

· 综述 ·

以勿动蛋白-A 及其受体为靶点的促神经再生中药研究

邬伟魁¹, 张海燕^{1,2}, 宋伟¹, 魏韶锋¹, 李芳¹, 杨明^{1,3*}

(1. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004;

2. 西南交通大学材料先进技术教育部重点实验室, 成都 610003; 3. 成都中医药大学, 成都 611137)

[摘要] 查阅相关数据库文献 38 篇, 整理和分析了中药对勿动蛋白-A (Nogo-A) 及勿动蛋白受体 (NgR, Nogo receptor) 调节作用的研究。探讨 Nogo-A 及 NgR 这 2 个药物靶点相关的中枢神经系统 (CNS) 损伤修复中药的研究进展。基于对 Nogo-A 的表达分布和功能作用, Nogo-A 单克隆抗体与 NgR 拮抗剂的认识, 进一步了解 CNS 损伤修复的机制, 对于中枢神经系统再生障碍的药物治疗有重要的临床意义。中药可以诱导 CNS 产生有利的微环境促进神经再生。Nogo-A 及 NgR 的表达可抑制神经的发生, 中药可抑制其表达从而发挥神经保护的作用。但 Nogo-A 在脑损伤治疗中的研究还处于基础阶段, 使用中药 (髓复康、首乌仙海片、血塞通、三七三醇皂苷、逍遥散、补阳还五汤、左归丸和右归丸等) 调节 Nogo-A 及其受体 NgR 的表达少见报道, 机制未明。故探讨 Nogo-A 及 NgR 作为药物开发靶点的潜在价值, 为今后中药临床治疗该靶点相关的疾病及促神经再生中药新药研发提供一定的参考。

[关键词] 靶点; 勿动蛋白; 勿动蛋白受体; 中枢神经系统

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0239-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20111107.1626.006 **[网络出版时间]** 2011-11-07 16:26

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20111107.1626.006.html>

Nogo-A and Its Receptor in Promoting Nerve Regeneration and Intervention of Traditional Chinese Medicine

WU Wei-kui¹, ZHANG Hai-yan^{1,2}, SONG Wei¹, WEI Shao-feng¹, LI Fang¹, YANG Ming^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 2. Key Lab. of Advanced Technology of Materials (Chinese Education Ministry), Southwest Jiaotong University, Chengdu 610003, China; 3. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

[Abstract] Study Nogo-A and its receptor NgR (Nogo receptor) in promoting nerve regeneration and the intervention of traditional Chinese medicine (TCM), to find out the progress of TCM in repairing impaired central nervous system (CNS) that related to drug targets of Nogo-A and NgR. Based on the understanding of the expression and function of Nogo-A, the Nogo-A monoclonal antibody and the NgR antagonist, understanding more about the mechanism of repairing damaged CNS had an important clinic significance for the drug in treating neurite outgrowth inhibition following CNS injury. TCM can induce CNS produced beneficial micro-environment to promote nerve regeneration. The intervention of TCM can inhibit the expression of Nogo-A and NgR that can inhibit the occurrence of nervous. But Nogo-A in the research of the treatment of brain damage is still in the basic stage,

[收稿日期] 20110611(004)

[基金项目] 重大新药创制重大专项(2009ZX09103-393, 2009ZX09310-005); 中医药行业科研专项项目(200708006)

[第一作者] 邬伟魁, 硕士, 从事中药新剂型研究, Tel: 0791-7118108, E-mail: weikuiwu@qq.com; 张海燕, 讲师, 在读博士, 从事中药制剂、心血管材料研究, Tel: 0791-7118108, E-mail: haiyansl@163.com

[通讯作者] * 杨明, 教授, 博士, 从事中药新制剂研究, Tel: 0791-7118658, E-mail: yangming16@126.com

reports on using TCM (Suifukang, Shouwuxianhai tablet, Sanqi Panax Notoginseng, Panaxtriol saponins, Xiaoyao powder, Buyang Huanwu decoction, Zuogui pill, and Yougui pill, etc.) to regulate the expression of Nogo-A and its receptor are few, the mechanisms are unknown. Therefore discussing the potential value of drug development and targets of Nogo-A and NgR is necessary. This review is providing a reference to TCM used in clinical treatment of diseases that are bound up with targets of Nogo-A and NgR, and new drug research and development of TCM that promote nerve regeneration in the future.

[Key words] target; Nogo; Nogo receptor; central nervous system

勿动蛋白(Nogo)是一种能抑制中枢神经受损后再生的基因。Nogo 基因的发现是探索脊髓损伤和中风治疗道路上的一个里程碑^[1],其编码的蛋白为 Nogo 蛋白,是网状蛋白家族成员,包括 3 个不同的异构体^[2],即 Nogo-A、Nogo-B 和 Nogo-C。Nogo 蛋白是一种多功能蛋白,其基因定位和结构比较清楚。其功能的研究主要集中在 Nogo-A 及其受体 NgR (称为 Nogo-66 受体)对中枢神经再生的作用。抑制神经发生的蛋白较多,所起的作用不尽相同,寻找影响其表达的药物,并探索其机制,对临床治疗中枢神经系统(CNS)损伤非常重要。近年发现,中药可以诱导 CNS 产生有利的微环境促进神经再生,但这些研究多从促进神经生长正性调节因子表达的角度来探讨中药的作用机制,较少对中药解除抑制因素作用机制的研究。Nogo-A 是目前发现的作用最为强烈的神经纤维再生抑制物质,可抑制损伤神经生长,尤其是再生神经纤维的长距离生长。因此,中药对 Nogo-A 及其受体的抑制策略越来越受到研究者的重视,成为当前神经再生领域研究的亮点。

1 Nogo-A 的表达分布

Nogo-A 在体内分布较广泛,如大脑、小脑、脊髓^[3]、视网膜、交感神经节和胃肠神经丛^[4]等均有表达。Nogo-A 在不同组织、器官的表达分布存在一定的差异性,在不同种属以及不同的生理、病理状态的表达分布也不尽相同^[5-8]。Nogo 及其受体分子的表达可在体外培养细胞中检测到^[9], Nogo 的过度表达将对细胞的增殖及功能产生一定的影响^[10]。

2 Nogo-A 的功能作用

Nogo-A 表达分布于多种组织器官中,并发挥不同的功能。Nogo-A 与肿瘤细胞的抑制和凋亡、血管内膜损伤和修复、神经元再生和抑制等多种病理生理过程有不同程度的关系。深入研究其结构与功能,有助于进一步了解其在各种疾病中发挥作用的机制。氧化应激^[11]与神经退行性疾病有密切关系,在引起神经元凋亡和坏死的同时,可使 Nogo-A 表达升高。提示 Nogo-A 可能参与这些病理变化的形成,或可作为相关疾病诊断的分子标志物。关于该蛋白具体的生物学功能及作用机制仍待进一步研究,以便为更深入地了解该靶点在相关疾病防治中的作用提供依据。

3 Nogo-A 单克隆抗体与勿动蛋白受体(NgR)拮抗剂

通过 Nogo-A 的单克隆抗体(IN-1)对抗 Nogo-A 可以提高成年哺乳类动物 CNS 中轴突的再生能力。IN-1 能有效地发挥中和、抑制 Nogo-A 的作用,有利于 CNS 损伤后的功能

恢复^[12]。

在受损的 CNS 中,Nogo-A、髓鞘蛋白和少突髓鞘蛋白是抑制中枢神经轴突再生的主要物质,它们通过一个共同受体 NgR 介导中枢神经轴突抑制。通过抑制 Nogo-A 与 NgR 的结合削弱 Nogo-A 的抑制作用,可达到促进轴突生长的目的。NEP1-40 是 NgR 的竞争性抑制剂,是治疗 CNS 损伤的一个优秀的候选药物。TAT-NEP1-40 是一个既包含 NEP1-40 也包含 TAT 蛋白质转导序列的融合蛋白质。TAT-NEP1-40 可以穿过 PC12 细胞的细胞膜进入细胞,同时,当大鼠腹腔注射该蛋白质后,所给蛋白质可以穿过血脑屏障进入脑实质^[13-14]。TAT-NEP1-40 可能成为一种治疗 CNS 损伤如中风、脑缺氧、脑出血、脑外伤和脊髓损伤的新颖候选药物^[15]。

4 中药对 Nogo 及其受体 NgR 的影响

哺乳动物 CNS 神经元损伤后神经再生受限的主要原因是轴突生长抑制因子的存在。目前,与 Nogo 蛋白相关的药物(如甲基强的松龙^[16]、丁基苯酚^[17]等)和基因治疗已成为 CNS 损伤后促进轴突再生新的有效手段^[18]。通过 Nogo-A 抗体封闭、NgR 拮抗剂 NEP1-40 阻断等策略,可在一定程度上促进 CNS 再生。近年发现的中药相关调节作用方兴未艾,其临床应用应用有待进一步深入研究。

4.1 调节 Nogo-A 的表达

4.1.1 复方 在脊髓损伤早期应用髓复康(由生黄芪、川芎、赤芍、银杏叶、灯盏花、红花、葛根和三七组成)治疗,发现其对运动功能的恢复有良好的促进作用。其机制之一可能是通过抑制 Nogo-A 表达,减轻其对轴突生长的抑制作用。髓复康^[19]的这种作用及所创造的微环境将有利于神经纤维的修复和再生,从而促进脊髓损伤所造成的神经功能障碍的恢复,但是此机制尚待证实。髓复康^[20]对脊髓损伤后恒河猴脊髓中 Nogo-A mRNA 及其蛋白的表达有一定的抑制作用,可能为神经的修复和再生提供有利的微环境。

首乌仙海片(由何首乌、草决明、桑寄生、海马、仙灵脾为主要药物组成)^[21]、复健片(由何首乌、桑寄生、草决明、海马、淫羊藿组成)^[22-23]是用于缺血性卒中治疗的经验方,有研究选择 Nogo-A 作为检测指标,发现两方均能够抑制其表达,从而发挥对缺血性卒中神经发生过程的促进作用。周永红等^[24]用电凝法制备大鼠中动脉闭塞大鼠模型,研究发现复健片可抑制 Nogo-A 的表达,从而促进神经生长,改善脑梗死大鼠运动功能。

血塞通(中药三七的块根提取物,有效成分为三七总皂

苷,主要成分为人参皂苷 Rg₁)可以改善模型动物的整体状态,保护梗死区及梗死周边区的神经细胞,减轻神经功能损伤。血塞通可以下调梗死周边区不同恢复时间点 Nogo-A mRNA 的表达,其高剂量效果优于低剂量,且呈一定的量效关系。血塞通可能是通过下调 Nogo-A 的表达这种机制,实现大脑神经功能的恢复^[25]。逍遥散^[26]对慢性束缚应激引起的 GAP-43 和 Nogo-A mRNA 基因转录可能有明显的调节作用,但有选择性,总体而言,CA3 和 DG 区的作用明显。逍遥散可双向的调节 CA3 和 DG 区的 GAP-43 和 Nogo-A mRNA 基因转录水平,可能影响突触可塑性,从而可能与逍遥散抗抑郁的机制有关。

4.1.2 单体成分 最近研究表明,麻黄碱^[27]和淫羊藿苷^[28]能有效调节缺血性脑损伤大鼠 Nogo-A 的表达。冷向阳^[29]制备了大鼠脊髓损伤模型,发现鹿茸多肽可以通过抑制 Nogo 的表达、调控凋亡基因的表达,促进损伤脊髓的修复。三七三醇皂苷^[30]可使缺血再灌注大鼠的 Nogo-A 表达下调,这可能是其发挥脑保护作用机制之一。崔建英等^[31]研究了三七三醇皂苷对脑梗死后不同恢复时点 Nogo-A 表达的下调作用,推测这可能是三七能够促进脑梗死后神经功能恢复的原因之一,临床脑缺血后持续应用三七可能有积极意义。

综上,中药可通过直接抑制 Nogo-A 的表达和抑制其基因的转录水平,从而发挥保护受损神经功能和促神经发生的作用。上述中药在报道具有调节 Nogo-A 作用的同时对 NgR 表达的情况未进行报道,原因不得而知,下述中药同时对二者进行了报道。

4.2 调节 Nogo-A 和 NgR 的表达

4.2.1 复方 大脑中动脉阻塞模型大鼠术后出现 Nogo-A 和 NgR 表达增强,补阳还五汤^[32]可显著降低 Nogo-A 和 NgR 表达,可能是其改善神经功能的基础。左归丸和右归丸可以预防大鼠自身免疫脑脊髓炎轴突损伤、促进轴突再生;其机制可能为促进 NgR 表达,降低 Nogo A 及其受体表达^[33]。值得注意的是,这 2 种制剂在作用时间上存在一定的差异性,这可能从某种意义上揭示中医补肾阴和补肾阳理论的现代内涵。

4.2.2 单体成分 Nogo-A 在脑梗死的早期表达增加,抑制了神经的再生;后期表达减少,提示其可能参与了神经组织的修复^[34]。地黄主要活性成分梓醇^[35]可下调脑缺血后脑组织内 Nogo-A 和 NgR 蛋白表达,促进神经轴突和树突生长,是一种极具潜力的促进脑缺血后神经修复的候选药物。

5 结语

CNS 损伤后功能恢复研究的难点是如何促进损伤神经元再生。CNS 神经元轴突的出芽再生受到其周围环境的抑制,通过相应的药物调节这些抑制因子的表达可恢复神经的再生能力。研究表明,抑制因子主要来自少突胶质细胞分泌的髓鞘相关糖蛋白;Nogo 蛋白作用显著,能使生长锥崩溃并抑制轴突生长。切断大鼠皮质脊髓束后将 IN-1 单抗杂交瘤细胞移入脑内,在损伤处能见到明显的神经出芽^[36]。

脑血管药物从发现新靶点到临床研发比普通药物更复杂,以神经保护剂为例可见脑血管新药研发的艰难^[37];神经保护剂多为钙拮抗剂,其次是自由基清除剂;已有上千种神经保护剂做了动物实验,51 个品种做了临床试验,临床试验超过 140 次,但都没有被 FDA 批准;新靶点的发现必须依赖基础研究,在实验室发现新的机制,如神经保护和神经凋亡机制后才能发现新的靶点。瑞士诺华制药公司开发的急性脊髓损伤治疗药物——人类 Nogo-A 抗体(ATI 355)已于 2006 年进入了 I 期临床实验。多家研究机构也正逐步开展以 NgR 受体复合物为靶点的药物筛选工作,具有 NgR 抑制功能的化合物的发现及药物开发将对中枢神经损伤相关疾病的治疗产生重要的作用^[38]。

Nogo-A 在脑损伤治疗中的研究才刚起步,如敲除 Nogo 基因使其去表达,用特异性抗体或疫苗使其中和,用 NgR 的竞争性拮抗剂等。以 Nogo-A 及其受体 NgR 为靶点,促进脊髓损伤等疾病后的神经再生是一种有效的治疗策略。目前使用中药调节 Nogo-A 表达的报道较少,但可以预见中药在其中的应用具有光明的前景。应该看到,并不是简单的抑制就能导致促进再生的结果,尚有许多值得探讨的环节和问题。中药治疗神经功能恢复和重塑的效果较好,但机制复杂。探讨中药对抑制因子的调节作用,对重塑过程的调节机制,是中药促神经再生机制研究的新途径。值得注意的是,目前报道的中药(包括单体有效成分和复方制剂)对 Nogo-A 及其受体 NgR 的影响研究多为在体动物实验,其影响因素较多。随着相关体外细胞评价方法的进一步的发展,今后有必要在体外细胞中深入开展中药对 Nogo-A 的调节机制研究。

[参考文献]

- [1] Goldberg J L, Barres B A. Nogo in nerve regeneration [J]. Nature, 2000, 403(6768):369.
- [2] Prinjha R, Moore A E, Vinson M, et al. Inhibitor of neurite outgrowth in humans [J]. Nature, 2000, 403(6768):383.
- [3] Huber A B, Weinmann O, Brosamle C, et al. Patterns of NogomRNA and protein expression in the developing and adult rat and after CNS lesions [J]. J Neurosci, 2002,22(9):3553.
- [4] 熊南翔,赵洪洋,张方成. Nogo-A 在大鼠胃肠神经丛中的表达[J]. 解剖学杂志,2005,28(7):523.
- [5] 闵嵘,赵志炜,姬志娟,等. Nogo 与 Nogo 受体在正常小鼠大脑的分布[J]. 神经解剖学杂志,2005,21(2):195.
- [6] 张博爱,史蕙青,贾延劼,等. Nogo-A 和 NgR 在老年大鼠脑组织中的表达分布[J]. 中国实用神经疾病杂志,2007,10(2):61.
- [7] 包映晖,罗其中,江基尧,等. 不同发育阶段大鼠 CNS 的 NogomRNA 的表达[J]. 中华神经医学杂志,2005,14(5):442.

- [8] Yao J, Lu Y P. Distribution of NgR in the brain of *Rhinolophus affinis* [J]. J Anhui Normal University (Natural Science), 2009, 31 (1): 64.
- [9] Sun F, Jin W L, Long M, et al. Expression of Nogo-66 receptor in primary cultured astrocytes [J]. Neurosci Bulletin, 2005, 21 (4): 273.
- [10] 武肖娜, 姚琴, 鞠躬. 过表达 Nogo-C 对 PC12 细胞存活及增殖的影响 [J]. 细胞生物学杂志, 2006, 28 (4): 582.
- [11] 郑春霞, 金卫林, 鞠躬. 氧化应激后大鼠神经元内 Nogo-A 的表达变化 [J]. 第四军医大学学报, 2004, 25 (19): 1775.
- [12] Fouad K, Klusman I, Schwab M E. Regenerating corticospinal fibers in the Marmoset (*Callitrix jacchus*) after spinal cord lesion and treatment with the anti-Nogo-A antibody IN-1 [J]. Eur J Neurosci, 2004, 20: 2479.
- [13] Wang Q, Gou X, Jin W, et al. TAT-mediated protein transduction of Nogo extracellular peptide 1-40 and its biological activity [J]. Cell Mol Neurobiol, 2009, 29: 97.
- [14] Wang Q, Gou X, Xiong L, et al. Trans-activator of transcription-mediated delivery of NEP1-40 protein into brain has a neuroprotective effect against focal cerebral ischemic injury via inhibition of neuronal apoptosis [J]. Anesthesiology, 2008, 108: 1071.
- [15] 苟兴春, 陈妍珂, 王强. TAT-NEP1-40——神经再生的新型药物 [J]. 生命的化学, 2010, 30 (3): 364.
- [16] 江建明, 王宏, 闰慧博, 等. 甲基强的松龙对大鼠急性脊髓损伤后 Nogo-A 表达的影响 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17 (9): 680.
- [17] 胡文涛, 卢宏, 吴斌, 等. 丁基苯酞对慢性脑缺血大鼠脑内 Nogo-A 表达的影响 [J]. 山东医药, 2009, 49 (20): 46.
- [18] 朱庄臣, 倪斌. 以 Nogo 蛋白及其受体为靶点促进神经再生的研究进展 [J]. 第二军医大学学报, 2010, 31 (6): 670.
- [19] 何爽, 张万强, 李莉, 等. 中药髓复康对恒河猴急性脊髓损伤后脊髓组织勿动蛋白-A 表达的影响 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2010, 16 (5): 551.
- [20] 何爽, 朱嘉, 李莉, 等. 中药髓复康对恒河猴急性脊髓损伤后勿动蛋白 mRNA 及其蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15 (2): 49.
- [21] 王中琳. 缺血性卒中模型大鼠脑内 Nogo-A 的表达及中药干预作用 [J]. 中医药信息, 2009, 26 (4): 71.
- [22] 周永红, 王新陆, 胡怀强. 滋补肝肾中药对大鼠中动脉闭塞大鼠脑勿动蛋白 A 表达的影响 [J]. 中国临床康复, 2006, 10 (23): 43.
- [23] Liu W, Zhang G L. Effect of Fujian tablet on the expression of Nogo-A mRNA in the cervical spinal cord of middle cerebral artery occlusion model rats [J]. Neural Regen Res, 2007, 2 (10): 599.
- [24] 周永红, 王新陆, 张玉杰, 等. 复健片对脑梗死大鼠运动功能和脑组织勿动蛋白-A 表达的影响 [J]. 2008, 11 (3B): 484.
- [25] 张晓倩. 注射用血塞通对大鼠脑梗死后不同恢复时间点 Nogo-A 表达的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.
- [26] 王竹风, 汪宝军, 岳广欣, 等. 逍遥散对慢性束缚应激大鼠相关脑区 GAP-43 和 Nogo-AmRNA 基因表达的调节作用 [J]. 北京中医药, 2009, 28 (11): 894.
- [27] Chen S Y, Xiao N, Zhang X P. Effects of ephedrine on expression of Nogo-A and synaptophysin in neonatal rats following hypoxic-ischemic brain damage [J]. Neural Regen Res, 2010, 5 (1): 47.
- [28] Hu H Q, Zhou Y H, Cao B Z, et al. Inhibitory effect of icariin on expression of myelin inhibitory factors in the central nervous system of rats with focal cerebral ischemia [J]. Neural Regen Res, 2010, 5 (16): 1211.
- [29] 冷向阳. 鹿茸多肽对脊髓损伤大鼠的保护作用及其机制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- [30] 张利军, 白宇, 侯郁青. 三七三醇皂苷对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑组织 Nogo-A 表达的影响 [J]. 中医药导报, 2008, 14 (5): 11.
- [31] 翟建英, 崔方圆, 邹蔚萌, 等. 三七三醇皂苷对脑梗死后不同时段 Nogo-A 表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2008, 3 (4): 470.
- [32] 白雪松. 超微补阳还五汤对 MCAO 模型大鼠神经功能缺失及 Nogo-A 蛋白的影响 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2007.
- [33] Wang L, Zhao H, Fan Y P, et al. Research on the mechanism of Zuogui pill and Yougui pill in promoting axonal regeneration in model rats of autoimmune encephalomyelitis [J]. Chin J Intear Med, 2010, 16 (2): 167.
- [34] 赵红, 高晓玉, 王得新, 等. 脑缺血再灌注模型大鼠神经生长抑制因子 Nogo-A 的表达变化 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2009, 126 (1): 4.
- [35] 万东. 梓醇促神经修复作用及其脑可塑性机制研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2007.
- [36] Liebscher T, Schnell L, Schnell D, et al. Nogo-A antibody improves regeneration and locomotion of spinal cord-injured rats [J]. Ann Neurol, 2005, 58 (5): 706.
- [37] 王拥军. 脑血管病创新药物研发的问题与对策 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20 (6): 487.
- [38] 严峻, 廖红. Nogo 受体——一种潜在的药物研发靶点 [J]. 中国药科大学学报, 2010, 41 (4): 306.

[责任编辑 邹晓翠]