

山西财经大学中青年学者文库

二氧化硫和铅的 SULFUR DIOXIDE AND LEAD'S NEUROTOXICITY 神经毒性

杜正清 著

中国环境科学出版社

二氧化硫和铅的神经毒性

杜正清 著

中国环境科学出版社·北京

图书在版编目(CIP)数据

二氧化硫和铅的神经毒性/杜正清著. —北京: 中国环境科学出版社, 2010.5

ISBN 978-7-5111-0248-5

I. ①二… II. ①杜… III. ①中枢神经系统—二氧化硫中毒—研究②中枢神经系统—铅中毒—研究
IV. ①R595②R741

中国版本图书馆CIP数据核字(2010)第073905号

责任编辑 连斌 孔锦

封面设计 龙文视觉

出版发行 中国环境科学出版社
(100062 北京崇文区广渠门内大街16号)

网 址: <http://www.cesp.com.cn>

联系电话: 010-67112735

发行热线: 010-67125803

印 刷 北京市联华印刷厂
经 销 各地新华书店
版 次 2010年5月第1版
印 次 2010年5月第1次印刷
开 本 880×1230 1/32
印 张 6.25
字 数 180千字
定 价 21.00元

【版权所有。未经许可请勿翻印、转载，侵权必究】

如有缺页、破损、倒装等印装质量问题，请寄回本社更换

序

大学学术是作为科学策源地、文化发祥地、人才聚集区、社会智力库、知识辐射源的高等学府独具一格的宝贵财富，而大学学者的学术成果则是每一个高等学府经年累月所积淀的思想宝库。大学源于学术，学术是大学的生命力。

山西财经大学是一所学术气氛浓郁的财经类高等学府。50多年来，我校学科覆盖经、管、法、文、理、工、教7个门类，有30余个博士学位、硕士学位授权点，有12个省级重点学科，2个省级人文社科重点研究基地。学科复合、专业交叉、资源互补、观念互渗、乘势而上……在新的发展机遇期，山西财经大学已经绘制了宏伟的发展蓝图，确定了学校由教学型转向教学科研型的发展战略。由学校资助出版的中青年学者文库，是具有丰富内涵的山西财经大学中青年学者成果的立体化呈现。它不仅是对学校50多年学术文化和学术传统的历史性继承，而且是我校在战略发展阶段所采取的重要举措。

第一，推出学术精品。通过资助出版学术精品，形成精品学术成果园地，在繁荣国家财经、管理、政法以及人

文社会科学研究，解决党和国家面临的重大经济、社会问题方面，作出我校应有的贡献。第二，培养学术队伍。特别是对一批处在成长期的中青年学术骨干、博士的科研成果予以资助出版，促进学术梯队建设，提高学术队伍的整体实力和水平。第三，凝练学术特色。通过资助在学术思想、学术方法和学术观点等方面有独到和创新点的学术成果，培育学术特色，力争通过努力，形成有我校特色的学术思想体系。因此，文库面向中青年，面向原创精品。

我们欣喜地看到，今天的财大学人正沐浴财大学术精神的光芒，凝练前行者或深或浅的脚步，敞开我们日月经天的情怀，共同拥抱山西财经大学无比美好的明天，让我们共同的学术精神发扬光大。

原梅生

2009年12月

前 言

从美国国会 1989 年将未来 10 年确定为“脑的 10 年”以来，世界上没有哪一门学科像神经科学一样发展得如此迅猛。大脑的工作有极为精确的级联时空调控，每个神经元都拥有大量的各种各样的受体和离子通道，神经末梢中存在着几种乃至几十种不同的随时准备释放的神经递质和神经活动分子，每个神经元几乎都可能与周围细胞形成数以千计的突触联系，并产生不同频率的、携带内外环境信息变化的电位，大脑的整合功能会是如此复杂，人类的行为和意识会如此多变而难测，揭示脑的奥秘的挑战是如此的艰巨。随着细胞和分子神经生物学研究的深入，大脑奥秘的神秘面纱已逐渐被掀开，这些迷人的研究前景驱使着人们去探究神经细胞膜的生物物理特性，以及进一步去解释感觉细胞的分子生物学和神经冲动传导的信号转换机制。

随着社会经济的发展，环境污染的加重，出现了越来越多的离子通道病，如老年痴呆症（Alzheimers' disease, AD），研究发现 AD 患者体内的致病物质与钾通道、钙通道功能异常密切相关，通过影响钾、钙通道本身结构和调节过程促使 AD 患者早期记忆损失、认知功能下降。又如脑缺血，脑缺血后能量代谢紊乱，细胞内三磷酸腺苷（ATP）合成下降，突触间隙的谷氨酸剧增，引起受体依赖性 Ca^{2+} 内流增加，导致神经细胞内 Ca^{2+} 超载；谷氨酸还可使 Na^+ 内流增加，导致神经细胞急性渗透性肿胀。再如支气管哮喘，致病因素作用于肥大细胞后，引起细胞膜钙通道开放，导致胞内 Ca^{2+} 增多，进而激活钙-钙调蛋白依赖性酶参与肥大细胞脱颗粒，释放组胺，导致炎症反应和哮喘发作。此外，还有与通道有关的许多疾病发生。

离子通道的结构和功能异常会引起许多疾病，具体表现在编码

离子通道亚单位的基因发生突变或表达异常，或体内出现针对通道病理性内源性物质时，离子通道的功能发生不同程度的减弱或增强，导致机体整体生理功能紊乱，形成某些先天性或后天获得性疾病，主要涉及神经、肌肉、心脏、肾脏等系统和器官。迄今为止，研究比较清楚的离子通道病主要涉及钾、钠、钙通道领域。

钾离子通道在所有信号传导过程中具有重要作用，其家族成员在调节神经递质释放、心率、胰岛素分泌、神经细胞分泌、上皮细胞电传导、骨骼肌收缩、细胞容积等方面发挥着重要作用。已经发现的钾通道病有常染色体显性良性家族性新生儿惊厥、1-型发作性共济失调、阵发性舞蹈手足徐动症伴发作性共济失调、癫痫、Jervell 和 Lange-Nielsen 综合症等。

钠离子通道在动作电位的起始阶段起重要作用。已经发现的钠通道病有高钾型周期性麻痹、正常血钾型周期性麻痹、部分低钾型周期性麻痹、先天性副肌强直、各型钾加重的肌强直、先天性肌无力、全面性癫痫热性发作叠加症等。

钙离子通道广泛存在于机体的不同类型组织细胞中，参与神经、肌肉、分泌、生殖等系统的生理过程。已经发现的钙通道病有家族性偏瘫性偏头痛、Lambert-Eaton 肌无力综合症、癫痫、恶性高热、低钾型周期性瘫痪、2-型发作性共济失调、6-型脊髓小脑共济失调、中央脊髓性疾病等。

相当数量的离子通道病并不是新出现的疾病，而是早已出现甚至早被熟知的疾病，只是此前一直未发现其在离子通道水平存在病变，如癫痫、偏头痛等；有些离子通道病为单一离子通道结构和功能异常所致，也有些离子通道病涉及多种离子通道结构和功能异常，如癫痫与 L 型电压依赖性钙通道、电压依赖性钾通道、乙酰胆碱受体通道等有关。研究离子通道功能的最直接的方法是采用膜片钳技术直接测定通过离子通道的电流或测量细胞膜电位的变化。

本书共分为三部分。第一篇是关于二氧化硫对大鼠外周神经的损伤研究。第二篇是关于二氧化硫对铅引起的大鼠中枢神经元的损

伤研究。第三篇是本书的研究结论部分。

我们选外周神经的背根神经节 (DRG) 为受试神经元。背根神经节是躯体和内脏传入的基础神经元, 作为基本的感觉传入系统, 把外周的信息传递给中枢神经系统, 它在全身的运动协调方面起着重要的作用。海马作为中枢神经系统的代表, 位于高等哺乳动物大脑半球内侧面, 在脑功能中起着关键作用, 是学习记忆的主要部位, 海马损伤会损害学习与记忆。 SO_2 和 Pb^{2+} 是城市大气中的主要污染物, 都是神经毒素, 对神经系统有一定的损伤, 我们应用全细胞膜片钳技术, 研究了其对神经元上膜离子通道的影响及其可能的机制, 主要研究结果如下:

在急性分离的大鼠背根神经元和海马神经元上观察 SO_2 及其衍生物对瞬间外向钾电流和延迟整流钾电流的影响。 SO_2 增大钾通道的电导, 使 DRG 细胞上瞬间外向钾电流的半数增大浓度为 $35.8 \mu\text{mol/L}$; 使海马 CA3 区神经元的半数增大浓度为 $26 \mu\text{mol/L}$, 说明中枢神经比外周神经对 SO_2 敏感。使 DRG 细胞上延迟整流钾电流的半数增大浓度为 $26.3 \mu\text{mol/L}$, 说明在外周神经元上, 延迟整流钾通道比瞬间外向钾通道对 SO_2 敏感。 SO_2 衍生物不影响上述两种神经元的瞬间钾电流的激活过程, 使归一化的延迟整流钾电流的激活曲线向超极化方向移动, 显示 SO_2 衍生物促进了 I_K 的激活; 同时, SO_2 衍生物使归一化的瞬间外向钾电流的失活曲线向去极化方向移动, 显示在任何一个给定的膜电位处, 通道的失活受到 SO_2 的抑制; SO_2 使 DRG 细胞膜上瞬间外向钾电流的快和慢的失活时间常数增加, 表明 SO_2 延长通道的失活时程。 SO_2 使延迟整流钾电流的激活时间提前, 表明 SO_2 使通道从关闭态到激活态的时间缩短, 通道提前激活。 SO_2 衍生物是神经元瞬间钾电流和延迟钾电流的浓度和电压依赖性的增大剂, SO_2 衍生物作用钾通道, 会使胞外钾离子浓度升高, 进而可能引发细胞凋亡, 所以, SO_2 可能通过影响膜上的钾通道功能对神经系统产生损伤效应。

观察 SO_2 衍生物对 DRG 细胞上 TTX-S 钠电流和 TTX-R 钠电流的毒性效应, 发现 SO_2 衍生物对 I_{Na} 的增大效应主要表现在如下

方面：①在不同的电压下， SO_2 对 DRG 细胞上的钠电流既有促进作用，又有抑制作用；② SO_2 增大了两种钠通道的反转电位；③ SO_2 不影响 TTX-S 钠电流的激活过程，却使 TTX-R 钠电流的激活过程推迟；④ SO_2 使两种钠电流的失活往去极化方向移动；⑤ SO_2 延迟了钠通道的激活和失活时间常数；⑥ SO_2 对 TTX-R 通道较 TTX-S 通道敏感许多。TTX-R 通道是伤害性信号的传导通路， SO_2 通过作用钠电流，增大了神经元的兴奋性，尤其是伤害性神经元的兴奋性，这可能是 SO_2 影响神经细胞功能重要的作用机理之一。

DRG 神经元细胞膜上电压门控性钙离子通道和钠离子通道通过的内向电流是神经元动作电位产生和传导的必需环节。电压门控性钙电流和 TTX-R 钠电流有几乎相同的激活阈值，它们同时组成动作电位上升阶段的主要电流。另外，电压依赖性钙通道参与轴突末梢神经递质的释放，对动作电位的后超极化有一定的影响。阻断 DRG 上高阈值激活的钙通道，可以减弱因外周神经损伤而引起的痛觉过敏等症状，因此我们应用全细胞膜片钳技术，研究了 SO_2 衍生物对 I_{Ca} 的效应，并初步探讨其作用机理。在 DRG 细胞上的钠、钾、钙离子通道中， SO_2 对钙通道和 TTX-R 钠通道最敏感。 SO_2 以浓度依赖方式增大 I_{Ca} ，半数增大浓度大约是 $0.4 \mu\text{mol/L}$ ， SO_2 推迟了钙通道的激活和失活过程，增大了钙通道的反转电位，改变了电压门控性钙通道的特性，这是 SO_2 增大钙电流的一个原因。另外， $20 \mu\text{mol/L}$ 的 4-氨基丁酸 (GABA) 抑制 DRG 细胞上的钙电流，再加 SO_2 衍生物，发现其增大钙电流的程度较原来减少了许多，显示 SO_2 有可能通过作用 DRG 细胞上的 GABA 受体来增大钙电流，这是 SO_2 增大神经元胞内钙离子浓度的第二个途径。 SO_2 对高阈值激活的钙通道亚型中，对 N 型钙通道尤为敏感，其次是 L 型钙通道，说明 SO_2 对外周神经元上钙通道的不同亚型敏感度不同；N 型多数是表达疼痛的通道，说明 SO_2 对表达疼痛的亚型钙通道特别敏感，显示 SO_2 有可能通过影响神经元细胞膜上的离子通道引发神经痛觉过敏。

观察急性 Pb^{2+} 对海马神经元上钠、钾电流的抑制效应，发现

Pb^{2+} 对钠、钾电流的抑制作用具有电压依赖性和浓度依赖性，这种抑制作用是部分可逆的， Pb^{2+} 可使归一化的钠电流的激活曲线显著右移，失活曲线显著左移，显示 Pb^{2+} 抑制钠电流的激活，促进其失活，从而破坏了神经元细胞膜的电压感应。 Pb^{2+} 可使归一化的钾电流的激活曲线显著右移，说明 Pb^{2+} 抑制钾电流的激活；同时， Pb^{2+} 使钾电流的失活曲线往去极化方向移动，显示通道的失活受到 Pb^{2+} 的抑制。 Pb^{2+} 抑制钾、钠通道的激活并增加了神经元的兴奋性和发射频率，神经元表现出异常的发放特性，引起中枢神经异常，严重的会影响小孩和成人的智商、记忆力，也正是 Pb^{2+} 的这种毒性作用，导致这种异常从中枢传入外周神经系统，表现出多动等怪异行为。

众所周知，铅是重金属，可以在生物体内富集，铅和二氧化硫是城市两大主要交通污染物，慢性铅暴露和急性二氧化硫染毒更接近人类接触这两种神经毒素的真实途径。电压门控性钠通道在神经元的信号调控过程中具有十分重要的作用，同时它又是某些神经毒素作用的靶点，这些毒素通过影响钠通道的结构和功能造成对中枢神经元的损伤效应。所以，这里我们研究了二氧化硫对铅引起的海马神经元钠电流的影响。结果发现慢性铅暴露组与对照组相比，使穿越海马神经元钠通道的钠离子绝对数量稍微有些减少，但不具有显著差异。使钠电流的激活过程推迟，失活曲线往超极化方向移动。延迟了电流激活过程中达到峰值的时间，几乎不改变失活时间常数。二氧化硫衍生物和铅对海马神经元钠通道的联合作用完全不同于两者的单独作用，不是两种效应的简单叠加。说明铅能够进入神经元细胞内，尽管胞内的 Pb^{2+} 数量尚不足以影响到全细胞电流，但能够影响细胞膜正常的电压感应，缩短钠通道的开放时程，影响胞内正常的代谢功能，进而导致神经元的损伤或死亡。

本书是在博士论文的基础上加了我最近的部分研究成果完成的，为此我要感谢山西大学环科中心给我提供研究平台；要特别感谢我的导师孟紫强先生，这些工作凝聚着他的心血和关心；书中所

用的素材，除了几年来我们的研究成果外，还大量引用了公开出版物（见参考文献），这里特向有关作者鞠躬致谢。此外，在本书的写作过程中，得到许多老师和朋友的关心、支持和帮助，在此向他们表示衷心的感谢！

笔者自知学识有限，书中难免有不足之处，恳请广大同仁不吝赐教。

目 录

第一篇 二氧化硫对大鼠外周神经的损伤研究	1
第一章 文献综述	3
第一节 二氧化硫毒性概述	3
第二节 二氧化硫毒性效应及研究进展	6
第三节 背根神经节的结构和功能	18
第四节 全细胞膜片钳技术概述	32
第五节 研究的意义	42
第二章 二氧化硫衍生物对大鼠背根神经元瞬间外向钾电 流和延迟整流钾电流的影响	45
第一节 前言	45
第二节 实验材料和方法	47
第三节 实验结果	49
第四节 讨论	56
第三章 二氧化硫衍生物对急性分离的大鼠背根神经元钠 电流的增大效应	59
第一节 前言	59
第二节 实验材料和方法	61
第三节 实验结果	63
第四节 讨论	69
第四章 二氧化硫衍生物对大鼠背根神经元钙电流的影响	72
第一节 前言	72

第二节	实验材料和方法	73
第三节	实验结果	75
第四节	讨论	83
第五章	胞外高钾与二氧化硫衍生物对大鼠背根神经元超极化电流的影响	87
第一节	前言	87
第二节	实验材料和方法	88
第三节	实验结果	90
第四节	讨论	100
第二篇	二氧化硫对铅引起的中枢神经元损伤效应研究	103
第六章	文献综述	105
第一节	海马的结构和功能	105
第二节	铅的毒性概述	108
第三节	铅的神经毒性效应和作用机制	111
第七章	铅对大鼠海马 CA1 区神经元钠电流的抑制效应	116
第一节	前言	116
第二节	实验材料和方法	117
第三节	实验结果	118
第四节	讨论	121
第八章	铅对大鼠海马神经元瞬间外向钾电流和延迟整流钾电流的影响	124
第一节	前言	124
第二节	实验材料和方法	125
第三节	实验结果	126
第四节	讨论	132

第九章 二氧化硫衍生物对大鼠海马 CA3 区神经元瞬间外向钾电流的影响	134
第一节 前言	134
第二节 实验材料和方法	135
第三节 实验结果	136
第四节 讨论	140
第十章 二氧化硫衍生物对铅引起的大鼠海马神经元钠电流变化的影响	142
第一节 前言	142
第二节 实验材料和方法	143
第三节 实验结果	144
第四节 讨论	151
第三篇 结论	155
参考文献	162

第一篇

二氧化硫对大鼠外周神经的损伤研究

第一节 二氧化硫毒性概述

一、二氧化硫的污染现状及危害

SO_2 是一种常见的和重要的大气污染物，主要来源于含硫燃料（如煤和石油）的燃烧，含硫矿石（特别是含硫较多的有色金属矿石）的冶炼，化工、炼油和硫酸厂等的生产过程。世界上有很多城市发生过 SO_2 污染的严重事件，使很多人中毒或死亡。作为大气中主要污染物之一， SO_2 是衡量大气是否遭到污染的重要标志。我国一些城镇大气中 SO_2 的污染普遍而又严重。

大气中 SO_2 污染与人体健康关系密切。 SO_2 进入呼吸道后，因其易溶于水，故大部分被阻滞在上呼吸道，在湿润的黏膜上生成具有腐蚀性的亚硫酸、硫酸和硫酸盐，使刺激作用增强。 SO_2 在大气

