

• 综 述 •

以炎症因子为靶点的抗脑缺血药物研究进展

荆国晓^{1,2}, 郝春华¹, 王维亭¹, 赵专友^{1*}

1. 天津药物研究院 天津市新药安全评价研究中心, 天津 300193

2. 天津中医药大学, 天津 300073

摘 要: 近年来, 脑缺血的炎症反应引起了越来越多学者的关注。炎症反应是缺血性脑损伤的重要病理生理机制之一, 参与缺血性脑卒中的发生、发展, 与危及生命的并发症相关, 从而构成了缺血性损伤的基础。就脑缺血有关的炎症因子及以白细胞介素(IL)-1、IL-8、IL-10、细胞间黏附分子(ICAM)-1、肿瘤坏死因子(TNF)- α 和黑皮质素(MC)4为靶点的抗脑缺血药物的最新研究进展作一综述。

关键词: 脑缺血; 炎症因子; 药物; 进展; 综述

中图分类号: R743 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2012)05-0374-04

Research progress on anti-cerebral ischemia drugs targeting anti-inflammatory factors

JING Guo-xiao^{1,2}, HAO Chun-hua¹, WANG Wei-ting¹, ZHAO Zhuan-you¹

1. Tianjin Center for New Drug Safety Assessment and Research, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: In recent years, the inflammatory reaction of cerebral ischemia has attracted more and more attention of the scholars. Inflammation is one of the important pathophysiological mechanisms of ischemic brain damage, which is involved in the occurrence and development of ischemic stroke and relative with life-threatening complication accompanying ischemic stroke. Additionally, inflammatory factors produced by cerebral ischemia constitute the basis of ischemic injury. This review summarizes the latest research development of some kinds of inflammatory factors related to cerebral ischemia and IL-1, IL-8, IL-10, ICAM-1, TNF-alpha and MC4 as a target for anti-cerebral ischemic drug.

Key words: cerebral ischemia; inflammatory cytokines; drugs; progress; review

缺血性脑血管病是中老年人的常见病、多发病, 其高发病率、高致残率及高死亡率给社会和家庭带来沉重的负担, 是严重危害人类健康和生命安全的常见难治性疾病。表达增加的炎症细胞因子被认为是脑缺血损伤发病机制中的关键介质, 是当前研究的一个热点。进一步了解炎症因子在脑缺血损伤中的作用, 对该病的防治具有十分重要的理论和应用价值。

1 脑缺血过程中炎症细胞因子的作用

脑缺血损伤后, 脑组织内严重的炎症反应是造成脑损伤的重要机制之一。参与其反应的炎症因子众多, 其作用和重要性也不相同, 有些不但具有神

经损伤、神经毒性作用, 还具有一定的神经保护作用, 各种炎症因子相互影响, 共同参与脑缺血重要的病理生理过程。伴随炎症因子表达增加, 炎症级联反应的扩大, 白细胞黏附、聚集和迁移并产生大量的蛋白水解酶、氧自由基及花生四烯酸代谢产物, 破坏血脑屏障, 导致血管源性水肿和出血, 加重继发性脑损伤^[1]。

1.1 致炎因子与脑缺血损伤

致炎细胞因子在脑缺血后, 促进炎症细胞浸润, 导致水肿形成, 参与大脑损伤的反应过程。具有致炎作用的细胞因子有: 白细胞介素(IL)-1、干扰

收稿日期: 2012-07-29

作者简介: 荆国晓, 女, 硕士研究生, 研究方向为药理学。Tel: 13821026635 E-mail: jingguoxiao816@163.com

*通讯作者 赵专友, 男, 研究员, 硕士生导师。Tel: (022)84845267 E-mail: zhaozy@tjipr.com

素(interferon- γ , IFN- γ)、IL-8、IL-16、IL-17、IL-18、细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、白三烯(leukotrienes, LT-s)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)等^[2]。

IL-1在体内主要以三种形式存在: IL-1 α 、IL-1 β 和内源性IL-1受体拮抗剂(IL-1ra)。其中与缺血有关的主要是IL-1 β ,它是炎症和免疫反应的重要介质,通过促进白细胞和内皮细胞黏附而激发炎症反应。但近来的研究发现,在缺血性脑损伤的炎症反应早期,尚不存在IL-1 β ,此时IL-1 α 是调节IL-1最活跃的亚型。IL-1 α 主要存在于细胞核和小胶质细胞中^[3],在脑损伤早期,小胶质细胞表达IL-1 α ,从而阻断IL-1,具有神经保护的作用。

另外,已有相当多的实验表明,ICAM-1在脑缺血再灌注损伤中发挥了重要作用。ICAM-1可介导多种炎症因子与血管内皮细胞的黏附,如IL-1、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IFN- γ 等。通过与白细胞表面的淋巴细胞功能相关抗原(LFA)-1(CD11a/CD18)和白细胞 β 2整合素Mac-1(CD11b/CD18)分子相结合,增强白细胞与血管内皮细胞间的黏附以及白细胞穿出血管壁的过程,从而促进炎症的发生与发展^[4]。

IL-18是迄今为止发现的炎症细胞因子中趋化作用最强的一种前炎症反应因子。对机体的免疫和炎症反应有重要的调节作用,参与动脉粥样斑块发生、发展及粥样斑块破裂过程。目前IL-18与脑缺血的关系研究还不多,多认为其是结构上与IL-1 β 类似的促炎性细胞因子。最新研究表明,利用逆转聚合酶链反应检测大鼠脑缺血后的IL-18 mRNA,48 h才检测到它的表达,7~14 d达到高峰。IL-1 β mRNA的表达高峰在16 h,此后下调,提示IL-18可能对脑缺血晚期炎症反应有一定程度的调节作用^[5]。

1.2 抗炎因子与脑缺血损伤

脑缺血损伤后,机体产生大量的抗炎因子,如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、IL-10、IL-13、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)等^[2]。这些因子可通过抑制缺血期中枢神经系统的炎症反应,减轻脑水肿,减少梗死面积,起到神经保护作用。

TGF- β 和IL-10抑制促炎性细胞因子在缺血性脑卒中的产生,保护受损脑组织。TGF- β 是一种多

功能蛋白质,与细胞表面的TGF- β 受体结合并激活该受体,影响多种细胞的生长、分化、凋亡及免疫调节等功能。IL-10是多功能的细胞因子,能够抑制炎症因子和趋化因子的产生,阻止炎症级联反应和减轻炎症损害的作用。在缺血性脑损伤中,它通过激活素依赖机制防止抗凋亡蛋白Bcl-2表达下调和兴奋性毒性损伤^[6]。已有研究证实,缺血性损伤后IL-10能增强啮齿类动物大脑中的神经元再生,IL-10的这些作用有助于减少梗死面积和神经功能改善^[6]。

G-CSF通过介导多种机制产生神经保护作用,包括抑制细胞凋亡、抗炎作用和刺激内源性干细胞的增殖。在骨髓干细胞表面,通过介导G-CSF受体使细胞产生增生或营养作用^[7]。最新研究显示,新生大鼠缺血缺氧两周后,立即给予单剂量G-CSF,能明显减少脑梗死面积,表明G-CSF的神经保护作用不是暂时的^[8]。

1.3 具致炎、抗炎双重作用因子与脑缺血损伤

IL-6、TNF- α 可能对中枢神经系统发挥神经毒性及神经营养保护双重作用^[2]。

IL-6是一种神经保护因子,与炎症调节和免疫反应有关。已有研究发现,沙土鼠脑内的IL-6水平在脑缺血再灌注的早期升高,可能与中性粒细胞和巨噬细胞的浸润有关;而IL-6水平的持续性升高可能与星形胶质细胞大量分泌IL-6有关。也有研究表明,IL-6引起脑缺血过程中的致炎反应。黄燕玲等^[9]用免疫组化法对大鼠急性脑缺血后IL-1 β 、IL-6的含量进行检测,发现其过量表达加重神经细胞损伤,而应用马来酸桂哌齐特(cinepazide maleate, CM)后,减少了IL-1 β 、IL-6的表达,改善神经功能缺损症状,具有脑保护作用。

TNF- α 是一种多效性细胞因子,研究表明,脑缺血后TNF- α 可引起白细胞浸润和组织损伤。TNF- α 通过如下作用对缺血脑组织产生损伤:1)损伤血管内皮细胞,使其通透性改变;2)通过各种途径增加白细胞与血管内皮细胞的黏附性,如上调ICAM-1 CD11/CD18;3)与内皮细胞相互作用,导致血管功能紊乱,启发凝血过程。IL-16可以上调TNF- α 的作用进一步加重组织的炎症反应,导致局部血管的进一步狭窄。也有文献报道,TNF- α 对缺血脑组织具有保护作用。Guo等^[10]对短暂性脑缺血大鼠进行缺血前预处理,发现脑内TNF- α 的表达增加,能显著缩小缺血后脑梗死和脑水肿体积。

2 以炎症因子为靶点的抗脑缺血药物

2.1 IL-8 受体抑制剂

IL-8 受体抑制剂 repertaxin, 能抑制中性粒细胞浸润, 其相关分子能减少大脑中动脉 (MCAO) 闭塞模型的梗死体积。Villa 等^[11]比较了大鼠短暂和永久 MCAO, 在不同的治疗方案和治疗窗下 Repertaxin 对神经功能及炎症的影响发现: 短暂性脑缺血再灌 2 h 后首剂 15 mg/kg, 间隔 2 h 每次剂量 30 mg/kg, 24 h 脑梗死体积显著减少了 75%; 永久性脑缺血 2 h 后首剂 15 mg/kg, 间隔 2 h 每次剂量 45 mg/kg, 24 h 脑梗死体积显著减少, 而在 24 h 后再持续给药, 效果无显著差异。

2.2 IL-1 受体拮抗剂

2001 年, 由 Amgen 公司生产的重组人白细胞介素 1 受体拮抗剂 (rhIL-1ra, 专利名称为 Kineret) 被美国食品与药物管理局 (FDA) 和欧洲 EMA 批准上市, 用于治疗 RA, 而它作为脑损伤的强效抑制剂, 目前仅用于动物研究, 临床试验还未达到良好效果。Greenhalgh 等^[12]制备大鼠大脑中动脉闭塞模型, 24 h 后观察血浆和脑脊液中 IL-1ra 分布情况, 用免疫组化法对脑组织中 IL-1ra 的分布进行评估发现, sc 100 mg/kg 的梗死体积减少了 33%, 水肿减少 57%, 血浆和脑脊液中 IL-1ra 浓度持续到 8 h, 在 4 h 达到高峰; 免疫荧光反应证实 IL-1ra 与 IgG 结合, 面积达 65%~81%, 挽救了濒临死亡的神经细胞。此研究表明, IL-1ra 的保护作用是通过受损的血脑屏障渗透的, sc 治疗量具有极好的效果, 但需要进一步的药代动力学研究, 以确定最低有效量。

2.3 IL-10

已有研究报道, 剔除脑缺血大鼠 IL-10 基因, 可导致神经功能障碍和脑梗死体积增加。Liu 等^[13]在大鼠缺血性脑损伤中移植骨髓间充质干细胞 (MSCs), 应用 RT-PCR 和 ELISA 检测, 发现抗炎因子 IL-10 表达在第 4 天显著增加, 减少梗死体积, 改善神经功能, 同时它也下调 TNF- α 表达, 双重保护了受损的脑组织。

2.4 ICAM-1 抗体

ICAM-1 抗体 1A29, 能抑制白细胞的聚集, 减轻脑缺血再灌注损伤, 发挥脑保护作用。Cao 等^[14]制备大鼠全脑缺血-再灌注模型发现, 在缺血前或再灌 4 h 内静脉注射 1A29 (1 mg/kg), 能减少炎性细胞浸润, 明显减轻脑损伤。

2.5 TNF- α 靶点

TNF- α 通过 MEK/ERK 信号通路表达, 它有两种受体 TNF-R1 (P55) 和 TNF-R2 (P75), 它们可以激活核转录因子- κ B (NF- κ B), 抑制 TNF- α 炎性细胞导致其死亡^[15]。NF- κ B 是下游 MAPK/PKC 通路的关键转录因子, 它的激活可以调控一些炎症和细胞增殖基因的表达^[16]。Maddahi 等^[17]用 MEK/ERK1/2 抑制剂 U0126, B-Raf 抑制剂 SB3860-b 和 NF- κ B 抑制剂 IMD-0354, 观察它们对 TNF- α 、TNF-R1、TNF-R2 表达的影响和调控这些因子的信号通路, 免疫组化和 Western blot 显示: 48 h 后 3 种抑制剂都可显著减少 TNF- α 的表达; U0126 显著减少 TNF-R1、TNF-R2 的表达; SB3860-b 和 IMD-0354 对 TNF-R 只有轻微的影响。此研究表明, 应用 MEK/ERK1/2 抑制剂和 NF- κ B 抑制剂, 均可减少 TNF- α 、TNF-R1、TNF-R2 表达; 降低 TNF- α 的表达可通过抑制 MEK/ERK1/2 信号通路。

银杏内酯 B 可明显抑制脑缺血-再灌注过程中的炎性介质 TNF- α 的表达, 减轻神经损伤症状, 减轻脑水肿, 同时血清 IL-6, IL-1 β 含量及 E 选择素、ICAM-1 均明显降低^[18]。从姜黄中提取出的姜黄素, 具有多种生物学功能, 包括抗肿瘤、抗氧化和抗炎等作用。最新研究表明^[19], 姜黄素可通过抑制 TNF- α 的释放和炎症反应、减轻基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 的表达和改善血脑屏障的完整性, 减轻大鼠缺血性脑损伤。

2.6 MC4 靶点

黑皮质素 (melanocortin, MC) 肽类是由糖蛋白前阿黑皮素原 (POMC) 经过加工得到的, 包括 ACTH、黑素细胞刺激素 (α -MSH、 β -MSH、 γ -MSH)、 β -趋脂素和 β -内啡肽。其中 ACTH、 α -MSH、 β -MSH、 γ -MSH 通过与黑皮质素受体 (MCRs) 相结合发挥作用。MCRs 现已发现 5 型, 其中 MC4-R 与中枢作用有关。间接证据表明, 脑缺血后 MC 可能通过 MC4-R 介导发挥神经保护作用。在沙土鼠短暂性脑缺血模型中发现, 应用具有高度选择性 MC4-R 激动剂 RO27-3225, TNF- α 、ERK1/2、JNK1/2 和 caspase-3 下调, Bcl-2 蛋白表达增加, 抵消炎症和凋亡反应, 减少神经元损失, 促进卒中后神经功能的恢复^[20]。

3 问题与展望

脑缺血损伤是一个非常复杂的病理过程, 机制尚未完全清楚。炎症反应与其关系密切, 脑缺血后不同作用的炎症因子相互影响, 互为因果, 最终导

致神经元死亡。到目前为止,国内外对于脑缺血炎症反应机制研究很多,但仍存在大量的不明机制,如炎症因子 IL-6 和 TNF- α 可能对中枢神经系统发挥神经毒性及神经营养保护双重作用,但在缺血性卒中的作用存在争议,这些都有待于进一步深入的研究。在治疗方面,许多药物的实验研究发现,都能抑制缺血后的炎症反应,具有很好的神经保护作用,但仅限于实验动物模型,在临床上的疗效并不乐观。如能更深入的了解和研究,抗炎药物能为缺血性脑血管病治疗开辟新的领域。

参考文献

- [1] 江 斌,李广生. 炎症相关因子与脑缺血再灌注损伤[J]. 赣南医学院学报, 2010, 30(6): 1000-1002.
- [2] 梁汝庆,丁新生. 炎症因子与缺血性卒中神经损伤研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2011, 6(2): 147-150.
- [3] Luheshi N M, Rothwell N J, Brough D. The dynamics and mechanisms of interleukin-lalpha and Beta nuclear import[J]. *Traffic*, 2009, 10(1): 16-25.
- [4] 刘萍莉,杨 柳. 炎症与脑缺血再灌注损伤及药物干预研究进展[J]. 理工科研, 2009, (5): 280-288.
- [5] Zhang N, Yu J T, Yu N N, *et al.* Inter leikin-18 promoter polymorphisms and risk of ischemic stroke[J]. *Brain Res Bull*, 2010, 81(6): 590-594.
- [6] 刘 楠,杜厚伟,陈荣华,等. 白介素 10 对脑缺血大鼠神经细胞凋亡的作用研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2007, 23(6): 498-500.
- [7] Beekman R, Touw I P. G-CSF and its receptor in myeloid malignancy[J]. *Blood*, 2010, 115(25): 5131-5136.
- [8] Bong R K, Jae W S, Dong K S, *et al.* Granulocyte stimulating factor attenuates hypoxic-ischemic brain injury by inhibiting apoptosis in neonatal rats[J]. *Yonsei Med J*, 2008, 49(5): 836-842.
- [9] 黄艳玲,秦新月,王恬竹,等. 马来酸桂哌齐特对大鼠局灶性脑缺血再灌注后白介素-1B、白介素-6 的表达及神经功能的影响[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(6): 596-599.
- [10] Guo M, Lin V, Davis W, *et al.* Preischemic induction of TNF-alpha by physical exercise reduces blood-brain barrier dysfunction in stroke[J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28(8): 1422-1430.
- [11] Villa P, Triulzi S, Cavalieri B, *et al.* The inter leikin-8 (IL-8/CXCL8) receptor inhibitor reparix in improves neurological deficits and reduces long-term inflammation in permanent and transient cerebral ischemia in rats[J]. *Mol Med*, 2007, 13(3-4): 125-133.
- [12] Greenhalgh A D, Galea J, Dénes A, *et al.* Rapid brain penetration of interleukin-1 receptor antagonist in rat cerebral ischaemia: Pharmacokinetics, distribution, protection[J]. *Brit J Pharmacol*, 2010, 160(1): 153-159.
- [13] Liu N, Chen R H, Du H W, *et al.* Expression of IL-10 and TNF- α in rats with cerebral infarction after transplantation with mesenchymal stem cells[J]. *Cell Mol Immunol*, 2009, 6(3): 207-213.
- [14] Cao J P, Shi X Y, Li W Y, *et al.* Protective effect of anti-intercellular adhesion molecule-1 antibody on global cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat[J]. *BioScience Trends*, 2009, 3(2): 48-52.
- [15] Gesslein B, Hakansson G, Gustafsson L, *et al.* Tumor necrosis factor and its receptors in the neuroretina and retinal vasculature after ischemia-reperfusion injury in the pig retina[J]. *Mol Vis*, 2010, 16: 2317-2327.
- [16] Ge C, Zhang C, Ye J, *et al.* Ginsenosides promote proliferation of chicken primordial germ cells via PKC-involved activation of NF-kappaB[J]. *Cell Biol Int*, 2007, 31(10): 1251-1256.
- [17] Maddahi A, Kruse S L, Chen Q W, *et al.* The role of tumor necrosis factor- α and TNF- α receptors in cerebral arteries following cerebral ischemia in rat[J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 107.
- [18] 刘永刚,李芳君,王 婧,等. 银杏内酯 B 对大鼠脑缺血-再灌注损伤炎症反应的影响[J]. 中药材, 2010, 33(4): 578-580.
- [19] 雷军荣,秦 军,张 晶,等. 姜黄素对大鼠缺血性脑损伤炎症反应和血脑屏障通透性的影响[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(1): 120-123.
- [20] Spaccapelo L, Bitto A, Galantucci M, *et al.* Melanocortin MC receptor agonists counteract late inflammatory and apoptotic responses and improve neuronal functionality after cerebral ischemia[J]. 2011, 670(2-3): 479-86.