

DOI: 10.13376/j.cblls/2024049

文章编号: 1004-0374(2024)04-0456-11

PrP^C在脑缺血中的作用

王月^{1,2}, 王可³, 尚文豆^{1,2}, 刘怀玉^{1,2}, 张文欣^{1,2}, 何治^{1,2,3*}

(1 三峡大学国家中医药管理局中药药理科研三级实验室, 宜昌 443002;

2 三峡大学健康医学院, 宜昌 443002; 3 嘉兴学院医学院, 嘉兴 314000)

摘要: 细胞朊病毒蛋白 (PrP^C) 是一种高度保守的细胞表面糖蛋白, 具有多种配体并在许多组织和细胞亚型中不同程度地表达, 在中枢神经系统 (CNS) 中高表达。研究发现 PrP^C 可通过减轻兴奋性毒性、炎症反应、氧化应激、凋亡以及促进神经再生及血管生成来减轻缺血性脑损伤。该文对 PrP^C 的基础信息、生理病理作用及在脑缺血中的作用机制进行综述, 以期防治脑缺血提供研究基础。

关键词: PrP^C; 脑缺血; 朊病毒蛋白; 神经保护

中图分类号: Q42; R743 **文献标志码:** A

The role of PrP^C in cerebral ischemia

WANG Yue^{1,2}, WANG Ke³, SHANG Wen-Dou^{1,2}, LIU Huai-Yu^{1,2}, ZHANG Wen-Xin^{1,2}, HE Zhi^{1,2,3*}

(1 Third-grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 2 Health Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 3 Jiaxing University School of Medicine, Jiaxing 314000, China)

Abstract: Cellular prion protein (PrP^C) is a highly conserved cell surface glycoprotein with multiple ligands and is expressed in many tissues and cell subtypes to varying degrees, and is highly expressed in the central nervous system (CNS). Studies have found that PrP^C can alleviate ischemic brain injury by reducing excitatory toxicity, inflammatory response, oxidative stress, apoptosis, and promoting nerve regeneration and angiogenesis. Therefore, this review aims to provide an overview of the fundamental knowledge of PrP^C, its physiological and pathological functions, and the mechanisms by which it exerts its effects on the brain in ischemic conditions. This information is essential for the development of effective strategies for the prevention and treatment of ischemic brain injury.

Key words: PrP^C; cerebral ischemia; prion protein; neuroprotection

脑缺血是由于脑血流量 (cerebral blood flow, CBF) 减少而导致脑组织葡萄糖和氧气供应不足, 引起谷氨酸兴奋性毒性、炎症、氧化应激和凋亡等病理过程, 从而导致偏瘫、学习记忆障碍等神经损伤症状的一种神经系统疾病^[1-2]。根据世界卫生组织统计, 中风是全球第二大死亡原因, 也是全球第三大致残原因, 每年有近 600 万人因该疾病死亡, 其发病率呈年龄依赖性^[3]。其中, 约 87% 的中风由脑内缺血引起, 10% 由脑内出血引起, 3% 由蛛网膜下腔出血引起^[4]。目前, 临床主要通过重组组织型纤溶酶原激活剂 (tissue-type plasminogen activator, t-PA) 进行静脉溶栓、通过尿激酶等药物进行动脉

溶栓以及利用特殊仪器进行机械取栓, 但是由于治疗时间窗口狭窄和极大的手术操作风险, 导致其应用受限^[5]。因此, 寻找新的治疗方案来改善脑缺血损伤以及促进神经系统恢复具有重要意义。

朊病毒蛋白 (prion protein, PrP) 是哺乳动物正常细胞基因的编码产物, 有病理型朊蛋白 (PrP^{Sc}) 和

收稿日期: 2023-10-17; 修回日期: 2023-12-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82073824); 国家自然科学基金青年基金项目(82204837); 浙江省自然科学基金项目(LQ23H290004)

*通信作者: E-mail: 17381350209@163.com; Tel: 17381350209

细胞型朊蛋白 (cellular prion protein, PrP^C) 两种亚型^[6]。PrP^{Sc}是由 PrP^C经构象变化、基因突变或与感染性 PrP^{Sc}结合形成 PrP^{Sc}-PrP^C二聚体, 导致模板转换错误形成的, 是导致朊病毒疾病的传播和致病的病原体^[7]。PrP^C是一种由朊蛋白基因 (*PRNP*) 编码的细胞表面糖基磷脂酰肌醇 (glycosyl phosphatidyl inositol, GPI) 锚定糖蛋白, 通过内质网 - 高尔基体蛋白分泌途径合成, 大量分布于中枢神经系统和网状内皮系统中, 其他组织中有少量分布, 大量存在于神经元细胞表面, 不仅在髓磷脂稳态、髓鞘形成和免疫系统的特定过程中具有重要意义, 也在癌症、阿尔茨海默病和脑缺血中发挥重要作用^[8-9]。目前研究发现, 在脑缺血病理过程中, PrP^C可通过参与氧化应激、神经炎症以及细胞凋亡等发挥神经保护作用^[10-12], 与脑缺血的发生发展密切相关。因此, 本文总结国内外关于 PrP^C及其在脑缺血方面的研究, 简要介绍 PrP^C的结构、合成与裂解以及发挥的作用, 重点阐述 PrP^C在脑缺血中发挥神经保护作用的机制。

1 PrP^C

1.1 PrP^C的结构

PrP^C是一种含 209 个氨基酸残基的高度保守的蛋白质, 相对分子质量大小为 32 kDa, 由非结构化的 N 端结构域和结构化的 C 端球状结构域组成^[13]。N 端尾部由 2 个带电的团簇 (charged clusters, CC1 和 CC2) 组成, N 端中部具有 5 个含组氨酸的八肽重复区 (octarepeat region, OR), 在 OR 内部和外部都有多个铜离子结合位点, 能特异性地与 Cu²⁺结合; 中心区域有 1 个疏水区 (hydrophobic domain, HD), 在某些情况下 HD 可作为跨膜锚定点^[13]。C 端结构域在结构上呈现球状, 由 3 个 α 螺旋和 2 个短的反

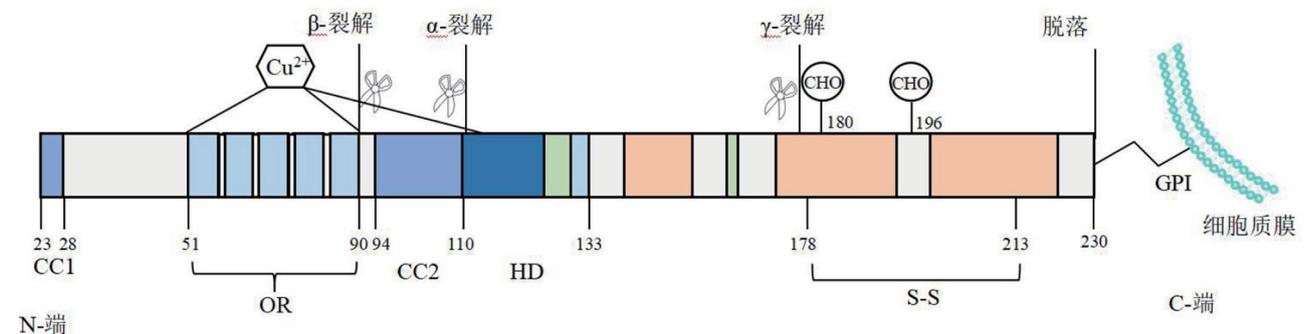
平行 β 链侧翼螺旋组成; C 端球状结构域上游还包含 Asn180 和 Asn196 上 2 个可变的 N-糖基化位点 (CHO), 以及 Cys178 和 Cys213 之间的一个 S-S 二硫键, C 端末尾由 GPI 锚定于细胞膜外层 (图 1、图 2)^[14]。

1.2 PrP^C的合成

PrP^C由 *PRNP* 基因编码, 人类 *PRNP* 基因位于 20 号染色体短臂上, 小鼠 *PRNP* 基因位于 2 号染色体短臂上, 经转录和翻译得到一个约 250 个氨基酸残基的蛋白前体多肽, 其中包含 N-末端和 C-末端信号肽^[15]。PrP^C蛋白前体在 N-末端信号肽的引导下转移到内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 腔中, 经过二硫键形成、N 端糖基化以及 C-末端信号肽被 GPI 锚取代一系列翻译后修饰, 随后 N-末端信号肽被剪切, 得到一个含有 209 个氨基酸残基的 PrP^C蛋白 (即前体蛋白中的 23~230 氨基酸)^[16]。成熟的 PrP^C通过高尔基体运输到质膜 (plasma membrane, PM), 并附着在 PM 的外小叶上, 然后在质膜和内吞小体之间进行再循环或降解^[17] (图 3)。

1.3 PrP^C的裂解

PrP^C还可以经历不同类型的裂解, 即发生在非结构化的 N 端结构域内的 α-裂解和 β-裂解, 以及发生在球状 C 端结构域内的 γ-裂解和 PrP 脱落 (图 1)。α-裂解发生在内质网 - 高尔基体蛋白分泌途径的后期, 由金属蛋白酶 9 (ADAM9)、ADAM10 和 ADAM17 在 PrP^C的中心疏水区域 110/111 或 111/112 肽键处剪切, 形成一个约 18 kDa 的 GPI 锚定 C1 片段 (脱糖基化后约 16 kDa), 并释放出一个约 11 kDa 的可溶性 N1 片段^[18]。β-裂解由钙蛋白酶、溶酶体蛋白酶等在八肽重复区 N 端的末端约 91 肽键处剪切, 形成一个结合在细胞膜上的约 20 kDa 的 GPI 锚定 C2 片段, 释放出一个约 9 kDa 的 N 端可



图注: α螺旋 β折叠

图1 PrP^C的二维结构示意图

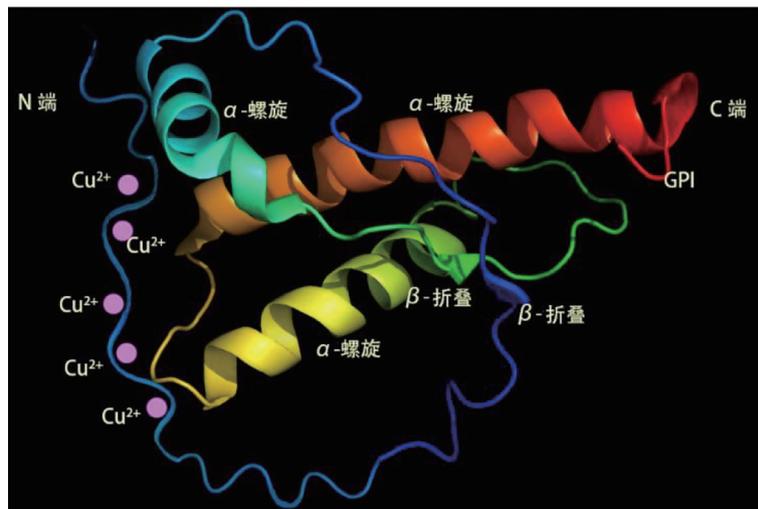


图2 PrP^C的三维结构示意图

溶性 N2 片段^[19]。γ-裂解发生在分泌途径的后期，其剪切位点仍有待确定，但释放的约 20 kDa 的 N3 片段和约 5 kDa 的 GPI 锚定 C3 片段的分子量大小表明，γ-裂解发生在 C-末端区域氨基酸残基 170 和 200 之间的区域^[20]。PrP 脱落发生在 PrP 的 GPI 锚定点附近（在鼠的 Gly227 和 Arg228 之间），由 ADAM10 剪切释放一个几乎全长的 PrP^C 到细胞外，在细胞表面留下少量的氨基酸残基^[21]。

2 PrP^C的作用

PrP^C 作为一种细胞膜表面糖蛋白，参与体内髓鞘形成、铜离子代谢以及抗氧化应激等过程，还与肿瘤、缺氧缺血性脑损伤等的发生发展相关^[22]。PrP^C 在其合成过程中可通过自身的铜结合位点与 Cu²⁺ 结合，将其还原为 Cu⁺，并从细胞外环境转运至细胞内，防止活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的形成，维持突触的完整性^[23]。在神经元中，PrP^C 存在于轴突末梢的突触前和突触后室，参与顺行和逆行轴突转运，还影响记忆形成、生理节律和识别功能^[9]。此外，轴突型 PrP^C 可通过与神经鞘细胞上具有 N 端柔性尾的黏附 G 蛋白偶联受体结合，促进髓鞘维持^[24]。而在生理条件下，PrP^C 缺失会导致神经突起再生减少，其过表达会促进星形胶质细胞成熟^[22]。在胶质母细胞瘤细胞中，PrP^C 基因沉默导致肿瘤干细胞相关分子表达下调，而细胞分化标志物表达上调，表明 PrP^C 在维持肿瘤干细胞的未分化状态中发挥作用，并影响其自我更新、增殖和迁移^[25]。在围产期缺氧缺血性脑损伤中，PrP^C 蛋白表达明显升高，减轻由缺血缺氧造成的脑组织损伤，

发挥神经保护作用^[26]。由于脑缺血会引起兴奋性毒性、氧化应激和神经细胞凋亡等病理事件，而 PrP^C 因其特殊的生理结构具有抗氧化应激等作用，因此，研究 PrP^C 在脑缺血中的作用具有重要意义。

3 PrP^C与脑缺血

在脑缺血的成人和永久性大脑中动脉闭塞 (permanent middle cerebral artery occlusion, p-MCAO) 模型小鼠的脑组织中，通过免疫组织化学研究发现，缺血半暗带和缺血核心区的 PrP^C 蛋白表达均上调^[26-27]。在 PrP 基因全敲除短暂性 MCAO (temporary MCAO, t-MCAO) 模型小鼠中，缺血后梗死体积明显大于对照组小鼠，而在 PrP^C 过表达 MCAO/再灌注 (MCAO/reperfusion, MCAO/R) 模型大鼠中，再灌注 3 d 后，梗死体积明显减少，神经行为学评分显著改善，表明 PrP^C 缺失会加重脑缺血损伤，而 PrP^C 过表达具有神经保护作用^[28-29]。前述的实验结果表明，在缺血脑中 PrP^C 表达上调，且具有减轻脑缺血后损伤的作用，具体机制涉及减轻兴奋性毒性、减轻炎症反应、抗氧化应激、抑制凋亡和促进神经再生及血管生成几个方面 (图 4)，将在下文进行详细阐述。

3.1 减轻兴奋性毒性

谷氨酸是成年大脑中主要的兴奋性神经递质，脑缺血后神经元去极化，导致谷氨酸大量释放，触发离子型谷氨酸受体 (ionotropic glutamate receptor, iGluR) 过度激活^[30]。这些受体的过度激活导致 Ca²⁺ 大量内流，进而激活多个信号通路，引起兴奋性毒性和线粒体功能障碍，最终导致神经元死亡^[31]。

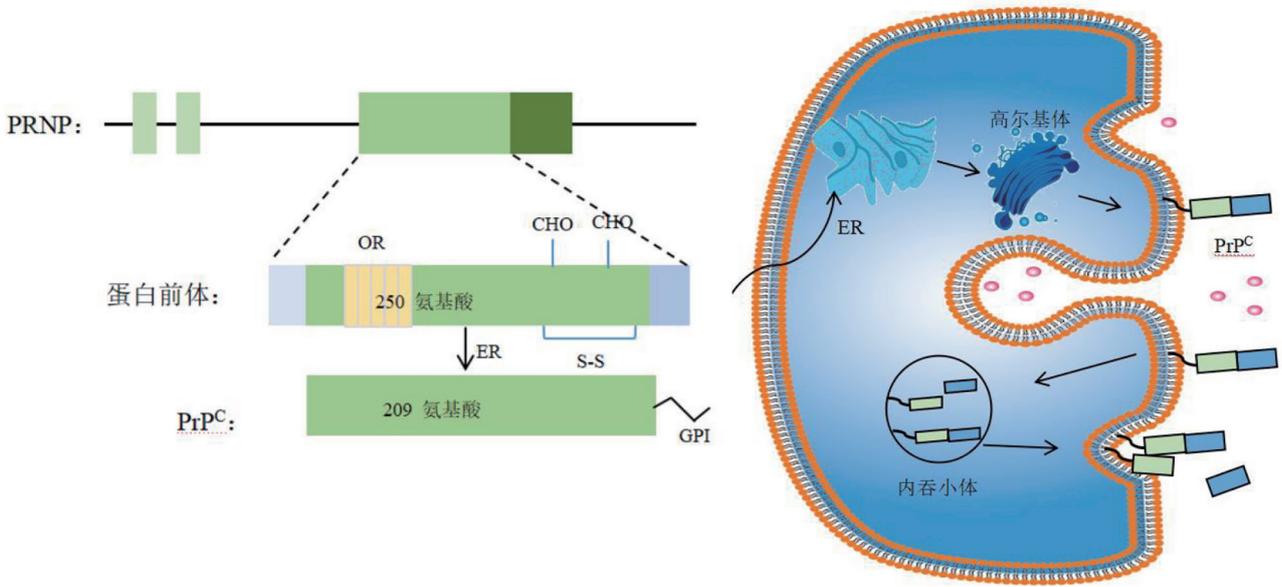
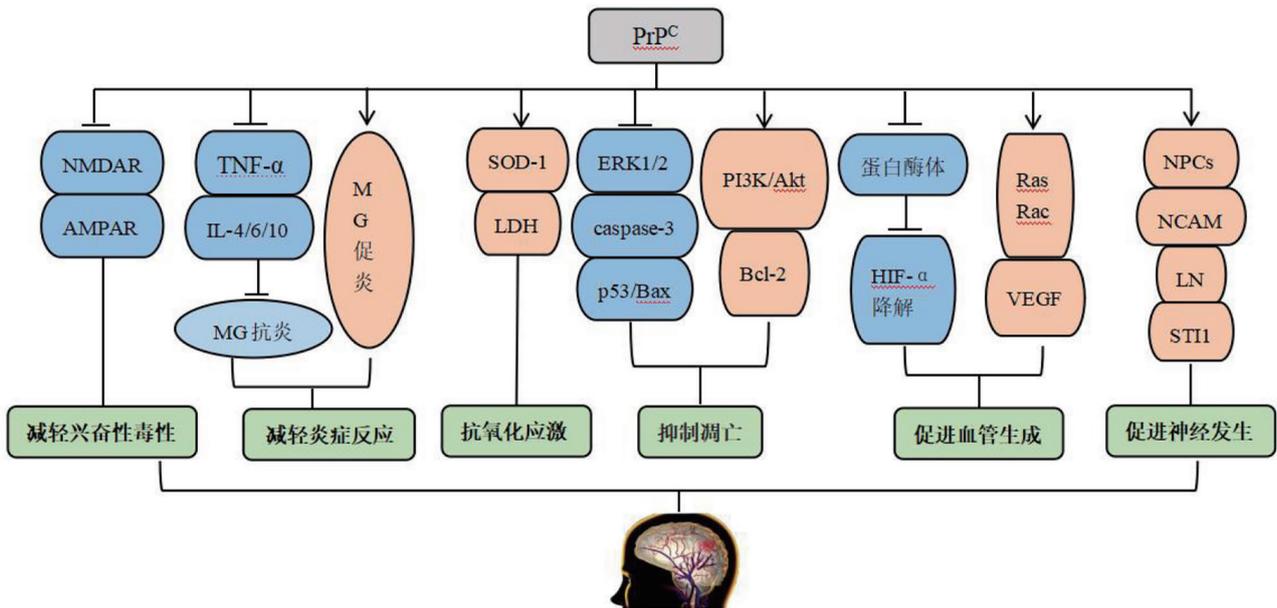


图3 PrP^C的合成途径



图注: —→ : 促进; —| : 抑制; : 脑缺血

图4 PrP^C在脑缺血后神经保护机制简图

N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)是iGluR的一个亚型,是一种多亚基配体的门控离子通道,由NR1、NR2(A-D)和NR3(A-B)亚基组成, NR1是构成离子通道的基本亚基, NR2A和NR2B是调节亚基,功能型NMDAR由NR1亚基与多个NR2亚基共同形成四聚体(或五聚体)结构^[32]。由于人胚胎肾(human embryonic kidney, HEK)细胞系与神经元细胞具有共同的特性以及高转染效率,因此在NMDA恒定表达及PrP^C

过表达的HEK细胞中,通过生物发光共振能量转移测定发现,PrP^C可以与NMDAR特异性地相互作用并形成NMDA-PrP^C复合物^[33]。糖尿病是一种长期慢性疾病,而且是脑缺血发生的一个重要风险因素^[34]。为了研究糖尿病患者脑缺血发病率增加的可能原因,Pham等^[35]在饮食诱导的脑胰岛素抵抗糖尿病模型大鼠中发现,与正常大鼠相比,模型大鼠PrP^C表达水平显著降低, NR1、NR2A和NR2D亚基表达水平没有改变,而具有兴奋性毒性诱导作用的

NR2B 亚基水平升高, 这意味着饮食诱导的脑胰岛素抵抗可能通过 PrP^C 的抑制和 NR2B 亚基表达的增加促进脑缺血易感性。另有研究发现, PrP^C 敲除小鼠海马神经元的 NMDAR 介导的微型兴奋性突触后电流增强, 瞬时 NMDA 暴露下细胞兴奋性毒性引起的死亡增加; 免疫共沉淀和免疫荧光实验发现, PrP^C 蛋白和 NR2D 亚基共定位^[36], 表明 PrP^C 的一个功能是通过结合 NR2D 亚基来抑制 NMDAR, 减轻兴奋性毒性。

α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑-丙酸受体 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor, AMPAR) 是由 GluR1~4 亚基组成的四聚体^[31]。谷氨酸的过度刺激触发兴奋性毒性, 而阻断 AMPAR 会使谷氨酸兴奋性毒性降低, 梗死灶减少, 神经功能改善^[37]。在 PrP^C 敲除原代皮层神经元中, 通过测量局部 Ca²⁺ 流量发现, PrP^C 敲除神经元在 AMPA 刺激下生成的 Ca²⁺ 峰与对照组相比增强了 80%, 谷氨酸兴奋性毒性增加, 神经元死亡减少^[38]。由于锌可能与 Ca²⁺ 一样可通过多种机制介导脑缺血后神经毒性, 因此锌-PrP^C-AMPA 轴也可能是脑缺血的重要机制^[39]。有研究发现, PrP^C 在体外可作为锌的传感器, 与 AMPAR 的 GluA1 和 GluA2 亚基相互结合, 在神经元锌稳态中发挥作用, 允许突触摄取锌和减轻神经毒性^[40]。

综上所述, PrP^C 是 NMDAR 的调节因子, 可与 NR2D 亚基结合, 而 NR2B 亚基不受其调控, 因此除了研究 PrP^C 外, 还应研究如何在病理状态下通过抑制 NR2B 亚基来减轻兴奋性毒性, 保护缺血脑组织。但 PrP^C 是否通过调控 AMPAR 来减轻缺血脑组织的谷氨酸兴奋性毒性尚不清楚, 还需要大量的研究证明。

3.2 减轻炎症反应

脑缺血发生后脑组织能量供应不足, 导致神经元细胞死亡, 激活脑内非特异性免疫反应, 促进 ROS、氮氧化物、炎性细胞因子、趋化因子、黏附因子等神经毒性物质的产生, 引起血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 的破坏和炎症反应的激活。持续的脑炎症反应是导致神经元功能障碍和丧失的主要致病过程^[41]。

小胶质细胞 (microglia, MG) 是大脑中的非特异性免疫细胞, 也是缺血后脑内炎症免疫的主体, 发挥免疫募集、调节、吞噬和血管修复等功能^[42]。当脑缺血发生时, MG 被迅速激活并释放各种促炎和抗炎细胞因子, 如 ROS、谷氨酸盐以及神经营养因

子, 对脑缺血/再灌注诱导的脑损伤具有神经毒性和神经保护的双重作用^[43]。活化的 MG 通常被分为促炎 (M1) 表型或抗炎 (M2) 表型, 然而, Wang 等^[44] 研究发现 MG 表型的改变、神经保护功能的丧失和神经毒性功能的产生是复杂的, 可能随着脑部疾病的发生发展和严重程度而不同, 简单的 M1/M2 分类法不能反映 MG 的多重活化状态。现有文章对 MG 的研究运用的是 M1/M2 分类法, 因此下文对使用了 M1/M2 分类法的文献中 MG 表型的描述仍以 M1/M2 为主。Shi 等^[45] 对 PRNP 基因沉默的 MG 给予干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ)、白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 刺激, 与对照组相比, PRNP 基因沉默的 MG 对 IFN- γ 刺激的反应性显著降低, IL-4 诱导的向 M2 表型极化的 MG 显著减少, 表明 PrP^C 具有调节 MG 从静止状态向活化表型转变以及向 M2 表型极化的作用^[45]。在 PrP^C 过表达的 MG OGD/R 模型中, 与 PrP^C 正常表达的模型相比, 再灌注期间 M1/M2 百分比和 IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 和 IFN- γ 的释放显著减小, MG 从促炎状态转变为抗炎状态, OGD/R 诱导的损伤减轻^[46]。

自噬是将细胞质成分运送到溶酶体进行降解的过程, 起到清除受损蛋白质和细胞器以及破坏病原体的作用。炎症与自噬高度相关, 炎症因子中的趋化因子、细胞因子和炎症相关转录因子可调节自噬反应, 而自噬又可通过 Nod 样受体 (NLRs) 来调节炎症反应^[47]。在 PRNP 基因全敲除 MCAO 模型小鼠中, 与对照组相比, NLRP3 炎性小体、IL-1 β 表达水平显著升高, PrP^C 的表达与 MCAO 中 NLRP3 炎性小体、IL-1 β 的表达呈负相关^[48]。在 PRNP 基因过表达小鼠大脑皮层 OGD/R 模型中, OGD/R 处理后自噬相关蛋白 (溶酶体相关膜蛋白 1) 表达水平升高, M1 与 M2 型比例均增多, 且以 M2 型增多为主, IL-6 和 IL-10 浓度均升高, 表明 PRNP 基因过表达通过增强和延长 OGD/R 诱导的自噬激活, 促进 MG 向 M2 型转化, 减轻 OGD/R 诱导的损伤^[10]。

上述研究表明 PrP^C 具有促进 MG 从促炎状态向抗炎状态转化的作用, 并且 PrP^C 也会抑制促炎因子。由于 MG 活化表型不应该仅仅根据形态特征和标记物进行分类, 并且之前对于 PrP^C 如何通过 MG 对炎症反应发挥作用的相关研究还存在一定的局限性, 这需要联合 MG 的活化表型进行研究。当炎症反应加剧时, PrP^C 对促炎因子表达是积极有益的, 过表达 PrP^C 可减轻炎症反应导致的脑缺血损伤。

但一味地下调这些促炎因素是否也同时限制了其对中枢神经系统的有益作用?由于炎症因子种类与相互作用的复杂性,如何发挥PrP^C对炎症反应方面的积极调控作用还需大量的研究。

3.3 抗氧化应激

氧化应激是脑缺血/再灌注损伤的重要病理过程,与酸中毒、能量缺乏和离子稳态变化有关,氧化应激会导致代偿性脑功能障碍,最终导致神经元死亡^[49]。氧化应激事件发生的主要原因是脑组织和血浆中氧化系统(ROS、自由基、有害物质等)和抗氧化系统(酶抗氧化系统、非酶抗氧化系统)的失衡^[50]。

由于PrP^C结合了一种具有氧化还原活性金属Cu²⁺,因此很可能作为ROS清除剂或一般的抗氧化蛋白参与氧化还原过程^[51]。在PrP^C敲除和PrP^C过表达小鼠MCAO/R模型中,通过硫代巴比妥酸活性物质分析测定氧化应激水平,结果显示,PrP^C敲除小鼠缺血脑组织中氧化应激水平和梗死体积增加,而PrP^C过表达小鼠氧化应激水平和梗死体积明显减小^[11]。在小鼠原代神经元细胞中,用超氧化钾诱导氧化应激发生,氧化应激损伤会进一步导致细胞骨架破裂并损害神经网络信号传递,Foliaki等^[52]发现PrP^C可在短期内下调神经元网络信号传递,减轻氧化应激,保护神经细胞,而PrP^C敲除神经元网络信号传递中断、细胞活力显著下降,细胞死亡数量明显增多。

超氧化物歧化酶-1(superoxide dismutase-1, SOD-1)是一种在哺乳动物体内普遍存在的抗氧化酶,它可将超氧自由基催化转化为过氧化氢(H₂O₂),在p-MCAO模型中可降低氧化应激相关蛋白的表达,改善缺血导致的BBB损伤和皮质栓塞形成^[53]。在PRNP基因敲除小鼠大脑皮层细胞中,氧化应激诱导处理24 h后,缺乏PrP^C的神经细胞SOD-1活性降低,氧化应激标记物水平增加,细胞死亡增加,表明PrP^C可通过影响SOD-1的活性来降低氧化应激损伤,减少皮层细胞死亡^[54]。

乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)是一种重要的抗氧化酶,有LDH-A、LDH-B、LDH-C三种亚基,参与乳酸的代谢过程,在氧化应激反应中起着重要作用^[55]。Ramljak等^[56]建立PrP^C过表达OGD/R模型,通过免疫共沉淀实验发现,在缺氧条件下PrP^C与LDH直接相互作用,且免疫细胞化学染色显示PrP^C与LDH在整个细胞中都共定位;在PrP^C敲除t-MCAO模型小鼠中,与对照组相比,

PrP^C敲除小鼠LDH-A和LDH-B明显偏低,梗死体积增加,脑缺血损伤加重,这进一步证实了PrP^C在脑缺血中的抗氧化应激作用。

综上所述,PrP^C的结构特性使其可以参与抗氧化过程,主要通过一般的抗氧化酶来减轻氧化应激,发挥神经保护作用。

3.4 抑制凋亡

细胞凋亡(apoptosis)是一种能量依赖的、程序性的细胞死亡模式,在脑缺血的几个小时内,细胞凋亡被激活,导致缺血脑组织神经元大量死亡^[57]。脑缺血主要触发两种凋亡途径:外源性死亡受体途径和内源性线粒体凋亡途径^[58]。

由线粒体介导的内源性途径主要由DNA损伤或氧化应激等内部刺激激活,进而导致B淋巴细胞瘤2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)家族成员Bax高表达,细胞色素C释放,激活Caspase-3,最终导致细胞死亡^[59]。脑缺血损伤发生时,具有抗凋亡活性的Bcl-2蛋白表达降低,而促凋亡蛋白p53、Bax表达增加^[60]。在PrP^C过表达细胞中,Bcl-2蛋白表达上调,而p53和Bax表达下调,细胞凋亡明显减少,表明PrP^C通过调控Bcl-2家族蛋白发挥抗凋亡作用^[61]。

细胞凋亡还受多个信号通路的调节。细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated protein kinase, ERK)参与脑缺血后细胞凋亡的调控,包括ERK1和ERK2两种亚型^[62]。在OGD/R模型中,ERK1/2被激活,活化的ERK1/2磷酸化热休克转录因子-1,磷酸化的热休克转录因子-1反过来与PrP^C启动子区的热休克元件相互作用,上调PrP^C的表达,而PrP^C表达水平的上调对ERK1/2有负反馈作用^[28]。在PRNP基因敲除和过表达MCAO/R模型小鼠中,PRNP基因敲除小鼠的ERK1/2、信号转导及转录激活蛋白(STAT)-1和c-Jun氨基末端激酶(JNK)-1/2的磷酸化水平以及Caspase-3的表达水平显著升高,而PRNP基因过表达小鼠的这些因子表达水平显著降低,梗死体积减小,表明PrP^C可通过控制有害的胞质信号通路的激活来维持细胞完整性,发挥神经保护作用^[12]。

磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B(phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路是一种经典的抗凋亡信号通路,对超氧化物、H₂O₂的氧化还原信号敏感,并且能被Cu²⁺激活^[63]。在PrP^C敲除MCAO模型小鼠中,Akt磷酸化减少,PI3K活性降低,抗凋亡的PI3K/Akt通路信号减弱,Caspase-3

活化增强, 脑缺血后神经元损伤加重, 梗死体积增加^[29], 而 PrP^C 过表达小鼠缺血后 Akt 磷酸化水平并未改变^[64]。另有研究表明, PrP^C 过表达可通过增强 PI3K 的活性提升细胞存活率, 而缺乏 Cu²⁺ 结合位点的 PrP^C 则不能增强 PI3K 的活性^[65]。综上可知, PrP^C 对 PI3K/Akt 通路信号的调节主要依赖于其结构中八肽重复区的 Cu²⁺ 结合位点对 PI3K 的激活作用。

因此, PrP^C 过表达在脑缺血损伤中可通过抑制 Bcl-2 家族蛋白以及激活 ERK1/2、PI3K/Akt 信号通路发挥抗凋亡作用, 具有神经保护作用。

3.5 促进血管生成和神经发生

血管生成是一种由已有血管形成新血管的生理过程, 神经发生是内源性神经干细胞产生新功能神经元的过程, 包括增殖、迁移和分化为成熟神经元^[66]。

脑缺血可以刺激血管生成, 新生血管通过血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和层粘连蛋白 (laminin, LN) 调节轴突生长和神经发生^[67]。在大脑中, VEGF 是血管生成、神经保护和神经发生的重要调节因子, 具有促进内皮细胞的增殖、存活、生长和迁移的作用^[68]。有研究发现, 急性脑缺血患者和大鼠 p-MCAO 模型中, 梗死周围神经元、胶质细胞和血管内皮细胞中 PrP^C 的表达均上调^[69]。血管内皮细胞的细胞膜穴样内陷参与了 VEGF 信号传递, 从而参与与细胞存活、分化和血管生成相关的信号转导事件^[70], PrP^C 已被确定为细胞膜穴样内陷的组成部分, 在调节血管生成中具有中心作用^[71]。LN 是由三个二硫键连接的多肽链组装成的大分子糖蛋白, 在细胞黏附、迁移、分化和信号转导中具有关键作用, 还可促进神经突起形成^[72]。有研究发现, PrP^C 是 LN 链上的一种肽的主要细胞受体, 在原代培养的小鼠海马神经元中, LN 和 PrP^C 之间的特异性相互作用诱导了神经发生和神经突起形成, 而 PrP^C 敲除的 PC12 细胞中, LN 依赖性细胞分化被抑制, 神经突起回缩^[73]。另有研究发现, PrP^C 可通过磷酸化神经细胞黏附分子 (neural cell adhesion molecule, NCAM) 的 GluN2A 结构域来促进 NCAM 介导的神经突起的生长^[74]。

神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 广泛存在于胚胎及成人神经系统内, 可自我更新并演化为神经前体细胞 (neural progenitor cells, NPCs), 脑缺血发生后, NSCs 迁移至梗死周围区, 并在脑缺血数周后分化为成熟神经元, 有助于缺血后神经元的功

能恢复^[75]。有研究发现, PrP^C 过表达小鼠的脑室下区或齿状回中的细胞增殖量明显增多, 而 PrP^C 敲除小鼠明显减少^[76]。此外, 在 PrP^C 敲除和过表达 MCAO 模型小鼠中, PrP^C 敲除小鼠缺血后向梗死周围区迁移的 NPCs 显著减少, 而 PrP^C 过表达小鼠缺血后向梗死周围区迁移的 NPCs 显著增多, 表明 PrP^C 能介导 NPCs 在缺血脑组织中的迁移; 该研究还发现, PrP^C 在缺血脑组织中还可通过抑制蛋白酶体活性来抑制 HIF-1 α 降解, 发挥促进神经发生和血管生成的作用, 减轻脑缺血损伤^[11]。

应激诱导型磷蛋白 1 (stress-inducible phosphoprotein 1, STI1) 是一种特殊的 PrP^C 细胞外配体, 在人和啮齿类动物的缺血大脑中作为一种神经保护因子, 在脑缺血发生后表达水平升高^[77]。有研究发现, PrP^C 与其配体 STI1 蛋白在海马神经元表面的相互作用激活了 cAMP 依赖性蛋白激酶 A (cyclic-AMP dependent protein kinase, PKA) 相关信号通路, 并通过 PKA 转导存活或保护信号, 通过神经元细胞中的 MAPK 信号通路转导神经发生/分化信号, 诱导神经发生/分化^[78]。叉头盒蛋白 C1 (forkhead box protein C1, FOXC1) 是 FOXC 转录因子家族的成员, 调节一系列生理过程, 包括代谢、发育、分化、增殖、凋亡和细胞迁移, 是许多疾病发生的基础^[79]。为了评估 FOXC1 对来自蛛网膜-软脑膜组织的干细胞 (arachnoid-pia stem cells, APSCs) 介导的神经突起再生的影响, Lee 等^[80] 建立 FOXC1 敲除的小鼠原代皮层细胞及 APSCs 共培养 OGD 模型, 与对照组相比, FOXC1 敲除后 APSCs 细胞增殖显著降低, 自我更新明显减少, 且皮层细胞神经突起再生显著减少; 此外, 通过建立三血管阻断/再灌注模型发现, 植入 APSCs 的模型大鼠脑血管生成增多, 局部脑血流量增加, 神经行为学评分改善, 且双重免疫染色证实了在 APSCs 中 FOXC1 与 STI1 和 PrP^C 共表达, 表明 FOXC1 可通过 STI1-PrP^C 信号通路调节 APSCs 的自我更新功能, APSCs 可修复脑缺血诱导的缺血性脑损伤^[80]。因此, PrP^C 不仅能介导 NPCs 在缺血脑组织中的迁移, 还可通过与其他蛋白发生蛋白-配体相互作用诱导神经干细胞发挥作用。

由上述研究可知, 脑缺血损伤发生后, PrP^C 可通过与多种细胞和跨膜信号蛋白相互作用, 参与血管生成和神经发生过程。血管生成和神经发生通常被认为是两个独立的事件, 目前对于神经发生和血管生成在脑缺血后神经系统修复中关键作用的研究较为薄弱。因此, 应进一步研究 PrP^C 在脑缺血病

理免疫微环境下协调血管生成和神经发生之间的相互作用的新策略,以促进缺血性脑损伤的修复。

4 PrP^C片段在脑缺血中的作用

PrP^C可以经历四种剪切过程,剪切的位点、片段的长度和 GPI 锚定使不同的片段具有不同性质,可通过各种机制发挥作用。虽然学界愈加重视 PrP^C裂解片段在不同组织中的内在生物学功能,但系统的研究却很少。

细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 是一种从细胞膜上脱落或由细胞分泌的包裹着遗传物质 (如 miRNAs、LncRNAs 等) 的脂质双层囊泡状小体,可通过 BBB 作用于中枢神经系统,改善神经行为学评分,减轻脑缺血损伤,发挥神经保护作用^[81]。在稳态条件下,小胶质细胞是小 EVs (small EVs, sEV) 的主要来源,而缺血后星形胶质细胞释放 sEV 增加^[82]。在 PrP^C 敲除 t-MCAO 模型小鼠中,脑源性 sEV 中 C1 片段水平升高;然而,与正常 sEV 相比,缺乏 PrP^C 的 sEV 被释放后会被迅速内吞并输送到溶酶体失去活性,而正常 sEV 会被神经元缓慢吸收并发挥神经保护作用^[83]。另外, Sunyach 等^[84]建立了稳定过表达 C1 片段的 HEK-293 细胞系,发现 C1 片段过表达可通过增强 p53 的活性来增强星形孢菌素诱导的 Caspase-3 的激活,参与调节细胞凋亡。因此, C1 片段在过表达时仅增强对凋亡诱导物的易感性,但其在正常条件下没有神经毒性,且具有一定的神经保护作用。

Collins 等^[85]在 8 周龄 PrP^C 敲除和过表达小鼠中提取 NSCs,发现 PrP^C 的裂解片段 N1 和 N2 通过氧化还原调节线粒体分裂和 SOD-2 的表达来调节成体 NSCs 的静止状态,并抑制 NSCs 细胞生长、迁移和神经突生长。Haigh 等^[86]用血清剥夺的方法建立氧化应激细胞模型,研究 N2 介导细胞抗氧化保护的机制,发现氧化应激诱导 PrP^C 蛋白发生 β -裂解, β -裂解后的 N-末端产物 N2 可降低发生氧化应激的细胞内的 ROS,发挥保护作用,且 N2 片段的保护作用受铜结合八肽重复区的调节。另有研究发现, PrP^C 蛋白 N 端 α -裂解产物 N1 片段还具有细胞间信号传递和神经保护作用^[87]。

另有研究发现,重组 PrP (recPrP) 可以在间充质干细胞中诱导 ERK1/2 和 Akt 信号,支持神经元分化,促进神经突生长^[88],也可作为一种趋化刺激,支持神经突起的生长和引导神经元轴突生长锥前端伸长^[89]。

越来越多的证据将 PrP^C 片段与细胞间信号转导联系起来,但仍需要进一步研究 PrP^C 裂解片段在脑缺血中的作用。保护性 PrP^C 衍生物的靶向设计和治疗给药,可能是脑缺血病理条件下新的治疗选择。

5 结语与展望

在脑缺血发生后, PrP^C 表达明显升高,将 PrP^C 过表达后梗死体积明显减少,神经行为学评分显著改善。PrP^C 并不仅仅通过单一机制减轻缺血性脑损伤,而是通过多种机制发挥作用,包括减轻兴奋性毒性、调节炎症反应、抗氧化应激、抑制凋亡以及促进血管生成和神经发生。PrP^C 片段也通过细胞间信号传递、细胞凋亡、神经发生等方面在脑缺血中发挥重要作用。

在临床研究中,血浆 PrP^C 是一个有前途的脑内出血、动脉瘤性蛛网膜下腔出血、创伤性脑损伤和脑震荡预后生物标志物^[90-92]。侯书勤等^[93]通过研究发病 72 h 内的急性前循环脑缺血患者,根据神经功能缺损程度评分将其分为轻度缺血组和中重度缺血组,发现脑缺血患者外周血血浆中的 PrP^C 含量升高,并且神经损伤程度越重时, PrP^C 的含量相对更高。因此,假设急性脑缺血发生后, PrP^C 通过受损的 BBB 从脑组织中释放出来,循环中的 PrP^C 可能是急性脑缺血的潜在生物标志物,而该方面的临床研究还需进一步深入。

然而,由于脑缺血发生机制的复杂性、PrP^C 的易感性以及 PrP^C 发挥神经保护作用的多元性,当前对 PrP^C 作用与脑缺血的具体机制的研究较为薄弱,难以构建一个全面的机制网络闭环,还需进行深入研究,以解释 PrP^C 是如何在脑缺血发生后的复杂疾病背景下发挥神经保护作用。目前,对于 PrP^C 在脑缺血中的机制研究主要以鼠源的 PrP^C 为主,而人与鼠来源的 PrP^C 在结构上略有不同,因此,需要考虑以鼠为来源是否合适,或建立人源化等新的小鼠模型或许更为妥当。

临床上对于脑缺血患者与 PrP^C 的研究仅停留在急性脑缺血研究上,样本群体来源单一,样本量小。此外,对于 PrP^C 能否作为脑缺血治疗靶点以及如何作为脑缺血治疗靶点还没有确切定论,还未筛选出特异的靶向 PrP^C 的药物,仍需大量的临床前研究以及大量的试验和计算,设计出具有高效性和选择性的药物分子。目前针对 PrP^C 与脑缺血的研究工作仍处于基础研究阶段,但有关 PrP^C 的临

床前研究工作作为临床治疗脑缺血损伤提供了新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Zhao Y, Zhang X, Chen X, et al. Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: from mechanisms to treatment (Review). *Int J Mol Med*, 2022, 49: 15
- [2] Ahad MA, Kumaran KR, Ning T, et al. Insights into the neuropathology of cerebral ischemia and its mechanisms. *Rev Neurosci*, 2020, 31: 521-38
- [3] Jiang S, Li T, Ji T, et al. AMPK: potential therapeutic target for ischemic stroke. *Theranostics*, 2018, 8: 4535-51
- [4] Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2019, 139: e56-528
- [5] Zhao K, Wang P, Tang X, et al. The mechanisms of minocycline in alleviating ischemic stroke damage and cerebral ischemia-reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*, 2023, 955: 175903
- [6] Cazaubon S, Viegas P, Couraud PO. [Functions of prion protein PrP^c]. *Med Sci (Paris)*, 2007, 23: 741-5
- [7] Ritchie DL, Barria MA. Prion diseases: a unique transmissible agent or a model for neurodegenerative diseases? *Biomolecules*, 2021, 11: 207
- [8] Manni G, Lewis V, Senesi M, et al. The cellular prion protein beyond prion diseases. *Swiss Med Wkly*, 2020, 150: w20222
- [9] Kovac V, Curin SV. Prion protein: the molecule of many forms and faces. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 1232
- [10] 邵洁. 糖氧剥夺/复糖复氧损伤中, 正常细胞型朊蛋白 PrP^c通过调控小胶质细胞自噬影响其表型转化的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2021
- [11] Doepfner TR, Kaltwasser B, Schlechter J, et al. Cellular prion protein promotes post-ischemic neuronal survival, angiogenesis and enhances neural progenitor cell homing via proteasome inhibition. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e2024
- [12] Spudich A, Frigg R, Kilic E, et al. Aggravation of ischemic brain injury by prion protein deficiency: role of ERK-1/-2 and STAT-1. *Neurobiol Dis*, 2005, 20: 442-9
- [13] Gielnik M, Szymanska A, Dong X, et al. Prion protein octarepeat domain forms transient β -sheet structures upon residue-specific binding to Cu(II) and Zn(II) ions. *Biochemistry*, 2023, 62: 1689-705
- [14] McDonald AJ, Leon DR, Markham KA, et al. Altered domain structure of the prion protein caused by Cu²⁺ binding and functionally relevant mutations: analysis by cross-linking, MS/MS, and NMR. *Structure*, 2019, 27: 907-22.e5
- [15] Puig B, Altmeyen HC, Linsenmeier L, et al. GPI-anchor signal sequence influences PrP^c sorting, shedding and signalling, and impacts on different pathomechanistic aspects of prion disease in mice. *PLoS Pathog*, 2019, 15: e1007520
- [16] Gill AC, Castle AR. The cellular and pathologic prion protein. *Handb Clin Neurol*, 2018, 153: 21-44
- [17] Salzano G, Giachin G, Legname G. Structural consequences of copper binding to the prion protein. *Cells*, 2019, 8: 770
- [18] Dexter E, Kong Q. Neuroprotective effect and potential of cellular prion protein and its cleavage products for treatment of neurodegenerative disorders part I. A literature review. *Expert Rev Neurother*, 2021, 21: 969-82
- [19] Sanchez-Lopez C, Quintanar L. β -cleavage of the human prion protein impacts Cu(II) coordination at its non-octarepeat region. *J Inorg Biochem*, 2022, 228: 111686
- [20] Lewis V, Johanssen VA, Crouch PJ, et al. Prion protein " γ -cleavage": characterizing a novel endoproteolytic processing event. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73: 667-83
- [21] Matamoros-Angles A, Mohammadi B, Song F, et al. Inducing prion protein shedding as a neuroprotective and regenerative approach in pathological conditions of the brain: from theory to facts. *Neural Regen Res*, 2023, 18: 1869-75
- [22] Grimaldi I, Leser FS, Janeiro JM, et al. The multiple functions of PrP^c in physiological, cancer, and neurodegenerative contexts. *J Mol Med (Berl)*, 2022, 100: 1405-25
- [23] Sarnataro D, Pepe A, Zurzolo C. Cell biology of prion protein. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2017, 150: 57-82
- [24] Kuffer A, Lakkaraju AK, Mogha A, et al. The prion protein is an agonistic ligand of the G protein-coupled receptor Adgrg6. *Nature*, 2016, 536: 464-8
- [25] Iglesia RP, Prado MB, Cruz L, et al. Engagement of cellular prion protein with the co-chaperone Hsp70/90 organizing protein regulates the proliferation of glioblastoma stem-like cells. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8: 76
- [26] McLennan NF, Brennan PM, McNeill A, et al. Prion protein accumulation and neuroprotection in hypoxic brain damage. *Am J Pathol*, 2004, 165: 227-35
- [27] Weise J, Crome O, Sandau R, et al. Upregulation of cellular prion protein (PrP^c) after focal cerebral ischemia and influence of lesion severity. *Neurosci Lett*, 2004, 372: 146-50
- [28] Shyu WC, Lin SZ, Chiang MF, et al. Overexpression of PrP^c by adenovirus-mediated gene targeting reduces ischemic injury in a stroke rat model. *J Neurosci*, 2005, 25: 8967-77
- [29] Weise J, Sandau R, Schwarting S, et al. Deletion of cellular prion protein results in reduced Akt activation, enhanced postischemic caspase-3 activation, and exacerbation of ischemic brain injury. *Stroke*, 2006, 37: 1296-300
- [30] Yuan Q, Yuan Y, Zheng Y, et al. Anti-cerebral ischemia reperfusion injury of polysaccharides: a review of the mechanisms. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111303
- [31] Fan G, Liu M, Liu J, et al. The initiator of neuroexcitotoxicity and ferroptosis in ischemic stroke: glutamate accumulation. *Front Mol Neurosci*, 2023, 16: 1113081
- [32] Dong B, Yue Y, Dong H, et al. N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction as a potential contributor to the progression and manifestation of many neurological

- disorders. *Front Mol Neurosci*, 2023, 16: 1174738
- [33] Rivas-Santisteban R, Raich I, Aguinaga D, et al. The expression of cellular prion protein, PrP^C, favors pTau propagation and blocks NMDAR signaling in primary cortical neurons. *Cells*, 2023, 12: 283
- [34] Lau LH, Lew J, Borschmann K, et al. Prevalence of diabetes and its effects on stroke outcomes: a meta-analysis and literature review. *J Diabetes Investig*, 2019, 10: 780-92
- [35] Pham N, Dhar A, Khalaj S, et al. Down regulation of brain cellular prion protein in an animal model of insulin resistance: possible implication in increased prevalence of stroke in pre-diabetics/diabetics. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 448: 151-6
- [36] Black SA, Stys PK, Zamponi GW, et al. Cellular prion protein and NMDA receptor modulation: protecting against excitotoxicity. *Front Cell Dev Biol*, 2014, 2: 45
- [37] Sharma H, Reeta KH, Sharma U, et al. AMPA receptor modulation through sequential treatment with perampanel and aniracetam mitigates post-stroke damage in experimental model of ischemic stroke. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2023, 396: 3529-45
- [38] De Mario A, Peggion C, Massimino ML, et al. The prion protein regulates glutamate-mediated Ca²⁺ entry and mitochondrial Ca²⁺ accumulation in neurons. *J Cell Sci*, 2017, 130: 2736-46
- [39] Zhao Y, Yan F, Yin J, et al. Synergistic interaction between zinc and reactive oxygen species amplifies ischemic brain injury in rats. *Stroke*, 2018, 49: 2200-10
- [40] Kawahara M, Kato-Negishi M, Tanaka KI. Neurometals in the pathogenesis of prion diseases. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 1267
- [41] Yang K, Zeng L, Ge A, et al. A systematic review of the research progress of non-coding RNA in neuroinflammation and immune regulation in cerebral infarction/ischemia-reperfusion injury. *Front Immunol*, 2022, 13: 930171
- [42] Zeng J, Bao T, Yang K, et al. The mechanism of microglia-mediated immune inflammation in ischemic stroke and the role of natural botanical components in regulating microglia: a review. *Front Immunol*, 2022, 13: 1047550
- [43] Spiteri AG, Wishart CL, Pamphlett R, et al. Microglia and monocytes in inflammatory CNS disease: integrating phenotype and function. *Acta Neuropathol*, 2022, 143: 179-224
- [44] Wang J, He W, Zhang J. A richer and more diverse future for microglia phenotypes. *Heliyon*, 2023, 9: e14713
- [45] Shi F, Yang L, Kouadir M, et al. Prion protein participates in the regulation of classical and alternative activation of BV2 microglia. *J Neurochem*, 2013, 124: 168-74
- [46] Shao J, Yin X, Lang Y, et al. Cellular prion protein attenuates OGD/R-induced damage by skewing microglia toward an anti-inflammatory state via enhanced and prolonged activation of autophagy. *Mol Neurobiol*, 2023, 60: 1297-316
- [47] Biasizzo M, Kopitar-Jerala N. Interplay between NLRP3 inflammasome and autophagy. *Front Immunol*, 2020, 11: 591803
- [48] 白荣蓉. PrP^c对脑缺血/再灌注损伤中NLRP3及其下游因子表达水平的影响[D]. 长春: 吉林大学, 2021
- [49] Su Z, Ye Y, Shen C, et al. Pathophysiology of ischemic stroke: noncoding RNA role in oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5815843
- [50] Tian Y, Su Y, Ye Q, et al. Silencing of TXNIP alleviated oxidative stress injury by regulating MAPK-Nrf2 axis in ischemic stroke. *Neurochem Res*, 2020, 45: 428-36
- [51] Zeng L, Zou W, Wang G. Cellular prion protein (PrP^C) and its role in stress responses. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8: 8042-50
- [52] Foliaki ST, Wood A, Williams K, et al. Temporary alteration of neuronal network communication is a protective response to redox imbalance that requires GPI-anchored prion protein. *Redox Biol*, 2023, 63: 102733
- [53] Li X, Guo D, Hu Y, et al. Evaluation of oxidative status in elderly patients with multiple cerebral infarctions and multiple chronic total coronary occlusions. *Dis Markers*, 2022, 2022: 2083990
- [54] Brown DR, Schulz-Schaeffer WJ, Schmidt B, et al. Prion protein-deficient cells show altered response to oxidative stress due to decreased SOD-1 activity. *Exp Neurol*, 1997, 146: 104-12
- [55] Lin Y, Wang Y, Li PF. Mutual regulation of lactate dehydrogenase and redox robustness. *Front Physiol*, 2022, 13: 1038421
- [56] Ramljak S, Schmitz M, Zafar S, et al. Cellular prion protein directly interacts with and enhances lactate dehydrogenase expression under hypoxic conditions. *Exp Neurol*, 2015, 271: 155-67
- [57] Lee HY, Song SY, Hwang J, et al. Very early environmental enrichment protects against apoptosis and improves functional recovery from hypoxic-ischemic brain injury. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 1019173
- [58] Kashyap D, Garg VK, Goel N. Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: role in cancer development and prognosis. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2021, 125: 73-120
- [59] Zhang Q, Jia M, Wang Y, et al. Cell death mechanisms in cerebral ischemia-reperfusion injury. *Neurochem Res*, 2022, 47: 3525-42
- [60] Lugovaya AV, Emanuel VS, Kalinina NM, et al. [Apoptosis and autophagy in the pathogenesis of acute ischemic stroke (review of literature)]. *Klin Lab Diagn*, 2020, 65: 428-34
- [61] Liang J, Pan YL, Ning XX, et al. Overexpression of PrP^C and its antiapoptosis function in gastric cancer. *Tumour Biol*, 2006, 27: 84-91
- [62] Gao ZK, Shen XY, Han Y, et al. Pre-ischemic exercise prevents inflammation and apoptosis by inhibiting MAPK pathway in ischemic stroke. *Transl Neurosci*, 2022, 13: 495-505
- [63] Wang MM, Zhang M, Feng YS, et al. Electroacupuncture inhibits neuronal autophagy and apoptosis via the PI3K/AKT pathway following ischemic stroke. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 134
- [64] Weise J, Doepfner TR, Muller T, et al. Overexpression of

- cellular prion protein alters postischemic Erk1/2 phosphorylation but not Akt phosphorylation and protects against focal cerebral ischemia. *Restor Neurol Neurosci*, 2008, 26: 57-64
- [65] Vassallo N, Herms J, Behrens C, et al. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase by cellular prion protein and its role in cell survival. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 332: 75-82
- [66] Xiong Y, Lin Z, Bu P, et al. A whole-course-repair system based on neurogenesis-angiogenesis crosstalk and macrophage reprogramming promotes diabetic wound healing. *Adv Mater*, 2023, 35: e2212300
- [67] Chu H, Dong J, Tang Y, et al. Connexin 43 promotes neurogenesis via regulating aquaporin-4 after cerebral ischemia. *Neurotox Res*, 2023, 41: 349-61
- [68] Geiseler SJ, Morland C. The janus face of VEGF in stroke. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 1362
- [69] Mitsios N, Saka M, Krupinski J, et al. Cellular prion protein is increased in the plasma and peri-infarcted brain tissue after acute stroke. *J Neurosci Res*, 2007, 85: 602-11
- [70] Puddu A, Sanguineti R, Maggi D. Caveolin-1 down-regulation reduces VEGF-A secretion induced by IGF-1 in ARPE-19 cells. *Life (Basel)*, 2021, 12: 44
- [71] Massimino ML, Griffoni C, Spisni E, et al. Involvement of caveolae and caveolae-like domains in signalling, cell survival and angiogenesis. *Cell Signal*, 2002, 14: 93-8
- [72] Hallmann R, Hannocks MJ, Song J, et al. The role of basement membrane laminins in vascular function. *Int J Biochem Cell Biol*, 2020, 127: 105823
- [73] Da LM, Pino J, Santos TG, et al. Sleep deprivation regulates availability of PrP^C and A β peptides which can impair interaction between PrP^C and laminin and neuronal plasticity. *J Neurochem*, 2020, 153: 377-89
- [74] Santuccione A, Sytnyk V, Leshchyns'Ka I, et al. Prion protein recruits its neuronal receptor NCAM to lipid rafts to activate p59fyn and to enhance neurite outgrowth. *J Cell Biol*, 2005, 169: 341-54
- [75] Yin D, Wang C, Qi Y, et al. Neural precursor cell delivery induces acute post-ischemic cerebroprotection, but fails to promote long-term stroke recovery in hyperlipidemic mice due to mechanisms that include pro-inflammatory responses associated with brain hemorrhages. *J Neuroinflammation*, 2023, 20: 210
- [76] Puig B, Yang D, Brenna S, et al. Show me your friends and I tell you who you are: the many facets of prion protein in stroke. *Cells*, 2020, 2: 45
- [77] Beraldo FH, Ostapchenko VG, Xu JZ, et al. Mechanisms of neuroprotection against ischemic insult by stress-inducible phosphoprotein-1/prion protein complex. *J Neurochem*, 2018, 145: 68-79
- [78] Landemberger MC, de Oliveira GP, Machado CF, et al. Loss of STII-mediated neuronal survival and differentiation in disease-associated mutations of prion protein. *J Neurochem*, 2018, 145: 409-16
- [79] He T, Shang J, Gao C, et al. A novel SIRT6 activator ameliorates neuroinflammation and ischemic brain injury via EZH2/FOXC1 axis. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11: 708-26
- [80] Lee YH, Lee HT, Chen CL, et al. Role of FOXC1 in regulating APSCs self-renewal via STI-1/PrP^C signaling. *Theranostics*, 2019, 9: 6443-65
- [81] Zhao J, Deng H, Xun C, et al. Therapeutic potential of stem cell extracellular vesicles for ischemic stroke in preclinical rodent models: a meta-analysis. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14: 62
- [82] Pan Y, Liu Y, Wei W, et al. Extracellular vesicles as delivery shippers for noncoding RNA-based modulation of angiogenesis: insights from ischemic stroke and cancer. *Small*, 2023, 19: e2205739
- [83] Brenna S, Altmeyden HC, Mohammadi B, et al. Characterization of brain-derived extracellular vesicles reveals changes in cellular origin after stroke and enrichment of the prion protein with a potential role in cellular uptake. *J Extracell Vesicles*, 2020, 9: 1809065
- [84] Sunyach C, Cisse MA, Da CC, et al. The C-terminal products of cellular prion protein processing, C1 and C2, exert distinct influence on p53-dependent staurosporine-induced caspase-3 activation. *J Biol Chem*, 2007, 282: 1956-63
- [85] Collins SJ, Tumpach C, Groveman BR, et al. Prion protein cleavage fragments regulate adult neural stem cell quiescence through redox modulation of mitochondrial fission and SOD2 expression. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75: 3231-49
- [86] Haigh CL, McGlade AR, Collins SJ. MEK1 transduces the prion protein N2 fragment antioxidant effects. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72: 1613-29
- [87] Haigh CL, Tumpach C, Drew SC, et al. The prion protein N1 and N2 cleavage fragments bind to phosphatidylserine and phosphatidic acid; relevance to stress-protection responses. *PLoS One*, 2015, 10: e0134680
- [88] Martellucci S, Santacrose C, Santilli F, et al. Cellular and molecular mechanisms mediated by recPrP^C involved in the neuronal differentiation process of mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 345
- [89] Amin L, Nguyen XT, Rolle IG, et al. Characterization of prion protein function by focal neurite stimulation. *J Cell Sci*, 2016, 129: 3878-91
- [90] Wu X, Liu M, Yan T, et al. Plasma PRP^C levels correlate with severity and prognosis of intracerebral hemorrhage. *Front Neurol*, 2022, 13: 913926
- [91] Yao H, Lv C, Luo F, et al. Plasma cellular prion protein concentrations correlate with severity and prognosis of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Clin Chim Acta*, 2021, 523: 114-9
- [92] Persad A, Pham N, Moien-Afshari F, et al. Plasma PrP^C and ADAM-10 as novel biomarkers for traumatic brain injury and concussion: a pilot study. *Brain Inj*, 2021, 35: 734-41
- [93] 侯书勤. 缺血性脑卒中周血细胞型朊蛋白与CD4⁺T细胞亚群相关性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2023