

中药改善脊髓微环境修复血-脊髓屏障的机制研究进展

周逸敏^{1*} 李宗洋^{1*} 许翰勋¹ 罗联忠² 张俐^{2,3△}

[关键词] 中药;脊髓损伤;微环境;血-脊髓屏障;综述

[中图分类号] R681.5 [文献标志码] A [文章编号] 1005-0205(2023)09-0080-04

DOI:10.20085/j.cnki.issn1005-0205.230917

脊髓损伤(Spinal Cord Injury, SCI)后脊髓微环境发生紊乱,血-脊髓屏障(Blood-Spinal Cord Barrier, BSCB)的结构也随之破损,血管中生物大分子物质即可进入脊髓实质,引发继发性脊髓损伤^[1-3]。随着现代中医药的应用与发展,已有多项研究表明中药对调节脊髓微环境具有独特优势,中药能通过改善脊髓损伤后的脊髓水肿、氧化应激反应、缺血、缺氧、炎症反应、细胞凋亡等方面促进血-脊髓屏障修复。因此,笔者通过探讨中药对脊髓微环境以及修复血-脊髓屏障作用机制的影响,以期为临床治疗脊髓损伤提供理论基础。

1 现代医学对血-脊髓屏障和脊髓损伤的认识

血-脊髓屏障主要由内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞和一些附属结构组成,是脊髓组织和微血管之间物质交换的重要生物屏障,与脊髓微环境关系密切。脊髓微环境主要是指脊髓组织细胞的正常代谢和功能活动的环境,由神经细胞、胶质细胞、免疫细胞、各种细胞因子以及局部的血供、氧浓度、pH值、离子浓度等构成,是一个复杂的综合体^[4-5]。脊髓损伤后会引发一系列的生化级联反应,导致损伤局部的微环境出现失衡,抑制因子被激活,促进因子被抑制^[6],脊髓微环境中的一些脊髓组织细胞异常表达,导致炎症反应、神经细胞凋亡,影响脊髓功能恢复^[7]。血-脊髓屏障被破坏主要表现在血管内皮细胞(Endothelial Cells, ECs)的胞吞与胞吐速度加快^[8],以及紧密连接蛋白

(包括 Occludin、ZO-1、Claudin-5)发生不同程度的修饰与降解,导致数量锐减^[9]。同时,作为血-脊髓屏障组成成分的星形胶质细胞和小胶质细胞不断分泌大量促炎因子^[10],致使血-脊髓屏障的通透性增高,脊髓微环境中水电解质平衡紊乱,进而加重脊髓损伤的继发性损伤。对于出现损伤后如何改善脊髓微环境,尽快重建血-脊髓屏障,已成为治疗脊髓损伤成功与否的关键因素。

2 中药调控脊髓微环境的相关作用机制

中医药因其整体观念、辨证论治的特性,在改善脊髓微环境、对血-脑屏障、血-脊髓屏障的调控中有着独特优势。此外,中医学中督脉与脊柱相关理论有着紧密联系,脊髓损伤后由于血管内外渗透压和血管形态结构的改变等导致微血管通透性增加、组织血流量降低,形成组织水肿及缺血坏死^[11-12],而对于督脉则主要体现为“血瘀”。中医对于本病的治疗遵循活血化瘀、益气通督的原则^[13],如重用黄芪,辅以活血化瘀通络之药物是中医学运用益气活血之法治疗脊髓损伤的总体思路^[14]。气为血之帅,血为气之母,气盛则能行血,血活则能养脉通督,以此达到活血化瘀、益气通督的目的^[15]。

脊髓所在的脊柱区对应中医经络体系中的督脉,在经络循行体系中,督脉的循行与六阳经相连,故称督脉为阳脉之海、诸阳之会,具有统摄元阳、振奋阳经之功能,主司一身阳气,上下贯通脊髓。《杂病源流犀烛》提到“脊痛,督脉病也……脊髓空则痛”,说明督脉和脊髓相互影响,督脉损伤进而影响到六阳经的功能,手、足三阳经均与督脉交会,伤及六阳经则导致皮肉筋脉骨节失于濡养,出现肢体关节的痿软无力、活动不畅以及相关脏腑功能的紊乱。跌扑损伤等外界暴力可导致脊柱、脊髓受损,伤其脊骨是表象,损其督脉是实质,“从督论治”一直是中医辨证论治脊柱相关疾病的重要切入点^[16]。

基金项目:国家自然科学基金项目(82074474)

国家新世纪百千万人才基金项目(NECT-09-0013)

¹ 长春中医药大学(长春,130117)

² 厦门医学院

³ 福建生物工程职业技术学院

△通信作者 E-mail:ZHANGLIL626@163.com

* 共同第一作者

2.1 改善脊髓水肿情况

脊髓损伤后原发性损伤不仅会破坏神经元和神经纤维,同时会导致一系列的脊髓血管病变,引发脊髓出血、水肿以及髓内压的升高,使脊髓内微循环障碍加剧,造成脊髓局部组织液化坏死。与此同时,损坏的血管容易破坏血-脊髓屏障的通透性,导致脊髓血肿等进一步的继发性损伤。因此,脊髓损伤早期改善脊髓水肿,修复血-脊髓屏障,对保护脊髓神经、减轻继发性病理损伤有重要意义。

早在 1970 年代,Griffiths 等^[17]指出血-脊髓屏障的改变与脊髓水肿的形成有密切联系,而脊髓中的水通道蛋白(Aquaporin 4, AQP4)作为一种疏水性蛋白质分子,广泛存在于哺乳动物各个系统细胞膜上,其中枢神经系统中的表达极为丰富,且在脊髓组织中表达最高,与血-脊髓屏障的发育和水肿紧密相关^[18-19]。有研究发现敲除水通道蛋白基因的小鼠在脊髓损伤后,脊髓水肿消退快,感觉和运动功能也恢复更佳,说明水通道蛋白与脊髓水肿以及血-脊髓屏障的通透性密切相关^[20]。朱双龙等^[21]将不同浓度的柴胡皂苷 a (Saikosaponina, Ssa) 注入急性脊髓损伤的大鼠模型中,观察其药效情况,发现柴胡皂苷 a 能抑制核因子- κ B (Nuclear Factor-Kappa B, NF- κ B) 信号通路和水通道蛋白的表达,从而减轻脊髓组织水肿和脊髓损伤后的神经凋亡。曾欢欢等^[22]通过对 Allen 法制作的大鼠脊髓损伤模型进行干湿重法测量脊髓组织含水量,以及使用 Evans Blue 染色法检测血-脊髓屏障的通透性,证实大黄素能下调脊髓损伤后水通道蛋白的表达,减轻大鼠脊髓损伤后的脊髓组织水肿情况,改善血-脊髓屏障通透性,从而推进脊髓损伤后的康复。姜黄素同样被证实具有减轻脊髓水肿、改善运动功能的作用^[23],其机制可能是通过下调胶质纤维酸性蛋白和水通道蛋白的过度表达,并对 JAK/STAT 信号通路异常激活发挥抑制作用。

2.2 抑制氧化应激反应

在体内的中枢神经系统中,存在着大量的多不饱和脂肪酸进行快速的氧化代谢活动,并产生活性氧(ROS)代谢物及相对较低的抗氧化能力,使得中枢系统的神经元以及胶质细胞易被氧化,加速细胞的衰老和凋亡,这种氧化与抗氧化作用失衡的情况称为氧化应激反应。因此,如何抑制氧化应激反应,改善脊髓微环境,对脊髓损伤的预后极为关键。

据此,有研究发现姜黄素能够清除自由基,从而提高机体抗氧化能力以及保护神经的作用^[24]。Yu 等^[25]通过实验发现,姜黄素明显提升了压缩性脊髓损伤后脊髓组织中血红素加氧酶-1 (Heme Oxygenase-1, HO-1) 的表达,抑制 TNF- α 和 NF- κ B 增长,并且

Evans Blue 的渗入也显著减少,提示姜黄素能够抑制受损脊髓中的氧化应激反应,减轻炎症,保护血-脊髓屏障的稳定性。虎杖苷是中药虎杖中的重要提取成分,有研究证实其具有抗氧化、抗炎以及改善微循环等功效^[26]。祝志强等^[27]将 54 只雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、急性脊髓损伤组及虎杖苷组,每组进行相应干预后,与脊髓损伤组比较,发现使用虎杖苷腹腔注射的大鼠脊髓中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、COX-2、IL-6 及 TNF- α 蛋白含量显著下降,神经元数量和神经突起较脊髓损伤组明显增多,同时,脊髓水肿情况以及中性粒细胞浸润也明显改善,说明虎杖苷能通过抑制脊髓损伤后的氧化应激反应和相关炎症反应,进而改善脊髓微环境。

2.3 改善脊髓微循环

脊髓损伤后不仅会导致脊髓局部缺血缺氧,还将造成血-脊髓屏障通透性被破坏,并且缺血再灌注后会增加脊髓水肿以及炎症的发生,从而加剧脊髓神经组织的损伤,因此,探索如何改善脊髓微循环、保护血-脊髓屏障的完整性可能有助于脊髓损伤修复。

血小板活化因子(Platelet Activating Factor, PAF)是一种能够调节免疫和神经系统的磷脂类活性物质^[28],脊髓损伤发生时,血小板活化因子升高并刺激血小板产生微循环障碍,局部血流量减少,形成血栓,导致脊髓缺血、缺氧等,这些都会破坏血-脊髓屏障。齐英娜等^[29]通过观察补阳还五汤对大鼠脊髓损伤后脊髓组织中血小板活化因子的作用,发现补阳还五汤组和甲强龙组的血小板活化因子含量差异无统计学意义,且明显低于模型组,两组的 BBB 评分亦明显高于模型组,说明补阳还五汤可能通过抑制脊髓组织中血小板活化因子的表达,修复血-脊髓屏障的生物屏障功能,进而促进脊髓损伤后的功能恢复。单强辉等^[30]通过构建大鼠的急性上颈脊髓损伤模型,发现醒髓汤亦能够抑制血小板活化因子在受损模型脊髓组织中的表达,促进四肢的康复。内皮素-1 (Endothelin-1, ET-1) 是一种广泛分布于正常脊髓组织中的神经递质,同时作为强有力的缩血管因子,对脊髓微循环血流的调节发挥着重要作用,并且与血-脊髓屏障的通透性密切相关^[31]。马维等^[32]观察证实,使用腰痹通胶囊给脊髓损伤模型大鼠每日两次灌胃,并于 24 h、2 d、5 d 后观察脊髓束组织中内皮素-1 含量,发现损伤脊髓组织中内皮素-1 显著降低,提示腰痹通胶囊可能具有扩张血管、增加血流量以及降低血液黏度的功效,从而改善了脊髓微环境,对脊髓损伤有一定的保护作用。赵晶等^[33]则通过临床研究发现,补肾健髓汤明显降低了脊髓损伤患者脊髓组织中 ET-1、TXA₂ 和 ICAM-1 含量,改善脊髓损伤患者脊髓微循环以及抑制炎症反应,

有利于恢复神经功能。

2.4 抑制炎症反应

脊髓损伤后大量炎性细胞入侵脊髓,扰乱脊髓微环境,血-脊髓屏障被严重破坏,导致永久性的神经残疾。这一系列炎症因子不仅会损伤神经细胞,还会进一步损害周围脊髓组织,加重继发性脊髓损伤。而改善血-脊髓屏障功能可显著减轻继发性神经损伤,说明抑制脊髓周围炎症反应、重建血-脊髓屏障是治疗脊髓损伤的关键。

陈剑平等^[34]研究发现,芍药苷能够抑制 IKK/NF- κ B 信号通路的异常激活,下调脊髓组织损伤区 TNF- α 、白介素细胞-1(IL-1)、白介素细胞-18(IL-18)的表达,说明芍药苷可能通过抑制炎症反应、减少细胞凋亡,多途径、多靶点治疗脊髓损伤。丹参酮 II A 作为丹参的主要提取物,Yin 等^[35]发现其亦能通过抑制 NF- κ B 和 MAPK 信号通路,减少炎性细胞的产生、抑制细胞凋亡,改善了脊髓损伤后的运动功能。藏红花素^[36]作为中药的一种成分,同样有抗炎、抗氧化以及保护神经的作用,不仅能加速神经突的生长能力,并且逆转了硫酸软骨素以及 NogoA 对神经突生长的遏制作用,通过修复神经元的联系,促进脊髓损伤后功能的恢复。Kim 等^[37]通过实验证实,人参皂苷 Rg₃明显降低了损伤脊髓中炎症因子(TNF- α 、IL-1 及 IL-6)的含量,减轻了脊髓损伤后环氧合酶 2 和 iNOS 的过度表达,并且对小胶质细胞的异常活化有明显抑制作用,说明人参皂苷 Rg₃同样能通过抗炎和抗神经元凋亡的方式,减少脊髓组织损伤,可能是脊髓损伤的潜在治疗剂。

2.5 中药调控其他细胞因子对脊髓微环境的影响

脊髓损伤后出血引发继发性微环境的变化,最终导致脊髓神经损伤和功能障碍,而在损伤早期通过促进紧密连接的表达以及抑制胶质瘢痕形成等手段进行干预,对继发性损伤引起的脊髓神经恢复同样可以起到较好的作用。

Yu 等^[25]通过 HO-1/ROS 信号传导增加紧密连接蛋白表达的方式,证实姜黄素能够恢复脊髓损伤后 occludin 和 ZO-1 蛋白水平,说明姜黄素不仅有减轻脊髓水肿^[16]和抗氧化的作用,还能通过修复紧密连接蛋白进而改善血-脊髓屏障的结构完整性,对脊髓损伤发挥治疗作用。另有研究发现^[38],冬虫夏草中的 WIB-801C 不仅能抑制 MMP-9 活性来减轻对连接蛋白的损坏,还能抑制神经元的凋亡,从而改善脊髓损伤后的感觉运动功能,证实 WIB-801C 能够通过减轻脊髓损伤后炎症对血-脊髓屏障的破坏,改善功能的恢复。

3 结语与展望

由于中药具有多途径、多靶点、多环节以及双向调

节的作用,其对脊髓微环境的调节很可能通过多靶点分子网络调控起作用,本文通过上述分析,证明中药可以多种方式干预继发性脊髓损伤的进展。不过现阶段对于脊髓微环境涉及复杂的基因与蛋白质表达调控和代谢物谱调节尚未完全明确,若能运用多组学联合分析为基础的系统生物学方法来厘清各通路/靶点的相互关联,则有望更全面地探究中药调节脊髓损伤微环境的途径和机制。

参考文献

- [1] FAN B, WEI Z, FENG S. Progression in translational research on spinal cord injury based on microenvironment imbalance[J]. Bone Res, 2022, 10(1):35.
- [2] YUE Y, ZHAO J, LI X, et al. Involvement of Shh/Gli1 signaling in the permeability of blood-spinal cord barrier and locomotion recovery after spinal cord contusion[J]. Neurosci Lett, 2020, 728:134947.
- [3] ZHANG J, LIU H, DU X, et al. Increasing of blood-brain tumor barrier permeability through transcellular and paracellular pathways by microbubble-enhanced diagnostic ultrasound in a C6 Glioma model[J]. Front Neurosci, 2017, 11:86.
- [4] REN Y, AO Y, O'SHEA T M, et al. Ependymal cell contribution to scar formation after spinal cord injury is minimal, local and dependent on direct ependymal injury[J]. Sci Rep, 2017, 7:41122.
- [5] LIDDELOW S A, GUTTENPLAN K A, CLARKE L E, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia[J]. Nature, 2017, 541(7638):481-487.
- [6] FAN B, WEI Z, YAO X, et al. Microenvironment imbalance of spinal cord injury[J]. Cell Transplant, 2018, 27(6):853-866.
- [7] AYLOO S, LAZO C G, SUN S, et al. Pericyte-to-endothelial cell signaling via vitronectin-integrin regulates blood-CNS barrier[J]. Neuron, 2022, 110(10):1641-1655.
- [8] NAG S, MANIAS J L, STEWART D J. Expression of endothelial phosphorylated caveolin-1 is increased in brain injury[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2009, 35(4):417-426.
- [9] BRIGHTMAN M W, ZIS K, ANDERS J. Morphology of cerebral endothelium and astrocytes as determinants of the neuronal microenvironment[J]. Acta Neuropathol Suppl, 1983, 8:21-33.
- [10] CAI X J, ZHAO J J, LU Y, et al. The microenvironment following oxygen glucose deprivation/re-oxygenation-induced BSCB damage in vitro[J]. Brain Res Bull, 2018, 143:171-180.
- [11] SHARMA H S. Early microvascular reactions and blood-spinal cord barrier disruption are instrumental in pathophysiology of spinal cord injury and repair; novel therapeutic strategies including nanowired drug delivery to

- enhance neuroprotection[J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2011,118(1):155-176.
- [12] WINKLER E A, SENGILLO J D, SAGARE A P, et al. Blood-spinal cord barrier disruption contributes to early motor-neuron degeneration in ALS-model mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014,111(11):E1035-E1042.
- [13] 范筱, 吴杨鹏, 张俐. 张俐应用活血通督汤加减治疗腰椎间盘突出突出症的临证经验[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(10):4054-4057.
- [14] 吴杨鹏, 范筱, 张俐. 张俐教授运用活血通督汤治疗脊髓型颈椎病的经验介绍[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2016, 24(8):68-70.
- [15] 汪今朝, 范筱, 张俐. 活血通督汤对脊髓损伤后胶质瘢痕形成的影响[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017, 25(8):1-5.
- [16] 罗联忠, 周逸敏, 张俐. 基于督脉枢机不利探讨脊髓损伤与血脊髓屏障[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(8):4515-4518.
- [17] GRIFFITHS I R, MCCULLOCH M, CRAWFORD R A. Ultrastructural appearances of the spinal microvasculature between 12 hours and 5 days after impact injury[J]. *Acta Neuropathol*, 1978, 43(3):205-211.
- [18] ASSENTOFT M, LARSEN B R, MACAULAY N. Regulation and function of AQP4 in the central nervous system[J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(12):2615-2627.
- [19] SHIBUYA S, HARA H, WAKAYAMA Y, et al. Aquaporin 4 mRNA levels in neuromuscular tissues of wild-type and dystrophin-deficient mice[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2008, 215(4):313-319.
- [20] MOE S E, SORBO J G, SOGAARD R, et al. New isoforms of rat Aquaporin-4[J]. *Genomics*, 2008, 91(4):367-377.
- [21] 朱双龙, 陈旭义, 段会全, 等. 柴胡皂苷 a 影响大鼠急性脊髓损伤后机体炎症水平表达的实验研究[J]. *天津医科大学学报*, 2017, 23(4):300-303.
- [22] 曾欢欢, 黄英如, 李子健, 等. 大黄酒对大鼠急性脊髓损伤后继发脊髓水肿的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2018, 24(4):378-384.
- [23] ZU J, WANG Y, XU G, et al. Curcumin improves the recovery of motor function and reduces spinal cord edema in a rat acute spinal cord injury model by inhibiting the JAK/STAT signaling pathway [J]. *Acta Histochem*, 2014, 116(8):1331-1336.
- [24] LEE S, CHO D C, HAN I, et al. Curcumin as a promising neuroprotective agent for the treatment of spinal cord injury: a review of the literature[J]. *Neurospine*, 2022, 19(2):249-261.
- [25] YU D S, CAO Y, MEI X F, et al. Curcumin improves the integrity of blood-spinal cord barrier after compressive spinal cord injury in rats[J]. *J Neurol Sci*, 2014, 346(1/2):51-59.
- [26] ZHOU Q L, QIN R Z, YANG Y X, et al. Polydatin possesses notable anti-osteoporotic activity via regulation of OPG, RANKL and β -catenin[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(2):1865-1869.
- [27] 祝志强, 李佳, 孙晴, 等. 虎杖苷对急性脊髓损伤大鼠氧化应激反应和炎症反应影响[J]. *临床军医杂志*, 2018, 46(4):435-438.
- [28] WANG Y, GAO Z, ZHANG Y, et al. Attenuated reactive gliosis and enhanced functional recovery following spinal cord injury in null mutant mice of platelet-activating factor receptor[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(5):3448-3461.
- [29] 齐英娜, 谭明生, 王延雷, 等. 补阳还五汤对大鼠急性上颈脊髓损伤后血小板活化因子的影响[J]. *中国骨伤*, 2018, 31(2):170-174.
- [30] 单辉强, 尹毅. 醒髓汤对急性上颈脊髓损伤模型大鼠四肢运动功能及脊髓组织 DAF 表达影响[J]. *四川中医*, 2018, 36(12):28-31.
- [31] WESTMARK R, NOBLE L J, FUKUDA K, et al. Intrathecal administration of endothelin-1 in the rat: impact on spinal cord blood flow and the blood-spinal cord barrier[J]. *Neurosci Lett*, 1995, 192(3):173-176.
- [32] 马维, 张爱民, 范志勇, 等. 腰痹通胶囊对脊髓损伤内皮素-1 影响的实验研究[J]. *河北中医*, 2005(9):703-704.
- [33] 赵晶, 周厚勤, 李彦杰. 补肾健髓汤对脊髓损伤康复的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(23):213-216.
- [34] 陈剑平, 廖祥萍, 李正南, 等. 芍药苷基于 IKK/NF- κ B 信号通路对大鼠脊髓损伤后继发性损害的保护作用[J]. *广东医学*, 2019, 40(18):2578-2582.
- [35] YIN X, YIN Y, CAO F L, et al. Tanshinone II A attenuates the inflammatory response and apoptosis after traumatic injury of the spinal cord in adult rats[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e38381.
- [36] WANG X, JIAO X, LIU Z, et al. Crocetin potentiates neurite growth in hippocampal neurons and facilitates functional recovery in rats with spinal cord injury[J]. *Neurosci Bull*, 2017, 33(6):695-702.
- [37] KIM D K, KWEON K J, KIM P, et al. Ginsenoside Rg3 improves recovery from spinal cord injury in rats via suppression of neuronal apoptosis, pro-inflammatory mediators, and microglial activation[J]. *Molecules*, 2017, 22(1):122.
- [38] LEE J Y, CHOI H Y, BAIK H H, et al. Cordycepin-enriched WIB-801C from cordyceps militaris improves functional recovery by attenuating blood-spinal cord barrier disruption after spinal cord injury[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 203:90-100.

(收稿日期:2023-02-14)