

· 专论与综述 ·

脑源性神经营养因子前体蛋白生物学效应研究进展 *

罗雁威 李昌琪[△]

(中南大学湘雅医学院 人体解剖与神经生物学系 湖南 长沙 410013)

摘要 神经营养因子是一类分泌性多肽类生长因子,可促进中枢和外周神经元的生长、存活以及分化,但其前体分子却具有不同的生物学活性,也有着不同的受体以及细胞内信号通路。本文对近年来关于脑源性神经营养因子前体蛋白的研究予以综述,着重讨论其在神经损伤与情绪障碍和神经退行性变疾病模型中的作用。

关键词 脑源性神经营养因子 脑源性神经营养因子前体蛋白 神经损伤 神经退行性变疾病

中图分类号 R745.1 Q516 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2012)01-151-04

Advancement in Research on Biological Effects of ProBDNF*

LUO Yan-wei, LI Chang-qi[△]

(Department of Anatomy and Neurobiology, Xiangya School of Medicine, Central South University, Hunan Changsha 410013, China)

ABSTRACT: The neurotrophins is a class of secreted polypeptide growth factors, which can promote growth, survival and differentiation of the central and peripheral neurons. But the precursor neurotrophins have different biological activity and different receptors and intracellular signal pathway. Recent research on the precursor of brain-derived neurotrophic factor (proBDNF) will be reviewed in this paper. It focus on the role of proBDNF in the mode of nerve injury, emotional disorders and neurodegenerative diseases.

Key words: Brain-derived neurotrophic factor; Precursor of brain-derived neurotrophic factor; Nerve injury; Neurodegenerative disease

Chinese Library Classification(CLC): R745.1, Q516 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)01-151-04

前言

神经营养因子是一类分泌性多肽类生长因子,可促进中枢和外周神经元的生长、存活以及分化,调节突触可塑性,在学习与记忆过程中也发挥重要作用^[1,2]。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)。神经营养因子各成员的基因先合成其前体,然后在胞内和/或胞外的系列蛋白酶的催化裂解作用下而形成具有生物活性的成熟神经营养因子。脑源性神经营养因子前体分子(precursor of BDNF, proBDNF)在细胞外组织纤维蛋白溶酶原活化物(tPA)^[3]、丝氨酸蛋白纤溶酶^[4]、金属蛋白酶的作用下裂解为成熟的 BDNF^[5]。胞外未裂解的 proBDNF 可被星形胶质细胞摄取,并在适当的时候释放使 proBDNF 能够循环利用^[6]。在细胞内 proBDNF 可在高尔基体内被内源性枯草杆菌蛋白酶,如弗林蛋白,裂解为 BDNF,也可以在未成熟的分泌颗粒中被蛋白前体转化酶(pro-protein convertase)作用而生成 BDNF^[7]。proBDNF 的肽链长度为 247 个氨基酸,分子量为 32~36 kD,其氨基酸序列第 57 和 58 位点为酶切部位;而成熟的 BDNF 分子的肽链长度为 118 个氨基酸,分子量为 12 kD^[8,9]。

近年来对 proBDNF 的研究发现,其与成熟的 BDNF 一样具有生物学效应,如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,其作用方式和传导通路也与成熟的 BDNF 不尽相同^[1,10,11]。体外培养的海马神经元在低频刺激下主要分泌 proBDNF,而高频刺激时,除胞外 BDNF 水平上升外,还可诱导组织纤维蛋白溶酶原活化物(tPA)的分泌,神经元的活动频率调节着胞外裂解酶的分泌,从而控制 proBDNF 和 BDNF 水平的比率。这可能是调控 proBDNF 和 BDNF 不同生物功能的机制之一^[3]。但它的生理功能仍然存在争议,Matsumoto T 等认为 proBDNF 只是 BDNF 转运合成的一个中间体,不可能被分泌到胞外而与配体结合发挥生物学作用^[12],而 Yang J 等则提供新的证据表明 proBDNF 可以被分泌,并与配体结合调节神经元的功能^[13]。充分认识 proBDNF 在生理和病理状态下的作用将对进一步认识神经系统疾病和神经损伤具有重要的意义。

1 proBDNF 的分布及其受体

proBDNF 广泛分布于中枢神经系统,外周神经系统也有少量的分布,不同的物种,同一物种不同年龄段其分布也不尽相同。在人的脑中,三叉神经核、髓质、下橄榄核、弓状核呈现高密度表达,而黑质和蓝斑表达最低;幼年时期的脑干核团的

* 基金项目 国家自然科学基金资助项目(No.30971533)

作者简介:罗雁威(1987-)男,硕士,主要研究方向:物质依赖,Tel:13739064167, E-mail: royalway2010@yahoo.cn

[△]通讯作者:李昌琪 E-mail: lichangqi2003@163.com

(收稿日期:2011-04-06 接受日期:2011-04-30)

proBDNF 的表达比成年期的更高^[14]。proBDNF 在大鼠和恒河猴的中枢神经系统中广泛分布,大部分部位与 BDNF 共表达,但在恒河猴小脑的 Purkinje 细胞层及动眼神经核 proBDNF 单独表达,提示 proBDNF 在这些部位可能发挥重要作用^[15,16]。

BDNF 与 TrkB 结合促进突触强化,而 proBDNF 激活 p75 神经营养因子受体(p75NTR)可导致海马 CA1 区神经元长期抑制,BDNF 和 proBDNF 对突触可塑性呈现双向性的调节^[17]。但也有研究发现,proBDNF 被分泌到细胞外后和 TrkB 结合产生酪氨酸磷酸化、ERK1/2 活化、神经突生长等生物学效应,而不与 TrkA、TrkC 结合^[18]。proBDNF 被弗林蛋白和金属蛋白酶裂解后可强化激活 TrkB 的效应,可能是在生理条件下 proBDNF 并不直接激活 TrkB 受体或与之结合,而是在胞吞作用和裂解过程中引起 TrkB 受体激活^[19]。sortilin 也是 proBDNF 的一个受体,它和 p75NTR 一起与 proBDNF 结合成为复合体从而诱导细胞凋亡^[20]。

2 proBDNF 在神经损伤模型中的作用

大量的研究证实 BDNF 在神经损伤中具有促进神经元存活、生长的作用^[21-23],而 proBDNF 却具有相反的生物学作用。Koshimizu H 等在体外培养的小脑颗粒细胞注入抗裂解的 proBDNF (Cleavage-resistant proBDNF, CR-proBDNF),发现 CR-proBDNF 不能介导 TrkB 磷酸化,也不能激活 ERK1/2 和 AKT,而成熟的 BDNF 却能激活这些激酶从而促进神经元存活^[10]。另外 CR-proBDNF 处理后能快速激活与 P75 受体介导细胞凋亡有关的 Rac-GTPase 和 JNK 磷酸化,而且引起了 caspase-3 的提早活化,相反,成熟的 BDNF 推迟了 caspase-3 活化,提示 proBDNF 和 BDNF 通过不同的信号通路发挥相反的生物学效应。虽然 proBDNF 能诱导小脑颗粒细胞的凋亡,但用 proBDNF 处理基底前脑胆碱能神经元和海马神经元时,却发现 proBDNF 能显著减少胆碱能神经纤维和海马齿状突起的数量,但并不影响这些神经元的存活,说明在不同的中枢神经元中 proBDNF 发挥着不同的效应^[24]。在损伤的脊髓背根节(DRG) proBDNF、P75NTR、sortilin 呈现高表达,三者结合的复合体可诱导神经元的死亡,外源性 proBDNF 强化了这种诱导效应;用中和性 proBDNF 抗体中和内源性 proBDNF 或封闭 sortilin 胞外作用域后,可降低神经元的死亡,同时还可以使对侧 DRG 的感觉神经元增多,神经外伤后抑制 proBDNF 表达可能会有助于保护神经元^[25]。陈迎华等也发现 proBDNF 中和性抗体中和脊髓内 proBDNF 有利于脊髓全横断损伤后运动功能恢复,提示中和脊髓内 proBDNF 可能成为修复损伤脊髓的有效策略之一^[26]。Wong I 等研究了 proBDNF 在体内体外对神经损伤的作用机制,在脊髓损伤后 proBDNF 可能抑制了炎症细胞 ED1+ 的渗入。体外巨噬细胞分泌 proBDNF 和 BDNF,proBDNF 抑制了巨噬细胞的迁移而抗 proBDNF 则促进了巨噬细胞的迁移;在损伤的脊髓给予抗 proBDNF 后,巨噬细胞渗入增加,神经元数量也增多,BBB 评分也显示了运动功能的恢复,提示 proBDNF 抑制巨噬细胞迁移和渗入可能是其阻碍脊髓损伤恢复的机制之一^[11]。

proBDNF 还可能通过其他途径起到保护神经元的作用。嗅觉剥夺后会导致嗅球中小球细胞层和颗粒细胞层的神经元凋亡而 Mitral 细胞则能够存活。Biju KC 等研究了这一现象,观察剥夺小鼠一侧嗅觉后 20、30、40 天后同侧 BDNF 免疫反应的分布,发现 Mitral 细胞的 BDNF 免疫反应显著增高但与嗅觉剥夺持续时间无关,小球细胞和颗粒细胞的 BDNF 免疫反应则出现下调;Western blot 分析显示同侧嗅球中有较少的 proBDNF 单体而有较多的 proBDNF 二聚体,提示 proBDNF 在保护 Mitral 细胞免受嗅觉剥夺引起的细胞凋亡中起重要作用^[27]。体外培养的海马神经元给予 proBDNF 干预后可引起培养细胞 EIK-P (Ets domain protein) ErK2 和 c-fos 的表达上调并激活,而尼氏染色显示神经元的突起明显增多;当用抗 proBDNF 血清处理细胞后,则发现细胞内 ELK-p,ErK2 和 c-fos 的表达下调且尼氏染色显示细胞数量减少并出现了形态改变;提示 proBDNF 可通过作用于 ErK2 和 ELK-p 信号通路维持海马神经元的存活并促进其轴突的延长^[28]。

可见,proBDNF 不仅广泛地分布于中枢和外周神经系统,而且也发挥着不同的作用,而不仅仅是诱导细胞的凋亡。proBDNF 作用于不同的神经元,通过不同的信号通路传递信息产生不同的生物效应。

3 proBDNF 在情绪障碍和神经退行性变疾病模型中的作用

有研究发现,严重抑郁障碍患者初次使用抗抑郁药后的血清 BDNF 水平显著低于正常对照组,血清 BDNF 水平与抑郁程度呈负相关^[29]。应激会改变大脑的功能从而导致情绪障碍,海鲈的大脑与高等脊椎动物很相似,而且一般认为没有情绪反应,是理想的动物应激模型。Tognoli C 等给予海鲈急性应激后,总 BDNF mRNA 没有改变,而 BDNF 转录产物则出现下调;同时,proBDNF 水平出现显著上调而 BDNF 水平下降,proBDNF 和 BDNF 水平的比率用于检测应激具有很高的敏感性和特异性,提示急性应激可能改变了 proBDNF 蛋白裂解的进程,而 BDNF 生成过程的变化是鱼类适应应激的重要机制,这一机制也有可能推及到人类^[30]。他汀类药物可以增强 tPA 并抑制纤溶酶原激活物抑制因子-1,从而增加 BDNF 的水平以达到抗抑郁的作用^[31]。BDNF 功能紊乱也可能导致其他神经精神疾病的发生,如阿尔茨海默病、多动症、Rett 综合症。

在轻度意识障碍病人和轻中度阿尔茨海默病(AD)病人脑内 proBDNF 与 BDNF 的含量较非意识障碍病人均有一定程度减少^[32],提示 proBDNF 与 BDNF 在轴突减少以及细胞功能紊乱过程中可能起到重要作用,从而导致 AD 病人的认知障碍。在 AD 大鼠模型中,利用微量渗透泵将 proBDNF 持续灌注到大鼠海马,发现海马齿状回新生的神经元明显比对照组减少,而注入抗 proBDNF 出现的情况则相反。说明 proBDNF 可以抑制 AD 大鼠海马齿状回神经元的增殖,阻断内源性 proBDNF 的功能可以促进神经元的生成,这也有可能作为治疗 AD 的潜在治疗策略^[33]。Lou/C 大鼠是 Wistar 大鼠的一支近交系,它比其他大多数实验用大鼠获得更长,记忆力更好。在研究 Lou/C 大鼠

海马中的 BDNF 和 proBDNF 及其受体时, Silhol M 等发现与相同年龄段的 wistar 大鼠相比, Lou/C 大鼠具有更高的 BDNF 和 proBDNF 水平^[34]。随着年龄增长, Lou/C 大鼠海马 proBDNF 水平降低, TrkB 全长型受体只有轻微下调, TrkB 截断型受体则没有改变, 而 Wistar 老年大鼠的 proBDNF 水平和 TrkB 截断型受体水平上升。这些分子水平与其受体相互作用的改变可能是维持大鼠认知能力的重要机制。许志强等通过 Morris 水迷宫实验和空间探索实验, 观察内源性和外源性 proBDNF 对老龄鼠学习记忆的影响, 结果发现, 给予抗 proBDNF 可改善 proBDNF 引起的老龄鼠学习记忆能力下降^[35]。Barnes P 等利用 tPA 抑制剂抑制雄性成年大鼠海马区的 proBDNF 向 BDNF 的转化, 发现恐惧记忆的获得和消失依赖于海马区 proBDNF 裂解的增加和减少, BDNF 依赖的记忆形成过程与 proBDNF 裂解改变有关; 由此可见, BDNF 与刺激产生信息的收集和更新有关, 不同记忆的形成可能通过 tPA 对 proBDNF 进行不同的处理^[2]。Schrott LM 等研究了母代药物成瘾其子代的学习记忆行为, 发现母代成瘾的子代学习记忆能力相比对照组较差, 但其保存记忆的能力并没有收到影响, Western blot 实验表明, 处理组海马的 proBDNF 水平相比对照组显著降低, TrkB 受体没有明显改变, 提示 proBDNF 对学习记忆相关的神经元可塑性有关^[36]。

proBDNF 在情绪障碍和神经退行性病变模型中起到的作用更多是负性的, 如何消除这些负性作用, 有没有其正性作用通路或者是否可以将负性作用转变为正性作用, 都有待进一步研究。

4 展望

大量的研究数据表明 proBDNF 在神经损伤和情绪障碍和神经退行性病变中起重要的作用, 在其他方面也可能起重要作用如疼痛^[37]。但是, 对 proBDNF 的各种研究存在着各种各样的差异, 如物种、性别、年龄等, 而 proBDNF 可能在这些差异中也会表现出不同的生物学效应。要进一步研究 proBDNF 的作用机制, 还需要研究其转录和翻译, 胞外受体和胞内的作用靶点具体通路。

参考文献 (References)

- [1] Xu ZQ, Li J, Deng J, et al. Effects of proBDNF on cell proliferation and differentiation in hippocampal dentate gyrus in Alzheimer' disease rat model [J]. National Medical Journal of China, 2010, 90:1353-1356
- [2] Barnes P, Thomas KL. Proteolysis of proBDNF is a key regulator in the formation of memory [J]. PLoS One, 2008, 3:3248
- [3] Nagappan G, Zaitsev E, Senatorov VV Jr, et al. Control of extracellular cleavage of ProBDNF by high frequency neuronal activity [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106:1267-1272
- [4] Gray K, Ellis V. Activation of pro-BDNF by the pericellular serine protease plasmin [J]. FEBS Lett, 2008, 582:907-910
- [5] Keifer J, Sabirzhanov BE, Zheng Z, et al. Cleavage of proBDNF to BDNF by a toll-like metalloproteinase is required for acquisition of in vitro eyeblink classical conditioning [J]. J Neurosci, 2009, 29:14956-14964
- [6] Bergami M, Santi S, Formaggio E, et al. Uptake and recycling of pro-BDNF for transmitter-induced secretion by cortical astrocytes [J]. J Cell Biol, 2008, 183:213-221
- [7] Seidah NG, Mowla SJ, Hamelin J, et al. Mammalian subtilisin/kexin isozyme SKI-1: A widely expressed proprotein convertase with a unique cleavage specificity and cellular localization [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96:1321-1326
- [8] Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, et al. Biosynthesis and post translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor [J]. J Biol Chem, 2001, 276:12660-12666
- [9] Maisonnier PC, Le Beau MM, Espinosa R, et al. Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions, and chromosomal localizations [J]. Genomics, 1991, 10:558-568
- [10] Koshimizu H, Hazama S, Hara T, et al. Distinct signaling pathways of precursor BDNF and mature BDNF in cultured cerebellar granule neurons [J]. Neurosci Lett, 2010, 473:229-232
- [11] Wong I, Liao H, Bai X, et al. ProBDNF inhibits infiltration of ED1+ macrophages after spinal cord injury [J]. Brain Behav Immun, 2010, 24:585-597
- [12] Matsumoto T, Rauskolb S, Polack M, et al. Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF [J]. Nat Neurosci, 2008, 11:131-133
- [13] Yang J, Siao CJ, Nagappan G, et al. Neuronal release of proBDNF [J]. Nat Neurosci, 2009, 12:113-115
- [14] Tang S, Machaalani R, Waters KA. Immunolocalization of pro- and mature-brain derived neurotrophic factor (BDNF) and receptor TrkB in the human brainstem and hippocampus [J]. Brain Res, 2010, 1354:1-14
- [15] 徐丹, 李力燕, 张洪钊, 等. BDNF 前体蛋白在成年恒河猴中枢神经系统中的分布 [J]. 神经解剖学杂志, 2007, 23:591-598
- [16] Xu Dan, Li Li-yan, Zhang Hong-dian, et al. Distribution of proBDNF in central nervous system of adult rhesus monkeys [J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2007, 23:591-598
- [17] Zhou XF, Song XY, Zhong JH, et al. Distribution and localization of pro-brain-derived neurotrophic factor-like immunoreactivity in the peripheral and central nervous system of the adult rat [J]. J. Neurochem, 2004, (91):704-715
- [18] Woo NH, Teng HK, Siao CJ, et al. Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression [J]. Nat Neurosci, 2005, 8:1069-1077
- [19] Fayard B, Loeffler S, Weis J, et al. The secreted brain-derived neurotrophic factor precursor pro-BDNF binds to TrkB and p75NTR but not to TrkA or TrkC [J]. J Neurosci Res, 2005, 80:18-28
- [20] Boutilier J, Ceni C, Pagdala PC, et al. Proneurotrophins require endocytosis and intracellular proteolysis to induce TrkA activation [J]. J Biol Chem, 2008, 283:12709-12716
- [21] Teng HK, Teng KK, Lee R, et al. ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin [J]. J Neurosci, 2005, 25:5455-5463
- [22] Zhou LJ, Ren WJ, Zhong Y, et al. Limited BDNF contributes to the fail-

- ure of injury to skin afferents to produce a neuropathic pain condition [J]. Pain, 2010, 148:148-157
- [22] Shulga A, Blaesse A, Kysenius K, et al. Thyroxine regulates BDNF expression to promote survival of injured neurons [J]. Mol Cell Neurosci, 2009, 42:408-418
- [23] Weber AJ, Viswanathan S, Ramanathan C, et al. Combined application of BDNF to the eye and brain enhances ganglion cell survival and function in the cat after optic nerve injury [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51:327-334
- [24] Koshimizu H, Kiyosue K, Hara T, et al. Multiple functions of precursor BDNF to CNS neurons: negative regulation of neurite growth, spine formation and cell survival [J]. Mol Brain, 2009, 2:27-46
- [25] Fan YJ, Wu LL, Li HY, et al. Differential effects of pro-BDNF on sensory neurons after sciatic nerve transection in neonatal rats [J]. Eur J Neurosci, 2008, 27:2380-2390
- [26] 陈迎华, 金华, 但齐琴, 等. 脑源性神经营养因子前体蛋白干扰促进脊髓全横断大鼠运动功能恢复 [J]. 中华创伤杂志, 2010; 26:653-660
- Chen Ying-hua, Jin Hua, Dan Qi-qin, et al. Effect of brain derived neurotrophic factor precursor block on improvement of motor function in rats subjected to cord transection [J]. Chin J Trauma, 2010, 26:653-660
- [27] Biju KC, Mast TG, Fadool DA. Olfactory sensory deprivation increases the number of proBDNF-immunoreactive mitral cells in the olfactory bulb of mice [J]. Neurosci Lett, 2008, 447:42-47
- [28] 王慧, 陈旦, 伍校琼, 等. proBDNF 对培养的海马神经元存活的影响及其机制 [J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 32:800-805
- Wang Hui, Chen Dan, Wu Jiao-qiong, et al. Effect of precursor of brain-derived neurotrophic factor on hippocampal neuron survival and its mechanism. Journal of Central South University (Medical Science), 2007, 32:800-805
- [29] Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants [J]. Biol Psychiatry, 2003, 54:70-75
- [30] Tognoli C, Rossi F, Di Cola F, et al. Acute stress alters transcript expression pattern and reduces processing of proBDNF to mature BDNF in *Dicentrarchus labrax* [J]. BMC Neurosci, 2010, 14:11-14
- [31] Tsai SJ. Statins may enhance the proteolytic cleavage of proBDNF: implications for the treatment of depression [J]. Med Hypotheses, 2007, 68:1296-1299
- [32] Peng S, Wu J, Mufson EJ, et al. Precursor form of brain derived neurotrophic factor and mature brain derived neurotrophic factor are decreased in the preclinical stages of Alzheimer's disease [J]. Neurochem, 2005, 93:1412-1421
- [33] 许志强, 李静, 邓娟, 等. 脑源性神经营养因子前体对阿尔茨海默病大鼠海马齿状回神经元增殖和分化的影响 [J]. 中华医学杂志, 2010, 90:1353-1356
- Xu zhi-qiang, Li jing, Deng Juan, et al. Effects of proBDNF on cell proliferation and differentiation in hippocampal dentate gyrus in Alzheimer, disease rat model [J]. Natl Med J China, 2010, 90:1353-1356
- [34] Silhol M, Arancibia S, Perrin D, et al. Effect of aging on brain-derived neurotrophic factor, proBDNF, and their receptors in the hippocampus of Lou/C rats [J]. Rejuvenation Res, 2008, 11:1031-1040
- [35] 许志强, 张涛, 张猛, 等. proBDNF 对老龄鼠空间学习与记忆功能的影响 [J]. 重庆医学, 2008, 37: 683-685
- Xu Zhi-qiang, Zhang Tao, Zhang Meng, et al. Effects of proBDNF on spatial learning and memory ability in aged mice [J]. CHONGQING MEDICINE, 2008, 37: 683-685
- [36] Schrott LM, Franklin LM, Serrano PA. Prenatal opiate exposure impairs radial arm maze performance and reduces levels of BDNF precursor following training [J]. Brain Res, 2008, 1198:132-140
- [37] 杨隆秋, 常业恬, 唐正国, 等. proBDNF 对大鼠后足切割疼痛的影响 [J]. 江西医学院学报, 2009, 49:54-57
- Yang Long-qiu, Chang Ye-tian, Tang Zheng-guo, et al. The Effects of proBDNF pain in rats with the hind on cutting paw incision [J]. Acta Academiae Medicinae Jiangxi, 2009, 49:54-57