

转化生长因子- β 1及其介导的信号通路 在百草枯致肺上皮间质转化中的作用

姜岩¹, 于功昌², 张兴国³

摘要:

近年来,除草剂在农业生产中广泛使用,中毒事件时有发生,其中以百草枯中毒多见,死亡率较高。百草枯中毒的主要靶器官是肺脏,其病理改变主要为早期的肺泡炎、肺水肿及晚期的肺纤维化。百草枯中毒致肺纤维化的机制复杂,新近研究发现多种细胞因子及其介导的信号通路是百草枯致肺纤维化形成过程中的关键环节。本文对转化生长因子- β 1(TGF- β 1)及其介导的主要细胞信号通路(Smads、MAPK、Wnt)在百草枯致肺上皮间质转化中的作用进行综述。

关键词: 百草枯; 肺纤维化; 转化生长因子- β 1; 上皮间质转化; 信号通路

引用: 姜岩, 于功昌, 张兴国. 转化生长因子- β 1及其介导的信号通路在百草枯致肺上皮间质转化中的作用[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(8): 729-733. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17112

Roles of transforming growth factor-beta 1 and its mediated signaling pathways in pulmonary epithelial mesenchymal transition induced by paraquat JIANG Yan¹, YU Gong-chang², ZHANG Xing-guo³ (1.School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan-Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan, Shandong 250062, China; 2.Shandong Academy of Occupational Health and Occupational Medicine, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan, Shandong 250062, China; 3.Department of Poisoning and Occupational Disease, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250021, China). Address correspondence to YU Gong-chang, E-mail: 41164295@qq.com; ZHANG Xing-guo, E-mail: 13964016466@163.com · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

In recent years, with the wide application of herbicides in agricultural production, pesticide poisoning events which are mainly caused by paraquat occur frequently and lead to a high mortality rate. Lung is the main target organ of paraquat poisoning, and its pathological changes include early alveolitis, pulmonary edema, and advanced pulmonary fibrosis. The pulmonary fibrosis mechanism of paraquat poisoning is complex. Recent studies show that a variety of cytokines and signaling pathways are key to the formation of pulmonary fibrosis. In this paper, we reviewed the roles of transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) and its mediated cell signaling pathways (Smads, MAPK, and Wnt) in pulmonary epithelial mesenchymal transition induced by paraquat.

Keywords: paraquat; pulmonary fibrosis; transforming growth factor-beta 1; epithelial mesenchymal transition; signaling pathway

Citation: JIANG Yan, YU Gong-chang, ZHANG Xing-guo. Roles of transforming growth factor-beta 1 and its mediated signaling pathways in pulmonary epithelial mesenchymal transition induced by paraquat[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(8): 729-733.

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17112

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 山东省中医药科技发展计划(编号: 2015-328); 山东省自然科学基金(编号: ZR2015YL046)

[作者简介] 姜岩(1993—), 女, 硕士生; 研究方向: 劳动卫生与环境卫生学; E-mail: 2293818006@qq.com

[通信作者] 于功昌, E-mail: 41164295@qq.com; 张兴国, E-mail: 13964016466@163.com

[作者单位] 1. 济南大学山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250062; 2. 山东省医学科学院山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062; 3. 山东大学附属省立医院中毒与职业病科, 山东 济南 250021

百草枯(paraquat, PQ)是一种有机杂环类非选择性、接触性速效除草剂,因其具有除草效能高、价格低等特点,被广泛应用于农业生产。然而,百草枯毒性较强,误服、自服、使用和防护不当均可导致中毒。肺脏作为百草枯最主要的靶器官,主要表现为急性肺水肿和晚期进行性、不可逆性肺纤维化,目前尚无特效治疗药物,病死率高,预后差^[1]。百草枯中毒致肺纤维化的机制复杂。转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)是一种多功能的致纤维化细

胞因子,参与肺纤维化全过程。现将TGF- β 1的作用及其介导的主要细胞信号通路在百草枯致肺上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)中的作用进行综述,以期对百草枯致肺纤维化机制和治疗方法的研究提供新的思路。

1 TGF- β 1

TGF- β 是1986年由Assoian等^[2]从人血小板中首次提取出的一组超家族分子,是一类由二硫键连接的同源二聚体多肽,能够调节细胞生长和分化。TGF- β 有6种亚型:TGF- β 1~TGF- β 6。在哺乳动物中,主要有3种亚型:TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3。最初人们认为TGF- β 的主要作用是参与炎症反应、组织修复和胚胎发育等,后经进一步研究发现,TGF- β 对细胞生长和分化、机体免疫功能调节及多种脏器纤维化形成等都有重要的作用。

TGF- β 1是TGF- β 在人体内的主要存在形式,广泛分布于支气管上皮细胞、肺泡巨噬细胞及成纤维细胞等,作为肺纤维化形成与发展过程中的启动枢纽^[3],TGF- β 1在细胞损伤修复和纤维化形成阶段的主要作用是充当刺激信号,产生一系列的生物学效应^[4-5],主要包括:诱导并促进成纤维细胞转化为肌成纤维细胞,肌成纤维细胞的持续存在会导致胶原蛋白等细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的沉积;阻碍胶原蛋白酶和纤溶酶原激活物的合成,抑制肺间质ECM降解;趋化单核巨噬细胞和炎细胞,合成释放白介素(IL)-1、IL-6、血小板衍生因子和肿瘤坏死因子等细胞因子,提高它们的生物活性,在肺纤维化的形成及发展过程中发挥重要作用。

黄敏等^[6]认为,在百草枯中毒早期,TGF- β 1主要是作为炎症因子发挥促炎作用,后期则通过选择性诱导激活下游致纤维化因子从而促进肺纤维化的形成。在体外培养实验中,高焯等^[7]从肺脏微环境入手,通过建立体外上皮间质共培养体系,发现肺上皮HPAEPiC细胞在百草枯染毒后TGF- β 1蛋白表达明显升高;王亚鹏等^[8]以不同浓度的百草枯处理人胚肺成纤维细胞(MRC-5),发现百草枯以剂量依赖方式诱导MRC-5细胞中TGF- β 1 mRNA和蛋白表达的升高。以上研究表明,百草枯能促使TGF- β 1表达异常升高,刺激肺上皮HPAEPiC细胞发生EMT,明显增加ECM合成,抑制ECM降解,造成ECM平衡紊乱,导致肺纤维化的形成。

EMT是一种由于上皮受损造成渐进的细胞转变过程,是指上皮细胞通过某些程序失去上皮细胞功能并获得间充质表型细胞的生物学过程,开始表达平滑肌肌动蛋白和波形蛋白等间充质蛋白^[9],能够加重慢性炎症进程并促进多种纤维化疾病的发展。TGF- β 1及其介导的信号通路在EMT和肺纤维化过程中至关重要。TGF- β 1诱导EMT的发生分为依赖Smad(small mothers against decapentaplegic homolog)方式和非依赖Smad方式,其中以依赖Smad方式为主。非依赖Smad方式诱导EMT,主要包括丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)、Wnt(wingless-type MMTV integration site family member)等信号通路。这两种方式的信号通路相互协作诱导细胞发生EMT^[10]。

2 TGF- β 1介导的信号通路

2.1 TGF- β 1/Smads经典通路

Smads蛋白是一类重要的TGF- β 1信号转导和调节分子,能够从细胞膜转导TGF- β 1信号到细胞核中,从而调节胶原等基因的表达,发挥重要的生物学作用^[11-12]。Smads蛋白家族中主要有4种参与TGF- β 1信号转导的蛋白,其中Smad2/3属受体调节型;Smad4属共用型;Smad7属抑制型,是TGF- β 1/Smads通路中最重要的负调节因子之一,可抑制TGF- β 1/Smads信号传导和Smad2/3的磷酸化及核转位。TGF- β 1活化后,首先与转化生长因子- β 受体(transforming growth factor- β receptor, T β R)II二聚体结合使其发生磷酸化,形成有活性的异源四聚体受体复合物,继而使T β R I发生磷酸化,使其具有激酶活性,从而诱导Smad2/3发生磷酸化,磷酸化Smad2/3(p-Smad2/3)与Smad4结合,转移至细胞核,发挥生物学效应。Smads蛋白,尤其是p-Smad2/3、Smad7蛋白表达的多少反映了Smad通路激活与抑制的程度。

TGF- β 1/Smads信号通路的激活与肺纤维化形成的关系尤为密切。Han等^[13]通过动物实验发现,TGF- β 1和Smad2在百草枯诱导大鼠肺纤维化过程中表达均明显升高;体外细胞实验进一步证实,TGF- β 1/Smads信号通路参与A549细胞中百草枯诱导的EMT,应用TGF- β 1抑制剂能够阻断EMT的发生。高焯等^[6]也证实,百草枯可促进人肺上皮细胞分泌TGF- β 1,增加其下游Smad2/3的表达、抑制Smad7的表达,诱导肺上皮细胞发生EMT转化。Chen等^[14]发现,二十二碳六烯酸能够增加肺组织中SnoN蛋白和Smad7蛋白

的表达,减少TGF- β 1表达并阻碍TGF- β 1/Smads信号通路,最终抑制肺成纤维细胞增殖,减轻肺纤维化程度,对百草枯造成的肺损伤起到预防性保护作用。Gu等^[15]用人胚胎肺成纤维细胞进行实验,发现过表达Smad3可使 α -SMA表达明显增加,过表达Smad7则使 α -SMA表达明显降低,用肺纤维化小鼠模型研究发现,敲除小鼠的Smad3基因能够降低肺组织胶原的合成和肌成纤维细胞分化,抑制肺纤维化形成。

研究表明,TGF- β 1中的丝氨酸/苏氨酸激酶受体可直接激活Smads蛋白家族中Smad2/3,使其磷酸化,信号由细胞质转移到细胞核内对靶基因进行调控,发生EMT,促使肺成纤维细胞转化为肌成纤维细胞,使其产生更多的基质蛋白成分(如 α -SMA、I型胶原等)在肺间质及肺泡中过度积累,造成肺纤维化的发生与发展^[16-17]。而抑制TGF- β 1信号通路可通过药物干预、基因沉默或RNA干扰技术来抑制p-Smad2/3表达,也可通过增强信号通路的负性调节因子Smad7表达,从而明显减轻肺纤维化程度。

2.2 MAPK通路

MAPK是一类广泛存在于动物体内的丝氨酸/苏氨酸激酶,它可以被理化因素、细胞因子、活性氧等激活,并通过三级激酶级联反应将信号转导至细胞核内。MAPK家族的信号通路主要包括JNK、ERK1/2和p38 MAPK等^[18]。MAPK在肺成纤维细胞增殖、ECM沉积和EMT发生过程中调控多种炎症介质和细胞因子的表达,促进肺纤维化的形成发展^[19]。

在正常大鼠肺组织中JNK、ERK1/2和p38 MAPK可少量表达或不表达,而在急性百草枯中毒大鼠肺组织中表达明显增加,炎症反应产生的多种炎性细胞因子是激活p38 MAPK通路的主要原因^[20]。Huang等^[21]研究表明,MAPK能够调控EMT,进而调节百草枯的致肺纤维化作用;而通过抑制MAPK/ERK信号通路可缓解肺纤维化的发生,提示ERK信号通路参与肺纤维化的形成。Pei等^[22]用p38 MAPK拮抗剂SB203580对百草枯中毒大鼠进行预处理,结果显示,与百草枯模型组相比,预处理大鼠死亡率明显下降,并能减轻病理特征和肺水肿,降低炎性细胞因子TNF- α 和IL-1 β 在支气管肺泡灌洗液和肺组织中的表达,抑制p38 MAPK的磷酸化。因此,推测可通过降低炎症介质的释放来抑制p38 MAPK信号通路,减轻百草枯中毒引起的肺组织损伤,这意味着MAPK信号通路在

百草枯诱导肺纤维化中是一个很有希望的治疗靶点。

此外,研究发现,Smad2/3和p38 MAPK诱导EMT相关机制不同,表达I型胶原要依赖这两个通路,而表达纤维连接蛋白仅依赖于p38 MAPK,因而推测对p38 MAPK信号通路的抑制能降低I型胶原的表达和纤维连接蛋白水平^[11]。另有研究^[23]表明,TGF- β 1表达也需要激活p38 MAPK信号通路,MAPK和Smads通路之间相互影响。与Smads通路相比,MAPK通路在肺纤维化中的机制尚未完全清楚,需要后期进一步探究。

2.3 Wnt通路

除了Smads和MAPK通路,Wnt/ β -链蛋白(catenin)信号通路在EMT发生中也起到促进作用。Wnt是一类分泌性糖蛋白家族,具有自分泌或旁分泌作用,是调控细胞增殖、分化的重要途径,其通过与细胞膜上G-蛋白偶联受体卷曲蛋白结合后转移到细胞内,抑制糖原合酶激酶-3 β (GSK-3 β)的表达,导致胞内 β -catenin的聚集,最终与细胞核内的转录因子结合引起EMT。 β -catenin作为Wnt信号通路中重要的信号转导分子,Wnt蛋白一旦被激活,无法磷酸化的 β -catenin积聚入核与T细胞因子和淋巴增强因子形成转录复合因子,进而激活Wnt下游靶基因的转录^[24],如:原癌基因、细胞因子和受体基因、细胞外基质成分基因等,在肺纤维化过程中发挥关键作用。

目前,关于百草枯致肺纤维化机制研究中Wnt/ β -catenin信号通路较少涉及。近期有研究显示,肺组织损伤后,Wnt/ β -catenin信号通路被异常激活,继而改变肺上皮细胞中 β -catenin的表达、分布和作用。Lam等^[25]研究发现,晚期肺纤维化患者成纤维细胞核内出现 β -catenin聚积现象且Wnt信号通路被激活。Zhu等^[26]和Xie等^[27]在百草枯致大鼠肺纤维化模型中,发现 β -catenin表达明显升高,并与TGF- β 1表达呈正相关, β -catenin蛋白参与百草枯早期肺纤维化的形成。Wang等^[28]针对小鼠 β -catenin基因表达载体构建shRNA沉默的 β -catenin(Lv-sh β -catenin),体外实验表明Lv-sh β -catenin能够降低 β -catenin、MMP2和MMP9的表达以及减少TGF- β 1的分泌,动物实验对SiO₂染尘小鼠经气管给予Lv-sh β -catenin,也能降低 β -catenin表达和TGF- β 1分泌,减轻肺纤维化,说明Wnt/ β -catenin信号通路参与肺纤维化的形成过程。图1为TGF- β 1介导的部分信号通路。

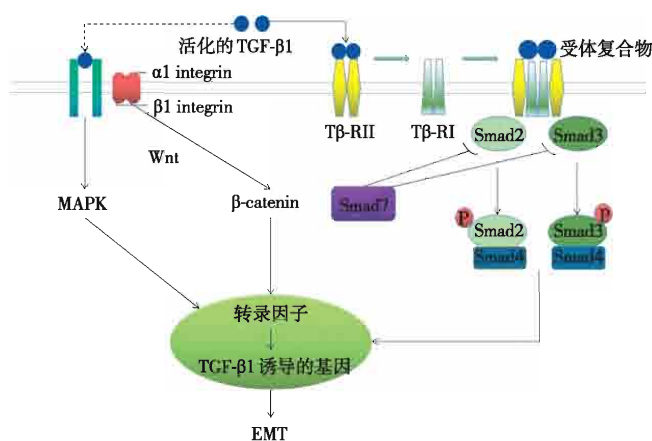


图1 TGF-β1介导的部分信号通路

上述研究结果提示, Wnt/β-catenin 信号通路参与肺纤维化的形成过程, 可以考虑阻断 Wnt/β-catenin 通路来研究治疗肺纤维化的方法, 比如应用 Wnt 拮抗剂、基因敲除、去甲基化、RNA 干扰等技术均可以阻断或抑制 Wnt 信号通路, 从而减轻肺纤维化程度。

综上所述, TGF-β1 参与百草枯致肺纤维化的全过程, 并依靠多条信号通路构成一个复杂的调控网络, 各通路之间互相协作共同促进肺纤维化过程中肺上皮间质转化过程的形成。因此, 如何在信号通路水平调控关键蛋白的表达可能是治疗百草枯致肺纤维化的一条新途径。但是, 在抑制 TGF-β1 表达或者干扰其介导的信号通路时, 也要考虑对机体正常细胞的影响, 以免造成机体失衡。总之, 有关肺纤维化形成过程与各信号通路之间的关系及其治疗机制, 尚需进行更加深入的研究。

参考文献

[1] Dinis-Oliveira R J, Duarte J A, Sánchez-Navarro A, et al. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment[J]. Crit Rev Toxicol, 2008, 38(1): 13-71.

[2] Assoian R K, Sporn M B. Type β transforming growth factor in human platelets: release during platelet degranulation and action on vascular smooth muscle cells[J]. J Cell Biol, 1986, 102(4): 1217-1223.

[3] 耿艳艳, 周植星, 胡倩倩, 等. 特发性肺纤维化治疗靶点及药物研究进展[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(1): 46-51.

[4] Phan S H. Genesis of the myofibroblast in lung injury and fibrosis[J]. Proc Am Thorac Soc, 2012, 9(3): 148-152.

[5] Bonner J C. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic

diseases[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2004, 15(4): 255-273.

[6] 黄敏, 杨惠芳, 李宏辉, 等. 百草枯中毒致肺纤维化大鼠细胞因子表达及四氢吡咯二硫代氨基甲酸酯的干预作用[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2012, 11(5): 452-458.

[7] 高焯, 赵娜, 李晓青, 等. 百草枯诱导肺上皮细胞上皮间质转化促进肺纤维化[J]. 临床和实验医学杂志, 2014, 13(18): 1491-1493.

[8] 王亚鹏, 杨惠芳, 蔡倩, 等. TGF-β1-Smad2/3 信号转导通路在百草枯中毒致肺纤维化中的作用[J]. 工业卫生与职业病, 2016, 42(3): 167-171.

[9] Chen T, Nie H, Gao X, et al. Epithelial-mesenchymal transition involved in pulmonary fibrosis induced by multi-walled carbon nanotubes via TGF-beta/Smad signaling pathway[J]. Toxicol Lett, 2014, 226(2): 150-162.

[10] Zavadil J, Böttinger E P. TGF-β and epithelial-to-mesenchymal transitions[J]. Oncogene, 2005, 24(37): 5764-5774.

[11] Kolosova I, Nethery D, Kern J A, et al. Role of Smad2/3 and p38 MAP kinase in TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition of pulmonary epithelial cells[J]. J Cell Physiol, 2011, 226(5): 1248-1254.

[12] Aoyagi-Ikeda K, Maeno T, Matsui H, et al. Notch induces myofibroblast differentiation of alveolar epithelial cells via transforming growth factor-β-Smad3 pathway[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 45(1): 136-144.

[13] Han Y Y, Shen P, Chang W X. Involvement of epithelial-to-mesenchymal transition and associated transforming growth factor-β/Smad signaling in paraquat-induced pulmonary fibrosis[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(6): 7979-7984.

[14] Chen J, Zeng T, Zhao X, et al. Docosahexaenoic acid(DHA) ameliorates paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats possibly through up-regulation of Smad 7 and SnoN[J]. Food Chem Toxicol, 2013, 57: 330-337.

[15] Gu L, Zhu Y J, Yang X, et al. Effect of TGF-β/Smad signaling pathway on lung myofibroblast differentiation[J]. Acta Pharmacol Sin, 2007, 28(3): 382-391.

[16] Usuki J, Matsuda K, Azuma A, et al. Sequential analysis of myofibroblast differentiation and transforming growth factor-β1/Smad pathway activation in murine pulmonary fibrosis[J]. J Nippon Med Sch, 2012, 79(1): 46-59.

[17] Warburton D, Shi W, Xu B. TGF-β-Smad3 signaling in emphysema and pulmonary fibrosis: an epigenetic aberration

- of normal development? [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 304(2): L83-L85.
- [18] Raman M, Chen W, Cobb MH. Differential regulation and properties of MAPKs [J]. *Oncogene*, 2007, 26(22): 3100-3112.
- [19] 唐姣. MAPK 信号通路与肺纤维化研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2016, 32(12): 1841-1844.
- [20] 刘振宁, 刘伟, 郭峰, 等. MAPK 通路蛋白在百草枯中毒致急性肺损伤大鼠肺组织中的表达及意义[J]. *广东医学*, 2015, 36(12): 1834-1837.
- [21] Huang M, Wang YP, Zhu LQ, et al. MAPK pathway mediates epithelial-mesenchymal transition induced by paraquat in alveolar epithelial cells [J]. *Environ Toxicol*, 2016, 31(11): 1407-1414.
- [22] Pei YH, Cai XM, Chen J, et al. The role of p38 MAPK in acute paraquat-induced lung injury in rats [J]. *Inhal Toxicol*, 2014, 26(14): 880-884.
- [23] Morales MG, Vazquez Y, Acuña MJ, et al. Angiotensin II-induced pro-fibrotic effects require p38MAPK activity and transforming growth factor beta 1 expression in skeletal muscle cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(11): 1993-2002.
- [24] 肖颖, 杨涛涛, 周卫民, 等. TGF- β /Smad 与 Wnt/ β -catenin 在博来霉素致大鼠肺纤维化中的表达及相互作用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(2): 63-69.
- [25] Lam AP, Flozak AS, Russell S, et al. Nuclear β -catenin is increased in systemic sclerosis pulmonary fibrosis and promotes lung fibroblast migration and proliferation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(5): 915-922.
- [26] Zhu Y, Tan J, Xie H, et al. HIF-1 α regulates EMT via the Snail and β -catenin pathways in paraquat poisoning-induced early pulmonary fibrosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(4): 688-697.
- [27] Xie H, Tan JT, Wang RL, et al. Expression and significance of HIF-1 α in pulmonary fibrosis induced by paraquat [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2013, 238(9): 1062-1068.
- [28] Wang X, Dai W, Wang Y, et al. Blocking the Wnt/ β -catenin pathway by lentivirus-mediated short hairpin RNA targeting β -catenin gene suppresses silica-induced lung fibrosis in mice [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2015, 12(9): 10739-10754.
- (收稿日期: 2017-01-10; 录用日期: 2017-06-10)
(英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪, 丁瑾瑜; 校对: 陶黎纳)

(上接第 728 页)

土壤样品的处理, 对监测土壤铅污染有重要的意义。

参考文献

- [1] 国家环境保护总局. 土壤质量铅、镉的测定石墨炉原子吸收分光光度法: GB/T 17141—1997[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 土壤质量总汞、总砷、总铅的测定原子荧光法第 3 部分: 土壤中总铅的测定: GB/T 22105.3—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [3] 曹芳红, 陈晓霞, 丁锦春. 微波消解—石墨炉原子吸收光谱法测定土壤中铅和镉[J]. *环境与职业医学*, 2012, 29(8): 498-500.
- [4] 王长芹, 张凯, 邓艺, 等. 微波消解—原子吸收光谱法测定土壤中的铅和镉[J]. *济宁医学院学报*, 2015, 38(2): 124-125, 128.
- [5] 陈金花. 石墨炉原子吸收中胶体钡基改剂消除土壤样品复杂基质干扰的研究[J]. *福建分析测试*, 2016, 25(4): 59-62.
- [6] 高芹, 邵劲松, 余云飞. 微波消解原子吸收光谱法测定土壤中铅镉铬铜[J]. *农业环境与发展*, 2006, 23(3): 99-101.
- [7] 张泓, 吕维君, 茅建人, 等. 微波消解—原子吸收分光光度法、原子荧光分光光度法测定土壤中的铜锌铅镉铬砷汞[J]. *中国卫生检验杂志*, 2005, 15(7): 830-831.
- [8] 白艳丽, 王利佳, 刘秀芝. 微波消解——原子吸收分光光度法测定土壤中的铜锌镍铬锰铅镉[J]. *黑龙江环境通报*, 2008, 32(4): 58-60.
- [9] 邬守华. 微波消解原子吸收法测定土壤中铅镉和铬的方法探讨[J]. *微量元素与健康研究*, 2014, 31(5): 64-65.
- [10] 万连印. 微波消解—石墨炉原子吸收法测定土壤中的铅和镉[J]. *黄金*, 2009, 30(4): 51-53.
- (收稿日期: 2017-04-26; 录用日期: 2017-06-06)
(英文编辑: 汪源; 编辑: 陶黎纳; 校对: 陈姣)