

- clipping on frontal lobe functions in patients with ruptured aneurysm of the anterior communicating artery. *Acta Neurol Scand*, 2005, 112(5):293-297.
- [19] Hauck EF, Wei J, Quast MJ, et al. A new technique allowing prolonged temporary cerebral artery occlusion. *J Neurosurg*, 2008, 109(6):1127-1133.
- [20] Martin CJ, Sinson G, Patterson T, et al. Sensitivity of scalp EEG, cortical EGG, and somatosensory evoked responses during surgery for intracranial aneurysms. *Surg Neurol*, 2002, 58(5):317-320.
- [21] Kett-White R, Hutchinson PJ, Al-Rawi PG, et al. Cerebral oxygen and microdialysis monitoring during aneurysm surgery: effects of blood pressure, cerebrospinal fluid drainage, and temporary clipping on infarction. *J Neurosurg*, 2002, 96(6):1013-1019.
- [22] Murthy HS, Chidanandaswamy MN, Rao GS, et al. Spontaneous intraoperative hypothermia and cerebral protection in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Middle East J Anesthesiol*, 2005, 18(2):313-32.
- [23] Natarajan SK, Sekhar LN, Ghodke B, et al. Outcomes of ruptured intracranial aneurysms treated by microsurgical clipping and endovascular coiling in a high-volume center. *Am J Neuroradiol*, 2008, 29(4):753-759.
- [24] Reilly C, Amidei C, Tolentino J, et al. Clot volume and clearance rate as independent predictors of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*, 2004, 101(2):255-261.
- [25] Tsuruno T. Intraoperative radical clot removal therapy using a bipolar irrigation system for prevention of cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *No Shinkei Geka*, 2005, 33(4):343-348.
- [26] 刘琦,王永和,曹培成,等. 尿激酶基底池灌注防治脑血管痉挛的临床探讨. *中国现代医生*, 2010, 48(5):108+147.
- [27] Nomura Y, Kawaguchi M, Yoshitani K, et al. Retrospective analysis of predictors of cerebral vasospasm after ruptured cerebral aneurysm surgery: influence of the location of subarachnoid blood. *J Anesth*, 2010, 24(1):1-6.
- [28] Alaraj A, Charbel FT, Amin-Hanjani S. Peri-operative measures for treatment and prevention of cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*, 2009, 31(6):651-659.

黄体酮对颅脑创伤后内皮祖细胞的影响研究进展

栗战营 综述 阚志生 审校

河北联合大学附属开滦医院神经外科,河北省 唐山市 063000

摘要: 黄体酮具有神经保护作用已经成为近几年来研究的热点。而最近报道,内皮祖细胞在颅脑创伤后病灶区的血管修复中起重要的作用。黄体酮能够通过将内皮祖细胞动员至颅脑创伤引起的大脑局部缺血区域,促进其血管新生,从而发挥神经保护作用。黄体酮可能通过两种途径动员:一种是增强一氧化氮合酶的活性,另一种是诱导血管内皮生长因子的表达增多,二者在内皮祖细胞动员方面发挥着极其重要的作用。本文就上述相关内容的最新研究进展做一综述。

关键词: 黄体酮;颅脑创伤;内皮祖细胞

颅脑损伤后早期可出现一系列的继发性损伤过程。血管的变化明显,如脑血流量不足,可引起一系列脑损伤。因此促进缺血缺氧区域的血管新生可以达到修复损伤组织,保护神经功能的目的。研究报道内皮祖细胞(Endothelial progenitor cells, EPCs)能够增强血管的生成和促进血管的修复。

而黄体酮可能是 EPCs 强有力的动员剂。黄体酮能够通过 EPCs 发挥神经保护作用。

1 黄体酮对颅脑创伤的神经保护作用研究现状

黄体酮在人体中发挥着非常广泛的作用,其主要依赖于它所对应的靶器官。它在生殖内分泌中的作用已经广为人知了,但它仍然作为一种神经甾

收稿日期:2011-02-28;修回日期:2011-04-25

作者简介:栗战营(1985-),男,硕士研究生,主要从事黄体酮对颅脑创伤作用方面的研究。

通信作者:阚志生,主任医师,教授,硕士生导师,主要从事颅脑创伤及颅底肿瘤的基础与临床研究。

体在中枢神经系统中发挥着重要的作用。大量的动物实验表明黄体酮将是治疗颅脑创伤非常有前景的药物。根据过去实验性损伤模型的研究显示黄体酮可以有效减轻组织损伤的程度^[1]。目前研究表明黄体酮可以通过多种途径发挥神经保护作用。黄体酮可抑制转录因子核因子卡巴 B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 的活性,进而导致肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin, IL-1 β) 等炎症因子表达的下降^[2],从而降低脑损伤后的炎症反应,对继发性脑损伤起保护作用。黄体酮可能通过两条途径来抑制,其中主要的一条是黄体酮可以促进内源性 NF- κ B 抑制因子 I κ B 的产生;另一条途径是,当黄体酮存在时,黄体酮受体 (progesterone receptor, PR) 可以和 NF- κ BP65 亚单位组成异源二聚体,进而阻断 NF- κ B 的转录作用^[3]。另外黄体酮还可以通过抑制兴奋性氨基酸受体或增强 γ -氨基丁酸 (gamma-aminobutyric acid, GABA) 受体而发挥神经保护作用,生理水平的黄体酮即可增强 GABA 引发的氯离子流动,迅速改变神经元的兴奋性,且其代谢产物别孕醇酮和别烷醇酮亦有相同作用。黄体酮及其它的代谢产物结合了各种各样的细胞内受体。它可能也可以通过非受体途径发挥一些作用。Guo 等^[4]发现黄体酮也可以在颅脑创伤后通过促进水通道蛋白 (aquaporin, AQP) 的表达减轻大脑水肿。

2 颅脑创伤与 EPCs 的相关研究

2.1 EPCs 的基本特征

EPCs 是一类能增殖并分化为成熟且有功能的血管内皮细胞的前体细胞,在生理和病理条件下能够修复损伤的血管内皮细胞,对维持血管内皮细胞的完整性极其重要^[5]。对于 EPCs 的研究目前仍处于初级阶段,CD34 曾被认为是最重要的造血干细胞的标志物,但进一步的研究表明,CD34 在内皮细胞上也有低水平的表达。EPCs 的细胞表型兼有成血细胞和内皮细胞两种特征,成份比较复杂。EPCs 是由多种不同细胞群组成,决定其细胞表型也是比较复杂的。典型的 EPCs 早期细胞表面标记主要包含有 CD34、VEGFR2 和 CD133,随着分化为成熟内皮细胞,CD133 会逐渐消失,而 CD34 和 VEGFR2 仍阳性。由此可见,CD133 抗原的有无是循环 EPCs 转化为成熟的内皮样细胞的标志,即该抗原阳性是 EPCs 的重要细胞表型标志,但至今的研究尚未发现 EPCs 失掉 CD133 标志的准确时间

和机制。同时也有检测 CD34、血管内皮生长因子 (KDR) 作为 EPCs 标志的^[6]。

2.2 颅脑创伤与 EPCs 的相关研究

近些年来,颅脑创伤的发生率不断上升,已经成为 45 岁以下个体意外死亡的首要原因。大脑创伤后死亡的病人 90% 有缺血性改变,是颅脑创伤后继发性损伤的主要机制。内皮祖细胞参与颅脑创伤后病灶区的血管修复、新生血管形成,影响局部微环境进而影响受损神经组织的修复,内皮祖细胞在缺血性疾病的病理过程中可促进血管生成和组织修复。内皮祖细胞的迁移及归巢功能是其发挥对创伤血管修复的前提。Lapidot 等^[7]应用鼠基因标记的供体骨髓移植模型发现血管内皮祖细胞由于缺血从骨髓被动员至循环的直接证据,并且推测这一过程是由上调的血管内皮生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF) 介导的。

颅脑创伤后注入 EPCs 后大大促进了红细胞的生成和血管的修复^[8]。EPCs 是通过阻止脑缺血性损伤和促进神经血管的恢复以及提高长期的神经功能恢复来保护大脑的^[9]。血管重建与颅脑创伤后的神经功能恢复密切相关^[10]。Liu 等^[11]分析了 29 例颅脑创伤病人损伤后 48 小时至 21 天动态的 EPCs 水平,发现颅脑创伤患者外周血中 EPCs 的数量在伤后 48 小时内与正常对照相比显著下降,下降程度与伤情呈正相关,随后 EPCs 数量成倍增加,伤后 7 ~ 14 天达高峰,继而下降至正常水平。分析减低的原因可能是:促炎因子如 IL-6、C 反应蛋白 (CRP) 等为 EPCs 动员的抑制因素,而抗炎因子如 IL-1 α 、IL-10 和 IL-8 等为 EPCs 动员的促进因素。颅脑创伤后大量促炎因子的早期释放可能是导致创伤后早期外周血中 EPCs 降低的原因之一,同时后期随着抗炎因子的^[12]释放增加,促炎因子力量的削弱,外周血中的 EPCs 呈现为明显增高的趋势。该研究还发现,颅脑创伤后循环中 EPCs 数目同血小板计数有明显相关,提示血小板可能在颅脑创伤后 EPCs 动员中起重要作用。

Guo 等^[13]研究发现,脑创伤后急性期会出现 CD34 + 细胞的动员,CD34 + 细胞可归巢至创伤区的血管床,最终这些归巢的 CD34 + 细胞增殖分化并形成新的血管结构。因为内皮祖细胞 (CD34 + / CD133 + / VEGFR2 +) 是 CD34 + 细胞的亚群——因为 CD34 是成血管细胞和造血干细胞共同拥有的抗原,所以 CD34 + 细胞的增多,可间接反映脑

创伤后 EPCs 的动员增多。

3 黄体酮通过 EPCs 对颅脑创伤发挥神经保护作用

3.1 黄体酮通过 eNOS 动员 EPCs 的相关研究

骨髓中的 EPCs 经各种因素刺激后向外周血迁移,增加外周血中的 EPCs 的数量,称为 EPCs 的动员。目前国内外的研究表明促进 EPCs 动员的因素主要有各类细胞因子、他汀类降脂药、过氧化物酶体增植物激活受体 γ 激动剂 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)、雌激素以及体育训练等。一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 是一氧化氮 (nitric oxide, NO) 合成的关键酶,其催化生成的 NO 具有扩张血管、调节血管张力等生物学功能。新近观点认为 eNOS 在 EPCs 的动员、分化及归巢过程中发挥着重要作用。雌激素与黄体酮同属于性激素。目前的很多研究表明雌激素可以动员 EPCs,并且促进血管损伤后内膜的修复。目前发现这种动员机制可能是通过 eNOS 介导的^[14]。然而关于黄体酮与 EPCs 的关系研究比较少。Duckles^[15]等的一项研究表明黄体酮能够增强 eNOS 的活性,从而促进 NO 的表达。Khorram 等人^[16]的研究也显示黄体酮能够在子宫内膜细胞中诱导 eNOS 的表达。其主要是通过作用于一种特定的氨基酸 Ser1177 (serine 1177) 使 eNOS 去磷酸化从而激活 eNOS 的表达。研究还发现这种去磷酸化是通过磷脂酰肌醇 (-3) 激酶/丝氨酸 - 苏氨酸激酶 (PI3K/Akt) 途径来完成的。而此通路是导致内皮细胞增殖、迁移和抗凋亡作用的重要通路。Selles J^[17]等报道在大动脉中黄体酮也能够激活 NOS 的活性并且抑制血小板的凝集。也有研究表明黄体酮可以诱导血管内皮细胞释放 NO^[18]。Czambel 等^[19]利用 ELISA 的方法检测到脑中表达有 eNOS,并得出具体数值。Atochin 等^[20]报道 eNOS 可以明显促进血管新生,减轻脑局部缺血,并促进大脑中动脉血液的流动。这些现象都表明黄体酮可能通过 eNOS 途径促进 EPCs 的动员,从而改善颅脑创伤后引起的继发性脑缺血,对大脑起到神经保护作用。

3.2 黄体酮通过 VEGF 动员 EPCs 的相关研究

一些细胞因子可以动员 EPCs, VEGF 是目前发现 EPCs 最强的动员因子。Cai 等^[21]报道黄体酮主要通过细胞内膜结合受体黄体酮受体 (progesterone receptor, PR) 来发挥神经保护作用。而内皮细胞表

达有一定数量的 PR。一些研究报道黄体酮可以通过与 PR 结合诱导 VEGFR1 的合成增加,使血管内皮细胞对 VEGF 敏感性增强。VEGF 再通过作用于 EPCs 表面的两种受体 VEGFR-1 和 VEGFR-2,这两种受体具有很强的动员 EPCs 的能力,进而促进血管发生,与毛细血管的密度有很强的相关性^[22]。Skold 等^[23]使用大鼠作为研究对象,证实 TBI 后 VEGF/VEGFR-2 的水平在颅脑挫伤灶及周围组织表达上调,VEGFR-2 是 EPCs 的表面标记物之一。Trotter 等^[24]的研究也表明雌激素和孕激素能够加强 VEGF 和表面活化剂的表达。间接地反应黄体酮也许可以通过促进 VEGF 的表达来促进 EPCs 的动员,从而促进血管新生,达到神经保护作用。

Robb 等^[25]的一项关于月经周期中 EPCs 变化的研究表明 EPCs 的值在卵泡中期达到高峰,其在卵泡中期子宫内膜血管生成的过程中发挥了重要的作用,这种现象同时也说明了性激素将骨髓中的 EPCs 动员至子宫内膜,从而促进血管新生,孕激素可能参与其中。研究还表明,处于生育年龄的女性患心血管疾病的几率要比成熟男性低,同时 Fadini 等^[26]报道处于育龄期的女性循环 EPCs 的数量明显高于男性,其都与性激素水平的不同有关系。

4 结语

黄体酮对颅脑创伤的神经保护作用一直是研究的热点,然而关于其通过促进了循环血 EPCs 的数量,从而促进血管新生,进而发挥神经保护作用的相关研究还比较少。目前 EPCs 的自体移植被认为是一条新的治疗方案,但技术上还有很大困难。应用外源性动员剂动员 EPCs 是一条简单易行的且无创的治疗手段。因此,将黄体酮应用于颅脑创伤的患者也许能大大改善局部缺血部位的血液循环,为损伤性疾病的治疗拓展了新的思路。

参 考 文 献

- [1] Gibson CL, Gray LJ, Bath PM, et al. Progesterone for the treatment of experimental brain injury; a systematic review. *Brain*, 2008, 131 (pt2): 318-328.
- [2] Shear DA, Galani R, Hoffman SW, et al. Progesterone protects against necrotic damage and behavioral abnormalities caused by traumatic brain injury. *Exp Neurol*, 2002, 178 (16): 59-67.
- [3] Stein DG, Hoffman SW. Estrogen and progesterone as neuro-protective agents in the treatment of acute brain injuries. *Pediat Rehabil*, 2003, 6 (2): 13-22.

- [4] Guo Q, Sayeed I, Baronne LM, et al. Progesterone administration modulates AQP4 expression and edema after traumatic brain injury in male rats. *Exp Neurol*, 2006, 198(2): 469-478.
- [5] Matthew J, Callaghan, Daniel J, et al. Hyperglycemia induced reactive oxygen species and impaired endothelial progenitor cell function. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7(1112): 1476-1482.
- [6] Fadini GP, Coracina A, Baesso I, et al. Peripheral blood CD34 + KDR + endothelial progenitor cells are determinants of subclinical atherosclerosis in a middle-aged general population. *Stroke*, 2006, 37(9): 2277-2282
- [7] Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? *Blood*, 2005, 106(6): 1901-1910.
- [8] Xue S, Zhang HT, Zhang P, et al, Functional endothelial progenitor cells derived from adipose tissue show beneficial effect on cell therapy of traumatic brain injury. *Neurosci Lett*, 2010, 473(3): 186-191.
- [9] Fan Y, Shen F, Frenzel T, et al. Endothelial progenitor cell transplantation improves long-term stroke outcome in mice. *Ann Neurol*, 2010, 67(4): 488-497.
- [10] Hayward NM, Immonen R, Tuunanen PI, et al. Association of chronic vascular changes with functional outcome after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*, 2010, 27(12): 2203-2219.
- [11] Liu L, Liu H, Jiao J, et al. Changes in circulating human endothelial progenitor cells after brain injury. *J Neurotrauma*, 2007, 24(6): 936-943.
- [12] Schomig K, Busch G, Steppich B, et al. Interleukin-8 is associated with circulating CD133 + progenitor cells in acute myocardial infarction. *Eur Heart J*, 2006, 27(9): 1032-1037.
- [13] Guo X, Liu L, Zhang M, et al. Correlation of CD34 + cells with tissue angiogenesis after traumatic brain injury in a rat model. *J Neurotrauma*, 2009, 26(8): 1337-1344.
- [14] Strehlow K, Werner N, Berweiler J, et al. Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. *Circulation*, 2003, 107(24): 3059-3065.
- [15] Duckles SP, Miller VM. Hormonal modulation of endothelial NO production. *Pflugers Arch*, 2010, 459(6): 841-51.
- [16] Khorram O, Han G. The influence of progesterone on endothelial nitric oxide synthase expression. *Fertil Steril*, 2009, 91(5 Suppl): 2157-2162.
- [17] Selles J, Polini N, Alvarez C, et al. Nongenomic action of progesterone in rat aorta: role of nitric oxide and prostaglandins. *Cell Signal*, 2002, 14(5): 431-436.
- [18] Zhang M, Wang GJ, Benishin CG, et al. Rapid effect of progesterone on the contraction of rat aorta in-vitro. *J Pharm Pharmacol*, 2002, 54(11): 1529 - 1534.
- [19] Czambel RK, Kharlamov A, Jones SC. Variations of brain endothelial nitric oxide synthase concentration in rat and mouse cortex. *Nitric Oxide*, 2010, 22(1): 51-57.
- [20] Atochin DN, Wang A, Liu VW, et al. The phosphorylation state of eNOS modulates vascular reactivity and outcome of cerebral ischemia in vivo. *J Clin Invest*, 2007, 117(7): 1961-1967.
- [21] Cai W, Zhu Y, Furuya K, et al. Two different molecular mechanisms underlying progesterone neuroprotection against ischemic brain damage. *Neuropharmacology*, 2008, 55(2): 127 - 138.
- [22] Westenbrink BD, Lipsic E, van der Meer P, et al. Erythropoietin improves cardiac function through endothelial progenitor cell and vascular endothelial growth factor mediated. *Eur Heart J*, 2007, 28(16): 2018-2027.
- [23] Skold MK, von Gertten C, Sandberg-Nordqvist AC, et al. VEGF and VEGF receptor expression after experimental brain contusion in rat. *J Neurotrauma*, 2005, 22(3): 353-367.
- [24] Trotter A, Kipp M, Schrader RM, et al. Combined application of 17 β -estradiol and progesterone enhance vascular endothelial growth factor and surfactant protein expression in cultured embryonic lung cells of mice. *Int J Pediatr*, 2009, 2009: 170491.
- [25] Robb AO, Mills NL, Smith IB, et al. Influence of menstrual cycle on circulating endothelial progenitor cells. *Hum Reprod*, 2009, 24(3): 619-625.
- [26] Fadini GP, de Kreutzenberg S, Albiero M, et al. Gender differences in endothelial progenitor cells and cardiovascular risk profile: the role of female estrogens. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(5): 997-1004.