

# 中枢神经系统损伤后胶质瘢痕形成的机制 及其对神经修复的影响

熊薇 袁娅金 张桂仙 周宁娜\*

(云南中医药大学药理教研室, 昆明 650500)

**摘要** 中枢神经系统损伤部位的星形胶质细胞被多种内源性调控因子激活为反应性星形胶质细胞, 大量反应性星形胶质细胞增殖、分化、迁移, 形成胶质瘢痕。胶质瘢痕分泌的硫酸软骨素蛋白聚糖和硫酸软骨素是阻碍神经轴突再生和神经功能恢复的重要原因。该文就中枢神经系统损伤后调控胶质瘢痕形成的因素及胶质瘢痕阻碍神经轴突再生及神经新生的机制进行综述。

**关键词** 中枢神经系统损伤; 星形胶质细胞; 反应性星形胶质细胞; 胶质瘢痕; 调控因子

## Mechanism of Glial Scar Formation after Central Nervous System Injury and Its Effect on Nerve Repair

XIONG Wei, YUAN Yajin, ZHANG Guixian, ZHOU Ningna\*

(Department of Pharmacology, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

**Abstract** Astrocytes in the damaged area were activated by many endogenous regulatory factors to become reactive astrocytes after central nervous system injured. A large number of reactive astrocytes proliferate, differentiate and migrate to form glial scar. Chondroitin sulfate proteoglycan and chondroitin sulfate secreted by glial scar are the important reasons to hinder axon regeneration and nerve function recovery. In this paper, the mechanism of glial scar formation and the mechanism of glial scar hindering axonal regeneration and neurogenesis after central nervous system injury were reviewed.

**Keywords** central nervous system injury; astrocyte; reactive astrocyte; glial scar; regulatory factors

星形胶质细胞(astrocyte, Ast)是中枢神经系统(central nervous system, CNS)主要的神经胶质细胞。正常生理条件下, Ast支持代谢营养、调节离子和神经递质、调节血脑屏障保护CNS, 并参与维持CNS的正常生理状态, 对神经元的增殖、分化、迁移及神经轴突和神经突触的发育等都具有重要的调控作用。CNS损伤后, 脑组织的炎症反应、缺血缺氧、活性氧的过氧化作用、谷氨酸超负荷、大量的胶质

细胞的活化等因素, 诱导Ast增殖活化, 成为反应性星形胶质细胞(reactive astrocyte, RA), 且上调表达RA形成的标志蛋白: 胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)和波形蛋白(vimentin)。RA是胶质瘢痕形成的重要基础<sup>[1]</sup>。CNS损伤后, 受损部位活化的Ast中多种内源性调控因子被上调, Ast活化为RA并大量增殖、分化、迁移, 促进胶质瘢痕形成。RA作为胶质瘢痕的重要组成成分是影响CNS

收稿日期: 2020-05-12 接受日期: 2020-06-30

国家自然科学基金(批准号: 81860714)和云南中医药大学中药学院学科建设项目(批准号: 2020TD16)资助课题

\*通讯作者。Tel: 13987161160, E-mail: zhningna@ynutcm.edu.cn

Received: May 12, 2020 Accepted: June 30, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81860714) and Discipline of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine (Grant No. 2020TD16)

\*Corresponding author. Tel: +86-13987161160, E-mail: zhningna@ynutcm.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5372>

损伤后神经功能恢复的关键。损伤部位的胶质瘢痕分泌大量硫酸软骨素(chondroitin sulfate, CS), 形成了抑制新生神经元迁移的环境; 硫酸软骨素蛋白聚糖(chondroitin sulfate proteoglycan, CSPG)包裹于胶质瘢痕周围, 形成阻碍神经轴突再生的化学屏障, 从而影响神经功能的恢复<sup>[2]</sup>。现就CNS损伤后, 形成胶质瘢痕的调控因子进行介绍, 为治疗脑损伤、脑卒中及脑炎等CNS损伤病症提供新的思路。

## 1 胶质瘢痕形成的调控因子

CNS损伤后, Ast分泌ski(Sloan-Kettering)癌基因蛋白、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、炎症因子、细胞周期调节蛋白、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、补体、热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)、蛋白酶激活受体2(protease activated receptor 2, PAR2)、睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)、血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)-BB等调控因子, 加快Ast的增殖、分化、迁移, 促进胶质瘢痕形成。

### 1.1 ski癌基因蛋白

ski是一种多功能转录调节因子, 是调控细胞增殖、分化、迁移的原癌基因蛋白<sup>[3-4]</sup>。ski癌基因蛋白参与神经系统发育, ski丧失功能会影响神经元新生、颅面系统和脊髓的正常发育。

王明等<sup>[5]</sup>研究发现, 正常Ast中, ski癌基因蛋白表达较低; 通过脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激或划痕损伤诱导Ast活化后, 随着时间的增加, ski癌基因蛋白的表达也逐渐增加, 达到最高值后又逐渐降低, 但仍然高于对照组。在RA中, ski癌基因蛋白表达与RA的特异性标志蛋白GFAP的表达呈正相关, 提示ski癌基因蛋白可能通过调控Ast的活化、增殖、分化, 从而调控胶质瘢痕的形成。体外培养的Ast转染ski-siRNA以抑制ski癌基因表达, Transwell实验发现, 转染组Ast迁移数少于对照组; 划痕实验显示, 划痕损伤15天后, 转染组Ast的划痕愈合率显著低于对照组, 提示ski癌基因蛋白可能通过加快Ast的迁移, 促进胶质瘢痕的形成<sup>[6]</sup>。

### 1.2 ET-1

ET-1是1988年首次发现于猪的主动脉内皮细胞中, 血管收缩作用最强的生物活性肽, 由21种氨基酸多肽组成, 广泛分布于哺乳动物的外周组织和CNS。ET-1能激活有丝分裂原活化的蛋白激酶(mitogen-

activated protein kinase, MAPK)信号通路, 从而促进细胞增殖<sup>[7]</sup>。

ET-1在CNS中发挥着非常重要的作用, CNS受损后, RA大量分泌的ET-1可通过加快细胞外钙离子内流、激活磷脂酶、谷氨酸释放、血管收缩作用等, 加重损伤脑组织的破坏程度, 进一步促进胶质瘢痕的产生<sup>[8]</sup>。小鼠脑缺血后, RA的ET-1过表达表现出更严重的神经功能缺陷, 并伴有内环境稳态失调、脑水肿和血脑屏障完整性受损, 所有这些都是导致缺血性脑损伤加重的原因。将卵磷脂定位注射于C57BL/6小鼠的胼胝体, 5天后小鼠发生局灶性脱髓鞘病变。比较模型组小鼠与对照组小鼠发现, 模型组小鼠脱髓鞘病变区域的ET-1表达显著升高、Ast大量增殖、GFAP表达增强及JNK磷酸化增强<sup>[9]</sup>。Ast过表达ET-1(overexpress ET-1 in astrocytes, GET-1)小鼠1 h缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤后, 与对照组小鼠相比, 神经功能障碍更为明显。脑卒中后, RA分泌的ET-1通过Janus激酶2/信号转导与转录激活子3(Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3, JAK2/STAT3)途径, 促使神经祖细胞的增殖并分化为大量的RA, 导致脑卒中后更严重的脑损伤<sup>[10]</sup>。正常情况下, GET-1小鼠的脑形态、脑血管、绝对脑血流量、BBB完整性及平均动脉血压等方面均无异常。而线栓法诱导GET-1小鼠短暂性大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)后与对照组小鼠相比较发现, GET-1小鼠脑组织表现出更多的伊文思蓝外渗, 血管内皮细胞紧密连接蛋白(occluding)表达降低, 包裹脑血管的Ast终足水通道蛋白4(aquaporin 4)表达也更为明显, 从而导致更严重的缺血性脑损伤。脑缺血大鼠脑组织中ET-1也升高, ET-1在脑缺血损伤发病机制中起着重要作用。脑卒中后, RA合成大量ET-1, ET-1以自分泌的方式作用于RA, 导致RA大量增殖<sup>[11]</sup>。多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)患者的脱髓鞘斑块中, RA大量分泌ET-1, 引起MS患者视神经血灌注不足, 视力迅速下降。ET-1可通过激活海马神经元树突的ET<sub>B</sub>受体, 形成丝切蛋白(cofilin)棒状结构使细胞内转运异常和突触丢失, 从而引起神经元功能性障碍<sup>[12]</sup>。

### 1.3 促炎症因子

在脊髓损伤后, TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ )、IL-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ )、IL-6(interleukin-6)、IFN-

$\gamma$ (interferon- $\gamma$ )等显著升高,这些促炎症因子通过调控核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)通路活化,参与炎症反应及RA的增殖,加重脑组织的炎症反应,增加胶质瘢痕面积,阻碍神经元修复,抑制神经轴突再生<sup>[13]</sup>。WANG等<sup>[14]</sup>研究发现,小鼠脊髓损伤后激活的小胶质细胞大量分泌IL-1 $\beta$ ,激活JAK2/STAT3通路,加快小鼠脊髓的炎症反应,p-JAK2/p-STAT3能够促进RA的增殖,从而调控胶质瘢痕形成。转录因子CCAAT增强子结合蛋白 $\delta$ (human CCAAT/enhancer binding protein delta, C/EBP $\delta$ )是调控炎症因子基因的调节蛋白。体外研究中,IL-1 $\beta$ 刺激Ast后,RA中C/EBP $\delta$ 的表达增加,且抑制小G蛋白Rho A(ras homolog gene family, member A)的表达,抑制RA迁移<sup>[15]</sup>。体外培养大鼠的Ast中,过表达转录因子SOX9促进了Ast的细胞外基质CSPG表达升高,而通过SOX9 siRNA抑制SOX9的活性则抑制了Ast的细胞外基质CSPG表达<sup>[16]</sup>。IFN- $\gamma$ 通过激活toll样受体2(toll-like receptor 2, TLR2)、TLR3和TNF- $\alpha$ 途径增加了Ast的内源性 $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn)和促炎症细胞因子的释放,诱导Ast胶质化。IFN- $\gamma$ 和LPS共刺激可提高Ast的解耦联蛋白2(uncoupling protein 2, UCP2)的mRNA和蛋白表达水平,破坏Ast线粒体结构,促进TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 的释放,增加活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成,加快Ast活化为RA<sup>[17]</sup>。

#### 1.4 细胞周期调节蛋白

在正常细胞生长过程中,细胞周期蛋白有条不紊地调控细胞分化、增殖、凋亡等进程。细胞周期蛋白(cyclin)家族在哺乳动物细胞周期正向调控中起重要作用,细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)家族是细胞分裂的主调节因子<sup>[18]</sup>。

脑发育和损伤后脑修复中,Ast的周期正向调控起到非常关键的作用,cyclin D1作为Ast的转录调控因子,在Ast增殖中起着重要作用。CNS损伤后,cyclin D1使静止的Ast能够启动DNA复制,使细胞从G<sub>0</sub>期或G<sub>1</sub>期早期进入S、G<sub>2</sub>和M期<sup>[19]</sup>。CDK5是一种参与神经发育和神经传递的细胞周期蛋白依赖性激酶,但其过度激活与神经退行性变有关,抑制CDK5基因表达可在CNS损伤后短时间和长时间内预防Ast增生<sup>[20]</sup>。2,3,7,8-四氯二苯并二恶英(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, TCDD)是一种持久性有机污染物。TCDD作用于Ast 24 h后,对Ast的增殖有明

显的促进作用。TCDD处理后,磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)、磷酸化STAT3和cyclin D1的表达水平呈剂量和时间依赖性升高。抑制Akt/STAT3表达,则TCDD诱导Ast的cyclin D1下调。TCDD通过Akt/STAT3/cyclin D1途径促进Ast增殖,导致Ast反应性病<sup>[21]</sup>。诱导大鼠慢性压迫性神经损伤(chronic constriction injury, CCI)后,p35、磷酸化细胞外信号调节激酶1/2(phosphorylated extracellular signal-regulated kinase 1/2, pERK1/2)和GFAP在脊髓中的强阳性表达及磷酸化过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (phosphorylated peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , pPPAR $\gamma$ )下调,而大鼠髓鞘内注射CDK5抑制剂、MEK抑制剂和PPAR $\gamma$ 激动剂,则会增加pPPAR $\gamma$ 的表达,抑制Ast的活化,减少RA释放的促炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6)<sup>[22]</sup>。

#### 1.5 TGF- $\beta$

TGF- $\beta$ 是各种组织瘢痕形成和纤维化的重要因素。TGF- $\beta$ 1是TGF- $\beta$ 家族中间充质细胞生长的调节因子,也是致纤维化最强的细胞因子之一<sup>[23]</sup>。

CNS损伤早期,RA大量分泌的TGF- $\beta$ 1与胶质瘢痕的形成有关,各种组织疤痕形成及纤维化过程中,TGF- $\beta$ /Smads途径是多种组织疤痕形成和纤维化的重要通路。大鼠脊髓损伤后给予TGF- $\beta$ 1,结果显示,胶质瘢痕增长比对照组更明显,TGF- $\beta$ 1-Smad3信号通路在RAs增殖中起着关键作用<sup>[24]</sup>。在Ast体外培养中,TGF- $\beta$ 1能刺激细胞骨架蛋白和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)蛋白,如神经蛋白聚糖的产生。TGF- $\beta$ 1使RA的CSPG沉积增加,增加了损伤部位轴突生长抑制因子的表达<sup>[25]</sup>。建立C57BL/6小鼠大脑中动脉远端闭塞(distal middle cerebral artery occlusion, DMCAO)模型后,发现小鼠皮层Ast反应性显著增强;脑内TGF- $\beta$ 1显著上调,诱导Ast活化及胶质瘢痕的形成<sup>[26]</sup>。体外Ast与M2巨噬细胞共培养实验发现,M2巨噬细胞释放TGF- $\beta$ 可增加Ast分泌CSPG、神经黏蛋白(neurocan)、血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF),加快胶质瘢痕形成<sup>[27]</sup>。

#### 1.6 补体

补体系统(complement system)是存在于大多数哺乳动物中的先天性免疫和适应性免疫的重要组成部分,经活化后有助于宿主的防御反应,包括抗炎、吞噬和细胞裂解等<sup>[28]</sup>。

正常生理状况下, 脑脊液中能检测到CNS中所有细胞类型合成分泌少量的补体成分, 如C3、C3a、C3c、C4、C5a等。脑出血后, 外周血循环中血源性补体成分(肥大细胞、粒细胞、淋巴细胞等合成分泌的补体)透过损伤的血脑屏障渗漏至CNS, 与脑组织胶原结合, 导致出血和凝血途径被激活; 激活后所产生的凝血酶、血清酶也能引起补体的激活。C3a和C5a是补体系统被诱导激活后所产生的两种促炎生物活性肽。C3a和C5a通过与其特异性受体C3aR和C5aR结合, 而发挥多种生物活性。C3a与Ast表达的C3aR结合后, 可加快Ast活化成为RA, 进一步形成胶质瘢痕。C5a通过与Ast和神经元表达的C5a受体结合, 促进损伤区RA增生、神经元程序性死亡、RA胶质化, 进而形成胶质瘢痕<sup>[29]</sup>。从阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)患者获取的血清样本分离得到Ast外泌体(astrocyte-derived exosome, ADE), 与对照组相比, AD患者中ADE经典和替代补体通路蛋白水平升高。AD患者ADE中C4b和补体因子B的Bb片段浓度升高, ADE将C3b传递给神经元, 并在神经元表面形成C5b-C9TCC, C3b和C5b-C9TCC都会损伤神经元<sup>[30]</sup>。C57BL/6小鼠在全身麻醉和镇痛条件下进行胫骨稳定骨折手术后发现, 术后早期海马区Ast的C3水平明显升高, 但是C3在小胶质细胞或神经元中不表达, 海马小胶质细胞C3aR表达增加, Ast的C3与小胶质细胞的C3aR结合, 激活小胶质细胞分泌大量的促炎症因子IL-1 $\beta$ 和IL-6。术后3天, 促炎症因子表达逐渐降低至假手术水平。C3aR拮抗剂处理可有效降低术后1天的小胶质细胞活化, C3aR阻断能降低术后6 h脑内IL-1 $\beta$ 和IL-6的表达水平。CR2相关的补体抑制剂, 能抑制补体C3及替代补体通路<sup>[31]</sup>。C57BL/6小鼠复制控制性皮质撞击(controlled cortical impact, CCI)模型1 h后给予补体C3抑制剂CR2Cry、替代补体通路(alternative complement pathway, ACP)抑制剂CR2fH。与对照组相比, CR2Cry对补体C3抑制作用或CR2fH对ACP的抑制作用有效地减少小鼠脑内病变体积, 明显减少胶质瘢痕、神经元上的C3d沉积, 小鼠的运动功能和认知障碍有了显著的改善<sup>[32]</sup>。

### 1.7 HSP70

热休克蛋白也被称为应激(包括热应激、缺血应激和创伤应激)蛋白, 能够随温度升高而过量表达, 通过确保蛋白质的正确折叠、防止蛋白质错误折叠和促进不正确折叠蛋白质的降解来维系细胞存活<sup>[33]</sup>。

CNS损伤后, 过表达HSP70的RA中, GFAP的表达显著增加, 与HSP70的表达呈正相关, HSP70可能通过调节GFAP的表达来参与RA增生<sup>[34]</sup>。STAT3参与Ast存活和增殖的转录, *L*-谷氨酰胺在ICR小鼠MCAO后24 h和72 h增加了大脑皮层HSP70、p-STAT3的表达。*L*-谷氨酰胺诱导HSP70可能是通过激活p-STAT3通路参与Ast的增殖<sup>[35]</sup>。在原代培养的大鼠Ast中加入 $\alpha$ -syn后, Ast被激活, GFAP、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、诱导型一氧化氮合酶(inducible NOS, iNOS)、TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 的表达显著增高。HSP70表达上调伴随着神经炎症反应, 添加HSP70的抑制剂VER 155008可显著增加TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、GFAP、COX-2和iNOS的表达, 明显加重Ast的炎症反应<sup>[36]</sup>。

### 1.8 PAR2

PAR2广泛分布于哺乳动物中, PAR2在调控RA增生与胶质瘢痕形成中发挥重要作用。

黎天尊等<sup>[37]</sup>研究发现, 大鼠脊髓Ast损伤后, 通过阻断PAR2的表达可抑制RA的增生。用PAR2特异性抑制剂FSLRY-NH2和PAR2特异性抗体(anti-PAR2 antibody)两种不同的方法, 对损伤的大鼠脊髓RA通过FSLRY-NH2对PAR2进行阻断, 损伤的大鼠脊髓RA的PAR2被阻断12 h、1天和3天后, 细胞增殖活性明显被抑制; 被阻断24 h及3天后, GFAP和vimentin的表达也有明显下降。大鼠脊髓损伤后, 给予PAR2激动剂或PAR2抑制剂, 模型组GFAP和vimentin的表达水平明显高于PAR2抑制剂组, 但明显低于PAR2激动剂组。脊髓损伤后, 假手术组可见大量排列整齐的神经元和神经轴突, 模型组受损区域神经元及神经轴突较少, 只有少量神经轴突穿过胶质瘢痕。PAR2抑制剂组受损区域神经轴突及神经元较多, 大部分神经轴突可穿透胶质瘢痕。PAR2激动剂组受损区域中几乎没有神经元及神经轴突。模型组神经胶质瘢痕厚度比PAR2抑制剂组明显增厚, 但模型组神经胶质瘢痕厚度比PAR2激动剂组薄。抑制PAR2活性减少胶质瘢痕形成, 改善神经功能; 促进PAR2活性能够加快胶质瘢痕形成, 抑制神经元功能。PAR2通过调节GFAP和波形蛋白对胶质瘢痕形成起调节作用<sup>[38]</sup>。

### 1.9 CNTF

CNTF是能维持体内和体外脊髓运动神经元的存活、促进神经轴突生长的神经营养因子<sup>[39]</sup>。

动物实验证实, 中枢或周围神经系统受到损伤时, CNTF分泌的量随时间增加而增多。成年大鼠脊髓损伤可导致RA中CNTF明显上调, 且CNTF受体可由RA产生, CNTF又可以促进RA的增殖与分化<sup>[40]</sup>。大鼠脑顶部钻孔破坏性损伤后, RA肥大、胶质化, 形成胶质瘢痕。大鼠脑顶部钻孔破坏性损伤后, 再给予CNTF发现, 损伤区域附近的RA显著胶质化; RA数目增加、胞体增大、突起变粗大且延长。CNTF具有促进胶质化的作用, 表现为典型的RA肥大和增生, 后期形成胶质瘢痕<sup>[41]</sup>。SD大鼠皮层注射CNTF表达的慢病毒载体与注射病毒载体的对照组和未注射GFAP的大鼠相比, 大鼠海马Ast的GFAP显著增加<sup>[42]</sup>。

### 1.10 PDGF-BB

1973年, 在人血清中发现了PDGF, 其分子量为27~31 kDa, 因其来源于血小板而得名<sup>[43]</sup>。二聚体PDGF-BB可激活Ast的PDGFR, 促进Ast增殖并产生ECM蛋白。磷脂酰肌醇-3激酶/丝氨酸苏氨酸激酶(phosphoinositide 3-kinase/serine threonine protein kinase, PI3K/Akt)对维持细胞存活、加快细胞代谢、促进细胞增殖具有十分重要的作用。PDGFR是PI3K/Akt的上游调控因子, 介导调控Ast的周期。

在小鼠Ast和成纤维细胞(fibroblast, Fb)的体外共培养体系加入PDGF-BB或PDGFR的小分子抑制剂AG1296。未加PDGF-BB时, 两种细胞共培养体系的细胞独立生长, 而加入PDGF-BB后, 共培养体系的Ast和Fb相互重叠、成簇生长且聚集成团。PDGF-BB诱导Ast和Fb体外共培养体系的细胞大量增殖、聚集, 和体内CNS损伤部位的Ast和Fb增殖相似, PDGF-BB可以诱导Ast和Fb形成瘢痕组织。给予PDGF-BB刺激可使Ast和Fb共培养体系细胞显著增殖; p-PDGFR $\beta$ 、p-Akt表达明显增多; 加入AG1296时, p-PDGFR $\beta$ 、p-Akt明显被抑制, 并且细胞增殖明显减弱。PDGF-BB可以通过PI3K/Akt通路调控Ast活化、增殖<sup>[44]</sup>。

## 2 胶质瘢痕形成对神经修复的影响

### 2.1 硫酸软骨素蛋白聚糖阻碍神经轴突再生

CNS损伤后, 损伤部位形成的胶质瘢痕中RA分泌到周围ECM的CSPG显著上调<sup>[45]</sup>。阻碍CNS损伤后神经功能修复的一个主要阻碍因素就是CSPG的存在并形成强而有力的阻碍神经元迁移以及神经轴

突再生的化学屏障。脊髓损伤后, CSPG在离病灶较近和较远的部位都显著增长, 创造了一个限制神经元新生和神经轴突再生的环境。CSPG的核心蛋白上修饰有硫酸软骨素-糖胺聚糖(chondroitin sulfate glycosaminoglycan, CS-GAG)链。CS-A、CS-B、CS-C、CS-D、CS-E决定CSPG的核心蛋白CS-GAG与其他分子结合的特定模式。营养不良的神经轴突生长锥最初处于高度活跃的状态, 随着CSPG浓度的增加, 具有潜力再生的神经轴突的生长锥肿胀、萎缩。自噬功能在维持细胞内平衡和调控细胞的生理功能健康中起着至关重要的作用。CSPG可通过与其主要同源受体蛋白酪氨酸磷酸酶 $\sigma$ (protein tyrosine phosphatase sigma, PTP $\sigma$ )结合而产生自噬功能。CS-E与神经轴突生长锥上的PTP $\sigma$ 结合具有最高亲和力。激活CSPG/PTP $\sigma$ 途径可抑制自噬体-溶酶体融合步骤, 从而抑制神经轴突生长锥的自噬活性。CSPG能激活细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)和Rho/Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(ras homolog gene/Rho-associated coiled coil-forming protein kinase, Rho/ROCK)发挥抑制神经轴突的作用。CNS损伤后, CSPG通过结合PTP $\sigma$ , 抑制自噬体-溶酶体融合, 破坏神经轴突生长锥内稳态, 从而抑制神经轴突的再生。小鼠脊髓压迫损伤后, PTP $\sigma$ 基因敲除小鼠显示, 神经轴突再生能力增强<sup>[46]</sup>。

CSPG不仅干扰受损神经元的生长, 也抑制了神经轴突的再生及神经功能的恢复。用软骨素酶ABC(chondroitinase ABC, ChABC)酶解CSPG的GAG链, 促进各种CNS损伤模型的神经轴突再生和神经功能恢复。实验发现, 单次给药ChABC能够消化CSPG的大部分GAG单位, 从而降低其对神经轴突再生的抑制作用。然而, ChABC作为一种对温度高度敏感的细菌酶, ChABC在加入后的几天内迅速失去其酶活性<sup>[47]</sup>。模型组小鼠创伤性脊髓损伤后, 与对照组相比, 病变区域Ast增生的数量分别增加了30倍和24倍。髓鞘内注射TLR9拮抗剂ODN 2088可使增生的Ast数量减少60%。TLR拮抗剂通过阻止Erk/MAPK信号通路的激活而降低了脊髓受损小鼠Ast的增殖。此外, 脊髓受损小鼠与对照组相比, 在损伤区域CSPG表达更为明显, 脊髓损伤小鼠使用ODN 2088后CSPG表达显著降低。在胶质瘢痕形成过程中, CSPG对抑制神经轴突生长起重要作用。因此, 抑制

CSPG活性可能是促进中枢神经系统损伤后轴突再生和功能恢复的一个新的治疗靶点<sup>[48]</sup>。

## 2.2 硫酸软骨素阻碍新生神经元迁移

硫酸软骨素是ECM蛋白多糖(proteoglycan, PG)组成部分之一, CS组装为细胞膜表面的PGs的结构糖蛋白, 细胞通过PG识别ECM的信息, 从而感知和响应生物力学微环境的变化及协调组织内稳态, 对组织形态和功能的动态平衡的维持至关重要<sup>[49]</sup>。

在成年哺乳动物的大脑中, 侧脑室的脑室下区(subventricular zone, SVZ)有大量的神经干细胞(neural stem cells, NSC), NSC能分化为新生神经元; 然而, 形成胶质瘢痕的RA分泌大量的CS至ECM, 形成了阻碍新生神经元迁移至损伤部位的环境。GALINDO等<sup>[50]</sup>将C57BL/6幼鼠SVZ区的NSC在含有CS的或未含CS的培养基中体外培养, 发现CS可减少NSC间的移动距离、抑制NSC的迁移、降低NSC的迁移速度。ECM中Rho鸟苷三磷酸酶(guanosine triphosphatase, GTPase)调节NSC骨架的重组和位移, 从而调控NSC迁移。含有CS的培养基添加ROCK通路抑制剂Y27632体外培养大鼠NSC, 与对照组比较, 添加ROCK抑制剂Y27632的NSC所占面积显著增加、部分NSC分化为神经元、NSC细胞比较分散不呈团簇、NSC迁移。C57BL/6小鼠外伤性脑损伤诱导的胶质瘢痕是一个富含CS的环境, 阻止SVZ来源的迁移NSC进入损伤区, 减少神经新生的机会。CS通过Nogo受体家族成员抑制RhoA/ROCK信号, 缩短NSC迁移的距离, 减慢迁移速度, 并诱导大面积黏连的形成。

## 3 总结与展望

CNS损伤后, 神经抑制因子大量分泌、神经轴突再生能力减弱、神经元再生能力低下。损伤区域附近的水肿、肥大的RA大量增殖、分化、迁移紧密围绕病变核心。RA与细胞外基质(CS及CSPG)在病变部位形成胶质瘢痕, 使损伤部位与邻近的组织之间形成一道屏障。然而, 胶质瘢痕作为一种物理和化学屏障, 在CNS损伤晚期会阻碍患者的功能恢复。因此, 抑制CNS损伤后慢性期胶质瘢痕的形成可能是改善预后的一个有希望的靶点。介导胶质瘢痕形成成为靶点的治疗策略, 被认为是改善中枢神经系统损伤后功能恢复的重要环节。目前, 胶质瘢痕形成的机制还尚未明确, 研究Ast增殖、分化及迁移的部分调控因素的机制对减轻胶质瘢痕的增生有重

要意义, 可能为将来CNS损伤后神经轴突再生及神经功能的恢复带来希望。

## 参考文献 (References)

- [1] ESCARTIN C, GUILLEMAUD O, CARRILLO-DE SAUVAGE M A. Questions and (some) answers on reactive astrocytes [J]. *Glia*, 2019, 67(12): 2221-47.
- [2] PEKNY M, WILHELMSSON U, TATLISUMAK T, et al. Astrocyte activation and reactive gliosis-a new target in stroke [J]. *Neurosci Lett*, 2019, 689: 45-55.
- [3] ANGELES C, DIANA G, GENARO V, et al. Transcriptional co-factors ski and snoN are major regulators of the TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway in health and disease [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2018, 3: 8-15.
- [4] DA PALMA J R, CENDRON L, SEIDAH N G, et al. Mechanism of folding and activation of subtilisin kexin isozyme-1 (SKI-1)/site-1 protease (S1P) [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(5): 2055-66.
- [5] 王明, 杨新乐, 陈铁戈, 等. Ski对脂多糖诱导大鼠星形胶质细胞炎症因子释放的影响[J]. *中国康复理论与实践*(WANG M, YANG X Y, CHEN T G, et al. The effect of ski on lipopolysaccharide: induced release of inflammatory factors in astrocytes [J]. *Chinese Journal of Rehabilitation Theory and Practice*), 2018, 24(7): 802-6.
- [6] 赵鑫, 王兴文, 寇江力, 等. 沉默ski基因对大鼠星形胶质细胞迁移的影响[J]. *中国康复理论与实践*(ZHAO X, WANG W X, KOU J L, et al. The effect of ski gene silencing on astrocyte migration in rats [J]. *Chinese Journal of Rehabilitation Theory and Practice*), 2017, 23(8): 905-11.
- [7] THORIN E, WEBB D J. Endothelium-derived endothelin-1 [J]. *Pflugers Arch*, 2010, 459(6): 951-8.
- [8] LEI Q, LI S, ZHENG R, et al. Endothelin-1 expression and alterations of cerebral microcirculation after experimental subarachnoid hemorrhage [J]. *Neuroradiology*, 2015, 57(1): 63-70
- [9] GADEA A, SCHINELLI S, GALLO V. Endothelin-1 regulates astrocyte proliferation and reactive gliosis via a JNK/c-Jun signaling pathway [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(10): 2394-408.
- [10] CHENG X, YEUNG P K K, ZHONG K, et al. Astrocytic endothelin-1 overexpression promotes neural progenitor cells proliferation and differentiation into astrocytes via the Jak2/Stat3 pathway after stroke [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 227.
- [11] LO A C, CHEN A Y, HUNG V K, et al. Endothelin-1 overexpression leads to further water accumulation and brain edema after middle cerebral artery occlusion via aquaporin 4 expression in astrocytic end-feet [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 25(8): 998-1011.
- [12] CTAM S W, FENG R, LAU W K, et al. Endothelin type B receptor promotes cofilin rod formation and dendritic loss in neurons by inducing oxidative stress and cofilin activation [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(33): 12495-506.
- [13] KRUPA P, SVOBODOVA B, DUBISOVA J, et al. Nano-formulated curcumin (Lipodisq™) modulates the local inflammatory response, reduces glial scar and preserves the white matter after spinal cord injury in rats [J]. *Neuropharmacology*, 2019, 15(5): 54-64.
- [14] WANG H, LI Z, GAO J, et al. Circular RNA circPTK2 regulates oxygen-glucose deprivation-activated microglia-induced hippo-

- campal neuronal apoptosis via miR-29b-SOCS-1-JAK2/STAT3-IL-1 $\beta$  signaling [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 12(9): 488-96.
- [15] WANG S M, HSU J C, KO C Y, et al. Astrocytic CCAAT/enhancer-binding protein delta contributes to glial scar formation and impairs functional recovery after spinal cord injury [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(9): 5912-27.
- [16] 高梦丹, 林敬铨, 童亮, 等. 姜黄素抑制转化生长因子 $\beta$ 信号通路对脊髓损伤修复作用的研究进展[J]. *中国中西医结合杂志* (GAO M D, LIN J Q, TONG L, et al. Research progress of curcumin inhibiting transforming growth factor  $\beta$  signal pathway in the repair of spinal cord injury [J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*), 2018, 38(7): 893-6.
- [17] PENG W, HUANG J, ZHENG Y, et al. UCP2 silencing aggravates mitochondrial dysfunction in astrocytes under septic conditions [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(5): 4459-66.
- [18] RONG Y, LIU W, ZHOU Z, et al. Harpagide inhibits neuronal apoptosis and promotes axonal regeneration after spinal cord injury in rats by activating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Brain Res Bull* 2019, 14(8): 91-9
- [19] SHI Y, LUO P, YI C, et al. Effects of mitofusin2 on astrocytes proliferation *in vitro* induced by scratch injury [J]. *Neurosci Lett*, 2020, 729: 134969.
- [20] MUÑOZ-MANCO J I, GUTIÉRREZ-VARGAS J A, CARDONA-GÓMEZ G P. Neurogenesis and gliogenesis modulation in cerebral ischemia by CDK5 RNAi-based therapy [J]. *Biomedica*, 2018, 38(3): 388-97.
- [21] WU C Y, YIN K Z, ZHANG Y, et al. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin promotes proliferation of astrocyte cells via the Akt/STAT3/Cyclin D1 pathway [J]. *Biomed Environ Sci*, 2019, 32(4): 281-90.
- [22] ZHONG Y, CHEN J, CHEN J, et al. Crosstalk between Cdk5/p35 and ERK1/2 signalling mediates spinal astrocyte activity via the PPAR $\gamma$  pathway in a rat model of chronic constriction injury [J]. *J Neurochem*, 2019, 151(2): 166-84.
- [23] MORIKAWA M, DERYNCK R, MIYAZONO K. TGF- $\beta$  and the TGF- $\beta$  family: context-dependent roles in cell and tissue physiology [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8(5): a021873.
- [24] BENTON R L, MADDIE M A, DINCMAN T A, et al. Transcriptional activation of endothelial cells by TGF $\beta$  coincides with acute microvascular plasticity following focal spinal cord ischaemia/reperfusion injury [J]. *ASN Neuro*, 2009, 1(3): e00015.
- [25] YU P, WANG H, KATAGIRI Y, et al. An *in vitro* model of reactive astrogliosis and its effect on neuronal growth [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 814: 327-40.
- [26] HOWE M D, FURR J W, MUNSHI Y, et al. Transforming growth factor- $\beta$  promotes basement membrane fibrosis, alters perivascular cerebrospinal fluid distribution, and worsens neurological recovery in the aged brain after stroke [J]. *Geroscience*, 2019, 41(5): 543-59.
- [27] SONG G, YANG R, ZHANG Q, et al. TGF- $\beta$  secretion by M2 macrophages induces glial scar formation by activating astrocytes *in vitro* [J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 69(2): 324-32.
- [28] ELWARD K. "Eat me" and "don't eat me" signals govern the innate immune response and tissue repair in the CNS: emphasis on the critical role of the complement system [J]. *Mol Immunol*, 2003, 40(2/4): 85-94.
- [29] SHAH T A, NEJAD J E, PALLERA H K, et al. Therapeutic hypothermia modulates complement factor C3a and C5a levels in a rat model of hypoxic ischemic encephalopathy [J]. *Pediatr Res*, 2017, 81(4): 654-62.
- [30] GOETZL E J, SCHWARTZ J B, ABNER E L, et al. High complement levels in astrocyte-derived exosomes of Alzheimer disease [J]. *Ann Neurol*, 2018, 83(3): 544-52.
- [31] XIONG C, LIU J, LIN D, et al. Complement activation contributes to perioperative neurocognitive disorders in mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 254.
- [32] ALAWIEH A, LANGLEY E F, WEBER S, et al. Identifying the role of complement in triggering neuroinflammation after traumatic brain injury [J]. *J Neurosci*, 2018, 38(10): 2519-32.
- [33] KIM J Y, HAN Y, LEE J E, et al. The 70-kDa heat shock protein (Hsp70) as a therapeutic target for stroke [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(3): 191-9.
- [34] GLEIXNER A M, POSIMO J M, PANT D B, et al. Astrocytes surviving severe stress can still protect neighboring neurons from proteotoxic injury [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(7): 4939-60.
- [35] LUO L L, LI Y F, SHAN H M, et al. L-glutamine protects mouse brain from ischemic injury via up-regulating heat shock protein 70 [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(9): 1030-41.
- [36] YU W W, CAO S N, ZANG C X, et al. Heat shock protein 70 suppresses neuroinflammation induced by  $\alpha$ -synuclein in astrocytes [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2018, 86(14): 58-64.
- [37] 黎天尊, 夏永智, 刘强, 等. PAR2在损伤的大鼠脊髓星形胶质细胞增生中的作用研究[J]. *重庆医科大学学报*(LI T Z, XIA Y Z, LIU Q, et al. Study on the role of PAR2 in the proliferation of astrocytes in the injured spinal cord of rats [J]. *Journal of Chongqing Medical University*), 2015, 40(5): 656-61.
- [38] LI T Z, DENG H, LIU Q, et al. Protease-activated receptor-2 regulates glial scar formation via JNK signaling [J]. *Physiol Res*, 2019, 68(2): 305-16.
- [39] DING J, HE Z, RUAN J, et al. Role of ciliary neurotrophic factor in the proliferation and differentiation of neural stem cells [J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 37(3): 587-92.
- [40] TRIPATHI R B, MCTIGUE D M. Chronically increased ciliary neurotrophic factor and fibroblast growth factor-2 expression after spinal contusion in rats [J]. *J Comp Neurol*, 2008, 510(2): 129-44.
- [41] 林江凯, 蔡文琴, 范明. 重组睫状神经营养因子对大鼠反应性胶质质的影响[J]. *第三军医大学学报*(LIN J K, CAI W Q, FAN M. Effect of recombinant ciliary neurotrophic factor on reactive gliosis in rats [J]. *Journal of the Third Military Medical University*), 2000, 23(2): 156-9.
- [42] SEIDEL J L, FAIDEAU M, AIBA I, et al. Ciliary neurotrophic factor (CNTF) activation of astrocytes decreases spreading depolarization susceptibility and increases potassium clearance [J]. *Glia*, 2015, 63(1): 91-103.
- [43] LAINE R A, HAKOMORI S. Incorporation of exogenous glycosphingolipids in plasma membranes of cultured hamster cells and concurrent change of growth behavior [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1973, 54(3): 1039-45.
- [44] 裴丹, 李洪鹏. PDGFR/PI3K/Akt信号通路在PDGF-BB促进体外小鼠脑星形胶质细胞增殖中的作用[J]. *中国医科大学学报*(PEI D, LI H P. The role of PDGFR/PI3K/Akt signaling pathway in PDGF-BB promoting the proliferation of mouse brain astro-

- cytes *in vitro* [J]. Journal of China Medical University), 2019, 48(12): 1076-81.
- [45] NABANITA M, SUBHADRA N, SHUBHAM G, et al. Targeting chondroitin sulfate proteoglycans: an emerging therapeutic strategy to treat CNS injury [J]. ACS Chem Neurosci, 2020, 11(3): 231-2.
- [46] TRAN A P, WARREN P M, SILVER J. Regulation of autophagy by inhibitory CSPG interactions with receptor PTP $\sigma$  and its impact on plasticity and regeneration after spinal cord injury [J]. Exp Neurol, 2020, 23(5): 328-31.
- [47] YANG X. Chondroitin sulfate proteoglycans: key modulators of neuronal plasticity, long-term memory, neurodegenerative, and psychiatric disorders [J]. Rev Neurosci, 2020, 13(3): 122-31.
- [48] LI L, NI L, EUGENIN E A, et al. Toll-like receptor 9 antagonism modulates astrocyte function and preserves proximal axons following spinal cord injury [J]. Brain Behav Immun, 2019, 80: 328-43.
- [49] FARRUGIA B L, LORD M S, WHITELOCKA J M, et al. Harnessing chondroitin sulphate in composite scaffolds to direct progenitor and stem cell function for tissue repair [J]. Biomater Sci, 2018, 6(5): 947-57.
- [50] GALINDO L T, MUNDIM M T V, PINTO A S, et al. Chondroitin sulfate impairs neural stem cell migration through ROCK activation [J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(4): 3185-95.