

补阳还五汤改善脊髓损伤微环境的研究进展*

邹礼梁, 王 奎, 满夏楠, 陈健尔[△]

(浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: 脊髓损伤的治疗是世界性的难题。传统复方补阳还五汤相对于激素等药物在治疗脊髓损伤方面具有整体改善的优势,能多途径、多靶点改善脊髓损伤部位的微环境。目前补阳还五汤改善损伤脊髓微环境的相关研究主要集中在改善机体自由基水平、抑制谷氨酸的兴奋性神经毒性作用、抑制硫酸软骨素蛋白聚糖和胶质纤维酸性蛋白的表达、上调神经肽 P 物质的表达、减少脊髓损伤后水通道蛋白-4 表达、抑制血小板活化因子受体表达等方面。

关键词: 补阳还五汤; 脊髓损伤; 微环境; 机制

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2016)05-0099-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.05.025

1 脊髓损伤后微环境的改变

全球每年新增 25 万至 50 万脊髓损伤病例^[1]。脊髓损伤后,脊髓微环境遭到严重破坏,出现炎症反应、微循环障碍、脂质过氧化、自由基产生、离子通道中断、轴突脱髓鞘、细胞凋亡等继发性损伤病理过程,庆幸的是继发性损伤可通过干预措施进行补救和逆转^[2]。因此目前大量的研究也主要集中在寻找一种能调控和逆转继发性损伤、促进脊髓损伤修复和重建的有效治疗方法。尽管在治疗脊髓损伤的治疗研究中投入了大量的资源,但收效仍然有限。

2 中药复方补阳还五汤

补阳还五汤(Buyang Huanwu Decoction, BYHWD)源自清代名医王清任的《医林改错·瘫痿论》,对脊髓损伤具有整体治疗的优势,能通过多途径和多靶点的作用机制,抑制多种继发性病理损伤因素,改善损伤脊髓的微环境,促进脊髓损伤的修复和重建^[3]。近年来越来越多的实验研究为补阳还五汤治疗脊髓损伤提供了科学依据。

3 补阳还五汤对受损脊髓微环境的改善作用

3.1 BYHWD 调控机体自由基水平

丙二醛(Malonaldehyde, MDA)是脂质过氧化最

终产物,可直接反映机体自由基水平变化和机体受自由基攻击的严重程度,与脊髓神经功能的损害存在量效关系^[4];当氧自由基过剩时可使血管痉挛,细胞膜破坏,参与脑和脊髓的继发性损伤^[5];超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)是细胞内主要的抗氧化酶和自由基清除剂,其活性可反映机体清除自由基的能力。脊髓损伤后,MDA 增多,而 SOD 作为一种自由基的重要清除酶,其活性出现消耗性降低,二者均参与了继发性脊髓损伤的病理过程^[6-7]。

张辉等^[8]报道 BYHWD 具有增强 SOD 活性、减少一氧化氮的生成和改善微循环的作用,可降低缺血再灌注后氧自由基水平,保护损伤部位组织。Yang SH 等^[9]报道 BYHWD 可增强 SOD 活性,降低 MDA 表达水平,保护雪旺细胞免受自由基的侵害,并可降低细胞内钙离子浓度以及 Caspase 3 的表达,抑制细胞损伤和凋亡,有利于受损脊髓神经纤维的再生。可见, BYHWD 主要是通过下调 MDA 水平、上调 SOD 水平,调控机体自由基水平,达到保护损伤脊髓的作用。

3.2 BYHWD 抑制谷氨酸的兴奋性神经毒性作用

谷氨酸是一种主要存在于动物中枢神经系统

* 基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2012ZA123);浙江省公益性技术应用研究计划项目(2012C33066)

收稿日期: 2016-07-28

作者简介: 邹礼梁(1988-),男,江西赣州人,在读硕士研究生,研究方向:中枢神经系统损伤的治疗。

[△]通信作者: 陈健尔, E-mail: cje28@foxmail.com

的兴奋性神经递质。中枢神经系统受损后,神经细胞外液谷氨酸出现剧增,引起兴奋性神经毒性,诱导细胞凋亡。抑制谷氨酸的兴奋性神经毒性对脊髓损伤部位微环境的改善具有重要意义,能更最大限度地保护神经组织。

张平等^[10]报道 BYHWD 组神经元琥珀酸脱氢酶的活性较空白对照组明显更高 ($P<0.001$),高浓度 BYHWD 组神经元线粒体内琥珀酸脱氢酶的活性较低浓度组明显更高 ($P<0.05$);这表明一定浓度的 BYHWD 可通过抑制谷氨酸的兴奋性神经毒性作用,从而减少谷氨酸对脊髓神经元的破坏作用。李国辉^[11]也报道一定浓度的 BYHWD 可维持脊髓神经元线粒体内的琥珀酸脱氢酶的活性,抑制谷氨酸的兴奋性神经毒性作用。关莉等^[12]发现 BYHWD 可维持组织中谷氨酸受体 2 的表达水平,有利于抑制谷氨酸的兴奋性神经毒性作用,减少神经细胞的凋亡。

3.3 BYHWD 抑制抑制硫酸软骨素蛋白聚糖和胶质纤维酸性蛋白表达

胶质瘢痕是影响脊髓损伤后神经纤维再生修复的重要屏障,其中星形胶质细胞形成的物理屏障和硫酸软骨素蛋白多糖形成的化学屏障是影响轴突生长的重要因素^[13]。减少胶质瘢痕的形成,更限度地为轴突生长提供一个有利的微环境。

硫酸软骨素蛋白聚糖 (Chondroitin sulfate proteoglycans, CSPGs) 是星形胶质细胞分泌的一种重要的细胞外基质^[14];脊髓组织发生损伤后其表达出现升高 (可能与星形胶质细胞的反应性增生有关)^[15];可形成一个抑制中枢神经系统轴突再生的化学屏障。损伤早期抑制星形胶质细胞分泌 CSPGs,能有效降低 CSPGs 对轴突再生的抑制作用^[16]。郑格琳等^[17]报道, BYHWD 可降低脊髓损伤部位胶质瘢痕组织中 CSPG 的表达,减少 CSPGs 在受损部位的堆积,从而减小 CSPG 对轴突生长的抑制作用。但 BYHWD 是通过何种途径或通路抑制的 CSPGs 的表达还未见报道。

胶质纤维酸性蛋白 (Glial Fibrillary Acidic Protein, GFAP) 是星形胶质细胞表达的特异性标志蛋白,是一种中间丝细胞骨架蛋白,脊髓损伤发生后,引起损伤部位的星形胶质细胞反应性增生,GFAP 表达升高,随着时间延长出现 GFAP 堆积形成瘢痕

组织,抑制轴突的生长^[18-19]。陈安和郑格琳等^[20-21]报道, BYHWD 可降低脊髓损伤部位 GFAP 的表达水平,抑制星形胶质细胞的活化和反应性增生,减小脊髓损伤后胶质瘢痕的体积,从而减少瘢痕组织对轴突生长的屏障作用,为神经纤维的修复和轴突再生提供有利的微环境。

3.4 BYHWD 上调神经肽 P 物质的表达

神经肽 P 物质在中枢和周围神经系统均有较广泛的分布,其主要生理功能是感应和防御多种伤害性刺激,维护受损组织的结构和机能。

脊髓损伤发生后,脊髓后角的 P 物质表达水平和活性会出现相应的下降,相应受损组织失去感觉神经的支配^[22-23]。Mei Hua Jiang 团队^[24-25]报道 P 物质可介导和调节脊髓损伤早期阶段的免疫炎症反应,改善脊髓损伤微环境,减少细胞继发性死亡,促进脊髓损伤的修复。因此可以初步认为神经肽 P 物质的表达水平和活性与脊髓损伤的修复是呈正相关的。虞琴等^[26]采用免疫组织化学方法和图像分析检测研究了 BYHWD 对成年 SD 大鼠脊髓损伤后 P 物质表达的影响,结果显示实验组 P 物质的表达水平明显高于对照组 ($P<0.05$),表明 BYHWD 能增加脊髓后角内神经肽 P 物质的表达,对保护脊髓损伤后的感觉神经元具有重要意义。而 BYHWD 联合外源性 P 物质对脊髓损伤的治疗效果如何暂未见报道。

3.5 抑制脊髓损伤后水通道蛋白-4 的表达

水通道蛋白-4 (Aquaporin 4, AQP-4) 主要分布在中枢神经系统毛细血管周边的星形胶质细胞足突等部位,是介导水跨膜转运的重要膜蛋白,与脊髓损伤后脊髓水肿的发生密切相关^[27]。

孙皓等^[28]认为补阳还五汤促进大鼠神经功能的恢复与其抑制大鼠脑出血后 AQP-4 的表达可能存在相关性。王伟等^[29]报道大鼠脊髓损伤后第 1 天,脊髓灰质、白质中 AQP-4 的表达明显增加,第 3 天达到高峰;第 7、14 及 21 天,补阳还五汤治疗组 AQP-4 表达的下降趋势基本与大鼠后肢运动功能的改善趋势呈平行状态,与损伤组比较差异有显著性差异 ($P<0.01$)。这可能是补阳还五汤通过抑制脊髓损伤后 AQP-4 表达,降低脊髓水肿程度,改善脊髓损伤部位的微环境,从而使大鼠神经功能得到恢复。

3.6 BYHWD 抑制血小板活化因子受体表达

血小板活化因子 (Porcine Platelet Activating Factor, PAF) 及其受体广泛存在于神经系统, 是一种重要的炎性介质, 参与脊髓损伤等病理过程, 是脊髓损伤发生后引起和加重继发性脊髓损伤的重要因素之一。张继平等^[30-31]报道 BYHWD 能减少受损脊髓组织中血小板活化因子受体 mRNA 的表达, 抑制血小板活化因子的合成代谢, 发挥生物拮抗效应, 显著降低脊髓损伤大鼠脊髓组织中具有介导炎性损伤作用的血小板活化因子的含量, 减轻脊髓的继发性损伤, 改善大鼠后肢运动功能。姚辉等^[31]报道, 单味黄芪对 PAF 与其受体的特异结合有一定抑制作用, 而黄芪与活血药配伍成补阳还五汤后, 此方与单纯活血药相比, 其拮抗 PAF 受体的作用趋于减弱, 此意为防止活血药攻伐太过, 正体现了传统医学中补阳还五汤“祛瘀而不伤正”的配伍意义。

4 展望

脊髓损伤患者逐年上升, 给患者家庭带来经济负担的同时, 也对社会医疗和护理资源造成损失。为此, 亟待寻找一个安全有效且易推广的治疗方法, 使患者得到最大程度的恢复, 尽可能减少医疗和护理资源的损失。临床上脊髓损伤药物治疗多使用甲基强的松龙注射, 另外甘露醇、兴奋性氨基酸拮抗剂、软骨素酶等药物也被应用于脊髓损伤的治疗^[32]。但这些药物的作用相对局限, 对脊髓损伤整体及长期疗效并不乐观, 需要一种能更全面改善损伤且副作用较小的治疗方案。

目前研究显示补阳还五汤在治疗脊髓损伤方面有确切疗效, 人们对其认识也取得了较大进展。我们对补阳还五汤的研究还可以进一步深化和扩展: (1) 中药复方成分复杂, 对基础性实验带来一定的局限性, 需要更优化的实验方法, 如有学者建议采用“含药血清”进行药效研究; (2) 开展药物研究找出补阳还五汤药效的物质基础, 以期研制出质量保证、药效更佳且服用方便的“补阳还五汤”; (3) 补阳还五汤是祖国经典名方, 具有广泛的药理作用, 但目前的研究主要集中在脑卒中和脊髓损伤等疾病, 其对机体八大系统疾病的防治作用都值得进一步研究。期望通过科学实验和临床研究, 更全面更科学地阐释补阳还五汤的作用机理, 为补阳还五汤

的临床推广应用提供理论依据, 也为补阳还五汤联合现代医学方法治疗脊髓损伤拓展理论空间。

参考文献:

- [1] Von Groote PM, Shakespeare T, Officer A. Prevention of spinal cord injury[J]. Inj Prev, 2014, 20(1): 72-73.
- [2] 董贤慧, 贺小平, 孙淑红, 等. BYHWD 对脊髓损伤大鼠脊髓组织 Bcl-2 和 Bax 表达的影响 [J]. 神经解剖学杂志, 2014, 30(6): 677-682.
- [3] 张继平, 王志彬, 林爱华, 等. 补阳还五汤对脊髓损伤大鼠脊髓组织血小板活化因子含量的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(11): 46-48.
- [4] 王楠, 贾长青. 丙二醛在大鼠继发性脊髓损伤中的表达及其意义[J]. 中外健康文摘, 2012, 9(9): 123-124.
- [5] Hall ED, Wang JA, Bosken JM, et al. Lipid peroxidation in brain or spinal cord mitochondria after injury[J]. J Bioenerg Biomembr, 2016, 48(2): 169-174.
- [6] 郑望苟, 潘卫红, 郭卫春. 脊髓损伤后脊髓自由基和超氧化物歧化酶的动态变化[J]. 中国骨伤, 2004, 17(7): 391-392.
- [7] 隋吉生, 吴小涛, 徐小彬. 红花注射液对脊髓损伤早期自由基影响的实验研究[J]. 中国骨伤, 2007, 20(2): 94-96.
- [8] 张辉, 袁治国, 邵建军. 断肢再植后肢体缺血再灌注损伤模型大鼠与补阳还五汤的干预影响 [J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(36): 5830-5835.
- [9] Yang S, Gao Q, Xing S, et al. Neuroprotective effects of Buyang Huanwu decoction against hydrogen peroxide induced oxidative injury in Schwann cells[J]. J Ethnopharmacol. 2011, 137(3): 1095-1101.
- [10] 张平, 郭洁, 刘恩. 中药补阳还五汤对脊髓神经元的保护作用[J]. 医学信息手术学分册, 2006, 19(4): 10-12.
- [11] 李国辉. 补阳还五汤对谷氨酸体外诱导脊髓神经元损伤大鼠的保护作用研究[J]. 中药研究, 2010, 21(35): 3265-3266.
- [12] 关莉, 刘微, 闰福曼, 等. 补阳还五汤对全脑缺血再灌注不同时点大鼠皮质神经细胞谷氨酸受体 2 表达的影响 [J]. 安徽中医学院学报, 2012, 31(4): 61-64.
- [13] 林扬元, 王玮. 硫酸软骨素蛋白聚糖与脊髓损伤轴突再生[J]. 四川解剖学杂志, 2006, 14(2): 42-44.
- [14] Bradbury EJ, Carter LM. Manipulating the glial scar: chondroitinase ABC as a therapy for spinal cord injury[J]. Brain Res Bull, 2011, 84(4-5): 306-316.
- [15] Lang BT, Cregg JM, DePaul MA, et al. Modulation of the proteoglycan receptor PTPsigma promotes recovery after spinal cord injury[J]. Nature, 2015, 518(7539): 404-408.

- [16] 安俊,段丽,张欲凯,等. CSPGs 在大鼠脊髓损伤后的表达及其与 GFAP 的关系[J]. 现代生物医学进展,2010,10(24):4669-4671.
- [17] 郑格琳,张平,郭洁,等. 补阳还五汤抑制脊髓损伤区内硫酸软骨素蛋白聚糖表达的实验研究[J]. 中华中医药杂志,2009,24(5):678-680.
- [18] Buss A,Brook GA,Kakulas B,et al. Gradual loss of myelin and formation of an astrocytic scar during Wallerian degeneration in the human spinal cord [J]. Brain,2004,127(Pt1):34-44.
- [19] Li Z,Fang ZY,Xiong L,et al. Spinal cord injury-induced astrocyte migration and glial scar formation:effects of magnetic stimulation frequency[J]. Indian J Biochem Biophys, 2010,47(6):359-363.
- [20] 陈安,廖君,熊艾君,等. 补阳还五汤对脊髓损伤后胶质瘢痕及 GFAP 表达的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2007,2(10):570-573.
- [21] 郑格琳,张平,白建琦. 补阳还五汤抑制脊髓损伤区内胶质原纤维酸性蛋白基因表达的实验研究[J]. 中国药理学杂志,2011,46(21):1643-1645.
- [22] 罗文君, 陆婷婷. 神经肽 P 物质与创伤修复的研究进展 [J]. 现代预防医学,2007,34(10):1872-1874.
- [23] Leonard AV,Manavis J,Blumbergs PC,et al. Changes in substance P and NK1 receptor immunohistochemistry following human spinal cord injury [J]. Spinal Cord,2014,52(1):17-23.
- [24] Jiang MH,Lim JE,Chi GF,et al. Substance P reduces apoptotic cell death possibly by modulating the immune response at the early stage after spinal cord injury[J]. Neuroreport,2013,24(15):846-851.
- [25] Jiang MH,Chung E,Chi GF,et al. Substance P induces M2-type macrophages after spinal cord injury[J]. Neuroreport,2012,23(13):786-792.
- [26] 虞琴,陈洪,王敦林. 补阳还五汤对大鼠脊髓损伤后 P 物质表达的影响 [J]. 时珍国医国药,2009,20(6):1500-1501.
- [27] Zhang C,Ma J,Fan L,et al. Neuroprotective effects of safranin in a rat model of traumatic injury to the spinal cord by anti-apoptotic,anti-inflammatory and edema-atenuating[J]. Tissue Cell,2015,47(3):291-300.
- [28] 孙皓,郭富强,王多姿,等. 中药补阳还五汤对脑出血大鼠脑组织水通道蛋白 4 表达的影响[J]. 临床神经病学杂志,2012,25(2):115-118.
- [29] 王伟,谢杰,方坚,等. 补阳还五汤对实验性脊髓损伤大鼠水通道蛋白-4 表达的影响 [J]. 中国康复杂志, 2005,20(1):3-5.
- [30] 张继平,林爱华,李蜀光,等. 补阳还五汤对脊髓损伤大鼠脊髓组织血小板活化因子受体 mRNA 表达的影响[J]. 广州中医药大学学报,2009,26(3):256-259.
- [31] 姚晖,张继平,陈芝喜,等. 补阳还五汤及黄芪体外对家兔血小板活化因子受体活性的影响 [J]. 中医杂志, 2006,47(8):613-615.
- [32] Domingo A,Al-Yahya AA,Asiri Y,et al. A systematic review of the effects of pharmacological agents on walking function in people with spinal cord injury [J]. J Neurotrauma,2012,29(5):865-879.

(编辑:徐建平)

Research Progress of Buyang Huanwu Decoction to Improving Microenvironment of Injured Spinal Cord

ZOU Liliang, WANG Kui, MAN Xianang, CHEN Jianer
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: The treatment of spinal cord injury is a worldwide problem. Chinese traditional compound Buyang Huanwu decoction with respect to hormones and other drugs in the treatment of spinal cord injury get the advantage of the overall improvement, such as multi-channel and multi-target improve microenvironment of the injured spinal cord. The Buyang Huanwu Decoction improve micro environment of the injured spinal cord research mainly focus on improving the level of free radicals, inhibiting the glutamate excitotoxicity, inhibiting the expression of chondroitin sulfate proteoglycans and glial fibrillary acidic protein expression, up regulating the neuropeptide substance P, decreasing the aquaporin-4 expression after spinal cord injury and inhibiting the platelet activating factor receptor expression.

KEY WORDS: Buyang Huanwu decoction; spinal cord injury; microenvironment; mechanism