

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20191223001

常静, 潘一帆, 魏若瑾, 等. 代谢组学在化学品风险评价中的应用[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(6): 1-9

Chang J, Pan Y F, Wei R J, et al. Application of metabolomics in chemical risk assessment [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(6): 1-9 (in Chinese)

代谢组学在化学品风险评价中的应用

常静¹, 潘一帆¹, 魏若瑾¹, 李济彤¹, 杨璐¹, 朱莉飞², 王会利^{1,*}

1. 中国科学院生态环境研究中心环境生物技术重点实验室, 北京 100085

2. 北京市水产科学研究所, 北京 100068

收稿日期: 2019-12-23 录用日期: 2020-01-20

摘要: 随着化学品的数量日益增长, 其潜在毒性对人类及环境中的非靶标生物造成了严重威胁。化学品风险评估的速度已经跟不上化学品的发展速度, 急需根据现代毒理学技术的发展, 对化学品风险评估方法进行丰富与发展。代谢组学作为系统生物学最下游的组学技术, 是整体性研究生命体系功能变化的重要学科之一。基于代谢组学的毒理学评价方法不仅具有成本低、周期短和实验动物消耗少等特点, 而且可以快速筛选出低剂量化学品早期暴露的生物标记物, 揭示化学品毒性作用通路及机制。本文主要介绍了代谢组学的起源与发展、代谢组学技术应用于毒理学评价的优势、案例及前景展望。

关键词: 代谢组学; 核磁共振; 质谱; 毒理学; 毒性机理

文章编号: 1673-5897(2020)6-001-09 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Application of Metabolomics in Chemical Risk Assessment

Chang Jing¹, Pan Yifan¹, Wei Ruojin¹, Li Jitong¹, Yang Lu¹, Zhu Lifei², Wang Huili^{1,*}

1. Key Laboratory of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2. Beijing Fisheries Research Institute, Beijing 100068, China

Received 23 December 2019 accepted 20 January 2020

Abstract: With the increasing amount of chemicals, the potential toxicity poses a serious threat to humans and non-target organisms in environment. As the speed of chemical risk assessment has not kept pace with the development of chemicals, it is urgent to enrich and develop the chemical risk assessment methods according to the modern toxicology technology. Metabolomics, as the downstream omics technology of system biology, is one of the important subjects to study the function changes of life system integrality. The toxicological evaluation method based on metabolomics is not only characterized by the low cost, short experiment cycle and low consumption of experimental animals, but also stand out from the quickly biomarker screening of early low dose chemical exposure and unraveling the pathway and mechanism of chemical toxicity. This paper mainly introduced the origin and development of metabolomics, the advantages, cases and prospects of the application of metabolomics in toxicological evaluation.

Keywords: metabolomics; nuclear magnetic resonance (NMR); mass spectra; toxicology; toxic mechanism

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41807478); 公益性行业(农业)科研专项(201503108)

第一作者: 常静(1990—), 女, 博士研究生, 研究方向为生态毒理学, E-mail: changjingforever@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: huiliwang@rcees.ac.cn

据美国《化学文摘》数据库(Cheical Abstracts Service Registry, CAS Registry)统计,目前市场上使用的化学品约有 840 万种,仅有 24 万种已经列入监管名录(<https://www.cas.org/about/cas-content>)。化学品风险评估对保护人类健康起到重要作用,然而传统化学品毒理学评价速度(平均 2 ~ 3 年/化学品)^[1]已经赶不上化学品的发展速度(200 ~ 300 化学品/年)^[2]。目前,约 80% 以上化学品的环境安全信息是缺失的,这对化学品毒性风险评估工作带来前所未有的挑战^[3-4]。传统的毒性测试方法具有通量低、周期长、敏感度低和成本高等特点。近年来,随着毒理学新技术的发展,国内外研究学者已经开始从传统的毒理学试验方法向快速、灵敏和高效的试验方法转变,例如,作为系统生物学的重要组成部分,基因组学、蛋白质组学和代谢组学在化学品毒性作用机制研究中具备很大优势。

基因组学和蛋白质组学应用于毒理学评价并不能直接提供毒性终端信息,而所有生理病理状态的改变都可以通过直接的生物化学反应,从内源代谢物的浓度和种类上体现出来,所以,继基因组学和蛋白质组学之后,代谢组学被纳入新的研究策略^[5]。将代谢组学技术应用于毒理学研究的主要原理是通过分析生物化学通路中小分子代谢物(碳水化合物、脂肪酸、核酸和氨基酸等)的变化情况筛选出早期暴露的重要生物标记物,揭示化学品暴露之后的主要干扰通路和毒性机理。虽然,近年来代谢组学已经广泛应用于毒性评价领域,但是尚未见系统地介绍代谢组学在化学品毒理学研究中的优势与应用。鉴于此,本文对此进行综述。

1 代谢组学概述(Overview of metabolomics)

1.1 代谢组学起源

代谢组(metabolome)最初是由 Stephen Oliver 在 1998 年提出的,主要指基因缺陷或过表达过程中导致的代谢物的变化情况^[6];1999 年,Jeremy Nicholson 提出了代谢组学(metabonomics)的概念,指出代谢组学是通过考察生物体在经过生理、病理刺激或者遗传修饰后,其内源代谢物的动态变化^[7];2001 年,Oliver Fiehn 对代谢组学(metabolomics)概念进行更新,提出代谢组学主要是对所研究的生物系统的所有代谢产物进行全面定量分析^[8]。

1.2 代谢组学的发展

代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的一门学科,是系统生物学的重要组成部分。

代谢组学主要是研究细胞、组织或生物液体中自然发生的低分子量(<1 000)有机代谢物(糖、有机酸、脂质、维生素、氨基酸和芳香烃类化合物等)的科学。代谢组学研究主要分为靶向代谢组学和非靶向代谢组学。非靶向代谢组学是非目标性地对所有可能发生改变的代谢物进行检测,筛选出目标代谢物及相应的代谢通路,而靶向代谢组学是有目标地对特定通路中的代谢物进行检测分析。

代谢物的检测有多种方法,可以选择核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)、气质联用(gas chromatography-mass spectra, GC-MS)和液质联用(liquid chromatography-mass spectra, LC-MS)等分析仪器,各个方法的优缺点如表 1 所示。其中,NMR 具有较高的分辨率,并且对样品的损伤小,检测时间短,但是灵敏度差;GC-MS 有完整的数据库支持,灵敏度要比 NMR 高,但是样品前处理过程繁琐;LC-MS 具有较高的分辨率和灵敏度,但是不具备完整的数据库,目前,可供参考的数据库有 Human Metabolome Database (HMDB)、Madison Metabolomics Consortium Database (MMCD)、Metlin、Lipidmaps 和 Mzcloud 等。

代谢组学数据分析常用的方法为主成分分析法(principle component analysis, PCA)、偏最小二乘法-判别分析(partial least squares-discriminant analysis, PLS)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS)。根据模式识别结果筛选出显著变化的代谢物,之后利用一些网络工具及公共数据库如 MetaboAnalyst、HMDB 和 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)等进行代谢物的信息解释,利用 P 值和推测变异重要性值(variable importance in the projection, VIP)寻找受到显著影响的代谢通路,进一步通过代谢通路的变化对致毒机制进行深入探究。

代谢组学标准计划(Metabolomics Standard Initiatives, MSI)于 2005 年启动,意在代谢组学方法进行规范和标准化。2007 年,连续发表 10 篇关于代谢组学标准化的相关文章^[9-18],特别是针对将代谢组学应用于毒理学研究过程中的质量保证和质量控制问题展开研究^[19]。经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)在 2018 年开始着手起草代谢组学报告框架(Metabolomics Reporting Framework, MRF),这一项目的实施也将为代谢组学数据库的建立打下基础。

表 1 代谢物检测方法的总结

Table 1 The summary of metabolite detection methods

方法 Methods	灵敏度与分辨率 Sensitivity and resolution	检测时间与范围 Detection time and ranges	样品要求 Sample requirements	是否有 数据库支持 Is there database support	参考文献 References
核磁共振仪(NMR) Nuclear magnetic resonance (NMR)	灵敏度低(10^{-6}), 分辨率高, 定性准确 Low sensitivity (10^{-6}) and high resolution, accurate qualification	检测时间短, 可以对非靶标代谢物进行检测, 检测数量在 100 个物质左右 Low detection time and can detect about 100 non-target substances	样本前处理比较简单, 对于复杂的生物样本比较合适, 保证样品原有性质 Sample preprocessing is simple and suitable for complex biological samples, and the original nature is assured	有 Yes	[20-21]
气相-质谱联用 (GC-MS) Gas chromatography- mass spectra (GC-MS)	灵敏度较高(10^{-12}), 分辨率高, 选择性好 Relative high sensitivity (10^{-12}), high resolution, good selectivity	检测时间长, 适合极性较小和挥发性较强的物质, 能定性定量的物质有 500 ~ 1 000 左右 Long detection time, suitable for less polar and more volatile substances; 500 ~ 1 000 substances can be qualified or quantified	样品处理过程繁琐, 难挥发性物质或半挥发性物质需要衍生化 Sample preprocessing is tedious, nonvolatile or semi-volatile substances require derivatization	有 Yes	[20,22-24]
液相-质谱联用 (LC-MS) Liquid chromatography- mass spectra (LC-MS)	灵敏度高(10^{-15}), 分辨率高 High sensitivity (10^{-15}) and high resolution	检测时间较长, 适合极性、不易挥发、不易衍生化、分子量大的物质的检测, 最终能定性的物质在 500 ~ 1 000 左右 Relative long detection time, suitable for polar and non-volatilization, non-derivatization, high molecular weight; 500 ~ 1 000 substances can be qualified	样品处理较简单, 不需要衍生化过程 The sample processing is simple and does not require derivatization	数据库不健全 Database is unsound	[20,22-23,25]

1.3 代谢组学应用范围

不同于基因组学和蛋白组学,代谢组学的研究可以反映某一时刻下正在发生的生命活动情况。研究代谢物的表达量、代谢物与生理病理变化的关系,能够帮助寻找新的生物标记物,发现新的代谢途径。目前,代谢组学可以应用于疾病的早期诊断^[26-29]、环境监测与毒性评价^[30-32]、转基因和育种^[33-35]等多个方面。

代谢组学在毒理学评价中的应用主要分为以下 3 个方面:第一,作为毒理学研究工具发现化学品毒性作用通路和分子关键事件(key event, KE),并根据 KE 对化学品进行分类^[36];第二,在分子水平上提供细胞或者有机体表型的功能,与不良有害结局路径(adverse outcome pathway, AOP)之间的联系^[37];第三,通过分析暴露化学品及其代谢物的浓度来评价

化学品的毒性效应^[38-39]。

2 代谢组学应用于毒理学评价的优势 (The advantages of metabolomics applying in toxicological assessment)

传统评估化合物毒性的方法在很大程度上依赖于动物实验,但是多种动物模型的安全性试验结果用于人类是不可靠的^[3]。同时,大量试验动物的使用造成化学品毒性评价的成本过高。例如欧盟化学品的注册、评估、授权和限制(registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals, REACH)为了评价 68 000 种化学品的毒性,在未来 10 年间将花费 95 亿欧元和消耗 5 400 万脊椎动物^[2]。而基于代谢组学的毒理学评价方法可以从体外细胞水平或者组织水平来评价化学品的毒性风险,不仅大大减

少了试验动物的用量,降低了实验成本,而且增加了评估化学品对人类健康风险的准确性。

传统毒理学基于半数致死剂量(LD_{50}/LC_{50})、临床检查(血液学检查、血液生化检查)和病理学观察(系统解剖、脏器重量和组织学改变)对化学品毒性进行风险评估,这种表观毒性评价方法不仅试验周期长(几天甚至几年时间),而且不能从本质上揭示化学品对生命体的毒性作用机制。应用代谢组学进行毒性评价可以直接监控生物对污染物最早期的反应,在几乎一出现毒性反应时就能检测出发生变化的全部代谢物表达情况及受干扰的代谢通路。因此,比起传统的毒理学测试方法,利用新的毒理学方法评估化学品毒性可能会提供一个更早更灵敏的毒性反应的生物标记。

同时,利用代谢组学可以将一类化学品的毒性作用机制进行总结与外推^[40],也可以将化学品对模式生物的毒性外推到非模式生物,比如通过对比小鼠和人类代谢系统的相似度,由此从化学品对小鼠的毒性外推到其对人类的风险^[41]。

3 代谢组学在毒理学评价中的应用案例 (Application of metabolomics in toxicological assessment)

3.1 生殖毒性的研究

对人类而言,化学品暴露的潜在生殖毒性是公众、卫生专业人员和环境学家都十分关心的问题。考虑到繁殖的重要性,利用代谢组学对化学品的生殖毒性展开研究不仅可能有助于开发新的、更细微和更有洞察力的生物标记,而且还可能为评价化学品生殖毒性开辟新的途径。

根据 OECD 的测试方法来粗略计算大型蚤的后代数量不能表现出化学品对生殖系统的毒性作用机制,所以 Taylor 等^[42-43]利用 NMR 技术检测了镉、2,4-二硝基苯酚和心得安早期暴露后的差异代谢物,揭示了短期化学品暴露后大型蚤体内标志代谢物可以预测化学品长期暴露后的生殖毒性情况和潜在毒性作用机理。Yan 等^[44]通过性激素分析、性腺轴相关基因分析及代谢组分析(应用 NMR 和 LC-MS 技术),对比了硫丹的 2 个对映体和其中 1 个代谢产物(暴露浓度为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$)对成年小鼠睾丸的毒性差异,研究表明,14 d 暴露后血清中性激素水平的变化和睾丸中内源代谢物的变化呈现显著相关性,预示着硫丹对小鼠性腺系统的干扰机制可以通过代谢组学手段进行揭示。

4-溴联苯醚(4-bromophenoxybenzene, BDE-3)是多溴联苯醚在光照下的分解产物,对生殖功能具有一定的影响。Wei 等^[45]将不同浓度(0.0015 、 1.5 、 10 和 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$)的 BDE-3 染毒小鼠 42 d,通过精子数量和睾丸损伤情况发现 BDE-3 对小鼠的生殖系统的功能造成了干扰,进一步通过超高效液相-四级杆飞行时间质谱(UPLC-QTOF/MS)技术对睾丸内代谢物及代谢通路进行分析,通过结果可知,酪氨酸代谢、嘌呤代谢和核黄素代谢通路有望解释 BDE-3 对小鼠生殖系统的干扰机制。

壬基酚是一种被证实的内分泌干扰物,可以引起生殖和发育毒性。Di 等^[46]研究了壬基酚低浓度长期暴露($500 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$, 暴露 8 周)下对雌性老鼠生殖系统的影响,壬基酚暴露不仅使血清中雌二醇(E2)水平显著变化,子宫内膜增生,卵子发生改变,并且尿液、血液、子宫和卵巢内的代谢谱(采用超高液相-静电场轨道阱质谱(UPLC-Orbitrap-MS)方法)也随之发生了显著变化。其中,与能量代谢相关的 12 种代谢物,特别是 9 种肉毒碱,被认为是壬基酚低浓度早期暴露下的敏感生物标志物。

有机磷阻燃剂磷酸三(1,3-二氯异丙基)酯(tris(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate, TDCIPP)可以对水生生物造成生殖毒性,Zhu 等^[47]利用转录组学和代谢组学手段探究了 TDCIPP 对陆生生物蚯蚓的生殖毒性。蚯蚓暴露于不同浓度(50 、 500 和 $5000 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$) TDCIPP 污染的土壤 28 d,其类固醇合成通路被抑制,同时通路中胆固醇浓度显著上调,表明 TDCIPP 暴露影响了蚯蚓的生殖系统。

去氢孕酮(dedrogestosterone, DDG)暴露可以干扰硬骨鱼类的性别组成,但是其毒性作用机制尚不清楚。Jiang 等^[48]将不同浓度(4.4 、 44 和 $440 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)的 DDG 染毒处于性别分化关键期的斑马鱼胚胎 140 d,结果发现,高浓度暴露下 98% 斑马鱼为雄性。基于 LC-MS 和 GC-MS 平台对斑马鱼胚胎的代谢谱进行分析,结果显示,多不饱和脂肪酸、肌醇、牛磺酸、棕榈油酸、油酸、乳酸、反丁烯二酸和尿嘧啶的浓度增加,尿酸和胆汁酸的浓度降低。这些代谢物起到抑制斑马鱼性别分化通路的作用,其中,包括 NF- κ B、COX-2 和 Wnt/ β -catenin 通路,同时 p53 通路被激活。以上结果表明,DDG 在环境浓度暴露下就可以干扰斑马鱼胚胎的代谢谱,最终对其性别分化造成影响。

17 α -炔雌醇对生物体的生殖系统具有重要影

响,Zhou 等^[49]通过生理性观察和代谢组分析(采用 GC-MS 方法)研究了其对淡水鱼生殖系统的作用机制,研究表明,环境浓度($17.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)暴露下 17α -炔雌醇没有对淡水鱼的生理上(体重、体长、肝指数和性腺指数)产生显著影响,然而性腺中 24 种代谢物和肾脏中 16 种代谢物均出现了显著性变化,这些代谢物主要调控着氨基酸代谢、脂质代谢、能量代谢和氧化应激通路,其中,脂质代谢通路的变化影响了淡水鱼体内性激素稳态。以上结果表明,利用代谢组学手段可以从环境浓度揭示化学品对生物体性腺系统的干扰机制。

3.2 肝脏毒性的研究

肝脏作为化学品暴露之后的主要靶向器官,化学品暴露对肝脏的毒性研究较为广泛,然而环境浓度暴露下化学品对肝脏的损伤情况并不显著,需要利用更加灵敏的技术来探究其潜在毒性风险。例如,Wang 等^[50]通过 NMR 非靶标代谢物分析和 LC-MS 靶标代谢物分析发现,苯霜灵($6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$)经口染毒 SD 大鼠 30 d 后,大鼠在没有出现明显肝脏损伤的情况下,其代谢谱发生了显著变化。以上结果表明,应用代谢组学来评价化学品对生命体肝脏的毒性比传统毒理学手段更加灵敏可靠。

有研究指出,短链氯化石蜡暴露后,其可以与大鼠肝脏中的过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)结合,干扰 PPAR α 的信号通路,PPAR α 主要调控脂肪酸的代谢过程,通过分析脂肪酸的含量(采用液相-四级杆飞行时间质谱(LC-QTOF-MS)方法)发现,短链氯化石蜡暴露(1 、 10 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$)28 d 使大鼠肝脏中脂肪酸总量显著降低,脂肪酸过氧化加剧,这一研究揭示了短链氯化石蜡对大鼠肝脏的毒性作用靶点^[51]。

有研究发现,在大西洋鳕鱼进食含有痕量甲基毒死蜱农药的食物之后,鳕鱼肝脏中可以富集高浓度的甲基毒死蜱,使血浆中胆碱酯酶活性发生显著变化,肝脏中胆固醇和激素合成通路受到显著影响,同时能量代谢通路,包括碳水化合物代谢、三羧酸循环和运输、碳水化合物代谢、丙酮酸代谢和运输途径中的代谢物均发生显著变化,揭示了环境浓度下甲基毒死蜱的肝脏毒性作用机制^[52]。

Dong 等^[53]通过肝脏组织病理学观察发现,低浓度三氯生($0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$)的暴露使小鼠肝脏中的脂肪含量显著增加,进一步通过代谢物分析可

知,脂肪酸、磷脂和神经酰胺化合物的含量也随之显著上调,揭示了三氯生对小鼠肝脏的毒性。Geng 等^[54]利用转录组和代谢组联合分析的手段,研究了三氯生对小鼠的肝脏毒性,揭示了三氯生对肝脏的主要作用机制为抑制能量代谢通路和激活 PPAR α 通路。Zhang 等^[55]进一步研究了三氯生对人类肝脏细胞的毒性作用机制,发现三氯生暴露主要干扰了肝脏细胞的能量代谢通路、抗氧化系统和二相代谢排毒系统。以上研究结果证明了代谢组学手段分析肝脏毒性的准确性和灵敏性。

3.3 肾脏毒性

肾脏毒性常由多种治疗药物和环境污染物质暴露引起,但是导致肾脏毒性的复杂分子和病理生理机制仍然不清楚,主要是由于肾脏损伤的生物标志物在敏感性和特异性方面存在不足^[56]。近年来,利用代谢组学对化学品的肾脏毒性进行研究的报道越来越多。

在已知烟酸受体-SCH900424 可以引起小鼠肾脏损伤的情况下,Zgoda 等^[57]通过 GC-MS、LC-MS 分析内源代谢物含量的变化发现,血清和脑中的 3-硫酸吲哚是较为灵敏的生物标记物,它可以指示 SCH900424 引起的肾脏毒性情况。Ranninger 等^[58]利用人类肾脏近管上皮细胞 RPTEC/TERT1 进行暴露实验,通过 LC-MS 分析非靶标代谢物的变化情况,来探究异环磷酰胺代谢物——氯乙醛的肾脏毒性。研究表明,氯乙醛高浓度暴露($35 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)下主要干扰了肾脏细胞中谷胱甘肽和氧化应激相关的代谢物,进一步通过转录组和蛋白组验证了代谢组学技术的可靠性。1,4-二氧己烷在环境和生物样品中被广泛检测到,具有潜在的肾脏毒性。Qiu 等^[59]结合肾脏转录组和尿液代谢组分析揭示了 1,4-二氧己烷对大鼠肾脏的毒性作用机理。研究表明,低浓度($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)暴露对肾脏中的信号通路产生显著影响,基于 NMR 的代谢物分析显示早期暴露主要影响了甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸的代谢通路而长期暴露使牛磺酸浓度显著减少。

3.4 神经毒性的研究

通常化学品的神经毒性一般通过受试生物的运动和感觉功能、反应灵敏度、联想学习能力、记忆和认知能力等参数来表征^[60],但是其在分子层面上的毒性作用机理还处于空白阶段。大脑中央神经系统中的神经递质及其代谢物对化学品的神经毒性作用十分敏感^[61],所以,研究化学品暴露后对神经递质及

其代谢物的影响将有望揭示其神经毒性作用通路和致毒机理。

丙烯酰胺具有神经毒性,但是其对神经系统的干扰机制尚不清楚。Faria 等^[62]研究了 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 丙烯酰胺暴露 3 d 后对斑马鱼神经系统的作用机制,在行为水平上,丙烯酰胺暴露后斑马鱼表现出抑郁型与焦虑型并存的行为状态;在转录水平上,丙烯酰胺诱导相关再生基因的下调,少突胶质细胞和反应性星形胶质细胞标记物上调,也改变了参与突触前囊泡周期基因的表达;在代谢水平上,基于液相-三重四级杆质谱(LC-MS-MS)平台检测了斑马鱼脑中 38 种神经化学物质的变化情况,其中,多巴胺前体苯丙氨酸和血清素代谢物 5-HIAA 的变化与焦虑症的行为相一致,说明丙烯酰胺通过干扰斑马鱼脑中的单胺类神经递质对其造成了神经毒性。

短裸甲藻毒素(PbTx_s)具有神经毒性,Yau 等^[63]用丹氯衍生法在 LC-MS-MS 上测定了青鳉鱼 43 种中枢神经系统的神经递质和代谢物的变化情况,来揭示 PbTx_s 对青鳉鱼神经系统的干扰机制。研究表明,与电压钠离子通路相关的神经递质和代谢物、N-甲基-D-天冬氨酸受体、胆碱能神经递质与 PbTx_s 的暴露显著相关。

苯并芘作为一种常见的环境污染物被认为对哺乳类动物具有的神经毒性,Wang 等^[64]将 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$ 苯并芘染毒 SD 大鼠 7 周,通过表观遗传学观察发现,苯并芘可以影响大鼠的学习和记忆能力,利用 GC-MS 分析大脑海马体代谢物变化情况,发现苯并芘主要干扰了酪氨酸代谢通路,为深入研究苯并芘对大鼠神经毒性的作用机制奠定了基础。

Zeng 等^[65]利用毛细管电泳-飞行时间质谱(CE-TOF/MS)研究了不同浓度(0、1、10 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw}$)双酚 A(BPA)对 SD 大鼠尿液代谢物的干扰,42 种内源代谢物发生了变化,其中,神经递质(谷氨酸、 γ -氨基丁酸和去肾上腺素)以及神经传递相关的代谢物(酪氨酸、组胺、结氨酸和牛磺酸)在 BPA 低剂量暴露($<50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)时发生显著改变,表明环境浓度下 BPA 具有神经毒性作用。

4 代谢组学用于评价化学品毒性的前景展望(The prospect of metabolomics in chemical risk assessment)

虽然,很多学者坚信代谢组学技术在化学品风险评估中的有利地位,代谢组学技术仍然存在着一系列挑战。利用代谢组学评价化学品毒性,目前面临

的主要问题有以下几点:

(1)从复杂的代谢谱中识别出哪些是对生命体的健康有害的生物标记物,哪些代谢物的波动只是对稳态的短暂适应或变异^[66]。

(2)虽然越来越多的数据表明,代谢组学将从根本上提高我们从个体水平对不良结果进行的分子预测^[67],但是目前很难将个体水平的结果外推到种群或者整个生态系统。主要原因是模式生态系统尚未建立,所以如果能够推进模式生态系统的建立则将有机会通过组学技术来评价化学品对整个生态系统的干扰机制。

(3)代谢组学在毒理学评价与管理中应用较少,这与较少的案例分析,培训机会缺失以及分析和计算工具有限有关,然而最重要的原因还是缺少标准的评价方法,包括代谢组数据库,实验方法的规范化、标准化,检测终点的量化和报告格式等方面,都需要进一步的发展。

通讯作者简介:王会利(1976—),女,博士,副研究员,主要研究方向为农药残留分析和环境毒理学。

参考文献(References):

- [1] Judson R, Richard A, Dix D J, et al. The toxicity data landscape for environmental chemicals [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2009, 117(5): 685-695
- [2] Hartung T, Rovida C. Chemical regulators have overreached [J]. *Nature*, 2009, 460(7259): 1080-1081
- [3] Hartung T. Toxicology for the twenty-first century [J]. *Nature*, 2009, 460(7252): 208-212
- [4] Silbergeld E K, Mandrioli D, Cranor C F. Regulating chemicals: Law, science, and the unbearable burdens of regulation [J]. *Annual Review of Public Health*, 2015, 36: 175-191
- [5] 何庆华, 郑宗坤, 任萍萍, 等. 代谢组学在毒理学研究中的应用[J]. *卫生研究*, 2014, 43(1): 161-165
- [6] Oliver S G, Winson M K, Kell D B, et al. Systematic functional analysis of the yeast genome [J]. *Trends in Biotechnology*, 1998, 16(9): 373-378
- [7] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. Metabonomics: Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189
- [8] Fiehn O, Kopka J, Dormann P, et al. Metabolite profiling for plant functional genomics [J]. *Nature Biotechnology*, 2001, 19(2): 173

- [9] Fiehn O, Sumner L W, Rhee S Y, et al. Minimum reporting standards for plant biology context information in metabolomic studies [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 195-201
- [10] Griffin J L, Nicholls A W, Daykin C A, et al. Standard reporting requirements for biological samples in metabolomics experiments: Mammalian/*in vivo* experiments [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 179-188
- [11] Hardy N W, Taylor C F. A roadmap for the establishment of standard data exchange structures for metabolomics [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 243-248
- [12] Morrison N, Bearden D, Bundy J G, et al. Standard reporting requirements for biological samples in metabolomics experiments: Environmental context [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 203-210
- [13] Rubtsov D V, Jenkins H, Ludwig C, et al. Proposed reporting requirements for the description of NMR-based metabolomics experiments [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 223-229
- [14] Sansone S A, Schober D, Atherton H J, et al. Metabolomics standards initiative: Ontology working group work in progress [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 249-256
- [15] Fiehn O, Robertson D, Griffin J, et al. The metabolomics standards initiative (MSI) [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 175-178
- [16] Van der Werf M J, Takors R, Smedsgaard J, et al. Standard reporting requirements for biological samples in metabolomics experiments: Microbial and *in vitro* biology experiments [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 189-194
- [17] Goodacre R, Broadhurst D, Smilde A K, et al. Proposed minimum reporting standards for data analysis in metabolomics [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 231-241
- [18] Sumner L W, Amberg A, Barrett D, et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis chemical analysis working group (CAWG) metabolomics standards initiative (MSI) [J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 211-221
- [19] Beger R D, Dunn W B, Bandukwala A, et al. Towards quality assurance and quality control in untargeted metabolomics studies [J]. *Metabolomics*, 2019, 15(1): 1-5
- [20] Zhang A, Sun H, Wang P, et al. Modern analytical techniques in metabolomics analysis [J]. *Analyst*, 2012, 137(2): 293-300
- [21] Ravanbakhsh S, Liu P, Bjordahl T C, et al. Accurate, fully-automated NMR spectral profiling for metabolomics [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): 1-15
- [22] Jayavelu N D, Bar N S. Metabolomic studies of human gastric cancer: Review [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(25): 8092-8101
- [23] Mir S A, Rajagopalan P, Jain A P, et al. LC-MS-based serum metabolomic analysis reveals dysregulation of phosphatidylcholines in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Journal of Proteomics*, 2015, 127: 96-102
- [24] Schauer N, Steinhauser D, Strelkov S, et al. GC-MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples [J]. *FEBS Letters*, 2005, 579(6): 1332-1337
- [25] Buchholz A, Takors R, Wandrey C. Quantification of intracellular metabolites in *Escherichia coli* K12 using liquid chromatographic-electrospray ionization tandem mass spectrometric techniques [J]. *Analytical Biochemistry*, 2001, 295(2): 129-137
- [26] 廖春晓, 高文静, 李立明. 代谢组学在心血管流行病学研究中的应用 [J]. *中华流行病学杂志*, 2014, 35(5): 610-612
- Liao C X, Gao W J, Li L M. Application of metabolomics in research on cardiovascular disease [J]. *Chinese Journal of Epidemiology*, 2014, 35(5): 610-612 (in Chinese)
- [27] Wettersten H I, Weiss R H. Applications of metabolomics for kidney disease research from biomarkers to therapeutic targets [J]. *Organogenesis*, 2013, 9(1): 11-18
- [28] Schwab M, Fisel P, Schaeffeler E. Metabolomics and tumor diseases [J]. *Pathologe*, 2017, 38: 202-204
- [29] Kaddurah D R, Krishnan K R R. Metabolomics: A global biochemical approach to the study of central nervous system diseases [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34(1): 173-186
- [30] Lin C Y, Viant M R, Tjeerdema R S. Metabolomics: Methodologies and applications in the environmental sciences [J]. *Journal of Pesticide Science*, 2006, 31(3): 245-251
- [31] Viant M R, Rosenblum E S, Tjeerdema R S. NMR-based metabolomics: A powerful approach for characterizing the effects of environmental stressors on organism health [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(21): 4982-4989
- [32] Warne M A, Lenz E M, Osborn D, et al. An NMR-based metabolomic investigation of the toxic effects of 3-trifluoromethyl-aniline on the earthworm *Eisenia veneta* [J]. *Biomarkers*, 2000, 5(1): 56-72
- [33] Levandi T, Leon C, Kaljurand M, et al. Capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry for comparative metabolomics of transgenic versus conventional maize [J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(16): 6329-6335
- [34] Simo C, Ibanez C, Valdes A, et al. Metabolomics of genetically modified crops [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(10): 18941-18966

- [35] Hoekenga O A. Using metabolomics to estimate unintended effects in transgenic crop plants: Problems, promises, and opportunities [J]. *Journal of Biomolecular Techniques*, 2008, 19(3): 159-166
- [36] Van Ravenzwaay B, Herold M, Kamp H, et al. Metabolomics: A tool for early detection of toxicological effects and an opportunity for biology based grouping of chemicals—From QSAR to QBAR [J]. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2012, 746(2): 144-150
- [37] Davis J M, Ekman D R, Skelton D M, et al. Metabolomics for informing adverse outcome pathways: Androgen receptor activation and the pharmaceutical spironolactone [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 184: 103-115
- [38] Southam A D, Lange A, Hines A, et al. Metabolomics reveals target and off-target toxicities of a model organophosphate pesticide to roach (*Rutilus rutilus*): Implications for biomonitoring [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(8): 3759-3767
- [39] Dixit R, Riviere J, Krishnan K, et al. Toxicokinetics and physiologically based toxicokinetics in toxicology and risk assessment [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B Critical Reviews*, 2003, 6(1): 1-40
- [40] Van Ravenzwaay B, Sperber S, Lemke O, et al. Metabolomics as read-across tool: A case study with phenoxy herbicides [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2016, 81: 288-304
- [41] Blais E M, Rawls K D, Dougherty B V, et al. Reconciled rat and human metabolic networks for comparative toxicogenomics and biomarker predictions [J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 1-15
- [42] Taylor N S, Gavin A, Viant M R. Metabolomics discovers early-response metabolic biomarkers that can predict chronic reproductive fitness in individual *Daphnia magna* [J]. *Metabolites*, 2018, 8(3): 109501-109519
- [43] Taylor N S, Weber R J M, White T A, et al. Discriminating between different acute chemical toxicities via changes in the daphnid metabolome [J]. *Toxicological Sciences*, 2010, 118(1): 307-317
- [44] Yan J, Zhu W, Wang D, et al. Different effects of alpha-endosulfan, beta-endosulfan, and endosulfan sulfate on sex hormone levels, metabolic profile and oxidative stress in adult mice testes [J]. *Environmental Research*, 2019, 169: 315-325
- [45] Wei Z, Xi J, Gao S, et al. Metabolomics coupled with pathway analysis characterizes metabolic changes in response to BDE-3 induced reproductive toxicity in mice [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 5423
- [46] Di Q N, Cao W X, Xu R, et al. Chronic low-dose exposure of nonylphenol alters energy homeostasis in the reproductive system of female rats [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2018, 348: 67-75
- [47] Zhu Y, Zhang J, Liu Y, et al. Environmentally relevant concentrations of the flame retardant tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate inhibit the growth and reproduction of earthworms in soil [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2019, 6(5): 277-282
- [48] Jiang Y X, Shi W J, Ma D D, et al. Male-biased zebrafish sex differentiation and metabolomics profile changes caused by dydrogesterone [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019, 214: 105242
- [49] Zhou X, Li Y, Li H, et al. Responses in the crucian carp (*Carassius auratus*) exposed to environmentally relevant concentration of 17 alpha-ethinylestradiol based on metabolomics [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 183: 1-8
- [50] Wang X R, Wang D Z, Zhou Z Q, et al. Subacute oral toxicity assessment of benalaxyl in mice based on metabolomics methods [J]. *Chemosphere*, 2018, 191: 373-380
- [51] Gong Y, Zhang H, Geng N, et al. Short-chain chlorinated paraffins (SCCPs) disrupt hepatic fatty acid metabolism in liver of male rat via interacting with peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 181: 164-171
- [52] Olsvik P A, Larsen A K, Berntsen M H G, et al. Effects of agricultural pesticides in aquafeeds on wild fish feeding on leftover pellets near fish farms [J]. *Frontiers in Genetics*, 2019, 10: 18
- [53] Dong M, Xu X, Huang Q, et al. Dose-dependent effects of triclocarban exposure on lipid homeostasis in rats [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2019, 32(11): 2320-2328
- [54] Geng N, Ren X, Gong Y, et al. Integration of metabolomics and transcriptomics reveals short-chain chlorinated paraffin-induced hepatotoxicity in male Sprague Dawley rat [J]. *Environment International*, 2019, 133: 105231-105241
- [55] Zhang H, Shao X, Zhao H, et al. Integration of metabolomics and lipidomics reveals metabolic mechanisms of triclosan-induced toxicity in human hepatocytes [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(9): 5406-5415
- [56] Zhao Y Y, Lin R C. Metabolomics in nephrotoxicity [J]. *Advances in Clinical Chemistry*, 2014, 65: 69-89
- [57] Zgoda P J R, Chowdhury S, Wirth M, et al. Metabolomics analysis reveals elevation of 3-indoxyl sulfate in plasma

- and brain during chemically-induced acute kidney injury in mice: Investigation of nicotinic acid receptor agonists [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2011, 255(1): 48-56
- [58] Ranninger C, Rurik M, Limonciel A, et al. Nephron toxicity profiling via untargeted metabolome analysis employing a high performance liquid chromatography-mass spectrometry-based experimental and computational pipeline [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(31): 19121-19132
- [59] Qiu J, Cheng J, Xie Y, et al. 1,4-Dioxane exposure induces kidney damage in mice by perturbing specific renal metabolic pathways: An integrated omics insight into the underlying mechanisms [J]. *Chemosphere*, 2019, 228: 149-158
- [60] Reiter L. Introduction to neurobehavioral toxicology [J]. *Environmental Health Perspectives*, 1978, 26: 5-7
- [61] Lei E N, Yau M S, Yeung C C, et al. Profiling of selected functional metabolites in the central nervous system of marine medaka (*Oryzias melastigma*) for environmental neurotoxicological assessments [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2017, 72(2): 269-280
- [62] Faria M, Ziv T, Gomez C C, et al. Acrylamide acute neurotoxicity in adult zebrafish [J]. *Scientific Reports*, 2018 (8): 7918-7925
- [63] Yau M S, Lei E N Y, Ng I H M, et al. Changes in the neurotransmitter profile in the central nervous system of marine medaka (*Oryzias melastigma*) after exposure to brevetoxin PbTx-1-A multivariate approach to establish exposure biomarkers [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 673: 327-336
- [64] Wang J, Li C L, Tu B J, et al. Integrated epigenetics, transcriptomics, and metabolomics to analyze the mechanisms of benzo a pyrene neurotoxicity in the hippocampus [J]. *Toxicological Sciences*, 2018, 166(1): 65-81
- [65] Zeng J, Kuang H, Hu C X, et al. Effect of bisphenol A on rat metabolic profiling studied by using capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(13): 7457-7465
- [66] Miller M G. Environmental metabolomics: A SWOT analysis (strengths, weaknesses, opportunities, and threats) [J]. *Journal of Proteome Research*, 2007, 6(2): 540-545
- [67] Hines A, Staff F J, Widdows J, et al. Discovery of metabolic signatures for predicting whole organism toxicology [J]. *Toxicological Sciences*, 2010, 115(2): 369-378 ◆