

糖尿病周围神经修复再生中雪旺细胞的作用及中药对其影响的研究

刘 伟 梁晓春

糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病常见的慢性并发症之一,可累及感觉、运动及自主神经。周围神经受损后导致神经变性、坏死及功能丧失严重影响患者的生活质量,如何促进神经纤维的修复再生是近年来研究的热点。雪旺细胞(Schwann cells, SCs)是形成周围神经髓鞘的主要胶质细胞^[1],其在周围神经修复再生中的作用引起学者的广泛关注。高糖状态易造成周围神经轴突萎缩、脱髓鞘、神经纤维功能丧失及再生延缓等一系列损伤^[2]。损伤后神经修复再生的基本过程包括轴突再生通道及微循环的建立、轴突枝芽的生长和延伸、再生轴突的髓鞘化及神经对靶细胞的再支配等^[3],这是一个由结构再生延伸到功能恢复的过程。SCs 吞噬、支持、营养、趋化的作用贯穿了其中的各个方面,因此,笔者就 DPN 病变神经修复再生中 SCs 的作用及中药对其影响进行综述。

1 SCs 在 DPN 修复再生中的作用

SCs 是由德国科学家 Theodor Schwann 在 1839 年首先发现并命名的。相差显微镜下,成熟的 SCs 胞体较小,多呈梭形或纺锤形,大部分有两个细长的极状突起,核多呈圆形或卵圆形,位于胞体的一侧^[4]。SCs 是形成周围神经髓鞘的主要胶质细胞,参与维持轴突周围微环境的稳定,支持和保护轴突,参与轴突的营养代谢并能加速传导^[5]。高糖导致外周神经损伤后,SCs 可通过多种途径在神经修复再生过程中发挥重要作用。

1.1 SCs 的吞噬及支撑作用 高糖状态下,周围神经受损发生瓦勒变性,此时常态下相对静止的 SCs 立即进入分裂增殖相,形成 Bungner 带,与巨噬

细胞一起参与变性轴突及髓鞘碎屑的吞噬,并和 SCs 基底膜管共同为再生的轴突提供支架结构和附着面^[6]。此外,靠近断口处的 SCs 还可形成细胞桥将断口重新连接^[7]。

1.2 分泌营养因子 SCs 是促进损伤神经修复再生的营养支持因子的主要合成细胞,可表达分泌多种神经营养因子(neurtrophic factors, NTFs),如神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurtrophic factor, BDNF)、睫状神经营养因子(ciliary neurtrophic factor, CNTF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、胶质细胞源性神经生长因子(glial cell derived neurotrophic factor, GDNF)等^[8]。大量研究证明,这些神经营养因子往往作为一些神经元的存活因子存在,在神经的修复再生过程中发挥着重要作用^[9-11]。不仅如此,SCs 与诸多神经营养因子之间还具有相互促进的作用^[12,13]。有研究表明,采用微囊(海藻酸钠/聚赖氨酸/海藻酸钠微胶囊)化 SCs/神经组织移植,可长期在局部提供持续的 NTFs,构建适合神经纤维修复的稳定微环境^[14]。

1.3 表达黏附分子 SCs 还可表达多种细胞黏附分子(cell adhesion molecule, CAM)以及膜受体,如神经细胞黏附分子、髓鞘相关糖蛋白、周围髓鞘蛋白等^[15]。这对于高糖状态下再生神经的营养支持以及引导轴突再生都具有重要的作用。

1.4 分泌细胞外基质 SCs 还可分泌多种细胞外基质,如层粘连蛋白、纤维粘连蛋白、内皮粘连素、硫酸肝素蛋白多糖等,共同构成基底膜成分^[16]。

1.5 对再生神经的趋化和支配作用 SCs 能为再生轴突提供附着面,促进和引导周围神经轴突的再生和神经的再支配,促进再生神经功能的实现^[17]。高糖损伤后,SCs 的这一作用显得尤为重要。

在 DPN 中长期的高糖环境是导致周围神经损伤的重要因素,而周围神经一旦受到损伤,肥大的雪旺细胞便通过上述途径积极参与到神经的修复再生过程。

2 中药对高糖条件下 SCs 的影响

既往研究证实,高糖能使 SCs 的增殖受抑^[18-20]、

基金项目:2012 年度高等学校博士点专项科研基金(No. 20121106110003);国家自然科学基金资助项目(No. 81473639)

作者单位:中国医学科学院北京协和医学院中医科(北京 100730)

通讯作者:梁晓春, Tel:010-69155331, E-mail: xcliang@vip.sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.08.1021

凋亡增加^[21]、迁移能力减弱^[22]、分泌营养因子水平降低^[23, 24],并上调活化的半胱氨酸天冬氨酸酶 3 的蛋白表达和转录水平^[25],这都是导致 DPN 发生发展的重要因素。而近年来的一系列研究发现,中药能够促进 SCs 的增殖、减少凋亡、促进 SCs 迁移及分泌营养因子等,可从多方面减轻高糖对 SCs 带来的损害,对于防治 DPN 起到重要的作用。如吴波水等^[26]采用离体实验观察红景天提取物烯苷对高糖条件下 SCs 活力和增值能力的影响,发现其能显著逆转高糖导致的 SCs 增值能力下降,改善抑制性作用。还有学者报道中药牛黄提取物牛磺酸能通过抑制 Caspase-3 mRNA 的转录与 Caspase-3 的活化发挥减少高糖状态下 SCs 凋亡的作用^[27]。刘笑迎等^[28]采用大鼠 SCs 与内皮细胞共培养的模式,探讨高糖条件下中药黄芪组、丹参组、山药组以及复方组对 SCs 凋亡的保护作用。结果表明,中药干预后 SCs 凋亡率较高糖组明显降低,其中尤以复方组作用最优。

相对于单味药的研究,近年来对于中药复方在减轻高糖条件下 SCs 的损伤方面的研究也越来越多。叶仁群^[29]通过动物实验研究表明,加味补肝汤(主要由枸杞、木瓜、当归、川芎、熟地、白芍、桑寄生、麦冬、丹参、天花粉等组成)能够上调 NGF 的表达,抑制 SCs 中 Caspase-3 mRNA 的转录与 Caspase-3 的活化、减少细胞凋亡,从而减轻周围神经细胞氧化应激损伤。傅擎宇等^[30]运用加味补肝汤干预糖尿病模型大鼠,分别在治疗后第 4、8 周用免疫组化法检测坐骨神经中血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)蛋白的表达。结果表明,糖尿病模型组坐骨神经 VEGF 表达相对正常对照组明显增加,可能是高糖环境所致的代偿性反应,从而发挥营养因子的保护作用。在中药干预 4 周时,VEGF 表达比模型对照组和正常对照组明显增加,推测加味补肝汤能上调 VEGF 表达,从而增加 SCs 存活。而在治疗第 8 周时 VEGF 比同组 4 周和模型对照组明显减少,推测可能是由于加味补肝汤能改善周围神经病变程度,从而对神经营养因子的需求相应减少。柴可夫等^[31]将运脾和络颗粒(主要由黄芪、苍术、防己、玄参、赤芍、威灵仙、当归、金银花等组成)的含药血清作用于大鼠 SCs,采用 MTT 法和 RT-PCR 方法检测 SCs 增殖以及 NGF mRNA 的表达,证明该复方能促进高糖诱导的 SCs 增殖并上调 NGF mRNA 的表达。曾江正等^[32]采用中药消渴灵浓缩液(主要由 等组成)、弥可葆灌胃糖尿病模型大鼠,8 周后分离坐骨神经运用 RT-PCR 法检测大鼠坐骨神经中胰岛素样生长因子 -

1 (Insulin-like growth factors, IGF-1) mRNA 的表达,发现消渴灵浓缩液能通过提高坐骨神经 IGF-1 mRNA 的表达从而发挥保护 SCs 免收高糖介导的凋亡的作用。谢波等^[33]以消渴通痹颗粒(主要由黄芪、当归、葛根、桑白皮、威灵仙、祖师麻组成)灌胃糖尿病模型大鼠,电镜下观察坐骨神经的超微结构发现,消渴通痹颗粒能明显改善高糖诱导的神经脱髓鞘变化,减轻 SCs 肿胀,从而发挥一定的神经保护作用。季聚良等^[34]报道采用滋阴益气、息风活血通络法(主要组成为生地黄、水蛭、黄芪、山茱萸、黄连、葛根、丹参、蒲黄、枸杞等)作用于糖尿病模型 SD 大鼠,结果显示其可改善糖尿病大鼠血清胰岛素水平,降低糖化血红蛋白水平,抑制糖尿病大鼠坐骨神经 SCs 凋亡,其作用机制可能与抑制 Caspase-3 活性和 Bax 蛋白表达和促进 Bcl-2 的表达有关。还有研究发现,补阳还五汤(主要由黄芪、赤芍、当归、川芎、地龙、桃仁、红花等组成)能通过增强对 SCs 氧化应激损伤的保护作用而一定程度上防治周围神经损伤^[35]。众多学者通过一系列动物及细胞实验研究发现,中药复方筋脉通(主要由菟丝子、女贞子、水蛭、桂枝、元胡、细辛等组成)能促进高糖培养 SCs 的增殖,减少细胞凋亡^[36, 37],改善高糖诱导的 SCs 诱导型一氧化氮合成酶表达升高及 NADPHp22-phox 亚基的 mRNA 表达升高^[38, 39],改善 SCs 的 DNA 氧化损伤^[40, 41]。可促进 SCs 分泌 NGF、CNTF 以改善 DPN 大鼠坐骨神经病理形态,增加 DPN 大鼠坐骨神经生长因子 mRNA 的转录和蛋白表达^[42, 43]。还可抑制高糖状态下 SCs 中 NF- κ B 蛋白和其 mRNA 的表达^[44, 45],通过多种途径促进受损神经纤维修复与再生。

3 小结与展望

有专家学者指出治疗糖尿病周围神经病变应重视神经修复再生^[46]。周围神经修复再生是一个非常复杂的过程,神经损伤一旦发生,体内会启动一系列神经修复再生机制,SCs 可通过多种途径参与周围神经的修复再生,尤以激活态的 SCs 作用更为突出。这其中可能涉及多种细胞因子及信号转导通路的参与^[47],细胞因子与 SCs 之间还存在着复杂的相互作用。目前,对于 SCs 对于周围神经修复再生的作用已有了总体结构上的认识,但多数研究只是针对与 SCs 在周围神经修复再生的一个或几个方面的作用,对于其中每个方面具体分子机制的研究仍不够深入。同时,对于中药通过促进高糖状态下 SCs 增殖、抑制其凋亡、促进 SCs 分泌细胞因子等方面的研究也还有较大的空间。现今主要存在的问题有:(1)单味药的研究相对较少,

发挥作用的具体机制也不甚明了。(2)复方的研究大多是通过某单一途径或是间接的指标检测,缺乏连贯、全面的系统研究,中药多靶点的优势仍未能得到全面的体现。(3)中药复方之间存在的复杂相互作用机制不清、各研究中复方内各个药物的剂量不一、体内体外微环境的不同、动物实验与临床试验不能很好的衔接等等。这些都有待进一步研究和探索,以求最大限度的找寻具备既能抵御高糖对机体带来的危害,又能促进神经修复再生作用的中药,达到“既病防变”,通过促进周围神经的修复再生,改善 DPN 的症状,提高患者的生活质量。

参 考 文 献

- [1] Li Y, Zhang L, Zhang JY, et al. Morphological study of Schwann cells remyelination in contused spinal cord of rats[J]. Chin J Traumatol, 2013, 16(4): 225-229.
- [2] Randhir S, Lalit K, Navpreet K. Diabetic peripheral neuropathy: current perspective and future directions[J]. Pharmacol Res, 2013, 80(1): 21-35.
- [3] Sango K, Suzuki T, Yanagisawa H, et al. High glucose-induced activation of the polyol pathway and changes of gene expression profiles in immortalized adult mouse Schwann cells IMS32[J]. J Neurochem, 2006, 98(2): 446-458.
- [4] 张春燕,张自强,刘玉梅,等.大鼠雪旺细胞体外分离培养纯化及鉴定[J].河南科技大学学报, 2015, 36(4): 82-90.
- [5] Geuna S, Raimondo S, Ronchi G, et al. Chapter 3: Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration[J]. Int Rev Neurobiol, 2009, 87(1): 27-46.
- [6] Eckersley L. Role of Schwann cells in diabetic neuropathy[J]. Int Rev Neurobiol, 2002, 11(50): 293-321.
- [7] Fansa H, Keilhoff O. Comparison of different biogenic matrices seeded with cultured Schwann cells for bridging peripheral nerve defects[J]. Neurol Res, 2004, 26(2): 167-169.
- [8] Xu P, Rosen KM, Hedstrom K, et al. Nerve injury induces glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression in Schwann cells through purinergic signaling and the PKC-PKD pathway[J]. Glia, 2013, 61(7): 1029-1040.
- [9] 孙晓宇.雪旺细胞对于周围神经再生的功能与作用[J].内蒙古民族大学学报, 2010, 25(1): 105-107.
- [10] 方黎,骆文龙.雪旺细胞对面神经再生作用的研究进展[J].重庆医学, 2008, 37(12): 1372-1374.
- [11] Haastert K, Grosskreutz J, Jaeckel M, et al. Rat embryonic motoneurons in long-term co-culture with Schwann cells—a system to investigate motoneuron disease on a cellular level *in vivo* [J]. J Neurosci Methods, 2005, 142(2): 275-284.
- [12] Zong HB, Zhao HX, Zhao YL, et al. Nanoparticles carrying neurotrophin-3-modified Schwann cells promote repair of sciatic nerve defects[J]. Neur Regen Res, 2013, 8(14): 1262-1268.
- [13] 辛林伟,王黎明,唐际存,等.胶质细胞源性神经营养因子基因修饰的施万细胞复合胶原-壳聚糖神经支架对大鼠坐骨神经缺损的修复作用[J].中国医学科学院学报, 2013, 35(6): 655-661.
- [14] 雄鹰,王为,于炜婷,等.微囊化雪旺细胞/神经组织移植促进周围神经再生的实验研究[J].组织工程与重建外科杂志, 2005, 1(1): 18-21.
- [15] 高伟,邵水金.雪旺细胞在周围神经损伤修复中的作用及其可能分子机制[J].中国组织工程研究及其康复, 2010, 36(14): 6825-6827.
- [16] Panteri R, Mey J, Zhelyaznik N, et al. Reelin is transiently expressed in the peripheral nerve during development and is up-regulated following nerve crush[J]. Mol Cell Neurosci, 2006, 32(1-2): 133-142.
- [17] Heermann S, Schwab MH. Molecular control of Schwann cell migration along peripheral axons: Keep moving! [J]. Cell Adhes Migrat, 2013, 7(1): 18-22.
- [18] 张云云,刘笑迎,孙爱军.高葡萄糖对与内皮细胞共培养的雪旺细胞的损伤作用[J].复旦学报(医学版), 2008, 35(6): 883-888.
- [19] 吴波水,王文健,陈伟华,等.高糖(培养)对离体雪旺细胞活力和增殖能力的影响[J].中华手外科杂志, 2008, 24(5): 300-302.
- [20] 周怡坤,薛耀明.高糖通过高渗透压改变 PAX3 基因表达抑制 RSC96 雪旺细胞增殖[J].昆明理工大学学报(自然科学版), 2013, 38(4): 60-64.
- [21] 屈岭,顾蓓,张宏,等.高浓度葡萄糖通过下调自噬增加体外培养雪旺细胞的凋亡[J].基础医学与临床, 2013, 33(8): 1009-1013.
- [22] Gummy LF, Bampton ET, Tolkovsky AM. Hyperglycaemia inhibits Schwann cell proliferation and migration and restricts regeneration of axons and Schwann cells from adult murine DRG[J]. Mol Cell Neurosci, 2008, 37(2): 298-311.
- [23] 李江雁,李青菊.不同糖浓度培养雪旺细胞对 NGF 及 CGT 基因表达的影响[J].中国实用神经疾病杂志,

- 2010, 13(7): 16-18.
- [24] Tosaki T, Kamiya H, Yasuda Y, et al. Reduced NGF secretion by Schwann cells under the high glucose condition decreases neurite outgrowth of DRG neurons [J]. *Exp Neurol*, 2008, 213(2): 381-387.
- [25] 宋卫东,邱太彬,王光耀,等. 高糖培养对雪旺细胞增殖及血管内皮细胞生长因子分泌的影响[J]. *实用医学杂志*, 2011, 27(13): 2325-2326.
- [26] 吴波水,王文健,陈伟华,等. 红景天提取物烯苷对高糖条件下离体雪旺细胞活力和增殖能力变化的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2009, 29(2): 153-155.
- [27] 叶仁群,陈泽奇,林国彬,等. 牛磺酸抑制糖尿病大鼠坐骨神经雪旺细胞凋亡[J]. *基础医学与临床*, 2007, 27(12): 1347-1351.
- [28] 刘笑迎,张云云,张捷青,等. 黄芪、丹参、山药及其复方对高糖所致雪旺细胞凋亡的保护作用[J]. *中药药理与临床*, 2010, 26(1): 41-44.
- [29] 叶仁群. 加味补肝汤对糖尿病大鼠周围神经病变的保护作用及其机制研究[M]. 长沙:中南大学, 2006.
- [30] 傅擎宇,熊丽丽,陈泽奇,等. 加味补肝汤对糖尿病周围神经病变大鼠坐骨神经 VEGF 表达的干预作用[J]. *中国中医药科技*, 2008, 15(6): 413-415.
- [31] 柴可夫,张熙芮,代民涛. 运脾和络颗粒对高糖诱导的大鼠雪旺细胞增殖及 NGF mRNA 表达的影响[C]. 2012 第 14 届全国中医糖尿病大会论文集, 2012: 160-166.
- [32] 曾江正,董克礼,李广诚,等. 消渴灵浓缩液对糖尿病大鼠坐骨神经 IGF-1 mRNA 表达的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2005, 30(1): 49-52.
- [33] 谢波. 消渴通痹颗粒对 DM 大鼠周围神经缺血状态新生血管及 VEGF 的影响[D]. 陕西: 陕西中医学院, 2011.
- [34] 季聚良,陈大舜. 滋阴益气、息风活血通络法对糖尿病大鼠坐骨神经雪旺细胞凋亡影响的实验研究[J]. *中国中医急症*, 2009, 8(18): 1304-1306.
- [35] 李玲主编. 补阳还五汤促进周围神经修复损伤的理论和实验研究[M]. 南京:南京中医药大学, 2008.
- [36] Qu L, Liang XC, Zhang H, et al. Effect of Jinmai-tong serum on the proliferation of rat Schwann cells cultured in high glucose medium[J]. *Chin J Integr Med*, 2008, 14(4): 293-297.
- [37] 孙连庆,梁晓春,张宏,等. 中药筋脉通对高糖培养雪旺细胞增殖及 NGF 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2009, 24(8): 1019-1022.
- [38] 赵丽,梁晓春,张宏,等. 筋脉通含药血清对高糖培养的 Schwann 细胞诱导型一氧化氮合酶和 NADPH 氧化酶 p22-phox 亚基表达的影响[J]. *中西医结合学报*, 2011, 3(9): 299-305.
- [39] 孙青,梁晓春,王普燕,等. 筋脉通对糖尿病大鼠周围神经组织诱导型一氧化氮合酶和硝基酪氨酸表达的影响[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(3): 348-352.
- [40] 朴元林,梁晓春. 筋脉通含药血清对高糖培养施万细胞 8-羟基脱氧鸟苷和活化的 caspase-3 表达的影响[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(10): 35-39.
- [41] 石玥,梁晓春,张宏. 筋脉通含药血清降低高糖培养大鼠雪旺细胞活性氧水平及 PARP-1 蛋白表达[J]. *基础医学与临床*, 2012, 32(9): 1059-1063.
- [42] 屈岭,梁晓春,吴群励,等. 筋脉通对糖尿病大鼠周围神经组织神经生长因子表达的影响[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(21): 2539-2544.
- [43] 王普艳,梁晓春,张宏,等. 中药筋脉通对高糖培养雪旺细胞睫状体神经营养因子表达的影响[J]. *中医杂志*, 2010, 51(8): 736-739.
- [44] 吴群励,梁晓春,张宏,等. 中药筋脉通含药血清对高糖培养雪旺细胞 NF- κ B 表达的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2011, 6(6): 478-481.
- [45] 姜楠,梁晓春,屈岭,等. 筋脉通胶囊对糖尿病大鼠坐骨神经形态测量学及核转录因子 κ B 蛋白表达的影响[J]. *环球中医药*, 2012, 5(2): 100-104.
- [46] 梁晓春,朴元林. 中药对糖尿病周围神经修复再生的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(4): 564-567.
- [47] 何继银,劳杰,顾玉东,等. 激活态雪旺细胞信号转导通路的分子构成[J]. *中华手外科杂志*, 2008, 24(1): 45-47.

(收稿:2014-01-24 修回:2016-05-29)