

- [15] Samijn JP, Boekhorst PA, Mondria T, et al. Intense T cell depletion followed by autologous bone marrow transplantation for severe multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2006, 77(1): 46-50.
- [16] Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, et al. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med*, 2000, 343(20): 1430-1438.
- [17] Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, et al. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med*, 1998, 338(5): 278-285.
- [18] Richard K, Bruce A, Russell E, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis; failure of a total body irradiation-based conditioning regimen to prevent disease progression in patients with high disability scores. *Blood*, 2003, 102(7): 2373-2378.
- [19] Gladstone DE, Zamkoff KW, Krupp L, et al. High-Dose Cyclophosphamide for Moderate to Severe Refractory Multiple Sclerosis. *Arch Neurol*, 2006, 63(10): 1388-1393.
- [20] Kozak T, Havrdova E, Pitha J. High dose immunosuppression with hemopoietic stem cell support in the treatment of multiple sclerosis. *Isr Med Assoc J*, 2000, 2(8): 610-614.
- [21] Smith PM, Franklin RJ. The effect of immunosuppressive protocols on spontaneous CNS remyelination following toxin-induced demyelination. *J Neuroimmunol*, 2001, 119(2): 261-268.

促红细胞生成素的神经保护功能

孙治坤 综述 陈生弟 审校

(上海交通大学医学院附属瑞金医院神经科,上海交通大学医学院神经病学研究所,上海市 200025)

摘要:近来研究发现促红细胞生成素(Epo)及其功能受体(Epo-R)在中枢神经系统中也有表达,且具有神经保护功能,本文就Epo在神经系统中的表达调节及其可能的神经保护机制,如抗凋亡、抑制炎症反应、抗谷氨酸毒性、抗NO及氧化反应、对神经递质的影响、维护血管完整性及刺激新生血管形成、诱导神经营养因子的表达、调节神经发生和神经营养作用及其在缺血预处理中的作用等方面略做一综述。

关键词:促红细胞生成素;神经保护;机制;缺血预处理

促红细胞生成素(erythropoietin, Epo)是由胚胎肝脏和成人肾脏分泌的一种低分子糖蛋白,可促进造血前体细胞的增殖和分化,调节红细胞的生成。然而Epo的功能并不仅限于此,研究还发现Epo可能是一种维持机体内环境稳定的多功能细胞因子,Epo及其功能受体(erythropoietin receptor, Epo-R)在中枢神经系统中也有表达。

1 Epo和Epo-R在中枢神经系统中的表达及调节

在大鼠脑内,Epo存在于海马、内囊、皮层和中脑等部位,且其在皮层和海马的分布具有年龄相关性,在老龄鼠的皮层锥体细胞Epo表达明显下降^[1];在灵长类动物Epo及Epo-R的表达主要在海马、杏仁核、颞叶皮层;而在人类中枢神经系统中,

不同发育时期Epo及Epo-R的表达部位和表达量不断变化。在正常成人脑组织中Epo及Epo-R仅有微弱的表达,主要在颞叶皮层、海马、小脑、杏仁核;在胚胎前3个月和中间3个月的胎儿脊髓也有Epo-R mRNA的表达。随着胚胎的发展Epo及Epo-R的mRNA在神经系统的分布不断发生变化,晚期胎脑中Epo-R主要表达在星形胶质细胞,而Epo主要表达在神经元细胞,到出生后中枢神经系统中Epo-R的转录水平降低至不到造血组织的1%~3%。

低氧及缺血可诱导Epo的表达,脑缺血后,脑组织中Epo和Epo-R的表达明显增高。低氧诱导的Epo表达受低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)的调节,HIF-1在中枢神经系统中是

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)(2006CB500706)

收稿日期:2006-09-04;修回日期:2007-03-09

作者简介:孙治坤(1981-),女,在读博士,主要从事神经变性疾病的研究。

通讯作者:陈生弟(1955-),男,医学博士,教授,博士生导师,主要从事神经变性性疾病的研究。

细胞的氧传感器,通过调节 Epo 的转录和翻译来调节氧的适应性。低氧并非诱导 Epo 和 Epo-R 表达的唯一因素,代谢障碍(低血糖或神经元强去极化)可使线粒体反应性氧自由基产生增多,从而通过 HIF-1 来增加神经系统 EPO 的表达。在培养的星形胶质细胞中 Epo mRNA 的表达增高还受胰岛素和胰岛素样生长因子的调节;体外实验中,暴露于炎性细胞因子,如白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)后,星形胶质细胞表达 Epo 下降。一些应激性刺激(如癫痫发作)也能刺激脑血管内 Epo-R 表达升高。

2 中枢神经系统内 EPO 的保护作用

用小鼠、大鼠、沙土鼠及兔的多种神经系统损伤模型研究表明,Epo 可不同程度地减轻脑损伤,改善神经功能。Kaptanoglu 等^[2]研究发现,Epo 能抑制大鼠脊髓损伤引起的运动神经元凋亡,且能改善运动功能,减轻脂质超氧化反应。Spandou 等^[3]研究发现,于损伤前 24 h 开始每天给予大剂量的 Epo (20000 ~ 30000 U/kg)能有效地减轻大鼠实验性新生儿缺血缺氧性脑病诱导的脑损伤,促进短期功能恢复。Yatsiv 等^[4]研究发现,Epo 能改善鼠闭合性脑外伤引起的运动及认知功能障碍,减轻炎症反应、轴突变性及细胞凋亡。此外,Epo 还能保护脑皮层神经元免受人免疫缺陷病毒 gp120 的损害^[5]。

3 Epo 发挥神经保护作用的可能作用机制

3.1 抗凋亡

在许多不同的体内外神经损伤模型中,Epo 均具有抗凋亡功能。Kumral 等^[6]研究发现,Epo 可通过下调促凋亡基因 Bax, DP5 的表达,上调抗凋亡基因 Bcl-2 的表达,抑制新生儿缺血缺氧性脑损伤引起的细胞凋亡。Signore 等^[7]研究表明,Epo 可通过磷酸化并激活 Akt 途径抑制 6-羟基多巴诱导的多巴胺能细胞的凋亡。Dzietko 等^[8]研究发现,Epo 可通过抑制 MK801 诱导的 ERK1/2 和 Akt 磷酸化降低而抑制新生鼠神经元的凋亡。Chong 等^[9]研究也发现,Epo 可通过调节 NF- κ 核转移而抑制 A 引起的早期或晚期原代海马神经元细胞的凋亡。

3.2 抑制炎症反应

近来研究发现,Epo 可抑制缺血区白细胞的浸润,减轻炎性因子 TNF- α 、IL-6、MCP-1 等的释放。Savino 等^[10]研究表明,在鼠的慢性自身反应性脑脊髓炎模型中,Epo 能抑制脊髓产生 TNF- α 、IL-1、IL-1 及周围淋巴细胞释放 IFN- γ 。Sun 等^[11]研究也发

现,Epo 可通过抑制 IL-1 的产生及白细胞的浸润,减轻新生儿缺血缺氧性脑病中的炎性反应。

3.3 抗谷氨酸毒性

谷氨酸受体过度激活是造成神经元死亡的主要因素,大量研究发现,Epo 对谷氨酸的毒性有抑制作用。在培养的小脑颗粒细胞中,Epo 可减少 Ca^{2+} 离子诱导的谷氨酸释放。在海马薄片培养中,Epo-R 的激活可通过抑制胞吐作用抑制谷氨酸的释放,保护缺血性海马神经元的损伤^[12]。Yamasaki 等^[13]研究发现,Epo 能通过上调 Bcl-2 的表达而保护培养的原代视网膜神经节细胞免受谷氨酸的毒性损伤。

3.4 抗氧化应激

Epo 能减轻或抑制氧化应激过程,减少氧自由基的形成,对抗自由基的毒性。Epo 还可通过提高神经元内抗氧化酶,如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶及过氧化氢酶等的活性,保护神经元的缺血性损伤。Kumral 等^[14]研究发现,在发育中的 C57BL/6 鼠脑中,Epo 能抑制乙醇诱导的神经退行性变及氧化应激反应,通过减轻脂质过氧化反应,恢复抗氧化酶的含量而抑制神经元的凋亡。Ozturk 等^[15]研究还发现鼠闭合性脑外伤后,Epo 能减少血清 MDA 和 NO 含量。

3.5 对神经递质的影响

Epo 分子内的一个含有 17 个氨基酸的特异性序列具有神经营养功能,可刺激鼠 NS20Y 和人类 SK-N-MC 成纤维神经瘤细胞的分化,增强胆碱乙酰转移酶活性,抑制细胞死亡。Weber 等^[16]对海马薄片培养的研究中发现,Epo 可通过抑制或刺激不同的神经递质释放改善缺血后的突触传递;在培养的 PC12 细胞中,Epo 可通过激活 Ca^{2+} 离子通道、诱导细胞膜去极化、提高 MAPK 活性、增加 NO 的合成等途径,刺激酪氨酸羟化酶的活性及多巴胺的释放。

3.6 维护血管完整性,刺激新生血管形成

Epo 可抑制缺血引起的血脑屏障破坏,维持细胞间的连接;在氧化应激刺激下可抑制内皮细胞发生退行性改变,对血管内皮细胞有直接的保护功能;且 Epo 具有促有丝分裂和促趋化反应的功能,在内皮细胞分布区,能诱导基质金属蛋白酶 2 的产生,从而诱导内皮细胞增殖和血管形成。Wang 等^[17]研究发现,Epo 可促进的脑毛细血管内皮细胞的增殖和迁移,为缺血细胞提供血流量和营养物质,维持其存活。Watanabe 等^[18]研究也发现,在增

殖型糖尿病视网膜病中 Epo 可诱导视网膜血管的形成。

3.7 诱导神经营养因子的表达

在培养的原代海马神经元细胞中, Epo 可诱导 BDNF 的 mRNA 及其产物的表达, 导致其特异性受体 TrkB 长期的激活; BDNF 和 TrkB 在调节 Epo 的神经保护作用中也具有重要的地位, 当用特异性抗体中和 BDNF 后, Epo 的神经保护作用下降。Viviani 等^[19] 研究发现, 在鼠脑室内注射 Epo 后, 也可诱导 BDNF 的表达。由于 BDNF 在神经元内的表达受电压依赖性 Ca^{2+} 离子通道及 Ca^{2+} 离子敏感转录因子 Ca^{2+} /cAMP 反应元件结合蛋白 (Ca^{2+} /cAMP-response element-binding protein, CREB) 的诱导, 由此设想细胞内 Ca^{2+} 离子的升高是 Epo 发挥神经保护功能的关键步骤。

3.8 调节神经发生和神经营养作用

Epo 对分化的神经细胞具有营养作用, 能影响细胞的再生、分化和存活, Lee 等^[20] 研究发现, Epo 可调节神经干细胞分化为多巴胺能神经元或星形胶质细胞。Epo 能增强胚胎皮层神经元的生存能力, 促进细胞存活, 增强神经前祖细胞的增殖, 在缺氧条件下, 培养的神经干细胞产生神经细胞可增加两到三倍, 这与 Epo 的 mRNA 的表达增高有关。Dunyue 等^[21] 研究发现, Epo 可增强大鼠外伤性脑损伤后的神经发生, 使齿状回新生神经元数量增多, 空间记忆功能恢复加快; 此外, Epo 可诱导 BDNF 和 VEGF 的表达, 对其诱导的神经前祖细胞的存活和分化具有重要的意义。

3.9 在缺血预处理中的保护作用

轻度脑缺血可激活相关的细胞途径, 这些细胞途径可减轻随后发生的缺血损伤, 这种现象即“缺血预处理”或“缺血耐受”。Epo 是缺血和缺氧预处理的重要的保护因子, 给予可溶性 Epo-R 中和 Epo 后, 缺氧预处理的保护功能丧失。Grimm 等^[22] 研究发现, 预先给予 Epo 可通过缺血预处理机制保护视网膜变性。Malhotra 等^[23] 研究表明, Epo 介导短暂性脑缺血动物的缺血耐受是通过 PI3K 信号传导途径而实现的, PI3K 信号传导途径的抑制剂渥曼青霉素可抑制 Epo 介导的缺血耐受。

4 结语

本文综述了 Epo 的神经保护功能及其作用机制, 为神经系统疾病的治疗提供了新的思路, 但在临床应用上还存在许多问题, 如给药时间、药物浓

度和给药方式等, 因此, Epo 如何能作为有效的脑保护剂仍需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Chung YH, Kim SI, Joo KM, et al. Age-related changes in erythropoietin immuno-reactivity in the cerebral cortex and hippocampus of rats. *Brain Res*, 2004, 1018(1): 141-146.
- [2] Kaptanoglu E, Solaroglu I, Okutan O, et al. Erythropoietin exerts neuroprotection after acute spinal cord injury in rats: effect on lipid peroxidation and early ultrastructural findings. *Neurosurg Rev*, 2004, 27(2): 113-120.
- [3] Spandou E, Soubasi V, Papoutsopoulou S, et al. Erythropoietin prevents hypoxia/ischemia-induced DNA fragmentation in an experimental model of perinatal asphyxia. *Neurosci Lett*, 2004, 366(1): 24-28.
- [4] Yatsiv I, Grigoriadis N, Simeonidou C, et al. Erythropoietin is neuroprotective, improves functional recovery, and reduces neuronal apoptosis and inflammation in a rodent model of experimental closed head injury. *FASEB J*, 2005, 19(12): 1701-1703.
- [5] Digicaylioglu M, Kaul M, Fletcher L, et al. Erythropoietin protects cerebrocortical neurons from HIV-1/gp120-induced damage. *Neuroreport*, 2004, 15(5): 761-763.
- [6] Kumral A, Genc S, Ozer E, et al. Erythropoietin Downregulates Bax and DP5 ProApoptotic Gene Expression in Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *Biol Neonate*, 2005, 89(3): 205-210.
- [7] Signore AP, Weng Z, Hastings T, et al. Erythropoietin protects against 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic cell death. *J Neurochem*, 2006, 96(2): 428-443.
- [8] Dzierko M, Felderhoff-Mueser U, Sifringer M, et al. Erythropoietin protects the developing brain against N-methyl-D-aspartate receptor antagonist neurotoxicity. *Neurobiol Dis*, 2004, 15(2): 177-187.
- [9] Chong ZZ, Li F, Maiese K. Erythropoietin requires NF-kappaB and its nuclear translocation to prevent early and late apoptotic neuronal injury during beta-amyloid toxicity. *Curr Neurovasc Res*, 2005, 2(5): 387-399.
- [10] Savino C, Pedotti R, Baggi F, et al. Delayed administration of erythropoietin and its non-erythropoietic derivatives ameliorates chronic murine autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol*, 2006, 172(1-2): 27-37.
- [11] Sun Y, Calvert JW, Zhang JH. Neonatal hypoxia/ischemia is associated with decreased inflammatory mediators after erythropoietin administration. *Stroke*, 2005, 36(8): 1672-1678.
- [12] Genc S, Koroglu TF, Genc K. Erythropoietin and the nervous system. *Brain Res*, 2004, 1000(1-2): 19-31.

- [13] Yamasaki M, Mishima HK, Yamashita H, et al. Neuroprotective effects of erythropoietin on glutamate and nitric oxide toxicity in primary cultured retinal ganglion cells. *Brain Res*, 2005, 1050(1-2): 15-26.
- [14] Kumral A, Tugyan K, Gonenc S, et al. Protective effects of erythropoietin against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and oxidative stress in the developing C57BL/6 mouse brain. *Brain Res Dev Brain Res*, 2005, 160(2): 146-156.
- [15] Ozturk E, Demirbilek S, Kadir But A, et al. Antioxidant properties of propofol and erythropoietin after closed head injury in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2005, 29(6): 922-927.
- [16] Weber A, Maier RF, Hoffmann U, et al. Erythropoietin improves synaptic transmission during and following ischemia in rat hippocampal slice cultures. *Brain Res*, 2002, 958(2): 305-311.
- [17] Wang L, Zhang Z, Wang Y, et al. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. *Stroke*, 2004, 35(7): 1732-1737.
- [18] Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, et al. Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. *N Engl J Med*, 2005, 353(8): 782-792.
- [19] Viviani B, Bartsaghi S, Corsini E, et al. Erythropoietin protects primary hippocampal neurons increasing the expression of brain-derived neurotrophic factor. *J Neurochem*, 2005, 93(2): 412-421.
- [20] Lee SM, Nguyen TH, Park MH, et al. EPO receptor-mediated ERK kinase and NF-kappaB activation in erythropoietin-promoted differentiation of astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 320(4): 1087-1095.
- [21] Lu D, Mahmood A, Qu C, et al. Erythropoietin enhances neurogenesis and restores spatial memory in rats after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 2005, 22(9): 1011-1017.
- [22] Grimm C, Hermann DM, Bogdanova A, et al. Neuroprotection by hypoxic preconditioning: HIF-1 and erythropoietin protect from retinal degeneration. *Semin Cell Dev Biol*, 2005, 16(4-5): 531-538.
- [23] Malhotra S, Savitz SI, Ocava L, et al. Ischemic preconditioning is mediated by erythropoietin through PI-3 kinase signaling in an animal model of transient ischemic attack. *J Neurosci Res*, 2006, 83(1): 19-27.

抗癫痫药对脑发育影响的实验研究

徐颖 综述 蒋莉 审校

(重庆医科大学附属儿童医院神经内科, 重庆市 400014)

摘要:抗癫痫药物在产生抗癫痫作用的同时,通过多种机制影响脑发育过程中神经细胞的迁移和分化、突触形成与可塑性及神经纤维髓鞘形成,增加神经细胞的凋亡,阐明 AEDs 对正常脑发育的影响及其机制,对于临床合理使用抗癫痫药物,促进脑功能恢复具有重要意义。

关键词:抗癫痫药;脑发育;机制;动物实验研究

小儿癫痫大多起病于学龄前期,该时期是儿童脑发育的关键时期,同时,也是大脑被外界有害因素影响的敏感时期。药物治疗是癫痫最主要的治疗方法,抗癫痫药物(antiepileptic drugs, AEDs)主要作用于离子通道及神经递质系统,但这些靶点同时参与脑发育过程,因此,近年来,对 AEDs 与脑发育之间的关系进行了大量研究,发现 AEDs 对脑发

育过程包括神经细胞增生、分化和迁移,突触形成与突触可塑性及神经纤维髓鞘形成都能产生明显影响^[1]。

1 AEDs 对脑发育期神经细胞凋亡的影响

神经系统发育过程中产生的神经细胞是成年器官存活的神经细胞的两倍,这种神经细胞产生过多的阶段是短暂的,接着就会发生凋亡(apopto-

收稿日期:2006-08-31;修回日期:2007-03-07

作者简介:徐颖(1979-),男,在读硕士,主要从事脑发育影响因素研究。