

替普瑞酮对亚慢性苯并[a]芘染毒大鼠神经行为改变的保护作用

李玲¹, 常珊珊¹, 吕懿¹, 蒋勇¹, 王慧¹, 郑金平^{1,2}

1. 山西医科大学公共卫生学院卫生毒理学教研室, 山西 太原 030001

2. 长治医学院公共卫生与预防医学系, 山西 长治 046000

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.20513

摘要:

[背景] 苯并[a]芘 (BaP) 具有神经毒性, 可导致暴露人群和动物神经行为异常。替普瑞酮具有神经保护作用, 但其是否可以防治 BaP 诱发的神经毒作用尚不清楚。

[目的] 观察替普瑞酮对亚慢性染毒 BaP 大鼠学习记忆能力的影响, 探讨替普瑞酮对 BaP 神经行为损伤的保护作用, 为 BaP 神经毒作用的防控提供依据。

[方法] 选择 40 只健康雄性 SD 大鼠, 体重为 180~200 g, 随机分为溶剂 (橄榄油) 对照组、替普瑞酮组、BaP 染毒组和替普瑞酮+BaP 染毒组, 每组 10 只, 按 800 mg·kg⁻¹ (以体重计) 剂量灌胃替普瑞酮, 腹腔注射染毒 6.25 mg·kg⁻¹ BaP, 隔日染毒, 持续 90 d。采用 Morris 水迷宫进行神经行为学测试, 石蜡切片后通过 HE 染色观察海马组织病理学改变, 采用 TUNEL 法及 Annexin V-FITC/PI 双染法检测海马组织神经细胞凋亡率, 采用 Western blotting 法检测大鼠海马组织热休克蛋白 70 (Hsp70) 的表达水平。

[结果] 染毒后替普瑞酮+BaP 染毒组体重 [(311.10±22.38) g] 增长大于 BaP 染毒组 [(283.42±33.95) g] ($P<0.05$)。Morris 水迷宫结果显示替普瑞酮+BaP 染毒组寻找平台的平均逃避潜伏期 [(29.17±1.90) s] 和平均总路程 [(132.51±1.96) cm] 低于 BaP 染毒组 [(46.77±2.14) s、(181.97±2.09) cm] ($P<0.05$)。BaP 染毒组海马区神经细胞结构破坏, 数量减少, 排列凌乱, 替普瑞酮+BaP 染毒组比 BaP 染毒组损伤明显减轻。替普瑞酮+BaP 染毒组大鼠海马神经细胞凋亡率 [(7.73±5.16) %] 低于 BaP 染毒组 [(53.10±7.34) %], Hsp70 蛋白表达水平 (0.89±0.09) 高于 BaP 染毒组 (0.49±0.10) ($P<0.05$)。

[结论] 替普瑞酮可改善 BaP 染毒引起的大鼠神经行为的损伤, 可能与其降低神经细胞凋亡率有关。

关键词: 替普瑞酮; 苯并[a]芘; 亚慢性染毒; 神经行为

Protective effect of teprenone on neurobehavioral damage in rats with subchronic benzo[a]pyrene exposure LI Ling¹, CHANG Shanshan¹, LYU Yi¹, JIANG Yong¹, WANG Hui¹, ZHENG Jinping^{1,2} (1. Department of Hygienic Toxicology, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China; 2. Department of Public Health and Preventive Medicine, Changzhi Medical College, Changzhi, Shanxi 046000, China)

Abstract:

[Background] Benzo[a]pyrene (BaP) is neurotoxic and can cause neurobehavioral abnormalities in exposed humans and animals. Teprenone has neuroprotective effects, but whether it can prevent or antagonize BaP-induced neurotoxicity remains unclear.

[Objective] This experiment observes the effect of teprenone on the learning and memory ability of subchronically BaP exposed rats, and explores the protective effect of teprenone on BaP-induced neurobehavioral damage, aiming to provide a basis for the prevention and control of BaP neurotoxic effects.

[Methods] Forty healthy male SD rats weighing 180-200 g were randomly divided into a solvent (olive oil) control group, a teprenone group, a BaP group, and a teprenone+BaP group, with 10 rats in each group. Every other day, teprenone was intragastrically administered at a dose of 800 mg·kg⁻¹ (by body weight), and BaP at 6.25 mg·kg⁻¹ was given by intraperitoneal injection, for 90 d in total. The neurobehavior was tested by the Morris water maze. After paraffin sectioning

基金项目

国家自然科学基金项目 (30872137); 山西省重点研发计划国际科技合作项目 (201703D421021); 山西省重点与优势学科建设项目 (无编号)

作者简介

并列第一作者。
李玲 (1994—), 女, 硕士生;
E-mail: LpeachLee@iCloud.com
常珊珊 (1985—), 女, 硕士生;
E-mail: 1013071211@qq.com

通信作者

郑金平, E-mail: zheng_jp@sxmu.edu.cn

伦理审批

已获取
利益冲突 无申报
收稿日期 2020-10-31
录用日期 2021-03-11

文章编号 2095-9982(2021)05-0530-06

中图分类号 R114

文献标志码 A

► 引用

李玲, 常珊珊, 吕懿, 等. 替普瑞酮对亚慢性苯并[a]芘染毒大鼠神经行为改变的保护作用[J]. 环境与职业医学, 2021, 38(5): 530-535.

► 本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20513

Funding

This study was funded.

Correspondence to

ZHENG Jinping, E-mail: zheng_jp@sxmu.edu.cn

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2020-10-31

Accepted 2021-03-11

► To cite

LI Ling, CHANG Shanshan, LYU Yi, et al. Protective effect of teprenone on neurobehavioral damage in rats with subchronic benzo[a]pyrene exposure[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(5): 530-535.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20513

and HE staining, the histopathological changes of hippocampus were observed. The apoptosis rate of hippocampal nerve cells was determined by TUNEL and Annexin V-FITC/PI double staining. The expression level of heat shock protein 70 (Hsp70) was detected by Western blotting.

[Results] The weight gain of the teprenone+BaP group [(311.10±22.38) g] was greater than that of the BaP group [(283.42±33.95) g] ($P<0.05$). The Morris water maze results showed that the average escape latency [(29.17±1.90) s] and the average total distance [(132.51±1.96) cm] of the teprenone+BaP group were lower than that of the BaP group [(46.77±2.14) s and (181.97±2.09) cm] ($P<0.05$) respectively. The BaP group showed nerve cell destruction, loss of neurons, and disorderly arrangement in hippocampus; in contrast, the above damage of the teprenone+BaP group was much alleviated than that of the BaP group. The apoptosis rate of hippocampal neurons of the teprenone+BaP group [(7.73±5.16) %] was lower than that of the BaP group [(53.10±7.34) %], and the expression level of Hsp70 protein of the teprenone+BaP group (0.89±0.09) was higher than that of the BaP group (0.49±0.10) ($P<0.05$).

[Conclusion] Teprenone can ameliorate the neurobehavioral damage of rats induced by BaP exposure, which may be related to its function of decreasing neuronal apoptosis.

Keywords: teprenone; benzo[a]pyrene; subchronic exposure; neurobehavior

苯并[a]芘 (benzo[a]pyrene, BaP) 是最常见的环境和职业污染物之一, 其在体内的活化代谢产物不仅具有致癌性, 对生殖系统、免疫系统也具有一定毒性。由于 BaP 的亲脂性, 其易在神经组织集聚, 可引起神经毒作用^[1]。BaP 的暴露可引起人神经系统异常如认知功能障碍、学习困难、副交感神经失调和短期记忆丧失, 以及大鼠学习记忆能力损伤和行为改变^[2-3]。本课题组前期流行病学调查结果也显示, BaP 职业暴露人群焦炉工人的神经行为发生改变, 主要表现在短期和空间学习记忆能力降低, 与 BaP 接触水平之间存在剂量-效应关系^[4]。

替普瑞酮是一种萜烯类化合物, 作为胃黏膜保护药, 临床上主要用于治疗胃溃疡、急慢性胃炎。有研究显示替普瑞酮可限制脊髓损伤后继发性损伤、神经元死亡以及进行性坏死和空化, 具有神经保护作用, 是热休克蛋白和其他神经保护蛋白的诱导剂^[5], 但其是否可以防治 BaP 诱发的神经毒作用尚不清楚。本研究旨在观察替普瑞酮对亚慢性 BaP 染毒大鼠神经行为的影响, 探讨其防治 BaP 神经毒作用的可行性。

1 对象与方法

1.1 试剂及仪器

橄榄油 (中国成都科龙化工试剂厂), 替普瑞酮 (中国信阳莱耀生物科技有限公司), BaP (美国 Sigma-Aldrich), Morris 水迷宫 (中国医学科学院药物研究所), Annexin V-FITC/PI 试剂盒 (中国南京凯基生物科技发展有限公司), BCA 试剂盒 (中国武汉博士德生物工程公司), PVDF 膜、鼠抗热休克蛋白 70 (heat shock protein, Hsp70) 单克隆抗体、GAPDH 抗体及羊

抗鼠二抗 (美国 Epitomics)。

1.2 实验动物与分组

选择健康清洁级 SD 雄性大鼠 40 只, 体重为 180~200 g, 活动能力相近, 由山西医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号: SCXK (JIN) 2015-0001。本实验遵循动物实验等有关规定, 通过山西医科大学实验动物伦理委员会的审批 (编号: DW2020051)。将大鼠饲养在自然节律采光 (采光约 11 h, 黑暗约 13 h), 温度为 18~23°C, 相对湿度为 40%~60%, 清洁安静的环境中。适应性饲养 1 周后, 将大鼠随机分为橄榄油溶剂对照组、替普瑞酮组、BaP 染毒组和替普瑞酮+BaP 染毒组, 每组 10 只。每周称 1 次大鼠体重, 按 800 mg·kg⁻¹ 体重剂量灌胃替普瑞酮, 腹腔注射 6.25 mg·kg⁻¹ BaP, 实验中替普瑞酮及 BaP 均由橄榄油溶解, 隔日染毒, 连续染毒 90 d。

1.3 实验方法

1.3.1 学习记忆能力检测 采用 Morris 水迷宫法检测小鼠学习记忆能力, 水迷宫实验分为定位航行实验 (实验前 4 d) 和空间探索实验 (实验第 5 d), 实验具体操作参照文献 [6]。

1.3.2 海马组织病理学检查 大鼠经水迷宫行为训练结束后, 断头处死, 迅速分离双侧海马, 用 10% 中性福尔马林溶液固定 24 h 后, 常规脱水, 透明, 浸蜡, 包埋制作石蜡切片 (切片厚 5 μm), 贴附于多聚赖氨酸预处理过的载玻片上, 常规 HE 染色, 封片, 光学显微镜下观察海马组织的病理学变化。

1.3.3 TUNEL 法检测大鼠海马细胞凋亡 大鼠经水迷宫行为训练结束后, 断头处死, 迅速分离双侧海马, 石蜡切片按常规方法脱蜡至水, PBS 漂洗 3 遍 (每次

5 min) ; 加入蛋白酶K工作液 37°C 反应 30 min 左右, PBS 漂洗 3 遍 (每次 5 min) ; 4% 多聚甲醛室温固定 30 min, PBS 漂洗 3 遍 (每次 5 min) ; 浸入封闭液中封闭 10 min, PBS 漂洗 3 遍 (每次 5 min), 进行标记反应。

1.3.4 Annexin V-FITC/PI 法检测大鼠海马细胞凋亡率 取大鼠海马组织剪碎、过滤后, 用预冷 PBS 洗两遍, 加入不含 EDTA 的胰酶消化, 消化后加入预冷 PBS 重悬, 1000 r·min⁻¹ 离心 5 min (离心半径 13.5 cm), 弃上清, 收集细胞, 预冷 PBS 重悬细胞并计数。取 1×10⁵~5×10⁵ 个重悬细胞, 1000 r·min⁻¹ 离心 5 min (离心半径 13.5 cm), 弃上清, 加入 500 μL 结合液轻轻重悬细胞。加入 5 μL Annexin V-FITC, 轻轻混匀后, 加入 5 μL 碘化丙啶, 轻轻混匀。室温避光孵育 10 min 后采用流式细胞仪进行检测。

1.3.5 Western blotting 法检测 Hsp70 蛋白表达水平 海马组织提取蛋白后, 用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 预冷 PBS 将各组蛋白调至同一浓度, 加入 5× 上样缓冲液, 95°C 加热 20 min, 1000 r·min⁻¹ 离心 5 min (离心半径 13.5 cm), 取上清, 即得海马组织提取蛋白。制胶 (7.5% 分离胶)、上样、电泳、转膜 (PVDF 膜) 后, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 加入鼠抗 Hsp70 单克隆抗体 (1:1000) 和 GAPDH (1:1000), 4°C 摇床过夜。回收一抗, 洗膜液洗膜 3 次, 加入羊抗鼠二抗孵育 1 h, 洗膜 3 次后显影。结果用图像处理扫描仪扫描胶片, 采用捷达 801 系列凝胶电泳图像分析软件对蛋白电泳带的密度进行半定量分析, 以 Hsp70/GAPDH 值表示蛋白的表达量。

1.4 统计学分析

用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组比较用单因素方差分析, 组间两两比较用 LSD-t 法。Morris 水迷宫测试结果, 经对数转换后进行分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 动物基本情况

大鼠给药后, 替普瑞酮组与对照组大鼠均无明显行为异常改变; BaP 染毒组出现烦躁易惊、活动减少、进食减少、昏睡、眼屎增多; 替普瑞酮+BaP 染毒组仅表现为活动减少, 无其他明显异常行为改变。

2.2 动物染毒过程中体重变化情况

各处理组大鼠实验前对照组、替普瑞酮组、BaP 染毒组和替普瑞酮+BaP 染毒组体重分别为 (188.00±4.63)、(186.14±3.42)、(183.20±9.60)、(184.16±6.26) g, 各处理组体重差别无统计学意义。染毒结束后对照组、替普瑞酮组、BaP 染毒组和替普瑞酮+BaP 染毒组体重分别为 (335.71±25.90)、(333.19±27.36)、(283.42±33.95)、(311.10±22.38) g, 替普瑞酮+BaP 染毒组体重增长大于 BaP 染毒组 ($P<0.05$)。

2.3 大鼠 Morris 水迷宫结果

如表 1、2 显示, BaP 染毒组第 1~4 天寻找平台的逃避潜伏期时间及寻找平台总路程高于对照组、替普瑞酮组 ($P<0.05$); BaP 染毒组寻找平台的平均逃避潜伏期、平台象限停滞时间和平均总路程高于对照组、替普瑞酮组 ($P<0.05$)。替普瑞酮+BaP 染毒组第 1、4 天寻找平台的逃避潜伏期时间 [(47.27±1.92)、(29.32±1.91) s] 短于 BaP 染毒组 [(63.10±1.70)、(45.71±2.04) s] ($P<0.05$), 替普瑞酮+BaP 染毒组第 2~4 天寻找平台总路程 [(189.17±1.28)、(143.88±1.25)、(120.72±1.81) cm] 高于替普瑞酮组 [(124.12±1.94)、(109.11±1.34)、(89.61±1.46) cm] ($P<0.05$)。替普瑞酮+BaP 染毒组寻找平台的平均逃避潜伏期 [(29.17±1.90) s] 和平均总路程 [(132.51±1.96) cm] 低于 BaP 染毒组 [(46.77±2.14) s、(181.97±2.09) cm] ($P<0.05$)。

表 1 大鼠寻找平台潜伏期和平台象限滞留时间结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Escape latency and quadrant retention time of rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	逃避潜伏期				平均逃避潜伏期	平均象限滞留时间
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天		
对照组	32.36±1.86	26.92±1.82	25.70±2.00	21.38±2.40	25.12±1.95	41.49±11.44
替普瑞酮组	35.41±1.76	25.91±1.61	24.48±1.58	19.98±2.01	24.31±1.76	41.65±12.14
BaP 染毒组	63.10±1.70 ^{*&}	50.12±2.09 ^{*&}	42.66±2.29 ^{*&}	45.71±2.04 ^{*&}	46.77±2.14 ^{*&}	24.68±15.33 ^{*&}
替普瑞酮+BaP 染毒组	47.27±1.92 [#]	43.29±1.82	38.41±1.89	29.32±1.91 [#]	29.17±1.90 [#]	40.72±11.31 [#]

[注] * : 与对照组相比, $P<0.05$; & : 与替普瑞酮组相比, $P<0.05$; # : 与 BaP 组相比, $P<0.05$ 。

表 2 大鼠寻找平台总路程结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 2 Total distance of rats spent on maze searching ($\bar{x} \pm s, n=10$)

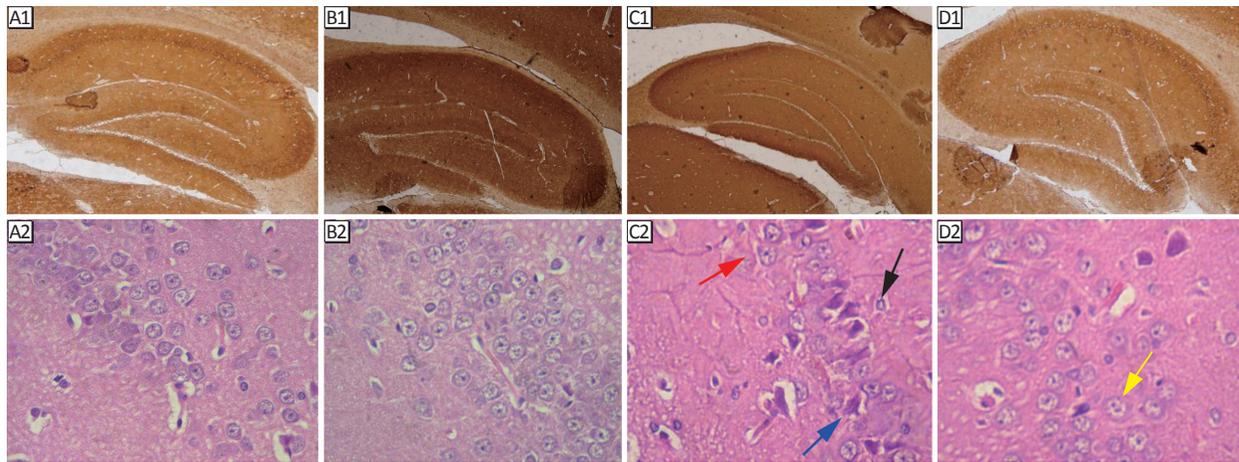
组别	总路程				平均总路程
	第1天	第2天	第3天	第4天	
对照组	173.78±1.86	128.82±1.58	117.49±1.95	97.72±2.19	117.49±1.91
替普瑞酮组	169.83±1.72	124.12±1.94	109.11±1.34	89.61±1.46	113.52±1.84
BaP 染毒组	288.40±1.70 [*] &	199.53±1.95 [*] &	169.82±2.24 [*] &	151.36±2.09 [*] &	181.97±2.09 [*] &
替普瑞酮+BaP 染毒组	211.09±1.62	189.17±1.28 [#]	143.88±1.25 [#]	120.72±1.81 [#]	132.51±1.96 [#]

[注] * : 与对照组相比, $P < 0.05$; & : 与替普瑞酮组相比, $P < 0.05$; # : 与 BaP 组相比, $P < 0.05$ 。

2.4 海马组织病理学结果

图 1 显示, 对照组、替普瑞酮组大鼠海马区未见明显病理改变。BaP 染毒组大鼠海马出现严重细胞损伤, 细胞结构破坏, 轮廓模糊, 海马区神经细胞数量减少、排列凌乱, 出现明显凋亡特征性改变, 如细胞

连接松解、细胞核固缩、细胞周围出现环状带等, 部分细胞出现坏死表现, 胞核聚集、浓缩、溶解等; 而替普瑞酮+BaP 染毒组仅见个别细胞松解, 海马区神经细胞数量多于 BaP 染毒组, 替普瑞酮+BaP 染毒组比 BaP 染毒组损伤明显减轻。



[注] 1 : $\times 40$, 2 : $\times 200$ 。A : 对照组; B : 替普瑞酮组; C : BaP 染毒组; D : 替普瑞酮+BaP 染毒组。蓝色箭头表示细胞出现细胞核固缩表现, 黑色箭头表示细胞出现轮廓模糊改变, 红色箭头表示细胞出现胞核聚集改变, 黄色箭头表示出现细胞松解表现。

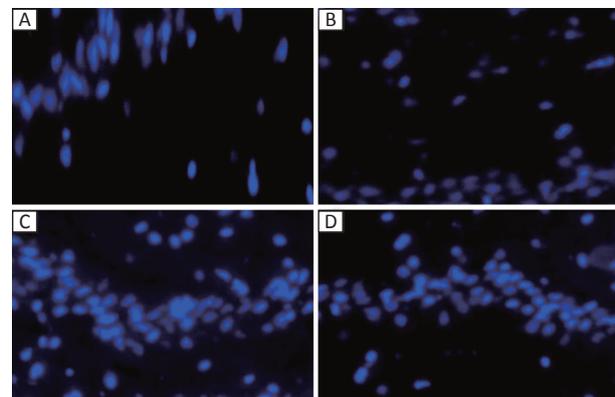
图 1 大鼠海马组织形态学变化 (HE 染色)

Figure 1 Morphological changes of rat hippocampus (HE staining)

2.5 大鼠海马神经细胞凋亡结果

TUNEL 法检测结果显示, BaP 染毒组可诱发大鼠海马神经细胞凋亡率升高。见图 2。与对照组 [(3.64±2.86) %] 相比, 替普瑞酮组 [(5.41±0.58) %]、替普瑞酮+BaP 染毒组 [(11.63±2.58) %] 大鼠海马神经细胞凋亡率无明显差异 ($P > 0.05$), 替普瑞酮组及替普瑞酮+BaP 染毒组海马细胞凋亡率低于 BaP 染毒组 [(31.11±5.54) %] ($P < 0.001$)。

流式细胞仪检测结果显示, 与对照组 [(0.27±0.12) %] 相比, 替普瑞酮组 [(0.40±0.28) %] 大鼠海马神经细胞凋亡率无明显差异, BaP 染毒组 [(53.10±7.34) %] 海马神经细胞的凋亡率升高, 替普瑞酮+BaP 染毒组



[注] TUNEL 检测大鼠海马神经细胞凋亡 ($\times 200$)。A : 对照组; B : 替普瑞酮组; C : BaP 染毒组; D : 替普瑞酮+BaP 染毒组。

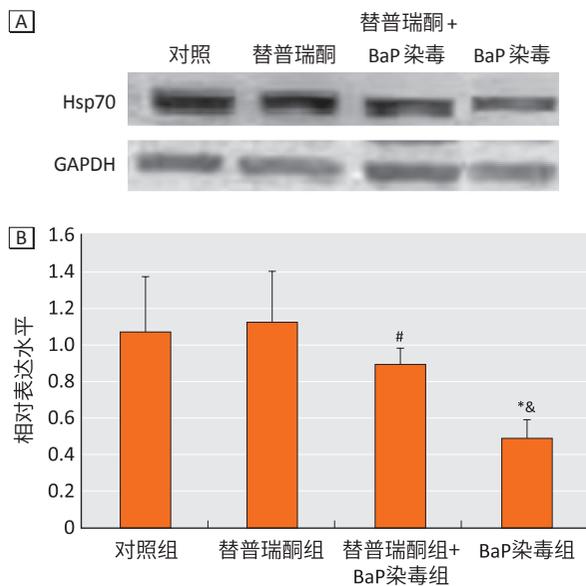
图 2 大鼠海马神经细胞凋亡

Figure 2 Apoptosis of rat hippocampal neurons

海马细胞凋亡率 $[(7.73 \pm 5.16) \%$] 低于 BaP 染毒组。BaP 染毒组海马神经细胞凋亡率高于对照组、替普瑞酮组 ($P < 0.05$)。

2.6 大鼠海马组织 Hsp70 蛋白表达

图 3 显示, 替普瑞酮+BaP 染毒组 Hsp70 蛋白表达水平 (0.89 ± 0.09) 高于 BaP 染毒组 (0.49 ± 0.10) , 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。BaP 染毒组大鼠海马组织 Hsp70 蛋白表达水平最低, 且与对照组 (1.07 ± 0.30) 、替普瑞酮组 (1.12 ± 0.28) 相比有明显差异 ($P < 0.05$)。



[注] A: 电泳图; B: 蛋白表达柱状图。*: 与对照组相比, $P < 0.05$; & : 与替普瑞酮组相比, $P < 0.05$; #: 与 BaP 染毒组相比, $P < 0.05$ 。

图 3 大鼠海马组织 Hsp70 蛋白表达

Figure 3 Hsp70 protein expression in rat hippocampus

3 讨论

BaP 作为一种常见环境污染物, 具有明显的神经毒性, 可导致神经行为和认知功能障碍, 长期暴露于 BaP 的大鼠和人表现出明显的学习困难和记忆障碍。亚慢性 BaP 暴露同样可以导致大鼠行为学改变。大鼠早期暴露于 BaP 会导致持续性的神经损伤, 并持续到青春期和成年期^[7]。经母乳摄入 BaP 可引起子代大鼠发育早期运动能力及记忆认知功能的下降^[8]。本次研究结果显示, 大鼠经 BaP 染毒后出现烦躁、易激惹、活动减少、昏睡、眼屎增多、进食减少、体重明显降低等现象。Morris 水迷宫结果显示, BaP 染毒组有明显的神经行为改变。组织病理学结果显示, BaP 染毒大鼠海马出现严重细胞损伤。此外, BaP 染毒组海马细胞的凋亡率明显升高。表明 BaP 染毒可导致大鼠神经行为改变和神经组织损伤。

替普瑞酮是一种萜烯类化合物, 因其具有组织修复和较强的抗溃疡作用而一直用于治疗消化道溃疡。目前研究认为替普瑞酮是一种有效的、低毒副作用的热休克蛋白和其他神经保护蛋白的诱导剂, 可在多种器官、组织中发挥保护作用^[5]。单次口服替普瑞酮后, 大鼠脑星形胶质细胞激活并可减轻大鼠海马区由海藻酸引起的癫痫发作和神经元细胞死亡^[9-10], 发挥神经保护作用。本研究结果显示, 替普瑞酮组和对照组大鼠相比, 行为无明显变化, 替普瑞酮+BaP 染毒组只见轻微的行为异常改变。替普瑞酮+BaP 染毒组大鼠寻找平台的平均逃避潜伏期、平均总路程明显低于 BaP 染毒组, 且该组大鼠神经行为损伤并不明显。组织病理学结果显示, 替普瑞酮+BaP 染毒组较 BaP 染毒组细胞损伤减轻, 仅有部分出现细胞核固缩, 细胞周围出现环状带。而且 BaP 染毒大鼠经替普瑞酮处理后海马细胞凋亡率明显低于 BaP 染毒组。以上结果表明, 替普瑞酮可以拮抗 BaP 引起的神经毒性。

Hsp70 可经多种刺激诱导大量生成, 其可以通过发挥分子伴侣作用、抗细胞凋亡及抗氧化作用提高细胞的应激能力, 对各类损伤具有抵抗能力。而且 Hsp70 在应激和非应激情况下均能在脑组织中表达, 当脑组织应激损伤时, 能发挥其保护作用。同时, 以往的研究中发现替普瑞酮可以诱导大鼠胃黏膜、肝脏、心脏以及中枢神经系统中 Hsp70 的表达, 而目前的研究认为替普瑞酮是 Hsp70 有效的诱导剂。在此基础上, 进一步测定了 Hsp70 蛋白的表达水平, 发现 BaP 可导致 Hsp70 的表达水平显著下调, 而替普瑞酮+BaP 染毒组可明显提升 Hsp70 表达水平。Hsp70 具有抗氧化和抗凋亡的作用, Hsp70 基因遗传多态性与神经毒性及其他多种疾病相关。研究发现焦炉工人的 Hsp70-1 CC 和 Hsp70-2 AA 基因型可能增加注意力、学习和记忆等的神经行为损伤的风险^[11]。而 Hsp70 的激活又可通过促进聚谷氨酰胺蛋白降解来降低神经毒性^[12]。同时 BaP 染毒引起的神经毒性中 Hsp70 表达减少可能与线粒体凋亡途径的激活有关, 可以引起细胞凋亡。研究表明, 口服替普瑞酮的大鼠可抵抗热应激, 其作用与诱导产生的热休克蛋白成正比, 此外, Hsp70 还与替普瑞酮的抗胃黏膜凋亡作用有关^[13-14]。BaP 染毒大鼠经替普瑞酮处理后 Hsp70 蛋白表达上调, 也减少了细胞凋亡, 减轻了神经元的损害, 增加神经元的存活, 改善因 BaP 染毒引起的神经行为改变。因此推测, 替普瑞酮可能

通过提升 Hsp70 表达, 减少细胞凋亡, 从而改善 BaP 神经毒性。

综上, 替普瑞酮可以改善经 BaP 暴露引起的神经行为改变, 上调 Hsp70 蛋白表达, 减少细胞凋亡, 减轻神经元的损害, 从而发挥神经保护作用。

参考文献

- [1] CHEPELEV NL, MOFFAT ID, BOWERS WJ, et al. Neurotoxicity may be an overlooked consequence of benzo[a]pyrene exposure that is relevant to human health risk assessment [J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2015, 764 : 64-89.
- [2] ZHANG HM, NIE JS, WANG F, et al. Effects of Benzo[a]pyrene on autonomic nervous system of coke oven workers [J]. *J Occup Health*, 2008, 50 (4) : 308-316.
- [3] WORMLEY DD, CHIRWA S, NAYYAR T, et al. Inhaled benzo(a)pyrene impairs long-term potentiation in the F1 generation rat dentate gyrus [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2004, 50 (6) : 715-721.
- [4] 李卫星, 张红明, 胡志鹏, 等. 焦炉工人神经行为改变及其影响因素研究 [J]. *环境与职业医学*, 2011, 28 (4) : 205-209, 214.
LI WX, ZHANG HM, HU ZP, et al. Research on neurobehavioral change of coke oven workers and its influencing factors [J]. *J Environ Occup Med*, 2011, 28 (4) : 205-209, 214.
- [5] FUJIKI M, FURUKAWA Y, KOBAYASHI H, et al. Geranylgeranylacetone limits secondary injury, neuronal death, and progressive necrosis and cavitation after spinal cord injury [J]. *Brain Res*, 2005, 1053 (1/2) : 175-184.
- [6] 吕胜杰, 宁丽俊, 王琦, 等. 孕期苯并[a]芘暴露对子鼠神经行为及海马 Arc mRNA 表达的影响 [J]. *环境与职业医学*, 2019, 36 (2) : 128-133.
LYU SG, NING LJ, WANG Q, et al. Effects of prenatal benzo[a]pyrene exposure on neurobehavior and Arc mRNA expression in hippocampus of offspring rats [J]. *J Environ Occup Med*, 2019, 36 (2) : 128-133.
- [7] CHEN C, TANG Y, JIANG X, et al. Early postnatal Benzo(a)pyrene exposure in Sprague-Dawley rats causes persistent neurobehavioral impairments that emerge postnatally and continue into adolescence and adulthood [J]. *Toxicol Sci*, 2012, 125 (1) : 248-261.
- [8] HATTEMER-FREY HA, TRAVIS CC. Benzo-a-Pyrene : Environmental partitioning and human exposure [J]. *Toxicol Ind Health*, 1991, 7 (3) : 141-157.
- [9] FUJIKI M, KOBAYASHI H, ABE T, et al. Astroglial activation accompanies heat shock protein upregulation in rat brain following single oral dose of geranylgeranylacetone [J]. *Brain Res*, 2003, 991 (1/2) : 254-257.
- [10] FUJIKI M, KOBAYASHI H, INOUE R, et al. A single oral dose of geranylgeranylacetone attenuates kainic acid-induced seizures and neuronal cell death in rat hippocampus [J]. *Brain Res*, 2004, 1021 (2) : 281-285.
- [11] TIAN FJ, LI WX, LYU Y, et al. Heat-shock protein 70 (HSP70) polymorphisms affect the risk of coke-oven emission-induced neurobehavioral damage [J]. *Neurotoxicology*, 2020, 76 : 174-182.
- [12] WANG AM, MIYATA Y, KLINEDINST S, et al. Activation of Hsp70 reduces neurotoxicity by promoting polyglutamine protein degradation [J]. *Nat Chem Biol*, 2013, 9 (2) : 112-118.
- [13] YAMANAKA K, TAKAHASHI N, OOIE T, et al. Role of protein kinase C in geranylgeranylacetone-induced expression of heat-shock protein 72 and cardioprotection in the rat heart [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2003, 35 (7) : 785-794.
- [14] TOMISATO W, TSUTSUMI S, TSUCHIYA T, et al. Geranylgeranylacetone protects guinea pig gastric mucosal cells from gastric stressor-induced necrosis by induction of heat-shock proteins [J]. *Biol Pharm Bull*, 2001, 24 (8) : 887-891.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)