

· 综述 ·

神经活性类固醇对中枢神经系统损伤保护机制的研究进展

顾雪 综述,毛定安 审核

(中南大学湘雅二医院 儿科,湖南 长沙 410011)

[中图分类号] R74 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)07-0606-04

神经活性类固醇是神经组织中具有活性的类固醇,是一种内源性神经调节物质,它可以在脑、肾上腺、卵巢和睾丸中再合成,主要包括孕酮、去氧皮质酮、脱氢表雄酮(DHEA)、睾酮及其代谢产物。神经活性类固醇在治疗癫痫、外伤性脑损伤、抑郁症等神经精神疾病中的价值越来越受到人们的重视。它可与 γ -氨基丁酸A(γ -gamma-aminobutyric acid type A, GABAA)受体结合^[1]并调节GABAA受体的表达^[2];调整中枢神经系统的发育及损伤后修复;调整下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(HPA)及其应激效应^[3];调节N-甲基-D-门冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体及开通钙离子通道等。且神经活性类固醇对突触和突触外抑制性传递的调节横跨脑,下丘脑-垂体-肾上腺轴功能,炎症性过程和髓鞘形成。它还具有抑制神经行为效应,例如抗焦虑、抗惊厥、镇静等,也对学习、记忆、认知和情绪等方面具有重要作用。近年来,随着医学的发展,其作用机制的研究不断深入。为此本文就神经活性类固醇防治脑损伤的作用机制、研究进展综述如下。

1 神经活性类固醇的作用机制

神经活性类固醇通过调节配体门控离子通道或G蛋白偶联受体而改变细胞内一系列激酶的活性,并由此调节下游基因的表达。另外,神经活性类固醇能与可能存在的细胞膜表面特异性神经活性类固醇受体结合。神经活性类固醇的基因作用是通过与细胞内受体结合而实现,非基因作用则通过与细胞表面可能的特异性神经递质受体、配体门控离子通道受体及G蛋白偶联受体结合实现,从而改变神经元的兴奋性。非基因作用除了与神经递质受体结合发挥递质样作用外,还可起到对神经元的保护作用

(如雌激素)。在此过程中,神经活性类固醇充当自由基的清除剂。前者作用缓慢(约数分钟到数小时),并受生物合成速率限制,而后者则作用快速(数毫秒到数秒)。此外有些神经活性类固醇本身并不与神经活性类固醇受体结合,而是通过其代谢产物与受体的结合调节基因的表达;一些神经活性类固醇是某些特殊神经递质受体(比如GABA受体)的特异性变构调质^[4]。

2 神经活性类固醇与GABAA受体

γ -氨基丁酸A受体(GABAA-R)是一个多亚基的大分子蛋白质复合物,由 γ -氨基丁酸识别位点、苯二氮草(benzodiazepine, BZ)识别位点和氯离子(Cl^-)通道三部分组成,属于配体门控离子通道超家族成员。与烟碱型乙酰胆碱受体(N-ACH-R)、甘氨酸受体(Gly-R)、5-羟色胺受体(5-HT-R)及谷氨酸受体(Glu-R)同属配体门控离子通道超家族,在分子结构上有一定的相似性^[5]。GABAA-R含有结构调节域和 γ -氨基丁酸、苯二氮草类、巴比妥类等的配体结合域,以及茛菪碱毒素、TBPS等离子通道拮抗剂作用的结构域。神经活性类固醇是GABAA-R的有效调节剂。它与GABAA-R通过 α 亚基上的异结合位点相互作用,增强其介导的 Cl^- 的传导率和直接兴奋 Cl^- 传导率,从而影响神经细胞的兴奋性。一般认为,作用于GABAA-R的神经活性类固醇按功能可以分为两类:抑制性神经活性类固醇(又称GABAA激动性神经活性类固醇)和兴奋性神经活性类固醇(又可称GABAA拮抗性神经活性类固醇)。

2.1 抑制性神经活性类固醇

具有代表性的是孕烯醇酮,别孕烯醇酮,3 α ,

[收稿日期]2008-11-06;[修回日期]2008-12-18
[作者简介]顾雪,女,硕士研究生,医师。主攻方向:小儿神经系统疾病。

5 α -四氢脱氧皮质酮(3 α ,5 α -THDOC),3 α ,5 β -四氢脱氧皮质酮(3 α ,5 β -THDOC)。它们不仅可模拟和增强 GABAA 以及苯二氮草、巴比妥类等抗惊厥药物对 GABAA-R 的结合,激活 GABAA-R 产生抑制效应,还能抑制 GABAA-R 与 TBPS 的结合。电生理实验证明,神经活性类固醇调节 GABAA-R 的作用是在突触后膜水平,且只需 mmol/L 级的低水平即可发挥该效应。体外实验表明,高浓度时它们甚至可以直接激活 GABAA-R 的 Cl⁻ 通道而发挥抑制作用。目前认为别孕烯醇酮(3 α ,5 α -THP)在应激后期通过限制 GABAA 的持续期和程度使失调的 GABAA 恢复到应激前的水平,保护神经元免于由于过度应激刺激造成的兴奋性损伤。Frank 等^[6]也证实别孕烯醇酮可通过调节 GABAA-R 改善海马区不可逆性的神经毒性。另外,早期脑发育时予应激反应后可引起许多适应机制的显著改变,同时新生儿暴露于应激下(症状类似于严重抑郁症)可引起行为和神经内分泌病损,研究表明应激情况下,类固醇 GABAA-R 激动剂 THDOC 可减弱早期多次与母亲分离的新生儿的行为和神经内分泌改变^[7]。

2.2 兴奋性神经活性类固醇

典型代表有硫酸孕烯醇酮(PS)和硫酸脱氢表雄酮(DHEA-S),它们被认为是 GABAA-R 的非竞争性拮抗剂。在 nmol/L 和 pmol/L 级水平,它们可以通过抑制细胞膜 Cl⁻ 通道的开放来拮抗 GABAA 激活受体时所引起的 Cl⁻ 内流。此作用与剂量有关,在 mmol/L 级水平,PS 甚至可以置换结合在神经细胞膜上的巴比妥类药物。神经活性类固醇硫酸孕烯醇酮或硫酸脱氢表雄酮可在类固醇硫酸酯酶的作用下脱去硫酸基团生成孕烯醇酮或脱氢表雄酮进一步代谢生成抑制性神经活性类固醇。有学者研究发现二者可以调节记忆功能,是一种有效的记忆促进剂,在老年动物海马中 PS 浓度的下降与学习记忆功能的丧失呈正相关^[8,9]。

3 神经活性类固醇与 N-甲基-D-门冬氨酸受体

N-甲基-D-门冬氨酸受体(NMDA-R)是离子型谷氨酸受体之一,具有电压门控离子通道活性,主要是由 NR1 和 NR2 亚基构成的四聚体复合物^[10]。NR1 是 N-甲基-D-门冬氨酸受体的基本亚基,是最基本的功能单位,NR2 是重要的调节亚单位,起辅助 N-甲基-D-门冬氨酸受体形成多元化结构的作用,有 NR2A,NR2B,NR2C,NR2D 等 4 个不同的剪接变体。N-甲基-D-门冬氨酸受体在脑缺血中中介导

神经元兴奋毒性损伤。在培养的海马神经元上,硫酸孕烯醇酮能极大增加 N-甲基-D-门冬氨酸介导的钙离子内流。硫酸孕烯醇酮对神经元的兴奋性表现在它们能引起 GABAA 介导的抑制效应的降低,同时也引起 N-甲基-D-门冬氨酸受体介导的兴奋性的提高^[11]。而 3 α ,5 β -半琥珠酸酯(3 α ,5 β -HS)具有镇痛,镇静,抗惊厥及神经保护作用,可抑制 N-甲基-D-门冬氨酸受体的表达。研究证实外周 3 α ,5 β -HS 进入中枢神经系统,抑制 N-甲基-D-门冬氨酸活动及大鼠新纹状体中多巴胺的释放。向新纹状体内注射 N-甲基-D-门冬氨酸诱导此活动的增加可以被 3 α ,5 β -HS 抑制,同样中枢和外周 3 α ,5 β -HS 可减弱 N-甲基-D-门冬氨酸诱导新纹状体内细胞外多巴胺的释放。说明 3 α ,5 β -HS 通过新纹状体 N-甲基-D-门冬氨酸受体发挥作用。由此可推断神经活性类固醇可能对神经和精神疾病的治疗有效,尤其对多巴胺系统疾病^[12]。Shirakawa 等^[13]研究发现少量的 3 α ,5 β -硫酸酯和过量的孕烯醇酮半琥珠酸酯可增强皮层神经元 N-甲基-D-门冬氨酸诱导的感应电流,而孕烯醇酮硫酸盐没有此作用。Fluorometric 法显示少量的 3 α ,5 β -硫酸酯及过量的孕烯醇酮半琥珠酸酯可增强谷氨酸诱导的细胞内 Ca²⁺ 的释放,而孕烯醇酮硫酸盐与此相反。由此证明神经活性类固醇可影响 N-甲基-D-门冬氨酸受体的表达。

4 神经活性类固醇调节下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴和应激反应

下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴因对尖锐应激的反应而激活,增加下丘脑对促(肾上腺)皮质(激素)释放因子的释放,从而促进脑垂体释放促肾上腺皮质激素,相继促进肾上腺皮质释放糖皮质激素类,神经活性类固醇前体和 γ -氨基丁酸能的神经活性类固醇。糖皮质激素,人类和非人类灵长类主要的皮质醇和老鼠的皮质酮,对下丘脑和脑垂体产生负反馈。而且, γ -氨基丁酸能的神经活性类固醇抑制促肾上腺皮质素释放因子的释放,促肾上腺皮质素释放和老鼠中皮质酮的水平^[14~16]。别孕烯醇酮对 HPA 轴也有抑制作用,别孕烯醇酮和四氢脱氧皮质酮可激活下丘脑 GABAA-R,可以直接抑制促肾上腺皮质激素,促肾上腺皮质素释放因子及皮质酮的释放。神经活性类固醇可减少下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的激活,此作用在动物应急事件中恢复内环境的稳定发挥着重要作用。这个生理学的应对反应对心理健康各方面的失调,包括沮丧外伤后应激障碍和月

经前的焦虑障碍的心理障碍起关键的表现。

应激在短期内增加类固醇的水平,在长期应激和抑郁症的动物模型中,其脑和血浆神经活性类固醇的浓度低于急性应激。四氢脱氧皮质酮能抑制大鼠后叶加压素和促肾上腺皮质激素释放激素基因的表达,降低应激刺激引起的皮质酮升高,促进应激刺激后机体稳态的平衡和参与终止应激反应^[17]。

神经活性类固醇通过激活或抑制神经递质的作用对应激,酒精依赖和脱瘾性脑综合征,及其他生理和药理作用中起着重要的作用。Biggio 等^[18]研究了急性和慢性应激对老鼠外周和大脑神经活性类固醇的水平和 GABAA-R 基因表达和功能的效应的作用。表明脑内类固醇生成和 GABAA-R 的可塑性在应激和酒精暴露之间的相互作用。这些神经化学物质和分子机制证明通过调节下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴和 GABAA-R 对神经活性类固醇可产生显著的影响。

5 神经活性类固醇调节中枢神经系统发育和损伤后修复

4 种不同神经活性类固醇(孕烯醇酮,孕酮,孕烯醇酮的同分异构体和去氢表雄酮)的神经发育机能和作用原理已被 Mellon 证实^[19]。在幼体和成体中神经活性类固醇浓度的缺乏或减少可能导致神经发育,精神或行为的异常。利用这些化合物的生理或药理学的浓度治疗也可能促进神经发生、神经生存、髓鞘形成、增强记忆以及减少神经毒性。这个试验更进一步明确了神经活性类固醇对神经发育疾病的治疗潜能。

孕酮和它的代谢产物也可以促进成人脑和脊髓的神经元发育。Donley 等^[20]研究观察它们在外伤性脑损伤,试验式的诱导局部缺血,脊髓损害和运动神经元疾病的遗传模型中的神经保护作用,孕酮对髓鞘发育及髓鞘修复起着重要的作用,而且老化的中枢神经系统仍对一些孕酮的有益的效应敏感。因此孕酮促进神经形成可能通过许多不同的途径:通过减少炎症、肿瘤和细胞凋亡,从而增加神经元的存活率和促进新的髓鞘的形成。孕酮重要多效效应的识别能帮助潜在性治疗脑损伤和其他神经系统疾病。

6 神经活性类固醇与糖皮质激素受体

糖皮质激素受体有两种,分别是盐皮质激素受

体(MR)或称 I 型受体,以及糖皮质激素受体(GR)或称 II 型受体。GR 在脑内大多数神经元和神经胶质细胞的细胞浆和细胞核中广泛表达,MR 则仅在边缘系统和嗅脑区的神经元内有高水平表达。当配基与受体结合时,胞浆 GR 从由热休克蛋白组成的复合物中分离出来,移向胞核,渐渐地形成同源二聚体,与目的基因特异性反应元件结合调节其转录。GR 还可以与 MR 形成异源二聚体,或 GR、MR 与其他转录因子相互作用。MR 和 GR 在神经系统中所起的作用是不同的。MR 活化保持神经元兴奋性的稳定,组织成熟细胞的死亡。而 GR 活化则增强海马锥体神经元突起生长,在记忆固化和长期记忆中起重要作用^[21]。应激及发育中常见的脑损伤如惊厥,缺血缺氧,癫痫等均可能影响糖皮质激素受体的表达。

Cameron 等^[22]研究发现,在单侧内耳前庭核感受器受体损伤 4 h 时,前庭核内侧喙区(MVN)神经元形成内在兴奋性持续增加。他们同时还研究伴随单侧迷路切除术(UL)症状的急性应激作用,特别是糖皮质激素受体的作用,在实施单侧迷路切除术后的老鼠,MVN 神经元兴奋性增高,而乌拉坦麻醉后实施单侧迷路切除术后 4 h 或 6 h 的动物,兴奋性在稳定的水平,但在给予糖皮质激素受体激动剂地塞米松后,恢复了 MVN 神经元的兴奋性。同时给予无兴奋性 MVN 神经细胞的单侧迷路切除术,糖皮质激素受体拮抗剂 RU 38486,在特定的持续的环形步行后延缓了行为恢复。而盐皮质激素受体拮抗剂则无此作用。伴随单侧迷路切除术症状的应激中,前庭核兴奋性增加及行为恢复既依赖于前庭传入又依赖于糖皮质激素受体的作用。这些发现可帮助更好地解释神经活性类固醇对不同的生物包括人的有效作用。利用 CV1 细胞株,整宿到人类糖皮质激素受体表达带菌体和利用基因装置指针探测系统来翻译其活动,发现孕酮受体(PR)激动剂如甲地孕酮可能激活糖皮质激素受体。可解释甲地孕酮及其他黄体酮的神经内分泌作用^[23]。

7 神经活性类固醇与其他受体之间的关系

神经活性类固醇除对上述受体有调节作用外,对其他受体如 α -氨基羟甲基氨基丙酸受体(AMPA-R)、甘氨酸受体、烟碱型乙酰胆碱受体及 5-羟色胺受体等也有广泛的作用。神经活性类固醇在 nmol/L 级水平就足够对细胞内的受体及 GABAA-R 进行正性变构调节。而对各种配体门控离子通道的抑制却

需要 mmol/L 级水平才能发生,其机制不清。有研究证实神经活性类固醇对 AMPA 细胞毒性不同于作用于 NMDA 细胞毒性。予硫酸孕烯醇酮(30 ~ 300 mmol/L)可减弱 AMPA 细胞毒性。而其他神经活性类固醇没有此作用,可能是通过抑制 AMPA 受体相关通道的活动而实现的^[24]。神经活性类固醇也可调节 G 蛋白偶联受体,催产素受体是第一个证明能被神经活性类固醇通过配体形式进行调控的 G 蛋白偶联受体。 δ 受体虽分子结构不清,但对神经活性类固醇的敏感性确实存在,也可以与神经活性类固醇结合。

8 结语

综上所述,神经活性类固醇通过不同途径来保护神经细胞,其治疗神经和精神疾病中的价值日益得到重视,尽管大量的研究资料对神经活性类固醇的神经保护机制作了一定的推测,但其确切作用机制尚无定论,文献报道较少,值得探讨。

[参 考 文 献]

[1] Hosie AM, Wilkins ME, da Silva HM, Smart TG. Endogenous neurosteroids regulate GABAA receptors through two discrete transmembrane sites[J]. *Nature*, 2006, 444(7118): 486-489.

[2] Lambert JJ, Belelli D, Peden DR. Neurosteroid modulation of GABAA receptors [J]. *Prog Neurobol*, 2003, 71(1): 67-80.

[3] Morrow AL. Recent developments in the significance and therapeutic relevance of neuroactive steroids-introduction to the special issue [J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 116(1): 1-6.

[4] 杨萍萍. 神经活性类固醇作用机制及应用前景 [J]. *生命的化学*, 2001, 21(2): 114-116.

[5] 来艳萍, 刘燕强. γ -氨基丁酸 A 型受体在神经精神性疾病发生发展中的意义 [J]. *中国临床药理学与治疗*, 2008, 13(2): 208-212.

[6] Frank C, Sagratella S. Neuroprotective effects of allopregnenolone on hippocampal irreversible neurotoxicity in vitro [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2000, 24(7):1117-1126.

[7] Patchev VK, Montkowski A, Rouskova D. Neonatal treatment of rats with the neuroactive steroid tetrahydro-deoxycorticosterone (THDOC) abolishes the behavioral and neuroendocrine consequences of adverse early life events [J]. 1997, 99(5):962-966.

[8] Reddy DS. Pharmacology of endogenous neuroactive steroids [J]. *Crit Rev Neurobiol*, 2003, 15(3):197-234.

[9] Cottrell GA, Lambert JJ, Peters JA. Modulation of GBAA receptor activity by alphaxalone[J]. *Br J Pharmacol*, 1987, 90(3):491-500.

[10] Qiu S, Hua YL, Yang F, Chen YZ, Luo JH. Subunit assembly of N-methyl-d-aspartate receptors analyzed by fluorescence resonance energy transfer[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(26):24923-24930.

[11] Pallarés M, Darnaudéry M, Day J, Le Moal M, Mayo M. The neurosteroid pregnenolone sulfate infused into the nucleus basalis increases both acetylcholine release in the frontal cortex or amygdale and spatial memory[J]. *Neuroscience*, 1998, 87(3):551-558.

[12] Sadri-Vakili G, Johnson DW, Janis GC, Gibbs TT, Pierce RC, Farb DH. Inhibition of NMDA-induced striatal dopamine release and behavioral activation by the neuroactive steroid 3 α -hydroxy-5 β -pregnan-20-one hemisuccinate[J]. *J Neurochem*, 2003, 86(1): 92-101.

[13] Shirakawa H, Katsuki H, Kume T. Regulation of N-methyl-D-aspartate cytotoxicity by neuroactive steroids in rat cortical neurons [J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 454(2-3):165-175.

[14] Owens MJ, Ritchie JC, Nemeroff CB. 5 α -pregnane-3 α , 21-diol-20-one (THDOC) attenuates mild stress-induced increases in plasma corticosterone via a non-glucocorticoid mechanism: comparison with alprazolam[J]. *Brain Res*, 1992, 57(3):353-355.

[15] Patchev VK, Shoaib M, Holsboer F, Almeida OF. The neurosteroid tetrahydroprogesterone counteracts corticotropin-releasing hormone-induced anxiety and alters the release and gene expression of corticotropin-releasing hormone in the rat hypothalamus [J]. *Neuroscience*, 1994, 62(1):265-271.

[16] Patchev VK, Hassan AH, Holsboer DF, Almeida FX. The neurosteroid tetrahydroprogesterone attenuates the endocrine response to stress and exerts glucocorticoid-like effects on vasopressin gene transcription in the rat hypothalamus [J]. *Neuropsychopharmacology*, 1996, 15(6):533-540.

[17] Patchev VK, Montkowski A, Rouskova D, Koranyi L, Holsboer F, Almeida O. Neonatal treatment of rats with the neuroactive steroid tetrahydrodeoxycorticosterone (THDOC) abolishes the behavioral and neuroendocrine consequences of adverse early life events[J]. *J Clin Invest*, 1997, 99(5):962-966.

[18] Biggio F, Gorini G, Caria S, Murrul L, Mostallino MC, Sanna E, et al. Plastic neuronal changes in GABA (A) receptor gene expression induced by progesterone metabolites: in vitro molecular and functional studies[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2006, 84(4):545-554.

[19] Mellon SH. Neurosteroid regulation of central nervous system development[J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 116(1):107-124.

[20] Donley MP, Schulkin J, Rosen JB. Glucocorticoid receptor antagonism in the basolateral amygdala and ventral hippocampus interferes with long-term memory of contextual fear[J]. *Behav Brain Res*, 2005, 164(2):197-205.

[21] Schumacher M, Guennoun R, Stein DG, De Nicola AF. Progesterone: therapeutic opportunities for neuroprotection and myelin repair[J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 116(1):77-106.

[22] Cameron SA, Dutia MB. Lesion-induced plasticity in rat vestibular nucleus neurones dependent on glucocorticoid receptor activation [J]. *J Physiol*, 1999, 518(Pt 1):151-158.

[23] Wiedemann K, Hirschmann M, Knaut K, Rupprecht R, Seier FE, Holsboer F. Sleep endocrine effects of megestrol acetate in healthy men [J]. *J Neuroendocrinol*, 1998, 10(9):719-727.

[24] Shirakawa H, Katsuki H, Kume T. Pregnenolone sulphate attenuates AMPA cytotoxicity on rat cortical neurons[J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 21(9):2329-2335.

(本文编辑:吉耕中)