

米诺环素治疗脊髓损伤的研究进展

吴波,任先军,郭树章

(第三军医大学新桥医院骨科 400037 重庆市)

中图分类号:R683.2 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2008)-10-0789-02

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种常见的中枢神经系统损伤,可以导致脊髓神经传导功能障碍,造成损伤节段以下运动、感觉功能等丧失。脊髓受到外力作用后,损伤局部因血流异常、炎症反应、活性氧物质增加、兴奋性氨基酸毒性等引起的继发性损伤是加重脊髓损伤的重要原因^[1]。有研究表明,通过药物等手段干预脊髓继发性损伤病变过程可以起到减轻脊髓损伤、改善神经功能的作用^[2]。米诺环素是第二代半合成四环素类抗生素,除了具有传统抗菌作用外,还具有抗炎、免疫调节等能力,临床用于治疗类风湿性关节炎等疾病^[3]。此外,相关研究^[4-7]结果也显示米诺环素对脑缺血损伤、多发性硬化症、帕金森病、肌萎缩侧索硬化症等中枢神经系统疾病也有一定的治疗作用。近年来,不少学者开始探讨米诺环素对脊髓损伤的治疗作用。初步结果显示,米诺环素有助于损伤脊髓的神经功能改善。笔者就目前米诺环素治疗脊髓损伤的相关研究进展做简要综述。

1 米诺环素对脊髓损伤的治疗作用

Wells 等^[8]在小鼠脊髓损伤(T3~T4)后 1h 给予米诺环素(50mg/kg),24h 后再次给药(50mg/kg),此后 5d 内重复给药(25mg/kg/d),连续观察 4 周内动物神经功能的改善情况。治疗组死亡率为 20%,对照组死亡率为 61.5%。BBB 评分显示伤后 3d 时治疗组小鼠后肢运动功能恢复情况明显优于对照组($P<0.005$)。对照组后肢运动功能恢复于第 2 周即到达平台,而治疗组后肢运动功能在整个观察期内逐渐改善;且整个观察期内治疗组平均 BBB 评分结果明显优于对照组($P<0.005$)。斜板试验结果也显示治疗组动物后肢力量恢复更好($P=0.0249$),且与 BBB 评分结果相关性良好($r=0.70, P<0.001$)。研究还进一步分析了米诺环素对脊髓损伤的保护机制,HE 染色显示治疗组脊髓损伤范围明显小于对照组(分别为 1.76mm^2 和 $2.80\text{mm}^2, P<0.001$);银染结果显示治疗组保留的神经纤维数量明显多于对照组;逆行示踪显示治疗组红核脊髓束保留数量也明显多于对照组,且 BBB 评分结果与红核神经元保留数量明显相关($r=0.84, P<0.0001$)。提示米诺环素可能通过对红核神经元及其神经纤维的保护进而起到促进脊髓损伤神经功能

恢复的作用。

Lee 等^[9]在大鼠脊髓挫裂损伤后(T9~T10)立即给予米诺环素治疗(90mg/kg),重复给药两次(45mg/kg/12h),连续观察药物治疗效果。BBB 评分结果显示,从伤后 24d 起治疗组后肢运动功能恢复情况明显优于对照组,观察期末(第 38 天)治疗组评分为 18 ± 0.7 分,对照组为 15 ± 0.5 分($P<0.01$)。研究还发现从伤后 28d 起治疗组脊髓病变范围明显小于对照组,观察期末两组病变面积分别为 $3.5\pm 0.8\text{mm}^2$ 和 $16\pm 0.5\text{mm}^2(P<0.01)$ 。TUNEL 法检测发现治疗组半胱天冬酶-3 的活性也明显低于对照组。国内也有学者^[10]报道了米诺环素对大鼠脊髓损伤的治疗作用,该研究也观察到治疗组损伤脊髓内半胱天冬酶-3 活性明显低于对照组,且凋亡细胞的数量明显减少。

2 米诺环素治疗脊髓损伤的可能机制

Teng 等^[11]研究了米诺环素对大鼠脊髓挫裂伤(T10)的治疗作用。研究表明治疗组大鼠的回缩反射、足趾伸展反射及运动协调性恢复情况均明显优于对照组;BBB 评分结果显示观察期内治疗组运动功能改善情况明显好于对照组($P=0.033$)。组织学观察结果表明,治疗组损伤脊髓内白质存留数量较对照组更多($P=0.014$),且保留了更多的前角神经元($P<0.05$)。研究还通过 Western-blot 分析表明,米诺环素能够明显抑制线粒体内细胞色素 C 释放、降低胞浆内细胞色素 C 浓度。

Stirling 等^[12]在米诺环素治疗大鼠脊髓横断损伤(C7~C8)的研究中,损伤后 30min 即给予米诺环素(50mg/kg),连续给药 2d,组织学观察结果显示伤后 7d 和 14d 时治疗组脊髓损伤面积均明显小于对照组,并且治疗组前后肢运动协调性、后肢旋转角度和足趾伸张状态恢复情况也均明显优于对照组($P<0.05$)。实验还进一步观察了米诺环素对脊髓损伤后细胞凋亡的影响,结果显示脊髓损伤后 48h 内给予米诺环素能够有效减少凋亡细胞数量。治疗组大鼠脊髓损伤 7d 时损伤部位远侧神经纤维束内凋亡细胞数量较对照组减少 39%,近侧减少 42%;伤后 14d 时治疗组远侧凋亡细胞数量减少 37%,近端减少 47%($P<0.01$)。此外,研究还发现米诺环素能够明显减少治疗组大鼠损伤脊髓局部活化的小胶质细胞数量($P<0.05$)。

Tikka 等^[13]通过体外细胞实验研究进一步发现,米诺环素能够阻断兴奋性氨基酸对脊髓运动神经元的毒性作用,有助于神经元存活。将脊髓组织与谷氨酸($500\mu\text{mol/L}$)

第一作者简介:男(1979-),在读博士,研究方向:脊柱脊髓损伤与修复

电话:(023)60821413 E-mail:wubo578@hotmail.com

通讯作者:任先军

或红藻氨酸 (100 μ mol/L) 共培养 24h 后, 给予米诺环素 (0.02 μ mol/L) 能够明显提高神经元存活率。研究进一步发现米诺环素能够抑制兴奋性氨基酸引起的小胶质细胞增殖、一氧化氮代谢产物和白介素-1 β 的释放。另外, 该研究结果还表明兴奋性氨基酸能够引起小胶质细胞内细胞分裂素活化蛋白激酶 p38 的活化, 米诺环素通过抑制 p38 的激活进而有助于损伤脊髓神经元的存活。

Festoff 等^[14]也报道米诺环素治疗能够增加损伤脊髓神经组织存留、抑制小胶质细胞活化、减少神经细胞凋亡。研究还进一步指出米诺环素的保护作用可能与抑制半胱天冬酶-3 和肿瘤坏死因子- α mRNA 表达有关。观察期内 (4 周) 治疗组运动功能恢复情况明显优于对照组, 治疗组 BBB 评分为 10.8~14.6 分, 而对照组仅为 4.94~8.33 分 ($P < 0.001$)。

从上述研究不难看出, 脊髓损伤急性期内给予米诺环素可以起到减轻继发性损伤、保护神经功能的作用。米诺环素的治疗机制与阻止线粒体内细胞色素 C 释放、减轻小胶质细胞反应及抑制兴奋性氨基酸毒性等作用有关。

3 米诺环素治疗脊髓损伤的不良反应

米诺环素在脊髓损伤治疗研究中是否引起不良反应是值得注意的问题。Wells 等^[9]在米诺环素治疗小鼠脊髓损伤研究中, 比较了米诺环素、弱酸溶液及盐溶液对小鼠脊髓损伤程度的影响。结果表明, 治疗组小鼠运动功能恢复情况明显优于后两组 ($P < 0.05$)。说明米诺环素溶液酸性程度并未影响脊髓损伤神经功能的恢复。另外, Teng 等^[11]在应用米诺环素治疗大鼠脊髓损伤研究中比较了不同剂量米诺环素 (18、90、180mg/kg) 腹腔内注射引起的不良反应情况。结果表明低浓度米诺环素 (≤ 90 mg/kg) 腹腔内注射不会引起局部药物沉淀或因酸性溶液造成的坏死反应, 药物注射局部组织内未出现急性刺激反应和后期纤维化, 同时也未观察到米诺环素治疗引起小鼠体重下降。表明治疗剂量米诺环素 (≤ 90 mg/kg) 不会引起动物体内急性刺激反应、后期组织纤维化及加重脊髓损伤程度等不良反应。

临床实践表明, 长期服用不高于 200mg/d 剂量的米诺环素, 人体可获得良好的安全性和耐受性^[15]。超常规剂量治疗类风湿性关节炎 (400mg/d) 可能会引起眩晕等不良反应, 一般停药后症状即可消失^[16]。目前, 临床上尚无关于米诺环素治疗脊髓损伤的剂量, 其应用于临床治疗脊髓损伤的安全性和有效性等问题还需进一步研究。

尽管相关研究结果显示米诺环素对脊髓损伤能够起一定的保护作用, 有助于脊髓损伤神经功能的恢复, 为脊髓损伤治疗带来了新的思路, 但目前人们对米诺环素治疗脊髓损伤的作用机制尚不清楚, 米诺环素用于临床治疗脊髓损伤之前还需要进行大量的基础研究和临床试验。

4 参考文献

1. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, et al. Pathophysiology and

pharmacologic treatment of acute spinal cord injury[J]. Spine J, 2004, 4(4):451-464.

2. Hurlbert RJ. Strategies of medical intervention in the management of acute spinal cord injury[J]. Spine, 2006, 31(11 Suppl): S16-S21.
3. 郑伟毅, 孙晓云, 栗占国. 米诺环素治疗类风湿关节炎的作用机制及应用前景[J]. 中华风湿病学杂志, 2004, 8(12):753-755.
4. Xu L, Fagan SC, Waller JL, et al. Low dose intravenous minocycline is neuroprotective after middle cerebral artery occlusion-reperfusion in rats[J]. BMC Neurol, 2004, 4:7.
5. Brundula V, Rewcastle NB, Metz LM, et al. Targeting leukocyte MMPs and transmigration; minocycline as a potential therapy for multiple sclerosis[J]. Brain, 2002, 125(6):1297-1308.
6. Thomas M, Le WD. Minocycline; neuroprotective mechanisms in Parkinson's disease[J]. Curr Pharm Des, 2004, 10(6):679-686.
7. Zhang W, Narayanan M, Friedlander RM. Additive neuroprotective effects of minocycline with creatine in a mouse model of ALS[J]. Ann Neurol, 2003, 53(2):267-270.
8. Wells JE, Hurlbert RJ, Fehlings MG, et al. Neuroprotection by minocycline facilitates significant recovery from spinal cord injury in mice[J]. Brain, 2003, 126(7):1628-1637.
9. Lee SM, Yune TY, Kim SJ, et al. Minocycline reduces cell death and improves functional recovery after traumatic spinal cord injury in the rat[J]. J Neurotrauma, 2003, 20(10):1017-1027.
10. 陈钢, 陈安民, 梁群, 等. 二甲胺四环素对大鼠脊髓损伤后 Caspase-3 表达及细胞凋亡的影响 [J]. 中国矫形外科杂志, 2005, 13(18):1413-1415.
11. Teng YD, Choi H, Onario RC, et al. Minocycline inhibits contusion-triggered mitochondrial cytochrome c release and mitigates functional deficits after spinal cord injury[J]. PNAS, 2004, 101(9):3071-3076.
12. Stirling DP, Khodarahmi K, Liu J, et al. Minocycline treatment reduces delayed oligodendrocyte death, attenuates axonal dieback, and improves functional outcome after spinal cord injury[J]. J Neurosci, 2004, 24(9):2182-2190.
13. Tikka T, Fiebich BL, Goldsteins G, et al. Minocycline, a tetracycline derivative, is neuroprotective against excitotoxicity by inhibiting activation and proliferation of microglia [J]. J Neurosci, 2001, 21(8):2580-2588.
14. Festoff BW, Ameenuddin S, Arnold PM, et al. Minocycline neuroprotects, reduces microgliosis, and inhibits caspase protease expression early after spinal cord injury [J]. J Neurochem, 2006, 97(5):1314-1326.
15. Huntington Study Group. Minocycline safety and tolerability in Huntington disease[J]. Neurology, 2004, 63(3):547-549.
16. Breedveld FC, Dijkmans BA, Mattie H, et al. Minocycline treatment for rheumatoid arthritis: an open dose finding study[J]. J Rheumatol, 1990, 17(1):43-46.

(收稿日期: 2007-12-13 修回日期: 2008-04-07)

(本文编辑 卢庆霞)