黄 月,李佳航,常润峰,等.基于多组学与斑马鱼实验的有机磷阻燃剂毒性效应 [J]. 中国环境科学, 2026,46(2):1047-1060.
Huang Y, Li J H, Chang R F, et al. Toxicity effects of organophosphorus flame retardants based on multi omics and zebrafish experiments [J]. China Environmental Science, 2026,46(2):1047-1060.

基于多组学与斑马鱼实验的有机磷阻燃剂毒性效应

黄 月,李佳航,常润峰,余祖康,张宇宁,王慧利,闫 瑾* (苏州科技大学环境科学与工程学院,江苏 苏州 215009)

摘要：通过整合网络毒理学、转录组学及斑马鱼体内实验,探究烷基磷酸酯(TiBP),溴代磷酸酯(TDBPP)和氯代磷酸酯(TCPP)的毒性差异及其分子机制,旨在揭示不同结构有机磷阻燃剂毒性效应.结果表明,卤素的引入影响网络毒理学预测的准确性和全面性,斑马鱼实验进一步证实网络毒理学与转录组学分析结合更能全面反应有机磷阻燃剂的毒性机制.在急性毒性方面,TDBPPLC_{50}最低(922.3μg/L),其次为 TiBP(21.14mg/L)和 TCPP(37.56mg/L).在作用机制方面,3 种化合物通过不同基因-通路网络引发毒性,其中 TDBPP 与 TCPP 因卤素取代基表现出更强的代谢-内分泌干扰,表现为中剂量暴露下,脂质堆积程度较对照组分别升高 1.6 倍和 2 倍.而 TiBP 以神经-免疫毒性为特征.低剂量下,TiBP 的非卤代结构使其对斑马鱼神经传导抑制更敏感表现为对运动能力抑制最强(移动速度和移动距离降幅约 50%).高剂量下,TCPP 的氯原子通过增强受体结合能力,在神经、代谢和免疫多系统表现出优势毒性;TDBPP 的溴代结构虽急性毒性最高,但等毒性剂量下的综合效应弱于 TCPP,可能与其代谢致癌性的时间滞后相关.本研究采用多维度整合策略揭示了有机磷阻燃剂的分子结构对其生物效应的影响.

关键词：有机磷阻燃剂；网络毒理学；转录组学；斑马鱼；结构-毒性关系
中图分类号：X503 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2026)02-1047-14

Toxicity effects of organophosphorus flame retardants based on multi omics and zebrafish experiments. HUANG Yue, LI Jia-hang, CHANG Run-feng, YU Zu-kang, ZHANG Yu-ning, WANG Hui-li, YAN Jin* (The School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China). *China Environmental Science*, 2026,46(2)：1047~1060

Abstract：By integrating network toxicology, transcriptomics, and in vivo zebrafish assays, this study systematically investigated the differential toxicities and underlying molecular mechanisms of an alkyl phosphate (TiBP), a brominated phosphate (TDBPP), and a chlorinated phosphate (TCPP), with the aim of elucidating structure-dependent toxic effects of organophosphate flame retardants (OPFRs). The results showed that the halogens affected the accuracy and comprehensiveness of network toxicology predictions. Zebrafish experiments further confirmed that combining network toxicology with transcriptomic analysis provided a more comprehensive characterization of OPFR-induced toxic mechanisms. In terms of acute toxicity, TDBPP exhibited the lowest LC_{50} (922.3μg/L), followed by TiBP (21.14mg/L) and TCPP (37.56mg/L). Mechanistically, the three compounds elicited toxicity through distinct gene-pathway networks. Owing to their halogen substituents, TDBPP and TCPP showed stronger metabolic and endocrine disruption, as evidenced by a 1.6-fold and 2-fold increase in lipid accumulation, respectively, compared with the control group under medium-dose exposure. In contrast, TiBP predominantly induced neuroimmune toxicity. At low doses, the non-halogenated structure of TiBP rendered zebrafish more sensitive to neuroconductive inhibition, resulting in the strongest inhibition of locomotor ability, with approximately 50% reductions in both swimming speed and distance. At high doses, the presence of chlorine atoms in TCPP enhanced receptor binding ability, resulting in predominant toxicity across the neural, metabolic, and immune systems. Although the brominated structure of TDBPP conferred the highest acute toxicity, its comprehensive effect at equitoxic doses was weaker than that of TCPP, potentially due to a delayed manifestation of metabolism-associated carcinogenicity. Overall, this study employed a multi-dimensional integrative strategy to elucidate how molecular structural features of OPFRs govern their biological effects.

Key words：organophosphate flame retardants；network toxicology；transcriptomics；zebrafish；structure-toxicity relationship

有机磷酸酯阻燃剂(OPFRs)作为溴系阻燃剂的替代品,因优异的阻燃与增塑性能,已广泛应用于塑料、纺织、电子等工业领域[1-2].随着产量与用量增长,其通过工业排放,土壤渗透等途径进入环境,不仅在全球水体中广泛检出[3],还在水生生物、哺乳动物及人体中被发现[3-4],其内分泌干扰、神经毒性及发育毒性已引发学界高度关注.

OPFRs 种类繁多,主要包含烷基、卤代、苯基类磷酸酯等多种类型,结构多样性可能导致其生物活

收稿日期：2025-07-05
基金项目：国家自然科学基金资助项目(22106118)
* 责任作者, 副教授, yanjin@usts.edu.cn

性与毒性效应差异显著,因此系统对比不同结构 OPFRs 的毒性效应及其作用机制具有重要意义.磷酸三异丁酯(TiBP)作为典型烷基磷酸酯,广泛用于石油开采与纺织助剂.在淡水水体、鱼类组织、浮游生物及人体血液中普遍检出[5-8].但其毒性机制仅聚焦于诱发斑马鱼氧化应激及神经异常[9].三(2,3-二溴丙基)磷酸酯(TDBPP)作为具有高阻燃效率的含溴磷酸酯,广泛用于塑料和纤维织物.其双卤代结构可能显著增强其毒性效应,引发环境与健康风险.

在家庭灰尘[10]、河流沉积物[11]、入海口[12]等广泛分布;中国南海北部强调 TDBPP 作为新一代 OPFRs 应优先在华南沿海地区进行监测[13].作为 WHO/IARC 2A 类致癌剂,其致癌性远超其他 OPFRs,代谢产物可能是致突变主因[14-15],但对环境生物的毒性表型与机制研究较少.磷酸三(1-氯-2-丙基)酯(TCPP)作为氯代磷酸酯代表,广泛用于塑料、树脂等材料,是环境中检出频率和浓度最高的 OPFRs 之一.其在我国珠江口[16]、华北入海河流[17]及长沙再生水厂均有检出[18],且能在鱼类、藻类及贝类中富集[19-20].毒理学研究显示,其对斑马鱼成鱼和胚胎具有明显的急性和慢性毒性[21],且亚慢性暴露可引发蚯蚓严重的免疫反应和神经毒性[22].

尽管现有研究揭示了 OPFRs 的部分毒性机制,但传统毒理学方法多聚焦单一终点指标,难以全面揭示 OPFRs 复杂的毒性机制和系统间的相互作用.网络毒理学与生物信息学作为前沿交叉学科,通过多维度整合分析显著提升了毒理学研究效能.网络毒理学基于"化合物-靶点-通路-疾病"多层次网络模型,精准预测毒性作用机制并优化实验验证路径[23];生物信息学依托多组学数据整合与机器学习算法,系统解析毒性相关分子网络并构建预测模型,加速毒性评估进程.基于此本研究结合网络毒理学、生物信息学与斑马鱼模型,挖掘 TiBP,TDBPP,TCPP 的毒性效应及机制,探讨 OPFRs 结构与毒性的关联,为环境风险评估提供科学依据.

1 材料方法

1.1 毒性作用靶基因预测

从 PubChem(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)获取 3 种有机磷阻燃剂 TiBP,TDBPP 和 TCPP 的 3 维结构,借助 Swiss Target Prediction (http://swisstargetprediction.ch/)和比较毒理学数据库(CTD,http://ctdbase.org/)预测作用靶基因.在 Swiss TargetPrediction 中选择物种为 Homo sapiens(人类).对所选有机磷阻燃剂 3D 结构进行对比,推断潜在靶蛋白,再用 Probability Score≥0.1 初筛,排除低结合概率靶标;接着关联斑马鱼同源基因(同源性≥50%+功能一致),剔除结构蛋白、管家基因等非毒性相关基因,最终确定与其毒性相关的靶基因.在 CTD 数据库中检索化合物 CAS 号,选择"Homo"寻找实验性直接关联证据,以 Fisher 精确检验 $P<0.05$(统计显著)进行筛选,保留相关基因.对两个数据库的预测结果去重后取并集,得到最终作用靶基因.

1.2 靶基因的功能分析

运用基因本体论(GO)从生物过程(BP)、细胞成分(CC)、分子功能(MF)3 个层面,对上述筛选得到的 3 种有机磷阻燃剂靶基因进行功能注释.利用 ClusterProfiler 包(4.0.5 版本)对筛选的靶基因进行 GO terms 及 KEGG 通路富集分析,筛选 $P<0.05$ 的显著富集信号通路并将上述结果进行可视化,揭示潜在靶点功能和相关生物学过程.

1.3 转录组数据的获取与分析

为进一步挖掘毒性机制,整合分析 NCBI 数据库(BioProject:PRJNA730648,GEO:GSE169013)TiBP、TDBPP、TCPP 暴露的斑马鱼转录组数据[24].该数据选用野生型斑马鱼胚胎,在 6-48hpf 暴露于 3 种有机磷阻燃剂(暴毒浓度为相应的 EC_{80} 值,4 组生物重复)后,裂解提取 RNA,采用 Direct-zol MiniPrep kit (Zymo Research)纯化 RNA 使用 Agilent Bioanalyzer (安捷伦生物分析仪)检测 RNA 完整性数(RIN)构建文库,Illumina HiSeq 3000 测序.数据经 FastQC 评估,Skewer 修剪 edgeR 分析差异表达.本文通过 DESeq2 筛选差异基因 ($|\log_2 FoldChange|>1$ 且 $padj<0.05$),再经 ClusterProfiler 包进行 GO/KEGG 富集分析($P<0.05$),挖掘毒性相关基因及通路.

1.4 斑马鱼毒性验证

1.4.1 试剂及仪器 试剂:TiBP(CAS:No.126-71-6;>98%),TDBPP(CAS:No.126-72-7;>98%),TCPP(CAS:No.13674-84-5;>98%)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;无水乙醇、1,2 丙二醇购自江苏强盛功能化学股份有限公司;二甲亚砜(DMSO,CAS:

No.67-64-1,99.9%)购自无锡市展望化工试剂有限公司;中性红、苯基硫脲(PTU)均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司.将中性红溶解于 PTU 配置成 3mg/mL 母液,于 4℃保存;改良油红 O(ORO)染色试剂盒和 PBS 粉末均购自北京索莱宝科技有限公司.

1.4.2　斑马鱼胚胎收集和染毒处理　AB 品系斑马鱼购自中科院武汉水生所,饲养温度(28±1)℃,pH 6.8~7.5,采用 14h 光照与 10h 黑暗的光周期.定期对养殖系统消毒清理,每日投喂丰年虾.获取胚胎时,夜间将成年斑马鱼按雌雄 2:2 比例放入产卵盒,次日早晨移除隔板促其产卵,产卵 3h 后收集受精卵,筛选完全受精的胚胎用于实验.急性暴露实验中,将大约每孔 30 个正常胚胎置于含 10mL 暴露溶液的六孔板,分别加入系列浓度 TiBP(0,5,10,20,30,40,50,80mg/L),TDBPP(0,0.01,0.05,0.1,0.2,0.5,1,2mg/L),TCPP(0,5,10,15,20,40,60,80mg/L)暴露 120h,测定 3 种化合物的 LC_{50} 值.浓度梯度设计依据结合预实验结果和已报道的斑马鱼胚胎毒性数据 TiBP (LC_{50},48.85mg/L[9]),TCPP(LC_{50},26.01mg/L[25]) 及 TDBPP (EC_{80},2.06mg/L[24]),覆盖亚致死至近致死浓度范围.对照组和实验组暴露液均含 0.1%DMSO.基于上述 LC_{50} 的 1/16,1/8,1/2 设计后续浓度,用于免疫、脂质和运动行为分析.每天更换暴露溶液,每个浓度设 3 个重复.

1.4.3　中性红染色　斑马鱼幼鱼暴露 72h 后,从每个处理组随机挑选 10 条幼鱼.向六孔板加入工作浓度为 3μg/L 的中性红染液,在 28.5℃恒温黑暗环境中染色 7h.染色结束后,用显微镜(SMZ1500, Nikon, Japan)记录斑马鱼头部巨噬细胞数量.

1.4.4　幼鱼整体油红 O 染　于 1.5mL 离心管中用 4%多聚甲醛分别固定各组随机选取的 20 条 120hpf 的幼鱼,用 PBS 冲洗,1,2-丙二醇渗透后,在新鲜配制的 3%油红 O 染液中染色过夜.染色后的幼鱼用 PBS 冲洗,1,2-丙二醇去背景色后镜检并拍照记录.使用 ImageJ 软件将图像转换为 8 位灰度以测量平均灰度值并对图像强度进行量化,用于定量评估脂质堆积情况.

1.4.5　幼鱼行为学分析　急性暴露 120h 后每个处理组选 8 枚胚胎(一个生物重复)转移到 48 孔无菌培养板置于斑马鱼行为分析仪(Noldus IT,荷兰瓦赫宁根)进行运动行为分析,每组 3 个生物重复和 3 次技术重复.为了检测自由运动,设置采集时间 20min,利用 EthoVision XT software (Noldus IT,Netherlands)软件实时记录斑马鱼幼鱼行为活动,计算 20min 内的移动距离和移动速率.为了分析其光暗节律,各处理组中斑马鱼幼鱼适应黑暗环境 15min 后,设定 10min 光照和 10min 黑暗周期交替循环 3 次,在此期间使用上述软件采集斑马鱼幼鱼在每个周期内的活动轨迹,分析其运动行为的光暗节律.

1.5　数据统计分析

所有采集的实验数据均以至少 3 组生物重复($n\geqslant3$)的(平均值±标准差)表示,并基于 SPSS18.0 软件(美国,Chicago)进行单向方差分析和 Dunnett 检验,以 $P<0.05$(*),$P<0.01$(**)或 $P<0.001$(***)表示显著性水平,以评估各实验组之间的差异.

2　结果与讨论

2.1　网络毒理学和转录组学揭示 TiBP 作用机制

通过 Swiss Target Prediction 和 CTD 数据库的深入挖掘,共得到 TiBP 可能作用的 61 个潜在靶基因.利用 GO 功能富集分析深入解析 TiBP 作用靶基因功能.BP 富集结果表明(图 1(b)),TiBP 作用靶基因主要参与痛觉感知(Sensory perception of pain)、化学突触传递(Chemical synaptic transmission)、异生物质刺激响应(Response to xenobiotic stimulus)等神经调控过程,以及包含 G-蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor signaling pathway)、肾上腺素能受体(Adrenergic receptor signaling pathway)、丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinases)等重要细胞信号传导过程.细胞定位集中于质膜(Plasma membrane)、突触(Synapse)、突触后膜(Postsynaptic membrane)等关键位点.MF 涉及固醇结合(Steroid binding)、多巴胺受体活性(Dopamine receptor activity)、乙酰胆碱结合(Acetylcholine binding),提示其通过调控神经递质相关分子发挥作用.KEGG 富集分析(图 1(c))结果表明,TiBP 作用靶基因显著富集于神经活性配体-受体相互作用(Neuroactive ligand-receptor interaction)、多巴胺能突触(Dopaminergic synapse)、胆碱能突触(Cholinergic synapse)和血清素能突触(Serotonergic synapse)等神经信号传递通路,提示 TiBP 具有神经毒性潜力.此外,靶基因还显著富集于雌激素信号通路(Estrogen

signaling)、类固醇激素生物合成(Steroid hormone biosynthesis)、孕酮介导的卵母细胞成熟(Progesterone-mediated oocyte maturation)等雌激素合成和作用信号通路,提示 TiBP 具有潜在的内分泌干扰作用.

为了验证上述预测结果,分析 TiBP 暴露下的斑马鱼胚胎转录组数据.结果显示,TiBP 暴露分别引起 1703 个基因下调,771 个基因上调(图 1(d)). GO 功能分析显示与预测靶基因一致(图 1(e)),差异基因显著富集于视觉和感官感知(Visual perception, Sensory perception of light stimulus, Sensory perception)相关生物过程,γ-氨基丁酸(GABA)受体复合物(GABA receptor complex)、阴离子跨膜转运体活性(Anion transmembrane transporter activity, Organic anion transmembrane transporter activity)等分子功能. KEGG 分析揭示(图 1(f)~(g)):上调基因显著富集于神经活性配体-受体相互作用(Neuroactive ligand-receptor interaction)与光传导(Phototransduction)等神经传导信号通路,提示 TiBP 可能增强神经信号传导效率,伴随神经兴奋性异常.同时,NF-κB 信号通路(NF-kappa B signaling pathway)、补体/凝血级联反应(Complement and coagulation cascades)与多个病原体感染通路(如军团病(Legionellosis)、单纯疱疹病毒 1 型感染(Herpes simplex virus 1infection)等)的富集提示 TiBP 可诱发免疫激活甚至炎症过度反应.I 型糖尿病(Type I diabetes mellitus)和激素信号通路(Hormone signaling)的富集则预示其对内分泌和糖代谢系统的潜在影响.下调基因则显著富集于脂肪酸代谢(Fatty acid metabolism),类固醇合成(Steroid biosynthesis)等代谢通路,提示脂质代谢与类固醇合成受抑,影响能量稳态.此外,N-聚糖生物显著抑制提示其可能干扰蛋白糖基化修饰,进而影响细胞识别和免疫功能.免疫性疾病(如麻疹(Measles)与 MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway))相关通路的富集进一步支持免疫功能受损的可能性.值得注意的是,部分下调基因同样富集于神经活性配体-受体通路(Neuroactive ligand-receptor interaction)提示该通路可能在不同子通路间呈现双向调控,反映出 TiBP 作用下神经系统复杂的代偿机制.综合靶基因预测与转录组分析结果,TiBP 可能通过激活神经和免疫应答,抑制代谢功能,在短期内调节机体以应对外源性胁迫.然而,这种代偿机制若长期维持,可能导致能量耗竭,免疫失衡及内分泌紊乱,最终诱发慢性炎症、代谢综合征及多器官功能障碍.

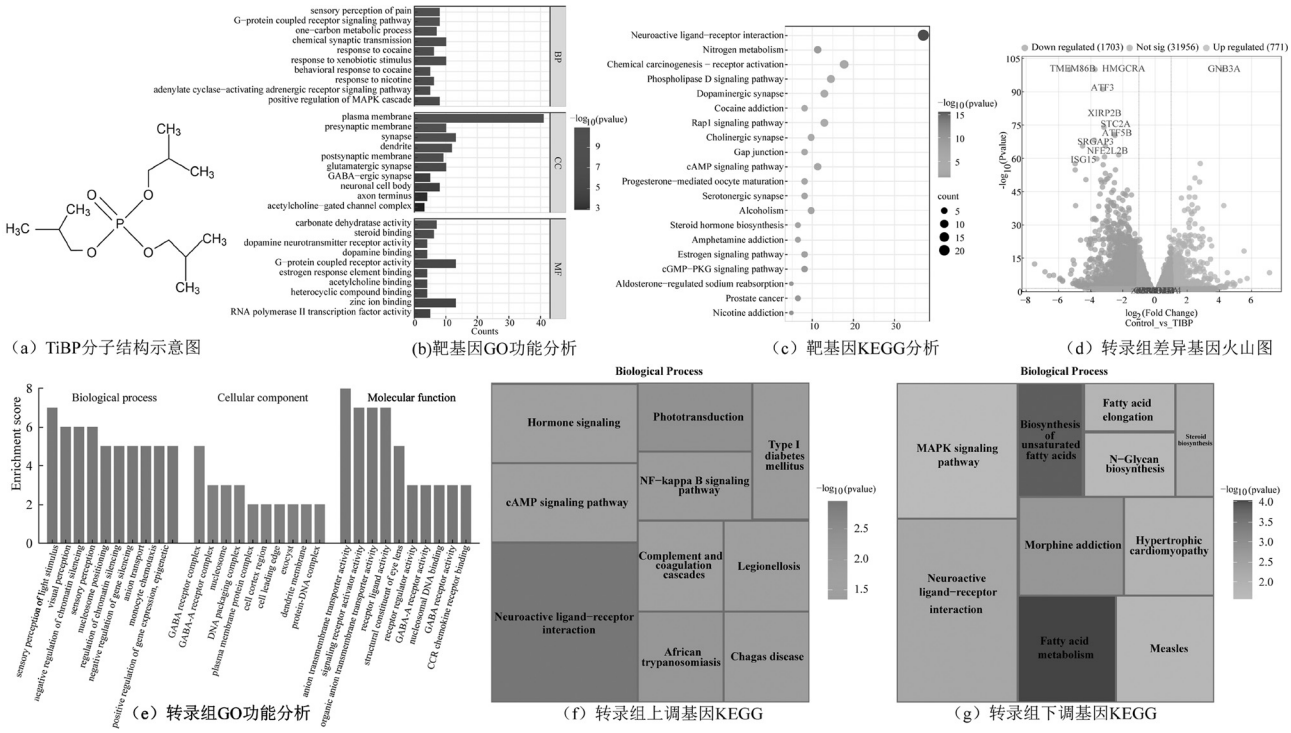


图 1 TiBP 靶基因和转录组生物信息分析

Fig.1 Bioinformatics analysis of TiBP target genes and transcriptomic profiles

2.2　TiBP 对斑马鱼幼鱼的急性毒性

为验证上述分子机制的个体水平表现,建立斑马鱼体内毒性评估系统:将 6hpf 胚胎暴露于 0~80mg/LTiBP 浓度梯度中,监测 0~120hpf 的剂量-死亡率关系.结果显示,幼鱼存活率随浓度和暴露时间增加而降低(图 2(a)),呈剂量与时间依赖性;基于非线性回归得半致死浓度(LC_{50})为 21.14mg/L(图 2(b)).进一步以 1.25mg/L(1/16LC_{50}) 、 2.5mg/L(1/8LC_{50}) 和 10mg/L (1/2LC_{50})暴露至 120hpf,评估其对发育与生理指标的影响.48hpf 时,2.5 和 10mg/L 组孵化率显著降低(P<0.001,图 2(c));72hpf 时,10mg/L 组心率较对照组显著降低(P<0.001,图 2(d));120hpf 时,出现脊柱侧弯(2.5mg/L 组)和游囊未打开(10mg/L 组)等畸形(图 2(e)).120hpf 自主运动显示,与对照组相比,斑马鱼运动速度和距离在各处理组中呈剂量依赖性下降(均 P<0.001,图 2(f)~(g)),表明 TiBP 抑制斑马鱼运动活力,该影响可能与其对神经功能的调控密切相关.斑马鱼幼鱼对光反应强烈,具有明显的光暗节律[26].尽管靶基因预测和转录组分析均提示 TiBP 能够影响斑马鱼的光信号传导途径,然而在光/暗刺激实验中,TiBP 暴露组光暗节律及光照下运动能力未受显著影响,仅暗环境下各浓度组运动距离显著低于对照组(P<0.001,图 2(h)),表明 TiBP 可能通过光传导延迟干扰神经信号传递.转录组数据提示多个与炎性反应相关的信号通路受到 TiBP 调控.利用中性红染色标记 72hpf 斑马鱼巨噬细胞评估其对先天免疫系统的影响.结果显示,在 10mg/LTiBP 暴露组中,幼鱼头部巨噬细胞数量显著上升(P<0.01,图 2(i)),提示高浓度 TiBP 可能激活免疫系统,诱导巨噬细胞增殖或迁移,影响斑马鱼的免疫稳态.与转录组揭示脂肪酸代谢调控一致,油红 O 染色显示暴露组斑马鱼幼鱼在血管、肝脏和卵黄囊中均出现不同程度的脂质堆积(图 2(j)),且定量分析显示,2.5 和 10mg/LTiBP 暴露组脂质部分的集成密度显著高于对照组(P<0.01,P<0.001),说明 TiBP 暴露通过脂肪酸代谢引起斑马鱼体内脂质代谢异常.斑马鱼体内实验进一步证实了 TiBP 暴露能够剂量依赖性地影响斑马鱼神经系统和免疫应答并抑制代谢功能,导致斑马鱼炎症激活,运动行为受损,脂质堆积,最终出现多器官发育障碍(图 2(k)).TiBP 破坏神经递质,氧化应激诱发斑马鱼神经毒性已见报道[9],本研究除了验证其神经毒性外,还发现 TiBP 影响斑马鱼免疫稳态和脂质代谢功能.

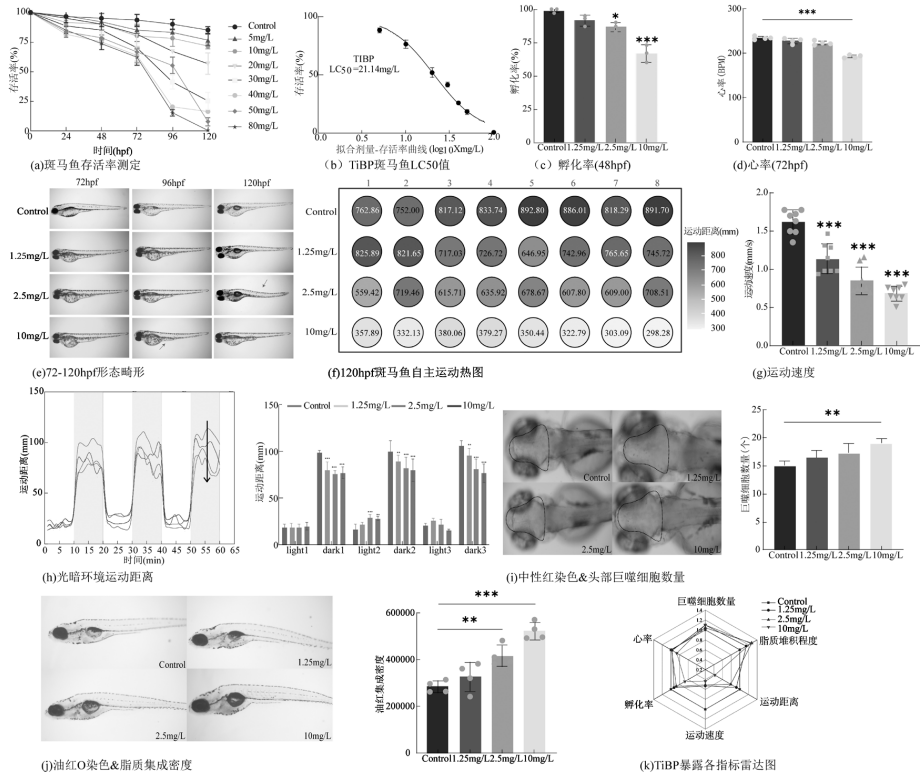


图 2　TiBP 对斑马鱼幼鱼的影响

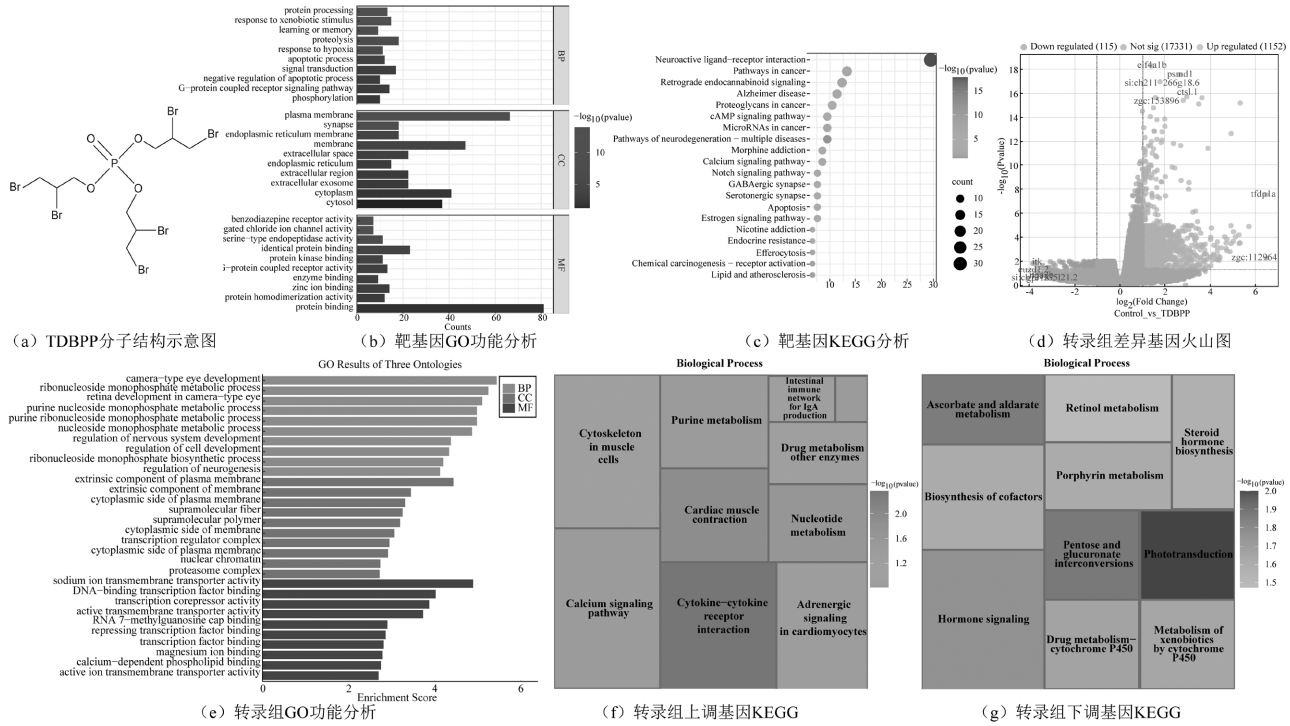
Fig.2　The effect of TiBP on the development of zebrafish larvae

图 h 中,从上到下分别为 control, 1.25, 2.5, 10mg/L

2.3 网络毒理学和转录组学揭示 TDBPP 作用机制

通过 Swiss Target Prediction 数据库和毒理学数据库(CTD)预测,共筛选出 TDBPP 可能作用的 110 个靶基因.GO 功能富集分析显示,TDBPP 作用靶基因主要富集于蛋白水解(Proteolysis)、外源刺激响应(Signal transduction)及学习记忆(Response to xenobiotic stimulus)等关键生物过程,提示其可能干扰细胞代谢调控与神经认知功能(图 3(b)).从细胞定位看,靶基因富集于质膜(Plasma membrane)、突触(Synapse)等信号传导关键位点;分子功能涉及 GABA 门控氯离子通道(GABA-gated chloride ion channel activity)、苯二氮卓受体(Benzodiazepine receptor activity)及丝氨酸内肽酶活性(Serine-type endopeptidase activity)等,进一步证实 TDBPP 靶基因与外界刺激响应、神经系统信号传导功能密切相关.

KEGG 富集分析显示(图 3(c)),TDBPP 靶基因显著富集于神经活性配体-受体相互作用(Neuroactive ligand-receptor interaction)、内源性大麻素信号传导(Retrograde endocannabinoid signaling)、钙信号通路(Calcium signaling pathway)、Notch 信号通路(Notch signaling pathway)、GABA 能突触(GABAergic synapse)、血清素能突触(Serotonergic synapse)等神经调控和信号传导途径,提示 TDBPP 可能靶向神经系统,诱发神经毒性.同时富集于吗啡成瘾(Morphine addiction)、阿尔茨海默病(Alzheimer disease)和多种神经退行性疾病(Pathways of neurodegeneration-multiple diseases)也证实了其可能加速神经元损伤.此外,与其已知致癌性一致[14],靶基因在癌症相关通路(如癌症的发病途径(Pathways in cancer),蛋白多糖在癌症 AMP 信号通路中的作用(Proteoglycans in cancer cAMP signaling pathway),癌症中的微小 RNA (MicroRNAs in cancer))的显著富集,证实其可能参与肿瘤细胞增殖、凋亡及迁移过程.



（a）TDBPP分子结构示意图 （b）靶基因GO功能分析 （c）靶基因KEGG分析 （d）转录组差异基因火山图

（e）转录组GO功能分析 （f）转录组上调基因KEGG （g）转录组下调基因KEGG

图 3 TDBPP 靶基因和转录组生物信息分析

Fig.3 Bioinformatics analysis of TDBPP target genes and transcriptomic profiles

斑马鱼胚胎转录组学分析显示(图 3(d)),TDBPP 处理引起 1152 个基因上调,115 个基因下调.GO 功能分析(图 3(e))表明,差异基因显著富集于眼和视网膜发育(Camera-type eye development, retina development in camera-type eye)及神经系统发育调控(Regulation of nervous system development)等生物过程,且这些基因多分布在质膜(Plasma membrane)等膜结构上.分子功能分析表明,差异基因多富集于钠、镁、钙等离子结合和转运活性(Sodium ion transmemprane transporter activity, Magnesium ion binding,Calcium-

dependent phospholipid binding)、DNA 结合转录因子(DNA- binding transcription factor binding)及转录辅抑制因子活性(Transcription corepress or activity).尽管差异基因和靶基因功能富集不完全一致,但均揭示其对神经调控及外界刺激响应的干扰作用.

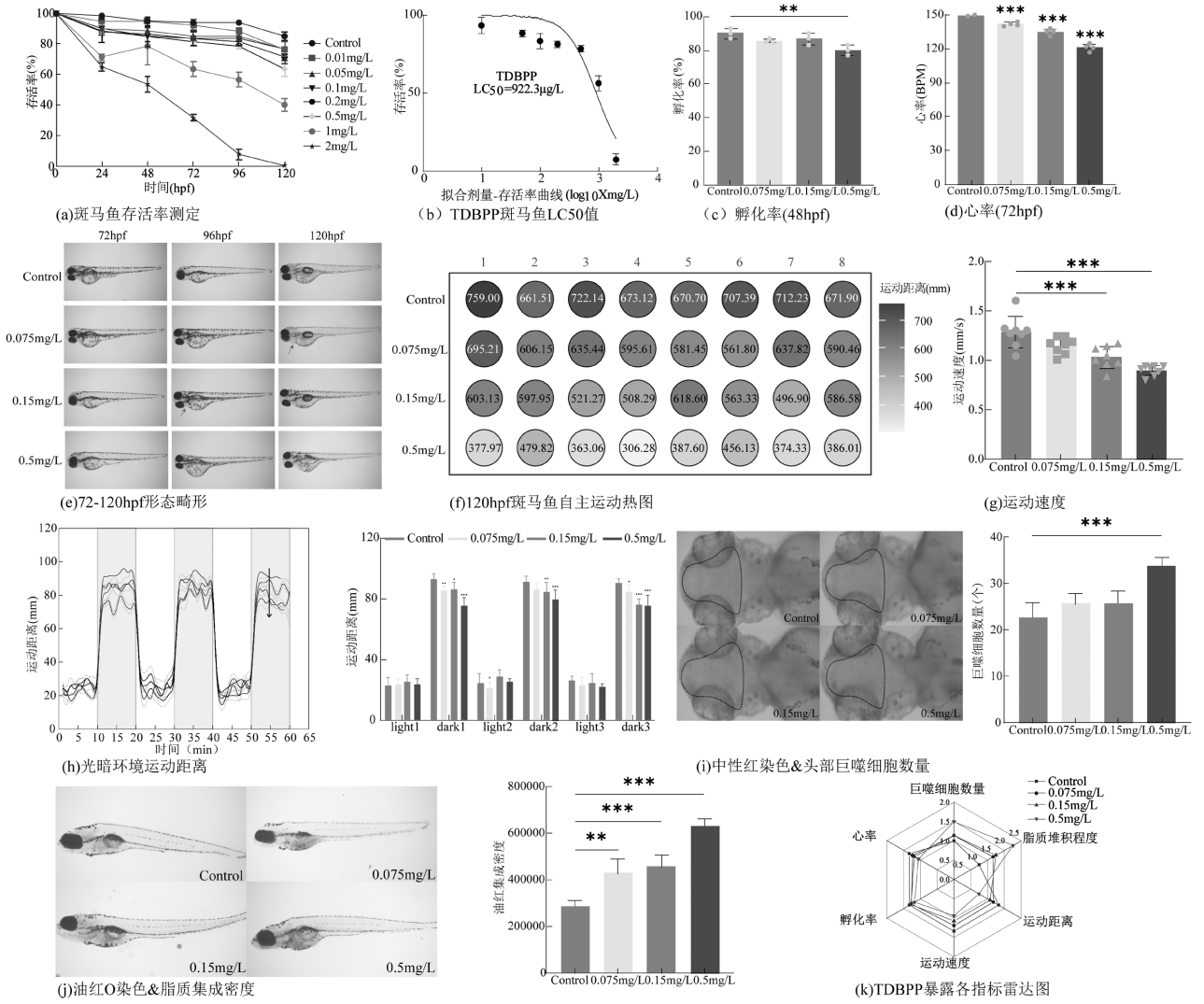


图 4　TDBPP 对斑马鱼幼鱼的影响

Fig.4　The effect of TDBPP on the development of zebrafish larvae

图 h 中,从上到下分别为 control, 0.075, 0.15, 0.5mg/L

KEGG 结果显示(图 3(f)~(g)).上调基因富集于心肌细胞中的细胞骨架(Cytoskeleton)、心肌收缩(Cardiac muscle contraction)、肾上腺素信号传导(Adrenergic signal transduction)和钙信号通路(Calcium signaling pathway),提示其可能影响心肌收缩力与节律.

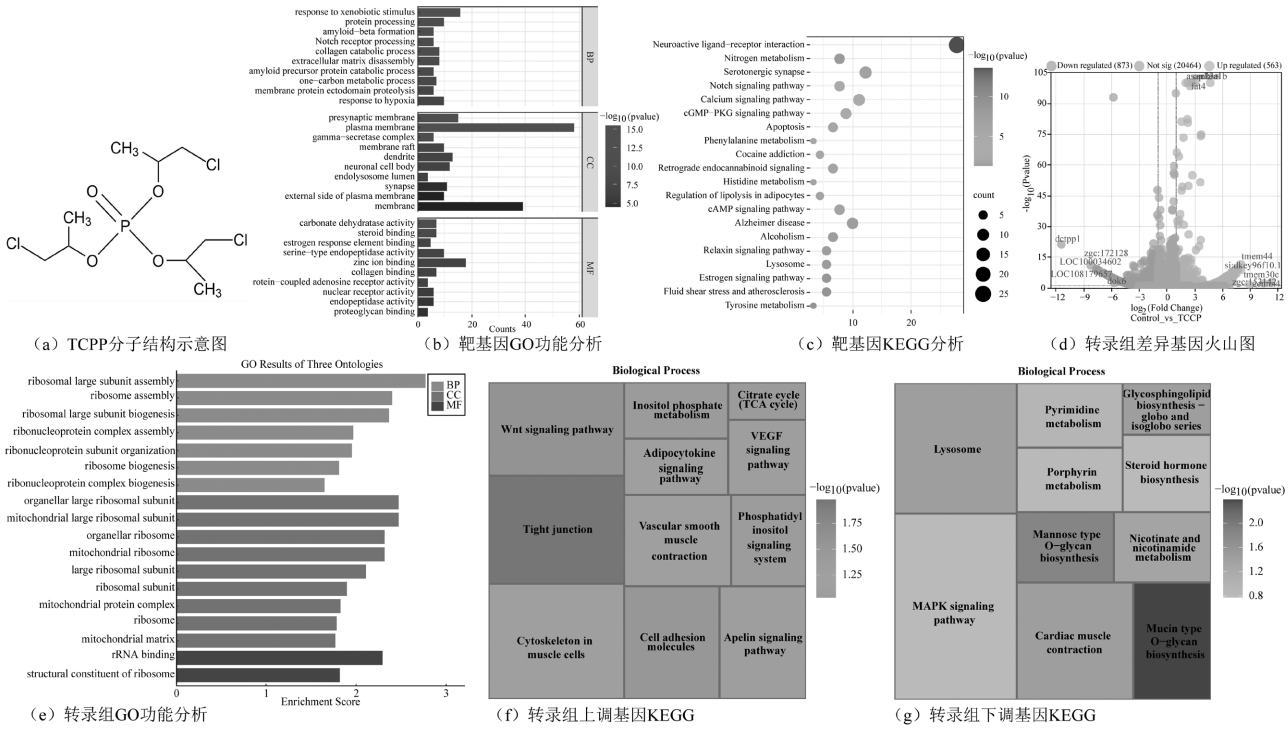
细胞因子-细胞因子受体相互作用(Cytokine-cytokine 而核苷酸代谢(Nucleotide metabolism)、嘌呤代谢(Purine metabolism)等分子骨架通路的富集则提示 DNA 合成和代谢的异常.下调基因集中于抗坏血酸和醛缩酯代谢(Ascorbate and aldarate metabolism)和卟啉代谢(Porphyrin metabolism)等关键代谢途径,提示其可能阻碍血红素合成与能量代谢.光传导(Phototransduction)和视黄醇代谢(Retinol metabolism)通路的富集则提示 TDBPP 可能通过下调光传导通路基因和视觉细胞内的感光物质视黄醇,削弱光信号感知与转化能力,引起视觉功能受损.此外,类固醇激素生物合成(Steroid hormone biosynthesis)、激素信号通路(Hormone signaling)和细胞色素 P450(Cytochrome P450)的下调则证实其潜在内分泌干扰效应.较靶基因集中富集于神经调控和信号传导途径,转录组分析则更全面揭示了

TDBPP 暴露上调心肌细胞信号传导,机体免疫应答和 DNA 合成代谢并下调光信号转导和激素合成传导作用机制.这些上下调通路的协同作用表明,TDBPP 作用下,机体处于一种复杂的应激状态:一方面,通过激活免疫应答、强化心肌信号传导和调整神经系统功能来应对环境刺激;另一方面,抑制关键代谢途径(如能量代谢,激素合成与信号传递)以减少能量消耗.这种状态的长期维持可能导致代谢紊乱、免疫功能失调和神经系统损伤,增加心血管疾病、代谢综合征、神经退行性疾病以及感染性疾病的发病风险.2.4TDBPP 对斑马鱼幼鱼的急性毒性斑马鱼体内毒性评估显示在 0~2mg/LTDBPP 暴露下,斑马鱼存活率随暴露浓度和时间增加显著下降, LC_{50} 拟合结果为 922.3μg/L(图 4(b)).进一步以 0.075mg/L (1/16LC_{50}),0.15mg/L (1/8LC_{50})和 0.5mg/L (1/2LC_{50})暴露 6hpf 胚胎,观察其毒性效应:48hpf 时,0.5mg/L 组孵化率显著降低(P<0.01,图 4(c)); 72hpf 时,0.075mg/LTDBPP 即显著抑制心率,且随浓度升高呈依赖性下降(P<0.001,图 4(d)),与转录组中“心肌细胞信号传导富集”的结果一致;96hpf 时, 0.15mg/L 组出现心包水肿(鱼类发育毒性典型表型),120hpf 高浓度组进一步表现出游囊未打开,卵黄囊肿等畸形,证实其发育毒性(图 4(e)).斑马鱼自主运动结果显示,与对照组相比,运动速度和距离在 0.15 和 0.5mg/L 组中显著降低(P<0.001,图 4(f)~(g)),印证其对神经系统的干扰.虽转录组提示 TDBPP 下调光传导通路,但光/暗刺激实验中,暴露组光暗节律及光照下运动能力未受影响,仅暗环境下各浓度组运动距离较对照组显著降低 (0.15mg/L:P<0.01, 0.5mg/L:P<0.001,图 4(h)),提示其通过引起光传导信号延迟介导行为异常.这些结果均表明 TDBPP 能够干扰斑马鱼的神经系统功能,且这种干扰在复杂的行为层面上具有多方面的表现.转录组分析提示 TDBPP 能够上调机体免疫应答,与此一致的是,高浓度 TDBPP 能显著刺激斑马鱼免疫细胞招募,表现为头部巨噬细胞数量较对照组明显增加(P<0.01,图 4(i)).进一步探究 TDBPP 对脂代谢的影响发现,与对照组相比(图 4(j)),低浓度 TDBPP 暴露组幼鱼即表现出血管、肝脏和卵黄囊不同程度的脂质堆积,并且随着暴露浓度的上升,脂质堆积密度显著增加(P<0.001).虽靶基因和转录组未直接指向脂代谢,但结合马小春团队研究[27]——TDBPP 可干扰肝细胞线粒体功能(线粒体为脂质代谢核心调控者),推测其通过破坏线粒体介导的能量代谢平衡,导致脂质异常蓄积.TDBPP 对斑马鱼毒性报道有限,本研究强调了 TDBPP 通过激活斑马鱼免疫应答,影响心肌信号传导和神经系统功能,抑制关键代谢途径,最终诱导斑马鱼出现心率抑制,神经行为异常和脂质堆积.

2.5 网络毒理学和转录组学揭示 TCPP 作用机制

通过 Swiss Target Prediction 数据库和 CTD 共得到 TCPP 可能作用的 84 个潜在靶基因.靶基因 GO 功能富集分析显示:TCPP 作用靶基因主要参与对外源性刺激的反应(Response to xenobiotic stimulus)、蛋白质加工(Protein processing)、Notch 受体加工(Notch receptor processing)、缺氧反应(Response to hypoxia)等生物过程,提示 TCPP 可能干扰蛋白质成熟与功能,影响细胞适应缺氧环境(图 5(b)).此外,这些靶基因还显著富集在 β 样淀粉蛋白形成(Formation of β-amyloid protein)和代谢过程(Metabolic process),提示 TCPP 具有诱发阿尔兹海默症的风险;细胞定位分析显示,靶基因主要富集在突触前膜(Presynaptic membrane)、质膜(Plasma membrane)等膜结构;MF 分析揭示,靶基因调控丝氨酸型内肽酶活性(Serine-type endopeptidase activity)、锌离子结合(Zinc ion binding),固醇结合和性激素响应元件(Sterol binding ,sex hormone responsive elements)等分子功能.靶基因 KEGG 富集分析(图 5(c))表明 TCPP 作用靶基因显著富集于神经活性配体-受体相互作用(Neuroactive ligand-receptor interaction)、血清素能突触(Serotonergic synapse)以及钙(Calcium signaling pathway)、CGMP-PKG (CGMP-PKG signaling pathway)和 Notch (Notch signaling pathway)等神经信号传导通路.阿尔茨海默病(Alzheimer disease)的富集进一步证实,TCPP 可能通过调控神经信号传导与蛋白质代谢诱发神经退行性疾病.转录组分析显示 TCPP 处理共引起 873 个基因下调,563 个基因上调(图 5(d)).BP 结果显示这些差异基因多富集在核糖体组装和生物发生途径(Ribosomal large subunit assembly, Ribosomal large subunit biogenesis, Ribonucleoprotein complex assembly),MF 和 CC 也显示其主要存在于

核糖体,且在核糖体结构组成(Structural constituent of ribosome)和RNA结合(rRNA binding)发挥重要作用(图 5(e)),表明 TCPP 暴露通过调控核糖体的结构组成影响蛋白质合成.KEGG 通路分析显示(图 5(f)~(g)):上调基因富集于紧密连接(Tight junction)、肌肉细胞骨架(Cytoskeleton in muscle cells)、细胞粘附分子(Cell adhesion molecules)、血管平滑肌收缩(Vascular smooth muscle contraction)、VEGF(VEGF signaling pathway)、Apelin(Apelin signaling pathway)、Wnt(Wnt signaling pathway)和脂肪细胞因子(Adipocytokine signaling pathway)等信号通路,表明其可能调控细胞连接形态、血管生成及细胞信号转导,增强组织修复与应激响应;下调基因则集中在O−聚糖(Mucin type O−glycan biosynthesis, Mannose type O−glycan biosynthesis)、糖脂(Glycosphingolipid biosynthesis)和类固醇激素(Steroid hormone biosynthesis)生物合成,以及嘧啶(Pyrimidine metabolism)、卟啉(Porphyrin metabolism)和烟酸和烟酰胺(Nicotinate and nicotinamide metabolism)代谢途径,提示其通过抑制关键物质合成与代谢,破坏黏膜屏障,能量供应及内分泌稳态.同时,在溶酶体(Lysosome)及 MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)的富集说明 TCPP 可能会通过调控免疫细胞的吞噬降解功能,炎症因子释放及细胞存活信号、协同介导免疫应答的激活与平衡.而心肌收缩(Cardiac muscle contraction)的下调则证实其可能削弱心肌收缩能力,诱发心脏功能障碍.与TDBPP类似,较靶基因集中富集于神经调控和信号传导途径,转录组分析则更全面揭示了 TCPP 暴露靶向蛋白质合成、上调细胞连接和形态、血管生成、重塑与功能活化、细胞信号转导并下调关键物质合成和代谢的作用机制.这些通路的协同作用提示TCPP暴露下机体可能通过增强组织修复能力和对暴露损伤的应激响应,降低 TCPP 对基础功能的抑制,而在机体修复和应激的同时,其黏膜屏障防御、能量供应、心血管泵血功能以及整体代谢稳态却受到了严重损害.长期维持这种失衡将显著增加心血管疾病、代谢性疾病以及功能失调的发生风险.



（a）TCPP分子结构示意图　（b）靶基因GO功能分析　（c）靶基因KEGG分析　（d）转录组差异基因火山图

（e）转录组GO功能分析　（f）转录组上调基因KEGG　（g）转录组下调基因KEGG

图 5　TCPP 靶基因和转录组生物信息分析

Fig.5　Bioinformatics analysis of TCPP target genes and transcriptomic profiles

2.6　TCPP 对斑马鱼幼鱼的急性毒性

与 TiBP 和 TDBPP 的结果类似,在 0~80mg/LTCPP 暴露下,斑马鱼存活率随暴露浓度和时间增加显著下降(图 6(a)),LC_{50} 拟合结果为 37.56mg/L(图

6(b)).分别暴露于 1/16LC_{50}(2.5mg/L), 1/8LC_{50}(5mg/L), 1/2LC_{50}(20mg/L) TCPP 处理 48h 时,孵化率较对照组均显著延迟(P<0.01,图 6(c));与转录组“心肌收缩通路下调”结果一致,72hpf 时所有暴露浓度均显著降低幼鱼心率(P<0.001,图 6(d)),证实其损害心肌收缩功能;120hpf 时, 5mg/L 和 20mg/L 组出现卵黄囊肿,脊椎弯曲等畸形(图 6(e)),提示其干扰胚胎细胞增殖分化及器官形成.

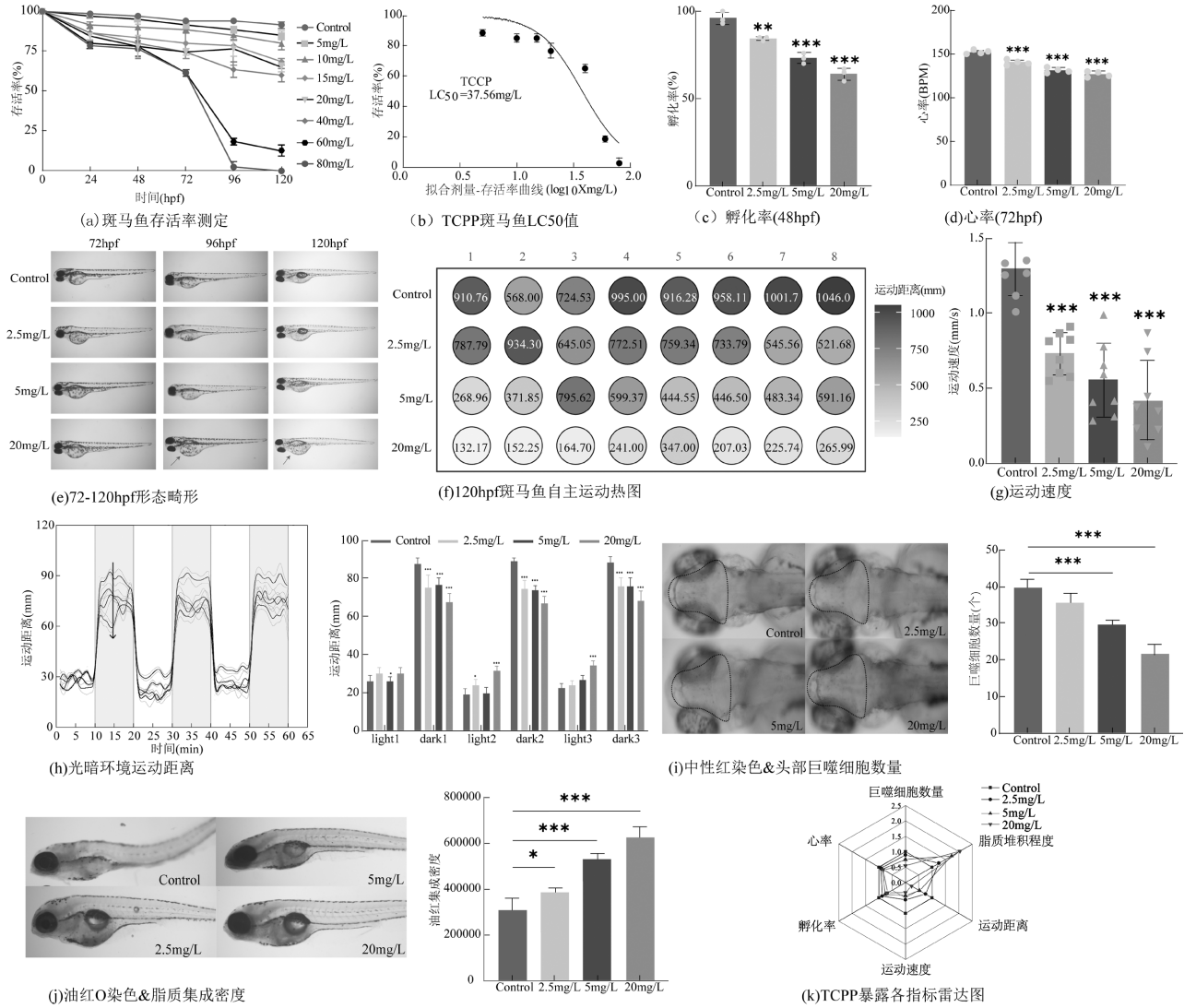


图 6 TCPP 对斑马鱼幼鱼的影响

Fig.6 The effect of TCPP on the development of zebrafish larvae

图 h 中,从上到下分别为 control, 2.5, 5, 20mg/L

斑马鱼自主运动结果显示(图 6(f)~(g)),与对照组相比,所有 TCPP 暴露组幼鱼平均运动速度和运动距离均显著缩短(P<0.001).光暗刺激实验表明,暴露组斑马鱼虽保留光暗节律反应,但 20mg/L TCPP 暴露增加了幼鱼在光照条件下的运动距离(P<0.001).而在黑暗环境下,所有浓度 TCPP 暴露组斑马鱼的运动距离均显著低于对照组(P<0.001,图 6(h)).

运动行为与靶基因富集于多条神经信号通路一致,表明 TCPP 通过干扰神经传导降低斑马鱼的环境感知能力.本文之前的研究也证实 TCPP 暴露通过诱导细胞凋亡和活性氧积累,影响斑马鱼幼鱼感觉和神经系统发育,并通过抑制 AChE 活性和神经递质传递引起成鱼神经行为异常[28].中性红染色显示,随 TCPP 暴露浓度增加,斑马鱼头部巨噬细胞数量显著减少(5 和 20mg/L, P<0.001,图 6(i)),提示 TCPP 破坏了斑马鱼的免疫系统,诱导斑马鱼免疫抑制而非激活.油红 O 染色发现,与对照组相比,TCPP 暴露组幼鱼血管、肝脏和卵黄囊均出现不同程度的脂质堆积,且脂质堆积

密度呈现剂量依赖性增加(2.5mg/L,P<0.05;5 和 20mg/L, P<0.001,图 6(j)).结合靶基因参与固醇结合及性激素响应以及差异基因聚焦到卟啉代谢和类固醇合成通路均提示 TCPP 可能通过内分泌干扰打破脂质代谢平衡.本文之前的研究在幼鱼和成鱼中均发现 TCPP 能够引起脂质代谢障碍,触发氧化损伤和炎症反应[25].总的来说,体内实验进一步证实 TCPP 诱导斑马鱼发育畸形、心率抑制、神经运动障碍、代谢紊乱及免疫抑制,其作用机制与干扰神经信号传导、内分泌调控及关键代谢过程密切相关(图 6(k)).此外,TCPP 对其他环境生物也表现出显著的发育、神经和免疫毒性.如丁国华团队发现 TCPP 引起巨头蝌蚪发育迟缓、呼吸、肝脏和神经功能损伤[29].王友吉团队则发现 TCPP 诱发贻贝氧化应激,影响其呼吸和能量代谢,并破坏其免疫系统[30-31].

2.7　TiBP,TDBPP 和 TCPP 毒性异同的比较

网络毒理学预测能够系统性分析毒性机制,通过整合蛋白互作、代谢通路和计算模型,从化合物的结构出发,以全局的视角揭示化合物对生物网络的影响,预测潜在毒性靶点和关键通路交叉点[32].这种方法适用于早期毒性预测和未知毒性的机制假设生成,但其结果依赖数据库的完整性和后续实验验证.转录组学则通过实验得到高通量基因表达数据提供实证支持,能灵敏检测毒性暴露后的差异表达基因,动态追踪时间依赖性响应,并筛选特异性生物标志物[33].网络毒理学和转录组学的协同应用可形成“假设驱动+数据驱动”的研究闭环,从而更全面解析复杂毒性机制,提升毒理学研究的精准性和可靠性[34].

因相似的结构内核,3 种有机磷阻燃剂表现出相似的毒性效应.相比之下,烷基磷酸酯 TiBP 靶基因预测与转录组分析结果相似性最大,而溴代和氯代磷酸酯 TDBPP 和 TCPP 靶基因预测并不能全面预示其毒性效应和机制,需辅以转录组分析,表明卤素取代基的加入可能影响靶基因预测的准确性和全面性.相较而言,TiBP,TDBPP,TCPP3 种有机磷阻燃剂的预测靶基因表现出较大的相似性(图 7(a)),且溴代和氯代磷酸酯靶基因相似性大于其与烷基磷酸酯.其中有 23 个靶基因为 3 种化合物共有,对这 23 个靶向基因进行 KEGG 分析(图 7(b)),发现这些基因显著富集在氮代谢、神经活性配体−受体相互作用,代谢途径、内源性大麻素逆向信号传导通路上,表明有机磷阻燃剂可能通过代谢−神经偶联机影响能量供应、神经递质动态平衡及突触可塑性.与靶基因结果类似,靶基因富集通路也表现出极大的相似性(图 7(c)).3 种有机磷阻燃剂共同作用于神经活性配体−受体相互作用,cAMP 信号通路,5−羟色胺能突触和雌激素信号通路,表明三种有机磷阻燃剂均能够通过靶向这些通路介导神经毒性和内分泌干扰活性.

斑马鱼转录组分析中,TiBP、TDBPP 与 TCPP3 种有机磷阻燃剂并没有共同的差异基因,而 TDBPP 与 TCPP 的差异基因具有约 10%相似性(图 7(d)).差异基因的富集通路也显示 3 种有机磷阻燃剂并无共同介导的作用通路,但 TDBPP 与 TCPP 暴露均上调了肌肉细胞骨架,并下调了卟啉代谢和类固醇激素生物合成,揭示了两者在干扰生物体代谢稳态和内分泌功能的共性机制(图 7(e)~(f)).KEGG 分析则显示,尽管 3 种有机磷阻燃剂引起的差异基因在名称上和通路上并不完全一致,但在通路功能上,均富集于类固醇激素合成和代谢相关通路,提示三者均具有内分泌干扰作用.与此同时,3 种有机磷阻燃剂通过不同机制调节斑马鱼免疫功能:尽管 TiBP 和 TCPP 下调基因均富集于 MAPK 信号通路,但 TiBP 可能通过激活 NF−κB 与 MAPK 通路形成交叉影响,协同促进巨噬细胞活性[35-36],而 TCPP 则以溶酶体作为 MAPK 信号传导的调控节点驱动炎症因子释放与溶酶体酸化基因表达[37],协同实现对免疫应答的激活与稳态调控;TDBPP 则通过上调 IgA 产生的肠道免疫网络诱导免疫细胞激增.尽管 TiBP 和 TDBPP 差异基因都富集于光信号传导,但 TiBP 可能通过上调光传导通路引起光传导延迟,影响神经信号传递,而 TDBPP 下调光传导和视觉细胞内感光物质视黄醇代谢,削弱光信号感知与转化能力,引起视觉功能受损.此外,TDBPP 和 TCPP 引起的差异基因均作用于心肌收缩,但 TDBPP 同时上调心肌细胞中的肾上腺素能信号传导,影响心肌收缩力与节律,而 TCPP 则下调心肌收缩相关基因,削弱心肌收缩能力.

斑马鱼实验进一步证实 TiBP,TDBPP 和 TCPP 均会导致斑马鱼出现不同程度的心率和运动能力抑制、脂质代谢异常、免疫功能干扰、发育毒性(如畸形)、神经和行为异常.与其急性毒性 TDBPP (LC_{50} = 922.3μg/L)>TiBP(LC_{50} = 21.14mg/L)>TCPP (LC_{50} = 37.56mg/L)表现不一致的是,等毒性剂量下,

低剂量(1/16LC_{50})TiBP 对运动能力抑制最强(降幅约 50%),其次为 TCPP,而 TDBPP 未引起显著影响,表明 TiBP 非卤代结构对神经传导的低剂量敏感性;当浓度增加到 1/8LC_{50} 时,3 种有机磷阻燃剂均表现出更显著的毒性.该等毒性剂量下 TDBPP 和 TiBP 分别引起了斑马鱼运动能力下降和脂质堆积,但 TCPP 综合毒性最为突出,其神经毒性强于 TiBP,且诱导脂质堆积效应强于 TBDPP.该影响可能源于 TCPP 的氯原子增强了受体结合能力,引发神经-代谢-免疫多系统损伤.高剂量暴露时(1/2LC_{50}),3 种有机磷阻燃剂对运动能力和脂质堆积的影响趋势与中浓度剂量相似,但对巨噬细胞的招募出现显著不同, TiBP 和 TDBPP 均显著增加了巨噬细胞的数量,而抑制了巨噬细胞的聚集.

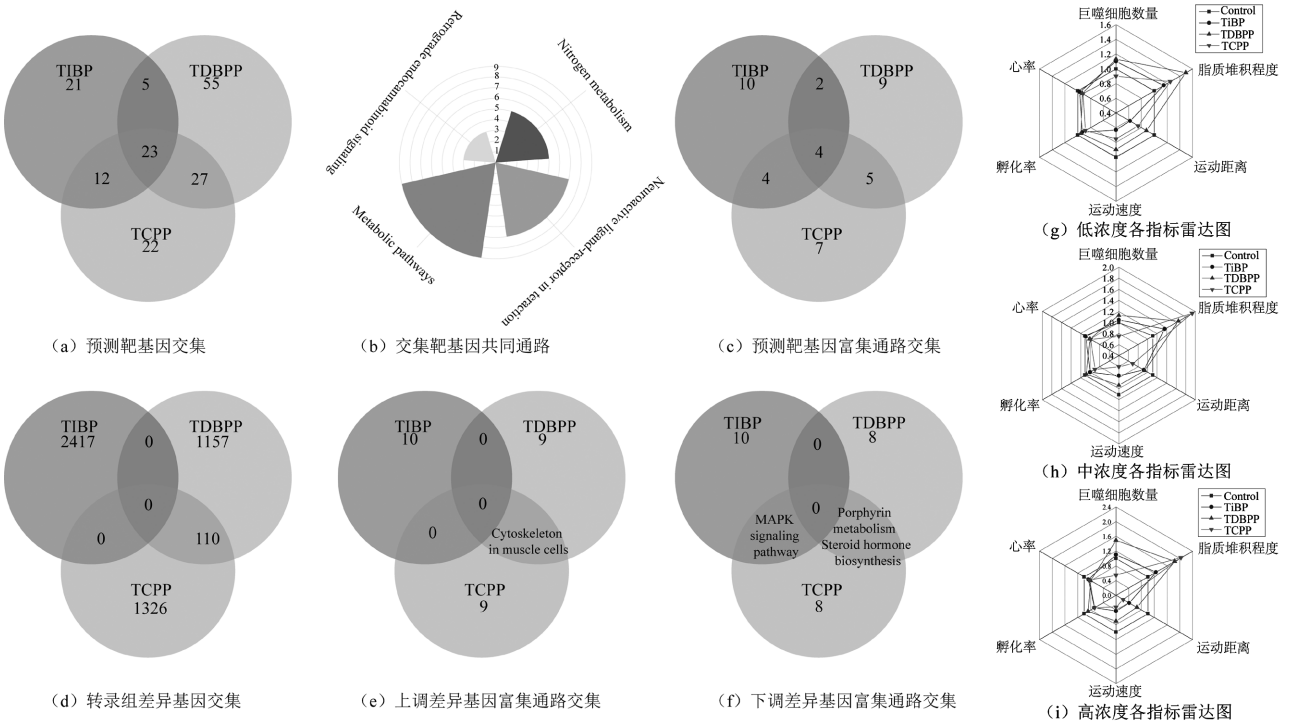


图 7 TiBP,TDBPP 和 TCPP 的共同靶基因和信号通路网络

Fig.7 Common target genes and signaling pathway networks of TiBP, TDBPP, and TCPP

综合以上结果,尽管 TDBPP 表现出更高的急性毒性,但在等毒性剂量下,TCPP 对斑马鱼运动能力、脂质代谢和免疫响应表现出更强的毒性作用.该影响可能与 TDBPP 致癌性的滞后性有关.卤素引入是毒性增强核心,溴/氯的高电负性提升化合物与蛋白/氨基酸结合能力,如 TDBPP 富集神经活性配体-受体通路,急性毒性最强.而 TCPP 代谢稳定,可持续作用多靶点,因此等毒性剂量下表现为 TCPP 和 TDBPP 较 TiBP 具有更强的综合毒性[38].但是在低剂量作用下,烷基 TiBP 对运动能力造成更强的抑制作用,提示化合物的结构虽然与其毒性效应密切相关,但作用剂量依然是决定其毒性必要因素.

3 结论

3.1 3 种 OPFRs 均表现出显著的多系统综合毒性,但其急性毒性随取代基结构不同而呈现明显差异.表明溴取代基显著增强了 OPFRs 的急性毒性效应.

3.2 烷基磷酸酯 TiBP 靶基因预测与转录组结果一致性最高,主要靶向神经活性配体-受体相互作用通路,干扰 GABA 能,多巴胺能系统,导致斑马鱼暗环境运动异常.同时抑制脂肪酸代谢与类固醇合成,激活斑马鱼免疫应答和脂质堆积.

3.3 TDBPP 为溴代磷酸酯同时也是 2A 类致癌物,其靶基因除富集于神经相关通路外也显著富集于癌症相关通路.转录组分析则提示其通过调控心肌发育功能,细胞免疫,糖代谢和激素稳态诱导斑马鱼心包水肿,运动异常,脂质堆积及免疫细胞招募.

3.4 氯代磷酸酯 TCPP 一方面通过调控神经相关通路影响斑马鱼运动功能,具有诱发阿尔兹海默症风险,另一方面通过靶向蛋白质合成,干扰叶啉代谢

与血红素合成,调控细胞连接,血管发育,心肌功能,糖脂和类固醇激素稳态,最终诱导斑马鱼出现发育畸形,心率减慢,脂质堆积和免疫功能损坏.

参考文献：

[1] Dou M, Wang L. A review on organophosphate esters: physiochemical properties, applications, and toxicities as well as occurrence and human exposure in dust environment [J]. Journal of Environmental Management, 2023,325(2):116601.

[2] Chen M, Ma W. A review on the occurrence of organophosphate flame retardants in the aquatic environment in China and implications for risk assessment [J]. Science of the Total Environment, 2021,783: 147064−147064.

[3] Wang Y, Zhao Y, Han X, et al. A review of organophosphate esters in aquatic environments: levels, distribution, and human exposure [J]. Water, 2023,15(9):1790.

[4] Pantelaki I, Voutsa D. Occurrence, analysis and risk assessment of organophosphate esters (OPEs) in biota: A review [J]. Marine Pollution Bulletin, 2020,160:111547.

[5] Brandsma S H, Leonards P E G, Leslie H A, et al. Tracing organophosphorus and brominated flame retardants and plasticizers in an estuarine food web [J]. Science of the Total Environment, 2015, 505:22−31.

[6] Zhao H, Zhao F, Liu J, et al. Trophic transfer of organophosphorus flame retardants in a lake food web [J]. Environmental Pollution, 2018,242:1887−1893.

[7] 高蕴语,董　靖,代　然,等.洞庭湖水和沉积物中有机磷酸酯的分布特征及风险评估 [J]. 环境科学, 2024,45(7):3919−3929.
Gao Y Y, Dong J, Dai R, et al. Distribution characteristics and risk assessment of organophosphate esters in water and sediments of Dongting Lake [J]. Environmental Science, 2024,45(7):3919−3929.

[8] Hou M, Shi Y, Cai Y. Determination of 16organophosphate esters in human blood by high performance liquid chromatography−tandem mass spectrometry combined with liquid−liquid extraction and solid phase extraction [J]. Se pu: Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(1):69−76.

[9] Luo C, Zhang Q, Wang D, et al. Tri−iso−butyl phosphate (TiBP) exposure induces neurotoxicity by triggering oxidative stress accompanied by neurotransmitter system disruptions and apoptosis in zebrafish larvae [J]. Environmental Pollution, 2024,363:125137.

[10] Dodson R E, Perovich L J, Covaci A, et al. After the PBDE phase−out: a broad suite of flame retardants in repeat house dust samples from California [J]. Environmental Science & Technology, 2012,46(24): 13056−13066.

[11] Chokwe T B, Okonkwo J O. Occurrence, distribution and ecological risk assessment of organophosphorus flame retardants and plasticizers in sediment samples along the Vaal River catchment, South Africa [J]. Emerging Contaminants, 2019,5:173−178.

[12] Allan I J, Garmo O A, Rundberget J T, et al. Detection of tris (2, 3−dibromopropyl) phosphate and other organophosphorous compounds in Arctic rivers [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018,25(28):28730−28737.

[13] Xie Z, Zhang X, Liu F, et al. First determination of elevated levels of plastic additives in finless porpoises from the South China Sea [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024,465:133389.

[14] Meeker J D, Stapleton H M. House dust concentrations of organophosphate flame retardants in relation to hormone levels and semen quality parameters [J]. Environmental Health Perspectives, 2010,118(3):318−323.

[15] Pearson P G, Omichinski J G, McClanahan R H, et al. Metabolic activation of tris (2, 3−dibromopropyl) phosphate to reactive intermediates. I. Covalent binding and reactive metabolite formation in vitro [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1993,118(2):186−195.

[16] Tan X, Luo X, Zheng X, et al. Distribution of organophosphorus flame retardants in sediments from the Pearl River Delta in South China [J]. Science of the Total Environment, 2016,544:77−84.

[17] Wang R, Tang J, Xie Z, et al. Occurrence and spatial distribution of organophosphate ester flame retardants and plasticizers in 40rivers draining into the Bohai Sea, north China [J]. Environmental Pollution, 2015,198:172−178.

[18] 黄佳丽,杨陆鑫,邓朝平,等.污水处理厂中有机磷阻燃剂的赋存与风险评价 [J]. 资源节约与环保, 2024,(2):131−134.
Huang J L, Yang L X, Deng C P, et al. Occurrence and risk assessment of organophosphorus flame retardants in wastewater treatment plants [J]. Resources Economization & Environmental Protection, 2024,(2): 131−134.

[19] Liu Y, Luo X, Huang L, et al. Organophosphorus flame retardants in fish from Rivers in the Pearl River Delta, South China [J]. Science of the Total Environment, 2019,663:125−132.

[20] Paun I, Pirvu F, Chiriac F L, et al. Organophosphate flame retardants in Romania coastline: Occurrence, faith and environmental risk [J]. Marine Pollution Bulletin, 2024,208:116982.

[21] 皮天星,蔡磊明,蒋金花,等.新型阻燃剂 TCPP 对斑马鱼的毒性研究 [J]. 生态毒理学报, 2016,11(2):247−256.
Pi T X, Cai L M, Jiang J H, et al. Toxicity of novel flame retardant TCPP to zebrafish [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016,11(2): 247−256.

[22] Gao Y, Wang L, Zhang X, et al. Similarities and differences among the responses to three chlorinated organophosphate esters in earthworm: Evidences from biomarkers, transcriptomics and metabolomics [J]. Science of The Total Environment, 2022,815:152853.

[23] Chen P, Li Z, Miao G, et al. Aryl organophosphate esters and hemostatic hisruption: identifying risk through machine learning and experimental validation [J]. Environmental Science & Technology, 2025,59(21):10167−10181.

[24] Dasgupta S, Dunham C L, Truong L, et al. Phenotypically anchored mRNA and miRNA expression profiling in zebrafish reveals flame retardant chemical toxicity networks [J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2021,9:663032.

[25] Yan J, Zhao Z, Xia M, et al. Induction of lipid metabolism dysfunction, oxidative stress and inflammation response by tris (1−chloro−2−propyl) phosphate in larval/adult zebrafish [J]. Environment International, 2022,160:107081.

[26] MacPhail R C, Brooks J, Hunter D L, et al. Locomotion in larval

zebrafish: Influence of time of day, lighting and ethanol [J]. Neurotoxicology, 2009,30(1):52−58.

[27] Ma X, Lu D, Liu Y, et al. Multiplexed quantitative evaluation on mitochondrial toxicity of tris (2, 3−dibromopropyl) phosphate in hepatocyte [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021,221: 112425.

[28] Xia M, Wang X, Xu J, et al. Tris (1−chloro−2−propyl) phosphate exposure to zebrafish causes neurodevelopmental toxicity and abnormal locomotor behavior [J]. Science of the Total Environment, 2021,758:143694.

[29] Xie Y, Wang Z, Xie W, et al. Toxicity comparison and risk assessment of two chlorinated organophosphate flame retardants (TCEP and TCPP) on Polypedates megacephalus tadpoles [J]. Aquatic Toxicology, 2024, 272:106979.

[30] Deng F, Liu J, Xie Z, et al. nTiO_2alleviates the toxic effects of TCPP on mussels by adjusting respiratory metabolism and gut microbiota [J]. Science of the Total Environment, 2022,851:158176.

[31] Wu H, Zhong M, Lu Z, et al. Biological effects of tris (1−chloro−2−propyl) phosphate (TCPP) on immunity in mussel Mytilus galloprovincialis [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2018,61:102−106.

[32] Lin X, Lin K, Lai Y, et al. Effect of Acetyl tributyl citrate on bone metabolism based on network toxicology and molecular docking technology [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2025,289: 117434.

[33] 崔家康,朱泽林,刘孟娇,等.基于转录组测序、网络药理和毒理学探讨雷公藤甲素治疗类风湿关节炎的分子作用机制 [J]. 天然产物研究与开发, 2025,37(5):957−964.
Cui J K, Zhu Z L, Liu M J, et al. Molecular mechanism of triptolide in the treatment of rheumatoid arthritis based on transcriptome sequencing, network pharmacology and toxicology [J]. Natural Product Research and Development, 2025,37(5):957−964.

[34] Li B, Xu C, Zhang D, et al. Combined analysis of network toxicology and multiomics revealed the potential mechanism of 6PPDQ−induced hepatotoxicity in mice [J]. Environmental Science & Technology, 2025,59(21):10204−10214.

[35] Xie Y, Wang L, Sun H, et al. Polysaccharide from alfalfa activates RAW 264.7macrophages through MAPK and NF−κB signaling pathways [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019,126:960−968.

[36] Shi Y, Chen J, Li S, et al. Tangeretin suppresses osteoarthritis progression via the Nrf2/NF−κB and MAPK/NF−κB signaling pathways [J]. Phytomedicine, 2022,98:153928.

[37] Cobo I, Murillo−Saich J, Alishala M, et al. Particle uptake by macrophages triggers bifurcated transcriptional pathways that differentially regulate inflammation and lysosomal gene expression [J]. Immunity, 2025,58(4):826−842.

[38] Dishaw L V, Hunter D L, Padnos B, et al. Developmental exposure to organophosphate flame retardants elicits overt toxicity and alters behavior in early life stage zebrafish (Danio rerio) [J]. Toxicological Sciences, 2014,142(2):445−454.

作者简介: 黄 月(2000−),女,泰州人,苏州科技大学硕士生,主要从事风险评价与生态安全方面的研究.yuehuang1211@163.com.