

- [14] Sitting M. Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens [M]. Noyes Publications, Park Ridge, 1991. 703-704.
- [15] Deema P, Thompson E, Ware GW. Metabolism, storage and excretion of ^{14}C endosulfan in the mouse [J]. J Econ Entomol, 1966, 59 (3): 546.
- [16] Anebo JA, Martinez JL, Fernandez A. Excretion study of endosulfan in urine of a pest control operator [J]. Toxicol Lett, 1999, 107: 15-20.
- [17] Paul V, Balasubramaniam E, Jayakumar AR, et al. A sex-related difference in the neurobehavioral and hepatic effects following chronic endosulfan treatment in rats [J]. Eur J Pharmacol, 1995, 293 (4): 355-360.
- [18] Lakshmana MK, Raju TR. Endosulfan induces small but significant changes in the levels of noradrenaline, dopamine and serotonin in the developing rat brain and deficits in the operant learning performance [J]. Toxicology, 1994, 91 (2): 139-150.
- [19] Paul V, Balasubramaniam E, Kazi M. The neurobehavioral toxicity of endosulfan in rats: a serotonergic involvement in learning impairment [J]. Eur J Pharmacol, 1994, 270 (1): 1-7.
- [20] WHO. IPCS Health and Safety Guide No 17: Endosulfan health and safety guide [M]. Geneva: WHO, 1988. 11.
- [21] Garg A, Kunwar K, Das N, et al. Endosulfan intoxication: blood glucose, electrolytes, Ca levels, ascorbic acid and glutathione in rats [J]. Toxicol Lett, 1980, 5: 119-123.
- [22] Tiberin P, Kristal N, Israeli R. EEG findings in poisoning by endosulfan [J]. Electroenceph Clin Neurophysiol, 1970, 28 (6): 642.
- [23] Barceloux D, McGuigan M, Hartigan-Go K. Position statement: cathartics [J]. Clin Toxicol, 1997, 5: 743-752.

δ 氨基- γ -酮戊酸脱水酶基因多态性与铅毒性的遗传易感性

黄瑞雪¹, 黄德群²

(1. 中南大学湘雅医学院公共卫生学院, 湖南 长沙 410078; 2. 湖南省株洲市第一医院, 湖南 株洲 412000)

摘要: δ 氨基- γ -酮戊酸脱水酶 (ALAD) 是参与血红素生物合成的关键酶之一, 可催化两分子的 δ 氨基- γ -酮戊酸 (ALA) 聚合成卟胆原 (PBG)。有研究表明, ALAD 基因多态性与铅中毒的易感性相关, 分布存在种族差异, 其等位基因 ALAD1 个体骨铅含量高, ALAD2 个体血铅值较高。本文综述 ALAD 基因多态性与铅中毒易感性的研究进展。

关键词: δ 氨基- γ -酮戊酸脱水酶 (ALAD) 基因; 基因多态性; 铅毒性; 易感性

中图分类号: R995 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2004)03-0179-03

δ Amino- γ -levulinic acid dehydrase (ALAD) gene polymorphism and susceptibility to lead toxicity

HUANG Rui-xue¹, HUANG De-qun²

(1. School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China; 2. The First Hospital of Zhuzhou, Zhuzhou 412000, China)

Abstract: The δ amino- γ -levulinic acid dehydrase (ALAD) gene is located in chromosome 9q34, coded for δ aminolevulinic acid dehydratase (ALAD). ALAD is one of crucial enzymes involved in bio-synthesis of heme, which can catalyze two molecules of ALA to polymerize into a porphobilinogen (PBG). ALAD gene is polymorphic with two codominant alleles ALAD1 and ALAD2. Gene polymorphism of ALAD relates with susceptibility to lead toxicity and its genotype frequencies vary by race. Bone lead content is higher in the individuals with ALAD1 allele, and blood level of lead higher in those with ALAD2 allele. Research progress in ALAD gene polymorphism and susceptibility to lead toxicity is reviewed in this paper.

Key words: δ amino- γ -levulinic acid dehydrase (ALAD) gene; Genetic polymorphism; Lead toxicity; Susceptibility

流行病学调查表明, 在相同的铅接触环境下不同个体对铅的损伤作用在易感性方面存在很大的差异, 其遗传学基础是基因组 DNA 序列的变异, 每 500~1 000 个碱基对中可能有 1 个单核苷酸多态性。这些单核苷酸多态性及其特定组合是机体易感性差异的重要原因。因此, 基因多态性的研究对筛选和保护易感人群并采取有效的干预措施具有十分重要的意义^[1]。目前已发现的 δ 氨基- γ -酮戊酸脱水酶 (ALAD) 的基因多态性与铅的毒物代谢动力学方面有密切联系。本文简要综述 ALAD 基因与铅中毒的关系。

1 ALAD 的基因多态性

ALAD 是参与血红素生物合成的关键酶之一, 可催化两分子的 δ 氨基- γ -酮戊酸 (ALA) 聚合成卟胆原 (PBG)。1981 年 Petrucci 首次发现 ALAD 具有多态性, 其基因定位于染色体 9q34, 全长 16kb, 2 种等位基因分别为 ALAD1 和 ALAD2, 可产生 3 种同工酶: ALAD1-1, ALAD1-2 和 ALAD2-2。这 3 种同工酶活性相近, 但功能相异。与 ALAD1 相比, ALAD2 基因在第 177 位碱基上发生了 G→C 颠换, 产生了一个新的限制性内切酶 (MspI) 酶切位点, 引起在多肽上对应的第 59 位带正电荷的赖氨酸被电中性的精氨酸代替。这种氨基酸的置换增加了 ALAD2 与铅的亲和力, 从而增加个体对铅中毒的易感性^[2]。

收稿日期: 2003-03-14; 修回日期: 2003-05-22

作者简介: 黄瑞雪 (1972-), 女, 讲师, 研究方向: 工业毒理学。

据报告, *ALAD* 基因的多态性分布存在种族差异, 在高加索人群中, *ALAD1* 和 *ALAD2* 的基因频率分别是 0.2 和 0.8, 我国汉族人中 2 种基因频率分别为 0.97 和 0.03, 而在非洲人中, 还未曾发现有 *ALAD2* 等位基因。

2 *ALAD* 基因多态性在铅中毒中的作用

总的说来, *ALAD* 基因的多态性可能通过影响铅在血液和骨中的代谢动力学而影响铅毒性。

2.1 *ALAD* 基因与铅的血液毒性

铅作用于全身各系统和器官, 主要累及血液系统。铅在抑制血红素合成通路中主要抑制 *ALAD*。铅在 *ALAD* 金属结合位点上置换一个锌离子, 通过改变酶的 4 价结构产生抑制作用。*ALAD* 受抑制后, ALA 形成卟胆原受阻, 使血 ALA 增加, ALA 与脑内 γ -氨基丁酸结构相似, 可以竞争性的与 γ -氨基丁酸受体结合, 导致神经毒性。

一直以来, 血铅被作为“金指标”来证实体内铅负荷的增加, 血铅浓度与神经毒性关系密切, 血铅浓度为 $10 \mu\text{g/dl}$ 的儿童已有认识障碍、过激行为和听力损害的表现^[3]。

Ziemsens 最先报道 *ALAD* 基因与血铅的关系。他发现铅作业工人中, *ALAD2* 基因型个体的血铅 ($56 \mu\text{g/dl}$) 比 *ALAD1* 型个体的血铅值 ($44 \mu\text{g/dl}$) 要高^[4]。Astrin 发现 *ALAD2* 型个体的血铅值 $> 120 \mu\text{g/dl}$ 红细胞原卟啉 $> 30 \mu\text{g/dl}$ ^[5]。研究认为 *ALAD2* 基因编码中的酶带负电, 可以结合带正电的 Pb^{2+} 。结合程度远大于 *ALAD1* 基因, 血铅在血液和组织中存留的时间更长。由此 *ALAD2* 型个体的血铅值升高, *ALAD* 受抑制程度增大。提示血中铅的动力学因 *ALAD* 基因多态性而改变。但随后的研究则与之相反。Schwartz 对 3 个电池厂进行了调查, 发现 *ALAD2* 型个体血铅值没有明显升高, 而 *ALAD1* 型个体血铅平均值 $\geq 40 \mu\text{g/dl}$ 高出正常值 2.3 倍, 作者认为 *ALAD2* 型对个体有保护作用, 原因在于 *ALAD2* 型的亚单位蛋白铅结合后, 使铅处于非活性形式, 因此比起 *ALAD1* 型个体, *ALAD2* 型在一定程度上可免受铅的影响, 可以耐受长期接触铅^[6]。针对血铅与 *ALAD1* 或 *ALAD2* 有无相关这一问题, Smith 对 122 名非接触人群(血铅平均值为 $7.8 \mu\text{g/dl}$) 进行了研究, 发现 *ALAD* 基因型与血铅值含量高低无关, 提示血铅值首先与接铅水平有关, 只有在完全相同接触水平下, 分析 *ALAD* 基因多态性的作用才有意义。但是, 要找到接铅水平完全相同的群体非常不易^[7]。

2.2 *ALAD* 基因与骨铅

铅进入体内后大部分沉积于骨中, 骨是人体最大的铅储存库, 儿童铅负荷中 75% 蓄积于骨中, 成人则占 90% 以上, 骨中的铅一旦被动员, 就有可能发生铅中毒。作为累积接触的生物标志物, 能够预测与铅接触有关的毒效应^[8]。

已有许多研究发现, 骨铅水平与神经行为和肾脏损害有密切联系, 有研究表明, 在 301 名 12 岁小孩中, 胫骨铅水平与父母和教师报告的犯罪、攻击性行为、内向化、外向化型行为明显相关^[9]。另有人对 78 名接触铅的工人进行研究发现, 胫骨铅水平与肌酐清除率呈正相关, 提示接触铅与肾的

蛋白质滤过增加有关^[10]。

ALAD 基因在骨铅的蓄积和骨铅与神经毒性方面发挥作用。Smith 用 X 线荧光照射法发现 *ALAD1* 基因型个体的胫-腓骨铅含量明显低于 *ALAD2* 型个体。研究认为 *ALAD1* 型个体骨皮层对铅的吸收增加^[7]。Schwartz 对韩国 798 名铅作业工人和 1350 名正常对照工人的 *ALAD* 基因多态性与血铅水平、髌骨铅水平及二巯基丁二酸(DMSA)结合铅水平进行研究, 发现 *ALAD2* 型个体的血铅水平、可络合铅水平、骨铅水平都很高, 认为 *ALAD* 基因多态性影响铅在骨中贮存的动力学^[11]。

Schwartz 对 57 名电池厂工人进行驱铅试验, 口服 DMSA (5 mg/kg) 4 h, *ALAD1* 型个体尿铅值 ($92.9 \mu\text{g/L}$) 远高于 *ALAD2* 型个体 ($70.3 \mu\text{g/L}$), 而且 *ALAD1* 型个体血中 ALA 含量较高。结果提示 *ALAD1* 型个体因血中 ALA 的含量增高, 可导致神经毒性^[12]。随后, Schwartz 对 535 名铅作业工人进行了 4 年的纵向研究, 结果发现 *ALAD1* 型个体神经行为测验评分逐年下降, 特别表现在学习和记忆力方面。认知功能的下降与骨铅水平之间存在剂量关系。接触铅人群胫骨铅含量峰值每增加 $15.7 \mu\text{g/g}$, 其早认识功能下降相当于正常人群基线年龄增加 5 岁的下降程度。研究提示, 基因变异介导的体内铅负荷增高易导致 *ALAD* 型个体对铅的神经毒效应产生差异^[13]。研究还表明, 在接触高浓度铅的情况下, *ALAD2* 型个体的血铅值升高, 血 ALA 含量下降和骨皮层中铅含量增加, 总之, *ALAD* 基因多态性可影响铅在血液和骨中的代谢动力学。但从目前的研究来看, 很难确定哪一种基因型个体对铅毒性更易感。

铅危害是目前需要重点解决的公共卫生问题, 对于高危人群的筛选和保护是防治铅危害的重要环节, 因此, 开展遗传学研究也是必不可少的。通过 *ALAD* 基因多态性与铅毒性易感性的研究, 为保护易感人群提供了参考。国内关于这方面的研究尚处于起步阶段, 而且研究多集中于职业人群的血液毒效应等方面, 有必要加强对非职业接触人群的研究, 亦即应对铅的基因损伤作用做更深入的探讨。

参考文献:

- [1] 赵金垣. 我国金属中毒研究的回顾和展望 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2003, 20 (5): 321-322.
- [2] 吕新芳, 吕京, 崔涛, 等. 中国维吾尔族和彝族人群 δ -氨基- γ -酮戊酸脱水酶基因多态性的分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2001, 19 (3): 203-211.
- [3] Baghurst PA, McMichael AJ, Wigg NR. Environmental exposure to lead and children's intelligence at the age of seven years: The port Pirie Cohort Study [J]. N Engl J Med, 1992, 275: 363-369.
- [4] Ziemsen B, Angerer J, Lebert G, et al. Polymorphism of δ -aminolevulinic acid dehydratase in lead-exposed workers [J]. Int Arch Occup Environ Health, 1986, 58: 245-247.
- [5] Astrin KH, Bishop DF, Wetmur JG, et al. δ -aminolevulinic acid dehydratase isozymes and lead toxicity [J]. Ann N Y Acad Sci, 1987, 514: 23-29.
- [6] Schwartz BS, Lee BK, Stuart W, et al. Associations of subtypes of hemoglobin with aminolevulinic acid dehydratase genotype and dimercaptosuccinic acid-chelatable lead levels [J]. Arch Environ Health, 1997, 52: 97-103.

(下转第 187 页)

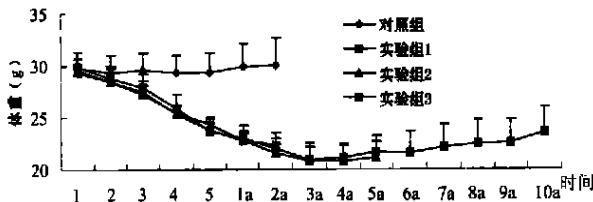
2.1.2 不同剂量顺铂对肾组织的损伤 实验组小鼠的肾系数及 BUN 水平较对照组升高, 4.0 mg/kg 顺铂剂量组的肾系数与对照组比较差异显著; 3.5 和 4.0 mg/kg 顺铂剂量组的血 BUN 水平与对照组比较差异有非常显著意义。见表 1。

表 1 不同剂量顺铂对小鼠肾脏系数、BUN 水平的影响

分组	染毒剂量 (mg/kg)	n	肾脏系数 (%)	BUN (mmol/L)
对照组	0	10	1.323±0.124	206.41±20.60
实验组 1	2.0	10	1.368±0.015	214.28±17.92
实验组 2	3.0	10	1.482±0.115	274.55±33.74
实验组 3	3.5	10	1.450±0.162	570.98±172.06 **
实验组 4	4.0	10	1.715±0.193 **	836.16±136.56 **

2.2 停药后不同时间顺铂毒性损伤的转归

2.2.1 各组小鼠体重的变化 图 2 表明, 各实验组小鼠的平均体重在停药后的第 3 d 达到最低值, 随后体重缓慢回升。



注: 1~5——给药时间; 1a~10a——停药后时间

图 2 停药后不同时间各组小鼠体重变化曲线

2.2.2 各组小鼠肾损伤指标的变化 表 2 表明, 各实验组的肾系数、BUN 水平均较对照组升高, 且差异有显著性。停药后 10 d 组的血 BUN 水平较停药后 2 d 组降低, 差异有显著意义。

表 2 顺铂停药后不同时间小鼠肾脏系数、BUN 水平的变化

分组	停药天数	n	肾脏系数 (%)	BUN (mmol/L)
对照组		10	1.293±0.088	188.09±20.32
实验组 1	10	8	1.421±0.079 **	348.88±33.09 ** △△
实验组 2	5	8	1.501±0.047 **	403.33±39.10 **
实验组 3	2	10	1.481±0.120 *	436.71±49.83 **

与对照组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 实验组 1 与实验组 3 比较 △△ $P < 0.01$ 。

3 讨论

目前, 在顺铂毒性的研究中, 常采用一次性大剂量的给药方式, 给药剂量可达到 10~20 mg/kg, 而临床多采取连用

5 d 后间歇一段时间的给药方式。为了研究顺铂对听力的损伤, 多采用豚鼠和大鼠为实验对象。给药方式和动物种属的不同, 影响了不同实验结果间的对比分析, 豚鼠和大鼠的饲养和管理成本较高, 不利于需要大样本动物的实验研究。

本研究结果表明, 顺铂对小鼠肾脏具有明显的毒性作用。腹腔注射 3.5 mg/kg 顺铂就可引起明显毒性反应; 连续 5 d 给药后, 肾损伤在停药后的第 2~5 天较严重。小鼠体重变化也表明, 停药后第 3~4 天的体重降到最低, 并出现个别小鼠死亡。此后逐渐恢复进食, 体重也有缓慢增长。因此, 在采用小鼠进行顺铂毒性的防治研究时, 选择 3.0~4.0 mg/kg 的染毒剂量, 于停药后的 2~3 d 进行观察评价是较为适宜的。顺铂引起的消化道反应常使小鼠无法进食, 可能是导致小鼠体重下降的主要原因。

参考文献:

- [1] Robson H, Meyer S, Shalet SM, et al. Platinum agents in the treatment of osteosarcoma: efficacy of cisplatin vs. carboplatin in human osteosarcoma cell lines [J]. Med Pediatr Oncol, 2002, 39: 573-580.
- [2] Parlakpinar H, Sahra E, Ozer MK, et al. Physiological and pharmacological concentrations of melatonin protect against cisplatin-induced acute renal injury [J]. J Pineal Res, 2002, 33: 161-166.
- [3] Sato S, Yamate J, Saito T, et al. Protective effect of taurine against renal interstitial fibrosis of rats induced by cisplatin [J]. Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol, 2002, 365: 277-283.
- [4] Leonetti C, Biroccio A, Gabellini C, et al. Alpha-tocopherol protects against cisplatin-induced toxicity without interfering with antitumor efficacy [J]. Int J Cancer, 2003, 104: 243-250.
- [5] Townsend DM, Hangan MH. Inhibition of gamma-glutamyl transpeptidase or cysteine S-conjugate beta-lyase activity blocks the nephrotoxicity of cisplatin in mice [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2002, 300: 142-148.
- [6] Townsend DM, Deng M, Zhang L, et al. Metabolism of cisplatin to a nephrotoxin in proximal tubule cells [J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14: 1-10.
- [7] Watanabe K, Inai S, Jimouchi K, et al. Nuclear factor kappa B (NF-kappa B)-inducible nitric oxide synthase (iNOS/NOS II) pathway damages the stria vascularis in cisplatin-treated mice [J]. Anticancer Res, 2002, 22: 4081-4085.
- [8] Ekholm A, Lindberg A, Laurell G, et al. Ototoxicity, nephrotoxicity and pharmacokinetics of cisplatin and its monohydrated complex in the guinea pig [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2003, 51: 36-42.
- [9] Schwartz B S, Lee B K, Stewart W, et al. Associations of delta-aminolevulinic acid dehydratase genotype with plant exposure duration, and blood lead and zinc protoporphyrin levels in Korean lead workers [J]. Am J Epidemiol, 1995, 142: 738-745.
- [10] Schwartz B S, Lee B K, Stewart W, et al. delta-aminolevulinic acid dehydratase genotype modifies four hour urinary lead excretion after oral administration of dimercapsuccinic acid [J]. Occup Environ Med, 1997, 54: 241-246.
- [11] Schwartz B S, Stewart W F, Bolla K L, et al. Past adult lead exposure is associated with longitudinal decline in cognitive function [J]. Neurology, 2000, 55: 1144-1150.

(上接第 180 页)

- [7] Smith CM, Wang X, Hu H, et al. A polymorphism in the delta-aminolevulinic acid dehydratase gene may modify the pharmacokinetics and toxicity of lead [J]. Environ Health Perspect, 1995, 103: 248-253.
- [8] 田琳. 体内骨铅含量测量的研究进展 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2002, 10 (5): 387-389.
- [9] Needleman H I, Riess J A, Tobin M J, et al. Bone lead levels and delinquent behavior [J]. JAMA, 1996, 275: 363-369.
- [10] Roels H, Lauwerys R, Konings J, et al. Renal function and hyperfiltration capacity in smelter workers with high bone lead [J]. Occup Environ Med, 1994, 51: 505-512.