



· 综述 ·

芍药苷神经保护机制的研究进展

朱叶芳, 党姗姗, 华子瑜*

(重庆医科大学 附属儿童医院, 重庆 400014)

[摘要] 芍药苷是中药芍药的有效单体成分,近年来研究发现其有显著的神经保护作用。对其神经保护机制的探讨成为研究热点。目前研究发现其神经保护机制与活化腺苷 A1 受体、改善胆碱能神经功能、平衡离子通道、抑制氧化应激、抑制神经细胞凋亡、促进神经生长、作用于胶质细胞及可透过血脑屏障密切相关。

[关键词] 芍药苷;神经保护机制;凋亡

芍药苷(paeoniflorin, PF)是中药芍药的主要有效单体成分,芍药在中医方面有敛阴和营,缓急止痛,清热止痢,柔肝调气,养血活血,通血脉,安胎止漏,去水饮,利小便,苦泄通便,养阴助阳,敛阴和阳的功效。既往研究证明芍药苷有改善微循环、抗氧化及自由基损伤、抑制细胞内钙超载、抑制细胞凋亡、抗神经毒性和改善小鼠的学习记忆功能等作用。国内外对其神经保护作用的机制做了一定的研究及探讨,本文就其神经保护机制的研究进展作一综述,为进一步研究及开发提供依据。

1 平衡离子通道

1.1 防止胞内 Ca^{2+} 超载

细胞内 Ca^{2+} 超载、自由基导致线粒体内膜损伤,线粒体肿胀,释放细胞色素 C 和 Apaf-1 到细胞质,从而可引起 caspase 活化和细胞凋亡^[1]。有研究表明 PF 可抑制 PC12 细胞(大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞株)钙超载的损伤^[2]。另外,杨军等^[3]采用原代大鼠大脑皮层神经细胞,制备咖啡因、氯化钾及 *N*-甲基-*D*-门冬氨酸(*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA)诱导的钙超载损伤模型,在加入 PF 作用 24 h 后,对上述 3 种胞内钙超载所致神经细胞损伤均具有显著的保护作用,且呈浓度依赖性。有研究表明,给予大鼠海马组织内注射 Abeta (1-42)寡聚物可通过增加钙离子内流产生细胞毒性,造成大鼠海马功能障碍,而持续 PF 干预可呈剂量依赖性缓解大鼠认知障碍、抑制海马神经元凋亡,可能与 PF 显著降低胞内游离钙浓度密切相关^[4]。

1.2 调节钠离子通道

有研究表明,PF 以频率依赖及浓度依赖钠通道方式,作用于小鼠海马 CA1 区神经元细胞,提高钠通道最大激活电位,增大稳态激活曲线及失活曲线,并且延迟钠通道的失活态恢复时间。说明 PF 有阻断脑海马 CA1 区细胞钠通道的作用,可能为其调节脑内能量代谢、发挥神经保护的机制之一^[5]。

1.3 调节 L 型 Ca^{2+} 通道

体外研究发现,PF 可呈浓度依赖性的可逆性抑制 NG108-15 神经细胞(一种神经胶质瘤细胞系)的 L 型 Ca^{2+} 通道,30 μ m 的 PF 可轻微抑制电压依赖性 Na^{+} 电流和延迟整流 K^{+} 电流,且显著减少神经元的自发放电频率,可能为对神经元及神经内分泌的作用机制^[6]。

2 抗氧化机制

2.1 降低氧自由基水平

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)在组织中的活性常作为清除氧自由基能力的主要指标。而丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平反映体内氧自由基的生成水平。大量的 MDA 可使脑组织生物膜结构与功能受到损伤,蛋白质变性失活, DNA 多核苷酸主链断裂,碱基修饰,膜通透性、离子转运、膜屏障功能及生物功能均受影响,造成神经元损伤甚至死亡。近年来研究发现,在脑缺血性损伤模型中,SOD 表达降低而 MDA 增高,PF 干预可显著降低损伤组织中 MDA 含量,增加 SOD 含量^[7]。

2.2 调节一氧化氮及一氧化氮合酶含量

有研究表明,缺血性脑损伤可引起脑皮质一氧化氮(nitrogen monoxidum, NO)含量及一氧化氮合酶(Nitric Oxide Synthase, NOS)活性降低,而不同剂量的 PF 可不同程度地增加大脑皮层 NO 含量,提高 NOS 活性,发挥保护作用^[8]。另有报道,PF 预处理可降低缺血性损伤中 NOS 的表达、减少毒性 NO 的产生^[9]。说明 PF 对 NO 含量及 NOS 活性有双重调节作用,因此,PF 可能参与调节其上游机制。

3 活化腺苷 A1 受体

腺苷 A1 受体是 G 蛋白偶联受体,具有多种生物学效应,

[稿件编号] 20091109002

[基金项目] 重庆市自然科学基金(CSTC,2009BB5067)

[通信作者] 华子瑜, Tel: (023) 63635567, Fax: (023) 68485555, E-mail: ziyu_h@yahoo.com.cn

[作者简介] 朱叶芳,在读硕士,主要从事胆红素脑损伤研究, Tel: 15123202057



它在各个系统都存在,但在中枢神经系统中表达水平最高。以往有学者发现发现 PF 能改善腺苷 A1 受体介导的认知、记忆障碍。发挥与腺苷 A1 受体拮抗剂 8-环氧戊基-1,3 二硫黄嘌呤(8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine, DPCPX)类似的作用,减轻腺苷 A1 受体活化介导记忆障碍的作用,说明 PF 可通过直接或间接抑制腺苷 A1 受体起作用^[10]。

但 PF 对腺苷 A1 受体的作用,目前报道的结果不一致。近年来多数研究表明,PF 是通过活化腺苷 A1 受体来保护神经的。Liu HQ 等^[11]发现 PF 对帕金森病小鼠模型有神经保护作用,皮下注射 PF 既能防止神经毒素 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)所致的黑质及纹状体神经纤维运动迟缓或死亡,又可减轻多巴胺能神经变性的作用,呈量-效关系,而 DPCPX 可拮抗 PF 的神经保护作用。另外,在缺血性脑损伤的模型中,PF 也是通过活化腺苷 A1 受体发挥保护作用的^[12]。关于 PF 使腺苷 A1 受体活化后通过何种机制起作用,有报道腺苷 A1 受体-G 蛋白信号调节因子-ATP 敏感性钾通道(腺苷 A1 受体-RGS-K_{ATP})信号传导系统可能参与其中^[9]。

4 改善胆碱能神经功能

中枢胆碱能系统的功能是学习记忆的重要生理基础,脑内乙酰胆碱含量降低,M1 和 N1 胆碱受体数量减少可引起中枢胆碱能神经系统的功能下降,在人自然衰老过程及血管性痴呆病程中造成学习记忆障碍。东莨菪碱是中枢 M 胆碱受体拮抗剂,可阻断 M1 和 M2 受体,降低海马组织中乙酰胆碱含量,使动物记忆形成过程发生障碍^[13]。

研究发现,PF 可通过作用于胆碱能神经系统而改善学习记忆功能^[13]。Tabata 等^[14]通过记录大鼠脑海马 C A1 区的群峰电位,发现 M1, M2 受体拮抗剂东莨菪碱和选择性 M1 受体拮抗剂哌吡卓酮均能抑制群峰电位的长时程增强,从而影响学习和记忆功能,但 PF 能对抗东莨菪碱和哌吡卓酮的抑制作用。说明 PF 可对抗 M1 受体拮抗剂,从而改善因胆碱能神经功能障碍引起的空间认知障碍。

5 抑制细胞凋亡

5.1 防止线粒体损伤

近年来动物实验研究发现,PF 可抑制缺血性所致的神经细胞损伤及凋亡^[15-16]。孙荣等^[17]用 NO 诱导 PC12 细胞凋亡,然而用不同浓度的 PF 处理后,可在一定程度上提高细胞线粒体跨膜电位,降低细胞凋亡率。有研究表明,PF 可降低细胞色素 C 的表达^[9]。故 PF 可抑制线粒体途径介导的细胞凋亡。

5.2 调节信号转导通路

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs)是广泛分布在真核细胞膜表面的丝氨酸/苏氨酸激酶系统,主要包括 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38mitogen activated protein kinases, p38MAPKs), c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal protein kinases, JNKs)和细胞外信号调节蛋白激酶

(extracellular signal regulated protein kinases, ERKs),胞外的渗透压变化、缺血、缺氧、毒性物质等应激刺激,可以激活细胞膜上的 MAPK 系统,后者再通过磷酸化激活细胞浆和细胞核内的多种功能各异的下游蛋白,调节细胞的分化、分裂增殖、存活和死亡^[18]。有研究表明,脑缺血再灌注损伤中 p38MAPK 和 JNK 表达增加、ERK 表达降低,而 PF 可以逆转此变化^[9]。另有报道,一定剂量的辐射可引起胸腺细胞损伤及死亡,引起 ERK, JNKs 和 p38MAPKs 的活化,而 PF 可在一定程度上阻止它们的活化水平^[19]。

MAPK 信号转导通路下游的 NF- κ B 是研究较深入的核转录因子,它通过调控 p53, c-myc, TNF- α 等目标基因表达,以及与 Bcl-2 的相互作用,参与细胞因子释放及凋亡等活动^[20],而近年来的报道表明 PF 可抑制 NF- κ B 的活化^[21-22]。

故 PF 可通过作用于 MAPK 信号转导通路、调节其下游调节机制发挥神经保护机制。但由于 MAPK 信号转导通路的复杂性,PF 对此的调节方式及明确机制鲜有报道。

6 促进神经生长

6.1 促进外周神经的再生

Huang KS 等^[23]将芍药水溶液与芍药苷混合制成一定浓度的芍药提取物,体外实验发现其可以显著提高神经生长因子介导的 PC12 细胞的生长,提高其轴突的出芽和生长相关蛋白 43 及突触蛋白 I 的表达;在体内试验中,将充满芍药提取物的硅胶管用于大鼠坐骨神经 10 mm 的神经缺损的搭桥,8 周后与对照组相比,坐骨神经的再生速度、平均面积、有髓鞘轴突和血管的数量、神经传导速度均明显升高。提示芍药提取物有潜在的神经生长促进作用,而其主要有效成分 PF 可能为一个潜在的神经生长促进因子。

6.2 对大脑皮层神经元生长的影响

吴玉梅等^[24]体外培养胎鼠大脑皮层神经元,发现随着培养时间的增长,神经细胞逐渐死亡,而 PF 干预组则可显著增加神经细胞存活数量,降低死亡率,但无神经元再生的报道。故提示 PF 对大脑皮层的神经元有保护作用,但是否与其可能有促神经生长作用有关尚不清楚。

对中枢神经系统胶质细胞的抑制可能对神经元有保护及促进再生的作用,目前研究学者普遍认为:组成中枢神经和周围神经的胶质细胞的不同可能决定了两者存活和再生的差异,周围神经的胶质细胞是施万细胞,可产生更多的神经营养因子,促进轴突的生长;而中枢神经的是少突胶质细胞,可产生更多的神经生长抑制因子等^[25],但关于 PF 对少突胶质细胞的作用,鲜有报道。

7 PF 与神经胶质细胞的关系

吴玉梅等^[26]体外实验发现 PF 可抑制星形胶质细胞活性。有报道,MTPT 可引起小胶质细胞及星形胶质细胞活化,并导致炎症因子如 TNF- α , IL-1 β 的高表达,但 PF 干预可抑制胶质细胞的活化及炎症因子的表达^[11]。说明 PF 可作用于胶质细胞,发挥抗炎症反应作用。



8 PF 发挥神经保护作用的物质基础

研究表明^[27],股静脉注射芍药提取物(含 PF50%),采用高效液相色谱定量分析发现,PF 可迅速通过血脑屏障,分布到海马区域。杜力军等^[28]通过大鼠静脉注射芍药总苷(含 PF50.88%),得到类似结果,但给药后相同时间点的脑内浓度明显高于 PF 单体给药,提示芍药总苷中的一些成分能促进 PF 穿透血脑屏障。有报道,脑缺血再灌注可降低 PF 在脑内的代谢速度^[29-30],提示在缺血再灌注情况下 PF 更有使用价值。但目前鲜有其他疾病条件下 PF 脑内代谢情况相关研究报道。

9 小结

目前有关芍药苷的神经保护作用及机制主要来自于对缺血缺氧性脑损伤、帕金森等疾病的实验研究,证实其可以通过血脑屏障,进而通过平衡离子通道、抗氧化、活化腺苷 A1 受体、作用于胶质细胞、抑制神经细胞凋亡、促进神经生长、改善胆碱神经功能来发挥神经保护作用,故芍药苷在神经保护方面有深入研究的价值。在神经系统损伤性疾病中,各种病理刺激因子最终通过引起神经细胞损伤及凋亡从而引起神经功能病变。而芍药苷可通过多途径、多靶点抑制神经细胞损伤及凋亡,对神经保护有独特优势。但芍药苷是否在抑制神经细胞的损伤及凋亡方面有其独特的作用靶点,目前尚不完全清楚,故对其神经保护机制仍有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Douglas R. Green, Guido Kroemer. The pathophysiology of mitochondrial cell death[J]. Science, 2004,305(5684):9.

[2] 杨军,何丽娜,何素冰. 芍药苷对氯化钾及 N-甲基-D-门冬氨酸诱导的 PC12 细胞钙超载损伤的保护作用[J]. 中国新药杂志,2001,10(6):426.

[3] 杨军,何丽娜,何素冰,等. 芍药苷对沙土鼠皮层神经细胞钙超载损伤的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2001,15(3):164.

[4] Shu-Zhi Zhong, Qing-Hua Ge, Qiao Li, et al. Peoniflorin attenuates A β (1-42)-mediated neurotoxicity by regulating calcium homeostasis and ameliorating oxidative stress in hippocampus of rats[J]. J Neurol Sci, 2009,280(1/2):8.

[5] ZHANG Guang-Qin, HAO Xue-Mei, CHEN Shi-Zhong, et al. Lockade of peoniflorin on sodium current in mouse hippocampal CA1 neurons[J]. Acta Pharmacol Sin, 2003,24(12):52.

[6] Tung-Ying Tsai, Sheng Nan Wu, Yen-Chin Liu, et al. Inhibitory action of L-type Ca²⁺ current by peoniflorin, a major constituent of peony root, in NG108-15 neuronal cells[J]. Eur J Pharmacol, 2005,523(1/3):16.

[7] 陈广斌,陈华萍,吴铁,等. 芍药苷对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织丙二醛、超氧化物歧化酶的影响[J]. 实用儿科临床杂志,2008,23(16):1272.

[8] 孙蓉,吕丽莉,刘国卿. 芍药苷对沙土鼠不全性脑缺血后能量代谢、NO 和 NOS 的影响[J]. 中国中药杂志,2006,31(10):832.

[9] Dong-Mei Chen, Liang Xiao, Xin Cai, et al. Involvement of muhitargets in peoniflorin(induced preconditioning[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006,319(1):80.

[10] Keiichi Tabata, Kinzo Matsumoto, Yukihisa Murakami, et al. Ameliorative effects of peoniflorin, a major constituent of peony root, on adenosine A1 receptor-mediated impairment of passive avoidance performance and long-term potentiation in the hippocampus[J]. Biol Pharm Bull, 2001,24(5):496.

[11] Hua-Qing Liu, Wei-Yu Zhang, Xue-Ting Luo, et al. Peoniflorin attenuates neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease by activation of adenosine A1 receptor[J]. Br J Pharmacol, 2006,148(3):25.

[12] Da-Zhi Liu, Ke-Qiang Xie, Xin-Quan Ji, et al. Neuroprotective effect of peoniflorin on cerebral ischemic rat by activating adenosine A1 receptor in a manner different from its classical agonists[J]. Br J Pharmacol, 2005,146(4):604.

[13] 孙蓉,吕丽莉,刘国卿. 芍药苷对小鼠学习记忆能力的影响[J]. 中药药理临床,2006,22(1):23.

[14] Keiichi Tabata, Kinzo Matsumoto, Hiroshi Watanabe. Peoniflorin, a major constituent of peony root, reverses muscarinic M1-receptor antagonist-induced suppression of long-term potentiation in the rat hippocampal slice[J]. Jpn J Pharmacol, 2000,83(1):25.

[15] 王君萍,韦颖梅,郭梅,等. 芍药苷对大鼠脑缺血再灌注损伤细胞凋亡相关基因的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2008,6(3):310.

[16] 陈广斌,吴铁,林坚涛,等. 芍药苷对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤中神经细胞凋亡的影响[J]. 华西药学杂志,2009,24(4):354.

[17] 孙蓉,武栋栋,刘国卿,等. 一氧化氮诱导 PC12 细胞凋亡及芍药苷的保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学,2005,10(11):1266.

[18] Teiji Wada, Josef M Penninger. Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation[J]. Oncogene, 2004,23(16):49.

[19] Chun Rong Li, Zhe Zhou, Dan Zhu. Protective effect of peoniflorin on irradiation-induced cell damage involved in modulation of reactive oxygen species and the mitogen-activated protein kinases[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007,39(2):38.

[20] Stefan Grimm, Manuel K A. Bauer, Patrick A Baeuerle, et al. Bcl-2 Down-regulates the Activity of Transcription Factor NF- κ B Induced upon Apoptosis[J]. J Cell Biology, 1996,134(1):13.

[21] Hao Wu, Wei Li, Tongshan Wang, et al. Peoniflorin suppresses NF- κ B activation through modulation of I kappa B alpha and enhances 5-fluorouracil-induced apoptosis in human gastric carcinoma cells[J]. Biomed Pharmacother, 2008,62(9):659.

[22] Jing Liu, Dao-Zhong Jin, Liang Xiao, et al. Peoniflorin attenuates chronic cerebral hypoperfusion-induced learning dysfunction and brain damage in rats[J]. Brain Res, 2006,1089(1):70.

[23] Kun-Shan Huang, Jaung-Geng Lin, Han-Chung Lee, et al. Peoniae Radix promotes peripheral nerve regeneration[J]. Evid



- Based Complement Alternat Med, 2009.
- [24] 吴玉梅,许汉鹏,王春婷,等. 芍药苷对培养小鼠皮层神经元的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2002,16(3):172.
- [25] 王西林. 神经胶质细胞的功能[J]. 黔南民族医专报,2007,20(1):61.
- [26] 吴玉梅,许汉鹏,王春婷,等. 芍药苷对体外培养大鼠星形胶质细胞活性的作用[J]. 解剖学报,2002,33(4):430.
- [27] Xihui He, Dongming Xing, Yi Ding, et al. Determination of paeoniflorin in rat hippocampus by high-performance liquid chromatography after intravenous administration of Paeoniae Radix extract [J]. J Chromatogr B, 2004, 802(2):277.
- [28] 杜力军,刘瑞凝,王雪莉,等. 脑核团分布动力学在研究脑功能调节中药中的应用[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2006,8(3):14.
- [29] Chunai Cao, Xihui He, Wei Wang, et al. Kinetic distribution of paeoniflorin in cortex of normal and cerebral ischemia-reperfusion rats after intravenous administration of Paeoniae Radix extract [J]. Biomed Chromatogr, 2006,20(12):8.
- [30] Xihui He, Dongming Xing, Yi Ding, et al. Effects of cerebral ischemia-reperfusion on pharmacokinetic fate of paeoniflorin after intravenous administration of Paeoniae Radix extract in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2004,94(2/3):44.

Advanced achievements about neuroprotective mechanisms of paeoniflorin

ZHU Yefang, DANG Shanshan, HUA Ziyu*

(Neonatology Department, Chongqing Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

[Abstract] Paeoniflorin is one of the bioactive components of Paeonia lactiflora, a traditional Chinese herbal medicine. Some recent studies prove its distinguished neuroprotective effect. These neuroprotective mechanisms have become hot points and show closely correlated to activating adenosine A₁ receptor, ameliorating the function of cholinergic nerve, regulating ion channel homeostasis, retarding oxidative stress and apoptosis of the neurocytes, promoting nerve growth, having an influence on astrocytes and being able to penetrate through blood brain barrier. In this review, we present the neuroprotective mechanisms of paeoniflorin in the following eight aspects.

[Key words] paeoniflorin; neuroprotective mechanism; apoptosis

doi: 10.4268/cjcmm20101129

[责任编辑 刘 ■]