

活化,有许多分子参与调节免疫反应,如外源性蛋白(如细菌和病毒)和内源性蛋白(Hsp和 β_2 糖蛋白)。而在许多细菌、病毒病原体的自然或体外实验性感染中,似乎都有 $\gamma\delta T$ 细胞的激活。

总之,T细胞是影响AS的多因素之一,在粥样硬化的自然进程中,T细胞免疫反应的综合效应可能是促进病变发展,尤其是在不稳定斑块的形成及斑块破裂中可能发挥重要作用。免疫反应与遗传、体内外环境、内分泌代谢等多种因素共同决定了粥样硬化的消长。随着对T细胞功能及免疫反应的深入研究,有选择地、准确地调节免疫反应将可能成为防治动脉粥样硬化的新途径。不仅为解释斑块形成提供新的思路,而且能为临床提供新的治疗手段。

[参 考 文 献]

- [1] Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, *et al.* Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis[J] . *Heart*, 2003, 89(9): 993 ~ 997.
- [2] Liuzzo G. Atherosclerosis: An inflammatory disease[J] . *Rays*, 2001, 26(4): 221 ~ 230.
- [3] Berberian PA, Myers W, Tytell M, *et al.* Immunohistochemical location of heat shock protein 70 in normal appearing and atherosclerotic specimens of human arteries[J] . *Am Pathol*, 1990, 136(1): 71 ~ 80.
- [4] Neri Serneri GG, Prisco D, Martini F, *et al.* Acute T-cell activation is detectable in unstable angina[J] . *Circulation*, 1997, 95(7): 1 806 ~ 1 812.
- [5] Farb A, Burke AP, Tang AL, *et al.* Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core[J] . *Circulation*, 1996, 93(7): 1 354 ~ 1 363.
- [6] Galis ZS, Sukhova GK, Lark M W, *et al.* Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques[J] . *J Clin Invest*, 1994, 94(6): 2 493 ~ 2 503.
- [7] 王 丽. 缺血性脑血管病与免疫[J] . 国外医学·脑血管疾病分册, 1997, 5(4): 203 ~ 206.
- [8] Neri Serneri GG, Prisco D, Martini F, *et al.* Acute T cell activation is detectable in unstable angina[J] . *Circulation*, 1997, 95(7): 1 806 ~ 1 812.
- [9] Zhou X, Paulsson G, Stemme S, *et al.* Hypercholesterolemia. is associated with a T helper (Th) 1/Th2 switch of the eautoimmune response in atherosclerotic apo-E knockout mice [J] . *J Clin Invest*, 1998, 101(8): 1 717 ~ 1 725.
- [10] Libby P, Aikawa M. Involvement of immune system in human atherosclerosis Current knowledge and unanswered questions[J] . *J Clin Invest*, 1986, 78(6): 1 432 ~ 1 435.
- [11] Hakkinen T, Karkola K, Yla-Herttuala S. Macrophages, smooth muscle cells, endothelial cells, T-cells express CD40 and CD40L in fatty streaks and more advanced human atherosclerotic lesions [J] . *Vitrovs Arch*, 2000, 437: 396 ~ 405.
- [12] Remskar M, Li H, Chyu KY, *et al.* Absence of CD40 signaling is associated with an increase in intimal thickening after arterial injury[J] . *Circ Res*, 2001, 88(4): 390 ~ 394.
- [13] Schonbeck U, Sukhova GK, Shimizu K, *et al.* Inhibition of CD40 signaling limit evolution of established atherosclerosis in mice[J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(13): 7 458 ~ 7 463.
- [14] George J, Harats D, Giburd B, *et al.* Adoptive transfer of beta (2) -glycoprotein I-reactive lymphocytes enhances early atherosclerosis in LDL receptor deficient mice[J] . *Circulation*, 2000, 102(15): 1 822 ~ 1 827.
- [15] Wu R, Giscoombe R, Holm G, *et al.* Induction of human cytotoxic T lymphocytes by oxidized low density lipoproteins[J] . *Scand J Immunol*, 1996, 43(4): 381 ~ 384.
- [16] Emeson EE, Shen ML, Bell CG, *et al.* Inhibition of atherosclerosis in CD4 T-cell-ablated and nude(nu/ nu) C57BL/ 6 hyperlipidemic mice [J] . *Am J Pathol*, 1996, 149(2): 675 ~ 685.
- [17] Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, *et al.* Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signaling [J] . *Nature*, 1998, 394(6 689): 200 ~ 203.
- [18] Lutgens E, Cleutjens KB, Heeneman S, *et al.* Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype[J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(13): 7 464 ~ 7 469.
- [19] Metzler B, Mayr M, Dietrich H, *et al.* Inhibition of arteriosclerosis by T-cell depletion in normocholesterolemic rabbits immunized with heat shock protein 65[J] . *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19(8): 1 905 ~ 1 911.

[文章编号] 1000-2200(2005) 04-0372-04

· 综 述 ·

乙酰肝素酶的生理特性及与肿瘤转移的关系

童旭辉 综述, 蒋志文 审校

[关键词] 乙酰肝素酶; 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖; 肿瘤转移; 综述

[中国图书资料分类法分类号] Q 556.2 [文献标识码] A

硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(heparan sulfate proteoglycan, HSPG) 是一种广泛存在于脊椎动物组织细胞外基质

(extracellular matrix, ECM) 和细胞表面的复杂的生物大分子, 是构成基底膜的主要成分。HSPG 主要由一个核心蛋白和数个与之共价连接的线性硫酸乙酰肝素(heparin sulfate, HS) 侧链组成^[1]。肿瘤细胞实现扩散、转移必须首先穿越由细胞外基质和基底膜(basement membrane, BM) 组成的屏障。该屏障主要由两种成分构成: 一是结构蛋白, 包括胶原、层黏素、纤维结合素和玻璃体结合素等; 二是糖氨聚糖, 其主要成

[收稿日期] 2004-12-27

[作者单位] 蚌埠医学院 药理学教研室, 安徽 蚌埠 233003

[作者简介] 童旭辉(1977-), 男, 安徽蚌埠人, 硕士研究生, 助教, 研究方向: 生化药理。

分是硫酸乙酰肝素蛋白聚糖。乙酰肝素酶(heparanase, Hpa)是一种裂解糖氨聚糖中 HS 链的内切糖苷酶,在细胞侵袭中起着极其重要的作用。最近,随着 Hpa 基因得以克隆,该酶与肿瘤转移之间的关系也正日益受到关注及重视,现将 Hpa 的生理特性与肿瘤转移之间的关系及可能的临床意义作一综述。

1 Hpa 的生理特性

人类 Hpa 有两种亚型,即 Hpa1 与 Hpa2。而目前研究最多的是 Hpa1。Hpa1 是一种 β -D-葡萄糖苷酸酶,基因定位于人类染色体 4q21.3,全长约为 50 kB,包含 14 外显子和 13 个内含子^[3]。完整的 Hpa1 cDNA 编码一个由 543 个氨基酸残基组成的蛋白质,即 Hpa 蛋白前体,相对分子量为 61 192。Hpa1 的分子量约为 50 kDa,是酶蛋白前体经蛋白酶水解后,从 N 端切除 157 个氨基酸残基后形成的一个由 C 端 386 个氨基酸残基组成的活性很强的成熟蛋白。Fairbanks 等研究表明^[3],Hpa1 是由两条多肽链以非共价键方式结合而成的异二聚体,这两条多肽链的分子量为 8 kDa 和 50 kDa,分别来源于蛋白前体的 NH₂ 端和 COOH 端。Hpa1 水解硫酸乙酰肝素的作用最早是在人胎盘和肝细胞中发现的^[4],自此 Hpa1 的作用在一系列正常和恶性的组织和细胞中得到证实^[4~10]。Hpa1 通过水解作用使得硫酸乙酰肝素某些部位的糖苷键断裂,产物为 10~20 糖单位的硫酸乙酰肝素片段,而这些提示了该酶可识别 HS 的某些特定结构部位^[11]。有学者^[11,12]认为 Hpa1 识别的底物至少应有 2-O-硫酸基,而 N-硫酸基或 O-硫酸基却并不是必需的。Ihrcke 等^[13]认为,该酶发挥作用的最适 pH 值为 5.0~6.5。关于该酶 mRNA 的调节,Simizu 等^[14]认为与某些转录因子有关,而与启动子的去甲基化无关。

另外,McKenzie 等^[15]最近报道了 Hpa2 一个新的肝素酶亚型,它与 Hpa1 有 35% 的相同性,可编码三个 Hpa 蛋白。Hpa2 的 mRNA 主要在人的大脑、乳腺、前列腺、小肠、睾丸和子宫中表达,由于其分布与 Hpa1 不同,Hpa2 可能有不同的功能。

2 Hpa1 与肿瘤转移的关系

2.1 Hpa1 在肿瘤中的过度表达 正常组织 Hpa1 的 mRNA 的表达主要限制于胎盘和淋巴组织中^[4,5,15]。免疫组织化学显示肝素酶主要存在于中性粒细胞、巨噬细胞、血小板、细胞滋养层细胞、角化细胞、毛细血管内皮细胞以及神经元中,而在大多数正常上皮细胞中极少或没有发现其存在。通过定量 RT-PCR 技术发现 Hpa1 mRNA 在乳腺、结肠、肺、前列腺、卵巢、胰腺的癌组织和器官移植中与正常组织相比是增加的。Hpa1 mRNA 和蛋白的增加甚至在结肠癌的早期即已出现,它们的水平随着结肠细胞从正常分化到差分化的发展而增加,与之相邻形态学正常的结肠组织则没有该酶的表达。高侵袭力的结肠癌细胞和邻近的促结缔组织形成的成纤维细胞则表达高水平的 Hpa1 mRNA 和蛋白。乳腺癌不仅在原发部位而且在导管小叶的侵袭部位均有 Hpa1 mRNA 和蛋白的表达。已侵入血液、淋巴结的乳腺癌显现出强大的免疫染色,而正常乳腺组织极少或没有该酶的表达。此外,胰腺癌患者术后的生存期时间与 Hpa1 mRNA 的表达负相关^[16]。He 等^[17]发现在肿瘤转移中起重要作用的 Hpa 活性与局部

氧化还原环境有关,缺氧加强了 Hpa 的作用。

2.2 Hpa1 在肿瘤血管生成中的作用 HSPG 是血管中的主要组成部分^[10]。在大血管中 HSPG 主要位于内膜和中层;而在毛细血管中则主要位于内皮下的基底膜,与内皮细胞增生、移动以及毛细血管壁结构的稳定有关。HS 的降解加速了血源性肿瘤细胞的外渗和血管内皮细胞的发芽增生。原有观点认为 ECM 的降解酶的作用破坏了该屏障,使得肿瘤细胞侵袭至基质和血管壁。最近人们则意识到血源性肿瘤细胞外渗在转移的级联反应步骤中可能不是最主要的步骤,基质降解酶中的 MMPs 和 Hpa1 不仅促进了肿瘤细胞的侵袭,而且通过调节生长因子的活性和生物利用度诱发肿瘤血管生成。

肿瘤侵袭和转移涉及到包括胶原、层黏素、纤维结合素和玻璃体结合素和 HSPG 等 ECM 组分的降解。恶性肿瘤细胞能通过诸如 MMPs、丝氨酸和半胱氨酸蛋白酶和糖苷内切酶等一系列酶的作用来完成这一降解过程。Hpa1 的表达与肿瘤细胞的转移活性密切相关^[4~8]。Hpa1 在肿瘤转移中所起作用的直接证据是:在经高度表达 Hpa1 的转染后,非转移性 T 淋巴细胞可变为转移性的^[5]。皮下接种转染高度表达 Hpa1 的 T 淋巴细胞比伪转染组的肝转移和死亡率高。同样,转染 Hpa1 cDNA 的小鼠静脉注射黑色素瘤细胞后可增加肺转移^[5]。此外,在有肿瘤转移的动物及人的血浆和部分尿液中均有 Hpa1 水平的提高^[7]。Andela 等^[18]最近发现抑制 NF- κ B 可以下调 MMP-9、纤溶酶原激活物和 Hpa1,从而阻止了实验性的和自发性的肿瘤转移。相反,与星形细胞混合培养或使用神经生长因子或神经营养素-3,可以增加 Hpa1 活性和促进细胞侵袭,提示星形细胞有助于黑色素瘤的脑转移^[19]。

血管的生成是一个协调的牵涉到多种分子(生长因子,ECM 组分,黏附受体,基底膜降解酶)的多细胞作用的过程。已发现 HSPGs 和 HSPG 降解酶与细胞侵袭转移、黏附、分化和增生有关^[20~22],所有这些过程均与血管生成有关。肝素和 HS 可以稳定、保护 FGFs、VEGFs 免于失活。此外,这些分子可以作为低亲和力的协同受体促进 HS-FGF-FGFR 复合体的形成,利于受体的聚合和信号传导^[23]。血小板、肿瘤细胞、炎症细胞表达的结合型及天然型 Hpa1 可使有活性的 bFGF 和 HS 片段复合体从 ECM 和 BM 中释放出来。HS 能激动 FGF-R 结合,聚合的长度与 Hpa1 裂解后的 HS 片段的长度相同^[11,24]。

血管生成过程中的一个重要的早期步骤是通过内皮细胞发芽增生所引起的内皮下毛细血管基底膜的降解,而这是血管新生的一个必要条件。通过降解基底膜的多聚糖骨架,Hpa1 可以促进内皮细胞向血管生成因子的侵袭和迁移,同 MMPs 和其它一些蛋白酶的功能一样。He 等^[17]已发现了增生的内皮细胞中高度表达 Hpa1 mRNA。此外,人结肠癌和乳腺癌内皮细胞中通过免疫组化发现高表达 Hpa1,而成熟的血管中则极少或没有^[25]。

3 Hpa1 的临床意义

鉴于肝素酶与肿瘤转移之间的关系,人们采用该酶抑制剂来减少或消除肿瘤的转移。目前肝素酶抑制剂有糖类、核苷酸类和氨基酸类。糖类又分为多糖类和寡糖类。多糖类

以肝素(包括低分子量肝素法安明)和硫酸海带多糖(lamanarinsulfate, LS)^[26]为代表;寡糖类以硫酸化磷酸甘露戊糖(phosphomannopentaosesulfate, P188)和硫酸麦芽六糖为代表^[2]。核苷酸类抑制剂为人工合成的硫代磷酸寡脱氧核苷酸(phosphorothioate oligodeoxynucleotides, PS oligos),主要由28个胞嘧啶核苷或胸腺嘧啶核苷组成的硫代磷酸同聚物(SdC28和SdT28)为代表^[26]。最近报道了1种人工合成的聚N-丙烯氨基酸也具有抑制肝素酶的作用^[12]。

Miao等^[26]研究发现动物肿瘤细胞系表达的肝素酶活性可被LS有效抑制,而0.1 μmol的SdC28可完全抑制黑色素瘤细胞的肝素酶活性。在静脉接种黑色素瘤或乳腺癌细胞前单次皮内注射LS可抑制其肺转移灶达80%~90%;SdC28具有相似的效应。在上述有效浓度范围内,2种复合物对体内肿瘤细胞增殖和原发瘤的生长仅有微弱的抑制作用,LS在浓度为50 mg/L时,仍不能抑制肿瘤细胞对内皮细胞的黏附。Parish等研究证实P188和硫酸麦芽六糖可同时抑制体外血管形成和肝素酶活性,二者的抑酶活性与肝素相当,且抑酶活性与抗转移作用平行,但与抑制血管生成的作用并不平行。如肝素虽可抑制肝素酶,却不能抑制血管生成。P188可抑制或减少高侵袭性乳腺癌原发瘤的生长达50%,腹股沟淋巴结转移率降低40%,原发性肿瘤周围血管供应降低了30%,故认为P188是血源性肿瘤转移的强效抑制剂,且其抗转移作用与肝素相似,具量效和时效关系。从青绿海藻中提出的一种硫酸多糖螯合物CaSP也可抑制黑色素瘤细胞的侵袭,减少肺转移,其机制之一可能是抑制肝素酶活性^[27]。

Edovitsky等^[28]对MDA-MB-435、Eb和B16细胞系采用抗Hpa的锤头形核酶或小片段干扰核酸(SiRNA)降低Hpa的水平,体内外实验结果表明可减少肿瘤的转移,这种肝素酶基因沉默疗法可为抗肿瘤药物的研究提供一个新的方向。

4 问题与展望

Hpa作为一种与肿瘤生长转移密切相关的酶,已愈来愈受到人们的重视,但该酶确切的调控机制以及其抑制剂对靶组织的准确定位和临床应用中的疗效、不良反应等还不是很清楚。笔者认为可将Hpa1的检测作为肿瘤预后的一个常规检查项目;是否可筛选出中和性的抗体来封闭Hpa1或外源性补充HSPG来减少肿瘤的转移无疑是个令人感兴趣的研究方向。

[参 考 文 献]

- [1] Eccles SA. Heparanase: Breaking down barriers in tumors [J]. *Nat Med*, 1999, 5(7): 735~736.
- [2] Vlodavsky I, Elkin M, Pappo O, et al. Mammalian heparanase as mediator of tumor metastasis and angiogenesis [J]. *Isr Med Assoc J*, 2000, 2(Suppl): 37~45.
- [3] Fairbanks MB, Mildner AM, Leone JW, et al. Processing of the human heparanase precursor and evidence that the active enzyme is a heterodimer [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(42): 29 587~29 590.
- [4] Hullet MD, Freeman C, Hamdorf BJ, et al. Cloning of mammalian heparanase, an important enzyme in tumor invasion and metastasis [J]. *Nat Med*, 1999, 5(7): 803~809.
- [5] Vlodavsky I, Friedmann Y, Elkin M, et al. Mammalian heparanase: Gene cloning, expressing and function in tumor progression and metastasis [J]. *Nat Med*, 1999, 5(7): 793~802.
- [6] Parish CR, Freeman C, Hullet MD. Heparanase: A key enzyme involved in cell invasion [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1471(3): M99~M108.
- [7] Nakajima M, Irimura T, Nicolson GL. Heparanases and tumor metastasis [J]. *J Cell Biochem*, 1988, 36(2): 157~167.
- [8] Zcharia E, Metzger S, Chajek-Shaul T, et al. Molecular properties and involvement of heparanase in cancer progression and mammary gland morphogenesis [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2001, 6(3): 311~322.
- [9] Parish CR, Coombe DR, Jakobsen KB, et al. Evidence that sulphated polysaccharides inhibit tumour metastasis by blocking tumour-cell-derived heparanases [J]. *Int J Cancer*, 1987, 40(4): 511~518.
- [10] Bernfield M, Bernfield M, Gotte M, et al. Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans [J]. *Annu Rev Biochem*, 1999, 68: 729~777.
- [11] Iozzo RV. Matrix proteoglycans: From molecular design to cellular function [J]. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 609~652.
- [12] Parish CR, Freeman C, Brown KJ, et al. Identification of sulphated oligosaccharide-based inhibitors of tumor growth and metastasis using novel in vitro assays for angiogenesis and heparanase activity [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(14): 3 433~3 441.
- [13] Ihrcke NS, Parker W, Reissner KJ, et al. Regulation of platelet heparanase during inflammation: Role of pH and proteinases [J]. *J Cell Physiol*, 1998, 175(3): 255~267.
- [14] Simizu S, Ishida K, Wierzbza MK, et al. Expression of heparanase in human tumor cell lines and human head and neck tumors [J]. *Cancer Lett*, 2003, 193(1): 83~89.
- [15] McKenzie E, Tyson K, Stamps A, et al. Cloning and expression profiling and Hpa 2, a novel mammalian heparanase family member [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276(3): 1 170~1 177.
- [16] Kofopoulos A, Friess H, Kleeff J, et al. Heparanase expression in primary and metastatic pancreatic cancer [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(12): 4 655~4 659.
- [17] He X, Brenchley PE, Jayson GC, et al. Hypoxia increases heparanase-dependent tumor cell invasion, which can be inhibited by anti-heparanase antibodies [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11): 3 928~3 933.
- [18] Andela VB, Schwarz EM, Puzas JE, et al. Tumor metastasis and the reciprocal regulation of prometastatic and antimetastatic factors by nuclear factor κB [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(23): 6 557~6 562.
- [19] Marchetti D, Li J, Shen R. Astrocytes contribute to the brain-metastasis specificity of melanoma cells by producing heparanase [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(17): 4 767~4 770.
- [20] Vlodavsky I, Friedmann Y. Molecular properties and involvement of heparanase in cancer metastasis and angiogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2001, 108(3): 341~347.
- [21] Pikas DS, Li JP, Vlodavsky I, et al. Substrate specificity of heparanases from human hepatoma and platelets [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(30): 18 770~18 777.

- [22] Folkman J, Shing Y. Control of angiogenesis by heparin and other sulfated polysaccharides[J]. *Adv Exp Med Biol*, 1992, 313: 355 ~ 364.
- [23] Iozzo RV, San Antonio JD. Heparan sulfate proteoglycans: Heavy hitters in the angiogenesis arena[J]. *J Clin Invest*, 2001, 108 (3): 349 ~ 355.
- [24] Vlodavsky I, Miao HQ, Medalion B, *et al.* Involvement of heparan sulfate and related molecules in sequestration and growth promoting activity of fibroblast growth factor [J]. *Cancer Metastasis*, 1996, 15(2): 177 ~ 186.
- [25] Elkin M, Ilan N, Ishai-Michaeli R, *et al.* Heparanases as mediator of angiogenesis: Mode of action[J]. *FASEB J*, 2001, 15(9): 1 661 ~ 1 663.
- [26] Miao HQ, Elkin M, Aingorn E, *et al.* Inhibition of heparanase activity and tumor metastasis by laminarin sulfate and synthetic phosphothioate oligodeoxynucleotides[J]. *Int J Cancer*, 1999, 83(3): 424 ~ 431.
- [27] Mishima T, Murata J, Toyoshima M, *et al.* Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from a blue-green alga, *Spirulina platensis*[J]. *Clin Exp Metastasis*, 1998, 16(6): 541 ~ 550.
- [28] Edovitsky E, Elkin M, Zcharia E, *et al.* Heparanase gene silencing, tumor invasiveness, angiogenesis, and metastasis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004, 96(16): 1 219 ~ 1 230.

[文章编号] 1000-2200(2005)04-0375-03

·综述·

阿魏酸钠对缺血性脑损伤保护作用的研究进展

廖松岩 综述, 吴华璞, 祝晓光 审校

[关键词] 阿魏酸钠; 缺血性脑损伤; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 282.71 [文献标识码] A

缺血性脑损伤(hypoxic ischemic brain damage, HIBD)是目前严重威胁人类健康的疾病之一,其损伤机制的研究正逐步深入,除兴奋性毒性、细胞内钙超载外,还包括细胞凋亡、炎症、自由基以及一氧化氮的损伤等。阿魏酸钠(sodium ferulate, SF, 当归素)是阿魏酸(ferulic acid)的钠盐,化学名称为3-甲氧基-4-羟基丙烯酸钠盐。阿魏酸是传统活血化瘀中药当归和川芎共有的有效单体成分,近年来SF在缺血性脑损伤中的保护作用的研究取得了一定的进展,现就SF对缺血性脑损伤机制作一综述。

1 SF对兴奋性氨基酸(excitatory amino acid, EAA)损伤的保护作用

谷氨酸(Glu)是脑内兴奋性突触的主要神经递质之一。近年来,大量研究表明,脑缺血时突触间隙Glu增多,刺激Glu受体异常兴奋,导致Ca²⁺超载及氧自由基产生增多,从而导致神经元的病理性脱失。Matsushita等^[1]研究表明,Glu等氨基酸的兴奋毒性作用在急性脑缺血细胞死亡、再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI)和迟发性神经元死亡(delayed neuronal death, DND)中起重要作用。有文献报道,SF对离体的原代培养海马神经细胞的谷氨酸损伤有保护作用^[2],SF抗损伤组(300 μmol/L)神经细胞培养液中神经细胞死亡率和乳酸脱氢酶(LDH)漏出率均减小,与谷氨酸损伤组比较差异有显著性(P<0.01)。此作用可能与SF较强的抗氧化作用相关,亦可能通过抑制谷氨酸所引起的细胞内Ca²⁺浓度升高有关。

2 SF对Ca²⁺超载的抑制作用

钙在神经细胞损害中具有特别重要的意义,Ca²⁺超载是

导致神经细胞死亡的关键因素和共同途径。由于缺氧缺血使能量代谢发生障碍,细胞膜上Na⁺-K⁺泵就不能维持正常的离子梯度,细胞膜电位发生改变而导致Ca²⁺大量进入细胞内,形成钙超载。神经细胞内钙超载可通过激活蛋白酶、脂酶及核酸内切酶等,介导氧自由基的大量产生导致细胞损伤。谷氨酸及其受体的兴奋性毒性作用也是导致细胞内Ca²⁺水平增高的重要机制^[3]。章建军等^[4]用大鼠大脑皮质培养建立离体的谷氨酸损伤模型,在培养神经细胞中加入谷氨酸后使Ca²⁺水平明显升高及反映神经细胞受损程度的LDH大量释放,观察SF对神经细胞内游离Ca²⁺浓度的影响,发现SF 40~100 μmol/L能产生剂量依赖性的抑制谷氨酸钠所引起的Ca²⁺升高及LDH释放,表明SF可能主要通过阻滞受体依赖性钙通道发挥作用。

3 SF对氧自由基(oxygen free radical, OFR)损伤的保护作用

Ca²⁺超载产生大量的NO和OFR,OFR损伤的主要病理机制是引起脂质过氧化反应。由于脑组织中富含脂质,因此脑对OFR损害尤为敏感,大量实验室研究资料已证实自由基是造成脑缺血组织损伤的原因之一^[5]。OFR攻击细胞膜,改变细胞膜的通透性,使膜通道开放,导致EAA释放和细胞外的Ca²⁺内流等,进一步加重脑组织损伤。以往研究发现SF有清除自由基、防止脂质过氧化损伤的作用^[6,7]。曲喜英等^[8]在H₂O₂诱导PC12细胞凋亡模型的基础上,采用MTT比色分析测细胞存活率,结果表明,用200 nmol/L H₂O₂处理细胞8h后PC12细胞存活率为57.78%,而分别用25~250 μmol/L SF预处理细胞1h,可剂量依赖性提高细胞的存活率,50 μmol/L SF组PC12细胞存活率为66.57%,与H₂O₂损伤组相比,差异有显著性(P<0.05);200 μmol/L SF可完全阻止H₂O₂的毒性,PC12细胞存活率为101.16%,与正常对照组比较差异无显著性(P>0.05)。说明SF可剂量依赖性对抗H₂O₂的神经毒性作用,这与它较强的抗氧化作用有关。另有研究表明,大脑缺血再灌注产生大量自由

[收稿日期] 2004-07-09

[作者单位] 蚌埠医学院药理学教研室,安徽蚌埠233003

[作者简介] 廖松岩(1978-),男,安徽蚌埠人,硕士研究生,研究方向:心脑血管药理。