

外周神经再生机制的研究进展

洪 丹¹ 金海英¹ 朱雅静¹ 王 芳¹ 王 莹^{1*} 黄智慧^{2*}

(¹温州医学院生命科学学院, 温州 325035; ²温州医学院基础医学院, 温州 325035)

摘要 在特定环境和神经元自身生长能力激活的条件下, 受损的外周神经能自我再生, 而中枢神经系统却无法实现。受损的外周神经元生长能力的激活受多种因素调节, 包括内在因素(如胞浆环磷酸腺苷(cAMP)水平)和外周因素(如细胞外基质、神经营养因子和细胞因子等)。该文主要对现阶段外周神经再生的内在及外周因素的分子机制进行综述。

关键词 外周神经再生; cAMP; 细胞外基质蛋白; 神经营养因子; 神经突生长

1 引言

在外周神经损伤后, 其轴突远端经历Wallerian变性(Wallerian degeneration, WD), 轴突和髓鞘衍生物的清除、循环利用, 为神经再生提供有利条件。巨噬细胞与雪旺细胞被迅速募集至受损部位, 共同参与修复和清除碎片。与此同时, 近端分支开始再生。目前, 研究表明: 损伤导致的逆向运输信号障碍、钙内流以及受损端暴露于变性与炎性环境等协同作用, 刺激近端神经再生, 但再生起始的信号仍未被阐明^[1]。外周神经损伤能激活神经元自身生长, 促进其在外周神经系统(peripheral nervous system, PNS)和中枢神经系统(central nervous system, CNS)的再生, 并克服髓鞘再生相关抑制因素的影响^[2-4]。外周神经系统中, 在神经元自身生长能力的激活、促再生微环境、轴突导向因子和细胞粘附分子的共同作用下, 损伤的神经成功再生。

本文主要对外周神经再生过程中, 再生相关分子机制的最新研究进展进行综述。

2 外周神经再生的内在因素

外周神经再生一重要的特征是外周神经损伤能激活神经元的自身生长能力, 以背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)初级感觉神经元为例。背根神经节细胞(dorsal root ganglion neuron, DRGN)属假单极神经元。由胞体发出一根短的轴突, 随后形成类似T字形的分支。一支加入脊神经支配外周感觉器官(周围突), 另外一支加入脊髓背根进入脊髓(中枢突)。大部分的中枢突终止在进入节段或相邻节段的脊髓灰质, 部分经脊髓后索终止在延髓背侧的后索核。虽然离体培养的DRGN能形成多根突起,

但在体内, DRGN并不形成树突。同一胞体来源的中枢突及周围突对损伤的应答却是完全不同的: 周围突损伤后能自发再生, 并恢复功能, 但中枢突却不能。这种再生潜能的区别主要在于它们所处的环境。当中枢突损伤发生在周围突病变后, 中枢突能在脊髓的抑制性环境中, 再生进入甚至越过受损区域, 这种现象被称为条件性外周病变(conditioning peripheral lesion)^[2-3]。

离体培养DRGN的轴突生长受髓鞘相关糖蛋白(myelin-associated glycoprotein, MAG)及髓磷脂(myelin)的抑制, 但当周围突在培养之前已受损, DRGN在MAG或myelin存在下能够长出突起^[5-6]。体内、体外实验均表明DRG周围突损伤具有激活神经元自身的生长能力、克服髓鞘再生相关抑制分子的作用。周围突损伤是如何激活神经元自身生长能力的? 两个不同实验室^[5-6]都发现外周神经损伤之后细胞内环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)含量升高。将cAMP的类似物双丁酰-环磷酸腺苷(dibutyryl-cAMP, dB-cAMP)注射入完好的DRGN内, 能够激活神经元自身的生长能力, 并促进DRG中枢突的损伤后再生。在离体条件下, 预先注射dB-cAMP, 即使在MAG存在的情况下仍能促进培养的DRG周围突生长。最近研究发现, 电刺激可促进外周神经的再生, 这种作用很可能也是通过提高受损神经元的胞浆cAMP的水平实现的^[3,7]。然而, 目前

收稿日期: 2011-03-06 接受日期: 2011-05-11

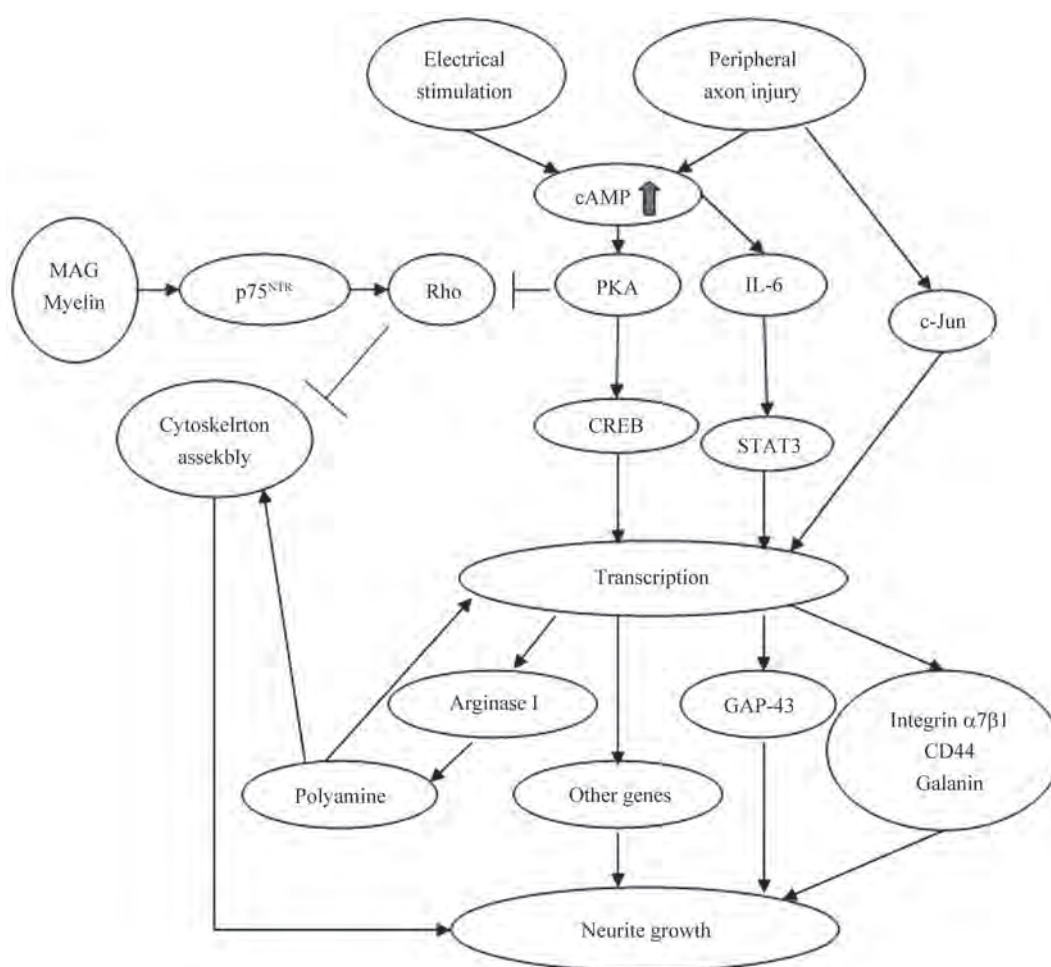
温州医学院本科生创新项目(No.WYZ201001002)、温州医学院启动基金(No.QTJ09013)、浙江省教育厅基金(No.Y200906728)和浙江省自然科学基金(No.Y2110364, No.Y2110242)资助项目。

*通讯作者。Tel: 0577-86699725, E-mail: nancywangying@163.com; hzhzju021@163.com

对于为何只有外周神经损伤而非中枢神经损伤, 能升高胞浆内cAMP水平及激活神经元自身生长能力的机制尚不明确。

cAMP通过蛋白激酶A(protein kinaseA, PKA)起作用, 抑制PKA的活性能阻断条件性病变引起的感觉神经元在MAG或myelin上的神经突起生长^[5-6]。PKA可能通过抑制Rho活性调节细胞骨架, 促进轴突延伸^[8]。cAMP和PKA对再生的作用受转录水平

调节, 主要通过cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)来实现, 激活CREB能克服轴突生长中髓鞘衍生抑制剂的作用, 并促进在体中轴突再生^[9-10](图1)。Epac已被证明是一种不依赖于PKA激酶而被cAMP激活的信号蛋白。激活Epac可促进DRGN轴突生长, 并能促进脊髓损伤的神经再生。RNAi干扰Epac表达, 能抑制cAMP介导的轴突生长。不对称地激活Epac, 吸引轴突生



外周神经损伤和电刺激通过提高胞浆cAMP水平, 激活神经元内在生长能力。cAMP含量升高激活PKA: 一方面, PKA通过CREB诱导基因表达引起包括*arginase 1*等再生相关基因的表达上调, *arginase 1*促进多胺类合成; 另一方面, 激活PKA抑制MAG或myelin引起的Rho活化, 促进神经再生。cAMP含量升高也能上调*IL-6*, 通过STAT3, 诱导*gap-43*等再生相关基因的表达。此外, 外周损伤诱导*c-Jun*转录因子依赖的再生相关基因的表达, 例如*integrin α7β1*、*cd44*和*galanin*。根据文献[43]做适当修改。

Peripheral nerve injury and electrical stimulation elevates intracellular cAMP levels. Activation of PKA by cAMP triggers gene expression through CREB, resulting in transcriptional upregulation of regeneration-related genes such as *arginase 1*. *Arginase 1* promotes the synthesis of polyamines. Activation of PKA also inhibits Rho antagonizing MAG or myelin-induced Rho activation and inhibition of neurite growth. Elevated cAMP levels also upregulate *IL-6*, which, through STAT3, induces regeneration-related genes such as *gap-43*. Peripheral injury additionally induces *c-Jun* transcription factor-dependent regeneration-related gene expression such as *integrin α7β1*, *cd44* and *galanin*. Adapted from the reference [43].

图1 神经损伤或电刺激激活神经元内在生长能力信号转导通路

Fig.1 Signaling pathways for activation of intrinsic growth capacity by peripheral nerve injury or electrical stimulation

长锥转向,这与cAMP作用相类似。因此,Epac在调节cAMP依赖的轴突生长、导向中扮演了一个重要角色,为诱导轴突在体内再生提供了一重要的靶分子^[11]。

外周神经损伤在转录水平调控其它许多基因的表达。参与多胺合成的精氨酸酶I(Arginase I)在外周损伤后通过cAMP和PKA表达上调。过表达Arginase I能消除轴突生长中MAG和myelin的抑制效应,阻断多胺合成能在MAG和myelin存在下抑制cAMP对轴突生长的作用。多胺类可能会进一步诱导神经再生中其它必需基因的表达或直接影响细胞骨架从而促进轴突延伸^[10](图1)。另外,外周神经损伤也诱导*c-Jun*,条件性敲除神经元中*c-Jun*的表达,会降低神经的再生能力^[13]。在*c-Jun*敲除的小鼠中,再生过程所涉及的分子,如整合素 $\alpha 7 \beta 1$ 、*CD44*和甘丙肽(galanin)等的生成受到严重影响^[12](图1)。

神经元自身生长能力的激活是通过拮抗myelin相关抑制性分子介质,帮助神经元克服myelin相关分子的抑制作用,促进突起生长(体外)和神经再生(体内)来完成的。MAG或myelin结合Nogo受体(Ngr)-p75和(p75^{NTR})复合物,激活Rho。Rho通过影响Rho相关激酶(Rho-associated kinase, ROCK)和其它下游效应分子,调节细胞骨架。外周神经损伤引起的cAMP升高能抑制Rho,并拮抗myelin相关抑制分子对Rho的激活(图1)。另外,神经元与myelin相关抑制分子相互作用,可激活Gi蛋白,抑制腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC),减少胞内cAMP。外周神经条件性损伤升高细胞内cAMP水平,从而拮抗MAG或myelin引起的cAMP降低。

由于DRGN的结构特殊,细胞在生长能力受激活情况下,能够提高周围突与中枢突的生长能力。然而中枢神经系统胞浆cAMP水平升高是否能激活神经元自身生长能力尚不明确。最近研究显示,提高视网膜神经节细胞内cAMP水平并不能促使其进入生长状态^[13]。然而,在斑马鱼模型中,注射cAMP到无法正常生长的脊髓神经元病变区能够诱发功能性再生^[14]。值得探讨的是,注射dB-cAMP至皮层锥体神经元(投射至脊髓运动神经元)是否能够激活神经元自身生长能力并促进损伤后脊髓神经的再生?

神经元自身生长能力的激活能够提高再生能力,但功能性的再生恢复还依赖于特定的环境和轴突导向因子(能够促使轴突朝正确靶向再生)。而后

者可能依赖于细胞外基质蛋白和外周神经表达的神经营粘附因子。斑马鱼中枢神经系统中只有部分神经元能够自我再生,这取决于其自身生长能力的不同。原本没有再生能力的神经元由于cAMP水平升高而实现神经的功能性再生,这提示了神经元自身生长能力和特定环境对于神经功能再生都具有非常重要的意义。

3 外周神经再生的外在因素

3.1 细胞外基质

外周神经系统与中枢神经系统在结构上存在很大差别。在外周神经系统中,雪旺细胞是最主要的胶质细胞,包裹周围突形成髓鞘,并形成连续的基膜。在中枢神经系统中,寡突胶质细胞包裹中枢突形成髓鞘,但无法形成连续基膜。中枢系统神经再生最主要的障碍来自损伤引起的myelin相关抑制性分子和胶质疤痕(glial scar)。中枢神经系统中,星形胶质细胞形成胶质疤痕,而在外周神经系统中却没有。虽然中枢神经系统内的myelin相关抑制因子,如MAG、少突胶质细胞髓鞘糖蛋白(oligodendrocyte myelin glycoprotein, OMG)及这些蛋白的受体Ngr、p75^{NTR}等,都能在外周神经系统中表达。但与中枢神经系统不同的是,损伤后外周神经系统中雪旺细胞和巨噬细胞能快速清除髓鞘碎片,同时雪旺细胞也能去分化和下调myelin蛋白的表达。这种损伤后不同的局部反应是外周神经再生能力较高的一重要因素。Nogo-A是一种myelin相关的抑制蛋白,只在中枢神经系统表达,无法在外周神经系统中表达。研究表明,在雪旺细胞中表达Nogo-A的转基因老鼠,在外周神经损伤后期其神经再生受限^[15]。

在外周神经系统中,细胞外基质蛋白中的层粘连蛋白(laminin)在完整和受损的神经中都大量表达^[16-17]。有确凿的证据显示层粘连蛋白在体外神经突起生长中发挥重要的作用,且层粘连蛋白 $\gamma 1$ 是大鼠海马内受损神经再生所必需的。已知的层粘连蛋白15种亚型中,层粘连蛋白2($\alpha 2 \beta 1 \gamma 1$)和层粘连蛋白8($\alpha 4 \beta 1 \gamma 1$)在外周神经的神经内膜中表达。外周神经损伤上调这些层粘连蛋白亚型表达,表明层粘连蛋白在外周神经再生中起到重要作用。Agius和Cochard^[18]的一项体外测定实验的结果显示, $\alpha 2$ -层粘连蛋白链的特异性抗体能抑制去神经支配的神经截面的神经突起生长。在 $\gamma 1$ -层粘连蛋白条件性敲

除小鼠中, 雪旺细胞不能生成 γ 1-层粘连蛋白链, 大部分的层粘连蛋白亚基不能表达, 而在坐骨神经挤压损伤模型中, 神经再生被严重破坏。这是由于层粘连蛋白能直接促进神经突起延伸, 而基因敲除小鼠中雪旺细胞功能受到明显影响。因此, 层粘连蛋白可能通过直接充当神经再生的基质或者间接支持雪旺细胞的作用, 又或两者共同作用, 使其在神经成功再生过程中发挥重要作用。

外周神经系统中层粘连蛋白受体为整合素(integrin)和肌营养不良蛋白聚糖(dystroglycan)。与层粘连蛋白参与神经再生相符, 层粘连蛋白受体在外周神经受损运动神经元的胞体和再生的轴突中同时表达。在整合素 $\alpha 7$ (*integrin $\alpha 7$*)的基因敲除小鼠($\alpha 7\beta 1$ 是整合素的一种受体)中, 其运动神经元轴突的生长速率降低^[16]。在体外实验中, 低浓度层粘连蛋白或纤维蛋白(fibronectin)作为底物培养大鼠DRG, 出生2~3天的DRG神经突起具有强大的生长能力, 而相同条件下来自成年动物的DRG几乎没有这种能力。通过腺病毒介导基因表达, 当成年动物神经元的整合素蛋白水平提高到与新生神经元相近时, 神经突起生长速率也与之相似^[19]。此外, 成熟DRGN中整合素 $\alpha 1$ 过表达能够促进神经突起在抑制性的硫酸软骨素(inhibitory chondroitin sulfate proteoglycans, CSPGs, 一种中枢神经系统中与胶质疤痕和低水平层粘连蛋白相关的主要抑制物)底物上生长。细胞外糖蛋白dystroglycan与层粘连蛋白-2结合, 形成雪旺细胞基底膜的主要成份。Dystroglycan参与了雪旺细胞外膜与基底膜的粘附作用, 并参与雪旺细胞髓鞘化过程^[20]。另外, 整合素 $\alpha 9$ 也能促进神经再生, 与 $\beta 1$ 形成复合体促进轴突生长。最新的研究表明, 该复合体在轴突的转运受Rab11/Rab信号蛋白的调节。因此, 可以通过调控Rab11/Rab促进 $\alpha 9/\beta 1$ 的转运, 从而促进神经再生^[21]。总之, 只要提高整合素表达水平且有充足配体, 成熟的神经元也能够克服诸如CSPGs之类的抑制因子的影响。

层粘连蛋白和其它细胞外基质蛋白除了有促进神经再生的功能外, 在体外轴突建立过程中也发挥重要作用。将胎鼠的海马神经元在层粘连蛋白和多聚右旋赖氨酸(poly-D-lysine, PDL)交替的条子布图案的玻璃片上培养, 海马神经元在层粘连蛋白上发育成轴突^[22]。由于层粘连蛋白激活磷酸肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K), 继而诱导神经突

起快速延伸以分化为轴突, 因此PI3K/AKT/GSK-3 β 在体外轴突形成中也有重要作用^[23]。通过将AKT的Pleckstrin同源结构域段标记上绿色荧光蛋白(AKT-PH-GFP), Menager等^[24]发现在神经突起接触层粘连蛋白时, 能局部地激活PI3K。将表达AKT-PH-GFP的神经元与层粘连蛋白包被的beads共培养时, 神经元快速将AKT-PH-GFP转运至突起与层粘连蛋白接触区域, 使与层粘连蛋白接触的突起能以30倍以上的速度生长。而当来自同一个神经元的第二根神经突起与层粘连蛋白包被的beads接触时, 这根神经突起也会快速延伸, 第一根与层粘连蛋白接触的神经突起则会停止延伸。PI3K的抑制剂能阻断层粘连蛋白引起的AKT-PH-GFP聚集和神经突起的延伸, 这说明局部层粘连蛋白激活PI3K信号诱导神经突起延伸和轴突的分化。PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10)是内源性PI3K的抑制剂。最近研究发现, PTEN表达于神经元胞体、胞核、再生的轴突和雪旺细胞。离体和在体实验均表明抑制PTEN的活性能促进外周损伤的神经生长^[25]。Pten的基因敲除实验也显示, 敲除pten基因能促进皮质脊髓神经再生^[26]。

层粘连蛋白与整合素结合触发整合素受体引起PI3K的磷酸化和激活, 继而激活AKT。活化后的AKT发生磷酸化并抑制GSK-3 β 的活性, 并且触发细胞骨架结合蛋白调节细胞骨架的延伸。整合素功能阻断性抗体能抑制层粘连蛋白诱发的神经突起延伸^[27], 证明了层粘连蛋白对神经突起延伸的作用很可能是通过整合素受体以及PI3K/AKT信号通路。这条信号通路同样调节层粘连蛋白诱发的神经元极性的建立, 因此层粘连蛋白促使神经再生是依赖于保守的细胞极性建立信号途径的。

3.2 神经营养因子

神经营养因子在神经受损后神经元的存活中起重要作用^[28], 保护神经元免于死亡, 同时能够激发神经再生的潜能。最近体外研究显示, 神经营养因子比如神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、神经营养因子3(neurotrophin 3, NT-3)和脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF), 能通过保守的细胞极化信号途径促进突起生长^[29]。这些营养因子在生长锥局部激活并密切调控PI3K。局部激活的PI3K磷酸化并抑制GSK-3 β 活性, 再通过调节骨架结合蛋白来促进轴突的生长。

神经营养因子促进轴突生长的机制与层粘连蛋白类似^[30], 不过目前还不清楚两者是否存在协调作用。事实上, NGF促进DRGN的突起生长依赖于层粘连蛋白, 但不管在中枢神经还是外周神经系统的发育中, 神经营养因子或层粘连蛋白单独作用时对神经突起的生长都是有限的。

外周末梢神经的损伤使神经营养因子如NGF和BDNF的表达升高, 但其在神经再生中的具体作用尚不明确^[31]。在受伤区使用低剂量BDNF仅对慢性受损的神经再生有促进作用, 对急性神经受伤却无作用。然而, 高剂量BDNF在急性或慢性神经受损模型中, 都抑制神经再生^[32]。由于细胞外基质蛋白和神经营养因子两者促进轴突延伸是通过相似的细胞内信号途径, 在外周神经损伤时, 细胞外基质蛋白和神经营养因子的作用效果达到平衡, 从而促进损伤后外周神经再生最大化, 添加外源性的神经营养因子反而会破坏这种平衡。同样的, 再生时缺乏一种神经营养因子也会由其他神经营养因子或细胞外基质蛋白所代偿。因此, 敲除某一种神经营养蛋白的基因可能并不会显著影响外周神经的再生。

3.3 细胞因子

白介素-6(interleukin-6, IL-6)是一种与外周神经再生相关的细胞因子。运动神经元轴突被切断后, 包绕运动神经纤维的非神经细胞内IL-6 mRNA表达上调^[33]。DRGN损伤使得坐骨神经受损后Wallerian变性区内IL-6 mRNA表达也上调^[34]。IL-6在外周神经再生时的作用已被证实, IL-6基因敲除的成年小鼠出现感觉障碍, 且急性损伤后感觉神经的再生延缓^[35]。

在条件性病变和dB-cAMP治疗后的DRGN内IL-6表达升高^[36]。体内和离体实验显示, DRGN内IL-6过表达能模拟外周条件性病变和cAMP对神经的再生。IL-6作用依赖于转录调控, 但不依赖于cAMP。然而, IL-6相关基因可受cAMP或条件性病变诱导。由于阻断IL-6信号不影响cAMP克服myelin抑制物的作用, IL-6相关基因敲除小鼠对条件性病变的反应与野生型小鼠无差别, IL-6可能属于cAMP下游的一个信号途径, 并有其它信号途径与IL-6平行, 这些信号途径之间可以相互代偿^[36]。此外, 最近报道显示IL-6参与神经再生是通过调节雪旺细胞促炎信号^[37]。另一种在坐骨神经损伤后被诱导的细胞因子是白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor,

LIF)。LIF与IL-6相近, 其发挥功能的受体机制与IL-6有重叠。在DRG中LIF能被逆向转运至感觉神经元胞体, 并诱导神经再生相关的基因表达^[38]。研究表明LIF敲除小鼠受损后的外周神经再生能力显著降低^[39]。

信号转导与转录活化蛋白3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)是外周神经再生中与IL-6和LIF信号转导相关的一种转录因子。神经损伤诱导受伤区的IL-6和LIF表达, 使其与各自的受体结合后激活Janus 激酶(Janus kinase, JAK), JAK继而磷酸化STAT3^[40]。磷酸化的STAT3(p-STAT3)从受损区逆向转运至胞体, 并进入细胞核, 激活神经再生相关的关键基因, 如生长联合蛋白43(growth-associated protein 43, gap-43)、*S100*和*pmp22*基因的表达^[41]。Stat3条件性敲除小鼠的研究显示STAT3对受损运动神经元的存活是必须的^[42], 但其对外周神经再生的具体作用尚未被研究。

4 总结和展望

外周神经功能性的成功再生取决于特定外在环境和神经元自身生长能力的共同作用。其中由外周神经受损引起的胞内cAMP水平升高在激活神经元自身生长能力中起关键性作用。我们所讨论的上述这些信号途径都和周围突再生有关, 比如神经营养因子可能参与诱导cAMP和激活神经元自身生长能力, 而IL-6是cAMP信号途径中下游效应因子。在外周神经再生中, 所有的这些分子和相关信号传导通路通过紧密的调控来确保再生的顺利进行。我们将文中再生相关分子进行了总结, 见表1。

目前大多数再生方面的研究都关注在中枢神经系统如何促进轴突的延伸方面, 然而, 周围突成功再生的确切分子机制尚不明确。神经结构的再生并不意味着神经再生成功, 还需要与靶细胞重新建立突触连接, 恢复其生理功能。功能性再生的机制研究是今后神经再生领域一个很重要的研究方向。神经元自身生长能力的相关分子作用是被推测出来的, 那么阻断cAMP的升高或PKA的活性是否能破坏周围突的再生? 周围突成功再生的分子机制的阐明是否能为中枢神经再生提供参考和理论基础? 通过外周和中枢再生机制的研究比较, 我们期待神经再生机制的阐明。

表1 影响外周神经再生的因素汇总

Table 1 Factors affect the peripheral regeneration			
影响因素	离体实验	在体实验	参考文献
Effect factors	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	References
Second messengers			
cAMP	+	+	[5-6,14]
Transcription factors			
CREB		+	[9]
c-Jun		+	[12]
STAT3		+	[38]
Kinases			
PKA		+	[6]
Arginase I	+		[10]
PI3 kinase	+		[23-24]
PTEN	-	-	[25-26]
ECMs			
Nogo-A		-	[15]
Laminin	+	+	[16-17]
Integrin		+	[16,19,21]
Dystroglycan		+	[20]
Neurotrophic factors			
BDNF	+	+/-	[28,30-32]
NGF	+		[28-31]
NT-3	+		[28,30-31]
Cytokines			
IL-6		+	[33-35,37]
LIF		+	[38-39]

参考文献 (References)

- Makwana M, Raivich G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. *FEBS J* 2005; 272(11): 2628-38.
- Neumann S, Skinner K, Basbaum AI. Sustaining intrinsic growth capacity of adult neurons promotes spinal cord regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(46): 16848-52.
- Udina E, Furey M, Busch S, Silver J, Gordon T, Fouad K. Electrical stimulation of intact peripheral sensory axons in rats promotes outgrowth of their central projections. *Exp Neurol* 2008; 210(1): 238-47.
- Hannila SS, Filbin MT. The role of cyclic AMP signaling in promoting axonal regeneration after spinal cord injury. *Exp Neurol* 2008; 209(2): 321-32.
- Neumann S, Bradke F, Tessier-Lavigne M, Basbaum AI. Regeneration of sensory axons within the injured spinal cord induced by intraganglionic cAMP elevation. *Neuron* 2002; 34(6): 885-93.
- Qiu J, Cai D, Dai H, McAtee M, Hoffman PN, Bregman BS, *et al.* Spinal axon regeneration induced by elevation of cyclic AMP. *Neuron* 2002; 34(6): 895-903.
- Gordon T, Udina E, Verge VM, de Chaves EI. Brief electrical stimulation accelerates axon regeneration in the peripheral nervous system and promotes sensory axon regeneration in the central nervous system. *Motor Control* 2009; 13(4): 412-41.
- Yang P. New strategy to promote adult spinal cord regeneration: Enhance adult neurons' intrinsic growth capability. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan* 2009; 40(1): 14-8.
- Gao Y, Deng K, Hou J, Bryson JB, Barco A, Nikulina E, *et al.* Activated CREB is sufficient to overcome inhibitors in myelin and promote spinal axon regeneration *in vivo*. *Neuron* 2004; 44(4): 609-21.
- Cai D, Deng K, Mellado W, Lee J, Ratan RR, Filbin MT. Arginase I and polyamines act downstream from cyclic AMP in overcoming inhibition of axonal growth MAG and myelin *in vitro*. *Neuron* 2002; 35(4): 711-9.
- Murray AJ, Shewan DA. Epac mediates cyclic AMP-dependent axon growth, guidance and regeneration. *Mol Cell Neurosci* 2008; 38(4): 578-88.
- Raivich G, Bohatschek M, Da Costa C, Iwata O, Galiano M, Hristova M, *et al.* The AP-1 transcription factor c-Jun is required for efficient axonal regeneration. *Neuron* 2004; 43(1): 57-67.
- Goldberg JL, Klassen MP, Hua Y, Barres BA. Amacrine-signaled loss of intrinsic axon growth ability by retinal ganglion cells. *Science* 2002; 296(5574): 1860-4.
- Bhatt DH, Otto SJ, Depoister B, Fetcho JR. Cyclic AMP-induced repair of *zebrafish* spinal circuits. *Science* 2004; 305(5681): 254-8.
- Pot C, Simonen M, Weinmann O, Schnell L, Christ F, Stoeckle S, *et al.* Nogo-A expressed in Schwann cells impairs axonal regeneration after peripheral nerve injury. *J Cell Biol* 2002; 159(1): 29-35.
- Webber C, Zochodne D. The nerve regenerative microenvironment: Early behavior and partnership of axons and Schwann cells. *Exp Neurol* 2010; 223(1): 51-9.
- Grimpe B, Dong S, Doller C, Temple K, Malouf AT, Silver J. The critical role of basement membrane-independent laminin gamma 1 chain during axon regeneration in the CNS. *J Neurosci* 2002; 22(8): 3144-60.
- Aguis E, Cochard P. Comparison of neurite outgrowth induced by intact and injured sciatic nerves: a confocal and functional analysis. *J Neurosci* 1998; 18(1): 328-38.
- Condic ML. Adult neuronal regeneration induced by transgenic integrin expression. *J Neurosci* 2001; 21(13): 4782-8.
- Masaki T, Matsumura K, Saito F, Sunada Y, Shimizu T, Yorifuji H, *et al.* Expression of dystroglycan and laminin-2 in peripheral nerve under axonal degeneration and regeneration. *Acta Neuropathol* 2000; 99(3): 289-95.
- Eva R, Dassie E, Caswell PT, Dick G, French-Constant C, Norman JC, *et al.* Rab11 and its effector Rab coupling protein contribute to the trafficking of beta 1 integrins during axon growth in adult dorsal root ganglion neurons and PC12 cells. *J Neurosci* 2010; 30(35): 11654-69.
- Esch T, Lemmon V, Banker G. Local presentation of substrate molecules directs axon specification by cultured hippocampal

- neurons. *J Neurosci* 1999; 19(15): 6417-26.
- 23 Jiang H, Guo W, Liang X, Rao Y. Both the establishment and the maintenance of neuronal polarity require active mechanisms: Critical roles of GSK-3 β and its upstream regulators. *Cell* 2005; 120(1): 123-35.
- 24 Ménager C, Arimura N, Fukata Y, Kaibuchi K. PIP3 is involved in neuronal polarization and axon formation. *J Neurochem* 2004; 89(1): 109-18.
- 25 Christie KJ, Webber CA, Martinez JA, Singh B, Zochodne DW. PTEN inhibition to facilitate intrinsic regenerative outgrowth of adult peripheral axons. *J Neurosci* 2010; 30(27): 9306-15.
- 26 Liu K, Lu Y, Lee JK, Samara R, Willenberg R, Sears-Kraxberger I, *et al.* PTEN deletion enhances the regenerative ability of adult corticospinal neurons. *Nat Neurosci* 2010; 13(9): 1075-81.
- 27 Bates CA, Meyer RL. The neurite-promoting effect of laminin is mediated by different mechanisms in embryonic and adult regenerating mouse optic axons *in vitro*. *Dev Biol* 1997; 181(1): 91-101.
- 28 Yin Q, Kemp GJ, Frostick SP. Neurotrophins, neurones and peripheral nerve regeneration. *J Hand Surg Br* 1998; 23(4): 433-7.
- 29 Zhou FQ, Zhou J, Dedhar S, Wu YH, Snider WD. NGF-induced axon growth is mediated by localized inactivation of GSK-3 β and functions of the microtubule plus end binding protein APC. *Neuron* 2004; 42(6): 897-912.
- 30 Arimura N, Kaibuchi K. Key regulators in neuronal polarity. *Neuron* 2005; 48 (6): 881-4.
- 31 Markus A, Patel TD, Snider WD. Neurotrophic factors and axonal growth. *Curr Opin Neurobiol* 2002; 12(5): 523-31.
- 32 Boyd JG, Gordon T. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. *Eur J Neurosci* 2002; 15(4): 613-26.
- 33 Kiefer R, Lindholm D, Kreutzberg GW. Interleukin-6 and transforming growth factor- β 1 mRNAs are induced in rat facial nucleus following motoneuron axotomy. *Eur J Neurosci* 1993; 5(7): 775-81.
- 34 Bourde O, Kiefer R, Toyka KV, Hartung HP. Quantification of interleukin-6 mRNA in wallerian degeneration by competitive reverse transcription polymerase chain reaction. *J Neuroimmunol* 1996; 69(1/2): 135-40.
- 35 Zhong J, Dietzel ID, Wahle P, Kopf M, Heumann R. Sensory impairments and delayed regeneration of sensory axons in interleukin-6-deficient mice. *J Neurosci* 1999; 19(11): 4305-13.
- 36 Cao Z, Gao Y, Bryson JB, Hou J, Chaudhry N, Siddiq M, *et al.* The cytokine interleukin-6 is sufficient but not necessary to mimic the peripheral conditioning lesion effect on axonal growth. *J Neurosci* 2006; 26(20): 5565-73.
- 37 Lee HK, Wang L, Shin YK, Lee KY, Suh DJ, Park HT. Interleukin-6 induces proinflammatory signaling in Schwann cells: A high-throughput analysis. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 382(2): 410-4.
- 38 Thompson SW, Vernallis AB, Heath JK, Priestley JV. Leukaemia inhibitory factor is retrogradely transported by a distinct population of adult rat sensory neurons: Co-localization with trkA and other neurochemical markers. *Eur J Neurosci* 1997; 9(6): 1244-51.
- 39 Cafferty WB, Gardiner NJ, Gavazzi I, Powell J, McMahon SB, Heath JK, *et al.* Leukemia inhibitory factor determines the growth status of injured adult sensory neurons. *J Neurosci* 2001; 21(18): 7161-70.
- 40 Cafferty WB, Gardiner NJ, Gavazzi I, Powell J, McMahon SB, Heath JK, *et al.* Conditioning injury-induced spinal axon regeneration requires signal transducer and activator of transcription 3 activation. *J Neurosci* 2005; 25(7): 1645-53.
- 41 Ito T, Ikeda K, Tomita K, Yokoyama S. Interleukin-6 upregulates the expression of PMP22 in cultured rat Schwann cells via a JAK2-dependent pathway. *Neurosci Lett* 2010; 472(2): 104-8.
- 42 Schweizer U, Gunnarsen J, Karch C, Wiese S, Holtmann B, Takeda K, *et al.* Conditional gene ablation of Stat3 reveals differential signaling requirements for survival of motoneurons during development and after nerve injury in the adult. *J Cell Biol* 2002; 156(2): 287-97.
- 43 Chen ZL, Yu WM, Strickland S. Peripheral regeneration. *Annu Rev Neurosci* 2007; 30: 209-33.

Molecular Mechanism of Peripheral Regeneration

Hong Dan¹, Jin Haiying¹, Zhu Yajing¹, Wang Fang¹, Wang Ying^{1*}, Huang Zhihui^{2*}

(¹*School of Life Sciences, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;* ²*School of Basic Medicine, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China*)

Abstract Peripheral nerves regenerate spontaneously after injury because of a permissive environment and activation of the intrinsic growth capacity of neurons, whereas the central nervous system usually can not regenerate. Growth capacity of injury neurons are activated by intrinsic factors such as cyclic adenosine monophosphate (cAMP), and extrinsic factors such as extracellular matrix, neurotrophins and cytokines. Here, we review the current understanding of peripheral axon regeneration and focus on intrinsic and extrinsic factors for axon regeneration.

Key words peripheral axon regeneration; cAMP; extracellular matrix; neurotrophic factors; neurite outgrowth

Received: March 6, 2011 Accepted: May 11, 2011

This work was supported by Undergraduate Program of Wenzhou Medical School (No.wyz201001002), Startup Foundation of Wenzhou Medical School (No.QTJ09013), Foundation of Zhejiang Educational Committee (No.Y200906728) and Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.Y2110364, No.Y2110242)

*Corresponding author. Tel: 86-577-86699725, E-mail: nancywangying@163.com; hzhzju021@163.com