

重金属污染物在海洋生物体内的积累和解毒机理

刘发义 吴玉霖

(中国科学院海洋研究所)

Cu、Hg、Pb、Cd 和 Zn 等是海洋中几种主要的重金属污染物。研究表明,有些海洋生物,特别是双壳类软体动物,对这些重金属具有很高的积累能力。表1列出了一些重金属在几种海洋贝类生物中的浓缩因子。其它海洋动物如多毛类、甲壳类以及鱼类,特别是它们的肝脏和肾,也能积累很高浓度的重金属。

表1 重金属在几种贝类中的浓缩因子

金属种类	扇贝	牡蛎	贻贝
Ag	2300	18700	330
Cd	2266000	318000	100000
Cu	3000	13700	3000
Zn	28000	110300	9000
Pb	5300	3800	4000
Cr	200000	60000	320000
Fe	291500	68200	196000

很多海洋生物虽然积累了很高浓度的重金属,但生物本身并不表现出明显的中毒反应,如生活在英格兰西南部 Cornwall 河口的牡蛎 (*Ostrea edulis*),其体内 Cu 和 Zn 的含量都非常高,高浓度的 Cu 竟使其软组织变成了绿色,但仍然能在那严重污染的环境中正常生活;中国对虾肝脏内 Cu 的含量可高达 1877 ppm,但其生活完全正常¹⁾。

上述现象说明,在海洋生物体内或者它们的某些组织中,具有积累和贮存重金属并使之解毒的特殊机制,对这些机制的研究,可以在细胞和分子水平上解释生物对重金属的积累和耐受能力的差异,为比较准确地评价和预测重金属对海洋生物的影响提供科学依据,并有可能为海洋污染的生物监测提供新的、快速而灵敏

的监测方法。

重金属在生物体内积累和解毒的机理,至少包括以下两类,一是生物体内原来具有或在某种条件下能诱导合成某种特殊的配位体,使得进入体内的重金属被很快结合起来,起到积累和贮存的作用,同时使这些重金属不能与细胞内的酶和核酸等生物活性物质发生反应,从而起到解毒作用;另一类是进入生物体内的重金属经细胞代谢而集中到某些亚细胞颗粒中,使之得以积累,同时因这些重金属被亚细胞颗粒的膜包裹而与其它细胞成分相隔离,避免引起中毒反应。

应该说,生物体内所有的金属蛋白、金属酶、以及其它含金属的分子,都具有贮存金属的作用,但这些分子中金属的含量通常是有限的;同样,在亚细胞颗粒中,细胞核和线粒体等也可能含有某些重金属,但它们积累的量通常也都比较少。上述情况对于重金属在生物体内的积累虽然也能起到一定的作用,但不是主要的,生态毒理学家所感兴趣的,主要是那些能够使较高浓度的重金属在体内积累和解毒的过程和机制。下面就目前受到重视和研究得较多的几种机制以及我们在这方面所做的工作作简要阐述。

一、金属硫蛋白 (Metallothionein)

金属硫蛋白是一种低分子量蛋白质,由 Margoshes 和 Vallee 于 1957 年从马肾皮质中发现的,其分子量为 6000—10000 道尔顿,因测

1) 李荷芳, 1985。海洋湖沼生态学与甲壳动物学学术讨论会论文摘要汇编,第 161—162 页。

定的方法不同,数值有所差异,通常用凝胶层析法测得的分子量为10000左右,这是假定其分子为球形而测得的,但实验证明,金属硫蛋白的分子为椭球形,因而该法测得的结果偏高。而根据其氨基酸组成求得的分子量为6800。

金属硫蛋白分子通常是由61个氨基酸残基组成,其中半胱氨酸残基占30%左右,它不含芳香族氨基酸、色氨酸和组氨酸。由于半胱氨酸上的巯基对重金属有很高的亲合力,因而能够牢固地结合大量的重金属,主要是Hg、Cd、Cu、Zn和Ag等。每个蛋白质分子大约能结合7个金属原子,巯基与金属原子的比大约为3:1。

在很多海洋生物体内都发现含有金属硫蛋白或类金属硫蛋白(metallothionein-like protein)存在。所谓类金属硫蛋白是指分子量和一些主要性质都与金属硫蛋白类似的金属结合蛋白。人们在帽贝、贻贝、沙蚕、蟹类、海胆和很多种鱼体内都发现了这类蛋白质,不过有些海洋动物体内的类金属硫蛋白的半胱氨酸残基含量比较低,并含有少量的芳香族氨基酸^[3]。

在正常情况下,生物体内金属硫蛋白的含量很低,但当生物受到Cd、Hg、Cu、Zn等金属污染时,会在其体内诱导合成这类蛋白质,这样,进入细胞内的重金属就会结合到这些新合成的金属硫蛋白上,或者将原来结合在该蛋白质上的其它金属取代下来,如Cd能取代其中的Zn,从而起到积累和解毒作用。有些生物,当其预先暴露于小量重金属之后,会对高浓度的重金属产生耐受能力,就是由于低浓度的重金属预先在生物体内启动了金属硫蛋白的合成基因,当其再暴露于高浓度的重金属时,新合成的金属硫蛋白就可以将进入细胞内的重金属结合起来,使之得到积累和解毒。当然金属硫蛋白贮存重金属和解毒的能力不是无限的,当它们被重金属饱和之后,继续合成又赶不上进入细胞的金属结合的需要,多余的重金属就会与其它生物分子,包括酶和核酸等生物大分子相互作用,引起中毒现象的发生。对此,有人提出

了所谓的“溢出(spillover)”假说,即当金属硫蛋白被重金属饱和之后,多余的重金属就会“溢出”到其它生物分子上^[4]。

关于金属硫蛋白或类金属硫蛋白在海洋生物体内的存在、诱导合成,及其在海洋污染研究中的意义,已有不少综述和评论^[1,5]。我们在室内实验研究中,发现Hg能在罗非鱼肾脏、胆汁等组织中诱导合成这类蛋白质。在其肾脏中,Hg的含量约占鱼全身总Hg的7.5%,其中大约有一半是结合在类金属硫蛋白上,而肾脏的重量仅约占体重的0.22%,可见这种蛋白质对于Hg在罗非鱼肾脏中的积累起着非常重要的作用^[2]。在对梭鱼的研究中,我们发现Cd、Cu或Zn在其肝脏等组织中也能诱导合成这类蛋白质。在鱼未暴露于上述金属之前,肝脏中的类金属硫蛋白上结合有Zn,而暴露于上述金属30天之后,类金属硫蛋白上的Zn全部被Cu和Cd所取代,这时肝脏细胞浆中的Cu和Cd几乎全部集中在类金属硫蛋白中,但暴露90天后,则有部分Cu和Cd结合到了大分子库中,出现了Cu和Cd从金属硫蛋白中“溢出”的现象,但这种溢出现象对梭鱼的生长发育有何影响,我们尚未进行研究。梭鱼是我国沿海,特别是河口、海湾的主要鱼类之一,也是主要的海水养殖鱼类之一,如果有可能利用其肝脏金属硫蛋白作为重金属污染的生化指标,将是很有意义的。

目前,关于金属硫蛋白的研究仍然受到世界各国科学家的重视。有些海洋生物体内的金属硫蛋白已经得到分离和纯化,但是生态毒理学家最感兴趣的,则是重金属在生物体内诱导合成该蛋白合成中的动力学过程,该蛋白质含量与生物体内及环境中重金属含量之间的关系,以及各种因素,包括生物本身和环境因素对其影响;金属硫蛋白合成过程及其被重金属饱和后发生“溢出”现象时对生物生长发育的影响,并进而推测对生物种群、群落,以致生态学可能产生的影响。使生态毒理学家感兴趣的另一个问题,是利用金属硫蛋白作为污染的生物

监测指标。1986年8月国际政府间海事委员会(IOC)下属的污染物生物效应专家组(GEEP)在奥斯陆举办了一次生物效应研讨会,主要探讨用生理、生化和细胞方法监测海洋环境的可能性,金属硫蛋白就是研讨会研究的主要内容之一。这次会被认为是生物效应研究的一个里程碑。尽管如此,用金属硫蛋白作为生物监测的指标,还有许多工作要做。

二、小分子量金属络合物

重金属在海洋生物体内积累和解毒的另一种机制,是其与生物体内小分子量($MW < 2000$)的配位体形成络合物。如前面谈到的牡蛎(*Ostrea edulis*)就具有这种机制。Coombs^[6]在研究受Cu、Zn等重金属严重污染的这种牡蛎时,发现其体内的Cu和Zn绝大部分分布在小分子库中,认为这些Cu和Zn主要是与牛磺酸、甘氨酸、ATP等结合。我们对这种牡蛎体内的Cu络合物进行了分离纯化,从中分离出了6种不同的含Cu络合物,其中最主要的是一种含氮杂环化合物,这种络合物中的Cu约占整个小分子库中总Cu的70%。其它几种可能是Gly-Gly、Cys-Gly,以及谷胱甘肽等小肽与Cu的络合物。

最近,我们研究了Cu在对虾亲虾和受Cu污染的幼虾肝胰脏中的积累和分布,发现其中高浓度的Cu也是大部分集中在小分子库中,而且随着Cu在肝胰脏中积累量的增加,小分子库中的Cu在肝胰脏总Cu中所占的比例逐渐增加,可达74%左右,从中分离出的一种小分子量含Cu络合物在总Cu中所占的比例也随之逐渐增加。无疑这种小分子量Cu络合物对于Cu在对虾肝胰脏中的积累和解毒具有重要作用。这种小分子量配位体是原来就存在于肝胰脏中,还是后来诱导产生的,尚不得而知。目前我们正在对这种络合物的性质作进一步的研究。

此外,Westoo发现,在鲑鱼和鳟鱼的肌肉中,甲基汞是以甲基汞-半胱氨酸络合物的形式

存在的,认为甲基汞在鱼体内积累和解毒也是靠这种小分子量金属络合物机制。

三、细胞内的金属颗粒 (Metal-containing granule)

有些海洋生物,特别是带有外壳的无脊椎动物,在它们的一些结缔组织中,发现有金属颗粒存在于细胞外,这种金属颗粒的主要成分是碳酸钙,只有极少数含有少量的Pb和Zn等重金属。但在许多海洋生物的某些组织的细胞内,特别是在肝脏和肾脏的细胞中,却发现有许多含有很高浓度的重金属的颗粒,这些颗粒的外面是由膜包裹着的,使得其中的金属与其它细胞组分相隔离,因而起到积累和解毒作用,这种机制被称为“包围隔离机制”(compartmentation)。这种金属颗粒又叫做“金属泡囊”(metal-containing vesicle)。

有两种主要类型的金属颗粒:一类是无机颗粒,通常存在于软体动物和节肢动物的肝胰脏和肾脏细胞中,其主要成分是Ca、Mg的磷酸盐和焦磷酸盐,其中含有Ag、Al、Ba、Co、Fe、Mn、Pb、Sn和Zn等金属;另一类主要是含有有机成分,通常存在于无脊椎动物和脊椎动物的肝、肾、心和脑等组织中,它们是由溶酶体——液泡系形成的,主要由脂类的过氧化物和被降解的细胞膜构成,其中含有Cu、Cd、Pb、Zn和Fe等重金属,这种颗粒在细胞内通常称为三级溶酶体或残体。

所谓三级溶酶体,是指那些电子显微镜照片中的噬钼酸很强的或颜色很深的电子致密体。许多海洋生物,特别是海洋无脊椎动物的三级溶酶体中,都含有很高浓度的重金属,如贻贝、沙蚕、牡蛎、虾、蟹等动物的上皮组织、肝胰脏、肾脏、外套膜以及某些动物的血细胞中,都发现有这类金属浓度很高的三级溶酶体。例如,我们用分析电镜在受重金属污染的沙蚕(*Nereis diversicolor*)的围口节、肾孔周围,以及外皮层的细胞中,发现了许多Cu浓度很高

的金属颗粒,而在其肠道的上皮细胞中则发现了许多主要含有 Fe 和 Zn 的金属颗粒。用凝胶层析法对该动物的细胞浆进行分析,没发现有金属硫蛋白存在,因此这种动物积累和解毒重金属主要是靠这种“包围隔离”机制,而不是靠金属硫蛋白。另外,我们在一种受重金属污染的海洋线虫的肠上皮细胞内,及小头虫的一种体腔细胞内,也发现了很多含有很高浓度金属的颗粒。George 等人对受 Pb 污染的贻贝肾脏细胞中的金属颗粒曾进行过计算,发现它约占细胞总体积的 20%,而这些颗粒中 Pb 的量至少占颗粒总重量的 20—50%,可见这种颗粒在重金属积累和解毒中起着非常重要的作用。最近,贻贝和扇贝肾脏中的金属颗粒已经被分离出来,并对其性质进行了研究。

关于三级溶酶体的形成,人们认为是由于二级溶酶体吸收了可溶性的细胞质蛋白(包括金属硫蛋白),结合有重金属的细胞膜碎片以及其它的亚细胞颗粒,这些成分在溶酶体中被消化,剩下的金属则作为“垃圾”被“堆积”在溶酶体中,逐渐形成了三级溶酶体,即残体。许多无脊椎动物能够将体内的残体通过外吐作用而排泄出去,这也起到解毒作用,如贻贝的鳃和肾就具有这种功能。

除了上述介绍的以外,还有一些机制与重金属在海洋生物体内的积累和解毒有关,如在甲壳动物和软体动物体内发现有能贮存 Fe 的

铁蛋白(ferritin);动物体内的一些呼吸色素也具有贮存金属的作用,如血红蛋白、肌红蛋白可贮存 Fe,血绿蛋白和血蓝蛋白可贮存 Cu;有些色素细胞中也含有很高浓度的重金属,如有些鱼的眼色素细胞中含有高浓度的 Zn,章鱼的色素累积有 Ni;此外,在海鞘的血细胞中累积有高浓度的 V,在沙蚕的大肠中有浓度非常高的 Zn 等等。限于篇幅的关系,在此不再作详述。

主要参考文献

- [1] 刘发义, 1982. 金属硫蛋白的研究概况及其与环境科学的关系. 中国环境科学 3: 72—74.
- [2] 李世效、王仁美、刘发义, 1984. 汞在罗非鱼体内的代谢. 海洋学报 60(4): 512—519.
- [3] George, S. G. and Frazier, J. M., 1982. Some aspects of the relationship between tolerance to heavy metal pollution and metabolism of Cd, Cu and Zn in oysters. *Thalassia Yugoslavia*, 18(1—4): 203—211.
- [4] Winge, D., Krasno, J., and Colucci, A. V., 1973. Cadmium accumulation in rat liver: Correlation between bound metal and pathology. In: *Trace Elements Metabolism in Animals* (Hoeckstra, W. G. et al. Eds.), University Park Press, Baltimore, 2:500—501.
- [5] Klaverkamp, G. F., et al., 1985. Metallothionein and acclimation to heavy metals in fish. A review. In: *Contaminant Effects on Fisheries* (Cairns, V. W. et al. Eds.) John Wiley & Sons Inc. New York, pp. 99—114.
- [6] Coombs, T. L., 1974. The nature of the zinc and copper complexes in the oyster, *Ostrea edulis*. *Mar. Biol.* 28:1—10.