

## 丙戊酸在急性中枢神经系统损伤中的保护与修复作用研究进展

赵志明<sup>1,2</sup>, 赵宗清<sup>1,2</sup>, 冯帆<sup>2</sup>, 张健<sup>2</sup>

1. 潍坊医学院, 山东 潍坊 261000

2. 临沂市人民医院神经外科, 山东 临沂 276000

**摘要:**急性中枢神经系统(CNS)损伤是导致人类伤残和死亡的常见原因。丙戊酸(VPA)是一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂,临床上主要用于癫痫发作控制、双相情感障碍、神经病理性疼痛和偏头痛。近年来发现,VPA具有抗凋亡、抗炎、抗氧化应激和神经营养等特性,在脑卒中(CVA)、脑外伤(TBI)和脊髓损伤(SCI)几种CNS模型中可起到神经保护作用。该文综述了VPA在急性CNS损伤中的神经保护与修复特性,并探讨了VPA这些作用的潜在机制和相关因素。

**关键词:**丙戊酸;脑损伤;组蛋白去乙酰化酶;神经保护

中图分类号:R651.15

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2020.04.025

### Research advances in the role of valproic acid in the protection against and repair of acute central nervous system injuries

ZHAO Zhi-Ming<sup>1,2</sup>, ZHAO Zong-Qing<sup>1,2</sup>, FENG Fan<sup>2</sup>, ZHANG Jian<sup>2</sup>. 1. Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261000, China; 2. Department of Neurosurgery, Linyi People's Hospital, Linyi, Shandong 276000, China

Corresponding Author: Zhang Jian (1966-), Man, Master tutor, Chief physician, Professor and offices director. The main research direction: clinical and basic research on brain tumors. Email: doctor\_zhang001@163.com.

**Abstract:** Acute central nervous system (CNS) injuries are common causes of human disabilities and deaths. Valproic acid (VPA), as a histone deacetylase inhibitor, is mainly used for the treatment of seizure, bipolar affective disorder, neuropathic pain, and migraine in clinical practice. Recent studies have shown that VPA has the features of anti-apoptosis, anti-inflammation, anti-oxidative stress, and neurotropy and can exert a neuroprotective effect in several models of acute CNS injuries, such as cerebral vascular accident, traumatic brain injury, and spinal cord injury. This article reviews the neuroprotective and repair features of VPA in acute CNS injuries and explores the underlying mechanisms and related factors.

**Key words:** valproic acid; brain injury; histone deacetylase; neuroprotection

丙戊酸(valproic acid, VPA)化学名为二丙基戊酸,是Buton于1882年合成的一种容易跨越血脑屏障的支链短链脂肪酸。VPA以丙戊酸盐的形式应用于临床,口服后吸收迅速且较好,生物半衰期6~20h,生物利用度在80%以上,血浆蛋白结合率80%~95%,因其具有良好的有效性、耐受性和安全性,已成为预防和治疗癫痫的首选药物<sup>[1,2]</sup>。近年来多项研究实验发现,VPA对急性中枢神经系统(central nervous system, CNS)损伤有着潜在的保护和修复作用。

### 1 VPA在CNS损伤中介导的神经保护机制

#### 1.1 抗凋亡

凋亡是细胞程序性死亡的一种形式,神经元凋亡的不适当激活是急性CNS损伤的主要病理机制之一<sup>[3]</sup>。VPA通过抑制凋亡蛋白的表达和调节细胞存活信号途径来减轻神经元损伤后的凋亡。在人类神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞培养中,VPA通过抑制凋亡相关蛋白[如C/EBP homologous protein (CHOP)、caspase-3和caspase-12],提高Bcl/Bax比例,抑制AKT/GSK3β/JNK通路磷酸化和基质金属

基金项目:山东省自然科学基金(编号:ZR2015HL044)

收稿日期:2019-12-12;修回日期:2020-06-30

作者简介:赵志明(1993-),男,潍坊医学院硕士研究生,住院医师,从事脑肿瘤、颅脑损伤的临床与基础研究。

通信作者:张健(1966-),男,硕士生导师,主任医师,教授,职务:科主任,主要研究方向:脑肿瘤微创与功能的临床与基础研究;Email:doctor\_zhang001@163.com。

蛋白-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 的表达来减轻毒胡萝卜素 (TG) 诱导的细胞凋亡<sup>[4]</sup>。VPA 还可以通过上调具有抗凋亡作用的热休克蛋白 (HSP) 70、磷酸化 Akt (p-Akt) 和激活的丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶 1/2 (p-MAPK/ERK1/2) 的水平, 来降低鱼藤酮 (线粒体复合物 I 抑制剂) 诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡<sup>[5,6]</sup>。另外, NF- $\kappa$ B 是调节凋亡的关键转录因子, 而 I $\kappa$ B- $\alpha$  是 NF- $\kappa$ B 的抑制剂, Chang 等<sup>[7]</sup> 实验发现, VPA 可降低细胞核内 NF- $\kappa$ B 的表达水平而增加细胞质中 I $\kappa$ B- $\alpha$  的表达水平, 最终保护缺氧诱导的海马和皮层神经元的存活。

### 1.2 抗炎症

神经炎症是急性 CNS 疾病发病的重要因素, 也是脑损伤的主要原因。VPA 可以改变小胶质细胞表型, 使小胶质细胞从促炎症 M1 型向抗炎 M2 型极化, 导致小胶质细胞功能障碍。另外, VPA 还可以抑制中性粒细胞浸润, 上调肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的表达来减轻炎症反应, 保护多巴胺能神经元免受脂多糖 (LPS) 诱导的毒性反应<sup>[8,9]</sup>。在大鼠体内实验中发现, VPA 可选择性地抑制 CD45F4/80 巨噬细胞亚群以及特定促炎细胞因子/趋化因子的产生, 包括趋化因子 CXCL1, 白细胞介素 (IL) -5、-6、-10 及 -15, 趋化因子 CCL2, 血管内皮生长因子 A (VEGF-A) 以及核因子 (NF)- $\kappa$ B p100<sup>[10]</sup>。VPA 也能抑制炎症小体的组装和活性。NLRP3 炎症体是最具特征性的炎症体, 内源性和外源性刺激均可触发 NLRP3 炎症小体的激活。例如 NF- $\kappa$ B 通路激活, 细胞质钾减少、活性氧升高和溶酶体断裂。目前实验证明 VPA 不仅抑制 NF- $\kappa$ B 的活化, 而且下调氧自由基 (ROS) 的产生<sup>[11]</sup>。另外, 血脑屏障的破坏促进了中性粒细胞和巨噬细胞的充盈、血管源性水肿和出血, 这些都与神经细胞和组织的继发性损伤有关。VPA 通过组蛋白脱乙酰酶 (histone deacetylase, HDAC) 的作用, 可减弱 MMP-9 的表达和激活, 抑制炎症介质的产生 (如 TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$  和 IL-6), 从而减弱炎症反应引起的神经损伤<sup>[12]</sup>。因此, 未来急性 CNS 损伤保护的研究将很有可能集中在 VPA 抑制炎症形成的模型上。

### 1.3 抗氧化作用

氧化应激 (oxidative stress, OS) 是自由基在体内产生的一种负面作用, 并被认为是导致衰老和疾病的一个重要因素。CNS 损伤后, 脑细胞内氧自由基大量蓄积而导致细胞氧化损伤。蓄积的大量氧自

由基可使脂质、蛋白质及核酸等过氧化, 致使细胞骨架破坏、线粒体变形、核酸断裂、蛋白质降解和膜通透性增大, 最终导致神经元凋亡<sup>[13]</sup>。谷胱甘肽在氧化应激中发挥着重要的作用, 是脑损伤中重要的抗氧化剂。实验研究证明, VPA 不仅能够提高谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione-S-transferase, GST) 的水平, 还可以增加 GST 同工酶, 进而提高谷胱甘肽水平, 减少自由基的生成, 降低体内氧化应激的水平<sup>[14]</sup>。内质网应激蛋白 GRP78 可以通过抑制氧自由基的积累和稳定线粒体功能发挥细胞保护功能。研究表明, 长期使用 VPA 可以增加大鼠大脑皮质细胞内质网应激蛋白 GRP78 的表达, 进而保护神经元避免氧化应激的损伤<sup>[15]</sup>。

### 1.4 神经营养作用

神经营养因子是治疗神经障碍性疾病和创伤性神经损伤的重要因素, VPA 可上调 CNS 损伤后神经营养因子的表达。Pandamooz 等<sup>[16]</sup> 体内实验发现, 经过 VPA 处理后的干细胞, 经过 168 h 培养, 血管内皮生长因子 (VEGF)、神经生长因子 (NGF) 和神经营养因子 (NT3) 表达水平较对照组升高。在原代脑胶质细胞培养中, VPA 用药后, 星形胶质细胞内的神经胶质细胞源性的神经营养因子 (GDNF) 和脑源性神经营养因子 (BDNF) 表达增加, 减少了多巴胺能神经元自发死亡<sup>[17]</sup>。已有研究表明, VPA 增强了启动子相关组蛋白的乙酰化 (例如, 增加 BDNF P4 基因启动子周围组蛋白的乙酰化), 从而可以激活 BDNF 和 GDNF 启动子并促进他们转录, 最终介导神经营养作用<sup>[18]</sup>。

## 2 VPA 对急性 CNS 损伤的保护作用

### 2.1 脑卒中

在大鼠脑缺血模型中, VPA 通过降低大鼠大脑皮层神经 caspase-3 的激活, 减少脑梗死面积, 通过减少了小胶质细胞的活化和数量, 减少促炎细胞因子 (IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$ ) 生成和 HDAC 活性, 上调 HSP70, 下调 p53, 减轻颅脑炎症反应和血管内皮损伤, 促进受损神经功能的恢复<sup>[19-20]</sup>。Zhu 等<sup>[21]</sup> 在体内外实验中发现, VPA 能降低缺血再灌注动物模型海马神经元中 caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 的水平, 降低神经元的死亡, 逆转脑缺血后大鼠的学习、记忆和空间认知能力障碍。另外, 长期给予 VPA 治疗, 可抑制 HDAC 和 MMP-2/9 的表达, 上调 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF, 从而促进血管生成, 改善功能预后<sup>[22]</sup>。

在大鼠脑出血模型中, VPA 可减少血肿周围细胞凋亡, 预防血肿扩大, 减轻脑出血大鼠半球萎

缩,改善脑出血大鼠的功能恢复。体内试验发现,VPA可以上调HSP70的表达,有效降低了MMP-9的表达和活性,减少闭合蛋白-5的降解。另外,VPA也上调了AKT的磷酸化及Bcl-2的表达。VPA通过以上机制降低了蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)后血脑屏障破坏和脑水肿,减少了神经细胞的凋亡,改善了神经行为功能的恢复<sup>[23]</sup>。Dash等<sup>[24]</sup>发现,体内外脑出血模型显示血红蛋白的副产物血红素可诱导血红素加氧酶-1(HO-1)的表达,在颅内出血介导的神经毒性中起重要作用。VPA预处理后,通过激活ERK1/2和JNK信号通路,促进HO-1蛋白的泛素化和原核降解,从而减轻脑出血后血红素的毒性,减少脑出血大鼠的神经损伤。

## 2.2 创伤性脑损伤

在成年脑和动物TBI模型中,伤后给予VPA治疗可减轻TBI后氧化应激诱导的神经元的凋亡,减少炎症反应和血脑屏障的破坏,从而改善神经元可塑性及运动和认知功能。有实验发现,VPA处理后氧化应激的标记物减少,Nfr2增加,进而导致MMP-3/9、TGF-1和NF- $\kappa$ B的激活受抑制。VPA也可诱导编码神经元转录的因子及他们的靶向基因,例如MEFD、MYT1L和NEUROD1,从而抑制少突细胞、黏附趋化因子的生成和T细胞的活化,从而减轻神经炎症反应和凋亡,最后起到神经保护的作用<sup>[25-26]</sup>。BDNF是促进CNS神经元可塑性和存活的关键因子,应用VPA治疗的猪创伤性脑损伤BDNF的表达较对照组增多<sup>[7]</sup>。Yu等<sup>[27]</sup>还发现,在TBI大鼠模型中,给予有效剂量的锂和VPA联合治疗,能减少血脑屏障(BBB)的破坏、病变体积和海马神经变性,最终促进了脑缺血后的神经功能恢复。

## 2.3 脊髓损伤

急性脊髓损伤(SCI)主要表现为原发性损伤时坏死导致大量细胞丢失以及继发性损伤导致细胞凋亡,常导致永久性神经功能障碍。在大鼠体内实验发现,VPA可促进小胶质细胞从M1型向M2型极化,抑制小胶质细胞的活化,下调SCI诱导的炎症因子,同时也能抑制急性脊髓损伤后HDAC3的表达和活性,增强转录活化蛋白1(STAT1)的活性,以及NF- $\kappa$ Bp65的乙酰化作用来减少细胞凋亡促进细胞再生<sup>[9,28]</sup>。在体外脊髓损伤模型(SCD)的实验中发现与对照组相比,应用VPA治疗的损伤脊髓切片中TNF- $\alpha$ 减少,而BDNF表达增加,这有助于改善脊髓损伤大鼠的运动和行为功能<sup>[12,29]</sup>。

此外有体内实验表明,在大鼠SCI的体内延长VPA(损伤后15d)用药,VPA不仅可以抑制脊髓损伤后大鼠的自噬活性,也可以增加新生神经元标记物DCX的生成和成熟神经元特异性核蛋白标记物NeuN来增加腹角运动神经元数量,减轻脊髓损伤,促进大鼠运动功能的恢复<sup>[12,30]</sup>。

## 3 展望

根据上述临床前证据,VPA对急性CNS损伤具有保护及修复作用。然而,由于VPA对某些CNS疾病的临床研究结果仍不理想及该药本身的临床应用局限性,VPA在神经保护方面的进一步研究无疑是必要的,有望集中于以下几个方面。首先,VPA介导的表观遗传控制机制在急性CNS损伤中的作用应进一步探究确认。其次,由于VPA与其他药物(如锂、新鲜冷冻血浆和6%羟基乙酸)联合使用在神经保护方面具有积极的协同效应,因此,进一步研究VPA与其他药物联合治疗急性CNS损伤是可取的。进一步的研究和长期的大规模随机临床试验,有望重新定义VPA在急性CNS损伤保护方面的潜在作用。

## 参 考 文 献

- [1] 张蒙,李荣,周玉生. UGT基因多态性对丙戊酸药动学影响研究[J]. 中草药, 2019, 17(4): 586-589.
- [2] Methaneethorn J. A systematic review of population pharmacokinetics of valproic acid[J]. Br J Clin Pharmacol, 2018, 84(5): 816-834.
- [3] Song HC, Yuan S, Zhang ZW, et al. Sodium/hydrogen exchanger 1 participates in early brain injury after subarachnoid hemorrhage both and via promoting neuronal apoptosis[J]. Cell Transplant, 2019, 28(8): 985-1001.
- [4] Li ZM, Wu FZ, Zhang X, et al. Valproate attenuates endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in SH-SY5Y cells via the AKT/GSK3 $\beta$  signaling pathway[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2): 315.
- [5] Zhu HL, Zhang YS, Shi ZS, et al. The neuroprotection of liraglutide against ischaemia-induced apoptosis through the activation of the PI3K/AKT and MAPK pathways[J]. Sci Rep, 2016, 6: 26859.
- [6] Bates RC, Stith BJ. Increasing pro-survival factors within whole brain tissue of Sprague Dawley rats via intracerebral administration of modified valproic acid[J]. J Pharmacol Sci, 2015, 128(4): 193-201.
- [7] Chang PP, Williams AM, Bhatti UF, et al. Valproic acid and neural apoptosis, inflammation, and degeneration 30 days after traumatic brain injury, hemorrhagic shock, and polytrauma in a swine model[J]. J Am Coll Surg, 2019, 228:

265-275.

- [ 8 ] 孙勇, 张相彤, 梁洪生. NLRP3 炎性体在脑出血中的研究进展 [ J ]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2017, 44(1): 87-91.
- [ 9 ] Chen XR, Wang HD, Zhou ML, et al. Valproic acid attenuates traumatic brain injury-induced inflammation: involvement of autophagy and the Nrf2/ARE signaling pathway [ J ]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 117.
- [ 10 ] Seet LF, Toh LZ, Finger SN, et al. Valproic acid exerts specific cellular and molecular anti-inflammatory effects in post-operative conjunctiva [ J ]. *J Mol Med (Berl)*, 2019, 97: 63-75.
- [ 11 ] Kwon KJ, Kim JN, Kim MK, et al. Neuroprotective effects of valproic acid against hemin toxicity: possible involvement of the down-regulation of heme oxygenase-1 by regulating ubiquitin-proteasomal pathway [ J ]. *Neurochem Int*, 2013, 62: 240-250.
- [ 12 ] Chu TC, Zhou HX, Lu L, et al. Valproic acid-mediated neuroprotection and neurogenesis after spinal cord injury: from mechanism to clinical potential [ J ]. *Regen Med*, 2015, 10: 193-209.
- [ 13 ] 李原超, 齐丹丹, 张忠玲. 丙戊酸钠的抗氧化应激作用在偏头痛中的作用机制 [ J ]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2016, 43(1): 90-94.
- [ 14 ] Cui J, Shao L, Young LT, et al. Role of glutathione in neuroprotective effects of mood stabilizing drugs lithium and valproate [ J ]. *Neuroscience*, 2007, 144(4): 1447-1453.
- [ 15 ] Otero JH, Lizák B, Hendershot LM. life and death of a BiP substrate [ J ]. *Semin Cell Dev Biol*, 2010, 21(5): 472-478.
- [ 16 ] Pandamooz S, Salehi MS, Safari A, et al. Enhancing the expression of neurotrophic factors in epidermal neural crest stem cells by valproic acid: A potential candidate for combinatorial treatment [ J ]. *Neurosci Lett*, 2019, 704: 8-14.
- [ 17 ] Allen SJ, Watson JJ, Shoemark DK, et al. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration [ J ]. *Pharmacol Ther*, 2013, 138: 155-175.
- [ 18 ] Almutawaa W, Kang NH, Pan Y. Induction of neurotrophic and differentiation factors in neural stem cells by valproic acid [ J ]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2014, 115: 216-221.
- [ 19 ] Picascia A, Grimaldi V, Iannone C, et al. Innate and adaptive immune response in stroke: Focus on epigenetic regulation [ J ]. *J Neuroimmunol*, 2015, 289: 111-120.
- [ 20 ] Suda S, Ueda M, Nito C, et al. Valproic acid ameliorates ischemic brain injury in hyperglycemic rats with permanent middle cerebral occlusion [ J ]. *Brain Res*, 2015, 1606: 1-8.
- [ 21 ] Zhu S, Zhang Z, Jia LQ, et al. Valproic acid attenuates global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils via anti-pyroptosis pathways [ J ]. *Neurochem Int*, 2019, 124: 141-151.
- [ 22 ] Pandamooz S, Salehi MS, Safari A, et al. Enhancing the expression of neurotrophic factors in epidermal neural crest stem cells by valproic acid: A potential candidate for combinatorial treatment [ J ]. *Neurosci Lett*, 2019, 704: 8-14.
- [ 23 ] Ying GY, Jing CH, Li JR, et al. Neuroprotective effects of valproic acid on blood-brain barrier disruption and apoptosis-related early brain injury in rats subjected to subarachnoid hemorrhage are modulated by heat shock protein 70/matrix metalloproteinases and heat shock protein 70/AKT pathways [ J ]. *Neurosurgery*, 2016, 79: 286-295.
- [ 24 ] Dash PK, Orsi SA, Zhang M, et al. Valproate administered after traumatic brain injury provides neuroprotection and improves cognitive function in rats [ J ]. *PLoS One*, 2010, 5: e11383.
- [ 25 ] Bambakidis T, Dekker SE, Sillesen M, et al. Resuscitation with valproic acid alters inflammatory genes in a porcine model of combined traumatic brain injury and hemorrhagic shock [ J ]. *J Neurotrauma*, 2016, 33: 1514-1521.
- [ 26 ] Higgins GA, Georgoff P, Nikolian V, et al. Network reconstruction reveals that valproic acid activates neurogenic transcriptional programs in adult brain following traumatic injury [ J ]. *Pharm Res*, 2017, 34: 1658-1672.
- [ 27 ] Yu FS, Wang ZF, Tanaka M, et al. Posttrauma cotreatment with lithium and valproate: reduction of lesion volume, attenuation of blood-brain barrier disruption, and improvement in motor coordination in mice with traumatic brain injury [ J ]. *J Neurosurg*, 2013, 119: 766-773.
- [ 28 ] Chen SB, Ye JF, Chen XR, et al. Valproic acid attenuates traumatic spinal cord injury-induced inflammation via STAT1 and NF- $\kappa$ B pathway dependent of HDAC3 [ J ]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 150.
- [ 29 ] Pandamooz S, Salehi MS, Safari A, et al. Enhancing the expression of neurotrophic factors in epidermal neural crest stem cells by valproic acid: A potential candidate for combinatorial treatment [ J ]. *Tissue Cell*, 2019, 56: 90-97.
- [ 30 ] Chu WH, Yuan JC, Huang L, et al. Valproic acid arrests proliferation but promotes neuronal differentiation of adult spinal NSPCs from SCI rats [ J ]. *Neurochem Res*, 2015, 40: 1472-1486.