

# G 蛋白偶联受体 17 在视网膜神经节细胞缺氧损伤中的作用

林卡娜<sup>1</sup>, 林美丽<sup>2</sup>, 顾莹芬<sup>1</sup>, 张顺国<sup>1</sup>, 黄诗颖<sup>1</sup>

1. 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心药剂科, 上海 200127

2. 浙江大学医学院附属第二医院药剂科, 浙江 杭州 310009

**[摘要]** 目的:探讨 G 蛋白偶联受体 17(GPR17)在视网膜神经节细胞缺氧损伤中的作用。方法:采用氯化钴(400  $\mu\text{mol/L}$ )诱导 RGC-5 细胞化学缺氧损伤,观察 GPR17 的表达及 GPR17 配体的作用,并通过小干扰 RNA(siRNA)降低 GPR17 的表达深入研究 GPR17 在细胞缺氧损伤中的作用。MTT 法检测细胞存活率;流式细胞术检测细胞凋亡率;RT-PCR 法检测 GPR17 mRNA 相对表达量。结果:氯化钴处理后,细胞中 GPR17 mRNA 相对表达量由  $0.26 \pm 0.08$  上调至  $0.36 \pm 0.05$  ( $P < 0.01$ )。与未经 GPR17 配体预处理的缺氧细胞比较,GPR17 激动剂尿苷 5'-二磷酸二钠盐、尿苷 5'-二磷酸葡萄糖二钠盐、LTD4 预处理细胞的存活率分别降低了 29.6%、31.8%、33.9% (均  $P < 0.01$ );而其拮抗剂坎格雷洛预处理细胞的存活率升高了 33.2% ( $P < 0.01$ )。GPR17 siRNA 处理可以抑制缺氧导致的 GPR17 mRNA 表达上调 ( $P < 0.01$ ),减少缺氧导致的细胞凋亡[未加 siRNA、NC siRNA 和 GPR17 siRNA 组细胞的凋亡率分别为  $(39.73 \pm 2.06)\%$ ,  $(42.50 \pm 3.64)\%$  和  $(24.98 \pm 2.16)\%$ ,  $P < 0.01$ ]。结论:GPR17 介导了 RGC-5 细胞的缺氧损伤,抑制 GPR17 表达可减轻缺氧损伤。



**[关键词]** 受体,G-蛋白偶联/拮抗剂和抑制剂;钴/药理学;视网膜神经节细胞/药物作用;细胞系;缺氧/药物疗法;细胞凋亡;细胞,培养的

**[中图分类号]** R774 **[文献标志码]** A

## G protein-coupled receptor 17 is involved in $\text{CoCl}_2$ -induced hypoxic injury in RGC-5 cells

LIN Kana<sup>1</sup>, LIN Meili<sup>2</sup>, GU Yingfen<sup>1</sup>, ZHANG Shunguo<sup>1</sup>, HUANG Shiyong<sup>1</sup>  
(1. Department of Pharmacy, Shanghai Children's Medical Center Affiliated to School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China; 2. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine,

收稿日期:2018-06-25 接受日期:2018-10-02

基金项目:上海交通大学医学院医院药学科科研基金(JDYX2016QN023,JDYX2017QN014);浦东新区科技发展基金(PKJ2016-Y38)

第一作者:林卡娜(1986—),女,硕士,主管药师,主要从事神经药理学研究;E-mail: linkana@163.com; https://orcid.org/0000-0002-9374-8901

通信作者:黄诗颖(1986—),女,硕士,主管药师,主要从事神经药理学研究;E-mail: huangshiyong@scmc.com.cn; https://orcid.org/0000-0002-4669-0057

Hangzhou 310009, China)

Corresponding author: HUANG Shiyin, E-mail: huangshiyin@scmc.com.cn, https://orcid.org/0000-0002-4669-0057

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the effect of G protein-coupled receptor 17 (GPR17) on hypoxia injury in retinal ganglion cells *in vitro*. **Methods:** CoCl<sub>2</sub> (400 μmol/L) was used to induce hypoxic injury in RGC-5 cells. The expression of GPR17 and the effect of GPR17 ligands were investigated, and the role of GPR17 in hypoxia injury was further studied by transfection of RGC-5 cells with GPR17 small interfering RNA (siRNA). The cell viability was determined by MTT and the cell apoptosis rate was detected by flow cytometry analysis. The expression of GPR17 mRNA was determined with RT-PCR. **Results:** mRNA expressions of GPR17 in RGC-5 cells with and without CoCl<sub>2</sub> treatment were  $0.36 \pm 0.05$  and  $0.26 \pm 0.08$  ( $P < 0.01$ ). Compared with hypoxia without any treatment, pretreatment with GPR17 agonists (LTD<sub>4</sub>, UDP, UDP-G) significantly reduced cell viability (the survival rates of cells decreased by 29.6%, 31.8% and 33.9%, all  $P < 0.01$ ), while the effect of GPR17 antagonist (cangrelor) was the opposite (the survival rates of cells increased by 33.2%,  $P < 0.01$ ). Transfection with GPR17 siRNA inhibited hypoxia-induced up-expression of GPR17 mRNA ( $P < 0.01$ ) and reduced cell apoptosis [rates of cell apoptosis were ( $39.73 \pm 2.06$ )%, ( $42.50 \pm 3.64$ )% and ( $24.98 \pm 2.16$ )% for blank control, NC siRNA and GPR17 siRNA groups,  $P < 0.01$ ]. **Conclusion:** GPR17 may mediate hypoxia injury in RGC-5 cells, while the knockdown of GPR17 can reduce the hypoxia injury.

[**Key words**] Receptors, G-protein-coupled/antagonists & inhibitors; Cobalt/pharmacology; Retinal ganglion cells/drug effects; Cell line; Anoxia/drug therapy; Apoptosis; Cells, cultured

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2018,47(5):487-492.]

损伤视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)位于视网膜内层,在视觉信息的整合和传递中起重要作用,其缺氧损伤是导致视神经不可逆损伤和视力丧失的主要原因,是许多眼病(如糖尿病视网膜病变、早产儿视网膜病变、青光眼、视网膜中央动脉阻塞等)的常见特征<sup>[1-2]</sup>。因此, RGC 缺氧损伤机制研究可以为临床提供新的治疗靶点。

半胱氨酰白三烯(cysteinyl leukotrienes, CysLT)是花生四烯酸经5-脂氧酶代谢的一类重要炎症介质,包括LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub>和LTE<sub>4</sub>。已经发现的CysLT受体亚型有CysLT<sub>1</sub>受体、CysLT<sub>2</sub>受体和G蛋白偶联受体17(G protein coupled receptor 17, GPR17)<sup>[3]</sup>。其中,GPR17主要分布在脑、心脏和肾脏中<sup>[4]</sup>。在脑缺血或脊髓损伤模型中,GPR17表达上调并介导了神经元的缺氧损

伤<sup>[5-6]</sup>。但是,GPR17在RGC缺氧损伤中的作用尚不明确。本研究采用氯化钴诱导RGC-5细胞缺氧损伤,观察缺氧对GPR17表达的影响,并以RNA干扰技术进一步确认GPR17在缺氧损伤中的作用,为寻求视网膜组织缺氧性疾病的治疗新靶点提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及仪器

RGC-5细胞购自美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection);DMEM高糖培养基、FBS、胰蛋白酶为美国Gibco公司产品;氯化钴、GPR17配体[激动剂LTD<sub>4</sub>、尿苷5'-二磷酸二钠盐(uridine 5'-diphosphate disodium salt, UDP)、尿苷5'-二磷酸葡萄糖二钠盐(uridine 5'-diphosphoglucose disodium salt, UDP-G)以及

GPR17 拮抗剂坎格雷洛]、MTT 为美国 Sigma 公司产品;Annexin V 细胞凋亡检测试剂盒为美国 BD 公司产品;TRIzol 试剂、脂质体 2000 为美国 Invitrogen 公司产品;RNA 酶抑制剂(RNasin)、无 RNA 酶水、dNTP 及 PCR 试剂盒为日本 TaKaRa 公司产品;逆转录酶(M-MLV)、随机引物及其余试剂为生工生物工程(上海)股份有限公司产品。

ELX800 多功能酶标仪为美国 Bio-Tek 公司产品;SmartSpec Plus 核酸蛋白检测仪和 GelDoc XR System 凝胶成像系统为美国 Bio-Rad 公司产品;FACSCalibur 流式细胞仪为美国 BD 公司产品。

## 1.2 细胞培养

冻存的 RGC-5 细胞复苏后接种于培养瓶中,使用含 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基,37 °C、5% 二氧化碳中静置培养。待细胞 80% 汇合或接近汇合成片后,0.25% 胰蛋白酶消化传代。

## 1.3 建立 RGC-5 细胞化学缺氧模型

将 RGC-5 细胞接种于 96 孔板,密度为  $1 \times 10^5$ /孔。待细胞贴壁生长 24 h 后弃原培养基,加入 PBS 清洗 2 次,再加入 400  $\mu\text{mol/L}$  氯化钴<sup>[7]</sup>处理 24 h。

## 1.4 MTT 法检测细胞活性

将 RGC-5 细胞接种于 96 孔板,密度为  $1 \times 10^5$ /孔。待细胞贴壁生长 24 h 后用于实验。氯化钴缺氧损伤 24 h 后,或 GPR17 配体(UDP 100  $\mu\text{mol/L}$ ,UDP-G 100  $\mu\text{mol/L}$ ,LTD4 100 nmol/L,坎格雷洛 10  $\mu\text{mol/L}$ )预处理 6 h 再行氯化钴损伤 24 h 后,每孔加入 MTT 液(0.5 mg/mL),在 5% 二氧化碳孵箱 37 °C 培养 4 h 后,吸取培养液,加入 100  $\mu\text{L}$  DMSO,以酶标仪检测波长 570 nm 处吸光度值。细胞存活率(%) = 处理组吸光度值/对照组吸光度值  $\times 100\%$ 。

## 1.5 RT-PCR 法检测细胞 GPR17 mRNA 表达

采用 TRIzol 法提取总 RNA,核酸检测仪测定 RNA 浓度,并在每个样本中取 1  $\mu\text{g}$  的 RNA,再分别加入 M-MLV 缓冲液 4  $\mu\text{L}$ 、M-MLV 1  $\mu\text{L}$ 、RNasin 0.5  $\mu\text{L}$ 、dNTP 2  $\mu\text{L}$ ,无 RNA 酶水加至 20  $\mu\text{L}$ ,通过逆转录反应进行 cDNA 合成。PCR 反应依照试剂盒说明书进行。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成(表 1)。扩增完毕后取 PCR 产物 10  $\mu\text{L}$  在琼脂糖凝胶上检测,GPR17 mRNA 相对表达量为目的基因与内参基因电泳条带吸光度的比值。

表 1 RT-PCR 引物序列

Table 1 RT-PCR primer sequences

引物名称	序列(5'→3')
GPR17	上游:AGACTGTGCAGACCAACCAC 下游:CCGCGGTACTGAAGCACATA
$\beta$ -actin	上游:TGACGTTGACATCCGTAAG 下游:AAAGGGTGTAAAACGCAGCTC

## 1.6 GPR17 小干扰 RNA 的细胞转染

RGC-5 细胞贴壁生长 24 h 后,弃原培养基,经 PBS 清洗后加入脂质体 2000 与 GPR17 干扰小 RNA(siRNA)形成转染复合物,作用 6 h 后更换新鲜培养基,48 h 后进行 GPR17 鉴定。GPR17 siRNA 对 GPR17 的干扰方法参照文献[8]和脂质体 2000 的使用说明,以无编码(NC) siRNA 干扰为对照。GPR17 siRNA 和 NC siRNA 序列委托上海吉玛制药技术有限公司合成。GPR17 siRNA 序列为 CCGTATAGAGAAGCACCTCAA,NC siRNA 序列为 CCUACGCCACCAAUUUCGUTT。

## 1.7 流式细胞仪检测细胞凋亡

RGC-5 细胞按缺氧处理与否分为对照组和缺氧组。两组分别进行未加 siRNA、NC siRNA 转染和 GPR17 siRNA 转染处理。缺氧组行 siRNA 干扰后再缺氧处理 24 h,而后用胰蛋白酶消化并收集细胞,离心后加入 PBS 重悬浮后计数,收集细胞后,500  $\times g$  离心 5 min,加入 195  $\mu\text{L}$  结合缓冲液,加入 5  $\mu\text{L}$  Annexin V-FITC 混匀,室温避光孵育 10 min,再加入 5  $\mu\text{L}$  碘化丙啶,室温避光孵育 5 min 后用流式细胞仪检测。对照组不行缺氧处理,其余同缺氧组。数据用 FlowJo 7.6.1 软件处理。

## 1.8 统计学方法

采用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析。计量数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Student-Newman-Keuls  $q$  检验, $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

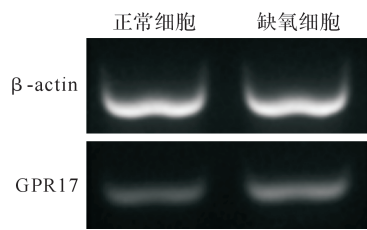
## 2 结果

### 2.1 缺氧对细胞 GPR17 mRNA 表达的影响

400  $\mu\text{mol/L}$  氯化钴处理后,细胞中 GPR17 mRNA 相对表达量由  $0.26 \pm 0.08$  上调至  $0.36 \pm 0.05$ ,增加了 36.8% ( $P < 0.01$ ),见图 1。提示 GPR17 可能参与了 RGC-5 细胞的缺氧损伤。

### 2.2 GPR17 配体对细胞缺氧损伤的影响

对照组中,GPR17 配体处理后细胞存活率未

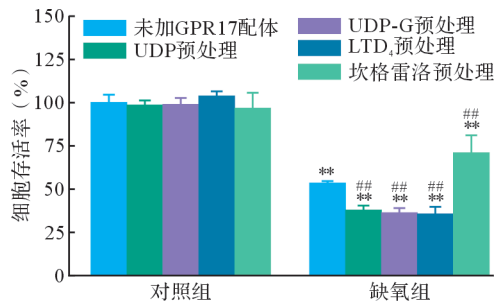


GPR17:G 蛋白偶联受体 17.

图 1 缺氧处理后细胞 GPR17 mRNA 表达变化

Figure 1 Effect of hypoxia on the expression of GPR17 mRNA

发生明显变化。缺氧组中,与未经 GPR17 配体预处理的细胞比较,激动剂 UDP、UDP-G 或 LTD<sub>4</sub> 预处理细胞的存活率降低了 29.6%、31.8% 或 33.9% (均  $P < 0.01$ ),而拮抗剂坎格雷洛预处理细胞的存活率升高了 33.2% ( $P < 0.01$ ),见图 2。结果提示,GPR17 激动剂可加重缺氧诱导的细胞损伤,而 GPR17 拮抗剂可以减轻缺氧诱导的细胞损伤。



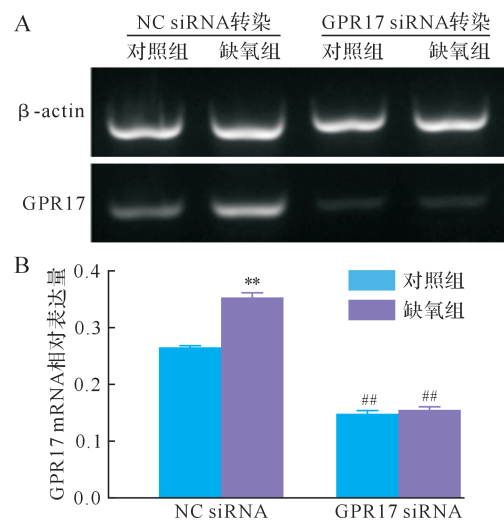
与对照组中同一配体处理的细胞比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与缺氧组中未加 GPR17 配体的细胞比较, ##  $P < 0.01$ . UDP:尿苷 5'-二磷酸二钠盐;UDP-G:尿苷 5'-二磷酸葡萄糖二钠盐;LTD<sub>4</sub>:白细胞三烯 D<sub>4</sub>.

图 2 GPR17 配体对细胞缺氧损伤的影响 ( $n = 6$ )

Figure 2 Effect of GPR17 ligands on CoCl<sub>2</sub>-induced hypoxia in RGC-5 cells ( $n = 6$ )

### 2.3 GPR17 siRNA 对缺氧导致的 GPR17 mRNA 表达及细胞凋亡率的影响

NC siRNA 干扰时缺氧致 GPR17 mRNA 相对表达量增加了 32.0%,较未加 siRNA 干扰时(增加 36.8%)差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );GPR17 siRNA 干扰可抑制细胞 GPR17 mRNA 表达,并且抑制缺氧导致的 GPR17 mRNA 表达上调(图 3)。流式细胞检测结果显示,未加 siRNA、NC siRNA 和 GPR17 siRNA 细胞的凋亡率分别为  $(39.73 \pm 2.06)\%$ 、 $(42.50 \pm 3.64)\%$  和  $(24.98 \pm 2.16)\%$ ,其中 GPR17 siRNA 的细胞凋亡率较未加 siRNA



A: GPR17 mRNA RT-PCR 检测结果;B: 各组 GPR17 mRNA 相对表达量比较.与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ ;与 NC siRNA 转染比较, ##  $P < 0.01$ . GPR17:G 蛋白偶联受体 17.

图 3 GPR17 siRNA 对缺氧环境下细胞中 GPR17 mRNA 表达的影响 ( $n = 4$ )

Figure 3 The effect of GPR17 siRNA on the expression of GPR17 mRNA under hypoxic conditions ( $n = 4$ )

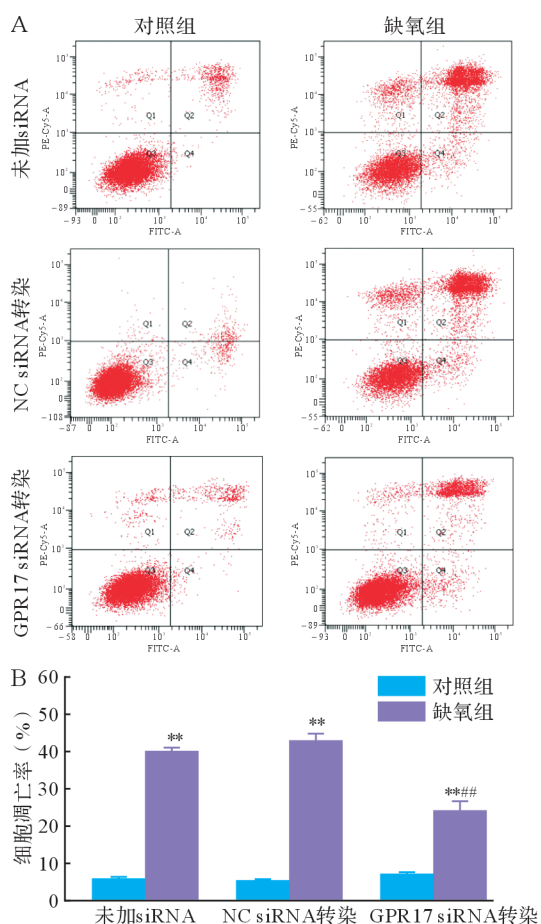
和 NC siRNA 下降(均  $P < 0.01$ ,图 4)。结果提示,GPR17 siRNA 干扰可以减轻缺氧诱导的细胞损伤。

### 3 讨论

视网膜中的视神经细胞对缺氧十分敏感,缺氧可导致视网膜病变<sup>[9]</sup>。视网膜缺氧可以对组织功能和细胞活性产生负面影响,是一个潜在的危险因素<sup>[10]</sup>。氯化钴是一种常见的诱导缺氧的化合物,可诱导细胞化学缺氧。RGC-5 细胞是 RGC,常用来替代视神经细胞进行研究<sup>[8,11-14]</sup>。采用氯化钴诱导 RGC-5 细胞发生化学缺氧可以模拟视神经细胞的缺血缺氧损伤<sup>[8]</sup>。本研究选取对 RGC-5 细胞的抑制率接近 50% 时的氯化钴浓度(400  $\mu\text{mol/L}$ )建模<sup>[7]</sup>,模拟视神经细胞的缺氧损伤。

研究提示,GPR17 是神经病变条件下实现神经修复及再生的潜在靶点<sup>[15-17]</sup>。大鼠局灶性脑缺血后,脑内 GPR17 表达上调,介导缺血后急性神经元损伤,采用 GPR17 siRNA 可成功抑制脑内 GPR17 表达,改善再灌注损伤,减少脑梗死体积及神经元损伤<sup>[18]</sup>。在脑外伤患者(手术和尸检)的脑组织样本中可见 GPR17 表达增高,提示 GPR17 可能参与神经元不可逆损伤过程<sup>[17]</sup>。He





A: 各组流式细胞仪检测结果; B: 各组细胞凋亡率比较。与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与未加 siRNA 组比较, ###  $P < 0.01$ 。GPR17; G 蛋白偶联受体 17。

图 4 GPR17 siRNA 对缺氧导致细胞凋亡的影响 ( $n = 4$ )

Figure 4 Effect of GPR17 siRNA on cell apoptosis under hypoxic conditions ( $n = 4$ )

等<sup>[19]</sup>研究发现,在大鼠急性脊髓损伤中,缺氧可以诱导 GPR17 表达上调,珍宝丸可上调 microRNA-146a-5p 表达及下调 GPR17 表达从而抑制神经元凋亡;microRNA-146a-5p 也可以调控 GPR17 的表达,进而促进脊髓功能的恢复。这些研究表明,GPR17 是神经损伤的感应器,在缺氧损伤中表达上调,通过药理学方法或 GPR17 基因干扰可下调 GPR17 表达,抑制神经元凋亡,从而改善损伤。

RGC 凋亡是视神经损伤、青光眼、缺血性视神经病变等眼科疾病的重要病理特征之一,也是导致视野缺损的主要原因,触发 RGC 凋亡的主要原因是局部缺血缺氧<sup>[2]</sup>。研究表明,GPR17 在缺氧损伤过程中表达上调并且参与了神经元的凋亡<sup>[17-19]</sup>。因此,GPR17 可能在 RGC 的缺氧损伤

中发挥了作用。本研究发现 RGC-5 细胞的缺氧损伤过程中 GPR17 的表达是上调的。为了进一步研究 GPR17 的作用,通过配体预处理及干扰受体表达技术对 GPR17 在该过程中的作用进行深入研究,结果显示 GPR17 激动剂可加重细胞的缺氧损伤,而 GPR17 拮抗剂可减轻细胞的缺氧损伤;干扰 GPR17 表达可抑制缺氧所致 GPR17 表达上调,并降低缺氧诱导的细胞凋亡,表明 GPR17 拮抗剂可减轻氯化钴致视网膜神经节细胞 RGC-5 缺氧损伤;GPR17 介导了细胞的缺氧损伤,而抑制该受体表达可以减轻细胞缺氧损伤,与相关报道一致。

综上所述,GPR17 可能是视网膜缺氧损伤的感受器,缺氧诱导受体表达,同时介导细胞凋亡,进而促使 RGC-5 细胞死亡,造成视神经不可逆损伤。深入认识 GPR17 在缺氧状态下细胞损伤中所起的作用,明确 GPR17 拮抗剂在损伤中的保护作用,可以为视网膜组织缺血性疾病的的治疗提供新的治疗方向。

志谢 感谢浙江大学医学院药理学系魏尔清教授和方三华老师在本研究中提供的帮助

## 参考文献

- [1] SERNAGOR E, EGLEN S J, WONG R O. Development of retinal ganglion cell structure and function [J]. **Prog Retin Eye Res**,2001,20(2):139-174.
- [2] OSBORNE N N, CASSON R J, WOOD J P, et al. Retinal ischemia: mechanisms of damage and potential therapeutic strategies [J]. **Prog Retin Eye Res**,2004,23(1):91-147.
- [3] ROVATI G E, CAPRA V. Cysteinyl-leukotriene receptors and cellular signals [J]. **Scientific World Journal**,2007,7:1375-1392.
- [4] CIANA P, FUMAGALLI M, TRINCAVELLI M L, et al. The orphan receptor GPR17 identified as a new dual uracil nucleotides/cysteinyl-leukotrienes receptor [J]. **EMBO J**,2006,25(19):4615-4627.
- [5] LECCA D, TRINCAVELLI M L, GELOSA P, et al. The recently identified P2Y-like receptor GPR17 is a sensor of brain damage and a new target for brain repair [J/OL]. **PLoS One**,2008,3(10):e3579.
- [6] CHEN Y, WU H, WANG S, et al. The oligodendrocyte-specific G protein-coupled receptor GPR17 is a cell-intrinsic timer of myelination [J]. **Nat Neurosci**,2009,12(11):1398-1406.

- [7] 林卡娜,林美丽,魏尔清. 葡萄籽原花青素对氯化钴诱导的视网膜神经节细胞 RGC-5 缺氧损伤的保护作用[J]. 浙江大学学报(医学版),2015,44(1):24-29. LIN Kana, LIN Meili, WEI Erqing. Protective effect of grape seed proanthocyanidin on cultured RGC-5 cells against CoCl<sub>2</sub>-induced hypoxic injury [J]. **Journal of Zhejiang University ( Medical Sciences)**,2015,44(1):24-29. (in Chinese)
- [8] DANIELE S, LECCA D, TRINCAVELLI M L, et al. Regulation of PC12 cell survival and differentiation by the new P2Y-like receptor GPR17 [J]. **Cell Signal**, 2010,22(4):697-706.
- [9] AMES A 3rd. Energy requirements of CNS cells as related to their function and to their vulnerability to ischemia; a commentary based on studies on retina [J]. **Can J Physiol Pharmacol**,1992,70 Suppl:S158-164.
- [10] MOZAFFARIEH M, GRIESHABER M C, ORGUL S, et al. The potential value of natural antioxidative treatment in glaucoma [J]. **Surv Ophthalmol**, 2008,53(5):479-505.
- [11] TSUI L, FONG T H, WANG I J. YC-1 targeting of hypoxia-inducible factor-1alpha reduces RGC-5 cell viability and inhibits cell proliferation [J]. **Mol Vis**, 2012,18:1594-1603.
- [12] ZHU X, ZHOU W, CUI Y, et al. Pilocarpine protects cobalt chloride-induced apoptosis of RGC-5 cells; involvement of muscarinic receptors and HIF-1 alpha pathway [J]. **Cell Mol Neurobiol**,2010,30(3):427-435.
- [13] HARA A, NIWA M, AOKI H, et al. A new model of retinal photoreceptor cell degeneration induced by chemical hypoxia-mimicking agent, cobalt chloride [J]. **Brain Res**,2006,1109(1):192-200.
- [14] CALTANA L, MERELLI A, LAZAROWSKI A, et al. Neuronal and glial alterations due to focal cortical hypoxia induced by direct cobalt chloride (CoCl<sub>2</sub>) brain injection [J]. **Neurotox Res**,2009,15(4):348-358.
- [15] BONFANTI E, GELOSA P, FUMAGALLI M, et al. The role of oligodendrocyte precursor cells expressing the GPR17 receptor in brain remodeling after stroke [J/OL]. **Cell Death Dis**,2017,8(6):e2871.
- [16] VIGANO F, SCHNEIDER S, CIMINO M, et al. GPR17 expressing NG2-Glia: oligodendrocyte progenitors serving as a reserve pool after injury [J]. **Glia**,2016,64(2):287-299.
- [17] FRANKE H, PARRAVICINI C, LECCA D, et al. Changes of the GPR17 receptor, a new target for neurorepair, in neurons and glial cells in patients with traumatic brain injury[J]. **Purinergic Signal**, 2013,9(3):451-462.
- [18] ZHAO B, ZHAO C Z, ZHANG X Y, et al. The new P2Y-like receptor G protein-coupled receptor 17 mediates acute neuronal injury and late microgliosis after focal cerebral ischemia in rats [J]. **Neuroscience**,2012,202:42-57.
- [19] HE Y, LV B, HUAN Y, et al. Zhenbao pill protects against acute spinal cord injury via miR-146a-5p regulating the expression of GPR17 [J]. **Biosci Rep**,2018,38(1):1-12.

[ 本文编辑 刘丽娜 余 方 ]

## · 学术动态 ·

### 刘伟教授团队发现哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 C1 调控自噬的新底物

近日,刘伟教授团队的研究论文“mTORC1-regulated and huwe1-mediated wipi2 degradation controls autophagy flux”发表在《分子细胞》(*Molecular Cell*) 期刊 ([https://www.cell.com/molecular-cell/fulltext/S1097-2765\(18\)30788-3?\\_returnURL](https://www.cell.com/molecular-cell/fulltext/S1097-2765(18)30788-3?_returnURL))。该研究发现,在自噬隔离膜生长和延伸过程中发挥关键作用的重要蛋白 WIPI2 是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 C1(mTORC1)新的磷酸化底物,依赖 mTORC1 的磷酸化能促进 WIPI2 与 E3 泛素连接酶 HUWE1 结合,从而被蛋白酶体降解。研究人员不仅揭示了 WIPI2 蛋白表达的量控机制,更证明了细胞内 WIPI2 的量是决定基础自噬强度的关键和诱发自噬的重要调控点。

美国加州大学旧金山分校的 Jayanta Debnath 教授认为该项研究为探索 WIPI2 蛋白在细胞内膜的运输中的功能提供了重要线索,对自噬相关疾病特别是肿瘤的发生和进展研究提供了新的思路。

博士研究生万伟为论文第一作者。研究工作得到了国家自然科学基金、国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助。