

## 睫状神经营养因子的“代谢因子潜能”

刘庆山<sup>1,2</sup>综述 杜冠华<sup>2\*</sup> 审校

(1. 中国药科大学, 江苏 南京 210009; 2. 中国医学科学院/中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

**摘要:** 介绍了睫状神经营养因子(CNTF)的生物学特性和生理学作用, 综述了国外近年来在 CNTF 的“代谢因子潜能”方面的研究进展。一方面, CNTF 调节核呼吸因子、线粒体解偶联蛋白的表达和含量, 加快能量代谢; 另一方面, CNTF 影响下丘脑摄食中枢, 通过复杂的瘦素样机制抑制能量摄入降低动物的体重。本文对 CNTF 的作用机制、特点、应用前景方面的进展和问题进行了探讨, 认为 CNTF 通过加快能量代谢和抑制能量摄入两条途径而发挥减肥作用, 具有极好的研究价值和良好的应用前景。

**关键词:** 睫状神经营养因子; 能量代谢; 代谢综合征; 糖尿病; 肥胖

**中图分类号:** R151.1; R972+.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2006)02-0100-04

肥胖作为一种内分泌型代谢疾病, 与冠心病、高血压、高脂血症、糖尿病、心脑血管意外等的发生和发展关系密切。相对于饮食疗法、运动疗法、手术疗法等, 药物减肥是最简便的方法, 然而, 目前尚缺乏能够长期使用的有效药物。相对有效的减肥药物只有西布曲明(sibutramine)、奥利司他(orlistat)等, 而且现有减肥药物存在着价格昂贵、副作用大及停药后易反弹的缺点, 所以新型减肥药物的研究和发现具有重要意义。

睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)因最初从鸟的睫状神经节中提取而得名。国内外对 CNTF 在神经系统中的作用已经有了较系统的研究, 近年来又发现 CNTF 能促进糖、脂代谢, 并且调节能量平衡和摄食行为, 可以明显影响物质代谢和能量代谢, 后面的这些作用称为“代谢因子潜能”。随着肥胖、糖尿病、高血脂、动脉粥样硬化等代谢功能紊乱类疾病的流行, CNTF 对能量代谢的调节作用显得更有意义。

### 1 CNTF 及其受体的生物学特性

#### 1.1 睫状神经营养因子的主要特性

人类 CNTF 蛋白由 200 个氨基酸组成, 由 4 个  $\alpha$ -螺旋束组成分子的骨架结构。CNTF 属于白细胞介

素(IL)-6 家族, 该家族包括 IL-6、IL-11、白血病抑制因子(LIF)、制瘤素 M(OSM)、CNTF 和 心脏调理素-1(CT-1)。它们共享糖蛋白(gp)130, 又称为 gp130 细胞因子家族<sup>[1]</sup>。

CNTF 对多种靶神经元和神经胶质细胞有促存活作用, 局部用药可以加快外周神经的损伤修复, 故又称为抗损伤因子和多功能因子<sup>[2]</sup>; 视上核和室旁核大细胞性神经元损伤后, 损伤处 CNTF 表达提高, 蛋白含量升高, 活性增强, 促进神经元损伤的修复<sup>[3]</sup>; CNTF 还有促分化作用, 对神经元和胶质细胞的分化起重要作用。

#### 1.2 CNTF 受体的分子结构和功能

人类 CNTF 受体(CNTFR)为 372 个氨基酸残基组成的 gp, 相对分子质量(Mr)为 52 ku。由三部分组成: 睫状神经营养因子受体  $\alpha$ (CNTFR $\alpha$ )、白血病抑制因子受体(LIFR) $\beta$  和 gp130。其中 CNTFR $\alpha$  位于胞外, 通过糖苷键与细胞膜的相联, 是 CNTF 的高亲和力部位, 接受 CNTF 的信息, 然后通过 LIFR $\beta$  和 gp130 实现跨膜信号转导。

CNTFR 分布广泛, 在中枢神经系统(CNS)和外周神经系统(PNS)都有表达。在中枢以小脑表达水平最高, 其次为后脑、中脑、丘脑、下丘脑、纹状体、海马、皮质和嗅球, 脑脊液中也存在可溶性 CNTFR $\alpha$  亚基, 在外周组织中以骨骼肌表达水平最高, 其次为皮肤、肺、肠、肾、肝、脾和胸腺。CNTF 对各种属的成熟动物肠神经系统有相似的保护作用, 有利于功能的维持<sup>[4]</sup>。最近, Beltran 等<sup>[5]</sup>发现 CNTFR $\alpha$  在感光细胞中有表达, 丰富了 CNTF 的作用部位。

收稿日期: 2005-09-26

作者简介: 刘庆山(1971-), 男, 博士研究生, 研究方向: 药理学和新药研发, Tel: 025-85478004, E-mail: nlqsh@163.com

\* 通讯作者: 杜冠华, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 药理学和新药研发, Tel/Fax: 010-63165184, E-mail: DUGH@imm.ac.cn

## 2 CNTF 的代谢因子潜能和减肥作用

CNTF 在临床上用于治疗脊髓侧索硬化症时,患者出现体重下降。这种副作用引起研究者的重视,认为 CNTF 也许能够成为一个成功的减肥药物,并对减肥效果进行了深入研究。

研究表明,皮下注射 CNTF 首先减少体内脂肪含量,CNTF 可以促进体内脂肪组织分解,并刺激肝脏甘油三酯的分泌。CNTF 可以促进脂肪分解代谢,血药浓度接近  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,能够引起脂肪过度分解导致极度消瘦,还可以分解骨骼肌,导致过度分解作用。Nonogaki 研究了 CNTF 对正常大鼠的作用,给药后剂量依赖性地增加血清甘油三酯含量,2 h 达到峰值,而对血清胆固醇和血糖无影响。如果干扰跨膜信号转导途径,可以抑制 CNTF 导致的脂肪组织迅速分解,部分地抑制 CNTF 诱导的高甘油三酯血症。

CNTF 药效较强,且作用持久,停药后不易反弹。Blucher 等<sup>[6]</sup>对肥胖的 C57BL/6J 小鼠皮下注射重组的 CNTF  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,给药 3 d,结果第 5 天体重下降 13%,而且效果持久,自由进食后体重不易反弹,停药后第 26 天体重才恢复到给药前水平。对照组小鼠通过限制进食减体重,正常进食后体重很快提高,第 15 天体重就能恢复到进食前水平。在一项随机、双盲临床试验中接受该治疗 8 周后受试者,停药 4 周未见体重反弹。目前,美国 Regeneron 制药公司正在进行 III 期临床试验,CNTF 上市后估计年销售额将会超过 10 亿美元。

## 3 CNTF 减肥的机制

CNTF 的减肥机制引起研究者的兴趣,研究结果显示,CNTF 通过两条途径减肥:(1)CNTF 通过核呼吸因子(NRF)-解偶联蛋白(UCP)-氧化磷酸化解偶联(OPUC)途径,加快线粒体能量代谢速度和解偶联速度,使线粒体通过呼吸作用产生的能量以热量的形式消耗掉,所以脂肪含量下降;(2)CNTF 还可通过瘦素(leptin)样途径抑制食欲,控制热量摄入减轻体重。

### 3.1 CNTF 的 NRF-UCP-OPUC 途径

早在 1993 年,Shapiro 等发现皮下注射 CNTF 可以引起家兔体温升高,且温度升高有剂量依赖性;12 min 后开始升高,发热持续时间也有剂量依赖性,实验未引起 IL-1、肿瘤坏死因子(TNF)和 IL-6 等内源性致热原的产生,作者没有继续研究其致热的机制,

不能确定 CNTF 是内源性致热原。现在看来,Shapiro 的实验结果应该用 NRF-UCP-OPUC 途径解释。

该途径包括几种成分:过氧化物酶增殖体激活受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )、UCP-1、NRF、棕色脂肪组织(BAT)等环节。UCP-1 主要与棕色脂肪的线粒体内膜和膜外质子回流生热有关;BAT 主要存在于肩胛骨之间皮下、腋窝、肾脏周围等处,与热量的生成和体温调节有关。PGC-1 其实是通用型辅激活因子,可以激活 PPAR $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、甲状腺受体和视黄醇 X 受体等,进而调节核基因的转录、NRF 的表达、线粒体转录因子 A(mtTFA)的表达等一系列生物学效应。

NRF 是一类调控 nDNA 和 mtDNA 转录和复制的核调节因子,包括 NRF-1 和 NRF-2 两种亚型。NRF-1 通过其 DNA 结合区结合并激活基因中的特定位点而启动转录。对呼吸链的表达及 mtDNA 的转录与复制起重要的调节作用。

以上几种成分与能量代谢和热量产生有关,形成一套有机整体。激素、神经递质、运动、衰老等因素都可影响 NRF 的表达,进而影响线粒体呼吸链、UCP 的表达和蛋白含量<sup>[7,8]</sup>。UCP-1 受 NRF、mtTFA 和 PPAR $\gamma$ -1 的调控。线粒体的发生需要精密的调控,呼吸链多组分各亚基、UCP 和 ATP 合成酶各亚基等需要核基因组和线粒体基因组共同表达才能完成,核基因组编码 90% 的亚基蛋白,线粒体基因组编码 10% 的亚基蛋白,如果各组分表达失衡会引起细胞功能障碍。CNTF 可能通过提高 PGC-1、NRF 和 mtTFA 的表达,同时促进核基因组和线粒体基因组的表达。

Blucher 等<sup>[6]</sup>的实验发现,CNTF 对正常的肥胖小鼠减肥效果很好,但是对缺乏 UCP-1 基因的小鼠减肥效果较差,说明 UCP-1 是减肥靶点之一,部分通过调节 BAT 的 UCP-1 的表达途径实现减肥。

### 3.2 CNTF 的瘦素样减肥机制

瘦素是来源于脂肪组织的控制体重的细胞因子,所谓瘦素机制是指脂肪组织产生的瘦素进入 CNS 后,通过一系列中间途径,抑制神经肽 Y(NPY)的分泌而抑制食欲<sup>[9]</sup>。NPY 是胰多肽家族成员之一,在 CNS 中高度表达,调节多种生理功能。迄今为止,它是摄食的最强有力的刺激因子<sup>[10,11]</sup>,作用于饮食调节关键环节,具有中心作用。饥饿时,下丘脑弓状核神经元合成 NPY 增多,传递给室旁核,作用于饱食中枢,刺激进食。

CNTFR $\alpha$  亚基的基因序列和瘦素受体相似,

CNTF 和瘦素都激活神经细胞相似的信号转导及转录活化蛋白(STAT)途径,而且 CNTFR $\alpha$  亚基的 mRNA 表达极似小鼠下丘核群的瘦素受体 mRNA 表达;实验表明,CNTF 和瘦素全身给药均引起弓状核 Tis-11 初级反应基因表达,揭示两种细胞因子均通过下丘脑的饱食中枢发挥作用。CNTF 进入中枢可以减少 NPY 产生,从而抑制食欲减少摄食。Bluher 等<sup>[6]</sup>的研究也发现,CNTF 减肥时伴随下丘脑 NPY 和刺鼠基因相关蛋白表达下降。

Sleeman 等<sup>[12]</sup>报道了 CNTFAx15 对 db/db 小鼠 2 型糖尿病模型的作用,研究结果发现,通过瘦素样机制减低体重。瘦素抵抗的 db/db 小鼠皮下注射 CNTFAx15 使糖尿病指标的明显改善(血糖水平、胰岛素敏感性、胆固醇和游离脂肪酸)。研究认为,其原因是 CNTFAx15 增加代谢率和消耗,并减少肝脏脂肪变性,同时提高肝脏对胰岛素的敏感性有关。另一方面,CNTF 可以减少肝脏脂肪合成和堆积,这是通过调节肝脏基因表达,抑制肝脏酰基辅酶 A 的基因表达,降低酰基辅酶 A 去饱和酶活性实现的,瘦素也可抑制 ob/ob 小鼠肝脏酰基辅酶 A 基因表达,两者机制基本一致。

研究发现,缺乏功能性瘦素的 ob/ob 小鼠注射 CNTF 后改善了肥胖、饮食过量和高胰岛素血症。CNTF 还能使缺乏功能性瘦素受体的 db/db 小鼠和饮食导致的肥胖小鼠改善有关指标,所以 CNTF 通过独立于瘦素外的机制减肥,与瘦素有协同效应。CNTF 和瘦素的作用途径又相互独立,有助于治疗顽固性瘦素抵抗型肥胖。

Kokoeva 等<sup>[13]</sup>发现了有趣的现象,中枢给药可以使摄食中枢神经细胞增殖,新生神经细胞表现出调节能量平衡功能的神经元特性,同时导致短期和长期的减肥作用。如果给药同时给予有丝分裂阻滞剂,具有取消摄食中枢的神经增殖作用。消除了 CNTF 的远期减肥作用,但没有取消短期减肥作用。提示 CNTF 导致的成年小鼠下丘脑神经发生与其减肥作用有关,而且这种神经发生还有未知的生理机制。估计 CNTF 在中枢发挥着复杂的神经发生和摄食调节作用,单纯的瘦素机制不能完全解释,需要进一步地深入研究。

#### 4 CNTF 和物质代谢互相影响

CNTF 不仅可以影响物质和能量代谢,反过来物质代谢和能量代谢也对体内 CNTF 含量产生影响。

Chaldakov 等<sup>[14,15]</sup>曾经报道代谢综合征和急性冠脉综合征患者的血液循环的多种 NTF, CNTF, LIF 和骨形态发生蛋白(BMP)含量紊乱, CNTF 和 NTF 不足可能导致肥胖症及其相关的代谢综合征、2 型糖尿病、动脉粥样硬化, CNTF 的补充有利于这类疾病的治疗。

#### 5 结语

CNTF 不仅可以影响靶神经元和神经胶质细胞的分化和存活,促进损伤神经的修复,而且通过增加能量代谢和瘦素样途径减肥。目前,其减肥途径还有很多细节尚不清楚,需要进一步研究。

总之, CNTF 具有作用持久、不易反弹、副作用少等优点,具备现有减肥药不可比拟的优势。CNTF 也有弱点:如用药过量会影响蛋白质的合成,造成肌肉总量减少,可能不利于骨骼肌对血糖的缓冲作用;作为一种蛋白质,长期用药会导致体内产生抗体,降低药效,这个问题需要深入研究。总之, CNTF 是一个有特点的高效减肥药物,有继续深入研究和开发的价值。

#### 参 考 文 献

- [1] Zvonic S, Baugh JE Jr, Arbour-Reily P, et al. Cross-talk among gp130 cytokines in adipocytes[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(40): 33856 - 33863.
- [2] Kelleher MO, Myles LM, Al-Abri RK, et al. The use of ciliary neurotrophic factor to promote recovery after peripheral nerve injury by delivering it at the site of the cell body[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2006, 148(1):55 - 61.
- [3] Watt JA, Bone S, Pressler M, et al. Ciliary neurotrophic factor is expressed in the magnocellular neurosecretory system of the rat *in vivo*: evidence for injury- and activity-induced upregulation[J]. *Exp Neurol*, 2006, 197(1):206 - 214.
- [4] Schafer KH, Hagl CI, Rauch U. Differentiation of neurospheres from the enteric nervous system[J]. *Pediatr Surg Int*, 2003, 19(5): 340 - 344.
- [5] Beltran WA, Rohrer H, Aguirre GD. Immunolocalization of ciliary neurotrophic factor receptor alpha (CNTFR $\alpha$ ) in mammalian photoreceptor cells[J]. *Mol Vis*, 2005, 11:232 - 244.
- [6] Bluher S, Moschos S, Bulen J Jr, et al. Ciliary neurotrophic factor Ax15 alters energy homeostasis, decreases body weight, and improves metabolic control in diet-induced obese and UCP1-DTA mice[J]. *Diabetes*, 2004, 53(11):2787 - 2796.
- [7] Lezza AM, Pesce V, Cormio A. Increased expression of mitochondrial transcription factor A and nuclear respiratory factor-1 in skeletal muscle from aged human subjects[J]. *FEBS Lett*, 2001, 501(1):74 - 78.
- [8] Bergeron R, Ren JM, Cadman KS, et al. Chronic activation of AMP

- kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, 281(6):E1340 - E1346.
- [9] Myers MG Jr. Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology[J]. *Recent Prog Horm Res*, 2004, 59:287 - 304.
- [10] Laimer M, Kaser S, Kranebitter M, et al. Effect of pronounced weight loss on the nontraditional cardiovascular risk marker matrix metalloproteinase-9 in middle-aged morbidly obese women[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2005, 29(5):498 - 501.
- [11] Skibola DR, Smith MT, Bricci PM, et al. Polymorphisms in ghrelin and neuropeptide Y genes are associated with non-Hodgkin lymphoma [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14(5):1251 - 1256.
- [12] Sleeman MW, Garcia K, Liu R, et al. Ciliary neurotrophic factor improves diabetic parameters and hepatic steatosis and increases basal metabolic rate in db/db mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(24):14297 - 14302.
- [13] Kokoeva MV, Yin H, Flier JS. Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance[J]. *Science*, 2005, 310(5748):679 - 683.
- [14] Chaldakov GN, Fiore M, Hristova MG, et al. Metabotropic potential of neurotrophins: implication in obesity and related diseases[J]? *Med Sci Monit*, 2003, 9(10):HY19 - HY21.
- [15] Stampachiachiere B, Marinova T, Velikova K, et al. Altered levels of nerve growth factor in the thymus of subjects with myasthenia gravis [J]. *J Neuroimmunol*, 2004, 146(1/2):199 - 202.

## 会议集锦

### 技术创新是大趋势

2005年7月,德国慕尼黑生物技术发展趋势大会介绍了大量创新的技术。创新主要在于三大领域:纳米技术、生物芯片及通路系统。议题包括:药物递送、创伤治疗、DNA和蛋白生物芯片、缩微芯片实验室技术、组织芯片、高通量抗体的生产、生物标记、药物基因组学、毒基因组学和代谢组学、转化研究、高内涵筛选及转基因鼠模型等。

会议就纳米技术和生物技术的交叉领域展开了讨论。主要研究内容有:将药物制成纳米晶体制剂后,可溶性及生物利用度大大提高;可释放胰岛素的葡萄糖敏感聚合物、非病毒基因递送载体、有助于骨组织再生的纳米骨架复合物和SiO<sub>2</sub>包被的发光量子点;功能性碳纳米管的制备和特性,以及它们进入细胞传送质粒DNA的能力;纳米微粒吸附或包被药物使其通过血脑屏障;磁性小球包被药物,诱导体内温度升到40℃时释放药物。

目前的药物研发模式(从发现到验证、发现引导物、优化、临床前实验和临床试验)已经被打破。成本增加、成功率降低导致转化研究更受重视,药物研发者开始重视收集交叉基础研究、药物筛选、临床前及临床试验得出的信息。例如,用化合物对药物靶标通路的选择性数据和信息来分析患者样品的生物标记物,有助于进一步了解疾病病原分子,研究治疗指数更高的治疗方案。而将这些线索转化成明确的行动方针及关键的决定是很大的挑战,需要能整合、检验、分类不同数据的研究人员和相应技术。

生物芯片方面的主要研究有:用蛋白芯片诊断炎症疾病和皮肤肿瘤及变态反应;整合染色体、甲基化、启动子、基因表达及用DNA芯片分析microRNA;在氧化还原再循环技术的基础上用全电子芯片技术,进行蛋白、核酸及小分子检测;所有步骤(从取样到微阵列分析)都可自动完成的基因表达分析平台研究;用多肽芯片分析激酶、磷酸酶和蛋白酶亚基及它们的特征;结合拉曼光谱学的缩微芯片实验室技术,只需要20 nL样本,可用于自动血液分析仪;从基因位点(估计约为22 221个基因位点)中获得有代表性蛋白的抗体,将这些抗体用于组织芯片来收集正常和患病组织的病理学蛋白谱。

通路和系统方面:蛋白易位得出的细胞内信号用于高内涵筛选;大规模代谢产物谱技术,每24小时可分析超过400 000个样品,且具有植物学特殊意义的技术;根据公开发表在顶级刊物中的分子和通路信息建立交互数据库;将遗传药理学应用在药物研发过程来减少不利因素并提高效率;快速建立诱导基因缺失或敲除小鼠模型的平台。新出现的技术将更有利于生命科学的发展,可以从分子研究很快进入通路、动物模型研究(甚至治疗和诊断研究),2005年生物技术发展的大趋势在于技术的联合应用方面。

(侯丽莉)