

细胞程序性死亡在脑缺血中的作用与调控机制的研究进展

陈文彬 曾 贤 综述 唐 瑛 鞠殿文 审校

【关键词】脑缺血;细胞程序性死亡;细胞凋亡;细胞自噬
【文章编号】1009-153X(2015)08-0509-03 【文献标志码】B 【中国图书资料分类号】R 743.3;Q 255

细胞程序性死亡分为凋亡和自噬两种形式,凋亡是由基因控制的细胞程序性死亡,是一种正常的细胞生理性死亡机制;而自噬是一种细胞自我消化的过程,通过与溶酶体结合对细胞内损伤的细胞器、蛋白质等细胞成分进行降解再利用^[1],这两种细胞程序性死亡形式在脑缺血损伤机制中扮演着重要的角色,两者关系紧密,共同决定着脑神经元的命运。

1 细胞凋亡在脑缺血中的作用

细胞凋亡作为细胞重要的死亡机制之一,对于维持细胞的内稳态具有重要的作用。近年来心脑血管疾病的研究认为,细胞凋亡的发生与发展是其严重程度的主要影响因素。多项研究表明,脑缺血状态下,缺血中心区周围的神经元死亡以凋亡为主,细胞凋亡的程度直观表现为大脑的梗死面积。

胱天蛋白酶(Caspase)家族成员是细胞凋亡的必要通路,无论是线粒体依赖还是非线粒体的依赖凋亡途径最终都会通过激活 Caspase 家族成员蛋白(如 Caspase-8、Caspase-9 等)来介导细胞凋亡,Caspase-3 就是 Caspase 家族蛋白级联反应的一个关键效应蛋白,很多功能结构蛋白都是通过 Caspase-3 蛋白的酶解丧失功能进而引发细胞凋亡^[2]。脑缺血时,细胞内线粒体膜去极化,膜电位下降,多种促凋亡蛋白因子如细胞色素 C 和凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)等在应激状态下启动线粒体依赖的凋亡通路中得以释放,线粒体膜通透

性改变,释放的细胞色素 C、Caspase-9 与 Apaf-1 形成凋亡小体,使得 Caspase-9 激活,进而激活 Caspase-3,并在一系列酶的作用下促使细胞产生凋亡^[3]。

2 细胞自噬在脑缺血中的作用

自噬即 II 型细胞程序性死亡,基础水平上的自噬对维持细胞内稳态有着重要的作用,但自噬并非只是作为维持细胞内环境稳定的调节机制,当自噬激活超过一定的安全阈值时,便会转化为细胞自噬性死亡机制,加重细胞损伤^[4]。

Beclin-1 作为自噬的调控位点,是自噬激活的主导基因。当哺乳动物体内组织细胞处于应激状态时(如脑缺血),便会依赖 Beclin-1 表达的增强来介导细胞自噬的产生来维持细胞的内稳态^[5]。微管蛋白 1 轻链 LC3 是酵母自噬相关基因 Atg8 的同源性蛋白,在哺乳动物体内同样参与自噬的形成过程,LC3 主要以 LC3- I 和 LC3- II 两种表现形式存在于哺乳动物细胞内。实验研究表明在脑缺血状态下,LC3- II 表达量明显增加,LC3- I 向 LC3- II 的转化明显增多,自噬激活,脑损伤加重^[6]。因此对 Beclin-1 和 LC-3 表达量测定都可以反应应激状态下哺乳动物体内组织细胞自噬的激活程度。

3 细胞凋亡和自噬在调节脑缺血中的相互联系

3.1 凋亡和自噬在脑缺血中的关系 细胞自噬和凋亡在多种细胞病变和疾病中存在着复杂的联系,特别是在脑缺血缺氧状态下,两者的作用和相互关联尤为突出。近年来的研究表明,在脑缺血状态下,细胞自噬作为细胞程序性死亡的另一种方式,也存在于脑缺血中枢神经系统周围,并与细胞凋亡共同对脑神经元起着调节作用^[7]。

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2015.08.025
基金项目:上海市卫生局基金(12K004)
作者单位:200433,上海海洋大学(陈文彬);201203 上海,复旦大学药学院生物合成研究室(曾 贤、鞠殿文);200433 上海,海军医学研究所(唐 瑛)
通讯作者:唐 瑛,E-mail:maotou01@163.com

一方面,细胞自噬可以通过抑制凋亡来减轻脑缺血损伤。在脑缺血缺氧环境下,细胞自噬被激活,可以清除细胞内受损的线粒体,从而使得凋亡因子的释放受到限制,最终抑制细胞凋亡,降低神经元损伤程度。另一方面,细胞自噬可通过促进细胞凋亡,加重脑缺血损伤。建立脑缺血动物模型,在脑缺血后脑室内注射细胞凋亡抑制剂 Q-VD-OPH 可以抑制 Caspase-3 活化,但是脑梗死面积并没有显著的变化;而在缺血后脑室内注射细胞自噬抑制剂 3-MA 可使脑梗死面积缩小约 50%。由此可以推测抑制细胞自噬的同时也抑制了细胞凋亡的产生,而细胞自噬的激活会促发细胞凋亡,从而使脑缺血损伤加重^[8]。因此,在分子水平揭示脑缺血状态下细胞凋亡和自噬两者之间的关系对脑缺血的预防和治疗至关重要。

3.2 凋亡和自噬在脑缺血中存在的潜在调节机制

3.2.1 Bcl-2 家族成员蛋白在脑缺血中对凋亡和自噬的调节 已有大量研究表明 Bcl-2 家族成员蛋白在细胞凋亡的调节过程中起着至关重要的作用。根据 Bcl-2 家族成员的同源结构域和自身的功能可将其分为凋亡抑制蛋白和凋亡诱导蛋白。在正常的人体生理状态下,抑制凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 BAX 的比例保持动态平衡,脑缺血等应激状态下将会打破两者的平衡,促进细胞凋亡的产生,加重神经元损伤^[9]。但是近些年来研究发现, Bcl-2 家族成员除了调节细胞凋亡外,还能调节细胞自噬等其他的细胞活动。Bcl-2 对 Beclin-1 的抑制作用是典型的缺血缺氧状态下非哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 自噬调节通路。脑缺血时, JNK1 激酶激活,从而使 Bcl-2 磷酸化,磷酸化的 Bcl-2 失去了与 Beclin-1 的结合作用,使得 Beclin-1 水平上升,诱导自噬^[10]。同样, Bcl-2 家族成员中的 BH3 单结构域中的 BAD 蛋白可阻断 Bcl-2 与 Beclin-1 的结合,从而激活 Beclin-1,自噬增强。

3.2.2 P53 在脑缺血中对凋亡和自噬的调节 P53 基因是细胞内一类重要的抑癌基因,同样也是细胞内重要的促凋亡基因。以往研究表明脑缺血状态下, P53 促进脑神经元凋亡的作用机制可能与调节 Bcl-2 不同家族成员的细胞周期有关,如上调凋亡诱导蛋白 Bax 表达的同时下调 Bcl-2 的表达来促进细胞凋亡^[11]。在大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型中, p53 抑制剂 pifithrin α 可以显著降低再灌注后的梗死面积、减少 TUNEL 和 Caspase 阳性细胞数,其作用机

制可能是通过下调 P21 基因的表达,同时抑制 P53 基因与其 DNA 相应位点的结合来抑制细胞凋亡^[12]。近些年实验研究发现,在脑缺血缺氧等应激状态下, P53 对细胞自噬同样存在着影响并且在细胞的不同部位有着相反的调节作用。在细胞核中, P53 可通过转录依赖和转录非依赖的方式促进细胞自噬。然而在细胞质中, P53 可抑制基础水平上的细胞自噬^[13]。脑缺血时,失活的 P53 蛋白转化为激活状态的转录因子,可以诱导细胞周期的停滞,使细胞在营养缺乏的状态下(如缺血缺氧)得以存活,从而避免细胞凋亡,减轻脑组织损伤,在细胞核中 P53 可以通过多种途径诱导细胞自噬的产生,其中通过抑制 mTOR 的活性来促进细胞自噬是一条较为重要的调控通路,其作用机制分为两个方面:一方面, P53 可诱导 AMPK 的激活,通过 AMPK 的底物 TSC1/TSC2 复合化物的磷酸化来抑制 mTOR 的活性,从而促进细胞自噬;另一方面, P53 可以反式激活 mTOR 的负性调节子,通过 AMPK 途径抑制 mTOR 活性,进一步促进细胞自噬。总而言之,脑缺血状态下, P53 是作用于脑神经元凋亡和自噬重要的潜在调节机制^[14]。

3.2.3 mTOR 在脑缺血中对凋亡和自噬的调节 mTOR 是动物体内进化上相对保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是调节细胞自噬最主要的信号通路之一。mTOR 作为细胞内的能量感受器,脑缺血时, mTOR 的活性下调,促进细胞自噬,其作用机制为应激状态下可以导致 RTK 受体激活,进一步激活 IRS1,然而 IRS1 的激活可以使 mTOR 信号通路的上游蛋白 I 型 PI3K 激活,继而激活蛋白激酶 B,最终通过激活 mTOR 来抑制自噬^[15]。与 mTOR 在自噬中明确的作用机制不同,其在凋亡中的调节作用存在争议。通过建立大鼠脑缺血再灌注模型, mTOR 抑制剂雷帕霉素可以通过减低周期蛋白依赖性激酶的活力,来抑制细胞正常周期活动和分裂分化,从而介导细胞凋亡的发生。但是也有学者研究发现,雷帕霉素可以通过抑制促凋亡蛋白 Bax 和 Bad 的表达以及 Caspase-3 的激活来减少凋亡的产生。

近年来,大量研究表明细胞自噬和细胞凋亡在脑缺血缺氧环境下起着重要的调节作用,并且两者之间存在着密切的联系,共同作用于缺血半暗带的神经元。基于细胞凋亡与自噬对于治疗脑缺血等心脑血管疾病已经成为主流,但目前就细胞自噬和凋亡在脑缺血中的调节机制还有很多不明了的地方,有待进一步的研究,如细胞自噬在促进或者抑制细胞凋亡的过程中,各种调控因子的主次关系、细胞凋

亡是否可能发生在细胞自噬的上游、细胞凋亡对细胞自噬是否同样具有促进或抑制作用等。这些问题的突破不仅对于脑缺血缺氧疾病的治疗有着重要的意义,对其他疾病的治疗同样具有重要的指导意义。

【参考文献】

- [1] Choi AMK, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease [J]. N Engl J Med 2013, 368(7): 651-662.
- [2] 宋修云,胡金凤,陈乃宏. 神经细胞凋亡与脑缺血疾病[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(3): 307-310.
- [3] Sairanen T, Szepesi R, Karjalainen-Lindsberg ML, *et al.* Neuronal caspase-3 and PARP-1 correlate differentially with apoptosis and necrosis in ischemic human stroke [J]. Acta Neuropathol 2009, 118(4): 541-552.
- [4] Gu ZH, Sun YY, Liu KY, *et al.* The role of autophagy and lysosomal pathways in ischemic brain injury [J]. Neural Regen Res, 2013, 23(8): 2117-2124.
- [5] 丁可,王汉东. 自噬在创伤性脑损伤中作用的研究进展[J]. 东南国防医药, 2014, 16(2): 181-183.
- [6] Dong Y, Wang SJ, Zhang TX, *et al.* Ascorbic acid ameliorates seizures and brain damage in rats through inhibiting autophagy [J]. Brain Res, 2013, 1535: 115-123.
- [7] Touzani O, Roussel S, MacKenzie ET. The ischaemic penumbra [J]. Curr Opin Neurol, 2001, 14(1): 83-88.
- [8] Li Q, Li H, Roughton K, *et al.* Lithium reduces apoptosis and autophagy after neonatal hypoxia-ischemia [J]. Cell Death Dis, 2010, 1: 56.
- [9] Hardwick JM, Chen YB, Jonas EA. Multipolar functions of BCL-2 proteins link energetics to apoptosis [J]. Trends Cell Biol, 2012, 22(6): 318-328.
- [10] Djeddi A, Michelet X, Culetto E, *et al.* Induction of autophagy in ESCRT mutants is an adaptive response for cell survival in *C. elegans* [J]. J Cell Sci, 2012, 125(3): 685-694.
- [11] Mehta SL, Manhas N, Raghubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics [J]. Brain Res Rev, 2007, 54(1): 34-66.
- [12] Leker RR, Aharonowicz M, Greig NH, *et al.* The role of p53-induced apoptosis in cerebral ischemia: effects of the p53 inhibitor pifithrin alpha [J]. Exp Neurol, 2004, 187(2): 478-486.
- [13] Tasdemir E, Maiuri MC, Galluzzi L, *et al.* Regulation of autophagy by cytoplasmic p53 [J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(6): 676-687.
- [14] 慈雅丽,许彩民. P53在自噬调节中的双重作用[J]. 基础医学和临床, 2013, 33(10): 1328-1331.
- [15] 杨湘怡,陶润知,聂亚雄. mTOR依赖的自噬通路与神经变性疾病[J]. 中南医学科学杂志, 2014, 42(2): 191-195.

(2014-06-22 收稿, 2015-04-21 修回)