

基于多组学技术的农药致毒机制研究进展

毛曼菲, 岳思青, 赵美蓉*

(浙江工业大学 环境学院, 杭州 310029)

摘要: 中国作为农业大国, 国家的安宁稳定与粮食生产及安全密不可分。农药使用在保障农作物高产稳产的同时, 其与环境安全和食品安全的矛盾也越来越突出, 因而对农药风险评估与管理的研究正日益受到研究者的关注。多组学技术已在生命科学及医药学等领域得到迅猛发展, 但其在农药风险评估和致毒机制研究中的应用尚处于起步阶段, 未来发展空间较大。文章重点比较分析了基因组学、蛋白质组学、代谢组学及表观遗传学等组学方法在农药致毒分子机制研究方面的进展及优劣, 根据研究发现的多种关键性生物标志物及其重要调控信号路径, 综合探讨了基于多组学技术的农药对非靶标生物的毒性作用机制, 以及多组学技术在农药风险管理中的应用。

关键词: 多组学; 基因组学; 蛋白质组学; 代谢组学; 表观遗传学; 致毒机制; 研究进展

中图分类号: S481.1; TQ450.26

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2019)5-6-0823-08

Advances in pesticide poisoning mechanism based on multi-omics

MAO Manfei, YUE Siqing, ZHAO Meirong*

(College of Environment, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310029, China)

Abstract: China is a big agricultural country. The food supply stability is heavily relied on the agriculture advancement. Despite the usage of pesticides has ensured the stable crop yield, the increasing usage of pesticide has resulted in long-term negative impacts on the environmental and food safety. Thus, the risk assessment and management of pesticides have called for increasing attention of researchers. Multi-omics is a promising tool for identifying the mode of action of bioactive compounds in pharmaceutical industry. However, few studies have applied this approach in the risk assessment and mechanisms of toxic in pesticides. In this review, the progress in the mode of toxic action identification of the pesticides by various omics approaches has been summarized. Based on the previous research, some key biomarkers and their corresponding regulatory pathways were identified, and the potential mode of toxic actions and application of risk management of pesticides were explored.

Keywords: multi-omics; genomics; proteomics; metabonomics; epigenetics; poisoning mechanism; research progress

中国是一个拥有 4 000 多年农耕史的农业大国, 目前也是世界上农药生产和使用量最多的国

家。随着农药用量的增大, 其对生态环境、人体健康、食品安全及出口贸易等均带来了一定的潜

收稿日期: 2019-07-22; 录用日期: 2019-08-21.

基金项目: 国家自然科学基金(21677130); 中国博士后科学基金(2018M632503).

作者简介: 毛曼菲, 女, 硕士研究生, E-mail: mmf@zjut.edu.cn; *赵美蓉, 通信作者(Author for correspondence), 女, 博士, 教授, 主要从事农药环境化学与毒理学研究, E-mail: zhaomr@zjut.edu.cn

在危害,对农药污染的监控管理也正日益受到重视。2001年,胡昌弟等^[1]对湖南省长沙、株洲及湘潭等地蔬菜生产基地和农贸市场的蔬菜进行了抽样检测,共检测样品983批,其中农药检出率为28.0%,残留超标率高达21.3%。2017—2018年,吴玥霖等^[2]对四川省都江堰市的86个葡萄样品中的农药残留情况进行了检测,共检出农药14种,检出率为77.9%。2013年,佟鹤芳^[3]对北京市普通人群的196份血液样品进行分析,共检出36种农药残留,平均检出质量浓度在ND~0.007 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,其中检出率较高的农药多为持久性有机污染物(POPs),包括六氯苯(99%)、2,2-双-(对氯苯基)-1,1-二氯乙烯(96%)及 β -六氯化苯(95%),其中多数品种在高剂量暴露下可能诱发神经毒性^[4]、肝脏毒性^[5]、内分泌干扰^[6]和生殖发育毒性^[7]等,长期暴露甚至有致癌风险^[8]。由农药污染导致的环境及健康风险通常是长期低剂量暴露的结果,很难简单通过常规的急性毒性试验直接评估其系统毒性效应。但目前对农药的毒理学研究仍主要集中在基于动物毒性试验的观察科学层面,由于这类试验耗时费力,且不同农药的作用机制及靶点存在差异,对所有种类农药都进行动物毒性试验并不现实,因此,大量新型农药的出现给毒性测试的效率及准确性带来了挑战,亟需建立更科学合理的方法,用于评估那些现有毒理学资料较为匮乏的农药品种的毒性^[9]。

随着科学技术的不断发展,化合物毒性试验管理和风险评估模式也发生了转变。2010年,Ankley等^[10]提出了有害结局路径(adverse outcome pathway, AOP)这一概念,其能帮助研究者在摆脱过度依赖体内试验的情况下实现对化学物质潜在毒性作用机制的预测。构建一个AOP通常需要4个必要元素:分子起始事件(molecular initiating event, MIE)、关键事件(key event, KE)、关键事件关系(key event relationship, KER)及有害结局(adverse outcome, AO)。AOP主要是用于描述已有的关于某个直接的分子起始事件(molecular initiating event, MIE)(如:外源化合物与特定生物大分子的相互作用)与在生物不同组织结构层次(如:细胞、器官、机体、群体)所出现的跟危险度评定相关的“有害结局”之间的相互联系,来评估化合物对该生物个体以及整个群落的危害^[11]。

随着AOP作用机制研究资料的不断增多,目前研究者已将作用机制相似的化合物进行整合,并能将不同种类化合物的毒性数据用于完善化合物风险评估与管理。

多组学(multi-omics)是多种高通量组学技术的联合应用,主要包括对转录组学、蛋白质组学、代谢组学、表观遗传组学等信息进行综合分析以明确某种生物学机制的技术。随着基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、宏基因组学和表型遗传学等高通量基因组学方法在生物样本检测分析中的快速应用,这些大规模的组学数据集已经彻底改变了毒理学的研究体系,逐渐形成了系统的方法,以促进人们对化合物毒性效应分子机制的理解。随着生成这些数据集所需时间和成本的降低,组学数据集在为科学家带来机遇的同时也带来了挑战。

1 多组学定义及研究概况

20世纪中期,生物学家发现传统的还原式分析方法已经不能解决复杂的生物学问题,而DNA双螺旋分子结构的出现,揭开了生物学分子水平研究的帷幕^[12]。1969年,奥地利生物学家贝塔朗菲指出,生物体是一个复杂而开放的系统,未来需要借助计算机和工程学等其他分支学科手段来深入研究生物体^[13]。2000年,组学(omics)生物技术开创者之一,美国的Hood教授首先提出了系统生物学(system biology)的概念及研究体系^[14]。系统生物学是研究一个复杂生物系统(包括所有细胞、组织和功能器官)中的结构和组分,以及在特定条件下(如遗传、环境因素变化等)对这些组分(如基因、mRNA、蛋白质等)之间相互关系进行分析的学科,系统生物学是多组学综合分析技术的理论基础。

继人类基因组测序和其他生物基因的测序完成以后,生物学就步入了“后基因组时代”,研究者可通过各种实验分析产生大量生物数据,这使得全方位探究生命活动成为可能。系统组学包括了基因/转录组学、蛋白质组学、代谢组学、宏基因组学和表观遗传学等一系列组学技术。

早期的学术研究倾向于仅用单一组学技术进行分析,然而由于生物体是庞大而复杂的体系,涉及到基因组、转录组、蛋白质组及代谢组等多

个层面的分子网络系统变化, 因此, 越来越多的研究者正利用多组学联合的技术开展学术研究。多组学联合分析的主要优势是通过这些整合的数据, 可以更全面、系统地分析生物体内发生的细微变化, 能够为预测目标药物对生物体的作用机理提供更为可靠的数据支撑。

1.1 基因/转录组学

基因组学 (genomics) 概念最早于 1986 年由美国科学家 Roderick^[15] 提出, 并被定义为一门可对所有基因进行基因组作图 (如遗传图谱、转录本图谱)、基因定位、核苷酸序列分析以及基因功能分析的学科^[16]。转录组学则能提供生物体内所有基因的表达调节情况, 以及所有蛋白质的功能及相互作用等信息, 用于实现对生物及其细胞功能的所有情况作出全方位的解释^[17]。目前基因组学和转录组学已被应用于医学研究和临床应用的各个方面, 从制药化工^[18]、疾病的诊断和治疗^[19], 到系统发育生物学^[20]、进化基因组学^[21] 和比较基因组学^[22]。目前采用的基因组学的技术主要有基因芯片^[23] 和 RNA 测序技术 (RNA-sq)^[24]。

1.2 蛋白质组学

早在 1995 年, “Electrophoresis” 杂志中第一次明确了蛋白质组 (proteomics) 的定义: 蛋白质组是一个基因组, 或者一个细胞、组织、器官所表达的全部蛋白质的总和^[25]。随后, 有关蛋白质组学的研究逐渐成为生命科学研究领域的前沿^[26], 并可根据研究对象的差异, 将蛋白质组学分为 3 种类型: 表达蛋白质组学, 主要研究不同样品之间蛋白表达量的变化; 结构蛋白质组学, 可描绘出蛋白质复合体的结构图; 功能蛋白质组学, 主要就某种蛋白质组分的特征与功能进行分析, 有利于研究疾病的发生与外源化合物诱发的毒性机制^[27]。

1.3 代谢组学

代谢组学 (metabonomics)^[28] 是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后兴起的新学科、新技术, 其与其他三者之间紧密联系又存在明显差异^[29]: 基因组学、蛋白质组学及转录组学能测量样品在经药物暴露前后的差异, 但很难解释该结果是否确由药物暴露导致, 而代谢组学能够提供药物暴露后一段时间内机体功能完整性的全部信息, 因此自代谢组学概念提出以来即引起了研究者的极大兴趣。代谢组学检测流程一般包括样品

的制备、样品检测、数据整合、多变量分析、标记物识别和代谢路径分析等步骤, 其中数据整合是代谢组学研究中的关键步骤及难点。由于代谢组学技术可用于分析物理化学参数差异很大的对象, 单一的分析手段难以对其进行无偏向的全面分析, 因此, 高效液相色谱^[30]、质谱^[31]、核磁共振^[32]、红外光谱^[33]、库伦分析^[34]、紫外吸收^[35] 等分离分析手段及其各种组合都已出现在代谢组学的研究中, 其中, 高效液相色谱和核磁共振技术是最具有代表性的分析工具。

1.4 表观遗传学

表观遗传学 (epigenetics)^[36] 是研究基因核苷酸序列不发生改变, 而基因表达的可遗传性却有变化的一门学科, 即环境因素会诱导生物基因表达不同, 但基因核苷酸序列本身不发生改变。其中研究最广泛的是 DNA 甲基化。表观遗传学的表现形式多样, 主要包括: 1) DNA 甲基化, 指在 DNA 甲基转移酶作用下, 将二核苷酸 (CpG) 中的胞嘧啶转化为 5-甲基胞嘧啶的过程; 2) 组蛋白修饰, 由于组蛋白的基础氨基末端突出于核小体, 因而经常在转录翻译后发生修饰 (甲基化或磷酸化), 并影响染色体结构, 从而在基因表达中产生调节作用; 3) 非编码 RNA, 包括小分子 RNA (siRNA、piRNA、miRNA) 和长链非编码 RNA (lncRNA)。非编码 RNA 特指不能翻译为蛋白的功能性 RNA 分子, 其能决定细胞的分化情况, 调控基因表达, 在表观遗传学中具有举足轻重的地位^[37], 目前多数表观遗传学的研究也主要聚焦在非编码 RNA 方面。

2 多组学在农药毒性机制研究中的应用

2.1 基因/转录组学的应用

转录组学的研究对象是某一基因组所转录出来的 RNA 的总和, 其目的是明确基因的转录过程并阐释基因功能。通过转录组测序可得到 RNA 转录本丰度信息, 加之其极高的精确度和极低的检测费用, 因而具有十分广阔的应用前景^[38], 目前已有越来越多的研究者利用转录组得到的信息来揭示农药在生物体中的致毒机制。王萃^[39] 将源于大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤的神经内分泌细胞 (PC12) 暴露在浓度为 3.5×10^{-5} mol/L 的 *o,p'*-DDT 中, 采用逆转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR) 芯片检测技

术,研究了诱导神经细胞凋亡相关的84个关键分子的基因变化。其变化的分子类型主要包括:肿瘤坏死因子(TNF)配体及受体家族、Bcl-2家族、半胱氨酸蛋白酶(Caspase)及凋亡抑制基因(IAP)。相关芯片凋亡结果为:*rac-o, p'-DDT*、*R(-)-o, p'-DDT*和*S-(+)-o, p'-DDT*分别显著诱导了52、39及31个基因表达,其中,有18个基因在凋亡诱导中表现出对映体选择性变化。在细胞凋亡中作用尤为重要的4个家族分别为:1) TNF配体家族上调了1.5倍, TNF受体家族上调了1.9~2.0倍, TNF家族其他基因如*TNFRsf5*上调了1.7倍,就两个对映体而言, *R(-)-o, p'-DDT*对*TNF*、*CD40lg*及*Faslg*的上调倍数分别为*S-(+)-o, p'-DDT*的1.8、1.5和1.6倍;2) *caspase12*上调了2.7倍,对炎症具有调节作用的*caspase4*上调了7倍, *R(-)-o, p'-DDT*对*caspase1*及*caspase3*的诱导效果显著大于*S*异构体;3) *Bcl-2*家族中的*Bax*及*MC11*上调了1.9倍, *Bad*下调了2.0倍,所表现出的对映体选择性主要是由于在基因*Bcl-2l11*、*Bid3*和*Bnip3*中, *R(-)-o, p'-DDT*的上调倍数分别是*S-(+)-o, p'-DDT*的2.2、1.9和2.3倍;4) *rac-o, p'-DDT*诱导*p53*基因的表达上调了1.2倍,相应的, *Trp63*、*Trp73*及*Trp53bp2*的mRNA水平上调了0.6倍,且*Faim*(凋亡抑制分子)、*Prdx2*(抑制过氧化产生的重要调控基因之一)及*Sphk2*(脂解调控者)基因均有所下调。其RT-PCR验证结果与芯片所得结果基本一致,证明了研究方法及其结果的准确性。

2.2 蛋白质组学的应用

众所周知,蛋白质是生理功能的执行者,是生命活动的直接呈现者,因此,通过化合物暴露前后生物体蛋白质组的相关变化信息可获得农药的致毒机制。徐永学^[40]将斑马鱼*Danio rerio*胚胎暴露在0.05 mg/L的高效氯氰菊酯(*beta-cypermethrin*)中至孵化后48 h,采用蛋白质双向电泳-质谱法,探究了高效氯氰菊酯对斑马鱼的毒性作用机理。结果显示,共有8个蛋白发生了显著变化,其中ATP合酶(ATP synthase)、78 kDa葡萄糖调节蛋白前体(78 kDa glucose regulating protein precursor)、肌球蛋白(myosin)、 β -肌动蛋白(*beta-actin*)、心肌1 α 肌动蛋白(myocardial 1 α actin)及肌酸激酶同工酶(creatine kinase isoenzyme)6个蛋白的表达水平显著下调;而核不均一性核糖核蛋白

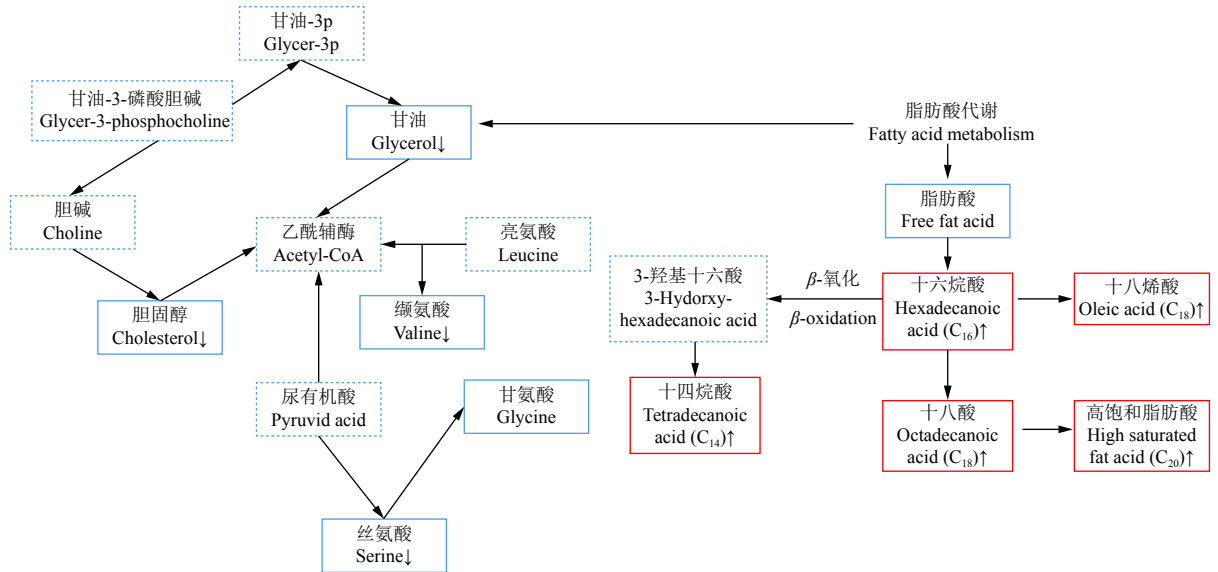
A/B(nuclear heterogeneity ribonucleoprotein A/B)和细胞角蛋白4(cytokeratin 4)两个蛋白的表达水平则显著上调。李磊^[41]分别采用点滴和喷雾两种暴露方式将褐飞虱*Nilaparvata lugens*暴露在200 mg/L的井冈霉素(validamycin)中,结果从喷雾暴露组共鉴定出284个发生显著变化的蛋白,其中142个的表达水平上调,142个的表达水平下调,受影响的代谢路径为9条,具体包括:蛋白质消化与吸收、神经活性的配体-受体互作、胰腺分泌、叶酸生物合成、Janus激酶/信号传导与转录激活子信号通路、甘油酯代谢、脂肪酸生物合成、剪接体以及核糖体的合成;点滴暴露组共发现267个发生变化的蛋白,其中130个的表达水平上调,137个的表达水平下调,影响到的代谢路径为5条,具体为谷胱甘肽代谢、核糖体的合成、Hedgehog信号通路、磷酸戊糖代谢路径及背腹轴形成相关通路。说明不同的农药给药方式所导致的生物效应机制有可能不同。

2.3 代谢组学的应用

代谢组学是以检测和分析小分子代谢产物为基础的,主要研究机体在基因调控、蛋白质影响及系统代谢等因素综合作用下所产生的动态代谢应激情况。如果说基因组学和蛋白质组学重点在告诉我们可能会发生什么,而代谢组学则能够告诉我们已经发生了什么^[42]。代谢组学具有分析非靶向性、检测整体性和样品非破坏性等特点,作为系统生物学的一门重要学科,其在毒理学^[43]、疾病诊断^[44]及药物安全性评估^[45]等研究领域起着非常关键的作用。Wang等^[46]研究了低剂量(40 μ g/L)氟虫腈(fipronil)对斑马鱼幼鱼的神经毒性及代谢干扰情况。结果显示:低剂量氟虫腈对斑马鱼幼鱼具有神经毒性,可诱导斑马鱼幼鱼出现焦虑行为,导致其在光周期刺激下运动失调。此外,通过气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术,他们共发现了19种代谢小分子发生了显著变化,分别为丝氨酸(serine)、正十五酸(pentadecanoic acid)、3-羟基十六酸(3-hydroxy-hexadecanoic acid)、脯氨酸(proline)、缬氨酸(valine)、胆固醇(cholesterol)、甘氨酸(glycine)、磷酸盐(phosphate)、丙酸(propionic acid)、尿素(urea)、丙酸(propanoic acid)、丙三醇(glycerol)、硫脲(thiourea)、十八酸(octadecanoic acid)、 α -D-半乳糖苷(α -D-galactopyranoside)、十四烷酸(tetradecanoic acid)、

十八烯酸 (oleic acid)、1,2-苯二甲酸 (1,2-benzenedicarboxylic acid) 及二十酸 (eicosanoic acid), 同时还发现 *R*-氟虫腈干扰了斑马鱼的 5 条

信号通路, 包括丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、钙信号传导、神经活性配体-受体相互作用、嘌呤代谢和细胞胞吞作用 (图 1)。



注: 蓝色矩形表示代谢物含量显著下调, 红色矩形表示代谢物变化不显著, 虚线矩形表示未发生改变或未检测到代谢物。

Note: The blue rectangle represents the down regulation of the metabolite, the red rectangle represents a non-significant change in metabolite, and the dashed-line rectangle represents unchanged or undetected metabolite.

图 1 斑马鱼在低剂量 (40 µg/L) 氟虫腈诱导下的代谢路径

Fig. 1 Potential pathway induced by 40 µg/L fipronil in zebrafish

张怡等^[47] 分别采用 *R*-甲霜灵和 *S*-甲霜灵, 按每日 100 mg/kg 的剂量连续灌胃处理幼年雌性 SD 大鼠, 14 d 后, 采用基于核磁共振检测的代谢组学分析方法, 研究了甲霜灵暴露对幼年大鼠血清代谢表型变化的影响及其对映体差异。结果发现, 杀菌活性较强的 *R*-甲霜灵暴露对大鼠体内 3 条代谢路径具有显著干扰效应, 具体为酮体的合成和降解路径, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的合成路径, 以及甘油酯的代谢路径。相对而言, 杀菌活性较弱的 *S*-甲霜灵对大鼠代谢的干扰效应更为显著, 共干扰了 6 条代谢路径, 分别为糖酵解路径, 甘氨酸、苏氨酸、丝氨酸的代谢路径, 酮体的合成和降解路径, 缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸的合成路径, 甘油磷脂的代谢路径, 以及甘油酯的代谢路径。综上可知, 甲霜灵对映体暴露可造成幼年大鼠体内代谢紊乱, *S*-甲霜灵的效应大于 *R*-甲霜灵。研究提示我们在评价手性农用杀菌剂健康风险时要充分考虑其对映体选择性。

2.4 表观遗传学的应用

表观遗传学是一门研究生命体生长发育与分化过程中基因所发生的可遗传性改变的学科^[48],

目前相关研究主要集中在非编码 RNA 方面, 其他领域涉及较少。Qian 等^[49] 将斑马鱼胚胎暴露于梯度浓度氟虫腈不同手性对映体中至孵化后 120 h, 以分析其发育毒性的对映体差异, 结果显示, *S*-(+)-氟虫腈对斑马鱼胚胎的致死和致畸效应远大于 *R*-(-)-氟虫腈。其中, 采用 800 µg/L 的氟虫腈不同手性对映体暴露至孵化后 120 h, 通过 DNA 甲基化免疫共沉淀技术 (MeDIP-Seq), 分别检测了 *S*-(+)-氟虫腈和 *R*-(-)-氟虫腈暴露下斑马鱼胚胎基因组 DNA 的甲基化变化情况。结果显示: 两个暴露组中, 基因组甲基化区域共有 143 267 peaks, 其中 29 946 peaks 表达于 *S* 组, 24 822 peaks 表达于 *R* 组, 相比较而言, *S* 组高了 20%, 说明氟虫腈可上调基因组 DNA 的甲基化水平, 且其 *S* 型对映体的上调效应显著强于 *R* 型。此外, 他们通过 KEGG 数据库分析发现, 经氟虫腈暴露后, 斑马鱼的 22 条信号通路中均有 5 个及 5 个以上的信号相关基因发生了高甲基化, 其中 7 条通路与胚胎的发育过程密切相关, 具体包括: 紧密连接、焦点粘连、血管平滑肌收缩、转化生长因子-β (TGF-β) 信号通路、促分裂原活化蛋白激酶、刺猬信号

通路以及 Wnt 信号通路。表明由 *S-(+)-*氟虫腈诱导的 DNA 甲基化修饰差异, 在很大程度上会使得对上述发育相关信号通路的调控紊乱, 进而显著影响斑马鱼胚胎的发育进程, 是造成氟虫腈对斑马鱼发育毒性对映体差异的重要原因。

2.5 多组学面临的挑战及应用

生命机体的生理及病理变化通常涉及到基因组、转录组、蛋白质组、代谢组及表观遗传组等多个不同层次的组学平台, 其中单个组学的数据只能体现某一层面的变化, 因而在解释一个复杂体系的生物学行为时必然存在局限性。虽然目前已有多种数据整合分析方法, 包括基于相关性的数据整合方法(如 Pearson 和 Spearman)、基于多变量(PLS)的数据整合方法, 以及将几个基于代谢通路数据库的组学数据进行整合分析的方法等。但仍存在以下亟待解决的问题: 首先是基因型和表型之间的联系, 主要是很难从生物功能的角度将遗传基因的改变与表型的改变结合起来, 因此研究者尝试将蛋白质组学和代谢组学的数据或者将基因组学和转录组学的数据进行整合, 以便从中找到能将基因型和表型结合起来的分子信息, 从而克服上述问题。其次是蛋白质组学的定量分析, 由于蛋白质有着复杂的翻译后修饰功能, 因此在对膜蛋白进行分离及分析时存在困难, 并且作为蛋白质组学研究的关键性技术, 质谱技术在检测低丰度蛋白和不溶性蛋白以及肽段的鉴定等方面仍有难点待攻克, 并由此导致了蛋白质组学量定的不准确性。近年来, 随着检测仪器的灵敏度越来越高, 并且开展了有效的同位素标记物测定方法, 上述问题已得到显著改善。最后是关于代谢组学的定量问题, 目前通过代谢组学产生的谱图信息只有 15%~30% 能被识别及量化。此外, 样品处理的多样性、使用平台的多样性、量化方法的多样性以及数据格式规范和分析方式的标准化等也是亟待解决的难点。

通过多组学数据的整合分析, 有助于人们更加全面地阐述目标物的毒性作用机理, 目前多组学在农药致毒机制领域的研究应用已逐渐开展起来。余凯敏^[50]将斑马鱼暴露在 0~4.0 mg/L 的毒死蜱中 48 h 后, 采用 RNA-scq 技术和 iTRAQ 技术, 结合转录组学和蛋白质组学方法, 全面系统地探究了毒死蜱对斑马鱼的致毒机制。转录组学试验结果表明: 有 84 个基因产生了显著差异, 变化差

异大于 2 倍的有 15 个。其中表达水平上调的 12 个基因分别为: 丙氨酸脱氢酶 β 穹窿体主蛋白、胰腺母细胞分化与增值作用因子 b、*dclta* 氨乙酰丙酸合成酶 1、前体加工因子、基质金属蛋白酶 13a、骨骼蛋白轻链磷酸化快速骨骼肌 b、NEM 核苷二磷酸激酶 2b、醛缩酶 a、天冬酰胺 tRNA 合成酶、与 α 晶体蛋白相关的热激蛋白以及转录因子 7 类似物; 表达水平下调的 3 个基因分别为: Kruppel 样因子 2b、嘌呤核苷磷酸化酶 5a 和包含 SEA 区域的新蛋白。蛋白质组学结果共发现 71 个产生显著差异的蛋白, 其中表达水平上调的有 33 个, 下调的为 38 个; 同时发现有 6 条代谢通路受到了影响, 分别为: 泛醌合成、细胞通讯、TGF- β 1 信号通路、氧化磷酸化、细胞周期以及由泛素介导的蛋白水解。

3 总结与展望

可以预见, 在未来相当长的一段时间里, 农药仍将继续在农业生产中发挥重要作用。随着农药种类和数量的增加、暴露途径的多样化以及全社会生态文明建设及食品安全要求的提升, 有关农药毒性的研究必将迎来新的挑战 and 机遇。首先, 围绕国家环境及食品安全的重大议题, 研发更高效、更安全新型农药势在必行; 其次, 积极利用计算机技术辅助农药风险评估, 随着现代分析技术的快速发展以及数据处理软件的不断完善, 多组学在农药毒性研究中必将起到越来越重要的作用。

由于单个组学方法均有各自的优势及局限, 每个组学平台都面临各自的挑战, 因此, 仅靠某一组学的研究成果很难全面解释目标药物的作用机理, 而多组学技术能将不同组学数据有效整合, 不过其整合的结果仍需依赖于生物信息学的分析结果。多组学技术已逐渐应用在疾病诊断、药物毒性及食品化工等多个方面, 然而目前其在农药致毒机制研究方面的应用尚处于起步阶段, 特别是由于很多受试生物不是模式生物, 对其遗传背景信息等并不完全清楚, 适合农药生态风险评估与致毒机制研究的生物信息学分析模型也还需进一步研发, 因此亟需构建适合农药风险评估的模式生物的多组学信息数据库。利用多组学技术可以更好地帮助我们深入探讨农药的毒性效应分子机制, 为明确农药对非靶标生物毒性作用的

靶点, 系统评估农药的环境风险, 实现农药的最优化使用提供技术支持。

作者简介:



赵美蓉, 女, 浙江工业大学环境科学研究中心主任, 教授, 博士生导师, 主要从事农药环境健康和生态安全研究工作。2006年毕业于中国科学院动物研究所农业虫害控制国家重点实验室, 获博士学位。现任中国环境学学会环境化学专业委员会委员、中国动物学会生殖生物学会理事、中国植物保护学会农药安全专业委员会委员及《农药学报》编委等。主持或完成国家自然科学基金项目多项, 2011年获第二届中国生态学会青年科技奖, 2012年获得浙江省杰出青年基金资助, 入选浙江省新世纪“151”人才一层次。

参考文献 (References):

- [1] 胡昌弟, 吴志华, 李拥兵, 等. 湖南省蔬菜质量现状分析及其治理对策[J]. *湖南农业科学*, 2003(5): 12-14.
HU C D, WU Z H, LI Y B, et al. Current situation of vegetable quality and its countermeasures in Hunan Province[J]. *Hunan Agric Sci*, 2003(5): 12-14.
- [2] 吴玥霖, 韩娇, 代俊强, 等. 都江堰市葡萄农药残留风险评估[J]. *贵州农业科学*, 2019, 47(4): 114-117.
WU Y L, HAN J, DAI J Q, et al. Pesticide residues risk assessment of grapes in Dujiangyan City[J]. *Guizhou Agric Sci*, 2019, 47(4): 114-117.
- [3] 佟鹤芳. 常见农药污染物在人体血液样本中的检测及人体负荷水平研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2013: 1-86.
TONG H F. Detection method development of common pesticide contaminants in human blood samples and body burden study[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2013: 1-86.
- [4] FU D J, LI P, SONG J, et al. Mechanisms of synergistic neurotoxicity induced by two high risk pesticide residues-chlorpyrifos and Carbofuran via oxidative stress[J]. *Toxicol Vitro*, 2019, 54: 338-344.
- [5] MORALES-PRIETO N, RUIZ-LAGUNA J, SHEEHAN D, et al. Transcriptome signatures of *p, p'*-DDE-induced liver damage in *Mus spretus mice*[J]. *Environ Pollut*, 2018, 238: 150-167.
- [6] SONG Y, YANG L. Transgenerational impaired spermatogenesis with sperm H19 and Gtl2 hypomethylation induced by the endocrine disruptor *p, p'*-DDE[J]. *Toxicol Lett*, 2018, 297: 34-41.
- [7] WATERMANN B T, ALBANIS T A, GALASSI S, et al. Effects of anti-androgens cyproterone acetate, linuron, vinclozolin, and *p, p'*-DDE on the reproductive organs of the copepod *Acartia tonsa*[J]. *J Environ Sci Heal Part A*, 2016, 51(13): 1111-1120.
- [8] STAREK-ŚWIECHOWICZ B, BUDZISZEWSKA B, STAREK A. Hexachlorobenzene as a persistent organic pollutant: toxicity and molecular mechanism of action[J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69(6): 1232-1239.
- [9] ANKLEY G T, BENNETT R S, ERICKSON R J, et al. Adverse outcome pathways: a conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2010, 29(3): 730-741.
- [10] VINKEN M. The adverse outcome pathway concept: a pragmatic tool in toxicology[J]. *Toxicology*, 2013, 312: 158-165.
- [11] GROH K J, CARVALHO R N, CHIPMAN J K, et al. Development and application of the adverse outcome pathway framework for understanding and predicting chronic toxicity: I. Challenges and research needs in ecotoxicology[J]. *Chemosphere*, 2015, 120: 764-777.
- [12] 张明明. 基于系统生物学的方法挖掘拟南芥盐胁迫风险因子[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018: 1-64.
ZHANG M M. Mining *Arabidopsis thaliana* salt stress risk factors based on systems biology[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2018.
- [13] 陈朋, 李红玉. 从一般系统论到后基因组时代的系统生物学[J]. *生物信息学*, 2010, 8(4): 299-301.
CHEN P, LI H Y. From general system theory to post genome era's systems biology[J]. *China J Bioinform*, 2010, 8(4): 299-301.
- [14] IDEKER T, GALITSKI T, HOOD L. A new approach to decoding life: systems biology[J]. *Annu Rev Genom Hum Genet*, 2001, 2(1): 343-372.
- [15] KUSKA B. Beer, Bethesda, and biology: how "genomics" came into being[J]. *JNCI: J Natl Cancer Inst*, 1998, 90(2): 93.
- [16] 李伟, 印莉萍. 基因组学相关概念及其研究进展[J]. *生物学通报*, 2000, 35(11): 1-3.
LI W, YIN L P. Genomics related concepts and their research progress[J]. *Bull Biol*, 2000, 35(11): 1-3.
- [17] 孙安会, 袁肇凯, 夏世靖, 等. 中医证候系统生物学研究的现状和展望[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(1): 200-204.
SUN A H, YUAN Z K, XIA S J, et al. Current status and prospect of system biology research on TCM syndrome[J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2016, 31(1): 200-204.
- [18] YANG P, ZHU J Y, GONG Z J, et al. Transcriptome analysis of the Chinese white wax scale *Ericerus pela* with focus on genes involved in wax biosynthesis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35719.
- [19] VAN VUGHT L A, KLEIN KLOUWENBERG P M C, SPITONI C, et al. Incidence, risk factors, and attributable mortality of secondary infections in the intensive care unit after admission for *Sepsis*[J]. *JAMA*, 2016, 315(14): 1469.
- [20] PAVLIDI N, DERMAUW W, ROMBAUTS S, et al. Analysis of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* transcriptome and phylogenetic classification of the major detoxification gene families[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66533.
- [21] BHATTACHARYA D, AGRAWAL S, ARANDA M, et al. Comparative genomics explains the evolutionary success of reef-forming corals[J]. *eLife*, 2016, 5: 13288.
- [22] ZOU Z, XIE G S, YANG L F. Papain-like cysteine protease encoding genes in rubber (*Hevea brasiliensis*): comparative genomics, phylogenetic, and transcriptional profiling analysis[J]. *Planta*, 2017, 246(5): 999-1018.
- [23] ZHANG F Q, HU Y, SUN R N, et al. Gold-sensitized silicon/ZnO core/shell nanowire array for solar water splitting[J]. *Front Chem*, 2019, 7: 206.
- [24] HAISER H J, SEIM K L, BALSUSKUS E P, et al. Mechanistic insight into digoxin inactivation by *Eggerthella lenta* augments our understanding of its pharmacokinetics[J]. *Gut Microbes*, 2014, 5(2): 233-238.

- [25] CELIS J E, RASMUSSEN H H, GROMOV P, et al. The human keratinocyte two-dimensional gel protein database (update 1995): mapping components of signal transduction pathways[J]. *Electrophoresis*, 1995, 16(1): 2177-2240.
- [26] 康俊梅. 低温胁迫下野牛草生理生化响应及蛋白质组学研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008: 1-78.
- KANG J M. Study on the physiological and biochemical response and differentially expressed proteome under cold stress in buffalograss[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008: 1-78.
- [27] 王英超, 党源, 李晓艳, 等. 蛋白质组学及其技术发展[J]. *生物技术通讯*, 2010, 21(1): 139-144.
- WANG Y C, DANG Y, LI X Y, et al. Proteomics and the development of proteomics techniques[J]. *Lett Biotechnol*, 2010, 21(1): 139-144.
- [28] NICHOLSON J K, LINDON J C. Systems biology: metabolomics[J]. *Nature*, 2008, 455(7216): 1054-1056.
- [29] ROBERTSON D G, LINDON J, NICHOLSON J K, et al. Metabolomics in toxicity assessment[J]. *Physiol Variation Lab Anim Humans*, 2005: 397-451.
- [30] QUINONES M P, KADDURAH-DAOUK R. Metabolomics tools for identifying biomarkers for neuropsychiatric diseases[J]. *Neurobiol Dis*, 2009, 35(2): 165-176.
- [31] DIXON S P, PITFIELD I D, PERRETT D. Comprehensive multi-dimensional liquid chromatographic separation in biomedical and pharmaceutical analysis: a review[J]. *Biomed Chromatogr*, 2006, 20(6-7): 508-529.
- [32] WU J F, WUOLIKAINEN A, TRUPP M, et al. NMR analysis of the CSF and plasma metabolome of rigorously matched amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease and control subjects[J]. *Metabolomics*, 2016, 12(6): 101.
- [33] DIAO J Y, XU C, ZHENG H T, et al. An integrated strategy to qualitatively differentiate components of raw and processed viticis fructus based on NIR, HPLC and UPLC-MS analysis[J]. *Planta Med*, 2018, 84(17): 1280-1291.
- [34] BECK M E. Do Fukui function maxima relate to sites of metabolism? A critical case study[J]. *J Chem Inf Model*, 2005, 45(2): 273-282.
- [35] FATMA S, BISHNOI A, VERMA A K. Synthesis, spectral analysis (FT-IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and UV-visible) and quantum chemical studies on molecular geometry, NBO, NLO, chemical reactivity and thermodynamic properties of novel 2-amino-4-(4-(dimethylamino)phenyl)-5-oxo-6-phenyl-5,6-dihydro-4H-pyrano[3,2-c]quinoline-3-carbonitrile[J]. *J Mol Struct*, 2015, 1095: 112-124.
- [36] 张旭辉. 基于表观遗传学及 PKA 信号通路探讨针刺对 BDNF 蛋白及基因表达的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016: 1-134.
- ZHANG X H. Effects of acupuncture on BDNF protein and gene expression based on epigenetics and PKA signaling pathway[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2016: 1-134.
- [37] YU H. Epigenetics: advances of non-coding RNAs regulation in mammalian cells[J]. *Hered Beijing*, 2009, 31(11): 1077-1086.
- [38] WANG L K, FENG Z X, WANG X, et al. DEGseq: an R package for identifying differentially expressed genes from RNA-seq data[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(1): 136-138.
- [39] 王萃. 联苯菊酯和 DDTs 对映体选择性水生毒性、神经毒性及相关机理研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2012: 1-109.
- WANG C. Enantioselective effect and mechanism research of bifenthrin and DDTs on aquatic toxicity and cytotoxicity[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2012: 1-109.
- [40] 徐永学. 高效氯氰菊酯对斑马鱼胚胎发育的毒性影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012: 1-46.
- XU Y X. Toxicity effect on embryo development of zebrafish for insecticide *beta*-cypermethrin[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012: 1-46.
- [41] 李磊. 井冈霉素刺激褐飞虱生殖的蛋白质组学分析及关键基因 FAS 的功能研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2016: 1-38.
- LI L. Proteomic analysis on the enhanced fecundity of *Nilaparvata lugens*(Stal) induced by jinggangmycin and the functional study of the key gene fatty acid synthase[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2016: 1-38.
- [42] GERMAN J B, BAUMAN D E, BURRIN D G, et al. Metabolomics in the opening decade of the 21st century: building the roads to individualized health[J]. *J Nutr*, 2004, 134(10): 2729-2732.
- [43] HE J, LI G Y, CHEN J, et al. Prolonged exposure to low-dose microcystin induces nonalcoholic steatohepatitis in mice: a systems toxicology study[J]. *Arch Toxicol*, 2017, 91(1): 465-480.
- [44] ZHU H, WANG Z J, WU Y L, et al. Untargeted metabolomics reveals intervention effects of chicory polysaccharide in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 128: 363-375.
- [45] GAO K, YANG R, ZHANG J, et al. Effects of Qijian mixture on type 2 diabetes assessed by metabolomics, gut *Microbiota* and network pharmacology[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 130: 93-109.
- [46] WANG C, QIAN Y, ZHANG X F, et al. A metabolomic study of fipronil for the anxiety-like behavior in zebrafish larvae at environmentally relevant levels[J]. *Environ Pollut*, 2016, 211: 252-258.
- [47] 张怡. 手性农药甲霜灵对幼年大鼠肠道菌群和代谢表型的影响 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2018: 1-65.
- ZHANG Y. Effects of chiral pesticide metalaxyl on intestinal flora and metabolic phenotype in young rats[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2018: 1-65.
- [48] 李光雷, 喻树迅, 范术丽, 等. 表观遗传学研究进展[J]. *生物技术通报*, 2011(1): 40-49.
- LI G L, YU S X, FAN S L, et al. Advance of research on epigenetics[J]. *Biotechnol Bull*, 2011(1): 40-49.
- [49] QIAN Y, WANG C, WANG J H, et al. Fipronil-induced enantioselective developmental toxicity to zebrafish embryo-larvae involves changes in DNA methylation[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2284.
- [50] 余凯敏. 毒死蜱对斑马鱼胚胎的毒性机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015: 1-51.
- YU K M. The toxicological mechanism research of chlorpyrifos in zebrafish embryos[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015: 1-51.

(责任编辑: 唐 静)