

## 锰致神经细胞损伤中诱导型一氧化氮合酶及其基因的变化

徐冬辉<sup>1</sup>, 徐斌<sup>2</sup>, 刘巍<sup>2</sup>, 邓宇<sup>2</sup>, 关露超<sup>2</sup>

**摘要:** [目的] 观察不同浓度锰对大鼠脑片神经细胞的损伤情况, 探讨诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在锰诱导神经细胞损伤中的变化。[方法] 培养出生后4~7d大鼠脑片, 培养液为50%高糖杜尔伯科改良伊格尔培养基, 25% Hank平衡盐溶液, 24%热灭活马血清, 1%青霉素和链霉素。待第15天脑片神经细胞生长状态最佳时加入0、25、100、400  $\mu\text{mol/L}$   $\text{MnCl}_2$ 。培养24h后, 测定培养液中乳酸脱氢酶(LDH)活性, 脑片细胞悬液中细胞凋亡率、一氧化氮生成量和iNOS活性, mRNA和蛋白表达水平。[结果] 不同浓度锰处理脑片24h后, 脑组织切片神经细胞发生明显损伤。随着锰处理浓度升高, LDH活性升高, 100和400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组是对照组的1.71、2.76倍。细胞凋亡率和一氧化氮生成量升高增加, 25、100和400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组分别是对照组的3.31、4.50和6.97倍和1.98、2.79和4.02倍。iNOS活性增强, 100和400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组分别是对照组的2.12和2.64倍。iNOS mRNA和蛋白表达水平明显升高, 25、100和400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组iNOS mRNA表达水平是对照组的1.27、1.43和1.86倍。100和400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组iNOS蛋白表达水平分别是对照组的4.17和5.50倍。[结论] 锰可致大鼠脑片神经细胞一氧化氮生成量和iNOS表达升高, 进一步导致细胞凋亡率增加。

**关键词:** 锰; 一氧化氮; 诱导型一氧化氮合酶; 神经细胞损伤

**Changes of Inducible Nitric Oxide Synthase and Relevant Gene in Neurocyte Damage Caused by Manganese** XU Dong-hui<sup>1</sup>, XU Bin<sup>2</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, DENG Yu<sup>2</sup>, GUAN Lu-chao<sup>2</sup> (1.Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of China Medical University, Liaoning 110001, China; 2.Department of Environmental Health, School of Public Health, China Medical University, Liaoning 110122, China). Address correspondence to XU Bin, E-mail: xubin@mail.cmu.edu.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

**Abstract:** [Objective] To observe the neurocyte damage in rat brain slices induced by different levels of manganese, and to estimate the effect of inducible nitric oxide synthase (iNOS) on the neurocyte damage caused by manganese. [Methods] The rat brain slices were prepared and cultured for 15 days with 50% dulbecco's modified Eagle's medium, 25% Hank's balanced salt solution, 24% heat inactivated horse serum, 1% penicillin and streptomycin. Then 0, 25, 100, and 400  $\mu\text{mol/L}$  manganese chloride were added to the rat brain slices culture medium at the 15th day. After manganese exposure for 24 hours, the lactate dehydrogenase (LDH) activity, neurocyte apoptosis, nitric oxide (NO) content, iNOS activity, iNOS mRNA expression, and iNOS protein expression level were detected. [Results] Explicit neurocyte damage in the brain slice was observed after 24-hour exposure to manganese at varied doses. With the increase of manganese concentration, the LDH activity was increased to 1.71 and 2.76 times of the control group in the 100 and 400  $\mu\text{mol/L}$  groups respectively. The apoptosis rate and NO content were also increased: The apoptosis rates and NO contents in the groups treated with 25, 100 and 400  $\mu\text{mol/L}$  manganese were 3.31, 4.50, 6.97 and 1.98, 2.79, 4.02 times of the control group, respectively. The iNOS activities in the groups treated with 100 and 400  $\mu\text{mol/L}$  manganese were increased to 2.12 and 2.64 times of the control group respectively. The iNOS mRNA and protein expression levels were also increased: The iNOS mRNA expression levels in the groups treated with 25, 100, and 400  $\mu\text{mol/L}$  manganese were 1.27, 1.43, and 1.86 times of the control group; the protein expression levels in the groups treated with 100 and 400  $\mu\text{mol/L}$  manganese were 4.17 and 5.50 times of the control group respectively. [Conclusion] Manganese could result in increases of NO content, as well as iNOS mRNA and protein expression levels in rat brain slices, followed by increase of neurocyte apoptosis rate.

**Key Words:** manganese; nitric oxide; inducible nitric oxide synthase; neurocyte damage

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2015.14491

[基金项目] 国家自然科学基金项目(编号: 81102098)

[作者简介] 徐冬辉(1977—), 女, 硕士生, 讲师, 主管药师; 研究方向: 药理和毒理学研究; E-mail: xdh77402586@hotmail.com

[通信作者] 徐斌, E-mail: xubin@mail.cmu.edu.cn

[作者单位] 1. 中国医科大学附属第一医院药学部, 辽宁 110001; 2. 中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室, 辽宁 110122

众所周知,锰(manganese, Mn)既是人体必需微量元素,同时又是一种神经毒物<sup>[1]</sup>。过量的锰进入机体可透过血脑屏障,产生中枢神经系统损伤的症状。正常饮食不会造成锰缺乏,人们更多关注的是机体过量接触锰所致的健康危害。锰进到机体后可进入脑组织,引起神经损伤的部位集中在基底神经节,包括纹状体和苍白球区域的神经细胞<sup>[2]</sup>,使机体出现类似帕金森病的症状<sup>[3]</sup>。迄今,锰致神经细胞损伤的机制尚未完全阐明。一氧化氮(nitric oxide, NO)是生物体细胞内及细胞间的重要信号分子,具有高脂溶性。过量的NO具有神经毒性,在帕金森病,早老性痴呆等神经退行性疾病及脑缺血损伤等发生发展过程中,均伴随特定种类的神经细胞发生过度凋亡。因此NO引起细胞损伤可能是中枢神经系统疾病的病因之一<sup>[4]</sup>。一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)是NO生成的前体关键酶。NOS可分为原生型一氧化氮合酶(constitutive nitric oxide synthase, cNOS)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS),其中cNOS又可分为神经型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)和内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)。细胞处于生理状态下主要合成和表达nNOS和eNOS,而在病理条件下iNOS可大量诱导和表达<sup>[5]</sup>。

本研究观察不同浓度锰对子代大鼠神经细胞的损伤作用,探讨iNOS在锰诱导神经细胞损伤中的作用及其与细胞凋亡的关系,进而为锰致神经毒性机制研究提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

1.1.1 主要试剂 氯化锰( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ),美国Sigma公司;Millicell-CM微孔膜插件(PICM03050),法国Millipore公司;乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒,南京建成生物技术有限公司;凯基Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒,南京凯基生物技术有限公司;杜尔伯科改良伊格尔培养基(Dulbecco modified Eagle medium, DMEM),马血清,美国Gibico公司;iNOS活性检测试剂盒,南京建成生物技术有限公司;实时定量聚合酶链式反应(RT-PCR)试剂盒,大连宝生物技术有限公司;小鼠来源iNOS一抗,小鼠来源 $\beta$ -actin一抗,美国Santa Cruz Biotechnology公司。

1.1.2 主要仪器 SW-CJ-1F型单人双面净化工作台,

苏州净化设备有限公司;TS100倒置显微镜,日本Nikon公司;VT1200振动切片机,德国Leica公司;BD FACSCanto II流式细胞仪,美国Becton Dickison公司;722s可见分光光度计,上海精密仪器有限公司;DL-5大容量离心机,上海安亭科学仪器厂;HH-60三用恒温水箱,常州国华电器有限公司。

### 1.2 脑片培养和加锰处理

将出生4~7 d的Wistar仔鼠处死,快速取出全脑,用振荡切片机切取大脑基底核部位300  $\mu\text{m}$ 厚度脑片。脑片培养基为50%高糖DMEM,25% Hank平衡盐溶液,24%热灭活马血清,1%青霉素和链霉素。脑片的培养条件为温度37℃,体积分数为95%的空气和5%和饱和湿度的 $\text{CO}_2$ 孵箱中培养。培养15 d,待脑片神经细胞生长状态最佳时加入含氯化锰的培养液,经过预备实验,确定氯化锰处理浓度分别为25、100、400  $\mu\text{mol/L}$ 培养24 h后,测定培养液中LDH活性、细胞凋亡率、NO生成量和iNOS活性,iNOS mRNA及蛋白表达水平。

### 1.3 测定指标及方法

1.3.1 LDH活性 取培养液上清100  $\mu\text{L}$ ,采用孙莉等<sup>[6]</sup>报道方法测定LDH活性。

1.3.2 细胞凋亡率 将脑片制备成浓度为 $10^6$ 个/mL细胞悬液,用南京凯基生物科技有限公司Annexin V-FITC/PI试剂盒按说明书操作,用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.3.3 NO和NOS活性 用南京建成生物工程研究所NO和NOS检测试剂盒方法测定。组织蛋白测定用Lowry法<sup>[7]</sup>。

1.3.4 神经细胞iNOS mRNA表达 将1 mL RNA Plus与培养脑片制备匀浆后,按Taka Ra试剂盒说明提取总RNA。按照Real-time PCR试剂盒说明逆转录出cDNA,以逆转录产物为模板扩增检测。基因引物由日本TaKaRa生物科技有限公司合成,iNOS引物为:(F)5'-CAGCACAGAGGGCTCAAAG-3',(R)5'-GCACCCAAACACCAAGG-3'。 $\beta$ -actin:(F)5'-GGA GATTACTGCCCTGGCTCCTA-3',(R)5'-GACTCATCG TACTCCTGCTTGCTG-3'。PCR的反应条件为:95℃,30 s的预变性,95℃,5 s的变性,60℃,34 s复性,共进行扩增40个循环。反应结束后,根据Real time PCR的扩增曲线和溶解曲线,进行标准曲线的制作,以 $\beta$ -actin作为参照基因,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算目的基因的相对表达量。

1.3.5 Western blot 测定 iNOS 蛋白表达 将脑片用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗,用放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液提取脑片总蛋白,Bradford 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。将蛋白质沸水浴 5 min 变性,十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳后电转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,加上小鼠 iNOS 单克隆抗体(1:400 稀释),4℃孵育过夜,TBST 洗膜,加入相应的 HRP(辣根过氧化物酶)标记的二抗(1:5 000 稀释),37℃反应 1 h,加入电化学(ECL)发光液发光,暗室显影 1~5 min。应用 Band Scan 5.0 检测各条带光密度值,以  $\beta$ -actin 作为内参,用图像软件分析不同试验组培养终点 iNOS 蛋白所对应的灰度值代表其含量。

1.4 统计学分析

实验所得数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。用 SPSS 11.5 软件单因素方差分析方法(ANOVA)进行组间差异的显著性检验,两组间比较采用  $q$  检验(Student-Newman-Keuls)。检测水准  $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 脑片培养液中 LDH 的活性

从表 1 可见,随着锰处理浓度的升高,培养液中 LDH 的活性逐渐增加。在 100 和 400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组,培养液中 LDH 活性均高于对照组( $P<0.01$ ),分别是对照组的 1.71 倍和 2.76 倍。400  $\mu\text{mol/L}$  组的培养液中 LDH 活性高于 25, 100  $\mu\text{mol/L}$  组( $P<0.01$ )。

表 1 各实验组脑片培养液中 LDH 活性( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 LDH activities in the brain slices culture medium of experimental groups

| 分组(Group)                               | LDH 活性(LDH activity, U/L) | F     | P     |
|-----------------------------------------|---------------------------|-------|-------|
| 对照组(Control)                            | 90.38 $\pm$ 25.42         |       |       |
| MnCl <sub>2</sub> ( $\mu\text{mol/L}$ ) |                           |       |       |
| 25                                      | 123.08 $\pm$ 28.09        | 14.38 | <0.05 |
| 100                                     | 151.92 $\pm$ 39.41*       |       |       |
| 400                                     | 242.31 $\pm$ 41.90***@    |       |       |

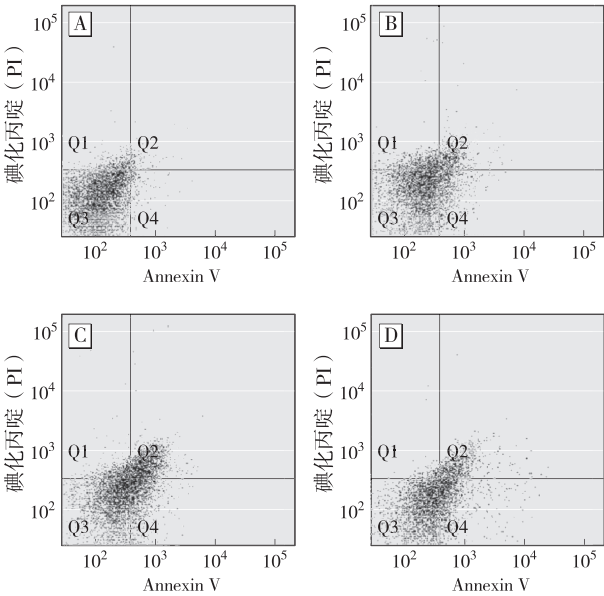
[注]\*: 与对照组比较,  $P<0.01$ 。#: 与 25  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组比较,  $P<0.01$ 。@: 与 100  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组比较,  $P<0.01$ 。

[Note]\*: Compared with the control group,  $P<0.01$ . #: Compared with the 25  $\mu\text{mol/L}$  manganese treated group,  $P<0.01$ . @: Compared with the 100  $\mu\text{mol/L}$  manganese treated group,  $P<0.01$ .

2.2 脑片神经细胞凋亡率

从图 1 和表 2 可见,随着锰处理浓度的升高,神经细胞凋亡率逐渐增加。在 25, 100 和 400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组,神经细胞凋亡率均高于对照组( $P<0.01$ ),分别

是对照组的 3.31 倍, 4.50 倍和 6.97 倍。



[注]A: 对照组; B: MnCl<sub>2</sub> (25  $\mu\text{mol/L}$ ); C: MnCl<sub>2</sub> (100  $\mu\text{mol/L}$ ); D: MnCl<sub>2</sub> (400  $\mu\text{mol/L}$ )。

[Note]A: Control group; B: MnCl<sub>2</sub> (25  $\mu\text{mol/L}$ ); C: MnCl<sub>2</sub> (100  $\mu\text{mol/L}$ ); D: MnCl<sub>2</sub> (400  $\mu\text{mol/L}$ )。

图 1 各实验组脑片神经细胞凋亡流式细胞仪检测图像 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Figure 1 Neurocyte apoptosis in the experimental groups by flow cytometry

表 2 各实验组脑片神经细胞凋亡率( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Neurocyte apoptosis rates in the brain slices of experimental groups

| 分组(Group)                               | 细胞凋亡率(Rate of apoptosis, %) | F     | P     |
|-----------------------------------------|-----------------------------|-------|-------|
| 对照组(Control)                            | 3.80 $\pm$ 1.22             |       |       |
| MnCl <sub>2</sub> ( $\mu\text{mol/L}$ ) |                             |       |       |
| 25                                      | 12.58 $\pm$ 3.22*           | 25.31 | <0.05 |
| 100                                     | 17.10 $\pm$ 3.42*           |       |       |
| 400                                     | 26.50 $\pm$ 5.73***@        |       |       |

[注]\*: 与对照组比较,  $P<0.01$ 。#: 与 25  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组比较,  $P<0.01$ 。@: 与 100  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组比较,  $P<0.01$ 。

[Note]\*: Compared with the control group,  $P<0.01$ . #: Compared with the 25  $\mu\text{mol/L}$  manganese treated group,  $P<0.01$ . @: Compared with the 100  $\mu\text{mol/L}$  manganese treated group,  $P<0.01$ .

2.3 脑片培养液中 NO 含量、iNOS 活性, mRNA 和蛋白表达水平

从表 3 可见, 25, 100 和 400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组神经细胞 NO 生成量均明显升高,分别是对照组的 1.98 倍, 2.79 倍和 4.02 倍。在 100 和 400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组,神经细胞 iNOS 活性均明显升高,分别是对照组的 2.12 倍和 2.64 倍。25, 100 和 400  $\mu\text{mol/L}$  锰处理组,神经

细胞 iNOS mRNA 表达均明显升高, 分别是对照组的 1.27 倍, 1.43 倍和 1.86 倍。从表 3 和图 2 可见, 100 和 400 μmol/L 锰处理组, 神经细胞 iNOS 蛋白表达均明显升高 ( $P<0.01$ ), 分别是对照组的 4.17 倍和 5.50 倍。

表 3 各组 NO 含量、iNOS 活性, mRNA 和蛋白表达水平 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| Table 3 NO content, iNOS activity, iNOS mRNA and protein expression levels in the brain slices culture medium of experimental groups |                               |                                      |                                                     |                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 分组<br>Group                                                                                                                          | NO 含量( μmol/L )<br>NO content | iNOS 活性( U/mg pro )<br>iNOS activity | iNOS mRNA 相对灰度值<br>Relative gray value of iNOS mRNA | iNOS 蛋白相对灰度值<br>Relative gray value of iNOS protein |
| 对照组 ( Control )                                                                                                                      | 3.45 ± 0.44                   | 0.33 ± 0.08                          | 0.50 ± 0.08                                         | 0.14 ± 0.03                                         |
| MnCl <sub>2</sub> ( μmol/L )                                                                                                         |                               |                                      |                                                     |                                                     |
| 25                                                                                                                                   | 6.82 ± 0.90*                  | 0.42 ± 0.19                          | 0.57 ± 0.07                                         | 0.24 ± 0.05                                         |
| 100                                                                                                                                  | 9.63 ± 1.68***                | 0.70 ± 0.17***                       | 0.73 ± 0.11**                                       | 0.60 ± 0.09***                                      |
| 400                                                                                                                                  | 13.86 ± 2.34***@@             | 0.88 ± 0.16***                       | 0.98 ± 0.13***@@                                    | 0.79 ± 0.19***@@                                    |
| F                                                                                                                                    | 50.16                         | 15.32                                | 18.11                                               | 31.92                                               |

[注]\*: 与对照组比较,  $P<0.01$ 。与 25 μmol/L 锰处理组比较, #:  $P<0.05$ ; ##:  $P<0.01$ 。与 100 μmol/L 锰处理组比较, @:  $P<0.05$ ; @@:  $P<0.01$ 。  
[Note]\*: Compared with the control group,  $P<0.01$ . Compared with the 25 μmol/L manganese treated group, #:  $P<0.05$ ; ##:  $P<0.01$ . Compared with the 100 μmol/L manganese treated group, @:  $P<0.05$ ; @@:  $P<0.01$ .

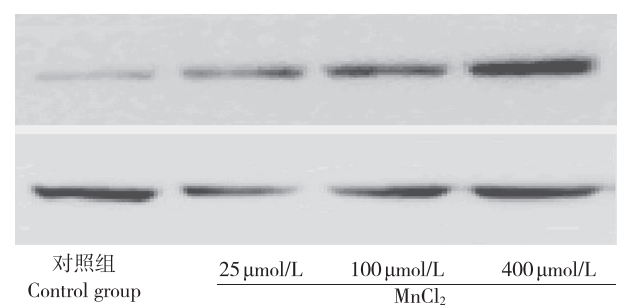


图 2 各组脑片神经细胞 iNOS 蛋白表达

Figure 2 iNOS protein expression levels of the neurocytes in the brain slices of experimental groups

3 讨论

本研究通过脑片培养, 观察不同浓度的锰对大鼠脑片神经细胞的损伤情况, 探讨 iNOS 在锰诱导神经细胞损伤中的变化。用 LDH 活性变化, 判定脑片神经细胞的损伤。LDH 是一种糖酵解酶, 几乎存在于所有组织中。当锰浓度达到 100 μmol/L 作用 24 h 以上, LDH 活性升高, 表明锰致明显的神经细胞损伤。随着染锰剂量的增加表现出明显的神经毒性, 这可能与锰的蓄积毒性有关。

细胞凋亡是生物体内由一系列基因调控的细胞生理性死亡途径, 是机体清除多余或有害细胞的一种生物学机制, 在正常的神经组织细胞发育、成熟和衰老过程中具有重要作用<sup>[8]</sup>。本实验结果表明, 各锰处理组, 细胞凋亡率均高于对照组, 且随锰浓度的升高, 脑片神经细胞的凋亡率增高, 这可能是锰诱导神经细胞凋亡和变性坏死共同作用的结果。

NO 是由 L-精氨酸经不同类型 NOS 催化生成, 即 eNOS、nNOS 和 iNOS 催化合成<sup>[9]</sup>。同时 NO 在哺乳动

物中枢神经系统中参与神经传导、记忆等过程, 并对神经元的体外存活有促进作用, 但过量的 NO 具有神经毒性, 能够诱导多种类型的神经细胞凋亡。生理浓度下, NO 是一种信使分子; 在较高浓度下, NO 表现出细胞毒性, 可以诱导多种类型的神经细胞凋亡。此外在某些病理条件下, nNOS 的激活得到加强, 从而产生了过量的 NO, 对机体有神经毒性作用, 这种作用与神经元的变性有关<sup>[10]</sup>。NO 既可作为神经递质, 又具有神经毒性, 然而在某些研究中它又显示出神经保护作用<sup>[11]</sup>。NOS 存在于神经系统, 其同功酶有三种亚型, 即在正常状态下表达的 nNOS 和 eNOS 以及在损伤后诱导表达的 iNOS。

本研究结果显示, 随着锰处理浓度的升高, 神经细胞 NO 生成量增加, 并且 iNOS 活性、iNOS mRNA 及蛋白表达水平均明显升高, 提示 NO 上升是由于锰使 iNOS 升高导致的细胞内 NO 合成增加, 从而促使细胞凋亡, 引起神经细胞损伤。本研究结果与国外研究者的结果是一致的, 锰致神经毒性与 NO 增加和 iNOS 活性增强有关<sup>[12-13]</sup>。赵芳等<sup>[14]</sup>给大鼠脑内注射染锰, 发现染锰后 7 天后 iNOS 免疫反应阳性细胞明显增加, 认为锰中毒可以导致多巴胺能神经元的损伤, iNOS 可能在其中发挥重要的作用。

• 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

[1] Dobson A W, Erikson K M, Aschner M. Manganese neurotoxicity[J]. Ann N Y Acad Sci, 2004, 1012: 115-128.  
[2] Nagatomo S, Umehara F, Hanada K, et al. Manganese

- intoxication during total parenteral nutrition: report of two cases and review of the literature[J]. J Neurol Sci, 1999, 162(1): 102-105.
- [3] Olanow C W. Manganese-induced parkinsonism and Parkinson's disease[J]. Ann N Y Acad Sci, 2004, 1012: 209-223.
- [4] 崔俐, 张昱, 徐丹, 等. 一氧化氮对神经细胞毒性作用的研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2001, 18(2): 97-99.
- [5] 刘辉, 陈俊抛, 张万琴. 诱导型一氧化氮合酶介导B淀粉样蛋白在体神经毒性[J]. 中国应用生理学杂志, 2002, 18(4): 329-332.
- [6] 孙莉, 程焱. 右美沙芬对培养海马神经元缺氧损伤的保护作用及对Bcl-2表达的研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2004, 6(2): 123-125.
- [7] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenel reagent[J]. J Biol Chem, 1951, 193(1): 265-275.
- [8] 严宇清, 李凯军, 何剑峰. 糖尿病大鼠视网膜细胞凋亡与视网膜组织中钠钾离子含量变化的关系[J]. 西部医学, 2008, 20(5): 922-926.
- [9] 张新波, 黄海鹭, 张灵芝, 等. 一氧化氮合成酶(NOS)活性的测定及其应用[J]. 北京医科大学学报, 1994, 26(增刊): 173-176.
- [10] 常庆勇, 王莉芬, 高宝山. 诱导型一氧化氮合成酶在蛛网膜下腔出血后痉挛脑血管中的表达[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(7): 1006-1009.
- [11] 简葵欢, 陈明, 冯文龙, 等. 一氧化氮合成酶在培养海马神经细胞上的分布及其激活对细胞兴奋性的影响[J]. 中国临床解剖学杂志, 2006, 24(3): 308-310.
- [12] Streifel K M, Moreno J A, Hanneman W H, et al. Gene deletion of nos2 protects against manganese-induced neurological dysfunction in juvenile mice[J]. Toxicol Sci, 2012, 126(1): 183-192.
- [13] Prabhakaran K, Ghosh D, Chapman G D, et al. Molecular mechanism of manganese exposure-induced dopaminergic toxicity[J]. Brain Res Bull, 2008, 76(4): 361-367.
- [14] 赵芳, 陈景元, 方亮, 等. 大鼠脑内注射染锰后iNOS表达的变化[J]. 实用预防医学, 2007, 14(1): 3-6.
- (收稿日期: 2014-07-16)
- (英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪; 校对: 王晓宇)

## 【EHP 专栏】

## 全氟化合物与人类精液质量: LIFE 研究

Germaine M. Buck Louis, Zhen Chen, Enrique F. Schisterman, Sungduk Kim, Anne M. Sweeney, Rajeshwari Sundaram, Courtney D. Lynch, Robert E. Gore-Langton, Dana Boyd Barr

**摘要:** [背景] 虽然来自一般人群中男性的数据有限, 但持久性环境化学物和精液质量之间关系的研究仍在不断发展之中。[目的] 研究全氟化学物(PFCs)和501对计划怀孕的夫妇中男性伴侣的精液质量之间的关系。[方法] 采用基于人群的抽样策略, 从2005—2009年在两个美国地理区域内招募了501对停止避孕措施的夫妇。首先进行基线采访和人体测量学评估, 随后采集血液样本, 用串联质谱法定量7种血清全氟化学物(全氟磺酸、全氟羧酸和全氟磺酰胺)的含量。在基线期和约1个月后收集男性的精液样本。精液样本用冰袋贮存并运送, 并在收集后的第二天进行分析。用线性回归估计自然对数转换的PFC浓度每增加一个单位各精液参数的差异, 分析中校正了混杂因素, 并用重复测量的精液样本建模。敏感性分析包括采用最优的Box-Cox转换精液质量终点指标。[结果] 6种PFCs[2-(N-甲基全氟辛烷亚磺酰氨基)乙酸乙酯(Me-PFOSA-AcOH)、全氟癸酸甲酯(PFDeA)、全氟壬酸甲酯(PFNA)、全氟辛烷磺酰胺(PFOSA)、全氟辛烷磺酸(PFOS)和全氟辛酸(PFOA)]均与Box-Cox变换前17种精液质量终点指标有关联。PFOSA与精子头部面积和周长较小、DNA染色比例较低以及双头和未成熟精子的比例更高有关联。PFDeA、PFNA、PFOA以及PFOS均与精子尾部卷曲比例较低有关联。[结论] 部分全氟化物与一些精液质量终点指标有关联, PFOSA最为显著, 但观察到的结果有不同。

原文详见: *Environmental Health Perspectives*, 123(1): 57-63.