

# Caspase 家族与失神经支配骨骼肌萎缩的研究进展

田 淼<sup>1</sup>, 陈 雨<sup>2</sup>, 陶 朋<sup>2</sup>综述, 陈 沛<sup>2</sup>审校

**摘要:** Caspase 家族是含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶的简称,根据主要作用分类可分为炎症 Caspases 和凋亡 Caspases。在失神经支配骨骼肌萎缩中 Caspases 已被证实通过多种途径促进肌细胞凋亡。近年来有研究发现失神经支配肌细胞萎缩中 Caspase-1 所主导的细胞焦亡途径被激活,这是既往研究未提及的新的探索方向。现对 Caspase 家族在失神经支配骨骼肌萎缩中的作用进行概述。

**关键词:** Caspase 家族; 肌萎缩; 失神经支配

**中图分类号:**R746.4 **文献标识码:**A

**Research advances in the Caspase family and denervated skeletal muscle atrophy** TIAN Miao, CHEN Yu, TAO Peng, et al. (The First Clinical School of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China)

**Abstract:** The Caspase family, short for cysteine-containing aspartate protein hydrolases, can be classified into inflammatory Caspases and apoptotic Caspases according to their role. It has been confirmed that Caspases promote myocyte apoptosis through multiple pathways in denervated skeletal muscle atrophy. In recent years, studies have shown that the pyroptosis pathway dominated by caspase-1 is activated in denervated myocyte atrophy, which is a new direction for exploration that is not mentioned in previous studies. This article reviews the role of the Caspase family in denervated skeletal muscle atrophy.

**Key words:** Caspase family; Muscular atrophy; Denervation

Caspase 家族是一组结构上相似的蛋白酶,能够切割并活化蛋白质,已鉴定在人类中存在的共有 11 个成员,根据主要作用分类可分为炎症 Caspases 和凋亡 Caspases,其中,凋亡 Caspases 又包括凋亡起始 Caspases 与凋亡效应 Caspases<sup>[1-5]</sup>。研究证明 Caspase 家族各成员在神经退行性疾病中发挥作用,但研究重点为神经细胞或神经纤维<sup>[6]</sup>。对于所支配骨骼肌中 Caspases 的变化情况,也有一些学者在实验中提及,虽然研究相对分散,但都提示 Caspase 家族是失神经支配骨骼肌萎缩通路的重要执行因子,通过梳理 Caspase 家族在其中发挥作用的主要通路有助于探索失神经支配骨骼肌萎缩的机制及治疗方向,现做如下综述。

## 1 凋亡 Caspases

**1.1 凋亡 Caspases 概述** 凋亡 Caspases 根据调控细胞凋亡的激活顺序,分为凋亡起始 Caspases 和凋亡执行 Caspases 2 大类。凋亡起始 Caspases 分为 Caspase-2、Caspase-8、Caspase-9、Caspase-10,又称为“诱导 Caspases”,参与细胞外源性和内源性凋亡途径。

外源性凋亡途径中,胞外“死亡信号”通过死亡受体传递给细胞内,一些常见的死亡受体如 Fas 受体、肿瘤坏死因子受体(TNFR1)等与相应死亡配体

结合形成死亡域蛋白(FADD)等可激活 Caspase-2、Caspase-8、Caspase-9、Caspase-10,给细胞下达“凋亡指示”,再由 Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7 执行凋亡事件。其通路可归纳为 Fas、TNF- $\alpha$  等 $\rightarrow$ FADD 等 $\rightarrow$ Caspase-2、Caspase-8、Caspase-9、Caspase-10 $\rightarrow$ Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7 的传导<sup>[7,8]</sup>。

内源性凋亡途径是由线粒体介导的,常见凋亡刺激如 DNA 损伤、ATP 耗竭,可启动线粒体途径,此外还有线粒体蛋白中的 Bcl-2 家族蛋白利用信号传导,使线粒体肿胀通透性增强,释放凋亡活性物质如细胞色素 C(Cyt C)吸引 pro-Caspase-9 等形成凋亡复合体,后进行自我剪切脱离,激活下游 Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7,执行细胞凋亡。其传导通路可总结为, DNA 损伤、ATP 耗竭、Bcl-2/Bax 比值变化等 $\rightarrow$ 线粒体膜通透性增加 $\rightarrow$ 释放 Cyt C $\rightarrow$ 活化 Caspase-9 $\rightarrow$ Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7 激活进而执行凋亡程序<sup>[9]</sup>。

收稿日期:2023-08-20;修订日期:2023-11-16

基金项目:湖北省卫生健康委面上项目(WJ2017M179);武汉市科学技术局应用基础前沿项目(2020020601012310)

作者单位:(1.湖北中医药大学第一临床学院,湖北 武汉 430061;2.湖北中医药大学附属武汉市中西医结合医院,湖北 武汉 430000)

通信作者:陈 沛,E-mail:chenpeioto@163.com

1.2 Caspases 促进失神经支配骨骼肌细胞凋亡 失神经支配后,骨骼肌缺乏神经营养支持、运动终板退化、血管床发生退变等病理变化使肌肉组织发生萎缩。Caspase 家族各成员在失神经支配肌萎缩的病理过程中也发挥促进效应。已证实 Caspases 参与失神经支配肌细胞凋亡<sup>[8,10,11]</sup>。肌细胞凋亡是一种由基因控制的细胞程序性死亡方式,主要表现为肌细胞缩小、细胞核固缩、染色体DNA裂解。

在失神经支配肌萎缩过程中,Caspase-3能促进肌细胞凋亡。Borisov等<sup>[12]</sup>观察到坐骨神经损伤后,大鼠失神经支配比目鱼肌和趾长伸肌中出现典型凋亡特征的肌细胞、同时也检测到TUNEL染色阳性细胞,提示失神经支配后肌细胞发生了细胞凋亡。高睿琦等<sup>[13]</sup>切断大鼠坐骨神经后取腓肠肌进行检测,发现肌细胞发生凋亡的同时腓肠肌中Caspase-3 mRNA表达增强。提示Caspase-3在神经损伤后的肌肉组织中发挥促凋亡作用。

同时抑制Caspase-3表达能减弱失神经支配后肌细胞凋亡程度。如有研究者<sup>[14]</sup>发现,应用Caspase-3抑制剂Ac-DEVE-CHO,可显著降低失神经骨骼肌肌萎缩中细胞核凋亡的比例。董玉珍等<sup>[15]</sup>发现,神经营养素3在抑制大鼠坐骨神经损伤后腓肠肌的Caspase-3的表达后肌细胞凋亡减弱。宗海斌等<sup>[16]</sup>在研究大鼠坐骨神经损伤实验中取腓肠肌进行检测,也发现一致现象,即抑制Caspase-3表达能减弱肌细胞凋亡。对于Caspase-3表达抑制后能否影响失神经支配肌萎缩其他病理改变后也有学者进行探索。如Plant等<sup>[17]</sup>发现胫神经切断后2周,Caspase-3基因敲除小鼠的腓肠肌比未敲除基因小鼠的腓肠肌湿重更重,TUNEL标记的凋亡肌细胞更少。但两组泛素-蛋白酶体系总蛋白及促使萎缩的2种特异性泛素连接酶E3[肌肉萎缩盒F(MAFbx)和肌肉环状指-1(MuRF1)]含量均无明显区别。提示Caspase-3是通过参与细胞凋亡促使肌肉萎缩,而不影响失神经支配肌细胞中泛素-蛋白酶体系介导的蛋白质降解。虽然大多学者的研究证实Caspase-3在失神经支配肌细胞中的促凋亡作用,但有极少学者有不同发现。Argadine等<sup>[18]</sup>研究大鼠失神经支配膈肌发现,失神经支配1 d、3 d、5 d、7 d后,蛋白印迹法检测膈肌中Caspase-3活性并未增强。考虑失神经支配时间较短,Caspase-3有增强趋势但未体现出统计学差异,或大鼠种类、实验操作等的影响。

除Caspase-3外,Caspase-8和Caspase-9也被证实失神经支配骨骼肌中发挥相似作用。吴珍元等<sup>[19]</sup>使用Western Blot检测坐骨神经损伤后腓肠肌中Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9表达,发现均有增加且肌细胞发生凋亡。史红伟等<sup>[20]</sup>切断大鼠坐骨神经后分别于术后2 d、14 d、28 d使用分光光度法检测腓肠肌中Caspase-8、Caspase-9含量,结果提示Caspase-8、Caspase-9均有升高,且于14 d达到高峰,证明Caspase-8、Caspase-9在神经损伤后相应靶肌肉中需一段时间达到最大效应量。张贤等<sup>[21]</sup>则发现失神经支配环杓后肌中Caspase-3表达升高,在失神经支配3~6月后Caspase-3表达量逐渐达到峰值。也证明失神经支配后肌细胞中凋亡Caspases需要一段时间达到峰值,但不同肌肉组织到达峰值时间不同,这有助于判断神经损伤后进行修复的最佳时间范围。

1.3 Caspases 参与失神经支配骨骼肌细胞凋亡的通路 失神经支配骨骼肌萎缩过程中,胞外“死亡信号”激活Caspases参与的外源性细胞凋亡途径发挥作用。能通过“死亡信号”→作用于Fas受体等→产生FADD→激活Caspase-2、Caspase-8、Caspase-9、Caspase-10→驱动Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7进行传导。吴朝晖等<sup>[22]</sup>取臂丛神经损伤后大鼠肱二头肌,用免疫组织化学染色法检测Fas、Caspase-8,发现肱二头肌细胞发生凋亡且Fas、Caspase-8升高。证实这一通路被激活,参与失神经支配肌萎缩的过程。

此外,失神经支配骨骼肌也发生由Bcl-2蛋白家族参与的内源性细胞凋亡,通过Bcl-2/Bax比值变化→线粒体膜通透性增加→释放Cyt C→Caspase-3激活进而执行凋亡程序<sup>[11]</sup>。Siu等<sup>[23]</sup>对比野生型大鼠(未敲除Bax基因大鼠)与Bax基因敲除型大鼠失神经支配腓肠肌变化情况,对两组大鼠实施胫神经断离手术,14 d后取腓肠肌,野生型大鼠腓肠肌中Cyt C、Caspase-3、Caspase-9均表达明显增强,Bax基因敲除型大鼠腓肠肌中上述3种蛋白表达均受到抑制。结合Siu<sup>[24]</sup>的另一实验,切断大鼠胫神经后14 d取腓肠肌检测发现,相比对照组,去神经支配腓肠肌的Bax/Bcl-2比值显著增加,Cyt C表达增强,同时Caspase-3、Caspase-9的mRNA上调。可提示由Bcl-2蛋白家族介导的内源性细胞凋亡途径在失神经支配骨骼肌中被激活。另有Always等<sup>[25]</sup>取胫神经断伤后14 d的大鼠腓肠肌及比目鱼肌,使用蛋白印迹法检测发现,失神经支配腓肠肌及比目鱼肌中Bax蛋白水平

升高、同时 Caspase-8 表达增加。以上均提示失神经支配肌细胞中发生了 Bcl-2/Bax 比值变化→线粒体膜通透性增加→释放 Cyt C→Caspase-2、Caspase-8、Caspase-9、Caspase-10→Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7 传导的肌细胞凋亡。

1.4 Caspases 参与失神经支配骨骼肌细胞凋亡的下游信号 当失神经支配骨骼肌中 Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7 这些凋亡执行 Caspases 被激活后,迅速募集下游信号发挥凋亡效应。Caspase-3、Caspase-7 主要作用于聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (poly-ADP ribose polymerase, PARP)<sup>[26]</sup>。PARP 负责 DNA 修复与完整性监控,而 Caspase-3 剪切 PARP 使其失活,促使 DNA 裂解而发生肌细胞凋亡。Caspase-6 能够降解稳定细胞核及细胞骨架的成分,核纤层蛋白 A (lamin A) 及细胞角蛋白 18 (keratin 18), 从而导致肌细胞核及肌细胞骨架的破坏。虽然分为不同通路,但上述通路之间相互联系,且 Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7 能够正反馈调节凋亡起始 Caspases,从而进一步促进失神经支配肌细胞萎缩。

## 2 炎症 Caspases

2.1 炎症 Caspases 概述 炎症 Caspases 引起细胞焦亡包括经典细胞焦亡途径和非经典细胞焦亡途径,前者主要为 Caspase-1 参与;后者由 Caspase-4、Caspase-5、Caspase-11 介导。细胞焦亡和细胞凋亡都属于细胞程序性死亡,不同的是前者表现为细胞逐渐肿胀,胞膜破裂,是裂解性细胞死亡,会诱发炎症反应。这是因为焦亡信号激活穿孔素 (GSDMD) 后,在细胞膜表面形成“孔道”释放胞内炎性物质(如炎症细胞因子、趋化因子等),导致细胞的渗透性溶解及炎症反应的扩大<sup>[27-29]</sup>。炎症小体是细胞焦亡的启动物质,由核心感受器支架蛋白、凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) 和效应器前半胱天冬氨酸酶 (pro-Caspase-1) 共同构成<sup>[30]</sup>。

2.2 炎症 Caspases 与失神经支配骨骼肌 关于 Caspase 家族主导的炎性途径在失神经支配骨骼肌萎缩的少量研究主要集中在肌萎缩侧索硬化 (ALS) 疾病中,在其他神经源性肌萎缩疾病中的报道极少,这是既往研究较少关注的肌萎缩途径,但近期研究有了新的发现。虽然临床上其他疾病如外伤所致神经损伤、周围性面瘫、脑卒中等导致肌萎缩与肌萎缩侧索硬化同属于神经源性肌萎缩,但它们的病理机制并不完全一致<sup>[31]</sup>。故肌萎缩侧索硬化

中 Caspases 改变能为失神经支配骨骼肌研究提供实验思路,但仍需单独研究进行验证。

Caspase-1 介导的经典细胞焦亡途径为炎症小体 (NLRP3) → Caspase-1 → 激活 IL-1β、驱动 IL-18 → 穿孔素 (GSDMD) → 细胞膜形成焦亡小孔 → 细胞炎性死亡。Lehmann 等<sup>[32]</sup>取肌萎缩侧索硬化症状早期的患者及大鼠腓肠肌组织进行检验,发现两组萎缩肌组织中 Caspase-1、IL-1β 水平较对照组 (健康鼠、健康人) 显著升高。提示在肌萎缩侧索硬化中 Caspase-1 参与失神经支配骨骼肌的萎缩过程。近期 You 等<sup>[33]</sup>使用蛋白印迹法、rt-PCR 法检测证实小鼠坐骨神经断伤后 14 d 开始腓肠肌中 NLRP3、Caspase-1、IL-1β、IL-18、GSDMD 表达较假手术组升高,并在此后 14 d 持续上升。而 NLRP3 基因敲除组的小鼠在失神经支配后同期检测腓肠肌发现 Caspase-1、IL-1β、IL-18、GSDMD、等炎症相关分子的表达明显减少。这证明 Caspase-1 介导的经典细胞焦亡途径参与失神经支配骨骼肌萎缩过程。

## 3 总结

Caspase 家族在失神经支配骨骼肌中发挥作用,其介导的细胞凋亡途径促进肌细胞萎缩已被验证。炎症 Caspases 中,Caspase-1 传导的经典细胞焦亡途径也被证实参与失神经支配骨骼肌的萎缩过程,但还没有学者在实验中观察肌细胞是否存在细胞焦亡的特征形态即细胞肿胀、细胞膜破裂。故仍需进一步实验进行观察研究 Caspase-1 对失神经支配肌细胞的影响。Caspase 家族中还有一部分成员的功能尚未完全厘清,暂未见相关研究记录 Caspase-4、Caspase-5、Caspase-11 等在失神经支配肌萎缩中的变化。

**利益冲突声明:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

**作者贡献声明:** 田淼负责拟定写作思路、论文撰写;陈雨、陶朋负责文献收集、论文设计;陈沛负责论文修改、指导撰写文章并最后定稿。

## [参考文献]

- [1] 杨光,何浩强,周思远,等. Caspase 家族与心血管疾病及中药复方的干预研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27 (10): 1680-1684, 1690.
- [2] Nagata S. Apoptosis and clearance of apoptotic cells[J]. Annu Rev Immunol, 2018, 36: 489-517.
- [3] Fan TJ, Han LH, Cong RS, et al. Caspase family proteases and

- apoptosis[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2005, 37(11): 719-727.
- [4] Zhang WJ, Chen SJ, Zhou SC, et al. Inflammasomes and fibrosis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 643149.
- [5] 陈津, 张如松. 细胞凋亡机制概述[J]. *中华中医药学刊*, 2011, 29(4): 886-889.
- [6] 薛宏宇, 方雪梅, 王维维, 等. Caspases在神经退行性疾病中的研究进展[J]. *生物医学工程学杂志*, 2013, 30(2): 438-442.
- [7] Zheng X, Zhong T, Ma Y, et al. Bnip3 mediates doxorubicin-induced cardiomyocyte pyroptosis via caspase-3/GSDME [J]. *Life Sci*, 2020, 242: 117186.
- [8] Shi H, Gao Y, Dong Z, et al. GSDMD-mediated cardiomyocyte pyroptosis promotes myocardial I/R injury [J]. *Circ Res*, 2021, 129(3): 383-396.
- [9] 赵瑞杰, 李引乾, 王会, 等. Caspase家族与细胞凋亡的关系[J]. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(17): 73-78.
- [10] Udjus C, Cero FT, Halvorsen B, et al. Caspase-1 induces smooth muscle cell growth in hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2019, 316(6): L999-L1012.
- [11] 刘洪文, 朱国涛, 陈锦成, 等. 失神经骨骼肌萎缩的机制及防治研究进展[J]. *中国临床研究*, 2019, 32(8): 1116-1118, 1121.
- [12] Borisov AB, Carlson BM. Cell death in denervated skeletal muscle is distinct from classical apoptosis [J]. *Anat Rec*, 2000, 258(3): 305-318.
- [13] 高睿琦, 唐成林, 黄思琴, 等. 电针对失坐骨神经大鼠腓肠肌细胞凋亡及相关蛋白的影响[J]. *针刺研究*, 2017, 42(4): 302-307.
- [14] 彭建平, 陈晓东. 失神经骨骼肌萎缩机制的研究进展[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2008, 22(12): 1511-1514.
- [15] 董玉珍, 宗海斌, 杨林, 等. 神经营养素3对坐骨神经损伤大鼠肌萎缩的修复作用[J]. *新乡医学院学报*, 2012, 29(11): 831-833.
- [16] 宗海斌, 黄媛霞, 董玉珍, 等. 神经营养因子-3对周围神经损伤后肌细胞凋亡及Ca<sup>2+</sup>-ATP酶的影响[J]. *重庆医学*, 2014, 43(3): 331-334.
- [17] Plant PJ, Bain JR, Correa JE, et al. Absence of caspase-3 protects against denervation-induced skeletal muscle atrophy [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 107(1): 224-234.
- [18] Argadine HM, Hellyer NJ, Mantilla CB, et al. The effect of denervation on protein synthesis and degradation in adult rat diaphragm muscle [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 107(2): 438-444.
- [19] 吴珍元, 黄英如, 李沿江, 等. 低强度脉冲超声波对大鼠失神经骨骼肌萎缩的影响[J]. *中国矫形外科杂志*, 2015, 23(23): 2191-2197.
- [20] 史红伟, 张红英, 李晓燕, 等. 黄芪延缓大鼠失神经骨骼肌萎缩细胞凋亡机制研究[J]. *中国现代应用药学*, 2011, 28(11): 984-987.
- [21] 张贤, 王茂鑫. 失神经支配环杓后肌形态及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3表达的研究[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2015, 23(5): 489-492.
- [22] 吴朝晖, 田涛, 金惠铭, 等. 氨哮素延缓臂丛神经损伤后骨骼肌萎缩的机理研究[J]. *中华手外科杂志*, 2000, 16(4): 198-200.
- [23] Siu PM, Alway SE. Deficiency of the bax gene attenuates denervation-induced apoptosis [J]. *Apoptosis*, 2006, 11(6): 967-981.
- [24] Siu PM, Alway SE. Mitochondria-associated apoptotic signalling in denervated rat skeletal muscle [J]. *J Physiol*, 2005, 565(Pt 1): 309-323.
- [25] Alway SE, Degens H, Krishnamurthy G, et al. Denervation stimulates apoptosis but not Id2 expression in hindlimb muscles of aged rats [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2003, 58(8): 687-697.
- [26] 刘大锐, 李报春, 李怀东. 细胞凋亡核心基因Caspase家族的研究进展[J]. *中国医药导刊*, 2020, 22(11): 800-805.
- [27] 黄清宇, 杜楚江, 张雨竹, 等. 细胞焦亡研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(2): 245-250.
- [28] Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease [J]. *Immunity*, 2019, 50(6): 1352-1364.
- [29] Kesavardhana S, Malireddi RKS, Kanneganti TD. Caspases in cell death, inflammation, and pyroptosis [J]. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38: 567-595.
- [30] 王伟庆, 柯志飞, 周越. NLRP3炎症小体在脂肪组织纤维化中的作用及运动干预研究进展[J]. *生命科学*, 2023, 35(6): 807-815.
- [31] Beers DR, Appel SH. Immune dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis: mechanisms and emerging therapies [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(2): 211-220.
- [32] Lehmann S, Esch E, Hartmann P, et al. Expression profile of pattern recognition receptors in skeletal muscle of SOD1<sup>(G93A)</sup> amyotrophic lateral sclerosis (ALS) mice and sporadic ALS patients [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018, 44(6): 606-627.
- [33] You Z, Huang X, Xiang Y, et al. Ablation of NLRP3 inflammasome attenuates muscle atrophy via inhibiting pyroptosis, proteolysis and apoptosis following denervation [J]. *Theranostics*, 2023, 13(1): 374-390.
- 
- 引证本文: 田森, 陈雨, 陶朋, 等. Caspase家族与失神经支配骨骼肌萎缩的研究进展[J]. *中馈与神经疾病杂志*, 2024, 41(1): 84-87.