

# 硒与脑功能

郭世萍<sup>1</sup>, 祁磊<sup>2</sup>(介评) 鱼博浪<sup>3</sup>(审校)

(西安交通大学: <sup>1</sup> 医学院解剖教研室; <sup>2</sup> 医学院临床医学系; <sup>3</sup> 第一医院医学影像中心, 陕西 西安 710061)

**摘要:** 近来分子生物学的研究有力地促进了人们对硒元素和依赖硒的酶的认识, 而这种酶是脑功能的调节者。增长的氧化应激已被认为是神经变性疾病的一种致病机理, 这类疾病包括: 帕金森综合征、中风、癫痫。谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还蛋白还原酶(T<sub>rx</sub>R)以及蛋氨酸-亚砷-还原酶都是硒元素依赖性的酶, 它们参与抗氧化防御和细胞间氧化还原作用的调节。硒元素在动物体内的耗竭与依赖硒的酶活性的降低有关, 在神经变性疾病的模型中, 它可以导致细胞的丢失增加。细胞 GP<sub>x</sub> 的基因失活, 可增加对神经毒素和脑局部缺血的敏感性。反过来说, 由于硒元素供应的增加或过度表达, 所导致的 GP<sub>x</sub> 活性的增强可改善相同疾病模型的预后。硒蛋白 P 基因的失活可导致脑中硒含量的显著减少, 而这不可通过摄入硒的消耗而实现, 硒蛋白 P 基因失活还可导致运动紊乱和自发癫痫。

**关键词:** 硒蛋白; 脱碘酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; 阿尔茨海默病; 神经保护; 激酶

中图分类号: Q581; R745.1 文献标识码: B 文章编号: 1001-8883(2005)01-0008-04

## 1 脑中的硒蛋白

几种硒酶的活性已在人类或啮齿类动物的脑中检测出。然而, 仍旧缺乏有关细胞中不同硒蛋白的表现型的系统研究。谷胱甘肽过氧化物酶(GP<sub>x</sub>)的活性存在于人类和啮齿目动物的脑中, 整个脑的神经元和胶质细胞中都可发现不同强度 GP<sub>x</sub> 抗毒血清的免疫反应, 包括围绕在黑质变性神经元周围的细胞以及梗塞组织周围的细胞。然而, 考虑到谷胱甘肽过氧化物酶序列的高度同源性, 需要更加深入细致的研究, 除此之外, GP<sub>x</sub> 同工酶中除了 GP<sub>x4</sub> 外, 都不能凭借底物特异性加以辨别。

虽然, 细胞中 GP<sub>x</sub>/GP<sub>x1</sub> 近乎无处不在地表达于神经元和星型细胞, 但磷脂谷胱甘肽过氧化物酶(PhGP<sub>x</sub>)/GP<sub>x4</sub> 的免疫反应仅集中于神经元。硫氧还蛋白还原酶 R (T<sub>rx</sub>R) 活性存在于人类、小鼠和鼠脑中, 但在脑中没有得到 T<sub>rx</sub>R 同工酶细胞表现型的有关资料。通过实验室的论证, 不同的表现型在功能上可能是相关的。在成年啮齿目动物的视网膜中, T<sub>rx</sub>R 被限定在神经元中, 硒蛋白 P 信使核糖核酸(SeIPmRNA)在人类、小鼠、鼠和牛脑中已被检测

出。在小鼠身上, 硒蛋白 P (SeIP) 免疫反应存在于脑的毛细血管中。尽管 SeIP 最初被认为是主要的血浆硒蛋白, 但 SeIP 对脑的作用仍有争论。SeIP 在脑中是否有自主功能仍需要确认。通过同位杂交技术, 已经证明了 SeIPmRNA 存在于鼠和牛的小脑的 Purkinje 细胞中。在人类的 Purkinje 细胞中也发现了类似于 SeIP 的免疫反应存在于人类和啮齿目动物脑中的大多数 5-脱碘酶的活性都归因于脱碘酶 2(D<sub>io</sub>2, 也称做 SeIY)。普遍认为, 脑从血液中吸收甲状腺素(T<sub>4</sub>), 并就地转化为 T<sub>3</sub>, 这就使脑独立于肝脏、肾脏的甲状腺 T<sub>3</sub> 的产生机制。D<sub>io</sub>2 的表达主要被限定于小鼠脑的神经胶质细胞。在人脑中, 脱碘酶的活性以及 D<sub>io</sub>1、D<sub>io</sub>2、D<sub>io</sub>3mRNA 的表达已被定量测定, 而 D<sub>io</sub>3 蛋白已被发现于鸡的小脑的 Purkinje 细胞中。对脑来说, D<sub>io</sub>3 主要的脱碘酶形式表达于发育和成熟的脑中, 这点尤为重要, 因为它可以通过内环状脱碘过程使 T<sub>4</sub> 和 T<sub>3</sub> 失活对活性激素 T<sub>3</sub> 的可控利用, 这样便在 T<sub>3</sub> 受体的水平上调节了甲状腺激素的作用, 尤其对子宫内发育的胎儿来说, 脑因此受到保护, 免受了多余母体甲状腺激素的危害, 这 3 个脱碘酶的表达谱显示出受几种生理药理因素调节的标记时间、发育过程, 区域特异性类型。

硒蛋白 R (SeIR) 被确定为一种蛋氨酸-亚砷-还原酶, 蛋氨酸的氧化发生于在体实验, 可能与衰老有

收稿日期: 2004-08-27

作者简介: 郭世萍(1976-), 山东济宁人, 在读硕士, 主要从事神经系统影像学研究。

审校者: 鱼博浪, 教授, 硕士生导师, 主要从事神经系统影像学研究。



关。SeIR 对 R-蛋氨酸亚砷具有特异性, 也被称作蛋氨酸-亚砷-还原酶 B (MsrB)。MsrA 是不含硒的对 S-MetO 特异的蛋氨酸-亚砷-还原酶。MsrBmRNA 的表达和活性在鼠脑中已被证实, 但它的细胞表现型仍未报道过。另一方面, MsrA 免疫反应多被发现于小脑颗粒细胞以及大的脊髓和海马 CA1 神经元周围的其他神经细胞。MsrB 活性也存在于小脑。

脑中几种硒蛋白仍未被阐明。例如 SeW 和它的 mRNA 在这一器官被检测出。SeN 在包含脑在内的各器官中均有表达, 这种蛋白质位于内质网中。SeMmRNA 在器官中的表达广泛, 但在脑中最高, 它的亚细胞定位在核周。SeI15mRNA 的表达无处不在, 包括脑。

## 2 神经疾患与硒: 实验与临床证据

脑中含硒水平的高低是否充分反映于趾甲、血浆、细胞质、红细胞, 甚至脑脊液 (CSF) 的含硒量, 这一说法尚待被证实。尤其, 胞质中硒水平在疾病状态下有所减少已被证实。因此, 有关外周的硒水平与神经疾患之间相互联系临床资料应慎重理解对待。目前尚不知道: 1) 硒以何种生化形式怎样进入脑; 2) 硒如何被优先供应于脑并保留; 3) 哪种细胞最依赖 (或对何种功能来说) 于硒; 4) 是否所有存在于脑的硒在生物学上都可测得。在大鼠模型中, 一些研究人员已经揭示了脑中的含硒水平, 强烈依赖于但非完全依赖于 SeIP 的表达, 提出与其至少另一种因子在硒转移入大脑中起作用。

## 3 癫痫

关于神经疾病与硒相关性的最有利的临床资料来自于 2 个不相关的研究, 这些研究暗示孩子身上至少有一种难以治疗的癫痫与血中含硒量低有关。Weber 等在他们研究的病例报告中指出: 血浆中硒的含量和血中 GPx 的活性在患有难以治疗的癫痫的孩子身上明显降低。这一结论没有被很好的接受, 因为很多人认为健康人体的血浆硒的含量和血中 GPx 的活性存在一个较大的波动范围。然而, 1994 年 Ramackers 等指出, 同样的病例中这一癫痫可以通过给孩子补充硒而得到控制。最为重要的是, 一旦切断硒的供给, 这些癫痫会复发, 并仅能通过硒的再补充而得到控制。从那以后更多的病例通过补硒得到了成功的治疗, 然而这种机能紊乱的根本原因仍在调查研究中。

癫痫与硒的联系也可见于完全依赖静脉营养的患者在没有给硒之前有发生癫痫的危险, 除非补硒。这些观察结论虽仍未证实, 但可通过对缺乏 SeIP 鼠

的观察得到支持, 这些鼠带有运动失调和偶发性癫痫等神经病症状。因此, 这些研究已经使人们开始重新考虑 Willmore 做的首次关于硒对脑功能作用效果的实验。在亚铁离子诱导的癫痫放电模型中硒的应用已经使得 EEG 型正常化并减少依靠组织学方法评估出的组织损伤。不久前, O stas 等指出在戊四唑诱导的癫痫中, 血脑屏障的破坏可通过饮食中硒含量的控制得到减弱。已经发现缺乏硒的小鼠在药物刺激下引起的与更多痉挛发生率有关的癫痫后, 海马细胞的死亡率提高了。值得注意的是, 这样一个缺硒的条件可根据其在硒蛋白体系中的位置不同程度地影响所有硒蛋白。

## 4 帕金森病

一系列证据已经从化学诱导的黑质/纹状体损伤模型中整理出来, 这些损伤重演了帕金森病的一些特征。氧化应激与多巴胺能细胞的变性有关, 这一观点已经被广泛接受, 可能是由于通过 MAO-B 或多巴胺的自氧化形成了氢过氧化物的缘故。因此, 由 6-羟多巴胺 (6-OHDA) 甲基苯四氢吡啶 (MPTP) 或甲基苯丙胺引起的存在于缺硒动物体内的多巴胺能系统的化学损伤均可通过硒的控制而减少。二亚氨基丁二腈模型鼠用硒作过预处理后可导致脂质过氧化物产物水平的降低, 以及剂量的依赖性神经行为抑制改变。在 MA 模型中, 硒抵御纹状体内多巴胺的耗竭。通过对补硒剂量上的控制, 依赖硒的酶如 GPx 的调节可减缓 6-OHDA 处理过的小鼠以及 MA 处理过的大鼠和小鼠的神经变性。

然而, 来自帕金森病的临床资料并没有直接暗示帕金森病与脑脊液中硒水平或血液中的 GPx 的活性有关。很显然, 当前存在一个主要的问题就是没办法用在体实验测出脑中的硒水平和硒酶活性。在硒酶活性与帕金森病原之间的联系被否决之前, 应该或者说必须比较硒酶的表达和活性在健康人脑和帕金森患者脑 (即来源于尸体解剖组织) 中的异同, 或者至少找到适用于在体实验或离体实验分析的合适的替代标志物, 以反映他们的活性或损失。

## 5 阿尔茨海默型痴呆

硒水平与阿尔茨海默病的活动之间的直接相互关系到目前为止仍未被发现, 但存在与帕金森病同样的局限性。有趣的是, 在阿尔茨海默病的患者的脑组织中观察到 TrxR 活性升高, 而 Trx 的转录水平却下降的现象。虽然可以建立几种阿尔茨海默病的动物模型, 但研究人员仍未意识到要研究硒在这模型中的作用。然而, 伴随最近关于硒和维生素 E 作

为防癌制剂的临床实验进行了一项研究,那就是检测结合硒加上维生素E的疗法在治疗阿尔茨海默型痴呆发病上的效果。在这一临床实验被完成之前,应该准备更多经过精确设计和控制的动物研究以利于更好地理解这即将获得的临床资料。

### 6 粘液型水肿性克汀病

严重的碘缺乏能引起与神经发育缺陷有关的水肿,这些缺陷涉及神经元游移能力的缺失,发育不良的树突的生长以及髓鞘形成的缺陷。这些发育缺陷的增长是由于甲状腺激素利用和功能在脊髓动物脑的围产期成熟阶段受到干扰的缘故,因为甲状腺激素的生物合成不适当。克汀病的2种主要形式很容易区别:神经性和粘液型,二者均起源于碘缺乏这一背景。主要由刚果中部观察到的有效证据显示,粘液性水肿的形成起因于结合碘与硒的缺乏,需要另外通过暴露于营养性甲状腺肿原如异硫脲或致甲状腺肿素的环境的激发,可这些均包含在主要的食物中如树薯粉,这是这些区域能量的主要来源。

当2种克汀病特征均为严重的精神发育障碍时,神经性克汀病是不可逆的,它与产后甲状腺肿,“正常”发生典型性两侧麻痹、聋哑,以及斜视有关系。当前的假设是母体碘甲状腺激素在胎儿发育早期供应的不足导致了后代身上不可逆的后天缺陷。相比较而言,引起粘液性水肿形成的机能障碍发生在出生后,它是由于碘与硒的联合缺乏以及不断增长的甲状腺肿的致病原给甲状腺带来的持续刺激所引起的甲状腺的损害而造成的。中国西藏地区存在的与碘和硒严重缺乏有关的神经性侏儒症支持了这样一种假说,即附加因素如甲状腺肿原的暴露加速了在刚果所观察到的粘液性克汀病的形成。然而,克汀病也并没有被认为仅是由硒缺乏这一单独因素所导致的。

### 7 综合性硒复合物

起初,合成的化合物依布硒啉被认为是一种GPx的模拟物,但更新的报道已暗示它可通过生理浓度的TxR加强对氢过氧化物以及脂质过氧化物的破坏。由于它是相对脂溶性的,因此可以通过质膜和血脑屏障,又由于它具有普遍的消炎作用,因此可以作用在比灰白质抗氧化保护更高的水平。然而,它在中风治疗中的效果也延伸到了依赖硒的酶系统的药理学潜能。

### 8 硒的细胞效应

硒的不同化学形式可作为抗氧化物作用在中枢神经系统,而这些不同的化学形式要么结合入硒蛋

白例如GPx或TxR,要么直接作用,如亚硒酸。然而,许多生物学效应是通过本身不表现抗氧化性的硒酸盐或硒蛋氨酸得以实现的。此外,硒酸盐或硒蛋氨酸的效应可被蛋白质生物合成的抑制剂阻遏,这就间接证明了硒主要是在其结合入硒蛋白之后才发挥作用的。总之,硒复合物对脑细胞的效应是使GPx活性升高,脂质过氧化物减少,保护细胞免受死亡,诱导分化,如不成熟的少突胶质细胞分化为能够形成髓鞘的少突胶质细胞那样。有趣的是,SeIP,即血浆中硒的主要载体,已被从血清中作为一种神经营养活性物质纯化分离出来。因此,无血浆培养条件下所有培养基补充物如B27,B18,以及N2,包含从83~580nmol的浓度范围的硒元素。为了解释那些呈相反结果的不同的研究,必须仔细考虑两个问题:首先,细胞的培养环境往往由于人为因素而造成硒缺乏,因而即使调查者忽略那种因素,还是导致了硒缺乏。其次,人们应进一步区别生理浓度和过量的硒浓度。总硒浓度达到微摩尔数范围(游离和结合入蛋白的硒的总和)可被认为是生理硒水平,然而在微摩尔数和毫摩尔数范围的硒浓度却未达到细胞内。如亚硒酸那样的无机硒能在药理浓度下与细胞内的硫醇基发生反应,因此可以干扰正常的细胞信号转导过程,这就可能部分解释了所报道过的硒的毒性效应。硒对活化的小胶质细胞和星形胶质细胞的效应仍未明确,这2种细胞的数量与继发的细胞死亡和瘢痕的形成有极其密切的关系。

### 9 硒和转录因子

现已认识到,转录因子,包括NF-kB,AP-1或Pax8以及配体激活的激素受体,可能通过硫氧还蛋白-TxR系统的活动受到氧化还原调控,其中TxR系统也可能起氧化还原感受器的作用。

可逆性氧化型半胱氨酸残基在DNA结合域(如在C-fos和C-jun)或匹配域(Pax家族成员)控制这些转录因子的DNA结合活性。氧化还原因子-1(Ref-1)已被证明可与Pax8中的这些半胱氨酸反应。对P53来说,硒蛋氨酸能诱导P53介导的Ref-1的活化,从而启动DNA修复,而不是细胞凋亡程序。在硒的药理浓度下,转录因子的直接调控也可能有助于它的生物活性:例如,对NF-kB来说,离体实验中,在毫摩尔以上的范围内的过量硒水平可由于硫醇-亚硒酸加合物的形成而导致DNA结合的抑制。然而,硒含量在细胞中是不可能达到这样一个水平的。在神经元中,应激诱导的NF-kB以及AP-1/

(下转第13页)



平高达 960 ng/g。不过, 鱼的硒利用度是受限的, 因为其同时含高浓度的汞和其他重金属, 它们结合硒形成难以溶解的无机化合物。

通常甜食不是硒的必需来源, 但巧克力除外。测定了购买的巧克力奶的硒水平, 与希腊报道的浓度类似。

分析的饮食汤硒浓度取决于它们的相应成分。在牛肉汤中检测到了最高硒浓度, 并比其他 2 个产品含更高的肉质和蛋白, 硒值明显低于美国的类似产品。

除蘑菇和含高蛋白的产品外, 水果和蔬菜通常低硒。谷类和奶及乳产品都不富硒, 但在调查的农村地区, 这些产品在预期高的消费水平时, 能明显地贡献于每日硒的摄入。鸡蛋、肉及其产品是硒的最好来源。海鱼是最富硒的, 但存在生物利用率的问题也值得考虑。

2 个地区分析的样本硒水平在其他国家报道的足硒与亚最适水平范围之内, 与 D rava 盆地的食物做比较, 东克罗地亚南部食物产品硒水平较高。

在 Sava 盆地测定的玉米膳食和牛奶产品的硒水平范围较广, 可能是存在地方岩性变化的迹象, 影响到植物的硒生物利用度。

#### 参考文献:

- [1] Klavec T, Mandic ML, Grgic J, *et al* Selenium in selected foods grown or purchased in eastern Croatia[J]. Food Chem, 2004, 85: 445-452
- [2] McNaughton SA, Marks GC. Selenium content of Australian foods: A review of literature values[J]. J Food Compos Anal-ysis, 2002, 15: 169-182
- [3] Navarro-Arcon M, Lopez-Martinez MC. Essentiality of Selenium in the human body: relationship with different disease [J]. Sci Total Environ, 2000, 249: 347-371.

(上接第 10 页)

C-jun 的激活也可通过生理浓度硒被减弱, 这可能是由于  $R_{OS}$  反应的减弱造成的。

#### 10 对氧化还原敏感的离子通道和钙调蛋白

已知许多受体和离子通道对氧化还原反应敏感。例如 NMDA 受体, 电位门控钾离子通道,  $GA-BA-A$  受体。除了依赖半胱氨酸的氧化还原调节, 可逆性的蛋氨酸氧化最近也引起人们关注。Shaker 蛋白钾离子通道的失活是通过  $Met_3$  的氧化调节的。氧化型  $Met_3$  的还原以及随后其失活动力学的逆转被爪蟾蛋氨酸-亚砷-还原酶 A ( $MsrA$ ) 共表达所证明。正如以上所述, 另一种依赖硒的蛋氨酸-亚砷-还原酶 ( $MsrB$ , 硒蛋白 R) 存在于脑, 这就暗示其在脑生理活动中具有一定功能。除此之外, 两种蛋氨酸-亚砷-还原酶都依靠还原型  $Trx$  作为一种辅助因子, 因此就与依靠硒的  $TrxR-Trx$  系统相关。钙调蛋白 ( $CaM$ ) 的蛋氨酸氧化导致  $CaM$  与目标蛋白如可能影响神经元兴奋性的质膜  $Ca^+ATPase$  的结合减弱。除此之外, 已经证实如果与去极化同时出现,  $R_{OS}$  或  $NO$  信号能加强  $Ca^{2+}$  在神经元中的积累。因此, 依赖硒的氧化还原系统 ( $GPx, TrxR, MsrB$ ) 的亚理想活

性可增加神经元的兴奋性而有损神经元在氧化应激 (那就是由于癫痫, 外伤, 中风) 或衰老情况下生存这一假设也是很有依据的。

#### 参考文献:

- [1] Schweizer U, Brauer AU, Kohrleb J, *et al* Selenium and brain function: a poorly recognized liaison [J]. Brain Res Rev, 2004, 45: 167-178
- [2] Sanchez V, Zeini M, Camarero J, *et al* The nNOS inhibitor, AR-R17477AR, prevents the loss of NF68 immunoreactivity induced by methamphetamine in the mouse striatum [J]. J Neurochem, 2003, 85: 515-524
- [3] Moskovitz J, Stadman ER. Selenium-deficient diet enhances protein oxidation and affects methionine sulfoxide reductase ( $MsrB$ ) protein level in certain mouse tissues [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100: 7486-7490
- [4] Zafar KS, Siddiqui A, Sayeed I, *et al* Dose-dependent protective effect of selenium in rat model of Parkinson's disease: neurobehavioral and neuro-chemical evidences [J]. J Neurochem, 2003, 84: 438-446
- [5] Yant LJ, Ran Q, Rao L, *et al* The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults [J]. Free Radic Biol Med, 2003, 34: 496-502