

神经生长因子 NGF 的神经元保护作用机制及临床应用研究现状

于 洋, 洪仕君, 赵丽萍, 李利华
(昆明医科大学法医学院, 云南 昆明 650500)

[摘要] 神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 是神经营养因子家族中发现最早的一类生长因子, 它对维持神经元的存活、生长、分化以及损伤后修复与再生有非常重要的作用。对近年来关于 NGF 的研究进展加以综述。

[关键词] 法医毒理学; 神经营养因子家族; 神经生长因子; 甲基苯丙胺

[中图分类号] R741 [文献标识码] A [文章编号] 2095 - 610X (2014) 02 - 0148 - 04

Advances in Studies on Neuronal Protective Mechanisms of Nerve Growth Factor and It's Clinical Application

YU Yang, HONG Shi - jun, ZHAO Li - ping, LI Li - hua
(School of Forensic Medicine, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] Nerve growth factor (nerve growth factor, NGF) is the earliest discovered growth factor in neurotrophic factors, it has a very important role in maintaining the survival, growth, differentiation, repair and regeneration after injury of neurons. In this paper, research progress in recent years on NGF are reviewed.

[Key words] Forensic toxicology; Neurotrophic factor; Nerve growth factor; Methamphetamine

神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 是神经营养家族中发现最早的一类生长因子, 它对维持神经元的生长、发育、繁殖起着至关重要的作用。本文以 NGF 为研究主线, 就 NGF 的来源及生物学活性, 与神经细胞凋亡的关系, 临床研究现状以及在新型毒品甲基苯丙胺依赖机制中的研究等诸多方面加以概述, 旨在为相关研究和应用提供参考。

1 神经营养因子家族 (NTF) 概述

神经营养因子家族 (neurotrophic factor, NTF) 是神经因子的一种, NTF 主要包括神经生长因子 NGF、脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养因子 3 (neu-

rotrophic factor 3, NT3)、神经营养因子 4/5 (neurotrophic factor 4/5, NT4/5) 等^[1]。它们均为碱性蛋白质^[2], 基因结构相似, 现已发现的几种神经营养因子均可与低亲和力 P75NTR 型受体相结合发挥其相应作用。此外, NGF 的特异性受体为酪氨酸激酶 A (TrkA), BDNF 的特异性受体为酪氨酸激酶 B (TrkB), NT3 可以与酪氨酸激酶 C (TrkC) 结合, NT4 可以与 TrkA、TrkB 结合, Trk 受体家族分离出的这三种受体均为高亲和力。

2 NGF 及其生物学活性

神经生长因子 (NGF) 又称神经诱向因子, 指从生物体组织中提取的能够维持神经细胞生长繁殖发育作用的生物活性分子。NGF 与神经细胞的存活、生长等诸多因素密切相关, 具有神经元营养因子和促神经凸起因子双重作用, 所以对维持神经系

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81160380)

[作者简介] 于洋 (1985~), 男, 吉林珲春市人, 在读硕士研究生, 研究方向法医临床学。

[通讯作者] 洪仕君. E-mail: kmhongshijun@126.com

统的发育以及正常功能的表达作用不可替代。

NGF的首次发现是在上世纪五十年代,因为其卓越的贡献,意大利科学家 Levi-Montalcini R 因此获得了诺贝尔奖。从此对 NGF 的研究在各学科各领域大量开展。NGF 是由 118 个氨基酸 (Amino acid) 组成,与人神经生长因子结构高度相似。NGF 效应均由其受体介导,NGF 与效应细胞的膜受体结合,延轴浆逆向转运,经轴突至细胞核,引起生物学效应^[3]。

NGF 的生物学活性分为 2 种:一是使 N 细胞存活率升高的活性;二是促 N 细胞突触生长的活性。具体表现为以下几方面:(1)促进神经元分化;(2)维持神经元的存活、生长、发育,尤其是对多巴胺能神经元的保护作用,已被有关动物实验所证明^[4];(3)促进神经元的修复。成年 Rat 切断坐骨神经后,即刻便在坐骨神经断端吻合口处观察到内源性 NGF 大量表达。它们源于损伤附近的许旺氏细胞 (Schwann cell),损伤后 Schwann cell 即分泌出多种活性修复物质其中就包括 NGF,此现象表明 Schwann cell 合成的 NGF 参与了神经元的再生修复过程^[5];(4)减慢神经元死亡时间,对神经系统通路进行重建。NGF 可有效的防止和延缓神经元的死亡,在损伤后第一时间对神经环路进行重建^[6];(5)抑制肿瘤细胞的恶性分裂;(6)NGF 可促进创口的表皮细胞、真皮细胞的生长,使其修复愈合。

3 NGF 的生物学作用及其机制研究

NGF 经过与相应受体特异性的结合发挥生物学功效。NGF 的受体现如今研究所能确认的为 TrkA (高亲和力)、p75NTR (低亲和力) 2 种。p75NTR 与 NGF 相结合并没有出现明显的细胞学反应,考虑可能与 p75NTR 为一种跨膜糖蛋白有关^[7]。NGF 主要是通过 TrkA 受体的结合发挥其细胞学作用。TrkA 由 3 部分组成:即细胞外部(能够特异性辨认和识别神经生长因子)、跨膜部及含 Trk 的胞质部。当 TrkA 与 NGF 结合时,信号传导通路便瞬间被激活,开始产生和发挥其生物学作用。Boissiere 等用形态学的方法检测到人类脑几乎所有神经元都有 TrkA 的表达^[8]。有文献报道用 Rat 做 model,采用原位杂交实验法和免疫组化法进行检测,用 DAB 显色试剂盒进行相应组织的显色结果可见大量 TrkA mRNA 表达于大鼠中脑边缘神经系统^[9]。还有学者同样采用原位杂交实验技术,在新生 SD 大鼠(出生当天)对基底前区胆碱能神经元

进行相应显色,显微镜观察结果没有检测到 TrkA 阳性表达,随着 Rat 年龄不断增长其酪氨酸激酶 A 的表达量逐渐增加,到 1 个月时达到最大值。这种不同年龄段 TrkA 量的变化与相应脑组织 NGF mRNA 表达变化成正比例关系^[10],提示胆碱能神经系统的发育受到 NGF 的调控和影响。

3.1 NGF 与神经细胞凋亡的关系

NGF 在神经系统生长发育过程中的地位无可替代。它可以促进已受损的神经细胞修复后重新生长,减慢或者阻止细胞凋亡的过程。脑缺血实验,表明 NGF 有助于损伤脑细胞的恢复。NGF 与受体结合后激活受损神经细胞,调节神经细胞代谢功能扩张细小血管,改善脑部神经细胞生存环境,有效遏制脑细胞过早过快死亡。利用 Rat 实验证实,NGF 能显著减轻和缓解坏死脑细胞的凋亡及凋亡细胞的数量,减轻脑损伤。NGF 不仅促进细胞的存活量,改善细胞生长环境,而且可以在不同时期受损神经元的修复和存活中发挥作用,且可通过新的神经转录和蛋白质合成、影响胶质细胞(促进分泌其他神经营养因子)和促进血管细胞增生来完成^[11,12]。20 世纪 70 年代国外学者通过动物试验证明外源性的神经营养因子对脑中枢神经系统可能有一定的保护作用。随着时代的不断发展科技的不断进步,天然 NGF 的开发伴人 β -NGF cDNA 克隆获得成功,外源性 NGF 药物的开发和使用渐渐从不可能变为可能。相关研究大多是采用小鼠颌下腺来源的 NGF 进行的^[13]。NGF 是一类既对正常神经细胞进行保护和营养,又对受损神经元进行修复和处理^[14]的营养因子。外源性 NGF 应用机理是通过抑制神经细胞的凋亡,及时补充内源性 NGF 不足,提高受损脑组织神经元存活的数目等方式达到对脑的保护作用,这对临床治疗可能有借鉴意义。众多科研成果证明 NGF 具有广阔的临床应用价值。

4 NGF 的临床应用研究

4.1 NGF 与阿尔茨海默氏病

阿尔茨海默氏病 (alzheimer's disease, AD), 俗称老年痴呆,随着年龄的不断增长,其临床表现越发明显,呈慢性进行性。具体表现为记忆力不断衰退、认知功能障碍、智能低下(随着年龄的增长,智力逐渐趋于幼儿水平)、语言模糊表达障碍等。临床研究普遍认为 AD 的严重程度与胆碱能神经元的缺失密不可分。董文心的研究表明 NGF 主要定位于海马、皮层和基底前脑,而且选择性的作用于胆碱能神经元通路,这就为 AD 的临床治疗提

供了可能. 基底前脑的胆碱能神经元把神经纤维投射到皮质和海马皮层下, 这些 N 纤维细胞含有许多 NGF 受体, 可使 Ach 合成显著增加. AD 患者脑内这些细胞明显丢失, 导致 Ach 的合成量大幅减少, 最终导致了胆碱能神经功能的减退甚至缺失. 但此时仍有相当大量的细胞尚存活, 因而促进这些细胞的功能对治疗 AD 具有重要意义. 因此, 增加 NGF 的量 (外源性补充自身缺失), 促进内源性 NGF 的分泌, 可保护和增强神经元的活性, 延缓或抑制 AD 神经元的退行性改变, 促进神经元生长和保护神经元免受有害因子的损伤, 改善认知功能.

4.2 NGF 与新生儿缺血缺氧性脑损伤 (hypoxic - ischemic brain damage, HIBD)

在外周应用 NGF 治疗新生儿缺血缺氧性脑损伤时, NGF 可否顺利通过血脑屏障成为治疗关键环节. Rosengart 给小鼠静脉注射 NGF, 发现 NGF 作为大分子蛋白质, 实际上不能通过血脑屏障^[15]. Cuevas 则报道, 经外周途径给药后 NGF 可明显防治癫痫诱发的中枢神经系统变性的损害^[16]. 国内外研究表明, 在新生动物 HIBD 时, NGF 是可以通过血脑屏障, 其机制如下: (1) 脑血管内皮细胞膜上存在一类特有的其他组织内皮细胞膜上并不具有的蛋白质, 这些蛋白质能够与循环系统中极少数大分子蛋白质特异性结合, 通过内吞过程完成跨膜细胞转运. Pardridge 等的研究小组目前已发现像这样的蛋白质 19 种, 他们预计起码有 50 种这样的蛋白质^[17], 并提示 NGF 可能含有这样的转运蛋白受体; (2) 新生幼鼠血脑发育不完整, 通透性较成年鼠高; (3) 众多实验证明, 缺氧条件下血脑屏障通透性较有氧条件高^[18]. 以上结论为外源性 NGF 应用于新生儿 HIBD 的治疗提供了可能.

4.3 NGF 在新型毒品甲基苯丙胺依赖机制中研究

新型毒品甲基苯丙胺 (methamphetamine, MA) 又称“冰毒”, 现在是全球毒品滥用的新趋势, 滥用率仅次于大麻, 排在第二位, 且逐年递增. 长期使用 MA 能够对纹状体多巴胺能神经元造成损害, 其损害主要表现为一些神经毒性作用.

已有的研究结果提示, 实验动物在使用 MA 后, 出现伏隔核、纹状体、前额叶皮质、海马、黑质、中脑腹侧被盖等中脑边缘相应脑区多巴胺及其代谢产物含量降低, 提示 MA 的毒性作用与中脑边缘多巴胺系统有关^[19]. 长期服用苯丙胺类兴奋剂后, 可以减少枕叶皮质、海马、下丘脑等一些特定的大脑区域的 NGF 因子水平, 停止使用苯丙胺类兴奋剂后, NGF 水平升高, 这表明 NGF 可能是甲

基苯丙胺成瘾的标志, 在甲基苯丙胺依赖患者中, 神经营养因子发挥了相应的作用.

还有一些研究认为, NGF 及其受体表达的明显增强可能在神经损伤的保护中起着重要作用. 大鼠伏隔核内直接注射 NGF 可以阻止慢性 MA 处理所引起的神经元萎缩和一些生物化学改变. 缺乏 NGF 的 MA 依赖小鼠其戒断症状明显削弱, 而表达 NGF 的 MA 依赖小鼠恢复了戒断症状^[20]. 上述研究说明甲基苯丙胺依赖和戒断时前脑皮质、纹状体内 NGF 阳性神经元表达均明显增多, 尤以 MA 戒断时表达最多. 因此, 推测 MA 依赖和戒断时造成神经系统损伤后, NGF 与 TrkA 受体结合发挥作用, 在前脑皮质、纹状体神经元的保护过程中有重要意义. 但是这一保护作用效应通过何种途径引起还有待进一步研究. Zoubaa 等的研究结果则提示, NGF 介导的神经元轴突外向性生长可以被二氧基苯丙胺 (Dioxyamphetamine) 预处理所抑制, 并且这种对 NGF 介导的神经分化作用的阻断作用, 其机制并不是抑制细胞外信号调节激酶^[21]. 鉴于 MA 滥用的日益严重, NGF 等相关神经营养因子在甲基苯丙胺依赖机制中的作用有待进一步深入研究.

5 展望

随着近年来对 NGF 的生物学活性、与细胞凋亡的关系及其作用机制的进一步阐述, 在临床应用、疗效评估等各方面的深入研究, NGF 作为一种药物应用于临床治疗神经系统疾病和毒品依赖, 将展现出更加广阔的应用前景和应用价值.

[参考文献]

- [1] CONNOR B, DRAGUNOW M. The role of neurotrophic growth factors in neurodegenerative disorders of the human [J]. *Brain Res Rev*, 1998, 27(1): 1 - 39.
- [2] 王廷华, 陈彦红, 冯忠堂. NGF, BDNF, NT3, 和 GDNF 在背根节不同神经元的免疫组织化学证据 [J]. *神经解剖学杂志*, 2001, 5(1): 23 - 25.
- [3] MUTOH T, GUROFF G. The role of phosphorylation in the action of nerve growth factor [J]. *BioFactors (Oxford, England)*, 1989, 2(2): 71 - 76.
- [4] DWIVEDI Y, MONDAL A C, HOORIIYAH S. Suicide brain is associated with decreased expression of neurotrophins [J]. *Biological Psychiatry*, 2005, 58(4): 315 - 324.
- [5] ELIZABETH O, JOHNSON, ARISTIDES B, et al. Regeneration and repair of peripheral nerves [J]. *Injury*, 2005, 36(4):

- 524 – 529.
- [6] SILVIO VARON, CONNER J M. Nerve growth factor in CNS repair [J]. *Journal of Neurotrauma*, 1994, 11 (5):473 – 486.
- [7] ANTON E S, WESKAMP G, REICHARDT L F, et al. Nerve growth factor and its low affinity receptor promote Schwann cell migration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91 (7): 2795 – 2799.
- [8] BOISSIERE. Lysine 63 Polyubiquitination of the nerve growth factor receptor trkA directs internalization and signaling [J]. *Molecular Cell*, 2005, 20(2):301 – 312.
- [9] SHERRI L, RANKIN, CLIFFORD S. TrkA NGF receptor plays a role in the modulation of p75NTR expression [J]. *Neuroscience Letters*, 2005, 383(3):305 – 310.
- [10] SCHOR N F. The p75 neurotrophin receptor in human development and disease [J]. *Progress in Neurobiology*, 2005, 77(3):201 – 214.
- [11] 栗佐, 马波, 周正, 等. 血脑屏障对碱性成纤维细胞因子通透性的实验研究 [J]. *中国新生儿科杂志*, 1999, 14(3):116 – 117.
- [12] 汤泽中, 虞人杰. 缺氧缺血性脑细胞凋亡的干预治疗 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2000, 15(6):375 – 376.
- [13] 于肇英. 神经生长因子的研究 [J]. *生理科学进展*, 1988, 19(3):226–227.
- [14] HEUNG M W, ELLISON B, SEAN F. Nerve growth factor and corneal wound healing in dogs [J]. *Experimental Eye Research*, 2002, 80(5):633 – 642.
- [15] ROSENGART T K, KUPERSCHMID J P, MACIAG T, et al. Pharmacokinetics and distribution of heparin-binding growth factor in the rat [J]. *Circulation Research*, 1989, 64 (2):227 – 234.
- [16] CUEVAS P, GIRNENE Z, GALLEGO G. Antiepileptic effects of acidic fibroblast growth factor examined in kainic acid mediated seizures in the rat [J]. *Neuroscience Letters*, 1996, 203(1):66 – 68.
- [17] FELIX SCHLACHETZKI, CHUNNI ZHU, WILLIAM M. PARDRIDGE. Expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) at the blood-brain barrier [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2002, 81(1):203 – 206.
- [18] 崔秀玉, 吕国蔚. 脑缺血和脑缺氧适应时能量代谢变化 [J]. *首都医科大学学报*, 1996, 17(2):153 – 155.
- [19] 李学峰, 邱平明, 金贺, 等. 甲基苯丙胺对相关脑区的神经毒性作用 [J]. *解剖学杂志*, 2007, 30(1): 63 – 65.
- [20] AKBARIAN S, BATES B, LIU R J, et al. Neurotrophin-3 modulates noradrenergic neuron function and opiate withdrawal [J]. *Mol Psychiatry*, 2001, 6(5):593 – 604.
- [21] ZOUBAA S, KONRAD R, PIONTEK G, et al. Inhibition of NGF-induced neurite outgrowth of rat pheochromocytoma cells (PC12) following administration of dioxamphetamine [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 476(3):113 – 118.

(2013 – 12 – 14 收稿)

(上接第 147 页)

- [14] JAESCHKE H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 284(1): G15 – G26.
- [15] SELZNER N, RUDIGER H, GRAF R, et al. Protective strategies against ischemic injury of the liver [J]. *Gastroenterology*, 2003, 125(3): 917 – 936.
- [16] SONNENDAY C J, WARREN D S, COOKE S K, et al. A novel chimeric ribozyme vector produces potent inhibition of ICAM-1 expression on ischemic vascular endothelium [J]. *J Gene Med*, 2004, 6(12):1394 – 1402.
- [17] LI Q, HAN L P, LI Z H, et al. Salvianolic acid B alleviates the disruption of blood-brain barrier in rats after cerebral ischemia-reperfusion by inhibiting MAPK pathway [J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2010, 45(12):1485 – 1490.
- [18] 赵鸽, 陈正春, 申新, 等. P38MAPK 信号通路在瑞芬太尼或缺血预处理减轻大鼠肝脏缺血再灌注损伤中的作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2012, 32(1):99 – 102.
- [19] 王雨, 田伏洲, 汤礼军, 等. 离体肝脏冷保存再灌注期间 p38MAPK 的表达与活性变化规律 [J]. *中华外科杂志*, 2002, 40(11):879.
- [20] CHEN T H, CHANG C F, YU S C, et al. Dipyridamole inhibits cobalt chloride-induced osteopontin expression in NRK52E cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 613(1–3): 8 – 10.

(2014 – 01 – 02 收稿)