



李力燕,女,1963年7月生,汉族,医学博士,教授,博士生导师.昆明医科大学神经科学研究所副所长兼支部书记,1987年7月研究生毕业于昆明医科大学人体解剖与组织胚胎学专业.主要研究方向为神经发育、损伤修复及其神经疾病的临床基础研究;先后主持国家自然科学基金、教育部项目和云南省自然科学基金10项.目前在研国家自然科学基金1项,云南省科技厅-昆明医科大学联合专项重点项目1项;作为指导教师指导研究生、本科生创新基金7项;获云南省科学技术进步三等奖1项,云南省教育科学研究优秀成果二等奖1项,昆明医科大学优秀教材一、二等奖各1项;昆明医科大学教学成果奖3项;云南省及昆明医科大学中青年教(医)师课堂教学比赛一、二等奖4项,指导教师“伯乐奖”4项;发表教学科研论文81篇,其中SCI论文5篇;主编、参编教材、专著等14部;作为第一导师培养硕士研究生17人.

神经营养因子前体的研究

60年前,神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的发现开辟了肽类生长因子的新纪元,促成了神经生物学研究的新领域.而近30a中科学家们又相继发现了脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养素-3(neurotrophin-3, NT-3)、神经营养素-4/5(neurotrophin-4/5, NT-4/5)、神经营养素-6(neurotrophin-6, NT-6)、睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)和胶质细胞源性神营养因子(glia cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)等9种相似的因子.认为神经营养素家族(neurotrophins, NTs)作为一类生长因子在维持中枢神经系统神经细胞的存活、分化,促进其生长、发育,维持其功能方面具有不可替代的作用,而其前体(pro-neurotrophins, proNTs)不具有生理功能.但2004年Nykjaer A在Nature上发表的关于proNGF可通过与p75NTR和Sortilin受体组成三聚体诱导神经细胞凋亡的研究,使人们对NTs进行了重新的认识^[1],其前体proNTs的存在可能在生命中的作用丝毫不亚于NTs.

1 神经营养因子及其前体概述

NTs是一组在结构与功能上具有相似性的多肽因子,通过前体蛋白的切割而成为具有特定功能的成熟蛋白,为不同的神经细胞亚群提供营养支持,在中枢神经系统和周围神经系统的发育、分化及病理中起着至关重要的作用^[2].神经生长因子前体

(pro-nerve growth factor, proNGF)和脑源性神经营养因子前体(pro-brain derived neurotrophic factor, proBDNF)大量存在于细胞外,它们可通过与p75NTR和Sortilin受体组成三聚体诱导神经细胞的凋亡^[3,4].proNTs进入高尔基体内,经过钙依赖的丝氨酸蛋白酶furin和proconvertase裂解,释放出具有生物活性的羧基端,即成熟的蛋白质,其氨基端则与成熟蛋白的正确折叠及分泌有关.长期以来人们认为这一过程只在细胞内完成,但后来发现proNTs可以从神经元和胶质细胞泌出,在细胞外蛋白酶的作用下切割释放出成熟的蛋白质.一般而言,NTs-Trk通路能促生长、维持生存和增强突触功能,而proNTs-p75NTR通路并在Sortilin的存在下可促凋亡、抑制生长和减弱突触功能^[5].研究发现,这种相反的作用与神经发育时调节神经细胞的比例、神经损伤后神经细胞的死亡以及某些人类疾病的发生有密切联系,可以说来源相同,作用却截然相反,这一发现引起了众多科学家的关注与投入,这一研究将使人们对神经系统的发生、发育及神经系统疾病的发病机制有更加深入的了解,并有助于神经系统疾病新药物、新疗法的开发与研究.

2 神经营养因子前体的信号通路

proNTs诱导细胞凋亡的信号通路目前已知有:(1) Bcl-2和p53: p75NTR激活后Bcl-2的转录受到抑制,而p53蛋白及其靶基因所产生的Bax蛋白增加,促进细胞凋亡;(2) PI3K通路: Trk引

起细胞的死亡, 需要 PI3K 的参与, 引起 Beta-catenin 在胞内聚集, 从而发挥诱导细胞凋亡的作用^[6]; (3) MAPK 通路: NGF 能通过 MAPK、JNK、神经酰胺和 Rac 途径介导凋亡, 也可以通过 NF-kappaB 介导细胞的存活. pro-BDNF 通过 p75NTR 诱导细胞凋亡^[7]; (4) Caspase 途径: Caspase 的活化是各种凋亡的最后通路, 从而引起凋亡的变化. 其中, proBDNF 能通过激活 p75NTR、Rac-GTPase、JNK、caspase-3 介导小脑神经元凋亡, 而成熟 BDNF 主要是通过激活 TrkB、ERKs、Akt 和抑制 caspase3 激活来介导细胞的存活^[8]; (5) JNK 通路: p75NTR 能通过激活 JNK-P53-Bax 凋亡通路和抑制细胞存活信号级联反应调节细胞的死亡, 但大量的 Trk 却能阻断这条通路, 而抑制 p75NTR 介导的凋亡^[9].

3 神经营养因子前体的定位

proNTs 广泛分布于神经元及其所支配的靶细胞以及邻近的胶质细胞中, 在肥大细胞、甲状腺、前列腺、骨骼肌、坐骨神经、毛囊、海马等也有分布. proNGF 的定位主要在交感神经, 大脑皮层 V 层, 斜角带垂直支和平行支, 海马, 视上核, 丘脑网状核, 黑质致密区和小脑蒲肯野细胞等^[10]. proBDNF 广泛分布于猴的大脑、小脑、丘脑、脑桥、中脑、延髓和脊髓的各个部位, 这些 proBDNF 阳性细胞主要是神经元和胶质细胞, 说明 proBDNF 涉及 CNS 各个部位的功能作用, 亚细胞定位以核染色为主, 这与 proBDNF 在大鼠 CNS 中的亚细胞定位不一致, 后者主要分布于胞浆和突起中. 此外, 在大鼠的小脑分子层、大部分中脑和脑桥、脊髓 IX 和 X 层中几乎检测不到 BDNF 前体蛋白, 而在大鼠和猴大脑皮质、海马、丘脑和下丘脑的核团中, 可检测到较强的阳性反应^[11]. 这提示 proBDNF 在不同物种之间的作用和作用方式可能存在差异. 新近研究发现, proNT-3、proNT-4 在交感神经、昆虫细胞中也有分布^[12].

4 神经营养因子前体与胚胎神经系统发育

发育期, NTS 能促进神经细胞存活及神经突起的生长, 维持神经元的形态和功能, 为神经细胞提供积极的营养作用. 但 proNTs 却在胚胎神经系统发育上扮演了凋亡的角色, 用以清除多余的和已完成使命的细胞, 保证了胚胎的正常发育.

4.1 proNGF 与细胞凋亡

在脊髓中, proNGF 通过激活 p75NTR 受体胞内信号途径参与少突胶质细胞的凋亡^[13]. 此外, proNGF 介导老年啮齿类的基底前脑和外周交感神经元的细胞凋亡发生, 与此相反, proNGF 介导幼年成年啮齿类交感神经元轴突的生长而不是细胞凋亡. 在中枢和外周神经元的老化中, proNGF 蛋白逐渐增加, sortilin 的免疫活性显著增加, 相反, p75NTR 水平要么不改变, 要么减少^[14]. proNGF 还与神经元功能的改变有关, 认知障碍及老年痴呆 (AD) 患者 proNGF 蛋白的浓度比正常人均有增高, 且晚期 AD 患者 proNGF 的增加更加明显, 这种作用可能与 proNGF 的蓄积而引起认知功能的降低有关. 转基因小鼠小脑 proNGF 水平较野生鼠显著增高, 2 个品系的小脑中 proNGF 都是最大的, 成熟 NGF 的表达非常低^[15]. 而人重组 proNGF 在猪少突胶质细胞表达 TrkA、p75NTR 和 Sortilin, 发现 rhproNGF 干预猪少突胶质细胞后细胞轴突的再生比 NGF 干预增强, 而高浓度 rhproNGF 也不介导细胞死亡. 另外, proNGF 可激活 MAPK 的活性, 且使少突胶质细胞的再生增强^[16].

4.2 proBDNF 与细胞凋亡

proBDNF 可在感觉神经内顺行和逆行运输, 并可由神经元分泌、释放而发挥生理学作用. 研究表明, proBDNF 的转运可能也与 p75NTR 和 Sortilin 受体相关, 并且可能也有 HAPI 的参与^[17]. 在轻度认知障碍患者, 大脑皮质的 TrkA 消失, p75NTR 保持稳定, 而 proBDNF 增加. 这表明 proBDNF 在疾病的发生发展中起重要作用, 这些变化可能作为凋亡前信号, 导致细胞存活或逆向转运机制发生缺陷^[18]. proBDNF 亦可与 p75NTR 和 Sortilin 高亲和力结合最终导致神经元凋亡, 而重组体 proBDNF 介导浓度依赖的 PC12 细胞的凋亡, proBDNF 抗体的存在可以完全阻断被激活的凋亡作用^[19].

5 神经营养因子及其前体在胚胎脊髓发育的关系

之前的研究发现, 神经营养素家族各因子 (NGF、BDNF、NT-3、NT-4) 广泛分布于人胚胎脊髓发育各个时期的各种结构中, 并且在早期脊髓的表达更强, 各因子的表达既有重叠又有差异, 提示神经营养素家族在人胚胎脊髓发育的各个阶段特别是胚期脊髓的发育中发挥着重要的作用, 但在不同的区域和细胞又各自发挥着不同的作用. 神经营养素家族各因子的 mRNA 广泛地存在于各个发育时期神经细胞和胶质细胞中, 提示胚胎发育时期,

神经管或脊髓的神经细胞和胶质细胞具有自身合成神经营养素的功。神经营养素家族的高亲和受体广泛分布在人胚胎发育的各个时期的神经细胞和胶质细胞,提示人胚胎脊髓发育时期神经营养素家族各因子还可通过自分泌和旁分泌方式发挥其各种生理功能。神经营养素家族可能具有诱导脊髓室管膜上皮神经干细胞分裂增殖的能力^[20]。在畸形大鼠神经管发育过程中,均有 Sortilin、proNGF 和 p75NTR 蛋白、mRNA 的表达,其蛋白广泛分布于各个时期的各种结构中,且表达模式基本相同,提示 Sortilin 介导的 proNGF 凋亡前信号参与了正常及畸形胎鼠神经管发育的过程,三者共同发挥生物学作用,缺一不可。而维甲酸可能通过降低 proNGF 凋亡前信号的表达而导致本该正常凋亡的减弱,最终导致了神经管畸形的发生^[21]。

6 神经营养因子前体研究的趋势

目前,对 proNTs 功能的研究仍有很多新的问题亟待解决,比如不同家族的 NTs 对神经元的作用不同,是否意味着它们诱导凋亡的作用是有选择性。一些营养因子前体的定位、功能和作用机制的研究非常有限,且诱导凋亡的信号传导途径仍未完全阐明,这些都是以后我们探究这些前体蛋白的关键。可以预见,在不远的将来,对神经营养因子前体研究所做的一切努力,终将为医学事业的发展和人类健康的保障作出应有的贡献。

[参考文献]

- [1] NYKJAER, RAMEE LEE, KENNETH K, et al. Sortilin is essential for proNGF induced neuronal cell death[J]. *Nature*, 2004, 427(6 977): 843 - 848.
- [2] 樊拥军, 许健. 神经营养因子前体蛋白功能的研究进展[J]. *细胞生物学杂志*, 2008, 3(4): 425 - 430.
- [3] HENRY K, TENG, KENNETH K, et al. proBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin [J]. *The journal of neuroscience*, 2005, 25(22): 5 455 - 5 463.
- [4] MARGARET FAHNESTOCK, GUANHUA Y U, MICHAEL D. Coughlin. ProNGF: a neurotrophic or an apoptotic molecule [J]. *Progress in Brain Research*, 2004, 146: 101 - 110.
- [5] 罗雁威, 李昌琪. 脑源性神经营养因子前体蛋白生物学效应研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(2): 151 - 154.
- [6] FAYARD B, LOEFFLER S, WEIS J, et al. The secreted Brain-derived neurotrophic factor precursor pro-BDNF binds to TrkB and p75NTR but not to TrkA or Trkc[J]. *Neurosci Res*, 2005, 80(1): 18 - 28.
- [7] ASSIMAKOPOULOU M, KONDYLI M, GATZOUNIS G, et al. Neurotrophin receptors expression and JNK pathway activation in human astrocytomas [J]. *BMC Cancer*, 2007, 7(31): 202.
- [8] KOSHIMIZU H, HAZAMA S, HARA T. Distinct signaling pathways of precursor BDNF and mature BDNF in cultured cerebellar granule neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 473(3): 229 - 232.
- [9] PROVENZANO M J, XU N, VER MEER M R. p75NTR and sortilin increase after facial nerve injury[J]. *Laryngoscope*, 2008, 18(1): 87 - 93.
- [10] SARRET P, PERRON A, TROH T, et al. Immunohistochemical distribution of NTS2 neurotensin receptors in the rat central nervous system [J]. *J Comp Neurol*, 2003, 461(4): 520 - 538.
- [11] 徐丹, 李力燕, 张洪钿, 等. BDNF前体蛋白在成年恒河猴中枢神经系统中的分布 [J]. *神经解剖学杂志*, 2007, 23(6): 591 - 598.
- [12] DICOU E. Peptides other than the neurotrophins that can be cleaved from proneurotrophins: a neglected story[J]. *Arch Physiol Biochem*, 2007, 113(4-5): 228 - 233.
- [13] BEATTIE M S, HARRINGTON A W, LEE R, et al. proNGF induces p75-mediated death of oligodendrocytes following spinal cord injury[J]. *Neuron*, 2002, 36(3): 375 - 386.
- [14] ALSHWI R, HAFNER A, OLSON J, et al. Neurotoxic and neurotrophic roles of proNGF and the receptor sortilin in the adult and ageing nervous system [J]. *Eur J Neurosci*, 2008, 27(8): 2 103 - 2 104.
- [15] BUTTIGIEG H, KAWAJA M D, FAHNESTOCK M. Neurotrophic activity of proNGF in vivo [J]. *Exp Neurol*, 2007, 204(2): 832 - 835.
- [16] ALTHAUS H H, KLOPPNER S. Mature pig oligodendrocytes rapidly process human recombinant pro-nerve growth factor and do not undergo cell death [J]. *J Neurochem*, 2006, 98(2): 506 - 517.
- [17] 陈锶, 肖波, 毕方方, 等. HAP1与pro-BDNF胞吞关系的机制研究 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2009, 4(31): 185 - 189.
- [18] COUNTS S E, MUFSON E J. The role of nerve growth factor receptors in cholinergic basal forebrain degeneration in prodromal Alzheimer disease[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005, 64(4): 263 - 272.
- [19] FAN Y J, WU L L, LI H Y. Differential effects of pro-BDNF on sensory neurons after sciatic nerve transection in neonatal rats[J]. *Eur J Neurosci*, 2008, 27(9): 2 380 - 2 390.
- [20] 李力燕. 人胚胎脊髓发育过程中NTs家族及其受体的表达及变化[D]. 昆明, 昆明医科大学, 2007.
- [21] 杨金伟, 李力燕. 大鼠神经管畸形发育中Sortilin介导的proNGF 凋亡前信号的研究[D]. 昆明, 昆明医科大学, 2009.

(2013-03-05 收稿)