

组蛋白去乙酰化酶家族成员在缺血性脑卒中应用研究

刘 恋 赵 博 夏中元

摘 要 脑缺血再灌注后组织细胞的损伤会进一步加重,即发生脑缺血再灌注损伤是缺血性脑卒中的一个必经阶段。近期研究表明,抑制组蛋白去乙酰化酶的表达可在缺血性脑卒中中发挥一定的神经保护作用。但是,参与缺血性脑卒中病理生理过程的组蛋白去乙酰化酶家族的具体亚型及成员尚未明确。本文综合已发表的文献对组蛋白去乙酰化酶家族各成员在缺血性脑卒中领域的相关研究进行了系统的阐述及展望。

关键词 脑卒中 缺血再灌注 组蛋白去乙酰化酶

中图分类号 R743.3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.01.037

脑卒中因其高患病率、高致残率和高致死率一直以来是研究的一大热点。同时,由再灌注造成的继发性损伤将会导致更严重的后果,如血-脑脊液屏障破坏,炎症和缺血后神经元损伤等^[1]。组蛋白去乙酰化酶(HDACs)靶向作用于组蛋白,调节染色体活力,调控细胞的基因表达,可调节与神经可塑性、细胞存活、神经炎症以及氧化应激等相关的多种信号通路^[2]。因此,HDACs很可能在脑卒中的病理生理过程中发挥着重要作用。

一、HDACs 家族概述

HDACs 作为一类酶家族,是多蛋白复合物的催化亚基,通过调控组蛋白、非组蛋白的乙酰化水平,对基因转录的稳态维持起着重要作用^[3]。基于结构、序列同源性和结构域布局等的不同,将 HDACs 家族成员分为了 4 类:Ⅰ类(HDAC 1~3 和 8),Ⅱ类(HDAC 4~7,9 和 10)和Ⅳ类(HDAC 11)这 3 类 HDACs 是锌依赖性的,并且具有相似的序列,故被称为经典的 HDACs 家族;而Ⅲ类(sirtuin1~7)是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)依赖性的,未被列入经典的 HDACs 家族^[4,5]。HDACs 家族各成员的表达部位、分布情况以及对靶基因的调控等不尽相同,因此发挥的功能也有所差别:Ⅰ类成员是一种核蛋白,在机体各组织脏器中广泛表达,可在细胞核内与共同转录抑制子结合,从而使染色体组蛋白、非组蛋白去乙酰化而抑制转录;Ⅱ类成员的表达具有阶段性的特异

性,特定的细胞信号可将其激活,活化的Ⅱ类成员穿梭于胞核和胞质之间,在细胞核内通过类似于Ⅰ类成员的方式结合共同转录抑制子,从而抑制转录,另外,其可在某些刺激因子作用下,结合大量的信号转导蛋白以及功能蛋白,促进它们在胞核与胞质之间穿梭,从而对下游靶基因的转录进行调控,参与了一系列病理生理过程^[4,6]。

二、HDACs 家族成员与脑卒中

调节组蛋白乙酰化是染色质调制和基因调节的一个重要组成部分,在细胞增殖和分化等多种生物学过程中发挥重要作用^[3]。最近的研究详细阐明了组蛋白乙酰化在中枢神经系统中发挥的重要作用,如神经元分化、记忆形成、药物成瘾等^[7]。HDACs 将组蛋白的乙酰基移除,导致了染色质凝聚,降低了 DNA 与转录因子的亲和力^[4]。多种 HDACs 抑制剂,如 VPA、TSA、SAHA 等均被证明在脑卒中中发挥了重要的神经保护作用^[8]。然而,近期亦有一些研究报道了,HDACs 家族中也有部分成员其本身在很多病理损伤(包括脑缺血)中也表现出保护性作用^[9~11]。现对该家族成员在脑卒中领域中的作用进行逐一阐述如下:

1. HDAC1 与脑卒中:在 HDACs 家族中,HDAC1 是第一个被鉴定出来的具有组蛋白定向去乙酰酶活性的哺乳动物蛋白,其在调节细胞周期方面发挥着重要作用,且在细胞周期基因的转录抑制过程中必不可少^[12]。HDAC1 和特定基因启动子区域的联系与它们的转录抑制相关联。细胞周期重入、DNA 损伤和 P25 积累成为各种神经退行性疾病的重要病理组成部分,这一途径可能构成负责多种疾病如脑卒中/缺血等的神经元死亡的共同机制^[13]。在动物的在体模

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81671891);湖北省自然科学基金资助项目(2017CFB267)

作者单位:430060 武汉大学人民医院麻醉科

通讯作者:夏中元,教授,博士生导师,电子信箱:xiazhongyuan2005@aliyun.com

型研究中发现,HDAC1 活性的反常参与了 P25 介导的 DNA 双链断裂形成,细胞周期蛋白表达以及神经元死亡;增加 HDAC1 的活性可以保护神经元对抗缺血诱导的 DNA 损伤以及神经兴奋性毒性^[10]。

2. HDAC2 与脑卒中:HDAC2 据报道可以负性调节细胞存活以及神经元可塑性^[14]。将选择性表达 HDAC2 的腺病毒在小鼠脑卒中后即刻注入梗死周边的皮质,发现在脑卒中后第 5 天 HDAC2 的水平和活性增加,在卒中后的第 8 天脑卒中诱导的功能缺损显著加重,说明在梗死周边皮质的 HDAC2 在脑卒中后的二次功能缺损中也发挥着重要作用^[2]。脑缺血诱导的 HDAC2 在卒中后 5~7 天上调,在这个时间窗内,抑制缺血周边皮质的 HDAC2 可以通过表观遗传学增强细胞存活,促进神经元可塑性的恢复以及减少炎症反应的发生,进而有助于改善脑卒中后的运动功能^[2]。

使用药理学抑制剂选择性抑制 HDAC1 和 HDAC2,以及使用 siRNA 特异性敲除 HDAC1 和 HDAC2 均抑制了炎症因子(IL-6 和 TNF- α)的表达,但是单独敲除 HDAC1 时,HDAC2 代偿性地表达上调,炎症因子的表达未被抑制,表明这两个 HDACs 在调节神经炎症反应时存在冗余^[15]。进一步研究其具体机制,有利于更好地阐述 HDAC2 涉及的保护作用。

3. HDAC3 与脑卒中:HDAC3 是来自芽殖酵母的 Rpd3 的同源物,已经在多种神经病理学条件下被证明与神经毒性相关^[5,8]。破坏 HDAC3 的整合比例以及 HDAC3 的释放,可引起神经毒性的活化。HDAC3 活性被抑制,可使小脑颗粒神经元对抗低钾损害,而 HDAC3 的过表达可促进神经元的死亡^[16]。

脑缺血可引起皮质神经元以及缺血核心周边区域(缺血半暗带区)的 HDAC3 表达上调,抑制 HDAC3 的表达可增加中枢神经系统对缺血性损伤的耐受^[17]。HDAC3 的特异性抑制可通过启动与神经保护相关的基因表达程序来预处理脑组织对抗缺血性损伤,此外,钙调素参与了 HDAC3 的裂解,阻断 HDAC3 的核分布^[8]。故 HDAC3 抑制在缺血预处理引起的神经保护作用中起着重要作用,为脑卒中的治疗提供了一种新的药理学方法。

4. HDAC4、HDAC5 与脑卒中:HDAC4 在小脑颗粒神经元中高度表达,并可以调节此处神经元的凋亡^[18]。HDAC5 主要定位在皮质神经元,其 mRNA 在此处高度表达。HDAC4 和 HDAC5 属于 II a 类

HDACs 家族,可与转录因子相互作用,并与核输出信号相关^[4]。已有报道表明 HDAC4 通过抑制细胞周期蛋白依赖性激酶 1(CDK1)和细胞周期进程来保护神经元免于死亡,并通过增强缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)的稳定性调节小鼠视网膜神经元的存活^[19]。HDAC5 被认为是对慢性应激和可卡因成瘾的适应性反应的关键调节因子^[20]。由此可见,HDAC4 和 HDAC5 可能在外周和中枢神经系统中发挥重要作用。

还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶产生的活性氧(ROS)可影响缺血性脑卒中的基因表达和细胞功能^[21]。最新研究表明 HDAC4 和 HDAC5 在模拟脑卒中的体内外模型的研究中均显著降低,其过表达可在缺糖缺氧条件下保护凋亡细胞免于死亡。脑缺血再灌注损伤显著增强了 NADPH 氧化酶的活性,HDAC4 和 HDAC5 表达的调节与 NADPH 氧化酶活性相关,表明 NADPH 氧化酶对脑缺血再灌注大鼠中 HDAC4 和 HDAC5 的调节有一定的作用^[11]。最新研究表明抑制 NADPH 氧化酶活性在脑缺血再灌注损伤中的神经保护作用可能至少部分地通过调节 HDAC4/HDAC5 介导的组蛋白乙酰化和基因转录来实现^[11]。高迁移率组盒 1(HMGB1)参与了缺血性脑卒中的发病机制,其下调可减少神经炎症,使脑梗死体积减小^[22]。过表达 HDAC4 和 HDAC5,可以降低 HMGB1 释放和表达^[11]。HMGB1 据报道可诱导 PC12(一种模拟神经元的细胞系)细胞凋亡^[23]。因此,在缺血性脑卒中发作时可以通过调控 HDAC4 和 HDAC5 的表达进而调控 HMGB1 从而在脑卒中的发生、发展中发挥保护作用,这可能对缺血性脑卒中的防治提供了重要的治疗策略。

5. HDAC6 与脑卒中:HDAC6 属于 HDACs 家族 II b 类组的成员,主要分布于细胞质内,调控了多种胞质蛋白的乙酰化水平,并参与了一系列疾病的病理生理过程^[4]。选择性抑制 HDAC6 可保护神经细胞生长,促进轴突再生,增强损伤后神经修复以及中枢神经系统的学习记忆能力^[24]。HDAC6 通过去乙酰化-微管蛋白以调节微管稳定性,对错误折叠的蛋白的应激反应至关重要,抑制 HDAC6 可以通过增加微管蛋白乙酰化来增强关键性神经营养因子脑源性神经营养因子(BDNF)的转运和释放^[25]。在缺血引起的氧化应激模型中,HDAC6 可以使神经元胞体或轴突中的某些蛋白去乙酰化,从而抑制细胞的再生或促进细胞的死亡^[26]。因此 HDAC6 可能作用于氧化应

激的下游分子靶点,从而介导了其下游的一系列的病理生理过程。

在中枢神经系统疾病的治疗中,HDAC6 是神经保护和再生的一个潜在作用靶标^[26]。脑缺血可以增加 HDAC6 的表达,并通过解聚微管和减少动力蛋白水平来破坏基于微管的运输,从而破坏神经元胞体和轴突/树突之间的线粒体转运,进一步引起线粒体功能障碍和随后的细胞死亡^[5]。抑制 HDAC6 可以改善脑缺血后线粒体转运缺陷并保留成纤维细胞生长因子-21 (FGF-21,一种代谢调节因子,在神经元中表达)水平,继而通过靶向 Akt 信号通路对谷氨酸诱导的兴奋性毒性产生神经保护作用,同时极大地减少了脑梗死体积、神经功能缺损和神经元细胞的死亡^[27]。在小鼠脑卒中模型研究中发现使用 HDAC6 的特异性抑制剂可增加入侵脑的调节性 T 细胞 (Tregs) 的数量,提高其免疫抑制能力和促炎性因子白细胞介素 (IL)-10 表达,减少了脑皮质缺血后脑梗死的体积和行为缺陷^[28]。因此,药理学水平靶向 HDAC6 介导的多种信号通路或通过其对 Tregs 的功能进行调节从而介导内源性免疫调节机制,可能有助于设计出一种新方法,以预防和治疗脑卒中。

6. HDAC7 与脑卒中:内源性 HDAC7 主要定位于细胞质,低水平存在于细胞核中^[18]。HDAC7 在培养的小脑颗粒神经元 (CGNs) 中的强制表达阻止低钾诱发的细胞凋亡,shRNA 介导的 HDAC7 表达抑制可以诱导其他健康神经元的凋亡。HDAC7 介导的神经保护不需要其催化结构域,不能被 HDACs 的化学抑制剂抑制^[9]。HDAC7 被证明是一种神经保护蛋白,通过不依赖于其脱乙酰化酶活性发挥作用,并且可在转录水平介导 c-jun (一种促进神经元死亡的重要转录因子) 表达的抑制^[9, 29]。虽然目前 HDAC11 在脑卒中领域的研究较少,但是为以后的进一步研究奠定了一定的基础。虽然上述研究均在神经退行性疾病模型中进行,但相关机制给脑卒中领域的研究提供了方向。

7. HDAC9 与脑卒中:HDAC9, II a 类 HDACs 家族中的另一个成员,可以调节各种疾病的病理生理过程,在大鼠脑缺血再灌注损伤后的缺血半球表达上调^[30]。通常,HDAC9 在脑和骨骼肌中高表达,与生存不良有关,但对于其在脑中的作用知之甚少^[31]。全基因组研究鉴定出了一个与大血管的缺血性脑卒中相关的 HDAC9 的变体,该遗传变异体增加了颈动脉粥样硬化的风险,然而其在缺血性脑卒中的分子途

径尚未明确^[32]。因此,其在脑卒中的作用值得进一步研究。

研究发现 HDAC9 在脑卒中的体外模型中促进了缺糖、缺氧诱导的炎症反应、内皮细胞通透性和凋亡,同时也减少了自噬^[30]。越来越多的研究表明内皮细胞自噬的减少可能是引起血管生物学中内皮功能紊乱的一种中枢机制^[33]。另有研究显示缺糖缺氧诱导的内皮细胞炎症反应和渗透功能紊乱可以被雷帕霉素 (自噬诱导剂) 缓解,雷帕霉素在暴露于缺糖、缺氧的血管内皮细胞中诱导了保护性自噬的产生^[34]。HDAC9 通过增加炎症反应、细胞凋亡和内皮细胞通透性紊乱,减少紧密连接蛋白的表达以及抑制自噬等促进了缺糖、缺氧诱导的脑微血管内皮细胞功能障碍^[30]。因此,HDAC9 是缺血性脑卒中治疗的另一个潜在的靶点。

8. HDAC11 与脑卒中:HDAC11 是 HDACs 家族唯一的 IV 类成员,其与 I 类和 II 类 HDACs 具有一些相似的特征,主要在肾脏、心脏、骨骼肌、睾丸和脑的细胞核中表达^[25]。HDAC11 在中枢神经系统组蛋白去乙酰化过程中发挥作用,并与出生后发育期间少突胶质细胞和神经元的发育相关。HDAC11 在海马中的表达异常与学习和记忆障碍密切相关。HDAC11 在普肯野 (Purkinje) 细胞层中选择性高表达可能表明其在自主运动和共济失调综合征中发挥重要作用^[18]。有报道显示,HDAC11 与 HDAC6 有关联,HDAC6 可能通过 HDAC11 调控基因表达^[5]。与 HDAC6 相似,HDAC11 在脑缺血再灌注 3h 后显著上调,随后水平开始下降,并且 24h 显著下降,其早期表达增强可能与脑卒中诱发的炎症的发生和加重有关^[5]。HDAC6 还可通过使非组蛋白 (如 α -微管蛋白,皮质激素和热休克蛋白 90) 去乙酰化,来调节包括基于微管的转运、细胞运动、内吞作用、细胞迁移、自噬等的各项生命过程^[5]。因此,HDAC11 可能也参与了上述过程的调控,这针对进一步研究提供了新的方向。

三、展 望

综上所述,关于 HDACs 家族成员的各个亚型与缺血性脑卒中的相关性的研究仍不够全面。未来对 HDACs 家族的研究重在阐明 HDACs 亚型在缺血性脑卒中的个体化作用,进而设计出特异性更高的 HDACs 抑制剂,从而更好的用于脑卒中的预防与治疗。因此,探讨组蛋白去乙酰化酶在缺血性脑卒中中的具体机制,明确参与缺血性脑卒中的具体亚型,都

将有助于研制出特异性更强的抑制剂,从而更好地应用于缺血性脑卒中的治疗。

参考文献

- Zhang QY, Wang ZJ, Sun DM, *et al.* Novel therapeutic effects of leonurine on ischemic stroke: new mechanisms of BBB integrity[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017,2017;7150376
- Lin YH, Dong J, Tang Y, *et al.* Opening a new time window for treatment of stroke by targeting HDAC2 [J]. *J Neurosci*, 2017,37(28):6712–6728
- Park MJ, Sohrabji F. The histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, exhibits neuroprotective effects for ischemic stroke in middle-aged female rats[J]. *J Neuroinflammation*, 2016,13(1):300
- Jhelum P, Karisetty BC, Kumar A, *et al.* Implications of epigenetic mechanisms and their targets in cerebral ischemia models[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2017,15(6):815–830
- Chen YT, Zang XF, Pan J, *et al.* Expression patterns of histone deacetylases in experimental stroke and potential targets for neuroprotection[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2012,39(9):751–758
- Baltan S, Morrison RS, Murphy SP. Novel protective effects of histone deacetylase inhibition on stroke and white matter ischemic injury [J]. *Neurotherapeutics*, 2013,10(4):798–807
- Citrome L. Schizophrenia and valproate [J]. *Psychopharmacol Bull*, 2003,37(2):74–88
- Yang X, Wu Q, Zhang L, *et al.* Inhibition of histone deacetylase 3 (HDAC3) mediates ischemic preconditioning and protects cortical neurons against ischemia in rats[J]. *Front Mol Neurosci*, 2016,9:131
- Ma C, D’Mello SR. Neuroprotection by histone deacetylase – 7 (HDAC7) occurs by inhibition of c – jun expression through a deacetylase – independent mechanism [J]. *J Biol Chem*, 2011,286(6):4819–4828
- Kim D, Frank CL, Dobbin MM, *et al.* Deregulation of HDAC1 by p25/Cdk5 in neurotoxicity[J]. *Neuron*, 2008,60(5):803–817
- He M, Zhang B, Wei X, *et al.* HDAC4/5 – HMGB1 signalling mediated by NADPH oxidase activity contributes to cerebral ischaemia/reperfusion injury[J]. *J Cell Mol Med*, 2013,17(4):531–542
- Kruman II, Wersto RP, Cardozo – Pelaez F, *et al.* Cell cycle activation linked to neuronal cell death initiated by DNA damage[J]. *Neuron*, 2004,41(4):549–561
- Sancar A, Lindsey – Boltz LA, Unsal – Kacmaz K, *et al.* Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints[J]. *Annu Rev Biochem*, 2004,73:39–85
- Guo J, Zhang T, Yu J, *et al.* Neuroprotective effects of a chromatin modifier on ischemia/reperfusion neurons: implication of its regulation of BCL2 transactivation by ER alpha signaling[J]. *Cell Tissue Res*, 2016,364(3):475–488
- Durham BS, Grigg R, Wood IC. Inhibition of histone deacetylase 1 or 2 reduces induced cytokine expression in microglia through a protein synthesis independent mechanism[J]. *J Neurochem*, 2017,143(2):214–224
- Bardai FH, D’Mello SR. Selective toxicity by HDAC3 in neurons: regulation by Akt and GSK3beta [J]. *J Neurosci*, 2011,31(5):1746–1751
- Baltan S, Bachleda A, Morrison RS, *et al.* Expression of histone deacetylases in cellular compartments of the mouse brain and the effects of ischemia[J]. *Transl Stroke Res*, 2011,2(3):411–423
- Broide RS, Redwine JM, Aftahi N, *et al.* Distribution of histone deacetylases 1 – 11 in the rat brain[J]. *J Mol Neurosci*, 2007,31(1):47–58
- Majdzadeh N, Wang L, Morrison BE, *et al.* HDAC4 inhibits cell – cycle progression and protects neurons from cell death[J]. *Dev Neurobiol*, 2008,68(8):1076–1092
- Renthal W, Maze I, Krishnan V, *et al.* Histone deacetylase 5 epigenetically controls behavioral adaptations to chronic emotional stimuli [J]. *Neuron*, 2007,56(3):517–529
- Lozhkin A, Vendrov AE, Pan H, *et al.* NADPH oxidase 4 regulates vascular inflammation in aging and atherosclerosis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017,102:10–21
- Tian X, Liu C, Shu Z, *et al.* Review: therapeutic targeting of HMGB1 in stroke[J]. *Curr Drug Deliv*, 2017,14(6):785–790
- Chang CZ, Wu SC, Kwan AL, *et al.* Rhinacanthin – C, a fat – soluble extract from rhinacanthus nasutus, modulates high – mobility group box 1 – related neuro – inflammation and subarachnoid hemorrhage – induced brain apoptosis in a rat model[J]. *World Neurosurg*, 2016,86:349–360
- Leyk J, Daly C, Janssen – Bienhold U, *et al.* HDAC6 inhibition by tubastatin A is protective against oxidative stress in a photoreceptor cell line and restores visual function in a zebrafish model of inherited blindness[J]. *Cell Death Dis*, 2017,8(8):e3028
- Fessler EB, Chibane FL, Wang Z, *et al.* Potential roles of HDAC inhibitors in mitigating ischemia – induced brain damage and facilitating endogenous regeneration and recovery[J]. *Curr Pharm Des*, 2013,19(28):5105–5120
- Rivieccio MA, Brochier C, Willis DE, *et al.* HDAC6 is a target for protection and regeneration following injury in the nervous system[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009,106(46):19599–19604
- Wang Z, Leng Y, Wang J, *et al.* Tubastatin A, an HDAC6 inhibitor, alleviates stroke – induced brain infarction and functional deficits: potential roles of alpha – tubulin acetylation and FGF – 21 up – regulation[J]. *Sci Rep*, 2016,6:19626
- Liesz A, Zhou W, Na SY, *et al.* Boosting regulatory T cells limits neuroinflammation in permanent cortical stroke [J]. *J Neurosci*, 2013,33(44):17350–17362
- Li XM, Zhang XJ, Dong MX. Isorhynchophylline attenuates MPP (+) – induced apoptosis through endoplasmic reticulum stress – and mitochondria – dependent pathways in PC12 cells: involvement of antioxidant activity[J]. *Neuromolecular Med*, 2017,19(4):480–492
- Shi W, Wei X, Wang Z, *et al.* HDAC9 exacerbates endothelial injury in cerebral ischaemia/reperfusion injury[J]. *J Cell Mol Med*, 2016,20(6):1139–1149
- Salian – Mehta S, Xu M, McKinsey TA, *et al.* Novel interaction of class IIb histone deacetylase 6 (HDAC6) with class IIa HDAC9 controls gonadotropin releasing hormone (GnRH) neuronal cell survival and movement[J]. *J Biol Chem*, 2015,290(22):14045–14056
- Markus HS, Makela KM, Bevan S, *et al.* Evidence HDAC9 genetic variant associated with ischemic stroke increases risk via promoting carotid atherosclerosis [J]. *Stroke*, 2013,44(5):1220–1225
- Jiang F. Autophagy in vascular endothelial cells[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2016,43(11):1021–1028
- Urbanek T, Kuczmik W, Basta – Kaim A, *et al.* Rapamycin induces of protective autophagy in vascular endothelial cells exposed to oxygen – glucose deprivation[J]. *Brain Res*, 2014,1553:1–11

(收稿日期:2018 – 04 – 13)

(修回日期:2018 – 04 – 22)