

# 神经细胞焦亡与麻醉药物相关研究进展

潘秦<sup>1</sup>, 杨剑<sup>1,2</sup>, 熊兴龙<sup>1,2</sup>

1. 贵州医科大学麻醉学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附属医院麻醉科, 贵州 贵阳 550004

**摘要:** 细胞焦亡是继细胞凋亡和细胞坏死后发现的一种程序性、伴有炎症反应的细胞死亡方式。由天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(胱天蛋白酶, caspase)-1介导,并伴有大量炎症因子[白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-18等]及促炎因子的释放,诱导其他炎症细胞因子的合成和释放,募集炎症细胞集聚,扩大全身炎症反应,导致细胞焦亡。最近研究显示,细胞焦亡可能参与了麻醉药物作用于脑组织的过程,并对术后认知功能产生影响。因此,本文对细胞焦亡的形态学变化、发生机制及麻醉药物在其中所起作用方面取得的相关研究进展综述如下。

**关键词:** 细胞焦亡; 胱天蛋白酶; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3; 细胞焦亡关键蛋白; 麻醉药物

**中图分类号:** R963 Q255 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2021)02-0262-03

全身麻醉的靶器官是中枢神经系统。目前认为全身麻醉会对发育期大脑神经元产生神经毒性,同时神经毒性与药物剂量、暴露时间、次数等有关<sup>[1]</sup>,并可能引起发育中的大脑产生广泛的神经元变性,与炎症反应,在啮齿动物和非人类灵长类动物中引起神经性认知功能障碍<sup>[2-3]</sup>。炎症小体有多种类型,但都是导致天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(又称胱天蛋白酶, cysteinyl aspartate specific proteinase, caspase)和白细胞介素释放的共同激活途径<sup>[4]</sup>。细胞焦亡(Pyroptosis)是一种新型的内源性死亡机制,与炎症反应有关,是先天性免疫系统对病原体的关键反应环节。基于以上背景,本文就神经元细胞焦亡与麻醉药物的相关联系进行综述。

## 1 细胞焦亡的形态学特征

细胞焦亡的特征表现为细胞不断肿胀、胞膜受力不均继而破裂。细胞焦亡时,胞膜会破裂形成1.0~2.4 nm的小孔,继而发生细胞渗透性肿胀,胞内各种物质如乳酸脱氢酶、炎症因子[白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-18]等渗出,用能够穿透细胞膜的染料如碘化丙啶(PI)可以进入焦亡细胞的细胞核,出现阳性染色<sup>[5]</sup>。因此细胞焦亡在形态上不同于细胞凋亡,主要表现为胞膜成孔破裂、核固缩、外吐小泡,染色质DNA断裂片段化等<sup>[4]</sup>。

## 2 细胞焦亡的发生机制

**2.1 依赖caspase-1的经典细胞焦亡途径** caspase-1是一种进化上保守的胞浆酶,它是天冬氨酸残基后切割蛋白底物,以调节特定的细胞信号通路。当有害因素(病原微生物、麻醉药物、创伤)等入侵时,胞内的病原体相关分子模式(PAMP)和损伤相关分子模式(DAMP)作为感受器识别这些信号,通过衔接蛋白ASC募集前胱天蛋白酶-1单体,并通过二聚体作用激活

胱天蛋白酶,进而切割gasdermin家族成员之一gasdermin D(GSDMD),并释放gasdermin-N结构域,该结构域质膜上穿孔,从而诱导细胞肿胀和渗透裂解并促进IL-1 $\beta$ 、IL-18等细胞因子成熟和释放,加速细胞焦磷酸化死亡<sup>[5-7]</sup>。

**2.2 非caspase-1依赖的细胞焦亡途径** 细菌细胞壁成分脂多糖(LPS)是最强免疫激活剂之一,LPS可与小鼠caspase-11和人类caspase-4、5结合,可导致非典型炎症小体的激活<sup>[8-9]</sup>。但是,介导caspase-11下游的细胞焦亡信号机制未见详情报道,caspase-11通过裂解细胞膜半通道蛋白pannexin-1导致ATP释放,从而激活P2X7受体诱导细胞毒性<sup>[10]</sup>。研究表明caspase-11直接与LPS连接,可以触发核苷酸结合寡聚结构域样受体蛋白3(NLRP3)和caspase-1的依赖性活化,从而导致无活性的细胞因子白介素细胞的蛋白水解成熟释放<sup>[8]</sup>。同时caspase-11切割细胞焦亡关键蛋白GSDMD的分子量53 000前体形式(pro-GSDMD)生成成熟的GSDMD-p30片段的N端,促进细胞膜表面质膜孔形成和细胞肿胀破裂启动细胞焦亡<sup>[11-13]</sup>。

**2.3 NLRP3激活caspase-1是导致细胞焦亡的关键途径** 炎症小体是一类由受体蛋白、接头蛋白ASC以及下游的caspase-1三部分组成的胞浆蛋白复合物。迄今为止,已发现炎症小体中存在多种模式识别受体(PPR),已有四种典型的炎症小体NLRP1、NLRP3、NLRP4和黑色素瘤2(AIM2)可激活caspase-1,导致成熟的IL-1 $\beta$ 和IL-18的分泌<sup>[14]</sup>。绝大部分炎症小体的受体蛋白只被一种特异性激动剂激活,但NLRP3不同,它可被细菌、病毒、麻醉药物、ATP、硫酸钙及成孔毒素等多种类型及结构各异的激动剂做出反应<sup>[15]</sup>,随后活化的NLRP3炎症小体催化pro-caspase-1转化为成熟的caspase-1,这可能是由于NLRP3炎症小体被线粒体活性氧和糖酵解组分(如己糖激酶)所调控<sup>[13,16-17]</sup>。而NLRP3/caspase-1的不可控激活导致的细胞焦亡是引起多种自身免疫性疾病和组织细胞损伤的主

要原因之一,同时也可能是麻醉药物(如七氟烷、氯胺酮)导致神经毒性的原因之一<sup>[18-19]</sup>。因此必需对其进行良好的调控,以防止其在生理和病理条件下异常激活。

**2.4 GSDMD 蛋白** GSDMD 代表一个具有新型膜孔形成活性的大型 Gasdermin 家族。GSDMD 是炎症胱天蛋白酶的生理底物,是细胞焦亡途径特有的标志蛋白,在微生物感染和相关危险信号后的焦磷酸化中起着关键作用<sup>[20]</sup>。caspase-1 可切割 GSDMD 为 GSDMD-N 和 GSDMD-C 片段,GSDMD 也可被 caspase-11/4/5 裂解释放 gasdermin-N 结构域<sup>[8,20-21]</sup>。GSDMD 的裂解 N 端可特异性结合细胞膜内侧的磷酸酰肌醇磷酸盐和磷脂酰丝氨酸,以及外侧的心磷脂并细胞膜上形成寡聚性细胞孔<sup>[22]</sup>。GSDMD p30 定位于脂质双层,以高阶低聚物的形式存在,并形成环状结构,并且 p30 仅在脂多糖激活后的巨噬细胞膜中检测,GSDMD-N 在细胞炎症反应过程中易位至质膜并形成非选择性孔,通过不断增加渗透压来破坏细胞<sup>[12]</sup>。GSDMD-N 富集于线粒体,由于对线粒体脂质具有较强亲和力,故可穿入线粒体驱动活性氧(ROS)的产生<sup>[17]</sup>,ROS 和 K<sup>+</sup> 外排激活炎性小体,导致线粒体细胞色素 C 的释放,故也可以说细胞焦亡的方式是细胞内炎性小体活化的结果<sup>[4,23]</sup>。

### 3 细胞焦亡与麻醉药物

迄今为止,在麻醉介导的免疫抑制大部分研究主要集中在细胞凋亡<sup>[24]</sup>。免疫细胞的死亡仍然是不断争论的话题。细胞焦亡是程序性细胞死亡的一种独特类型,参与免疫调节<sup>[25]</sup>,其与细胞凋亡相反,NLRP3 炎性体和 caspase-1 活化与麻醉暴露有关<sup>[18,26-27]</sup>。

**3.1 异丙酚** 异丙酚是麻醉诱导与维持,以及镇静最常用的静脉药物之一。尽管异丙酚相对于其他麻醉药具有许多药理优势,但已有文献证明丙泊酚的免疫调节作用会损害单核细胞和巨噬细胞功能,包括趋化性、氧化性爆发和吞噬作用。通过研究发现,异丙酚诱导的线粒体通过释放 ROS 从而激活 NLRP3 炎症小体。此外,凋亡相关的斑点样蛋白(Asc)可介导 NLRP3 和 AIM2 信号,并参与异丙酚诱导的巨噬细胞焦磷酸化。异丙酚通过选择性触发巨噬细胞内的炎症体而激活免疫系统,这种途径是异丙酚介导的炎症体激活所必需的,因为 NLRP3 缺乏的小鼠在注射异丙酚后没有显示炎性细胞因子的增加,表明异丙酚通过 NLRP3 诱导细胞焦亡,并揭示一种新的免疫功能损伤途径<sup>[28-29]</sup>。

研究表明对未成熟新生动物使用异丙酚等  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)受体激动剂可以诱发海马神经元凋亡,损害大脑发育,影响直到成年。异丙酚诱导的神经毒性与抑制蛋白激酶 A-环磷腺苷反应元件结合蛋白-脑源性神经营养因子(PKA-CREB-BDNF)信号通路有关<sup>[30]</sup>。另有文献显示,在对 7 日龄新生大鼠进行异丙酚麻醉后,分别在麻醉结束后不同时间点检测大鼠大脑皮层和丘脑中 caspase-1、IL-1 $\beta$  的含量,发现 caspase-1 和 IL-1 $\beta$  的表达量均上调;并伴有大脑组织中小胶质细胞的活化,表现为细胞呈高度圆形的变形虫形态,突起回缩,胞体增大;在 30 日龄进行行为学检测,发现大鼠出现行为

学改变。上述结果表明,异丙酚能诱导新生大鼠脑组织中的炎性反应,引发细胞焦亡,导致发育期大鼠的神经毒性,并且这种神经毒性能引起长时间的行为学异常改变<sup>[24,31]</sup>。

**3.2 吸入麻醉药** 七氟醚作为常用的挥发性麻醉剂之一,在围术期中,当 T 细胞、多形核粒细胞和完整细胞在受到刺激时,可以在炎症或缺氧情况下释放 ATP,而 ROS 被认为是一种常见的 NLRP3/caspase-1 复合激活剂<sup>[32]</sup>。有研究表明,6% 的七氟醚与 5 mM ATP 结合可以通过调节 ROS 的产生来激活小鼠 J774 巨噬细胞 caspase-1,从而触发 caspase-1 依赖的细胞焦亡<sup>[33]</sup>。此外,有研究发现,老年小鼠大脑中的 NLRP3 启动状态可能与异氟烷引起的海马炎症和认知障碍有关。有研究证明,NLRP3-caspase-1 抑制剂 AcYVAD-cmk 的治疗可逆转异氟烷诱导的老年小鼠小胶质细胞炎症反应和认知障碍。这是非常重要的发现,支持了 NLRP3-caspase-1 途径参与全身麻醉引起的认知障碍机制。异氟烷通过激活 NLRP3-caspase-1 途径,增加了用脂多糖预处理的细胞中 IL-18 和 IL-1 $\beta$  的分泌导致细胞焦亡<sup>[18]</sup>。

**3.3 氯胺酮** 氯胺酮作为常用的小儿静脉麻醉药,其可以促进人类和动物发育大脑神经元死亡。在幼年小鼠海马组织模型中,检测到活跃的 caspase-3 和 caspase-9 蛋白,负责细胞色素 C 的释放以及 p53 的线粒体易位,这与氯胺酮诱导的海马神经毒性中明显上调和 caspase-1 依赖性细胞焦亡相吻合。同时检测到 caspase-1 和 caspase-11、NOD 样受体家族、IL-1 $\beta$  和 IL-18,并在多次给药后显著增加。氯胺酮触发了 NLRP3-caspase-1 复合物的形成并促进其向线粒体易位,并引起小鼠原代海马神经元的焦磷酸化,同时降低线粒体相关蛋白含量,这可能是氯胺酮诱导的海马神经毒性中与线粒体相关的细胞焦亡的重要途径<sup>[18-19,34]</sup>。

### 4 结 语

免疫细胞的死亡依旧是争议不断的话题,细胞焦亡由炎性小体引发,是程序性细胞死亡的一种特殊形式,并参与免疫调节,在炎症相关疾病中起着核心作用。麻醉药物对炎性小体的激活与神经细胞焦亡的分子机制之间存在联系,两者发病机制也许存在有共同点。这或可为抑制炎性小体激活、限制麻醉药物应用过程中产生的潜在不良反应提供靶点;为能否寻找到可对抗或逆转麻醉药物所致的细胞焦磷酸化的药物,从而减轻细胞焦亡所致的中枢神经系统功能和免疫功能损害,为相关疾病手术期临床麻醉用药提供新的思路和策略。

### 参考文献

- [1] Chidambaran V, Costandi A, D'Mello A. Propofol: a review of its role in pediatric anesthesia and sedation [J]. CNS Drugs, 2015, 29(7): 543-563.
- [2] Andropoulos DB. Effect of anesthesia on the developing brain: infant and fetus [J]. Fetal Diagn Ther, 2018, 43(1): 1-11.
- [3] Sellbrant I, Brattwall M, Jildenstål P, et al. Anaesthetics and analgesics; neurocognitive effects, organ protection and cancer reoccurrence

- an update[J]. *Int J Surg*,2016,34:41-46.
- [4] Broz P. caspase target drives pyroptosis [J]. *Nature*, 2015, 526(7575):642-643.
- [5] Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens[J]. *Immunol Rev*,2015,265(1):130-142.
- [6] Shi JJ, Gao WQ, Shao F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4):245-254.
- [7] Man SM, Karki R, Briard B, et al. Differential roles of caspase-1 and caspase-11 in infection and inflammation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7:45126.
- [8] de de Cassart A, Martinon F. Pyroptosis: caspase-11 unlocks the gates of death[J]. *Immunity*,2015,43(5):835-837.
- [9] Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, et al. caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling [J]. *Nature*, 2015, 526(7575):666-671.
- [10] Yang DH, He Y, Muñoz-Planillo R, et al. caspase-11 requires the pannexin-1 channel and the purinergic P2X7 pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock[J]. *Immunity*,2015,43(5):923-932.
- [11] Chen X, He WT, Hu LC, et al. Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis[J]. *Cell Res*,2016,26(9):1007-1020.
- [12] Aglietti RA, Dueber EC. Recent insights into the molecular mechanisms underlying pyroptosis and gasdermin family functions [J]. *Trends Immunol*,2017,38(4):261-271.
- [13] Aglietti RA, Estevez A, Gupta A, et al. GsdmD p30 elicited by caspase-11 during pyroptosis forms pores in membranes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2016,113(28):7858-7863.
- [14] Xi H, Zhang YL, Xu YJ, et al. caspase-1 inflammasome activation mediates homocysteine-induced pyroptosis in endothelial cells [J]. *Circ Res*,2016,118(10):1525-1539.
- [15] Sun XY, Hao HJ, Han QW, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells ameliorate insulin resistance by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammation in type 2 diabetes rats [J]. *Stem Cell Res Ther*,2017,8:241.
- [16] He Y, Hara H, Núñez G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation[J]. *Trends Biochem Sci*,2016,41(12):1012-1021.
- [17] Zhao LR, Xing RL, Wang PM, et al. NLRP1 and NLRP3 inflammasomes mediate LPS/ATP-induced pyroptosis in knee osteoarthritis [J]. *Mol Med Rep*,2018,17(4):5463-5469.
- [18] Yin L, Bao FP, Wu J, et al. NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis is proposed to be involved in the mechanism of age-dependent isoflurane-induced cognitive impairment [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1):266.
- [19] Ye Z, Li Q, Guo QL, et al. Ketamine induces hippocampal apoptosis through a mechanism associated with the caspase-1 dependent pyroptosis[J]. *Neuropharmacology*,2018,128:63-75.
- [20] Kovacs SB, Miao EA. Gasdermins: effectors of pyroptosis [J]. *Trends Cell Biol*,2017,27(9):673-684.
- [21] Gao YL, Zhai JH, Chai YF. Recent advances in the molecular mechanisms underlying pyroptosis in Sepsis [J]. *Mediat Inflamm*,2018, 2018:1-7.
- [22] Liu X, Zhang ZB, Ruan JB, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores [J]. *Nature*,2016, 535(7610):153-158.
- [23] Rogers C, Alnemri ES. Gasdermins: novel mitochondrial pore-forming proteins [J]. *Mol Cell Oncol*,2019,6(5):e1621501.
- [24] Milanovic D, Pesic V, Loncarevic-Vasiljkovic N, et al. The fas ligand/fas death receptor pathways contribute to propofol-induced apoptosis and neuroinflammation in the brain of neonatal rats [J]. *Neurotox Res*,2016,30(3):434-452.
- [25] He WT, Wan HQ, Hu LC, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 $\beta$  secretion [J]. *Cell Res*,2015, 25(12):1285-1298.
- [26] Grace PM, Strand KA, Galer EL, et al. Morphine paradoxically prolongs neuropathic pain in rats by amplifying spinal NLRP3 inflammasome activation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2016,113(24):E3441-E3450.
- [27] Ma J, Xiao WJ, Wang JR, et al. Propofol inhibits NLRP3 inflammasome and attenuates blast-induced traumatic brain injury in rats [J]. *Inflammation*,2016,39(6):2094-2103.
- [28] Peng J, Zhang P, Zheng H, et al. Dexmedetomidine reduces hippocampal microglia inflammatory response induced by surgical injury through inhibiting NLRP3 [J]. *Chin J Traumatol*,2019,22(3):161-165.
- [29] Sun LB, Ma W, Gao WL, et al. Propofol directly induces caspase-1-dependent macrophage pyroptosis through the NLRP3-ASC inflammasome [J]. *Cell Death Dis*,2019,10(8):542.
- [30] Zhong Y, Chen J, Li L, et al. PKA-CREB-BDNF signaling pathway mediates propofol-induced long-term learning and memory impairment in Hippocampus of rats [J]. *Brain Res*,2018,1691:64-74.
- [31] Song N, Li T. Regulation of NLRP3 inflammasome by phosphorylation [J]. *Front Immunol*,2018,9:2305.
- [32] Adam C, Wohlfarth J, Haußmann M, et al. Allergy-inducing chromium compounds trigger potent innate immune stimulation via ROS-dependent inflammasome activation [J]. *J Invest Dermatol*,2017,137(2):367-376.
- [33] Jin Y, Li H, Xie GH, et al. Sevoflurane combined with ATP activates caspase-1 and triggers caspase-1-dependent pyroptosis in murine J774 macrophages [J]. *Inflammation*,2013,36(2):330-336.
- [34] Brown BP, Kang SC, Gawelek K, et al. In vivo and in vitro ketamine exposure exhibits a dose-dependent induction of activity-dependent neuroprotective protein in rat neurons [J]. *Neuroscience*,2015,290:31-40.