

[文章编号] 1006-2440(2017)02-0136-03

茵陈对神经细胞保护机制的研究现状和进展 *

艾 力, 张 奕, 吴小海, 杨应浩

(广州新海医院耳鼻喉科, 广东 510300)

[摘要] 茵陈的有效成分具有消炎、利胆、抗菌、止痛等多种药理学作用, 临床多用于治疗各种黄疸性疾病, 实验发现茵陈对神经细胞具有保护作用, 尤其对高胆红素介导的神经细胞损害具有多靶点的保护机制, 在耳科学的临床应用具有潜在价值, 本文就国内相关研究现状及进展做一综述。

[关键词] 茵陈; 神经细胞; 保护机制; 胆红素; 听觉中枢损害

[中图分类号] R285.6

[文献标志码] B

茵陈系菊科蒿属植物滨蒿或茵陈蒿的地上干燥部分^[1], 含有香豆素、黄酮、色原酮、有机酸、烯炔、三萜、甾体、醛酮和挥发油等多种化学成分^[2], 具有保肝利胆、抗微生物、消炎止痛、降压降脂、增强免疫、细胞保护、抗肿瘤等多方面的作用^[3], 临床多用于治疗各种病因引起的黄疸型肝炎、新生儿黄疸等疾病。近年来实验发现, 茵陈中的有效成份对神经细胞具有保护作用, 尤其对高胆红素介导的神经细胞损害具有多靶点的保护机制, 这可能为茵陈在耳科学的临床应用提供新的方向, 特别是在高血红素血症引起的听觉中枢损害方面具有潜在价值, 因此现将相关的研究进展综述如下, 为进一步研究提供参考。

1 茵陈对神经细胞的保护作用

1.1 保护膜突触 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶广泛存在于真核细胞膜表面, 在中枢神经系统密度尤高, 具有逆梯度转运离子、维持细胞膜电位、维持细胞内外水平衡及信号传导等多种作用, 是神经细胞电冲动传导、膜突触递质释放的关键物质^[4]。神经细胞突触膜上约含 20% 的神经节苷脂和神经鞘磷脂, 当具有高亲脂性的游离胆红素进入中枢后, 即与这两种物质结合而沉积, 降低突触膜 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性, 导致突触膜静息电位和动作电位下降, 降低神经传导性^[5-6]。 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性下降后, 还导致谷氨酸重吸收机制障碍, 引起突触间隙内的谷氨酸大量积聚, 过量的谷氨酸与 N-甲基-D 天冬门氨酸受体结合, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 通道开放, 细胞内 Ca^{2+} 超载、水分子内流, 引起细胞膜肿胀甚至破裂等一系列病理改变, 最终产生神经系统损害^[7-8]。刘妮等^[9]用胆红素处

理大鼠后, 大鼠脑组织内 ATP 酶活性明显下降、皮层组织形态发生改变, 同时出现神经行为学异常, 而用茵栀黄注射液保护后能明显改善大鼠神经行为学异常, 减少脑内 ATP 酶活性降低和脑皮层组织形态异常, 说明茵陈提高膜突触 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性, 是保护神经细胞的机制之一。

1.2 减少转录因子 NF- κ B 的内移和活化 NF- κ B 是一种广泛存在于细胞中的核转录调节因子, 在细胞增殖与凋亡、炎症及应激反应、免疫应答中起着重要的信号传递和调控作用, 其作为早期核转录因子, 可直接被多种刺激因素激活, 包括致炎症因子、肿瘤坏死因子、细菌脂多糖、病毒感染、氧自由基、物理化学刺激等^[10-12]。胆红素作用于神经细胞后, 引起 NF- κ B 向核内转移、活化, 引起一系列生物效应^[13], 包括 IL-1、IL-6、TNF- α 等细胞因子的表达和释放, 引起炎症反应和细胞凋亡; 加强黏附分子(CAM)的表达, 使炎症反应过度活化, 导致细胞损伤加重和死亡的加速; 正向调控诱发型一氧化氮合酶(iNOS)产生大量的 NO, 导致神经细胞的水肿、缺血、低氧甚至坏死^[14-15]。上述各种炎症因子又可以进一步逆向活化 NF- κ B, 形成级联放大效应, 最终导致神经系统不可逆损害。张奕等^[16]通过制备高胆红素神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)模型, 予以茵陈水提物干预后, 发现 NF- κ B 主要分布于细胞浆中, 向核内转移减少, 间接说明茵陈可以通过减少 NF- κ B 内移及活化起到保护神经细胞的作用。

1.3 减少炎症因子 IL-1、TNF- α 的表达与合成 中枢神经系统内的锥形细胞、颗粒细胞、神经元、小胶质细胞, 星形胶质细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞均

* [基金项目] 广东省中医药局科研项目(20171160)。

有表达和合成 IL-1、TNF- α 等炎症因子的功能^[17]。当神经细胞受到各种理化刺激后,引起 IL-1、TNF- α 的表达与合成增加并引起一系列生物效应:(1)以 IL-1 β 为主的炎症因子介导由于 NMDA 受体兴奋所致的神经元损伤,而且 IL-1 β 使磷脂酶 A2 增多,膜磷脂过度降解,直接引起细胞膜损伤,同时增加兴奋性氨基酸、一氧化氮、花生四烯酸及自由基等神经毒物的释放和产生;(2)炎症细胞如中性粒细胞、巨噬细胞等受到趋化及活化作用,促进其黏附、吞噬、脱颗粒及释放蛋白酶,加重神经细胞的损伤、坏死^[18-19]。(3)TNF- α 可与细胞表面的 TNFR 结合,向细胞内传递死亡信号,诱发细胞凋亡,同时,TNF- α 亦具有活化一氧化氮合酶与黏附因子的作用^[20]。李培育等^[21]在大鼠模型中发现茵陈蒿提取物对大鼠脑出血具有治疗作用,可能的机制为抑制细胞 IL-1、TNF- α mRNA 的表达,减轻炎症因子的生物效应,避免过度炎症反应,达到保护神经系统的目的,并且具有浓度及时间的依赖性。

1.4 阻断线粒体介导的凋亡通路 线粒体途径是细胞凋亡的重要途径之一,是凋亡的上游途径和 Caspase 途径以及其他下游死亡途径相互作用的中心环节^[22]。韩张等^[23]实验发现,胆红素作用于神经细胞后,1h 即出现线粒体内外膜电位差(MMP)的下降,而此时细胞形态尚未见任何改变。表明:(1)胆红素诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡需要线粒体的参与;(2)MMP 可以作为一个早期监测胆红素损伤神经细胞的较灵敏指标。MMP 是由位于线粒体内膜的质子泵活动产生并维持,MMP 下降是细胞凋亡的特征性标志。导致 MMP 下降的原因可能包括胆红素及胞质内 Bax 蛋白内作用在线粒体膜表面引起 MPTP 开放,引起线粒体膜通透性增加,使 Cyt-c 等凋亡蛋白向胞质释放、线粒体基质内外离子动态流动,导致内膜肿胀、膜电位下降,MPTP 进一步开放,最终内膜破裂,更多的凋亡蛋白释放到胞质内^[24]。一方面,内膜电位下降和破裂、Cyt-c 和 Ca²⁺外流,使线粒体内呼吸链电子传递中断,ATP 合成停止,还原性谷胱甘肽和 NADH 减少,导致细胞凋亡,另一方面,Cyt-c 释放后在 dATP 的参与下,与凋亡蛋白激活因子(A-paf-1)和 Caspase-9 前体结合凋亡复合体,激活 Caspase-9,进一步激活 Caspase-3 等,激活的 Caspase 作用于细胞骨架蛋白导致细胞 DNA 修复功能丧失、

核酸内切酶激活和 DFA 片段化等细胞凋亡的改变,同时,凋亡诱导因子(AIF)通过促进线粒体释放 Cyt-c 而增强细胞凋亡的信号,并可快速激活核酸内切酶^[25]。茵陈干预高胆红素神经母细胞瘤细胞模型后,通过 JC-1 检测发现神经母瘤细胞细胞内线粒体 MMP 较对照组升高,说明茵陈具有线粒体膜稳定性,并维持 MMP,可能在阻断线粒体凋亡通路中起到一定作用^[16]。

1.5 抗自由基作用 神经细胞在炎症反应过程中,花生四烯酸代谢产物及线粒体内物质的释放均可产生大量的自由基,自由基不仅直接破坏细胞的脂质膜,还参与激活炎症细胞和因子,加速细胞损伤和凋亡。实验发现,茵陈主要成分之一绿原酸具有较高的抗氧化活性^[26],绿原酸可直接保护受过氧化物损害的内皮细胞^[27],提高肝细胞的抗氧化能力^[28]。张静等^[29]应用茵陈五苓散喂养阿尔兹海默病(Alzheimer disease, AD)模型大鼠,发现能提高 AD 小鼠的学习记忆成绩,降低脂质过氧化代谢产物 MDA 的含量,提高 GSH-Px 酶活力,表现出抗过氧化损伤,保护脑组织的作用。

2 结语

在临床耳科学中,新生儿高胆红素血症导致耳聋是常见疾病,因非结合胆红素透过血脑屏障进入中枢,造成听觉中枢神经系统损害,引起听力下降、耳聋等严重后遗症,严重影响新生儿成长发育、智力水平及日后的学习生活,临床使用茵陈治疗新生儿黄疸^[30],但茵陈与高胆红素耳聋之间作用尚无相关研究,现有资料表明,茵陈对高胆红素引起的神经细胞损害确有保护作用,深入研究其具体机制对茵陈在耳科学中的应用具有潜在的研究价值和实用价值,但茵陈所含成分复杂,作用机制多样性大,目前的实验仍较浅显,因此仍需对茵陈各成分及高胆红素耳聋之间相互作用机制进行深入细致的研究。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].8 版.北京:化学工业出版社,2005:166.
- [2] 孟繁钦,吴宜艳,雷涛,等.茵陈的药理作用及临床应用进展[J].牡丹江医学院学报,2009,30(1):46-48.
- [3] 董岩,王新芳,崔长军,等.茵陈蒿的化学成分和药理作用

- 研究进展[J].时珍国医国药,2008,19(4):874-876.
- [4] Lingrel JB. The physiological significance of the cardiotonic steroid/ouabain-binding site of the Na,K-ATPase[J]. Annu Rev Physiol,2010,72(10):395-412.
- [5] 陈培培,郭维维,李琦,等.高胆红素血症对听神经病的致病机制[J].中华耳科学杂志,2012,10(1):130-133.
- [6] 李云珠,夏振炜.新生儿黄疸及胆红素脑病发病机理的研究进展[J].中华实用儿科杂志,1997,12(2):73-75.
- [7] 何斯纯,刘文勤,周丽丽,等.高胆红素血症大鼠脑干听觉诱发电位与脑组织 NO 含量及 Na⁺-K⁺ATP 酶活性的变化[J].中国病理生理杂志,2008,24(6):1101-1105.
- [8] Danbolt NC, Hansen TW, Oyasoeter S, et al. In vitro binding of [3H]bilirubin to neurons in rat brain sections [J]. Bio Neonate, 1993, 63(1):35-39.
- [9] 刘妮,徐君,李华娇,等.茵栀黄注射液对新生大鼠胆红素脑损伤的保护作用[J].暨南大学学报:自然科学与医学版,2011,32(6):589-592.
- [10] 林青,朱玲.NF-κB/IκB 信号通路在基因调控中作用的研究进展[J].国际检验医学杂志,2007,28(6):539-542.
- [11] 黄红梅,徐勇.NF-KB 信号通路与小泛素相关修饰物的研究进展[J].医学综述,2008,14(20):3047-3049.
- [12] Oeckinghaus A, Ghosh S. The NF-kappa B family of transcription factors and its regulation[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2009, 1(4):a000034.
- [13] 朱叶芳,党姗姗,汤磊,等.芍药苷对胆红素诱导海马神经元凋亡及核因子-κB 活性的影响[J].重庆医科大学学报,2011,36(8):917-920.
- [14] 鲍华燕,严君,李珂,等.脂氧素 A4、保护素 D1、ResolinD1 抑制多种激动剂引起的 NFkB 的活化[J].药学实践杂志,2012,30(3):185-188.
- [15] 李基民,权正学,刘渤.核转录因子-κB 信号途径与急性脊髓损伤继发伤的研究进展[J].创伤外科杂志,2009,11(1):85-87.
- [16] 张奕,梁勇,李鹏,等.茵陈水提物对胆红素诱导神经母瘤细胞凋亡实验研究[J].中华耳科学杂志,2015,13(1):151-155.
- [17] 刘立峰,刘玉和,沈维高,等.白细胞介素-1 的结构、来源、分布、功能及其与疾病的关系[J].北华大学学报:自然科学版,2006,7(5):416-423.
- [18] Barone FC, Feuerstein GZ. Inflammatory mediators and stroke: new opportunities for novel therapeutics[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1999, 19(8):819-834.
- [19] Bestué-Cardiel M1, Martín-Martínez J, Iturriaga-Heras C, et al. Leukocytes and primary intracerebral hemorrhage[J]. Rev Neurol, 1999, 29(10):968-971.
- [20] Gong C, Hoff JT, Keep RF. Acute inflammatory reaction following experimental intracerebral hemorrhage in rat [J]. Brain Res, 2000, 87(1):57-65.
- [21] 李培育,和梅,左寒璐.茵陈蒿水提液对脑出血大鼠 TNF-α,IL-1β 表达的研究[J].黑龙江医药科学,2014,37(2):55-56.
- [22] 王佺荃,张文丽,元小冬,等.线粒体在细胞凋亡中的作用[J].中国医学创新,2015,12(6):143-146.
- [23] 韩张,胡萍,倪道凤.胆红素诱导神经细胞凋亡及对其线粒体膜电位的影响—胆红素对中枢神经细胞损伤机理的研究[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2002,37(4):243-246.
- [24] Rance G, Beer DE, Cone-Wesson B, et al. Clinical findings for a group of infants and young children with auditory neuropathy[J]. Rance G, 1999, 20(3):238-252.
- [25] Harris MH, Thompson CB. The role of the Bcl-2 family in the regulation of outer mitochondrial membrane permeability[J]. Cell Death Differ, 2000, 7(12):1182-1191.
- [26] 童珊珊,徐亚萍,金花,等.绵茵陈提取液中绿原酸的测定及其抗氧化活性研究[J].江苏中医药,2009,41(4):57-59.
- [27] 卞合涛,王晔,龚黎民,等.绿原酸对过氧化氢诱导内皮细胞凋亡的保护作用[J].中国药理学通报,2010,26(12):1587-1590.
- [28] 曲娴,李冰,曲宏,等.茵陈蒿提取物对高脂高糖饲养致脂肪肝大鼠抗氧化能力和肝功能的[J].北华大学学报:自然科学版,2007,8(4):306-308.
- [29] 张静,史宏,刘美莲,等.茵陈五苓散对阿尔茨海默病模型小鼠学习记忆及脑组织抗氧化能力的影响[J].贵阳医学院学报,2009,31(2):31-33.
- [30] 钱建青,凌万里,周剑峰,等.茵陈颗粒治疗新生儿高胆红素血症效果分析[J].中国新生儿科杂志,2014,29(2):102-105.

[收稿日期] 2017-02-17