

内停留时间和云的寿命都短,因此在讨论云水对硝酸的清除时可按平衡处理。

采样时,金顶的平均气温 12℃,如云水量  $L$  为  $0.5\text{g}/\text{m}^3$ ,无雨,无雾时  $\text{HNO}_3$  的平均浓度  $0.16\ \mu\text{g}/\text{m}^3$  ( $0.06\ \text{ppb}$ ),  $\text{HNO}_3$  进入云雾水的最大浓度为  $\frac{P}{RT} \frac{1}{L} = 5 \times 10^{-6}\text{mol}$ . 金顶 10 月 8—13 日云雾水的  $\text{H}^+$  和  $\text{NO}_3^-$  的平均浓度分别为  $44.4\ \mu\text{mol}$  和  $66\ \mu\text{mol}$ , 故气态  $\text{HNO}_3$  对金顶雾水中  $\text{H}^+$  的最大贡献约为 11%,对雾水中  $\text{NO}_3^-$  的最大贡献为 8%. 说明气态  $\text{HNO}_3$  对金顶雾水酸度的贡献是值得重视的,又因为金顶的  $\text{NH}_3$  很低,不能中和大气中的酸性物质,这些因素都是雾水酸度较高的原因。

致谢:中国环科院大气室齐立文同志提供  $\text{O}_3$  数据,北京大学李金龙、姚荣奎同志参加采样,在此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] Davison, W. et al., *Analys.*, **103**, 403(1978).
- [2] 环境监测分析方法编写组,环境监测分析方法, 230 页, 1983 年.
- [3] Dawson, G. A., *Precipitation Scavenging, Dry Deposition, and Resuspension Vol 1*, p. 687 Elsevier, 1983.
- [4] Stelson, A.W. et al., *Atmos. Environ.*, **16(5)**, 983 (1982).
- [5] Levine, S. Z. et al., *Atmos. Environ.*, **16(7)**, 1725(1982).
- [6] Schwartz S. E. *Acid Precipitation Series, Vol. 3*, p. 173 Butterworth, 1984.

# 水中有有机物致大骨节病的实验研究

王 维 哲      冯 兰 飞

(辽宁省基础医学研究所)

大骨节病 (Kaschin-Beck disease) 至今原因不明。在众多病因学说中,饮水有机物中毒说,粮食霉菌感染说和地球生物化学说较为受到重视。但都因流行病学研究和环境生态学考察结果不一致,更因缺少实验论证而未为人们所确认。

我们从实验医学角度,用人胚软骨细胞培养技术研究了腐植物某些组分是致大骨节病的主要病因的可能性,已做过一次报道<sup>[1]</sup>。本文是该报道的继续。

## 实 验 研 究

### 一、水中腐植物组分和有机酸对软骨细胞的效应分析

富里酸 (Fulvic acid, FA) 和胡敏酸

(Humic acid, HA)是腐植物的水溶部分,从吉林省大骨节病区汪清县孟家(患点)和林场(非患点)以及乾安县次字的土井和深井(改水,腐植酸下降约二分之一,三年中病情好转率为 62.2%)按纪氏报道的方法提取<sup>[2]</sup>。它们对培养人胚软骨细胞的生物效应归纳如表 1 和表 2。结果说明:(1) 饮水中的腐植物组分,不论来自病区何处,在 50ppm 时都能致软骨细胞损伤,且富里酸作用 (25 ppm 就明显损伤细胞)强于胡敏酸;(2) 在病区,患点和非患点水组间,土井和深井水组间进行比较,前者损伤软骨细胞效应明显大于后者,差异显著<sup>[3]</sup>。

依据过去和上述研究表明,不论是土壤还是水中腐植物组分,来源不同,其对软骨细

**表 1 病区饮水中腐植物组分对人胚软骨细胞的生物效应比较**

样 品	浓 度 (ppm)	胡敏酸		富里酸	
		细胞损伤	SGAG 合成*	细胞损伤	SGAG 合成
患 点	50	轻度**	略增强	中度	轻度减弱
	100	中度	轻度减弱	重度	中度减弱
土 井	50	中度	中度减弱	重度	重度减弱
	100	重度	中度减弱	重度	重度减弱
深 井	50	不显**	略增强	不显	轻度减弱
	100	轻度	轻度减弱	中度	中度减弱

\* SGAG = 硫酸葡萄糖胺聚糖,用以表示细胞合成基质能力。

\*\* 表示在细胞损伤同时伴有整个培养细胞增殖旺盛。

**表 2 不同饮水中富里酸对人胚软骨细胞的生物效应比较**

样品浓度 (ppm)	患 点		非患点	
	细胞损伤	SGAG 合成	细胞损伤	SGAG 合成
25	中度	略增强	不显	轻度增强
50	重度	轻度减弱	轻度	略增强
100	极重度	轻度减弱	中度	略增强
样品浓度 (ppm)	土 井		深 井	
	细胞损伤	SGAG 合成	细胞损伤	SGAG 合成
25	中度	略增强	正常	轻度增强
50	中度	轻度减弱	轻度	正常
100	重度	轻度减弱	中度	略减弱

胞的生物效应是有差别的。这很可能是由于它们的结构组成不同所致。为此,我们初步

对结构不同的(有无苯环或羟基)有机酸致软骨细胞生物效应做了观察,结果列于表 3。

正戊酸 (n-Valenic acid)、苯甲酸 (Benzoic acid) 和二羟基苯甲酸 (3, 4-Dihydroxybenzoic acid) 的分子量分别为 102.3、122.12 和 154.12。苯甲酸和二羟基苯甲酸有苯环,且后者多二个羟基。尽管三种有机酸在  $10^{-3}$ mol 都对软骨细胞生长和分裂增殖有抑制作用,但是二羟基苯甲酸的作用明显强于正戊酸和苯甲酸。

当将 0.1ppm 硒(亚硒酸钠)和有机酸同时加入培养液内再进行培养观察时,则三种有机酸所引起的软骨细胞损伤效应都不再出现(表 4)。

### 二、抗氧化剂对腐植物组分损伤软骨细胞的保护效应

硒和维生素 E 都是强抗氧化剂,具有明显清除自由基、过氧化物,拮抗过氧化损伤功能。在用富里酸致人胚软骨细胞损伤的实验里,如预先或同时给与适量(0.1ppm)硒,则软骨细胞损伤不出现(或显著减轻),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-P<sub>x</sub>)活力也不再降低,而葡萄糖胺聚糖(GAG)合成还略有增强。但维生素 E 的上述效应则不明显<sup>[4]</sup>(表 5、6)。

应用昆明种小白鼠(体重  $30 \pm 0.1g$ ),腹腔注入致死量廉江胡敏酸(中科院生态环境研究中心提供),观察 7 天。如同时给与适量硒,则小鼠的存活天数延长(表 7),下降的血

**表 3 不同结构有机酸对人胚软骨细胞生物效应的比较**

观察内容	对 照	正戊酸 (mol)			苯甲酸 (mol)			二羟基苯甲酸 (mol)		
		$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
细胞生长情况										
3 天	+-++	±-++	+-++	++-+++	±-+	+-++	++-+++	±	+	++
6 天	++-+++	+	++-+++	+++-++++	+	++-+++	+++-++++	±	++	+++
合成 SGAG 能力										
3 天	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+
6 天	++	+-++	++	++	+-++	++	++	±	++	++

注:表内结果为 7 次实验综合判定结果,表 4 同。

表 4 硒在有机酸致软骨细胞效应中作用的观察

观察内容	对 照	硒+正戊酸 (mol)			硒+苯甲酸 (mol)			硒+二羟基苯甲酸 (mol)		
		10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
细胞生长情况										
3 天	+	+	++	+++	+	++	+++	+	+	+++
6 天	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++
合成 SGAG 能力										
3 天	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+
6 天	++	++	++	+++	++	++	+++	++	++	++

表 5 硒对富里酸损伤软骨细胞的生物效应观察 (M ± SE)

检测内容	对 照 组	富里酸组	硒 组	硒+富里酸组
细胞数(万/瓶)	108.9±15.7	98.9±13.5*	116.3±13.9	110.8±18.3***
GSH-P <sub>x</sub> 活力(单位/40 万细胞)	23.5±5.0	20.5±5.6	22.7±4.7	29.2±6.0***
TGAG (μg/瓶)	57.5±5.6	48.0±5.4**	56.7±6.2	56.9±6.0***
SGAG (μg/瓶)	22.2±3.2	17.9±3.6	21.9±4.2	20.9±3.5***
HA (μg/瓶)	31.2±6.2	25.0±5.7	29.6±8.5	31.4±5.6***

\* 和对照组比较, P<0.05; \*\* 和对照组比较, P<0.01; \*\*\* 和富里酸组比较, P<0.05.

GSH-P<sub>x</sub>, 谷胱甘肽过氧化物酶; TGAG, 葡萄糖胺聚糖总量; SGAG, 硫酸葡萄糖胺聚糖; HA, 透明质酸. 富里酸用量为 25ppm.

表 6 硒和维生素 E 对富里酸损伤软骨细胞的效应比较

组 别	细胞形态所见	合成 SGAG 能力	效 应 判 定
N	单层, 周边部细胞略伸突, 空隙(±)	见于中央区	生长良好
FA	空隙多(++), 周边部细胞瘦小(+), 有碎解(±), 损伤明显	减弱	有抑制和损伤效应
Se	单层, 细胞圆形密集, 生长旺盛	增强, 也见于间区	有刺激细胞增殖和 SGAG 合成效应
Se + FA	同 N 组	有时略增强	有明显阻止 FA 损伤效应
VE	同 N 组	同 N 组	没有影响
VE + FA	空隙(+), 细胞瘦小(+)	减弱	阻止 FA 损伤效应不明显
Se + VE	同 N 组	略增强	刺激效应不明显
Se + VE + FA	有少量空隙(±), 细胞瘦小(±)	同 N 组	有阻止 FA 损伤效应, 但不如 Se 组明显

注: N, 对照; FA, 50ppm; Se, 0.1ppm; VE, 5.0ppm. 表内所述皆是和 N 组比较的结果.

表 7 硒对胡敏酸致死小白鼠存活天数的影响

实验分组	HA60mg/只		HA30mg/只		HA15mg/只		HA7.5mg/只	
	HA	HA + Se	HA	HA + Se	HA	HA + Se	HA	HA + Se
小鼠数	7	8	11	8	10	12	6	7
存活天数 (M ± SD)	0.14 ± 0.38	0.25 ± 0.46	1.00 ± 0.63	1.25 ± 0.46	3.00 ± 2.31	4.83 ± 2.76	7.00	7.00
P	>0.05		>0.05		<0.05			

注: 硒用量为 300μg/只.

表 8 胡敏酸对硒致死小白鼠存活天数的影响

实验分组	Se 600 $\mu$ g/只		Se 300 $\mu$ g/只		Se 150 $\mu$ g/只		Se 75 $\mu$ g/只	
	Se	Se + HA	Se	Se + HA	Se	Se + HA	Se	Se + HA
小鼠数	9	7	9	11	11	11	10	10
存活天数 (M $\pm$ SD)	0	0	4.11 $\pm$ 2.42	1.82 $\pm$ 1.99	7.00	5.91 $\pm$ 2.42	7.00	7.00
P			<0.05		>0.05			

注: 腐植酸用量为 15mg/只

表 9 病区粮和/或富里酸小白鼠实验各组间血液 GSH-P<sub>x</sub> 活力的比较

比较组别	组间均值差	差值标准误	t 值	例 数	P 值
(1)和(3)	30.12-22.18=7.94	3.42	2.32	6	$\approx$ 0.05
(1)和(2)	31.38-26.36=5.02	3.93	1.28	5	>0.05
(2)和(4)	29.78-19.24=10.54	2.77	3.80	5	<0.05
(3)和(4)	26.25-18.30=7.95	4.17	1.90	8	>0.05
(1)和(4)	31.87-16.00=15.87	3.67	4.32	6	<0.01
(2)和(3)	28.00-28.23=0.23	3.28	0.07	6	>0.05

液 GSH-P<sub>x</sub> 活力回升。但在致死量硒的实验中,同时给与适量胡敏酸,则出现相反效应即小鼠存活天数缩短(表 8),血液 GSH-P<sub>x</sub> 活力下降,皆较单纯硒组更为显著。

### 三、病区粮和腐植物组分对大鼠血液 GSH-P<sub>x</sub> 活力的影响

用自繁自育的 Wistar 种大白鼠,生后 21 天断奶,35 天分雌雄,随机分四组进行实验:(1)非病区粮组(沈阳);(2)非病区粮+富里酸组(由吉林省病区井傍土壤中提取);(3)病区粮组(陕西省永寿病区);(4)病区粮+富里酸组。动物食用粮水不限。每周腹腔注入富里酸(生理盐水对照)一次,用量为 50 $\mu$ g/克体重,注射 3—8 次。结果是体重、骨骼 X 拍片和组织学观察,除病区粮+富里酸组略有变化外,没有显著差异。然而,血液 GSH-P<sub>x</sub> 活力确呈现明显的规律性变动(表 9)。该变动有两个显著特点,(1)病区粮(低硒)引起动物血液 GSH-P<sub>x</sub> 活力下降较为迅速和明显;而富里酸引起的 GSH-P<sub>x</sub> 活力下降迟缓并较轻;(2)病区粮和富里酸对血

液 GSH-P<sub>x</sub> 活力下降效应有相加作用。

## 讨 论

本研究不仅再次肯定了以前工作的结论<sup>[1]</sup>,而且对腐植物损伤软骨细胞和伤害动物的机制提供了新的实验依据,主要归纳如下:1. 饮水中腐植物对软骨细胞的损伤效应同于饮水井周围土壤中腐植物,两者都是富里酸强于胡敏酸;2. 在同一病区,患点和非患点饮水间、土井和深井饮水间相比较,前者提取的腐植物组分损伤软骨细胞效应强于后者;3. 适量补硒具有明显地拮抗腐植物损伤软骨细胞结构和功能的效应,而维生素 E 的上述效应不显著;4. 在大白鼠实验中,同样看到硒对腐植酸和/或病区粮伤害的保护效应;5. 病区粮(喂养)和富里酸(腹腔注入)引起大白鼠血液 GSH-P<sub>x</sub> 活力下降,前者作用迅速而明显,而后者作用迟缓,相对较轻,且二者有相加作用;6. 初步看到有机酸苯环上的羟基对软骨细胞损伤具有重要作用。基于这些结果,我们认为:

一、饮水与土壤相比较,饮水与人的机体代谢关系更为密切。尤其是水中腐植物浓度与大骨节病的相关性已有较多报道<sup>[5]</sup>。本研究第一次提出在相同的浓度下患点和土井水的腐植物组分对软骨细胞的损伤重于非患点和深井水中相应的腐植物组分,从而表明饮水中腐植物含量的多少和结构的差异都是影响大骨节病发生的因素。

二、无论是软骨细胞培养还是大白鼠实验研究,都发现腐植物组分引起 GSH-Px 活力下降,此结果与病区的儿童调查相一致<sup>[6]</sup>。当适量补硒后, GSH-Px 活力恢复正常,腐植物组分致损伤效应也不再出现,或明显减轻。已知硒是 GSH-Px 的重要组成,通过它的活力消除过氧化物对细胞(膜)的损伤<sup>[7]</sup>。因此,腐植物对机体的损伤可能是一种过氧化损伤。大骨节病易发生在低硒地区,投硒有较好治疗效果是完全可以理解的。

三、维生素 E 和硒都是强抗氧化剂。但是培养软骨细胞研究表明,维生素 E 对腐植物组分损伤软骨细胞的保护效应并不明显。这可能是由于它们的抗过氧化损伤的机制不同。维生素 E 的主要作用是淬灭自由基,阻止过氧化物生成,而硒的主要作用是分解生成的过氧化物<sup>[8,9]</sup>。这也有利于说明腐植物结构中的致软骨细胞损伤效应可能是(有氧)官能团所致的过氧化损伤<sup>[1]</sup>。实验证明,有机酸苯环上的羟基能加重对软骨细胞的损伤效应。

四、从病区粮和/或富里酸的大白鼠实

验中,我们看到病区粮和富里酸都能引起动物血液 GSH-Px 活力下降,且二者有相加作用。病区粮中低硒可能是致动物血液 GSH-Px 活力下降的重要因素,它为腐植物的过氧化损伤效应创造条件。这种复合病因的可能性,与我国广大低硒地区易发生大骨节病是一致的。当然,我们也不能排除粮食中其它因素(如低营养价值,产生有机物中间代谢产物等)在大骨节病发生上可能起的作用。

依据前文和本研究报道,我们认为大骨节病的发生是由于长期摄入病原因子——主要是水中腐植物偏高所致。腐植物的病理效应是过氧化物损伤,其结构中的(有氧)官能团可能起到这种作用。低硒等影响机体抗过氧化功能和使软骨化骨障碍的各种因素可为腐植物的病理效应创造条件、促使大骨节病发生,和加重病变的发展。

#### 参 考 文 献

- [1] 王维哲等,环境科学,8(5),27(1987).
- [2] 纪明候等,海洋与湖沼,13(4),370(1982).
- [3] 王维哲等,实用地方病学杂志,(1),46(1986).
- [4] 王维哲等,中国地方病学杂志,6(4),199(1987).
- [5] 生态环境专题研究组,永寿大骨节病科学考察文集,55—103页,人民卫生出版社,北京,1984年.
- [6] 韩琰等,永寿大骨节病科学考察文集,133—337页,人民卫生出版社,北京,1984年.
- [7] Chow, C. K. and Jeng, K., In Spallholz, J. E. Ed., *Selenium in Biology and Medicine*, pp. 477—482, Westport, 1981.
- [8] Leibevitz, B. E. et al., *J. Geront.*, 35 (1), 45 (1980).
- [9] Doni, M. et al., *Br. J. Exp. Path.* 65 (1), 75 (1984).

# Abstracts

Chinese Journal of Environmental Science

## An Experimental Research on Mechanism of Biological Activated Carbon and Theory Concerned

Liao Zhimin, Xu Shusen and Lan Shucheng (Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection, Beijing)

In this experiment, the up-flow columns were used. By controlling different concentrations of dissolved oxygen and phenol in influent and effluent, the quantity of bio-regeneration were calculated. Meanwhile the hypothesis of "the outer-cell enzyme" has been discussed. (See pp. 2—7)

## Prediction about the Influence of Hot Water Discharged from the Nuclear Power-Station on Oxygen-Lack in Bottom Water of the Daya Bay Guangdong Province

Lin Hongying and Han Wuying (South China Sea Institute of Oceanology, Academia Sinica, Guangzhou)

In recent years, the investigative data for essential factors of water chemistry in the Daya Bay show that one of the natural eco-environmental characteristics is that water is seasonally divided into layers, and there appears lack of dissolved oxygen in bottom layer during April—October. When hot water from the Nuclear Power Station is discharged to the Daya Bay, temperature of the surface layer water will increase and the phenomenon will be more obvious. According to calculation, if water temperature increases 1—2°C, the affected area will widen 3—5 km<sup>2</sup>, duration of the layer divided will delay 33—67 days, and consumptive rate of dissolved oxygen will increase 14—25%. Finally the authors suggest that if the Power Station draw cooling water from the bottom layer, the primary productivity would increase 2—116% and consumptive rate of dissolved oxygen will decrease 7.7—14%. (See pp. 7—12)

## Nitric Acid and Ammonia in the Air of the Emei Mountain area, Sichuan Province

Sun Qingrui, Wang Meirong and Shao Kesheng (Department of Technological Physics, Peking University, Beijing)

HNO<sub>3</sub>(g) and NH<sub>3</sub>(g) in the air have been measured in four different heights at the Emei Mountain area in October of 1985. The data analysis shows that vertical profiles of the concentrations of HNO<sub>3</sub> and NH<sub>3</sub> increased in a factor of  $\epsilon$  as the heights dropped a distance of 780 m

and 1000 m respectively. During that time the equilibrium between NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>(s) and HNO<sub>3</sub>(g), NH<sub>3</sub>(g) didn't exist. Quite good correlation has been obtained between HNO<sub>3</sub>(g) and O<sub>3</sub> in the air. Calculations suggest that maximum contributions of H<sup>+</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> caused by HNO<sub>3</sub>(g) in fog water at the mountaintop are 11% and 8% respectively. (See pp. 12—16)

## An Experiment of Pathogeny of Kaschin-Beck Disease Caused by Humic Compounds in Water

Wang Weizhe and Feng Lanfei (Liaoning Institute of Fundamental Medicine, Shenyang)

This paper introduces briefly the results of pathogeny of Kaschin-Beck disease (KB) which the authors have researched into for many years. (1) In KB zone, there exists humic substance in drinking water, which causes the damage of chondrocytes *in vitro*. As water quality was improved and the substance lessened, the incidence of KB disease in the residents had dropped and the effects of chondrocyte damage became lower; (2) Selenium can be used to prevent chondrocyte damage caused by humic substance. This result corresponds to the disease that probably occurs in the zone of low selenium nutrition. (3) Cereal and humic substance in the KB zone has caused GBH-Px activity of rat blood decreasing. (4) The initial results showed that hydroxyl group of the organic compound might affect chondrocyte damage. (See pp. 16—20)

## An Investigation of Air Ions and Radon Hazard in the Underground Installations

Tian Zhigian, Feng Yueduan and Yuan Daiguang (Engineer Unit of Headquarters of the General Staff of PLA)

This paper deals with 3-years investigative results of 37 underground installations in Changsha, Wuhan, Beijing, Shengyang and Dailian cities. The results show that as the installations have been in use, mean concentration of air anions is 201/cm<sup>3</sup>, much lower than that at ordinary rooms, while mono-polarity index are 2.0, much higher. The main factors affecting air anions are radon and its daughter, dust and air humidity, ventilating conditions etc. It has been determined that concentration of radon daughter in the air is 93 Bq/m<sup>3</sup>. In this paper, the method for estimating radon exhalation rate, radon proof ventilation rate and effective way for improving air anions have been discussed. (See pp. 21—25)

## Enactment of the Standard Concerning Polluted Sediment Types in the Rivers

Fang Yuqiao et al. (Department of Chemistry and