

疾病机制研究专题

【编者按】疾病机制研究的进展是诊疗水平提高的基础。脑卒中是最常见的脑血管疾病,阿尔茨海默病是常见的神经系统退行性疾病,帕金森病是常见的神经系统变性疾病。其发病机制的探索一直研究的热点。本期纳入3篇针对机制研究的综述:《细胞焦亡在缺血性卒中的研究进展》、《miRNA与阿尔茨海默病发病机制相关性的研究进展》及《铁在帕金森病发病过程中的研究进展》,以期为疾病机制研究提供一定的参考数据。

细胞焦亡在缺血性卒中的研究进展

罗涛, 刘志刚

作者单位
武汉大学人民医院
麻醉科
武汉 430060
收稿日期
2021-11-07
通讯作者
刘志刚
liuzhigang_wh@
163.com

摘要 缺血性卒中是我国居民死亡和致残的主要原因,其发病机制未完全明确,炎症级联反应是其主要的病理过程之一。细胞焦亡是一种由半胱天冬酶Caspase-1/4/5/11介导的促炎性程序性死亡方式,可导致细胞肿胀破裂和炎性因子IL-1 β 、IL-18释放,诱发炎症级联反应。近年来研究表明,细胞焦亡及其介导的炎症反应是加重缺血性脑损伤的重要因素,抑制细胞焦亡可减轻缺血性脑损伤。本文就细胞焦亡的分子机制及其在缺血性卒中的作用进行综述。

关键词 细胞焦亡;卒中;半胱天冬蛋白酶;炎症小体

中图分类号 R741;R741.02;R743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20210642

本文引用格式:罗涛, 刘志刚. 细胞焦亡在缺血性卒中的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(2): 82-84.

缺血性卒中是我国居民致死率和致残率最高的疾病之一^[1]。缺血性卒中的病理生理机制复杂,涉及细胞内钙失衡、兴奋性神经递质、自由基介导的细胞毒性、炎症反应和血脑屏障破坏等^[2]。目前治疗缺血性卒中最有效的方法是重组组织型纤溶酶原激活剂静脉溶栓和机械取栓,但由于治疗时间窗的限制、出血风险增加、患者自身原因等,并不适用于所有患者^[3]。探索更多治疗方式具有重要临床意义。研究显示,细胞焦亡及其介导的炎症反应参与了缺血性卒中的病理过程,阻止细胞焦亡的激活有利于抑制炎症级联反应,减轻缺血性脑损伤。本文即对细胞焦亡在缺血性卒中的机制研究进展进行综述。

1 细胞焦亡

1.1 细胞焦亡的特点

焦亡是依赖于促炎性半胱天冬酶(cysteiny aspartate specific proteinase, Caspase)的程序性细胞死亡方式,其特点是跨膜孔的形成、细胞膜肿胀破裂和促炎性内容物释放^[4]。细胞在凋亡过程中有核碎裂、细胞膜完整,不引起周围组织炎症反应,而细胞在焦亡过程中细胞核形态完整、细胞膜破裂,可引起周围炎症^[5]。另外,坏死的发生依赖于混合系列蛋白酶样结构域蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL),对进入细胞内的离子具有选择性,核染色质絮状或边集,而细胞焦亡依赖的是成孔蛋白GSDMD,不具有选择性,胞核固缩、DNA断裂^[6]。

1.2 细胞焦亡的分子机制

1.2.1 经典焦亡途径 Caspase-1是经典焦亡途径中的关键蛋白,其中炎性小体在Caspase-1的活化过程中起重要作用。炎性小体是先天免疫系统的重要组成部分,是由传感器蛋白、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein contain a CARD, ASC)和pro-Caspase-1组成的多蛋白复合体,存在于受刺激的免疫细胞的胞浆中,可感知胞外刺激信号^[7]。炎性小体分为包含核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, NLRs)的炎性小体、黑色素瘤缺乏因子2(absent in melanoma 2, AIM2)炎性小体和NLRC4炎性小体^[7]。

目前以NLRP3炎性小体的研究最多。NLRP3炎性小体的激活需要2步反应:启动反应,微生物或内源性因子促进核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)入核,上调NLRP3和pro-IL-1 β 表达^[8]。当免疫细胞受到损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)刺激时,传感器蛋白通过ASC募集pro-Caspase-1,然后pro-Caspase-1通过自体水解反应活化,成熟的Caspase-1将下游无活性的pro-IL-1 β 和pro-IL-18加工成有活性的IL-1 β 和IL-18^[9]。同时,Caspase-1将下游的GSDMD蛋白切割成具有成孔活性的GSDMD-N片段和GSDMD-C片段。GSDMD-N片段特异性识别和结合细胞膜内侧的膜脂,引起细胞内外渗透压改变,进而导致细胞肿胀破裂和炎性因子IL-1 β 、IL-18释放,诱发炎症反应和细胞焦亡^[10]。

1.2.2 非经典焦亡途径 非经典焦亡途径依赖于 Caspase-4/5/11 活化,而炎性小体对于 IL-1 β 和 IL-18 的成熟不是必需的。细胞焦亡非经典途径是由革兰阴性菌细胞壁成分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的, LPS 可直接结合人类 Caspase-4/5 和小鼠 Caspase-11, 这些 Caspase 同时作为 LPS 的传感器蛋白和效应分子发挥作用, 激活的 Caspase-4/5/11 直接裂解 GSDMD, 诱导细胞焦亡^[7]。另外, 研究发现 Caspase-11 可激活下游的缝隙连接通道蛋白 Pannexin-1, 促进 K⁺外流, K⁺外流可激活 NLRP3 炎性小体, 进而活化 Caspase-1, 促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟^[11]。

2 细胞焦亡与缺血性卒中

细胞死亡是缺血性卒中的主要事件, 涉及神经元、小胶质细胞、星形胶质细胞、血管内皮细胞等。Cao 等^[12]研究证实, 大鼠脑缺血模型中焦亡相关蛋白如 NLRP1、ASC、Caspase-1 和 GSDMD 表达增加, 抑制 NLRP1 可减轻炎症反应和脑缺血性损伤。这说明细胞焦亡参与了缺血性卒中的病理过程。

2.1 细胞焦亡与神经元

脑缺血后, 缺血中心区短时间内发生坏死, 死亡细胞释放危险信号如 HMGB1 蛋白、热休克蛋白、过氧化物酶家族蛋白等, 这些危险信号分子与模式识别受体结合, 形成炎性小体, 启动先天性免疫反应, 引起神经元死亡。

研究证实, 脑缺血可导致缺血脑组织和神经元中 NLRP1 和 NLRP3 各组成蛋白高表达, 且 NLRP1 活化主要存在于神经元中^[13]。使用 Caspase-1 抑制剂或免疫球蛋白制剂可减弱原代皮质神经元中 NLRP1 和 NLRP3 的表达, 减小脑梗死面积, 其机制可能与抑制 NF- κ B 和 MAPK 通路激活有关^[13]。在小鼠脑缺血模型中, Li 等^[14]发现, 脑缺血后第 3 天, 神经元浆、核和线粒体膜出现超微结构损伤, 同时 Caspase-1、GSDMD 和 IL-1 β 表达明显升高, Caspase-1 抑制剂 Vx765 能抑制细胞焦亡, 促进缺血区神经元存活, 改善小鼠脑功能障碍。Liang 等^[15]发现, 体内、外脑缺血条件下, 长链非编码 RNA 母系表达基因 3 (maternally expressed gene3, MEG3) 通过激活 AIM2/Caspase-1 通路, 促进细胞焦亡和炎症反应, 导致脑缺血再灌注损伤; 敲除 MEG3 基因可抑制 AIM2、Caspase-1、GSDMD 等蛋白表达, 减轻缺血性脑损伤。这表明 MEG3 可能是缺血卒中的一个有效治疗靶点。

2.2 细胞焦亡与星形胶质细胞

星形胶质细胞是中枢神经系统中最丰富的神经胶质细胞, 参与血脑屏障形成、调节神经元代谢和稳定细胞间通讯等^[16]。缺血性卒中发生后, 一个突出的病理变化是反应性星形胶质细胞增生和胶质瘢痕形成, 在缺血损伤后早期促进神经元可塑性^[17]。

有研究证明, NLRP2 主要在星形胶质细胞中表达, 而在神经元和小胶质细胞中几乎不表达。且 NLRP2 在小鼠脑缺血模型和星形胶质细胞氧糖剥夺后表达明显上调, 沉默 NLRP2 可减少氧糖剥夺诱导的细胞焦亡^[18]。另有研究发现, 在体外脑缺血模型中, 氧糖剥夺可导致 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 增加, 星形胶质细胞存活率降低。粗毛豚草素是从中草药中分

离得到的一种酮类化合物, 体内体外实验均证明粗毛豚草素可抑制 NLRP3 介导的细胞焦亡, 发挥脑保护作用, 其机制与激活 AMPK/GSK-3 β 信号通路有关^[19]。Meng 等^[20]发现, NLRP6 在大鼠脑缺血再灌注后 48 h 表达达到高峰。星形胶质细胞氧糖剥夺后, NLRP6 及其活化产物生成增加, 沉默 NLRP6 可降低 ASC 和 Caspase-1, 炎症因子释放减少, 神经元活力提高^[21]。因此, 针对星形胶质细胞中炎性小体激活的干预措施可能为缺血性卒中的治疗提供新思路。

2.3 细胞焦亡与小胶质细胞

小胶质细胞是中枢神经系统的固有免疫细胞, 也是缺血性卒中发生后最早激活的细胞。脑缺血损伤急性期, 小胶质细胞迅速向病变部位迁移并分泌炎症因子和细胞毒性物质, 加剧组织损伤; 而在慢性期, 小胶质细胞可产生抗炎细胞因子和生长因子, 促进组织修复和重塑^[22]。

研究发现小胶质细胞焦亡在缺血性脑损伤中扮演重要角色。在小胶质细胞氧糖剥夺 3 h 时, 首先出现显著增加的炎性小体是 NLRC4, 而 NLRP1、NLRP3 和 AIM2 直到氧糖剥夺 6 h 后才明显增加; 沉默 NLRC4 可减少 GSDMD、IL-1 β 和 IL-18 产生, 抑制小胶质细胞焦亡^[23]。Xu 等^[24]报道, 脑缺血再灌注后小胶质细胞中髓样细胞表达的驱动受体 1 (TREM-1) 可激活 NLRP3/Caspase-1 介导的焦亡途径, 诱导神经炎症反应, 抑制 TREM-1 能减少小胶质细胞焦亡和神经损伤。另一项研究中, Li 等^[25]证实脑缺血后环磷酸鸟苷-腺苷合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)表达上调, 激活 AIM2 炎性小体诱导小胶质细胞焦亡, cGAS 拮抗剂 A151 可抑制 AIM2 活化和小胶质细胞焦亡, 显著减小脑梗死体积, 减轻神经损伤。以上研究说明, 小胶质细胞焦亡及其介导的神经炎症反应可能是导致缺血性脑损伤的重要机制, 抑制小胶质细胞的神经毒性作用或许是治疗缺血性卒中的一种新策略。

2.4 细胞焦亡与内皮细胞

内皮细胞构成血脑屏障的第一道屏障, 为紧密连接蛋白、粘附分子和细胞外基质提供支架。脑缺血时, 免疫炎症反应和氧化应激可损伤内皮细胞, 破坏血脑屏障的完整性, 导致血管源性水肿、出血性转化和死亡率增加^[26]。

有研究表明, 脑缺血后 NLRP3 在神经元、小胶质细胞和血管内皮细胞中均表达上调, 沉默 NLRP3 基因可减少大脑中动脉缺血模型小鼠的脑梗死体积, 降低血脑屏障通透性^[27]。Wang 等^[28]研究证实, 脑缺血能诱导微血管内皮细胞发生焦亡, 加重缺血再灌注损伤。他们还发现, 激活过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α (peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α), 能显著降低脑微血管内皮细胞中焦亡相关蛋白的表达, 增加 ZO-1 和 Occludin 蛋白的表达, 保护血脑屏障完整性。另外, 研究发现脑微血管内皮细胞的焦亡可能增加卒中后出血的可能性, 导致脑出血等严重并发症^[29]。

3 焦亡抑制剂在缺血性卒中的治疗潜力

近年来, 焦亡抑制剂在缺血性卒中的研究受到越来越多的关

注。Liang等^[30]发现,Caspase-1抑制剂VX-765可降低Caspase-1、ASC、GSDMD和IL-1 β ,同时上调紧密连接蛋白和金属蛋白酶组织抑制剂水平,保护血脑屏障的完整性,减小脑梗死体积。另外,VX-765还能促进小胶质细胞由M1型转变成M2型,减轻小胶质细胞介导的炎症反应,发挥神经保护作用^[31]。MCC950是一种选择性NLRP3抑制剂,有研究发现MCC950可降低缺血半暗带中NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 表达,对局灶性脑缺血小鼠具有保护作用^[32]。GSDMD作为细胞焦亡的 executor,是治疗缺血性卒中的理想分子靶点。然而,目前关于GSDMD抑制剂的研究仍处于起步阶段,缺乏GSDMD抑制剂治疗缺血性卒中的有效性的证据。

4 总结

综上所述,细胞焦亡作为促炎性程序性细胞死亡,主要通过Caspase-1介导的经典焦亡途径诱导细胞死亡及神经炎症反应,在缺血性卒中的病理过程中起重要作用。非经典焦亡途径与缺血性卒中的关系仍有待阐明。当前,针对焦亡途径中关键蛋白的靶向药物已被证实能在一定程度上减轻缺血性脑损伤,但是其研究主要局限于细胞和动物实验层面,缺乏临床研究证据。因此,进一步研究细胞焦亡在缺血性卒中的具体调控机制,有望为缺血性卒中的防治提供新的治疗策略和理论依据。

参考文献

- [1] Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2019, 394(4): 1145-1158.
- [2] Luo Y, Tang H, Li H, et al. Recent advances in the development of neuroprotective agents and therapeutic targets in the treatment of cerebral ischemia[J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 162: 132-146.
- [3] 彭斌, 吴波. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018[J]. *中华神经科杂志*, 2018, 51: 666-682.
- [4] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson S A, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25: 486-541.
- [5] Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20: 175-193.
- [6] Chen X, He W T, Hu L, et al. Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis[J]. *Cell Res*, 2016, 26: 1007-1020.
- [7] Kelley N, Jeltama D, Duan Y, et al. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 3328.
- [8] 萧文泽, 张佳敏. 褪黑素抑制炎症小体NLRP3的研究进展[J]. *神经损伤与功能重建*, 2020, 15: 33-35.
- [9] Luo Y, Reis C, Chen S. NLRP3 Inflammasome in the Pathophysiology of Hemorrhagic Stroke: A Review[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2019, 17: 582-589.
- [10] Liu Z, Wang C, Yang J, et al. Caspase-1 Engages Full-Length Gasdermin D through Two Distinct Interfaces That Mediate Caspase Recruitment and Substrate Cleavage[J]. *Immunity*, 2020, 53: 106-114.
- [11] Yang D, He Y, Munoz-Planillo R, et al. Caspase-1 Requires the Pannexin-1 Channel and the Purinergic P2X7 Pore to Mediate Pyroptosis and Endotoxic Shock[J]. *Immunity*, 2015, 43: 923-932.
- [12] Cao Y, Zhang H, Lu X, et al. Overexpression of MicroRNA-9a-5p Ameliorates NLRP1 Inflammasome-mediated Ischemic Injury in Rats Following Ischemic Stroke[J]. *Neuroscience*, 2020, 444: 106-117.
- [13] Fann D Y, Lim Y A, Cheng Y L, et al. Evidence that NF-kappaB and MAPK Signaling Promotes NLRP Inflammasome Activation in Neurons Following Ischemic Stroke[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55: 1082-1096.
- [14] Li J, Hao J H, Yao D, et al. Caspase-1 inhibition prevents neuronal death by targeting the canonical inflammasome pathway of pyroptosis in a murine model of cerebral ischemia[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2020, 26: 925-939.
- [15] Liang J, Wang Q, Li J Q, et al. Long non-coding RNA MEG3 promotes cerebral ischemia-reperfusion injury through increasing pyroptosis by targeting miR-485/AIM2 axis[J]. *Exp Neurol*, 2020, 325: 113139.
- [16] Rossi D. Astrocyte physiopathology: At the crossroads of intercellular networking, inflammation and cell death[J]. *Prog Neurobiol*, 2015, 130: 86-120.
- [17] Sims N R, Yew W P. Reactive astrogliosis in stroke: Contributions of astrocytes to recovery of neurological function[J]. *Neurochem Int*, 2017, 107: 88-103.
- [18] Sun X, Song X, Zhang L, et al. NLRP2 is highly expressed in a mouse model of ischemic stroke[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 479: 656-662.
- [19] An P, Xie J, Qiu S, et al. Hispidulin exhibits neuroprotective activities against cerebral ischemia reperfusion injury through suppressing NLRP3-mediated pyroptosis[J]. *Life Sci*, 2019, 232: 116599.
- [20] Meng C, Zhang J, Zhang L, et al. Effects of NLRP6 in Cerebral Ischemia/Reperfusion (I/R) Injury in Rats[J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 69: 411-418.
- [21] Zhang J, Jiang N, Zhang L, et al. NLRP6 expressed in astrocytes aggravates neurons injury after OGD/R through activating the inflammasome and inducing pyroptosis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80: 106183.
- [22] Qin C, Zhou L Q, Ma X T, et al. Dual Functions of Microglia in Ischemic Stroke[J]. *Neurosci Bull*, 2019, 35: 921-933.
- [23] Poh L, Kang S W, Baik S H, et al. Evidence that NLRC4 inflammasome mediates apoptotic and pyroptotic microglial death following ischemic stroke[J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 75: 34-47.
- [24] Xu P, Zhang X, Liu Q, et al. Microglial TREM-1 receptor mediates neuroinflammatory injury via interaction with SYK in experimental ischemic stroke[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 555.
- [25] Li Q, Cao Y, Dang C, et al. Inhibition of double-strand DNA-sensing cGAS ameliorates brain injury after ischemic stroke[J]. *EMBO Mol Med*, 2020, 12: e11002.
- [26] Yang C, Hawkins K E, Dore S, et al. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 316: C135-C153.
- [27] Ismael S, Zhao L, Nasoohi S, et al. Inhibition of the NLRP3-inflammasome as a potential approach for neuroprotection after stroke[J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 5971.
- [28] Wang Y, Guan X, Gao C L, et al. Medioresinol as a novel PGC-1alpha activator prevents pyroptosis of endothelial cells in ischemic stroke through PPARalpha-GOT1 axis[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 169: 105640.
- [29] Zhang Y, Li X, Qiao S, et al. Occludin degradation makes brain microvascular endothelial cells more vulnerable to reperfusion injury in vitro[J]. *J Neurochem*, 2021, 156: 352-366.
- [30] Liang Y, Song P, Chen W, et al. Inhibition of Caspase-1 Ameliorates Ischemia-Associated Blood-Brain Barrier Dysfunction and Integrity by Suppressing Pyroptosis Activation[J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 540669.
- [31] Li Q, Dai Z, Cao Y, et al. Caspase-1 inhibition mediates neuroprotection in experimental stroke by polarizing M2 microglia/macrophage and suppressing NF-kappaB activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513: 479-485.
- [32] Ismael S, Zhao L, Nasoohi S, et al. Inhibition of the NLRP3-inflammasome as a potential approach for neuroprotection after stroke[J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 5971.

(本文编辑:唐颖馨)