

[17] Gravel D, Miller M, Simor A, et al. Health care-associated *Clostridium difficile* infection in adults admitted to acute care hospitals in Canada: a Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program Study[J]. Clin Infect Dis, 2009, 48(5): 568-576.

[18] Iwashima Y, Nakamura A, Kato H, et al. A retrospective study of the epidemiology of *Clostridium difficile* infection at a University Hospital in Japan: genotypic features of the isolates and clinical characteristics of the patients[J]. J Infect Chemother, 2010, 16(5): 329-333.

[19] Park HS, Han DS. Is *Clostridium difficile* infection increasing in Korea[J]. Korean J Gastroenterol, 2010, 55(3): 208-210.

[20] Jamal W, Rotimi VO, Brazier J, et al. Analysis of prevalence, risk factors and molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Kuwait over a 3-year period[J]. Anaerobe, 2010, 16(6): 560-565.

[21] Chung CH, Wu CJ, Lee HC, et al. *Clostridium difficile* infection at a medical center in southern Taiwan: incidence, clinical features and prognosis[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2010, 43(2): 119-125.

[22] Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection[J]. N Engl J Med, 2011, 364(5): 422-431.

[23] 陈冬梅, 陈求刚, 陈菊香. 艰难梭菌性肠炎 21 例[J]. 广东医学, 2000, 21(6): 519.

[24] 冯云, 王传清, 金嘉琳, 等. 上海部分地区儿童艰难梭菌相关性腹泻的临床分析[J]. 微生物与感染, 2010, 5(3): 151-155.

[25] Cheng VC, Yam WC, Chan JF, et al. *Clostridium difficile* ribotype 027 arrives in Hong Kong[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 34(5): 492-493.

[26] 黄海辉, 吴湜, 朱德妹, 等. 临床分离艰难梭菌 188 株的耐药性研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(1): 1-5.

[27] Leffler DA, Lamont JT. Treatment of *Clostridium difficile*-associated disease[J]. Gastroenterology, 2009, 136(6): 1899-1912.

(收稿日期: 2013-03-18)

• 综 述 •

锌、铁、硒与阿尔茨海默症

张雁翎¹综述, 赵先英²审校

(1. 四川大学华西药学院, 四川成都 610041; 2. 第三军医大学药学院, 重庆 400038)

关键词: 阿尔茨海默症; 痕量元素; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 19. 037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)19-2577-03

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以进行性智能障碍为主要表现的中枢神经系统退行性疾病, 1907 年由德国神经科医生 Alois Alzheimer 发现而得名。其病理表现主要为细胞内神经元纤维缠结 (NFTs) 和细胞外老年斑沉淀。临床上则主要表现为进行性的记忆力障碍、分析判断能力衰退、情绪改变以及行为失常等。AD 的病因和发病机制尚不明确, 因此缺乏有效的治疗手段。随着全球人口老龄化的程度加快, AD 已经给社会和家庭带来了沉重的负担。据统计目前在发达国家 AD 已成为继心脏病、癌症和中风之后第 4 位危害人类健康的致死性疾病, 世界各国对 AD 的预防和治疗给予了高度关注。硒、铁、锌是中枢神经系统含量丰富的微量元素, 对维持中枢神经正常生理功能具有重要作用。近年来, 多项研究表明, 硒、铁、锌等微量元素的代谢紊乱在 AD 发病过程中起着重要作用^[1-3]。

1 硒代谢紊乱与阿尔茨海默症

1.1 硒的主要生物学功能 硒是人体必需的微量元素, 在体内具有重要的生物学功能。自 1973 年美国的 Rotruck 发现第一个硒蛋白谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 后, 人们陆续发现了多种硒蛋白, 如硫氧还蛋白还原酶 (TrxR)、脱碘酶 (Dio) 等。其中绝大多数硒蛋白都具有抗氧化活性, 它们通过清除体内的脂质过氧化物和自由基, 在维护脑细胞正常功能、抗氧化损伤及防御各种脑病等方面具有重要的作用^[4-5]。

1.2 硒代谢紊乱与 β 淀粉样蛋白 (amyloid- β , A β) 的产生与聚集 影像学检测发现在 AD 患者的大脑中, 有许多直径高达 200 μ m 左右的斑块, 经过检测证实斑块中的主要成分是 A β 纤

维沉淀。随着对 AD 研究的深入, 越来越多的证据显示 A β 可能是 AD 发生的原发性病理因子, 于是在 1992 年 Hardy 正式提出了 A β 的级联假说^[6]。A β 的级联假说认为, A β 前体蛋白 (APP) 有两条代谢途径, 正常状态下 APP 的主要代谢途径是 α -分泌途径, 即 APP 在 α -分泌酶的作用下, 裂解成可溶性的分泌型 APP 和一个含有 A β -43 位氨基酸的肽段, 对神经具有营养作用; 但是对于 AD 患者而言, 由于其 α -分泌酶活性受到抑制, 由 β -和 γ -分泌酶介导的途径则变为主要途径, 此时 APP 在 β -和 γ -分泌酶共同作用下水解生成不溶性 A β 。A β 由 39~43 个不等的氨基酸组成, 其中以 42 个氨基酸的 A β -42 毒性最强, 可以诱导脑神经元产生氧自由基, 诱发病理过程的级联反应, 使神经细胞膜的结构遭到破坏而功能异常^[7]。

有关 AD 的细胞和动物模型实验表明, 硒和硒蛋白与 A β 产生和脂质过氧化密切相关。Gwona 等^[8]以小鼠为模型研究了硒对减少 A β 产生的作用机制, 实验发现, 硒能使 β -和 γ -分泌酶的活性减少, 同时也能使脂质过氧化反应的产物——反式 4-羟基壬烯酸 (HNE) 的含量降低。许妍姬^[9]采用跳台实验、水迷宫测试和生化学检测等方法, 观察了硒对 AD 模型小鼠学习记忆障碍以及脑组织中重要的活性氧和活性氮的代谢产物丙二醛 (MDA)、NO 含量改变的影响。结果发现 AD 模型小鼠在跳台实验、水迷宫实验中学习记忆能力发生明显障碍; 在给予适量亚硒酸钠后上述现象可以得到缓解, 小鼠脑组织中 MDA 和 NO 含量也明显降低。朱志杰等^[10]的最新研究显示, 硒化聚甘露糖醛酸能显著提高 AD 模型细胞 N2a-APP695-sw 中的超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性, 降低细胞

内活性氧自由基,增加线粒体膜电位,从而具有抑制 AD 细胞凋亡的功能。金银龙等^[11]以中国四川和山东两省四州市的 2 000 名,年龄在 65 岁以上的老年人群为调查对象进行了环境流行病学调查,以认知能力、APOE 基因、指甲硒与血液硒,以及环境食物硒和老年人群每日硒摄入量作为考察因素进行统计学分析。结果发现,硒水平与老年人群认知能力二者之间有明显的正相关,并呈现显著的剂量——效应关系,这个结果也支持了“终身低硒水平与低认知能力相关的假设”。

1.3 硒代谢紊乱与 tau 蛋白过度磷酸化 AD 患者的第二个病理表现是神经元纤维缠结,其主要成分是异常磷酸化的微管 tau 蛋白。tau 蛋白是神经元中含量最高的微管相关蛋白,其生物学功能是促进微管组装和维持微管的稳定性,是维持神经元骨架系统稳定的重要分子。正常状态下 tau 蛋白仅在少数位点被磷酸化,而在 AD 患者脑内其磷酸化水平高出健康人 34 倍。过度的磷酸化可改变 tau 蛋白与微管结合部位的构象,导致 tau 蛋白与微管分离、微管解体、细胞骨架破坏,并以配对螺旋丝结构形成神经元纤维缠结在细胞内聚积^[12]。因此 tau 蛋白的过度磷酸化被认为是 AD 致病过程的关键因素。研究发现,有多种酶参与了 tau 蛋白的磷酸化过程,包括蛋白激酶和蛋白磷酸酯酶,其中蛋白磷酸酯酶 2A(PP2A)在 tau 蛋白过度磷酸化中发挥重要作用。PP2A 主要在神经元表达,也可在小胶质细胞表达。由于 PP2A 可特异性抑制剂 tau 在多个位点的过度磷酸化,所以 PP2A 活性与 tau 蛋白磷酸化水平呈负相关。研究发现 AD 患者脑中 PP2A 活性明显降低,因此可诱导 tau 蛋白过度磷酸化并最终形成神经元纤维缠结。Kevin 等^[13]以小鼠为模型考察了硒对 tau 蛋白磷酸化影响,实验发现,硒化合物能提高 PP2A 活性,降低 tau 蛋白的磷酸化过程从而减少神经元纤维缠结的生成。

2 锌缺乏与阿尔茨海默症

2.1 锌的主要生物学功能 锌是人体必需的微量元素,具有重要的生物学功能。锌是许多蛋白质、核酸合成酶的成分,它参与合成的碱性磷酸酶存在于所有神经细胞内,在髓鞘形成和脑成熟过程中具有重要作用。锌在中枢神经系统含量也非常丰富,锌稳态的维持对发挥脑的正常生理功能有着非常重要的作用。在 AD 患者的老年斑及神经纤维缠结中可以检测到包含锌离子在内的大量金属离子,说明锌离子与 AD 形成密切相关。

2.2 锌代谢异常与 A β 的产生与聚集 应用原子吸收光谱和微粒诱导 X 射线发射(micro-PIXE)等方法对锌含量进行检测,发现 AD 患者老年斑内锌含量高达 1 055 $\mu\text{mol/L}$,而在同龄对照组的神经纤维网内锌含量仅为 350 $\mu\text{mol/L}$ 。并且脑内 A β 水平随锌离子含量的增加而升高。在 AD 患者的海马和杏仁核等区域中,均可检测锌含量均显著增加^[14]。

张勇等^[15]通过实验证实了 Zn^{2+} 对 A β 聚集的影响,实验发现, Zn^{2+} 对 A β 纤维状聚集体的形成起促进作用,尤其在低浓度时效果明显;从透射电镜也可以观察到 Zn^{2+} 诱导形成的聚集体具有成团状的类纤维状形貌,其聚集体比 A β 聚集要大。在实验中还发现,使用螯合能力适中的多功能螯合剂 4-(benzo^[4]thiazol-2-yl)-N,N-bis(pyridine-2-yl methyl)aniline 可以使 Zn^{2+} -A β 聚集体解聚。说明通过螯合治疗法使 AD 患者脑中的 Zn^{2+} 浓度减小并且达到一种稳态平衡在理论上是成立的。体外实验发现^[16],A β 的第 13、14 位组氨酸残基与锌离子有较强的结合力,因而能够诱导 A β 聚集。此外还发现由于锌离子能促进 A β 分子 α -螺旋结构的形成,因此在稳定 A β 的三

级空间构象中也发挥了重要作用。这些都说明锌代谢异常与 A β 的产生与聚集明显相关。

2.3 锌促进 tau 蛋白过度磷酸化 研究表明,tau 蛋白与某些金属离子结合后将引起自身构象的改变,从而促进磷酸化,并聚集形成神经纤维缠结。Mo 等^[17]以重组的人 tau 蛋白微管为研究对象,考察了锌离子对 tau 蛋白纤维化的影响,研究发现,无论在生理或病理状态,低浓度(5~10 $\mu\text{mol/L}$)锌离子能够促进 tau 蛋白的纤维化程度,且具有明显的细胞毒性;而高浓度(50~100 $\mu\text{mol/L}$)锌离子反而降低了 tau 蛋白的纤维化程度,形成了无显著毒性的颗粒状聚集物。至于其作用机理目前尚不明确。

3 铁代谢紊乱与阿尔茨海默症

3.1 铁的主要生物学功能 铁是人体必需的微量元素,是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素以及某些呼吸酶的成分,参与体内氧与二氧化碳的转运、交换和组织呼吸过程。铁在脑内主要分布于少突胶质细胞,参与髓鞘质的代谢。缺铁可以引起转铁蛋白水平升高,导致神经系统髓鞘化不足,神经元的信号转导受阻。在正常生理情况下铁在脑组织内维持着动态平衡,如果这种平衡打破,铁在脑组织中沉积过多可导致过量氧自由基形成,使细胞膜脂质过氧化,神经元和胶质细胞凋亡,最终导致神经系统功能受损。大量的临床研究发现,AD 的产生与铁代谢紊乱有关^[18-19]。

3.2 铁代谢异常与 A β 的产生与聚集 国外学者首次利用磁共振成像(MRI)技术证实了在 AD 患者脑组织中铁含量增高,基底核是铁增高的主要部位^[20-21]。Wan 等^[22]以转 A β 基因细胞和秀虫模型为研究对象,考察了 A β 与铁之间的相互作用机制,实验发现,转染了 A β 基因 SH-SY5Y 细胞和秀虫模型铁的含量和氧化应激水平都增加,钙离子、活性氧、活性氮的含量也增加,而超氧化物歧化酶(SOD)的活性和抗氧化水平降低。而增加的铁又能进一步降低细胞活性、减少线粒体膜电位,加重氧化应激损伤和 A β -42 的释放。王东等^[23]为进一步探讨铁在 AD 发病中的作用机制,以 AD APPswe/PS1 E9 双转基因小鼠为模型动物,分别采用 Thioflavine S 染色、Perls-DAB 染色(铁染色)以及 A β 免疫组化染色等三种不同的组织学染色方法,观察铁在脑组织中的沉积,并与同月龄野生型小鼠(对照组)对照比较。结果发现实验组小鼠基底神经节处均见到铁的沉积,在皮质及海马处呈棕褐色沉积,其分布与老年斑的分布相类似;而对照组小鼠的皮质及海马未见铁的沉积。实验结果说明脑内过多铁的沉积可能是 A β 在脑内聚集,形成老年斑的原因之一,铁可以增加 AD 发生的风险。也有学者认为,由于 A β 具有金属结合位点,为减轻氧自由基形成的过氧化损伤,A β 与铁离子相整合以减少游离铁的含量,这可能是 A β 在脑内聚集,从而形成老年斑的原因之一。基于这种假设而开展的铁螯合剂疗法有可能成为治疗 AD 的一个新的靶点^[24]。

3.3 铁与 tau 蛋白 近日国外学者公布了澳大利亚墨尔本大学研究人员的一项新发现^[25],在 AD 发病过程中起重要作用的 tau 蛋白间接参与了脑内神经细胞内的铁离子的转运。实验发现缺失这一蛋白的小鼠随着年龄的增长表现出了与 AD 患者类似的疾病症状,包括认知和行为能力的明显下降,脑内特定区域铁离子的异常沉积与功能性神经元缺失。利用 ESR 技术还发现这些小鼠出现了脑萎缩,但通过调控铁离子可以有效防止这种病变。这项最新的发现进一步确认了铁离子是一种重要的神经化学因子,在中枢神经系统的病变中起着重要的作用。

4 结 语

尽管 AD 的病因和发病机制目前尚不十分明确,但可以肯定 AD 是一个多因素参与的疾病。硒、锌、铁作为人体必需的微量元素,由于具有独特的化学反应活性,在维持细胞和机体的正常代谢过程中起着至关重要的作用,目前也有较多的实验证明了硒、锌、铁在体内的代谢紊乱与 AD 的发生有着密切的关系,它们在诱发 Aβ 的产生与聚集、tau 蛋白过度磷酸化的过程中起着重要作用。随着对 AD 研究的不断深入,人们将进一步明确硒、锌、铁等金属离子参与 AD 发生的分子生物学机制,这对未来 AD 的防治具有重要的意义。

参考文献

[1] Henryk K, Marek L, Maurizio R. Zinc and iron in neurodegenerative diseases[J]. Coordination Chem Rev, 2012, 256: 2129-2141.

[2] Schrag M, Mueller C, Oyoyo U, et al. Iron, zinc and copper in the Alzheimer's disease brain: A quantitative meta-analysis. Some insight on the influence of citation bias on scientific opinion[J]. Pro Neurobiol, 2011, 94(3): 296-306.

[3] Margaret P R. Selenium and human health[J]. Lancet, 2012, 379(9822): 1256-1268.

[4] 刘琼, 姜亮, 田静, 等. 硒蛋白的分子生物学及与疾病的关系[J]. 化学进展, 2009, 21(5): 819-830.

[5] Ishrat T, Parveen K, Moshahid KM, et al. Selenium prevents cognitive decline and oxidative damage in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type[J]. Brain Research, 2009, 1281: 117-127.

[6] Hardy JA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis[J]. Science, 1992, 256(5054): 184-185.

[7] 蒋术一, 毛凤菊, 李兴强. Aβ 的神经毒性及治疗[J]. 中国当代医药, 2011, 18(12): 21-22.

[8] Gwona AR, Parka JS, Parka JH, et al. Selenium attenuates A production and A-induced neuronal death[J]. Neuroscience Letters, 2010, 469(3): 391-395.

[9] 许妍姬. 硒、锌对老年性痴呆模型小鼠记忆障碍及丙二醛和一氧化氮含量的影响[J]. 营养学报, 2011, 33(2): 118-122.

[10] 朱志杰, 刘琼, 陈平, 等. 硒化聚甘露糖醛酸的合成及抗阿尔茨海默症细胞氧化与凋亡[J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(1): 115-122.

[11] 金银梁, 梁超轲, 吉荣娣. 硒水平与中国农村老年人群认知能力研究[J]. 医学研究杂志, 2008, 37(9): 19-22

[12] 靳慧, 张英东, 杨霞, 等. tau 蛋白相关阿尔茨海默病治疗进展[J].

• 综 述 •

中国老年学杂志, 2012, 32(6): 1308-1310.

[13] Kevin JB, Ashley IB. Metals in Alzheimer's and Parkinson's Diseases[J]. Review Current Opinion in Chemical Biology, 2008, 12(2): 222-228.

[14] 郑玮, 王占友. 脑锌代谢与阿尔兹海默病[J]. 生命科学, 2012, 24(8): 834-843.

[15] 张勇, 竹俊苗, 刘长林. 金属离子 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 诱导 β-淀粉样蛋白的聚集[J]. 药学报, 2012, 47(3): 399-404.

[16] Dong J, Atwood CS, Anderson VE, et al. Metal binding and oxidation of amyloid- beta within isolated senile plaque cores: Raman microscopic evidence[J]. Biochemistry, 2003, 42(10): 2768-2773.

[17] Mo ZY, Zhu YZ, Zhu HL, et al. Low micromolar zinc accelerates the fibrillization of human tau via bridging of Cys-291 and Cys-322[J]. J Biol Chem, 2009, 284(50): 34648-34657.

[18] 李艳伟, 赵晋英, 郭兴. 阿尔茨海默病与脑组织铁代谢的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(17): 2276-2278

[19] 黄海浪, 吴磊, 吴一峰, 等. 社区阿尔茨海默病患者血中相关元素神经递质的含量与分布特点[J]. 中华疾病控制杂志, 2012, 16(5): 382-387.

[20] Bartzokis G, Sultzer D, Mintz J, et al. In vivo evaluation of brain iron in Alzheimer's disease and normal subjects using MRI [J]. Biol Psychiatry, 1994, 35(7): 480-487.

[21] Antharam V, Collingwood FJ, Bullivant JP, et al. High field magnetic resonance microscopy of the human hippocampus in Alzheimer's disease: Quantitative imaging and correlation with iron [J]. NeuroImage, 2012, 59(2): 1249-1260.

[22] Wan L, Nie GJ, Zhang J, et al. β-Amyloid peptide increases levels of iron content and oxidative stress in human cell and Caenorhabditis elegans models of Alzheimer disease[J]. Free Rad Biol Med, 2011, 50(1): 122-129.

[23] 王东, 胡学梅, 方鑫, 等. 铁在阿尔茨海默病 APP^{swe}/PS1 E9 双转基因小鼠模型脑组织内的沉积[J]. 中国康复, 2008, 23(5): 302-304.

[24] Barney E, Leo R, Zacharski, DJ, et al. Getting the iron out: Phlebotomy for Alzheimer's disease [J]. Medical Hypotheses, 2009, 72(5): 504-509.

[25] Lei P, Ayton S, Finkelstein DI. Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing APP-mediated iron export[J]. Nature Medicine, 2012, 18(2): 291-295.

(收稿日期: 2013-03-20)

人乳头瘤病毒感染的实验室诊断研究进展

毛 源, 郑 伟 综述, 张厚智 审校

(南京金域医学检验所, 江苏南京 210042)

关键词: 人乳头瘤病毒; 实验室诊断; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 19. 038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)19-2579-03

人乳头瘤病毒 (HPV) 感染是一种非常广泛的性传播疾病^[1]。在世界范围内宫颈癌都是女性第二大常见的肿瘤, 也是

导致发病和死亡的重要原因, 高危型 HPV 是其致病的重要原因^[2]。此外, 很多研究表明 HPV 还与肛门癌、头颈部鳞状上