

# 某口服液对染铅小鼠体内铅、铜、锌含量的影响

刘秀英<sup>1</sup> 胡怡秀<sup>1</sup> 刘富强<sup>1</sup> 臧雪冰<sup>1</sup> 聂焱<sup>1</sup> 周志扬<sup>2</sup>

(1. 湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005;

2. 湖南麓谷生物技术有限公司, 湖南 长沙 410013)

**摘要:**为观察以金属硫蛋白为主要成分的某口服液对小鼠体内铅、锌、铜含量的影响,小鼠自由饮用  $Pb^{2+}$  浓度为 546.2 mg/L 的水溶液,低、中、高剂量组分别灌胃给予 1.67、3.34、10.0 mL/kg BW 受试液,模型对照组给予去离子水灌胃,阴性对照组饮用、灌胃均给予去离子水。连续 30 d 后,采血,取肝、脑、肾、股骨,用火焰原子吸收分光光度法测定铅、锌、铜含量。3 个剂量组与模型组小鼠铅摄入量大致相当,但全血铅水平显著低于模型组,10.0 mL/kg BW 剂量还使肝组织铅含量显著降低,使股骨铜含量显著升高,对小鼠全血和其它组织内锌、铜含量无不良影响。

**关键词:**金属硫蛋白;营养保健品;小鼠

## Effects of a peroral liquid with metallothionein as its major component on blood and tissue lead, zinc and copper concentrations in lead-exposed mice

Liu Xiuying, et al.

(Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hunan Changsha 410005, China)

**Abstract:** A study was conducted on the effects of a peroral liquid with metallothionein as its major component on the concentrations of lead, zinc and copper in blood and tissues. Mice were exposed to lead in deionized drinking water at 546.22 mg/L, and those in test groups were additionally given 1.67, 3.34, 10.0 mL/kg BW test substance by gastric lavage. Normal control mice received deionized water. Following a 30 day ingestion period, the mice were killed and samples of whole blood were collected and livers, kidneys, brains and femurs were isolated for the determination of lead, zinc and copper by flame atomic absorption spectroscopy. Mice in different lead-exposed groups ingested comparable amounts of lead. Treatment with test substance resulted in significant decrease in blood lead level, and 10.0 mL/kg BW dose could significantly minimize lead concentration in mice liver and increase copper level in mice femur compared with those seen in mice exposed to lead alone. The test substance produced no significant adverse effects on zinc and copper concentrations in blood and other tissues.

**Key Words:** Metallothionein; Dietary Supplements; Mice

铅是一种重要的环境污染物,在环境中广泛存在,难以降解,环境铅污染已成为影响人类健康的一个重要公共卫生问题。对 1~6 岁儿童血铅水平调查显示,北京市血铅高于目前国际公认的儿童铅中毒诊断标准 100  $\mu\text{g/L}$  者占 68.7%,其中血铅  $\geq 200$   $\mu\text{g/L}$  者占总调查人数的 14.2%。<sup>[1]</sup> 上海市儿童血铅平均水平为 96  $\mu\text{g/L}$ ,其中高于 100  $\mu\text{g/L}$  的比例是 37.8%,<sup>[2]</sup> 这一平均血铅水平远高于目前美国儿童的 36  $\mu\text{g/L}$ 。<sup>[3]</sup> 100  $\mu\text{g/L}$  血铅已足以对儿童的智能发育、体格生长、学习能力和听力产生有害影响。<sup>[4]</sup> 此

外,职业性暴露引起的铅中毒仍然是一个重要的公共卫生问题。<sup>[5]</sup>

铅进入人体后排泄极慢,单纯靠降低环境铅暴露预防铅对人体的损害,难以迅速奏效,并且耗资巨大。<sup>[6]</sup> 经典的整合剂治疗,排铅同时排出了锌、铜等必需微量元素,还有严重的肾毒性。<sup>[7]</sup> 在环境铅污染仍然比较严重的今天,研制奏效快、无上述毒副作用、可持续食用的驱铅保健食品对预防或辅助治疗铅中毒具有重要的现实意义。本文观察了以金属硫蛋白(MT)为主要成分的某口服液对铅暴露小鼠的驱铅效果及其对小鼠组织内锌、铜含量的影响,以期

作者简介:刘秀英 女 硕士

性提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 受试物 主要功效成分有金属硫蛋白(0.005%,质量/体积比)、葡萄糖酸钙(2.0%)及两种富含维生素C的植物提取物。人体口服推荐量为每人20 mL/d。

1.2 动物及饲养 中南大学湘雅医学院实验动物学部提供的清洁级昆明种雄性小鼠60只,于温度24℃~26℃、湿度50%~60%的环境中饲养,自由摄食饮水。

1.3 试剂和仪器 去离子水,醋酸铅[Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O](分析纯,广州新港化工厂生产),浓硝酸、高氯酸(分析纯,河南信阳市化学试剂厂);平板电炉,GB 5000 原子吸收分光光度计(日本)。

1.4 方法 试验设5个组:阴性对照组、模型对照组和低、中、高剂量组。将小鼠随机分入各组,每组12只。阴性对照组自由饮用去离子水,模型对照组

和低、中、高剂量组均自由饮用含0.1%醋酸铅[Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O]的去离子水溶液(Pb<sup>2+</sup>浓度为546.2 mg/L),记录饮用量。低、中、高剂量组同时分别予以1.67、3.34、10.0 mL/kg BW 受试液,按0.2 mL/kg BW 体积灌胃。阴性对照组和模型对照组给予等体积去离子水灌胃,连续30 d。末次给受试物24 h后,摘眼球采血,断颈处死小鼠,取肝、全脑、肾、股骨,以3+1的浓硝酸+高氯酸加热消化,用石墨炉原子吸收分光光度法测定全血铅含量,用火焰原子吸收分光光度法测定组织铅、全血及组织锌、铜含量。测定全程使用国家标准物质中心出品的冻干血铅、锌、铜标准物质进行质量控制,每12个样间隔测定标准物1次,结果合格。

1.5 统计分析 实验数据采用SPSS10.0 进行处理。

2 结果

2.1 各组小鼠饮水量及染毒组小鼠铅摄入量 见表1。

| 表1 各笼小鼠每周饮用去离子水或铅溶液总量 mL |       |     |       |     |      |     |      |     |      |     |
|--------------------------|-------|-----|-------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
| 周次                       | 阴性对照组 |     | 模型对照组 |     | 低剂量组 |     | 中剂量组 |     | 高剂量组 |     |
|                          | 第一笼   | 第二笼 | 第一笼   | 第二笼 | 第一笼  | 第二笼 | 第一笼  | 第二笼 | 第一笼  | 第二笼 |
| 第一周                      | 165   | 157 | 133   | 117 | 137  | 143 | 148  | 115 | 158  | 143 |
| 第二周                      | 165   | 242 | 169   | 215 | 168  | 174 | 157  | 150 | 194  | 219 |
| 第三周                      | 171   | 187 | 181   | 201 | 193  | 172 | 228  | 185 | 199  | 175 |
| 第四周                      | 267   | 332 | 312   | 284 | 127  | 340 | 262  | 327 | 296  | 305 |
| 平均每笼每周                   | 195   | 230 | 199   | 204 | 156  | 207 | 199  | 194 | 212  | 210 |
| 平均每组每周                   | 211   |     | 202   |     | 182  |     | 196  |     | 211  |     |

试验期间,记录每笼小鼠每周饮用液体量,以周末平均体重折算各周内平均每天的染铅剂量,以4周每日染铅剂量的均值作为试验期间的铅摄入量。由表1可见,试验期间模型对照组、低、中、高剂量组小鼠平均每周饮用铅水量分别为202、182、196、211 mL,摄入铅量(Pb<sup>2+</sup>)分别为69.6、67.1、65.3、76.0 mg/kg BW。

2.2 试验期间小鼠体重 见表2。

| 表2 试验期间各组小鼠体重( $\bar{x} \pm s$ ) g |     |            |                           |            |            |
|------------------------------------|-----|------------|---------------------------|------------|------------|
| 组别<br>mL/kg BW                     | 动物数 | 初重         | 试验中期<br>体重                | 试验末<br>体重  | 增重         |
| 0.00                               | 12  | 23.3 ± 1.7 | 36.1 ± 3.7                | 42.3 ± 5.7 | 19.0 ± 5.3 |
| 0.00                               | 12  | 23.4 ± 1.5 | 31.1 ± 3.3 <sup>(1)</sup> | 40.8 ± 3.7 | 17.3 ± 3.6 |
| 1.64                               | 12  | 23.5 ± 1.3 | 31.8 ± 2.5                | 39.7 ± 3.3 | 16.2 ± 2.8 |
| 3.34                               | 12  | 23.5 ± 1.2 | 34.2 ± 4.7                | 43.4 ± 4.9 | 19.9 ± 4.5 |
| 10.0                               | 12  | 23.4 ± 1.2 | 32.0 ± 4.3                | 40.1 ± 4.2 | 16.7 ± 4.3 |

注:(1)与阴性对照组相比,P<0.05。

试验期间,染毒各组小鼠生长发育正常,无明显中毒症状,无死亡。由表2可见,除试验中期模型对

照组小鼠体重显著低于阴性对照组外,各组小鼠之间试验始末体重及增重比较,差异均无显著性(P>0.05)。

2.3 受试物对血铅和组织铅含量的影响 模型对照组全血、肝、肾、脑、股骨铅含量均显著高于阴性对照组,3个剂量组全血铅均显著低于模型对照组,高剂量肝铅含量显著低于模型对照组,各剂量组肾铅、脑铅及低、中剂量组股骨铅较模型对照组有降低趋势,但差异无显著性(P>0.05),见表3。

2.4 受试物对血锌和组织锌含量的影响 见表4。

铅使血锌有升高趋势,受试物有使血锌呈剂量依赖性降低的趋势,铅使骨锌含量升高,受试物有促进骨锌进一步升高的趋势,但将表3中各指标作对数转换、符合正态分布后进行方差分析,结果显示各指标各组间差异无显著性(P>0.05),估计与个体间差异太大有关。

2.5 受试物对血铜和组织铜含量的影响

表5显示染铅各组肾铜含量显著高于阴性对照

组(  $P < 0.001$  ),高剂量组股骨铜含量显著高于其它 肝、肾、脑中铜含量无显著影响(  $P > 0.05$  )。各组(  $P < 0.001$  )。受试物各剂量对染铅小鼠血、

表 3 血铅和组织铅测定结果( $\bar{x} \pm s$ ) μg/g

| 组别 mL/kg BW | 动物数 | 全血铅                         | 肝铅                          | 肾铅                        | 脑铅                        | 股骨铅                         |
|-------------|-----|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 阴性对照组       | 12  | 0.23 ±0.08                  | 0.32 ±0.29                  | 0.93 ±0.44                | 0.26 ±0.17                | 4.82 ±2.79                  |
| 模型对照组       | 12  | 0.51 ±0.20 <sup>(3)</sup>   | 1.14 ±0.44 <sup>(3)</sup>   | 7.24 ±3.82 <sup>(3)</sup> | 0.59 ±0.42 <sup>(1)</sup> | 76.14 ±28.80 <sup>(3)</sup> |
| 低剂量组        | 12  | 0.35 ±0.11 <sup>(2,4)</sup> | 1.07 ±0.34 <sup>(3)</sup>   | 5.25 ±2.06 <sup>(3)</sup> | 0.43 ±0.22                | 59.96 ±38.19 <sup>(3)</sup> |
| 中剂量组        | 12  | 0.27 ±0.05 <sup>(6)</sup>   | 0.99 ±0.19 <sup>(3)</sup>   | 5.32 ±1.74 <sup>(3)</sup> | 0.38 ±0.23                | 51.11 ±21.39 <sup>(3)</sup> |
| 高剂量组        | 12  | 0.33 ±0.10 <sup>(1,5)</sup> | 0.78 ±0.24 <sup>(3,4)</sup> | 6.52 ±2.85 <sup>(3)</sup> | 0.49 ±0.22                | 87.05 ±38.12 <sup>(3)</sup> |

注:与阴性对照组相比,(1)  $P < 0.05$  ,(2)  $P < 0.01$  ,(3)  $P < 0.001$  ;与模型对照组相比,(4)  $P < 0.05$  ,(5)  $P < 0.01$  ,(6)  $P < 0.001$  。

表 4 血锌和组织锌含量测定结果( $\bar{x} \pm s$ ) μg/g

| 组别 mL/kg BW | 全血锌          | 肝锌             | 肾锌            | 脑锌             | 股骨锌             |
|-------------|--------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|
| 阴性对照组       | 35.12 ±12.42 | 69.39 ±19.59   | 132.24 ±59.42 | 124.43 ±89.50  | 728.43 ±292.68  |
| 模型对照组       | 45.23 ±36.74 | 84.61 ±50.80   | 104.52 ±32.16 | 119.08 ±85.73  | 865.25 ±350.75  |
| 低剂量组        | 37.92 ±22.08 | 74.01 ±22.23   | 176.00 ±91.87 | 99.43 ±31.95   | 1328.10 ±922.48 |
| 中剂量组        | 44.99 ±38.03 | 83.07 ±56.07   | 107.05 ±46.30 | 124.99 ±106.78 | 987.98 ±751.16  |
| 高剂量组        | 35.63 ±17.00 | 129.07 ±107.52 | 102.11 ±45.05 | 127.80 ±62.02  | 982.73 ±479.00  |

表 5 血铜和组织铜含量测定结果( $\bar{x} \pm s$ ) μg/g

| 组别 mL/kg BW | 全血铜        | 肝铜         | 肾铜                         | 脑铜         | 股骨铜                         |
|-------------|------------|------------|----------------------------|------------|-----------------------------|
| 阴性对照组       | 2.35 ±0.18 | 6.43 ±2.00 | 9.62 ±1.42                 | 7.07 ±0.51 | 11.48 ±2.72                 |
| 模型对照组       | 2.20 ±0.50 | 7.17 ±0.75 | 15.73 ±2.08 <sup>(1)</sup> | 7.84 ±1.22 | 14.97 ±11.28                |
| 低剂量组        | 2.41 ±0.20 | 7.55 ±1.14 | 15.83 ±1.50 <sup>(1)</sup> | 8.06 ±0.21 | 14.13 ±8.05                 |
| 中剂量组        | 2.38 ±0.27 | 7.51 ±1.11 | 15.12 ±2.04 <sup>(1)</sup> | 7.69 ±0.79 | 11.55 ±5.96                 |
| 高剂量组        | 2.35 ±0.34 | 7.42 ±1.11 | 16.58 ±3.56 <sup>(1)</sup> | 8.53 ±3.19 | 33.16 ±10.26 <sup>(2)</sup> |

注:与阴性对照组相比,(1)  $P < 0.001$  ;与其它各组相比,(2)  $P < 0.001$  。

3 讨论 本试验中,模型对照组小鼠血、肝、肾、脑、股骨铅含量均显著高于阴性对照组,说明动物模型成立。3 个剂量组与模型对照组小鼠铅摄入剂量大致相当,但全血铅水平均显著降低,10.0 mL/kg BW 剂量还使肝组织铅含量显著降低,根据卫生部《促进排铅作用检验方法》中的判定标准,受试物具有促进排铅作用。然而,受试物使肝铅含量呈剂量依赖性降低的同时,高剂量组肾、脑、股骨铅含量却较低、中剂量组高,股骨铅含量甚至超出了模型对照组。因此不能排除受试物使肝组织内铅向骨骼及其它组织发生了转移,即并未使铅排出体外的可能。而对此种情况下驱铅保健功能的判定,《保健食品检验与评价技术规范》(2003 年版)“促进排铅功能检验方法”<sup>[8]</sup>中并未做出考虑和限制,据此,建议改用大鼠增加尿铅作为判定驱铅作用最直观的观察指标。

金属硫蛋白(MT)是一种富含半胱氨酸的低分子量蛋白质,可选择性地与重金属离子如必需微量元素锌、铜及毒性元素镉、汞、铅结合,哺乳类 MT 可结合 7 原子锌、铅、钙或 12 原子铜,不同金属与 MT 结合形成的复合物的稳定常数不同。<sup>[9]</sup>MT 巯基与铅结合形成铅蛋白复合物的核包涵体,加速铅排出体外。<sup>[10]</sup>然而,令人顾虑的是,MT 驱铅同时,是否会促

进锌、铜等必需金属排出体外。本文发现以 MT 为主要成分的口服液,除高剂量引起股骨铜含量显著升高外,对其它组织内锌、铜含量无明显不良影响,由此保证了保健食品较螯合剂驱铅治疗的优越性。受试液使股骨铜升高的机制尚待阐明。

膳食钙的驱铅作用早有报道。适度的高膳食钙(0.5%~2.5%)通过影响铅的吸收、排泄和维生素 D 代谢<sup>[11]</sup>而降低大鼠肝、肾、脑、股骨等组织内的铅含量。<sup>[12]</sup>而膳食中钙含量过高(4.0%)不能有效防止组织内铅沉积,可能是由于过量钙引起肾钙化而使肾功能受损、尿铅排泄障碍所致。<sup>[13]</sup>10.0 mL/kg BW 剂量组股骨铅含量较高可能与其摄入铅量较高有关( $Pb^{2+}$  76.0 mg/kg BW),也可能与受试物中钙含量不适度有关,可通过调整其含量进一步研究取证。

本研究的另一发现是,铅暴露使肾铜含量显著升高,使全血和肝组织锌含量有升高趋势,而有研究表明,慢性铅暴露使肾铜、肝锌含量降低<sup>[14]</sup>或不影响肾铜、肝锌含量。<sup>[15]</sup>铅对体内微量元素的影响可能是其毒性表现之一,其间的作用机制尚待进一步研究。

参考文献:

[1] 何清,叶风云,焦宏,等.北京市儿童血铅水平及相关

- 因素的调查研究[J]. 中华儿科杂志, 1998, 36 (3) : 139 —141.
- [ 2 ] 颜崇淮, 沈晓明, 章依文, 等. 上海市儿童血铅水平及其影响因素的流行病学研究[J]. 中华儿科杂志, 1998, 36(3) :142 —144.
- [ 3 ] Pirkle J L , Brody D J , Gunter E W , et al. The decline in blood lead levels in the United States[J]. JAMA , 1994 , 10 : 284 —291.
- [ 4 ] CDC. Preventing lead poisoning in young children : A statement by the Centers for Disease Control [ A ]. Atlanta : CDC , 1991.
- [ 5 ] Landrigan P J . Lead in the modern workplace [ J ]. Am J Public Health , 1990 , 80 : 907 —908.
- [ 6 ] Anonymous. Hearing see clash over US lead removal strategy [ J ]. The Nation ' s Health. 1991 , ( 9 ) : 1 , 3 , 24.
- [ 7 ] Aposhian H V , Maiorino R M , Ramirez D G , et al. Mobilization of heavy metals by newer , therapeutically useful chelating agents [ J ]. Toxicology , 1995 , 97 : 23 —38.
- [ 8 ] 保健食品检验与评价技术规范 [ S ].
- [ 9 ] Hamer D H. Metallothionein [ J ]. Ann Rev Biochem , 1986 , 55 : 951 —953.
- [ 10 ] 王世俊. 金属中毒 [ M ]. 第 2 版. 北京 : 人民卫生出版社 , 1980 , 76.
- [ 11 ] Fuller C S. Intestinal lead and calcium absorption : effect of 1 , 25-dihydroxycholecalciferol and lead status [ J ]. Proc Soc Exp Biol Med , 1990 , 194 : 258 —264.
- [ 12 ] Bogden J D , Gertner S B , Christakos S , et al. Dietary calcium modifies concentrations of lead and other metals and renal calbindin in rats [ J ]. J Nutr , 1992 , 122 : 1351 —1360.
- [ 13 ] Bogden J D , Gertner S B , Kemp F W , et al. Dietary lead and calcium : effects on blood pressure and renal neoplasia in wistar rats [ J ]. J Nutr , 1991 , 121 : 718 —728.
- [ 14 ] Miller G D , Massaro T F , Koperek E , et al. Low-level lead exposure and the time-dependent organ-tissue distribution of essential elements in the neonatal rat [ J ]. Biol Trace Elem Res , 1984 , 6 : 519 —530.
- [ 15 ] Lee Y H , Shaikh Z A , Tohyama C. Urinary metallothionein and tissue metal levels of rats injected with cadmium , mercury , lead , copper and zinc [ J ]. Toxicology , 1983 , 27 : 337 —345.
- [ 收稿日期 : 2003 - 08 - 28 ]

中图分类号 : R75 ; TS218 ; Q51      文献标识码 : A      文章编号 : 1004 - 8456 (2004) 02 - 0125 - 04

## 《中国食品卫生杂志》2004 年征订启事

《中国食品卫生杂志》(ISSN 1004 - 8456/CN 11 - 3156/R)系中华预防医学系列杂志,公开发行,双月刊,96 页。所设栏目论文部分有:论著、实验技术与方法、监督管理、调查研究、综述、食物中毒、CAC 专栏、网络信息等;法规文件部分刊登有关食品卫生的国家法律、法规、标准、行政答复、通告等。读者可以通过本刊及时掌握国家新颁布的食品卫生法律、法规,了解最新食品卫生科研成果,解决工作中遇到的问题,提高论文水平。

本刊可通过邮局订阅,邮发代号:82 - 450;亦自办发行并常年办理订阅。

自办发行办法如下,2004 年《中国食品卫生杂志》全年售价 78 元(含邮费)。从邮局汇款时请注明订阅册数、详细的收件人地址、单位、邮编、姓名;通过银行汇款的单位,请在汇款的同时寄函或电传我所以以下内容:订阅册数、详细收件人地址、邮编、单位、姓名,以便准确邮寄。

希望挂号投寄期刊的用户,每期杂志需加挂号费 2 元,全年合计挂号费 12 元,并请寄款时同时说明要求挂号。

汇款地址:北京市宣武区南纬路 29 号 《中国食品卫生杂志》编辑部

邮 编:100050

联系人:娄人怡

电 话:(010)83132658

电 传:(010)83132658

银行汇款:北京农业银行开发区支行潘家园分理处

账 号:11 - 220201040003236

户 名:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所 请注明“《中国食品卫生杂志》订阅款”

《中国食品卫生杂志》编辑部  
2003 年 9 月