

心脑血管疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001759

基于缺血性脑卒中中自噬与凋亡相互转化研究进展

郭 涛,何红云,任 璐,邓仪昊

(昆明理工大学医学院形态学教研室,昆明 650500)

【摘 要】众多研究发现,自噬与凋亡在多种疾病中共存。自噬是真核生物利用溶酶体降解受损或老化的细胞器达到物质的循环再利用,是细胞应对内外环境变化的重要保护机制;而凋亡是一种由不同细胞信号途径调控的主动过程,最终使细胞走向死亡。在正常生理状况下,自噬维持着细胞内环境稳定的基本状态,但当自噬被过度激活时,由于大量积聚的蛋白无法被消化降解,诱发细胞向凋亡转换。近年来,脑卒中急剧增长的发病率和致残率引起学者们的强烈关注,因此如何调节自噬与凋亡在缺血性脑卒中的相互转化一直是学术界共同关心的重点,现对过往的研究进行归纳整理,为基础或临床医学的发展提供参考。

【关键词】脑卒中;自噬;凋亡;转换

【中图分类号】R743.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-03-07

Research progress of mutual transition between autophagy and apoptosis in ischemic stroke

Guo Tao, He Hongyun, Ren Lu, Deng Yihao

(Teaching and Research Section of Morphology, Medical School, Kunming University of Science and Technology)

【Abstract】Many researches show that autophagy and apoptosis coexist in a variety of diseases. Autophagy is the use of lysosomes by eukaryotes to degrade damaged or aging organelles to achieve material recycling, which is an important protective mechanism for cells to respond to changes in the internal and external environment; and apoptosis is an active process regulated by different cell signaling pathways, which leads to cell death. In normal physiological condition, autophagy maintains the basic function of intracellular environment stabilization. But when autophagy is over-activated, cells are transformed into apoptosis due to a large amount of accumulated protein that cannot be digested and degraded. In recent years, the morbidity and disability rate of cerebral stroke has aroused great concern among scholars. Therefore, how to regulate the mutual transformation of autophagy and apoptosis in ischemic stroke has always been a common concern of the academic community. To this end, we summarize the past researches and hope to provide reference for the development of basic research and clinical medicine.

【Key words】cerebral stroke; autophagy; apoptosis; transition

自噬和凋亡广泛存在真核生物细胞中并相互关联,两者共同维护细胞内蛋白质的生物合成和分解代谢的平衡,并作为细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)机制中的2种主要途径^[1]。自噬是对细胞内物质进行代谢从而达到循环再利用的重要过程,而细胞凋亡是由多基因严格调控的有序变化的死亡过程。尽管自噬在形态学上并没有像凋亡一样具

有核固缩、染色质聚集、出现凋亡小体的典型特征。但两者关系复杂,如存在适度的自噬抑制凋亡,促进细胞存活;凋亡抑制自噬,加速细胞死亡;自噬与凋亡协同促进细胞死亡。

脑卒中是一种以脑血管病变引起的脑组织损伤及相应的神经功能缺陷为主要临床表现的急性脑血管病。其极高的发病率、高致残率、高死亡率给社会和家庭带来了沉重的负担^[2]。当前仅有纤维组织酶原激活剂(tissue plasmin activator, tPA)为有效的治疗药物,但仅3 h的给药时间窗及严重的副作用,极大地限制了tPA的广泛应用^[3]。因此,迫切需要开发新的治疗脑卒中的方法。随着近年来自噬和凋亡的研究在其他众多疾病(肿瘤、帕金森病、阿尔茨海默病、心血管病等)中逐渐被发现,探明自噬和凋亡在脑卒中后神经保护中

作者简介:郭 涛, Email: 475612496@qq.com,

研究方向:脑卒中病理机制研究。

通信作者:邓仪昊, Email: deng13032871868@163.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81660383);云南省应用基础研究计划面上资助项目(编号:2017FB113)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180525.1036.012.html>
(2018-05-25)

的作用及机制,进而寻求有效的神经元拯救方案是当前基础和临床研究急需解决的问题。

1 脑卒中后损伤神经元的命运

无论是缺血性脑卒中,还是出血性脑卒中的结果都是直接造成神经细胞的死亡和损伤,因此减少神经元死亡对减轻脑卒中危害及促进功能恢复至关重要。现有研究表明,脑缺血数分钟即可触发损伤相关分子模式,从而各种级联反应导致缺血核心区神经元不可逆地坏死性死亡。然而在围绕缺血核心区的周边区域,由于血管侧支吻合等原因存在一个缺血半影区,该区域内的神经元不同程度受到缺血影响,呈现出不同的命运。有研究发现,缺血核心区为不可逆的坏死,而半影区凋亡与自噬并存^[4]。凋亡导致神经元最终走向死亡,而自噬可以使一部分神经元重获新生。

大量报告表明,神经元的凋亡在缺血半影区内已经有了广泛的研究,通过药理学及基因工程技术抑制凋亡可提供明显的神经保护,然而长时间以来这些研究仍只停留在动物实验而未能开发出相应的临床药物^[5]。近年来,缺血半影区内神经元自噬引起学者越来越多的关注。尽管脑卒中引发的自噬具有保护神经细胞和促进神经细胞死亡双重功能,但是现有实验证据显示:适度激活的自噬有利于脑卒中后的神经细胞保护和神经功能恢复^[6]。因此与凋亡不同,经历自噬的神经元有较大的存活机会。

2 自噬和凋亡分别在脑卒中后的作用

2.1 凋亡——不引起炎症反应的细胞死亡

病理性的细胞凋亡是一种由外界环境的变化,为实现机体的自我保护,而进行的细胞自杀过程。该过程最小程度地减少了细胞死亡引发的组织炎症反应。基础和临床研究均表明,神经元凋亡在脑缺血中被发现^[7-8]。通过康复运动、基因工程技术或药理学方法使凋亡降低成为唯一的神经保护方案^[9-10]。然而到目前为止还未有针对神经元凋亡通路为靶点的药物应用于临床脑卒中治疗。因此,脑缺血导致的神经元凋亡是脑卒中直接的灾难性后果,进入凋亡程序的细胞注定死亡。相对于凋亡,针对自噬的脑保护治疗更为有效。

2.2 自噬——可能的细胞存活

脑缺血半影区不仅仅存在细胞凋亡,还存在另一种细胞损伤模式——自噬^[11]。与凋亡不同,自噬是由自噬小体介导的细胞降解途径,分为自噬小体的形成、延伸、闭合以及与溶酶体的融合。在生理条件下,细胞的基础自噬活性清除细胞内由饥饿、能量缺乏等代谢应激引起的错误折叠的生物大分子和受损细胞器等,从中获得可供细胞再生循环利用的氨

基酸、单糖等小分子,以维持细胞的基本生命活动。现有证据表明:自噬在脑缺血性损伤后神经元转归中扮演着双重作用^[6]。一方面,阻断自噬通路可促进神经元凋亡和坏死,导致梗死灶体积增加和神经功能恶化^[12],并且多种神经保护策略均是通过增加神经细胞自噬来实现的,如缺血预处理^[13]和多种神经保护药物^[14-15]。然而另一方面,过度的细胞自噬则导致细胞死亡^[16],而且多种神经保护策略也与抑制自噬相关,如运动训练^[17]、缺血后处理及神经保护药物^[18]。这些实验结果表明,自噬在脑卒中后的作用依赖于其激活的程度及脑缺血持续时间。

3 脑卒中后神经元的自噬和凋亡的关系

3.1 自噬与凋亡共存

在细胞凋亡的过程中常常会观察到自噬的发生现象。Zhang 等^[19]利用大鼠大脑中动脉梗死模型观察半影区凋亡与自噬的动态变化,结果发现在脑缺血后 4 d 时,凋亡明显降低而自噬明显升高,提示两者的变化存在这一相同的时间转折点。另有研究显示,GINET 等^[20]在新生大鼠脑缺血缺氧模型上观察到脑缺血缺氧 6 h 后大脑皮质缺血区神经元胞浆内有许多自噬体,然而这些将要死亡的神经元不表现出单一的自噬性死亡,而是强表达溶酶体 LAMP1 的神经元呈现出一些凋亡的特征。因此,缺血半影区神经元自噬与凋亡间存在相互转换,该转换机制显著影响脑卒中病理生理过程。尽管自噬与凋亡是细胞对环境应激和能量耗竭的 2 种不同反应,具有不同的调控机制,但是现有研究结果显示,脑卒中同时引发缺血半影区的自噬和凋亡,甚至 2 种途径共存于同一个细胞。

3.2 自噬与凋亡交联

调控自噬和凋亡的分子机制存在共同通路。研究显示,脑缺氧缺血后数小时即可检测到显著上调的凋亡和自噬。在大鼠脑缺血后 6~24 h, caspase-3 阳性和 Beclin1 阳性细胞明显上升,半定量分析显示约 30% 的细胞为凋亡和自噬共存^[21]。同样,在新生鼠脑缺血缺氧模型中也发现上升的 caspase-3/Beclin1 免疫双标阳性细胞^[22]。Uchiyama 等^[23]不仅证明了自噬参与组织蛋白酶依赖的缺血后细胞死亡,还证明 cathepsin B、H 和 L 参与短暂性脑缺血后海马区细胞凋亡。此外,在缺血缺氧 6 h 后,在部分濒死的神经元胞质内还检测到大量的自噬小体^[24]。Rami 等^[25]还观察到缺血半影区内神经元表现出强烈自噬特征却没有 TUNEL(凋亡检测方法)表现的时候,已经表现了一定程度的核固缩,这个现象表明自噬途径可能先于凋亡途径发生,甚至有可能是自噬引发了凋亡。这些现象均表明脑卒中同时激活缺血半影区内神经元凋亡与自噬通路,并且有大量细胞同时表现出凋亡和自噬特征。因此,两

者不仅共存于同样的实验模型甚至同一个细胞,而且在分子通路上存在相互关联^[25-26]。

4 脑卒中后自噬与凋亡间的转换与调控机制

实验研究中发现,自噬和凋亡存在共同的调控通路^[27]。但在不同条件下,自噬可以抑制细胞凋亡,或促进细胞凋亡;反之,凋亡同样对自噬具有相同的作用,自噬与凋亡相互转化决定神经细胞的最终形态及转归。轻度或中度缺血性脑卒中激活生理水平的自噬,通过分解代谢清除受损线粒体,抑制细胞发生凋亡,产生能量,避免神经细胞走向死亡。然而重度缺血性脑卒中引起高水平的自噬活性,发挥促凋亡作用,导致神经细胞自我降解并最终走向死亡。另外,凋亡的过多表达,使细胞不足以维持内环境的稳态,凋亡将协同自噬共同走向程序性细胞死亡进程。不论是自噬还是凋亡,它们在脑卒中的调控机制逐渐被研究者所发现,两者之间的联系也越来越明显,对比不难发现自噬和凋亡存在相同蛋白分子的调控。

Beclin1 蛋白(又名 ATG6,酵母自噬调控蛋白 6 在哺乳动物中的同源物)是自噬引发阶段的关键调控分子,脑缺血后其表达显著上调,且与神经元自噬时程一致^[28]。Beclin1 通过募集自噬关键蛋白至自噬小体前体结构上形成包括 Beclin1、Vps34 和 Vps15 的复合物,进而引发自噬小体的形成和启动自噬过程^[29]。Beclin1 不仅聚集自噬相关蛋白,还通过其特有的 BH3 模序与关键的抗凋亡蛋白 Bcl2 相互作用,形成 Bcl2-Beclin1 复合物,进而阻断其引发自噬的作用^[30-31]。因而,Beclin1 蛋白通过 Bcl2-Beclin1 复合物的形式在细胞走向自噬或凋亡时起着重要的决定作用:复合物稳定则抑制自噬而促进凋亡,细胞进入凋亡通路;复合物解离则促进自噬而抑制凋亡,细胞进入自噬通路。Pattingre 等^[32]的研究表明,通过基因敲除 Beclin1 或过表达 Bcl2 可使细胞在营养耗竭时更趋向于凋亡。因此,Bcl2-Beclin1 复合物的稳定性是脑卒中后自噬与凋亡间转换的调控机制。

应激激活蛋白激酶(c-Jun N-terminal kinase,JNK)是一个关键的神经元死亡调控激酶,阻断 JNK 通路已被证明可减少脑梗死体积,但最近的一项研究表明 JNK 也可能与神经保护作用有关。利用大鼠大脑中动脉梗死模型,Murata^[33]揭示了 JNK 的新作用,即在急性期抑制 JNK 通路可减少神经功能缺损和脑梗死体积,然而在 7 d 后抑制该通路却显示出相反的作用,即神经功能恶化和脑梗死体积扩大。JNK 的一个重要作用靶点就是磷酸化 Bcl2 蛋白与 Beclin1 相互作用的多个位点(Ser87,Ser70,Thr69),最终导致 Bcl2-Beclin1 复合物的解离,促使细胞进入自噬途径^[34]。突变掉 Bcl2 的磷酸化位点或敲除 JNK 即可阻断自噬发生。适度磷酸化的 Bcl2 可通过与促凋亡蛋白如 Bax 结合从而抑制凋亡,而过度磷酸化则引

起 Bcl2 与促凋亡蛋白如 Bax 的解离,从而导致 Bax 释放而促进凋亡^[35]。因此,JNK 介导的 Bcl2 磷酸化是调控 Bcl2-Beclin1 复合物的稳定性,进而决定脑卒中后神经元选择自噬还是凋亡的重要调控因子。

简单来说,自噬和凋亡间转换的调节机制便是 JNK 磷酸化 BCL2,从而导致 BCL2-Beclin1 复合物解离,释放关键的自噬引发蛋白 Beclin1,进而激活自噬通路,抑制凋亡通路,最终使损伤神经元走向自噬途径。

综上所述,脑卒中后损伤神经元面临着必死的凋亡和可能存活的自噬 2 种命运选择,尽管两者在损伤神经元命运决定中起着截然不同的作用,但是他们在引发机制及发展进程中却存在着共同的分子通路。如何利用自噬与凋亡,调节两者的杠杆的核心一直是学术界共同关心的重点。因此,深入理解脑卒中后自噬与凋亡的表达谱及转换与调控机制,在脑缺血后增加神经元自噬、减少凋亡是拯救缺血半影区内损伤神经元的有效方法,对脑卒中后神经保护及神经功能恢复有着重要意义。本文为脑卒中治疗寻找新的治疗靶点和治疗方案提供理论依据和发展方向。

参 考 文 献

- [1] Chaabane W, User SD, El-Gazzah M, et al. Autophagy, apoptosis, mitoptosis and necrosis: interdependence between those pathways and effects on cancer[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2013, 61 (1): 43-58.
- [2] Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2014 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2014, 129(3): 399-410.
- [3] Adeoye O, Hornung R, Khatri P, et al. Recombinant tissue-type plasminogen activator use for ischemic stroke in the United States: a doubling of treatment rates over the course of 5 years[J]. Stroke, 2011, 42(7): 1952-1955.
- [4] Rami A, Kögel D. Apoptosis meets autophagy—like cell death in the ischemic penumbra: two sides of the same coin?[J]. Autophagy, 2008, 4(4): 422-426.
- [5] Singh MH, Brooke SM, Zemlyak I, et al. Evidence for caspase effects on release of cytochrome c and AIF in a model of ischemia in cortical neurons[J]. Neurosci Lett, 2010, 469(2): 179-183.
- [6] Chen W, Sun Y, Liu K, et al. Autophagy: a double-edged sword for neuronal survival after cerebral ischemia[J]. Neural Regen Res, 2014, 9 (12): 1210-1216.
- [7] Ribe EM, Serrano-Saiz E, Akpan N, et al. Mechanisms of neuronal death in disease: defining the models and the players[J]. Biochem J, 2008, 415(2): 165-182.
- [8] Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition

- at the cellular level[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(3): 231–241.
- [9] Zhang P, Zhang Y, Zhang J, et al. Early exercise protects against cerebral ischemic injury through inhibiting neuron apoptosis in cortex in rats[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 6074–6089.
- [10] Bu Q, Liu X, Zhu Y, et al. w007B protects brain against ischemia-reperfusion injury in rats through inhibiting inflammation, apoptosis and autophagy[J]. *Brain Res*, 2014, 1558: 100–108.
- [11] Yu J, Bao C, Dong Y, et al. Activation of autophagy in rat brain cells following focal cerebral ischemia reperfusion through enhanced expression of Atg1/pULK and LC3[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(3): 3339–3344.
- [12] Wang P, Xu TY, Wei K, et al. ARRB1/beta-arrestin-1 mediates neuroprotection through coordination of BECN1-dependent autophagy in cerebral ischemia[J]. *Autophagy*, 2014, 10(9): 1535–1548.
- [13] Park HK, Chu K, Jung KH, et al. Autophagy is involved in the ischemic preconditioning[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 451(1): 16–19.
- [14] Papadakis M, Hadley G, Xilouri M, et al. Tsc1 (hamartin) confers neuroprotection against ischemia by inducing autophagy[J]. *Nat Med*, 2013, 19(3): 351–357.
- [15] Yang Y, Gao K, Hu Z, et al. Autophagy upregulation and apoptosis downregulation in DAHP and triptolide treated cerebral ischemia[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 120–198.
- [16] Shi R, Weng J, Zhao L, et al. Excessive autophagy contributes to neuron death in cerebral ischemia[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18(3): 250–260.
- [17] Zhang L, Niu W, He Z, et al. Autophagy suppression by exercise pretreatment and p38 inhibition is neuroprotective in cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2014, 1587: 127–132.
- [18] Baek SH, Noh AR, Kim KA, et al. Modulation of mitochondrial function and autophagy mediates carnosine neuroprotection against ischemic brain damage[J]. *Stroke*, 2014, 45(8): 2438–2443.
- [19] Zhang P, Yang L, He H, et al. Differential variations of autophagy and apoptosis in permanent focal cerebral ischaemia rat model[J]. *Brain Inj*, 2017, 31(8): 1151–1158.
- [20] Ginet V, Puyal J, Clarke PG, et al. Enhancement of autophagic flux after neonatal cerebral hypoxia-ischemia and its region-specific relationship to apoptotic mechanisms[J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(5): 1962–1974.
- [21] Rami A, Langhagen A, Steiger S. Focal cerebral ischemia induces upregulation of Beclin 1 and autophagy-like cell death[J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 29(1): 132–141.
- [22] Carloni S, Buonocore G, Balduini W. Protective role of autophagy in neonatal hypoxia-ischemia induced brain injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 32(3): 329–339.
- [23] Uchiyama Y, Shibata M, Koike M, et al. Autophagy-physiology and pathophysiology[J]. *Histochem Cell Biol*, 2008, 129(4): 407–420.
- [24] Balduini W, Carloni S, Buonocore G. Autophagy in hypoxia-ischemia induced brain injury[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2012, 25(S1): 30–34.
- [25] Mukhopadhyay S, Panda PK, Sinha N, et al. Autophagy and apoptosis: where do they meet?[J]. *Apoptosis*, 2014, 19(4): 555–566.
- [26] Zou MH, Xie Z. Regulation of interplay between autophagy and apoptosis in the diabetic heart: new role of AMPK[J]. *Autophagy*, 2013, 9(4): 624–625.
- [27] Marquez RT, Xu L. Bcl-2; Beclin 1 complex; multiple mechanisms regulating autophagy/apoptosis toggle switch[J]. *Am J Cancer Res*, 2012, 2(2): 214–221.
- [28] Xingyong C, Xicui S, Huanxing S, et al. Upregulation of myeloid cell leukemia-1 potentially modulates beclin-1-dependent autophagy in ischemic stroke in rats[J]. *BMC Neurosci*, 2013(14): 56.
- [29] He C, Levine B. The Beclin 1 interactome[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(2): 140–149.
- [30] Kang R, Zeh HJ, Lotze MT, et al. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(4): 571–580.
- [31] Luo S, Rubinshtein DC. BCL2L1/BIM: a novel molecular link between autophagy and apoptosis[J]. *Autophagy*, 2013, 9(1): 104–105.
- [32] Pattingre S, Tassa A, Qu X, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy[J]. *Cell*, 2005, 122(6): 927–939.
- [33] Murata Y, Fujiwara N, Seo JH, et al. Delayed inhibition of c-Jun N-terminal kinase worsens outcomes after focal cerebral ischemia[J]. *J Neurosci*, 2012, 32(24): 8112–8115.
- [34] Strappazon F, Vietri-Rudan M, Campello S, et al. Mitochondrial BCL-2 inhibits AMBRA1-induced autophagy[J]. *EMBO J*, 2011, 30(7): 1195–1208.
- [35] Wei Y, Sinha S, Levine B. Dual role of JNK1-mediated phosphorylation of Bcl-2 in autophagy and apoptosis regulation[J]. *Autophagy*, 2008, 4(7): 949–951.

(责任编辑:冉明会)