

星形胶质细胞中Lipocalin 2在血管性认知障碍中的作用机制

李倩倩^{1,2}, 李小黎³, 王鑫², 崔莹雪², 孙敬青²

摘要 血管性痴呆(VD)是与血管性病因相关的痴呆类型,其核心症状是认知功能障碍。星形胶质细胞在海马区内被激活并积累,促进海马区大量神经元凋亡,是诱发认知功能障碍发生的关键。Lipocalin 2(LCN2)是一种分泌的糖蛋白,也是反应性星形胶质细胞的标志物。既往研究多认为LCN2可能是由反应性星形胶质细胞分泌的神经毒性因子,但近年来越来越多的研究发现在免疫或炎性刺激的存在下LCN2可诱导星形胶质细胞极化为有益的功能表型,提示其在VD机制研究中的重要地位。因此,本文对LCN2在血管性认知障碍中的作用及其机制,以及以LCN2为靶点治疗血管性认知障碍的研究进展进行综述。

关键词 星形胶质细胞;Lipocalin 2;认知功能障碍;血管性痴呆

中图分类号 R741;R741.02;R743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20200678

血管性痴呆(vascular dementia, VD)是仅次于阿尔茨海默病的第2大痴呆类型。星形胶质细胞作为中枢神经系统(central nervous system, CNS)中数量最多的神经细胞,在海马区内被激活,促进神经元凋亡,是诱发相关认知功能障碍的重要因素。Lipocalin 2(LCN2)是一种分泌的糖蛋白,是反应性星形胶质细胞的标志物,也是反应性星形细胞增多症的自分泌介质^[1]。LCN2与多种CNS损伤相关,如脑缺血、脑出血、创伤性脑损伤、脊髓损伤、自身免疫性神经炎症等^[2]。本文将介绍星形胶质细胞与LCN2在CNS中的相互作用,并重点综述LCN2在VD中的作用机制,及以LCN2为靶点治疗VD的研究进展,以期为VD的治疗提供新的思路。

1 星形胶质细胞与VD

星形胶质细胞主要负责调节突触传递,为神经元提供代谢和营养支持,维持血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)完整性。在生理条件下,星形胶质细胞参与大脑细胞功能的维持,包括清除活性氧和过量的神经递质,维持离子和水的平衡,释放神经营养因子,并控制通过BBB的一系列转运机制^[3]。当CNS受损时,星形胶质细胞的形态、数量及生物学功能发生改变,由良性静息态转变为反应态,后者被认为是神经炎症及神经功能障碍的重要介质^[4]。被激活的星形胶质细胞通过诱导促进星形胶质细胞本身、小胶质细胞和神经元等细胞迁移至损伤部位以维持CNS稳态^[5]。

活化的星形胶质细胞功能表型可以是有害的(促炎)或保护性的(抗炎)。前者主要诱导神经元和少突胶质细胞死亡^[6],抑制轴突再生和神经元可塑性^[7],通常与CNS和周围神经系统损伤后炎症反应有关;后者主要参与调节水和离子稳态,调控脑血流量及细胞外谷氨酸稳态,是多种神经保护因子的来源^[8]。激活促炎表型的星形胶质细胞会抑制神

经元及其信号传导基因的表达,最终导致神经元功能障碍和认知功能下降^[9]。在卒中急性期,星形胶质细胞主要表现为支持谷氨酸稳态和BBB功能^[10,11];在卒中后期,星形胶质细胞可释放神经营养因子和血管生成因子^[12,13]。活化星形胶质细胞是VD的关键特征之一^[14-16]。脑缺血梗死灶周围的星形胶质细胞会随时间发生病理改变,包括细胞增殖、肿胀和神经胶质纤维酸性蛋白增加,形成胶质瘢痕,将梗死区域的受损组织隔开,影响损伤后的初始神经重建^[17]。星形胶质细胞对缺血后细胞的自我调节及通过吞噬作用修复神经的过程至关重要。

2 LCN2与星形胶质细胞

LCN2是脂质运载蛋白家族的成员,可调节多种细胞功能,如迁移、趋化因子表达、形态变化或凋亡等^[3]。近期研究显示LCN2是趋化因子诱导剂和反应性星形细胞增多症的自分泌启动子^[18]。Jang等^[18]研究发现,LCN2可显著抑制白细胞介素4(interleukin-4, IL-4)诱导的信号转导转录激活因子6(signal transducer and activator of transcription 6, STAT6)磷酸化(一种参与星形胶质细胞中替代性抗炎活化的典型途径)及下游相关基因的表达,证明了LCN2可部分阻断星形胶质细胞的替代激活。与经典激活相反,活化的星形胶质细胞显示出具有神经保护活性的不同表型。Jang等^[18]通过比较来自野生型和LCN2基因敲除小鼠体内星形胶质细胞的不同表型,发现在LCN2缺陷星形胶质细胞中,脂多糖/干扰素 γ 诱导的胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)表达增加减少。此外,经典活化的星形胶质细胞诱导的神经毒性因LCN2缺乏而降低。IL-4的作用不受星形胶质细胞中LCN2的影响。这些结果表明LCN2在免疫或炎性刺激下可诱导星形胶质细胞的功能极化表型。因此,LCN2似乎是减少促炎性星形胶质细胞激活

作者单位

1. 北京中医药大学
北京 100105

2. 北京首都医科大学
附属北京中医医院
北京 100010

3. 北京中医药大学
第三附属医院脑病
科
北京 100029

基金项目

北京市自然科学基金
项目(No. 71942
78);

针灸神经调控北京
市重点实验室(No.
BZ0437)

收稿日期

2021-07-21

通讯作者

孙敬青

sjq100037@sina.
com

和预防CNS中相关病理的潜在治疗靶标。

LCN2还影响星形胶质细胞的形态及迁移。在暴露于LCN2后,星形胶质细胞的细胞数量和长度发生变化^[1]。经LCN2处理的星形胶质细胞可加速小胶质细胞、神经元和星形胶质细胞自身的迁移。缺乏LCN2的小鼠显示星形胶质细胞向神经炎症或损伤部位的迁移受损,同时伴随趋化因子配体10(CXC chemokine ligand-10, CXCL10)表达减少。这表明活化的星形胶质细胞可能分泌LCN2和CXCL10,在炎症条件下,为LCN2与反应性星形细胞增多症之间的分子联系提供了证据^[5]。

3 LCN2与缺血性脑损伤

但在卒中急性期,LCN2主要通过增加星形胶质细胞对细胞毒性作用的敏感性,促进神经元凋亡^[19]。最近研究^[20]发现,与对照组相比,再灌注损伤后24~48 h内,LCN2基因缺陷组可显著减轻脑损伤和神经炎症参数;在缺血/再灌注的亚急性期(再灌注后5 d)获得了类似的结果。其研究同时发现在再灌注损伤后,LCN2主要在星形胶质细胞和内皮细胞中表达,而LCN2受体主要在星形胶质细胞、神经元中表达。星形胶质细胞培养物暴露于氧-葡萄糖剥夺条件24 h后可显著诱导LCN2蛋白的表达。这表明LCN2表达是以细胞自主的方式在缺血性脑组织的反应性星形胶质细胞中被诱导。类似的,Wang等^[21]研究发现,在缺血/再灌注后1 h,血清中LCN2水平增加,同时在星形胶质细胞和嗜中性粒细胞中检测到LCN2进入梗死区域。相反的,LCN2缺陷小鼠的梗死体积、神经功能衰减和炎症性浸润明显减少。但在永久性局灶性中动脉阻断脑缺血模型中未观察到类似差异,支持LCN2在再灌注损伤中的关键作用。另一项研究^[22]发现,梗死周围区域中的LCN2基因表达在初始缺血期后几小时内短暂延迟出现,并在卒中后72 h达到峰值,且LCN2主要在星形胶质细胞中表达,表明星形胶质细胞是LCN2的来源,也是LCN2的靶标^[23]。这些证据提示LCN2是缺血/再灌注脑损伤的重要介质,在急性缺血性卒中的过程被诱导。

除了星形胶质细胞外,其他类型的神经胶质细胞和受损的神经元也可以在缺血再灌注期后释放LCN2^[21]。研究^[24]发现LCN2在大鼠局灶性脑缺血以及人卒中脑样本的神经元内显著上调,且LCN2可以在大鼠原发性小胶质细胞和星形胶质细胞中诱导潜在有益的表型,例如:LCN2激活的胶质细胞可能反过来保护神经元免受氧葡萄糖剥夺并促进神经可塑性,暴露于LCN2的小胶质细胞表现出促进IL-10产生吞噬作用,LCN2激活的星形胶质细胞可上调GFAP,脑源性神经营养因子和血小板反应蛋白-1的表达水平。这些表明LCN2可能是“帮助我”信号,该信号会在受到化学危险的神经元中释放,以指导星形胶质细胞和小胶质细胞转化为有益的表型。一项研究^[25]也发现了同样的结论,其通过采用大鼠脑内皮细胞和重组LCN2蛋白处理等试验方法,证实LCN2通过铁和活性氧物种依赖性途径增强体外血管生成。表明受损神经元分泌的LCN2可能在缺血性脑损伤期间或之后作为刺激神经血管恢复过程的救援信号。与之相同,另一研究^[26]发现,LCN2是增强中性粒细胞向注射组织募

集的必需因子。这些研究表明,LCN2在卒中急性期可能是启动受损血管再生及促进神经修复的关键。

4 LCN2与血管性认知功能障碍

近期一些相关研究表明了LCN2在血管性认知功能障碍中的重要地位。例如LCN2缺乏可减弱VD动物模型中的海马CA1区神经元死亡和认知缺陷。此外,注射重组LCN2蛋白可诱导CA1神经元的丧失和认知缺陷。这些发现表明LCN2在认知功能下降中的特定作用^[27]。在另一研究中,应激后海马中LCN2表达上调,而LCN2在体外降低了海马神经元的树突棘密度^[28],表明LCN2在海马中的上调可能是导致通过神经毒性和VD中的神经炎症进一步破坏海马的潜在致病机制。

星形胶质细胞似乎是VD患者海马中LCN2的主要来源。在VD模型中,星形胶质细胞衍生的LCN2可介导认知障碍和海马损伤^[29]。双侧或单侧颈总动脉闭塞动物模型可诱导星形胶质细胞中LCN2的表达,并且LCN2基因敲除可显著减少缺血诱导的海马损伤和认知衰退^[2]。一项体外研究^[29]表明,星形胶质细胞内LCN2对海马神经元有直接毒性,且LCN2通过激活小胶质细胞可间接促进神经炎症和神经毒性;此外,LCN2通过表达血管内皮生长因子A对海马的微血管系统产生不利影响,表明LCN2表达的上调在VD发病机理中起着核心作用。该项研究同时发现在全脑缺血和VD的啮齿动物模型中,LCN2基因敲除小鼠的胶质细胞活化、髓鞘丢失、炎性介质产生、海马损伤以及认知缺陷均得到显著改善。此外,激活的星形胶质细胞通过在缺氧/缺血和炎症条件下可通过激活LCN2降低神经血管耦合作用导致BBB通透性降低^[30]。综上所述,LCN2是导致VD患者的海马神经元死亡和认知相关行为改变的基础,控制LCN2在星形胶质细胞中的过表达或其在海马中的活性对于VD中的神经保护可能是极其重要的,LCN2介导的神经炎症和神经毒性抑制剂的开发将对VD的治疗有用。

已有研究关注了以LCN2为靶点治疗VD的可行性。一项研究^[31]以LCN2为靶点,发现银杏叶提取物显著改善脑缺血模型中星形胶质细胞的活化,降低信号转导转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)和Janus激酶2(Janus kinase 2, JAK2)的磷酸化,抑制了LCN2的表达。LCN2的过表达可显著逆转该结果。表明银杏叶提取物通过靶向星形胶质细胞LCN2在脑缺血中发挥治疗特性,并通过JAK2/STAT3途径抑制神经炎症损伤。这提示LCN2可能是治疗性调节星形胶质细胞反应的靶标。

除此之外,近年来一些研究关注于是否可以将LCN2应用于VD的临床诊断及预后评价。相关研究表明LCN2的血液水平与缺血性脑病的严重程度和不良的临床结果相关^[32-34]。一项包括472例样本的临床回顾队列研究^[35]发现,与非痴呆脑血管损伤、其他形式痴呆以及健康受试者相比,VD患者的脑脊液中LCN2显著升高,突出了其在痴呆症鉴别诊断中作为VD生物标志物的潜力。并通过免疫组织化学发现VD组的LCN2主要在亚急性梗死区域,反应性星形胶质细胞和受损血管相关的巨噬

细胞中表达,其作者推荐LCN2是VD和神经退行性痴呆的鉴别诊断中有希望的候选生化标记。尽管目前研究发现了LCN2作为VD生物标志物的潜力,但目前尚缺乏大样本的前瞻性随机临床对照研究,以获取更详细的数据验证其有效性,Hochmeister等^[33]认为这一方面对于LCN2作为预测疾病结果或严重程度的生物标记物的可用性至关重要。

5 总结和展望

流行病学显示VD的高发病率以及血管因素,使得VD的预防和治疗成为非常重要的科学问题。目前VD的发病机制尚不明确,本文立足于星形胶质细胞LCN2在VD中的调控机制,对其在脑组织缺血后不同时期的改变及其相关的实验证据进行了整理综述,主要总结为LCN2似乎是反应性星形细胞增多症的中枢介质,在VD损伤后导致的神经炎症条件下,LCN2在星形胶质细胞中作为经典促炎激活的启动子和替代激活表型的抑制剂起着至关重要的作用。这些发现提出LCN2作为一种有希望的药物靶标,可用于诊断和治疗VD及其预后判断提供新的思路,以期对相关研究的深入探索提供借鉴和支持,但尚需大样本的前瞻性研究证实其可行性。

参考文献

[1] Lee S, Park J Y, Lee W H, et al. Lipocalin-2 Is an Autocrine Mediator of Reactive Astrocytosis[J]. J NEUROSCI, 2009, 29: 234-249.

[2] Suk K. Lipocalin-2 as a therapeutic target for brain injury: An astrocentric perspective[J]. PROG NEUROBIOL, 2016, 144: 158-172.

[3] Zhang Q Y, Wang Z J, Sun D M, et al. Novel Therapeutic Effects of Leonurine On Ischemic Stroke: New Mechanisms of BBB Integrity[J]. OXID MED CELL LONGEV, 2017, 2017: 7150376.

[4] Bouvier D S, Murai K K. Synergistic actions of microglia and astrocytes in the progression of Alzheimer's disease[J]. J ALZHEIMERS DIS, 2015, 45: 1001-1014.

[5] Lee S, Jha M K, Suk K. Lipocalin-2 in the Inflammatory Activation of Brain Astrocytes[J]. CRIT REV IMMUNOL, 2015, 35: 77-84.

[6] Liddelow S A, Guttenplan K A, Clarke L E, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia[J]. NATURE, 2017, 541: 481-487.

[7] Sofroniew M V. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation[J]. NAT REV NEUROSCI, 2015, 16: 249-263.

[8] Gabryel B, Kasprowska D, Kost A, et al. [Astrocytes in ischemic stroke - a potential target for neuroprotective strategies][J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2015, 69: 384-397.

[9] Orre M, Kamphuis W, Osborn L M, et al. Isolation of glia from Alzheimer's mice reveals inflammation and dysfunction[J]. NEUROBIOL AGING, 2014, 35: 2746-2760.

[10] Chen Y, Swanson R A. Astrocytes and brain injury[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23: 137-149.

[11] Ransom B, Behar T, Nedergaard M. New roles for astrocytes (stars at last)[J]. TRENDS NEUROSCI, 2003, 26: 520-522.

[12] Carmichael S T. Targets for neural repair therapies after stroke[J]. STROKE, 2010, 41: S124-S126.

[13] Zhang Z G, Chopp M. Neurorestorative therapies for stroke: underlying mechanisms and translation to the clinic[J]. LANCET NEUROL, 2009, 8: 491-500.

[14] Akiyuchi I, Tomimoto H, Suenaga T, et al. Alterations in glia and

axons in the brains of Binswanger's disease patients[J]. STROKE, 1997, 28: 1423-1429.

[15] Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia[J]. NEURON, 2013, 80: 844-866.

[16] Jo W K, Law A C, Chung S K. The neglected co-star in the dementia drama: the putative roles of astrocytes in the pathogenesis of major neurocognitive disorders[J]. Mol Psychiatry, 2014, 19: 159-167.

[17] Hirayama Y, Koizumi S. Astrocytes and ischemic tolerance[J]. NEUROSCI RES, 2018, 126: 53-59.

[18] Jang E, Kim J H, Lee S, et al. Phenotypic polarization of activated astrocytes: the critical role of lipocalin-2 in the classical inflammatory activation of astrocytes[J]. J IMMUNOL, 2013, 191: 5204-5219.

[19] Bi F, Huang C, Tong J, et al. Reactive astrocytes secrete lcn2 to promote neuron death[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110: 4069-4074.

[20] Jin M, Kim J H, Jang E, et al. Lipocalin-2 deficiency attenuates neuroinflammation and brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in mice[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34: 1306-1314.

[21] Wang G, Weng Y C, Han X, et al. Lipocalin-2 released in response to cerebral ischaemia mediates reperfusion injury in mice[J]. J CELL MOL MED, 2015, 19: 1637-1645.

[22] Ranjbar T F, Gasterich N, Scheld M, et al. Hypoxia Induces Astrocyte-Derived Lipocalin-2 in Ischemic Stroke[J]. INT J MOL SCI, 2019, 20.

[23] Egashira Y, Hua Y, Keep R F, et al. Lipocalin 2 and Blood-Brain Barrier Disruption in White Matter after Experimental Subarachnoid Hemorrhage[J]. Acta Neurochir Suppl, 2016, 121: 131-134.

[24] Xing C, Wang X, Cheng C, et al. Neuronal production of lipocalin-2 as a help-me signal for glial activation[J]. STROKE, 2014, 45: 2085-2092.

[25] Wu L, Du Y, Lok J, et al. Lipocalin-2 enhances angiogenesis in rat brain endothelial cells via reactive oxygen species and iron-dependent mechanisms[J]. J NEUROCHEM, 2015, 132: 622-628.

[26] Asimakopoulou A, Borkham-Kamphorst E, Tacke F, et al. Lipocalin-2 (NGAL/LCN2), a "help-me" signal in organ inflammation[J]. HEPATOLOGY, 2016, 63: 669-671.

[27] Ferreira A C, Pinto V, Da M S, et al. Lipocalin-2 is involved in emotional behaviors and cognitive function[J]. FRONT CELL NEUROSCI, 2013, 7: 122.

[28] Mucha M, Skrzypiec A E, Schiavon E, et al. Lipocalin-2 controls neuronal excitability and anxiety by regulating dendritic spine formation and maturation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108: 18436-18441.

[29] Kim J H, Ko P W, Lee H W, et al. Astrocyte-derived lipocalin-2 mediates hippocampal damage and cognitive deficits in experimental models of vascular dementia[J]. GLIA, 2017, 65: 1471-1490.

[30] Mao S, Xi G, Keep R F, et al. Role of Lipocalin-2 in Thrombin-Induced Brain Injury[J]. STROKE, 2016, 47: 1078-1084.

[31] Zhang Y, Liu J, Yang B, et al. Ginkgo biloba Extract Inhibits Astrocytic Lipocalin-2 Expression and Alleviates Neuroinflammatory Injury via the JAK2/STAT3 Pathway After Ischemic Brain Stroke[J]. FRONT PHARMACOL, 2018, 9: 518.

[32] Hutanu A, Iancu M, Balasa R, et al. Predicting functional outcome of ischemic stroke patients in Romania based on plasma CRP, sTNFR-1, D-Dimers, NGAL and NSE measured using a biochip array[J]. ACTA PHARMACOL SIN, 2018, 39: 1228-1236.

[33] Hochmeister S, Engel O, Adzemovic M Z, et al. Lipocalin-2 as an Infection-Related Biomarker to Predict Clinical Outcome in Ischemic Stroke[J]. PLOS ONE, 2016, 11: e154797.

[34] Zhou Z, Zhang J, Li X, et al. Protein microarray analysis identifies key cytokines associated with malignant middle cerebral artery infarction[J]. BRAIN BEHAV, 2017, 7: e746.

[35] Llorens F, Hermann P, Villar-Pique A, et al. Cerebrospinal fluid lipocalin 2 as a novel biomarker for the differential diagnosis of vascular dementia[J]. NAT COMMUN, 2020, 11: 619.

(本文编辑:唐颖馨)