

重金属诱导细胞钙超载致细胞凋亡的分子机制研究进展

肖元元¹, 尹晓晨², 曾明¹

1. 中南大学湘雅公共卫生学院卫生毒理学系, 湖南 长沙 410078; 2. 湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

摘要: 环境重金属污染问题日益严重, 其中主要原因是工业“三废”任意排放造成的。环境中的镉(cadmium, Cd)、铬(chromium, Cr)、汞(mercury, Hg)、铅(lead, Pb)、砷(arsenic, As)等重金属均可以离子形式通过多种途径进入细胞并引起胞浆内的 Ca^{2+} 浓度持续升高使细胞发生钙超载, 最终诱导细胞凋亡并对体内重要器官造成严重的毒性作用。其机制可能与细胞膜结构与功能的破坏、线粒体损伤和内质网应激的发生、 Ca^{2+} 依赖酶的激活、ROS 的过度生成、Bcl-2 及 Caspases 家族蛋白的改变等有关。本文对重金属诱导细胞钙超载致细胞凋亡的分子机制予以综述, 为重金属毒性作用及其机制的研究提供参考。

关键词: 重金属; 钙超载; 细胞凋亡; 分子机制

中图分类号: R114 **文献标志码:** A **文章编号:** 1006-3110(2020)02-0252-06 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.02.036

Research advance on molecular mechanism of apoptosis induced by heavy metal-associated calcium overload

XIAO Yuan-yuan¹, YIN Xiao-chen², ZENG Ming¹

1. Department of Health Toxicology, Xiangya School of Public Health, Central South University, Changsha, Hunan 410078, China;

2. Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Corresponding author: ZENG Ming, E-mail: zengming@csu.edu.cn

Abstract: The pollution of heavy metals in the environment is becoming more and more serious, and the main reason is the arbitrary discharge of industrial three wastes. Heavy metals such as cadmium (Cd), chromium (Cr), mercury (Hg), lead (Pb) and arsenic (As) in the environment can enter cells in ionic form through a variety of ways, and result in continuously increase of Ca^{2+} concentration in cytoplasm and Ca^{2+} overload. Finally, they induce apoptosis and cause serious toxicity to important organs *in vivo*. The mechanisms may be related to the destruction of cell membrane structure and function, mitochondrial damage and endoplasmic reticulum stress, activation of Ca^{2+} -dependent enzymes, overexpression of reactive oxygen species, changes of Bcl-2 and Caspases family proteins. In this paper, we review the molecular mechanism of cell apoptosis induced by heavy metal-associated calcium overload and provide references for studying heavy metal-related toxicity and its mechanism.

Key words: heavy metal; calcium overload; apoptosis; molecular mechanism

重金属在工农业、化学等领域应用广泛, 随着“三废”的排放导致重金属对水、空气和土壤的污染严重, 由此能够直接或间接地对人体造成损害。重金属主要通过农作物的吸收和水生生物体内的蓄积在生物链各环节间转移、浓缩和积累, 最终威胁人类的健康, 表现出了一系列的急性、慢性中毒和远期效应^[1]。细胞凋亡(apoptosis)是重金属对肾脏、肝脏和神经系统等重

要器官组织造成毒性损害的主要作用机制, 细胞凋亡发生会影响机体器官组织正常代谢和功能, 严重者能引起癌变^[2]。环境中细胞凋亡的诱导因素包括物理、化学和生物等许多因素, 其中重金属作为典型诱导因子被人们较早认识^[3-4]。在常见重金属(Cd、Cr、Pb、Hg等)诱导细胞凋亡过程中, 都伴有胞内 Ca^{2+} 浓度的增加并引起细胞钙超载^[5-6]。

为了深入探究重金属致细胞钙超载并引起细胞凋亡的发生发展过程, 本文就近年来国内外关于重金属诱导钙超载致细胞凋亡的分子机制研究进展进行综述, 为多种重金属毒作用的研究以及重金属中毒的防治提供了依据。

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81673225) 课题项目: 湖南省研究生科研创新项目(编号: CX20190239)

作者简介: 肖元元(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 环境毒理学。

通信作者: 曾明, E-mail: zengming@csu.edu.cn。

1 细胞内钙稳态调节系统

正常机体在代谢过程中,细胞内和细胞外 Ca^{2+} 浓度之间存在相对稳定的梯度差(细胞内和细胞外 Ca^{2+} 浓度相差约 10 000 倍)。这种浓度梯度的维持有赖于细胞内的一系列转运机制来保证胞内处于低钙状态被称为钙稳态。细胞内钙稳态是维持正常细胞生命活动及 Ca^{2+} 发挥功能的基础。作为体内重要的第二信使, Ca^{2+} 可参与调节细胞分化、生长及增殖相关的信号通路,且体内很多疾病的发生和发展都与钙超载密切相关^[7]。外源性刺激可引起胞内 Ca^{2+} 浓度持续升高,使细胞处于钙超载状态,胞浆内增多的 Ca^{2+} 可促使 ROS 过量产生而引起膜脂质过氧化,破坏细胞膜及线粒体的结构与功能,激活内源性核酸酶等多种酶,引起核 DNA 降解而诱导凋亡发生,最终导致细胞、组织和器官损伤及功能障碍^[8-9]。

细胞钙稳态的调节因素主要包括细胞膜钙通道、胞质膜 Ca^{2+} 泵与 Na^{+} - Ca^{2+} 交换系统、 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶和 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶、细胞内钙库、钙调素(calmodulin, CaM)、钙池操纵性钙通道(store-operated calcium channel, SOCC)。

①细胞膜钙通道:细胞膜钙通道是一种大量存在于机体各种组织和细胞中的跨膜糖蛋白,包括受体操纵性钙通道(receptor-operated calcium channel, ROCC)和电压依赖性钙通道(voltage-dependent calcium channel, VDCC),胞内 Ca^{2+} 聚集主要通过这两种通道和胞内钙库的释放来完成^[10]。

②胞质膜 Ca^{2+} 泵与 Na^{+} - Ca^{2+} 交换系统: Ca^{2+} 泵也称为 Ca^{2+} -ATPase,是一种膜蛋白酶,可维持细胞中低浓度的游离 Ca^{2+} 。 Na^{+} - Ca^{2+} 交换系统是一种存在于细胞膜的 Na^{+} - Ca^{2+} 转运蛋白,它与 Ca^{2+} 泵共同维持细胞静息状态时的低钙浓度^[11]。

③ Na^{+} - K^{+} -ATP 酶和 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶:这两种酶均为细胞膜蛋白酶,对维持细胞钙稳态平衡具有重要作用。细胞毒物进入细胞后可以引起 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶和 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶活力下降,进而导致维持细胞内外 Ca^{2+} 平衡的能力降低,细胞内游离的 Ca^{2+} 浓度增加^[12]。

④细胞内钙库:它对胞内 Ca^{2+} 起到缓冲和储存作用,主要有线粒体钙库和内质网/肌浆网(endoplasmic reticulum/sarcoplasmic reticulum, ER/SR)钙库。ER/SR 可进一步分为 IP_3 钙库和 Rya 钙库, IP_3 是一种第二信使,是位于内质网膜上的 Ca^{2+} 释放通道,当 IP_3 与 IP_3R 结合时 Ca^{2+} 从内质网中释放出来。 IP_3 型钙库和 Rya 型钙库都是既受 IP_3 门控又受 Ca^{2+} 浓度的调控^[13]。

⑤CaM:它是细胞内最主要且含量最多的钙结合蛋白,可以与 Ca^{2+} 结合控制 Ca^{2+} 的浓度来调节细胞功能,也是 Ca^{2+} 发挥第二信使作用的

传递物和重要途径^[14]。

⑥SOCC:是位于肝细胞膜上的钙通道,SOCC 的组成蛋白有基质相互作用分子 1(recombinant stromal interaction molecule, STIM1)与 Orail,可控制非兴奋细胞胞外的 Ca^{2+} 内流^[15]。

2 重金属诱导细胞钙超载致细胞凋亡的分子机制

2.1 细胞膜结构与功能的破坏 细胞膜是某些重金属发挥毒作用的靶部位,胞膜的结构与功能一旦被破坏就会严重影响细胞的功能和活性。二价重金属毒物由于与 Ca^{2+} 具有类似或相同的原子半径,能够在线粒体、质膜或微粒体膜的 Ca^{2+} 结合部位上部分或完全地取代 Ca^{2+} ,最终导致胞内钙超载^[9]。进入细胞的 Cd^{2+} 首先与 Ca^{2+} 竞争性结合 Ca^{2+} -ATPase,导致 Ca^{2+} -ATPase 活性降低, Ca^{2+} 外流受阻,胞内 Ca^{2+} 升高^[16]; Cd^{2+} 还可以取代 Ca^{2+} 与 CaM 结合,从而干扰细胞内与 Ca^{2+} 有关的信号转导通路^[17]。这两种情况均会引起钙超载并破坏胞膜的结构与功能。 Cd^{2+} 能够结合胞膜上的受体或蛋白,破坏胞膜的稳定性,影响胞膜对信号的传递功能;其进入细胞后竞争性的结合于微管、微丝、肌动蛋白上的 Ca^{2+} 位点,细胞骨架完整性被破坏,直接影响细胞功能的发挥^[18],在线粒体内膜或细胞膜上直接竞争或取代 Ca^{2+} ,使得磷酸化的物质脱磷,膜磷脂分解,胞膜受到破坏^[19]。林秀武等^[20]发现甲基汞能够引起神经细胞间突触体中的 Ca^{2+} 浓度明显上升,增加膜通透性,大量的 Ca^{2+} 在神经-肌肉接头处发挥作用,导致神经末梢不可逆的去极化,细胞的结构与功能受到破坏甚至凋亡。肖银霞等^[21]通过体外和体内实验证实浓度高于或低于正常水平的锌(zinc, Zn)都将抑制红细胞膜上 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶的活性,进而造成钙超载和细胞损伤。

2.2 线粒体损伤和内质网应激 线粒体、内质网和细胞外基质等共同维持着细胞内的钙稳态,某些重金属离子进入细胞并作用线粒体或内质网时,可导致线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)降低、通透性转运孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)开放、线粒体肿胀及内质网应激等现象发生。大约 80% 细胞内 Ca^{2+} 贮存在线粒体、内质网及肌浆网的钙库中,一旦线粒体和内质网结构功能破坏,将会导致 Ca^{2+} 的大量外流和细胞凋亡。

线粒体是进入细胞的大多数金属离子发挥毒性作用的靶器官。Pathak 等^[22]发现, Cd^{2+} 会引起细胞基质的超微结构和线粒体嵴结构的破坏并释放细胞色素 C(cytochrome-c, Cyt c)和细胞凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF),进而引起 caspase 依赖性的凋亡。

某些重金属离子进入细胞后破坏线粒体结构是由于其首先诱导细胞内活性氧(ROS)水平的明显增加并导致 MPTP 开放,MPTP 是位于线粒体膜上的蛋白通道,其在细胞存活和凋亡过程中有关键的作用^[23]。当 MPTP 开放时,大量的 Ca^{2+} 由线粒体中的钙库释放出来,这导致细胞中钙超载,最终通过 caspase 依赖性或非依赖性的途径诱导凋亡^[24]。研究显示,甲基汞可引起神经细胞线粒体发生钙超载,线粒体膜电位降低,释放促凋亡相关因子,最终导致下游线粒体凋亡途径被激活^[25]。用 Cr(VI) 处理 L-02 肝细胞时,随着 Cr(VI) 处理浓度的增加,MPTP 开放程度也随之升高,线粒体被破坏导致细胞凋亡^[24]。 Cd^{2+} 和巯基(-SH)的亲合力很高, Cd^{2+} 能与线粒体膜上的-SH 相结合,由 Cd^{2+} 引起的线粒体膜通透性改变的主要原因是使两个相邻的还原性-SH 形成共价二硫键^[26]。As 发挥主要作用的主要靶部位就是线粒体,能够引起 MMP 消失,线粒体内膜结构改变及通透性增加,随后 Ca^{2+} 过度释放导致钙超载,且 Cyt c 释放入胞质中最终引起凋亡^[27]。线粒体结构和功能的维持也取决于钙稳态相关酶 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$ 酶的作用,这两者活性降低会破坏线粒体膜内外离子浓度的平衡和线粒体跨膜离子转运功能,导致线粒体氧化磷酸化抑制,ATP 合成减少细胞能量不足,最终导致细胞代谢出现障碍甚至发生凋亡。甲基汞能够抑制 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性,破坏神经细胞内的钙稳态,导致神经细胞凋亡^[28]。

内质网(endoplasmic reticulum,ER)通过控制脂质代谢、钙的储存和蛋白质的积累参与细胞的多种功能。应激状态下内质网环境被破坏,蛋白质的生成受阻、钙稳态失衡,导致错误折叠的蛋白积累和未折叠的蛋白聚集这一特征性应激反应称为内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)^[29],未折叠和错误折叠的蛋白质聚集对细胞均有毒性作用,能够导致细胞凋亡。Liu 等^[30]证实, Cd^{2+} 进入猪肾近曲小管上皮细胞后,会引起细胞内非正常折叠的蛋白聚集和钙库的消耗直至耗尽,ERS 随即发生,最终导致细胞受损。Hechtenberg 等^[31]证实 Pb^{2+} 能抑制 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$ 酶,从而破坏了 Ca^{2+} 介导的蛋白质在折叠过程中的磷酸化和 ER 钙稳态,导致 ERS 发生。此外, Cr(VI) 处理肝细胞后可引起 IP3R 表达明显增加,内质网钙库的 Ca^{2+} 经 IP3R 释放以及与之相关的 SOCC 激活引起胞外 Ca^{2+} 内流, Ca^{2+} 聚集在胞浆中最终发生钙超载和细胞损伤^[32]。

2.3 酶的激活 重金属进入细胞后能通过激活不同类型的酶来诱导细胞凋亡的发生,如:内源性核酸内切

酶、蛋白激酶 C 及钙调神经磷酸酶,它们都是 Ca^{2+} 依赖酶,即细胞内 Ca^{2+} 浓度大幅增加时,这些酶会被激活并发挥作用。除了该机制外,重金属进入细胞后形成金属硫蛋白进而激活凋亡相关的酶或重金属离子与酶结合导致酶的构象改变也会诱导细胞凋亡,铅暴露引起的视网膜磷酸二酯酶活性降低使得胞内 Ca^{2+} 浓度不断升高导致视杆细胞凋亡^[33]。

2.3.1 激活内源性核酸内切酶 在正常细胞中,内源性核酸内切酶的作用是当 DNA 损伤发生时能将链上错误的核苷酸水解出来;在凋亡细胞中,该酶被激活,导致染色质发生不可逆损伤。Butler 等^[34]研究表明, Cd^{2+} 诱导细胞凋亡的途径之一是通过金属硫蛋白(Cd-MT)激活核酸内切酶导致 DNA 片段化。赵兰等^[35]认为镧离子(La^{3+})进入体内会与 Ca^{2+} 结合位点竞争性相结合并进入细胞,导致细胞内钙库释放大量的 Ca^{2+} ,相关核酸内切酶的激活会切割 DNA,从而诱导细胞发生凋亡。王莉等^[36]证实 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ 依赖的内源性核酸内切酶被激活的主要原因是细胞核中 Ca^{2+} 浓度的增加,酶活性的异常增加能使染色质 DNA 在核小体间断裂成片段,最终导致细胞凋亡。

2.3.2 激活蛋白激酶 C(protein kinase C,PKC) 细胞凋亡中重要的信号转导通路之一就是 PKC 信号通路,重金属进入机体后引起胞内的 Ca^{2+} 浓度上升,从而激活 PKC,被激活的 PKC 能通过多种途径引起细胞凋亡。Schanne 等^[37]发现用 1 mmol/L 和 5 mmol/L 的 Pb^{2+} 处理成骨细胞时,胞内钙离子从 125 nmol/L 分别上升到 170 nmol/L 和 230 nmol/L,PKC 抑制剂的使用可以显著抑制 Pb^{2+} 诱导的细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,结果提示胞外的 Pb^{2+} 取代 Ca^{2+} 经钙通道进入胞内,激活的 PKC 作用于线粒体、内质网的钙通道,导致 Ca^{2+} 浓度升高并进入胞质中引起钙超载及细胞凋亡。

2.3.3 激活钙调神经磷酸酶(calcineurin,CN) CN 是一种受 Ca^{2+} 和 CaM 调节的酶。CN 抑制剂环孢霉素 A 可有效阻止细胞凋亡,由此可知 CN 在细胞凋亡调控中起着关键作用^[38]。重金属引起的 Ca^{2+} 浓度增加是 CN 活化的原因之一,激活后的 CN 作用于线粒体上游的早期凋亡阶段,导致细胞凋亡。向本琼等^[39]发现在 CN 上存在 Mn^{2+} 的结合位点,二者结合后可改变酶的构象而诱导细胞凋亡。一项体外研究证实,CN 被激活后能够使促凋亡蛋白 Bad 发生去磷酸化并从抑制蛋白 14-3-3 蛋白解离,然后转移到线粒体并激发 Cyt C 的释放^[40]。CN 被活化后导致基因转录的改变也被认为是调控凋亡的机制之一^[41]。研究认为,丝氨酸/苏氨酸的过磷酸化被认为是 Pb 引起神经细胞损害的主要

机制, CN 的活化和过度表达可能破坏神经细胞的骨架结构, 并导致脂质过氧化进而引起凋亡^[42]。

2.4 ROS 的过度生成 ROS 是引起细胞氧化损伤的主要因素, 正常情况下, 适量的 ROS 能够促进细胞的增殖, 参与酶的调控和炎症免疫等过程。但当外界因素刺激细胞并引起 ROS 过量积累时, 会引起线粒体结构功能损伤, 甚至导致 DNA 的破坏及细胞凋亡。过量的 ROS 能诱导 MPTP 开放, 线粒体外膜被破坏使得大量 Ca^{2+} 从膜间腔中释放出来, 破坏了线粒体膜内外浓度差平衡, 造成线粒体肿胀甚至裂解, 进而导致 ATP 合成减少加剧了 ROS 升高, 细胞内 ROS 的过量堆积和钙超载的发生都是细胞凋亡过程中的重要因素, 二者之间存在着互相促进的关系^[43]。Jazvinscak 等^[44]的实验证实 Cu^{2+} 能催化氧化反应, 引起 ROS 过量产生, 抑制 GSH 还原酶的活性, 由于 GSH 是 CaM 和 Ca^{2+} 结合时所必需的物质, GSH 被氧化后 Ca^{2+} 与 CaM 的结合减少, 钙超载导致细胞正常功能受到影响。谢颖等^[45]通过用不同浓度的 Cr(VI) 处理肝 L-02 细胞并加入抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸(NAC) 干预后发现, NAC 可以消除线粒体产生的过量 ROS, 减少 Cr(VI) 引起的 Ca^{2+} 浓度增加, 保护肝细胞膜上的钙通道, 可以显著抑制线粒体相关的细胞凋亡。

2.5 B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族蛋白的改变 Bcl-2 家族蛋白包括促凋亡和抗凋亡蛋白两类。抗凋亡蛋白包括 Bcl-2 和其它 5 个相关蛋白 Bcl-xL, Bcl-W, A1, Mcl-1, Bcl-2L1, Bcl-2L2, 促凋亡蛋白包括 Bax, Bak, Bok, Bid 以及 Bad 等^[46]。Bcl-2 家族蛋白可间接调控凋亡的机制与改变应激时 Ca^{2+} 的释放速度和内质网的 Ca^{2+} 容量有关^[47]。Bcl-2 家族还能通过影响 PTP 开放来调节线粒体中 Ca^{2+} 浓度, 线粒体膜表面存在有 Bcl-2 家族 Bax 同型二聚体, 非磷酸化 Bad 可引起 Bax 的寡聚化, 导致线粒体中的钙超载和线粒体膜破坏, 引起 ATP 形成减少及下游 caspases 被激活、MMP 下降^[48]。Nutt 等^[49]认为 Bax 和 Bak 存在于内质网并参与 Ca^{2+} 从内质网到线粒体的转移, 调节二者之间的钙稳态。Lu 等^[50]发现, 在钴(Co^{2+}) 引起神经元细胞损伤的实验中, Bcl-2 和 Bax 的表达都有明显改变, 这是由于 Co^{2+} 增加 Bax 基因表达的同时抑制 Bcl-2 基因表达, Bcl-2/Bax 减小, 引起钙超载及细胞损伤。He 等^[51]发现, Pb^{2+} 能够诱导小鼠杆状光感受细胞发生凋亡, 此过程中 Bcl-2 家族成员的表达发生了改变, Bcl-xL 的表达高于正常值时, 除细胞内钙超载以外的凋亡事件都受到阻断。这表明在 Pb^{2+} 诱导的细胞毒性作用中, Bcl-xL 及其相关的钙稳态起到

了关键作用。由此可知, Bcl-2 家族对 Ca^{2+} 的调控在重金属致细胞凋亡中有重要意义。

2.6 Caspases 家族蛋白的改变 Caspases 是一组促凋亡的半胱氨酸蛋白酶, 包括 14 种(即 Caspase1 ~ Caspase14)。Caspases 可分为三种亚型, 其中 Caspase-2、Caspase-8、Caspase-9、Caspase-10 属于 I 型, 是细胞凋亡的始动者; Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7 属于 II 型, 是细胞凋亡的执行人; 其余的 7 种属于 III 型, 是炎症介质反应的调节者^[52]。正常生理状态下 Caspases 无活性, 当细胞凋亡时, 受到凋亡信号刺激的 IP3 可与内质网膜上的 Ca^{2+} 释放通道 IP3R 结合, 使 Ca^{2+} 从内质网中释放出来, 导致临近线粒体上的 PTP 孔开放, 释放 Cyt c 及 Apaf1(凋亡酶激活因子) 并引起 Caspases 的激活并导致细胞凋亡^[53]。Wang 等^[54-55]发现, Cd^{2+} 诱导肾小球系膜细胞凋亡是通过 Ca^{2+} -线粒体-Caspase 途径实现的, 采用 Ca^{2+} 抑制剂 BAPTA-AM 共处理细胞后发现凋亡率明显下降, 说明钙超载在 Caspase 依赖的凋亡途径中起到重要作用。 Cd^{2+} 可导致大鼠大脑皮质神经元、小鼠胸腺细胞钙超载, 从而激活 Caspase-9 和 Caspase-3, DNA 修复酶 PARP 被切割, 导致凋亡细胞明显增加^[56-57]。Wang 等^[58]研究发现, Pb 暴露会导致大鼠肾小管上皮细胞内 Ca^{2+} 升高, 进而影响内质网中蛋白质的正确折叠继而发生 ERS, 随后激活 caspase-12、Caspase-9、Caspase-3, 最终导致细胞程序性死亡。

3 结 语

钙稳态调节系统中任何一个环节受到影响都可能引起钙超载的发生, 而在重金属引起细胞凋亡的过程中钙超载是最重要的事件, 重金属离子通过引起钙超载而导致细胞凋亡的分子机制因重金属种类的不同而存在较大的区别。目前认为其机制主要与钙超载后发生的细胞膜、线粒体、内质网结构和功能障碍以及多种 Ca^{2+} 依赖酶的激活有关。同时, ROS 过量产生、Bcl-2 和 Caspases 家族蛋白改变等因素也起着关键作用。重金属致细胞毒性及其分子机制比较复杂, 目前相关研究仍不够完善, 对于今后的研究方向本文提出几点建议: (1) 在重金属诱导细胞凋亡过程中, 其他凋亡相关基因(如: P53、Fas) 也参与其中, 这些基因的激活是否也与钙超载相关还有待与进一步研究。(2) 对重金属的毒性研究应与实际情况结合, 环境中多数情况下生物体可能同时接触多种重金属, 或体内有多种重金属积累, 不同种类的重金属之间可能存在着相互作用进而影响其毒作用, 因此应注重对重金属间相互

作用及与其毒作用相互关系的研究。(3) 已知多数重金属对细胞有毒性作用,但也有少部分重金属具有诱导和拮抗细胞凋亡的双重作用(如 Zn 对细胞凋亡的诱导或抑制是由其在细胞内的作用时间和含量决定的),加强这一方面的研究可能对重金属中毒的治疗有重要意义。随着对重金属引起细胞毒性及其机制的深入探索 and 了解,必将为各种有毒重金属的防治提供新的思路和线索。

参考文献

- [1] Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, et al. Heavy metal toxicity and the environment[J]. Exp Suppl, 2012, 101:133-164.
- [2] 刘欣梅,项黎新,邵健忠,等. 重金属诱导细胞凋亡的分子机制[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(3):235-240.
- [3] Siddarth M, Chawla D, Raizada A, et al. Lead-induced DNA damage and cell apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cell: attenuation via N-acetyl cysteine and tannic acid[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2018, 32(3):e22038.
- [4] Ramos-Trevino J, Bassol-Mayagoitia S, Hernandez-Ibarra JA, et al. Toxic effect of cadmium, lead, and arsenic on the sertoli cell: mechanisms of damage involved[J]. DNA Cell Biol, 2018, 37(7):600-608.
- [5] Fox DA, He L, Poblens AT, et al. Lead-induced alterations in retinal cGMP phosphodiesterase trigger calcium overload, mitochondrial dysfunction and rod photoreceptor apoptosis[J]. Toxicol Lett, 1998, 102-103:359-361.
- [6] Kim SH, Sharma RP. Cytotoxicity of inorganic mercury in murine T and B lymphoma cell lines: involvement of reactive oxygen species, Ca^{2+} homeostasis, and cytokine gene expression[J]. Toxicol In Vitro, 2003, 17(4):385-395.
- [7] Peacock M. Calcium metabolism in health and disease[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2010, 5 Suppl 1:S23-S30.
- [8] Yang Z, Hayes JJ. The divalent cations Ca^{2+} and Mg^{2+} play specific roles in stabilizing histone-DNA interactions within nucleosomes that are partially redundant with the core histone tail domains[J]. Biochemistry, 2011, 50(46):9973-9981.
- [9] Sigel A, Operschall BP, Sigel H. Complex formation of lead (II) with nucleotides and their constituents[J]. Met Ions Life Sci, 2017, 17.
- [10] 马燕,张硕,滕月. 钙通道与钙通道病相关研究进展[J]. 基层医学论坛, 2007, 5:263-265.
- [11] Guerini D, Coletto L, Carafoli E. Exporting calcium from cells[J]. Cell Calcium, 2005, 38(3/4):281-289.
- [12] Ahljianian MK, Cooper DM. Antagonism of calmodulin-stimulated adenylate cyclase by trifluoperazine, calmidazolium and W-7 in rat cerebellar membranes[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1987, 241(2):407-414.
- [13] Santulli G, Nakashima R, Yuan Q, et al. Intracellular calcium release channels: an update[J]. J Physiol, 2017, 595(10):3041-3051.
- [14] Berchtold MW, Villalobo A. The many faces of calmodulin in cell proliferation, programmed cell death, autophagy, and cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843(2):398-435.
- [15] Barritt GJ, Litjens TL, Castro J, et al. Store-operated Ca^{2+} channels and microdomains of Ca^{2+} in liver cells[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2009, 36(1):77-83.
- [16] Afroze T, Yang G, Khoshbin A, et al. Calcium efflux activity of plasma membrane Ca^{2+} ATPase-4 (PMCA4) mediates cell cycle progression in vascular smooth muscle cells[J]. J Biol Chem, 2014, 289(10):7221-7231.
- [17] Zhou X, Hao W, Shi H, et al. Calcium homeostasis disruption - a bridge connecting cadmium-induced apoptosis, autophagy and tumorigenesis[J]. Oncol Res Treat, 2015, 38(6):311-315.
- [18] 王随心,张玉华,李向阳,等. 重金属生精细胞毒性研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(4):367-372.
- [19] Xie Z, Zhang Y, Li A, et al. Cd-induced apoptosis was mediated by the release of Ca^{2+} from intracellular Ca storage[J]. Toxicol Lett, 2010, 192(2):115-118.
- [20] 林秀武,李艳华,牟颖,等. 甲基汞对细胞膜损伤作用[J]. 中华预防医学杂志, 1995, 29(1):9-12.
- [21] 肖银霞,李金龙,徐世文,等. 镉、硒、氟、铜、锌、磷对细胞膜影响的研究进展[J]. 中国地方病学杂志, 2006, 25(2):225-226.
- [22] Pathak N, Mitra S, Khandelwal S. Cadmium induces thymocyte apoptosis via caspase-dependent and caspase-independent pathways[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2013, 27(3):193-203.
- [23] Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore: a mystery solved[J]. Front Physiol, 2013, 4:95.
- [24] 肖经纬,钟才高,李斌. 六价铬诱导 L-02 肝细胞凋亡与线粒体功能损伤的关系研究[J]. 卫生研究, 2006, 35(4):416-418.
- [25] 刘巍,魏兴龙,杨天瑶,等. 线粒体钙超载激活线粒体凋亡途径在甲基汞致神经元凋亡中的作用[J]. 实用预防医学, 2018, 25(12):1409-1412.
- [26] 李静慧,徐兆发. 镉致肾细胞凋亡机制的研究进展及防治[J]. 毒理学杂志, 2014, 28(4):319-322.
- [27] Lee CH, Yu HS. Role of mitochondria, ROS, and DNA damage in arsenic induced carcinogenesis[J]. Front Biosci (Schol Ed), 2016, 8:312-320.
- [28] 徐斌,徐兆发,邓宇,等. 地卓西平对甲基汞致大鼠脑皮质细胞内钙稳态失调的影响[J]. 实用预防医学, 2011, 18(4):601-603.
- [29] Bahar E, Kim H, Yoon H. ER stress-mediated signaling: action potential and Ca^{2+} as key Players[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(9):E1558.
- [30] Liu F, Inageda K, Nishitai G, et al. Cadmium induces the expression of Grp78, an endoplasmic reticulum molecular chaperone, in LLC-PK1 renal epithelial cells[J]. Environ Health Perspect, 2006, 114(6):859-864.
- [31] Hechtenberg S, Beyersmann D. Inhibition of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase activity by cadmium, lead and mercury[J]. Enzyme, 1991, 45(3):109-115.
- [32] Liang Q, Zhang Y, Zeng M, et al. The role of IP3R-SOCs in Cr(vi)-induced cytosolic Ca^{2+} overload and apoptosis in L-02 hepatocytes[J]. Toxicol Res (Camb), 2018, 7(3):521-528.
- [33] Fox DA, Srivastava D, Poblens A, et al. Lead-induced alterations in gene expression and activity of retinal cGMP PDE results in calcium overload and rod-selective apoptosis[J]. Toxicology in Vitro, 1998, 12(5):597-598.
- [34] Butler RA, Roesijadi G. Disruption of metallothionein expression with

- antisense oligonucleotides abolishes protection against cadmium cytotoxicity in molluscan hemocytes [J]. *Toxicol Sci*, 2001, 59(1): 101-107.
- [35] 赵兰,李文军,王金涛,等. 钙稳态失衡在氯化镉诱导 MDCC-MSB1 细胞凋亡中的作用[J]. *中国家禽*, 2008, 30(3):9-12.
- [36] 王莉,常彦忠,段相林. 铁离子对 Caco-2 细胞内钙离子转运的影响及钙离子浓度变化与细胞凋亡关系的研究[J]. *解剖学报*, 2005, 36(2):177-181.
- [37] Schanne FA, Long GJ, Rosen JF. Lead induced rise in intracellular free calcium is mediated through activation of protein kinase C in osteoblastic bone cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1360(3): 247-254.
- [38] Jiang H, Zhang C, Tang Y, et al. The regulator of calcineurin 1 increases adenine nucleotide translocator 1 and leads to mitochondrial dysfunctions [J]. *J Neurochem*, 2017, 140(2):307-319.
- [39] 向本琼,周捷,魏群. 钙调神经磷酸酶在 CaM, Mn^{2+} 存在时的构象变化[J]. *科学通报*, 1995, 40(5):460-463.
- [40] Cheng J, Tang W, Su Z, et al. Calcineurin subunit B promotes TNF- α -induced apoptosis by binding to mitochondria and causing mitochondrial Ca^{2+} overload[J]. *Cancer Lett*, 2012, 321(2):169-178.
- [41] Shibasaki F, Hallin U, Uchino H. Calcineurin as a multifunctional regulator[J]. *J Biochem*, 2002, 131(1):1-15.
- [42] 杨云芬,李文芳,李济超. 铅的中枢神经毒性机制研究进展[J]. *中国工业医学杂志*, 2012, 25(4):274-276.
- [43] Sinha K, Das J, Pal PB, et al. Oxidative stress; the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis critical role of calcium overloading in cadmium-induced apoptosis in mouse thymocytes[J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(7):1157-1180.
- [44] Jazvinscak JM, Vlajnic J, Radovanovic V, et al. Effects of copper overload in P19 neurons; impairment of glutathione redox homeostasis and crosstalk between caspase and calpain protease systems in ROS-induced apoptosis[J]. *Biometals*, 2014, 27(6):1303-1322.
- [45] 谢颖. 线粒体损伤拮抗剂在 Cr(VI) 所致肝细胞凋亡中的保护作用[D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [46] Gasparottolino EP, Tognon R, Ferreira AF, et al. Deregulated expression of A1, Bcl-2, Bcl-xL, and Mcl-1 antiapoptotic proteins and Bid, Bad, and Bax proapoptotic genes in polycythemia vera patients [J]. *Braz J Pharm Sci*, 2011, 47(4):873-886.
- [47] Scorrano L, Oakes SA, Opferman JT, et al. BAX and BAK regulation of endoplasmic reticulum Ca^{2+} : a control point for apoptosis[J]. *Science*, 2003, 300(5616):135-139.
- [48] Danial NN, Gramm CF, Scorrano L, et al. BAD and glucokinase reside in a mitochondrial complex that integrates glycolysis and apoptosis [J]. *Nature*, 2003, 424(6951):952-956.
- [49] Nutt LK, Chandra J, Pataer A, et al. Bax-mediated Ca^{2+} mobilization promotes cytochrome c release during apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(23):20301-20308.
- [50] Lu Y, Chen W, Lin C, et al. The protective effects of propofol against CoCl₂-induced HT22 cell hypoxia injury via PP2A/CAMKII α /nNOS pathway[J]. *BMC Anesthesiol*, 2017, 17(1):32.
- [51] He L, Perkins GA, Poblentz AT, et al. Bcl-xL overexpression blocks bax-mediated mitochondrial contact site formation and apoptosis in rod photoreceptors of lead-exposed mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(3):1022-1027.
- [52] 杨涛,费振海,钟兴明. Caspase 家族与细胞凋亡的研究进展[J]. *浙江医学*, 2018, 40(18):2083-2087.
- [53] 薛全福,王振纲. 钙离子和细胞凋亡及药物调控[J]. *中国全科医学*, 2009, 12(12):1126-1128.
- [54] Wang SH, Shih YL, Ko WC, et al. Cadmium-induced autophagy and apoptosis are mediated by a calcium signaling pathway[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(22):3640-3652.
- [55] Wang SH, Shih YL, Lee CC, et al. The role of endoplasmic reticulum in cadmium-induced mesangial cell apoptosis[J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 181(1):45-51.
- [56] 徐卉. 镉致大鼠大脑皮质神经元凋亡的线粒体途径[D]. 扬州:扬州大学, 2013.
- [57] Shen HM, Dong SY, Ong CN. Critical role of calcium overloading in cadmium-induced apoptosis in mouse thymocytes[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2001, 171(1):12-19.
- [58] Wang MG, Li WH, Wang XY, et al. CaMKII is involved in subcellular Ca^{2+} redistribution-induced endoplasmic reticulum stress leading to apoptosis in primary cultures of rat proximal tubular cells exposed to lead [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(53):91162-91173.

收稿日期:2019-08-16