

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20180207001

杨振, 王晶晶, 聂亚光, 等. 基于模式生物秀丽隐杆线虫的环境污染物生殖毒性研究进展[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(3): 18-29

Yang Z, Wang J J, Nie Y G, et al. Progress on reproductive toxicity of environmental pollutants based on model organism *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(3): 18-29 (in Chinese)

基于模式生物秀丽隐杆线虫的环境污染物生殖毒性研究进展

杨振^{1,2}, 王晶晶^{1,2}, 聂亚光¹, 代慧¹, 王牧笛¹, 程雷^{1,2}, 许安^{1,2,*}

1. 中国科学院合肥物质科学研究院, 技术生物与农业工程研究所, 中国科学院强磁场与离子束物理生物学重点实验室, 合肥 230031

2. 中国科学技术大学, 合肥 230026

收稿日期: 2018-02-07 录用日期: 2018-05-08

摘要: 由于人类社会的发展, 环境污染也越来越严重, 研究环境污染物对生态及人类健康的影响极为重要。生殖系统是人和动物繁衍后代的重要系统, 常见环境污染物对生殖系统的影响正引起研究人员的广泛关注。秀丽隐杆线虫具有身体透明、品系丰富和遗传背景清楚等优点, 为生殖毒理学研究提供了一个便利的平台。以秀丽隐杆线虫为模型已对多种环境污染物的生殖毒性进行了评价。本文重点叙述了重金属、纳米材料、有机物等化学污染, 辐射、磁场等物理污染, 以及病毒等生物污染对秀丽线虫生殖系统的影响, 并归纳讨论了环境污染物造成生殖功能障碍的几种主要机制, 如氧化应激、DNA 损伤、内质网应激以及神经损伤等, 但不同类型污染物的毒性效应与其自身的物化性质紧密相关。环境污染物诱导的生殖毒性中不同响应机制之间的关联性、不同发育阶段的敏感性差异、污染物的传代效应以及有效的缓解方式的筛选等都有待进一步的开展。

关键词: 环境污染物; 秀丽隐杆线虫; 生殖毒性

文章编号: 1673-5897(2019)3-018-12 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Progress on Reproductive Toxicity of Environmental Pollutants Based on Model Organism *Caenorhabditis elegans*

Yang Zhen^{1,2}, Wang Jingjing^{1,2}, Nie Yaguang¹, Dai Hui¹, Wang Mudi¹, Cheng Lei^{1,2}, Xu An^{1,2,*}

1. Key Laboratory of High Magnetic Field and Ion Beam Physical Biology, Institute of Technical Biology & Agriculture Engineering, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China

2. University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China

Received 7 February 2018 accepted 8 May 2018

Abstract: Along with the development of human society, environmental pollution is also getting severe, urging the study on the impact of environmental pollutants on human health and ecology. Reproductive systems are key to perpetuity of humans and other organisms, and so the effect of common environmental pollutants on reproduction has drawn widespread attention. Studies using the model nematode *Caenorhabditis elegans* offer several advantages,

基金项目: 中国科学院 B 类先导科技专项(XDB14030502); “十三五”规划重点支持项目(KP-2017-05); 国家自然科学基金项目(91743106); 合肥物质科学技术中心方向项目培育基金重要方向项目(2017FXZY005)

作者简介: 杨振(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向为环境毒理学, E-mail: zy21@mail.ustc.edu.cn

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

such as the diversity of strains, presence of a transparent body, and a clear genetic background. They serve as an ideal platform for reproductive toxicology research and have been used to evaluate the reproductive toxicity of various environmental pollutants. This review focuses on the effects of chemicals such as heavy metals, nanomaterials and organic compounds, and the physical and biological pollution sources such as radiation and viruses on the reproductive system of *C. elegans*. We summarize several major mechanisms of reproductive dysfunction caused by environmental pollutants, such as the oxidative stress, DNA damage, endoplasmic reticulum stress and nerve injury, but the toxic effects of different pollutants are linked to their physicochemical properties. The relationship between the different response mechanisms in the reproductive toxicity induced by environmental pollutants, the differences in sensitivity during different developmental stages, the trans-generational effect of pollutants, and the screening of effective mitigation methods need to be further clarified.

Keywords: environmental pollutants; *C. elegans*; reproductive toxicology

环境污染是指人类向环境中排放某种物质超过了环境的净化能力从而引发的环境问题。随着人类社会的发展越来越多的废弃物被排放到环境中,例如工业生产中的“三废”、农业生产中的农药以及生活污水等,这些污染物的排放会造成空气污染、水污染和土壤污染等。世界卫生组织对全世界 200 多个城市进行大气测定,严重污染城市中我国有多个城市上榜;有关数据显示我国每年污水排放量在 400 亿 t 左右,一半为工业污水;保守估计因环境污染问题造成的经济损失约为 2 000 亿元^[1]。环境中的持久性有机污染物会使人体的内分泌系统、生殖和发育系统遭到破坏,甚至在一定程度上还会致癌,而重金属会损伤动物及人的骨骼和神经系统等^[2]。近年来因大气污染,每年超额死亡人数高达 178 000 人,据流行病学调查因空气污染导致的呼吸系统疾病发病率达 30% 以上^[1]。

生殖系统是生物体产生生殖细胞、繁衍后代的重要系统,进入环境中的化学或物理污染物会严重影响人类和动物的生殖功能,造成生殖能力低下、配子活性下降等。如有机磷农药和邻苯二甲酸酯类会造成睾丸发育障碍及精子数目降低^[3-4]。长期接触苯系物的女工流产、早产和死产的概率相对于正常人群明显提高^[5],同时苯系物还会造成雄性生殖系统功能障碍、精子畸形等^[6]。重金属的毒性在 20 世纪的痛痛病、水俣病之后已经引起了广泛关注。研究发现,铅可直接穿过胎盘屏障,增加流产率和早产率^[7];锰会减少男性睾酮的分泌,严重时还会导致肾上腺及睾丸萎缩^[8]。伴随着新的化学物质被大量生产,一系列的未知危险也随之而来,因此,对各种常见及新型污染物进行生殖毒性评价并制定安全的使用范围标准是必要的。

秀丽隐杆线虫全基因组测序在 1998 年完成,其基因与人类存在高度同源性^[9],身体透明,可通过荧光标记观察线虫体内的相关过程^[10]。秀丽隐杆线虫的生殖系统已被研究得较为透彻^[11],其生殖腺呈明显的梯度发育,可一次在单条生殖腺上观察到减数分裂的各个阶段^[12]。线虫生殖腺细胞周期停滞、生殖细胞凋亡等多个终点常被用来评价环境污染物的生殖毒性。秀丽线虫世代时间及子代数稳定,卵细胞数量和子代数可用于评价产卵器功能和繁殖能力,而世代时间可用于评价其繁殖速度^[13]。利用秀丽线虫已揭示了多种环境因素诱导的生殖毒性响应机制,如氧化应激、DNA 损伤应答通路、MAPK 通路等^[14],为进一步探究各种环境因素的生殖毒性及其机制、以及相关疾病的预防和诊断工作提供了重要的理论依据。

1 化学污染物的生殖毒性研究 (Study on reproductive toxicity of chemical factors)

随着人类社会的发展,被使用最多的应属化学物质,这些物质包括天然存在的和人工合成的,有无机物也有有机物,例如重金属、纳米材料和一些有机农药等。据估计,我国被重金属污染的土地已接近 20 km²,约占总耕地的 20%,与澳大利亚、美国等国家相比,我国土壤环境质量标准在重金属指标数量上要少 1/3 ~ 1/2^[15]。全球 70 多个国家约 14 亿人的饮用水受到砷污染,与镉一样砷可通过水稻富集,通过食物链进入人体,对身体健康造成威胁^[16]。

持久性有机污染物(POPs)是一类具有持久性、生物蓄积性和高毒性等特点的有机污染物,在土壤中的半衰期在 1 ~ 12 年左右,有的长达 600 年,可通过食物链富集而进入人体,有机氯杀虫剂是其中比较具有代表性的一类物质,我国历年生产的滴滴涕

(DDT)高达 39.81 万 t,即使在禁用 DDT 20 年后一些地区农业土壤中最高残留量仍在 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上^[17]。据统计发现,妊娠期食用有机氯污染的鱼会造成出生的儿童体重轻、脑袋小和认知能力差等^[2]。除了重金属与持久性有机物以外,近年来一些新的物质被大量投入到工业生产中,并进入人们的生活之中,例如纳米材料被广泛应用于光电器件、医疗等领域,因此探究这些化学物是否对生态及人体健康存在威胁就显得至关重要。利用秀丽隐杆线虫对重金属、纳米材料、大气颗粒物和典型有机污染物的生殖毒性评价见表 1。

1.1 重金属对生殖系统的影响

重金属是指那些相对密度大于 5 的金属,包括金(Au)、银(Ag)、铜(Cu)、铁(Fe)和铅(Pb)等,而在环境污染方面主要指汞(水银, Hg)、镉(Cd)、铅(Pb)、铬(Cr)以及类金属砷(As)等生物毒性较为显著的重金属元素。这些重金属可进入大气、土壤以及水体,可通过食物链或者呼吸系统进入人体,从而对人体造成伤害。

Guo 等^[18]在研究重金属对秀丽线虫的生殖毒性时发现,成虫暴露在高浓度的 Pb、Hg、Cd 和 Cr($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)中时会显著降低子代数,而低浓度($2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)并不会降低子代数;将 L1 ~ L4 期的幼虫进行暴露时,低浓度的重金属便会造成子代数的减少,甚至 $2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Pb、Hg 会明显影响子代数,且这种现象从 L4 期到 L1 期逐渐严重,由此可看出重金属对生殖能力的影响不仅与剂量有关,还与暴露的时期有关,即暴露时期越早敏感性越强。之后孙娜等^[19]对 Pb、Hg 和 Cd 的生殖毒性进行了研究,也观察到了类似的结果,发现这些重金属在 $10 \sim 50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度下就可显著降低子代数,同时在相同的重金属暴露条件下,线虫体内的受精卵数目减少,阴门畸形率显著升高,阴门表面由光滑逐渐表现为轻微凸起; $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ Pb、Cd 暴露会造成产卵器表面破裂,影响受精卵的排出。这与 Wu 等^[20]在研究 Hg 的生殖毒性时观察到的一致,Wu 等发现 L4 期的幼虫暴露于 Hg 12 h 后会造子宫和性腺发育的异常,如引起性腺臂的缩短,由此推测子代数的减少可能是由于受精卵数量降低和性腺及子宫结构损伤共同导致的。Wang 等^[21]在研究 Ni 的毒性作用时发现,Ni 在 $2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度下即造成子代数的减少以及世代时间的增加,并且这种现象还会持续到子代中,且浓度越高这种毒效应在子代中持续的时间越久。

1.2 纳米材料对生殖系统的影响

随着纳米材料的广泛使用,纳米材料对环境造成的潜在威胁也受到越来越多的关注,通过荧光标记的纳米材料喂食线虫,可清楚地观察到纳米材料在线虫体内的分布情况^[22],通常纳米材料主要在咽泵和肠道中转运,但也发现可在性腺和早期胚胎的细胞质中积累。

Yang 等^[23]利用线虫对纳米级零价铁(nZVL)、氧化铁(nFe_3O_4)和亚铁离子的生殖毒性进行初步研究,发现 3 种形式的铁都会造成子代数的严重减少,同时造成活性氧成分的增加,但是 nZVL 生殖毒性会传递到 F1、F2 代,而在 F3、F4 代中得到恢复,这可能是由于铁在 F0 和 F1 代中的积累产生了很高的活性氧,最终导致多代的生殖毒性。Zhao 等^[24]在用氧化石墨烯(GO)对线虫进行处理后发现 $0.1 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 GO 并不会对线虫造成明显的伤害,而用 $10 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 GO 处理后观察到了相比于对照组更多的生殖细胞凋亡(吖啶橙(AO)活体染色),子代数和卵母细胞数量也发生明显减少,此结果表明 GO 通过生殖细胞的凋亡造成生殖腺的发育异常,使后代数目、卵母细胞数量及排卵率均发生下降,并增加胚胎致死率。研究发现镍纳米颗粒会造成秀丽线虫子代数目的减少以及世代时间的增加,说明秀丽线虫的生殖能力和繁殖速度均受到影响^[25],孔璐等^[26]进一步研究发现,镍纳米颗粒会诱导线虫的精子发生缺陷,精子的形态、活性和运动能力都受到很大的影响,而这些性质是保证精子能够顺利受精的重要因素,因此纳米材料不仅可以影响生殖腺的发育从而影响线虫的生殖能力,还可以造成配子发生缺陷从而影响线虫的受精。

1.3 有机物对生殖系统的影响

久效磷作为一种有机磷杀虫剂,具有很强的触杀作用,杀虫谱广,杀虫效果好。在研究久效磷的生理毒性时,将 L4 期的幼虫分别暴露于浓度为 0.85 、 1.7 和 $3.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的久效磷 4 h,发现久效磷能显著降低线虫的子代数,且呈浓度依赖性, $3.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时子代数降低高达 73%,且线虫体内的乙酰胆碱酯酶(AchE)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性以及谷胱甘肽(GSH)水平都显著降低^[27]。

硫丹主要用作农用杀虫剂,由于其剧毒性、生物蓄积性和内分泌干扰作用,已经在多个国家被禁止使用。虽然被禁止使用,但硫丹残留依然广泛存在于环境中,危害生态健康。Du 等^[28]利用线虫研究发

表 1 化学因素的生殖毒性效应
Table 1 Reproductive toxicity of chemical factors

影响因素 Influence factors	线虫品系 Strain of <i>C. elegans</i>	实验剂量 Dose	暴露方式 Exposure conditions	毒性效应 Toxic effect	参考文献 References
Pb, Hg, Cr, Cd	N2	0, 2.5, 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	L1~L4 期幼虫暴露 4, 24 和 72 h L1-L4 larvae exposed for 4, 24 and 72 h	子代数减少, 世代时间增加; 暴露时期越早, 时间越长, 毒性效应越强 Reduced brood size, prolonged generation times; earlier exposure stage, longer exposure time cause stronger toxic effect	[18]
Pb, Hg, Cd	N2	Pb, Cd: 0, 0.5, 5.0, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg: 0, 0.1, 1.0, 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	L4 期幼虫暴露 24 h L4 larvae exposed for 24 h	子代数减少, 受精卵数目降低, 阴门畸形率升高 Reduced brood size, reduced number of fertilized eggs, increased vulva abdominal deformity	[19]
Hg	N2, <i>kel36</i>	0, 2.5, 7.5, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	L4 期幼虫暴露 4 h L4 larvae exposed for 4 h	产卵数减少, 子宫结构异常 Reduced brood size; appearance of uterus structure abnormality	[20]
Ni	N2	0, 2.5, 7.5, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	L4 期幼虫暴露 3 d L4 larvae exposed for 3 d	子代数减少, 世代时间增加, 毒性遗传到子代 Reduced brood size, prolonged generation times, toxicity passing down to the offsprings	[21]
纳米级零价铁 Nanoscale zerovalent iron (nZVI), 纳米级氧化铁 Nanoscale iron oxide (nFe ₃ O ₄), Fe(II)	N2	0, 5, 25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	L4 期幼虫暴露 48 h L4 larvae exposed for 48 h	子代数减少, 纳米零价铁毒性遗传到 F1、F2 代 Reduced brood size, toxicity of nZVI, passing down to F1, F2 generation	[23]
氧化石墨烯 Graphene oxide (GO)	N2, <i>n717</i> , <i>n1162</i> , <i>n1084</i> , <i>n3082</i> , <i>n1950</i> , <i>op241</i> , <i>gk138</i> , <i>mm159</i> , <i>n4635</i> , <i>n4106</i> , <i>nD654</i> , <i>bc1s39</i>	0, 0.1, 1, 10, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	L1 幼虫至成虫, 长期暴露 L1 larvae to adult, long-term exposure	生殖细胞凋亡增加, 生殖腺发育异常, 子代数、卵母细胞和产卵数减少 Increased germline apoptosis, gonad structure abnormality, reduced brood size and oocytes	[24]
纳米镍颗粒 Nickel nanoparticles (Ni-NP)	N2, <i>e1490</i>	0, 1, 2.5, 5 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$	L4 期幼虫暴露 1~3 d L4 larvae exposed for 1-3 d	子代数减少, 世代时间增加, 精子发生缺陷, 精子异常, 受精率下降 Reduced brood size, prolonged generation times, spermatogenesis defected, sperm abnormality, decreased fertilization rate	[25-26]

续表1

影响因素 Influence factors	线虫品系 Strain of <i>C. elegans</i>	实验剂量 Dose	暴露方式 Exposure conditions	毒性效应 Toxic effect	参考文献 References
久效磷 Monocrotophos	N2	0, 0.85, 1.7, 3.4 mmol·L ⁻¹	妊娠期线虫暴露 4 h Pregnancy exposure for 4 h	子代数减少, 乙酰胆碱酯酶活性降低 Reduced brood size, inhibition of acetylcholine esterase (AChE) activity	[27]
硫丹 Endosulfan	N2, <i>opls34</i> , <i>n717</i> , <i>n1162</i> , <i>n1950n</i> , <i>w40</i> , <i>n487</i> , <i>op241</i> , <i>kn-1</i>	0, 0.1, 1, 10 μmol·L ⁻¹	L1 期至成虫期分别暴露 6, 12 和 24 h L1 larvae to adult exposed for 6, 12 and 24 h	产卵率、孵化率降低, 生殖细胞凋亡增加, 生殖细胞周期阻滞 Reduced fecundity and hatchability, increased germline apoptosis, germline mitotic cell cycle arrest	[28]
溴二苯醚 4-Bromodiphenyl ether	N2, <i>op241</i> , <i>w40</i> , <i>agl</i> , <i>ks54</i> , <i>ok171</i>	0, 1, 10, 30, 100, 300 μg·L ⁻¹	L4 期幼虫暴露 24 h, 或从 L4 期 暴露至死亡 L4 larvae exposed for 24 h, or exposure from L4 to death	产卵率降低, 产卵时间延长, 生殖细胞凋亡增加 Reduced brood size, delayed egg laying, increased germline apoptosis	[29]
5-氟尿嘧啶 5-Fluorouracil	N2, <i>pk1426</i>	0, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, 1.8, 3.0, 4.8 μg·L ⁻¹	从出生到死亡时间暴露 Exposure from birth to death	生殖系统发育障碍, 产卵延迟, 并出现虫袋现象 Reproductive system developmental disorder, delayed egg laying, bag of worms	[30]
PM _{2.5}	N2, <i>oxls12</i>	0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 mg·mL ⁻¹	L4 期暴露 24 h, 或者从 L1 期暴露 至成年期第 1 天 L4 larvae exposed for 24 h, or exposure from L1 larvae to first day of adult	生殖能力下降, 并传递到子代中 Reproductive ability declines and passed on to offspring	[31-32]
柴油机颗粒物提取物 Diesel particulate extract	<i>n717</i> , <i>n1162</i> , <i>w40</i> , <i>lg12501</i> , <i>op241</i> , <i>ku51</i> , <i>n1989</i> , <i>ku1</i> , <i>ks54</i> , <i>gk7</i> , <i>ju91</i> , <i>ags</i> , <i>agl</i> , <i>kn25</i>	0, 20, 50, 100, 200, 400 μg·mL ⁻¹	L1 期幼虫单独暴露于柴油机颗粒物提 取物, 或者共同暴露于柴油机颗粒物 提取物和紫外线之中 L1 larvae exposed to diesel particulate extract alone or co-exposed to diesel particulate extract and ultraviolet light	生殖细胞凋亡增加, 发育阻滞 Increased germline apoptosis, development arrest	[33]

现,L1期的幼虫暴露于 $0.1 \sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫丹中即可造成线虫的产卵数和孵化率的降低以及产卵开始时间及产卵高峰期的推迟,在硫丹浓度为 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时产卵数降低了76%左右。硫丹使线虫的生殖腺细胞死亡数显著增加, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时凋亡数达到正常组的1.6倍。而DNA损伤响应基因*ced-3*、*ced-4*突变品系可显著抑制硫丹诱导的生殖腺细胞凋亡,说明DNA损伤响应通路在硫丹诱导的细胞凋亡过程中起到了重要作用。通过DAPI染色可发现,硫丹暴露后会导致线虫生殖腺有丝分裂细胞数显著减少,即诱发了生殖腺细胞周期停滞现象^[28]。

多溴二苯醚作为阻燃剂被添加到复合材料中,目前已广泛用于电子电气设备和建筑材料等,You等^[29]对溴二苯醚(BDE-3)的毒性研究发现, $300 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的BDE-3可显著降低线虫的生育能力,如降低线虫的产卵数,延长产卵时间,并呈浓度依赖性。BDE-3的浓度在 $30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时会显著诱导生殖腺细胞凋亡数目的上升,达对照组的2倍,此外, $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的长期暴露可严重缩短线虫的寿命。You等推测这些有机物通过诱导生殖细胞的凋亡造成生殖腺发育缺陷从而导致一系列生殖毒性。

5-氟尿嘧啶作为一种抗代谢药物被用于癌症的治疗,同时5-氟尿嘧啶也会给机体的其他功能带来威胁,例如心脏中毒、肝中毒等。浓度为 $0.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的5-氟尿嘧啶长期慢性暴露会诱导线虫的生殖系统发育障碍,出现产卵延迟、虫袋(胚胎无法排出而在体内孵化)等现象,甚至使线虫出现无阴门情况,在该浓度暴露条件下还会造成线虫生殖腺有丝分裂受阻和生殖细胞凋亡数目增加^[30],推测是由于5-氟尿嘧啶造成线虫生殖细胞凋亡而使生殖系统发育受阻,最后导致生殖能力下降。

1.4 大气颗粒物对生殖系统的影响

近年来由于农业活动及工业生产对空气质量造成了巨大的影响,雾霾已经成了一个急需被解决的环境问题,造成雾霾的主要原因就是大气颗粒物的过度排放,这些大气颗粒物可通过呼吸系统进入人体从而危害人体健康,已被证明大气颗粒物对呼吸系统和血液循环系统有很大的影响,例如导致鼻炎、支气管炎以及心血管病和高血压等。此外已有文献报道大气颗粒物同样会造成生物体生殖系统的损伤。

据相关文献报道,若将L4期秀丽隐杆线虫急

性暴露于 $\text{PM}_{2.5}$ 中, $100 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{PM}_{2.5}$ 会造成秀丽隐杆线虫生殖能力的显著下降。而将暴露方式改成慢性暴露时, $1 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{PM}_{2.5}$ 就会造成秀丽隐杆线虫生殖能力的显著下降,而这种效应还会传递到子代中^[31]。这种现象在王云彪等^[32]的研究中也同样被发现,并推测这种现象可能是由于 $\text{PM}_{2.5}$ 诱导生殖系统功能异常导致的。

柴油机颗粒物是大气污染物中的重要成分,而紫外线又是太阳光的主要成分,在户外人们经常会同时暴露在这2种影响因子中,因此研究两者是否具有联合作用十分必要。研究发现,若将早期的成年秀丽隐杆线虫单独暴露于柴油颗粒物提取物(DPE)或长波紫外线(UVA)中, $20 \sim 50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的柴油颗粒物提取物以及 $0.2 \sim 1.0 \text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的紫外线均不会造成生殖细胞的明显损伤,而当将柴油颗粒物提取物和紫外线共同暴露时, $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ DPE+ $0.5 \text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ UVA就会导致生殖细胞死亡的显著上升,而通过对凋亡相关通路进行分析后发现,两者导致的生殖细胞死亡是通过凋亡通路介导的^[33]。

2 物理污染物的生殖毒性研究(Study on reproductive toxicity of physical factors)

物理性污染是指由物理因素引起的环境污染。相对于化学污染物,物理污染常常被大众所忽略。利用秀丽隐杆线虫对辐射和磁场的生殖毒性进行评价的结果见表2。

2.1 辐射对生殖系统的影响

辐射的靶细胞常常是一些组织的前体细胞,线虫的阴门由22个阴门细胞所构成,而这些阴门细胞又全部来自于3个前体细胞,因此可以利用线虫阴户的发育来研究辐射的生物效应及其机制^[34]。研究发现, 50Gy 的辐射量并不会使线虫致死,但可使线虫的阴门发育畸形甚至发生无阴的现象,最后导致线虫不育^[34]。前体细胞第一次分裂之前(大约在S期)对辐射有最大的抗性,而在之后的分裂过程中对辐射较为敏感。随着剂量的增加正常阴门线虫的比例越来越少,即不正常阴门线虫的比例越来越多,而这种不正常的阴门形成是由辐射引起的细胞死亡导致的。 $4',6\text{-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)}$ 或AO染色后发现,这种死亡的阴门细胞没有显现凋亡的特征,而是展现出坏死的细胞特征(染色体扩散或无染色)。之后通过对Caspase和*ced-9*突变体进行研究发现,这些突变菌株对辐射的敏感性与野生型菌株N2并

没有显著不同,而 *ced-1* 突变的菌株虽然对辐射的敏感性与 N2 无明显区别,但 *ced-1* 突变株的体内有更多的死亡细胞残留且不能被清除^[34],这些间接地证明了凋亡在辐射引起的阴门细胞死亡过程中并不发挥什么作用,而与细胞坏死更为相似。

Luo 等^[35]发现 *ing-3* 基因在辐射诱导的线虫生殖细胞死亡过程中起到了很重要的作用,而 *ing-3* 参与了 P53 通路,在细胞程序性凋亡过程中起到了关键作用。他们发现剔除 *ing-3* 之后辐射诱导的生殖细胞凋亡数量相较于野生型明显下降,证明凋亡在辐射引起的生殖细胞死亡过程中扮演着重要的角色。Gartner 等^[36]在研究 DNA 损伤诱导的生殖细胞凋亡时发现,当 *ced-3* 和 *ced-4* 突变后伽马射线引起的生殖细胞死亡现象消失,而在 *ced-9* 突变(功能获得型突变)后,辐射引起的生殖细胞死亡现象也完全消失,*egl-1* 突变(功能丧失型突变)后凋亡现象被缓解,这说明凋亡通路在辐射引起的细胞死亡过程中起到了重要作用。以上不同的实验结果说明辐射可通过不同的机制引起细胞的死亡,甚至在相同的细胞中。

2.2 磁场对生殖系统的影响

磁场是一种客观存在但看不见、摸不着的特殊物质,在现代日常生活中磁场到处可见,如发电机、电动机和电话机等都能产生磁场,自然界中存在的磁波会对人类的大脑和脏器形成刺激性影响,电磁辐射在一定程度上对生物的生长存在刺激作用,但强大的磁场也会对生物活动存在负面影响,例如造成鸽子无法辨别方向等。

平均功率 1.52 W 和 0.75 W 的高功率毫米波对线虫暴露 3 ~ 5 min 会显著降低线虫的产卵数,且随着暴露时间的增加产卵数量下降更加严重;还诱导生殖腺远端出现不同程度的凹陷、空泡等肿瘤样形态,loop 区域呈现拥挤、无规则排列的未分化、未成熟卵细胞,且腺体远端无成熟的卵母细胞等,表明毫米波暴露可导致卵细胞在分化成熟过程中出现障碍。通过荧光标记 *ced-1* 基因发现生殖腺细胞凋亡数量增加^[37]。研究显示 8.5 T 的稳态强磁场并不会造成线虫子代数的减少^[38],但在该强度的稳态磁场作用下会显著降低卵的发育,并会轻微延迟发育时间。用 AO 染色后发现 8.5 T 磁场会增加生殖细胞凋亡数量,随着暴露时间的增加凋亡越明显。Boj-jawar 等^[39]在研究脉冲电磁场对秀丽线虫生殖系统的影响时发现,18 kV·m⁻¹ 或 62 kV·m⁻¹ 的纳米级脉

冲电磁场会显著增加线虫卵母细胞数量,但卵母细胞数量的增加并不意味着子代数就会增加,在卵母细胞数量增加的同时,伴随着死卵的数量以及未受精的卵母细胞数量增加。以上研究结果表明,磁场对生殖系统的影响与磁场的类型有关,不同的磁场作用甚至相反,关于磁场的生殖系统作用仍需要进一步的探究。

3 生物污染物的生殖毒性研究 (Study on reproductive toxicity of biological factors)

乙型肝炎病毒是一种 DNA 病毒,可以通过血液、精液和其他液体进行传播,据统计全球约有 20 亿人感染过乙肝病毒,每年约 60 万人死于急性或慢性乙型肝炎^[40]。Chen 等^[41]利用秀丽线虫对乙肝病毒的毒性做了初步了解,通过在线虫体内表达 3 种不同的表面抗原(大乙肝病毒表面抗原 LHBsAg、中等乙肝病毒表面抗原 MHBsAg 和小乙肝病毒表面抗原 SHBsAg),发现 3 种不同的抗原均会使线虫的孵化率、子代数减少,且阻碍生殖腺的发育,其中 SHBsAg 的作用最为显著。Geng 等^[42]发现在线虫体内表达乙肝病毒多功能蛋白(HBx 蛋白)后线虫的孵化率明显降低,并伴有虫袋现象,且胞内 Ca²⁺ 浓度上升,细胞死亡数量增加。当线虫感染肺炎克雷伯氏菌之后会出现产卵率低、虫袋等现象,进一步研究发现感染肺炎克雷伯氏菌之后阴门发育相关基因(*let-3*)和产卵相关基因(*lin-29*)的表达均发生下调^[43],也就意味着肺炎克雷伯氏菌对线虫的生殖毒性是由于性腺发育异常和产卵异常 2 部分原因共同造成的。利用秀丽隐杆线虫对生物污染物的生殖毒性的评价结果见表 2。

4 生殖毒性机制 (Reproductive toxicity mechanism)

秀丽线虫与人类同源性高,高等动物具备的基本生理过程、氧化应激反应和许多重要的通路在秀丽线虫中都具有一定的保守性^[44],可直接通过荧光标记观察线虫在环境改变后细胞内的变化^[12]。近年来利用秀丽线虫进行的环境污染物生殖毒理学研究表明,不同环境因素产生的生殖毒性与因素本身特点、剂量高低和生物时期等有较大关系,其潜在机制包括氧化应激、DNA 损伤和内质网应激等。

4.1 氧化应激

氧化应激是体内自由基产生的一种负面作用,与疾病的产生以及生物体的衰老都存在着一一定的关

表2 物理与生物因素的生殖毒性
Table 2 Reproductive toxicity of physical and biological factors

影响因素 Influence factors	线虫品系 Strain of <i>C. elegans</i>	实验剂量 Dose	暴露方式 Exposure conditions	毒性效应 Toxic effect	参考文献 References
γ-射线 Gamma rays	<i>syIs49, n1950, n717, ok171, el735, mn1592, e266, op241, ok179, ev679::Tc1, pk2504, gk186, gk138, ok418, ok358, ok79, ime23</i>	0, 100, 200, 300, 400, 500 Gy	幼虫或成虫暴露 Larvae or adults exposed	阴门畸形, 不育, 生殖细胞坏死 Vulva deformity, infertility, germ cell necrosis	[34]
γ-射线 Gamma rays	N2, <i>gk138, pk1426, tm2169, tm2530, ftT5439</i>	0, 120 Gy	L4 期幼虫或成虫暴露 24 h L4 larvae or adults exposed for 24 h	生殖细胞凋亡增加, 阴门畸形 Increased germline apoptosis, vulva deformity	[35]
γ-射线 Gamma rays	<i>n2438, ok79, n3082, e2664, mn159</i>	0, 7.5, 15, 30, 60, 120 Gy	L4 期线虫暴露 L4 larvae exposed	生殖细胞周期阻滞, 生殖细胞凋亡增加, 产卵减少 Germline mitotic cell cycle arrest, increased the germ cell apoptosis, reduced the number of oviposition	[36]
毫米波 Millimeter wave	N2, <i>c12070, smIs34</i>	0, 0.75, 1.52 W	L4 期线虫暴露 1, 2, 3, 4 和 5 min L4 larvae exposed for 1, 2, 3, 4 and 5 min	产卵数减少, 生殖细胞凋亡增加, 卵母细胞分化成熟障碍 Reduced the number of oviposition, increased the germ cell apoptosis, the oocyte differentiation and maturation disorder	[37]
静磁场 Static magnetic field	N2, <i>e1370, mu86, n717, n1162, mul884, kn-1</i>	0, 5, 8 T	卵, 成虫暴露 1, 3 和 5 h Eggs, adults exposed for 1, 3 and 5 h	生殖腺细胞凋亡增加 Increased apoptosis of gonadal cells	[38]
纳米级脉冲电磁场 Electromagnetic nanopulses	N2, <i>zcls16</i>	0, 18, 62 kV·m ⁻¹	成虫暴露 4 h 后, 卵暴露 24 h After 4 h of adult exposure, the eggs were exposed for 24 h	产卵数量增加, 卵母细胞增加, 死卵增加 Increased the number of ovipositions, increased oocytes and dead eggs	[39]
大、中、小 3 种类型乙型肝炎病毒表面抗原 Large, middle and small forms of hepatitis B virus antigens (LHBsAg, MHBsAg, SHBsAg)	表达 LHBsAg、MHBsAg 和 SHBsAg 秀丽线虫 Expression of LHBsAg, MHBsAg, SHBsAg in <i>C. elegans</i>	/	/	子代数减少, 孵化率降低, 性腺发育障碍 Reduced brood size, reduced hatchability, gonadal dysplasia	[41]
乙型肝炎病毒 Hepatitis B virus	PhspHBx 转基因线虫 Expression of HBx in <i>C. elegans</i>	/	/	孵化率降低, 子代数减少, 生殖腺发育异常, 并有虫袋现象 Reduced hatchability, gonad structure abnormality, bag of worms	[42]
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	N2, <i>km25, km4, nt2033</i>	8×10 ⁷ cells·mL ⁻¹	线虫、细菌共培养 4, 8, 12 和 24 h <i>C. elegans</i> and KP co-cultured for 4, 8, 12 and 24 h	产卵率降低, 并伴有虫袋现象, 性腺发育异常 Reduced brood size, bag of worms, gonadal dysplasia.	[43]

系。导致氧化应激的因素很多,例如活性氧自由基超氧阴离子、羟基自由基以及活性氮自由基一氧化氮、二氧化氮等都会导致氧化应激的产生。文献报道在多种环境物质诱导生殖毒性时,氧化应激在其中起到了一定的作用。在研究 Hg 对线虫造成的生殖毒性时,发现线虫体内的 *Hsp-16.2* 表达量和活性氧物种(ROS)量显著升高,当用维生素 E 预处理后再进行暴露,可以明显缓解由于 Hg 造成的生殖损伤^[45]。*clk-2*、*isp-1* 基因是与氧化损伤呈正相关的基因,*mev-1*、*gas-1* 是与氧化损伤呈负相关的基因,在 Hg 造成线虫生殖缺陷时,*clk-2*、*isp-1* 的表达量增加,而 *mev-1*、*gas-1* 的表达量则减少,由此推测氧化损伤在 Hg 造成线虫生殖缺陷的过程中扮演着很重要的角色。在对溴二苯醚的生殖毒性研究中发现,线虫体内 ROS 水平显著上升,表明氧化损伤对溴二苯醚诱导生殖细胞的凋亡起到了关键作用^[29]。在磷化氢(PH_3)延缓线虫发育的试验中,线虫体内 GSH 的含量显著上升,推测 PH_3 可能是引起氧化损伤而发挥延缓发育的作用,在低浓度的 PH_3 存在时,这种作用可以被体内增加的 GSH 缓解,用 DEM(谷胱甘肽消耗剂)和 PH_3 共同作用于线虫时,发现低浓度的 PH_3 就可以导致线虫发育迟缓,同时线虫体内的 GSH 含量、SOD 活性都发生下降,判断这种结果是由于 DEM 消耗了体内的 GSH,当 PH_3 产生氧化损伤时,线虫丧失了部分抗氧化能力,造成线虫发育迟缓^[46]。这与 Mora 等^[47]之后的研究结果相似,他们发现在线虫的胚胎发育过程中 *gsr-1* 基因是必不可少的,而 *gsr-1* 的作用即是将氧化性谷胱甘肽(GSSH)还原为 GSH 而起到抗氧化作用,避免外源化学物质对胚胎发育产生影响。Du 等^[28]通过 JC-1 染料检测发现,硫丹暴露可导致线虫线粒体膜电位异常,此外氧敏感型突变品系 *mev-1* 对硫丹的生殖毒性敏感性更强,都证明了氧化应激是硫丹诱导生殖损伤的机制之一。

4.2 DNA 损伤

DNA 损伤可能会造成生物体基因型的突变,甚至可能会导致某些功能的丧失,更严重的则会直接使个体死亡。环境中的某些化学物质如亚硝酸盐、烷化剂等,以及一些物理因素如紫外线、电离辐射等都被证明会造成 DNA 损伤,从而导致生物学功能及生物体结构的变化。同样 DNA 损伤在线虫的生殖细胞凋亡中起到了关键的作用,已证明在线虫生殖细胞凋亡过程中起作用的基因有 *hus-1*、*mrt-2*、

clk-2、*cep-1* 和 *egl/phg-1* 等^[48],其中 DNA 损伤检验点基因 *hus-1* 发挥着极为重要的作用。对线虫相关基因的研究将会对人类相关疾病的探索起到推动作用。在研究氧化石墨烯(GO)的生殖毒性时发现,其生殖损伤可能是由 GO 诱导 DNA 损伤进而触发下游一系列有关细胞凋亡的信号通路而引起的,并提出了 *hus-1/clk-2-cep-1/p53-egl-1-ced-4-ced-3* 信号级联通路参与 GO 诱导的线虫生殖细胞毒性的分子机制^[24]。Weidhaas 等^[34]在研究辐射引起阴门细胞死亡的过程中也发现,DNA 损伤在其中扮演着重要的角色,但这种损伤引起的细胞死亡可能是与细胞凋亡不同的细胞坏死,通过对 *hus-1*、*clk-2* 和 *cdc-25* 等参与 DNA 损伤反应(DNA damage response, DDR)信号通路的基因突变证明 DDR 途径是保护生殖细胞死亡所必需的。Du 等^[28]利用 *hus-1*、*egl-1* 等基因的突变体发现硫丹暴露后的生殖腺细胞凋亡数量相较于野生型有所下降,这同样证明 DNA 损伤响应通路在硫丹诱导的生殖细胞凋亡过程中起到了重要作用。这种机制在研究溴二苯醚的生殖毒性时也同样被验证,*hus-1* 和 *cep-1* 的突变品系可对溴二苯醚诱导的生殖细胞凋亡起到抑制作用^[29]。

4.3 其他机制

在目前的研究中氧化应激和 DNA 损伤是讨论较广泛的 2 种生殖毒性响应机制,除此以外,内质网应激、MAPK 信号通路以及神经损伤等也有相关报道。内质网是真核生物中蛋白质合成、折叠、组装和运输的重要场所,当外界因素使细胞内质网功能发生紊乱时,未折叠及错误折叠的蛋白质会在内质网内过度积累,此时细胞会激活相关通路引发内质网应激,甚至诱导细胞凋亡。研究人员发现乙肝病毒 LHBsAg、MHBsAg 在诱导秀丽线虫生殖毒性的同时能显著上调与内质网应激有关信号通路基因(*enpl-4*、*hsp-4* 和 *pdi-3*)表达的上调^[41]。而纳米二氧化硅则可能是通过线虫神经系统损伤引起的生殖衰老,因为纳米二氧化硅的作用可以被镇痉剂乙琥胺片所缓解^[22]。MAPK 信号通路是普遍存在于多种生物细胞中的重要信号通路,参与了细胞的分化、生长和凋亡等多种生理过程。*sek-1*、*mek-1* 是 MAPK 信号通路中重要的下游基因,在研究 BDE-3 诱导细胞凋亡时发现,*sek-1*、*mek-1* 的突变对 BDE-3 诱导的凋亡起到抑制作用^[29]。此结果在研究硫丹的生殖毒性时也同样被证明,Wang 等^[49]用硫丹处理 JNK/MAPK 中的 *jnk-1* 突变品系以及 P38/MAPK 途径中

的 *sek-1*、*pmk-1* 突变品系后,发现该突变品系可抑制硫丹诱导的生殖细胞凋亡,表明 *jnk-1*、*sek-1* 以及 *pmk-1* 在硫丹诱导生殖腺细胞凋亡过程中起到了重要作用。陈茜和屠伟峰的^[50]研究表明,MAPK 通路是与氧化应激相关联的,双氧水(H_2O_2)能够刺激细胞产生大量自由基,引起脂质过氧化,用 H_2O_2 处理细胞后,细胞生存能力下降,促进 ERK1/2、JNK1/2 和 p38 的磷酸化,磷酸化是 MAPK 信号通路激活的重要过程。

5 总结与展望 (Summary and prospect)

环境问题已成为 21 世纪每个国家高度关注的问题,解决和预防各种常见及新的环境问题对整个地球和人类可持续发展有着重大的意义。生殖系统是生物繁衍后代的重要系统,生殖系统损伤会严重影响到生物的繁衍,研究外源物质对生殖系统的影响是评价外源物质生物效应的一个重要方面。模式生物秀丽隐杆线虫遗传背景清楚、生命周期短、行为反应模式稳定且易于实验操作,在环境污染物毒理学评价中起到了非常关键的作用。环境因素造成的线虫生殖毒性主要涉及生殖细胞凋亡数的增加、生殖腺发育障碍以及繁殖能力的下降等,并且这种效应一般会随着暴露剂量和时间的增加而增强,甚至某些物质的生殖毒性还会遗传到子代中;在分子水平上,外源物质会诱导细胞内的活性氧水平、GSH 水平以及 SOD 活性等的改变;MAPK 通路、DNA 损伤响应通路等在响应外源污染物诱导的生殖毒性上也发挥着重要作用。然而不同响应机制之间是否存在关联性、幼虫与成虫之间敏感性差异的原因以及污染物的传代效应是否存在有效的缓解方式等问题,都需要在将来的工作中进一步探讨。近年来肠道微生物已被证明与多种疾病的发生发展存在着一定的关联,基于秀丽线虫展开的肠道微生物研究也取得了瞩目的进展,但肠道微生物是否在介导环境污染物诱导的生殖损伤上起到一定作用仍需探究。随着基因编辑技术、高通量筛选技术的发展以及线虫突变株获取的便利性使得基于线虫的生殖毒性研究变得越来越容易,利用秀丽线虫来有效评价环境污染物的生殖毒性将会变得越来越成熟。

通讯作者简介:许安(1971-),女,博士,研究员,主要研究方向为环境毒理学,发表学术论文 40 余篇。

参考文献 (References):

[1] 高伟丽. 我国城市环境污染现状及防治措施[J]. 技术

与市场, 2017, 24(8): 334

[2] 王佩华, 赵大伟, 聂春红, 等. 持久性有机污染物的污染现状与控制对策[J]. 应用化工, 2010, 39(11): 1761-1765

Wang P H, Zhao D W, Nie C H, et al. Current state of pollutions and control countermeasure about persistent organic pollutants [J]. Applied Chemical Industry, 2010, 39 (11): 1761-1765 (in Chinese)

[3] Bhatnagar P, Soni I. Toxic effects of phosphamidon on the testes of Swiss Albino mice [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1990, 45(4): 590-597

[4] Kasahara E, Sato E F, Miyoshi M, et al. Role of oxidative stress in germ cell apoptosis induced by di(2-ethylhexyl) phthalate [J]. Biochemical Journal, 2002, 365(3): 849-856

[5] 杨世娴. 苯系物对女性生殖机能及子代发育影响的流行病学调查[J]. 工业卫生与职业病, 1997, 23(4): 228-229

[6] 朱玉芬, 冯文君, 李书香, 等. 苯对雄性小鼠生殖细胞损伤的研究[J]. 广东药学院学报, 1988(2): 228-230

Zhu Y F, Feng W J, Li S X, et al. Studies of benzene on germ cell damage of male mice [J]. Journal of Guangdong College of Pharmacy, 1988(2): 228-230 (in Chinese)

[7] 万伯健, 浮北利, 姜厚波, 等. 接触铅女工孕期血铅动态及对新生儿体格发育的影响[J]. 中国预防医学杂志, 1995, 29(5): 151-154

Wan B J, Fu B L, Jiang H B, et al. Dynamics of blood lead level in exposed workers and its effects on fetal constitutional development [J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 1995, 29(5): 151-154 (in Chinese)

[8] Lasier P J, Winger P V, Bogenrieder K J. Toxicity of manganese to *Ceriodaphnia dubia* and *Hyalella azteca* [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2000, 38(3): 298-304

[9] Culetto E, Sattelle D B. A role for *Caenorhabditis elegans* in understanding the function and interactions of human disease genes [J]. Human Molecular Genetics, 2000, 9(6): 869-877

[10] Chalfie M, Tu Y, Ghia E, et al. Green fluorescent protein as a marker for gene expression [J]. Science, 1994, 263: 802-805

[11] Hubbard E J, Greenstein D. Introduction to the germ line [J]. WormBook, 2005, 1: 1-4

[12] Corsi A K, Wightman B, Chalfie M. A transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans* [J]. Genetics, 2015, 201(1): 339

[13] 张燕芬, 王大勇. 利用模式动物秀丽线虫建立环境毒物毒性的评估研究体系[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(4): 313-322

- Zhang Y F, Wang D Y. Establishment of toxicity evaluation system using model organism of *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(4): 313-322 (in Chinese)
- [14] Eberhard R, Stergiou L, Hofmann E R, et al. Ribosome synthesis and MAPK activity modulate ionizing radiation-induced germ cell apoptosis in *Caenorhabditis elegans* [J]. PLoS Genetics, 2013, 9(11): e1003943
- [15] 章海波, 骆永明, 李远, 等. 中国土壤环境质量标准中重金属指标的筛选研究[J]. 土壤学报, 2014, 51(3): 429-438
- Zhang H B, Luo Y M, Li Y, et al. Screening of criteria for heavy metals for revision of the National Standard for Soil Environmental Quality of China [J]. Acta Pedologica Sinica, 2014, 51(3): 429-438 (in Chinese)
- [16] Zainab Abbas. 中国大同盆地与巴基斯坦拉合尔地区高砷地下水的形成机理和影响因素对比研究[D]. 武汉: 中国地质大学, 2016: 1-18
- Abbas Z. Occurrence and geochemistry of high arsenic groundwater in Datong Basin, China and Lahore, Pakistan [D]. Wuhan: China University of Geosciences, 2016: 1-18 (in Chinese)
- [17] 曹启民, 王华, 张黎明, 等. 中国持久性有机污染物污染现状及治理技术进展[J]. 中国农学通报, 2006, 22(3): 361-365
- Cao Q M, Wang H, Zhang L M, et al. Contamination of persistent organic pollutants (POPs) and its progress in treatment technology in China [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22(3): 361-365 (in Chinese)
- [18] Guo Y, Yang Y, Wang D. Induction of reproductive deficits in nematode *Caenorhabditis elegans* exposed to metals at different developmental stages [J]. Reproductive Toxicology, 2009, 28(1): 90-95
- [19] 孙娜, 田华, 王蔚, 等. 重金属对秀丽隐杆线虫繁殖的影响[J]. 环境科学研究, 2016, 29(5): 716-723
- Sun N, Tian H, Wang W, et al. Effects of heavy metals on reproduction of *Caenorhabditis elegans* [J]. Research of Environmental Sciences, 2016, 29(5): 716-723 (in Chinese)
- [20] Wu Q, He K, Liu P, et al. Association of oxidative stress with the formation of reproductive toxicity from mercury exposure on hermaphrodite nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Environmental Toxicology & Pharmacology, 2011, 32(2): 175-184
- [21] Wang D, Wang Y. Nickel sulfate induces numerous defects in *Caenorhabditis elegans* that can also be transferred to progeny [J]. Environmental Pollution, 2008, 151(3): 585-592
- [22] Pluskota A, Horzowski E, Bossinger O, et al. In *Caenorhabditis elegans* nanoparticle-bio-interactions become transparent: Silica-nanoparticles induce reproductive senescence [J]. PLoS One, 2009, 4(8): e6622
- [23] Yang Y F, Chen P J, Liao V H. Nanoscale zerovalent iron (nZVI) at environmentally relevant concentrations induced multigenerational reproductive toxicity in *Caenorhabditis elegans* [J]. Chemosphere, 2016, 150: 615-623
- [24] Zhao Y, Wu Q, Wang D. An epigenetic signal encoded protection mechanism is activated by graphene oxide to inhibit its induced reproductive toxicity in *Caenorhabditis elegans* [J]. Biomaterials, 2016, 79: 15-24
- [25] Kong L, Gao X J, Zhu J Q, et al. Reproductive toxicity induced by nickel nanoparticles in *Caenorhabditis elegans* [J]. Environmental Toxicology, 2017, 32(5): 1530-1538
- [26] 孔璐, 唐萌, 王大勇, 等. 不同尺度纳米镍对秀丽线虫的发育毒性[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(4): 623-628
- Kong L, Tang M, Wang D Y, et al. Developmental toxicity of nickel nanoparticles to *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(4): 623-628 (in Chinese)
- [27] Leelaja B C, Rajini P S. Biochemical and physiological responses in *Caenorhabditis elegans* exposed to sublethal concentrations of the organophosphorus insecticide, monocrotophos [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, 94(1): 8-13
- [28] Du H, Wang M M, Wang L, et al. Reproductive toxicity of endosulfan: Implication from germ cell apoptosis modulated by mitochondrial dysfunction and genotoxic response genes in *Caenorhabditis elegans* [J]. Toxicological Sciences, 2015, 145(1): 118-127
- [29] You X, Xi J, Cao Y, et al. 4-Bromodiphenyl ether (BDE-3) induces germ cell apoptosis by induction of ROS and DNA damage in *Caenorhabditis elegans* [J]. Toxicological Sciences, 2017, 157(2): 510-518
- [30] Kumar S, Aninat C, Michaux G, et al. Anticancer drug 5-fluorouracil induces reproductive and developmental defects in *Caenorhabditis elegans* [J]. Reproductive Toxicology, 2010, 29(4): 415-420
- [31] Zhao Y, Lin Z Q, Jia R H, et al. Transgenerational effects of traffic-related fine particulate matter (PM_{2.5}) on nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 274(12): 106-114
- [32] 王云彪, 侯晓丽, 武海涛, 等. PM_{2.5} 对秀丽隐杆线虫的毒性效应[J]. 城市环境与城市生态, 2012, 25(6): 10-13
- Wang Y B, Hou X L, Wu H T, et al. Toxicological exposure effect test of PM_{2.5} using *C. elegans* as a model organism [J]. Urban Environment & Urban Ecology, 2012,

- 25(6): 10-13 (in Chinese)
- [33] Guo X, Bian P, Liang J T, et al. Synergistic effects induced by a low dose of diesel particulate extract and ultraviolet-A in *Caenorhabditis elegans*: DNA damage-triggered germ cell apoptosis [J]. Chemical Research in Toxicology, 2014, 27(6): 990-1001
- [34] Weidhaas J B, Eisenmann D M, Holub J M, et al. A *Caenorhabditis elegans* tissue model of radiation-induced reproductive cell death [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(26): 9946-9951
- [35] Luo J, Shah S, Riabowol K, et al. The *Caenorhabditis elegans* *ing-3* gene regulates ionizing radiation-induced germ-cell apoptosis in a p53-associated pathway [J]. Genetics, 2009, 181(2): 473-482
- [36] Gartner A, Milstein S, Ahmed S, et al. A conserved checkpoint pathway mediates DNA damage-induced apoptosis and cell cycle arrest in *C. elegans* [J]. Molecular Cell, 2000, 5(3): 435-443
- [37] 高艳. 利用模式生物研究毫米波及微波辐射生物效应及医学防护[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2012: 41-51
- [38] Wang L, Du H, Guo X Y, et al. Developmental abnormality induced by strong static magnetic field in *Caenorhabditis elegans* [J]. Bioelectromagnetics, 2015, 36(3): 178-189
- [39] Bojjawar T, Jalari M, Aamodt E, et al. Effect of electromagnetic nanopulses on *C. elegans* fertility [J]. Bioelectromagnetics, 2006, 27(7): 515-520
- [40] 崔美兰, 周海洋, 刘杰, 等. 抗乙肝病毒化学药物研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2012, 39(4): 280-285
Cui M L, Zhou H Y, Liu J, et al. Anti-hepatitis B virus drugs: Research advances [J]. Journal of International Pharmaceutical Research, 2012, 39(4): 280-285 (in Chinese)
- [41] Chen Y Y, Lee L W, Hong W N, et al. Expression of hepatitis B virus surface antigens induces defective gonad phenotypes in *Caenorhabditis elegans* [J]. World Journal of Virology, 2017, 6(1): 17-25
- [42] Geng X, Harry B L, Zhou Q H, et al. Hepatitis B virus X protein targets the Bcl-2 protein CED-9 to induce intracellular Ca^{2+} increase and cell death in *Caenorhabditis elegans* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(45): 18465-18470
- [43] Kamaladevi A, Balamurugan K. Role of PMK-1/p38 MAPK defense in *Caenorhabditis elegans* against *Klebsiella pneumoniae* infection during host-pathogen interaction [J]. Pathogens and Disease, 2015, 73(5): 1-9
- [44] Greenwald I. Introduction to Signal Transduction [M]// Probes for Signal Transduction. Waltham, MA: Thermo Fisher Scientific, 2010: 775
- [45] Wu Q, He K W, Liu P D, et al. Association of oxidative stress with the formation of reproductive toxicity from mercury exposure on hermaphrodite nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2011, 32(2): 175-184
- [46] Leelaja B C, Rajini P S. Impact of phosphine exposure on development in *Caenorhabditis elegans*: Involvement of oxidative stress and the role of glutathione [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2012, 104(1): 38-43
- [47] Mora L J, Saenz N B, Gaffney C, et al. Glutathione reductase *gsr-1* is an essential gene required for *Caenorhabditis elegans* early embryonic development [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 446-461
- [48] O'Neil N, Rose A. DNA Repair [M]. WormBook, 2010: 1-21
- [49] Wang J, Du H, Nie Y G, et al. Mitochondria and MAPK cascades modulate endosulfan-induced germline apoptosis in *Caenorhabditis elegans* [J]. Toxicology Research, 2017, 6(4): 412-419
- [50] 陈茜, 屠伟峰. 氧化应激性肠上皮细胞损伤与 MAPK 信号通路的关系研究[J]. 热带医学杂志, 2011, 11(9): 1004-1006
Chen X, Tu W F. The relationship between the injury-induced oxidative stress in intestinal epithelium cells and MAPK signaling pathways [J]. Journal of Tropical Medicine, 2011, 11(9): 1004-1006 (in Chinese) ◆