

百草枯的神经免疫毒性研究进展

杨正丽, 张玉彬, 周志俊

摘要:

百草枯是一种被广泛使用的中等毒性除草剂。现有流行病学资料显示, 长期低剂量接触百草枯可增加人群帕金森病等中枢神经系统退行性疾病的风险。本研究将对百草枯引起中枢神经系统损伤过程中所涉及到的免疫反应研究进展进行系统性综述, 包括: 百草枯可以诱导中枢神经系统免疫紊乱, 导致神经炎症的发生; 神经炎症的发生发展与百草枯诱导的神经系统损伤有关; 百草枯引起的神经炎症可能受多重因子网络的调控。以期为进一步深入研究百草枯的神经免疫毒作用机制及后期药物干预提供理论依据。

关键词: 百草枯; 小胶质细胞; 神经毒性; 免疫反应

引用: 杨正丽, 张玉彬, 周志俊. 百草枯的神经免疫毒性研究进展[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(11): 1009-1012. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17430

Research progress on neuro-immune toxicity of paraquat YANG Zheng-li, ZHANG Yu-bin, ZHOU Zhi-jun (Key Laboratory of Public Health Safety, Ministry of Education, School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China). Address correspondence to ZHOU Zhi-jun, E-mail: zjzhou@fudan.edu.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

Paraquat is a widely used herbicide with moderate toxicity to human. According to available epidemiological data, paraquat can increase the risk of central nervous system degenerative diseases such as Parkinson's disease by chronic low-dose administration. In this paper, a systematic review summarized the immune response involved in central nervous system injury induced by paraquat, including immune disorder of central nervous system and neuroinflammation induced by paraquat, neuroinflammation development associated with neurological damage induced by paraquat, and neuroinflammation induced by paraquat and regulated by multiple factor networks, aiming to provide a theoretical basis for further study of the mechanism of neuro-immune toxicity of paraquat and future drug intervention.

Keywords: paraquat; microglia; neurotoxicity; immune response

Citation: YANG Zheng-li, ZHANG Yu-bin, ZHOU Zhi-jun. Research progress on neuro-immune toxicity of paraquat[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(11): 1009-1012. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17430

百草枯(paraquat, PQ)又称对草快、克无踪, 是有机杂环类接触性除草剂, 由于它与土壤接触后迅速钝化, 无大气污染和残留, 对周围环境无害, 而被广泛使用。2003年, 联合国粮食与农业组织(Food and Agriculture Organization, FAO)在报告中指出人体每日允许摄入PQ的量(acceptable daily intake, ADI)为0.005 mg/kg。近年来, 多项流行病学研究显示, PQ可

通过职业、饮用水及食物等慢性低剂量暴露作用于人群, 增加帕金森病(Parkinson's disease, PD)等中枢神经系统退行性疾病的发病风险^[1]。实验研究发现, PQ可通过诱导氧化应激、干扰线粒体功能等途径, 损伤小鼠多巴胺能神经元^[2]。本课题组前期的研究也发现, PQ可能通过影响多巴胺的合成、储存、转运和降解等环节破坏多巴胺递质的稳态, 引发神经元凋亡, 从而导致帕金森样症状^[3-4]。目前对PQ的神经毒作用机制研究主要针对神经元的结构和功能, 而对于神经系统损伤过程中所涉及到的免疫反应的研究较为欠缺, 本文重点以国内外PQ对神经免疫毒性及其可能的机制研究文献为基础, 对PQ致神经免疫毒性的研究进展做一综述报道。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 国家自然科学基金(编号: 81673202)

[作者简介] 杨正丽(1993—), 女, 硕士生; 研究方向: 免疫毒理;

E-mail: 16211020029@fudan.edu.cn

[通信作者] 周志俊, E-mail: zjzhou@fudan.edu.cn

[作者单位] 复旦大学公共卫生学院/教育部公共卫生安全重点实验室, 上海 200032

1 PQ诱导中枢神经系统免疫紊乱

越来越多的研究发现,环境中大量存在的工业化学物在导致中枢神经系统退行性病变的过程中,或多或少会捕捉到免疫反应的“踪迹”^[5],如职业性锰暴露能够诱导小胶质细胞活化,活化后释放的炎症因子可能是锰暴露导致神经元损伤的关键因素^[6]。在这些工业化学物所诱发的阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)和PD等疾病的发病机制中,神经炎症可能是神经元损伤的重要原因^[7]。有文献报道,在AD发生早期,小胶质细胞(microglia, MG)可以通过其表面的清道夫受体促进A β 的清除,延缓AD的发病进程。A β 可以通过CD36受体、Fc受体、Toll样受体和补体受体晚期糖化终产物(complement receptors advanced glycation end products, RAGE)刺激MG使其处于持续活化的状态,间接诱导炎症系统的活化反应。这些受体会进一步增加A β 的产生和阻碍A β 的清除,最终造成神经元损伤,导致AD的发生与发展^[6]。在PD的神经免疫发病机制研究中发现,在一定条件刺激下,MG被活化,该过程受神经元控制,而PD发病过程中神经元受损,控制MG活化的功能下降,最终结果使MG过度活化,进一步导致神经细胞恶性病变^[8]。研究显示,某些非甾体类抗炎药可以降低PD风险,使用布洛芬可以将发生PD的风险降低15%^[9]。因此,免疫反应对于环境化学物所致神经系统损伤的发生发展乃至转归和预后意义重大。

在对急性PQ中毒患者的检查中,发现有明显的脑水肿、髓鞘损伤、MG或星形胶质细胞的增殖以及脑膜炎^[10]。同时,在动物模型中,发现经PQ染毒的家兔,其脑内活化的MG增多,并且诱导烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶增加;当给予抗炎药米诺环素处理,可阻止MG活化以及后续的氧化应激。此外,给予缺乏功能性NADPH氧化酶家兔PQ染毒,家兔免于神经元退行性变,表明MG活化和NADPH氧化酶是导致多巴胺能神经元变性的主要因素^[11]。有研究指出,经PQ染毒的小鼠脑内可检测到MG的活化和炎症因子如白介素(IL)-1 β 和肿瘤坏死因子(TNF- α)的表达增加^[12-13]。敲除TNF- α 受体的基因对PD小鼠或者AD小鼠具有保护作用^[14]。Hou等^[15]研究也发现,小鼠在PQ和代森锰联合染毒的情况下,MG被激活和前炎症因子的表达增加。趋化因子受体CXCR2阻断剂可以减轻PQ所引起的神经系统损伤,提示免疫细胞可参与该过程^[16]。综上所述,PQ可以

诱导中枢神经系统免疫紊乱,导致神经炎症的发生。

2 神经炎症的发生发展与PQ诱导的神经系统损伤有关

2.1 小胶质细胞

MG占成人中枢神经系统(central nervous system, CNS)细胞总数的1/10,是CNS的固有免疫细胞,在脑和脊髓创伤后的神经炎症中起关键作用^[17]。生理情况下,MG主要起免疫监视作用,稳定内环境^[18]。MG对外界刺激非常敏感,一旦CNS发生轻微病理变化即可激活MG。一方面,MG通过吞噬作用,清除细胞碎片,同时释放神经生长因子和抗炎因子而减轻神经损伤。研究发现,激活的MG能够释放白介素(IL)-4、IL-10和IL-13等,诱导组织修复,发挥神经保护作用^[19]。另一方面,MG高度活化状态可以释放细胞毒性物质以及高水平的促炎因子,从而造成神经元失能以及细胞死亡^[20]。文献报道,当MG过度激活后,会诱发炎症反应,并释放大量的神经炎症因子如一氧化氮(nitric oxide, NO)、IL-6、IL-1 β 和TNF- α 等,炎症因子的堆积导致中枢神经系统因氮氧失衡而使神经中毒^[19]。当神经系统受到外界环境有害因素刺激时,上述炎症与修复之间的平衡很容易被扰乱,使得免疫反应发生紊乱,从而导致神经系统损伤。例如,在中枢神经系统感染性疾病中,在病原体感染初期,MG可通过抗原提呈作用激活T细胞,从而介导机体的炎症反应。在感染后期,由于MG释放大量细胞毒性物质,如NO、TNF- α 等可对神经细胞造成过度的损伤。因此,对MG活化的适当抑制,可能是减轻炎症损伤,提高治疗效果的有效途径^[21]。

2.2 神经炎症在PQ诱导的神经系统损伤中起重要作用

研究发现,PQ结构与公认的神经毒素1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)的活性代谢产物MPP⁺相似,可被血脑屏障上高表达的氨基酸载体主动摄取,并被携带穿过血脑屏障进入脑组织,具有与神经毒素MPTP相似的选择性破坏黑质致密部多巴胺能神经元的作用,产生类似于PD的症状^[22]。Chung等^[23]发现在MPTP诱导的PD动物模型中,除了黑质多巴胺能神经元的病变外,受损神经元的周围还存在很多激活的MG和星形胶质细胞。脑内注射6-羟多巴胺后,MG的激活和TNF- α 的表达都非常明显,同时神经元的 α -共核蛋白(α -synuclein)可能通过胞吞和胞吐作用直接转移给星形胶质细胞,引发其炎症反应^[24]。 γ 干扰

素(IFN- γ)基因敲除小鼠暴露于PQ后,未观察到多巴胺能神经元的损伤^[25]。Mangano等^[26]发现,小鼠接受单次的强致炎剂脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)注射后,可激活MG并引发炎症反应,但并不损伤多巴胺能神经元;而在小鼠接受PQ染毒之前给予LPS预处理,则可观察到明显的多巴胺能神经元损伤。张晓峰等^[27]研究发现,PQ激活MG,诱导炎症反应,PQ通过激活MG介导的神经炎症反应诱导对多巴胺能神经元细胞的氧化损伤作用,引起多巴胺能神经元细胞死亡,进而参与PD的发生、发展过程。因此,PQ可能是通过打破免疫反应介导的神经损伤与修复之间的平衡,使炎症激活信号持续存在或干扰修复过程而造成免疫紊乱,从而产生神经毒性作用。

3 PQ引起的神经炎症可能受多重因子网络的调控

3.1 多重因子网络

中枢神经系统内的免疫反应不仅有神经细胞和免疫细胞及其分泌的众多细胞因子参与,还涉及到Wnt、apoE、NF κ B和bHLH等多重信号转导通路,其中各种上下游以及调控关系甚为复杂^[28-29]。在MPTP诱导的PD动物模型中发现,黑质纹状体的损伤与Wnt/ β catenine通路的激活相关。离体实验证实,激活的星形胶质细胞和Wnt1/ β catenine通路可以减轻MPTP诱导的多巴胺能神经元损伤细胞的毒性作用。动物实验进一步证实,外源性给予Wnt1能够改善黑质纹状体的损伤^[30]。有研究指出,神经系统内的细胞如MG、星形胶质细胞、少突胶质细胞、中枢神经系统的髓鞘形成细胞以及周围神经系统的施旺细胞、脑微脉管系统甚至神经元,都会分泌包括白介素、转化生长因子、趋化因子和干扰素等在内的细胞因子,刺激免疫细胞的活化和趋化,同时还可以通过自身的胞膜受体与特定的细胞因子结合^[28]。

3.2 多重因子网络对神经炎症发生发展的调控

当免疫紊乱发生时,细胞因子持续激发级联反应,相互增强彼此效应,导致神经元持续损伤、变性甚至坏死。Hou等^[16]在研究中发现,小鼠在PQ和代森锰联合染毒的情况下,促进NADPH氧化酶的激活,进而促进MG的激活,诱导多巴胺能神经元退变。在给予NADPH氧化酶抑制剂夹竹桃毒素的情况下,可明显抑制MG的激活和前炎症因子的表达,也减少了NF κ B通路的激活。在MPTP诱导的小鼠多巴胺系统损伤模型中,细胞因子iNOS和COX2等可通过上调

GSK-3 β 促进MG的活化,并通过抑制Wnt/ β catenine信号通路和激活NF κ B信号通路损伤多巴胺能神经元。而Wnt/ β catenine信号通路受到抑制后会减少调节性T细胞(Regulatory T cell, Treg)的生成,从而进一步促进炎症反应^[29]。由此可见,PQ可能通过多重因子网络影响神经炎症的发生发展,造成神经系统损伤。

PQ作为一种被广泛使用的中等毒性除草剂,它对于人体健康的影响(包括急性中毒和长期低剂量接触所引起的神经毒性)不容小觑。由于PQ可通过慢性低剂量方式作用于人群,增加PD等中枢神经系统退行性疾病的风险,因此本综述从其诱导神经系统损伤过程中所涉及的免疫反应角度出发,发现PQ所致的神经系统损伤与神经炎症的发生发展密切相关。此外,虽然目前关于免疫细胞-细胞因子-信号分子多重因子网络在PQ所致神经系统损伤方面的研究较为欠缺,但根据仅有的研究可以发现,其在神经炎症发生发展的调节中发挥重要作用。后续的研究将在此基础上深入探讨免疫反应对于PQ所致神经系统损伤的影响及相关机制,以期为深入研究PQ的神经免疫毒作用机制及后期药物干预提供理论依据。

参考文献

- [1] Sanyal J, Chakraborty DP, Sarkar B, et al. Environmental and familial risk factors of Parkinsons disease: case-control study [J]. Can J Neurol Sci, 2010, 37(5): 637-642.
- [2] Izumi Y, Ezumi M, Takada-Takatori Y, et al. Endogenous dopamine is involved in the herbicide paraquat-induced dopaminergic cell death [J]. Toxicol Sci, 2014, 139(2): 466-478.
- [3] 王翹楚, 娄丹, 田雨来, 等. 百草枯对小鼠神经行为发育及学习记忆功能的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(2): 8-12, 89.
- [4] Lou D, Chang X, Li W, et al. Paraquat affects the homeostasis of dopaminergic system in PC12 cells [J]. Pestic Biochem Phys, 2012, 103(2): 81-86.
- [5] Kraft AD, Jean HG. Features of microglia and neuroinflammation relevant to environmental exposure and neurotoxicity [J]. Int J Environ Res Public Health, 2011, 8(7): 2980-3018.
- [6] 王迪雅. NLRP3炎症体介导的小胶质细胞炎症反应在锰神经毒性中的作用 [D]. 西安: 第四军医大学, 2016.
- [7] Barcia C. Glial-mediated inflammation underlying parkinsonism [J]. Scientifica, 2013, 2013: 357805.

- [8] 孙飞一, 王馥丽, 庆宏, 等. 神经免疫相互作用对帕金森病发病机制的影响研究[J]. 国际神经病学神经外科杂志, 2014, 41(6): 537-540.
- [9] Gagne JJ, Power MC. Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis[J]. *Neurology*, 2010, 74(12): 995-1002.
- [10] Bailin W, Bo S, Tian S, et al. Central nervous system damage due to acute paraquat poisoning: A neuroimaging study with 3.0T MRI[J]. *Neurotoxicology*, 2012, 33(5): 1330-1337.
- [11] Ling Z, Dave AG, Ma S, et al. In utero bacterial endotoxin exposure causes loss of tyrosine hydroxylase neurons in the postnatal rat midbrain[J]. *Movem Disord*, 17(1): 116-124.
- [12] Mitra S, Chakrabarti N, Bhattacharyya A. Differential regional expression patterns of α -synuclein, TNF- α , and IL-1 β ; and variable status of dopaminergic neurotoxicity in mouse brain after Paraquat treatment[J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 163.
- [13] Barcia C, Maria RC, Annese V, et al. ROCK/Cdc42-mediated microglial motility and gliapse formation lead to phagocytosis of degenerating dopaminergic neurons in vivo[J]. *Sci Rep*, 2012, 2: 809.
- [14] Bhaskar K, Maphis N, Xu GX, et al. Microglia derived tumor necrosis factor- α derives Alzheimer's disease-related neuronal cell cycle events[J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 62(4): 273-285.
- [15] Costa KM, Maciel IS, Kist LW, et al. Pharmacological Inhibition of CXCR2 Chemokine Receptors Modulates Paraquat-Induced Intoxication in Rats[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105740.
- [16] Hou L, Zhang C, Wang K, et al. Paraquat and maneb co-exposure induces noradrenergic locus coeruleus neurodegeneration through NADPH oxidase-mediated microglial activation[J]. *Toxicology*, 2017, 380: 1-10.
- [17] 党圆圆, 张洪钿, 徐如祥. 小胶质细胞在中枢神经系统创伤后的双重作用及调控机制[J]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2016, 2(5): 305-312.
- [18] 张琼, 刘文娟, 曹霞. 小胶质细胞特性及其功能的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(2): 216-219.
- [19] 刘雨晴, 陈丰嘉, 吴海歌. 自噬与小胶质细胞相关神经炎症[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2016, 32(9): 976-983.
- [20] Perry VH, Hume DA, Gordon S. Immunohistochemical localization of macrophage and microglia in the adult and developing mouse brain[J]. *Neuroscience*, 1985, 15(2): 313-326.
- [21] 许玲, 吴海歌, 姚子昂. 小胶质细胞介导的炎症反应与中枢神经系统疾病[J]. 现代免疫学, 2011, 31(2): 160-163.
- [22] 严梦玲, 周志俊, 常秀丽. 百草枯致神经发育毒性的研究进展[J]. 环境与职业医学, 2015, 32(3): 275-278.
- [23] Chung YC, Ko HW, Bok EG, et al. The role of neuroinflammation on the pathogenesis of Parkinson's disease[J]. *BMB Rep*, 2010, 43(4): 225-232.
- [24] Lee HJ, Kim C, Lee SJ, et al. Alpha-synuclein stimulation of astrocytes Potential role for neuroinflammation and neuroprotection[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2010, 3(4): 283-287.
- [25] Litteljohn D, Mangano E, Shukla N, et al. Interferon- γ deficiency modifies the motor and co-morbid behavioral pathology and neurochemical changes provoked by the pesticide paraquat[J]. *Neuroscience*, 2009, 164(4): 1894-1906.
- [26] Mangano EN, Hayley S. Inflammatory priming of the substantia nigra influences the impact of later paraquat exposure: Neuroimmune sensitization of neurodegeneration[J]. *Neurobiol Aging*, 2009, 30(9): 1361-1378.
- [27] 张晓峰, 徐艺华, 张旸. 百草枯诱导的小胶质细胞炎症反应对神经元细胞的影响[C]//中国毒理学会第七次全国毒理学大会暨第八届湖北科技论坛论文集. 武汉: 湖北省毒理学会, 2015: 204.
- [28] Ramesh G, MacLean AG, Philipp MT. Cytokines and chemokines at the crossroads of neuroinflammation, neurodegeneration, and neuropathic pain[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 480739.
- [29] L'Episcopo F, Tirolo C, Caniglia S, et al. Targeting Wnt signaling at the neuroimmune interface for dopaminergic neuroprotection/repair in Parkinson's disease[J]. *J Mol Cell Biol*, 2014, 6(1): 13-26.
- [30] L'Episcopo F, Tirolo C, Testa N, et al. Reactive astrocytes and Wnt/ β -catenin signaling link nigrostriatal injury to repair in 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2011, 41(2): 508-527.

(收稿日期: 2017-06-27; 录用日期: 2017-09-11)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 丁璿瑜; 校对: 陶黎纳)