

全氟辛烷磺酸的海马神经毒性研究进展

张川, 黄绪琼, 张丽

摘要: 全氟辛烷磺酸(PFOS)在生活中广泛存在, 具有全球性、持久性、富集性等特征, 具胚胎发育、生殖、免疫、神经和肝脏等多种毒性, 其中神经毒性倍受关注。近期研究结果显示, PFOS的神经毒性主要集中在大脑皮质、脑干、海马脑区。本文就PFOS对海马脑区神经毒性的研究加以归纳总结, 在近期研究进展的基础上讨论了PFOS对神经传导通路中各成分稳态的改变, 进而了解PFOS对海马脑区神经损害的机制。

关键词: 全氟辛烷磺酸; 海马脑区; 神经毒性

Research Progress on Neurotoxicity of Perfluorooctane Sulfonate to Hippocampus ZHANG Chuan, HUANG Xu-qiong, ZHANG Li (Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong 510310, China). Address correspondence to ZHANG Li, E-mail: xinjiangzh1011@126.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: Perfluorooctane sulfonate (PFOS) is a widespread chemical in the living environment, featuring globalization, persistence, and accumulation. The impacts to the ecological system include embryo toxicity, reproductive toxicity, immunotoxicity, neurotoxicity, and hepatotoxicity, among which neurotoxicity is of great concern. Recent studies have shown that the neurotoxicity of PFOS mainly concentrates in brain regions such as cerebral cortex, brainstem, and hippocampus. This paper inducts and summarizes studies regarding the neurotoxicity of PFOS to hippocampus. Based on recent research progress, the steady-state changes of each component in neural pathways induced by PFOS are also discussed to further understand the mechanism of nerve damage in hippocampus caused by PFOS.

Key Words: perfluorooctane sulfonate; hippocampus; neurotoxicity

全氟辛烷磺酸(perfluorooctane sulfonate, PFOS)是全氟有机化合物(perfluorinated compounds, PFCs)的代表之一, PFOS广泛存在于自然环境、动物和人体内, 在体内蓄积性强, 具有胚胎发育、生殖、免疫、神经和肝脏等多种毒性^[1-2]。动物实验研究中发现, 在大鼠孕期PFOS暴露可导致胎鼠脑组织PFOS蓄积, 并且胎鼠脑组织中PFOS的浓度高于母体脑组织, 其浓度是少年鼠和成年鼠的10倍^[3]。PFOS不仅可能影响血脑屏障的完整性, 而且可以通过幼鼠血脑屏障^[4], 使大脑PFOS蓄积量高达血清水平的30%, 损害发育期生物体的中枢神经系统^[5]。海马是中枢神经系统重要脑区之一, 是外源性化合物易于蓄积和产生毒害作

用的靶器官。目前, 关于PFOS对海马的毒性研究主要集中在对神经传导通路中各成分稳态的改变, 包括钙离子、N-甲基-D-天门冬氨酸受体2型受体B亚单位(N-methyl-D-aspartate receptor 2B, NR2B)、谷氨酸(Glu)、蛋白激酶C(PKC)以及导致神经元的存活、生长及突触的改变。上述因素可影响海马组织的正常功能, 如认知、学习和记忆能力损伤。本综述报道PFOS对海马区的神经传导通路的毒性研究进展。

1 海马脑区神经传导通路中钙离子的稳态

钙离子(Ca^{2+})涉及细胞运动、糖原合成及分解、核苷酸的代谢调节等多种生理过程, 其信号频率、幅度的差异引起钙稳态混乱导致神经毒性。Kanzaki等^[6]提出, 在病理性刺激浓度下, 细胞内 Ca^{2+} 超载可以引发钙震荡, 代谢酶失活和线粒体呼吸链中断等一系列病理改变, 进而影响神经递质释放、基因表达, 甚至造成海马脑区的神经元死亡, Liu等^[7]实验研究结果显示, PFOS染毒显著上调海马组织中 Ca^{2+} 通道

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2015.14380

[基金项目] 广州市科技局项目(编号: 2011J300011)

[作者简介] 张川(1993—), 男, 本科生; 研究方向: 环境毒理学;

E-mail: zhang3tiao@126.com

[通信作者] 张丽, E-mail: xinjiangzh1011@126.com

[作者单位] 广东药学院公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室, 广东 510310

的信号分子,并且孕哺期PFOS染毒可以诱导大鼠及其仔鼠海马细胞 Ca^{2+} 升高^[8],这可能对大鼠及仔鼠的神经系统产生影响。Liu等^[9]采用流式细胞仪检测神经元中 Ca^{2+} 荧光探针-3/AM标志钙模式的改变并探究了PFOS和全氟辛酸磺酸(PFOA)诱导培养的神经元的 Ca^{2+} 增加机制。结果表明,PFOS和PFOA会在神经元内累积,并通过释放细胞内储存的钙提高钙的浓度。刘冰等^[10]探讨了PFOS经口急性染毒对Wistar大鼠海马细胞内 Ca^{2+} 浓度的影响,研究结果显示,PFOS暴露可使大鼠海马神经元细胞 Ca^{2+} 增高。

2 海马脑区神经传导通路中NR2B的稳态

N-甲基-D-天门冬氨酸受体2型受体B亚单位(NR2B)主要参与配体识别、胞浆内调控及与其他受体或胞浆内蛋白相互作用等,其功能主要调控突触的可塑性及海马神经元长时程增强效应,构成海马的学习和记忆功能并参与神经退行性疾病、兴奋性神经毒性等发生发展的基础^[11]。Liu等^[12]观察出生前后PFOS暴露对大鼠仔鼠空间学习记忆能力以及大脑皮质和海马结构中NR2B mRNA和蛋白水平的影响,出生前后不同时期PFOS暴露导致大鼠仔鼠空间学习和记忆能力损伤,其机制可能为大脑皮质和海马结构各区NR2B表达水平的降低。Loftis等^[11]在胚胎及母乳染毒后,于仔鼠的海马组织中发现, NR2B和钙调蛋白(CaM)的表达随年龄增长先升高后降低。Tang等^[13]通过转基因技术使小鼠海马中NR2B过度表达,研究发现,小鼠表现出的视觉、情绪情感和空间学习记忆与野生型小鼠相比,学习和长时程记忆能力显著增强。而Clayton等^[14]提出, NR2B反义核苷酸干扰处理可以选择性地降低大鼠脑中NR2B表达,引起空间记忆能力损伤。

3 海马脑区神经传导通路中Glu的稳态

谷氨酸(Glu)是兴奋性氨基酸类神经递质,在脑内含量最为丰富,对神经元的分化、迁移、生长和生存过程、突触稳定性的维持及可塑性变化起重要作用, Glu含量的变化可诱发发育神经毒性。Liao等^[15]基于全细胞膜片钳记录,检测PFOS对大鼠海马神经元离子通道在外源性Glu激活电流的影响,结果表明,PFOS可扰乱神经细胞的生理过程,大量的Glu由突触前膜释放入突出间隙,谷氨酸受体(GluR)被过度激活,从而引发兴奋性神经毒性^[16]。王烈等^[17]研究发

现,低剂量PFOS染毒后出现中枢神经系统先抑制后兴奋,并提出这可能与Glu的参与有关。Long等^[18]研究发现,PFOS暴露后,海马神经细胞凋亡率增加,并引起Glu的增加和多巴胺(DA)的减少。同时还发现半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(caspase-3)表达的增加, B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2), B细胞淋巴瘤-XL(Bcl-XL)和生存素(Survivin)表达的降低,提示这可能是导致海马功能障碍引起成年小鼠空间学习和记忆损伤的机制。Li等^[16]发现在PFOS暴露的成年雄性大鼠脑组织切片中的Glu反应阳性细胞的阳性面积比和平均积分光密度显著升高,脑组织的Glu含量明显增加。Charles^[19]发现Glu亲代谢型受体mGluR1a可以自感受细胞外 Ca^{2+} 升高而被激活,从而加剧钙稳态失衡。Hardingham等^[20]比较了突触间和突触外的N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDA)在Glu刺激下的激活信号,选择性刺激突触外NMDA受体可以抑制Glu刺激引起的细胞外 Ca^{2+} 内流,但仍然出现神经细胞内钙超载的现象,证明钙超载不仅只由细胞外 Ca^{2+} 内流加剧引起。各研究表明,PFOS可以引起脑组织中谷氨酸浓度升高,激活NMDA受体介导的 Ca^{2+} 通道,引起 Ca^{2+} 内流,最终产生神经毒性。

4 海马脑区神经传导通路中PKC的活性

PKC对神经元的可塑性起核心作用^[21]。PKC是一类钙、磷脂蛋白激酶,依赖二酰基甘油、磷脂酰丝氨酸和 Ca^{2+} 激活后,传递细胞外的刺激信号、影响膜蛋白的磷酸化而改变细胞膜的通透性,并且通过催化多种蛋白质上丝氨酸和苏氨酸磷酸化,调节细胞的代谢、生长、增殖和分化^[22]。有研究显示^[23],长期给予PKC激动剂十四烷酰佛波乙酯(TPA)能使胶质细胞Glu转运体的蛋白降解速率增高,基因转录水平降低,从而使Glu在细胞外间隙蓄积。Wang等^[24]研究显示,PFOS染毒导致小鼠脑组织PKC和蛋白激酶A(PKA)活性、Glu含量升高。Lee等^[25]提出PFOS暴露增加活性氧簇(ROS)、N-乙酰半胱氨酸(NAC)的产生,PFOS选择性诱导PKC- α , β II和测试之间的PKC同工酶的剂量依赖性易位,这些特定PKC同工酶的易位被NAC拦截。故提出PFOS通过一个ROS介导的蛋白激酶C信号传导通路诱导细胞凋亡。Pinkas等^[26]同样发现,PFOS暴露诱发胞浆内PKC的 β 和 γ 异构体显著性减少。韩国Lee等^[27]研究PFOS诱导细胞凋亡的神经元细胞有丝分裂原活化蛋白激酶角色,并对核细胞形

态进行评估,确定其对细胞凋亡的影响。以上研究表明,PKC和细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)在PFOS诱导的小脑颗粒细胞凋亡过程扮演着凋亡前体蛋白,PFC同时作为ERK激活的上游调节器。

5 海马脑区神经元的存活、生长及突触的改变

神经元的存活、生长及突触的改变倚赖突触体素、钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ(CaMKⅡ)、生长相关蛋白43(GAP-43)。GAP-43调节轴突的生长和连接,并作为突触生长发芽的标记物^[28]。突触体素是突触小泡膜上的糖蛋白,Hamos等^[29]将其作为突触密度的标记物。在新生儿期PFOS暴露将影响上述蛋白的平衡。据Zeng等^[30]报道,妊娠期以2.0 mg/kg的PFOS暴露量可以导致大鼠出现胶质样炎症激活,并导致突触蛋白和突触素的表达显著性下降。CaMKⅡ是Ca²⁺信号转导通路中重要信号分子,在神经组织中含量丰富,尤其是海马组织,占蛋白质总量的2%,主要集中在突触部位。CaMKⅡ广泛参与基因转录调节、神经递质合成、骨架蛋白磷酸化,与海马学习及记忆功能密切相关。Frankland等^[31]指出CaMKⅡ具有调节突触释放神经递质和突触的可塑性的作用,并指出PFOS暴露导致CaMKⅡ增加。Liu等^[7]同样发现PFOS暴露将上调钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ的表达量。Johansson等^[32]在大鼠新生儿期喂以11.3 mg/(kg·d)PFOS,直至出生后第10天(PND10),结果发现海马突触体素、钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ(CaMKⅡ)、生长相关蛋白43(GAP-43)的水平显著增加。通过生物化学和电生理研究方法,研究PFOS对海马神经元发育和突触传输的急性和慢性效应,结果表明PFOS的效应是通过增强L-型钙通道引起Ca²⁺的内流而导致细胞内钙持续处于高水平,从而阻碍了神经元的生长^[33]。

6 结论

纵观有关PFOS对海马脑区的神经毒性的各项动物实验研究,目前已取得一定的成果,普遍认为同PFOS对海马神经毒性是导致传导通路中各成分稳态的改变,包括Ca²⁺、NR2B、Glu、PKC及影响神经元的存活、生长、及突触的改变,但其机制还有待于进一步的研究,目前关于PFOS蓄积浓度梯度对海马脑区神经毒性的剂量反应关系的研究报道较少,许多研究都是基于体外高剂量PFOS毒物暴露,其中还存在线性和非线性的剂量-反应关系,并且缺乏相关的临床

试验和流行病学资料,PFOS对海马脑区的神经毒性的作用机制需要更进一步研究。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] Qazi MR, Nelson BD, DePierre JW, et al. High-dose dietary exposure of mice to perfluorooctanoate or perfluorooctane sulfonate exerts toxic effects on myeloid and B-lymphoid cells in the bone marrow and these effects are partially dependent on reduced food consumption[J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(9): 2955-2963.
- [2] Mariussen E. Neurotoxic effects of perfluoroalkylated compounds: mechanisms of action and environmental relevance[J]. Arch Toxicol, 2012, 86(9): 1349-1367.
- [3] Chang SC, Ehresman DJ, Bjork JA, et al. Gestational and lactational exposure to potassium perfluorooctanesulfonate (K+PFOS) in rats: Toxic kinetics, thyroid hormone status, and related gene expression[J]. Reprod Toxicol, 2009, 27(3/4): 387-399.
- [4] Wang X, Li B, Zhao WD, et al. Perfluorooctanesulfonate triggers tight junction "opening" in brain endothelial cells via phosphatidylinositol 3-kinase[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 410(2): 258-263.
- [5] Butenhoff JL, Ehresman DJ, Chang SC, et al. Gestational and lactational exposure to potassium perfluorooctanesulfonate (K+PFOS) in rats: developmental neurotoxicity[J]. Reprod Toxicol, 2009, 27(3/4): 319-330.
- [6] Kanzaki M, Zhang YQ, Mashima H, et al. Translocation of a calcium pentameric channel induced by insulin like growth factor-I[J]. Nature Cell Biology, 1999, 1(3): 165-170.
- [7] Liu X, Liu W, Jin Y, et al. Effect of gestational and lactational exposure to perfluorooctanesulfonate on calcium-dependent signaling molecules gene expression in rats' hippocampus[J]. Arch Toxicol, 2010, 84(1): 71-79.
- [8] 刘晓晖, 刘冰, 金一和. 孕哺期全氟辛烷磺酸染毒对大鼠海马细胞钙稳态的影响[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(1): 67-73.
- [9] Liu X, Jin Y, Liu W, et al. Possible mechanism of perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate on the release of calcium from calcium stores in primary cultures of rat hippocampal neurons[J]. Toxicol In Vitro, 2011, 25(7): 1294-1301.

- [10] 刘冰, 于麒麟, 金一和, 等. 全氟辛烷磺酸对大鼠海马细胞内钙离子浓度的影响[J]. 毒理学杂志, 2005, 19(3): 225-226.
- [11] Loftis JM, Janowsky A. The *N*-methyl-*D*-aspartate receptor subunit NR2B: localization functional properties regulation and clinic implications(Review)[J]. Pharmacol Ther, 2003, 97(1): 55-85.
- [12] Liu L, Jin YH, Wang L, et al. Effects of perfluorooctane sulfonate on learning and memory of rat pups[J]. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi, 2009, 43(7): 622-627.
- [13] Tang YP, Shimizu E, Dube GR, et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice[J]. Nature, 1999, 401(6748): 63-69.
- [14] Clayton DA, Mesches MH, Alvarez E, et al. A hippocampal NR2B deficit can mimic age-related changes in long-term potentiation and spatial learning in the Fischer 344 rat[J]. J Neurosci, 2002, 22(9): 3628-3637.
- [15] Liao CY, Cui L, Zhou QF, et al. Effects of perfluorooctane sulfonate on ion channels and glutamate-activated current in cultured rat hippocampal neurons[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2009, 27(3): 338-344.
- [16] 李莹, 金一和. 全氟辛烷磺酸对大鼠中枢神经系统谷氨酸含量的影响[J]. 卫生毒理学杂志, 2004, 18(4): 232-234.
- [17] 王烈, 杨小湜, 金一和, 等. 全氟辛烷磺酸对大鼠兴奋性氨基酸影响[J]. 中国公共卫生, 2007, 23(5): 639-640.
- [18] Long Y, Wang Y, Ji G, et al. Neurotoxicity of perfluorooctane sulfonate to hippocampal cells in adult mice[J]. PLOS One, 2013, 8(1): e54176.
- [19] Charles A. Teachingresources. Glial intercellular waves[J]. Sci STKE, 2005(290): tr19.
- [20] Hardingham GE, Fukunaga Y, Bading H. Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB Shut off and cell death pathways[J]. Nat Neurosci, 2002, 5(5): 405-414.
- [21] Tanaka C, Nishizuka Y. The protein kinase C family for neuronal signaling[J]. Annu Rev Neurosci, 1994, 17(1): 551-567.
- [22] Yang H, Dong HS, Lin YL, et al. Research progress of protein kinase C in neuroprotection[J]. Medical Recapitulate, 2009, 15(18): 2736-2738.
- [23] Gonzalez MI, Lopez-Colome AM, Ortega A. Sodium-dependent glutamate transport in Muller glial cell: regulation by phorbol esters[J]. Brain Res, 1999, 831(1-2): 140-145.
- [24] Wang K, Jin YH, Yu QL, et al. Effect of perfluorooctane sulfonate on Glu, PKC and PLA activities in mouse brain[J]. Chin J Prev Med, 2007, 41(6): 466-470.
- [25] Lee HG, Lee YJ, Yang JH. Perfluorooctane sulfonate induces apoptosis of cerebellar granule cells via a ROS-dependent protein kinase C signaling pathway[J]. Neurotoxicology, 2012, 33(3): 314-320.
- [26] Pinkas A, Slotkin TA, Brick-Turin Y, et al. Neurobehavioral teratogenicity of perfluorinated alkyls in an avian model[J]. Neurotoxicol Teratol, 2010, 32(2): 182-186.
- [27] Lee YJ, Lee HG, Yang JH. Perfluorooctane sulfonate induced apoptosis of cerebellar granuleis mediated by ERK 1/2 pathway[J]. Chemosphere, 2013, 90(5): 1597-1602.
- [28] Oestreicher AB, De Graan PN, Gispen WH, et al. B-50, the growth associated protein-43: Modulation of cell morphology and communication in the nervous system[J]. Prog Neurobiol, 1997, 53(6): 627-686.
- [29] Hamos JE, DeGennaro LJ, Drachman DA. Synaptic loss in Alzheimer's disease and other dementias[J]. Neurology, 1989, 39(3): 355-361.
- [30] Zeng HC, Li YY, Zhang L, et al. Prenatal exposure to perfluorooctane sulfonate in rat resulted in long-lasting changes of expression of synapsins and synaptophysin[J]. Synapse, 2011, 65(3): 225-233.
- [31] Frankland PW, O'BrienC, OhnoM, et al. Alpha-CaMKII-dependent plasticity in the cortex is required for permanent memory[J]. Nature, 2001, 411(6835): 309-313.
- [32] Johansson N, Eriksson P, Viberg H. Neonatal exposure to PFOS and PFOA in mice results in changes in proteins which are important for neuronal growth and synaptogenesis in the developing brain[J]. Toxicol Sci, 2009, 108(2): 412-418.
- [33] 孙冬冬, 孙玲. 全氟辛烷磺酸的毒理学研究进展[J]. 环境与职业医学, 2011, 28(3): 175-177.

(收稿日期: 2014-05-28)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 郑轻舟; 校对: 张晶)