

• 综述 •

P2X₇ 受体与糖尿病视网膜病变

刘琦 周赛君 孟振兴 于珮

【摘要】 P2X₇ 受体是一种重要的凋亡调控受体,是嘌呤受体家族中的一员,也是 ATP 活化的配体门控离子通道的调节者。它在中枢和外周神经系统中对介导兴奋性神经递质起重要作用。P2X₇ 受体广泛表达于视网膜多种细胞表面。研究显示,P2X₇ 受体在糖尿病视网膜病变中过度激活,参与糖尿病视网膜病变的发生及发展。一方面,P2X₇ 受体过度激活所致的嘌呤血管毒性,可导致视网膜血流减少和血管功能的紊乱;另一方面,P2X₇ 受体活化可导致大量炎症因子的产生,引起局部炎症细胞浸润,形成血管炎性微环境,构成糖尿病视网膜病变发生、发展的病理生理基础。

【关键词】 P2X₇ 受体;糖尿病视网膜病变;细胞凋亡;炎症

P2X₇ receptor and diabetic retinopathy Liu Qi, Zhou Saijun, Meng Zhenxing, Yu Pei. The Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health), Department of Kidney Dialysis, The Metabolic Diseases Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Yu Pei, Email: yupeit@tjmu.edu.cn

【Abstract】 P2X₇ receptor, an important apoptosis regulatory receptor, is a member of the purinergic receptor family and a regulator of the ligand gated ion channel activated by ATP. P2X₇ plays an important role in mediating excitatory neurotransmitter in the central and peripheral nervous system. The expression of P2X₇ receptor has been demonstrated in most types of cells in the retina. Studies have shown that excessive activation of P2X₇ receptor involves in the occurrence and development of diabetic retinopathy. In one hand, purinergic vasotoxicity caused by excessive activation of P2X₇ receptor can lead to the reduction of retinal blood flow and vascular dysfunction. On the other hand, P2X₇ receptor activation may result in the production of a large number of inflammatory cytokines, causing local inflammatory cell infiltration and the formation of vascular inflammatory microenvironment, which constitute the pathophysiological basis for the development of diabetic retinopathy.

【Key words】 P2X₇ receptor; Diabetic retinopathy; Apoptosis; Inflammation

(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35: 127-129)

糖尿病视网膜病变(DR)的主要特征是微血管周细胞和内皮细胞凋亡。周细胞和收缩细胞位于毛细血管腔壁,其损伤可导致微血管瘤和新生血管的形成。内皮细胞损伤可以导致血-视网膜屏障的破坏和黄斑水肿。目前关于 DR 中周细胞和内皮细胞凋亡的机制,包括氧化应激、晚期糖基化终末产物、蛋白激酶 C 上调激活多元醇通路和局灶性白细胞黏附等,但具体机制尚不完全明了^[1-4]。

P2X₇ 受体激活不仅能导致非选择性膜通道的开放,且随着活化的持续,在多种类型的细胞膜上形成跨膜孔,相对分子质量小于 900 的亲水性分子

能自由通过,引起细胞钙内流增加和膜电位降低,而后者又可激活电压门控钙通道,进一步促进钙内流^[5]。一方面,钙内流可引起周细胞收缩,加重毛细血管及组织缺氧;另一方面,钙内流导致细胞钙超载,加速细胞凋亡^[6]。P2X₇ 受体的异常表达或激活与多种疾病有密切关系,如帕金森综合征、阿尔茨海默病和多发性硬化症等^[7-8]。已发现在缺血性脑皮层中,该受体异常表达能高度上调神经元和神经胶质细胞的功能。

1 视网膜中的 P2X₇ 受体

P2X₇ 受体可在视网膜大多数类型的细胞中表达,包括神经元(如神经节细胞、神经胶质)和血管细胞^[8]。视网膜微血管网中 P2X₇ 受体的活化通过增加细胞外钙的水平介导周细胞收缩并通过微血管网内细胞间电传输动态调节血管舒缩反应。使用新

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.02.015

作者单位:300070 天津医科大学代谢病医院肾病透析科,卫生部激素与发育重点实验室

通信作者:于珮,Email: yupeit@tjmu.edu.cn

分离的大鼠视网膜微血管,通过穿孔膜片钳检测离子电流,通过 fura-2 测得细胞内钙水平,借助可视化微血管收缩与延时摄影技术,发现 ATP 诱发离子电流去极化,增加细胞内钙水平并引起周细胞收缩。多项实验均表明 P2Y₄ 受体介导的储存钙的释放以及通过活化的 P2X₇ 受体/通道大量钙涌入是 ATP 诱导的细胞内钙升高的主要原因^[9-10]。

P2X₇ 的异常激活通过依赖于细胞内 Ca²⁺ 增加的方式,导致视网膜神经节细胞死亡^[11]。另一研究表明,上调 P2X₇ 受体可引起视网膜神经元的损伤,从而导致视网膜损伤^[12]。有研究证实,P2X₇ 受体的活化参与了缺氧诱导的视网膜神经元的凋亡^[13]。

Liao 和 Puro^[14],对分离得到的糖尿病大鼠微血管的研究表明,最大有效剂量 P2X₇ 嘌呤受体激动剂苯甲酰基苯甲酰基-ATP (BzATP, 2 nmol/L) 即可引起微血管毛孔形成。NAD⁺ 可触发视网膜微血管发生 P2X₇ 依赖性细胞死亡。同样,视网膜微血管对细胞外 NAD⁺ 的血管毒性作用的敏感性也增加 100 倍。使用激光散斑循环分析仪和视网膜电图描记术进行体内研究发现,糖尿病兔模型玻璃体内注射 50 nmol BzATP 后,视网膜血流速度降低近 30%,视网膜功能更加脆弱^[15]。其他研究也证实,生理环境下,P2X₇ 通过硝酸氧化物和 P2Y₄ 受体依赖性途径的调节在细胞膜上形成孔,如果硝酸氧化物和 P2Y₄ 受体依赖性途径调节紊乱,嘌呤的血管毒性作用可加速微血管细胞的死亡,这是 DR 形成和发展的标志^[16]。

2 P2X₇ 受体所致的嘌呤毒性作用与 DR

P2X₇ 受体活化可显著增加视网膜微血管的脆性,被称为嘌呤的血管毒性^[16]。如何能使潜在的嘌呤受体不发挥其被激活后引起的视网膜微血管细胞死亡的作用?因此产生出一个假定的构想,即可能存在阻止血管活性信号 ATP 触发嘌呤血管毒性的另一个调节机制。

研究发现,即使让分离的视网膜微血管暴露于 ATP 或 BzATP,也不能引起细胞膜孔的形成和微血管细胞死亡^[14]。ATP 伴随 G 蛋白耦联受体 P2Y₄ 同时活化,阻止了 P2X₇ 嘌呤受体的活化,引起跨膜孔的形成和细胞死亡。P2Y₄ 介导的保护作用依赖于储存钙的释放和同型磷脂酶 A2 的活化^[17]。尽管与 P2X₇ 嘌呤受体/通道活化有关的事件以及跨膜孔开放的保护机制还有待阐明,但是已明确激活 P2X₇ 受体的同时伴随另一个 P2X 家族成员——P2Y₄ 受体的活化。

在体内,另有其他机制也参与了嘌呤血管毒性

对糖尿病视网膜微血管的调节。NAD⁺ 是视网膜中的一个细胞外信号分子,把成熟 T 细胞暴露于 NAD⁺,可诱导细胞死亡。ART2 (T 细胞表达的一种毒素相关的 ADP 核糖基化胞外酶)可催化 ADP-核糖基化,激活细胞毒性 P2X₇ 嘌呤受体,从而导致跨膜孔的形成和细胞死亡^[18]。另有研究表明,通过依赖外生核糖基化的机制,细胞外 NAD⁺ 可引起 P2X₇ 嘌呤受体的活化,从而导致大量跨膜孔的形成和微血管细胞的死亡。因此,由于 P2X₇ 受体的选择性活化,NAD⁺ 是触发视网膜微血管嘌呤血管毒性的另一个候选分子^[19]。

3 P2X₇ 受体所致的炎症反应与 DR

研究表明,P2X₇ 受体能促进促炎细胞因子的释放。P2X₇ 受体可以通过调节白细胞介素-1 β 的加工和释放,影响神经元细胞死亡。神经性疼痛和慢性炎症疼痛动物模型中,P2X₇ 受体基因敲除后,炎症反应明显减弱^[20]。而最近对 DR 实验模型的研究表明,P2X₇ 受体可调节细胞因子诱导的炎症反应,降低血-视网膜屏障的完整性,加重视网膜血管的闭塞和缺血^[21]。研究发现,P2X₇ 受体激动剂可增加低氧诱导的视网膜小胶质细胞释放白细胞介素-1 β 和肿瘤坏死因子- α 。亦证实,眼内压升高后伴随 P2X₇ 受体活化增加,导致肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 、-6 上调,参与了视网膜神经节细胞的死亡^[8]。目前的发现进一步证明了 P2X 受体,尤其是 P2X₇ 受体是参与炎症反应的重要免疫调节受体^[22]。

因此,P2X₇ 受体在 DR 中过度激活,参与 DR 的发生与进展:一方面 P2X₇ 受体的过量活化所致的嘌呤血管毒性可导致视网膜血流的减少和血管功能的紊乱;另一方面 P2X₇ 受体的活化可导致大量炎症因子的产生。P2X₇ 嘌呤受体将是 DR 一个潜在的治疗靶点,通过抑制该受体表达和(或)激活,可减少或阻止视网膜细胞的死亡,改善视网膜血流和发挥抗炎作用,对 DR 的防治具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Tarallo S, Beltramo E, Berrone E, et al. Human pericyte-endothelial cell interactions in co-culture models mimicking the diabetic retinal microvascular environment[J]. Acta Diabetol, 2012, 49 (Suppl 1): S141-S151.
- [2] Enge M, Bjarnegård M, Gerhardt H, et al. Endothelium-specific platelet-derived growth factor-B ablation mimics diabetic retinopathy[J]. EMBO J, 2002, 21(16): 4307-4316.
- [3] DeVries AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, et al. Endothelial dysfunction in diabetes[J]. Br J Pharmacol, 2000, 130(5): 963-974.

- [4] Talahalli R, Zarini S, Tang J, et al. Leukocytes regulate retinal capillary degeneration in the diabetic mouse via generation of leukotrienes[J]. *J Leukoc Biol*, 2013, 93(1): 135-143.
- [5] Notomi S, Hisatomi T, Kanemaru T, et al. Critical involvement of extracellular ATP acting on P2RX₇ purinergic receptors in photoreceptor cell death[J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(6): 2798-2809.
- [6] Fukumoto M, Nakaizumi A, Zhang T, et al. Vulnerability of the retinal microvasculature to oxidative stress: ion channel-dependent mechanisms[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302(9): C1413-C1420.
- [7] Romagnoli R, Baraldi PG, Cruz-Lopez O, et al. The P2X₇ receptor as a therapeutic target[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2008, 12(5): 647-661.
- [8] Sugiyama T, Lee SY, Horie T, et al. P2X₇ receptor activation may be involved in neuronal loss in the retinal ganglion cell layer after acute elevation of intraocular pressure in rats [J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 2080-2091.
- [9] Kawamura H, Sugiyama T, Wu DM, et al. ATP: a vasoactive signal in the pericyte-containing microvasculature of the rat retina[J]. *J Physiol*, 2003, 551(15): 787-799.
- [10] Wurm A, Pannicke T, Iandiev I, et al. Purinergic signaling involved in Müller cell function in the mammalian retina[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2011, 30(5): 324-342.
- [11] Hu H, Lu W, Zhang M, et al. Stimulation of the P2X₇ receptor kills rat retinal ganglion cells *in vivo* [J]. *Exp Eye Res*, 2010, 91(3): 425-432.
- [12] Franke H, Klimke K, Brinckmann U, et al. P2X₇ receptor-mRNA and protein in the mouse retina; changes during retinal degeneration in BALB/c mice [J]. *Neurochem Int*, 2005, 47(4): 235-242.
- [13] Sugiyama T, Oku H, Shibata M, et al. Involvement of P2X₇ receptors in the hypoxia-induced death of rat retinal neurons[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(6): 3236-3243.
- [14] Liao SD, Puro DG. NAD⁺-induced vasotoxicity in the pericyte-containing microvasculature of the rat retina: effect of diabetes [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(11): 5032-5038.
- [15] Sugiyama T, Oku H, Komori A, et al. Effect of P2X₇ receptor activation on the retinal blood velocity of diabetic rabbits [J]. *Arch Ophthalmol*, 2006, 124(8): 1143-1149.
- [16] Sugiyama T. Role of P2X₇ receptors in the development of diabetic retinopathy[J]. *World J Diabetes*, 2014, 5(2): 141-145.
- [17] Sugiyama T, Kawamura H, Yamanishi S, et al. Regulation of P2X₇-induced pore formation and cell death in pericyte-containing retinal microvessels[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 288(3): C568-C576.
- [18] Seman M, Adriouch S, Scheuplein F, et al. NAD-induced T cell death: ADP-ribosylation of cell surface proteins by ART2 activates the cytolytic P2X₇ purinoceptor[J]. *Immunity*, 2003, 19(4): 571-582.
- [19] Puro DG. Retinovascular physiology and pathophysiology: new experimental approach/new insights[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2012, 31(3): 258-270.
- [20] Stephen DS, DeBetto P, Giusti P, et al. The P2X₇ purinergic receptor: from physiology to neurological disorders[J]. *FASEB J*, 2010, 24(2): 337-345.
- [21] Liou GL. Diabetic retinopathy: role of inflammation and potential therapies for anti-inflammation[J]. *World J Diabetes*, 2010, 1(1): 12-18.
- [22] Di Virgilio F. P2X Receptors and inflammation[J]. *Curr Med Chem*, 2015, 22(7): 866-877.

(收稿日期: 2015-01-25)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《国际内分泌代谢杂志》对参考文献著录的要求

本刊参考文献著录格式基本执行 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录, 依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出, 并将序号置于方括号中, 排列于文后。尽量避免引用摘要作为参考文献。引用文献(包括文字和表达的原意)务请作者与原文核对无误。日文汉字请按日文规定书写, 勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人者, 全部著录; 超过 3 人者, 可以只著录前 3 人, 后依文种加表示“等”的文字。作者姓名一律姓氏在前, 名字在后, 国外作者的名字采用首字母缩写形式, 缩写名后不加缩写点; 不同作者姓名之间用逗号隔开, 不用“和”、“and”等连词。外文期刊名称用缩写, 以《Index Medicus》中的格式为准; 中文期刊使用刊名全称。每条参考文献均须著录起止页。自 2014 年起, 文献题名后用中括号增加标注文献类型标志项目和期号。

示例如下:

- [1] 卢绮萍, 裘法祖, 吴在德, 等. 不同肝缺血时限肝硬变及非肝硬变肝组织基因差异表达及其意义[J]. *中华外科杂志*, 2007, 45(1): 50-53.
- [2] Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients[J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(4): 284-287.
- [3] Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, et al. *Medical microbiology* [M]. 4th ed. St. Louis: Mosby, 2002.
- [4] 褚骏仁. 昏厥与休克 // 董承琅, 陶寿淇, 陈灏珠. *实用心脏病学* [M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 561-585.
- [5] 余建斌. 我们的科技一直在追赶: 访中国工程院院长周济[N/OL]. *人民日报*, 2013-01-12(2). [2013-3-20]. http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb_20130112_5-02.htm.

本刊编辑部