

抗氧化系统发育与少突胶质细胞损伤作用的研究进展

赵柏雄 李红丽

近些年,随着医疗水平的不断提高,神经类疾病的病死率已经大大降低,但该病发生率却一直居高不下。少突胶质细胞(OL)是脑室周围白质软化等脑损伤疾病最主要的靶细胞。多种氧化性物质都会造成OL的损伤,而OL中的抗氧化系统可以防御氧化物对OL的损伤。而炎性细胞因子的毒性作用、氧自由基清除能力的下降以及代谢途径的改变等都会阻碍抗氧化系统的发育并破坏原有抗氧化系统的平衡,从而导致OL受损,引起各种神经发育类疾病的发生。为了更好地认识该类疾病的发病机制,研究OL的损伤机制就具有极其重要的意义。

一、少突胶质细胞内抗氧化系统的发育

OL起源于胚胎神经管的神经上皮细胞,主要功能是在中枢神经系统中包绕轴突、形成绝缘的髓鞘结构、协助神经电信号的跳跃式快速传递,维持和保护神经元的正常生理功能。其前体细胞主要由侧脑室脑室下区的OL祖细胞分化而来^[1]。OL在胶质细胞发育谱系中发育最晚,在24周胎龄才逐渐由前体细胞向OL转化。依据OL的分布位置及功能的不同,少突胶质细胞系可分为OL前体细胞、晚期OL前体细胞或早期少突胶质前体细胞(pre-OLs)、未成熟少突胶质细胞(immature OL)、成熟少突胶质细胞(mature OL)这4个发育阶段^[2]。然而不同发育阶段抗氧化能力差别很大,通过对不同发育阶段OL的特异性细胞表面抗原进行分析,发现晚期少突胶质前体细胞或pre-OL是打破抗氧化系统平衡的主要靶细胞^[3]。在动物实验中选择3日龄同窝SD低龄新生大鼠128只,随机分为两组:缺氧缺血组和对照组。建立新生大鼠缺氧缺血脑损伤模型,采用组织切片HE染色、OL抗体和细胞凋亡免疫组化双标记法,观察各组新生大鼠脑组织的形态学变化。实验结果显

示缺氧缺血引起低龄新生大鼠脑损伤以白质损伤为主,主要出现白质疏松和脑室扩大等病理变化,深部脑白质OL凋亡数增多^[4]。证实缺氧缺血可导致pre-OL大量凋亡,而成熟OL则对缺血缺氧呈明显抵抗性^[5]。不同胎龄胎儿大脑中各个阶段的OL所占比例不尽相同。人类妊娠后期在20~28周时preOL占主导地位,胎儿在孕约23~32周这个阶段,OL仍处于immature OL阶段,成熟OL数目尚少,preOL与immature OL重叠分布于脑室周围区域,因此,该时期是白质病变发生的高风险期^[6]。

在机体防御氧化物影响的过程中有双重保护,第1重保护是超氧化物歧化酶(SOD),它是一种源于生命体的活性物质,能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质;第2重保护是由过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)组成的,其中CAT负责清除 H_2O_2 ,GSH-Px同时清除 H_2O_2 和过氧化物。SOD、CAT和GSH-Px活力的高低,可以间接反应机体细胞清除氧自由基的能力。

研究显示脑白质中各种抗氧化酶的发育时间是不平行的。例如OL中CAT和GSH-Px在胎龄20周时即有微量表达,且发育速度很快,至胎龄30周左右即可达到成人水平。但与此同时的SOD在胎龄27周左右才逐渐开始在大脑静脉附近出现,30周左右才可在OL中检测到。这就提示,OL中构成双重保护的抗氧化作用的酶的发育在胚胎30周后才能逐步完善。胎儿脑白质中CAT和GSH-Px的表达水平相比SOD明显较高,而SOD的表达不足直接导致了OL中氧化物清除不及时,这是造成OL前体受到氧化物损伤的一个重要原因。同样,体外实验也证明了各阶段OL中抗氧化酶的表达存在明显的成熟依赖性,丙二醛是脂质过氧化的终产物,是体现机体过氧化程度的常用指标之一。有实验检测到OL前体的SOD活力比成熟OL低40.7%,GSH-Px和CAT活力仅为成熟OL的一半,均明显低于成熟细胞;而丙二醛含量则高于成熟细胞^[7]。另外,在OL生长发育的整个过程中,铜锌SOD的表达量及活性相对恒定;

基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(CSTC, 2010BB5031);第三军医大学回国人员启动基金资助项目(2011XHG01)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学学员旅一队(赵柏雄),组织学与胚胎学教研室(李红丽)

通讯作者:李红丽,电子邮箱:lihlimm@163.com

但与 OL 前体相比,成熟 OL 的锰 SOD 表达量会上调 $53\% \pm 26\%$,活性大致可增加 4 倍,表明锰 SOD 是会随着 OL 的发育完善而增加表达量的^[8]。在胎儿脑白质中 OL 前体细胞大量合成髓鞘膜,但该过程需要消耗氧气(氧气 - 超氧阴离子 - H_2O_2 - $2\text{H}_2\text{O}$),并伴随生成大量活性氧,但此时期的 SOD 表达尚处于较低水平,清除超氧阴离子能力有限,这就使得细胞处于一个高度氧化的环境中,从而加重了 OL 前体的损伤。实验也进一步证实了,在脊髓损伤后,连续注射脑源性神经生长因子可以抑制铜锌 SOD 的急性下调,最终促进 OL 的再生和行为恢复^[9]。因而也间接证实脑源性神经营养因子在缺氧缺血后具有显著的神经保护效应,且在大脑发育早期应用效果更佳。

二、抗氧化系统在损伤发生中的相关机制

1. 炎性细胞因子的直接与间接毒性:感染或炎症作用于 OL 可产生一系列效果,导致毒性产物的分泌,尤其氧化/抗氧化状态及活化 OL 释放细胞因子 IL-1、TNF- α 、INF- γ ,均可打破 OL 抗氧化系统平衡。INF- γ 对 OL 前体有直接的损伤作用,而 OL 前体细胞膜上恰恰表达有 INF- γ 的受体,并且 TNF- α 可辅助 INF- γ 对 OL 前体的损伤作用。在体外培养 OL 前体细胞时,人为的将其分为 3 组:INF- γ 组、TNF- α 与 INF- γ 组合组、对照组。结果发现实验组 OL 细胞凋亡比例远高于对照组,证实了 INF- γ 对 OL 前体有直接的损伤作用^[10]。近年来人脑研究显示,在脑白质中 OL 前体细胞上发现了 INF- γ 受体,提示 INF- γ 对 OL 前体的损伤作用是通过受体实现的^[11]。

另外,神经系统中其他胶质细胞如小胶质细胞以及星形胶质细胞的持续性增生活化也可直接损伤 OL 前体。同时,巨噬细胞、中性粒细胞和白细胞被激活后也可释放大量的炎性细胞因子、蛋白酶、NO 和氧自由基等,这些物质均可直接或间接地造成 OL 前体损伤,最终导致缺血性脑白质髓鞘发育障碍或脱髓鞘等病理改变。

2. 氧自由基清除能力下降:近年来的研究表明,线粒体结构和功能的破坏在自由基诱导的 OL 细胞死亡中也起重要作用^[12]。线粒体完整性破坏后伴有胞内活性氧(ROS)产物增加,在活体内 ROS 的主要目标之一就是线粒体。线粒体通透性转变孔与细胞凋亡密切相关,ROS 含量增多将导致线粒体膜转变孔开放,使细胞膜通透性增加,引起致凋亡蛋白如细胞色素 C 或凋亡诱导因子的释放,细胞色素 C 通过

触发 caspase 级联反应引起继发性核酸内切酶的活化来触发凋亡。自由基也可诱发线粒体通透性转变孔开放,促使细胞色素 C 或凋亡诱导因子释放,启动多条凋亡信号转导途径。

研究认为,癌基因 Bcl-2 能够直接对抗各种脂质过氧化反应,抑制自由基等多种因素诱导的线粒体通透性转变孔开放和细胞色素 C 释放,从而阻止凋亡的发生^[13]。相反,Bax 具有对抗 Bcl-2 的作用,并且被认为是最重要的促凋亡基因。Bcl-2/Bax 的比值是决定细胞接受刺激后是否凋亡的重要指标。体外研究显示,采用不同浓度 H_2O_2 对不同发育时期 OL 刺激后,检测到 OL 前体细胞中 caspase 活性增高,Bcl-2 蛋白的表达明显低于成熟 OL,Bax 蛋白的表达则高于成熟 OL,OL 前体 Bcl-2/Bax 比值明显低于成熟 OL,表明 OL 前体细胞在氧化性损伤中抗凋亡能力远远低于成熟 OL^[7]。

细胞内的铁是自由基连锁反应的催化剂,应激后代谢过程显著依赖于氧化磷酸化。 H_2O_2 在游离 Fe^{2+} 的催化作用下通过芬顿反应,生成更加有害的羟自由基。研究显示,OL 中含有丰富的铁及铁合蛋白,其含量远远超过同时期的神经元细胞及其他神经胶质细胞。提示氧化应激发生后 OL 内产生氧自由基的能力也高于其他神经细胞。近年研究得出,谷胱甘肽在细胞氧自由基清除中同样也起到关键性作用。但 OL 中谷胱甘肽含量和谷胱甘肽过氧化物酶活性却很低,这种代谢特点决定了缺血缺氧发生后,OL 极易发生氧化应激性损伤^[14]。离体实验显示去铁敏可以减轻过氧化氢引起的 OL 的损伤^[15]。总之,与其他细胞相比,OL 的胞膜含有丰富的脂质、胞内含有丰富的铁和抗氧化酶较少等几个因素均决定了其容易受到氧化应激损伤的特性^[16]。

3. 受体或非受体途径介导的氨基酸毒性作用:细胞外过多的兴奋性氨基酸可抑制 OL 对谷胱甘肽前体半胱氨酸的吸收,从而使谷胱甘肽合成减少,而谷胱甘肽是决定 OL 对氧化应激的抵抗力强弱的因素之一^[7]。缺氧缺血可引起细胞外兴奋性氨基酸浓度的迅速增高,而 OL 对兴奋性氨基酸十分敏感。兴奋性氨基酸能通过受体介导和非受体介导两种途径引起 OL 的死亡。

OL 中表达的谷氨酸受体主要是非 NMDA - GluRs [氨基羟甲基异恶唑丙酸(AMPA)和 kainate 受体],而其他神经元细胞表达的谷氨酸受体主要是 NMDA - GluRs,其中非 NMDA 受体所介导的兴奋毒

性才是 OL 损伤的主要原因。在一些病理状态下,如缺氧缺血条件下胶质细胞和神经元细胞轴突等均可大量释放谷氨酸。然而谷氨酸的清除和失活途径却非常单一,只能依赖位于突触前膜和神经胶质细胞膜上的兴奋性氨基酸转运体(EAAT)的重摄取来完成。EAAT 对谷氨酸的重摄取是顺着细胞膜内外 Na^+ 浓度梯度进行的,需要消耗能量。在缺氧等条件下能量的供给受到限制,并且剧烈去极化使 Na^+ 浓度梯度发生逆转,结果会造成谷氨酸也逆向运输,反而从胞内排向胞外,清除减弱。随后,局部谷氨酸浓度的骤增使得 OL 膜上 AMPA、kainate 受体过度活化,开始介导大量 Ca^{2+} 内流,线粒体兴奋性去极化以及氧自由基的大量增加,导致 OL 细胞内 Ca^{2+} 超负荷,并激活 caspase 等途径,引起 OL 的损伤和凋亡^[17]。

同样,细胞内谷胱甘肽的含量减少,细胞清除自由基的能力就会降低,并最终激活由自由基介导的细胞死亡途径^[2]。当细胞外累积了大量谷氨酸时,可启动谷氨酸-胱氨酸交换系统,清除胞内大部分胱氨酸。目前发现在大脑中存在 5 个 Na^+ 依赖 EAAT 亚型即 EAAT1~5 型。且在 25~32 周人胎儿脑白质中大量存在 EAAT2 型,而在其他胶质细胞中缺失此型^[18]。动物实验显示,非-NMDA 受体拮抗剂、谷氨酸逆向转运抑制剂等都可以大幅度降低脑缺氧缺血后 OL 的损伤程度,起到保护 OL 发育的作用。另外,研究发现 AMPA 受体拮抗剂(托吡酯)可阻断谷氨酸与 AMPA 受体结合,减少 AMPA/Kainate 受体介导的细胞死亡和钙内流从而保护 OL 前体免受兴奋毒性或缺氧缺血损伤。目前此类药物已经用于成人抗癫痫的临床治疗,尽管目前在抗胎儿脑白质损伤的治疗中尚未应用,该类药物具有潜在的应用价值。

总之,研究并明确调控 OL 氧化系统的机制将对防治以脑白质软化症等神经发育类疾病起重要作用。OL 抗氧化系统的发育成熟可以对 OL 起到显著的保护作用,而影响 OL 抗氧化系统功能完善的因素包括氧化/抗氧化状态、Bcl-2/Bax 的比例等均与其损伤的发生密切相关,其机制仍有待于进一步深入研究。

参考文献

- Li H, Bao S. The ischemic injury of oligodendrocytes[J]. Cerebrovasc Dis Foreign Med Sci, 2004, 12(6): 430-432
- Wang H, Xu H. Haloperidol activates quiescent oligodendroglia precursor cells in the adult mouse brain[J]. Schizophrenia Research, 2010, 1(3): 164-174
- Back SA, Luo NL, Borenstein NS, et al. Late oligodendrocyte progeni-

- tors coincide with the developmental window of vulnerability for human perinatal white matter injury[J]. Neurosci, 2001, 2(1): 1302-1312
- Feldhaus B, Irmgard D, Dietzel P, et al. Effects of interferon- γ and tumor necrosis factor- α on survival and differentiation of oligodendrocyte progenitors[J]. Soc Gynecol Investing, 2004, 11: 89-96
- Boylan GB, Young K, Panerai RB, et al. Dynamic cerebral autoregulation in sick newborn infants[J]. Pediatr Res, 2000, 48(1): 12-17
- Joseph F. 4. 2 - Cells, synapses, and neurotransmitters. quantitative human physiology[M]. Elsevier, 2012: 307-320
- He L, Chen H. Maturation-dependent vulnerability of oligodendrocytes to oxidative injury[J]. Chin J Neuromed, 2008, 7(7): 677-680
- Schoenfeld R, Wong A. Oligodendroglial differentiation induces mitochondrial genes and inhibition of mitochondrial function represses oligodendroglial differentiation[J]. Mitochondrion, 2010, 10(2): 143-150
- Ikeda O, Murakami M. Effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on compression-induced spinal cord injury: BDNF attenuates down-regulation of superoxide dismutase expression and promotes up-regulation of myelin basic protein expression[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2002, 61(2): 142-153
- Folkerth RD, Jitkeefe R. Interferon- γ expression in periventricular leukomalacia in the human brain[J]. Brain Pathol, 2004, 14: 265-274
- Monier A, Evrard P, Gressens P, et al. Distribution and differentiation of microglia in the human encephalon during the first two trimesters of gestation[J]. J Comp Neurol, 2006, 499: 565-582
- Druzhyna NM, Musiyenko SI, Wilson GL, et al. Cytokines induce nitric oxide-mediated mtDNA damage and apoptosis in oligodendrocytes. Protective role of targeting 8-oxoguanine glycosylase to mitochondria[J]. J Biol Chem, 2005, 280(22): 21673-21679
- Chueh W, Lin J. Berberine, an isoquinoline alkaloid, inhibits streptozotocin-induced apoptosis in mouse pancreatic islets through down-regulating Bax/Bcl-2 gene expression ratio[J]. Food Chemistry, 2012, 132(1): 252-260
- V Dizon ML, Maa T, Kessler JA. The bone morphogenetic protein antagonist noggin protects white matter after perinatal hypoxia-ischemia[J]. Neurobiology of Disease, 2011, 42(3): 318-326
- Fern R, Moiler T. Rapid ischemic cell death in immature oligodendrocytes: a fatal glutamate release feedback loop[J]. J Neurosci, 2000, 20(1): 34-42
- Whitman LM, Blanc CA. Olig1 function is required for remyelination potential of transplanted neural progenitor cells in a model of viral-induced demyelination[J]. Experimental Neurology, 2012, 1: 380-387
- Silva JM, Wong A. Inhibition of mitochondrial function induces an integrated stress response in oligodendroglia[J]. Neurobiology of Disease, 2009, 34(2): 357-365
- Desiva TM, Kinney HC, Borenstein NS, et al. The glutamate transporter EAAT2 is transiently expressed in developing human cerebral white matter[J]. J Comp Neurol, 2007, 501: 879-890

(收稿日期: 2012-07-07)

(修回日期: 2012-08-27)