

Nogo-A、生长相关蛋白-43 及缺血后适应对脑白质保护的研究进展

钱芳 综述 李燕,朱榆红,李春艳 审校

昆明医学院第二附属医院神经内科,云南省昆明市 650101

摘要: Nogo-A 和生长相关蛋白-43 (GAP-43) 是近年来人们在中枢神经系统中研究发现的与神经系统再生和修复相关的蛋白,而缺血后适应(PC)是近年来发现的一种新的干预措施,对损伤的脑神经具有保护作用。本文就 Nogo-A、GAP-43、白质的保护及缺血后适应对神经保护的作用进行综述。

关键词: Nogo-A; 生长相关蛋白-43; 缺血后适应; 脑白质; 神经保护

Nogo-A 是中枢神经系统髓磷脂中发现的一种抑制轴突生长的蛋白,在中枢神经系统损伤后轴突再生中具有抑制作用。生长相关蛋白-43 (growth-associated protein-43, GAP-43) 是一种快速胞膜磷酸蛋白,在引导轴突生长和调节轴突形成新的联系上起关键作用。构成中枢神经系统白质的重要组成部分,包括轴突、少突胶质细胞及由少突胶质细胞形成的髓鞘^[1]。既往关于脑缺血后神经功能康复的研究重点在于保护神经元方面,但近年的研究发现白质损害也是脑缺血后神经功能障碍的一个主要原因。缺血后适应(ischemic postconditioning, PC)是近年来发现的一种新的干预措施,可明显减轻长时间再灌注引起的组织损伤,具有脑神经保护作用。研究 Nogo-A、GAP-43 及缺血后适应的作用机制对临床治疗白质损伤后的神经保护具有重要的现实意义。

1 Nogo-A

1.1 Nogo-A 的研究概况

Nogo-A 是含有 1163 个氨基酸的膜蛋白(大鼠序列分子量为 200 kDa)。2000 年 Chen 等^[2]克隆出大鼠和人类抑制受损轴突再生的基因——Nogo 基因。Nogo 基因编码 3 种蛋白,分别称为 Nogo-A、Nogo-B 和 Nogo-C。新近的研究发现,中枢神经损伤后 Nogo-A 蛋白与 p75^{NTR}-NgR 受体复合物结合,发挥抑制神经再生的作用,是造成脑梗死后遗症的重要原因。

1.2 Nogo-A 的分布

Nogo-A mRNA 主要表达于中枢神经系统少突

胶质细胞内质网,在其他组织系统如肌肉、睾丸和心脏等部位也有少量表达;然而在成年大鼠,Nogo-A 广泛而散在表达于整个 CNS 的神经元和少突胶质细胞^[3]。Huber 等^[4]通过用共聚焦免疫电子显微镜观察发现 Nogo-A 在大鼠发育过程中表达于少突胶质细胞和投射神经元,尤其是在发育中的皮质、脊髓、小脑的有丝分裂后细胞,这也较好地解释了其抑制轴突再生的作用和结构上的可塑性。

1.3 Nogo-A 的作用及其机制

多项研究发现,Nogo-A 在 CNS 损伤后轴突再生中具有抑制作用。Nogo-A 是 CNS 神经元轴突生长抑制的最重要的因子,具有以下特点:① Nogo-A 主要存在于中枢神经系统神经元和少突胶质细胞中;② Nogo-A 抑制背根神经节(DRG)神经元轴突生长及 3T3 成纤维细胞延伸;③ Nogo-A 的单克隆抗体 IN-1 可中和 Nogo-A 的轴突生长抑制作用,从而促进损伤后神经元轴突再生^[5]。进一步研究发现,Nogo-A 有两个完全独立的抑制结构域:一个是可能位于细胞表面的 Nogo-66;另一个是长的氨基端区段(NiG)。这两个结构域在抑制轴突生长方面发挥着协同作用。

Nogo-A 可能通过以下方式抑制神经元轴突再生:① 细胞-细胞方式:完整的少突胶质细胞表面的 Nogo-66 与损伤神经元的 NgR 结合。② 细胞-膜方式:从受损的少突胶质细胞上脱落下来的含有 Nogo-66 的膜片段与损伤神经元的 NgR 结合。③ 完全溶解的少突胶质细胞释放 Nogo-A 氨基端和 Nogo-66 的可溶性蛋白水解片段,与其受体结合,

基金项目:云南省科技厅-昆明医学院联合专项基金(2008CD018)

收稿日期:2011-08-31;修回日期:2012-01-29

作者简介:钱芳(1986-),女,在读研究生。

通讯作者:李燕(1956-),女,教授,硕士生导师,主要从事于脑血管疾病的研究。E-mail:liyan689@sina.com。

抑制作用更强。Hsieh 等^[6]发现 Nogo-A 有效的抑制片段 Nogo-66 的信号是通过 LIM (LIM 是 Lin-11、Isl-1 和 Mec-3 三个基因的首字母缩写) 激酶和弹弓磷酸酶调节肌动蛋白解聚作用因子 cofinlin 的磷酸化而实现的。

2 GAP-43

2.1 GAP-43 的研究现状

GAP-43 是 80 年代初发现的一种分子量为 24 KD 的钙调蛋白结合的胞膜磷酸蛋白。新近的研究表明 GAP-43 与神经系统的发育、突触形成和可塑性以及神经再生有密切的关系,在引导轴突生长和调节轴突形成新的联系上起关键作用,被认为是神经元生长发育和可塑性的分子标记物^[7]。

2.2 GAP-43 的分布

GAP-43 是神经组织特有的生长相关蛋白,广泛分布于大小脑、脊髓、背根节和自主神经系统的神经元内以及再生的施旺细胞和神经胶质细胞。在发育中的神经元沿整个轴突表达,在生长锥表达尤其丰富。在发育成熟的中枢神经系统中,为保证正常稳定的生理活动,成熟神经元轴突的生长和突触的可塑性都处于抑制状态;当轴突受到损伤后,GAP-43 呈高表达,轴突的延长和重建又可以被重新诱导^[8]。

2.3 GAP-43 的作用及机制

GAP-43 及其 mRNA 在神经系统的表达分布特点说明它对神经发育和可塑性有重要作用,可促进神经元的生长发育、再生及突触的重构。神经元生长过程中 GAP-43 可能是靠改变生长锥中 G 蛋白的活性,影响轴突的生长;G 蛋白与其受体反应可产生抑制信号,导致生长锥停止生长,而 GAP-43 与 G 蛋白结合可以解除抑制信号允许轴突继续生长。在神经损伤后,损伤局部吸收而逆行转运至胞体的某种正反馈信号或本身由胞体产生的某种正反馈信号刺激表达 GAP-43^[9]。部分研究结果提示 GAP-43 参与了神经元突触重组和神经环路的构建,并为神经功能的恢复奠定了基础。神经损伤后 GAP-43 在末端施旺细胞和轴突的表达表明它与轴突-施旺细胞在再生中的相互作用密切相关。

3 缺血后适应

3.1 缺血后适应的概念

缺血后适应 (PC) 指在脑缺血/再灌注开始时给予短暂的、重复的、非致死性的血管闭塞与再通的过程,可明显减轻随后长时间再灌注引起的组织

损伤,是近期发现的一种新的干预措施,具有脑保护作用^[10]。

3.2 缺血后适应的研究现状

在以往建立的系统性缺血后适应动物模型研究中,证实 PC 具有保护作用。2005 年 Staat 等^[11]研究表明,急性心肌梗死患者在冠状血管成形术时施加缺血后适应干预,率先在临床上证实了 PC 的心肌保护作用。2008 年的小儿法洛四联症外科手术^[12]和 2009 年成人外科手术^[13]中明确了 PC 的保护效应。PC 促进损伤后神经功能的恢复,表现在肢体运动、共济和皮质功能各个方面,短期和长期疗效均比较显著。研究发现 PC 尚能减少损伤后神经元的凋亡,减少缺血半暗带的神经元凋亡可能是缺血后适应减少梗死面积和促进神经功能恢复的关键所在^[14]。

3.3 缺血后适应的脑保护机制

3.3.1 炎症反应和自由基 大量研究表明,脑缺血/再灌注炎症反应会产生大量氧自由基,自由基可以攻击血管内皮细胞膜,加重血管源性脑水肿,导致脑梗死范围扩大而加重脑组织损伤。Zhao 等^[15]报道,PC 可以明显减少大鼠脑缺血半暗带中过氧化物的产生。Xing 等^[16]研究发现,PC 可以明显降低再灌注 24 h 后的髓过氧化物酶的活性,降低炎症介质的表达,并可明显地抑制脂质过氧化反应的水平。

3.3.2 脑水肿和血脑屏障 大量实验证明缺血脑组织恢复血液灌注后会导致血脑屏障完整性损害,使得血脑屏障通透性增加,促进脑水肿形成,同时活性自由基能引起血管内皮细胞和基底膜损伤,从而破坏血脑屏障的完整性。谭慧敏等^[17]提到 PC 能够提高脑代谢,减轻血脑屏障的通透性和脑水肿。Ren 等^[18]在延迟性缺血后适应的研究中检测到葡萄糖水平和代谢的上调,证明缺血后适应加强了葡萄糖代谢。

3.3.3 蛋白质生成和细胞凋亡 PC 的脑保护作用还可能涉及相关蛋白质的合成。Burda 等^[19]报道,缺血后适应的同时给予蛋白质合成抑制剂,可以抵消 PC 对细胞凋亡的保护作用。缺血再灌注后细胞色素 C 从线粒体中转移到细胞质中,激活细胞凋亡。Wang 等^[20]发现,缺血再灌注后可以在细胞质中检测到细胞色素 C。适当的缺血后适应可以明显降低缺血再灌注后神经元细胞质中的细胞色素 C 的浓度,提示 PC 可能通过阻止凋亡程序的

激活,达到脑保护的作用^[21]。

3.3.4 信号转导通路 Akt 信号转导通路在缺血后适应的神经保护中具有重要作用^[16]。Gao 等^[22]和 Pignataro 等^[23]研究发现,在缺血早期进行后适应处理可提高 Akt 磷酸化水平,增强 Akt 活性,调节 β -CATENIN,从而支持神经细胞的生存。

4 脑白质

长期以来,对缺血性脑卒中神经保护治疗研究结果并不理想。在以往的研究中,由于研究对象和绝大多数的研究重点都集中在灰质上,认为灰质是缺血缺氧损伤的易损部位,而白质通常被认为缺血更耐受。应用乏氧显像剂 ¹⁸F 标记的米索硝唑 (MISO) 和微型正电子发射断层显像术 (PET) 对症状出现后中位时间 16.5 h 的 27 例患者进行研究,虽然 PET 显示脑灰质中最初“高危组织”体积大于白质,但白质中潜在活性组织的比例却高于灰质^[24]。脑卒中后白质损伤是神经功能障碍的重要原因之一,因此,脑白质保护 (cerebral white-matter protection) 已逐渐受到重视。

4.1 缺血性脑白质的概念

脑白质病变 (cerebral white matter lesion, WML) 是指脑室旁白质或皮质下区域 CT 扫描呈低密度或磁共振 T 加权成像呈高信号的影像学改变。白质主要由神经纤维、轴突和胶质细胞构成,不含神经元胞体或突触,白质的组成成分对缺血高度易损。其中,缺血性脑白质病变 (white matter ischemic lesions) 是最常见的白质脑病类型之一。

4.2 脑白质损害的表现

可能的机制包括脑白质缺血、血脑屏障破坏、慢性水肿及遗传因素等。绝大多数缺血性脑白质病变患者在早期可无任何临床症状。当损害进展时可主要表现为认知功能减退,但不一定表现为痴呆。另外一些缺血性脑白质病可以表现为抑郁、构音障碍、步态异常和排尿障碍等症状。

4.3 脑白质与 Nogo-A、GAP-43 和缺血后适应的关系

构成 CNS 白质的重要组成成分包括轴突、少突胶质细胞及由少突胶质细胞形成的髓鞘。GAP-43 广泛分布于大小脑、脊髓、背根节以及自主神经系统的神经元内,再生的施旺细胞和神经胶质细胞;而 Nogo-A 主要表达于中枢神经系统少突胶质细胞内质网。神经纤维再生抑制因子 Nogo-A 和生长相关蛋白 GAP-43 与神经损伤的修复密切相关;脑组

织缺血损伤后的白质保护尤为重要,通过对损伤脑白质的神经修复来对脑白质进行保护显得非常重要。而缺血后适应则可能通过保护血脑屏障完整性、阻止细胞凋亡等机制来实施脑保护作用,即对脑白质的损伤具有保护作用。

5 结语与展望

综上所述,神经系统损伤后的保护和修复一直是神经科学领域研究的热点。脑缺血后神经功能的最终恢复不仅依赖于对灰质的保护,对白质的保护同样重要,而 Nogo-A 和 GAP-43 与神经损伤的修复密切相关。但是,它们并不是孤立的,而是互相促进和相互转化和制约的。缺血后适应作为脑梗死后新的干预措施,具有脑保护作用。通过对这些神经系统损伤修复相关问题的不断研究,为 CNS 损伤再生的研究提供了新思路。然而每种疾病发病因素都不是单一的,要全面实现神经再生以及相关疾病的治疗,并将其应用于临床还需要很长时间的研究和实践。因此,全脑保护以及各种缺血后适应的处理方法都需要通过更多的动物实验进行摸索和验证,以获得临床可行的、保护效果最佳的干预方法。

参 考 文 献

- [1] 高晓玉,王得新,张拥波. 脑缺血再灌注后白质损伤研究. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2009, 16(3): 183-186.
- [2] Chen MS, Huber AB, van der Haar ME, et al. Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1. *Nature*, 2000, 403(6768): 434-439.
- [3] Buss A, Sellhaus B, Wolmsley A, et al. Expression pattern of Nogo-A protein in the human nervous system. *Acta Neuropathol*, 2005, 110(2): 113-119.
- [4] Huber AB, Weimam O, Brosamle C, et al. Patterns of Nogo mRNA and protein expression in the developing and adult rat and after cNs lesions. *J Neurosci*, 2002, 22(9): 553-567.
- [5] Buchli AD, Schwab ME. Inhibition of Nogo: a key strategy to increase regeneration, plasticity and functional recovery of the lesioned central nervous system. *Ann Med*, 2005, 37(8): 556-67.
- [6] Hsieh SH, Ferraro GB, Fournier AE, et al. Myelin-associated inhibitors regulate cofilin phosphorylation and neuronal inhibition through LIM kinase and Slingshot phosphatase. *J Neurosci*, 2006, 26(3): 1006-1015.
- [7] Li Y, Chen J, Zhang CL, et al. Gliosis and brain remodeling after treatment of stroke in rats with marrow stromal cells. *Glia*, 2005, 49(3): 407-471.

- [8] 李向莲,杨拯,徐艳.生长相关蛋白43与脊髓损伤.广东医学,2009,30(11):1750-1752.
- [9] Donovan SL, McCasland JS. GAP-43 is critical for normal targeting of thalamocortical and corticothalamic, but not trigeminothalamic axons in the whisker barrel system. Somatosens Mot Res, 2008, 25(1): 33-47.
- [10] Fantinelli JC, Mosca SM. Comparative effects of ischemic pre and postconditioning on ischemia-reperfusion injury in spontaneously hypertensive rat (SHR). Mol Cell Biochem, 2007, 296(1-2): 45-51.
- [11] Staat P, Rioufol G, Piot C, et al. Postconditioning the human heart. Circulation, 2005, 112(14): 2143-2148.
- [12] Luo W, Li B, Lin G, et al. Postconditioning in cardiac surgery for tetralogy of fallot. J Thorac Cardiovasc Surg, 2007, 133(5): 1373-1374.
- [13] Mockford KA, Girn HR, Homer-Vanniasinkam S. Postconditioning: current controversies and clinical implications. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2009, 37(4): 437-442.
- [14] 李美艺,张颜波,牛敬忠.缺血后适应在缺血性脑损伤中脑保护作用及机制研究进展.中风与神经疾病杂志,2010,27(5):473-474.
- [15] Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. J Cereb Blood Flow Metab, 2006, 26(9): 1114-1121.
- [16] Xing B, Chen H, Zhang M, et al. Ischemic post-conditioning protects brain and reduces inflammation in a rat model of focal cerebral ischemia/reperfusion. J Neurochem, 2008, 105(5): 1737-1745.
- [17] 谭慧敏,李燕,朱榆红.后适应对缺血性脑损伤神经保护的策略及分子机制.国际神经病学神经外科学杂志,2011,38(3):269-273.
- [18] Ren C, Gao X, Niu N, et al. Delayed postconditioning protects against focal ischemic brain injury in rats. PLoS One, 2008, 3(12): 3851.
- [19] Burda J, Danielisova V, Nemethova M, et al. Delayed postconditioning initiates additive mechanism necessary for survival of selectively vulnerable neurons after transient ischemia in rat brain. Cell Mol Neurobiol, 2006, 26(7/8): 1141-1151.
- [20] Wang JY, Shen J, Gao Q, et al. Ischemic postconditioning protects against global cerebral ischemia/reperfusion-induced injury in rats. Stroke, 2008, 39(3): 983-990.
- [21] Muranyi M, Li PA. Bongkrekic acid ameliorates ischemic neuronal death in the cortex by preventing cytochrome c release and inhibiting astrocyte activation. Neurosci Lett, 2005, 384(3): 277-281.
- [22] Gao X, Zhang H, Takahashi T, et al. The Akt signaling pathway contributes to postconditioning protection against stroke; the protection is associated with the MAPK and PKC pathways. J Neurochem, 2008, 105(3): 943-955.
- [23] Pignataro G, Meller R, Inoue K, et al. In vivo and in vitro characterization of a novel neuroprotective strategy for stroke: ischemic postconditioning. J Cereb Blood Flow Metab, 2008, 28(2): 232-241.
- [24] Falcao AL, Reutens DC, Markus R, et al. The resistance to ischemia of white and gray matter after stroke. Ann Neurol, 2004, 5(56): 695-701.

表面等离子共振技术在阿尔茨海默病相关研究中的应用

葛金芳 综述 黄晓晖 审校

安徽医科大学药学院,安徽省合肥市 230032

摘要:表面等离子共振是近年来迅速发展的用于分析生物分子相互作用的一项技术。该技术无需标记、特异性强、灵敏度高、样品用量小,可实现在线连续实时检测,被广泛应用于蛋白质组学、细胞信号转导、受体-配体相互作用等领域,近年来也逐渐用于以 β 淀粉样蛋白和tau蛋白为靶标的阿尔茨海默病发病机制及药物筛选等相关研究中。本文主要就表面等离子体共振技术生物传感器的基本原理及其在阿尔茨海默病相关研究中的应用做一综述。

关键词:表面等离子共振;阿尔茨海默病; β 淀粉样蛋白;tau蛋白

基金项目:安徽省教育厅自然科学基金重点项目(No. KJ2010A185);安徽省自然科学基金青年项目(11040606Q19)

收稿日期:2011-07-14;修回日期:2011-09-19

作者简介:葛金芳(1975-),女,硕士,讲师,主要从事阿尔茨海默病的发病机制及治疗靶标的研究。