

文章编号 1006-8147(2017)05-0403-05

论著

内皮祖细胞对背根神经节细胞突起及 Nogo-A 和 NgR 表达的影响

李文辉¹, 张亮¹, 张孝安¹, 吕小琴¹, 柳艳¹, 周家强², 王凯¹

(1.天津医科大学第二医院骨科, 天津 300211; 2.天津医科大学总医院滨海医院骨科, 天津 300480)

摘要 目的:观察大鼠内皮祖细胞(EPCs)对乳鼠背根神经节(DRG)细胞突起影响,通过 Nogo-A 和 NgR 表达变化探究其可能机制。方法:培养 DRG 和制备 EPCs 后分别鉴定,实验组 DRG 和 EPCs 共培养,对照组 2 份等量的 DRG 共培养。第 2 和 4 日分别计算两组 DRG 突起数量、突起最长和平均长度,统计两组 DRG 细胞纯度和活性,检测 Nogo-A 和 NgR 及 mRNA 表达。结果:实验组 DRG 细胞突起数量、突起最长和平均长度在共培养第 2 和 4 日较对照组均明显增长($P<0.05$),实验组 DRG 细胞纯度和活性均高于对照组($P<0.05$),实验组 Nogo-A 和 NgR mRNA 表达量在共培养第 2 和 4 日均显著降低($P<0.05$),Western blot 结果显示实验组 Nogo-A 和 NgR 蛋白表达量在第 2 和 4 日明显低于对照组($P<0.05$)。结论:EPCs 通过介导 Nogo-A 和 NgR 表达下调,促进 DRG 细胞突起生长。

关键词 内皮祖细胞;背根神经节;共培养;细胞突起;Nogo-A; NgR

中图分类号 R651.3

文献标志码 A

Effects of endothelial progenitor cells on dorsal root ganglion neurites and the expression of Nogo-A and NgR

LI Wen-hui¹, ZHANG Liang¹, ZHANG Xiao-an¹, LÜ Xiao-qin¹, LIU Yan¹, ZHOU Jia-qiang², WANG Kai¹

(1.Department of Orthopedics, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2.Department of Orthopedics, Bing Hai Hospital, General Hospital of Tianjin Medical University Tianjin 300480, China)

Abstract **Objective:** To explore the effect of endothelial progenitor cells (EPCs) on dorsal root ganglions (DRG) neurites by the expression of Nogo-A and NgR. **Methods:** DRG and the EPCs were prepared and identified separately. EPCs co-culturing with DRG was designed as the experimental group, and DRG co-culturing with DRG was designed as the control group. The number of neurites, the maximum length of neurites, the average length, the purity and vitality were calculated by Image J software on day 2 and day 4. Correspondingly Nogo-A, NgR mRNA and protein were detected. **Results:** The number of DRG neurites, the maximum length of DRG neurites and the average length elevated dramatically ($P<0.05$). The purity and vitality of DRG in experimental group were significantly higher ($P<0.05$). Nogo-A and NgR mRNA in experimental group were significantly lower on day 2 and day 4 ($P<0.05$). Corresponding protein expression of Nogo-A and NgR in experimental group were significantly lower ($P<0.05$). **Conclusion:** EPCs could restraint the expression of Nogo-A and NgR, which may markedly promote the growth of DRG neurites.

Key words endothelial progenitor cells; dorsal root ganglion; co-culture; neurite; Nogo-A; NgR

脊髓损伤属中枢神经系统常见疾病,目前对其治疗仍存有许多争议^[1-2]。目前针对脊髓损伤后治疗的探索主要集中于抑制二次损伤^[3],包括以下两个方面:一是改善脊髓损伤部位微环境,最大程度减轻二次损伤;二是促进神经元轴突再生,恢复神经功能^[4]。Nogo-A 和 NgR 表达量升高的特异性表现主要继发于神经组织受损,对神经突起生长意义重大^[5-6]。中枢神经损伤后内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)经损伤后炎症因子信号诱导,由骨髓动员,通过血液循环最终在信号起始部位聚集,促进

新生血管形成并修复受损血管,改善损伤局部缺血和缺氧,稀释聚集的炎症因子,减轻损伤部位脊髓水肿,促进受损脊髓恢复功能^[7]。但 EPCs 对神经突起作用并不明确,本研究旨在通过由骨髓源性干细胞分离的 EPCs 与新生乳鼠背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)体外共培养,通过观察 DRG 细胞突起数量、最长长度和平均长度变化,统计两组 DRG 细胞纯度和活性,检测两组 DRG 中 Nogo-A 和 NgR 表达,探讨 EPCs 对 DRG 细胞突起的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 8 只 4 周龄雄性 SD 大鼠,32 只 24 h 内新生清洁级 SD 乳鼠(雌雄随机),购自中国

基金项目 天津市卫生局科技基金资助(2014KZ038)

作者简介 李文辉(1987-),男,硕士在读,研究方向:脊髓损伤;通信作者:王凯, E-mail: wangkaiky48@126.com。

医学科学院实验动物研究所。

1.1.2 主要试剂 兔抗鼠神经细胞特异性烯醇化酶 (NSE)、Nogo-A 和 NgR 抗体购自 Abcam 公司; RT-qPCR 试剂盒购自 Promega 公司; 蛋白抽提及 Western bolt 试剂购自北京索莱宝公司; 引物序列 (表 1)由 Primer Bank 查询获得,苏州金唯智公司合成后提供,Nogo-A 和 NgR 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab1 Primer sequence

名称	序列
Nogo-A	F:AGTCTTGGGAAGGATAGTG
	R:CTTTCGGTTGCTGAGGTA
NgR	F: GCCTGGAGGGTAGCAACAC
	R: GCCATGCAGGAAGATTGCT
GAPDH	F:CTCCCATTCTCCACCTTTG
	R:CCACCACCCTGTTGCTGTAG

1.2 方法

1.2.1 DRG 培养和鉴定 将 32 只新生 SD 乳鼠酒精浸泡消毒后,于超净台内取整段脊柱,纵向打开椎板,完整去除脊髓,在外科显微镜下摘取 DRG,胰蛋白酶去杂,制单细胞悬液,接种在提前用多聚赖氨酸包被 6 孔细胞培养板纯化培养,取培养第 4 日细胞爬片行特异性烯醇化酶 (neuron specific enolase,NSE)免疫组化染色。

1.2.2 EPCs 制备和鉴定 选取 8 只 SD 大鼠,10% 水合氯醛过量麻醉,超净台内剥离下肢骨、胫骨,用 Hanks Buffer 冲洗髓腔获得冲洗液,梯度密度离心分离单核细胞,制备 EPCs 单细胞悬液并诱导培养。取第 7 日的 EPCs 细胞,对细胞表面抗原(CD133、CD34、VEGFR-2)的表达情况行流式细胞仪检测,同时将培养至第 7 日细胞爬片通过荧光显微镜观察细胞对 Dil-ac-LDL 和 FITC-UEA-1 结合能力。

1.2.3 建立 DRG 与 EPCs 共培养基 取培养第 4 日的 DRG 和诱导培养第 7 日的 EPCs,实验组 32 例,Transwell 上室按 1×10^6 个/ cm^2 接种 EPCs,等量 DRG 接种于下室,构建 DRG 与 EPCs 共培养。对照组 32 例上下室均接种同实验组等量的 DRG。

1.2.4 倒置相差显微镜观察 分别在共培养第 2 和 4 日,实验组和对照组中随机各 8 例每例随机取 5 个视野照相,分别计算 DRG 细胞突起的数量、测量 DRG 细胞突起最长长度及计算 DRG 细胞突起平均长度(Image J 分析软件)。

1.2.5 DRG 纯度和活性鉴定 培养第 2 日和培养第 4 日后,实验组和对照组 DRG 各随机 4 例行 NSE 免疫组化染色,每例随机选取 5 个视野,200 倍

镜下计数阳性细胞,计数完成后调相差对该视野的所有细胞计数,前后两次计数之比即神经细胞的纯度。台盼蓝染色鉴定 DRG 细胞活性,对于细胞膜不完整以及丧失活性的细胞,镜下细胞膜内可见蓝色沉淀。通过染色前后两次计数之比计算第 2 日和第 4 日的 DRG 活性。

1.2.6 RT-qPCR 共培养第 2 和 4 日,观察细胞突起后,实验组和对照组各随机 4 例,TRIZOL 法提取 RNA,测定浓度后逆转录合成 cDNA。反应体系 20 μL , 条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变 3 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,56 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 60 s,循环 40 个,72 $^{\circ}\text{C}$ 最后延伸 5 min。 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达量。

1.2.7 Western blot 共培养第 2 和 4 日,实验组和对照组各 4 例,4 $^{\circ}\text{C}$ PBS 洗涤细胞后加 120 μL 细胞蛋白裂解液和 PMSF 的预混液 (100:1),4 $^{\circ}\text{C}$ 离心取上清液,BCA 法测定细胞蛋白浓度,裂解液调等浓度后 4:1 加 5 \times 缓冲液,混匀后水浴,30 μg 蛋白上样量,电泳,转膜,封闭,一抗(Nogo-A,1:1 000,NgR,1:800)孵育,孵二抗(1:5 000),曝光显色后条带扫灰度值。

1.3 统计学方法 所得数据均采用 SPSS22.0 统计学软件进行处理,数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据的比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 定义为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DRG 培养和鉴定结果 培养第 4 日的 DRG 胞体丰满,细胞核轮廓清晰,细胞质明显,突起变长并增粗,且发出许多小的分支,互相连接,神经突起相接成网。神经细胞特异性抗原 NSE 免疫组化染色可见大量阳性细胞。见图 1。

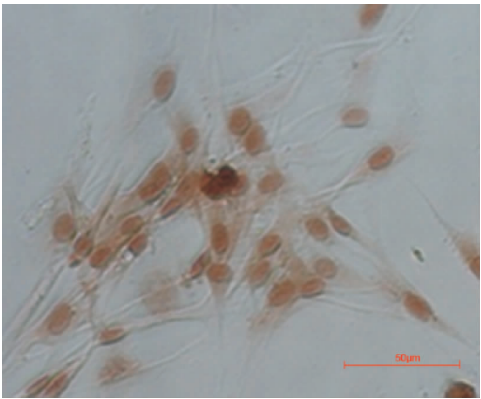


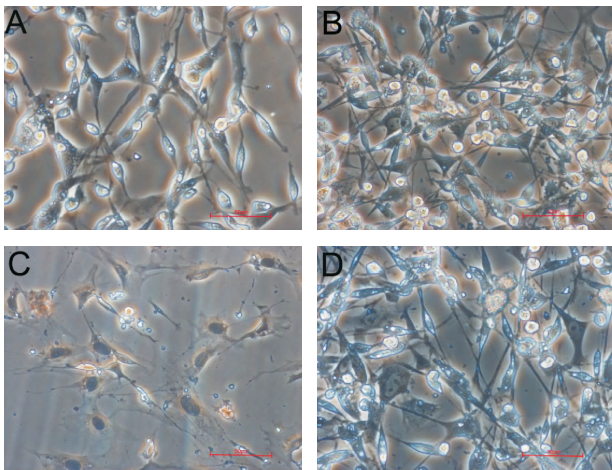
图 1 DRG 的 NSE 免疫鉴定(ICH, $\times 200$)

Fig 1 The NSE immunological identification of the cultured DRG (ICH, $\times 200$)

2.2 EPCs 诱导培养和鉴定结果 培养 7 日镜下可见较多梭形细胞,细胞数量明显增多,胞体非均一性,细胞呈线样排列,集落明显。经过流式细胞仪的

检测,细胞表型情况符合内皮祖细胞抗原表达特点。双摄实验中,合成图像呈双荧光染色阳性(黄色)的细胞阳性率>70%。被两种同时染色的细胞为内皮祖细胞。

2.3 共培养轴突生长结果 培养2日,倒置相差显微镜下实验组与对照组相对比可见 DRG 细胞伸出的突起较长,细胞间轴突初步呈现网状。培养4日,实验组与对照组相对比可见背根神经节细胞碎片较少,细胞之间网状结构相对清晰(图2)。实验组第2日和第4日细胞突起数目、最长突起和平均突起长度均较对照组明显增长($P<0.05$)。见表2,表3。



A, B:实验组第2日(A)和第4日(B)倒置相差显微镜下 DRG 形态($\times 200$), C, D:对照组第2日(C)和第4日(D)倒置相差显微镜下 DRG 形态($\times 200$)

图2 第2和第4日 DRG 细胞突起生长情况对比

Fig 2 The comparison of neurites at the 2th and 7th day

表2 培养第2日 DRG 细胞突起生长情况($n=40, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 The outgrowth of neurites at the 2th day($n=40, \bar{x} \pm s$)

组别	突起数量	平均突起长度/ μm	最长突起长度/ μm
实验组	27.05 \pm 2.41	39.75 \pm 9.85	68.80 \pm 2.78
对照组	22.25 \pm 2.57	30.38 \pm 10.29	55.56 \pm 4.01
<i>t</i>	4.308	2.080	8.581
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.01

表3 培养第4日 DRG 细胞突起生长情况($n=40, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 The outgrowth of neurites at the 4th day($n=40, \bar{x} \pm s$)

组别	突起数量	平均突起长度/ μm	最长突起长度/ μm
实验组	33.59 \pm 4.21	42.25 \pm 8.92	75.25 \pm 6.68
对照组	27.40 \pm 2.37	32.04 \pm 11.02	59.88 \pm 4.05
<i>t</i>	4.052	2.277	6.222
<i>P</i>	<0.05	<0.01	<0.01

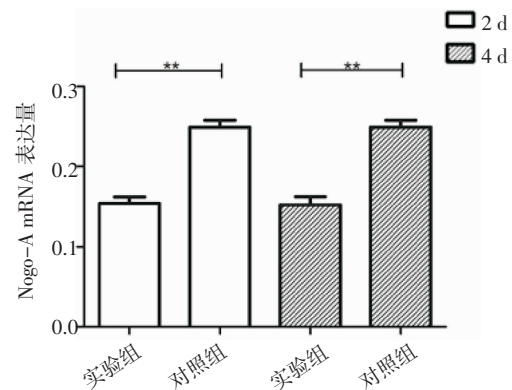
2.4 细胞纯度和活性 在共培养第2日和第4日,两组组中 DRG 随着时间推移纯度和细胞活性均有所下降,但 EPCs 和 DRG 共培养组 DRG 的纯度和活性均要优于大于 DRG 培养组($P<0.05$),见表4。

表4 实验组与对照组 DRG 细胞纯度和活性对比($n=40, \bar{x} \pm s$)

Tab 4 The comparison of DRG purity and vitality between two groups ($n=40, \bar{x} \pm s$)

组别	DRG 细胞纯度/%		DRG 细胞活力/%	
	2 d	4 d	2 d	4 d
实验组	89.41 \pm 3.62	86.42 \pm 4.40	85.81 \pm 5.08	81.76 \pm 11.89
对照组	78.29 \pm 6.14	72.94 \pm 7.20	78.23 \pm 6.83	73.58 \pm 12.25
<i>t</i>	9.660	8.145	4.39	1.86
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

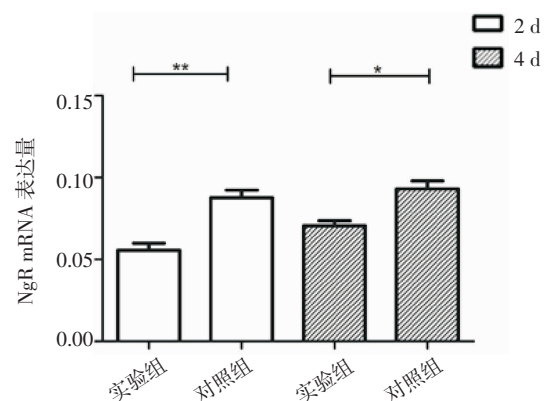
2.5 RT-qPCR 结果 第2和第4日,EPCs 与 DRG 共培养组 Nogo-A mRNA 相对表达量较单独 DRG 培养组均显著降低($P<0.01$),见图3。单独 DRG 培养组 NgR mRNA 相对表达量显著高于 EPCs 与 DRG 共培养组($P<0.05$),EPCs 与 DRG 共培养组 NgR mRNA 第4日较第2日增加,但仍低于单独 DRG 培养组($P<0.05$),见图4。



** $P<0.01$

图3 Nogo-A mRNA 相对表达量

Fig 3 The relative expression of mRNA for Nogo-A



** $P<0.01$, * $P<0.05$

图4 NgR mRNA 相对表达量

Fig 4 The relative expression of mRNA for NgR

2.6 Western blot 结果 第2和第4日,EPCs 与 DRG 共培养组 Nogo-A 蛋白表达量较单独 DRG 培养组明显降低($P<0.01$),见图5和图6。单独 DRG 培养

组 NgR 蛋白的表达量明显高于 EPCs 与 DRG 共培养组($P<0.05$),见图 5 和图 7。该结果与对应的 RT-qPCR 结果基本一致。

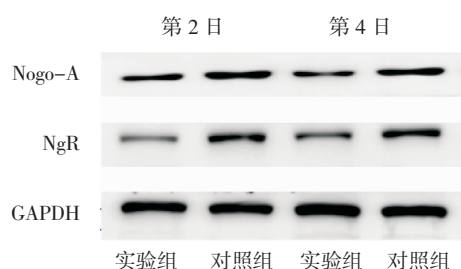
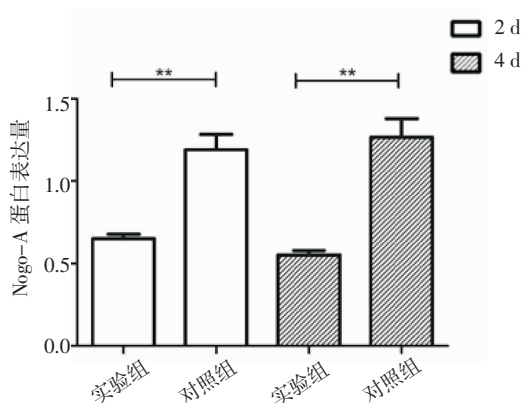


图 5 Nogo-A 和 NgR 蛋白表达

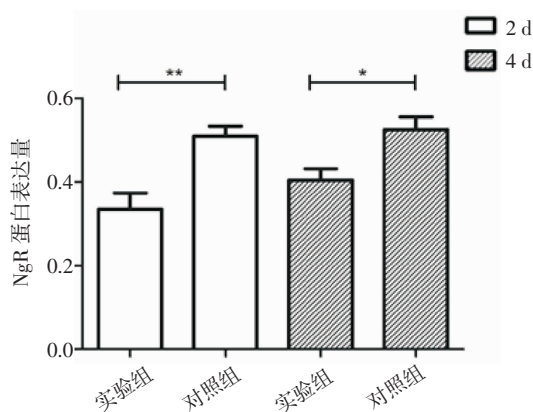
Fig 5 The expression of the Nogo-A and NgR protein



** $P<0.01$

图 6 Nogo-A 条带灰度值分析结果

Fig 6 Grey value results of Nogo-A



** $P<0.01$, * $P<0.05$

图 7 NgR 条带灰度值分析结果

Fig 7 Grey value results of NgR

3 讨论

促进神经细胞轴突修复方法众多,包括功能性干细胞移植^[8],分子水平多靶向治疗^[9],电刺激^[10]等。近年来多篇研究报道间质干细胞移植用于治疗脊髓损伤后的安全性及有效性^[11-12]。间质干细胞移植可促进神经元轴突的生长同时调控抑制性因子表

达,被越来越多地用于脊髓损伤动物模型的治疗。EPCs 作为血管内皮细胞的前体,其不仅可以自我复制增殖,并能分化为成熟内皮细胞^[7]。通过直接接触及增强旁分泌的方式 EPCs 可改善神经细胞修复所需的微环境。研究发现在大鼠急性脊髓损伤区域 EPC 移植联合早期运动可有效促进运动功能恢复^[13]。

神经系统抑制轴突生长的因子主要包括 Nogo 蛋白、髓鞘相关蛋白和少突胶质细胞髓磷脂糖蛋白以及其共同靶点 NgR。Nogo 与其受体 NgR 广泛存在于神经系统中,生理表达量主要抑制神经轴突的过度增长以保持神经传导稳定,过度表达并结合后激活下游分子信号,则表现为强烈的抑制神经轴突再生作用^[9]。在 Nogo 蛋白的 3 个亚型中,Nogo-A 和 NgR 结合后,其抑制神经突起生长作用最明显^[14-15]。Gonzenbach 等^[16]对急性脊髓损伤的大鼠注射 Nogo-A 抗体,可有效促进神经组织的再生。Petrinovic 等^[17]通过敲除 Nogo-A 基因,发现 DRG 的网状突起结构更长、更密集。因此 Nogo-A 和 NgR 的表达量对神经元突起生长关系密切。本研究中,通过 EPCs 与 DRG 共同培养,发现 Nogo-A mRNA 相对表达及其对应 Nogo-A 蛋白表达量明显低于单独 DRG 培养组。单独 DRG 培养组中 NgR mRNA 相对表达量以及其 NgR 表达量明显高于 EPCs 与 DRG 共同培养组。在低 Nogo-A 和 NgR 表达量的实验组,DRG 胞体整体较对照组折光性强,细胞突起数目较多,神经轴突较长,细胞间空隙较少,胞体之间网状结构更致密,细胞突起数量较对照组明显增加,细胞突起最长突起以及平均突起长度均明显增长,尽管第 4 日较第 2 日各组 DRG 细胞纯度和活性均有所下降,但实验组 DRG 纯度和活性均要优于对照组。

Nogo-66 和 amino-Nogo 为文献中报道较多的 Nogo-A 主要抑制结构域,不同组织结构表达量亦不相同。Fournier 等^[18]发现,两者不仅各自抑制神经轴突生长,也可协同作用,前者主要在中枢神经系统,后者存在于 DRG 和颗粒细胞。本研究中实验组 DRG 细胞突起明显增长,纯度和活性均要优于对照组,与 Nogo-A 和 NgR 表达受抑制有关。对照组 Nogo-A 和 NgR 较 EPCs 与 DRG 共培养组表达量高,其 DRG 细胞突起的生长明显较实验组受抑制,这与文献^[18]所报道的 Nogo-A 和 NgR 表达量增高抑制 DRG 生长的报道相一致。但在体外 EPCs 与 DRG 共培养中,可能 EPCs 是通过抑制 DRG 中 amino-Nogo 的表达发挥促进增长作用。尽管在众多文献报道中 Nogo-A 的神经轴突抑制生长作用已经明确,但其作用通路复杂,涉及的相关下游分子众多,是

否存在其他重要抑制结构域以及 NgR 抑制信号具体激活通路仍待研究。

综上,在体外共培养下 EPCs 可以提高 DRG 细胞突起的生长能力,说明 EPCs 对 DRG 的生长有促进作用。这种促进作用与 EPCs 抑制 Nogo-A 和 NgR 的表达有关。

参考文献:

- [1] Silva N A, Sousa N, Reis R L, et al. From basics to clinical: a comprehensive review on spinal cord injury[J]. Prog Neurobiol, 2014, 114:25
- [2] Bydon M, Lin J, Macki M, et al. The current role of steroids in acute spinal cord injury[J]. World Neurosurg, 2014,82(5):848
- [3] Varma A K, Das A, Wallace G, et al. Spinal cord injury: a review of current therapy, future treatments, and basic science frontiers[J]. Neurochem Res, 2013,38(5):895
- [4] 李灵玲,周达岸. 脊髓损伤后 Notch 信号对神经再生的研究现状[J]. 中国康复医学杂志, 2016,31(4):485
- [5] Yin H L, Wang Y L, Li J F, et al. Effects of curcumin on hippocampal expression of NgR and axonal regeneration in A β -induced cognitive disorder rats[J]. Genet Mol Res, 2014,13(1):2039
- [6] Wang Y, Gu J, Feng X, et al. Effects of Nogo-A receptor antagonist on the regulation of the Wnt signaling pathway and neural cell proliferation in newborn rats with hypoxic ischemic encephalopathy[J]. Mol Med Rep, 2013,8(3):883
- [7] Zigdon-Giladi H, Bick T, Lewinson D, et al. Mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells stimulate bone regeneration and mineral density[J]. J Periodontol, 2014,85(7):984
- [8] Chotivichit A, Ruangchainikom M, Chiewvit P, et al. Chronic spinal cord injury treated with transplanted autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells tracked by magnetic resonance imaging: a case report[J]. J Med Case Rep, 2015,9:79
- [9] Ruschel J, Hellal F, Flynn K C, et al. Axonal regeneration. Systemic administration of epothilone B promotes axon regeneration after spinal cord injury[J]. Science, 2015,348(6232):347
- [10] Hamid S, Hayek R. Role of electrical stimulation for rehabilitation and regeneration after spinal cord injury: an overview[J]. Eur Spine J, 2008,17(9):1256
- [11] Cheng H, Liu X, Hua R, et al. Clinical observation of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in treatment for sequelae of thoracolumbar spinal cord injury[J]. J Transl Med, 2014,12:253
- [12] Amr S M, Gouda A, Koptan W T, et al. Bridging defects in chronic spinal cord injury using peripheral nerve grafts combined with a chitosan-laminin scaffold and enhancing regeneration through them by co-transplantation with bone-marrow-derived mesenchymal stem cells: case series of 14 patients[J]. J Spinal Cord Med, 2014,37(1):54
- [13] 赵素香,侯英诺,张子檀,等. 内皮祖细胞移植联合早期运动改善脊髓损伤区血管再生及后肢功能[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(6):883
- [14] Hunt D, Coffin R S, Anderson P N. The Nogo receptor, its ligands and axonal regeneration in the spinal cord; a review[J]. J Neurocytol, 2002,31(2):93
- [15] Alhoshani A, Vithayathil R, Bandong J, et al. Glutamate provides a key structural contact between reticulon-4 (Nogo-66) and phosphocholine[J]. Biochim Biophys Acta, 2014,1838(9):2350
- [16] Gonzenbach R R, Zoerner B, Schnell L, et al. Delayed anti-nogo-a antibody application after spinal cord injury shows progressive loss of responsiveness[J]. J Neurotrauma, 2012,29(3):567
- [17] Petrinovic M M, Duncan C S, Bourikas D, et al. Neuronal Nogo-A regulates neurite fasciculation, branching and extension in the developing nervous system[J]. Development, 2010,137(15):2539
- [18] Fournier A E, GrandPre T, Strittmatter S M. Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration[J]. Nature, 2001,409(6818):341

(2016-12-20 收稿)

医学论文中被误用为单位符号的“ppm、ppb、ppt”英文缩写的换算

在医学论文中,“ppm、ppb、ppt”这类英文缩写常常被作者作为单位符号使用,而“ppm、ppb、ppt”不是量纲一的量的单位的专门名称,也不是数学符号,更不是单位符号,只是表示数量份额的英文名词缩写(英文全称分别为 parts per million、parts per billion、parts per trillion)。在实际研究中,仪器测量的数值可能会以“ppm、ppb、ppt”形式给出结果,作者在撰写文章进行数据描述时则需对“ppm、ppb、ppt”进行换算。

对溶液而言,换算前需了解体积比还是质量比。 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 是质量-体积比,如果溶液的密度是 1 g/mL ,则 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 相当于 1 ppm ;如果溶液密度不是 1 g/mL ,则需要进行换算。

对大气中的污染物而言,常用体积浓度和质量-体积浓度来表示其在大气中的含量。体积浓度是用每立方米大气中含有污染物的体积数来表示(如 cm^3/m^3 、 mL/m^3),换算关系是: $1\text{ ppm}=1\text{ cm}^3/\text{m}^3=10^{-6}$, $1\text{ ppb}=10^{-9}$, $1\text{ ppt}=10^{-12}$;质量-体积浓度是用每立方米大气中污染物的质量数来表示(如 mg/m^3 、 g/m^3),换算关系是: $C=22.4\text{ X}/M$,式中:X为污染物以 mg/m^3 表示的浓度值;C为污染物以 ppm表示的浓度值;M为污染物的分子质量。

在土壤、动植物、固体废弃物中“ppm、ppb、ppt”与质量含量的换算关系为: $1\text{ ppm}=1\text{ mg/kg}=1\text{ 000 }\mu\text{g/kg}$; $1\text{ ppb}=1\text{ }\mu\text{g/kg}=10^{-3}\text{ mg/kg}$; $1\text{ ppt}=1\text{ ng/kg}=10^{-6}\text{ mg/kg}$ 。

(编辑部)