

- dependent proteins in hippocampus of senescence - accelerated mice[J]. Brain Res, 1999, 842(2): 287 - 293
- 20 Jouvenceau A, Hédou G, Potier B, *et al.* Partial inhibition of PP1 alters bidirectional synaptic plasticity in the hippocampus[J]. Eur J Neurosci, 2006, 24(2): 564 - 572
- 21 Sowell RA, Butterfield DA. Spontaneous vertebrate models of Alzheimer dementia; selectively bred strains (SAM strains) [J]. Neuro-methods, 2011, 48: 271 - 293
- 22 Thomas GM, Huganir RL. MAPK cascade signaling and synaptic plasticity[J]. Nat Rev Neurosci, 2004, 5(3): 173 - 183
- 23 Zellner M, Veitinger M, Umlauf E, *et al.* The role of proteomics in dementia and Alzheimer disease [J]. Acta Neuropathol, 2009, 118(1): 181 - 195
- 24 Chen SC, Lu G, Chan CY, *et al.* Microarray profile of brain Aging - related genes in the frontal cortex of SAMP8 [J]. J Mol Neurosci, 2010, 41(1): 12 - 16
- (收稿: 2011 - 05 - 08)
- (修回: 2011 - 05 - 09)

腺苷及其受体在颅脑创伤及慢性认知损害中的作用及临床应用前景

宁亚蕾 周元国

在现代社会, 交通事故、坠落、运动意外等引起的创伤性脑损伤(traumatic brain injury, TBI)和战争、恐怖袭击中爆炸导致的颅脑冲击伤(bTBI)都具有发生率高和死残率高的特点, 即使患者表面康复, 往往还会遗留慢性神经行为损伤, 不仅影响患者工作、生活质量, 也给家庭和社会带来沉重负担。因此如何提高颅脑创伤的救治率、提高康复质量已为现代创伤、神经外科及康复领域提出了新的课题。

原发性颅脑损伤(包括颅骨骨折、颅内出血等)目前已能通过外科手术得到较好的解决, 但继发性损伤(包括兴奋性毒性、钙超载、过度炎症反应等)尽管进行了较深入的研究, 建立了许多临床处理原则, 也发现了大量能够抗损伤和促进神经功能恢复的药物如谷氨酸受体拮抗剂、 Ca^{2+} 拮抗剂、自由基清除剂、免疫反应调节剂、NO系统调节剂、多肽类神经营养药物、激素等, 但最近的《中国颅脑创伤病人脑保护药物指南》指出^[1], 国内外一些权威机构对200多种颅脑损伤治疗药物进行的临床多中心随机双盲研究未能发现任何一种临床有效的药物, 其中包括了上述临床常用药物^[2-4]。这些药物在治疗颅脑损伤的失败原因与对颅脑创伤继发损伤的机制认识不足、只着眼于单一的致伤机制、未充分考虑不同致伤模型、不同物种等对临床前试验的影响, 以及没有对药物药代动力学进行全盘考虑等^[5]。因此, 探索真正有效、

能够应用于临床的TBI治疗药物或寻找治疗靶点仍然是难点和研究热点。而随着生活水平的提高, 颅脑创伤后的认知行为损伤, 尤其是症状不明显的轻度TBI和bTBI后遗症正逐渐引起关注, 成为新的研究重点。

腺苷作为三磷酸腺苷的代谢产物, 是一种重要的维持内环境稳定的活性分子, 也是重要的神经递质及调质, 颅脑损伤后, 组织大量释放腺苷, 其通过作用于腺苷受体(主要是A1和A2A受体)发挥多种生物学效应, 可对谷氨酸释放、炎症及钙离子进行调节, 对中枢神经系统乃至全身各系统的多种生理、病理过程起调控作用, 与颅脑损伤后的三大继发损伤机制有着密切联系, 近年来受到了广泛的重视, 成为遏制TBI后多因素共同作用所致的继发性损伤的一个新思路^[6,7]。然而腺苷受体在TBI中有何变化, 发挥何种作用研究很少, 同时根据既往报道, 在多种中枢损伤模型中, A2A受体激活后存在保护和损伤的矛盾效应。如A2AR选择性激动剂CGS21680可以减轻缺血或兴奋毒性造成的动物海马损伤以及对兔前脑缺血起保护作用; 同样, 激动剂APEC也能提高缺血后动物的脑血流量及存活率^[8]。但也有实验观察到了截然相反的现象, 如A2AR选择性拮抗剂ZM241385明显降低了人海藻酸引起的海马损伤^[9]。那么在急性颅脑创伤中, 腺苷受体尤其是A2A受体是否也有重要作用? 如果也存在双向调控作用, 其机制是否类似于其他脑损伤模型? 又是什么因素决定了其激活后效应的走向呢?

一、A1 受体激活对 TBI 急性期损伤的保护作用

针对上述问题,笔者在过去几年进行了系列研究,首先观察到伤前慢性给予非特异性腺苷受体拮抗剂咖啡因(在饮水中加入 0.25g/L 咖啡因,连续饮用 3 周)对小鼠中度 TBI 模型后急性期伤情体现出整体保护效应,而急性期给予咖啡因(伤前半小时腹腔注射 15mg/kg)则无显著作用,其机制与其上调 A1 受体、抑制谷氨酸释放和炎症反应有关^[10]。这一结果与匹兹堡大学 Kochanek 等的临床观察相似,该研究通过检测严重颅脑创伤患者脑脊液中咖啡因浓度,发现事先摄入咖啡因或一直定期服用咖啡因,都会对严重 TBI 患者的脑组织和神经功能产生保护作用^[11]。这一发现对颅脑损伤的防治有重要意义,因为咖啡作为饮品,其日常饮用量就可以达到有效水平,这使其用于损伤高危人群的预防成为可能。

二、A2A 受体活化对 TBI 急性期损伤的双向调控效应及机制

研究表明,随着伤情的发生,腺苷浓度继续上升,A1 受体快速下调,A2A 受体激活后的效应成为主导,为准确了解 A2A 受体在急性 TBI 中的作用,我们分别利用特异性 A2A 受体调节剂和基因敲除小鼠,进行了系列实验。我们首先观察了 A2A 受体基因敲除(A2AR KO)小鼠在 TBI 后 24h 的大体病理、神经功能缺损评分、脑含水量及不同时相点炎症因子表达和脑脊液谷氨酸水平的变化,结果表明敲除 A2AR 基因可以明显改善 TBI 后 24h 神经功能缺损,降低脑水肿,产生神经保护作用,而这种作用主要与抑制谷氨酸释放有关^[12]。随后,对野生型(WT)小鼠在 TBI 后不同时相点分别应用 A2A 受体激动剂 CGS21680 和拮抗剂 ZM241385 干预,观察了其对 TBI 后 24h 时上述伤情的影响,结合 TBI 后 24h 内脑脊液谷氨酸浓度的动态监测及炎症因子表达的检测,发现激活 A2A 受体在 TBI 中存在双向作用:低谷氨酸浓度时激活 A2AR 产生保护效应,高谷氨酸浓度时激活 A2AR 产生损伤作用,且上述效应与炎症因子的下调和上调呈正相关。

上述研究中表明,脑内局部谷氨酸的水平似乎是影响 A2A 受体效应进而影响整个伤情的关键,于是我们通过进一步的细胞实验和整体动物实验,观察了谷氨酸对 A2A 受体的调控作用及相关信号通路机制。首先我们检测了不同浓度谷氨酸条件下激活 A2AR 对 LPS 诱导的小胶质细胞 NOS 活性及 LPS 诱导的中性粒细胞 TNF- α 表达的影响,并利用 PKA

和 PKC 抑制剂在 LPS 诱导的小胶质细胞 NOS 产生实验中探讨了其可能涉及的主要下游信号通路。结果表明,低浓度谷氨酸条件下,A2A 受体激活后主要通过 cAMP-PKA 途径发挥抑炎保护效应;而较高浓度谷氨酸条件下激活 A2A 受体则主要通过 PKC 途径发挥促炎损伤效应;内环境中谷氨酸浓度越高,激活 A2A 受体损伤越重。然后,通过联合应用谷氨酸释放抑制剂和 A2AR 激动剂的整体动物 TBI 实验发现,在抑制谷氨酸释放的前提下,激活 A2AR 可以在原本高浓度谷氨酸时相点的促炎损伤作用重新转变为抑炎保护效应。这部分实验最终证明了内环境中谷氨酸浓度的高低是决定 A2AR 活化后效应走向的重要因素,同时也说明 A2AR 激活后的基本效应在中枢如同周围一样是保护效应,之所以在中枢有这么多种损害效应的报道,其原因就是环境中存在高浓度谷氨酸^[13]。

为进一步探讨 A2A 受体双向效应的细胞机制,我们通过骨髓移植的方法,建立了选择性敲除骨髓来源细胞(BMDC)上 A2AR 或选择性重建骨髓来源细胞上 A2AR(即敲除非骨髓来源细胞 A2AR)小鼠脑组织细胞特异性 A2AR 敲除的模型^[14],观察其对神经功能、炎症因子表达、谷氨酸水平及凋亡的影响,发现 BMDC 和非 BMDC(脑内固有细胞)的 A2AR 均参与了 TBI 所致的脑损伤,分别予以敲除均能起到与 A2AR 整体敲除相似的神经保护作用,其机制在于它们分别抑制了神经炎症反应和谷氨酸释放这两个相互促进放大的继发性脑损伤关键病理过程,从而揭示了 A2A 受体对 TBI 急性期损伤双向调控的多细胞机制。

上述系列研究结果表明,谷氨酸对腺苷 A2A 受体调控的 TBI 后急性期神经炎症反应和脑损伤程度具有重要影响,为困扰学术界多年的为何 A2A 受体会有双向作用提出了合理的解释,而且为临床通过监测谷氨酸浓度而合理应用 A2A 受体调节剂治疗 TBI 提供了较为可靠的实验依据和理论支持。不过上述结论是建立在轻中度 TBI 模型上的,且主要着眼于 A2AR 对 TBI 后急性期影响,在不同程度和不同类型的损伤模型中,上述规律是否仍然有效仍有待观察。

三、A2A 受体活化对认知功能损害的促进作用

传统上,临床实践对颅脑创伤的急性损伤较为重视,对伤后以认知、情感障碍等为主的精神损害重视不够,治疗上也多针对多巴胺、5-羟色胺等系统,对

症不对因,效果不持久也不稳定,不良反应,目前尚无针对病因的治疗药物。研究表明,A2A受体作为神经网络调控的关键分子之一,与A1R、谷氨酸受体、多巴胺受体、大麻素受体等诸多神经递质受体具有广泛的、多层面的相互作用,影响生理及病理状态下的睡眠、运动、情绪、认知等多种神经精神活动,因此也成为神经损伤后的潜在药物靶点,受到了极大的关注。例如A2AR基因敲除和选择性拮抗剂能够模拟咖啡因的作用,起到减少淀粉样沉积和神经元丢失、改善认知障碍等作用,从病理上和症状上缓解阿尔茨海默症。又如在四氢吡啶(MPTP)和六羟多巴胺(6-OHDA)引起的帕金森病(PD)动物模型中,A2AR基因敲除和选择性拮抗剂也起到减少神经元丢失、减少神经毒性、增强运动能力及改善僵直等作用而缓解PD。Istradefylline即选择性A2AR受体拮抗剂KW6002,作为PD治疗药物,已于2006年申请上市,它能够逆转纹状体-苍白球通路失衡,降低基底核间接通路活性,抑制GABA能释放,减轻PD的症状,改善运动功能,并减轻左旋多巴长期治疗引起的异动症。但是腺苷受体在颅脑创伤后的精神后遗症中的作用尚无研究报道,我们在冲击波所致小鼠颅脑创伤模型中观察到,敲除A2AR基因既减轻了损伤后急性期(24h)时的脑水肿、炎症反应及神经元变性,也减轻了慢性期(1、4、8周)的炎症反应和星形胶质细胞增生,同时改善了空间工作记忆损害并加速其恢复^[15]。

四、结 语

总之,前期研究工作已证明腺苷及其受体是一个与脑组织损伤和神经功能障碍都有密切关系的分子,其作用涉及急性期和慢性期的多个方面,有效调控腺苷极受体的功能有可能获得比以往单纯针对某一损伤机制的药物更好的效果。但是要证实这一点尚需要利用不同的损伤模型,对腺苷及其受体中急性期损害和慢性期认知障碍中的作用及机制进行扩展和深入,才能够为临床应用早日造福患者提供充足依据。

参考文献

- 1 中国医师协会神经外科医师分会,中国神经创伤专家委员会. 中国颅脑创伤病人脑保护药物治疗指南[J]. 中华神经外科杂志,

- 2008,24(10):723-725
- 2 Myburgh J, Cooper DJ, Finfer S, *et al.* Saline or albumin for fluid resuscitation in patients with traumatic brain injury[J]. *N Engl J Med*, 2007,357(9):874-884
- 3 江基尧. 我国颅脑创伤救治现状与展望[J]. 中华创伤杂志, 2008,24: 81
- 4 Bratton SL, Chestnut RM, Ghajar J, *et al.* Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. VII. Intracranial pressure monitoring technology[J]. *J Neurotrauma*, 2007,24 Suppl 1:S45-54
- 5 Margulies S, Hicks R. Combination therapies for traumatic brain injury: prospective considerations[J]. *J Neurotrauma*, 2009,26(6):925-939
- 6 Hasko G, Pacher P. A2A receptors in inflammation and injury: lessons learned from transgenic animals[J]. *J Leukoc Biol*, 2008,83(3):447-455
- 7 Su Y, Huang X, Raskovalova T, *et al.* Cooperation of adenosine and prostaglandin E2 (PGE2) in amplification of cAMP-PKA signaling and immunosuppression[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008,57(11):1611-1623
- 8 Wu R, Wang P. Adenosine A2A receptor activation: another potential therapy for trauma and hemorrhagic shock[J]. *Crit Care Med*, 2006,34(4):1273-1275
- 9 Melani A, Gianfriddo M, Vannucchi MG, *et al.* The selective A2A receptor antagonist SCH 58261 protects from neurological deficit, brain damage and activation of p38 MAPK in rat focal cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2006,1073-1074:470-480
- 10 Li W, Dai S, An J, *et al.* Chronic but not acute treatment with caffeine attenuates traumatic brain injury in the mouse cortical impact model[J]. *Neuroscience*, 2008,151(4):1198-1207
- 11 Sachse KT, Jackson EK, Wisniewski SR, *et al.* Increases in cerebrospinal fluid caffeine concentration are associated with favorable outcome after severe traumatic brain injury in humans[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008,28(2):395-401
- 12 Li W, Dai S, An J, *et al.* Genetic inactivation of adenosine A2A receptors attenuates acute traumatic brain injury in the mouse cortical impact model[J]. *Exp Neurol*, 2009,215(1):69-76
- 13 Dai SS, Zhou YG, Li W, *et al.* Local glutamate level dictates adenosine A2A receptor regulation of neuroinflammation and traumatic brain injury[J]. *J Neurosci*, 2010,30(16):5802-5810
- 14 戴双双,王昊,安建宏,等. 小鼠脑组织腺苷A2A受体缺失模型的建立和评价[J]. 生物工程学报,2008,24(4):700-706
- 15 Fredholm BB, Chen JF, Masino SA, *et al.* Actions of adenosine at its receptors in the CNS: insights from knockouts and drugs[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2005,45:385-412

(收稿:2011-02-28)