15周龄与未暴露雌鼠进行交配得到孕鼠。在怀孕第18天剖杀部分孕鼠，收集胎肝进行转录组学和LC-MS/MS实验等相关分子检测。其余孕鼠自然分娩得到子代仔鼠，常规饲养至第105天对仔鼠

进行糖耐量实验、胰岛素耐量实验及代谢笼实验评价仔鼠代谢，随后过夜禁食收集仔鼠血浆和肝脏进行转录组学和LC-MS/MS实验等相关分子检测。**结果** 父代高镉暴露显著降低雄性和雌性仔鼠体重，并增加成年仔鼠能量消耗，但饮食量无影响。同时，父代高镉暴露引起成年子代雌鼠葡萄糖耐量受损、胰岛素抵抗和肝脏糖原异常积累，但雄鼠无差异。相应地，LC-MS/MS实验结果表明，父代高镉暴露以性别依赖方式导致成年子代雌鼠肝脏多种磷脂含量升高。进一步转录组学结果发现，父代高镉处理的成年子代雌鼠肝脏中胰岛素信号和脂质转运相关mRNAs（*Ppplr3c*、*Pfkfb1*、*Dcxr*和*Gstm2*）水平显著下降。与此同时，AHR作为与磷脂结合后促进胰岛素抵抗的转录因子，在父代高镉暴露的成年雌性子代肝脏明显增加。与成年结果类似，父代高镉暴露引起雌性胎肝多种磷脂成分增加和磷脂转运相关基因mRNAs水平降低，但雄鼠无差异。有趣的是，成年雌性子代肝脏和雌性胎肝共同改变脂质均属于磷脂，包括PC 38:2、PC-(O)-30:0、PC-(P)-36:5、PS 38:3、PS 38:4和PG 36:2都持续升高。**结论** 父代高镉暴露可能以性别依赖方式通过降低胎肝磷脂转运引起早期胎肝脂质紊乱，从而引起成年子代肝脏糖代谢紊乱。该研究结果为今后制定环境因素引起的父源性代谢疾病防治策略提供科学依据。

关键词： 镉；父代；肝脏葡萄糖代谢；磷脂累积；性别依赖

基金项目： 国家重点研发计划（2022YFC2702904）；国家自然科学基金（82273664）；国家自然科学基金（81973079）

通讯作者： 王 华，E-mail：wanghuadev@126.com

细胞自噬在低剂量LPS暴露缓解高剂量LPS诱导青春期雄鼠肺细胞焦亡和损伤的保护作用及其机制

汪 花，罗叶心，汪甜甜，欧阳孔雯，朱华龙，徐德祥，王 华*

（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系；环境毒理学安徽高校省级重点实验室，安徽 合肥 230032）

摘要：目的 已知低剂量脂多糖（LPS）的预处理诱导先天免疫细胞中高剂量LPS对随后的继发性攻击反应呈低下状态，然而其机制尚不明确。本课题首先探讨低剂量LPS预处理缓解高剂量LPS诱导的青春期小鼠肺细胞焦亡，接着主要阐明细胞自噬激活在低剂量LPS预处理缓解高剂量LPS暴露所致肺细胞焦亡的作用及机制。**方法** 动物实验方案一，LPS对小鼠急性肺损伤影响：90只CD-1，ICR 4周雄鼠被随机分组，腹腔注射LPS（5 mg/kg）根据给药时间分为0 h、2 h、8 h、24 h组，于24 h同时处死；腹腔注射LPS 1.25 mg/kg、LPS 2.5 mg/kg均在给药24 h后剖杀。研究二，低剂量LPS预处理对高剂量LPS暴露诱导小鼠肺细胞焦亡和自噬的影响：对照组、L-LPS（0.1 mg/kg）、H-LPS（5 mg/kg）、L-LPS（0.1 mg/kg）预处理24h+H-LPS（5 mg/kg）组，且所有小鼠均在LPS给药8h和24h剖杀。研究三：细胞自噬在低剂量LPS预处理缓解高剂量LPS暴露诱导青春期小鼠肺细胞焦亡的影响，随机分为对照组、3MA、Rap、L-LPS（0.1 mg/kg）、3MA+L-LPS（0.1 mg/kg）预处理24h+H-LPS（5 mg/kg）组，Rap+ L-LPS（0.1 mg/kg）预处理24h+H-LPS（5mg/kg）组，且所有小鼠均在LPS给药8h后剖杀。**结果** 首先，我们建立了不同时点，不同剂量LPS暴露诱导青春期小鼠急性肺损伤模型。同时，LPS暴露上调了青春期小鼠肺细胞GSDMD、NLRC4和NLRP3炎症小体蛋白表达，上调了小鼠肺细胞LC3、Atg5水平，并降低p62蛋白水平。结果显示LPS暴露诱导青春期小鼠肺细胞焦亡和细胞自噬。我们的Western blotting和HE结果显示：低剂量LPS预处理通过降低NLRC4炎症小体水平缓解高剂量LPS暴露诱发青春期小鼠肺细胞焦亡和急性肺损伤。且低剂量LPS预处理可以进一步升高高剂量LPS暴露的青春期小鼠肺细胞自噬水平。我们通过3MA抑制剂，发现抑制自噬加重了LPS预处理诱导的青春期小鼠肺细胞焦亡，Rap激活自噬可抑制LPS预处理诱导青春期小鼠肺细胞焦亡。**结论** 细胞自噬通过降解NLRC4炎症小体在低剂量LPS暴露缓解高剂量LPS诱导青春期雄鼠肺细胞焦亡和损伤的保护作用及其机制。该结果为阐明低剂量LPS预处理缓解高剂量LPS暴露诱导青春期小鼠肺细胞焦亡作用和机制提供科学依据。

关键词： LPS；低剂量LPS；细胞焦亡；细胞自噬；急性肺损伤；NLRC4

通讯作者： 王 华，E-mail：wanghuadev@126.com

Parkin线粒体转位在镉抑制睾丸睾酮合成中的作用及机制

汪甜甜，朱华龙，欧阳孔雯，王　华*
（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系；环境毒理学安徽高校省级重点实验室，安徽　合肥 230032）

摘要：目的　已知环境镉暴露导致睾丸睾酮水平降低，但其机制尚不明确。本研究旨在探讨Parkin线粒体转位在镉抑制睾丸间质细胞睾酮合成中的作用及机制。**方法**　本研究方法包括动物实验和细胞实验。动物实验：为建立镉暴露导致睾酮降低的动物模型，将45只雄鼠随机分为对照组（Ctrl）、低镉组（LCd，50mg/ml）、高镉组（HCd，150 mg/ml），通过饮水暴露镉70天；为探究Parkin线粒体转位在镉抑制睾丸睾酮合成中的作用，将96只雄鼠随机分为Ctrl+LV5-NC shRNA、Ctrl+LV5-*Parkin* shRNA、HCd+LV5-NC shRNA、HCd +LV5-*Parkin* shRNA，通过饮水暴露镉70天，并于镉暴露35天时睾丸局部注射病毒。细胞实验：镉$CdCl_2$（20 μM）时点处理；LV-MFN1过表达干预、MG132蛋白酶体抑制剂干预、CHX翻译抑制剂干预和Mito-TEMPO干预处理。**结果**　我们建立了饮水镉暴露导致睾丸间质细胞睾酮降低的动物和细胞模型。基于此模型，我们发现镉暴露促进睾丸间质细胞Parkin线粒体转位和线粒体外膜融合蛋白MFN1泛素降解，并导致定位于线粒体的睾酮合成酶CYP11A1与3β-HSD蛋白水平显著降低。体外研究显示，MFN1过表达显著逆转镉诱导的TM3细胞线粒体融合障碍和睾酮合成酶CYP11A1与3β-HSD的降低。进一步研究表明，镉暴露对小鼠睾丸*Mfn1* mRNA水平无显著影响。给予蛋白翻译抑制剂Cycloheximide（CHX）后，镉进一步诱导TM3细胞MFN1蛋白水平降低。以上结果提示，镉暴露对MFN1转录和翻译均无显著影响。此外，蛋白酶体抑制剂MG132显著逆转镉诱导的TM3细胞MFN1蛋白水平降低。为了探究镉暴露诱导MFN1蛋白泛素降解的机制，我们给予雄性小鼠睾丸局部注射LV5-*Parkin* shRNA处理。结果表明LV5-Parkin shRNA显著逆转镉诱导的小鼠睾丸MFN1蛋白泛素降解和睾酮合成抑制。**结论**　环境镉暴露促进Parkin线粒体转位诱导睾丸间质细胞线粒体融合障碍和睾酮合成抑制（详见图1）。本研究结果Parkin线粒体转位可能是环境毒物损害睾丸睾酮合成的共性机制。

关键词：镉；线粒体转位；睾丸；MFN1；Parkin
基金项目：国家自然科学基金（81973079）；国家自然科学基金（81473016）
通讯作者：王　华，E-mail：wanghuadev@126.com

妊娠期母体矿物质水平与胎儿生长受限和学龄前儿童瘦弱的关系

王凯文[1,2]，凌正佳[1,2,3]，杨　岚[1,2,3*]，王　华[1,2*]
（1. 安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理系，安徽　合肥；2. 环境毒理学安徽高校省级重点实验室，安徽　合肥；3. 无锡市妇幼保健院产前诊断中心，江苏　无锡）

摘要：目的　妊娠期母体矿物质水平与胎儿生长受限（FGR）之间的关系仍然存在争议。与此同时，妊娠期母体矿物质水平异常对学龄前儿童瘦弱的影响尚不清楚。**材料与方法**　本研究基于中国无锡出生队列研究（C-WBCS），选取2012年1月到2014年12月于无锡市妇幼保健院分娩的孕妇及学龄前儿童。通过无锡市妇幼保健院的病历系统，无锡市国家卫生信息平台以及江苏省妇幼健康信息系统获得妊娠中期母体全血铜，钙，铁，镁和锌浓度，新生儿出生结局，妊娠期人口学特征以及6岁学龄前儿童BMI等信息。分析时排除死产，引产，胎儿死亡，双胞胎，妊娠中期全血铜，钙，铁，镁和锌浓度结果缺失和6岁学龄前儿童BMI信息缺失样品，最终纳入3524对单胎母亲-新生儿对和1319名6岁学龄前儿童。采用Logistic回归模型分析中国人群中妊娠中期母体铜、钙、铁、镁和锌的水平与FGR和6岁学龄前儿童瘦弱的关联。**结果**　小于胎龄儿（SGA）和低出生体重（LBW）发生率分别为14.2%（499/3524）和1.8%（62/3524），且妊娠中期母体全血铜、钙、铁、镁和锌的平均浓度分别为24.19 $\mu mol \cdot L^{-1}$、1.67 $mmol \cdot L^{-1}$、7.54 $mmol \cdot L^{-1}$、1.39 $mmol \cdot L^{-1}$、89.00 $\mu mol \cdot L^{-1}$。Logistic回归模型分析结果显示，妊娠中期母体低浓度的铁增加SGA的风险［校正OR：1.73

(95% CI:1.28, 2.32)],但不会增加LBW的风险。相反,妊娠中期母体低浓度的锌降低SGA的风险[校正OR:0.62(95% CI:0.47, 0.83)],但对LBW的风险没有影响。同时,性别分层分析表明,上述关联在不同性别间无显著性差异。有趣的是,妊娠中期母体铜,钙,铁,镁和锌的水平与6岁学龄前儿童的瘦弱无显著性关联。**结论** 妊娠中期低水平铁或高水平锌的孕妇容易以性别非依赖的方式分娩SGA婴儿,而妊娠中期母体铜、钙、铁、镁和锌的水平与学龄前儿童的瘦弱无关。因此,为了正确指导孕期保健,未来将需要一项大规模的随机对照试验来进一步证实这些关联。

关键词: 矿物质; 妊娠期; 胎儿生长受限; 小于胎龄儿; 学龄前儿童; 瘦弱

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFC2702904); 国家自然科学基金(82273664)国家自然科学基金(81973079);无锡市卫生健康委员会综合项目(M202126)

通讯作者: 杨 岚, E-mail: lilylan5930@sina.com; 王 华, E-mail: wanghuadev@126.com

环磷酰胺对大鼠和家兔胎仔致畸效应的讨论

韦春晟, 张煜晗, 孙 颖, 鲍 清, 张 炫

(国家沈阳新药安全评价研究中心, 沈阳 110021)

摘要: 目的 本试验中对雌性SD大鼠和家兔在受孕期间给予已知致畸阳性化合物环磷酰胺,检测其在妊娠过程中对母体、胚胎和胎仔发育产生的不良影响及各类畸形的发生,讨论环磷酰胺在不同动物胎仔上所产生的致畸效应。**方法** 本试验以SD大鼠和家兔为实验动物。试验中,大鼠:7 mg/kg。体重,试验中,对交配后雌鼠在孕11天至孕13天连续经肌内给药;家兔:25 mg/kg。体重,试验中,对交配后家兔在孕10天至孕13天连续经皮下给药,同时设溶媒对照组。在孕20天处死母鼠或孕29天处死母兔,处死后,立即剖腹取出子宫确定动物受孕状态,称量子宫连胎重,记录黄体数、吸收胎数、死胎数和活胎数。同时检查每只活胎的性别并观察其外观畸形,量取单个胎仔的体重、胎盘重和身长。胎仔经处理后进行内脏或骨骼检查,家兔检查全部胎仔骨骼和内脏。**结果** 大鼠和家兔环磷酰胺组动物均未见母体死亡和明显毒性症状,体重也未见明显降低。大鼠和家兔的胚胎吸收率、死胎率均显著升高,胎仔体重、身长和胎盘重量明显降低,胎仔均可见外观、骨骼和内脏畸形,大鼠(胎仔畸形发生率%):主要表现为皮下水肿(18.6%)、露脑(79.6%)、头部偏小(25.5%)、心脏淤血(35.8%)、脑室结构紊乱(29.2%)、胸骨骨化不全(8.7%)、肋骨断裂(24.6%)、肋骨游离及短小(57.2%)、顶间骨缺失(61.6%)、顶间骨骨化不全(37.7%)、顶骨缺失(59.4%)、顶骨骨化不全(39.9%)、额骨骨化不全(79.0%)等畸形。家兔(胎仔畸形发生率%):主要表现为腭裂(98.0%)、突眼(98.0%)、眼睑缺失(10.0%)、并指(40%)、缺指(14%)、足内翻(98%)、胸骨融合(10.0%)、上肢肱骨和尺骨、桡骨融合等畸形(40%),上述畸形发生率均明显高于溶媒对照组。**讨论和结论** 动物给药期为胚胎发育前期,胚胎大脑和四肢还未发育成型。在本试验剂量下,环磷酰胺对大鼠和家兔明显影响胎仔发育(胎仔体重身长明显降低),且具有明显致畸效应,但对大鼠和家兔产生致畸作用部位明显不同,针对大鼠幼仔主要影响头部骨骼及颅内(包括:露脑、头部偏小、脑室结构紊乱、颅骨骨化不全缺失)、心脏(包括:心脏淤血)和胸骨肋骨(包括:胸骨骨化不全、肋骨断裂、游离及短小)发育;但针对家兔幼仔环磷酰胺主要影响幼仔面部(腭裂、突眼、眼睑缺失)发育和四肢骨骼(并指,缺指,足内翻、上肢肱骨和尺骨、桡骨融合)发育。

责任作者: 韦春晟, E-mail: weichunsheng@sinochem.com

通讯作者: 张 炫, E-mail: zhangxuan1@sinochem.com

环境内分泌干扰物复合暴露与围孕期育龄女性辅助生殖结局的关系

谢锦莹，杨　盼*
（暨南大学基础医学与公共卫生学院，广州　510632）

摘要：目的　探讨有机磷酸酯、邻苯二甲酸酯和酚类复合暴露对女性早期辅助生殖健康结局的影响。**材料和方法**　选择2020年12月至2021年4月期间，以来广州市某综合医院生殖中心寻求辅助生殖的192名女性为对象。采用高效液相色谱串联三重四极杆质谱仪测定尿液58种环境化学物（包括7种有机磷酸二酯、17种邻苯二甲酸酯代谢物、6种对羟基苯甲酸酯、3种氯酚、12种双酚类物质、7种二苯甲酮和6种合成酚类抗氧化剂）。将检出率高于40%的38种化学物纳入后续分析。应用泊松回归分析尿液单个化学物与获卵数、成熟卵子数、正常受精数、优质胚胎数、囊胚形成数和优质囊胚数之间的关系。并进一步用加权分位数和回归（WQS）、Quantile g-computation（qgcomp）和贝叶斯核机回归（BKMR）模型讨论复合暴露与早期辅助生殖结局之间的关系。**结果**　经混杂因素和多重校正后，发现部分有机磷酸二酯、邻苯二甲酸酯代谢物和酚类化学物与早期辅助生殖结局之间的关联具有统计学意义，例如邻苯二甲酸单乙基己基酯与获卵数（β：-0.042，95%CI：-0.067，-0.016）、成熟卵子数（β：-0.046，95%CI：-0.074，-0.017）、正常受精数（β：-0.054，95%CI：-0.088，-0.021）和优质胚胎数（β：-0.082，95%CI：-0.136，-0.029）呈负相关。混合暴露模型结果显示，随着女性38种联合暴露水平的增加，获卵数、成熟卵子数、正常受精数、优质胚胎数、囊胚形成数和优质囊胚数均有减少的趋势，其中混合物与优质胚胎数之间的负向关联具有统计学意义。WQS结果显示WQS指数与优质胚胎数呈负相关（β：-0.34，95%CI：-0.60，-0.07）。在qgcomp模型中，混合物每增加一个四分位数，优质胚胎数减少0.69个（95%CI：-1.34，-0.05）。通过BKMR混合物模型分析发现，与所有化学物暴露浓度在中位数水平相比，当混合物暴露浓度处于或高于其第55百分位数时与优质胚胎数减少有关。**结论**　我们的研究结果表明，环境水平有机磷酸酯、邻苯二甲酸酯和酚类复合暴露可能对辅助生殖结局产生不良影响。

关键词：环境；复合暴露；辅助生殖；内分泌干扰物；育龄女性
项目资助：国家自然科学基金（81903272）
通讯作者：杨　盼，E-mail：yangpan@jnu.edu.cn

基于人胚胎干细胞建立的心肌分化和神经分化模型评估双酚A的胚胎毒性

熊　围[1,2]，倪梦梅[1,2]，于梦琪[1,2]，曹　莉[1,2]，田　林[1,2]，张立实[1,2]，李晓蒙[1,2]，陈锦瑶[1,2]
（1. 四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院营养与食品卫生学系；2. 四川省食品安全监测与风险评估重点实验室　61000）

摘要：目的　通过基于人胚胎干细胞H9建立的心肌分化（Myocardial differentiation，MD）和神经分化（Neural differentiation，ND）模型来更加全面地评价双酚A（Bisphenol A，BPA）的胚胎毒性。**材料和方法**　首先使用已知的强胚胎毒性物质5-氟尿嘧啶（5-fluorouracil，5-FU）和无胚胎毒性物质青霉素G（Penicillin G，PN-G）对基于人胚胎干细胞H9建立的心肌分化模型（Myocardial differentiation model，MDM）和神经分化模型（Neural differentiation model，NDM）进行测试，以验证两种分化模型测试胚胎毒性的有效性。然后通过测定BPA对3T3细胞和H9细胞的50%增殖抑制浓度（50% inhibition of proliferation concentrations，IC_{50}）得到IC_{50}3T3和IC_{50}H9，以及测定BPA对MD和ND的50%分化抑制浓度（50% inhibition of differentiation concentration，ID_{50}）得到ID_{50} MD和ID_{50}ND，并将IC_{50}和ID_{50}代入函数Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ中，通过比较3个函数值的大小确定BPA的胚胎毒性。**结果**　在两种模型的验证阶段，使用MDM和NDM测试5-FU的胚胎毒性时，所得浓度为0.0644（IC503T3）、0.1034（IC50H9）、0.0186（ID50MD）和0.1016μg/mL（ID50ND），其函数值大小关系均为Ⅲ＞Ⅱ＞Ⅰ，即两种模型均正确判断5-FU为强胚胎毒性物质；使用MDM和NDM测试PN-

G的胚胎毒性时，所得浓度为367.57（IC503T3）、2524.67（IC50H9）、1246.67（ID50MD）和391.23 μg/mL（ID50ND），三个函数值的大小关系均为Ⅰ>Ⅱ>Ⅲ，即两种模型均正确判断PN-G为无胚胎毒性物质。对于BPA，实验所得相应浓度分别为13.91（IC_{50}3T3）、30.38（IC50H9）、12.48（ID_{50}MD）和22.66 μg/mL（ID50ND）。对于MDM，函数Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ的值分别为-4.29、0.66和-4.88；NDM的三个函数值分别为-0.40、2.14和-3.78。由于函数Ⅱ>Ⅰ>Ⅲ，两种模型均判定BPA均具有弱胚胎毒性。 **结论** MDM和NDM均判定BPA具有弱胚胎毒性，同时由于排除了物种差异，人胚胎干细胞可能是评价化学物质胚胎毒性的可靠模型。

关键词： 双酚A；胚胎毒性；人胚胎干细胞；神经分化；心肌分化

通讯作者： 李晓蒙，E-mail：18215601611@126.com；陈锦瑶，E-mail：umbrellayy@163.com

高脂饮食和镉联合暴露以m^6A-YTHDF2依赖方式损害睾丸精子发生

熊永伟，谭璐璐，张 进，王 华*

（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系；环境毒理学安徽高校省级重点实验室，安徽 合肥）

摘要：目的 环境镉或高脂肪饮食是男性不育的危险因素。然而，高脂饮食和镉联合暴露对精子质量的影响和机制尚不清楚。本研究主要探讨高脂饮食和镉联合暴露对睾丸精子发生的影响及其m^6A修饰机制。**方法** 本研究具体实验方案如下：（1）5周龄C57BL/6J雄鼠分别通过饮水暴露100 mg/L氯化镉、喂养60% fat高脂饲料、氯化镉和高脂饲料联合处理，于高脂饮食和镉暴露2个生精周期（70天）后，收集小鼠附睾进行精子质量评价，收集小鼠睾丸进行相关病理和分子检测。（2）小鼠精母细胞（GC-2）分别给于氯化镉和棕榈酸联合处理（20 μM 氯化镉+400 μM 棕榈酸）、*Mettl3*/*Ythdf2*小干扰RNA（siR）和N-叔丁基-α-苯基硝基酮（PBN）处理，于染毒后12和24 h收集细胞，进行相关分子检测。**结果** 与单独接触镉或高脂饮食相比，高脂饮食和镉联合暴露进一步降低小鼠睾丸成熟期生精小管数量和附睾精子浓度。相应的，高脂饮食和镉联合暴露组睾丸*Smc3*（精母细胞标记物）、Acrv1（圆型精子细胞标记物）和*Lzumo3*（长型精子细胞标记物）mRNA表达显著下调。此外，联合暴露下调小鼠睾丸和精母细胞减数分裂相关蛋白STRA8和SYCP3表达，升高*Stra8* mRNA m6A修饰水平，并上调m6A甲基化酶METTL3和阅读蛋白YTHDF2表达。机制上，Mettl3和Ythdf2 siR显著恢复联合暴露下调小鼠精母细胞STRA8蛋白和mRNA表达，逆转联合暴露升高小鼠精母细胞*Stra8* m6A修饰水平。此外，RNA稳定性实验表明，*Ythdf2* siR明显缓解联合暴露增加小鼠精细胞*Stra8* mRNA降解率。与此同时，在联合暴露组观察到过量活性氧（ROS）产生，且自由基清除剂PBN逆转联合暴露上调小鼠精母细胞METTL3和YTHDF2蛋白表达。**结论** 高脂饮食和镉联合暴露通过激活ROS以m6A-YTHDF2依赖方式降解Stra8，从而损害睾丸精子发生。这项研究为靶向m6A抑制剂预防复合环境因素引起的男性不育症提供新的见解。

关键词： 镉；高脂饮食；精子发生；YTHDF2；m^6A

基金项目： 国家自然科学基金（81973079）；国家自然科学基金（81473016）；安徽省教育厅高校研究生科研项目（YJS20210260）

通讯作者： 王 华，E-mail：wanghuadev@126.com

孕期全氟己烷磺酸暴露发育毒性及机制研究

徐晶晶，黄以超*

（安徽医科大学公共卫生学院，合肥 230032）

摘要：目的 全氟己基磺酸盐（PFHxS）是一种新型持久性环境污染物，含量位居全氟化合物第三。人群研究发现，孕期接触PFHxS与不良出生结局存在关联，但针对PFHxS在哺乳动物的发育毒性研究尚属空

白。本研究首次探究孕期暴露PFOA和PFOS发育毒性相当剂量的PFHxS发育毒性及潜在机制。**材料和方法** 采用贴合人群的暴露方式，从孕第7天（GD7）-GD17，经口灌胃给予CD-1孕鼠PFOA和PFOS发育毒性相当剂量（0、0.3和0.3 mg/kg/day BW）的PFHxS。于GD18天麻醉剖杀致死，收集母血、胎盘和胎血等生物材料并记录母体一般情况和胎鼠发育表型。采用液相色谱-串联质谱法（LC-MS/MS）检测母胎PFHxS分布水平并观察其剂量效应关系。通过H&E染色和免疫组化实验观察胎盘发育情况。通过胎盘脂质组学及转录组学分析，阐明诱发不良出生结局的代谢干扰机制。**结果** 本研究首次报道了高剂量PFHxS暴露增加了胎鼠的死亡率。进一步母胎PFHxS内暴露水平分析发现，PFHxS可以穿透胎盘屏障，并随着暴露浓度的增加而表现出在胎儿体内累积的趋势。病理结果提示，PFHxS暴露损伤了胎盘组织结构。脂质组学和转录组学数据共同表明，高剂量PFHxS暴露通过上调胎盘中关键脂质转运蛋白（*fabp2*，*fabp3*，*fatp1*和*fatp2*）导致胎盘脂质稳态显著破坏，包括胎盘总脂质积累，磷脂和甘油脂代谢失调。**结论** 孕期暴露PFOA和PFOS发育毒性相当剂量的PFHxS增加了胎鼠的致死率，而胎盘脂质转运失调导致脂质稳态紊乱可能是其重要的机制，这些发现填补了PFHxS发育毒性空白，并为了解其潜在毒性作用机制提供新的证据。

关键词： PFHxS；孕期期暴露；发育毒理学；胎盘；脂质稳态

通讯作者： 黄以超，E-mail：yichao.huang@ahmu.edu.cn

MEHP通过Keap1-Nrf2信号通路诱导卵巢颗粒细胞过度自噬的研究

许 博，代文杰，刘 玲，杨 宏，裴秀英*，付旭锋*

（宁夏医科大学生育力保持教育部重点实验室，银川 750004，宁夏）

摘要：目的 邻苯二甲酸单-2-乙基己酯（MEHP）是常见的环境内分泌干扰物塑化剂邻苯二甲酸二-（2-乙基己酯）（DEHP）的主要体内活性代谢产物。目前已有研究表明DEHP的雌性生殖毒性是通过MEHP影响卵巢功能所致。我们前期研究发现DEHP暴露可能通过影响肠道菌群结构及其代谢产物影响卵巢功能，并且伴随卵巢中自噬相关基因Beclin-1/LC3-B在卵巢颗粒细胞中的表达，这些结果提示卵巢颗粒细胞的自噬可能是MEHP损伤卵巢功能的主要过程，但具体的调控机理尚不清楚。本研究通过体外实验深入探讨MEHP导致卵巢颗粒细胞自噬的分子机制，为进一步了解DEHP及其体内代谢产物MEHP的生殖毒理机制提供依据。**材料和方法** 本研究选取了3周龄小鼠卵巢原代颗粒细胞（GCs ）和人卵巢颗粒细胞系KGN，经MEHP体外诱导后，CCK-8检测颗粒细胞活力，免疫印迹（WB）及免疫荧光（IF）检测自噬发生相关蛋白表达情况，利用自噬相关抑制剂和mCherry-GFP-LC3慢病毒转染KGN细胞探究对自噬流的影响，利用核质分离和Co-IP检测氧化应激及其关键调控转录因子Nrf2的上下游调控情况，并通过干预Nrf2的方式阐明MEHP诱导卵巢颗粒细胞损伤的分子调控机制；最后通过体外卵巢培养进一步验证相关机制。**结果** MEHP（200 μM）处理颗粒细胞KGN和GCs 24h后细胞活力下降，自噬相关基因（Beclin-1、LC3B）表达改变，自噬流发生明显改变受到影响，并且MEHP导致颗粒细胞自噬的这一现象被自噬抑制剂氯喹所逆转。此外，结果还显示MEHP会导致线粒体结构紊乱、ROS水平升高，并且抗氧化剂NAC能够逆转这一现象且降低细胞自噬。进一步发现抗氧化关键因子Nrf2及其上游调控因子Keap1在MEHP导致的颗粒细胞自噬过程中发挥重要作用，并且干预Nrf2后会加重MEHP诱导的自噬。最后，进一步通过卵巢离体培养证实了MEHP通过调控Keap1-Nrf2导致卵巢颗粒细胞过度自噬。**结论** Keap1-Nrf2在MEHP诱导卵巢颗粒细胞过度自噬过程中发挥重要作用，为了解DEHP的雌性生殖毒性提供依据。

关键词： 邻苯二甲酸单-2-乙基己酯；卵巢颗粒细胞；自噬；Nrf2

基金项目： 宁夏重点研发计划项目（2022BEG03084）

通讯作者： 裴秀英，E-mail：peixiuying@163.com；付旭锋，E-mail：fuxufeng100@163.com

邻苯二甲酸酯类暴露对大鼠睾丸组织转录组谱的影响

岳俊哲，刘丽兰，姜明哲，林 敏，夏玲姿，高海涛*
（温州医科大学公共卫生与管理学院预防医学系，浙江 温州 325035）

摘要：邻苯二甲酸酯类（PEs）具有雄性生殖毒性，可作为塑化剂在生活环境中广泛存在，造成人群不可避免的暴露，有损害雄（男）性生殖功能损伤的风险。**目的** 通过转录组学技术，研究邻苯二甲酸酯类混合物（MPEs）引起大鼠睾丸大鼠睾丸组织中转录组谱的影响，筛选雄性生殖毒性的诊断标志物，探讨可能的毒作用机制。**方法** 将24只雄性SD大鼠随机等分2组，即对照组和MPEs组，MPEs干预的剂量为450 mg/kg/d，连续经口干预91 d后，采血，取血清；量肛殖距，解剖动物，取睾丸、附睾、精囊等组织，称重。ELISA试剂盒检测血清性激素水平（睾酮、LH、FSH）；HE染色，观察睾丸组织病理结构。转录组学技术检测睾丸组织转录本，获得基因的表达情况，以P值<0.05和log2fc值>3为截断，筛选出表达差异较大的基因，并进行GO富集分析和KEGG富集分析。**结果** MEPs暴露降低了雄性器官质量、血清性激素水平，诱导睾丸组织结构改变，如曲细精管萎缩、间质细胞增生等；主成分分析结果显示，染毒组同对照组之间基因表达存在差异，并且组内聚集性较好；对照组相比，MPEs染毒组大鼠睾丸组织有6222个基因表达上调，4658个基因表达下调；GO分析显示差异基因在细胞组分、分子功能、生物学途径三个方面均有富集，其中，细胞组分相关富集的差异基因数最多，KEGG分析显示差异基因在多个通路具有富集，如AGE-RAGE信号通路、MAPK信号通路、PI3K-Akt信号通路、FoxO信号通路等。**结论** MPEs暴露诱导了大鼠雄性生殖功能损伤；富集分析的结果显示，细胞内吞和迁移能力可能发生改变，细胞衰老、自噬、凋亡发生的可能性增加，提示该剂量下MPEs可能会诱导癌症发生。

关键词：邻苯二甲酸酯类混合物；转录组学；差异表达基因；富集分析

基金项目：国家自然科学基金（81903321）；浙江省自然科学基金（LY22H260002）；温州市科技局项目（Y2020098）

通讯作者：高海涛，E-mail：haitaogao@wmu.edu.cn，E-mail：gaohaitaosky@139.com

孕期菲暴露对F1代雄性小鼠生殖健康的影响及机制

张 宇，梁 楠，史云舒，张 叙，翟煜文，钟佳萌，胡 雨，那顺布和*，郭娇娇**
（内蒙古大学生命科学学院）

摘要：目的 研究报道，与过去相比，近年来全球男性的精液质量显著下降。其中，环境污染是一大主要因素。多环芳烃（Polycyclic aromatic hydrocarbon，PAHs）是一类在环境和饮食中普遍存在的污染物。研究表明，PAHs暴露对雄性生殖健康有不良影响，但关于PAHs对哺乳动物生殖的影响多集中在苯并芘等高分子量PAHs。菲（Phenanthrene，Phe）具有三个环，属于低分子量PAHs，却是环境中含量最高的PAHs之一。本研究以Phe为低分子量PAHs代表，研究孕期Phe暴露对F1代雄鼠生殖机能的影响及机制，对于PAHs的控制、毒性机制理解以及生育紊乱的干预和治疗等方面具有重要的科学意义和社会价值。**材料和方法** 以溶解于玉米油中的Phe对怀孕第0.5天（观察到阴道栓）的孕鼠进行每三天1次（60和600 μg·kg^{-1} bw）的灌胃暴露（食物是人类暴露Phe的最主要途径），孕期总共灌胃6次，对照组的孕鼠灌胃等量玉米油。孕鼠自然分娩，F1代小鼠120天日龄处死，解剖取小鼠血清及各个器官，称重记录，冻存或固定备用。ELISA检测血清生殖相关激素水平，睾丸组织切片和免疫组化进行形态学和病理性观察，睾丸组织转录组测序和分析探索孕期Phe暴露破坏子代雄性睾丸机能的潜在机制。**结果** 与对照组相比，母体孕期暴露于Phe的F1代成年雄鼠：（1）体重没有明显变化，但睾丸重量和睾丸指数显著下降；（2）血清中睾酮、GnRH和SHBG水平上升，FSH水平下降；（3）睾丸曲细精管中支持细胞和初级精母细胞比例显著上升，而精细胞的比例显著下降；（4）睾丸曲细精管中PCNA表达水平显著降低；（5）睾丸的转录组图谱发生明显变化，差异表达基

因富集于与氧化应激、减数分裂、精子发生及能量供应等相关的通路。**结论** 孕期菲暴露会扰乱F1代雄性小鼠下丘脑-垂体-性腺轴激素的平衡，降低睾丸中细胞的增殖能力，阻滞精子发生过程。与氧化应激、减数分裂、精子发生及能量供应相关的基因表达水平的变化可能是孕期菲暴露破坏F1代雄性小鼠生殖健康的机制。

关键词：多环芳烃（Polycyclic aromatic hydrocarbon，PAHs）、菲（Phenanthrene）、孕期暴露、生殖毒性、精子发生

通讯作者：那顺布和，E-mail：bnashun@imu.edu.cn；郭娇娇，E-mail：gjjlife@imu.edu.cn

*Sirt1*下调介导间质细胞衰老在镉抑制小鼠睾酮合成中的作用及机制

郑欣梅，熊永伟，谭璐璐，张　进，张旭东，王　华*

（安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理系；环境毒理学安徽高校省级重点实验室；安徽　合肥）

摘要：目的 已知环境镉暴露与睾酮水平降低存在关联，但其机制不明。本研究主要探讨Sirt1下调介导间质细胞衰老在镉抑制小鼠睾酮合成中的作用及机制。**材料和方法** 本研究包含整体动物实验和体外细胞实验。整体动物实验有2部分组成：实验1，为了探讨镉暴露诱导小鼠睾酮合成抑制和细胞衰老的剂量效应，将C57BL/6小鼠分为对照组、低镉组和高镉组，分别通过饮水暴露0、10和100 mg/L氯化镉70天。实验二，为了探讨SIRT1上调对镉诱导小鼠睾酮合成抑制和细胞衰老的保护作用，将C57BL/6小鼠分为对照组、镉处理组、白藜芦醇（SIRT1激活剂）组以及镉加白藜芦醇组，镉组小鼠通过饮水暴露100 mg/L氯化镉70天，白藜芦醇组小鼠通过灌胃每天给予50 mg/kg白藜芦醇处理。细胞实验有2部分组成：实验1，为了探讨镉暴露诱发小鼠睾丸间质瘤细胞（MLTC-1），睾酮降低、细胞衰老和SIRT1下调的时间效应，给予MLTC-1 20 μM镉处理0、6、12和24 h。实验2，为了探讨镉下调小鼠睾丸间质细胞Sirt1 mRNA表达的m6A修饰机制，给予MLTC-1细胞m6A甲基化酶*mettl3* siRNA处理。**结果** 动物实验发现亚慢性镉暴露以剂量依赖方式降低小鼠睾酮以及睾酮合成酶StAR和3β-HSD蛋白水平。并且，镉暴露明显升高衰老相关蛋白p16、p21水平，增加小鼠睾丸间质细胞β-半乳糖苷酶染色强度。相似地，衰老相关分泌表型，如*IL-6*、*IL-8*和*Cxcl-10*等水平在镉暴露小鼠睾丸中也明显升高。以上结果提示，亚慢性镉暴露诱导小鼠睾丸间质细胞衰老并降低睾酮水平。进一步研究发现，镉暴露明显下调小鼠睾丸间质细胞*Sirt1* mRNA和蛋白表达水平。为了探讨SIRT1上调对镉诱导小鼠睾丸睾酮合成抑制和细胞衰老的保护作用，给予小鼠SIRT1激活剂白藜芦醇处理。结果发现，白藜芦醇缓解镉降低的小鼠睾丸睾酮水平，逆转镉下调的小鼠睾丸间质细胞睾酮合成酶表达，恢复镉诱发的小鼠间质细胞衰老。另外，本研究还发现镉暴露升高小鼠睾丸间质细胞甲基化酶METTL3蛋白表达和总RNA m6A修饰水平。并且，*mettl3* siRNA显著恢复镉下调小鼠睾丸间质细胞*Sirt1* mRNA表达。**结论** 环境镉暴露可能通过m6A修饰介导的*Sirt1*下调诱发小鼠间质细胞衰老和睾酮合成抑制。

关键词：镉；细胞衰老；SIRT1；m6A；睾酮

基金项目：国家重点研发计划（2022YFC2702904）；国家自然科学基金（82273664和81973079）

通讯作者：王　华，E-mail：wanghuadev@126.com

孕期慢性应激影响胎盘GC屏障相关基因的DNA甲基化

朱家姝，王　瑞，李　叶，李泓谕，杨德广，沈卓恒，付有娟，刘红娅，关素珍

（宁夏医科大学公共卫生与管理学院，宁夏环境因素与慢性病控制重点实验室；宁夏银川市750004）

摘要：目的 探讨孕期慢性应激是否可影响胎盘GC屏障相关基因的甲基化。**方法** 选用健康未受孕SPF级成年SD大鼠，将雌鼠随机分成对照组和模型组，建立CUMS模型，于孕18天收集胎盘待测。采用

RRBS测序技术进行胎盘全基因组DNA甲基化测序；采用MethylTarget二代测序方法验证差异甲基化位点和区域；使用RT-PCR和Western Blotting方法测定胎盘组织中GC屏障相关基因的mRNA和蛋白表达。采用SPSS26.0软件进行统计分析。**结果** （1）模型组母鼠血浆皮质酮浓度高于对照组，提示母鼠处于应激状态，表明孕期CUMS模型成功建立。（2）RRBS测序结果筛出两子鼠组胎盘GC屏障相关基因FKBP5的11个差异甲基化位点，abcb1a 32个差异甲基化位点和两个甲基化片段。（3）Methyltarget二代测序结果显示，在FKBP5和P-gp（abcb1a）形成26个片段183个CpG位点中有31个CpG位点和5个差异甲基化片段（FKBP5_03、FKBP5_04、abcb1a_12、abcb1a_13、abcb1a_25）存在差异，其中有12个差异甲基化位点和2个差异甲基化片段与RRBS结果一致。（4）模型子鼠组胎盘组织中胎盘GC屏障相关基因11β-HSD2、NR3C1、abcb1b mRNA表达水平低于对照子鼠组，模型子鼠组胎盘组织中11β-HSD2、P-gp和FKBP5的蛋白相对表达水平均低于对照子鼠组（$P<0.05$）。**结论** 孕期慢性应激可引起胎盘GC屏障相关基因abcb1a和FKBP5内含子区域DNA甲基化升高，使子鼠GC屏障相关蛋白的异常表达。

关键词： 孕期慢性应激；GC屏障；DNA甲基化

肠道菌群定植改变在围生期阿莫西林暴露增加成年子代非酒精性脂肪肝易感性中的作用

朱妍妍[1]，董 鑫[1]，王 博[1]，赵 婷[1]，王雯静[2]，李修亮[1]，庹陵晋[1]，钱庆华[1]，郭月月[1]，韩亚鹏[1]，李泽燕[1]，徐德祥[1*]

（1. 安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系和环境毒理学安徽高校省级重点实验室，安徽 合肥；2. 安徽医科大学第二附属医院，安徽 合肥）

摘要：目的 本研究主要探讨围生期阿莫西林暴露是否能够增加子代非酒精性脂肪肝（Nonalcoholic fatty liver disease，NAFLD）易感性，同时探讨肠道菌群定植改变在围生期阿莫西林暴露增加成年子代NAFLD易感性的作用。**材料和方法** 36只C57BL/6孕鼠分为3组，围生期母鼠于孕期（gestational day，GD）第13天GD13-仔鼠出生后（postnatal day，PND）第7天PND7天给予阿莫西林（0，20，200mg/kg/d，溶于生理盐水）灌胃处理。仔鼠4周断乳并自由饮食饮水至12周后，部分仔鼠给予高脂饮食喂养。仔鼠进一步分为对照组、低剂量阿莫西林组、高剂量阿莫西林组、高脂组、低剂量阿莫西林+高脂组、高剂量阿莫西林+高脂组6组。所有仔鼠于高脂饮食5周后进行代谢笼实验。高脂饮食6周后剖杀所有仔鼠，检测血浆TG、TC、HDL、LDL、ALT、AST；组织学评估肝脏脂质沉积情况；肝脏脂质组学检测肝脏脂代谢；肝脏转录组学和RT-PCR检测肝脏脂代谢相关基因表达；盲肠内容物检测粪便胆汁酸代谢；粪便16S rRNA和宏基因组测序检测子代不同时期肠道菌群定植情况；多组学联合分析评价肠道菌群定植改变在盲肠内容物胆汁酸谱及增加NAFLD易感性中的作用。**结果** 组织学分析发现高剂量阿莫西林+高脂组相较于单纯高脂组雄性仔鼠非酒精性脂肪肝病理评分增加，油红O阳性面积增加，肝脏脂质组学显示肝脏甘油酯类含量增加，即NAFLD易感性增加；肝脏转录组学结果发现肝脏脂质代谢相关基因未见明显改变；粪便16S rRNA和宏基因组测序发现阿莫西林暴露组雌雄仔鼠断乳期肠道菌群物种多样性降低、菌群结构改变、益生菌丰度降低并延续至成年期；盲肠内容物胆汁酸检测发现雄性仔鼠粪便胆汁酸组分明显改变；多组学联合分析结果显示肠道菌群定植改变可能部分通过影响肠道胆汁酸代谢增强脂质吸收进而增加子代NAFLD易感。**结论** 围生期阿莫西林暴露可能部分通过影响仔鼠肠道菌群定植介导盲肠内容物胆汁酸组分改变增强肠道脂质吸收进而增加成年子代雄鼠非酒精性脂肪肝易感性。

关键词： 非酒精性脂肪肝易感性；阿莫西林；肠道菌群定植；胆汁酸；围生期

通讯作者： 徐德祥，E-mail：xudex@126.com

大鼠灌胃给予QJBYW生育力与早期胚胎发育毒性试验

邹国发，陈迪新，郭秋平*
（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：目的 对SD大鼠（雌性和雄性）由交配前到交配期直至胚胎着床期（雌性）连续给予QJBYW，评估SD大鼠配子的成熟、交配行为、生育力和胚胎着床前和着床后阶段发育的影响，评价其对大鼠生殖的毒性作用。**方法** 试验共设4组，分别为阴性对照组（纯水）、受试物3个剂量组，分别为9.26、4.63和1.85 g/kg（按体重-体表面积转换折算，约相当于70 kg成人临床日拟用量20 g的5倍、2.5倍和1倍）。雌25只/组，雄24~25只/组。给药容积为20 ml/kg。阴性对照组和受试物各剂量组雄性动物交配前开始连续给药31天，交配后持续给药至处死；雌性动物交配前连续给药14天（含交配当天），交配后持续给药至妊娠第6天（GD6）。受精雌性动物于妊娠第15天（GD15）处死，雄性动物于交配期结束后处死，进行终末检查，同时取血清，受孕雌性动物测定其体内雌二醇（E2）和孕酮（Pg）激素水平。**结果** 试验期间，受试物各剂量组动物雄性和雌性动物活动正常。受试物各剂量体重增长、摄食量、睾丸、附睾、前列腺、包皮腺、精囊腺（包括凝结腺）、子宫、卵巢重量及其脏器系数、精子活动度、数量形态以及生育力、雌性动物的交配成功率、妊娠率、交配成功时间和动情周期、子宫连胎重、胎盘总重、母体增重、平均黄体数、着床率、平均着床数、着床后丢失率、平均活胎数、活胎率、吸收胎率和死胎率、血清雌二醇、孕酮等均未见明显毒理学意义的异常。**结论** QJBYW灌胃给药对SD大鼠的大鼠生育力与早期胚胎发育毒性试验未观察到有害作用的剂量（NOAEL）为9.26g/kg（约相当于成人临床日用量20g等效剂量的5倍）

关键词： 生育力与早期胚胎发育毒性试验；SD大鼠；生殖毒性

通讯作者： 郭秋平，高级工程师/博士，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

T14-0001

通过体内多终点遗传毒性综合评价体系探索双酚AF的遗传毒性

张 静，朱 霞，苗野萩，唐欣瑶，张立实，陈锦瑶
（四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院，四川省食品安全监测与风险评估重点实验室，成都 610041）

摘要：目的 近年来研究表明，由于双酚AF与双酚A具有相似的化学结构，双酚AF可能表现出与双酚A相似甚至更强的雌激素活性和其他毒性。但对双酚AF遗传毒性研究的实验数据仍较缺乏，且尚未查见双酚AF的体内遗传毒性报导。本研究旨在使用体内多终点遗传毒性整合方案（基于流式细胞术的Pig-a基因突变试验+流式微核试验+彗星试验）探索双酚AF 3天急性暴露的体内遗传毒性。**材料和方法** 30只SPF级5-6周龄SD雄性大鼠，体重155±5g，随机分为5组，每组6只。包括N-乙基-N-亚硝基脲（ENU）阳性对照组（40 mg/kg）、PBS溶剂对照组（pH=6.0）、玉米油溶剂对照组、双酚AF低剂量组（0.5 μg/kg）和双酚AF高剂量组（50 μg/kg）。ENU组的溶剂为PBS，双酚AF组的溶剂为玉米油。连续3天经口灌胃，灌胃体积为5 mL/kg.bw/d（玉米油溶剂组）和10 mL/kg.bw/d（PBS溶剂组）。在试验前一天、第14天和第28天取尾静脉血进行Pig-a基因突变试验；在试验前一天和第4天取尾静脉血进行外周血微核试验；在试验第4天取尾静脉血进行外周血彗星试验。每周称量动物的体重。**结果** 整个实验期间无动物死亡，各组动物精神状况、毛发等一般情况未见异常，各组体重均未发现有统计学意义的差异（P>0.05）。Pig-a基因突变试验结果显示双酚AF未诱导成熟红细胞和网织红细胞突变率显著升高（P>0.05）；微核试验结果显示双酚AF未诱导网织红细胞微核率显著变化（P>0.05）；彗星试验结果显示双酚AF高剂量组（50 μg/kg）尾部DNA含量较玉米油溶剂对照组显著升高（P<0.05）。**结论** 双酚AF急性暴露可诱导DNA损伤。未来的研究可以进一步探讨双酚AF 在长期低剂量暴露下的遗传毒性作用及其靶器官毒性。

关键词： 双酚AF 体内遗传毒性Pig-a基因突变试验微核试验彗星试验

T14-0002

Nrf2活化参与发育期砷暴露对肝脏肿瘤的增强效应

武瑞瑞，陈 欣，吴恒超，胡玉鑫，王 刚，王惠惠，杨 蓓，富景奇，皮静波，徐苑苑*
（中国医科大学公共卫生学院，沈阳 110122）
E-mail：yyxu@cmu.edu.cn

摘要：目的 发育期砷暴露增加晚期癌症风险，但机制尚不完全清楚。氧化应激是砷毒性的主要决定因素。本研究拟探讨抗氧化防御关键因子核因子-E2相关因子2（Nrf2）在发育期砷暴露增强肝肿瘤效应中的作用及相关机制。**材料和方法** 将8周龄SPF级野生型C57BL/6小鼠按体重随机分为对照组、0.5 ppm和5 ppm砷暴露组，自由饮水方式染毒5周。而后按雌雄比2∶1合笼，待孕鼠产下仔鼠后采用随机数字表法抽取16-18只雄性后代。仔鼠出生4周后收取肝脏和血液样本，或出生2周后腹腔注射二乙基亚硝胺（DEN，25 mg/kg体重）或等量生理盐水，40周龄时观察肝脏肿瘤情况并收取样本。Nrf2敲除（Nrf2-KO）小鼠按同样方式进行发育期砷暴露和样本采集，以Nrf2野生型（Nrf2-WT）和Nrf2-KO雄性仔鼠为研究对象。通过病理评估，RT-qPCR，免疫印迹等方法对仔鼠肝脏进行分析。**结果** 对发育期砷暴露仔鼠肝脏肿瘤形成分析显示，0.5 ppm和5ppm砷暴露联合DEN处理组仔鼠肝脏表面肿瘤多发性和肿瘤负荷高于单独DEN处理组（$P<0.05$）。HE染色结果显示，DEN处理组仔鼠肝脏发生多处病变，肿瘤组织与邻近正常肝组织间边界明显，且5ppm砷暴露联合DEN处理组仔鼠肝脏肿瘤病灶中呈现弥漫性脂肪泡。Nrf2-KO仔鼠肝脏表面肿瘤多发性和肿瘤负荷均低于Nrf2-WT小鼠（$P<0.05$）。免疫组化染色结果显示，0.5 ppm和5ppm砷暴露联合DEN处理组仔鼠肝脏增殖细胞核抗原（PCNA）和甲胎蛋白（AFP）表达水平高于单独DEN处理组（$P<0.05$）。同时，仔鼠肝脏肿瘤NRF2核蛋白水平高于非肿瘤肝组织（$P<0.05$）。与对照组相比，4周龄发育期砷暴露组Nrf2-WT仔鼠肝脏中Nrf2及下游基因表达升高（$P<0.05$），Nrf2-KO仔鼠上述指标与对照组相比无显著变化。对小鼠DEN代谢和DNA损伤分析显示，Nrf2激动剂CDDO联合DEN处理组小鼠尿中DEN代谢物乙醛含量、肝脏中O6-乙基-2-脱氧鸟苷加合物和γ-H2AX表达水平均高于单独DEN处理组（$P<0.05$）。**结论** 我们的数据表明，发育期砷暴露增强DEN诱导的肝肿瘤的发生依赖于Nrf2活化，这可能与Nrf2在DEN代谢活化中的作用有关。我们的研究结果至少部分揭示了发育期砷暴露导致癌症易感性增加的机制。

关键词： 无机砷；Nrf2；肝脏；癌症

基金项目： 国家自然科学基金面上项目（82022063，81573187，8183009）；辽宁省科技厅重点研发计划指导计划项目；辽宁省“兴辽英才计划”项目（XLYC1807225）

T14-0003

氢醌诱导的恶性转化细胞中Hsa_circ_0001944通过调节PARP1的表达调节细胞周期并诱导凋亡

钟伯桓[1]，凌晓璇[1]，孟锦雪[1]，韩雅丽[1]，张海桥[1,2]，刘志东[3]，陈家隆[1,4]，张 贺[1,4]，潘志杰[1]，刘林华[1,4]
（1. 广东医科大学公共卫生学院环境医学重点实验室，东莞523808；2. 东莞市妇幼保健医院，东莞 523120；3. 惠州职业病预防医院，惠州 516001；4. 广东医科大学公共卫生学院预防医学系，东莞 523808）

摘要： 氢醌（HQ）是苯的主要代谢产物之一，是一种已知的致癌物，可诱导基因表达异常、细胞周期和细胞生长紊乱。然而，其分子机制尚不清楚。环状RNA（circRNAs）是一种非编码RNA（ncRNAs），在生物过程中具有多种功能。在本研究，通过qRT-PCR检测，在30例白血病患者以及HQ诱导的恶性转化TK6细胞（HQ-TK6）中hsa_circ_0001944的表达上调。利用慢病毒介导的RNA干扰（RNAi）建立了hsa_circ_0001944沉默HQ-TK6细胞（sh1944）及其对照细胞（shNC）。用细胞计数试剂盒（CCK-8）和流式细胞术分

别检测hsa_circ_0001944沉默对HQ-TK6细胞生长和细胞周期的影响。Hsa_circ_0001944沉默抑制HQ-TK6细胞的生长并阻滞细胞周期。流式细胞仪检测结果显示，sh1944组与shNC组相比，G1期和S期细胞增加，凋亡率增加。同时，Western Blotting结果显示，DNA损伤（γ-H2AX）水平增加，从而导致细胞周期阻滞。Ki67、磷酸化Rb、H-Ras、PARP1、Bcl2、Bax、LC3A/B蛋白水平均下降。总之，hsa_circ_0001944通过调节PARP1表达调节细胞周期和细胞凋亡，从而抑制细胞生长。

关键词： 凋亡；细胞周期；hsa_circ_0001944；氢醌；PARP1

基金项目： 广东省自然科学基金（No. 2018A0303130240，2020A151501204，2020A1515110614）；广东医科大学冲补强项目（4SG21021G）

通讯作者： 刘林华，E-mail：linhua-liu@gdmu.edu.cn

T14-0005

Genetic damage and potential mechanism exploration under different air pollution patterns by multi-omics

Jiayu Xu[a], Qiaojian Zhang[a], Zekang Su[a], Tiancheng Wang[b], Xuetao Wei[c], Zhangjian Chen[a], Guiping Hu[d], Guang Jia[a]

(a. Department of Occupational and Environmental Health Sciences, School of Public Health, Peking University, Beijing 100083, China; b. Department of Clinical Laboratory, Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China; c. Department of Toxicology, School of Public Health, Peking U niversity, Beijing 100083, China; d. School of Medical Science and Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China)

Abstract: Outdoor air pollution was classified as carcinogenic to humans (Group 1) for lung cancer. DNA damage was an important first step in the process of carcinogenesis, and could also be induced by air pollution. In this study, intratracheal instillation and real-time air exposure system were combined to establish SHP (short-term high-level $PM_{2.5}$) and LLOP (long-term low-level $PM_{2.5}$ and O_3) exposure pattern, respectively. Hierarchical levels of genetic biomarkers were analyzed to explore DNA damage effects in rats. Representative DNA repair genes from different repair pathways were selected to explore the relative expression levels. The methylation level of differentially expressed repair genes was also determined. Besides, miRNA sequencing and non-targeted metabolomic analysis were performed in rat lungs. KEGG and multi-omics analysis were used to explore the potential mechanism of genetic damage under different air pollution patterns. We found that LLPO exposureinduced DSBs and chromosome damage. SHP exposure could induce DSBs and DNA oxidative damage, and the effects of genetic damage under this pollution pattern could be repaired by natural repair. Repair genes involved in two pattern were different. SHP exposure could induce higher methylation levels of RAD51, which might be a potential epigenetic mechanism for high-level $PM_{2.5}$ induced down-regulated expression of RAD51 and DSBs. Besides, 29 overlapped alterations in metabolic pathways were identified by metabolomic and miRNA sequencing, including purine metabolism and pyrimidine metabolism, etc after LLPO exposure. Differential miRNAs expression in lung tissue were associated with apoptosis, DNA damage and damage repair. We concluded thatunder different air pollution patterns, DNA damage biomarkers and activated target of DNA damage repair network were both different. The genetic damage effect caused by high-level short-term PM2.5 can be alleviated by natural repair. We provided possible mechanisms by multi-omics which could explain the increased carcinogenic risk caused by air pollution.

Key words: Air pollution; Genetic damage; Methylation; MiRNA; Metabolomics

Corresponding author: Guang Jia, E-mail address: jiaguangjia@bjmu.edu.cn

T14-0006

LncRNA COX10-AS1调控EMT改变介导NNK诱导Beas-2B细胞恶性转化

孙 萱，张 楗，吴义博，李升升，王诺妍，吴建军*
（广州医科大学公共卫生学院，广东 广州 511436）

摘要：目的 烟草特异致癌物NNK广泛存在于人类生活环境，国际癌症研究机构IARC将其评价为人类确认致癌物，但其致肺癌的发生机制尚未完全阐明。本研究旨在探讨lncRNA COX10-AS1对NNK诱导恶性转化Beas-2B细胞（Beas-2B-NNK）上皮-间质转化（Epithelial-mesenchymal transition，EMT）进程的调控作用，为揭示lncRNA介导NNK致肺癌发生的作用与机制提供新的思路和科学数据。**材料和方法** 采用细胞划痕实验、Transwell迁移实验检测细胞迁移能力改变；Transwell侵袭实验检测细胞侵袭能力的改变；siRNA技术干扰恶转细胞β-catenin、lncRNA COX10-AS1的表达；应用Wnt/β-catenin信号通路激动剂LiCl激活Wnt/β-catenin信号通路；qRT-PCR检测相关基因mRNA表达水平；Western-blotting和免疫荧光实验（IF）检测相关基因蛋白表达水平，从而探讨lncRNA COX10-AS1介导NNK诱导Beas-2B细胞恶性转化的分子机制；采用SPSS 22.0统计软件进行相关统计学分析。**结果** 1. 与对照组相比，NNK诱导恶性转化Beas-2B细胞的迁移和侵袭能力显著增强，EMT相关基因E-cadherin表达下调，N-cadherin和Vimentin表达上调（$P<0.05$）。Western-blotting和IF实验显示恶转细胞β-catenin蛋白的核内表达上调，同时Wnt/β-catenin信号通路下游靶蛋白c-MYC、Cyclin D1的表达上调（$P<0.05$）；2. 干扰转化细胞β-catenin的表达后，Wnt/β-catenin信号通路受到抑制，同时Beas-2B-NNK细胞的迁移和侵袭能力减弱，E-cadherin表达上调，N-cadherin和Vimentin表达下调（$P<0.05$）；3.QRT-PCR结果显示lncRNA COX10-AS1在Beas-2B-NNK细胞中呈显著性高表达（$P<0.05$）。采用siRNA技术下调lncRNA COX10-AS1的表达后，转化细胞的迁移和侵袭能力减弱，E-cadherin表达上调，N-cadherin和Vimentin表达下调，另外Wnt/β-catenin信号通路也受到了抑制（$P<0.05$），而当我们同时给予20mmol/L的LiCl处理后，lncRNA COX10-AS1下调后对Beas-2B-NNK细胞EMT表型以及迁移、侵袭的抑制作用得到明显的回复（$P<0.05$）。**结论** LncRNA COX10-AS1可能通过激活WNT/β-catenin信号通路促进细胞迁移、侵袭能力及EMT进程，从而介导NNK诱导Beas-2B细胞恶性转化。

关键词： NNK；环境化学物致癌；LncRNA；上皮-间质转化；WNT/β-catenin信号通路

通讯作者： 吴建军，E-mail：wooland@126.com

T14-0007

LncRNA OLMALINC调控细胞周期促进NNK诱导的Beas-2B恶性转化细胞增殖迁移和侵袭

张 楗，孙 萱，吴义博，王诺妍，李升升，吴建军*
（广州医科大学公共卫生学院，广东 广州 511436）

摘要：目的 4-（甲基亚硝胺）-1-（3-吡啶）-1-丁酮（NNK）是公认的特异性烟草致癌物，但其致肺癌发生机制还不清楚。众多研究证实长链非编码RNA（Long non-coding RNA，lncRNA）参与调控了多种癌症的发生发展。本研究以低剂量NNK诱导的Beas-2B恶性转化细胞（命名为Beas-2B-NNK细胞）为模型，探讨LncRNA OLMALINC在NNK致肺癌中的作用和机制。 **材料和方法** 高通量测序筛选出Beas-2B-NNK细胞中异常高表达的LncRNA OLMALINC。qPCR确定其在Beas-2B-NNK细胞的表达水平；使用siRNA敲减lncRNA OLMALINC表达，通过CCK-8实验、细胞划痕实验、平板克隆实验、EDU实验、软琼脂克隆形成实验、Transwell迁移实验、Transwell侵袭实验、流式细胞术检测细胞增殖、迁移、侵袭能力和周期的变化；

qPCR和Westernblot检测G0/G1期基因mRNA和蛋白水平的变化。**结果** 与Beas-2B细胞对照相比，qPCR发现lncRNA OLMALINC在Beas-2B-NNK细胞显著高表达，差异有统计学意义（$P<0.05$）；与对照组相比，siRNA敲减lncRNA OLMALINC后，CCK-8实验、EDU实验、平板克隆实验、软琼脂克隆形成实验显示细胞活性和增殖能力降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）；细胞划痕实验、Transwell迁移实验、Transwell侵袭实验分别显示细胞迁移、侵袭能力降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）；流式细胞术检测细胞周期显示，敲减lncRNA OLMALINC后G0/G1期比例升高，S期比例下降，出现G0/G1期阻滞，差异有统计学意义（$P<0.05$）。与Beas-2B细胞对照相比，qPCR和Westernblot检测结果显示Beas-2B-NNK细胞G0/G1期周期相关基因CyclinD1、CDK4、pRb、E2F1mRNA和蛋白表达水平升高，P21mRNA和蛋白表达水平下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）。敲减lncRNA OLMALINC后CyclinD1、CDK4、pRb、E2F1mRNA和蛋白表达水平下降，P21mRNA和蛋白表达水平升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。**结论** LncRNA OLMALINC在Beas-2B-NNK细胞中显著高表达，可能通过调控P21-CyclinD1/CDK4-pRB-E2F1轴，使细胞加速进入S期，促进Beas-2B-NNK细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

关键词： NNK；细胞周期；恶性转化；lncRNA；环境致癌物

通讯作者： 吴建军，E-mail：wooland@126.com

T14-0008

基于遗传毒性微核实验两个品系小鼠的比较

冯玉茹，袁　芳，曹倩倩，郭湘楠，谭　莹*

（1. 云南白药集团创新研发中心；2. 药物研究所药物安全性评价中心，云南　昆明　650111）

摘要：目的 以哺乳动物骨髓细胞微核实验为方法学，分别对KM小鼠和ICR小鼠的骨髓自然微核发生率和给予阳性药的微核发生率进行比较研究。**方法** 将80只KM小鼠及80只ICR小鼠均分为空白对照组（0.9%NaCl）和阳性对照组（40 mg·kg^{-1}环磷酰胺），每组40只、全雄。采用腹腔注射法分别给药1次，给药后46~48h处死小鼠，取胸骨骨髓涂片、固定、染色，油镜下观察2000个嗜多染红细胞（PCE），计算微核率（MNF）‰，同时计数300个红细胞，分类为嗜多染红细胞（PCE）和正染红细胞（NCE），计算PCE/（NCE+PCE）比值。**结果** 空白对照组KM小鼠MNF为（0.99±0.10）‰，PCE/（NCE+PCE）比值为0.55±0.01；ICR小鼠为（0.25±0.05）‰及0.51±0.01，与KM小鼠比较均有显著性差异（$P<0.01$）；阳性对照组KM小鼠MNF为（8.97±0.53）‰，PCE/（NCE+PCE）比值为0.46±0.01；ICR小鼠为（13.00±0.77）‰及0.43±0.01，与KM小鼠比较均有显著性差异（$P<0.01$）。 **结论** KM小鼠骨髓嗜多染红细胞的自然微核发生率（MNF）高于ICR小鼠（$p<0.01$）；给予40 mg·kg^{-1}环磷酰胺时KM种小鼠骨髓嗜多染红细胞的微核发生率（MNF）低于ICR小鼠（$p<0.01$），因此本研究认为，基于遗性毒性实验哺乳动物骨髓细胞微核实验，ICR小鼠敏感性更高，实验中ICR小鼠优选于KM小鼠。

关键词： KM小鼠；ICR小鼠；骨髓微核实验；微核（MN）；嗜多染红细胞（NCE）；骨髓嗜多染红细胞（PCE）；环磷酰胺

T14-0009

RBX1蛋白靶向KU70在有丝分裂期和间期对DNA损伤修复的调控作用机制研究

熊艳艳，朱雪芹，文思慧，谢 颖
（湖南师范大学分子流行病学湖南省重点实验室，长沙 410078）

摘要：目的 KU70蛋白是DNA损伤修复的关键蛋白，研究探索RBX1蛋白通过靶向KU70在有丝分裂期和细胞间期，在DNA损伤修复和维持基因组稳定性中的重要作用及其机制。**材料与方法** 博来霉素（Bleo）染毒HeLa细胞致DNA双链断裂损伤（DSB）后，观察不同浓度和时间Bleo染毒对KU70蛋白水平的影响。TDR法将HeLa细胞同步化至不同的细胞周期，检测KU70的蛋白水平和泛素化修饰水平。免疫荧光法观察KU70蛋白在有丝分裂期中心体、纺锤体和中间体等细胞器的定位。RBX1蛋白经siRNA干扰后，对KU70蛋白水平和泛素化修饰的影响，在有丝分裂期对KU70蛋白在不同亚细胞器的招募和染色体正确分离，多核细胞和蝴蝶核细胞形成，和细胞生存的影响。**结果** 4μM Bleo处理细胞1h后即出现明显的DSB损伤，KU70蛋白在染毒后1h增加，3h后蛋白水平下降，RBX1蛋白先减少后增加，呈现负相关趋势。TDR法将细胞同步化至不同的细胞周期，Bleo染毒3h后KU70蛋白降低主要发生在G0/G1期细胞中。KU70蛋白与CRL E3泛素连接酶的CUL4亚基存在交互作用，RBX1通过干预CUL4的类泛素化修饰调节KU70的泛素化降解。敲低RBX1后，KU70的泛素化修饰减少，有丝分裂期KU70在纺锤体的募集减少，进而影响染色体正确分离，多核细胞和蝴蝶核细胞比例增加。细胞克隆和CCK-8实验结果表明，与Bleo染毒细胞相比，敲低RBX1联合Bleo处理后细胞生存率进一步下降。**结论** 研究首次发现，KU70蛋白在有丝分裂期参与纺锤体组装和染色体正确分离，在有丝分裂间期（G0/G1期）介导KU70蛋白从DSB末端解离，便于后续NHEJ修复蛋白的结合。RBX1蛋白通过调节CRL E3泛素连接酶活性，调控KU70蛋白在有丝分裂期和细胞间期的功能，参与DNA损伤修复和维持基因组稳定性。

关键词： RBX1蛋白；类泛素化修饰；KU70蛋白；有丝分裂；染色体分离；NHEJ修复

通讯作者： 谢 颖，E-mail：xieying@hunnu.edu.cn

T14-0010

药物临床前啮齿动物致癌试验肿瘤合并的基本原则和标准简介

钱 庄，张亚群，陈晓俊，吕建军
（益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通 226133）

摘要： 一种化学物质或药物的潜在致癌作用主要是通过啮齿动物（主要是大鼠和小鼠）的长期致癌试验结果来确定的。啮齿动物致癌试验中，一些常见肿瘤的发生发展是从增生性病变经良性肿瘤进展到恶性肿瘤的过程，而且啮齿动物有些重要肿瘤性病变是全身性的，例如淋巴瘤和白血病。自建立致癌试验评价体系以来，毒理学家及病理学家经常面对的问题是如何评价肿瘤的统计学意义和生物学意义，能否将发生在同一器官或组织的肿瘤亦或是将不同器官或组织中但形态学相似的肿瘤的发生率进行合并。合并与否均可能会影响到一些化学物质或药物的致癌试验评价结果。下面介绍肿瘤合并分析的一些基本原则和合并标准。

1 肿瘤合并的基本原则：

①良性和恶性肿瘤的区分不是必须的。②细分并独立分析同一细胞来源但分化及形态不同的肿瘤并不会更加有效。③判断增生性病变经良性肿瘤向恶性肿瘤的转变较困难。④肿瘤的良、恶性与其有害作用间的关联不明显。

2 NTP推荐的肿瘤合并标准包括以下内容：

①大量证据表明，在具有相同组织形态的肿瘤中，良性肿瘤可进展为恶性肿瘤。因此，如果致癌试验结果表明肿瘤有进一步进展趋势则显得尤其重要。②增生性病变可以单独作为支持肿瘤合并的证据，当区分增生与良性肿瘤的标准不明确（即交界性病变），或当这种区分主观性较强且不能反映某一特定病变的生物学意义时，更支持进行合并。③大多数具有相同组织形态类型的肿瘤可以合并，即使其发生在不同的解剖学部位。④不同形态分类肿瘤的组织发生具有可比性时，可以进行肿瘤合并。

本文介绍了NTP推荐的啮齿动物致癌试验肿瘤合并的基本原则，以及肿瘤合并标准。在药物临床前安全性评价啮齿动物致癌试验中确定某一化学物质或药物是否具有潜在致癌性的“证据权重”时，必须考虑多种因素。这些因素包括剂量-反应关系、检测指标是否可变、对肿瘤潜伏期的影响和肿瘤类型。最有力的证据便是诱发有剂量相关性的多种恶性肿瘤，以及致使相应潜伏期缩短。通过合并和单独评估恶性肿瘤和良性肿瘤，人们能够更清楚地确定某一化学物质或药物的潜在致癌性。原则上，我们可以将科学上具有合理性的任何一组肿瘤或任何部位发生的肿瘤合并在一起分析。但是良性和恶性肿瘤的数据必须根据具体情况具体分析的原则进行评估，以便在定量风险评估中确定最合适的分析方法。

关键词：啮齿动物；致癌试验；肿瘤；合并

通讯作者：钱　庄，E-mail：zqian@innostar.cn

T14-0011

CYP酶激活卡马西平代谢活化与遗传毒作用研究

王宇健，陈志鸿，杨宗英，谢嘉怡，刘云岗

（南方医科大学公共卫生学院毒理学系，广州市广州大道北1838号　510515）

摘要：目的　探究常用的抗癫痫药物卡马西平（CBZ）在人CYP酶作用下能否代谢活化并诱发遗传损伤及其机制。**方法**　利用重组表达不同CYP酶的V79衍生细胞系、内源性表达多种CYP酶的人肝细胞瘤（C3A）细胞系以及各种CYP酶表达相对缺乏的HepG2细胞系，测试CBZ诱发细胞毒性和微核形成；为探明CBZ所致遗传毒性的相关代谢活化酶，采用CYP酶广谱抑制剂ABT、CYP2B6抑制剂Ticlopine以及核受体PXR、CAR及AhR的激动剂RIF、CICTO、PCB126对不同细胞给以共暴露或预处理，分析其对CBZ所致微核效应的影响；并用着丝粒蛋白B（CENP-B）免疫荧光染色分析卡马西平诱发微核是否含着丝粒；通过免疫印迹试验（Western Blot）检测CBZ处理后的C3A细胞及HepG2细胞中γ-H2AX蛋白表达量的变化。**结果**　CBZ明显诱发表达人CYP2B6的V79细胞微核形成（24小时，两个细胞周期），但其对表达其他多种CYP酶的V79细胞无明显作用。C3A细胞在CBZ暴露72小时（两个细胞周期）后，呈现显著的微核效应，且该效应具有明显的浓度依赖性（阈浓度10 μM），进而分别通过ABT和Ticlopine共暴露处理后，C3A细胞中的微核效应可被明显阻断。而HepG2细胞经CICTO预处理，CBZ可明显诱发微核形成（阈浓度10 μM）；经RIF预处理则CBZ所致的微核效应仅在最高实验浓度（40 μM）观察到；PCB126预处理的细胞未呈现CBZ所致的微核效应。免疫荧光染色结果显示CBZ选择性诱发CENP-B阴性的微核，CENP-B阳性的微核数无明显变化；Western Blot实验结果显示CBZ可使C3A细胞中γ-H2AX蛋白表达量显著增强，而HepG2细胞中γ-H2AX蛋白表达量无明显变化。**结论**　CBZ可经CYP2B6代谢活化并产生遗传毒性，所致染色体损伤机制为单纯的致断裂作用。

关键词：致断裂；CYP酶；CBZ；代谢活化

通讯作者：刘云岗，E-mail：yungliu@126.com

T14-0012

长期镉暴露人支气管上皮细胞代谢酶表达变化

缪素婷，陈浩文，梁祖星，钟桦骏，冯梦雪，杨 萍
（广州医科大学公共卫生学院，广东 广州 511436）

摘要：目的 研究重金属镉在长期暴露于人支气管上皮细胞（BEAS-2B）过程中，代谢酶相关基因（CYP450 1A1、CYP450 1B1、CYP4502C18、CYP450 3A4、GSTα2、GSTα3、GSTo1、GSTT1）的表达情况。**材料与方法** 首先采用MTT实验方法，用0、1.25、2.5、5、10、20、30、40、80 μmol/L $CdCl_2$处理人支气管上皮细胞（BEAS-2B）24、48、72h，检测细胞生长抑制率并计算其IC50；选用20 μmol/L $CdCl_2$对BEAS-2B细胞进行长期染毒，期间进行软琼脂集落形成实验验证细胞非锚定依赖性生长能力，并选取暴露组第16代、32代、64代细胞与对照组一起利用qRT-PCR法进行代谢酶相关基因mRNA表达情况检测。**结果** MTT实验结果显示，$CdCl_2$在测试浓度内24 h细胞抑制不明显，染毒48 h的IC50值为43.918 μmol/L，染毒72 h细胞存活率均低于50%，根据MTT结果及前期预实验结果，选20 μmol/L $CdCl_2$进行长期暴露；软琼脂集落形成实验结果显示，$CdCl_2$暴露组第64代与对照组之间于细胞集落数均存在显著性差异（$P<0.05$），且随着$CdCl_2$暴露时间的延长，细胞集落数也在增长（$P<0.05$），即BEAS-2B细胞非锚定依赖性生长能力增强。qRT-PCR实验法结果显示，代谢酶CYP450 1A1基因在CdCl2暴露组中表达高于对照组，且第64代与对照组该基因表达量有显著性差异（$P<0.05$），CYP450 1B1与CYP450 2C18基因在$CdCl_2$暴露组第64代与对照组有显著性差异（$P<0.01$）；代谢酶GSTα2基因在$CdCl_2$暴露组中表达高于对照组，但$CdCl_2$暴露第64代的表达低于对照组，GSTα3基因在$CdCl_2$暴露组中表达低于对照组且有显著性差异（$P<0.01$），此外，$CdCl_2$暴露组的GSTo1基因表达量均高于对照组（$P<0.05$）。**结论** 长期镉暴露可以促进人支气管上皮细胞（BEAS-2B）非锚定依赖性生长能力增强，代谢酶可能参与这个过程。

关键词： 镉；代谢酶；人支气管上皮细胞（BEAS-2B）

通讯作者： 杨 萍，E-mail：50511048@qq.com

T14-0013

*MALAT1*的m6A修饰经由IGF2BP3/miR-26a-5p级联调控HBx相关肝细胞癌的机制研究

杜泽邦，韩 暾，蔡雨欣，沈雨诗，谢雨鑫，张 蕾，林忠宁，林育纯*
（分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室，厦门大学公共卫生学院，厦门 361102）

摘要：目的 长非编码RNA（lncRNA）在环境因素诱导肝脏致癌作用中发挥调节作用，功能性lncRNA及其级联靶点的调控机制是研究的热点。本研究筛选乙肝病毒（HBV）感染及其x蛋白（HBx）表达诱导原发性肝癌（HCC）相关的lncRNA，探讨经由表观遗传级联通路介导细胞转归的调控机制。**材料和方法** HBx转基因（HBx-Tg）小鼠肝脏进行转录组分析，并采用GEO数据库联合筛选验证；采用HepG2.2.15和HepG2-Tet-ON-HBx细胞构建HBV感染/HBx表达细胞模型进行体外试验，采用HBx-Tg小鼠和裸鼠移植瘤进行体内试验。**结果** （1）转录组数据联合筛选获得*MALAT1*作为目的lncRNA，在HBx表达细胞和肝脏、HBV感染人群中高表达。（2）反义核酸（ASO-MALAT1）敲低HBx表达细胞中*MALAT1*，细胞增殖迁移侵袭能力显著降低；dCas9-*MALAT1*高表达*MALAT1*则反之。（3）HBx表达细胞中m6A总体甲基化水平升高，MeRIP发现*MALAT1*甲基化水平升高，METTL3、METTL14和WTAP与*MALAT1*存在互作，筛选并鉴定出*MALAT1*特异性m6A位点为6021和7265。（4）筛查并验证获得*MALAT1*相关的RNA结合蛋白（RBP）为IGF2BP3，可提高*MALAT1*的稳定性，经由其KH3结构域与*MALAT1*互作。（5）IGF2BP3显著影响

*MALAT1*的核/质比例，且IGF2BP3将*MALAT1*定位于SG上。(6)发现*MALAT1*与miR-26a-5p结合，影响细胞功能；裸鼠体内试验中发现ASO-*MALAT1*组肿瘤重量和体积明显减小。**结论** 发现并阐明*MALAT1*的m6A修饰经由IGF2BP3稳定并转运到胞质作为miR-26a-5p的分子海绵，参与HBV/HBx相关HCC表型调节的分子机制；为筛查环境因素致肝癌进程中特异性lncRNA及其m6A-RBP-miR表观遗传调控级联的动态生物标志和靶向干预提供新的实验依据。

关键词： lncRNA的m6A修饰；MALAT1；RNA结合蛋白IGF2BP3；HBx相关HCC

基金项目： 国家自然科学基金面上项目(Nos. 81874272、82073588)

通讯作者： 林育纯，E-mail：linych@xmu.edu.cn

T14-0014

选择性多聚腺苷酸化相关遗传变异与膀胱癌发病风险的关联性研究

刘　婷，谷晶晶，陆　凯，刘晗婷，郑　瑞，王美林，张正东*

(南京医科大学公共卫生学院，南京　211166)

摘要：目的 异常的选择性多腺苷酸化(alternative polyadenylation，APA)事件在肿瘤发生发展中起着重要作用，但APA相关遗传变异与膀胱癌易感性的关系目前尚不完全清楚。**材料和方法** 从SNP2APA数据库中获取膀胱癌中具有选择性多聚腺苷酸化数量性状(APA quantitative trait loci，apaQTL)效应的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms，SNPs)位点。本研究收集了580名膀胱癌病例和1，101名健康对照用于病例对照研究，采用Logistic回归模型计算相对危险度(odds ratio，OR)及95%置信区间(95% confidence interval，95%CI)，并对年龄、性别和吸烟状况进行了调整，分析apaQTL SNPs与膀胱癌发病风险之间的关系。基于多个公共数据库(TIMER 2.0、HPA、CCLE、TCGA、GEO等)探讨效应基因的表达情况并预测其生物学功能，并采用3′aQTL数据库和eQTLGen数据库分别用于apaQTL和eQTL(expression quantitative trait loci)分析。**结果** 基于全基因组水平的apaQTL分析共计鉴定了17，955个apaQTL SNPs，其中顺式apaQTL中有17，072个SNPs，反式apaQTL中有883个SNPs。与反式apaQTL SNPs相比，顺式apaQTL SNPs主要富集于下游、调控区、非编码区和3′UTR区。通路富集、拷贝数变异和免疫浸润研究发现，受apaQTLs影响的效应基因与癌症信号通路、高突变负荷和免疫浸润密切相关。关联分析显示，基因X中的rs344X、基因Y中的rs268Y和基因Z中的rs115Z均与膀胱癌风险增加显著相关。分层分析显示，在从不吸烟亚组中，rs344X的CA/AA基因型的膀胱癌发病风险显著高于CC基因型；在老年人(年龄>65)亚组中，rs344X的CA/AA基因型和rs268Y的CT/TT基因型的膀胱癌发病风险显著高于其CC基因型；在男性亚组中，rs268Y的CT/TT基因型和rs115Z的CG/GG基因型的膀胱癌发病风险显著高于其CC基因型。联合三个基因的累积效应显示膀胱癌风险显著增加，与风险等位基因的数量呈正相关(P=7.18×10^{-9})。基因功能注释提示，对膀胱癌细胞增殖影响最为显著的是基因Y，其膀胱癌组织中的表达高于邻近组织，且与免疫细胞浸润密切相关。此外，rs268Y的T等位基因与基因Y较短的3′UTR相关，并能提高基因Y的表达水平，在膀胱癌中表现出显著的apaQTL和eQTL效应。**结论** 我们的研究结果揭示了遗传变异在选择性多聚腺苷酸化中的重要作用，并为进一步阐释遗传变异和膀胱癌发病风险的分子机制提供新的思路。

关键词： 选择性多聚腺苷酸化；遗传变异；膀胱癌；apaQTL

通讯作者： 张正东，E-mail：zdzhang@njmu.edu.cn

2-甲基呋喃致大鼠肝纤维化的机制研究

曹 莉，苗野萩，刘雨菲，张 静，唐欣瑶，霍 娇，张立实，陈锦瑶
（四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院，食品安全监测与风险评估
四川省重点实验室，四川 成都 610041）

摘要：目的 探究2-甲基呋喃（2-MF）致大鼠肝纤维化的作用及其机制。**方法** 将35只SD大鼠随机分为7组，每组5只。5个主实验组：2-MF极低、低、中、高剂量组（0.16、0.625、2.5、10 mg/kg.bw）和玉米油溶剂对照组；2个卫星组：2-MF恢复组（10 mg/kg.bw）、玉米油恢复组。灌胃染毒120天，卫星组停药后恢复15天。在D4、D30、D60、D90时取大鼠尾静脉血行ROS试验。在D120和D135时分别处死主实验组和卫星组，取外周血和肝脏行ROS试验，取肝脏称量脏器系数。作HE染色检查肝脏病理形态学改变，作Masson染色检查肝纤维化情况。使用Metavir评分系统对肝脏病理组织学损伤和纤维化情况进行分析。采用TMT标记定量蛋白质组学，结合AOP Wiki数据库中已有的肝纤维化AOP路径，对与遗传毒性损伤途径相关的DNA双链损伤标志物γ-H2AX、DNA氧化损伤标志物8-ohdg与APE1以及Nrf2进行免疫组化检测验证。**结果** D120时，2-MF高剂量组大鼠肝脏的相对重量与玉米油对照组相比显著增加（$P<0.05$），恢复15天后，2-MF恢复组大鼠肝脏相对重量有所下降，与玉米油恢复组相比无统计学差异（$P>0.05$）。ROS检测结果，在各时间点各组外周血ROS水平无统计学差异（$P>0.05$）。D120时，2-MF高剂量组肝脏ROS水平与其他组相比有所升高。D135时，2-MF恢复组肝脏ROS水平与玉米油恢复组相比有所升高，但差异无统计学意义（$P>0.05$）。HE染色结果，与玉米油组相比，各2-MF剂量组大鼠肝脏组织病变损伤较明显，随剂量升高，损伤程度加重。各剂量组大鼠肝脏均出现纤维化，Metavir病理组织学评分随剂量的增加而升高。恢复期后，2-MF恢复组大鼠肝脏的Metavir病理组织学评分高于玉米油恢复组。肝脏Masson染色结果，D120时，玉米油组大鼠肝脏未见明显异常；各2-MF剂量组大鼠肝脏Metavir评分随着剂量的增加而升高。恢复期后，2-MF恢复组大鼠肝脏的Metavir评分仍高于玉米油恢复组。结合TMT标记蛋白质组学差异蛋白结果和AOP Wiki数据库中已有的肝纤维化AOP路径，对遗传毒性损伤相关蛋白免疫组化结果表明，γ-H2AX、8-ohdg、APE1和Nrf2的表达水平均呈剂量依赖性升高，其中8-ohdg与APE1在2-MF中、高剂量组的表达水平显著高于玉米油组（$P<0.05$）。**结论** 在大鼠肝纤维化AOP中，2-甲基呋喃可能通过遗传毒性途径，引起肝细胞损伤/调亡，最终致大鼠肝纤维化。

关键词： 2-甲基呋喃；肝纤维化；遗传毒性；AOP；蛋白组学；蛋白免疫组化

谷氨酰胺代谢在砷诱导人支气管上皮细胞恶性转化中的作用与机制

房 昕，阮益辉，郭庭玥，胡 昱，王雪宁，于 迪，陈 晨，王惠惠，皮静波，徐苑苑*
（中国医科大学公共卫生学院慢病环境基因组学研究室，沈阳 110122）

摘要：目的 探索SLC7A11介导的代谢重编程在无机砷诱导细胞恶性转化过程中的作用与机制，为砷致肺癌的防治策略提供新线索。**材料和方法** 人支气管上皮（BEAS-2B）细胞以环境相关低剂量0.1 μM亚砷酸钠处理38周构建砷恶性转化细胞模型，进行非靶代谢组学检测，通过生物信息学分析筛选显著差异的代谢物及通路。给予细胞谷氨酰胺剥夺培养或SL7A11抑制剂处理，通过划痕愈合和CCK8实验评估细胞增殖能力。应用RT-qPCR和Western blot检测谷氨酰胺代谢通路代谢酶表达和细胞增殖调控蛋白表达。**结果** 代谢组结果显示，长期无机砷暴露显著改变了BEAS-2B细胞的代谢特征，71个代谢产物发生显著变化（$P< 0.05$），KEGG富集分析发现谷氨酰胺代谢通路变化最为显著。谷氨酰胺剥夺条件下，砷恶性转化BEAS-2B细胞的划痕愈合速度、CCK8实验吸光度及p-ERK蛋白表达均显著减弱，差异有统计学意义（$P< 0.05$）；对照组细胞则未出现上述指标显著变化。对谷氨酰胺代谢相关代谢酶检测发现，砷恶性转化细胞SLC7A11的mRNA和蛋白升高最为显著，差异有统计学意义（$P<0.05$）。对无机砷暴露12、18、24、30和36

周的BEAS-2B细胞进行检测发现，随砷暴露时间的延长SLC7A11的mRNA和蛋白呈时间依赖性增加，差异有统计学意义（$P<0.05$）。与对照组相比，用柳氮磺胺吡啶抑制SLC7A11后减弱砷恶性转化细胞的增殖能力（$P<0.05$）。**结论** 长期无机砷暴露通过上调SLC7A11诱导人支气管上皮细胞谷氨酰胺代谢增强，进而促进细胞增殖。

关键词：砷；恶性转化；谷氨酰胺代谢；SLC7A11；细胞增殖

基金项目：国家自然科学基金（82022063）

通讯作者：徐苑苑，E-mail：yyxu@cmu.edu

金属暴露调控*ATP13A3*基因m6A修饰致结直肠癌的机制研究

黎书炜，徐申亚，贲　帅，周婕妤，张正东，王美林*

（南京医科大学公共卫生学院　南京　211166）

摘要：目的 结直肠癌是环境因素及遗传因素共同参与的复杂疾病。金属等毒性元素可通过消化道等途径进入体内，与遗传因素交互进而发挥毒性损伤及致癌作用。然而，金属对结直肠癌发病风险的影响及具体机制尚不清楚。因此，本研究旨在鉴定与结直肠癌发生密切相关的金属，探究其暴露致结直肠损伤及致癌的毒理学机制和关键分子事件。**材料和方法** 运用ICP-MS技术检测208例结直肠癌及219例健康对照人群血浆56种元素的内暴露水平。通过Logistic、LASSO、贝叶斯核机器回归（BKMR）和广义相加模型（GAM）评估金属等元素单独暴露效应以及混合暴露的整体效应。构建急、慢性细胞金属染毒模型及裸鼠荷瘤模型，观察金属暴露致正常结肠上皮细胞毒性损伤和恶性转化能力。同时，采用金属-数量性状位点（metal-QTL）和表达数量性状位点（eQTL）分析，识别与金属暴露及结直肠癌易感相关的遗传变异位点。结合高通量测序技术及分子生物学实验阐明金属及遗传因素共同参与结直肠癌发生的调控机制。**结果** 我们首次基于金属元素组学、转录组学及全基因组等联合分析策略，发现重金属铊（Tl）暴露与ATP13A3基因遗传变异交互作用，增加结直肠癌发病风险。金属铊急、慢性染毒细胞模型用于探究其毒理学作用。结果发现，金属铊急性染毒可促进正常结肠上皮细胞活性氧（ROS）生成和线粒体膜电位改变，引起细胞DNA损伤和凋亡增加；低剂量铊慢性染毒可致细胞抗凋亡能力增强，诱导细胞恶性转化，并促进裸鼠异种移植肿瘤的形成。为揭示铊发挥毒性的关键分子事件，我们先基于metal-QTL和eQTL识别出遗传变异rs1511625可影响铊内暴露水平和ATP13A3基因的表达水平，并增加结直肠癌的发病风险（$OR=1.31$，$P=2.80\times10^{-4}$）。进一步采用dot blot、MeRIP-qPCR等实验发现，慢性染毒细胞中ATP13A3的N6-甲基腺苷（m6A）修饰及蛋白表达水平随着恶转细胞代数的增加而显著增加。通过RNA-Seq测序、基因集富集分析及m6A修饰相关实验阐明了金属铊暴露通过影响METTL3、METTL14和ALKBH5等m6A修饰酶的表达水平，致ATP13A3mRNA稳定性增加，进而发挥其毒性及致癌作用。**结论** 本研究基于金属元素组学、遗传及表观遗传毒作用机制揭示结直肠损伤和致癌效应，为制定减少结直肠癌高危人群接触金属污染的公共卫生策略提供了理论基础和科学思路。

关键词：元素组学；金属暴露；结直肠癌；m6A修饰

通讯作者：王美林，E-mail：mwang@njmu.edu.cn

m^6A甲基化阅读蛋白YTHDC2在烟致肺癌中的作用

王　进，刘楷凡，李建祥*

（苏州大学苏州医学院公共卫生学院，苏州　215123）

摘要：目的 肺癌是最常见的癌症，因其死亡率高而成为全球公共卫生领域关注问题。吸烟被认为是导

致肺癌的主要原因。m^6A甲基化修饰在癌症中发挥重要作用，而YTHDC2作为m^6A阅读蛋白，具有调控m^6A修饰的功能，但在其他类型肿瘤尤其是肺癌中的作用仍未明确。我们的研究旨在通过体内外实验和生物信息学分析确定YTHDC2对香烟烟雾（CS）诱导的肺细胞恶性转化细胞和肺癌细胞功能的影响及其调控机制。**方法** 应用生物信息学、蛋白质组学和组织芯片技术，研究YTHDC2和lncRNA ZNRD1-AS1在肺癌中的表达水平、生物学功能及临床意义。通过荧光原位杂交和定量PCR检测，确定了ZNRD1-AS1的亚细胞位置。细胞迁移和增殖实验用于确定YTHDC2和ZNRD1-AS1在肺癌中的生物学功能。异体移植动物模型进一步验证了YTHDC2和ZNRD1-AS1在体内的抑瘤作用。用TaqMan-qPCR法分析YTHDC2的拷贝数变异。RNA免疫沉淀（RIP）测序用于鉴定与YTHDC2结合的mRNAs，m^6A甲基化RIP用于探索m^6A修饰变化。通过生物信息学分析和体外实验，还预测和验证了ZNRD1-AS1的下游microRNAs（miRs）和竞争性内源性RNA。**结果** 研究发现YTHDC2在肺癌细胞和吸烟暴露细胞中表达下降，其表达降低与吸烟史、病理分期、浸润深度、淋巴结转移和不良预后高度相关。体内、外研究发现，过表达YTHDC2可抑制肺癌细胞的增殖和迁移，抑制裸鼠肿瘤的生长。在肺癌中，YTHDC2的表达受DNA拷贝数的调控。重要的是，CYLD/NF-κB信号通路被证实是YTHDC2的下游信号通路，该通路是由m^6A修饰介导的。研究还发现同样由m^6A修饰调控的ZNRD1-AS1在肺癌和香烟烟雾暴露细胞中的下调。低水平的ZNRD1-AS1表达与不良的临床病理特征、免疫浸润和预后相关。在体外和体内过表达ZNRD1-AS1可抑制肺癌细胞的增殖、迁移和血管生成，并可抑制裸鼠肿瘤生长。ZNRD1-AS1的表达可通过对细胞加入甲基化抑制剂（3-Deazaadenosine）或去甲基化抑制剂（Meclofenamic）来控制。miR-942/tensin1（TNS1）轴被证明是ZNRD1-AS1的下游调控信号通路。**结论** 吸烟导致的m^6A甲基化阅读蛋白YTHDC2表达下调与肺癌细胞的增殖和迁移有关，并可能受DNA拷贝数变化的调控。由m^6A修饰介导YTHDC2通过CYLD/NF-κB通路发挥肿瘤抑制作用。m^6A修饰可通过YTHDC2调控ZNRD1-AS1/miR-942/TNS1轴。

关键词：香烟烟雾；肺癌；YTHDC2；m^6A RNA甲基化；lncRNA ZNRD1-AS1；CYLD

通讯作者：李建祥，E-mail：aljxcr@suda.edu.cn

Atf3转录调控脂质代谢基因促进双酚S诱导的肝脏细胞脂质沉积

李世奇，范 赟，吴小蓉，柏胜军，秦玉峰*
（南京医科大学公共卫生学院，南京 211166）

摘要：目的 双酚S（BPS）作为双酚A的主要替代物之一，目前在环境和人体中被广泛的检测到，因此其安全性也需要考量。BPS暴露会诱导非酒精性脂肪肝（NAFLD）的发生，而其相关机制尚未完全阐明。本研究拟在前期发现的BPS诱导小鼠NAFLD发生的基础上，进一步揭示Atf3转录激活DNL通路促进BPS诱导的NAFLD的机制。**材料和方法** BPS处理AML12细胞后，对细胞进行尼罗红染色，共聚焦观察细胞脂质沉积的程度；染毒后细胞转录组测序（RNA-seq）分析基因表达的改变，获得参与脂质调节的关键基因，RT-qPCR验证关键脂质代谢基因的表达。染色质开放性测序（ATAC-seq）获得差异开放区域，Motif分析获得参与脂质调节的关键转录因子；CUT&Tag技术获得转录调节因子Atf3在基因组上的结合区域；CRISPR Cas9构建Atf3敲除细胞系，对敲除细胞进行BPS染毒，尼罗红实验观察染毒后脂质沉积的改变，qPCR验证关键脂质代谢基因的表达。**结果** 尼罗红染色结果提示，BPS暴露后，肝脏AML12细胞出现明显脂质沉积；RNA-seq分析发现基因表达差异明显，GO通路富集分析结果提示差异基因富集在DNL和FAO通路，qPCR验证Acot13、Cpt1a、Acox1、Acox2、Elovl6等表达显著改变。ATAC-seq结果提示，染毒后染色质的开放性发生了明显改变，差异开放区域主要富集在代谢通路，转录因子motif分析结果提示，差异开放区域有Atf3转录因子的富集，联合转录组测序分析及qPCR验证，Atf3表达显著升高，因此猜测Atf3可能参与调节脂质代谢基因的表达。CUT&Tag结果发现BPS染毒后Atf3结合位点发生了明显改变，其差异结合区域在脂质代谢基因附近。通过构建Atf3敲除细胞系，发现敲除Atf3能明显降低BPS诱导的肝脏细胞脂质沉

积。**结论** BPS暴露可诱导肝脏脂质沉积增加，其中Atf3通过转录调控脂质代谢基因表达促进肝脏脂肪合成，敲除Atf3后能明显减轻脂质沉积。

关键词： 双酚S（BPS）；脂质沉积；染色质开放性测序（ATAC-seq）；CUT&Tag；CRISPR Cas9

通讯作者： 秦玉峰，E-mail：qiny@njmu.edu.cn

LncRNA CUST-40243和CUST-47163在慢性苯中毒患者中的表达及其诊断意义

摘要：目的 通过检测慢性苯中毒患者和健康对照人群中LncRNA CUST-40243和CUST-47163的表达水平，判断目的基因LncRNA在慢性苯中毒中的诊断意义。**方法** 采用实时荧光定量PCR，对慢性苯中毒患者及健康对照组人群外周静脉血中LncRNA CUST-40243和CUST-47163表达水平进行检测，采用胞质分裂阻滞微核试验（CBMN）对两组人群淋巴细胞微核率进行检测，应用ROC曲线分析其诊断意义。**结果** 慢性苯中毒组LncRNA CUST-40243表达水平高于健康对照组（$P<0.01$）；LncRNA CUST-47163表达水平低于健康对照组（$P<0.01$）；淋巴细胞微核率显著高于对照组（$P<0.01$）。ROC曲线分析结果显示：慢性苯中毒组lncRNA CUST-40243的AUC为0.697，95%置信区间（CI）为0.590～0.805；lncRNA CUST-47163的AUC为0.900，95%置信区间（CI）为0.835～0.964；血浆淋巴细胞微核率的AUC为0.724，95%置信区间（CI）为0.624～0.823；苯中毒组患者联合诊断的AUC为0.913，95%置信区间（CI）为0.846～0.980。**结论** 目的基因LncRNA在慢性苯中毒患者中异常表达，联合淋巴细胞微核率检测有助于提高诊断效率，因此可作为慢性苯中毒诊断过程中的参考指标。

致癌性检测ICH S1B指南新附录：rasH2™小鼠如何缩短药物研发周期

周志桓
（拓科俐生物技术有限公司 Taconic Biosciences）

摘要： 传统的两年致癌性试验缓慢、昂贵，而且难以清晰地判断结果，因为在野生小鼠两年寿命内，背景肿瘤发生率很高。使用rasH2™小鼠替代传统的野生型小鼠，能将传统的活体试验期从2年缩短到6个月，并在时间和费用成本方面提供了巨大的益处。同时通过减少了每个实验组所需的动物，也符合动物试验Russell and Burch的3R原则。rasH2™ 小鼠除了携带内源性鼠Ha-ras癌基因外，还携带人c-Ha-ras致癌基因。人类c-Ha-ras基因使得半合子rasH2小鼠在接触人类致癌化合物时极易出现肿瘤。大量基础数据表明在未接触致癌物情况下，rasH2小鼠在六个月龄之前自发肿瘤的机率极低，在用遗传毒性或非遗传毒性致癌物治疗后，发病更快，肿瘤发生率更高。一家药物监管机构的最新数据表明，目前上市的药物里，有半数小鼠致癌性研究是在rasH2™小鼠中进行的。根据国际协调会议（ICH）S1B（R1）致癌性测试指南下，rasH2™ 小鼠是唯一受不同监管机构（包括美国食品药品监督管理局（FDA）、欧洲药品管理局（EMA）和中国国家医药产品管理局（NMPA））接受的转基因模型。ICH S1B（R1）指南为评估小分子药物致癌潜力的方法提供了国际监管指南。本指南在2022年8月的附录定稿，对1997年原始指南进行了几次关键更新。重要的是，它引入了一种基于机制的综合方法，用于使用证据权重（WoE）方法评估人类致癌风险。尽管在大多数情况下仍需要进行小鼠致癌性研究（2年标准小鼠研究或6个月转基因rasH2 Tg研究），但只有当WoE方法无法充分评估人类致癌风险时，才需要进行2年大鼠研究。这意味着rasH2™小鼠可能把4年（2年小鼠+2年大鼠）实验缩短至6个月。本演讲将（1）介绍ICH和S1B（R1）修订版，（2）体内啮齿动物致癌性测定，（3）讨论rasH2™小鼠的使用和应用，最后（4）rasH2™小鼠如何通过S1B附录影响药物研发，并在某些情况下可将提交NDA的时间缩短2-3年。

关键词： rasH2™小鼠；致癌性试验；美国食品药品监督管理局（FDA）；中国国家医药产品管理局（NMPA）；欧洲药品管理局（EMA）；国际协调会议（ICH）S1B指南；S1B（R1）；c-Ha-ras；药物研发

通讯作者： 周志桓，E-mail：Peter.chew@taconic.com

RBX1蛋白靶向KU70在DNA损伤修复中的调控作用机制研究

熊艳艳，文思慧，朱雪芹，谢 颖*

（1. 湖南师范大学分子流行病学湖南省重点实验室，长沙 410078）

摘要：目的 KU70蛋白是DNA损伤修复的关键蛋白，研究探索RBX1蛋白通过靶向KU70在细胞间期和有丝分裂期对DNA损伤修复和染色体稳定性的调控作用机制。**材料与方法** 观察不同浓度和时间博来霉素（Bleo）染毒HeLa细胞致DNA损伤后，对KU70蛋白水平的影响。免疫共沉淀观察KU70与CRL E3泛素连接酶亚基的交互作用。siRNA干预RBX1表达后，对KU70的泛素化修饰的影响。利用蛋白合成抑制剂CHX观察干预RBX1对KU70蛋白稳定性的影响。细胞克隆和CCK-8实验观察敲低RBX1对DNA损伤后细胞增殖的影响。TDR法将HeLa细胞同步化至不同的细胞周期，检测DNA损伤后KU70在不同细胞周期的蛋白水平。免疫荧光法观察KU70蛋白在有丝分裂期中心体、纺锤体和中间体等亚细胞器的定位。RBX1对有丝分裂期KU70蛋白在不同亚细胞器的招募，以及对染色体正确分离，多核细胞和蝴蝶核细胞形成的影响。**结果** 4 μM Bleo处理细胞1 h后KU70蛋白增加，3 h后蛋白水平下降，而RBX1蛋白先减少后增加，呈现负相关趋势。KU70蛋白与CRL E3泛素连接酶的CUL4亚基存在交互作用。RBX1上调CUL4的类泛素化修饰，促进KU70的泛素化降解。敲低RBX1后，KU70的泛素化修饰减少，蛋白稳定性增加。与Bleo染毒细胞相比，敲低RBX1联合Bleo处理后细胞生存率进一步下降。另外，TDR法将细胞同步化至不同的细胞周期，Bleo染毒3 h后KU70蛋白降低不仅发生在G0/G1期，也发生在G2/M期细胞中。在有丝分裂期观察到，敲低RBX1干预KU70蛋白在纺锤体的募集，进而影响染色体正确分离，多核细胞和蝴蝶核细胞比例增加，加重DNA损伤。**结论** RBX1通过上调CUL4的类泛素化修饰促进KU70的泛素化降解，在细胞间期介导KU70蛋白从DSB末端解离，便于后续NHEJ修复蛋白的结合，在有丝分裂期调控纺锤体组装和染色体分离，维持染色体的稳定性。

关键词： RBX1蛋白；KU70蛋白；泛素化降解；DNA损伤修复；纺锤体组装

通讯作者： 谢 颖，E-mail：xieying@hunnu.edu.cn

T15-0001

靶向CXC趋化因子受体1/2联合Ara-C对急性髓系白血病恶性生物学行为的影响与调控机制

刘彦权，陈玉婷，杨 慧，唐焕文

（广东医科大学公共卫生学院，广东省环境与职业医学研究所，东莞市环境医学重点实验室，广东东莞523808）

摘要：目的 探讨CXC趋化因子受体1/2（CXCR1/2）靶向抑制剂Reparixin联合Ara-C对急性髓系白血病（AML）细胞恶性生物学行为的作用及对CXCR家族表达的影响，并探究其间存在的分子机制，为AML新型分子标记物和靶向治疗提供科学依据与参考。**方法** 不同浓度Reparixin、Ara-C单药或联合干预AML U937细胞，倒置显微镜下观察细胞形态；Wright-Giemsa法检测细胞形态学改变；CCK-8法检测细胞增殖；Transwell小室法检测细胞侵袭能力；集落形成实验检测细胞克隆形成能力；Hoechst 33258法、Annexin V/PI双染流式细胞术检测细胞凋亡；单丹黄酰尸胺荧光示踪染色（MDC）法检测细胞自噬；Western blot检测

凋亡、自噬及相关信号通路蛋白表达情况；实时荧光定量聚合酶链式反应（qRT-PCR）检测CXCR家族的表达变化。**结果** Reparixin可抑制U937细胞增殖、侵袭、迁移及克隆形成能力并促发其凋亡。与单药组相比，Reparixin联合Ara-C干预U937细胞时，增殖、侵袭、集落形成等恶性生物学行为能力显著下降，凋亡和自噬水平显著升高（$P<0.01$）。Reparixin联合Ara-C干预U937细胞后，可上调促凋亡蛋白Bax表达并显著下调抗凋亡蛋白Bcl-2的表达，同时亦使Caspase-3水解活化，继而诱发细胞凋亡。Reparixin联合Ara-C干预U937细胞后可上调LC3Ⅱ、Beclin-1蛋白的表达，且细胞中LC3Ⅱ/LC3Ⅰ比值较单药或对照组明显上调（$P<0.01$），MDC荧光示踪法亦示细胞中酸性囊泡绿色颗粒显著增多，且出现大量破碎细胞（$P<0.01$）。Reparixin联合Ara-C可显著抑制PI3K、AKT及NF-κB信号分子的磷酸化水平，通过抑制PI3K/AKT/NF-κB通路激活从而扼制白血病细胞恶性生物学行为，并诱导细胞发生程序性死亡。Ara-C干预U937细胞对CXCR家族受体表达基本无影响（$P>0.05$），利用Reparixin单药干预U937细胞后可下调CXCR1、CXCR2、CXCR4 mRNA的表达（$P<0.05$），其中CXCR2表达相较对照组及其他CXCR家族受体表达下调水平更为显著（$P<0.01$）；当Reparixin与Ara-C联合干预时，CXCR1、CXCR2下调水平较单药组更为显著（$P<0.01$），而CXCR4、CXCR7 mRNA表达较单药组无显著差异（$P>0.05$）。**结论** Reparixin联合Ara-C能协同抑制U937细胞增殖、侵袭、迁移和克隆形成等恶性生物学行为，并诱导其发生自噬与凋亡，机制可能与影响Bcl-2家族蛋白表达并下调CXCR家族表达以及同时抑制PI3K/AKT/NF-κB信号通路有关。

关键词：急性髓系白血病；CXC趋化因子受体；靶向抑制剂；恶性生物学行为；调控机制

T15-0002

靶向ROR1的嵌合抗原受体修饰T细胞在结直肠癌中的疗效研究

徐　婕

（昆明医科大学）

摘要：目的 中国是全球结直肠癌每年新发病例最多的国家，现有疗法疗效并不理想。近年来，免疫疗法在肿瘤治疗学领域的发展突飞猛进，已成为多种恶性肿瘤的潜在治疗方法，其中嵌合抗元受体修饰的T细胞（Chimeric Antigen Receptor Engineered T cells，CAR-T）疗法表现惊艳。ROR1是一个被公认的非常有潜力的肿瘤治疗靶点，靶向ROR1的CAR-T疗法已在多种实体肿瘤中取得显著疗效，但利用ROR1 CAR-T技术治疗结直肠癌的研究尚属空白。基于此，本文拟通过体内外模型深入探索ROR1 CAR-T对结直肠癌发生发展的影响。以期拓展结直肠癌靶向治疗靶点，为临床治疗提供实验室证据，为晚期/复发型/难治型结直肠癌患者寻找新型治疗方法。**材料和方法** 利用ROR1特异性抗体、通过流式细胞术在7种常用结直肠癌细胞株、86对结直肠癌患者新鲜组织样本中检测ROR1的表达水平，并将ROR1在结直肠癌中的表达水平与患者流行病学特征相关联。利用第二代CAR技术自主构建人源性、特异性ROR1-CAR，并检测其转导效率。此外，在体外共培养模型中评估ROR1 CAR-T治疗结直肠癌的体外细胞毒性和促细胞因子分泌能力。建立两种不同类型的异种移植动物模型，深入探索ROR1 CAR-T对结直肠癌发生发展的影响。**结果** ROR1在3种常用的结直肠癌细胞株中特异性高表达，在结直肠癌组织中的表达水平显著升高，是结直肠癌的潜在治疗靶点。自主构建的ROR1-CAR在T细胞中的转导效率为79.9%，可用于后续研究。靶向ROR1的特异性CAR-T细胞在体外共培养模型中表现出对结直肠癌细胞强烈的细胞毒性作用和促细胞因子分泌能力。与此同时，在自主构建的两种不同类型的异种移植小鼠模型中，ROR1 CAR-T细胞均表现出强有力的抗肿瘤疗效及良好的安全性。**结论** 靶向ROR1的嵌合抗原受体修饰T细胞疗法是一种新兴的、高效的结直肠癌免疫治疗方法。

关键词：嵌合抗元受体修饰的T细胞；ROR1；结直肠癌；免疫靶向治疗

通讯作者：徐　婕，E-mail：1282107044@qq.com

T15-0003

Novel roles of RNA m6A methylation regulators in the occurrence of Alzheimer's Disease and the subtype classification

Min Li, Wenli Cheng, Luyun Zhang, Cheng Zhou, Xinyue Peng, Susu Yu, Wenjuan Zhang
(Department of Toxicology, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632)

Abstract: OBJECTIVE Alzheimer's disease (AD) is one of the most common forms of dementia, closely related to epigenetic factors. N6-methyladenosine (m6A) related enzymes, combined proteinsand the potential targets were explored to affect the pathogenesis, immunity and development of AD. **METHODS** The combined role of 25 common m6A RNA methylation regulators were detected in AD through the integrated bioinformatics approaches. We combined gene expression profiles from the GSE48350 and GSE5281 databases, including 250 normal controls and 176 AD patients, to first explore and validate m6A methylation regulators associated with AD and to identify key genes in AD. In addition, the novel role of m6A regulators,the correlation between m6A regulator expression and the immune infiltrationwere evaluated separatelyin AD and its subtype classification, and the potential targets of m6A regulators were finally explored. **RESULTS** The 14 m6A regulators related to AD were selected by analyzing differences between AD patients and normal controls. Based on the selected m6A regulators, AD patients could be well classified into two m6A models using consensus clustering. The two clusters of patients had different immune profiles, and m6A regulators were associated with the components of immune cells. Additionally, there were 19 key AD genes obtained by screening differential genes through weighted gene co-expression network and least absolute shrinkage and selection operator regression analysis, which were highly associated with important m6A regulators during the occurrence of AD. More interestingly, NOTCH2 and NME1 could be potential targets for m6A regulation of AD. **CONCLUSION** The dysregulation of m6A methylation affects the occurrence of AD, which is vital for itssubtype classification and immune infiltration, also offering the possible intervention targets.

Key words: Alzheimer's disease; m6A methylation; consensus clustering; biomarker

Foundation item: Natural Science Foundation of Guangdong Province of China (2021A1515011220); Top Young Talents of Guangdong Hundreds of Millions of Projects (87316004)

Corresponding author: Wenjuan Zhang, E-mail: zhangwj11@jnu.edu.cn

T15-0004

苯并芘暴露对肝细胞癌的基因表达影响及核心靶点预测的生物信息学分析

张钰婧，曹舒清，贾天琪，郭晨洁，陈 梦
（山西医科大学，山西 太原 030000，zyj0226zl@163.com）

摘要：目的 苯并芘[benzo(a)pyrene，BaP]是一种具有多环芳烃类化合物，广泛存在于日常生活中，可通过多种途径进入人体诱发机体肿瘤。肝细胞癌（Hepatocellular carcinoma，HCC）是常见的恶性肿瘤之一，其诱发因素众多，研究发现BaP对肝细胞癌的发生及转移具有影响，其潜在靶点较多，作用机制尚不明确。本研究旨在通过生物信息学方法，预测BaP影响肝细胞癌的核心作用靶点，探讨BaP对肝细胞癌发生发展的可能机制及预后影响。**方法** 从GEO数据库得到GSE36243数据集，筛选差异基因，在比较毒理基因组学数据库（CTD）中下载BaP所作用的相关基因。利用Venn在线网站合并二者得到BaP对肝细胞

癌影响的关联差异基因。通过DAVID数据库对关联差异基因进行GO注释和KEGG富集分析；获取其可能参与的生物进程或信号通路。将关联差异基因导入String数据库及cytoscape软件构建PPI网络分析并其作用关系，使用Mcode插件及CytoNCA插件合并筛选关键差异基因。结合TCGA与GTEx数据库中肝细胞癌组织差异靶基因得到核心作用靶点，并利用GEPIA平台验证其表达情况；采用Kaplan-Meier Plotter在线网站分析核心作用靶点与肝细胞癌患者生存预后的关系；TIMER数据库分析核心作用靶点与肝细胞癌免疫细胞浸润的相关性。**结果** GEO数据集分析得到68个差异基因用于后续分析，与CTD数据库基因合并后得到BaP与HCC关联差异基因66个（36个上调基因，30个下调基因）。GO注释及KEGG富集分析结果表明差异基因生物学功能主要富集在作用于氧化还原酶活性方面以及在蛋白多糖与癌症、细胞周期等信号通路上。合并筛选得到13个关键差异基因，结合HCC组织差异靶基因得到6个核心作用靶点（AKR1C1、AKR1C2、TXNRD1、SFN、ALDH3A1、AKR1B10），GEPIA平台分析结果表明6个核心靶点在肝细胞癌中高表达。生存分析可知AKR1C1、AKR1C2、TXNRD1、SFN、AKR1B10在HCC中呈高表达且与较差预后相关（$P<0.05$）。TXNRD1参与肝细胞癌的免疫浸润，其表达与$CD8^+$ T细胞、$CD4^+$ T细胞、巨噬细胞及树突状细胞呈正相关（$P<0.05$）。**结论** 本研究BaP对肝细胞癌发生发展及预后影响的核心作用靶点进行预测，为环境毒物对肿瘤进程的机制研究提供了新思路。

关键词： 苯并芘；肝细胞癌；生物信息学；致癌性；差异表达基因

通讯作者： 张钰婧，E-mail: zyj0226zl@163.com

T15-0005

基于生物信息学方法分析环境污染物对膀胱癌的作用靶点及机制

陈　梦，张钰婧，曹舒清，郭晨洁

（山西医科大学，山西 太原 030000）

摘要：目的 苯并芘是常见的环境污染物，具有强致癌物性。流行病学研究表明苯并芘暴露与膀胱癌的发生密切相关，但机制尚不明确。本研究旨在通过生物信息学方法筛分析苯并芘对膀胱癌产生影响的关键作用靶点，进一步探索其致癌的分子机制，推动环境污染物致癌预防工作的发展。**方法** 从GEO数据库获取膀胱癌芯片数据集GSE13507和GSE37815并以标准|logFC|>1.5 &P.Val<0.05筛选得到二者的共同差异基因，从比较毒理基因组学数据库（CTD）中下载苯并芘的致病关联基因。使用在线工具Venny 2.1将共同差异基因与关联基因取交集得到关联差异基因。对获得的关联差异基因进行功能注释以及通路富集分析。基于STRING数据库构建蛋白互作（PPI）网络并利用Cytoscape软件内置插件cytohubba对PPI网络进行分析并筛选得到关键基因。将关键基因导入GEPIA2.0数据库验证其差异表达情况并分析关键基因与膀胱癌生存预后的关系并确定关键作用靶点。通过TIMER2.0分析膀胱癌组织中关键基因的表达与免疫细胞浸润的相关性。最后，运用软件AutoDockVina和Pymol对苯并芘与关键作用靶点进行分子对接及可视化。**结果** GEO数据集GSE13507和GSE37815共筛选获得共同差异基因122个（上调7个，下调115个），与CTD得到的关联基因取交集后得到关联差异基因114个。这些基因主要涉及细胞外间质组织、肌肉收缩，细胞黏附等生物进程，并且其在局部粘连、血管平滑肌收缩、细胞外基质-受体相互作用等通路中富集表达。筛选得到7个关键基因（TPM1、TPM2、ACTA2、CALD1、ACTC1、MYH11、TAGLN）验证显示其在膀胱癌与正常组织相比表达量均明显下降。生存分析显示关键基因都与膀胱癌预后相关（P<0.05），表达量越高的患者总生存期越短。另外，免疫浸润分析结果显示，7个关键基因均与巨噬细胞浸润呈正相关，除MYH11外的六个关键基因均与B细胞浸润呈负相关，预示苯并芘对膀胱癌的发生发展可能与巨噬细胞和B细胞浸润有关。将7个关键基因确定为关键作用靶点，分子对接结果显示苯并芘与关键作用靶点的结合能均小于-7 kcal/mol。**结论** 关键基因TPM1、TPM2、ACTA2、CALD1、ACTC1、MYH11、TAGLN与膀胱癌预后密切相关且与苯并芘紧密结合，可能为苯并芘影响膀胱癌的关键作用靶点参与膀胱癌的发生发展，可作为潜在

生物标志物参与环境污染物致癌预防的预防及诊断工作。

关键字：环境污染物；苯并芘；膀胱癌；生物信息学

通讯作者：陈 梦，E-mail: plutochenlx@163.com

T15-0006

The role of exosomal lncRNAs and circulating lncRNAs in renal disease: molecular mechanisms, biomarkers, potential therapeutic targets

郑敏慧[1,2],杨紫轩[1,2],石磊[1,2],赵利媛[3,4],顾梦芸[1,2],汤纳平[1,2]*

(1 中国医药工业研究总院, 2. 上海益诺思生物技术股份有限公司, 3. 安徽中医药大学, 4. 长三角药物高等研究院, 长三角药学高等工程学院)

Abstract: Exosomes are small nano-sized extracellular vesicles carrying nucleic acids(microRNAs (miRNA), long non-coding RNAs(lncRNAs), circulating nucleic acids(circRNA), mRNAs, tRNAs, etc.), proteins, lipids, and other bioactive substances and were first identified in sheep reticulocytes. They are involved in intercellular communication mainly through three ways: receptor-ligand interaction, endocytosis, and membrane fusion. Early endosomes are formed by the inward budding of the plasma membrane, or in some cases from the trans-Golgi network. Exosome biogenesis is regulated by endosomal sorting complex required for transport (ESCRT)-dependent and ESCRT-independent pathways. After MVBs containing multiple ILVs are formed, they are directed to the plasma membrane via a tightly Rab GTPase dependent multistep process where they undergo a soluble NSF-attachment protein receptor (SNARE)-mediated plasma membrane fusion event followed by secretion into the extracellular space. In addtion they can also fusion with the lysosome or apoptotic body. LncRNA is a type of non-coding RNA with a length greater than 200 nucleotides, divided into intergenic lncRNA, intronic lncRNA and antisense lncRNA. Some lncRNAs have no or weak protein-coding ability and relative to mRNAs, lncRNAs are less conserved. Generally speaking, lncRNAs are classified into intergenic lncRNAs, antisense lncRNAs, and intronic lncRNAs, most of which are transcribed by Pol II, having 5′-end m7G caps and 3′-end poly(A) tails. lncRNAs can regulate gene expression by interacting with DNA, RNA, and proteins and can exhibit the ability to regulate gene expression at the level of chromatin modification, transcription, and post-transcriptional processing. Up to 13 million new acute kidney injury (AKI) cases occur each year worldwide, affecting 10 – 15% of hospitalized patients and over 50% of ICU patients. AKI is characterized by a sudden decline in renal function, a decrease in glomerular filtration rate (GFR) and an increase in serum creatinine and blood urea nitrogen, though elevated serum creatinine levels are not a sensitive report of damage to the kidney. Actually, as AKI primarily damages the nephron´s tubules, glomerular metrics like GFRs and their proxies, serum creatinine levels, would only suggest a tubule injury indirectly. Hence, only after either GFR declines substantially or a tubular injury progresses considerably, will serum creatine levels noticeably rise. If not detected or treated early, AKI will continue to progress to tubulointerstitial fibrosis and chronic renal inflammation, eventually leading to chronic kidney disease (CKD). It is therefore urgent to find sensitive, specific and stable biomarkers. Both exosome lncRNAs and circulating lncRNAs play roles in kidney injury in the current study, with the most common mode of action being the lncRNA/miRNA/target protein axis. LncRNAs are involved in the process of kidney injury and if certain lncRNAs are responsible for the development of disease, then therapeutic strategies that target these molecules may help to ameliorate this pathological alteration. Furthermore, targeting lncRNAs may be done using a variety of approaches, including small inter-

fering RNAs (siRNAs), antisense oligonucleotide (ASO), clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR), small-molecule inhibitors, and plant-derived natural compounds. Exosomes could be able to carry a substantial amount of therapeutic cargo, which can be engineered to restore or knockdown pathogenic lncRNAs expression in lncRNA-dominating diseases. The most used ones in drug delivery are those derived from mesenchymal stem cells, tumor cells, immune cells, and food. In addition, other common lncRNA delivery systems include adenoviral vectors, liposomes, and nanoparticles. Utilizing a combination of the various delivery systems is a novel choice because each has its own strengths and drawbacks. This paper summarizes current knowledge on the role of exosome lncRNAs and circulating lncRNAs in the pathogenesis, biomarker discovery and treatment of AKI, renal fibrosis and CKD, and concludes with an overview of novel regulation approaches for exosome lncRNAs and circulating lncRNA delivery systems.

Key words: lncRNA; exosome; AKI; CKD; renal fibrosis; biomarker

Corresponding author: TANG Na-ping, E-mail: napingtang@innostar.cn

T15-0007

有机磷阻燃剂暴露与中国老年人胰岛素抵抗和糖代谢紊乱的关系:来自中国老年人空气污染物暴露的生物标志物研究(BAPE)的证据

丁恩民[1,2], 邓富昌[1], 方建龙[1], 李湉湉[1,3], 侯敏敏, 刘　娟[4], 苗　珂[1], 闫文彦[1], 方　珂[3], 石婉荧[1], 符元证[1], 刘媛媛[1], 董浩冉[1], 董　立[1], 丁昌明[1], 刘晓蕙[1], Krystal J. Godri Pollitt[5], John S. Ji[16], 史亚利[7], 蔡亚岐[4], 唐　宋[4], 施小明[1,3]*#

(1. 中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所,中国疾病预防控制中心环境与人群健康重点实验室, 北京　100021; 2. 江苏省疾病预防控制中心, 江苏　南京　210009; 3. 南京医科大学公共卫生学院, 南京医科大学全球健康中心,江苏南京211166; 4. 中国科学院生态环境科学研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京　100083; 5. 清华大学国家蛋白质科学技术中心, 清华大学生命科学学院, 北京100084; 6. 耶鲁大学公共卫生学院环境健康科学系,美国康涅狄格州纽黑文06520; 7. 清华大学万科公共卫生学院, 北京　100084)

摘要: 背景　有机磷阻燃剂是一种常见的内分泌干扰化学物质,有机磷阻燃剂暴露可能与人群二型糖尿病风险增加有关。然而,有机磷阻燃剂对人体二型糖尿病影响的潜在生物中介分子和潜在生物学机制尚不明确。**目的**　探讨有机磷阻燃剂暴露与中国老年人糖代谢标志物之间的关系,并利用多组学方法阐明其潜在机制。**方法**　这是一项从2018年9月到2019年1月,为期5个月的纵向面板研究,纳入了76名生活在中国山东省济南市的60-69岁的健康老年人,每月对研究对象进行一次随访,并采集空腹血和晨尿。总共测量了353份血液样本中的17种有机磷阻燃剂原型,尿液中的11种有机磷阻燃剂代谢物,以及4种糖代谢标志物(空腹血糖、糖化血清蛋白、空腹胰岛素和胰岛素抵抗指数)。然后我们对全血转录组和血清/尿液代谢组也进行了评估,探讨了个体有机磷阻燃剂暴露与糖代谢标志物之间的关系。最后通过建立了有害结局途径(AOPs)以确定介导有机磷阻燃剂暴露与糖代谢标志物联系的生物分子。**结果**　暴露于五种有机磷阻燃剂和代谢物[三甲基丙烷磷酸(TMPP)、三苯磷酸(TPHP)、三异丁基磷酸(TiBP)、二丁基磷酸(DBP)和二苯磷酸(DPHP)]与老年人糖代谢标志物水平的升高有关。混合物效应分析进一步表明了有机磷阻燃剂混合物暴露对糖代谢标志物的不良作用。多组学分析显示,大量的内源性的转录和代谢水平的变化与有机磷阻燃剂暴露相关。推定的AOPs表明,一些分子起始事件(MIEs,如胰岛素受体和葡萄糖转运体4型)的触发以及随后的关键事件(KEs),包括信号转导途径(如PI3K/AKT和胰岛素分泌信号通路)和生物学功能(如葡萄

糖摄取和胰岛素分泌)的扰动,可能构成有机磷阻燃剂的致糖尿病效应。**结论** 环境有机磷阻燃剂暴露与中国老年人二型糖尿病风险升高相关,实施减少有机磷阻燃剂暴露的策略可能有助于减少中国老年人的二型糖尿病负担。

关键词: 二型糖尿病; 内暴露; 混合物效应; 二型糖尿病; 转录组; 代谢组; 有害结局路径

通信作者: 施小明,E-mail:shixm@chinacdc.cn; 唐 宋,E-mail: tangsong@nieh.chinacdc.cn

T15-0008

基于脂质组学研究亚硝胺致Het-1A细胞恶性转化过程中的脂代谢紊乱

张 虎, 卢 璐, 赵 超, 张 颖, 施 伟, 周 倩, 王雨成, 浦跃朴, 尹立红*
(东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 基于脂质组学研究亚硝胺暴露致人正常食管上皮细胞(Het-1A)恶性转化过程中的脂质代谢改变。**材料和方法** 将Het-1A细胞分为两组:暴露组和溶剂对照组,在细胞密度为60-70%时,将Het-1A细胞暴露于甲基苄基亚硝胺(NMBA,2 μmol/L)或溶剂对照 24 小时,每代一次。NMBA的暴露剂量选自环境中N-亚硝胺的暴露水平和相关的毒理学研究。选取P10,P20,P30及P40代染毒细胞和相应溶剂对照细胞进行形态学观察和功能学实验。采用CCK-8法检测各代各组细胞增殖活力;通过侵袭迁移能力以及软琼脂集落形成试验检测细胞恶性转化表型;通过裸鼠成瘤试验观察恶性转化细胞在体内的增殖状况。最后收集各代染毒细胞,细胞匀浆后提取脂质,利用超高液相色谱-质谱(UHPLC-MS/MS)技术结合主成分分析(PCA),偏最小二乘分析(OPLS-DA)等方法对恶转细胞脂质组学数据进行分析,通过VIP>1.5及非参数检验筛选差异代谢物;运用HMDB和lipidmaps数据库对差异性脂质代谢物进行鉴定分析,并通过MetaboAnalyst5.0数据库分析其代谢通路。**结果** 随着染毒代数的增加,NMBA暴露组的细胞形态从小而圆的铺垫状和贴壁式生长状态转变为体积增大、伪足和不规则拉松状态(P40代细胞)。CCK8结果显示,NMBA暴露的细胞伴随着染毒传代的增加而呈现出升高的趋势,与对照组相比,P40代细胞的增殖活性急剧升高($P<0.05$)。在NMBA的长期刺激下,细胞的侵袭和迁移能力明显提高($P<0.05$)。菌落形成试验显示,随着世代的增加,菌落形成能力明显加强($P<0.05$)。裸鼠成瘤结果显示对照组细胞在裸鼠体内没有产生移植肿瘤,而注射P40代细胞的裸鼠则出现明显的肿瘤。各代恶转细胞脂质组学分析结果表明,在正、负离子模式下各自筛选鉴定出140和142种内源性差异脂质代谢物。异常的脂质代谢物主要包括游离脂肪酸(FFA)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酸(PA)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰甘油(PG)、鞘氨醇(SM)、溶脂酰乙醇胺(LPE)和胆固醇(CE)。使用MetaboAnalyst进行的路径富集分析显示,被扰乱的脂质生物标志物主要富集在不饱和脂肪酸代谢的生物合成、甘油磷脂代谢、亚油酸代谢和花生四烯酸代谢通路。**结论**脂质脂肪酸代谢紊乱主要参与了NMBA暴露致食管正常上皮细胞Het-1A恶性转化过程,具体的机制则需要进一步研究。

关键词: 人食管上皮Het-1A细胞; NMBA; 脂代谢紊乱; 脂肪酸代谢

通讯作者: 尹立红, E-mail: lhyin@seu.edu.cn

焦炉逸散物主要组分致血压改变的分子流行病学研究

阿丽米热·阿不力克木, 王艳华, 王 婷, 王振杰, 吴 难, 戴宇飞, 段化伟*
(中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所)

摘要: 目的 流行病学证据表明,空气污染尤其是大气细颗粒物(fine particulate matter,PM2.5)与高血

压发病率显著相关。大气颗粒物的毒性主要取决于其化学组分和来源的异质性，不同化学组分对健康结局的影响不尽相同。颗粒物中多环芳烃和金属等有害组分是引起健康损害效应主要因素，焦炉逸散物（Coke oven emissions，COE）是焦化生产过程中的主要排放污染物，其中含有大量的颗粒物和PAHs。本研究旨在评估COE及其组分在人体血压影响中的作用，并进一步探究氧化应激在COE暴露所致血压改变中的中介作用，为阐明COE暴露引起血压改变的机制提供理论依据。**方法** 本研究选取558名焦炉工人作为暴露组，其中包含低暴露组（318人）和高暴露组（240人），同时纳入210名氧气厂等非COE暴露的工人作为对照组。通过工作区域空气污染物的定点采样和研究人群尿液中的PAHs羟基代谢物与尿金属水平检测，同时获得研究人群的内、外暴露特征。ELISA法检测氧化应激标志物（8-OHdG、8-iso-PGF2α与MDA）评估机体氧化应激水平，研究结局（舒张压、收缩压、脉压差与平均动脉压）通过采用电子血压计以坐位测量三次上臂血压并取平均值获得。**结果** 随着暴露程度的增高，高暴露人群的收缩压、脉压差与平均动脉压显著高于对照组（$P<0.05$）；舒张压在对照组及暴露组间无统计学差异（$P>0.05$）。多重线性回归模型经校正年龄、性别、吸烟包年数、饮酒状态及体质指数后发现，COE中PM2.5与尿1-羟基芘（1-hydroxyrene，1-OHP）每增加一个IQR，脉压差分别升高2.92%与3.43%（$P<0.05$）；同时，尿2-羟基萘（2-hydroxynaphthalene，2-OHNap）每增加1个IQR，舒张压降低1.45%（$P=0.008$）。COE中Co每增加1个IQR，舒张压、脉压差与平均动脉压分别增加1.77%、4.71%与1.31%（$P<0.05$）。中介分析表明，8-iso-PGF2α和MDA分别在PM2.5暴露引起的脉压差变化中发挥中介作用，中介效应占总效应的比例分别为8.53%和8.31%。同时发现MDA在收缩压、舒张压和平均动脉压随金属暴露的变化中发挥中介作用。**结论** 暴露于焦炉逸散物的职业人群尿中PAHs和金属代谢物与血压水平升高间存在显著关联。同时，氧化应激部分介导了PAHs与金属暴露致血压升高的效应。

关键字：颗粒物；血压；多环芳烃；金属；生物标志物

通讯作者：段化伟，E-mail：huaweiduan@126.com

Dysregulated ceramides metabolism incolorectal cancer metastasis associatedwith environmental Bisphenol A exposure

Xu Hong[a], Yuqing Zhang[a], Jia Yu[a], Qing Zhang[a], Yin Cheng[a], Shengcun Liu[b], Tong Shen[a]*

(a. Department of Occupational Health and Environmental Health, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui, PR China; b. Department of Gastrointestinal surgery, First Affiliated Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui, PR China)

Abstract: Previous research reported associations between bisphenol A (BPA) exposure and some malignant tumor incidences, yet the underlying mechanism remains obscure. This investigation was aimed to explore the pathogenesis of BPA exposure with colorectal cancer (CRC) and the role of ceramide metabolism homeostasis in the association between BPA and CRC. Here, our work starts from human case-control observation that BPA exposure was significantly associated with risk of CRC (odds ratio = 2.58, 95%CI: 1.30−5.15, $P<0.01$), as well as levels of serum Cer (d18:1/16:0) (estimated changes $\beta=0.41$, 95%CI: 0.18−0.76, $P<0.01$) and serum Cer (d18:1/24:1) (estimated changes $\beta= 0.48$, 95%CI: 0.10−0.89, $P<0.01$). We confirmed that BPA exposure exacerbated malignant invasion, migration, proliferationandepithelial mesenchymal transition (E-cadherin, Vimentin, Snail) via TGF-β/Smad signaling pathways, concurrent with considerably elevated ceramides synthesis in vitro. The specific elevation and decrease of ceramide metabolism illustrated ceramides could aggravate tumor metastasis with BPA exposure. Moreover, mediation analysis in human epidemiological study demonstrated that serum Cer (d18:1/16:0), Cer (d18:1/24:1) attributed up to 30.29%, 25.57% mediating role in the associ-

ations between BPA exposure and CRC risk, respectively. Our research paradigm from human to cell model provides strong evidence for the elucidation of promising drugs to intervene in cancer metastasis. Such findings reiterate the carcinogenic effect of environmental endocrine disrupting chemical BPA in malignant tumors and unveils the potential toxicological mechanisms underpinning such effect.

Key words: CRC; Bisphenol A; ceramide; metastasis

Foundation Project: National Natural Science Foundation of China: (No. 82073594, 81773467), Promotion Plan for Research of Anhui Medical University (2021xkjT011) and Foundation for Top Academic Talents in University of Anhui Province (gxbjZD2022012)

Corresponding authors: T. Shen, E-mail: shentong@ahmu.edu.cn

Integration of the Microbiome, Metabolome and Transcriptomics Data Identified Novel Metabolic Pathway Regulation in Diabetes

Long Yang[1,2], Kezheng Chen[1,2], Kunkai Su[1,2*]

(1. Jinan Microecological Biomedicine Shandong Laboratory; 2. State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, 1st Affiliated Hospital, Zhejiang University)

Corresponding authors: Kunkai Su, E-mail: ksu@zju.edu.cn

PURPOSE: The gastrointestinal microbiome is a complex ecosystem with functions that shape human health. Studying the relationship between taxonomic alterations and functional repercussions linked to disease remains challenging. The contribution of intestinal microbiota in metabolism and obesity is being increasingly recognized. However, few studies have investigated the host-microbe metabolic axis in people with type 2 diabetes mellitus. **METHODS** In this study, we used public omics datasets to investigate potential associations between microbiome, metabolome, transcriptomics datasets. By employing the partial dependence algorithm, effect of selected features were evaluated quantitively. In the modeling of Bayesian additive regression trees, features combining of host genes, metabolites and gut bacteria were selected and ranked based on its inclusion proportion. **RESULTS** Host genes/pathways, gut bacterial and potential their intermediary agent the common or related metabolites were re-analyzed parallelly and ranked according to its importance in different models. Pathways of Tyrosine, Glutaroylcarnitine, Linoleylcarnitine, Palmitoylcarntine, Methionine ranked as the top five in the host side. Bacteroidales, Oscillospira, Lachnospiraceae, S24-7, Clostridiales were the most related bacterial. As potential agents, X18-hydroxycortisol, Tryptophan, LysoPC, LysoPE and Indoleacrylic acid showed the most recurrent chance from the dataset. **CONCLUSION** Using the multi-omics and multicenter sample analysis method, a number of host genes, intestinal microbiota, metabolites in type 2 diabetes tissues have been illustrated, which has provided comprehensive and rich information for the potential mechanism validation.

Foundation Project: Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (No. LY20H030006) and Research Project of Jinan Microecological Biomedicine Shandong Laboratory (No. JNL-2022036C).

Key words: Diabetes; Microbiome; Metabolome; Transcriptomics

大气颗粒物致儿童白细胞lncRNA-miRNA-mRNA调控网络的研究

粟西子，王　婷，王艳华，戴宇飞，段化伟
（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所）

摘要：目的　随着工业化进程加快，大气污染中的颗粒物如多环芳烃和金属等有害组分引起的健康效应已引起了人们的关注。与成人相比，儿童免疫系统和肺功能尚不完善，因此极易受到大气颗粒物的影响。颗粒物经呼吸道进入肺泡，诱导呼吸系统损伤，但发病机制尚不完全清楚。目前肺损伤相关基因研究集中在转录水平，随着对基因组的深入研究，人们发现转录后水平调控在调节基因表达层面的影响也起着重要的作用。其中微小RNA（microRNA，miRNA）能够通过对靶mRNA抑制翻译或促进降解来调节生理和病理过程。长链非编码RNA（Long noncoding RNA，lncRNAs）可在表观遗传、转录和转录后水平基因表达层面中发挥调节功能。研究证实，lncRNA和miRNA与污染物暴露肺部损伤疾病的发展密切相关，如免疫损伤和炎症反应等，它们作为生物标志物是潜在治疗靶点和预后的有力指标。然而其分子调节机制尚未完全阐明。本研究选取颗粒物敏感人群儿童作为观察人群，评估肺损伤过程中lncRNAs、miRNA和mRNAs表达水平的影响，筛选出三者共同影响的肺疾病相关生物学通路及靶基因，对基因互作网络及调节机制进行了深入探讨，为儿童等敏感人群呼吸系统的健康防护提供了科学依据及指导。**材料和方法**　通过横断面调查，选取同一城市不同污染水平的两个学校的住校学生分别作为暴露组和对照组，匹配年龄、性别、身高、体重和被动吸烟等影响因素后，每组各选择8名学生。收集外周血样本并使用Illumina HiSeq平台进行转录组测序分析，通过数据库比对和编码能力预测区分lncRNA，miRNA和mRNA，随后进行组间定量分析，将差异基因比对到GO和KEGG数据库进行功能注释和通路分析。**结果与结论**　通过对测序结果的分析，暴露组与对照组相比有2499个lncRNA，1274个mRNA，759个miRNA的基因表达量发生了较为显著的差异，并发现这些基因主要参与和感染免疫，炎性应激，癌病变等相关的代谢通路，如自噬调节，Wnt及mTOR信号通路，人类T淋巴细胞白血病病毒Ⅰ型（HTLV-1）感染等通路。miRNA和lncRNA调控的下游靶基因集中的通路有抗体生成和呈递，心肌炎症通路等。研究提示儿童吸入大气颗粒物后，会产生免疫反应扰动，可能引发多个系统的生理学变化。

关键词：颗粒物；儿童；长链非编码RNA；微小RNA；调控网络

通讯作者：粟西子，E-mail：suxz@niohp.chinacdc.cn

妊娠期有机磷阻燃剂暴露对孕妇心脏结构和功能的影响及其代谢组学机制

王彭彭[1]，隋欣尧[2]，张蕴晖[3]
（复旦大学公共卫生学院公共卫生安全教育部重点实验室）

摘要：目的　分析妊娠期有机磷阻燃剂（Organophosphate Flame Retardants，OPFRs）暴露对孕妇心脏结构和功能的影响及其血清代谢组学稳态的关联。**对象和方法**　以2017年2月至2018年10月间招募的329名孕妇为研究对象，分别于孕12-14周、孕22-24周和孕32-34周进行3次例行随访；随访期间，通过经胸超声心动图检查评估孕妇不同孕期心脏结构和功能的变化；收集孕妇外周血，分离血清后采用UPLC-MS/MS靶向代谢组学检测和7种OPFRs（TBP、TPhP、TBEP、TPrP、EHDPP、TDCPP和TMCP）暴露水平检测；基于采用稳健的线性混合效应模型分析孕期机磷阻燃剂暴露、血清代谢组和孕妇心脏结果和功能表型之间的关联。进一步应用meet-in-the-middle方法和MetaboAnalyst 5.0在线富集分析软件研究OPFRs暴露影响孕妇心脏结构和功能表型的代谢通路及中间生物标志。**结果**　孕妇平均年龄为29.8±4.22岁，65%以上的对象有大学以上学历。约有20%的孕妇被诊断为妊娠期糖尿病。研究对象血清中7种OPFRs均有检出，其中检出率在70%以上的OPFR包括TBP、TBEP、EHDPP和TDCPP，其中位浓度在0.12-1.08 ng/mL。线性混合效应模型结果显示孕期TBP暴露与左心室质量指数增加有关（β=1.522，95%CI：0.163，

2.881)；EHDPP暴露与左室舒张末期室间隔厚度(β=0.315，95%CI：0.099，0.531)、左心相对室壁厚度(β=0.315，95%CI：0.099，0.531)以及左心室质量/舒张末期容积比有关(β=0.035，95%CI：0.006，0.064)升高有关；但与心脏指数降低有关(β=−0.100，95%CI：−0.197，0.003)。TDCPP暴露与左心室舒张末期前后径(β=0.370，95%CI：0.009，0.732)、每搏输出量(β=1.388，95%CI：0.115，2.661)、心输出量(β=0.153，95%CI：0.028，0.279)和心脏指数(β=0.099，95%CI：0.027，0.171)增加有关。靶向代谢组学分析发现，共有的43代谢物可能参与OPFRs暴露引起的心脏结构和功能的改变。通路富集分析结果代谢物主要涉及不饱和脂肪酸的合成、支链氨基酸代谢等通路。**结论** 妊娠期OPFRs暴露可差异化的影响孕妇心脏结构和功能，可能主要与于不饱和脂肪酸的合成、支链氨基酸的代谢异常有关。

关键词：有机磷阻燃剂；心脏结构；心脏功能；代谢组

通讯作者：王彭彭，E-mail：ppwang18@fudan.edu.cn；隋欣尧，E-mail：21211020116@m.fudan.edu.cn；张蕴晖，E-mail：yhzhang@shmu.edu.cn

基于多污染物统计模型的金属混合暴露与脂质氧化损伤水平的关联性研究

袁慧阁，张丽雅，孟庆玉，张雪薇，阿丽米热·阿不力克木，周彩兰，牛 勇，段化伟，王艳华*

（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所，北京 100050）

摘要：目的 金属易通过多种暴露途径累积于人体内造成健康危害，本研究基于多污染物统计模型，系统研究金属混合暴露与脂质氧化损伤水平之间的暴露-反应关系，探讨金属混合暴露中的主要毒性成分。**材料和方法** 以华东某省招募的钢铁冶炼企业768名工人作为研究对象，收集其工作8小时后尿液样本。采用电感耦合等离子体质谱法检测尿液中钒、铬、锰、镍、砷、锶、镉、铅、硒、钴、铜和锌等12种金属浓度；采用超高效液相色谱-串联质谱法检测尿中8-异前列腺素F2α(8-iso-PGF2α)和丙二醇(MDA)浓度。应用多污染物统计模型贝叶斯核机器回归(BKMR)、分位数g计算回归分析尿金属与尿8-iso-PGF2α和MDA的关联。**结果** 金属混合暴露的总效应与尿8-iso-PGF2α和MDA水平升高有统计学意义。BKMR结果表明，尿金属与8-iso-PGF2α关联分析中各金属的后验概率(PIPs)为Cd 1.0000、Se 1.0000、Zn 0.9872、Sr 0.6375、V 0.4204、As 0.1538、Ni 0.1303、Cu 0.1153、Co 0.0629、Mn 0.0446、Pb 0.0048、Cr 0.0000；尿金属与MDA关联分析中各金属的PIPs为Se 1.0000、Zn 1.0000、As 0.6819、Co 0.2700、Ni 0.0010、Mn 0.0008、V 0.0000、Cr 0.0000、Sr 0.0000、Cd 0.0000、Pb 0.0000、Cu 0.0000。金属混合暴露对脂质氧化损伤影响中，起主要作用的为Cd、Se、Zn、Sr、As。当所有尿金属浓度(ln转换)处于P50时，与处于P25相比，尿8-iso-PGF2α水平(ln转换)增加36.72%、尿MDA水平(ln转换)增加34.24%。其他尿金属分别固定在P25、P50、P75时，当尿Se浓度(ln转换)每增加一个IQR，尿8-iso-PGF2α水平(ln转换)分别增加30.7%、35.4%、41.2%；尿MDA水平(ln转换)分别增加35.3%、42.8%、54.7%。分位数g计算回归结果表明，金属混合物水平(ln转换)每增加25%，尿8-iso-PGF2α水平(ln转换)增加63.05%、尿MDA水平(ln转换)增加61.23%。**结论** 金属混合暴露引起机体脂质氧化损伤水平升高，起主要作用的金属组分为Cd、Se、Zn、Sr、As。

关键词：脂质氧化损伤；金属混合暴露；BKMR；分位数-g计算

基金项目：国家自然科学基金(82103888)；国家自然科学基金(82073525)；国家重点研发计划(2022YFC2503203)

通讯作者：王艳华，E-mail：wangyh@niohp.chinacdc.cn

DNA脱碱基位点的衍生化液质检测新方法及其应用

袁舒妍[1,2]，武海江[1]，徐　华[1]，张雅姣[1]，徐　斌[1]，陈　佳[1]，彭　缨[2*]，谢剑炜[1*]
（1. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所抗毒药物与毒理学国家重点实验室，北京　100850；
2. 沈阳药科大学，无涯创新学院，辽宁　沈阳 110016）

摘要：目的　脱碱基（AP）位点是最广泛的DNA损伤表现形式之一，其源于N-糖苷键断裂使碱基脱落，是DNA损伤的特异性标志，有望应用于疾病早期筛查、药物毒副作用评价和环境污染物毒性评价等。然而AP位点的醛基结构具有不稳定性，在DNA提取或酶解过程中亦可能造成AP位点的形成或丢失，容易导致定量结果出现偏差，因此准确定量AP位点的含量水平极具挑战性。由于质谱技术具有高灵敏度和高特异性，不仅可通过精确质量以及特征碎片离子实现对化合物的准确定性和定量分析，又可结合衍生化前处理对AP位点的开环醛进行标记形成稳定的肟类目标化合物再行检测，因此，本研究旨在通过构建高灵敏高特异的衍生化液质定量方法，实现对AP位点的准确测定。**材料和方法**　首先选择具不同结构的衍生化试剂INH、NBHA和PMOA，从反应活性和反应条件两个方面进行考察和比较；对选定的衍生化试剂进行衍生化时间和浓度等条件的优化；通过对样品处理酶解条件和色谱质谱条件的全面优化，建立衍生化-UPLC-MS/MS方法，实现对细胞中AP位点的测定。**结果**　通过系列考察和优化，选择了NBHA作为AP位点的衍生化试剂，缩短了样品处理时间，降低了实验结果假阳性的可能，建立了基于UPLC-MS/MS的细胞中AP位点的定量方法，其检测灵敏度为0.01 ng/mL（1AP/109nts）。**结论**　建立了AP位点的衍生化液质检测方法，实现了对细胞中AP位点的准确定量，为后续开展基因毒性物质筛查和毒性测试方法的构建以及对于食品、药品和环境中毒性筛查等方面的应用奠定了基础。

关键词：脱碱基位点；DNA损伤；质谱；衍生化；生物标志物
基金项目：国家自然科学基金项目（No.22104153）
通讯作者：谢剑炜，E-mail：xiejw@bmi.ac.cn

T16-0001

浅谈毒物代谢和毒物动力学试验的意义

郁文惠
（沈化测试技术（南通）有限公司）

毒物代谢和毒物动力学的目的是研究毒性剂量下药物在机体内吸收、分布、代谢和排泄，是在设计毒性药物的剂量、确定动物在受试物中实际暴露水平、解释出现毒性的原因以及将毒性资料从动物外推至人类等方面提供科学的、定量的重要依据，在评价人类用药的风险性和安全性方面发挥至关重要的作用。

通常，毒物代谢和毒物动力学试验的目的有以下几个方面：① 研究受试物进入机体的途径，以及机体的吸收速度和吸收程度（生物利用度）；② 研究受试物在机体内各脏器、组织和体液间的分布特征，以及受试物与血浆蛋白的可逆性结合；③ 研究受试物在机体内生物转化的速度和程度，分离和鉴定主要代谢产物的化学结构，探索生物转化的通路；④ 研究受试物进入机体后消除或排泄的途径、速度和能力；⑤ 研究受试物在机体内蓄积的可能性及其程度和持续时间；⑥ 比较不同剂量水平，单次和多次重复染毒时吸收、分布、生物转化和消除或排泄的动力学特征；⑦ 比较不同种属、品系动物间毒物动力学的异同，为根据动物资料外推到人类提供可能的依据；⑧ 寻找机体内受试物富集的脏器、组织，探索它们与作用靶器官之间的关系；⑨ 探索毒物动力学过程与毒效强度和时间的关系；⑩ 为其他毒性、毒理学试验选择动物、剂量提供有益的资料。

综上所述：毒物代谢和毒物动力学将可能为阐明受试物在人体的转归、毒作用的机理、安全性评价、卫生标准制备乃至改善中毒的防、诊、治提供科学依据，是药物研制过程中必不可少的环节，药物的代谢图谱是药物进入临床前的必要条件，根据药物体内外代谢的特性，可初步推断出药物在人类身体上的代谢途径。

因此，研究药物在体内的代谢转化，了解药物代谢后的变化以及这些变化与疗效和毒性间的关系，有助于指导药物在临床上的应用。

通讯作者：郇文惠，E-mail：huanwenhui@sinochem.com

T16-0002

抑郁加重钩吻神经毒性的作用及其机理研究

杨若鹏，胡婉钰，赵晓洁，汤达富，付冰萱，叶 玲*
（南方医科大学，药学院/中西医结合医院，广州 510515）

有毒中药钩吻（Gelsemium elegans Benth。），具有消肿、止痛等功效，其镇痛效能仅次于吗啡且无成瘾性，中医用于治疗神经性疼痛等慢性疼痛。钩吻在治疗疼痛的有效浓度范围内，未见任何毒性症状，但因用药过量而中毒的事件常有发生。我们前期研究发现钩吻毒性来自于其有效组分本身，其有效组分经药物代谢酶CYP3A4（小鼠CYP3A11）代谢后，药效仍保留，但毒性显著降低。研究报道抑郁显著改变肝脏药物代谢酶的活性，而疼痛患者时常伴发其他疾病，以抑郁症最为常见，高达60%。

我们建立了慢性神经痛、抑郁以及疼痛抑郁共患小鼠模型，研究发现给予上述小鼠钩吻有效成分后，抑郁、疼痛抑郁共患小鼠的钩吻有效成分暴露量显著增加，神经毒性显著升高，生存率显著降低；而疼痛组小鼠上述指标没有显著性改变。进一步研究发现，相对于正常小鼠，疼痛小鼠CYP3A11表达没有改变，而抑郁、疼痛抑郁共患小鼠CYP3A11表达显著下调（$P<0.05$）；测定调控CYP3A11相关核受体的表达，发现抑郁、疼痛抑郁共患小鼠核受体PXR显著下调（$P<0.05$）；利用代谢组学测定PXR配体胆汁酸的含量，结果显示抑郁、疼痛抑郁小鼠肝脏和结肠次级胆汁酸石胆酸（LCA）含量显著下降（$P<0.05$），粪便和盲肠内容物中产LCA菌（Clostridium clostridiiforme）的丰度及7α-脱羟酶的表达下降；在疼痛抑郁共患小鼠中补充生理浓度的LCA，发现回补LCA可以诱导肝脏PXR上调CYP3A11的表达及活性，显著降低钩吻有效成分的毒性。

以上研究结果表明抑郁通过改变机体肠道菌，影响胆汁酸代谢，通过“LCA- PXR”下调CYP3A11活性，降低钩吻有效成分的代谢，加剧钩吻神经毒性。

通讯作者：叶 玲，E-mail：lotus623@126.com

T16-0003

LW1935凝胶剂对小型猪经皮重复给药毒性试验伴随毒代动力学试验研究

盛亚丽，林俊粒，张家伟，颜国伟，郭健敏*，杨 威*
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：目的 通过对小型猪经皮重复给予受试物LW1935凝胶剂，考察药物在小型猪全身的暴露情况和持续时间，系统暴露与剂量关系，同时考察药物在小型猪给药部位皮肤、皮下肌肉、皮肤各层（表皮层、真皮层、皮下组织层）的分布情况，为其它安全性评价试验和临床用药提供基础数据。**方法** 在主试验低、中、高3个剂量组间进行毒代采样，每组8例动物，雌雄各半。于首次给药、中期给药和末期给药以及恢复期进行毒代血样采集，于给药末期和恢复期动物解剖时进行给药部位皮肤和皮下肌肉组织样品采集，将给药部位皮肤分离为表皮层、真皮层和皮下组织层，采用经验证合格的UPLC-MS/MS法检测血浆和皮肤、肌肉及皮肤各层组织中药物浓度。**结果** 血浆中药物浓度结果显示，各给药间隔各组动物大部分时间点血浆中药物浓度检测结果均低于定量下限，仅个别例动物个别时间点血浆样品中能检测到可定量的药物浓度，恢复期

各例动物血浆中药物检测结果均低于定量下限；组织中药物浓度结果显示，在给药末期，药物在小型猪给药部位皮肤的分布浓度较高，给药部位皮下肌肉中有少量分布；给药部位完整皮肤分层检测结果显示，药物在给药部位皮肤的表皮层中分布浓度最高，在真皮层和皮下组织层中的分布浓度相对较低。恢复期各组动物给药部位完整皮肤和皮肤的表皮层、真皮层中均有一定量的药物分布，恢复期仅个别例动物给药部位皮下肌肉和皮下组织层中有极少量药物分布。**结论** 对小型猪经皮给予低、中、高剂量受试物LW1935凝胶剂，药物在小型猪全身系统的暴露量极低，无蓄积；药物主要分布在给药部位完整皮肤，其中在皮肤的表皮层中分布浓度最高，在真皮层和皮下组织层中的分布浓度相对较低，给药部位皮下肌肉中仅有少量药物分布；药物在给药部位皮肤的表皮层和真皮层中的消除较慢。

关键词： LC-MS/MS；经皮给药；毒代动力学

通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T16-0004

LC-MS/MS检测Beagle犬血清中LW1903的方法学验证及其伴随毒代动力学研究

温丽清，林俊粒，张家伟，盛亚丽，颜国伟，郭健敏*，杨　威*

（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东　广州　510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东　广州　510990）

摘要：目的 建立LC-MS/MS检测Beagle犬血清中LW1903浓度的方法，通过计算毒代动力学参数评价LW1903注射液在Beagle犬中的全身暴露情况和持续时间，系统暴露与剂量、时间以及毒理学结果之间的关系。**方法** 以牛胰岛素为内标，使用Waters ACQUITY PREMIER Peptide CSH 300Å C18色谱柱，流动相为0.1%甲酸水溶液和0.1%甲酸乙腈溶液，梯度洗脱，ESI正离子模式。伴随毒代试验分别在首次给药、中期给药、末次给药时以及恢复期在上市对照品组、LW1903注射液低、中、高剂量组的动物间进行采血。采用WinNonLin 8.1软件对检测浓度进行主要毒代动力学参数统计。**结果** LW1903在20.0~10000 mU/L的浓度范围内线性关系良好，方法的选择性合格，无系统残留，精密度和准确度、基质效应、提取回收率、稳定性等均合格。LW1903注射液低、中、高剂量组药物LW1903暴露量AUC（0-t）和达峰浓度Cmax在首次给药和中期给药不同剂量组间的比值均与给药剂量比值基本一致，末次给药低、中剂量组暴露量与给药剂量比值基本一致，中、高剂量组的暴露量稍低于给药剂量比值。**结论** 建立的LC-MS/MS检测Beagle犬血清中LW1903浓度的方法符合要求，可用于LW1903注射液毒代动力学试验研究生物样品分析。Beagle犬连续3个月皮下注射给予受试物LW1903注射液，在0.5~2.0 U/kg剂量范围，首次给药和连续给药47天LW1903的暴露量增加与给药剂量增加的比例基本一致。连续给药91天，在0.5~1.0 U/kg剂量范围内药物LW1903暴露量与给药剂量比值基本一致，在1.0~2.0 U/kg剂量范围内LW1903暴露量稍低于给药剂量比值，无性别差异，无蓄积。受试物LW1903注射液与上市对照品在Beagle犬体内的暴露量未见明显差异。

关键词： LC-MS/MS；药物LW1903；毒代动力学

通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T16-0005

HPLC-UV法同时测定亚胺培南母核、保护硫霉素盐酸盐、西司他丁中间体钠盐浓度及在受试物分析研究中的应用

张雅洁，林俊粒，颜国伟，张家伟，郭健敏*，杨 威*
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：目的 为保证本研究院试验的亚胺培南母核、保护硫霉素盐酸盐、西司他丁中间体钠盐给药制剂质量符合接受标准，配制系统合格，专题试验配制给药制剂的均一性和准确度符合要求，确保专题研究试验结果可靠，建立HPLC-UV法同时测定亚胺培南母核、保护硫霉素盐酸盐、西司他丁中间体钠盐浓度的方法，对亚胺培南母核、保护硫霉素盐酸盐、西司他丁中间体钠盐给药制剂进行受试物分析。**方法** 采用HPLC-UV法，使用Symmetry Shield C18（4.6×250 mm，5 μm）色谱柱对药物进行分离，流动相A为5.2 g/L磷酸二氢钠溶液，流动相B为乙腈，梯度洗脱，流速为1.0 mL/min，检测波长为260 nm，通过系统适用性、专属性、储备液比较、线性、残留、定量限、精密度和准确度对该分析方法进行方法学验证。使用验证合格的分析方法对受试物亚胺培南母核、保护硫霉素盐酸盐、西司他丁中间体钠盐进行含量复核，验证亚胺培南母核、保护硫霉素盐酸盐、西司他丁中间体钠盐给药制剂配制系统合格性，对相关专题试验配制的给药制剂上、中、下部抽样检测，检验其给药制剂的均一性和准确度。**结果** 试验结果显示该方法系统适用性合格，专属性良好，储备液比较无明显差异，无残留，亚胺培南母核、保护硫霉素盐酸盐、西司他丁中间体钠盐在0.02~0.15 mg/mL浓度范围内线性良好（R>0.99），定量限、精密度和准确度均符合接受标准。受试物含量复核符合接受标准。1 mg/mL和50 mg/mL的受试物给药制剂的均一性和准确度均符合接受标准；相关专题试验配制的给药制剂测定浓度值的RSD值均小于3.0%，测定值与理论值偏差均不超过±10%。**结论** 本研究建立的方法科学可靠，可用于给药制剂受试物分析研究。受试物的含量符合接受标准，受试物给药制剂的配制系统合格，专题配制的给药制剂的均一性和准确度均符合要求。

关键词： HPLC-UV；亚胺培南母核；保护硫霉素盐酸盐；西司他丁中间体钠盐；受试物分析

通讯作者： 杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T16-0006

LC-MS/MS检测食蟹猴血清中多肽药物LW1923的方法学验证及其伴随毒代动力学研究

张家伟，林俊粒，颜国伟，盛亚丽，张雅洁，郭健敏*，杨 威*
（广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990）

摘要：目的 建立快速有效的LC-MS/MS法检测食蟹猴血清中多肽药物LW1923的浓度，并计算毒代动力学参数，评价LW1923在食蟹猴中的全身暴露情况和持续时间，系统暴露与剂量、时间以及毒理学结果之间的关系。**方法** 以利拉鲁肽为内标，使用Waters UPLC Peptide BEH 300Å C18（2.1 mm×50 mm，1.7 μm）为分析色谱柱对药物LW1923进行分离，梯度洗脱，柱温为60℃。采用多反应监测模式，电离方式为ESI正离子模式。伴随毒代试验在主试验的LW1923低、中、高剂量组和原研对照组进行毒代动力学采样。采用WinNonLin 8.1软件对检测浓度进行统计分析，得到主要毒代动力学参数。**结果** 食蟹猴血清中药物LW1923在20.0~5000 ng/mL的浓度范围内线性关系良好，检测方法的选择性合格，无残留，内标归一化后

的基质效应因子为1.07，CV为4.70%~9.84%，分析物和内标的提取回收率为85.41%~106.62%，精密度和准确度、稀释2倍和50倍可靠性、血浆样品在室温放置稳定性、冻融稳定性、低温冻存稳定性等均合格。LW1923低、中、高剂量组和原研对照组的暴露量AUC（0-t）和达峰浓度Cmax的性别差异比值（M/F）和各给药天数之间的比值均在0.5~2.0之间，在首次给药和末次给药不同剂量组间的比值均与给药剂量比值基本一致。本研究中同剂量给药的原研对照组和受试物LW1923注射液中剂量组首次、末次给药的$AUC_{(0-t)}$和达峰浓度C_{max}平均值比值均在0.5~2.0之间。**结论** 建立的LC-MS/MS检测食蟹猴血清中多肽药物LW1923浓度的方法符合要求，可用于相关生物样品检测。食蟹猴连续4周皮下注射给予受试物LW1923注射液，在0.02~0.72mg/kg剂量范围，LW1923在食蟹猴体内的暴露量与给药剂量呈良好的线性关系，无性别差异，无蓄积，受试物LW1923注射液与原研对照品在食蟹猴体内的暴露量未见明显差异。

关键词： LC-MS/MS；多肽；毒代动力学

基金项目：广东省重点领域研发计划“新药创制”重点专项（2019B020202001）；广东省重点领域研发计划“新药创制”重点专项（2019B020202002）

通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T16-0007

野马追内酯A和野马追内酯B在人肝微粒体中的羧酸酯酶和细胞色素P450代谢特征研究

李盈姿，刘晓艳，李璐迪，王　旗

（北京大学公共卫生学院毒理学系；国家中医药管理局中药配伍减毒重点研究室；食品安全毒理学研究与评价北京市重点实验室）

摘要：目的 野马追内酯A（eupalinolide A，EA）和野马追内酯B（eupalinolide B，EB）为一对同分异构体，是中药野马追中主要的倍半萜内酯类化合物，具有抗炎和抗肿瘤活性，有望被开发为创新药物，但目前EA和EB的代谢特征尚不明确。本研究拟基于羧酸酯酶催化的水解作用和细胞色素P450（cytochromeP450，CYP450）介导的氧化作用，探究EA和EB的代谢稳定性、酶促反应动力学特征，并确定该对同分异构体CYP450的代谢酶表型。**方法** 采用人肝微粒体体外温孵法，分别探究羧酸酯酶和细胞色素P450介导的代谢稳定性和酶促反应动力学特征。先用定量构效关系（quantitative structure-activity relationship，QSAR）模型和分子对接预测其CYP450表型，并通过人源重组CYP酶实验验证，应用归一化法计算五种主要CYP450酶亚型（1A2、2C9、2C19、2D6和3A4）对EA和EB代谢的相对贡献率。**结果** EA和EB羧酸酯酶水解作用的$t_{1/2}$均小于CYP450氧化作用的$t_{1/2}$（EA：26.70 vs. 111.36 min；EB：42.66 vs. 94.50 min），EA水解和氧化作用的CL_{int}分别为65.63和8.90［mL/(min·kg)］，EB水解和氧化作用的CL_{int}分别为40.89和18.44［mL/(min·kg)］。此外，EA水解及氧化动力学参数K_m和V_{max}分别为63.86和41.02 μM、7945.00和1497.67 μmol/min/mg蛋白质，EB水解及氧化动力学参数K_m和V_{max}分别为104.86和10.68 μM、7567.00和1471.38 μmol/min/mg蛋白质。QSAR模型和分子对接结果显示，EA和EB可与多种CYP450亚型结合。经人源重组CYP酶实验验证，五种主要的CYP同工酶均参与EA和EB的代谢，其中，CYP3A4对EA和EB的代谢贡献率最高，分别为66.20%和58.18%。**结论** EA和EB的代谢特征具有立体选择性，两者代谢消除速率均较快，其主要代谢途径为羧酸酯酶的水解作用。EA和EB可被多种CYP450酶亚型代谢，其中CYP3A4是主要的代谢酶。

关键词： 野马追内酯A；野马追内酯B；人肝微粒体；羧酸酯酶；细胞色素P450

通讯作者： 李盈姿，E-mail：liyingzi@bjmu.edu.cn；李璐迪，E-mail：liludi@bjmu.edu.cn；王　旗，E-mail：wangqi@bjmu.edu.cn

T16-0008

^{125}I标记戈氏梭菌芽孢的制备及其在荷瘤小鼠体内的组织分布

李嫚琪[1,2], 许波华[1,2], 涂宏刚[1,2], 魏丽萍[1,2], 李 华[1,2], 朱 红[3], 王 丹[3], 刘园园[3], 王 勇[3*], 常 艳[1,2*]
（1. 中国医药工业研究总院，上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203；2. 益诺思生物技术南通有限公司，南通 226000；3. 山东新创生物科技有限公司，济南 250101）

摘要：目的 采用^{125}I同位素示踪法结合三氯醋酸（Trichloroacetic Acid，TCA）沉淀法来测定^{125}I标记戈氏梭菌芽孢在荷瘤小鼠体内的组织分布。**方法** BALB/c小鼠皮下接种CT26.WT细胞，构建小鼠皮下结肠癌型。以 Iodogen 法进行戈氏梭菌芽孢的^{125}I标记，分离纯化，用薄层色谱（Thin Layer Chromatography，TLC）法对^{125}I-戈氏梭菌芽孢进行放射性化学纯度鉴定，测定给药制剂比活度。荷瘤小鼠单次静脉注射1×109 cfu·kg^{-1}剂量的^{125}I-戈氏梭菌芽孢，分别于给药后2、6、24、48、120小时（每时间点3只鼠）CO_2安乐死后心脏采血并采集组织/脏器，称重。用TCA沉淀法对血清及组织/脏器进行沉淀，用γ计数器检测总放射性及沉淀放射性。**结果** 在荷瘤小鼠静脉注射^{125}I-戈氏梭菌芽孢0-120小时之间，血中暴露水平最高，在肺、肝、脾、肾等血流灌注丰富的组织器官的放射性较高，在肿瘤部位有一定暴露量。分布量随着给药时间延长逐渐降低。**结论** ^{125}I-戈氏梭菌芽孢在荷瘤小鼠体内各组织脏器中均有分布，主要分布于肺、肝、脾、肾。

关键词： ^{125}I示踪法；TCA沉淀法；戈氏梭菌芽孢；溶瘤细菌；组织分布

基金项目：上海市科委研发平台项目21DZ2291000

通讯作者：常 艳，E-mail: ychang@innostar.cn；王 勇，E-mail: dzwy198394@126.com

T16-0009

肠道微生物促进砷外排并缓解哺乳动物宿主的代谢紊乱

陈林康
（广东医科大学）

摘要：目的 肠道微生物可参与消化道砷代谢。然而，它在砷胁迫下对宿主的作用仍有争议。除了饮用水和土壤砷暴露外，大米是砷暴露的另一个主要来源。肠道微生物在粪便砷排泄、组织砷积累、宿主生理状态和在大米砷胁迫下宿主代谢中的确切作用应得到阐明，并具有重要意义。**方法** 96只C57BL/6雄性小鼠随机分为四组，A组（对照组）和B组（砷暴露组）给予无菌水，C组（头孢组）和D组（头孢+砷组）给予第三代广谱抗生素（头孢曲松）造模8天致肠道菌群紊乱。随后，将B组和D组暴露于含砷饲料2个月，含砷饲料制备方法：对照组饲料中添加大米中的砷形态混合物（iAs^{V}（7.3%）、iAs^{III}（72.7%）、MMA（1.0%）和DMA（19.0%））。随后，采用ICP-MS和HPLC-ICP-MS检测粪便、尿液、头发、肝脏和肾脏中的砷含量；16S RNA检测粪便微生物组；GC-MS检测粪便和尿液中的非靶向代谢组；9种短链脂肪酸和16种胆汁酸分别使用GC-MS和HPLC-MS-MS测定分析；苏木精和伊红（H&E）病理检查，观察肠道组织病理学变化；通过荧光实时定量PCR（qRT-PCR）检测肠组织的肠屏障基因和炎症因子基因；并通过（ELISA）试剂盒测定机体氧化应激指标。**结果** 与B组相比较：D组粪便总砷（C_{tAs}）减少25.5%，iAs^{III}组增加46.9%，未知砷（uAs）组减少92.4%，肝脏CtAs增加26.7%；粪便C_{tAs}与微生物丰富度和某些代谢产物（有机酸、氨基酸、碳水化合物、短链脂肪酸、亲水性胆汁酸及其衍生物）呈正相关；粪便DMA与肠道微生物丰富度（chao1和shannon指数）和代谢产物（阿魏酸、苯丙酸和戊酸）呈正相关；网络分析表明，D组中模块、节点、链路的数量减少，易损性增加；在组织样品中，肠道炎症因子Il-18和Ifn-γ基因表达增加，肠屏障相关基因Muc2、Occludin和Zo-1表达降低（$Ps<0.05$）；血清谷胱甘肽和尿液丙二醛显著升高（$Ps<0.05$）；粪便和尿液非靶标代谢组具有显著差异，相关性分析发现粪便和尿液的一些功能性差异代谢物与6种产短链脂肪酸的细菌显著正相关，靶标代谢组分析发现短链脂肪酸（包括异丁酸、戊酸和庚酸）减少（$Ps<0.05$）。**结论** 在砷暴露下，正常肠道微生物组可

促进粪砷的排泄，并有助于粪便砷的生物转化。这些作用可能与其产生的代谢物有关。肠道微生物组可以维持更健康的微生物组及其代谢功能，并可以缓解砷暴露下哺乳动物宿主的代谢紊乱。

关键词： 大米砷；生物转化；肠道微生物；代谢组；头孢曲松

通讯作者： 陈林康，E-mail: clk199705@163.com

T16-0010

孕期地塞米松暴露所致雄性子代大鼠肝脏CYP3A表达编程改变及其机制

孙潇翔[1,2]，汪　晖[1,2]，郭　喻[1,2*]

（1. 武汉大学基础医学院药理学系，武汉　430071，湖北；2. 发育源性疾病湖北省重点实验室，武汉 430071，湖北）

摘要：目的　细胞色素P450（cytochrome P450，CYP）是哺乳动物肝脏中最主要的I相代谢酶，其中CYP3A是肝脏所有CYP中含量最高的亚型，参与代谢多种药物或毒物，如硝苯地平、黄曲霉毒素B1、吡咯里西啶生物碱等。已有研究表明，成年个体CYP表达的差异可能受到宫内环境的影响。地塞米松（dexamethasone，DEX）被广泛用于产科，前期研究证实孕期DEX暴露（prenatal dexamethasone exposure，PDE）会导致成年子代多疾病易感，但尚无研究报道PDE对成年子代CYP表达的影响。本研究将在动物水平探索PDE对雄性大鼠子代CYP3A1表达的影响，并结合细胞实验进一步阐明PDE所致子代CYP3A1表达改变的表观遗传机制。**方法**　DEX磷酸钠注射液购于中国潜江制药。SPF级Wistar rats（雌性：180-220 g，雄性：260-300 g）以雌雄2∶1合笼，以发现精子为孕0天。将Wistar孕鼠于孕中晚期（孕9-20天）每天经皮下注射0.2或0.8 mg/kg的DEX以构建PDE模型，于出生前（孕20天）以及出生后6周和12周收集子代肝脏组织进行相关指标检测。在HepG2、LS174T及肝原代细胞上给予不同浓度DEX（0，20，100，500 nM）/皮质醇（0，150，300，600 nM）/皮质酮（0，20，100，500 nM）处理后进行相关指标检测。此外在HepG2和LS174T上用siRNA沉默糖皮质激素受体（glucocorticoid receptor，GR）、乙酰化酶P300，以及用冈田酸抑制组成型雄甾烷受体（constitutive androstane receptor，CAR）转核，证实PDE致子代CYP3A1表达编程改变的机制通路。**结果**　PDE可诱导成年12周雄性子代肝脏CYP3A1基因与蛋白的表达，PDE子代肝微粒体对硝苯地平的体外代谢活性增加。结合细胞实验验证，提示PDE可激活GR，进而与P300/CBP互作后结合至CAR启动子区，导致其组蛋白H3K9与H3K27乙酰化水平升高，使CAR基因转录表达增加，进而诱导CYP3A表达。CAR的表达编程改变持续致成年，导致其下游CYP3A的表达持续增加。此外细胞实验发现，内源性糖皮质激素皮质醇/皮质酮和DEX均可通过GR/CAR通路诱导CYP3A的表达。**结论**　PDE可能通过GR-P300/CBP通路重编程雄性子代CAR，后者上调CYP3A1的表达，最终可能改变雄性成年子代对外源性毒物的代谢，对于经CYP3A代谢活化的毒物可能具有增毒效应。

关键词： 孕期地塞米松暴露；细胞色素P450；糖皮质激素受体；组成型雄甾烷受体；表观遗传修饰

基金项目： 国家自然科学基金（No. 81773812，82073949）；国家科技部重点专项（No. 2020YFA0803900）

通讯作者： 郭　喻，E-mail：guoy@whu.edu.cn

CYP1A1在AFB1致人支气管上皮细胞遗传损伤的作用研究

王欢欢，唐焕文，陈玉婷，

（广东医科大学公共卫生学院）

摘要：目的　通过建立高表达人CYP1A1的人支气管上皮细胞（BEAS-2B）模型，系统探讨黄曲霉毒素B1（AFB1）暴露致人支气管上皮细胞DNA损伤的效应和机制。**材料和方法**　通过分子对接软件预测AFB1

与人CYP1A1的结合活性，利用慢病毒系统构建高表达人CYP1A1的BEAS-2B（BEAS-2B-hCYP1A1）细胞、V79-hCYP1A1细胞及对照细胞BEAS-2B-NC、V79-MZ细胞模型，用AFB1处理细胞24h，CCK8法检测细胞活率、细胞微核试验检测染色体损伤情况、LC-MS检测AFB1与人CYP1A1同工酶微粒体孵育后的代谢产物、彗星实验检测DNA链断裂情况、Western Blot检测相关蛋白表达水平、检测细胞中8-OHdG和AFB1-DNA加合物的含量、流式细胞仪检测细胞的ROS水平，初步分析作用机制。**结果** 分子对接结果显示AFB1与人CYP1A1的结合自由能为-9.3 kcal/mol，表明AFB1与人CYP1A1蛋白质活性中心具有良好亲和力。CCK8结果表明与对照组相比，不同浓度AFB1（0.625-5 μ M）处理BEAS-2B-hCYP1A1细胞及V79-hCYP1A1细胞，其细胞活率呈剂量依赖性下降。用CYP1A1抑制剂预处理后能够部分恢复细胞活率。AFB1能够引起BEAS-2B-hCYP1A1细胞DNA损伤。微核结果表明与对照组相比，AFB1能显著诱导BEAS-2B-hCYP1A1细胞和V79- hCYP1A1的微核形成，不同浓度AFB1（0.625-5 μM）处理BEAS-2B-hCYP1A1细胞及V79- hCYP1A1细胞，其微核率显著增加。LC-MS结果表明人CYP1A1微粒体可代谢活化AFB1，生成AFM1。彗星实验结果表明与对照组相比，不同浓度AFB1（0.625-5 μ M）处理BEAS-2B-hCYP1A1细胞DNA呈现不同程度的拖尾现象，随AFB1染毒剂量的增大，BEAS-2B-hCYP1A1细胞拖尾比例增高，且拖尾程度增大。Western Blot结果表明AFB1处理后DNA双链断裂标志物γ-H2AX蛋白表达水平显著增加。此外，AFB1处理的BEAS-2B-hCYP1A1细胞ROS生成增加。**结论** 成功构建稳定表达人CYP1A1的BEAS-2B细胞，具有人CYP1A1代谢酶活性的BEAS-2B细胞对AFB1诱导遗传毒作用敏感性增强，人CYP1A1的代谢活化在低浓度AFB1导致BEAS-2B遗传毒作用中发挥关键作用。

关键词：黄曲霉毒素B1（AFB1）、人支气管上皮细胞、CYP1A1、遗传毒性

通讯作者：王欢欢，E-mail：1721806239@qq.com；唐焕文，E-mail：thw@gdmu.edu.cn；陈玉婷，E-mail：yutingchen@gdmu.edu

当归四逆汤SD大鼠连续28天经口给药伴随毒代动力学试验研究

凌 珊，殷 玮，卢 辉，郭秋平*

（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：目的 当归四逆汤为温里剂，具有温经散寒，养血通脉之功效。主治血虚寒厥证。当归四逆汤中含有细辛，细辛是临床常用中药材之一，所含马兜铃酸类成分是广泛存在于马兜铃科植物中的硝基菲类化合物，已被证实具有肾毒性、致癌和致基因突变等作用。本试验为当归四逆汤SD大鼠连续28天经口给药伴随毒代动力学试验研究，考察当归四逆汤中细辛脂素、马兜铃酸A和马兜铃酸B的系统暴露的代谢动力学，以及SD大鼠在长期毒性试验过程中系统药物暴露量及随时间的变化，为评价药物暴露量与药物安全性试验相关性提供依据。**方法** 本试验选取检疫合格的SD大鼠24只，按性别和体重随机分成3组，分别为当归四逆汤低剂量组、中剂量组和高剂量组，每组8只动物，雌雄各半。低、中、高剂量分别为0.17、0.45、1.17 g/mL。各组以15 mL/kg灌胃给药，均采用灌胃给药，每天给药1次，连续给药28天，停药30天作恢复期观察。于给药期D1和D28对低、中、高剂量组所有动物采血，采血时间点为：给药前2h内采集（0 min）、给药后（15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、8 h、24 h）。恢复期对所有动物单次采血。所有血样用肝素钠抗凝，采血后4h内在2000g离心力、4℃下离心15分钟，取血浆。样本前处理采用蛋白沉淀法，仪器系统采用Sciex QTRAP 5500型液质联用仪，离子化模式为电喷雾离子源（ESI）、正离子模式（Positive）、多反应监测（MRM），细辛脂素、马兜铃酸A、马兜铃酸B与内标吲哚美辛、血浆内源性杂质分离良好，细辛脂素线性范围为5.00 ng/mL~1000ng/mL，马兜铃酸A线性范围为5.00 ng/mL~1000 ng/mL，马兜铃酸B线性范围为10.0/mL~2000 ng/mL。**结果** 细辛脂素、马兜铃酸A、马兜铃酸B，首次给药后低、中、高剂量组、均未检出；末次给药后，低、中剂量组的细辛脂素、马兜铃酸A、马兜铃酸B均未检出，细辛脂素高剂量组只有5只大鼠在少数时间点有检出，数据较少无法计算毒代参数；马兜铃酸A高剂量组只有2只大鼠在少数时间点有检出，数据

较少无法计算毒代参数；马兜铃酸A高剂量组均未检出。**结论** 细辛脂素、马兜铃酸A、马兜铃酸B在SD大鼠体内暴露量较低，随着给药天数的增加，高剂量组逐渐有细辛脂素、马兜铃酸A暴露，但浓度较低。30天恢复期后所有成分未检出，表明停药后无蓄积作用。

关键词： 当归四逆汤；细辛；马兜铃酸；毒代动力学；LC-MS/MS

通迅作者： 郭秋平，高级工程师/博士，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

当归四逆汤Beagle犬连续28天经口给药伴随毒代动力学试验研究

殷 玮，凌 珊，彭佳裕，郭秋平*

（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：目的 当归四逆汤为温里剂，具有温经散寒，养血通脉之功效。主治血虚寒厥证。当归四逆汤中含有细辛，其所含马兜铃酸类成分是广泛存在于马兜铃科植物中的硝基菲类化合物，已被证实具有肾毒性、致癌和致基因突变等作用。本试验为当归四逆汤Beagle犬连续28天经口给药伴随毒代动力学试验研究，考察当归四逆汤中细辛脂素、马兜铃酸A和马兜铃酸B的系统暴露的代谢动力学，为评价药物暴露量与药物安全性试验相关性提供依据。**方法** 本试验选取检疫合格的Beagle犬30只，按性别和体重随机分成3组，分别为当归四逆汤低中高剂量组，每组10只，雌雄各半，剂量分别为0.09、0.28、0.83 g/mL。各组以10 mL/kg灌胃给药，每天给药1次，连续给药28天，停药30天作恢复期观察。于给药期D1和D28对低、中、高剂量组所有动物采血，采血时间点为：给药前2 h内采集（0 min）、给药后（15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、8 h、24 h）。恢复期对所有动物单次采集静脉血。所有血样用K2EDTA抗凝，采血后4 h内在2000 g离心力、4℃下离心15分钟，取血浆。样本前处理采用蛋白沉淀法，仪器系统采用Sciex QTRAP 5500型液质联用仪，离子化模式为电喷雾离子源（ESI）、正离子模式（Positive）、多反应监测（MRM），细辛脂素、马兜铃酸A、马兜铃酸B与内标吲哚美辛、血浆内源性杂质分离良好，细辛脂素线性范围为5.00 ng/mL~1000 ng/mL，马兜铃酸A线性范围为5.00 ng/mL~1000 ng/mL，马兜铃酸B线性范围为10.0/mL~2000 ng/mL。**结果** 当归四逆汤在Beagle犬体内首次和末次给药后，马兜铃酸A和马兜铃酸B在大多数样本中未有检出。对于细辛脂素，首次给药后，低、中、高剂量组的$AUC_{(0\text{-}t)}$分别为（83.0361±19.135）、（528.832±74.087）、（1323.648±645.721）ng/mL*min，C_{max}分别为（40.99±7.328、（149.1±35.341）、（233.2±54.768）ng/mL；末次给药后，低、中、高剂量组的AUC（0-t）分别为（163.238±81.869、（1066.408±310.462）、（4401.93±969.547）ng/mL*min，C_{max}分别为（67.5±60.957）、（165.5±40.771）、（422.3±58.271）ng/mL。**结论** 随着给药天数的增加，马兜铃酸A和马兜铃酸B在Beagle犬体内暴露量始终较低，停药后无蓄积作用。细辛脂素的暴露量随剂量增加而呈正相关，随着给药时间增加，药物暴露水平略有增加。恢复期样本中细辛脂素未检出，表明停药后细辛脂素无蓄积。

关键词： 当归四逆汤；细辛；马兜铃酸；毒代动力学；LC-MS/MS

通迅作者： 郭秋平，高级工程师/博士，电话：020-66284078，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

T17-0001

利用类器官的形态改变评估化学物质的肠道毒性

王紫微，陈 燊，郭瞻宇，叶丽珠，张 睿，蒋 悦，李 淼，蒋欣航，陈 雯*

（中山大学公共卫生学院卫生毒理学系，广州 510080）

摘要： 肠道类器官具有高度的可塑性和异质性，其形态学特征与发育程度和损伤状态密切关联。然而，如何应用肠道类器官的形态变化特征评价化学物质的毒性效应，仍有待进一步研究。为了探究这一关键问题，我们构建了小鼠成体干细胞衍生的肠道类器官模型，建立基于高内涵的图像识别技术，表征不同化学物

质暴露的特征性肠道类器官形态。我们选择四种金属(镉、铅、六价铬和砷)进行单剂量染毒和重复剂量染毒,利用图形识别技术对不同形态类器官进行定量分析,筛选与金属暴露呈剂量-反应关系的特异形态变化,阐述金属特异形态学变化与毒效应终点(细胞活力、分化、凋亡、上皮屏障完整性)的关系。采用高内涵成像技术表征肠道类器官中关键细胞的表达丰度和定位,结合肠道类器官形态变化谱和信号通路功能实验探索金属特异性类器官形态发生的分子机制。我们发现不同金属诱导的类器官形态变化存在显著差异:镉暴露特异性类器官表现为直径大于100 μm的大球体;铅暴露特异性类器官的出芽显著增多;六价铬暴露特异性类器官表现为直径小于100 μm的小球体;砷暴露特异性类器官的出芽显著减少。金属特异性类器官的形成比例随暴露剂量升高而显著增加了1.54~6.32倍,且重复剂量染毒可促进金属特异性类器官的形成。我们发现金属特异性类器官形态与肠道毒性指标密切相关,其中镉特异性类器官与分化抑制、铅特异性类器官与粘液屏障损伤、六价铬特异性类器官与细胞凋亡、砷特异性类器官与上皮细胞增厚显著相关。镉、铅、六价铬和砷诱导的特异性类器官形态分别与Wnt通路激活、BMP通路激活、凋亡通路激活和Notch信号通路抑制相关;通过特异信号通路激动剂或抑制剂,可降低金属特异性类器官的形成率,减轻金属暴露引起的毒性效应。综上所述,本研究揭示了肠道类器官的形态改变与金属化学物暴露诱导的肠道毒性效应和毒性通路的联系,为应用类器官开展毒性测试提供了新型的毒性指标和技术手段。

关键词: 金属暴露; 肠道毒性; 肠道类器官; 形态改变; 图像识别

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1600201)

通讯作者: 陈 雯, E-mail:chenwen@mail.sysu.edu.cn

T17-0002

体外眼刺激性全面分类的新策略和SkinEthic™ HCE重建角膜上皮模型多时间点暴露眼刺激性试验在中国的建立

刘砚枫[1], Nathalie ALEPEE[2], 李 楠[1*]

(1. 欧莱雅中国研发和创新中心, 上海 201206; 2. 欧莱雅法国研发和创新中心, 巴黎 93600)

摘要: 目的 随着体外替代测试技术的发展,目前已经有多种眼刺激性替代检测方法经OECD验证并采纳为测试指南,用于区分严重眼刺激(UNGHSCat 1)和/或无眼刺激(UNGHSNo Cat)。但是针对可逆的眼部反应(UNGHSCat 2)的分类测试方法尚存挑战。今年6月,针对眼部风险的评估和预测,OECD发布了最新的测试指南(TestGuideline,TG)467和492B。OECDTG467由两组规定性方法(DefinedApproaches,DAs)组成,可应用于非表面活性剂液体化学品,通过对现有体外方法和化学品物理化学性质的整合进行评估。OECDTG492B提出了一种全新的,基于重建人角膜上皮模型的单一的测试方法,可应用于液体和固体化学品。不论是OECDTG467当中采纳的DAs进行整合测试,还是OECDTG492B中采纳的新方法,两者都可以作为体内动物测试(DraizeTest)的完全替代。基于所使用方法限定的可应用化学品范围,可以实现化学品眼刺激性的全面分类(Cat 1, Cat2和NoCat)。其中TG492B中采纳的SkinEthic™ HCE重建角膜上皮模型的多时间点暴露方法(TTT),第一次实现了单一方法对化学品眼刺激性的全面分类(Cat 1, Cat2和NoCat)。本研究的目的是实现该方法在中国实验室的转移和建立。**材料和方法** SkinEthic™ HCE组织暴露于待测化学品不同的处理时间进行测试。液体化学品分别为5分钟(纯的),16分钟(20%水溶液)和120分钟(20%水溶液)。固体化学品分别为30分钟和120分钟。该方法的OECD验证工作完成了151个化学品(70个液体,81个固体)的评估测试,涵盖不同的眼刺激性UNGHS分类(Cat 1,Cat 2和NoCat)以及不同种类的化学品类别。已发表的数据显示该方法获得74.4%的整体准确率(balancedaccuracy),其中Cat 1准确率79%,Cat 2准确率69%,No Cat准确率75%。本研究使用在中国商品化的SkinEthic™ HCE模型,选择OECD验证工作中已测试过的45个参考化学品进行评估测试。第一阶段评估完成了18个化学品的三轮测试,考察该方法的重复性,可转移性和预测能力。第二阶段评估完成了27个化学品的一轮测试,

进一步考察该方法的预测能力。**结果** 第一阶段评估的18个化学品均分类正确，且三轮测试结果一致。重复性100%，整体准确率100%（Cat 1：100%，Cat 2：100%，NoCat：100%）。结合两个阶段共45个化学品的评估测试结果，整体准确率82%（Cat 1：77%，Cat 2：100%，NoCat：78%）。**结论** 本研究在中国实验室，使用在国内商品化的SkinEthic™ HCE模型，成功转移和建立了OECD最新的测试指南492B中采纳的SkinEthic™ HCETTT方法。该方法的成功建立，首次在国内实现了单一方法对化学品眼刺激性的全面分类，为国内的眼刺激性非动物测试提供有效可靠的科学技术基础，进一步促进替代方法在中国的推广。

关键字： 体外测试方法；眼刺激性；OECDTG 492B；重建角膜上皮模型

通讯作者： 李　楠，E-mail：nan.li@rd.loreal.com

T17-0003

基于秀丽隐杆线虫模型研究钩吻素己所致肠道毒性及其分子机制

陈小鹰[1]，吴亚娇[1]，鲍文强[1]，张东城[1]，李楚涛[1]，陈梦婷[1]，朱　安[1,2]

（1. 消化道恶性肿瘤教育部重点实验室，福建　福州　350108；2. 福建医科大学基础医学院科研中心，福建福州　350108）

摘要：目的 钩吻（Glsemium elegans Benth。）是马钱科胡蔓藤属常绿木质藤本植物，具有攻毒、消肿、止痛和祛风功效，临床用于治疗湿疹、疔疮、风湿痹痛、神经痛等。钩吻同时有剧毒，且中毒剂量与治疗剂量接近，故临床用药易引起中毒，甚至导致患者死亡。钩吻中毒时的消化系统症状为口咽灼痛、恶心、呕吐、腹痛、腹泻。钩吻素己是钩吻的主要毒性成分为，但其毒效应和毒性机制不明。本研究拟基于肠腔型模式生物秀丽隐杆线虫，从肠道渗透性和氧化损伤角度揭示钩吻素己所致肠道毒性及其分子机制。**方法** （1）采用0、12.5、25、50、100、200、400、800 μM钩吻素己分别处理线虫48、72 h，通过体长和体宽检测生长发育情况。（2）基于化合物活性基团，通过Pharmapper进行蛋白靶点钩钓。（3）50 μM钩吻素己处理线虫72 h后进行mRNA-seq，以｜Log2FC｜≥1、q≤0.05为条件，筛选与对照组的差异表达基因。（4）通过头部摆动频率和身体弯曲次数评价线虫运动行为能力。（5）使用食用色素亮蓝指示肠道渗透性，检测35个肠道结构相关基因表达量。（6）通过肠道自发荧光和ROS含量评价氧化应激状况，检测22个氧化-抗氧化相关基因表达量。（7）分子对接预测钩吻素己与SKN-1/DAF-16通路关键蛋白的结合情况。（8）GFP标记DAF-16蛋白并观察其核转位比例。（9）GFP分别标记SKN-1b和GST-4p，观察抗氧化关键蛋白的荧光强度。（10）GFP分别标记HSP-4和HSP-6p，观察内质网和线粒体介导的未折叠蛋白反应。**结果** （1）钩吻素己显著抑制线虫生长发育，使其体长和体宽下降。（2）Pharmapper共钩钓221个蛋白靶点，mRNA-seq筛选出731个差异表达基因。GO和KEGG富集条目包含氧化还原过程、有机阳离子转运、跨膜转运等。（3）GSEA分析显示线虫运动行为相关基因总体呈抑制状态。行为学检测发现头部摆动频率和身体弯曲次数下降。（4）亮蓝染料从肠腔渗透至体腔，线虫肠道渗透显著升高，调控肠道发育的gem-4、hmp-1、fil-2、pho-1基因表达异常。（5）肠道脂褐素和ROS上调，sod-2和isp-1基因表达下调。（6）钩吻素己与SKN-1/DAF-16通路的AAP-1、AGE-1、AKT-1、AKT-2、DAF-2、DAF-16、PDK-1、SGK-1蛋白可稳定结合。荧光镜下可见SKN-1蛋白表达上调，DAF-16核转位异常。（7）内质网未折叠蛋白反应标志物HSP-4下调，线粒体未折叠蛋白反应标志物HSP-6p上调。**结论** 钩吻素己可致秀丽隐杆线虫肠道渗透性增加，其毒性机制涉及肠道发育基因紊乱、SKN-1/DAF-16通路介导的氧化抗氧化失衡、未折叠蛋白反应异常。

关键词： 秀丽隐杆线虫；钩吻素己；肠道毒性；渗透性；氧化应激；未折叠蛋白反应

基金项目： 国家自然科学基金（82104520）；福建省自然科学基金（2021J05045）

通讯作者： 朱　安，Tel：18259120767，E-mail：zhuan@fjmu.edu.cn

T17-0004

整合测试与评估方法的新发展和应用案例

管 娜[a], 董 晶[a], 郭家彬[b]
(a. 陶氏化学(中国)投资有限公司,上海, b. 解放军疾病预防控制中心,北京,中国)

摘要:整合测试与评估方法(Integrated approach to testing and assessment,IATA)是一种基于多种信息源,用于化学物质的危害识别、危害表征和/或风险评估的方法。IATA的一个重要特征是基于证据权重分析,通过迭代的方式,最大限度使用已有的信息和数据,可将有害结局路径(Adverse outcome pathway,AOP)等毒性作用机制及化学物质暴露信息纳入评估过程,以支持管理决策。近年来科学技术和现代毒理学快速发展、法规要求不断完善、以及对动物福利更加重视,在21世纪毒性测试发展框架下,国际上开发和验证了越来越多的非动物测试技术方法,如"组学"技术,3D细胞等体外模型,交叉参照和QSAR。在IATA的构建过程中,需要评估、整合和权衡来自各种信息来源的数据,如物理化学特性、计算和非测试方法(QSAR和交叉参照等)、体外方法、动物试验和人类数据等。因此,IATA为整合这些不同信息来源的数据提供了有力的技术方法和框架指导,特别是基于AOP的IATA优势更为明显。近年来,IATA发展十分迅速。自2014年起,在经济合作发展组织(OECD)的协调下,组织研究和发布了不同毒性终点的IATA和确定性方法(Defined Approach,DA)的指导文件。DA是IATA的一种特殊形式,包括确定的数据要求和数据解释流程,而不依赖专家判断,可以进行验证并实现标准化,因此具有较高的法规接受度。OECD还通过组织开展IATA的案例研究来完善IATA的框架流程,探索IATA在复杂毒理学终点和下一代风险评估中的应用。在中国化妆品原料的评估中,IATA也是使用替代方法的必要条件。2022年国务院颁布的《新污染物治理行动方案》要求对内分泌干扰物等新污染物进行评估和治理,IATA可为这些新污染物的评估提供重要方法学支撑。本文以内分泌干扰物为例,介绍如何通过IATA对化学物进行评估。

关键词: 整合测试与评估方法; 确定性方法; 有害结局路径; 内分泌干扰物; 风险评估

通讯作者: 管 娜, E-mail: nguan@dow.com

T17-0005

纳米α-HgS对秀丽隐杆线虫不同类型神经元的影响

李璐迪, 李盈姿, 王 旗
(北京大学公共卫生学院毒理学系;国家中医药管理局中药配伍减毒重点研究室;食品安全毒理学研究与评价北京市重点实验室, 北京 100191)

摘要: 目的 朱砂作为代表性的含汞矿物药,应用广泛、历史悠久。其主要成分为红色的α-HgS,含量高达96%以上。现代医学研究表明,朱砂具有安眠、抗焦虑等神经药理活性,长期用药又有一定的神经毒性作用。然而,目前关于朱砂发挥神经作用的分子机制尚不清楚。模式生物秀丽隐杆线虫具有遗传背景清楚、生命周期短、与人类同源性高、易于进行基因编辑等诸多优势,已经成为毒理学安全性研究的重要替代模型。本研究采用秀丽隐杆线虫作为研究对象,探究纳米α-HgS对线虫不同神经递质类型神经元的影响,以阐明朱砂发挥神经作用的分子机制。**方法** 实验所用秀丽隐杆线虫株为绿色荧光蛋白(green fluorescence protein,GFP)特异性标记γ-氨基丁酸能、多巴胺能、乙酰胆碱能、5-羟色胺能和谷氨酸能神经元的转基因线虫(EG1285、BZ555、LX929、GR1366和DA1240)。采用固体暴露的方式,将同步化后的L4期转基因线虫分别转移至铺有300 μL不同剂量(0、250、500、1000 μg/mL)纳米α-HgS的培养皿上暴露72 h。暴露结束后,先用S-basal溶液清洗线虫,然后将线虫转移至滴有0.4 M叠氮钠溶液的琼脂糖垫上。在FITC荧光通道下,用荧光显微镜观察线虫不同类型神经元绿色荧光的表达情况,采用Image J软件对荧光强度进行定量分

析。各剂量组随机选取20条线虫进行荧光强度测定，实验独立重复3次。**结果** 与对照组相比，暴露于纳米α-HgS 72 h后，EG1285突变株各剂量组线虫均出现γ-氨基丁酸能神经元胞体缩小、树突断裂和神经元缺失等情况，神经元相对荧光强度显著降低；DA1240突变株250、500 μg/mL组线虫头部谷氨酸能神经元的相对荧光强度间未见统计学差异，而1000 μg/mL组线虫头部的谷氨酸能神经元明显缺失，相对荧光强度显著降低；BZ555、LX929和GR1366突变株各剂量组线虫的多巴胺能、乙酰胆碱能、5-羟色胺能神经元的相对荧光强度均无明显改变。**结论** 纳米α-HgS暴露72 h主要损伤秀丽隐杆线虫的γ-氨基丁酸能和谷氨酸能神经元，而对多巴胺能、乙酰胆碱能、5-羟色胺能神经元无明显作用。

关键词： 纳米α-HgS；秀丽隐杆线虫；神经元；神经递质

基金项目： 国家自然科学基金面上项目（82174068）

通讯作者： 王　旗，Tel：010-82801527，E-mail：wangqi@bjmu.edu.cn

T17-0006

唾液酸合成酶NANS突变致先天性糖基化障碍引起神经发育异常的分子机制研究

卜　迁，岑小波*

（成都华西海圻医药科技有限公司（国家成都新药安全性评价中心），四川省成都市天府国际生物城菁园路288号　610041）

摘要：目的 唾液酸（Sialic Acids）是一种含有9个碳原子的羟基化单糖酰化衍生物。人大脑是唾液酸含量最丰富的器官，神经细胞膜上唾液酸含量是其他组织细胞膜含量的20倍以上。唾液酸合成酶（N-Acetylneuraminic Acid Synthase，NANS）是内源性唾液酸生物合成的限速酶，有研究发现NANS双等位基因突变导致先天性糖基化障碍（Congenital Disorders of Glycosylation，CDG），突变携带者出现智力障碍和神经功能损伤等临床症状，但其具体分子生物学机制尚不清楚。**方法** 本研究通过CRISPR/Cas9基因编辑技术构建了NANS突变的人多能干细胞系（NANS-KOiPSCs）和C57BL/6J小鼠（$Nans^{+/-}$）模型。采用人干细胞分化大脑类器官（Cerebral Organoids）技术、单细胞测序（Single Cell sequencing）、转录组学、活细胞成像、免疫荧光、免疫印迹、神经电生理、动物行为学等多种实验手段，系统研究NANS在神经发育过程中对神经细胞增殖、迁移、分化和成熟，以及蛋白修饰等的影响。**结果** 将人干细胞分化为大脑类器官后发现NANS-KO中神经细胞增殖比例减少而凋亡细胞数增加，导致类器官体积减小，且类器官组织中唾液酸含量和蛋白质唾液酸化修饰，特别是神经细胞粘附分子（Neural Cell Adhesion Molecule，NCAM）唾液酸化修饰显著降低；NANS突变导致神经细胞迁移紊乱、皮层厚度降低、突触密度下降，神经电活动减弱等；单细胞测序结果显示NANS缺失导致成熟神经元比例显著降低，而胶质细胞比例升高，NANS-KO组神经发育基因表达被抑制而核糖体基因表达过度激活。此外，构建的$Nans^{-/-}$鼠导致胚胎致死，而$Nans^{+/-}$小鼠的皮层发育异常，学习记忆和焦虑等行为学均异常改变。**结论** 本研究揭示了依赖于NANS的唾液酸生物合成通路与神经发育密切相关，NANS基因突变导致神经发育中细胞增殖、迁移、分化、成熟等多个过程异常改变，证实了唾液酸及其合成酶NANS在神经发育过程中发挥重要的生物学功能，为唾液酸合成缺陷引起神经发育障碍性疾病的临床治疗提供了理论依据。

关键词： 唾液酸合成酶；唾液酸；大脑类器官；干细胞；神经发育

通讯作者： 岑小波，Tel：028-85158767，E-mail：xbcen@glpcd.com

T17-0007

干细胞治疗药物的生物分析策略

贺艳琳，邢春宇，薛爱琴，肖媛媛，赖 力，岑小波*
（成都华西海圻医药科技有限公司，成都 610041）

摘要：干细胞是一类尚未完全分化、具有自我更新、高度增殖和分化潜能的细胞。根据分化潜能的大小，干细胞可分为全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞三类；根据所处的发育阶段，干细胞可分为胚胎干细胞和成体干细胞两类。干细胞治疗是指应用人自体或异体来源的干细胞经体外操作后输入（植入）人体，并作用于疾病治疗的过程。不同细胞治疗产品的治疗原理、体内生物学行为及临床应用存在差异和不确定性，作用机制也与小分子和大分子药物不同，因此传统、标准的非临床研究评价方法可能不完全适用，需要根据细胞类型及临床用途，并基于风险评估选择合适的评价方法。

干细胞相关产品在体内的存活时间较长，能产生长期疗效。在临床前PK研究中，主要评价其在体内的分布、迁移、归巢和存续以及消亡等生物学特性。一般采用一种或多种生物分析方法。目前比较常规的方法有：影像技术、PCR技术、流式细胞术等；本机构成功建立了IVIS荧光成像、PCR（包括qPCR及ddPCR）和流式细胞分选技术用于干细胞在小鼠体内的分布研究。各分析方法特点如下：① IVIS荧光成像技术方法是用近红外荧光DiR染料对细胞膜染色建立荧光成像体系，确认染色后细胞活性、光强度与细胞关系、标记效率等，非侵入式实时追踪DiR标记干细胞在体内生物学行为。虽然IVIS荧光成像可以直观示踪干细胞归巢现象、分布和迁移部位。但荧光产生既可能来源于DiR标记干细胞、DiR标记细胞膜碎片、胞吞细胞或膜融合细胞，也可能为串染细胞或外泌体。此外，活体和组织荧光强度也受脏器体位、组织取样大小、平铺程度等因素影响。② PCR技术，本机构采用自主设计的针对人源干细胞特异性基因序列的引物，它能特异性区分人源和动物基因，尤其是非人灵长类的基因。通过建立动物组织和血液基质中qPCR方法，并经灵敏度、特异性、准确度和精密度等验证后，检测小鼠体内各组织中的目的基因来确定人源干细胞的生物分布。PCR技术检测比较精准。但其检测会受样本取材（组织大小、分布均一性等）及DNA提取损失等影响。③ 流式细胞分选技术是选用人脐带间充质干细胞表面特征标记物，建立流式细胞术多色分选体系，确认灵敏度、特异性，并用PCR进行印证，检测各组织中活体干细胞个数。流式细胞术分选检测的是活的人脐带间充质干细胞，虽然样本前处理过程繁琐导致回收率较低，但其灵敏度高，对细胞分布和存续时间能起到确证作用。

以上技术各有优缺点，但是一般首选PCR技术进行定量检测，再根据评价目的选择成像和/或者流式细胞术进行辅助或确证分析。干细胞注射后主要分布在肺中，部分在心、肝、脾、肾中，随时间延长而减少，在肺部存活时间长达28天。此外，在动物试验评价中，因人源干细胞属于异源干细胞，需要考察给药后引起的免疫反应，包括对不同免疫细胞亚型及相关细胞因子的影响。一般通过流式进行免疫细胞亚型的检测，并采用配体结合方法进行细胞因子检测，如IL-2、IL-6、IL-10等。

关键词：干细胞；生物分析；成像技术；PCR技术；流式细胞术

通讯作者：岑小波，博士，教授，博士生导师，E-mail：xbcen@glpcd.com，

T17-0008

基于机器学习的致癌性化学品筛查模型

吴 超，王中钰，肖子君，王浩博，陈景文*
（工业生态与环境工程教育部重点实验室，大连市化学品风险防控及污染防治技术重点实验室，
大连理工大学环境学院，大连 116024）

摘要：化学品在改善人们生活质量的同时，也对人类健康也造成了潜在风险。这些化学品在整个生命周期都有可能释放到环境中，威胁人类健康。暴露于致癌性化学品可对人类健康造成严重危害，因此，筛查

并管控致癌性化学品对于保护人类健康具有重要意义。传统的致癌性评估方法主要依赖于动物试验，通量低、耗时长且有违动物伦理，因此迫切需要采用替代方法进行评估。以定量构效关系（QSAR）为核心的计算模拟方法可实现快速预测而被广泛应用。

本研究构建了包含致癌性数据库CPDB、化学致癌研究信息数据库CCRIS和长期致癌性生物测定数据库ISSBIOC中经预处理后的2107种化学品的数据库。以分子描述符和12种指纹为输入特征，采用支持向量（SVM）、梯度提升决策树（GBDT）、随机森林（RF）和人工神经网络（ANN）等算法构建了多种算法融合的集成模型。将化合物以分子图输入构建了图神经网络（GAT）模型，实现了端到端的预测化合物的致癌性。根据OECD导则要求对模型进行了应用域的表征，明确了模型的应用范围并进行了机理解释。采用性能最优的集成模型对《中国现有化学物质名录》中的化学品进行了筛查。

集成模型外部验证结果显示，PubChem指纹与SVM，GBDT和ANN三种算法构建的集成模型效果最优，应用域表征后在测试集的准确性和AUC（ROC曲线下面积）分别为79.2%和81.6%。模型解释显示，化学品的电子及拓扑状态信息对致癌性的预测是重要的理化信息。GAT模型在测试集的准确性和AUC分别为80.1%和89.1%。通过对大量分子图学习，GAT模型能够很好的捕捉到致癌子结构。筛查结果显示，应用域阈值为0.85时，687种化学品被预测为致癌物。

相比于前人模型，本研究所建模型特点是：（1）采用多种算法融合构建了预测化学品致癌性的集成模型，并基于指纹相似性进行了应用域表征；（2）构建了应用域更大的图神经网络模型，并进行了应用域表征。本研究构建的模型能够快速筛查致癌性化学品，为化学品的风险管理提供基础工具。

通讯作者：陈景文，E-mail：jwchen@dlut.edu.cn

T17-0009

应用动力学直接肽反应试验鉴定外源化学物的皮肤致敏性

何国群，吴家韵

（广东省疾病预防控制中心，广东 广州 511430）

摘要：目的 化学物与皮肤蛋白质中亲核残基的反应是皮肤致敏的分子起始事件，本研究利用这一原理，探讨直接肽反应试验对外源化学物的皮肤致敏性的鉴别能力。**方法** 试验方法参考经济合作与发展组织化学物测试验指南（OECD TG 442C），选择已知的致敏强度不同的6种化学物（对甲氧基苯乙酮、2，4-二硝基氯代苯、异丁香酚、对苯二胺、羟基苯甲酸丙酯、正丁醇），每种物质用乙腈配制成1.25、2.5、5.0、10.0、20.0 mM 5个浓度，移入96孔板中，每孔40 μL，设3个复孔，分别加入0.667mM的半胱氨酸肽混合，使化学物终浓度0.25、0.5、1.0、2.0、5.0 mM，同时设背景对照、溶剂对照、物质对照和阳性对照；在25℃孵箱分别孵育10、30、90、150、210、1440 min后，加入40 μL 3 mM的单溴二胺（mBrB），mBrB与未结合的半胱氨酸肽快速反应形成荧光复合物，通过荧光分析法测定残留的肽；计算半胱氨酸的消耗率，将各浓度化学物对半胱氨酸的消耗速率转化为速率常数，获得从6个时间点最大对数速率常数（log kmax）；评价致敏性标准：当5mM浓度的化学物对半胱氨酸肽消耗率<13.89%时，判为无致敏反应性，log kmax<-2时判为非强致敏物或无致敏反应物，log kmax≥-2时判为强致敏物；将6种化学物致敏性评价结果与GHS分类（全球化学品统一分类和标签制度）比较，评估试验结果的准确性。**结果** 6种化学物中，对甲氧基苯乙酮、羟基苯甲酸丙酯、正丁醇被判为非强致敏物或无致敏反应物，2，4-二硝基氯代苯、异丁香酚、对苯二胺被判为强致敏物，判定结果均与GHS分类一致；**结论** 研究表明，动力学直接肽反应试验对化学物的皮肤致敏性评价具有较高的准确性，可考虑将该方法作为一种非动物试验方法用于外源性化学物皮肤致敏性的鉴定。

关键词：动力学直接肽反应试验；化学物；皮肤致敏性

通讯作者：何国群，E-mail：guoqunhe@163.com

T17-0010

基于有害结局路径的有机磷阻燃剂致膀胱癌的毒作用机制研究

张慧琳，朱欢欢，周美玉，王美林，张正东，储海燕*
（南京医科大学公共卫生学院）

摘要：目的 基于有害结局路径（AOP）的方法探讨有机磷阻燃剂（OPFRs）暴露致膀胱癌发生的毒作用机制。**材料和方法** 通过化合物自身的分子结构及物理特性，利用定量-构效关系（QSAR）模型中致癌性和致突变性模型对常见的OPFRs进行毒性预测，在CTD、DisGeNET、MalaCards等公共数据库中分别获取化合物或疾病相关的候选基因，取交集后得到同时与OPFRs暴露及膀胱癌密切相关的基因，进一步通过蛋白质间相互作用网络功能富集分析（STRING）及蛋白互作网络（PPI）确定OPFRs暴露致膀胱癌发生路径上的关键基因并使用R包“clusterProfiler”对关键基因进行富集分析和功能注释。根据QuickGO网站对富集的GO项进行分级，并基于已有文献资料等分析OPFRs暴露致膀胱癌发生的关键通路，确定各类分子事件发展的先后顺序，构建AOP框架。**结果** 通过对氯代、烷基类及芳香烃类等三类OPFRs中的毒性预测，发现氯代OPFRs（Cl-OPFRs）TDCIPP、TCIPP和TCEP具有较强的致癌性。共有668个基因与Cl-OPFRs暴露及膀胱癌密切相关，进一步通过PPI确定78个关键基因即分子起始事件。富集分析及功能注释揭示Cl-OPFRs暴露会影响葡萄糖代谢、对外界刺激的反应、信号转导、细胞因子产生及血管内皮细胞因子产生等亚细胞水平事件；而在细胞水平会通过介导其糖酵解、细胞生命活动、上皮细胞-间充质转化、免疫细胞活动及内皮细胞活动，最终通过系统水平的组织迁移、免疫过程及血管生成等一系列关键事件致膀胱癌发生。**结论** Cl-OPFRs暴露对膀胱具有毒性作用，可能通过影响膀胱组织迁移、免疫过程及促进血管生成等参与膀胱癌的发生。

关键词： 有机磷阻燃剂；膀胱癌；毒作用机制；有害结局路径

通讯作者： 储海燕，E-mail：chy_grape@njmu.edu.cn

基于生理药代动力学模型预测毛果天芥菜碱和瑞德林在大鼠体内的肝毒性

Lu Chen*，Jia Ning，JochemLouisse，SebasWesseling，Ivonne M.C.M. Rietjens
（荷兰瓦赫宁根大学，毒理学系，瓦赫宁根，荷兰 8000，6700 EA）

摘要：目的 吡咯西里啶生物碱（PyrrolizidineAlkodias，PAs）是天然存在于植物中的次级代谢产物，对人体具有肝毒性。调查发现，PAs广泛存在于植物源性农产品中，对人体健康造成潜在的危害。目前，已有600多种PAs从超6000种植物中鉴定出来，但因缺乏毒理学数据，制约了膳食暴露评估工作的开展。本研究以毛果天芥菜碱和瑞德林为研究对象，建立生理药代动力学模型（physiologically based kinetic modelling，PBK）将毛果天芥菜碱和瑞德林的体外肝细胞毒性数据转化为体内肝毒性数据，并预测出其体内肝毒性阈值。**材料和方法** 针对毛果天芥菜碱和瑞德林分别构建总体积为100 μL的肝脏/小肠微粒体反应体系。经过对反应时间、底物浓度和微粒体蛋白浓度的优化，毛果天芥菜碱体外动力学反应体系包括：0.1 M K_2HPO_4（pH 7.4），混合大鼠肝脏/小肠微粒体（0.04 mgprotein/mL），毛果天芥菜碱（0–200 μM）；瑞德林的体外动力学反应体系包括：0.1M K_2HPO_4（pH 7.4），混合大鼠肝脏/小肠微粒体（0.5mgprotein/mL），瑞德林（0–400 μM）。加入20 mM NADPH启动整个反应，利用ACN结束反应。UPLC检测毛果天芥菜碱和瑞德林的浓度变化，再根据米氏方程计算出两者的体外动力学参数。此外，通过文献查阅和基于定量构效（QSAR）的方法，获取大鼠的生理学参数以及毛果天芥菜碱和瑞德林的理化参数。基于获取的动力学参数、理化参数和大鼠的生理学参数建立PBK模型。**结果** 通过与瑞德林的动物毒性实验进行对比，本项目建立的PBK模型预测出的瑞德林在小鼠体内的Cmax值与动物实验所得到的Cmax值只相差3倍。利用所建立的PBK模型，将毛果天芥菜碱和瑞德林的体外肝毒性数据进行外推，预测出的毛果天芥菜碱的BMDL5值与实际动物

实验只有1.9-2.9倍的差距，说明本研究所建立的PBK模型能准确的预测出PAs的体内肝毒性。**结论和意义** 动物毒性实验具有耗时长、花销大等缺点，而传统的体外毒性实验存在高-低剂量外推、种间差异和无法模拟化合物动力学过程等诸多不确定因素，难以准确预测化合物的体内毒性。通过构建化合物的PBK模型，能将体外毒性数据进行外推，实现对化合物体内毒性的准确预测，对减少动物的使用和坚持3R原则具有重要的意义。

关键词： PBK modelling；体外至体外；肝毒性；PAs

通讯作者： Lu Chen，E-mail：chenlu@caas.cn

案例分析：采用新途径技术方法和交叉参照评估化妆品成分对羟基苯甲酸丙酯的安全性

孔淑仪，邢泰然
（欧莱雅（中国）研发中心亚太地区产品安全评估部）

摘要： OECD 275号文件提出以化学物的暴露为导向的安全评估流程框架，在不开展新的动物试验的情况下，通过分层评估的策略，在每一层级的评估中根据实际需要使用交叉参照、新途径技术方法（New Approach Methodologies，NAMs）等手段进行危害识别，或采用基于生理的生物动力学（PBBK）模型、体外体内外推（IVIVE）等方法完善暴露评估，从而在风险表征过程中获得更准确的评估结论。本案例基于上述流程框架，以对羟基苯甲酸丙酯为例，评估其在化妆品中使用的安全性。

短链对羟基苯甲酸酯是化妆品中常用防腐剂。体外测试显示该类物质具有弱内分泌活性，生殖毒性测试显示对羟基苯甲酸丁酯在新生大鼠中表现出雌激素样作用，因此生殖毒性是评估对羟基苯甲酸丙酯系统毒性时的考察点。层级0（Tier 0）评估基于对羟基苯甲酸丙酯在化妆品中的应用场景，计算经皮途径的外暴露量，由于暴露量超过相应的毒理学关注阈值，因此需要进一步收集该成分及其它结构类似的短链对羟基苯甲酸酯的理化、生殖毒性测试数据。此外，该层级的评估还利用计算机模拟（in silico）工具对短链对羟基苯甲酸酯与雌激素受体结合作用进行预测。层级1（Tier 1）评估比较了不同短链对羟基苯甲酸酯的ADME/TK数据，利用ToxCast™高通量筛选考察不同短链对羟基苯甲酸酯的毒效动力学（TD）性质。层级2（Tier 2）评估引入两种新途径技术方法——基于荧光素酶表达基因法（CALUX）和转录基因组学以确定短链对羟基苯甲酸酯的内分泌调节作用，以此为依据利用交叉参照法外推获得对羟基苯甲酸丙酯生殖毒性的毒性效应的起始点PoD（Point of departure）。这一层级的评估借助PBBK模型计算对羟基苯甲酸丙酯的内暴露剂量，使用内暴露量边际（Margin of Internal Exposure，MoIE）而不是常规的暴露边际（MOE）进行风险表征。综上，本案例表明利用新途径技术方法可为交叉参照选择源化学物提供依据，证明目标化学物和源化学物之间作用模式或机制的相似性，在不进行动物试验的前提下对毒理学数据缺失的化学物进行完整的安全评估。

关键词： 新途径技术方法；交叉参照；对羟基苯甲酸丙酯

基于双酚A所致雄激素受体激活致前列腺癌的有害结局路径研究

李佳雯，曹溪园，卞　倩，李建祥*
（苏州大学苏州医学院公共卫生学院）

摘要：目的 有害结局路径（Adverse outcome pathway，AOP）已应用于与生态环境毒理以及人类疾病相关的风险评估中，前列腺癌是目前男性第二大常见癌症和第五大癌症死因，与之相关的毒作用通路和

AOP尚未明确。本研究选用典型的内分泌干扰物双酚A,并针对前列腺癌最典型的毒性事件雄激素激活作为分子起始事件(MIE),构建雄激素受体激活与前列腺癌之间的AOP框架,为外源化学物应用AOP框架进行毒性预测和风险评价提供新的途径和研究方法。**材料和方法** 本研究分为AOP构建和AOP验证两个部分。首先分别在PubMed和Web of Science检索双酚A和前列腺癌相关的文献,经过文献筛选、文献质控评估后获得有效文献。分子起始事件为分子层面的毒性事件,本研究已确定其为雄激素受体激活(AR),关键事件包括分子层面、细胞层面以及组织系统层面的毒性事件,采用通过手动筛选文献中出现两次及以上的疾病表型确定为关键事件,再根据关键事件之间的因果关系确定关键事件关系,构建以雄激素受体激活为分子起始事件、前列腺癌为有害结局的AOP框架。**结果** 根据主题词检索法在Web of Science上检索得到101篇相关文献,利用人工智能工具AOP-helpfinder在PubMed上检索得到17篇相关文献,文献内容为双酚A导致前列腺癌的细胞实验或动物实验文章,经过文献筛选、文献评估共获得49篇有效文献。在有效文献中出现两次及两次以上的疾病表型共13个,通过表型之间的因果关系,我们最终确立了4条AOP线路,汇集成了一个AOP网络,该AOP网络以雄激素受体激活为分子起始事件,细胞层面的关键事件为雄激素受体基因转录改变、雄激素受体增多、细胞凋亡减少以及炎症反应,进而导致组织器官层面的细胞增殖和侵袭增加,前列腺上皮细胞瘤的形成,最终导致前列腺癌为有害结局,此AOP网络共包含7个关键事件,11条关键事件关系。**结论** 本研究首次构建了雄激素受体激活导致前列腺癌的AOP,为后续构建人类健康的AOP和化合物的风险评估应用提供新的研究思路。

通讯作者: 李建祥, E-mail: aljxcr@suda.edu.cn

氮芥-DNA加合物体外筛查鉴定及其裂解规律研究

王朝霞, 刘玉龙, 陈 佳, 徐 华*, 谢剑炜

(军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 北京 100850)

摘要:目的 糜烂性毒剂氮芥具有军民两用的重要研究意义,其主要通过与DNA碱基发生亲核取代反应生成加合产物而发挥基因毒性作用和细胞毒作用。氮芥已被列入《禁止化学武器公约》附表1清单和《二类致癌物清单》,另一方面基于其可阻止癌细胞DNA复制的特性,作为先导化合物已应用于临床抗肿瘤治疗。本研究旨在体外筛查3种氮芥化合物即双(2-氯乙基)乙胺(HN1)、双(2-氯乙基)甲胺(HN2)和三(2-氯乙基)胺(HN3)与DNA的加合产物,并对其裂解规律和特征碎片进行考察,为后期建立氮芥DNA加合物的定量检测方法奠定基础。材料方法将3种氮芥化合物分别与DNA、4种脱氧核糖核苷酸、4种脱氧核糖核苷、4种碱基进行孵育,对赋予产物采用液相色谱串联质谱全扫描-自动触发二级质谱扫描技术进行筛查鉴定,确定氮芥在不同赋予体系中生成的DNA加合物,并分析其特征碎片。结果除了未检测到HN3与胞嘧啶脱氧核糖核苷酸的加合产物,其余孵育体系均可检测出相应的DNA加合物,并各自具有特征加合碎片离子。HN1、HN2、HN3与鸟嘌呤加合可形成共同特征碎片离子m/z 178,与腺嘌呤加合可形成共同特征碎片离子m/z 162,与胞嘧啶加合可形成共同特征碎片m/z 138。HN1与鸟嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶形成特征碎片离子m/z 116,HN2与鸟嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶形成特征碎片离子m/z 102,HN3与鸟嘌呤、腺嘌呤、胞嘧啶形成特征碎片离子m/z 132。三种氮芥均可形成鸟嘌呤-氮芥-鸟嘌呤双加合产物,共同特征碎片离子为m/z 178;均可形成腺嘌呤-氮芥-腺嘌呤双加合产物,共同特征碎片离子为m/z 162;均可形成鸟嘌呤-氮芥-腺嘌呤双加合产物,共同特征碎片离子为m/z 162和m/z 178。结论鉴定了不同孵育体系中的氮芥DNA加合产物,并鉴定了加合物的特征加合和裂解规律,为建立基于氮芥DNA加合特征结构的液相色谱质谱筛查技术奠定基础,以最终实现对氮芥体内暴露后的准确溯源鉴定。

关键词: 液相色谱串联质谱; DNA加合物; 氮芥; 筛查; 特征碎片

基金项目: 国家自然科学基金项目(No.21974151)

通讯作者: 徐 华, E-mail:huarxu@163.com

基于模式生物斑马鱼的高通量筛选在药物毒性测试中的应用

张瑞华，张　毅，刘东鑫，徐建富，李丽琴*
（军事科学院防化研究院，北京市昌平区阳坊镇中心南街37号　102205）

摘要：模式生物斑马鱼是毒理学研究中公认的模型。斑马鱼模型填补了体外模型和哺乳动物生物医学模型之间的缝隙。斑马鱼与人类基因组相似度高达87%，与人类有着相似的毒性特征和信号传导通路，同时斑马鱼各器官和组织在解剖学、生理学和分子水平上已被证实与哺乳动物类似，这意味着利用斑马鱼所得毒性实验结果在多数情况下能适用于人类。斑马鱼遗传背景清晰，对有害物质非常敏感，可用于评价化合物毒性，已被国家标准化组织、美国环境保护局、经济合作与发展组织，以及中国农业部和环保部等各国和国际标准组织认定为生态毒性测试的标准鱼类，斑马鱼被称为是21世纪的新型毒性评价模型。与其他流行的遗传模型生物不同，斑马鱼是脊椎动物，它拥有离散的器官和组织，例如大脑、感觉器官、心脏、肝脏、胰腺、肾脏、肠道、骨骼、肌肉等。斑马鱼的器官在解剖学、生理学和分子水平上与人类器官非常相似，有助于研究使用无脊椎动物模型生物无法涉及到的脊椎动物生物过程。斑马鱼的一个显著特征是其胚胎的透明度，每个内部器官和结构都可以在活的完整的有机体中可视化，无需解剖动物就可以对体内动态过程进行多次观察。斑马鱼饲养简单且成本低廉，一对成年斑马鱼通常可以在一次产下数百颗受精卵。因此，即使是一个小型斑马鱼设施，每天也可以产生数千个胚胎。发育中的鱼可以靠储存在卵黄囊中的营养物质在标准384孔板的一个孔中存活数天。同时快速、灵活、高效的成像及示踪技术的发展和分析平台的构建，为高通量筛选奠定了坚实的技术基础。科学家们正在战略性地利用小鱼的发育特征来研究从高通量毒性筛选到多代和跨代毒性研究等主题。高通量技术提高了斑马鱼胚胎毒性试验在化学物质和药物毒性或效果筛选中的实用性。利用斑马鱼开展高通量筛选进行化学生物活性评估正在成为药物发现和毒理学领域的常规方法。随着胚胎斑马鱼越来越多地用于大型毒性筛选项目，越来越需要更加标准化的HTS实践，以减少潜在的不一致结果和改进斑马鱼筛选模型。斑马鱼作为毒性评价独一无二的模型，被用于环境毒性评价已经长达10多年，并且OECD已建立相关的操作规程。相信在多个研究领域的展开以及后期研究工作深入的基础上，加上斑马鱼自身的优势，它在药物筛选及安全性评价中的应用也将走向成熟化和规范化。

关键词：斑马鱼；高通量；筛选；毒性测试

通讯作者：李丽琴，E-mail：15201517118@163.com，E-mail：llq969696@126.com

《毒理学关注阈值（TTC）方法应用指南》团体标准的制定

朱婷婷[1]，高　原[1]，管　娜[2]，郭家彬[3]，黄　超[4]，孔淑仪[5]，李　津[6]，彭双清[3]，瞿小婷[7]，邢泰然[5]，杨杏芬[8]，张　沫[4]，朱　斌[6]
（1. 北京宝洁技术有限公司；2. 陶氏化学（中国）投资有限公司；3. 解放军疾控中心；4. 瑞欧科技；5. 欧莱雅（中国）有限公司；6. 联合利华；7. 上海云策弘新信息科技有限公司；8. 南方医科大学）

摘要：随着经济社会和科学技术的快速发展，人们生活的环境以及食品、化妆品和药品等消费品中检测到的化学物质急剧增加。如何快速准确评估这些化学物质对人类健康的潜在风险，对其中可能导致健康危害的一些化学物质进行优先考虑并作出科学合理的风险管理决策，成为毒理学工作者及相关管理人员高度关注的问题。在此背景下，人们建立发展了毒理学关注阈值（Toxicological threshold concern，TTC）方法。基于化学物质的结构及其与潜在毒性的关系，应用TTC方法可确定不引起人类健康风险的化学物暴露阈值，并指导开展后续的测试和风险评估策略，为风险管理决策制定提供重要依据。TTC方法充分体现了风险评估的务实特点，避免了不必要的毒理学测试，并对暴露量低且不易分离纯化获得的物质，提供了一种简易可行的评估手段。

近年来，以暴露为导向的风险评估发展迅速并越来越多地被应用于各行各业。TTC方法作为一种基于

暴露的评估工具同样也受到我国科技工作者和管理人员的重视，并在食品、药品、医疗器械、环境新化学物质、农药和化妆品等的风险评估中得到广泛应用。TTC方法的应用涉及多个行业领域，但目前我国还没有建立系统规范的相关标准或技术指南。为此，经多位专家共同提议和申请，中国毒理学会于2021年正式立项制定《毒理学关注阈值（TTC）方法应用指南》团体标准，旨在制定TTC方法的应用指南，科学指导并规范该方法的使用。根据国内外TTC方法的理论发展、法规进程、实际应用和未来研究前景，确定了该标准的应用范围及主要规范性应用文件，商定了关键术语及其定义，阐述了TTC方法的科学原理，特别是计算软件的辅助判断。标准描述了不同应用场景中TTC方法的应用，包括通用流程、化妆品TTC、短于终生的遗传毒性/致癌物TTC、混合物、皮肤致敏阈值、吸入毒性阈值、体内TTC和环境TTC等，提供具体应用指导和规范。此标准不仅提供了首个涵盖多个产品类别的TTC方法指南，既有通用流程，又突出了各行业的特点，促进各行业间的交流，为未来计划采用TTC方法的其它产品或者继续拓展TTC应用提供了技术指南。

关键词：风险评估；暴露量；计算软件辅助判断；混合物；皮肤致敏阈值；吸入毒性阈值

T18-0001

内质网应激信号网络在疾病防治中的作用与机制

盛 夏
（华中科技大学公共卫生学院）

摘要：内质网（endoplasmic reticulum，ER）是真核细胞代谢与稳态调控的关键场所，对环境刺激高度敏感。组织微环境改变会引起内质网稳态失衡，诱导内质网应激（ER stress）并激活未折叠蛋白响应（unfolded protein response），可促进细胞稳态恢复，也可导致细胞凋亡。因此，内质网是环境因素与细胞命运交互作用的关键媒介。已知内质网应激与神经退行性疾病、代谢疾病、癌症等重大疾病均密切相关。然而，如何从内质网的角度探索疾病防治策略尚有许多空白亟待填补。

本课题组致力于内质网应激在疾病发生发展中的作用机制研究，主要包括两方面：（1）从内质网应激的角度阐明环境因素诱导认知发育损伤的毒理机制在前期队列研究的基础上，详细报道了环境剂量二苯甲酮孕期暴露对子代小鼠神经干细胞功能、海马区发育及认知能力的影响，明确了毒理效应与剂量反应关系；二苯甲酮诱导内质网应激PERK-ATF4信号与TNFα-NFκB炎症反应信号互作，从而导致神经干细胞凋亡，阐明了毒理机制；研究还提示胚胎期可能是其神经发育毒性的窗口期，并在人源类脑器官等模型中验证了PERK作为靶标的干预效果，提供了转化毒理学证据（Advanced Science 2021）。（2）从内质网应激的角度探索肿瘤分型新策略及其化学防治新机制构建儿童罕见瘤骨肉瘤队列，绘制骨肉瘤分子图谱，依据内质网应激程度建立骨肉瘤风险预测模型，筛选出新的预后标志物，为骨肉瘤高危亚型的早期预警奠定了基础（Clinical and Translational Medicine 2022）。在此基础上，发现提取于箭毒木的香豆素β可与伴侣蛋白TRiC互作，诱导蛋白稳态失衡和骨肉瘤细胞凋亡，为骨肉瘤的治疗提供了新手段（Acta Pharmaceutica Sinica B 2022）。

鉴定了前列腺癌中雄激素对内质网应激不同信号分支的差异性调控机制（EMBO Molecular Medicine 2015）；揭示了IRE1α-XBP1s通路激活c-Myc原癌基因的促癌机制，以及靶向IRE1α对c-Myc活化前列腺癌模型良好的干预效果，为晚期前列腺癌的治疗提供了新方案（Nature Communications 2019）。此外，阐明了P53突变晚期卵巢癌通过激活IRE1α-XBP1s信号介导对DNA损伤药物的耐药机制，为克服其耐药性提供了新思路（Advanced Science 2022）。

综上，本课题组的研究为内质网稳态调控参与神经发育毒理和肿瘤发生发展的作用机制提供了新证据，从内质网的角度为疾病防治贡献了新线索。

通讯作者：盛 夏，E-mail：xiasheng@hust.edu.cn

T18-0002

蛋白磷酸酶2A在高糖高脂饮食诱导非酒精性脂肪性肝炎中的作用研究

杨容芳[1]，梁仲威[1]，李文学[2,*]
（1. 510080广州，中山大学公共卫生学院；2. 广州市疾病预防控制中心毒理学检验部）

摘要：目的 利用肝细胞特异性蛋白磷酸酶2A（Protein phosphatase 2A，PP2A）Aα亚基敲除小鼠模型探讨PP2A在高糖高脂饮食诱导非酒精性脂肪性肝炎（non-alcoholic steatohepatitis，NASH）并发展为肝细胞癌（hepatocellular carcinoma，HCC）中的作用并探讨可能的分子机制。**方法** 将6-7周龄的肝细胞PP2A Aα亚基敲除（Homozygote，HO）的小鼠（*n*=21）和野生型（Wildtype，WT）小鼠（n=22），随机分为高糖高脂饮食（High fat diet，HFD）组和普通饮食组（Normal diet，ND），HFD组小鼠给予脂肪热量为40%的高脂饲料和糖水（23.1 g/L d-果糖 +18.9 g/L d-葡萄糖），不限制饮食和饮水喂饲52周，并在喂饲6周、13周、26周和52周4个时间点的小鼠肝脏进行表型研究。选取高糖高脂饮食13周和52周的WT和HO小鼠的肝组织进行转录组测序，|Log2FC|≥1且 $P<0.05$ 为阈值筛选差异基因，使用Ingenuity Pathway Analysis（IPA）软件分析差异基因的疾病和生物功能以及扰动的信号通路，探讨PP2A在高糖高脂饮食诱导NASH发展为HCC的可能分子机制。**结果** 高糖高脂饮食喂饲引起WT和HO小鼠发生肥胖，但长期喂饲会导致HO小鼠体重下降，活动状态较差；Ppp2r1a基因敲除小鼠更早表现出NASH相关的病理改变，且高糖高脂饮食诱导的肝脏纤维化更加严重。在高糖高脂饮食下，HO小鼠在26周开始出现肝细胞癌（HCC）病变，且发生率随着时间增加而升高，26周和52周HCC发生率分别为11%和50%，提示Ppp2r1a基因敲除促进高脂饮食诱导的NASH发展为HCC。转录组数据分析发现与13周龄小鼠比较，52周龄的WT和HO小鼠肝脏中分别有914个和643个差异表达基因（Differentially expressed genes，DEGs），IPA分析提示高糖高脂饮食主要影响WT小鼠的糖脂代谢相关生物功能和通路，而HO小鼠除了脂质代谢，主要是细胞组织损伤和免疫方面，其中扰动更显著的是核受体组成性雄甾烷受体（constitutive androstane receptor，CAR）、孕烷X受体（pregnane X receptor，PXR）相关通路和肿瘤微环境中的免疫相关通路，既往研究显示核受体CAR和PXR信号通路的激活会导致肿瘤细胞的增殖和凋亡失调，促进肿瘤发生发展，提示PP2A可能通过影响肿瘤微环境和核受体PXR、CAR相关通路介导NASH发展为HCC。**结论** PP2A在高糖高脂饮食诱导NASH的发生发展中起作用，PP2A Aα亚基缺失促进高糖高脂饮食诱导的NASH进展为HCC，可能是通过影响肿瘤微环境和核受体PXR、CAR相关通路实现的。

关键词： 高糖高脂饮食；非酒精性脂肪性肝炎；肝细胞癌；PP2A

通讯作者： 李文学，E-mail：liwenxue_2000@163.com

T18-0003

脂肪代谢的促肝癌作用和靶向应用

卢国栋
（广西医科大学公共卫生学院毒理学教研室）

摘要： 我国肝癌的发病人数和死亡人数高居世界第一，承担着沉重的疾病负担。随着肝癌致癌因素的变迁（即我国“防霉、改水、抗病毒”一级病因预防的成功实施，而代谢性肝病如非酒精性脂肪肝发病率的增加），进一步考虑到我国肥胖或超重等代谢性疾病发病率逐年增加，因此研究肝癌脂肪代谢重编程对于肝癌的防控具有重要意义。脂肪代谢具有普遍而重要的促癌作用，对于肝癌的促癌作用尤为显著。

从2010年开始，我们的系列研究发现：一方面，脂肪代谢的关键因子CEBPA和ACSL4在肝癌中高表达；更重要的是，其蛋白表达水平和肝癌患者的不良预后显著相关。机制研究进一步发现在代谢性应激条件下，CEBPA和ACSL4-介导的脂肪代谢、脂肪自噬和线粒体稳态调控对于肝癌细胞和实体肿瘤的存活具有重要

的作用。正向或负向的调控相关基因，或给予小分子抑制剂处理都可以影响到脂肪自噬依赖的肝癌细胞存活。临床流行病学研究也证实了CEBPA和ACSL4在肝癌组织中的表达可以影响肝癌患者经肝动脉栓塞治疗（体内缺血导致的代谢性应激）的疗效。

另一方面，肝癌细胞中高表达的ACSL4介导的多不饱和脂肪酸活化作用，却可以被利用来诱导脂质过氧化和铁死亡。研究显示ACSL4在肝癌组织中的表达水平和肝癌患者经一线药物索拉非尼（一种铁死亡诱导剂）的疗效相关。采用小分子活性药物青蒿琥酯和槲皮素处理，可以通过提高溶酶体活性和降解载铁蛋白，进一步促进肝癌细胞发生铁死亡。

综上所述，肝癌中活跃的脂肪代谢具有双刃剑的作用，既可以保护肝癌细胞免于代谢性应激导致的细胞死亡，又可以被利用来特异性地诱导铁死亡。

关键词： 肝癌；脂肪代谢；代谢性应激；细胞死亡

通讯作者： 卢国栋，E-mail：golden_lu@hotmail.com

T18-0004

RNAm6A甲基化体系在非酒精性脂肪肝中的调控作用

程文栎，李 敏，张露云，周 铖，余素素，彭欣悦，张文娟*

（暨南大学基础医学与公共卫生学院卫生毒理学教研室，广州 510632）

摘要：目的 分析RNA m6A甲基化在非酒精性脂肪肝病（NAFLD）中的调控作用及其可能的修饰靶点，为NAFLD的表观转录调控机制提供新的研究线索。**方法** 选择GEO数据库中GSE89632数据集为研究对象，包括20名非酒精性脂肪肝（NAFL）及19名非酒精性脂肪性肝炎（NASH）患者，并以24名健康人对照，分析m6A甲基化调控体系在非酒精性脂肪肝患者和健康人群之间的表达差异，及其与患者临床特征脂质沉积、炎症、纤维化和免疫浸润的相关性。通过GSE115469正常肝脏单细胞数据集构建人肝脏免疫微环境图谱，并采用CIBERSORTx估计m6A调控体系与免疫浸润的关系。随后构建蛋白互作网络，找出m6A调控非酒精性脂肪肝的潜在靶点。**结果** 与健康对照组相比，在NAFLD中，m6A RNA甲基转移酶METTL3和METTL14表达显著升高，而WTAP和RBM15显著降低；m6A去甲基化酶FTO表达显著升高；m6ARNA甲基化结合蛋白YTHDC1、YTHDC2、IGF2BP1、HNRNPC和HNRNPA2B1表达显著降低，而EIF3H显著升高。BMI与RBM15、HNRNPC、HNRNPA2B1表达水平显著负相关；脂肪变性与EIF3H表达水平显著正相关，与RBM15、YTHDC2、HNRNPC、HNRNPA2B1显著负相关，；肝小叶炎症与KIAA1429显著正相关，与YTHDF1显著负相关。对于免疫浸润，RBM15、YTHDC1、YTHDC2、HNRNPC、HNRNPA2B1与内皮细胞、单核细胞、组织干细胞水平呈显著正相关，与B细胞、成纤维细胞、前B细胞CD34+、骨髓细胞水平呈负相关。而且，MYC表达异常与m6A调控NAFLD密切相关，其表达升高伴随高密度脂蛋白胆固醇和不饱和脂肪酸比例升高，以及体脂、血糖和转氨酶降低。**结论** RNAm6A调控体系与NAFLD脂肪变性、炎症及免疫微环境相关，其调控异常影响NAFLD发生，MYC可作为潜在的干预靶点。

关键词： 非酒精性脂肪性肝病；m6A；RNA甲基化；MYC

基金项目： 广东省自然科学基金（2021A1515011220）；国家自然科学基金（81903319）

通讯作者： 张文娟，E-mail：zwj2080@126.com

T18-0005

CircRNA-IGLL1/miR-15a/RNF43轴通过Wnt/β-catenin信号通路介导氨诱导的肉鸡空肠自噬

王 悦
（华南理工大学）

摘要：目的 氨气是养殖业中常见的有害气体。非编码RNAs（Non-coding RNA）作为竞争内源性RNA（ceRNAs），在基因表达调控中发挥重要功能。然而，circRNA在禽类氨中毒引起损伤中的具体作用鲜有报导。本研究旨在探究氨气暴露引起肉鸡空肠损伤的机制，明确circRNA在自噬调控中的作用。**材料方法** 本研究以肉鸡为研究对象，在环境控制仓中持续通入气态氨（0-3周龄20 mg/m^3，4-6周龄45 mg/m^3），建立氨气暴露模型。应用透射电镜技术、免疫荧光技术、转录组学检测技术、实时荧光定量PCR法、免疫印记法、生物信息学等，检测空肠组织超微结构变化、circRNA表达谱、自噬相关信号通路基因的表达水平，构建circRNA-miRNA-mRNA调控网络并验证，随后在体外鸡肝癌细胞（LMH）中敲低或过表达筛选出的特定circRNA和miRNA，分析并验证circRNA和miRNA对靶基因及其下游通路的调控作用，以及对自噬水平的影响。**结果** （1）氨气暴露激活肉鸡空肠自噬，诱导空肠组织结构损伤。（2）氨气暴露导致肉鸡空肠组织circRNA转录组发生改变，其中8个circRNA显著差异表达。（3）氨气暴露的鸡空肠组织中circRNA-IGLL1和RNF43的表达显著下调（$P<0.05$），miR-15a的表达显著上调（$P<0.05$），双荧光素酶报告系统检测则进一步证实了circRNA-IGLL1与miR-15a，以及RNF43与miR-15a之间具有靶向作用关系，表明circRNA-IGLL1作为miR-15a的ceRNA，通过竞争性吸附miR-15a以调控RNF43的表达。（4）体内试验结果证实，氨气暴露能上调Frizzled、β-catenin、c-jun、ATG5、ATG9、p-JNK和LC3B的表达水平（$P<0.05$），下调RNF43和p62的表达水平（$P<0.05$），激活Wnt/β-catenin信号通路，促进肉鸡空肠组织自噬的激活。体外试验得到与体内试验一致的趋势。进一步建立过表达miR-15a以及敲低circRNA-IGLL1模型后，发现Wnt/β-catenin信号通路的激活和自噬的发生。此外，自噬抑制剂（3-MA）的干预以及抑制miR-15a的表达，均可显著缓解Wnt/β-catenin信号通路的激活及自噬的发生。**结论** 氨气暴露改变鸡空肠组织circRNA的表达谱，circRNA-IGLL1作为ceRNA竞争性吸附miR-15a，正向调控下游基因RNF43的表达，从而激活Wnt/β-catenin信号通路，诱导肉鸡空肠自噬。

关键词： 氨中毒；空肠；自噬；CircRNA-IGLL1/miR-15a/RNF43轴；Wnt/β-catenin信号通路

通讯作者： 王 悦，E-mail：1849274044@qq.com

T18-0006

基于转录组测序技术研究SO_2引起血管舒张的PI3K/Akt/eNOS信号通路机制

白彩霞，吕文茹，牛雨欣，郭东罡，张全喜*
（山西大学环境与资源学院，太原 030006）

摘要：目的 二氧化硫（SO_2）是一种有毒气体，也是主要的大气污染物之一，其主要来源于工业燃料的燃烧。流行病学研究表明，SO_2的暴露与心血管疾病有关。高血压、冠状动脉疾病、动脉粥样硬化和充血性心力衰竭等心血管疾病是世界范围内的主要死亡原因。此外，SO_2可以作为一种气体信号分子可以引起血管舒张，但是其中所涉及的相关信号通路研究尚不深入。因此，研究SO_2诱导血管舒张的潜在机制，可为SO_2造成的心血管疾病提供更多的实验依据，具有十分重要的意义。**材料和方法** 本研究中，我们首先研究SO_2对关键信号通路PI3K/Akt/eNOS的作用机制，采用离体血管环实验技术，用不同浓度的SO_2（30 μM、300 μM、1500 μM）作用于内皮完整与去内皮组的主动脉血管，向其中添加抑制剂LY294002或L-NAME，观察

并记录SO_2对血管环张力的影响，其次，为了进一步探讨SO_2舒张血管的机理，采用荧光定量PCR技术、Western Blot技术、NO、NOS 试剂盒、cAMP、cGMP ELISA 试剂盒分别测定了PI3K mRNA表达水平和Akt、eNOS、p-Akt、p-eNOS蛋白表达水平及NO含量、NOS酶活性、cAMP和cGMP含量。进一步，我们研究了SO_2对主动脉血管中caspase-3及caspase-9含量的影响。最后又在细胞水平上进行了转录组高通量测序，全面分析差异表达基因。结果研究发现，在内皮完整组，阻断剂LY294002和L-NAME对SO2舒张血管的效应有部分抑制作用。并且当SO_2浓度为30 μM时，PI3K、p-Akt、p-eNOS蛋白表达水平显著增加，当SO_2浓度为300 μM或1500 μM时，PI3K、p-Akt、p-eNOS蛋白水平明显降低，NOS活性、NO、cGMP 活性明显升高。1500 μM的SO_2显著提高了caspase-3和caspase-9的水平。我们推测高浓度的SO_2可能会损害大鼠主动脉。转录组测序数据得出SO_2对人动脉血管平滑肌细胞PI3K/Akt/eNOS信号通路上总共有16个差异表达的基因，其中12个为上调基因，4个为下调基因，并且这些基因都涉及到免疫应答、细胞增殖、炎症反应等生物过程。**结论** 综上所述，SO_2可能通过介导PI3K/Akt/eNOS信号通路引起大鼠主动脉血管舒张。高浓度的SO_2对大鼠主动脉有一定的损害作用。更深入的了解SO_2对心血管舒张的影响及其潜在机制，将进一步揭示由SO_2引起的心血管疾病的病因此外，基于转录组测序技术，得出SO_2对主动脉血管平滑肌细胞PI3K/Akt/eNOS信号通路16个差异表达的基因，为我们下一步的研究提供了新的方向。

关键词： SO_2；转录组测序；血管舒张；PI3K/Akt/eNOS通路

项目资助： 国家自然科学基金面上项目（21777090）；山西省回国留学人员科研资助项目（2020-10）

T18-0007

AhR调控ROS释放介导HQ诱导的JHP细胞焦亡和内质网应激

杨晓涵，董双燕，李 超，厉 铭，贺 今，邵 华*，贾 强，*

〔山东省职业卫生与职业病防治研究院，山东第一医科大学（山东省医学科学院），山东 济南 250062〕

第一作者：杨晓涵

E-mail：yangxiaohan1009@163.com

地址：山东省职业卫生与职业病防治研究院，山东第一医科大学（山东省医学科学院），山东济南

电话：+86 18396850615 传真：+86 53182594079

摘要：目的 通过检测氢醌（HQ）对人外周血淋巴母细胞（JHP）中细胞焦亡、内质网应激，活性氧（ROS）释放的影响，进一步观察分别抑制ROS释放和AhR表达后对内质网应激和细胞凋亡的影响，从而探讨在苯诱导血液毒性中的潜在机制。**方法** （1）以人外周血淋巴细胞（JHP）为研究对象，分别应用ROS清除剂（NAC）、AhR抑制剂（CH223191）和ERS抑制剂（4-PBA）预处理2 h，然后以10 μM HQ处理12 h后，利用CCK8法检测细胞生存率的变化水平。（2）以不同浓度的HQ（0、1、5、10 μM）处理JHP细胞12 h后，利用活细胞成像技术检测活性氧（ROS）释放，采用蛋白印迹法（Western Blot）检测各组细胞中抗氧化相关蛋白（Nrf2、Keap1、HO-1、NQO1）、内质网应激相关蛋白（PERK、IKE1a、ATF6、GRP78、CHOP、Caspase12）以及焦亡相关蛋白（NLRP3、GSDMD、Caspase1、ASC、IL-1β）表达水平。（3）应用ROS清除剂（NAC）预处理和ERS抑制剂（4-PBA）预处理2 h，然后以10 μM HQ处理12 h后，采用蛋白印迹法（Western Blot）检测各组细胞中抗氧化相关蛋白（Nrf2、Keap1、HO-1、NQO1）、内质网应激相关蛋白（PERK、IKE1a、ATF6、GRP78、CHOP、Caspase12）以及焦亡相关蛋白（NLRP3、GSDMD、Caspase1、ASC、IL-1β、NF-kappaB）表达；（4）利用AhR化学抑制剂CH223191预处理1 h，以10 μM HQ处理12 h后，利用活细胞成像技术检测活性氧（ROS）释放，采用Western Blot法检测各组细胞抗氧化相关蛋白、内质网应激相关蛋白以及焦亡相关蛋白表达；免疫荧光法检测Nrf2蛋白的核转位情况。**结果** （1）CCK8法检测不同抑制剂对JHP细胞存活率的影响，发现细胞的存活率均为85 %以上。（2）不同浓度HQ处理JHP细胞后，与对照组比较，JHP细胞的

抗氧化相关蛋白、内质网应激相关蛋白以及焦亡相关蛋白相对表达也随浓度增加呈剂量依赖性增高（$P<0.05$）。随着染毒剂量增加，ROS释放水平显著高于对照组（$P<0.05$），且Nrf2蛋白荧光表达水平逐渐转入核内，且荧光强度显著增高显著高于对照组（$P<0.05$）。（3）分别将JHP细胞用ROS清除剂（NAC）预处理和ERS抑制剂（4-PBA）预处理2 h后暴露于HQ（10 μM）12 h。与HQ组相比，HQ+NAC组细胞中NLRP3、GSDMD、Caspase1、ASC、IL-1β、NF-kappaB蛋白表达显著下降（$P < 0.05$）。HQ +4-PBA组抗氧化相关蛋白（Nrf2、Keap1、HO-1、NQO1）、内质网应激相关蛋白（PERK、IKE1a、ATF6、GRP78、CHOP、Caspase12）表达显著下降（$P<0.05$）。（4）以10 μM AhR抑制剂（CH233191）预处理JHP细胞1 h后，与HQ组相比，HQ + CH223191组的抗氧化相关蛋白（Nrf2、Keap1、HO-1、NQO1）、内质网应激相关蛋白（PERK、IKE1a、ATF6、GRP78、CHOP、Caspase12）以及焦亡相关蛋白（NLRP3、GSDMD、Caspase1、ASC、IL-1β）表达水平显著下降（$P<0.05$）。与HQ组相比，CH223191的预处理抑制了HQ诱导的ROS释放，Nrf2荧光表达水平在胞核内显著下调（$P<0.05$）。**结论** HQ可通过促进ROS释放诱导JHP细胞焦亡和内质网应激，抑制AhR的表达能够降低HQ诱导的ROS释放，进而减少JHP细胞焦亡和内质网应激。

关键词：氢醌；芳香烃受体；细胞焦亡；活性氧；内质网应激；血液毒性

通讯作者：贾　强，E-mail:jiaqiang5632@163.com；邵　华，E-mail：chinashaohua5888@163.com

T18-0010

Shuganning injection protects against cantharidin-induced liver injury by suppressing oxidative stress and hepatic apoptosis in HepaRG cell

Duan Xiaotong[1], Zhang Jianyong[2,3], Li Xiaofei[1]

(1. School of Basic Medicine, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China; 2. School of Pharmacy, Zunyi medical university, Zunyi, China; 3. Key Laboratory of Basic Pharmacology Ministry Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine Ministry of education, Zunyi medical University, Zunyi, China)

Abstract: Background Cantharidin (CTD) is the strong antitumor activity compound in Mylabris, which could produce potential toxic effects, especially hepatotoxicity in clinical application. Shuganning injection(SGNI), a TCM formula, has been extensively used to treat liver injury, which has the function of protecting liver and improving immune function. It is clinically used to treat various diseases of liver function injury, and it may have a protective effect on hepatotoxicity caused by CTD. This research aimed to explore the anti-hepatotoxicity effect and underlying molecular mechanism of the protective role of SGNI against. **Materials** The human hepatocyte cell line HepaRG was purchased from the Type Culture Collection of the Chinese Academy of Sciences(Shanghai, China), RPMI 1640 medium (Gibco, USA), fetal bovine serum (FBS, Sigma, USA), penicillin and streptomycin (Solarbio, China), phosphate-buffered saline (PBS, Gibco, USA), 0.25 % trypsin (Gibco, USA), Cell Counting Kit-8 (CCK-8) reagent (Dojindo, Japan), ALT, aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), SOD, glutathione peroxidase (GSH-PX), and malondialdehyde (MDA) (Jian Cheng Bioengineering Institute, Nanjing, China), Hoechst 33342(Solarbio, China), Annexin V-fluorescein isothiocyanate (FITC)/propidium iodide (PI) apoptosis detection kit (Solarbio, China) ,Caspase 3, B-cell lymphoma 2(Bcl-2) and Bax (Cell Signaling Technologies, USA), Trizol kit, PrimeScriptTM RT Reagent kit, TB Green TM premix Ex TaqII (TaKaRa, China) , CTD (product purity was > 99 %, Sigma, USA) were used in this study. SGNI was bought from Guizhou Ruihe Pharmaceutical Co. Ltd. (National drug approval Z20025660, Batch No 20170718). **Methods** Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) database was used to screen active ingredients of SGNI, and their relative targets were

fished from UniProt database. CTD-DILI related targets were screened from GeneCards, CTD and DisGee database. The overlapping genes between SGNI and CTD-DILI were identified by Venn diagram, and further analyzed for protein-protein interaction (PPI), Gene Ontology (GO), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). A network diagram of "target-pathways" was also constructed using Cytoscape 3.7.1.Following pretreatment with different concentrations of SGNI(0, 1.25, 2.5, 5, 10 ,20 mg/mL), HepaRG cells were stimulated with 10μM CTD. The viability of HepaRG cells was determined, and the Annexin VFITC/PI assay kit was utilized for the assessment of apoptosis. The levels of GSH-Px, SOD and MDA were assessed. Moreover, q-PCR and Western blot were applied to measure the mRNA and protein expression of Bcl-2, Bax and caspase-3. **Result** 308 active ingredients were identified in SGNI, and corresponded to 438 targets. Meanwhile, 93 targets were closely associated with CTD-DILI development. A total of 62 core targets between SGNI and CTD-DILI were identified, which were regarded as therapeutically relevant. GO enrichment analysis indicated that SGNI exerted anti-DILI effects depending on regulating multiple biological processes including apoptotic process, oxidative stress, cell proliferation, and cell cycle.The KEGG pathway analysis showed that apoptotic and p53 signaling pathways were significant pathways in these processes. These results revealed that the possible targets of SGNI were involved in the regulation of apoptosis signaling pathway. Then, *in vitro*, SGNI significantly increased HepaRG cell viability. The levels of oxidative stress factors including GSH and SOD were significantly increased by SGNI ($P<0.05$). Annexin V/PI assays indicated that SGNI could significantly decrease the cell apoptotic rate *in vitro* ($P<0.05$). The remarkable upregulation of Bcl-2 and downregulation of Bax, Caspase-3 exepression level further confirmed this result.Taken together, these results indicated that SGNI can reduce HepaRG cytotoxicity by inhibiting apoptosis, which provides a scientific basis for CTD-induced hepatotoxicity. This study provides evidence that SGNI plays a critical role in anti-injury, indicating that SGNI is a candidate herbal drug for further investigation in treating CTD-DILI conditions. **Conclusions** SGNI was shown to exert protective effect against oxidative damage of HepaRG cells, which, in part, was achieved by regulatingapoptosis.

Key words: Shuganning injection; Cantharidin; drug-induced liver injury; apoptosis; oxidative stress

T18-0011

砷致Kupffer细胞TLR 4信号通路表达改变及其对肝星状细胞活化的影响

宋 倩，何 瑞，刁珩金英，王大朋*

（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室，公共卫生与健康学院毒理学系，贵阳 550025）

摘要：目的 慢性砷暴露可导致肝纤维化损伤，其中肝星状细胞（HSC）活化是肝纤维化发生的关键，但具体机制尚不清楚。Kupffer细胞（KC）是肝脏的常驻免疫细胞，其持续激活所导致的炎症反应是肝纤维化发生进展中的中心环节；Toll like receptor4（TLR4）表达于肝脏各细胞类型，体内外实验均发现TLR4信号通路的激活参与了HSC的活化过程。因此，本研究以KC为研究对象，通过体外实验，探讨砷暴露下KC中TLR4信号通路表达改变及其对HSC活化的影响。 **方法** 健康SD大鼠进行肝脏原位灌注Ⅳ型胶原酶、Optiprep密度梯度离心分离培养KC，以0.0、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 μM亚砷酸钠处理24 h，采用CCK-8测试剂盒测定KC存活率，计算半数抑制浓度（IC50）。根据IC50结果，采用0、2.875、5.750、11.500 μM亚砷酸钠对KC染毒24 h；另取11.500 μM亚砷酸钠染毒0、12、24、48 h；与此同时，采用transwell小室，将大鼠肝星状细胞系（HSC-T6）与KC进行共培养，到达处理终点收集细胞沉淀及培养上清。采用蛋白印迹法和免疫荧光法检测KC中TLR4信号通路相关蛋白表达及HSC-T6中活化相关蛋白表达情况。 **结果** 1、随亚砷

酸钠处理浓度的增加，KC细胞存活率逐渐下降，其中40.0、80.0 μM亚砷酸钠处理组细胞存活率较对照组均明显降低（P<0.05）；IC50为45.815 μM。2、TLR4相关蛋白检测结果发现，2.875、5.750、11.500 μM亚砷酸钠处理KC 24 h后，TLR4、p-p50和p-p65蛋白表达水平均高于明显对照组，且在11.500 μM剂量组蛋白表达差异最为显著（P均<0.05）。11.500 μM亚砷酸钠处理KC 0、12、24、48 h后，12、24 h组中TLR4、p-p50和p-p65蛋白表达水平随时间增加而升高（P均＜0.05），但在48 h后，TLR4、p-p50和p-p65蛋白表达水平降低（P均<0.05）。3、HSC-T6活化相关蛋白检测结果发现，不同剂量组与单独培养组相比，α-平滑肌动蛋白（α-SMA）及波形纤维蛋白（Vimentin）的表达水平均明显升高（P均<0.05）。11.500 μM亚砷酸钠处理KC 0、12、24、48 h后，与之共培养的HSC-T6中α-SMA和Vimentin均较单独培养组明显升高（P均<0.05）。**结论** 亚砷酸钠暴露可激活KC中TLR4信号通路表达，进而诱导HSC-T6进一步活化。

关键词： Toll样受体4；炎症；砷；kupffer细胞；肝星状细胞

基金项目：国家自然科学基金（81872657；82060582）；贵州省第十三批优秀青年科技人才项目（黔科合平台人才[2021]5611号）

通讯作者： 王大朋，E-mail：wojiushiwdp@126.com

T18-0012

细胞焦亡在砷致病机制中的研究进展

金　英，王大朋*

（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室，公共卫生与健康学院毒理学系，贵阳　550025）

摘要　砷（As）是一种类金属，在自然界中广泛存在，全世界约有9400万-2.2亿人暴露于砷污染，砷进入人体可攻击皮肤系统、消化系统、神经系统、免疫系统等造成多器官损伤。细胞焦亡（Pyroptosis）又称为细胞炎性坏死，是一种依赖于半胱天冬氨酸酶（cysteinyl aspartate specific proteinase，Caspase）的新型程序性死亡。其释放的炎性因子白介素-1β（IL-1β）是先天免疫反应的重要组成部分，在对抗入侵病原体发挥重要作用。作为机体的一种天然免疫机制，细胞焦亡参与了多种疾病的发生发展。越来越多的研究专注于砷毒性机制与细胞焦亡的关系，发现细胞焦亡在砷导致的肾脏疾病、肝脏疾病、代谢性疾病（主要为Ⅱ型糖尿病）等疾病发生发展中发挥着重要作用。肝脏是砷的主要毒性靶点、砷代谢的主要部位，砷可导致机体发生非酒精性脂肪性肝炎（NASH）、肝纤维化、肝硬化、肝癌等肝脏疾病，其中肝纤维化作为肝脏损伤发展过程中唯一可通过治疗逆转的关键环节，探讨该阶段的具体分子机制具有极大的转化应用价值。研究发现砷可直接诱导肝星状细胞（HSC）发生细胞焦亡，使其活化，导致肝纤维化发生；也可间接诱导库普佛细胞（Kupffer）、肝实质细胞等发生焦亡，释放炎性因子白介素-1β（IL-1β）诱导HSC活化，进而参与肝纤维化的发展，且通过分子抑制剂或非编码RNA抑制或减弱细胞焦亡发生可有效缓解肝脏损伤。有研究提出肝纤维化的发生可能由于肝细胞和非实质细胞中的NOD样受体蛋白3（NOD-like receptor protein 3，NLRP3）炎症小体激活而导致肝脏出现病理状态（如NASH），诱导促炎因子释放，HSC活化，导致胶原沉积和纤维化。肝实质细胞作为肝脏吸收处理饮食内容物的首个细胞类型，可能会因摄入无机砷而受到损伤。因此砷可能通过诱导肝实质细胞中NLRP3炎症小体的激活，引起肝实质细胞发生焦亡，释放的细胞因子进而诱发肝星状细胞活化，导致肝纤维化发生，但该具体机制有待进一步研究证实。

关键词： 砷；细胞焦亡；肝脏；肝纤维化；肝星状细胞；肝实质细胞

基金项目：国家自然科学基金（82060582；81872657）；贵州省第十三批优秀青年科技人才项目（黔科合平台人才[2021]5611号）

通讯作者： 王大朋，E-mail：wojiushiwdp@126.com

T18-0013

大鼠急性酒精中毒代谢组学的研究

韩少琪，陈意飞
（扬州大学附属医院）

摘要：目的 运用代谢组学技术研究急性酒精中毒大鼠体内代谢物的差异变化及其涉及的信号通路，探寻急性酒精中毒对机体的潜在影响。**材料和方法** 将体重为296~303g的成年SPF级Wistar大鼠随机分为两组：酒精组和对照组各8只，酒精组按照10 g/kg的标准给予酒精灌胃，对照组给予同等体积的饮用水灌胃。各组大鼠分别采血标记。样本进行试验前处理后，采用Nexera UPLC超高效液相串联QE高分辨质谱仪进行分离，用UNIFI 1.8.1。软件进行原始数据采集，经代谢组学处理软件Progenesis QI v2.3进行处理，使用HMDB和Lipidmaps（v2.3）及METLIN数据库对化合物进行定性。将筛选后的正负离子数据合并成数据矩阵表，进行无监督的主成分分析分析、有监督的偏最小二乘判别及正交偏最小二乘判别分析模型的200次响应排序检验，验证分析系统性能的稳定性和分析数据的质量以及筛选出有意义的代谢物。根据差异代谢物，进一步进行相关性分析、层次聚类以及KEGG代谢通路分析。**结果** 各组大鼠血清在正、负离子模式下轮廓大致相似，但代谢物含量有差异，提示酒精中毒并未使血液的代谢物谱发生剧烈变化，但对代谢物含量产生了一定影响；基于PLS-DA模型第一主成分的VIP值＞1和t检验的p值＜0.05，筛选出有显著差异的代谢物有196种，包括柠檬酸、溶血性磷脂酰胆碱、壬二酸、色氨酸等，提示急性酒精中毒对于大鼠的糖代谢、能量代谢、蛋白质代谢等多个代谢过程均可产生影响；KEGG代谢通路分析发现具有显著差异的代谢通路24条，主要包括逆行内啡肽信号、甘油磷脂代谢、胰高血糖素信号通路、癌症胆碱代谢、柠檬酸循环等，表明多个信号通路参与急性酒精中毒过程；此外，非酒精性脂肪肝、糖基葡糖苷醇锚定生物合成、胰岛素信号通路等富集程度较大，表明此信号通路在急性酒精中毒过程中可能起到了相对重要的作用。**结论** 急性酒精中毒可通过多种信号通路影响逆行内啡肽信号、糖代谢及甘油磷脂代谢等代谢过程，急性酒精中毒对个体神经传导有一定影响，对相关癌症发生、发展亦有潜在的促成及推动作用。

关键词：急性酒精中毒、代谢组学、信号通路、代谢物

通讯作者： 韩少琪，E-mail：hanshaoqi18@163.com；陈意飞，E-mail：1979chenyifei@163.com

T18-0014

六价铬通过DNA损伤反应介导的GATA4/NF-κB信号通路诱导肝细胞早衰

马 羽，李思文，叶淑姿，胡 蝶，魏 莱，肖 芳
（中南大学湘雅公共卫生学院卫生毒理系，湖南省 长沙市 410078）

摘要：目的 通过构建重金属六价铬（Hexavalent Chromium，Cr(VI)）诱导的早衰L02肝细胞模型来探讨锌指转录因子GATA4/核因子κB（nuclear factor kappa-B，NF-κB）在Cr(VI)诱导的L02肝细胞早衰过程中所发挥的作用以及调控衰老相关分泌表型（senescence-associated secretory phenotype）的机制。为预防和靶向治疗Cr(VI)相关癌症提供新的实验室证据和策略。**方法** 体外实验对照组采用PBS处理L02肝细胞4周，每周3次，每次24小时。处理组采用10 nM Cr(VI)处理L02肝细胞，处理时间与对照组相同。于处理第0、2、4周检测GATA4蛋白表达情况，在处理结束后检测细胞衰老相关指标。构建GATA4敲低L02肝细胞对相关通路进行验证。体内实验阴性对照组采用超纯水做溶剂对照；Cr(VI)处理组采用150 μg/L Cr(VI)饮水染毒；Cr(VI)+PDTC组除饮水染毒外，每隔3天予以30mg/kg PDTC颈部皮下注射；PDTC组每隔3天予以30 mg/kg PDTC颈部皮下注射。**结果** Cr(VI)经由DDR抑制p62的选择性自噬导致GATA4表达升高。在Cr(VI)诱导的L02肝细胞早衰中GATA4介导NF-κB激活。GATA4调节Cr(VI)诱导的早衰L02肝细胞中SASP的分泌。**结论** Cr(VI)刺激导致肝细胞DNA损伤，持续的DDR导致GATA4逃避p62介导的选择性自噬，从而激活NF-κB，诱导肝细胞早衰。

关键词：六价铬(Cr(VI))；衰老相关分泌表型(SASP)；锌指转录因子GATA4
通讯作者：肖　芳，E-mail：fangxiao@csu.edu.cn

T18-0015

Dynamic alteration profile and new role of RNA m6A methylation in replicative and H_2O_2-induced premature senescence of human embryonic lung fibroblasts

Fan Wu[1,2]†, Luyun Zhang[2]†, Caiyun Lai[2], Cheng Zhou[2], Bo Zhang[1]*, Wenjuan Zhang[2]*

(1. School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Department of Toxicology, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: OBJECTIVE The aim was toexplore the differences profile between cell replicative and premature senescence and provide potential clues for the intervention of age-related diseases. **METHODS** According to the age definition in cell culture, we divided them into young cells, mid-aged, and replicative senescencecells. HEFs around 22PDL were exposed to 400 μmol/L H_2O_2 for 2 h every day for 4 consecutive days; the cells group was calledthe premature senescence initiation group and then given fresh L-DMEM with fetal bovine serum and cultured for another 7 days, defined as the premature senescencepersistence group. The SA-β-galactosidase staining kit was used to detect cell senescence status. The total cellular ROS level was measured by reactive oxygen species detection assay kit. Real-Time Q-PCR was for the mRNA level andwestern blot for protein level. The m6A modification level of total RNA was examined according to EpiQuikTM m6A RNA methylation quantification kit. The total activity of m6A-modification-related enzymes was determined by colorimetry.MeRIP-Q-PCR for m6A modification abundance of aging-related genes. Protein－protein interactionnetwork was to detect their interactions.**RESULTS** Compared with replicative senescence, ROS changed the expression profiles for m6A-related enzymes and binding proteins, including higher levels of METTL3, WTAP, KIAA1429, and FTO, and lower levels of METTL16, ALKBH5, YTHDC1, and YTHDF1/2/3 in the premature senescence persistence group, respectively. Senescent cells haddecreased total m6A content and RNA methylation enzymes activity, regardless of replicative or premature senescence. The m6Amethylation modification abundance of SIRT3 and E2F3 was higher in the PSp group thanthat in the 22PDL and 49PDL group. However, the m6A modification abundanceof IRS2 in the 49PDL group was higher than that in the PSp group. The other twogenes did not differ statistically between the two kinds of senescent cells. RNA m6A modification inhibited the posttranscriptional translation of SIRT3, E2F3, andIRS2, causing reduced protein levels. **CONCLUSION** The cellular endogenous and exogenous ROS induce cellular senescence with a specific and differential profiles of m6A-related enzymes, binding proteins, and the targeted genes, and also modulate the overall m6A level and the epi-transcriptomicmicroenvironment, contributing to the occurrence of cell senescence, which will bring about the potential possibility for the prevention and intervention of cell senescence in the future.

Key words: Oxidative stress; Premature senescence; m6A; RNA methylation

Foundation item: Natural Science Foundation of Guangdong Province of China (2021A1515011220); National Natural Science Foundation of China (81473014)

Corresponding author: Bo Zhang, E-mail: zhangbo2018@smu.edu.cn; Wenjuan Zhang, E-mail: zwj2080@126.com

T18-0016

c-JUN通过miR-451aBATF/SETD5/ARHGEF3轴影响氢醌抑制K562细胞红系分化

吕彦蓉，秦静瑶，马小菊，张 雪，廖其龙，邢秀梅，侯孟君，魏 青，王 庆，陈 雯，肖勇梅*
（中山大学公共卫生学院，广东 广州 510000）

摘要：目的 苯（Benzene）是一种广泛使用的工业化学品，长期苯暴露可对血液和骨髓造成损害。我们前期研究发现miR-451a与慢性苯中毒患者红系细胞损伤相关，本研究将探讨miR-451a参与苯及其代谢物诱导红系损害的具体机制。**方法** （1）苯代谢物氢醌（Hydroquinone，HQ）梯度染毒（0、1.0、2.5、5.0、10.0 μM）K562细胞后，采用40 μM氯高铁血红素（hemin）诱导K562细胞分化。使用联苯胺染色法以及γ-globin基因表达量共同评估红细胞分化水平，台盼蓝计数法检测细胞增殖能力。通过qRT-PCR方法检测miR-451a表达的改变。（2）通过数据库miRTar.Human筛选miR-451a的候选靶基因，采用qRT-PCR和Western blot实验验证靶基因表达量与HQ染毒的剂量反应关系。通过双荧光素酶报告基因实验验证miR-451a与靶基因BATF、SETD5、ARHGEF3的结合位点。将miR-451a mimic或inhibitor转染至K562细胞，采用qRT-PCR和Western blot实验验证靶基因BATF、SETD5、ARHGEF3与miR-451a表达的关系。在K562细胞中敲低靶基因BATF、SETD5、ARHGEF3，观察红细胞分化水平的改变。（3）通过TransmiR v2.0数据库筛选miR-451a上游转录因子。在HQ染毒的K562细胞中过表达或敲低c-JUN，通过qRT-PCR方法检测miR-451a表达的改变。通过JASPAR数据库预测转录因子c-JUN和miR-451a的结合位点，并采用双荧光素酶报告基因实验验证c-JUN对miR-451a的调控。**结果** （1）HQ染毒K562细胞后，联苯胺染色阳性细胞的比例以及γ-globin表达量降低，miR-451a表达下降，且均与HQ浓度呈剂量-反应关系，低浓度HQ即对细胞分化有明显抑制作用。而低浓度HQ暴露未引起细胞增殖能力下降。（2）双荧光素酶报告基因实验显示，miR-451a能够直接结合下游靶基因BATF、SETD5、ARHGEF3的3'-UTR区。qRT-PCR和Western blot实验表明，miR-451a通过下调BATF、SETD5和ARHGEF3基因的表达抑制HQ诱导的K562细胞红系分化障碍。敲降靶基因SETD5和ARHGEF3后，K562细胞分化增加；敲降BATF后，K562细胞分化减少。（3）过表达转录因子c-JUN后，miR-451a表达增加，干扰敲降结果则相反。双荧光素酶报告基因实验验证了c-JUN与miR-451a上游启动区的结合。**结论** 低浓度苯代谢物HQ可下调miR-451a的表达，并通过调控下游靶基因BATF、SETD5和ARHGEF3的表达，参与调节HQ抑制红系分化，这一通路受到转录因子c-JUN调控。

关键词： 氢醌；K562细胞；红细胞分化；miR-451a；c-JUN

通讯作者： 肖勇梅，E-mail：xiaoym@mail.sysu.edu.cn

基金项目： 国家自然科学基金面上项目（82173558，81973006，81973076）；广东省自然科学基金面上项目（2021A1515011669）

T18-0017

氢醌抑制K562细胞红系分化的转录组学特征分析

余春红[1]*，张宇婧[2]，韩 畅[2]，胡唯佳[2]，易宗春[2]
（1.北京航空航天大学医学科学与工程学院，北京 100191；2. 北京航空航天大学生物与医学工程学院，北京 100191）

摘要：目的 研究了氢醌在抑制K562细胞红系分化过程中红系分化相关基因的表达变化。**材料和方法** K562细胞经40 μM 氯化高铁血红素处理24~120 h，提取RNA通过反转录PCR分析红系相关基因表达

水平。 K562细胞先经40 μmol/L氢醌处理72 h，然后经氯化高铁血红素诱导48 h，提取RNA通过转录组学和生物信息学分析相关基因表达变化。**结果** Hemin诱导K562细胞培养24~120 h，细胞内α-globin的mRNA表达水平依次为对照组的1.28倍、1.47倍、1.37倍、1.39倍和1.37倍；CD71的mRNA表达水平依次为对照组的1.62倍、1.38倍、0.69倍、1.12倍和1.63倍；GPA的mRNA表达水平依次为对照组的3.40倍、4.24倍、4.29倍、3.29倍和3.56倍；ALAS2的mRNA表达水平依次为对照组的1.16倍、2.16倍、2.80倍、4.13倍和3.74倍；PBGD的mRNA表达水平依次为对照组的2.66倍、3.66倍、2.93倍、2.91倍和3.75倍。而氢醌+Hemin组K562细胞内α-globin、CD71、GPA、ALAS2和PBGD的mRNA的表达水平分别显著降低为Hemin组的0.86倍、0.64倍、0.71倍、0.78倍和0.85倍。转录组学分析氢醌+Hemin组与Hemin组相比，共有4001个差异基因，其中2239个基因上调，1762个基因下调。GO分析上调转录的基因主要参与了细胞氮化物代谢、氮化物代谢和细胞代谢过程，差异基因主要定位在细胞内、细胞器、细胞内有膜的细胞器和细胞质等；下调转录的基因主要参与了生物调节、生物过程的负调控和刺激反应，大多数差异基因定位在细胞内、细胞器和细胞内有膜细胞器和内膜系统上。KEGG分析上调转录的基因主要富集在萜类化合物骨架生物合成、硫中继系统、剪接体、RNA转运、RNA聚合酶；下调转录的基因主要富集在病毒致癌作用、肿瘤中的转录失调、系统性红斑狼疮、多能性干细胞调控的信号通路、RNA降解等通路。转录组学分析获得了23个基因参与红系分化正调控通路，73个基因参与红系分化通路，氢醌作用会抑制血红蛋白家族成员HBE、HBG2、HBG1、HBA2、HBZ、HBA1和HBD这些基因的表达，且抑制了Hemin诱导K562细胞红系分化中多数红系分化相关基因转录表达。**结论** Hemin诱导K562细胞24~120 h过程中，红系分化相关基因表达升高，而氢醌抑制了红系分化过程中这些基因的转录表达。转录组学整体水平上Hemin诱导后K562细胞红系分化正调控和红系分化相关基因转录水平升高，而氢醌抑制了Hemin诱导的K562细胞红系分化相关包括血红蛋白基因转录表达，这些红系基因为苯的红系血液毒性机制研究提供了一定的方向。

关键词：氢醌；红系分化；转录组学

通讯作者：易宗春，E-mail：chunhongyu@buaa.edu.cn，E-mail：yizc@buaa.edu.cn

T18-0018

Novel insights into macrophagesinflammatoryregulation:key role of mitochondria health and redox balance

YuWeihua, Hai Chunxu*

(Department of Toxicology, Fourth Military Medical University, Xi' an 710032, China)

Aims: Macrophages recruitment and associated systemic inflammation are hallmark of various diseases, including sepsis and radiation sickness. In general, macrophages are broadly divided into two opposing categories, pro-inflammatory (M1) phenotype and anti-inflammatory (M2) phenotype. Mitochondria constantly remodel their mass, shape, size, and function by undergoing opposite processes of fission and fusion. The mitochondria dynamics is controlled by a series of GTPase, including dynamin-related protein 1 (Drp1)and mitofusin (mfn1/2). Recently, many literatures have emphasized the critical role of mitochondria and ROSinmodulating innate immune and inflammatory processes. However, the mechanisms involved inmacrophage polarization and inflammatory regulation remainsobscure. Here, we found that mitochondrial health and redox balance might play an essential role in this procession. **METHODS** Here, a series of cell lines (including RAW264.7, THP-1, BV2), and primary cultured cells (such as peritoneal macrophages and BMDM) were used. These cells were stimulated with LPS (M1 phenotype)orIL-4 (M2 phenotype) for 24 hours. Meanwhile, designed shRNA andspecific inhibitor/agonistwere used to limit the function of Drp1 and mfn1/2, which are responsible for modulating mitochon-

drial dynamics. Mito-trackerstaining and the transmission electron micrographs (TEM) were conducted to detect the mitochondrialmass and morphology.ROS was determined by stainingwith H2DCFDA. The expression of cytokines was analyzed by real-time PCR and Western-blot. And OCR and ECAR were measured using Seahorse method.In order to investigate the role of Drp1 and Mfn1/2 in vivo,mice with myeloid Drp1 and Mfn1/2 deficiency were treated with 15 mg/kg LPS. In addition,specific inhibitor/agonist of Drp1 and Mfn1/2 were also given to rescue LPS-challenged sepsis mice. **RESULTS** Mitochondrial dynamics, including fission and fusion, control the health and quality of mitochondria in mammalian cells. Interestingly, we found that LPS-treated macrophages exhibited enhanced mitochondrial fission, charactered by increased mass, shorter length, and reduced cristae structure. Notably, the increase of mitochondrial mass has not been reported before, and may be used as a novel marker of M1 macrophages. Meanwhile, theses remodeled mitochondria undergo metabolism reprogramming,which promotes their function shift from ATP synthesis to generate ROS, and further drives pro-inflammatory cytokines production. In conclusion, we also comprehensively demonstrate that a Stat2boosts Drp1 phosphorylation at serine 616is necessary for mitochondrial remodeling and macrophagespro-inflammatory differentiation. Knockdownor inhibition of Drp1obviously suppressed LPS-induced pro-inflammatory response both in vivo and invitro. Reversely, we also revealed thatincreased mitochondrial fusionis required for IL4-induced the expression of anti-inflammation cytokines,including Arg1,Fizz1 andIL-10. Briefly, IL-4 stimulates enhanced mitochondrial fusion inmacrophages, reduces the generation of ROS by remodeling the mitochondrialcristae, and reduces polyunsaturated fatty acids oxidation, which in turnactivates PPARγ and downstream anti-inflammatory signals. Therefore,M1 macrophageshave punctate mitochondria, while M2 macrophagesmaintain fused networks. Mitochondrial dynamicsmight control the cell fate of macrophages through affecting the intracellular redox balance. **CONCLUSION** In conclusion, our results proved that morphological changes inmitochondria are a primary signal that shapes redox balancein M1- and M2-polarized macrophages. Briefly, LPS leads to fissed mitochondria and increased ROS, which inducing macrophagespro-inflammatorydifferentiation, while IL-4 promotes mitochondrial fusion and ROS reduction, which facilitates macrophages anti-inflammatorydifferentiation. Targeting the mitochondrial dynamics and redox balance may provide novel therapeutic approaches for treating infection and inflammatory diseases.

Corresponding author: Hai Chunxu, E-mail: yuweihua1@fmmu.edu.cn, E-mail: cx-hai@fmmu.edu.cn

T18-0019

GATA因子在氢醌抑制K562细胞红系分化中的表达变化

余春红[1*], 胡唯佳[2], 张宇婧[2], 杨水青[2], 李 磊[2], 韩 畅[2], 易宗春[2*]

（1. 北京航空航天大学医学科学与工程学院，北京 100191；2. 北京航空航天大学生物与医学工程学院，北京100191）

摘要：目的 GATA1和GATA2是红系分化的重要转录因子，实验观察了氢醌在抑制K562细胞红系分化过程中转录因子GATA-1和GATA-2的mRNA和蛋白表达变化。**材料和方法** K562细胞经40 μM氯化高铁血红素处理24~120 h，或K562细胞先经40 μmol/L氢醌处理72 h，然后经氯化高铁血红素诱导48 h，应用联苯胺染色法分析细胞的血红蛋白阳性率，采用反转录PCR、Western Blot和流式细胞术分析红系相关基因GATA1和GATA2的mRNA和蛋白表达水平。**结果** Hemin诱导K562细胞培养24~120 h，细胞血红蛋白阳性率依次为29.5%、49.4%、60.4%、58.5%和48.0%；GATA1的mRNA表达水平为对照组的1.32、

1.52、1.01、0.97和0.63倍；GATA2的mRNA表达水平为对照组的1.08、0.84、1.1、1.47和1.42倍；GATA1的蛋白表达水平为对照组的0.99、0.88、0.71、0.58和0.51倍；GATA2的蛋白表达水平为对照组的1.04、0.25、0.18、0.04和0.04倍。氢醌处理K562并经氯化高铁血红素诱导后，氢醌+Hemin诱导组细胞血红蛋白阳性率降低为Hemin诱导组的70.5%，氢醌+Hemin组K562细胞内GATA1和GATA2的mRNA的表达水平分别为Hemin组的0.93倍和1.22倍，其中GATA1结果不具有显著的统计学意义，GATA2的mRNA表达显著升高。Western Blot和流式细胞术检测到氢醌+Hemin诱导组K562细胞内GATA1的蛋白的表达水平分别为Hemin诱导组的0.90倍和0.89倍，GATA2的蛋白的表达水平分别为Hemin诱导组的1.31倍和1.20倍，其中GATA1蛋白表达略微下降，但结果不具有显著的统计学意义，GATA2蛋白水平一定程度上升，且结果具有显著的统计学意义。**结论** Hemin诱导K562细胞24~120 h过程中，基因转录水平上GATA1先升高后降低，GATA2先降低后升高；蛋白水平上GATA1和GATA2都降低，且有时间依赖性。氢醌升高了GATA2的基因转录水平和蛋白表达水平，提示GATA因子表达变化在氢醌抑制红系分化中发挥重要作用。

关键词：氢醌；红系分化；GATA1；GATA2

通讯作者：易宗春, E-mail: chunhongyu@buaa.edu.cn, E-mail: yizc@buaa.edu.cn

T18-0020

氢醌抑制K562细胞红系分化中的非标定量蛋白组学研究

余春红[1*], 韩　畅[2], 张宇婧[2], 胡唯佳[2], 易宗春[2*]

（1.北京航空航天大学医学科学与工程学院，北京　100191；2. 北京航空航天大学生物与医学工程学院，北京　100191）

摘要：目的 研究了苯代谢物氢醌在抑制K562细胞红系分化过程中蛋白的表达变化。**材料和方法** K562细胞先经40 μmol/L氢醌处理72 h，然后经氯化高铁血红素诱导48 h，提取蛋白质通过非标记定量蛋白组学检测，对于部分目标蛋白进行平行反应监测来验证蛋白组学的结果，并运用生物信息学方法分析了相关差异蛋白的GO富集分析、KEGG富集分析和蛋白相互作用网络。**结果** 非标定量蛋白组学技术氢醌+Hemin组与Hemin组相比，共检出4196个蛋白，其中2328个蛋白上调，1868个蛋白下调；$P<0.05$且差异倍数在1.3倍以上的上调蛋白有235个，$P<0.05$且差异倍数在0.77倍以下的下调蛋白有102个。GO分析显著上调表达蛋白共富集22种蛋白类别、8种细胞组分、15条生物学过程和8项分子功能，下调表达蛋白共富集16种蛋白类别、5种细胞组分、11条生物学过程和6项分子功能。KEGG分析上调表达蛋白主要富集在VEGF信号通路、泛素介导的蛋白水解作用、肺结核、志贺氏菌病、RNA聚合酶等，下调表达蛋白主要富集在帕金森疾病、氧化磷酸化、非酒精性脂肪肝、亨廷顿疾病和阿尔茨海默病等。蛋白网络分析上调差异蛋白主要成簇在细胞周期、蛋白质泛素化和细胞粘附和迁移，下调蛋白主要成簇在核糖体蛋白和细胞代谢。平行反应监测检出蛋白的表达差异倍数与非标定量蛋白质组学的结果基本一致，氢醌抑制了Hemin诱导的K562细胞血红蛋白家族蛋白合成。多数红系分化相关蛋白在Hemin诱导红系分化过程表达升高，而氢醌降低了大多数红系分化相关蛋白表达。在红系分化正调控和红系分化相关蛋白作用网络中，GATA1和GATA2与其他蛋白紧密连接，说明GATA因子在红系分化过程中发挥重要作用。**结论** 氢醌降低了Hemin诱导的K562细胞红系相关包括血红蛋白家族成员多数蛋白表达水平。GATA因子在红系分化网络中有着重要的地位。

关键词：氢醌；红系分化；非标定量蛋白组学；平行反应监测

通讯作者：易宗春，E-mail: chunhongyu@buaa.edu.cn，E-mail: yizc@buaa.edu.cn

T18-0021

氢醌抑制K562细胞红系分化的转录组学特征分析

余春红[1*], 张宇婧[2], 韩 畅[2], 胡唯佳[2], 易宗春[2*]
（1. 北京航空航天大学医学科学与工程学院，北京 100191；2. 北京航空航天大学生物与医学工程学院，北京 100191）

摘要：目的 研究了氢醌在抑制K562细胞红系分化过程中红系分化相关基因的表达变化。**材料和方法** K562细胞经40 μM 氯化高铁血红素处理24~120 h，提取RNA通过反转录PCR分析红系相关基因表达水平。 K562细胞先经40 μmol/L 氢醌处理72 h，然后经氯化高铁血红素诱导48 h，提取RNA通过转录组学和生物信息学分析相关基因表达变化。**结果** Hemin诱导K562细胞培养24~120 h，细胞内α-globin的mRNA表达水平依次为对照组的1.28倍、1.47倍、1.37倍、1.39倍和1.37倍；CD71的mRNA表达水平依次为对照组的1.62倍、1.38倍、0.69倍、1.12倍和1.63倍；GPA的mRNA表达水平依次为对照组的3.40倍、4.24倍、4.29倍、3.29倍和3.56倍；ALAS2的mRNA表达水平依次为对照组的1.16倍、2.16倍、2.80倍、4.13倍和3.74倍；PBGD的mRNA表达水平依次为对照组的2.66倍、3.66倍、2.93倍、2.91倍和3.75倍。而氢醌+Hemin组K562细胞内α-globin、CD71、GPA、ALAS2和PBGD的mRNA的表达水平分别显著降低为Hemin组的0.86倍、0.64倍、0.71倍、0.78倍和0.85倍。转录组学分析氢醌+Hemin组与Hemin组相比，共有4001个差异基因，其中2239个基因上调，1762个基因下调。GO分析上调转录的基因主要参与了细胞氮化物代谢、氮化物代谢和细胞代谢过程，差异基因主要定位在细胞内、细胞器、细胞内有膜的细胞器和细胞质等；下调转录的基因主要参与了生物调节、生物过程的负调控和刺激反应，大多数差异基因定位在细胞内、细胞器和细胞内有膜细胞器和内膜系统上。KEGG分析上调转录的基因主要富集在萜类化合物骨架生物合成、硫中继系统、剪接体、RNA转运、RNA聚合酶；下调转录的基因主要富集在病毒致癌作用、肿瘤中的转录失调、系统性红斑狼疮、多能性干细胞调控的信号通路、RNA降解等通路。转录组学分析获得了23个基因参与红系分化正调控通路，73个基因参与红系分化通路，氢醌作用会抑制血红蛋白家族成员HBE、HBG2、HBG1、HBA2、HBZ、HBA1和HBD这些基因的表达，且抑制了Hemin诱导K562细胞红系分化中多数红系分化相关基因转录表达。**结论** Hemin诱导K562细胞24~120 h过程中，红系分化相关基因表达升高，而氢醌抑制了红系分化过程中这些基因的转录表达。转录组学整体水平上Hemin诱导后K562细胞红系分化正调控和红系分化相关基因转录水平升高，而氢醌抑制了Hemin诱导的K562细胞红系分化相关包括血红蛋白基因转录表达，这些红系基因为苯的红系血液毒性机制研究提供了一定的方向。

关键词： 氢醌；红系分化；转录组学

通讯作者： 易宗春，E-mail: chunhongyu@buaa.edu.cn，**通讯作者：** 易宗春，E-mail: yizc@buaa.edu.cn

T18-0022

Triphenyl phosphate induces clastogenic effects potently in mammalian cells, human CYP1A2 and 2E1 being major activating enzymes

JiayiXie, Yijing Chen, Yungang Liu*
(Department of Toxicology, School of Public Health (Guangdong Provincial Key Laboratory of Tropical Disease Research), Southern Medical University, 1023 S. Shatai Road, Guangzhou 510515, China)

Abstract: As one of the organophosphate flame retardants (alternatives to the conventional products), triphenyl phosphate (TPP) has been ubiquitously polluting the environment, which is even detect-

ed in human blood. TPP is transformed by human CYP enzymes to hydroxylated and dealkylated metabolites, potentially contributing to activation and increased toxicity. The impact of TPP metabolism on its toxicity, however, remains unclear, especially that via covalent binding of DNA and protein molecules. In this study, the genotoxicity of TPP in several mammalian cell lines with various levels of biotransformation enzymes, and its relevance to CYP/sulfortransferase (SULT) activities, were investigated. The results indicated that TPP induced micronucleus formation potently in a human hepatoma (C3A) cell line (withsubstantial levels of endogenous CYPs), threshold concentration being 1 μM; this effect was abolished by 1-aminobenzotriazole (a potent inhibitor of CYPs). In cell line HepG2 (parental to C3A with lower CYP expression), TPP did not induce micronucleus formation or double-strand DNA breaks up to the concentration of 10 μM, however, pretreatment with ethanol (inducer of CYP2E1), PCB 126 (activator of AhR), or rifampicin (activator of PXR) led to micronucleus formation by TPP, and in C3A cells TPP increased the level of γ-H2AX (by Western blot), indicating an effect of double-strand DNA breaks. In the parental V79 cells and V79-derived cell lines genetically engineered for the expression of human CYP1A1 (V79-hCYP1A1), TPP did not induce micronucleus formation (up to the concentration of 32 μM), while in cells expressing human CYP1B1, 2B6 and 3A4 (V79-hCYP1B1, V79-hCYP2B6, and V79-hCYP3A4-hOR, respectively) it induced micronucleus weakly (positive only at 32 μM). Nevertheless, TPP induced micronucleus formation potently in V79-derived cells expressing human CYP1A2 (V79-hCYP1A2) in a concentration-dependent manner, while this effect was drastically reduced by further expression of human SULT1A1 (in V79-hCYP1A2-hSULT1A1); likewise, TPP was inactive in cells expressing both human CYP2E1 and SULT1A1 (V79-hCYP2E1-hSULT1A1), but became positive with pentachlorophenol (inhibitor of SULT1) co-exposure. Both results suggest that human SULT1A1-catalyzed sulfo-conjugation toward the reactive metabolites from TPP may lead to detoxification. Moreover, in C3A cells immunofluorescent assay showed that TPP selectively induced centromere protein (CENP) B-free micronucleus, without a statistically significant change in the frequency of CENP-B positive micronucleated cells, which clearly supports a pure clastogenic effect of TPP. In conclusion, this study suggests that depending on the metabolic activation by human CYP1A2 and 2E1 activities, TPP is DNA/chromosome-damaging via a clastogenic mode of action, where human SULT1A1 may catalyse sulfo-conjugation of the reactive metabolites leading toa detoxifying impact.

Key words: Centromere protein B; Clastogenicity; Metabolic activation; Micronuclei; Double-strand DNA breaks; Triphenyl phosphate

Corresponding author: Yungang Liu, E-mail address: yungliu@126.com

T18-0024

肿瘤相关巨噬细胞在吸烟促进肺癌发展中作用及表观遗传机制

成 诚[1], 王佩雯[1], 杨 益[1], 杜 璇[2], 夏海博[1], 吴 昊[3], 刘起展[1*]

（1. 南京医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，现代毒理学教育部重点实验室，南京 211166；
2. 江苏省人民医院心胸外科，南京 210029；3. 江苏省人民医院急诊科，南京 210029）

摘要：目的 探讨吸烟调控肿瘤相关巨噬细胞（TAMs）促进肺癌发展中作用及表观遗传机制，为发现吸烟促进肺癌恶性进展的生物标志及防控措施提供科学线索。**方法** Logistic回归分析人群吸烟水平和肿瘤淋巴结远端转移（TNM）分期之间的关联；spearman系数评定相关性；免疫荧光和免疫组化检测组织中关键蛋白的水平；流式细胞仪检测不同浓度香烟烟雾提取物（CSE）处理巨噬细胞（THP-M）的极化程度；West-

ern blot检测ARG1和SOCS2等蛋白水平；qRT-PCR检测circEML4水平；m6A-Seq和RNA-Seq分析细胞中存在m6A修饰并有差异表达的基因，GSEA用于富集分析；斑点实验检测整体m6A水平，meRIP-qPCR检测SOCS2的m6A水平；CatRAPID预测circEML4和ALKBH5结合位点，RIP、双荧光素酶报告基因和RNA-pull down实验检测结合作用；circEML4 siRNA或ALKBH5联合转染对CSE诱导M2型巨噬细胞分泌外泌体（EVs）对肺癌细胞恶性表型的影响。CCK8、EdU、Transwell和平板克隆实验检测肺癌细胞恶性表型；裸鼠皮下成瘤和尾静脉注射检测细胞致瘤性和转移能力。**结果** 人群水平发现吸烟水平和肺癌恶性进展相关，检测肺癌组织中免疫细胞的水平发现，吸烟肺癌患者的M2型TAMs（M2-TAMs）显著高于不吸烟肺癌患者；4% CSE能诱导巨噬细胞发生M2型极化（CSE-THP-M）；CSE-THP-M的培养液及其分泌的EVs能在体外和体内水平促进肺癌细胞恶性进展；筛选发现CSE-THP-M通过分泌EVs circEML4增加了肺癌细胞中circEML4水平，在CSE-THP-M中下调circEML4后，可以阻滞CSE-THP-M分泌EVs引起的肺癌细胞的恶性表型增加；探讨调控机制表明circEML4与ALKBH5在细胞质结合增加使肺癌细胞中ALKBH5在细胞核中分布减少，导致SOCS2表达水平降低并激活JAK-STAT通路；在CSE-THP-M中下调circEML4水平基础上下调受体肺癌细胞中ALKBH5后，SOCS2表达水平下调，肺癌细胞恶性表型增加。在体内抑制CSE-THP-M分泌EVs中circEML4表达后能够显著逆转其对肺癌细胞致瘤性和肺转移的影响。在人群水平发现吸烟肺癌的肺组织中和血浆EVs中circEML4表达水平显著增加。**结论** 吸烟引起肺癌组织中M2-TAMs数量增加，M2-TAMs分泌EVs circEML4到肺癌细胞中通过影响ALKBH5的核质分布而上调SOCS2 m6A水平，从而引起SOCS2水平降低，激活JAK-STAT通路而促进肺癌恶性进展。

关键词： 吸烟；肺癌；表观遗传；肿瘤相关巨噬细胞；外泌体

通讯作者： 刘起展，E-mail：drqzliu@hotmail.com

基金项目： 国家自然科学基金（81973085，82272244）；江苏省高等教育优势学科建设项目（2021）

18-0025

DNA-PKcs/Akt通路在辐射旁效应中的作用及机制研究

万丹，婷黄波

（湖南衡阳南华大学衡阳医学院公共卫生学院）

摘要：目的 探讨DNA-PKcs/Akt通路在辐射旁效应中的调控作用及机制。放疗是当下肿瘤治疗的常见手段。肿瘤细胞接受照射后，除可损伤直接受照细胞外，还可通过受照细胞产生一些信号或分泌一些物质，引起未受照细胞产生生物学改变的损伤效应被称为辐射旁效应（RIBE）。DNA-PKcs/Akt是细胞存活的关键调节通路，在辐射损伤中起着重要作用。然而，DNA-PKcs/Akt信号通路在RIBE中的调节作用尚不清楚。因此，我们评估了该通路在辐射旁效应中的作用及相关机制。**材料与方法** 本实验以HepG2细胞作为辐射直接照射细胞，LO2细胞为旁效应细胞，NU7026作为DNA-PKcs/Akt通路的抑制剂。通过转移辐射条件刺激液构建辐射旁效应模型，将照射HepG2细胞后的辐射条件刺激液转移至未经辐照的LO2细胞。实验分成NC组（正常组）、ICM组（辐射旁效应组）、ICM+NU7026组（辐射旁效应+NU7026联合处理组）和IR组（直接辐照组）。采用MTT法检测细胞存活率；克隆形成实验检测细胞群体依赖性和增殖能力；微核实验检测微核形成率；活性氧试剂盒检测细胞内活性氧（ROS）水平；抗氧化活性试剂盒分别检测细胞中超氧化物歧化酶（SOD）活力、谷胱甘肽（GSH）、丙二醛（MDA）含量；荧光分光光度法检测细胞线粒体膜电位改变；流式细胞术检测细胞凋亡和周期变化；Western blotting研究DNA-PKcs/Akt通路相关蛋白表达。**结果** 与正常组相比，辐射旁效应组及辐射旁效应+NU7026组、直接辐照组的细胞存活率、克隆形成率、SOD和GSH活力、线粒体膜电位降低（$P<0.05$）；微核形成率、ROS、MDA含量、凋亡率及G2/M期阻滞升高（$P<0.05$）。**结论** DNA-PKcs/Akt通路在辐射旁效应中对细胞生长、增殖、抗氧化、细胞凋亡与周期等的调控等起重要作用。

关键词： DNA-PKcs/Akt通路；NU7026；HepG2；LO2；辐射旁效应

通讯作者： 婷黄波，E-mail：1263508891@qq.com，E-mail：huangbo0930@ 163.com

T18-0026

Impact of extended and combined exposure of bisphenol compounds on their genotoxicity-increased potency and shifted mode of action

Hang Yu, Yungang Liu*

(Department of Toxicology, School of Public Health, Southern Medical University, 1023 S. Shatai Road, Guangzhou 510515, China)

Abstract: Bisphenol (BP) compounds arecommonly used plasticizers which pollute the environment globally. They are detected frequently in human tissue samples in low nanomolar levels. BPs have endocrine disrupting and cancer-promoting effects. Besides, BPs may be activated by cytochrome P450 (CYP) 1A1 for genotoxic effects (a critical mechanism for carcinogenesis); with three-magnitude higher potency they may induce nuclear receptors and CYPs,thus potentiate the effect of relevant promutagens. In this study, the impact of extended and combined BP exposureon the chromosome- and DNA-damaging effects of BPs, the involved modes of action, and the relevance to CYP-catalyzed metabolism, were investigated. Exposing individually for a standard two-cell cycle period (48 h), BPA, BPF, BPS, and BPAF (1 ~10 μM) individually did not induce micronucleus formation in human hepatoma (HepG2) cells, while they became positive under three- and four-cell cycle exposure; combining BPA with other BPs (total concentrations unchanged) led to further increased potency (lowest-threshold being 0.078 μM, near to the internal human blood levels). The standard (two-cell cycle) BP exposure specifically induced the formation of micronuclei lacking centromere protein (CENP) B (by immunofluorescent assay), which was further enhanced by BP combinations. However, in HepG2 cells exposed to BPs for extended (three- and four-cell cycle) periods, formation CENP-B^+ micronuclei in substantial proportions, and increased levels of phosphorylated histone H3 (p-H3) (indicating aneugenesis), were both observed; and 1-aminotriabenzotriazole (CYP inhibitor) co-exposure selectively blocked CENP-B^- micronucleus formation and phosphorylated histone H2AX (γ-H2AX) elevation (indicating DNA breaks). This study suggests that the genotoxicity of BPs is potentiated by both extended and combined exposure, and the extended exposure-induced aneugenesis is independent of CYP-associated metabolism.

Key words: Aneugenesis; Bisphenols; Clastogenesis; Cytochrome P450 (CYP); Micronuclei; Treatment regime

Corresponding author: Yungang Liu, E-mail: yungliu@126.com

T18-0027

ATF6在内质网应激引起的TK6细胞自噬与凋亡中作用机制的研究

李博鑫[1]，唐焕文[1*]

（1. 广东医科大学公共卫生学院环境与职业卫生系东莞市环境医学重点实验室，广东 东莞 523000）

摘要：目的 氢醌（HQ）是苯在体内的主要活性代谢产物之一，常用作苯体外研究的替代物，已被证明具有细胞毒性，会促进细胞凋亡和自噬。本研究旨在探讨内质网应激（ERS）在HQ诱导的人淋巴母细胞（TK6）自噬和凋亡中的作用，以及激活转录因子6（ATF-6）是否以及如何参与ERS介导的自噬和凋亡。**材料和方法** 在课题组前期研究的基础上，用20 μM HQ处理细胞24 h，建立细胞毒性模型。通过Western

blot，流式细胞术，CCK-8和透射电镜等技术分析细胞ERS、自噬和凋亡情况。4-苯基丁酸（4-PBA）抑制ERS后检测细胞自噬和凋亡变化，探讨ERS与自噬和凋亡的关系。抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸（NAC）抑制活性氧（ROS）后分析细胞ERS、自噬和凋亡变化，探讨ROS是否通过ERS影响细胞自噬和凋亡。通过慢病毒转染敲低ATF6和通过AA147激活ATF6后观察mTOR蛋白表达以及细胞自噬和凋亡的变化。通过雷帕霉素（Rap）抑制mTOR和通过MHY1485激活mTOR后观察细胞自噬和凋亡的变化。**结果** HQ处理后细胞ERS、自噬和凋亡增加，而ATF6和PI3K-Akt-mTOR表达被抑制。抑制ERS后，细胞自噬和凋亡减弱，ATF6和PI3K-Akt-mTOR的表达出现回升。抑制ROS的生成后，细胞ERS、自噬和凋亡减弱，ATF6和PI3K-Akt-mTOR的表达也出现回升。敲低ATF6后，mTOR表达进一步降低，细胞的自噬和凋亡程度进一步增强。激活ATF6后，mTOR表达回升，细胞的自噬和凋亡程度降低。抑制mTOR后，细胞自噬和凋亡程度进一步增加；激活mTOR后，细胞自噬和凋亡程度降低。**结论** 通过上述实验，我们的研究证明了HQ急性染毒TK6细胞后，ROS介导的ERS抑制ATF6的表达，进而阻止mTOR通路的活化，促进细胞自噬和凋亡。尽管具体机制还需要更加深入的研究，但ATF6也可能成为治疗急性苯中毒的新的方向。

关键词：内质网应激；ATF6；自噬；ROS；凋亡；mTOR

通讯作者：唐焕文，E-mail：liboxin0926@163.com

T18-0028

肠道菌群介导砷暴露所致大脑代谢紊乱机制研究

黄杰良

（广东医科大学）

摘要：背景 砷（As）是公认的第一类污染物和无阈值一级致癌物，砷污染严重威胁着人类健康。我们前期研究表明，在亚慢性砷暴露下，大脑代谢组和脂质组受到显著干扰，且这种干扰与一些肠道微生物组显著相关，并可能与神经退行性变有关疾病。然而，肠道菌群是否介导了砷所致大脑代谢组紊乱还未明确。**方法** 本研究旨在探究肠道菌群介导砷暴露所致大脑代谢紊乱机制。20只C57BL/6雄性小鼠随机分为2组（A组：对照组，B组：砷暴露组），其中，B组暴露于含砷饲料2个月（含砷饲料制备方法：对照组饲料中添加大米中的砷形态混合物（iAsⅤ（7.3%）、iAsⅢ（72.7%）、MMA（1.0%）和DMA（19.0%））。然后，运用16s rDNA测序技术，解析肠道菌群结构。运用UPLC-MS/MS技术分析粪便、血清、大脑皮质的小分子代谢谱。**结果** 微生物α多样性分析shannon、Simpson、Chao1指数没有明显差异，两组肠道菌群的丰度发生变化，如厚壁菌门丰度相对下降，拟杆菌门丰度相对上升；肠道菌群与差异代谢物息息相关；粪便、血清、大脑皮质代谢组出现氨基酸代谢紊乱、脂质代谢紊乱。血清代谢组出现吲哚3丙酸、猪胆酸等微生物产物的下降。大脑皮质代谢组出现能量代谢的降弱，如葡萄糖-6-磷酸、果糖、1，6-二磷酸果糖、（S）-苹果酸的下降。脂质代谢紊乱（芥酸酰胺、神经酸、溶血磷脂乙醇胺类）主要表现在肠道-血液-大脑这样的途径。此外，氨基酸代谢中多数为神经递质类氨基酸，在肠道、大脑的代谢组当中呈显著下降（$P<0.05$），但在血清当中没有明显变化，如天冬氨酸、谷氨酸、乙酰天冬氨酸、乙酰天冬氨酸谷氨酸等等，提示此类神经递质氨基酸在肠道有可能作为传入神经递质通过迷走神经传递信息给大脑，介导大脑代谢。**结论** 砷能够影响大脑代谢，一方面是脂质紊乱通过血脑屏障影响到大脑代谢，另一方面出现的氨基酸代谢紊乱有可能是通过迷走神经影响到大脑代谢。并且，肠道菌群具有抵御砷毒性的作用，肠道菌群的失衡能够导致代谢物的变化。

关键词：砷肠-脑轴代谢组学多组学联合分析

通讯作者：黄杰良，E-mail：1609168488@qq.com

T18-0030

氧化应激调控的JNK信号通路在铅致肠道损伤中的作用研究

刘志华，汪惠丽
（合肥工业大学 食品与生物工程学院）

摘要：目的 铅是环境重金属，具有多器官毒性。消化道是非职业人群铅暴露的主要途径，但铅暴露对消化道结构尤其是微环境的影响研究较少。果蝇是经典的模式生物，进化保守，约75%的人类致病基因在果蝇中都可以找到同源物。果蝇胃肠道结构及功能与哺乳动物高度相似，因此本研究以果蝇为模型，探究铅暴露对肠道形态、肠道屏障、肠道干细胞增殖分化的影响，并进一步探究其分子机制。**方法** 果蝇培养管底部放置与其直径大小一致的两层滤纸片，取200 uL 0.1%的醋酸铅溶液（溶解于5%的蔗糖溶液中）滴在滤纸片上，每管放10只羽化3-5天的果蝇，每隔一天换新鲜培养管及醋酸铅溶液，果蝇通过吸食滤纸片上的醋酸铅溶液进行铅暴露，暴露时间为72 h。借助显微镜解剖果蝇肠道，观察其形态变化；Smurf实验检测铅暴露后肠道屏障的完整性；借助GAL4-UAS系统实现肠道上皮细胞及肠道干细胞相关基因的敲低或过表达；通过PCR检测相关基因表达量。**结果** 铅暴露导致果蝇肠道长度缩短、表面积减少及肠道屏障损伤；铅暴露后肠道上皮细胞数量减少，肠道干细胞数量增多；特异性地在肠道上皮细胞中敲低抗氧化酶SOD1/SOD2加重了上述表型，而过表达则挽救了上述表型。此外，敲低ROS产生酶DUOX或NOX挽救了铅暴露导致的肠道损伤；铅暴露导致的氧化应激激活了肠道上皮细胞和肠道干细胞中的JNK信号通路；进一步通过遗传手段在肠道上皮细胞中失活JNK，发现铅暴露导致的肠道长度缩短、表面积减少、肠道屏障损伤及肠道上皮细胞数量减少等表型被有效修复；在肠道干细胞中失活JNK逆转了铅暴露导致的肠道干细胞异常增殖；进一步的，在肠道上皮细胞中失活凋亡基因Dronc或敲低自噬相关基因Atg8修复了铅暴露导致的肠道形态、屏障及上皮细胞损伤。**结论** 铅暴露导致肠道内氧化及抗氧化系统失衡，引起氧化应激；氧化应激参与铅暴露导致的肠道损伤；氧化应激通过激活肠道上皮细胞内的JNK信号通路导致其发生自噬和凋亡；氧化应激通过激活肠道干细胞内的JNK信号通路促进其增殖。综上，铅暴露导致肠道形态改变、屏障损伤、上皮细胞发生凋亡和自噬及肠道干细胞代偿性增殖。氧化应激导致的不同肠道细胞类型JNK信号通路的激活在铅致肠道损伤及肠道内环境紊乱中发挥重要作用。

关键词： 铅暴露；肠道损伤；氧化应激；JNK信号通路；果蝇

通讯作者： 刘志华，E-mail：liuzhihua@hfut.edu.cn；汪惠丽，E-mail：wanghl@hfut.edu.cn

T18-0031

A549细胞经氯化锰短期处理后的早期应答相关基因表达变化

余春红[1,2]，杨水青[1]，胡唯佳[1]，韩　畅[1]，张宇婧[1]，易宗春[1*]
（1. 北京航空航天大学生物与医学工程学院，北京　100191；2. 北京航空航天大学医学科学与工程学院，北京100191）

摘要：目的 研究氯化锰较短时间作用下，A549细胞早期应答相关基因表达变化，找出锰暴露下的早期应答基因。**方法** 以200 μM浓度的氯化锰分别处理A549细胞0.5h、1h、2h、3h或4h，采用RT-PCR检测早期应答基因Fos转录因子家族（c-Fos、FosB、Fra-1、Fra-2）、Jun转录因子家族（JunB、c-Jun、JunD）、Egr转录因子家族（Egr-1、Egr-2、Egr-3）的转录水平的表达变化；并进一步观察蛋白合成抑制剂放线菌酮（CHX）处理的干预作用；并应用Western Blot检测相关基因的蛋白表达情况。**结果** 氯化锰分别处理A549细胞0.5 h~4 h后，Fos家族的c-Fos和FosB的mRNA水平表达出现时间依赖性升高，4 h时分别是对照的1.5和2.2倍，而Fra-1和Fra-2的表达变化不大；Jun家族的JunB和c-Jun的mRNA水平表达出现时间依赖性升高，4h时分别是对照的1.4和1.6倍，而JunD的表达变化不大；Egr家族的Egr-1的mRNA水平表达也出现

时间依赖性升高，4 h时是对照的5.6倍，但Egr-2和Egr-3的表达变化不大。相应地，这些转录水平表达升高的基因，其蛋白质水平的表达也升高。而蛋白合成抑制剂CHX干预处理，并不影响这些基因转录水平的表达变化。**结论** 氯化锰暴露4 h内就可引起A549细胞Fos家族的c-Fos和FosB、Jun家族的JunB和c-Jun和Egr家族的Egr-1的转录水平表达也显著升高，并不受蛋白合成抑制剂CHX干预处理的影响，表明这些基因表达升高的转录调节不依赖于其转录调节相关蛋白的重新合成，属于锰暴露下的早期应答基因。

关键词： 氯化锰；A549细胞；早期应答基因

通讯作者： 易宗春，E-mail：yizc@buaa.edu.cn

T18-0033

尿素循环代谢重编程在砷所致肺纤维化中作用机制

谢达啸，王佩雯，刘起展*

（南京医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，现代毒理学教育部重点实验室，南京 211166）

摘要：目的 本研究从基因、蛋白、代谢三个水平探讨在砷诱导的肺纤维化中尿素循环代谢重编程促进肺成纤维细胞过度合成胶原的作用及机制，以及其在肺成纤维细胞激活中的调控作用，为发现砷所致肺纤维化的生物学机制及寻找新的早期生物学标志提供科学线索。**材料和方法** C57BL/6J小鼠暴露于0，5，10，20 ppm $NaAsO_2$饮用水6个月，处死前3周使用氨甲酰磷酸合成酶1（CPS1）抑制剂H3B-120鼻腔滴注处理20 ppm $NaAsO_2$饮用水暴露组小鼠。处死小鼠取肺组织和血清，利用转录组测序、qRT-PCR、Western blot、HPLC-MS、免疫荧光、免疫组化等技术检测羟脯氨酸含量、胶原表达、尿素循环相关基因mRNA、蛋白质及其代谢产物的变化；结合GEO数据库分析砷暴露人群血清样本相关基因表达；利用0，0.5，1，2，4 μM $NaAsO_2$处理MRC-5细胞，提取不同暴露组小鼠原代肺成纤维细胞（PLFs），检测MRC-5和PLFs上述相关指标；用0或4 μM $NaAsO_2$处理MRC-5细胞，补充0、5、10 mM尿素循环关键原料NH4Cl或精氨酸（Arg），检测上述相关指标；用0或4 μM NaAsO2处理MRC-5细胞，同时用H3B-120和/或CPS1 siRNA干预MRC-5细胞，检测MRC-5相关指标；CPS1 siRNA干预MRC-5细胞后补充尿素循环代谢下游产物精氨酸（Arg）进行挽救实验验证。**结果** 砷暴露小鼠H&E染色提示肺泡炎性浸润、细胞外基质增多和紊乱，天狼星红染色显示胶原沉积，血清及肺组织羟脯氨酸含量增多、Ⅰ型和Ⅲ型胶原表达增多，且转录测序及PCR指示尿素循环相关基因表达和中间代谢产物鸟氨酸（Orn）、瓜氨酸（Cit）、精氨酸（Arg）、脯氨酸（Pro）水平升高，血氨水平升高，肺纤维化相关指标α-SMA和VIMENTIN水平显著升高；而在H3B-120干预的小鼠中，尿素循环水平的降低使砷暴露所致的肺纤维化程度明显减轻；在不同剂量$NaAsO_2$处理的MRC-5和PLFs中尿素循环（CPS1、ASL、ARG1）和肺纤维化相关指标显著升高，并存在剂量-效应关系，胶原皱缩能力增强提示成纤维细胞激活；补充NH4Cl或Arg能进一步促进上述结果；应用H3B-120和/或CPS1 siRNA抑制了$NaAsO_2$所致的上述效应；CPS1 siRNA干预后的MRC-5细胞补充精氨酸后能纤维化水平趋于正常。**结论** $NaAsO_2$暴露促进肺成纤维细胞尿素循环相关基因过度激活，诱导脯氨酸代谢失调，从而促进胶原合成和过度积累，进一步促进肺纤维化的发生发展，因此砷诱导的尿素循环代谢重编程为砷所致肺纤维化提供了物质基础。

关键词： 砷污染；肺纤维化；胶原沉积；尿素循环；代谢重编程

通讯作者： 刘起展，E-mail：drqzliu@hotmail.com

T18-0034

特异基因m^{6}A甲基化修饰变化对PM2.5诱导细胞恶性转化的影响和调控机制

陈 燊，李 淼，郭昱志，郭瞻宇，蒋欣航，王紫微，张 睿，李道传，陈 雯
（中山大学公共卫生学院，广州 510080）

摘要：目的 探究PM2.5暴露诱导支气管上皮细胞恶性转化过程的m^{6}A甲基化修饰模式，阐明关键基因m^{6}A甲基化修饰变化对细胞恶性转化的影响。**方法** 利用广州冬季PM2.5诱导支气管上皮细胞（HBE-1A1）恶性转化，采用RNA甲基化测序（MeRIP-seq）揭示PM2.5暴露致细胞转化过程的m^{6}A修饰谱。借助RNA甲基化编辑技术，建立可调控基因m^{6}A修饰的细胞模型，明确基因特异性m^{6}A甲基化与PM2.5暴露致细胞恶性转化的因果关联和调控机制。**结果** PM2.5暴露致细胞恶性转化过程中，伴随着m^{6}A修饰水平升高，敲除甲基化修饰酶（METTL3）或高表达去甲基化酶（ALKBH5）可阻抑细胞恶性转化。通过对恶性转化各时间点细胞（正常细胞、转化前细胞、恶性转化细胞、裸鼠皮下成瘤组织）进行MeRIP-seq，发现差异m^{6}A修饰基因随着恶性转化进程而增多，参与肿瘤相关疾病功能和分子通路。利用全国多城市诱导的细胞恶性转化模型验证上述差异基因的m^{6}A修饰水平，发现2个基因（MFSD12、SLC27A5）的m^{6}A甲基化水平与致癌物BaP活性当量（BaPeq）呈正相关，1个基因（FRAS1）的m^{6}A甲基化水平与BaPeq呈负相关。通过生物信息学分析筛选调控MFSD12、SLC27A5、FRAS1基因功能的m^{6}A甲基化修饰区域，利用基于Cripsr-dCas9技术的RNA甲基化编辑系统改变其RNA甲基化水平，证明上述三个基因特异位点的RNA甲基化变化对细胞恶性转化的调控作用。利用Ingenuity Pathway Analysis（IPA）软件分析和功能实验，明确MFSD12、SLC27A5、FRAS1分别通过影响半胱氨酸代谢、脂肪酸代谢、上皮-间质转化等作用影响细胞增殖和恶性转化进程。**结论** 本研究揭示了PM2.5诱导恶性转化过程中RNA m^{6}A甲基化的动态变化规律，阐明基因特异RNA甲基化和PM2.5致癌效应之间的因果联系和调控机制，为PM2.5暴露致癌的预防、控制提供理论依据。

关键词：大气细颗粒物；细胞恶性转化；RNA甲基化；表观遗传

通讯作者：陈 雯，E-mail：chenwen@mail.sysu.edu.cn

T18-0035

基于磷酸化蛋白组学初探砷致小鼠肝脂肪变性机制

周星呈，马 璐
（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室，公共卫生与健康学院毒理学系，
贵州 贵阳 550025）

摘要：目的 无机砷长期暴露会导致肝功能损害、肝纤维化、肝硬化和肝癌等一系列进行性肝脏损伤，肝脂肪变性是砷诱导肝损伤、肝纤维化甚至肝癌的早期关键事件，但其机制尚不明确。本研究拟运用磷酸化蛋白组学分析可能参与砷致小鼠肝脂肪变性的毒性通路，为进一步砷致肝脂肪变性的机制及干预研究提供线索。**材料和方法** 10 mg/L亚砷酸钠染毒C57BL/6J小鼠6个月构建砷致小鼠肝脂肪变性模型；苏木精-伊红染色（H&E染色）和油红O染色观察小鼠肝脏脂肪变性情况；GPO-PAP法检测肝脏内甘油三酯（Triglyceride，TG）的含量；运用基于质谱的磷酸化蛋白组学分析技术进行小鼠肝脏磷酸化蛋白质组学检测，采用Gene Ontology（GO）分别描述差异磷酸化蛋白的功能富集，应用Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes（KEGG）数据库分析差异磷酸化蛋白的调控通路富集，进一步通过PPI蛋白质互作网络探究蛋白与蛋白之间的相互作用，Cluster分析寻找通路核心蛋白。**结果** 1. 砷可诱导小鼠发生肝脂肪变性。与对照组相比，染砷组小鼠肝脏H&E染色切片观察到密集的微细脂肪空泡，油红O染色发现肝脏脂滴蓄积增加，肝脏TG含量显著上升。2. 细胞代谢紊乱可能与砷诱导肝脂肪变性密切相关。运用磷酸化蛋白组学筛选出312

个差异磷酸化蛋白，GO分析显示按差异磷酸化蛋白富集程度排序，差异磷酸化蛋白在细胞代谢进程的生物学过程中显著富集，所涉及的主要代谢途径有活性氧代谢过程、异生物（芳香烃受体）代谢过程和氨基酸代谢过程，提示以上细胞代谢过程的紊乱可能与砷致肝脂肪变性密切相关。3. Nrf2介导的氧化应激通路及芳香烃受体（AHR）激活介导的异生物代谢通路可能是砷诱导肝脂肪变性的主要毒作用通路。KEGG分析发现具有显著意义且差异磷酸化蛋白最集中的通路主要是Nrf2介导的氧化应激通路和芳香烃受体（AHR）激活介导的异生物代谢通路，进一步运用PPI蛋白质互作网络和Cluster分析发现脂代谢调控模块中可能是PKA、PKD和CTNNB1等关键分子磷酸化参与了上述通路的调控。**结论** PKA、PKD和CTNNB1等蛋白磷酸化参与的Nrf2介导的氧化应激通路及芳香烃受体（AHR）激活介导的异生物代谢通路可能通过影响细胞代谢进程参与了砷诱导的肝脂肪变性。

关键词：亚砷酸钠；肝脂肪变性；磷酸化蛋白组学；去磷酸化

基金项目：国家自然科学基金（81972986）

通讯作者：马 璐，E-mail：malu229@126.com

T18-0036

基于脂质组学初探砷致小鼠肝脂肪变性机制

宋定毅，马 璐

（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室，公共卫生与健康学院毒理学系，贵州 贵阳 550025）

摘要：目的 环境砷暴露可导致肝功能紊乱、肝炎症、肝纤维化、肝硬化甚至肝癌。肝脂肪变性是砷致肝损伤发生发展的早期关键事件，但砷诱导肝脂肪变性机制尚不明确。本研究拟通过肝脂质组学分析，从脂代谢角度初步探讨砷致肝脂肪变性的可能机制，为进一步机制及干预研究提供新线索。**材料与方法** 采用2.5，5.0，10.0 mg/L的亚砷酸钠处理小鼠6个月，构建砷致小鼠肝脂肪变性模型。采用HE和油红O染色观察小鼠肝脏脂肪变性情况；运用超高效液相色谱（UPLC）联合电喷雾电离质谱进行小鼠肝脏脂质组学检测；ELISA法检测小鼠肝脏甘油三酯（TG）、极低密度脂蛋白（VLDL）、胆碱、磷脂酰胆碱（PC）、磷脂酰乙醇胺（PE）水平以评估PC代谢途径与砷致肝脂肪变性的关系。**结果** HE染色结果显示，与对照组相比，染砷组小鼠肝脏出现密集的微细脂肪空泡；油红O染色发现染砷组小鼠肝脏脂滴蓄积增加；且染砷组小鼠肝脏TG含量明显高于对照组，并随砷暴露剂量增加而增加；提示砷暴露可诱导小鼠肝脂肪变性。选择对照组、10.0 mg/L亚砷酸钠处理组小鼠进行肝脏脂质组学分析，筛选出38种差异的脂质分子，包括30种甘油磷脂分子和8种鞘脂分子，综合文献分析提示甘油磷脂和鞘脂代谢都会影响脂肪酸摄取和VLDL的分泌排出导致脂质蓄积。在脂质组学分析中，我们还发现PC是富集最多、改变最显著的差异脂质分子。通过文献分析显示，PC代谢可能通过影响VLDL的分泌导致肝脂质排除障碍。为进一步证明PC代谢在砷致肝脂肪变性中的作用，研究进一步在动物模型中检测PC/胆碱、PC/PE的水平以反映PC合成的水平，结果显示，随染砷剂量的增加，小鼠肝脏PC/胆碱、PC/PE逐渐降低，VLDL分泌减少，且其与肝TG呈负相关，提示PC合成障碍可能参与砷诱导的肝脂肪变性。**结论** 砷暴露可能诱导PC合成减少，从而抑制VLDL分泌，导致小鼠肝脂质蓄积。

关键词：砷；肝脂肪变性；脂质组学；磷脂酰胆碱

基金项目：国家自然科学基金（81972986）

通讯作者：马 璐，E-mail：malu229@126.com

T18-0037

磷酸甘油酸脱氢酶在$NaAsO_2$致HaCaT细胞转化过程中的动态变化及其作用研究

李凤敏[1]，韩进美[1]，黄红茜[1]，王　娜[1]，张爱华[1]，韩　雪[1,2]
（1. 贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室/公共卫生学院，贵州 贵阳　550025；
2. 广州中医药大学基础医学院中医养生与预防医学系，广东 广州　510006）

摘要：目的　砷诱导细胞恶性转化的机制仍未完全阐明。代谢重编程是促进肿瘤发生和发展的重要因素。许多癌细胞高度依赖丝氨酸，3-磷酸甘油酸脱氢酶（PHGDH）是丝氨酸合成的关键酶，在多种肿瘤中过度表达，与肿瘤细胞增殖、TNM分期和肿瘤大小呈正相关。本研究在既往研究基础上，以低剂量亚砷酸钠（0.5 μmol·L^{-1}）诱导人皮肤角质形成细胞（HaCaT）恶性转化，观察SSP关键酶在砷致HaCaT细胞恶性转化过程中不同阶段的动态变化及其在砷至细胞转化中的作用。**材料和方法**　以0.0和0.5 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$持续染毒HaCaT细胞至30代，构建$NaAsO_2$致细胞转化模型，采用蛋白质印迹法检测细胞转化过程中PHGDH、PSAT1和PSPH蛋白表达水平；shRNA构建PHGDH下调的转化细胞模型（T-HaCaT），评估PHGDH敲低对细胞增殖能力、锚定独立生长能力、细胞迁移能力的影响；PHGDH靶向抑制剂NCT503用于评估PHGDH对$NaAsO_2$致细胞转化的影响。**结果**　低剂量$NaAsO_2$致HaCaT细胞恶性转化过程中，PHGDH和PSPH的蛋白表达随染毒代数的增加而逐渐增加；PHGDH敲低后，T-HaCaT细胞的增殖能力、锚定独立生长及迁移愈合能力出现明显下调。NCT503干预后，$NaAsO_2$染毒细胞的生长速率降低，倍增时间变长，细胞锚定独立生长和迁移愈合能力降低。**结论**　磷酸甘油酸脱氢酶可能在$NaAsO_2$致HaCaT细胞恶性转化过程中起着重要的作用。

关键词：砷；PHGDH；恶性转化；皮肤癌；HaCaT细胞

通讯作者：韩　雪，E-mail：hanxueshiqi@163.com

T18-0039

α1-AT在光气致急性肺损伤中的作用及机制研究

何改花，刘鹏晖，涂永梅，郭晓洁，李佳威，李文丽
（空军军医大学军事预防医学系军事毒理学与防化医学教研室，西安　710032）

摘要：目的　本研究通过对光气所致大鼠急性肺损伤（ALI）及其相关机制的研究，深入探讨光气暴露后α1-抗胰蛋白酶（α1-AT）、炎症反应和细胞凋亡的变化规律及作用机制；为明确光气所致ALI的作用机制及光气防治提供理论依据。**材料和方法**　（1）建立光气鼻吸入暴露致大鼠ALI模型。50只SD大鼠随机分为5组，每组10只。对照组吸入空气，其余组大鼠给予41 mg/m^3光气鼻吸入30 min，分别在暴露后3、6、12和24 h使用全身体积描记检测系统（WBP）检测肺功能，并处死大鼠。HE染色观察肺组织病理变化；称量肺湿重；BCA法测肺泡灌洗液（BALF）总蛋白含量；瑞士-吉姆萨染色和免疫荧光检测肺组织炎症细胞含量；ELISA检测血清和BALF中α1-AT及炎症分子的含量；Western blot检测肺组织α1-AT、炎症转录和凋亡分子蛋白表达；TUNEL试剂盒检测肺组织凋亡；免疫荧光检测肺组织中α1-AT的表达和细胞定位。（2）建立光气致人源支气管上皮细胞（BEAS-2B）损伤模型。给予0.025 mg/mL重组α1-AT蛋白干预30 min后，正常组给予空气，光气暴露组给予3.2 mg/m^3光气60 min，暴露12 h后，RT-PCR检测炎症因子IL-1β、IL-6和IL-8的mRNA水平；暴露48 h后，流式细胞仪检测凋亡指标的变化。**结果**　1.光气暴露大鼠后，HE染色表明大鼠肺泡结构破坏，且肺组织充血、炎细胞浸润；肺湿重、肺体比和BALF总蛋白随光气暴露时间延长逐渐增加，表明光气暴露导致急性肺损伤。肺组织中性粒细胞增多，IL-6和MPO等炎症因子表达增多，提示肺组织发生

炎症反应。此外，肺组织支气管TUNEL阳性细胞增多、凋亡蛋白Cleaved caspase-3表达增高、Bax/Bcl-2比值增加，表明光气暴露导致肺组织细胞发生凋亡。2. 光气暴露大鼠后，肺组织中α1-AT蛋白表达逐渐升高，ELISA测定发现血清和BALF中α1-AT含量也不断增加。免疫荧光检测表明，巨噬细胞数量减少，中性粒细胞数量增多；α1-AT荧光亮度增加，在中性粒细胞中共定位表达较多。3. 光气暴露BEAS-2B细胞后，RT-PCR检测发现肺组织中IL-1β、IL-6和IL-8 mRNA水平增加。Annexin V/PI实验表明，光气暴露后细胞凋亡率显著升高。将重组α1-AT蛋白处理后的BEAS-2B细胞暴露于相同剂量的光气，暴露后12 h，IL-1β、IL-6和IL-8 mRNA水平降低，暴露后48 h，细胞凋亡水平明显减少。**结论** （一）光气暴露后大鼠肺组织α1-AT应激性升高，引起炎症反应和支气管细胞凋亡增加，导致大鼠ALI发生。（二）光气暴露后α1-AT升高主要来源于中性粒细胞。雾化吸入重组α1-AT蛋白可以有效抑制支气管上皮细胞炎症反应和凋亡发生。

关键词：光气；急性肺损伤；炎症；凋亡；α1-AT

通讯作者：李文丽，E-mail：liwenli@fmmu.edu.cn

T18-0040

巨噬细胞PP2A Aα介导的炎症在PM2.5致肺纤维化中的作用机制研究

裴子杰[1]，韩 斌[2]，刘清萍[2]，张 荣[2,3]

（1. 河北医科大学第二医院胸外科；2. 河北医科大学公共卫生学院卫生毒理学教研室；3. 河北省环境与人群健康重点实验室，石家庄，050017）

摘要：目的 探索长期吸入大气细颗粒物（PM2.5）PM2.5引起肺纤维化的潜在致病机制，寻找PM2.5呼吸系统毒性的关键靶点。**方法** 本项目采用C57BL6小鼠和单个核细胞特异性敲除PP2A Aα（PP2A Aα-/-）小鼠建立实时在线动式吸入PM2.5染毒模型。暴露8周或16周，检测肺功能；HE、Masson染色观察肺组织病理改变和胶原沉积情况；ELISA检测支气管肺泡灌洗液（BALF）中TGF-β1和IL-1β的水平，对BALF进行细胞分类计数；比色法检测肺组织羟脯氨酸水平；qPCR和Western Blot分别检测肺纤维化标志物、NLRP3信号和PP2A水平。与动物模型制备同期收集大气PM2.5，以0、25、50和100 μg/mL的PM2.5混悬液处理小鼠巨噬细胞Raw264.7，Western Blot检测NLRP3炎性小体的表达；co-IP验证PP2A和IRE-1α的互作；Sh-PP2A Aα用于探讨PP2A Aα对NLRP3信号通路的调控作用；PP2A激动剂FTY720和IRE-1α抑制剂4μ8C进一步验证PP2A Aα和IRE-1α对NLRP3信号通路的调控作用。**结果** PM2.5暴露后，小鼠通气功能下降，肺组织中Vimentin、Collagen Ⅰ、α-SMA的表达、羟脯氨酸水平显著增加；BALF中总细胞、白细胞、中性粒细胞、巨噬细胞的计数和IL-1β、IL-18、MCP-1等炎症因子显著升高；NLRP3炎性小体蛋白表达增加；肺组织PP2A水平增加并主要存在于巨噬细胞中。PM2.5暴露后，PP2A Aα-/-小鼠较WT肺纤维化与炎症明显增加、NLRP3炎性小体蛋白表达增加。PM2.5暴露后，Raw264.7中NLRP3炎性小体和PP2A表达增加，sh-PP2A Aα促进NLRP3炎性小体表达；co-IP结果显示PM2.5暴露后PP2A与IRE1α结合能力增强；PM2.5暴露后，加入PP2A激动剂FTY720和IRE-1α抑制剂4μ8C后可以缓解NLRP3炎性小体相关蛋白表达的增加。**结论** 长期PM2.5暴露可导致肺功能下降，肺组织出现纤维化和炎症反应，PP2A介导的炎症可能是PM2.5引起肺纤维化的关键靶点。其作用机制可能是PM2.5暴露后，巨噬细胞中PP2A Aα通过与IRE1α结合调节IRE1α的磷酸化，进而激活NLRP3炎性小体。

关键词：PM2.5；肺纤维化；巨噬细胞；炎症；PP2A

基金项目：国家自然科学基金（92043202）；国家自然科学基金（81973074）；国家自然科学基金（91643108）；国家自然科学基金（81573190）；国家自然科学基金（91943301）

通讯作者：张 荣，E-mail：rongzhang@hebmu.edu.cn

T18-0041

线粒体稳态、氧化还原与巨噬细胞炎症调控

孙慕涵[1,2]，于卫华[1]
（1. 空军军医大学军事预防医学院毒理学教研室，陕西 西安 710032；2. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院，陕西 西安 710055）

摘要： 大量研究表明，氧化应激和炎症反应是导致多数临床疾病的共性机制，Cell综述列举了环境污染导致机体损伤的8个Hallmark，氧化应激和炎症反应位居首位。作为机体内关键的炎症效应细胞，巨噬细胞可分为促炎（M1）型和抗炎（M2）型，ROS 升高抗氧化减弱时，导致巨噬细胞向M1（促炎）型分化；当抗氧化增强或ROS减少时，有利于巨噬细胞向M2（抗炎）型分化，其浸润激活炎性疾病发生的重要基础。线粒体作为细胞内关键细胞器，既是ROS生成主要场所，也是ROS的重要攻击靶点。我们发现，线粒体动力学和氧化还原共同决定巨噬细胞的分化走向。内毒素刺激巨噬细胞线粒体分裂增强和稳态重塑，促使其功能由ATP合成转变为生成ROS，而ROS可启动NFκB及下游促炎信号通路。通过组学筛选与多种技术证实，Stat2通过磷酸化Drp1 S616调控巨噬细胞线粒体稳态重塑和促炎分化。相反，在IL-4刺激下线粒体融合增强，通过重塑嵴结构降低电子漏出和ROS生成，降低多不饱和脂肪酸（PUFA）的氧化，进而激活PPARγ及下游抗炎信号。进一步发现融合激动剂、PUFA、抗氧化剂和PPARγ激动剂可激活巨噬细胞抗炎分化，减轻小鼠脓毒症。在此基础上，我们提出线粒体分裂融合稳态可通过影响细胞氧化还原平衡决定巨噬细胞促炎和抗炎分化走向：线粒体分裂增强时可通过生成ROS启动促炎信号，而线粒体融合增强时能够降低ROS生成启动抗炎信号。因此，使用线粒体分裂抑制剂、融合激动剂、抗氧化剂、多不饱和脂肪酸和PPARγ激动剂可抑制巨噬细胞促炎分化，有助于其抗炎分化，可作为脓毒症等炎症疾病的药物靶点。

关键词： 线粒体稳态；氧化还原；炎症调控；巨噬细胞

作者简介： 孙慕涵，E-mail：sun15038583212@163.com
通讯作者： 于卫华，E-mail：yuweihua1@fmmu.edu.cn

T18-0042

穿心莲内酯通过SQSTM1/p62蛋白介导的DNA损伤修复障碍促进了氧化应激导致的肝癌细胞死亡

李昕宇[1]，崔 旋[2]，周 静[1]，卢国栋[1,2]
（1. 广西医科大学基础医学院生理学教研室，广西壮族自治区 南宁 530021；2. 广西医科大学公共卫生学院毒理学教研室，广西壮族自治区 南宁 530021）

摘要：目的 本研究的主要目的是探究穿心莲内酯如何通过抑制DNA损伤修复来促进肝癌细胞死亡以及在体内抑制裸鼠移植瘤生长的分子机制。**材料和方法** 1. 通过流式细胞术，MTT实验等检测穿心莲内酯诱导不同肝癌细胞的死亡。使用DCFH-DA探针并结合DNA损伤标志物（γ-H2AX）检测穿心莲内酯对活性氧ROS产生及DNA损伤的影响。2. 利用p53野生型以及p53敲除型（p53WT-或p53KO-HCT116）人结肠癌细胞检测p53诱导的细胞周期阻滞对穿心莲内酯促细胞死亡中的作用；联合使用AZD6738（ATR抑制剂）和SCH900776（CHK1抑制剂）后检测细胞周期阻滞肝癌细胞死亡中的作用。3. 通过特异性小干扰RNA（siRNA）和crisp/cas9转染对p62基因进行沉默或敲除，检测穿心莲内酯诱导的p62积累对于DNA损伤修复蛋白（RAD51，53BP1等）的调控作用，对肝癌细胞死亡的影响以及体内实验中对于裸鼠移植瘤的作用。**结果** 1. 穿心莲内酯能显著诱导多种肝癌细胞剂量依赖性和时间依赖性死亡，并能明显诱导肝癌细胞ROS的产生和DNA损伤，而抗氧化剂NAC预处理可以保护穿心莲内酯诱导的肝癌细胞死亡。2. 穿心莲内酯可

以诱导细胞发生p53依赖性G_2-M期周期阻滞发生，而这种细胞周期阻滞伴随的DNA损伤修复对穿心莲内酯诱导的细胞死亡起到了延缓和保护作用。3.穿心莲内酯可诱导肝癌细胞内p62表达显著上升，并同时伴随p62下游DNA损伤修复蛋白53BP1，RAD51，BRCA1表达下降，而使用siRNA和crisp/cas9转染沉默或敲除p62基因后可逆转该下降并且保护肝癌细胞免于死亡，并且在体内实验中穿心莲内酯对裸鼠移植瘤生长起到抑制作用。**结论** 本研究揭示了穿心莲内酯可以通过促进氧化应激对肝癌细胞产生杀伤作用。虽然p53所介导的G_2-M期周期阻滞可以促进DNA修复，从而延缓和抑制肝癌细胞的死亡，但是穿心莲内酯却同时诱导了p62蛋白的堆积，下调DNA损伤修复蛋白的表达，并最终增加肝癌细胞死亡。肝癌移植瘤裸鼠模型也进一步验证了穿心莲内酯在体内对肝癌具有显著的抑制作用。本实验揭示了穿心莲内酯对p53野生型尤其是突变型/敲除型肝癌细胞都具有杀伤作用，靶向DNA损伤修复可以成为肝癌治疗的新途径。

关键词：穿心莲内酯；肝癌；氧化应激；DNA损伤；p62；p53

通讯作者：周 静，E-mail：gardenia_zhou@hotmail.com；卢国栋，E-mail：golden_lu@hotmail.com

作者简介：李昕宇，E-mail：451545113@qq.com

T18-0043

组蛋白H3K18乳酸化修饰调控YTHDF1介导m^6A/NERP/TGF-β1在砷所致肺纤维化进展中的作用

王佩雯，刘起展

（南京医科大学公共卫生学院卫生毒理学系，现代毒理学教育部重点实验室，南京 211166）

摘要：目的 本研究探讨肺泡上皮细胞组蛋白H3K18乳酸化修饰促进YTHDF1转录从而以m^6A依赖性方式激活NREP/TGF-β1通路在加快砷所致肺纤维化疾病进展中的作用，为发现砷所致肺纤维化进展的分子生物学机制及寻找新的治疗靶点提供科学线索。**材料和方法** C57BL/6J小鼠和AAV9-shYTHDF1处理的C57BL/6J小鼠暴露于0，10，20 ppm $NaAsO_2$饮用水12个月，进行小鼠Micro-CT检测后处死，取0或20ppm $NaAsO_2$暴露组小鼠肺组织进行MeRIP-seq和RNA-seq，检测各组小鼠肺组织肺纤维化相关指标、m^6A修饰相关指标、YTHDF1/NREP/TGF-β1的蛋白水平及乳酸化修饰指标Kla和H3K18la水平；应用0，0.5，1，2，4 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$处理MLE12细胞和小鼠原代肺成纤维细胞（MLE12-PLFs）共培养模型，或将MLE12细胞和0或20ppm暴露组小鼠原代肺成纤维细胞（con/As-PLFs）共培养，检测MLE12细胞m^6A修饰相关指标、YTHDF1/NREP/TGF-β1的蛋白水平及乳酸化修饰指标Kla和H3K18la水平，检测PLFs肌成纤维细胞分化相关指标；应用siNREP、siYTHDF1、或同时应用siYTHDF1和pcDNA-NREP转染MLE12细胞后与PLFs共培养，检测MLE12和PLFs上述相关指标；检测YTHDF1对NREP蛋白稳定性的影响；RIP实验检测YTHDF1与Nrep m^6A位点的结合关系；应用α-CHCA处理MLE12-con/As-PLFs细胞共培养模型后，检测MLE12细胞乳酸化修饰Kla和H3K18la水平及YTHDF1蛋白水平；ChIP实验检测H3K18la与Ythdf1启动子区的结合关系。**结果** $NaAsO_2$暴露小鼠肺组织发生磨玻璃样病变，肺纤维化相关指标α-SMA和COL1A2水平明显升高，m^6A水平升高，Nrep mRNA 5′UTR区发生m^6A修饰且基因水平升高，NREP蛋白水平升高，Kla和H3K18la水平显著升高；在细胞共培养模型中，随着$NaAsO_2$处理剂量的升高，MLE12细胞Kla和H3K18la水平显著升高，m^6A和YTHDF1水平显著升高，NREP/TGF-β1通路激活，Kla和H3K18la水平显著升高，PLFs细胞α-SMA和COL1A2水平升高，胶原皱缩能力增强；YTHDF1可与Nrep m^6A位点结合；下调NREP或YTHDF1水平阻滞了$NaAsO_2$所致的上述效应；下调YTHDF1抑制了NREP蛋白稳定性；下调YTHDF1后上调NREP水平则回复了下调YTHDF1所致的效应；而在AAV9-shYTHDF1小鼠中砷暴露所致的肺纤维化程度明显减轻；乳酸处理引起MLE12细胞Kla和H3K18la水平显著升高，而$NaAsO_2$单独处理MLE12细胞Kla和H3K18la水平无显著差异；α-CHCA抑制MLE12细胞摄取乳酸水平后Kla和H3K18la水平显著降低；H3K18la在Ythdf1启动子区富集。**结论** 砷暴露引起肺纤维化组织微环境中乳酸水平升高，

肺泡上皮细胞摄取乳酸促进组蛋白H3K18乳酸化水平升高并调控YTHDF1高表达，且YTHDF1以m^6A依赖性方式激活NREP/TGF-β1信号通路，刺激肺成纤维细胞进一步激活分化，促进砷所致肺纤维化的疾病进展。

关键词：砷暴露；肺纤维化；乳酸化修饰；m^6A

通讯作者：刘起展，E-mail：drqzliu@hotmail.com

T18-0045

二甲双胍联合葡萄糖饥饿通过ROS-Ca^{2+}-线粒体途径诱导肝癌细胞死亡

吴　勇[1]，崔茜如[2]，周　静[2]，卢国栋[1,2]

（1. 广西医科大学公共卫生学院毒理学教研室，广西壮族自治区南宁　530021；2. 广西医科大学基础医学院生理学教研室，广西壮族自治区 南宁　530021）

摘要：目的　2型糖尿病（T2DM）是全球患病率较高的代谢性疾病，可促进多种肿瘤尤其是肝癌的发生发展。不同降糖药物对肝癌起到不同的作用，临床研究发现二甲双胍对早期肝癌的预后有改善效果，而对晚期肝癌的预后则有进一步恶化的作用。二甲双胍对中期肝癌的影响尚未明确，有待进一步研究。本实验旨在研究二甲双胍对肝癌细胞在代谢性应激（葡萄糖饥饿）下存活的影响，深入研究二甲双胍联合葡糖糖饥饿导致肝癌细胞死亡的作用靶点及机制。**材料和方法**　1. 使用流式细胞术检测二甲双胍联合葡萄糖饥饿对多种人肝癌细胞死亡的影响，通过添加不同的死亡抑制剂（Z-VAD-FMK、Nercrostain-1、Ferrostatin-1、Bafliomycin A1等）探索细胞死亡的途径。2. 检测内质网应激水平。使用蛋白质印迹法（Western blot，WB）检测内质网应激相关蛋白（Bip、CaMKⅡ、eIFα、JNK）的变化，通过Fluo-4 AM检测细胞内钙离子浓度。3. 线粒体功能的检测。使用H2DCFDA（DCF）和Mito SOX试剂分别检测活性氧簇（Reactive oxygen species，ROS）和线粒体ROS的产生情况，使用四甲基罗丹明甲酯（Tetramethylrhodamine methyl，TMRM）和JC-1染色检测线粒体膜电位，使用腺苷三磷酸（ATP）试剂盒检测细胞内ATP的含量，使用Rhod-2检测线粒体钙离子浓度，使用WB检测线粒体自噬、凋亡以及线粒体分裂和融合蛋白的改变。4. 分别使用不同的ROS抑制剂、钙通道抑制剂以及小干扰RNA（siRNA）和crisp/cas9转染对关键靶点进行沉默或敲除，检测ROS水平与钙离子浓度对二甲双胍联合葡萄糖饥饿所诱导的肝癌细胞死亡的潜在靶点。**结果**　1. 二甲双胍联合葡萄糖饥饿显著抑制HepG2细胞增殖，且呈时间和浓度依赖性（$P<0.05$），而抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸（NAC）和钙离子抑制剂对二甲双胍联合葡萄糖饥饿所诱导的细胞死亡则呈现保护作用。2. 二甲双胍联合葡萄糖饥饿可诱导内质网应激，导致细胞钙离子紊乱。3. 二甲双胍联合葡萄糖饥饿损伤线粒体功能，导致线粒体ROS积聚，线粒体膜电位下降、线粒体钙超载和ATP显著降低。4. ROS与钙离子相互促进生成，两者的失衡协同导致肝癌细胞死亡。**结论**　本研究揭示了二甲双胍联合葡萄糖饥饿可通过诱导肝癌细胞发生氧化应激和钙离子紊乱，引起内质网应激和损伤线粒体功能，最终导致肝癌细胞死亡。

关键词：肝细胞癌；二甲双胍；葡萄糖饥饿；活性氧；钙离子

通讯作者：周　静，E-mail：gardenia_zhou@hotmail.com；卢国栋，E-mail：golden_lu@hotmail.com

T18-0049

JAK2/STAT3/RORγt信号通路在交通相关PM2.5及其不同组分对Jurkat T细胞释放炎症因子的作用研究

孔玮璨[1,2]，王谦雨[1,2]，高宇卉[1,2]，哈里买买提·那斯尔[1,2]，王彩红[1,2]，田家瑜[1,2]，刘楠楠[1,2]，赵利芳[1,2]，张志红[1,2]

（1. 山西医科大学环境卫生学教研室，山西 太原；2. 山西医科大学黄河流域生态公共卫生安全研究中心）

摘要：目的　探讨JAK2/STAT3/RORγt信号通路在交通相关PM2.5及其不同组分对Jurkat T细胞释放

炎症因子的调控作用。**材料和方法** 按照交通相关PM2.5、有机组分、水溶成分、JAK2抑制剂(AG490)、基因沉默STAT3对Jurkat T细胞进行染毒分组。染毒48 h后,RT-PCR检测JAK2、STAT3、RORγt基因表达水平;Western blot检测细胞内JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、RORγt蛋白表达水平;酶联免疫吸附试验检测细胞上清中IL-17、IL-23的含量。**结果** 随着PM2.5及各组分浓度增高,Jurkat T细胞活性逐渐降低。PM各组中JAK2、STAT3、RORγt基因表达、水溶成分高剂量(WSH)组中JAK2、STAT3基因表达均高于PBS对照组;有机组分(OE)各组中JAK2、STAT3、RORγt基因表达高于DMSO对照组。p-JAK2、STAT3蛋白在PM组与水溶组分组增高;RORγt在PM、水溶成分各组趋势均明显上升。并且高剂量水溶成分组、高剂量有机组分组IL-23释放增加($P<0.05$)。加入JAK2抑制剂AG490后,与单独染毒组相比,PM、水溶成分、有机成分各拮抗组均发现JAK2、STAT3、RORγt基因和蛋白表达降低,IL-17、IL-23表达降低,扭转了染毒后表达增高趋势。基因沉默STAT3后,PM、水溶成分、有机成分各沉默组相比各自染毒组STAT3、RORγt基因和蛋白表达均降低,且IL-17、IL-23表现出不同程度的降低。**结论** 交通相关PM2.5及其不同组分均可造成Jurkat T细胞损伤,并且可通过刺激JAK2/STAT3/RORγt信号通路调控Jurkat T细胞分泌促炎因子IL-17、IL-23。

关键词:交通相关PM2.5; JAK2/STAT3/RORγt; AG490; IL-17; IL-23

作者简介:孔玮璨,E-mail: 971121070@qq.com

通讯作者:张志红,E-mail: zzh1973@sxmu.edu.cn

T18-0050

不同粒径纳/微塑料对人脐静脉内皮细胞的自噬影响及机制研究

卢艳阳

(中国科学院城市环境研究所, 厦门 361021)

摘要: 目的 纳/微塑料(NMPs,1 nm ~ 5 mm)污染遍布水、大气和土壤等各种环境介质,成为全球性的重大环境问题。研究表明,NMPs已危及食品安全,并可通过食物链传递进入人体循环系统,对人类健康构成潜在威胁。血管是NMPs进入人体循环系统后的首要靶器官,血管内皮细胞是首当其冲的受害细胞,但相关毒理学研究仍处于起步阶段,致毒效应和机制仍不明确。**材料与方法** 实验选用100 nm和500 nm两种粒径的球形聚苯乙烯纳塑料(PS-NMPs)为研究对象,以人脐静脉内皮细胞(HUVEC)为细胞模型,探究不同粒径纳/微塑料与HUVEC细胞的相互作用关系及诱导自噬效应的差异性,主要方法包括:流式细胞术检测细胞与PS-NMPs的相互作用关系;透射电镜显微镜和扫描电子显微镜观察PS-NMPs在细胞膜和细胞质中的分布;Western blot法检测自噬相关蛋白的表达;慢病毒感染实验分析细胞的自噬流水平等。**结果** 在5,10和25 μg/mL的暴露浓度下,100 nm和500 nm的荧光PS-NMPs均可与HUVEC细胞相互作用,从而导致细胞膜的损伤。在亚细胞结构上,100 nm PS-NMPs的暴露导致细胞自噬体的数量较对照比明显增加,同时自噬溶酶体的数量有所减少。在分子水平上,100 nm PS-NMPs促进LC3B Ⅰ向LC3B Ⅱ不断转化,并增加LC3B Ⅱ和BECN1蛋白的表达。但500 nm PS-NMPs对HUVEC细胞自噬相关的蛋白表达和自噬溶酶体的数量均没有显著影响。这些说明100 nm PS-NMPs诱导HUVEC细胞自噬体的积累并抑制自噬流的水平,而500 nm PS-NMPs对此自噬效应却没有显著影响。进一步的研究还发现,在100 nm PS-NMPs处理组中,溶酶体膜蛋白LAMP-2和溶酶体水解酶蛋白CTSB的表达显著减少;而500 nm PS-NMPs处理组中的LAMP-2和CTSB蛋白水平没有明显变化。这些结果表明100 nm PS-NMPs,而不是500 nm PS-NMPs,导致HUVEC细胞溶酶体功能障碍,这可能是100 nm PS-NMPs诱导自噬流受损和自噬降解能力下降的主要原因。**结论** 100 nm和500 nm两种粒径的纳/微塑料均可与HUVEC细胞相互结合,虽未诱导细胞的炎症反应和氧化胁迫,但500 nm的PS-NMPs能够吸附于细胞膜表面,造成膜损伤;而较小粒径(100 nm)的PS-NMPs却能被细胞摄取且在细胞质中不断蓄积,不仅导致细胞膜损伤,还诱导自噬体的形

成，损伤溶酶体的功能，进而抑制整个自噬流的水平。本研究为不同粒径纳/微塑料的心血管毒性效应与机制提供了新的见解，相关研究成果以第一作者身份发表在环境科学Top期刊Journal of Hazardous Materials上。

关键词： 纳/微塑料；血管内皮损伤；自噬；溶酶体；粒径效应

通讯作者： 卢艳阳，E-mail：yylu@iue.ac.cn

T18-0051

JAK2/STAT5/Foxp3信号通路在PM2.5及其不同组分诱导Jurkat T细胞炎症因子分泌的调控作用

王谦雨[1,2]，孔玮璨[1,2]，高宇卉[1,2]，哈里买买提·那斯尔[1,2]，王彩红[1,2]，田家瑜[1,2]，刘楠楠[1,2]，赵利芳[1,2]，张志红[1,2]

（1. 山西医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室，山西 太原 030001；2. 山西医科大学黄河流域生态公共卫生安全研究中心，山西 太原 030001）

摘要：目的 探讨JAK2/STAT5/Foxp3信号通路在交通相关PM2.5及其不同组分诱导Jurkat T细胞炎症因子分泌的调控作用。**方法** 细胞随机分组，以PM2.5及其组分染毒和AG490干预。qRT-PCR法检测细胞JAK2、STAT5、Foxp3基因表达量。Western Blot法和免疫荧光法检测细胞JAK2、p-JAK2、STAT5、p-STAT5、Foxp3蛋白表达量。ELISA试剂盒测定细胞因子TGF-β、IL-10含量。流式细胞术检测Treg细胞百分比。**结果** 与对照组相比，PM2.5及其组分染毒使Jurkat T细胞JAK2基因和蛋白表达升高，STAT5、Foxp3基因和蛋白表达降低，细胞因子TGF-β、IL-10含量降低，PM2.5及其水溶组分组Treg细胞的百分比降低；AG490干预后，细胞JAK2基因和蛋白表达降低，STAT5、Foxp3基因和蛋白表达升高，上清液TGF-β、IL-10含量升高，Treg细胞百分比提高。STAT5质粒转染后，与空载组相比，STAT5、Foxp3基因、蛋白表达水平升高。**结论** 交通相关PM2.5及其不同组分通过JAK2/STAT5/Foxp3信号通路调控Jurkat T细胞炎症反应。

关键词： 交通相关PM2.5；JAK2/STAT5/Foxp3；IL-10；TGF-β

通讯作者： 张志红，E-mail：zzh1973@sxmu.edu.cn

T18-0053

Drp1参与的PINK1/Parkin介导的线粒体自噬对三氯乙烯引起的药疹样皮炎发病的影响

焦 博，伊梦楠，刘 帅，王燚灿，陈圆圆，戴宇飞

（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所，北京 100050）

摘要：目的 三氯乙烯引起的药疹样皮炎（TIHD）被归类为Ⅳ型超敏反应，T细胞的异常激活是TIHD的主要发病机制，线粒体已被广泛认为是协调T细胞功能的控制中心，本研究旨在探讨T淋巴细胞中线粒体功能的改变对TIHD发病的影响。**材料与方法** 体外实验：选取T淋巴细胞HSB2细胞，利用CCK-8法检测三氯乙醇（TCOH）和线粒体分裂蛋白抑制剂（Mdivi-1）对细胞活性的影响。采用电子显微镜检测细胞超微结构并分析各组线粒体长度，western blot检测线粒体动力学关键蛋白、线粒体自噬和凋亡蛋白的表达，免疫荧光法检测PINK1和线粒体共定位，JC-1、Mito-Tracker Red CMXRos、Annexin V-FITC和TUNEL法检测线粒体膜电位和细胞凋亡情况。体内实验：利用Mdivi-1抑制Drp1的表达，构建TCE致敏小鼠模型，设置对照组，Mdivi-1组，TCE组和Mdivi-1+TCE组，对小鼠一般表型，皮肤和肝脏病理展开分析。利用western blot检测各组小鼠线粒体分裂蛋白Drp1、线粒体自噬关键蛋白和凋亡蛋白表达情况，流式细胞术检测小鼠

脾脏T淋巴细胞活化指标CD69和T淋巴细胞分化指标CD3，CD4和CD8的表达情况。**结果** 选择500、700和1000 μmol·L^{-1}的TCOH分别作为低、中、高暴露剂量进行后续实验。电镜结果显示：TCOH引起线粒体损伤，线粒体长度呈现出剂量依赖性变短。随着TCOH浓度增加，线粒体分裂蛋白Drp1逐渐增加，融合蛋白Mfn2逐渐降低，线粒体动力学朝向线粒体分裂偏移。另外，PINK1和线粒体共定位逐渐增多，PINK1，Parkin，LC3在全蛋白和线粒体蛋白中表达逐渐增加，p62在全蛋白中表达降低，线粒体蛋白中表达增加，提示：PINK1/Parkin介导的线粒体自噬表达增加。随着TCOH剂量增加，线粒体膜电位逐渐下降，Cyt C释放增加，cleaved caspase-3表达增加，凋亡呈剂量依赖性增加。Mdivi-1（200 nmol·L^{-1}）干预能够显著抑制TCOH激活的Drp1，进而PINK1和线粒体共定位减少，PINK1/Parkin介导的线粒体自噬蛋白表达水平降低，凋亡细胞的比例和凋亡执行蛋白cleaved caspase-3表达增加，证实了Drp1参与的PINK1/Parkin介导的线粒体自噬发挥着保护作用。体内实验结果显示：Mdivi-1能够降低TCE激活的脾脏细胞Drp1参与的PINK1/Parkin介导的线粒体自噬，T细胞凋亡增加，$CD3^+CD4^+CD8^-$细胞比例降低，从而缓解TCE致小鼠皮炎损伤。**结论** Drp1参与的PINK1/Parkin介导的线粒体自噬，从而增加T淋巴细胞活化和分化水平，加重TIHD疾病发病风险。

关键词： 三氯乙烯；三氯乙醇；线粒体；药疹样皮炎

基金项目： 国家自然科学基金（82073595）

通讯作者： 戴宇飞，E-mail：daiyf@niohp.chinacdc.cn

T18-0057

Bax/Bcl-2平衡在$NaAsO_2$暴露致甲状腺损伤中的作用研究

范丽丽，王大朋，罗 鹏

（贵州医科大学公共卫生与健康学院，环境污染与疾病监控教育部重点实验室，贵阳 550025）

摘要：目的 砷作为一种普遍存在于环境中的类金属毒物，可导致多种疾病并影响全球数百万人的健康。近年来，一些研究发现砷暴露与甲状腺功能密切相关，并显示其对甲状腺有毒性作用，但甲状腺损伤的具体表现及其分子机制尚不清楚。本研究通过体内外实验探讨$NaAsO_2$对人甲状腺滤泡上皮细胞（Nthy ori 3-1）和SD大鼠甲状腺的毒性作用及其对Bax、Bcl-2蛋白表达的影响，分析Bax/Bcl-2平衡在砷致甲状腺损伤中可能发挥的作用。**方法** 体外实验中，采用CCK-8试剂盒测定Nthy ori 3-1细胞存活率，计算半数抑制浓度（IC_{50}）。根据IC_{50}结果，采用0、2、4、8 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$对Nthy ori 3-1细胞处理24 h；另取4 μmol·L^{-1} $NaAsO_2$染毒0、12、24、48 h，到达处理终点收集细胞沉淀及培养上清。采用试剂盒检测LDH漏出率，流式法测细胞凋亡情况，蛋白印迹法和免疫荧光法检测Nthy ori 3-1细胞中Bax、Bcl-2蛋白表达情况。体内实验中，将健康SD大鼠暴露于不同剂量的$NaAsO_2$（0、2.5、5.0和10.0 mg/kg体重）36周，处理终点采集尿液、血液及甲状腺组织。采用ICP-MS检测各组大鼠尿液及甲状腺砷含量；ELISA法测定血中甲状腺激素（TT3、TT4）及促甲状腺激素（TSH）水平；HE和Masson染色观察甲状腺组织变化情况；并用免疫组织化学法及免疫荧光法检测甲状腺组织中Bax和Bcl-2蛋白的表达情况；TUNEL染色观察甲状腺细胞凋亡损伤情况。**结果** $NaAsO_2$以剂量和时间依赖的方式降低Nthy ori 3-1细胞活力，而且随着$NaAsO_2$暴露时间和剂量的增加，LDH漏出率和细胞凋亡率增加，Bcl-2蛋白表达减少，Bax蛋白表达增加，Bax/Bcl-2比值显著增加。在体内实验中，$NaAsO_2$暴露导致SD大鼠尿砷和甲状腺砷含量显著增加，甲状腺组织出现Bax/Bcl-2比值升高、TUNEL阳性率增加以及组织病理学改变，包括甲状腺滤泡内细胞脱落、滤泡大小两极分化、形状不规则，无滤泡形态的大量细胞堆积，并可见血管增生以及明显的胶原沉积。同时，伴随出现TT3和TT4水平降低，TSH水平升高。进一步分析发现，TT3和TT4水平与尿砷和甲状腺砷含量显著负相关，TSH与尿砷及甲状腺砷含量正相关，TT3、TT4水平与Bax蛋白水平显著负相关、与Bcl-2蛋白水平明显正相关。**结论** $NaAsO_2$暴露可致Nthy ori 3-1细胞毒性以及SD大鼠甲状腺结构和功能异常，且Bax/Bcl-2平衡紊乱可能在其中发挥重要作用。

关键词： $NaAsO_2$；甲状腺；Nthy-ori 3-1细胞；甲状腺激素；Bax/Bcl-2

资助项目：国家自然科学基金（82060604）；贵州省科技计划项目（黔科合支撑［2020］4Y153号）；贵州省科技计划项目（黔科合基础［2019］1264号）

通讯作者：王大朋，E-mail：wojiushiwdp@126.com；罗　鹏，E-mail：luopeng@gmc.edu.cn

T18-0060

PPAR-α/ Ep300介导的Raptor乙酰化和mTORC1激活在BPS所致肝脏自噬抑制和脂肪变性中的作用机制研究

梁静佳，顾爱华

（南京医科大学公共卫生学院现代毒理学教育部重点实验室，江苏 南京　211166）

摘要：目的　双酚S（BPS）是双酚A（BPA）的替代品，用于生产水瓶等塑料产品。尽管与BPA相比，BPS具有更高的热稳定性，但BPS仍可能从塑料中释放到环境中，并最终进入人体。研究发现暴露于BPS可能会增加脂肪肝的发病风险，但潜在机制尚不清楚。**材料和方法**　本研究检测了139名NAFLD患者和147名健康参与者的血清，分析BPS与NAFLD的相关性。细胞实验，HepG2细胞给予BPS（1，10，50 μmol/L）处理24 h；体内实验，C57BL/6小鼠经饮水暴露BPS（5000 mg/kg/day）。用油红O染色、qRT-PCR、免疫印迹、免疫荧光和免疫共沉淀等方法检测脂质蓄积情况、自噬和mTORC1活性改变以及Ep300对Raptor的乙酰化的调控；利用RNA-Seq、ChIP和双荧光素酶报告基因分析BPS对PPARα通路的调控并验证PPARα对Ep300启动子区的调控。**结果**　① BPS暴露与NAFLD风险之间存在潜在关联：本研究发现NAFLD患者血清中BPS水平显著高于健康对照组。人群血清肝损伤标志物天冬氨酸转移酶（AST）水平与BPS水平呈现显著的正相关关系。② BPS可能通过抑制自噬来促进脂质蓄积：BPS暴露小鼠肝脏和细胞中自噬溶酶体减少，自噬标志物P62和LC3蛋白水平升高。③ BPS通过Ep300诱导的Raptor乙酰化调节mTORC1-自噬轴：mTORC1与溶酶体的荧光共定位及其下游靶基因的磷酸化表明，BPS暴露诱导细胞mTORC1的激活。在BPS处理的HepG2细胞中发现Ep300表达以及Raptor乙酰化增加。敲低Ep300时，Raptor乙酰化和mTORC1活性被抑制。④ BPS诱导的Ep300表达受到PPARα的调控：RNA-Seq分析发现BPS处理后，PPARα信号通路明显激活。ChIP和双荧光素酶报告基因实验发现，PPARα诱导Ep300高水平表达的片段位于启动子的-1400 ~ -730区域，而BPS可以诱导PPARα对Ep300的转录调控。⑤ 此外，EP300的下调可以缓解BPS暴露诱导的自噬抑制和脂质积累，提示EP300是BPS暴露诱导的肝脏脂肪变性的关键酶。**结论**　本研究发现PPARα/ Ep300介导的Raptor乙酰化和激活mTORC1在BPS致肝脏自噬抑制和脂肪变性中发挥重要作用，为靶向干预外源性化合物诱导肝脏脂毒性提供新的靶点和线索。

关键词：双酚S；代谢相关肝病；自噬；mTORC1；PPARα；Ep300

通讯作者：顾爱华，E-mail：aihuagu@njmu.edu.cn

T18-0066

The activation of SIRT1 ameliorates BPDE-induced inflammatory damage in BEAS-2B cells via HMGB1/TLR4/NF-κB pathway

SHANG Pingping[1], LI Xiang[1], Lei Yanting[2], Feng Feifei[2], ZHANG Qiao[2], HUA Chenfeng[1], ZHAO Junwei1, XIE Fuwei[1], LIU Huimin[1]

(1. Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC. Zhengzhou, Henan, China; 2. Department of Toxicology, Zhengzhou University School of Public Health, Zhengzhou, Henan, China)

Abstract: Benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide (BPDE), the metabolite of benzo(a)pyrene

(B(a)P) from cigarette smoke or environmental pollutant, could induce pulmonary toxicity and inflammation. SIRT1, an NAD^+ -dependent histone deacetylase, is known to regulate inflammation in the occurrence and development of various diseases, but its effect on BPDE-induced acute lung injury is still unknown. The present study aimed to explore the role of SIRT1 in BPDE-induced acute lung injury. Here, human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) were stimulated with BPDE at different concentrations (0.50, 0.75, 1.00 μmol/L) for 24 hrs, and we found that the levels of cytokines released from the cells were increased and the expression of SIRT1 in cells was down-regulated with dose-dependence. In addition, BPDE stimulation up-regulated the protein expression of HMGB1, TLR4, and p-NF-κB p65 in BEAS-2B cells. Then the activator and inhibitor of SIRT1 were used before BPDE exposure, and the results showed that the activation of SIRT1 significantly attenuated the levels of inflammatory cytokines and HMGB1, and reduced the expression of HMGB1, ac-HMGB1, TLR4, and p-NF-κB p65 protein, which were reversed partly by the inhibition of SIRT1. This study indicates that the SIRT1 activation may protect against BPDE-induced inflammatory damage in BEAS-2B cells by regulating the HMGB1/TLR4/NF-κB pathway.

苯并(a)芘介导H2BK5ac水平下降引起细胞膜表面张力失调促进肺癌EMT作用

李漫晴[1,2,3], 袁建辉[2,3]*, 曾卓颖[1]*

（1. 深圳大学第一附属医院，科研教学部临床研究中心，深圳 518000；2. 中山大学，公共卫生学院，广州 518080；3. 南山区疾病预防控制中心，深圳 518000）

摘要：目的 探讨H2BK5ac调控细胞膜表面张力失调在苯并(a)芘致肺癌EMT中的作用及分子机制，为肺癌的科学防治提供新思路。**材料和方法** 以处于对数生长期的肺腺癌细胞株（A549）和肺鳞癌细胞株（SW900）为研究对象；分别采用划痕实验及Transwell实验分析梯度浓度苯并(a)芘处理48h前后细胞的迁移和侵袭能力；利用Western-blot和免疫荧光分析肺癌细胞H2BK5ac水平；利用Flipper-TR探针检测荧光寿命分析细胞膜表面张力大小。通过CHIP-Seq筛选转录起始位点结合在H2BK5ac上的基因，并通过DAVID数据库对基因进行GO分析和KEGG通路富集。**结果** 划痕实验结果显示，2.5、5、10 μmol/L处理组的肺腺癌和肺鳞癌细胞划痕伤口的愈合速度显著快于0 μmol/L处理组（$P<0.05$）。Transwell实验结果显示，2.5、5、10 μmol/L处理组的肺腺癌和肺鳞癌细胞穿过小室底部基质胶的数目明显多于0 μmol/L处理组（$P<0.05$）。Western-blot结果显示，与0 μmol/L处理组相比，H2BK5ac在2.5、5、10 μmol/L剂量下表达下调（$P<0.05$）。免疫荧光实验结果显示，2.5、5、10 μmol/L处理组的细胞核中存在H2BK5ac荧光的比例下降，且平均每个细胞核内的荧光灶数目也明显减少（$P<0.05$）。Flipper-TR探针检测结果显示，与0 μmol/L处理组相比，2.5、5、10μmol/L处理组的肺腺癌和肺鳞癌细胞的细胞膜表面张力明显下降（$P<0.05$）。CHIP-Seq分析结果显示，转录起始位点结合在H2BK5ac上的基因主要富集在内吞作用通路。**结论** 苯并(a)芘暴露下调H2BK5ac抑制内吞作用继而引起细胞膜表面张力下降促进肺癌EMT作用。

关键词： 苯并芘（BaP）；组蛋白H2BK5乙酰化修饰（H2BK5ac）；内吞作用通路；细胞膜表面张力

基金项目： H2BK5乙酰化修饰介导细胞膜表面张力失调在B(a)P致肺癌EMT中的作用机制研究（广东省区域联合基金，青年项目，2022A1515111194）；基于肺癌类器官探讨细胞膜表面张力失调在苯并(a)芘致肺癌EMT中的作用及分子机制（深圳市科技计划基础研究专项基金，面上项目，JCY20220530150402004）

通讯作者： 曾卓颖，E-mail：zengzhuoying@szu.edu.cn

系统性识别环境污染物与健康有害结局的关系：以PFOA与PFOS引发脂肪肝为例

苟 潇，田明明，闫 路，张效伟*
（南京大学环境学院，南京 210023）

摘要：**目的** 环境污染物的暴露是人体健康有害结局发生的主要因素之一。流行病学研究与毒性试验分别被用于识别环境污染物引发疾病（Adverse outcomes，AOs）的有害结局路径（Adverse outcome pathway，AOP）中的关键事件（Key events，KEs）与外推到人体效果存疑的AOPs，二者常被独立使用。联合流行病学研究与实验室毒性试验，可系统性识别环境污染物与人群疾病之间的关系，为针对性风险评估提供证据。本研究基于AOP框架，联合实验室毒性试验与流行病学研究，建立了从基因到人群分层揭示毒理学机制的方法，并以PFOA与PFOS暴露引发人体脂肪肝（AO ID：459）作为研究案例。**材料与方法** 我们将PFOA与PFOS暴露于HepG2细胞中进行实验室毒性测试，共覆盖3个生物水平的测试。1）细胞水平：通过测量总甘油三酯、总胆固醇与油红染色检测PFOA与PFOS暴露下HepG2细胞脂质含量的变化；2）转录水平：通过简化转录组（reduced human transcriptome，RHT）定量识别2种物质干扰与脂质代谢相关通路的效应浓度（point of departure，PoD）；3）基因水平：使用CRISPR-Cas9筛选富集到脂质代谢通路的关键基因，并使用单基因敲降验证该关键基因的功能。最后，基于AOP网络，通过对流行病学文本挖掘预测PFOA与PFOS通过关键基因介导脂肪肝生成的机制。**结果** 我们发现：1）细胞水平：人体内暴露浓度下的PFOA与PFOS促进HepG2细胞脂质含量显著上升（$P<0.05$）。2）转录水平：RHT结果揭示PFOA与PFOS在低于内暴露浓度4~5个数量级时共可显著（$P<0.05$）富集5个与脂质代谢相关的通路；3）基因水平：CRISPR-Cas9筛选结果表明nudt7基因是参与5个脂质代谢通路且被PFOA与PFOS共同显著富集（$P<0.05$）的富集分数排名第一的基因。4）AOP验证：结合AOP网络与单基因敲降siRNA结果表明，PFOA与PFOS在内暴露浓度下诱导nudt7基因表达下调（novel KE），nudt7基因表达下调后Ace-CoA水解酶含量降低（KE ID：1834，predicted），HepG2细胞脂质含量上升（KE ID：291 and 454，*in vitro*），最终导致脂肪肝形成（KE ID：459，epidemiology）。总之，我们为环境污染物暴露引发人体健康有害结局的证据研究提供了一个从分子到人群系统性的研究方法。**结论** nudt7基因表达下调是PFOA与PFOS引发脂肪肝的关键机制。本研究为识别环境污染物暴露与健康有害结局发生之间的关系提供系统性证据的研究策略。

关键词：环境污染物；有害结局路径；健康风险评估；脂肪肝；PFOA与PFOS

通讯作者：张效伟，E-mail：zhangxw@nju.edu.cn

PARP-1缺陷调控Wnt信号通路及其在苯并芘致肺癌中的作用

黄海燕，付英斌，吴德生，任晓虎，陈 效，赵 静，李国威，刘建军
（深圳市疾病预防控制中心深圳市现代毒理学重点实验室）

摘要：目的 通过分析聚二磷酸腺苷核糖聚合酶-1（PARP-1）缺陷对Wnt信号通路的调控作用，探讨PARP-1在苯并芘（BaP）致癌过程中的作用及可能机制。**方法** 采用动式吸入染毒途径给予10.0μg/m3BaP染毒PARP-1基因敲除小鼠和野生型小鼠，分别于染毒90、180天收集动物肺组织和血液，病理分析小鼠肺癌形成情况，RT-PCR定量检测肺组织Wnt2b、Wnt5b基因mRNA的表达，western blot和免疫组化分析血清和肺组织中Wnt信号通路关键蛋白Wnt2b、Wnt5b的表达。**结果** 病理分析发现染毒180天后，野生型小鼠肺组织可见明显肿瘤，而PARP-1缺陷小鼠的肺组织未见肿瘤形成；与对照组相比，野生型小鼠染毒后肺组织Wnt2b、Wnt5b基因的转录水平明显增加（$P<0.05$），而PARP-1基因缺陷小鼠染毒后Wnt2b、Wnt5b基因表达改变不明显，染毒90天和染毒180天结果一致；western blot检测分析发现，野生小鼠染毒后Wnt2b、

Wnt5b蛋白表达明显上调(与对照组相比,$P<0.05$),且Wnt5b差异更明显,而PARP-1基因缺陷小鼠差异无统计学意义,且染毒90天和染毒180天结果一致;免疫组化分析发现,野生型小鼠染毒后Wnt2b、Wnt5b蛋白表达增加;而PARP-1基因缺陷小鼠Wnt2b、Wnt5b蛋白表达变化不明显,且染毒90天和染毒180天结果一致。**结论** PARP-1缺陷可通过抑制Wnt信号通路活化对抗BaP致癌。

关键词: 苯并芘; PARP-1; Wnt通路; 肺癌

基金项目: 广东省自然科学基金(2019A1515011080);深圳市医学重点学科建设经费资助项目(SZXK069)

通讯作者: 黄海燕, E-mail:hhy424@126.com

亚急性梭曼染毒豚鼠纹状体差异表达蛋白分析

靳 倩, 刘占彪, 张毅, 朱思庆, 石晶晶, 陈学军, 李丽琴*
(国民核生化灾害防护国家重点实验室 北京 102205)

摘要:目的 利用蛋白质组学技术分析梭曼亚急性染毒豚鼠纹状体中的差异表达蛋白,探讨梭曼中毒影响的主要生物学通路,为其中毒诊断、治疗及预后提供重要生物标志物。**方法** 以雄性成年豚鼠为研究对象,连续14天每天1次对豚鼠背部皮下注射梭曼($0.2xLD_{50}$)进行染毒;末次染毒后取纹状体组织,采用H&E染色观察对照和梭曼染毒大鼠纹状体的神经病理学;利用蛋白质组学技术分析梭曼染毒组与对照组之间的差异表达蛋白;利用KEGG数据库对差异表达蛋白进行功能注释与通路富集分析;对重要通路中的差异蛋白进行功能分析与讨论。**结果** 豚鼠纹状体组织中共鉴定出通过KEGG库注释的蛋白质数目为3927个;采用主成分分析和偏最小二乘法分析表明,梭曼染毒后共有344个差异表达蛋白,其中173个蛋白质表达上调,171个蛋白质表达下调,这些差异蛋白主要与代谢、遗传信息处理、环境信息处理、细胞过程、组织系统、人类疾病相关;上调蛋白质主要富集于3个通路($P<0.05$),下调蛋白质主要富集于6个通路($P<0.05$);下调蛋白质的主要富集通路包括突触囊泡循环、丙酸代谢、p53信号通路等,这些通路与10个蛋白质表达下调相关。**结论** 基于蛋白质组学研究,明确了亚急性梭曼染毒豚鼠纹状体中出现大量差异表达蛋白,其中的3个主要通路有助于进一步阐明亚急性梭曼损伤的非胆碱能机制,其中的差异蛋白可为中毒诊断、治疗和预后提供重要的生物标志物,并为新型抗毒药物开发提供重要的理论依据。

关键词: 梭曼; 蛋白质组学; KEGG通路分析; 生物学功能; 差异蛋白

通讯作者: 李丽琴, E-mail: llq969696@163.com

噪声和一氧化碳联合暴露致大鼠雄性生殖损伤信号通路解析

李迎庆, 刘 畅, 孙 磊, 姜 晓, 韩 飞, 敖 琳, 陈 卿, 曹 佳, 刘晋祎*
(陆军军医大学军事预防医学系毒理学研究, 重庆 400038)

摘要: 目的 解析噪声和一氧化碳(CO)联合染毒对雄性大鼠生殖系统损伤应答分子及关键信号通路。**材料和方法** 雄性SD大鼠随机分为空白对照组,单纯束缚组(阴性对照组),噪声染毒组(85db),CO染毒组(400ppm),联合染毒组(85db,400ppm),每组大鼠10只。大鼠进行短期重复暴露,每天染毒2小时,染毒结束后取睾丸组织进行病理学分析和转录组测序,对差异表达基因进行GO富集与KEGG通路分析。**结果** CO和噪声具有明显的联合效应:生精过程损伤,精子密度和活力显著降低,生殖细胞发生凋亡。生物信息学分析发现,噪声暴露组主要应答基因功能富集涉及蛋白质结合、金属离子跨膜运输、线粒体、细胞紧密连接等;主要信号通路有钙离子信号通路、嗅觉传导通路等。CO染暴露组差异表达基因主要富集的生物学功能有气味结合蛋白、细胞凋亡等;主要信号通路包括代谢通路、激素合成与分泌、细胞凋亡等。联合暴露组

差异表达基因主要涉及的生物学功能包括G蛋白偶联受体、气味结合蛋白、减数分裂、细胞周期、精子染色体凝集、纤毛组装、钙离子活性等；关键信号通路包括同源重组通路、细胞周期调控、细胞代谢通路等。相关通路关键应答分子调控机制初步分析，参与减数分裂、精子形成、细胞周期及凋亡通路的重要应答分子包括Smc4，Sycp1，Sycp3，Spag17，Mns1，p53，Top2a，Bax和Rock1等受重要的cirRNA调控。**结论** 减数分裂、细胞周期和细胞凋亡相关通路可能在噪声和CO联合染毒致大鼠雄性生殖系统中发挥重要作用。

关键词： 噪声；一氧化碳；联合染毒；高通量测序

基金项目： 国家自然科学基金（82173555）

通讯作者： 刘晋祎，E-mail：jinyiliutmmu@163.com

纳米级炭黑诱导活性氧对人支气管上皮细胞自噬和凋亡的调控

孟　涛[1]，郭华杰[1]，田秀娟[2]，张思羽[1]，张智栋[1]，姚　艳[1]，陈　萱[1]，王　堃[1]

（1. 山西大同大学脑科学研究所，山西大同 037009；2. 山西大同大学附属第一医院，山西大同 037006）

摘要：目的 探讨纳米级炭黑（CB）诱导活性氧（ROS）对人支气管上皮细胞（16HBE）自噬和凋亡的调控。**方法** 应用CCK-8法检测纳米CB不同浓度组、不同时间组及添加N-乙酰半胱氨酸（NAC）后16HBE细胞活力；应用流式细胞术检测不同浓度组、不同时间组及添加NAC后16HBE细胞内ROS水平；应用荧光定量PCR法检测不同浓度组、不同时间组及添加NAC后16HBE细胞自噬相关基因（*Atg5*、*Atg7*、*Atg14L*、*Beclin1*、*LC3II*、*Rubicon*）和凋亡相关基因（*Bcl-2*、*Bax*、*Caspase-3*、*Caspase-7*、*Caspase-8*、*Caspase-9*、*PARP*）mRNA表达；应用免疫印迹法检测不同浓度组和不同时间组16HBE细胞自噬相关蛋白（Beclin1、LC3II、LAMP-2、p62、PTEN）和凋亡相关蛋白（Bcl-2、Bax、C-Caspase-3、C-Caspase-7、C-Caspase-8、C-Caspase-9和C-PARP）表达；应用免疫印迹法检测添加NAC后对照组和CB组16HBE细胞LC3II和C-Caspase-3蛋白表达，并应于流式细胞术检测各组细胞凋亡率。**结果** 根据细胞活力结果，确定CB染毒浓度为50、100和200 μg/ml及NAC浓度为0.05 mM。与对照组相比，CB诱导16HBE细胞内ROS水平随CB浓度增加而显著升高，随暴露时间延长ROS水平呈先升高后降低，暴露4 h后ROS水平最高；当16HBE细胞经NAC预处理1 h再暴露不同浓度CB 4 h后，NAC可以明显降低CB诱导细胞内ROS水平。各浓度组*Atg5*、*Atg7*、*Atg14L*、*Beclin1*、*LC3II* mRNA表达呈剂量和时间依赖性明显上调，而Rubicon mRNA表达明显下调；各浓度组凋亡相关基因*Bax*、*Caspase-3*、*Caspase-7*、*Caspase-8*、*Caspase-9*、*PARP* mRNA表达明显上调，而*Bcl-2* mRNA表达明显下调，且具有剂量和时间依赖性。各浓度组Beclin1、LC3II、LAMP-2、PTEN蛋白表达呈剂量和时间依赖性上调，而p62蛋白表达明显降低；各浓度组Bax、C-Caspase-3、C-Caspase-7、C-Caspase-8、C-Caspase-9和C-PARP 蛋白表达呈剂量和时间依赖性上调，而Bcl-2表达明显下调。NAC可以显著降低CB诱导的ROS生成，下调LC3II和C-Caspase-3表达水平及细胞凋亡率。**结论** 纳米级CB可以诱导ROS生成，促进16HBE细胞自噬的起始，活化自噬流，并诱导细胞凋亡的发生。

关键词： 炭黑；纳米颗粒；人支气管上皮细胞；活性氧；细胞自噬；细胞凋亡

通讯作者：孟　涛，E-mail：taotao198307@163.com

低剂量全氟癸酸通过促进cGAS在细胞核中积累引起卵巢上皮细胞DNA损伤与DNA修复抑制

秦与恒，袁晓宇，崔臻妍，陈文涵，徐思楠，陈柯列，吴一华*，夏大静*

（浙江大学公共卫生学院浙江杭州 310058）

摘要：目的 全氟和多氟烷基物质（Per- and polyfluoroalkyl substances，PFAS）是一类广泛应用于工

业生产与消费品的多功能人造化学物，自问世以来便受到市场的青睐，在全球范围内大量生产及使用。暴露于PFAS能够引起内分泌与免疫系统功能紊乱，诱导遗传毒性与发育毒性等多种不良影响。尽管PFAS家族中一些特定成员被证明具有遗传毒性，但其引起DNA损伤的分子机制与对DNA损伤修复的影响所知甚少。本研究旨在探究全氟癸酸（PFDA）对正常卵巢上皮细胞的DNA损伤作用及DNA修复功能影响的分子机制。**材料** IOSE-80细胞系；BALB/c小鼠与ICR小鼠；PFDA（美国Sigma公司）；Importazole（美国MCE公司）；光学显微镜（TS100）；化学发光凝胶成像仪（ChemiScope 3300 Mini）；荧光定量PCR仪（7500fast）。**方法** 运用蛋白免疫印迹法、彗星实验探究在低浓度（0.5 μM）PFDA处理后对正常人卵巢细胞系IOSE80的DNA损伤情况；运用免疫荧光、核质分离和基因敲除等方法进一步探究PFDA引起DNA损伤以及DNA修复抑制的相关分子机制，并通过灌胃法在BALB/C小鼠进行体内实验验证。**结果** 结果发现，卵巢上皮细胞暴露于0.5 μM浓度的PFDA 12小时后，细胞内γ-H2AX蛋白水平增加，中性彗星实验拖尾增加，提示卵巢癌上皮细胞中DNA双链断裂增加；同时，细胞核内cGAS蛋白水平升高，提示cGAS在细胞核中积累；免疫荧光实验结果显示PFDA处理后细胞内cGAS与γ-H2AX具有共定位。在卵巢上皮细胞中敲降cGAS或阻碍cGAS核内转运，能够在卵巢上皮细胞中降低PFDA造成的DNA损伤，缩短双链断裂修复的时间，提高同源重组修复的效率。此外，体内实验也证实了PFDA暴露后，小鼠卵巢组织中出现更多的DNA双列断裂病灶以及核cGAS阳性的细胞。**结论** 0.5 μM浓度的PFDA处理可以造成卵巢上皮细胞DNA双链断裂，促进cGAS的核积累，干扰卵巢上皮细胞DNA损伤修复机制并导致基因组不稳定。

关键词： PFDA；毒作用；卵巢上皮细胞；cGAS；DNA损伤

通讯作者： 夏大静，E-mail：dxia@zju.edu.cn，吴一华，E-mail：georgewu@zju.edu.cn

二甲双胍联合葡萄糖饥饿通过ROS-Ca^{2+}-线粒体途径诱导肝癌细胞死亡

吴 勇[1]，崔茜如[2]，周 静[1*]，卢国栋[1,2*]

（1. 广西医科大学公共卫生学院毒理学教研室，广西壮族自治区 南宁市 530021；2. 广西医科大学基础医学院生理学教研室，广西壮族自治区 南宁市 530021）

摘要：目的 2型糖尿病（T2DM）是全球患病率较高的代谢性疾病，可促进多种肿瘤尤其是肝癌的发生发展。不同降糖药物对肝癌起到不同的作用，临床研究发现二甲双胍对早期肝癌的预后有改善效果，而对晚期肝癌的预后则有进一步恶化的作用。二甲双胍对中期肝癌的影响尚未明确，有待进一步研究。本实验旨在研究二甲双胍对肝癌细胞在代谢性应激（葡萄糖饥饿）下存活的影响，深入研究二甲双胍联合葡糖糖饥饿导致肝癌细胞死亡的作用靶点及机制。**材料和方法** 1. 使用流式细胞术检测二甲双胍联合葡萄糖饥饿对多种人肝癌细胞死亡的影响，通过添加不同的死亡抑制剂（Z-VAD-FMK、Nercrostain-1、Ferrostatin-1、Bafliomycin A1等）探索细胞死亡的途径。2. 检测内质网应激水平。使用蛋白质印迹法（Western blot，WB）检测内质网应激相关蛋白（Bip、CaMKⅡ、eIFα、JNK）的变化，通过Fluo-4 AM检测细胞内钙离子浓度。3. 线粒体功能的检测。使用H2DCFDA（DCF）和Mito SOX试剂分别检测活性氧簇（Reactive oxygen species，ROS）和线粒体ROS的产生情况，使用四甲基罗丹明甲酯（Tetramethylrhodaminemethyl，TMRM）和JC-1染色检测线粒体膜电位，使用腺苷三磷酸（ATP）试剂盒检测细胞内ATP的含量，使用Rhod-2检测线粒体钙离子浓度，使用WB检测线粒体自噬、凋亡以及线粒体分裂和融合蛋白的改变。4. 分别使用不同的ROS抑制剂、钙通道抑制剂以及小干扰RNA（siRNA）和crisp/cas9转染对关键靶点进行沉默或敲除，检测ROS水平与钙离子浓度对二甲双胍联合葡萄糖饥饿所诱导的肝癌细胞死亡的潜在靶点。**结果** 1. 二甲双胍联合葡萄糖饥饿显著抑制HepG2细胞增殖，且呈时间和浓度依赖性（$P<0.05$），而抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸（NAC）和钙离子抑制剂对二甲双胍联合葡萄糖饥饿所诱导的细胞死亡则呈现保护作用。2. 二甲双胍联合葡萄糖饥饿可诱导内质网应激，导致细胞钙离子紊乱。3. 二甲双胍联合葡萄糖饥饿损伤线粒体功能，导致线粒体ROS积聚，线粒体膜电位下降、线粒体钙超载和ATP显著降低。4. ROS与钙离子相互促进生成，

两者的失衡协同导致肝癌细胞死亡。**结论** 本研究揭示了二甲双胍联合葡萄糖饥饿可通过诱导肝癌细胞发生氧化应激和钙离子紊乱，引起内质网应激和损伤线粒体功能，最终导致肝癌细胞死亡。

关键词：肝细胞癌；二甲双胍；葡萄糖饥饿；活性氧；钙离子

通讯作者：周 静，E-mail：gardenia_zhou@hotmail.com；卢国栋，E-mail：golden_lu@hotmail.com

新污染物OBS的毒性分析与健康风险评价

张博翔，田明明，徐 丹*

（大连海事大学，环境科学与工程学院，环境系统生物学研究所 116026）

摘要：目的 全氟壬烯氧基苯磺酸钠（OBS）是一种含氟表面活性剂，作为持久性有机污染物全氟辛烷磺酸（PFOS）的新型替代物，仍具有一定的持久性、生物累积性。随着OBS的应用越来越广泛，近年来OBS暴露引起的生物毒性和对人体健康的影响备受关注。目前OBS在人体血液和组织样本均可以检出，然而关于OBS暴露对人体健康的影响程度及分子机制研究迄今为止尚未见报道。本研究旨在揭示新污染物OBS的毒性机制和健康风险。**材料和方法** 体外培养人血管内皮细胞（HUVECs）进行OBS暴露处理，利用MTT分析细胞毒性，探讨剂量-效应和时间-效应关系；利用胎盘蓝染色进行细胞计数分析细胞增殖情况；添加氧化应激抑制剂NAC，测定氧化应激指标，包括ROS，MDA，SOD，CAT水平；提取总RNA，进行基因表达谱和miRNA表达谱联合分析，并利用Nextbio软件进行疾病预测分析。**结果** 随着OBS暴露浓度升高细胞生存率逐渐降低，经计算IC50为33.43 μM。细胞计数结果显示OBS 10 μM开始出现细胞增殖抑制，具有显著性差异。随着OBS暴露浓度增加引起ROS产生增加和MDA水平升高，20 μM具有显著性差异；从OBS 10 μM开始SOD和CAT水平降低具有显著性差异；NAC能够干扰20 μM OBS产生的氧化应激指标的变化。测序分析结果发现，20 μM OBS引起535个基因表达上调，150个基因表达下调，GO分析发现差异表达基因功能主要和细胞粘着、细胞增殖、细胞外基质形成等有关；KEGG通路分析发现与p53、MAPK、TNF信号通路有关。利用Nextbio软件进行疾病预测分析发现OBS暴露与冠状动脉粥样硬化为代表的心血管疾病和炎症性肠病等疾病有关。20 μM OBS引起39个miRNA表达上调，35个miNRA表达下调，靶基因预测分析发现13个miRNA-mRNA表达存在负相关性，其中3个miRNA与7个转录因子和4个靶基因存在调控关系，功能上可能参与调控细胞黏附、细胞外基质降解，并与动脉粥样硬化形成有关。**结论** OBS暴露引起血管内皮细胞损伤，预测与心血管疾病有关，造成人体健康风险。

通讯作者：徐 丹，E-mail：jotan1995@dlmu.edu.cn

tRNA来源的小RNA片段在二甲基甲酰胺致肝损伤中的作用机制研究

许 琳*，郑玉新，于典科

（青岛大学公共卫生学院，卫生毒理学系，山东 青岛 266000）

摘要：目的 通过分子毒理学手段解析新型非编码小RNA-tsRNA在二甲基甲酰胺致肝损伤中的作用机制研究，寻找新的作用靶点。**材料和方法** 利用高通量测序检测二甲基甲酰胺染毒后人肝原代细胞的tsRNA的表达谱改变；运用qRT-PCR检测二甲基甲酰胺染毒引起的tRF-5Glu-TTC家族表达的上调；利用Western blotting分析二甲基甲酰胺染毒对ANG蛋白表达的影响；生物素标记的tRF-5Glu-TTC进行pull-down和蛋白质质谱技术分析其可能结合的蛋白；基于pulldown和RIP实验验证tRF-5Glu-TTC与IGF2BP1之间的相互作用；采用核质分离实验检测tRF-5Glu-TTC与IGF2BP1在细胞中的定位；利用Western blotting分析转染tRF-5Glu-TTC的模拟物和抑制剂对IGF2BP1的蛋白水平的影响；基于转录组测序分析过表达tRF-5Glu-TTC后各基因的表达变化；利用Western blotting分析敲降IGF2BP1后，GS-

TA1 和 GSTA2 的蛋白水平的变化；运用qRT-PCR 和 Western blotting 分析敲降了细胞中的 IGF2BP1 再转染 tRF-5Glu-TTC的模拟物后，GSTA1 和 GSTA2 的表达水平；利用 LDH 检测转染 tRF-5Glu-TTC的模拟物或者抑制剂，且进行二甲基甲酰胺染毒的肝脏细胞的毒性。**结果** 本部分的研究表明二甲基甲酰胺可以影响 tsRNA 的表达。其中，tRFs-5GluTTC 在二甲基甲酰胺致肝毒性中发挥着重要作用。tRFs-5GluTTC通过与 IGF2BP1结合，抑制其表达，进而抑制了下游Ⅱ相代谢酶 GSTA1 和 GSTA2 的表达。这些结果为揭示tRFs与 RNA 结合蛋白之间的作用提供了新的证据。我们的研究发现 IGF2BP1 可以通过调控 GSTA1 和 GSTA2 的 mRNA 稳定性来调控其表达，为解析毒物影响Ⅱ相代谢酶表达的生物学机制提供了新的探索方向。此外，目前二甲基甲酰胺中毒尚无特效解毒剂，其治疗原则为保护肝脏、保护胃黏膜及解痉止痛等对症及支持治疗，我们的研究提示tsRNA分子在二甲基甲酰胺致肝毒性中可以作为治疗靶点。**结论** 1. 二甲基甲酰胺可上调 ANG 的表达来促进 tRNA 的剪切，当敲降 ANG 后，能够抑制二甲基甲酰胺引起的 tRF-5Glu-TTC家族的表达上调。2. tRF-5Glu-TTC 能够与IGF2BP1 结合，抑制其表达水平，进而抑制 GSTA1 和 GSTA2 的表达水平，降低细胞的解毒能力。因此抑制 tRF-5Glu-TTC的表达，可显著提高 GSTA1 和 GSTA2 的表达水平，降低二甲基甲酰胺引起的细胞毒性。

关键词： tsRNA；二甲基甲酰胺；肝损伤；Ⅱ相代谢酶

通讯作者： 许 琳，E-mail：201810057@qdu.edu.cn

病毒-化学物交互作用在三氯乙烯引起的药疹样皮炎中的作用机制

伊梦楠，刘 帅，焦 博，王燚灿，陈圆圆，戴宇飞*

（中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所，北京 100050）

摘要：目的 获得性易感因素疱疹病毒协同遗传易感性基因HLA-B*13:01显著增加三氯乙烯引起的药疹样皮炎，本研究旨在探讨疱疹病毒和化学物交互作用对三氯乙烯引起的药疹样皮炎发病的影响。**材料与方法** 体外实验：构建转染基因 *HLA-B**13:01的Hmy2.C1R细胞（C1R-B*13:01）和EBV（Epstein-Barr Virus，HHV-4）感染细胞模型。利用western blot和免疫荧光法检测三氯乙醇（trichloroethanol，TCOH）和EBV对TLR2/NF-κB通路、抗原递呈通路关键蛋白以及NF-κB核易位的影响。利用公开数据库PDB、Cistrome Data Browser、PubMed和JASPAR检索NF-κB调控抗原递呈通路关键分子基因表达模式。利用PDTC干预NF-κB，探讨NF-κB对抗原递呈通路的影响。体内实验：利用脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）激活TLR4，进而探讨TLR4/NF-κB介导的抗原递呈通路对TCE致敏小鼠的影响。设置对照组，LPS组，TCE组和LPS+TCE组，通过对小鼠皮肤表型，初始、致敏结束和收鼠时体重记录，小鼠脏器系数计算记录TCE致敏小鼠一般表型变化。通过病理分析各组小鼠皮肤和肝脏损伤。利用ELISA检测各组小鼠谷丙转氨酶和谷草转氨酶（ALT/AST）和炎症因子（TNF-α和IL-1β）表达情况。利用western blot检测各组小鼠TLR4/NF-κB级联反应和抗原递呈过程关键蛋白（TAP1，LMP2，LMP7）表达情况。利用流式细胞术检测小鼠脾脏抗原递呈关键蛋白H-2D表达情况和T淋巴细胞活化指标CD69表达情况。**结果** EBV感染C1R-B*13:01后，EBV协同TCOH激活TLR2/NF-κB通路。NF-κB通过形成同源或者异源二聚体，与DNA序列5‘-GGGGPuNNPyPyCC-3’（Pu表示嘌呤，Py表示嘧啶，N表示任何碱基）以高亲和力结合，进而促进TAP1，LMP2，LMP7基因转录激活，激活抗原递呈通路。随着PDTC浓度（0，10，25，50 μM）增加，NF-κB及其核易位表达下降。PDTC（50 μM）的干预缓解了TCOH活化的NF-κB和抗原递呈通路，提示：TLRs/NF-κB对抗原递呈通路具有调控作用。体内实验结果显示：LPS虽然可以激活TLR4/NF-κB级联反应和抗原递呈通路，但是在LPS+TCE激发对照组中并未导致小鼠皮肤损伤。LPS能够加重TCE致小鼠体重下降，皮肤损伤等一般表型，同时加重TCE致小鼠皮肤病理损伤和肝损伤，加重致敏小鼠血清炎症因子和肝脏炎症因子的表达，加重炎症损伤。同时，LPS放大TCE致敏小鼠的TLR4/NF-κB级联反应和抗原递呈通路，活化小鼠H-2D的表达和T淋巴细胞的活化情况，从而加重TCE致小鼠皮炎损伤。**结论** 病毒感染协同化学物激活

TLRs/NF-κB通路，过度活化抗原递呈通路，加剧T淋巴细胞活化水平，从而增加TIHD疾病发病风险。

关键词： 三氯乙烯；疱疹病毒；药疹样皮炎；抗原递呈

基金项目： 国家自然科学基金项目（NO. 82073595）

通讯作者： 戴宇飞，E-mail：daiyf@niohp.chinacdc.cn

蛋白质组学分析确定ITPR2为小鼠AFB1性肝损伤的新靶标

张艺馨

（东北农业大学）

摘要：目的 黄曲霉毒素B1（AFB1）具有极强的致癌性，持续摄入可导致人类和动物严重肝损伤甚至肝癌。细胞焦亡是近年来新发现的细胞死亡形式，而阻断细胞焦亡是未来防治肝损伤的一个新思路。目前国内外尚未见从内质网应激及细胞焦亡角度讨论小鼠AFB1性肝损伤的分子机制的报道。本研究通过蛋白质组学确定AFB1诱导的小鼠肝损伤的潜在生物标志物，并分析其潜在机制。**材料和方法** 本研究以7周龄小鼠（19g±1g）为研究对象，连续56天灌胃AFB1（0.75 mg/kg），采集小鼠血清和肝脏，应用H.E。染色、透射电镜、蛋白质组学检测技术、生物信息学、实时荧光定量PCR（real-time PCR，qRT-PCR）、免疫印迹（Western Blot，WB）等方法，检测了小鼠肝脏组织的组织病理学变化和转氨酶变化，筛选出小鼠AFB1性肝损伤的生物标志物，检测内质网应激与细胞焦亡相关基因的表达，确定AFB1对小鼠肝损伤的损伤情况。**结果** H.E。染色结果显示，AFB1染毒导致小鼠肝脏细胞出现肝细胞空泡化、核膜溶解和肝内出血现象；透射电镜结果显示AFB1染毒组出现细胞膜破裂和内质网肿胀等现象，说明AFB1连续染毒56天能够引起小鼠肝脏组织焦亡的发生。AFB1可导致血清和肝脏转氨酶（AST、ALT）显著升高。本研究发现差异表达的蛋白质在内质网膜上富集，并通过蛋白质组学鉴定ITPR2是AFB1诱导小鼠肝损伤的生物标志物。此外，免疫组化、qPCR和Western blotting分析显示，AFB1通过激活ITPR2及其下游蛋白（Calpain1、Calpain2、BCL-2、BAX）的活性，激活caspase-12/caspase-3途径导致内质网应激，从而引起GSDME依赖的细胞焦亡。**结论** 本研究首次通过蛋白质组学鉴定ITPR2作为AFB1诱导的小鼠肝脏焦亡的生物标志物。研究结果表明，AFB1暴露激活ITPR2，在内质网中释放钙进从而激活钙蛋白酶，进而激活caspase-12/caspase-3途径以诱导焦亡。本研究为AFB1诱导肝损伤途径提供了新的思路，进一步揭示了AFB1性肝损伤的发生机制，为AFB1诱导的小鼠肝损伤机制提供了重要理论基础和试验数据。

关键词： AFB1；蛋白质组学；ITPR2；焦亡

通讯作者： 张艺馨，E-mail：787509004@qq.com

小鼠对甲醛的适应性及其分子机制的研究

郑丽芳，郑欣悦，王　恬，章　燕，龚存义，刘　洁，李　睿*

（华中师范大学生命科学学院 湖北　武汉　430079）

摘要：目的 旨在探究重复暴露于3 mg/m³的高浓度甲醛中的小鼠能否对甲醛产生一定的适应性，并进一步探究相关分子机制。**材料与方法** 第一阶段实验将SPF级BALB/c小鼠随机分为6组，分别给予2、3和4周的空气暴露（对照组）和3 mg/m³甲醛暴露。通过检测小鼠血清免疫球蛋白（IgG和IgE）含量，观察肺组织病理学切片（H&E染色），检测肺组织氧化应激（ROS、MDA和HO-1）水平和炎症因子（TNFα、IL-1β和IL-6）等含量的变化，探究小鼠是否对高浓度甲醛产生适应性。第二阶段实验将SPF级BALB/c小鼠随机分为5组：对照4周组（Con4）、溶剂组（1%DMSO）、PI3K抑制剂组（LY294002）、3 mg/m³甲醛暴露4周组（FA4）和FA4+LY294002组。除延续检测第一阶段实验各生物指标外，还检测小鼠肺组织中PI3K、Akt、p-Akt和Nrf2的蛋白含量，进一步探究小鼠对甲醛产生适应性的可能分子机制。**结果** 与各自对照组相比，当

甲醛分别暴露2周和3周后，小鼠血清中IgG含量下降，IgE含量升高；肺组织气道壁发生增厚现象，且肺组织中ROS和MDA水平增加、HO-1水平下降，TNFα、IL-1β和IL-6含量上升。与甲醛暴露2周的小鼠相比，甲醛暴露3周后的小鼠损伤更加严重。与甲醛暴露3周的小鼠相比，甲醛暴露4周后的小鼠其血清中IgG含量上升，IgE含量下降；肺组织气道壁增厚现象发生缓解，炎症因子含量下降。与对照4周组相比，在甲醛暴露4周（FA4）后，小鼠肺组织中的PI3K、p-Akt和Nrf2含量显著增加，Akt含量基本不变；与FA4组小鼠相比，施用PI3K抑制剂的FA4+LY294002组小鼠肺组织中PI3K、Akt、p-Akt和Nrf2含量均显著下降，同时肺组织气道壁增厚现象加重，肺组织中ROS和MDA水平增加、HO-1水平下降，TNFα、IL-1β和IL-6含量上升。**结论** 随着3 mg/m^{3}甲醛暴露时间的延长，小鼠可通过体内PI3K/Akt/Nrf2通路的激活而减缓损伤，并产生一定的适应性。

关键词：甲醛；适应性；氧化应激；炎症；PI3K/Akt/Nrf2通路

基金项目：国家自然科学基金面上项目（42077403）；华中师范大学中央高校基本科研业务费项目（CCNU18JCXK07和CCNU19TS066）

通讯作者：李 睿，E-mail：ruili@ccnu.edu.cn

T19-0001

胆汁酸代谢重塑在纳米硒蛋白缓解结肠炎相关肝损伤中的作用机制研究

杨美婷，王瑞瑞，唐焕文，刘起展，唐 志

（广东医科大学公共卫生学院，东莞市环境医学重点实验室）

摘要：目的 肝损伤是炎症性肠病（IBD）中常见的肠外表现，溃疡性结肠炎患者肝病变的发生概率显著高于普通人群。硒蛋白被证实具有抗氧化及抗炎的特性，但纳米硒蛋白对治疗溃疡性结肠炎相关肝损伤的干预作用及分子机制尚未明确。本研究探讨纳米硒蛋白对溃疡性结肠炎相关肝损伤的防治效果，并进一步探讨胆汁酸代谢在其调节作用中的潜在机制。**材料和方法** 采用葡聚糖硫酸钠（DSS）2.5%建立溃疡性结肠炎小鼠模型；将8周龄雌性小鼠随机分为正常对照组（CON）、模型组（DSS）、Se@HS低剂量组（0.02 mg/kg），DSS+L和Se@HS高剂量组（0.1 mg/kg，DSS+H）。纳米硒蛋白组提前一周预防性灌胃给药，一周后除对照组外饮用水更换为右旋糖硫酸钠，继续灌胃给药。分别在造模前5天，造模后第3、5、8天收集各组小鼠粪便，并储存在-80℃备用；连续造模10天后，确认DSS引起溃疡性结肠炎模型建成，第十一天处死存活小鼠。取肝脏组织进行HE染色，行组织病理学评分；观察炎症情况。提取粪便样品中的DNA，进行微生物16S rRNA基因测序和分析；PCR检测肝脏及结肠中胆汁酸代谢及转运相关基因：CYP8B1、CYP7A1、CYP27A1、CYP7B1、ASBT、BESP、IBABP、OSTα、OSTβ、NTCP等；取小鼠粪便、肝脏组织进行基于气相色谱-质谱（GC-MS）的非靶向代谢组检测，并采用主成分分析（PCA）和偏最小二乘法-判别分析（PLS-DA）进行统计分析，筛选各组肝脏中潜在的差异性代谢物。**结果** DSS诱导的溃疡性结肠炎小鼠存在肝损伤情况，且纳米硒蛋白能够部分缓解由结肠炎相关的肝损伤。纳米硒蛋白可以缓解胆汁酸代谢及胆汁酸转运体异常；富含胆盐水解酶BSH的菌群如乳酸菌、拟杆菌有明显变化；纳米硒蛋白可缓解由于结肠炎致肠道菌群乳酸菌属、拟杆菌属紊乱相关的胆汁酸代谢及转运体异常；本研究提示纳米硒蛋白可能通过改善胆汁酸紊乱而缓解肝损伤。**结论** 纳米硒蛋白可通过肠道菌群代谢影响胆汁酸代谢而缓解DSS诱导的结肠炎相关肝损伤。

关键字：肝损伤；胆汁酸；肠道菌群；纳米硒蛋白；代谢组学

作者简介：杨美婷，E-mail：1325401927@qq.com

通讯作者：唐 志，E-mail：ztang@gdmu.edu.cn

T19-0002

基于高分辨质谱及网络毒理学的附子神经毒性关键危害物的筛查

杨 柳，陈诗奇，江海洋
（中国农业大学动物医学院基础兽医系，北京 100193）

摘要：目的 附子（*Radix Aconiti Lateralis* Preparata）为毛茛科乌头属植物的子根，因具有回阳救逆，温中散寒，补火助阳等功效，被收录入《中国药典》和《中国兽药典》。然而国内外发生过多起附子中毒事件，轻者口舌发麻、四肢麻木、皮肤感觉逐渐消失，伴有头晕、烦躁等症状，严重者全身僵硬、四肢抽搐、神志不清、呼吸先加快后减慢直至衰竭，这极大地限制了附子的临床使用。由于其成分的复杂性，对其潜在的关键危害物研究较少。本研究拟采用高分辨质谱结合网络毒理学分析，构建“活性成分-含量-神经毒性靶点”的加权网络，为进行有毒中药附子的神经毒性成分筛查提供新的方法。**材料和方法** （1）附子甲醇提取液用于UPLC-QTOF-MS/MS分析，获取高分辨质谱数据。（2）通过“口服生物利用度（OB）不低于20%”和“类药性（DL）不低于0.1”两项标准对成分进行筛选，以高分辨数据TIC响应值计算成分的含量权重P。（3）分别通过TCMSP、Swiss Target Prediction、Pharm Mapper及以关键词“neurotoxicity”、“neural toxicity”、“nerve toxicity”在GeneCards数据库中分别获得成分靶点和神经毒性/损伤相关靶点，导入Cytoscape软件构建附子成分-神经毒性靶点网络。（4）根据Cytoscape软件计算每个化合物的节点连通性（Degree），以Degree与含量权重之积作为化合物毒性评分（T-Score）并排序，以前排序前五的化合物作为附子中神经毒性的关键危害物。**结果** （1）对获得的各化合物的保留时间、精确质量数、碎片离子等结构信息与多个在线质谱数据库比对，鉴定了58种已知成分。（2）通过“OB≤20%”和“DL≤0.1”两项标准对成分进行筛选，最终获得附子中28个化合物成分，以高分辨数据中化合物的TIC响应值与所有化合物TIC总响应值的比值，计算上述成分的含量权重P。（3）共获得166个附子化合物成分靶点；得9372个神经毒性相关靶点。二者取交集后，共获得143个靶点，视为附子作用产生神经毒性的潜在靶点。（4）将附子成分和毒性靶点数据导入Cytoscape软件构建附子成分-神经毒性靶点网络。（5）通过加权，最终化合物毒性评分排名最高的5个成分为FZ10、FZ15、FZ16、FZ13和FZ11。**结论** 经高分辨质谱及网络毒理学对附子提取液中产生神经毒性主要成分的确证，FZ10（去甲乌药碱）、FZ15（3-去氧乌头碱）、FZ16（次乌头碱）、FZ13（宋果灵）、FZ11（荷克布星A）是附子导致神经损伤的关键危害物。

关键词：附子；神经毒性；网络毒理学；关键危害物

通讯作者：江海洋，E-mail：2016305010314@cau.edu.cn

T19-0003

Signal amplification in the KEAP1-NRF2-ARE antioxidant response pathway

Shengnan Liu[1], Jingbo Pi[1], Qiang Zhang [2]
(1. Program of Environmental Toxicology, School of Public Health, China Medical University, Shenyang, 110122, China; 2. Gangarosa Department of Environmental Health, Rollins School of Public Health, Emory University, Atlanta, GA, 30322, USA)

Abstract: The KEAP1-NRF2-ARE signaling pathway plays a central role in mediating the adaptive cellular stress response to oxidative and electrophilic chemicals. This canonical pathway has been extensively studied and reviewed in the past two decades, but rarely was it looked at from a quantitative signaling perspective. Signal amplification, i.e., ultrasensitivity, is crucially important for robust induction

of antioxidant genes to appropriate levels that can adequately counteract the stresses. In this review article, we examined a number of well-known molecular events in the KEAP1-NRF2-ARE pathway from a quantitative perspective with a focus on how signal amplification can be achieved. We illustrated, by using a series of mathematical models, that redox-regulated protein sequestration, stabilization, translation, nuclear trafficking, DNA promoter binding, and transcriptional induction-which are embedded in the molecular network comprising KEAP1, NRF2, sMaf, p62, and BACH1-may generate highly ultrasensitive NRF2 activation and antioxidant gene induction. The emergence and degree of ultrasensitivity depend on the strengths of protein-protein and protein-DNA interaction and protein abundances. A unique, quantitative understanding of signal amplification in the KEAP1-NRF2-ARE pathway will help to identify sensitive targets for the prevention and therapeutics of oxidative stress-related diseases and develop quantitative adverse outcome pathway models to facilitate the health risk assessment of oxidative chemicals.

Key words: Oxidative stress; KEAP1; NRF2; ARE; Ultrasensitivity; Signal amplification

Corresponding author: Jingbo Pi, E-mail: addresses: jbpi@cmu.edu.cn; Qiang Zhang, E-mail: qiangzhang@emory.edu

T19-0004

药物神经毒性与自身免疫疾病诱导毒性预测模型开发及结构特征分析

李 晓，张瑞秋

（山东第一医科大学第一附属医院药学部，济南 250014）

摘要：目的 药物诱导的自身免疫性疾病（drug-induced autoimmune diseases，DIAD）与药源性神经毒性（drug-induced neurotoxicity，DINeuroT）的发生率和复杂性呈逐年上升趋势，给患者与社会造成了巨大的健康与医疗负担。已经成为药物研发失败的重要安全因素，也是临床使用中容易导致严重后果的不良反应。本项研究中，我们采用计算毒理学方法，对DIAD与DINeuroT药物的结构特征进行分析，并采用机器学习开发了计算机预测模型。**材料与方法** 我们以真实世界药物数据为基础，收集了具有DIAD与DINeuroT毒性的上市药物。我们共收集了329种DINeuroT药物和148种DIAD药物，并分别构建了阴性数据集。在此基础上，运用不同的机器学习方法，结合不同的分子指纹图谱，针对两种毒性终点分别建立了一系列分类预测模型，并分别进行了5折交叉验证和外部验证。为了进一步评估DINeuroT药物与DIAD药物的结构特征，我们对几种关键的分子理化性质进行了分析，并通过化学信息挖掘技术识别了药物DIAD与DINeuroT毒性相关的警示结构（structural alert，SA）。**结果** 对于DINeuroT与DIAD，表现最好的模型外部验证的预测准确率分别达到83.70%和75.98%。我们分别开发了网络软件DINeuroTpredictor（http://dineurot.sapredictor.cn/）和DIADpredictor（http://diad.sapredictor.cn/）供用户在线使用。分子理化性质分析结果显示DINeuroT药物与非DINeuroT药物相比，几个关键的分子性质存在显著差异，包括分子极性表面积、氢键受体数、氢键供体数、可旋转键数）和芳香环数。氢键供体数在DIAD药物与非DIAD药物中差异显著，可能与药物DIAD毒性有关。我们从预定义的子结构片段数据库中识别出18个与药物DINeuroT毒性有关的警示结构和12种与药物DIAD相关的警示结构。这些警示结构的存在可以警示药物潜在的DINeuroT与DIAD毒性，也有助于解释药物发生DINeuroT与DIAD的作用机制。相关的警示结构已经整合到我们前期开发的基于警示结构的毒性预测工具SApredictor（www.sapredictor.cn）中。**结论** 本研究中开发的机器学习模型与结构特征分析结果，将有助于为药物DINeuroT与DIAD毒性的理解与评估提供有意义的帮助。

关键词：药物神经毒性；自身免疫疾病诱导毒性；机器学习；警示结构；毒性预测

通讯作者：李 晓，E-mail：lixiao1688@163.com

T19-0005

抗乳腺癌候选药物的优化建模

首莹清
（青岛大学）

摘要：目的 乳腺癌常被称为“粉红杀手”，其发病率位居女性恶性肿瘤的首位。有研究发现，雌激素受体α亚型（Estrogen receptors alpha，ERα）的表达在乳腺的病变中扮演了十分重要的角色，能够拮抗ERα活性的化合物可能是治疗乳腺癌的候选药物。本文采用机器学习的方法，构建化合物的定量结构-活性关系（QSAR）模型来筛选潜在能够拮抗ERα活性的化合物，具有一定的现实意义。**材料和方法** 针对与乳腺癌相关的靶标（ERα），收集一系列作用于该靶标的化合物及其生物活性数据，然后以一系列分子结构描述符作为自变量，化合物的生物活性值作为因变量，构建化合物的定量结构-活性关系（Quantitative Structure-Activity Relationship，QSAR）模型。一个化合物想要成为候选药物，除了需要具备良好的生物活性（此处指抗乳腺癌活性）外，还需要在人体内具备良好的药代动力学性质和安全性，合称为ADMET（Absorption吸收、Distribution分布、Metabolism代谢、Excretion排泄、Toxicity毒性）性质。其中，ADME主要指化合物的药代动力学性质，T主要指化合物可能在人体内产生的毒副作用。一个化合物的活性再好，如果其ADMET性质不佳，比如很难被人体吸收，或者体内代谢速度太快，或者具有某种毒性，那么其仍然难以成为药物，因而还需要进行ADMET性质优化。为了方便建模，本文仅考虑化合物的5种ADMET性质，分别是：1.小肠上皮细胞渗透性（Caco-2），可度量化合物被人体吸收的能力；2.细胞色素P450酶（Cytochrome P450，CYP）3A4亚型（CYP3A4），这是人体内的主要代谢酶，可度量化合物的代谢稳定性；3.化合物心脏安全性评价（human Ether-a-go-go Related Gene，hERG），可度量化合物的心脏毒性；4.人体口服生物利用度（Human Oral Bioavailability，HOB），可度量药物进入人体后被吸收进入人体血液循环的药量比例；5.微核试验（Micronucleus，MN），是检测化合物是否具有遗传毒性的一种方法。**结果** 不同数量分子描述符构建的抗乳腺癌活性回归预测模型。**结论** 模型最后选择了化合物的9个分子描述符，能够使化合物对ERα具有更好的抗乳腺癌活性，同时具有更好的ADMET性质（至少三个性质较好）。

通讯作者：首莹清，E-mail：937578665@qq.com

T19-0006

小核酸药物的生物分析策略

胡　双，薛爱琴，肖媛媛，赖　力，岑小波
（成都华西海圻医药科技有限公司，成都　610041）

摘要：自1998年第一个反义寡核苷酸药物上市以来，基于核酸类药物的研究越来越多。这些研究中主要以10~30个碱基的小核酸药物为主，包括反义寡核苷酸（ASO）、干扰RNA（siRNA）、微小RNA（miRNA）、小激活RNA（saRNA）以及核酸适配体（aptamer）。现在生物样本中定量检测小核酸的方法主要包括实时逆转录聚合酶链反应法（RT-qPCR）、杂交免疫法、LC-FD法和LCMS法。这些方法各有优缺点：A，qPCR法具有灵敏度高、线性范围广（4~8个数量级）和样本制备通量较高的优点。方法开发的复杂程度往往取决于引物和荧光基团的设计，准确性和精密度有限，特异性和潜在的基质效应，无法区别代谢物与分析物，化学修饰会影响。B，杂交ELISA法灵敏度较高，可以分析天然或修饰后的RNA。方法的缺点是特异性较差、重复性较差、线性较窄且不能区分代谢物。C，LC-FD法因杂交荧光探针与液相分离的双重选择而具有优秀的特异性，同时样本制备简单、不需要内标、重复性好（±15%准确度与精密度）、兼容多种结构修饰的核酸（碱基，糖，磷酸骨架修饰）。本法通量较低（10～30 min/样本）、难区分3′或5′端的n-1个代谢产物。D，LCMS法采用质谱直接定量，不需要酶和特殊试剂、重复性好、选择性高、通量高、线性宽、可同时测正/反义

链、可区分代谢产物与分析物；缺点是灵敏度相对较低。

总体来说，基于分子生物学的间接法往往不能直接测量小核酸的浓度、不能研究其代谢产物也不能区分修饰和未修饰的寡核苷酸，但在灵敏度方面却有较突出的表现。以LCMS法为代表的直接法可以直接测定寡核苷酸的浓度，可以同时检测siRNA的正义链和反义链，可以研究寡核苷酸的代谢物同时也能区分修饰与未修饰的寡核苷酸。随着各类高灵敏度质谱的推出，LCMS法在众多方法中将更具优势。

以上方法各具特点，在小核酸类药物分析时，需要根据药物开发阶段以及药物特征采用不同的生物分析平台为药物非临床PK、TK及组织分布的研究提供分析技术。

关键词：小核酸；寡核苷酸；ASO；siRNA；LC-FD；LCMS；PCR；生物分析

作者简介：胡 双，硕士，E-mail：shuanghu@glpccd.com

通讯作者：岑小波，博士，E-mail：xbcen@glpcd.com

T19-0007

ADC药物的定量生物分析策略

龚 梅，贺艳琳，赖 力，岑小波

〔成都华西海圻医药科技有限公司（天府新药研究中心），四川 成都〕

摘要：ADC药物是一类将单克隆抗体（Antibody）与不同数目的小分子毒素（Payload）通过连接子（Linker）偶联组成的生物治疗药。ADC通过高特异性的单克隆抗体与靶细胞表面抗原结合，通过内吞作用进入细胞，通过化学和/或酶促作用释放出小分子肿瘤细胞毒性药物以达到消灭靶细胞的目的。ADC药物的生物分析通常要结合色谱和配体两种技术手段，检测内容主要包括：游离小分子、ADC及总抗体药物浓度。此外，还需考察其可能引起的免疫原性反应。

游离小分子的定量检测首选液相色谱-质谱联用技术（LC-MS/MS），其具有选择性和灵敏度高的特点。给药后体内游离小分子的浓度较低，通常在pg/mL级别，常用前处理方法有蛋白沉淀法、液液萃取、固相萃取，其中后两种方法均可以对样品进行浓缩。其次需选用灵敏度高的检测仪器，通过对质谱参数，液相参数，筛选流动相提高方法灵敏度。另一个定量分析游离小分子毒素药物的挑战在于ADC药物的稳定性，通常分析研究者除了考虑游离小分子药物本身的稳定性，还要考虑一定浓度的ADC药物母药或含linker的小分子存在下，再加入一定浓度的游离小分子药物，如不稳定表现在游离小分子的浓度随时间的增长或温度的升高而升高，这与小分子本身稳定性所导致的药物浓度下降是相反的。ADC药物的不稳定性在于连接子的裂解，可通过控制酸的比例，加入酶抑制剂或降低温度进行操作。

ADC和总抗体的药物浓度分析一般采用配体结合方法。对于ADC的分析，建立的分析方法要考虑尽量不受DAR变化的影响。推荐采用抗小分子抗体作为包被试剂，抗人IgG抗体或靶抗原作为检测试剂，该方法能检测到DAR≥1的ADC，且对DAR值变化相对不敏感。但是可能需要注意低DAR值引起的低亲和力，从而导致方法灵敏度较低的情况，可以采用SA-ELISA方法提高灵敏度。对于总抗体的分析，关键点是与ADC分析的物质基础保持一致，以ADC药物的抗体部分为物质基础，如果上述ADC方法的检测试剂采用的是抗人IgG抗体，那么总抗体的包被和检测试剂均采用抗人IgG抗体；如果上述ADC方法的检测试剂采用的是靶抗原，那么总抗分析采用靶抗原作为包被试剂，抗人IgG抗体作为检测试剂。考虑到方法的特异性，一般推荐ADC的检测试剂和总抗体的包被试剂选择靶抗原。

对于ADC这种多结构域的蛋白药物，在非临床，一般针对整个药物分子进行抗药抗体的初步筛选和确证试验，所以阳性质控的制备是针对整个药物分子，方法主要是桥连-ELISA。根据药物风险评估或产品特征，进行滴度、域特异性或抗体分型的评价。

关键词：ADC；生物分析；DAR值；关键试剂；免疫原性；抗药抗体

通讯作者：龚 梅，E-mail：meigong@glpcd.com

T19-0008

海参中抗生素的生物富集及多室毒代动力学模型

朱明华，陈景文
（工业生态与环境工程教育部重点实验室，大连市化学品风险防控及污染防治技术重点实验室，
大连理工大学环境学院，大连 116024）

摘要：目的 海水养殖、河流携带和陆源排放等导致近岸海域抗生素污染。抗生素能诱导菌群耐药性，有必要关注海水养殖生物中抗生素的积累，为促进健康的海水养殖和抗生素类新污染物的环境风险评价提供支持。海参（棘皮动物门，海参纲）是亚洲国家，尤其是中国重要的海水养殖经济物种。然而，抗生素是否能在海参中生物富集尚不清楚；棘皮动物的毒代动力学模型仍然缺乏。**材料与方法** 选取海水养殖环境及海参产品中经常检出的7种抗生素，包括磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、甲氧苄啶、恩诺沙星、氧氟沙星、克拉霉素和阿奇霉素，作为目标化合物。以海参（Apostichopus japonicus）幼体为模式生物，开展模拟暴露实验。定期采集养殖海水及海参幼体样品，测定样品中抗生素浓度。基于一级动力学，拟合实测数据，估算海参中目标抗生素的生物富集参数。基于海参的解剖结构建立了包含5个室的多室毒代动力学（MCTK）模型，包括体壁、口、呼吸树、消化道和体腔液。基于被动扩散结合质量守恒原理，建立模型方程。采用实测数据进行模型参数化和验证。**结果与讨论** 海参组织中目标抗生素的生物富集遵循一级动力学。氧氟沙星的BCF值高，达1719.7 $L\cdot kg^{-1}$。疏水性更强的大环内酯类（包括克拉霉素、阿奇霉素）的BCF值低于氧氟沙星，可能是大环内酯类分子量大，降低吸收速率。恩诺沙星与氧氟沙星同属氟喹诺酮类，理化性质相似，但恩诺沙星的BCF值远低于氧氟沙星，可能是恩诺沙星易生物转化。所建MCTK模型，88%的模型预测值与实测值的差异在5倍范围内，表明了模型具有较好的预测准确性。上述研究结果表明，被动扩散原理适合建立海参中外源化学物质的MCTK模型。所建MCTK模型可用于预测海参体内抗生素的时间变化浓度。

关键词：海参；抗生素；生物富集；毒代动力学模型

通讯作者：陈景文，E-mail：jwchen@dlut.edu.cn

T19-0009

基于图注意力网络的PBT化学品筛查模型与应用域表征

王浩博，陈景文
（工业生态与环境工程教育部重点实验室，大连市化学品风险防控及污染防治技术重点实验室，
大连理工大学环境学院，大连 116024）

背景 快速高效地筛查具有环境持久性、生物积累性的有毒(PBT)化学品，是对化学品进行环境风险管理的基础。由于化学品PBT属性复杂，同时涉及化学品在多介质环境中的迁移分配、降解转化、生物蓄积行为，以及各种毒性通路及毒性大小，以往PBT化学品筛查模型的性能有待提升，且缺乏应用域(ADs)的表征和可解释性，不适合实际应用。**方法** 基于图注意力网络(GAT)架构，构建化学品PBT属性综合筛查模型。GAT可以将化学物质的原始结构信息(分子图)作为模型输入，通过“端到端”的学习过程，自动优化模型的特征提取方案。GAT还为每个节点引入注意力权重参数(PAW)并随着训练过程不断优化，使模型在相应任务中重点关注分子重要的局部结构特征。发展了ADFP-AC应用域表征方法，可以过滤掉与训练集分子指纹(FP)相似性较小的分子，以及可能出现在活性悬崖(ACs)上的分子。**结果与讨论** 结合ADFP-AC应用域，模型性能有明显改善。传统的应用域表征方法无法排除假阴性判例，而ADFP-AC方法可以。所发展的GAT模型和ADFP-AC应用域表征，被用于筛查《中国现有化学物质清单》中的PBT化学品。GAT模型及ADFP-AC应用域表征方法，在化学品其他属性的计算毒理学模型中，也有重要的应用前景。

关键词：QSAR；图神经网络；图注意力网络；PBT化学品；应用域

通讯作者：陈景文，E-mail：jwchen@dlut.edu.cn

T19-0010

促甲状腺激素受体激动剂的筛查模型及其应用域表征

刘文佳，陈景文
（工业生态与环境工程教育部重点实验室，大连市化学品风险防控及污染防治技术重点实验室，
大连理工大学环境学院，大连 116024）

摘要：背景 促甲状腺激素受体（TSHR）是甲状腺功能的重要调节者，化学品的TSHR激动剂活性，可以作为其扰乱甲状腺功能稳态的预警指标。化学品种类多，逐一实验测试成本高、效率低。QSAR模型基于已有数据，建立化学品结构与活性之间的关系，能够高效筛查TSHR激动剂活性的化学品。以往关于TSHR活性的QSAR筛查模型，均缺乏应用域表征。**方法** 基于不同来源（Tox21，NIH，ChEMBL）的数据，构建了化学品TSHR激动效应的数据集。结合3种机器学习算法和7种分子结构表征，构建了筛查TSHR激动剂的QSAR模型。分析构效关系形貌（SAL）特性，发展较为通用的应用域表征方法。**结果与讨论** 所建模型，其性能指标均优于以往化学品TSHR激动剂筛查模型。SubC指纹结合RF算法（树的数目为1300棵）建立的模型效果最优，在验证集上的受试者工作特征曲线下面积（AROC）为0.953±0.007，召回率（RR）为0.777 ± 0.022。随机置乱检验表明，所建立的模型不存在随机偶然性。基于SAL分析，提出了两个应用域指标：ρs 和V。ρs表征化学品在SAL中的相似性密度；V表征化学品在SAL中所处位置的“崎岖性”。随ρs的增大和V的减小，模型对单个化学品的预测误差CL（±）逐渐降低，表明该应用域有效表征了模型的适用范围及预测可信度。采用预设的V和ρs阈值，评价了模型对域内化学品的预测效果。随着V减小或ρs增大，模型对域内化学品预测的AROC和RR皆逐渐提升，在严格阈值下，两个指标可达到1.000。

基于最优模型，筛查了工业化学品清单中（包含中国、美国、欧盟、加拿大的数据）的潜在的TSHR激动剂。

关键词：机器学习；QSAR；内分泌干扰物；促甲状腺激素受体；应用域

通讯作者：陈景文，E-mail：jwchen@dlut.edu.cn

T19-0011

体外-体内外推（IVIVE）模型在化学品风险初筛中的应用展望

张煜轩，陈景文
（工业生态与环境工程教育部重点实验室，大连市化学品风险防控及污染防治技术重点实验室，
大连理工大学环境学院，大连 116024）

摘要：化学品在极大改善人类日常生活质量的同时，也可在整个生命周期过程中通过各种途径进入环境，对生态系统和人体健康产生危害。为评估化学品的潜在风险，需要进行大量毒性测试来获取化学品的危害性数据。然而，仅通过活体动物试验（*in vivo*），难以满足众多化学品危害性评价的需求。近年来，高通量体外试验（*in vitro*）方法被开发、应用，已产生大量可靠的体外毒性测试数据。然而，体外测试缺乏化学品在生物体内的吸收、分布、代谢和排泄（ADME）过程，其结果并不能直接代表潜在的体内毒性效应。

基于（相同浓度）化学品在体外系统和体内血液或组织中导致相同不利效应这一假设，体外-体内外推（*in vitro* to *in vivo* extrapolation，IVIVE）方法可将体外生物活性浓度转化为可能诱导体内不利效应的等效暴露剂量，进而用于化学品的风险优先排序。IVIVE的实现需要：（1）可靠的化学品体外活性浓度数据；（2）将体外活性浓度与在血液或靶点产生等效浓度的体内暴露剂量联系起来的计算模型，如（生理）毒代/药代动力学模型［（PB）TK/PK］、毒代-毒效动力学模型（TKTD）。目前，已有研究将IVIVE方法用于全氟辛烷磺酸（PFAS）等化学品的健康风险评估中。

整体上看，IVIVE方法应用于化学品风险评估的相关研究仍有较大进步空间。第一，化学品在真实环境中并非孤立存在，目前仍缺乏将IVIVE方法用于化学品混合物风险评估的研究。经典的浓度加和（CA）、独立作用（IA）等预测模型，可能为混合物的IVIVE研究提供毒性预测基础数据。第二，组学技术（如转录组学、

代谢组学)已被用于毒理学研究中,以揭示化学品的毒性通路。因此,组学技术与IVIVE方法的有益结合有可能提高IVIVE方法的机理性。此外,组学大数据还有助于有害结局路径(AOP)框架的发展,为IVIVE的跨物种外推提供更加全面的生理学信息。第三,代谢清除率和血浆中游离化学品分数是构建TK/PK模型的重要动力学参数,但大多数化学品缺乏此类实验数据。以定量构效关系(QSAR)模型为代表的计算模拟方法(in silico)可结合快速发展的机器学习算法,高效低成本地预测成千上万种化学品的TK模型参数,填补相关TK参数空缺,进而提高IVIVE方法在化学品风险评估中的适用性。

关键词:IVIVE; (PB)TK/PK模型; 健康风险

基金项目:国家重点研发计划(2018YFE0110700);国家重点研发计划(2018YFC1801604);国家自然科学基金(21661142001)

通讯作者:陈景文,E-mail: jwchen@dlut.edu.cn

T19-0012

基于PAH-CYP1A1定量构效特征的毒性风险预测的探索研究

陈 超, 张 迪, 王守林

(南京医科大学公共卫生学院,现代毒理学教育部重点实验室, 南京 211166)

摘要: 目的 细胞色素酶P450 1A1(CYP1A1)是多数多环芳烃(PAH)产生毒性的关键代谢酶,其代谢过程可导致DNA加合物、活性氧(ROS)等毒性产物的生成。同时,PAH也对细胞中CYP1A1的活力产生复杂的调控并影响混合暴露的交互作用,其剂量-效应关系往往呈现低浓度诱导、高浓度抑制的钟形曲线特征。因此,PAH的毒性风险与CYP1A1的活力变化关系密切。PAH种类繁多,不同结构PAH与CYP1A1的交互作用差异较大,分析其结构规律、建立合理的效应预测模型具有重要意义。**材料与方法** 对人或小鼠细胞进行PAH染毒,通过7-乙氧基试卤灵-O-脱乙基酶(EROD)实验定量评价细胞中CYP1A1的活力。通过分析PAH-AhR-CYP1A1通路的关键蛋白结构,寻找与之相关的重要PAH结构特征,并结合定量构效关系(QSAR)及分子对接(Docking)技术建立预测模型。对诱导和抑制两类机制的量效关系进行拟合,构建完整的PAH-CYP1A1活力调控的量效曲线预测模型。采用In-cell western实验测定二元混合物致突变毒性(γ-H2AX),并分析致突变交互作用与EROD变化间的相关性。**结果** QSAR结果表明,PAH的三维形状参数是关键的结构特征,可能与AhR的配体结合位点构象有关,基于这些参数构建的诱导预测模型具有较高的准确度(R^2=0.61)。PAH的CYP1A1结合能力与其CYP1A1抑制作用相关。分子对接数据显示,PAH与CYP1A1关键氨基酸的疏水作用力是这一过程的关键结构因素。基于该参数构建的预测模型准确度也较高(R^2=0.72)。进一步整合诱导和抑制预测模型,构建了PAH-EROD钟型量效曲线的预测方法,预测值与实验数据有较好的一致性(R^2=0.70 ~ 0.80)。该结果进一步证明了PAH所具有的低浓度诱导及高浓度抑制的EROD效应(CYP1A1活力),源于低浓度下通过AhR的激活诱导mRNA的表达和高浓度下对CYP1A1的竞争结合抑制。其中,PAH的形状主要影响诱导效应的浓度阈值,而疏水作用力则影响抑制效应的浓度阈值。此外,通过该方法预测的EROD相关风险指数(ReP)与文献报道的7个PAH风险数据具有较高一致性(R^2=0.69 ~ 0.97),因此,进一步对环境中检出的85种PAH的不同浓度下EROD数值进行了预测与总结。最终,对两种典型的EROD活性PAH(BaP与BkF)进行混合致突变验证。结果表明,致突变交互作用呈现低浓度协同、高浓度抑制的特征,其浓度区间与EROD曲线相一致。**结论** PAH对CYP1A1活力的调控具有复杂性,与其浓度及结构特征密切相关。这些特征能够影响PAH对CYP1A1的表达或代谢能力的调控作用。基于诱导和抑制两类机制的计算模型能够更全面有效地预测PAH调控CYP1A1活力的剂量-效应关系,为相关毒性风险评估提供理论依据和技术支撑。

关键词:多环芳烃(PAH); CYP1A1; EROD效应; QSAR与分子模拟

基金项目:国家自然科学基金(82173562); 国家自然科学基金(82103873);国家自然科学基金(91743205)

通讯作者:陈 超,E-mail: chenchao1990@njmu.edu.cn

T19-0013

PFOS在电镀和消防领域典型替代品的PBT特性高通量筛选评估

刘 敏，邓芸芸，陈晓倩，赵华清，殷浩文
（上海市检测中心生物与安全检测实验室）

摘要：目的 全氟辛烷磺酸（PFOS）由于其优越的抗水拒油特性，广泛应用于电镀、消防、半导体等行业。但由于其高持久性、蓄积性和毒性（PBT），被《斯德哥尔摩公约》列入持久性有机污染物清单，禁止或限制使用。各大化工企业纷纷开发替代品，但是企业往往只注重其性能替代，而缺少对其PBT特性的评估，这将可能产生前门驱狼，后面入虎的被动局面。为了推动绿色替代，将计算毒理学等非测试手段对替代品进行其PBT特性的筛选性评估，从而实现源头的绿色替代。电镀和消防是PFOS在我国的主要应用领域。为此，本研究对PFOS在电镀和消防领域典型替代品进行调查，采用计算毒理学与类似物交叉读取等非测试数据方法，对替代品的PBT特性进行高通量的筛选评估。**方法** 采用国际主流的化学品生态毒理计算软件EPI Suite、TEST、VEGA、Catalogic和Toolbox，对40种典型替代品的持久性、蓄积性和毒性进行预测评估，结合类似物交叉读取，形成筛选评估数据集。采用标准方法测试获得典型试验的测试数据，对非测试数据的准确性进行校验。通过与我国新化学物质管理办法中PBT判定标准，对替代品的PBT特性进行筛选评估，并与PFOS进行充分的比较。**结果** 通过市场调研、文献检索和专家咨询等方式获得40种典型的PFOS替代品，主要分为三大类，分别为典型含氟替代品、环状含氟替代品和非氟替代品。

典型含氟替代品中，4:2 FTS、4:2 FtTAoS、4:2 $FtTHN^+$、6:2 FTS、6:2 FtTAoS、6:2 $FtTHN^+$和6:2 FTAB均可能具有初级生物降解性，低的蓄积性，部分替代品具有中等的急性和/或慢性毒性，不满足PBT标准。F-53与F-53B具有与PFOS非常高的相似度，PBT特性也与PFOS接近，筛选评估结果表明具有潜在的PBT特性。环状含氟替代品为全氟己烷磺酸系列化合物，与PFOS的相似度大于90%，具有与PFOS相似的PBT性质。

对于非氟替代品，具有快速生物降解性，且不具有明显的蓄积性，因而均不属于PBT物质，但是大多具有不同程度的毒性，尤其是脂肪醇和油醇胺等。

基于现有试验数据和计算预测数据，对照PBT特性判定标准，含氟替代品中，具有潜在非PBT特性的绿色替代品推荐顺序为4:2 FTS、4:2 FtTAoS、6:2 FTS>4:2 $FtTHN^+$≈6:2 FtTAoS>6:2 $FtTHN^+$>6:2 FTAB。非氟替代品中，绿色替代品优先推荐十二烷基硫酸钠钠、十二烷基苯磺酸钠以及短链的椰油酰基胺丙基甜菜碱或椰油酰胺丙基羟基磺基甜菜碱。

结论 采用计算毒理学与类似物交叉读取等非测试方法，实现了PFOS在电镀领域的典型替代品的PBT特性的高通量筛选评估，筛选出具有潜在非PBT特性的绿色替代品，提出了替代品优先推荐排序。

通讯作者：刘 敏，E-mail：lium@apm.sh.cn

T19-0014

生物组织质谱成像技术及其在药物代谢研究中的应用

张 倩，陈 东，李海芸，张泗达，张瑞华，徐建富
（国民核生化灾害防护国家重点实验室，北京 102205）

摘要：质谱成像（mass spectrometry imaging，MSI）是一种以质谱为基础的新型分子成像技术，通过直接对生物样本按照空间位置进行扫描，再通过特殊的数据处理和成像软件对其进行批量处理，最终可获取并记录样品表面多种分子代谢物空间分布信息以及各组分空间立体结构信息，从而快速直观地实现对特定标志物的发现和监控。其实验程序是先制作冷冻组织切片，将其置于具有导电性的靶上，然后选择合适的成像探针、质谱分析仪和扫描方式，根据目标分子类型优化实验参数；在质谱分析过程中，通过离子束或激

光照射使待测组织样本表面的分子离子化，带电荷的离子进入质谱，被适当的电场或磁场在空间和时间上按照质荷比（m/z）大小分离；检测器获得质谱信号后，再运用特殊成像软件将测得的质谱数据按照选定的m/z值信号强度转化成响应像素点，重构出组织表面目标化合物的空间分布图像。

常用的质谱成像技术，包括基质辅助激光解吸电离质谱成像（Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry Imaging，MALDI-MSI）、二次离子质谱成像（Secondary Ion Mass Spectrometry Imaging，SIMS）以及解吸电喷雾电离质谱成像（Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry Imaging，DESI-MSI）。生物组织质谱分子成像技术的出现解决了传统光学成像、放射化学成像等技术的必须要在事先了解分子理化性质的基础上运用特异性标记的分子探针来监测单一分子表达情况的弊端，且比传统技术更为准确、灵敏。该技术无需特征性标记或复杂的样品预处理过程，可同时对生物组织切片中的内源性或外源性分子进行检测而获得药物及其代谢物的定性、定量和定位信息，在药物分布和代谢研究中具有广泛的应用前景，为揭示药物作用靶器官，探究药理学和毒理学机制，评价药物有效性和安全性提供了有力手段。

关键词：质谱成像；分布代谢；毒理学机制

通讯作者：张　倩，E-mail：995329600@qq.com

T19-0015

新一代风险评估（NGRA）中采用交叉参照（RAX）法开展化妆品安全评价的10步骤策略

沈春琳，高仁君

（雅诗兰黛创新研发（中国）有限公司）

摘要：在毒理学关注阈值（TTC）不适用于化妆品安全评价的情况下，如何对存在数据缺口的成分进行有效地评价考验着整个行业，本文提出了采用交叉参照（RAX）法开展安全评价的10步骤策略。本文所述的交叉参照（RAX）法是在已有至少二十多年应用历史的基于化学性质开展计算机毒性预测方法上优化，进一步验证目标化学物的毒效应相似度，并结合生物学和基于生理的生物动力学最新进展的新思路方法（NAM）。NAM包括基于生物观察的各类数据，如体外试验、毒物基因组学、代谢组学、受体结合筛选和基于生理的生物动力学模型（PBK），以确定目标化学物的系统暴露量。NAM有助于确定目标化学物的潜在作用模式/机制（MoA），以及相似的化学物质是否可通过类似的MoA产生毒效应。因此，在充分考虑目标化学物与相似化学物的效力或毒代/毒动力差异的前提下，我们可以有充足的把握，采用交叉参照（RAX）法从毒性数据充足的类似物去推导数据不足或缺乏的目标化学物的潜在风险，开展下一代风险评估（NGRA）。以证据为基础暴露驱动的分层交叉参照（RAX）10步骤策略，其第一层（Tier 0）第一步（Step 1）首先确认目标化学物的应用场景，确定其外暴露量。第二步（Step 2）确认目标化学物及其主要代谢产物的分子结构及理化性质。第三步（Step 3）收集目标化学物及其主要代谢产物的现有毒理学数据，分析其潜在的数据缺口。第四步（Step 4）采用专家判断以及模型分析方法，甄别目标化学物的相似化学物，收集其所有毒理学数据，确立相似性假设。如果数据充足，则省略第二层和第三层分析，采用交叉参照法推导目标化学物的系统毒效应终点PoD（第八步）；结合其潜在的暴露量，计算安全边际值（MoS）（第九步）并判定分析的可靠度（第十步）。如果数据不足，则按需开展第二层和/或第三层分析。第二层（Tier 1）第五步（Step 5）收集目标化学物与相似化学物的生物利用度/ADME数据，确定其内暴露量。第六步（Step 6）目标化学物与相似化学物毒作用机制相似度分析，若作用机制相似，则可省略第三层分析，直接开展风险评估。否则需要进一步开展第三层分析（Tier 2），第七步（Step 7a）开展目标化学物与相似化学物的体外试验研究，优化相似化学物的选择，提升毒作用机制相似度；开展目标化学物与相似化学物的PBK研究，进一步细化内暴露量（Step 7b）。

关键词：交叉参照（RAX）；新思路方法（NAM）；下一代风险评估（NGRA）；化妆品安全评价；系统毒效应；基于生理的生物动力学模型（PBK）；咖啡因；对羟基苯甲酸酯类

通讯作者：沈春琳，E-mail：chushen@cn.estee.com

T19-0016

TOXRIC：全面的毒理学信息与计算基准数据库

何 松
（军事医学研究院）

摘要：目的 化合物对环境、人类和其他生物产生的毒性效应涉及多种类别，例如肝毒性、致癌性、生态毒性等。化合物的毒性评估一直是药物发现、生态学等许多研究领域的焦点问题。毒性评估方法包括传统的体内、体外实验与计算方法。其中，计算方法可以在化合物合成之前得到毒性评估结果，具有成本低、速度快、准确性高的优势。然而，开发计算方法面临的主要问题是难以获得大量标准化的毒理学训练数据。为了解决这个问题，我们开发了化合物毒理学数据库TOXRIC https://toxric.bioinforai.tech/），提供全面的化合物毒理学与属性数据、基准测试与分子表示分布结果。**材料和方法** TOXRIC储存了113372个化合物的13种毒性类别数据，涉及超过15种物种上测定的1474种体内、体外毒性终点。涵盖的毒性类别包括急性毒性、肝/心脏/呼吸道毒性、生态毒性、临床毒性等。数据收集自超过20个数据源。TOXRIC还提供化合物的39种属性数据用于表征分子，包括分子指纹、靶标、药物扰动的转录组数据、代谢反应等。数据整理过程包括化合物筛选、多源数据整合和单位标准化等。此外，TOXRIC还为各个毒性终点数据集提供两种基准测试结果，评估36种特征类型作为输入、4种典型机器学习/深度学习算法的测试性能。并且通过t-SNE散点图展示了14种分子表示在分类数据集上的聚类效果与数据分布。**结果** TOXRIC存储的毒理学数据涵盖113372个化合物，13种毒性类别，1474个毒性终点与39种化合物属性数据。所有毒性终点、化合物属性数据集已整理成机器学习算法可直接使用的数据格式，可用作预测算法的输出与输入数据。此外，TOXRIC为每个毒性终点数据集提供了特征数据基准测试、算法基准测试与分子表示可视化结果。基于这些结果，研究人员可以针对不同毒性终点选择最优的特征类型、分子表示和基线算法。TOXRIC在线网站提供化合物检索、数据集概况浏览、数据集下载、基准测试与分子表示可视化结果展示等多种功能。**结论** TOXRIC数据库储存了全面的毒理学与属性数据、基准测试与分子表示可视化结果。对于单个化合物，TOXRIC在线网站提供毒理学信息检索，可用于毒理学研究、毒理学机制解释和化合物/药物发现。为了便于毒性计算预测算法的开发，TOXRIC提供机器学习算法可直接使用的毒性、属性数据集，并为各个数据集提供基准测试结果。此外，在线网站还提供了多种分子表示的可视化结果，便于研究人员更好地理解在不同空间的分子表示分布。

关键词：化合物毒性；数据库；人工智能；基准测评；分子表征

通讯作者：何 松，E-mail：hes1224@163.com

砷诱导人结肠癌细胞迁移的分子机制探究

张睿佳[1]，孙 珺[2]，陈保卫[2*]
（1. 水产动物疫病防控与健康养殖全国重点实验室，中山大学生命科学学院，广州 510275；2. 南方海洋科学与工程广东省实验室，中山大学海洋科学学院，珠海 510006）

摘要：亚砷酸盐（iAsIII）诱导肿瘤细胞的迁移与癌症转移密切相关。因此，了解iAsIII暴露后肿瘤细胞迁移的转录和代谢特征对探究iAsIII暴露和癌症发生发展的关系具有重要的意义。我们利用转录组学和非靶向代谢组学方法，并结合比较毒理学数据库（CTD）的生物信息学分析，构建iAsIII暴露后人类结直肠癌细胞（DLD-1）的功能基因和代谢物的交互网络。在iAsIII暴露组中，DLD-1细胞通过Transwell膜的数量至少是对照组的6倍。iAsIII处理后，ZEB1和SLUG的表达显著上调，而CRB2的表达下调（$P<0.05$），表明DLD-1细胞发生了上皮-间质转化（EMT）。同时，在iAsIII处理下，SLUG增强了整合素和胶原介导的生物粘附。iAsIII促进基质金属酶（MMP）基因（例如：MMP1，MMP3和MMP14）的表达，基质金属酶具有降解细胞外

基质的功能。此外，iAsIII暴露引起了DLD-1细胞的自噬（NES=1.91，P<0.05），参与自噬过程的基因也调控了线粒体功能。因此，本研究进一步对线粒体功能进行评价，研究结果发现iAsIII暴露损伤线粒体呼吸功能，提示iAsIII可能是通过激活DLD-1细胞的自噬来清除受损的线粒体。在代谢特征方面，iAsIII可显著干扰谷氨酰胺代谢，并且补充谷氨酰胺能有效增强DLD-1细胞的迁移。CTD分析进一步显示，EMT和生物粘附是iAsIII诱导结直肠癌细胞迁移的关键事件。总之，我们的结果表明，iAsIII可通过一系列细胞事件促进DLD-1细胞迁移，包括激活EMT、改变细胞粘附、MMP依赖性基质降解，同时伴有特异性的谷氨酰胺代谢。

关键词： 砷；上皮细胞间质化转变；细胞外基质；谷氨酰胺

基于可解释机器学习的纳塑料毒性预测

陈寒乐，闫希亮*，闫　兵
（广州大学大湾区环境研究院，广州　510000）

摘要： 作为一种新兴的受关注污染物，纳米塑料被认为是一个新出现的严重环境问题。机器学习方法已经被证明是一种可以处理纳米颗粒-生物关系的有效工具。在这里，本研究提出一种基于机器学习以及大数据的方法，通过对生物大分子、细胞、微生物和水生生物的纳塑料数据集建模，利用不同模型解释方法进行分析来揭示纳塑料影响不同的体系的毒性机制。其中不同方法的解释结果之间的差异可能反映所使用的数据集（或所开发的模型）中的一些固有问题。

本研究首先通过一个严格的文献筛选框架，以'nanoplastic'OR'microplastic'AND'cytotoxic*'作为关键词，在Web of science网站上搜索文献，最终选择了72篇关于纳塑料的毒性文献来进行数据提取。通过提取产生了2039个纳塑料细胞毒性数据点，涉及纳塑料的特征有类型、大小、形状、涂层、来源、表面电荷和浓度，以及相关的细胞属性、分析类型、细胞暴露时间和所得到的细胞存活率值。另外，本研究还收集了已公布的生物大分子，微生物和水生生物的数据集。基于优化后的数据集，使用五折交叉验证网格搜索来获取最佳泛化性能的超参数并开发最终模型，最后使用随机森林特征重要性，Permutation Importance以及可解释增强机的特征重要性三种方法来分析数据集的特征重要性。

根据我们收集的目前最大的纳塑料细胞毒性数据集以及公开的数据集，在建模之后，所有的数据集在测试集上的R2（或者是准确率）都达到了0.7及以上，说明此方法是准确有效的。具体的结果可能还需要进一步的实验验证。

在对细胞毒性数据集建模结果进行解释时，纳塑料浓度，大小和暴露时间均位列重要性排名前五位之内，这表明这几种特征对纳塑料的细胞毒性影响很大。对预测纳塑料表面的蛋白冠的功能组成的模型进行分析后，几种解释方法都表明暴露血浆浓度，多分散指数，zeta电位，暴露时间以及纳塑料尺寸是影响蛋白冠组成的主要因素。另外，影响微生物的物种多样性最重要的因素是取样的位置（经纬度），对水生物毒性影响较大的因素是暴露塑料的质量浓度以及物种类型。因此，本研究也为纳塑料的毒性机制解释提供了一种解决思路。

关键词： 人工智能；大数据，纳米-生物效应预测；纳塑料；纳塑料毒性；机器学习

通讯作者： 闫希亮，E-mail：yanxiliang1991@163.com

基于过渡态理论模拟太阳光降解水环境中4-溴苯酚机理研究

陈彦廷，梁文汇，李灿灿，宋泽宇，郑艳红，易忠胜*
（桂林理工大学化学与生物工程学院，桂林　541004）

摘要： 溴酚广泛使用于石油化工、医药、农药和有机合成等诸多工业领域，或是由常用阻燃剂，除草剂、

抗菌剂等分解、残留。溴苯酚可改变钙离子和TGF-β信号通路，中断甲状腺激素稳态，也可以与雌激素受体结合。在生物体内细胞素P450酶积极转化酚类物质会产生更危险的中间体。而这些中间体可能与生物DNA或其他酶系统结合，干扰内分泌使生物致癌、致突变。本文利用计算模拟与实验配合研究于太阳光下溴苯酚在水体中降解机理，利用计算机建立自由基与溴苯酚反应模型与实验结果互相验证，为水体溴苯酚净化处理提供见解。

将4-溴苯酚溶液置入光反应器进行模拟太阳光照降解，利用LC-MS对降解后产物进行分析实验，通过对比标准物质液相峰保留时间与降解后峰保留时间，大致确定产物范围。根据对应保留时间产生的质谱谱图中对应碎片离子峰确定具体产物。由质谱图中110分子离子峰可确定4-溴苯酚在降解过程中产生1，4-对苯醌，利用计算机模拟技术进行二次验证，以过渡态理论寻找4-溴苯酚在光降解反应中产物，并对产物进行IRC验证，由IRC可知4-溴苯酚于C-Br位点与羟基自由基反应过程中产生过渡态，分子势能图可知，在结合过程中整个体系能量趋于降低，利于反应进行，反应趋向于羟基自由基取代溴生成1，4-对苯醌。

通讯作者：易忠胜，E-mail：yzs@glut.edu.cn

细胞和计算毒理学技术研究手性有机磷化学品对人体的神经毒性

丁 飞[1]，彭 炜[2*]

（1. 旱区地下水文与生态效应教育部重点实验室，长安大学水利与环境学院，西安，710054；2. 固体表面物理化学国家重点实验室，厦门大学化学化工学院，厦门，361005）

摘要：目的 手性有机磷化学品广泛分布于环境介质中，这些不对称有机污染物对人体健康的神经毒性风险尚未全面评价。因此，本研究旨在从对映体尺度探究乙酰胆碱酯酶（AChE）介导的手性有机磷化学品对神经细胞的毒性效应及其立体选择性差别，并解析对映体选择性神经毒性的微观基础。**材料和方法** 人神经母细胞瘤细胞（SH-SY5Y），细胞存活率和胞内AChE酶抑制实验，离体AChE酶结合实验，原子尺度的计算毒理学方法（例如受体-配体对接、长时间分子动力学、氨基酸残基能量分解等）。**结果** 细胞实验表明手性水胺硫磷对SH-SY5Y细胞存活率和胞内AChE酶活性的抑制均显现出较强对映体选择性，（*S*）-水胺硫磷的细胞毒性明显大于（*R*）-水胺硫磷，且细胞毒性与水胺硫磷对映体的暴露浓度和时间呈正相关；同时，水胺硫磷对映体对胞内AChE酶活性的抑制作用表现出剂量依赖性，并且，（*R*）-水胺硫磷和（*S*）-水胺硫磷的半抑制浓度（IC_{50}）分别是6.179 μM和1.753 μM，说明与（*R*）-水胺硫磷相比，（*S*）-水胺硫磷具有较大的胞内AChE抑制效应（即：神经毒性）。离体AChE酶结合实验进一步解释了SH-SY5Y细胞研究结果，水胺硫磷对映体对SH-SY5Y细胞的立体选择性毒性效应主要源自其与神经元AChE之间的生物亲和性区别。神经毒性作用模式研究结果显示，二个对映体选择性反应体系中形成强非共价作用的关键氨基酸残基存在明显区别，这与动态毒性作用过程中手性水胺硫磷的分子结构刚性和神经元AChE中底物结合区域的构象动力学和柔性密切相关，这就诠释了AChE-（*R*）-水胺硫磷体系中共轭效应在动态神经毒性作用过程中均呈减小趋势，而AChE-（*S*）-水胺硫磷体系中整体非共价作用未发生显著变化的现象。而且，我们还发现水胺硫磷对映体与芳香性Trp-86和Tyr-337残基之间形成的稳定“三明治π-π堆积效应”在立体选择性毒性反应过程中至关重要，该π堆积效应使AChE-（*S*）-水胺硫磷体系中范德华贡献（ΔG_{vdW}）显著降低，并诱导对映体选择性神经毒性轭合过程出现自由能差别，进而合理阐释了突触AChE介导的（*S*）-水胺硫磷对SH-SY5Y神经细胞具有更强的毒性效应。**结论** 手性有机磷化学品（例如水胺硫磷）对人体健康的神经毒性存在较强对映体选择性，在环境风险评估时，应该在对映体水平综合评价不对称有机污染物对环境和人体的健康风险。

关键词：计算毒理学；有机磷化学品；对映体选择性毒性；神经毒性风险

通讯作者：彭 炜，E-mail：weipeng@cau.edu.cn

人工智能背景下计算毒理学面临的挑战和机遇

丁俊杰，*王亮亮，潘　里
（国民核生化灾害防护国家重点实验室北京）

摘要：计算毒理学是一门以环境化学、计算化学、化学生物信息学、分子生物学、系统生物学以及数理统计学为基础，针对药品、食品、化学品进行高效、高通量毒理效应评估与监管的新兴交叉学科。核心目的是作为体内外实验的有力补充，减少动物实验，降低毒性实验的成本和时间，综合改进毒性预测和安全性评估策略。2022年12月下旬，美国总统拜登正式签署食品药品监督管理局现代化法案2.0，再次凸显了以计算毒理学为代表的替代毒理学技术的重要性。

进入21世纪，随着分子和毒性数据的日益积累、人工智能算法发展、计算算力的提升以及基础理论的不断完善，计算毒理学相关的建模框架得到了较好的发展，开发的相关平台也得到了很好的应用，但计算毒理学仍然面临诸多方面的挑战：① 高质量计算模型参数繁杂不易获取；② 生命系统复杂致使模型预测难度大；③ 混合物的联合毒性效应评估技术亟待加强。同大数据挖掘和人工智能技术的深度交叉融合是计算毒理学未来发展的重点方向，包括机器学习、定量构效关系、生物信息学、基因组学、蛋白质组学、分子动力学等技术的交叉应用。此外，需要在技术研究领域和国家战略高度进行整体部署，强化计算毒理学技术的顶层设计、数据融合、算法突破、平台设计和文献追踪：① 以国家战略需求为牵引，强化计算毒理学顶层设计；②以大数据挖掘为支撑，加大毒性数据整合力度；③ 以人工智能算法为核心，注重底层算法改进突破；④ 以应用场景为导向，推动平台设计优化；⑤ 以文献追踪为手段，加强计算毒理学技术评估分析。

关键词：计算毒理学人工智能联合毒性效应大数据计算模型

计算毒理学研究手性新烟碱类化学品的对映体选择性毒性：物种选择性

何志聪[1]，彭　炜[2]，丁　飞[1*]
（1. 旱区地下水文与生态效应教育部重点实验室，长安大学水利与环境学院，西安　710054；2. 固体表面物理化学国家重点实验室，厦门大学化学化工学院，厦门　361005）

摘要：目的　手性农药化学品在生态环境中的残留量持续上升，它们对环境生物和人类健康产生了很大毒性风险。如何降低手性农药化学品的毒性风险，切实保护环境和人体健康，已成为环境污染与健康领域极具挑战性的课题之一。本研究拟选择手性呋虫胺为代表，以棉蚜和重要环境标志生物蜜蜂的烟碱乙酰胆碱受体（nAChR）为研究对象，在对映体尺度比较探究手性呋虫胺污染物对不同物种的毒性作用差别及其分子机制，进而合理评估其对环境和人体健康的潜在毒性风险。**材料与方法**　原子尺度的计算毒理学方法，例如同源模建、分子对接、长时间分子动力学、结合自由能和氨基酸残基能量分解等，构筑手性呋虫胺与靶标/非靶标受体nAChR的毒性作用信息体系，探讨手性呋虫胺对不同物种来源nAChR的对映体选择性毒性作用模式，进而从构象动力学和柔性以及能量角度解析对映体选择性毒性差别的微观基础。**结果**　研究结果表明，在蜜蜂nAChR-呋虫胺体系中，（*S*）-呋虫胺与nAChR之间形成的氢键、范德华作用和烷基-π作用的整体强度明显大于（*R*）-呋虫胺，且（*S*）-呋虫胺的-NO_2与β1/Trp-51残基之间形成了稳定的氢键网络，这对稳定呋虫胺构象、增强呋虫胺-nAChR之间的毒性亲和性有很大贡献，因此，（*S*）-呋虫胺对蜜蜂表现出较强的毒性，这与前人报道的毒性实验数据相符。对映体选择性毒性作用的动态研究结果显示，与（*R*）-呋虫胺相比，（*S*）-呋虫胺对蜜蜂nAChR的构象扰动更小，说明（*S*）-呋虫胺与nAChR之间形成了强烈且稳定的非共价作用，稳定了整个体系的构象。然而，在呋虫胺与棉蚜nAChR的毒性作用过程中，呋虫胺对映体之间的非共价作用强度与它们对nAChR构象的扰动非常相似，表明呋虫胺对映体在棉蚜体内的对映体选择性差别并不显著。能量分析结果显示，静电作用是诱导手性呋虫胺在蜜蜂体内呈现出较大对映体选择性毒性差别的主要因素，表现在蜜蜂nAChR-（*S*）-呋虫胺的结合自由能（-30.03±1.37 $kcalmol^{-1}$）明显低于蜜蜂nAChR-

(*R*)-呋虫胺体系(-22.64±1.06 kcalmol^{-1}),同时,我们还发现nAChR β亚基的氨基酸残基例如Trp-51、Arg-75、Tyr-100、Asp-165和Ser-167等在介导手性呋虫胺的对映体选择性毒性作用过程中极为重要。**结论** 手性呋虫胺在重要环境指标生物蜜蜂体内呈现明显的对映体选择性毒性差别,(*S*)-呋虫胺的毒性显著大于(*R*)-呋虫胺,但在棉蚜体内并不显著。从环境角度来看,使用(*R*)-呋虫胺单体不但能够高效防治农业害虫,而且能够极大降低低效/无效对映体对环境和人体健康的威胁,减轻与日俱增的环境压力。本研究旨在为手性农药污染物的环境安全性评价和生态风险规避提供理论依据。

关键词: 计算毒理学; 手性新烟碱化学品; 对映体选择性毒性; 物种选择性

通讯作者: 丁 飞, E-mail: feiding@cau.edu.cn

基于生物活性等效浓度构建"体外-体内外推"模型及在新污染物毒性风险评估中的应用

李传海*, 张东辉, 刘欣雅, 于典科

(青岛大学,公共卫生学院, 青岛 266071)

摘要: 目的 新型环境污染物在各种环境介质和生物样本中频繁检出,对生态环境和人体健康的造成了巨大的危害。传统的以动物实验为主的化学品毒性评估方法存在试验周期长、成本高、通量低,还存在种属差异和剂量差异等缺点,已无法满足大量环境污染物对人类健康危害评价的需求。本文旨在构建基于生物活性等效浓度的定量体外-体内外推方法,评估新污染物的毒性风险。**材料和方法** 体外:利用常规的分子毒理学手段确定体外细胞效应指标;通过高效液相色谱质谱分析技术确定体外细胞实验的内暴露剂量,构建剂量-效应曲线,基于基准剂量分析方法确定体外生物活性浓度。体内:构建污染物的生理药代动力学模型(PBPK),将人体血清中的浓度转换为靶组织浓度。最终,将体外生物活性浓度和体内靶组织浓度结合起来,实现污染物在人群中的精准风险评估。**结果** 利用体外分子和细胞实验发现F-53B可以通过miR-93-5p/EHHADH通路干扰细胞脂质稳态。分别以miR-93-5p表达水平、EHHADH表达水平和细胞脂质累积为效应指标,以胞内浓度和名义浓度为剂量指标构建剂量-效应曲线。识别出该通路的毒效起始点,确定体外生物活性浓度为0.083 nmol/g protein。随后,构建F-53B的PBPK模型,将F-53B在人群血液暴露浓度转换为肝脏暴露浓度。最终将体外生物活性浓度和体内肝脏浓度结合起来,实现了F-53B在人群中的精准风险评估。结果显示,F-53B在大多数人群中的脂质稳态破坏风险应受到适度关注。基于体外分子和细胞实验首次发现了BPA及其类似物(BPB、BPAF、BPF、BPS和TBBPA)可以直接结合和激活法尼醇X受体(FXR),细胞内剂量是决定受体活性的首要因素。随后,利用PBPK模型预估了BPA、BPB、BPAF、BPF、BPS和TBBPA在人体肝脏中的暴露水平,将体外激活FXR的生物活性浓度和体内肝脏暴露水平结合起来,评估了BPA、BPB、BPAF、BPF、BPS和TBBPA在人群中激活FXR受体通路的潜在健康风险。结果显示,BPA、BPB、BPF和BPAF在部分人群中的健康风险应受到高度关注。**结论** 本研究明确考虑了化学物的生物活性浓度、化学品在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程,并结合人群生物检测数据,将体外效应浓度同体内活性浓度相结合,成功实现了化学品在人群中的健康风险评估。另外,该体外-体内外推框架可以很容易的应用于其他化学毒物的风险评估。

关键词: 生物活性等效浓度; 体外-体内外推; 新污染物; 风险评估

通讯作者: 李传海, E-mail: chli@qdu.edu.cn

结合DFT对苯胺类污染物水相光降解机理研究

梁文汇，陈彦廷，郑艳红，宋泽宇，李灿灿，易忠胜*
（桂林理工大学化学与生物工程学院，桂林 541004）

摘要：苯胺类化合物作为重要的有机化工产品被广泛应用于化工及医药领域，明显的“三致”效应（致癌、致畸、致突变）使其进入水体后对环境及人体产生严重威胁，本课题根据实验室的具体条件，综合利用光降解实验和量子化学等计算机模拟方法进行相互验证，直观形象地描述苯胺类化合物在光催化降解体系中的主要转化降解路径。在实验中，移取PPDA溶液于比色皿中，滴加不同浓度的H_2O_2溶液，分别在不同的光照条件下改变温度、时间等条件进行光照催化降解实验，分析降解前后PPDA溶液的荧光光谱。模拟计算方面，运用Guass16等软件，确定催化反应中PPDA的催化位点，寻找自由基和PPDA降解反应的过渡态，经过IRC验证后确定反应路径以及反应产物。实验表明，在水环境并有光照的条件下，H_2O_2的参与使得PPDA降解效率增加，且在一定程度上，H_2O_2浓度与降解效率成正比关系。随着不同浓度的H_2O_2的加入，PPDA的荧光均发生了不同程度猝灭，H_2O_2的浓度越大，PPDA的荧光猝灭作用越强，而在无H_2O_2参与反应的情况下，光照对PPDA的荧光猝灭非常缓慢。在计算模拟实验中，确定反应位点后，在·OH对PPDA发生催化反应的位点成功寻找到反应发生的过渡态，在对过渡态进行IRC验证的结果可以看出，·OH对反应位点进行进攻，整个过程能量曲线平稳且能确切连接反应的初末态，光降解反应过程得到了理论验证。结合实验与计算模拟结果可以得知，光催化降解PPDA的过程中，主要起到降解作用的自由基为·OH，H_2O_2在受到光照能量后分子键断裂产生大量·OH，·OH与PPDA发生氧化反应使其分解。从而达到降解效果。

通讯作者：易忠胜，E-mail：yzs@glut.edu.cn

典型内分泌干扰物的环境暴露、健康风险与毒性机制

刘　璟
（浙江大学环境与资源学院环境健康研究所，杭州 310058）

摘要：目的　内分泌干扰物是一类重要的污染物，对人类健康和生态安全造成巨大危害。本课题组长期以来从事农药、POPs、PPCPs等典型内分泌干扰物的暴露评估、健康风险与毒性机制研究，为准确、全面评估这类污染物的环境安全与健康风险提供科学依据和理论基础。**材料与方法**　1）检测了杭州市健康成人随机尿样中拟除虫菊酯杀虫剂、有机磷杀虫剂、新烟碱类杀虫剂的代谢产物水平，分析其在一周、一月和一年内的时间变异性，评估三种杀虫剂暴露水平的采样方案。2）通过环境流行病学研究方法，评估POPs、拟除虫菊酯杀虫剂、重金属等污染物暴露水平与浙江省女性卵巢功能减退的相关性；通过动物模型研究和多组学技术等方法，阐释低剂量拟除虫菊酯杀虫剂暴露诱导卵巢早衰的毒理学机制。3）通过环境流行病学研究方法，评估拟除虫菊酯杀虫剂与杭州市男孩青春期性成熟的相关性；通过在体和离体多种研究模型，阐释拟除虫菊酯杀虫剂、对羟基苯甲酸甲酯等典型内分泌干扰物暴露干扰下丘脑-垂体-性腺（HPG）生殖轴从而促进性成熟的毒理学机制。4）动物暴露研究阐述低剂量拟除虫菊酯杀虫剂增强高热量饲料诱导的胰岛素抵抗的作用机制。**结果**　1）优化了拟除虫菊酯杀虫剂、有机磷杀虫剂、新烟碱类杀虫剂的暴露评估方法，为准确评估这三类污染物在较长时间段内的平均暴露水平提供参考。2）发现有机氯农药、PCBs、多环芳烃、重金属、拟除虫菊酯杀虫剂的暴露水平与女性卵巢功能减退显著正相关；拟除虫菊酯杀虫剂通过调控促凋亡蛋白、细胞增殖因子等基因、以及microRNA表达谱，诱导原始卵泡凋亡，导致卵巢功能减退、雌性生殖力下降。3）发现拟除虫菊酯杀虫剂的暴露水平与男孩性成熟发育程度显著正相关；拟除虫菊酯杀虫剂通过干扰下丘脑神经元钠离子通道和垂体促性腺细胞的钙离子通道，刺激GnRH、LH和FSH合成，导致雄性性成熟提前；对羟基苯甲酸甲酯通过激活下丘脑神经元细胞膜受体GPR54，调控kisspeptin和GnRH合成，激活HPG轴，诱导性成熟提前。4）发现拟除虫菊酯杀虫剂通过干扰GLUT2蛋白的转膜抑制肝细胞对葡萄糖的

摄取、干扰AKT2/GSK3β/GYS2通路减少糖原合成并增加糖异生，从而增强了高热量饲料诱导的胰岛素抵抗。**结论** 我们课题组的研究监测了多种典型内分泌干扰物的暴露特征，评估了这些内分泌干扰物对女性卵巢功能、儿童性成熟的健康风险，揭示了低剂量暴露的内分泌干扰物影响卵巢功能、生殖轴、糖脂代谢等方面的毒理学机制。

关键词：内分泌干扰物；暴露评估；卵巢功能减退；性成熟；糖尿病；毒理学机制

通讯作者：刘 璟，E-mail：jliue@zju.edu.cn

基于激素核受体通路的杭州市饮用水有机化学品复合污染风险评价

刘思源，刘 璟*

（浙江大学环境与资源学院环境健康研究所，杭州 310058）

摘要：目的 为全面、准确地对水体低剂量化学品复合污染进行毒性识别和风险评估，突破传统化学品风险评估方法的局限性，本文建立了以激素核受体通路的活性检测为基础的饮用水安全评价体系，测定了杭州市某地饮用水有机提取物的内分泌干扰性。基于居民日常使用的水处理方法，进一步探究了煮沸对水中有机提取物内分泌干扰性的影响。**材料和方法** 采集杭州市某地自来水80L，设置自来水和煮沸水两个实验组。通过HLB小柱提取水中有机物，倍比稀释后进行细胞毒性实验，选取最大无细胞毒性的倍数浓度作为最高富集倍数。将CHO-K1细胞共转染雌激素受体ERα、孕激素受体PR、糖皮质激素受体GR、盐皮质激素受体MR的表达质粒及其相应的反应元件荧光素酶质粒后，暴露于富集倍数为1、10、50、100、200、300以及400的有机提取物24 h（或与受体激动剂共暴露），采用双荧光素酶报告基因法，测定自来水和煮沸水有机提取物对激素核受体的转录活性影响。**结果** 富集倍数为1~400的自来水有机提取物没有显著的类雌激素活性和类糖皮质激素活性，但表现出显著的类孕激素活性和盐皮质激素活性，其对PR激动效应的孕酮当量为0~88.1 μg PEQ/L，对MR激动效应的醛固酮当量为0~14.5 ng AEQ/L。自来水有机提取物表现出显著的抗雌激素、孕激素、盐皮质激素和糖皮质激素活性，其对ER拮抗效应的它莫昔芬当量为0~2.7 mg TEQ/L，对PR拮抗效应的RU486当量为0~29.5 μg REQ/L，对GR拮抗效应的RU486当量为0~26 μg REQ/L，对MR拮抗效应的螺内酯当量0~12.2 mg SEQ/L。自来水有机提取物的类孕激素、盐皮质激素活性和抗雌激素、孕激素、糖皮质激素以及盐皮质激素活性与富集倍数存在一定的剂量效应关系。相比于自来水有机提取物，富集倍数为200~400的煮沸水有机提取物对ER、PR和GR的激动效应显著增加，其类激素活性当量分别为0~208.8 ng EEQ/L，0~198.6 μg PEQ/L，0~2.9 μg HEQ /L；而对MR的激动效应显著降低，醛固酮当量为0~3.6 ng AEQ/L。富集倍数为200~400的煮沸水有机提取物对ER、PR和MR的拮抗效应显著降低，其抗激素活性当量分别为0~2.2 mg TEQ/L，0~10.7 μg REQ/L，0~6.7 mg SEQ/L；而对GR没有显著的拮抗效应。**结论** 杭州市某地自来水有机提取物表现出显著的类孕激素和盐皮质激素活性及抗雌激素、孕激素、盐皮质激素和糖皮质激素活性。煮沸能够显著降低饮用水有机提取物的抗雌激素、孕激素和盐皮质激素活性。

关键词：饮用水有机提取物煮沸内分泌干扰体外生物测试

通讯作者：刘 璟，E-mail：jliue@zju.edu.cn

基于深度学习的外源性化学物质对共存病毒受体基因表达的影响预测

刘 娴，潘文筱，薛 峤，傅建捷，张爱茜*

（中国科学院生态环境研究中心 北京市海淀区双清路18号 100085）

摘要：目的 由严重急性呼吸综合症冠状病毒2型（SARS-CoV-2）引起的冠状病毒病2019（COVID-19）

一直在全球范围内对人类的生命和健康造成威胁。流行病学证据表明大气污染严重地区人群的COVID-19发病率与致死率均高于污染较轻地区的人群，但外源性物质暴露对病毒感染的影响仍不清楚。众所周知，在病毒感染过程中受体在介导病毒进入宿主细胞方面发挥着重要作用，目前研究中普遍的认为SARS-CoV-2的主要受体是血管紧张素转换酶2（ACE2）。**材料和方法** 本研究提出了一种基于图卷积神经网络（Graph Convolution Neural Networks，GCN）的深度学习模型，首次实现了从外源性物质化学结构到ACE2基因转录表达变化的端对端预测。**结果** 所提出的GCN模型在验证集和内部测试集上受试者操作曲线下面积分别达到了0.712和0.703，且优于其他机器学习模型。GCN模型识别出的多种室内空气污染物通过定量聚合酶链式反应（qPCR）实验证实了对ACE2表达量影响的结论。**讨论** 此外，研究进一步讨论了GCN模型的可解释性，提供了从化学结构层面对基因变化的深入理解。本研究所提供的研究思路有望应用于环境污染物对于更多共存病毒受体基因转录影响的预测。

关键词： 机器学习；外源性化学物质；图卷积神经网络；血管紧张素转化酶2

通讯作者： 刘　娴，E-mail：xianliu@rcees.ac.cn；张爱茜，E-mail：aqzhang@rcees.ac.cn

机器学习指导新型抗菌纳米材料设计

闵维翠[1,2]，闫　兵[1]，闫希亮[1*]

（1. 广州大学大湾区环境研究院，广州　510000；2. 山东大学环境科学与工程学院，青岛　266237）

摘要： 细菌耐药性已经成为全球性的公共卫生问题，可能会影响多种传染病的控制。一些纳米材料显示出与耐药性无关的抗菌作用，因此被认为可以防止细菌耐药性的进化。但是纳米材料种类繁多，而传统的抗菌实验是基于直觉和经验的试错法。因此面对如此庞大的纳米材料库，盲目地设计纳米材料显然不可行。同时由于缺乏纳米材料抗菌性能的数据集，限制了现有研究的普遍性以及人工智能在该方面的应用。

我们首先以“（nano* AND antibacterial）AND（Au OR gold OR Ag OR sliver，OR ZnO OR CuO OR Fe3O4 OR mental oxide）”为关键词在Web of science上搜索与纳米材料抗菌相关的文献，并建立了目前最大的纳米材料抗菌的数据集。数据集一共包含2866个数据点，收集的特征涉及到纳米材料的种类、剂量、形状、粒径，细菌的种类、密度以及培养温度和接触时间。数据集中包含4种评价抗菌性能的指标：抑菌圈直径、抑菌率、最小抑菌浓度和最小杀菌浓度，根据数据量的大小，我们选用抗菌性能评价方式为抑菌圈直径的数据进行建模。基于整理后的数据集，使用五折交叉验证来获取最优参数并开发最佳模型。最后使用特征重要性分析来衡量每个输入特征对模型预测结果的贡献，并根据特征重要性的分析结果设计新的抗菌纳米材料，使用我们开发的模型对其抗菌性能进行预测。

机器学习预测模型在训练集和测试集上的R^2均在0.65以上，这说明我们的模型具有稳健性。特征重要性分析的结果显示：纳米材料的粒径、种类、剂量和细菌的种类对纳米材料的抗菌性能影响较大。另外为了验证新纳米材料的抗菌性能，我们需要选取抗菌性能预测值高的新纳米材料做进一步的实验验证。本研究的结果有助于开发设计抗菌性能高的纳米材料，从而对细菌耐药性问题的解决提供新的方案。

关键词： 人工智能；纳米-生物效应预测；抗菌；机器学习；纳米材料设计

通讯作者： 闫希亮，E-mail：yanxiliang1991@gzhu.edu.cn

基于NanoQSAR模型实现MeOx纳米材料致秀丽隐杆线虫氧化损伤的毒性预测

庞艳婷，李若愚，张 泽，张 婷*
（东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室，南京 210009）

摘要：目的 纳米生物界面的结构活性关系分析（structure-activity relationships（SARs））对于指导纳米材料的安全设计以及评估潜在毒性机制具有重要意义。金属氧化物（MeOx）纳米材料因其独特的机械稳定性与光电特性被广泛应用于生产与生活，面对种类与属性各异的MeOx纳米材料，借助传统毒理学分析手段逐一开展毒性评估难以实现，并且逐渐涌现出的生物安全性问题和接触风险引起了对这类代表性纳米材料进行安全性及风险评估的重视。为此，本研究借助计算毒理学的分析手段并结合纳米材料生物毒效应评估方法对MeOx纳米材料的结构-效应开展毒性影响因素预测，使用模式生物秀丽隐杆线虫对可能的构效关系进行验证。**材料方法** 基于nano-QSAR的分析策略，从16种金属氧化物纳米材料的理化属性入手构建了能够准确衡量材料特性的Quasi-SMILES描述符，CORALSEA软件被用于构建材料结构特性与生物毒效应之间的预测模型。根据模型预测筛选出四种代表性MeOx纳米材料，分别是Zeta电势绝对值最大和最小的TiO2和NiO，以及阳离子电荷数最大和最小的WO3和ZnO，通过线性插值法得出四种材料在同一生存率水平时对应的剂量值，探究在急性暴露于秀丽线虫24 h后基本毒性指标，测定指标主要包括TEM形貌、体外氧化能力、BET法测定比表面积、ICP-MS测离子含量、体内氧化应激水平、亮蓝染色、qRT-PCR测定关键基因表达。**结果** 预测模型结果显示金属氧化物纳米材料的Zeta电势和金属阳离子电荷数可能是影响材料毒性的重要参数，为明确Zeta电势和金属阳离子电荷数与最终毒效应终点之间的量效关系以及可能存在的损伤机制，利用同等生存率水平下秀丽线虫毒效应表现对四种代表性金属氧化物纳米材料的毒性机制展开分析。结果最终证实Zeta电势绝对值越大（TiO_2）或金属阳离子电荷数越大（WO_3）的纳米材料可能具备更强的氧化能力，并且在同样生存率前提下可以凭借更小的摄取水平造成秀丽线虫更严重的氧化损伤以及自由基蓄积，主要表现为诱导秀丽线虫凋亡率升高、肠壁渗透屏障破坏、ROS蓄积、MDA升高及参与氧化应激调节的基因 *skn-1*，*sod-3*，*gst-4*，*sod-5*，*mev-1*和 *pmr-1*的差异表达。**结论** 本研究强调了金属氧化物纳米材料结构特性对毒性结局的重要影响，并且提出了氧化应激作为MeOx纳米材料诱导损伤的重要机制可受制于材料的Zeta电势和阳离子电荷数，这为今后纳米材料的安全设计及毒性评估提供了新方向。

关键词： 金属氧化物纳米材料；定量构效关系；阳离子电荷；Zeta电势；氧化应激；自由基

通讯作者： 张 婷，E-mail：zhangting@seu.edu.cn

丙烯酰胺全生命周期暴露下对斑马鱼成鱼行为影响及机制研究

汪安利，章 宇
（浙江大学生物系统工程与食品科学学院 杭州 310058）

摘要：目的 丙烯酰胺是一种广泛存在于地下水中的环境污染物以及油炸和烘焙食品中典型的食品加工污染物，其对生态环境和人类健康造成了潜在威胁，因此丙烯酰胺在全球范围内受到广泛关注。然而，丙烯酰胺全生命周期暴露下的行为影响和潜在机制尚不清楚。本研究旨在评估丙烯酰胺全生命周期暴露下对斑马鱼成鱼的行为效应，并对其机制进行探讨。**材料和方法** 将受精2小时的野生AB型斑马鱼胚胎暴露于（0、0.125、0.25、0.5 mM）的丙烯酰胺水体溶液中，连续暴露180天至成鱼。在暴露终点前一周采用明暗偏好试验、新缸潜底试验、社交行为试验和新物体探测试验评估丙烯酰胺对斑马鱼的行为影响。在暴露终点用三卡因（0.02%）麻醉斑马鱼后，测量斑马鱼成鱼的体长和体重，并解剖收集斑马鱼的脑组织。采用Illumina二代高通量测序技术分析转录组差异性表达，GO分类和KEGG功能分析发现差异表达基因的功能性富集，并采用实时荧光定量PCR技术对差异表达基因进行验证。用LC-MS等方法对斑马鱼脑组织中中性

脂质、甘油酯、磷脂、鞘脂等物质水平进行检测。**结果** ① 丙烯酰胺暴露180天后导致雄性斑马鱼的体重和体长显著降低。② 丙烯酰胺暴露加重斑马鱼的趋暗性和趋触性，损害斑马鱼的探索和社交能力，斑马鱼表现出焦虑和抑郁样行为。③ 丙烯酰胺可显著下调血脑屏障通透性相关基因tjp2a的表达。④ 丙烯酰胺慢性暴露可引起脑脂代谢紊乱和神经炎症。⑤ PPAR信号通路介导了丙烯酰胺诱导的斑马鱼脑内脂质代谢紊乱。⑥ 丙烯酰胺暴露促进斑马鱼脑组织脂质过氧化和氧化应激，参与脑神经炎症发生。**结论** 丙烯酰胺全生命周期暴露诱导成年斑马鱼的焦虑和抑郁样行为，与丙烯酰胺暴露引起的脑组织脂代谢紊乱和神经炎症有关。本研究为深入了解全生命周期丙烯酰胺暴露引起的生物毒性机制和丙烯酰胺的风险评估提供重要的科学依据。

关键词：丙烯酰胺；斑马鱼；行为异常；脂质代谢；PPAR信号通路

通讯作者：汪安利，E-mail：anliwang@zju.edu.cn，章　宇，E-mail：y_zhang@zju.edu.cn

细胞和计算毒理学研究新烟碱类污染物的潜在神经毒性及其构-效关系

王佳淇[1]，彭　炜[2]，丁　飞[1*]

（1. 旱区地下水文与生态效应教育部重点实验室，长安大学水利与环境学院，西安　710054；
2. 固体表面物理化学国家重点实验室，厦门大学化学化工学院，厦门　361005）

摘要：目的 环境介质和农副产品中普遍残留的新烟碱类化学品对环境生物体和人类存在巨大的健康风险，其可通过干扰机体神经元的正常发育并引起神经毒性，但乙酰胆碱酯酶（AChE）介导的新烟碱类化学品的神经毒性效应及其构-效关系尚不明确。有鉴于此，本研究拟选择四种结构具可比性的新烟碱类化学品为研究对象，从细胞和分子水平探究神经元AChE介导的新烟碱类化学品的神经毒性效应，并剖析构-效关系。**材料与方法** 人神经母细胞瘤细胞（SH-SY5Y）实验和计算毒理学技术相结合，例如：胞内AChE活性测定、分子对接、长时间分子动力学、结合自由能和氨基酸残基能量分解等，比较新烟碱类化学品与AChE的毒性亲和性，探讨新烟碱类污染物分子中的关键官能团在该类化学品与AChE的毒性过程中的作用，阐明化学品与AChE神经毒性作用模式差别，构筑构-效关系模型。**结果** 研究结果显示，四种新烟碱类化学品，吡虫啉（IMI）、噻虫胺（CLO）和噻虫啉（THI）、啶虫脒（ACE）均能对SH-SY5Y细胞的胞内AChE活性产生显著的抑制效应，IC50值分别为1.46 mM、2.48 mM、2.96 mM和4.02 mM。毒性作用模式分析结果表明，四种新烟碱类化学品与AChE结构域内的重要氨基酸残基之间产生的非共价作用强度依次减弱，说明IMI对AChE的酶活有最大的抑制效应（即最强的神经毒性），这与SH-SY5Y细胞实验结果相符。同时，IMI分子上的强吸电子基团硝基与起催化作用的关键氨基酸残基Ser-203以及构成胆碱结合位点的Tyr-337残基形成了稳定的氢键网络，这对于稳定IMI在活性空腔内的构象、增强其与AChE的毒性亲和性有重要贡献。神经毒性作用过程的动态研究结果表明，IMI对AChE结构柔性的扰动明显强于THI和ACE，且含硝基的IMI和CLO的非共价键强度呈现增强的趋势。自由能解析结果进一步说明，IMI（-36.5 kcal mol^{-1}）和CLO（-30.4 kcal mol^{-1}）体系的自由能明显低于THI（-28.6 kcal mol^{-1}）和ACE（-25.1 kcal mol^{-1}）体系，即IMI和CLO具有更强的神经毒性效应，其差异主要来自于静电能贡献。**结论** 四种新烟碱类化学品IMI、CLO、THI和ACE均能抑制SH-SY5Y胞内AChE活性，具不同官能团的新烟碱类化学品对胞内AChE活性的抑制程度明显不同，即含硝基的IMI和CLO比含有氰基的THI和ACE对胞内AChE具有更强的毒性亲和性（神经毒性效应）。本研究旨在为评估新烟碱类污染物及其结构类似物对环境和人体健康的潜在危害提供理论和实验依据。

关键词：SH-SY5Y细胞；计算毒理学；新烟碱类污染物；神经毒性；构-效关系

通讯作者：丁　飞，E-mail：feiding@cau.edu.cn

对羟基苯甲酸甲酯对青春期性成熟的影响

王林萍，刘 璟*
（浙江大学环境与资源学院环境健康研究所，杭州 310058）

摘要：目的 少量研究表明，高剂量对羟基苯甲酸酯的暴露影响小鼠性成熟，引起小鼠生殖系统受损。然而，关于低剂量的对羟基苯甲酸酯暴露对下丘脑-垂体-性腺轴（HPG）、青春期相关激素的分泌以及青春期启动的影响及潜在机制仍知之甚少。**材料与方法** C57BL/6小鼠从出生后第7天（PND7）开始至21天，皮下注射0.5、5和50 mg/kg 羟基苯甲酸甲酯（MePB），从PND21起观察小鼠出现青春期启动日龄。收集PND18、22、30小鼠血清，检测小鼠血清中卵泡雌激素（FSH）、黄体生成素（LH）、雌二醇激素和睾酮激素水平。收集PND18、22、30小鼠下丘脑和垂体组织。用于检测下丘脑组织相关基因（Tac2/Tacr3、Kiss1/Gpr54和GnRH）和垂体组织相关基因（Cgα、LHβ、FSHβ和GnRHR）的表达。Peptin234（Gpr54拮抗剂）和Cetrorelix（GnRH拮抗剂），广泛应用于延缓实验动物和性早熟病人青春期性成熟。在50 mg/kg MePB暴露1小时前先经皮下注射将小鼠暴露于1mg/kg的peptin234和cetrorelix。从PND21起观察小鼠出现青春期启动日龄。收集PND22小鼠血清，检测小鼠血清中FSH、LH、雌二醇激素和睾酮激素水平。**结果** MePB诱导小鼠青春期性成熟提前，雌鼠血清中LH、FSH和E_2水平在PND22显著上升。雄鼠血清中LH、FSH和睾酮水平在PND22显著上升。MePB影响下丘脑组织中，下丘脑内侧视前区（MPA）和正中隆起（Me）中的GnRH神经元阳性纤维和细胞体。对下丘脑组织中与青春期性成熟相关基因进行定量分析表明，MePB显著提高雌雄小鼠下丘脑组织编码神经激肽B的Tac2/Tacr3基因表达、Kiss1/Gpr54和GnRH基因表达。对垂体组织中编码LH和FSH的α亚基和β亚基基因进行定量分析表明，MePB影响促性腺激素亚基基因的表达，在基因表达水平上干扰HPG轴中垂体组织功能。Peptin234和Cetrorelix单独暴露或与MePB共暴露延缓青春期开始，Peptin234和Cetrorelix单独暴露或与MePB共暴露降低雌鼠LH和E2及雄鼠LH和睾酮水平。**结论** 本研究发现未成年雄性和雌性小鼠暴露0.5-50 mg/kg MePB，下丘脑组织中Tac2/Tacr3、Kiss1/Gpr54和GnRH基因表达及垂体组织中Cgα、LHβ、FSHβ和GnRHR基因表达上调，LH、FSH、E2和睾酮激素水平上升，性成熟启动日龄减小。Peptin234和Cetrorelix能阻止MePB诱导的小鼠青春期提前及HPG轴相关激素的上调。以上结果表明MePB通过激活HPG轴上游的下丘脑神经元，从而促进HPG轴下游的促性腺激素和性激素的分泌，诱导小鼠青春期性成熟提前。

关键词： 对羟基苯甲酸甲酯；性成熟；HPG轴

通讯作者： 刘 璟，E-mail：jliue@zju.edu.cn

基于分子起始事件构建QSAR模型预测化合物成脂活性

吴思颖，刘 璟*
（浙江大学环境与资源学院环境健康研究所，杭州 310058）

摘要：目的 肥胖已成为主要的全球健康挑战，现有毒理学和流行病学研究表明，接触内分泌干扰物会干扰脂质代谢稳态，促进脂肪形成和脂质积累，导致肥胖的发生，因此，评估化合物是否具有成脂活性至关重要。然而，由于伦理和经济原因，无法对人类接触的所有化学品进行系统的体内测试，建立QSAR模型对化合物成脂活性进行预测具有实际意义。本研究旨在应用机器学习算法提升QSAR模型预测性能，及探究基于分子起始事件评估化合物成脂活性的可行性。**方法** 确定与3T3-L1细胞成脂分化相关的6个分子起始事件并收集与分子起始事件相关体外测试数据。在Web of Science检索平台以“3T3-L1”and“differentiation”为关键词收集化合物成脂活性信息。使用RDKit包计算每种化合物的207个化学描述符。运用平衡随机森林、支持向量机、梯度提升树算法构建分子起始事件的QSAR预测模型。通过十折交叉检验，计算准确率、召回率、马修相关系数等评价指标，选出最佳性能的模型。借鉴ToxPi的5-slice模型计算方法整合6个

分子起始事件模型结果，评估化合物成脂活性。**结果** 在Web of Science检索平台以“3T3-L1”and“differentiation”为关键词检索到8533篇文献，经筛查获得435种物质的成脂活性数据，按文献数量及结果是否一致区分数据可信度。与支持向量机、梯度提升树算法相比，平衡随机森林算法更适合本研究所用的不平衡数据集。基于平衡随机森林算法构建的各模型对结果的预测率达到75%以上，马修相关系数在0.20-0.60之间。模型在外部验证集上的表现与十折交叉验证结果相当，证明模型具有一定的泛化能力。根据数据可信度高低将具有成脂活性数据的物质分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ类，Ⅰ类为有多篇文献支撑且结果一致的物质，Ⅱ类为有多篇文献支撑但结果不一致的物质、Ⅲ类为有单篇文献支撑的物质。模型评估Ⅰ、Ⅱ类物质的平衡准确率分别为0.657、0.684，高于Ⅲ类和总数据的平衡准确率（0.620和0.624），说明加强对数据质量的审查能提高模型的预测准确率。**结论** 本文基于关键分子事件构建了QSAR模型预测化合物成脂活性，在建模过程中，特别关注化合物成脂活性数据可信度的处理。应用平衡随机森林算法能提高模型预测效果，开发的模型有助于筛选潜在的成脂活性物质。

关键词：定量构效关系；机器学习；成脂活性；分子起始事件

通讯作者：刘　璟，E-mail：jliue@zju.edu.cn

低代码机器学习筛查POPs化学品的研究

辛　蕾，陈长二

（环境理论化学教育部重点实验室，华南师范大学环境研究院，广州　510006）

摘要：目的 持久性有机污染物（POPs）具有远距离迁移能力、持久性、生物蓄积性和毒性，因此从化学品清单中有效识别POPs对于化学品风险评估、管理和污染控制是至关重要的。之前筛查POPs的机器学习模型和深度学习模型都过于复杂，本研究开发了对环境科学领域友好的、比传统机器学习简单且易于解释的低代码机器学习筛查POPs的分类模型。**材料和方法** 构建模型的数据集来源于欧盟REACH法规和ToxCast等数据库，共有11299个化学品，包括1309个POPs和9990个非持久性有机污染物（non-POPs），按照默认的7∶3的比例划分训练集和测试集。使用一个简单的基于Python的软件包—Pycaret和2626种二维分子描述符（由AlvaDesc软件获得），构建了识别POPs的机器学习分类模型。仅通过几行简单的代码即获得了不同的机器学习模型（例如随机森林、类别提升、极端随机树、梯度提升等）及其准确率、受试者工作特征曲线下的面积（AUC）和F1等性能度量，并且可以对模型进行解释。为进一步证明所得模型识别POPs的性能，预测了REACH PBT列表中122种具有明确化学结构的疑似POPs的化学品。基于PyCaret的机器学习无需复杂的代码和高性能的计算机，6分钟左右即可完成模型的构建过程。**结果** 在PyCaret中使用最少的代码，一共构建了14个筛查POPs的分类模型，最佳模型是Catboost模型，其性能优于深度卷积神经网络（DCNN）模型。Catboost模型的十折交叉验证的平均准确率、AUC和F1分别为96.11%、97.64%、81.86%，相应地在测试集上分别是96.19%，97.48%，82.50%，说明模型具有良好的稳健性和泛化能力。对模型的特征重要性分析发现最重要的特征是P_VSA类的分子描述符（具有特定原子性质P的每个原子的原子范德华表面积贡献的总和）。Catboost模型对REACH PBT列表的预测准确度为92.3%，高于DCNN模型的准确度（90.4%）。**结论** 本研究表明，使用PyCaret可以快速简单地实现筛查POPs的机器学习模型构建，且可以得到性能优于DCNN的模型。

关键词：持久性有机污染物；机器学习；PyCaret；分类模型；风险评估

通讯作者：陈长二，E-mail：changer.chen@m.scnu.edu.cn

邻苯二甲酸酯和对羟基苯甲酸酯水解动力学的计算模拟与预测

徐 童
（河北科技大学）

摘要：碱催化水解二级速率常数（k_B）是评估邻苯二甲酸酯、对羟基苯甲酸酯等新污染物环境持久性的重要参数。实验测定k_B值耗时长、成本高，依赖化学标准品，难以满足新污染物环境持久性评价的现实需求。本研究主要采用量子化学计算方法，揭示了邻苯二甲酸酯（PAEs）、邻苯二甲酸单酯（MPEs）和对羟基苯甲酸酯（PBs）的水解途径，计算了动力学参数，构建了可预测k_B值的定量构效关系（QSAR）模型。

本研究首先以具有kB实测值的PAEs为参考，筛选了密度泛函理论（DFT）方法。基于选出的DFT方法计算了其他20种PAEs和其主要水解产物MPEs的碱催化水解反应路径，结合过渡态理论，计算了PAEs和MPEs的k_B值。采用多元线性回归（MLR）方法，基于量子化学和Dragon计算的描述符，分别构建了可预测PAEs和MPEs k_B值的定量构效关系（QSAR）模型。研究发现，具有环状侧链的PAEs水解最快，其次是含直链烷基侧链的PAEs，含有支链烷基侧链的PAEs水解最慢；离去醇基团的pKa越小，MPEs的碱催化水解速率越快。所构建的QSAR模型，为预测PAEs两个酯键完全水解的动力学提供了基础工具。

随后，测定了6种具有标准品的PBs的pK_a和k_B值，并以此为对比，筛选了计算pK_a值的半经验量子化学方法、计算k_B值的DFT方法。结合计算值和实测值，构建了可预测酚类pK_a值、中性及解离形态PBs的k_B值的QSAR模型。结果表明，pH在7~9，25℃条件下，PBs的$t_{1/2}$范围为6小时到1.52×10^6年，填补了PBs水中溶解态分布和水解动力学方面的数据空白。

本研究采用量子化学计算、模拟实验和QSAR建模的方法，探索了PAEs和PBs水解动力学的预测方法，有助于填补PAEs、MPEs和PBs等新污染物水解动力学数据缺失，为评价和预测其环境持久性提供理论基础和数据支持。

关键词：水解速率常数；密度泛函理论；定量构效关系；新污染物

通讯作者：徐 童，E-mail：xut@hebust.edu.cn

5种抗生素对Q67毒性的定量结构-效应关系研究

许夏昌黎，莫凌云，朱 杰
（桂林理工大学环境科学与工程学院）

摘要：抗生素作为一类新型污染物，在我国的江、河、湖、海、湾等常见水域中均越来越多的抗生素被检出，且普遍又以低剂量形式混合暴露于水环境中，混合后的抗生素产生的加和、拮抗和协同作用无疑为毒性预测带来了更大的挑战；QSAR模型（定量构效关系）是一种基于分子结构描述符来定量预测化合物毒性的计算机模拟方法，目前关于抗生素混合物的QSAR研究较少，因此建立混合物的QSAR模型对于毒性数据的补充显得尤为重要。

使用5种抗生素化合物分别为恩诺沙星、盐酸金霉素、甲氧苄啶、氯霉素以及红霉素，以青海弧菌（Q67）作为指示生物。使用Chem3D将抗生素结构优化，分别上传至Dragon和Guassian计算并筛选描述符，二元混合抗生素描述符被定义为单组分抗生素描述符与其浓度比乘积的加和，以混合描述符作为自变量，以青海弧菌（Q67）的EC50和EC30毒性效应值做因变量，在QSARINS中建立模型并进行内外部验证。

构建10个合格的以5个暴露时间（4 h、6 h、8 h、10 h、12 h）所对应的EC_{50}与EC_{30}浓度效应毒性值的QSAR模型，模型的决定系数R^2（0.8172 ~ 0.9400）与均方根偏差RMSP（0.1168 ~ 0.1545）表明模型具有较好的内部稳定性与外部预测能力。在所有模型中，有12个描述符以不同频率重复出现，并以标准回归系数值评判它们对混合毒性的影响程度。作为6个模型的最佳描述符并表征分子内双键的nDB描述符表明混合物抗生素毒性很大程度受分子内双键的调控。表征分子范德华体积的MATs2v描述符在出现的4个模型

中对混合毒性模型一直是消极影响，说明混合抗生素的毒性可能随着分子范德华体积的增大而减小。表征分子偶极矩的Dipole moment描述符对在其出现的模型中影响是最积极的，但它并不是这些模型的最佳描述符，只能说明分子内的化学键和电荷分布可能会影响混合抗生素毒性。

成功构建10个合格QSAR模型，满足所有内部外部验证参数要求，可用于预测抗生素二元混合毒性。对于补充混合毒性数据是有意义的。nBD以最高频率出现在模型中，它表示分子内的双键结构；MATs2v是所有描述符中对模型影响最大的消极因素，它表示分子的范德华体积；Dipole-moment是对模型影响最大的积极因素，它表示分子偶极矩；它们所代表的分子结构信息是影响五种抗生素二元混合物对Q67毒性的主要因素，有助于从分子层面揭示抗生素的毒性机理。

关键词：抗生素；Q67；定量构效关系

基金项目：国家自然科学基金（22266012）

通讯作者：莫凌云，E-mail：molingyun123@126.com

新冠病毒刺突蛋白变构效应和动态结构调整的计算解析

薛　峤[1]，傅建捷[1,2]，张爱茜[1,2*]

（1. 中国科学院生态环境研究中心北京市海淀区双清路18号　100085；2. 中国科学院大学资源与环境学院北京市石景山区玉泉路19号（甲）　100049）

摘要：目的　由新型冠状病毒感染引起的COVID-19大流行仍在持续，而该种病毒可通过其刺突蛋白“劫持”细胞膜上血管紧张素转换酶2（ACE2）入侵人体。刺突蛋白受体结合域（RBD）与ACE2的结合是SARS-COV-2感染过程的起点，但对于刺突蛋白是如何与ACE2结合并产生变构效应这一关键科学问题的原因与过程仍缺乏认知。**材料和方法**　研究分别构建了打开构象的刺突蛋白和与ACE2结合的刺突蛋白复合物模型，采用多种计算模拟的手段分析报道了新冠病毒刺突蛋白在结合ACE2前后的变构调节及相应的关键结构特征。**结果**　刺突蛋白与ACE2间的相互作用会导致其受体结合域N端F329和C端F515二面角扭转并引导受体结合域整体发生显著的向心运动，刺突蛋白的构象随之由预融合构象经Q493-L452-L492-R454-N422-Y423-V512这一关键耦合残基变构传导路径自发转变为ACE2结合构象1。伴随构象转变的是新冠病毒刺突蛋白2个蛋白酶裂解位点的表面暴露，更有利于宿主蛋白酶的识别切割和进一步的膜融合。此外，研究证实新冠病毒表面刺突蛋白与宿主膜上ACE2的更高亲和力不仅因其替代SARS-COV中Val404出现的Lys417可与ACE2的Asp30形成盐桥而增强了两者间的静电相互作用，更得益于SARS-COV中对结合极为不利的Asp480由Ser494替代，从而大大减弱了原刺突蛋白Asp480与ACE2中Asp38等残基的静电排斥作用。**结论**　研究发现即使没有ACE2结合的稳定作用，新冠病毒刺突蛋白仍可以长时间稳定在预融合构象而不会回复到关闭构象，这无疑为其结合细胞膜上受体从而入侵人体创造了有利条件。稳定的ACE2结合构象1提示刺突蛋白与ACE2复合物可维持在半融合状态，这与其感染后的长潜伏期和高无症状感染者比例相对应。研究提供了新冠病毒刺突蛋白结合ACE2的动态构象变化过程，为认识这一新病毒人体侵染和药物研发提供了原子水平的机制信息。

关键词：SARS-COV-2；刺突蛋白；ACE2；分子动力学模拟

通讯作者：张爱茜，E-mail：aqzhang@rcees.ac.cn

转录组学在环境毒理学中的应用与前景

李庆元[1,2]，杨仁君[1,2]*，殷诺雅[1,2]，Francesco Faiola
（1. 环境化学与生态毒理学国家重点实验室，中国科学院生态环境研究中心，北京 100085；2. 资源与环境学院，中国科学院大学，北京 100049）

摘要：转录组学是研究生物体内基因转录的全局性方法，其在环境毒理学中应用广泛。传统的毒理学研究方法在研究生物体内分子水平的变化方面存在局限性，无法在基因组水平上揭示污染物质对基因转录的影响。通过转录组学技术，可以测定不同化学物质对生物体内基因表达的影响，识别化学物质引起的差异表达基因，并对其功能进行分析，从而揭示化学物质对生物体内分子水平的影响和作用机制。

其中，RNA测序（RNA-Seq）是最常用的方法。RNA-Seq技术利用高通量测序技术对RNA分子进行分析，可以检测出RNA转录产物中所有的转录本信息，包括已知基因的mRNA和ncRNA，以及未知基因的新转录本。单细胞RNA测序（scRNA-Seq）技术则是RNA-Seq技术的一种变体，可以对单个细胞中的RNA进行测序和分析，从而得到单个细胞的转录组信息。

在环境毒理学领域，RNA-Seq和scRNA-Seq技术已经被广泛应用。这些技术通过测定基因转录水平的变化，揭示环境污染物质对生物体的影响，并探究其作用机制。例如，一些研究使用RNA-Seq技术揭示了某种环境污染物质的暴露对基因表达的影响，并发现该物质能够影响与炎症、免疫应答和细胞凋亡等相关的信号通路。此外，一些研究使用scRNA-Seq技术对个体的单个细胞进行测序，揭示细胞类型的多样性和差异，以及在环境暴露情况下这些细胞类型的响应差异。

除了在环境毒理学中研究基因表达的变化，转录组学技术还可以与其他组学技术相结合，进行多组学综合分析。例如，多组学分析可以将RNA-Seq数据与蛋白质组学和代谢组学数据相结合，以更全面地研究化学物质的毒理学效应和作用机制。这种多组学综合分析可以为化学品安全评价和环境健康风险评估等提供更多信息。

总之，转录组学技术在环境毒理学研究中具有重要的应用价值，可以为化学品安全评价和环境污染监测等提供更加精确、全面和深入的分析。RNA-Seq和scRNA-Seq技术在环境毒理学中应用广泛，已经成为研究基因表达变化的主要手段。

关键词：转录组；环境毒理；基因表达；数据分析

通讯作者：杨仁君，E-mail：rjyang@rcees.ac.cn

消毒副产物对稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白干扰效应的实验与计算模拟研究

赵嵩山，刘会会，杨先海*
（南京理工大学环境与生物工程学院，南京 210094）

摘要：废水消毒已成为污水处理设施的重要水处理单元之一。但是，废水消毒所用消毒剂除了能消灭各种有害微生物外，其还可能与水中存在的天然或人工合成有机物反应，生成废水源消毒副产物（DBPs）。随着消毒废水排放，废水源DBPs也会随之进入环境水体，并对环境生物产生暴露，进而对环境生物引发潜在危害效应。当前，针对废水源DBPs潜在环境生物危害效应的研究还不足，特别是废水源DBPs是否能干扰环境生物内分泌系统及其干扰机制的研究还鲜有报道。基于此，本研究选取14种典型废水源酚类（8种）和脂肪族类（6种）DBPs为模型化合物，稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白（CrmTTR）为模型体系，采用实验与计算模拟相结合的方法，研究了模型DBPs对CrmTTR的潜在干扰效能及作用机制，并基于所测干扰效应数据，构建了能筛选应用域内潜在CrmTTR干扰物的模型。结果表明，CrmTTR cDNA长450 bp，其核酸识别号为MN329061（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN329061.1/）；重组CrmTTR为四聚体结构，测定的分子量为66.3 kDa；重组CrmTTR对甲状腺素T_3（IC_{50}=370±24.0 nM）的亲合力强于甲状腺素T_4（IC_{50}=

994 ±81.9 nM）；6种脂肪族类DBPs在试验浓度范围无重组CrmTTR干扰活性，而8种酚类DBPs均表现重组CrmTTR干扰活性，且部分酚类DBPs与重组CrmTTR的亲合力强于甲状腺素；分子模拟结果表明，酚类DBPs与CrmTTR间可形成疏水、氢键和或离子对相互作用；构建的4个最优k-最邻近分类模型均具有较好的分类性能。

关键词： 消毒副产物；酚类消毒副产物；脂肪族类消毒副产物；运甲状腺素蛋白；稀有鮈鲫；分类模型

基金项目： 中国博士后科学基金资助项目（2020T130301，2020M671502）；江苏省博士后科研资助计划项目（2020Z288）；国家自然科学基金面上项目（22176097）

通讯作者： 杨先海，E-mail：xhyang@njust.edu.cn

基于机器学习的环境污染物EGFR结合活性的预测研究

姚亭吉[1,2]，刘　娴[2]，张爱茜[1,2,3]*

（1. 国科大杭州高等研究院环境学院杭州市西湖区象山支弄1号　310024；2. 中国科学院生态环境研究中心北京市海淀区双清路18号　100085；3. 中国科学院大学资源与环境学院北京市石景山区玉泉路19号（甲）　100049）

摘要： 表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）是一种属于酪氨酸激酶型受体家族的跨膜糖蛋白，广泛分布于哺乳动物的上皮细胞及人的成纤维细胞、胶质细胞和角质细胞等，在细胞生理过程中发挥着重要的调节作用。EGFR与受表皮生长因子（EGF）及其他配体结合后会发生构象变化，由单体转化为同源或异源二聚体，二聚化激活了其内在酪氨酸激酶的活性，进而激活下游信号转导过程，从而影响细胞的生物学功能。由EGFR介导的信号通路具有调控肿瘤细胞演进的重要作用，配体对EGFR的持续活化往往会导致其在细胞中的过度表达或异常表达，从而推进恶性肿瘤的形成与演变。除内源性配体外，典型环境污染物如双酚A（bisphenol A，BPA）、4-叔辛基苯酚（4-tert-octylphenol，OP）、六溴环十二烷（hexabromocyclododecane，HBCD）等也被发现能够结合并激活EGFR，且配体结合活性高度影响EGFR激活活性。然而关于环境污染物与EGFR的结合活性判别尚缺乏一种高效的筛查模型。本研究系统性地整理了已报道的EGFR活性配体数据集，对比了随机森林（random forest，RF）、支持向量机（support vectormachine，SVM）、人工神经网络（artificialneural network，ANN）、K-最近邻（K-nearest neighbour，KNN）、朴素贝叶斯分类器（Naïve Bayes classifier，NBC）、逻辑回归（logisticregression，LR）等6种经典机器学习算法所构建的EGFR分类模型的预测性能，其中基于SVM模型展示出了最优的预测表现。本研究所提出的机器学习模型可快速、准确地预测污染物是否能够结合EGFR，从而影响下游信号通路的激活与传导，在新型污染物的EGFR靶点筛查具有广阔的应用前景。

关键词： 环境污染物；表皮生长因子受体；机器学习；活性预测

通讯作者： 张爱茜，E-mail：aqzhang@rcees.ac.cn

基于卷积神经网络的污染物多靶点筛查研究

易　航[1,2]，刘　娴[1]，张爱茜[1,2]*

（1. 中国科学院生态环境研究中心北京市海淀区双清路18号，100085；2. 中国科学院大学资源与环境学院北京市石景山区玉泉路19号（甲）　100049）

摘要： 环境研究需要关注的新型污染物列单不断增加，而未知有毒化学品的环境存在更是对污染物毒性预测评价方法提出了新的挑战。事实上，污染物经不同暴露途径进入人体后可被转运到人体的多个组织器官，其污染物母体或者代谢物可与不止一个内源性靶点相互作用，并通过复杂生物学网络调控其毒性效

应，逐一测试确定或排除污染物体内靶点显然是不可行的。近年来，机器学习尤其是深度学习方法的迅速发展为污染物的多靶点预测筛查提供了新思路。这类算法通过特征学习可以把预测化学品与靶点蛋白之间的分子识别这一复杂问题简化为有无相互作用的二元分类问题，从而应用机器学习的运算法则学习已知化学品-靶点蛋白对的特征并推断出未知化学品与靶点蛋白间的可识别性。本研究中搜集整合了510种环境污染物与32种受体的亲和力数据，利用卷积神经网络（Convolutional Neural Networks，CNN）分别从小分子中提取化学结构特征和从靶点蛋白中提取具有生物学意义的特征，从而将其转化为配体-受体耦合的数字向量，输入后续的深度神经网络模型实现污染物与受体亲和力的定量预测。本研究所提出的污染物多靶点同时预测筛查模型有望阐明污染物多靶效应并挖掘关键相互作用特征，从而揭示污染物的健康影响机制。

关键词：机器学习；卷积神经网络；污染物靶点筛查；靶点亲和力预测

通讯作者：张爱茜，张爱茜，E-mail：aqzhang@rcees.ac.cn

计算化学和毒理学研究新烟碱类污染物对人体的潜在神经毒性及其构-效关系

喻 敏[1]，彭 炜[2]，丁 飞[1*]

（1. 旱区地下水文与生态效应教育部重点实验室，长安大学水利与环境学院，西安 710054；2. 固体表面物理化学国家重点实验室，厦门大学化学化工学院，厦门 361005）

摘要：目的 环境污染与人类健康已引起环境领域研究人员的高度关注。新烟碱类污染物大量存在于生态环境中。近几年新烟碱类杀虫剂在尿液和食品中不断被检出，表明该类农药可通过饮水，摄食和呼吸等途径暴露于人体，从而对人体造成潜在的健康危害。新烟碱类农药是以烟碱为基础结构开发的一类化学杀虫剂，选择性作用于非靶标生物的神经型烟碱乙酰胆碱受体（nAChR），阻断中枢神经系统的正常信号传导，从而对非靶标生物产生神经毒性。然而，这些化合物对nAChR的毒性作用模式仍未充分说明。以在大脑中广泛分布的人源α7nAChR为研究对象，通过计算化学手段，从分子尺度上分析环境中广泛存在的六种新烟碱类化合物（吡虫啉IMI、噻虫啉THIA、噻虫嗪THIM、噻虫胺CLO、啶虫脒ACE、呋虫胺DIN）与α7nAChR的毒性作用差别及其分子机制，进而合理评估其对人体的潜在神经毒性风险。**材料和方法** 原子尺度的计算毒理学方法，通过同源模建、分子对接，构建新烟碱类化合物与人源nAChR的毒性作用信息体系，探讨不同新烟碱类化合物对人源nAChR的毒性作用模式。**结果** 研究结果表明，在nAChR-新烟碱类化合物体系中，IMI/ACE/CLO/THIA与nAChR之间形成的氢键、π-π相互作用和范德华作用的整体强度明显大于DIN/THIM。且在IMI/ACE/CLO/THIA-nAChR体系中，IMI/ACE/CLO/THIA中的吡啶环或噻唑环均与α7/Trp149残基之间形成了稳定的T型π-π相互作用，这对稳定新烟碱类化合物构象、增强IMI/ACE/CLO/THIA-nAChR之间的毒性亲和性有很大贡献，因此，IMI/ACE/CLO/THIA对人体表现出较强的毒性，这与前人报道的毒性实验数据相符。**结论** 六种新烟碱类化合物呈现出明显的毒性差别，吡虫啉、噻虫啉、噻虫胺、啶虫脒的毒性显著大于呋虫胺和噻虫嗪。从环境角度来看，使用呋虫胺和噻虫嗪不但能够高效防治农业害虫，而且能够极大降低新烟碱类有机污染物对环境和人体健康的威胁，减轻与日俱增的环境压力。

关键词：新烟碱类污染物；计算化学和毒理学；神经毒性

通讯作者：丁 飞，E-mail：feiding@chd.edu.cn

环境化合物神经发育毒性的综合预测方法

张 露，李 敏，钱智勇*

（天津市疾病预防控制中心卫生检验检测所毒理科，天津 300011）

摘要：目的 本研究综合运用多种计算毒理学方法，建立可快速准确预测化合物神经发育毒性的方法，

为环境化合物神经发育毒性的评估奠定基础。**材料和方法** 本项目采用定性构效关系模型、生物信息学及交叉参照的预测方法对环境化合物的神经发育毒性进行综合预测。首先，我们从Toxicity Value Database（ToxValDB）数据库中收集哺乳动物神经发育毒性数据，得到剧毒、高毒性化合物92个。另从非生物相关性代表数据库ACD-3D数据库中，通过Decoyfinder软件搜索得到654个与毒性化合物理化性质相似、拓扑结构不相似的假定非毒性化合物。随机挑选73个毒性化合物与72个非毒性化合物构成建模数据集，其余的构成诱饵集。采用E-dragon网页版服务器、Padel软件计算其2 d、电性、拓扑及分子指纹等描述符。借助Weka软件采用多种机器学习方法进行构效关系模型的构建，并通过诱饵集对模型预测性能进行评价。借助建立的可靠准确的构效关系模型对Comparative Toxicogenomics Database（CTD DB）数据库里1144个环境暴露物进行神经发育毒性初步筛选。通过CTD、ChemDIS网页对筛选得到的化合物进行化合物-疾病相关性预测。针对与神经系统疾病相关性高的化合物，通过QSAR Toolbox软件进行交叉参照研究，得到具有潜在神经发育毒性的化合物。**结果** 在构效关系模型的构建中，采用RF（随机森林）、NB（朴素贝叶斯）、SMO（序列最小优化算法）方法建立的预测模型，预测性能最好，其对训练集、测试集预测准确性均达到85%以上。联合以上三种模型对诱饵集进行预测，并设定模型应用域为预测概率大于70%的阴性或阳性化合物，预测准确率达到97.2%，特异性为66%，敏感度为21%。采用上述3种预测模型对CTD数据库中的环境暴露物进行预测并结合易得性分析得到30个化合物，其中17个化合物为杀虫剂，6个化合物为药物，4个化合物为烟草、电子烟中成分，2个为阻燃剂、增塑剂，1个为食品添加剂。选择后3类化合物进行生物信息学预测及交叉参照研究，发现有一个化合物与神经发育障碍、神经系统疾病有较强的相关性，且与其结构相似的化合物也具有神经系统或发育方面的毒性报道。**结论** 本研究综合运用定性构效关系、生物信息学预测、交叉参照三种计算毒理学方法，对环境化合物进行神经发育毒性预测，该方法可对大量化合物进行高效快速筛选，得到具有潜在神经发育毒性的化合物，为后续的细胞或动物实验评估奠定基础。该方法适用于公共卫生突发事件的紧急处理，也可推广至对其他毒性的研究中。

关键词：神经发育毒性预测；定性构效关系模型；生物信息学预测；交叉参照

通讯作者：钱智勇，E-mail：tjcdcdl@163.com

我国松针中有机磷酸酯赋存特征的初步研究

张　伟[1,2]，许文宇[1,2]，李昌林[1,2]，张海燕[1*]，江桂斌[1,2]

（1. 国科大杭州高等研究院，杭州　310024；2. 中国科学院生态环境研究中心，北京　100085）

摘要：有机磷酸酯（Organophosphate esters，OPEs）作为阻燃剂、增塑剂等添加剂，被广泛应用于各种消费和工业产品。研究表明，OPEs对内分泌、神经及生殖系统有一定的毒性效应，且具有长距离传输特征和生物放大效应。OPEs的环境赋存数据是评估其生物毒性以及人体暴露风险的基础。松针作为有机污染物的一种生物指示物，可在一定程度上反映大气污染水平。此外，松针泡水/泡酒后也被作为一种养生饮品，人体可能通过该途径暴露其中的污染物。目前，松针中OPEs的赋存与风险仍鲜有研究。我们采用QuEChERS前处理方法与超高效液相色谱串联三重四极杆质谱技术分析了我国多地松针中七种OPEs的含量水平。样品中OPEs各单体的检出率为12.5%~93.8%，总浓度范围在11.6~105 ng/g干重之间，平均浓度为37.2 ng/g干重。不同地区松针中的OPEs组成不同，这可能是由于各地区的工业结构不同。总体上烷基型OPEs单体（Triethyl phosphate，TEP、Tripropyl phosphate，TrPP、Tri-n-butyl phosphate，TNBP）对OPEs总浓度贡献率最大（~69.7%），其次是氯代型（Tris（2-chloroisopropyl）phosphate，TClPP、Tris（1，3-dichloro-2-propyl）phosphate，TDClPP、Tris（chloroethyl）phosphate，TECP）（25.9%）以及芳香型单体（Tris（phenyl）phosphate，TPHP）（4.4%）。以上结果表明，我国多地大气中存在不同程度的OPEs污染，OPEs可随着松针茶饮进入人体。该项工作进一步为人体健康风险评估提供了基础数据。

通讯作者：张海燕，E-mail：zhanghaiyan@ucas.ac.cn

不同电性的四氧化三铁纳米颗粒对水稻的毒性效应

钟传季[1,2], 刘稷燕[1,2,3]*, 江桂斌[1,2,3]
（1. 中国科学院生态环境研究中心，北京 100085；2. 中国科学院大学资源与环境学院，北京 100049；
3. 国科大杭州高等研究院，杭州 310000）

背景和目的 四氧化三铁纳米颗粒（Fe_3O_4 NPs）具有独特且优异的性能，如表面积大、可调节表面电荷和高反应活性等，应用广泛，也作为添加剂用于不同类别的产品中，如油漆、建筑材料、化妆品、催化剂、电池和塑料。这些产品中的Fe_3O_4 NPs可通过多种途径进入土壤，影响植物生长。此外，铁基NPs在农业中具有作为纳米肥料的应用潜力，也使其可以直接或间接影响植物生长。例如，叶面应用氧化铁（Fe_2O_3）纳米材料刺激固氮作用可以提高大豆产量与营养品质。本研究的主要目的是探究不同电性Fe_3O_4 NPs对植物生长的影响。**材料和方法** 用50 mg/L的表面带正电的聚乙烯亚胺修饰的四氧化三铁磁性颗粒（PEI@ Fe_3O_4）和表面带负电的羧基化四氧化三铁纳米颗粒（DMSA@ Fe_3O_4）对水稻进行5天的水培暴露，研究植物鲜重、蒸腾量、丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）和叶绿素含量用以评价两种Fe_3O_4 NPs的毒性。**结果与结论** PEI@Fe_3O_4和DMSA@Fe_3O_4暴露后的水稻植株鲜重分别下降了13.9%和上升了0.37%（P>0.05），蒸腾量分别下降了7.4%和上升了9.2%（P>0.05），MDA含量分别上升了54.1%和下降了34.7%（P<0.05），SOD分别上升了2.7%和14.0%（P>0.05），POD分别上升了41.7%和33.3%（P<0.05），CAT分别上升了15.5%和10.6%（P<0.05），叶绿素分别上升了31.2%和16.6%（P<0.05）。以上结果表明，和表面负电荷的DMSA@Fe_3O_4相比，带正电荷的PEI@Fe_3O_4会引起水稻植株更强烈的氧化应激反应，并对光合作用有更强的促进作用。

这一研究加深了不同电荷颗粒物对植物毒性的理解，也为铁基纳米材料在纳米肥料中的应用提供了新的依据。四氧化三铁纳米颗粒对植物的影响研究还需要进一步深入。

关键词： Fe_3O_4纳米颗粒；抗氧化系统；氧化应激

通讯作者： 刘稷燕，E-mail：liujy@rcees.ac.cn

T20-0001

新型冠状病毒感染小鼠肺炎模型的肺损伤病理学评价标准的建立

黄明姝[1]，张泽安[1]，毛晶晶[2]，慈 磊[3]，姚广涛[1]
（1. 上海中医药大学药物安全评价研究中心；2. 海军军医大学卫生毒理学教研室；3. 上海南方模式生物科技股份有限公司）

摘要：目的 新型冠状病毒肺炎（新冠肺炎）是指由新型冠状病毒（COVID-19）引起的以肺部组织的炎症与损伤，肺的通气功能和换气功能障碍为特征的病变。对肺部损伤及病变的评估是研究新冠病毒机制、研发疫苗及药物的基础。国内外构建了大量的以啮齿类动物为主的动物感染模型，用以模拟新冠肺炎的病变特征。但针对动物模型中肺部损伤的病理评价标准仍没有系统性的建立。本实验对小鼠肺炎模型中肺部组织的损伤进行了病理学评价，并通过建立病变分类标准，及病变严重程度的评分标准来系统性的评估动物肺炎模型，为冠状病毒药物及疫苗的筛选提供参考。**材料和方法** CAG-hACE2-IRES-Luc转基因（hACE2）小鼠，8～10周龄。造模组小鼠滴鼻给予50 μL SARS-CoV-2病毒溶液，对照组动物吸入溶液安慰剂。每天记录一次动物体重，连续监测4天后进行解剖取材，取肺组织经福尔马林固定后进行组织病理学检查。**结果** 与对照组小鼠相比，造模组动物攻毒3天后出现不同程度的活动减少、萎靡等症状，体重增长率低于对照组动物。镜下，造模组动物均出现了不同程度的肺部组织的炎症与损伤。根据造模组小鼠病理变化的特征，对动物肺部病变的类型进行分类，分别为间质炎症细胞浸润、肺泡间隔增宽、间质水肿、肺泡腔内渗出物、肺泡壁毛细血管扩张或出血，此分类也符合新冠病毒感染后形成间质性肺炎的特点。病变程度按照

病变累及区域的百分比，由轻微到重度进行了四个等级的分类，系统性的构建了小鼠肺炎模型肺部损伤的分类分级标准。**结论** 本实验在建立SARS-CoV-2感染hACE2小鼠肺炎模型的基础上，对肺损伤进行了病理学评价，建立了模型动物的新冠肺炎分级和半定量评分标准。

通讯作者：黄明姝，E-mail：kou24@hotmail.com

T20-0003

线粒体呼吸链超级复合体研究进展

管淑婷，赵　黎，彭瑞云

（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京　100850）

摘要：线粒体氧化磷酸化是细胞代谢的中心，也是真核生物能量产生的关键，而这一过程主要依靠线粒体呼吸链来完成。线粒体呼吸链主要包括四个酶复合体和两个可移动的递电子体。

呼吸链超级复合体（Supercomplexes，SCs）是由单个复合体通过特定的相互作用组装发挥氧化磷酸化功能的重要形式。目前分离得到的SCs组成主要可分为含CI和不含CI的两大类，其中含CI的SCs有3个，即CⅠ+CⅢ、CⅠ+CⅢ+CⅣ和CⅠ+CⅡ+CⅢ+CⅣ，不含CⅠ的SCs有2个，即CⅢ+CⅣ和CⅡ+CⅢ+CⅣ。但SCs的组成在不同物种、不同组织结构以及不同生理状态下有所不同。在酵母细胞中，几乎没有游离的CIV，常与CⅢ2结合形成SCs，酵母细胞不同生长状态下可用的CⅣ决定了SCs的数量。然而在哺乳动物中，几乎所有的CⅠ都结合于SCs中，最多的是CⅠ1CⅢ2CⅣ1，占54%，其次是CⅠ1CⅢ2占17%。

SCs的组装对于每个复合体的完全组装以及稳定有着不可或缺的意义。首先，SCs可维持单个复合体的完整性。研究发现CⅢ可作为SCs组装的中心，为完整线粒体呼吸链的生物发生提供了结构和功能平台。其次，SCs可增加电子传递效率。在Ctyc介导的酶活性检测中，CⅢ2和CⅣ在SCs中的酶活性分别是游离酶活性的1.7倍和1.9倍，具有更高的催化优势，更高效的氧化和还原Cytc，完成电子传递过程；相比于游离的CⅢ和CⅣ，在CⅢ2CⅣ1存在的条件下，线粒体呼吸效率与ATP合成也有显著的提高。最后，SCs可调控ROS生成。SCs的组装可通过增加电子传递效率进而减少CⅠ和CⅢ产生的ROS。

SCs的组装受多因子的调控。超级复合体组装因子（Supercomplexes assembly factor 1，SCAF1）是CⅢ2CⅣ1所特有的组装因子。Rcf1（Respiratory supercomplex factor 1）可直接与CⅢ和CⅣ相互作用，使其形成CⅢCⅣ。此外，心磷脂（Cardiolipin，CL）等通过参与SCs中的复合体之间的相互作用来影响酶复合体催化活性。

在阿尔兹海默症、帕金森病、多发性硬化症、肌萎缩侧索硬化症和Barth综合征等多种疾病模型中发现，SCs的组装障碍与疾病的发生发展有着密切的关系。

因此，作为线粒体复合体功能发挥的重要表现形式，SCs的组装及调控对于维持线粒体乃至细胞稳态十分重要，是相关疾病发生发展的重要调控因子。

关键词：线粒体；呼吸链；超级复合体；综述

基金项目：国家自然科学基金（82073511）

作者简介：管淑婷，E-mail：guanst59@163.com

通讯作者：赵　黎，E-mail：lillyliz@163.com；彭瑞云，E-mail：ruiyunpeng18@126.com

T20-0004

线粒体动力学研究进展

辛 宇，赵 黎，彭瑞云
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：线粒体是真核细胞中动态变化的双膜细胞器，是细胞的增殖、分化与死亡的重要基础和支撑，线粒体的功能依赖于其结构基础，而线粒体动力学是调节结构的关键因素。线粒体动力学主要包括线粒体分裂与线粒体融合，此外，线粒体运输和嵴重塑也属于线粒体动力学范围。

线粒体分裂是由一个管状线粒体分裂为两个颗粒状线粒体，并将线粒体DNA分割的过程，能保障线粒体遗传和物质交换并提高线粒体运输效率。线粒体分裂主要有Drp1、Dnm2、Fis1、MID49和MID51等参与调控，其中Drp1障碍介导的线粒体动力学异常引起突触发育、结构和功能可塑性异常。线粒体分裂影响细胞增殖，分裂与融合的失衡在呼吸疾病、肿瘤的发生发展中有重要作用。

线粒体融合是由两个颗粒状线粒体在外膜和内膜上连接，融合为一个管状线粒体的过程，被分为外膜融合与内膜融合两个环节，可促进氧化磷酸化和线粒体间物质交换。外膜融合大致经过线粒体的拴系、逐步对接和接触表面积增加、GTP酶驱动融合等过程；内膜融合于外膜融合后，由驱动蛋白相互作用在内膜间形成连接。参与线粒体融合的调控分子主要有Mfn1，Mfn2，OPA1和磷脂，Mfn2和OPA1基因的突变与神经退行性疾病（Neurodegenerative diseases，NDs）密切相关。

线粒体运输是线粒体依据细胞生理状态，不断改变它们的位置，沿着微管或其他细胞骨架元素迁移的过程，具有保障ATP供应和协助代谢的功能，其中轴突运输是最典型的运输形式。轴突运输的调控分子主要有Kinesin-1、Milton、Miro和Dynein-dynactin复合体，运输位置的锚定由蛋白质合成酶决定，轴突运输机制异常引起突触能量不足，是大多数NDs的早期病理表现。

线粒体嵴是内膜形成的边缘弯曲的生物能量室，通过嵴连接处与内膜相连，嵴和嵴连接处在不同生理条件下的动态变化被称为嵴重塑。嵴重塑通常与线粒体基质的密度变化和线粒体分裂融合活动相关，直接影响氧化磷酸化，调控分子异常影响呼吸链和细胞生命周期。嵴重塑的调控因子有OPA1、复合体MICOS（Mitochondrial contact site and cristae organizing system）和ATP合成酶。嵴重塑对线粒体磷脂代谢、蛋白质运输的影响，是NDs发生发展的重要环节。

因此，线粒体动力学控制线粒体的形态、数量和分布，使其聚集在关键的亚细胞间隔，维持细胞和生物体的完整生理过程，调节代谢等复杂的细胞信号事件，决定细胞增殖和凋亡，并与呼吸疾病、肿瘤和NDs的发生发展密切相关。

关键词：线粒体动力学；线粒体分裂；线粒体融合；线粒体运输；嵴重塑；综述

基金项目：国家自然科学基金（82073511）

作者简介：辛 宇，E-mail：xinyumeow@163.com

通讯作者：赵 黎，E-mail：lillyliz@163.com；彭瑞云，E-mail：ruiyunpeng18@126.com

T20-0005

低氧诱导因子1与线粒体的相互作用研究进展

黄晓晨，赵 黎，彭瑞云
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：低氧诱导因子1（hypoxia-induced factor，HIF-1）是细胞内缺氧应答关键调控因子，可通过下游多个靶基因的激活来维持机体自稳平衡，同时HIF-1也可被多种胞外因素刺激，对细胞存活、生长、分化等均具有举足轻重的作用，HIF-1的合成取决于其α亚基的活性和表达。线粒体是细胞代谢的核心，为细胞提供

充足的能量和物质，也是细胞内最主要的耗氧细胞器之一，它的氧依赖性代谢对机体维持正常的生命活动至关重要。长期以来的研究认为，HIF-1及其靶基因参与调节线粒体呼吸和氧化应激等重要过程，但近来越来越多的研究也发现，在低氧等多种条件下存在由线粒体触发的HIF-1激活。因此，HIF-1和线粒体可能存在相互的影响，并在机体的生理和病理过程中发挥重要的调节作用，其相互关系研究逐渐备受关注。

1 HIF-1对线粒体结构和功能的调控

HIF-1介导线粒体生物发生、线粒体自噬和线粒体动力学调节线粒体数量。同时，HIF-1通过调节线粒体运动改变胞内线粒体分布。此外，HIF-1可调节线粒体形态，如大小、形状和结构等，这种作用可能是功能改变的基础，也可能继发于功能调节。

HIF-1通过作用于不同的线粒体呼吸链复合体调节呼吸链效率。HIF-1对活性氧（reactive oxygen species，ROS）的影响往往被视为通过作用于呼吸链而产生，其主要通过直接作用于线粒体呼吸链复合体来影响ROS的生成。HIF-1通过作用于代谢物影响三羧酸循环效率。HIF-1通过直接抑制氧化磷酸化过程，加速糖酵解，维持细胞能量需求。HIF-1可负调控ΔΨm阻止细胞凋亡。

2 线粒体对HIF-1活性的影响

多种线粒体代谢酶活性可影响HIF-1的累积，且主要是通过激活其调控通路或抑制其降解通路来实现的。同时，大多数研究认为，呼吸链各复合体均参与了HIF-1α的稳定性调节，且可能是通过耗氧来间接实现的。此外，很多研究认为，ROS对HIF-1的稳定发挥了重要的作用，而ROS产量主要由呼吸链复合体控制，因此，可以说HIF-1活性的始动来自于呼吸链复合体。研究发现，解偶联蛋白影响HIF-1的稳定和活性。线粒体ATP敏感性钾通道开放促进HIF-1表达和细胞增殖。

HIF-1和线粒体相互作用的不断深入研究，将为多种药物开发和疾病治疗提供新的靶标和思路，为今后的基础研究提供科学依据，具有重要的意义和价值。

关键词：低氧诱导因子1；线粒体；综述

基金项目：国家自然科学基金资助（82073511）

作者简介：黄晓晨，E-mail：15733168773@163.com

通讯作者：赵　黎，E-mail：lillyliz@163.com；彭瑞云，E-mail：ruiyunpeng18@126.com

T20-0006

电磁辐射对致病病毒的影响及作用机制研究进展

肖　燚，赵　黎，彭瑞云

（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：长期以来，致病病毒感染是全世界面临的重要公共卫生安全问题。在新型冠状病毒等高致病病毒肆虐的当下，对于高效安全的致病病毒灭活手段的需求更为迫切。传统的灭活致病病毒的技术方法具有一定的效果，但是仍存在一定的局限性。电磁波具有穿透能力强、物理共振、不产生污染等特性，其对于致病病毒的灭活能力渐受关注，使之在致病病毒灭活领域的基础与应用研究不断被探索和开发。

1 电磁波对致病病毒的影响

电磁波可以破坏病毒的形态，表现为病毒发生萎缩聚集成团，其包膜出现孔洞及其内容物的损失，研究频段主要为特高频和极高频电磁波。

病毒通常由核酸和蛋白质构成，对于包膜病毒而言，其外表面还有一层包膜结构。研究认为，一定剂量的电磁波可穿透病毒外壳，破坏核酸RNA，且随功率升高，其对病毒核酸结构的破坏性逐步增强。关于电磁波对致病病毒蛋白质的影响研究大多基于其对介质的间接加热效应，以及通过破坏核酸结构间接影响蛋白质的合成。电磁波可实现病毒包膜的断裂，对于包膜病毒，病毒的传染性或活性通常也会在包膜裂解后降低或者完全丧失。

在电磁波对致病病毒的灭活效应研究中发现，电磁波可对气溶胶、悬浮液及物体表面的病毒活性造成一定的影响，但效果与其频率、功率以及介质等有一定的关联。且由于病毒转录、复制过程复杂以及易发生变异等特点，电磁波对致病病毒活性的影响主要聚焦于感染性的变化，而关于电磁波对致病病毒复制、转录的影响鲜有研究报道。

2 电磁波灭活致病病毒的作用机制

电磁波灭活病毒的机制研究在不断发展和完善。大部分研究主要将其归于热效应和伴随的非热效应。近来研究报道也提出基于一定参数的电磁波辐射与病毒之间的物理共振效应，可破坏致病病毒的包膜从而实现高效灭活，且相对于热效应和非热效应表现出更高的安全性和环境友好性等，具有较好的研究价值和潜力。

作为灭活病毒的新作用手段，电磁波被诸多科学研究者寄予希望。电磁波突破传统杀毒技术的局限性，灭活致病病毒的低污染性、有效性及高效性等绝佳优点，有望成为未来一种方便、快速、安全及操作性强的优势杀毒技术，为致病病毒的预防、传播和社会防疫工作做出贡献。

关键词：电磁辐射；致病病毒；影响；机制；综述

作者简介：肖 燚，E-mail：yixx999@163.com

通讯作者：赵 黎，E-mail：lillyliz@163.com；彭瑞云，E-mail：ruiyunpeng18@126.com

T20-0007

S波段和X波段微波长期复合暴露对大鼠免疫器官和免疫功能的影响研究

赵 黎，董 霁，姚传福，肖 燚，王 惠，王浩宇，周红梅，彭瑞云

（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：目的 随着微波技术的广泛应用，人们长期处于复杂电磁环境中，对于微波辐射潜在健康风险的担忧日益增长。多数研究仍然聚焦于单一频率电磁辐射的生物学效应及机制，对于微波复合暴露及长期暴露的研究缺乏。本研究探讨S波段微波和X波段微波长期复合暴露对机体免疫器官和免疫功能的影响，为其损伤诊断和防治提供依据。**方法** 96只二级雄性Wistar大鼠随机分为假辐射组（Sham）、S波段微波辐射组（S10）、X波段微波辐射组（X10）和复合辐射组（SX10）（n=24只/组）。分别采用平均功率密度10 mW/cm^{2}的S波段和X波段微波辐射6 min，1次/天，连续辐射30天，复合组采用先S波段微波后X波段微波。于辐射后6 h、7 d、14 d和28 d，采用全自动血细胞计数仪分析外周血细胞数量；酶联免疫吸附检测血清免疫球蛋白（Immunoglobulin，Ig）A、IgM、IgG及补体（Complement，C）3和C4含量；采用多功能液相芯片分析平台检测血清细胞因子表达。苏木素伊红染色和光镜观察脾脏和胸腺组织结构；透射电子显微镜观察脾脏和胸腺超微结构。**结果** 外周血细胞分析结果显示，SX10组外周血中白细胞和淋巴细胞数量于辐射后6 h显著下降（P<0.01）。SX10组血清IgM、IgG和C4于辐射后6 h显著下降（P<0.05）。辐射后6 h，SX10组白介素（Interleukin，IL）-4、IL-10、IL-12p70、肿瘤坏死因子α（Tumor necrosis factor α，TNF-α）和干扰素γ（Interferon，IFN-γ）等均显著升高（P<0.05）。辐射后6 h和7 d，各辐射组大鼠胸腺和脾脏组织淋巴细胞核碎裂。辐射后7 d，各辐射组胸腺和脾脏组织淋巴细胞线粒体空化、嵴断裂等，其中SX10组可见溶酶体堆积。**结论** 10 mW/cm^2 S波段微波和X波段微波长期复合暴露可下调外周血中白细胞和淋巴细胞的数量、免疫球蛋白和补体的分泌等，并造成机体免疫器官（胸腺和脾脏）组织结构损伤，同时，血清细胞因子上调可能参与了机体免疫修复过程。

关键词：微波辐射；复合；长期；免疫功能；免疫器官

通讯作者：彭瑞云，E-mail：ruiyunpeng18@126.com

T20-0008

1.5 GHz微波辐射对大鼠外周血免疫细胞和脾脏组织影响的量效关系研究

董 雾，姚传福，管淑婷，王 惠，王浩宇，周红梅，赵 黎，彭瑞云
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：目的 探讨不同平均功率密度的1.5 GHz微波辐射对大鼠外周血免疫细胞数量、亚群及细胞因子、脾脏等组织结构的影响，明确1.5 GHz微波辐射对大鼠免疫的损伤效应和量效关系。**方法** 二级雄性Wistar大鼠（180±20 g）80只，随机分为4组：假辐射组（Sham）和3个辐射组（L5、L30和L50）。采用1.5 GHz微波，平均功率密度分别为0 mW/cm²、5 mW/cm²、30 mW/cm²和50 mW/cm²，辐射时间为6 min。辐射后6 h、7 d和14 d，采用戊巴比妥钠溶液腹腔注射麻醉大鼠，经腹主静脉采集外周血，分别采用全自动血细胞计数仪检测外周血中免疫相关细胞的数量；采用流式细胞术检测淋巴细胞亚群（B淋巴细胞、T淋巴细胞和NK细胞等）的比例；收集并分离外周血血清，采用多功能液相芯片分析平台检测细胞因子［白介素（Interleukin，IL）-1α、IL-2、IL-4、IL-6、IL-17A和肿瘤坏死因子α（Tumor necrosis factor α，TNF-α）］浓度。采用病理染色和光镜观察脾脏及骨髓的组织结构；采用扫描电子显微镜观察辐射后7 d脾脏组织的超微结构。**结果** 各辐射组外周血淋巴细胞数量于辐射后6 h显著下调（$P<0.05$），于辐射后14 d基本恢复。辐射后6 h的L30组和L50组、辐射后7 d和14 d的L50组，外周血中B淋巴细胞比例显著上调（$P<0.001$），T淋巴细胞比例明显下调（$P<0.01$）；辐射后6 h和7 d，L30组和L50组白介素IL-1α、IL-2、IL-4、IL-6、IL-17A、TNF-α等细胞因子释放增多（$P<0.05$）。微波辐射后6 h和7 d，大鼠脾脏组织可见血管淤血、淋巴细胞核碎裂等，损伤程度与平均功率密度呈正相关，骨髓组织结构未见明显改变。**结论** 1.5 GHz微波辐射可剂量依赖性引起大鼠外周血免疫相关细胞数量紊乱和脾脏组织损伤。外周血淋巴细胞亚群和细胞因子释放异常，可能是机体调节免疫平衡及改善损伤修复的途径之一。

关键词：微波；外周血；脾脏；淋巴细胞；细胞因子

通讯作者：彭瑞云，E-mail：ruiyunpeng18@126.com；赵 黎，E-mail：lillyliz@163.com

T20-0009

CBA法检测非人类灵长类动物细胞因子的验证样本改进

管静怡
（上海益诺思生物技术股份有限公司）

摘要：目的 细胞因子在正常非人类灵长类动物中含量较低，目前刺激细胞来获取足够浓度细胞因子阳性样本的方法有较多不足，本实验旨在简化CBA法（流式液相多重蛋白定量）检测非人类灵长类动物细胞因子的验证样本，以便于高效地使用CBA法检测非人类灵长类动物细胞因子。**材料和方法** TDAR试验（T细胞依赖抗体反应）阳性样本来源为经过KLH（钥孔血蓝蛋白）免疫刺激的动物，直接用含有促凝剂的真空采血管采集动物全血后离心获得的血清即可。选用未经免疫刺激的空白动物血清与TDAR试验阳性动物血清做对比试验，在流式管中先加入混合微球，再分别加入标准品、质控品、TDAR样本，充分混匀后孵育，按照常规操作完成后上机检测。用FCAP Array软件分析标准品、质控品、TDAR样本的流式数据，比较TDAR阳性动物血清样本中5种细胞因子与空白动物血清样本、标准曲线拟合后定量下限的数值。**结果** 以APC为纵坐标和以PE为横坐标作的图，每种微球的APC荧光是不同的，结合不同细胞因子的微球被分在不同的位置。细胞因子含量越高，则对应微球的PE信号值就越高。由流式图结合FCAP Array软件分析的结果可知空白动物血清中的IL-2，IL-4，IL-6，TNF，IFN-γ含量都低于定量下限；TDAR试验动物血清中的IL-2，IL-4，IL-6，TNF，IFN-γ含量都高于定量下限。验证精密度时，对样本重复检测5次的实验结果，得出各类细胞因子的CV值均低于5%。**结论** TDAR试验中阳性样本血清中细胞因子含量均高于标准品定量下限，且精密

度：CV<5%，证明TDAR试验中的阳性样本可作为CBA法检测非人类灵长类动物细胞因子的验证样本，不用进行细胞培养，步骤简单。从而简化了验证样本的获取。

关键词：TDAR试验阳性样本；CBA法

通讯作者：管静怡，E-mail：2290037194@qq.com

T20-0010

干细胞来源细胞治疗产品非临床安全性评价概述：毒性病理学家的考量

闫振龙，张亚群，钱 庄，胡文元，钟小群，胡 静，陈晓俊，李一昊，彭瑞楠，王 娅，
李 慧，葛建雅，缪成贤，吕建军，李 华
（益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通 226133）

摘要：随着细胞治疗产品研发的快速发展，新的干细胞治疗产品不断被开发，但帮助设计非临床安全性评价研究的相关指导性文件相对不足。干细胞治疗产品不仅来源不同，产品安全性因素也不同，存在异位组织形成、不可控生物分布、免疫原性和成瘤性等潜在风险。不同的干细胞治疗产品给非临床安全性研究带来极大挑战。毒性病理学家具有系统生物学、病理学机制和非临床安全性评价试验设计等方面的培训和专业知识。并且在干细胞来源细胞治疗产品的非临床研究数据中，组织病理学评价占据了很大比例。因此，毒性病理学家最适合帮助专题负责人和委托方进行非临床安全性评估研究的试验方案设计，并确保非临床安全性评估研究结果合理地外推至临床试验。其主要包括以下几个方面：第一是种属选择，目前没有默认的动物模型或种属，在生理和解剖学与人体具有相似的动物是优先考虑的种属，且在选择动物时，应考虑预期的临床给药器械和给药方式。第二是组织检查，所有动物和剖检时取材的组织都应进行病理学检查。应根据受试物的作用方式和可能的分布情况，对给药部位和相关引流淋巴结、主要器官（心、肝、脾、肺、肾、脑、骨髓、性腺）、大体病变和其他治疗特异性靶器官或组织的H&E染色切片首先进行组织病理学检查。在进行组织病理学检查时不建议采用“盲检”，应使毒性病理学家充分了解试验组别的相关信息以便全面评估受试物，盲检建议作为评估细微形态学改变时的次要步骤。第三是分组检查，建议使用多个剖检时间点来检查潜在的急性、慢性和/或迟发性毒性，以及毒性的恢复性。虽然在多个时间点处理和检查组织可能会产生额外的成本，但早期时间点的检查结果可用于指导方案变更以减少后续时间点的制片和阅片工作。第四是潜在成瘤性，成瘤性是指细胞接种动物模型后在注射部位和（或）远处转移部位由接种细胞本身形成肿瘤的能力，因此，在观察期结束剖检动物或因动物死亡或其他正当理由的情况下可提前处死动物时，应在接种部位或其他部位（如肝、脾、肺和引流淋巴结）检查接种细胞增殖的大体和组织学证据。并评价任何肿瘤的解剖部位、大小、发生率、形态类型和细胞来源，以确定肿瘤是否包含来自接种的细胞。如果在观察期结束时没有发现进行性生长的肿块，那该细胞系可能不具有成瘤性。

关键词：干细胞；细胞治疗产品；非临床；安全性；评价

T20-0011

SD大鼠免疫复合物性肾损伤模型及检测方法的建立

郑少秋[1,2,3]，缪成贤[3]，李一昊[3]，王 娅[3]，张亚群[3]，侯敏博[4]，陈 焱[3]，王先浩[1,2,3]，
王 明[1,2,3]，吕建军[3]，汪溪洁[4]
（1. 江西中医药大学，江西 南昌 330103；2. 长三角药物高等研究院，长三角药学高等工程学院，
江苏 南通 226133；3. 益诺思生物技术南通有限公司，江苏 南通 226133；4. 上海益诺思
生物技术股份有限公司，上海 201203）

摘要：目的 通过建立大鼠免疫复合物性肾小球肾炎模型及检测方法，为生物技术药物非临床安全性评

价毒性试验免疫复合物性肾损伤提供快速、简便、准确的检测。**方法** 试验通过18只SD大鼠，雌雄各半，分为3个组，即溶媒对照组、模型低剂量组和模型高剂量组，通过阳离子化的牛血清白蛋白（C-BSA）2周预免疫后结合4周正式免疫建立大鼠免疫复合物性肾模型，给药期间进行尿液分析、补体水平检测，终末解剖进行血液学检查、血清生化检查、凝血指标检测，以及对肾脏进行常规组织病理学检查、特殊染色、免疫组化和透射电镜检查等研究。**结果** 模型组动物给药后出现体重下降，且正式给药6周后出现尿蛋白伴有尿微量白蛋白渗出，给药后补体C3a及膜攻击复合物SC5b-9水平上升，解剖后大体发现肾脏、脾脏、肝脏的绝对脏器重量以及脏脑比相对脏器重量增加，临床病理学检查提示部分模型组动物出现高血脂、高胆固醇症状等，组织病理学检查发现模型组肾脏出现肾小球肾炎，镜下表现为肾小球系膜基质和系膜细胞增多，血管壁增厚伴有炎性细胞浸润，通过免疫组化分析发现补体C3和IgG沉积于肾小球毛细血管壁和系膜基质中，透射电镜结果发现模型组足细胞损伤，表现为足突融合。**结论** 成功建立了大鼠免疫复合物性肾损伤模型与检测方法，能够用于进一步探讨生物技术药物导致免疫复合物性肾损伤的发病机制，并为今后生物技术药物非临床安全性评价提供一定参考。

关键词：肾小球肾炎；大鼠；免疫复合物；肾损伤；检测方法

共同通讯作者：吕建军，E-mail：jjlv@innostar.cn；汪溪洁，E-mail：xjwang@innostar.cn

T20-0012

微波辐射对小鼠工作记忆功能及敏感脑区谷氨酸能神经传递的影响研究

姜　琳，宋乐泉，潘俊淼，王　惠，彭瑞云

（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京　100850）

摘要：目的 微波是指频率在300MHz至300GHz之间的电磁波，已被广泛应用于通讯、医疗等领域。脑是微波辐射的重要敏感靶器官，工作记忆作为脑的重要功能可能受到影响，因此本研究建立微波辐射小鼠模型，探讨其工作记忆、敏感脑区组织结构及谷氨酸能神经传递改变，为明确微波辐射损伤生物效应提供依据，为微波暴露人员的辐射防护及干预奠定理论基础。**材料和方法** 采用功率为30mw/cm^{2}微波辐射C57/6N小鼠，于辐射后不同时间点，采用Y迷宫检测其工作记忆能力，HE染色和透视电镜观察敏感脑区组织结构改变，离体脑片多通道电生理检测敏感脑区神经元电活动，光纤记录检测敏感脑区谷氨酸能神经元钙信号改变，免疫荧光检测敏感脑区谷氨酸受体表达变化。**结果** （1）辐射组小鼠Y迷宫自发交替率于辐射后1 h、5 d和7 d显著降低（$P<0.05$）。（2）辐射组小鼠海马和额叶组织于辐射后7 d可见神经元固缩深染；辐射组小鼠海马组织于辐射后1 d（$P<0.01$）和7 d（$P<0.001$）均可见突触后致密物显著增厚，突触间隙模糊，囊泡堆积。（3）辐射组小鼠海马组织离体脑片辐射后即刻平均spike幅值显著降低（$P<0.05$）。（4）辐射组小鼠腹侧海马和内侧前额叶皮层谷氨酸能神经元于辐射后1 h钙活动降低，表现为钙信号曲线下面积显著降低（$P<0.05$）；辐射组小鼠腹侧海马（$P<0.001$）和内侧前额叶皮层（$P<0.05$）NMDAR1表达显著降低，腹侧海马NMDAR2B表达显著降低（$P<0.05$）。**结论** 30mW/cm^{2}微波暴露导致小鼠工作记忆障碍，腹侧海马和内侧前额叶皮层组织结构和功能受损，海马组织同步放电活动降低，腹侧海马和内侧前额叶区谷氨酸能神经元活性降低及NMDAR亚基表达下调。

关键词：微波辐射；小鼠；工作记忆；谷氨酸；腹侧海马；内侧前额叶皮层

通讯作者：彭瑞云，E-mail：ruiyunpeng18@126. com

T20-0013

一例Wistar大鼠垂体细胞瘤的病理学分析

侯敏博，崔甜甜，陈志勇，苏娜瑛，汪溪洁，大平东子
（上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203）

摘要：目的 垂体细胞瘤，来源于神经垂体的神经胶质细胞，在大鼠和小鼠中极为罕见。根据世界卫生组织（WHO）分型，属于I级胶质瘤。通过对两年致癌试验空白对照组中1例雄性Wistar大鼠垂体细胞瘤进行病理学观察及诊断分析，探讨此类病例的诊断要点，从而为药物毒性病理学评价提供参考。**材料方法** 两年致癌试验中一例110周龄雄性Wistar大鼠在终末期安乐死解剖，对其全身组织脏器取出用10%中性福尔马林固定，完成脱水、包埋、切片流程及进行HE染色。对垂体组织切片进行胶质纤维酸性蛋白（glial fibrillary acidic protein，GFAP）和S-100蛋白免疫组织化学染色，结合显微镜检查进行病理学诊断分析。**结果** 该例大鼠无明显的临床观察症状，剖检时未见明显异常。镜检时，低倍镜下可见神经垂体一结节状增生灶，与周围组织界限清楚，压迫周围正常的神经部组织及垂体中间部，未见浸润周围组织或远处转移。肿瘤细胞类似神经胶质细胞，细胞核呈圆形或卵圆形，细胞质丰富呈嗜酸性或空泡状。此外，镜检还可见小胶质细胞样肿瘤细胞。肿瘤细胞分化良好，细胞多形性及核分裂象不明显。可见部分肿瘤细胞呈假菊形团状排列。对垂体组织切片进行免疫组化染色，可见肿瘤细胞GFAP及S-100蛋白呈阳性，确认来源于神经胶质细胞。全身其他脏器均未见肿瘤性病变。**结论** 通过对本案例中的垂体肿瘤组织进行HE染色、免疫组织化学染色及显微镜检查，该例肿瘤诊断特点鲜明，可与垂体远侧部及中间部腺瘤进行鉴别，且发生于空白对照组雄性大鼠，诊断为自发性良性垂体细胞瘤。垂体细胞瘤在大、小鼠中极为罕见，国外至今鲜有报道，国内尚未有相关的病例报道。本病例为国内首例垂体细胞瘤案例报道。

关键词：垂体细胞瘤；大鼠；罕见

通讯作者：侯敏博，E-mail：mbhou@163.com

T20-0014

CB6F1-Tg-rasH2小鼠26周致癌试验中自发性淋巴结血管瘤样增生

何 杨，陈 珂，王 莉，王浩安，邱 爽，胡春燕，岑小波
（成都华西海圻医药科技有限公司）

摘要：目的 观察并统计CB6F1-Tg-rasH2小鼠26周致癌试验中淋巴结血管瘤样增生的发生情况，以丰富CB6F1-Tg-rasH2小鼠自发性病变的数据，为开展新药致癌试验提供背景数据支持。**材料和方法** 200只7~11周龄的CB6F1-Tg-rasH2小鼠随机分为4个组，每组各50只，雌雄各半，低、中、高剂量组分别给予不同剂量的供试品，对照组给予溶媒对照品；皮下注射给药，每天给药1次，连续给药26周。试验结束解剖所有动物，取肠系膜淋巴结、颈淋巴结、腹股沟淋巴结固定于10%中性磷酸缓冲福尔马林固定液中，组织病理学制片及HE染色后，进行显微镜观察。**结果** 显微镜观察发现腹股沟淋巴结和颈淋巴结出现血管瘤样增生，肠系膜淋巴结未见血管瘤样增生。各组发生率较对照组未见明显差异，考虑为自发性病变。其中，腹股沟淋巴结血管瘤样增生总发生率为3.0%（6/200），单组最大发生率为6.0%（3/50），溶媒对照组雌雄小鼠发生率均为1/25，低剂量组雌性小鼠发生率为1/25，高剂量组雌雄小鼠发生率分别为2/25和1/25，其余性别或试验组未见；颈淋巴结血管瘤样增生仅见于高剂量组1只雄性小鼠。本试验中发生的淋巴结血管瘤样增生主要为淋巴管起源，表现为淋巴结及其周围结缔组织中有大小不等的连续腔隙，被覆扁平的内皮细胞，腔内未见红细胞、偶见少量均质淡粉色液体，腔隙间隔增厚、可见增生的纤维组织，被膜呈间断性，部分病例淋巴组织被腔隙分割成几个独立的岛屿状。INHAND（病理变化术语及诊断标准的国际规范）中介绍淋巴结血管瘤样增生是一种老龄性改变，常见于B6C3F1小鼠的肠系膜淋巴结及某些品系大鼠如Wistar；常始发于淋

巴结的髓索和邻近门部的组织，因此被认为可能是输出淋巴管堵塞所致；起源于淋巴管和血管的内皮细胞；通常认为并非血管瘤或血管肉瘤的瘤前病变。CB6F1与B6C3F1小鼠均为C57BL/6小鼠与另一近交品系小鼠杂交后所产生的第一代子代动物，即F1代动物。本试验数据表明由于CB6F1与B6C3F1小鼠存在一定的遗传相关性，均携带C57BL/6的部分遗传基因，推测该病变在CB6F1小鼠亦可能自发。**结论** 淋巴结血管瘤样增生是CB6F1-Tg-rasH2小鼠的一种自发性病变，腹股沟淋巴结的发生率相对较高。

关键词：CB6F1-Tg-rasH2小鼠；转基因小鼠；致癌试验；血管瘤样增生；自发性病变

通讯作者：何　杨，E-mail：yanghe@glpcd.com

T20-0015

老龄大鼠黏液肉瘤案例分析

吴晓倩，侯敏博，严建燕，张苗苗，郭　帅，赵　俊，大平东子
（上海益诺思生物技术股份有限公司）

摘要：背景和目的 黏液肉瘤在动物中非常罕见，仅有少量文献报道在犬、夸特马和叙利亚仓鼠中可见。这是首次报道在老龄大鼠中发现黏液肉瘤的案例。本文目的是介绍大鼠自发黏液肉瘤的形态学特征。**材料与方法** 样本来自于104周致癌试验研究中一例对照组雄性Wistar Han大鼠，第99周发现死亡提前解剖。大体剖检时，胸腔可见4 cm×4 cm×3 cm肿块，质地柔软，与肺脏胸膜、心脏心包膜和横膈膜均有黏连；腹腔可见多个黑红色小结节，与肝脏、胰腺和胃肠道等多脏器黏连。取材常规组织脏器、肿块和结节，固定在10%福尔马林缓冲液中，常规处理，石蜡包埋，3 μm切片装玻片，用苏木精和伊红染色，进行组织病理学检查。肿瘤组织进行PAS染色和阿尔辛蓝（Alcian blue）染色，免疫组化采用波形蛋白（Vimentin）抗体和结蛋白（Desmin）抗体鉴定。**结果** 组织病理学结果显示，肿瘤组织被纤维结缔组织分隔成形态不规则小叶。肿瘤组织具有丰富的无色透明黏液状基质，混含嗜酸性或嗜碱性的丝缕状物质。肿瘤细胞呈梭型或星型，未见明显核分裂象。肿瘤组织侵袭肺脏胸膜、心脏心外膜、主动脉外膜、肝脏被膜和大网膜，具有侵袭性特征。特殊染色结果显示，PAS染色结果显示为阳性，黏液染色为紫红色；Alcian blue染色结果显示为阳性，黏多糖染色为蓝色。免疫组化Vimentin抗体染色结果显示肿瘤细胞为阳性，Desmin抗体染色结果显示肿瘤细胞为阴性。**结论** 根据组织学形态特征、特殊染色结果和免疫组化结果，我们诊断该老龄大鼠的病变为黏液肉瘤，且肿瘤累及多脏器。与黏液瘤相比，黏液肉瘤表现侵袭性特征。这是首次报道大鼠黏液肉瘤案例。

关键词：黏液肉瘤；大鼠；多脏器；首次报道

通讯作者：吴晓倩，E-mail：xqwu@innosatr.cn

T20-0016

大鼠骨组织典型巨细胞瘤一例

张莹莹，侯敏博，顾林峰，王志文，陈云英，大平东子
（上海益诺思生物技术股份有限公司）

摘要：目的 骨巨细胞瘤起源于骨髓结缔组织的间充质细胞，因含有巨细胞而得名。自发性的骨巨细胞瘤罕见于啮齿类动物，相关文献报道极少。本文目的在于报道一例Wistar大鼠自发性的恶性骨巨细胞瘤并描述它的特征，为药物毒性病理学诊断提供参考。**材料和方法** 该病例来自于一项2年致癌性试验对照组雄性Wistar大鼠。在试验第583天，动物由于总体状况不佳，被安乐死并进行解剖观察。按照SOP要求，对其全身组织脏器及肉眼观察异常组织取材，固定于10%的中性缓冲福尔马林溶液中，经过脱水、石蜡包埋、切片以及苏木精伊红（HE）染色。对骨组织肿块制备白片，进行波形蛋白（Vimentin）和α-平滑肌肌动蛋白（α-

smooth muscle actin，α-SMA）免疫组织化学染色，结合显微镜下检查进行病理分析。**结果** 大体剖检时，在左侧肱骨远端干骺端发现一个肿块，大小约为3.0 cm×3.0 cm×2.5 cm，表面皮肤破损，全身其他脏器未见明显异常。组织病理学检查，肿块组织内可见大量的破骨细胞样多核巨细胞和单核基质细胞样肿瘤细胞，呈浸润性生长。破骨细胞样多核巨细胞体积较大，细胞质呈嗜酸性，细胞核数量众多，从数个至数十个，核分裂象未见；单核基质细胞样肿瘤细胞呈梭形或卵圆形，细胞质呈淡嗜酸性，有较为浓染的细胞核。部分单核肿瘤细胞可见核分裂象。肿块中未见明显的骨样组织形成。免疫组化化学染色结果显示，多核巨细胞和单核肿瘤细胞均可见波形蛋白阳性信号，未见α-SMA阳性信号。骨巨细胞瘤需与异物肉芽肿相鉴别，异物肉芽肿内可见异物多核巨细胞、炎症细胞及纤维组织，属于炎症反应。**结论** 根据解剖位置和非常典型的组织学特征，以及免疫组织化学染色结果，本病例诊断为自发性的恶性的骨巨细胞瘤。也是导致该动物死亡的原因。这是Wistar大鼠自发性的恶性骨巨细胞瘤的首次报道。

关键词：骨巨细胞瘤；Wistar大鼠；首次报道

通讯作者：张莹莹，E-mail：yyzhang-3@innostar.cn

T20-0017

一例Wistar大鼠颈部自发性横纹肌肉瘤

李文宇，崔甜甜，侯敏博，严建燕，张丹丹，焦永敏，大平东子
（上海益诺思生物技术股份有限公司）

摘要：背景及目的 横纹肌肉瘤是一种恶性肿瘤，来源于间充质干细胞或横纹肌母细胞，在啮齿类动物中很少发现。本研究主要阐述在两年致癌试验中1例Wistar Han大鼠自发的横纹肌肉瘤的病理诊断特点。**方法** 在两年Wistar Han大鼠致癌试验中1例96周龄雄性大鼠发现濒死，对该动物实施安乐死后进行大体检查。剖检时发现，该动物颈部见一肿块。取材该肿块组织，经10%中性福尔马林固定、石蜡包埋及切片（切片厚度为3 μm），通过苏木精-伊红染色（hematoxylin-eosin，HE）和磷钨酸苏木素（phosphotungstic acid hematoxylin，PTAH）特殊染色，在光学显微镜下对该组织进行组织病理学检查，并采用免疫组织化学肌红蛋白染色作为辅助诊断。**结果** 大体检查可见该动物颈部一大块结节状肿块，质地坚实，呈卵圆形，不可活动，大小约为3 cm×3.5 cm×2 cm。在光学显微镜下检查时可见异型性增生的肿瘤组织与周围组织界限不清，呈浸润性生长，并侵袭周围正常骨骼肌组织。肿瘤组织中可见大面积的坏死灶，同时伴有出血。肿瘤细胞分化程度较低，可见不同形态的横纹肌母细胞；细胞呈多形性，有梭型、小圆形及椭圆形等多种细胞形状。肿瘤细胞细胞质呈嗜酸性，有的肿瘤细胞可见横纹。肿瘤细胞核深染，呈圆形或椭圆形，也可见多核、奇异核或巨核瘤细胞。病理性核分裂象多见。肿瘤细胞PTAH特殊染色结果显示阳性，免疫组织化学染色结果显示肌红蛋白阳性。**结论** 根据组织病理学形态特征，并结合PTAH特殊染色结果及免疫组织化学结果分析，该肿瘤诊断为自发性横纹肌肉瘤。病理形态学特征典型，可以为毒性病理学诊断提供参考。

关键词：横纹肌肉瘤；大鼠；颈部

通讯作者：李文宇，E-mail：my15250997355@163.com

T20-0018

2.8GHz和9.3GHz微波复合暴露对免疫系统影响的靶点研究

姚传福，孙 柳，任 可，王 惠，王浩宇，董 霁，张 静，徐新萍，姚斌伟，周红梅，赵 黎，彭瑞云
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：目的 探讨2.8GHz和9.3GHz微波复合暴露对大鼠免疫系统的损伤效应及敏感靶标，为微波暴露

致机体免疫损伤防治提供依据。**方法** 将80只雄性Wistar大鼠随机分为假辐射组(Sham)、2.8GHz微波暴露组(S)、9.3GHz微波暴露组(X)和微波复合暴露组(SX),各频段暴露时间均为6 min。于微波暴露后6 h、7 d、14 d和28 d分别采集外周血并分离胸腺和脾脏,利用血细胞自动分析仪检测血细胞数量和比例,光镜和电镜观察胸腺和脾脏组织和超微结构,流式细胞仪分析外周血淋巴细胞亚群比例,Luminex试剂盒分析血清细胞因子含量,对外周血和脾脏进行转录组和蛋白质组分析。**结果** (1)辐射后7 d,S组、X组和SX组胸腺和脾脏可见组织淤血和淋巴细胞核碎裂,以SX组更为严重。(2)辐射后7 d,S组和X组可见染色质浓缩、边移,线粒体肿胀、空化;SX组染色质浓缩碎裂、消失,胞质内细胞器崩解消失。(3)辐射后7 d,SX组白细胞和淋巴细胞数量增加($P<0.001$)。(4)辐射后6 h和7 d,各辐射组B淋巴细胞比例升高($P<0.05$),T淋巴细胞比例降低($P<0.05$);CD4/CD8 T淋巴细胞比值在辐射后7 d下降($P<0.05$)。(5)X组和SX组IL-1α、IL-1β和IL-4浓度在辐射后6h增加($P<0.05$),S组IL-12和IFN-γ在辐射后6 h降低($P<0.01$)。(5)SX组外周血DEG最多,Il17ra、Pglyrp1、Wa、Atic、Sept1、Mal、Ahcy和Nxf1验证结果一致。外周血DEG参与免疫系统、生物调节和代谢等免疫调节过程,参与B细胞受体信号通路、内吞作用、toll样受体信号通路和抗原处理呈递等免疫信号通路。(6)SX组外周血DEP最多,外周血Camk1、Cast、Napsa和Stk26验证结果一致。外周血DEP参与细胞趋化性、吞噬和自然杀伤细胞脱颗粒等免疫过程,参与B细胞受体、toll样受体和抗原处理呈递等免疫信号通路。(7)SX组脾脏DEG最多;脾脏Kiaa0408L、Dnaja1、Zbtb16和Sowahb等验证结果一致。SX组脾脏Serpine1、Mal、Ahcy和Nxf1等免疫应答基因降低。(8)X组脾脏DEP最多,质谱验证Timm8b、Crb3、Fth1和Napsa结果一致。脾脏DEP参与葡萄糖代谢、B细胞凋亡负调控和T细胞能量负调节等免疫过程,参与甘油磷脂代谢、胆固醇代谢、TGF-β和toll样受体等代谢和免疫信号通路。**结论** 2.8GHz和9.3GHz微波复合暴露可导致小鼠胸腺和脾脏结构功能损伤;外周血和脾脏转录组学和蛋白质组学显示DNA复制、细胞代谢和信号转导的改变可能与微波诱导的免疫激活有关。

关键词:微波; 复合暴露; 免疫系统; 生物效应; 转录组学; 蛋白质组学

通讯作者:彭瑞云,E-mail:ruiyunpeng18@126.com;赵 黎,E-mail:lillyliz@163.com

T20-0019

小鼠放射性心脏损伤的病理变化研究

姜一帆, 牛世英, 丛昌盛, 孙美丽, 张月英

(1. 山东第一医科大学(山东省医学科学院)临床与基础医学院病理生理学系, 山东 济南 250117;
2. 山东第一医科大学附属济南市中心医院肿瘤科, 山东 济南 250117)

摘要: 全球癌症患病率不断增长,放疗已成为胸部肿瘤(例如肺癌、食管癌、乳腺癌和纵膈淋巴瘤等)的主要治疗方法,但它在杀灭肿瘤细胞的同时,也对机体的心脏功能造成一定的损害。目前放射诱发性心脏病(radiation induced heart disease,RIHD)是胸部肿瘤患者放射治疗后死亡的原因之一。放射线可导致心脏微血管内皮细胞损伤、炎症反应、氧化应激和纤维化等多种病理过程,进而导致线粒体损伤和内质网应激,并能加速血管动脉粥样硬化的发生,促使冠状动脉疾病、心肌病变、瓣膜病变、心包病变及心律失常的发生。因此,本研究就放射性心脏损伤的病理变化进行研究。**目的** 通过对小鼠胸部进行不同剂量X线照射,探讨胸部放射引起小鼠心脏损伤的病理变化。材料和**方法** 75只C57BL/6小鼠,采用6MV的X射线对小鼠进行单次胸部照射,照射位置在头部以下,剑突以上,剂量率为2Gy/min,按照不同照射剂量随机分为5组:Control组:15只小鼠,不作任何处理;8Gy照射组:15只小鼠,小鼠胸部一次性接受8Gy射线照射,其余条件同Control组相同;12Gy照射组:15只小鼠,小鼠胸部一次性接受12Gy射线照射,其余条件同Control组相同;16Gy照射组:15只小鼠,小鼠胸部一次性接受16Gy射线照射,其余条件同Control;20Gy照射组:15只小鼠,小鼠全胸部一次性接受20Gy射线照射,其余条件同Control组相同。照射后,14天,解剖取材固定,采用HE染色法观察的各组心脏病理改变。**结果** 随着照射剂量的心脏损伤发生率逐渐升高;HE染色结果显

示，放射性损伤主要表现为渗出性心包炎，心肌间质有炎症细胞浸润，血管扩张充血明显。**结论** 胸部照射剂量越大，心脏放射性损伤发病率越高，损伤越严重。

关键词：放射性心脏损伤；毒性损伤；病理变化

通讯作者：张月英，E-mail：zhangyueying828@126.com

T20-0020

不同功率密度2.856 GHz微波辐射对iPSC-CM活性和电传导的影响研究

尹 玥，徐新萍，李大雁，张 静，彭瑞云
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所）

摘要：目的 微波辐射在生活中无处不在，心脏作为微波辐射损伤的靶器官之一，受到广泛关注。心脏是电活动最丰富的器官之一，对辐射后心脏电传导功能的研究是今后重要的研究方向。人多能干细胞诱导分化的心肌细胞（iPSC-CM）作为一种来源于人且具有自主搏动特性的细胞，是心脏电生理研究的最佳细胞模型。因此本研究采用iPSC-CM建立微波辐射损伤模型，探讨微波辐射对细胞活性和电传导功能的影响，为微波辐射致心脏损伤机制的研究奠定基础。**方法** 采用平均功率密度为0（对照组）、30（S30组）和50 mW/cm^2（S50组），频率为2.856 GHz的微波辐射系统对iPSC-CM进行辐射，每次30分钟；采用流式细胞术对辐射后的iPSC-CM活性进行检测；采用电生理标测系统和64通道薄膜电极，对辐射前、辐射后即刻、1小时、2小时、3小时、6小时和1天，对iPSC-CM表面场电位进行检测，对iPSC-CM搏动频率、幅度和传导速度等指标进行观察。**结果** 辐射后，与对照组相比辐射组死细胞数量增多，细胞活性显著下降（$P<0.01$）。辐射前，细胞搏动频率为（72.8±22.4）BPM；辐射后，连续检测6个时间点的细胞电传导情况，发现S30组细胞的搏动频率呈先下降后上升的趋势，且辐射后即刻（$P<0.001$）和1小时（$P<0.01$）搏动频率显著下降，辐射后即刻搏动频率最低，为（44.1±7.2）BPM，1小时开始恢复，搏动频率为（52.1±10.3）BPM。S50组细胞搏动频率呈先下降后上升的趋势，辐射后即刻搏动频率最低，为（42.9±6.8）BPM，之后恢复。辐射后即刻，细胞搏动幅度与辐射前无差异，于辐射后1小时下降，之后呈恢复趋势。辐射后即刻，电传导速度减慢，2小时后逐渐恢复。**结论** 2.856 GHz微波辐射造成iPSC-CM活性降低，死细胞数量增多；细胞电传导功能紊乱，表现为搏动频率和幅度降低以及电传导速度减慢。

关键词：微波辐射；iPSC-CM；搏动频率；电生理

通讯作者：张 静，E-mail：zhang115614@163.com；彭瑞云，E-mail：pengry@bmi.ac.cn

T20-0021

Hsp72在微波辐射致大鼠心脏毒性病理损伤中的表达和意义研究

李大雁，徐新萍，尹 玥，石浩宇，张 静，彭瑞云
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：目的 研究Hsp72变化在长时程微波辐射致心脏损伤中的作用，为损伤机制研究提供新思路。

方法：本研究采用Wistar雄性大鼠50只（200±20g），随机分为对照组（C）和辐射组（R），R组接受2.856GHz，30mW/cm^2，35 min微波辐射，C组除不接受辐射其余处理相同。于辐射后1 d、7 d、14 d和28 d，采用多导生理记录仪分析观察心率、P波、T波和R波的变化；全自动生化分析仪检测外周血清CK-MB和HBDH活性，K^+、Na^+、Ca^{2+}和Cl^-浓度；采用光镜和电镜观察大鼠心脏组织结构和超微结构；采用免疫印迹和免疫荧光实验分析大鼠心脏组织中Hsp72表达和分布的变化。**结果** 1. 辐射后1 d，心率显著升高（$P<0.01$），心电图的P波波幅显著升高（$P<0.01$），P波时限和T波波幅显著降低（$P<0.05$），K^+、Na^+、Ca^{2+}和Cl^-含

量显著降低（$P<0.05$或0.01）；辐射后7 d，心率显著升高（$P<0.01$），心电图的P波和R波波幅显著升高（$P<0.05$），P波时限和T波波幅显著降低（$P<0.05$或0.01），Ca^{2+}浓度显著升高（$P<0.01$），Cl^-浓度、CK-MB和HBDH活性显著降低（$P<0.05$或0.01）；辐射后14 d，心率显著升高（$P<0.05$），Ca^{2+}浓度显著升高（$P<0.05$），Cl^-浓度显著降低（$P<0.05$）；辐射后28 d，两组无显著差异（$P>0.05$）。2. 心脏组织结构在辐射后1 d出现损伤，光镜下可见：心肌纤维排列紊乱，细胞核固缩深染；电镜下可见：心肌纤维模糊溶解，Z线不清，线粒体结构不清甚至空化，核周间隙增宽；7 d损伤加重，光镜下细胞核固缩深染成片，电镜下心肌纤维节段性溶解，28 d损伤恢复。3. 辐射后1 d和7 d，Hsp72表达显著升高（$P<0.05$或0.01），免疫荧光实验阳性信号呈红色，弥漫性分布于胞核和胞质，辐射后14 d和28 d，Hsp72表达无显著差异。**结论** 30 mW/cm^2，35分钟S波微波辐射可致大鼠心脏功能异常，结构变化显著，并出现热应激损伤，上述损伤可能是热效应和非热效应的共同作用造成。

关键词： 微波辐射；心脏；电生理；毒性病理；Hsp72

通讯作者： 张　静，E-mail：zhang115614@163.com；彭瑞云，E-mail：ruiyunpeng18@126.com

T20-0022

96%唑菌酯原药对SD大鼠的重复经口90天毒性研究

吴国峰，郑洪楠，姜海娇，孙婷婷，矫　健，秦　雯，邢立国，姚宝玉
（沈阳沈化院测试技术有限公司，国家沈阳新药安全评价研究中心）

摘要：目的 研究96%唑菌酯原药对SD大鼠90天经口饲喂毒性，为慢性毒性、致癌研究提供剂量选择参考。**方法** 120只SD大鼠，随机分为四个剂量组，对照组和高剂量组每组40只动物，低中剂量组每组20只动物，雌雄各半。剂量浓度为0ppm、10ppm、50ppm、250ppm，连续饲喂给药90天，恢复期28天，分给药末和恢复期解剖两次解剖。**结果** 在250ppm剂量下，雌雄大鼠大便松弛，体重增长受到不同程度的抑制，摄食减少，食物利用率降低，进而导致动物抓力下降及脏器重量不同程度的降低，肝脏蛋白质合成代谢障碍，恢复期后动物症状开始恢复；因此96%唑菌酯原药对大鼠的重复经口90天毒性研究的无作用剂量（NOAEL）为50 ppm，转化为摄入浓度，雄：3.7±0.2mg/kg·bw，雌：4.1±0.4mg/kg·bw。

关键词： 唑菌酯原药；大鼠；90天重复经口毒性研究

通讯作者： 吴国峰，教授级高级工程师，主要从事农医药及化学品毒性病理研究，E-mail：wuguofeng1@sinochem.com

T20-0029

Sappanone A alleviates the severity of hepatotoxin-induced liver fibrosis in mice via regulating M1/M2 macrophage polarization

Zixiong Zhou, Lanqian Li, Xueqing Yan, Wenxi Hua, Jing Qi
(Department of Pathology and Institute of Oncology, Department of Biochemistry and Molecular Biology, the School of Basic Medical Sciences, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian, China)

Abstract: Background Liver fibrosis is a major challenge of global health because of its various complications including cirrhosis and hepatocarcinoma, while no effective treatment is available for liver fibrosis. Sappanone A (SA) is a homoisoflavonoid extracted from the heartwood of Caesalpinia sappan Linn. with anti-inflammatory and antioxidant properties. However, the effects of SA on hepatic fibrosis

still remain elusive. **AIM** This study aimed to investigate the protective effects of SA on carbon tetrachloride (CCl_4)-induced liver fibrosis in mice. **MATERIALS and METHODS** To establish a liver fibrosis model, mice were treated intraperitoneally (*i.p.*) with CCl4 for 4 weeks. SA (25, 50, and 100 mg/kg) was *i.p.* injected every other day during the same period. **RESULTS** Our data indicated that SA decreased liver injury, fibrotic responses, and inflammation due to CCl4 exposure. Consistently, SA reduced oxidative stress and its-mediated hepatocyte death in fibrotic livers. Of note, SA could not directly affect the activation of hepatic stellate cells. Mechanistically, SA down-regulated the expression of M1 polarization markers and up-regulated the expression of M2 polarization markers in livers and macrophages. Meanwhile, SA induced the activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ). However, decreased inflammatory responses and the trend of M2 macrophage polarization provided by SA were substantially abolished by SR202 (a PPARγ inhibitor) treatment in macrophages. Additionally, SA treatment promoted fibrosis regression. **CONCLUSION** Taken together, our findings revealed that treatment with SA alleviated CCl_4-induced fibrotic liver in mice through suppression of hepatic inflammation by PPARγ-mediated M1/M2 macrophage polarization. Thus, SA might pave the way for the new hepatoprotective agent to treat liver fibrosis.

Key words: Liver fibrosis; inflammation; PPARγ; M2 polarization; Sappanone A

Corresponding author: Jing Qi, Ph.D., qijing2020@fjmu.edu.cn

类器官在毒理学与药物研发中的应用展望

曹晓东，高甜，杜晓鹂*

（内蒙古医科大学药学院内蒙古医科大学GLP中心 010018）

摘要：美国总统拜登于2022年12月底签署法案，批准在美上市的新药可不进行动物实验。在经历80多年药品安全监管之后，这可能是一个新药研发中与实验动物的重大转变。美国政府在政策方面为开发减少、替代实验动物的方法提供了有力支持。

类器官是一种体外培养的、由干细胞分化而来的自分化三维细胞团，拥有对应组织器官的细胞类型和类似空间结构，并且能够模拟组织器官的部分功能。自2009年Hans Clevers课题组首次培养出肠道类器官被建立以来，类器官领域呈现快速发展趋势，2013年Science杂志将类器官列入年度十大科学突破，2017年Nature Methods杂志将类器官评选为年度技术。2019年，被The New England Journal of Medicine杂志评价为成为优良的人类临床前疾病模型。目前已成功建立了多种组织类器官，包括胃肠道、食管、肝脏、脑、胰腺、肺、乳腺和肾脏，以及结肠癌、前列腺癌、胰腺癌、食管癌、脑胶质瘤等多种肿瘤类器官模型，这对于新药研发和药效学研究均有巨大意义。

类器官在毒理学与药物研发过程中有巨大优势1、与细胞培养相比，类器官是自分化细胞团，可体现组织的微小结构，其3D结构更能模拟器官的组织结构，对药物的反应更接近动物整体反应，例如肝脏类器官中可观察到肝细胞和空心管样结构的胆管细胞，肠类器官可观察到肠绒毛样结构；2、类器官没有伦理学的约束，在应用上不会涉及医学伦理或动物伦理，使其使用范围更加广泛；3、类器官符合“3R”原则，类器官与动物模型相比，在培养时间和管理成本等方面均有巨大优势，在毒理学与新药研发中可以帮助企业节省研发经费，减少研究时间，提高研究效率；类器官芯片在毒理学研究与新药研发中有高通量、高效率的特点，可快速筛选药物。

类器官在药物研发中也有一定的局限性，机体是一个有机的整体，药物在体内的作用是多系统、多组织、多细胞参与的，类器官无法体现整体与药物的代谢过程，缺乏功能性的血管系统、神经系统或免疫系统，类器官模型与传统模型相比仍处于摸索阶段，其异质性、稳定性、重现性、可扩展性、标准化和结构和功能限

制等问题是摆在类器官前面亟待科学家们解决的。

通讯作者：杜晓鹂，E-mail：caoxiaodong0105@163.com

药物S086对原发性高血压SHR大鼠脏器损伤改善作用的评价研究

巢琳琳[1]，刘文亮[1#]，邢　伟[2]，肖　瑛[2]，刘　尧[1]，孙晶超[2]，颜　杰[2*]，金　毅[1*]
（1. 深圳市药品检验研究院（深圳市医疗器械检测中心），深圳　广东；2. 深圳信立泰药业股份有限公司，深圳　广东）

摘要：目的　评价药物S086对原发性高血压SHR大鼠脏器损伤的改善作用。**材料与方法**　使用WKY大鼠（阴性对照组，G1）和SHR大鼠模型组（G2），SHR大鼠给予不同剂量的S086，分别为低、中、高剂量组（G3、G4、G5）和三个阳性药对照组（G6、G7、G8）；取心、主动脉、肝、肾、脑、眼球、哈氏腺等组织。经10%福尔马林固定后，石蜡包埋，制作HE，Masson及PAS染色切片，观察组织病理学改变，进行半定量或定量分析。**结果**　1、心脏心尖部、心室肌、室间隔及肉柱（横切面）心肌细胞变性坏死及间质炎细胞浸润，G1未见心肌细胞明显变化，G2可见心肌细胞中等程度为主的变性坏死和间质炎细胞浸润。G3，G4，G5与G2比较，病变程度均较明显改善，G4的改善有统计学意义，改善效果最佳。心尖部、心室肌、室间隔及肉柱（横切面）纤维化，相较于G1的心尖部轻微纤维化为主的病变，G2主要为重度的纤维化病变。G4和G5有改善趋势，其中G4优于G8；主动脉根部的心室纤维化，相较于G1的轻度病变，G2以重度纤维化为主。G3、G4、G5与G2比较有明显改善，G4和G5具有统计学意义。2、主动脉弓和根部内膜相比于G1的部分病例可见轻微至轻度病变，G2显著加重，绝大多数病例为重度病变。与G2相比较，G4和G5均有显著改善，具有统计学意义，有量效关系；中膜相比于G1的少数病例可见轻微病变，G2显著加重，绝大多数病例为重度病变。与G2相比较，G3和G5有显著改善，G5优于G8。腹主动脉内膜及中膜细胞外基质病变的改善可见于G3，G4和G5，有统计学意义，且有量效关系。3、肾脏G2病变程度以重度病变为主，与G1具有显著性差异。相较于G2，G3、G4及G5有较明显改善，具有统计学意义，部分病例可见集合管矿化灶。尿液白蛋白检测结果显示，各组变化趋势与组织病理学结果相似，G3、G4、G5组有量效关系。4、肝脏G1的肝脏可见轻微脂肪变性及间质炎细胞浸润。G2可见较多明显的变异灶，与G1比较，具有显著差异。相比于G2，G3、G4及G5的较大变异灶的数量减少、程度减轻的趋势，有量效关系。**结论**　S086在心脏，主动脉，肾脏以及肝脏的组织学病变具有不同程度的改善作用，其中，多个指标与疾病模型组比较，其改善作用具有统计学上的显著差异，部分指标具有剂量依赖性。组织病理学结果与多个血压指标及尿液白蛋白指标的改善基本一致。

关键词：自发性高血压；脏器损伤；病理学评价。

基金项目：国家重点研发计划（2021YFF0702200）；国家重点研发计划（2021YFF0702204）；广东省药品监督管理局实验病理学重点实验室（2020DZB11）；深圳市科技计划资助（KQTD20200820151701004）；广东省心血管药物研发企业重点实验室（2018B030323012）

GLP环境下2种常用抗凝剂血浆与SD大鼠血清肝功能、肾功能、心肌酶、血糖、血脂结果的比较

陈志森，周志恒，戴锦龙，郭健敏*，杨　威*
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东　广州　510990；2. 广州湾区生物医药研究院，广东　广州　510990）

摘要：目的　探讨EDTA-K2和柠檬酸钠抗凝血浆与血清肝、肾功能、心肌酶、血糖血脂指标的结果差异。

材料和方法 采用29-30周龄SD大鼠20只，体重范围在120~150g，动物经过麻醉后，腹主动脉采血，分别采用EDTA-K2抗凝制备血浆和柠檬酸钠抗凝制备血浆与不加抗凝剂制备血清，制备后1小时内分别在日立7180型全自动生化分析仪上检测AST、ALT、ALP、GGT、LDH、TBIL、DBIL、CK、ALB、TP、UREA、CREA、GLU、TCHO、TG、Ca、P、Na、K、CL指标，检测后对检测结果进行比较和评价。**结果** （1）EDTA-K2抗凝制备血浆与20项血清结果比较AST、ALT、TBIL、ALB、TP、CREA、UREA、P、TCHO、TG、GGT、CK指标结果比较差异无统计学意义（P>0.05）；而ALP、LDH、DBIL、CA、GLU、NA、K、CL指标结果比较差异有统计学意义（P<0.01或P<0.05）。（2）柠檬酸钠抗凝制备血浆与20项血清结果比较，GGT、DBIL、GLU、TG（P>0.05）指标结果比较差异无统计学意义（P>0.05）；ALP、AST、ALT、LDH、TBIL、CK、ALB、TP、UREA、CREA、TCHO、Ca、P、Na、K、CL指标结果比较差异有统计学意义（P<0.01或P<0.05）。**结论** 从实验结果可以得出，EDTA-K2抗凝制备血浆与血清比较，AST、ALT、TBIL、ALB、TP、CREA、UREA、P、TCHO、TG、GGT、CK指标可以使用血浆进行检测；而柠檬酸钠抗凝制备血浆与血清比较，GGT、DBIL、GLU、TG指标可以使用血浆进行检测。

关键词： EDTA-K2抗凝血；柠檬酸钠抗凝血浆；血清

基金项目： 广州市基础与应用基础研究项目（202002030249）；广东省重点领域研发计划“新药创制”重点专项（2019B020202001）

通讯作者： 郭健敏，Tel：13602461030，（020）87998656，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com；杨 威，Tel：18928860179，（020）87998690，E-mail：yangwei0719@163.com

ICR小鼠自发性淀粉样变与心房血栓的相关性研究

姜海娇，吴国峰，郑洪楠，孙婷婷，彭恺悦，刘千辉，李宇恒，庞惠萍，矫 健，江田景，姚宝玉
（沈阳沈化院测试技术有限公司）

背景和目的 在ICR小鼠的毒性病理学评价过程中，单个或累及多个脏器的淀粉样变和心脏心房血栓可作为自发性病变被观察到，心房血栓亦可作为一种毒性相关的病理学改变而发生，心房血栓常引起动物死亡，本研究的目的是阐明系统性淀粉样变与心房血栓发生之间的关系，为毒性病理学评价过程中的毒性判断提供参考依据。**材料和方法** 雄性和雌性ICR小鼠均来自于沈阳沈化院测试技术有限公司安全评价中心所进行的致癌试验中的对照组动物，包括试验进行中死亡的动物和试验结束时安乐死的动物，对其背景性病变进行组织病理学诊断，并对雄性和雌性动物的系统性淀粉样变（累及脏器等于或大于3个）和心房血栓发生率进行统计，采用SPSS17.0软件对二者发生的关联性进行x^2检验。**结果** 在800只（雄性和雌性各400只）动物中，系统性淀粉样变平均发生率为15.6%（雄性19%，雌性12.3%），心房血栓平均发生率为2.6%（雄性4.3%，雌性1%），二者病变均发生的发生率为2.1%，经统计学x^2检验，结果为上述两种病变的发生密切相关（P=0.000）。**讨论和结论** 系统性淀粉样变作为ICR小鼠常见的自发性病变，其发生可影响多个重要脏器的功能，受累的常见脏器包括肝、肾、脾等，亦可累及心血管系统（包括血液）。心房血栓为一种致死性的病理改变，化学物质亦可导致心房血栓的发生，自发性的和化学诱导的血栓均主要发生在左心房，不能从发生部位上进行判断。本研究发现上述两种病变的发生呈高度正相关，系统性淀粉样变可影响心脏血栓的发生，这为判断心房血栓是毒性相关病变还是自发性病变提供鉴别依据。

关键词： ICR小鼠；淀粉样变；心房血栓；相关性；毒性病理改变

通讯作者： 姜海娇，E-mail：jianghaijiao@sinochem.com

适配不同标准的病理扫描仪技术研究与转化

黄 强[1*], 邝国涛[1], 刘文亮[2], 关 添[3], 刘 尧[2], 何永红[3], 金 毅[2*]
（1. 深圳市生强科技有限公司，深圳 广东；2. 深圳市药品检验研究院（深圳市医疗器械检测中心），深圳，广东；3. 清华大学深圳国际研究生院 生物医药与健康工程研究院，深圳 广东）

摘要：目的 以动物组织脏器的病理切片为样本，自主研发能适配不同标准的更高速、高清晰的病理数字化技术和产品转化。**材料和方法** 利用动物组织脏器的石蜡切片进行常规HE染色，MASSON、PAS、天狼猩红等特殊染色及免疫组织化学染色。制作不同大小的动物组织的切片，以便研究智能化准确识别及扫描不同大小的范围和区域病理玻片样本。切片扫描的玻片检测系统，识别系统等设备。**结果** 1、扫描技术及仪器研发主要分为4部分，（1）玻片检测系统：利用高精度3D传感器，对玻片进行全景位置检测记录，并实时将3D图像及位置坐标传送至处理中心，相应仪器模块根据处理结果同步进行精准匹配定位跟随，保证玻片夹取并放置到扫描台，正常进行扫描成像。（2）玻片类别及样品区域自动识别算法：开发一套自动识别玻片类别区域算法，设备可根据识别类别进行样品区域识别、逐视野扫描。（3）高精密运动控制平台研究：将双夹爪模块搭配四工位的双载物台，使仪器一直保持在工作的状态，提高玻片的扫描速度。（4）本设备利用无限远明场多视野动态扫描成像，获取原始图像拼接成一张全景高质量数字图像。该仪器专用于动物病理切片扫描成像，具有高稳定性、高速、高通量、高清晰等优点，做到实时扫描、实时诊断。可从一张宏观图像浏览，点击跳到任意位置、任意倍率，观察动物样品细节。2、该项高速高清晰的动物病理数字化设备的技术指标处于世界领先水平，具有以下指标，（1）玻片外观适配准确率达到95%以上；（2）玻片类别自动识别准确率达到98%以上；（3）玻片样品区域扫描范围误差低于2%；（4）双工位同时采集，一天24小时扫描切片数量>3000；（5）20倍物镜下，扫描分辨率≦0.215μm/pixel，扫描速度<20s/片；40倍物镜下，扫描分辨率≦0.109μm/pixel，扫描速度<40s/片。**结论** 实现了优于原有病理数字化技术的病例切片扫描仪，将极大地促进临床动物病理的应用推广，助力药物非临床研究，提高动物及人类临床疾病的病理学诊断效率，对动物健康和人类科学研究具有重要意义。

关键词： 数字化病理；病理染色；病理切片；区域识别算法

基金项目： 国家重点研发计划（2021YFF0702200，2021YFF0702204）；广东省药品监督管理局实验病理学重点实验室（2020DZB11）；深发改【2015】1935号 深圳市未来产业专项资金2015-2020重20150188：基于藻类叶绿素荧光检测传感器的研发（JSGG20150929095847107），

作者简介： 黄 强，工程师，博士，主要从事生物医学工程、精密生命科学光学仪器等，E-mail：18680337595@163.com

通讯作者： 金 毅，E-mail：dingxiangshu2010@163.com

微波辐射对血睾屏障及紧密连接蛋白的影响研究

李艳阳，姚斌伟，门俊琦，赵 黎，王浩宇，张 静，王 惠，徐新萍，董 霁，彭瑞云*
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：目的 睾丸是微波辐射敏感的靶器官之一，血睾屏障紧密连接完整性对于精子发生过程至关重要。一定剂量的微波辐射可致睾丸组织损伤，发生机制与血睾屏障紧密连接损伤密切相关。观察不同剂量S波段微波辐射致血睾屏障紧密连接损伤效应，为研究微波辐射损伤机制以及防护措施提供实验依据。**方法** 采用S波段2.45GHz微波辐射TM4细胞，分为4组，分别为0、16、33、50W/kg辐射组，辐射时间30min，对照组采用相同处理方法，但不予暴露。微波辐射后1h采用细胞无损实时检测系统，实时检测细胞跨上皮电阻值（Trans-Epithelium Electrical Resistant，TEER），差值比较法分析微波辐射后对照组与辐射组TEER的关系；微波辐射后1h提取蛋白，采用蛋白质免疫印迹试验（Western Blot，WB）和免疫荧光检测紧

密连接蛋白claudin-11、JAM表达量和表达位置变化。**结果** (1)微波辐射后16、33、50 W/kg组TEER下降(P<0.05或P<0.01),具有剂量效应关系。(2)50W/kg组辐射后5 h TEER显著下降,16、33W/kg组7-9h TEER显著下降,具有时间剂量效应关系。(3)16、33、50W/kg微波辐射后,claudin-11和JAM蛋白表达量下降(P<0.05或P<0.01),具有剂量效应关系。**结论** 16、33、50W/kg S波段微波辐射可致小鼠血睾屏障紧密连接破坏;此改变与紧密连接蛋白claudin-11和JAM下降有关。

关键词: 微波辐射; 血睾屏障; 跨上皮电阻; 紧密连接蛋白

作者简介: 李艳阳,湖北襄阳,硕士,主要从事电磁辐射生殖损伤与防护,E-mail:lyy547152380@163.com

通讯作者: 彭瑞云, 研究员, E-mail: ruiyunpeng18@126.com

聚乳酸(PLA)肌肉植入试验的研究

臧德跃, 林柏佑, 袁丽欣, 王尔一, 徐炜区, 蓝 天, 刘 尧, 刘文亮, 金 毅, 王书晗
〔深圳市药品检验研究院(深圳市医疗器械检测中心)〕

摘要:目的 聚乳酸(PLA)是一种可降解的医用高分子聚合物材料,具有良好的医用前景,然而其生物相容性及可降解性的检验检测方法尚未见报道。本研究采用PLA植入家兔背部肌肉的方法,探讨其植入后组织反应及相容性。**材料方法** 将聚乳酸制备成1.6 mm×10 mm棒状,对照品采用1.0×10 mm的高密度聚乙烯棒,选择12只新西兰白兔,分别将样品和对照品分别植入到脊柱旁肌两侧,每只兔子各植入3个样品和3个对照,植入物间隔2.5cm左右,植入后1周、4周和12周安乐处死。取植入部位肌肉后甲醛固定用于病理织织学检查,按照GB/T 16886.6标准要求进行大体观察、镜下观察炎性细胞及组织增生等反应,半定量计分后判定样品的刺激反应程度。**结果** 聚乳酸(PLA)植入1周后炎性反应及组织增生较对照品严重,可见大量的以嗜异性粒细胞浸润,大量新生血管形成。植入4、12周炎性反应及组织增生与对照品相似,在植入部位除嗜异性细胞浸润外,还可见脂肪浸润。植入12周后,样品形状发生改变,周围形成紧密的一层结缔组织膜。**结论** 样品在植入1、4周后,未发现明显的形状变形等,表明其还未开始降解,植入12周后,样品已开始降解,但未完全降解,属于降解初期阶段,有研究发现聚乳酸在植入体内后其稳定性可持续6周左右,如要进一步研究其完全降解过程相容性,需延长植入的周期。12周病理学检查时,将样品从肌肉中取出时会对肌肉组织造成一定的破坏,镜下可见撕扯碎片等,对于不能取出的样品或者是与组织结合紧密的样品,可选用硬组织切片技术,以保证植入物与原有组织的形态结构,更能客观评价出样品对组织的反应情况。常规的HE染色,对于新生纤维组织定性及新生血管等评价不是很全面,如能增加Masson染色以及免疫组化等方法,则能全面评价其组织反应及相容性。

关键词: 医疗器械; 聚乳酸(PLA); 高密度聚乙烯; 肌肉植入; 组织病理学

基金资助: 国家重点研发计划(2021YFF0702204); 国家重点研发计划(2021YFF0702204);广东省药品监督管理局实验病理学重点实验室(2020DZB11);广东省药品监督管理局药品监管综合改革创新(ZG-DS-2023016); 广东省食品药品监督管理局科技创新(2022TDB51)

通讯作者: 臧德跃, E-mail: deyuezang@163.com

3D打印骨植入材料临床前安全性和有效性研究

王 洋, 许 锴, 林逗逗, 王守立
(苏州大学苏州医学院基础医学与生物科学学院病理与病理生理学系, 苏州市 215123)

摘要: 目的 3D打印技术在生物医学领域的应用日渐广泛,但目前对相关临床植入材料生物相容性和

安全性的评价标准尚不统一。尤其是在骨科植入物中，骨组织的再生和修复评价还存在诸多争议。近年来硬组织切片技术不断发展，为骨科植入材料的临床前评价提供快速和客观的技术手段。本研究对钛合金、磷酸三钙、聚己内酯这三种3D打印骨科植入材料在体内外的安全性和有效性进行检测和比较，为3D打印骨科植入材料的临床研究提供参考依据。**材料和方法** 按照相关国际标准提取三种材料的浸提液，与成纤维细胞共培养后通过MTT法测定其对细胞的毒性作用和活力影响；将浸提液与中国仓鼠的肺细胞共同作用，检测浸提液对染色体畸变的影响。通过体内实验进一步验证三种材料的生物相容性，将浸提液注射至小鼠尾静脉，观察小鼠的活动、饮食、精神状况，并记录体重变化；将三种材料植入至新西兰大白兔胫骨内，通过硬组织切片技术制作病理切片并染色评价其修复作用、应用CT对植入材料后骨的形态进行评价。**结果** 设置不同浓度的浸提液，MTT比色法发现三种材料浸提液和成纤维细胞共培养后，对成纤维细胞的活力均未出现明显影响；非活化染色体畸变实验结果表明浸提液的不同稀释度对中国仓鼠肺细胞的染色体畸变数和阴性对照组无明显差异，活化染色体畸变实验结果显示浸提液对细胞染色体无明显畸变作用。小鼠尾静脉注射后，其精神、饮食状态良好，和阴性对照组（生理盐水）相比，钛合金和磷酸三钙浸提液注射后48 h和72 h体重稍微减轻，但无明显差异；聚己内酯浸提液注射后体重无明显变化，表明三种材料对小鼠全身无明显毒性作用。将三种材料植入实验动物体内，制作硬组织切片观察，发现对周围骨组织无明显影响，且能一定程度促进骨组织再生愈合。**结论** 钛合金、磷酸三钙、聚己内酯三种3D打印植入材料生物相容性良好，硬组织切片技术和CT扫描技术结合能够更好、有效地评价其对骨组织修复的作用，进一步证明3种3D打印骨组织植入材料的安全性和有效性。

关键词： 3D打印材料；骨植入材料；生物相容性；安全性评价

通讯作者： 王守立，教 授，E-mail：wangshouli@suda.edu.cn

mRNA药物引起动物意外死亡的原因分析

吴晓静，李子轲，韦　娜，董延生
（国科赛赋河北医药技术有限公司）

摘要：目的 对mRNA药物毒理学研究中出现的死亡濒死动物的原因进行分析评估，为临床使用风险评估提供相关资料。**材料和方法** 普通级健康食蟹猴设阴性对照组、LNP对照组、以及受试物低、中、高剂量组，每周1次，连续4周（共5次）皮下注射给予受试物（以LNP为载体递送表达某细胞因子的mRNA），停药恢复4周。试验期间，检测指标包括血常规、血凝和血液生化、免疫毒性相关指标，包括细胞因子（IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-α，IFN-γ），补体（C3、C4）、免疫球蛋白（IgG、IgM、IgA）、淋巴细胞分型（辅助性T细胞、细胞毒性T细胞），毒代动力学研究（表达产物、阳离子脂质体）、免疫原性、大体解剖和组织病理学检查。本试验第2次给药后高剂量组出现1例雄性动物死亡，第5次给药后中剂量组出现1例雌性动物濒死，对上述动物进行了组织病理学检查，并结合临床观察及各种实验室检测数据进行了综合分析。**结果** 临床观察2只动物死亡或濒死前观察可见虚弱乏力和体温降低，其中1只动物眼睑及面部水肿；实验室检查结果可见红细胞水平轻度降低，白细胞水平可见中性粒细胞和淋巴细胞数量降至很低；ALT、UREA和CREA升高，凝血功能异常（PLT降低、APTT、PT延长）；CRP升高，IL-6升高等；大体解剖主要可见肺脏、直肠或盲肠红色变色和胸腺萎缩；组织病理学检查可见多脏器炎症性病变，部分脏器有重度水肿，免疫器官（胸腺、脾脏、淋巴结等）淋巴细胞减少，淋巴结还可见巨噬细胞增多，个别动物可见部分组织的细菌菌团；动物濒死时可见IL-6水平异常升高。**结论** 死亡原因为细胞因子释放异常增加，引起多系统脏器的炎症性病变。肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞损伤，引起肺部弥漫性的水肿或肺部血管内凝血形成血栓，导致急性呼吸窘迫，呼吸衰竭死亡，符合细胞因子释放综合征。

关键词： mRNA药物；细胞因子释放综合征

肿瘤中嵌合RNA研究进展

许云屹，程薇波，周 桥，姚于勤
（四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院卫生毒理与病理学系；四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院分子毒理四川省教育厅重点实验室；四川 成都 610041）

摘要：嵌合RNA最先被检测到时认为是逆转录或聚合酶链式反应过程中产生的误差，是转录“噪音”。随着高通量测序技术的发展、软件工程的开发、实验室相关证据的积累，在肿瘤及非肿瘤组织中鉴定出越来越多的嵌合RNA。通过不同的分子机制形成的嵌合RNA参与多种基本的生物学调节，其表达异常与肿瘤发生发展密切相关。目前报道嵌合RNA的形成类型主要包括：1. 染色体异常导致基因间DNA序列交换，产生融合基因并转录形成嵌合RNA；2. 顺式剪接（cis-splicing of adjacent genes，cic-SAGe）产生嵌合RNA。此类嵌合RNA亦被称为转录通读RNA（read-throughRNA），它们通常来源于同一染色体上相邻基因，含有不同基因序列片段；3. 反式剪接（trans-splicing）产生嵌合RNA，这类嵌合RNA来源于两个不同前体RNA（pre-mRNA）。这些嵌合RNA可以通过产生蛋白或作为非编码RNA发挥调控作用。嵌合RNA长期以来都被当作是肿瘤的特异性产物，在诊断和治疗过程中起到重要作用。在肿瘤中被发现和研究最多的当数融合基因产生的嵌合RNA，例如费城染色体来源于9号和22号染色体基因易位，可产生融合RNABCR-ABL，翻译具有ABL1激酶活性的融合蛋白，调控慢性粒细胞白血病的发生。肿瘤中还存在大量的转录通读RNA，调控肿瘤的发生发展。然而，反式剪接形成的嵌合RNA鲜有报道，目前发现在肿瘤中某些高表达的嵌合RNA来源于基因融合，但相同的嵌合RNA在正常组织中无法检测到基因融合的存在，而是通过反式剪接方式形成。嵌合RNA也可能在毒性刺激作用下形成，促进肿瘤的发生。这些不同类型的嵌合RNA在肿瘤中特异性表达，可以作为肿瘤病理诊断的新指标。这一领域的发展，不仅增加了对人类基因组及基因调控机制新的了解，还为肿瘤病理诊断和治疗提供了新的研究方向。

关键词：肿瘤；嵌合RNA；基因调控；肿瘤病理

微波辐射致雄性大鼠生殖损伤效应及机制研究

姚斌伟，门俊琦，李艳阳，王 惠，张 静，赵 黎，王浩宇，董 雯，徐新萍，彭瑞云*
（军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所，北京 100850）

摘要：目的 生殖器官是微波辐射敏感靶器官之一，研究微波射致雄性生殖损伤效应及其机制，为微波辐射损伤防治措施研究以及防护标准制定提供依据。**方法** 采用30mW/cm2 S波段微波辐射（15min/次，5次/w，持续6w）40只雄性Wistar大鼠，于辐射后1 d、7 d、14 d、28 d取材，采用精子分析系统检测精子活力；放射免疫分析法检测睾酮、血清抑制素B；光镜、电镜观察睾丸组织学、超微结构；ELISA试剂盒检测LDH、SDH 、ATP酶和线粒体复合物Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ以及附睾α-葡萄糖苷、顶体酶；酶标仪检测GSH、MDA含量和SOD活性，蛋白质免疫印迹试验（Western Blot，WB）检测Bcl-2、Bax、caspase-3蛋白表达。**结果** （1）微波辐射后1、7、14d、28d，精子活动度、AB级精子比例下降，D级精子比例增加（$P<0.05$或$P<0.01$）。（2）微波辐射后1、7d，血清睾酮含量升高、抑制素B含量下降（$P<0.05$或$P<0.01$）。（3）微波辐射后1、7d大鼠睾丸组织结构损伤，主要变化为生精小管上皮疏松、空泡水肿，生精细胞变性、脱落、精原细胞染色质异常凝集或边移增多、线粒体肿胀灶性空化。（4）辐射后1、7、14 d、28 d，大鼠睾丸组织中MDA含量增加、SOD、GSH活性下降（$P<0.05$或$P<0.01$）。（5）微波辐射后1、7、14 d、28 d，睾丸组织LDH、SDH、ATP酶含量减少，线粒体复合体Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ下降，附睾α-葡萄糖苷酶、顶体酶含量减少。（6）微波辐射后1、7、14 d、28 d，大鼠睾丸组织Bax/Bcl-2比值、caspase-3表达上调。**结论** （1）30mW/cm2微波辐射可致雄性大鼠生殖功能和组织结构损伤；（2）30mW/cm2微波辐射致雄性大鼠生殖器官损伤与组织氧化应激增强、能量代谢异常、凋亡相关蛋白表达水平异常相关。

关键词：微波辐射；大鼠生殖器官；氧化损伤；能量代谢；凋亡

Nupr1介导的血管平滑肌细胞表型转化参与甲基苯丙胺诱导的肺动脉高压的形成

周 杰，徐贞贞，廖家顺，李小婷，段 可，谢卫兵
（1. 南方医科大学法医学学院广州市法医多组学精准鉴识重点实验室，广州 510515；南方医科大学法医学学院，广州 510515）

摘要：目的 转录调节因子核蛋白1（Nupr1），又称P8，是一种应激调节的多功能核蛋白，参与多种疾病的发生。然而，它在甲基苯丙胺（Methamphetamine，METH）相关的肺动脉高压（Methamphetamine related pulmonary arterial hypertension，METH-PAH）中的作用未见报道。在本研究中，我们旨在确定METH是否为肺动脉高压（PAH）的发病的风险因素，构建METH-PAH小鼠模型，并探讨Nupr1在METH-PAH发生中的作用和机制。**材料和方法** 采用下述方式建立METH-PAH小鼠模型：6-8周龄小鼠用METH连续处理（腹腔注射，10 mg/kg体重/次，2次/日）5天，停药2天，7天为一个周期，如此反复，共处理10个周期。测量小鼠的右心室收缩压（RVSP）来评估肺动脉压力，采用H&E染色和Masson染色来进行肺动脉形态学检测。**结果** 采用上述慢性给药方式成功诱导小鼠肺动脉高压的发生，表现为与对照组比较，RVSP显著升高，肺小动脉血管管壁增厚、管腔变窄，肺小动脉周围纤维组织增多等。在METH滥用而死亡的人肺组织和METH-PAH小鼠肺组织以及METH处理后的肺动脉平滑肌细胞（PASMCs）中观察到Nupr1的表达升高。与METH处理的野生型小鼠比较，Nupr1敲除小鼠METH处理后，RVSP水平降低，肺小动脉管壁厚度减少，管腔大小回复正常，小动脉周围纤维化程度降低，表明Nupr1敲低能显著改善METH诱导的PAH症状。进一步研究显示Nupr1表达升高促进PASMCs由收缩型向增殖型转变，从而引发肺动脉重构，导致PAH的形成。在机制上，Nupr1通过激活基质相互作用分子1（STIM1）的表达介导了钙池操纵钙离子内流（SOCE）的开放，从而促进Ca^{2+}内流并诱导PASMCs的表型转化。**结论** Nupr1激活可通过STIM1介导的SOCE开放促进Ca^{2+}内流，从而促进METH诱导的肺动脉重塑并导致PAH形成。这些结果表明，Nupr1在METH-PAH中发挥重要作用，可能是METH-PAH治疗的潜在靶点。

关键词： 甲基苯丙胺；肺动脉高压；Nupr1；表型转化；血管平滑肌细胞

通讯作者： 谢卫兵，E-mail：xwb@smu.edu.cn

CXCL5 promotes lipogenesis and lipoapoptosis of hepatocytes through NLRP3-mediated IL-1β secretion in Kupffer cells

Qi Jing, Yan Xueqing, Li Lanqian, Zhou Zixiong
(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Department of Pathology and Institute of Oncology, School of Basic Medical Sciences, Fujian Medical University 350122, Fujian, China)

Background: Immune-inflammatory responses play a key role in the development of nonalcoholic steatohepatitis (NASH). Previous studies have demonstrated that CXC motif chemokine ligand 5 (CXCL5) correlates positively with obesity and type 2 diabetes.

Aim: This study is to explore the functional role of CXCL5 in the pathogenesis of NASH. **Materials and methods** To establish a NASH model, mice were continuously fed with methionine and choline-deficient high fatdiet for 6 weeks. Anti-CXCL5 mAb (40 μg/kg body weight) was intraperitonelly injected every other day during the same period. Mouse primary hepatocytes, Kupffer cells (KCs) and hepatic stellate cells (HSCs) were isolated. An in vitro NASH model was induced by treatment of palmitic acid (PA, 0.4 mM), using a trans-well co-culture system of hepatocytes and KCs, and rmCXCL5(100 ng/ml)

was treated 1 hour after PA administration. **RESULTS** Our data showed that hepatic CXCL5 levels were highly expressed in the NASH mouse model. Neutralization of CXCL5 significantly alleviated the severity of NASH in mice, demonstrated by pathological analysis, biochemicals and inflammatory cytokines. Besides, anti-CXCL5 mAb reduced the levels of de novo lipogenesis, apoptosis and fibrosis in injured livers of mice. *In vitro*, recombinant (rm)CXCL5 had no significant effect on activation of HSCs.Also, we found that treatment of rmCXCL5 exacerbated PA-induced hepatotoxicity and lipogenesis in hepatocytes co-cultured with KCs compared with single cultured hepatocytes. Furthermore,rmCXCL5 not only promoted NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) expression and IL-1β secretion in co-cultured KCs treated with or without PA but also increased lipid deposition in co-cultured hepatocytes.In addition, MCC950, an inhibitor of NLRP3, abolished the effects of rmCXCL5 on PA-treated co-culture system. **CONCLUSION** Therefore, we speculated that CXCL5 exacerbates NASH by promoting lipogenesis of hepatocytes via upregulating NLRP3-mediated IL-1β secretion in KCs.

Key words: NASH; lipogenesis; IL-1β; NLRP3; CXCL5

Corresponding author: Zhou Zixiong, E-mail: zzxpathology@fjmu.edu.cn

T21-0001

阿司匹林丁香酚酯减轻脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤，同时稳定血清代谢产物水平

陶 琦，杨亚军，李剑勇

（中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所，农业农村部兽用药物创制重点实验室，甘肃省新兽药工程重点实验室，兰州 730050）

摘要：阿司匹林丁香酚酯（AEE）是由阿司匹林和丁香酚酯化而成的新型药物化合物。该药具有多种药理活性，如抗炎、解热、镇痛、抗氧化应激等。**目的** 本研究旨在探讨AEE对脂多糖（LPS）诱导的大鼠急性肺损伤（ALI）的影响，体外实验评价了AEE对LPS诱导的A549细胞的保护作用。**材料和方法** 检测细胞上清液中的肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、白细胞介素-6（IL-6）、白细胞介素-1β（IL-1β）；Wistar大鼠随机分为5组（n=8）：（1）对照组（2）模型组（LPS组）（3）LPS+AEE组（AEE，54 mg·kg^{-1}）（4）LPS+AEE组（AEE，108 mg·kg^{-1}）（5）LPS+AEE组（AEE，216 mg·kg^{-1}）；计算肺湿重与干重（W/D）比值及免疫器官指数；计数支气管肺泡灌洗液（BALF）中的白细胞，并测定总蛋白浓度；对肺组织进行苏木精-伊红（HE）染色；检测谷胱甘肽（GSH）、谷胱甘肽过氧化物酶（GPx）、过氧化氢酶（CAT）、抗氧化超氧化物歧化酶（SOD）、总抗氧化能力（T-AOC）、乳酸脱氢酶（LDH）、C反应蛋白（CRP）、髓过氧化物酶（MPO）、丙二醛（MDA）、巨噬细胞移动抑制因子（MIF）、TNF-α、IL-6、IL-1β活性。通过UPLC-QTOF-MS/MS对大鼠的血清进行代谢组学分析。**结果** 从结果看，与LPS组相比，AEE改善了组织病理学变化，降低了MDA、CRP、MPO、MDA和MIF的产生，降低了BALF的WBC计数和总蛋白含量、促炎细胞因子水平、免疫器官指数和肺干湿重（W/D），增加了抗氧化酶活性，且呈剂量依赖性。血清代谢组学分析结果表明，LPS诱导的ALI能引起大鼠代谢紊乱和氧化应激，而AEE能在一定程度上改善该状态。**结论** 因此，AEE可以通过调控异常炎性反应、减缓氧化应激、调节能量代谢等途径减轻LPS诱导的大鼠ALI。

关键词：阿司匹林丁香酚酯（AEE），急性肺损伤，炎症，氧化应激，代谢产物

通讯作者：陶 琦，E-mail：taoqi19951224@163.com

T21-0002

乙酰氨基阿维菌素长效注射液组织残留的研究

张贺超，杨亚军，刘希望，李剑勇
（中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所/农业农村部兽用药物创制重点实验室/甘肃省新兽药工程重点实验室，甘肃 兰州 730050）

摘要：目的 乙酰氨基阿维菌素（eprinomectin，EPR）是一种高效、广谱、低残留的新一代兽用驱虫药物。在开展本实验室自研的EPR长效注射液休药期验证试验过程中，采用了中华人民共和国国家标准GB 31658.16-2021对牛可食性组织中EPR的残留量进行检测，确定牛应用EPR后的休药期，为临床合理用药提供科学依据。**材料与方法** 依据《兽药残留消除试验指导原则》，以推荐给药方案，对20头肉牛（公母各半），以1 mg/kg的剂量，皮下注射给药1次，于给药结束后的12 h、28 d、42 d、49 d和56 d等时间点，分别处死4头牛，每头牛均采集肌肉、肝脏、肾脏、脂肪和注射位点肌肉等样品。牛各组织中EPR用乙腈提取，C18固相萃取柱进行净化，洗脱液浓缩至干后，以N-甲基咪唑和三氟乙酸酐对EPR进行衍生化，HPLC-FLD法进行检测。在采用该方法进行检测之前，对EPR检测的色谱条件进行了确认；对标准曲线、线性范围、灵敏度、准确度、精密度等进行了验证。**结果** 结果表明，牛组织中EPR出峰时间在13.9 min，没有明显的干扰；该方法的检测限和定量限分别可以达到1.5 μg/kg和5 μg/kg；质控样品的准确度均在80%～120%的范围内，精密度均在15%以内，符合方法学的要求。牛皮下单次注射给药后，肌肉中药物残留量为31.14~47.84 μg/kg；注射部位肌肉中药物残留量为12.38~33.32 μg/kg；肝脏中药物残留量为240.47~978.48 μg/kg；肾脏中药物残留量为29.39~150.30 μg/kg；脂肪中药物残留量为10.20~32.88 μg/kg。采用休药期计算软件WT1.4对残留浓度-时间数据统计分析，牛肌肉、肝脏、肾脏、脂肪休药期均为0 d。**结论** 对牛各组织中EPR残留浓度进行了检测和分析，所有时间点的所有受试牛，其各可食性组织中的EPR残留量，均低于各组织中的MRL。即受试制剂乙酰氨基阿维菌素长效注射液，以依推荐方案，即1 mg/kg的剂量对牛皮下注射给药1次后，在肉牛体内的休药期为0 d。

关键词：乙酰氨基阿维菌素；高效液相色谱；残留检测；休药期

T21-0003

葡萄糖限制可激活线粒体毒物导致的肝癌细胞死亡

冯 吉[1]，周 静[2]，吴 勇[1]，戴惠淇[1]，朱广志[3,4]，卢国栋[1,4,5]
（1. 广西医科大学公共卫生学院卫生毒理学教研室；2. 广西医科大学基础医学院生理学教研室；3. 广西医科大学第一附属医院肝胆外科；4. 区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室（广西医科大学）；5. 广西高校高发疾病预防与控制研究重点实验室，广西 南宁 530021）

摘要：目的 通过体内和体外实验，探讨葡萄糖代谢对索拉非尼（肝癌一线药物）等线粒体毒物促进肝癌细胞死亡的影响作用和分子机制。**材料和方法** 1. 使用索拉非尼分别联合营养限制（血清、谷氨酰胺、葡萄糖）培养基处理肝癌细胞，通过检测细胞死亡确定影响索拉非尼杀伤效果的营养成分。2. 使用不同的死亡抑制剂确定肝癌细胞死亡的类型。3. 检测葡萄糖限制联合索拉非尼处理下肝癌细胞中的总活性氧（ROS）以及线粒体产生的超氧化合物含量。4. 使用TMRM和JC-1探针检测各组细胞线粒体膜电位的变化。5. 使用免疫印迹法、共聚焦显微镜或流式细胞仪检测各组线粒体自噬相关蛋白、mKeima和mtDNA的变化。6. 使用线粒体毒物Oligomycin/Antimycin（O/A）模拟索拉非尼作用，联合葡萄糖限制处理细胞，检测线粒体自噬情况。7. 使用siRNA敲低Huh7细胞中的多种线粒体自噬相关蛋白，确定关键的泛素化酶。8. 使用降糖药卡格列净替代葡萄糖限制处理，在细胞实验和裸鼠肝癌异位移植瘤模型中，模拟葡萄糖限制和索拉非尼联合治疗对肝癌细胞的抗癌效果。**结果** 1. 葡萄糖代谢可以保护肝癌细胞；而葡萄糖限制则激活索拉非尼

诱导发生的非经典的细胞死亡(非凋亡、坏死或铁死亡等)。2.葡萄糖限制联合索拉非尼诱导了线粒体膜电位去极化和线粒体损伤。3.葡萄糖限制抑制了索拉非尼诱导的线粒体自噬,阻止细胞清除损伤的线粒体。4.葡萄糖限制促进线粒体经典毒物O/A导致的细胞死亡,可复制索拉非尼的联合效果。5.PINK1-SIAH1途径在索拉非尼诱导线粒体自噬过程中发挥关键作用。6.糖尿病治疗药物卡格列净可模拟葡萄糖限制环境,促进索拉非尼对肝癌细胞的线粒体毒性,并抑制裸鼠肝癌皮下移植瘤的生长。**结论** 葡萄糖限制通过抑制PINK1-SIAH1途径阻断线粒体自噬,增加线粒体毒物诱导的线粒体损伤及ROS积累,促使肝癌细胞死亡。

关键词: 线粒体毒物; 葡萄糖限制; 线粒体自噬; 肝癌细胞; 细胞死亡

通讯作者: 卢国栋,E-mail: golden_lu@hotmail.com

T21-0004

液相色谱-串联质谱法检测猪粪便中除虫脲的方法学研究

邓润辉[1,2], 范丽萍[2], 刘希望[2], 秦 哲[2], 白莉霞[2], 葛闻博[2], 李世宏[2], 董书伟[1], 杨亚军[1,2], 李剑勇[2]

(1. 榆林学院 生命科学学院, 陕西 榆林 719000; 2. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所,农业农村部兽用药物创制重点实验室,甘肃省新兽药工程重点实验室, 甘肃 兰州 730050)

摘要: 除虫脲(diflubenzuron,DFB)属于苯甲酰本脲类化合物,能够抑制蝇虫等昆虫幼虫的几丁质合成,而抑制其发育;DFB口服给药后,在肠道几乎不吸收;在国外已经通过混饲给药用于控制养殖场环境中蝇类种群的数量。**目的** 为了考察除虫脲预混剂混饲给药后,粪便中的浓度,建立了猪粪便中除虫脲药物浓度的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检测方法。**材料和方法** 以DFB-^{13}C6为内标,2 g猪粪便样品,以2 ml水分散,加入10 ml 0.1%冰乙酸-乙腈溶液,以及1 g无水乙酸钠和2 g氯化钠,涡旋混匀2 min,30℃恒温水浴超声提取30 min后4500 *g*离心10 min,取2 mL上层清液,加入到装有0.05 g PSA、0.1 g C18、0.15 g无水硫酸镁的15 mL离心管中净化,涡旋1min,以4500 *g*离心2 min。上清液过0.22 μm有机微孔滤膜后,进行LC-MS/MS测定。梯度洗脱,电喷雾离子源,正离子模式,多离子反应监测模式检测。**结果** 方法灵敏度高,检测限为10 ng/g,定量限为20 ng/g;基质效应对样品的检测影响较小;标准溶液在1 ng/mL~500 ng/mL的浓度范围内,线性关系良好(R^2≥0.99);在定量限20 ng/g及低(100 ng/g)、中(1000 ng/g)、高浓度(5000 ng/g)的添加水平下,平均准确度在95%~105%之间,批内、批间变异系数均小于10%,符合方法学要求。**结论** 在考察的条件下,标准溶液、空白加标样品及处理后的样品,稳定性良好;但应避免样品的反复冻融。因此,该方法可用于猪粪便中除虫脲浓度的检测,进而用于开展口服除虫脲预混剂的二期临床试验研究。

关键词: 猪; 除虫脲; 液相色谱-串联质谱法; 内标法

T21-0005

Targeting PARK7 improves acetaminophen-induced acute liver injury by orchestrating mitochondrial quality control and metabolic reprogramming

Jiao Cai, Chunxu Hai

(School of Public Health, Air Force Medical University, Xi´an, 710032, PR China)

Abstract: Mitochondrial dysfunction and oxidative stress are considered to be key events in acetaminophen (APAP)-induced acute liver injury. Mitochondrial quality control, including mitophagy and mi-

tochondrial synthesis, can restore mitochondrial homeostasis and thus protect the liver. The role of PARK7, a mitochondrial stress protein, in regulating mitochondrial quality control in APAP-induced hepatotoxicity is unclear. In this study, L02 cells, AML12 cells and C57/BL6 mice were used to establish the models of APAP-induced acute liver injury, respectively. PARK7 was silenced in vitro by lentiviral transfection, and knocked down *in vivo* by AAV adeno-associated virus. Changes in cell viability, apoptosis, reactive oxygen species (ROS) level, serum enzyme activity and pathological features were evaluated after APAP treatment. Western blotting, real-time PCR, immunofluorescence, electron microscopy and Seahorse assays were used to detect changes in key indicators in the mitochondrial quality control. The results showed that APAP treatment decreased cell viability and increased apoptosis rate, ROS levels, serum enzyme activity, pathological damage and PARK7 expression. PARK7 silencing or knockdown ameliorated APAP-induced damage to the cells and liver. Further, PARK7 silencing enhanced mitophagy, increased mitochondrial synthesis, and led to a switch from oxidative phosphorylation to glycolysis. Taken together, these results suggest that PARK7 is involved in APAP-induced acute liver injury by regulating mitochondrial quality control and metabolic reprogramming. Therefore, PARK7 may be a promising therapeutic target for APAP-induced liver injury.

Key words: PARK7; mitochondrial quality control; APAP; acute liver injury

Corresponding author: Chunxu Hai, E-mail: 1006932295@qq.com

T21-0006

硫化氢中毒的医学研究趋势及热点分析

韩转转，陈意飞

（扬州大学附属医院 急诊医学科，江苏 扬州 225012）

摘要：目的 硫化氢中毒一直被认为是一种严重的职业危害，一旦发生常导致致命性的后果，本文旨在运用文献计量学方法对硫化氢中毒在医学领域范围内发表的相关文献进行可视化分析，以探讨关于硫化氢中毒的研究重点、热点及未来的研究发展趋势。**方法** 基于Web of Science核心文献数据库（Web of Science Core Collection（WoSCC）），以“Hydrogen sulfide poisoning、Hydrogen sulfide intoxication”为关键词，检索了从1927年至今为止所有的相关文献，并通过Microsoft Excel 2019、CiteSpace（版本6.1.R2）、文献计量在线分析平台（https://bibliometric.com/）和基于R语言的Biblioshiny软件包（R.4.1.3）进行可视化分析，主要包括发文量、国家、机构、作者、期刊、文献共被引、关键词聚类、突现等方面的分析。**结果** 经筛选，共纳入相关文献185篇，时间分布在1927-2022年，整体发文量呈现增长趋势，在1966年之前仅有4篇相关文献产出，且在2012年之前每年发文量均在6篇以下，在2015年出现发文量最高峰，达15篇。共有来自34个国家、253家机构、699名作者发表了与硫化氢中毒相关的文献。美国（76篇，41.08%）为发文量最多的国家，其次是中国（37篇，20.00%）和加拿大（21篇，11.35%）；而在被引用数量上，加拿大以1900次位居第一位，美国（1870次）和法国（643次）分别居于第二、三位，中国以506次位居第五位。美国宾夕法尼亚州立大学（47篇）为发文量最多的机构，其次是中国温州医科大学（35篇）和加拿大阿尔伯塔大学（15篇）。居于发文量前3位的作者分别为来自美国宾夕法尼亚州立大学的HAOUZI P、中国温州医科大学的WANG X和来日本静冈大学的SONOBE T。《CLINICAL TOXICOLOGY》为本主题下最受欢迎的期刊。目前硫化氢中毒主要围绕环境暴露情况、中毒机制、解毒机制三个方面的研究。氧化应激作用、代谢组学及解毒机制（包括氰化物结合、高铁血红蛋白诱导、供硫剂的使用）是当前和未来研究的热点。**结论** 通过我们的分析发现，近年来，关于硫化氢中毒的相关研究在全球范围内逐渐增长，研究领域围绕环境、中毒与解毒，氧化应激作用、代谢组学及氰化物结合、高铁血红蛋白诱导、供硫剂的使用等解毒机制是目前学者们关注的热点，也

将是未来研究的焦点。硫化氢中毒从诊断到解毒均具有挑战性，极高的致死率使其成为仍需攻克的难题。

关键词：硫化氢中毒；文献计量学分析；CiteSpace；研究热点

通讯作者：韩转转，E-mail：1179202740@qq.com

T21-0007

生活环境对食蟹猴血液学和血清生化、行为学和免疫应激的影响

赵 琪，刘永涛，汪溪洁，兰艳丽，余珍斌，龚 华，李彩云
（上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203）

摘要：目的 考察食蟹猴单笼和配对饲养对于动物的血液学和血生化、行为学、和免疫应激指标的影响。**方法** 约3岁食蟹猴，雌雄各4只，分别单笼和同性别配对饲养后，于适应期、单笼饲养第14 d和第21 d、配对饲养第14 d和第21 d采集动物血样进行血液学、血清生化和免疫应激指标检测。于单笼饲养14～21 d和配对饲养14～21 d进行行为学观察。**结果** 配对饲养对于食蟹猴的血液学、血清生化和免疫应激指标无明显影响；配对饲养后食蟹猴的正常行为和积极行为显著增多，异常行为显著减少。**结论** 本实验结果显示食蟹猴采用单笼或配对饲养方式对临床病理检测的血液学、血清生化指标及免疫应激指标无明显影响，配对的饲养方式能有效改善食蟹猴的异常行为，提高动物福利。

关键词：食蟹猴；单笼饲养；配对饲养；行为学；应激；血液学；生化

作者简介：赵 琪，女，硕士，助理研究员，主要从事药物毒理学研究，E-mail：qzhao@innostar.cn
通讯作者：李彩云，E-mail：cyli@innostar.cn

T21-0008

围产期壬基酚暴露致仔鼠心肌线粒体的损伤作用及机制研究

潘院凯，倪成玉，许 洁，俞 捷
（遵义医科大学公共卫生学院，贵州 遵义 563000）

摘要：目的 通过动物实验和细胞实验，研究围产期壬基酚（NP）暴露是否会导致子代心肌线粒体损伤，并确定其作用机制。**材料和方法** 1、动物实验：确定怀孕的雌鼠随机分为四组，对照组（玉米油，C），低（L-NP组，2.5 mg/kg/d）、中（M-NP组，50 mg/kg/d）、高（H-NP组，100 mg/kg/d）NP组，从阴道涂片见到精子当天（GD0）到子代大鼠出生后21（PND21）天之间进行灌胃染毒。采用高效液相色谱法检测心脏组织NP含量；小动物测压计测定大鼠尾动脉血压值；HE染色观察仔鼠心脏组织病理变化情况；透射电镜观察仔鼠心脏线粒体结构变化；线粒体膜电位检测试剂盒（JC-1）检测线粒体膜电位，分别用四种线粒体呼吸链复合体Ⅰ、复合体Ⅱ、复合体Ⅲ、复合体Ⅳ活性检测试剂盒检测四种呼吸酶活性；RT-PCR法检测PGC-1α、NRF-1、TFAM mRNA基因表达；免疫印迹法检测PGC-1α、NRF-1、TFAM蛋白的表达。2. 细胞实验：采用大鼠心肌细胞H9C2进行细胞实验，分为空白组、RSV组（15 μg/ml）、RSV+NP组（15 μg/ml RSV、120 mmol/L NP）、NP组（120 mmol/L NP）4个组（RSV是SIRT1的激动剂），采用CCK8法确定NP染毒浓度；线粒体膜电位检测试剂盒（JC-1）检测H9C2细胞线粒体膜电位，免疫印迹法检测SIRT1、PGC-1α、NRF-1、TFAM蛋白表达。**结果** 1. 动物实验：在PND21和PND90，子代心脏中的NP浓度随着NP剂量的增加而增加（$P<0.05$）。围产期NP暴露导致子代在PND90时收缩压逐渐升高（$P<0.05$）。在H-NP组，有大量的炎症细胞浸润，明显的肌纤维断裂，细胞核不明显或消失，以及粉红色的胶原蛋白沉积。在PND90，H-NP组线粒体的膜完整性被破坏，嵴膜紊乱加剧，内部裂解空泡化。与对照组相比，各NP暴露组子代在PND21和PND90的线粒体膜电位均下降（$P<0.05$）。NP暴露降低了子代线粒体呼吸酶（复合物Ⅰ（CⅠ）和CⅢ）的活性（$P<0.05$）。

在PND21和PND90，心脏线粒体PGC-1α、NRF-1和TFAM的mRNA和蛋白质表达以剂量依赖的方式随着NP剂量的增加而下降（$P<0.05$）。2.细胞实验：随着NP浓度的增加，细胞存活率逐渐下降。与对照组相比，NP组的膜电位明显下降（$P<0.05$）；NP组的SIRT1、PGC-1α、NRF-1和TFAM的蛋白表达水平明显降低（$P<0.05$）。**结论** 围产期NP暴露以剂量依赖方式引起子代心肌线粒体损伤和功能障碍，这种毒性作用可能与NP诱导子代线粒体病变以及NP暴露后参与PGC-1α/NRF-1/TFAM线粒体生物生成信号通路的基因和蛋白表达受到抑制有关。

关键词：壬基酚；心脏；线粒体；H9C2细胞；PGC-1α /NRF-1/TFAM信号通路

通讯作者：俞　捷，E-mail：737717694@qq.com

T21-0009

浅谈QA如何审核临床和非临床试验中的抗药抗体检测项目

文　凤，周　婕，向富雁，徐文婷，李　旻
（上海益诺思生物技术股份有限公司）

摘要：生物制品本身具有内源的免疫原性或生产工艺中会引入外源的免疫原性，将其应用到受试者后，其产生的抗药抗体或中和抗体，存在影响TK/PK参数，降低药效或者引起机体免疫反应等问题，因此对此类药物的抗药抗体检测（简称ADA检测）质量控制也变得非常重要。本文从QA角度，针对ADA项目怎么审核及审核重点进行汇总，以提升此类药物申报资料的质量，并顺利通过监管机构的审核。

总则 对临床和非临床项目，审核原则一致，以各自指导原则和公司SOP为依据，先完成方案方法定稿审核。之后以GLP/GCLP/GCP规范及相关办法、方案、方法和公司SOP为依据，对所有相关仪器设施、人员操作、原始记录、数据处理及报告审核。

方案和分析方法的审核 验证方案，需确认验证项和接受标准是否满足了指导原则和SOP中规定的要求。样品分析，重点关注复测要求和复测的取值规定是否合理。分析方法，重点核对各试剂的配制过程是否正确，各试剂的批号、浓度、有效期等信息。

现场检查和实验记录的审核：选择关键或高风险环节进行基于试验的现场检查，重点核对关键设备的校准、仪器参数设置、试剂、人员资质、样品个体追溯要求等。实验记录，抽查至少10%批次审核（根据公司SOP规定），30个批次抽查3个分析批，筛选、确证和滴度实验各选择1个分析批，审核记录模板，试剂接收、分发、配制，实验步骤和实验结果等。对验证项目，可再审核下其他批次验证项的配制过程。对样品分析，核对筛选或确证阳性样品是否有做确证或滴度实验；所收到样品是否均已完成测试，需要复测的样品是否按照方案要求进行复测，是否有多复测或漏复测情况。实验过程中产生的任何异常情况，如仪器故障，分析批结果异常等，均要求记录并进行原因分析。

二次数据及实验报告审核：审核时一定要以方案为依据，对数据进行至少10%审核，重点关注分析批是否通过，复测数据的取值是否正确等。报告进行100%核对，验证项目需确认所有验证项是否均按照方案进行，每个验证项是否都有完成测试，给出的结论是否正确；对样品分析，确认数据是否按分析方案或传输协议要求进行汇报。另外，确认报告中是否有对一些特殊情况或异于方案规定的情况进行汇总说明。最终，QA将签发质量保证声明，明确各阶段QA进行的审核，QA应确保所有发现项都已解决后，才可签发质量保证声明。

结论 目前ADA项目没有标准化计算方式或明确的统计标准，我们的审核原则是在不违背指导原则和基于科学考虑的基础，以确保实验数据和最终报告的正确性和合规性。

关键词：抗药抗体；ADA检测；项目审核

通讯作者：文　凤，E-mail：fwen@innostar.cn

T21-0010

刺梨苷对脑缺血大鼠神经功能障碍的改善作用及潜在机制探究

刘迎璐，张爱华
（贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室 公共卫生与健康学院，贵阳 550025）

摘要：目的 探究刺梨苷对脑缺血所致大鼠神经功能障碍的改善作用及潜在的作用机制。**方法** 将40只健康SPF级SD雄性大鼠随机分为5组：假手术组、模型组、刺梨苷低剂量组（3 mg/kg，i.v.）、刺梨苷中剂量组（6 mg/kg，i.v.）、刺梨苷高剂量组（12 mg/kg，i.v.），每组8只。采用线栓法制备大鼠永久性大脑中动脉阻塞模型（permanent middle cerebral artery occlusion，pMCAO）。各给药组均在pMCAO手术后0.5 h尾静脉注射，假手术组和模型组给予等体积的生理盐水。手术后24 h，采用Zea Longa评分法、2，3，5-三苯基氯化四氮唑（TTC）染色法、干湿重对比法分别对大鼠进行神经功能评分、脑梗死体积、脑水肿程度的测定，采用免疫荧光对大鼠皮层星形胶质细胞和小胶质细胞活化程度进行检测，采用ELISA对大鼠皮层炎症因子（IL-4、IL-10、TNF-α、IL-1β）水平进行检测，采用western blot对AMPK磷酸化水平进行检测。**结果** 1.与模型组相比，刺梨苷中、高剂量组大鼠的神经功能评分、脑梗死体积均显著降低，刺梨苷高剂量组大鼠的脑水肿程度也有所减轻；2.与模型组相比，刺梨苷中、高剂量组大鼠皮层星形胶质细胞、小胶质细胞胞体均显著减小，突起更加清晰可见，表明其活化程度显著降低；3.与模型组相比，刺梨苷中、高剂量组大鼠皮层IL-4、IL-10释放水平显著升高，TNF-α、IL-1β释放水平显著降低；4.与模型组相比，刺梨苷高剂量组的AMPK磷酸化水平（p-AMPK/AMPK比值）显著升高，且该作用与刺梨苷对炎症因子的调节作用变化趋势一致。**结论** 刺梨苷6、12 mg/kg能够显著改善脑缺血所致的大鼠神经功能障碍，且该作用可能与AMPK介导的神经炎症的调节有关。

关键词：刺梨苷；脑缺血；神经炎症；AMPK

基金项目：贵州省科技计划项目（黔科合基础-ZK[2022]一般 371）；贵州医科大学高层次人才启动基金项目（校博合J字[2020]69号）

通讯作者：刘迎璐，E-mail：liuyinglu315@163.com

T21-0011

LW2104破壁饮片给药制剂受试物分析研究

颜国伟，林俊粒，张家伟，盛亚丽，张雅洁，郭健敏，杨 威
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：目的 为保证本研究院试验的LW2104破壁饮片给药制剂质量符合接受标准，配制系统合格，专题试验配制给药制剂的均一性和准确度符合要求，确保专题研究试验结果可靠，建立HPLC-UV法测定人参皂苷Rg1浓度的方法，对LW2104破壁饮片给药制剂进行受试物分析。**方法** 采用HPLC-UV法，通过Symmetry Shield C18 4.6×250 mm，5 μm色谱柱，以2 mmol·L^{-1}磷酸二氢钾溶液：乙腈=75：25为流动相，流速为1.0 mL/min，检测波长为203 nm，通过系统适用性、专属性、残留、储备液比较、线性、定量限、精密度和准确度对该分析方法进行方法学验证。使用验证合格的分析方法对LW2104破壁饮片进行含量复核，对LW2104破壁饮片给药制剂进行配制系统合格性检测，并进行室温条件下保存8 h稳定性考察，并对相关专题配制的给药制剂进行浓度检测，检验其配制浓度的含量和均一性。**结果** 试验结果显示该方法系统适用性合格，专属性良好，储备液比较无明显差异，无残留，人参皂苷Rg1在0.05～1 mg/mL浓度范围内线性良好（R>0.999），定量限符合接受标准，批内精密度良好，批内回收率在90%~110%之间。含量复核浓度受

试物的含量符合接受标准。配制了0.357 g/mL的供试品给药制剂和0.714 g/mL的参比制剂给药制剂，含量和均一性以及稳定性均符合接受标准；对相关专题试验配制的给药制剂上、中、下部抽样浓度检测，RSD值均小于3%，给药制剂的测定值和理论值偏差不超过±10%。**结论** 本研究建立的HPLC-UV法测定人参皂苷Rg1浓度的方法科学可靠，可用于给药制剂受试物分析研究，受试物的含量符合接受标准。本研究0.357 g/mL的供试品给药制剂和0.714 g/mL的参比制剂给药制剂的配制系统合格，室温条件下保存8 h基本稳定。专题配制的给药制剂的均一性和含量均符合要求。

关键词：HPLC-UV；人参皂苷Rg1；受试物分析

作者简介：颜国伟，E-mail：yanguowei@lewwin.com.cn

通讯作者：杨　威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T21-0012

大分子吸入药物非临床安全性评价的关注点

杨　娜，张朝茂，陈　波，郭　伟，岑小波

（华西海圻医药科技有限公司）

摘要：大分子吸入药物因给药操作方便、选择性高而系统不良反应低，已经成为药物研发的新热点。由于大分子药物结构复杂、稳定性差以及肺部独特的免疫环境，在进行吸入给药非临床安全性评价时，有其特殊的关注点。(1)气溶胶发生。应结合药物特点选择合适的雾化方式，以确保药物雾化后结构和活性的稳定。目前大分子吸入药物主要采用射流雾化器和震动网筛雾化器，后者气-液接触少、雾化时间短、温度升高较小，适用于单抗和多肽的雾化。此外，在试验前应进行充分的验证以考察给药过程中气溶胶浓度的稳定性和均一性。(2)剂量设计。受气溶胶发生技术的限制，大分子药物难以形成浓度较高的气溶胶；同时，受动物最长给药时间以及放大的药理学作用或局部受体饱和等因素的影响；大分子吸入药物非临床安全性评价的剂量通常做不到很高。需综合上述各种因素，尽量设计更高的暴露剂量，为临床研究的剂量设计提供充分依据。(3)局部暴露与系统暴露。肺对大分子的吸收主要通过细胞内或细胞间转运的方式进行，部分分子量很大或容易被降解的药物，存在系统暴露较少的情况，可通过检测支气管肺泡灌洗液中药物浓度、生物标志物、抗药抗体水平等方式来反映药物的局部暴露情况及效应关系。(4)免疫原性。由于呼吸系统含有丰富的免疫细胞，吸入给药免疫原性的发生率与其他给药途径相比更高，抗药抗体产生后需要分析其对药物暴露情况、免疫复合物形成和沉积等的影响。(5)组织病理学特点。主要为气道血管周围/细支气管周围单个核的炎性细胞(以淋巴细胞为主，有少量浆细胞和巨噬细胞)浸润，细支气管/肺泡巨噬细胞增加、混合性炎细胞浸润等炎症表现。其中，肺泡巨噬细胞增加在大、小分子吸入药物中均常见，可能与药物在肺的清除相关；而血管周围/细支气管周围单个核的炎性细胞浸润大分子药物的发生率远高于小分子药物。在伴有抗药抗体产生、局部淋巴结改变以及其他一些免疫反应的情况下，该病变多考虑为免疫反应。

关键词：大分子吸入药物；非临床安全性评价；气溶胶

通讯作者：杨　娜，E-mail：nayang@glpcd.com

T21-0013

影像学技术在非临床安全性评价中的应用

关亚娜，陈　波，许　可，李　尤，岑小波

（成都华西海圻医药科技有限公司）

摘要：根据成像原理，医学影像学技术可分为可见光成像(OI)、核素成像、核磁共振成像(MRI)、计算机

断层摄影(CT)成像、超声成像、光学相干断层扫描(OCT)成像六类。影像学技术以其实时且可连续监测、无创/微创、可定性/定量等优势,广泛用于临床的诊断或辅助治疗。在非临床研究中,影像学技术可用于药物或其代谢产物的组织分布、给药确认、诊断等方面。荧光发光是OI的一种,其原理是借助外界激发光源检测导入体内的荧光基团的表达。免疫荧光、近红外成像技术都属于此类,可用于组织分布、特殊靶点定位等的研究。如辉瑞mRNA疫苗BNT162b2的组织分布研究,即是以荧光素酶的分布表征mRNA疫苗的组织分布特点。荧光素眼底血管造影则可对视网膜与脉络膜的病变进行检查及诊断。核素成像是利用放射性核素标记的小分子、药物、基因、配体、抗体等进行显像,定量分析动物的生理和药理过程,主要包括正电子发射体层成像(PET)和单电子发射计算机体层成像(SPECT),可用于药物及其代谢产物的动力学研究、肿瘤诊断等,但无法标识动物的空间结构。CT是利用组织间的密度差异,对机体一定厚度的层面扫描后,利用计算机重建三维图像。微型计算机断层摄影(micro-CT)分辨率可达1 μm,可对小动物在连续时间点内进行骨骼发育多种指标如骨密度、骨矿物含量、骨长等的评价,但不适用于软组织的检查。已有研究将其应用于生殖毒性试验中胎仔的骨骼检查,与传统茜素红-阿利新蓝染色相比,此法重复性强、耗时短、无有害物质的引入、易于存档。此外,将核素成像与CT相结合的影像系统,如PET/CT、SPECT/CT等,可对药物导致机体的结构、功能的动态改变进行监测,在药物的筛选、开发、安全性研究等方面具有更多优势。MRI是利用磁共振现象获得的电磁信号,对机体的生理和解剖信息重建,以进行定性/定量成像。与CT、PET/SPECT等相比,MRI分辨率高,无辐射,可对软组织、骨骼、血管内血流、肿瘤等功能或结构成像。如MRI可用于颅内给药试验给药部位的定位及给药确认,或AAV载体类药物实体内给药后,若T2信号增强,提示脑内有炎症,或肿瘤、梗塞、亚急性出血等风险。超声成像和OCT分别是基于超声波或光波在软组织中不同的传播速度成像。超声成像可用于生理结构易被外界影响的系统,如膀胱、血管等,如检查受孕超过25天的雌猴的妊娠状态。OCT较超声分辨率更高,常用于眼科检查,可对视网膜、视神经、角膜、玻璃体、前角房、晶状体等结构检查。对于玻璃体内注射给药的眼科试验,OCT可辅助判断给药部位的准确性。然而,将影像学技术应用于非临床研究,尤其是GLP体系中,应充分考虑其系统的验证、标准的建议、人员培训、合规性考察等方面。

关键词:非临床研究; CT、MRI、OCT、PET/SPECT

作者简介:关亚娜,E-mail:yanaguan@glpcd.com

T21-0014

接受根治性PD的胰腺导管腺癌患者早期复发列线图预测模型的构建与验证

王砚伟[1,2], 梁雨荣[2]

(1. 解放军医学院, 北京 100853; 2. 解放军总医院第一医学中心肝胆胰外科医学部 解放军总医院肝胆外科研究所 全军肝胆外科重点实验室, 北京 100853)

摘要:目的 探究胰腺导管腺癌(Pancreatic ductal adenocarcinoma,PDAC)患者术后早期复发的危险因素,构建并验证列线图预测模型,为临床决策提供参考。**方法** 回顾性分析2014年1月1日至2021年12月31日解放军总医院第一医学中心连续收治的接受开腹根治性胰十二指肠切除术的PDAC患者213例,其中男性145例,女性68例,平均年龄(58.4±9.8)岁。将无复发生存时间<6个月定义为早期复发,根据随访结果,早期复发59(27.7%)例。收集入组患者的临床资料,采用最小绝对值收敛和选择算子回归方法筛选PDAC术后早期复发的预测指标,并纳入多因素logistic回归分析,进一步筛选独立预测因素,运用rms程序包构建列线图模型,采用k折交叉验证(B=10)对模型进行内部验证。**结果** 筛选出6个早期复发的独立预测因素:梗阻性黄疸、血管侵犯、出血量、高级别肿瘤、CA19-9/TBil、F-NLR评分。基于上述指标构建列线图预测模型,内部验证的ROC曲线下面积为0.797,校准曲线显示,预测概率与理想概率之间具有良好的一致性(Brier score=0.15,P>0.05),决策曲线(Decision Curve Analysis,DCA)表明,根据模型建立的分组在0.08~1的高风险阈值内净效益均大于0。**结论** 本研究建立的预测模型有助于筛选PDAC术后早期复发的

高危患者，对患者的分层和干预具有重要的临床指导意义。

关键词：胰腺导管腺癌；胰十二指肠切除术；早期复发；列线图；预测模型；决策曲线分析

通讯作者：梁雨荣，E-mail：yurongliang@hotmail.com

Construction and validation of a nomogram prediction model for early recurrence of pancreatic ductal adenocarcinoma patients undergoing radical PD

Wang Yanwei[1,2], Liang Yurong[2]

(1. Medical School of Chinese PLA, Beijing 100853, China; 2. Faculty of Hepato-Pancreato-Biliary Surgery, Chinese PLA General Hospital, Institute of Hepatobiliary Surgery of Chinese PLA, Key Laboratory of Digital Hepatobiliary Surgery of PLA, Beijing 100853, China)

Abstract: OBJECTIVE To explore the risk factors for early recurrence of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) patients after pancreatoduodenectomy, and to construct and validate a nomogram prediction model to provide reference for clinical decision-making. **METHODS** The clinical data of patients who underwent open radical pancreaticoduodenectomy in Chinese PLA General Hospital from January 1, 2014 to December 31, 2021 were retrospectively analyzed. A total of 213 patients were included, including 145 males and 68 females, with an average age of (58.4±9.8) years. The recurrence-free survival time of less than 6 months was defined as early recurrence. According to the follow-up results, there were 59 (27.7%) cases of early recurrence. By using minimum absolute value convergence and selection operator regression (Lasso) and multi-factor logistic regression analysis, we screened out the best predictor of early recurrence after PDAC, and then established a nomogram model composed of multiple predictive factors in R software. K-fold cross-validation (B=10) was used to internally validate the model. **RESULTS** Based on the data, six best predictive indexes were selected by Lasso method: obstructive jaundice, vascular invasion, bleeding volume, high-grade tumor, CA19-9/TBil, F-NLR. Based on the above indexes, a nomogram prediction model was constructed. The area under the ROC curve was 0.797 after K-fold cross-validation. Validation of the calibration curve exhibited good concordance between the predicted probability and ideal probability (Brier score=0.15, P>0.05). Decision Curve Analysis (DCA) showed that the net benefits of the groupings established according to the model were all greater than 0 within the high risk threshold of 0.08 to 1. **CONCLUSION** The prediction model established in this study was helpful for screening high-risk patients with early recurrence of PDAC, and had important clinical guiding significance for patient stratification and intervention.

Key words: Pancreatic ductal adenocarcinoma; Pancreaticoduodenectomy; Early recurrence; Nomograms; Prediction model; Decision curve analysis

Corresponding author: Liang Yurong, E-mail: yurongliang@hotmail.com

T21-0015

双特异性抗体的药动学及生物分析方法研究进展

王显菲，林俊粒，郭健敏，杨 威
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广东 广州 510990；
2. 广州华博生物制药研究所，广东 广州 510990）

摘要：双特异性抗体（BsAb）指通过基因工程改造的人工合成抗体，能同时与不同的抗原或表位进行特异性识别并结合，并以多种方式在两种抗体间起生物桥梁作用发挥特定的载体作用，在治疗肿瘤、类风湿性关节炎、哮喘、皮肤等疾病方面领域发展迅速。与单靶点的蛋白药物相比，BsAb更能满足不同病理因素和途径治疗疾病的需求，具有特异性高、选择性强等特点。然而药物在生物体内的处置机制有其特殊性和复杂性，极大增加了其生物检测的难度。BsAb的相对分子质量分布范围广、结构差异大及模式多样性高，因此，BsAb的药动学过程及影响因素比单靶点的蛋白药物更为复杂。经注射给药后，BsAb跟随体液流动，并主要分布于血液和灌流较好的器官，之后可通过排泄或代谢途径经胞饮作用、肾脏清除、靶标或FcRn介导回收等从体内清除，可采用两室模型进行拟合。组织内蛋白酶解、BsAb的半衰期、人源化程度、与FcRn的亲和力、免疫原性、糖基化的性质及对蛋白水解本酶的敏感程度等因素均可能影响BsAb的吸收或清除过程。此外，给药剂量、途径、频率、疾病善等均会影响BsAb的免疫原性，抗药抗体（ADA）的产生可能中和药物活性，影响药物的清除、血浆半衰期和组织分布，从而改变药动学或与抗体的活性位点结合降低药物活性、甚至产生相反疗效等。因此，对ADA的检测对BsAb药效的控制有着重要意义。综上可知，建立高特异性、灵敏度、回收率、重现性以及更宽线性范围，并且能将进入体液的药物及其讲解产物和代谢产物与内源性、外源性干扰物区别开来的分析方法是非常重要的。本文拟对目前较为普遍的双特异性抗体的药动学特点及药物药效相关的生物学分析方法进行综述，如酶联免疫吸附分析、电化学发光技术、液质联用技术、流式细胞术、差示扫描量热法、表面等离子体共振、毛细管电泳法、报告基因检测等，阐述其原理与应用现状，为后续药物的临床前研究提供依据。

关键词：双特异性抗体；药动学；生物学分析

作者简介：王显菲，硕士，E-mail：wangxianfei@lewwin.com.cn
通讯作者：杨 威，E-mail：yangwei0719@163.com；郭健敏，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

T21-0016

Exosomal lncRNAs serve as biomarkers for liver disease

杨紫轩[1,2]，汤纳平[1,2]，郑敏慧[1,2]，常 艳[1,2]
(1. 中国医药工业研究总院; 2. 上海益诺思生物技术股份有限公司)

Abstract: Exosomes are tiny vesicles secreted by cells, with a diameter of 40~160 nm. The production of exosomes involves the formation of intraluminal vesicles (ILVs)-containing multivesicular bodies (MVBs) and double invagination of plasma membrane (PM). ILVs are finally secreted as exosomes when MVBs fuse with PM and exocytosis. The density of exosome is 1.15-1.19 g/mL. The tetraspanin proteins CD9, CD63 and CD81 expressed on the surface of exosomes are frequently used as the surface markers for exosomes.

Most cells can secrete exosomes, which can be identified in various biofluids such as blood, saliva, semen, milk, cerebrospinal fluid, urine, etc. Exosomes shuttle a variety of molecules, such as proteins, DNA, mRNA, miRNA and lncRNA, from parental cells to other cells. The composition of exo-

somes is similar to that of parental cells, and exosomes provide circulation-traceable specificity.

The high amount of exosomes in bodily fluids implicates their potential as a non-invasive diagnostic approach for liver diseases. Because of the low sensitivity and specificity of the conventional biomarkers for liver diseases, it is of utmost importance to discover novel, sensitive, specific and non-invasive biomarkers. Non-invasive liquid biopsy has become a promising modality for the early diagnosis of various diseases, especially for cancer. It uses biomarkers in a sample of bodily fluids to verify the pathophysiological status of a subject. This method is widely applied in disease diagnosis, prediction and prognosis, as well as treatment selection.

LncRNA is a kind of non-coding RNA (>200 nucleotides in length), which lacks a complete open reading frame, does not have the ability to encode proteins, or has a limited coding function. It has different secondary structures and can specifically bind to various nucleic acids and proteins according to the principle of complementary base pairing. LncRNA plays critical roles in gene regulation, including mRNA splicing, transcription, X-chromosome inactivation, epigenetic regulation, genomic imprinting, and nuclear-cytoplasmic trafficking.

Under pathological conditions, numerous studies have reported that many exosomal lncRNAs are differentially expressed compared to normal control samples, indicating that exosomes can selectively package, secrete and transport lncRNAs and exert specific biological functions. Exosomal lncRNAs are protected from RNases, hence, they can exist stably in biofluid samples.

In the present review, we have highlighted that exosomal lncRNA can serve as diagnostic, prognostic, predictive biomarkers for hepatocellular carcinoma, cholestatic liver injury, viral hepatitis, and alcohol-related liver diseases. Liquid biopsy for early diagnosis of liver diseases is an effective non-invasive strategy, since the occurrence and development of liver diseases are polygenic.

However, although exosomal lncRNAs are suggested to be biomarkers for several diseases, some issues need to be addressed before their clinical applications. First, the expression of lncRNAs is not only associated with the sample itself but is also affected by the internal reference gene and the extraction method used. Therefore, it is necessary to unify the standards among research institutions. Second, most of the studies are performed in small groups of patients. Hence, the correlation between certain exosomal lncRNAs and liver diseases with regard to diagnosis, prognosis, prediction specificity and sensitivity needs to be validated in larger patient cohorts in the future. Third, the number of total lncRNAs in the exosome is low, which requires amplification before subsequent experiments.

In addition to the liver diseases mentioned above, drug-induced liver injury (DILI) has attracted significant attention worldwide in the past few decades, mainly due to its significant morbidity and mortality. However, only few studies have focused on exosomal lncRNA serving as biomarkers for DILI, which may be a promising field in the future.

In summary, although plenty of problems remain unsolved, exosomal lncRNA still plays a vital role in liver diseases. Thus, it is important to clarify the mechanisms of exosomal lncRNA and improve valid ways to extract or identify them, thus paving the way for clinicopathological examination.

Key words: Exosome, LncRNA, Biomarker, Liver disease, Hepatocellular carcinoma, Cholestatic liver injury, Viral hepatitis, Alcoholic liver diseases

Corresponding author: 常　艳, E-mail: ychang@innostar.cn

T21-0017

竹荪多糖对高脂诱导胰岛素抵抗小鼠IRS-1/Akt/ GLUT2通路的影响

禄 菊，胡 婷，罗 鹏
（贵州医科大学公共卫生与健康学院，贵阳 550025）

摘要：目的 探讨竹荪多糖对高脂诱导胰岛素抵抗小鼠糖代谢及肝脏IRS-1/Akt/GLUT2通路的影响。**方法** 6周龄SPF级C57BL/6J雄性小鼠（18～20g）40只，随机分为2组：NC组（正常对照组）12只和模型组（高脂饮食组）28只。16周后，NC组及模型组随机各抽取4只小鼠行IPGTT、ITT，记录血糖变化情况，证实胰岛素抵抗形成后，模型组随机分为3组：模型组（高脂饮食组），DIP-L组（高脂饮食+竹荪多糖低剂量组），DIP-H组（高脂饮食+竹荪多糖高剂量组），每组8只。DIP-L、DIP-H组分别给予竹荪多糖200 mg/kg/d、400 mg/kg/d灌胃，NC组及模型组予以生理盐水灌胃。灌胃量10 ml/kg/d，持续6周。实验终点，再次行IPGTT及ITT试验，采集小鼠血清检测ALT、AST和INS，依据公式得出AUCglu、HOMA-IR和ISI；HE染色观察小鼠肝脏组织病理改变；qRT-PCR法及Western blot检测肝脏IRS-1、PI3K、AKT、GLUT2 mRNA和蛋白的相对表达量。**结果** 生化结果显示，对比模型组，两个DIP治疗组均降低胰岛素抵抗小鼠血清中的ALT、AST水平（$P<0.05$）。模型组小鼠FBG、INS均高于正常对照组（$P<0.05$），两个DIP组较模型组降低（$P<0.05$）。IPGTT和ITT结果显示，模型组小鼠空腹血糖及干预后30 min、60 min、120 min血糖均较对照组升高（$P<0.05$），两个DIP组较模型组降低（$P<0.05$），模型组AUCglu、HOMA-IR和ISI均高于正常对照组（$P<0.05$），2个DIP组AUCglu、HOMA-IR和ISI较模型组降低（$P<0.05$）。HE结果显示，两个DIP治疗组可以明显改善肝脏组织的病变程度。qRT-PCR结果显示，与正常对照组相比，模型组肝脏组织中IRS-1、PI3K、AKT、GLUT2 mRNA表达量均明显下调（$P<0.05$）；DIP干预后，肝脏组织中IRS-1、PI3K、AKT、GLUT2 mRNA表达水平模型组明显上升（$P<0.05$）。Western blot结果说明，对比正常对照组，模型组小鼠p-IRS-1/IRS-1、PI3K及p-AKT/AKT蛋白表达显著降低（$P<0.05$）；与模型组相比，两个DIP治疗组小鼠p-IRS-1/IRS-1、PI3K及p-AKT/AKT蛋白表达明显上升（$P<0.05$）。**结论** 竹荪多糖能够通过IRS-1/Akt/GLUT2通路上调胰岛素抵抗小鼠肝脏的IRS-1、PI3K、Akt、GLUT2表达水平，改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏胰岛素抵抗及糖代谢紊乱。

关键词：竹荪多糖；胰岛素抵抗；IRS-1/Akt/ GLUT2通路；糖代谢；小鼠
基金项目：国家自然科学基金（82173642）；贵州省教育厅项目（黔教合KY字[2022]218
通讯作者：罗 鹏，E-mail：luopeng@gmc.edu.cn

T21-0018

*hit*基因对变异链球菌致龋能力的影响及调控机制研究

樊紫萱[1]，胡 婷[1]，叶朝阳[2]，罗 鹏[1]
（1. 贵州医科大学公共卫生与健康学院，贵阳 550025；2. 贵州医科大学附属医院，贵阳 550025）

摘要：目的 *hit*基因在变异链球菌中的功能尚未明确，本研究旨在初步探讨*hit*基因对变异链球菌致龋能力的影响及其基因调控的分子机制。**方法** 1.通过同源重组构建变异链球菌*hit*基因缺陷株（Δ*hit*）、*hit*基因回补株（Δ*hitC*）；2.观察48 h不同pH下Δ*hit*、Δ*hitC*和ATCC25175野生菌株生长曲线；3.通过生物膜结晶紫染色试验、蒽硫染色试验、扫描电镜等实验手段，比较Δ*hit*、Δ*hitC*和ATCC25175的生物膜量、形态结构和粘附力差异；4.通过人工龋试验，在体外模拟对牙产生的龋样损坏的差异；5.通过荧光定量PCR技术，比较Δ*hit*和ATCC25175生物膜相关基因转录水平表达差异。**结果** 1.成功构建Δ*hit*和Δ*hitC*；2.观察48 h生长曲线可发现Δ*hit*较ATCC25175相比，生长迅速，随着pH值降低，Δ*hit*受到部分抑制，仍可继续生长，ATCC25175则受到明显抑制，在pH5.6培养基中无法生存；3. Δ*hit*生物膜结构呈均匀疏松状，粘附力降低，生物膜形成量减少；4. Δ*hit*造成的龋样损坏明显强于ATCC25175；5. *hit*基因缺失后，生物膜形成基因gtfB、

gtfC、gtfD等表达降低，下游目标基因表达水平上升。**结论** *hit*基因影响变异链球菌生长速率，改变生物膜状态及生物膜形成量，对酸性耐受度显著改变，且相关基因表达改变，从而影响变异链球菌的致龋能力。

关键词：变异链球菌；ATCC25175；龋病；*hit*基因

基金项目：贵州省科技计划项目（黔教合基础-ZK[2021]一般438）

通讯作者：罗　鹏，E-mail：luopeng@gmc.edu.cn；叶朝阳，E-mail：yezy@gmc.edu.cn

T21-0019

妊娠糖尿病患者尿液四种神经代谢物影响因素分析

蔚　佳[1]，刘　耘[2]，刘晓玲[3]，梁　丹[1]，李雨蒙[1]，梁　旭[1]，姜　涛[1]，孙　易[1]

（1. 桂林医学院公共卫生学院，广西 桂林　541199；2. 唐山中心医院，妇科，河北 唐山　063000；
3. 桂林医学院附属医院，内分泌科，广西 桂林　541199）

摘要：目的 GDM会引发母亲和婴儿二者的神经损伤，孕妇处于高糖状态不仅对自身有损伤，还会使处于高糖环境下的宫内胎儿引发高胰岛素症，并且导致出生后的新生儿出现低血糖和不同程度的神经损伤及影响。本研究选择了四种尿液中的神经递质代谢物香草扁桃酸（Vanillymandelic Acid，VM-A）、5-羟基吲哚乙酸（5-Hydroxyindole Acetic Acid，5-HIAA）、3，4-二羟苯乙酸（3，4-Dihydroxyphenylacetic Acid，DOPAC）、高香草酸（Homovanillic Acid，HVA）作为检测指标，探讨不同血糖浓度水平孕妇的神经递质代谢物含量水平差异，以及神经递质代谢物浓度与孕妇血糖变化的相关性，旨在为妊娠糖尿患者的神经损伤提供一个早期诊断指标并构建一种预测策略。**方法** 选取2018年～2021年，在河北省唐山市开滦总医院158名孕产妇（正常组，n=141 vs高血糖组，n=17）分析两组间四种神经递质代谢物的浓度差异，及血糖和神经递质代谢物的相关性，并对存在组间有差异的基本特征和血糖对VMA进行交互作用分析。**结果** 本研究对两组进行了基本特征分析，结果表明两组在BMI（P=0.012）有显著性差异。随后对正常组和高糖组两组间神经递质代谢物做差异性进行分析，我们发现DOPAC（P=0.042）在两组间发现有统计学意义的显著性差异，但VMA（P=0.364）、5-HIAA（P=0.522）和HVA（P=0.350）均未发现有组间显著性差异。随后分析每个选定的在两组间有差异的基本特征和血糖对VMA是否存在交互作用时，发现存在组间差异的基本特征和血糖水平对VMA不存在交互作用。**结论** 本研究中发现的尿液中神经代谢产物DOPAC可能是妊娠糖尿病患者神经功能改变的早期诊断的预测性指标，对于GDM孕妇神经损伤的早期监测和预防有着积极的临床意义。

关键词：妊娠糖尿病；神经代谢物；饮食因素

T21-0020

基于风险分析的QAP在GLP机构中的作用

梁蕊蕊，职阳阳，赵宏哲，李　旻，张呈菊

（上海益诺思生物技术股份有限公司，201203）

摘要：我国《药物非临床研究质量管理规范》中明确规定非临床安全性评价研究机构应设立独立的质量保证部门（Quality Assurance Unit，QAU）。QAU作为GLP原则的基石，应在试验机构建立一种持续监控的内部机制，从而确保机构内的管理层、机构设施以及机构内试验的GLP遵从性。

2022年OECD No.23关于QA的GLP文件是对1999年OECD No.4 QA文件的更新和替代，它首次介绍了基于风险的方法来制定质量保证计划或程序（Quality Assurance Programme，QAP）从而建立对GLP机构动态的、持续的监控机制。QAP：独立于试验研究之外的一个体系，确保试验机构GLP的合规性，QAP由独立的QA人员执行，直接对TFM负责。风险可以定义为问题发生的可能性（在试验机构、质量系统或研

究中),这些可能对数据的完整性和质量以及总体GLP合规性产生影响。试验机构、质量系统或研究中确定GLP合规性的风险,TFM确保控制措施到位并及时检测到风险,可降低GLP合规性的风险,不同范围深度或频率的QAU检查。

因此基于风险的QAP是QAU及试验机构需要考虑的,它可以让QA人员确定要进行的检查类型,何时进行,并以与风险等级更有效、更主动的方式集中QAU的资源确定可能出现的问题以及可能对GLP合规性产生的影响。一旦确定了风险,就应该设计和实施提供可接受控制状态的QAP,并使用来自风险评估的信息来规定或证明每项活动的QA检查频率和范围。

此外,风险管理是一个持续的过程,应实施定期审查风险的机制。审查包括使用受控和稳定的过程来评估质量体系的有效性,这些过程捕获、衡量和识别各种质量指标的趋势:例如,偏差的数量、类型和频率、检查结果和一般错误等指标。还可以考虑试验机构内的重大变化,例如工作量的增加、新方法或技术的引入以及关键人员和外部环境的变化,而且新的法规和指导文件也会影响QAP,从定期审查过程中更新和加强基于风险的QAP是十分重要的。

通讯作者:李 旻,E-mail:mli@innostar.cn

T21-0021

Overview of SAR-based Read Across Approach

Wang Ying

(P&G Technology (Beijing) Co., Ltd. No. 35 Yu´an Road, B Zone, Tianzhu Konggang Development Zone, Shunyi District, Beijing, 101312, P.R. China)

Abstract: Animal alternative approaches are widely developed to fill in the toxicological data gap for chemical hazard assessment in past two decades. The structure activity relationship (SAR)-based read-across, as one of the most widely used animal alternative method, has been accepted and widely used by many regulatory agencies globally. Based on pervious experiences, to standardize the process, some toxicologists or global authorities have published the framework or guidance of read across. Different decision contexts may have different expectations on uncertainty through read across, but the working procedure almost contain the same steps and key scientific elements, which all require expert judgement for the conclusion.

The general process to conduct SAR-based read across includes define the decision context and data gap(s), search analogs and evaluate their suitability, search for and evaluate data from analogs for sufficiency and concordance, develop the read-across hypothesis and define read-across scenario, address all relevant scientific elements in the read-across justification, evaluate the conclusion and uncertainties of the read-across. During the analog identification, not only structure similarity needs to be considered, the physical-chemical properties, ADME information, reactivity and biology similarity all need to be assessed for sufficiency and concordance. There´re some publication and tools to help identifying analogs, predicting metabolism and proposing conclusion, such as OECD toolbox. This is indeed helpful to promote the practice of read across. Ultimately the scientific rationale to support the hypothesis of similarity and why the read-across is appropriate including any areas of uncertainty should be described clearly.

The SAR-based read across assessment is a complex and iterative process. The weight of evidence (WoE) approach is used to evaluate and integrate multiple information streams to support the read across. Finally, the conclusion is determined based on the strength of the WoE, clarity of the justifi-

cation, consideration of residual uncertainties, and the original purpose of read across.

Key words: Structure activity relationship (SAR)-based Read Across; ADME; Uncertainty analysis

Corresponding author: Wang Ying, E-mail: wang.yi.13@pg.com

T21-0022

交叉参照基本原理及研究进展

高仁君[1]，付立杰[2]

（1. 雅诗兰黛创新研发（中国）有限公司，上海 200233；2. 中国毒理学会，北京 100850）

摘要：在化学品的风险评估过程中化学物质分组（Grouping）和交叉参照（Read-Across）技术已经被美国、欧盟、加拿大、和日本等政府管理机构广泛接受。在欧盟REACH法规中，欧洲化学品管理局（ECHA）强力推荐使用非动物测试方法获得数据，如（定量）构效关系（(Q)SAR）、化学物质分组和交叉参照、体外（In Vitro）测试数据、以及证据权重（Weight of Evidence）分析等。本文主要介绍化学物质交叉参照的原理及研究进展。

分组是指将化学物质分类或归类的技术。主要的分组技术包括结构相似性分组和机制相似性分组。交叉参照是指在化学物质类别或类似物方式分组后，组内成员相互弥补缺失数据的技术。从同一类物质中的其它成员物质的已知信息而推导出某物质的未知信息的方法。用于分类的相似性包括：化学结构相似性，如共同的官能团、共同的成分或化学类别、相似的碳原子数目范围、共同的起始物和/或分解产物等；物理化学性质相似性，如相似的化学行为、相似生物利用度、相似的溶解性等；毒代动力学相似性：如在动物体内的吸收、分布、代谢和排泄相似；毒理学作用模式（机制）相似性，如共同的作用模式或作用机制或有害结局通路等。进行交叉参照时应该充分考虑用于交叉参照的数据的相关性和可靠性。如果所要交叉参照的数据没有遵循最新的OECD测试导则，需要评估数据质量及测试方法的适用性。应该充分考虑交叉参照或被交叉参照的化合物是否属于多官能团化合物。应该充分考虑交叉参照或被交叉参照的化合物的纯度、杂质组成和水平。应该充分比较交叉参照或被交叉参照的化合物的理化性质。还应考虑化合物可能的毒代动力学特性。工业界、科学界和各国政府机构和相关组织也通过法规和指南文件来积极推动其在化学品安全评估和监管中的使用。因为交叉参照是一个需要专家判断、不断迭代自检的多步骤复杂过程，在实际使用中仍然面临一些如有效性、不确定性等问题。

关键词：化学物质分组；交叉参照；（定量）构效关系；结构相似性；机制相似性

T21-0023

A002大鼠重复灌胃给药4周毒性试验

陈 超，袁晨星，林春琴，盖仁华，翁勤洁

（浙江大学药物安全评价研究中心，310058）

摘要：目的 SD大鼠每天1次灌胃给予A002，连续4周，评估和确定该供试品的毒性作用，包括毒性反应的性质、程度、量效和时效关系以及可逆性等；判断重复给药的毒性靶器官；确定未观察到临床不良反应的剂量水平或最大耐受剂量（MTD）；为临床不良反应监测及预防提供参考。**方法** 健康SD大鼠120只，根据性别及体重，采用分层随机法分为溶媒对照组（0.5 % MC）、低剂量（♂：25 mg/kg；♀：12.5 mg/kg）组、中剂量（♂：50 mg/kg；♀：25 mg/kg）组、高剂量（♂：75 mg/kg；♀：40 mg/kg）组，每组30只，其中给药期每组10只/性别，恢复期每组5只/性别。动物灌胃给予相应浓度的A002混悬液或0.5% MC，给药容量为10 mL/kg，每天给药1次，连续给药4周，停药恢复4周。试验期间每天观察动物的临床症状；每周1次测定体重和摄食量；于给药期结束和恢复期结束对计划解剖动物进行眼科、临床病理、大体解剖、骨髓涂片以及组织病理学

检查。**结果** 40 mg/kg组有1只雌性动物于D7死亡，动物死亡前可见鼻周红染、消瘦、弓背；75 mg/kg组有1只雄性动物于D25死亡，动物死亡前可见肛周污秽、消瘦、弓背、鼻周红染症状。试验期间，75 mg/kg组雄性动物可见鼻周红染、消瘦、弓背、竖毛、肛周污秽症状。40 mg/kg组雌性动物可见鼻周红染、消瘦、弓背。上述高剂量组雌雄动物可见体重增长缓慢，摄食量降低。临床病理学检查75 mg/kg组雄性动物可见WBC、LYMPH%显著减少，NEUT%显著增加，40 mg/kg组雌性动物可见LYMPH%、RBC、Hb和Hct显著减少，NEUT%显著增加，恢复期结束RBC仍可见减少。骨髓涂片检查可见晚幼红细胞、成熟粒细胞比例显著减少。组织病理学检查≥25 mg/kg组动物见脾脏萎缩、脾脏髓外造血、胸腺萎缩、卵巢囊肿和出血、甲状腺滤泡小和胶质减少、胃黏膜下水肿、胃黏膜下炎细胞浸润、空肠黏膜坏死等改变，40 mg/kg组雌性动物子宫萎缩。恢复期结束，胃、空肠、脾脏、甲状腺、胸腺和子宫的改变均恢复，卵巢的改变基本恢复。**结论** SD大鼠雄性动物在25、50、75 mg/kg剂量下，雌性动物在12.5、25、40 mg/kg剂量下，灌胃给予A002，每天1次，连续28天，主要毒性反应为肛周污秽、消瘦、弓背，体重降低，毒性靶器官可能为胃、空肠、脾脏、胸腺、子宫、卵巢、甲状腺和骨髓，停药恢复4周，除卵巢的改变基本恢复，其余毒性反应均可完全恢复。雄性动物的MTD为50 mg/kg，雌性动物的MTD为25 mg/kg。

关键词：A002；重复灌胃给药4周毒性试验；SD大鼠

通讯作者：翁勤洁，E-mail：wengqinjie@zju.edu.cn

T21-0024

植入器械工艺过程引入的钼元素残留的毒理学风险评估

张 薇，赵文静，耿 芳

（美敦力（上海）有限公司，上海）

摘要：目的 线材放电加工（EDM）是一种电热生产工艺。加工过程中细的单股金属线材与去离子水（用于导电）利用电火花产生的热量切割金属，同时防止生锈。通常，材料为钼的线材被用于慢速和中速切割。然而在这个过程中，工件和钼丝电极之间的脉冲放电产生的热能可能导致工件和钼丝上的材料熔化和蒸发。如果清洗不彻底，由于熔化和蒸发而产生的钼磨损可能会转移到工件并留存在医疗器械终产品上。一款以钛合金为材料的脊柱植入器械，用于脊柱后路融合结构的脊柱畸形矫正。该器械为已上市产品。新引入线材放电加工工艺将钛合金零件切割成所需形状。本研究的目的是根据ISO 10993：Biological Evaluation of Medical Device对最终产品上潜在钼残留的生物学风险进行评估。**材料和方法** 为了检测该线材放电加工工艺过程中是否有产生的钼磨损转移到植入器械终产品，将终产品在50°C的水中进行极限浸提，然后通过ICP/MS测量浸提物中的钼元素总量，并根据ISO 10993-17对钼残留进行毒理学风险评估。由于该器械是与组织接触的长期植入物，因此需要对以下毒性学终点进行评估：刺激、致敏、急性全身毒性、发育毒性、遗传毒性、生殖毒性、慢性毒性和致癌性。应用下列假设以达到保守的评估：临床上最多可以向一名患者植入六件器械；患者群体包括男性和女性成人，以及可能怀孕的女性成人；上述极限浸提下得到的钼残留的总量被作为患者每天最大暴露量。最终，使用安全边际（Margin of Safety，MOS）方法进行筛选性的毒理学风险评估。**结果** 终产品上钼元素残留量被测定为0.08微克/件。上述毒理学风险评的结果确定：新的线材放电加工在该器械生产过程中的引入造成的在终产品上的钼残留不会对患者造成刺激，发育毒性，生殖毒性，遗传毒性或致癌性的风险，这是因为钼残留在该器械的预期暴露状态下不会表现出这些类型的毒性。钼是人体必不可少的元素。在本研究中，低于可耐受摄入量的钼暴露被认为不太可能引发致敏反应。由于MOS远大于1，终产品上的钼残留被认为不会带来任何潜在的急性或慢性全身毒性风险。**结论** 综上，上述化学分析和毒理学风险评估表明，在该脊柱植入器械的预期用途下，由于新的线材放电加工工艺引入的钼残留在上述涉及的毒理学终点上，不会对成年患者构成健康风险。

关键词：医疗器械；ISO 10993；钼；毒理学风险评估

通讯作者：张 薇，E-mail：wei.zhang2@medtronic.com

T21-0025

锰暴露对大鼠的免疫毒性效应及其生物标志物探索

司惠芳[1], 姚　武[1], 郭永华[1], 邓雪丹[1], 何　婧[1], 邓　萌[1], 吴陈陈[1], 郝长付[2]
（1. 郑州大学公共卫生学院,劳动卫生与环境卫生学, 河南 郑州　450001; 2. 郑州大学公共卫生学院,儿童青少年卫生学, 河南 郑州　450001）

摘要:目的　锰(Mn)是一种必需的微量元素,但接触过多会导致机体多系统功能发生损害。而免疫系统作为对毒物毒性作用异常敏感的靶器官,更应在评价锰的毒性作用中被关注。本研究旨在探索不同剂量及时间的锰暴露对大鼠免疫功能的影响,并寻找有效生物标志物。**方法**　SD大鼠按低(5 mg/kg)、中(15 mg/kg)、高(25 mg/kg)剂量通过腹腔注射氯化锰(MnCl2),两天一次,连续1周或8周。用戊巴比妥钠麻醉处死大鼠后,采集其外周血、脾脏及胸腺进行组织学检查、流式细胞仪分析、mRNA和蛋白质定量。**结果**　锰处理后,显微镜下观察发现脾脏及胸腺均有不同程度的病理改变;血清免疫球蛋白G(IgG)、IgM及补体C3的水平均呈剂量依赖的减少。与对照组相比,锰暴露组大鼠外周血、脾脏及胸腺中$CD3^+$、$CD4^+$及$CD8^+$数量均有下降;且高剂量组大鼠脾脏中程序性细胞死亡受体1(PD-1)、细胞程序性死亡-配体1(PD-L1)及T细胞免疫球蛋白黏蛋白-3(TIM-3)的mRNA及蛋白表达均显著升高。在两个时间模型里,大鼠胸腺中的PD-1、PD-L1及TIM-3蛋白均呈剂量依赖的增加。与对照组相比,高剂量组大鼠脾脏及胸腺中IL-6和IL-10的mRNA含量均显著增加;在八周锰暴露模型中,大鼠胸腺IL-6及IL-10的mRAN随剂量增加而减少,而NF-kB及TNF-a的mRNA含量呈剂量依赖增加。**结论**　综上,我们的研究发现长期接触锰能够引起大鼠体液及细胞免疫功能损伤,导致免疫功能下降,免疫球蛋白及免疫检查点有望作为锰暴露免疫毒作用的效应标志物。

关键词: 锰暴露; 免疫毒性; 效应标志物; 免疫球蛋白; 免疫检查点

通讯作者:司惠芳,E-mail:huifang_si@163.com

T21-0026

影响川楝子肝毒性的因素及最佳炮制工艺探究

杜晓鹂, 董　玉
（内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特　010110）

摘要:目的　川楝子在临床上可用于治疗多种疾病,但其在人体内容易积蓄,川楝子中的主要活性成分及毒性成分均包含川楝素,大剂量或连续长期服用都可能导致积蓄中毒引起肝细胞水肿、脂肪变性等病理学变化。本文利用网络药理学和分子对接对川楝子中的活性成分及相关靶点进行预测,探讨川楝子中的活性成分对肝毒性(脂肪肝)的影响,同时考查川楝子的最佳炮制工艺。**材料和方法**　通过对相关文献进行查阅及联合运用TCMSP等多个数据库,对川楝子的活性化合物及作用靶点进行检索,利用Ingenuity Pathway Analysis(IPA)软件对潜在靶点进行核心分析及分子对接验证,探讨其活性成分对肝毒性特别是脂肪肝的影响;同时通过单因素(加醋量、闷润时间、烘干温度、炮制规格)考察探究川楝子的最佳炮制工艺。**结果**　从川楝子中筛选得到活性成分36个,相关作用靶点209个。IPA核心分析显示川楝子中的主要活性成分,如川楝素、槲皮素、大豆黄素、异槲皮素、硬脂酸、甘露醇、山奈酚、香草醛、芦丁可通过作用于EIF2AK2、STAT1、STAT2、IRF9、TP53、DCK等主要靶点对脂肪肝进行调控;分子对接结果进一步验证了川楝子中所筛选的槲皮素、大豆黄素等8个核心成分与TNFα、IL-6、EIF2AK2等10个核心靶点的相互作用关系;单因素试验的结果表明,过3目筛的川楝子细粉在加醋量为12 mL,闷润时间为2 h,烘干温度为140℃的条件下川楝素含量最低,为0.39 mg/mL。**结论**　川楝子中的主要活性成分对脂肪肝具有调控作用且以川楝素含量作为其中一项指标,通过单因素试验可以为川楝子炮制工艺的优化提供科学依据。

关键词:川楝子; 网络药理学; 分子对接; 炮制工艺

作者简介：杜晓鹂，E-mail：48121567@qq.com
通讯作者：董 玉，E-mail：dongyu010@126.com

STING介导PERK/eIF2α/ATF4/CHOP通路在氟氯氰菊酯诱导胎盘损伤中的作用研究

倪文思，高浩轩，杨惠芳
（宁夏医科大学）

背景：氟氯氰菊酯是典型的Ⅱ型拟除虫菊酯类杀虫剂，由于其兼具杀虫杀螨双重效果、低哺乳动物毒性和环境降解能力，广泛应用于房屋卫生和农业病虫害防治。流行病学调查提示母体接触拟除虫菊酯与不良妊娠结局有关，动物实验发现拟除虫菊酯农药可引起胎盘损伤，导致宫内生长受限，但可能的发病机制仍有待阐明。因此，我们建立氟氯氰菊酯暴露致胎盘损伤体内和体外模型，评估妊娠期氟氯氰菊酯暴露对胎盘发育的影响，探讨干扰素基因的刺激者（STING）基因是否介导PERK/eIF2α/ATF4/CHOP通路调控胎盘损伤，为进一步研究氟氯氰菊酯暴露引起胎盘损伤的作用机制提供新的思路。**方法** 建立氟氯氰菊酯暴露致大鼠胎盘和HTR-8/SVneo细胞损伤模型，观察并记录胎盘重量、长度以及孕鼠妊娠结局，Transwell和划痕实验评价染毒后细胞侵袭和迁移能力；HE观察胎盘组织结构变化，透射电镜观察胎盘和细胞超微结构变化；免疫组化和TUNEL染色检测细胞增殖和凋亡情况；构建STING慢病毒载体转染HTR-8/SVneo细胞，利用免疫组化、免疫荧光、Western blot和q-PCR检测抑制STING基因后，内质网应激、PERK通路以及凋亡相关因子变化情况。结果：妊娠期氟氯氰菊酯暴露损害胎盘结构和发育引发不良妊娠结局；随着染毒浓度的增加胎盘细胞的增殖、迁移和侵袭能力被抑制，通过激活内质网应激介导的PERK/eIF2α/ATF4/CHOP通路诱导细胞凋亡；抑制STING基因下调GRP78、ATF4、CHOP、caspase-12和caspase-3的表达，并抑制PERK和eIF2α的磷酸化。与此同时促进HTR-8/SVneo细胞增殖、迁移和侵袭，缓解细胞凋亡。**结论** 综上所述，氟氯氰菊酯具有一定的生殖毒性，妊娠期接触可诱发胎盘损伤导致不良妊娠结局，STING基因通过PERK/eIF2α/ATF4/CHOP通路参与氟氯氰菊酯引起的胎盘损伤。

关键词：氟氯氰菊酯；STING；PERK/eIF2α/ATF4/CHOP；胎盘损伤

通讯作者：倪文思，E-mail：nws51900737@126.com

孕期对羟基苯甲酸酯暴露与10岁儿童肥胖关联的出生队列研究

许思楠，张 磊，邬春华*，郭剑秋，张济明，齐小娟，常秀丽，周志俊
（复旦大学公共卫生学院职业卫生与毒理学教研室，上海 200032）

摘要：背景 对羟基苯甲酸酯类化合物（Parabens，PBs）是一种在食品、药品和个人护理用品中广泛使用的防腐剂，人类可通过多种途径暴露于该类物质，孕期PBs暴露可造成远期儿童不良健康结局如肥胖的发生。**目的** 基于前瞻性的队列研究，评估孕期尿样中PBs浓度水平并探究孕期PBs暴露对10岁儿童肥胖的影响。方法：本研究以438对自愿参加射阳小型出生队列的母子对为研究对象，在孕妇招募和10岁儿童随访时开展了问卷调查，评估了10岁儿童的身高、体重、腰围等体格指标。在分娩当天收集孕妇尿样，应用GC-MS/MS方法测定了尿中5种PBs［（对羟基苯甲酸甲酯（methylparaben，MePB）、对羟基苯甲酸乙酯（ethylparaben，EtPB）、对羟基苯甲酸丙酯（propylparaben，PrPB）、对羟基苯甲酸丁酯（butylparaben，BuPB）和对羟基苯甲酸苄酯（benzylparaben，BePB）］的浓度。应用广义线性模型和贝叶斯核函数回归（BKMR）模型探究孕期尿样PBs浓度与儿童肥胖的关系。**结果** 5种PBs在孕期尿样中的检出率均大于

89%，其中MePB）和PrPB的检出率为100%。尿样MePB的中位浓度为5.41 μg/L，在5种PBs中最高，其次为PrPB（1.39 μg/L；2.41 μg/g），其余PBs的中位浓度均低于1 μg/L。广义线性模型结果显示，孕期MePB暴露与10岁儿童腰围身高比（WtHR）呈显著性正相关[β=0.005，95%置信区间（CI）：0.001，0.009；p = 0.03]。性别分层结果显示两者的正相关关联在男生中更加显著（β=0.006，95% CI：0.001，0.012；p = 0.05）。BKMR模型结果显示5种PBs混合暴露与儿童BMI-Z评分和WtHR也均呈正相关，但结果无统计学意义。**结论** 本研究孕妇广泛暴露于PBs，其中以MePB和PrPB为主。孕期尿样MePB浓度可能会导致远期儿童肥胖发生，且该作用在男童中更加明显，该研究为探讨PBs暴露与学龄期儿童体格生长的关系提供了流行病学新证据。

关键词：对羟基苯甲酸酯；暴露评估；儿童肥胖；出生队列；尿样

通讯作者：邬春华，E-mail：chwu@shmu.edu.cn

基于SIRT1-AMPK通路探究李糖乳杆菌上清液对酒精性肝损伤大鼠MyD88、occludin的影响

陈香郡

（重庆医药高等专科学校）

摘要：目的 探究基于沉默信息调节因子蛋白1（Silent information regulator protein 1；SIRT1）-腺苷酸活化蛋白激酶（Adenylate activated protein kinase；AMPK）通路、使用李糖乳杆菌上清液对酒精性肝损伤大鼠髓样细胞分化因子88（Myeloid differentiation factor 88；MyD88）和肠上皮紧密连接蛋白（Intestinal epithelial tight junction proteins；occludin）表达水平的影响。**方法** 选取SD雄性大鼠30只，随机分为对照组、模型组和李糖乳杆菌组；对照组给予对照液体饮食，模型组大鼠给予含5%酒精的Lieber-DeCarli液体饲料（液体饲料组成：40%脂肪、17%蛋白质、7.5%碳水化合物、35.5%麦芽糊精）进行喂养，李糖乳杆菌组大鼠给予含5%酒精的Lieber-DeCarli液体饲料+鼠李糖乳杆菌上清液，按照10^9cfu/d·只的剂量添加到流质饮食中混合均匀对小鼠进行喂养，共喂养10 d；第11 d时给予模型组、李糖乳杆菌组大鼠6 g酒精/kg体重剂量灌胃，酒精浓度为40%，对照组大鼠给予同等量的麦芽糊精进行灌胃，灌胃9 h后麻醉处死大鼠。采用酶联免疫吸附法检测谷丙转氨酶（Alanine transaminase；ALT）、谷草转氨酶（Glutamic oxalacetic transaminase；AST）、甘油三酯（triglyceride；TG）、超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase；SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（Glutathione peroxidase；GSH-Px）、还原型谷胱甘肽（Reduced glutathione；GSH）水平；采用Western blot法检测MyD88、occludin、SIRT1、AMPK表达，使用HE染色法对大鼠肝脏细胞进行观察分析。采用SPSS20.0进行统计学处理，以$P<0.05$为有统计学意义。**结果** 与对照组比较，模型组、李糖乳杆菌组ALT、AST、TG水平异常上升（$P<0.05$）；与模型组比较，李糖乳杆菌组ALT、AST、TG水平下降（$P<0.05$）。与对照组比较，模型组、李糖乳杆菌组大鼠SOD、GSH-Px、GSH水平异常下降（$P<0.05$）；与模型组比较，李糖乳杆菌组大鼠SOD、GSH-Px、GSH水平上升（$P<0.05$）。与对照组比较，模型组、李糖乳杆菌组MyD88表达异常上升，occludin表达下降（$P<0.05$）；与模型组比较，李糖乳杆菌组MyD88表达下降，occludin表达上升（$P<0.05$）。**结论** 使用李糖乳杆菌对酒精性肝损伤大鼠进行干预，能够通过SIRT1-AMPK通路改善大鼠肝损伤，调节MyD88、occludin表达，有着较好的干预效果。

关键词：沉默信息调节因子蛋白1；李糖乳杆菌；酒精性肝损伤；腺苷酸活化蛋白激酶

通讯作者：陈香郡，E-mail：cxj276620002@163.com

人和动物源多重耐药肺炎克雷伯菌的遗传多样性和毒力评估

豆保静，庞晓敏，田可可，李 倩，周梅芳，张丹丹，尚愉涵，王玉莲
（国家兽药残留基准实验室（华中农业大学），湖北 武汉 430070）

摘要：目的 肺炎克雷伯菌（*Klebsiella pneumonia*，KP）是一种人畜共患病原菌，可引发人和动物的肺炎、败血症等疾病。高毒力多重耐药KP菌株的流行对动物和人类健康构成潜在威胁。本研究旨在分析不同宿主来源的多重耐药KP分离株的遗传多样性和毒力，以拓宽对人和动物源肺炎克雷伯菌的致病力和进化基因组学的理解，为公共卫生安全监测提供理论数据。**材料和方法** 89株KP分离于人（n=10，武汉）、牛（n=61，武汉、黄冈和宜昌）、猪（n=11，湘潭和武汉）和鸭（n=7，襄阳和黄冈）源样品。对所有分离株进行全基因组测序，在PubMLST、VFDB数据库进行比对，分析其血清型、基因型及毒力基因，利用MEGA-X和iTOL构建ST系统发育树；通过拉丝试验初步筛选疑似高毒力菌株，并筛选15株代表菌株进行小鼠致病性试验，评估不同宿主来源、ST型、荚膜血清型和高毒力因子等因素对菌株毒力的影响。**结果** 在89株KP中发现56种不同的*wzi*型和36种荚膜K型，其中*wzi*274-KL30占11.2%；共获得57种不同ST型（包括27种新的ST型），ST2410为主要的ST型（10/89）。在四种宿主来源KP中均发现ST2410，提示该ST型具有跨物种和地区传播的风险。ST2410在猪源KP分离株中检出率最高（54.6%），这提示猪场内可能存在克隆传播。在人源KP中，3株菌为亚洲主要流行的高毒力菌株ST11，1株菌（KP-H772）为与高毒力相关的K2荚膜血清型。*peg344*、*iroB*、*iucA*、*rmpA*和*rmpA2*为已报道的高毒力基因。在四种宿主来源分离株中均有检出iucA（20/89），在猪源菌株中检出率最高（9/11）。小鼠致病性实验结果显示ST2410人源菌株（KP-H740，LD_{50}=4.88×10^4CFU/mL）的毒力明显强于其他来源的菌株，也明显强于其他ST型菌株（LD_{50}=1.87×10^7~1.13×10^9CFU/mL）。菌株KP-H740拉丝试验结果为阴性，且仅携带*iucA*基因，但是，其毒性明显高于拉丝阳性和携带多个高毒力基因的KP-P520、KP-H772和KP-S196，提示该菌株可能存在其他影响毒力的因素。两株ST11代表菌株（KP-H845和KP-H786）毒力较低（1.31×10^8和5.6×10^8 CFU/mL），KP-H845仅携带高毒力基因*iucA*，KP-H786不携带任何高毒力基因，与报道的ST11携带多个高毒力基因存在差异，怀疑ST11致病力下降与传播流行过程中毒力基因丢失有关。**结论** 不同宿主来源KP的致病能力存在差异，已报道高毒力因子与菌株致病力之间未见明显的相关性。ST2410型的菌株具有跨地区和物种传播风险，且ST2410人源菌株致病力强于相同ST型的动物源菌株，建议加强对该ST型菌株的监测、毒力评估和溯源分析。

基金项目： 国家重点研发计划项目（2022YFD1800400）

通讯作者： 王玉莲，E-mail：wangyulian@mail.hzau.edu.cn

浅谈GLP环境下精液分析系统的性能验证

黄泽鹏，韩 重，夏赵云，廖海锋，吴心如，郭健敏*，杨 威*
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东 广州 510990；
2. 广州湾区生物医药研究院，广东 广州 510990）

摘要：目的 精液分析是药物生殖毒性试验的重要检测指标之一，精液分析系统通过对精子图像的分析，记录精子的运动轨迹，获得精子浓度、精子活动度等数据，辅助检验人员进行精子畸形检查，具有准确、客观、快速等优点。根据《药物非临床研究质量管理规范》的要求，需要定期对精液分析系统进行性能验证，以保证仪器性能满足试验需求，保证试验数据的准确性。**方法** 取成年雄性大鼠2只，先用2%的Dorminal溶液静脉注射麻醉后放血处死，取附睾尾，先称量其重量，然后将附睾尾剪开，放入盛有精子营养液的的EP管中，37℃左右恒温孵育5 min，孵育过程中震摇EP管5-6次，使精子从附睾组织中充分游离出。取附睾尾精子悬液进行精液分析以及人工精子计数、形态观察和运动功能观察。结果：精子计数分析结果与肉眼镜

下计数结果相近，误差不超过10%。精子运动功能分析结果与肉眼镜下观察结果相近，Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级运动的精子比率应相近，误差低于0.1%。精子形态分析结果与肉眼镜下观察结果一致，无畸形精子。**结论** 本研究院精液分析系统分析结果与人工显微镜检测结果差异无统计学意义（P>0.05），两者具有良好的一致性，符合验证合格判定标准，因此认为该仪器性能满足试验需求，可用于GLP环境下的精液常规分析。

关键词：精液分析系统；性能验证；GLP

基金项目：广州市基础与应用基础研究项目（202002030156）；广东省重点领域研发计划“新药创制”重点专项（2019B020202002）

通讯作者：郭健敏，高级工程师，Tel：13602461030，（020）87998656，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com；杨　威，教授级高级工程师/博士导师，Tel：18928860179，（020）87998690，E-mail：yangwei0719@163.com

血清多氯联苯水平与2型糖尿病发生关联的巢式病例对照研究

李沛文，徐亚莉，李朝阳，程　旭，贾成勇，张世阳，安　君，张　欣，颜　妍，何美安

（华中科技大学同济医学院公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系，湖北　武汉　430030）

摘要：目的 探讨多氯联苯（Polychorinated biphenyls，PCB）暴露与2型糖尿病（Type 2 diabetes mellitus，T2DM）发生的关联，并探索多氯联苯与5年空腹血糖（Fasting blood glucose，FBG）变化之间的关系。**材料和方法** 本研究纳入东风-同济队列在2008年到2013年第一次随访期间新发2型糖尿病病例1006人，按照年龄（±5岁）和性别1∶1匹配无冠心病、中风和肿瘤病史的健康对照。T2DM的诊断标准为空腹血糖≥7.0 mmol/L，或糖化血红蛋白≥6.5%（仅随访时），或使用降糖药（胰岛素治疗或口服降糖药），或自报临床医生确诊的糖尿病。使用气相色谱-三重四级杆质谱联用仪测定基线时7种指示性血清多氯联苯（PCB28、PCB52、PCB101、PCB118、PCB138、PCB153、PCB180），低于检测限的PCB用LOD/√2替代。采用新颖的“预调整残差法”来调整血脂对多氯联苯浓度的影响，残差对应未受血脂影响的部分。选择公认的影响PCB浓度的因素（年龄、性别、血清总脂质和身体质量指数）作为预测因子，并用预测因子对对照组中的PCB浓度通过线性回归模型进行拟合。以对照组中预测因子的中位数为标准，然后用从对照组得到的模型参数计算总人群标准化后的残差。使用条件logistic回归模型评估PCB与T2DM发生的关联性，进一步采用多变量广义线性回归模型分析PCB与5年FBG变化的关系。利用限制性立方样条评估PCB与T2DM发生、5年FBG变化之间的剂量-反应关系。随后使用PROCESS宏进行中介分析探究血清脂质是否参与介导PCB与T2DM发生风险的关联。**结果** 研究发现，非二噁英类多氯联苯（Non-dioxin-like PCBs，NDL-PCBs）与较高的T2DM发病率、FBG升高显著相关。除PCB138外，PCB最高四分位数比最低四分位数（Q4vs.Q1）人群T2DM的发病率高出1到3倍。PCB153与T2DM发生风险存在非线性剂量-反应关系，但与FBG升高呈线性增加趋势；其余PCB与T2DM发生风险、FBG变化之间均呈线性关联。进一步发现血清甘油三酯介导了PCB与T2DM发生风险的关联，中介比例超过85%。**结论** 本研究结果提示NDL-PCBs与T2DM发生风险、5年FBG的变化呈正相关，PCBs通过脂质代谢途径增加T2DM发生风险。尽管本研究是第一个前瞻性探索中国人群中PCB和T2DM之间的关联，仍需更多大样本前瞻性研究和进一步实验来验证本研究的结论并阐明其潜在机制。

关键词：多氯联苯；糖尿病；空腹血糖；巢式病例对照研究

通信作者：何美安，E-mail：hemeian@hotmail.com

实验动物玻璃体注射技术要点

王俐梅[1], 杨 威[1,2]
(1. 广东莱恩医药研究院有限公司, 广东省药物非临床评价研究企业重点实验室,国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心, 广东省眼科药物创制与评价工程技术研究中心, 广州 510990;
2. 广州湾区生物医药研究院, 广州 510990)

摘要: 玻璃体内注射技术是实验动物眼科研究中广泛使用的技术。玻璃体注射技术可用于建立眼部疾病的动物模型或直接应用局部治疗。通常兔、猴、犬、大鼠、小鼠是常用的眼科试验动物,其中兔、猴最为常用。

为了确保良好的玻璃体内注射,有以下技术要点:1)需要清晰了解动物的眼球组织结构特点。2)良好的麻醉是确保操作成功的前提,通常单一的麻醉可能无法确保眼球的镇痛,全身麻醉加局部麻醉是比较合适的,应尽量选择对眼球局部麻醉效果较好的药物。3)注射点通常选择颞侧,若选择角巩膜缘为注射点,应考虑玻璃体与角巩膜缘的位置关系,通常应以一定角度进入。若选择巩膜注射点,通常水平角度进入为宜。4)注射针应细且尖锐,为避免对视网膜的损伤,通常会使用尖头针进行穿刺,然后更换平头针进行注射。给眼球轻微压力,通过穿刺孔轻轻推出少量玻璃体,以降低注射前的眼压。5)将药物注入玻璃体内并保持原位约几秒钟,然后轻轻取出针头。玻璃体注射后,一般涂抹抗生素,以防止感染。6)整个注射过程应控制注射器进入眼球的距离,不应破坏视网膜结构。7)应避免出血,以降低感染风险和避免注射视野的干扰。8)晶状体不应受到影响,以免造成外伤性白内障。9)注射量、注射次数的控制,需要平衡不应该对眼组织功能造成影响。同时应关注注射操作本身对动物带来的损伤得到恢复的期限。10)该操作技术的最终要求是尽量减少对正常眼结构的破坏,成功的玻璃体内注射可以在几分钟内完成。

成熟的给药技术是确保研究成功的前提基础。只有确保技术对动物的影响可控或最小,才能获得良好的实验数据结果。

基金项目: 广东省重点领域研发计划资助(2020B1111030005); 广东省重点领域研发计划"新药创制"重点专项(2019B020202002); 广州市农业和社会发展科技项目(202103000029); 广州市基础与应用基础研究项目(202102020984)

作者简介: 王俐梅,硕士研究生,兽医师,主要从事实验动物管理、兽医护理、技术研究、模型研究,Email:wanglimei@lewwin.com.cn

通讯作者: 杨 威,教授级高级工程师/博导,主要研究方向新药药理毒理,E-mail:yangwei@lewwin.com.cn,Tel:18928860179

甘草查尔酮A对A型产气荚膜梭菌的侧枝敏感和交叉耐药性评价

王文惠, 陈 惠, 郝海红*
〔农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室(HZAU),国家兽药安全性评价(环境)实验室(HZAU),国家兽药残留基准实验室(HZAU), 华中农业大学动物医学院, 武汉 430071〕

摘要:目的 产气荚膜梭菌是引起畜禽肠胃道疾病的重要病原体,其中A型是最常见、危害最严重的类型。在治疗过程中,抗生素的滥用会导致其严重的耐药问题。中药作为抗生素优良的替代品,不仅可以有效抑制细菌病原体生长且经济环保。但目前关于中药的不合理应用是否会产生耐药性及共耐药的风险还尚不清楚。**材料与方法** 本研究对临床分离的102株A型产气荚膜梭菌采用微量肉汤法检测其对27种抗生素和甘草查尔酮A(LCA)的敏感性,采用棋盘法将LCA与常见抗生素进行体外联合抑菌试验,并对适应/耐药A型产气荚膜梭菌进行诱导,检测其侧枝敏感和交叉耐药表型,观察形态变化。利用基因组、转录组、代谢组分析评价中药单体与抗生素耐药的相关性。**结果** 经分析LCA与恩拉霉素、青霉素、利奈唑胺、头孢西丁、多西环素具有一定的协同作用,与泰妙菌素、庆大霉素、克林霉素、阿奇霉素、吉他霉素、杆菌肽、氟苯

尼考和替米考星均具有相加作用。LCA诱导的菌株表现对本身中药单体适应性抗性，且容易恢复；低倍耐药菌株对头孢噻呋、喹烯酮、那西肽产生适应性抗性并随即恢复，对四环素、恩拉霉素、多西环素的敏感性增高；高倍耐药菌株对红霉素、泰妙菌素、吉他霉素、克林霉素产生低倍的交叉耐药，对喹烯酮、四环素、那西肽产生适应性抗性并随即恢复。诱导菌株的形态表现为外膜突起或起泡细胞壁或者细胞膜破裂，形状不规则，菌体发生黏连。其生长能力和生物膜形成能力均没有明显的变化。其中诱导菌株质粒上四环素的耐药基因 *tetA*(*P*)、*tetB*(*P*)丢失，出现bsh毒力基因。与药物外排、生物膜、四环素耐药的相关基因表达下调，调控23S RNA甲基化基因的表达上调，这些基因的差异性表达可能与交叉耐药和侧枝敏感有关；关于硫胺素代谢的相关基因的表达量增加，可能与适应性成本所带来的补偿性突变有关。ABC外膜蛋白转运、氧化磷酸化以及高倍耐药菌株中出现半乳糖代谢、硫胺素代谢等可能与交叉耐药、侧枝敏感和补偿性代谢有关。**结论** 本研究揭示了LCA的抑菌及联合抑菌效果，并分析其在诱导过程中产生的侧枝敏感和交叉耐药表型及组学的变化。LCA的抑菌效果较好且可以与多种抗生素（主要是β-内酰胺药物和大环内酯类药物）具有不同程度的协同抑菌效果。LCA诱导菌株对生物膜的形成能力影响不大，同时发现诱导菌株对于其他抗生素产生不同程度交叉耐药和侧枝敏感的现象，而且随着菌株背景和耐药水平不同而有所差别。产气荚膜梭菌在长期处于中药压力的环境下也能产生耐药性，且产生交叉耐药的风险更大，但与此同时会产生一定的侧枝敏感，这些发现将对于临床合理应用中药提供一定的理论基础。

关键词：产气荚膜梭菌；甘草查尔酮A；交叉/共耐药；侧枝敏感

通讯作者：郝海红，E-mail：haohaihong@mail.hzau.edu.cn

铜死亡水平与二氧化硅诱导的小鼠肺纤维化有关

吴陈陈，丁明翠，郝长付，姚　武*

（郑州大学公共卫生学院，中国河南省郑州市　450001）

摘要：目的 矽肺进展快，死亡率高，对矽肺发病机制，尤其是肺部纤维化机制的完整探究仍是一直以来有待解决的关键问题。铜死亡是近期发现的一种新型细胞程序性死亡，而目前尚未有铜死亡在矽肺中的相关机制研究。因此本研究旨在探讨矽肺发生发展过程中，铜死亡基因表达情况与矽肺的关联影响及其规律。材料和方法本研究将36只SPF级C57BL/6N雄性小鼠随机分为对照组和实验组，实验组采用非暴露式气管滴注法滴注50μL（50 mg/mL）SiO_2粉尘悬液，对照组采用同样的方法滴注50uL生理盐水。分别于染尘后第7、28、56天处死小鼠，收集小鼠血浆和肺组织。采用比色法检测小鼠血浆中铜离子浓度和铜蓝蛋白活性，RT-qPCR检测检测蛋白质脂酰化上游调节因子FDX1，硫辛酸途径关键酶LIAS和DLD，TCA循环的关键酶DLAT和DLST的mRNA表达水平；Western Blot检测小鼠肺组织铜死亡相关蛋白FDX1和LIAS的表达情况。使用SPSS21.0统计软件进行统计学分析，采用Student's *t*检验对两组间的数据进行比较，采用单因素方差分析（ANOVA）进行多组数据间的比较，检验水准α=0.05。**结果** 与对照组相比，实验组小鼠血浆中铜蓝蛋白活性和铜离子浓度均高于对照组，实验组小鼠肺组织FDX1、LIAS、DLD、DLAT和DLST的mRNA表达水平均显著低于对照组；与此一致，实验组小鼠肺组织中FDX1和LIAS的蛋白表达水平也显著低于对照组。**结论** 本研究显示铜死亡水平与SiO_2诱导的小鼠肺纤维化之间存在负相关关系，提示一定程度的铜死亡水平可能参与抑制矽肺过程中的纤维化进展，为进一步揭示矽肺的发病机制提供一定的实验证据。

关键词：铜稳态；铜死亡；矽肺；纤维化；TCA循环

通讯作者：姚　武，E-mail：yaowu@zzu.edu.cn

浅谈GLP实验室计算机化系统仪器设备的管理

夏赵云，井 潇，廖海锋，吴心如，黄泽鹏，韩 重，郭健敏*，杨 威*
（1. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东 广州 510990；
2. 广州湾区生物医药研究院，广东 广州 510990）

计算机化系统（computerized system）是指将相关的硬件和软件组合在一起，执行一个或一组特定功能的系统。近年来，计算机化系统仪器设备在GLP实验室中运用越来越广泛，高精密的仪器设备带来的技术和方法，拓展了药物安全性评价的深度和广度，提升了样品检测的质量和水平。系统化仪器设备带来便利的同时，也存在着不可忽视的风险因素，比如数据被修改、计算机系统瘫痪等。如何对计算机化系统仪器设备进行管理，是GLP实验室面临的重要挑战。

本单位的计算机化系统仪器设备包括生化分析仪、液相色谱等各仪器。笔者根据近几年仪器设备管理的工作经验，参考经济合作与发展组织（OECD）GLP 法规和美国食品药品管理局（FDA）21 CFR Part11 的要求，从仪器设备管理的角度来浅谈计算机化系统仪器设备在整个运行周期里应注意的几个方面。

1. 计算机系统仪器设备用户权限管理

在完成计算机化系统仪器设备的权限验证后，其用户权限的分配、变更及注销，同样要符合相关规范。账号和权限是否滥用，是GLP检查的重点，权限管理应该包括以下内容：

（1）确定人员职责、权限归属

计算机化系统的仪器设备应该明确计算机化系统使用人员的职责和权限，并进行相应的使用和管理培训或考核。实验相关的计算机化系统仪器设备应设置系统管理员账号，在功能允许的情况下应设置质量保证人员账号，并对不同的使用人员进行区分。

（2）建立权限清单

根据设置权限组建立各级别权限清单。权限清单应包含仪器设备名称、编号、权限级别、权限功能列表及描述，当权限级别功能变更后，对权限清单进行及时更新。

（3）建立用户管理审批相关流程

建立用户创建、变更、注销等管理审批相关流程，将其作为对应计算机化系统仪器设备用户管理设定的依据。用户申请、变更台账、系统日志及培训记录需与实际情况保持一致。并对计算机化系统仪器设备使用的用户进行备案登记。

2. 计算机系统仪器设备验证管理

计算机化系统的仪器设备验证，除了安装（IQ）、操作（OQ）、性能（PQ）验证外，还应对系统权限、登录安全、数据传输、数据备份、备份恢复等进行验证。

可从用户需求说明方面进行验证，保证系统验证满足使用目的需求。在验证的过程中，如实做好验证记录，确保计算机化系统仪器设备运行的性能和规范性，进而保证实验室数据的质量和安全性。

3. 计算机系统仪器设备变更控制管理

计算机化系统的仪器设备的变更包括仪器硬件、软件、配置、权限变更等，任何申请的变更都应评估对试验结果/机构运行的潜在影响，变更前应经过风险评估，确认对试验结果/机构运行不造成不良影响方可变更。

制定变更审批、变更验证方案及实施结果的评价等控制流程的程序，变更完成后系统管理员还应对变更实施结果进行确认、评价。

4. 计算机系统仪器设备数据备份管理

根据计算机化系统仪器设备的具体情况，对产生的仪器数据可采用完全备份、增量备份、按需备份等，并对数据备份进行数据恢复验证。

5. 计算机系统仪器设备灾难恢复管理

计算机化系统仪器设备的恢复程序将视系统的危险程度而定，数据备份是容灾的基础，应保存所有软件的备份以及原始数据。如果恢复程序应对硬件或者软件做出更改，那么可能需要对系统进行重新确认。

6. 计算机系统仪器设备退役管理

应制定计算机化系统仪器设备退役规程，包括退役条件、审批流程、风险评估及退役计划。必要时在系统退役前应对数据（原始数据、衍生数据或元数据）进行全盘备份。

总之，信息化时代的到来，计算机化系统仪器设备已成为GLP实验室日常工作的重要组成部分，并发挥着广泛的作用。这是一场效率与安全的鼎新，因此，GLP实验室更应关注其中潜在的管理问题，以保证计算机化系统仪器设备数据的准确、完整和安全性。

关键词：计算机化系统；GLP实验室；仪器设备管理

基金项目：广东省重点领域研发计划“新药创制”重点专项（2019B020202002）

第一作者：夏赵云，Tel：15989069022，E-mail：xiazhaoyun@lewwin.com.cn

作者简介：郭健敏，高级工程师，Tel：13602461030，（020）87998656，E-mail：hihiqinqin@vip.qq.com

通讯作者：杨　威，教授级高级工程师/博士导师，Tel：18928860179，（020）87998690，E-mail：yangwei0719@163.com

*Coprococcuseutactus*改善由慢性束缚应激导致的青少年小鼠抑郁样行为：沿肠脑轴的菌群及神经递质调节机制研究

徐柳婷，王　军，高　蓉

（南京医科大学公共卫生学院现代毒理学教育部重点实验室神经毒理研究室）

摘要：目的　近年来，青少年抑郁症发病率的急剧上升引发社会关注，青少年期是抑郁发生及进展的重要时期。有研究表明，该时期菌群发生剧烈波动，但其与抑郁发生的关系不清。*Coprococcus*在重度抑郁症（MDD）中耗尽，且该菌与高质量生活呈负相关。该菌在MDD中的潜在作用仍然知之甚少，因而，我们对*Coprococcuseutactus*（*C.e.*）菌是否具有改善青少年抑郁症的作用以及其是否能成为新型有效益生菌的可能开展了相关研究。**材料与方法**　通过构建青少年小鼠慢性束缚应激模型，分为对照组和CRS组，进行为期2周的干预。在抑郁模型成功后，对小鼠进行*C.e.*菌或者PBS灌胃，干预2周后再次进行行为学验证。同时进行脑中炎症因子qPCR检测，皮层、血清、结肠的相关神经递质检测及结肠的HE、阿尔新蓝染色等。**结果**　在进行为期两周的*C.e.*干预后，小鼠抑郁样行为明显逆转；前额皮层qPCR结果显示，CRS+PBS组的炎性因子表达、小胶质细胞激活标志物表达显著升高，炎性保护因子表达显著下降，而在*C.e.*菌干预后改善；在小鼠血清中，CRS+PBS组相比于CTR+PBS组，色氨酸代谢中，5-羟色胺代谢途径减弱，犬尿氨酸代谢毒性通路增强；在前额皮层中，抑郁组小鼠的毒性产物3-HK显著增加；结肠中，抑郁组小鼠3-HAA显著增加，5-羟色胺和褪黑素显著降低，而*C.e.*菌干预后KYN毒性产物显著降低，褪黑素、色氨酸含量显著增加；在分子层面发现，前额皮层中，抑郁小鼠介导毒性产物代谢的蛋白限速酶表达显著升高，发挥保护作用的关键酶表达显著降低。*C.e.*菌干预后，关键酶表达显著逆转；小鼠结肠HE、阿尔新蓝及MUC2染色结果显示，抑郁组小鼠结肠部分发生炎性细胞浸润、杯状细胞减少以及MUC2的表达降低，在*C.e.*干预后，情况改善。**结论**　*C.e.*菌灌胃干预后，小鼠抑郁样行为改善，脑中炎性因子表达减少，色氨酸代谢毒性通路减弱，结肠粘液分泌增加，提示*C.e.*可能作为潜在有益菌，在青少年抑郁症的干预中发挥作用，尤其与神经递质色氨酸代谢物的变化相关。

关键词：青少年抑郁症；规则粪球菌（*Coprococcuseutactus*）；色氨酸代谢；神经递质；肠道菌群

通讯作者：徐柳婷，E-mail：xlt23galen@163.com；王　军，E-mail：wangjun@njmu.edu.cn；高　蓉 E-mail：gaorong@njmu.edu.cn

circ_0008657通过miRNA-203a-3p调控六价铬致肺部DNA损伤的分子机制研究

陈 威，陈泽豪，贾阳阳，郭耀铮，郑丽婷，姚树为，蒋义国*
（广州医科大学公共卫生学院化学致癌研究所，广州 511436）

摘要：目的 探索六价铬暴露后对人支气管上皮细胞DNA损伤修复水平以及circRNA表达谱的影响，分析circRNA在六价铬致人支气管上皮细胞DNA损伤中的作用与分子机制。**材料和方法** 采用不同浓度的$K_2Cr_2O_7$暴露人支气管上皮细胞系16HBE和BEAS-2B细胞24 h和48 h，采用碱性彗星实验检测K2Cr2O7对人支气管上皮细胞（16HBE和BEAS-2B细胞）DNA链断裂的影响，采用蛋白免疫印迹实验（Western blot）检测DNA损伤指示蛋白γ-H2AX的表达水平，并用免疫荧光实验检测浓度梯度$K_2Cr_2O_7$暴露后细胞γ-H2AX焦点数的形成情况。采用全转录组测序分析K2Cr2O7暴露后的差异性表达circRNAs，并用qRT-PCR对其进行验证。采用双荧光素酶报告基因检测circRNA与miRNA的结合情况，采用原位杂交实验（FISH）对circRNA与miRNA进行细胞共定位。**结果** 彗星实验结果显示，$K_2Cr_2O_7$处理后细胞DNA损伤增加，免疫荧光实验结果显示$K_2Cr_2O_7$处理后细胞核内γ-H2AX焦点增多，蛋白免疫印迹实验结果显示，$K_2Cr_2O_7$处理后细胞γ-H2AX蛋白表达增加。另外，选择最合适的$K_2Cr_2O_7$剂量进行细胞处理。发现Circ_0008657在$K_2Cr_2O_7$染毒后表达水平显著上调。通过敲低circ_0008657成功降低了$K_2Cr_2O_7$诱导的DNA损伤，而过表达circ_0008657则具有相反的作用。机制上，circ_0008657与miR-203a-3p共同定位于细胞质中并且相互结合，共同调控miR-203a-3p下游同源重组修复的关键蛋白ATM，从而调控$K_2Cr_2O_7$诱导的DNA损伤。**结论** $K_2Cr_2O_7$暴露可引起人支气管上皮细胞发生明显DNA损伤及circ_0008657表达水平显著上调，机制上，我们的研究证明了circ_0008657可与miR-203a-3p竞争性结合，激活ATM通路，调控环境污染物暴露后细胞的DNA损伤应答。

关键词： 环状RNA；铬；DNA损伤；DNA修复
基金项目： 国家自然科学基金重点项目（批准号82130095）
通讯作者： 蒋义国，E-mail：15521469020@163.com

环状RNA hsa_circ_0009029参与镉诱导的人支气管上皮细胞DNA损伤

林秋怡，李美珍，陈 威，张银带，蒋义国*
（广州医科大学公共卫生学院，广东 广州 511436）

摘要：目的 重金属镉可以导致肺组织病理发生改变及DNA损伤的发生，本研究欲探讨环状RNA hsa_circ_0009029在镉诱导人支气管上皮细胞DNA损伤中的作用。**方法** 采用人支气管上皮细胞16HBE作为研究对象，将镉处理后的16HBE细胞进行circRNA表达谱的高通量测序，对差异表达的基因进行分析，并采用qRT-PCR对高通量结果进行验证，筛选出表达具有表达差异的circRNA进行后续分析。用DNA凝胶电泳、去线性酶及放线菌素D实验检测circRNA的稳定性和环状接口位点序列的特异性。设计并合成circRNA的干扰序列和过表达载体对16HBE细胞进行转染。在circRNA表达改变的细胞模型中，联合Cd暴露，用蛋白免疫印迹检测γ-H2AX的蛋白表达水平，用免疫荧光检测γ-H2AX在细胞中的焦点数，用单细胞凝胶电泳实验检测DNA拖尾情况，分析circRNA对镉暴露后DNA损伤程度的影响。**结果** 根据circRNA的高通量测序和qRT-PCR的验证，发现hsa_circ_0009029在镉暴露的人支气管上皮细胞中表达下调。DNA凝胶电泳、去线性酶及放线菌素D实验证明hsa_circ_0009029具有稳定的环状结构和特异的环状接口序列。在16HBE细胞中，干扰hsa_circ_0009029可以促进镉诱导的γ-H2AX蛋白水平升高和焦点数增加，以及DNA拖尾延长；而过表达hsa_circ_0009029则可以抑制镉诱导的γ-H2AX蛋白水平升高和焦点数

增加，以及DNA的拖尾程度。**结论** hsa_circ_0009029在镉诱导人支气管上皮细胞中明显下调，可抑制镉诱导的人支气管上皮细胞DNA损伤。

关键词： 环状RNA；镉；DNA损伤

通讯作者： 蒋义国，E-mail：jiangyiguo@vip.163.com

A注射液中阿米卡星的含量测定及其配制系统稳定性考察

戚园梅，黄倩愉，郭秋平*

（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：目的 建立简单高效的HPLC-UV方法用以测定A注射液中阿米卡星的含量，并分析其在0.9%氯化钠注射液中的配制系统合格性及其稳定性。**方法** 色谱柱为ECOSIL 120-5-C18 SH（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为辛烷磺酸钠和无水硫酸钠水溶液：pH=3.0磷酸盐缓冲液：乙腈（55∶50∶95），流速为1.3 ml/min，检测波长为200nm，进样量为10 μL。**结果** 阿米卡星在0.0501 mg/ml~4.0087 mg/ml的浓度范围内线性良好（r=0.9997）；批内（n=6）及批间精密度良好（批内精密度RSD<2.0%，批间精密度<5.0%）；三个浓度的平均加样回收率（n=3）分别为97.6%，94.6%，91.3%，总体平均回收率为94.5%，RSD为3.0%；根据相关专题研究试验的给药浓度以及具体配制方法对溶媒为0.9%氯化钠注射液的60.0 mg/mL、10.0 mg/mL及0.2 mg/mL共3个浓度（每个浓度各两份）的A注射液受试物溶液进行含量测定，验证其配制系统是否合格，浓度为60.0 mg/mL的两份受试物溶液的测定浓度值与理论配制浓度的偏差分别为−4.3%、−4.4%，RSD分别为1.3%、1.4%；浓度为10.0 mg/mL的两份受试物溶液的测定浓度值与理论配制浓度的偏差分别为-2.1%、−2.1%，RSD分别为0.3%、0.1%；浓度为0.2 mg/mL的两份受试物溶液的测定浓度值与理论配制浓度的偏差分别为−6.4%、−3.7%，RSD分别为0.8%、1.6%。上述溶液各浓度测定值与理论值的偏差均在±10%以内，RSD均在2.0%以内，说明相关专题研究试验A注射液的配制系统合格，配制方法准确。对溶媒为0.9%氯化钠注射液的A注射液的稳定性考察结果为，阿米卡星浓度为60.0 mg/mL、10.0 mg/mL、0.2 mg/mL时，室温保存至24 h和冷藏保存至74h内稳定（RSD<5.0%）；测得A注射液中阿米卡星的平均标示含量为100.6%。**结论** 经验证，采用该方法进行A注射液中阿米卡星的含量测定时，操作简便快捷，结果准确可靠，重复性好；相关专题试验A注射液与溶媒为0.9%氯化钠注射液的配制系统合格，室温保存至24 h和冷藏保存至74h内稳定。

关键词： 阿米卡星；HPLC-UV；稳定性

通迅作者： 郭秋平，高级工程师/博士，电话：020-66284078，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

Beagle犬血液标本在不同保存条件和保存时间对凝血功能指标检测的影响

余增才，吕道俊，陈梓蕾，郭秋平*

（广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，广东 广州 510240）

摘要：目的 Beagle犬为新药安全性评价的常用动物，凝血功能指标为长期毒性试验的常规检测指标，本试验旨在探索分离后的血浆在不同保存条件和保存时间对凝血酶原时间（PT）、活化部分凝血酶时间（APTT）、凝血凝血酶时间（TT）与纤维蛋白原量（Fbg）检测结果的影响，保证检测结果的可靠性。**方法** 选取Beagle犬6例，每例动物用枸橼酸钠抗凝真空采血管于后肢静脉血采集静脉血3管，每管采血量为2 mL，以2000 g相对离心力20℃离心15 min。将每例动物的血浆按分离后2小时（2 h）、5小时（5 h）、8小时（8 h）、第二天（D_2）、第三天（D_3）、第四天（D_4）、第五天（D_5）检测的七个检测时间点分装于1.5 mL的EP管内。制备后2小时的血浆马上上机检测PT、APTT、TT、Fbg；5 h、8 h检测时间点的血浆保存在2-8℃冰箱中，在血浆

制备后5 h、8 h取出样本进行检测上述指标；D_2、D_3、D_4、D_5检测的四个时间点的血浆保存在约为-20℃的冷冻冰箱中，分别在D_2、D_3、D_4、D_5取出血浆进行检测上述指标。根据仪器测定标本的精密度，以标本放置2h（2-8℃）的测定结果为基准，其它时间点的测试结果与之比较，以各检测指标参数变化率（RSD）大于3%为有意义。**结果** Beagle犬枸橼酸钠抗凝血浆在冰箱2～8℃保存5、8小时、约−20℃冷冻保存2、3、4、5天的结果与血浆分离后2小时检测结果比较，6例动物的凝血四项指标：Fbg、PT、TT、APTT指标RSD值均小于1%，未见统计学差异。**结论** 根据Beagle犬血液标本在不同保存条件和保存时间对凝血功能指标检测结果的影响的试验结果，在2～8℃环境保存2 h与在2～8℃环境保存5 h、8 h和约−20℃环境保存D_2、D_3、D_4、D_5条件下检测的凝血功能结果没有太大的变化，但APTT随着保存时间的延长，有增大的趋势，因此用于凝血指标检测的血浆分离后应尽快检测，如不能马上检测，应置于2−8℃保存，在8 h内完成检测。血浆如需冷冻保存，建议在5天内完成检测。

关键词： Beagle犬；凝血功能指标；枸橼酸钠抗凝

通讯作者： 郭秋平，高级工程师/博士，电话：020-66284078，E-mail：guoqiuping@gpri.com.cn

环状RNA在$PM_{2.5}$短期暴露与慢性支气管炎关系中的中介作用分析

张银带，范冰驰，郑锶婷，李美珍，陈 威，林秋怡，尚 凯，秦小迪*
（广州医科大学公共卫生学院）

摘要：目的 探讨$PM_{2.5}$短期暴露与慢性支气管炎的关系，以及环状RNA（circRNA）在其中可能的作用。**材料和方法** 基于病例对照研究设计，于2018年3～4月在石家庄市招募83例慢性支气管炎患者和164例健康对照人群，对所有研究对象进行问卷调查并收集血样。检测血浆中circRNA表达量；收集2018年3-4月份石家庄市$PM_{2.5}$浓度和相关$PM_{2.5}$时空预测因子监测数据构建估计方程，对研究对象在检测当天以及前三天$PM_{2.5}$的暴露水平进行估计，计算研究对象$PM_{2.5}$暴露1-3天的移动均值；使用Logistic回归模型分析PM2.5与慢性支气管炎间的关系；采用多重线性回归分析血浆circRNA的表达量与$PM_{2.5}$间的关系；采用中介分析方法进一步探讨circRNA在$PM_{2.5}$与慢性支气管炎间的中介作用。**结果** 病例组及对照组调查当天PM2.5暴露中位水平分别为39.7μg/m³和37.6μg/m³。$PM_{2.5}$浓度在暴露1-，2-和3-天的移动平均值每升高一个四分位间距，慢性支气管炎调整后的OR值分别为1.17（0.77，1.76）、1.44（1.02，2.02）、2.33（1.28，4.23），提示慢性支气管炎与$PM_{2.5}$暴露1-3天移动平均值之间的关联随时间增加。通过分析病例组和对照组血浆中circRNA的表达水平与$PM_{2.5}$间的关系，发现在对照组和病例组中hsa_circ_0089762、hsa_circ_0076098、hsa_circ_0029434、hsa_circ_0008882和hsa_circ_0022305都与PM2.5暴露存在显著的关系（P<0.05）；其中，病例组血浆中hsa_circ_0022305、hsa_circ_0089762、hsa_circ_0029434、hsa_circ_0008882的表达水平随着$PM_{2.5}$暴露的增加呈下降趋势（P<0.05）。进一步在中介分析中发现circRNA的表达在$PM_{2.5}$暴露与慢性支气管炎的关系中具有重要的中介作用，例如在2-和3-天$PM_{2.5}$暴露与慢性支气管炎的关系中hsa_circ_0008882中介比例为14.27%（95%CI：8.29%，81.69%）和6.93（95%CI：5.13%，2.43%）。**结论** circRNA可能是$PM_{2.5}$短期暴露与慢性支气管炎疾病关联中的重要中介因素，为探讨circRNA在$PM_{2.5}$所致健康损害关系中的作用提供了线索。

关键词： $PM_{2.5}$；短期暴露；circRNA；慢性支气管炎

通讯作者： 秦小迪，E-mail：ZHANGYINDAIDAI@163.com

HECB1502201注射液重复静脉注射给予SD大鼠28天毒性研究

李 静[1]，杨 雯[1]，金 毅[2]，杨 威[3]，陈允甫[1]，金志虎[4]，黄 强[5]，张英俊[1]
（1. 抗感染新药研发国家重点实验室，广东东阳光药业有限公司，东莞 523871；2. 深圳市药品检验研究院（深圳市医疗器械检测中心）广东省药监局实验病理学重点实验室，深圳 518057；3. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广州 510990；4深圳金质科技有限公司，深圳 518101；5. 深圳市生强科技有限公司，深圳 518129）

摘要：目的 HECB1502201注射液是在已上市口服药物HECB1502201片剂的基础上，对其进行改良的新剂型，临床拟用途径为静脉注射，注册分类为化学药品2.2类改良型新药。本试验通过静脉注射给予SD大鼠HECB1502201注射液28天，考察其可能引起的毒性反应、毒性靶器官和毒代动力学情况，及停药后毒性反应的恢复情况，并与原研口服给药进行毒性对比，为后续临床研究提供参考。**方法** 本试验设5个组，分别为对照组、HECB150220130 mg/kg组、HECB1502201注射液5、10、30 mg/kg组。其中HECB1502201 30 mg/kg组大鼠按10 mL/kg的体积经口灌胃给药，HECB1502201注射液三个剂量组大鼠分别按2.5、5、15 mL/kg的体积采用静脉注射给药，对照组按15 mL/kg的体积静脉注射给予0.9%氯化钠注射液。每天给药1次、连续给药28天，停药恢复观察4周。检测指标包括临床观察、体重、摄食、尿液检测、眼科检查、临床病理检查（血液学、血生化）、大体解剖观察、脏器重量测定、组织病理学检查和伴随毒代动力学。**结果** HECB1502201注射液在30 mg/kg剂量下见轻微胃壁细胞空泡化，与其抑制胃酸分泌，引起血浆胃泌素浓度过高的药理作用相关；另外该剂量下可见个别动物给药部位出现血管/血管周围混合细胞性炎症，主要表现为血管内皮变性/坏死，血管及血管周围大量中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞浸润；以上病变在停药后均可完全恢复。相同剂量30 mg/kg下，经口灌胃给予HECB1502201可见肝脏重量及系数升高，轻微胃壁细胞空泡化、肝细胞肥大和非腺胃黏膜鳞状上皮增生。除此之外，HECB1502201注射液和HECB1502201各剂量组动物其余各项指标均未见明显异常改变。**结论** 综上考虑HECB1502201注射液仅引起与药理作用相关的胃壁细胞变化和轻微的注射部位刺激性，病变程度较低，且可在停药后完全恢复，考虑为非有害的作用，因此在本试验条件下，未见不良反应剂量（NOAEL）为30 mg/kg，该剂量下末次给药的雌、雄鼠血浆中伏诺拉生平均AUClast分别为10100、10900 h*ng/mL，与HECB1502201口服给药途径相比，无新增毒性反应。

关键词：改良型新药；HECB1502201；SD大鼠；重复给药毒性

基金项目：抗感染新药研发国家重点实验室（2015DQ780357）；广东省重点领域研发计划新药创制专项（2019B020202001）；广东省药品监督管理局实验病理学重点实验室（2020DZB11）

作者简介：李 静，博士，主要从事药理毒理研究，E-mail：lijing@hec.cn

通讯作者：张英俊，博士，主要从事药物研发，E-mail：zhangyingjun@hec.cn

基于肝类器官的药物肝毒性评价

张珉翔[1,3]，李 刚[2]，朱 宇[1,3]，陈泽新[1,3]
（1. 创芯国际生物科技（广州）有限公司，广州 510535；2. 南方医科大学南方医院，广州；3. 广东省类器官工程技术研究中心，广州 510535）

摘要：目的 药物性肝损伤（drug-induced liver injury，DILI）是指药物及代谢产物所诱发的肝损伤。DILI是最常见和最严重的药物不良反应之一。在药物研发过程中，DILI的体外检测往往是通过肝细胞系、原代肝细胞及肝亚细胞模型进行，体内模型主要以小动物及大动物模型为主。然而，目前所使用的模型均具有一定局限性。例如，肝细胞系及原代肝细胞与正常肝组织内在分子及代谢层面也存在差异，且由于人成

肝细胞无法长期培养与扩增，原代肝细胞模型无法成为可持续的研究模型，且不同个体间往往存在差异。类器官技术是基于干细胞的体外3D细胞培养技术，本研究通过类器官培养可以获得能稳定传代、扩增、冻存、复苏并与体内组织在空间结构与分子特征均更接近的生物学模型。肝类器官被认为是一种分析DILI的潜在体外模型。**材料与方法** 本研究所用材料来自人源的原代肝组织，取材自肝癌患者的远癌端正常组织。肝类器官所用培养基为实验室自配，培养基分为肝扩增培养及与分化培养基。ATP检测试剂为CellTiter Glo（Promega），抗体采购自Abcam。**结果** 本研究通过人源肝组织消化后在体外培养，可形成具有三维结构的肝类器官。肝类器官培养分为扩增阶段及分化阶段。其中，分化阶段具有可快速扩增、稳定传代并可冻存复苏的特征。细胞学鉴定发现该阶段主要细胞成分为胆管上皮的干性细胞。分化培养通过诱导干细胞向成熟肝细胞分化，此时，类器官形态由空泡逐步转向实质化，颜色变深，类器官体积缩小。经细胞学检测此时细胞主要为趋于成熟的肝细胞，具有肝细胞分子标志物如TTR、ALB等。通过qPCR实验也证明分化培养后细胞的基因表达与成熟肝细胞更为接近。本研究对分化后的肝类器官进行了不同药物的DILI分析，结果发现肝类器官对不同DILI分级的药物的体外结果与临床结果更加一直，不同个体来源的肝类器官可以反应肝细胞活性及功能变化的个体差异。**结论** 本研究表明肝组织来源的干细胞可以在体外诱导分化形成类器官，并向肝细胞分化，具备肝细胞主要的分子标志及功能，可应用于药物代谢和肝毒性评估与机制研究。肝类器官可以作为肝毒性检测平台，从细胞活力、死亡及肝功能等分析药物对肝细胞的毒副作用，为体内实验与临床Ⅰ期试验提供参考。未来更拟真的复合肝类器官与芯片等将有更为广阔应用。

通讯作者：陈泽新，E-mail：chenzexin@accibio.com

WEE1联合放疗通过cGAS/STING-STAT3-IRF3通路影响肿瘤微环境的调节

胡 静，王 斌，赵丽娜
（空军军医大学第一附属医院放疗科，陕西 西安 710032）

摘要：目的 本研究首次提出使用WEE1抑制剂联合放疗通过cGAS/STING-STAT3-IRF3途径影响肿瘤微环境，系统阐明WEE1抑制剂联合放疗造成的DNA损伤对cGAS/STING-STAT3-IRF3通路的调节，对肿瘤微环境中MDSC（髓系来源的抑制性细胞）的影响。**方法** 使用MDA-MB-231细胞，A549细胞和HT29细胞分别给予2GY，12GY和20GY的X射线辐照，进行细胞周期试验。使用WEE1抑制剂联合放疗作用于MDA-MB-231细胞，A549细胞和HT29细胞，放疗剂量分别为2GY，12GY和20GY，使用EDU试剂盒检测肿瘤细胞辐照后的DNA损伤修复和增殖的变化。在肿瘤细胞对照组与实验组中western-blot实验检测cGAS/STING-STAT3-IRF3通路上相关蛋白yH2AX，TBK1，P-TBKI，STING，P-STING，IRF3，P-IRF3，P-STATE3和CGAS表达变化情况。免疫荧光双标实验检测肿瘤细胞对照组与实验组中目标分子表达变化情况。建立小鼠荷瘤模型，检测小鼠生存时间和肿瘤体积变化情况。流式细胞仪检测小鼠荷瘤实验中CD11B、LY6C、CD45、IFN-γ、CD8a等多个免疫相关分子差异性表达情况。**结果** 细胞周期实验结果显示WEE1抑制剂联合放疗组较对照组相比，能够有效抑制细胞周期G_2/M期，抑制肿瘤细胞增殖，抑制蛋白激酶的表达，促使受损DNA未经修复而直接进入有丝分裂，具有显著的肿瘤抑制作用。小鼠荷瘤实验中WEE1抑制剂联合放疗组较对照组相比，小鼠肿瘤体积明显缩小，小鼠生存时间明显延长。小鼠荷瘤实验流式细胞术检测小鼠肿瘤组织中CD8T细胞的浸润及IFN-γ的分泌水平，WEE1抑制剂联合放疗组较对照组明显升高。免疫荧光双标实验结果显示WEE1抑制剂联合放疗组较对照组相比，抑制WEE1减少放疗后MDSC在肿瘤微环境的浸润。Western-blot实验结果显示抑制WEE1可以通过STATE3明显下调TBK1，P-TBKI，STING，P-STING，IRF3，P-IRF3，P-STAT3和CGAS表达情况，表明WEE1抑制剂联合放疗引起的放疗抵抗作用与cGAS/STING-STAT3-IRF3通路有关。**结论** WEE1靶向治疗联合放疗能够抑制肿瘤微环境，有效缓解放疗抵抗。WEE1抑制剂和放射治疗联合应用比单独放疗明显抑制了肿瘤的生长，联合治疗对肿瘤达到了明显的抑制效应。联合应用WEE1抑制剂和放射治疗有助于下调肿瘤微环境内的免疫抑制

淋巴细胞。WEE1抑制剂联合放疗通过cGAS/STING-STAT3-IRF3途径影响肿瘤微环境。

关键词：肿瘤微环境；放疗抵抗；放射治疗；MDSC

通讯作者：胡　静，E-mail：hujing1999@163.com

核衣壳抑制剂在AAV-HBV小鼠模型中的抗病毒活性与肝脏安全性研究

李　静[1]，陈允甫[1]，金　毅[2]，杨　威[3]，王　恒[1]，黄　强[4]，金志虎[5]，郭健敏[3]，张英俊[1]

（1. 抗感染新药研发国家重点实验室，广东东阳光药业有限公司，东莞　523871；2. 深圳市药品检验研究院（深圳市医疗器械检测中心）广东省药监局实验病理学重点实验室，深圳　518057；3. 广东莱恩医药研究院有限公司，广东省药物非临床评价研究企业重点实验室，国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心，广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心，广州　510990；4. 深圳市生强科技有限公司，深圳518129；5深圳金质科技有限公司，深圳　518101）

摘要：目的　研究抗乙肝病毒核衣壳抑制剂单药或与恩替卡韦序贯给药在AAV-HBV慢性感染模型中的抗病毒活性以及对肝脏病理的影响。**方法**　本试验设4个组，分别为：1、感染对照组；2. 感染单药治疗组：HEC177965 mg/kg组（0～55天）、3. 感染序贯治疗组：ETV（0～14天）与HEC17796（第15～55天）；4. 未感染单药处理对照组：HEC177965 mg/kg。组1～3通过尾静脉注射1×10^{11}v.g/200 μLAAV-HBV病毒造模后小鼠随机分配至各组，第4组不感染病毒仅作药物处理。通过检测给药后血清中HBV DNA、HBsAg和HBeAg含量及终点肝脏中HBV DNA含量来评价化合物在体内的抗病毒活性，通过检测治疗中小鼠ALT含量以及肝脏病理切片HE染色研究药物的肝脏安全性。**结果**　与溶剂对照组相比，HEC17796单药组AAV-HBV小鼠血清HBV DNA含量降低2.28～2.89 log copies/μl，肝脏HBV DNA降低量为1.12～2.09 log copies/100 ng肝脏DNA；在治疗后期（给药后35天至56天）血清HBsAg和HBeAg分别降低0.48～2.00 logIU/ml和0.18～1.35 logPEIU/ml。在AAV-HBV感染小鼠中，HEC17796组治疗后21～49天小鼠血清中ALT显著升高后恢复正常，但在相同治疗条件下，无AAV-HBV感染对照组小鼠中并未观察到明显的ALT上升。ETV/HEC17796序贯治疗组小鼠血清中和肝内HBV DNA显著降低，效果与HEC17796组相似，但血清HBsAg和HBeAg水平只在HEC17796治疗后的第42天（即全程治疗的第56天）显著降低。在HEC17796治疗后的第21天至42天（即全程治疗的第35和56天），AAV-HBV感染小鼠血清中ALT水平有一定升高，表明序贯治疗病毒抗原的下降与ALT升高均后延。肝脏病理结果显示，感染对照组（组1）以及未感染药物处理组肝脏病理无明显改变，而HEC17796治疗组（组2和3）在药物治疗后可见肝细胞核内包含物和单个细胞坏死的病变，病变程度与ALT水平呈正相关的趋势，在后期完全恢复。给药期间小鼠表现出良好的耐受性，体重与给药前相比保持稳定。**结论**　本研究表明，衣壳抑制剂HEC17796降低AAV−HBV小鼠病毒抗原的作用与特异性杀伤感染病毒的肝细胞有关，表现为一过性的ALT升高与可逆的肝脏病理改变，动物安全耐受性良好，可作为抗乙肝病毒新药进一步的开发。

关键词：乙肝病毒；HEC17796；衣壳抑制剂；AAV-HBV；安全性

基金项目：抗感染新药研发国家重点实验室（2015DQ780357）；广东省重点领域研发计划新药创制专项（2019B020202001）；广东省药品监督管理局实验病理学重点实验室（2020DZB11）

作者简介：李　静，博士，主要从事药理毒理研究，E-mail：lijing@hec.cn

通讯作者：张英俊，博士，主要从事药物研发，E-mail：zhangyingjun@hec.cn；

新型溴系阻燃剂八溴醚对小鼠睾丸发育的干扰效应与机制

李圆圆，熊忆茗，秦占芬
（中国科学院生态环境研究中心 环境化学与生态毒理学国家重点实验室）

摘要：目的 新型溴系阻燃剂八溴醚，作为十溴二苯醚的替代品，被广泛用于建筑材料、电子电器等产品中，并且已经在多种环境介质和人体样品中检出，然而其健康危害尚不清楚。课题组前期研究发现环境相关剂量的四溴双酚A干扰睾丸发育，鉴于八溴醚与四溴双酚A具有相似的结构和化学性质，推测八溴醚可能有类似的效应。因此，本研究旨在揭示八溴醚对小鼠睾丸发育的影响及其机制。**材料和方法** 使用人体相关剂量50 μg/kg/d和美国环保署报道的TBBPA可接受的日摄入剂量1000 μg/kg/d分别作为低剂量和高剂量暴露新生CD-1小鼠，在暴露7天和56天取样，通过检测经典生殖毒性指标以及细胞和分子水平的改变，结合分子对接和体外实验，研究八溴醚暴露对睾丸发育的不良影响及其潜在机制。**结果** 八溴醚暴露7天，高剂量组雄性仔鼠的生精小管面积显著减少，支持细胞和生殖细胞数量显著减少，支持细胞内微管骨架严重受损，甚至低剂量组也出现微管骨架的损伤。当暴露时间延长至成年期时（出生后56天），高剂量组雄性仔鼠的生殖参数出现更显著的变化，包括精子数量减少、血睾屏障受损、生精周期紊乱等；低剂量组小鼠睾丸仍存在微管骨架损伤，血睾屏障受损。这些结果表明，八溴醚暴露损害了小鼠出生后睾丸发育，而微管细胞骨架可能是其敏感靶点。进一步的分子对接分析显示，八溴醚与微管蛋白的结合亲和力为−10.51 kcal/mol，提示两者具有结合的可能性。体外微管聚合动力学实验表明，八溴醚以剂量依赖的方式干扰微管的动态聚合。**结论** 出生后暴露于八溴醚影响哺乳动物睾丸发育，并导致成年睾丸损伤。微管细胞骨架是八溴醚作用于睾丸的敏感靶点，这可能是睾丸损伤的原因之一。本研究不仅强调了新型溴系阻燃剂对哺乳动物雄性生殖的危害，而且揭示了化学污染物引起雄性生殖毒性的一种新机制。

关键词：新型溴系阻燃剂；八溴醚；四溴双酚A；睾丸；微管骨架；生殖毒性

通讯作者：李圆圆，E-mail：yyli@rcees.ac.cn；秦占芬，E-mail：qinzhanfen@rcees.ac.cn

纳米凝胶力学性能增强纳米药物抗肿瘤作用及机制研究

李 峥，李子福
（华中科技大学生命学院，湖北省武汉市洪山区，湖北 武汉 430074）

摘要：纳米药物已经广泛应用于肿瘤临床治疗，但是网状内皮系统的快速清除严重限制了其治疗效果。网状内皮系统阻塞（RES-blockade）策略可以暂时性地、可逆地延缓肝脏清除，提高纳米药物的肿瘤富集以及抗肿瘤作用，具有良好的生物安全性。然而，循环系统中大量的纳米颗粒仍然会对网状内皮系统带来额外的负担，因此提高RES-blockade策略效率尤为重要。研究表明，RES-blockade策略的效率受到多种因素的影响，包括阻塞与给药的时间间隔、阻塞剂量以及阻塞材料的理化性质等。纳米颗粒的力学性能显著影响纳米药物体内递送的五个关键过程，包括血液循环、肿瘤富集、深部穿透、细胞摄取以及药物释放，然而对RES-blockade策略效率以及巨噬细胞功能的影响尚不清楚。

针对以上研究现状，本研究设计了一系列具有不同硬度的纳米凝胶，探究如何利用纳米凝胶的力学性能克服网状内皮系统的清除作用；并提出了力学赋能抗肿瘤作用的治疗策略，结合硬质纳米凝胶在阻塞网状内皮系统中的高效性以及软质纳米凝胶在药物递送过程中的优势，使抗肿瘤作用最大化，即“硬阻软输”策略。在本策略中，优先注射硬质纳米凝胶，通过抑制网格蛋白介导的细胞内吞途径以及在肝脏部位的滞留效应，抑制巨噬细胞对后续纳米药物的摄取并暂时性地阻塞网状内皮系统。随后，注射搭载盐酸阿霉素的软质纳米凝胶，凭借优异的变形能力克服肿瘤致密的细胞外基质，实现更高的肿瘤富集量、更深的肿瘤组织穿透以及更高效的抗肿瘤作用。综合利用不同力学性能的纳米凝胶在药物递送各个阶段的优势，实现最佳的抗肿瘤效果。同时，基于硬质纳米凝胶的RES-blockade策略对于上市纳米药物，如Doxil和Abraxane的抗肿瘤效果同样具有显著的促进作用，具有广泛的普适性以及巨大的临床转化潜力。

通讯作者：李子福，E-mail：zifuli@hust.edu.cn

膳食乳化剂羧甲基纤维素钠(CMC-Na)降低小鼠对辐射耐受性的机理研究

刘绍庭，向　阳，张薇薇，李忠俊，冉　茜
（中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院（新桥医院），400037）

摘要：目的　研究膳食乳化剂羧甲基纤维素钠（Sodium Carboxymethylcellulose，CMC-Na）对小鼠辐射耐受性的影响和作用机理，旨在为放疗病人的膳食提供更精确的指导意见奠定基础。**方法**　在小鼠日常饲粮中添加不同浓度CMC-Na（对照组，0.25%低剂量组，1%高剂量组），而后给予LD50的辐射剂量（7 Gy）建立辐射损伤模型。在辐射干预前后，定时称量小鼠体重，记录各组小鼠死亡情况，收集新鲜粪便进行16s rRNA分析菌群变化；qRT-PCR和Western Blot技术检测各组小鼠肠道及骨髓中mRNA和蛋白在辐射后不同时间点的表达情况；通过苏木精-伊红、免疫荧光及免疫组化等染色技术观察肠道和骨髓中细胞形态的改变；检测分析全血细胞以及血清和骨髓上清液，了解各类血细胞和内毒素（Lipopolysaccharide，LPS）的变化情况。最后，利用免疫荧光技术进一步确认辐射损伤后各组小鼠血液和骨髓中细菌分布情况，结合LPS的变化和炎症因子的表达，探讨CMC-Na降低小鼠辐射耐受性的机理。**结果**　低剂量组与对照组小鼠在各项实验检测中无显著差别，但高剂量干预组的小鼠相较于其它两组，在受到LD50辐射损伤后，出现了死亡率增加（$P<0.05$）。进一步实验发现高剂量的CMC-Na饮食会引起肠道通透性增加，双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌等益生菌丰度下降，肠道干细胞标记蛋白LGR5和肠屏障标记物ZO-1、Occuldin以及MUC2均出现表达降低，肠道组织和骨髓中各炎症因子表达明显增强，血清和骨髓中LPS含量在辐射早期均有不同程度增加，骨髓中有核细胞恢复相对滞后。此外我们研究发现，高剂量饮食干预组小鼠血液和骨髓中通过平板培养标记有荧光的大肠杆菌，其生长趋势相较于对照组和低剂量组也更加活跃。**结论**　尽管联合国粮农组织、FDA以及我国食品安全标准均将CMC-Na列为“不受使用剂量限值”的食品添加剂，且毒理实验也已证明在常规情况下其并不会对机体造成损伤，但长期高剂量CMC-Na的饮食习惯，仍会导致小鼠的肠屏障功能弱化，肠道内稳态破坏等不良事件，从而造成机体对辐射耐受性的降低。

关键词：食品添加剂；辐射；羧甲基纤维素钠；肠道菌群；肠道屏障

通讯作者：李忠俊，E-mail：johnneyusc@gmail.com；冉　茜，E-mail：louise-r-q@163.com

镉通过激活ROS/JNK和抑制ATF5介导的线粒体UPR通路诱导肾细胞凋亡

刘　月，汤树生，代重山
（中国农业大学动物医学院）

摘要：目的　镉（Cd）是一种广泛存在的环境污染物，已有研究证明它可在生物体内积累，对肾脏具有高度毒性，且已证实肾脏是镉中毒的靶器官；据研究发现，即使是低浓度的镉也会对肾脏造成损害。然而，镉肾毒性的精确的分子机制尚不清楚。本研究旨在利用HEK293细胞系进行体外细胞细胞模型对镉肾毒性及其分子机制进行研究。**方法**　为研究镉肾毒性，选取HEK293细胞建立镉体外毒性模型，采用LDH法、Hoechst33342染色检测镉对HEK293细胞的形态、细胞活力的影响；DCFH-DA、罗丹明123染色染色法检测镉对线粒体膜电位的影响；采用流式细胞术、Western Blot研究镉对HEK293的细胞凋亡作用。**结果**　研究结果表明，镉暴露HEK293细胞后呈剂量依赖性显著降低其细胞活力。同时，镉暴露可上调促凋亡蛋白Bax的表达水平，下调抗凋亡蛋白Bcl-2的表达水平，上调cleaved-Caspase-3和cleaved-PARP-1的蛋白表达水平，发生细胞凋亡，导致细胞死亡。此外，镉暴露后显著诱导ROS的生成，降低线粒体膜电位，以剂量依赖方式增加p-JNK蛋白的表达，使用抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸（NAC）可减少ROS生成，显著降低p-JNK蛋白的表达，增加细胞活力，改善细胞死亡情况。研究也发现，镉剂量性暴露肾细胞后，明显抑制线粒体UPR的转录激活因子ATF5从而抑制线粒体UPR的发生，且使用线粒体UPR激动剂多西环素可增加ATF5蛋白的表达，进而改善镉诱导的细胞死亡。**结论**　综上所述，我们的研究表明，镉诱导的肾细胞凋亡途径涉及激活ROS/JNK和抑制ATF5介导的线粒体UPR通路。我们的研究为镉诱导肾毒性的分子机制开拓了新

思路，并为找到其解毒的关键靶点提供了科学理论依据。

关键词：镉；细胞凋亡；ROS /JNK通路；线粒体UPR通路

通讯作者：刘 月，E-mail：s20203050760@cau.edu.cn

鸢尾素促进脓毒血症中巨噬细胞抗炎分化作用及其机制研究

涂永梅，于卫华，海春旭，李文丽
（空军军医大学毒理学教研室，陕西 西安 710032）

摘要：目的 巨噬细胞作为机体主要的炎症效应细胞，可分为促炎（M1）型和抗炎（M2）型。研究表明，巨噬细胞浸润激活是脓毒症等炎症相关疾病的重要基础和致病靶点，并且与氧化还原、炎症调控关系密切。鸢尾素（Irisin）是一种运动诱导的肌肉因子，具有抑制炎症和凋亡、减轻氧化应激等生物学作用，提示Irisin可能参与调控巨噬细胞M2型极化，但其作用机制尚不清楚。本课题目的是探讨外源性给予Irisin是否能促进LPS诱导的脓毒症小鼠巨噬细胞M2型极化并减轻肺损伤，明确Irisin介导巨噬细胞抗炎反应的潜在分子调控机制。**方法** 建立LPS诱导小鼠脓毒症模型和巨噬细胞M1型极化模型；200 ng/mL Irisin分别处理RAW264.7和BMDMs细胞0、6、12、24和48 h，Western blot检测PPAR-γ和Nrf2依赖的抗氧化酶、STAT6、p-STAT6、JAK2、p-JAK2蛋白表达，免疫荧光检测巨噬细胞PPAR-γ、Nrf2、STAT6表达及定位，RT-qPCR法检测Nrf2依赖的抗氧化酶、STAT6及炎症因子mRNA表达，ELISA检测炎症因子含量、SOD2和CAT的酶活性及GSH的含量；流式细胞术检测ROS的水平；使用PPAR-γ抑制剂T0070907、小干扰PPAR-γ和Nrf2抑制剂ML385干预；使用STAT6抑制剂AS1517499或敲减STAT6，观察Irisin通过磷酸化STAT6调控M2型巨噬细胞抗炎分化。双荧光素酶报告基因检测STAT6与PPAR-γ/Nrf2的结合位点，Ch-IP分析STAT6与PPAR-γ/Nrf2的结合程度；使用JAK2抑制剂FLLL32、整合素αVβ5抑制剂Cilengitide或敲减整合素αVβ5观察巨噬细胞M2型标志物的变化。**结果** Irisin通过抑制巨噬细胞促炎分化，同时促进巨噬细胞抗炎分化，进而减轻LPS诱导的脓毒症小鼠急性肺损伤。在体外Irisin可以促进巨噬细胞系RAW264.7和原代巨噬细胞BMDMs向抗炎分化，并且促进PPAR-γ和Nrf2磷酸化表达和核转位，抑制PPAR-γ和Nrf2阻断了Irisin诱导的M2型巨噬细胞标志物的积累。STAT6是细胞内重要的信号转导因子，在Irisin刺激的巨噬细胞中，STAT6通过与PPAR-γ和Nrf2的DNA启动子结合促进其转录，抑制或敲低STAT6阻断了Irisin作用的PPAR-γ、Nrf2和相关下游基因的激活。此外，本研究发现Irisin与其配体整合素αVβ5的相互作用显著促进JAK2的磷酸化，而抑制或敲低整合素αVβ5和JAK2可减弱STAT6、PPAR-γ和Nrf2信号通路的活化。Co-IP实验揭示了JAK2和整合素αVβ5之间的相互作用。**结论** Irisin通过促进巨噬细胞抗炎分化改善LPS诱导的小鼠肺部炎症反应，并且Irisin通过其受体整合素αVβ5与JAK2结合，诱导JAK2-STAT6依赖的PPAR-γ相关抗炎系统和Nrf2相关抗氧化基因的转录激活，促进巨噬细胞发生抗炎分化，初步阐明了Irisin的抗炎和抗氧化作用机制。

关键词：鸢尾素；脓毒血症；巨噬细胞抗炎分化；JAK2-STAT6；PPAR-γ；Nrf2

通讯作者：涂永梅，E-mail：2296828447@qq.com

病毒诱导的中空介孔锰铋纳米颗粒负载SOCS6质粒协同增强ESCC的放射敏感性

马 瑞，赵丽娜
（空军军医大学第一附属医院放疗科，陕西 西安 710032）

摘要：目的 本研究的目的是构建一种肿瘤靶向病毒诱导的中空介孔锰铋（vHMMn-Bi-PEG）纳米系统，负载SOCS6质粒载体SOCS6@vHMMn-Bi-PEG，并在体内外探讨其放射增敏效果和安全性。**材料和**

方法 通过传统的硬模板合成法，获得了中空病毒激发的介孔二氧化锰/氧化铋杂化纳米粒子（vHMMn-Bi-PEG）。用SEM和TEM检测vHMMn-Bi-PEG的表征。通过离心法将pCDNA3.1-SOCS6装载到vHMMn-Bi-PEG中。MTT检测TE-10的细胞毒性。流式细胞仪分析检测细胞对SOCS6@vHMMn-Bi-PEG的摄取。随后，克隆形成评估SOCS6@vHMMn-Bi-PEG放射增敏。此外，通过免疫荧光检测γ-H2AX灶点。建立皮下异种移植模型，研究X线照射下SOCS6@vHMMn-Bi-PEG对体内肿瘤生长的抑制作用，并评价其生物安全性。**结果** HMMn-Bi-PEG表现出粗糙的表面形态，与天然病毒表面的刺突非常相似；加入vHMMn-Bi-PEG或SOCS6@vHMMn-Bi-PEG孵育后，TE-10细胞在24 h和48 h的存活率均大于90%。此外，流式细胞仪荧光定量分析发现SOCS6@vHMMn-Bi-PEG易于被TE-10摄取。克隆形成结果显示，SOCS6@vHMMn-Bi-PEG组的克隆形成率相较于单纯X线照射组（21.90%）和PCDNA 3.1-SOCS6+X照射组（18.32%）降至8.90%。此外，在SOCS6@vHMMn-Bi-PEG+X组中发现γ-H2AX焦点的荧光密度明显强于PBS+X组和pCDNA3.1-SOCS6+X组，表明SOCS6@vHMMn-Bi-PEG纳米系统增强了射线诱发的DNA损伤。小鼠体内注射PBS、vHMMn-Bi-PEG及SOCS6@vHMMn-Bi-PEG检测血清及血常规，结果发现各项指标均在正常范围之内，且各组织器官未见病变。同时发现SOCS6@vHMMn-Bi-PEG显著抑制肿瘤生长。以上结果表明SOCS6@vHMMn-Bi-PEG具有显著增强放射治疗效果且安全性强。**结论** 我们成功构建了一种新型仿生基因纳米系统SOCS6@vHMMn-Bi-PEG作为放射增敏剂，显著提高放射治疗的疗效。此外，SOCS6@vHMMn-Bi-PEG在ESCC体内外均表现出优异的抗肿瘤性能，且无全身毒性。

关键词：仿生基因纳米系统；vHMMn-Bi-PEG；放射增敏剂；SOCS6；食管癌；毒性

通讯作者：马　瑞，E-mail：marui0913@163.com

一种激酶抑制剂耐受剂量的确定及实验动物死因分析

浦雪艳，杨钜皓，蒋天翼，孙　凯
（罗氏研发（中国）有限公司，药物科学毒理病理部）

摘要：目的 本研究旨在确定一种激酶抑制剂的耐受剂量及耐受性试验中动物的死亡原因。**材料与方法** 18只7～9周龄BALB/c雌性小鼠，按体重随机分为溶媒对照组、20 mg/kg和60 mg/kg激酶抑制剂组，每组6只，每天经口灌胃给药一次，连续给药5天，观察其对该激酶抑制剂的耐受性。**试验结果** 给药第四天，60 mg/kg剂量组出现死亡小鼠（#1201）一例和濒死小鼠（#1202）一例，其余动物存活至计划解剖。相比于溶媒对照组，给药组计划解剖小鼠体重呈剂量依赖性降低，ALT与AST呈剂量依赖性升高，白细胞轻度增加，胃肠道未见明显病理组织学改变。临床观察发现，给药第四天死亡动物#1201出现软便，濒死动物#1202活动减少、弓背、竖毛、腹部膨隆及呼吸困难。大体检查发现#1201有胸膜渗出液。病理组织学方面，#1201胸膜增厚伴轻度炎症细胞浸润，颌下淋巴结皮质被纤维蛋白样渗出物包绕，食管粘膜上皮明显变性、鳞状上皮角化过度并伴有轻微的上皮细胞凋亡/坏死；食管与气管间的结缔组织存在大量植物纤维细胞，其周围及细胞内存在大量炎症细胞。#1202小鼠食管粘膜上皮中度变性并伴有鳞状上皮细胞凋亡/坏死，食管内存在大量植物纤维及脱落上皮细胞，食管和结肠出现大量丝状菌群。为了研究该两例死亡/濒死小鼠的食管上皮变性是药物所致还是操作所致，进一步在4只BALB/c小鼠中，以30 mg/kg激酶抑制剂经口灌胃连续给药7天后，摘取激酶抑制剂敏感组织眼睑、胃肠道、阴道、食管、气管进行病理组织学分析，结果均未见明显改变。**讨论与结论** 在激酶抑制剂耐受性试验中，两例非计划解剖动物（#1201、#1202）出现在60 mg/kg剂量组，且均发现食管上皮变性，而其余动物未见任何药物相关性改变，再结合进一步的7天验证试验结果，提示食管变性损伤为灌胃操作所致。随后，植物纤维穿出食管引发感染导致#1201小鼠死亡，或植物纤维滞留于食管内，引发大量菌群繁殖，从而导致#1202小鼠濒死。综上所述，60 mg/kg激酶抑制剂组小鼠的死亡/濒死和激酶抑制剂处理无关，BALB/c小鼠对20 mg/kg和60 mg/kg激酶抑制剂均可耐受。

关键词：激酶抑制剂；耐受剂量；死因；BALB/c小鼠

通讯作者：浦雪艳，E-mail：xueyan.pu@roche.com

BPA致斑马鱼胚胎运动神经毒性敏感期及其机制研究

刘健俊，孔闻宇，刘昱辰，马琪瑶，邵 琪，曾丽雯，晁 昱，宋肖垚，张 洁
（苏州大学医学部公共卫生学院，215123）

摘要：目的 本研究结合转录组学和神经发育毒性分析，全面研究BPA暴露在斑马鱼胚胎发育期的潜在生物学机制。我们研究了BPA在斑马鱼胚胎发育不同阶段的神经毒性，以揭示BPA暴露对胚胎发育可能的敏感期，并探讨BPA神经发育毒性的潜在生物标志物。**方法** 将斑马鱼卵裂期到体节期（1～24 hpf）、咽部期（24～48 hpf）、孵化期（48～72 hpf）的胚胎暴露于25 μmol·L^{-1} BPA，随后用系统水继续培养至96 hpf，观察运动行为的改变，筛选BPA对斑马鱼神经毒性的敏感期。在96 hpf收集各组幼鱼，采用转录组测序技术（RNA-sequencing，RNA-seq）检测卵裂期到体节期（1～24 hpf）染毒组与对照组幼鱼基因组的改变，分别进行差异表达基因筛选和功能分析后，确定BPA对斑马鱼神经毒性敏感期作用的目的基因，并通过荧光定量PCR对测序结果进行验证。并同样在96 hpf收集各组幼鱼，采用鸟嘌呤脱氨酶检测试剂盒的方法检测BPA致斑马鱼的鸟嘌呤脱氨酶的酶活性的影响，探讨BPA影响斑马鱼运动行为的机制。最后采用显微注射技术在斑马鱼胚胎单细胞期注射人工合成的cypin mRNA进行挽救实验，显微注射的斑马鱼胚胎随即暴露于BPA至24 hpf，进一步观察过表达cypin mRNA后运动行为的改变。**结果** BPA处理后卵裂期到体节期（1～24 hpf）染毒组幼鱼自发运动显著下降，表现为10 min自由游泳的运动速度较对照组降低约18.97%；明暗周期刺激下运动距离显著减少，在明周期内下降了29.7%，在暗周期内下降了18.4%。并且转录组学分析显示，卵裂期到体节期（1～24 hpf）染毒组有显著性差异表达基因131个，其中显著上调39个，显著下调92个。通过差异基因GO富集分析、基因功能分析发现，卵裂期到体节期（1～24 hpf）染毒组中基因鸟嘌呤脱氨酶（guanine deaminase ，cypin）mRNA水平显著下降。通过RT-Qpcr验证cypin表达与测序结果一致。而且在卵裂期到体节期（1～24 hpf），BPA的暴露会使鸟嘌呤脱氨酶活性降低。最后斑马鱼基因挽救（Rescue）实验结果显示，cypin mRNA注射后可恢复cypin的表达及斑马鱼幼鱼的运动水平。**结论** BPA对斑马鱼胚胎神经毒性的敏感期为卵裂期至分割期（1～24 hpf），表现为对斑马鱼运动行为的抑制。此外，BPA可通过下调cypin mRNA的表达（1～24 hpf）介导神经毒性，并影响斑马鱼的运动行为。因此，我们推测cypin基因可能是神经发育的潜在生物标志物。

关键词：斑马鱼；双酚A；神经毒性；鸟嘌呤脱氨酶；运动行为

肠道益生菌双歧杆菌促进小鼠骨髓造血恢复的机制研究

张薇薇，向 阳，刘绍庭，冉 茜，李忠俊
（检验医学中心输血科，陆军军医大学第二附属医院，400037）

摘要：目的 研究小鼠放射后肠道菌群的变化，找寻能够抵抗放射的益生菌并探讨其抵抗放射的作用机制，旨从肠道菌群方面为急性放射综合征的治疗提供新靶点及理论基础。**方法** 构建半数致死剂量小鼠模型，收取不同时间死亡的小鼠粪便，通过宏基因组测序技术分析筛选出肠道益生菌群。通过粪便移植实验和脏笼实验，探讨存活小鼠的肠道菌群能否显著提高放射后小鼠的存活情况。通过流式细胞、免疫荧光等技术检测益生菌双歧杆菌对放射后小鼠骨髓造血恢复的影响。随后，通过生化和免疫试剂盒检测双歧杆菌对甲硫氨酸循环相关产物的调控。最后，利用qRT-PCR和Western Blot实验技术检测双歧杆菌对甲硫氨酸合酶的影响，探讨双歧杆菌调控放射后骨髓造血恢复的机制。**结果** 通过对成年雄性小鼠不同剂量的60Co照射，发现7 Gy的照射会导致成年雄性小鼠半数致死。对照射后不同时间死亡小鼠粪便的宏基因组数据分析发现存活小鼠的肠道菌群与死亡小鼠的肠道菌群在放射前后均有差异，从中我们筛选出双歧杆菌在存活小鼠中明显多于死亡小鼠。进一步通过脏笼实验和粪便移植发现，当小鼠体内定植优势菌群后小鼠存活率明显上升。定植双歧杆菌的小鼠后与对照组相比，存活率没有显著差异，但体重恢复明显比对照组

快，其结肠长度显著长于对照组，并且发现其能够明显促进骨髓造血干细胞及免疫细胞的恢复。通过检测甲硫氨酸循环途径的相关分子，发现双歧杆菌能够促进小鼠血清中甲硫氨酸的水平，进而促进骨髓中的造血恢复。进一步从机制上研究发现双歧杆菌可以提高血清叶酸水平，进而促进甲硫氨酸合酶的表达。**结论** 放射后，存活小鼠相比于死亡小鼠体内双歧杆菌高表达，进而产生高水平叶酸，通过激活甲硫氨酸合酶的表达增强甲硫氨酸循环，从而促进小鼠骨髓造血恢复，抵抗放射。

关键词： 急性放射综合征；放射抗性；双歧杆菌；叶酸；甲硫氨酸

通讯作者： 冉　茜，E-mail：louise-r-q@163.com；李忠俊，E-mail：johnneyusc@gmail.com

尼古丁受體單核苷酸多態性所誘發的乳癌細胞致癌特性與分子機轉探討

廖佑承[1]，陳莉菁[2]，何元順[3]

(1. Graduate Institute of Medical Sciences，College of Medicine，Taipei Medical University，Taipei，Taiwan; 2. Department of Biological Science and Technology，College of Life Sciences，China Medical University，Taichung，Taiwan; 3. Institute of Biochemistry and Molecular Biology，College of Life Sciences，China Medical University，Taichung，Taiwan)

摘要：目的 尼古丁乙酰膽鹼受體（nAChRs）在許多癌症發展中起著重要作用，我們先前研究已證明台灣女性乳腺癌組織中主要的nAChRs為α5-、α9-和α10-，在正常組織和腫瘤組織中的α9-表達明顯高於α5-和α10-。由於單核苷酸多態性（SNP）發生在基因內或基因附近的調控區時，可能會改變蛋白質的生物學功能並增加罹癌的風險，因此，位於α9-nAChR基因中的特定SNP多型性產生蛋白變異體蛋白變異體影響乳腺癌之致癌機制。**方法與材料** 通過收集臨床乳腺癌、健康人體組織和血液（*n*=567）以PCR-RFLP檢測α9-nAchR 基因SNP位點之存在與分布比例，同時利用西方墨點法與基因定序分析α9-nAchR在不同亞型乳腺癌細胞系中的蛋白表達和基因型。 進一步以免疫沉澱法驗證該變異是否影響蛋白自身磷酸化，並通過西方墨點法分析α9-nAchR自身蛋白穩定性及下游細胞內信號通路之改變，此外，亦利用所建立蛋白野生與變異體過表達細胞（nAchR-S442 和-N442 over）評估該變體對乳癌細胞行為之影響。最終，經由建立兩種不同基因型的人源性腫瘤異種移植模式（PDX）小鼠評估α9-基因變異體於尼古丁刺激下對活體乳癌腫瘤生長之影響。**結果** 利用PCR-RFLP檢測已證實α9-nAChR 1325 bp 位點存在SNP rs10009228（G/A）之多型性變異，該變異分布比例為75%（G/G），24%（G/A），<1%（A/A）。根據不同乳癌細胞基因定序結果發現α9變異型（G/A）大多表現於HER2及TNBC兩種亞型，進一步證明該α9變異型（G/A）產生之α9-N442變異體造成氨基酸（S442N）改變，降低α9-nAchR自身磷酸化及蛋白穩定性。同時，發現α9-S442野生及α9-N442變異體過度表現觸發不同下游細胞內信號通路，α9-S442激活PI3K/Akt路徑，而α9-N442激活STAT3路徑。然而，相較α9-S442野生型過表達細胞，α9-N442 變異型過表達細胞具顯著增體外細胞遷移、侵襲、乾性和惡性之特性。最終，將兩種不同基因型的 PDX-TNBC 腫瘤小鼠經長期尼古丁（200 μg/ml）刺激後，發現α9-N442 變異型乳癌腫瘤受尼古丁刺激後生長顯著加快（），具較佳之尼古丁敏感性，未來將進一步研究該變體（S442N）如何調節尼古丁之敏感性及是否影響乳癌病患對臨床藥物之敏感性，強化其臨床應用價值。**結論** 綜上所述，α9-N442 蛋白變異體可能與乳癌病患預後較差有關，我們認為該 α9-nAchR 基因多型性位點可用於乳腺癌患者的臨床風險評估和診斷。

關鍵詞： 乳癌；單核苷酸多態性；α9尼古丁受體；人源性腫瘤異種移植小鼠

利用來自人類乳癌的異種移植小鼠腫瘤模式探討香菸中尼古丁誘發乳癌形成與Herceptin治療抗藥性

廖佑承[1], 陳莉菁[2],何元順[3]
(1. Graduate Institute of Medical Sciences, College of Medicine, Taipei Medical University;
2. Department of Biological Science and Technology, China Medical University, Taichung, Taiwan;
3. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, China Medical University, Taichung, Taiwan)

摘要：目的 尼古丁(nicotine)可誘導α9-尼古丁乙酰膽鹼受體(nAChRs) 活化,觸發細胞內致癌訊息路徑以促進乳腺癌形成。先前已從細胞、動物模式與臨床乳癌組織檢體證實α9-nAChR/HER2蛋白複合體形成,且尼古丁暴露誘發複合體解離。我們推測長期尼古丁暴露可能誘發複合體形成減少,干擾Herceptin鍵結促進Herceptin抗藥性乳癌形成。**方法與材料** 收集臨床乳腺癌檢體建立異種移植小鼠腫瘤模式(PDX model),利用該模式小鼠先經長期尼古丁暴露後(第二代,P2),合併尼古丁暴露與Herceptin治療(第三代,P3),評估長期尼古丁暴露是否改變Herceptin療效。除利用免疫組織化學染色偵測腫瘤Ki-67生長指標外,亦利用免疫螢光染色結合螢光共振能量轉移(FRET)技術分析腫瘤內α9-nAChR/HER2蛋白複合體之變化。此外,藉由西方墨點法直接檢測長期尼古丁暴露對腫瘤內致癌訊息路徑之影響,最終利用RNA轉錄體分析,探討長期尼古丁暴露影響α9-nAChR/HER2 複合體形成,增強Herceptin抗藥性之分子機轉。**結果** 本研究建立兩例PDX腫瘤為TNBC但HER2 IHC表現2+,經尼古丁刺激長期暴露後,發現帶有α9-A/A基因型腫瘤經尼古丁刺激生長較快,α9-G/G基因型則無變化。將長期暴露與未暴露尼古丁PDX腫瘤給予Herceptin治療,發現長期暴露尼古丁之腫瘤生長較快,且增強Herceptin抗藥性(Nic vs Nic-Herceptin n.s., PBS vs Herceptin *p=0.002),IHC染色結果顯示長期尼古丁暴露腫瘤經Herceptin治療後仍具高ki67表現,表示尼古丁長期暴露促進腫瘤生長並降低Herceptin療效,進一步從IF染色結果發現尼古丁長期暴露腫瘤內α9-nAchR /HER2複合體明顯減少,證實尼古丁抑制複合體形成。此外,經長期尼古丁刺激PDX腫瘤α9-nAChR下游相關致癌訊息路徑AKT, ERK 1/2及STAT3均明顯活化,經RNA轉錄體分析發現長期尼古丁暴露所調控之特定基因可能為FN1與IGFBP3。綜合上述,尼古丁長期刺激造成α9-nAChR/HER2複合體形成減少,分離的HER2與其他EGFR受體形成異構體干擾Herceptin鍵結作用,與α9-nAchR共同活化AKT, ERK 1/2及STAT3下游致癌路徑,促進藥物抗藥性形成,該機轉與FN1及IGFBP3表現密切相關。**結論** 已證實α9-nAChR /HER2複合體形成干擾Herceptin®鍵結且長期尼古丁暴露誘發複合體解離,活化α9-nAChR 及HER2下游傳遞訊息,長期尼古丁暴露之風險評估可協助醫師鑑別Herceptin®抗藥性乳癌病患。

關鍵詞： 尼古丁；賀癌平抗藥性；α9尼古丁受體；人源性腫瘤異種移植小鼠

Developing oral targeted small molecule for triple-negative breast cancer therapy

Yi-Shiou Chiou
(Assistant Professor, Master Program in Toxicology, College of Pharmacy, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan)

Abstract: Background Triple-negative breast cancer (TNBC) is a notoriously aggressive subtype of breast cancer, which comprises approximately 15–20% of all breast cancer types. Despite a dramatic initial response of conventional chemotherapy along with surgery and/or and radiotherapy in TNBC patients, long-term benefit is often thwarted by acquisition of resistance and current therapeutic options.

Objective Since BCL-2-associated agonist of cell death (BAD) phosphorylation status is closely associated with chemo-sensitivity and clinical outcomes of TNBC, we sought to discover a site-specific inhibitor of BAD phosphorylation and characterize its potential druggability and anticancer efficiency. **Experimental Approach** Liquid chromatography mass spectrometry (LCMS) was used for structure elucidation of piperazine based BAD phosphorylation inhibitor analogs. Cytotoxicity were validated the biological functions of the BAD phosphorylation inhibitor analogs. The pharmacokinetic studies, Ames test and human ether-a-go-go related gene (hERG) blockade analysis were evaluated the pharmacological and safety properties. Western blot and RNA-Seq analyses were performed to determine the specific molecular target and signaling pathway. Transcriptomic data from public datasets were applied to determine the interrelationships between BAD pathway gene expression signature (BPGES) expression and prognostic value in TNBC. **Expected outcomes** Current study findings will provide the personalized and more efficacious therapeutic strategies that may overcome the challenges of TNBC and identified a potential BAD phosphorylation inhibitor as a druggable small molecule worthy for further clinical applications.

Key words: TNBC; BAD phosphorylation; druggability

Safety assessment of traditional Chinese medicine (TCM) for both medicinal and edible purposes

Yun-Rong Tsai, Yi-Jia Chen

(Assistant Professor, Master Program in Toxicology, College of Pharmacy, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan)

Abstract: Lotus root, the edible rhizome of Nelumbo nucifera is commonly used as food and herbal medicine in Southeast Asia. Several beneficial properties for the health of the lotus root were reported. This study was conducted to investigate the mutagenicity by Ames test of lotus root extracts (LREs) with different extraction as a scientific basis for future drug development. The mutagenic potentials were analyzed using the Salmonella assay with the strains TA98, TA100, TA1535 and TA1537, with or without metabolic activation. The optimum solubility of LREs in DMSO was 0.5 mg/100 mL, which was chosen as the highest dilution for Ames test. We found that LREs was non-mutagenic in the Salmonella TA100 and TA1535 assay. However, the mutagenicity of TA98 and TA1537 strains needs to be further verified due to large experimental errors. In the future, we plan to further improve the Ames test, and provide a more complete toxicological analysis report for LREs as a safety basis for the developing new medicinal products.

Key words: Lotus root; Nelumbo nucifera; Mutagenicity

English Title: Dermal toxicity of ZnONPs combined with UVR: the interplay of inflammasome-autophagy-exosomal pathway

Yu-Ying Chen, Ying-Jan Wang

(Institute (English): Department of Environmental and Occupational Health National Cheng Kung University, College of Medicine, Tainan, Taiwan)

Abstract: Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) are widely used nanomaterial in cosmetics, such as

skin creams and sunscreens, due to their whitening properties and strong ultra violet (UV) light absorption. However, it is a long-standing argument about the safety concern regarding the application of ZnONPs, which can be taken up through multi-route such as skin contact and inhalation and cause toxicity. Our recent study revealed a novel molecular mechanism of ZnONPs and UVB induced skin damage that occurs through NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis, autophagy dysfunction and exosome secretion. The *in vitro* and *in vivo* study indicated UVB and ZnONPs exposure triggers skin toxicity, as indicated by decreased cell viability, increased histological injury, skin inflammation and transepidermal water loss. Our study also revealed the detail mechanism involved co-exposure of keratinocytes to UVB and ZnONPs, after UVB and ZnONPs exposure, mitochondrial dysfunction and NLRP3 inflammasome−mediated pyroptosis are activated. In addition to the inflammasome effect, UVB and ZnONPs exposure also triggered autophagy abnormality and increase the NLRP3 inflammasome loaded exosome secretion. Based on our finding, we believe this unique mechanism of ZnONPs and UVB radiation induce toxicity might involve in other skin disease. In future, subsequent studies are warranted to investigate the detailed interplay among the NLRP3 inflammasome, autophagy and exosome secretion pathways triggered by ZnONPs and UVB. A more profound understanding of the toxicity mechanisms of ZnONPs will facilitate the development of prevention and intervention policies against adverse consequences induced by ZnONPs or other metal and metal oxide nanomaterials.

利用 ARE 驅動的報導平台開發化學預防和癌症治療的 NRF2 調節劑

郭靜娟，湯雅筑，張欣蕙，黃致翔，謝興邦，張俊彥
(National Health Research Institutes)

摘要：NRF2/ARE 信號通路在維持細胞氧化還原穩態中起著至關重要的作用。 轉錄因子 NRF2 在應激反應中被激活，通過與抗氧化反應元件（ARE）結合並驅動細胞保護基因的表達來保護細胞免受氧化損傷。 因此，活化 NRF2 信號已被認為是一種癌症化學預防策略。 然而，癌細胞中 NRF2 的異常激活，除了可以通過使化療藥物解毒、減少藥物誘導的氧化應激、和誘導藥物外排來促進耐藥性外，也會營造出一個保護癌細胞生長、存活、與惡性轉化的微環境。因此，阻斷NRF2活性是提高癌症化學治療/放射線治療，以及逆轉癌細胞耐藥性的潛在藥物靶點。為了開發新的 NRF2 調節劑，我們建立了一個 ARE 驅動的報告平台來篩選化合物庫，以尋找潛在的 NRF2 活化劑和抑制劑。化合物庫篩選結果，許多已知的NRF2活化劑，在本平台中展現出與過往發表一致的結果，此結果驗證本篩選平台的精確性。除了已知化合物的驗證，我們也開發出許多新穎的NRF2活化劑與抑制劑，確認其對報導基因活性的調節，並進行作用機制的闡明。除了 “On target validation”，包括確認其對NRF2介導的基因調控與功能性，我們也利用一系列的具有化療抗藥性的癌細胞來驗證篩選出來的潛力的NRF2抑制劑，能增加抗癌藥物對耐藥性的癌細胞的治療效果。綜合研究結果與分析，我們觀察到一個有趣的現象，即NRF2活化劑多存在於可食性的植物或微生物產物；而NRF2抑制劑相對多存在於非可食或有毒的植物或微生物產物中。此理論基礎尚待更多的分析資訊來驗證。

關鍵詞：NRF2活化劑；NRF2抑制劑；化學預防；癌症治療