· 实验技术及其应用 ·

敌百虫下调 IRX5 表达促进大鼠肝脏损伤及脂质蓄积

徐梦玲[1,2,3],许永劼[2],张艺琼[2],饶彬阐[1,2,3],陈迪[1,2,3],
朱丽英[1,3],钟银雪[1,3,4],潘卫[1,2,3]

1. 贵州医科大学附属医院,临床检验中心,贵州 贵阳 550004;2. 贵州医科大学附属医院,贵州省产前诊断中心;
3. 贵州医科大学,医学检验学院;4. 贵州医科大学附属医院病理科

摘要:目的 探究敌百虫暴露是否通过下调 IRX5 表达介导肝脏损伤及脂质蓄积。**方法** 将雄性 SD 大鼠随机分为对照、低剂量(10 mg/kg)和高剂量(25 mg/kg)敌百虫灌胃组,染毒 30 天。检测血清肝功能(ALT、AST)与血脂(TG、TC);H&E 与 TUNEL 染色观察肝组织病理与肝细胞凋亡;RT - qPCR、Western Blot 检测炎症、细胞凋亡、脂代谢相关基因及 IRX5 的表达;分子对接预测敌百虫与 IRX5 的结合。体外实验以 HepG2 细胞为模型,确定 200 μM 为亚毒性浓度,分为对照、200 μM 敌百虫处理及 200 μM 敌百虫联合 IRX5 过表达(OE - IRX5)组。油红 O 染色观察细胞内脂滴,CCK - 8 法评估细胞活力,Western Blot 检测脂代谢关键蛋白。**结果** 敌百虫处理组大鼠体重下降($P < 0.001$),血清 ALT、AST、TG、TC 水平明显升高($P < 0.000\ 1$);肝组织出现炎性损伤、肝细胞凋亡增加,脂质代谢相关基因表达上升($P < 0.001$)而 IRX5 表达下降($P < 0.01$)。分子对接表明敌百虫与 IRX5 结合能为 -7.43 kcal/mol。体外实验中,200 μM 敌百虫诱导细胞脂滴蓄积并下调 IRX5($P < 0.05$);过表 IRX5 显著减轻脂质积累,部分恢复细胞活力,并改善脂代谢紊乱。**结论** 敌百虫持续暴露可导致大鼠肝脏损伤与脂质蓄积,其潜在机制涉及 IRX5 表达的下调。

关键词:敌百虫;IRX5;脂质代谢紊乱;细胞凋亡
中图分类号:R114 **文献标志码:**A **文章编号:**1003 - 8507(2026)08 - 1478 - 10
DOI:10.20043/j.cnki.MPM.202512491

Trichlorfon downregulates IRX5 expression to promote hepatic injury and lipid accumulation in rats

XU Meng - ling*, XU Yong - jie, ZHANG Yi - qiong, RAO Bin - chan, CHEN Di,
ZHU Li - ying, ZHONG Yin - xue, PAN Wei

* *Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Clinical Laboratory Center, Guiyang, Guizhou* 550004, *China*

Abstract: Objective To investigate whether trichlorfon exposure induces hepatic injury and lipid accumulation by downregulating IRX5 expression. **Methods** Male SD rats were randomly divided into control, low - dose (10 mg/kg), and high - dose (25 mg/kg) trichlorfon gavage groups and exposed for 30 days. Serum liver function (ALT, AST) and blood lipids (TG, TC) were detected; liver histopathology and hepatocyte apoptosis were observed by H&E and TUNEL staining; RT - qPCR and Western Blot were used to detect the expression of inflammation, apoptosis, lipid metabolism - related genes, and IRX5; molecular docking was performed to predict the binding between trichlorfon and IRX5. In vitro experiments were conducted using HepG2 cells as a model, with 200 μM determined as the subtoxic concentration. Cells were divided into control, 200 μM trichlorfon treatment, and 200 μM trichlorfon combined with IRX5 overexpression (OE - IRX5) groups. Intracellular lipid droplets were observed by Oil Red O staining, cell viability was evaluated by CCK - 8 assay, and lipid metabolism key proteins were detected by Western Blot. **Results** Compared with the control group, the trichlorfon treatment group showed decreased body weight ($P < 0.001$), significantly increased serum ALT, AST, TG, and TC levels ($P < 0.000\ 1$); liver tissue exhibited inflammatory damage, increased hepatocyte apoptosis, upregulated lipid metabolism - related gene expression ($P < 0.001$), and downregulated IRX5 expression ($P < 0.01$). Molecular docking showed that the binding energy between trichlorfon and IRX5 was -7.43 kcal/mol. In vitro experiments, 200 μM trichlorfon induced lipid droplet accumulation and downregulated IRX5 ($P < 0.05$); IRX5 overexpression significantly reduced lipid accumulation, partially restored cell viability, and improved lipid metabolism disorder. **Conclusion** Chronic trichlorfon exposure causes hepatic

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合基础 - ZK[2024]一般 186)
作者简介:徐梦玲(2004—),女,硕士在读,研究方向:肝病
通信作者:钟银雪与潘卫为共同通信作者。钟银雪,E - mail:49778530@qq.com;潘卫,E - mail:313831139@qq.com

injury and lipid accumulation in rats, potentially through downregulation of IRX5 expression. These findings implicate IRX5 as a critical mediator in trichlorfon – induced hepatotoxicity and metabolic disruption.

Keywords: Trichlorfon; IRX5; Lipid metabolism disorder; Apoptosis

有机磷类农药(OrganoPhosPhate – s, OPs)是全球广泛使用的杀虫剂,在发展中国家应用更为普遍[1];敌百虫(Trichlorfon)作为 OPs 的重要成员[2],长期用于多种农业害虫的防治,但其在环境中的持久残留及潜在健康危害日益引发关注[3]。现有研究主要集中于其急性毒性,即通过抑制乙酰胆碱酯酶活性引起神经传递功能障碍[4-5]。然而,长期低剂量敌百虫暴露亦可产生慢性健康危害,包括诱导氧化应激、血液毒性、肝细胞凋亡及干扰血液学参数等[6]。此外,敌百虫在多动物模型中均显示多系统毒性:在家蚕中诱发铁死亡导致生长发育受损,在尼罗罗非鱼中引发氧化应激并伴随肝脏脂质蓄积[7-8]。鉴于肝脏作为药物与毒物代谢的核心器官,极易受到农药暴露的影响[9-10],长期低剂量敌百虫暴露可能与脂肪肝、糖尿病等代谢性疾病的发生发展相关。

近年来,肝脏脂肪代谢紊乱已成为全球范围内日益严重的健康问题。代谢相关脂肪性肝病(Metabolic Dysfunction – Associated Steatotic Liver Disease, MASLD)的全球患病率已高达 25%[11-12]。值得注意的是,除传统的危险因素外(如肥胖、胰岛素抵抗等),环境污染物如农药的暴露,亦被逐渐视为 MASLD 的重要诱因[13-14]。然而,敌百虫扰乱肝脏脂质稳态、进而可能诱发或加剧 MASLD 的具体分子机制,特别是其是否通过影响关键转录调控通路发挥作用,目前尚不明确。Iroquois 同源盒(Irx)基因家族基因编码一类高度保守的同源结构域转录因子,在胚胎发育过程中调控细胞命运决定与组织分化中发挥核心作用。其中,IRX5 是该家族的重要成员,其 DNA 结合结构域在脊椎动物中高度保守,提示其具有重要的生理功能[15]。已有研究发现,IRX5 基因与肥胖密切相关,进一步的功能研究表明,IRX5 在小鼠下丘脑中调控摄食行为及能量代谢[16-17]。本课题组研究发现,转录因子 IRX5(Iroquois homeobox 5)能促进肝癌细胞侵袭迁移以及肝细胞脂质蓄积[18]。提示 IRX5 是肝脏脂质代谢的关键调节因子。尽管现有证据表明 IRX5 是肝脏脂质代谢的重要调节因子,但目前尚不清楚 IRX5 是否参与介导环境毒物(如有机磷农药敌百虫)所致的肝脏脂代谢紊乱。

因此,本研究使用敌百虫水溶剂对大鼠进行长期低剂量干预,重点探究敌百虫是否可能通过调控 IRX5 表达影响肝脏脂质代谢,并且同步构建了体外细胞模型,利用过表达 IRX5(IRX5 overexpression, OE – IRX5)的人肝癌细胞系 HepG2,直接验证 IRX5 在敌百虫诱导肝毒性通路中的功能角色。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　实验用主要药品和试剂　HepG2 人肝癌细胞系由贵州医科大学医学检验中心实验室保存;敌百虫;(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,T108160 – 50 mg,纯度 ≥ 99%);β – actin 抗体(南京巴傲得,AP0063)、Caspase – 3 抗体(武汉三鹰,货号为 19677 – 1 – AP)、Bax 抗体(武汉三鹰,货号为 60267 – 1 – g)及 Bcl – 2 抗体(武汉三鹰,货号为 26593 – 1 – AP);Srebf – 1 抗体、Fasn 抗体、Acc1 抗体(武汉三鹰,货号分别为:66875 – 1 – Ig,10624 – 2 – AP,67373 – 1 – Ig);IL – 6 抗体、IL – 1b 抗体(武汉三鹰,货号分别为:21865 – 1 – AP, 16806 – 1 – AP);IRX5 抗体(Bioss,bs – 9469R);一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(赛维尔,G1507 – 50T);RIPA 高效裂解液、PMSF、5 x LoadingBufer、二喹啉甲酸(BCA)试剂盒、SDS – PAGE 凝胶试剂盒均购于北京索莱宝科技有限公司改良;改良油红 O 染色试剂盒(索莱宝,G1262);逆转录试剂盒以及 TB Green Premix Ex Taq II 试剂盒均购于日本 Takara 公司;PVDF 膜及超敏、ECL 超敏发光试剂购于美国 Millipore 公司;

1.1.2　试验动物与分组　30 只 SPF 级 8 周龄雄性 SD 大鼠饲养于贵州医科大学动物中心,体质量(200 ± 20)g,实验动物生产许可证号为 SCXK(黔)2018 – 0001,饲养环境:温度为 25 ~ 28℃、湿度为 50% ~ 70% 的动物房、明暗交替 12 h/12 h、分 3 ~ 4 只笼中饲养,每日更换垫料,自由进食进水。动物实验通过贵州医科大学动物实验伦理委员会的批准,批准编号为[NO:2304746],并且在实验过程中严格遵循 3R 原则。

1.2　实验方法

1.2.1　动物分组　参考前期基础及文献[19],并结合毒理学亚慢性毒性试验的设计原则,本研究参考敌百虫的急性经口 LD_{50} 值,选取约为 LD_{50} 的 1/20(即 10 mg/kg)作为低剂量组,并设置 25 mg/kg 为高剂量组,以确保在不引起明显急性毒性反应的前提下,能够观察到潜在的生物学效应。染毒周期设定为 30 天,介于典型的亚急性(2 周)与亚慢性(90 天)暴露之间,旨在平衡毒性表型的可检测性与实验可行性。30 只雄性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后,随机分为 3 组(n = 10/组):对照组(每日灌胃等体积 1 × PBS)、低剂量组

(10 mg/kg 敌百虫)、高剂量组(25 mg/kg 敌百虫),连续染毒 30 天。实验结束时,戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉后处死,采集肝组织,部分 -80 ℃保存用于蛋白提取,部分经 10% 中性福尔马林固定用于病理学分析。

1.2.2 大鼠血清肝功能指标检测 腹主动脉采血,血液样本室温静置 30 min 后,4 ℃条件下 3 000 × g 离心 15 min,使用生化分析仪检测各组血清 AST、ALT、TG、TC 水平。

1.2.3 肝脏组织病理学观察 肝组织石蜡切片(4 ~ 5 μm),苏木素染色 5 min,流水冲洗切片表面浮色 1 min,分化液分化 5 ~ 10 s,流水冲洗 10 min,返蓝液返蓝 30 s,伊红染色 5 min,水洗 5 s,85% 及 95% 酒精脱水 5 min,脱水封片后光学显微镜下观察。

1.2.4 肝脏组织 TUNEL 染色 石蜡切片经蛋白酶 K 修复(37°C,15 ~ 30 min)后,按试剂盒说明书加入 TdT 酶与荧光素/dUTP 混合液(50 μl/切片),37°C 避光孵育 60 min。DAPI(1 μg/ml)复染 5 min,抗淬灭封片剂封片[20],荧光显微镜下观察拍照。

1.2.5 肝脏组织 IRX5 免疫组化染色 石蜡切片经 0.3% H_2O_2 甲醇处理 10 min,抗原修复液高压修复 10 min,3% H_2O_2 室温避光孵育 10 min,5% BSA 封闭 30 min。加入 IRX5 一抗(1∶50 稀释)4 ℃孵育过夜,二抗(1∶300 稀释)室温孵育 50 min,DAB 显色,苏木素复染,光学显微镜下观察[21]。

1.2.6 细胞培养与分组处理 HepG2 细胞培养于含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素的 DMEM 高糖培养基中,37 ℃、5% CO_2 饱和湿度培养箱常规培养。IRX5 过表达质粒购自广州艾基生物,按 Lipo8000™转染试剂盒说明书进行转染。

1.2.7 油红 O 染色 HepG2 细胞接种于 6 孔板,分为对照组、200 μM 敌百虫组、200 μM 敌百虫 + OE - IRX5 组,处理 48 h 后,油红 O 染色 10 ~ 20 min,显微镜下观察拍照,Image J 软件计算阳性面积比。置于显微镜下观察拍照,Image J 软件计算阳性面积比。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

Gene	Forward Primer(5'→3')	Reverse Primer(5'→3')
β - actin	GTCTCCTCTCCGGACTTGTG	GGGGTGTTGAAGGTCTCAAA
IRX5	TCTCAAGGCCTGGCTCAATG	GTTGACGAACCAGGTGGACA
Bax	GTCCTCACTGCCTCACTCAC	CTTTCCCCGTTCCCCATTCA
Bcl - 2	CTGGTGGACAACATCGCTCT	GCATGCTGGGGCCATATAGT
Caspase - 3	TGGACTGTGGCATTGAGACA	GCATCGACATCTGTACCAGA
Fasn	GAGCACTGATGAGCACACCT	CCATCAGGTTTCAGCCCCAT
Acc1	CCCCACAGCCCATTACACAT	TCACTGACACGAGTGAAGGC
Srebf - 1	ATGCCATGGGCAAGTACACA	CTGCACACTCAGCCAGGTTA
IL - 6	GCAAGAGACTTCCAGCCAGT	GTCTCCTCTCCGGACTTGTG
IL - 1b	AGCAGCTTTCGACAGTGAGG	CTCCACGGGCAAGACATAGG

1.2.8 RT - qPCR 检测关键指标 Trizol 法提取肝组织总 RNA,逆转录为 cDNA。引物由上海深工公司设计合成(表 1)。反应体系按说明书配制,进行 qPCR 扩增。本研究中各基因引物信息见表 1。

1.2.9 Western Blot 实验检测相关蛋白表达 取 50 mg 肝组织,液氮研磨,加入 1 mlRIPA 裂解液,冰上裂解 30 min,4 ℃ 12 000 × g 离心 15 min,收集上清。BCA 法测定蛋白浓度。蛋白变性后上样,10% SDS - PAGE 分离,湿转至 PVDF 膜经 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,一抗 4 ℃孵育过夜。TBST 漂洗 3 × 10 min。HRP 标记二抗室温摇床孵育 2 h,TBST 洗涤 3 × 10 min。ECL 检测系统进行曝光观察。

1.2.10 蛋白质和小分子对接℃ 使用 SWISS - MODEL 构建 IRX5 同源模型,AutoDock Tools 1.5.7 进行受体预处理,CavityPlus 在线服务器预测结合口袋,AutoDock Vina 1.1.2 进行对接计算,PyMOL 2.5 分析分子间相互作用(氢键、疏水作用等)。

1.2.11 统计分析 使用 GraPhPad Prism 10.1.2 软件进行统计分析,Image J 分析 Western Blot 灰度值。多组间比较符合正态分布和方差齐性者采用单因素方差分析(ANOVA),检验水准 $\alpha = 0.05$。

2 结 果

2.1 敌百虫致使大鼠肝功能损伤 结果显示,敌百虫灌胃处理 30 天后,低、高剂量组大鼠体重分别显著降低($P < 0.001$、$P < 0.000\ 1$),(见图 1A),与对照组相比,敌百虫处理组血清 ALT、AST 活性及 TG、TC 水平均显著升高($P < 0.001$)(见图 1B ~ E),表明敌百虫暴露可导致 SD 大鼠肝功能损伤且破坏脂质代谢稳态。

2.2 各组大鼠肝组织病理学改变情况 H&E 染色结果显示,与对照组相比较,敌百虫组大鼠肝细胞排

列紊乱，部分细胞坏死，坏死区有炎性细胞浸润，肝细胞中产生空泡，实质内也有局灶性单核细胞聚集（见图 2）。

2.3　敌百虫致大鼠肝组织炎症增加　RT－qPCR 和 Western Blot 检测结果显示，与对照组相比，敌百虫组 IL－1b、IL－6 的 mRNA 及蛋白表达水平均显著升高（$P<0.01$）（见图 3）；表明敌百虫暴露可诱导 SD 大鼠肝脏炎症反应。

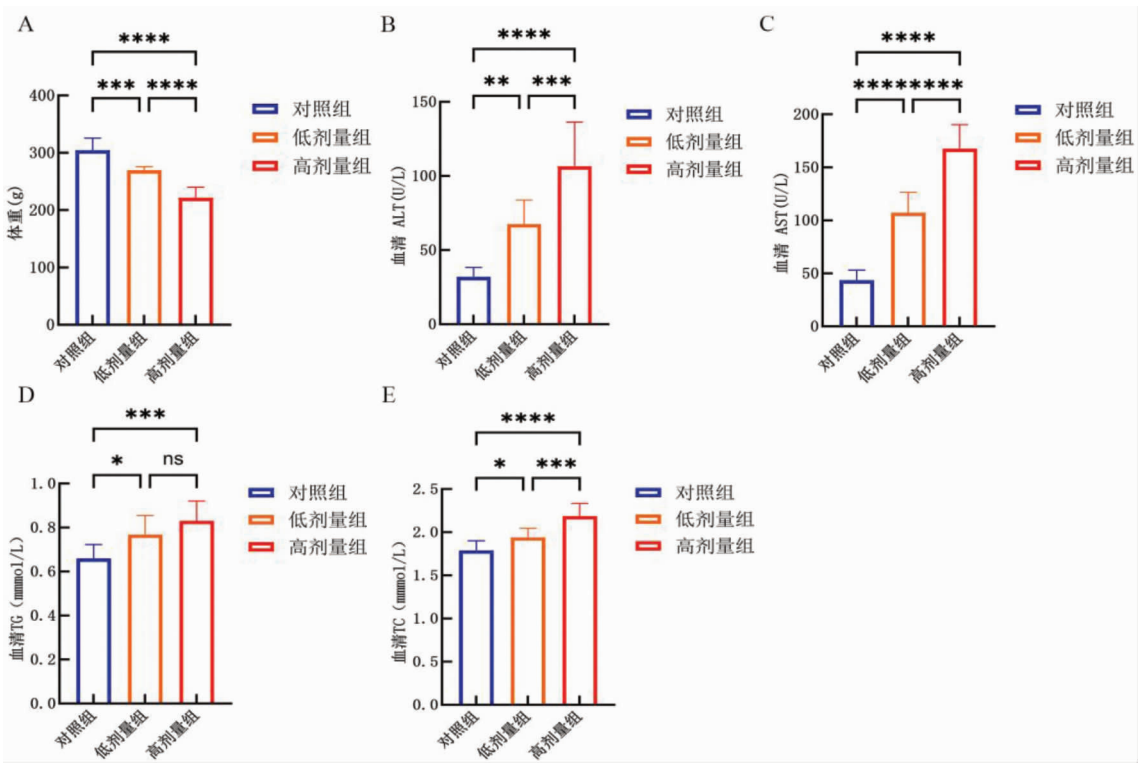
2.4　敌百虫促进肝细胞凋亡　TUNEL 染色显示敌百虫组肝细胞凋亡率增加（见图 4A）。RT－qPCR 和 Western Blot 检测结果显示，敌百虫组 Bax 表达上调及 Bc1－2 表达下调（$P<0.05$），Caspase－3 表达无明显变化（$P>0.05$）（见图 4B～E）；提示敌百虫促进大鼠肝细胞凋亡。

2.5　各组大鼠肝组织脂质蓄积情况　RT－qPCR 结果显示，与对照组相比，敌百虫低剂量组 *Fasn* 表达水平无明显变化（$P>0.05$），敌百虫高剂量组 *Fasn* 表达升高（$P<0.05$）；与对照组相比，敌百虫组 *Acc*1、*Srebf*－1 表达升高（$P<0.001$）（见图 5A）。Western Blot 结果显示，敌百虫各干预组 Fasn、Acc1、Srebf－1 蛋白表达均上升（$P<0.01$）（见图 5B）；表明敌百虫可剂量依赖性地促进肝脏脂肪酸合成关键分子表达，影响脂质稳态。

2.6　敌百虫下调大鼠肝组织 IRX5 表达　免疫组化染色显示，敌百虫组肝脏 IRX5 表达较对照组降低（图 6A），RT－qPCR 和 Western Blot 检测结果一致表明，敌百虫低、高剂量组 IRX5 mRNA 及蛋白表达分别下调（$P<0.01$）（见图 6B～D），提示敌百虫暴露可显著抑制大鼠肝脏 IRX5 表达。

2.7　计算机模拟敌百虫与 IRX5 分子对接情况　分子对接结果显示，敌百虫（CID：5853）可稳定嵌入 IRX5 蛋白结合口袋，结合自由能为－7.43 kcal/mol，提示结合过程具有热力学自发性（图 7）。敌百虫与多个氨基酸残基（ASN166、ARG170、TRP163 等）形成相互作用网络（距离＜4.0 Å），其中 3 个关键氢键对定向结合起主导作用：O4－ASN166（3.04 Å）、O3－ARG170（2.85 Å）、O1－TRP163（3.25 Å）。此外，ALA120、LEU171 等疏水残基及 THR125、ASN119 等极性残基分别通过疏水作用和偶极－偶极相互作用增强复合物稳定性。上述结果表明，敌百虫可通过多种非共价相互作用稳固结合于 IRX5 活性口袋，可能干扰其构象稳定性或转录功能。

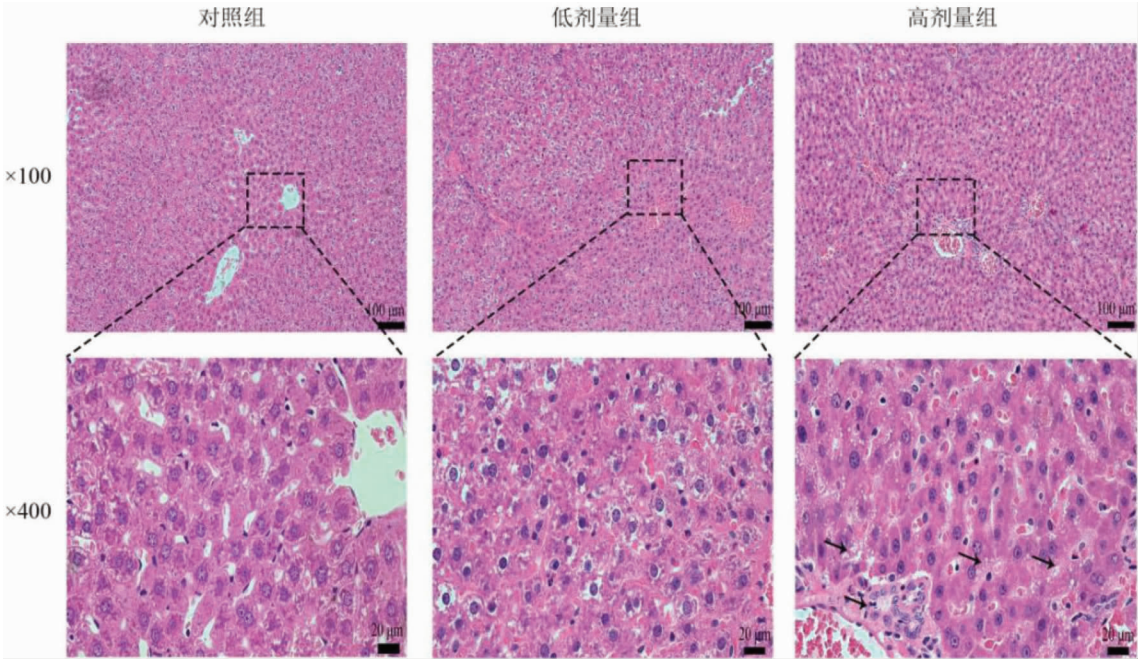
2.8　过表达 IRX5 可改善敌百虫诱导的肝细胞脂质蓄积情况　CCK－8 实验确定 200 μM 浓度敌百虫处



注：A：大鼠体重；B：大鼠血清 ALT；C：大鼠血清 AST；D：大鼠血清 TG；E：大鼠血清 TC；与对照组相比，＊＊＊＊$P<0.0001$，＊＊＊$P<0.001$，＊＊$P<0.01$，*ns*：无统计学意义（$n=3$），下同。

图 1　敌百虫暴露导致大鼠肝损伤及脂代谢紊乱

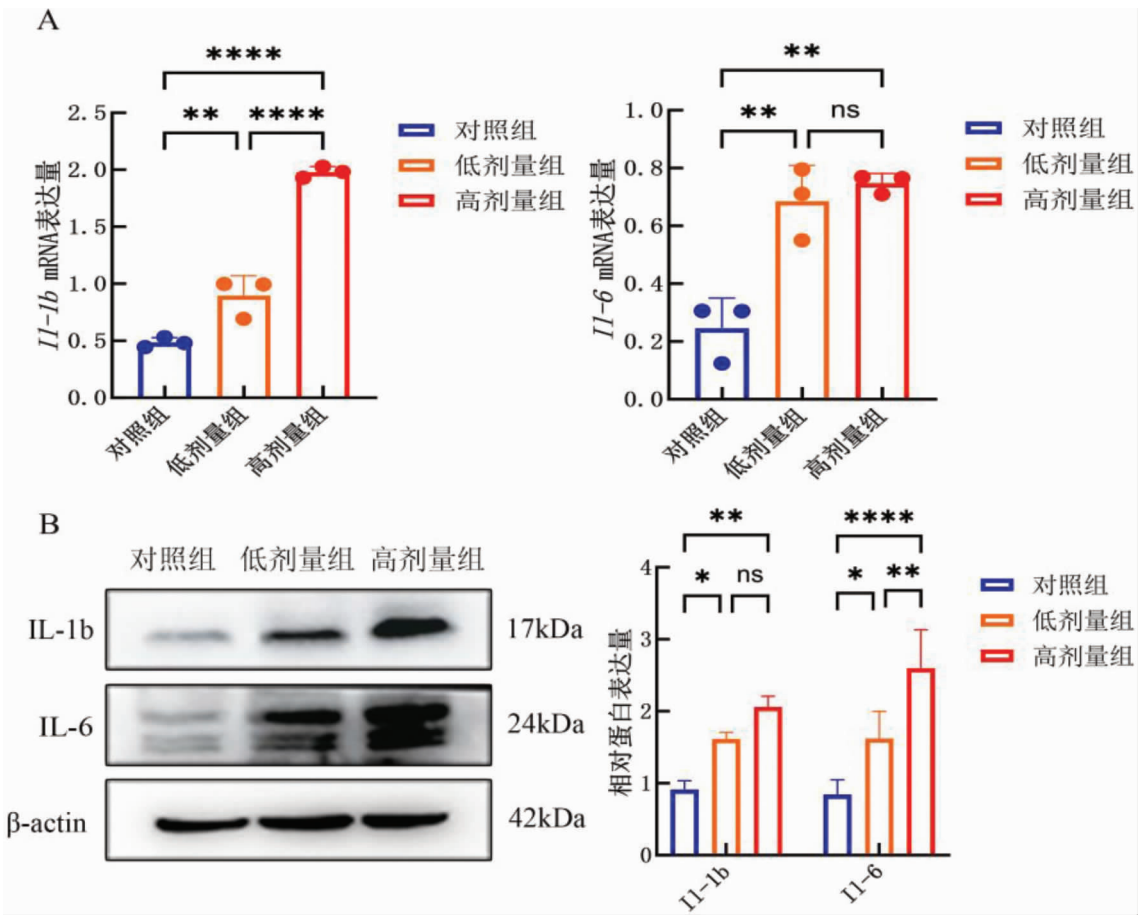
Fig. 1　Trichlorfon exposure induces hepatic injury and lipid metabolism disorders in rats



注:箭头指向的病理变化为炎性细胞浸润以及肝细胞中空泡变性。

图 2　H&E 染色(H&E 染色, ×100, ×400)

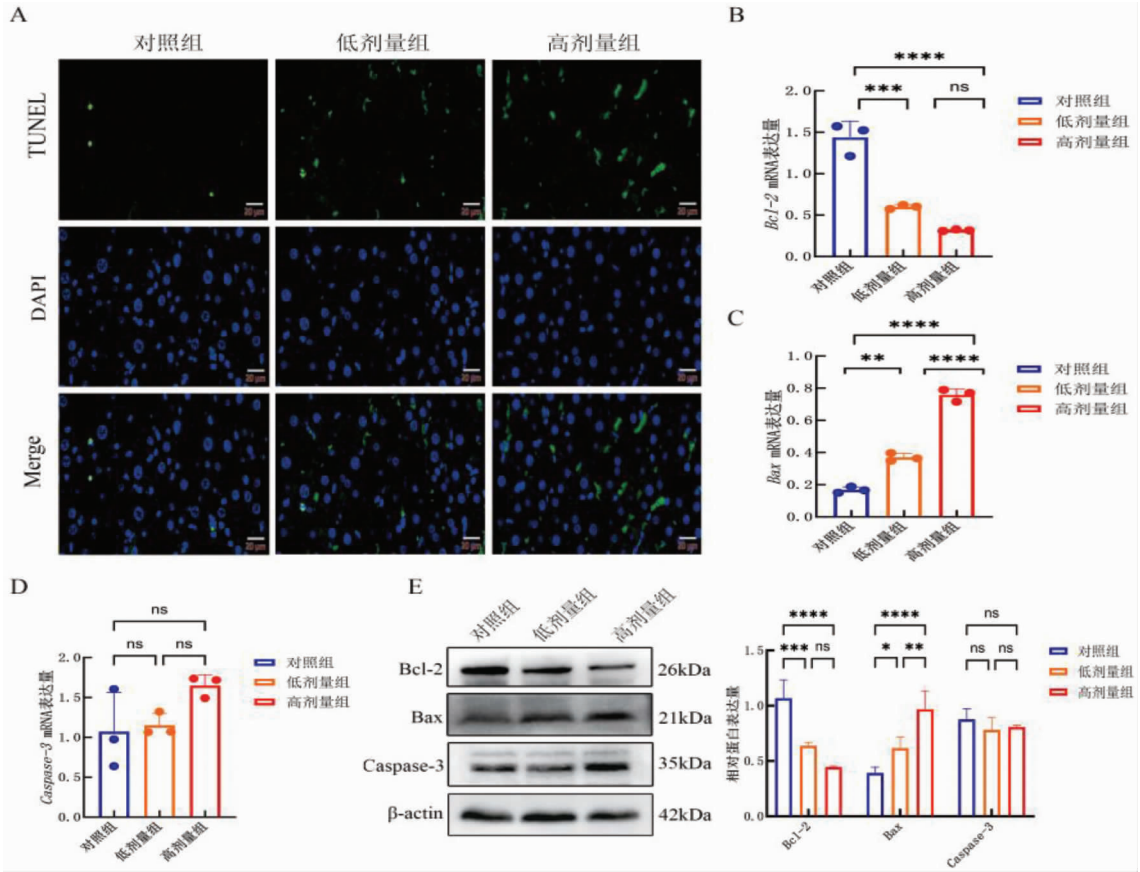
Fig. 2　H&E staining(H&E staining, ×100, ×400)



注:A:肝脏 *Il*-1*b*、*Il*-6 mRNA 表达情况;B:肝脏 IL-1b、IL-6 蛋白表达情况。

图 3　大鼠肝脏炎症因子表达情况

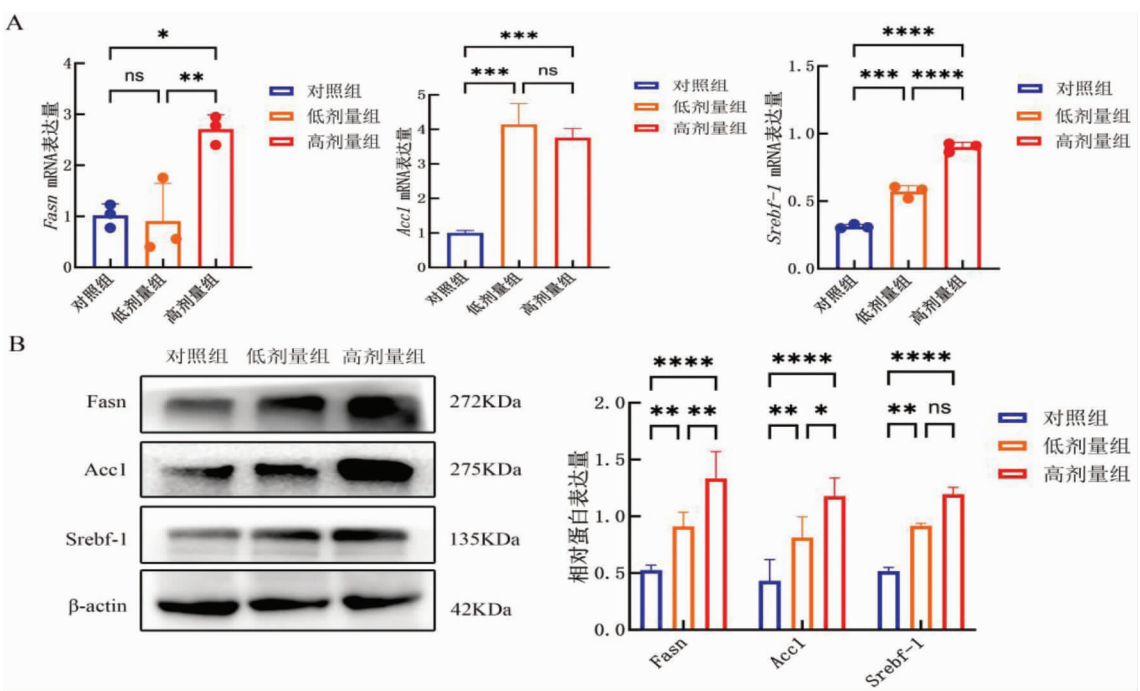
Fig. 3　Hepatic inflammatory factor expression in rats



注：A：TUNEL 染色（TUNEL 染色，×400）；B、C、D：肝细胞凋亡相关指标 mRNA 表达情况；E：肝细胞凋亡相关蛋白表达情况。

图 4　大鼠肝细胞凋亡情况

Fig. 4　Apoptosis of rat hepatocytes

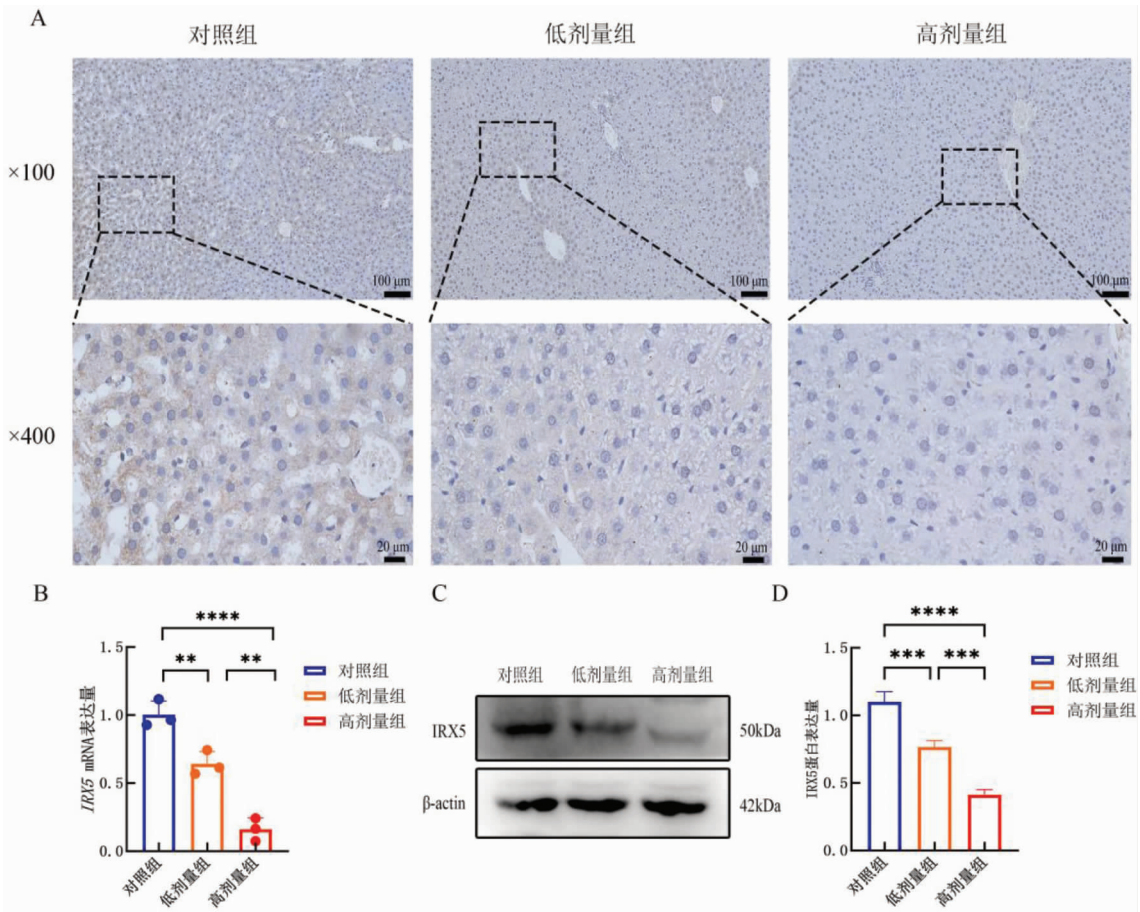


注：A：肝脏脂质相关指标 mRNA 表达情况；B：肝脏脂质相关蛋白表达情况。

图 5　大鼠肝脏脂质相关指标表达情况

Fig. 5　Expression of lipid – related molecules in the rat liver

理 HepG2 细胞 48 h 为亚毒性浓度(见图 8A)。油红 O 染色显示,200 μM 敌百虫组细胞内出现大量脂滴,200 μM 敌百虫 + OE - IRX5 组中脂滴显著减少($P < 0.001$)(见图 8B)。CCK - 8 实验证实,过表达 IRX5 可部分逆转敌百虫引起的细胞活力下降(见图 8C)。Western blotting 结果表明,200 μM 敌百虫组组 IRX5 蛋白表达显著降低($P < 0.05$),Fasn、Acc1、Srebf - 1 的表达显著上升($P < 0.01$),过表达 IRX5 后,Fasn、Acc1、Srebf - 1 的表达下降($P < 0.01$)(见图 8D),上述结果证实,敌百虫可通过下调 IRX5 诱导肝细胞脂质蓄积,而过表达 IRX5 可逆转这一效应。



注:A:肝组织 IRX5 免疫组化染色(IRX5 染色,×100,×400);B:肝组织 *IRX5* mRNA 表达情况;C:肝组织 IRX5 蛋白表达情况;D:IRX5 蛋白表达统计分析结果。

图 6　大鼠肝脏 IRX5 表达情况

Fig. 6　The expression of IRX5 in rat liver

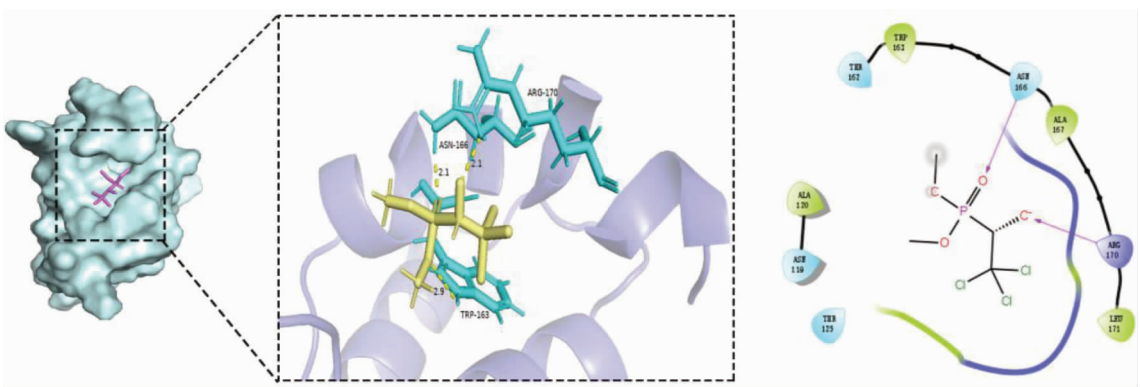
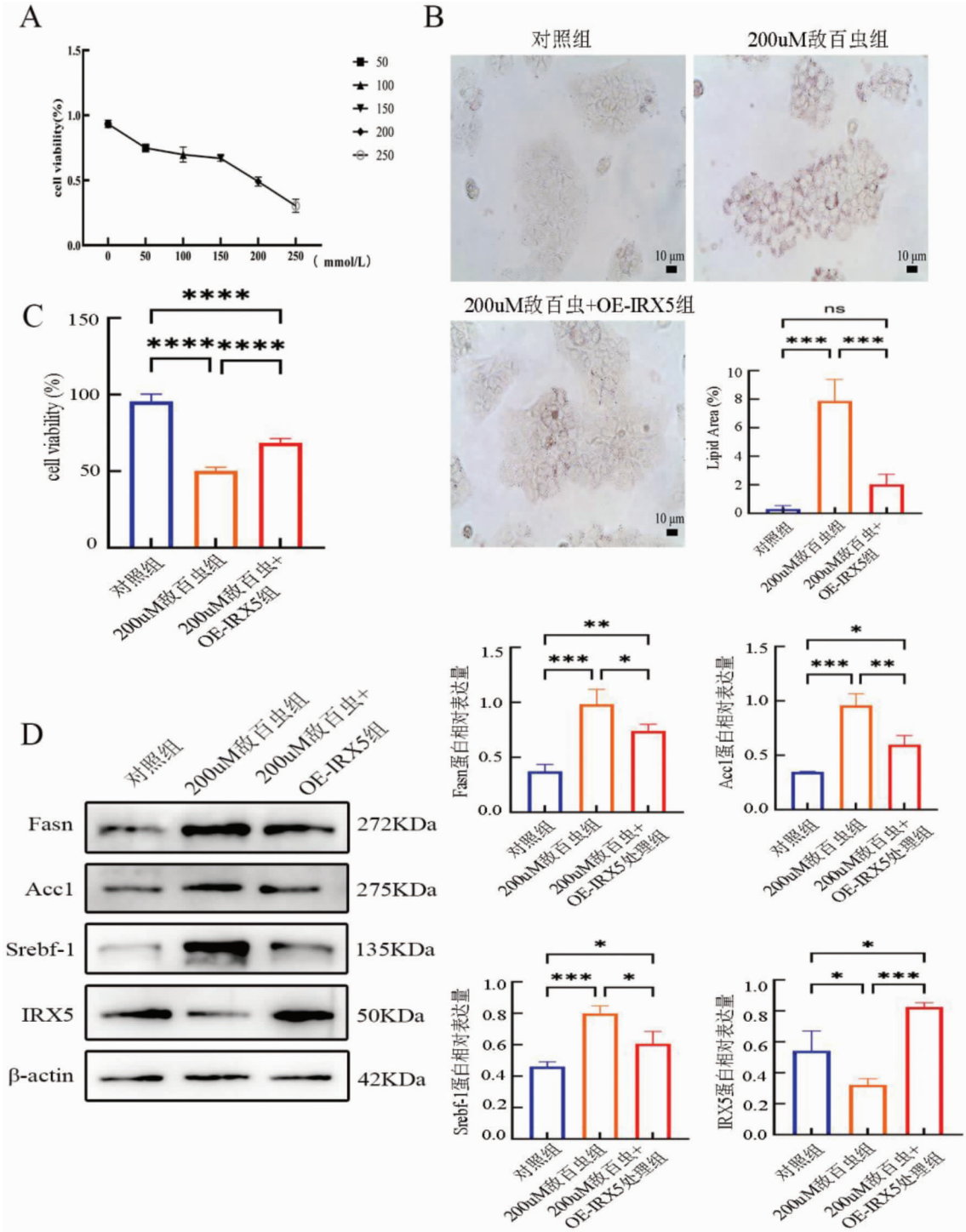


图 7　敌百虫与 IRX5 分子对接情况

Fig. 7　Molecular docking between trichlorfon and IRX5



注：A：敌百虫对 HepG2 细胞活力的影响及实验浓度筛选；B：油红 O 染色检测 HepG2 细胞内脂滴形成（红色）；C：IRX5 过表达可减轻敌百虫诱导的细胞活力下降（IRX5 overexpression，OE－IRX5）。D：Western Blotting 检测 IRX5 及脂质合成关键蛋白（Fasn、Acc1、Srebf－1）的表达水平。

图 8　敌百虫通过下调 IRX5 诱导 HepG2 细胞脂质蓄积

Fig. 8　Trichlorfon induces lipid accumulation in HepG2 cells by downregulating IRX5

3　讨　论

常用农业杀菌剂可通过改变肠道微生物组成并破坏肠道屏障完整性，诱发小鼠肝脏脂质蓄积与炎症反应[22]。揭示了农药通过肠－肝轴诱导肝损伤的潜在机制。农药暴露是 MASLD 的重要环境诱因之一，其中有机磷农药对肝脏脂质代谢的干扰作用日益受到关注[23－24]。此类化学物质可通过损伤线粒体功能和增加活性氧产生，导致肝细胞脂质代谢异常[25]。然而，无论是氧化应激、线粒体功能障碍还是肠－肝轴通讯紊乱，这些上游扰动最终均需通过改变细胞核内基因表达程序，才能实现对脂质代谢通路的长期重

编程。在此过程中,转录因子(Transcription Factors, TFs)为感知内外信号并直接调控基因转录的“分子枢纽”,在此过程中起关键作用。但目前关于有机磷农药暴露如何通过调控转录因子干预肝脏脂肪代谢的研究仍十分有限。

转录因子在环境毒物介导的代谢紊乱中发挥着关键作用。例如,Geng[26] 等发现,IRX5 与 YWHAB 的启动子区域结合并调节其表达,抑制了乳腺癌细胞的迁移和侵袭;Hu[27] 等发现,发现肝巨噬细胞 Atf3 缺失促进视黄醇结合蛋白 4 分泌,通过 STRA6 激活肝细胞 Srebf – 1 依赖的脂质合成通路。以上研究表明,关键转录因子的表达或功能变化可引发特定病理表型。

本研究首次将转录因子 IRX5 与有机磷农药的肝毒性联系起来。体内外实验均显示,敌百虫处理后肝脏及肝细胞中 IRX5 的 mRNA 和蛋白水平显著下调,伴随脂质合成基因上调及脂质蓄积。分子对接结果显示,敌百虫分子能够以中等结合亲和力(– 7.43 kcal/mol)嵌入 IRX5 蛋白推测的 DNA 结合结构域附近。尽管分子对接仅为计算模拟,但它为“敌百虫可能直接或间接干扰 IRX5 蛋白功能”这一假说提供了结构生物学的初步依据。我们推测敌百虫可能通过空间位阻或构象变化削弱 IRX5 的 DNA 结合能力,损害其转录调控活性,最终导致下游脂代谢通路失调。此机制或构成连接农药暴露与代谢性肝病的重要分子桥梁。

本研究仍存在一定局限:剂量设计参考急性 LD_{50} 数据,选取约 1/20 LD_{50} 作为低剂量,染毒周期 30 天,旨在较短时间内建立毒性表型以探索敌百虫与 IRX5 的关联。未来可进一步在原代肝细胞中验证敌百虫对 IRX5 表达的调控机制,通过基因编辑技术构建 IRX5 敲除或过表达的转基因小鼠模型,明确 IRX5 在敌百虫诱导肝损伤和脂质代谢紊乱中的特异性作用。同时结合 ChIP – seq 与转录组学等多组学技术,系统解析敌百虫暴露下 IRX5 的全基因组结合谱及下游调控网络。综上所述,本研究首次揭示 IRX5 在农药毒性中的作用,拓展了其生物学功能认知,为阐明敌百虫致肝脏脂质代谢紊乱的分子机制提供了重要依据。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

[1] Ma Y, Li B, Ke Y, et al. Effects of low doses Trichlorfon exposure on Rana chensinensis tadpoles[J]. Environmental Toxicology, 2019, 34(1): 30 – 36.

[2] Carvalho APC, Silva HCM, Gomes ALS, et al. Effects of trichlorfon on ecotoxicological biomarkers in farmed Colossoma macropomum (tambaqui)[J]. Brazilian Journal of Biology, 2024, 84: e281971.

[3] 刘一芯,石鹏鑫,杜晓莹,等. 菟丝子对敌百虫损伤小鼠睾丸间质细胞的缓解作用[J]. 新农民,2024,(29):54 – 57.
Liu YX, Shi PX, Du XY, et al. Alleviating effect of cuscuta chinensis on trichlorfon – induced injury in mouse leydig cells[J]. New Farmers, 2024, (29): 54 – 57. (In Chinese)

[4] Mousavi SR, Moshiri M, Darchini – Maragheh E, et al. Therapeutic effects of HESA – A (a herbal – marine compound) in acute organophosphorus pesticide poisoning[J]. Avicenna J Phytomed, 2020, 10(3): 235 – 242.

[5] Woo SJ, Chung JK. Effects of trichlorfon on oxidative stress, neurotoxicity, and cortisol levels in common carp, Cyprinus carpio L., at different temperatures[J]. Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology : CBP, 2020, 229: 108698.

[6] Zhang JL, Zhu MZ, Wang QJ, et al. The combined use of Copper sulfate and trichlorfon exerts stronger toxicity on the liver of zebrafish[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(13): 11203.

[7] Rathore SS, Hanumappa SM, Suyani NK, et al. Assessing the impact of dietary Selenium administration on trichlorfon – induced toxicity in Nile tilapia (Oreochromis niloticus) reared in a laboratory – based setup[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2025, 32(31): 18854 – 18875.

[8] Silva H, Matoso DA, Silva A, et al. Toxic impacts of trichlorfon on tambaqui (colossoma macropomum): molecular evidence of oxidative, metabolic and apoptotic stress[J]. Biology – Basel, 2025, 14(12): 15.

[9] Li F, Xiang BB, Jin Y, et al. Hepatotoxic effects of inhalation exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons on lipid metabolism of C57BL/6 mice[J]. Environment International, 2020, 134: 105000.

[10] Heeren J, Scheja L. Metabolic – associated fatty liver disease and lipoprotein metabolism[J]. Molecular Metabolism, 2021, 50: 101238.

[11] Loomba R, Friedman SL, Shulman GI. Mechanisms and disease Consequences of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Cell, 2021, 184(10): 2537 – 2564.

[12] Tan J, Hu R, Gong J, et al. Protection against Metabolic Associated Fatty Liver Disease by Protocatechuic Acid[J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2238959.

[13] Nassir F. NAFLD: Mechanisms, treatments, and biomarkers[J]. Biomolecules, 2022, 12(6): 824.

[14] Wei SL, Wang L, Evans PC, et al. NAFLD and NASH: etiology, targets and emerging therapies[J]. Drug Discovery Today, 2024, 29(3): 103910.

[15] Gómez – Skarmeta JL, Modolell J. Iroquois genes: genomic organization and function in vertebrate neural development[J]. Current Opinion in Genetics & Development, 2002, 12(4): 403 – 408.

[16] Sobreira DR, Joslin AC, Zhang Q, et al. Extensive pleiotropism and allelic heterogeneity mediate metabolic effects of IRX3 and IRX5[J]. Science, 2021, 372(6546): 1085 – 1091.

[17] Son JE, Dou ZC, Wanggou SY, et al. Ectopic expression of Irx3 and Irx5 in the paraventricular nucleus of the hypothalamus contributes to defects in Sim1 haploinsufficiency[J]. Sci Adv, 2021, 7(44): eabh4503.

[18] Zhu L, Xu Y, Huang C, et al. IRX5 promoted SREBP1 – Mediated de Novo fatty acid synthesis via HMGN4 in hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2025, 29(7): e70441.

[19] Ince S, Arslan – Acaroz D, Demirel HH, et al. Taurine alleviates malathion induced lipid peroxidation, oxidative stress, and proinflammatory cytokine gene expressions in rats[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 96: 263 – 268.

[20] 卢虞夫,许永劼,张艺琼,等. 基于敌百虫促进 DNMT3A 表达致空间学习记忆能力下降及海马神经元细胞凋亡[J]. 海南医学院学报,2026,32(1):28 – 36.
Lu YF, Xu YJ, Zhang YQ, et al. DDT promotes DNMT3A expression leading to impaired spatial learning and memory and hippocampal neuron apoptosis [J]. Journal of Hainan Medical University, 2026, 32(1): 28 – 36. (In Chinese)

[21] 黄昶煜东,朱丽英,李程程,等. 大黄素介导 IRX5 抑制脂质新生相关因子减少游离脂肪酸诱导的肝细胞脂滴蓄积[J]. 现代预防医学,2023,50(12):2227 – 2232.
Huang CYD, Zhu LY, Li CC, et al. Emodin – mediated IRX5 inhibits lipogenesis – related factors to reduce free fatty acid – induced lipid droplet accumulation in hepatocytes [J]. Modern Preventive Medicine, 2023, 50(12): 2227 – 2232. (In Chinese)

[22] Meng ZY, Huang SR, Sun W, et al. A typical fungicide and its main metabolite promote liver damage in mice through impacting gut microbiota and intestinal barrier function [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(45): 13436 – 13447.

[23] Yang JS, Park Y. Insecticide exposure and development of nonalcoholic fatty liver disease [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(39): 10132 – 10138.

[24] He BN, Ni YH, Jin YA, et al. Pesticides – induced energy metabolic disorders[J]. Science of the Total Environment, 2020, 729: 139033.

[25] Liu Q, Wang Q, Xu C, et al. Organochloride pesticides impaired mitochondrial function in hepatocytes and aggravated disorders of fatty acid metabolism[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 46339.

[26] Geng X, Yuan J, Xu W, et al. YWHAB is regulated by IRX5 and inhibits the migration and invasion of breast cancer cells [J]. Oncology Letters, 2024, 28(4): 469.

[27] Hu SW, Li R, Gong DX, et al. Atf3 – mediated metabolic reprogramming in hepatic macrophage orchestrates metabolic dysfunction – associated steatohepatitis [J]. Sci Adv, 2024, 10(30): eado3141.

收稿日期:2025-12-29

(上接第 1380 页)

[6] 钱金凤,吴秀珍,汪树铭,等. 苏州市 2002—2006 年疟疾防治效果分析[J]. 热带病与寄生虫学,2007,5(3):150 – 152.
Qian JF, Wu XZ, Wang SM, et al. Analysis on the effect of malaria control from 2002 to 2006 in Soochow city[J]. Journal of Tropical Diseases and Parasitology, 2007, 5(3): 150 – 152. (In Chinese)

[7] 吴秀珍,周靖,苏静,等. 苏州市消除疟疾考核评估结果分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2018,30(6):698 – 701.
Wu XZ, Zhou J, Su J, et al. Analysis of assessment results of malaria elimination in Suzhou City [J]. Chinese Journal of Schistosomiasis Control, 2018, 30(6): 698 – 701. (In Chinese)

[8] 吴秀珍,胡一河. 2007—2012 年苏州市疟疾流行态势[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2013,25(4):435 – 436.
Wu XZ, Hu YH. Epidemic trend of malaria in Suzhou City, Jiangsu Province, China from 2007 to 2012[J]. Chinese Journal of Schistosomiasis Control, 2013, 25(4): 435 – 436. (In Chinese)

[9] 汪树铭. 1992—2006 年苏州市疟疫情分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2007,19(6):3.
Wang SM. Analysis of malaria epidemic in Suzhou City, 1992 – 2006[J]. Chinese Journal of Schistosomiasis Control, 2007, 19(6): 3. (In Chinese)

[10] 周一芳,吴敬之. 苏州市 2006 年疟疾疫情分析[J]. 医学动物防制,2007,23(10):746 – 747.
Zhou YF, Wu JZ. Analysis of current malaria prevalent situation in Suzhou in 2006[J]. Journal of Medical Pest Control, 2007, 23(10): 746 – 747. (In Chinese)

[11] 范志成,李凯杰,程猛,等. 应用圆形分布法分析间日疟发病与媒介按蚊季节特征及其关系[J]. 医学动物防制,2016,32(4):368 – 371.
Fan ZC, Li KJ, Cheng M, et al. Application of circular distribution method to analyze vivax malaria epidemic and vector borne malaria season of anopheles characteristics and their relationships[J]. Journal of Medical Pest Control, 2016, 32(4): 368 – 371. (In Chinese)

[12] 王晓慧,杨洪娟,王洛高,等. 2013—2024 年日照口岸输入性疟疾流行态势分析与防控体系优化[J]. 中国口岸科学技术,2025,7(4):13 – 17.
Wang XH, Yang HJ, Wang LG, et al. Epidemiological analysis and optimization of prevention and control system for imported malaria at Rizhao port from 2013 to 2024[J]. China Port Science and Technology, 2025, 7(4): 13 – 17. (In Chinese)

[13] 王婷,帖萍,白永飞,等. 山西省消除疟疾后 2019—2023 年输入性疟疾流行病学特征分析[J]. 中华流行病学杂志,2024,45(10):1390 – 1395.
Wang T, Tie P, Bai YF, et al. Epidemiological characteristics of imported malaria after malaria elimination in Shanxi Province, 2019 – 2023[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2024, 45(10): 1390 – 1395. (In Chinese)

[14] 毛丽翠,王德正,杨世宏. 2014—2023 年大连市疟疾流行特征分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2025,43(2):286 – 289.
Mao LC, Wang DZ, Yang SH. Epidemiological characteristics of malaria in Dalian City from 2014 to 2023[J]. Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases, 2025, 43(2): 286 – 289. (In Chinese)

[15] 徐文秀,陈芳,刘聪,等. 2010—2023 年武汉市疟疾流行特征分析[J]. 现代预防医学,2024,51(17):3242 – 3247.
Xu WX, Chen F, Liu C, et al. Analysis of malaria epidemic characteristics in Wuhan from 2010 to 2023[J]. Modern Preventive Medicine, 2024, 51(17): 3242 – 3247. (In Chinese)

[16] 刘娣,孟祥凯,梁家冰,等. 山东省日照市 2014—2023 年输入性疟疾疫情流行特征分析[J]. 中国农村卫生,2024,16(7):64 – 67.
Liu D, Meng XK, Liang JB, et al. Analysis of the epidemiological characteristics of imported malaria cases in Rizhao City, ShandongProvince from 2014 to 2023 [J]. China Rural Health, 2024, 16(7): 64 – 67. (In Chinese)

[17] 李丽,侯瑞生,张勤,等. 非洲疟疾对中国的流行病学影响评估[J]. 口岸卫生控制,2017,22(2):30 – 33.
Li L, Hou RS, Zhang Q, et al. Epidemiology assessment of Africa malaria's influence on China[J]. Port Health Control, 2017, 22(2): 30 – 33. (In Chinese)

[18] 胡翰青. 非洲国家疟疾流行病学现状[J]. 热带病与寄生虫学,2012,10(2):111 – 114.
Hu HQ. Current Epidemiological Status of Malaria in African Countries[J]. Journal of Tropical Diseases and Parasitology, 2012, 10(2): 111 – 114. (In Chinese)

[19] 高福. 从流行到消除:中国疟疾控制与预防再传播的实践经验[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2025,36(2):145 – 147.
Gao F. From epidemic to elimination: Practical experience in malaria control in China[J]. Chinese Journal of Vector Biology and Control, 2025, 36(2): 145 – 147. (In Chinese)

[20] World Health Organization. 2024. World malaria report 2024[R]. Geneva: World Health Organization, 2024.

收稿日期:2025-09-27