

- controlled trial on the effect of a 20% mannitol solution and a 7.5% saline/6% dextran solution on increased intracranial pressure after brain injury. *Crit. Care Med.* 2005, 33(1): 196-202.
- [12] Llompart-Pou JA, Perez-Barcelona J, Raurich JM, et al. Effect of barbiturate coma on adrenal response in patients with traumatic brain injury. *J Endocrinol Invest.* 2007;30(5): 393-398.
- [13] Ward JD, Becker DP, Miller JD, et al. Failure of prophylactic barbiturate coma in the treatment of severe head injury. *J Neurosurg.* 1985, 62(3): 383-388.
- [14] Aarabi B, Hledoff DC, Ahn ES, et al. Outcome following decompressive craniectomy for malignant swelling due to severe head injury. *J Neurosurg.* 2006, 104(4):469-479.
- [15] Meier U, Crawe A. The importance of decompressive craniectomy for the management of severe head injuries. *Acta Neurochir. Suppl. (Wien)* 2003; 86(2): 367-371.
- [16] Jagannathan J, Okonko DO, Dumont AS, et al. Outcome following decompressive craniotomy in children with severe traumatic brain injury: a 10-year single-center experience with long-term follow up. *J Neurosurg.* 2007, 106(4 Suppl):268-275.
- [17] Plesnila N. Decompression craniectomy after traumatic brain injury: recent experimental results. *Prog Brain Res.* 2007, 161C:393-400.
- [18] Hutchison J, Ward R, Lacroix J, et al. Hypothermia pediatric head injury trial: the value of a pretrial clinical evaluation phase. *Dev Neurosci.* 2006, 28(4-5):291-301.
- [19] Shiozaki T, Hayakata T, Tameda M et al. A multicenter prospective randomized controlled trial of the efficacy of mild hypothermia for severely head injured patients with low intracranial pressure. *Mild Hypothermia Study Group in Japan. J Neurosurg.* 2001, 94(1): 50-54.
- [20] Simosa HF, Petersen DJ, Agarwal SK, et al. Increased risk of deep venous thrombosis with endovascular cooling in patients with traumatic head injury. *Am Surg.* 2007,73(5): 461-464
- [21] Johnston AJ, Steiner LA, Coles JP, et al. Effect of cerebral perfusion pressure augmentation on regional oxygenation and metabolism after head injury. *Crit Care Med.* 2005, 33(1):189-195.
- [22] Magnoni S, Ghisoni L, Locatelli M et al. Lack of improvement in cerebral metabolism after hyperoxia in severe head injury; a microdialysis study. *J Neurosurg.* 2003, 98(5): 952-958.
- [23] Toliaas CM, Reinert M, Seiler R, et al. Normobaric hyperoxia-induced improvement in cerebral metabolism and reduction in intracranial pressure in patients with severe head injury: a prospective historical cohort-matched study. *J Neurosurg.* 2004, 101(3): 435-444.
- [24] Rockswold GL, Ford SE, Anderson DC, et al. Results of a prospective randomized trial for treatment of severely brain-injured patients with hyperbaric oxygen. *J Neurosurg.* 1992, 76(6): 929-934.
- [25] The Brain Trauma Foundation. The American Association of Neurological Surgeons. The Joint Section on Neurotrauma and Critical Care. Management and prognosis of severe traumatic brain injury, part 1: Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2000, 17(6-7): 451-553.

促红细胞生成素对外伤性脑损伤的保护作用

袁雪松 综述 卜晓星 审校

(江苏大学附属武进医院神经外科,江苏 常州 213002)

摘要:促红细胞生成素(Erythropoietin, EPO)除了促进红细胞成长以外,还具有抗炎、抗细胞凋亡、神经营养和神经保护作用;中枢神经系统(CNS)中的星形胶质细胞可以通过旁分泌方式分泌EPO,然后通过EPO-R发挥作用;EPO在外伤性颅脑损伤中具有抗凋亡、减轻脑水肿、促进神经细胞再生、减少兴奋性氨基酸神经毒性及抗氧化的作用;新型外源性EPO能透过血脑屏障,其临床应用前景看好。

收稿日期:2007-04-15;修回日期:2007-07-25

作者简介:袁雪松(1981-),男,在读硕士研究生,主要从事颅脑损伤的基础与临床研究。

关键词:促红细胞生成素;外伤性脑损伤;神经保护

促红细胞生成素是一种分子量为 30.4 kDa 的糖蛋白,在体内主要调节红细胞的生成。人体 EPO 基因首先编码一种只有 193 个氨基酸的蛋白前体,然后分裂掉一个含有 27 个氨基酸的序列,剩下的氨基酸中有 4 个发生糖基化并且切除了羧基末端,最终生成含有 165 个氨基酸的 EPO 分子。生物体内 EPO 的分泌主要受组织氧含量的调节,大约 90% 的 EPO 在肾小管周围的间质细胞合成,这些间质细胞是敏感的氧感受器。人体内 EPO 的血浆生理浓度维持在 15 ~ 25 U/L 之间^[1]。研究^[2]发现,EPO 除了促进红细胞生长以外,还具有抗炎、抗细胞凋亡和营养神经的特性。脑内的 EPO 与血清中的 EPO 不完全相同,所含唾液酸较少,分子量为 30.3 kD,较血清中的略小,在脑损伤中发挥着重要的作用。

1 EPO 与脑组织的关系

传统上认为 EPO 主要产生于肾脏和肝脏,然而,近年来研究发现^[1],中枢神经系统(CNS)中的星形胶质细胞可以通过旁分泌方式分泌 EPO,然后与附近神经元膜上的 EPO 受体(EPO-R)相结合,发挥神经保护作用。Masuda^[4]在胎鼠的没有 EPO 的神经培养细胞中用酶联免疫法检测发现低氧可促进培养细胞 EPO 的产生,其产生的 EPO 可刺激髓系依赖 EPO 细胞的产生,并且其生物活性可被抗 EPO 的抗体阻滞。通过 mRNA 水平的检测已发现,EPO-R 在人脑、鼠脑、猴脑以及在原代培养的海马和皮层神经元上均有表达。EPO 的糖基化程度很高,糖基成分主要是唾液酸,脑组织中 EPO 与血清中的 EPO 糖基化水平不同,脑内 EPO 所含的唾液酸较少,但作用更强。Brines 等^[5]已证明 EPO 能通过血脑屏障,且在神经损伤时这种通透性会更大。免疫组化研究显示围绕着脑毛细血管,尤其是在星形胶质细胞的足突内和毛细血管的管腔面 EPO-R 以极大的密度存在。提示循环中的 EPO 能与这些受体结合以细胞转运方式通过血脑屏障。

2 EPO 的作用途径

EPO 是通过 EPO-R 发挥作用的,EPO 与神经元的 EPO-R 结合,导致 EPO-R 的自身磷酸化,然后结合信号传导和转录活化蛋白 5(signal transducer and activator of transcription, STAT5),STAT5 被磷酸化

后从受体分离,形成二聚体移位至细胞核内,从而激活目标基因^[6]。当 EPO 刺激其反应细胞时,可快速诱导细胞内多种蛋白质酪氨酸磷酸化,而与酪氨酸磷酸化相关的激酶起了重要的作用。

3 EPO 对外伤性脑损伤的保护作用

目前,已经有大量的基础和临床研究证实:EPO 在神经系统缺血、缺氧时,可通过抗凋亡、抑制 NO 合成、阻断 Ca²⁺通道等途径发挥神经保护作用。近五年来,发现在脑外伤中 EPO 同样可通过抗凋亡减轻脑水肿、促进神经细胞再生、减少兴奋性氨基酸神经毒性、抗氧化等途径对继发性脑损害发挥重要的作用。

3.1 抗凋亡减轻脑水肿

EPO 具有抗凋亡的作用在脑缺血领域已得到广泛认可,Digicaylioglu 等^[7]在大脑皮质细胞中加入 EPO,观察到抗凋亡基因 XIAP 和 c-IAP2 表达增强。而且,Wen 等^[8]在缺血的沙土鼠模型的脑室内注射 EPO 发现,海马 CA1 区的 bcl-2 表达明显增强。这些结果都显示 EPO 在脑缺血时对中枢神经系统的保护作用部分是通过抗凋亡分子上调实现的。近来,对 EPO 在脑外伤方面是否具有抗凋亡作用也进行了一系列的研究。Emir 等^[9]用 Wistar-Albino 雌性大鼠制作了脑外伤模型,发现与对照组相比 EPO 能明显提高抑制细胞凋亡基因(bcl-2)的表达。减轻脑水肿方面,Verdonck 等^[10]在大鼠脑外伤后 30 分钟,运用 5000 u/kg EPO 进行干预,6h 后给予磁共振影像学检查,发现受损区域水肿范围明显较对照组小。取脑组织进行重量分析也明显轻于对照组,具有良好的统计学意义。最近 Chong 等^[11]的研究认为 EPO 抗凋亡保护神经细胞的作用是通过激活细胞外信号调节激酶和蛋白激酶 Akt1 或蛋白激酶 B,从而抑制自由基诱导的线粒体细胞色素 C 释放引起的 Caspase 8、Caspase 1 和 Caspase 3 的激活而起作用的。

3.2 促神经细胞再生

King 等^[12]对成年大鼠进行眶内视神经横断,然后给予 EPO 连续行玻璃体内注射,4 周后发现 5u 和 10u 组有明显的视网膜神经节细胞胞浆增生和断离轴突的再生,25u 组则观察到轴突的再生已达到 1mm。Lu 等^[13]对外伤性大鼠连续性运用 EPO 治疗 14d 后,取脑组织齿状回进行双标免疫检测,

发现了明显的神经细胞再生。此外, Kretz 等^[14]将成人外伤后受损视神经的视网膜神经节细胞进行体外试管培养, 并运用大剂量 EPO 干预, 发现 EPO 干预组视网膜神经节细胞数量明显增多, 是对照组的 2.66 倍。同时还发现其减少了视网膜神经节细胞中信号转导和转录活化蛋白 3 (Stat3) 的磷酸化。并认为 EPO 促进神经细胞生长的作用和抗凋亡基因的表达上调相平行。另外, Cherian 等^[15]发现在大鼠皮质打击外伤模型中, 运用 EPO 与对照组比较可显著增加海马 CA1 区和 CA3 区神经细胞密度。这些实验结果都充分说明, EPO 可通过促进神经细胞及轴突的再生而起到神经保护作用。

3.3 减少兴奋性氨基酸神经毒性作用

近来的研究^[16], 对脑外伤大鼠进行脑室内注入 EPO, 发现与对照组相比, EPO 具有明显减轻兴奋性氨基酸神经毒性的作用, 且红细胞未见明显增加。认为 EPO 可作为临床上治疗类似疾病的常规用药, 尤其是在降低红细胞增多的副作用后。Adembri 等^[17]用 EPO 和 N-甲基-D-天冬氨酸拮抗剂对脑外伤性大鼠进行干预, 并于 24h 和 48h 断头取脑组织行荧光染色检测, 发现在 24h 时两者的比例都约为 30%, 但在 48h 处 EPO 组达到了 47%, 而 N-甲基-D-天冬氨酸拮抗剂组仅为 28%。有力说明了 EPO 具有减少兴奋性氨基酸神经毒性的作用, 且从时间上看 EPO 更具有减轻继发性脑损害的作用。

3.4 抗氧化作用

和脑缺血缺氧的实验中所观察到的一样, 在脑外伤时 EPO 也同样具备抗氧化的作用, 并以此保护受损神经细胞。Emir 等^[18]在发现 EPO 能明显提高抗细胞凋亡基因 (bcl-2) 表达的同时还发现 EPO 能减少脑外伤后肌细胞脂质过氧化反应终产物丙二酰硫脲活性物质, 起到抗氧化的作用。Ozturk 等^[19]在脑外伤的大鼠实验中也证实 EPO 和异丙酚都可显著降低血清中的氧化应激指数, 且 EPO 的作用较异丙酚更强。众所周知, 氧自由基对受损组织的损害是加重病情的一个重要因素, 因此适当运用 EPO 拮抗其氧化作用, 是临床用药的一个指导方向。

3.5 促进认知记忆功能恢复

大量的动物实验已经发现在海马区药物或定位毁损后, 运用 EPO 治疗可明显促进实验动物的行为学、记忆、认知功能的恢复。比如 Abdullah

等^[19]制作了大鼠的脑缺血缺氧模型, 导致实验大鼠出现学习和记忆功能尚失, 再使用 EPO 进行干预, 并于第 22d 做莫里斯水迷宫测试, 发现 EPO 干预组的认知、学习和记忆功能明显好于对照组。为了进一步证实它的可靠性, 研究者还在造模用药后第 20w 再次进行水迷宫测试, 结果较前更为显著。在外伤性脑损伤方面也得到了同样的结论, Mala 等^[20]在 2005 年制作了穹隆体横断脑外伤大鼠模型, 在运用 EPO 治疗后进行了一个有 8 个臂展半径的迷宫测试, 发现治疗组的空间学习记忆功能得到完全恢复, 而对照组存在明显的空间认知障碍。并以此肯定了先前研究认为的 EPO 可减少或消除海马区因机械外伤所造成的行为、认知功能尚失。Yatsiv 等^[21]也用大鼠制作了闭合性脑外伤模型, 伤后给予 EPO 治疗, 在第 14d 时对各组大鼠进行运动缺陷、认知功能等的测评, 结果发现与对照组相比, EPO 治疗组运动缺陷少, 认知能力得到较快恢复。

3.6 其他

EPO 在脑外伤方面除了上述几种作用外, Erbayraktar 等^[22]报道了 EPO 具有减少放射性脑损伤和放射治疗不良反应的作用, 尤其是在对脑肿瘤进行大剂量放射治疗时, EPO 的神经保护作用就更明显。此外, Ozisik 等^[23]还发现 EPO 在大鼠脑外伤后心脏组织中具有明显的抗细胞凋亡作用, 从而有可能成为一种新的保护因脑外伤引起的多个器官功能障碍的治疗方法。

4 EPO 的临床应用展望

综上所述, EPO 因为其生物学特点和脑组织中具有结合受体, 从而能够通过以上等途径对神经系统起到保护作用, 这已得到广泛认同。过去人们担心 EPO 是否能穿过血脑屏障, 对于这一点, 国外学者已经在动物实验中得到证实^[15]。EPO 最主要的作用是促进红细胞生成, 长期、反复、大量的用药将会导致血容量增加、血液粘稠、高血压, 甚至在体内产生中和性抗 EPO 抗体, 出现纯红细胞再生障碍性贫血。不过, 最近 Erbayraktar 等^[24]报道已经研制出了缺乏唾液酸基的 EPO, 它无生成红细胞的功能, 在血浆中的半衰期很短, 而且能通过血脑屏障, 在神经系统内有完全的神经保护作用。在这些研究基础上, 进行更深层次的探索 and 临床实验, 进一步阐明 EPO 在神经系统中的作用机制, 研制出更适合神经系统的 EPO 异构体, 相信将为神经系统疾病的临床治疗开辟出新的天地。

参 考 文 献

- [1] Baker JE. Erythropoietin mimics ischemic preconditioning. *Vascu Pharmacol*, 2005, 42(5-6):233-241
- [2] Eid T, Brines M. Recombinant human erythropoietin for neuroprotection: what is the evidence? *Clin Breast Cancer*, 2002, 3(3):109-115.
- [3] Sirén AL, Knerlich F, Poser W, et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain. *Acta Neuropathol (Berl)*, 2001, 101(3):271-276.
- [4] Masuda S, Okano M, Yamagishi K, et al. A novel site of erythropoietin production. *J virol*, 2000, 74:3037-3045.
- [5] Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(19):10526-10531
- [6] Gregory RC, Jiang N, Tulekono K, et al. Erythropoietin receptors and STAT5-specific pathways promote SKT6 cell hemoglobinization. *Blood*, 1998, 92(4):1104-1118.
- [7] Digiçaylıoğlu M, Lipton SA. Erythropoietin-mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF- κ B signaling cascades. *Nature*, 2001, 412(6847):641-647.
- [8] Wen TC, Sadamoto Y, Tanaka J, et al. Erythropoietin protects neurons against chemical hypoxia and cerebral ischemia injury by up-regulating Bcl-xL expression. *J Neurosci Res*, 2002, 67(6):795-803.
- [9] Emir M, Ozisik K, Cagli K, et al. Effect of erythropoietin on bcl-2 gene expression in rat cardiac myocytes after traumatic brain injury. *Transplant Proc*, 2004, 36(10):2935-8.
- [10] Verdonck O, Lahrech H, Francony G, et al. Erythropoietin protects from post-traumatic edema in the rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(7):1369-76.
- [11] Chong ZZ, Lin SH, Kang JQ, et al. Erythropoietin prevent early and late neuronal demise through modulation of Akt and induction of caspase1, 3, and 8. *J Neurosci Res*, 2003, 71(5):659-669.
- [12] King CF, Rodger J, Bartlett C, et al. Erythropoietin is both neuroprotective and neuroregenerative following optic nerve transection. *Exp Neurol*, 2007, 205(1):48-55.
- [13] 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.
- [14] Kretz A, Hoppold CJ, Marticke JK, et al. Erythropoietin promotes regeneration of adult CNS neurons via Jak2/Stat3 and PI3K/AKT pathway activation. *Mol Cell Neurosci*, 2005, 29(4):569-79
- [15] Cherian L, Goodman CJ, Robertson CS. Neuroprotection with Erythropoietin Administration Following Controlled Cortical Impact Injury in Rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 322(2):789-94
- [16] Keller M, Yang J, Griesmaier E, et al. Erythropoietin is neuroprotective against NMDA-receptor-mediated excitotoxic brain injury in newborn mice. *Neurobiol Dis*, 2006, 24(2):357-366.
- [17] Adembri C, Becchi A, Meli E, et al. Erythropoietin attenuates post-traumatic injury in organotypic hippocampal slices. *J Neurotrauma*, 2004, 21(8):1103-1112.
- [18] Ozatürk 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.
- [19] Kumal A, Uysal N, Tugyan K, et al. Erythropoietin improves long-term spatial memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in rats. *Behav Brain Res*, 2004, 153(1):77-86.
- [20] Mala H, Alsina CG, Madsen KS, et al. Erythropoietin improves place learning in an 8-arm radial maze in fimbria-fornix transected rats. *Neural Plast*, 2005, 12(4):329-340.
- [21] 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.
- [22] Erbayraktar S, de Lanerolle N, de Loobinière A, et al. Carbamylated erythropoietin reduces radiosurgically-induced brain injury. *Mol Med*, 2006, 12(4-6):74-80
- [23] Ozisik K, Ozisik P, Yildirim E, et al. Expression of anti-apoptotic survivin and aven genes in rat heart tissue after traumatic brain injury. *Transplant Proc*, 2006, 38(9):2784-2787.
- [24] Erbayraktar S, Grasso G, Sflacteria A, et al. Asialoerythropoietin is an erythropoietic cytokine with broad neuroprotective activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(11):6741-6746.