

织发生、发展的关系仍有一定的理论和临床意义。(5)由于bFGF能促进所有参与创伤修复的细胞增殖,且具有明显的促进血管形成作用,而血管形成又是创伤修复过程必不可少的一个环节,因此研究bFGF在创伤愈合过程中的地位和作用对其临床应用具有较大意义。

摘 要

碱性成纤维细胞生长因子是一种在体内分布广泛、生理功能重要的生长因子,本文综合讨论了其家族成员、分子结构、生物学功能、作用机理和研究趋向等问题。

参 考 文 献

- [1] Trowell OA et al., 1939, *J Exp Biol.*, 16: 60.
- [2] Gospodarowicz D et al., 1975, *J Biol Chem.*, 250(7): 2525.
- [3] Gospodarowicz D et al., 1984, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 81: 6963.
- [4] Rifkin DB et al., 1989, *J Cell Biol.*, 109: 1.
- [5] Yoshida T et al., 1987, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 84: 7305.
- [6] Dickson C et al., 1987, *Nature*, 326: 833.
- [7] Finch PW et al., 1989, *Science*, 245: 752.
- [8] Marices I et al., 1989, *Oncogene*, 4: 335.
- [9] Mergia A et al., 1986, *Biochem Biophys Res Commun.*, 138(2): 644.
- [10] Gospodarowicz D., 1990, *Clin Orthop Relat Res.*, 257: 231.
- [11] Florkiewicz RZ et al., 1989, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 86: 3978.
- [12] Gospodarowicz D et al., 1985, *Endocrinology*, 117(6): 2383.
- [13] Ueno N et al., 1986, *Biochem Biophys Res Commun.*, 138(2): 580.
- [14] Inoue K et al., 1991, *J Endocr.*, 130: 381.
- [15] Phillips GD et al., 1991, *Europ J Clin Invest.*, 197: 458.
- [16] Lobb RR et al., 1988, *Europ J Clin Invest.*, 18: 321.
- [17] Koshinaga M et al., 1993, *Exp Neurol.*, 120: 32.
- [18] Okumura T et al., 1991, *Biochem Biophys Res Commun.*, 177(2): 809.
- [19] Luevas P et al., 1991, *Science*, 254: 1208.
- [20] Johnson HM et al., 1985, *J Immunol.*, 134(5): 2824.
- [21] Muthukrishnan L et al., 1991, *J Cell Physiol.*, 148: 1.
- [22] Patstone G et al., 1993, *Dev Biol.*, 155: 107.
- [23] Gannoun-zaki L et al., 1991, *Exp Cell Res.*, 197: 272.
- [24] Zhang X et al., 1993, *J Biol Chem.*, 268(13): 9611.
- [25] Coltrini D et al., 1993, *Eur J Biochem.*, 214: 51.
- [26] Moscatelli DJ et al., 1988, *J Cell Biol.*, 107: 753.
- [27] Presta M et al., 1989, *J Cell Physiol.*, 140: 68.

神 经 营 养 因 子

黄 芳 费 俭 刘 晓 郭 礼 和

(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

神经营养因子(Neurotrophin)是一类含量极少,对神经系统生命活动非常重要的、可溶性多肽因子。它们来源于靶细胞,逆向营养神经元,对脊椎动物神经系统的发生、发育、成

熟、衰老、死亡、疾病等有直接的作用,又因其是通过刺激酪氨酸激酶受体(Trk)的自身磷酸化进行信号传导,因此神经营养因子已成为倍受瞩目的研究热点。

一、神经营养因子的分类

50、60年代, Montalcini 和 Cohen 在研究鸡胚的神经发育过程中发现了第一个神经营养因子——神经生长因子(NGF)^[1]。1971年, Angeletti 和 Bradshaw 分析得到了 NGF 的氨基酸序列, 1983年 Scott 等克隆了 NGF 的 DNA^[2]。1982年, Barde 等纯化了脑神经营养因子(BDNF)^[3], 1989年 Leibrock 克隆了 BDNF 的 cDNA^[4]。1986年, Martin-Zanca 等从人的结肠癌中确定了 Trk 原癌基因^[5]。1989年, Collins 等纯化了睫神经营养因子(CNTF), 并克隆了 CNTF 的 cDNA^[6]。这些研究为其他神经营养因子的克隆奠定了基础。通过分子间的同源性比较, 用 PCR、基因文库筛选等手段, 在90年代又发现了神经营养因子3(NT 3, 亦称为海马神经营养因子—HDNF)^[7], 神经营养因子4/5(NT 4/5, 在爪蟾中发现的称为 NT 4^[8], 在哺乳动物中发现的称为 NT 5^[9], 两者实为一种神经营养因子), 以及胶质神经营养因子(GDNF)^[10,11]。1994年, Gotz 等在克隆硬骨鱼(Xiphophorus)的 NGF 时意外地发现了 NT 6^[12], 为神经营养因子家族又增添了一个新成员。

根据同源性大小, 基因表达部位和蛋白作用的专一性以及信号传导机制, 神经营养因子可分成三个家族: 1) 神经生长因子家族, 包括神经生长因子(NGF), 脑神经营养因子(BDNF), 神经营养因子3, 4/5和6(NT 3, NT 4/5, NT 6)。该家族发现最早, 在神经活动中起着重要作用, 又作为酪氨酸激酶受体的底物进行信号传导, 因而是目前神经营养因子中研究最多, 最为透彻的一族。该族神经营养因子的特性见表1。几个成员不仅相互间的同源性高于50%, 而且在结构上亦存在许多共性: 在基因上都有多个转录本; 最小的转录本均可由一个外显子编码; 成熟蛋白均由前前体裂解而成; 同一神经营养因子前前体的长度在不同的物种间有所差异; 都有一个18 aa左右的信号肽;

前体肽中都有一碱性裂解点; 裂解点前有一N-糖基化位点; 都有六个保守的半胱氨酸残基, 形成3对二硫键; 成熟蛋白呈碱性, 在体内主要以二聚体的形式存在^[13]; 在蛋白的二级结构上以 β -折叠为主(大于45%), 亦有少量 α -螺旋和随机结构^[14]; 在中性pH时, 蛋白的表面亲水。该族神经营养因子在进化中的保守性却不尽相同, NGF从鱼类到人类变异较大, 而BDNF和NT 3(已存在于昆虫体内)可能因选择压力更大而较NGF更加保守。2) 睫神经营养因子家族, 目前仅含有睫神经营养因子(CNTF)。CNTF为一酸性蛋白, 由199 aa残基组成, 比NGF家族大, 蛋白的N-端不具信号肽, 因此不是一个典型的分泌因子。3) 胶质神经营养因子家族, 目前亦仅有胶质神经营养因子(GDNF)一个成员。GDNF的成熟体由134 aa组成, 稍大于NGF家族, 具有两个N-糖基化位点和7个保守的半胱氨酸残基, 参与二聚体中链间二硫键的形成, 这一点说明GDNF可能是TGF β 家族的远亲。

另外LIF, TGF β 家族, IL家族, EGF, FGF家族, IGF, PDGF家族, TNF, neuropurin 和 purpurin 等因子对神经系统亦有营养功能^[15], 例如LIF是一种胆碱能神经元分化因子, TGF β 2为中脑多巴胺能神经元的一种存活因子, 但这类因子尚不归于神经营养因子范畴。

二、神经营养因子的作用机制

目前研究较为清楚的是NGF家族神经营养因子和CNTF的作用机制^[16,17], 前者通过酪氨酸激酶受体(Trk A, B, C), 后者通过酪氨酸激酶Jak-Tyk家族的自磷酸化进行信号的传导。

Trk原癌基因由原肌球蛋白(Tropomyosin)与酪氨酸激酶(Tyrosin Kinase)融合产生。它是一类120—160 kd的单跨膜糖蛋白; N-端含免疫球蛋白区和亮氨酸富集区(LRM), LRM旁侧有两个半胱氨酸簇, 将Trk同酪氨

表1 神经营养因子的特性(除 NT6 来自剑突鱼 *Xiphophorus*), 其他均指人类神经营养因子)

	基因克隆日期	信号肽 AA	前前体 AA	裂解位点	成熟体 AA	成熟体分子量 KD	等电点	前体糖基化位点数	半胱氨酸残基数	二硫键形式, 数目
NGF	1983	18	241	Lys-Arg	120	13	8.56	3	6	链内, 3
BDNF	1989	16	247	Arg-Arg	119	13.5	9.99	1	6	链内, 3
NT 3	1990	18	257	Lys-Arg	119	13.6	9.5	1	6	链内, 3
NT 4/5	1991	18	210	Arg-Arg	130	13.9	8.98	1	6	链内, 3
NT 6(X)	1994	19	286	Arg-Arg	143	16	10.8	1	6	
CNTF	1989	0			199	22.7	5.78			
GDNF	1993	19	211	Lys-Arg	134	15	9.64	2	7	链间

	体内主要存在形式	受体	体内分布	体外效应	临床前景	开发现状
NGF	二聚体	Trk A	大脑 外周组织	感觉, 交感, 中枢胆碱能神经元	疾病如 Diabetes 引起的神经病变神经损伤	CHIRON, SYNTEX 等约十几家公司在进行 NGF 的临床试验
BDNF	二聚体	Trk B	中枢神经系统	感觉, 中枢胆碱能多巴胺能神经元	兴奋性神经毒肌萎缩性侧索硬化早老性痴呆症	REGENERON AMGEN 投资四千万美元开发 NT 3 与 BDNF
NT 3	二聚体	Trk C	外周组织	交感, 外周感觉神经元	肌萎缩性侧索硬化神经退行性疾病	
NT 4/5	二聚体	Trk B	爪蟾卵巢大脑, 其他部位	交感, 外周感觉神经元	肌萎缩性侧索硬化	REGENERON 在投资开发
NT 6(X)			胚胎小脑瓣, 一些成体组织	交感, 感觉背根神经节		
CNTF	单体	CNTFR gp 130 LIFR ₃	坐骨神经睫结神经元	感觉, 交感, 副交感脊椎运动, 感觉背根神经节, 海马神经元	肌萎缩性侧索硬化	FDA 终止 REGENERON 的 CNTF III 期临床试验
GDNF	二聚体		外周组织, 脊椎腹根, 肌细胞亚型	脊椎运动神经元中脑多巴胺能神经元	肌萎缩性侧索硬化其他萎缩性疾病帕金森氏综合症	

酸激酶家族的其他成员区别开来。已发现两种 TrkB, 4 种 TrkC 的异构体(各包括一种截短的没有激酶活性的异构体), 另外 TrkC 还包含一种激酶结构域有插入小肽的异构体, 功能不详, 可能参与神经活动的调节。在非神经组织中也发现一种 TrkA 的异构体。NGF, BDNF 和 NT 4/5, NT 3 分别作为 Trk A, B, C 的高亲和力底物(解离常数为 10 pmol), 但在体

外它们对受体有交叉作用, 在体内的作用有相当争异。通常两个受体分子与一个神经营养因子的二聚体作用^[18]。人们在研究中还发现 NGF 有一类低亲和力受体(P 75, 解离常数在 nmol 水平), 与 NGF 家族所有的成员作用, 能增加 Trk 受体对底物的亲和力与专一性, 可能也参与了神经活动的调节。亦有研究发现 P 75 可刺激施旺氏细胞的迁移, 诱导神经细胞

的编程死亡(Apoptosis)^[19]。CNTF的受体复合物由3种成分组成:通过糖基-磷脂酰肌醇键锚在质膜上的 α -亚基以及gp 130与LIF受体 β 亚基两个膜蛋白。CNTF的结合引起Jak-Tyk的酪氨酸磷酸化和两个转录因子——P91和应急因子的磷酸化,激活早期基因tis 11和c-fos。在培养的交感神经中,CNTF和受体结合后,通过增加二酰基甘油的量来激活PKC从而调节基因的表达。

三、神经营养因子的功能 与应用前景

常采用神经细胞的体外培养,基因Knock-out技术^[20,21]和嵌合蛋白体^[22]等手段来研究神经营养因子的功能。体外神经营养因子的效应与它们的效用前景总结在表中。

神经营养因子是一类多功能的蛋白因子,不仅起着营养和维持神经元的作用,而且参与了几乎所有的神经生命活动。NGF可诱导蛋白合成,刺激IgM分泌,调节胆碱乙酰基转移酶的活性。另外NGF在下颌腺中有高水平的表达,NGF蛋白存在于精子成熟的各个时期,暗示着NGF有着其他的功能。BDNF能够刺激纹状体 γ -氨基丁酸神经元的分化,增加多巴胺,5羟色胺的代谢^[23]。NT3可以抑制去甲肾上腺能神经元的死亡,刺激眼少突神经的增殖,对海马区LTP的诱导和突触可塑性起到正反馈的作用^[24]。CNTF又是一种胆碱能神经元分化因子(增加胆碱乙酰基转移酶的活性,抑制酪氨酸水解酶的活性),能调节神经递质的释放,并促进O-2A胶质细胞前体分化成II型星状细胞^[25]。

在胚胎发育过程中,虽然NGF, BDNF, NT3的表达水平和区域,表达峰值的时间各不相同,但它们都与神经发生同步,而且具有一定的次序性^[26]。神经营养因子之间通过分泌和旁分泌相互影响,相互制约^[27,28],构成了一个庞大的网络,支配神经系统的活动。

NGF/TrkA, BDNF/Trk B, NT3/TrkC Knock-out的小鼠发育不全,神经营养因子支配的神经细胞群没有或数量极少,出生的小鼠一个月内甚至两天内就会死去,足以证明神经营养因子对神经发育的重要性。另外NFG, BDNF, NT3在无神经支配的胎盘中较高的表达可见这些因子对胚胎发育也有影响。CNTF Knock-out的小鼠出生后也会出现萎缩和运动神经元的丢失。

神经元数量的减少与神经退行性疾病有着密切关系,例如基底前脑和海马区胆碱能神经元的减少与老年痴呆症,中脑多巴胺能神经元的减少与帕金森氏综合症,脊椎运动神经元的减少与肌萎缩性侧索硬化。而神经元的数量和维持又是依赖于神经营养因子,因此利用神经营养因子来治疗神经退行性疾病有相当的前景。此外神经营养因子对神经损伤的修复与神经再生,药物引起的神经毒性也有很好的治疗作用^[29]。利用神经营养因子对神经性疾病进行基因治疗亦有相当潜力。

神经营养因子在体内的作用还不十分清晰,对它们的进一步研究不仅可以揭示神经营养因子在胚胎和成体中的全面目,而且为神经疾病的治疗提供更专一有效的方式。

参 考 文 献

- [1] Montalcini, R. L., 1987, *Science*, 237: 1154—1162.
- [2] Scott, J. et al., 1983, *Nature*, 302: 538—540.
- [3] Barde, Y. A. et al., 1982, *EMBO J.*, 1: 549—553.
- [4] Leibrock, J. et al., 1989, *Nature*, 341: 149—152.
- [5] Martin-Zanca, D. et al., 1986, *Nature*, 319: 743—748.
- [6] Lin, L-F. H. et al., 1989, *Science*, 246: 1023—1025.
- [7] Jones, K. R. and Reichardt, L. F., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87: 8060—8064.
- [8] Hallbook, F. et al., 1991, *Neuron*, 6: 845—858.
- [9] Berkemeier, L. R. et al., 1991, *Neuron*,

- 7: 857—866.
- [10] Lin, L.-F. H. et al., 1993, *Science*, 260: 1130—1132.
- [11] Henderson, C. F. et al., 1994, *Science*, 266: 1062—1064.
- [12] Gotz, R. et al., 1994, *Nature*, 372: 266—269.
- [13] Kolbeck, R. et al., 1994, *Eur. J. Biochem.*, 225(3): 995—1003.
- [14] Narhi, L. O. et al., 1993, *J. Bio. Chem.*, 268(18): 13306—17.
- [15] Arakawa, Y. et al., 1990, *J. Neurosci.*, 10(11): 3507—3515.
- [16] Saltiel, A. R. and Decker, S. J., 1994, *BioEssays*, 16(6): 405—411.
- [17] Stahl, N. et al., 1994, *Science*, 263: 92—95.
- [18] Philo, J. et al., 1994, *J. Bio. Chem.*, 269: 27840—27846.
- [19] Rabizadeh, S. et al., 1993, *Science*, 261: 345—348.
- [20] Snider, W. D., 1994, *Cell*, 77: 627—638.
- [21] Masu, Y. et al., 1993, *Nature*, 365: 27—32.
- [22] Ilag, L. L. et al., 1994, *J. Bio. Chem.*, 269: 19941—19946.
- [23] Martin-Iverson, M. T. et al., 1994, *J. Neurosci.*, 14(3 pt 1): 1262—1270.
- [24] Kim, H. G. et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91: 12341—12345.
- [25] Stoop, R. and Poo, M. M., et al., 1995, *Science*, 267: 695—699.
- [26] Buchman, V. L. and Davies, A. M., 1993, *Development*, 118 (3): 989—1001.
- [27] Miranda, R. C. et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90 (14): 6439—6443.
- [28] Leingartner, A. et al., 1994, *J. Bio. Chem.*, 269: 828—830.
- [29] Crawford, C. L., 1995, *TIBS*, 18 (1): 15—16.

母型mRNAs及其功能

沈虹 李逸平 左嘉客

(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

早期的胚胎发育是受母型基因调控 (Maternal regulation) 的, 有关的发育信息按母型 mRNAs 形式被早期胚胎继承下来, 并由这些 mRNAs 衍生的蛋白质调控发育过程, 直至合子型基因被活化, 过渡为合子型调控 (Zygotic regulation, Paternal regulation)^[1]。所以母型信息的存在形式和功能, 母型 mRNAs 的翻译调控, 此类信息的定位分布, 以及由母型向合子型调控过渡机制等已成为早期胚胎发育研究中的关键问题之一。

母型信息或具调控卵母细胞发生的作用, 或具调控早期胚胎发育的功能, 或二者兼备。运用遗传学的分析方法, 可以判断其特定发育所需的信息是否必须源自母型, 或是否能由合子型基因表达所补偿。据估计, 在果蝇中约需 500—1000 个基因以确保实现卵母细胞发生,

而涉及卵球形成的专一基因不到 100 个^[2]。这些信息可分成两类, 一类为维持正常代谢过程所需, 另一类参与早期胚胎特定发育事件的调控。

通过不同实验途径所获得的结果表明, 信息是以 mRNAs 或蛋白质形式存在, 但 mRNA 在卵中的丰度和定位与其相应翻译产物并不一定平行。此外, 有些信息只以 mRNA 形式存在于卵母细胞中, 为数不多却非常特殊, 受到人们的高度重视。例如, 海洋无脊椎动物的一些周期蛋白和核苷酸还原酶小亚基母型 mRNAs, 果蝇图式形成有关的 bicoid mRNA 等都属于此类, 它们于减数分裂或受精甚至卵裂后才被翻译。

总之, 在已经研究得较多的诸如线虫、果蝇、蛙以及小鼠等形形色色的动物早期胚胎中,