DOI:10.12441/spyswjs.20240604002 [文章编号] 1673-1689(2024)07-0056-11

基于转录组学分析T-2毒素诱导细胞凋亡作用机制

叶永丽[1,2] 高 露[1] 纪 剑[1,2] 孙嘉笛[1,2] 王加生[3] 张银志[1] 孙秀兰[1,2*]

(1. 江南大学食品学院,江苏 无锡 214122; 2. 国家市场监督管理总局重点实验室(食品安全风险物质甄别与防控),北京 100176; 3. 美国佐治亚大学公共卫生学院,佐治亚 雅典 30602)

摘要:T-2毒素是一种强毒性单端孢霉烯族毒素,具有多器官效应毒性。为了解T-2毒素对不同细胞系毒性的影响及作用机制,作者分析了T-2毒素暴露对4种细胞系氧化应激、Ca^{2+}水平和凋亡的影响,采用细胞转录组学等技术分析了T-2毒素作用于敏感细胞的关键基因和信号通路。结果表明,相同诱导剂量下,BV2小胶质细胞和HepG2肝癌细胞对T-2毒素敏感,细胞内活性氧(ROS)和Ca^{2+}水平显著升高($P<0.05$),细胞凋亡程度高。转录组学和逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)结果显示,T-2毒素可通过MAPK/AP-1、TNF-NF-κB信号通路并上调AP-1、白细胞介素-6(IL-6)等因子水平引起BV2细胞炎症反应。而与氧化应激和凋亡相关的PI3K/AKT、PERK/P53/Casp3信号通路,通过下调Akt、SIRT1等促凋亡因子并上调超氧化物歧化酶促进了HepG2细胞的凋亡。T-2毒素分别通过促炎和氧化应激相关信号通路诱导BV2细胞和HepG2细胞凋亡,说明T-2毒素可通过不同的分子机制对不同器官产生特异性毒性效应。

关键词:T-2毒素;细胞毒性;转录组学;氧化应激;炎症反应

Mechanism of T-2 Toxin Induction in Promoting Cell Apoptosis Based on Transcriptomics

YE Yongli[1,2] *GAO Lu*[1] *JI Jian*[1,2] *SUN Jiadi*[1,2] *WANG Jiasheng*[3] *ZHANG Yinzhi*[1] *SUN Xiulan*[1,2*]

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. State Administration for Market Regulation (Key Laboratory of Screening, Prevention, and Control of Food Safety Risks), Beijing 100176, China; 3. College of Public Health, University of Georgia, Athens 30602, USA)

Abstract: T-2 toxin is a highly toxic trichothecene compound, which exhibits multi-organ toxicity. To investigate the toxic effects of T-2 toxin on different cell lines and the related molecular mechanisms, we analyzed the effects of T-2 toxin exposure on oxidative stress, Ca^{2+} levels, and apoptosis in four cell lines. The key genes and potential signaling pathways of T-2 toxin on sensitive cells were analyzed using transcriptomics. Results revealed that BV2 microglial cells and HepG2 cells exhibited sensitivity to T-2 toxin, displaying a significant increase in intracellular reactive oxygen species (ROS) and Ca^{2+} levels, leading to elevated cell apoptosis. Transcriptomic data and RT-PCR analysis indicated that T-2 toxin triggered apoptosis in BV2 and HepG2 cells through distinct signaling pathways. Additionally, BV2 cells showed an inflammatory response *via* the MAPK/AP-1 and TNF-NF-κB pathways, upregulating factors like AP-1 and IL-6. Conversely, HepG2 cells underwent apoptosis through the PI3K/AKT and PERK/P53/Casp3 pathways, downregulating Akt and SIRT1, while upregulating superoxide dismutase. Overall, T-2 toxin induced apoptosis in BV2 and HepG2 cells, respectively through inflammatory and oxidative stress-related pathways, highlighting its potential to affect different organs *via* diverse molecular mechanisms.

基金项目:国家“十四五”重点研发计划项目(2022YFE0137500)

通信作者:孙秀兰(1976—),女,博士,教授,博士研究生导师,主要从事食品安全检测与主动防控研究。E-mail:sxlzzz@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2024-06-04 **改回日期:**2024-07-30

Keywords: T-2 toxin; cytotoxicity; transcriptomics; oxidative stress; inflammatory response

单端孢霉烯类毒素是农业中重要的真菌污染毒素之一，普遍存在于霉变的粮食作物、植物性饲料原料以及种植和养殖环境中，对人和动物健康构成安全隐患[1]。T-2毒素是一种镰刀菌属产A型单端孢霉烯族毒素，具有分布广、毒性强、稳定性高的特点[2]。在1974年的日内瓦会议上，T-2毒素被确定为危害最大的天然污染源之一[3]。研究表明，小麦、大麦、黑麦、燕麦和玉米是受T-2毒素污染最严重的谷物[4-6]。根据帝斯曼在2023年发布的全球真菌毒素污染报告，南亚和东欧的检测样品中T-2毒素污染率均超过45%，欧洲地区采样的玉米粒中T-2毒素的检出率为47%，我国玉米样品中T-2毒素的检出率为20%[7]。多项研究表明，通过饲料摄入低剂量的T-2毒素会破坏养殖对虾、中华绒螯蟹的免疫系统并抑制其生长发育，且T-2毒素及其代谢产物可在虾体内蓄积并残留，可能通过食物链传递[8-10]。因此，多个国家对食源性T-2毒素暴露进行了风险评估并制定了限量标准[11]。2018年5月我国实施的《饲料卫生标准》规定植物性饲料原料或猪禽配合饲料中的T-2毒素残留量不得超过0.5 mg/kg[12]。

长期暴露于T-2毒素可对人体消化系统、生殖系统、神经系统、免疫系统等多个器官组织造成损伤。同时，动物若长期摄入被T-2污染的饲粮，可能会导致急性或慢性中毒，呈现呕吐、拒食、腹痛、血便、休克、骨髓再生障碍性疾病等临床症状，进而影响动物的正常生长发育和胃肠道功能等，其毒性效应引起了广泛的关注[13-15]。此外，T-2毒素暴露被认为与食物中毒性白细胞缺乏症（alimentary toxic aleukia，ATA）、大骨节病等的发生有关[16-17]。目前对T-2毒素毒性机制研究主要集中在神经毒性、肠道毒性、肝损伤、肾脏毒性和生殖毒性，毒性作用机制主要为通过破坏DNA和RNA的合成来诱导细胞凋亡[18-20]，抑制蛋白质合成和胞内氧化应激损伤。已有的T-2毒素致毒机制研究表明，T-2毒素在不同器官、不同细胞系中介导的信号通路可能不同，如在小鼠胚胎干细胞中涉及p-38 MAPK通路[21]，人肠道Caco-2细胞和HT-29细胞中涉及IRE1/XBP1通路[22]，而人软骨细胞、Bel-7402、HL-60、U937和HL-7702细胞则与Bcl-2、Bax、caspase 2/3/9信号通路相关[23-26]。因此，全面解析T-2毒素的多效应器官毒性机制，可为食源性T-2毒素防控策略的制定提供理论依据。

尽管已有文献指出T-2毒素对HepG2细胞、BV2细胞等经典毒理评价细胞系具有增殖抑制和促凋亡的毒性作用，但缺少效应机制研究。因此，作者针对T-2毒素已知的神经、肝脏、肠道和生殖毒性，通过筛选对T-2毒素暴露敏感的细胞系，采用转录组学技术分析T-2毒素对敏感细胞的毒性作用及潜在机制，筛选受调控的关键基因以及富集相关信号通路并进行验证，旨在为基于敏感细胞系的T-2毒素毒性干预策略的制定及毒性检测平台的构建提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

T-2毒素（纯度≥99%）：美国Sigma试剂公司；人肝癌细胞（HepG2）、人结肠癌细胞（HT-29）、小鼠小胶质瘤细胞（BV2）、小鼠睾丸间质细胞（TM3）：中国科学院细胞库；DMEM（高糖型，葡萄糖质量浓度≥4 500 mg/L）、MEM（低糖型，葡萄糖质量浓度≤1 000 mg/L）、DMEM/Hams F12混合培养基、胎牛血清、RNAzap™、焦碳酸二乙酯（DEPC）水、Trizol裂解液：赛默飞世尔科技公司；ROS探针、Fluo-4AM钙离子荧光探针、膜联蛋白V-FITC细胞凋亡试剂盒、胰酶消化液（含质量分数0.25%的乙二胺四乙酸）、磷酸盐缓冲液（phosphate buffer solution，PBS）：上海碧云天生物技术有限公司；ChamQ Universal SYBR Qpcr Master Mix和两步法RT-qPCR预混液（去基因组）试剂盒：南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

FACSAriaII型流式细胞分选仪：美国BD公司；T100PCR型基因扩增仪：美国Bio-Rad公司；微量分光光度计、NC2000型Nanodrop：美国赛默飞世尔科技公司；多功能酶标仪：美国MD公司；LightCycler 96型实时荧光定量PCR仪：瑞士Hoffmann-La Roche有限责任公司。

1.3 试验方法

1.3.1 细胞处理 细胞经胰蛋白酶消化后，以800 r/min离心5 min，收集细胞，随后使用培养基重悬并计数。调整细胞密度后，以每孔5 000个细胞的量接种于96孔细胞培养板中。培养过夜后，弃去原培养基，并加入100 μL含有不同质量浓度的

T-2毒素的培养液继续孵育24 h，进行各指标测定。分别设置不同终质量浓度的T-2毒素，BV2细胞：1、2、5、10、15、20、50、100 μg/mL；HepG2细胞：1、2、5、10、20、50、100、200 μg/mL；TM3细胞：2、5、10、20、50、100、200、500 μg/mL；HT-29细胞：5、10、20、50、100、200、500、1 000 μg/mL。各细胞系均设置不含T-2毒素处理组为对照组，不含细胞及T-2毒素组为空白组，各组均为6个平行。

1.3.2 胞内ROS、Ca^{2+}水平和细胞凋亡率测定 孵育结束后，按照试剂盒操作说明，分别对用于ROS、细胞内Ca^{2+}水平、凋亡率测定的样品进行前处理。采用酶标仪进行ROS和Ca^{2+}水平的测定，其中ROS检测的激发波长和发射波长分别为488 nm和525 nm，Ca^{2+}水平测定的激发波长和发射波长分别为488 nm和512 nm。采用流式细胞仪进行细胞凋亡率检测，并使用Cell Quest软件对检测结果进行分析。细胞凋亡率采用膜联蛋白V-FITC/PI双重染色法测定。

1.3.3 细胞转录组学分析 根据前期筛选T-2毒素暴露敏感细胞系结果，以BV2细胞和HepG2细胞为对象进行转录组学分析。试验设计组别为：BV2细胞对照组（B_CK）、5 μg/mL T-2毒素暴露BV2细胞组（B_5 μg/mL）、HepG2细胞对照组（H_CK）、10 μg/mL T-2毒素暴露HepG2细胞组（H_10 μg/mL），每组3个平行。细胞与T-2毒素孵育结束后，按照常规的细胞总RNA提取及转录组测序步骤进行RNA提取和制备，随后采用Illumina HiSeq™ 2000高通量测序平台进行转录组测序。使用Agilent2100生物分析仪系统对采集的原始数据进行预处理，过滤去除低质量序列并获得高质量序列，同时确定RNA文库的大小。随后，采用RT-qPCR进行验证，从美国国家生物技术信息中心（NCBI）数据库检索获得目标差异基因的上下游引物和内参引物序列。反转录反应液体系与PCR反应液体系的配制和RT-PCR反应程序设置参考HOLME等的方法[27]。选择NADPH为内参基因，并使用$2^{-\Delta\Delta CT}$法计算相对mRNA水平[28]。

1.4 数据处理与分析

采用R3.6.4软件包进行统计学分析与绘图，$P<0.05$表示差异显著。使用Cutadapt对测序后的原始测序数据（Raw reads）进行过滤获得过滤数据（Clean reads），FastQC软件进行质量控制，DESeq算法分析基因表达水平差异，TopGO算法进行GO富集分析。使用聚类分析器软件进行表达水平差异基因的GO功能富集分析以及KEGG通路富集分析[29]。

2 结果与分析

2.1 T-2毒素对胞内ROS水平的影响

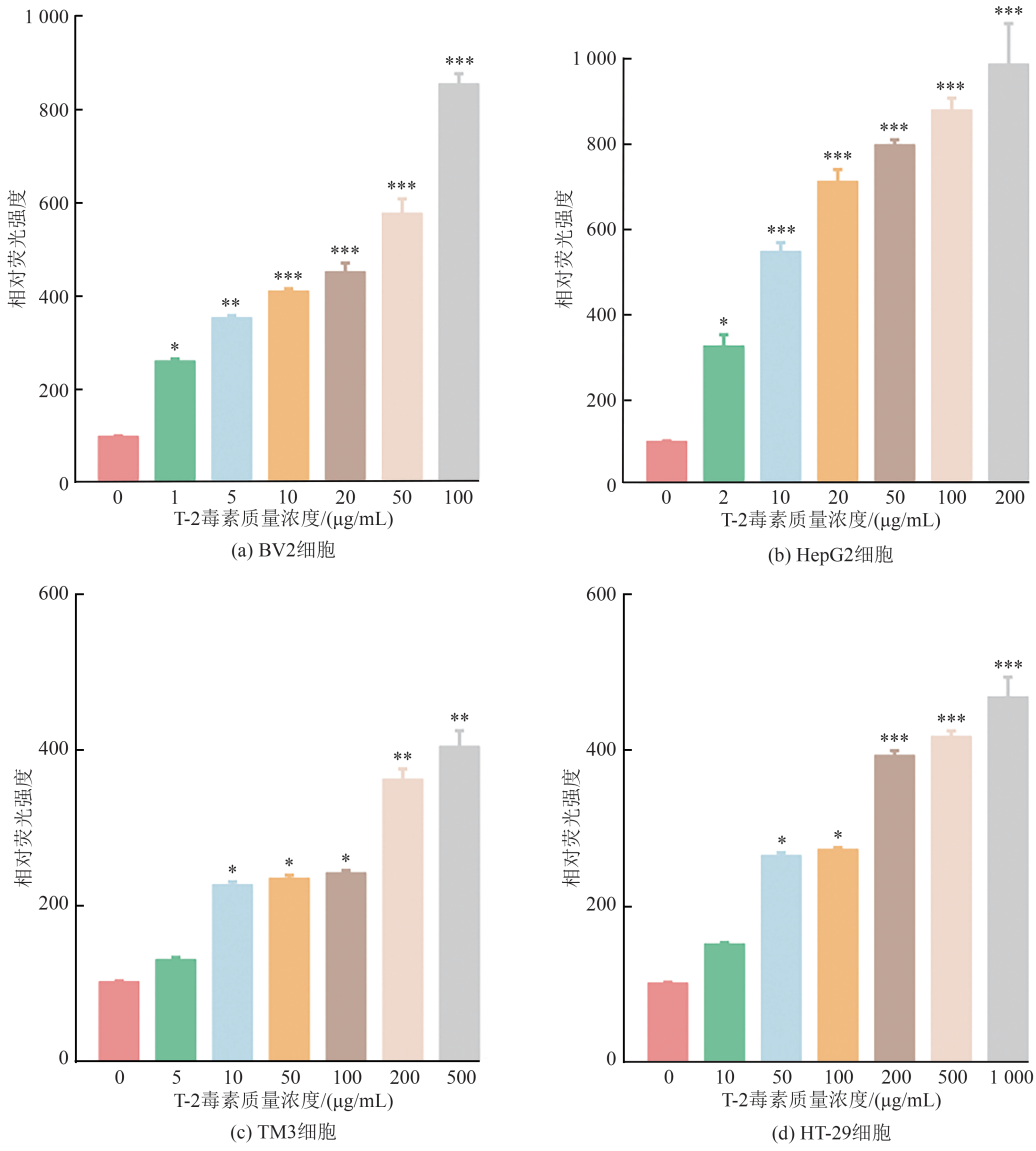
多项研究表明，T-2毒素通过引发氧化应激来启动细胞凋亡过程[24, 30-31]，因此探讨了不同质量浓度的T-2毒素处理对4种细胞的胞内ROS水平的影响。如图1所示，4种细胞系的胞内相对荧光强度随T-2毒素诱导质量浓度的增加而增强，并且呈现出剂量-效应关系。与对照组相比，除TM3细胞低质量浓度组（5 μg/mL）和HT-29细胞低质量浓度组（10 μg/mL）的ROS水平变化差异不显著外，其余毒素处理组的相对荧光强度均显著增强（$P<0.05$）。其中，在T-2毒素质量浓度为100 μg/mL的处理组中，BV2细胞和HepG2细胞的胞内相对荧光强度分别达到了855.59±21.46和984.30±94.61，而TM3细胞和HT-29细胞的相对荧光强度低于400。在低剂量T-2毒素处理组（10 μg/mL、50 μg/mL）中，BV2细胞和HepG2细胞的ROS水平大约是对照组的4倍，表明这两种细胞对T-2毒素暴露引起的氧化应激损伤更为敏感。

2.2 T-2毒素对胞内Ca^{2+}水平的影响

细胞内Ca^{2+}水平与ROS的产生相关，高水平的ROS可直接或间接通过L型通道诱导细胞质中Ca^{2+}含量增加[32-33]。而胞内Ca^{2+}含量持续升高，反过来可激活多种信号因子和酶，从而提高细胞内ROS水平，引起细胞功能障碍，并最终导致线粒体损伤和细胞死亡[34]。经T-2处理24 h后，与对照组比较，4种细胞系的相对荧光强度均随毒素质量浓度的增加而增加，表明T-2毒素处理提高了胞内Ca^{2+}水平，见图2。除各细胞系中最低质量浓度毒素处理组，T-2毒素处理组胞内的Ca^{2+}水平显著增加（$P<0.05$）。其中，BV2细胞和HepG2细胞经毒素处理（100 μg/mL）后，平均相对荧光强度大约是对照组的4倍，而相同剂量下T-2毒素对TM3和HT-29细胞的Ca^{2+}水平影响较小。4种细胞系胞内Ca^{2+}水平变化与对应的胞内ROS水平变化结果一致。

2.3 T-2毒素对细胞凋亡的影响

细胞处理24 h后，对照组的细胞凋亡率在10%以内，而100 μg/mL T-2毒素处理的4组细胞



*—P<0.05；**—P<0.01；***—P<0.001。

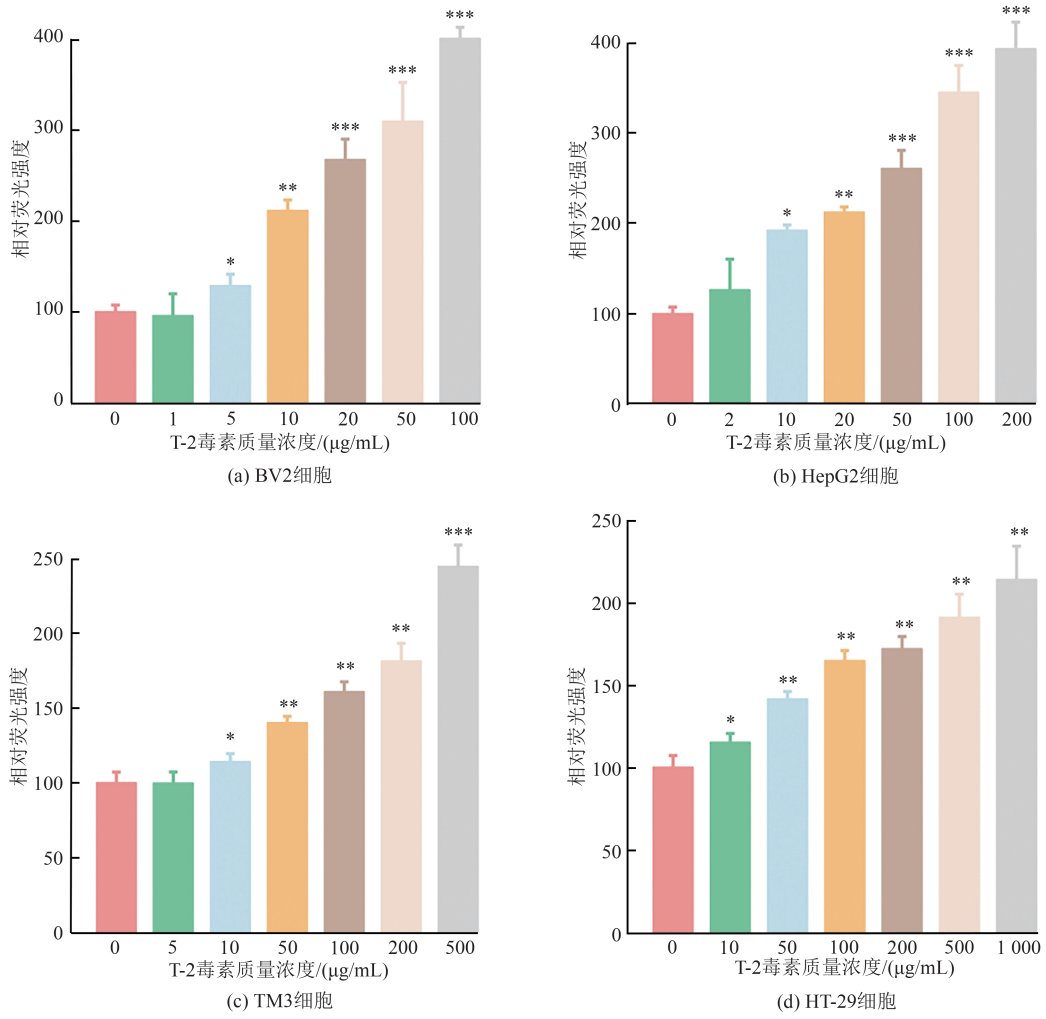
图1　T-2毒素暴露对4种细胞内ROS水平的影响

Fig. 1　Effect of T-2 toxin exposure on intracellular ROS levels in four types of cell lines

均显示出更高程度的细胞凋亡，见图3~4。除10 μg/mL T-2毒素处理的TM3细胞组和HT29细胞组外，其余各组细胞凋亡率与对照组相比均显著增加（P<0.05）。在50 μg/mL的T-2毒素处理组中，BV2细胞的凋亡率最高，达到了（74.78±8.28）%，TM3和HT-29细胞凋亡率最低，约24%（见图3）。表明BV2细胞和HepG2细胞对T-2毒素的敏感性显著高于TM3细胞和HT-29细胞。综合各指标结果，选择BV2细胞和HepG2细胞进行转录组学分析，从基因层面探讨T-2毒素暴露对神经源和肝源性细胞的毒性作用机制，对应的T-2毒素处理质量浓度分别为5 μg/mL和10 μg/mL。

2.4　T-2毒素对BV2细胞和HepG2细胞毒性作用机制分析

2.4.1　mRNA基因表达差异统计　12个样品的净读长序列数范围为42 105 400~48 929 050，净读长序列占比为92.89%~93.66%，测序质量Q30的占比均在95%以上，转录组测序的片段质量满足统计分析的要求。为分析T-2毒素暴露后BV2细胞及HepG2细胞的mRNA表达水平变化，采用DESeq软件进行差异基因表达分析，定义P<0.05，且|lb（Fold Change）|>1为显著差异表达基因。组间差异分析结果显示，5 μg/mL的T-2毒素处理导致BV2细胞中940个基因表达发生变化，其中559个基因



*—P<0.05；**—P<0.01；***—P<0.001。

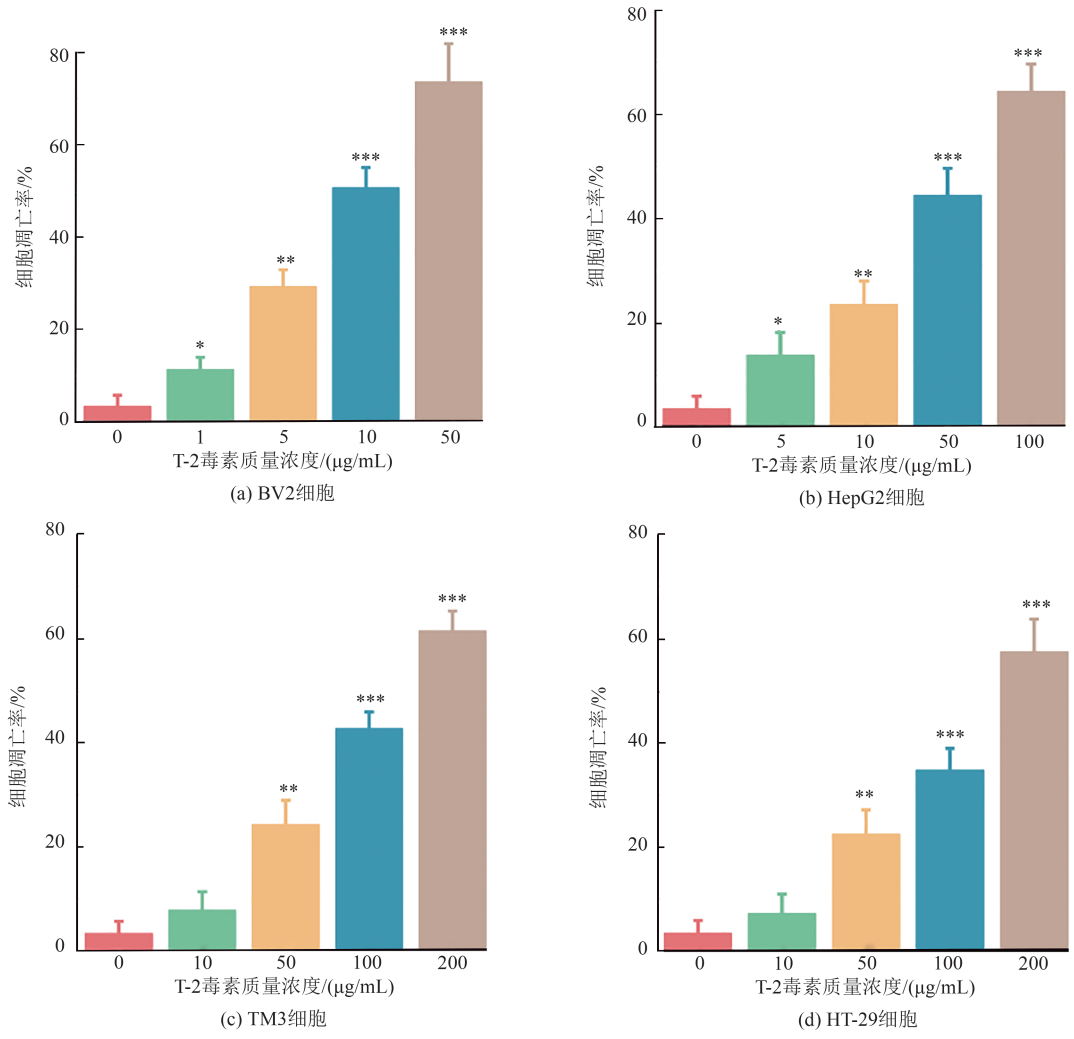
图 2　T-2 毒素暴露对 4 种细胞系胞内 Ca^{2+} 水平影响

Fig. 2　Effect of T-2 toxin exposure on intracellular Ca^{2+} levels in four types of cell lines

的表达水平上调，381 个基因的表达水平下调，见图 5(a)。与对照组相比，10 μg/mL 的 T-2 毒素处理使得 HepG2 细胞中 4 476 个基因表达水平发生变化，其中 2 365 个基因的表达水平上调，2 111 个基因的表达水平下调。表明 T-2 毒素暴露引起了两种细胞 mRNA 的表达异常，且 T-2 毒素对 HepG2 细胞 mRNA 的表达影响更为广泛，见图 5(b)。

2.4.2　差异表达基因 GO 分析　对差异表达基因进行分子功能、生物过程和细胞组成 3 个部分的 GO 功能归类注释。图 6 汇总了富集得到的前 10 个功能类别，T-2 毒素处理诱导的表达水平差异基因涉及多个生物学过程，但对两种细胞系中的功能影响存在差异。经 5 μg/mL 的 T-2 毒素处理 BV2 细胞 24 h 后，细胞组成差异功能主要体现在神经细胞体、细胞突触等方面。另外，差异基因主要涉及蛋白质、受体和激酶结合以及细胞因子和趋化因子活性等分子功能。T-2 毒素诱导可显著影响 BV2 细胞的多个生物过程(-lg P>12)，差异基因注释最多的通路包括细胞代谢过程正调控、生物过程正负调控、细胞内信号传导和大分子代谢产物等，见图 6(a)。

对于 HepG2 细胞系，经 10 μg/mL 的 T-2 毒素处理 24 h 后，细胞组成差异功能主要包括内质网、细胞质和细胞受体复合物等。差异基因主要涉及蛋白质二硫键异构酶、肽二硫键氧化还原酶和乙酰辅酶 A 连接酶等多种酶活性以及蛋白质结合等的分子功能。T-2 毒素诱导显著影响了 HepG2 细胞的多个生物过程，包括未折叠蛋白、辅因子和辅酶代谢过程、RNA 剪接、小分子生物合成等，见图 6(b)。对比两种细胞系的 3 个 GO 功能注释结果，发现 T-2 毒素对 BV2 细胞的影响在生物过程相关



*—P<0.05；**—P<0.01；***—P<0.001。

图3　T-2毒素暴露诱导不同细胞系的凋亡情况

Fig. 3　Effect of T-2 toxin exposure on apoptosis in different cell lines

的功能方面表现最为显著。

2.4.3　KEGG富集通路分析　对差异基因进行KEGG注释分类，选择最显著的前20个KEGG通路并绘制散点图，结果如图7所示。在BV2细胞中，差异表达基因主要涉及MAPK、磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B（PI3K-Akt）、肿瘤坏死因子（Tumor necrosis factor，TNF）等与炎症响应相关的信号通路，见图7（a）。而在HepG2细胞系中，经10 μg/mL的T-2毒素处理后，差异表达的mRNA主要涉及肿瘤蛋白p53信号通路、过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路、细胞凋亡通路等与细胞氧化应激和凋亡相关的信号通路，见图7（b）。

对关键基因的信号传导进行分析并富集特定信号通路。发现T-2毒素处理激活了BV2细胞中的TNF信号途径。TNF可进一步和TNF受体1型结合，可激活下游的MAPK和Toll样受体信号通路。T-2毒素处理显著上调了髓样分化因子基因（*MyD88*）的表达水平，促使下游的c-Jun氨基末端激酶（c-Jun N-terminal kinase，JNK）和丝裂原活化蛋白激酶p38发生磷酸化，进而激活蛋白酶，并引起下游激活蛋白-1（AP-1）水平显著上调。此外，T-2毒素处理还通过促进TNF与其受体2型结合激活NF-κB信号途径，下调下游的Akt蛋白表达水平，上调NF-κB蛋白表达水平。而AP-1和NF-κB蛋白水平的上调可诱导IL-6的表达水平升高，进而参与胞内免疫应答和炎症反应，最终可能诱发细胞凋亡[35]。然而，IL-6因子响应的炎症反应如何触发下游信号通路诱导BV2细胞凋亡仍需进一步研究。

T-2毒素暴露引起了HepG2细胞的DNA损

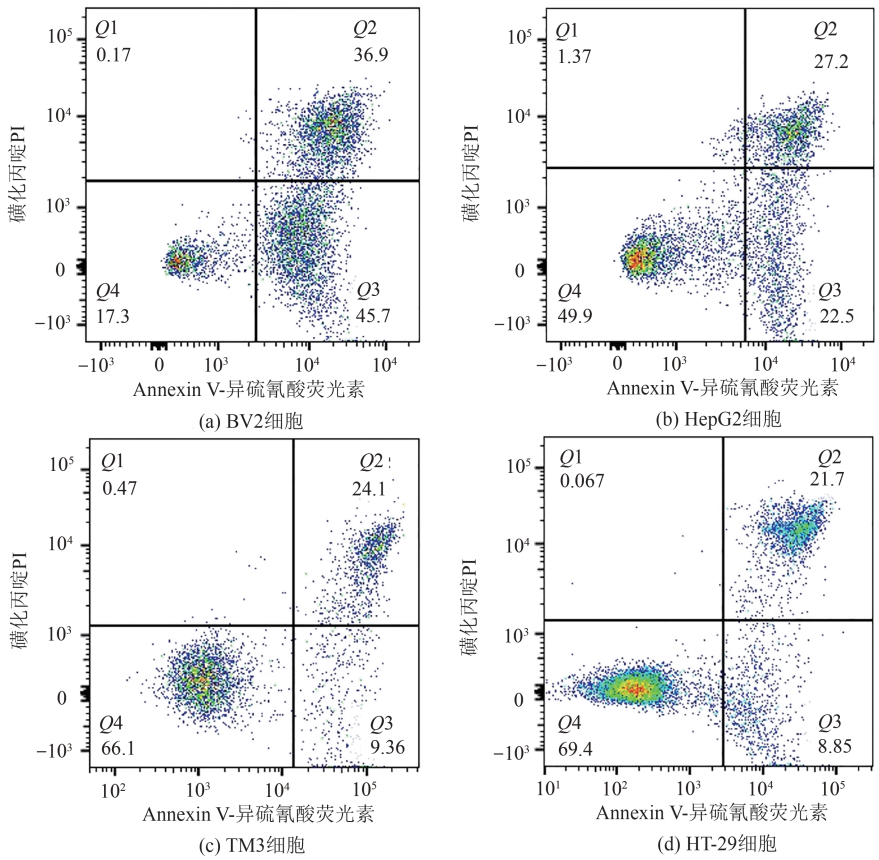
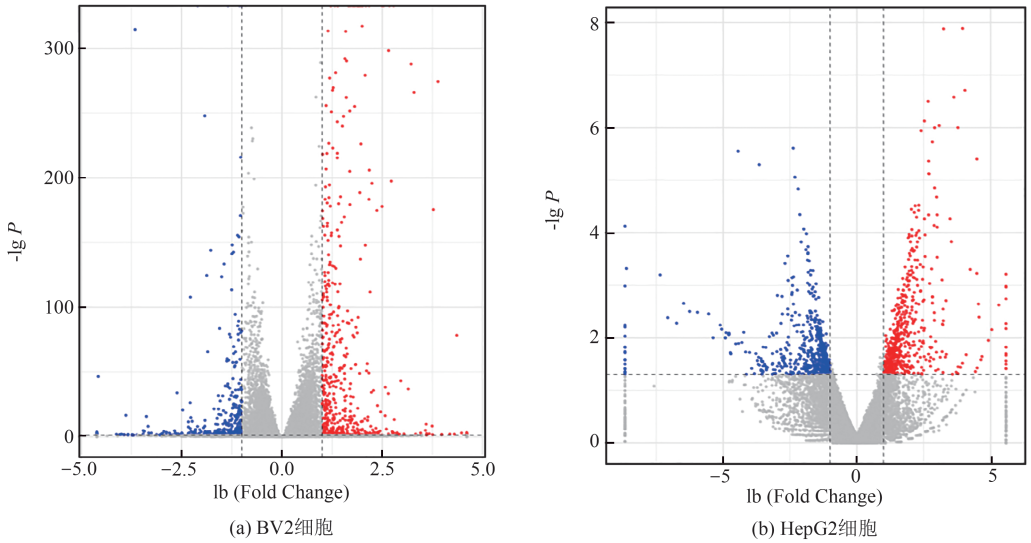


图 4　100 μg/mL T-2 毒素处理 24 h 的 4 种细胞凋亡散点图

Fig. 4　Apoptosis scatter plots of 4 cell lines treated with 100 μg/mL T-2 toxin for 24 h

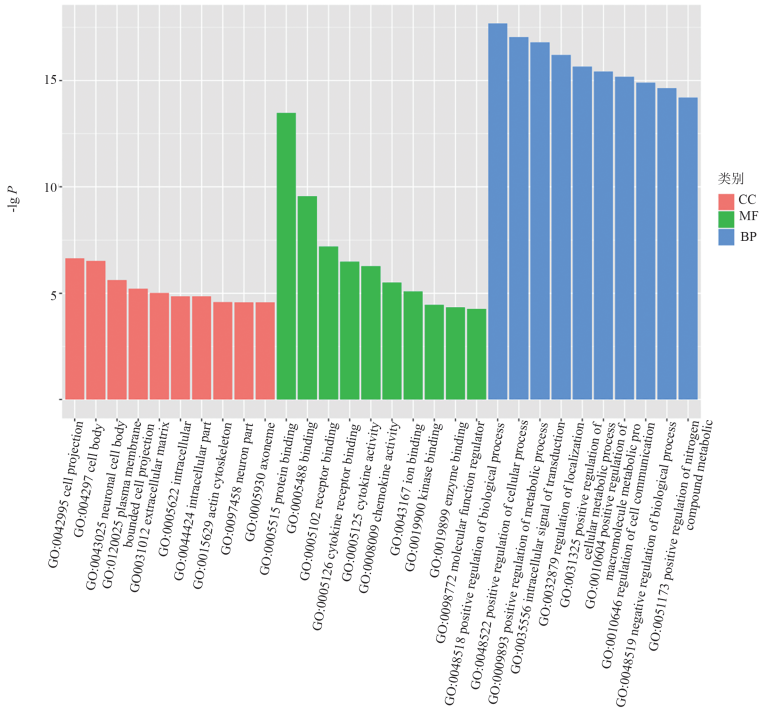


红色—基因表达上调；蓝色—基因表达下调。

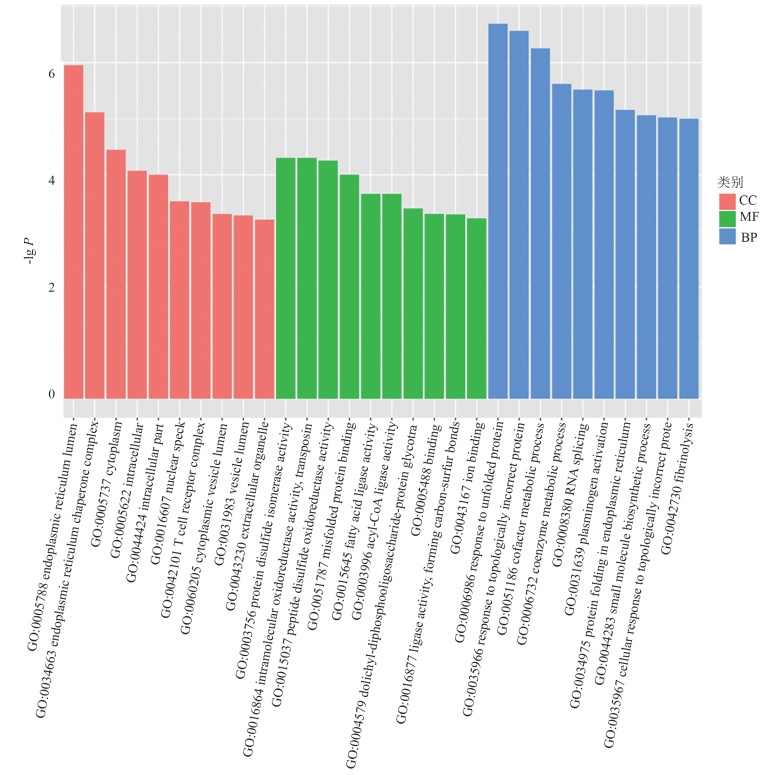
图 5　T-2 毒素处理的细胞内表达水平差异基因的火山图

Fig. 5　Volcano maps of differential expression genesincells treated with T-2 toxin

伤，并通过 PI3K/AKT 信号通路激活诱导胞内氧化应激损伤。PI3K 和 Akt 蛋白家族在细胞的增殖、凋亡和生理调节等多种功能中发挥作用。*PI3K* 基因表达水平下调降低了与磷酸肌醇-3-磷酸（PIP3）的结合，进而可影响对下游 Akt 蛋白的磷酸化，并诱导促 *BAD* 凋亡基因水平上调，最终导致 HepG2 细胞凋亡[36]。此外，T-2 毒素处理还可诱导 HepG2 细胞的内质网应激，内质网激酶 PERK 水平上调促使 eIF-



(a) BV2细胞差异表达基因GO功能分类图



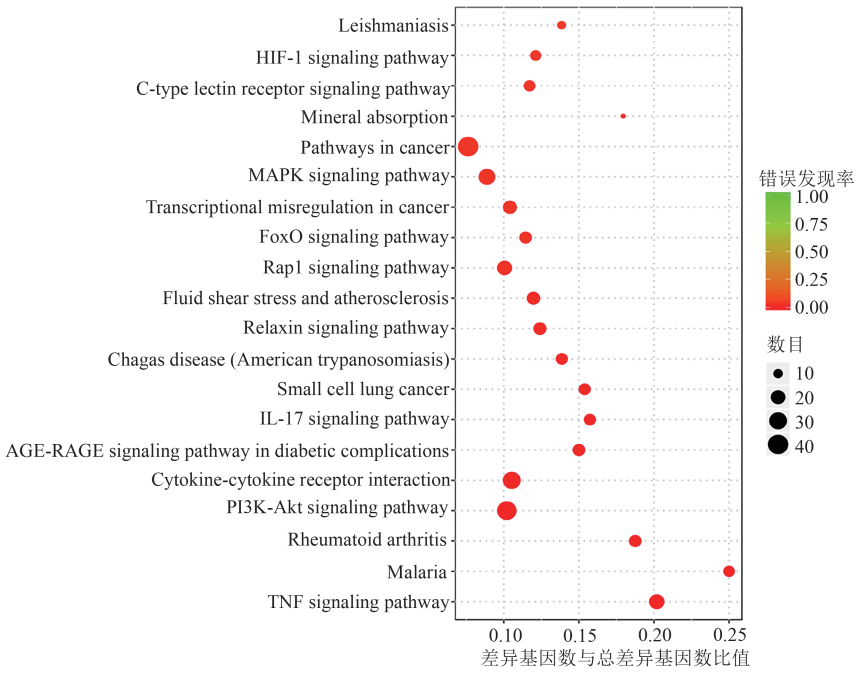
(b) HepG2细胞差异表达基因GO功能分类图

CC—细胞组成；MF—分子功能；BP—生物过程。

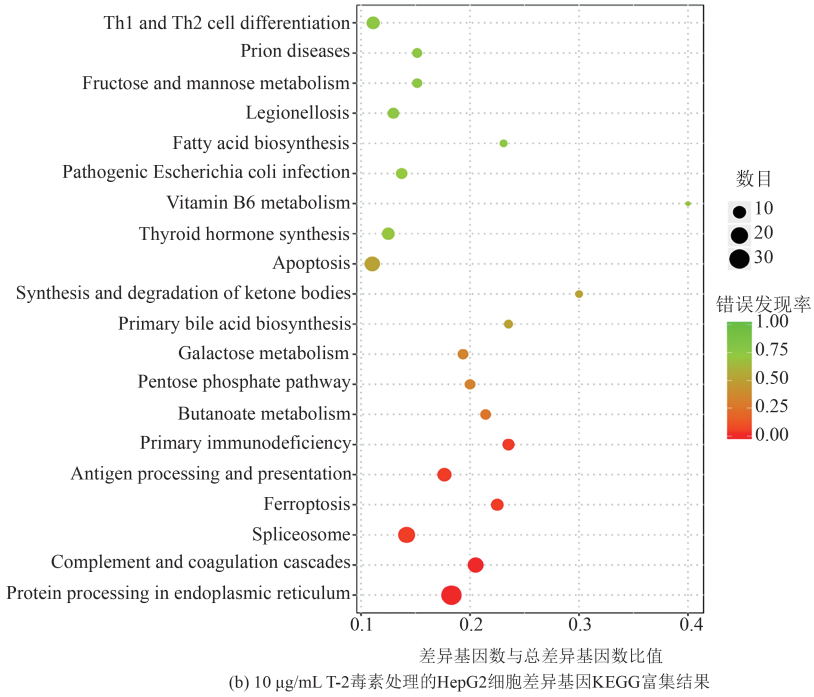
图6 差异表达基因的GO功能分类图

Fig. 6 GO functional classification of differential expression genes

2α发生磷酸化，进一步上调凋亡信号分子*CHOP*基因和促凋亡蛋白*Bax*基因的表达水平。综上所述，T-2毒素通过影响HepG2细胞中氧化应激相关信号通路诱导细胞凋亡。因此，分别选择了BV2细胞和HepG2细胞中响应最显著的信号通路上的9个和14个关键差异基因进行RT-PCR验证。



(a) 5 μg/mL T-2毒素处理的BV2细胞差异基因KEGG富集结果

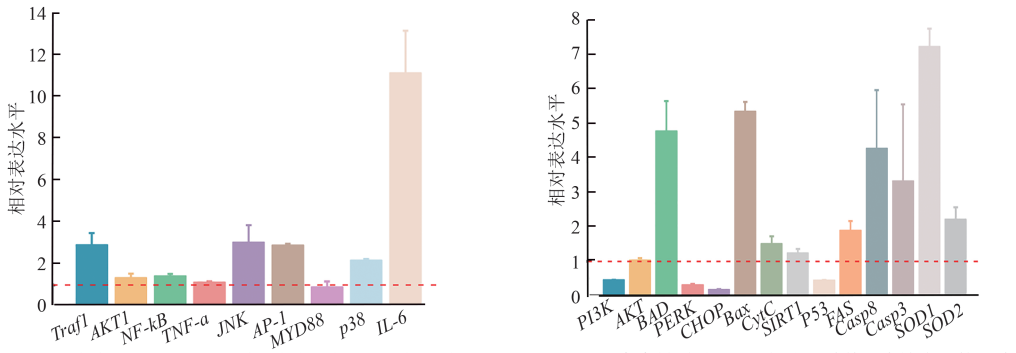


(b) 10 μg/mL T-2毒素处理的HepG2细胞差异基因KEGG富集结果

图 7　差异表达基因的 KEGG 富集通路分析

Fig. 7　KEGG enrichment analysis of differential expression genes

2.4.4　RT-PCR 验证　根据 mRNA 相对表达量，大于 1 表示上调，小于 1 表示下调，结果如图 8 所示。在 T-2 毒素诱导的 BV2 细胞中，*IL-6* 因子的表达水平较对照组上调了约 11 倍，表明炎症应激响应显著。此外，*AP-1*、*Traf1*、*JNK* 和 *p38* 因子基因表达水平均显著上调，见图 8(a)，与 KEGG 功能富集预测结果一致。在 T-2 毒素诱导的 HepG2 细胞中，凋亡通路关键信号因子 *BAD* 和 *Bax* 基因表达水平较对照组上调约 5 倍，其他凋亡信号因子如 *SIRT1*、*FAS*、*Casp8* 表达水平均显著增加（$P<0.05$），而 *PI3K*、*PERK*、*CHOP*、*P53* 因子表达水平则显著下调，见图 8(b)。此外，T-2 毒素诱导 HepG2 细胞中与氧化应激相关的 *SOD1* 和 *SOD2* 因子表达水平上调。RT-PCR 验证结果与细胞转录组学分析结果一致。



(a) T-2毒素暴露对BV2细胞中9种基因表达水平的影响　　(b) T-2毒素暴露对HepG2细胞14种基因表达水平的影响

图8　差异基因mRNA表达水平的RT-PCR验证

Fig. 8　RT-PCR validation of mRNA expression levels of differential genes

3　结论

基于T-2毒素主要毒性靶器官，以细胞毒性和氧化应激响应为指标，从4种细胞系中筛选出对其暴露敏感的BV2和HepG2细胞。利用转录组学技术，对T-2毒素暴露诱导BV2细胞和HepG2细胞损伤与凋亡的潜在关键因子与作用信号通路进行解析。发现T-2毒素通过不同的信号通路诱导BV2（MAPK/AP-1和TNF-NF-κB）和HepG2（PI3K/AKT和PERK/P53/Casp3）细胞炎症损伤或氧化应激，最终导致细胞凋亡。研究结果可为基于敏感细胞系的T-2毒素毒性干预策略的制定及毒性检测平台的构建提供理论依据。

参考文献

[1] 袁航．粮食中主要真菌毒素危害及联合毒性研究进展[J]．食品与机械，2019，35(11)：223-227.
YUAN H. Research progress on hazards and toxicity of major mycotoxins in grain[J]. Food & Machinery，2019，35(11)：223-227.(in Chinese)

[2] ADHIKARI M，NEGI B，KAUSHIK N，et al. T-2 mycotoxin：toxicological effects and decontamination strategies[J]. Oncotarget，2017，8(20)：33933-33952.

[3] FOROUD N A，BAINES D，GAGKAEVA T Y，et al. Trichothecenes in cereal grains-an update[J]. Toxins，2019，11(11)：634.

[4] PASCARI X，MAUL R，KEMMLEIN S，et al. The fate of several trichothecenes and zearalenone during roasting and enzymatic treatment of cereal flour applied in cereal-based infant food production[J]. Food Control，2020，114：107245.

[5] 黄城龙，朱利娟，易想炼，等．桦木酸对T-2毒素致小鼠肠道氧化损伤的保护作用[J]．食品科学，2020，41(11)：194-200.
HUANG C L，ZHU L J，YI X L，et al. Protective effect of betulinic acid on intestinal oxidative damage induced by T-2 toxin in mice[J]. Food Science，2020，41(11)：194-200.(in Chinese)

[6] 孙嘉笛，高璐，张银志，等．基于毒性效应通路荧光细胞传感模型的T-2毒素毒性筛查[J]．食品与生物技术学报，2021，40(12)：35-43.
SUN J D，GAO L，ZHANG Y Z，et al. T-2 toxicity screening based on fluorescence cell sensing model *via* toxic effect pathway[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2021，40(12)：35-43.(in Chinese)

[7] BIOMIN. World mycotoxin survey 2023[K/OL].(2024-04-25)[2024-2-28]. https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en/documents/REP_MTXsurvey_Q4_2023_EN_0124_AUE_doublePage.pdf

[8] 邓义佳，王雅玲，施琦，等．T-2毒素肌肉注射凡纳滨对虾的毒代动力学及对P450酶活性影响[J]．中国食品学报，2018，18(10)：228-234.
DENG Y J，WANG Y L，SHI Q，et al. Effects of T-2 toxin on toxicokinetics and P450 enzymes activity by intramuscular injection to litopenaeus vannamei[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2018，18(10)：228-234.(in Chinese)

[9] BUNDIT O，KANGHAE H，PHROMKUNTHONG W，et al. Effects of mycotoxin T-2 and zearalenone on histopathological changes in black tiger shrimp（*Penaeus monodon Fabricius*）[J]. Songklanakarin Journal of Science and Technology，2006，28(5)：937-949.

[10] 王春玲．T-2毒素对中华绒螯蟹幼蟹的毒性效应及其改善策略[D]．上海：华东师范大学，2021.

[11] EFSA Panelon Contaminants in the Food Chain（CONTAM）. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed[J]. EFSA Journal，2011，9(12)：2481.

[12] 国家质量监督检验检疫总局，中国国家标准化管理委员会．饲料卫生标准：GB 13078—2017[S]．北京：中国标准出版社，2017.

[13] JANIK E，NIEMCEWICZ M，PODOGROCKI M，et al. T-2 toxin-the most toxic trichothecene mycotoxin:

metabolism，toxicity，and decontamination strategies[J]. Molecules，2021，26(22)：6868.

[14] KÖNIGS M，MULAC D，SCHWERDT G，et al. Metabolism and cytotoxic effects of T-2 toxin and its metabolites on human cells in primary culture [J]. Toxicology，2009，258(2/3)：106-115.

[15] YANG X，LIU P L，CUI Y L，et al. Review of the reproductive toxicity of T-2 toxin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2020，68(3)：727-734.

[16] WANG H，ZHANG M，ZHANG Y，et al. The decreased expression of integrin αv is involved in T-2 toxin-induced extracellular matrix degradation in chondrocytes [J]. Toxicon，2021，199：109-116.

[17] LI Y S，WANG Z H，BEIER R C，et al. T-2 toxin，a trichothecene mycotoxin：review of toxicity，metabolism，and analytical methods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2011，59(8)：3441-3453.

[18] 宋佳，范寰，闫雪，等. T-2毒素的危害及脱毒研究进展[J]. 粮油食品科技，2020，28(5)：194-199.
SONG J，FAN H，YAN X，et al. Research progress on the toxicity and detoxification of T-2 toxin[J]. Science and Technology of Cereals，Oils and Foods，2020，28(5)：194-199.(in Chinese)

[19] YU F F，LIN X L，WANG X，et al. Comparison of apoptosis and autophagy in human chondrocytes induced by the T-2 and HT-2 toxins[J]. Toxins，2019，11(5)：260.

[20] 王弘瑞，赵丽娟，房明丽，等. T-2毒素免疫毒性分子机制的研究进展[J]. 中国免疫学杂志，2022，38(19)：2430-2433.
WANG H R，ZHAO L J，FANG M L，et al. Research progress on immunotoxicity mechanism of T-2 toxin[J]. Chinese Journal of Immunology，2022，38(19)：2430-2433.(in Chinese)

[21] VELAZCO V，FAIFER G C，GODOY H M. Differential effects of T-2 toxin on bone marrow and spleen erythropoiesis in mice[J]. Food and Chemical Toxicology，1996，34(4)：371-375.

[22] FANG H Q，CONG L Z，ZHI Y，et al. T-2 toxin inhibits murine ES cells cardiac differentiation and mitochondrial biogenesis by ROS and p-38 MAPK-mediated pathway[J]. Toxicology Letters，2016，258：259-266.

[23] LIN R Q，SUN Y，YE W C，et al. T-2 toxin inhibits the production of mucin *via* activating the IRE1/XBP1 pathway[J]. Toxicology，2019，424：152230.

[24] ZHUANG Z H，YANG D B，HUANG Y L，et al. Study on the apoptosis mechanism induced by T-2 toxin[J]. PLoS One，2013，8(12)：e83105.

[25] YANG J H，GUO W B，WANG J H，et al. T-2 toxin-induced oxidative stress leads to imbalance of mitochondrial fission and fusion to activate cellular apoptosis in the human liver 7702 cell line[J]. Toxins，2020，12(1)：43.

[26] HUANG P X，AKAGAWA K，YOKOYAMA Y，et al. T-2 toxin initially activates caspase-2 and induces apoptosis in U937 cells[J]. Toxicology Letters，2007，170(1)：1-10.

[27] HOLME J A，MORRISON E，SAMUELSEN J T，et al. Mechanisms involved in the induction of apoptosis by T-2 and HT-2 toxins in HL-60 human promyelocytic leukemia cells [J]. Cell Biology and Toxicology，2003，19(1)：53-68.

[28] MA X Y，SUN J D，YE Y L，et al. Application of triple co-cultured cell spheroid model for exploring hepatotoxicity and metabolic pathway of AFB1 [J]. Science of the Total Environment，2022，807(1)：150840.

[29] 陈政，朱涵予. 银耳芽孢和菌丝的转录组分析[J]. 食品与机械，2019，35(9)：45-49，63.
CHEN Z，ZHU H Y. Transcriptome analysis for the mycelia and yeast-like cells of *Tremella fuciformis*[J]. Food & Machinery，2019，35(9)：45-49，63.(in Chinese)

[30] VANGUILDER H D，VRANA K E，FREEMAN W M. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis[J]. BioTechniques，2008，44(5)：619-626.

[31] CHAUDHARY M，BHASKAR A S B，RAO P V. Differential effects of route of T-2 toxin exposure on hepatic oxidative damage in mice [J]. Environmental Toxicology，2015，30(1)：64-73.

[32] WANG G Y，QIN S L，ZHENG Y N，et al. T-2 toxin induces ferroptosis by increasing lipid reactive oxygen species (ROS) and downregulating solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2021，69(51)：15716-15727.

[33] OFLAZ F E，KOSHENOV Z，HIRTL M，et al. Near-UV light induced ROS production initiates spatial Ca^{2+} spiking to fire NFATc3 translocation[J]. International Journal of Molecular Sciences，2021，22(15)：8189.

[34] AMBERG G C，EARLEY S，GLAPA S A. Local regulation of arterial L-type calcium channels by reactive oxygen species[J]. Circulation Research，2010，107(8)：1002-1010.

[35] 陈巍文，朱建津，黄建平，等. γ-谷维素和半胱胺对应激小鼠氧化还原状态及免疫功能的影响[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(4)：1-11.
CHEN W W，ZHU J J，HUANG J P，et al. Effects of γ-oryzanol and cysteamine on redox status and immunity of stressed mice [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41(4)：1-11.(in Chinese)

[36] YANG J L，PI C C，WANG G H. Inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway by apigenin induces apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma cells [J]. Biomedecine & Pharmacotherapie，2018，103：699-707.

（责任编辑：刘冬梅）