

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00795

雌激素及其受体对谷氨酸诱导神经细胞损伤的作用

张广云¹, 胡 晓², 娄 磊³, 王建怡^{3*}

1. 贵阳医学院小儿内科, 贵阳 550002
2. 贵州省人民医院神经内科, 贵阳 550002
3. 贵州省人民医院小儿内科, 贵阳 550002

[摘要] 谷氨酸(glutamate, Glu)的兴奋毒性已被证实对神经细胞具有损伤作用。研究发现 Glu 的兴奋毒性导致神经细胞损伤在多种神经系统疾病的发病过程中起着重要作用,而雌激素对 Glu 毒性导致的神经细胞损伤具有保护作用,该作用可能是通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)介导完成的。本文就雌激素及其受体对 Glu 诱导的神经细胞损伤的作用研究作一综述。

[关键词] 雌激素类;雌激素受体;谷氨酸;神经细胞损伤

[中图分类号] R 741.02 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)07-0795-04

Effect of estrogen and its receptors on glutamate-induced neural cell injury

ZHANG Guang-yun¹, HU Xiao², LOU Lei³, WANG Jian-yi^{3*}

1. Department of Pediatrics, Guiyang Medical University, Guiyang 550002, Guizhou, China
2. Department of Neurology, The People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550002, Guizhou, China
3. Department of Pediatrics, The People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550002, Guizhou, China

[Abstract] It has been proven that glutamate-induced excitatory toxicity can bring damage to nerve cells. Previous studies indicate that glutamate excitotoxicity-associated neuron damage play an important role in the pathogenesis of a number of nervous system diseases, and estrogen can protect neurons from glutamate excitotoxicity-associated neuron damage, which may be mediated by estrogen receptor. This paper reviews the latest progress regarding the protective effects of estrogen and its receptors against glutamate-induced neuron damage.

[Key words] estrogens; estrogen receptors; glutamic acid; neural cell damage

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(7):795-798]

谷氨酸(glutamate, Glu)是中枢神经系统最重要的兴奋性神经递质,它通过作用于突触后膜的各型 Glu 受体,传递神经冲动,发挥生理作用。脑出血、脑外伤或其他理化因素可导致神经细胞外液 Glu 剧增,过度刺激 Glu 受体,而引起神经兴奋毒性。Glu 的兴奋毒性已被证实对神经细胞具有损伤作用。研究发现 Glu 的兴奋毒性导致神经细胞损伤在多种神经系统疾病的发病过程中起着重要作用,而雌激素对 Glu 毒性导致的神经细胞损伤具有保护作用,该作用可能是通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)介导完成的。ER 是雌激素产生生物学效应的必要因素,因此 ER 在中枢神经系统中的作用成为人们关注的焦点。本文复习了国内外关于雌激素及其受体对神经系统保护作用的文献,以雌激素及受体对 Glu 诱导的神经细胞损伤的作用为重点进行综述,以

期为相关领域的研究者提供参考。

1 Glu 及其兴奋性毒性对中枢神经系统影响

Glu 是脑内含量最丰富的兴奋性神经递质,在人类大脑皮质中达 9~11 $\mu\text{mol/g}$,广泛分布于哺乳动物中枢神经系统,在介导突触兴奋性和突触可塑性等方面起着重要作用^[1];可以易化 Ca^{2+} 的运输,对脑内神经元分化、迁移、生长发育、成熟、修复具有重要作用;可以调节某些神经元(如多巴胺能神经元)的突触后电位,影响其他神经递质的生理作用,还参与学习记忆过程^[1-2]。但过多 Glu 的积聚可导致 Glu 受体的过度激活使细胞内游离钙离子浓度增高,引起钙超载^[3]。钙超载会激活神经毒性信号转导途径,启动一系列的细胞反应,包括氧自由基的产生、线粒体膜的去极化和蛋白

[收稿日期] 2010-12-31 **[接受日期]** 2011-03-15

[基金项目] 贵州省科技厅攻关项目[黔科合 sy(2009)3054],贵州省优秀科技教育人才省长专项资金[黔省专合字(2010)86号]. Supported by Key Program of Science and Technology Department of Guizhou Province(Qiankehe sy[2009]3054) and Governor's Special Fund for Outstanding Scientific and Technology Education Talents of Guizhou Province(Qianshengzhuanhezi[2010]86).

[作者简介] 张广云,硕士生. E-mail: zgy_19860918@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0581-5600598, E-mail: wangjy752@163.com

酶的激活,最后导致细胞凋亡和坏死,这就是 Glu 的兴奋毒性损伤。

Glu 有离子型和促代谢型 2 种受体,各以其特异性的方式发挥不同的生理效应,并与其他调节介质相互作用,其中 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)受体在突触可塑性中扮演了重要角色,突触的可塑性是学习和记忆的基础。有研究用 Glu-磷酸环鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)途径进行实验,将不同剂量的氨注入大鼠腹腔,发现在导致昏迷或死亡的剂量下,细胞外液中 cGMP 含量显著升高;但是若用 MK-801 阻断 NMDA 受体则可抑制氨所引起的 cGMP 水平的升高。这表明急性氨中毒所致的神经毒性与 NMDA 受体的活化密切相关^[4]。同时有研究者在用幼鼠实验过程中推断血液中 Glu 主要是以非代谢物的形式从血液中进入外周组织(肝脏、骨骼肌等),Glu 在外周组织中的分布对大脑神经细胞的保护有重要意义^[5]。研究还发现,Glu 的兴奋毒性引起的细胞死亡可发生于多种神经系统疾病中;如 Cavus 等^[6]发现癫痫病患者海马神经体积的缩小与细胞外 Glu 水平的增高有较大关系,表明癫痫的发生发展可能与 Glu 兴奋毒性有关;同时有研究阐述了在亨廷顿蛋白变异鼠模型中 Glu 兴奋毒性引起细胞死亡的机制,即变异亨廷顿蛋白干扰线粒体功能和细胞内钙平衡可增加神经细胞对 NMDA 受体毒性的敏感性^[7]。研究已证明 Glu 与多巴胺系统密切相关,Glu 在皮质-纹状体-丘脑-皮质循环通路中起着重要作用,Singer 等^[8]以此推断 Glu 调节剂疗法可能对抽动-秽语综合征有着重要意义,可能为抽动-秽语综合征的治疗提供有价值的药物途径。Zhang 等^[9]通过后置条件诱导小鼠脑缺血再灌注损伤,进行缺血后处理后发现神经细胞死亡速度下降,推测 Glu 转运体 1(glutamate transporter-1, GLT-1)的表达上调可能对脑缺血后的神经细胞起着重要保护作用。近有研究者发现促离子型 Glu 和 γ -氨基丁酸能神经递质可以调节“静止期”小胶质细胞的形态和动态特征并起着内因性的作用,小胶质神经细胞生理机能的改变可能在脑部、眼部疾病中起着一定作用;并且该研究也揭示在中枢神经系统的神经细胞和免疫组分之间存在基本、持续的沟通连接^[10]。

2 雌激素及受体对 Glu 诱导神经细胞损伤作用

2.1 雌激素对中枢神经系统的作用 雌激素是由内分泌系统产生的类固醇类性激素,除具有传统的调控生殖系统的生长发育与功能的作用,雌激素与各组织器官都有密切的联系,并发挥着重要的功能调节作用。雌激素对中枢神经系统的作用表现在其可直接对神经元发挥保护作用,也可以作用于其他类型的细胞(如血管内皮细胞、星型胶质细胞、小胶质细胞等)。雌激素对中枢神经系统保护作用的机制主要有:(1)不依赖 ER 转录激活的神经保护作用,即直接作用于细胞膜相关位点,激活膜相关的信号级联,调节神经递质从而产生神经保护作用。雌激素通过 GPR30 介导的快速非基因组效应可以保护神经元免受损伤,细胞外信号调节激酶(ERKs)的快速激活对于雌激素的神经保护作用也非常关键,Jover-Mengual 等^[11]证实 ERK 的激活在全脑缺血症后的

CAI 区域神经保护效应中具有重要作用。(2)依赖 ER 转录激活的神经保护作用,即雌激素通过经典的 ER 以及新的受体 ER-x、GPR30、Gaq-ER 介导发挥神经保护作用。研究表明雌激素可以减轻 Ca^{2+} 内流发挥神经保护作用^[12]。同时研究发现雌激素具有很强的刺激和促进神经细胞生长分化,维持细胞存活和正常功能的作用,即雌激素能影响神经系统发育并且具有神经损伤保护作用^[13],近有研究发现雌激素可以调节鼠下丘脑神经元细胞膜 ER α 的数量,暗示雌激素可以调节其自身膜信号机制^[14]。雌激素还可以调节人体内某些生物和化学性转运体的功能和结构如多巴胺转运体、5-羟色胺转运体和去甲肾上腺素转运体影响行为认知能力^[15],还可降低老年性痴呆的发病率^[16],减轻脑损伤后脑细胞死亡的程度,提高脑细胞损伤后的恢复能力。

2.2 ER 的结构特征及对中枢神经系统的作用 ER 属核受体超家族成员,是一种配体依赖的转录因子,通过调控基因的表达控制生物学效应。在中枢神经系统中雌激素的作用主要通过其特异性受体——ER 的 2 个亚型(ER α 、ER β)的介导实现。作为经典的 ER,ER α 与 ER β 有高度的同源序列,广泛表达于神经元和胶质细胞中,但组织分布特点存在一定的差异。有报道阐述 ER α 与 ER β 的分布对脑中雌二醇的效应发挥有重要影响^[17]。ER 是雌激素产生的生物效应的基本要素,在雌激素的靶组织或细胞中,不同配体的生物学效应和相应的转录方向与配体的浓度密切相关^[18]。在靶组织或细胞,总 ER 的数量和类型对雌激素的细胞反应性至关重要,研究发现在 GH3/B6/F10 垂体细胞瘤细胞株的植物雌激素非基因反应是由 ER α 介导的^[19]。Kuo 等^[20]利用成年雌鼠下丘脑星型胶质细胞,并给予 1 型 Glu 代谢性受体(mGlu1)、ER α 、ER β 不同的调节剂后研究发现 ER α 可能介导下丘脑神经胶质细胞中雌二醇信号机制引起黄体酮合成。ER β 可能对神经元的存活和发育是必要的,在基因敲除小鼠脑细胞中发现,ER β 在胚胎脑细胞发育过程中影响大脑皮质的分层和中间神经元的迁移,因此 ER β 可能对大脑形态的构建起着关键性的作用^[21],同时发现阿尔茨海默病、帕金森病、抑郁症、精神分裂症等神经系统疾病的发生发展与体内 ER 的减少也有重要关系^[22]。

2.3 雌激素及受体对 Glu 诱导神经细胞损伤作用的研究

Glu 是中枢神经系统必不可少的兴奋性递质,但过多 Glu 受体的激活会产生兴奋性毒性导致神经细胞的凋亡和坏死。研究发现雌激素对 Glu 毒性导致的神经细胞损伤具有保护作用。Chaban 等^[23]发现雌激素可以抑制 ATP 诱导的背根神经细胞中 Ca^{2+} 水平的升高,保护神经细胞的功能。Hilton 等^[24]研究发现 Glu 可诱导新生儿海马神经细胞缺失,其机制主要是通过激活 1 型 Glu 受体释放 Ca^{2+} 从而引起钙离子超载导致细胞死亡,同时他们报道了运用雌激素进行预防性治疗,发现雌激素对 Glu 的毒性具有重要的抑制作用。Sribnick 等^[25]研究发现雌激素可通过调控 L 型 Ca^{2+} 通道、抑制 Ca^{2+} 内流从而减轻 Glu 毒性诱导的细胞死亡。Schreihofner 和 Redmond^[26]在实验中发现雌激素可抑制 NMDA 受体及受体介导的动作电位,抑制 Ca^{2+} 浓度,从而对抗兴奋性氨基酸毒性,而 Huang 等^[27]也发现雌激素可通过抑制高压电激活的

钙通道从而减少 Glu 诱导的细胞内钙离子的释放达到神经保护作用。Occhiuto 等^[28]利用培养的大脑皮质 HCN 1-A 细胞株观察大豆异黄酮类化合物对 Glu 导致的神经细胞损伤的保护作用,发现异黄酮可以明显提高受损细胞的存活能力,降低皮质神经细胞内谷氨酸脱氢酶的释放量,即可以降低 Glu 含量,同时发现异黄酮还可以阻止 Glu 引起的细胞形态改变,提示雌激素对 Glu 诱导的神经细胞损伤具有保护作用。有研究运用免疫细胞化学和聚焦显微镜观察雌二醇对海马神经元培养细胞突触蛋白的作用,发现雌二醇刺激发育中海马神经细胞 Glu 盐性突触的形成是通过 ER α 依赖性机制介导进行的^[29]。

Xia 等^[30]应用选择性 ER 调节剂和 ER 的特异性拮抗剂观察 ER 在雌激素保护 Glu 诱导的受损神经细胞中的作用,发现给予 ER β 拮抗剂和 ER α 激动剂 R,R-tetrahydrochrysen (R,R-THC)可以减少细胞内谷胱甘肽的消耗,抑制 Glu 诱导的凋亡因子的细胞核迁移和线粒体细胞色素氧化酶的释放;但当对大脑皮质神经细胞给予 ER α 拮抗剂 methyl-piperidino-pyrazole (MPP)后,R,R-THC 的保护作用被阻断,若用 NMDAR 拮抗剂 MK-801 进行预处理将会增加细胞存活率;另一方面则是 MPP、MK-801 并不能抑制 R,R-THC 对 Glu 处理过的 N29/4 细胞株的保护作用;ER β 和(或)ER α 激动剂都不能发挥有效的神经保护作用。这些结果提示 Glu 兴奋毒性和氧化应激同时发生时 ER 激动剂的有益作用受到限制。Bryant 等^[31]通过分离不同性别小鼠的大脑皮质神经细胞并且建立 Glu 诱导的神经损伤模型,用雌二醇进行预处理 24 h 后发现,雌二醇可以保护雌鼠神经细胞免受 Glu 毒性损伤,而在雌、雄小鼠神经细胞培养物中都可以检测到 ER α 和 ER β 的表达,他们在实验中运用 ER α 激动剂发现 ER α 对雌鼠发挥重要的皮质神经保护作用,而 ER β 激动剂对雌、雄鼠神经细胞都具有较小程度的保护作用,这种发现暗示培养物中 ER α 和 ER β 的表达与雌二醇对 Glu 诱导神经细胞损伤的保护作用之间有密切关系。

3 结 语

综上所述,Glu 的兴奋毒性导致的神经细胞损伤在各种脑损伤的发病过程中起着重要作用,雌激素及其受体在神经系统的发育以及神经损伤的修复方面扮演着重要角色。然而雌激素及其受体对 Glu 导致的神经细胞损伤保护作用的探讨还处于初步阶段,仍需进行大量的科研和临床研究。

[参 考 文 献]

[1] Mattson M P. Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1144: 97-112.

[2] Liu P, Smith P F, Darlington C L. Glutamate receptor subunits expression in memory-associated brain structures; regional variations and effects of aging[J]. *Synapse*, 2008, 62: 834-841.

[3] Lee M C, Ting K K, Adams S, Brew B J, Chung R, Guillemain G J. Characterisation of the expression of NMDA receptors in human astrocytes[J]. *PLoS One*, 2010, 5: e14123.

[4] Cauli O, López-Larrubia P, Rodrigues T B, Cerdán S, Felipe V.

Magnetic resonance analysis of the effects of acute ammonia intoxication on rat brain. Role of NMDA receptors[J]. *J Neurochem*, 2007, 103: 1334-1343.

[5] Klin Y, Zlotnik A, Boyko M, Ohayon S, Shapira Y, Teichberg V I. Distribution of radiolabeled L-glutamate and D-aspartate from blood into peripheral tissues in naive rats; significance for brain neuroprotection[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 399: 694-698.

[6] Cavus I, Pan J W, Hetherington H P, Abi-Saab W, Zaveri H P, Vives K P, et al. Decreased hippocampal volume on MRI is associated with increased extracellular glutamate in epilepsy patients[J]. *Epilepsia*, 2008, 49: 1358-1366.

[7] Fernandes H B, Baimbridge K G, Church J, Hayden M R, Raymond L A. Mitochondrial sensitivity and altered calcium handling underlie enhanced NMDA-induced apoptosis in YAC128 model of Huntington's disease[J]. *J Neurosci*, 2007, 27: 13614-13623.

[8] Singer H S, Morris C, Grados M. Glutamatergic modulatory therapy for Tourette syndrome[J]. *Med Hypotheses*, 2010, 74: 862-867.

[9] Zhang W, Miao Y, Zhou S, Wang B, Luo Q, Qiu Y. Involvement of glutamate transporter-1 in neuroprotection against global brain ischemia reperfusion injury induced by postconditioning in rats[J]. *Int J Mol Sci*, 2010, 11: 4407-4416.

[10] Fontainhas A M, Wang M, Liang K J, Chen S, Mettu P, Damani M, et al. Microglial morphology and dynamic behavior is regulated by ionotropic glutamatergic and GABAergic neurotransmission[J]. *PLoS One*, 2011, 6: e15973.

[11] Jover-Mengual T, Zukin R S, Etgen A M. MAPK signaling is critical to estradiol protection of CA1 neurons in global ischemia [J]. *Endocrinology*, 2007, 148: 1131-1143.

[12] Sribnick E A, Ray S K, Banik N L. Estrogen prevents glutamate-induced apoptosis in C6 glioma cells by a receptor-mediated mechanism[J]. *Neuroscience*, 2006, 137: 197-209.

[13] Richeri A, Bianchimano P, Crutcher K A, Brauer M M. Reduced sympathetic neurite outgrowth on uterine tissue sections from rats treated with estrogen[J]. *Cell Tissue*, 2010, 340: 287-301.

[14] Dominguez R, Micevych P. Estradiol rapidly regulates membrane estrogen receptor alpha levels in hypothalamic neurons [J]. *J Neurosci*, 2010, 30: 12589-12596.

[15] Watson C S, Alyea R A, Cunningham K A, Jeng Y J. Estrogens of multiple classes and their role in mental health disease mechanisms[J]. *Int J Womens Health*, 2010, 9: 153-166.

[16] Sarkaki A, Amani R, Badavi M, Moghaddam A Z, Aligholi H, Safahani M, et al. Pre-treatment effect of different doses of soy isoflavones on spatial learning and memory in an ovariectomized animal model of Alzheimer's disease [J]. *Pak J Biol Sci*, 2008, 11: 1114-1119.

[17] Morissette M, Le Saux M, D' Astous M, Jourdain S, Al Sweidi S, Morin N, et al. Contribution of estrogen receptors α and β to the effects of estradiol in the brain[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2008, 108(3-5): 327-338.

[18] Leung Y K, Mark P, Hassan S, Ho S M. Estrogen receptor (ER)-beta isoforms; a key to understanding ER-beta signaling

- [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 13162-13167.
- [19] Jeng Y J, Kochukov M Y, Watson C S. Membrane estrogen receptor- α -mediated nongenomic actions of phytoestrogens in GH3/B6/F10 pituitary tumor cells[J]. J Mol Signal, 2009, 4: 2.
- [20] Kuo J, Hamid N, Bondar G, Prossnitz E R, Micevych P. Membrane estrogen receptors stimulate intracellular calcium release and progesterone synthesis in hypothalamic astrocytes[J]. J Neurosci, 2010, 30: 12950-12957.
- [21] Fan X, Xu H, Warner M, Gustafsson J A. ERbeta in CNS: new roles in development and function[J]. Prog Brain Res, 2010, 181: 233-250.
- [22] 王玉霞, 鲁亚平. 雌激素受体与神经系统疾病[J]. 生物学杂志, 2010, 27: 79-80.
- [23] Chaban V V, Mayer E A, Ennes H S, Micevych P E. Estradiol inhibits ATP-induced intracellular calcium concentration increase in dorsal root ganglia neurons[J]. Neuroscience, 2003, 118: 941-948.
- [24] Hilton G D, Nunez J L, Bambrick L, Thompson S M, McCarthy M M. Glutamate-mediated excitotoxicity in neonatal hippocampal neurons is mediated by mGluR-induced release of Ca^{2+} from intracellular stores and is prevented by estradiol[J]. Eur J Neurosci, 2006, 24: 3008-3016.
- [25] Sribnick E A, Del Re A M, Ray S K, Woodward J J, Banik N L. Estrogen attenuates glutamate-induced cell death by inhibiting Ca^{2+} influx through L-type voltage-gated Ca^{2+} channels[J]. Brain Res, 2009, 1276: 159-170.
- [26] Schreihofner D A, Redmond L. Soy phytoestrogens are neuroprotective against stroke-like injury *in vitro* [J]. Neuroscience, 2009, 158: 602-609.
- [27] Huang Y, Huang Y L, Lai B, Zheng P, Zhu Y C, Yao T. Raloxifene acutely reduces glutamate-induced intracellular calcium increase in cultured rat cortical neurons via inhibition of high-voltage-activated calcium current [J]. Neuroscience, 2007, 47: 334-341.
- [28] Occhiuto F, Zangla G, Samperi S, Palumbo D R, Pino A, De Pasquale R, et al. The phytoestrogenic isoflavones from *Trifolium pratense* L. (Red clover) protects human cortical neurons from glutamate toxicity [J]. Phytomedicine, 2008, 15: 676-682.
- [29] Jelks K B, Wylie R, Floyd C L, McAllister A K, Wise P. Estradiol targets synaptic proteins to induce glutamatergic synapse formation in cultured hippocampal neurons: critical role of estrogen receptor-alpha [J]. J Neurosci, 2007, 27: 6903-6913.
- [30] Xia Y, Xing J Z, Krukoff T L. Neuroprotective effects of R, R-tetrahydrochrysenes against glutamate-induced cell death through anti-excitotoxic and antioxidant actions involving estrogen receptor-dependent and -independent pathways [J]. Neuroscience, 2009, 162: 292-306.
- [31] Bryant D N, Dorsa D M. Roles of estrogen receptors alpha and beta in sexually dimorphic neuroprotection against glutamate toxicity [J]. Neuroscience, 2010, 170: 1261-1269.

[本文编辑] 孙岩

· 书 讯 ·

《超声引导麦默通操作手册》已出版

本书由胡薇、施俊义主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0055-3,32开,定价:30.00元。

本书对乳腺疾病和乳腺超声成像的基础理论进行了介绍,并回顾了以往细针或粗针穿刺的利弊,重点阐述了麦默通对乳腺病灶微创旋切的原理、适应证和禁忌证、具体操作过程及注意事项、以及围手术期处理及护理要求。最后还介绍了与之相关的病理切片制作、快速活检等内容。

本书适合各级医院乳腺外科组建微创治疗室使用,有利于外科医生迅速熟悉、掌握麦默通微创旋切治疗乳腺疾病。

本书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通信地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595,65493093

<http://www.smmup.com>