

## 砷的分子毒理学研究进展 (续)

孟紫强

<sup>1</sup>山西大学生命科学系环境生物毒理学研究室 太原 030006

(续第 5 期 P326) 后修复<sup>(36,37)</sup>。他们还报道,亚砷酸钠对不能进行复制后修复的大肠杆菌菌株 Rec A 突变株(WP10 Rec A<sup>-</sup>) UV 照射后的存活率无影响,这也肯定了砷对大肠杆菌依赖 Rec A 的 DNA 复制后修复有抑制作用。

UV 照射对大肠杆菌突变的诱发,依赖于 rec<sup>+</sup> 和 Lex<sup>+</sup> 基因,亚砷酸钠能降低 UV 对含有这些基因的大肠杆菌菌株 WWP2 突变的诱发<sup>(37)</sup>。其机理是: E. Coli 一半乳糖苷酶的诱导和 RNA 的合成对亚砷酸钠特别敏感,由于大肠杆菌 DNA 的错误修复是一个诱导的修复过程,亚砷酸钠对酶诱导和 mRNA 合成的抑制,也抑制了 UV 照射后 DNA 错误修复系统的诱导,从而减少了突变的发生<sup>(37)</sup>。

### 3.2.2 砷对人类细胞 DNA 修复的影响

DNA 修复途径有多种,其中“暗修复”是不依赖光能的由几个酶促反应步骤组成的修复系统。该系统可对 DNA 单链断裂和嘧啶二聚体损伤进行修复。Jung 等研究了砷对人体表皮组织 DNA 损伤“暗修复”的影响<sup>(38)</sup>。首先将 20—30 岁健康男性表皮组织(厚 0.2~0.3mm)切成 2×2mm 的小块,在含有 10<sup>-5</sup> 或 10<sup>-6</sup>M 砷酸钠的培养液中,37℃ 下培养 1h 或 4h。然后,用无过滤的氙光灯照射(2.24×10<sup>9</sup> 尔格/cm<sup>2</sup>),使 DNA 受到损伤,再用 10μCi/ml 的<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷,37℃ 下标记 4h。最后,按常规方法用福尔马林进行组织固定、切片、染色和放射自显影,对 DNA 修复活性进行分析。结果指出,UV 诱发的非预定性 DNA 合成(UDS)被砷酸钠所抑制,表明砷对人体表皮组织细胞受 UV 照射引进的 DNA 损伤的修复活性有抑制作用。

Okui 等对三价砷(三氧化二砷)和五价砷(砷酸钠)在正常人成纤维细胞和着色性干皮病(XP)成纤维细胞经 UV 照射以后 DNA 修复中的效应进行了研究<sup>(39)</sup>。结果表明,三氧化二砷能抑制 DNA 中胸腺嘧啶二聚体的剪切,因此也抑制了 UDS。三价砷也能促

进 UV 照射对具有剪切修复能力的正常成纤维细胞和 XP 突变细胞的杀伤作用,且有剂量依赖关系;但它不能促进 UV 对缺乏剪切修复的 XP 组 A 细胞的杀伤作用。在对 DNA 修复的抑制作用中,三价砷比五价砷的作用更大。最近的研究发现,砷化合物,尤其是三价砷化合物,能与有关 DNA 修复酶的巯基结合,使该酶活性降低,导致 DNA 修复作用的抑制。

### 4 砷对免疫功能的影响

有些微量元素化合物可作用于机体的免疫系统,影响免疫功能。如果引起的免疫反应强度属于正常范围,一般情况下机体能恢复内在平衡,不引起明显的组织损伤和机能障碍。如果免疫反应强度和后果超过正常生理范畴,造成异常的免疫反应,称超敏反应,又称变态反应。有的可引起机体体液或细胞免疫反应降低,有的可直接作用于免疫系统的细胞,引起细胞毒性。

研究指出,砷化合物在较高浓度下能抑制人血淋巴细胞的有丝分裂,甚至引起细胞死亡<sup>(40,41)</sup>。表明砷能引起细胞毒性变态反应。

砷化合物还可引起肾细胞及其蛋白质的改变,引起免疫复合物型或血管炎型变态反应,造成过敏性肾病综合征。无机的和有机的砷化合物还可引起迟发型变态反应,导致皮肤病发生。

最近的研究发现<sup>(6,7)</sup>,亚砷酸钠和砷酸钠在较低浓度下可刺激人血淋巴细胞转化,在较高浓度下则抑制其转化,呈双相性作用。砷对人血淋巴细胞转化的诱导作用比 PHA 需要更长的时间,且效应也比 PHA 弱。淋巴细胞与砷连续接触 3 天以后,其细胞转化开始被砷诱发;连续接触 6 天以后,转化过程受砷的刺激作用达到最大。PHA 对淋巴细胞转化的诱导迅速,其诱导效应到第三天即达到最大。抗原对淋巴细胞转化的诱导所需时间也较长,一般需 6 天,诱导也较弱。砷对淋巴细胞转化的诱导,在作用时间和方式

上与抗原的作用相似。但是,砷的作用与抗原又有不同,抗原需预先对个体致敏,是特异的;而砷的作用不是特异的,不需要预先致敏。研究还发现,三价砷比五价砷对人血淋巴细胞转化的诱导作用强<sup>(6,7)</sup>。砷诱导淋巴细胞转化的意义和机理,尚待研究。

### 5 砷是生物的必需微量元素吗?

砷与磷均为元素周期表第 V 主族元素,砷酸盐与磷酸盐性质相似。但是,磷酸盐是生物所必需的大量元素,而少量的砷酸盐就会引起生物的中毒反应。为什么生物对这两个化学性质相似的元素存在截然相反的反应?砷和磷都是大自然广泛分布的元素,在生物长期进化和演变的历程中,既然能把磷作为大量元素加以利用,成为生命不可缺少的元素;那么对于生物生存环境中的砷,我们设想,在生物进化的长河中也可能扮演着某种角色为生命所必需,只是生物对它的必需量极其微小,以至不为人所知。我们对砷的生物学还需深入细致地研究,从分子生物学水平加以探讨,才会全面地认识砷在生物进化、在生命过程中的复杂作用。我们在本文中仅对砷生物学作用的初步研究报道和需要进一步探讨的几个问题作一简介。

#### 5.1 砷脂是生物所必需的吗?

由于砷酸与磷酸的相似性,砷酸能取代磷酸参与许多生化反应,以至引起生物中毒。例如,砷酸对氧化磷酸化的解偶联作用,取代磷酸参与 DNA 分子等。但是,研究也发现,砷能像磷生成磷脂那样生成砷脂。在海洋生物中已经发现不同种类的砷脂,例如砷胆碱、砷酸三甲铵内脂等;在高等动物中也存在有具有磷胆碱功能的砷胆碱。

砷脂有无生命过程所必需的特殊功能、它对细胞结构的完整性是否必需等问题,值得深入研究,这将为阐明砷是否为生命所必需的问题提供依据。

#### 5.2 “砷酶”存在吗?

有人报告,大鼠缺砷时,一些磷脂生物合成酶,如磷脂酰乙醇胺甲基转移酶、磷脂酶二甲基乙醇胺甲基转移酶、胆碱磷酸转移酶等酶活性降低。还有人报道,砷酸可促进依赖 ATP 的琥珀酸还原 NAD<sup>+</sup> 的反应,改变其反应动力学参数,并设想砷对有关该反应的酶可能有修饰作用,使酶活性提高、反应加快。

然而,砷是否参与构成酶的活性中心,或参与修饰酶蛋白,均没有直接的实验证据。因此,从分子水平探讨酶与砷的关系,了解是否在体内像存在着一些金属酶那样也存在着“砷酶”,将为解决砷是否为生物的必需微量元素问题提供有力证据。

### 5.3 砷影响物质代谢的机制是什么?

研究指出,缺砷能影响小鸡蛋蛋白质的氨基酸代谢,使小鸡血清中尿素水平改变、精氨酸含量降低,半胱氨酸、谷氨酸、甘氨酸和组氨酸水平提高。缺砷还可使大鼠肝中蛋白质水平下降。砷还能刺激粘膜和肝中谷胱甘肽的合成。最近研究发现,极低浓度的砷可刺激人血淋巴细胞 DNA、RNA 和蛋白质的合成<sup>(5-7)</sup>。

这些研究结果表明,砷能影响生物大分子的合成和分解,但其作用机制尚不清楚,为了确证砷是否为生命所必需,从分子水平研究砷在物质代谢中的作用机制,无疑是必需的。

### 参考文献

1. Nakamuro K, Sayato. Comparative studies of chromosomal aberration induced by trivalent and pentavalent arsenic. *Mutat Res*, 1981; 88: 73
2. Sibatani A. In vitro incorporation of <sup>32</sup>P into nucleic acids of lymphatic cells: Effects of X-irradiation and some other agents. *Exp Cell Res*, 1959; 17: 131
3. Petres J, Baron D, Hagedorn M. Effects of arsenic on cell metabolism and cell proliferation: Cytogenetic and biochemical studies. *Environ Health Perspect*, 1977; 19: 223
4. Baron D, M Hagedorn. Further in vitro studies on the biochemistry of the inhibition of nucleic acid and protein synthesis induced by arsenic. *Arch Derm Res*, 1975; 253: 15
5. Meng ZQ. Effects of arsenic on DNA synthesis in human lymphocytes stimulated by phytohemagglutinin. *Biol Trace Elem Res*, 1993; 39: 73
6. Meng ZQ, Meng NY. Effects of inorganic arsenicals on DNA synthesis in sensitized human blood lymphocytes in vitro. *Biol Trace Elem Res*, 1994; 42: 201
7. 孟紫强. 砷对人血淋巴细胞转化和 DNA 合成的效应. *中国环境科学*, 1994; 14: 134
8. Sirovir MA, Loeb LA. Metal-induced infidelity during DNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976; 73: 2331
9. Tkeshelashvili TK, Shearman CW, Zakour RA, et al. Effects of arsenic, selenium, and chromium on the fidelity of DNA synthesis. *Cancer Res*, 1980; 40: 2455
10. Li W, TN Chou. Effects of sodium arsenite on the cytoskeleton and cellular glutathione levels in cultured cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1992; 114: 132
11. Kreppel H, Liu J, Liu Y, et al. Zinc-induced arsenite tolerance in mice. *Fundam Appl Toxicol*, 1994; 23: 32
12. Kreppel H, Bauman JN, Liu J, et al. Induction of metallothionein by arsenicals in mice. *Fundam Appl Toxicol*, 1993;

- 20:184
13. Aoki Y, Lipski MM, Fowler BA. Alteration in protein synthesis in primary cultures of rat kidney proximal tubule epithelial cells by exposure to Gallium, Indium, and arsenite. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1990;106:462
  14. Klemperer NS, Pickart CM. Arsenite inhibits two steps in the ubiquitin - dependent proteolytic pathway. *J Biol Chem*, 1989;264:19245
  15. Johnston D, Opperman H, Jackson J, et al. Induction of four proteins in chick embryo cells by sodium arsenite. *J Biol Chem*, 1980;255:6975
  16. Levinson W, Oppermann H, Jackson J. Transition series metals and sulfhydryl reagents induce the synthesis of four proteins in eukaryotic cells. *Biochem Biophys Acta*, 1980;606:170
  17. Li GC. Induction of thermotolerance and enhanced heat shock protein synthesis in Chinese hamster fibroblasts by sodium arsenite and by ethanol. *J Cell Physiol*, 1983;115:116
  18. Caltabiano MM, Koestler TP, Poste G, et al. Induction of 32 - and 34 - kDa stress by sodium arsenite, heavy metals, and thiolreactive agents. *J Biol Chem*, 1986;261:13381
  19. Muramatsu T, Tada H, Kobayashi N, et al. Induction of the 72 - kD heat shock protein in organ cultured normal human skin. *J Invest Dermatol*, 1992;98:786
  20. Van - Wijk R, Welters M, Souren JE, et al. Serum - stimulated cell cycle progression and stress protein synthesis in C3H10T1/2 fibroblasts treated with sodium arsenite. *J Cell Physiol*, 1993;155:265
  21. Kampinga HH, Brunsting JF, Konings AW. Acquisition of thermotolerance induced by heat and arsenite in HeLa cells: Multiple pathways to induce tolerance? *J Cell Physiol*, 1992;150:406
  22. Kothary RK, Candido EPM. Induction of a novel set of polypeptides by heat shock or sodium arsenite in cultured cells of rainbow trout, *Salmo gairdnerii*. *Can J Biochem*, 1982;60:347
  23. Kim YJ, Shuman J, Sette M, et al. Arsenate induces stress proteins in cultured rat myoblasts. *J Cell Biol*, 1963;96:393
  24. Beker JC, Jacobson MK. Alteration of adenyl dinucleotide metabolism by environmental stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986;83:2350
  25. Lee T, Tanaka N, Lamb PW, et al. Induction of gene amplification by arsenic. *Science*, 1988;241:79
  26. Hartmann A, Speit G. Comparative investigations of the genotoxic effects of metals in the single cell gel (SCG) assay and the sister chromatid exchange (SCE) test. *Environ Mol Mutagen*, 1994;23:299
  27. Fong K, Lee F, Bockrath R. Effects of sodium arsenite on single - strand DNA break formation and post - replication repair in *E. coli* following UV irradiation. *Mutat Res*, 1980;70:151
  28. Lee - Chen SF, Gurr JR, Lin IB, et al. Arsenite enhances DNA double strand breaks and cell killing of methyl methanesulfonate - treated cells by inhibiting the excision of alkali - labile sites. *Mutat Res*, 1993;294:21
  29. Fornace AJ Jr, Little JB. DNA - protein cross - linking by chemical carcinogens in mammalian cells. *Cancer Res*, 1979;39:704
  30. Mclean JR, McWilliams RS, Kaplan JG, et al. Rapid detection of DNA strand breaks in human peripheral blood cells and animal organs following treatment with physical and chemical agents. *Prog Mutat Res*, 1982;3:137
  31. Costa M, Zhitkovich A, Cargas M, et al. Interlaboratory validation of a new assay for DNA - protein crosslinks. *Mutat Res*, 1996;369:13
  32. Dong JT. Effects of arsenic on DNA damage and repair in human fetal lung fibroblasts. *Mutat Res*, 1994;315:11
  33. Dong JT, Luo XM. Arsenic - induced DNA - strand breaks associated with DNA - protein crosslinks in human fetal lung fibroblasts. *Mutat Res*, 1993;302:97
  34. Rudel R, Layton S, Beck BD. Implication of arsenic genotoxicity for dose response of carcinogenic effects. *Regul Toxicol Pharmacol*, 1996;23:87
  35. Lee - Chen SF, Yu CT, Jan KY. Effect of arsenite on the DNA repair of UV - irradiated Chinese hamster ovary cells. *Mutagenesis*, 1992;7:51
  36. Rossman TG, Meyn MS, Troll W. Effects of sodium arsenite on the survival of UV - irradiated *E. coli*: Inhibition of RecA - dependent function. *Mutat Res*, 1975;30:157
  37. Rossman TG, Meyn MS, Troll W. Effects of arsenic on DNA repair in *E. coli*. *Environ Health Perspect*, 1977;19:229
  38. Jung EG, Tracksel B, Immich H. Arsenic as an inhibitor of the enzymes concerned in cellular recovery (dark repair). *Germ Med Mth*, 1969;14:614
  39. Okui T, Fujiwara Y. Inhibition of human excision DNA repair by inorganic arsenic and the co - mutagenic effect in V79 Chinese hamster cells. *Mutat Res*, 1986;172:69
  40. Meng ZQ. Effects of arsenic on DNA synthesis in human lymphocytes, in *Arsenic in the Environment*, Part 11: Human Health and Ecosystem Effects (ed. Nriagu JO). John Wiley & Sons, Inc., 1994:133 - 143
  41. Meng ZQ, Hsie AW. Polymerase chain reaction - based deletion analysis of spontaneous and arsenite - enhanced *gpt* mutants in CHO - AS52 cells. *Mutat Res*, 1996;356:255