Eco-Environmental Knowledge Web

生态毒理学报
Asian Journal of Ecotoxicology

第 15 卷 第 5 期 2020 年 10 月
Vol. 15, No.5 Oct. 2020

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20200208002
刘帅, 宿甜甜, 刘长发, 等. 3 种多环芳烃对海胆细胞色素 *CYP17A1* 基因表达的影响[J]. 生态毒理学报,2020, 15(5): 345-351
Liu S, Su T T, Liu C F, et al. Effects of 3 kinds of PAHs on the expression of *CYP17A1* genes of *Strongylocentrotus intermedius* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(5): 345-351 (in Chinese)

3 种多环芳烃对海胆细胞色素 *CYP17A1* 基因表达的影响

刘帅[1,2,3], 宿甜甜[1,2,3], 刘长发[1,2,3], 魏海峰[1,2,3,*], 赵肖依[1,2,3], 宋雪[1,2,3]

1. 辽宁省近岸海洋环境科学与技术重点实验室,大连 116023
2. 大连海洋大学海洋科技与环境学院,大连 116023
3. 大连海洋大学,农业农村部北方海水增养殖重点实验室,大连 116023

收稿日期:2020-02-08　　**录用日期**:2020-04-17

摘要: 为揭示不同种类多环芳烃(PAHs)污染物对中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)的生态毒理效应,研究了不同浓度的苯并(a)芘(1、5 和 20 μg·L^{-1})以及 2 种烷基多环芳烃 3-甲基菲(5、10 和 100 μg·L^{-1})和 2-甲基蒽(5、10 和 50 μg·L^{-1})对海胆细胞色素 *CYP17A1* 基因表达的影响。结果表明,随着暴露时间的增加,不同浓度的 3 种多环芳烃对海胆细胞色素 *CYP17A1* 基因表达产生不同程度的影响。与对照组相比,暴露 14 d 后,苯并(a)芘 20 μg·L^{-1}处理组对海胆 *CYP17A1* 基因的表达表现出抑制作用(P<0.05);暴露 14 d 后,3-甲基菲 100 μg·L^{-1}处理组对海胆 *CYP17A1* 基因的表达表现出诱导作用(P<0.05);暴露 14 d 后,2-甲基蒽 50 μg·L^{-1}处理组对海胆 *CYP17A1* 基因的表达表现出抑制作用(P<0.05)。2-甲基蒽对海胆 *CYP17A1* 基因表达的影响比苯并(a)芘、3-甲基菲的影响更为明显。

关键词: 苯并芘;3-甲基菲;2-甲基蒽;中间球海胆;细胞色素 *CYP17A1*;基因表达
文章编号: 1673-5897(2020)5-345-07　　**中图分类号**: X171.5　　**文献标识码**: A

Effects of 3 Kinds of PAHs on the Expression of *CYP17A1* Genes of *Strongylocentrotus intermedius*

Liu Shuai[1,2,3], Su Tiantian[1,2,3], Liu Changfa[1,2,3], Wei Haifeng[1,2,3,*], Zhao Xiaoyi[1,2,3], Song Xue[1,2,3]

1. Key Laboratory of Coastal Marine Environmental Science and Technology of Liaoning Province, Dalian 116023, China
2. School of Marine Science and Environmental Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China
3. Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

Received 8 February 2020　　**accepted** 17 April 2020

Abstract: In order to study the toxic effects of different polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on *Strongylocentrotus intermedius*, the effects of different concentrations of benzopyrene (1, 5, 20 μg·L^{-1}), 3-methylphenan-

基金项目:国家海洋公益性行业科研专项(201305002);辽宁省教育厅服务地方项目(DL201804);国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金资助项目(201309,201809);国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室基金资助项目(201013);大连海洋大学农业农村部北方海水增养殖重点实验室基金资助项目(2018-KF-21)
第一作者:刘帅(1998—),男,本科,研究方向为海洋生态环境保护,E-mail: 1455344975@qq.com
* **通讯作者**(Corresponding author), E-mail: weihaifeng@dlou.edu.cn

threne (5, 10, 100 μg·L^{-1}) and 2-methylanthracene (5, 10, 50 μg·L^{-1}) on the expression of cytochrome *CYP17A1* gene were investigated. The results showed that with the increase of exposure time, the three PAHs at different concentrations had different effects on the expression of *CYP17A1* gene in *Strongylocentrotus intermedius*. Compared with control group, after exposure for 14 d, the expression of *CYP17A1* gene was inhibited by benzopyrene in 20 μg·L^{-1} group (P<0.05); after exposure for 14 d, the expression of *CYP17A1* gene was induced by 3-methylphenanthrene in 100 μg·L^{-1} group (P<0.05); after exposure for 14 d, the expression of *CYP17A1* gene was inhibited by 2-methylanthracene in 50 μg·L^{-1} group (P<0.05). The effects of 2-methylanthracene on cytochrome *CYP17A1* gene expression of *Strongylocentrotus intermedius* are more obvious than benzopyrene and 3-methylphenanthrene.

Keywords: benzopyrene; 3-methylphenanthrene; 2-methylanthracene; *Strongylocentrotus intermedius*; *CYP17A1*; gene expression

近年来,工农业废水以及生活污水大量排入海域、海上油气开发以及海洋溢油事件频发,造成海洋环境污染日益加重,给海洋生物资源带来危害[1]。海洋溢油事件发生后,石油类分解产生多种多环芳烃(PAHs),多环芳烃类污染物分布面积广、致癌性作用强、数量多,与人类生命活动密切相关,是典型的“三致”物质,因此,对 PAHs 类污染物的生态毒理学研究具有重要意义[2]。研究初期,研究者大多剖析优先控制的 16 种 PAHs,忽视 PAHs 衍生物的危害性[3]。苯并(a)芘、菲和蒽是最典型的 3 环 PAHs,在石油中含量较高,关于其毒性的研究报道较多[4-5]。国内外关于 3-甲基菲和 2-甲基蒽和苯并(a)芘毒性的研究缺乏,其毒性机理需深入研究。

CYP17A1(全称为细胞色素 P450c17α)是细胞色素 P450 酶系家族成员之一,该酶同时具有 17α-羟化酶、17,20-裂解酶的活性,是一类典型的膜结合的双功能单氧酶,在类固醇性激素合成的途径中起关键作用,是治疗前列腺癌和乳腺癌的重要靶标[6]。PAHs 能经过不同途径进入生物体内,从而导致细胞色素 P450 酶系 CYP 活力发生不同程度的改变,不同浓度不同种类的 PAHs 污染物会使 CYP 含量发生不一致的变化,因此,选用 *CYP17A1* 作为毒理学研究的生物标志物,从而观测生物体及生态环境污染程度。在本实验中,选用克隆 *CYP17A1* 基因进行相关研究,因为影响 *CYP17A1* 基因表达量的 P450 酶很难分离纯化且不稳定[7-8]。

中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)早期幼体主要以单胞藻类为食,当变态为稚海胆转食底栖硅藻,成体主要食褐藻类、红藻类和绿藻类等大型底栖海藻[9]。我国辽东半岛和山东半岛有这种海胆的养殖[10],实验资源丰富,且生物特征无缺损,是毒理学研究的良好实验体[11]。已有研究进行了多环芳烃类污染物对翡翠贻贝(*Perna viridis*)胚胎[12]、仿刺参(*Apostichopus japonicus*)[13]和多齿围沙蚕(*Perieireis nuntia Savigy*)[14]的毒性评价。与其他海洋生物相比,PAHs 污染物对海胆的毒性研究缺乏。因此,以中间球海胆为实验对象,分别设置 2 组不同底物的对照组以及 3 组不同浓度的苯并(a)芘、3-甲基菲和 2-甲基蒽处理组,检测暴露 3、7 和 14 d 后其体内 *CYP17A1* 基因的相对表达量。并且根据实验数据分析中间球海胆 *CYP17A1* 基因的表达与苯并(a)芘、3-甲基菲和 2-甲基蒽暴露浓度之间的关系,为筛选合适敏感标志物提供基础[15]。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

仪器:CFX Connect 荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD),Nano-400A 微量核酸蛋白分析仪(杭州奥盛仪器有限公司),TG16-WS 型台式微量高速离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司),TS-211GZ 恒温摇床(常州中诚仪器制造有限公司)。

试剂:苯并(a)芘、2-甲基蒽和 3-甲基菲购自 Sigma 公司(Sigma-Aldrich Corporation, USA),纯度分别为>97%、>97%和>98%;丙酮(分析纯,太仓市双龙贸易有限公司),PrimeScript™ RT reagent Kit、SYBR PrimeScript™ RT-PCR Kit Ⅱ和 Trizol RNA 提取试剂盒均购自上海生工生物有限公司。

1.2 实验材料

从大连海宝渔业有限公司购买健康的中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*),因稚海胆对污染物反应灵敏,且其组织样品获取比较容易,故以稚海胆为实验受体。选取直径为(0.8±0.1) cm 稚海胆,在实验室海水循环水养殖系统中暂养 2 周,期

间投喂新鲜海带,选健康且状态、大小相同的个体用于实验。

1.3　多环芳烃毒性实验

用海水作为实验用水,装入 1 L 洁净玻璃烧杯中。将 3 种多环芳烃以体积分数为 1‰的丙酮为助溶剂配成 500 μg·L^{-1}的 3 种储备液,再将这 3 种储备液用海水稀释成不同浓度的多环芳烃实验溶液。其中,苯并(a)芘浓度分别为 1、5 和 20 μg·L^{-1},3-甲基菲浓度分别为 5、10 和 100 μg·L^{-1},2-甲基蒽浓度分别为 5、10 和 50 μg·L^{-1},同时设置 2 个对照组,分别为空白对照组和 1‰丙酮助溶剂对照组,各处理组设置 3 个平行组。实验模拟海胆生活习性,每个烧杯中放 5 只海胆,水温(15±2) ℃,盐度(30±1),pH 为 8.0±0.5,连续充气以防缺氧,确保溶解氧>4.0 mg·L^{-1},在弱光条件下进行。

以开始培养为时间起始点,每隔 2 天换一次新鲜海水,并按以上述步骤重复投加相应的浓度的污染物。

1.4　样品采集及 RNA 提取

取在不同浓度苯并(a)芘、3-甲基菲和 2-甲基蒽以及不同暴露时间的海胆各 3 只,为防止 RNA 流失,取出的海胆必须放在冰上进行操作,用移液枪取海胆体液 100 μL,装入 tube 管后立即投入液氮,−80 ℃保存。

1.5　*CYP17A1* 基因表达的测定

用 PrimeScript™ RT reagent Kit 进行反转录,用 CFX Connect 荧光定量 PCR 仪并采用 SYBR Prime-Script™ RT-PCR Kit Ⅱ进行实时定量 PCR。反应条件:95 ℃、30 s,95 ℃、10 s,55 ℃、25 s,72 ℃、25 s,40 个循环。采用 delta-delta C_T 法,并通过海胆的内标基因 *AB510191.1*(*Actin*)的校正,记录实验样品中 *CYP17A1* 基因表达量。采用相对定量方法分析在不同浓度苯并(a)芘、2-甲基蒽和 3-甲基菲培养下海胆细胞 *CYP17A1* 基因表达的规律,选取海胆体内 *β-Actin* 基因表达的规律作为内参基因,根据前期实验获得的海胆 *CYP17A1* 序列信息,采用 Primer5.0 软件设计引物,引物序列具体信息如表 1 所示。

1.6　数据统计与处理

实验数据以 3 次重复试验数据的平均值±标准差表示。数据统计学分析利用 SPSS 16 统计软件来完成,荧光定量 PCR 数据差异性分析用单因素方差分析法来完成。P<0.05 为差异显著。

2　结果(Results)

2.1　苯并(a)芘对中间球海胆 *CYP17A1* 基因表达的影响

海胆在不同浓度苯并(a)芘培养下,其 *CYP17A1* 表达量的变化如图 1 所示。短时间内,空白对照组 *CYP17A1* 基因的相对表达量高于丙酮对照组,但暴露后期(14 d),2 个对照组 *CYP17A1* 基因的相对表达量几乎相近,说明丙酮对海胆 *CYP17A1* 基因的表达无影响。苯并(a)芘胁迫初期(3 d),与丙酮对照组相比,各处理组海胆 *CYP17A1* 基因的相对表达量更高,而随着胁迫浓度的升高,各处理组海胆 *CYP17A1* 基

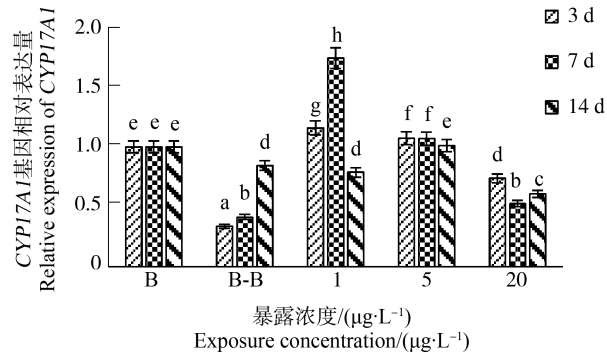

图 1　不同浓度苯并(a)芘对海胆体内 *CYP17A1* 基因表达的影响

注:将所有处理组与对照组进行比较,标有不同小写字母者表示显著性差异(P<0.05),标有相同小写字母者表示无显著性差异(P>0.05);横坐标中 B 表示空白对照组,B-B 表示丙酮助溶剂对照组;下同。

Fig. 1　The effect of benzopyrene at different concentrations on the expression of *CYP17A1* gene in *Strongylocentrotus intermedius*

Note: All treatment groups were compared with the control group, significant difference (P<0.05) was indicated by different lowercase letters, while no significant difference (P>0.05) was indicated by the same lowercase letters; B represents the seawater control group and B-B represents the acetone control group; the same below.

表 1　相关基因扩增引物名称及其序列

Table 1　Name and sequence of the target gene amplified with primers

基因 Genes	引物序列(5'～3') Primer sequences (5'～3')	产物大小/bp Product size/bp
β-Actin	F: CCAACTGGGACGATATGGAGA R: AGAGGCGTAGAGGGAAAGCAC	206
CYP17A1	F: CATTGCTTTCCTCATCCATCAC R: GGCATCCTGTCTCCAAAACC	81

因的相对表达量逐渐降低,即受到的抑制作用逐渐升高,存在明显的剂量-效应关系。苯并(a)芘胁迫中期(7 d),随着胁迫浓度的升高,海胆 *CYP17A1* 基因的相对表达量表现出显著降低的趋势。苯并(a)芘胁迫后期(14 d),与丙酮对照组相比,5 μg·L^{-1}和 20 μg·L^{-1}处理组对海胆 *CYP17A1* 基因的表达产生显著作用,在胁迫浓度达到 20 μg·L^{-1}时,海胆 *CYP17A1* 基因的相对表达量达到最小值 0.607(P<0.05)。

2.2 不同浓度 3-甲基菲对中间球海胆 *CYP17A1* 基因表达的影响

海胆在不同浓度 3-甲基菲培养下,其 *CYP17A1* 表达量的变化如图 2 所示。3-甲基菲胁迫初期(3 d)对海胆 *CYP17A1* 基因的表达表现出显著的抑制作用(P<0.05),随着暴露浓度的升高,*CYP17A1* 基因相对表达量逐渐降低,胁迫浓度达到 100 μg·L^{-1}时海胆 *CYP17A1* 基因的相对表达量明显达到最小值 0.153。3-甲基菲胁迫中期(7 d),海胆 *CYP17A1* 基因的表达也受到显著的抑制作用(P<0.05)。3-甲基菲胁迫后期(14 d),随着浓度增高,*CYP17A1* 基因的相对表达量显著增大,胁迫浓度达到 100 μg·L^{-1}时相对表达量达到最大值 2.428,显著大于对照组(P<0.05)。

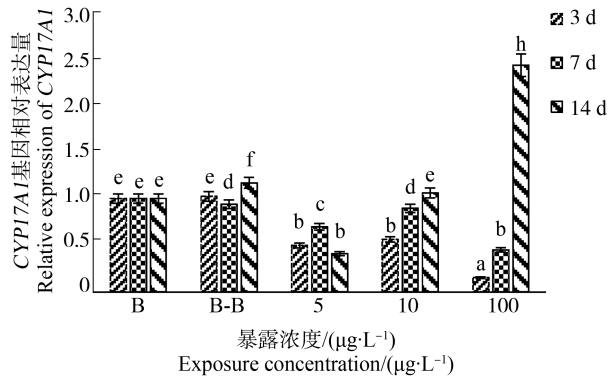

图 2 不同浓度 3-甲基菲对海胆体内 *CYP17A1* 基因表达的影响

Fig. 2 The effect of 3-methylphenanthrene at different concentrations on the expression of *CYP17A1* gene in *Strongylocentrotus intermedius*

2.3 不同浓度 2-甲基蒽对中间球海胆 *CYP17A1* 基因表达的影响

海胆在不同浓度 2-甲基蒽培养下,其 *CYP17A1* 基因表达量的变化如图 3 所示。2-甲基蒽胁迫初期(3 d)对海胆 *CYP17A1* 基因的表达表现出显著的抑制作用(P<0.05),且随着暴露浓度的逐渐递增,*CYP17A1* 基因相对表达量逐渐降低,胁迫浓度达到 50 μg·L^{-1}时海胆 *CYP17A1* 基因的相对表达量达到最小值 0.43。2-甲基蒽胁迫中期(7 d),海胆 *CYP17A1* 基因的表达受到较显著的抑制作用(P<0.05)。2-甲基蒽胁迫后期(14 d),海胆 *CYP17A1* 基因的相对表达量随着胁迫浓度的升高,逐渐降低,分别在胁迫浓度为 5 μg·L^{-1}和 50 μg·L^{-1}时 *CYP17A1* 基因的相对表达量达到最大值 1.618 和最小值 0.164。

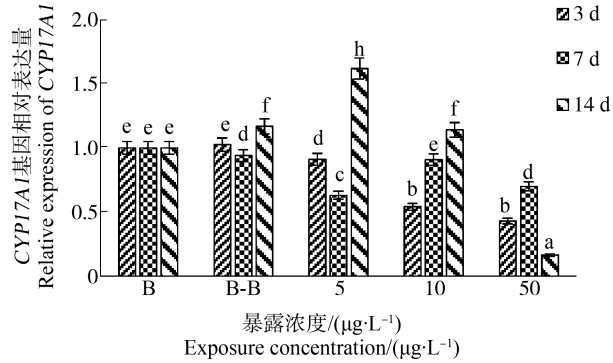

图 3 不同浓度 2-甲基蒽对海胆体内 *CYP17A1* 基因表达的影响

Fig. 3 The effect of 2-methylanthracene at different concentrations on the expression of *CYP17A1* gene in *Strongylocentrotus intermedius*

3 讨论(Discussion)

从整体上看,高浓度苯并(a)芘(20 μg·L^{-1})和 2-甲基蒽(50 μg·L^{-1})污染物长时间作用(14 d)会抑制 *CYP17A1* 基因的表达,且高浓度 3-甲基菲污染物在 3 d 和 7 d 时也会抑制 *CYP17A1* 基因的表达。多芳环烃在海胆体内的富集动力学研究表明,苯并(a)芘、3-甲基菲和 2-甲基蒽随暴露时间的增长和浓度的增加富集程度升高[16]。可以推测,有毒污染物进入海胆体内会阻止构成 *CYP17A1* 基因的相关酶的合成,同时 *CYP17A1* 基因的表达可以反抑制污染物的作用,以维持生物有机体的正常生理活动,但不同浓度污染物作用时间不同会导致抑制强度不同,这与 *CYP17A1* 基因在生物体内功能密切相关。免疫系统与新陈代谢系统彼此相互联系,它们都参与生物机体抵抗外来侵害的过程,如抵御病毒、细菌以及其他外源化合物,而且生物转化系统与众多激素类产物的调控过程相互关联,其中,细胞色素氧化酶 P450 单氧化酶类起着重要的转化作用[17]。CYP450 酶系是一个大的基因家族,能生物转化多种化合物,具有解毒和代谢的功能[18]。而 CYP17A1

是生物体内 CYP450 血红蛋白或相同结构域的酶系,可以转化来自生物体外的或存在生物体内的多种化合物[18]。为维持生物有机体内环境的相对稳定,生物系统具有一定的防范保护措施,当具有差异的外源化合物进入生物体内,细胞内环境中的解毒和代谢系统发生响应,及时发挥保护作用[19]。研究发现,进入生物体内的污染物在 P450 酶系的作用下,经过一系列生物代谢,毒性大大降低[20]。在有机污染物 I 相代谢过程中,会生成活性氧产物,大量的活性氧会损伤生物机体,甚至会阻止 *CYP17A1* 基因的表达[21−24]。在生物代谢过程中,用 *CYP450* 酶系转化的原子氧可加快底物羟基化或环氧化,也可为下一转化外源化合物的反应酶提供基础[25]。

在本实验中,海胆 *CYP17A1* 基因的表达在苯并(a)芘胁迫 14 d 后受到抑制,在 3-甲基菲胁迫 3 d 和 7 d 时均受到抑制,而 3-甲基菲处理组(100 μg·L^{-1})胁迫 14 d 后表现出显著的诱导作用(P<0.05),在 2-甲基蒽胁迫 3 d 和 7 d 时均受到抑制,而 2-甲基蒽处理组(5 μg·L^{-1})胁迫 14 d 后表现出较显著的诱导作用(P<0.05)。因此,海胆 *CYP17A1* 基因的表达在不同多环芳烃胁迫下表现出不同的变化规律。这与 2-甲基蒽等对仿刺参(*Apostichopus japonicus*) *CYP450* 基因的影响[13]、苯并(a)芘对栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)消化盲囊中 8-OHdG 含量的影响[26]以及苯并(a)芘对黑鲷(*Sparu macrocephalus*)肝脏谷胱甘肽巯基转移酶(GST)活性的影响[27]有着相似的规律。由此可以推断,刚开始反应阶段(3 d 和 7 d)苯并(a)芘诱导海胆 *CYP17A1* 基因的表达,生物机体利用相关酶抵制外源污染物的毒性作用,使细胞的应激反应减缓,由于其调节能力有一定的限制,*CYP17A1* 基因的表达不能永久提升,随着暴露时间的增加(14 d),海胆遭受到的毒性强度超过其最大耐受性,*CYP17A1* 基因的合成系统会遭到破坏,因此,*CYP17A1* 基因的相对表达量会降低,最终出现中毒现象。已有学者报道过相似的结果,王淑红等[28]发现菲、芘等多环芳烃在暴露初期会诱导菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)消化腺超氧化物歧化酶(SOD)活性,而穆景利等[29]发现苯并(a)芘长时间作用会抑制黑鲷(*Sparus macrocephalus*)胆汁中代谢产物 3-羟基-苯并(a)芘的生成。而 *CYP17A1* 基因对 3-甲基菲和 2-甲基蒽的耐受能力较弱,暴露初期(3 d 和 7 d)3-甲基菲和 2-甲基蒽即抑制海胆 *CYP17A1* 基因的表达。但随着暴露时间延长,在 14 d 时,有的处理组中海胆 *CYP17A1* 基因的表达显著升高,是因为诱导了细胞色素 *P450* 相关系统发生解毒代谢的过程,进而发生氧化应激,使细胞体内产生过量的活性氧,从而诱导 *CYP17A1* 基因家族的表达。在芘对马氏珠母贝肝胰腺 *hsp90* 基因的影响以及石油烃对马粪海胆(*Hemicentrotus pulcherrimus*)生殖腺过氧化氢酶(CAT)活性的影响的研究中发现类似规律[30−31]。对比可发现,3-甲基菲对海胆 *CYP17A1* 基因表达的影响小于 2-甲基蒽。笔者比较了 3 种多环芳烃暴露下海胆 *CYP17A1* 基因的相对表达量(平均值)。在苯并(a)芘的影响下,海胆 *CYP17A1* 基因平均相对表达量为 0.907;在 3-甲基菲的影响下,海胆 *CYP17A1* 基因平均相对表达量为 0.795;在 2-甲基蒽的影响下,海胆 *CYP17A1* 基因平均相对表达量为 0.782。3 种物质对海胆 *CYP17A1* 基因相对表达量影响程度总体趋势为苯并(a)芘>3-甲基菲>2-甲基蒽,可能因为三者结构及性质的差异。为更完全了解污染物对海胆的毒性作用机理,需要进一步研究化合物结构对毒性的影响。

通讯作者简介:魏海峰(1978—),男,硕士,副教授,主要研究方向为生态修复。

参考文献(References):

[1] 吕芳, 詹冬梅, 郭文, 等. 重金属镉对铜藻生长及其生物活性成分积累的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2017, 32(6): 664-670
Lv F, Zhan D M, Guo W, et al. Effect of cadmium stress on growth and accumulation of bioactive compounds in brown alga *Sargassum horneri* [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2017, 32(6): 664-670 (in Chinese)

[2] 任加云, 潘鲁青, 苗晶晶. 苯并(a)芘和苯并(k)荧蒽混合物对栉孔扇贝毒理学指标的影响[J]. 环境科学学报, 2006, 26(7): 1180-1186
Ren J Y, Pan L Q, Miao J J. Effects of benzo(a)pyrene and benzo(k)fluoranthene mixture on the toxicology parameter of scallop *Chlamys farreri* [J]. Acta Scientiae Circumstantia, 2006, 26(7): 1180-1186 (in Chinese)

[3] 靳非, 穆景利, 王冬婉, 等. 菲、3-甲基菲和菲醌对河鲀(*Takifugu rubripes*)幼鱼肝组织损伤的比较研究[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(1): 248-253
Jin F, Mu J L, Wang D W, et al. The comparative research of phenanthrene, 3-methyl phenanthrene and phenanthraquinone on the liver tissue injury of pufferfish (*Takifugu rubripes*) larvae [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016,

11(1): 248-253 (in Chinese)

[4] 关晓燕, 王摆, 董颖, 等. 二甲苯、蒽、苯并[α]芘对虾夷扇贝幼贝血清 SOD、CAT 活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(1): 289-294
Guan X Y, Wang B, Dong Y, et al. Effects of xylene, anthracene, and benzo[a]pyrene on enzymatic activities of SOD and CAT in the Japanese scallop (*Mizuhopecten yessoensis*) serums [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(1): 289-294 (in Chinese)

[5] 张薇, 宋玉芳, 孙铁珩. 多环芳烃菲污染土壤的蚯蚓细胞色素 P450 生物标记诊断[J]. 毒理学杂志, 2005(S1): 311-312
Zhang W, Song Y F, Sun T H. Diagnosis of earthworm cytochrome P450 biomarker in soil contaminated with PAHs phenanthrene [J]. Journal of Toxicology, 2005(S1): 311-312 (in Chinese)

[6] 崔颖璐, 郑清川, 张红星. *CYP17A1* 与膜结合状态的结构和动力学研究[C]// 中国化学会. 中国化学会第十二届全国量子化学会议论文摘要集. 北京: 中国化学会, 2014: 751-752

[7] 赵春, 蒋美琳, 周新初, 等. 蚯蚓细胞色素 *P450* 基因的克隆及序列分析[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2015, 33(4): 33-37
Zhao C, Jiang M L, Zhou X C, et al. Clone and sequence analysis of cytochrome *P450* gene in earthworm [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Agricultural Science Edition, 2015, 33(4): 33-37 (in Chinese)

[8] Rasmussen K, Klausen L, Ekstrand B. Regulation of cytochrome *P450* mRNA expression in primary porcine hepatocytes by selected secondary plant metabolites from chicory (*Cichorium intybus* L.) [J]. Food Chemistry, 2014, 146: 255-263

[9] 吕福荣, 熊德琪, 张金亮, 等. 石油烃污染对海胆胚胎及浮游幼虫生长发育的影响[J]. 海洋环境科学, 2008, 27(6): 576-579
Lv F R, Xiong D Q, Zhang J L, et al. Effect of petroleum hydrocarbon on embryos and larvae growth of sea urchin [J]. Marine Environmental Science, 2008, 27(6): 576-579 (in Chinese)

[10] 郑定发, 罗嘉, 常亚青. 温度对不同规格中间球海胆存活、摄食和生长的影响综述[J].河北渔业, 2019(3): 55-57
Zheng D F, Luo J, Chang Y Q. Effects of temperature on survival, feeding and growth of *Strongylocentrotus intermedius* in different sizes [J]. Hebei Fisheries, 2019(3): 55-57 (in Chinese)

[11] 段美娜. 沉底重燃油污染对底栖生物海胆的跨代毒性效应及机制研究[D]. 大连: 大连海事大学, 2018: 1-33
Duan M N. Cross-generational toxicity effects and mechanisms of heavy oil pollution on *Strongylocentrotus intermedius* [D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2018: 1-33 (in Chinese)

[12] 林芳, 毛楷林, 江秀, 等. BaP 和 DDT 暴露对翡翠贻贝胚胎重要酶活性影响的比较研究[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 129-137
Lin F, Mao K L, Jiang X, et al. Comparative studies of the critical enzymes activity of *Perna viridis* embryo exposed to BaP and DDT [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 129-137 (in Chinese)

[13] 李香, 魏海峰, 刘长发,等. 2 种烷基多环芳烃对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因表达的影响研究[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(1): 86-92
Li X, Wei H F, Liu C F, et al. Effects of 2 kinds of alkyl-PAHs on the expression of *CYP450* and *p53* genes of *Apostichopus japonicus* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(1): 86-92 (in Chinese)

[14] 赵欢, 赵新达, 岳宗豪, 等. 苯并(a)芘对双齿围沙蚕抗氧化酶活性和细胞色素 *P450* 基因表达的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(4): 342-346
Zhao H, Zhao X D, Yue Z H, et al. Effects of B(a)P exposure on antioxidant enzyme activity and *CYP450* gene expression in sandworm *Perinereis aibuhitensis* [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2014, 29(4): 342-346 (in Chinese)

[15] 勾倩倩. 近岸海域石油类和多环芳烃生态风险评价[D]. 天津: 天津大学, 2016: 1-8
Gou Q Q. Ecological risk assessment of offshore oil and PAHs [D]. Tianjin: Tianjin University, 2016: 1-8 (in Chinese)

[16] 魏海峰, 田山川, 刘长发. 3 种多芳环烃在海胆体内的富集动力学研究[J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(6): 743-748
Wei H F, Tian S C, Liu C F. Bioconcentration kinetics of three PAHs in sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(6): 743-748 (in Chinese)

[17] Reynaud S, Raveton M, Ravanel P. Interactions between immune and biotransformation systems in fish: A review [J]. Aquatic Toxicology, 2008, 87(3): 139-145

[18] 薄军, 吴世军, 李裕红, 等. 苯并[a]芘(BaP)对真鲷细胞色素 *P450* 和芳香烃受体基因表达的影响[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2010, 49(3): 93-97
Bo J, Wu S J, Li Y H, et al. The effects of benzo[a]pyrene (BaP) exposure on the *CYP1A1* mRNA and *AhR2* mR-

NA expression of red seabream (*Pagrus major*) [J]. Journal of Sun Yat-sen University: Natural Science Edition, 2010, 49(3): 93-97 (in Chinese)

[19] Jennings P, Limonciel A, Felice L, et al. An overview of transcriptional regulation in response to toxicological insult [J]. Archives of Toxicology, 2012, 87(1): 49-72

[20] 欧瑞康, 武小燕, 库培佳, 等. 食蚊鱼(*Gambusia afinis*) *cat*、*gapdh* 和 *gst* 基因的克隆及其在生态毒理学中的应用[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(3): 83-92
Ou R K, Wu X Y, Ku P J, et al. Cloning of *cat*, *gapdh* and *gst* genes in *Gambusia afinis* and their application in ecotoxicology [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(3): 83-92 (in Chinese)

[21] Livingstone D R. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture [J]. Revue de Medecine Veterinaire, 2003, 154(6): 427-430

[22] Richardson B J, Mak E, De Luca-Abbott S B, et al. Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): Do mussels "integrate" biomarker responses? [J]. Marine Pollution Bulletin, 2008, 57(6): 503-514

[23] Gravato C, Almeida J R, Silva C, et al. Using a multibiomarker approach and behavioural responses to assess the effects of anthracene in *Palaemon* serratus [J]. Aquatic Toxicology, 2014, 149: 94-102

[24] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. Annual Review of Plant Biology, 2014, 55(1): 728-749

[25] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 菲、芘、1,2,4-三氯苯对蚯蚓的急性毒性效应[J]. 生态与农村环境学报, 2003, 19(1): 36-39
Song Y F, Zhou Q X, Xu H X, et al. Effect of acute toxicity of phenanthrene, pyrene and 1,2,4-trichlorobenzene on earthworms in soils [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2003, 19(1): 36-39 (in Chinese)

[26] 苗晶晶. 苯并[a]芘对栉孔扇贝分子毒理学机制的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 87-104
Miao J J. Molecular toxicological mechanism of benzo[a]pyrene on scallop *Chlamys farreri* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010: 87-104 (in Chinese)

[27] 穆景利, 王新红, 林建清, 等. 苯并[a]芘对黑鲷肝脏 GST 活性的影响及其与肝脏代谢酶和胆汁代谢产物之间的变化关系[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(4): 516-523
Mu J L, Wang X H, Lin J Q, et al. Effects of benzo[a]pyrene exposure on hepatic GST activity in black porgy (*Sparus macrocephalus*) and variation relationships with hepatic metabolic enzymes and biliary metabolites [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(4): 516-523 (in Chinese)

[28] 王淑红, 王新红, 陈荣, 等. 荧蒽、菲、芘对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)超氧化物歧化酶的影响[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2000, 39(4): 504-508
Wang S H, Wang X H, Chen R, et al. The effects of fluoranthene, phenaphthene and pyrene on superoxide dismutase (SOD) of *Ruditapes philippinarum* [J]. Journal of Xiamen University: Natural Science Edition, 2000, 39(4): 504-508 (in Chinese)

[29] 穆景利, 王新红, 林建清. 黑鲷(*Sparus macrocephalus*)暴露苯并(a)芘后胆汁中代谢产物 3-羟基-苯并(a)芘的剂量与时间-效应关系研究[J]. 环境化学, 2007, 26(4): 487-490
Mu J L, Wang X H, Lin J Q. Dose-time-effect relationship of metabolite 3-hydroxy-benzo(a) pyrene in bile after exposure to benzo(a)pyrene in black bream (*Sparus macrocephalus*) [J]. Environmental Chemistry, 2007, 26(4): 487-490 (in Chinese)

[30] 杜俊俏, 廖承红, 周海龙, 等. 马氏珠母贝 *hsp90* 基因的克隆及芘胁迫对其表达水平的影响[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(3): 503-511
Du J Q, Liao C H, Zhou H L, et al. Cloning of *hsp90* gene and expression analysis after exposure to pyrene in *Pinctada martensii* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(3): 503-511 (in Chinese)

[31] 吕福荣. 石油烃污染对马粪海胆的毒性效应及分子机制研究[D]. 大连: 大连海事大学, 2009: 67-87
Lv F R. Toxic effect of petroleum hydrocarbon pollution on *Hemicentrotus pulcherrimus* dung and its molecular mechanism [D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2009: 67-87 (in Chinese) ◆