

Sigma-1 受体在缺血性脑卒中中的研究进展

谷珊珊 卢洁

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2021)01-0114-03
 【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2021.01.026

我国每年约有 250 万人发生缺血性脑卒中,其中 70%~80% 的患者存在不同程度的残疾^[1]。美国一项对 82 家医院 2083 例缺血性脑卒中患者的研究发现,约 1/3 的患者在脑卒中后 3 个月出现永久性的残疾或死亡^[2]。目前脑卒中的治疗策略首选是溶栓治疗,但是治疗时间窗窄,只有 3%~5% 的患者能获得有效治疗^[3]。深入研究脑卒中的发病机制,开发新型神经保护药物对于减少脑卒中的发病率和改善患者预后具有重要意义。Sigma 受体(Sigma receptor, Sigma R)广泛分布于哺乳动物的中枢与外周神经系统,在神经保护和细胞调节中发挥重要作用^[4]。Sigma 受体是一种独立的受体家族,有两种亚型即 Sigma-1R 和 Sigma-2R。Sigma-1R 参与多种中枢及外周神经系统疾病的病理生理过程如缺血性脑卒中、阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、疼痛及精神疾病等。本研究就 Sigma-1R 在缺血性脑卒中中的作用机制、应用进展及成像研究进行综述。

1 Sigma-1R 的概念

Sigma-1R 是一种配体门控伴侣蛋白,特异性存在于内质网与线粒体的连接膜 MAM(Mitochondrion-associated ER membrane, MAM)上^[4],它由 223 个氨基酸组成,分子量为 25.3 kDa,其氨基酸序列在小鼠、大鼠、豚鼠及人等物种中克隆出来,序列同源性>90%^[5]。

一直以来关于 Sigma-1R 的分子结构没有明确定义,2016 年 Schmidt 等^[6]首次提出人类 Sigma-1R 与 2 个不同的化学配体 PD144418 和 4-IBP 形成的晶体结构,是 1 个三聚体结构,在其氨基末端只有 1 个跨膜结构域,每个原型包含 8~32 个残基。2017 年 Laurini 等^[7]通过同源建模技术获得了 Sigma-1R 蛋白的三维模型,将其用于对接模型的虚拟药物筛选及合理的配体设计。但是 Sigma-1R 在体内的寡聚状态尚不明确,仍需要进一步研究。

2 Sigma-1R 在缺血性脑卒中中的作用机制

2.1 Sigma-1R 抑制兴奋性毒性的作用

NMDA 受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor)是一种离子型谷氨酸受体亚型,在中枢神经系统发育时发挥重要作用如调节神经元的存活、调节神经元树突、轴突结构发育及参与突触可塑性的形成。但是当 NMDA 受体过度激活时细

胞内游离 Ca^{2+} 过多,可引起神经元退化或坏死,这是其兴奋性毒素的病理作用。脑缺血后神经元死亡的关键是细胞内钙稳态的破坏。Monnet 等^[8]认为 Sigma-1R 可作用于 NMDA 受体,间接调控 Ca^{2+} 内流,可恢复细胞内外 Ca^{2+} 依赖的神经元反应来逆转兴奋性毒素的作用。Katnik 等^[9]通过钙荧光成像技术检测 Sigma-1R 激活对体外培养的胚胎大鼠皮层神经元缺血引起的细胞内 Ca^{2+} 变化的影响,发现 Sigma-1R 激动剂 1,3-二邻甲苯基胍(1,3-Dilo-toly guanidine, DTG)可抑制脑缺血所引起的 Ca^{2+} 水平升高,而这种作用可以被 Sigma-1R 的拮抗剂所抑制,证明 Sigma-1R 可以改善皮层神经元与脑缺血相关的 Ca^{2+} 水平调节,发挥神经保护作用。Lu 等^[10]首次在突触前水平研究了 Sigma-1R 的激活对内源性谷氨酸释放的影响,并验证了大脑皮层神经末梢中存在 Sigma-1R, Sigma-1R 的激活抑制了大鼠皮质神经末梢的谷氨酸释放,这种作用通过抑制突触前电压依赖性 Ca^{2+} 通道导致 Ca^{2+} 内流减少,并抑制 PKC 信号级联反应来实现。

实验数据表明,NMDA 受体的刺激可以导致氧化应激,可以在脑缺血再灌注后早期触发基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)上调,金属蛋白酶-9(MMP-9)是缺血性脑卒中后微血管血脑屏障(Blood-brain barrier, BBB)损伤和再发出血的重要介质^[11], Sánchez-Blázquez 等^[12]首次将 Sigma-1R 拮抗剂 S1RA 与实验性脑卒中导致的神经元损伤联系起来,发现选择性 Sigma-1R 拮抗剂通过降低 MMP-9 和促进皮质周围反应性星形胶质细胞的增生来发挥神经保护作用。Rodríguez-Muñoz 等^[13]在大脑中动脉闭塞(Middle cerebral artery occlusion, MCAO)小鼠模型中验证了 Sigma-1R 拮抗剂大麻二酚(Cannabidiol, CBD)的神经保护作用,实验组与对照组比较梗死面积减少约 75%,降至总脑体积的 $(1.2 \pm 0.9)\%$,其主要作用机制为减弱了谷氨酸 NMDA 受体的作用。

2.2 Sigma-1R 的抗炎作用

Sigma-1R 在免疫系统大多数细胞中都有表达,提示参与了细胞的免疫功能。在体外及体内的内毒素诱导的炎症模型中 Sigma-1 的配体 SR-31747A 对炎症具有双重作用,可显著抑制干扰素 γ (INF- γ)、白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达,并促进白细胞介素-10(IL-10)的表达和合成^[14]。动物实验研究表明,IL-1, IL-6, INF- α 和 INF- γ 等细胞因子水平升高,通常与脑缺血加重有关,而 IL-10 的水平升高能够减少脑卒中梗死的体积^[15]。Al-lahtavakoli 等^[16]研究发现,MCAO 模型给予 Sigma-1R 激动剂 Pre-084 后缺血组织的促炎细胞因子 TNF- α , IL-6 水平较对照组显著降低,抗炎因子 IL-10, IL-4 及 GM-CSF 水平较对照组

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81974261)

作者单位:100023 北京,首都医科大学宣武医院核医学科[谷珊珊 卢洁(通信作者,放射科、磁共振成像脑信息学北京市重点实验室)]

增高,提示 Sigma-1R 参与了脑梗死的免疫调节。

中枢神经系统对损伤的免疫应答重要的一方面是内源性小胶质细胞的聚集和激活,这些细胞在神经元受损时迁移到损伤部位,释放促炎介质,进一步破坏受损的神经元,促进神经退化^[16]。Behensky 等^[17]通过体外试验研究 SigmaR 激动剂 Afobazole 对神经元及小胶质细胞的作用,发现 Afobazole 可以减少长期脑缺血的小胶质细胞的毒性及细胞死亡,这种细胞保护涉及多个基因调控,主要是促凋亡蛋白 Bax 和凋亡蛋白酶 Caspase-3 的表达水平降低及抗凋亡蛋白 bcl-2 的表达增加。同时也可以减少缺血神经元的死亡,但其保护机制与小胶质细胞不同,不涉及凋亡基因的表达。

2.3 Sigma-1 受体促进神经可塑性

中枢神经系统受损时会出现反应性星形胶质细胞的增生,主要表现为星形胶质细胞的增殖以及向受损区迁移,某些情况下还会形成胶质瘢痕。有研究认为胶质瘢痕形成是为了避免周围神经元过度炎症造成进一步伤害^[18]。Ruscher 等^[19]在 MCAO 大鼠模型中发现星形胶质细胞中 Sigma-1R 表达增加 30%,经过 Sigma-1R 激动剂治疗后部分运动功能恢复,而其机制是 sigma-1 受体的激活通过增强大脑修复所需的生物分子的细胞转运,从而刺激脑的可塑性,从而促进脑梗死后的恢复。

另外,Sigma-1R 还介导了多种神经保护机制,如增加神经营养因子及生长因子的表达活性,胶质细胞源性神经营养因子(Glia-derived-neurotrophic factor, GDNF)能够挽救中枢神经系统损伤后的神经元,越来越多的证据表明 Sigma-1R 的激活会刺激依赖 GDNF 的修复机制^[20]。

3 Sigma-1R 在缺血性脑卒中的应用进展

急性缺血性脑卒中是最常见的脑卒中类型,约占全部脑卒中的 69.6%~70.8%^[21],具有较高病死率、致残率及复发率的特点。静脉溶栓是目前最主要恢复血流的措施,国内外认为有效挽救半暗带组织时间窗为 4.5 h 内或 6 h 内^[22-23]。对于超“时间窗”患者,改善血液循环及神经保护药物显得尤为重要。

大量研究表明,Sigma-1R 配体在脑缺血动物模型中具有良好的神经保护作用。Takahashi 等^[24]发现 Sigma-1R 配体 4-苯基-1-(4-苯基丁基)哌啶(4-Phenyl-1-(4-phenylbutyl)piperidine, PPBP)能够减少短暂性局灶性脑缺血鼠及猫模型的脑梗死面积,提示在短暂性局灶性脑缺血 2 h 后 Sigma R 可能在皮层及纹状体损伤中发挥重要作用。Goyagi 等^[25]发现 PPBP 可明显缩小大脑皮质和纹状体再灌注 22h 的梗死面积。Yang 等^[26]通过一组体外试验验证了 PPBP 预处理可减轻暴露于缺氧缺血(OGD)或谷氨酸(50 或 100 μm)环境下诱导的神经元损伤,进一步在新生仔猪全脑缺血缺氧(hypoxia-ischemia, H-I)模型中验证了 PPBP 能够减轻神经元损伤,保护纹状体神经元。

此外,在多种中枢神经系统损伤模型中观察到 Sigma-1R 激动剂的神经保护功能及认知恢复作用。Ajmo 等^[27]发现即使在脑卒中 24 h 后给予高亲和力的 Sigma-1R 激动剂 DTG 也能减少脑梗死面积。Shen 等^[28]发现使用 Sigma-1R 激动剂 Dimemorfan 预处理后的实验组大鼠脑梗死体积较对

照组减少 28%~72%,同时在进行缺血再灌注治疗后 Dimemorfan 治疗组使得梗死区改善 51%~52%,应用 Sigma-1R 拮抗剂后可以逆转这一改善。Allahtavakoli 等^[29]在大鼠 MCAO 3 h 和 24 h 后分别给予 Sigma-1R 激动剂 Pre-084 和安慰剂,结果发现实验组大鼠脑梗死体积较对照组减少 55%($P<0.01$),同时 Pre-084 治疗组大鼠在脑梗死 24 h 和 48 h 后的行为活动改善。Ruscher 等^[21]发现 MCAO 2 d 后给予 Sigma-1R 激动剂 SA4503 治疗,可以促进神经细胞的功能恢复,有助于脑梗死后脑内神经元再生环境的形成。

Sigma-1R 成为脑卒中药物治疗的新型靶标,但大部分都处于体外试验及动物试验阶段,并且其神经保护机制也在研究中,有效应用于临床的药物特别少。Urfer 等^[30]首次进行了一项 II 期临床试验,探讨 SA4503 对缺血性脑卒中患者的安全性、耐受性及功能效应,60 例患者在脑梗死后 48~72 h 内随机接受 SA4503 1、3 mg/d 或安慰剂治疗 28 d 并随访 56 d,结果发现在两种剂量水平下 SA4503 安全性及耐受性良好,未发现严重不良事件;对于功能的改善,基线 NIHSS 值为 ≥ 7 的受试者,3 mg/d SA4503 组与安慰剂组比较差异有统计学意义($P=0.034$),基线 NIHSS ≥ 9 的差异也有显著性意义($P=0.035$),为 Sigma-1R 激动剂应用于脑梗死患者提供初步的临床经验。

4 脑内 Sigma-1R 的成像研究

许多 Sigma-1R 配体因其治疗潜力而被广泛研究报道,Sigma-1R 激动剂 ANAVEX-273 正处于治疗 AD 的 II 期临床试验,Sigma-1R 激动剂 SA4503 也已进入治疗严重抑郁症和脑卒中后康复治疗 II 期临床试验^[31-32]。鉴于 Sigma-1R 的神经保护作用,近年来关于 Sigma-1R 在大脑的成像研究也成为热点,国内外已报道了许多 Sigma-1R 的 PET 和 SPECT 的放射性示踪剂。

¹¹C-SA4503 是第 1 个应用于人类 Sigma-1R 的 PET 放射性示踪剂,这种示踪剂对 Sigma-1R 表现出较好的亲和力和高度选择性。该示踪剂已被用于研究 AD 和 PD 患者脑中 Sigma-1R 的密度以及抗抑郁药 fluvoxamine 的治疗机制;研究发现 AD 患者¹¹C-SA4503 和¹⁸F-FDG 的分布规律相似,但 Sigma-1R 的减少比糖代谢的减少更明显,提示 AD 早期 Sigma-1R 的变化比糖代谢更为明显^[33]。虽然¹¹C-SA4503 在人类研究中取得一定进展,但是由于¹¹C 的半衰期短($t_{1/2}=20$ min),并不是理想的放射性示踪剂。He 等^[34]研究了新型低亲脂性哌嗪类化合物作为 Sigma-1R,并用¹⁸F 进行标记,PET/CT 及 MRI 成像证实¹⁸F-10 与 Sigma-1R 在大鼠脑内具有很高的特异性。到目前为止 Sigma-1R 放射性示踪剂还在研究阶段,尚无合适的放射性示踪剂用于临床。

Sigma-1R 是多种中枢神经系统疾病治疗的新靶点,随着高选择性放射性配体的研究进展,Sigma-1R 的分子成像将有助于阐明其在疾病发生发展中的作用。

5 小结

Sigma-1R 通过调控机体多种信号通路来影响中枢神经系统疾病的发生发展,尤其是其神经保护作用在缺血性脑卒中等疾病中发挥重要作用,成为疾病诊断及治疗的新靶点,

为分子显像及治疗药物的研究提供新方法。

参 考 文 献

- [1] Asakawa T, Zong L, Wang L, et al. Unmet challenges for rehabilitation after stroke in China[J]. *Lancet*, 2017, 390(190): 121-122.
- [2] Benjamin EJ, Muntner P, Alonso AA, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update a report from the American heart association[J]. *Circulation*, 2019, 139(10): E56-E528.
- [3] Pettersen JA, Hudon ME, Hill MD. Intra-arterial thrombolysis in acute ischemic stroke: a review of pharmacologic approaches [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2004, 2(2): 285-299.
- [4] Su TP, Hayashi T, Maurice T, et al. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2010, 31(12): 557-566.
- [5] Hanner M, Moebius FF, Flandorfer A, et al. Purification, molecular cloning, and expression of the mammalian sigma1-binding site[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(15): 8072-8077.
- [6] Schmidt HR, Zheng SD, Gursinar E, et al. Crystal structure of the human σ_1 receptor[J]. *Nature*, 2016, 532(760): 527-530.
- [7] Laurini E, Marson D, Fermeglia M, et al. 3D homology model of sigma1 receptor[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 244: 27-50.
- [8] Monnet FP. Sigma-1 receptor as regulator of neuronal intracellular Ca^{2+} : clinical and therapeutic relevance[J]. *Biol Cell*, 2005, 97(12): 873-883.
- [9] Katnik C, Guerrero WR, Pennypacker KR, et al. Sigma-1 receptor activation prevents intracellular Calcium dysregulation in cortical neurons during in vitro ischemia[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 319(3): 1355-1365.
- [10] Lu CW, Lin TY, Wang CC, et al. σ_1 receptor agonist SKF10047 inhibits glutamate release in rat cerebral cortex nerve endings[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 341(2): 532-542.
- [11] Montaner J, Molina CA, Monasterio J, et al. Matrix metalloproteinase-9 pretreatment level predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke[J]. *Circulation*, 2003, 107(4): 598-603.
- [12] Sanchez-Blazquez P, Pozo-Rodríguez A, Merlos M, et al. The sigma-1 receptor antagonist, S1RA, reduces stroke damage, ameliorates Post-Stroke neurological deficits and suppresses the overexpression of MMP-9[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(6): 4940-4951.
- [13] Rodríguez-Muñoz M, Onetti Y, Cortés-Montero E, et al. Cannabidiol enhances morphine antinociception, diminishes NMDA-mediated seizures and reduces stroke damage via the sigma 1 receptor[J]. *Mol Brain*, 2018, 11(1): 51.
- [14] Derocq JM, Bourrié B, Ségui M, et al. In vivo inhibition of endotoxin-induced pro-inflammatory cytokines production by the sigma ligand SR 31747[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995, 272(1): 224-230.
- [15] Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, et al. Tyrrell, peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome, *BMC neurol* [Z], 2004; 2.
- [16] Sun L, Zhang YX, Liu E, et al. The roles of astrocyte in the brain pathologies following ischemic stroke [J]. *Brain Inj*, 2019, 33(6): 712-716.
- [17] Behensky AA, Katnik C, Yin H, et al. Activation of sigma receptors with afobazole modulates microglial, but not neuronal, apoptotic gene expression in response to Long-Term ischemia exposure[Z], 2019; 414.
- [18] Koyama Y. Signaling molecules regulating phenotypic conversions of astrocytes and glial scar formation in damaged nerve tissues[J]. *Neurochem Int*, 2014, 78: 35-42.
- [19] Ruscher K, Shamloo M, Rickhag M, et al. The sigma-1 receptor enhances brain plasticity and functional recovery after experimental stroke[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt 3): 732-746.
- [20] Francardo V, Bez F, Wieloch T, et al. Pharmacological stimulation of sigma-1 receptors has neurorestorative effects in experimental parkinsonism[Z], 2014: 1998.
- [21] 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682.
- [22] Wardlaw JM, Murray V, Berge E, et al. Recombinant tissue plasminogen activator for acute ischaemic stroke: an updated systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet*, 2012, 379(9834): 2364-2372.
- [23] Hacke W, Kaste M, Bluhmki E, et al. Thrombolysis with alteplase 3-4 [J]. 5 hours after acute ischemic stroke. *N Engl J Med*, 2008, 359(13): 1317-1329.
- [24] Takahashi H, Kirsch JR, Hashimoto K, et al. PPBP [4-phenyl-1-(4-phenylbutyl) piperidine] decreases brain injury after transient focal ischemia in rats[J]. *Stroke*, 1996, 27(11): 2120-2123.
- [25] Goyagi T, Goto S, Bhardwaj A, et al. Neuroprotective effect of sigma (1)-receptor ligand 4-phenyl-1-(4-phenylbutyl) piperidine (PPBP) is linked to reduced neuronal nitric oxide production[J]. *Stroke*, 2001, 32(7): 1613-1620.
- [26] Yang ZJ, Carter EL, Michel TT, et al. Sigma receptor ligand 4-phenyl-1-(4-phenylbutyl)-piperidine modulates neuronal nitric oxide synthase/postsynaptic density-95 coupling mechanisms and protects against neonatal ischemic degeneration of striatal neurons[J]. *Exp Neurol*, 2010, 221(1): 166-174.
- [27] Ajmo CJ, Vernon DO, Collier L, et al. Sigma receptor activation reduces infarct size at 24 hours after permanent middle cerebral artery occlusion in rats[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2006, 3(2): 89-98.
- [28] Yc S, Wang YH, Yc C, et al. Dimemorfan protects rats against ischemic stroke through activation of sigma-1 receptor-mediated mechanisms by decreasing glutamate accumulation[J]. *J Neurochem*, 2008, 104(2): 558-572.
- [29] Allahtavakoli M, Jarrott B. Sigma-1 receptor ligand PRE-084 reduced infarct volume, neurological deficits, pro-inflammatory cytokines and enhanced anti-inflammatory cytokines after embolic stroke in rats[J]. *Brain Res Bull*, 2011, 85(3-4): 219-224.
- [30] Urfer R, Moebius HJ, Skoloudik D, et al. Phase II trial of the Sigma-1 receptor agonist cutamesine (SA4503) for recovery enhancement after acute ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2014, 45(11): 3304-3310.
- [31] Christ MG, Huesmann H, Nagel H, et al. Sigma-1 receptor activation induces autophagy and increases proteostasis capacity in vitro and in vivo[J]. *Cells*, 2019, 8(3): 211.
- [32] Ishikawa M, Sakata M, Ishii K, et al. High occupancy of sigma1 receptors in the human brain after single oral administration of donepezil: a positron emission tomography study using [^{11}C]SA4503 [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2009, 12(8): 1127-1131.
- [33] Toyohara J, Sakata M, Ishiwata K. Imaging of sigma1 receptors in the human brain using PET and [^{11}C]SA4503 [J]. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2009, 9(3): 190-196.
- [34] He Y, Xie F, Ye JJ, et al. 1-(4-[(^{18}F]fluorobenzyl)-4-(tetrahydrofuran-2-yl)methyl)piperazine: a novel suitable radioligand with low lipophilicity for imaging $\sigma(1)$ receptors in the brain[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(10): 4161-4172.