

Br J Surg, 2009, 96(3):280-290.

17 张忠涛. 完全经肛门全直肠系膜切除——腹腔镜直肠癌手术未来的方向? [J]. 中国实用外科杂志, 2015, 35(8):844-846, 856.

18 何流, 肖毅. 经肛门全直肠系膜切除术在直肠癌根治中的应用[J]. 中华胃肠外科杂志, 2017, 20(8):957-960.

19 叶志伟, 陈远光, 胡明, 等. 直肠癌经肛内镜全直肠系膜切除术对肛门功能影响的临床研究[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(4):473-477.

20 中华医学会外科学分会, 结直肠外科学组, 中华医学会外科学分会腹腔镜与内镜外科学组. 直肠癌经肛全直肠系膜切除专家共识及手术操作指南(2017版)[J]. 中国实用外科杂志, 2017, 37(9):978-984.

21 Wolthuis AM, Bislenghi G, de Buck van Overstraeten A, et al. Transanal total mesorectal excision: Towards standardization of technique[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(44):12686-12695.

22 Velthuis S, Nieuwenhuis DH, Ruijter TE, et al. Transanal versus traditional laparoscopic total mesorectal excision for rectal carcinoma [J]. Surg Endosc, 2014, 28(12):3494-3499.

23 Marks JH, Montenegro GA, Salem JF, et al. Transanal TATA/TME: a case-matched study of taTME versus laparoscopic TME surgery for rectal cancer[J]. Tech Coloproctol, 2016, 20(7):467-473.

24 Marks JH, Myers EA, Zeger EL, et al. Long-term outcomes by a transanal approach to total mesorectal excision for rectal cancer[J]. Surg Endosc, 2017, 31(12):5248-5257.

25 Thomsen MH, Ovesen H, Eriksen JR. Combined laparoscopic and transanal total mesorectal excision for rectal cancer: Initial experience and early results[J]. J Minim Access Surg, 2017, 13(2):113-117.

[收稿日期 2018-05-04][本文编辑 潘洪平 韦颖]

新进展综述

P2X7R 在缺血性中风发病中作用的研究进展

王一心, 张枫帆, 乔翔, 王金海(综述), 杜小正(审校)

作者单位: 730000 兰州, 甘肃中医药大学

作者简介: 王一心(1989-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 头穴透刺在缺血性中风中的作用。E-mail: 809201345@qq.com

通讯作者: 杜小正(1973-), 男, 医学博士, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 传统针刺手法的临床与实验研究。E-mail: lz-duxiaozheng@163.com

[摘要] 由于老年人口的持续增加, 脑血管病已成为中老年人死亡的主要原因之一。因此, 进一步研究缺血性中风发生、发展的机制, 积极开展有效的早期预防, 是广大医务工作者的共同愿望。该文对 P2X 嘌呤能受体 7(P2X7R) 在缺血性中风发病中作用的研究进展进行综述, 旨在为缺血性中风的治疗提供理论依据。

[关键词] 缺血性中风; P2X 嘌呤能受体 7; 发病机理

[中图分类号] R 743.3 [文献标识码] A [文章编号] 1674-3806(2019)08-0922-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2019.08.28

Advances in the role of P2X7 receptor in pathogenesis of ischemic stroke WANG Yi-xin, ZHANG Feng-fan, QIAO Xiang, et al. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

[Abstract] Because of the increasing population of the elderly, cerebrovascular diseases have become one of the main causes of death in them. Therefore, it is the common aspiration of medical workers in the world to further study the mechanism of the occurrence and development of ischemic stroke and actively carry out effective early prevention. In this paper, we review the research progress of purinergic 2X7(P2X7) receptor in the pathogenesis of ischemic stroke to provide theoretical basis for the treatment of ischemic stroke.

[Key words] Ischemic stroke; Purinergic 2X7 receptor(P2X7R); Pathogenesis

缺血性中风是脑缺血的最突出和急性表现, 是一种以脑血流中断引起神经系统迅速损伤的综合征^[1]。脑缺血后, 位于缺血中心区的脑血流量显著降低, 导致快速能量衰竭, 三磷酸腺苷(ATP)消耗,

离子失衡和神经元死亡^[2]。细胞外 ATP 在中枢神经系统中是介导不同类型细胞之间相互作用的重要的信号分子^[3],它是一种重要的神经递质,通过激活嘌呤能受体 P2X 和 P2Y 发挥多种作用。P2X 嘌呤能受体 7(P2X7R)是嘌呤能受体 P2X 家族中非常独特的一个亚类,可能处于神经信号过程中相当上游的调节位点,通过调节递质释放、炎症反应、细胞凋亡和增殖,在神经损害及随后的修复过程中起重要作用^[4],被认为是缺血性中风、阿尔茨海默病、多发性硬化症、脊髓损伤、神经性疼痛等疾病潜在的治疗靶点^[5]。笔者就近年来 P2X7R 在缺血性中风作用的研究进展作一综述。

1 P2X7R 的特异性

P2X7R 与其他 P2 受体有明显不同。首先,它是该家族中唯一不跟其他成员形成异聚体受体的分子,对于 P2X7R,395 个氨基酸组成的 N 端序列结构相对比较保守,P2X7 同源率为 35%~40%,无跨膜疏水域,也无同源性蛋白,239 个氨基酸组成的 C 端区在其受体家族中最长,这个长的 C 端尾巴是多种蛋白质和脂质的结合基序^[6],这与细胞定位与特性密切相关^[7]。其次,P2X7 为非选择性阳离子通道,一价、二价的阳离子均可通过。另外,P2X7R 对 ATP 具有较低的亲和力^[8],并且只有相对较高浓度的细胞外 ATP(毫摩尔范围)才能被激活^[6]。P2X7R 的特异性加强了其与缺血性中风的联系。

2 P2X7R 在缺血性中风中的作用

目前,大量研究表明,P2X7R 在缺血性中风中具有重要的作用。Chu 等^[9]发现在大鼠短暂全脑缺血之前给予 P2X7R 拮抗剂,可以剂量依赖地增加大鼠存活率,降低学习记忆缺陷,并减少了海马 CA1 区神经元死亡和神经胶质活化以及炎性细胞因子过表达。在相同的局部缺血模型中,于缺血 2 d 后施用亮蓝 G(BBG)亦可减少海马 CA1 区中神经元死亡、小胶质细胞微泡样组分、白细胞介素-1 β (IL-1 β)表达、P38 磷酸化和神经胶质激活^[10]。同样,在短暂局部缺血 3 d 后,给予 BBG 治疗 3 d,脑损伤程度可降低 60%^[11]。而在局部缺血 3 h 内给予 BBG 可预防轴突破坏^[12],并在缺血 3 d 后大大减轻临床症状,减少梗死面积^[13]。

2.1 P2X7R 介导缺血性中风后神经炎症反应 在脑缺血中,P2X7R 在小胶质细胞、星形胶质细胞、神经元、少突胶质细胞上均可表达。研究^[9]表明,在中枢神经系统(CNS)中 P2X7R 作为一种炎症介质参与调节神经炎症和神经免疫反应。Kaiser 等^[14]

研究表明在 P2X7R 基因敲除的大脑中动脉栓塞模型小鼠中,小胶质细胞对缺血性损伤反应降低。在脑缺血的后期,高水平的 ATP 刺激小胶质细胞上的 P2X7R 过表达^[15],并导致小胶质细胞活化、增殖^[9]和细胞死亡。小胶质细胞的过表达可上调其表面免疫调节蛋白,并释放神经毒性促炎因子如 IL-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)^[15]。这些促炎因子以自分泌方式进一步激活小胶质细胞,并可诱导缺血半影区的继发性炎症损伤。这是一种持续的神经细胞死亡反应^[16]。其次,卞炜和秦文熠^[17]发现抑制局灶脑缺血/再灌注模型大鼠脑内 P2X7R、NLRP3 表达的上调,可削弱小胶质细胞激活,减轻炎症因子分泌。另外,游小芳^[18]发现抑制小胶质细胞和星形胶质细胞上嘌呤受体 P2X7R 表达,可改善 MCAO/R 大鼠左侧缺血周围海马和内侧面额叶皮质神经炎症反应,降低炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 水平。最初有三种模型解释了 P2X7R 激活 IL-1 β 的原因。其中一种模型中表明 P2X7R 通过 K⁺ 和 Ca²⁺ 的外流^[19],激活 caspase-1 然后释放成熟的 IL-1 β ^[16],另外 2 个模型表明是 P2X7R 介导的微囊泡脱落^[20]和溶酶体胞吐作用所致^[21]。目前研究表明,脑缺血缺氧时大量 ATP 由细胞内释放到细胞外^[22],ATP 激活 P2X7R,使 P2X7 通道直径变大,引起 K⁺ 外流、Ca²⁺ 内流,同时细胞膜上泛连接蛋白 Pannexin-1 开放,使胞外配体成分进入细胞内激活 NLRP3 炎性复合体^[23]。NLRP3 炎性体激活促进 pro-caspase-1 形成具有活性的 caspase-1。caspase-1 一方面诱导 caspase-3、caspase-8 等表达介导细胞凋亡,另一方面诱导 IL-18、TNF- α 和 IL-1 β 的产生,介导促炎效应^[23]。另有研究^[24]表明,脑缺血再灌注后 NLRP3 表达显著增加,同时 NLRP3 缺乏可改善缺血性中风后小鼠的脑损伤,并且 NLRP3 通过 NLRP3 介导的促炎介质的自分泌/旁分泌模式促成神经血管损伤。

2.2 P2X7R 介导脑缺血后 Ca²⁺ 超载 在缺血性中风中钙超载是 P2X7R 介导细胞兴奋毒性损伤的主要机制。Sperlágh 等^[25]研究发现脑缺血后大量 ATP 释放至细胞外,激活 P2X7R,大量 Ca²⁺ 通过 P2X7R 膜孔道进入胞内,使用 P2X7R 抑制剂可以阻断这一过程,减轻脑损伤。Arbeloa 等^[26]在原代皮质神经元培养物中运用电生理学和 Ca²⁺ 监测技术研究 P2X7R 的特性,结果发现分别用 ATP(1 mM)和 BzATP(100 μ M)激活 P2X7R,Ca²⁺ 随着 P2X7R 的过激活而内流增加,加重神经元死亡;而 P2X7R 抑制剂 BBG,能够抑制 ATP 引起的 Ca²⁺ 内流,减少氧糖剥夺引起

的细胞死亡。P2X7R 的持续激活导致细胞内 Ca^{2+} 过量,其与以下相关^[27]: (1) 凋亡途径的激活; (2) 细胞骨架的崩解; (3) 膜起泡和细胞裂解的快速形成; (4) 释放包括谷氨酸盐的谷氨酸转运体。P2X7R 激活后, Ca^{2+} 通过 P2X7R 膜孔道大量涌入细胞内, 也通过 P2X7R 激活 pannexin-1 半通道开放涌入胞内, 使细胞内 Ca^{2+} 增加。同时 Ca^{2+} 内流引起的去极化, 导致电压门控 Ca^{2+} 通道二次激活, 使细胞内 Ca^{2+} 持续增加^[28]。高浓度的细胞内 Ca^{2+} 通过激活核酸酶和蛋白酶, 使凋亡途径活化, 细胞骨架和细胞膜破坏, 最终导致细胞死亡^[28]。同时, 线粒体基质也摄取细胞质 Ca^{2+} , 引起线粒体内磷酸钙沉积, ATP 合成减少, 当线粒体中的 Ca^{2+} 水平基质达到线粒体毒性阈值, 线粒体膜电位崩溃, 由渗透性转变为孔隙打开, 离子和溶质包括 Ca^{2+} 流入细胞质, 并激活凋亡的半胱氨酸蛋白酶系统^[29], 进而引发细胞死亡。

2.3 P2X7R 促进脑缺血后神经递质释放 缺血缺氧情况下 P2X7R 参与介导 γ -氨基丁酸、谷氨酸的释放。景宇森等^[30] 在大鼠海马脑片和神经元突触体氧糖缺失 (OGD) 模型中, 选用 P2X7R 拮抗剂 BBG 组作为对照组, 分别测定谷氨酸和 γ -氨基丁酸释放量, 结果发现在海马脑片和神经元突触体中 OGD 组较 BBG 组的谷氨酸和 γ -氨基丁酸释放量增加, 表明 P2X7R 介导了大鼠海马 OGD 时谷氨酸和 γ -氨基丁酸的释放。Papp 等^[31] 分别运用非选择性 P2 受体拮抗剂和 P2X7R 选择性拮抗剂在小鼠海马中均可发现 ATP 诱导的谷氨酸和 γ -氨基丁酸的释放, 而在 P2X7R 基因敲出小鼠海马中 ATP 诱导的谷氨酸和 γ -氨基丁酸的释放几乎不存在, 揭示了 P2X7R 参与了小鼠海马切片中 ATP 诱导的谷氨酸和 γ -氨基丁酸的释放。脑缺血损伤后, 细胞外积累的 ATP 激活 P2X7R, P2X7R 的激活可同时打开渗透性阳离子通道及可渗透 L-谷氨酸和 D-天冬氨酸的阴离子通道, 从而介导快速非囊泡谷氨酸释放^[32]。谷氨酸积累至细胞外, 抑制谷氨酸摄取, 清空细胞质谷氨酸储存, 改变谷氨酸动态平衡, 从而触发细胞死亡。另一方面, 尽管 P2X7R 通道没有选择性对谷氨酸渗透, 但脑缺血引起的去极化, 导致细胞内 Na^+ 过载, 而 Na^+ 和 K^+ 电化学梯度也有助于谷氨酸外流^[33]。因此, 内源性过度激活 P2X7R 后, 谷氨酸作为兴奋毒性因子加重了缺血后脑损伤^[33]。然而过多的细胞外谷氨酸又可进一步反馈性下调 P2X7R^[34]。 γ -氨基丁酸是脑缺血损伤的敏感指标, 脑缺血后 P2X7R 介导的 γ -氨基丁酸释放增加, 也依赖于 Na^+ 和 K^+

电化学梯度, 而 γ -氨基丁酸具有抗缺血性损伤的作用。因此, 谷氨酸与 γ -氨基丁酸的对立的总和机制可能决定梗死面积。

3 结语

综上所述, P2X7R 作为神经系统的上游调节位点, 参与了缺血性中风后的神经炎症反应、 Ca^{2+} 超载及神经递质释放, 拮抗 P2X7R 对脑血管损伤具有重要的保护作用, 将成为治疗缺血性脑血管病新的治疗靶点。但 P2X7R 仍有许多未知的功能和机制亟待人们去研究发现。目前对于 P2X7R 拮抗剂的使用尚缺乏安全性问题的研究, 且多数 P2X7R 拮抗剂的特异性不强, 同时, 考虑 P2X7R 的基因多态性, 需选择携带不同 P2X7R 的基因型以及基因敲除个体, 探讨 P2X7R 的病理生理作用。其次, 早期康复和针灸疗法已成为缺血性中风的重要干预和保护修复手段, 目前缺乏 P2X7R 在针灸康复领域研究, 探讨该领域研究对缺血性中风患者运动功能及生活质量的改善具有重要作用, 从而进一步证实以 P2X7R 为缺血性中风治疗靶点的有效性和可行性。未来的研究必会提升人们对 P2X7R 的认知, 也将为缺血性中风的治疗带来新希望。

参考文献

- 1 Kumar A, Jaggi SS, Singh N. Pharmacological investigations on possible role of Src kinases in neuroprotective mechanism of ischemic post-conditioning in mice [J]. *Int J Neurosci*, 2014, 124(10): 777-786.
- 2 Franke H, Günther A, Grosche J, et al. P2X7 receptor expression after ischemia in the cerebral cortex of rats [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004, 63(7): 686-699.
- 3 Fields RD, Burnstock G. Purinergic signalling in neuron-glia interactions [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(6): 423-436.
- 4 Sperlágh B, Vizi ES, Wirkner K, et al. P2X7 receptors in the nervous system [J]. *Prog Neurobiol*, 2006, 78(6): 327-346.
- 5 Skaper SD, Debetto P, Giusti P. The P2X7 purinergic receptor: from physiology to neurological disorders [J]. *FASEB J*, 2010, 24(2): 337-345.
- 6 Takenouchi T, Sekiyama K, Sekigawa A, et al. P2X7 receptor signaling pathway as a therapeutic target for neurodegenerative diseases [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2010, 58(2): 91-96.
- 7 Adinolfi E, Pizzirani C, Idzko M, et al. P2X(7) receptor: Death or life? [J]. *Purinergic Signal*, 2005, 1(3): 219-227.
- 8 Anderson CM, Nedergaard M. Emerging challenges of assigning P2X7 receptor function and immunoreactivity in neurons [J]. *Trends Neurosci*, 2006, 29(5): 257-262.
- 9 Chu K, Yin B, Wang J, et al. Inhibition of P2X7 receptor ameliorates transient global cerebral ischemia/reperfusion injury via modulating inflammatory responses in the rat hippocampus [J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 69.

- 10 Yu Q, Guo Z, Liu X, et al. Block of P2X7 receptors could partly reverse the delayed neuronal death in area CA1 of the hippocampus after transient global cerebral ischemia [J]. *Purinergic Signal*, 2013, 9 (4): 663 – 675.
- 11 Arbeloa J, Pérez-Samartín A, Gottlieb M, et al. P2X7 receptor blockade prevents ATP excitotoxicity in neurons and reduces brain damage after ischemia [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45 (3): 954 – 961.
- 12 Del Puerto A, Fronzaroli-Molinieres L, Perez-Alvarez MJ, et al. ATP-P2X7 Receptor Modulates Axon Initial Segment Composition and Function in Physiological Conditions and Brain Injury [J]. *Cereb Cortex*, 2015, 25 (8): 2282 – 2294.
- 13 Cisneros-Mejorado A, Gottlieb M, Cavaliere F, et al. Blockade of P2X7 receptors or pannexin-1 channels similarly attenuates postischemic damage [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35 (5): 843 – 850.
- 14 Kaiser M, Penk A, Franke H, et al. Lack of functional P2X7 receptor aggravates brain edema development after middle cerebral artery occlusion [J]. *Purinergic Signal*, 2016, 12 (3): 453 – 463.
- 15 Lu YM, Tao RR, Huang JY, et al. P2X7 signaling promotes microsphere embolism-triggered microglia activation by maintaining elevation of Fas ligand [J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 172.
- 16 Friedle SA, Curet MA, Watters JJ. Recent patents on novel P2X(7) receptor antagonists and their potential for reducing central nervous system inflammation [J]. *Recent Pat CNS Drug Discov*, 2010, 5 (1): 35 – 45.
- 17 卞 炜, 秦文熠. 电针对局灶脑缺血/再灌注模型大鼠大脑缺血皮质区 P2X7R 与 NLRP3 炎性小体表达的影响 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2018, (1): 23 – 29.
- 18 游小芳. 基于嘌呤受体介导的神经炎症反应探讨电针对 MCAO/R 大鼠学习记忆能力的影响 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2017.
- 19 Bianco F, Pravettoni E, Colombo A, et al. Astrocyte-derived ATP induces vesicle shedding and IL-1 beta release from microglia [J]. *J Immunol*, 2005, 174 (11): 7268 – 7277.
- 20 Le Feuvre R, Brough D, Rothwell N. Extracellular ATP and P2X7 receptors in neurodegeneration [J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 447 (2 – 3): 261 – 269.
- 21 Takenouchi T, Fujita M, Sugama S, et al. The role of the P2X7 receptor signaling pathway for the release of autolysosomes in microglial cells [J]. *Autophagy*, 2009, 5 (5): 723 – 724.
- 22 Melani A, Pantoni L, Corsi C, et al. Striatal outflow of adenosine, excitatory amino acids, gamma-aminobutyric acid, and taurine in awake freely moving rats after middle cerebral artery occlusion: correlations with neurological deficit and histopathological damage [J]. *Stroke*, 1999, 30 (11): 2448 – 2454.
- 23 Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals [J]. *Nature*, 2010, 464 (7293): 1357 – 1361.
- 24 Yang F, Wang Z, Wei X, et al. NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34 (4): 660 – 667.
- 25 Sperlách B, Zsilla G, Baranyi M, et al. Purinergic modulation of glutamate release under Ischemic-like conditions in the hippocampus [J]. *Neuroscience*, 2007, 149 (1): 99 – 111.
- 26 Arbeloa J, Pérez-Samartín A, Gottlieb M, et al. P2X7 receptor blockade prevents ATP excitotoxicity in neurons and reduces brain damage after ischemia [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45 (3): 954 – 961.
- 27 Pedata F, Dettori I, Coppi E, et al. Purinergic signalling in brain ischemia [J]. *Neuropharmacology*, 2016, 104: 105 – 130.
- 28 Szydłowska K, Tymianski M. Calcium, ischemia and excitotoxicity [J]. *Cell Calcium*, 2010, 47 (2): 122 – 129.
- 29 Csordás G, Hajnóczky G. SR/ER-mitochondrial local communication: calcium and ROS [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787 (11): 1352 – 1362.
- 30 景宇森, 刘红亮, 张宝岭, 等. P2X7 受体在大鼠海马脑片和神经元突触体氧糖缺失时谷氨酸和 γ -氨基丁酸释放中的作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2010, 30 (10): 1254 – 1257.
- 31 Papp L, Vizi ES, Sperlách B, et al. Lack of ATP-evoked GABA and glutamate release in the hippocampus of P2X7 receptor-/- mice [J]. *Neuroreport*, 2004, 15 (15): 2387 – 2391.
- 32 Duan S, Anderson CM, Keung EC, et al. P2X7 receptor-mediated release of excitatory amino acids from astrocytes [J]. *J Neurosci*, 2003, 23 (4): 1320 – 1328.
- 33 Sperlách B, Zsilla G, Baranyi M, et al. Purinergic modulation of glutamate release under ischemic-like conditions in the hippocampus [J]. *Neuroscience*, 2007, 149 (1): 99 – 111.
- 34 Frizzo JK, Cardoso MP, de Assis AM, et al. Effects of acute perinatal asphyxia in the rat hippocampus [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2010, 30 (5): 683 – 692.

[收稿日期 2018-09-08] [本文编辑 潘洪平 韦 颖]