

神经细胞黏附分子在神经损伤及修复中的研究进展

郭艳, 靳令经 综述 聂志余 审校

同济大学附属同济医院神经内科, 上海市 200065

摘要:神经细胞黏附分子是一种主要表达于神经系统的细胞表面糖蛋白。近年来发现,它在神经损伤及修复过程中发挥了重要作用,主要表现为促进神经细胞间的黏附、促进神经芽生及轴突生长、促进髓鞘形成与再生、参与突触可塑性等。因此,它在脊髓损伤、外周神经再生、难治性癫痫、局限性肌张力障碍等多种神经系统疾病的发生与发展以及潜在治疗应用中受到越来越多的关注。

关键词:神经细胞黏附分子;神经损伤;神经修复;神经芽生;轴突生长;突触可塑性

神经细胞黏附分子(neural cell adhesion molecule, NCAM)是介导细胞黏附和识别的一种细胞表面糖蛋白,属于细胞黏附分子免疫球蛋白超家族。1976年由Rutishauser首先在鸡的视网膜和脑中发现,之后陆续在上皮、肌肉组织中也发现它的表达。在胚胎发育期,NCAM在各胚层均有表达。在出生后动物中,其表达主要集中在神经组织中,参与神经元出芽、轴突再生、髓鞘形成、突触重塑以及神经细胞黏附等神经生长及修复过程^[1]。还有报道称NCAM与肿瘤的侵袭、转移生长有关,其表达程度与肿瘤恶性程度相一致^[2,3]。本文主要从NCAM的结构表达、在神经损伤及修复过程中的作用以及在神经系统疾病中的研究进展三个方面加以综述。

1 NCAM的基本概况

1.1 NCAM的结构

NCAM由形成结合位点的氨基末端区、中央区以及和细胞膜相连的羧基末端区组成。不同NCAM的分子结构中均含有纤维结合素III和5个折叠成免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)样的结构域(IgI、IgII、IgIII、IgIV及IgV),它们共同构成NCAM胞外结构的主体,为NCAM的主要功能部位。

在NCAM形成过程中,编码IgIV结构域的外显子7、8之间常有一个选择性拼接可变结构域的外显子(variable alternative spliced exon, VASE)插入,它是一个由30个碱基对构成的可剪切基因,形成10

个氨基酸序列,现已发现它对突触塑形、神经生长是不利的,其表达可使突触塑形、神经生长的能力下降^[4]。

NCAM的一个重要特征就是含有以 α -2,8键相连的多聚唾液酸复合物(polysialic acid, PSA),现认为PSA-NCAM在中枢神经的分化、迁移、突起长芽、突触联系的建立以及神经元发育和突触可塑性的许多过程中发挥作用^[5]。PSA由数个至200余个氨基酸残基组成,位于IgV结构域,附着点为NCAM第459位和第430位的天冬氨酸。而PSA-NCAM的表达会随着神经系统的发育成熟而减弱,成年动物仅在视丘下部、海马和嗅球等部位存在^[5]。

1.2 NCAM的分类及表达

NCAM是非钙依赖性黏附分子,目前已鉴定出20多种亚型。NCAM基因由内含子和26个外显子组成,由于对外显子剪接表达结果的不同,将其分为可溶性NCAM、附膜NCAM和跨膜NCAM三种。当表达终止于外显子13时形成可溶性NCAM;当表达外显子15时形成附膜NCAM,它通过糖基磷脂酰肌醇直接与膜相连,易于在膜表面运动,且只锚定于膜上的脂筏区域^[6];当表达外显子16-19时则形成跨膜NCAM,其中外显子16编码合成一段约含70个氨基酸残基的肽段,形成跨膜区域。

NCAM在不同组织、不同时期表达是不同的,在神经系统中主要表达跨膜型NCAM和附膜型NCAM两大类,依据分子量的大小分为NCAM-180、

基金项目:国家自然科学基金(81000481);上海市卫生局科研课题计划(2009Y070);上海市青年科技启明星计划(10QA1407500)

收稿日期:2011-10-27;**修回日期:**2012-01-16

作者简介:郭艳(1987-),女,在读硕士研究生,主要从事神经细胞粘附分子在肉毒毒素中应用的研究。

通讯作者:聂志余(1961-),男,主任医师,教授,主要从事脑血管病的诊治以及肉毒毒素基础应用的研究。

NCAM-140、NCAM-120 三种。NCAM-180、NCAM-140 均为跨膜型 NCAM, 包含一跨膜区和胞质区, 而 NCAM-180 的胞质区比 NCAM-140 多额外的 261 个氨基酸; NCAM-120 为附膜型 NCAM, 无胞质区及跨膜区^[7]。鼠胚胎发育期, NCAM 在肌管和进入肌肉的神经中均有表达, 但随着神经髓鞘的形成、肌管的成熟, 在成年鼠中 NCAM 仅存在于突触部位^[8]。

2 NCAM 在神经损伤及修复中的作用

在成年动物中 NCAM 的表达是低水平的, 但是在运动神经元损伤后, 发现损伤远端的轴突节段变性, 且伴随有 NCAM 表达增加; 当新的突触联系建立时, NCAM 的含量将再次下调。在肌肉从去神经支配到再次获得神经支配的过程中, NCAM 的含量变化与神经支配状况的改变具有明显的平行关系^[8]。因此 NCAM 在神经损伤再生修复过程中担当着重要角色。

2.1 促进神经细胞间黏附

NCAM 参与神经细胞间以及神经与肌肉间突触形成, 使细胞之间产生分子结合力, 促使细胞凝聚, 被认为是介导细胞-细胞黏附的非钙依赖性的黏附分子代表。NCAM 主要通过同样表达 NCAM 的细胞结合发挥细胞间同源黏附作用, 也可通过与细胞外基质的肝素及硫酸肝素结合发挥非同源性黏附作用, 即 NCAM 不仅具有嗜同性还具有嗜异性^[4]。NCAM 调节轴突生长、迁移及目标识别, 正是通过嗜同性和嗜异性实现的。NCAM 介导同源细胞黏附, 其机制还未完全阐明, 目前研究显示可能有以下 3 种^[4]: ①相邻细胞上的两个 NCAM 分子通过各自的 Ig III 结构域相互作用实现; ②通过两个 NCAM 分子的 5 个 Ig 结构域反平行结合; ③两个 NCAM 分子以 IgIa-Ig II b, Ig II a-IgIb 交互结合。PSA 含有大量负电荷, 且具有亲水性, 能形成较大的水合半径, 因此可直接或间接调节细胞膜间的黏附能力^[5]。当细胞间 NCAM 与 NCAM 相互作用时, PSA 可使细胞膜间距离增大, 造成膜上其它的黏附分子由于距离过大而失去黏附能力, 从而降低了细胞间的黏附作用, 利于神经向外生长; 相反, 若用特异性外切酶切除 PSA, 细胞膜间的黏附能力将增强, 使结构形态得以维持。因此多聚唾液酸的修饰可显著降低 NCAM 的黏附作用, 增加细胞之间相互排斥的能力, 在降低分子间相互作用力以及增加细胞迁移功能方面具有一定的作用^[9]。

2.2 促进神经芽生与轴突生长

NCAM 与神经芽生有密切关系, 在促进轴突生长方面也扮演着重要的角色^[10]。神经芽生的发生、发展是神经-肌肉联络被长期阻断后的代偿性反应, 对肉毒毒素麻痹的肌肉进行直接电刺激有助于预防神经末梢的芽生, 这表明肌源性因素在神经芽生中发挥重要作用, 其中最重要的是神经细胞黏附分子。研究表明^[8], NCAM 参与肌肉麻痹区域的神经芽生, 神经损伤后的芽生现象伴随着肌纤维表面 NCAM 的再表达, 且肌管中 NCAM 水平与轴突芽生比例的多少相平行, 而且拮抗 NCAM 能明显减少肉毒毒素注射后继发的神经芽生现象, 间接证实了 NCAM 在神经肌肉麻痹所导致的神经芽生中发挥了主要作用。

在促进轴突生长方面, NCAM 与成纤维生长因子受体 (fibroblast growth factor receptor, FGFR) 结合, 导致甘油二酯到花生四烯酸的转变, 进而引起钙离子内流, 促进轴突生长。Ronn 等^[11]人工合成 1 种 NCAM 配基, 称为 C3 肽, 能结合在 NCAM 的 IgI 结构域, 在 FGFR 受到激活后, 通过 C3 肽-FGFR 信号传递系统刺激神经轴突生长, 故认为 FGFR 的激活是 NCAM 发挥促进神经轴突生长作用的关键步骤。

2.3 参与髓鞘形成及再生

无论是中枢神经系统还是周围神经系统, NCAM 在髓鞘生成和再生中均发挥了重要的作用。Dedkov 等^[12]发现施旺细胞在去神经支配的坐骨神经周围仍能继续存活, 且持续表达 NCAM, 并可促进髓鞘再生。而 Lavdas 等^[13]发现能表达 PSA-NCAM 的施旺细胞在中枢神经系统具有迁移的能力, 可促进髓鞘再生, 为中枢神经再生提供了微环境。PSA-NCAM 在新生小鼠脊髓白质部中有表达, 但随着髓鞘广泛形成, 其表达显著下降, 而在成年小鼠脊髓白质外侧部诱导髓鞘脱失后, 发现在髓鞘脱失部位及其周围出现 PSA-NCAM 的表达; 当髓鞘再生完成后其表达减弱直至消失, 间接证实了 NCAM 参与了髓鞘的形成及再生。

2.4 参与突触可塑性

NCAM 具有促进突触可塑性并维持突触结构的功能, 是突触可塑性的标志之一^[14]。突触可塑性^[15]是指突触发生、形态及其功能具有可调节性, 包括与传递效率有关的功能可塑性和与信息贮存相关的树突棘形态变化的结构可塑性 (包括突触前和突触后可塑性)。突触传递的长时程增强

(long-term potentiation, LTP) 和长时程抑制 (long-term depression, LTD) 是功能可塑性的主要表现模式,参与受损神经的再生,而 PSA-NCAM 在这一过程中发挥了重要作用。PSA-NCAM 在成年动物中枢神经系统中含量很少,但在海马齿状回颗粒细胞层的最深部表达较多,与学习、记忆相关的突触重塑过程密切相关^[14]。PSA-NCAM 对海马锥体细胞和齿状回颗粒细胞通过 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 受体发挥调节功能,齿状回颗粒细胞发出苔状纤维轴突,与锥体细胞顶树突的近端形成突触,然后与 NMDA 受体结合位点连接在一起,给予这些突触短暂重复刺激可引起突触传递的长时程增强 (LTP),且该增强作用可完全被 NMDA 受体拮抗剂阻断,同时缺乏 PSA-NCAM 也引起 NMDA 受体依赖性 LTP 减弱^[16]。

3 NCAM 在神经系统疾病中的作用

NCAM 在轴突生长、神经纤维成束、突触可塑性及学习、记忆形成等过程中起重要作用,故近几年在多种神经系统疾病的发病机制及潜在的治疗应用中受到重视。

由于 NCAM 具有促进神经修复作用,因此被应用于神经损伤治疗及神经退行性疾病发病研究中。在脊髓损伤的研究中发现^[17],小鼠脊髓撞击伤后经蛛网膜下腔给予 NCAM 可改善损伤区及两端的神经细胞功能、促进轴突再生、促进双下肢运动功能恢复。其在脊髓损伤修复中发挥作用的途径还有待于进一步研究,可能通过磷酸肌醇、肌钙蛋白、cAMP (cyclic adenosine monophosphate) 等多种途径发挥生物学作用^[18]。在外周神经损伤中,NCAM 也参与了神经再生等过程^[19]。在成熟的视神经轴突损伤时,星形细胞表达 NCAM 能提供局部分化信号给轴突、神经胶质细胞,进而促进视神经的生长。此外,Mikkonen 等^[20]在分析阿尔茨海默病病人中枢神经系统 PSA-NCAM 的表达中发现,在齿状回的分子层和颗粒层及 CA3 区 NCAM 的光密度值有显著升高,证明 PSA-NCAM 与阿尔茨海默病病人 CA1 区、CA3 区神经元再生有关。

抑制 NCAM 对神经再生及突触重构产生的影响亦具有潜在的研究价值。肉毒毒素已经被广泛用于局限性肌张力障碍及继发性痉挛的治疗^[21],但是局部注射肉毒毒素继发的神经芽生促使突触功能重建,从而使肉毒毒素的疗效逐渐消失,而拮抗 NCAM 可有效抑制神经芽生^[8],但能否进一步延

长肉毒毒素的作用时间尚待一步研究。在难治性癫痫研究中^[22],通过基因芯片技术发现患者脑组织中 NCAM 基因表达上调,后者可能通过以下 3 种途径影响神经元可塑性和突触重构,使神经网络及环路重组,从而促进难治性癫痫的发生和发展:①通过 NCAM 的多聚唾液酸化增强突触可塑性;②通过调节细胞内钙离子浓度促进轴突生长;③通过刺激促分裂原活化蛋白激酶 (Mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号途径促进轴突生长、增强神经细胞可塑性。因此,通过阻断 NCAM 的多聚唾液酸化、减少细胞内钙离子的动员及阻断其信号传导途径等方法可能会有助于难治性癫痫的治疗。

4 结语

NCAM 作为细胞黏附分子免疫球蛋白超家族的重要成员,关于其结构、表达及参与神经损伤和修复过程中的机制研究正在逐层步深入。而 PSA 是 NCAM 促进神经分化、细胞迁移、轴突生长、突触重塑等许多过程的关键结构,但其表达和调控机制尚未被完全阐明。同时,如何将 NCAM 促进神经修复效应向临床应用转化还需进一步研究;拮抗 NCAM 后是否有助于延长肉毒毒素疗效或有助于难治性癫痫的治疗也有待于进一步探索。

参 考 文 献

- [1] Büttner B, Horstkorte R. Intracellular ligands of NCAM. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 663 (part 1): 55-66.
- [2] Campodónico PB, de Kier Joffé ED, Urtreger AJ, et al. The neural cell adhesion molecule is involved in the metastatic capacity in a murine model of lung cancer. *Mol Carcinog*, 2010, 49 (4): 386-397.
- [3] Kilsdonk JW, Kempen LC, Muijen GN, et al. Soluble adhesion molecules in human cancers: sources and fates. *Eur J Cell Biol*, 2010, 89 (6): 415-427.
- [4] Ditlevsen DK, Povlsen GK, Berezin V, et al. NCAM-induced intracellular signaling revisited. *J Neurosci Res*, 2008, 86 (4): 727-743.
- [5] Conchonaud F, Nicolas S, Amoureux MC, et al. Polysialylation increases lateral diffusion of neural cell adhesion molecule in the cell membrane. *J Biol Chem*, 2007, 282 (36): 26266-26274.
- [6] Povlsen GK, Ditlevsen DK. The neural cell adhesion molecule NCAM and lipid rafts. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 663 (part 3): 183-198.
- [7] Ditlevsen DK, Kolkova K. Signaling pathways involved in NCAM-induced neurite outgrowth. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 663: 151-168.

- [8] English AW. Cytokines, growth factors and sprouting at the neuromuscular junction. *J Neurocytol*, 2003, 32(5-8): 943-960.
- [9] Johnson CP, Fujimoto I, Rutishauser U, et al. Direct evidence that neural cell adhesion molecule (NCAM) polysialylation increases intermembrane repulsion and abrogates adhesion. *J Biol Chem*, 2005, 280(1): 137-145.
- [10] Hansen SM, Berezin V, Bock E. Signaling mechanisms of neurite outgrowth induced by the cell adhesion molecules NCAM and N-cadherin. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(23): 3809-3821.
- [11] Kiselyov VV. NCAM and the FGF-receptor. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 663(part 1): 67-79.
- [12] Dedkov EI, Kostrominova TY, Borisov AB, et al. Survival of Schwann cells in chronically denervated skeletal muscles. *Acta Neuropathol*, 2002, 103(6): 565-574.
- [13] Lavdas AA, Franceschini I, Dubois-Dalcq M, et al. Schwann cells genetically engineered to express PSA show enhanced migratory potential without impairment of their myelinating ability in vitro. *Glia*, 2006, 53(8): 868-878.
- [14] Bonfanti L, Theodosis DT. Polysialic acid and activity-dependent synapse remodeling. *Cell Adh Migr*, 2009, 3(1): 43-50.
- [15] Südhof TC, Malenka RC. Understanding synapses: past, present and future. *Neuron*, 2008, 60(3): 469-476.
- [16] Florian C, Foltz J, Norreel JC, et al. Post-training intrahippocampal injection of synthetic poly-alpha-2, 8-sialic acid-neural cell adhesion molecule mimetic peptide improves spatial long-term performance in mice. *Learn Mem*, 2006, 13(3): 335-341.
- [17] Zhang S, Xia YY, Lim HC, et al. NCAM-mediated locomotor recovery from spinal cord contusion injury involves neuroprotection, axon regeneration, and synaptogenesis. *Neurochem Int*, 2010, 56(8): 919-929.
- [18] Paveliev M, Lume M, Velthut A, et al. Neurotrophic factors switch between two signaling pathways that trigger axonal growth. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 15): 2507-2516.
- [19] Murphy JA, Hartwick AT, Rutishauser U, et al. Endogenous polysialylated neural cell adhesion molecule enhances the survival of retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(2): 861-869.
- [20] Mikkonen M, Soininen H, Alafuzof I, et al. Hippocampal plasticity in Alzheimer's disease. *Rev Neurosci*, 2001, 12(4): 311-325.
- [21] 王国栋,赵永波. A型肉毒毒素治疗面肌痉挛、眼睑痉挛疗效观察. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2009, 36(1): 13-15.
- [22] 林涛,王雪峰,曾艳,等. 难治性癫痫患者颞叶新皮质中 NCAM-140 kDa 的表达: 颞叶新皮质的可塑性与难治性癫痫的关系. *中风与神经疾病杂志*, 2008, 25(3): 305-308.

几种模拟临床发病原因血管性认知功能障碍动物模型的研究进展

孟楠 综述 吕佩源 审校

河北省人民医院神经内科,河北省石家庄市 050051

摘要:血管性认知功能障碍(VCI)是由一系列脑血管疾病,如缺血或出血及急慢性缺氧性脑血管病,导致脑组织损害产生的一种慢性、进行性、持续性智能障碍综合征。本文通过集中介绍能良好模拟临床发病原因的全脑慢性低灌注模型、局灶性低灌注模型、栓塞模型、高血压模型等血管性痴呆动物模型制作方法,并分析各种方法的优缺点,为开展血管性痴呆实验研究者提供参考。

关键词:血管性认知功能障碍;脑缺血;全脑低灌注;局部灌注不足;栓塞;高血压;动物模型

血管性认知功能障碍(vascular cognitive impairment, VCI)是由一系列脑血管疾病,如缺血或出血

基金项目:河北省自然科学基金(C2009001483);国家留学人员科技活动择优资助项目(人力资源与社会保障部 2009-11-6)

收稿日期:2011-12-07;**修回日期:**2012-03-13

作者简介:孟楠(1987-),女,在读硕士,主要从事认知障碍相关研究。

通讯作者:吕佩源(1962-),男,博士,博士生导师,主任医师,教授。主要从事神经内科临床及血管性认知障碍研究工作。