

# 基于网络毒理学与生物信息学策略分析的二嗪磷致癌毒性及其作用机制研究

裘佳寅<sup>1</sup> 陈振金<sup>2,3</sup> 黄福龙<sup>2,3</sup> 古春萍<sup>2,3\*</sup>

1. 浙江中医药大学药学院, 中国·浙江 杭州 310053
2. 南方医科大学南方医院, 药学部, 中国·广东 广州 510515
3. 南方医科大学南方医院, 临床药学中心, 中国·广东 广州 510515

**摘要:** 食品安全与人体健康密切相关。二嗪磷作为一种被广泛使用的农药, 已被国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 列为 II 类致癌物, 引发广泛关注。本研究利用 5 个毒性预测数据库对二嗪磷的致癌潜能进行分析, 共筛选出二嗪磷的作用靶点 168 个、癌症相关靶点 2768 个, 其中具有交集的靶点 36 个。通过 Friends 分析, 筛选识别得到 20 个核心靶点。经 Metascape 功能富集分析揭示, 癌症为主要富集通路, 其机制可能与 MAPK 级联调控相关。利用 AutoDock 1.5.7 进行分子对接, 结果表明 20 个核心靶点中有 16 个结合能小于 -5 kcal/mol, 其中二氢叶酸还原酶 (dihydrofolate reductase, DHFR) 结合能最低 (-6.7 kcal/mol)。对 DHFR 的泛癌分析进一步阐明了其在肿瘤发生中的作用。本研究为阐明二嗪磷的分子毒性机制提供理论依据, 可为后续疾病防控与治疗研究提供参考。

**关键词:** 二嗪磷; 网络药理学; 致癌性; 肿瘤; 二氢叶酸还原酶

## Analysis of toxicity and mechanisms of Diazinon in cancer with network toxicology and bioinformatic strategy

Qiu Jiayin<sup>1</sup>, Chen Zhenjin<sup>2,3</sup>, Huang Fulong<sup>2,3</sup>, Gu Chunping<sup>2,3\*</sup>

1. Department of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, China Zhejiang Hangzhou 310053
2. Department of Pharmacy, Nanfang Hospital, Southern Medical University, China Guangdong Guangzhou 510515
3. Clinical Pharmacy Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, China Guangdong Guangzhou 510515

**Abstract:** Food safety is closely linked to human health, Diazinon, as a widely used pesticide, has been listed as a Class II carcinogen from (International Agency for Research on Cancer, IARC), raising widespread concerns. In this study, we used five toxicity prediction databases to reveal its carcinogenic potential. We collected 168 targets for Diazinon, and 2,768 cancer-related targets, with 36 overlapping targets. Followed by Friends analysis, identifying 20 core targets. Functional enrichment via Metascape highlighted cancer as the primary pathway, potentially involving mechanisms related to the MAPK cascade regulation. Molecular docking with Autodock 1.5.7 revealed that 16 of the 20 core targets had binding energies <-5 kcal/mol, with dihydrofolate reductase (DHFR) showing the lowest binding energy (-6.7 kcal/mol). Pan-cancer analysis of DHFR further elucidated its role in tumorigenesis. This study provides a theoretical basis for understanding Diazinon's molecular toxicity mechanisms, facilitating future research on disease prevention and treatment.

**Keywords:** Diazinon; Network pharmacology; Carcinogenicity; Cancer; DHFR

### 1 背景

二嗪磷 (Diazinon) 是一种应用广泛的有机磷类农药, 具有良好的杀虫效果。其化学名称为 O,O-二乙基-O-(2-异丙基-6-甲基-4-嘧啶基) 硫代磷酸酯, 常见商品名包括巴素丁 (Basudin)、二嗪农 (Dimpylate) 等。在农业生产中, 二嗪磷作为非内吸性杀虫剂, 同时兼具杀螨活性, 可用于防治多种作物上的刺吸式口器害虫与

食叶类害虫, 如蚜虫、粉虱、根蛆等。其优异的杀虫效果使其成为众多作物防控方案中的重要药剂。研究表明, 二嗪磷在水稻、玉米、蔬菜等作物上表现出良好的防控效果, 可有效降低虫害造成的作物损失, 有效提升作物产量与品质<sup>[1]</sup>。除农业领域外, 二嗪磷还广泛应用于公共卫生领域, 用于防控蚊、蝇等病媒生物。此类害虫是多种传染病的携带者和传播媒介, 对其种群数量进行有效控制对保障公共

卫生安全具有重要意义。在城乡环境中, 喷施二嗪磷可有效降低蚊虫种群密度, 从而降低疾病传播风险<sup>[2]</sup>。

然而, 随着人们对二嗪磷对环境与人体健康影响的关注度不断提升, 其使用面临着严峻挑战。部分地区因公众对其残留问题的关注和担忧, 已实施严格的管控措施<sup>[3]</sup>。此外, 研究显示, 土壤中二嗪磷残留会对后茬作物生长产生不利影响, 损害作物健康, 影响作物产量<sup>[4]</sup>。除此之外, 水环境中二嗪磷浓度的变化可能对水生生物产生毒性效应, 这凸显了谨慎使用该农药的必要性, 以避免对生态系统造成破坏<sup>[5]</sup>。

鉴于二嗪磷在人类生活中的广泛作用, 阐明其毒理学机制至关重要。毒性研究表明, 它对生物体具有急性和慢性毒性作用。急性毒性主要表现为神经毒性效应, 导致流涎、肌肉震颤和呼吸困难等症状。研究显示, 二嗪磷在小鼠模型中表现出明显的急性毒性, 特别是在高剂量下, 导致死亡率显著上升<sup>[6]</sup>。就慢性毒性而言, 长期暴露于二嗪磷环境下可能对神经系统造成慢性损伤, 并引起其他系统功能障碍, 包括内分泌干扰和生殖毒性<sup>[7]</sup>。此外, 有研究还揭示了二嗪磷对水生生物的严重慢性毒性, 长期暴露会导致生态失衡和生物多样性下降<sup>[8]</sup>。在鱼类中, 二嗪磷不仅影响生长和繁殖, 还会干扰内分泌系统, 导致激素失衡, 这可能威胁种群的可持续性<sup>[9]</sup>。此外, 二嗪磷对水生生物的影响还包括生理行为改变, 如摄食活动与逃逸反应减弱, 可能会降低其在自然生态系统中的存活率<sup>[10]</sup>。根据其毒理学效应, 二嗪磷被归类为 2 类致癌物。然而, 其具体致癌机制以及主要诱发的癌症类型仍不明确。

网络毒理学是一个新兴的交叉学科领域, 融合了计算机科学、毒理学和生物信息学等技术, 旨在通过基于网络的数据分析来评估化学物质的毒性。网络毒理学的最新进展已从单一模型方法转变为多模型组合, 从传统的“单靶点、单药物”范式转向一种被称为“多靶点、单药物”的新型发现方法。该框架从网络视角阐明了疾病相关和药物相关的基因、蛋白质及代谢物之间复杂的相互作用。例如, 利用计算毒理学模型和数据挖掘技术, 研究人员能够从海量的生物数据中挖掘出有价值的信息, 以支持化学物质安全性评价和监管决策<sup>[11, 12]</sup>。

泛癌分析在评估化学物质的致癌性方面具有重要价值。传统致癌性评价方法多依赖动物实验, 耗时且成本较高。已有研究表明, 二嗪磷可诱导细胞内氧化应激, 进而激活与细胞增殖和凋亡相关的信号通路, 具有促进肿瘤增殖的潜能<sup>[13]</sup>。此外, 研究发现二嗪磷可调控部分

与癌症进展密切相关基因的表达<sup>[14]</sup>。通过泛癌靶点分析, 能够更深入阐明二嗪磷的致癌机制, 为制定新型防控策略提供理论依据。该方法也可为其他化学物质的风险评估提供参考。

本研究旨在运用网络毒理学全面解析二嗪磷的毒性机制及其相互作用。该方法不仅可加快新型化合物的安全性评价进程, 还有助于科研人员识别潜在生物标志物, 支持开展个体化风险评估。此外, 泛癌靶点分析能够使研究者更准确地揭示化学物质与生物系统之间的关联, 为毒理学研究提供新思路。然而, 这些先进方法的应用也面临诸多挑战, 如数据复杂性、模型可靠性及标准化缺失等。上述因素可能影响研究结果的可重复性与普适性, 在后续研究中有待于进一步解决。

## 2 研究方法

### 2.1 网络毒理学分析

首先从 PubChem 数据库 (Kim 等, 2019) (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取二嗪磷的简化分子线性输入规范 (simplified molecular input line entry system, SMILES) 序列<sup>[15]</sup>。随后, 将该序列导入 6 个毒性预测数据库进行分析, 并下载预测结果用作后续评估。本研究选用的数据库包括: ADMETlab3.0<sup>[16]</sup> (<https://admetlab3.scbdd.com/>)、admetSAR3.0<sup>[17]</sup> (<https://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar3/about.php>)、预期误差发生率为 0.02 的 eMolTox<sup>[18]</sup> (<https://xundrug.cn/moltox>)、ProTox-3.0<sup>[19]</sup> ([https://tox.charite.de/prottox3/index.php?site=compound\\_input](https://tox.charite.de/prottox3/index.php?site=compound_input)) 及 LightBBB<sup>[20]</sup> (<http://bioanalysis.cau.ac.kr:7030/>)。

### 2.2 二嗪磷的靶点构建

为构建二嗪磷的靶点集, 首先在 PubChem 数据库中检索该化合物, 以准确确认其名称与分子式 (PubChem 化合物识别号 (CID): 3017)。获取二嗪磷的异构体 SMILES 序列 (CCOP(=S)(OCC)OC1=NC(=NC(=C1)C)C(C)C), 并利用 ChemBio3D Ultra 22.0 软件构建其三维结构。通过计算最小自由能对该三维结构进行优化, 将优化后的结构保存为“mol2”格式, 用于后续的分子对接研究。

随后将二嗪磷的结构数据文件 (structure data file, SDF) 上传至 SwissTarget 预测平台<sup>[21]</sup> (<http://swisstargetprediction.ch/>), 选定人类作为研究物种, 筛选出概率大于 0.1 的靶点。此外, 本研究还利用 PuperPred<sup>[22, 23]</sup> ([https://prediction.charite.de/subpages/target\\_prediction.php](https://prediction.charite.de/subpages/target_prediction.php))、相似性集成方法 (similarity ensemble approach,

SEA)<sup>[24]</sup> (<https://sea.bkslab.org/>) 及相互作用化学品检索工具 (search tool for interacting chemicals, STITCH)<sup>[25]</sup> (<http://stitch.embl.de/>) 开展靶点预测分析。

### 2.3 疾病靶点的构建

疾病靶点库主要通过 GeneCards<sup>[26]</sup> (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM<sup>[27]</sup> (<https://www.omim.org/>) 数据库构建。具体而言, 使用检索词 “cancer” 和 “tumor” 在两个数据库中识别与癌症相关的靶点。在 GeneCards 数据库中, 选择相关性评分大于 10 的靶点; 而 OMIM 数据库则提供了额外的癌症相关靶点。将两个数据库预测的靶点进行合并, 并去除重复项, 最终得到一个经过筛选的疾病靶点库, 用于后续分析。

### 2.4 药物靶点与疾病靶点的交集分析及蛋白质-蛋白质相互作用网络构建

药物靶点与疾病靶点的交集分析主要通过 R 软件 (4.2.1 版本) 完成, 利用 R 语言扩展包 eulerr (7.0.0 版本) 和 ggplot2 (3.3.6 版本) 对二噁磷靶点与癌症相关靶点的交集进行可视化分析。本研究对靶点列表进行数据处理, 筛选出两组靶点中的特有靶点与共有靶点, 并通过 eulerr 包绘制维恩图将分析结果可视化。同时, 利用 ggplot2 包对可视化图形进行进一步个性化定制与优化。

本研究通过 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 将维恩图分析得到的交集靶点上传至 STRING 平台, 选定智人 (Homo sapiens) 作为研究物种, 直接通过该平台生成并可视化得到 PPI 网络, 以此明确共有靶点间的相互作用关系。

### 2.5 核心靶点筛选

关键靶点筛选主要使用 R 软件 (版本 4.2.1) 及 GOSemSim 软件包 (版本 2.22.0) 进行 Friends 分析, 该方法通过计算网络拓扑结构, 基于基因在基因互作网络中的重要性来识别关键基因。X 轴表示各基因与其他基因的语义相似性, Y 轴列出相应的基因。基因按照其与其他基因的平均相似性降序排列, 排名靠前的基因与其他基因具有最高的相似性, 因此被认为是关键靶点。输入的分子列表首先使用 org.Hs.eg.db 软件包进行 ID 转换, 随后使用 GOSemSim 进行 Friends 分析以评估各基因在网络中的显著性。所用物种为智人 (Homo sapiens), ID 转换通过 org.Hs.eg.db 数据库完成。该方法通过评估基因与网络中其他基因的语义相似性来识别核心靶点, 有助于优先筛选最具影响力的基因。

### 2.6 靶点功能富集分析及药物-靶点-通路网络构建

本研究以 20 个核心靶点为研究对象, 采用两种网络通路分析工具开展通路分析与网络构建工作。借助 Metascape 在线平台<sup>[28-31]</sup> (<https://metascape.org/>) 对基因本体 (Gene Ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 的核心通路进行富集分析, 利用 Cytoscape 3.9.1 软件构建药物-靶点-通路网络。

### 2.7 分子对接

从 PubChem 数据库下载小分子的二维结构, 通过 ChemBio 3D 软件将其转换为三维结构, 随后进行能量最小化处理以完成结构优化。从蛋白质数据库 (protein data bank, PDB) 下载由 AlphaFold<sup>[32]</sup> 预测得到的潜在关键靶点的三维结构 (.cif 格式), 并通过 Open Babel GUI 工具将其转换为 .pdbqt 格式。利用 AutoDockTools 1.5.7<sup>[33]</sup> 定义蛋白质活性包, 通过 AutoDock Vina 软件开展活性化合物与核心靶点间分子对接模拟实验。所有批量操作均通过 SailVina 工具完成。

### 2.8 泛癌分析

我们利用多种生物信息学工具分析了 DHFR 在各类癌症中的表达及其临床相关性。在 TIMER2 (<http://timer.cistrome.org/>) 平台中<sup>[34]</sup>, 我们评估了 DHFR 在 TCGA 肿瘤与癌旁正常组织之间的表达差异。对于缺乏正常组织数据的癌症 (如 TCGA-GBM、TCGA-LAML), 我们使用 GEPIA2<sup>[35]</sup> (<http://gepia2.cancer-pku.cn/>) 的 “Expression analysis-Box Plots” 模块将肿瘤组织中的 DHFR 表达与 GTEx 正常组织进行比较。此外, 通过 GEPIA2 的 “Pathological Stage Plot” 模块获取了 DHFR 在不同病理分期中的 violin 图。使用 GEPIA2 的 “Survival Map” 模块进行与 DHFR 相关的生存分析 (overall analysis, OS)。

## 3 结果

### 3.1 二噁磷的毒性分析

二噁磷含有硫代磷酸酯基团 (-P (=S)(O)), 该基团分别与乙基 (OCC) 和 1,3,5-三嗪环 (C<sub>3</sub>N<sub>3</sub>) 相连 (图 1)。三嗪环上有两个取代位点: 一个被甲基 (-CH<sub>3</sub>) 取代, 另一个被异丙基 (-C (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) 取代。

二噁磷的共毒系数主要与药物性肝损伤 (drug-induced liver injury, DILI)、急性经口毒性、皮肤毒性及其他器官毒性相关, 且具有一定的血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 通透性。在 Tox21 通路分析中, 观察到与芳

香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, NR-AhR) 和芳香酶 (NR-Aromatase) 相关的毒性。在代谢方面, 所有 3 个数据库均预测其存在与细胞色素 P450 3A4 (CYP3A4) 相关的毒性。Tox21 通路及代谢层面的其他毒性仅由 1~2 个数据库 (ADMETlab 3.0 或 admetSAR 3.0) 预测得到。5 个平台均预测为阳性结果的指标汇总见表 1。

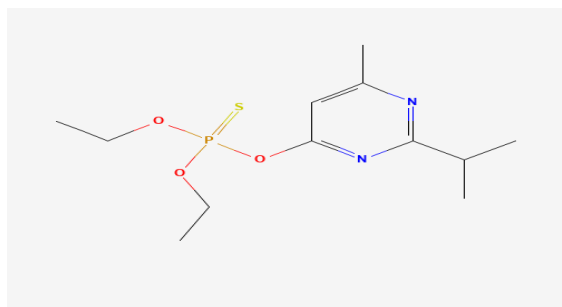


图1 二噁磷的化学结构 (图片来源于 PubChem 数据库网站)

### 3.2 二噁磷诱发癌症的潜在靶点

从 GeneCards 数据库中检索到 30,553 个癌症靶点和 32,756 个肿瘤靶点, 从 OMIM 数据库中提取了 200 个癌

症靶点和 200 个肿瘤靶点。根据 2.3 节的筛选标准, 从 SwissTarget 预测平台和 STITCH 数据库中检索到 8 个靶点, 从 SEA 数据库中检索到 1 个靶点。从 SuperPred 数据库中检索到 2 个已知强结合靶点、56 个预测靶点的适应症以及 111 个额外预测靶点。

对上述靶点进行去重处理后, 最终确定 2,768 个癌症相关靶点和 167 个二噁磷相关靶点。其中, 共有 36 个共同靶点 (图 2)。通过 STRING 数据库及关联分析, 筛选出 20 个核心靶点: MEN1、PPARG、DHFR、EZH2、FAS、CXCR4、NTRK3、GSTP1、NFKB1、KEAP1、ROCK1、CFTR、TSHR、STAT1、FGF2、TLR4、TOP1、APEX1、FASN、NQO2。

### 3.3 通路分析及药物-靶点-通路网络

本研究使用 Metascape 数据库对二噁磷致癌相关核心靶点进行分析, 以确定其相关的 GO、KEGG 及 Wiki 通路, 并同时进行了 Reactome 基因集分析。共获得二噁磷致癌相关的 12 个生物过程 (biological processes, BP)、1 条 KEGG 通路、3 条 Wiki 通路及 1 个 Reactome 基因集。

表1 二噁磷的毒性预测结果

分类	性质	数据库	概率
器官毒性	药物性肝损伤 (DILI)	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0	+++/-/++
器官毒性	急性经口毒性	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/eMolTox	+++ /+++ /+++
器官毒性	皮肤毒性	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0	+++ /+++
器官毒性	眼毒性	ADMETlab 3.0	+++
器官毒性	呼吸系统毒性	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0/eMolTox	+++ /- /+++ /+++
器官毒性	肾毒性	ADMETlab 3.0/ProTox-3.0	+++ /-
器官毒性	神经毒性	ADMETlab 3.0/ProTox-3.0	- /+++
器官毒性	遗传毒性	ADMETlab 3.0	+++
Tox21通路	芳香烃受体 (NR-AhR)	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0/eMolTox	+++ /- /- /+
Tox21通路	芳香酶 (NR-Aromatase)	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0/eMolTox	- /- /+++
Tox21通路	雌激素受体 (NR-ER)	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0/eMolTox	- /- /+++
Tox21通路	雌激素受体配体结合域 (NR-ER-LBD)	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0/eMolTox	- /- /+++
Tox21通路	线粒体毒性	admetSAR3.0/ProTox-3.0	+++ /-
毒性终点	免疫毒性	ProTox-3.0	+++
毒性终点	生态毒性	admetSAR3.0/ProTox-3.0	+ /+++
毒性终点	血脑屏障 (BBB-barrier)	ProTox-3.0/ LightBBB	+++ /+++
毒性终点	营养毒性	ProTox-3.0	+++
代谢	CYP3A4	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0	+++ /+++ /+++
代谢	CYP2C19	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0	+++ /+++ /-
代谢	CYP2C9	ADMETlab 3.0/ProTox-3.0	+++ /+
代谢	CYP2D6	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0/ProTox-3.0	+++ /+++ /-
代谢	CYP2B6	ADMETlab 3.0/ admetSAR3.0	+++ /+++
代谢	CYP2C8	ADMETlab 3.0	+++
分子起始事件	乙酰胆碱酯酶 (AChE)	ProTox-3.0	+++
分子起始事件	孕烷X受体 (PXR)	ProTox-3.0	+

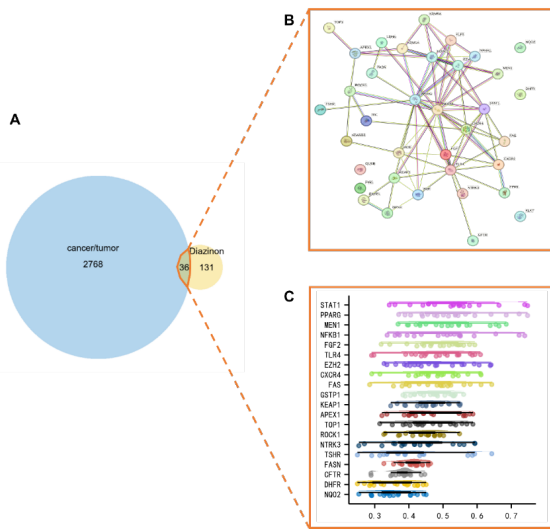


图2 二噻磷致癌相关潜在靶点的维恩图及核心潜在靶点。A.二噻磷致癌相关潜在靶点的维恩图；B.二噻磷致癌相关的PPI网络图；C.二噻磷致癌核心潜在靶点的功能富集分析可视化图。

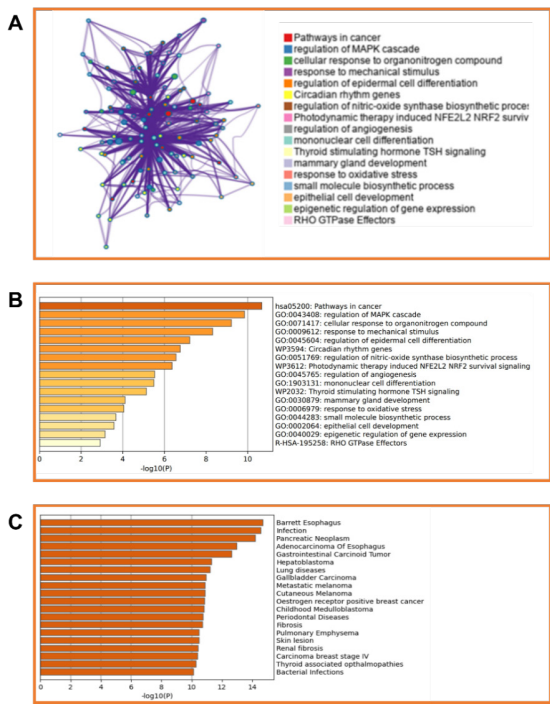


图3 通路分析结果

A.按聚类ID着色的富集条目药物-靶点-通路网络；B.输入基因列表的富集条目柱状图，按P值着色；C. DisGeNET数据库中富集分析汇总柱状图。

如图 3A 所示，KEGG 通路主要与癌症通路相关；BP 主要与 MAPK 级联反应调控、细胞对有机氮化化合物的应答、机械刺激应答相关；Wiki 通路主要与昼夜节律基因、光动力疗法诱导的 NFE2L2/NRF2 存活信号、促甲状腺激素 (thyroid stimulating hormone, TSH) 信号相关。图 3B 展示了二噻磷致癌相关通路分析的 P 值，结果显示癌症通路

的 P 值最大，而 RHO GTPase 效应通路的 P 值最小。图 3C 为核心靶点在 DisGeNET 数据库中的富集分析汇总 P 值，结果显示主要与 Barrett 食管、感染、胰腺肿瘤、食管腺癌及胃肠道类癌相关。

### 3.4 分子对接

选取核心靶点与二噻磷进行分子对接，获 20 组待对接的药物-靶点数据 (图 4A)。结合能小于 0 表明配体与受体可自发结合；结合能  $\leq -5.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  表明组分与靶点结合良好；结合能  $\leq -7.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  表明组分与靶点的结合构象具有较强的活性。在 20 个核心靶点中，除 FGF2 和 ROCK1 外，其余靶点的结合能均  $\leq -5.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

本研究选择结合能最低的靶点 DHFR 进行可视化展示 (图 4B)，最低结合能表明二噻磷最有可能通过与该靶点结合诱发癌症。如图 4B 所示，二噻磷主要与 ILE-8、VAL-9、ALA-10、ILE-17、GLY-18、LYS-19、ASN-20、GLY-21、ASP-22、LEU-23、TRP-25、GLU-31、PHE-32、PHE-35、MET-53、LYS-56、THR-57、SER-60、ILE-61、PRO-62、ASN-65、LEU-68、VAL-116、GLY-117、GLY-118、SER-119、TYR-122、THR-137、ASP-146 和 ALA-147 等氨基酸残基末端结合并相互作用，结合能为  $-6.7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

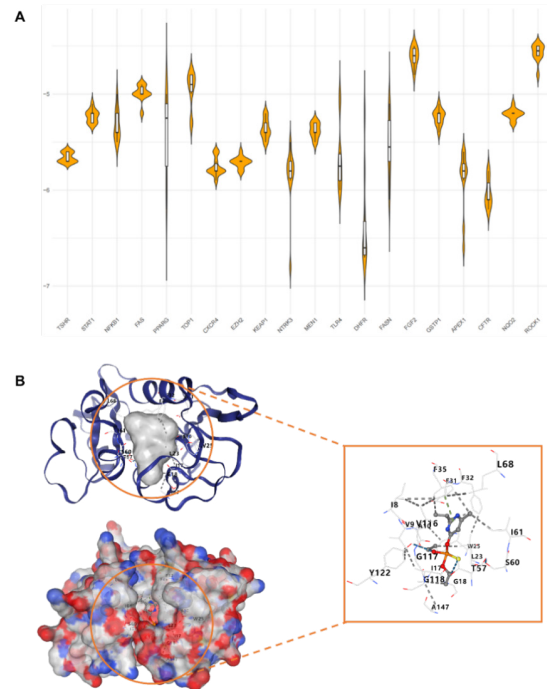


图4 分子对接结果

A.基于 10 组对接结合能评分的小提琴图。B.二氢叶酸还原酶 (DHFR)-二噻磷复合物。左下方为高斯曲面蛋白-球棍分子模型，左上方为卡通蛋白-二噻磷原子模型及放大的球棍分子模型。

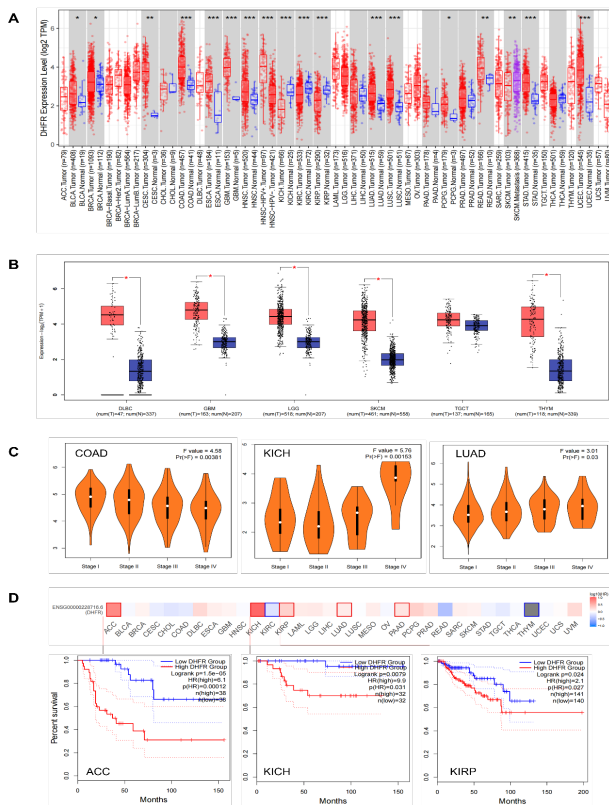


图5 DHFR的泛癌分析

A.通过TIMER2分析DHFR基因在不同癌症或特定癌症亚型中的表达状态。 $*P<0.05$ ;  $**P<0.01$ ;  $***P<0.001$ 。B.对于TCGA项目中的DLBC、GBM、LGG、SKCM、TGCT和THYM类型,将GTEX数据库中相应的正常组织纳入作为对照,提供箱线图数据。 $*P<0.05$ 。C.基于TCGA数据,分析DHFR基因在COAD、KICH、LUAD主要病理分期(I期、II期、III期和IV期)中的表达水平。采用Log2(TPM+1)进行对数转换。D.TCGA中DHFR基因表达与癌症生存预后的相关性。给出生存图谱及排名前3位的阳性结果的Kaplan-Meier曲线。

### 3.5 DHFR 泛癌分析

本研究采用TIMER2方法分析DHFR在TCGA数据库中多种癌症类型的表达情况。结果显示,DHFR在乳腺浸润癌(breast invasive carcinoma, BRCA)、结肠腺癌(colon adenocarcinoma, COAD)、食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, ESCA)、多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)、头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSC)、人乳头瘤病毒相关头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma associated with human papillomavirus, HNSC-HPV)、肾嫌色细胞癌(kidney chromophobe, KICH)、肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)、肾乳头状细胞癌(kidney renal papillary cell carcinoma,

KIRP)、肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)、肺鳞状细胞癌(lung squamous cell carcinoma, LUSC)、胃腺癌(stomach adenocarcinoma, STAD)、子宫内膜癌(uterine corpus endometrial carcinoma, UCEC)的肿瘤组织中表达水平显著高于相应癌旁对照组织(图5A,  $P<0.001$ )。

将纳入GTEX数据库的正常组织作为对照后,本研究对DHFR在弥漫性大B细胞淋巴瘤(lymphoid neoplasm diffuse large B-cell lymphoma, DLBC)、GBM、脑低级别胶质瘤(brain lower grade glioma, LGG)、皮肤黑色素瘤(skin cutaneous melanoma, SKCM)、胸腺瘤(thymoma, THYM)的正常组织与肿瘤组织间的表达差异进行了比较,结果显示两者差异显著(图5,  $P<0.05$ );而在睾丸生殖细胞肿瘤(testicular germ cell tumors, TGCT)中的正常组织与肿瘤组织间无显著差异(图5,  $P>0.05$ )。

本研究利用GEPIA2的“病理分期图”模块分析DHFR表达与癌症病理分期的相关性,包括COAD、KICH、LUAD(图5C,均 $P<0.05$ )。

根据DHFR表达水平将癌症病例分为高表达组与低表达组,分别基于TCGA和GEO数据集探讨DHFR表达与不同肿瘤患者预后的关系。如图5D所示,在TCGA项目中:高表达DHFR与肾上腺皮质癌(adrenocortical carcinoma, ACC)( $P<0.001$ )、KICH( $P=0.031$ )、KIRP( $P=0.027$ )、LUAD( $P=0.04$ )、胰腺癌(pancreatic adenocarcinoma, PAAD)( $P=0.044$ )患者的总生存期(overall survival, OS)不良预后显著相关;而低表达DHFR与KIRC患者的OS不良预后显著相关( $P=0.003$ )。

## 4 讨论

全球癌症发病率不断上升的实际情况,要求我们更深入地探究参与癌症病因学的环境与化学因素。在这些因素中,二噻磷等多种农药的暴露因其潜在毒理学效应而备受关注<sup>[36]</sup>。二噻磷作为一种有机磷类杀虫剂,在农业生产中被广泛使用,但与其DILI<sup>[37-40]</sup>、急性经口毒性<sup>[41, 42]</sup>及其他器官毒性的关联,凸显了对其潜在致癌性进行全面研究的必要性<sup>[43, 44]</sup>。本研究旨在阐明二噻磷与癌症之间的共同靶点,从而为环境毒素与癌症发病机制相关的研究提供更多证据。

本研究对二噻磷进行了全面的毒理学分析,通过鉴定共同靶点重点探讨二噻磷与癌症的潜在关联。借助多个生物信息学平台,本研究系统分析了二噻磷的毒理学特征,结果显示二噻磷共毒系数主要与DILI、急性经口毒性、皮肤毒性相关,同时二噻磷可透过血脑屏障。此外,本研究

筛选出大量二噻磷与癌症相关的共同靶点，并通过富集分析明确了这些靶点相关的关键生物学过程与信号通路。本研究利用分子对接实验，阐释了二噻磷与其核心靶点之间的结合能力，并重点针对对接评分最高的靶点进行泛癌分析。本研究结果不仅加深了对二噻磷毒理学效应的认识，也为揭示其在癌症发生发展中的潜在作用提供了理论依据，为后续深入探索其作用机制奠定了基础。

二噻磷毒性相关通路的分析揭示了二噻磷潜在致癌效应的重要机制。值得注意的是，MAPK 信号通路作为一个关键的生物学过程被识别出来，该通路已知可调节多种细胞功能，包括增殖、分化和凋亡<sup>[45-47]</sup>。MAPK 通路失调已在多种癌症的发生发展中被证实，提示二噻磷可能通过这一机制发挥其效应<sup>[48, 49]</sup>。MAPK 信号的激活可导致细胞存活和增殖增强，从而促进肿瘤发生。这一发现与既往研究一致，这些研究强调了环境毒素在调控 MAPK 活性中的作用，最终影响癌症进展<sup>[50-52]</sup>。此外，KEGG 通路分析发现二噻磷与“癌症通路”存在显著关联，该通路涵盖了驱动癌症发展的广泛分子改变。此通路整合了多种信号级联反应和遗传改变，凸显了癌症生物学的复杂性。二噻磷参与该通路，表明暴露于这种农药可能干扰正常的细胞信号传导，导致致癌性转化。此外，富集分析显示二噻磷与 NFE2L2-NRF2 存活信号通路存在关联，该通路在细胞防御氧化应激和外源性物质损伤中发挥关键作用<sup>[53, 54]</sup>。NRF2 的激活对于维持细胞稳态和防止癌变至关重要。然而，该通路的异常激活也可能促进肿瘤细胞存活和治疗抗性。二噻磷与该通路的相互作用令人担忧，因其不仅可能诱导毒性，还可能在应激条件下促进癌细胞存活。基于 NRF2 在癌症生物学中的这种双重作用，未来亟需进一步研究二噻磷暴露对 NRF2 介导信号传导的影响。

Tox21 通路分析显示，二噻磷与 NR-AhR 通路和 NR-Aromatase 通路存在显著的相互作用，这两条通路分别在外源化合物代谢调控和内分泌干扰中发挥关键作用。此外，本研究共鉴定出 2768 个癌症相关靶点和 167 个二噻磷相关靶点，其中包含 36 个共同靶点，这一结果揭示了二噻磷影响癌症相关通路的潜在可能性。值得注意的是，本研究鉴定出的包括 DHFR 在内的核心靶点均与多种恶性肿瘤相关。分子对接结果表明，二噻磷展示了与 DHFR 的强大结合亲和力，结合能为  $-6.7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ，说明二者极有可能发生相互作用，而这种作用可能是其具有潜在致癌作用的原因之一。对 DHFR 在多种肿瘤中的泛癌分析显示，该基因在包括 BRCA、LUAD 在内的多种癌症中显著上

调，且与不良的总生存期相关。这说明 DHFR 可作为评估二噻磷暴露相关风险及其在癌症进展中潜在作用的重要生物标志物。综上所述，本研究结果提示，有必要对二噻磷参与致癌过程的分子机制通路开展进一步研究，同时强调在癌症流行病学研究中监测环境暴露的重要性。

本研究采用的方法学呈现了多项优势，增强了研究结果的可靠性和全面性。首先，整合多个数据库（包括 GeneCards、OMIM、SwissTarget 和 SuperPred），有助于稳健地识别出与二噻磷相关的癌症靶点，共获 2,768 个癌症相关靶点和 167 个二噻磷相关靶点。这一广泛的靶点识别通过严格的筛选标准进一步优化，确保了后续分析所选靶点的特异性和相关性。此外，采用先进生物信息学工具进行分析，例如使用 Metascape 进行通路富集分析，使用 TIMER2 进行多种癌症类型表达谱分析，为理解二噻磷暴露的生物学意义提供了多维度视角。分子对接研究，特别是针对核心靶点 DHFR 的研究，不仅阐明了结合亲和力，还揭示了二噻磷促进致癌作用的潜在机制。综上所述，这些方法论途径凸显了本研究阐明二噻磷与癌症之间复杂相互作用的能力，为今后深入研究该化合物的毒理学和治疗学意义奠定了基础。

本研究对二噻磷的毒理学特征进行了全面分析，重点通过筛选其与多种癌症的共同靶点，探讨了该化合物潜在的致癌效应。尽管本研究结果表明二噻磷与多条癌症相关通路存在显著关联，但仍需客观认识本研究存在的局限性。首先，本研究依赖 GeneCards、Metascape 等数据库开展生物信息学预测，受数据质量与完整性的影响，可能存在一定偏倚。其次，本研究分子对接为计算机模拟（in silico）分析，尽管具有参考价值，但无法反映体内复杂的生物学相互作用，这可能会影响二噻磷与靶点之间的实际结合亲和力及功能效应。此外，本研究未对筛选得到的靶点及通路进行实验验证，在一定程度上限制了结论的可靠性。未来研究应采用实验方法对本研究结果进行验证，并阐明二噻磷参与癌症发生的潜在分子机制。

综上，我们对二噻磷的全面分析阐明了其多方面的毒理学特征，特别是其与药物性肝损伤及其他器官毒性的关联，以及其跨越血脑屏障的潜力。本研究鉴定出 2,768 个癌症相关靶点和 167 个二噻磷特异性靶点，其中 36 个为共靶点，这一结果凸显了该化合物在肿瘤相关研究中的重要意义。值得注意的是，富集分析揭示了与癌症显著相关的生物学过程和信号通路，特别是涉及 MAPK 信号传导和对有机氮化合物响应的通路。分子对接研究进一步证实

了 DHFR 作为一个关键靶点, 表现出较强的结合亲和力, 这说明二嗪磷可能参与癌症发生发展的一种潜在机制。对 DHFR 在多种肿瘤类型中表达的泛癌分析表明, 其具有作为预后生物标志物的潜力, 这进一步强调了对二嗪磷暴露与癌症发生发展关联进行深入研究的必要性。

**参考文献:**

[1] Nasrollahi M, Pourbabaee AA, Etesami H, et al. Diazinon degradation by bacterial endophytes in rice plant (*Oryza sativa* L.): A possible reason for reducing the efficiency of diazinon in the control of the rice stem-borer[J]. *Chemosphere*, 2020, 246:125759-125759. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125759>.

[2] Madrigal JM, Gunier RB, Jones RR, et al. Contributions of nearby agricultural insecticide applications to indoor residential exposures[J]. *Environ Int*, 2023, 171:107657-107657. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107657>.

[3] European Food Safety A, Bellisai G, Bernasconi G, et al. Targeted review of maximum residue levels (MRLs) for diazinon[J]. *EFSA J*, 2023, 21(11):e08426-e08426. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8426>.

[4] Yoon J, Lim D, Lee S, et al. Uptake of Soil-Residual Diazinon by Rotational Lettuce under Greenhouse Conditions[J]. *Foods*, 2022, 11(21):3510. <https://doi.org/10.3390/foods11213510>.

[5] Shiry N, Derakhshesh N, Alavinia SJ, et al. *Anodonta cygnea*, a freshwater swan mussel, exposed to diazinon: toxicity thresholds in behaviour and physiology[J]. *Vet Res Commun*, 2023, 47(3):1303-1319. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10078-1>.

[6] Zhu Q, Yang Y, Lao Z, et al. Acute and chronic toxicity of deltamethrin, permethrin, and dihaloacetylated heterocyclic pyrethroids in mice[J]. *Pest Manag Sci*, 2020, 76(12):4210-4221. <https://doi.org/10.1002/ps.5978>.

[7] Pereira F, Petroianu A, Geraldo JM, et al. Megavoltage radiotherapy effects on organs of the reticuloendothelial system[J]. *Acta Cir Bras*, 2023, 38:e384123. <https://doi.org/10.1590/acb384123>.

[8] Ali MH, Jyoti MS, Acharjee M, et al. Atrazine and diazinon inhibit oocyte maturation and ovulation in zebrafish[J]. *Reprod Toxicol*, 2026, 140:109172-109172. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2026.109172>.

[9] Zhang H, Zhou Y, Pan Z, et al. Toxicity assessment of *Cucurbita pepo* cv Dayangua and its effects on gut microbiota in mice[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2024, 24(1):243-243. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04551-w>.

[10] Lee S-H, Jung K, Chung J, et al. Comparative Study of Algae-Based Measurements of the Toxicity of 14 Manufactured Nanomaterials[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(10):5853. <https://doi.org/10.3390/ijerph19105853>.

[11] Rai M, Singh AV, Paudel N, et al. Herbal concoction Unveiled: A computational analysis of phytochemicals' pharmacokinetic and toxicological profiles using novel approach methodologies (NAMs)[J]. *Curr Res Toxicol*, 2023, 5:100118-100118. <https://doi.org/10.1016/j.crtox.2023.100118>.

[12] Spînu N, Cronin MTD, Lao J, et al. Probabilistic modelling of developmental neurotoxicity based on a simplified adverse outcome pathway network[J]. *Comput Toxicol*, 2022, 21:100206-100206. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2021.100206>.

[13] Nili-Ahmadabadi A, Akbari Z, Ahmadimoghaddam D, et al. The role of ghrelin and tumor necrosis factor alpha in diazinon-induced dyslipidemia: insights into energy balance regulation[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2019, 157:138-142. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.03.013>.

[14] Ghaemi S, Abedini F, Mousavi A, et al. Impact of pesticide diazinon on gastric cancer cell lines and the alteration of cholinergic and serotonergic pathway genes affecting cell proliferation[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1):40518-40518. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-24414-9>.

[15] Kim S, Chen J, Cheng T, et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1):D1102-D1109. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1033>.

[16] Fu L, Shi S, Yi J, et al. ADMETlab 3.0: an updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support[J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(W1):W422-W431. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae236>.

[17] Yang H, Lou C, Sun L, et al. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties[J]. *Bioinformatics*, 2019, 35(6):1067-1069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty1067>.

doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707.

[18] Ji C, Svensson F, Zoufir A, et al. eMolTox: prediction of molecular toxicity with confidence[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(14):2508-2509. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty135>.

[19] Banerjee P, Kemmler E, Dunkel M, et al. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals[J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(W1):W513-W520. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae303>.

[20] Shaker B, Yu M-S, Song JS, et al. LightBBB: computational prediction model of blood-brain-barrier penetration based on LightGBM[J]. *Bioinformatics*, 2021, 37(8):1135-1139. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa918>.

[21] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTarget-Prediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1):W357-W364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>.

[22] Gallo K, Goede A, Preissner R, et al. SuperPred 3.0: drug classification and target prediction—a machine learning approach[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1):W726-W731. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac297>.

[23] Nickel J, Gohlke B-O, Erehman J, et al. SuperPred: update on drug classification and target prediction[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(Web Server issue):W26-W31. <https://doi.org/10.1093/nar/gku477>.

[24] Keiser MJ, Roth BL, Armbruster BN, et al. Relating protein pharmacology by ligand chemistry[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(2):197-206. <https://doi.org/10.1038/nbt1284>.

[25] Kuhn M, Von Mering C, Campillos M, et al. STITCH: interaction networks of chemicals and proteins[J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(Database issue):D684-D688. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm795>.

[26] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses[J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54:1.30.31-31.30.33. <https://doi.org/10.1002/cpbi.5>.

[27] Hamosh A, Amberger JS, Bocchini C, et al. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®): Victor McKusick's magnum opus[J]. *Am J Med Genet A*, 2021, 185(11):3259-

3265. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.62407>.

[28] Piñero J, Bravo À, Queralt-Rosinach N, et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1):D833-D839. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw943>.

[29] Stark C, Breitkreutz B-J, Reguly T, et al. BioGRID: a general repository for interaction datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(Database issue):D535-D539. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj109>.

[30] Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1):D607-D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>.

[31] Zhou Y, Zhou B, Pache L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1523-1523. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09234-6>.

[32] Varadi M, Bertoni D, Magana P, et al. AlphaFold Protein Structure Database in 2024: providing structure coverage for over 214 million protein sequences[J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(D1):D368-D375. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1011>.

[33] El-Hachem N, Haibe-Kains B, Khalil A, et al. AutoDock and AutoDockTools for Protein-Ligand Docking: Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1(BACE1) as a Case Study[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1598:391-403. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6952-4\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6952-4_20).

[34] Li T, Fu J, Zeng Z, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1):W509-W514. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa407>.

[35] Tang Z, Kang B, Li C, et al. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1):W556-W560. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz430>.

[36] Zhao M-A, Gu H, Zhang C-J, et al. Metabolism of insecticide diazinon by *Cunninghamella elegans* ATCC36112[J]. *RSC Adv*, 2020, 10(33):19659-19668. <https://doi.org/10.1039/d0ra02253e>.

- [37] Abdel-Daim MM, Taha R, Ghazy EW, et al. Synergistic ameliorative effects of sesame oil and alpha-lipoic acid against subacute diazinon toxicity in rats: hematological, biochemical, and antioxidant studies[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016, 94(1):81-88. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0131>.
- [38] Ahmadi A, Heidarian E, Ghatreh-Samani K. Modulatory effects of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract against oxidative stress and hepatic TNF- $\alpha$  gene expression in acute diazinon-induced liver injury in rats[J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2019, 30(5). <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2018-0180>.
- [39] Esfahani M, Mehri F. Homeostatic changes of trace elements in diazinon toxicity in rat model: The beneficial role of resveratrol[J]. *Toxicol Rep*, 2024, 13:101719-101719. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101719>.
- [40] Miranda CA, Beretta EM, Ferreira LA, et al. Role of biotransformation in the diazinon-induced toxicity in HepG2 cells and antioxidant protection by tetrahydrocurcumin[J]. *Toxicol Rep*, 2022, 10:32-39. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.12.005>.
- [41] Enan EE, El-Sebae AH, Enan OH, et al. In-vivo interaction of some organophosphorus insecticides with different biochemical targets in white rats[J]. *J Environ Sci Health B*, 1982, 17(5):549-570. <https://doi.org/10.1080/03601238209372341>.
- [42] Morteza Z, Mousavi SB, Baghestani MA, et al. An assessment of agricultural pesticide use in Iran, 2012-2014[J]. *J Environ Health Sci Eng*, 2017, 15:10-10. <https://doi.org/10.1186/s40201-017-0272-4>.
- [43] Delorenzi Schons D, Leite GaA. Malathion or diazinon exposure and male reproductive toxicity: a systematic review of studies performed with rodents[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2023, 53(8):506-520. <https://doi.org/10.1080/10408444.2023.2270494>.
- [44] Herrera EG, Bonini A, Vivaldi F, et al. A Biosensor for the Detection of Acetylcholine and Diazinon[J]. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2019, 2019:1159-1162. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2019.8856959>.
- [45] Cheng Y, Chen J, Shi Y, et al. MAPK Signaling Pathway in Oral Squamous Cell Carcinoma: Biological Function and Targeted Therapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(19):4625. <https://doi.org/10.3390/cancers14194625>.
- [46] Shi A, Liu L, Li S, et al. Natural products targeting the MAPK-signaling pathway in cancer: overview[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2024, 150(1):6-6. <https://doi.org/10.1007/s00432-023-05572-7>.
- [47] Wei J, Liu R, Hu X, et al. MAPK signaling pathway-targeted marine compounds in cancer therapy[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2021, 147(1):3-22. <https://doi.org/10.1007/s00432-020-03460-y>.
- [48] Lee YJ, Kim WR, Park EG, et al. Exploring the Key Signaling Pathways and ncRNAs in Colorectal Cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(8):4548. <https://doi.org/10.3390/ijms25084548>.
- [49] Zou X, Blank M. Targeting p38 MAP kinase signaling in cancer through post-translational modifications[J]. *Cancer Lett*, 2017, 384:19-26. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.10.008>.
- [50] Feulefack J, Khan A, Forastiere F, et al. Parental Pesticide Exposure and Childhood Brain Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis Confirming the IARC/WHO Monographs on Some Organophosphate Insecticides and Herbicides[J]. *Children (Basel)*, 2021, 8(12):1096. <https://doi.org/10.3390/children8121096>.
- [51] Li J, Sun Y, Bi H. Exploring molecular mechanisms of diazinon toxicity in HT22 hippocampal neurons through integrated miRNA and mRNA profiling[J]. *Comput Biol Med*, 2024, 182:109091-109091. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2024.109091>.
- [52] Sadighara P, Mahmudiono T, Marufi N, et al. Residues of carcinogenic pesticides in food: a systematic review[J]. *Rev Environ Health*, 2023, 39(4):659-666. <https://doi.org/10.1515/reveh-2022-0253>.
- [53] Li H, Song F, Duan L-R, et al. Paeonol and danshensu combination attenuates apoptosis in myocardial infarcted rats by inhibiting oxidative stress: Roles of Nrf2/HO-1 and PI3K/Akt pathway[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:23693-23693. <https://doi.org/10.1038/srep23693>.
- [54] Li X, He P, Wang X-L, et al. Sulfiredoxin-1 enhances cardiac progenitor cell survival against oxidative stress via the upregulation of the ERK/NRF2 signal pathway[J]. *Free*

Radic Biol Med, 2018, 123:8-19. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.060>.

基金项目：本研究由国家自然科学基金（No. 82504927）、广东省基础与应用基础研究基金（No.

2023A1515110921）、广州市科技计划项目（No. 2025A04J4123）资助。

作者简介：第一作者：裘佳寅。

\* 通讯作者：古春萍，邮箱：gcp12@smu.edu.cn。