

青光眼视神经保护治疗的研究进展

刘 兵¹, 马晓华²

作者单位:¹(250014) 中国山东省济南市, 山东中医药大学;
²(250002) 中国山东省济南市, 山东施尔明眼科医院

作者简介: 刘兵, 男, 山东中医药大学 2009 级硕士研究生, 研究方向: 青光眼。

通讯作者: 马晓华, 女, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼视光学、青光眼。mxh666@tom.com

收稿日期: 2010-09-06 修回日期: 2010-09-27

Research advances of optic nerve protection of glaucoma

Bing Liu¹, Xiao-Hua Ma²

¹Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong Province, China; ²Shandong Shierming Eye Hospital, Jinan 250002, Shandong Province, China

Correspondence to: Xiao-Hua Ma. Shandong Shierming Eye Hospital, Jinan 250002, Shandong Province, China. mxh666@tom.com

Received: 2010-09-06 Accepted: 2010-09-27

Abstract

• Glaucoma is one kind of blinding ophthalmopathy caused by increased intraocular pressure (IOP), and its pathologic basis is the progressive loss of retinal ganglion cells (RGCs) and its axons. In the past, a great number of studies have focused on reducing IOP. Now optic nerve protection is accepted generally as a new strategy for treating glaucoma by preventing the death of RGCs. This review summarizes the findings of experimental research on neuroprotection for glaucoma.

• KEYWORDS: glaucoma; optic nerve protection

Liu B, Ma XH. Research advances of optic nerve protection of glaucoma. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)* 2010; 10(11): 2137-2140

摘要

青光眼是由于眼压升高引起视乳头损害和视野缺损的一种致盲性眼病, 其病理基础是视网膜神经节细胞及其轴突的进行性丢失。过去大量的研究都集中在降低眼压方面, 现在视神经保护治疗作为一种通过阻止神经元死亡治疗青光眼的新策略已被普遍接受。我们从 NMDA 受体拮抗剂、神经营养因子、热休克蛋白、免疫系统等方面, 总结了目前青光眼视神经保护治疗的研究进展。

关键词: 青光眼; 视神经保护

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.11.030

刘兵, 马晓华. 青光眼视神经保护治疗的研究进展. 国际眼科杂志 2010; 10(11): 2137-2140

0 引言

青光眼是一种以进行性视神经损害和视野缺损为特征的致盲性眼病, 它导致视功能损害的病理基础是视网膜神经节细胞的进行性凋亡及视神经纤维的丢失。目前对青光眼的治疗方法主要是通过药物或手术降低眼压以期达到保护视神经的目的, 然而临床上很多病例在眼压降至正常水平后仍不能阻止视功能的进行性损害, 因此如何阻止视网膜神经节细胞的死亡并有效保护和恢复青光眼患者的视功能成为当前青光眼治疗的重点。我们就近期青光眼视神经保护的研究进展综述如下。

1 NMDA 受体拮抗剂

谷氨酸是视网膜上一种重要的兴奋性神经递质, 参与感光过程中各突触间的信息传导。在正常情况下, 谷氨酸从轴突前膜释放后, 作用于 NMDA 受体发挥正常生理功能, 只有出现过量谷氨酸时才能引起兴奋性毒性作用。利用 NMDA 受体拮抗剂, 阻断神经节细胞表面 NMDA 受体与兴奋性氨基酸的结合, 可以减轻低氧、兴奋性毒素等对 RGCs 的损伤, 从而达到保护 RGCs 的作用。MK-801 是一种非竞争性 NMDA 受体拮抗剂, 结合于 NMDA 受体离子通道内位点, 亲和力大、作用强, 具有剂量依赖性特点。Gu 等^[1]发现 MK-801 有改善 RGCs 死亡状态作用及抑制缺血所致的细胞核质内 DNA 的裂解。Torii 等^[2]发现在大鼠眼压升高前给予静点 MK-801 (1mg/kg), 可以明显降低视网膜的损伤。Hare 等^[3]用非竞争性 NMDA 受体拮抗剂美金胺 (memantine) 治疗兔青光眼模型, 通过视网膜电图记录, 证明美金胺能有效阻止并逆转实验性谷氨酸兴奋性毒性作用。Yücel 等^[4]发现美金胺能明显阻止猴青光眼模型外侧膝状体核神经元的萎缩。

2 补充外源性神经营养因子

神经营养因子可被用于刺激视神经轴的再生, 同时它们还具有神经保护作用。目前已知的对 RGCs 作用肯定的神经营养因子有神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、睫状神经营养因子 (ciliary neurotrophic factor, CNTF)、胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) 等, 其中以 BDNF 作用最强。

2.1 神经生长因子

神经生长因子 (NGF) 是一种对于中枢和周围神经元的存活和分化起着重要作用的神经营养

因子,与其受体 TrkA 结合后可激活细胞核和细胞质内一系列酶促反应,促进发育神经细胞的生长,维持成熟神经细胞的存活,促使损伤神经细胞的修复和再生。Lambiase 等^[5]发现,在局部结膜下注射 NGF 可使眼内组织包括视网膜、视神经组织在给药后 6h 达到 200 μ g/mL 的药物浓度高峰,局部使用 NGF 治疗还可提高老鼠视网膜中脑源性成纤维生长因子蛋白和 mRNA 的水平。Colafrancesco 等^[6]研究发现,RGCs 的丢失与 NGF 及 NGF 受体的表达下降有关,并且通过 NGF 治疗可以显著减少由青光眼导致的 RGCs 的死亡。

2.2 脑源性神经营养因子 脑源性神经营养因子(BDNF)最主要的功能是对神经元的营养支持,并能在神经元损伤后保护它们和促其轴突再生。当视神经损伤后,RGCs 存在保护性反应, BDNF 及其受体的表达增高。研究发现,在鼠视神经切断前予以脑创伤处理能减少 RGCs 的死亡,这可能与脑创伤后视网膜中的 BDNF 水平或 BDNF 参与免疫介导的作用有关^[7]。Oshitari 等^[8]将 BDNF 混合液加入体外培养的 RGCs 中,发现其具有抑制 RGCs 凋亡和促进损伤后轴突再生的作用。崔志利等^[9]用腺病毒作为 BDNF 基因载体注入视神经夹伤的大鼠玻璃体腔内,发现其较 CNTF 能提供更长时间的营养支持。

2.3 睫状神经营养因子 睫状神经营养因子(CNTF)可促进和维护各种中枢神经和周围神经系统神经元的存活,调节他们的分化。Cui 等^[10]将冰冻后复融的周围神经髓鞘移植到轴切的视神经断端,结果显示注射雪旺细胞后可见明显的 RGCs 再生,若同时玻璃体内注射 CNTF 可更明显的促进节细胞的再生,从而认为周围神经髓鞘可以介导细胞轴突的再生,起主要作用的还是由雪旺细胞分泌的营养因子,尤其是 CNTF。Pease 等^[11]将注射了包含 CNTF 的腺病毒相关病毒载体的 224 只 Wistar 鼠的一只眼睛激光诱导为青光眼,以评估病毒介导睫状源性神经营养因子表达在实验性鼠青光眼的神经保护作用。结果只有少于 15% 的视神经轴突死亡($P < 0.01$),提示睫状神经营养因子有明显的保护作用。

3 热休克蛋白 70

热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)是辅助细胞内多肽组合、折叠的一种重要蛋白,它对神经组织的生长、分化影响较大。在所有 HSPs 中,HSP70 在神经保护方面发挥着最重要的作用。研究发现,能使 HSP70 表达增加和整合了含有 HSP70 基因的大鼠神经元对缺血和损伤显示出更高的耐受性^[12]。Park 等^[13]曾用热休克反应(heat shock response, HSR)和腹膜下注射硫酸锌处理氩激光小梁网烧灼后的青光眼模型 Wistar 大鼠,结果显示:经上述处理后 RGCs 存活率明显高于损伤组。当 HSP72(即诱导型 HSP70)被预先注射的槲皮黄酮抑制后,HSR 处理组和硫酸锌处理组 RGCs 存活率与损伤组无显著差别,说明 HSP72 可能对青光眼 RGCs 损伤具有保护作用。Ishii 等^[14]用一种非环状类异戊二烯复合物-GGA (Geranylgeranylacetone)在青光眼模型大鼠 RGCs 中诱导 HSP72 表达,并发现 RGCs 存活率上升。HSP72 还具有保护培养 RGCs 免

受缺血和兴奋性毒损害的作用。

4 免疫系统

随着近年来免疫学研究的深入,免疫系统调节在青光眼性视神经保护中的作用引起了众多研究者的高度重视。Seshwartz^[15-17]通过对碾压损伤视神经和挫伤脊髓的大鼠动物模型的研究发现,获得性免疫反应可以减缓神经元的继发损伤。这种免疫反应是由针对中枢神经系统相关自身抗原的 T 细胞介导。T 细胞可以进入正常的中枢神经系统发挥免疫监视作用,不受血-脑屏障限制,因此受损组织可以在任何时候接受到保护性免疫作用。同时,T 细胞还提供了一些有利于神经保护的细胞因子,如干扰素- γ 因子、BDNF、NGF 等。Fisher 等^[18]对实验性视神经受损的鼠结膜下注射 PLP(proteolipid protein)进行自动免疫,发现 RGCs 存活率显著高于对照组。因此可应用与中枢神经系统自身抗原相似的合成多肽进行视神经的自身免疫,达到保护视神经的功能。

5 基因治疗

视神经损伤后,所处的微环境发生了较大改变,现代研究证明可以通过基因治疗的手段调整这些变化,以达到对损伤视神经的保护作用。在宿主体内使用编码再生所需因子的质粒 DNA 是目前比较常见的一种基因治疗方法。质粒可在横断的视神经末端,甚至是完好的轴突末端通过逆向转运进入 RGCs 从而获得 BDNF, GDNF 等的表达,来实现视神经保护作用^[19]。腺相关病毒载体(AAV)是无被膜单链病毒,来源于细小病毒组,有自然复制缺陷,一般被认为无毒无致病作用,视网膜注射 AAV 载体可有效转染各种不同类型的细胞,并有持续数月高水平的转基因的表达。Leaver 等^[20]发现使用 AAV-2 载体使细胞内获得 CNTF, BDNF 的表达可增强大鼠 RGCs 的存活和轴突的再生。在注射 AAV 的眼内,因为病毒转染的细胞释放营养因子对周围未转染的细胞有旁分泌支持作用,未转染的 RGCs 存活能力也有增强。借助 AAV 载体,传递抗氧化基因,还可长效阻止视神经炎动物模型神经元和轴突的丢失^[21]。目前认为,3 种主要的生长抑制因子 myelin-associated glycoprotein(MAG), Nogo 和 oligodendrocyte myelin glycoprotein(OMgp),通过其共同的受体 Nogo receptor(NgR),激活下游 Rho/ROCK 信号途径,造成长锥的塌陷,从而抑制轴突的再生。Venkatesh 等^[22]的研究证实,NgR 基因敲除的突变小鼠,其 RGCs 的存活和轴突再生能力明显增强。Rho 特异对抗物 C3 基因的体内细胞转染,同样也可在视神经损伤后促进 RGCs 的存活^[23]。

6 中药

中医中药治疗青光眼有独到之处,尤其在青光眼视神经保护方面有很大的潜力和优势。近年来,对中药改善视功能的临床和实验研究也取得了较大的进展,中药无论是单味药还是复方制剂都显示出了较好的视神经保护作用。

6.1 丹参 丹参可改善视神经的微循环和视神经纤维的缺氧状态,降低全血及血浆黏度,改善红细胞的变形性,对抗高凝的红细胞聚集,从而降低微循环阻力,增加微循环灌注量,还具有清除自由基和抗氧化作用。并且丹参及其

制剂已被证明对中晚期原发性青光眼患者有一定的疗效^[24]。

6.2 灯盏细辛 灯盏细辛具有扩张血管,减少血管外阻力,抗血小板聚集及抗心肌缺血等作用。动物实验证实,灯盏细辛注射液具有改善鼠实验性高血压后视神经轴浆运输及减轻急性高血压后 RGCs 组织学改变的作用,其可能使某些濒临死亡的 RGCs 轴索恢复轴浆运输,使从脑内靶细胞传出的神经营养信号或靶组织分泌的神经营养因子能顺利到达 RGCs 胞体,从而避免部分 RGCs 的死亡^[25]。用其制成的益脉康片、青光康片是一类安全、无毒副作用的中草药,治疗晚期青光眼能够有效改善患者的视野,已作为视神经保护剂应用于眼压已控制的青光眼。

6.3 银杏叶 银杏叶提取液含 17 种氨基酸,谷氨酸含量最高,能够减少谷氨酸诱导的细胞内钙离子超载。金纳多为银杏叶提取物,含银杏黄酮和内酯成分,能够到达视网膜,对慢性青光眼大鼠模型的视网膜神经节细胞起到保护作用^[26]。银杏叶的保护效应还可在线粒体水平上发挥作用,通过保护线粒体的功能来增加视神经节细胞对缺血再灌注损伤的抵抗力。另外,川芎、葛根、刺蒺藜等多种中药也都可起到保护视神经的作用。虽然这些中药制剂当中有的还仅限于动物实验阶段,有的仅限于临床试验,但是中药在视神经保护方面还有很大开发潜力。

7 其他

7.1 激肽释放酶结合蛋白 激肽释放酶结合蛋白(KBP)是一种丝氨酸蛋白酶,为特异性组织激肽释放酶抑制剂。金顺祥等^[27]在大鼠视神经损伤的模型中,行玻璃体腔分别注入 KBP 作为实验组和 PBS 为对照组。结果显示实验组大鼠相比对照组有较多的视网膜神经节细胞存活下来,且与对照组比较,视网膜厚度在损伤后也没有出现明显萎缩。这些证据表明 KBP 可以保护视网膜神经节细胞以及维持视网膜各层结构在损伤过程中形态学的稳定性。

7.2 促红细胞生成素 促红细胞生成素(EPO)是一种刺激骨髓红系造血的糖蛋白造血因子,临床上已经应用于治疗贫血。现在研究认为其可能对缺氧造成的视网膜神经损害也起到保护作用。Tezel 等^[28]研究发现,缺氧诱导产生的 EPO 能以旁分泌的方式上调 RGCs 血红蛋白的表达,从而增加 RGCs 对缺氧的耐受性。Tsai 等^[29]通过玻璃体腔注射 EPO 治疗鼠青光眼模型,发现当剂量达到 200ng 时,能起到视神经保护的作用。

7.3 雌激素 孕酮作为一种雌性激素,同时作为一种神经类固醇,它所具有的抗氧化、抗缺血和营养神经等作用越来越受到肯定。孕酮还可以通过促进外周神经髓鞘生成而起到神经保护作用。国外有人用体外谷氨酸诱导的视网膜神经节细胞-5 死亡模型,研究 17 β 雌二醇对 RGCs 的保护作用,结果发现谷氨酸使 65% 的 RGCs 丧失了生存能力,而 17 β 雌二醇预先干预组对 50% 的 RGCs 的生存能力起到了保护作用,并且这种保护能力与 17 β 雌二醇的剂量成正相关,表明雌激素对 RGCs 有保护作用^[30]。

7.4 干细胞移植 干细胞移植是一种对包括青光眼在内的多种神经退行性疾病有效的治疗方法,目前正在积极探

索中。Bull 等^[31]将少突胶质前体细胞(OPCs)进行体外分离,然后在损伤诱导之前或同时将其移植到玻璃体内,结果显示 OPCs 能显著的提高青光眼 RGCs 的存活率。Johnson 等^[32]研究发现,玻璃体腔内移植间充质干细胞(MSCs)能够使 RGCs 的整体存活率显著上升,且 RGCs 轴突丢失率显著下降。

总之,对青光眼视神经保护的治疗已成为当前研究的热点,相信随着科研手段和方法的不断进步,人们对青光眼视神经保护作用机制会有更加深入的认识。另外,在积极探索青光眼的发病机制的同时,应加快中医药在防治青光眼方面的临床和基础研究,充分发挥祖国医学的优势。

参考文献

- 1 Gu Z, Yamamoto T, Kawase C, et al. Neuroprotective effect of N-Methyl-D-aspartate receptor antagonists in an experimental glaucoma Model in the rat. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2000;104(1):11-16
- 2 Toriu N, Akaike A, Yasuyoshi H, et al. Lomerizine, a Ca²⁺ channel blocker, reduces glutamate-induced neurotoxicity and ischemia/reperfusion damage in rat retina. *Exp Eye Res* 2000;70(4):475-484
- 3 Hare WZ, Wheeler L. Experimental glutamatergic excitotoxicity in rabbit retinal ganglion cells: block by memantine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(6):2940-2948
- 4 Yücel YH, Gupta N, Zhang Q, et al. Memantine protects neurons from shrinkage in the lateral geniculate nucleus in experimental glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2006;124(2):217-225
- 5 Lambiase A, Tirassa P, Micera A, et al. Pharmacokinetics of conjunctivally applied nerve growth factor in the retina and optic nerve of adu rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;6(10):3800-3806
- 6 Colafrancesco V, Parisi V, Sposato V, et al. Ocular application of nerve growth factor protects degenerating retinal ganglion cells in a rat model of glaucoma. *J Glaucoma* 2010;Apr 29 [Epub ahead of print]
- 7 Ben Simon CJ, Hovda DA, Harris NG, et al. Traumatic brain injury induced neuroprotection of retinal ganglion cells to optic nerve crush. *J Neurotrauma* 2006;23(7):1072-1082
- 8 Oshitari T, Adachi-Usami E. The effect of caspase inhibitors and neurotrophic factors on damaged retinal ganglion cells. *Neuroreport* 2003;14(2):289-292
- 9 崔志利,康军,惠延年,等. CNTF 和 Ad-BDNF 对视神经夹伤后视网膜神经节细胞存活的影响. *国际眼科杂志* 2008;8(6):1130-1132
- 10 Cui Q, Pollett MA, Symons NA, et al. A new approach to CNS repair using chimeric peripheral nerve grafts. *J Neurotrauma* 2003;20(1):17-31
- 11 Pease ME, Zack DJ, Berlinicke C, et al. Effect of CNTF on retinal ganglion cell survival in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(5):2194-2200
- 12 Kelly S, Yenari MA. Neuroprotection; heat shock proteins. *Curr Med Res Opin* 2002;18(2):55-60
- 13 Park KH, Cozier F, Ong OC, et al. Induction of heat shock protein 72 protects retinal ganglion cells in a rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1522-1530
- 14 Ishii Y, Kwong JM, Caprioli J. Retinal ganglion cell protection with geranylgeranylacetone, a heat shock protein inducer, in a rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(5):1982-1992
- 15 Schwartz M. Physiological approaches to neuroprotection; boosting of protective autoimmunity. *Surv Ophthalmol* 2001;45(Suppl 3):256-260
- 16 Schwartz M. Modulating the immune system; a vaccine for glaucoma?

- Can J Ophthalmol* 2007;42(3):439-441
- 17 Schwartz M. Lessons for glaucoma from other neurodegenerative diseases; can one treatment suit them all? *J Glaucoma* 2005;14(4):321-323
- 18 Fisher J, Levkovitch-Verbin H, Schori H, *et al.* Vaccination for neuroprotection in the mouse optic nerve: Implications for optic neuropathies. *J Neurosci* 2001;21(1):136-142
- 19 Thaler S, Rejdak R, Dietrich K, *et al.* A selective method for transfection of retinal ganglion cells by retrograde transfer of antisense oligonucleotides against kynurenine aminotransferase II. *Mol Vis* 2006;22(12):100-107
- 20 Leaver SG, Cui Q, Plant GW, *et al.* AAV-mediated expression of CNTF promotes long-term survival and regeneration of adult rat retinal ganglion cells. *Gene Ther* 2006;13(18):1328-1341
- 21 Qi X, Sun L, Lewin AS, *et al.* Long-term suppression of neurodegeneration in chronic experimental optic neuritis Antioxidant gene therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(12):5360-5370
- 22 Venkatesh K, Chivatakarn O, Sheu SS, *et al.* Molecular dissection of the myelin-associated glycoprotein receptor complex reveals cell type-specific mechanisms for neurite outgrowth inhibition. *J Cell Biol* 2007;177(3):393-399
- 23 Fischer D, Petkova V, Thanos S, *et al.* Switching mature retinal ganglion cells to a robust growth state *in vivo*: gene expression and synergy with RhoA inactivation. *J Neurosci* 2004;24(40):8726-8740
- 24 王吕鹏. 几种中药对青光眼视网膜节细胞的保护作用. 中国实用眼科杂志 2004;22(3):164-166
- 25 朱益华, 蒋幼芹, 刘忠浩, 等. EBHM 注射液对鼠实验性高眼压视神经轴浆运输的影响. 中华眼科杂志 2000;36(4):289-294
- 26 Hirooka K, Tokuda M, Miyamoto O, *et al.* The Ginkgo biloba extract (EGb 761) provides a neuroprotective effect on retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma. *Curr Eye Res* 2004;28(3):153-157
- 27 金顺祥, 曾勇, 万静, 等. 激肽释放酶结合蛋白对大鼠视神经不完全损伤后视网膜神经细胞的保护作用及轴突再生的研究. 南方医科大学学报 2010;30(4):738-741
- 28 Tezel G, Yang X, Luo C, *et al.* Hemoglobin expression and regulation in glaucoma; insights into retinal ganglion cell oxygenation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(2):907-919
- 29 Tsai JC, Wu L, Worgul B, *et al.* Intravitreal administration of erythropoietin and preservation of retinal ganglion cells in an experimental rat model of glaucoma. *Curr Eye Res* 2005;30(11):1025-1031
- 30 Kumar DM, Perez E, Cai ZY, *et al.* Role of nonfeminizing estrogen analogues in neuroprotection of rat retinal ganglion cells against ghrtamato-induced cytotoxicity. *Free Radical Biology&Medicine* 2005;38(9):1152-1163
- 31 Bull ND, Irvine KA, Franklin RJ, *et al.* Transplanted oligodendrocyte precursor cells reduce neurodegeneration in a model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(9):4244-4253
- 32 Johnson TV, Bull ND, Hunt DP, *et al.* Neuroprotective effects of intravitreal mesenchymal stem cell transplantation in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(4):2051-2059