

# GDF10在中枢神经系统损伤后的修复作用

廖海康<sup>1,2,3</sup> 刘维钦<sup>4</sup> 邹珍友<sup>1</sup> 姚华<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>桂林医学院广西脑与认知神经科学重点实验室, 桂林 541004;

<sup>2</sup>温州医科大学老年研究院浙江省阿尔茨海默病研究重点实验室, 温州 325035;

<sup>3</sup>温州大学神经与化学研究所, 温州 325035; <sup>4</sup>赣州市人民医院神经外科, 赣州 341000)

**摘要** 生长分化因子10(growth differentiation factor 10, GDF10)是转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor beta, TGF $\beta$ )超家族的一员。GDF10在正常组织中表达量很低或不表达,而在中枢神经系统损伤后却显著升高,这提示GDF10可能作为神经系统疾病的治疗靶点。近期研究表明, GDF10在大脑皮层中风周区具有促进神经元轴突出芽的作用。此外, GDF10在脊髓损伤后高表达并具有神经保护作用。因此该文将对GDF10的表达调控、细胞信号通路的研究进展进行总结,尤其是GDF10在中枢神经系统损伤后的作用,以探讨GDF10的生物活性及其在药物开发、应用基础研究中的价值。

**关键词** GDF10; 中枢神经系统损伤; 神经元修复

## The Repairing Effect of GDF10 after Central Nervous System Injury

LIAO Haikang<sup>1,2,3</sup>, LIU Weiqin<sup>4</sup>, ZOU Zhenyou<sup>1</sup>, YAO Hua<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Guangxi Key Laboratory of Brain and Cognitive Neuroscience, Guilin Medical College, Guilin 541004, China;

<sup>2</sup>Key Laboratory of Alzheimer's Disease of Zhejiang Province, Institute of Aging, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China;

<sup>3</sup>Institute of Neurology and Chemistry, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China;

<sup>4</sup>Department of Neurosurgery, Ganzhou City People's Hospital, Ganzhou 341000, China)

**Abstract** GDF10 (growth differentiation factor 10) is a superfamily member of TGF $\beta$  (transforming growth factor beta). GDF10 in normal tissue is rare or no expression. However, during the injury in the central nervous system, it has a significant rise. It may prompt for GDF10 as therapeutic targets. Recent studies show that GDF10 in the brain cortex area of peri-infarct can promote neural axonal sprouting after ischemia stroke. Moreover, GDF10 highly express after SCI (spinal cord injury) and protect neural function. Therefore, this article will summarize the research progress of GDF10 expression regulation and cell signaling pathways, especially the role of GDF10 after central nervous system injury, in order to explore the biological activity of GDF10 and its value in drug development and application basic research.

**Keywords** GDF10; central nervous system injury; neuronal repair

生长分化因子10(growth differentiation factor 10, GDF10)最早是利用骨形态发生蛋白3(bone morphogenetic protein 3, BMP3)序列为模板,通过聚合酶

链式反应从人类和大鼠体内克隆得到的,故又被称为BMP3b。GDF10/BMP3b与BMP3在C-端成熟区同源性高达83%,前体蛋白区同源性为37%。因此,

收稿日期: 2021-04-19

接受日期: 2021-06-25

广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(批准号: 2021KY0491)、广西脑与认知神经科学重点实验室自主课题项目(批准号: GKLBCN-20200106)和广西脑与认知神经科学重点实验室开放项目(批准号: GKLBCN-20200108-01)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 15058303756, E-mail: hua.yao@glmc.edu.cn

Received: April 19, 2021 Accepted: June 25, 2021

This work was supported by the Project of Improving the Basic Scientific Research Ability of Young and Middle-Aged Teachers in Guangxi Universities (Grant No.2021KY0491), Independent Project of Guangxi Key Laboratory of Brain and Cognitive Neuroscience (Grant No.GKLBCN-20200106), and Opening Project of Guangxi Key Laboratory of Brain and Cognitive Neuroscience (Grant No.20200108-01)

\*Corresponding author. Tel: +86-15058303756, E-mail: hua.yao@glmc.edu.cn

GDF10/BMP3b和BMP3又被定义为同一个亚族<sup>[1-2]</sup>。然而,同为骨形态家族的BMP3b与BMP3却有着不同的信号转导通路<sup>[3]</sup>。BMP3主要是通过骨形态发生蛋白受体I(bone morphogenetic protein receptor I, BMP RI)和骨形态发生蛋白受体II(BMP RII)进行信号转导的,而GDF10/BMP3b则通过转化生长因子 $\beta$ 受体I(transforming growth factor beta receptor I, TGF $\beta$  RI)和转化生长因子 $\beta$ 受体II(TGF $\beta$  RII)进行信号转导<sup>[4]</sup>。

早期研究表明,GDF10高表达于子宫、脂肪组织、小脑以及胚胎发育的整个过程,然而在脾脏和肝脏中表达相对较弱,在*GDF10*基因敲除小鼠中也并未有明显的功能缺失<sup>[2]</sup>。随着研究的深入,近期发现了GDF10在神经系统、心血管系统中的表达、分泌和功能调节涉及多种分子机制,并揭示了GDF10在促进脑内神经元轴突出芽、增加血管生成、保护大脑功能等方面重要的生理作用<sup>[5]</sup>。同时脊髓损伤后也需要GDF10蛋白,在缺乏GDF10共受体排斥引导分子(repulsive guide molecule, RGM)的原代小鼠背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)培养中,神经元的突起较短,并且明显减少<sup>[6]</sup>。因此,本文将从GDF10蛋白的结构特征、信号通路以及在神经系统疾病中的作用方面进行综述。

## 1 GDF10结构与其受体及信号通路

### 1.1 GDF10蛋白结构与表达

人源*GDF10*的基因位于人类10号染色体上,包含3个外显子和3个内含子,分子量约为13 Kb,其cDNA由2 632个核苷酸组成,编码478个氨基酸残基。人源GDF10前体蛋白水解后,会产生110个氨基酸组成的包含一个糖基化位点的GDF10成熟蛋白<sup>[2]</sup>。鼠源*GDF10*基因位于14号染色体上,其cDNA由2 411个核苷酸组成,从保守的A/CCCAITGG开始翻译到TAA终止,编码476个氨基酸蛋白,其cDNA具有一个典型的多腺苷酸化位点AATAAA,但是没有Poly(A)加尾<sup>[1]</sup>。鼠源GDF10前体蛋白包含376个氨基酸组成的前肽,具有4个N-糖基化位点和一段具有疏水性的信号肽。类似于其他TGF $\beta$ 家族成员,GDF10前体蛋白在保守位点被水解后,在C-端产生包含110个氨基酸,并具有一个潜在的糖基化位点的成熟GDF10肽段,该肽段包含由7个半胱氨酸残基构成的半胱氨酸(cysteine knot)结构域<sup>[3]</sup>。类似于其他

BMPs家族成员,GDF10前体蛋白通过半胱氨酸的二硫键连接成同源二聚体,随后被furin-like蛋白酶水解,并产生可分泌的GDF10<sup>[3]</sup>。这些具有生物活性的GDF10蛋白能够与跨膜蛋白受体相互作用并开启信号转导过程<sup>[1]</sup>。

*GDF10* mRNA表达于胚胎发育阶段(E8.5~E18.5)的小鼠子宫中,在此阶段,GDF10主要作用是促进骨骼发育<sup>[7]</sup>。后期研究发现,GDF10高表达于小脑的普尔基涅细胞层,而不是普尔基涅细胞中<sup>[2]</sup>。但GDF10在胎盘中并不表达,而主要在端脑皮层区域表达<sup>[4]</sup>。近期也发现,GDF10在小鼠、非人灵长类动物、人类中风周区神经元中高表达,并通过旁分泌形式分泌到神经元<sup>[5]</sup>。同时GDF10亦高表达于血管内皮细胞区和小脑室管膜区的伯格曼胶质细胞中,并且在脊髓损伤病灶区以及脊髓室管膜区亦发现GDF10的高度表达<sup>[6,8]</sup>。

### 1.2 GDF10作用受体结构

TGF $\beta$ 超家族包括TGF $\beta$ 、生长分化因子GDF、BMP等,大部分家族成员可通过TGF $\beta$ /Smad依赖性信号通路介导胞内信号转导<sup>[9]</sup>。TGF $\beta$ 受体主要分为TGF $\beta$  RI、TGF $\beta$  RII和TGF $\beta$  RIII。TGF $\beta$  RI和TGF $\beta$  RII都是跨膜糖蛋白,同属丝氨酸和苏氨酸激酶受体家族,在绝大多数细胞和组织中广泛表达<sup>[10]</sup>。在哺乳动物体内,已鉴定的TGF $\beta$  RII家族有5个亚单位,TGF $\beta$  RI有7个。TGF $\beta$  RI和TGF $\beta$  RII结构非常相似,细胞外都具有一个由100~140个氨基酸组成的半胱氨酸富集区(cysteine rich domain, CRD),由30~35个氨基酸组成的跨膜区,以及由350~400氨基酸组成的高度保守的胞内丝氨酸/苏氨酸激酶区(serine/threonine kinase domain, S/TKD)(图1)<sup>[11]</sup>。TGF $\beta$  RI和TGF $\beta$  RII不同之处在于TGF $\beta$  RI在胞内有一个激酶区,以及一个富含丝氨酸和苏氨酸的谷氨酰胺合成酶区(glutamine synthetase, GS)<sup>[9]</sup>。而TGF $\beta$  RII则在细胞内高度保守,虽然没有GS区,但具有多个自身磷酸化位点,这些位点可以帮助TGF $\beta$  RII自身磷酸化<sup>[11]</sup>。TGF $\beta$  RIII则是一个特殊的受体,TGF $\beta$  RIII一般不能直接诱导胞内信号转导,但是它可以作为共受体促进TGF $\beta$ 配体蛋白与细胞表面的TGF $\beta$  RI和TGF $\beta$  RII受体相结合,开启信号转导通路<sup>[12]</sup>。研究表明,TGF $\beta$ 整个家族成员都可以促进中枢神经系统受损后的内在神经元增长<sup>[13]</sup>。

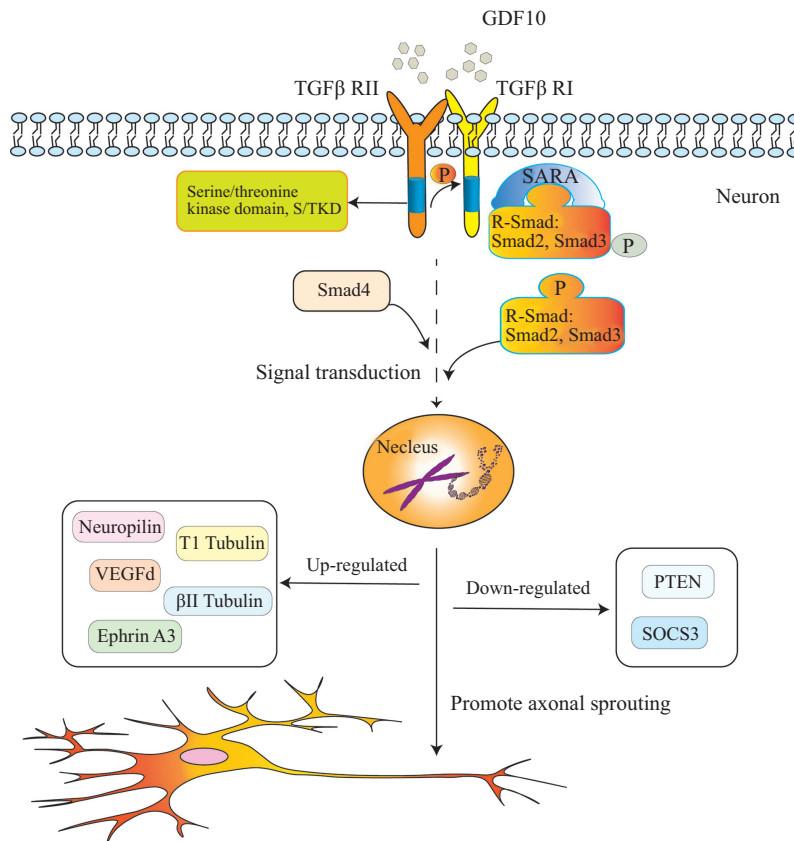
TGF $\beta$ 受体存在的3个亚型,在不同的细胞和

组织内表达的蛋白也是不同的。例如在血管平滑肌细胞中, 将大量表达活化素受体样激酶5(activin receptor-like kinase 5, ALK5), 而活化素受体样激酶1(activin receptor-like kinase 1, ALK1)则在血管内皮细胞中大量表达<sup>[14]</sup>。不同的配体蛋白也决定了不同种类的受体, 例如BMP2和BMP4则通过BMP RI和BMP RII受体相互作用进行信号转导<sup>[15]</sup>。截至目前, 虽然对TGFβ超家族配体蛋白和受体蛋白信号通路有一定的研究, 但由于TGFβ家族信号通路十分复杂, 在不同的组织, 不同的病理条件下, 其通路都在发生改变, 因此TGFβ信号通路机制需进一步研究。

### 1.3 GDF10信号通路

GDF10作为TGFβ超家族的一员, 无论是通过自分泌还是旁分泌途径, 都必须与TGFβ受体相结合, 激活细胞内下游信号通路<sup>[16]</sup>。旁分泌途径主要通过

配体蛋白GDF10与TGFβ RII相结合形成二聚体, 进而诱导产生TGFβ RII-配体蛋白-TGFβ RI三聚体<sup>[17]</sup>。TGFβ RII接下来将激活TGFβ RI受体GS区的磷酸化, 胞内磷酸化的GS区将识别受磷酸化调节的Smad蛋白<sup>[18]</sup>。Smad蛋白是TGFβ信号转导的主要下游信号调节蛋白, 存在于细胞质中, 可作为载体将信号从细胞膜转导至细胞核内, 最终表达特异基因(图1)<sup>[16]</sup>。在哺乳动物体内, 已知有8种Smad蛋白(Smad1~8), 根据其蛋白结构和功能上的差异, 分为三种类型。第一种为受体调节Smad(receptor regulated Samd, R-Smad), 包括Smad 1、Smad2、Smad3、Smad5、Smad8, 其中Smad2和Smad3是主要的受体调节蛋白<sup>[19]</sup>。配体的活性是由受体-配体相互作用、生长因子前域、细胞外调节蛋白、受体组装和细胞内信号蛋白磷酸化以及Smad转录因子共同决定的<sup>[19]</sup>。第二种是作为共介



GDF10通过与神经元膜上的TGFβ RI/RII相结合, 并激活Smad2和Smad3蛋白, 通过Smad4完成信号转导, 将细胞膜的信号转至细胞核中, 诱导细胞核内特异性的基因表达, 并通过上调T1 Tubulin、Ephrin A3、VEGFd、βII Tubulin、Neuropilin表达, 以及降低PTEN、SOCS3表达, 完成GDF10促进神经元轴突出芽的功能。

GDF10 binds to the TGFβ RI/RII on the neuron membrane and initially transfers the cell membrane signal to the nucleus by activating the Smad2, Smad3, and Smad4 protein to complete the signal transduction. On the one hand, GDF10 induces T1 Tubulin, Ephrin A3, VEGFd, βII Tubulin, and Neuropilin transcription. On the other hand, it also reduces the transcription of PTEN, SOCS3. Therefore, GDF10 probably promotes neuronal axonal sprouting through these signaling pathways.

图1 GDF10细胞信号通路及调控机制  
Fig.1 GDF10 signaling pathway and regulatory mechanism



质Smad(common mediator Smad, Co-Smad), 主要为Smad4, Co-Smad能与R-Smad相结合, 引导信号进入细胞核。第三种则是抑制性Smad(inhibition Smad, I-Smad), 例如Smad6和Smad7, 通过干扰R-Smad与TGF $\beta$  RI或R-Smad与Co-Smad的结合, 起到信号抑制作用<sup>[10]</sup>。R-Smad和Co-Smad蛋白在N-端和C-端都有一个保守的结构域, 又被称为MH1(Mad homology1)区和MH2区, 它们被一个脯氨酸富集区相隔开<sup>[20]</sup>。而I-Smad蛋白只具有MH2区, 不具有MH1区<sup>[9]</sup>。值得一提的是, Smad2的MH1区具有DNA结合活性, 而MH2区可调节Smad蛋白寡聚化, 以及Smad蛋白与受体结合<sup>[10]</sup>。R-Smad的连接区具有多个磷酸化位点, 这些磷酸化位点可以与其他信号通路发生联系, 例如丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、胞内磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、细胞周期依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent protein kinases, Cdk)形成的MAPK-PI3K-Cdk通路<sup>[10]</sup>。

在未激活Smad信号通路的细胞里, Smad蛋白将经历一个核质穿梭过程, 并在细胞内保持动态稳定, 其中R-Smad在细胞质中大量表达<sup>[21]</sup>。相反, I-Smad表达于细胞核中, Co-Smad则平均分布在细胞质和细胞核中。当TGF $\beta$  RI被激活时, 其胞内邻近GS区的一个L45 loop被磷酸化, 它可与R-Smad蛋白C末端的L3 loop 特异性结合, 形成TGF $\beta$  RI/R-Smad二聚体<sup>[12]</sup>。同时R-Smad蛋白C-端SSXS结构位点被磷酸化, 磷酸化后的R-Smad蛋白更易于结合Smad4(一种Co-Smad)<sup>[10]</sup>。SARA(Smad anchor for receptor activation, 受体活化时Smad的锚定点)是存在于细胞质中的膜结合蛋白, 它的主要作用就是促进TGF $\beta$ 受体与R-Smad的识别, SARA通过一个磷酸化的 锌指结构域与Smad2、Smad3相结合, 并促进它们在细胞膜附近与激活的TGF $\beta$  RI相结合<sup>[19]</sup>。紧接着被磷酸化的R-Smad与Smad4结合形成二聚体, 由胞质转移至细胞核, 在细胞核中进行特异性识别的基因调控转录<sup>[10]</sup>。

综上所述, GDF10通过TGF $\beta$ /Smad依赖性信号通路完成信号转导。但是TGF $\beta$ 超家族成员在动物体内广泛分布, 在不同的组织、细胞中, 它也可以通过其他非Smad依赖性通路进行信号转导。例如GDF10抑制上皮间质转化则是由细胞信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)<sup>[16]</sup>介导的。

此外, GDF10也可激活ERK<sup>[12]</sup>、磷酸酶基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)、PI3K/Akt等通路完成信号转导<sup>[22]</sup>。因此, TGF $\beta$ 的信号通路是多种多样、错综复杂的, 要精确了解每条通路的具体作用还需要更深入的研究。

## 2 GDF10在神经系统疾病中的作用

### 2.1 GDF10对脑卒中后神经轴突再生的作用

“脑卒中”(cerebral stroke)又称“中风”、“脑血管意外”(cerebrovascular accident, CVA)。它是一种急性脑血管疾病, 是由于脑部血管突然破裂或因血管阻塞导致血液不能流入大脑而引起脑组织损伤的一组疾病, 包括缺血性和出血性卒中<sup>[23]</sup>。脑卒中具有发病率高、死亡率高和致残率高的特点。虽然已有大量文献报道脑卒中相关研究, 但是对其病理、生理学的分子机制了解仍然不足, 因此脑卒中的治疗策略及治疗手段仍有待发展。神经元轴突出芽是治疗缺血性脑卒中的一个重要方向。轴突出芽发生的一个必要条件, 则是一个完全分化的神经元必须接受出芽(sprout)信号, 激活一个生长程序, 使生长锥生长、延伸轴突, 形成新的突触<sup>[24]</sup>。局灶性缺血损害是一个长期过程, 神经功能障碍随时间延长而加重, 缺血边缘的神经元可以存活几小时至几天, 呈迟发性损害, 如果侧枝循环建立, 半暗区的脑神经功能仍可恢复。在中风动物模型小鼠、大鼠、灵长类动物的中风周区附近, 利用神经解剖追踪剂, 可观察到神经元在梗死区同侧大脑半球的运动皮层、躯体感受皮层、运动前皮层中形成新的连接, 这些新建神经回路位于同侧大脑半球梗死区周围受损组织内, 或位于对侧大脑半球远离病灶的区域<sup>[5]</sup>。中风一周后, 梗死区周围或者临近皮层区将初始轴突出芽<sup>[24]</sup>, 并且神经元在运动皮层、躯体感受皮层建立新的神经回路。通过绘制新近形成的轴突连接图谱(mapping axonal connections), 证实中风三周后小鼠躯体感受皮层中轴突出芽被触发<sup>[25]</sup>, 在中风一个月后轴突出芽可达到最大值, 并可持续数月。通过对这些轴突出芽进行投射图谱分析, 发现它们精确地定位在运动皮层、运动前皮层、躯体感受皮层<sup>[24]</sup>。此外, 在对非人灵长类中风模型动物分析中发现, 在躯体感受皮层以及运动前皮层中也发现了新的连接投射<sup>[26]</sup>。这些研究表明, 在小鼠、大鼠、猴子、人类中风周区都发现了轴突出芽, 并在运动皮层、运动前皮层、

躯体感受皮层都产生了新的神经环路, 揭示中风后神经重塑都发生在这些功能皮层区, 这可能与行为功能恢复有关<sup>[25,27-28]</sup>。

早期研究主要集中在阻断轴突生长抑制因子例如勿动蛋白(Nogo)、髓磷脂相关蛋白(myelin associated glycoprotein, MAG)、少突细胞髓鞘糖蛋白(oligodendrocyte-myelin glycoprotein, OMGP)、硫酸软骨蛋白多糖(chondroitin sulfate proteoglycan, CSPG)等的表达, 从而促进轴突再生<sup>[29-30]</sup>。但是对于中风后轴突出芽的分子机制尚不清楚。近期研究表明, 老年大鼠出芽神经元转录组中存在一系列与神经元生长有关的因子<sup>[24]</sup>。中风后, GDF10基因及蛋白表达水平在鼠、非人灵长类动物和人类的中风周区皮层神经元中显著升高, 并能促进中风后行为功能的恢复<sup>[5]</sup>。

中风后, GDF10在皮层中风周区脑组织中高表达, 但是在正常脑组织中其表达量很少<sup>[31]</sup>。体外细胞实验发现, 重组GDF10可与TGF $\beta$  RI、TGF $\beta$  RII结合, 通过Smad2、Smad3促进小鼠、大鼠和人神经元轴突出芽<sup>[5]</sup>。与此同时, 将毛喉素(Forskolin)与神经元细胞离体共培养, 可以显著提高细胞内环磷酸腺苷(cAMP)表达量, GDF10通过cAMP可显著促进离体细胞轴突出芽, 这可能与GDF10基因上编码的cAMP调节增强子(cAMP regulating enhancer, CRE)有关<sup>[31]</sup>。此外, 颅内微量注射重组GDF10不但能诱导轴突出芽, 同时也能促进中风周区血管生成, 为中风后脑组织的修复提供必要的营养环境。为进一步阐明GDF10促进梗死周区轴突出芽的分子机制, 中风后, 通过对微量注射重组GDF10的大脑出芽神经元进行转录组分析, 发现GDF10可以调节轴突引导分子, 例如上调酪氨酸蛋白激酶A3(Ephrin A3)、微管蛋白T1(T1 Tubulin)、微管蛋白 $\beta$ II( $\beta$ II Tubulin)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、神经毡蛋白1(neuropilin 1)以及下调细胞信号抑制分子3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)、磷酸酶基因PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)的表达<sup>[5]</sup>。其中PTEN和SOCS3在视神经以及脊髓受损时可抑制轴突出芽, 这些信号通路可能是中风后GDF10诱发轴突出芽潜在的分子机制。最终实验表明, 无论是外源性还是内源性GDF10都可参与到中风周区神经元轴突出芽中, 进而促使行为功能恢复<sup>[5]</sup>。

近期研究表明, GDF10的同一亚型GDF11在中风后14天小鼠同侧中风周区以及侧脑室下区表达显著提高<sup>[32]</sup>。通过腹腔注射重组GDF11进入大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型小鼠体内, 发现GDF11可增加新生神经元前体细胞和内皮细胞的数量, 同时增加微血管的密度, 促进大脑毛细血管的再灌注<sup>[32]</sup>。重组GDF11可以增强脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)的释放, 上调促血管生成因子-血管生成素2(angiopoietin 2, Ang2)的表达, 以及将血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)磷酸化<sup>[33]</sup>。研究表明, GDF11通过上调磷酸化的转录因子Smad2和Smad3的表达, 并由TGF- $\beta$ /Smad2/Smad3通路进行信号转导, 从而增加神经再生和血管再生, 以及促使运动行为功能恢复<sup>[32]</sup>。为了在功能上有能力恢复, 再生轴突不仅要经过很长的距离才能到达失去活力的目标, 而且还必须形成新的突触和重新髓鞘化<sup>[29]</sup>。总之, GDF10与GDF11在TGF $\beta$ 家族中非常相近。通过氨基酸序列和编码区序列分析人源BMP家族蛋白时, 发现BMP11/GDF11与BMP3在结构上也非常相近<sup>[34]</sup>。同时GDF10和GDF11也都是通过活化TGF $\beta$  RI和TGF $\beta$  RII 2个受体, 磷酸化Smad2、Smad3蛋白进行胞内信号转导的<sup>[32]</sup>。GDF10和GDF11在正常脑组织中表达量极少, 但是在疾病或炎症发生后表达显著提高, 它们都能参与神经修复, 进而促进行为功能的恢复<sup>[5,32]</sup>。GDF10通过诱导轴突出芽, 建立新的脑内连接并促进血管生成, 最终促进行为功能恢复<sup>[5]</sup>。而GDF11则是通过增加新生神经祖细胞(neural progenitor cells, NPCs)和内皮细胞(endothelial cell-specific, ECs)的数量, 从而诱导神经祖细胞分化为神经元, 同时增加微血管长度和面积, 促进大脑毛细血管再灌注, 最终起到促进神经修复、再生的作用<sup>[35]</sup>。

虽然研究已证实, GDF10具有促进神经修复的作用, 但GDF10胞内信号转导通路以及GDF10蛋白聚集方式研究仍然存在不足。实验证明在缺血大脑中风周区附近GDF10蛋白表达都显著上调, 但如何在中风周区聚集GDF10, 这个机制尚不清楚。GDF10蛋白通过TGF $\beta$ 受体、Smad2和Smad3通路进行信号转导, 但在复杂的大脑神经网络中, 是否还有其他主要信号通路(例如Wnt通路)共同作用, 则需要更进一步的研究。

## 2.2 GDF10 在脊髓损伤后的作用

另有研究表明, GDF10在脊髓损伤后也起到重要作用。在脊神经结扎手术后, 发现GDF10表达于脊髓背侧角神经元表面<sup>[6]</sup>, 该区域被认为是与神经疼痛直接相关的重要区域。在脊神经结扎手术后, GDF10表达不断减少, 通过鞘内注射N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)可诱导降低小鼠爪缩回阈值, 与此同时GDF10表达也显著减少, 结果表明GDF10表达的降低可通过促进天冬氨酸受体的激活, 从而减轻神经病理性疼痛<sup>[8]</sup>。脊髓室管膜区、大脑侧脑室下区和海马区是人类、啮齿类动物新生干细胞的三大位置, 但相较于大脑, 对脊髓室管膜区的研究相对较少<sup>[36]</sup>。新生的干细胞主要分化为星形胶质细胞、少突胶质细胞、神经元, 最近虽然对单个细胞的分析证明, 在脊髓损伤后, 成年脊髓可产生新生神经元<sup>[6]</sup>。但是这些新生的神经元是否来自脊髓室管膜区尚不清楚。对人类和老鼠脊髓室管膜区的蛋白分子和细胞筛查后, 发现GDF10在脊髓室管膜区背部表达上调<sup>[6]</sup>。但它是否参与脊髓神经元再生还需要进一步研究。在大鼠脊髓损伤后恢复感觉运动功能实验中, GDF10在脊髓损伤7天后病灶区高表达, 推测GDF10具有神经修复功能<sup>[6]</sup>。然而GDF10在脊神经结扎手术后, 减轻神经疼痛的具体分子机制、病理机制尚不明确。此外, GDF10在脊髓损伤7天后病灶区以及脊髓室管膜区背部表达上调, 但其是否参与脊髓神经再生以及具体分子、细胞机制还需进一步确认。

## 3 GDF10在新生儿缺血-缺氧损伤中的作用

新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)是新生儿神经病学中最难攻克的问题<sup>[37]</sup>。每1 000名新生儿中会有1~2名患有HIE, 其症状包括胎盘早剥和脐带脱垂等。虽然低体温治疗的发现是新生儿缺氧缺血性脑病治疗的一个里程碑<sup>[38]</sup>, 但是新生患儿死亡率仍然接近10%。另外, 大部分存活的患儿都会遭受长期神经缺陷后遗症, 例如脑瘫和精神发育迟滞<sup>[37]</sup>。先前的报道证实, GDF10在啮齿动物胚胎发育期和成熟期就在脑内尤其是小脑、主动脉、脂肪组织中表达, 尽管在这些组织和器官中观察到高水平的GDF10表达, 但是当GDF10敲除时, 在这些组织和器官的发育过程中并没有观察到明显的发育异常<sup>[22]</sup>。但仍然可以想象, GDF10在脑损伤中

起重要作用, 因为它在损伤的大脑中始终高度表达, GDF10缺失也将会促进乳腺癌细胞增殖和侵袭, 进而形成乳腺癌<sup>[39]</sup>。虽然已有研究揭示了GDF10在成年、老年小鼠中风后, 有促进轴突出芽、改善神经功能恢复的作用, 但是GDF10在新生小鼠大脑发育损伤中的作用还未进行过相关研究。

研究发现, 利用基因编辑技术将小鼠GDF10基因敲除后, 对基因敲除小鼠的新生幼鼠诱导缺血-缺氧性脑损伤, 发现相较于正常小鼠, GDF10的敲除导致雄小鼠幼崽的死亡率显著增加70%<sup>[40]</sup>。但GDF10的敲除, 并不影响其他测试结果, 例如大脑血液循环、圆筒实验、旋转测试、大脑重量、白质损伤等, 结果表明, GDF10可能在新生动物大脑缺氧-缺血损伤后主要起到提高动物存活率的作用<sup>[40]</sup>。此外, 幸存的GDF10敲除的新生小鼠, 大脑损伤相较于对照组也要严重很多<sup>[40]</sup>。这说明, GDF10在大脑缺氧-缺血损伤后起到神经保护作用, 并可能促进神经恢复。

总之, GDF10可以有效保护新生小鼠对抗缺血-缺氧损害, 但GDF10敲除的新生雌鼠幼崽存活率要显著高于雄鼠幼崽, 这是否说明性别与GDF10保护作用存在一定关联, 同时脑卒中患者中男性要高于女性是否也与性别相关? 这或许需要更进一步的研究确认。

## 4 讨论与展望

脑卒中后不但能诱导中风周区的神经元轴突出芽, 同时亦可诱导中风周区血管再生, 微血管密度的增大、长度的增加, 同时可以恢复中风周区血流供应, 抢救缺血组织, 增加供血供氧, 促进神经元存活和再生, 这将有助于缺血中风后行为功能的恢复, 可以有效地降低死亡率和发病率<sup>[17,28,41]</sup>。截止目前, 针对急性缺血性脑卒中普遍治疗方法是静脉溶栓, 该方法通过采用成人凝血酶溶解的重组组织型纤溶酶原激活剂(recombinant tissue plasminogen activator, rt-PA)进行治疗, 是目前针对局灶性脑缺血或全脑缺血性卒中患者的有效治疗方法。然而, rt-PA在脑缺血中的应用目前受到狭窄的治疗时间窗限制, 且后续会出现神经功能损害, 使患者无法回归正常的社会生产活动<sup>[42]</sup>。因此, 改善脑血循环和增强神经保护与神经再生正成为缺血性损伤病理干预的研究热点。

GDF10作为TGF $\beta$ /BMP家族成员中的一员, 与



其同源蛋白BMP3最早从大鼠和人类股骨中克隆得到,早期对GDF10的研究发现,其主要在胚胎时期参与抑制骨生成和诱导头部形成<sup>[43]</sup>。研究指出在中枢神经系统损伤后,GDF10在大脑、脊髓、血管内高度表达。这些表达和分泌的GDF10蛋白通过与TGF $\beta$  RI和TGF $\beta$  RII相结合,激活细胞内Smad2和Smad3信号因子,进行信号转导,继而促进中风周区神经元轴突出芽和建立新的神经环路,并恢复行为功能<sup>[5]</sup>。此外,GDF10在脊髓损伤7天后病灶区和脊髓室管膜区背部高表达,并且在脊髓损伤引起的神经疼痛中起到保护作用<sup>[6,8]</sup>。同时GDF10在新生儿缺血-缺氧损伤中也起到神经保护作用<sup>[44]</sup>。总之GDF10从小鼠胚胎期到成年期一直在中枢神经系统中表达,尤其是损伤后高度表达,说明GDF10在神经系统中有很重要的地位。但是对GDF10研究尚不深入,尤其是在脊髓损伤后的神经再生作用还未见相关报道。同时中枢神经系统内包含复杂的信号通路,尤其是一些主要的信号通路,例如Wnt通路等,可能对GDF10的信号转导起到干扰或者促进作用,这些都需要进行更深入的研究。

综上所述,GDF10在正常生理条件下表达相对较少,但是在损伤或者病理应激条件下,是可被激活的可调控基因。研究证明,重组GDF10可以通过激活TGF $\beta$  RI和RII,介导下游Smad2和Smad3信号通路,从而有效地诱导中风周区神经元轴突出芽,并恢复运动行为功能<sup>[5]</sup>。同时研究发现,促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)通过激活JAK2-PI3K-NF- $\kappa$ B信号通路,也上调皮层神经元中GDF10的表达,从而促进神经元轴突出芽<sup>[45]</sup>。然而,目前为止,对于GDF10在病理生理中的分子机制和生物活性研究仍然比较匮乏。

中枢神经系统损伤促进病人内源性GDF10高表达,可能是治疗中枢神经系统损伤后神经修复的一个新途径。在深入研究GDF10基因的多态性<sup>[17]</sup>与一系列相关疾病的关系后,也许会有新的发现。这也将有助于更加深入地掌握GDF10在生理和病理学上的功能作用,以及其信号通路转导机制。截至目前,仍然没有开展与GDF10相关的临床试验。虽然研究证明,在卒中实验动物模型中通过颅内微量注射重组GDF10可以有效地诱导卒中后轴突出芽和功能恢复<sup>[5]</sup>,但是这种给药途径限制了GDF10相关药物的临床应用价值。此外,迄今为止对于给药的时

间窗口和恰当的给药剂量也没有一致的意见。未来有必要对更适用于GDF10临床应用的方案进行研究。这将有助于治疗中枢神经系统损伤引发的相关疾病,并可能为转化再生医学领域的发展提供有效的治疗途径。

### 参考文献 (References)

- [1] CUNNINGHAM N S, JENKINS N A, GILBERT D J, et al. Growth/differentiation factor-10: a new member of the transforming growth factor-beta superfamily related to bone morphogenetic protein-3 [J]. *Growth Factors*, 1995, 12(2): 99-109.
- [2] HINO J, TAKAO M, TAKESHITA N, et al. cDNA cloning and genomic structure of human bone morphogenetic protein-3B (BMP-3b) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 223(2): 304-10.
- [3] TAKAO M, HINO J, TAKESHITA N, et al. Identification of rat bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b), a new member of BMP-3 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 219(2): 656-62.
- [4] RUIZ N, ANDRES B, LAMONERIE T, et al. The caudo-ventral pallidum is a novel pallial domain expressing Gdf10 and generating Ebf3-positive neurons of the medial amygdala [J]. *Brain Struct Funct*, 2018, 223(7): 3279-95.
- [5] LI S, NIE E H, YIN Y, et al. GDF10 is a signal for axonal sprouting and functional recovery after stroke [J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(12): 1737-45.
- [6] JIANG L, SEN L I, WANG L, et al. Expression of GDF10 in spinal cord in a rat model of neuropathic pain [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2017, 30(3): 444-8.
- [7] MECKLENBURG N, MARTINEZ J E, MORENO J A, et al. Growth and Differentiation Factor 10 (Gdf10) is involved in bergmann glial cell development under Shh regulation [J]. *Glia*, 2014, 62(10): 1713-23.
- [8] JIANG L, TAN B, LI S, et al. Decrease of growth and differentiation factor 10 contributes to neuropathic pain through N-methyl-D-aspartate receptor activation [J]. *Neuroreport*, 2017, 28(8): 444-50.
- [9] TEN D P, HILL C S. New insights into TGF-beta-Smad signalling [J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(5): 265-73.
- [10] DERYNCK R, ZHANG Y E. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling [J]. *Nature*, 2003, 425(6958): 577-84.
- [11] HINCK A P. Structural studies of the TGF-beta s and their receptors-insights into evolution of the TGF-beta superfamily [J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(14): 1860-70.
- [12] LOW E L, BAKER A H, BRADSHAW A C. TGFbeta, smooth muscle cells and coronary artery disease: a review [J]. *Cell Signal*, 2019, 53: 90-101.
- [13] KRIEGLSTEIN K, ZHENG F, UNSICKER K, et al. More than being protective: functional roles for TGF- $\beta$ /activin signaling pathways at central synapses [J]. *Trends Neurosci*, 2011, 34(8): 421-9.
- [14] FALAHATIMARVAST A, OZAKI Y, DAMSTEEGT E, et al. Spatiotemporal expression of activin receptor-like kinase-5 and

- bone morphogenetic protein receptor type II in the ovary of shortfinned eel, *Anguilla australis* [J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2021, 251: 110509.
- [15] SAMADI S, EBADIFAR A, KHORRAM H R, et al. Interaction effect of RsaI and BamHI polymorphisms of TGF $\alpha$ , BMP2 and BMP4 on the occurrence of non-syndromic cleft lip and palate in iranian patients [J]. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2018, 10(4): 248-52.
- [16] CHENG C W, HSIAO J R, FAN C C, et al. Loss of GDF10/BMP3b as a prognostic marker collaborates with TGFBR3 to enhance chemotherapy resistance and epithelial-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma [J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(5): 499-513.
- [17] ADOLIGBE C, ZAN L S, WANG H B, et al. A novel polymorphism of the GDF10 gene and its association with body measurement traits in Chinese indigenous cattle [J]. *Genet Mol Res*, 2011, 10(2): 988-95.
- [18] MA C H, BRENNER G J, OMURA T, et al. The BMP coreceptor RGMb promotes while the endogenous BMP antagonist noggin reduces neurite outgrowth and peripheral nerve regeneration by modulating BMP signaling [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(50): 18391-400.
- [19] YADIN D, KNAUS P, MUELLER T D. Structural insights into BMP receptors: specificity, activation and inhibition [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 27: 13-34.
- [20] SHI Y, MASSAGUÉ J. Mechanisms of TGF- $\beta$  signaling from cell membrane to the nucleus [J]. *Cell*, 2003, 113(6): 685-700.
- [21] MASSAGUÉ J. How cells read TGF- $\beta$  signals [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(3): 169-78.
- [22] HE H, WANG Y, YE P, et al. Long noncoding RNA ZFPM2-AS1 acts as a miRNA sponge and promotes cell invasion through regulation of miR-139/GDF10 in hepatocellular carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 159.
- [23] KARACHINTSEVA N, MOZHEYKO E. The application of physiotherapy in cerebral stroke from the evidence-based medicine standpoint [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2021, 20: 27-34.
- [24] LI S, OVERMAN J J, KATSMAN D, et al. An age-related sprouting transcriptome provides molecular control of axonal sprouting after stroke [J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(12): 1496-504.
- [25] CARMICHAEL S T, WEI L, ROVAINEN C M, et al. New patterns of intracortical projections after focal cortical stroke [J]. *Neurobiol Dis*, 2001, 8(5): 910-22.
- [26] DANCAUSE N, BARBAY S, FROST S B, et al. Extensive cortical rewiring after brain injury [J]. *J Neurosci*, 2005, 25(44): 10167-79.
- [27] JOY M T, BEN ASSAYAG E, SHABASHOV-STONE D, et al. CCR5 is a therapeutic target for recovery after stroke and traumatic brain injury [J]. *Cell*, 2019, 176(5): 1143-57.
- [28] JOY M T, CARMICHAEL S T. Encouraging an excitable brain state: mechanisms of brain repair in stroke [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2021, 22(1): 38-53.
- [29] TEDESCHIA, OMURA T, COSTIGAN M. CNS repair and axon regeneration: using genetic variation to determine mechanisms [J]. *Exp Neurol*, 2017, 287(Pt 3): 409-22.
- [30] WAHL A S, OMLOR W, RUBIO J C, et al. Neuronal repair asynchronous therapy restores motor control by rewiring of the rat corticospinal tract after stroke [J]. *Science*, 2014, 344(6189): 1250-5.
- [31] PLATKO K, LEBEAU P F, BYUN J H, et al. GDF10 blocks hepatic PPAR $\gamma$  activation to protect against diet-induced liver injury [J]. *Mol Metab*, 2019, 27: 62-74.
- [32] LU L, BAI X, CAO Y, et al. Growth differentiation factor 11 promotes neurovascular recovery after stroke in mice [J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 205.
- [33] SCHAFER M J, LEBRASSEUR N K. The influence of GDF11 on brain fate and function [J]. *GeroScience*, 2019, 41(1): 1-11.
- [34] WANG R N, GREEN J, WANG Z, et al. Bone morphogenetic protein (BMP) signaling in development and human diseases [J]. *Genes Dis*, 2014, 1(1): 87-105.
- [35] ZHAO Y, WANG L H, PENG A, et al. The neuroprotective and neurorestorative effects of growth differentiation factor 11 in cerebral ischemic injury [J]. *Brain Res*, 2020, 1737: 146802.
- [36] HASSENKLÖVER T, SCHULZ P, PETERS A, et al. Purinergic receptor-mediated Ca $^{2+}$  signaling in the olfactory bulb and the neurogenic area of the lateral ventricles [J]. *Purinergic Signal*, 2010, 6(4): 429-45.
- [37] WOOD T, VU P, COMSTOCK B, et al. Cytokine and chemokine responses to injury and treatment in a nonhuman primate model of hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia and erythropoietin [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(8): 2054-66.
- [38] ESIH K, GORIČAR K, PRIMEC Z, et al. CARD8 and IL1B polymorphisms influence MRI brain patterns in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(1): 96.
- [39] ZHOU T, YU L, HUANG J, et al. GDF10 inhibits proliferation and epithelial-mesenchymal transition in triple-negative breast cancer via upregulation of Smad7 [J]. *Aging*, 2019, 11(10): 3298-314.
- [40] OGAWA Y, TSUJI M, TANAKA E, et al. Bone morphogenetic protein (BMP)-3b gene depletion causes high mortality in a mouse model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. *Front Neurol*, 2018, 9: 397.
- [41] ZHANG Z G, ZHANG L, JIANG Q, et al. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain [J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(7): 829-38.
- [42] LENG T, XIONG Z G. Treatment for ischemic stroke: From thrombolysis to thrombectomy and remaining challenges [J]. *Brain Circ*, 2019, 5(1): 8-11.
- [43] HINO J, NISHIMATSU S, NAGAI T, et al. Coordination of BMP-3b and cerberus is required for head formation of *Xenopus* embryos [J]. *Dev Biol*, 2003, 260(1): 138-57.
- [44] LI S, ZHU Z, XUE M, et al. The protective effects of fibroblast growth factor 10 against hepatic ischemia-reperfusion injury in mice [J]. *Redox Biol*, 2021, 40: 101859.
- [45] LI S J, CUI K F, FU J J, et al. EPO promotes axonal sprouting via upregulating GDF10 [J]. *Neurosci Lett*, 2019, 711: 134412.