

reduces restenosis after carotid artery stenting. *J Vasc Surg*, 2010, 51(1): 51-56.

[49] Matsumoto M. Cilostazol in secondary prevention of stroke: impact of the Cilostazol Stroke Prevention Study. *Atheroscler Suppl*, 2005, 6(4): 33-40.

[50] 黄立, 杨期东, 陈璇, 等. 西洛他唑治疗 CADASIL 临床研究. *中风与神经疾病杂志*, 2010, 27(3): 263-265.

[51] Yoshimoto T, Shirasaka T, Fujimoto S, et al. Cilostazol may prevent cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2009, 49(6): 235-241.

[52] Suzuki S, Sayama T, Nakamura T, et al. Cilostazol improves outcome after subarachnoid hemorrhage: a preliminary report. *Cerebrovasc Dis*, 2011, 32(1): 89-93.

[53] Nishimura K, Ishigooka J, Imamura Y, et al. Cilostazol, a cAMP phosphodiesterase 3 inhibitor, in the treatment of post-stroke depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2007, 19(4): 471-472.

[54] Teramoto S, Yamamoto H, Yamaguchi Y, et al. Antiplatelet cilostazol, an inhibitor of type III phosphodiesterase, improves swallowing function in patients with a history of stroke. *J Am Geriatr Soc*, 2008, 56(6): 1153-1154.

[55] Kim JS, Shinohara Y. Cilostazol: a drug particularly effective for Asians? *Int J Stroke*, 2011, 6(3): 209-210.

[56] Nishiyama K, Seyama H, Okano H, et al. Escalation regimen of cilostazol for acute brain infarction. *Intern Med*, 2011, 50(15): 1559-1563.

[57] 冯海霞, 杨曼, 蒋怀礼, 等. 西洛他唑与阿司匹林对缺血性脑卒中二级预防的系统评价. *中国康复理论与实践*, 2010, 16(10): 961-965.

PI3K/Akt-eNOS-NO 信号通路与脑缺血后适应的研究进展

唐坤裕 综述 朱榆红 审校

昆明医科大学第二附属医院神经内科, 云南省昆明市 650101

摘要:缺血后适应对缺血性脑卒中中具有内源性保护作用,其机制尚未完全阐明。PI3K/Akt 信号通路作为细胞内重要信号转导通路之一,通过影响下游多种效应分子的活化状态,达到对缺血性脑卒中的神经保护作用。缺血后适应通过激活 PI3K/Akt 信号通路,从而激活下游内源性 eNOS-NO 系统,实现多条途径保护缺血脑组织。

关键词:脑缺血后适应;一氧化氮;一氧化氮合酶;蛋白激酶 B;磷脂酰肌醇-3 激酶;神经保护;信号通路

缺血性脑卒中具有高发病率、高死亡率、高复发率及高致残率的特点,早期恢复血流是治疗脑缺血的关键,然而缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, I/R) 将导致再灌注治疗过程中脑组织损伤程度的迅速剧增。因此,临床脑缺血的治疗需要减少这种缺血再灌注损伤,以有效地保护损伤组织。作为一种强有力的内源性保护现象,脑缺血后适应 (ischemia postconditioning, IPostC) 在缺血后永久性再灌注前对缺血组织进行多次短时间的间断性灌注,为 I/R 损伤的防治提供了新方法^[1,2]。但是目前参与缺血后适应介导脑组织保护的机制尚未完全阐明。

磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphoinositide-3 kinase, PI-3K)/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 (serine/threonine kinase, Akt) 信号通路的激活是缺血后处理的保护机制之一,内皮型 NOS (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 是该途径的一个下游靶点,其产生的一氧化氮 (nitric oxide, NO) 作为信号分子发挥重要作用^[3]。NO 和 eNOS 激活介导缺血后适应的延迟保护效应,是缺血后适应的保护机制之一。为阐明脑缺血后适应的这一机制,本文将对 PI3K/Akt-eNOS-NO 信号通路与脑缺血后适应的研究进展进行综述。

1 脑缺血后适应的研究现状

1986 年, Murry 等^[4] 提出缺血预适应 (ischemic

基金项目:国家自然科学基金(81060102);云南省科技厅-昆明医科大学联合专项基金(2008CD018)

收稿日期:2012-10-29;修回日期:2013-01-14

作者简介:唐坤裕(1987-),男,在读硕士研究生,主要从事脑血管病的研究。

通讯作者:朱榆红,女,教授,医学博士,博士生导师,主要从事脑血管疾病的研究。E-mail: yuhong_lilin@yahoo.com.cn。

preconditioning, IPC),即将一个器官预先给予一个短暂的、非致死性的轻度缺血处理后,对其后致死性的缺血产生耐受。2003年,Zhao等^[5]发现在再灌注开始时给予缺血心肌短暂的缺血/再灌注处理能减少心肌梗死面积,提出了缺血后适应。2006年,Zhao等^[6]首次提出缺血后适应可减轻脑缺血再灌注损伤。由于缺血性脑卒中发生的不确定性,与缺血预适应相比,缺血后适应具有更大的临床可行性^[7]。

脑缺血后适应指在脑缺血/再灌注开始时给予(一次或多次)短暂的、重复的、非致死性的血管闭塞与再通的过程,可明显减轻随后长时间再灌注引起的组织损伤,是近期发现的一种新的干预措施,具有脑保护作用^[8]。随着对脑缺血后适应的不断研究,脑缺血后适应可减少梗死面积、保护内皮细胞功能、促进损伤后神经功能的恢复,表现在肢体运动、共济和皮质功能各个方面,短期和长期疗效均比较显著^[7]。脑缺血后适应尚能减少损伤后神经元的凋亡,减少缺血半暗带神经元的凋亡可能是缺血后适应减少梗死面积和促进神经功能恢复的关键所在^[9]。脑缺血后适应是缺血再灌注损伤较为有力的内源性保护机制,对于临床上缺血性脑卒中的治疗具有良好的应用前景^[10]。

2 PI3K/Akt 信号转导通路

缺血后适应可通过 PI3K/Akt 信号转导通路激活内源性 eNOS-NO 系统。PI3K/Akt-eNOS-NO 信号通路在缺血后适应中通过多条途径保护缺血脑组织。PI-3K/Akt/PKB 信号通路作为细胞内重要信号转导通路之一,通过影响下游多种效应分子的活化状态,在细胞内发挥着抑制凋亡、促进增殖的关键作用。

2.1 PI3K 的激活

PI3K 由 110 kDa (P110) 的催化亚基及 85 kDa (P85) 的调节亚基构成,其中 P85 含 2 个 SH2 结构域,1 个 inter-SH2 模体及 1 个 SH3 结构域。由配体激活的受体酪氨酸激酶导致受体细胞内部分特定的酪氨酸残基自动磷酸化。随后发生 PI3K 的引入,通过 SH2 结构域与受体上特定的磷酸残基结合。这导致了 PI3K 的构象变化,从而激活 P110。

2.2 Akt 的激活

Akt 作为第二信使调节激酶参与许多重要的细胞进程^[11]。PI3K 激活的结果是在质膜上产生第二信使 3-磷酸磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol 3, 4, 5-triphosphate, PIP3),PIP3 与细胞内含有 PH 结构域的信号蛋白 Akt 结合,使 Akt 从细胞质转移到细

胞膜上并获得催化活性。磷脂酰肌醇依赖蛋白激酶 (phosphoinositide-dependent kinase, PDK) 参与其中,PDK1 使 Akt 蛋白 Thr308 磷酸化,而 PDK2 则使 Akt 蛋白的 Ser473 磷酸化。只有 Akt 的 Thr308 和 Ser473 都被磷酸化,其功能活性才能充分发挥^[12]。

2.3 脑缺血后处理中 PI3K/Akt 信号通路的作用

PI3K/Akt 信号通路在缺血后适应的神经保护中具有重要作用^[11]。Yuan 等^[13]在 IPoC 对脑 I/R 损伤的研究中发现,IPoC 的脑保护作用通过 PI3K/Akt 途径发挥作用,从而抑制细胞凋亡。邢变枝等^[14]报道利用大脑中动脉闭塞 (MCAO) 再灌注模型,缺血后处理可提高大鼠脑缺血再灌注后皮质内 Akt 活性,减少神经细胞凋亡。Wang 等^[15]通过使用 Akt 抑制剂,间接证实了 PI3K/Akt 信号通路在缺血后适应对神经元的保护机制中可能起着关键作用。Ashish 等^[16]报道在缺血后适应之前给予三磷酸肌醇激酶受体抑制剂,将完全抵消缺血后适应的保护作用。此外,PI3K/Akt 信号通路与丝裂 S 原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路的相互作用也越来越受到重视^[17]。

3 eNOS-NO 系统

3.1 一氧化氮合酶的分型

NOS 是一种同工酶,根据 NOS 表达的调节、原酶的细胞或组织来源及克隆的先后顺序不同将其分为 3 种亚型: I 型主要存在于中枢神经系统的神经细胞,称为神经元型 NOS (neuronal NOS, nNOS); II 型主要存在于内皮细胞和平滑肌细胞,称为内皮型 NOS (endothelial NOS, eNOS); III 型主要存在于巨噬细胞和中性粒细胞,称为诱导型 NOS (inducible NOS, iNOS)^[15]。eNOS 和 nNOS 能在组织中固有表达,所以又称固有型 NOS (constitutive NOS, cNOS),其活性的激活依赖于离子钙/钙调素 (Ca^{2+} /Cam); iNOS 为钙非依赖型,炎症损伤后诱导其表达,受基因水平调控,并非依赖 Ca^{2+} /Cam 激活。

3.2 PI3K/Akt 信号通路对 eNOS-NO 系统的激活

Akt 磷酸化及其下游 eNOS 的磷酸化是内皮细胞合成 NO 的重要途径^[11]。Akt 可通过磷酸化 eNOS 的 Ser1177 激活 eNOS^[18]。Peng 等^[2]报道利用远端缺血后适应模型,远端缺血后适应 (RI-PostC) 的神经保护作用与 PI3K/Akt 信号通路引起的 eNOS 上调相关,使用 NOS 非选择性抑制剂可明显破坏这样的保护作用,使用 PI3K 高选择性抑制剂不仅无神经保护作用出现,而且可抑制 eNOS 的

上调。在 NOS 作用下,以左旋精氨酸(L-Arg)为底物,利用氧生成 NO 和 L-瓜氨酸,以非囊泡形式释放,NO 易通过弥散出入质膜,直接进入相邻的细胞,在局部发挥作用,性质活泼,半衰期仅为 3~6 s。

Yoshitomi 等^[18]报道 PI3K/Akt 信号通路对于 eNOS 的磷酸化与激活关系密切。Liu 等^[19]报道在 MCAO 模型中使用氯沙坦,通过 PI3K/Akt 信号通路磷酸化 eNOS 而改善缺血再灌注损伤。Dmitriy 等^[20]研究表明,脑缺血后 1 h 内内皮细胞释放 eNOS 增加,8 h 内达高峰。

3.3 脑缺血后适应中 eNOS-NO 系统的脑保护作用

3.3.1 脑缺血损伤中的 eNOS 作用 在脑缺血过程的不同时期,不同类型的 NOS 具有不同的作用^[21]。在缺血早期可见 eNOS 表达及活性上调,生成的 NO 发挥扩张血管、抗血小板聚集等作用,从而维持和改善局部脑血流,介导神经元保护作用。反之, nNOS 介导缺血早期神经元损伤, iNOS 介导迟发性神经元损伤。

方芳等^[22]报道与 MCAO 组比较,后适应组大鼠脑缺血半暗带的凋亡细胞显著减少, eNOS 蛋白表达显著增加, iNOS 蛋白表达显著减少, eNOS/iNOS 比值显著增加,说明缺血后适应能诱导脑缺血耐受,对脑缺血/再灌注损伤产生保护作用,其保护作用与促进 eNOS 蛋白的表达,抑制 iNOS 蛋白的表达有关。

3.3.2 脑缺血损伤中 NO 的双重作用 NO 在脑缺血损伤中的双重作用主要表现为缺血早期具有积极的神经保护作用,其减轻脑缺血损伤的机制可能有:①扩张血管;②抗血小板聚集和白细胞黏附;③抑制 NMDA 受体介导的兴奋性毒性作用;④调控一些递质的释放;⑤对自身合酶 NOS 的反馈性调节。缺血中后期大量 NO 聚集在脑组织可通过坏死与凋亡两种途径介导细胞死亡,其加重脑缺血损伤的神经毒性机制可能有:①参与 NMDA 介导的兴奋性氨基酸毒性作用;②介导脑组织自由基氧化性损伤;③影响能量代谢;④致使神经细胞凋亡;⑤加剧早期神经细胞坏死^[23,24]。

此外,Guo 等^[25]报道肝缺血再灌注中缺血后处理可提高 Akt-eNOS-NO-HIF 传导通路各环节蛋白表达的升高,即缺血后处理通过 Akt-eNOS-NO-HIF 传导通路减轻肝缺血再灌注。

4 小结

随着脑缺血后适应的深入研究,将对缺血性脑卒中带来深远意义。PI3K/Akt-eNOS-NO 信号通路

作为缺血后适应重要保护机制之一,越来越受到重视。通路终末的 NO 起着重要细胞保护作用。但是,缺血后适应的所有信号通路存在相互交织,犹如网状。所以,缺血后适应对缺血性脑卒中的整体作用效果还有待进一步揭开。目前,通过对缺血后适应机制的研究,从不同通路干预缺血性脑卒中的病理过程,并寻找有效的药物靶点,改善临床预后和减少功能障碍,为缺血性脑卒中的治疗开辟新的道路。

参 考 文 献

- [1] Fairbanks SL, Brambrink AM. Preconditioning and postconditioning for neuroprotection: The most recent evidence. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2010, 24: 521-534.
- [2] 刘佳丽,王晔,张迎. 缺血后处理对脑缺血再灌注损伤大鼠的脑保护作用及其最佳时间窗的探讨. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2011, 38(3): 222-226.
- [3] Peng B, Guo QL, He ZJ, et al. Remote ischemic postconditioning protects the brain from global cerebral ischemia/reperfusion injury by up-regulating endothelial nitric oxide synthase through the PI3K/Akt pathway. *Brain Search*, 2012, 144S: 92-102.
- [4] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA, et al. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986, 74: 1124-1136.
- [5] Zhao ZQ, Corvera JS, Haikos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285: 579-588.
- [6] Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Meta*, 2006, 26: 1114-1121.
- [7] Zhang WQ, Wang BF, Zhou SQ, et al. The effect of ischemic post-conditioning on hippocampal cell apoptosis following global brain ischemia in rats. *J Clin Neurosci*, 2012, 19: 570-573.
- [8] Fantinelli JC, Mosca SM. Comparative effects of ischemic pre and postconditioning on ischemia-reperfusion injury in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Mol Cell Biochem*, 2007, 296: 45-51.
- [9] 李美艺,张颜波. 缺血后适应在缺血性脑损伤中脑保护作用及机制研究进展. *中风与神经疾病杂志*, 2010, 27(5): 473-474.
- [10] Xing B, Chen H, Zhang M, et al. Ischemic post-conditioning protects brain and reduces inflammation in a rat model of focal cerebral ischemia/reperfusion. *J Neurochem*, 2008, 105: 1737-1745.

- [11] Tschopp O, Yang ZZ, Brodbeck D, et al. Essential role of protein kinase B γ (PKB γ /Akt3) in postnatal brain development but not in glucose homeostasis. *Development*, 2005, 132(13): 2943-2954.
- [12] 杨宁,王恬,惠起源. PI3K-Akt 信号通路与胃癌的研究进展. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(1): 197-200.
- [13] Yuan Y, Guo Q, Ye Z, et al. Ischemic postconditioning protects brain from ischemia/reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis through PI3K-Akt pathway. *Brain Res*, 2011, 1367:85-93.
- [14] 邢变枝,陈晖,张苏明. 缺血后处理对脑缺血再灌注损伤后 ERK1/2 和 Akt 磷酸化及神经细胞凋亡的影响. *神经损伤与功能重建*, 2012, 7(3): 175-179.
- [15] Wang HY, Wang GL, Yu YH, et al. The role of phosphoinositide-3-kinase/Akt pathway in propofol-induced postconditioning against focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Brain Res*, 2009, 1297: 177-184.
- [16] Rehmi AK, Singh N. Role of phosphoinositide 3-kinase in ischemic postconditioning-induced attenuation of cerebral ischemia-evoked behavioral deficits in mice. *Pharmacol Reports*, 2007, 59: 192-198.
- [17] 王维. PI3K/Akt 信号转导通路的研究进展. *现代医药卫生*, 2010, 26(7): 1051-1052.
- [18] Yoshitomi H, Xu Q, Gao M, et al. Phosphorylated endothelial NOS Ser1177 via the PI3K/Akt pathway is depressed in the brain of stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *J Stroke Cerebrov Dis*, 2011, 20(5): 406-412.
- [19] Liu HQ, Liu XQ, Wei XB, et al. Losartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury via PI3K/Akt-mediated eNOS phosphorylation. *Brain Res Bull*, 2012, 89: 65-70.
- [20] Dmitriy AN, Jeffrey C, Ivan DT, et al. Rapid cerebral ischemic preconditioning in mice deficient in endothelial and neuronal nitric oxide synthases. *Stroke*, 2003, 34: 1299-303.
- [21] Manoury B, Montiel V, Balligand JL. Nitric oxide synthase in post-ischaemic remodelling: new pathways and mechanisms. *Cardio Res*, 2012, 94: 304-315.
- [22] 方芳,王婉灵,余术宜,等. 后适应对大鼠脑缺血神经细胞凋亡和内皮型一氧化氮合酶与诱导型一氧化氮合酶的影响. *中国临床药理学与治疗学*, 2006, 11(10): 1106-1109.
- [23] 沈丽明,范业宏. 一氧化氮、一氧化氮合酶与脑缺血性损伤. *黑龙江医学*, 2011, 35(7): 502-503.
- [24] Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British J Pharmacol*, 2006, 147: S193-S201.
- [25] Guo JY, Yang T, Sun XG, et al. Ischemic postconditioning attenuates liver warm ischemia-reperfusion injury through Akt-eNOSNO-HIF pathway. *J Biomed Sci*, 2011, 18: 79-91.

阿尔茨海默病的线粒体功能紊乱机制

李玉梅 综述 付剑亮 审校

上海交通大学附属第六人民医院神经内科,上海市 200233

摘要:线粒体对于神经元的生存发挥关键作用,氧化应激引起细胞凋亡是 AD 早期的主要特征。线粒体形态结构发生改变和线粒体 DNA 突变都可以造成线粒体功能紊乱,表现为电子传递链的损伤如细胞色素氧化酶活性降低,线粒体动力学异常如线粒体自噬增加、分裂融合失衡、生物合成障碍、转运功能下降等,淀粉样蛋白生成进一步增加,最终导致不可逆的神经元损伤,散发性 AD 发生。针对线粒体损伤的治疗措施,为 AD 的治疗带来新的选择。

关键词:阿尔茨海默病;线粒体; β -淀粉样蛋白;氧化应激

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是以认知功能下降为主要临床特征的进行性神经退行性病变。在 AD 的发病机制中,淀粉样蛋白瀑布假

说占有一定地位,认为 APP 基因突变异常剪切导致 A β 过量产生,同时 A β 自身清除和降解代谢障碍造成 A β 集聚形成老年斑。但该假说有局限性,

收稿日期:2012-10-08;修回日期:2012-11-16

作者简介:李玉梅(1986-),女,在读硕士研究生,主要从事痴呆及脑血管病的研究。

通讯作者:付剑亮,男,博士,副主任医师,硕士研究生导师,主要从事痴呆及脑血管病的研究。E-mail:fujianliang@163.com。