

- cellular proteinase inhibitors[J]. Biol Reprod, 1991, 45(2): 350-357.
- [2] Kirchhoff C. Molecular Characterization of epididymal proteins[J]. Rev Reprod, 1998, 3(2): 86-95.
- [3] Bingle L, Singleton V, Bingle CD. The putative ovarian tumor marker gene HE4 (WFDC2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms[J]. Oncogene, 2002, 21(17): 2768-2773.
- [4] Bingle L, Cross SS, High AS, et al. WFDC2 (HE4): a potential role in the innate immunity of the oral cavity and respiratory tract and the development of adenocarcinomas of the lung[J]. Respir Res, 2006, 7(1): 61.
- [5] Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4(HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas [J]. Cancer Res, 2005, 65(6): 2162-2169.
- [6] Galgano MT, Hampton GM, Frierson HF Jr. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues [J]. Mod Pathol, 2006, 19(6): 847-853.
- [7] Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, et al. The HE4(WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma[J]. Cancer Res, 2003, 63(13): 3695-3700.
- [8] Bouchard D, Morisset D, Bourbonnais Y, et al. Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer[J]. Lancet Oncol, 2006, 7(2): 167-174.
- [9] Lowe KA, Shah C, Wallace E, et al. Effects of personal characteristics on serum CA125, mesothelin, and HE4 levels in healthy postmenopausal women at high-risk for ovarian cancer[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2008, 17(9): 2480-2487.
- [10] Pepe MS, Janes H, Longton G, et al. Limitations of the odds ratio in gauging the performance of a diagnostic, prognostic, or screening marker[J]. Am J Epidemiol, 2004, 159(9): 882-890.
- [11] Schummer M, Ng WV, Bumgarner RE, et al. Comparative hybridization of an array of 21,500 ovarian cDNAs for the discovery of genes overexpressed in ovarian carcinomas[J]. Gene, 1999, 238(2): 375-385.
- [12] Köbel M, Kalloger SE, Boyd N, et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: implications for biomarker studies[J]. PLoS Med, 2008, 5(12): e232.
- [13] Lu KH, Patterson AP, Wang L, et al. Selection of potential markers for epithelial ovarian cancer with gene expression arrays and recursive descent partition analysis[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(10): 3291-3300.
- [14] Moore RG, Brown AK, Miller MC, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass[J]. Gynecol Oncol, 2008, 108(2): 402-408.
- [15] Dong L, Chang XH, Ye X, et al. The values of serum human epididymis secretory protein 4 and CA(125) assay in the diagnosis of ovarian malignancy[J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2008, 43(12): 931-936.
- [16] Chang X, Ye X, Dong L, et al. Human epididymis protein 4(HE4) as a serum tumor biomarker in patients with ovarian carcinoma [J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(5): 852-858.
- [17] Moore RG, Jabre-Raughley M, Brown AK, et al. Comparison of a novel multiple marker assay vs the Risk of Malignancy Index for the prediction of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass[J]. Am J Obstet Gynecol, 2010, 203(3): 1-6.
- [18] Montagnana M, Danese E, Ruzzenente O, et al. The ROMA(Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) for estimating the risk of epithelial ovarian cancer in women presenting with pelvic mass: is it really useful[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(3): 521-525.
- [19] Van Gorp T, Cadron I, Despierre E, et al. HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm[J]. Br J Cancer, 2011, 104(5): 863-870.
- [20] 王术艺, 谢永红, 张杰, 等. HE4 和 CA125 联合检测在卵巢癌手术前后临床价值评价[J]. 河北医药, 2009, 31(5): 564-565.
- [21] Anastasi E, Marchei GG, Viggiani V, et al. HE4: a new potential early biomarker for the recurrence of ovarian cancer[J]. Tumour Biol, 2010, 31(2): 113-119.
- [22] Li J, Dowdy S, Tipton T, et al. HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(6): 555-566.
- [23] 马荣, 耿晓星, 唐丽萍, 等. 人附睾分泌蛋白 4 检测对子宫内膜癌的诊断及预后的意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(9): 790-793.
- [24] Huhtinen K, Suvitie P, Hiisa J, et al. Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts[J]. Br J Cancer, 2009, 100(8): 1315-1319.
- [25] 张海荣, 高荣凯, 冀立娟, 等. 子宫腺肌症和子宫肌瘤患者血清 HE4 测定的意义[J]. 人民军医, 2009, 52(2): 102.
- [26] 赵莹璐, 杨剑峰, 朱景德. 人卵巢癌相关候选基因 HE4(WFDC2)的转录调控主要由 Sp1 与位于-71 和-48 的 Egr-1 位点结合所介导[J]. 肿瘤, 2004, 24(6): 517-525.
- [27] Khachigian LM, Lindner V, Williams AJ, et al. Egr-1-induced endothelial gene expression: a common theme in vascular injury[J]. Science, 1996, 271(5254): 1427-1431.
- [28] Silverman ES, Collins T. Pathways of Egr-1-mediated gene transcription in vascular biology[J]. Am J Pathol, 1999, 154(3): 665-670.

(收稿日期: 2012-07-31)

## • 综 述 •

## 纳米硒的临床研究进展

邓修元<sup>1</sup>, 刘毅敏<sup>2</sup>综述, 赵先英<sup>2△</sup>审校

(第三军医大学: 1. 学员旅 1 队; 2. 药学院化学教研室, 重庆 400038)

关键词: 纳米硒; 抗肿瘤; 低毒性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 02. 023

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)02-0178-03

硒是人体必需的微量元素之一, 但硒在最佳浓度和致毒浓度之间的安全限度非常狭窄, 开发低毒、高效的硒源一直是硒

营养研究的重点。1997 年张劲松创造性地将纳米技术应用于零价单质硒制成了纳米硒(Nano-Se)<sup>[1]</sup>, 从而开辟了 Nano-Se

应用的新领域。与一般的零价硒相比, Nano-Se 物理性质和化学性质发生显著的改变, 因而能够被人体所吸收和利用, 并且能发挥无机硒和有机硒所特有的功能, 如具有抗肿瘤、抗氧化、增强机体免疫力等作用。大量研究表明, Nano-Se 还具有低毒性等特点。临床研究表明, 预防和治疗肿瘤都需要超营养水平的硒, 而这些剂量接近或处在硒的毒性范围内, 因此 Nano-Se 低毒性的特点将在临床获得广泛应用。

### 1 Nano-Se 的物理性质

零价态的硒是一种没有活性和毒性的惰性硒。将这种惰性的零价硒应用纳米技术制成的 Nano-Se 为红色, 溶于水即可形成红亮透明的胶体溶液。电镜观察显示, Nano-Se 是以蛋白质为核, 单质硒为膜, 蛋白质为分散剂的中空纳米粒子, 其中空结构使硒表面最大化。Nano-Se 的粒径为 20~60 nm, 平均为 36 nm, X 光电子能谱的 Se 3 d 为 55.3 eV, 属零价硒<sup>[2]</sup>。通常 Nano-Se 是以纳米硒-表面修饰剂(NanoSe-surf)的形式稳定存在, 表面修饰剂可以降低其表面的自由能, 从而减少与其他粒子碰撞的概率, 有效地防止纳米微粒团聚, 并使之具有特定的粒径和特殊的形貌<sup>[3]</sup>。

### 2 Nano-Se 在体内的吸收

Wang 等<sup>[4]</sup>构建了 Caco-2 细胞模型, 对 Nano-Se 及其他形式硒的转运和吸收进行研究。在 37 °C 分别让不同形式的硒从细胞顶部(AP)到细胞底部(BL)或相反方向通过单层 Caco-2 细胞。2 h 后, 他们计算不同硒形式的表观渗透系数(Papp), 结果表明 Nano-Se 的 Papp 明显高于 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 且其 Papp(AP-BL)/Papp(BL-AP)值约为 1, 说明 Nano-Se 是以被动转运的形式吸收。不同形式硒的转运效率检测发现, 2 h 后两个方向的 Nano-Se 转运效率明显高于 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 和硒代甲硫氨酸(Se-Met)。不同形式硒的吸收效率测量显示, Nano-Se 在 Caco-2 细胞的吸收效率最高, 为(8.36±1.70)%, 远高于 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 的(0.99±0.14)%和 Se-Met 的(4.75±0.41)%, 即 Nano-Se 的吸收效率比 Se-Met 高 1.76 倍, 比 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 高 8.41 倍。

Nano-Se 明显高的 Papp 和转运效率表明, Nano-Se 可能主要是通过跨细胞的被动转运方式被吸收, 但也不排除 Nano-Se 可能通过细胞旁路途径被动转运<sup>[4]</sup>。Nano-Se 粒径很小, 能通过正常肠上皮细胞和 Peyer 集合淋巴结被高效吸收。

### 3 Nano-Se 的生物学功能

Nano-Se 与无机硒和有机硒相同, 都具有很高的生物学活性, 如抗肿瘤、抗氧化、增强机体免疫力和保护机体等作用, 能够直接清除自由基, 同时 Nano-Se 具有低毒性等特点。

**3.1 Nano-Se 的抗肿瘤作用** 研究表明, Nano-Se 的抗肿瘤作用可以通过线粒体介导的信号转导通路诱导肿瘤细胞凋亡实现。Nano-Se 通过氧化应激效应产生过氧化物和超氧阴离子造成肿瘤细胞的 DNA 损伤<sup>[5]</sup>, 损伤的 DNA 作为凋亡信号引起线粒体的损伤, 通过上调 Bax 蛋白的表达, 促进线粒体内 cyt-C 的释放, 释放的 cyt-C 可以活化 caspase-9, 而后激活 caspase-3, 从而诱导癌细胞凋亡实现抗肿瘤作用。此外, 一定剂量的 Nano-Se 可以增加脾小体和脾巨噬细胞数量, 通过增强免疫来实现抗肿瘤作用<sup>[6]</sup>。

有研究发现, Nano-Se 联合用药, 抗肿瘤效果更佳。在 Nano-Se 与顺铂联合使用的研究中发现, 两种药物联合使用并不降低顺铂治疗肿瘤的作用, 而且 Nano-Se 对顺铂造成的精子形成异常, 精子运动性降低, 雄激素紊乱具有改善作用<sup>[7]</sup>; 高剂量 Nano-Se 可降低顺铂造成的动物死亡和体质量丢失<sup>[8]</sup>, 提示高剂量 Nano-Se 可明显降低顺铂的毒性。

**3.2 Nano-Se 的抗氧化作用** Huang 等<sup>[9]</sup>用红色单质硒纳米

微粒与牛血清白蛋白(BSA)制成 Nano-Se, 发现 Nano-Se 能直接清除自由基, 如 DPPH, 超氧阴离子以及单态氧; 在体外不同微粒大小的 Nano-Se 直接清除自由基的能力显著不同, 微粒越小清除效果越好。Nano-Se 还能直接清除 ROS, 但当红色单质硒与 BSA 离心分离后, 不再具有清除自由基的特殊性质<sup>[10]</sup>。

童春义等<sup>[11]</sup>采用荧光法检测 Nano-Se 的抗氧化性, 结果显示: Nano-Se 在低浓度下的清除自由基的作用要比维生素 C 和 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 强; Nano-Se 的最大清除率浓度约为维生素 C 的 1/3, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 的 1/5; Nano-Se 的半清除率浓度也较其他两种抗氧化剂低。说明 Nano-Se 具有良好抗氧化作用, 在剂量上具有极大优势, 是一种高效的抗氧化剂。

白燕等<sup>[12-13]</sup>研究了用不同表面修饰剂制成的 Nano-Se 溶胶清除自由基的能力和总抗氧化能力, 结果表明 NanoSe-surf 具有良好的抗氧化活性, Nano-Se 的抗氧化能力与其表面修饰剂有关。事实上 Nano-Se 是以 NanoSe-surf 的形态参与清除自由基的反应, 这表明 Nano-Se 与修饰剂之间以及 NanoSe-surf 与自由基之间均发生了相互作用, 抗氧化作用实际上是表面修饰粒子所发生的界面化学反应。

**3.3 Nano-Se 的增强免疫作用** 研究表明, Nano-Se 通过增强体液免疫功能、细胞免疫功能和巨噬细胞吞噬功能三种方式调节机体免疫功能。Nano-Se 能增加抗体形成细胞数(PFC), 促进特异结合绵羊红细胞(SRBC)的抗体——溶血素的生成, 增强小鼠体液免疫功能。Nano-Se 能增强迟发型变态反应(DTH)能力, 提高脾淋巴细胞增殖能力, 从而上调小鼠细胞免疫功能。Nano-Se 还能明显提高小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力, 具有增强机体免疫功能的作用<sup>[14]</sup>。

**3.4 Nano-Se 的机体保护作用** Nano-Se 对肝、脑、心肌等组织都具有保护作用。郑青山等<sup>[15]</sup>用 CCl<sub>4</sub> 构建了大鼠急性肝损伤的模型, 对 Nano-Se 及与葡醛内酯(GLU)联用对大鼠肝纤维化形成过程的干预作用进行研究, 发现 Nano-Se 与 GLU 联用能降低血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)和肝组织脂质过氧化物丙二醛(MDA)含量, 并呈现明显的量效关系; Nano-Se 能减轻肝脏肿大, 两药间呈现明显的协同作用。说明 Nano-Se 对肝纤维化具有干预作用, Nano-Se 和 GLU 联用可增强疗效, 适用于肝纤维化的防治。

创伤性脑损伤后给予 Nano-Se, 大鼠脑组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力显著升高, MDA 及 Ca<sup>2+</sup> 含量显著下降, 能减轻脑水肿。提示 Nano-Se 可对抗创伤性脑损伤后氧自由基对脑组织的损害而发挥脑保护作用<sup>[16]</sup>。

给糖尿病小鼠补充一定剂量的 Nano-Se 可以使 SOD、GSH-Px 活性升高, MDA 水平降低, 细胞凋亡率下降, Bcl-2 蛋白表达增强, Bax 蛋白表达下降从而保护心肌, 其机制可能与抗氧化、调节血糖及增强 Bcl-2 表达有关<sup>[17]</sup>。

**3.5 Nano-Se 的低毒性** 通常的硒化合物只在高剂量下才有抗癌效果, 但高剂量补硒会造成较大毒副作用。研究证实 Nano-Se 有可能在抗癌实验中采用较低剂量, 从而避免高剂量硒毒副作用大的缺点。Zhang 等<sup>[18]</sup>对 Nano-Se 与 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 的急性毒性进行比较发现, Nano-Se 更少地抑制老鼠生长, 血清中的 ALT 和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)含量提示, Nano-Se 造成的肝功能异常程度更轻; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 能抑制肝的过氧化氢酶(CAT)和 SOD 的活性, 但 Nano-Se 对这两种抗氧化酶的活性无影响; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 能增加肝的 MDA 含量, 而 Nano-Se 减少其含量; Nano-Se 比 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 更能有效诱导产生谷胱甘肽 S 转移酶(GST)。该实验结果提示 Nano-Se 具有更低的急性毒性, 并证实 Nano-Se 的急性毒性是 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 的 1/7。

Jia 等<sup>[19]</sup>研究了 Nano-Se 对大鼠的慢性毒性作用, 给药 13 周后发现, Nano-Se 对大鼠的无明显副作用剂量水平 (NOA-EL) 为 3 ppm (雄性每日剂量为 0.22 mg/kg BW, 雌性每日剂量为 0.33 mg/kg BW), Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 和含硒蛋白的 NOAEL 为 2 ppm, 说明 Nano-Se 的慢性毒性同样更低。

与硒-甲基硒代半胱氨酸 (SeMSC) 比较证实, 在增加 GSH-Px、硫氧还蛋白还原酶 (TrxR) 和 GST 的活性等方面, Nano-Se 与 SeMSC 具有相同的效应, 而在老鼠半数致死剂量 (LD50)、存活率、急性肝损伤和急性毒性方面, Nano-Se 则具有明显的低毒性<sup>[20]</sup>。

按照徐辉碧等<sup>[21]</sup>提出的硒毒性的自由基机理, GSH 与硒 (化合物) 的不断反应产生大量活性氧自由基是硒产生毒性的原因之一。Nano-Se 与 GSH 的反应速率仅是 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 的 1/12.3。Nano-Se 的低急性毒性的原因之一可能是纳米红色单质硒与生物体内 GSH 反应率低进而自由基产生量低。Nano-Se 的 LD50 为 Se 112.98 mg/kg BW, 其 95% 可信区间为 Se 89.95~141.90 mg/kg BW; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 的 LD50 为 Se 15.72 mg/kg BW, 95% 可信区间为 Se 13.38~18.47 mg/kg BW<sup>[22]</sup>。

#### 4 小 结

1985 年 Nuttal<sup>[23]</sup>提出胶体状态红色单质硒具有或在特定环境下具有生物活性假说, 由于无实验证据, 加之灰或黑色单质硒没有生物活性和毒性的事实, 他的假说未得到重视。Nano-Se 的发明及其生物效应的相关研究, 证实了 Nuttal 的假说。Nano-Se 具有抗肿瘤、抗氧化、免疫调节和保护机体组织等多方面生物学作用。Nano-Se 的低毒性特点有效弥补了补硒的不足, 具有巨大的、潜在的市场和经济价值, 在医疗保健领域应用的前景广阔。

#### 参考文献

[1] 张立德. 纳米硒: 我国在世界上为数不多的纳米科技领先项目[J]. 医药世界, 2002(6): 16.

[2] 夏枚生, 张红梅, 胡彩虹, 等. 纳米硒对肉鸡生长和抗氧化的影响[J]. 营养学报, 2005, 27(4): 307-310.

[3] 白燕, 罗海英, 郑文杰. 纳米硒的界面化学作用[J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2011, 32(3): 345-351.

[4] Wang Y, Fu L. Forms of selenium affect its transport, uptake and glutathione peroxidase activity in the Caco-2 cell model[J]. Biol Trace Elem Res, 2012, 149(1): 110-116.

[5] Chen T, Wong YS, Zheng W, et al. Selenium nanoparticles fabricated in Undaria pinnatifida polysaccharide solutions induce mitochondria-mediated apoptosis in A375 human melanoma cells[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2008, 67(1): 26-31.

[6] 施旻, 乔玉丹. 纳米硒对小鼠移植瘤 H22 的生长抑制作用及其机

• 综 述 •

制[J]. 江西中医学院学报, 2008, 20(1): 61-63.

[7] Rezvanfar MA, Ahmadi A, Baeri M, et al. Efficacy of Acetyl-L-Carnitine, as a potent antioxidant in oxidative stress mediated Cisplatin-induced spermatotoxicity [J]. Toxicology Letters, 2011, 205: 246-247.

[8] 王华丽, 张劲松, 俞汉青. 低毒性的纳米硒对顺铂抗肿瘤作用的影响[J]. 营养学报, 2007, 29(5): 445-447, 452.

[9] Huang B, Zhang J, Hou J, et al. Free radical scavenging efficiency of Nano-Se in vitro[J]. Free Radic Biol Med, 2003, 35(7): 805-813.

[10] Zhang JS, Gao XY, Zhang LD, et al. Biological effects of a nano red elemental selenium[J]. Bio factors, 2001, 15(1): 27-38.

[11] 童春义, 薛昌刚, 刘选明, 等. 荧光-噻唑蓝法检测红色纳米硒的抗氧化活性[J]. 分析化学, 2006, 34(12): 1752-1754.

[12] 周艳晖, 黄嘉茵, 白燕, 等. 纳米硒-蔗糖溶胶的抗氧化作用[J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2010, 31(1): 71-74.

[13] 罗海英, 周艳晖, 白燕, 等. 纳米硒-氨基酸溶胶的抗氧化作用[J]. 食品科技, 2011, 36(4): 202-206, 210.

[14] 卢连华, 周景洋, 颜燕, 等. 纳米硒的免疫调节及辐射防护作用研究[J]. 中国辐射卫生, 2009, 18(2): 161-163.

[15] 郑青山, 张劲松, 桂常青, 等. 纳米红色元素硒与葡萄糖醛酸内酯联用对大鼠肝纤维化形成过程的干预及其定量分析[J]. 中国药理学通报, 2002, 18(1): 99-102.

[16] 潘秀兰, 王银龙, 马东周, 等. 纳米硒对大鼠创伤性脑损伤保护作用的实验研究[J]. 山东医药, 2008, 48(45): 36-38.

[17] 陈鸿武, 马礼坤, 余华, 等. 纳米硒对实验性糖尿病小鼠心肌的保护作用及其可能的机制[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(5): 878-882.

[18] Zhang J, Wang H, Yan X, et al. Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice[J]. Life Sci, 2005, 76(10): 1099-1109.

[19] Jia X, Li N, Chen J. A subchronic toxicity study of elemental Nano-Se in Sprague-Dawley rats[J]. Life Sci, 2005, 76(17): 1989-2003.

[20] Zhang J, Wang X, Xu T. Elemental selenium at nano size (Nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with se-methylselenocysteine in mice[J]. Toxicol Sci, 2008, 101(1): 22-31.

[21] 徐辉碧, 冯志明, 程驿. 硒化合物毒性的自由基机理[J]. 华中理工大学学报, 1991, 19(1): 13-19.

[22] 高学云, 张劲松, 张立德. 纳米红色元素硒的急性毒性和生物利用性[J]. 卫生研究, 2000, 29(1): 57-58.

[23] Nuttal KL. Elemental selenium and glutathione reductase[J]. Med Hypotheses, 1985, 16(2): 155-158.

(收稿日期: 2012-07-20)

## 血小板输注无效的原因和防治

程丽霞<sup>1</sup>综述, 杨和军<sup>2</sup>审校

(1. 山东省东明县计划生育服务站, 山东菏泽 274599; 2. 菏泽市立医院输血科, 山东菏泽 274031)

**关键词:** 血小板输注无效; 血小板计数校正增加值; 同种异体免疫

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.024

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2013)02-0180-05

血小板在人体凝血和止血过程中起着至关重要的作用。临床上出现血小板数量减少或功能障碍时, 输注血小板是简单