

氧化应激-线粒体功能异常与视网膜神经节细胞凋亡的关系

韩 茜,余 玲

作者单位:(646000)中国四川省泸州市,泸州医学院附属医院眼科

作者简介:韩茜,女,在读硕士研究生,研究方向:青光眼。

通讯作者:余玲,医学博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:青光眼. oculistlingyu@hotmail.com

收稿日期:2014-10-11 修回日期:2015-01-15

Oxidative stress - mitochondrial dysfunction and the relationship with retinal ganglion cell apoptosis

Qian Han, Ling Yu

Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ling Yu. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. oculistlingyu@hotmail.com

Received:2014-10-11 Accepted:2015-01-15

Abstract

• Mitochondria play an important role in energy (ATP) production through oxidative phosphorylation pathway and the regulation of cell death by apoptosis. Mitochondrial dysfunction has been implicated in the pathophysiology of a number of neurodegenerative diseases. Glaucoma as a neurodegenerative disorder, mitochondrial oxidative stress in the pathogenesis of glaucoma and the damage of RGCs has received close attention in recent years. In this article, we reviewed the current evidences and recent advances in the relationship between mitochondrial oxidative stress and the RGCs apoptosis.

• **KEYWORDS:** mitochondrial dysfunction; oxidative stress; glaucoma; retina ganglion cell; apoptosis

Citation: Han Q, Yu L. Oxidative stress-mitochondrial dysfunction and the relationship with retinal ganglion cell apoptosis. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2015;15(2):238-241

摘要

线粒体既是细胞内能量转换器,又是决定细胞存活及凋亡的重要因素。线粒体损伤、功能失调与多种神经元退行性

变疾病发生发展均密切相关。青光眼为视神经病变的一种,近年来研究发现,线粒体的氧化应激在青光眼的发病及视网膜神经节细胞损伤过程中尤其重要。本文对氧化应激-线粒体功能异常与视网膜神经节细胞凋亡关系的最新研究进展作以综述。

关键词: 线粒体功能异常;氧化应激;青光眼;视网膜神经节细胞;凋亡

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.2.13

引用:韩茜,余玲.氧化应激-线粒体功能异常与视网膜神经节细胞凋亡的关系.国际眼科杂志2015;15(2):238-241

0 引言

青光眼是全球第一位不可逆性致盲眼病^[1],是一类慢性进行性视神经萎缩疾病,包括视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)死亡。青光眼的发病机制非常复杂,尽管认为高眼压是重要的危险因素,然而单纯降低眼压在很大程度上缓解病情的发展,却不能完全遏制RGCs死亡及其轴突的病变。目前越来越多的研究显示,氧化应激在青光眼的发病机制中亦充当着重要角色,青光眼最重要的病理改变是RGCs的凋亡,氧化应激与RGCs的这种损伤有关系,这一发现可能为临床青光眼防治提供新思路。

1 氧化应激

1.1 氧化应激概念 氧化应激是指机体遭受各种有害刺激时,体内一些活性分子如活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)生成过多,体内清除氧化物不及时,从而导致细胞凋亡和组织损伤的生理和病理反应。线粒体是ROS产生的主要部位,ROS包括超氧阴离子($\cdot O_2^-$)、羟自由基($\cdot OH$)和过氧化氢(H_2O_2)等。在生理状态下ROS是参与细胞信号转导的重要物质,但是当ROS的产生超出自身抗氧化清除能力,则可改变细胞蛋白、脂质和DNA的功能,从而激活一系列信号途径导致视细胞凋亡。

1.2 氧化应激与青光眼 氧化应激可能在各种眼部疾病的进展中起重要作用,如年龄相关性黄斑变性、白内障、青光眼等疾病^[2]。目前有研究表明,氧化应激在开角型青光眼和闭角型青光眼的发病机制中发挥作用^[3]。在青光眼中最重要的病理改变是RGCs的损伤,氧化应激与RGCs的损伤有关。大量的临床研究表明,氧化应激水平增加,导致线粒体功能异常,影响青光眼视神经病变^[4]。氧化应激引起的线粒体功能异常在RGCs凋亡中起着重要作用。

2 线粒体

2.1 线粒体与 ROS 线粒体是真核细胞中一种重要的细胞器,通过氧化呼吸作用提供细胞生命活动所需的能量,同时与人体内的氧化应激、细胞凋亡、细胞信号传递和控制细胞周期、生长、分化有关,且具有自身的遗传物质和遗传体系。线粒体损伤、功能失调与多种神经元退行性疾病发生发展密切相关,例如阿尔茨海默病、帕金森病、青光眼等^[5]。视网膜和视神经内含有丰富的线粒体,为视觉信号传导和细胞内物质运输提供必需的能量,因此线粒体功能异常可导致 RGCs 凋亡。越来越多的证据表明,在啮齿类动物模型的视网膜上,眼压升高导致缺血,影响线粒体蛋白质表达和诱导凋亡,引起细胞死亡^[6,7]。线粒体在氧化应激中起着重要的作用,主要是因为其作为产生 ROS 的主要来源以及 ROS 攻击的目标^[8]。线粒体功能障碍最主要的表现即为氧化应激,氧化应激在青光眼视神经病变中发挥重要作用^[9]。现已证实,青光眼患者 RGCs、房水及视网膜组织中 ROS 含量明显升高,线粒体膜电位下降^[10]。

2.2 线粒体在视神经中的分布及功能 视神经由 RGC 的轴突汇集而成,主要功能是传导感光细胞产生的神经冲动,将视网膜上的信息传递给大脑皮质。视神经是机体能量需求及耗氧率最高的组织之一,线粒体含量很高,充分确保其能量的供给,从而有效地保证机体功能活动^[11]。线粒体在视神经中是不均匀分布的,其密度在筛板及筛板前无髓鞘区较筛板后高。因为此区域神经元通过桥粒及半桥粒结构相互连接,其信号传导需要大量能量,能量的依赖特别高,对线粒体分布及其功能异常也尤其敏感。线粒体在视神经中沿着轴突不断地向前、后运输着能量,这本身也是一个耗能的过程^[12],当能量运输过程发生障碍时可严重影响 RGCs 的功能。

2.3 线粒体抗氧化防御系统 线粒体对氧化应激具有一定的适应能力,为减少机体损伤,可通过酶促和非酶促两种途径发挥抗氧化作用,与多种线粒体抗氧化应激因子密切相关^[13]。机体中的抗氧化物酶类如超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 和谷胱甘肽氧化酶 (glutathione peroxidase, GPX) 是视网膜强有力的抗氧化剂。SOD 是一种保护性酶,在眼内各种组织中均存在,共有三种类型:Cu/ZnSOD, MnSOD 和 FeSOD,但 FeSOD 只存在于原核生物中。氧自由基通过 Cu/ZnSOD 的阻止作用实现由超氧阴离子到 H₂O₂ 的快速转化^[14],阻止了超氧化物对重要生命物质,如蛋白质、DNA 和脂质的破坏。位于线粒体内膜的质子载体蛋白解偶联蛋白 2 (uncoupling proteins-2, UCP-2) 可促进线粒体氧化磷酸化解偶联,减少 ROS 产生。

3 氧化应激与线粒体功能异常

ROS 是细胞代谢的产物,体内多种酶可催化 ROS 产生,其主要在线粒体中产生。生理状态下,ROS 是参与细胞信号转导的重要物质,但是如果 ROS 的产生超出自身抗氧化清除能力,则会导致细胞内线粒体、蛋白质、核酸及脂质的损伤。呼吸链中蛋白复合体的活性以及线粒体膜

电位的改变均可引起 ROS 产生增加,过量的 ROS 会直接攻击线粒体,使线粒体功能紊乱。线粒体功能紊乱又会引起 ROS 产生增加,进一步损害线粒体的电子转移,使 ROS 产生倍增^[15,16]。ROS 可干扰 DNA 和 RNA 复制、氧化线粒体蛋白质和呼吸链酶复合物,使蛋白质丧失正常的催化和降解功能。尤其是在线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA),由于缺乏保护组蛋白和不完整的修复机制,mtDNA 易受到氧化损伤,导致 DNA 断裂和 DNA 突变,以及呼吸链复合物的变性,氧化磷酸化功能障碍,并产生更多的 ROS,形成恶性循环。氧化应激 ATP 生成减少,加重细胞凋亡^[17]。过量 ROS 可诱导线粒体膜通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) 开放,引起线粒体通透性改变和膜电位崩溃,导致线粒体功能异常和细胞凋亡^[18]。

4 线粒体功能异常与 RGCs 凋亡

线粒体是一个高度动态的细胞器,在氧化应激、细胞能量需求和细胞周期的影响下,不断地发生融合与分裂。功能正常的细胞线粒体的融合与分裂保持平衡^[19]。线粒体功能异常与线粒体的融合与分裂平衡失调有关^[20]。线粒体的融合是一个复杂的生物学过程,包括线粒体外膜的融合和线粒体内膜的融合两个过程。线粒体外膜的融合依赖两种线粒体融合蛋白,即 mitofusin1 (Mfn1) 和 mitofusin2 (Mfn2)^[21]。视神经萎缩蛋白 1 (optic atrophy 1, OPA1) 参与线粒体内膜的融合与嵴连接的调节。OPA1 主要在体细胞、RGCs 的轴突及视网膜水平细胞中表达^[22]。对于线粒体融合 OPA1 是必不可少的,无论是在酵母、蠕虫、苍蝇还是人类,所有研究显示线粒体功能障碍发生分裂主要是因为 OPA1 功能的丧失^[23]。在氧化应激时,可改变 RGCs 轴突中 OPA1 基因的表达及蛋白质的分布,导致线粒体分裂,最终引起 RGCs 凋亡。OPA1 丢失还可扰乱线粒体内膜结构和完整性,导致细胞色素 c (cytochrome C, CytC) 的释放,引发 RGCs 凋亡。

动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, Drp1) 是线粒体分裂必不可少的蛋白,在哺乳动物中调控线粒体的分裂,对神经细胞的存活也是必须的^[24]。在氧化应激时 Drp1 会以寡聚体的形式聚集在即将断裂的线粒体外膜部位,通过水解 GTP 使线粒体发生分裂,最终导致凋亡。分裂蛋白 1 (fission protein 1, Fis1) 是线粒体外膜蛋白质,通过 C 端锚定在线粒体外膜,参与线粒体分裂的过程。还有线粒体分裂因子 (mitochondrial fission factor, Mff) 和神经节苷脂诱导的分化蛋白 1 (ganglioside-induced differentiation associated protein 1, GDAP1) 均可调节线粒体分裂^[25],使线粒体功能异常。在氧化应激时可调节上述蛋白质的表达水平以及这些蛋白质的翻译后修饰,从而引起线粒体的分裂与细胞凋亡。

在凋亡过程中线粒体发生分裂的同时,超微结构也发生了变化,细管状线粒体的嵴连接开放,个别嵴融合,这一改变导致了 CytC 的释放,促进细胞凋亡。CytC 作为呼吸链电子传递的物质,也是调控细胞凋亡的重要蛋白^[26]。释放的 CytC 与凋亡蛋白酶活化因子-1 (apoptotic protease

activating factor 1, Apaf-1)和诱导 caspase-9 活化的 caspase-9 前体组成复合物,这两条通路均致 caspase-3 活化,其结果为核降解及分子的形态学改变,最终发生凋亡^[27]。

氧化应激时 mPTP 开放,线粒体膜电位崩溃,导致 OPA1 溶蛋白性裂解,促使线粒体分裂,同时 Drp1 被募集到线粒体膜上,发生小泛素相关修饰物 (small ubiquitin-related modifier, SUMO) 化修饰,刺激线粒体的分裂导致细胞凋亡^[28]。mPTP 开放时,细胞外液顺渗透梯度进入线粒体基质,使线粒体肿胀。因线粒体内膜较外膜具有更大的表面积,线粒体的肿胀将致外膜首先发生破裂,CytC 等由膜间隙释放到胞质,激活 caspase,引起细胞内蛋白和 DNA 的降解;CytC 的外流还可致电子传递链 (electron transport chain, ETC) 的成分发生缺失,导致线粒体呼吸作用破坏,ATP 的生成障碍使得质子跨膜运势被抑制,线粒体膜电位丢失,Ca²⁺外流,这些又进一步加剧了 mPTP 孔道的开放,引发细胞凋亡的恶循环,最终致细胞不可逆性的死亡^[29]。

Bcl-2 家族成员在线粒体介导的细胞凋亡途径中起到重要作用,它们在急性、慢性视神经病变模型中的 RGCs 存活中起重要作用已得到充分研究^[30]。Bcl-2 家族包括两类,一类是抗凋亡蛋白,一类是促凋亡蛋白。Bcl-2 为抗凋亡蛋白,其主要位于线粒体膜上,可以维持线粒体膜的稳定性,抑制 CytC 的释放,使 CytC 达不到激活 caspase 的阈值,抑制细胞凋亡。Bax 为促凋亡蛋白,在细胞凋亡的多种途径中起重要作用^[31],正常情况下位于胞质中,当机体受到细胞凋亡信号刺激时比如氧化应激时,Bax 构象会发生改变,可以易位至线粒体外膜上,从而导致 CytC 的释放,引起细胞凋亡。Bcl-2 家族的相互作用在空间上是动态的,即使是在非凋亡细胞中^[31],在氧化应激时 Bcl-2 和 Bax 之间的平衡改变,可通过开放 mPTP,改变线粒体膜的通透性,最终导致细胞凋亡^[32]。

5 抗氧化应激

随着氧化应激与青光眼疾病发生发展的关系被逐渐认知,抗氧化治疗已成为青光眼疾病研究热点。一些抗氧化的药物如辅酶 Q10,是电子传递链的重要辅助因子,维持线粒体膜电位,支持 ATP 的合成。其还可清除 ROS,保护线粒体膜蛋白质和 DNA 免受氧化损伤^[33]。银杏提取物有清除自由基的作用^[34],能够保持线粒体的新陈代谢和提高组织中 ATP 的生成。维生素 C 和 E 可清除 ROS,使 ROS 维持在较低的水平,具有抗氧化的作用。此外在一些天然食物中也有抗氧化物质。银杏中的多酚黄酮可在线粒体水平减少氧化应激^[35],黑巧克力^[36]和红酒^[37]等食物也含有具有清除自由基功能的多酚脂类化合物。

6 展望

目前越来越多的证据表明,氧化应激在青光眼疾病的发展中具有重要作用。过多的 ROS 使线粒体功能异常,导致 RGCs 凋亡。然而,氧化应激导致线粒体功能异常对青光眼性视神经病变及 RGCs 损害的详细作用机制,在很多方面还不是十分清楚。青光眼发生发展中精确的分子机制和线粒体氧化应激的实际影响还需要进一步阐明。随着科学实验技术的发展和研究的深入,青光眼的诊断治疗将进入一个全新的时代。

参考文献

- 1 Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol* 2006;90(3):262-267
- 2 Famili A, Ammar DA, Kahook MY. Ethyl pyruvate treatment mitigates oxidative stress damage in cultured trabecular meshwork cells. *Mol Vis* 2013;19:1304-1309
- 3 Goyal A, Srivastava A, Sihota R, et al. Evaluation of oxidative stress markers in aqueous humor of primary open angle glaucoma and primary angle closure glaucoma patients. *Curr Eye Res* 2014;39(8):823-829
- 4 Payne AJ, Kaja S, Naumchuk Y, et al. Antioxidant drug therapy approaches for neuroprotection in chronic diseases of the retina. *Int J Mol Sci* 2014;15(2):1865-1886
- 5 Yang XJ, Ge J, Zhou YH. Role of mitochondria in the pathogenesis and treatment of glaucoma. *Chin Med J (Engl)* 2013;126(22):4358-4365
- 6 Weinreb RN, Khaw PT. Primary open-angle glaucoma. *Lancet* 2004;363(9422):1711-1720
- 7 Ju WK, Lindsey JD, Angert M, et al. Glutamate receptor activation triggers OPA1 release and induces apoptotic cell death in ischemic rat retina. *Mol Vis* 2008;14:2629-2638
- 8 Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, et al. Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis* 2007;12(5):913-922
- 9 Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res* 2006;25(5):490-513
- 10 McElnea EM, Quill B, Docherty NG, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and calcium overload in human lamina cribrosa cells from glaucoma donors. *Mol Vis* 2011;17:1182-1191
- 11 Raichle ME, Gusnard DA. Appraising the brain energy budget. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(16):10237-10239
- 12 Osborne NN. Mitochondria: Their role in ganglion cell death and survival in primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res* 2010;90(6):750-757
- 13 Galley HF. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *Br J Anaesth* 2011;107(1):57-64
- 14 Ghanem AA, Arafa LF, El-Baz A. Oxidative stress markers in patients with primary open-angle glaucoma. *Curr Eye Res* 2010;35(4):295-301
- 15 Panieri E, Gogvadze V, Norberg E, et al. Reactive oxygen species generated in different compartments induce cell death, survival, or senescence. *Free Radic Biol Med* 2013;57:176-187
- 16 Hwang AB, Jeong DE, Lee SJ. Mitochondria and organismal longevity. *Curr Genomics* 2012;13(7):519-532
- 17 Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med* 2011;50(5):567-575
- 18 Kalogeris T, Bao Y, Korthuis RJ. Mitochondrial reactive oxygen species: a double edged sword in ischemia/reperfusion pre-conditioning. *Redox Biol* 2014;2:702-714
- 19 Twig G, Elorza A, Molina AJ, et al. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *EMBO J* 2008;27(2):433-446
- 20 Nakamura T, Cieplak P, Cho DH, et al. S-nitrosylation of Drp1 links excessive mitochondrial fission to neuronal injury in neurodegeneration. *Mitochondrion* 2010;10(5):573-578
- 21 Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, et al. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J Cell Biol* 2003;160(2):189-200
- 22 Ju WK, Kim KY, Lindsey JD, et al. Elevated hydrostatic pressure triggers release of OPA1 and cytochrome C, and induces apoptotic cell

- death in differentiated RGC-5 cells. *Mol Vis* 2009;15:120-134
- 23 Westermann B. Mitochondrial dynamics in model organisms; what yeasts, worms and flies have taught us about fusion and fission of mitochondria. *Semin Cell Dev Biol* 2010;21(6):542-549
- 24 Uo T, Dworzak J, Kinoshita C, et al. Drp1 levels constitutively regulate mitochondrial dynamics and cell survival in cortical neurons. *Exp Neurol* 2009;218(2):274-285
- 25 Yoon Y, Galloway CA, Jhun BS, et al. Mitochondrial dynamics in diabetes. *Antioxid Redox Signal* 2011;14(3):439-457
- 26 Chertkova RV, Sharonov GV, Feofanov AV, et al. Proapoptotic activity of cytochrome c in living cells; effect of K72 substitutions and species difference. *Mol Cell Biochem* 2008;314(1-2):85-93
- 27 Reed JC. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol* 2000;157(5):1415-1430
- 28 Wasiak S, Zunino R, McBride HM. Bax/Bak promote sumoylation of DRP1 and its stable association with mitochondria during apoptotic cell death. *J Cell Biol* 2007;177(3):439-450
- 29 Kinnally KW, Peixoto PM, Ryu SY, et al. Is mPTP the gatekeeper for necrosis, apoptosis or both? *Biochim Biophys Acta* 2011;1813(4):616-622
- 30 Nickells RW, Semaan SJ, Schlamp CL. Involvement of the Bcl2 gene family in the signaling and control of retinal ganglion cell death. *Prog Brain Res* 2008;173:423-435
- 31 Volkmann N, Marassi FM, Newmeyer DD, et al. The rheostat in the membrane; BCL-2 family proteins and apoptosis. *Cell Death Differ* 2014;21(2):206-215
- 32 Zhou X, Su CF, Zhang Z, et al. Neuroprotective effects of methyl 3,4-dihydroxybenzoate against H₂O₂-induced apoptosis in RGC-5 cells. *J Pharmacol Sci* 2014;125(1):51-58
- 33 Lee D, Shim MS, Kim KY. Coenzyme Q10 inhibits glutamate excitotoxicity and oxidative stress-mediated mitochondrial alteration in a mouse model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(2):993-1005
- 34 Diamond BJ, Bailey MR. Ginkgo biloba; indications, mechanisms, and safety. *Psychiatr Clin North Am* 2013;36(1):73-83
- 35 Eckert A, Keil U, Scherping I, et al. Stabilization of mitochondrial membrane potential and improvement of neuronal energy metabolism by Ginkgo biloba extract EGB 761. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1056:474-485
- 36 Miller KB, Stuart DA, Smith NL, et al. Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States. *J Agric Food Chem* 2006;54(11):4062-4068
- 37 Haufschild T, Kaiser HJ, Preisig T, et al. Influence of red wine on visual function and endothelin-1 plasma level in a patient with optic neuritis. *Ann Neurol* 2003;53(6):825-826