

硫酸软骨蛋白聚糖调控神经损伤修复机制

赵小霞, 杨清湖, 刘霞, 白占涛*

(延安大学生命科学学院/延安大学多肽资源药物研究中心/陕西省区域生物资源保育
利用工程技术研究中心/陕西省红枣重点实验室, 陕西 延安 716000)

摘要:硫酸软骨蛋白聚糖是神经元周围网络的重要组成部分,其在神经元迁移分化、内在特性形成以及突触可塑性变化中具有重要作用。诸多证据表明,中枢神经损伤或疾病发生时,硫酸软骨蛋白聚糖在损伤部位的表达量升高,从而抑制损伤后的修复。本文综述硫酸软骨蛋白聚糖的分类、表达分布、功能及其在神经损伤修复中的调控机制,以丰富基于硫酸软骨蛋白聚糖的神经损伤诊治策略和药物研发的新思考。

关键词:硫酸软骨蛋白聚糖;神经损伤;修复机制

中图分类号:R741.02 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2639(2015)04-0050-04

神经元周围网络(Perineuronal net, PNN),是一个高度组织化的糖蛋白网架结构,是一种包绕在特定类型神经元胞体和近端神经突周围的细胞外基质网络^[1],其主要成分为硫酸软骨素蛋白聚糖(Chondroitin sulfate proteoglycans, CSPGs)、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(Heparan Sulfate proteoglycans, HSPGs)^[2]。

CSPGs以神经网络的形式包裹于体细胞或某些神经元树突近端,参与稳定现有突触、抑制异常链接突触的形态,在调节细胞间以及细胞与胞外基质间的相互作用方面至关重要^[3]。CSPGs在神经系统中,不仅发挥物理学屏障作用,而且通过与神经细胞导向分子、生长因子、细胞因子相互作用,参与中枢神经系统发育及损伤后修复。此过程中,CSPGs通过多种分子机制抑制或促进神经细胞再生。此外,CSPGs在神经元迁移分化、内在特性形成以及突触可塑性变化中占据重要地位^[4]。本文从CSPGs表达分布及在神经损伤修复中的可能调控机制做一总结,旨在进一步阐明CSPGs参与疼痛调控机制,为临床疼痛诊治提供新策略。

1 CSPGs的分类、表达分布与功能

CSPGs广泛分布于神经系统,是一组共价结合硫酸软骨素(Chondroitin Sulfate, CS)的蛋白聚糖,由核心蛋白(Core Protein, CP)和糖胺聚糖(Glycosaminoglycan, GAG)链共价连接^[5]。核心蛋白由透明质酸结构域、免疫球蛋白样结构域、内皮细胞生长因子样结构域、CS链连接的结构域、凝集素样结构域和完整的调节蛋白结构域组成^[6]。根据CP和GAG链的不同CSPGs可分为30多种,如Neurocan、Tenascin、Aggrecan、Phosphacan、Versican、Brevican、和NG2等^[7]。CSPGs各组分作为胞外基质内重要的抑制性组分,主要存在于细胞外基质中,或以穿膜蛋白形式存在^[3],且各成员表达于神经系统的不同部位和不同发育时期,包绕不同的神经元类型,参与各种生理病理过程^[1,3]。

1.1 Tenascins的表达分布与功能

Tenascins作为CSPGs的重要组成部分,是细胞外的蛋白聚糖低聚物,参与胞外基质的细胞黏附^[8]。哺

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81171038、81470051)、陕西省科技厅项目(2010JM404、2012K01-12)、陕西省教育厅项目(12JS121、15JF034)、陕西省高水平大学建设专项资金资助项目(2012SXTS06)、延安市科技局项目(2015年延安市资源药物研究与开发科技创新团队)、延安大学2015年研究生教育创新项目(21)

作者简介:赵小霞(1991—),女,陕西延安人,延安大学硕士生,从事疼痛分子调控机制研究。

* **通讯作者:**白占涛(1971—),男,陕西西安人,延安大学教授,博士,硕士生导师,从事膜通道和受体结构与功能机制研究。

乳动物 Tenascins 家族发现有 Tenascin - C (TNC)、Tenascin - R (TNR)、Tenascin - X (TNX)、Tenascin - XB (TNXB)、Tenascin - N (TNN) 五个亚型^[9]。Tenascins 各亚型参与细胞增殖、迁移、分化、凋亡,在胚胎组织发育、血管生成、炎症、伤口愈合、肿瘤等生理病理过程中具有重要作用。

TNC 主要表达于胚胎组织和肿瘤组织,在成熟组织中表达较低,其在肿瘤转移过程中与粘蛋白聚糖 (syndecan - 4)、整合素 $\alpha 5 \beta 1$ (integrin $\alpha 5 \beta 1$)、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 及细胞因子相互作用,参与多种信号通路。TNC 影响上皮间质的转化、肿瘤细胞黏附和增殖、血管的形成以及促进肿瘤的转移和侵袭^[10]。此外, TNC 通过 P38 促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen - activated protein kinase, MAPK) 信号参与脑血管痉挛^[11]。同时, TNC 在细胞迁移及肌腱、软骨和骨骼的形成中亦发挥重要作用^[12]。

TNR 主要表达于成熟的神经系统,影响细胞迁移、粘附和分化、轴突延伸、髓鞘形成、突触可塑性等^[13]。TNR 通过整合素 $\alpha 7$ 、 $\alpha 9 \beta 1$ 参与人骨髓间充质干细胞调节神经元分化;此外, TNR 通过调节星形胶质细胞兴奋性氨基酸转运子 1 (excitatory amino acid transporter 1, GLAST) 参与体内谷氨酸的平衡^[14]。

TNX 广泛存在于结缔组织中,与常染色体隐性疾病 Ehlers - Danlos syndrome 及先天性肾上腺皮质增生相关^[15],作为细胞外监管因子,调节转化生长因子生物利用度、细胞可塑性及激活,提高上皮细胞向间充质细胞的转化^[16]。此外, TNX 还可作为一种新型诊断恶性间皮瘤的标志^[17]。

TNXB 存在于胞外基质中,维护支撑身体的肌肉、器官、关节和结缔组织,参与肿瘤发生,且与神经纤维瘤病 I 型有关。在 T3257I 的突变可降低细胞运动性和粘着斑激酶磷酸化,导致膀胱输尿管的回流^[18]。

TNN 是新型 Tenascins 家族成员之一,编码富含半胱氨酸延伸的特定结构,影响神经元和细胞的迁移^[9]。

1.2 其他 CSPGs 组分的表达分布与功能

CSPGs 各组分 Neurocan、Phosphacan、Brevican、NG2、Aggrecan 和 Versican 在中枢神经系统损伤后存在时空性表达差异并参与轴突再生和突触重建^[1]。Neurocan 主要由星形胶质细胞产生^[4],分布于脊髓白质、小直径血管,敲除 Neurocan 可减缓中枢神经系统的生长抑制作用,促进损伤后感觉神经

元的自身生长力,减缓神经损伤引起的慢性疼痛。NG2 由小胶质细胞产生,分布于脊髓白质和灰质^[7],脊髓损伤后由少突胶质前体细胞和巨噬细胞表达^[19], NG2 细胞可调节胞外基质的时空性。Phosphacan 由神经胶质细胞合成,是受体蛋白酪氨酸磷酸酶 β 的一种可溶性剪接变体,对脑损伤后神经元轴突的延伸具有双重作用。转化生长因子 - α 和表皮生长因子可促进 Phosphacan 表达,而干扰素 - γ 和肿瘤坏死因子 - α 抑制 Phosphacan 表达^[19]。Brevican 由神经胶质细胞合成,且与糖基磷脂酰肌醇共价结合并在细胞表面发挥作用^[1]。Versican 与透明质酸在细胞表面连接,阻碍神经细胞的再生长,构成了生长抑制性环境,并通过活化细胞上的表皮生长因子受体,调节突触中信号传递、细胞间黏附以及轴突生长^[6]。

2 CSPGs 在神经损伤修复中的作用

PNN 在细胞外微环境的稳定、被包裹神经元性能的维持和保护被包裹神经元免受有害物质影响等方面作用显著,它的异常可导致如癫痫、中风和阿尔茨海默病等中枢神经系统的机能障碍^[1]。神经损伤后可形成胶质瘢痕,且炎症因子、细胞因子、趋化因子等会参与到神经损伤的调控中来^[3]。

2.1 CSPGs 促进神经损伤胶质瘢痕的形成

中枢神经损伤后,在损伤部位形成由蛋白多糖和胶质细胞组成的胶质瘢痕,保护损伤神经,阻止炎症反应,抑制细胞继发性病变,保护组织免受二次伤害^[20]。

CSPGs 的高表达参与中枢神经系统非神经突触导向机制,在中枢神经损伤部位的反应性组织中,反应性胶质细胞胶质化,促使胶质瘢痕形成,进而抑制轴突再生^[21]。损伤部位释放 CSPGs 作为化学性屏障,导致向损伤部位延伸的轴突停止生长,促进胶质细胞的增生和胶质瘢痕形成,抑制神经元的再生修复。

神经系统 PNN 主要表达 TNC 和 TNR,二者在细胞增殖和迁移,轴突延伸,髓鞘形成,突触可塑性方面作用显著。在各种组织器官(肺、肾、血管、心脏)的炎症中, TNC 影响免疫细胞的激活与聚集,且通过细胞因子 (FGFb、TGFb、 γ 干扰素,白细胞介素 4 的释放调控 TNC 的表达, TNC 负反馈作用于星形胶质使其胶质化,并抑制其促炎因子 (IL - 1b, IL - 6, TNF) 的释放^[13]。创伤或疾病导致的中枢神经系统损伤中,炎症因子释放可加强炎症反应从而调节临近细胞突触中 CSPGs 的表达,进而形成胶质瘢痕^[3]。

脊髓损伤后胶质瘢痕的出现是抑制轴突再生的屏障之一^[22],胶质瘢痕包括反应性星形胶质细胞和蛋白多糖,它可以阻断神经元的轴突生长锥穿过损伤部位重新生成轴突,神经损伤后胶质瘢痕分泌的 CSPGs 能促进胶质细胞的增生和胶质瘢痕形成,抑制神经元的再生修复。CSPGs 可与神经细胞黏附因子(neural cell adhesion molecule, NCAM)相互作用,抑制 NCAM 活性,而在脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)中 NCAM 可抑制星形胶质细胞的增生以及胶质瘢痕的形成^[23],促进受损神经再生。

2.2 CSPGs 调控轴突再生

蛋白聚糖抑制神经再生的作用主要是因为 GAG。CSPGs 的抑制作用是由特定的硫酸化模式进行的,硫化酶的抑制剂氯酸钠能减少 GAG 链中硫酸盐的加入,从而降低 CSPGs 的抑制作用。CSPGs 作用机制也可能与 Rho 信号转导通路相关,Monnier 等^[24]应用 RhoGTP 酶特异性抑制剂 C3 或 Rho 激酶特异性抑制剂 Y27632,可以促进胶质疤痕中视神经轴突的再生。CSPGs 可以通过与透明质酸结合发挥其抑制作用,应用透明质酸酶对大鼠脊髓损伤进行治疗后,可以观察到轴突再生增加的现象。TNR 是一种特定的神经元蛋白,在脊髓损伤后对轴突的再生抑制方面起重要作用,在损伤部位 TNR 表达量上调且 TNR 多克隆抗体可降低 RhoA 的激活,促进脊髓皮层的功能恢复并提高皮质脊髓束的功能恢复。

不同类型的 CSPGs 在脑组织损伤后的表达有着时间性和空间性差异,从而对脑损伤神经修复过程中的轴突再生及突触重建发挥不同的调节作用。在分离的大脑细胞中,轴突生长抑制物 - CSPGs 刺激 RhoGTPases 的激活,RhoGTPases 活性的抑制可增加轴突的再生。

Neurocan 在脑损伤神经修复过程中能够抑制神经轴突生长,从而消除错误分支,保证轴突生长方向的正确性,促进神经损伤的修复。研究表明,敲除 Neurocan 可减缓中枢神经系统的生长抑制作用,促进损伤后感觉神经元的自身生长力,减缓神经损伤引起的慢性疼痛^[25]。鞘内注射 chondroitinase - ABC,可降解硫酸软骨蛋白聚糖,阻止轴突传导下降,上调脊髓损伤临近部位 NG2 和 neurocan 表达。

2.3 CSPGs 与相关因子在神经损伤修复中的作用

胶质细胞和创伤性损伤后激活的巨噬细胞在中枢系统中占有重要地位,二者结合引起的免疫反应伴随有毒效应因子、神经营养因子、炎症因子、趋化因子的分泌。上述细胞因子可刺激损伤部位和邻近

细胞 CSPGs 的表达,CSPGs 可直接与生长因子、细胞黏附分子及一些胞外基质相互作用调节其生物活性。

NG2 和 Phosphacan 在阻碍中枢神经系统再生方面占有重要作用^[26],NG2 与细胞基质中的分子粘连,与整合素相互作用,诱导整合素聚集形成黏附复合物,介导调节生长中的神经纤维导向迁移^[4]。Versican 与透明质酸在细胞表面连接,阻碍神经细胞的再生长,构成了生长抑制性环境,并通过活化细胞上的表皮生长因子受体而发挥调节突触信号传递、细胞间黏附以及轴突生长^[6]。有报道称,静脉注射 chABC 可降解硫酸软骨蛋白聚糖进而调节趋化因子 CCL2、CC44 从而影响巨噬细胞,为治疗肺纤维化提供有效靶标^[27]。

CSPGs 受体(contactin - 1, protein tyrosine phosphatase σ (RPTP σ), leukocyte common antigen related (LAR) phosphatase, NgR1 and NgR3) 与轴突在其表面密切绑定可激活与生长相关的特定信号通路。RPTP 是 CSPGs 抑制性受体,且与细胞黏附分子相关,在轴突的生长、导向和修复中扮演重要角色。RPT δ 参与 ROCK 下游硫酸软骨蛋白聚糖的表达,在大鼠中 PTP σ 通过稳定硫酸软骨蛋白聚糖,进而调节转换视锥体细胞营养不良^[28]。此外,PTP σ 亦参与 CSPGs 对少突胶质细胞的抑制作用^[3]。研究表明,中枢神经系统损伤后或病变可上调灰质和白质中 CSPGs 的表达量,用 chABC 处理可翻转其对髓鞘形成的抑制作用^[29]。

3 结语

中枢神经损伤、创伤或退行性病变都可引起炎症反应、胶质细胞的激活及巨噬细胞的外渗、CSPGs 的合成和表达量上调,CSPGs 既可形成保护屏障阻止二次损伤,又可抑制轴突和髓鞘再生。随着人们对于中枢神经损伤后损伤部位分子对于突触的抑制及促进功能恢复的研究,越来越多的证据表明,中枢神经系统损伤后引起自行退化,一系列的炎症反应。亦有研究发现,中枢神经损伤后炎症因子的释放与疼痛发生具有一定相关性,探明炎症因子 - 硫酸软骨蛋白聚糖信号通路在疼痛中的机制将为疼痛等疾病的治疗提供新的思路,为疼痛患者带来曙光。

参考文献

- [1] Miao QL, Ye Q, Zhang XH. Perineuronal net, CSPG receptor and their regulation of neural plasticity [J]. Sheng Li Xue Bao, 2014, 66(4): 387 - 397.
- [2] Gu WL, Lu PH. Chondroitin sulfate proteoglycans in neural

- development and regeneration [J]. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan, 2007, 38(2) : 101 - 105.
- [3] Siebert JR, Conta Steencken A, Osterhout DJ. Chondroitin sulfate proteoglycans in the nervous system: inhibitors to repair [J]. Biomed Res Int, 2014; ID845323.
- [4] 杨子默, 胡华杰, 占琦, 等. 硫酸软骨素蛋白多糖对神经系统损伤修复的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(3) : 183 - 185
- [5] Wang D, Fawcett J. The perineuronal net and the control of CNS plasticity [J]. Cell Tissue Res, 2012, 349(1) : 147 - 160.
- [6] 苏秋妮, 陈敏. 硫酸软骨素蛋白聚糖与脑损伤神经修复 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2007, 34(5) : 487 - 490.
- [7] Dyck SM, Karimi - Abdolrezaee S. Chondroitin sulfate proteoglycans: key modulators in the developing and pathologic central nervous system [J]. Exp Neurol, 2015, 269: 169 - 187.
- [8] Kong X, Ma W, Li Y, et al. Does Tenascin have clinical implications in pathological grade of glioma patients? A Systematic Meta - Analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(32) : 1330.
- [9] Chiquet - Ehrismann R, Orend G, Chiquet M, et al. Tenascins in stem cell niches [J]. Matrix Biol, 2014, 37: 112 - 123.
- [10] 农云宏, 白浪, 唐红. tenascin - C 促进肿瘤转移的分子机制研究进展 [J]. 生物医学工程学杂志, 2015, 32(1) : 240 - 244.
- [11] Fujimoto M, Shiba M, Kawakita F, et al. Vasoconstrictive effect of tenascin - C on cerebral arteries in rats [J]. Acta Neurochir Suppl, 2015, 120: 99 - 103.
- [12] Giblin SP, Midwood KS. Tenascin - C: form versus function [J]. Cell Adh Migr, 2015, 9(1 - 2) : 48 - 51.
- [13] Jakovcevski I, Miljkovic D, Schachner M, et al. Tenascins and inflammation in disorders of the nervous system [J]. Amino Acids, 2013, 44(4) : 1115 - 1127.
- [14] Okuda H, Tatsumi K, Morita S, et al. Chondroitin sulfate proteoglycan tenascin - R regulates glutamate uptake by adult brain astrocytes [J]. J Biol Chem, 2014, 289(5) : 2620 - 2631.
- [15] Bristow J, Carey W, Egging D, et al. Tenascin - X, collagen, elastin, and the Ehlers - Danlos syndrome [J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2005, 139C(1) : 24 - 30.
- [16] Alcaraz LB, Exposito JY, Chuvin N, et al. Tenascin - X promotes epithelial - to - mesenchymal transition by activating latent TGF - beta [J]. J Cell Biol, 2014, 205(3) : 409 - 428.
- [17] Valcourt U, Alcaraz LB, Exposito JY, et al. Tenascin - X: beyond the architectural function [J]. Cell Adh Migr, 2015, 9(1 - 2) : 154 - 165.
- [18] Gbadegesin RA, Brophy PD, Adeyemo A, et al. TNXB mutations can cause vesicoureteral reflux [J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24(8) : 1313 - 1322.
- [19] 滕继平, 张治宇, 杨长伟, 等. 硫酸软骨素蛋白聚糖在脑发育中的作用 [J]. 生命的化学, 2001, (4) : 293 - 295.
- [20] 游思维, 苏国辉. 促进中枢神经损伤再生的探索之路 [J]. 中国处方药, 2004, 23(2) : 33 - 36.
- [21] Wanner IB, Deik A, Torres M, et al. A new in vitro model of the glial scar inhibits axon growth [J]. Glia, 2008, 56(15) : 1691 - 1709.
- [22] 顾玉东. 周围神经损伤及修复后神经再生与中枢神经重塑机制的研究 [J]. 北京大学学报 (医学版), 2015, 47(2) : 373 - 375.
- [23] Rhodes KE, Fawcett JW. Chondroitin sulphate proteoglycans: preventing plasticity or protecting the CNS? [J] J Anat, 2004, 204(1) : 33 - 48.
- [24] Monnier PP, Sierra A, Schwab JM, et al. The Rho/ROCK pathway mediates neurite growth - inhibitory activity associated with the chondroitin sulfate proteoglycans of the CNS glial scar [J]. Mol Cell Neurosci, 2003, 22(3) : 319 - 330.
- [25] Quaglia X, Beggah AT, Seidenbecher C, et al. Delayed priming promotes CNS regeneration post - rhizotomy in neurocan and brevican - deficient mice [J]. Brain, 2008, 131(1) : 240 - 249.
- [26] Hunanyan AS, Garcia - Alias G, Alessi V, et al. Role of chondroitin sulfate proteoglycans in axonal conduction in mammalian spinal cord [J]. J Neurosci, 2010, 30(23) : 7761 - 7769.
- [27] Kai Y, Yoneyama H, Koyama J, et al. Treatment with chondroitinase ABC alleviates bleomycin - induced pulmonary fibrosis [J]. Med Mol Morphol, 2007, 40(3) : 128 - 140.
- [28] Lang BT, Cregg JM, DePaul MA, et al. Modulation of the proteoglycan receptor PTPsigma promotes recovery after spinal cord injury [J]. Nature, 2015, 518(7539) : 404 - 408.
- [29] Zhang G, Hu J, Li S, et al. Selective expression of CSPG receptors PTPsigma and LAR in poorly regenerating reticulospinal neurons of lamprey [J]. J Comp Neurol, 2014, 522(9) : 2209 - 2229.

[收稿日期 2014 - 10 - 16; 责任编辑 梁毅]