

P2受体与神经损伤*

张爱霞¹ 梁尚栋^{1,2}

神经系统中,很多生理和病理生理现象和嘌呤信号相关,包括:神经元与神经胶质之间的相互作用,神经干细胞的分化,神经系统疾病以及神经系统对损伤的反应,神经免疫和神经血管之间的相互作用,交感神经的传递和可塑性,胶质细胞的分化,胶质间的细胞信号通信,髓鞘形成等。以下将主要就嘌呤2受体(P2受体)在神经损伤中的作用进行介绍。

1 P2受体介导的神经保护作用

大量的研究表明在许多情况下核苷酸具有神经营养和保护作用,如神经增殖和神经再生的细胞存活,以及它们作为一种信号分子调节成熟神经细胞的发育和分化。神经再生是形成新的轴突与修复损伤的突触连接。这种神经的生长需要起始因子和促进因子之间的相互作用。嘌呤受体参与了各种细胞系统的这种再生和轴突芽过程,如PC12,视网膜神经节细胞,纹状体神经元。细胞外的ATP自身并不能影响PC12细胞的分化或者纹状体神经元的分化,但是它可以增强生长因子诱导的轴突芽作用。在NGF诱导分化的大鼠PC12细胞中加入ATP或GTP可以增加形成轴突的细胞的百分比^[1],而用拮抗剂抑制P2受体后则会阻碍轴突的形成^[2]。

营养因子如神经营养因子(NGF)和成纤维细胞生长因子(FGF)保证了神经的活性和再生,细胞外的嘌呤物质刺激这些保护性营养因子的合成和释放^[3]。ATP与这些营养因子结合,调节各个细胞系的分化和轴突再生,促成了神经胶质的增生,参与小胶质细胞介导的炎症反应的调节和多种病理状态下对中枢神经系统起到保护作用^[4-5]。营养作用还包括参与学习和记忆的可塑性改变,ATP与谷氨酸共释放可以诱导与CA1神经元相关的学习和记忆的长时程增强。此外,嘌呤受体还参与神经轴突的侧支长芽,伤害性刺激时的神经保护作用和诱导细胞凋亡调整细胞数量。

ATPrS和NGF通过增强TrkA信号在增强神经细胞的生存中具有协同作用。细胞外ATP/P2Y₂受体和神经营养因子/TrkA两个系统之间的相互作用抑制细胞凋亡,维持神经细胞的存活^[6]。核苷酸和核酸促进成年大鼠室下区中神经的发生,内源性ATP和UTP可能是通过激活P2Y₁和P2Y₂受体增强神经生长因子在细胞增殖中的作用^[7]。研究发现细胞外核苷酸和它们激活的P2Y₂受体在神经元的发育、存活和功能中具有重要的作用^[8]。

在海马神经中,ATP能够抑制兴奋性递质如谷氨酸的释放,刺激抑制性递质如GABA的释放,从而起到一种神经保护的作用^[9]。

2 P2受体介导的神经变性作用

2.1 缺血和缺氧损伤导致的神经变性

在缺血和缺氧的病理状态下,损伤细胞的嘌呤核苷酸释放到细胞外,使得细胞外嘌呤核苷酸的浓度增高。例如,将皮

质大脑片置于低氧环境(95%N₂,5%CO₂)中培养30min,导致细胞形态发生明显改变,但如果预先加入P2受体拮抗剂PPADS则可以防止神经元的死亡,表明P2受体和缺氧引起的细胞死亡有关。

各种细胞系统都有细胞外的ATP和P2受体参与缺血损伤的报道^[10-12]。例如,脑局部缺血时,沙鼠海马中的神经元上的P2X₂受体和神经胶质细胞上的P2X₄受体的表达上调,最近研究发现局部缺血性大脑损伤是细胞外ATP介导的表达于小胶质细胞上的白细胞介素-10所调节的。离体和活体局部缺血时,星形胶质细胞,小胶质细胞和神经元上P2X₇受体表达的上调都参与了缺血导致细胞死亡的机制。培养的小脑颗粒细胞和海马中,给予缺血刺激后,P2X₇mRNA和蛋白的表达均升高。在活体中,缺血时坏死区域周围的脑组织中胶质细胞上的P2X₇mRNA增加。研究表明自发性高血压大鼠持续性脑缺血后出现大脑中P2X₇受体表达增高。由此可见,P2X₇受体在缺血和缺氧导致的细胞损伤机制中具有重要的作用。

但是,到目前为止,我们对中枢神经系统中P2X₇受体的生理和病理生理作用的认识还是很有限的。当用低浓度的激动剂激活P2X₇受体时,P2X₇受体则成为一个非选择性的阳离子通道,允许小的阳离子通过;当用高浓度的激动剂激活P2X₇受体时,则会导致细胞膜上出现大的孔道,甚至可以允许分子量达90Da的大分子通过。离子孔道的形成和细胞凋亡有关,可能和嘌呤受体的羧基端伸长有关。在许多细胞类型中,P2X₇受体的激活导致快速的细胞骨架的重构,如发生细胞膜起泡和细胞溶解等^[13]。

最初对P2X₇受体的认识仅仅局限在小胶质细胞、淋巴细胞、巨噬细胞和星形胶质细胞上,并证实其在炎症、梗死和免疫损伤后大脑的修复过程中发挥一定的作用。ATP刺激除引起坏死和细胞凋亡外还可引起、诱发和维持神经胶质的增生^[14]。但是,最近的研究发现大脑神经元的突触前后膜均有P2X₇受体免疫染色的阳性表达。P2X₇受体被激活后调节星形胶质细胞和神经元的神经递质的释放,同时还调节巨噬细胞和小胶质细胞中白介素-1的合成和释放^[15]。刺激P2X₇受体导致的细胞死亡包括各种特殊蛋白激酶的磷酸化和激活以及转录因子的激活。

新纹状体的有棘神经元对局部缺血非常敏感。兴奋性突触传递与局部缺血诱导的兴奋中毒性神经元死亡有关。研究发现有棘神经元的兴奋性突触传递是通过突触前调制的,突

* 基金项目:国家自然科学基金(30460040,30660048);江西省自然科学基金(0640042)

1 南昌大学医学院生理学教研室,江西,330006

2 通讯作者:梁尚栋(南昌大学医学院生理学教研室,江西,330006)

作者简介:张爱霞,女,硕士研究生

收稿日期:2007-05-14

触前膜的P2X受体被激活和随后引起的钙内流促进局部缺血时谷氨酸的释放^[16]。当局部缺血和缺氧时,ATP通过离子通道从肿胀的细胞中释放出来,或者在前突触末梢和谷氨酸共同被释放出来^[17]。免疫细胞化学和原位杂交已经证实P2X受体广泛的分布在中枢神经系统,电子显微镜研究表明当局部缺血后突触前膜的P2X受体表达会显著上调,早期研究发现激活突触前膜的P2X受体使突触前膜去极化,从而激活压力门控(依赖性)钙通道增加神经递质的释放,但之后的研究表明钙离子可以直接通过P2X受体进入突触前膜从而增加神经递质的释放^[18],局部缺血时新纹状体中导致谷氨酸释放的增加钙离子内流是直接通过P2X受体而不是通过压力门控(依赖性)钙通道。

P2Y₁受体主要表达在大脑皮质深层的浦肯野细胞和海马的缺血敏感区,研究发现大脑中动脉闭塞后上述区域中P2Y₁受体的表达明显增加^[12]。

所以,大量的证据表明缺血后神经元和神经胶质细胞上的P2X和P2Y受体表达成时间和区域依赖性上调,说明嘌呤受体在活体和离体大脑缺血时的病理生理过程中均有直接的作用。

2.2 机械损伤导致的神经变性

一侧脑损伤后,神经元和神经胶质细胞上P2X₁和P2X₂受体表达成时间依赖性改变,P2受体参与了轴突横断后的神经反应,嘌呤能和硝基能受体同时被表达和激活,提示在脑损伤时,这两个系统存在相互作用^[19]。外周神经损伤后,DRG神经元上P2X₃受体的表达发生改变和P2X₃mRNA表达增加,说明P2X₃受体在初级感觉神经元损伤后的病理机制中具有重要的作用^[20]。小胶质细胞是中枢神经系统中具有免疫活性的胶质细胞,小胶质细胞被脂多糖激活后其细胞形态和活性发生显著的改变,特别是该细胞停止从静止细胞向效应细胞的增殖和分化。同时,激活的小胶质细胞上嘌呤信号也发生改变,特别是P2X₇受体表达显著下调,研究发现P2X₇受体表达显著下调与脂多糖的抗小胶质细胞增殖作用密切相关,并证明P2X₇受体通过促进细胞周期进程在小胶质细胞的增殖中起到重要的作用^[21]。

脊髓损伤是一个严重的健康问题。ATP-MgCl₂能够减少脊髓损伤后的脂质过氧化反应,避免损伤后脊髓的继发性损伤。ATP-MgCl₂与其他治疗手段一起用于对脊髓损伤的治疗正在研究当中。脊髓损伤后,损伤远端区域大量的ATP释放,激活神经元上的P2X₇受体,引起细胞发生不可逆的钙内流从而导致细胞死亡。使用P2受体拮抗剂PPADS干预,可以明显提高脊髓急性损伤后功能的恢复和减少损伤远端细胞的死亡^[22]。在体外培养的皮质的研究中,发现小胶质细胞上的P2X₇受体的激活与小胶质细胞介导的神经元的损伤密切相关,提示P2X₇受体可能成为治疗急性和慢性与小胶质细胞相关的神经变性疾病新的治疗靶点^[23]。成年大鼠面神经轴突横断后,小胶质细胞被激活,围绕着损伤的神经元增生。在正常面神经核和轴突横断的面神经核中均发现有P2Y₁₂受体的表达,但在面神经轴突横断后表达P2Y₁₂受体的神经细胞增加,小胶质细胞的激活被认为在运动神经元的再生中起着关键的作用^[24]。

采用显微注射法将ATP注射到大鼠纹状体导致由P2X受体介导的细胞死亡,证实了细胞外ATP是介导大脑损伤神经病理因素的假设^[25],反应蓝可以阻断纹状体中的这种ATP介导的细胞毒作用,而PPADS却不能阻断这种细胞毒作用。使用反应性胶质增生模型研究发现,内源性ATP参与脑损伤引起的大鼠大脑皮质和副神经核中神经胶质增生^[26]。正常大鼠的星形胶质细胞上有P2X和P2Y受体的各种亚型的表达和共表达,当机械性损伤后,这些P2受体(P2X_{1,7}和P2Y_{2,6})的表达发生相应的改变。

在所有的嘌呤受体亚型中,P2X₇具有特别重要的作用,因为其参与细胞凋亡的过程而与细胞的再生没有关系,因此,P2X₇受体可以抑制大脑损伤后的神经胶质细胞的过度增生。P2X₇受体刺激胶质细胞中AKT的磷酸化,后者在凋亡的调节、蛋白合成和分化中具有重要的作用^[27],然而P2X₇受体的更多功能尚在研究当中。P2X受体可能还有介导钙信号和神经胶质细胞的分泌活动的功能,后者使嘌呤受体释放进一步增加。

在活体中,P2Y₁受体在细胞增生中起重要作用,而非P2Y₁嘌呤受体在细胞增生中起辅助作用,提示P2Y₁受体可能参与生理和病理情况下的胶质反应。

细胞外ATP介导完全分化和成熟神经元、分离的初级神经元细胞和培养的器官死亡,主要是变性性细胞凋亡和坏死。微摩尔水平的ATP在几分钟内导致细胞死亡。其机制可能是细胞肿胀,乳酸脱氢酶释放,细胞内活性氧簇增加,细胞核裂解。

嘌呤机制可能参与了许多神经退行性病变的病理过程,特别是ATP、腺苷和其他神经递质大量释放到细胞外介导神经退行性病变。在各种急性和慢性病理情况下,P2受体的激活可能是神经细胞死亡的原因,也可以是神经细胞死亡的结果。所以说P2受体在中枢神经系统既有保护作用又有毒性作用。

3 P2受体与神经损伤治疗

阐明何种P2受体激动的信号转导通路对寻找神经疾病的新治疗方法有着重要的作用。使用药物干扰核苷酸合成,从而调节神经损伤后的胶质增生减少瘢痕形成可能成为一种新的治疗神经损伤的方法。Pekovic等^[28]研究发现使用嘌呤核苷类似物利巴韦林治疗可以减少成年大脑感觉运动皮质损伤后的反应性神经胶质增生,并能促进神经元与损伤区域中失去神经支配的神经细胞重新建立突触连接,这可能是一种促进大脑损伤后神经修复的有效治疗方法。利巴韦林的抗增生作用是通过抑制损伤导致GTP和dGTP衰竭后的新生核苷酸的合成。另一个重要的新治疗方法是P2Y₁受体亚型,P2Y₁受体参与大脑损伤后早期反应性神经胶质增生的调节。P2Y₁受体广泛的表达在包括中枢神经系统在内的多种组织中,所以是比较重要的一种P2受体亚型。如参与胚胎期大脑发育及大脑损伤后星形胶质细胞的促有丝分裂反应的激活。P2Y₁₂受体则已经被证实是抗血栓形成药物治疗的作用靶点,而且还可能成为对其他神经疾病,如癫痫、慢性疼痛、脑肿瘤、囊性纤维病等的治疗靶点。抗凝血药氯吡格雷和坎格

雷洛的活性代谢产物是选择性P2Y₁₂受体的拮抗剂,能够有效地抑制血小板聚集。但是,另一方面,P2Y₁₂受体拮抗剂又会阻断中枢神经系统的突触前P2Y₁₂受体,改变神经功能。半胱氨酰白细胞三烯是一种强烈的炎症介质,在哮喘和过敏性鼻炎的发病机制中具有重要作用,其拮抗剂与P2Y受体的信号通路存在相互作用,因此关于这些复合物在哮喘及其他炎症疾病的临床使用正在大量研究中。最近有报道,嘌呤和白细胞三烯系统之间存在着相互作用。在培养的大鼠小神经胶质细胞上,P2Y₁和半胱氨酰白细胞三烯受体调节的嘌呤和半胱氨酰白细胞三烯的共同释放^[29]。口服抗过敏药孟鲁司特和普仑司特是白细胞三烯受体拮抗剂,它们可以非选择性地阻断多个系统的P2Y受体信号。这些发现的神经保护的重要作用有待进一步实验研究。

4 小结

综上所述,大量研究表明ATP和P2受体对于神经细胞可能具有双重作用,一方面ATP具有神经营养和保护作用,在神经细胞的发育、分化、生存和损伤后再生中具有重要作用;另一方面,各种原因导致的损伤后神经变性时各种亚型嘌呤受体的表达发生改变,说明P2受体可能参与了损伤后神经变性的病理生理过程,与损伤后神经变性有着密切关系。因此,对生理和病理状态下神经系统中嘌呤受体的进一步广泛深入研究,将有助于阐明神经系统各种疾病的发病机制,并且为治疗神经疾病提供新的思路和方向,嘌呤相关的药物将可能会成为治疗神经疾病的新方向。

参考文献

- [1] D'Ambrosi N, Murra B, Cavaliere F, et al. Interaction between ATP and nerve growth factor signalling in the survival and neuritogenesis from PC12 cells [J]. Neuroscience, 2001, 108(3): 527—534.
- [2] D'Ambrosi N, Cavaliere F, Merlo, et al. Antagonists of P2 receptor prevent NGF-dependent neuritogenesis in PC12 cells [J]. Neuropharmacology, 2000, 39(6):1083—1094.
- [3] Neary JT, Kang Y, Shi YF, et al. Signaling from nucleotide receptors to protein kinase cascades in astrocytes [J]. Neurochem Res, 2004, 29(11):2037—2042.
- [4] Gendron FP, Chalimoniuk M, Strosznajder J, et al. P2X₇ nucleotide receptor activation enhances IFN gamma-induced type II nitric oxide synthase activity in BV-2 microglial cells [J]. Neurochem, 2003, 87(2) :344—352.
- [5] Suzuki T, Hide I, Ido K, et al. Production and release of neuroprotective tumor necrosis factor by P2X₇ receptor-activated microglia[J]. J Neurosci, 2004, 24(1):1—7.
- [6] David B, Arthur S, Georgi A, Akassoglou K, et al. Inhibition of apoptosis by P2Y2 receptor activation: novel pathways for neuronal survival[J]. Neurosci, 2006, 26(14): 3798—3804.
- [7] Mishra SK, Braun N, Shukla V, et al. Extracellular nucleotide signaling in adult neural stem cells: synergism with growth factor-mediated cellular proliferation[J]. Development, 2006, 133(4): 675—684.
- [8] Zhang Y, Deng P, Li Y, et al. Enhancement of excitatory synaptic transmission in spiny neurons after transient forebrain ischemia [J]. J Neurophysiol, 2006, 95(3): 1537—1544.
- [9] Simola N, Fenu S, Baradi PG, et al. Blockade of adenosine A2A receptors antagonizes parkinsonian tremor in the rat tacrine model by an action on specific striatal regions [J]. Exp Neurol, 2004, 189(1): 182—188.
- [10] Cavaliere F, Florenzano F, Amadio S, et al. Up-regulation of P2X2, P2X4 receptor and ischemic cell death: prevention by P2 antagonists[J]. Neuroscience, 2003, 120(1):85—98.
- [11] Cavaliere F, Amadio S, Sancesario G, et al. Synaptic P2X₇ and oxygen/glucose deprivation in organotypic hippocampal cultures[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004, 24(4):392—398.
- [12] 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.
- [13] Kim M, Jiang LH, Wilson HL, et al. Proteomic and functional evidence for a P2X₇ receptor signalling complex [J]. J EMBO, 2001, 20(22) :6347—6358.
- [14] Franke H, Grosche J, Schadlich H, et al. P2X receptor expression on astrocytes in the nucleus accumbens of rats[J]. Neuroscience, 2001, 108 (3):421—429.
- [15] Cavaliere F, Amadio S, Sancesario G, et al. Synaptic P2X₇ and oxygen/glucose deprivation in organotypic hippocampal cultures [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004, 24 (4):392—398.
- [16] Zhang Y, Deng P, Li Y, et al. enhancement of excitatory synaptic transmission in spiny neurons after transient forebrain ischemia. [J]. J Neurophysiol, 2006, 95(3): 1537—1544.
- [17] Mori M, Heuss C, Gähwiler BH, et al. Fast synaptic transmission mediated by P2X receptors in CA3 pyramidal cells of rat hippocampal slice cultures [J]. J Physiol, 2001, 535(pt1): 115—123.
- [18] Shigetomi E, Kato F. Action potential-independent release of glutamate by Ca²⁺ entry through presynaptic P2X receptors elicits postsynaptic firing in the brainstem autonomic network [J]. J Neurosci, 2004, 24(12): 3125—3135.
- [19] Visconti MT, Florenzano F, Conversi D, et al. Axotomy dependent purinergic and nitrergic co-expression [J]. Neuroscience, 2004, 123(2): 393—404.
- [20] Tsuzuki K, Kondo E, Fukuoka T, et al. Differential regulation of P2X3 mRNA expression by peripheral nerve injury in intact and injured neurons in the rat sensory ganglia [J]. Pain, 2001, 91 (3):351—360.
- [21] Bianco F, Ceruti S, Colombo A, et al. A role for P2X₇ in microglial proliferation[J]. J Neurochem, 2006, 99(3): 745—758.
- [22] Wang X, Arcuino G, Takano T, et al. P2X₇ receptor inhibition improves recovery after spinal cord injury [J]. Nat Med, 2004, 10(8) :821—827.
- [23] Skaper SD, L'Facci AA, Cullbert, et al. P2X₇ receptors on microglial cells mediate injury to cortical neurons in vitro [J]. Glia, 2006, 54(3):234—242.
- [24] Sasaki Y, Hoshi M, Akazawa C, et al. Selective expression of Gi/o-coupled ATP receptor P2Y₁₂ in microglia in rat brain. [J]. Glia, 2003, 44(3):242—250.
- [25] Ryu JK, Kim J, Choi SH, et al. ATP-induced in vivo neurotoxicity in the rat striatum via P2 receptors [J]. NeuroReport, 2002, 13(13):1611—1615.
- [26] Franke H, Krügel U, Grosche J, et al. P2Y receptor expression on astrocytes in the nucleus accumbens of rats [J]. Neuroscience, 2004, 127(2) :431—441.
- [27] Jacques-Silva MC, Rodnight R, Lenz G, et al. P2X₇ receptors stimulate AKT phosphorylation in astrocytes [J]. Br J Pharmacol, 2004, 141(7):1106—1117.
- [28] Pekovic S, Filipovic R, Subasic S, et al. Downregulation of glial scarring after brain injury: the effect of purine nucleoside analogue ribavirin [J]. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1048: 296—310.
- [29] Ballerini P, Di Iorio P, Ciccarelli R, et al. P2Y₁ and cysteinyl leukotriene receptors mediate purine and cysteinyl leukotriene co-release in primary cultures of rat microglia[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2005, 18(2):255—268.