



电子、语音版

·综述·

三结构域蛋白家族蛋白在脑缺血/再灌注损伤中作用的研究进展

曹飘, 熊冰婕, 梁涛, 刘安祥, 张骏
遵义医科大学附属医院, 贵州 遵义 563000

摘要: 脑缺血/再灌注(I/R)会导致不同程度的损伤,是缺血性脑卒中恶化的主要原因,具有高发病率、高复发率、高致残率及高死亡率的特点。一旦发生,则很可能导致严重的脑功能障碍,其病因复杂,相关分子机制尚不明确。目前主要治疗仍为溶栓治疗,但其时间窗限制严格,导致溶栓治疗率低,故探索更加有效的治疗手段将会为患者减少疾病带来的痛苦。三结构域蛋白是细胞生存、凋亡和氧化应激等重要调节因子,已有部分研究报道三结构域蛋白家族中的部分蛋白质在脑缺血/再灌注损伤(CIRI)中炎症反应阶段起重要作用,但相关机制未完全明确。该文就三结构域蛋白家族在脑缺血/再灌注损伤中的相关机制研究综述如下,期望能对今后的相关研究提供参考。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(6): 77-81]

关键词: 脑缺血;再灌注损伤;三结构域蛋白;研究进展

中图分类号:R743.3

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.06.015

Research advances in the role of tripartite motif family in cerebral ischemia-reperfusion injury

CAO Piao, XIONG Bing-Jie, LIANG Tao, LIU An-Xiang, ZHANG Jun

Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China

Corresponding author: ZHANG Jun, Email: zyzj8586@163.com

Abstract: Cerebral ischemia-reperfusion (I/R) can lead to varying degrees of injury, which is the main reason for the deterioration of ischemic stroke, with the features of high incidence rate, high recurrence rate, high disability rate, and high mortality rate. Once it occurs, it is likely to cause serious brain dysfunction. Cerebral ischemia-reperfusion has a complex etiology, and related molecular mechanism is still unclear. At present, thrombolytic therapy is the main treatment method for this disease, but the strict limits on time window lead to the low rate of thrombolytic therapy, and therefore, exploring more effective treatment means will reduce the pain caused by such disease. Tripartite motif (TRIM) proteins are important regulatory factors for cell survival, apoptosis, and oxidative stress, and some studies have reported that some proteins in the TRIM family play an important role in the inflammatory response stage of cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI), but related mechanism remains unclear. This article reviews the related mechanisms of TRIM family in CIRI, so as to provide a reference for subsequent studies.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(6): 77-81]

Keywords: cerebral ischemia; reperfusion injury; tripartite motif; research advances

卒中是全世界成人残疾和死亡的主要人类疾病负担,超过80%的病例由缺血性事件引发的。缺血性脑卒中中具有高致残率、发病率和死亡率,严重威胁着老龄人口

的生活质量。与其他脑细胞相比,神经元具有更高的能量需求,缺乏血液供应会扰乱细胞稳态,最终导致神经元死亡^[1]。无论是在缺血或再灌注期间,都会发生一系列

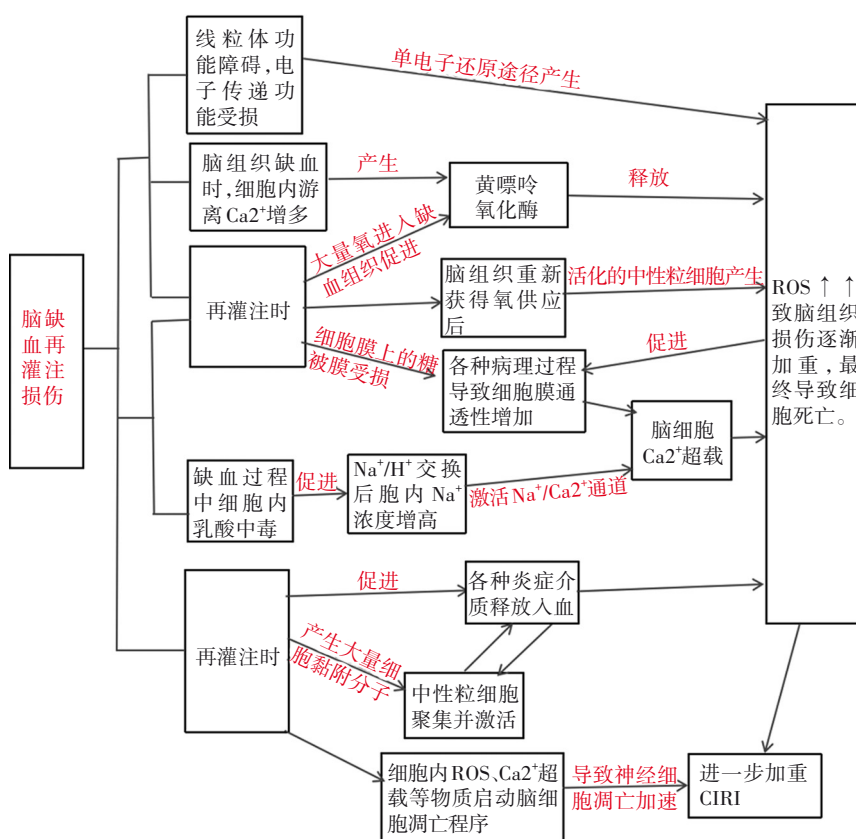
基金项目:国家自然科学基金(81760225);遵义市科委[遵市科合HZ字(2021)104号];贵州省中医药管理局(QZYY-2021-006)。

收稿日期:2022-05-25;修回日期:2022-11-02

通信作者:张骏,男,主任医师,教授,主要从事脑血管病研究。Email:zyzj8586@163.com。

病理反应,脑缺血/再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)通常发生在缺血性脑卒中后的血液再灌注过程中,相关病理机制^[2]是脑组织缺血进一步缺氧、再灌注过程导致活性氧化物质(ROS)的过度产生、钙超载、中性粒细胞激活等(图1),引起氧化损伤、细胞死亡和神经元丢失,主要病理学改变包括:细胞膜脂质过氧化、蛋白质功能抑制、核酸及染色体破坏和细胞间基质疏松、微血管内红细胞聚集、白细胞黏附和血小板聚集,进而导致血栓形成、血流速度减缓和血流量减少,最终会造成永

久性损伤^[3-4]。因此,及时对缺血性脑组织恢复血液再灌注,建立正常血液循环缩短缺氧时间是治疗的关键^[5]。研究表明,CIRI通常包括多种破坏过程,有炎症、氧化、应激和自噬等,且神经炎症在CIRI的发病机制中起关键作用,最终导致神经元凋亡和脑组织坏死^[6-7]。有研究报道提示,三结构域蛋白(tripartite motif, TRIM)家族蛋白中的部分亚型在CIRI中起重要作用,本文对此进行综述,希望能对今后的研究提供参考。



ROS: 活性氧(reactive oxygen species)

图1 脑缺血/再灌注损伤机制图

1 TRIM家族生物学特性

TRIM家族也称为RING B-box 卷曲螺旋(RBCC),基于C端结构域的差异,TRIM蛋白家族分为11个亚类(C I至CXI),此外,由于少数TRIM蛋白缺乏RING结构域,分类还不明确,被称为TRIM样蛋白(TRIM-like proteins)(如图2所示)。TRIM家族是一组与多种生理过程相关的蛋白质,包括细胞增殖、多能性、DNA修复、转录和信号转导^[8],这是一个相当大的家族,不同生物种类含有的数量不同,其中,在人类细胞中发现的TRIM基因有80多个^[9-10]。TRIM家族成员几乎都有1个锌指结构域(RING-finger domain, RD)、1个或2个B-box结构域(B-boxdomain, B-box)、1个螺旋结构域(coiled coildomain, CC)和1

个可变的C-末端,其中RING结构域一般位于N末端的第10~20个氨基酸残基上,约有40~60个氨基酸大小,含有连接酶活性,可介导蛋白质-蛋白质结构域的E3泛素化^[8]。TRIM家族蛋白与多种生理过程有关,包括细胞增殖^[11]、DNA修复^[12]、多能性^[13]、信号转导^[14]和转录。近年来,TRIM家族蛋白逐渐成为国内外癌症研究领域的热门话题。同时也有研究表明,TRIM家族与神经系统疾病有关,包括多发性硬化、阿尔茨海默病、精神分裂症、注意缺陷多动障碍及CIRI等^[10],到目前为止的研究发现,与CIRI相关的亚型主要包括TRIM8、TRIM14、TRIM32、TRIM47、TRIM62。

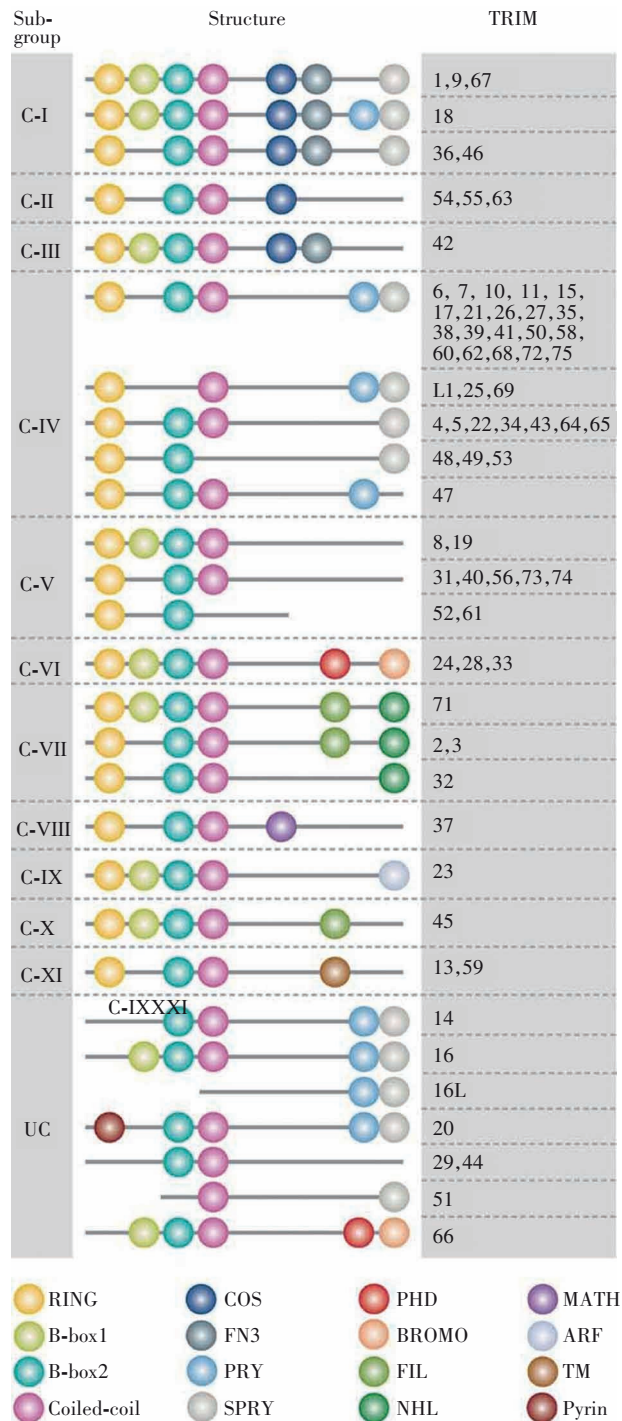


图2 TRIM 家族的分类^[15]

2 TRIM 家族蛋白相关亚型在 CIRI 中的作用

2.1 TRIM8

TRIM8 作为 TRIM 家族中的一员,主要参与调控细胞生长、抗病毒、介导机体炎症和免疫反应等^[16],故参与了 CIRI、帕金森、恶性肿瘤、心血管系统疾病、肾小球硬化等多种疾病的发生和发展^[17-18]。对于其参与 CIRI 的机制,Wei 等^[17]通过体外 CIRI 模型,研究了 TRIM8 在调节氧-葡萄糖剥夺(oxygen glucose deprivation, OGD)/再氧化(Re-

oxidation, R)诱导的神经元凋亡和氧化应激中的潜在功能和分子机制,得出 TRIM8 下调后,可引起腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)表达增强,进一步激活 Nrf2/ARE 信号通路,发挥抗氧化作用,从而保护 OGD/R 诱导的神经元损伤,表明 TRIM8 在 CIRI 中的潜在作用。当发生 CIRI 时,随即会出现炎症反应[肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素 6 (interleukin-6, IL-6) 等一系列炎症小体出现高表达]。Bai 等^[19]使用小鼠大脑中动脉闭塞诱导脑卒中模型,检测到 TRIM8 出现过表达时,可进一步促进脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein, MCP-1) 表达,且 LPS 在星形胶质细胞(Astrocyte, AST)中诱导的磷酸化 kappa B 抑制因子激酶(phosphorylation κ B inhibitor kinase α , p-IKK α)、磷酸化 kappa B 抑制因子(phosphorylation κ B inhibitor α , p-IkB α)和磷酸化核因子 kappa B (phosphorylation nuclear factor kappa B, p-NF- κ B) 的表达也显著增强。为进一步验证,研究者通过使 TRIM8 在处理过的小胶质细胞中过表达,发现炎症介质进一步表达增加,当 TRIM8 沉默时表达减少。可见 TRIM8 参与 CIRI 是通过激活 NF- κ B 通路来增强炎症介质的产生,最终导致细胞炎症和凋亡。以上研究为 TRIM 8 作为 CIRI 的潜在治疗靶点提供了理论基础和实验依据,但研究数据尚少,还需大量实验加以证实。

2.2 TRIM14

TRIM14 作为 TRIM 家族的重要一员,具有调控先天免疫反应、影响细胞分化等生理作用^[20]。TRIM14 的表达是由干扰素(interferon, IFN)-I 诱导的,IFN-I 通过干扰素刺激应答元件(interferon stimulation response element, ISRE)激活 TRIM14 启动子,干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF)-1 和 IRF-2 与 TRIM14 启动子结合并激活 TRIM14 的转录^[21]。

促炎细胞因子激活内皮细胞与动脉粥样硬化和其他血管疾病的发病机制密切相关,然而控制内皮细胞活化的分子机制还不完全清楚。Xuan 等^[22]研究发现,TRIM14 是通过激活 NF- κ B 信号通路,进而激活内皮细胞的 1 种新的积极调节因子。TRIM14 在人血管内皮细胞(endothelial cell, EC)中高度表达,并由 TNF- α 、IL-1 β 和 LPS 等炎症刺激物显著诱导。既往研究报道,其主要在机体的先天性免疫调节和免疫抗感染等方面发挥重要功能^[23]。有实验研究报道,TRIM14 在 CIRI 大鼠中的表达增加^[24],进一步验证发现 TRIM14 抑制的 CIRI 组大鼠,通过实时定量 PCR(qRT-PCR)和酶联免疫吸附测定(ELISA)检测 IL-6、IL-1 β 、TNF α 等的表达水平,与 CIRI 组相比差异有统计学意义;通过蛋白质印迹方法检测 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain

associated protein 3, NLRP3)及NF- κ B等蛋白质发现TRIM14抑制组这些蛋白质表达水平显著降低,故而得出结论,发生CIRI时TRIM14表达增加,调节下游NF- κ B/NLRP3信号通路产生大量炎症因子,进而加重炎症反应,其次引起细胞凋亡,最终加重CIRI。对于TRIM14参与CIRI方面的机制,目前报道的研究数据同样较少,需要后期大量的研究加以证实。

2.3 TRIM32

有研究报道,TRIM32具有E3泛素连接酶活性^[11, 25],其也在细胞核中表达,可调节基因的转录^[26-28]。TRIM32在细胞分化和增殖、抗病毒反应、肿瘤发生和细胞凋亡中发挥作用^[29]。TRIM32在发育中的大脑的神经祖细胞中表达并调节神经元分化,但在正常未受损伤脊髓的神经胶质细胞中几乎未检测到,而在受损伤脊髓的星形胶质细胞和小胶质细胞中高度上调^[30]。为了研究TRIM32与CIRI之间是否相关,Wei等^[31]从10只怀孕的Wistar大鼠中分离并培养海马神经元,在细胞水平上通过qRT-PCR和蛋白质印迹等方法进行研究,发现与在常规氧条件下培养的神经元相比,经受OGD/R的海马神经元中TRIM32的mRNA水平的表达显著增加了5.47倍,蛋白质表达增加了3.21倍,从而得出OGD/R诱导的神经元中TRIM32的表达显著增加的结论。为了进一步验证,研究者通过在海马神经元中转染si-TRIM32将TRIM32敲低,Western印迹分析结果显示si-TRIM32显著降低TRIM32蛋白水平至对照组的25.2%,OGD/R刺激后,海马神经元的细胞活力降低至37.2%。相反,在si-TRIM32转染的神经元中,细胞活力显著增加至约67.3%。Wei等^[31]的研究还发现经受OGD/R刺激的海马神经元中ROS水平显著增加346.3%;在同等条件下,TRIM32的下调降低ROS生成214.2%。可见TRIM32下调对神经元的保护是通过神经元中Nrf2信号通路的激活所致,TRIM32存在时,Nrf2信号通路的激活受限,进一步增强OGD/R诱导的神经元损伤、氧化应激和细胞凋亡。TRIM32参与CIRI的相关机制有待进一步深入研究证实。

2.4 TRIM47

作为TRIM家族的成员,TRIM47蛋白该家族其他蛋白的基本结构一致,是由TRIM47基因编码,该基因全长4 412 bp,定位于17号染色体q24~q25区域,TRIM47同样也具有RING结构域发挥E3连接酶的活性作用^[32]。其主要参与癌症的发生,在许多癌症中显示出重要的功能,比如肾母细胞癌、胃癌、胶质母细胞瘤等^[33-35]。但也有人发现,TRIM47过度表达通过促进细胞凋亡和炎症反应加速脑缺血损伤,而TRIM47基因敲除后对CIRI有保护作用。Hao等^[36]的研究指出,TRIM47基因敲除可减轻CIRI,与其通过抑制Caspase-3裂解,进而抑制凋亡相关。此外,减少TRIM47的表达后可阻断NF- κ B信号,进一步促进大

脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠模型中促炎因子[IL-6、TNF- α 和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)]的释放明显减少。由此可以推测,TRIM47加速了CIRI的过程,相信随着研究不断深入,不久的将来会有更多的证据证明。

2.5 TRIM62

TRIM62也称为导管上皮相关RING染色体1(ductal epithelium-associated RING chromosome 1, DEAR1),具有高度保守的RBCC结构域。N端为RING结构域,之后为B-box结构域,故也具有E3泛素连接酶活性,在调节细胞过程中具有多种功能^[37]。有研究表明,TRIM62的RING结构域与B-box结构域对诱导先天免疫通路NF- κ B/AP-1有重要作用^[38]。然而,TRIM62对CIRI的影响机制仍不明确。Liu等^[39]的研究报道了在氧-葡萄糖剥夺(OGD)处理的小胶质细胞中TRIM62表达显著上调。脑缺血后,野生型小鼠梗死周围区域的TRIM62表达显著升高。同样TRIM62基因敲除小鼠在缺血脑内表现出细胞凋亡和神经炎症的减轻,最终减轻了脑缺血的损伤。体外和体内研究均表明,在CIRI条件下,含有NLRP3炎性体的核苷酸结合寡聚结构域样受体家族被显著激活,而在TRIM62基因敲除小鼠中得到改善,实验表明抑制TRIM62的表达可通过抑制NLRP3调节的神经炎症,对缺血性中风具有保护作用。同样也要今后大量的研究进一步证实。

3 结语

综上,TRIM家族中的TRIM8、TRIM14、TRIM32、TRIM47、TRIM62通过相关机制参与了CIRI的发生和发展,其主要通过不同的信号通路参与了疾病的炎症进展过程。TRIM家族是近年来发现的CIRI的新型标志物,但是对于其参与CIRI的相关机制目前报道仍较少,还需大量实验证实,相信随着研究的不断深入进展,相关机制会更加明确,并会有越来越多的亚型被发现,最终成为CIRI的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] LIU F, LU JF, MANAENKO A, et al. Mitochondria in ischemic stroke: new insight and implications[J]. Aging Dis, 2018, 9(5): 924-937.
- [2] 庄伟,陈金波. 脑缺血再灌注损伤[J]. 国际脑血管病杂志, 2019, 27(12): 948-952.
- [3] XING CH, HAYAKAWA K, LO EH. Mechanisms, imaging, and therapy in stroke recovery[J]. Transl Stroke Res, 2017, 8(1): 1-2.
- [4] HOFMEIJER J, VAN PUTTEN MJAM. Ischemic cerebral damage: an appraisal of synaptic failure[J]. Stroke, 2012, 43(2): 607-615.
- [5] YUAN QH, YUAN Y, ZHENG Y, et al. Anti-cerebral ischemia reperfusion injury of polysaccharides: a review of the mechanisms[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 137: 111303.
- [6] SHI M, WANG JQ, BI FF, et al. Diosmetin alleviates cerebral

- ischemia-reperfusion injury through Keap1-mediated Nrf2/ARE signaling pathway activation and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37(6): 1529-1542.
- [7] ZHAO HS, LIU YS, CHEN N, et al. PHLDA1 blockade alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by affecting microglial M1/M2 polarization and NLRP3 inflammasome activation[J]. *Neuroscience*, 2022, 487: 66-77.
- [8] WATANABE M, HATAKEYAMA S. TRIM proteins and diseases[J]. *J Biochem*, 2017, 161(2): 135-144.
- [9] 王娟,谢妮. TRIM家族在乳腺癌中的研究进展[J]. *生命科学*, 2021, 33(11): 1363-1369.
- [10] 蔡园杰,万晓琪,王艳. TRIM家族在宫颈癌中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(1): 215-219.
- [11] KANO S, MIYAJIMA N, FUKUDA S, et al. Tripartite motif protein 32 facilitates cell growth and migration via degradation of Abl-interactor 2[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(14): 5572-5580.
- [12] MASUDA Y, TAKAHASHI H, SATO S, et al. TRIM29 regulates the assembly of DNA repair proteins into damaged chromatin[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7299.
- [13] SATO T, OKUMURA F, ARIGA T, et al. TRIM6 interacts with Myc and maintains the pluripotency of mouse embryonic stem cells[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 6): 1544-1555.
- [14] OKUMURA F, MATSUNAGA Y, KATAYAMA Y, et al. TRIM8 modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3[J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 13): 2238-2245.
- [15] KAWAI T, AKIRA S. Regulation of innate immune signalling pathways by the tripartite motif (TRIM) family proteins[J]. *EMBO Mol Med*, 2011, 3(9): 513-527.
- [16] 马增友,秦歌,郑浩懿,等. TRIM8基因在小鼠组织和早期胚胎中的表达及其功能初探[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2022, 50(5): 9-17.
- [17] ZHAO W, ZHANG XJ, CHEN Y, et al. Downregulation of TRIM8 protects neurons from oxygen-glucose deprivation/re-oxygenation-induced injury through reinforcement of the AMPK/Nrf2/ARE antioxidant signaling pathway[J]. *Brain Res*, 2020, 1728: 146590.
- [18] WARREN M, TAKEDA M, PARTIKIAN A, et al. Association of a de novo nonsense mutation of the TRIM8 gene with childhood-onset focal segmental glomerulosclerosis[J]. *Pediatr Nephrol*, 2020, 35(6): 1129-1132.
- [19] BAI X, ZHANG YL, LIU LN. Inhibition of TRIM8 restrains ischemia-reperfusion-mediated cerebral injury by regulation of NF- κ B activation associated inflammation and apoptosis[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 388(2): 111818.
- [20] 杨志贤,侯飞,李浩宇,等. TRIM14在恶性肿瘤中的研究进展[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2018, 45(12): 731-734.
- [21] CUI JG, XU X, LI YT, et al. TRIM14 expression is regulated by IRF-1 and IRF-2[J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(8): 1413-1420.
- [22] HUANG X, LI Y, LI XZ, et al. TRIM14 promotes endothelial activation via activating NF- κ B signaling pathway[J]. *J Mol Cell Biol*, 2020, 12(3): 176-189.
- [23] 丁燕,夏雨佳,胡明. 三结构域蛋白14在结直肠癌组织中的表达及临床意义[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2020, 49(3): 323-327.
- [24] XIE XL, WANG F, LI XJ. Inhibition of TRIM14 protects cerebral ischemia/reperfusion injury through regulating NF- κ B/NLRP3 pathway-mediated inflammation and apoptosis[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2022, 42(2): 197-205.
- [25] LIU J, ZHANG C, WANG XL, et al. E3 ubiquitin ligase TRIM32 negatively regulates tumor suppressor p53 to promote tumorigenesis[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(11): 1792-1804.
- [26] HILLJE AL, WORLITZER MMA, PALM T, et al. Neural stem cells maintain their stemness through protein kinase C ζ -mediated inhibition of TRIM32[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(9): 1437-1447.
- [27] SATO T, OKUMURA F, KANO S, et al. TRIM32 promotes neural differentiation through retinoic acid receptor-mediated transcription[J]. *J Cell Sci*, 2011, 124(Pt 20): 3492-3502.
- [28] HILLJE AL, PAVLOU MAS, BECKMANN E, et al. TRIM32-dependent transcription in adult neural progenitor cells regulates neuronal differentiation[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(12): e976.
- [29] TOCCHINI C, CIOSK R. TRIM-NHL proteins in development and disease[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 47-48: 52-59.
- [30] FU Q, ZOU MM, ZHU JW, et al. TRIM32 affects the recovery of motor function following spinal cord injury through regulating proliferation of glia[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(28): 45380-45390.
- [31] WEI L, ZHANG JS, JI SF, et al. Knockdown of TRIM32 protects hippocampal neurons from oxygen - glucose deprivation - induced injury[J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(9): 2182-2189.
- [32] 陈丽青. TRIM47的表达与浆液性卵巢癌临床病理特征、预后的关系[D]. 广州:南方医科大学, 2021.
- [33] 陈佳鑫. 泛素连接酶TRIM47促进肾细胞癌恶性生物学行为的机制研究[D]. 上海:中国人民解放军海军军医大学, 2020.
- [34] 黄晋熙. 抑制TRIM29的表达与胃癌细胞增殖关系的研究[D]. 郑州:郑州大学, 2016.
- [35] 孙露,梁若飞. 基于数据库分析TRIM47基因在胶质母细胞瘤中的表达及其临床意义[J]. *医学信息*, 2022, 35(4): 6-9.
- [36] HAO MQ, XIE LJ, LENG W, et al. Trim47 is a critical regulator of cerebral ischemia-reperfusion injury through regulating apoptosis and inflammation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 515(4): 651-657.
- [37] 杨洁. TRIM62调节ARPC5抑制禽网状内皮组织增生症病毒复制的研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2021.
- [38] UCHIL PD, HINZ A, SIEGEL S, et al. TRIM protein-mediated regulation of inflammatory and innate immune signaling and its association with antiretroviral activity[J]. *J Virol*, 2013, 87(1): 257-272.
- [39] LIU X, LEI Q. TRIM62 knockout protects against cerebral ischemic injury in mice by suppressing NLRP3-regulated neuroinflammation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 529(2): 140-147.

责任编辑:龚学民