

· 综 述 ·

二硫化碳致周围神经病发病机制的研究进展

鲁洁波 (综述) 黄金祥 (审校)

二硫化碳 (CS₂) 是一种亲神经毒物, 长期密切接触可致周围神经病^[1]。目前, 神经毒理、神经生化、神经病理和电生理及职业病临床等方面进行的大量研究, 已比较完整地揭示了 CS₂ 中毒途径、体内分布、生物转化、病理特征和临床表现特点, 但它的发病机制至今尚不完全清楚。本文就近年来探索 CS₂ 致周围神经病的发病机制的若干进展作一综述, 并展望这方面的研究趋势。

1 临床表现和病理特征

慢性 CS₂ 中毒引起的周围神经病, 早期症状为手指和脚趾麻木, 而后出现手足感觉异常, 如蚁行感、痛、触觉减退及音叉震动觉减退, 末端反射消失和下肢肌肉无力。随着接触时间延长, 感觉和运动功能障碍逐渐向近端发展, 产生以手套-袜套样分布为特征的对称性远端感觉运动型周围神经病。严重者可有肌肉疼痛, 肌肉萎缩, 行走困难。

CS₂ 致周围神经损伤的病理改变属于中枢-周围性远端型轴索病。最初的损伤发生在远端最长、最粗的感觉和运动神经的轴索, 并在郎飞结旁形成巨大的梭形肿胀, 为大量神经丝 (NF) 充塞。随后, 髓鞘自肿胀处回缩, 郎飞结远端轴索缩小, 髓鞘变皱。最后, 轴索肿胀处以远部分发生华勒变性。在脊髓的上、下行传导束和视觉通路的神经轴索中, 也发生类似改变。上述病理改变与临床表现是平行的^[2,3]。

2 发病机制

CS₂ 致周围神经病发病机制主要有以下几种学说^[4,5]。

2.1 金属离子络合作用

CS₂ 可与蛋白质和氨基酸中的氨基、巯基和羟基等发生反应, 生成二硫代氨基甲酸酯或三硫代碳酸盐及噻唑烷酮。由于生物体内巨大数量的氨基, 决定 CS₂ 直接反应主要生成二硫代氨基甲酸酯。二硫代氨基甲酸酯衍生物能与铜、锌离子络合, 而铜是吡哆醛的辅助

因子, 也是细胞色素 C 氧化酶、辅酶 A 脱氢酶、多巴胺羟化酶等发挥功能所必需的微量元素; 锌是乳酸脱氢酶、碳酸酐酶、谷氨酸脱氢酶的必需微量元素。这种络合的结果使神经细胞对氨基酸的利用及能量代谢过程受到干扰, 导致细胞变性和坏死。

2.2 维生素 B₆ 缺乏

CS₂ 能与吡哆胺反应生成吡哆胺二硫代氨基甲酸, 从而减弱维生素 B₆ 依赖性酶类如转氨酶、胺氧化酶的活性。这与多发性神经病、植物神经功能失调及神经轴索脱髓鞘改变有关联。但维生素 B₆ 缺乏并不导致轴索内 NF 的蓄积。

2.3 能量代谢与轴浆运输障碍^[6,7]

CS₂ 可抑制糖酵解酶, 如甘油醛-3-磷酸脱氢酶、磷酸果糖激酶、磷酸丙酮酸水合酶的活性, 使神经细胞的能量代谢障碍。虽然在某种程度上, 酶活性的抑制可能与轴索变性有关, 但糖酵解过程的破坏, 与 CS₂ 引起轴浆运输的异常并不存在着完全必然的联系。能量生成过程的破坏, 理应影响到所有物质转运的量、质和有序性。但有动物实验表明, 在视神经中, ATP 依赖性的快速轴浆运输受到影响, 而在慢速轴浆运输中, 只有 NF 和另两种相关蛋白质的转运受阻, 其他物质的运输速度却属正常。

Wilmarth 等^[8]发现, 在 CS₂ 染毒的大鼠神经组织中, 微管 (MT) 相关蛋白 MAP-2、NF 三联蛋白的磷酸化, 以及¹²⁵I 标记的钙调蛋白与钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II 的结合量大大增加, 说明 CS₂ 可激活 Ca²⁺/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II, 使骨架蛋白发生过度磷酸化, 从而破坏了骨架结构的稳态, 导致轴浆运输发生障碍。

2.4 NF 化学变构^[9]

Savolainen 推测 CS₂ 使 NF 蛋白中带电荷的、亲水性氨基簇变为中性的、疏水性的残基, 从而降低 NF 的稳定性。Sayre 等认为 CS₂ 与 NF 蛋白的氨基簇形成二硫代氨基甲酸阴离子, 继而与 -NH₃⁺ 阳离子簇以盐桥形式稳态化, 导致 NF 的凝结。Pappolla 则认为, CS₂

作者单位: 100050 北京 中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所

能中和涉及 NF 和 MT 之间联系的骨架蛋白高离子区域的电荷,也能减弱 NF 与其他轴浆成分的相互联系,使 NF 从与 MT 的联接中游离出来。由于骨架网络束缚力作用的减小,NF 在轴索中的转运更快,导致在末梢远端的聚积。细胞免疫化学研究也表明,CS₂ 染毒大鼠的坐骨神经轴索中,NF 亚单位和在调整 NF 与其他骨架成分之间联系起重要作用的 200kD NF 亚单位的量并未减少,MT 亚单位也未受影响。

2.5 NF 交联

CS₂ 与蛋白质的初级或次级胺生成二硫代氨基甲酸酯,两分子二硫代氨基甲酸酯通过氧化偶联成为双硫代氨基甲酰二硫化物,二硫代氨基甲酸酯也能与蛋白质巯基反应生成二硫化物,它们均可与蛋白质产生可逆的交联物。N-单甲基取代的二硫代氨基甲酸酯,可通过失去巯基或双硫代氨基甲酰二硫化物的氧化生成异硫氰酸盐后,与 NF 蛋白发生共价交联。有实验发现,异硫氰酸盐衍生物并不是 CS₂ 与蛋白质反应过程中唯一生成的亲电子物。异硫氰酸盐和二硫代氨基甲酸酯都是异氰酸盐的母体。异氰酸盐也可与巯基反应生成单硫代氨基甲酸酯交联物,或与氨基反应生成脲交联物。而且 CS₂ 通过细胞色素 P₄₅₀ 代谢产生的衍生物碳酰硫(COS)即可与氨基反应生成单硫代氨基甲酸酯,导致 NF 蛋白的分子间或分子内的交联。由此可见,CS₂ 可不经生物活化,即导致蛋白质的交联。

3 回顾与展望

金属离子络合作用和维生素 B₆ 缺乏在一定程度上可解释 CS₂ 致周围神经损伤的某些功能性改变,但在阐明周围神经结构改变与功能障碍的关系上尚缺乏有力的证据。CS₂ 破坏能量代谢过程和神经细胞骨架系统导致轴浆运输的变化,与轴索的病理改变有很大的联系,并已得到与 CS₂ 致周围神经病理改变相似的其他化学毒物,如丙烯酰胺、正己烷、2,5-己二酮等相关实验的支持,而且轴浆运输系统的损伤程度与临床表现过程有较明显的对应关系。但 CS₂ 如何破坏能量供应和骨架网络系统,以及这两者之间是否为一个问题的两个方面,尚需从亚细胞和分子水平上进一步阐明。

从对 CS₂ 引起 NF 化学结构改变的深入研究而提出的 NF 交联假说,以一种新的分子机制来解释 CS₂ 引起的以大量 NF 充塞为特征的轴索病变。Valentine 等^[10] 用变性聚丙烯酰胺凝胶电泳法,已在体内证实 CS₂ 与红细胞膜血影蛋白(spectrin)发生加合物反应,导致红细胞膜蛋白的分子交联,并与时间和剂量成正

比关系。因郎飞结的轴膜下也有血影蛋白的分布,所以这一实验结果对探索 CS₂ 所致轴索病变具有重要的意义。

NF 交联假说也可解释 CS₂ 最易或最先损伤长轴索这一现象。因为长的轴索可提供更多的使 NF 衍生的靶位点,同时更长的转运时间使交联更易发生。虽然 NF 交联是轴索内 NF 肿胀所必需的,但如何导致肿胀,及与轴索末梢变性的关系还不清楚。另有问题是: NF 亚单位的交联是否会阻止亚单位不再分裂;郎飞结处膨大是否与该处轴索直径下降有关;这种膨大是否系 NF 转运的机械性阻塞的结果,或交联是否影响到对 NF 运动有重要作用的迁移活动等,这些都需要进一步研究。

近来有实验发现^[11],与 CS₂ 周围神经毒性相似的丙烯酰胺,可诱导大鼠神经细胞原癌基因转录因子 C-fos 和 C-jun 立即-早期基因(immediate-early gene)的出现,使 NF 蛋白基因过度表达,神经细胞大量合成 NF 蛋白,刺激轴索内 NF 的加速转运,从而导致末端 NF 的聚积。神经细胞内这种反应主要与毒物引起胞浆内 Ca²⁺ 浓度的变化有关,而 Ca²⁺ 的过载又与神经细胞的损伤有关。这些发现为在基因水平上研究 CS₂ 神经毒作用机制提供了新的思路。

总之,CS₂ 损伤周围神经涉及到精细复杂的分子机制,如何建立统一的机制学说,并充分阐明与临床表现相一致的因果关系,将是今后研究的焦点。

4 参考文献

- 1 Beauchamp RO, et al. A critical review of the literature on carbon disulfide toxicity. *CRC Crit Rev Toxicol*, 1983, 11 (3): 169
- 2 何凤生. 职业性中毒性周围神经病的病理及发病机制. *中国工业医学杂志*, 1989, 2 (3): 45
- 3 夏元洵. 主编. 化学物质毒性全书. 上海: 上海科学技术文献出版社. 1991. 153
- 4 Graham DG, et al. Pathogenetic studies of hexane and carbon disulfide neurotoxicity. *CRC Crit Rev Toxicol* 1995, 25 (2): 91
- 5 王稼兰, 刚葆琪. 主编. 现代劳动卫生学. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 316
- 6 Miguel P. Carbon disulfide axonopathy: Another experimental model characterized by acceleration of neurofilament transport and distinct changes of axonal size. *Brain Res*, 1987, 424: 272
- 7 Chang LW (ed). *Neurotoxicology: Approaches and meth-*

ods. New York: Academic Press Inc. 1995, 465~481

8 Wilmarth KR. Carbon disulfide inhalation increases Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase phosphorylation of cytoskeletal proteins in the rat central nervous system. *Brain Res*, 1993, 628 (1-2): 293

9 Sayre LM. Pathogenesis of experimental giant neurofilamentous axonopathies: A unified hypothesis based on chemical modification of neurofilaments. *Brain Res Rev*, 1985; 10: 69~83

10 Valentine WM, et al. Covalent cross-linking of erythrocyte spectrin by carbon disulfide in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1993, 121 (1): 71

11 Endo H, et al. Acrylamide induces immediate-early gene expression in rat brain. *Brain Res*, 1993, 609: 231

12 Endo H, et al. Acrylamide alters neurofilament protein gene expression in rat brain. *Neurochem. Res*, 1994, 19: 815

(收稿: 1996-06-20 修回: 1996-08-05)

影响微核出现率的因素及其作用机理的研究

尹龙赞 尹春实

微核是由染色体断裂遗留下来的断片演化来的,也属于染色体异常。因此检测微核出现率(简称微核率)被列为短期试验筛选化学致突变物的常用方法,已由 OECD (经济协同开发机构)、ICPEMC (国际致癌致突变预防委员会)、EEC (欧州共同体)、TSCA (美国有害物质规范法)、GENE-TOX Program (美国)、日本厚生省等许多国家和地区提供了应用准则。我国学者目前也将微核率作为致突变的检测指标之一,但国内目前大量报道的是单一化学物质对微核率的影响,诱变物与诸因素联合作用对微核率的影响及其作用机理方面的研究尚少综述报道,本文介绍这方面的研究动态。

1 红细胞生成与微核率

红细胞的生成主要是在骨髓内进行。红细胞成熟过程如下:造血多能干细胞→红系定向干细胞早期(BFU-E)→红系定向干细胞(CFU-E)→原红细胞→早幼红细胞→中幼红细胞→晚幼红细胞→网织红细胞→成熟红细胞。一个造血干细胞分化为原红细胞后最后可以生成20个网织细胞;据推算人的骨髓红系细胞周期分别为原红及早幼红20小时,中幼红25小时,晚幼红细胞不具有合成DNA的能力,属于非增殖性细胞。诱变物或放射线作用于红系造血的增殖期,因此可以推测一旦骨髓红系细胞的分化、增殖比正常时旺盛,诱变物质对染色体或纺垂体的作用机会将增加,出现微核的机会也就增多,因此凡是促进(或抑制)红系造血的因子或因素都可能影响微核率。

1.1 促红细胞生成素(Erythropoietin EPO)与微核

作者单位:110024 沈阳市劳动卫生职业病研究所(尹龙赞),沈阳市东陵区长白医院(尹春实)

率

到目前为止,人们所认识的促进红系造血的因子有Burst-促进因子和促红细胞生成素EPO^[1]。Burst-促进因子主要作用于BFU-E→CFU-E的初期分化,其后由EPO作用,促进CFU-E分化成原红细胞,原红细胞分裂成幼稚红细胞,并诱导细胞合成Hb。EPO可能作用于Hb合成中作为关键酶的mRNA生成的去阻遏。因此EPO是在细胞生成中起重要作用的一种体液调节因子,是一种糖蛋白质,其分子量为34000,主要产生于肾,业已证明肝或网状内皮系统中也能产生一些。当机体处于一氧化碳中毒、失血、贫血或缺氧等情况下,肾组织细胞受到刺激,产生EPO,通过血液循环到达骨髓,刺激相应细胞加速红细胞的产生,这些红细胞生成作用与微核的诱发有密切的关系,从而提高了微核率。

Suzuki 等人^[2]根据上述作用机理选择BALB/C小鼠,授予小鼠3u(单位)EPO,24小时后给予诱变物(1,1-二甲基胍,DMH)20mg/kg,30小时后取骨髓制片,结果提示EPO+DMH组的微核率比单独授予EPO或DMH组明显提高,并表明EPO授予量与微核率间存在着剂量-反应关系。上述现象除DMH外,其他诱变剂如3,4-苯并芘、2-萘胺、丝裂霉素、长春新碱(VCR)中也能观察到类似现象。

1.2 前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)与微核率

1971年Schooley和Mahlmann首次观察了PGE₁和PGE₂增加输血多血症小鼠的红细胞数。输血多血症的模型,可以抑制小鼠自身红系造血能力,于是EPO或PG等外来造血物质的反应敏感性得到提高,