

α -Synuclein在脑缺血中的作用

赵航¹ 陈静¹ 杨丹丹^{1,2*}

(¹三峡大学医学院, 宜昌 443002; ²三峡大学第二人民医院, 宜昌 443002)

摘要 α -Syn(α -Synuclein, SNAC)最初是从阿尔茨海默病患者大脑的淀粉样斑块中分离出来的一种蛋白质, 在突触活动中扮演着重要的角色。 α -Syn主要在脑中表达, 研究发现其参与脑缺血损伤发生发展。在现有证据的基础上, 该文简要介绍 α -Syn的基本概念, 并介绍 α -Syn在脑缺血后的表达变化, 重点探讨 α -Syn在脑缺血中的作用。该文提供的信息可能有助于对 α -Syn进行深入探索, α -Syn可能是未来脑缺血诊治的有效靶点。

关键词 α -Synuclein; 脑缺血; 磷酸化

The Role of α -Synuclein in Cerebral Ischemia

ZHAO Hang¹, CHEN Jing¹, YANG Dandan^{1,2*}

(¹Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China;

²The Second Renmin Hospital, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract α -Syn (α -Synuclein, SNAC) is originally a protein isolated from the amyloid plaques in the brains of the patients, and it plays an important role in synaptic activity. α -Syn is mainly expressed in the brain. Studies have found that it is involved in the occurrence and development of cerebral ischemic injury. Based on the existing evidence, this article briefly introduces the basic concepts of α -Syn, and then briefly introduces the expression changes of α -Syn after cerebral ischemia, focusing on the role of α -Syn in cerebral ischemia. The information provided in this article may help in-depth exploration of α -Syn, which may be an effective target for the diagnosis and treatment of cerebral ischemia in the future.

Keywords α -Synuclein; cerebral ischemia; phosphorylation

中风是以脑部缺血或者出血为主要特征的一类疾病, 是全球第二大死亡原因, 中风的主要特点是“3H”, 即高死亡率(high mortality)、高发病率(high morbidity)和高伤残率(high disability), 给医疗系统、家庭和社会造成了巨大负担^[1]。最近一项研究发现, 大约87%的中风是脑缺血^[2]。近年来, 脑缺血的预防和治疗是基础和临床研究的重点。在之前的几十

年里, 针对脑缺血的治疗方法取得了很大的进步, 特别是通过使用重组组织型纤溶酶原激活剂(recombinant tissue-type plasminogen activator, r-tPA)进行溶栓再通的建立, 但是由于溶栓再通治疗窗窄, 导致其应用受限, 因此, 世界上许多国家都在积极寻找治疗脑缺血的神经保护性药物。

Synuclein是一个多基因家族, 在大脑的各个区

收稿日期: 2020-12-07 接受日期: 2021-01-07

湖北省卫健委联合基金重点项目(批准号: WJ2019H526)、天然产物研究与利用湖北省重点实验室开放基金(批准号: NPRD-2018001)和国家自然科学基金面上项目(批准号: 82073824)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13997688760, E-mail: 108689561@qq.com

Received: December 7, 2020 Accepted: January 7, 2021

This work was supported by the Hubei Provincial Health Commission Joint Fund Key Project (Grant No.WJ2019H526), the Hubei Provincial Key Laboratory of Natural Products Research and Utilization Open Fund (Grant No.NPRD-2018001), and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82073824)

*Corresponding author. Tel: +86-13997688760, E-mail: 108689561@qq.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5490>

域大量表达^[3], 该家族包括三种已知蛋白: α -、 β -和 γ -Synuclein^[4], 其中 α -Synuclein(α -Syn, SNAC)是从阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)患者的大脑淀粉样蛋白斑块中分离出来的一种含140个氨基酸的蛋白质, 是脊椎动物门中高度保守的酸性蛋白, 被称为斑块中非淀粉样组分的前体, 分子量约为19 kDa^[3]。

α -Syn参与脑缺血损伤发生发展。在现有的证据基础上, 本文将首先简要介绍 α -Syn的基本概念, 其次简要介绍 α -Syn在脑缺血后的表达变化, 重点探讨其在脑缺血发病中的可能作用。

1 α -Syn

1.1 α -Syn的结构与分布

α -Syn具有3个结构域: 两亲性(亲水亲脂) N-端区域(残基1~60)、中央疏水区域(残基61~95; 又称NAC; 非淀粉样成分)和酸性C-端区域(残基96~140)(图1)。N-端区域在Synuclein家族蛋白之间是高度保守的, 并且包含特征性串联重复区域(KTKEGV), 该区域以两亲性 α -螺旋结构与带负电荷的脂质(例如细胞膜上存在的磷脂)结合, 在调节 α -Syn与膜的相互作用中扮演着举足轻重的角色; 中心区域是一个疏水区域, 该区域保持蛋白质的淀粉样蛋白生成特性, 因为疏水区域的存在, 使得 α -Syn会在一些情况下易产生 β -片层样结构而发生聚集。羧基端区域富含带负电荷的酸性片段, 以谷氨酸、天冬氨酸和脯氨酸残基含量最高, 其具有几个翻译后修饰位点, 例如可以磷酸化129位的丝氨酸(Serine, Ser)位点, 羧基端参与调节核定位以及 α -Syn与金属、小分子和蛋白的相互

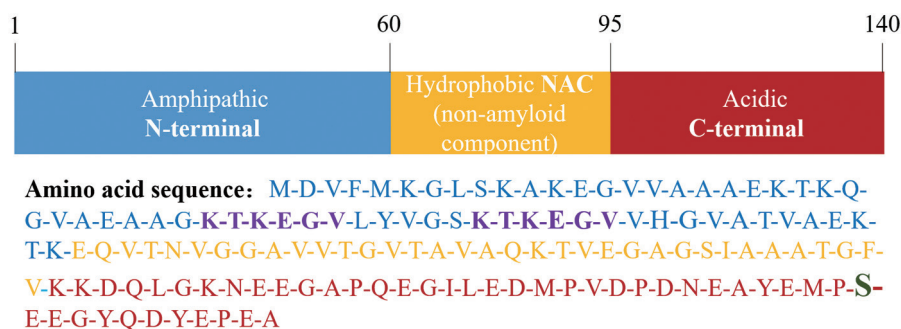
作用。这3个区域之间的相互作用, 可以防止 α -Syn发生自发寡聚^[5-6]。 α -Syn以前在血浆和红细胞以及脑脊液中被发现, 报道称血液中的 α -Syn主要来自于红细胞^[7]。后续研究发现, 它主要表达于大脑皮层、海马、黑质、丘脑和小脑^[8], 对大鼠和人脑的研究表明, 健康状态下 α -Syn主要存在于细胞胞质中^[4]。

1.2 作用

α -Syn是一种在突触活动中扮演多个角色的神经蛋白, 例如调节突触小泡运输和神经递质释放; 通过增强融合孔的开放、融合和扩张来参与突触囊泡胞吐^[9-10]。 α -Syn还在其多聚体膜结合状态下充当分子伴侣, 在突触前膜上与半胱氨酸串蛋白 α /DNAJC5一起协助一种被称为可溶性NSF附着蛋白受体(soluble NSF attachment protein receptor, SNARE)的突触融合成分的折叠; 该伴侣活性对于在衰老期间维持正常的SNARE复杂组装很重要^[11]。 α -Syn还可通过与多巴胺转运蛋白(dopamine transporter, DAT)相互作用从而调节其活性, 进而在多巴胺神经传递的调节中也发挥着作用^[12]。目前研究发现, α -Syn在帕金森病(Parkinson's disease, PD)、AD、脑缺血、药物成瘾等神经精神疾病中均扮演着重要角色^[13-15]。

2 α -Syn在脑缺血发生后表达水平的改变

在大鼠全脑缺血模型中, 缺血5 min后, 即可在海马区看到 α -Syn表达, 早期表现为海马CA1区 α -Syn的分布不均, 血管周围 α -Syn的积聚, 后期表现为 α -Syn阳性的异常管状和链状结构^[16]。在幼鼠缺氧缺血模型中, HU等^[17]研究显示, 幼鼠缺氧/缺血后, 大



α -Syn单体结构由两亲性N-端区域(氨基酸1~60; 蓝色)、中央疏水区域(NAC; 氨基酸61~95; 橙色)和酸性C-端区域(氨基酸96~140; 红色)构成; 其中N-端区域具有一个重复基序(KTKEGV, 紫色); C-端的Ser-129(绿色)磷酸化是引起病理生理过程的关键。

α -Syn monomeric protein consists of an amphipathic N-terminal (amino acids 1-60; blue), a hydrophobic non-amyloid component (NAC; amino acids 61-95; orange) and an acidic C-terminal (amino acids 96-140; red); the N-terminal region has a repetitive motif (KTKEGV, purple); the phosphorylation of Ser-129 (green) at the C-terminal is key for the pathophysiological process.

图1 α -Synuclein的一级结构(根据参考文献[6]修改)

Fig.1 The primary structure of α -Synuclein (modified from the reference [6])

脑皮层的 α -Syn蛋白水平增加。沙土鼠在缺血5 min再灌注后海马CA1区的 α -Syn免疫反应性和蛋白水平增加,老年鼠较成年鼠增加更多^[18]。Wistar大鼠缺血再灌注后,半暗带 α -Syn水平显著升高,而梗死中心或血浆中 α -Syn水平无明显变化^[7]。体外实验也发现 α -Syn表达增加,KIM等^[17]将PC12细胞经过氧糖剥夺(oxygen and glucose deprivation, OGD)处理6 h再经复糖复氧处理24 h后,发现 α -Syn mRNA和蛋白表达明显增加^[19]。缺血诱导的 α -Syn水平升高并不局限于体外或体内的啮齿动物卒中模型,人类中风患者 α -Syn蛋白表达也会明显增高^[19]。

2.1 磷酸化和寡聚

正常条件下, α -Syn主要表现为非磷酸化的形态,但由于病理状态导致的氧化应激和蛋白酶体功能障碍会促进 α -Syn发生磷酸化,或者中央区形成 β 折叠结构发生寡聚, α -Syn寡聚体会干扰突触上蛋白的轴突运输,导致突触功能障碍和最终的神经退化,这被认为是 α -Syn异常聚集导致毒性^[5]。 α -Syn的磷酸化主要发生在Ser残基上,尤其是Ser-129的磷酸化在突触核蛋白病变中具有选择性和广泛性,在体外,Ser-129的磷酸化促进了不溶性原纤维的形成^[20-21]。在脑缺血90 min后再灌注1天、7天、4个月, α -Syn表达均增加,再灌注4个月,用蛋白酶K处理后,发现 α -Syn聚集体的寡聚物,因此推测中风过量诱导了 α -Syn蛋白单体,并且 α -Syn在皮层缺血部位的聚集呈现时间依赖性。与假手术相比,短暂的大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)再灌注24 h后,大脑皮层Ser-129磷酸化的 α -Syn也会显著增加^[5]。针对于健康人、脑缺血患者以及PD患者的临床研究显示,缺血性脑卒中和PD患者红细胞中 α -Syn寡聚体水平均明显高于正常人,且脑缺血组 α -Syn寡聚体数量明显高于PD组,因此,脑缺血患者外周血中 α -Syn寡聚体含量显著升高可能有助于脑缺血的诊断,并且可将脑缺血与PD区分开来^[7]。

2.2 核转位

在健康人类脑切片中, α -Syn染色主要位于神经元胞质中,在PD中,氧化应激被认为促进了 α -Syn的核转位,脑卒中患者切片显示, α -Syn移位到了神经元细胞核中^[6]。高血压大鼠短暂性MCAO再灌注后, α -Syn有进行性核转位。正常情况下没有神经元细胞与 α -Syn共存,而在缺血后大脑皮质梗死区会有大量神经元细胞与 α -Syn共存,并且 α -Syn和磷酸化的 α -Syn(phorylate

α -synuclein, pSyn)的核水平均显著升高。这表明卒中后 α -Syn和pSyn都发生了核转位^[19]。核转位加重毒性的原因可能与 α -Syn易位到神经元核中,与组蛋白形成复合物,导致组蛋白乙酰化降低有关^[6]。

总而言之,脑缺血的发生会诱导 α -Syn表达上调,并促进 α -Syn磷酸化以及核转位的发生,这种表达变化会进一步加重缺血性脑损伤。

3 α -Syn在脑缺血中的作用

有研究表明,当短暂的缺血时,过表达 α -Syn的转基因小鼠表现出梗死加重, α -Syn基因敲除(α -Syn siRNA)小鼠在短暂性局部脑缺血后,死亡率降低,梗死面积变小,神经功能恢复较好,敲除 α -Syn还可减轻加重缺血病理生理过程的一些反应,包括细胞线粒体功能障碍、凋亡、炎症、自噬以及氧化应激^[22]。

3.1 氧化/亚硝化应激

氧化/亚硝化应激是缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)介导的脑损伤的主要病理生理事件,源于血浆和组织中的氧化剂(ROS、自由基和有毒物质等)和抗氧化剂(SOD、GSH-Px)之间的不平衡^[23-25]。

有证据表明,涉及 α -Syn的氧化/亚硝化应激在大脑中十分重要^[23-24]。PEP-1介导的Cu,Zn-超氧化物歧化酶(Cu,Zn-superoxide dismutase, SOD1)能显著减轻脑缺血引起的神经元死亡,沙土鼠脑I/R后,ROS诱导了 α -Syn的表达和聚集,但是用SOD1处理后, α -Syn表达和神经元死亡均会降低,说明氧化应激可能会促进缺血后 α -Syn的聚集^[18]。ROS的存在导致脂质过氧化,最终引起细胞损伤,脂质过氧化引起局灶性脑缺血的关键事件。神经细胞中的脂质过氧化可以被 α -Syn调节。 α -Syn以有毒的 β -折叠形式聚集,形成活性氧,最终导致神经细胞的脂质过氧化^[26],因此,可以推测 α -Syn寡聚体会通过加重氧化应激来加重脑缺血。KIM等^[19]发现, α -Syn基因敲除老鼠缺血后相比于对照组3-硝基酪氨酸(3-nitrotyrosine, 3-NT)显著降低,说明抑制 α -Syn的表达可能通过抑制氧化应激发挥保护作用。 α -Syn转基因小鼠对脑缺血更敏感,缺血后会产生寡聚体,[A30P] α -Syn转基因小鼠在脑I/R后,3-NT免疫反应显著增加,这进一步证实了 α -Syn寡聚体诱导的神经毒性与氧化/亚硝化应激有关^[22]。

3.2 自噬

一般在病理条件下会发生自噬,表现为自噬小体的合成不断增加,聚集在轴突,最终导致细胞的死

亡。自噬是一种主要的细胞调节机制,越来越多证据显示,受损的线粒体、聚集蛋白、过量的过氧化物酶体和入侵的病原体可以经过自噬有选择地进行降解,以维持细胞内的稳态^[27-29]。

脑缺血的发生通常会诱导自噬的产生, α -Syn基因敲除大鼠缺血后LC3-II/I比率显著降低,梗死体积减小,神经功能恢复更好,免疫荧光也显示LC3与神经元共定位明显减少,说明 α -Syn siRNA大鼠可通过阻止缺血后自噬减少梗死,实现更好的神经恢复^[19]。异丙酚作为一种常见的静脉麻醉剂,常用于急性脑缺血后血管内取栓术。异丙酚可以通过增加mTOR/S6K1通路活性和抑制急性脑缺血后过度自噬来减少 α -Syn聚集,起到神经保护作用^[30]。因此,抑制缺血后 α -Syn聚集可以抑制自噬的发生,反过来,抑制缺血后的自噬亦可以减少 α -Syn聚集。

3.3 凋亡

细胞凋亡是细胞程序性死亡的一种形式,神经细胞凋亡自然存在,在病变时会发生恶化,包括缺血和高血糖。凋亡通常由死亡配体/死亡受体相互作用启动,在氧输送减少期间,凋亡相关蛋白分子如caspase-3、B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bax(Bcl2-associated X)和凋亡诱导因子(apoptosis induce factor, AIF)等表达明显发生变化^[1,31-32]。

在脑缺氧缺血后,蛋白质折叠发生错误,并且在内质网的管腔中积累。这种积累致使应激反应发生,抑制蛋白质合成,并通过线粒体凋亡途径激活细胞程序性死亡。ISIN等^[22]发现,[A30P]转基因小鼠在局灶性脑缺血后病变更大,推测在缺血神经元中观察到的 α -Syn寡聚体和聚集体会对神经元的存活产生不利影响。 α -Syn在膜中形成具有环状、孔状结构的寡聚体,对钙具有高度的通透性,会导致caspase-3激活和神经元凋亡,KIM及其同事^[6]的实验证明, α -Syn siRNA大鼠脑缺血后,caspase-3表达下调,推测 α -Syn会通过促进细胞凋亡而加重脑损伤。PTEN诱导的激酶1(PTEN induced putative kinase 1, PINK1)是一种在脑内高表达的蛋白激酶,PINK1的缺失对脂多糖致敏的脑缺血诱导的细胞凋亡具有保护作用。在缺氧缺血模型中,ZHU等^[33]发现,PINK1基因缺失小鼠通过上调 α -Syn表达抑制细胞凋亡。

3.4 线粒体功能障碍

线粒体,也被称为“细胞能量中心”,是在真核生物的细胞质中发现的半自主、自我繁殖的细胞器。

线粒体功能障碍是线粒体的不足和调节失调,通常由有害或极端的条件引起,包括脑缺血和缺氧^[34]。

线粒体分裂步骤繁琐,首先将动力蛋白相关蛋白1(dynamin-related protein 1, Drp1)募集到线粒体表面,然后是以Drp1为主形成的蛋白质多聚体,在线粒体周围形成螺旋,收缩,最后切断线粒体内膜和外膜^[35]。 α -Syn的过表达会通过细胞外信号调节激酶增加Drp1的转运,并改变线粒体的形态^[36],KIM等^[19]证明, α -Syn基因敲除可抑制缺血大鼠Drp1和pDrp1的表达,提示 α -Syn可能通过诱导线粒体分裂来加重脑损伤。

3.5 炎症反应

炎症可能是由于感染、有毒代谢物或自身免疫而引发的,参与炎症损伤的主要是炎症因子(IL-1、IL-6、TNF- α 等)、趋化因子(MCP-1、MIP-1 α 等)、花生四烯酸(20:4n-6)、转录因子(NF- κ B、MAPK、AP-1等),它们在缺血后立即产生,导致不可逆转的损伤^[37-39]。

α -Syn可通过调节内质网定位的酰基CoA合成酶的活性来降低磷脂中的脑AA转换率。AA是前列腺素(prostaglandin, PG)的前体,在 α -Syn基因敲除的小鼠中,全脑缺血导致PG水平升高,表明 α -Syn在介导缺血后炎症反应中发挥作用^[40]。上述研究表明,缺血后 α -Syn的诱导可能通过减少缺血后脑PG的形成而起到神经保护作用^[40]。尽管PG在不同生物系统中都参与促炎和抗炎反应,但后来的研究对此提出了挑战^[41]。

3.6 miRNA

miRNA(microRNA)是一类非编码RNA,并涉及介导中风后继发性脑损伤和可塑性。miR-7(miR-7a-5p)是成年啮齿类动物短暂性脑缺血后在急性期(再灌注1至3天)持续下降的miRNA之一。无论年龄、性别,局灶性脑缺血均可降低miR-7的水平,增加其基础水平可减少缺血性脑损伤,在中央或周边给予miR-7模拟物在缺血前或缺血后均有效,并且miR-7模拟物没有外周或中枢毒性。研究发现,miR-7模拟物可通过抑制 α -Syn蛋白的表达而促进中风后的神经康复,抑制 α -Syn会消除miR-7介导的脑缺血后神经保护作用^[42]。

4 α -Syn在脑缺血相关疾病中的作用

4.1 高血压

高血压患者是脑缺血发生的高危人群,替米沙

坦(Telmisartan)是常见的血管紧张素II受体阻滞剂,可以降低血压,并且对急性脑损伤和慢性神经退化有保护作用。研究发现,抗中风自发性高血压大鼠(stroke-resistant spontaneously hypertensive rat, SHR-SR)脑I/R后,持续的高血压病会导致长期的氧化应激,从而加速了大脑皮层和海马中pSyn的积累,低剂量Telmisartan在不降低血压的情况下可以减少 α -Syn的表达,高剂量Telmisartan通过降低血压进一步改善这种变化^[8]。因此,在SHR-SR大鼠tMCAO后,Telmisartan通过减少氧化应激和pSyn的积累来发挥保护作用^[8]。

4.2 高血糖

高血糖是中风的主要危险因素之一。糖尿病通过激活脑缺血后凋亡相关蛋白来加重神经功能障碍和与中风有关的损害。研究发现,与正常血糖情况相比,糖尿病导致中风后的梗死面积更大,且脑缺血期间神经元损伤的程度更为严重,此外,糖尿病动物脑缺血后 α -Syn表达的下降明显。因此,推测糖尿病导致局部脑缺血中 α -Syn的过度下降与糖尿病引起的缺血性损伤加重有关,但是其具体机制仍需要进一步探究^[26]。

4.3 AD

TwX(Twendee X)是一种新型的多抗氧化剂混合物,其中包含辅酶Q10、抗坏血酸、L-谷氨酰胺和胱氨酸等成分,TwX通过减轻缺血性梗塞并减轻氧化应激和炎症反应来发挥神经保护作用。目前,对慢性脑灌注不足(chronic cerebral hypoperfusion, CCH)与AD的病理过程的关系知之甚少。LIU等^[26]发现,CCH增强了APP23(一种AD小鼠模型)小鼠tau的磷酸化和pSyn的水平,并且加剧了神经血管单元功能障碍和神经血管耦合,TwX治疗可以显著降低pSyn的积累,改善APP23+CCH模型小鼠的神经病理学异常。

5 结语与展望

综上所述,脑缺血的发生,会促进 α -Syn发生表达以及结构的变化,包括磷酸化、寡聚以及核转位等,其参与脑缺血损伤的调节机制,包括氧化应激、自噬、凋亡、线粒体功能障碍和炎症等, α -Syn可能是连接各种机制的一个关键蛋白。作为一个潜在的靶点, α -syn为缺血性中风的发现和治疗提供了潜在的可能性,为临床药物的开发提供了依据。针对

α -Syn研究的新方向应:(1) 评估 α -Syn在脑缺血中的作用;(2) 探究 α -Syn在脑缺血调节中的具体机制;(3) 寻找 α -Syn的激动剂和抑制剂;(4) 基于 α -Syn信号提供更可靠的临床证据。

参考文献 (References)

- [1] JIANG S, LI T, JI T, et al. AMPK: potential therapeutic target for ischemic stroke [J]. *Theranostics*, 2018, 8(16): 4535-51.
- [2] BENJAMIN E J, MUNTNER P, ALONSO A, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e526-8.
- [3] SIDHU A, WERSINGER C, VERNIER P. Does alpha-synuclein modulate dopaminergic synaptic content and tone at the synapse [J]? *FASEB J*, 2004, 18(6): 637-47.
- [4] LAVEDAN C. The synuclein family [J]. *Genome Res*, 1998, 8(9): 871-80.
- [5] LASHUEL H A, OVERK C R, OUESLATI A, et al. The many faces of alpha-synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14(1): 38-48.
- [6] KIM T, VEMUGANTI R. Mechanisms of Parkinson's disease-related proteins in mediating secondary brain damage after cerebral ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37(6): 1910-26.
- [7] ZHAO H Q, LI F F, WANG Z, et al. A comparative study of the amount of alpha-synuclein in ischemic stroke and Parkinson's disease [J]. *Neurol Sci*, 2016, 37(5): 749-54.
- [8] SATO K, YAMASHITA T, KURATA T, et al. Telmisartan reduces progressive oxidative stress and phosphorylated alpha-synuclein accumulation in stroke-resistant spontaneously hypertensive rats after transient middle cerebral artery occlusion [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, 23(6): 1554-63.
- [9] LOGAN T, BENDOR J, TOUPIN C, et al. alpha-Synuclein promotes dilation of the exocytotic fusion pore [J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(5): 681-9.
- [10] HUANG C C, CHIU T Y, LEE T Y, et al. Soluble alpha-synuclein facilitates priming and fusion by releasing Ca(2+) from the thapsigargin-sensitive Ca(2+) pool in PC12 cells [J]. *J Cell Sci*, 2018, doi: 10.1242/jcs.213017.
- [11] BURRER J, SHARMA M, TSETSENIS T, et al. Alpha-synuclein promotes SNARE-complex assembly *in vivo* and *in vitro* [J]. *Science*, 2010, 329(5999): 1663-7.
- [12] BUTLER B, SAHA K, RANA T, et al. Dopamine transporter activity is modulated by alpha-Synuclein [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(49): 29542-54.
- [13] DEHAY B, BOURDENX M, GORRY P, et al. Targeting alpha-synuclein for treatment of Parkinson's disease: mechanistic and therapeutic considerations [J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(8): 855-66.
- [14] EMAMZADEH F N. Role of apolipoproteins and alpha-Synuclein in Parkinson's disease [J]. *J Mol Neurosci*, 2017, 62(3/4): 344-55.
- [15] TWOHIG D, NIELSEN H M. alpha-synuclein in the pathophysiology of Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurodegener*, 2019, 14(1): 23.
- [16] ISHIMARU H, UEDA K, TAKAHASHI A, et al. Changes in presynaptic protein NACP/alpha-synuclein in an ischemic gerbil

- hippocampus [J]. Brain Res, 1998, 788(1/2): 311-4.
- [17] HU X, REA H C, WIKTOROWICZ J E, et al. Proteomic analysis of hypoxia/ischemia-induced alteration of cortical development and dopamine neurotransmission in neonatal rat [J]. J Proteome Res, 2006, 5(9): 2396-404.
- [18] YOON D K, HWANG I K, YOO K Y, et al. Comparison of alpha-synuclein immunoreactivity and protein levels in ischemic hippocampal CA1 region between adult and aged gerbils and correlation with Cu,Zn-superoxide dismutase [J]. Neurosci Res, 2006, 55(4): 434-41.
- [19] KIM T, MEHTA S L, KAIMAL B, et al. Poststroke induction of alpha-Synuclein mediates ischemic brain damage [J]. J Neurosci, 2016, 36(26): 7055-65.
- [20] FUJIWARA H, HASEGAWA M, DOHMAE N, et al. alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions [J]. Nat Cell Biol, 2002, 4(2): 160-4.
- [21] TAKAHASHI T, YAMASHITA H, NAGANO Y, et al. Identification and characterization of a novel Pyk2/related adhesion focal tyrosine kinase-associated protein that inhibits alpha-synuclein phosphorylation [J]. J Biol Chem, 2003, 278(43): 42225-33.
- [22] UNAL-CEVIK I, GURSOY-OZDEMIR Y, YEMISCI M, et al. Alpha-synuclein aggregation induced by brief ischemia negatively impacts neuronal survival *in vivo*: a study in [A30P]alpha-synuclein transgenic mouse [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(3): 913-23.
- [23] CHEN H, HE Y, CHEN S, et al. Therapeutic targets of oxidative/nitrosative stress and neuroinflammation in ischemic stroke: applications for natural product efficacy with omics and systemic biology [J]. Pharmacol Res, 2020, 158: 104877.
- [24] RANA A K, SINGH D. Targeting glycogen synthase kinase-3 for oxidative stress and neuroinflammation: opportunities, challenges and future directions for cerebral stroke management [J]. Neuropharmacology, 2018, 139: 124-36.
- [25] TIAN Y, SU Y, YE Q, et al. Silencing of TXNIP alleviated oxidative stress injury by regulating MAPK-Nrf2 axis in ischemic stroke [J]. Neurochem Res, 2020, 45(2): 428-36.
- [26] KANG J B, KIM D K, PARK D J, et al. Hyperglycemia aggravates decrease in alpha-synuclein expression in a middle cerebral artery occlusion model [J]. Lab Anim Res, 2018, 34(4): 195-202.
- [27] GRUBER H E, HOELSCHER G L, INGRAM J A, et al. Autophagy in the degenerating human intervertebral disc: *in vivo* molecular and morphological evidence, and induction of autophagy in cultured annulus cells exposed to proinflammatory cytokines-implications for Disc degeneration [J]. Spine, 2015, 40(11): 773-82.
- [28] HOU K, XU D, LI F, et al. The progress of neuronal autophagy in cerebral ischemia stroke: mechanisms, roles and research methods [J]. J Neurol Sci, 2019, 400: 72-82.
- [29] WANG P, SHAO B Z, DENG Z, et al. Autophagy in ischemic stroke [J]. Prog Neurobiol, 2018, 163-164: 98-117.
- [30] WANG Y, TIAN D, WEI C, et al. Propofol attenuates alpha-Synuclein aggregation and neuronal damage in a mouse model of ischemic stroke [J]. Neurosci Bull, 2020, 36(3): 289-98.
- [31] FU P, PENG C, DING J Y, et al. Acute administration of ethanol reduces apoptosis following ischemic stroke in rats [J]. Neurosci Res, 2013, 76(1/2): 93-7.
- [32] BIRKINSHAW R W, CZABOTAR P E. The BCL-2 family of proteins and mitochondrial outer membrane permeabilisation [J]. Semin Cell Dev Biol, 2017, 72: 152-62.
- [33] ZHU J, QU Y, LIN Z, et al. Loss of PINK1 inhibits apoptosis by upregulating alpha-synuclein in inflammation-sensitized hypoxic-ischemic injury in the immature brains [J]. Brain Res, 2016, 1653: 14-22.
- [34] LAI Y, LIN P, CHEN M, et al. Restoration of L-OPA1 alleviates acute ischemic stroke injury in rats via inhibiting neuronal apoptosis and preserving mitochondrial function [J]. Redox Biol, 2020, 34: 101503.
- [35] PRADEEP H, SHARMA B, RAJANIKANT G K. Drp1 in ischemic neuronal death: an unusual suspect [J]. Curr Med Chem, 2014, 21(19): 2183-9.
- [36] GUI Y X, WANG X Y, KANG W Y, et al. Extracellular signal-regulated kinase is involved in alpha-synuclein-induced mitochondrial dynamic disorders by regulating dynamin-like protein 1 [J]. Neurobiol Aging, 2012, 33(12): 2841-54.
- [37] WANG Q, TANG X N, YENARI M A. The inflammatory response in stroke [J]. J Neuroimmunol, 2007, 184(1/2): 53-68.
- [38] MEHTA S L, MANHAS N, RAGHUBIR R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics [J]. Brain Res Rev, 2007, 54(1): 34-66.
- [39] DEL Z G. Inflammation and the neurovascular unit in the setting of focal cerebral ischemia [J]. Neuroscience, 2009, 158(3): 972-82.
- [40] GOLOVKO M Y, MURPHY E J. Brain prostaglandin formation is increased by alpha-synuclein gene-ablation during global ischemia [J]. Neurosci Lett, 2008, 432(3): 243-7.
- [41] JOO M, SADIKOT R T. PGD synthase and PGD2 in immune response [J]. Mediators Inflamm, 2012, 2012: 503128.
- [42] KIM T, MEHTA S L, MORRIS-BLANCO K C, et al. The microRNA miR-7a-5p ameliorates ischemic brain damage by repressing alpha-synuclein [J]. Sci Signal, 2018, 11(560): aat4285.
- [43] LIU X, YAMASHITA T, SHANG J, et al. Twendee X ameliorates phosphorylated Tau, alpha-Synuclein and neurovascular dysfunction in Alzheimer's disease transgenic mice with chronic cerebral hypoperfusion [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2019, 28(10): 104310.