

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.13.046

酸敏感离子通道与脑梗死*

张 映 刘颖异 胡玲琴 马 驰 潘玉君[△]

(哈尔滨医科大学第一附属医院 黑龙江 哈尔滨 150000)

摘要:急性脑梗死约占全部脑卒中的 70%,病死率和致残率高,且极易复发。但目前针对急性脑梗死在时间窗内溶栓、抗凝等治疗手段不能从根本上切实有效地修复受损脑组织,且伴有出血等风险。寻找脑梗死形成发展的原因并予以治疗迫在眉睫。酸中毒是引起缺血性脑损伤的重要机制。大量实验研究表明,酸中毒能加重神经元的缺血性损伤,且其梗死面积与酸中毒的程度直接相关。但缺血产生的酸中毒如何引起神经元损伤的确切机制尚不明确。最近研究发现酸中毒能激活一种在中枢及周围神经中广泛存在的膜通道,即酸敏感离子通道,它对 Ca^{2+} 通透,能引起细胞内 Ca^{2+} 超载,同时能激活胞内酶引起细胞内蛋白质、脂类及核酸的降解,加重缺血后脑损伤。本文就酸敏感离子通道 1a 与脑梗死做一综述。

关键词:酸敏感离子通道 1a;脑缺血;酸中毒

中图分类号:R743 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)13-2566-03

Acid-sensing Ion Channels and Ischemic Brain Injury*

ZHANG Ying, LIU Yin-yi, HU Ling-qin, MA Ci, PAN Yu-jun[△]

(The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang province, harbin, 150000, China)

ABSTRACT: Cerebral ischemia is a leading cause of death and long-term disabilities which accounted for 70% of stroke, and it easy to relapse. Unfortunately, Current clinical practices for acute cerebral infarction utilize thrombolytic anticoagulation cannot fundamentally repair the damaged issue, and accompany with risk of bleeding. Looking for cerebral infarction etiology and treatment is urgent. Acidosis is a common feature in cerebral ischemia and was known to cause brain injury. The mechanisms were, however, unclear. The finding that Acid-sensing Ion Channels are highly enriched in brain neurons, their activation by ischemic acidosis, and their demonstrated Ca^{2+} permeability, excessive accumulation of Ca^{2+} in neurons leads to uncontrolled activation of various enzymes causing breakdown of proteins, lipids, and nucleic acids, aggravate the destruction of neurons. The article reviews the relation ASIC1a and Ischemic Brain Injury.

Key words: ASIC1a; Cerebral ischemia; Acidosis

Chinese Library Classification(CLC): R743 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)13-2566-03

酸敏感离子通道(ASICs)是一类能被细胞外酸化基团所激活的配体门控通道,属于退化蛋白/钠通道超家族中的一员。迄今为止已发现七种亚型:ASIC1a、ASIC2a、ASIC1b、ASIC1b2、ASIC2b、ASIC3 和 ASIC4,广泛分布于中枢神经系统及周围感觉神经系统内。其中 ASIC1、ASIC2a、ASIC3 可形成同聚体通道,ASIC2b、ASIC4 形成异聚体通道,表现与同聚体通道不同的电流表型及离子选择性,在脑缺血、多发性硬化、脊髓损伤等疾病中发挥着重要的作用^[1]。

ASIC1a 是广泛分布于大脑、小脑、脊髓及神经节等组织内的酸敏感通道。参与突触的塑造、学习、记忆、应答及惊恐反射等生命活动^[2]。同时,缺血性酸中毒后,ASIC1a 被激活,介导 Ca^{2+} 内流,引起谷氨酸非依赖性神经元损伤^[3]。

脑梗死是当今世界上严重威胁人类健康的三大因素之一。但目前针对急性脑梗死在时间窗内溶栓、抗凝等治疗手段不能从根本上切实有效地修复受损的脑组织,且伴有出血等风险。

而应用谷氨酸受体拮抗剂治疗脑梗死由于拮抗剂本身的毒性、脑缺血超早期治疗时间窗短及抑制脑缺血后期神经元功能的恢复等副作用而未得到广泛推荐^[4]。最近研究发现,缺血性酸中毒后 ASIC1a 被激活,介导钙离子内流,而过量的 Ca^{2+} 激活磷脂酶及钙敏感蛋白酶,引起蛋白质、脂类和核酸的降解;同时,线粒体内 Ca^{2+} 超载引起线粒体通透性增加,导致线粒体释放包括细胞色素 C、Smac/DIABLO 和 AIF 等线粒体凋亡因子在内的各种蛋白,从而启动细胞凋亡程序引起细胞凋亡,加重缺血后神经细胞损伤^[5]。本文就 ASIC1a 引起脑梗死的机制做一综述。

1 酸中毒与 ASIC1a 介导的损伤

酸中毒是脑缺血、阿尔兹海默病、癫痫发作、创伤性脑损伤等神经系统疾病常见的病理变化。一般状态下,有氧氧化为神经活动提供能量并使大脑的 pH 维持在 7.3 左右;脑缺血期间,

* 基金项目:黑龙江省教育厅海外学人科研资助项目(1155h005);哈尔滨医科大学附属第一医院科研基金(R08-002)

作者简介:张映(1987-),女,在读硕士,主要研究方向:脑血管病,E-mail:244592876@qq.com

[△]通讯作者:潘玉君,男,主任医师,主要研究方向:脑血管病,E-mail:yujunpan@126.com

(收稿日期:2013-10-25 接受日期:2013-11-20)

氧供不足使细胞进行无氧酵解,其产物乳酸与ATP水解产物质子在缺血组织周围聚集引起pH值下降至6.0以下,并打破体内相对稳定的酸碱平衡环境。同时酸中毒抑制大部分电压门控离子通道及膜受体的活性。故酸中毒被认为是引起缺血性脑损伤的重要原因^[5]。

ASIC1a广泛分布于外周与中枢神经系统,参与机体的生理及病理反应。缺血性酸中毒时,大脑皮层神经元的ASIC1a通过NMDA、AMPA等对 Ca^{2+} 通透,引起细胞内 Ca^{2+} 超载,介导酸中毒,同时参与非谷氨酸依赖性神经元损伤。Xiong等^[6]在离体及在体大鼠缺血模型中,发现ASIC1a的活性与缺血后pH改变相关。脑缺血后,无氧酵解增加,引起神经元细胞内的pH下降,形成明显的酸中毒,它激活局部缺血部位的ASIC1a电流,并增强ASIC1a通道的毒性作用,加重脑损伤;而同聚体ASIC1a通道对 Na^+ 和 Ca^{2+} 有选择性,是除电压门控和NMDA门控之外的另一个促进 Ca^{2+} 进入神经元的重要通路。另外Giuseppe在大脑中动脉缺血60分钟再灌注12小时的大面积梗死模型中,发现通过碱性物质提高缺血半暗带区的PH值或脑室内注入ASIC1a的特异性抑制剂PcTX1后,缺血周围的神经损伤明显减少,且其保护作用可持续七天以上;同时PcTX1可延长谷氨酸受体拮抗剂治疗脑梗死的时间窗^[7]。进一步证实了ASIC1a加重缺血性酸中毒后神经细胞的凋亡。

2 缺血相关信号与ASIC1a活性

ASIC1a在酸性环境中退化的过程被称作酸通道的脱敏。当PH值在7.4-7.0变化时通道处于抑制状态,不能被激活;而pH过度下降(小于6.0)时则会引起通道脱敏^[8]。此外,缺血性酸中毒后其他许多离子通道的表达会受到抑制。因此,在脑缺血时,神经细胞内环境及离子稳态改变,细胞内ASIC1a通道是否能被激活及激活ASIC1a受哪些因素的影响决定ASIC1a各种功能及脑缺血的进展。

2.1 花生四烯酸

花生四烯酸(AA)是一种不饱和脂肪酸,以磷脂的形式存在于细胞膜上,也是大脑中最丰富的脂肪酸。它作为第二信使参与细胞内信号传导,同时在大脑缺血性损伤中发挥着重要的作用。脑缺血后,钙离子内流,激活磷脂酶A2,引起脂质介质AA的大量释放,同时改变血脑屏障及细胞膜的通透性。另外AA作为一种电压依赖性的配体门控通道,能增强NMDA通道的电流,加重缺血性神经损伤^[9]。Allen与Attwell^[10]在缺血再灌注损伤的实验模型中分别向大鼠的浦肯野细胞注入5 μmmol 与10 μmmol 的花生四烯酸后,发现ASIC1a电流的振幅及峰值明显增加,且注入的花生四烯酸浓度越大,其电流的振幅越高。因此,激活ASIC1a是花生四烯酸产生毒性加重缺血性神经损伤的机制之一。

2.2 CaMKII

钙离子/钙调素依赖的蛋白激酶(CaMKII)在大脑中广泛存在,是兴奋谷氨酸受体激酶的亚型,在突触可塑性中起着重要作用。脑缺血后,大量 Ca^{2+} 进入细胞,它们通过谷氨酸受体激活CaMKII并引起CaMKII的自身磷酸化,调节ASIC1a功能^[11]。Gao^[12]在研究CaMKII与酸中毒的关系时发现ASIC1a的反义RNA和ASIC1a的特异性拮抗剂PCTX1可以防止缺血性脑神经损伤。同时他们在大鼠全脑缺血实验中发现,ASIC1a中

的Ser478和Ser479在NMDAR-CaMKII偶联条件下磷酸化,这种磷酸化使通道对低pH值更敏感,从而促进 Ca^{2+} 内流,加剧细胞死亡;而使NMDAR-CaMKII解偶联会减缓缺血后的神经损伤;另外,Xiong等^[6]脑室内注入CaMKII的特异性拮抗剂(KN-93)抑制CaMKII的活性后,ASIC1a蛋白磷酸化被抑制,并出现ASIC1a电流振幅的增加。这均证实CaMKII通过与NMDA受体偶联介导ASIC1a磷酸化而加重缺血后神经损伤。

2.3 强啡肽类物质(Dynorphins)

强啡肽类物质是在中枢神经系统内广泛表达内源性神经肽,参与多种生理及病理活动。在缺血等病理条件下,啡肽类物质表达增加,它们具有神经毒性,参与谷氨酸受体介导的神经损伤。Sherwood和Askwith^[13]在实验中发现高浓度的强啡肽类物质能阻断ASIC1a在稳态下的脱敏并激活大鼠皮层神经元形成酸活化电流。缺乏强啡肽类物质时,ASIC1a在pH值为7.0时即开始脱敏,而存在强啡肽类物质时,ASIC1a在pH值为7.0时被广泛激活。另外,强啡肽类物质能直接增强ASIC1a活性而不依赖与强啡肽类物质的阿片样作用,且这种作用能被PC-TX1阻断。显示强啡肽类通过延长酸中毒时间介导ASIC1a加重脑损伤。

2.4 乳酸

乳酸是组织缺血无氧酵解的重要产物。Immke与McCleskey在实验中发现心绞痛发作时,pH值下降至7.0,乳酸增加并引起明显胸痛;冠状动脉闭塞时,pH值下降至6.7,乳酸进一步增加但胸痛缓解。证实乳酸能促进心脏感觉神经及COS-7细胞内的ASIC1a电流振幅增加^[14]。一般状态下,乳酸多作用于离体的细胞膜,由于缺乏第二信使的参与,它不能直接激活ASIC1a。但脑缺血后,乳酸与细胞内超载的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等二价阳离子形成螯合物,它能增强ASIC1a离子通道的电流,促进神经细胞的凋亡;另外,通过降低 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等物质的浓度可减少乳酸对缺血性损伤的影响。故缺血后,无氧酵解产物乳酸通过与二价阳离子形成螯合物增强ASIC1a对缺血后神经细胞的损伤^[15,16]。

2.5 一氧化氮

一氧化氮是一种重要的活性物质,同时作为第二信使及神经递质,在细胞间的信息传递及激活cGMP-PKG通路中起着重要作用^[17]。脑缺血时,细胞内 Ca^{2+} 超载,引起 Ca^{2+} 依赖的一氧化氮合酶活性增加,释放NO等活性代谢产物。而大量聚集的NO对神经细胞具有损伤作用,它与超氧阴离子反应生成超氧亚硝酸根离子,而超氧亚硝酸根离子及其分解产物羟自由基可产生细胞毒性作用;同时NO还可以引起细胞核酸亚硝酰化,破坏DNA结构,形成亚硝酰铁络合物,从而抑制细胞呼吸和DNA复制有关的酶活性^[18,19]。Cadiou^[20]等研究发现NO的直接供体S-亚硝基-N-乙酰青霉胺(SNAP)能促进脊神经节细胞及CHO形成ASIC1a电流,调节cGMP-PKG通路不能改变ASIC1a电流,但应用还原剂可减少ASIC1a的电流的振幅,显示NO通过氧化同型半胱氨酸残基调节ASIC1a活性加重脑梗死。

2.6 蛋白酶

脑缺血后,肿瘤坏死因子、白介素及其他炎性因子刺激小胶质细胞、上皮细胞及中性粒细胞等释放氧自由基并激活体内多种蛋白酶,它们破坏血脑屏障,并通过血脑屏障进入脑组织,

破坏脑内酶的平衡,加重脑损伤^[21]。Poirot 等^[22]的研究表明:在 pH 7.4 时,丝氨酸蛋白酶特异性地降低 ASIC1a 通道活性,并形成振幅较小的 ASIC1a 电流;而当 pH 7.0 时,ASIC1a 被激活,同时丝氨酸蛋白酶加强其活性,出现 ASIC1a 电流振幅明显增加。最近 Vukicevic 的研究发现:丝氨酸蛋白酶调控 ASIC1a 的开放与关闭时主要是通过切割了 145 位精氨酸(Arg-145)实现的,而该位点是位于 ASIC1a 通道细胞外环上靠近 N 端的一个与 PCTX1 结构类似的保守区域^[23]。上述研究表明:严重脑缺血时,pH 低于 7.0,蛋白酶被激活,同时激活 ASIC1a 介导的酸中毒加剧神经缺血损伤;而在轻度缺血时,pH 在 7.0-7.4 之间,活化的蛋白酶抑制 ASIC1a 的活性,有利于减少缺血后神经细胞的损伤^[24,25]。

2.7 精胺

精胺是一种直链多价阳离子碱性胺,参与各种生理及病理过程。高浓度精胺能诱导神经元去极化和胞质钙离子超载,引起神经细胞损伤。脑缺血后,合成多胺的限速酶 ODC 合成增加,导致细胞内精胺升高,而精胺及其代谢物通过谷氨酸途径加重脑损伤^[26]。Duan 等^[27]在大鼠大脑中动脉短暂性缺血 40 分钟的模型中发现:缺乏精胺时,大鼠的脑梗死面积约 10%左右,当向其脑室内注入 2.5 $\mu\text{mol/l}$ 的精胺后,梗死面积增加至 44%左右,且注入的精胺浓度越大,梗死面积越大。同时发现在应用精胺的特异性阻滞剂 PCTX1 抑制精胺的活性后,大鼠脑梗死面积降至 18%。证实细胞外的精胺能显著减缓 ASIC1a 开放后的脱敏速度,而反复酸刺激促进其恢复至激活状态。因此,精胺存在时,在脑缺血的刺激下,ASIC1a 重复开放,造成大量 Ca^{2+} 流入及细胞膜去极化,导致神经元死亡,加重脑损伤。

3 结论

脑缺血是世界范围内一个重要的健康问题,但至今未得到切实有效地治疗。寻找确切的脑损伤机制并治疗迫在眉睫。酸中毒是脑缺血后引起脑损伤重要原因,而 ASIC1a 在缺血性酸中毒中激活并诱导细胞内钙离子聚集,损伤神经细胞。因此阻碍 ASIC1a 通道,减少缺血组织酸中毒时的钙内流可作为脑梗死治疗的新方向。

参考文献(References)

- [1] Stefan Grönderl, Xuanmao Chen. Structure, function, and pharmacology of acid-sensing ion channels (ASICs): focus on ASIC1 [J]. *Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 2010,2(2):73-94
- [2] Z. G. Xiong, X. P. Chu, R.P. Simon. Ca^{2+} -Permeable Acid-sensing Ion Channels and Ischemic Brain Injury[J].*Membrane Biol*, 2009: 59-68
- [3] Ikonomidou C, Turski L. Why did NMDA receptor antagonists fail clinical trials for and traumatic brain injury [J]. *Lancet Neurol*, 2002,1:383-386
- [4] Nielsen TH, Bindlev TT, Pedersen SM, et al. Cerebral energy metabolism during induced mitochondrial dysfunction [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2013,57(2):229-235
- [5] Wang YZ, Xu TL. Acidosis, acid-sensing ion channels, and neuronal cell death[J]. *Mol Neurobiol*, 2011,44(3):350-358
- [6] Xiong ZG, Zhu XM, Chu XP, et al. Neuroprotection in ischemia: blocking calcium-permeable acid-sensing ion channels [J].*Cell*, 2004,118:687
- [7] Giuseppe,pgnataro. Acid-Sensing Ion Channels (ASICs): New Targets in Stroke Treatment[J]. *Contemporary Neuroscience*, 2010:153-173
- [8] Zhi-Gang, Xiong, Tian Le Xu. The role of ASICs in cerebral ischemia [J].*Wires Membr Transp Signal*, 2012,1:655-662
- [9] Rink C, Khanna S. Significance of brain tissue oxygenation and the arachidonic acid cascade in stroke[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011,14(10):1889-903
- [10] Allen NJ, Attwell D. Modulation of ASIC channels in rat cerebellar Purkinje neurons by ischemia-related signals [J]. *Physiol (Lond)*, 2002,543:521-529
- [11] Coultrap SJ, Vest RS, Ashpole NM, et al. CaMKII in cerebral ischemia[J].*Acta Pharmacol Sin*, 2011,32:861-872
- [12] Gao J, Duan B, Wang DG, et al. Coupling between NMDA receptor and acid-sensing ion channel contributes to ischemic neuronal death [J]. *Neuron*, 2005,48:635-646
- [13] Sherwood TW, Askwith CC. Dynorphin opioid peptides enhance acid-sensing ion channel 1a activity and acidosis-induced neuronal death[J]. *Neurosci*, 2009,29:14371-14380
- [14] Immke DC, McCleskey EW. Lactate enhances the acid-sensing Na^{+} channel on ischemia-sensing neurons [J]. *Nat Neurosci*, 2001,4: 869-870
- [15] Heiss WD. The ischemic penumbra: how does tissue injury evolve[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012,1268:26-34
- [16] Kalogeris T, Baner CP, Krenz M, et al. Cell biology of ischemia/reperfusion injury[J].*int Rev Cell Mol Biol*, 2012,298:229-317
- [17] Plekhova NG, Somova LM. The physiological role of nitric oxide in infectious process[J]. *Jusp Fziol Nauk*, 2012, 43(3):62-81
- [18] Terpolilli NA, Moskowitz MA, Plesnila N. Nitric oxide: considerations for the treatment of ischemic stroke[J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2012,32(7):1332-46
- [19] Wei Y, Shen XN, Mai JY, et al. The effects of lycopene on reactive oxygen species and anoxic damage in ischemia reperfusion injury in rats[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2010,44(1):34-38
- [20] Cadiou H, Studer M, Jones NG, et al. Modulation of acid sensing ion channel activity by nitric oxide[J]. *Neurosci*, 2007,27:13251-13260
- [21] Vasiagina N, Sotnikov OS, Gendina EA. Contraction of the injured neuronal processes[J]. *Morfologiya*, 2011,139(2):31-35
- [22] Poirot O, Vukicevic M, Boesch A, et al. Selective regulation of acid-sensing ion channel 1 by serine proteases [J]. *Biol Chem*, 2004,279:38448-38457
- [23] Vukicevic M, Weder G, Boillat A, et al. Trypsin cleaves acid-sensing ion channel 1a in a domain that is critical for channel gating [J]. *Biol Chem*, 2006,281:714-722
- [24] Gingrich MB, Traynelis SF. Serine proteases and brain damage is there a link[J]. *Trends Neurosci*, 2000,23:399-407
- [25] Marin AN, Prica CM, Amuzescu BP, et al. ASIC1a activation by amitriptyline and FMRF-amide is removed by serine proteases [J]. *Channels (Austin)*, 2008,11-12,2(6):419-428
- [26] Li J, Doyle KM, Tatlisumak T. Polyamines in the brain: distribution, biological interactions, and their potential therapeutic role in brain ischaemia[J]. *Curr Med Chem*, 2007,14:1807-1813
- [27] Duan B, Wang Y-Z, Yang T, et al. Extracellular spermine exacerbates ischemic neuronal injury through sensitization of ASIC1a channels to extracellular acidosis[J]. *Neurosci*, 2011, 31:2101-2112