

神经功能重建——中医药治疗缺血性中风新策略

熊 露¹ 田少霞² 范吉平³

摘要 结合国内外内源性神经干细胞(NSC)诱导分化的最新研究成果,提出水瘀毒邪、络脉损伤是缺血性中风急性期,抑制NSC诱导分化的关键性病理因素。肝肾精血之盛衰与缺血性中风后NSC的诱导分化有密切相关。水瘀毒邪、络脉损伤是抑制缺血性中风后NSC诱导分化的关键性病理因素。主张以中医药干预内源性NSC诱导分化为切入点,发挥中医药多途径、多靶点的整体治疗优势,探索出一条应用中医药进行神经功能重建的全新治疗策略。可望为揭示中医药治疗缺血性中风深层次的作用机制,研制和开发新药开辟全新的思路。

主题词 脑缺血/中医药疗法 @ 神经功能重建

新近神经干细胞(NSC)分化诱导的研究成为国内外共同关注的焦点。脑缺血损伤后内源性NSC向损伤脑区的定向诱导分化,为损伤后脑结构与功能的修复与重建提供了可能。应用中医药诱导内源性NSC的增殖和分化,促进神经功能的修复与重建,可望为中医药防治缺血性中风研究开辟全新的治疗途径。

1 人类NSC的概念及基本生物学特性

1992年,Reynolds等从成年小鼠纹状体分离了能在体外不断分裂、增殖,具有多种分化潜能的细胞群,并提出神经干细胞的概念^[1]。NSC起源于胚胎干细胞(ESC),是神经系统中处于较早发育阶段的细胞群体,可以通过两种对称或不对称性分裂完成自我复制和更新,并产生神经组织中不同发育阶段与分化方向的细胞,最终分化成多种类型的神经组织^[2~4]。1994年Kirschenbaum^[5]等通过癫痫患者脑内海马和脑室壁体外培养,发现了具有自我更新能力和多向分化潜能的NSC,首次证实成人脑内存在NSC。其主要分布于成体哺乳动物大部分脑区,室管膜下区(SVZ)、纹状体、海马、海马颗粒下层(SGZ)、室下核、中脑等区域。其中SVZ是新近公认的成年脑干细胞富集区^[6]。

神经干细胞具有以下显著的生物学特征:(1)自我复制与更新的能力。即可通过对称性或非对称性分裂产生新的NSC的能力。对称性分裂是指一个神经干细胞,经过一次分裂产生两个完全相同的子代NSC;后者是指一个神经干细胞经过一次分裂产生一个NSC

和一个神经祖细胞(neural progenitor cell,一种分化系谱受限的原始神经细胞),这样既能维持NSC的自我复制能力,又能不断地产生祖细胞以补充分化的祖细胞;(2)多向分化潜能。即可分化为神经元细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞的能力,且可维持相当长时间,乃至终生;(3)具有增殖分裂能力;(4)对损伤和疾病具有反应能力。而自我更新和多向分化潜能是神经干细胞最基本的生物学属性。

2 脑缺血后内源性NSC的增殖与分化特征

正常情况下,成年脑内NSC处于静息状态,在缺血缺氧、外伤、氧化应激及多种诱导分化剂等因素刺激下,一些细胞因子相继表达,NSC被激活,在损伤原位或异位增殖后,在趋化因子的作用下向损伤部位迁移并分化。Takagi等^[7]研究发现,小鼠短暂性脑缺血15min后,海马齿状回(DG)和脑室周围区BrdU阳性细胞数增加,于第7天最为显著。Liu等^[8]证实沙土鼠全脑缺血10min,1~2周后,海马颗粒下层BrdU阳性细胞增高12倍。亦有学者发现,缺血严重程度可能与NSC的增殖呈负向关系。轻度缺血可导致NSC数量增强,促进其增殖,而重度的缺血可能使NSC数量减少。短暂性脑缺血后第7天NSC增殖最旺盛,随着时间的推移,第28天时恢复到基础水平,在海马区可标记到分化较为成熟的神经细胞^[9]。

由于脑缺血损伤后各种因素诱导NSC增殖与分化,但由于其绝对数量和所限,致中枢神经系统损伤或变性时自我修复作用受到限制,因此,如何通过外源性的药物和神经干细胞的体内移植发挥NSC的自我修复机能,对目前难治性神经变性疾病及卒中后脑神经功能的恢复和重建的研究,有着诱人的前景。

3 脑缺血后细胞因子对神经干细胞(NSC)诱导分化调节

细胞因子对NSC的分化诱导起着重要作用。1997年,Kuhn^[10]等连续两周分别向大鼠脑室内注射EGF和bFGF,随后观察到嗅球处的一部分Nestin阳性细胞分化成为新的神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞。bFGF、NGF也具有相同的作用,且低浓度尚有诱导干细胞向神经元分化的潜能^[11,12]。具有类似作用的还有神经生长因子(NGF)、血小板源性生长因子(PDGF)、转化生长因子(TGF)、神经营养因子家族(TNFs)等,

1 中国中医研究院广安门医院肿瘤研究室,北京市宣武区北线阁(100053)

2 陕西省咸阳市中医肿瘤医院

3 北京中医药大学东直门医院重点学科实验室

收稿日期:2003-09-11

以上因子联合应用较之单一因子作用明显,但作用机制尚不十分清楚。新近 BDNF 对 NSC 的诱导分化作用及机制成为研究的热点。BDNF^[13]广泛分布于神经系统及心、脑、肾组织,系典型的靶源性神经营养因子,以海马表达水平最高。参与调节神经系统发育、成熟。对中枢神经系统多种神经元(包括运动和感觉神经元、皮层神经元、海马神经元),尤其是多巴胺能神经元(DA)的存活、分化、生长具有极其重要的营养调节作用。现仅知道 BDNF 主要在神经元内合成,由轴突运输与其膜受体结合,促进酪氨酸蛋白激酶受体(trKB)形成同源二聚体,激活酪氨酸蛋白激酶,酪氨酸残基及其信号转导蛋白磷酸化,启动立早基因表达,介导发挥生物学效应^[13,14]。

4 中医药诱导 NSC 定向分化的可能性

4.1 内源性 NSC 具有明显的治疗优势:目前应用 NSC 治疗脑缺血策略有移植外源性和激活内源性 NSC 两条途径。由于目前对 NSC 分化诱导机制的尚不十分清楚,实际应用中仍然存在着免疫排斥。供体的来源,以及移植后是否能够与宿主的整合并长期存活,特别将 NSC 定向诱导分化的调控机制是今后研究的热点、难点。体外移植外源性干细胞疗法有很长的路要走。而内源性 NSC 则具有明显的优势:(1)不存在伦理问题;(2)无免疫原性;(3)治疗实施简单易行;;(4)无动物致病基因干扰的可能;(5)无致瘤性;(6)通过激活内源性 NSC 具有一定的治疗潜能;(7)应用内源性 NSC,有利于制定合理的治疗规范和评价体系。因而应用内源性 NSC 治疗脑缺血成为当前新的研究热点。

4.2 中医药具备多途径、多靶点的整体治疗优势:目前对脑缺血研究和治疗的重心主要定位于神经元出现不可逆性损伤前,通过外源性阻断半暗带区的损伤后“级联反应”,抑制坏死及凋亡的发生,最大限度缩小中心梗塞区,并使缺血半暗区逆转为正常灌注区,以利于早期康复。但迄今为止,凋亡抑制剂、NMDA 受体阻断剂疗效尚不确切,值得我们进行深刻的反思。

我们认为,脑缺血损伤后,损伤后“级联反应”形成的一系列神经生化毒素,使脑微环境发生了根本的变化,炎症反应的参与,血脑屏障通透性的增高,以及神经内分泌免疫调节网络的紊乱,使得脑缺血性后的局部病理改变与机体全身性的病理改变联系更加紧密,脑缺血不再是局部的神经病变,而是整体病变的局部反应。而既往仅针对性阻断“级联反应”治疗本病则暴露出明显的局限性。而中医药则具有多途径、多靶点的整体调节优势,不但可以通过阻断损伤后级联反应,改善脑内微环境,发挥脑保护作用。而且可能通过诱生细胞

因子,提高神经营养因子表达,诱导 NSC 的定向分化,激活脑内源性神经保护机制,调节神经内分泌免疫调节网络,发挥整体治疗优势。目前许多单味中药或中药复方以及中药单体(有效成分)对 NIM 网络均已证实具有整体性调节作用,如补益类复方六味地黄丸、补中益气汤、肾气丸、左归丸、右归丸;调肝类复方逍遥散、四逆散、柴胡加龙骨牡蛎汤等。生物碱类、黄酮类、多糖类以及皂甙类等中药单体,如人参皂甙、枸杞多糖等也被证实可通过对 NIM 网络的调控而发挥抗应激性损伤效应。为我们应用中医药诱导 NSC 的定向分化,实现神经功能重建,治疗缺血性中风提供了可能。

4.3 中医药诱导 NSC 分化具备可靠的理论基础

4.3.1 肝肾精血之盛衰与 NSC 的诱导分化密切相关:NSC 的向神经元或胶质细胞诱导分化是胚胎发育期及其后成体神经细胞形成的源泉。因而又是维持脑髓正常功能和结构的重要的组成单位。故含有 NSC 的脑组织又有“脑髓”之称。而中医范畴的“脑髓”似应涵盖神经元、神经干细胞、神经祖细胞(前体细胞)、神经胶质细胞、基质细胞(stromal cell)、胞外基质(extracellular matrix)等基本结构与功能单位。《灵枢·经脉》篇云:“人始生,先成精,精成而脑髓生”。《医贯》援引褚齐贤所云“人之初生受胎,……惟命门先具。有命门然后生心,心生血;有心然后生肺,肺生皮毛;有肺然后生肾,肾生髓;有肾则与命门合”。表明命门与脑髓中的神经祖细胞、NSC 当为脑胚胎发育期脑髓形成的源泉。无疑在维持脑内神经元的相对恒定,抗损伤修复机制中占主导地位。而中医的“肾”作为对神经、内分泌系统、泌尿系统等功能系统的高度整合,肾为先天之本,肾气通于脑,主骨、生髓。肾中精气的盛衰与命门及 NSC 的形成、分化关系尤为密切。肝肾同源、督脉隶属于肝肾。肝体阴而用阳,主升主动,“凡上升之气,皆从肝出”(《类证治裁》)。督脉总督诸阳,贯脊入颅络脑。因此,肾、肝、督脉功能和协调平衡,在 NSC 的增殖、迁移、分化过程中发挥着重要的调节作用。脑轻度短暂性应激或损伤情况下,肝肾之精血不衰,督脉、督络“溢奇邪”、“通营卫”之功能尚健,正气抗邪,易损区 NTs 如 BDNF、GDNF 等高表达,一定程度上维持了脑内环境的稳定及细胞间相互作用与突触联系相对恒定,诱导 NSC 的定向分化,使受损神经功能得以恢复。

4.3.2 水瘀毒邪、害络损髓是抑制 NSC 诱导分化的关键性病理因素:我们认为,缺血性中风是在肝肾亏虚基础上,脏腑功能失调,气血逆乱,风火痰瘀上犯于脑,痹阻脑脉,血不利则为水,水瘀毒邪混杂脑内,损伤脑髓、督脉、督络,破坏形体所致。脑缺血损伤后“级联反

应”产生一系列神经化学毒素、神经内分泌免疫调节网络功能的紊乱均可视为“水瘀毒邪”的范畴。

由于急性期邪气亢盛作为矛盾的主要方面,故这种自我保护机制的作用时程短暂、效应有限。报道 BDNF mRNA 于脑缺血损伤后半小时开始升高,6~12h 达高峰,72h 降至正常水平。水瘀毒邪损伤脑髓,神经细胞发生坏死及凋亡,邪盛正衰,NSC 的增殖、迁移和分化调控机制受损,神明失司、神机失用,导致神经功能缺损。因此,急性期及早采用清热解毒、化痰利水、化痰通络之法,迅速清除水瘀毒邪,清除自由基、兴奋性氨基酸、一氧化氮毒性,阻断其损伤后“级联反应”,恢复督脉络络功能,逆转邪盛正衰之病理格局,可能对于保护神经细胞,减小脑缺血再灌注损伤,缩小半暗区,维持脑内环境的稳定及细胞间相互作用与突触联系相对恒定,调节神经干细胞的增殖、迁移和定向分化,从而发挥脑保护及激发神经细胞的再生的功能,进而加速神经功能的重建有着重要意义。

5 诱导 NSC 分化,实现神经功能重建的治疗策略

基于上述认识,我们在回顾与反思国内外脑缺血损伤研究现状的基础上,提出了采用中医药进行 NSC 诱导分化应用与研究,并提出应用中医药进行神经功能重建的构想。即(1)通过中药对抗性阻断脑缺血损伤后“级联反应”,发挥脑保护作用;(2)以神经干细胞研究作为切入点,揭示脑缺血损伤过程中,内源性细胞因子、神经营养因子 BDNF、GDNF 等与神经细胞凋亡、神经干细胞增殖、迁移、分化过程内在联系,以及对 NSC 增殖、迁移与分化过程的信号转导通路的调节机制;(3)诱导神经干细胞的增殖;(4)通过中药阻断“级联反应”,调动脑内源性神经保护机制,维持并构建脑内稳态系统。促进 NSC 向缺血脑区神经元的定向分化,维持新生神经元的存活,促进突触联系的重建,修复和补充缺血损伤后缺血易损区神经元的损伤与脱失,促进脑运动及认知功能的早日康复,最终实现神经结构与功能的重建;(5)通过中药诱导 NSC 增殖、分化研究,可望为采用中医药干预干细胞和组织移植、促进

新生神经元存活,治疗顽固性神经系统疾病的研究提供理论依据。

参考文献

- 1 Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*, 1992, 255(5052): 1707-1710.
- 2 Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science*, 2000, 287(5457): 1433-1438.
- 3 Alvarez-Buylla A, Herrera DG, Wichterle H. The subventricular zone: source of neuronal precursors for brain repair. *Prog Brain Res*, 2000, 127: 1-11.
- 4 Gage FH, Ray J, Fisher LJ. Isolation, characterization, and use of stem cells from the CNS. *Annu Rev Neurosci*, 1995, 18: 159-192.
- 5 Kirschenbaum B, Nedergaard M, Preuss A, et al. In vitro neuronal production and differentiation by precursor cells derived from the adult human forebrain. *Cereb Cortex*, 1994, 4(6): 576-589.
- 6 Takasawa K, Kitagawa K, Yagita Y, et al. Increased proliferation of neural progenitor cells but reduced survival of newborn cells in the contralateral hippocampus after focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2002, 22(3): 299-307.
- 7 Takagi Y, Nozaki K, Takahashi J, et al. Proliferation of neuronal precursor cells in the dentate gyrus is accelerated after transient forebrain ischemia in mice. *Brain Res*, 1999, 831(1-2): 283-287.
- 8 Liu J, Solway K, Messing RO, et al. Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. *J Neurosci*, 1998, 18(19): 7768-7778.
- 9 Abe K. Therapeutic potential of neurotrophic factors and neural stem cell against ischemic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000, 20(10): 1393-1408.
- 10 Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, et al. Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain. *J Neurosci*, 1997, 17(15): 5820-5829.
- 11 Gage FH, Coates PW, Palmer TD, et al. Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(25): 11879-11883.
- 12 Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, et al. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science*, 1999, 283(5401): 534-537.
- 13 Barde YA, Edger D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J*, 1982, 1(5): 549-553.
- 14 Cheng B, Mattson MP. NT-3 and BDNF protect CNS neurons against metabolic/excitotoxic insults. *Brain Res*, 1994, 640(1-2): 56-67.

巨鹿县痔瘁专科学校招生通知

招生对象:工作5年以上的医生。

教社广字第09号

学习内容:肛肠科痔瘁等7大常见病的无痛治疗技术,引进国外先进技术和自创疗法相结合,病人多不需住院,远期疗效确切。

教学方式:上午授课,下午临床实习,合同教学。

师资:副主任医师刘恒均校长及著名治疗肛肠病专家。

学期学费:学期10天,学费500元,食宿自理,每月1、16日开学,请先联系,经批准后入学。

联系地址:河北省巨鹿县城富强北路痔瘁专科学校,邮编:055250,电话(传真):(0319)4338495,联系人:迟忠禧博士。