

• 综 述 •

纤维蛋白原在脑卒中后认知功能障碍中的作用研究进展

张倩 张兆辉

【中图分类号】 R749.1 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2021)06-0699-04
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2021.06.020

纤维蛋白原(Fibrinogen, Fg)是体内主要的凝血因子之一,近期研究发现 Fg 可在多种神经疾病中发挥病理生理作用。Fg 通过破坏的血脑屏障渗漏到中枢神经系统中,作为一种多效性蛋白与相关细胞受体及分子相互作用,调控多种病理过程。脑卒中后认知功能障碍(Post-stroke cognitive impairment, PSCI)是脑卒中的常见并发症,有研究表明 Fg 可通过与相关受体及信号通路相互作用而加剧脑卒中后认知功能的恶化。本研究旨在对 Fg 的结构和功能以及 Fg 在 PSCI 中发挥的病理作用进行系统阐述。

脑卒中是全球第二大致残与致死原因^[1],而脑卒中后认知功能障碍(Post-stroke cognitive impairment, PSCI)是脑卒中最常见的并发症之一,大约三分之一的患者在脑卒中后的最初几个月内认知功能显著下降^[2]。PSCI 指在脑卒中后 6 个月内出现达到认知功能障碍诊断标准的一系列综合征^[3],主要临床表现包括注意力、执行力、记忆力、视觉空间能力和语言能力的减退。因此,脑卒中后认知功能障碍不仅影响个人生活质量,还给社会带来沉重负担。PSCI 涉及多种发病机制,至今仍未完全阐明,但越来越多的研究发现 Fg 参与了 PSCI 的发生,并试图以 Fg 为干预靶点以减少 PSCI 的发生发展。

1 Fg 的结构与功能

Fg 是一种主要由动物肝细胞合成、分泌的糖蛋白,相对分子量为 340 kDa,是血浆中水平最高的凝血因子,水平通常为 1.5~4 g/L。纤维蛋白原由 2 个对称的亚单位组成,每个亚单位包含 3 条不同的多肽链,分别为 A α 链、B β 链和 γ 链,6 条多肽链间以二硫键相连,N-端共同组成了中央 E 区,而 B β 链和 γ 链的 C-端反向延伸组成末端的球状 D 区^[4]。纤维蛋白原 A α 和 B β 肽链的氨基末端分别有一段短肽,称为纤维蛋白肽 A 和 B,在凝血酶作用下纤维蛋白肽 A 和纤维蛋白肽 B 被从 A α 和 B β 链的 N-端切除,将可溶性的纤维蛋白原转化为不溶的纤维蛋白单体^[5]。

Fg 是一种多效性蛋白,它包含多个受体和蛋白质的结合位点。除了作为体内重要的凝血因子参与凝血级联反应

以外,Fg 还参与组织修复^[6]、炎症以及动脉粥样硬化等众多病理生理过程,在心血管疾病、炎症疾病和自身免疫等疾病中发挥作用^[7]。

2 Fg 与神经系统的关系

血脑屏障(Blood-brain barrier, BBB)在维持中枢神经系统稳态和正常神经元功能方面起着重要作用。有研究表明,患有脑卒中、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病、多发性硬化等神经变性疾病^[8]患者大脑中均存在 BBB 通透性增高。BBB 由内皮细胞及其紧密连接(Tight junctions, TJs)、周细胞、星形胶质细胞末端和细胞外基质成分构成,TJs 由跨膜蛋白、胞质附着蛋白及细胞骨架蛋白构成,是构成 BBB 的关键因素。缺血性脑卒中后 BBB 通透性增高的机制主要有 1)缺血刺激小胶质细胞释放促炎因子白细胞介素-1(Interleukin-1, IL-1)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6),促进白细胞粘附并介导炎症级联反应,加剧 BBB 破坏;2)缺血区域释放谷氨酸,触发 Ca²⁺ 进入神经元,导致兴奋毒性细胞死亡;3)基质金属蛋白酶(Metalloproteinase, MMP)、组织纤溶酶原激活物(Tissue plasminogen activator, tPA)过度表达、TJ 蛋白修饰、活性氧产生等导致内皮紧密连接破坏^[9]。

在生理状态下由于 BBB 的阻隔作用,中枢神经系统中不能检测到纤维蛋白原的存在。在血管损伤或 BBB 破坏后可溶性血液纤维蛋白原渗漏到中枢神经系统中,在凝血酶的作用下转化为不溶性纤维蛋白,并迅速在脑实质内沉积^[10]。由于纤维蛋白原的分子结构包含神经系统细胞表达的受体和调节关键神经系统功能的蛋白质的结合位点,因此 Fg 在神经系统中可介导多种神经病理过程的信号传递,包括激活小胶质细胞、抑制雪旺氏细胞和少突胶质前体细胞的分化和再髓鞘形成、增强脑血管渗漏^[11]、诱导星形胶质细胞瘢痕形成和促进外周免疫细胞的募集^[12]等。纤维蛋白原处于神经系统、血管系统和免疫细胞之间的交叉^[13],通过多种机制参与神经系统疾病的发生。

3 纤维蛋白原与脑卒中后认知功能障碍

认知是大脑皮层复杂的高级功能,任何直接或间接导致大脑皮层结构和功能慢性损伤的因素如脑组织蛋白质异常聚集、神经递质或受体异常改变以及星形胶质细胞等神经细胞信号通路异常等均可引起认知功能的损害。脑卒中后认

基金项目:纤维蛋白通过诱导 tau 蛋白聚集介导卒中后认知功能障碍的机制研究(8207050623)

作者单位:430060 武汉大学人民医院神经内 I 科[张倩 张兆辉(通信作者)]

知功能的改变取决于多方面因素,包括脑卒中类型、部位和体积、神经元的损害程度、是否存在其他脑部病理以及其他因素如教育、种族等。其中,出血性脑卒中和缺血性脑卒中均可出现认知功能损害,但以缺血性脑卒中更常见^[2]。当前研究发现 Fg 加剧缺血性脑卒中后认知功能障碍,其分子机制可能与小胶质细胞、星形胶质细胞活化及与 β 淀粉样蛋白 (Amyloid β -protein, A β) 相互作用等有关。

3.1 小胶质细胞

大量研究发现小胶质细胞在 PSCI 中发挥重要作用,如小胶质细胞 M1 的极化^[14]、激活 AIM2 炎症体介导的炎症和细胞凋亡^[15]以及对突触和神经元的吞噬^[16]等均可导致脑卒中后认知功能的下降。Jolivel 等人发现^[17],在小鼠大脑中动脉闭塞模型 (Middle cerebral artery occlusion, MCAO) 中早期小胶质细胞胞体增大,在受损的血管周围聚集成簇,而白蛋白和纤维蛋白原通过上调炎症因子如白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白血病介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 引起小胶质细胞的募集和活化。另一项研究发现, Fg 转化为纤维蛋白时暴露了纤维蛋白原 γ 链与 CD11b-CD18 整合素受体 (Macrophage-1 antigen, Mac-1) CD11b I-结构域结合的位点 γ 377-395,并诱导小胶质细胞和巨噬细胞激活^[18]。另外,纤维蛋白-CD11b 信号通路可诱导 NADPH 氧化酶的激活,最终导致活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 大量产生,氧化应激水平增高。过多的氧自由基可导致脂质过氧化,损伤生物膜导致其通透性增加,最终脑细胞自溶,脑损伤范围扩大。使用纤维蛋白-CD11b 相互作用的抑制剂 5B8 可降低小胶质细胞的活化^[19]、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶 (NADPH-oxidase, NOX) 的活性、减少活性氧的释放和神经退行性变^[18]。

同时, Fg 还可以通过小胶质细胞介导树突棘变性和丢失。树突棘是接受突触输入的神经元突起,对学习和记忆至关重要。研究人员发现树突棘的丢失主要发生在 Fg 沉积周围区域。有研究发现 Fg 通过小胶质细胞 CD11b 受体激活小胶质细胞,导致树突的丢失^[20],影响突触的正常功能,最终导致认知功能障碍。

3.2 星形胶质细胞

大脑中绝大多数血管末端都有星形胶质细胞包绕,与多种结构、代谢和体内平衡功能以及脑血流控制有关,并可产生多种分子,调节突触功能,因此星形胶质细胞在维持中枢神经系统的正常认知功能中发挥着重要作用^[21-22],星形胶质细胞胞体内蛋白的病理性聚集是 AD 等神经退行性疾病的共同特征^[23]。已证实 Fg 从血管渗漏到脑实质后与星形胶质细胞的发生相互作用,促进 PSCI 的产生。哺乳动物星形胶质细胞和不同水平 Fg 的体外共培养实验发现, Fg 呈剂量依赖性激活星形胶质细胞并与其相互作用,增加细胞间黏附分子-1 (Intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和酪氨酸受体激酶 B (Tropomyosin-related kinase, TrkB) 过度表达,同时还伴随着 TrkB 磷酸化水平升高^[24]。其中, TrkB 与神经退行性变相关, TrkB 表达上调可通过释放 NO 改变能量代谢,从而触发神经元死亡,继而损伤记忆功能^[25]。此外,阻

断 ICAM-1 可减少星形胶质细胞活化。值得一提的是,中枢神经系统损伤后出现的反应性星形胶质细胞增生和胶质瘢痕形成是神经功能障碍的病理基础,在许多缺血性脑卒中动物模型中星形胶质细胞在缺血梗死区形成胶质瘢痕, Lijie Huang 等人发现人脑缺血梗死区也存在反应性星形胶质细胞增生和胶质瘢痕^[26]。尽管星形胶质细胞可产生蛋白支架指导神经元生长,通过产生胶质瘢痕来修复早期损伤脑组织^[27],并作为屏障保护邻近组织免受炎症细胞的侵害^[28],但胶质瘢痕中的硫酸软骨素蛋白聚糖 (Chondroitin sulfate proteoglycan, CSPGs) 可通过 Ras 同源基因-Rho 相关螺旋卷曲蛋白激酶 (Rho-associated coiled-coil containing protein kinase, Rho/ROCK) 信号通路来抑制神经元轴突生长,是阻止轴突再生的主要因素。还有研究发现, Fg 在渗漏到脑组织后通过转化生长因子- β /Smad (transforming growth factor- β /Smad, TGF- β /Smad) 信号通路来诱导胶质瘢痕形成,进而抑制轴突生长;阻断此通路可减少胶质细胞激活^[29]。

3.3 A β

脑内 A β 的沉积是阿尔茨海默病 1 个重要的病理特征,也是导致认知功能衰退的关键因素之一。多项实验证明,脑卒中打破了 A β 产生和 A β 清除之间的平衡^[30],导致毒性 A β 在脑实质和血管壁中积聚^[31-32]。A β 在脑实质中的沉积导致突触功能障碍,从而导致认知功能下降和痴呆^[33]。有研究发现 AD 患者脑内 Fg 与 A β 存在共定位^[34]。Daria 等人使用 X 射线晶体学检查发现这种特异性结合发生在 A β 的中心区域和 Fg 的 D 区的 β 链之间^[35],这种异常结构可诱导 A β 形成紧密的纤维蛋白聚集体,从而抵抗纤溶酶的降解^[36],导致异常、持久的纤维蛋白的形成,沉积在脑血管壁中。随着时间的推移,脑血流量逐渐降低,这可能会导致炎症、出血和血脑屏障破坏,形成恶性循环,影响神经元功能^[37]。因此, A β 和 Fg 之间的结合加剧认知功能障碍的发生。

3.4 其他分子机制

除以上几种机制外, PSCI 还可能与 Fg 的酪氨酸硝基化有关。脑缺血会触发硝基氧化应激并生成过氧亚硝酸盐,将 Fg 的酪氨酸硝基化,使其发生构象转变,形成神经毒性作用更强的硝基化纤维蛋白原,激活凋亡途径中的关键酶胱天蛋白酶-3 (Cysteiny aspartate specific proteinase-3, Caspase-3),导致梗死区域周围神经元的死亡,加重神经功能缺损^[38]。此外,由于 Fg 是血浆粘度的主要决定因素,脑卒中后血管内 Fg 水平升高,影响血流动力学改变,导致动脉粥样硬化斑块的增厚,加剧脑白质灌注不足,增加脑白质疏松程度,从而造成认知功能下降^[39]。

4 总结

近期随着对 Fg 和 PSCI 的深入研究,人们发现 Fg 改变了血管系统和中枢神经系统之间的稳态,通过多种途径介导神经损伤和突触功能障碍,与脑卒中后认知功能的恶化有着密切联系。大量实验结果表明,靶向纤维蛋白原抑制剂能够改善脑卒中后认知功能水平,如纤维蛋白原抑制剂 Ancrod 和纤维蛋白原-CD11b 相互作用抑制剂 5B8 可减缓认知功能

障碍的发生。然而,Fg 致 PSCI 的发病机制仍未完全阐明,临床上尚无 PSCI 的有效治疗手段,纤维蛋白原相关的靶向治疗方法还处于试验阶段。因此,今后需要在以 Fg 为靶点治疗 PSCI 方面进行深入研究,为临床诊治 PSCI 提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Gorelick PB. The global burden of stroke: persistent and disabling[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5): 417-418.
- [2] Kalaria RN, Akinyemi R, Ihara M. Stroke injury, cognitive impairment and vascular dementia[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(5): 915-925.
- [3] 董强,郭起浩,罗本燕,等. 卒中后认知障碍管理专家共识[J]. *中国卒中杂志*, 2017, 12(6): 519-531.
- [4] Weisel JW, Litvinov RI. Fibrin formation, structure and properties[J]. *Subcell Biochem*, 2017, 82: 405-456.
- [5] Undas A, Ariëns RA. Fibrin clot structure and function: a role in the pathophysiology of arterial and venous thromboembolic diseases[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(12): e88-e99.
- [6] Rybarczyk BJ, Lawrence SO, Simpson-Haidaris PJ. Matrix-fibrinogen enhances wound closure by increasing both cell proliferation and migration[J]. *Blood*, 2003, 102(12): 4035-4043.
- [7] Davalos D, Akassoglou K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease[J]. *Semin Immunopathol*, 2012, 34(1): 43-62.
- [8] Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders[J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14(3): 133-150.
- [9] Jiang X, Andjelkovic AV, Zhu L, et al. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke[J]. *Prog Neurobiol*, 2018, 163-164: 144-171.
- [10] Liu YT, Chen HJ, Kai Z, et al. High levels of plasma fibrinogen are related to post-stroke cognitive impairment[J]. *Brain Behav*, 2019, 9(10): e01391.
- [11] Muradashvili N, Qipshidze N, Munjal C, et al. Fibrinogen-induced increased pial venular permeability in mice[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32(1): 150-163.
- [12] Ryu JK, Petersen M, Murray SG, et al. Blood coagulation protein fibrinogen promotes autoimmunity and demyelination via chemokine release and antigen presentation[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8164.
- [13] Petersen M, Ryu JK, Akassoglou K. Fibrinogen in neurological diseases: mechanisms, imaging and therapeutics[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2018, 19(5): 283-301.
- [14] Zhang W, Mi Y, Jiao K, et al. Kellin alleviates cognitive impairment in mice after ischemic stroke by multiple mechanisms[J]. *Phytother Res*, 2020, 34(9): 2258-2274.
- [15] Kim H, Seo JS, Lee SY, et al. AIM2 inflammasome contributes to brain injury and chronic post-stroke cognitive impairment in mice[J]. *Brain Behav Immun*, 2020, 87: 765-776.
- [16] Hansen DV, Hanson JE, Sheng M. Microglia in Alzheimer's disease[J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(2): 459-472.
- [17] Jolivel V, Bicker F, Binamé F, et al. Perivascular microglia promote blood vessel disintegration in the ischemic penumbra[J]. *Acta Neuropathol*, 2015, 129(2): 279-295.
- [18] Ryu JK, Rafalski VA, Meyer-Franke A, et al. Fibrin-targeting immunotherapy protects against neuroinflammation and neurodegeneration[J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(11): 1212-1223.
- [19] Halder SK, Milner R. A critical role for microglia in maintaining vascular integrity in the hypoxic spinal cord[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(51): 26029-26037.
- [20] Merlini M, Rafalski VA, Rios CP, et al. Fibrinogen induces Microglia-Mediated spine elimination and cognitive impairment in an Alzheimer's disease model[J]. *Neuron*, 2019, 101(6): 1099-1108. e6.
- [21] Price BR, Norris CM, Sompal PA. An emerging role of astrocytes in vascular contributions to cognitive impairment and dementia[J]. *J Neurochem*, 2018, 144(5, SI): 644-650.
- [22] Santello M, Toni N, Volterra A. Astrocyte function from information processing to cognition and cognitive impairment[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(2): 154-166.
- [23] Phatnani H, Maniatis T. Astrocytes in neurodegenerative disease[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(6): a020628.
- [24] Clark VD, Layson A, Charkviani M, et al. Hyperfibrinogenemia-mediated astrocyte activation[J]. *Brain Res*, 2018, 1699: 158-165.
- [25] Colombo E, Cordiglieri C, Melli G, et al. Stimulation of the neurotrophin receptor TrkB on astrocytes drives nitric oxide production and neurodegeneration[J]. *J Exp Med*, 2012, 209(3): 521-535.
- [26] Huang L, Wu ZB, Zhuge Q, et al. Glial scar formation occurs in the human brain after ischemic stroke[J]. *Int J Med Sci*, 2014, 11(4): 344-348.
- [27] Raposo C, Schwartz M. Glial scar and immune cell involvement in tissue remodeling and repair following acute CNS injuries[J]. *Glia*, 2014, 62(11): 1895-1904.
- [28] Dossi E, Vasile F, Rouach N. Human astrocytes in the diseased brain[J]. *Brain Res Bull*, 2018, 136: 139-156.
- [29] Schachtrup C, Ryu JK, Helmrick MJ, et al. Fibrinogen triggers astrocyte scar formation by promoting the availability of active TGF-beta after vascular damage[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(17): 5843-5854.
- [30] Okamoto Y, Yamamoto T, Kalaria RN, et al. Cerebral hypoperfusion accelerates cerebral amyloid angiopathy and promotes cortical microinfarcts[J]. *Acta Neuropathol*, 2012, 123(3): 381-394.
- [31] Nguyen TV, Hayes M, Zbesko JC, et al. Alzheimer's associated amyloid and tau deposition co-localizes with a homeostatic myelin repair pathway in two mouse models of post-stroke mixed dementia[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6(1): 100.
- [32] Garcia-Alloza M, Gregory J, Kuchibhotla KV, et al. Cerebrovascular lesions induce transient β -amyloid deposition[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt 12): 3697-3707.
- [33] Goulay R, Mena RL, Hol EM, et al. From stroke to dementia: a comprehensive review exposing tight interactions between stroke and amyloid- β formation[J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(4): 601-614.