

## 典型食源性内分泌干扰物的毒性效应研究进展

杨尚麟<sup>1,2</sup>, 刘佳玺<sup>1,2</sup>, 王昕璐<sup>2</sup>, 于江<sup>1</sup>, 许彦阳<sup>2\*</sup>, 邱静<sup>2</sup>, 钱永忠<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>西安理工大学印刷包装与数字媒体学院 西安 710048

<sup>2</sup>中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所 农业部农产品质量安全重点实验室 北京 100081)

**摘要** 食品中内分泌干扰物(EDCs)已成为影响食品安全的一类重要风险因素。特别是随着食品包装市场的不断发展,食品接触材料(FCM)中含有的增塑剂或表面活性剂等 EDCs 迁移到食品中,使得食源性 EDCs 的暴露情况更为复杂,明确食源性 EDCs 的毒性效应对于保护食品安全具有重要意义。本文从流行病学、模式生物、替代毒理和计算毒理等 4 个方面,结合代谢组学、转录组学和分子生物学等技术,系统整理并分析食源性 EDCs 毒性效应的研究现状,讨论不同毒性效应评价技术的应用状况、优缺点及相互联系,提出不同评价方法与技术的应用前景,旨在为食源性 EDCs 毒性效应研究提供有价值的信息。

**关键词** 食源性; 内分泌干扰物; 毒性效应

**文章编号** 1009-7848(2022)09-0323-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.09.034

食品中的内分泌干扰物(Endocrine Disruptors, EDCs)能够干扰激素的产生、运输和代谢,影响生物体内环境稳定、生殖、发育以及行为的外源性物质<sup>[1]</sup>,对人体及其后代产生不利影响。EDCs 因内分泌干扰作用在全球范围受到关注,并被确认为影响食品安全的重要风险因子。

食品接触材料(Food contact materials, FCM)是食品工业的重要组成部分,近年来,因 FCM 中 EDCs 迁移引起的食品安全问题再次引发全社会的关注。据 2020 年环境公益组织"Ecology Center"报道,麦当劳等 6 个知名快餐品牌 FCM 中存在全氟烷基化合物(Perfluorinated Alkylated Substances, PFAS)检出问题。食品及 FCM 中检出较多的紫外线稳定剂(二苯甲酮类<sup>[2]</sup>、苯并三唑类<sup>[3]</sup>)、双酚类物质、全氟烷基化合物<sup>[4]</sup>、邻苯二甲酸酯和多环芳烃<sup>[5]</sup>等均属于 EDCs。EDCs 具有生物富集和累积效应,通过渗透迁移或"set-off"方式从 FCM 中经食物进入人体<sup>[6]</sup>。有研究显示,从食品接触材料迁移到食品中的有害物质可能远高于农药或环境污染物<sup>[7]</sup>。

此外,食品本身在生产加工中也会残留多种 EDCs,使消费者食用含有多种 EDCs 的一种食品或者含有不同 EDCs 的多种食品,导致多种 EDCs 联合暴露。部分 EDCs 因具有相似的作用靶点或机制,同时暴露时可能产生远远高于单个 EDCs 毒性效应的联合效应<sup>[8-9]</sup>。开展食源性 EDCs 毒性效应研究,明确相应化学物质的毒性阈值,对于制定食品中相应化学物质的最大残留量,保护食品安全具有重要意义。本文以大型流行病学、模式生物、替代毒理和计算毒理评价等毒性研究平台为主线,结合代谢组学、转录组学和分子生物学技术,整理分析食源性典型 EDCs 单独及多元混合暴露的毒性效应研究现状和发展方向,为食源性 EDCs 毒性效应研究提供参考。

### 1 基于流行病学的毒性效应研究

流行病学研究能够了解物质暴露与人体疾病之间可能存在的联系。近年来,生物医学研究蓬勃发展,流行病学研究的重要性日益体现,特别是大型人群研究中证据价值最大、最可靠的人群队列研究<sup>[10]</sup>,逐渐用于有毒物质暴露的毒性评价。

一般而言,若有证据表明暴露与结果存在关联,且两者之间的时间间隔合理,则适合采用人群队列研究,其研究结果在临床应用中可能更具代表性<sup>[11]</sup>。人群队列研究主要包括前瞻性队列研究和回顾性队列研究。其中,前瞻性队列研究是结

收稿日期: 2021-09-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31701519); "十三五"国家重点研发计划重点专项(2017YFC1600705)

作者简介: 杨尚麟(1997-),男,硕士生

通信作者: 许彦阳 E-mail: xuyanyang@caas.cn



表 1 EDCs 暴露与毒性后果的前瞻性人群队列研究

EDCs	生长/疾病/损伤	队列范围	评估要素	研究结果	参考文献
PFAS	女性 2 型糖尿病	法国 E3N 队列中 71 270 名妇女	PFOA 和 PFOS 膳食暴露量; 体重指数	PFOA/PFOS 暴露与女性 2 型糖尿病风险呈非线性关系, 且对非肥胖女性影响更大	Mancini <sup>[15]</sup>
	胎儿生长	日本北海道 37 家医院 1 985 对母婴(2003-2009 年)	妊娠后期血浆中 11 种 PFAS 的浓度; 新生儿体重、生长和头围	孕妇产期暴露于碳链较长的 PFAS 会对胎儿生长造成不利影响	Kashino <sup>[13]</sup>
PAHs	妊娠期高血压	Odense 儿童队列中 1 436 名早期孕妇	血清中 PFAS 含量; 收缩压和舒张压; 高血压发生情况	PFAS 与血压升高有关, 可能通过改变血压分布, 增加妊娠期高血压发病率	Birukov <sup>[14]</sup>
	乳腺癌	法国 E3N 队列中 5 222 例乳腺癌病例和 5 222 例匹配对照	BaP 年暴露量; 绝经状态; 分子亚型; 乳腺癌的阶段和程度	BaP 暴露与乳腺癌风险显著相关, 且绝经状态的转变会增加风险	Amadou <sup>[16]</sup>
肺功能低下	癌症	瑞典东部 34 266 名人群	癌症发生率; 食物消费情况; PAHs 等代谢标记物浓度	癌症风险增加与长期大量食用当地食物(鱼和肉)有关	Helmfrid <sup>[17]</sup>
	肺功能低下	克拉科夫 195 名非哮喘儿童	PAHs 暴露水平; 肺功能测试	胎盘暴露于 PAHs 会损害胎儿呼吸道的正常发育, 产后 PAHs 暴露会增加影响	Jedrychowski <sup>[18]</sup>
BPA	2 岁和 4 岁儿童神经行为	上海-闵行出生队列中 745 对母子	妊娠 12~16 周孕妇尿液 BPA 浓度; 2 岁和 4 岁儿童神经行为发育检查	产期暴露于 BPA 扰乱胎儿甲状腺激素水平, 并能导致长期行为改变	L <sub>1</sub> <sup>[19]</sup>
	妊娠期糖尿病	中国武汉出生队列中 1 770 名未患糖尿病孕妇	尿液中 BTs 浓度; 血糖水平; 胎儿性别; 孕前体重	环境相关浓度的 BTs 可能导致葡萄糖稳态受损	Zhou <sup>[20]</sup>
DEHP	胎儿生长	中国武汉出生队列中 814 对母子	尿液中 DEHP 浓度; 妊娠期胎儿生长参数; 6, 12, 24 个月时身高、体重、体重指数等	孕期接触 DEHP 与胎儿生长减慢和出生体重减小, 但与 6, 12, 24 月男童体重增加有关	L <sub>1</sub> <sup>[21]</sup>



系统产生不利影响。另外一项针对二苯甲酮-2 (Benzophenone-2, BP-2) 的研究结果显示, 雄性大鼠皮下注射暴露 4 周后, BP-2 能够引起甲状腺功能亢奋, 并且使脾细胞和胸腺细胞活性增强<sup>[27]</sup>。Kim 等<sup>[23]</sup>将成年斑马鱼暴露于菲 (phenanthrene, PHE) 96 h 后的 LC50 为 920  $\mu\text{g/L}$ , 发现 PHE 影响了斑马鱼的代谢和防御机制。斑马鱼受精后分别进行 1~5 d 和 1~15 d PFOS 暴露, 结果表明无论暴露时间长短, 胚胎期暴露足以产生持续到青春期的代谢功能障碍, 使胰岛形态异常和肥胖症发生率增加<sup>[28]</sup>。此外, 基于模式生物的联合毒性研究也在逐年增加, 如大鼠妊娠期单独或联合暴露于 BPA 和 PFOS 的结果显示, BPA 和 PFOS 的联合暴露能够特异性地导致胶原蛋白增加和心室间隔增厚<sup>[29]</sup>。

代谢组学、转录组学具有全景角度揭示生物系统、生理状态等优势, 近年来逐渐应用于污染物的毒性研究。结合模式生物探究污染物暴露后的差异代谢产物或差异基因, 对于揭示污染物产生毒性效应的分子机制具有重要意义。Deng 等<sup>[30]</sup>采用非靶向代谢组学、转录组学相结合的技术, 使用多氯联苯 126 (Polychlorinated biphenyl, PCB) 和 PFOS 联合暴露雄性小鼠 48 h 后, 氧化磷脂水平升高, *NQO1*、*Icam1* 和 *Pail* 等基因表达发生改变, 肝损伤和心血管疾病风险增加。也有学者采用转录组学和 RT-qPCR 技术研究二苯甲酮类 (Benzophenones, BPs) 光引发剂对斑马鱼的毒性效应, 发现氧苯酮 (oxybenzone, BP3) 能够影响细胞色素 P450 和谷胱甘肽代谢相关基因 (*CYP1A*、*CYP3A65*、*GSTA* 等) 的表达, 导致斑马鱼幼体的畸形和高死亡率<sup>[31]</sup>。在多组学分析过程中, 有学者采用分子生物技术开展毒性效应研究, 如 PHE 对斑马鱼的毒性效应分析中, 基于 RT-qPCR 分析发现, PHE 对斑马鱼的毒性作用是通过诱导 *CYP1A*、*CYP7A1* 等代谢和防御机制相关基因表达的变化实现的<sup>[23]</sup>。结合了组学和分子生物学的模式生物毒性研究快速发展, 部分研究开始关注联合毒性, 但大多数研究仍为单一物质的毒性评价。

与流行病学的协同研究, 是模式生物毒性效应研究的另一重要组成部分。二者结合, 能够更为

全面地分析暴露水平与毒性效应之间的关系, 并解释毒性效应产生的机制。基于大鼠的全氟辛酸 (perfluorooctanoic acid, PFOA) 毒性研究发现, PFOA 对雄性大鼠具有致癌性, 通过 PPAR $\alpha$  激活产生致癌效应<sup>[32-33]</sup>, 为明确 PFOA 致癌效应与人类癌症的相关性, 需要进一步结合流行病学分析<sup>[22]</sup>。Kim 等<sup>[34]</sup>创新性地结合了人群队列与模式生物研究, 首先将秀丽线虫暴露于污染物, 经 RNAi 文库筛选获得毒性通路, 然后在线虫和斑马鱼中验证相关通路, 最后通过队列研究证实相应的通路, 成功将模式生物的研究结果拓展至人类, 发现烷基多环芳烃会对 DNA 造成损伤。

然而, 基于模式生物的毒性评价往往时间长、成本高、重复性差, 同时与人体的基因、遗传和代谢也存在差异<sup>[35-36]</sup>, 难以应用于大范围污染物的毒性评价, 制约了其在毒性评价中的应用与发展<sup>[37]</sup>。替代毒理学具有快速经济、易于量化和重复性好等优点, 符合国际动物福利和保护组织减少实验动物使用的要求, 满足减少 (Reduction)、优化 (Refinement) 和替代 (Replacement) 3R 原则, 已经越来越多地应用于毒性测试<sup>[35]</sup>。

### 3 基于替代毒理的毒性效应研究

替代毒理评价技术具有便于控制环境干扰因素、避免复杂机体影响、易于开展分子机制解析、利于揭示毒性作用机制等优势, 已经越来越多地应用于毒性测试。美国、欧盟和经济与合作发展组织 (Organization for Economic Co-operation and Development, OECD) 已将毒理学替代法作为重要的毒性测试技术进行推广。其中, 细胞替代毒理技术以其快速经济、易于量化和重复性好等优势, 在筛查化合物毒性和安全性评价中得到越来越多的应用<sup>[35]</sup>。

食源性 EDCs 的替代毒理研究主要以激素受体敏感型细胞系和肝细胞系为研究载体, 如胎盘细胞系、乳腺细胞系、肝癌细胞系等。如 Mei 等<sup>[38]</sup>采用人胚成纤维细胞系 HFL-1 进行了菲 (PHE) 的细胞毒性研究, 结果显示 PHE 能够影响细胞周期, 导致细胞死亡。相比于正常细胞, 肝癌细胞 (HepG2) 和乳腺癌细胞 (MCF-7) 等癌细胞培养简单、能够无限分裂, 成为有害物质毒性评价的重要

表 2 基于模式生物的 EDCs 毒性效应及分子机制研究  
Table 2 Toxic effects and molecular mechanisms of EDCs based on model organisms

EDCs	试验模型	暴露浓度	暴露时间	评估要素	毒性结果	分子机制解释	参考文献
BaP	雄性大鼠	0;0.1;1;10 μg/kg/day(管饲)	出生后 23~53 d	雄性交配行为;精子质量和数量;甲状腺和精腺相对质量;血清睾酮水平等	损害交配行为和精子质量,造成睾丸组织病理学改变,对成年雄性生殖系统产生不利影响	—	Jorge <sup>[26]</sup>
BP-2	雄性大鼠	100 mg/kg (皮下注射)	连续 4 周, 每日 2 次	免疫系统活性; 下丘脑-垂体-甲状腺活性	2~4 周暴露引起甲状腺功能亢奋,脾细胞和胸腺细胞活性增强	—	Broniowski <sup>[27]</sup>
PHE	成年斑马鱼	0;100;500;750;1 000 μg/L	96 h	斑马鱼死亡率率和可见异常	PHE 暴露对斑马鱼代谢和防御机制产生影响	诱导 CYP1A、CYP7A1 等代谢和防御机制相关基因表达的变化	Kim <sup>[23]</sup>
PFOS	斑马鱼胚胎	16;32 μmol/L	受精后 1~5 d; 受精后 1~15 d	新陈代谢物质浓度;胰岛形态;肥胖症情况	造成新陈代谢功能障碍,增加肥胖症发生率	受精 4 d 后的饱和脂肪酸浓度增加,PPAR 基因表达降低	Sant <sup>[28]</sup>
BPs	斑马鱼仔鱼	10%, 25%和 50%的 LC50	24 h;96 h	芳香烃受体、雌激素受体途径和性别分化基因表达	BPs 是雌激素受体 α 和 β1 的激动剂;高浓度 BPs 导致斑马鱼仔鱼畸形和高死亡率,低浓度会损害细胞分子结构和功能	BP3 影响细胞色素 P450 和谷胱甘肽代谢相关基因 (CYP1A、CYP3A65、GSTA 等)的表达	Meng <sup>[31]</sup>
BPA + PFOS	大鼠	2+40;100 +2 000 μg/L(饮水)	妊娠第 0~19 d	心脏形态; 相关蛋白表达;心肌细胞变化	联合暴露特异性地导致胶原蛋白的增加和心室间隔的增厚	对线粒体功能的改变	Zhou <sup>[29]</sup>
PCB126 + PFOS	雄性小鼠	0.5+250 mg/kg	2 d	心血管疾病和肝损伤等相关炎症途径变化	肝脂质堆积和氧化磷脂水平增加,联合暴露会增加心血管病和肝损伤风险	NQO1、Icam1 和 PAII 等炎症相关基因表达显著增加	Deng <sup>[30]</sup>

细胞系。

结合代谢组学、转录组学、蛋白质组学等组学技术的毒性效应研究,因更有利于毒性机制的解析,在近年来得到了快速发展。以 MCF-7 为载体的研究中,通过转录组学和分子生物学研究发现,双酚类化合物能够与雌激素受体  $\alpha$ (ER $\alpha$ )结合,影响 ADORA1、DDIT4、CELSR2 等 17 个基因的表达,从而影响细胞生长、凋亡<sup>[39]</sup>。此外,表观遗传毒性研究发现,双酚 S(BPS)可以导致细胞中 Thbs4、PPARGC1A 等基因的上调和 PI3K-Akt 信号通路的改变,从而影响乳腺癌的发展<sup>[40]</sup>。也有学者采用代谢组学和转录组学分析,鉴定出 DEHP 暴露后的差异代谢产物和差异基因,构建了污染物暴露后的调控网络,揭示了嘌呤代谢途径的显著变化<sup>[41]</sup>。以 HepG2 为载体的研究中,Wen 等<sup>[42]</sup>通过表观遗传毒性发现,PFOA 暴露会显著影响细胞周期稳态基因和脂代谢基因的改变。对羟基二苯甲酮类(hydroxylated benzophenones, BPs)能够通过雌激素相关受体  $\gamma$ (ERR $\gamma$ )影响相关转录途径,从而发挥生殖毒性效应<sup>[1]</sup>。组学和分子生物学相结合的毒性效应评价手段已成为替代毒理毒性评价的重要组成部分。

在美国 21 世纪毒性测试发展策略背景下,基于细胞替代方法的联合毒性研究迅速发展。基于 HepG2 的联合效应研究中,低至中等效应浓度水平上,大部分 PFAS 混合物对 HepG2 细胞的毒性作用表现为协同作用<sup>[43]</sup>;不同比例的非(PHE)和苯并[b]荧蒽(benzo[b]fluoranthene, B[b]F)暴露后,1:1 混合下显示出最高的细胞毒性和活性氧(ROS)<sup>[44]</sup>;双酚 A 与其它双酚类物质混合暴露 HepG2 后,低浓度暴露能够导致异源代谢酶 CYP1A1 和 UGT1A1 基因表达增加,遗传毒性损伤的易感性增加<sup>[45]</sup>;多溴联苯醚(Polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)和苯并 a 芘(BaP)联合暴露 L02 细胞,显示出更强的毒性效应,且对氧化性 DNA 损伤表现为协同作用<sup>[46]</sup>。已有报道中,EDCs 联合毒性的研究多集中于同类物质之间,而对于不同种类 EDCs 之间的联合毒性效应研究还相对较少。

基于细胞的替代毒理测试技术,在不具备物质代谢能力,不同代谢产物的生物活性不同,体

外细胞系的结果无法直接转化成器官结果,以及不同组织或细胞外推效应具有不确定性等缺点<sup>[47-48]</sup>。模式生物与体外细胞相结合能够更为可靠地获得毒性效应结果,是当前 EDCs 毒性效应最为重要的组成部分。Kim 等<sup>[49]</sup>基于 HepG2 细胞和大鼠分析了双酚 A(BPA)的肝毒性,通过差异代谢产物和差异基因构建通路,发现 BPA 对 HepG2 和大鼠肝脏的脂质或类固醇代谢功能造成了影响,且通路分布具有相关性。通过细胞与小鼠两种毒性评价载体的相互印证,明确了 BPA 的肝毒性效应及毒性效应产生的分子机制。而结合雄性小鼠和小鼠睾丸间质细胞两种模型研究发现,PFOS 能够剂量依赖性地降低精子数、损害睾丸间质形态,揭示了 CREB/CRTC2/StAR 信号通路在 PFOS 抑制睾酮生物合成中的作用<sup>[50]</sup>。在 DEHP 生殖毒性的研究中,分别进行了孕鼠和 JEG-3 细胞的暴露试验,发现两种模型均能降低孕激素水平,抑制孕激素基因的表达,干扰孕酮的分泌<sup>[51]</sup>。基于人内皮细胞系(HMEC-1)和大鼠暴露开展 PAHs 暴露毒性效应的生物标志物研究发现,PAHs 暴露促进内皮细胞产生胞外囊泡、增加尿液中胞外囊泡释放,表明胞外囊泡是 PAHs 暴露的有用生物标志物<sup>[52]</sup>。

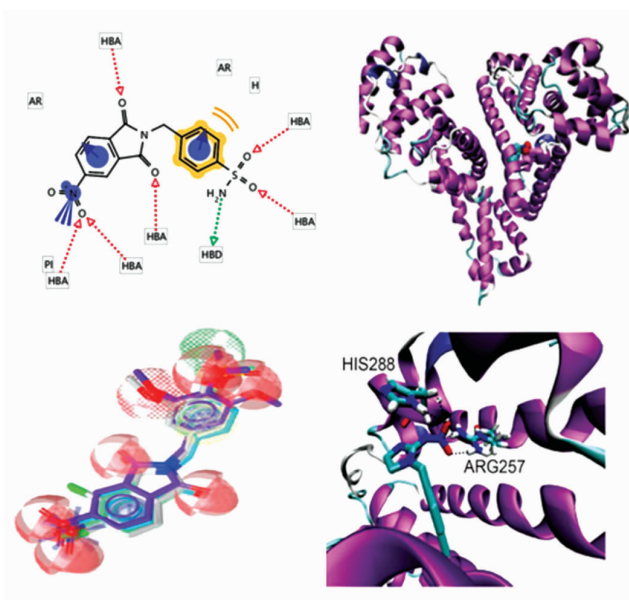
除试验手段外,计算毒理学能够借助数学模型等辅助手段分析相关毒性试验数据,对物质毒性做出更准确的评估,是对实验毒性评价的一种重要补充和拓展,逐步得到各国研究人员的关注和重视。

#### 4 基于计算毒理的毒性效应研究

计算毒理学手段多样、成本低廉,往往结合人群队列、模式生物和细胞替代的毒理学研究中,能够通过先前类似试验的结果推导预测可能的毒性结果,从而为毒性试验提供指导,简化试验步骤、节约试验成本<sup>[37]</sup>。数据库是计算毒理学发展的基础,如内分泌干扰物知识库(Endocrine Disrupter Knowledge Base, EDKB)。通过对数据库中类似化合物毒性结果的推导获得规则和信

息,从而构建预测模型,对已存在的、新的、甚至是虚拟的物质生成预测,目前应用最为广泛的预测模型如定量-构效关系法的模型(quantitative structure-activity relationship, QSAR)、分子模拟方法模型





(a) 定量-构效关系法模型(QSAR) (b) 分子模拟方法模型

图 2 计算毒理学评价

Fig.2 Computational toxicological evaluation

(docking models) 和交叉参照法模型等<sup>[37,53]</sup>。

QSAR 能够预测尚未开展毒性试验化学物质的毒性效应,如通过构建 PAHs 对两种水生生物的光诱导毒性定量构效关系,分析了 PAHs 的光诱导毒性机制,发现平均分子极化率对 PAHs 的光诱导毒性有重要影响<sup>[54]</sup>。基于二苯甲酮类物质对发光菌和大型水蚤的毒性数据,Liu 等<sup>[55]</sup>建立了 QSAR 模型,发现毒性与电子性质和疏水性相关。Hoover 等<sup>[56]</sup>测定了 4 种 PFAS 对于两栖类成纤维细胞系的单独和二元联合毒性,之后基于这些数据构建了 QSAR 模型,利用此模型对 24 种单一物质和 1 380 种二元混合物的毒性进行了预测。基于分子模拟的毒理学预测模型能够预测物质与生物靶标之间可能的相互作用,为进一步分析该物质的毒性机制提供思路。如采用分子模拟的方法对 FCM 中双酚类物质的内分泌干扰毒性进行研究,分析了 3 种双酚类化学物质与雌激素受体  $\alpha$  (ER) 的结合能力,雌激素活性的排序为:双酚 A > 双酚 F > 双酚 S<sup>[57]</sup>。Chen 等<sup>[58]</sup>发现了 PFOS 和 PFOA 与牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 的不同结合位点,表明 PFAS 能够影响 BSA 的构象,且 PFOS 比 PFOA 毒性更大。

以上模型的建立都需要足够的数据支撑,对

数据的搜集提出了挑战。交叉参照法能够将相似物质分组,通过一种化学物质的毒性信息推断出相似结构的其它化学物质的毒性数据<sup>[53]</sup>,对 QSAR 和分子模拟模型提供了有效补充。Webster 等<sup>[59]</sup>基于搜集的数据建立了交叉参照模型,对 3 种酚类物质的雌激素效应进行了预测,确认了 4-叔丁基苯酚是一种潜在的内分泌干扰物。交叉参照模型依据相似性进行推断,能够减少预测的不确定性,该模型对结构等参数信息的精度要求严格。

随着化学物质的不断丰富,仅依靠试验手段完成化学物质的一元、二元,甚至多元联合毒性进行研究是无法实现的,而解决该问题必须依靠计算毒理学技术。近年来,越来越多的动物实验和细胞实验开始与计算毒理学相结合,为计算毒理学模型提供数据支持。随着大数据技术的发展,大型公共数据库的信息越来越完善,为计算毒理学评价的广泛应用创造了条件<sup>[60]</sup>。因此,通过高通量的分析计算和预测进行毒理学评价将成为未来毒理学评价发展的重要方向<sup>[53]</sup>。

## 5 总结与展望

本文从流行病学、模式生物、替代毒理和计算毒理 4 个方面展开,结合代谢组学、转录组学和分子生物学等技术归纳整理了目前食源性 EDCs 的毒性评价研究现状。从整体上看,食源性 EDCs 毒性效应研究呈现“模式生物与替代毒理研究为主、队列与计算研究为辅,单一物质毒性效应研究多、多物质联合毒性效应研究少,多组学、多手段交叉融合”的特点。目前,模式生物依然是进行 EDCs 毒性研究的主体,特别是基于斑马鱼的毒性效应研究,由于试验成本低,并且具有与人体高度相似的基因组成,在针对 EDCs 的毒性研究中发展迅速。基于体外细胞系的替代毒理研究以其快速经济、易于量化和重复性好等优势,在筛查化合物毒性和安全性评价中得到越来越多的应用。与代谢组学、转录组学和分子生物学等技术紧密结合,也更有利于毒性效应的产生机制分析。流行病学在 EDCs 毒性效应研究中还相对较少,但通过结合模式生物和细胞毒性研究结果,往往能得出更为准确可靠的毒性信息。随着大量新物质的发现和合成,计算毒理在毒性预测方面将发挥越来越大的

表3 基于体外细胞的EDCs毒性效应及分子机制研究

EDCs	试验模型	暴露浓度	暴露时间	评估要素	毒性结果	分子机制解释	参考文献
BPs	HepG2	10 <sup>2</sup> ~3.3×10 <sup>4</sup> nmol/L; 10 <sup>2</sup> ~10 <sup>6</sup> nmol/L	24 h	荧光素酶活性; 雌激素受体γ(ERγ)的转录激活	BPs能够产生内分泌干扰毒性, 损害生殖功能	8种BPs在3~100 μmol/L范围内以浓度依赖方式激活ERRγ的转录	Zheng <sup>[2]</sup>
PFOA	HepG2	20; 50; 100; 150; 200 μmol/L	48 h	细胞代谢率、存活率等	诱导肝细胞损伤, 产生表现遗传毒性等	显著影响细胞周期稳态基因、TETs基因和必须脂代谢基因	Wen <sup>[42]</sup>
双酚类	MCF-7	25 μmol/L; 50 μmol/L	4 h; 8 h	细胞活性; 基因表达变化; 细胞周期等	双酚类化合物影响细胞生长、迁移、凋亡、侵袭和癌症发展等	与雌激素受体α结合, 影响ADORA1、DDIT4等17个基因的表达	Böckers <sup>[39]</sup>
	HepG2	一元: 2.5, 5, 10, 20 μg/mL; 联合: 10 ng/mL BPA + 1 ng/mL 其它双酚类	24 h; 72 h	基因表达变化; 细胞活性	双酚类对细胞活性有抑制作用, 双酚AF表现出最高的细胞毒性和遗传毒性潜力; 能够导致遗传毒性损伤	低浓度下使异源代谢酶CYP1A1和UGT1A1基因表达增加	Herczog <sup>[45]</sup>
BPS	MCF-7	1 mmol/L; 10 nmol/L; 100 nmol/L	24 h	乳腺癌相关基因变化	BPS具有表现遗传毒性, 影响乳腺癌发展	Thbs4、PPARCC1A等基因上调、PI3K-Akt信号通路改变	Huang <sup>[40]</sup>
DEHP	MCF-7	1 μmol/L	48 h	细胞活性; 差异代谢物; 差异基因	能够促进MCF-7增殖, 差异代谢产物和差异基因表达	能够对嘌呤代谢途径产生影响	Lu <sup>[41]</sup>
PFAS	HepG2	多组合多浓度	24 h	细胞活性	PFAS破链长度越长, 单独暴露对细胞的抑制作用越强; PFOA和PFOS与其它PFAS联合暴露, 表现不同的联合作用模式	—	Ojo <sup>[43]</sup>
PHE + B[b]F	HepG2	PHE:B[b]F按照2:1, 1:1和1:2混合	24 h; 48 h; 72 h	谷胱甘肽(GSH)合成和功能; 细胞活性	联合暴露比单独暴露显示更高的细胞毒性; 1:1混合下细胞毒性和ROS产生最高	GSH在多环芳烃类物质毒性中发挥核心调节剂的作用	Branco <sup>[44]</sup>
PBDEs + BaP	L02	(5, 10 μmol/L) BDE47和/或(50 μmol/L) BaP	24 h; 2 h	细胞活性; DNA链断裂; 氧化应激指数; 基因表达变化	联合暴露下诱导DNA链断裂和ROS水平升高; 协同损伤氧化性DNA	调节氧化应激反应和CYP1代谢酶的表达	An <sup>[46]</sup>



作用。

然而,目前 EDCs 的毒性研究依然主要集中在单一物质或同类物质,不同类别 EDCs 之间的联合作用以及多元产生机制的毒性研究还少有报道。此外,已报道的毒性研究大多是参照环境浓度,基于食品中实际检出浓度或者食品包装材料迁移浓度的毒性研究依然很少。因此,基于实际残留浓度和迁移浓度,面向多类 EDCs 共同暴露的实际情况,结合代谢组学、转录组学和分子生物学等技术交叉融合的毒性评价技术将成为热点,相关研究将为明确化学物质的毒性阈值发挥重要作用,对于制定食品中相应化学物质的最大残留量,保护膳食消费安全具有重要意义。

### 参 考 文 献

- [1] DIAMANTI-KANDARAKIS E, BOURGUIGNON J P, GIUDICE L C, et al. Endocrine-disrupting chemicals: An endocrine society scientific statement [J]. *Endocrine Reviews*, 2009, 30(4): 293-342.
- [2] ZHENG X Y, REN X M, ZHAO L X, et al. Binding and activation of estrogen related receptor  $\gamma$  as possible molecular initiating events of hydroxylated benzophenones endocrine disruption toxicity [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114656.
- [3] FENG H R, CAO H M, LI J, et al. Estrogenic activity of benzotriazole UV stabilizers evaluated through in vitro assays and computational studies [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 727: 138549.
- [4] RAMSKOV TETZLAFF C N, RAMHØJ L, LARDE-NOIS A, et al. Adult female rats perinatally exposed to perfluorohexane sulfonate (PFHxS) and a mixture of endocrine disruptors display increased body/fat weights without a transcriptional footprint in fat cells [J]. *Toxicology Letters*, 2021, 339: 78-87.
- [5] FLAWS J, DAMDIMOPOULOU P, PATISAUL H B, et al. PLASTICS, EDCs & HEALTH: Authoritative Guide [R]. Endocrine Society & IPEN, 2020.
- [6] BLANCOZUBIAGUIRRE L, ZABALETA I, PRIETO A, et al. Migration of photoinitiators, phthalates and plasticizers from paper and cardboard materials into different simulants and foodstuffs [J]. *Food Chemistry*, 2021, 344: 128597.
- [7] GALLARTAYALA H, NÚÑEZ O, LUCCI P. Recent advances in LC-MS analysis of food-packaging contaminants [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2013, 42: 99-124.
- [8] MAGUERESSEBATTISTONI B L. Endocrine disrupting chemicals and metabolic disorders in the liver: What if we also looked at the female side? [J]. *Chemosphere*, 2020, 268: 129212.
- [9] KAHN L G, PHILIPPAT C, NAKAYAMA S F, et al. Endocrine-disrupting chemicals: Implications for human health [J]. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2020, 8(8): 703-718.
- [10] 余灿清, 刘亚宁, 吕筠, 等. 大型人群队列研究数据管理团体标准解读 [J]. *中华流行病学杂志*, 2019, 40(1): 17-19.  
YU C Q, LIU Y N, LYU J, et al. Interpretation for the group standards in data management for large population-based cohorts [J]. *Chinese Journal of Epidemiology*, 2019, 40(1): 17-19.
- [11] WANG X F, KATTAN M W. Cohort studies: Design, analysis, and reporting [J]. *Chest*, 2020, 158(1S): S72-S78.
- [12] VANDENBROUCKE J P. Observational research, randomised trials, and two views of medical science [J]. *PLOS Medicine*, 2008, 5(3): e67.
- [13] KASHINO I, SASAKI S, OKADA E, et al. Prenatal exposure to 11 perfluoroalkyl substances and fetal growth: A large-scale, prospective birth cohort study [J]. *Environment International*, 2020, 136: 105355.
- [14] BIRUKOV A, ANDERSEN L B, ANDERSEN M S, et al. Exposure to perfluoroalkyl substances and blood pressure in pregnancy among 1436 women from the Odense Child Cohort [J]. *Environment International*, 2021, 151: 106442.
- [15] MANCINI F R, RAJAABELINA K, PRAUD D, et al. Nonlinear associations between dietary exposures to perfluorooctanoic acid (PFOA) or perfluorooctane sulfonate (PFOS) and type 2 diabetes risk in women: Findings from the E3N cohort study [J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2018, 221(7): 1054-1060.
- [16] AMADOU A, PRAUD D, COUDON T, et al. Risk of breast cancer associated with long-term exposure to benzo[a]pyrene (BaP) air pollution: Evidence from the French E3N cohort study [J]. *Environment Inter-*

- national, 2021, 149: 106399.
- [17] HELMFRID I, LJUNGGREN S, NOSRATABADI R, et al. Exposure of metals and PAH through local foods and risk of cancer in a historically contaminated glassworks area[J]. *Environment International*, 2019, 131: 104985.
- [18] JEDRYCHOWSKI W A, PERERA F P, MAUGERI U, et al. Long term effects of prenatal and postnatal airborne PAH exposures on ventilatory lung function of non-asthmatic preadolescent children. Prospective birth cohort study in Krakow[J]. *Science of The Total Environment*, 2015, 502: 502-509.
- [19] LI F, YANG F, LI DK, et al. Prenatal bisphenol A exposure, fetal thyroid hormones and neurobehavioral development in children at 2 and 4 years: A prospective cohort study [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 722: 137887.
- [20] ZHOU Y Q, QU J Y, LIU W Y, et al. Early pregnancy exposure to benzotriazoles and benzothiazoles in relation to gestational diabetes mellitus: A prospective cohort study[J]. *Environment International*, 2020, 135: 105360.
- [21] LI J F, QIAN X, ZHOU Y Q, et al. Trimester-specific and sex-specific effects of prenatal exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate on fetal growth, birth size, and early-childhood growth: A longitudinal prospective cohort study[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 777: 146146.
- [22] STEENLAND K, WINQUIST A. PFAS and cancer, a scoping review of the epidemiologic evidence[J]. *Environmental Research*, 2020, 194: 110690.
- [23] KIM K, JEON H J, CHOI S D, et al. Combined toxicity of endosulfan and phenanthrene mixtures and induced molecular changes in adult Zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*, 2018, 194: 30-41.
- [24] SALAHINEJAD A, NADERI M, ATTARAN A, et al. Effects of chronic exposure to bisphenol-S on social behaviors in adult zebrafish: Disruption of the neuropeptide signaling pathways in the brain[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 262: 113992.
- [25] LI Y N, ZHANG Q N, FANG J, et al. Hepatotoxicity study of combined exposure of DEHP and ethanol: A comprehensive analysis of transcriptomics and metabolomics[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2020, 141: 111370.
- [26] JORGE B C, REIS A C C, STERDE É T, et al. Exposure to benzo (a)pyrene from juvenile period to peripubertal impairs male reproductive parameters in adult rats[J]. *Chemosphere*, 2021, 263: 128016.
- [27] BRONIEWSKA Ż, ŚLUSARCZYK J, STAREK-Ś WIECHOWICZ B, et al. The effect of dermal benzophenone-2 administration on immune system activity, hypothalamic-pituitary-thyroid axis activity and hematological parameters in male Wistar rats[J]. *Toxicology*, 2018, 402-403: 1-8.
- [28] SANT K E, ANNUNZIATO K, CONLIN S, et al. Developmental exposures to perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) impact embryonic nutrition, pancreatic morphology, and adiposity in the zebrafish, *Danio rerio*[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 275: 116644.
- [29] ZHOU R, CHENG W, FENG Y, et al. Combined effects of BPA and PFOS on fetal cardiac development: In vitro and in vivo experiments[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020, 80: 103434.
- [30] DENG P, WANG C Y, WAHLANG B, et al. Co-exposure to PCB126 and PFOS increases biomarkers associated with cardiovascular disease risk and liver injury in mice[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2020, 409: 115301.
- [31] MENG Q, YEUNG K, KWOK M L, et al. Toxic effects and transcriptome analyses of zebrafish (*Danio rerio*) larvae exposed to benzophenones[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 265: 114857.
- [32] National Toxicology Program. NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Perfluorooctanoic Acid (CASRN 335-67-1) Administered in Feed to Sprague Dawley (Hsd: Sprague Dawley® SD®) Rats[R]. Research Triangle Park (NC): National Toxicology Program, 2020.
- [33] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Perfluoroalkyls: Draft for Public Comment[R]. Atlanta (GA): U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, 2018.
- [34] KIM Y, JEONG J, CHATTERJEE N, et al. Activation of the nucleotide excision repair pathway by crude oil exposure: A translational study from model organisms to the Hebei Spirit Oil Spill Cohort[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254: 112997.
- [35] DOKE S K, DHAWALE S C. Alternatives to animal

- testing: A review[J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2015, 23(3): 223–229.
- [36] KIM T W, CHE J H, YUN J W. Use of stem cells as alternative methods to animal experimentation in predictive toxicology[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2019, 105: 15–29.
- [37] SCHMIDT F. Computational Toxicology[M]. Oxford: Academic Press, 2021: 283–300.
- [38] MEI X, WU Y Y, MAO X, et al. Antagonism of phenanthrene cytotoxicity for human embryo lung fibroblast cell line HFL-I by green tea polyphenols[J]. Environmental Pollution, 2011, 159(1): 164–168.
- [39] BÖCKERS M, PAUL N W, EFFERTH T. Bisphenolic compounds alter gene expression in MCF-7 cells through interaction with estrogen receptor  $\alpha$ [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2020, 399: 115030.
- [40] HUANG W, ZHAO C, ZHONG H, et al. Bisphenol S induced epigenetic and transcriptional changes in human breast cancer cell line MCF-7[J]. Environmental Pollution, 2019, 246: 697–703.
- [41] LU Y S, YAO G X, WANG X L, et al. A comprehensive analysis of metabolomics and transcriptomics reveals new biomarkers and mechanistic insights on DEHP exposures in MCF-7 cells[J]. Chemosphere, 2020, 255: 126865.
- [42] WEN Y, MIRJI N, IRUDAYARAJ J. Epigenetic toxicity of PFOA and GenX in HepG2 cells and their role in lipid metabolism[J]. Toxicology *in Vitro*, 2020, 65: 104797.
- [43] OJO A F, PENG C, NG J C. Combined effects and toxicological interactions of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances mixtures in human liver cells (HepG2) [J]. Environmental Pollution, 2020, 263: 114182.
- [44] BRANCO V, MATOS B, MOURATO C, et al. Synthesis of glutathione as a central aspect of PAH toxicity in liver cells: A comparison between phenanthrene, Benzo [b]Fluoranthene and their mixtures [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 208: 111637.
- [45] HERCOG K, MAISANABA S, FILIPIČ M, et al. Genotoxic activity of bisphenol A and its analogues bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF and their mixtures in human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells [J]. Science of The Total Environment, 2019, 687: 267–276.
- [46] AN J, YIN L L, SHANG Y, et al. The combined effects of BDE47 and BaP on oxidatively generated DNA damage in L02 cells and the possible molecular mechanism[J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2011, 721(2): 192–198.
- [47] GINSBERG G L, PULLEN FEDINICK K, SOLOMON G M, et al. New toxicology tools and the emerging paradigm shift in environmental health decision-making[J]. Environmental Health Perspectives, 2019, 127(12): 125002.
- [48] KREWSKI D, ANDERSEN M E, TYSHENKO M G, et al. Toxicity testing in the 21st century: progress in the past decade and future perspectives [J]. Archives of Toxicology, 2020, 94(1): 1–58.
- [49] KIM BY, KIM M, JEONG J S, et al. Comprehensive analysis of transcriptomic changes induced by low and high doses of bisphenol A in HepG2 spheroids *in vitro* and rat liver *in vivo* [J]. Environmental Research, 2019, 173: 124–134.
- [50] QIU L L, WANG H X, DONG T Y, et al. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) disrupts testosterone biosynthesis via CREB/CRTC2/StAR signaling pathway in Leydig cells [J]. Toxicology, 2021, 449: 152663.
- [51] ZHANG S Y, SUN C C, ZHAO S, et al. Exposure to DEHP or its metabolite MEHP promotes progesterone secretion and inhibits proliferation in mouse placenta or JEG-3 cells[J]. Environmental Pollution, 2020, 257: 113593.
- [52] LE GOFF M, LAGADICGOSSMANN D, LATOUR R, et al. PAHs increase the production of extracellular vesicles both *in vitro* in endothelial cells and *in vivo* in urines from rats[J]. Environmental Pollution, 2019, 255: 113171.
- [53] THAKKAR S, PERKINS R, HONG H, et al. Computational Toxicology[M]. Oxford: Elsevier, 2018: 327–350.
- [54] WANG Y, CHEN JW, LI F, et al. Modeling photoinduced toxicity of PAHs based on DFT-calculated descriptors[J]. Chemosphere, 2009, 76(7): 999–1005.
- [55] LIU H, SUN P, LIU H X, et al. Acute toxicity of benzophenone-type UV filters for Photobacterium and Daphnia magna: QSAR analy-

- sis, interspecies relationship and integrated assessment[J]. *Chemosphere*, 2015, 135: 182–188.
- [56] HOOVER G, KAR S, GUFFEY S, et al. *In vitro* and in silico modeling of perfluoroalkyl substances mixture toxicity in an amphibian fibroblast cell line [J]. *Chemosphere*, 2019, 233: 25–33.
- [57] CAVALIERE F, LORENZETTI S, COZZINI P. Molecular modelling methods in food safety: Bisphenols as case study[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2020, 137: 111116.
- [58] CHEN H L, HE P Z, RAO H H, et al. Systematic investigation of the toxic mechanism of PFOA and PFOS on bovine serum albumin by spectroscopic and molecular modeling [J]. *Chemosphere*, 2015, 129: 217–224.
- [59] WEBSTER F, GAGNÉ M, PATLEWICZ G, et al. Predicting estrogen receptor activation by a group of substituted phenols: An integrated approach to testing and assessment case study[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2019, 106: 278–291.
- [60] KLEINSTREUER N C, TETKO I V, TONG W. Introduction to special issue: Computational toxicology [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2021, 34(2): 171–175.

### Research Progress on Toxic Effects of Typical Food-borne Endocrine Disruptors

Yang Shanglin<sup>1,2</sup>, Liu Jiayi<sup>1,2</sup>, Wang Xinlu<sup>2</sup>, Yu Jiang<sup>1</sup>, Xu Yanyang<sup>2\*</sup>, Qiu Jing<sup>2</sup>, Qian Yongzhong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Printing and Packaging and Digital Media, Xi'an University of Technology, Xi'an 710048

<sup>2</sup>Key Laboratory of Agro-Product Quality and Safety, Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-Products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract** Endocrine disruptors (EDCs) in food are important risk factors for food safety. In particular, with the continuous development of the food packaging market, the migration of EDCs such as plasticizers or surfactants in food contact materials (FCMs) into food add the range of foodborne EDCs. Clarifying the toxic effects of foodborne EDCs is important for protecting food safety. In this paper, we systematically compiled and analyzed the current status of research on the toxic effects of foodborne EDCs from four aspects, including epidemiology, model organisms, alternative toxicology and computational toxicology, combined with metabolomics, transcriptomics and molecular biology. The application status, advantages, disadvantages and interconnections of different toxic effect evaluation techniques were discussed. Prospects for the application of different evaluation methods and techniques were proposed. The aim of this paper is to provide valuable information for the study of the toxic effects of foodborne EDCs.

**Keywords** foodborne; endocrine disruptors; toxic effects