

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20210722001

朱思俞, 刘焕, 韩文娜, 等. PAEs对线粒体转录因子A蛋白相对表达量的影响及3D-QSAR模型构建[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(1): 236-243

Zhu S Y, Liu H, Han W N, et al. Effect of PAEs on relative expression of mitochondrial transcription factor A protein and construction of 3D-QSAR model [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(1): 236-243 (in Chinese)

PAEs对线粒体转录因子A蛋白相对表达量的影响及3D-QSAR模型构建

朱思俞^{1,2}, 刘焕^{1,2}, 韩文娜^{1,2}, 李中意^{1,2}, 柳春红^{1,2,*}

1. 华南农业大学食品学院, 广州 510642

2. 广东省食品质量安全重点实验室, 广州 510642

收稿日期: 2021-07-22 录用日期: 2021-10-15

摘要: 邻苯二甲酸酯类化合物(phthalate esters, PAEs)是一种内分泌干扰物质,因具有增塑性而被广泛使用,但其对环境产生持久性污染。选取6种PAEs作为研究对象,基于相似性指数分析(comparative molecular similarity indices analysis, CoMSIA)方法探究PAEs分子结构对HepG2细胞中线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, Tfam)蛋白相对表达量的影响。结果显示,当PAEs的浓度为1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,降低HepG2细胞中Tfam的表达,其中邻苯二甲酸二正丁酯(dibutyl phthalate, DBP)和邻苯二甲酸二正辛酯(di-*n*-octyl phthalate, DNOP)对Tfam蛋白相对表达量的影响较大。在3D-QSAR模型中,非交叉验证相关系数(R^2)为0.983,交叉验证系数(Q^2)为0.508,结合外部验证及Williams图,说明该模型有较好的稳定性及预测性。基于CoMSIA轮廓图,揭示了在支链引入负电基团、疏水基团及增加氢键受体可提高Tfam蛋白相对表达量,减弱PAEs导致的HepG2细胞线粒体生物发生障碍,进一步降低PAEs对HepG2细胞的线粒体毒性。

关键词: 邻苯二甲酸酯类; HepG2细胞; Tfam; 线粒体生物发生; 三维定量构效关系

文章编号: 1673-5897(2022)1-236-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effect of PAEs on Relative Expression of Mitochondrial Transcription Factor A Protein and Construction of 3D-QSAR Model

Zhu Siyu^{1,2}, Liu Huan^{1,2}, Han Wenna^{1,2}, Li Zhongyi^{1,2}, Liu Chunhong^{1,2,*}

1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety, Guangzhou 510642, China

Received 22 July 2021 accepted 15 October 2021

Abstract: Phthalate esters (PAEs) are typical environmental endocrine disruptors. Because of their plasticity, PAEs are widely used in different commercial products, which will cause environmental pollution. Six PAEs were chosen as the analytical objects, comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA) method was used to explore the influence of PAEs molecular structure on the relative expression of mitochondrial transcription factor A (Tfam) protein in HepG2 cells. The results showed that when the concentration of PAEs was 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the relative expressions of Tfam proteins were decreased in HepG2 cells, of which DBP and DNOP had greater influences on

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1601702); 广东省重点领域研发计划项目(2019B20210002)

第一作者: 朱思俞(1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与安全, E-mail: 13427549263@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: liuch@scau.edu.cn

the relative expressions of Tfam protein. The non-cross validation coefficient (R^2) of the 3D-QSAR model established in this experiment was 0.983, and the cross validation coefficient (Q^2) was 0.508. Combined with the external validation and Williams diagram, it was shown that the model had good stability and predictability. Based on the CoMSIA profile, it was revealed that the introduction of negative and hydrophobic groups into the branch chain and the increase of hydrogen bond acceptor promoted the relative expression of Tfam protein, weakened the mitochondrial biogenetic dysfunction of HepG2 cells induced by PAEs, and further reduced the mitochondrial toxicity of PAEs to HepG2 cells.

Keywords: phthalate esters; HepG2 cells; Tfam; mitochondrial biogenesis; 3D-QSAR

邻苯二甲酸酯类(phthalate esters, PAEs)是一类用途广泛的工业化学品,作为增塑剂以软化聚氯乙烯产品^[1]。PAEs是目前世界上生产量大、应用面广的人工合成有机化合物之一,是一类重要的环境激素类化合物。近年来,随着工业生产和塑料制品的大量使用,导致PAEs在大气、水体和土壤等自然环境中普遍存在^[2]。PAEs类物质目前已广泛存在于人体组织中,对人体健康产生极大危害。美国环境保护局(United States Environmental Protection Agency, US EPA)将6种PAEs列为优先控制污染物,包括邻苯二甲酸二甲酯(dimethyl phthalate, DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)、邻苯二甲酸二正丁酯(dibutyl phthalate, DBP)、邻苯二甲酸苄基丁酯(benzyl butyl phthalate, BBP)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(bis(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP)和邻苯二甲酸二正辛酯(di-*n*-octyl phthalate, DNOP)^[3]。已有研究证明,PAEs的毒理学效应主要有类雌激素效应、生殖毒性、发育毒性以及其他毒性^[4]。此外,暴露于DEHP的啮齿类动物的肝细胞发生癌变,促进线粒体增殖、凋亡等^[5]。

肝脏是PAEs毒性的靶器官,PAEs暴露会影响肝功能^[6]。而线粒体在肝细胞中含量丰富,当肝细胞暴露于PAEs时,线粒体生物发生障碍^[7]。线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, Tfam)是调控线粒体生物发生最重要的调控因子之一,参与线粒体DNA(mtDNA)复制、转录以及拷贝数的调节^[8]。Tfam缺失会导致线粒体生物发生的降低和线粒体功能障碍,而线粒体作为“细胞能量工厂”,当线粒体生物合成降低时,线粒体向细胞传递危险信号,最终导致细胞走向死亡^[9]。但关于PAEs是如何影响Tfam蛋白相对表达量的研究甚少。通过PAEs对Tfam蛋白相对表达量的影响,可进一步预测PAEs对HepG2细胞线粒体的影响。然而,由于PAEs类似物种类多,逐一测其对Tfam蛋

白的影响较为繁杂。

三维定量构效关系(three dimension quantitative structure-activity relationship, 3D-QSAR)是以配体和靶点的三维结构为基础,根据分子的内能变化和分子间的相互作用的能力变化,预测化合物的活性^[10],通过以部分有机化合物的生物毒性数据与结构参数进行统计建模,进而预测其他结构类似化合物的生物毒性,是当前环境化学领域的一个前沿课题^[11]。基于上述背景,本文通过测定PAEs对HepG2细胞线粒体中Tfam蛋白相对表达量的影响,采用比较分子相似法(comparative molecular similarity indices analysis, CoMSIA)构建定量结构-活性关系模型,揭示不同结构的PAEs对HepG2细胞的线粒体毒性影响,为更好地对环境风险进行评估以及设计新型无毒的PAEs提供有利的数据支撑。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 实验材料

人源肝癌细胞系HepG2细胞及MEM(minimum essential medium)培养基购自中国武汉普诺赛有限公司;二甲基亚砜(DMSO)、6种邻苯二甲酸酯类化合物(种类见表2,纯度均 $\geq 99\%$)购自Sigma-Aldrich公司;RIPA裂解液、BCA蛋白试剂盒购于中国上海碧云天公司;Anti-GAPDH抗体购自Affinity;Anti-Tfam抗体购自Cell Signal Technology。

1.2 细胞培养及处理

细胞培养基选择MEM完全培养基,其中添加10%(V:V)的胎牛血清、1%(V:V)青霉素链霉素以及1%(V:V)L-谷氨酰胺,放入37℃,5%(V:V)CO₂的培养箱,隔天更换培养液。当细胞达到对数生长期,以此阶段细胞作为实验细胞。准确称取一定量的邻苯二甲酸酯类化合物溶于DMSO中,使最终母液浓度为1 mol·L⁻¹,后经过滤除菌后保存于-20℃中。

取对数期细胞接种于6孔板中,根据前期细胞毒性实验研究^[12],24 h贴壁后用不同浓度的PAEs

(0、125、250、500 和 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用 48 h。

1.3 蛋白免疫印迹法

将预处理后的细胞置于冰上,用含 PMSF 和蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解细胞,并将其收集于 EP 管中,离心。使用 BCA 蛋白质测定试剂盒测定上清液的蛋白质浓度。然后在 10% (V: V) 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳仪 (SDS-PAGE) 上电泳等量的蛋白质。蛋白分离后,将凝胶转到 PVDF 膜上,并使用 5% 的脱脂奶粉于室温下封闭 1.5 h,加入一抗于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱孵育过夜。随后,于室温条件下将 PVDF 膜与二抗孵育 1.5 h。最后,通过 ECL 显色,通过软件 Image J 软件对其灰度进行量化分析。

1.4 三维定量构效关系建模与分析

本实验采用 SYBYL2.1.1 软件各模块完成,利用 CoMSIA 法进行 3D-QSAR 分析。以分子的最低能量构象作为优势稳定构象,对每个分子在 Tripos 力场中用分子程序 Minimize 进行能量优化,分子电荷采用 Gasteiger-Huckel 电荷,用 Powell 能量梯度法,最大优化次数为 1 000,能量收敛限定为 0.005 kJ $\cdot\text{mol}^{-1}$ 。以化合物 DBP、DEP 和 DNOP 为预测集,检验模型的预测能力,其余的 PAEs 化合物作为训练集。

利用偏最小二乘 (PLS) 进行留一法 (LOO) 交叉验证得到内部交叉验证系数 (Q^2) 以及最佳主成分数 (n),并以非交叉验证方法计算出模型的非交叉验证相关系数 (R^2),并计算标准偏差 (SEE)、Fisher 检验值 (F) 以及各分子场的贡献值。

1.5 CoMSIA 模型的外部验证及应用域

通过 Golbraikh-Tropsha 统计方法来评价 QSAR 模型的外部预测能力^[13]。采用 KNIME Analytics Platform 进行上述分析。通过 Enalos KNIME 节点预测 QSAR 模型的拟合质量与预测能力,对于本文引入的外部预测能力评价方法,所建立的模型必须满足以下条件^[14]:

$$R^2 > 0.6; R_{\text{cvext}}^2 > 0.5; (R^2 - R_0^2)/R^2 < 0.1; (R^2 - R_0'^2)/R^2 < 0.1; 0.85 \leq k \leq 1.15; 0.85 \leq k' \leq 1.15$$

式中: R^2 为预测与观察到的活性之间的相关性系数; R_{cvext}^2 为外部交叉验证相关性系数; R_0^2 为判定系数 (预测与观察到的活动); $R_0'^2$ 为判定系数 (观察到相对于预测的活动); k 为斜率 (预测与观察到的活动回归穿过原点的线); k' 为斜率 (穿过原点的观测活动与预测活动的回归线)。

该 QSAR 模型的适用范围通过杠杆值 (leverage,

h) 的 Williams 图 (即标准化与杠杆值) 来表征^[13], 其中标准化残差为 δ 、杠杆值为 h 、警告杠杆值为 h^* 。标准化残差的绝对值 > 3 的化合物即被定义为异常值,若预测的 PAEs 类化合物残差在这个范围内,即可说明所建立的 QSAR 模型预测是可靠的。关于 Williams 图中的 δ 与 h 、 h^* 计算公式如下:

$$h = x_i^T (X^T X)^{-1} x_i$$

式中: x_i 为目标化合物的模型变量所形成的向量, X 为训练集的自变量矩阵。

2 结果与分析 (Results and analysis)

2.1 PAEs 对 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白表达量的影响

6 种 PAEs 对 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白相对表达量的影响如图 1 所示,当 PAEs 以低浓度作用于 HepG2 细胞 48 h 后,其中 DEP 在作用浓度为 125 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时增加 Tfam 蛋白相对表达量,其余 PAEs 化合物在低浓度对 Tfam 蛋白相对表达量的影响不显著。然而,当 PAEs 的浓度为 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,均降低 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白的相对表达,其中 DBP、DMEP、DNOP、DEHP 对 Tfam 蛋白相对表达量影响较大 ($P < 0.01$),且经 DBP、DNOP 作用的 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白相对表达量较其余 4 种 PAEs 低,提示 DBP、DNOP 对 HepG2 细胞的线粒体毒性相对较强。

本课题组前期研究发现,经 PAEs 作用的 HepG2 细胞,其 Tfam 蛋白表达水平有显著下降的趋势^[15-16]。本研究中,PAEs 化合物对 Tfam 蛋白相对表达量的影响表现出一定差异,但当 PAEs 的作用浓度为 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,均降低 Tfam 蛋白相对表达量,因此在后续研究不同结构的 PAEs 对 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白相对表达量的影响以 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 进行建模。PAEs 是由邻苯二甲酸酐与醇类化合物在一定的条件下酯化形成,其多样性表现于醇类化合物不同的侧链基团^[17],其结构有一定的差异性,因此接下来意在通过 CoMSIA 方法分析 PAEs 对 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白相对表达量的影响以及 PAEs 分子结构在调控线粒体生物发生中的作用,预测 PAEs 结构差异对 HepG2 细胞的线粒体毒性影响。

2.2 PAEs 与 HepG2 细胞中 Tfam 的定量构效关系

2.2.1 CoMSIA 模型的评估和验证

通过 PLS 计算和分析,得出 CoMSIA 模型的评估参数和分子贡献率 (表 1)。CoMSIA 模型的最佳组件数 (n) 为 3,交叉验证相关系数 (Q^2) 为 0.508,非交

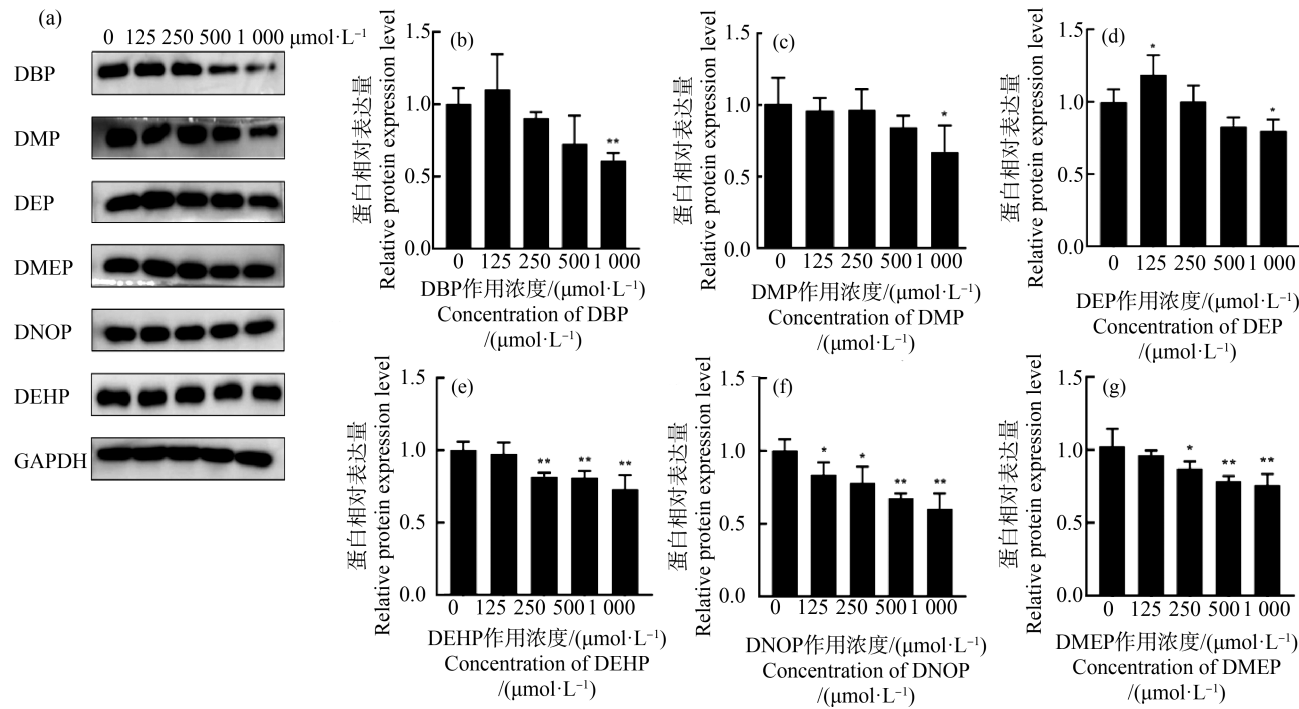


图 1 邻苯二甲酸酯类 (PAEs) 以浓度为 125、250、500 和 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理 48 h 对 HepG2 细胞中 Tfam 相对表达量的影响
注:(a) 经 PAEs 作用的 Western blot 条带,(b) 邻苯二甲酸二丁酯(DBP),(c) 邻苯二甲酸二甲酯(DMP),
(d) 邻苯二甲酸二乙酯(DEP),(e) 邻苯二甲酸二(2-乙基)酯(DEHP),(f) 邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP),
(g) 邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯(DMEP); $n=3$;与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

Fig. 1 Effects of phthalate esters (PAEs) on the relative expression of Tfam in HepG2 cells treated with 125, 250, 500, 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ for 48 h

Note: (a) Western blot strips of PAEs treatment groups, (b) Dibutyl phthalate (DBP), (c) Dimethyl phthalate (DMP), (d) Diethyl phthalate (DEP), (e) Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), (f) Di-*n*-octyl phthalate (DNOP), (g) Bis(2-methoxyethyl) phthalate (DMEP); $n=3$; compared with the control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

叉验证相关系数(R^2)为 0.983,SEE 为 0.017,Fisher 验证值为 37.962。由于模型的 $Q^2>0.5$ 且 $R^2>0.9$,表明模型具有良好的预测能力及拟合能力^[18-19]。6 种 PAEs 化合物的实验值和预测值见表 2,并根据两者的关系构建线性回归图。如图 2 所示,模型的预测值与实验值高度吻合,斜率为 0.9316,且预测值与实验值之间的决定系数为 0.9823,即表明所构建的 CoMSIA 具有较高的内部预测能力,可以用于预测 PAEs 对 Tfam 蛋白相对表达量的影响,进一步预测对 HepG2 细胞的线粒体毒性。

在 CoMSIA 模型中,立体场、静电场、疏水场、氢键供体场及氢键受体场的贡献分别为 11.90%、29.60%、30.90%、0.00% 和 27.60%,即提示空间效应、带电基团分布、疏水效应和氢键供体均影响 Tfam 蛋白相对表达量。

2.2.2 外部预测能力

Enalos 模型可接受性标准 KNIME 节点已应用

于数据,满足 Golbraikg-Tropsha^[14]方法的条件,其预测与观察到的活性之间的相关性系数(R^2)为 1.0,外部交叉验证相关性系数(R^2_{cvext})为 0.997,相关判定系

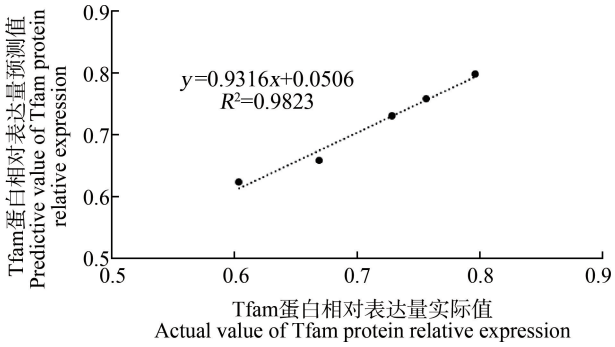


图 2 实验测定与模型预测的 Tfam 蛋白相对表达量之间的线性回归分析

Fig. 2 Linear regression analysis between experimental data and predicted data of Tfam protein relative expression

数之间的关系满足 $(R^2-R_0^2)/R^2<0.1$ 及 $(R^2-R_0^2)/R^2<0.1$,穿过原点的回归线斜率 k 为 1.007、 k' 为 0.993,均满足接近 1 的条件,该模型通过预测能力测试。通过以上数据可知该 3D-QSAR 模型具有良好的外

部预测能力。
2.2.3 应用域
Williams 图一般用于评价所建立 QSAR 模型的应用域,在 Williams 图中,当数据点杠杆值(h)大于警

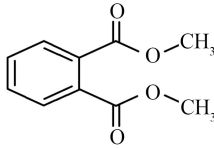
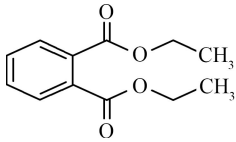
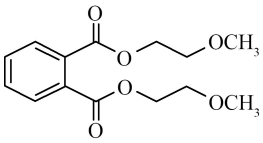
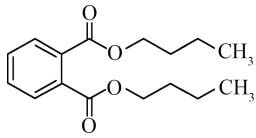
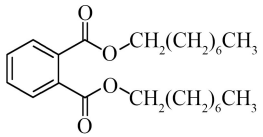
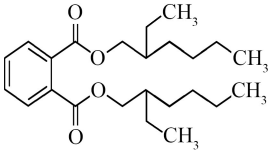
表 1 CoMSIA 模型的统计参数
Table 1 The statistical parameters of CoMSIA models

Q^2	R^2	SEE	F	n	贡献值/% Contribution/%				
					立体场 Steric	静电场 Electrostatic	疏水场 Hydrostatic	氢键供体场 Donor	氢键受体场 Acceptor
0.508	0.983	0.017	37.962	3	11.90	29.60	30.90	0.00	27.60

注: Q^2 表示交叉验证相关系数; R^2 表示非交叉验证相关系数; SEE 表示标准偏差; F 表示 Fisher 验证值; n 表示模型的主成分数。
Note: Q^2 stands for the cross validation coefficient; R^2 stands for the non-cross validation coefficient; SEE stands for the standard deviation; F stands for the Fisher verification value; n stands for the number of principal components of the model.

表 2 PAEs 对 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白相对表达量的实验值与模型分析值

Table 2 The experimental and model-predicted values of Tfam protein relative expression in HepG2 cells by PAEs

名称 Names	CAS	结构 Structures	实验值 Exp.	CoMSIA Pred.	残差 Res.
邻苯二甲酸二甲酯 DMP	131-11-3		0.6692	0.658	0.0112
邻苯二甲酸二乙酯 DEP	84-66-2		0.7995	0.798	0.0015
邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯 DMEP	117-82-8		0.7564	0.758	-0.0016
邻苯二甲酸二丁酯 DBP	84-74-2		0.604	0.623	-0.019
邻苯二甲酸二正辛酯 DNOP	117-84-0		0.6013	0.592	0.0093
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯 DEHP	117-81-7		0.7283	0.73	-0.0017

告杠杆值(h^*)时,表明该数据点可能影响模型,标准化残差的绝对值 >3 的化合物即被认为是响应离群值^[9]。如图 3 所示,实验所得 PAEs 数据点的 h 均小于 h^* 且其标准化残差的绝对值全部落入 $(-3, 3)$ 的阈值范围内,表明该模型具有良好的预测结果,能够覆盖广泛的结构应用域。

2.2.4 基于 DNOP 物质对 CoMSIA 模型三维等高图进行分析

根据图 4 中 DNOP 的基本骨架,结合 CoMSIA 模型图(图 5),探究 PAEs 分子结构对 Tfam 蛋白相对表达量的影响。

在立体场中,R 与 R' 基团中主链上出现黄色色块,即表明在主链上其基团体积越大,Tfam 蛋白相对表达量减少。但在 R 与 R' 基团中侧链上出现绿色色块,即表明在侧链上若存在大体积的基团,将促进 Tfam 蛋白相对表达,例如化合物 DEHP,其 R 与 R' 基团中侧链引入乙基,对比相同分子量的 DNOP,DNOP 在 R 与 R' 基团上无侧链,因此经 DEHP 作用的 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白相对表达量增加,且绿色色块占主导作用。

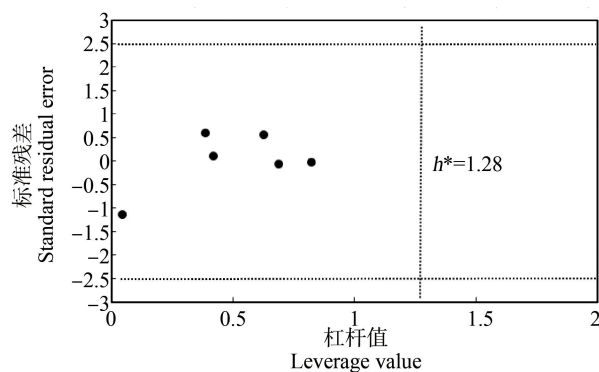


图 3 模型的应用域

Fig. 3 Application domain of model

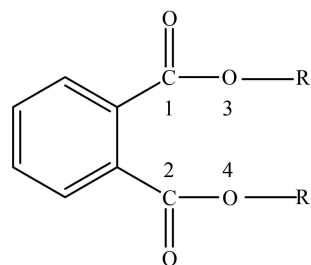


图 4 邻苯二甲酸酯类的基本骨架

Fig. 4 Basic skeleton of phthalate esters

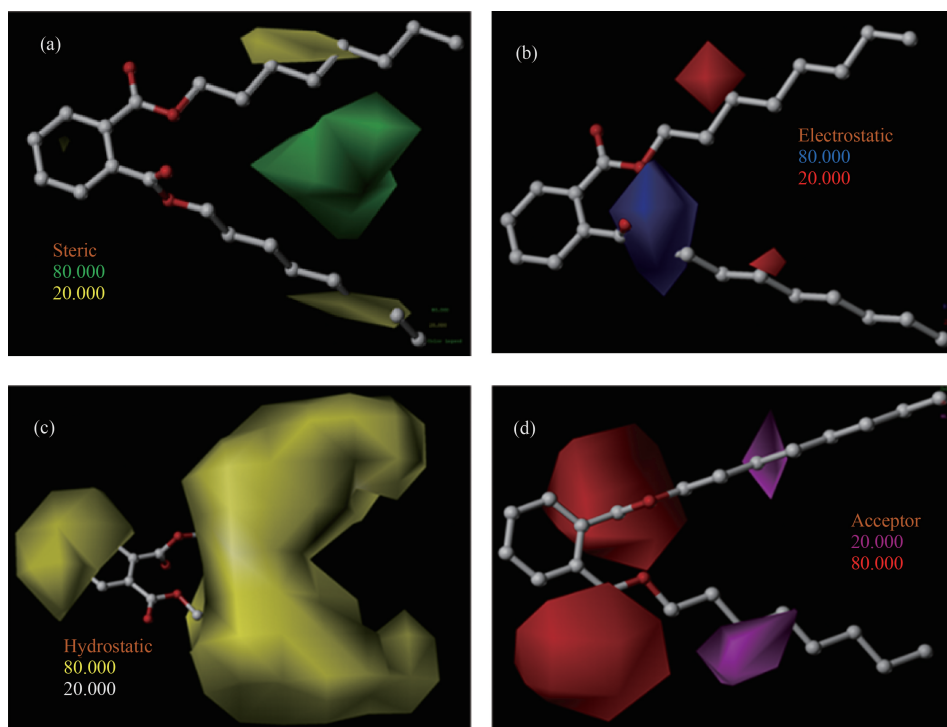


图 5 DNOP 在 CoMSIA 模型的三维等高线图

注:(a)立体场;(b)静电场;(c)疏水场;(d)氢键受体场。

Fig. 5 DNOP's three-dimensional contour maps in the CoMSIA model

Note: (a) The steric field; (b) The electrostatic field; (c) The hydrophobic field; (d) The acceptor field.

在静电场中,在3、4号位上出现大面积的蓝色色块,即在上述位点引入正电基团会导致 Tfam 蛋白相对表达量增加。在 R 与 R' 基团上出现红色色块,当 R 与 R' 基团为负电基团时,增加 Tfam 蛋白相对表达量,例如化合物 DMEP,其 R 与 R' 基团引入电负性较强的甲氧基,对比物质 DBP 在 R 与 R' 基团上引入电负性较弱的甲基,因此经 DMEP 作用的 HepG2 细胞中 Tfam 蛋白相对表达量增加。

在疏水场中,苯环上及 R 与 R' 基团出现大面积的黄色色块,即在上述位点上增加疏水基团会增加 Tfam 蛋白相对表达量,由于烷基是疏水基团,因此在 R 与 R' 基团上连接的烷烃链越长,其疏水性越强,Tfam 蛋白相对表达量增加。例如物质 DEHP 是由邻苯二甲酸酐与 2-乙基己醇结合形成的物质,其 R 与 R' 基团疏水性较强,因此 Tfam 蛋白相对表达量较高。

在氢键受体场中,红色色块主要出现在 3、4 号位上,紫红色主要出现在 R 与 R' 基团上,即说明在 R 与 R' 基团上增加氢键受体,Tfam 蛋白相对表达量增加。由于氢键供体场的贡献率为 0,因此本文未出现氢键供体场的等高线图。例如化合物 DMEP,此物质是由邻苯二甲酸酐与甲氧基乙醇在酸性条件下酯化而成,在 R 与 R' 基团上引入了 2 对孤对电子,即多了 2 个氢键受体,所以经 DMEP 作用的 HepG2 细胞中的 Tfam 蛋白相对表达量增加。

有研究表明 DMP、DNOP 的 R 与 R' 基团上引入疏水基团,能够降低 PAEs 的毒性^[20],此结果与本研究结果类似,可推测当在 PAEs 的支链引入疏水基团时,Tfam 蛋白相对表达量增加,进一步降低 PAEs 的线粒体毒性。近些年,在改善 PAEs 结构、设计环境友好型塑化剂的研究中发现,在邻苯二甲酸酯类支链引入大体积、疏水性强、负电基团和增加氢键受体能够降低 PAEs 的毒性^[20]。

3 讨论 (Discussion)

本研究结果显示,当 PAEs 以 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度作用于 HepG2 细胞 48 h 后,与对照组相比其 Tfam 蛋白相对表达量显著下降,通过 3D-QSAR 方法定量分析了 PAEs 对 Tfam 蛋白相对表达量的影响,该 3D-QSAR 模型具有良好的内、外部预测能力且具有覆盖此类结构的广泛应用域。

此外,定量构效关系结果表明,在 PAEs 类中 R 与 R' 基团上引入电负性大、疏水性强、氢键受体多的基团,增加 PAEs 类物质处理组 HepG2 细胞中

Tfam 蛋白相对表达量,影响 HepG2 细胞中线粒体生物发生,降低 PAEs 对 HepG2 细胞的线粒体毒性。通过对 6 种 PAEs 化合物对 Tfam 蛋白相对表达量的影响进一步预测此类物质对 HepG2 细胞的线粒体毒性效应和定量构效关系,为预测新型 PAEs 对 Tfam 的影响提供了一个潜在的工具,并为今后设计无毒的新型 PAEs 提供参考。

通讯作者简介:柳春红(1968—),女,博士,教授,主要研究方向为食品营养与毒理学。

参考文献 (References):

- [1] 曹龙,张朝升,陈秋丽,等.邻苯二甲酸酯的环境污染和生态行为及毒理效应研究进展[J].生态毒理学报,2018,13(2): 34-46
Cao L, Zhang C S, Chen Q L, et al. Progress in the study of environmental pollution and ecological behavior and toxicological effects of phthalate ester [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(2): 34-46 (in Chinese)
- [2] Zeng F, Cui K Y, Xie Z Y, et al. Occurrence of phthalate esters in water and sediment of urban lakes in a subtropical city, Guangzhou, South China [J]. Environment International, 2008, 34(3): 372-380
- [3] Tan G H. Residue levels of phthalate esters in water and sediment samples from the Klang River Basin [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1995, 54(2): 171-176
- [4] 苗万强,陈瑶,安迪,等. PAEs 的污染现状和防治对策[J].黑龙江环境通报,2019,43(4): 80-83
Miao W Q, Chen Y, An D, et al. Research on pollution status and control measure of PAEs [J]. Heilongjiang Environmental Journal, 2019, 43(4): 80-83 (in Chinese)
- [5] Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction. NTP-CERHR Expert Panel Report on Butyl Benzyl Phthalate [R]. Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction, 2000: 1-54
- [6] El-Shinnawy N A. The therapeutic applications of celery oil seed extract on the plasticizer di (2-ethylhexyl) phthalate toxicity [J]. Toxicology and Industrial Health, 2015, 31(4): 355-366
- [7] Parisi M A, Clayton D A. Similarity of human mitochondrial transcription factor 1 to high mobility group proteins [J]. Science, 1991, 252(5008): 965-969
- [8] 张蕊.线粒体转录因子 A 对肿瘤细胞辐射敏感性的影响及相关机制研究[D].合肥:中国科学技术大学,2019: 11-13
Zhang R. The effects and mechanisms of mitochondrial

- transcription factor A on tumor radiation sensitivity [D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2019: 11-13 (in Chinese)
- [9] 申屠路媚, 牟艳玲. 线粒体功能障碍机制及其相关疾病研究进展[J]. 生命科学, 2018, 30(1): 87-93
- Shentu L M, Mu Y L. Research progress in mitochondrial dysfunction and its related diseases [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2018, 30(1): 87-93 (in Chinese)
- [10] 黄旭, 温演庆, 罗杨, 等. 苯胺苯酚类皮革化学品毒性3D-QSAR研究[J]. 皮革与化工, 2013, 30(6): 1-5
- Huang X, Wen Y Q, Luo Y, et al. Study on the 3D-QSAR of toxicity of anilines and phenols used in leather chemicals [J]. Leather and Chemicals, 2013, 30(6): 1-5 (in Chinese)
- [11] 李敏, 殷茂娇, 朱娟娟, 等. 卤代肉桂酸对羊角月牙藻的急性毒性及3D-QSAR研究[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(4): 175-182
- Li M, Yin M J, Zhu J J, et al. Acute toxicity and 3D-QSAR studies on halogenated cinnamic acids to microalgae *Selenastrum capricornutum* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(4): 175-182 (in Chinese)
- [12] Liu H, Huang H Y, Xiao X M, et al. Effects of phthalate esters (PAEs) on cell viability and Nrf2 of HepG2 and 3D-QSAR studies [J]. Toxics, 2021, 9(6): 134
- [13] Golbraikh A, Tropsha A. Beware of Q^2 ! [J]. Journal of Molecular Graphics & Modelling, 2002, 20(4): 269-276
- [14] Xiao R Y, Ye T T, Wei Z S, et al. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) for the oxidation of trace organic contaminants by sulfate radical [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(22): 13394-13402
- [15] 卜玲玲, 刘焕, 杨娇, 等. DEHP经sirt1/pgc-1 α 通路诱导的HepG2细胞线粒体损伤效应[J]. 中国环境科学, 2020, 40(8): 3621-3626
- Bu L L, Liu H, Yang J, et al. DEHP induced mitochondrial damage through sirt1/pgc-1 α pathway in HepG2 cells [J]. China Environmental Science, 2020, 40(8): 3621-3626 (in Chinese)
- [16] Liu H, Zhu S Y, Han W N, et al. DMEP induces mitochondrial damage regulated by inhibiting Nrf2 and SIRT1/PGC-1 α signaling pathways in HepG2 cells [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 221: 112449
- [17] 张悦, 袁骐, 蒋玫, 等. 邻苯二甲酸酯类毒性及检测方法研究进展[J]. 环境化学, 2019, 38(5): 1035-1046
- Zhang Y, Yuan Q, Jiang M, et al. Research progress in toxicity and detection methods of phthalic acid esters [J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(5): 1035-1046 (in Chinese)
- [18] Babu S, Sohn H, Madhavan T. Computational analysis of CRTh2 receptor antagonist: A Ligand-based CoMFA and CoMSIA approach [J]. Computational Biology and Chemistry, 2015, 56: 109-121
- [19] Du M J, Qiu Y L, Li Q, et al. Efficacy coefficient method assisted quadruple-activities 3D-QSAR pharmacophore model for application in environmentally friendly PAE molecular modification [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(19): 24103-24114
- [20] Zhang H G, Zhao C J, Na H. A modified 3D-QSAR model based on ideal point method and its application in the molecular modification of plasticizers with flame retardancy and eco-friendliness [J]. Polymers, 2020, 12(9): 1942