

• 综 述 •

细胞自噬在周围神经损伤及再生中研究进展



徐筑秋, 杨晓楠, 祁佐良

中国医学科学院 北京协和医学院 整形外科医院研究中心(北京 100144)

【摘要】 目的 总结细胞自噬在周围神经损伤后病理生理变化过程中的作用及调控机制,为周围神经损伤的治疗提供新的思路。方法 广泛查阅近5年与细胞自噬在周围神经损伤及再生方面的相关文献,并进行总结与讨论。结果 通过对小鼠进行药物干预及基因敲除等方法调节其自噬功能后证实,雪旺细胞自噬主要通过JNK/c-Jun通路影响后续的髓鞘崩解、炎性细胞浸润及轴突再生等一系列过程,通过调节雪旺细胞自噬可以改变周围神经损伤后瓦勒变性的发生、发展,维持周围神经结构的完整性,但其对后续轴突再生的作用仍存在争议。结论 细胞自噬过程在周围神经损伤后病理生理变化过程中起着重要的调节作用,深化研究其机制及作用,可为周围神经损伤后治疗方法的研究提供新思路。

【关键词】 细胞自噬;雪旺细胞;周围神经;修复重建

Role of cell autophagy in peripheral nerve injury and regeneration

XU Zhuqiu, YANG Xiaonan, QI Zuoliang

Research Center of Plastic Surgery Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing, 100144, P.R.China

Corresponding author: YANG Xiaonan, Email: yxnan@aliyun.com; QI Zuoliang, Email: Public_qi@163.com

【Abstract】 Objective To review the mechanism and effects of cell autophagy in the pathophysiology changes of peripheral nerve injury. **Methods** The recent literature about cell autophagy in peripheral nerve injury and regeneration was extensively reviewed and summarized. **Results** The researches through drugs intervention and gene knockout techniques have confirmed that the Schwann cell autophagy influences the myelin degeneration, debris clearance, inflammatory cells infiltration, and axon regeneration through JNK/c-Jun pathway. To adjust autophagy process could slow down the Wallerian degeneration, maintain the integrity of injured nerve, while the effect on axon regeneration is still controversial. **Conclusion** The Schwann cell autophagy plays a key role in the pathophysiology changes of peripheral nerve injury, the further study of its mechanism could provide new methods for the therapy of peripheral nerve injury.

【Key words】 Cell autophagy; Schwann cells; peripheral nerve; plastic and reconstructive surgery

Foundation item: Peking Union Medical College Young Researchers' Foundation (3332015155)

周围神经损伤是指原发或继发于周围神经系统的病变,是外科临床的常见疾病之一。常见的引起周围神经损伤的原因有创伤、肿瘤、代谢性疾病等,其中创伤最为常见。每年由创伤单一因素导致的周围神经损伤患者超过50万例,约占创伤患者总数的2.8%,而其功能恢复率低于50%,预后较差^[1-2]。因此,研究周围神经损伤的发病机制,寻找新的治疗靶点,探索新的治疗方法,进而提高患者

的生活质量,改善预后,一直是广大学者关注的重点和难点。

周围神经损伤后将经历一系列复杂的变化过程,涉及多层面的细胞活动,其中包括雪旺细胞的自噬。自噬是细胞在极端条件下的降解和循环利用体内物质的过程,目前已证实自噬参与了多种疾病的发生、发展,如神经退行性病变^[3]、肿瘤性疾病^[4]、遗传性肌病^[5]等。近年来也有学者发现,雪旺细胞的自噬作为瓦勒变性的伊始,在周围神经损伤后的一系列病理生理变化过程中起到了重要作用^[6-8]。因此,本文主要回顾近5年相关文献,对细胞自噬与周围神经损伤后再生的相关性及其参与机制进行系统综述,旨在补充并完善对周围神经损伤

DOI: 10.7507/1002-1892.201611136

基金项目:北京协和医学院协和青年科研基金资助项目(3332015155)

通信作者:杨晓楠,Email: yxnan@aliyun.com; 祁佐良,Email: Public_qi@163.com

后病理变化的认知,同时为临床探寻周围神经疾病的治疗提供新思路。

1 细胞的自噬机制

自噬是指细胞在受到创伤、饥饿、缺氧、感染等应激状态下的一种自我保护机制,这一过程可以无选择性地发生于所有真核细胞中,真核细胞通过自噬作用清除老化的细胞器和蛋白,以此来维持细胞生长发育的平衡。根据结合分子方式的不同,细胞的自噬可分为巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬,哺乳动物细胞中以巨自噬为主。自噬过程最主要的诱发因素是饥饿,即细胞营养物质的缺乏,此外也可通过一些感染、损伤、特定的蛋白如热休克蛋白、细胞因子如 TNF 等选择性地引发^[9-11]。首先,细胞的饥饿等作为诱发信号能够抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)激酶, mTOR 是一种营养物质敏感的调节蛋白,雷帕霉素可抑制其活性从而激发自噬过程^[12]。随后, mTOR 活性降低,负性调节促进自噬相关蛋白复合物 (autophagy associated gene 1/Unc-51-like kinase, Atg1/ULK) 的形成,对后续内质网聚合形成孤立膜结构起到关键作用^[13-14]。激活的 ULK 复合物作用于 Bcl-2 凋亡蛋白复合体,释放出 Beclin-1 蛋白,游离的 Beclin-1 蛋白再与空泡分选蛋白 VPS34、VPS15 等结合为磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 复合物。3-甲基酰嘌呤是常用的自噬抑制剂,能够通过抑制 PI3K 的活性来抑制自噬过程^[15]。ULK 复合物与 PI3K、WIPI2b (WD-repeat domain Phosphoinositide Interacting)、轻链蛋白 (Light Chain 3, LC-3) 等共同结合于内质网上特定的区域,催化产生磷脂酰肌醇-3-磷酸 (phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P), PI3P 是一种自噬小体形成的必须成分,可以特异性地结合多种效应蛋白如 WIPIs、锌指蛋白等,使内质网基膜稳态破坏,继而聚集、折叠形成孤立膜结构^[13-14]。最后,孤立膜结构继续延展、卷曲、包裹细胞质与细胞器、闭合,形成自噬小体^[16]。自噬小体在多种信号蛋白和作用因子的介导下,定向向溶酶体移动,并通过内吞作用与溶酶体融合形成自噬溶酶体,随后在以蛋白酶 B 为主的多种酶作用下,消化分解清除细胞碎片和老化的结构蛋白^[16-17]。

2 神经系统内的细胞自噬

由于神经细胞分化程度高,再生能力差,有研究证实神经细胞内极少观察到正常的凋亡过程,可

能与细胞内表达多种凋亡抑制蛋白有关,以此来实现对细胞的保护^[18]。包括交感神经元、运动神经元、蒲肯叶细胞、少突胶质细胞、雪旺细胞等在内的多种神经细胞,对细胞碎片和老化蛋白的清除主要是通过自噬作用来完成的,因此,自噬对神经细胞维持正常的结构形态、生理过程等起着重要作用^[19-20]。

在正常的自噬过程中,自噬小体的形成与自噬小体的分解维持一个动态平衡,而在损伤、饥饿等病理条件下,自噬小体的形成超过其分解量,从而导致自噬小体的积压,这种不平衡称为自噬压^[20-21]。由于神经细胞偏极化的结构特点,自噬小体形成后需要通过微管的运输才能完成分解,多种营养代谢的异常均可能导致轴突运输功能的障碍,从而使自噬小体累积,自噬压增高^[22-25]。神经细胞对自噬压的增高非常敏感,突然增加的自噬压会使细胞的内环境急剧变化,进一步加强自噬作用,导致神经细胞的坏死崩解,引起各种神经系统疾病,如阿尔茨海默病、帕金森病以及雪旺细胞自噬引发的周围神经退行性疾病等^[20, 25-26]。

3 周围神经损伤后的细胞自噬

周围神经受损后,局部将发生瓦勒变性,其核心变化是髓鞘和轴突的崩解。2015年, Gomez-Sanchez 等^[6]通过对小鼠坐骨神经损伤模型的研究证明,损伤等刺激信号激活雪旺细胞的自噬作用,进而导致受损处的髓鞘改变,并最终诱发瓦勒变性。目前研究表明:①受损神经段中自噬相关标记物蛋白,如 LC3-II、ATG 家族、WIPI2 等的表达有明显增加,且透射电镜下可观察到雪旺细胞自噬小体的形成,说明神经损伤后自噬活动的增强^[6-7]。②受损神经远心端雪旺细胞内质网伴侣蛋白的表达增加,非折叠蛋白反应 (unfolded protein reaction, UPR) 增强,间接预示自噬程序的激活,敲除 UPR 调控基因 XPB1 会明显抑制后续的瓦勒变性,且这一现象主要发生于髓鞘而非受损轴突中^[27-28]。③通过敲除小鼠 Atg 基因和特异性自噬抑制剂 3-甲基酰嘌呤处理后发现,自噬作用被抑制,瓦勒变性减弱使得受损的神经纤维能较长期地维持髓鞘及轴突形态的完整性,这一现象也得到了后续一些研究的证实^[7-8]。④雪旺细胞的自噬作用不是通过传统常见的 mTOR 信号通路,而是通过激活 JNK/c-Jun 通路,增加 Beclin 蛋白的释放,促进自噬小体的形成,来实现对自噬过程的调控。用 JNK/c-Jun 通路特异性激活剂神经酰胺处理受损神经片段

后,其自噬现象显著增强,与此同时,mTor 通路激活剂雷帕霉素处理神经片段则无明显改变^[6,29]。⑤自噬过程也参与正常雪旺细胞的分化过程,通过自噬作用消除过多的细胞质和细胞器后,雪旺细胞分化成熟继而形成髓鞘。因此自噬对维持雪旺细胞正常生长发育起着重要作用,在发育成熟后逐渐减弱,在应激状态下再次激活^[30]。

许多研究已从多方面证实,周围神经损伤后有雪旺细胞的自噬过程参与调控,但是自噬在后续神经再生的过程中起到的作用还无定论。在动物实验中^[7-8],有研究表明通过药物或基因敲除抑制雪旺细胞的自噬作用,不仅阻碍了神经纤维的崩解,还减弱了巨噬细胞的聚集,延缓了后续组织碎片的清除以及神经再生过程。能完成正常自噬过程的小鼠,其神经轴突再生及髓鞘化的情况明显好于自噬功能受到基因或药物抑制的小鼠。还有学者^[27]通过使 X-盒结合蛋白 1(X-box protein 1, XBP1)过表达的方法促进自噬,同样也有利于神经轴突的再生和运动效应器功能的恢复。然而,也有研究认为,自噬受到抑制的小鼠其神经再生能力与对照组小鼠无明显差异^[31],甚至有研究表明通过药物抑制自噬旁路通道 p38 分裂素激活蛋白可以促进轴突的再生及髓鞘化^[32]。这一现象的产生,可能有以下几点原因:①未被巨噬细胞清除的组织碎片挡住了轴突生长的通路,阻碍了神经纤维的再生。②自噬相关的 c-Jun 通道与 XBP1 和 C/EBP 同源蛋白基因同时还参与雪旺细胞去分化过程,促使雪旺细胞向增殖模式转变,抑制自噬的同时也可能会抑制雪旺细胞的增殖能力^[33-34]。③在雪旺细胞自噬引发的瓦勒变性过程中,多种神经营养因子与细胞外基质蛋白的分泌增加,也是促进神经纤维再生的因素之一。抑制瓦勒变性的发生可能会削弱神经因子与相关蛋白的表达,继而影响后续的神经再生^[35-37]。

4 小结与展望

目前已证实雪旺细胞的自噬参与调控周围神经损伤后的病理生理变化过程,对其具体机制的研究也在不断深入。然而,目前在动物体内的实验几乎都基于坐骨神经夹伤模型,并未涉及临床中常见的周围神经大段缺损。目前周围神经大段缺损治疗的金标准是自体神经移植术,然而自体神经移植术后仍会发生瓦勒变性和炎性反应,破坏移植神经的结构完整性,影响移植术后效果。在神经缺损较多的情况下,雪旺细胞作为轴突再生的桥梁^[38],对其自噬的调控可以改变雪旺细胞结构的完整性和

连续性,从而影响轴突再生。一方面,抑制自噬作用可能更大程度地保留移植后雪旺细胞的结构和连续性,为轴突再生提供通道,从而更好地引导周围神经再生,同时减轻移植后的炎性反应与排斥过程;而另一方面,抑制自噬则会抑制瓦勒变性的清除过程,使得细胞碎片无法及时排出,同时可能影响相关神经因子与蛋白的分泌以及雪旺细胞的增殖能力^[33,39]。

周围神经损伤后雪旺细胞自噬这一机制的提出,不仅深化了我们对周围神经损伤的认知,还为临床治疗提供了新的思路。目前已实现通过多种药物、基因方法对细胞的自噬进行调控,部分药物如西罗莫司、神经酰胺^[40]等已用于临床,为这一机制向临床发展增加了可行性,但更多具体的治疗原理与治疗方案仍有待进一步的探索与研究。

参考文献

- Rodríguez FJ, Valero-Cabré A, Navarro X. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 2004, 1(2): 177-185.
- Castillo-Galván ML, Martínez-Ruiz FM, de la Garza-Castro O, *et al.* Study of peripheral nerve injury in trauma patients. *Gac Med Mex*, 2014, 150(6): 527-532.
- Larsen KE, Sulzer D. Autophagy in neurons: a review. *Histol Histopathol*, 2002, 17(3): 897-908.
- Edinger AL, Thompson CB. Defective autophagy leads to cancer. *Cancer Cell*, 2003, 4(6): 422-424.
- Nishino I. Autophagic vacuolar myopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2003, 3(1): 64-69.
- Gomez-Sanchez JA, Carty L, Iruarizaga-Lejarreta M, *et al.* Schwann cell autophagy, myelinophagy, initiates myelin clearance from injured nerves. *J Cell Biol*, 2015, 210(1): 153-168.
- Jang SY, Shin YK, Park SY, *et al.* Autophagic myelin destruction by Schwann cells during Wallerian degeneration and segmental demyelination. *Glia*, 2016, 64(5): 730-742.
- Huang HC, Chen L, Zhang HX, *et al.* Autophagy Promotes Peripheral Nerve Regeneration and Motor Recovery Following Sciatic Nerve Crush Injury in Rats. *J Mol Neurosci*, 2016, 58(4): 416-423.
- de Waal EJ, Vreeling-Sindelárová-H, Schellens JP, *et al.* Starvation-induced microautophagic vacuoles in rat myocardial cells. *Cell Biol Int Rep*, 1986, 10(7): 527-533.
- Buckingham EM, Jarosinski KW, Jackson W, *et al.* Exocytosis of Varicella-Zoster Virus Virions Involves a Convergence of Endosomal and Autophagy Pathways. *J Virol*, 2016, 90(19): 8673-8685.
- Hu Y, Lou J, Mao YY, *et al.* Activation of MTOR in pulmonary epithelium promotes LPS-induced acute lung injury. *Autophagy*, 2016, 12(12): 2286-2299.
- Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, *et al.* Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet*, 2004, 36(6): 585-595.

- 13 Russell RC, Yuan HX, Guan KL. Autophagy regulation by nutrient signaling. *Cell Res*, 2014, 24(1): 42-57.
- 14 Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27: 107-132.
- 15 Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, *et al*. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*, 2016, 12(1): 1-222.
- 16 Hayashi-Nishino M, Fujita N, Noda T, *et al*. A subdomain of the endoplasmic reticulum forms a cradle for autophagosome formation. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(12): 1433-1437.
- 17 Stromhaug PE, Klionsky DJ. Approaching the molecular mechanism of autophagy. *Traffic*, 2001, 2(8): 524-531.
- 18 Castro-Obregón S, Rao RV, del Rio G, *et al*. Alternative, nonapoptotic programmed cell death: mediation by arrestin 2, ERK2, and Nur77. *J Biol Chem*, 2004, 279(17): 17543-17553.
- 19 Klionsky DJ, Emr SD. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation. *Science*, 2000, 290(5497): 1717-1721.
- 20 Chu CT. Autophagic stress in neuronal injury and disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2006, 65(5): 423-432.
- 21 Boland B, Kumar A, Lee S, *et al*. Autophagy induction and autophagosome clearance in neurons: relationship to autophagic pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2008, 28(27): 6926-6937.
- 22 Stokin GB, Lillo C, Falzone TL, *et al*. Axonopathy and transport deficits early in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Science*, 2005, 307(5713): 1282-1288.
- 23 Tooze SA, Schiavo G. Liaisons dangereuses: autophagy, neuronal survival and neurodegeneration. *Curr Opin Neurobiol*, 2008, 18(5): 504-515.
- 24 Hu Z, Yang B, Mo X, *et al*. Mechanism and Regulation of Autophagy and Its Role in Neuronal Diseases. *Mol Neurobiol*, 2015, 52(3): 1190-1209.
- 25 Rubinsztein DC, Cuervo AM, Ravikumar B, *et al*. In search of an "autophagometer". *Autophagy*, 2009, 5(5): 585-589.
- 26 Fortun J, Dunn WJ, Joy S, *et al*. Emerging role for autophagy in the removal of aggresomes in Schwann cells. *J Neurosci*, 2003, 23(33): 10672-10680.
- 27 Oñate M, Catenaccio A, Martínez G, *et al*. Activation of the unfolded protein response promotes axonal regeneration after peripheral nerve injury. *Sci Rep*, 2016, 6: 21709.
- 28 Cai Y, Arikath J, Yang L, *et al*. Interplay of endoplasmic reticulum stress and autophagy in neurodegenerative disorders. *Autophagy*, 2016, 12(2): 225-244.
- 29 Zhou YY, Li Y, Jiang WQ, *et al*. MAPK/JNK signaling: A potential autophagy regulation pathway. *Biosci Rep*, 2015. [Epub ahead of print]
- 30 Jang SY, Shin YK, Park SY, *et al*. Autophagy is involved in the reduction of myelinating Schwann cell cytoplasm during myelin maturation of the peripheral nerve. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0116624.
- 31 Roberts SL, Dun XP, Dee G, *et al*. The role of p38alpha in Schwann cells in regulating peripheral nerve myelination and repair. *J Neurochem*, 2016. [Epub ahead of print]
- 32 Myers RR, Sekiguchi Y, Kikuchi S, *et al*. Inhibition of p38 MAP kinase activity enhances axonal regeneration. *Exp Neurol*, 2003, 184(2): 606-614.
- 33 Arthur-Farraj PJ, Latouche M, Wilton DK, *et al*. c-Jun reprograms Schwann cells of injured nerves to generate a repair cell essential for regeneration. *Neuron*, 2012, 75(4): 633-647.
- 34 Jung J, Cai W, Lee HK, *et al*. Actin polymerization is essential for myelin sheath fragmentation during Wallerian degeneration. *J Neurosci*, 2011, 31(6): 2009-2015.
- 35 Masaki T, Matsumura K, Saito F, *et al*. Expression of dystroglycan and laminin-2 in peripheral nerve under axonal degeneration and regeneration. *Acta Neuropathol*, 2000, 99(3): 288-295.
- 36 Jungnickel J, Haase K, Konitzer J, *et al*. Faster nerve regeneration after sciatic nerve injury in mice over-expressing basic fibroblast growth factor. *J Neurobiol*, 2006, 66(9): 940-948.
- 37 Chen P, Piao X, Bonaldo P. Role of macrophages in Wallerian degeneration and axonal regeneration after peripheral nerve injury. *Acta Neuropathol*, 2015, 130(5): 605-618.
- 38 Raimondo S, Fornano M, Tos P, *et al*. Perspectives in regeneration and tissue engineering of peripheral nerves. *Ann Anat*, 2011, 193(4): 334-340.
- 39 Jessen KR, Mirsky R. The repair Schwann cell and its function in regenerating nerves. *J Physiol*, 2016, 594(13): 3521-3531.
- 40 Jung TW, Choi KW. Pharmacological Modulators of Endoplasmic Reticulum Stress in Metabolic Diseases. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(2): E192.

收稿日期: 2016-11-29 修回日期: 2016-12-27

本文编辑: 王雁