不确定的遗传

环境暴露的跨代影响

© Emilio Ereza/Alamy

当Andrea Cupp还在华盛顿州立大学做博士后研究时，她在不经意间发现了一种现象。在研究化学物如何影响动物胚胎的性别决定时，她饲养了曾服用过名为甲氧氯杀虫剂的妊娠大鼠的后代。当该窝幼崽的雄性动物长大后，它们的精子数量减少并且不孕不育率较高。Cupp在这些动物的曾经宫内暴露过甲氧氯的父代中也见到过同样的异常。但幼崽并未有过暴露，这表明甲氧氯的毒性影响已持续存在了几代。“一开始，我简直不敢相信，”Cupp的导师，生物化学家及华盛顿州立大学教授Michael Skinner说。“但后来我们重复该繁殖实验，发现研究结果是站得住脚的。”

Skinner与现已是内布拉斯加大学林肯分校教授的Cupp，于2005年发表了他们的研究结果。该论文表明不只甲氧氯，还有杀真菌剂农利灵的生殖影响至少持续了四代。自该文发表以来，类似跨代影响的文章发表得越来越多。“在过去一年半中证明各种各样环境应激源暴露有跨代影响的研究数目激增不已，”美国国立环境卫生科学研究所（NIEHS）项目主管Lisa Chadwick说。“这是一个真正开始飞速发展的领域。”

Chadwick说，这些新发现促使科学家们对如何认识环境健康威胁进行重新评估。“我们必须考虑我们每天暴露化学物的更长远影响，”她说。“这一新研究表明，它们可能不只对我们自己以及我们孩子的健康，而且也对子孙后代的健康带来严重后果。”

NIEHS最近发布了总数300万美元的哺乳动物跨代影响研究的申请告示。Chadwick说资助的研究将涉及两个基本数据需求，一是有关可能的跨代机制，另一是被认为有这方面影响的化学物数量。这些研究将延伸到所谓的F_3代——最初暴露动物的曾孙。这是因为考虑到给予妊娠雌性动物（F_0代）的化学物质不仅与胎儿后代（F_1代），而且还与那些后代体内正在发育的生殖细胞（发育成熟为产生F_2代的精子和卵子）相互作用。因此，F_3动物是完全未暴露过原始因子的第一代。延伸至F_2代的影响称之为“多代”，而延伸至F_3代的影响称之为“跨代”。

名词解释

表观遗传 – 指可一代代遗传的基因表达能力的改变。

F_0、F_1 等 – 用以区分连续世代的简写。“F”代表“子代”。

生殖细胞系 – 通过世代个体遗传的生殖细胞（卵子与精子的祖细胞）的遗传谱系。

印记基因 – 其表达由是来自母亲还是父亲而定的基因。

标记（或标签） – 结合于 DNA 上并影响基因表达的分子。

甲基化 – 通过名为甲基团类分子的结合修饰 DNA。

多代性 – 指延伸至 F_2 代（孙辈）的效应。

NOAEL – 进行毒理学研究时对暴露动物无不良影响的最高剂量。

跨代性 – 指延伸至 F_3（重孙）代的影响。

现已报道有跨代影响的化学物质，包括氯菊酯、避蚊胺、双酚A、邻苯二甲酸盐、二恶英、喷气式发动机燃料混合物、尼古丁以及三丁基锡，等等。以上结果多数来自于啮齿类动物的研究。化学物影响能在人类延续几代的初步证据是新的发现，尽管尚无F3数据发表。荷兰阿姆斯特丹学术医疗中心早期发育和健康教授Tessa Roseboom说，鉴于追踪几代人的效应是很困难的事，对证据进行解释较为困难，尤其是对可能机制的解释。不过，仍有些报道将饥荒引起的营养缺乏和己烯雌酚（DES）暴露（一种20世纪40年代到70年代用于防止流产的非甾体雌激素）与持续至暴露妇女孙辈的影响联系起来。

实验动物的数据基础

环境暴露造成跨代影响的方式还不清楚。据Chadwick介绍，目前假设倾向于涉及DNA化学修饰的表观遗传模式，而非DNA序列本身突变。科学家们对“表观遗传学”的确切定义尚有争论，不过贝勒医学院（Baylor College of Medicine）小儿科和遗传学副教授Robert Waterland认为，发表于10年前《自然遗传学》（*Nature Genetics*）杂志上的定义：“研究发育和细胞增殖过程中发生的基因表达潜力的稳定改变”最为确切。

表观遗传修饰可有几种不同形式:可以是甲基基团的分子连接到DNA本身，也可以甲基或乙酰基团连接到围绕DNA的组蛋白上。这些附着的分子，也称为“标记”或“标签”，影响到基因的表达，从而决定每个细胞在生物体中的专门功能。

在发生于胚胎发育早期的分子编程事件中，从父母传来的表观遗传标记通常会被清除干净。密歇根大学公共卫生学院助理教授Dana Dolinoy解释说，受精后不久，一波DNA去甲基化后留下的是基因组焕然一新的胚胎，只有某些印记基因，如胰岛素样生长因子2（*IGF2*）仍然保留甲基化。随后，发育中的胚胎细胞在发育成组成人体不同组织和器官的体细胞时，再次甲基化。与此同时，生殖细胞自身经历一波针对发育胚胎性别的去甲基化与再甲基化编程事件。

研究人员发现，跨代影响可由于在胎儿发育精确窗口期化学给药所引起，尤其是在决定性别的时间内给药，据杜克大学细胞生物学教授Blanche Capel说，即在小鼠胚胎的10.5~12.5天，人类胚胎的41~44天。据认为在F_3代观察到的影响来自生殖细胞系的改变，生殖细胞系是在上下代间传递的生殖细胞DNA系列。Skinner及其他研究人员已确定F_3代精子DNA甲基化改变似乎是见之于F_3代动物的跨代影响的基础。

研究人员强调，迄今为止该领域的许多证据都是观察性的，意味着其生物学机制尚不清楚。 Dolinoy说，科学的观点基本倾向于表观遗传学途径。“这似乎才是整个领域的发展方向，”她说。

据Chadwick说，Skinner的实验室仍是化学暴露动物跨代研究的中心。Skinner最新研究证明，胚胎编程期给予妊娠大鼠杀虫剂、邻苯二甲酸盐、二恶英和喷气燃料，会促使雌性后代青春期早发及雄性精子数减少，直到F_3代。“我们对生殖细胞DNA甲基化进行定位并发现每种化合物都诱导一种独特的表观遗传标记，”Skinner说。“但这也有可能是其它表观遗传机制的作用。”

与此同时，研究动物跨代改变的还有几个小组。华盛顿州的分子生物科学教授金关喜（音译）的一项研究将妊娠小鼠在胚胎7~14天时暴露于二（2-乙基己基）酯（DEHP）。金观察到雄性后代的精子数减少及精子活力降低直至F_4代。重要的是，她还观察到精原干细胞再生减少80%。因此，

她说，“随着动物变老，它们产生新精子的能力急剧下降。”

Kim暗示功能改变后面的潜在表观遗传学机制是DNA甲基化。她说，她在研究中确定了16个差异甲基化并在新生幼崽中表达的基因。这组目标基因可能为DEHP跨代作用提供了线索。

Harbor-UCLA医学中心儿科学教授Virender Rehan在另一项新研究中发现，大鼠于胎龄6天时开始（出生前）暴露尼古丁与F_3雌雄两性的类哮喘症状有关。但是，与延伸到F_2子代的早期研究相类似，这些影响都有性别特异性，雄性的总气道系统阻力显著大于雌性，部分原因由于气管收缩（仅见于雄性）。Rehan说，目前仍不清楚（也是他目前的在研课题）跨代影响究竟是通过雄性还是雌性生殖细胞系实现的。

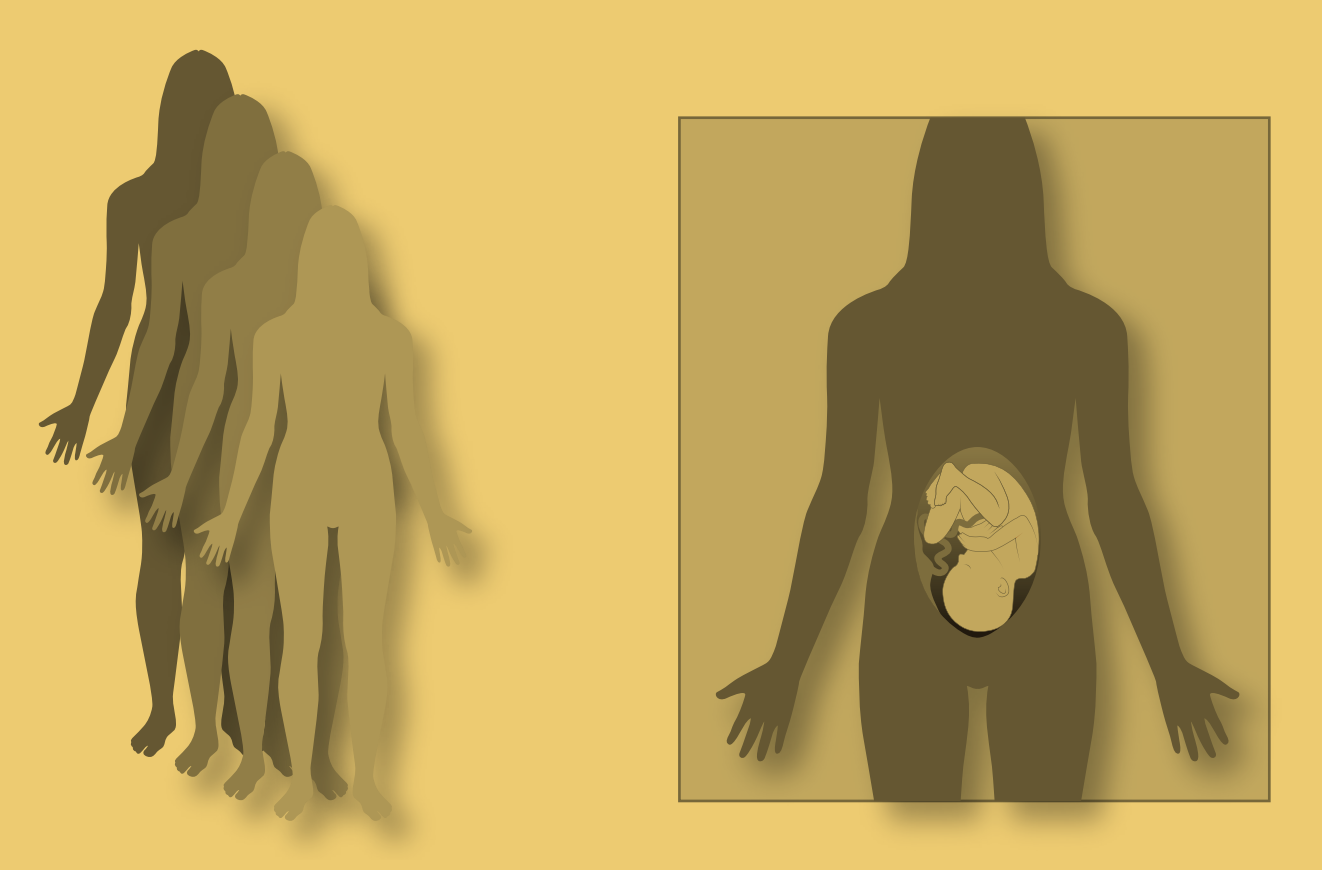
加州大学尔湾分校发育和细胞生物学教授Bruce Blumberg最近发表的小鼠研究显示，母亲暴露于杀菌剂三丁基锡（TBT）引起类似于非酒精性脂肪肝病的病症直到F_3代。与其它跨代毒物一样，TBT是内分泌干扰物，这种干扰物似乎是种肥胖因子，或是一种部分通过促进脂肪细胞生长加速肥胖的化学物质。Blumberg的研究所使用的TBT剂量比未观察到有害作用的剂量（NOAEL）低50倍。

据Blumberg说，以上研究结果还支持生殖生物学中的进化概念，即“健康与疾病的发育起源”假说，该假说认为，低剂量化学暴露或宫内母亲饮食改变的经历可导致成年动物机体的永久性改变。“这些影响是永久性的，即便不再暴露了，其影响依然存在，”他说。“我们现在发现其影响还会延续至以后几代。”

其他研究人员发现，有证据表明跨代效应可影响交配行为，对群体进化产生影响。举例来说，得克萨斯大学奥斯汀分校生物学和心理学教授David Crews报告说，雌性大鼠避免与祖先暴露过乙烯菌核利的F_3代雄性大鼠交配。该研究尤其发现，所有测试的雌性首选对照雄性（其祖先未暴露过农利灵），而无论对照组还是祖先处理组的雄性都没有表现出对雌性类型的特别偏爱。“在进化中真正重要的是性”Crews说。“说到底这就是个谁有权交配以及与谁繁殖的问题。”

人类多代影响的例子

多年前环境引起人类多代影响的证据开始出现在瑞典北部一个名为



当某孕妇暴露于环境因子时，该暴露不仅作用于其本人（F_0）及其尚未出生的孩子（F_1），而且还作用于胎儿体内正在发育的生殖细胞（F_2）。动物研究业已证明作用于某代的化学效应还会进一步作用到F_3代，即未直接暴露原始因子的第一代。迄今人类研究证明以上影响仅达F_2代。Joseph Tart/*EHP*

Överkalix教区的孤立社区中。部分由伦敦大学学院儿童健康研究所临床遗传学家Marcus Pembrey领导的研究人员，调查儿童期食物丰富是否影响孩子的未来后代的心脏病及糖尿病风险。研究人员尤其研究了儿童“缓慢生长期”，即前青春期猝长前生长暂停期的过度饮食。

发表于2002年的初步研究表明，答案是有条件的肯定。通过研究产量统计、粮食价格及其他记录，研究人员将十九世纪各个年份Överkalix的粮食供应分为差、中、好。然后，他们研究了出生于1890、1905和1920年的后代健康结局，发现祖父（而非祖母）在缓慢生长期食物丰富与糖尿病死亡率增加有关。

表观遗传学依据的是上世纪四十年代Conrad Waddington的研究工作，Conrad Waddington创造了该词并用于描述环境影响的非孟德尔现象。早在多年前法国科学家Jean-Baptiste Lamarck就已假定生物体可遗传其自己一生中所获得的性状。比达尔文的《物种起源》早发表五十年的Lamarck理论为达尔文所接受，并且直到20世纪初孟德尔遗传学兴起前都被人们所接受，孟德尔遗传学认为遗传性状只能通过基因遗传。

Image: © The Royal Society (1977)

对同为Överkalix个体的随访研究中，Pembrey及其同事发现了性别特异性多代影响的进一步证据：如果祖父在其缓慢生长期食物供应良好，男性后代的相对死亡风险有统计学意义增加，而如果祖母在其缓慢生长期食物供应良好，则女性的相对风险增高有统计学意义。

其他数据来自荷兰西部1944~1945年冬怀孕妇女的孙辈，由于德国占领军对粮食进口实行限制，当时营养摄入量降至仅仅每天400卡路里。Roseboom领导的研究人员于2008年报告说，宫内遭受饥荒妇女的孩子与饥荒前或饥荒后出生妇女的孩子相比，往往出生时较胖，成年时更易出现健康问题。Roseboom及其同事在较早研究中曾报告说，宫内经历过饥荒的成年F_1群体的心血管疾病、糖尿病、肥胖和乳腺癌的发病率较高。

2008年的F_1母亲研究完成了有关出生状况及其成年子女目前健康状况的问卷调查。问卷将健康结局分为四类：先天性、心血管和代谢、精神及其它。在“其他类”中，祖先经历过饥荒与不良健康结局间有统计学意义相关性，“其他类”包括事故与后天神经系统、免疫、感染、呼吸、肿瘤及皮肤疾病。Roseboom及其同事在其结论中指出，该研究结果“成为母亲妊娠期营养不良对晚年健康的危害遗传给后（几）代人类最早的直接证据。”

Roseboom称这些发现为出生前饥荒暴露后多代健康影响的“最早但较弱的”迹象。“其之所以较弱是因为我们接触的是F_1代，而未直接接触F_2代，”她解释说。“但在后来的研究中，我们直接接触到F_2代，我们发现他们不仅出生时，而且目前在他们40多岁时也较胖，因此我们预计他们晚年的心血管疾病发病率可能会增加。”

该领域人类证据的另一主要根据来自DES的多代研究。这些数据来自美国国家癌症研究所的两项研究：即追踪DES暴露妇女及其出生前暴露儿童健康结局的DES跟踪研究，以及追踪最初暴露妇女的男女两性孙辈的DES第3代队列研究。

据达特茅斯的盖泽尔医学院社区与家庭医学及儿科学教授Linda Titus说，DES暴露妇女的孙子的出生缺陷，主要是泌尿生殖器缺陷的风险轻度增高，但结果无统计学显著意义。同时，孙女有髋关节发育不良、月经不调、月经初潮推迟，以及不孕不育潜在风险的增加。暴露妇女的孙女的卵巢癌风险也较高，但她说由于该发现仅有三例，只能将其作为初步结果看待。

人类表观遗传学的证据仍在寻找中

有关表观遗传学的人类数据通常限于F_1群体并且主要来自有关荷兰饥荒的研究。据Roseboom说，莱顿大学（Leiden University）医学院遗传学副教授Bastian T. Heijmans发表的论文是最早将妊娠期营养不良与表观遗传状态改变联系起来的研究。Heijmans及其同事在该研究中报告说，宫内暴露荷兰饥荒的F_1代在60年后与未暴露饥荒的同性别兄弟姐妹相比*IGF2*基因的甲基化程度低（他们注意到其它应激源，如寒冷和情绪压力可能导致观察到的低甲基化）。

据Roseboom说，该结果表明出生前饥荒可能通过甲基化改变导致基因表达的改变。但Heijmans的研究团队未能从统计学上将*IGF2*低甲基化与任何具体健康结局联系起来。Roseboom指出：“这些甲基化改变是否实际导致基因表达的改变以及例如心血管疾病风险因素的最终改变，仍有待进一步研究。”

Roseboom的团队去年对一项研究进行跟踪，该项研究对已在动物中证明由于妊娠期饮食限制被持久改变的

另四个基因进行了研究。但该研究未能证明饥荒暴露与甲基化状态间有一致联系，这很可能是由于生活方式的选择及以后生活中饮食的混杂作用。Roseboom的团队目前正在对从受荷兰饥荒影响F_0、F_1和F_2代得到的DNA进行甲基化水平分析；这些数据尚未发表。

Titus说人类跨代表观遗传机制的确凿证据，将取决于在F_3代的发现。“即便新研究证实DES暴露孙辈的结局，我们还不能确定它们是否由于表观遗传变化所引起，”她说。“真正评价可遗传的表观遗传改变需要对曾孙进行研究，他们将是第一代未暴露过DES者。”

Blumberg强调，不能仅因尚未得到数据就否认环境引起的人类跨代表观遗传改变的存在。“我们在动物中见到了跨代表观遗传改变，我们相信动物数据可以预测人类的反应，”他说。“而且，很可能你在基因研究中见不到表观遗传改变——相反，你却有可能在DNA的非编码区见到这种改变。”

Crews声称环境暴露可能导致许许多多的持久跨代影响的证据越来越多，给我们留下了人类进化走向悬而未决的问题。他说“这是个关于“先天与后天”之争的新窗口。”“我们是我们遗传所得以及我们后天环境暴露的综合体。而现在你不可能在地球上找到一个没有内分泌干扰化学物负担的人或动物。”

Charles W. Schmidt，理学硕士，居住在缅因州波特兰市的获奖科普作家。为《探索杂志》（Discover Magazine）、《科学》（Science）及《自然医学》（Nature Medicine）撰写文章。

译自*EHP* 121(10):A298–A303 (2013)
翻译：王仁礼 审校：李卫华

***本文参考文献请浏览英文原文**

原文链接

http://dx.doi.org/10.1289/ehp.121-A298

儿童健康专辑

Children's Health Collection 2014

EHP Children's Health Collection 2014 comprises abstracts of all relevant articles published in *EHP* from October 2013 through September 2014: peer-reviewed research articles, news features, Science Selections, and editorials. Abstracts are featured for each research article, and hyperlinks take readers directly to the full article online (http://www.ehp.niehs.nih.gov). The Science Selections are noted just below the related research.

As in previous Collections, the three main sections—Disease Outcomes, Exposures, and Methodologies and Populations—contain all research that has appeared in the Children's Health section of each *EHP* issue as well as relevant reviews and commentaries, research that involves both adult and child cohorts and both animal and human components, adult diseases with fetal or childhood origins, experimental models with direct application to children's health, and topics of general interest to children's health researchers and advocates. Some specific topics (e.g., Built Environment, Climate Change) are featured in news articles but not research.

In this Collection, air pollutants, heavy metals, and chemical compounds continue to be heavily represented in the research, with a wide variety of outcomes (e.g., lung disfunction, congenital anomalies, developmental and behavioral issues, hormone levels) and modes of transfer (e.g., placenta, breast milk, diet, air, soil). A new category is Eyes and Ears, which reflects increased interest in the role of noise pollution in disease and hearing loss. In addition to single longitudinal birth cohorts, larger studies that combine multiple cohorts (e.g., ESCAPE, HELIX, NewGeneris) contribute databases, methodologies, and analyses of multiple environmental factors and outcomes.

Please see http://www.ehp.niehs.nih.gov/collections/ for all the yearly Children's Health collections. The 2014 collection is also available as a 4.6MB PDF.