

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897-20131224001

王振洲, 崔岩山, 张震南, 等. Caco-2 细胞模型评估金属人体生物有效性的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(6): 1027-1034

Wang Z Z, Cui Y S, Zhang Z N, et al. Evaluation on the human bioavailability of metals using Caco-2 cell model: A review [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(6): 1027-1034 (in Chinese)

## Caco-2 细胞模型评估金属人体生物有效性的研究进展

王振洲, 崔岩山\*, 张震南, 王姣姣, 尹乃毅

中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100049

收稿日期: 2013-12-24 录用日期: 2014-03-31

**摘要:** 随着环境重金属污染的加剧和营养学的发展, 人们越来越重视对重金属元素及营养金属元素肠道吸收过程的探讨及其生物有效性影响因素的研究。Caco-2 细胞模型能有效的模拟人体小肠上皮细胞的转运与吸收过程, 可结合基因技术、分子技术等手段用于研究人体肠道吸收物质的机制和影响因素。首先, 总结了近年来利用 Caco-2 模型对镉、铬、铅、砷等多种重金属及铜、铁、锌、钙等多种营养金属在小肠内的吸收、转运方式、代谢机制及影响吸收、转运过程各类条件等的研究工作, 然后对 Caco-2 细胞模型研究方法及其在未来评估金属人体生物有效性的应用进行了展望。

**关键词:** Caco-2 细胞; 金属; 体外试验; 生物有效性; 转运与吸收; 健康风险评估

文章编号: 1673-5897(2014)6-1027-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Evaluation on the Human Bioavailability of Metals using Caco-2 Cell Model: A Review

Wang Zhenzhou, Cui Yanshan\*, Zhang Zhennan, Wang Jiaojiao, Yin Naiyi

College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Received 24 December 2013 accepted 31 March 2014

**Abstract:** With the intensification of environmental pollution of heavy metals and the development of nutrition, people pay more attention to the discussion of intestinal absorption of heavy metals and nutrition metals and research of biological effectiveness factors. Caco-2 cell model can effectively simulate transfer and absorption process of human intestinal epithelial cells, and can be applied in combination with gene technology and molecular techniques to study the mechanism and influencing factors of human material intestinal absorption. The research works using Caco-2 model in recent years of absorption, transport, metabolism of some kinds of heavy metals and nutrition metals are reviewed in this paper. Application of Caco-2 cell model research method in the future to assess the biological effectiveness of metal was discussed.

**Keywords:** Caco-2 cells; metal; in vitro test; bioavailability; transportation and absorption; health risk assessment

人体通过食物等途径摄入的污染物和营养物, 有多少被人体所吸收, 是判断污染物对人体的健康风险及评价营养物状况的关键。对于如何准确的判定人体对某种污染物或营养物的吸收状况, 一般可

基金项目: 国家自然科学基金(41271493)

作者简介: 王振洲(1989-)男, 硕士研究生, 主要研究方向为重金属的人体生物有效性, E-mail: wzzraccoon@163.com

\* 通讯作者( Corresponding author) E-mail: cuiyanshan@ucas.ac.cn

以用生物可给性 (bioaccessibility) 和生物有效性 (bioavailability) 两个指标。生物可给性,通常是指在模拟胃肠环境条件下,介质中污染物或营养物溶解到消化液中的部分<sup>[1]</sup>。生物有效性,通常是指被人体吸收后进入血液,然后在体内重新分布的污染物或营养物的含量<sup>[2]</sup>。

判定污染物的生物有效性一般通过体内试验 (in vivo) 进行,例如临床试验或动物试验等,即试验进行于完整且存活的生物个体内,而不是一部分生物组织或死亡的个体。重金属一般具有毒性,无法利用人体进行体内试验进行评估,只能利用活体动物试验。其试验周期较长,结果相对来说较为准确可靠,但由于人体与动物在生理结构上的差异,动物试验结果有时并不能很好地解释人体的吸收情况<sup>[3]</sup>。近年来发展起来的体外试验 (in vitro) 方法,如人体细胞系培养研究方法,可以在一定程度上评价生物体对物质的吸收状况。相对于体内试验,人体细胞系培养研究方法可以消除动物模型和人体的巨大差异,有高通量、节省时间、节省资金等多方面的优点<sup>[4]</sup>。

近十几年来,国内外普遍采用组织细胞模型作为人体肠道吸收外源性物质研究的工具,其中较常用的是人体结肠腺癌细胞系 (human colon adenocarcinoma cell lines) 的 Caco-2 细胞。由于其形态学、标志酶的表达及渗透特性与人体小肠类似,Hidalgo 等早在 1989 年就提出了利用 Caco-2 单层细胞模型研究小肠的吸收特性<sup>[5]</sup>。Caco-2 细胞最早于 20 世纪 70 年代分离自人类结肠癌细胞,其在普通的培养条件下就可以在有孔的多聚碳酸酯膜上自发的分化为肠上皮细胞单层,Caco-2 细胞具有与小肠上皮细胞相同的细胞极性和紧密连接,其形成刷状缘,分化出绒毛面顶侧 (apical, AP) 和基底侧 (basolateral, BL) 在肠腔侧分化出的绒毛面含有典型的小肠微绒毛水解酶和各种营养物质转运载体,通过一定的标准化培养规程及测试合格后便可用于体外吸收等试验<sup>[6]</sup>。

Caco-2 细胞模型一般被应用于药物吸收试验<sup>[7-8]</sup>、食物污染物毒性及土壤、水源污染物毒性评估<sup>[9]</sup> 在营养学、毒理学方向的研究发挥重要作用。同时,也应用于作物育种方向,如调查不同小麦品种中铁成分的生物有效性培育补铁品种小麦<sup>[10]</sup>,比较不同地区扁豆中铁的生物有效性而改良扁豆品种<sup>[11]</sup>,测定农作物在转基因处理后其重金属毒素的

生物有效性的变化<sup>[12]</sup>等。近年来,Caco-2 细胞模型被广泛用于研究不同暴露场景下多种重金属污染物及营养金属元素的吸收、转运和代谢等机制。本文着重就近年来 Caco-2 细胞模型在金属吸收、转运、代谢机制方面的研究进展进行论述,并对 Caco-2 细胞模型在未来人体健康风险评估方面的研究进行展望。

## 1 Caco-2 细胞吸收金属的方式

### 1.1 重金属类

Caco-2 细胞对各重金属的吸收方式差异比较大。由于它们大多是人体并不需要的元素,因而 Caco-2 细胞本身几乎没有专门用于吸收这类金属的运载蛋白。但由于金属离子具有相近性,一部分重金属能通过抢占一些营养金属的运载蛋白,以主动运输方式进入 Caco-2 细胞。如镉可利用铁转运蛋白 DMT1 (divalent metal transporter1, DMT1)、锌转运蛋白 ZIP8 (ZRT, IRT like protein, ZIP) 等其他金属的运载体进入 Caco-2 细胞,与金属硫蛋白等结合,进而进入人体循环系统<sup>[13]</sup>。有些元素则是通过被动运输方式进入细胞,如 Caco-2 细胞的铬吸收试验发现铬从 AP 侧和 BL 侧进入 Caco-2 细胞的吸收效率相同,说明铬的吸收方式为被动运输<sup>[14]</sup>。而铅等元素通过主动转运和被动扩散两种方式进入细胞,其主动运输过程同样被试验证明是通过利用铁转运蛋白 DMT1 进入细胞<sup>[15]</sup>。除了已发现的运输方式外,Caco-2 细胞吸收试验的结果证明了铅应该还有尚未探明的其它吸收通路<sup>[16]</sup>。而类重金属元素砷的吸收与运输过程较为复杂,与其形态息息相关,通过加入不同的抑制剂分别测定 Caco-2 细胞对砷的吸收情况发现,无机三价砷类的吸收依赖于葡萄糖转运蛋白、有机阴离子运输多肽和水通道蛋白,应含有主动运输的过程;而无机五价砷类的吸收依赖于磷酸盐转运蛋白,应属于被动扩散过程<sup>[17]</sup>,而有机砷的吸收方式同样为被动扩散,增大磷酸盐的含量可以抑制细胞对有机五价砷类的吸收,说明其有可能与磷酸盐使用相同的转运蛋白<sup>[18]</sup>。

### 1.2 营养金属类

Caco-2 细胞对营养金属元素的吸收方式则比较一致,由于这些元素都是人体所必需的,所以大都是通过主动运输方式被人体吸收。铜、铁、锌等都有各自专用的转运蛋白,通过 shRNA 分别抑制这些蛋白的表达发现,这些转运蛋白之间有一定的通用能力<sup>[19]</sup>。铜主要以稳定的螯合物的形式在小肠被吸

收铜转运蛋白可分为 Ctr1 ~ Ctr5 (copper transporter protein, CTR), 其中 Ctr1 蛋白和 Ctr3 蛋白转运铜离子的能力较强, 而以 Ctr1 蛋白为最强<sup>[20-21]</sup>。锌的载体蛋白主要为 ZIP 家族, 试验发现, Caco-2 细胞 AP 侧对锌的吸收并不会随锌浓度增加达到饱和, 即该吸收过程中不存在载体调节机制<sup>[22-23]</sup>。铁的吸收过程较为复杂, 现在比较一致的观点是二价铁进入小肠上皮吸收细胞是由 DMT1 介导完成的<sup>[24]</sup>。而三价铁的摄取途径与二价铁不同, 它是通过整合蛋白-游动铁蛋白-类铁蛋白这一转化途径而实现的<sup>[25-26]</sup>。钙的吸收过程发生在小肠处, 由小肠刷状缘细胞分泌配体氨基酸, 与食物中的钙发生螯合反应而生成氨基酸螯合钙, 再由人体直接地整体吸收氨基酸螯合钙<sup>[27]</sup>。

## 2 Caco-2 细胞吸收金属的影响因素

Caco-2 细胞中含有与吸收金属相关的基因的表达情况, 直接影响细胞对金属的吸收效果。例如, 研究表明, 新生儿肠道细胞的基因可以表达出一种外排蛋白, 增强其对镉的吸收, 从而导致新生儿比成年人更容易吸收镉<sup>[28]</sup>; 细胞中的缺氧诱导因子 HIF2 $\alpha$  可以制约铜转运蛋白 Ctr1 的基础表达过程, 从而抑制细胞对铜的吸收<sup>[29]</sup>; SLC39 基因编码的 ZiP4 和 SLC30 基因编码的 ZnT5 两种锌转运蛋白可以调控锌在人体肠腔处的吸收过程<sup>[22-23]</sup>。

另一方面, 细胞的培养环境也可以通过影响某些基因的表达结果, 从而对吸收结果产生影响。例如, Caco-2 细胞在经过长时间的低浓度镉预处理后, 细胞中金属硫蛋白的表达明显加强, 这促进了其对镉的摄取<sup>[30]</sup>; 在 Caco-2 细胞培养基中添加较低浓度的镉, 可提高细胞中铜、锌的含量, 降低细胞中锰的含量<sup>[31]</sup>; 若培养基中缺乏铜会影响铁转运刺激因子的表达, 减少细胞对二价铁和三价铁的摄取<sup>[32]</sup>; 促乳激素能促进肠道细胞内几种钙相关的激活酶的表达, 增强细胞对钙质的吸收; 依匹乳糖可增强 Caco-2 细胞内肌球蛋白轻链激酶和  $\gamma$  相关激酶的表达, 促进 Caco-2 细胞对钙质的吸收<sup>[33]</sup>。

金属的人体生物有效性一般与溶液中该金属离子的浓度有关。利用 Caco-2 细胞模型吸收经过体外消化后的含镉白菜, 发现白菜中镉浓度与 Caco-2 细胞最终受到的毒性有一定的正相关<sup>[34]</sup>。另外, 金属的生物有效性还与溶液中其离子形态的活性有关。研究表明, 处于不稳定复合物形态(如镉氯复合物)的镉更容易被细胞吸收, 复合物对镉吸收的

促进作用随溶液中镉离子浓度的下降而提高, 尤其当溶液中镉离子含量较低时, 其生物有效性远高于普通形态镉离子, 这可能是与不稳定复合态镉的进入细胞的扩散方式不受转运蛋白限制有关<sup>[35]</sup>; 有试验发现, 纳米级铬的吸收效率远远高于吡啶甲酸铬 (CrPic) 和三氯化铬 (CrCl<sub>3</sub>), 三氯化铬相对于吡啶羧酸铬而言, 在吸收时更容易受到各种因素的影响, 一般来说, 同种金属元素的螯合物相较于其自由态的离子, 其吸收过程较稳定, 不易受其他因素影响<sup>[14]</sup>。

温度及 pH 等环境因素对多数金属的生物有效性有较大影响。例如, 降低温度能显著降低细胞对铬的吸收效率<sup>[14]</sup>; 加热处理有利于降低食物中镉元素的生物可给性<sup>[36]</sup>; 海藻类食物在经过烹饪后, 其砷成分的生物有效性大幅上升<sup>[37]</sup>; 大米在经过烹饪后, 其无机砷成分的生物可给性会大幅度上升<sup>[38]</sup>。有研究结果显示, 在微酸性条件下有机五价砷类的吸收大大增加, 这说明有机五价砷类在人体内的吸收可能主要在近胃侧甚至是胃内阶段<sup>[18]</sup>。环境的 pH 能对铁和镉的吸收产生很大影响, 而对铅则几乎没有影响, 这进一步说明了铅的吸收驱动机制有别于铁等金属<sup>[39]</sup>。试验发现有有机三价砷类也比较特殊, 其吸收效果只与温度有关, 与 pH 几乎无关<sup>[40]</sup>。

不同金属元素的吸收过程存在着相互影响, 特别在有共用转运蛋白效果的几种元素之间表现得较为明显。研究表明, 铅、铁可共用同类转运蛋白 DMT1, 因而相互抑制对方的吸收。同位素跟踪试验发现, 铁在进入人体十二指肠部位就已经被大量吸收, 在回肠阶段吸收较少, 而铅在这两个部位的吸收速度相似, 这说明了铁与金属转运蛋白结合能力比铅强<sup>[16]</sup>; 铁的加入显著降低了吡啶羧酸铬和三氯化铬在 Caco-2 细胞中的转运量, 而铜和锌的加入则没有产生这样的影响, 这说明铁、铬可能共用某种运载蛋白, 但这与已经被验证的铬的被动运输方式相矛盾, 有待于进一步的研究<sup>[14]</sup>; 食物中铁和钙的添加能降低 Caco-2 细胞对镉的吸收。肠道中铅和钙、锌、铁等共享很多种转运蛋白, 在吸收过程中这些元素间均具有竞争关系而导致相互抑制的结果。另有研究发现, 提高钙、磷、锌、铁的摄入量可有效抑制铅在肠道的吸收, 在细胞水平, 缺乏这些营养素会增加组织中铅的蓄积和毒性, 反之, 提高这些营养素的浓度可以抑制细胞中铅的蓄积<sup>[41-42]</sup>。研究表明, 锌、铁在肠道内的快速吸收过程中存在相互抑制的负面影响, 消化液中铅的浓度越高, 锌对铁吸收的抑制作

用就越强 这与它们的转运方式都需要二价金属离子转运体 DMT1 及 Zip14 运载体有关<sup>[43]</sup>,而印度学者结合运用免疫印迹法、共焦显微镜技术和逆转录聚合酶链反应研究发现得到不同的结果:尽管锌、铁共用 DMT1 等转运蛋白,但 DMT1 与锌离子结合后会脱离细胞质膜促进细胞内 DMT1 相关的 mRNA 的表达水平产生更多 DMT1,最终对铁的吸收也有促进作用,而由铁产生的铁泵蛋白(FPN-1)也能促进锌的吸收<sup>[44]</sup>。由于前一研究中细胞吸收过程时间很短,所以与这一研究其实并不矛盾<sup>[45]</sup>。总体来说,铜、铁、锌、钙的吸收是互相促进的,若需要人体有效的补充这些元素,应该考虑将它们一起摄入。

其他物质成分也会对食物中金属元素的吸收产生一定的影响:碳水化合物、蛋白质和纤维等成分可促进人体对锌的吸收<sup>[46]</sup>;将小麦面粉制品和肉类产品混合食用可以促进人体对小麦面粉制品中铁成分的吸收<sup>[47]</sup>;一些酪蛋白磷酸肽能够促进人体肠道对铁和锌的吸收<sup>[48]</sup>;食物中的脂类、铁、淀粉等都能促进人体对钙的吸收,而纤维和磷质则会抑制人体对钙质的吸收<sup>[49-50]</sup>;甲萘醌(维生素 K 的一种)等物质能抑制细胞吸收钙离子,进而激活细胞凋亡通路,试验发现槲皮素能有效的解除甲萘醌的影响,使细胞正常吸收钙质,从而达到抗氧化、抗炎、抗病毒和抗癌的效果<sup>[51]</sup>;醋酸可与食物中的镉结合,尽管提高了其生物可给性,却能有效的降低其生物有效性,解除一定的毒性,在一些土壤镉污染地区生活的人可考虑多食用醋酸<sup>[56]</sup>;食物中的维生素 C 和草酸钠成分显著增加了三氯化铬在 Caco-2 细胞中的转运量,蔗糖则显著降低了三氯化铬在 Caco-2 细胞中的转运量<sup>[52]</sup>;食物中添加空心菜的叶子能显著减少食物中重金属(砷、钙、铅)的生物可给性与生物有效性,有益于身体健康<sup>[53]</sup>;脂肪、维生素 D 可促进铅吸收,在食用含铅的食物时应减少这些物质的摄入;一些食品制作工艺可能会降低其原料的营养价值,例如美拉德反应制作的食品会影响人体对铜的吸收<sup>[54]</sup>;含有活性膳食茶多酚的食物会极大抑制细胞对锌的吸收<sup>[55]</sup>;制作速食扁豆能提高扁豆中钙的生物有效性,但降低了扁豆中锌和铁的生物有效性<sup>[56]</sup>。

### 3 金属元素对 Caco-2 细胞生命活动的影响

金属元素吸收进入人体肠道细胞内后除了进入人体循环系统转入其他人体组织外,其自身也直接在肠道细胞内产生影响。

一般来说高浓度的重金属都会对 Caco-2 细胞

造成直接的伤害,且各类有毒金属的毒害效果并不是简单的累加,例如铬、镉混合后对细胞产生的毒害作用并不是简单的累加,而是有之前数倍的效果<sup>[57]</sup>。有研究比较了不同浓度六价铬类物质对未完全分化的 Caco-2 细胞的毒害,发现六价铬类物质在低浓度下的还原过程有破坏细胞的 DNA 等效果,具有很强的基因毒性<sup>[58]</sup>。无机五价砷类物质对肠道细胞几乎没有毒性作用,而无机三价砷类物质则可诱导细胞内谷胱甘肽和脂质进行过氧化作用,减少细胞内活性氧含量,促使细胞坏死或凋亡,另外还有影响细胞内过氧化氢酶、应激蛋白和金属硫蛋白表达的作用<sup>[59]</sup>,无机三价砷类物质的毒性还体现在其影响细胞线粒体的功能而抑制细胞有丝分裂对细胞的分裂过程产生不利影响<sup>[60]</sup>。所有的无机砷都还会影响肠道细胞膜的通透性,从而抑制肠道细胞的吸收能力<sup>[61-62]</sup>。在吸收了无机砷的 Caco-2 细胞的代谢产物中检测到了三价砷类物质而几乎没有五价砷类物质,说明人体肠道本身可能是人体参与砷代谢的主要器官之一<sup>[63]</sup>。在过去,学者们一般都认为有机砷类物质对人体的毒害较小,而最新的研究表明,有机砷在人体内的代谢产物二甲基砷酸(DMA<sup>V</sup>)和硫代二甲基砷酸(thio-DMA<sup>V</sup>)等能破坏人体细胞膜的屏障作用,能加剧其他无机砷产物进入人体时的生物有效性<sup>[64-65]</sup>。

铜、铁、锌、钙等元素是人体必需的营养元素,对人体及细胞的生长发育都有重要作用,在研究中还发现了它们的其他效果,如锌在 Caco-2 细胞受损后能有利于帮助其恢复细胞膜的通透性<sup>[66]</sup>。但营养元素的摄入如果过度亦会对人体有毒性作用,如高浓度锌可诱发 Caco-2 细胞发生凋亡<sup>[67]</sup>。

## 4 总结与展望

### 4.1 Caco-2 细胞模型的局限性与改进的方案

Caco-2 细胞模型毕竟不可能达到完全模拟人体肠道的吸收方式的程度,随着研究的深入,它的一些缺点已经暴露了出来,因而研究如何改进该细胞体系相当重要,这也直接决定了该细胞体系在未来研究过程中可贡献的价值。现今的 Caco-2 细胞试验分布于各类实验室,培养条件不一,培养方式存在差异,试验标准要求也不同,因此不同的试验数据之间自然存在不同程度的差异。同时,Caco-2 细胞培养体系容易受辅料的影响,加以 pH 梯度和药物非特异性结合等因素,会导致在预测药物的渗透性时,出现和体内试验不一致的情况<sup>[68]</sup>。通过标准化 Caco-

2 细胞的培养过程将有助于解决这一问题。

由于 Caco-2 细胞缺少或低表达小肠上皮细胞内的某些药物代谢酶和转运体, Caco-2 细胞的运体、代谢酶、核受体的表达与小肠并不完全一致。目前已有通过定向诱导基因表达、基因改造、亚克隆等手段对该细胞模型的改造研究出现, 未来从基因层面改造该细胞体系应该是可行的有效方法。

Caco-2 细胞还有细胞间紧密连接过紧, 缺乏黏液层等问题。现在发现, HT29 细胞能补充 Caco-2 细胞缺乏的分泌粘液的能力, 形成与小肠上皮细胞类似的粘液层。混合培养的细胞模型应是近期内比较可能实现的有效提升 Caco-2 细胞体系应用价值的好方法。

除了 Caco-2 细胞本身的缺陷性需要改进以外, 其模拟人体吸收的过程还受制于其他模型的发展程度。例如, 现阶段的模拟消化研究还未能实现完全模拟胃阶段及十二指肠阶段的吸收过程, 模拟出的消化液成分与实际到达小肠部位的物质成分应该存在差异, 肠道中的微生物成分目前也还无法准确模拟, 这些都影响了 Caco-2 细胞体系对人体真实吸收情况的模拟准确度, 在未来, 这些科研方向的研究与 Caco-2 细胞体系的价值息息相关。

#### 4.2 研究元素的吸收机制

除了文中提到的几种元素外, 还有很多元素的吸收机制并未探明, 在将来可借助 Caco-2 细胞进行相应的研究。而随着分子生物学研究手段的发展, 未来将会有更多的涉及基因表达、蛋白质作用的研究出现, 有望借助该模型对物质吸收的机制达到更深入的了解。

#### 4.3 健康风险评价

土壤和水体的污染物通过食物链的富集作用最终进入人体造成伤害, 传统的污染评价体系是从污染物含量的角度入手, 对污染物的人体健康风险评价并不全面, 不能直观的反应污染对人体的影响。而利用 Caco-2 细胞模型测试农作物及水产品中毒素的有效利用部分, 能更全面的反映环境的污染状况, 可成为评价环境的新指标体系。

通讯作者简介: 崔岩山(1972—)男, 博士, 教授。主要研究方向为重金属污染的防治及其对人体的健康风险

#### 参考文献:

- [1] National Research Council (US). Committee on bioavailability of contaminants in soils and sediments

[M]//. Bioavailability of Contaminants in Soils and Sediments: Processes, Tools, and Applications [M]. Washington, DC: National Academies Press, 2003

- [2] Ruby M V, Schoof R, Brattin W, et al. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment [J]. Environmental Science & Technology, 1999, 33(21): 3697-3705
- [3] Kulp K S, Fortson S L, Knize M G, et al. An in vitro model system to predict the bioaccessibility of heterocyclic amines from a cooked meat matrix [J]. Food and Chemical Toxicology, 2003, 41(12): 1701-1710
- [4] 张东平, 余应新, 张帆, 等. 环境污染物对人体生物有效性测定的胃肠模拟研究现状 [J]. 科学通报, 2008, 53(21): 2537-2545
- [5] Hidalgo I J, Raub T J, Borchardt R T. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability [J]. Gastroenterology, 1989, 96(3): 736-749
- [6] 杨秀伟, 杨晓达, 王莹, 等. 中药化学成分肠吸收研究中 Caco-2 细胞模型和标准操作规程的建立 [J]. 中西医结合学报, 2007, 6: 634-641
- [7] 关溯, 陈孝, 黄民. Caco-2 细胞模型——药物吸收研究的有效工具 [J]. 中国药理学学报, 2004, 6: 609-614
- [8] 杨海涛, 王广基. Caco-2 单层细胞模型及其在药学中的应用 [J]. 药学学报, 2000, 10: 797-800
- [9] Ben F F, Han J, Irie M, et al. Assessment of wastewater-irrigated soil containing heavy metals and establishment of specific biomarkers [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 84(1): 54-62
- [10] Ivan O M. Assessment of iron bioavailability in ten kinds of Chinese wheat flours using an in vitro digestion/Caco-2 cell model [J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2012, 5: 3
- [11] Diane M D, Dil T, Pushparajah T. Lentil (Lens culinaris L.) as a candidate crop for iron biofortification: Is there genetic potential for iron bioavailability? [J]. Field Crops Research, 2013, (144): 119-125
- [12] Li S X, Chen L H, Zheng F Y, et al. Effect of the cp4-epsps gene on metal bioavailability in maize and soybean using bionic gastrointestinal tracts and ICP-MS determination [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(7): 1579-1584
- [13] Vesey D A. Transport pathways for cadmium in the intestine and kidney proximal tubule: focus on the interaction with essential metals [J]. Toxicology Letters, 2010, 198(1): 13-19
- [14] Zha L Y, Xu Z R, Wang M Q, et al. Chromium nanoparticle exhibits higher absorption efficiency than chromi-

- um picolinate and chromium chloride in Caco-2 cell monolayers [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2008, 92(2): 131–140
- [15] Blair J A, Coleman I P L, Hilburn M E. The transport of the lead cation across the intestinal membrane [J]. *The Journal of Physiology*, 1979, 286: 343
- [16] Elsenhans B, Janser H, Windisch W, et al. Does lead use the intestinal absorptive pathways of iron? Impact of iron status on murine  $^{210}\text{Pb}$  and  $^{59}\text{Fe}$  absorption in duodenum and ileum in vivo [J]. *Toxicology*, 2011, 284(1): 7–11
- [17] Calatayud M, Barrios J A, Vélez D, et al. In vitro study of transporters involved in intestinal absorption of inorganic arsenic [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2012, 25(2): 446–453
- [18] Calatayud M, Gimeno J, Vélez D, et al. Characterization of the intestinal absorption of arsenate, monomethylarsonic acid, and dimethylarsinic acid using the Caco-2 cell line [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2010, 23(3): 547–556
- [19] Espinoza A, Le Blanc S, Olivares M, et al. Iron, copper, and zinc transport: Inhibition of divalent metal transporter 1 (DMT1) and human copper transporter 1 (hCTR1) by shRNA [J]. *Biological Trace Element Research*, 2012, 146(2): 281–286
- [20] 付世新, 王哲. 微量元素铜在动物体内的转运代谢过程 [J]. *动物医学进展*, 2003, 24(2): 15–17
- [21] Peña M M O, Lee J, Thiele D J. A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution [J]. *The Journal of Nutrition*, 1999, 129(7): 1251–1260
- [22] 于昱, 罗绪刚, 吕林, 等. 动物小肠锌吸收特点及其机制的研究进展 [J]. *肠外与肠内营养*, 2006, 13(3): 179–187
- [23] Schloerb P R. Glucose in parenteral nutrition: A survey of US medical centers [J]. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 2004, 28(6): 447–452
- [24] Fleming M D, Trenor C C, Su M A, et al. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene [J]. *Nature Genetics*, 1997, 16(4): 383–386
- [25] Conrad M E, Umbreit J N, Moore E G, et al. Separate pathways for cellular uptake of ferric and ferrous iron [J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2000, 279(4): G767–G774
- [26] 刘凌云, 霍军生. 铁吸收和转运机制研究进展 [J]. *国外医学(卫生学分册)*, 2006, 33(3): 150–154
- [27] 张经坤, 张泽民, 于傲. 人体钙吸收理论探讨 [J]. *科学通报*, 2000, 45(10): 1114–1120
- [28] Öhrvik H, Tydén E, Artursson P, et al. Cadmium transport in a model of neonatal intestinal cells correlates to MRP1 and not DMT1 or FPN1 [J]. *ISRN Toxicology*, 2013, 2013: 1–9
- [29] Pourvali K, Matak P, Latunde-Dada G O, et al. Basal expression of copper transporter 1 in intestinal epithelial cells is regulated by hypoxia-inducible factor 2 $\alpha$  [J]. *FEBS Letters*, 2012, 586(16): 2423–2427
- [30] Blais A, Lecoœur S, Milhaud G, et al. Cadmium uptake and transepithelial transport in control and long-term exposed Caco-2 cells: The role of metallothionein [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1999, 160(1): 76–85
- [31] Noël L, Huynh-Delerme C, Guérin T, et al. Cadmium accumulation and interactions with zinc, copper, and manganese, analysed by ICP-MS in a long-term Caco-2 TC7 cell model [J]. *Biometals*, 2006, 19(5): 473–481
- [32] Yu J, Yu Z K, Wessling-Resnick M. Structural and functional analysis of SFT, a simulator of Fe transport [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 372: 21380–21385
- [33] Suzuki T, Nishimukai M, Takechi M, et al. The nondigestible disaccharide epilactose increases paracellular Ca absorption via rho-associated kinase- and myosin light chain kinase-dependent mechanisms in rat small intestines [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(3): 1927–1932
- [34] He W L, Li X L, Shentu J L, et al. Effects of cadmium pollution in soil on cadmium accumulation of cabbage and its biological effects on human intestinal cells line [J]. *Procedia Engineering*, 2011, 18: 157–161
- [35] Verheyen L, Degryse F, Niewold T, et al. Labile complexes facilitate cadmium uptake by Caco-2 cells [J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 426: 90–99
- [36] Fu J, Cui Y S. In vitro digestion/Caco-2 cell model to estimate cadmium and lead bioaccessibility/bioavailability in two vegetables: The influence of cooking and additives [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013
- [37] Laparra J M, Vélez D, Montoro R, et al. Estimation of arsenic bioaccessibility in edible seaweed by an in vitro digestion method [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(20): 6080–6085
- [38] Laparra J M. Bioavailability of inorganic arsenic in cooked rice: practical aspects for human health risk assessments [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, (53): 8829–8833
- [39] Bannon D I, Abounader R, Lees P S J, et al. Effect of DMT1 knockdown on iron, cadmium, and lead uptake in Caco-2 cells [J]. *American Journal of Physiology-*

- Cell Physiology, 2003, 284(1): C44 - C50
- [40] Calatayud M, Devesa V, Montoro R, et al. In vitro study of intestinal transport of arsenite, monomethylarsonous acid, and dimethylarsinous acid by Caco-2 cell line [J]. Toxicology Letters, 2011, 204(2): 127 - 133
- [41] 俞灵莺, 李向荣. 营养素对铅吸收的影响[J]. 职业与健康, 2002, (7): 5 - 7
- [42] 周静. 微量元素对铅毒性的影响[J]. 国外医学(卫生学分册), 1999, 22(2): 99 - 101
- [43] Olivares M, Pizarro F, Ruz M, et al. Acute inhibition of iron bioavailability by zinc: studies in humans [J]. Bio-metals, 2012, 25(4): 657 - 664
- [44] Iyengar V, Pullakhandam R, Nair K M. Coordinate expression and localization of iron and zinc transporters explain iron zinc interactions during uptake in Caco-2 cells: Implications for iron uptake at the enterocyte [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2012, 23(9): 1146 - 1154
- [45] Scheers N. Regulatory Effects of Cu, Zn, and Ca on Fe absorption: The intricate play between nutrient transporters [J]. Nutrients, 2013, 5(3): 957 - 970
- [46] Velasco-Reynold C, Navarro-Alarcon M, López-G de la Serrana H, et al. In vitro determination of zinc dialyzability from duplicate hospital meals: Influence of other nutrients [J]. Nutrition, 2008, 24(1): 84 - 93
- [47] Pachón H, Stoltzfus R J, Glahn R P. Chicken thigh, chicken liver, and iron-fortified wheat flour increase iron uptake in an in vitro digestion/Caco-2 cell model [J]. Nutrition Research, 2008, 28(12): 851 - 858
- [48] García-Nebot M J, Barberú R, Alegría A. Iron and zinc bioavailability in Caco-2 cells: Influence of caseinophosphopeptides [J]. Food Chemistry, 2013, 138(2-3): 1298 - 1303
- [49] Aguilar M V, Mateos C, Meseguer I, et al. Calcium availability in breakfast cereals: Effect of other food components [J]. European Food Research and Technology, 2012, 235(3): 489 - 495
- [50] Dorkkam N, Wongdee K, Suntornsaratoon P, et al. Prolactin stimulates the L-type calcium channel-mediated transepithelial calcium transport in the duodenum of male rats [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2013, (430): 711 - 716
- [51] Marchionatti A M, Pacciaroni A, de Talamoni N G T. Effects of quercetin and menadiene on intestinal calcium absorption and the underlying mechanisms [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2013, 164(1): 215 - 220
- [52] 查龙应, 罗海吉, 李万立. 不同因素对三价铬跨 Caco-2 细胞转运的影响[J]. 细胞生物学杂志, 2008, 30(3): 401 - 405
- [53] Yang U J, Yoon S R, Chung J H, et al. Water spinach (Ipomoea aquaticForsk.) reduced the absorption of heavy metals in an in vitro bio-mimicking model system [J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(10): 3862 - 3866
- [54] Mesías M, Seiquer I, Navarro M P. Consumption of highly processed foods: Effects on bioavailability and status of zinc and copper in adolescents [J]. Food Research International, 2012, 45(1): 184 - 190
- [55] Kim E Y, Pai T K, Han O. Effect of bioactive dietary polyphenols on zinc transport across the intestinal Caco-2 cell monolayers [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2011, 59(8): 3606 - 3612
- [56] Viadel B, Barberú R, Farré R. Uptake and retention of calcium, iron, and zinc from raw legumes and the effect of cooking on lentils in Caco-2 cells [J]. Nutrition Research, 2006, 26(11): 591 - 596
- [57] Souid-Mensi G, Moukha S, Maaroufi K, et al. Combined cytotoxicity and genotoxicity of a marine toxin and seafood contaminant metal ions (chromium and cadmium) [J]. Environmental Toxicology, 2008, 23(1): 1 - 8
- [58] Thompson C M, Fedorov Y, Brown D D, et al. Assessment of Cr(VI)-induced cytotoxicity and genotoxicity using high content analysis [J]. PloS One, 2012, 7(8): e42720
- [59] Calatayud M, Devesa V, Vélez D. Differential toxicity and gene expression in Caco-2 cells exposed to arsenic species [J]. Toxicology Letters, 2013, 218(1): 70-80
- [60] Laparra J M, Vélez D, Barberú R, et al. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-induced oxidative stress and cycle progression in a human intestinal epithelial cell line (Caco-2) [J]. Toxicology in Vitro, 2008, 22(2): 444 - 449
- [61] Laparra J M, Vélez D, Barberú R, et al. Cytotoxic effect of As(III) in Caco-2 cells and evaluation of its human intestinal permeability [J]. Toxicology in Vitro, 2006, 20(5): 658 - 663
- [62] Laparra J M, Vélez D, Barberú R, et al. An approach to As(III) and As(V) bioavailability studies with Caco-2 cells [J]. Toxicology In vitro, 2005, 19(8): 1071 - 1078
- [63] Calatayud M, Vélez D, Devesa V. Metabolism of inorganic arsenic in intestinal epithelial cell lines [J]. Chemical Research in Toxicology, 2012, 25(11): 2402 - 2411
- [64] Leffers L, Wehe C A, Huewel S, et al. In vitro intestinal bioavailability of arsenosugar metabolites and presystemic metabolism of thio-dimethylarsinic acid in Caco-2 cells [J]. Metallomics, 2013, 5(8): 1031 - 1042

- [65] Leffers L, Ebert F, Taleshi M S, et al. In vitro toxicological characterization of two arsenosugars and their metabolites [J]. *Molecular nutrition & food research*, 2013, 57 (7): 1270 – 1282
- [66] Wang X, Valenzano M C, Mercado J M, et al. Zinc supplementation modifies tight junctions and alters barrier function of Caco-2 human intestinal epithelial layers [J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2013, 58(1): 77 – 87
- [67] Zödl B, Zeiner M, Sargazi M, et al. Toxic and biochemical effects of zinc in Caco-2 cells [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2003, 97(4): 324 – 330
- [68] Cheng Z, Tako E, Yeung A, et al. Evaluation of metallothionein formation as a proxy for zinc absorption in an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model [J]. *Food & Function*, 2012, 3(7): 732 – 736 ◆

## 欧盟环境专员表示: 修订 EDC 策略已经准备就绪

2014 年 9 月 25 日 来源: Chemical Watch 网站

欧盟环境专员雅奈兹·波托奇尼克表示, 欧盟委员会修订内分泌干扰物(EDCs)的策略工作已经准备就绪了。不过, 他表示, 委员会内部存在分歧, 使得欧盟委员会环境总理事会(DG)并未将此事项正式提出。

波托奇尼克先生解释说, 环境干事(DG)们间的观点冲突相当普通, 但是, 内分泌干扰物本身的复杂性还需要进一步讨论, 以确保达成协议。在十月份完成他作为环境专员的任期以后, 他建议他的继任者立即开始对这些问题展开研究。

为实现这一目标, 新委员会的一名副主席将支持对于 EDC 策略的修订。在工作时须遵守新架构及由新任欧盟执行主席让-克洛德·容克设计的工作方法。这个过程可能会导致作出决策认为第七届欧盟环境行动项目(7EAP)足以管理内分泌干扰物的问题, 并不需要其它的策略。然而, 在 11 月 1 日新委员会上任之前, 这一问题仍有待观察。

谈到被提议作为欧盟生物杀灭剂和杀虫剂立法一部分的 EDC 标准的延迟, 波托奇尼克先生表示, 这是在科学定义方面存在分歧所导致的结果, 需要加以解决。按照他的说法, 正是这一问题导致须对标准的影响进行评估, 以及导致预计将于今年年末举行一次公众咨询会。他还补充说, “路线图已获得批准, 并已经采取了一些措施。”

波托奇尼克先生表示, 对于延迟的批评在很大程度上并未向环境总干事进行汇报, 而是向环境委员会进行了总体性汇报, “这有很大的不同”。一旦环境总干事确定了一项法律提案, 在其正式作为提议草案发布及向欧盟议会及成员国通报之前, 欧盟委员会的其它总干事必须表示同意。

有人说 EDC 标准的延迟是由于委员会秘书处扣留了文件, 因为这份文件太过于敏感。在《化学观察》要求对此发表评论时, 欧盟委员会的发言人 Ahrenkilde Hansen 回应表示此事件并不真实。她解释说, “我们非常严肃地处理内分泌干扰物的问题”, 并指出鉴定内分泌干扰物质的科学标准“必须是正确的”。Hansen 女士说, “这也意味着, 必不可少地要进行一次全面的影响评估, 这项工作现在正在进行当中”。她指出, 该评估将考察一系列不同选项对这些标准的潜在影响, 以及对其在本法律中的实施情况的潜在影响。她说, “由于此次影响评价, 建立本标准比原计划要花费更多的时间”, 并补充说这也是正常和合理的, 由于问题具有相当的复杂性, 并涉及到科学的不断发展以及科学家和利益相关者之间的意见分歧。

Hansen 女士说, “值得铭记的是对在植物保护和生物农药产品中的内分泌干扰物进行了规管, 因为这两条法例已经对此规定了严格的临时标准”。然而她并未对围绕 EDC 标准延迟与杀菌剂政策措施由环境干事移交健康干事是否有任何关系的争论提供任何评论。

“内分泌干扰物是一个严肃的话题。此类物质应该受到重视, 我认为重要的是要在将来采取进一步的行动”。对于 EDC 标准的责任从环境干事移交至健康干事的事项发表评论时, 波托奇尼克先生告诉《化学观察》, 欧盟委员会主席的责任是确保欧盟法律的实施, 无论谁是负责人都一样。

引自《化学品安全信息周报》2014 年第 40 期总第 304 期 (中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所编译)

[http://www.chinachemicals.org.cn/reported\\_detail.aspx?contentid=316&ClassID=230](http://www.chinachemicals.org.cn/reported_detail.aspx?contentid=316&ClassID=230)