

# Nogo-A 及其受体 NgR 对中枢神经系统损伤后修复的影响

古 磊(综述),甄 云(审校)

广东医学院附属西乡人民医院神经外科,广东深圳 518102

**[摘要]** Nogo-A 是近年来在中枢神经系统髓鞘中发现的一种抑制中枢神经轴突生长的蛋白,NgR 作为 Nogo-A 的细胞表面受体而被发现。NgR 与 Nogo-A 结合后通过一系列信号转导过程发挥抑制中枢神经再生的作用,与中枢神经系统损伤后的修复有着密切关系。对于 Nogo-A 及其受体 NgR 的深入研究,将有助于推动中枢神经系统损伤的治疗。

**[关键词]** Nogo-A;NgR;中枢神经系统损伤

**[中图分类号]** R651.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1673-7210(2012)01(a)-009-03

## The impact of Nogo-A and its receptor NgR on central nervous system repair after injury

GU Lei (review), ZHEN Yun (proofreader)

Department of Neurosurgery, Xixiang People's Hospital Affiliated to Guangdong Medical College, Guangdong Province, Shenzhen 518102, China

**[Abstract]** Nogo-A which is recently found in central nervous system (CNS) myelin sheath can inhibit the growth of nerve axon. NgR is found as the cell surface receptor of Nogo-A. The combination of NgR and Nogo-A can inhibit the neural regeneration in CNS through a series of signal conduction and has close relationship with CNS repair after injury. The thorough study of Nogo-A and NgR will help to promote the clinical treatment of CNS injury.

**[Key words]** Nogo-A; NgR; Central nervous system injury

自从 Nogo-A 蛋白及其受体 NgR 被发现,中枢神经损伤再生机制的研究就成为神经科学研究领域的热点。随着对 Nogo-A、NgR 研究的深入,人们对其从分子到蛋白,从表达到分布、功能,都有了一定的认识,但仍存在问题和困惑。本文主要就 Nogo-A、NgR 对中枢神经损伤修复影响的研究现状作一综述。

### 1 Nogo-A 的结构、分布及生理功能

#### 1.1 结构

Nogo-A 是由 Nogo 基因表达的一种具有轴突再生抑制作用的蛋白质分子,分子量为 126 KD,全长有 1 163 个氨基酸,共有三个结构域。第一个结构域 Nogo-66 靠近羧基端,位于内质网腔或细胞膜外,与特定受体 NgR 结合能够诱导轴突生长锥溃变、塌陷,抑制神经轴突再生<sup>[1]</sup>。第二个结构域 amino-Nogo-A 在 N-末端区域,与抑制成纤维细胞 3T3 的扩散有关,对神经元的影响甚微,但与 Nogo-66 在抑制轴突生长方面可发挥协同作用。第三个功能结构域 NiG 在中间,该区域抑制轴突生长和成纤维细胞播散,并诱导生长锥萎陷<sup>[1]</sup>。

#### 1.2 分布

关于 Nogo-A 在体内的分布,2001 年 Josephson 等<sup>[2]</sup>首先采用原位杂交技术发现在运动神经元和感觉神经元、三叉神经节、三叉神经脑桥核、红核及海马等神经元内都有 Nogo-A

**[作者简介]** 古磊(1983.3-),男,2009 级神经外科硕士研究生,住院医师;研究方向:颅脑创伤。

**[通讯作者]** 甄云(1967.8-),男,硕士,硕士研究生导师,副教授,主任医师。

mRNA 表达,但在星形胶质细胞和施万细胞中未见分布。而 Huber 等<sup>[3]</sup>用共聚焦和免疫电镜揭示出 Nogo-A 主要在少突胶质细胞的细胞体和突起表达,位于最内的轴突旁和最外层的髓鞘膜上,是其发挥轴突抑制作用的便利条件。

#### 1.3 生理功能

Nogo-A 作为中枢神经元髓鞘的组成成分有什么生理作用呢?有实验发现,在非病理条件下,胚胎发育早期 Nogo-A 可以参与髓鞘的形成,与神经环路连接有关,在海马连接的发育中起关键作用,同时促进神经细胞迁移和轴突生长,保证轴突朝靶组织定向生长,尤其是保证轴突沿轴索方向长距离生长<sup>[4]</sup>。在成年中枢神经系统中,Nogo 蛋白的抑制作用有助于保持神经联系的特异性,防止神经在不必要的区域出芽,形成不必要和错误的投射,保持中枢神经系统稳定<sup>[5]</sup>。孟蒂等<sup>[6]</sup>最新研究发现,在疼痛伤害性刺激动物模型中,Nogo-A 在大鼠中脑导水管周围灰质中表达变化,并且与内源性阿片系统之间也存在一定的联系,说明 Nogo-A 也参与了痛觉调制过程,参与伤害性刺激反应。

### 2 NgR 的结构、分布及生理功能

#### 2.1 结构

NgR 是一种广泛存在于中枢神经系统且为神经元特有的蛋白,因其能够与 Nogo-66 分子特异性结合发挥轴突生长抑制作用而被发现。NgR 由 473 个氨基酸残基组成,从 N 端至 C 端包含 1 个信号肽、3 个氨基酸重复序列 LRRNT/LRR/LRRCT 构成配体结合域、特异性 C 末端以及 1 个糖基化磷脂酰肌醇结构。

## 2.2 分布

NgR 位于细胞膜的表面,靠糖基化磷脂酰肌醇锚定在细胞膜的表面<sup>[1]</sup>。Hunt 等<sup>[7]</sup>采用原位杂交技术,发现 NgR mRNA 在大脑皮层、海马结构、杏仁体和背侧丘脑内高度表达,在红核和前庭神经核内中度表达,在白质内表达很弱;小脑内小脑深核 NgR mRNA 表达强度高于颗粒细胞和 Purkinje 细胞;前脑的大部,包括纹状体、丘脑网状核、下丘脑和基底前脑 NgR mRNA 表达很弱或无表达。

## 2.3 生理功能

NgR 蛋白作为一种神经抑制因子的受体广泛存在于中枢神经系统的神经元,它在非病理状态下的生理功能也引起了人们的关注。Huo 等<sup>[8]</sup>的报道认为,NgR 和其配体 Nogo-A 在海马发育过程中对海马神经元的连接、神经环路的形成起到关键作用,因此,其对学习和记忆有促进作用,与中枢神经系统的发育密切相关。

## 3 Nogo-A 与 NgR 的作用机制

Nogo-A 主要分布在少突胶质细胞中,位于中枢神经系统白质中,而作为受体的 NgR 主要分布在中枢神经系统的灰质神经元。二者通过什么途径结合起来发挥抑制神经元轴突再生作用呢? 中枢神经损伤时,少突胶质细胞和髓磷脂释放出细胞内的 Nogo-A 到细胞外基质,通过三种途径和受体 NgR 结合<sup>[9]</sup>:①细胞方式,即完整少突胶质细胞表面的 Nogo-66 与损伤神经元的 NgR 结合。②细胞膜方式,即从受损少突胶质细胞脱落下来的含 Nogo-66 的膜片段与损伤神经元的 NgR 结合。③完全溶解的少突胶质细胞释放 Amino-Nogo 和 Nogo-66 的可溶性蛋白水解片段,与 NgR 结合。在中枢神经损伤时,往往三种结合方式同时存在。由于 NgR 通过糖基化磷脂酰肌醇锚定在神经元细胞膜的外面,需要有辅助的跨膜蛋白转导抑制信号到细胞内。因此,NgR 可与细胞膜上的 p75NTR 和 LINGO-1 两种跨膜蛋白结合形成具有完整信号传递功能的复合体(NgR/LINGO-1/p75),向细胞内传递髓磷脂相关抑制因子的抑制信号。NgR 也可以与跨膜蛋白 TROY 及 LINGO-1 结合,形成另外一种具有完整信号传递功能的复合体(NgR/LINGO-1/TROY)来向细胞内传递抑制信号。当 NgR/LINGO-1/p75 或 TROY 复合体把抑制信号传递到细胞内,则激活下游的信号转导分子 RhoA 使其去磷酸化转变为活性形式的 RhoA-GTP,RhoA-GTP 与其主要的效应蛋白 ROCK 结合后,激活其蛋白激酶活性,导致生长锥塌陷,抑制神经再生<sup>[10]</sup>。此外,Nogo-A 抑制中枢神经轴突再生可能还有其他的途径<sup>[11]</sup>。一是通过 GTP 酶 RhoA 和 Rac1 发挥作用;Nogo-A 通过 G 蛋白偶联受体[G(i)/G]途径使细胞内 Ca<sup>2+</sup>浓度短时间内急剧升高,激活细胞内 Ca<sup>2+</sup>依赖性蛋白激酶 C,从而抑制生长锥生长,阻止轴突的延伸;另一个途径是在细胞损伤后通过 amino-Nogo 的释放发挥抑制作用。但 amino-Nogo 发挥抑制神经再生作用并不是通过与 NgR 结合实现的,其发挥抑制作用的机制目前尚不清楚。

## 4 Nogo-A 及 NgR 与中枢神经系统损伤

### 4.1 脑的缺血性损伤

近十年来大部分的研究认为,在脑缺血损伤后 Nogo-A 及 NgR 表达升高,甚至在损伤一个月后,二者表达还处于较高水平,推测 Nogo-A 及 NgR 有可能参与了脑缺血的病理损伤

发生及进展过程,并在脑缺血损伤后的修复中发挥抑制作用。但吴功雄等<sup>[12]</sup>研究认为,大鼠脑梗死后 3 d 内 Nogo-A 含量下降,到发病后第 7 天开始上升,2 周达高峰,考虑因为梗死早期脑组织经历缺血、变性、坏死,此时各种蛋白质及神经递质的合成均降低,Nogo-A 的表达减少;在梗死后期,由于神经组织及结缔组织的修复加快,特别是少突胶质细胞的增生,Nogo-A 的表达量升高,对神经纤维生长的抑制加强,这可能是造成成年哺乳动物脑缺血损伤后神经再生障碍的重要原因之一。此外,孙广珍等<sup>[13]</sup>在最近的实验中发现,大鼠大脑中动脉闭塞后的第 5、7、10 天,在大脑缺血的远隔部位小脑皮层 Nogo-A 蛋白表达明显增高,说明大脑中动脉闭塞后不仅引起局部脑组织的缺血改变,还会通过神经纤维联系引起远隔部位小脑发生继发性免疫损害,其中,轴突生长抑制因子 Nogo-A 在继发性免疫损害过程中发挥了较强作用。由此可见,Nogo-A 及 NgR 不但在脑缺血损伤后修复中抑制了神经再生及神经功能的恢复,而且在脑缺血损伤的病理过程也可能发挥了重要作用,甚至在脑缺血的远隔部位也发挥了免疫损伤的作用。

在脑缺血后治疗中,有研究显示,使用 Nogo-A 抗体治疗脑梗死大鼠,能观察到从未受损皮质到皮质下区域形成新的轴突连接,促进大鼠相应神经系统功能恢复<sup>[14]</sup>。而在 Tsai 等<sup>[15]</sup>的最新研究报道中显示,在缺血性脑卒中模型中给予 Nogo-A 抗体(11C7)治疗,通过标记的生物素示踪神经纤维分析发现,Nogo-A 可以促进缺血皮质的神经纤维发芽到红核,能够有效地促进瘫痪肢体的功能恢复,即使在缺血发生的晚期使用也有效。Kilic 等<sup>[16]</sup>的最新报道认为,Nogo-A 能够促进脑梗死后残留神经元的存活,因此,应该意识到应用 Nogo-A 抗体促进神经元轴突再生疗法的危害。Nogo-A 抗体在急性脑卒中阶段不能应用。

### 4.2 脑缺血再灌注损伤

对于脑缺血再灌注损伤模型的研究,杜秀民等<sup>[17]</sup>得出,脑缺血再灌注后 2~12 h Nogo-A 在缺血侧皮质区和纹状体区表达增高,并达到峰值,之后下降,在 48 h 时再次升高达到峰值,之后逐渐下降,对于 Nogo-A 出现两次表达高峰的原因,可能主要由于缺血、缺氧使细胞失去活性以及再灌注损伤的反弹作用所致,具体原因目前尚不清楚。

### 4.3 脊髓创伤

关于 Nogo-A 及 NgR 在脊髓损伤中的研究国内外已经有了大量报道。使用 Nogo-A 抗体或者运用基因技术敲除 Nogo-A 基因,都能在脊髓损伤模型中观察到神经轴突的广泛再生,对受损伤脊髓的功能恢复有较明显疗效,这已经得到大部分研究者的认可,现在已经开始进入临床试验阶段<sup>[18]</sup>。

期临床试验已经成功申请建立了多国合作的抗 Nogo-A 治疗急性脊髓损伤的临床实验中心,现在正在筹备期在多个国家实施临床实验。针对 NgR 抗体的应用,也多有报道。Atalay 等<sup>[19]</sup>通过向脊髓损伤大鼠体内加入 NEP1-40,阻断 Nogo-66 与其受体结合后发现,大鼠体内钙粘蛋白(一种神经细胞黏附和轴突出芽的标志)的表达增加,并且可增加运动功能的恢复。但 Steward 等<sup>[20]</sup>研究显示,在大鼠脊髓损伤模型中用 NgR 受体阻断 NgR,并没有发现受损脊髓轴突的明显再生和肢体运动功能的恢复。此外,还有采用 C3 转移酶灭

活Rho、其他 NgR 拮抗剂阻断 Nogo 与 NgR 结合、化学合成小干扰 RNA (siRNA) 沉默 NgR 基因、分别对 NgR、p75NTR、Rho-A 进行 RNA 干扰等手段,也都发现能够促进脊髓损伤后轴突的再生。

#### 4.4 颅脑创伤

目前对于 Nogo-A 和 NgR 在颅脑创伤中的研究还比较少。在大鼠弥漫性轴索损伤的研究中发现,脑内 NgR 蛋白和 NgR mRNA 的表达水平在弥漫性轴索损伤后明显下降,在伤后 72 h 降到最低,此后逐渐恢复<sup>[21]</sup>。也有人发现,在大鼠颅脑创伤后,阻断或抑制 Nogo-A 的表达,能够促进中枢神经系统损伤后结构和功能的恢复<sup>[22]</sup>。近期林在楷等<sup>[23]</sup>研究发现,人颅脑创伤后血清中 Nogo-A 蛋白水平显著增高且与损伤程度及预后有一定关系,能在一定程度上有助于判断颅脑损伤的严重程度和预后。对于颅脑创伤后 Nogo-A 和 NgR 在脑组织中的变化还有待进一步研究。

#### 4.5 自身免疫性损伤

实验性自身免疫脑脊髓炎的病理标志是轴突损伤。Karnezis 等<sup>[24]</sup>研究表明,Nogo-A 是自身免疫脑脊髓炎发展的重要因素,对 Nogo-A 的阻断可能有助于保持和(或)恢复免疫损伤后中枢神经系统的神经完整性。Nogo-A 与 NgR 在免疫反应中的作用机制目前还不清楚,在中枢神经免疫损伤中扮演了什么角色还有待进一步研究。

#### 5 问题和展望

目前对于 Nogo-A 和 NgR 作用机制的研究已经取得了长足进展,针对其作用的各个环节进行干扰、抑制、拮抗来促进受损的神经恢复,都已经取得了一定成果。但是 Nogo-A 和 NgR 复杂信号转导途径的面纱还没有揭开,同时二者作为正常神经纤维髓鞘的组成成分,其生理功能目前还不甚明确,还需要更深入的研究。另外,关于 Nogo-A 和 NgR 的研究,目前主要集中在脑的缺血性损伤和脊髓的创伤领域,而在颅脑创伤方面的研究相对较少。因此,对于 Nogo-A 和 NgR 的研究还有很长的路要走。

#### [参考文献]

[1] Oertle T, Van D, Haar ME, et al. Nogo-A inhibits neurite outgrowth and cell spreading with three discrete regions [J]. *J Neurosci*,2003,23(13): 5393-5406.

[2] Josephson A, Widenfalk J, Widmer HW, et al. Nogo mRNA expression in adult and fetal human and rat nervous tissue and in weight drop injury [J]. *Exp Neurol*,2001,169:319-328.

[3] Huber AB, Weinmann O, Bramble C, et al. Patterns of Nogo mRNA and protein expression in the developing and adult rat and after CNS lesions [J]. *J Neurosci*,2002,22:3553-3567.

[4] Weinmann O, Schnell L, Ghosh A. Intrathecally infused antibodies against Nogo-A penetrate the CNS and downregulate the endogenous neurite growth inhibitor Nogo-A [J]. *Mol Cell Neurosci*,2006,32(1-2): 161-173.

[5] Zhao X, Wu J, Kuang F, et al. Silencing of Nogo-A in rat oligodendrocyte cultures enhances process branching [J]. *Neurosci Lett*,2011,499(1):

32-36.

[6] 孟蒂,刘丹,房春燕,等.大鼠 PAG 内 Nogo-A 和 CGRP 参与痛觉调制研究[J].*神经解剖学杂志*,2011,27(1):67-71.

[7] Hunt D, Marson MRJ, Campbell G, et al. Nogo receptor mRNA expression in intact and regenerating CNS neurons [J]. *Mol Cell Neurosci*,2002, 20(1153):537-552.

[8] Huo Y, Yuan RD, Ye J, et al. Expression of Nogo-A and Nogo receptor in neonatal rats visual system during development [J]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*,2011,47(1):54-58.

[9] Bareyre FM, Haudenschild B, Schwab ME. Long-lasting sprouting and gene expression changes induced by the monoclonal antibody IN-1 in the adult spinal cord [J]. *J Neurosci*,2002,22(16):7097.

[10] Hsieh SH, Ferraro GB, Fournier AE. Myelin-associated inhibitors regulate cofilin phosphorylation and neuronal inhibition through LIM kinase and Slingshot phosphatase [J]. *J Neurosci*,2006,26(3):1006-1015.

[11] 杨志高,沈洪兴.Nogo/NgR 信号通路相关分子及其在脊髓神经再生中的作用[J].*中国脊柱脊髓杂志*,2009,19(9):713-716.

[12] 吴功雄,王玉苹,张海伟,等.大鼠脑梗塞后功能恢复过程中 Nogo-A mRNA 及其蛋白质的表达[J].*中国病理生理杂志*,2006,22(5):972-976.

[13] 孙广珍,车玉琴,奚文波,等.脑梗死后远隔部位小脑皮层 Nogo-A 蛋白表达[J].*免疫学杂志*,2011,1(29):90-92.

[14] Tsai SY, Markus TM, Andrews EM, et al. Intrathecal treatment with anti-Nogo-A antibody improves functional recovery in adult rats after stroke [J]. *Exp Brain Res*,2007,182(2):261-266.

[15] Tsai SY, Papadopoulos CM, Schwab ME, et al. Delayed anti-Nogo-A therapy improves function after chronic stroke in adult rats [J]. *Stroke*, 2011,42(1):186-190.

[16] Kilic E, ElAli A, Kilic U, et al. Role of Nogo-A in neuronal survival in the reperfused ischemic brain [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*,2010, 30(5):969-984.

[17] 杜秀民,刘红,刘广义.大鼠脑缺血-再灌注损伤后 Nogo-A 及 IGF-1 的表达和意义[J].*中国老年学杂志*,2008,6(28):1061-1063.

[18] Zörner B, Schwab ME. Anti-Nogo on the go: from animal models to a clinical trial [J]. *Ann N Y Acad Sci*,2010,98(11):22-34.

[19] Atalay B, Bavbek M, Cekinmez M, et al. Antibodies neutralizing Nogo-A increase pan-cadherin expression and motor recovery following spinal cord injury in rats [J]. *Spinal Cord*,2007,45(12):780-786.

[20] Steward O, Sharp K, Yee KM, et al. A re-assessment of the effects of a Nogo-66 receptor antagonist on regenerative growth of axons and locomotor recovery after spinal cord injury in mice [J]. *Exp Neurol*,2008, 209(2):446-468.

[21] 沈剑虹,文立,马进.大鼠弥漫性轴索损伤对脑内 NgR 表达的影响[J].*交通医学*,2007,21(4):347-349,354.

[22] Marklund N, Morales D, Clausen F, et al. Functional outcome is impaired following traumatic brain injury in aging nogo-A/Bdeficient mice [J]. *Neuroscience*,2009,163(2):540-551.

[23] 林在楷,田恒力,吴炳山,等.急性闭合性颅脑损伤患者血清 Nogo-A 蛋白的变化[J].*上海交通大学学报:医学版*,2010,30(1):70-72.

[24] Karnezis T, Mandemakers W, McQualter JL, et al. The neurite outgrowth inhibitor Nogo-A is involved in autoimmune-mediated demyelination [J]. *Nat Neurosci*,2004,7(7):736.

(收稿日期:2011-08-16)