

锰神经毒性及其潜在效应标志物研究进展

隋典朋 盖洁 秘勇建 王娜 余月红 范奇元

锰是正常生长、发育及细胞稳态所必需的微量元素之一,是在骨骼形成、脂肪代谢、碳水化合物代谢、血糖调整及钙的吸收中起重要作用^[1-2]。长期高水平的锰暴露可使锰在体内过量蓄积,对大脑、肝脏、肾脏等造成严重的危害,其中以对大脑神经系统的危害最为突出,过量的锰在脑组织蓄积,可引起类似帕金森综合征的神经退行性疾病^[3]。本文就锰致神经系统毒性机制及锰暴露潜在效应标志物 PARK2 基因表达产物研究进展做一综述。

一、锰对神经系统的毒性作用

人体长期高水平锰暴露后,脑组织中不同区域锰含量存在差异,锰在大脑中的平均水平约为 1~2 g/g 脑干重,国外有学者研究报道,在人的苍白球下丘脑部分锰含量最高^[4]。由于电焊作业、采矿作业、燃料抗爆剂甲基环戊二烯三羰基锰(MMT)等导致的环境锰尘污染主要通过呼吸系统吸入人体,锰通过该途径进入人体,主要蓄积在大脑基底神经节多巴胺丰富的区域,也有人从体外动物实验角度进一步证实了该观点,通过对锰暴露大鼠光谱分析发现,锰暴露后基底神经节周围是锰蓄积最多的区域^[5,6]。脑组织中过量蓄积锰后,能够导致神经系统椎体外系退行性病变,其临床症状疑似帕金森综合征的临床表现,患者初期会出现情感淡漠、厌倦进食、全身肌肉酸痛、肌张力增高、头晕头痛等,严重的患者会出现“锰癫狂症”等类似神经精神疾病,诸如记忆力减退甚至消失、情感强迫行为、视觉障碍、定向障碍、经常出现幻想及妄想错觉等^[7]。

二、锰神经毒性的可能机制

1. 多巴胺代谢紊乱:锰在脑内蓄积的位置有一定的规律性,跟大脑内不同神经元的分布相关,比如纹状体和海马的致密带中有大量的多巴胺类神经元,这类神经元有蓄积金属的作用,是脑组织的一种自我保护机制。但是,过量蓄积则会破坏多巴胺神经元的正常功能。锰在脑内过量蓄积可导致多巴胺能神经元凋亡,从而造成神经系统损害^[8-9],锰接触后能抑制多巴胺能神经细胞 PC12 增殖,并且大量高价态的锰会破坏中枢神经细胞内的多巴胺脱羧酶,使多巴胺过氧

化,5-羟色胺和多巴胺含量减少,凋亡基因 P53 表达增强,诱导细胞凋亡。Guilarte^[10]用短尾猴做试验,结果发现锰接触后的运动异常是由于多巴胺能神经元不能正常的释放多巴胺所致。

2. 氧化应激途径:锰对神经系统的毒性作用与其自身的化合价态有关,价态越高,毒性相对越大^[11]。锰进入机体后,随着化合价的改变,产生单电子转移,从而自由基增多,诱发机体的氧化过激反应^[12-13]。并且锰接触产生大量的活性氧簇产物,抑制大脑胆碱酯酶活性,抑制超氧化物歧化酶(SOD),从而使还原性过氧化物酶活性降低,导致体内自由基过量堆积,引起细胞内抗氧化剂水平如过氧化氢酶、谷胱甘肽等增加,而使用抗氧化剂时,锰对细胞的毒性效应降低^[14]。

3. 线粒体损伤和钙平衡紊乱:线粒体是细胞活动产生能量的重要场所,锰对线粒体有很强的亲和力,是锰毒性的作用靶点之一。锰进入体内多蓄积于富含线粒体的组织中,使三羧酸循环紊乱,能量转换障碍,在缺乏能量下,线粒体基因突变率增高,降低 DNA 的稳定性^[15]。同时,由于锰对线粒体具有毒性作用,使线粒体不能提供细胞正常活动所需能量,导致离子交换出现异常去极化,某些钙离子通道开放时间延长,大量钙离子内流,细胞内外稳态失衡^[16]。

4. 神经递质代谢紊乱:保持体内神经元的兴奋与抑制的平衡是机体正常运动的保障,外界因素的干扰可导致机体运动障碍,而在大脑中与这种平衡密切相关的两类神经元细胞则是 γ -氨基丁酸能神经元和多巴胺能神经元,这两类神经元细胞也占了大脑神经元中的绝大部分^[17]。有研究发现,锰接触工人大脑磁共振成像(MRI)图像改变,并在周围的基底核和丘脑中 γ -氨基丁酸(γ -GABA)增加^[18], γ -GABA 是一种抑制性神经递质,可由谷氨酸在谷氨酸脱羧酶的作用下合成,锰接触会导致谷氨酸吸收降低,从而导致神经递质代谢紊乱,这类神经元功能受影响的重要表现为: γ -氨基丁酸能神经元所合成的 γ -GABA 含量变化和多巴胺神经元合成的多巴胺含量产生变化,或者酪氨酸羟化酶(TH)的活性降低。神经细胞接触锰后,机体发生锰中毒所致的运动性震颤,其效应体现在这两种细胞所合成的神经递质 γ -GABA 和多巴胺数量减少。

三、锰神经毒性的潜在效应标志物 PARK2

帕金森综合征是黑质纹状体中多巴胺能神经元进行性缺失导致多巴胺神经递质生成障碍的疾病。这种选择性的神经退行性疾病可能涉及多巴胺本身固有的毒性。当多巴胺不能有效地进入突触小泡运输的时候,细胞内的多巴胺便

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0253-9624. 2014. 06. 024

基金项目:国家自然科学基金(81260420);贵州省科技厅攻关项目(黔科合 SY 字[2012]3140)

作者单位:401420 重庆市綦江区人民医院科教部(隋典朋、王娜、余月红),康复科(盖洁),神经内科(秘勇建);遵义医药高等专科学校(范奇元)

通信作者:范奇元,Email:fanqy@zunyiyizhuan.com

会受到细胞毒性氧化代谢的影响。很多学者就锰和帕金森病的关系作了大量研究,流行病学调查也发现锰暴露史是帕金森综合征的发病因素之一,而且锰中毒的机制之一便是多巴胺代谢紊乱和高于正常水平的氧化应激反应^[19]。

同时,锰是一种神经毒物,锰接触工人早期无明显症状,主要是植物神经功能紊乱和神经衰弱,但是持续三到五年接触高剂量的锰可能出现锥体外系损伤等明显的神经系统毒性症状,如言语不清、步态不稳定、肢体僵硬、面罩脸型、细小震颤等类似于帕金森综合征的临床表现。

锰中毒可导致泛素-蛋白酶复合体通路(UPP)功能紊乱,UPP在细胞核和细胞质内发挥重要的降解功能,属于能量依赖型降解通路,能够高效率、高准确性地降解细胞内非正常表达的蛋白质,其功能紊乱可导致蛋白质错误表达,出现言语不清,肢体僵硬等外在表现。Shimura等^[20-21]发现Parkin蛋白是泛素蛋白连接酶(E3)的一种,在细胞内蛋白质的质量控制过程中发挥着关键的作用,是UPP的重要组成成员。

PARK2基因定位于人类6号染色体长臂区(6q25.2-27),内含外显子12个,全长约为115 Mb,最早是1998年Kitada等^[22]定位并且克隆的常染色体隐性遗传性青少年型帕金森综合征(AR-JP)的相关基因之一。其表达产物Parkin蛋白位于PINK1(丝氨酸-苏氨酸激酶)下游,能够催化蛋白质的转录后修饰,通过多聚泛素蛋白标记引导这些蛋白到其蛋白水解酶,从而降低其对细胞的致死效应^[23]。Parkin在细胞质内也通过增强蛋白水解酶功能达到抵抗氧化应激所致的线粒体损伤^[24],并且能够通过介导选择性线粒体自噬作用参与细胞内损伤细胞器的清除^[25],同时还参与了大脑中某些部位神经元急性损伤后的修复功能^[26],在氧化应激状态下,Parkin蛋白被酪氨酸磷酸化,导致其泛素配体功能的丧失,底物堆积,失去细胞保护功能。

有学者在细胞培养和体外动物实验中发现,泛素连接酶Parkin蛋白能够通过抑制细胞凋亡的应激活化蛋白酶途径对神经元有保护作用,锰接触极有可能使Parkin蛋白的正常神经保护功能紊乱^[27]。通过对锰接触工人生物材料的研究发现,唾液可作为锰接触工人的检测项目^[28],唾液口腔脱落细胞中PARK2基因的表达可能成为锰暴露的早期生物标志物^[29]。环境中锰污染日益严重,而锰神经毒性的具体机制还需进一步研究。因此,对锰暴露的潜在效应标志物Parkin蛋白的研究能够为锰中毒的预防提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] Perry JJ, Hearn AS, Cabelli DE, et al. Contribution of human manganese superoxide dismutase tyrosine 34 to structure and catalysis[J]. *Biochemistry*, 2009, 48(15): 3417-3424.
- [2] Xu B, Wang F, Wu SW, et al. Alpha-synuclein is involved in manganese-induced ER stress via PERK signal pathway in organotypic brain slice cultures[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 4(1): 399-412.
- [3] Guilarte TR. Manganese neurotoxicity: new perspectives from behavioral, neuroimaging, and neuropathological studies in humans and non-human primates[J]. *Front Aging Neurosci*, 2013, 5:23.
- [4] Milatovic D, Montine TJ, Zaja-Milatovic S, et al. Morphometric analysis in neurodegenerative disorders[J]. *Curr Protoc Toxicol*, 2010, 12:16.
- [5] Morello M, Canini A, Mattioli P, et al. Sub-cellular localization of manganese in the basal ganglia of normal and manganese-treated rats an electron spectroscopy imaging and electron energy-loss spectroscopy study[J]. *Neurotoxicology*, 2008, 29(1): 60-72.
- [6] Robison G, Zakharova T, Fu S, et al. X-ray fluorescence imaging: a new tool for studying manganese neurotoxicity[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48899.
- [7] Santos AP, Lucas RL, Andrade V, et al. Protective effects of ebselen (Ebs) and para-aminosalicylic acid (PAS) against manganese (Mn)-induced neurotoxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 258(3): 394-402.
- [8] Erikson KM, Dorman DC, Lash LH, et al. Duration of airborne-manganese exposure in rhesus monkeys is associated with brain regional changes in biomarkers of neurotoxicity [J]. *Neurotoxicology*, 2008, 29(3): 377-385.
- [9] Al-Zubaidy MH, Mohammad FK. Effects of acute manganese neurotoxicity in young chicks[J]. *Arh Hig Rada Toksikol*, 2013, 64(1):69-76.
- [10] Guilarte TR. APLP1, Alzheimer's-like pathology and neurodegeneration in the frontal cortex of manganese-exposed non-human primates[J]. *Neurotoxicology*, 2010, 31(5): 572-574.
- [11] Martinez-Finley EJ, Gavin CE, Aschner M, et al. Manganese neurotoxicity and the role of reactive oxygen species [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 62:65-75.
- [12] Milatovic D, Zaja-Milatovic S, Gupta RC, et al. Oxidative damage and neurodegeneration in manganese-induced neurotoxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 240(2): 219-225.
- [13] Settivari R, Levora J, Nass R. The divalent metal transporter homologues SMF-1/2 mediate dopamine neuron sensitivity in caenorhabditis elegans models of manganese and parkinson disease [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(51): 35758-35768.
- [14] Latronico T, Branù MT, Merra E, et al. Impact of manganese neurotoxicity on mmp-9 production and superoxide dismutase activity in rat primary astrocytes. Effect of resveratrol and therapeutic implications for the treatment of CNS diseases [J]. *Toxicol Sci*, 135(1):218-228.
- [15] Stephenson AP, Schneider JA, Nelson BC, et al. Manganese-induced oxidative DNA damage in neuronal SH-SY5Y cells: attenuation of thymine base lesions by glutathione and N-acetylcysteine[J]. *Toxicol Lett*, 2013, 218(3):299-307.
- [16] Xu B, Shan M, Wang F, et al. Endoplasmic reticulum stress signaling involvement in manganese-induced nerve cell damage in organotypic brain slice cultures[J]. *Toxicol Lett*, 2013, 222(3): 239-246.
- [17] 曹依群,周晓平,刘汉华,等.丘脑底核脑深部电刺激对纹状体区细胞外液γ-氨基丁酸含量的影响[J].立体定向和功能神经外科杂志,2009,22(5): 261-264.
- [18] Dydak U, Jiang YM, Long LL, et al. In vivo measurement of brain GABA concentrations by magnetic resonance spectroscopy in smelters occupationally exposed to manganese[J]. *Environ Health Perspect*, 2011, 119(2): 219-224.
- [19] About AA, Tidball AM, Kumar KK, et al. Genetic risk for Parkinson's disease correlates with alterations in neuronal manganese sensitivity between two human subjects [J]. *Neurotoxicology*, 2012, 33(6):1443-1449.
- [20] Shimura H, Hattori N, Kubo S, et al. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase[J]. *Nat Genet*, 2000, 25(3): 302-305.
- [21] Cordova FM, Aguiar AS Jr, Perse TV, et al. Manganese-exposed developing rats display motor deficits and striatal oxidative stress that are reversed by Trolox[J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(7): 1231-1244.

- [22] Kitada T, Asakawa S, Hattori N, et al. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism [J]. Nature, 1998, 392(6676): 605-608.
- [23] Kumar P, Pradhan K, Karunya R, et al. Cross-functional E3 ligases Parkin and C-terminus Hsp70-interacting protein in neurodegenerative disorders [J]. J Neurochem, 2012, 120(3): 350-370.
- [24] Greenamyre JT, Cannon JR, Drolet R, et al. Lessons from the rotenone model of Parkinson's disease[J]. Trends Pharmacol Sci, 2010, 31(4): 141-142.
- [25] Tanaka A. Parkin-mediated selective mitochondrial autophagy, mitophagy: Parkin purges damaged organelles from the vital mitochondrial network [J]. FEBS Lett, 2010, 584(7): 1386-1392.
- [26] Benskey M, Behrouz B, Sunryd J, et al. Recovery of hypothalamic tuberoinfundibular dopamine neurons from acute toxicant exposure is dependent upon protein synthesis and associated with an increase in parkin and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase-L1 expression[J]. Neurotoxicology, 2012, 33(3): 321-331.
- [27] Hasegawa T, Treis A, Patenge N, et al. Parkin protects against tyrosinase-mediated dopamine neurotoxicity by suppressing stress-activated protein kinase pathway [J]. J Neurochem, 2008, 105(5): 1700-1715.
- [28] 史秀娟, 邹焰, 熊云刚, 等. 锰铁合金男性冶炼工人接触生物标志物的探索[J]. 工业卫生与职业病, 2013, 39(1): 22-24.
- [29] 范奇元, 隋典朋, 邓妍, 等. 锰暴露早期生物标志物探索[J]. 遵义医学院学报, 2011, 34(6): 583-587.

(收稿日期:2013-08-10)

(本文编辑:郑湃)

· 消息 ·

2014 年《中华预防医学杂志》艾滋病防治 专题重点号有奖征文的通知

中华医学会中华预防医学杂志编委会已连续 6 年与中国 CDC 性病艾滋病预防控制中心(以下简称“性艾中心”)合作,组织征稿并刊出了 6 期艾滋病防治专题重点号,引起了积极反响。为进一步加强国内艾滋病防治工作经验交流,展示我国目前艾滋病防治及科研工作的最新进展,并应各地疾控中心有关专家要求,中华医学会中华预防医学杂志编委会将继续与性艾中心合作,于 2014 年组织出版一期《中华预防医学杂志》艾滋病防治专题重点号,并在全国范围内开展有奖征文活动。现将相关事宜通知如下:

一、投稿方式

按《中华预防医学杂志》稿约要求撰写,稿件统一投至中华医学会信息管理平台(<http://www.cma.org.cn/ywzx/ywzx.asp>),或登录中华预防医学杂志网站(<http://www.pubhealth.org.cn>)进行投稿。投稿时请在[备注]中标明“2014 年艾滋病重点号文章”字样。来稿需经中华预防医学杂志编委会专家评审,通过评审文章方能录用。凡录用文

章均为参加有奖征文活动文章。

二、投稿时间

网上投稿截止时间为 2014 年 7 月 1 日;如有投稿意向,请于 2014 年 6 月 1 日前将拟投稿件的题目、作者单位和联系方式等信息反馈至性艾中心联系人。

三、奖项设置

一等奖:1 名,奖金 5000 元;二等奖:2 名,奖金 3000 元;三等奖:3 名,奖金 1000 元。

优秀奖:5 名,奖励 2014 年及 2015 年中华预防医学杂志各一套。

四、联系方式

联系人:中国疾病预防控制中心性艾中心合作室 单多;

中华预防医学杂志编辑部 陈丽

联系电话:010-58900964; 010-85158805

电子邮箱:shanduo_0222@163.com; chenli@cma.org.cn

通信地址:北京市昌平区昌百路 155 号