综 述 文章编号:0253-3626(2008)s1-0099-02

Rho激酶抑制剂的研究现状及其在神经系统疾病中的应用前景

肖保国

(复旦大学附属华山医院神经病学研究所,上海 20040)

【中国图书分类法分类号】R741.05 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-08-29

1 Rho-Rho激酶系统及其抑制剂的研究现状

Rho激酶(Rho kinases,ROCKs)是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(Ser/Tkr蛋白激酶),分子量约为160ku[1]。可分为2个亚型:ROCK-Ⅰ(又称ROKβ)和ROCK-Ⅱ(又称ROCKα)[2]。人类ROCK-Ⅰ和ROCK-Ⅱ分别定位于18号染色体(18q11.1)和2号染色体(2p24)。整个分子由蛋白氨基端的激酶区(Kinase domain)和富含半胱氨酸的PH结构域(Pleckstrin-homology domain)组成。ROCK-Ⅰ和ROCK-Ⅱ具有高度同源性,氨基酸同源约为65%,而在激酶区的同源性高达92%。其羧末端螺旋式盘旋区域是Rho结合位点。尽管2个亚型有非常高的同源性,然而它们的表达定位是不同的。ROCK-Ⅱ主要表达在脑内,而ROCK-Ⅰ则主要表达在非神经组织,如肺、肾和骨骼肌[3]。业已证明ROCK羧末端调节激酶活性。羧末端向激酶折叠形成自我抑制环(Auto-inhibitory loop)维持ROCK的失活状态。Rho-GTP同Rho激酶在此位点的结合引起构象改变使之激活。激活ROCK的主要底物之一是肌球蛋白轻链(Myosin light chain,MLC),并导致其磷酸化,进而以不依赖Ca^{2+}的方式增强平滑肌收缩,参与血管痉挛发生。

Rho-Rho激酶系统从被发现以来并没有引起人们的普遍关注,但是从2006年起关注的程度明显增加,积累起来的证据表明Rho/Rho激酶在多种细胞功能上起重要的作用,不同程度地调节和控制细胞的增生和分化,运动和移行以及生成和死亡。目前而言,其作用不仅局限于血管平滑肌细胞和内皮细胞收缩,而且已经延伸至其他领域。现就目前的研究现状作一简单介绍。

1.1 Rho激酶抑制剂的血管调节作用

抑制平滑肌收缩的最终阶段肌球蛋白轻链的磷酸化而扩张血管,在血管重构,血压调节及血循环改善中均有重要作用。此外,Rho激酶抑制剂还通过与血管紧张素Ⅱ、内皮素-1等血管活性物质相互作用,直接参与心脑血管疾病的治疗[4]。

1.2 Rho激酶抑制剂的骨架蛋白重构

细胞骨架蛋白包括微丝、微管和中等张力纤维等,其在细胞中具有多种重要的生物学功能,比如细胞骨架结构重排可以影响血脑屏障的通透性,并与细胞移行和组织修复相关。实验证明Rho激酶抑制剂可以增加 Schwann 细胞髓鞘形成[5]。

1.3 Rho激酶抑制剂的抗炎作用

Rho激酶抑制剂的抗炎作用大致可以分为二条途径。第一,Eho激酶抑制剂可以有效降低炎性细胞分泌炎性因子,比如IFN-γ,IL-12,IL-1β和TNF-α。第二,Rho激酶抑制剂还可以抑制炎性细胞的粘附和侵润,从而抑制局部炎性细胞介导的炎性反应的放大,减少由此引起的组织和细胞损伤。比如动脉粥样硬化目前认为是一个慢性的炎症反应过程,内有大量的侵润细胞和其此产生的炎性因子。因此,Rho激酶抑制剂抑制白细胞粘附和迁移、抑制炎性分子释放,从而抑制动脉粥样硬化的发生与发展[6,7]。

1.4 Rho激酶抑制剂的神经元保护作用

神经元死亡是许多神经系统疾病病理过程中的共同特征。Rho激酶抑制剂可以有效减少某些有害有毒物质引起的神经元死亡。比如高浓度的苯丙氨酸可以通过Rho/Rho激酶激活引起神经元死亡。Rho激酶抑制剂则可通过抑制cas-pase-3而有效保护神经元[8]。

1.5 Rho激酶抑制剂对血脑屏障的影响

Rho激酶抑制剂可以保护血-脑屏障的完整性,逆转封闭蛋白/claudin-5的磷酸化,有效抑制炎性细胞通透血-脑屏障,从而保护脑组织免受其侵害[9]。

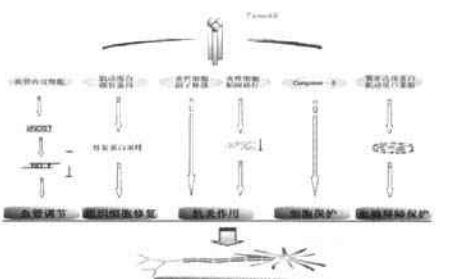


图1 Rho激酶抑制剂神经保护的可能细胞和分子机理

作者介绍:肖保国(1954-),男,教授,博士生导师,研究方向:中枢神经系统胶质细胞与免疫细胞的交叉对话;中枢神经系统炎性疾病的生物标志和免疫治疗以及神经保护。

表1 为盐酸法舒地尔治疗蛛网膜下腔出血后引起的脑血管痉挛

年份	杂志	单位	例数	脑血管痉挛抑制	副作用和安全性
1999	Acta Neurochir	日本 Nagoya 红十字医院	10	有效	安全
2002	军医进修学院学报	北京 解放军总医院神经外科	10	有效	安全
2005	Neurosurgery	日本 Hyogo Prefectural Awaji Hospital	23	有效	安全
2006	中华神经外科杂志	北京 天津医科大学总医院	32	有效	安全
2006	Neurol Med Chir	北京 天坛医院等五单位	37	有效	安全
2007	Surg Neurol	日本 Nagoya 红十字医院	1462	有效	安全

表2 为盐酸法舒地尔治疗急性脑梗塞

年份	杂志	单位	例数	神经功能和临床结果	副作用和安全性
2005	J Neurol Sci	日本 Nagoya 红十字医院	81	有效	安全
2006	实用心脑肺血管病杂志	北京 顺义医院神经内科	105	有效	安全

基于上述几方面的研究,可以清晰地发现Rho激酶抑制剂生物学功能远不局限于对痉挛血管的调节作用,它可以通过不同的细胞和分子层面对神经元起到保护作用(如图1所示)。

2 Rho激酶抑制剂在神经系统疾病中的应用前景

国际医学专家在病理研究中发现许多神经系统病理状态下,比如脑缺血,脊髓损伤,炎性脱髓鞘等,均可以出现异常Rho激酶激活和表达,并推测可能与疾病的发生发展有关。利用Rho激酶抑制剂进行干预,结果显示可以改善临床症状和病理学改变。因此,抑制患者组织内的Rho激酶异常活跃是治疗心脑血管疾病的关键,成为国际上的研究热点。鉴于Rho/Rho激酶系统在细胞分子水平生命活动中的重要意义,近年来,对激酶抑制剂及盐酸法舒地尔(Fasudil)的研究正在不断深入。

2.1 Rho激酶抑制剂治疗脑血管痉挛

盐酸法舒地尔为一种Rho激酶抑制剂,在静脉内应用时能有效地防止蛛网膜下腔出血后引起的的脑血管痉挛。动物实验业已证明,给予Rho激酶抑制剂可以抑制痉挛血管的扩张。在临床研究中,盐酸法舒地尔还对治疗许多心血管疾病有效,包括脑动脉和冠状动脉痉挛、心绞痛、高血压、肺动脉高压和心衰具有可靠的疗效。表1为盐酸法舒地尔治疗蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的临床报告。

2.2 Rho激酶抑制剂治疗急性脑梗塞

急性脑梗塞病人48h内使用盐酸法舒地尔可以有效改善缺血后神经功能的改善和临床结果的改善,没有明显的副作用,使用是安全的。表2为盐酸法舒地尔治疗急性脑梗塞的临床报告。

Rho-Rho激酶系统的研究引起了世界广泛的关注,可能成为多种神经系统疾病治疗的新靶标[10]。Rho激酶抑制剂的干预起到了良好的效果,触发了人们进一步研究病理状态下Rho-Rho激酶激活的细胞分子机理以及Rho激酶抑制剂治疗效果的作用机理。

脑缺血引起的神经细胞损伤是临床上最常见的类型,脑缺血引发的病理生理改变极为复杂,且与多种因素密切相关,互为因果。同时治疗手段受到现今认识水平的限制。缺血后大脑的神经细胞将发生"级联反应"的瀑布现象,为我们研究Rho激酶抑制剂神经保护临床研究提供了广阔的空间。溶栓治疗是目前临床的主要方法但往往受到治疗时间窗的限制(一般认为3h以内),且副作用较多。其他各类神经保护剂几乎都有一个共同的命运,那就是动物试验有效,但临床无效,出现神经保护治疗临床和理论的严重脱节。Rho激酶抑制剂作为新的神经保护剂正面临着新的机遇和挑战。它可能作用于脑缺血后中晚期的多个作用靶点上,包括改善脑循环,抗炎作用,抗神经元死亡甚至增加内源性神经干细胞分化和增生(如图2所示)。Rho-Rho激酶系统及其抑制剂的研究为神经保护剂的研究和神经系统疾病的治疗提供了广阔的机遇和挑战。

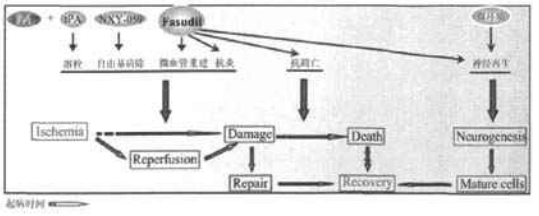


图2 Fasudil作为神经保护剂的机遇和挑战

参 考 文 献

[1] Matsui T,Amano M,Yamamoto T,et al. Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase,as a putative target for small GTP binding protein Rho[J]. EMBO J,1996;15(9):2208-2216.

(下转第 112 页)

[2] Lu X,Zhang W,Gui Q,et al. Evaluating non-invasive medical imaging for diagnosis of carotid artery stenosis with ischemic cerebrovascular disease[J]. Chin Med J(Engl),2003;116(1):112-115.

[3] Josephson SA,Bryant SO,Mak HK,et al.Evaluation of carotid stenosis using CT angiography in the initial evaluation of stroke and TIA[J]. Neurology,2004;63(3):457-460.

[4] Koelemay MJ,Nederkoorn PJ,Reitsma JB,et al. Systematic review of computed tomographic angiography for assessment of carotid artery disease[J]. Stroke,2004;35:2306-2312.

[5] Ritter MA,Poeplau T,Schaefer A,et al.CT angiography in acute stroke; does it provide additional information on occurrence of infarction and functional outcome after 3 months[J]? Cerebrovasc Dis, 2006;22(5-6):362-367.

[6] Brandt T,Knauth M,Wildermuth S,et al.CT angiography and Doppler sonography for emergency assessment in acute basilar artery ischemia[J]. Stroke,1999;30:606-612.

[7] Nakaguchi H,Teraoka A,Adachi S,et al. Efficacy of dynamic CT perfusion imaging in conjunction with three dimensional CT angiography for the evaluation of acute ischemic stroke[J]. No Shinkei Geka,2003;31(1):17-25.

[8] Guan X,Yu X,Liu X,et al. CT perfusion imaging and CT subtraction angiography in the diagnosis of ischemic cerebrovascular disease within 24 hours[J].Chin Med J(Engl),2003;116(3):368-372.

[9] Bernd F,Tomandl MD,Ernst K,et al. Comprehensive Imaging of Ischemic Stroke with Multisection CT[J]. Radiographics,2003;23:565-592.

[10] Schramm P. CT diagnosis in acute cerebral ischemia[J]. Radiologe,2005;45(5);422-429.

[11] Stephen PK,Darius GN,Christiane G,et al. Acute stroke assessment with CT; do we need multimodal evaluation[J]? Radiology, 2004;233(1):79-86.

[12] Nguyen-Huynh MN, Wintermark M, English J,et al.How Accurate is CT angiography in evaluating intracranial atherosclerotic disease[J]? Stroke,2008;39(4):1184-1188.

[13] Caplan L. Treatment of acute stroke;still struggling[J]. JAMA, 2004;15:1883-1885.

[14] Piero V,Lawrence N, Tanenbaum N, et al. Clinical application of CT angiography in acute ischemic stroke[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2007;109(2):138-145.

[15] Chuang YM,Chao AC,Teng MM.Use of CT angiography in patient selection for thrombolytic therapy[J]. Am J Emerg Med,2003; 21(3):167-172.

[16] Susanne W,Michael K,Tobias B,et al.Role of CT Angiography in patient selection for thrombolytic therapy in acute hemispheric stroke[J].1998;29:935-938.

[17] Lewandowski C,Frankel M,Tomsick T,et al.,Combined intravenous and intraarterial r-tPA versus intraarterial therapy of acute ischemic stroke[J]. Stroke,1999;30:2598-2605.

[18] Wolpert S,Bruckmann H,Greenlee R,et al. Neuroradiologic evaluation of patients with acute stroke treated with recombinant tissue plasminogen activator[J]. AJNR,1993;14:3-13.

[19] Peter DS,Jochen BF,Werner H. Imaging-based decision making in thrombolytic therapy for ischemic stroke;present status [J]. Stroke,2003;34(2):575-583.

[20] Sylaja PN,Dzialowski I,Krol A,et al. Role of CT angiography in thrombolysis decision-mmaking for patients with presumed seizur e at stroke onset[J]. Stroke,2006;37(3):915-917.

[21 Lee KY,Han SW,Kim SH,et al. Early recanalization after intravenous administration of recombinant tissue plasminogen activator as assessed by pre- and post-thrombolytic angiography in acute ischemic stroke patients[J]. Stroke,2007;38(1):192-193.

[22] Smith WS,Roberts HC,Nathaniel A,et al.Safety and feasibility of a CT protocol for acute stroke;combined CT,CT angiography, and CT perfusion imaging in 53 consecutive patients[J]. AJNR Am J Neuroradiol,2003;24(4):688-690.

(上接第 100 页)

[2] Nakagawa O,Fujisawa K,Ishizaki T,et al.ROCK-I and ROCK-II,two isoforms of Rho-associated coiled-coil forming protein serine/threonine kinase in mice[J]. FEBS Lett,1996;392:189-193.

[3] Hashimoto R,Nakamura Y,Kosako H,et al. Distribution of Rho-kinase in the bovine brain[J]. Biochem Biophys Res Commun,1999;263(2): 575-579.

[4] Lai A,Frishman WH. Rho-kinase inhibition in the therapy of cardiovascular disease[J]. Cardiol Rev,2005;13:285-292.

[5] Schmandke A,Schmandke A,Strittmatter SM.ROCK and Rho: biochemistry and neuronal functions of Rho-associated protein kinases[J]. Neuroscientist,2007;13:454-469.

[6] Slotta JE,Braun OO,Menger MD,et al.Fasudil,a Rho-kinase inhibitor, inhibits leukocyte adhesion in inflamed large blood vessels in vivo[J]. Inflamm Res,2006;55:364-367.

[7] Sun X,Minohara M,Kikuchi H,et al. The selective Rho-kinase inhibitor Fasudil is protective and therapeutic in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Neuroimmunol,2006;180:126-134.

[8] Takanashi Y,Ishida T,Kirchmeier MJ,et al. Neuroprotection by intrathecal application of liposome-entrapped fasudil in a rat model of ischemia[J]. Neurol Med Chir,2001;41:107-113.

[9] Persidsky Y,Heilman D,Haorah J,et al. Rho-mediated regulation of tight junctions during monocyte migration across the blood- brain barrier in HIV-1 encephalitis(HIVE)[J]. Blood,2006;107:4770-4780.

[10] Mueller BK,Mack H,Teusch N. Rho kinase,a promising drug target for neurological disorders[J]. Nat Rev Drug Discov,2005;4:387-398.