

· 综 述 ·

胆碱能抗炎通路在脓毒症中的作用研究
进展及中医的应用

徐顺娟 芮庆林 奚 莉 黄 洋 王 晶

脓毒症是针对感染失调的宿主反应引起的危及生命的器官功能损害,是 ICU 常见的死亡原因之一^[1]。2000 年, Borovikova LV 等^[2]提出了“胆碱能抗炎通路(cholinergic anti-inflammatory pathway, CAP)”的概念。

当感染或损伤组织释放炎症刺激信号,经感觉神经传入孤束核,激活迷走神经,再经传出迷走神经末梢释放乙酰胆碱(acetylcholine, Ach),作用于炎性细胞表面的 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 7$ nAChR),通过多种途径抑制促炎细胞因子合成,监控和调节炎症反应。这一神经免疫反应过程被称为 CAP。 $\alpha 7$ nAChR 是 CAP 的主要途径, $\alpha 7$ nAChR 基因敲除的小鼠具有更高的内毒素血症易感性^[3]。乙酰胆碱的前体胆碱可以特异性激动 $\alpha 7$ nAChR,抑制脓毒症小鼠体内的核因子(nuclear factor, NF)- κ B 活化,降低循环肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 和高迁移率族蛋白 1(high mobility group protein box-1, HMGB1)水平,提高实验小鼠存活率^[4]。

CAP 在脓毒症的炎症反应中具有重要的调控作用,现就 CAP 在脓毒症中的研究进展进行综述。

1 胆碱能抗炎通路的信号转导通路 烟碱依赖于 $\alpha 7$ nAChR 途径抑制内毒素引起的 NF- κ B 途径活化,调控单核-巨噬细胞促炎因子的产生,以浓度依赖方式抑制 TNF- α 激活巨噬细胞释放 HMGB1。内毒素血症大鼠模型巨噬细胞的 $\alpha 7$ nAChR 激活后导致 Janus 激酶(Janus kinase, JAK)2 的裂解和磷酸化,再活化信号转导与转录激活子(signal transducers and activators of transcription, STAT)3, STAT3 与

NF- κ B 的 p65 亚基结合,阻断 NF- κ B 的转录^[5],最终抑制 TNF- α 和 IL-6 的释放。烟碱的主要代谢产物可的宁激活 $\alpha 7$ nAChR 受体后,通过磷脂酰肌醇 3 激酶/糖原合成酶激酶-3 (Phosphatidylinositol 3 kinase / Glycogen synthase kinase-3, PI3K / GSK-3) 抗炎通路降低促炎因子,提高抗炎因子(如 IL-10)的水平,而并不影响 NF- κ B 活性^[6]。 $\alpha 7$ nAChR 选择性激动剂 PNU-282987 可以上调 PC12 细胞中胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)磷酸化水平,ERK 是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族中的成员之一,提示 MAPK 通路可能参与了 CAP^[7]。

2 胆碱能抗炎通路与 miRNA-124 Sun Y 等^[8]发现 miRNA-124 可以上调脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)暴露细胞的胆碱能受体激动剂,可以通过靶信号转化调控 Toll 样受体 4(Toll like receptor 4, TLR4)导致的炎症因子的产生,并激活 STAT3 降低 IL-6 和 TNF- α 的释放。Qin Z 等^[9]认为 miRNA-124 通过 CAP 对 TLR4 引发的炎症反应发挥负调控作用。Xiao YT 等^[10]临床研究发现肠衰竭患儿的腹腔内巨噬细胞功能过度活化,miRNA-124 可以直接靶向作用 STAT3 和乙酰胆碱酯酶 mRNAs 的 3'非翻译区,抑制巨噬细胞的活化,减少 IL-6、TNF- α 的释放而减轻腹腔炎症反应。

3 中医针灸与胆碱能抗炎通路 研究发现电刺激迷走神经可保护感染性休克大鼠心肺功能,有助于维持血压^[11]。He B 等^[12]研究发现低强度的心房神经节丛刺激具有抗炎的作用,可以减轻犬的血清炎症因子的释放。

刺激迷走神经在临床应用中具有较多的不良反应,根据传统经络理论和现代医学研究,中医学中的针刺疗法可双向调节神经—内分泌—免疫系统,研究结果已经证实了针灸疗法可能通过 CAP 发挥抗炎作用^[13]。

在脓毒症抗炎机制中采用最多的研究方法是电针足三里穴。有研究发现电针足三里穴能通过 CAP 途径对脓毒症大鼠模型有很好的抗炎效应和器官保护作用,电针前切断双侧迷走神经干或阻断 $\alpha 7$ nAChR 则会减弱电

基金项目:江苏省名老中医药专家奚肇庆传承工作室建设项目(No. 苏中医科教[2016]6 号);江苏省中医院院级创新发展基金专项课题(No. Y2018CX68)

作者单位:南京中医药大学附属医院急诊科(南京 210029)

通讯作者:徐顺娟, Tel: 025-86610842, E-mail: 732267931@qq.com

DOI: 10. 7661/j. cjm. 20191129. 234

针的抗炎和器官保护作用^[13]。吴建浓等^[14]研究发现电针足三里穴可抑制脓毒症模型大鼠肠道 HMGB1 表达,促进生长激素释放肽(Ghrelin)表达。电针足三里穴能显著抑制脓毒症大鼠心肌促炎症因子水平,心肌酶谱、一氧化氮(nitric oxide, NO)、髓过氧化物酶和心含水量均较对照组下降,说明电针足三里穴通过 CAP 途径发挥了减轻过氧化损伤、改善血流动力学指标和保护心肌功能的作用^[15];电针足三里穴还可以降低肝组织 TNF- α 含量和血浆谷丙转氨酶活性升高,对内毒素所致大鼠肝损伤具有保护作用^[16]。另外,临床研究也证实了电针足三里穴可以调节脓毒症患者体内抗炎与促炎反应趋向平衡,减少多脏器功能衰竭的发生^[17]。

4 中药在胆碱能抗炎通路中的研究 除了烟碱、可的宁、胆碱以外,其他药物也被证明通过 CAP 发挥抗炎作用。如右美托咪定可以降低脓毒症大鼠血液及脾组织 HMGB1 含量,其抗炎作用被认为是通过 CAP 途径实现的^[18,19]。近年来,在中药复方和单药的研究中,发现 CAP 是中药发挥抗炎作用的重要途径。

Liu JS 等^[20]研究发现中医古方“凉膈散”激活 $\alpha 7nAChR$ 后调控 NF- κB 信号通路关键蛋白 I κB - α 的降解和磷酸化,抑制 NF- κB p65 入核,抑制 IL-6、TNF- α 的释放而发挥抗炎作用。薛平等^[21]研究认为急性胰腺炎病理生理过程中存在 CAP 的变化,“柴苓承气汤”通过调节 CAP、提高乙酰胆碱转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)和降低血清乙酰胆碱酯酶(acetylcholine esterase, AChE)水平、降低患者炎症介质水平在急性胰腺炎的治疗中发挥重要的抗炎作用。

Xu D 等^[22]通过对“黄连解毒汤”的 4 种组分分别保留一种,即黄柏、黄芩、栀子、黄连,采用代谢组学等方法,在盲肠结扎穿孔(cecal ligation-and-perforation, CLP)模型表现出最强的治疗效果并与 4 种变体相比,归因于增强了 CAP,抑制 HMGB1/NF- κB TLR4 信号通路而发挥作用。崔蓉等^[23]研究则发现黄芩水提取物能提高大鼠血清 Ach 水平,降低血清 TNF- α 、NO 水平,但对 ChAT 及 AChE 活性的影响并不显著,认为黄芩水提取物对 CAP 的影响可能与 Ach 的生物合成无关。

陈建清等^[24]研究发现荔枝核总黄酮可以使急性肺损伤模型大鼠的血清 IL-1 β 、NO、TNF- α 及 NF- κB 含量下降,Ach 的含量升高,ChAT 和 AChE 的活性增加。Lu Z 等^[25]研究发现中药 3-脱氢穿心莲内酯可以通过体内外 CAP 途径减轻脂多糖诱导的炎症,抑制中性粒细胞和巨噬细胞浸润,激活 NF- κB /Akt 信号通路,减少肺水量,减轻肺损伤。青藤碱(Sinomenine, SIN)是传

统抗风湿中药青风藤中的主要活性成分,研究发现 $\alpha 7nAChR$ 拮抗剂可以削弱 SIN 对于 LPS 诱导的 RAW 264.7 小鼠巨噬细胞 TNF- α 和 IL-6 的表达,SIN 可以降低核内 p65 的表达、增加细胞质中 I κB - α 表达,而这些作用可以被 $\alpha 7nAChR$ 的小分子干扰 RNA 所逆转^[26]。邹欣等^[27]利用体外分子模拟和生物学效应研究证实盐酸小檗碱对 AChE 有明显的抑制作用,具有抗胆碱脂酶活性、激活 CAP 的作用。Liu L 等^[28]研究发现黄芪多糖与布洛芬联合可能通过 CAP 通路抑制促炎细胞因子的释放以减轻脓毒症大鼠的炎症反应。有研究认为中药注射剂参附注射液可能通过影响 CAP 增加 ChAT 活力以增加 Ach 含量,抑制 TNF- α 的表达而发挥脓毒症幼鼠急性肝损伤的保护作用^[29]。

5 展望 脓毒症过程中的宿主免疫反应越来越受到重视,免疫状态的变化和增高的死亡风险相关,然而单一的免疫调节剂在临床上却并未取得理想的治疗效果。胆碱能抗炎通路,通过 $\alpha 7nAChR$ 在脓毒症中发挥重要的免疫炎症调节作用。因此,CAP 可以作为脓毒症治疗的切入点。然而,目前针对 CAP 的研究多数为动物模型实验研究,临床研究较少。

对针刺和经络本质的研究结果显示针刺足三里穴通过 CAP 发挥抗炎和器官保护作用,多种中药单药及其提取物、中药复方、中成药也被证实通过 CAP 发挥作用。脓毒症治疗中采用针刺和中药的方法,临床可操作性强,大量的临床研究证实其有效性,而作用靶点是否与 CAP 有关仍需做进一步的研究。因此,胆碱能抗炎通路为中医中药在脓毒症中的研究提供了新的思路和方向。

参 考 文 献

- [1] 曹钰,柴艳芬,邓颖,等.中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J].感染、炎症、修复,2019,20(1):3-22.
- [2] Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin[J]. Nature, 2000, 405(6785):458-462.
- [3] Wang H, Yu M, Ochani M, et al. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation[J]. Nature, 2003, 421(6921):384-388.
- [4] Parrish WR, Rosas-Ballina M, Gallowitsch-Puerta M, et al. Modulation of TNF release by choline requires $\alpha 7$ subunit nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling[J]. Mol Med, 2008, 14(9-10):567-574.

- [5] Yang YH, Li DL, Bi XY, et al. Acetylcholine inhibits LPS-induced MMP-9 production and cell migration via the $\alpha 7$ nAChR-JAK2/ STAT3 pathway in RAW264. 7 cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(5): 2025–2038.
- [6] Rehani K, Scott DA, Renaud D, et al. Cotinine-induced convergence of the cholinergic and PI3 kinase-dependent anti-inflammatory pathways in innate immune cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(3): 375–382.
- [7] Gubbins EJ, Gopalakrishnan M, Li J. Alpha7 nAChR-mediated activation of MAP kinase pathways in PC12 cells [J]. *Brain Res*, 2010, 1328: 1–11.
- [8] Sun Y, Li Q, Gui H, et al. MicroRNA-124 mediates the cholinergic anti-inflammatory action through inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines [J]. *Cell Res*, 2013, 23(11): 1270–1283.
- [9] Qin Z, Wang PY, Su DF, et al. miRNA-124 in immune system and immune disorders [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 406.
- [10] Xiao YT, Wang J, Lu W, et al. Downregulated expression of microRNA-124 in pediatric intestinal failure patients modulates macrophages activation by inhibiting STAT3 and AChE [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(12): e2521.
- [11] 谢守嫔, 李海龙, 梁永林, 等. 电刺激迷走神经对感染性休克大鼠血浆肿瘤坏死因子 α 、一氧化氮合酶及一氧化氮的影响 [J]. *中国康复理论与实践*, 2009, 15(3): 225–227.
- [12] He B, Lu Z, He W, et al. Low-intensity atrial ganglionated plexi stimulation decreases the serum level of inflammatory factors in canine [J]. *Heart Lung Circ*, 2015, 24(4): 407–410.
- [13] Song Q, Hu S, Wang H, et al. Electroacupuncture at Zusanli point (ST36) attenuates pro-inflammatory cytokine release and organ dysfunction by Activating cholinergic anti-inflammatory pathway in rat with endotoxin challenge [J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2014, 11(2): 469–474.
- [14] 吴建浓, 伍万, 江荣林, 等. 电针足三里对脓毒症模型大鼠肠道 Ghrelin 及高迁移率族蛋白 B1 表达的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(9): 1113–1117.
- [15] Zhang L, Huang Z, Shi X, et al. Protective effect of electroacupuncture at Zusanli on myocardial injury in septic rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018: 6509650.
- [16] 胡森, 宋琪, 王海滨, 等. 电针足三里对内毒素所致大鼠肝损伤保护机制的研究 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2007, 14(5): 296–298.
- [17] 吴凡伟. 电针刺刺激足三里穴对脓毒症患者炎症反应和免疫功能的影响 [J]. *中国中医急症*, 2016, 25(9): 1794–1797.
- [18] 李欣, 李景辉. 右美托咪定对脓毒症大鼠高迁移率族蛋白 B1 的作用 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2015, 40(9): 987–992.
- [19] 张录. 右美托咪定对脓毒症大鼠炎症反应的作用及机制的研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- [20] Liu JS, Wei XD, Lu ZB, et al. Liang-Ge-San, a classic traditional Chinese medicine formula, protects against lipopolysaccharide-induced inflammation through cholinergic anti-inflammatory pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(16): 21222–21234.
- [21] 薛平, 黄宗文, 张鸿彦, 等. 柴芩承气汤对重症急性胰腺炎大鼠胆碱能抗炎通路的影响 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2006, 37(1): 66–68.
- [22] Xu D, Lv Y, Wang J, et al. Deciphering the mechanism of Huang-Lian-Jie-Du-Decoction on the treatment of sepsis by formula decomposition and metabolomics: Enhancement of cholinergic pathways and inhibition of HMGB-1/TLR4/NF- κ B signaling [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 121: 94–113.
- [23] 崔蓉, 孟宪丽, 王平, 等. 黄芩水提取物对急性肺损伤大鼠的保护作用及其与胆碱能抗炎通路的相关性研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(2): 321–326.
- [24] 陈建清, 林穗金, 郑妮. 荔枝核总黄酮对急性肺损伤大鼠胆碱能抗炎通路的影响 [J]. *中国医院药学杂志*, 2016, 36(23): 2051–2054.
- [25] Lu Z, Xie P, Zhang D, et al. 3-Dehydroandrographolide protects against lipopolysaccharide-induced inflammation through the cholinergic anti-inflammatory pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 158: 305–317.
- [26] Yi L, Luo JF, Xie BB, et al. $\alpha 7$ Nicotinic acetylcholine receptor is a novel mediator of Sinomenine anti-inflammation effect in macrophages stimulated by lipopolysaccharide [J]. *Shock*, 2015, 44(2): 188–195.
- [27] 邹欣, 王定坤, 李芬, 等. 分子模拟和生物学效应结合研究盐酸小檗碱抗 AChE 与胆碱能抗炎机制相关性 [J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(1): 46–49.
- [28] Liu L, Chen S, Xu X, et al. Astragalus polysaccharides combined with ibuprofen exhibit a therapeutic effect on septic rats via an anti-inflammatory cholinergic pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3127–3130.
- [29] 洪燕. 参附注射液对脓毒症幼鼠急性肝损伤的保护作用及机制 [D]. 南昌: 南昌大学, 2016.

(收稿: 2017-05-08 在线: 2019-12-31)

责任编辑: 白霞