

神经营养因子前体蛋白功能的研究进展

樊拥军 许 健^{1*}(浙江理工大学生命科学学院, 杭州 310018; ¹浙江中医药大学生命科学院, 杭州 310053)

摘要 神经营养因子是一组在结构与功能上具有相关性的多肽性因子, 它们通过前体蛋白的切割成为具有特定功能的成熟蛋白, 为不同的神经细胞亚群提供营养支持, 在中枢神经系统和周围神经系统的发育分化及病理生理中起着重要的作用。以前认为神经营养因子的前体不具有生理功能, 最近的研究则表明, 神经营养因子前体蛋白具有不同于神经营养因子的功能。研究发现, 神经营养因子前体, 至少神经生长因子和脑源性神经营养因子的前体大量存在于细胞外, 它们通过与 p75^{NTR} 和 sortilin 受体组成三聚体诱导神经细胞的凋亡。这一机制可能与神经发育时调节神经细胞的比例, 神经损伤后神经细胞的死亡以及某些人类疾病的发生有密切联系。此外, 神经营养因子前体还可能具有其他未知的新功能, 对神经营养因子前体功能的深入研究将使人们对神经系统的发生、发育及神经系统疾病的发病机制有更加深入的了解, 并有助于神经系统疾病新药物、新疗法的开发与研究。

关键词 神经营养因子前体蛋白; 凋亡; p75^{NTR}; sortilin

神经营养因子(neurotrophins, NTs)是一组功能相关的多肽性生长因子, 在中枢神经系统和周围神经系统起着重要的作用, 调节着神经细胞的生长、发育、分化与死亡。在胚胎神经系统发育中, 神经营养因子能促进神经细胞存活及神经突起的生长; 发育后期, 神经营养因子在维持神经元的形态和功能上起着关键作用; 神经损伤后, 神经营养因子则为神经细胞提供积极的营养作用。目前已确定的神经营养因子包括: 神经生长因子(nerve growth factor, NGF), 脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF), 神经营养素 3 (neurotrophin-3, NT-3) 和神经营养素 4/5 (NT-4/5)。成熟的神经营养因子氨基酸数量相同(118~120), 分子量相近(约 12 kDa), 一级结构具有 50% 的相似性。

神经营养因子在体内主要以前体的形式合成, 其前体分子量为 30~35 kDa。在高尔基体内, 神经营养因子前体经过钙依赖的丝氨酸蛋白酶 furin 和 pro-convertase 裂解, 释放出具有生物活性的羧基端, 即成熟的蛋白质。其氨基端则与成熟蛋白的正确折叠及分泌有关。长期以来人们认为这一过程只在细胞内完成, 但后来发现神经营养因子(至少 NGF 和 BDNF) 可以前体的形式从神经元和胶质细胞泌出, 在细胞外蛋白酶的作用下切割释放出成熟的蛋白质。而近年来对神经营养因子前体功能的进一步研究则发现, 神

经营养因子前体具有不同于成熟的神经营养因子的作用。越来越多的研究表明, 神经营养因子前体能诱导神经细胞的凋亡, 与神经损伤后神经元的死亡及神经退行性变等神经系统疾病有关, 其作用方式和成熟的营养因子不尽相同^[1,2]。

此前的研究证实, 各神经营养因子的作用都是通过结合两类不同的跨膜受体 Trk (tropomyosin-related kinase) 和 p75^{NTR} (p75 neurotrophin receptor) 来完成的^[3,4]。一般而言, Trk 通路是促生长、维持生存和增强突触功能的, 而 p75^{NTR} 通路是促凋亡、抑制生长和减弱突触功能的。与神经营养因子的作用方式不同, 神经营养因子前体除了与这两类受体作用外, 其诱导细胞凋亡的功能需要 p75^{NTR} 和另外一个受体 sortilin 的共同作用来完成。

1 神经生长因子前体作用受体

1.1 Trk 受体

Trk 受体包括 TrkA、TrkB 和 TrkC 三个亚型。研究表明, 不同的 NGF 优先结合不同亚型的 Trk 受体^[5,6]。如 NGF 优先结合 TrkA、BDNF, NT-4 优先

收稿日期: 2008-01-30 接受日期: 2008-04-16

国家自然科学基金(No.30670646)和浙江省自然科学基金(No. Y207380)资助项目

* 通讯作者。Tel: 0571-86633001, E-mail: fanyj_68@yahoo.com

结合 TrkB, NT-3 优先结合 TrkC。在中枢神经系统 (central nervous system, CNS), NGF 通过与 TrkA 结合的逆行性转运为胆碱能神经元提供营养作用。在周围神经系统(peripheral nervous system, PNS), NGF 促进交感神经元和感觉神经元的成熟与存活。BDNF 是周围神经系统中起源于神经嵴和外胚层的感觉神经元的营养因子, 优先结合 TrkB 受体。NT-4 与 BDNF 一样结合 TrkB 受体, 在功能上也与 BDNF 有相当大的重叠。但在 CNS, BDNF 的表达更为广泛。研究发现, BDNF 及其受体 TrkB 在突触可塑性中起着重要作用, BDNF 的降低会导致与长期记忆有关的长时程增强(long-term potentiation, LTP)的降低。在唐氏综合征小鼠模型, 其 BDNF 转导通路异常, 而通过表达全长的 TrkB 受体则能阻止皮质区的神经细胞凋亡。NT-3 能促进神经-肌肉接头处大直径背根神经节(dorsal root ganglia, DRG)神经元存活和突起生长, 还具有营养结状神经节, 螺旋神经节, 睫状神经节等神经元的作用, 但 NT-3 也可以结合 TrkA 和 TrkB 受体, 如它的促颈上神经节(superior cervical ganglia, SCG)交感神经元存活的功能就是通过 TrkA 而非 TrkC 完成的^[5,7]。

Trk 受体由胞外结构域、跨膜结构和胞内结构域三部分组成, 其胞内结构域具有酪氨酸激酶活性, 各亚型间同源性非常高; 胞外结构域由 3 个富含亮氨酸的模体和两个免疫球蛋白样 C2 型结构域构成。体外结合实验证明, 免疫球蛋白样 C2 型结构域是神经营养因子的主要结合区^[8]。神经营养因子与 Trk 受体的结合导致受体聚集和其激酶结构域的酪氨酸残基自我磷酸化, 随后其他酪氨酸残基磷酸化, 为带有 SH2 位点的蛋白质提供对接位点, 从而激活 Ras-MAPK, Rap-MAPK, PI3K-Akt (phosphoinositol-3 kinase-Akt)以及蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)信号转导通路。细胞内信号转导通路的活化直接或间接激活核内转录因子, 导致基因表达的变化。

到目前为止, 对神经营养因子前体与 Trk 受体的关系所知不多。Fayard 等^[9]证实, 在体外, proBDNF 也能结合 TrkB, 并具有使 TrkB 酪氨酸磷酸化, 激活 ERK1/2, 导致神经突起生长的作用。但 proBDNF 在体内是否同时还具有 TrkB 介导的神经营养作用尚不能确定。对基底前脑(basal forebrain, BF)神经元的研究发现, Trk 受体的磷酸化并不能阻断 proNGF 诱导的 p75^{NTR} 介导的细胞凋亡^[10]。

1.2 p75^{NTR}

p75^{NTR} 受体是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,

TNF)超家族的一员, 由 4 个带负电荷的富含半胱氨酸的重复序列组成的胞外结构域、跨膜区和由 151 个氨基酸组成的胞内死亡结构域构成。但与 TNF 受体不同的是, 它不形成三聚体。目前已知其富含半胱氨酸的重复序列是它与配体结合的部位。此部位与 Trk 受体的神经营养因子结合域序列无相似性。

最初认为, p75^{NTR} 是 NGF 的受体蛋白, 但随后的研究表明 p75^{NTR} 是神经营养因子的普遍受体, 它以相同的亲和力结合各神经营养因子。后来的研究发现, Trk 受体和 p75^{NTR} 在细胞表达的差异决定了 NGF 具有不同的生物效应, 神经营养因子与 Trk 受体的亲和力受 p75^{NTR} 的调节。如: 在 p75^{NTR} 存在时, NGF 和 BDNF 与 TrkA 和 TrkB 的亲和力明显增强^[6]。同时, p75^{NTR} 的存在也降低了 NT-3 活化 TrkA 和 TrkB 受体的能力以及 NT-4 活化 TrkB 的能力, 保证了它们首先与自己的优势受体作用。这其中 NGF 与 p75^{NTR} 的比例是重要因素之一。通过 NGF 与 p75^{NTR} 胞外段的晶体结构研究发现, NGF 与 p75^{NTR} 是以 2:1 的比例组合。NGF 二聚体与单体的 p75^{NTR} 结合导致 NGF 构型的改变从而阻止了 NGF 与第二个 p75^{NTR} 的结合^[11]。这一比例也使 NGF 与其他受体形成复合体成为可能。

在没有相应的优势 Trk 受体存在的情况下, 神经生长因子通过 p75^{NTR} 可以诱导细胞死亡。在仅表达 TrkA 和 p75^{NTR} 而不表达 TrkB 的交感神经元, BDNF 能促使凋亡发生; 而 NGF 则能导致表达 TrkB 和 p75^{NTR} 而不表达 TrkA 的发育中的鸡视网膜神经元的死亡。NGF 同样可以促使仅表达 p75^{NTR} 而不表达 TrkA 的少突胶质细胞的死亡^[3]。脊髓损伤后, p75^{NTR} 从灰质向白质的表达增高并持续两周左右, 这与脊髓损伤的病理改变相当一致。表明脊髓损伤后的二次损伤是通过该途径介导的。长期以来对神经损伤后激活 p75^{NTR} 途径的因素了解不多, 直到近年来发现了 proNGF 和 proBDNF 的诱导凋亡的新功能才使人们对此途径有了新的认识。目前, 与 p75^{NTR} 活化相关的确切分子机制还不能完全确定, 但可能与 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK), 的活化有关。到目前为止还没有发现 p75^{NTR} 具有酶的活性, 但已经证明, p75^{NTR} 的胞内结构域(intracellular domain, ICD)具有不依赖配体的独立诱导凋亡的功能。p75^{NTR} 可能通过几个细胞内的蛋白质如 TRAF6 (TNF receptor-associated factor-6), NRIF (neurotrophin receptor interacting factor), NRAGE (neurotrophin receptor-interacting MAGE homolog), NADE (p75-associated cell

death executor)的作用激活细胞内 JNK 信号转导级联系统介导了细胞凋亡。

对神经营养因子前体功能的研究发现, $p75^{NTR}$ 是神经营养因子前体作用的主要受体之一。研究表明, proNGF 或 proBDNF 与 $p75^{NTR}$ 及 sortilin 受体的结合会促使 JNK 的磷酸化和 γ 分泌酶对 $p75^{NTR}$ 的裂解, 释放出 ICD^[12], 随后出现 DNA 结合蛋白 NRIF 的核转位。与此相符, 在细胞内过表达 $p75^{NTR}$ ICD 可以诱导细胞凋亡, 而干扰小鼠 NRIF 基因则可以减轻凋亡^[13]。这些证据都表明, 神经营养因子前体诱导凋亡的作用是通过 $p75^{NTR}$ 信号转导系统完成的。

1.3 Sortilin

Sortilin 是最近才发现的 Vps10p-D (vacuolar protein sorting) 受体家族的一员, 其分子量为 95 kDa。Vps10p-D 家族属 I 型跨膜蛋白, 其成员包括 sortilin、sorLA 和 sorCS1~sorCS3, 在 CNS 和神经元高表达。Vps10p-D 家族成员的 N 端都含有一个 Vps10p-D (Vps10p domain), 通过此结构域与转运的蛋白质结合, 介导蛋白质在细胞器间的运输与细胞内定位。几个成员中, sortilin 的胞外结构域最为简单, 仅含一个 Vps10p-D。通过此结构域 sortilin 能将高尔基体的靶蛋白转运到次级内体。研究表明, 80%~90% 的 sortilin 位于细胞内膜(尤其是高尔基复合体), 这与其功能是相符的^[14]。sorCS1~sorCS3 除了一个 Vps10p-D 外后面还有一个富含亮氨酸的结构域。sorLA 的分子量最大, 为 250 kDa。其 N 端除了 Vps10p-D 外, 还有低密度脂蛋白受体位点, EGF 重复序列和 III 型纤黏连蛋白(fibronectin)重复序列。Vps10p-D 家族受体的前体在高尔基体内经 furin 作用去除 N 端前导肽成为成熟的蛋白质^[15]。目前已经证明成熟的 sortilin 能介导脂蛋白脂酶, neurotensin 及 proNGF 的快速内吞, 是神经营养因子前体诱导凋亡的关键受体。

对剔除了 sortilin 基因的小鼠的研究发现, sortilin 的功能与神经营养作用无关。Sortilin 的缺失不会影响发育过程中交感神经元的调节性凋亡, 还能阻止与衰老相关的退行性变的发生。对 sortilin 的定位研究发现, 在一些区域, sortilin 与 proNGF 的定位非常一致。如: 海马, 大脑皮层 V 层, 斜角代垂直支和平行支, 丘脑网状核, 视上核, 黑质致密区和小脑蒲肯野细胞^[16]。神经损伤后, proNGF 的表达上调, 在 sortilin^{-/-} 损伤模型, 受损的皮质脊髓束运动神经元却能免于死亡^[17], 表明 sortilin 在 proNGF 诱导的细胞凋亡中起重要作用。现在已经证明, pro-NTs/ $p75^{NTR}$ /sortilin 形成

的三聚体是诱导神经凋亡的必需条件。

对 sortilin 表达图谱的研究证明, 在小鼠胚胎 13~15 天(E13~E15)的视网膜, sortilin 与 $p75^{NTR}$ 共表达于细胞表面, 而出生后 sortilin 的表达主要在细胞内, 并且不与 $p75^{NTR}$ 共表达。此前的研究发现, E15 的视神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)会发生 $p75^{NTR}$ 依赖的凋亡, 而这种凋亡在 E17 后会受到抑制, 尽管 $p75^{NTR}$ 的表达并没有什么变化。Sortilin 表达图谱的变化很好的揭示了 RGC 凋亡的机制^[14]。不过, 在缺血性损伤动物模型, 尽管 proNGF 的表达在损伤后 24 h 明显升高, 但 sortilin/ $p75^{NTR}$ 的表达图谱并没有明显变化, 表明缺血引起的 RGC 细胞死亡可能还存在 sortilin/ $p75^{NTR}$ 之外的其他途径。最新的研究表明可能与凋亡信号调节激酶(ASK1)-38p 有关。

Vps10p-D 受体家族成员是 γ 分泌酶的作用底物, 其膜外区存在特定的加工脱落, 在 PMA (phorbol ester) 刺激后也有同样的膜外区脱落, 其效率从高到低为: sorCS1 异构体> sorCS3> sorLA> sorCS2> sortilin。肿瘤坏死因子转换酶(tumor necrosis factor- α converting enzyme, TACE)介导的胞外近膜裂解引起膜上残留体的快速降解, 而释放出的胞外片段仍具有结合配体的功能^[18], 如游离的 sortilin 仍然能结合 proNGF, 从而起到抑制 proNGF 诱导的细胞凋亡的作用。这与其他一些 γ 分泌酶作用底物不同, 如 Notch 的胞外结构域与配体结合后导致膜外区裂解, 随后 γ 分泌酶作用释放出胞内结构域(Notch intracellular domain, NICD), 释放的片段向核内转位, 参与核内的信号传递。

Vps10p-D 家族的一些成员具有特殊的功能, 如 sorLA 的胞外结构域能结合与阿尔茨海默病(AD)相关的淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP), 还能避免使淀粉样蛋白(amyloid)前体转变为有害的 β 淀粉样蛋白。在 AD 病人, sorLA 被下调了。另一方面, 一些配体能结合多个 Vps10p-D 受体, 提示该家族成员的功能可能有重叠。如 proNGF 除了结合 sortilin 外也能结合 sorCS3^[19]。从目前的资料看, sorCS3 主要在细胞表面发挥功能而与细胞内蛋白转运关系不大, 但目前还不能确定这种结合与神经营养因子前体引起的 $p75^{NTR}$ 信号通路介导的凋亡有任何关系。

2 神经营养因子前体

2.1 proNGF 与细胞凋亡

细胞外蛋白酶具有潜在的将神经营养因子前体转变为与细胞内加工成熟的神经营养因子同样构型

的功能。纤溶酶(plasmin)及几种特异的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase)能在 proNGF 和 proBDNF 跨膜时或在它们分泌到胞外后对它们进行加工。这些调节蛋白裂解的胞外蛋白或蛋白酶在神经损伤、退行性变和炎症时常常发生改变,提示神经生长因子可能与这些病变相关。在 AD 病患者,其 proNGF 的水平上调而纤溶酶几乎消失。随着病情的发展,TrkA 受体逐渐减少而 p75^{NTR} 却维持在固定水平,说明 proNGF 对 p75^{NTR} 的活化可能在疾病的发生发展中起重要作用^[20]。神经损伤后,可以观察到神经生长因子前体的上调。同样, p75^{NTR} 的表达也提高了。在多发性硬化患者,其寡突胶质细胞,小神经胶质细胞和大神经胶质细胞的 p75^{NTR} 活化明显^[21]。事实上,近期的研究已有足够的证据表明, proNGF 与神经损伤后的细胞死亡有关。神经切断术能诱导 proNGF 的释放,并引起皮质脊髓束神经元的死亡。而使用 p75^{NTR} 基因剔除小鼠或抑制性抗体干扰 proNGF-p75^{NTR} 的信号传递,则能使受损的神经元免于死亡^[1]。proNGF 还与视网膜变性有关,体外研究发现,被激活的视网膜小胶质细胞能释放 proNGF,促使培养的感光细胞变性。

在神经发育过程中,主要是通过减少营养因子的量来控制细胞数量。但 p75^{NTR} 信号转导途径也可能通过激发自杀程序而起作用。尤其是那些既表达 p75^{NTR} 而表达的 Trk 受体和相应的神经生长因子比例又不恰当的神经元。现在已经证明 BDNF 对交感神经元^[22], NGF 对发育中的眼和脊髓就是通过此途径起作用的^[23]。在神经元向靶器官进行神经支配的过程中如果不能遇到适当的营养因子,就会发生凋亡,即通过神经生长因子前体与 p75^{NTR} 结合,从而启动自杀程序。所以在神经发育的某些窗口期,对神经生长因子前体进行加工对维持神经元生存至关重要。那些既表达 p75^{NTR} 又表达 Trk 受体的细胞的生存可能决定于二者之间的比例以及它们与相应的神经生长因子的相对亲和力。Lee 等^[24]将突变了裂解酶识别位点的 proNGF 与 TrkA 及 p75^{NTR} 进行体外结合实验,发现 proNGF 与 p75^{NTR} 的亲和力高于 NGF 与 p75^{NTR} 的亲和力 5 倍,而 proNGF 与 TrkA 的结合则较 NGF 为弱。proNGF 与 p75^{NTR} 的高亲和力导致的直接后果是激活了 p75^{NTR} 介导的细胞内反应,引起交感神经元和寡突胶质细胞的凋亡。

proNGF 激活 p75^{NTR} 途径而非 TrkA 途径的能力最初认为是由于对这两种受体的亲和力不同所致。

但 proBDNF 能同样结合 p75^{NTR} 和 TrkA,不过亲和力却比 NGF 低 10 倍,反映了 p75^{NTR} 并不能单独介导 proBDNF 与细胞的结合。后来发现, proNGF 的作用还需要另外一个重要的受体 sortilin。Sortilin 与 proNGF 的亲和力为纳摩尔级,但在同时表达有 p75^{NTR} 的细胞,其亲和力提高了 100 倍^[17]。Arnett 等^[25]发现,在 C57BL/6 小鼠的 L4/5 DRG 仅能检测到 proNGF 而不能检测到成熟的 NGF 蛋白,这一状态不因神经损伤而改变。小鼠坐骨神经损伤后 25 天,其 L4/5 DRG 中同时表达 sortilin 和 p75^{NTR} 的中小神经元发生了凋亡,表明神经损伤后发生的 DRG 神经元的凋亡可能是由 proNGF 诱导,通过 sortilin-p75^{NTR} 受体介导的。研究表明, sortilin 与 p75^{NTR} 之间并没有直接的结合位点。proNGF 通过前体结构域与 sortilin 结合,同时以成熟蛋白段结合 p75^{NTR}, 构成一个三聚体。使用 sortilin 的拮抗剂能使 proNGF 的诱导凋亡功能丧失,而 p75^{NTR/exonIII-/-} 的小鼠也对 proNGF 无反应,表明 proNGF 同时结合两受体对 proNGF 的促凋亡作用至关重要。目前对 sortilin-p75^{NTR} 复合体诱发的信号转导通路还未完全弄清。像 p75^{NTR} 一样, sortilin 也是 γ 分泌酶的作用底物, proNGF/sortilin/p75^{NTR} 结合是否引起 γ 分泌酶对 sortilin 的作用目前尚无证据,但 sortilin 的作用似乎需要完整的受体,因为使用 TACE 作用后释放出的游离的 sortilin 很有限^[15]。Sortilin 可能仅仅促使 proNGF 结合 p75^{NTR} 并影响 p75^{NTR} 的稳定性,也可能以它的细胞内尾巴提供给接头蛋白一个模板来调节或活化 p75^{NTR}。但 proNGF 的刺激确实导致了 NRIF 向细胞核内的转位。

已知成熟的 NGF 通过 p75^{NTR} 引起细胞死亡时, JNK 磷酸化以及细胞内 caspase 通路的激活是必需的;对 proNGF 及 BF 神经元的研究发现, proNGF 可能是通过同一条通路转导死亡信号的,同样需要 JNK 磷酸化及 caspase-6 和 caspase-3 的裂解。对 proNGF 诱导凋亡的信号转导途径的完全阐明还需要更多的后续研究。

2.2 proBDNF 与细胞凋亡

与 proNGF 一样,多数分泌细胞(包括神经分泌细胞,海马神经元)分泌的 BDNF 也是以前体的形式释放出来的^[26]。在细胞外, proBDNF 被 tPA (tissue plasminogen activator)/plasmin 或基质金属蛋白酶 MMP-7 切割裂解成成熟的 BDNF。在体内, BDNF 基因具有多态性。在 proBDNF 的第 66 位氨基酸会出现缬氨酸/蛋氨酸的替换。这一多态性的携带者或杂合子更

容易发生记忆力衰退和神经精神疾病,这可能是由于该替换导致了神经性 BDNF 的分泌降低造成的。这也提示 proNGF 可能与其成熟蛋白结合的受体不同并具有不同的效应。Pang 等^[27]证明,与 proNGF 一样, proBDNF 也具有诱导细胞凋亡的功能,其作用方式也是通过前体蛋白 -sortilin-p75^{NTR} 三聚体。Neurotensin 能阻断 proBDNF 和 sortilin 的相互作用,阻止培养的 SCG 细胞的凋亡,表明 sortilin 是 proBDNF 凋亡诱导作用的关键共同受体。我们的研究发现^[28], proBDNF 参与了大鼠神经损伤后 DRG 神经元的凋亡,使用游离的 sortilin 可以大大降低死亡的神经元的数量。而在剔除了 p75^{NTR} 的大鼠 SCG, proBDNF 的处理不能使凋亡细胞增加,表明 proBDNF 诱导凋亡的功能需要 p75^{NTR} 和 sortilin 的共同作用。

proBDNF 与 proNGF 的前体结构域的序列一致性并不高,比较而言, proBDNF 与游离的 sortilin 的亲合力远较 proNGF 为高(proBDNF 与游离的 sortilin 的亲合力为 0.4 nmol/L, 而 proNGF 与游离的 sortilin 的亲合力则为 5 nmol/L)。但二者与游离的 p75^{NTR} 的亲合力基本一样,为 15~20 nmol/L^[28]。体外实验表明,游离的 sortilin 与 proBDNF 的结合能够保护 proBDNF 不受蛋白酶的裂解或降解。成熟的 BDNF 和 proBDNF 都能通过 p75^{NTR} 通路诱导细胞凋亡,但 proBDNF 所用浓度比成熟的 BDNF 的量要低 10~20 倍,仅需 0.1~0.2 nmol/L。这种亲和力的差异可能也来自 sortilin 对 p75^{NTR} 的促进作用。

proBDNF 与 BDNF 功能的不同不仅仅表现在细胞生存的效应上。研究表明,细胞外 proBDNF 在 tPA/plasmin 作用下转变为成熟 BDNF 的效率对海马神经突触可塑性具有重要作用。在人脑, BDNF 增强晚期长时程增强(late long-term potentiation, L-LTP), 促进与长期记忆有关的蛋白质的表达。与此相反, proBDNF 则具有增强 NMDA 受体依赖的长时程抑制(long-term depression, LTD)的作用^[29]。proBDNF 不能转变为成熟的 BDNF 对海马突触可塑性具有负调节作用。

2.3 神经生长因子前体结构域切割产物的功能

已知多肽或激素的前体经过翻译后加工可以切割产生几个具有生物活性的肽段。在 proNGF 的前体结构域中含有数对碱性氨基酸,提示经蛋白酶切割后其产物除了 NGF 外,还可能存在其他多肽。Dicou 等^[30]证明体内确实存在 proNGF 前体结构域的切割产物 LIP1 (29 aa)和 LIP2 (38 aa), 分别对应 proNGF 的 -71 到 -43 位和 -40 到 -3 位。应用合成的 LIP1 和

LIP2 作用于 PC12 细胞, 结果发现它们能诱导快速 F-肌动蛋白在细胞表面的重新分布, 提示 LIP1 和 LIP2 可能与神经突起的生长有关。此外它们还能诱导快速的酪氨酸磷酸化及 Akt 磷酸化, 表明其机制可能涉及 Trk 受体, 并与细胞生存有关。像 NGF 一样, LIP1 和 LIP2 还具有神经保护功能。在体外 LIP1 和 LIP2 能使培养的皮质神经元免受 NMDA 细胞毒作用, 在体内则能防止鹅膏蕈氨酸(ibotenate)诱导的神经性损伤^[31]。

已知 proNGF 与 sortilin 的结合能被 neurotensin 抑制, 通过比较 LIP1 和 LIP2 与 sortilin 的结合发现, 虽然 LIP2 不能结合 sortilin, LIP1 与 sortilin 的结合能力较 neurotensin 低六倍^[31], 但不能排除某些情况下, LIP1 拮抗 proNGF 从而促进细胞生存的可能性。

目前还未能证明 BDNF、NT3 和 NT4/5 的前体能产生同样的蛋白质或多肽。

3 展望

神经营养因子前体的功能研究使人们对以前的一些令人困惑的现象有了新的了解。此前的研究发现, 一些神经营养因子有时表现为神经营养作用, 有时却表现为诱导细胞死亡的作用。神经营养因子前体新功能的发现使人们推测以前的一些自相矛盾的结果不能排除是由于混杂了前体蛋白所致。由于许多人类疾病与神经营养因子相关, 对神经营养因子前体功能的阐明使得人们必须对以神经营养因子为靶点的治疗方法重新评价, 这些疾病不仅仅局限于神经性疾病, 还包括与增生迁移相关的癌症、免疫性疾病和心血管疾病。

目前神经营养因子前体的功能研究多数还限于对神经细胞的凋亡诱导功能, 而虽然已经可以肯定 proNGF 和 proBDNF 在体内尤其是神经损伤后具有强烈的凋亡诱导功能, 但对其凋亡信号的转导通路还仅限于表面上的了解, 在细胞内, 凋亡信号是如何传递的, 它们可能激活的信号途径是什么目前还远未阐明。似乎 proNGF/proBDNF-p75^{NTR}-sortilin 途径也不是神经损伤后凋亡信号转导的唯一途径, 是否其他神经营养因子前体也具有和 proNGF/proBDNF 相同的作用目前还不清楚。体外实验证明, proBDNF 前体结构域能被细胞内吞转运, 除了作为 proBDNF 一部分的功能外, 其单独的前体结构域是否也具有类似 proBDNF 前体结构域的功能? 在神经系统的不同区域或不同的细胞在不同的发育阶段, 神经营养因子的

表达不尽相同,那么,神经营养因子前体的表达是否与神经营养因子的表达一致?如果不一致的话,其比率的不同导致了怎样的变化?从目前有限的材料来看,神经营养因子前体与成熟的神经营养因子往往具有相反的作用,如:在大脑发育过程中,BDNF对神经祖细胞的增生和迁移起重要作用,那么proBDNF在此过程中有什么样的影响,其机制如何?换言之,除了诱导神经细胞凋亡,神经营养因子前体还可能具有其他什么功能?这些都是今后需要研究和阐明的关键问题。

参考文献(References)

- [1] Harrington AW *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 6226
- [2] Teng HK *et al. J Neurosci*, 2005, **25**: 5455
- [3] Yoon SO *et al. J Neurosci*, 1998, **18**: 3273
- [4] MacDonald JI *et al. J Biol Chem*, 2000, **275**: 18225
- [5] Klein R *et al. Cell*, 1991, **66**: 395
- [6] Benedetti M *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 7859
- [7] Hempstead BL *et al. Nature*, 1991, **350**: 678
- [8] Arevalo JC *et al. Oncogene*, 2001, **20**: 1229
- [9] Fayard B *et al. J Neurosci Res*, 2005, **80**: 18
- [10] Volosin M *et al. J Neurosci*, 2006, **26**: 7756
- [11] He XL *et al. Science*, 2004, **304**: 870-875
- [12] Hempstead BL. *Curr Alzheimer Res*, 2006, **3**: 19
- [13] Linggi MS *et al. J Biol Chem*, 2005, **280**: 13801
- [14] Nakamura K *et al. Cell Death Differ*, 2007, **14**: 1552
- [15] Nyborg AC *et al. Mol Neurodegener*, 2006, **12**: 1
- [16] Sarret P *et al. J Comp Neurol*, 2003, **461**: 483
- [17] Jansen P *et al. Nat Neurosci*, 2007, **10**: 1449
- [18] Hermey G *et al. Biochem J*, 2006, **395**: 285
- [19] Westergaard UB *et al. FEBS Lett*, 2005, **579**: 1172
- [20] Ledesma MD *et al. EMBO Rep*, 2000, **1**: 530
- [21] Fahnestock M *et al. Mol Cell Neurosci*, 2001, **18**: 210
- [22] Bamji SX *et al. J Cell Biol*, 1998, **140**: 911
- [23] Baranes D *et al. Neuron*, 1998, **21**: 813
- [24] Lee R *et al. Science*, 2001, **294**: 1945
- [25] Arnett MG *et al. Brain Res*, 2007, **1183**: 32
- [26] Mowla SJ *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 12660
- [27] Pang PT *et al. Science*, 2004, **306**: 487
- [28] Fan YJ *et al. Eur J Neurosci*, 2008, **27**: 2380
- [29] Teng HK *et al. J Neurosci*, 2005, **25**: 5455
- [30] Dicou E *et al. J Cell Biol*, 1997, **136**: 389
- [31] Dicou E. *Arch Physiol Biochem*, 2007, **113**: 228

Progress in Proneurotrophins Functions

Yong-Jun Fan, Jian Xu^{1*}

(College of Life Science, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China;

¹College of Life Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract Neurotrophins are a group of structurally related polypeptide that provides trophic support for different neuronal subpopulation in the developing and adult nervous system, contributing to the development, maintenance and function of central nervous system and peripheral nervous system. Functional mature neurotrophins were released from their precursors (proneurotrophins) by proteolysis intracellularly or extracellularly. Recent studies show that the proneurotrophins have antagonistic functions with their mature counterparts, in most cases, inducing neuronal apoptosis by p75^{NTR}/sortilin receptor complex rather than surviving neuronal cells by trophic effect. These results suggested that the proneurotrophins may contribute to adjusting the ratio of neuronal subpopulations in development and inducing neuron death in degeneration or in response to injury in adult. The accumulating data will be helpful to understand the exactly role or pathological mechanism of proneurotrophins in nerve system and may supply new means to develop new drugs for clinical therapy.

Key words proneurotrophin; apoptosis; p75^{NTR}; sortilin

Received: January 30, 2008 Accepted: April 16, 2008

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30670646) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.Y207380)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86633001, E-mail: fanyj_68@yahoo.com