

# 054 硒与肝纤维化

李 锋

(上海第二医科大学医学营养教研室, 上海 200025)

摘要: 硒作为体内含硒酶类的必需组分, 具有抗肝纤维化的作用, 但具体机制尚不明确, 可能与其参与含硒酶拮抗氧自由基对肝脏细胞的损伤有关。

关键词: 硒; 抗氧化; 肝纤维化

中图分类号: R 151. 4<sup>+</sup> 3 文献标识码: A 文章编号: 1001-1226(2000)03-0150-054

肝纤维化发生的机制极为复杂, 主要表现为肝细胞外基质 (ECM) 的过度增多和异常沉积。现在认为它是对慢性肝损伤的一种反应<sup>[1]</sup>。实验研究表明氧化应激是肝纤维化发生途径中的重要环节之一<sup>[2]</sup>。体内在氧化应激状态下产生的自由基可以攻击细胞膜导致脂质过氧化, 使肝细胞损伤和坏死, 通过一系列的反应激活肝星形细胞 (HSC) 和其它 ECM 产生细胞 (包括内皮细胞和肝细胞等)。HSC 和其它 ECM 产生细胞分泌大量的基质蛋白, 使 ECM 大量增多沉积, 导致肝纤维化发生<sup>[3]</sup>。目前认为肝纤维化是可以逆转的, 但具体机制尚不明确。而现在一些研究已证明硒通过体内含硒酶的抗氧化性而具有抗肝纤维化的作用。

## 1 硒防治肝纤维化的机制

### 1.1 氧自由基与肝纤维化的发生

肝纤维化发生的主要机制是当肝脏受到化学物质、缺氧后的再氧化和急慢性炎症包括病毒感染等刺激时, 机体处于氧应激状态, 缺氧的细胞产生氧自由基 (ROS), 导致氧化性的细胞损伤, 出现多种细胞结构和功能的改变, 使细胞凋亡或坏死。这种慢性肝损伤导致体内产生修复反应, 由细胞-细胞之间相互作用分泌细胞因子引起 HSC 激活, 同时脂质

过氧化产物如丙二醛 (MDA) 和 4-羟基壬醛 (4-HNE) 也可直接激活 HSC, 上述作用及反复的肝损伤引起 HSC 持续活化, 产生大量间质胶原和其它 ECM 成分, 首先沉积于 Disse 间隙, 最终致全肝纤维化。由于 HSC 处在肝纤维化发生的中心环节地位<sup>[1]</sup>, 目前的研究比较集中于脂质过氧化或过氧化产物如 MDA 和 4-HNE 对 HSC 的作用。Chojkier 等<sup>[4]</sup>首先报道在培养的人类成纤维细胞中添加 MDA 可增加 I 型胶原基因的表达和胶原的合成。类似的一些研究中, MDA 和 4-HNE 可刺激培养的大鼠 HSC 的胶原表达。低浓度的 4-HNE 可通过蛋白激酶 C 途径激活枯否细胞, 表达细胞因子如转化生长因子-β (TGF-β)、白细胞介素-6 (IL-6) 等<sup>[5]</sup>, 而这些细胞因子有促进 HSC 激活和胶原合成的作用。Eddy<sup>[6]</sup>也报道饲以高胆固醇的大鼠 12 周后体内 T M P-1 mRNA 的表达明显增高, 并且 III 型前胶原和 V 型胶原的 mRNA 的表达水平也明显增高。因此机体处于过氧化状态时, 体内 T M P-1 的表达可增加。Montosi 等<sup>[7]</sup>研究了体内氧化应激致肝纤维化过程中对 HSC 的作用。SD 大鼠注射 CCl<sub>4</sub> (1.5 ml/kg) 24h 后, 坏死区域就出现大量超氧自由基 (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) 和较低水平的氧反应基因 (HO) 的表达, 并且随时间递减, 在 48h 和 72h 观察到激活的 HSC 增加; 但大鼠在注射 8 周后 (1.5 ml/kg, 每周两次) 所有时间点 (24h、48h、72h) 均出现 HO 基因强烈表达和高浓度的超

审校者: 程五凤, 李宣海

收稿日期: 1999-11-14; 修回日期: 1999-12-17



氧自由基并扩展到整个小叶,伴随着激活的HSC的大量增加和持续表达,胶原mRNA的水平也显著增高。作者因此认为在肝坏死后纤维化发生期间,氧化应激导致HSC激活。因此肝纤维化过程中,氧自由基担任着关键性的角色,但氧自由基的损伤作用还与体内的抗氧化保护机制有关。Britton<sup>[8]</sup>指出,自由基对肝脏的损害的发生取决于自由基和细胞抗氧化保护系统之间的平衡,只有自由基产生的效应达到一定水平,才会发生细胞损害。硒作为体内重要抗氧化系统GSH-Px(谷胱甘肽过氧化物酶)和PHGPx(磷脂氢谷胱甘肽过氧化物酶)的必需组分,能够清除体内的氧自由基,可能在拮抗自由基对组织细胞的损害方面发挥着重要作用。

## 1.2 硒通过抗氧化作用拮抗肝纤维化

含硒酶是体内内源性抗氧化保护系统(AODS)的重要成员之一<sup>[9]</sup>。AODS能拮抗氧反应基团(ROS,氧自由基),防止氧化损伤的积累,避免氧化应激状态的出现。硒是体内含硒酶的重要组分,体内硒的营养状态可直接影响到体内重要的含硒酶GSH-Px和PHGPx的活性及合成。现在的研究<sup>[10]</sup>已证实体内硒营养状态与体内含硒酶的活性密切相关,适量的硒营养能够有助于提高体内含硒酶类的活性,从而提高机体的抗氧化能力,拮抗自由基对机体的损伤。但硒作为一种微量元素,过量摄入会导致中毒<sup>[11]</sup>,因此补充硒需考虑安全剂量的问题。杨光昕等<sup>[12]</sup>研究了中国人膳食硒的摄入情况,提出硒的最大安全摄入剂量为600 $\mu\text{g}/\text{d}$ 。

目前对含硒的谷胱甘肽过氧化物酶的抗纤维化的具体作用机制研究较少。一般认为硒可能通过含硒酶类如GSH-Px和PHGPx等清除自由基,保护肝细胞、枯否细胞和肝星形细胞免受自由基的损伤和激活而产生抗纤维化的效应。动物实验研究证明缺硒大鼠的肝细胞较易受到自由基的损伤,在饲以缺硒饲料经过20周后,大鼠的体重显著较轻<sup>[13]</sup>。添加硒喂饲的大鼠其肝功能得到明显改善,

大鼠血清的ALT值( $1143 \pm 260\text{U}/\text{L}$ )显著低于 $\text{CCl}_4$ /酒精组( $1461 \pm 215\text{U}/\text{L}$ )。Jozanov等<sup>[9]</sup>也报道饲料中缺硒时,Wistar大鼠对氧化应激的敏感性明显升高,大鼠的肝功能受到损伤。Rouach等<sup>[14]</sup>在酒精致大鼠肝纤维化的研究中发现,肝纤维化大鼠的GSH水平、GSH-Px活性明显低于对照组( $P < 0.01$ ,  $P < 0.02$ ),并且GSH水平、GSH-Px活性同丙二醛的含量呈明显的负相关( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。Guan等<sup>[15]</sup>报道也认为低硒状态能使大鼠肝脏的脂质过氧化物水平升高,引起肝组织的损伤。大鼠喂饲缺硒饲料时,肝细胞胞质内的GSH-Px活性快速降低,到喂饲6周后,肝脏脂质过氧化物水平才开始变化,到第6周显著升高,此时PHGPx的活力和含量也显著减少。因此GSH-Px和PHGPx对肝脏内抑制体内脂质过氧化物的产生具有重要的意义。一些细胞因子如TGF- $\beta$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、TMP-1(金属蛋白酶组织抑制因子-1)等在肝纤维化的发生发展中也起着重要的作用。TGF- $\beta$ 能促进胶原及基质的形成,同时抑制其降解。肝纤维化时,肝组织的TGF- $\beta$ mRNA的转录可明显增加。Contempre等<sup>[16]</sup>在硒缺乏大鼠致甲状腺纤维化的研究中表明硒缺乏时大鼠甲状腺的TGF- $\beta$ 的含量显著增高,从而促进甲状腺纤维化的发生,这就提示肝组织中可能有相似的过程。添加适量硒可能会减少枯否细胞、HSC等分泌这种细胞因子。TNF- $\alpha$ 主要由枯否细胞产生,可促进纤维母细胞及肝内HSC增殖,并促进HSC向肌纤维母细胞转化,还可增加TGF- $\beta$ 刺激ECM合成的作用。硒可能通过抗氧化作用保护肝细胞免受氧化应激的损伤,减少对枯否细胞的刺激,使TNF- $\alpha$ 的表达降低,影响HSC激活,发挥其抗肝纤维化作用。TMP-1主要由非实质细胞如HSC和枯否细胞产生,具有两个功能:对MMPs(组织金属蛋白酶)活性的抑制作用和对细胞增殖的促进作用。TMP-1抑制大部分的MMPs特别是MMP-1的活性。

TMP-1 可与 MMP 形成复合体, 在此复合体中 TMP 和 MMP 相互作用, 一旦 TMP 和 MMP 之间的平衡被打破, 可能导致纤维化的发生。而适量的硒营养可能拮抗体内的脂质过氧化, 使 HSC 和枯否细胞免受自由基的损伤和激活, 使其分泌减少从而抑制肝纤维化。

## 2 硒防治肝纤维化的依据

目前, 研究硒在抗肝纤维化的作用的报道日渐增多, 研究的方法较多集中于临床调查和动物实验研究。所采用的指标包括反映肝纤维化的指标如肝组织羟脯氨酸、血清透明质酸(HA)的水平, 肝组织病理检查, 抗氧化指标如肝组织及血清的硒和 GSH 水平, 以及 GPX、PHGPx 的活性等。

### 2.1 实验研究

已有很多动物实验的证据表明适量硒具有抵抗自由基对肝脏的损伤作用, 能够防治肝纤维化。早在 1957 年 Schwartz 就指出饲料中添加硒能保护因缺乏维生素 E 所致的大鼠食物性肝坏死。Shi 等<sup>[17]</sup>在四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)致大鼠急性肝纤维化的实验中指出, 肝组织发生的坏死同肝纤维化的发生有较密切的联系, 大鼠肝脏在受到持续性损伤后, 主要表现为肝中心小叶区域的坏死, 肝纤维化随即发生。适量补硒能够拮抗肝坏死的发生或减轻其程度, 因而能阻止肝纤维化。张曼娜等<sup>[18]</sup>在 CCl<sub>4</sub>/酒精致 Wistar 大鼠肝纤维化的研究中, 采用标准饲料中添加硒(0.2mg/kg)和维生素 E(200mg/kg), 观察其抗纤维化的效果。结果发现进食添加硒和维生素 E 的大鼠的肝纤维化程度明显减轻, 病理切片表明, 其较 CCl<sub>4</sub>/酒精组的大鼠的肝脏炎症浸润、肝细胞凝结坏死、胶原沉积等明显减轻, 血清透明质酸和肝组织的脯氨酸及羟脯氨酸水平有显著差别(分别为  $P < 0.02$ ,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.05$ )。Al-bader 等<sup>[19]</sup>在用硫化乙酰胺致雄性 Wistar 大鼠肝硬化的研究中发现, 用硫化乙酰胺致肝硬化的大鼠的体内硒

水平明显降低, 而同时在水中添加亚硒酸钠(4mg/L)的大鼠虽然也发生了肝硬化, 但程度较硫化乙酰胺组明显减轻, 大鼠的体重较重, 而肝组织的重量明显较轻。

### 2.2 临床研究

目前临床研究中对硒抗肝纤维化的证据尚不充分。虽然大部分的证据都表明适量硒具有抗肝纤维化的作用, 但也有一些试验的结果提示肝硬化的病人并不缺硒<sup>[20,21]</sup>。Van Goossum 等<sup>[22]</sup>在研究 19 个患有严重酒精性肝硬化的病人中指出, 低硒状态同肝功能密切相关, 并且补硒后肝功能可得到改善。病人组的血浆硒同对照组相比分别为  $54 \pm 13 \text{ mg/L}$  和  $83 \pm 11 \text{ mg/L}$ ; 血浆丙二醛为  $2.0 \pm 1.2 \mu\text{mol/L}$ , 而对照组小于  $1.2 \mu\text{mol/L}$ ; 肝功能指标<sup>14</sup>C 氨基比林呼吸测试病人组为  $2.7 \pm 1.9\%$ , 明显低于对照组的  $6.3 \pm 0.9\%$ 。病人随机分组分别补充硒和安慰剂后, 补硒组的血浆硒从补充前的  $58 \pm 10 \text{ mg/L}$  增加到补充后的  $101 \pm 12 \text{ mg/L}$ , 安慰剂组则无明显增加; 补硒组<sup>14</sup>C 氨基比林呼吸测试分值也有明显提高。Buljevac 等<sup>[23]</sup>调查了 59 个肝硬化病人和 202 个正常志愿者后, 发现两组人的血清硒分别为  $39.28 \pm 13.99$  和  $66.79 \pm 9.13 \text{ mg/L}$  ( $P < 0.001$ )。肝硬化病人的血清硒浓度同血清白蛋白水平呈明显正相关, 而同血清胆红素水平呈明显负相关。Bell 等<sup>[24]</sup>研究 83 个肝病病人体内 Se 水平时发现, 酒精性肝硬化病人的血清 Se 浓度显著低于肝组织正常的对照组( $P < 0.001$ ), 作者因此认为体内硒浓度同肝硬化程度密切相关。

## 3 结语

临床和动物实验研究表明硒作为体内源性抗氧化保护系统的重要组分, 具有抗肝纤维化的作用。体内含硒酶类抗氧化系统能够阻断自由基对肝脏细胞的损伤, 防止脂质过氧化及其产物的产生, 影响肝细胞和枯否细胞分泌细胞因子, 进一步影响到 HSC 的激活, 从而能拮抗肝纤维化。含硒酶的活性同硒

的营养状态密切相关, 保证适当的硒营养水平能够维持含硒酶的活性, 提高其抗氧化能力。因此, 适当补充硒, 改善体内硒营养状态可能防止肝脏在受到化学药物、急慢性炎症反应的影响时出现氧化应激状态, 减轻肝脏损伤, 以达到防治肝纤维化的目的。

### 参考文献

- [1] Friedman SL et al N Engl J Med, 1993, 328: 1828-1835
- [2] Gianluca SB et al Hepatology, 1998, 27(3): 720-726
- [3] Pietrangelo A et al Semin Liver Dis, 1996, 82: 8681-8685
- [4] Chojkier M et al J Biol Chem, 1989, 264(28): 16957-16962
- [5] Esterbauer H et al Free Radic Biol Med, 1991, 11(1): 81-128
- [6] Eddy AA. Kidney Int, 1998, 53(5): 1182-1189
- [7] Montosi G et al Am J Pathol, 1998, 152(5): 1319-1326
- [8] Britton RS Hepato Gastroenterol, 1994, 41: 343-348
- [9] Jozanov et al J Environ Pathol Toxicol Oncol, 1998, 17(3-4): 251-257
- [10] Lei XG et al J Nutr, 1995, 125(6): 1438-1446
- [11] Momcib M et al Biol Trace Elem Res, 1992, 33: 63-69
- [12] Yang GQ et al Biomed Environ Sci, 1995, 8(3): 187-201
- [13] Matsuda A et al Biol Trace Elem Res, 1998, 61(3): 287-301
- [14] Rouach H et al Hepatology, 1997, 25(2): 351-355
- [15] Guan et al Biochem Mol Biol Int, 1995, 37(6): 1103-1110
- [16] Contenpre B et al Mol Cell Endocrinol, 1996, 124(1-2): 7-15
- [17] Lan Shi et al Am J Pathol, 1998, 153(2): 515-525
- [18] Zhang M et al Gastroenterology, 1996, 110: 1150-1155
- [19] Al-bader A et al Mol Cell Biochem, 1998, 185: 1-6
- [20] Buck RF et al Hepatology, 1998, 27(3): 794-798
- [21] Valimaki M et al Clin Chim Acta, 1991, 196(1): 7-15
- [22] Van Gossum et al Biol Trace Elem Res, 1995, 47(1-3): 201-207
- [23] Buljevac M et al Acta Med Croatica, 1996, 50(1): 11-14
- [24] Bell H et al Alcohol, 1992, 27(1): 39-46

### (上接第 149 页)

- [11] Gerhardsson L et al Br J Ind Med, 1992, 49: 186-192
- [12] Bellinger D et al Arch Environ Health, 1994, 49: 98-105
- [13] Hu H et al JAMA, 1994, 272: 1512-1517
- [14] Roles H et al Occup Environ Med, 1994, 51: 505-512
- [15] Needleman HL et al JAMA, 1996, 275: 363-368
- [16] Hu H et al JAMA, 1996, 275: 1171-1176
- [17] Bleeker ML et al Neurology, 1997, 48: 639-645
- [18] Payton M et al J Neurotoxicol Teratol, 1998, 20: 19-27
- [19] Korrick SA et al Am J Public Health, 1999, 89(3): 330-335
- [20] Gonzalez-Cossio T et al Pediatrics, 1997, 100: 856-862