

生物标志物及其在环境中的应用

丁竹红, 谢 标, 王晓蓉

(污染控制与资源化研究国家重点实验室 南京大学环境学院, 江苏 南京 210093)

摘 要: 对作为污染物暴露的早期响应的生物标志物进行了简要介绍, 综述了近年来重金属、有机磷农药以及 PAHs 和 PCBs 等有机污染物的生物标志物的最新研究结果, 并探讨了生物标志物在环境中的应用, 指出了生物标志物今后的应用和研究方向。

关键词: 生物标志物; 污染物; 环境; 应用

中图分类号: X131 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0267(2002)05-0465-03

Biomarkers and their Application in Environment Sciences

DING Zhu-hong, XIE Biao, WANG Xiao-rong

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: As early responses indicating exposure to pollutants, the biomarkers have been widely used in environmental sciences. The latest advances of biomarkers on heavy metals, organophosphate, PAHs and PCBs are briefly introduced in this paper. The study and applications of biomarkers in environment are also discussed.

Keywords: biomarkers; pollutants; environment; application

随着进入环境的化学物质的种类和数量的增加, 人类健康受到越来越多的威胁。对这些化学物质的生物效应、环境影响和生态风险进行评价已成为环境科学一个重要的研究内容。传统的生物检测方法和技术所采用的各种指标大多数指示环境因子在个体、种群、群落和生态系统水平上的影响, 虽然具有较高的生态相关性可以反映污染物对生态系统的整体影响, 但个体差异较大, 耗时长, 不能阐明作用机理, 外推不精确, 阐明的是后期效应, 缺乏预警价值。作为指示污染物危害效应的早期生物信号, 生物标志物在早期预测和预报个体水平和个体水平以上的效应, 反映生物体从健康到疾病这一连续谱上的确切位置, 掌握污染物危害发生前生物标志物的情况就可以制定预防性的管理措施, 及时避免或减轻环境污染的危害。

1 生物标志物概述

1.1 生物标志物的定义

生物标志物是生物体受到严重损害之前, 在不同水平(分子、细胞、个体等)上因受环境污染物影响而异常化的信号指标。

在生物标志物的应用中还要对其固有的变化性进行评价, 考虑到生理节奏、生物反应等的固有变化导致的标志物反应的变化性^[1]。作为生物标志物一般必须具有以下一些特性:

(1) 具有一定的敏感性, 生物标志物的敏感性应高于一般生物检测指标。

(2) 反应要有一定的稳定时间, 同时要快速。

(3) 在分子和生化水平上的效应(效应生物标志物)与高级生物学水平上的效应(如生长、繁殖)联系在一起。

(4) 具有一定野外应用价值。

(5) 要求选取对受试生物损害较小的指标, 技术易于掌握。

1.2 生物标志物的分类

一般根据个体从暴露到临床疾病发生的过程的进行把生物标志物分为暴露标志物、效应标志物和易感性标志物。暴露标志物主要测定体内某些外来化合物, 或检测该化学物质与体内内源性物质相互作用的产物, 或与暴露有关的其它指标。效应标记物测定生物机体中某一内源性成分, 指示机体功能所发生的改变, 可进一步分为防护性响应标志物和非防护性响应标志物。易感性生物标志物指示个体之间机体对环境因素影响相关的响应差异, 与个体免疫功能差异和靶器官有关。

2 几类主要污染物的生物标志物

2.1 重金属的生物标志物

2.1.1 金属硫蛋白(MTs)

MTs 为富含半胱氨酸的低分子量蛋白质, 具有调节内源性金属平衡、对重金属污染物解毒、清除自由基和参与某些应激反应的作用, 对于重金属胁迫具有特异性, 其作为重金属尤其是 Cd 暴露的生物标志物已经得到广泛的应用^[2]。鱼体内的 MT

与水环境和体组织中重金属之间有显著的相关性。无脊椎动物体内的 MTs 与鱼体内的不同,但在对重金属 Cd、Cu、Hg、Zn 等的暴露中也都可以明显的检测到 MTs 的变化。Hamza - Chaffai 对蛤的原位重金属暴露研究表明,MTs 与所研究的每种重金属 (Cd、Cu 和 Zn) 都存在正的显著的相关性,并且在考虑所有金属的多元回归中发现 Cd 和 Zn 与 MT 的相关很显著,尤其是 Cd^[3]。对于高等动物,尿 MT 含量还随肾小管重吸收功能受损加剧而升高。因此,MTs 既可以作为重金属胁迫的暴露标志物又可以作为其效应标志物。另外,金属硫蛋白 mRNA (MT—mRNA) 也可以用于代替金属硫蛋白作为重金属暴露的生物标志物。研究表明,0.1—0.5 μ M 的硫酸镉 (CdSO₄) 就可以诱导金属硫蛋白 mRNA^[4]。

2.1.2 抗氧化酶类

抗氧化酶类主要有超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸专一性过氧化物酶 (APX)、谷胱甘肽还原酶 (GR)。重金属离子影响或阻断呼吸链、电子传递链、酶促反应等体内正常生理代谢,导致活性氧自由基增加,从而诱导抗氧化酶类活性增加,故抗氧化酶类也被用作重金属污染的生物标志物。

2.1.3 还原性谷胱甘肽 (GSH)

GSH 可发生 Haber - Weiss 反应,从而可降低羟自由基的形成;GSH - S 转移酶与脂类过氧化物结合利用 GSH 氧化一些过氧化物 (过氧羧酸);还原性谷胱甘肽在 GSH - S 转移酶作用下与毒物结合,降低毒物的毒性。因此,在重金属离子进入生物体后产生氧化胁迫后,除抗氧化酶类被诱导表达外,GSH 含量也会发生变化。在植物体内,GSH 还可形成 ((γ - 谷氨酰 - L - 半胱氨酰)_n - 甘氨酸, $n = 2 - 7$) 结构,其合成可被铜、锌、铅、镉等金属促进,是植物重金属抗性的重要标志物。

2.1.4 外周血清转氨酶

重金属元素沉积于动物肝脏会损伤肝脏细胞,使肝脏中转氨酶释放进入血液,从而外周血清转氨酶活性升高。外周血清转氨酶是肝脏细胞损伤的重要标志,是一种非特异性生物标志物,除重金属外,有机污染物也会引起其活性的升高。

2.1.5 免疫标志物

对免疫功能的抑制可以作为重金属暴露的效应生物标志物。很多研究表明,生命非必需的元素如 Cd、Pb、Hg 的暴露均抑制动物免疫功能,而免疫抑制和生物体抗性的下降之间有很好的相关性。但重金属也具有免疫刺激作用,从而产生自体免疫响应或自体免疫疾病,如 Cd 和 Hg 的慢性暴露可以引起免疫介导的肾小球性肾炎。有报道自体抗体以及相关的免疫响应可以作为 Cd、Hg 等重金属早期毒性响应的有效生物标志物^[5]。Cd 作用于淋巴细胞主要诱导 PBA (B 细胞多克隆活性) 包括 B 细胞增殖形成自体抗体如 ANA、anti - DNA 等的激活,但其作用机制还不是很明显。另外,巨噬细胞也可以作为重金属暴露的非特异性免疫标志物^[6]。目前,重金属的免疫学生物标志物进一步确立和完善仍需对免疫机制进行探索。

2.2 有机磷农药的生物标志物

2.2.1 胆碱酯酶 (ChE)

胆碱酯酶是神经毒性物质如有机磷农药和氨基甲酸酯农药的敏感指标^[7]。其中最突出的就是乙酰胆碱酯酶 (AChE)。乙酰胆碱酯酶主要参与突触的信息传递,目前已被广泛用作有机磷农药极性接触的效应生物标志物。血浆丁酰胆碱酯酶比乙酰胆碱酯酶对有机磷农药更敏感,但丁酰胆碱酯酶的抑制与血或脑中乙酰胆碱酯酶已经中毒状况或体征没有联系,故只作为有机磷类农药接触的暴露生物标志物。

2.2.2 对氧磷酶

对氧磷酶不仅能水解对氧磷,还可水解其它有机磷酸酯、许多芳香族羧酸酯和氨基甲酸酯等,是有机磷农药生物检测的易感性生物标志物^[8]。

2.2.3 烷基磷酸酯

大多数有机磷农药可在体内代谢成为一种及以下的二烷基磷酸酯。这些产物通常可在接触后 24—48 h 内在尿中出现,可作为有机磷农药的生物检测的暴露标志物。烷基磷酸酯近期和低水平接触较敏感,但分析复杂。

2.2.4 其它标志

脊柱、脊索等组织的病理变化一般不受生物体自生状态以及正常环境影响,而大多与污染物或不良环境条件有关^[9]。Karen 等在通过毒死蜱 (Chlorpyrifos) 的短期间歇式暴露对低鳃 (*Mummichog*) 的脑乙酰胆碱酯酶和脊柱的发育的研究中,发现低鳃脊柱的伸长长度对毒死蜱的敏感程度较高,建议可以作为有机磷类农药的生物标志物^[10]。蚯蚓的溶酶体中性红保持时间 (NRRT) 也被建议作为土壤有机磷酸酯农药污染的生物标志物。在实验室和半野外试验中,蚯蚓的溶酶体中性红保持时间对毒死蜱和二嗪农两种农药都很敏感,暴露中溶酶体中性红保持时间显著下降^[11]。

2.3 多环芳烃 (PAHs)、多氯联苯 (PCBs) 等的生物标志物

2.3.1 混合功能氧化酶 (MFO)

混合功能氧化酶的活性诱导剂主要有三类:药物诱导剂苯巴比妥型;致癌物诱导剂 3 - 甲基胆蒎型 (主要包括苯并 α 芘等多种 PAH);甾族诱导剂。与细胞色素 P450 相关的混合功能氧化酶活性对 PAHs、PCBs 等有机污染物极为敏感^[12]。鱼肝细胞色素 P4501A1 (CYP1A1) 作为有机污染物的生物标志物已经大量应用于野外现场研究。在鸟类、淡水蟹和野生啮齿动物的调查以及大鼠试验中,CYP1A1 水平及相应酶活性与脂肪中积累的 PCBs 或 TEQ (toxic equivalents) 相关性很好,同时在野生啮齿动物的调查中除 CYP1A1 外,CYP2B、CYP2E1 也受到诱导^[13]。目前在 CYP1A1 的检测中常用的指标有 7 - 羟乙基芘灵正脱乙基酶 (EROD)、苯并芘羟化酶 (BPH) 等。

2.3.2 谷胱甘肽转移酶 (GSTs)

GSTs 存在于所有的动物体中,肝脏是脊椎动物体内 GSTs 的主要存在场所。PAHs、PCBs 均可诱导 GSTs 的表达。哺乳动物以及不同水生动物经 PAH 处理后肝脏 GSTs 活性均有显著升高。

2.3.3 超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化酶 (GPx)

PAHs、PCBs 在生物体内进行转化时,还同时产生氧化还原循环,生成大量活性氧,诱导抗氧化防御系统酶的活性。超

氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等均可作为 PAHs、PCBs 的防护性效应生物标志物。

2.3.4 DNA 加合物

PAHs、芳基胺等经代谢而产生亲电活性产物,与 DNA 链特异位点形成共价加合物。DNA 加合物的产生常导致突变的出现和肿瘤的形成,是化学癌变的初始阶段。DNA 加合物指示了环境中污染物对遗传物质的影响,对于从本质上评价生物在环境胁迫下的健康以及种群的生态变化具有积极意义^[14]。在 PAHs 的暴露中 DNA 加合物作为其标志物已经得到很好的建立。在水生生物检测中 DNA 加合物与 PAHs 暴露的相关性远好于生物有机体中 PAHs 含量与 PAHs 暴露的相关性。另外,血红蛋白(Hb)在一定程度上可替代 DNA 用于加合物的检测。

2.3.5 代谢产物

在 PAHs 的接触暴露中,一些研究者建议采用尿中 1-羟基蒽为其生物标志物^[15]。尿液中污染物及其代谢产物作为暴露生物标志物敏感性高,能够揭示低剂量的接触如尿中苯含量(UB)等^[16,17],在很多情况下可以表征污染物发生分子水平效应之前污染物暴露的情况,但对分析检测要求高,分析方法有待于进一步发展,故还不能广泛应用于污染物暴露的生物检测^[18]。

3 目前生物标志物在环境中的应用及展望

3.1 生物标志物的研究与应用进展

生物标志物作为污染物暴露的早期生物学效应已经在多方面得到发展和应用。

首先,通过生物标志物的研究可以阐明各种污染物的作用机理,确定各种污染物与生物体之间已发生的相互作用,并与生态学效应相联系,从而来研究特定环境问题如种群水平的下降等。

其次,生物标志物检测是有毒污染物的监督和管理、环境质量的监测和评价的有效工具。应用生物标志物进行检测可以在最早期阶段发现污染物的危害,揭示环境的污染情况。多指标体系生物标志物检测的应用可以准确地确定污染物种类及污染程度,为环境质量的检测评价以及有毒污染物的监督和管理提供可靠的资料。在很多研究中,都可以通过生物标志物的调查来了解和确定环境的污染状况。例如,通过植物抗氧化系统酶的检测,来检测空气中二氧化硫、二氧化氮和臭氧的污染状况;通过水体水生生物 P450 酶的检测来了解水体受 PCBs、PAHs 等有机污染物污染的情况。另外,国内近年来已陆续开展用唾液安替比林清除率、血液和唾液咖啡因和灭滴灵清除率、尿液氨基比林排泄率和 D-葡萄糖乙酸排泄率来反映体细胞色素氧化酶系统的状态,并已用于检测作业人群对铅、黄磷、硝基苯等毒物的接触^[19]。

最后,生物标志物的检测还是风险评价的有效工具。风险评价包括生态风险评价和环境健康风险评价。风险评价的很多过程都与生物标志物有关,尤其是化学物质的危害评价。危害评价是生物毒性评价概念的拓展,它要研究污染物的作用与受体响应之间的关系。而生物标志物在一般情况下均可以提供化学物质对靶位置的生物有效剂量,并给出定量的评价结

果。在环境健康风险评价中,这些结果往往要比毒性活体实验中得到的分子剂量结果外推到人体的分子剂量要精确得多,如毒物代谢酶的评价以及大分子加合物的检测。对于新的化学物质的风险评价,由于缺乏各种资料,生物标志物检测的应用则显得尤为重要。

3.2 生物标志物的研究方向展望

笔者认为生物标志物研究今后的重点应为:

(1)生物标志物的应用。目前人们研究的重点集中在发展生物标志物,而不是生物标志物的应用,并且对生物标志物的理解缺乏统一的标准,使很多标志物都只能停留在发展阶段而很难应用于实际问题的解决。

(2)复合污染状况下的生物标志物响应的研究。在实际环境中生物有机体主要暴露于复合污染物而非单个化学物质,通过研究复合污染暴露体系下生物标志物响应,并综合考虑生物有机体个体大小、生长发育和性别等对标志物响应的影响,将会大大提高标志物在指示实际环境中暴露和效应的准确性和灵敏度,使标志物检测能更准确地反映实际环境状况。

(3)多指标检测体系的应用和发展。

(4)生物标志物的生态相关性的阐述。对生物标志物的测定结果与特定环境致变之间的关系进行研究,找出生物标志物的效应与相关种群、群落和生态系统水平效应的直接联系,是生物标志物研究的重要任务之一。

(5)标志物测定的规范化。首先,要对标志物的理解具有统一的标准;其二,要开发出规范统一的测定方法,使来自不同实验室的数据具有可比性;最后,开发出方便检验的试剂盒,降低标志物检测的费用,使之得以推广应用。

参考文献:

- [1] Rice C D, Xiang Y. Immune function, hepatic CYP1A, and reproductive biomarker responses in the gulf killifish, *Fundulus grandis*, during dietary exposures to endocrine disruptors[J]. *Mar Environ Res*, 2000, **50** (1-5): 163-168.
- [2] 王海黎,陶 澍. 生物标志物在水环境研究中的应用[J]. *中国环境科学*, 1999, **19**(5): 421-426.
- [3] Hamza-Chaffai A, et al. The potential use of metallothionein in the clam *Ruditapes decussatus* as a biomarker of in situ metal exposure[J]. *Comp Biochem Physiol C - Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 2000, **127** (2): 185-197.
- [4] Yamada H, Koizumi S. Lymphocyte metallothionein-mRNA as a sensitive biomarker of cadmium exposure[J]. *Ind Health*, 2001, **39**(1): 29-32.
- [5] Motoyasu Ohsawa. Biomarkers for responses to heavy metals[J]. *Cancer Causes and Control*, 1997, **8**: 514-517.
- [6] Fournier M, et al. Phagocytosis as a biomarker of immunotoxicity in wildlife species exposed to environmental xenobiotics[J]. *Am Zool*, 2000, **40**(3): 412-420.
- [7] Willoam F, et al. Basic concept in the occupational health management of pesticide workers[J]. *Toxicology*, 1994, **91**: 15-27.
- [8] 周志俊, 郭红梅. 对氧磷酶及其多态性与意义的研究[J]. *劳动医学*, 1997, **14**(3): 180-182.
- [9] 万 斌. 生态毒理学中生物标志物研究进展[J]. *国外医学卫生学*

(下转第 470 页)