

## 脊髓损伤后神经营养素家族及其受体表达的研究进展

郝建军<sup>1</sup>, 杨桂姣<sup>2</sup>, 高雨仁<sup>2</sup>

(1 内蒙古包头市中心医院骨科 014040; 2 山西医科大学人体解剖教研室 030001 太原市)

中图分类号: R683.2, R593

文献标识码: A

文章编号: 1004-406X(2007)-07-0549-03

脊髓损伤所致的截瘫至今仍缺乏有效的治疗方法。哺乳动物中枢神经系统再生能力有限,其轴突的再生由神经元固有特性和所处的环境所决定,部分归因于缺乏足够的营养支持,这种营养支持来源于自身<sup>[1]</sup>,而神经营养素家族是这种营养支持之一。现对脊髓损伤后神经营养素家族及其受体表达的研究进展综述如下。

## 1 神经营养素家族及受体的构成

### 1.1 神经营养素家族

神经营养素家族包括 6 个成员: 神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、神经营养素-3(NT-3)、神经营养素-4/5(NT-4/5)、神经营养素-6(NT-6)及神经营养素-7(NT-7)。NGF 是 20 世纪 50 年代发现的第一个神经营养因子(NT),其他 5 种 NT 仅存在于靶组织或微量存在于神经元。

### 1.2 NT 的受体

神经营养素家族有两类特异性受体,表现快速结合与解离的低亲和力  $P^{75}$  类受体和属于高亲和力的 Trk 族受体<sup>[2]</sup>。 $P^{75}$  受体能与所有 NT 结合,此结合有高度特异性。Trk 受体包括 TrkA、TrkB、TrkC<sup>[3]</sup>。每种神经营养素强有力地结合及激活三种同源 Trk 受体的其中一种<sup>[4]</sup>。NGF 的特异受体是 TrkA, BDNF 与 NT-4/5 的受体是 TrkB, NT-3 的特异受体是 TrkC; 而 NT-6 可能特异地与 TrkA 起作用<sup>[5]</sup>。研究表明 NT 通过复合物的胞吞作用结合 Trk 受体并引发多种生物反应<sup>[3]</sup>。

## 2 神经营养素家族及其受体在正常脊髓的分布

周长满等<sup>[6]</sup>的研究显示,正常大鼠中的 NGF 反应细胞主要位于脊髓灰质内的神经细胞和胶质细胞,灰质各层均有分布,以 IX 层的运动神经元和后角 I~III 层内的小神经细胞的密度较高。BDNF 的反应物质存在于脊髓前角大细胞、中间灰质及后角各型神经细胞的胞浆中,部分胶质细胞也出现 BDNF 的阳性染色。NT-3 的阳性细胞主要在脊髓前角的运动神经元、脊髓后角的 I~III 层内的小神经细胞及中间区内的中小型细胞和少量的神经胶质细胞<sup>[9]</sup>。

NT-4/5 的反应物质主要分布于脊髓灰质腹角和背角的神神经元和胶质细胞<sup>[6]</sup>。而 NT-6 是通过肝素结合在细胞表面和存在于细胞外基质中。NT 家族的特异性受体 TrkA、B、C 主要分布在灰质的神经元和胶质细胞,在神经纤维中分布不明显<sup>[5]</sup>。其中 TrkA 的阳性神经元在脊髓灰质中间带区集中于中央管附近及交感节前神经元的周围,但交感节前神经元并无 TrkA 的表达<sup>[7]</sup>; 而 TrkB 在脊髓前角运动神经元和白质内都有很高的表达。而且位于前角的 TrkB 的阳性细胞以小细胞和 IX 层边缘的中等细胞为主,在后角则以 V、VI 层为主,中间灰质的中等大小的细胞亦有染色<sup>[5]</sup>; TrkC 也同样在脊髓前角运动神经元的表达最明显<sup>[8]</sup>。钱雷敏<sup>[8]</sup>还发现在脊髓灰质及白质中均可见 Trk 阳性的胶质细胞,灰质中阳性细胞主要位于运动神经元胞体及小血管周围,表达强度为  $TrkB > TrkA > TrkC$ , 而白质中阳性胶质细胞主要位于神经纤维之间。

神经营养素家族的生物学活性大多数是通过其特异性高亲和力受体 Trk 受体介导的,而 Trk 受体在中枢神经系统有广泛的表达,且同一部位不同受体及同一受体在不同部位的表达程度存在差异<sup>[8]</sup>。

神经营养因子已被证明与发育过程的调节有关,并且在维持神经元存活及促进突触形成与成熟的同时还可诱导发育过剩的神经元的凋亡。这一系列的生物学效应是 NT 与相应的 Trk 及  $P^{75}$  在特定的时空上精细协调作用的结果。在 Trk 受体与  $P^{75}$  同时存在的条件下,相应 NT 可促进神经元的存活,而在缺少 Trk 受体的情况下,该 NT 可诱导神经元的凋亡。

## 3 脊髓损伤后神经营养素家族及其受体的表达

研究表明,在脊髓挤压伤后,腹、背角 NGF 阳性神经元数量在 3 周时均为最高,其含量在脊髓腹、背角神经元中的表达均有增加,提示 NGF 可能在脊髓损伤早期修复过程中发挥作用<sup>[9]</sup>。Dougherty 等<sup>[10]</sup>报道含 BDNF 免疫反应物的星形细胞和小胶质细胞/巨噬细胞数量在脊髓损伤后几小时在损伤部位明显增高,而且绝大多数少突胶质细胞在损伤后 1d 和 1 周时呈现 BDNF 免疫反应阳性; 在脊髓半横切损伤后,灰质中 BDNF 免疫反应阳性的星形细胞数量于 4 周时显著升高。而 NT-3 在脊髓挤压伤后,腹角的阳性神经元数在 1 周和 3 周时均增高; 背角 NT-3 阳性神经元数仅在 3 周时显著增加,而伤后 1d 和 1 周组则较正

第一作者简介: 男(1969-),副主任医师,医学硕士,研究方向: 脊柱脊髓损伤

电话: (0472)6955381 E-mail: hs13327180151@163.com

常显著减少;同时发现腹角的 NT-4 阳性神经元数在损伤后 1d、1 周和 3 周时均有显著增加,且随时间延长呈增加趋势;背角的 NT-4 阳性神经元数于 1 周和 3 周时也呈显著增加,并随时间延长有增加的趋势<sup>[6]</sup>。张峡等<sup>[11]</sup>报道,腹侧挤压伤后,脊髓组织自伤后 3h 开始,NGF、BDNF 及 NT-3 这 3 种神经营养素的表达开始增加,并于伤后 3d 达高峰,1 周内维持在相对较高的水平,2 周后表达明显减弱;其中以 BDNF 表达最多,NGF 表达最少;同时在伤后 3h 免疫组化染色显示,在神经元及胶质细胞均有神经营养素受体 TrkA、TrkB、TrkC 表达,在伤后 6h 时表达明显增加,1d 达高峰,3d 后开始减弱,主要位于运动神经元的胞膜表面,并在此水平持续约 1 周时间;伤后 2 周,神经营养素受体的表达下降至正常水平。3 种受体表达也存在一定差异,在伤后 3d 内,TrkB 及 TrkC 表达明显强于 TrkA 的表达,而在伤后 1 周时 TrkB 的表达明显高于其他两种受体的表达。刘锦波等<sup>[12]</sup>也报道脊髓损伤后 NGF、BDNF、NT-3 及其受体的表达有明显变化,其规律与张峡等<sup>[11]</sup>的研究基本一致。

罗伟等<sup>[13]</sup>报道脊髓半横断损伤后 NGF 的表达明显增多,于 1 周达高峰;而 BDNF 与 NT-3 均于 3d 达高峰,维持至 3 周且随时间呈下降趋势。陈熙等<sup>[14]</sup>报道在脊髓全横断后 NGF、BDNF、NT-3 的表达于 1d 开始增加,1 周时达高峰,尤以 BDNF 明显,NGF 和 NT-3 到 3 周时仍保持高水平,但 BDNF 在 2 周时恢复至正常水平。邓盘月等<sup>[15]</sup>报道大鼠脊髓全横断损伤后,在运动皮质中,BDNF 免疫阳性细胞主要位于皮质第 5 层,第 3、4、6 层也有少量阳性细胞,而且从 3d~3 周 BDNF 呈缓慢上升,于 4 周回到正常水平;TrkB 主要位于皮质第 5 层,在第 3、4、6 层只有少量出现,亦从 3d~3 周呈上升趋势。

Liebl 等<sup>[16]</sup>研究表明,脊髓中胸段挤压伤后,损伤邻近部位出现各种 Trk 受体的表达下调;而 King 等<sup>[17]</sup>发现半横切损伤后用免疫组化和原位杂交方法显示在损伤组织和健康组织的交界部位出现 TrkB 受体表达。聂笃余等<sup>[17]</sup>亦报道脊髓全横断损伤后,TrkA、TrkB 均出现短暂的表达上调,TrkB 于损伤 3d 后即出现表达上调,而 TrkA 的高水平表达出现较晚。脊髓损伤后不同部位 Trk 受体表达的变化不同:延髓(球)脊髓束神经元 TrkB 和 TrkC 的 mRNA 含量升高,而 TrkA 表达不明显<sup>[18]</sup>。但红核脊髓束的横断可引起红核内运动神经元 TrkB 的表达下调<sup>[19]</sup>,受损的大鼠脊髓外侧索下行神经纤维则表现出很强的 TrkC 样免疫反应性。

这些研究结果揭示,中枢神经系统损伤后,神经营养素及受体的表达存在着复杂的机制和不同的模式。神经损伤后切断了细胞从其靶器官或(和)远端的胶质细胞获得足够的神经营养素的来源,在脊髓损伤后可观察到 NGF、BDNF 等及其受体 mRNA 水平显著上调,并且通过自分泌或旁分泌方式产生 NTF,但其量远不足以维持其营养和存活,促进神经断端轴突再生<sup>[20]</sup>,而且也不能长时间持续增

加。随着病情发展,NTF 逐渐减少,长时间在有害因子作用下,NTF 的代偿不能维持,最终几乎失去表达能力,而且 NTF 代偿性上调的程度可能依赖于年龄、NTF 敏感神经元条件和病变的类型(急性或慢性)<sup>[2]</sup>,因而相继出现脊髓损伤后的不尽相同的严重后果。

## 4 脊髓损伤后再生修复研究中 NTF 的应用

### 4.1 外源性神经营养素的应用

Oudege 等<sup>[21]</sup>通过外源性 NGF 加神经移植的方法研究脊髓损伤后轴突再生,结果于脊髓损伤后 2 周内,NGF 组轴突生长长度超过对照组 3mm;并且证实,NGF 在脊髓损伤后能诱导感觉神经元和去甲肾上腺素能神经元纤维延伸,使局部运动神经纤维发芽。Norikoval 等<sup>[22]</sup>的研究表明,应用 BDNF 治疗能明显缩小脊髓损伤后造成的坏死囊腔,促使胆碱能神经元轴突再生及后肢运动功能的恢复。

通过大量将神经营养素作用在脊髓损伤部位观察神经组织再生修复的实验,多数学者<sup>[20]</sup>认为:神经营养素对脊髓损伤后再生修复作用可能是先与神经元细胞膜、胞浆轴膜上的受体特别是高亲和力受体产生高选择性的结合,继而调控神经细胞内相关的细胞因子与钙离子的重新分布,改善损伤区的微环境,使之适于损伤脊髓的恢复。

### 4.2 在胚胎脊髓移植中的应用

胚胎脊髓移植一直是脊髓损伤后再生修复研究的热点。Bregm 等<sup>[23]</sup>通过应用胎鼠脊髓纤维治疗成鼠颈、胸髓半横切损伤,使用 BDNF、NT-3、NT-4、CNTF 及赋型剂注入,结果神经营养素的运用提高了 5-HT 能神经元、非肾上腺素能神经元及皮质脊髓束轴突长入移植物。结果表明,外源性神经营养素与胚胎脊髓移植结合能对受损的成熟中枢神经系统神经元通过提高它们的轴突进入移植物而发挥神经营养作用。

### 4.3 在雪旺细胞移植中的作用

神经轴突再生不仅需要相关的细胞成份作为桥梁引导其生长,而且需要一个具有神经营养因子的微环境,促进神经再生<sup>[24]</sup>。雪旺细胞产生的 NTF 对神经元的存活具有协同作用,而且体外培养的雪旺细胞植入体内修复神经损伤时,能够形成类似在体雪旺细胞样有利于神经纤维再生的微环境。雪旺细胞在神经再生中的重要作用,为其成为组织工程学构建神经桥接物的种子细胞提供了理论基础。但其分泌有时效局限性,分泌量也极少。目前多通过与外源性神经营养素结合植入而发挥神经营养作用。

其次,还有上述组织细胞混合移植,植入脊神经节细胞、胶质细胞、成纤维细胞、肌母细胞等,均能起到一定的效果<sup>[20]</sup>。

### 4.4 在基因治疗中的应用

最近的研究表明基因治疗在动物实验方面取得了令人鼓舞的进展,但离临床应用还有很远的距离。目前转入的基因主要是 NTF 或其受体。受体细胞主要有 SC、成纤维细胞、肌母细胞、胶质细胞等。也有作者采用重组病毒直

接感染细胞而不通过受体细胞植入受损区域<sup>[20]</sup>。基因治疗的基本原理是转入调控再生的合适基因于适当的受体细胞中,使其得以表达,发挥生物学活性<sup>[25]</sup>。尽管目前国内外在脊髓损伤再生修复中所取得的结果均来自动物实验报告,而且同所有的基因治疗一样存在着免疫排斥反应,移植细胞不能长期存活及遗传修饰细胞转移基因的表达逐渐下降等问题,但仍具有十分诱人的应用前景<sup>[16, 26, 27]</sup>。

## 5 研究方向与前景

尽管对 NTF 家族及受体的表达及作用模式有了一定了解,对其在脊髓损伤及脊髓损伤后的再生修复中的作用也做了大量研究,但仍有诸多方面还不清楚。如各神经营养因子的协同作用及其时空差异性;NTF 与其他因子的相互作用机制;神经元与靶细胞之间、神经元与神经元之间、神经元与胶质细胞之间相互作用构成的神经网络系统的作用机制等<sup>[28]</sup>。对于这些机制的了解,将是未来主要的挑战。

## 6 参考文献

- Widenfalk J, Lundstromer K, Jubran M, et al. Neurotrophic factors and receptors in the immature and adult spinal cord after mechanical injury or kainic acid[J]. *Neurosci*, 2001, 21(10): 3457-3475.
- 方秀斌. 神经肽与神经营养因子[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 274-309.
- 盛树力. 临床神经科学前沿[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2002. 324-346.
- 陈宜张, 路长林. 神经发育分子生物学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2003. 4.
- 周长满, 杨青峰, 鄂玲玲, 等. 神经营养因子(NGF, NT-3, BDNF 及 CNTF)和受体 trkA, trkB, trkC 在正常大鼠脊髓神经元和胎鼠脊髓移植的免疫组织化学研究[J]. *神经解剖学杂志*, 1999, 15(1): 27-30.
- 李明, 王廷华, 路华, 等. 挤压伤后脊髓神经元 NT-3 和 NT-4 的表达变化[J]. *神经解剖学杂志*, 2003, 19(2): 173-176.
- 聂笃余, 邓盘月, 蔡维君, 等. 大鼠脊髓全横断后 TrkA 和 TrkB 在前角运动神经元的表达 [J]. *神经解剖学杂志*, 2002, 18(4): 324-328.
- 钱雷敏, 秦茹娟, 张志坚, 等. 神经营养素受体在幼年大鼠神经系统表达的特点[J]. *神经解剖学杂志*, 2003, 19(2): 169-172.
- 李明, 王廷华, 李兴国, 等. 挤压伤后脊髓神经元 NGF 表达的变化[J]. *神经解剖学杂志*, 2004, 20(1): 73-76.
- Dougherty KD, Dreyfus CF, Black IB. Brain-derived neurotrophic factor in astrocytes oligodendrocytes, and microglia/macrophages after spinal cord injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2000, 7(6): 574-585.
- 张峡, 王正国, 朱佩芳. 大鼠脊髓腹侧压迫损伤后神经营养素及受体表达的变化规律[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2001, 11(6): 347-350.
- 刘锦波, 唐天骊, 杨惠林, 等. 大鼠脊髓损伤后神经营养素及受体表达的变化[J]. *中国矫形外科杂志*, 2004, 12(18): 1404-1406.
- 罗伟, 许百男, 扬杰. 大鼠脊髓半横断损伤后神经生长因子、脑源性神经营养因子及神经营养因子-3 的表达变化[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(48): 128-129.
- 陈熙, 李素云, 曾敏恒, 等. 大鼠脊髓全横断损伤后不同时间神经营养素表达的变化 [J]. *湖南师范大学学报医学版*, 2006, 3(3): 11-13.
- 邓盘月, 聂笃余, 蔡维君, 等. 大鼠脊髓全横断后脑源性神经营养因子及其高亲和力受体在运动皮质表达的变化[J]. *解剖学报*, 2002, 33(6): 581-586.
- Liebl DJ, Huang W, Young W, et al. Regulation of Trk receptors following contusion of the rat spinal cord [J]. *Exp Neurol*, 2001, 167(1): 15-26.
- King VR, Bradbury EJ, Memabon SD, et al. Changes in truncated TrkB and p75 receptor expression in the rat spinal cord following spinal cord hemisection plus neurotrophin treatment [J]. *Exp Neurol*, 2000, 165(2): 327-341.
- King VR, Michael GJ, Joshi RK, et al. TrkA, trkB, and trkC messenger RNA expression by bulbospinal cells of the rat[J]. *Neuroscience*, 1999, 92(3): 935-944.
- Novikova LN, Novikov LN, Kellerth JO. Survival effects of BDNF and NT-3 on axotomized rubrospinal neurons depend on the temporal pattern of neurotrophin administration [J]. *Eur J Neurosci*, 2000, 12(2): 776-780.
- 张正丰, 廖维宏. 实验性脊髓再生研究进展[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2000, 10(5): 306-307.
- Oudega M, Hagg T. Nerve growth factor promotes regeneration of sensory axon into adult rat spinal cord [J]. *Exp Neurol*, 1996, 140(2): 218-219.
- Novikova L, Novikov L, Kellerth JO. Brain-derived neurotrophic factor reduces necrotic zone and supports neuronal survival after spinal cord hemisection in adult rat [J]. *Neurosci Lett*, 1996, 220(3): 203-206.
- Bregman BS, Mcatee M, Dai HN, et al. Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat [J]. *Exp Neurol*, 1997, 148(2): 475-494.
- 丁文龙, 汪洋. 体外培养的大鼠 Schwann 细胞神经生长因子和脑源性神经营养因子的表达 [J]. *解剖学杂志*, 2003, 26(6): 568-569.
- 任宪盛, 杨有赓, 冯军. 脊髓损伤的基因治疗[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2001, 11(4): 233-235.
- 廖维宏. 脊髓损伤基础研究的现状与展望[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2000, 10(5): 260-261.
- 郭国际. 脑脊髓血管病基础与临床[M]. 北京: 科学出版社, 2003. 506-507.
- 杨青峰, 范明, 万选才. 神经营养因子的作用模式[J]. *第三军医大学学报*, 2000, 22(4): 400-402.

(收稿日期: 2007-01-10 修回日期: 2007-03-14)

(本文编辑 彭向峰)