

## · 脊柱脊髓疾病专题 ·

NGF 及其受体在脊髓损伤后神经源性  
肠功能障碍中的研究现状

韩芸峰 综述 王振宇 于 涛 审校

【关键词】 脊髓损伤; 神经源性肠功能障碍; 神经生长因子; 神经生长因子受体

【文章编号】 1009-153X(2015)11-0673-04 【文献标志码】 B 【中国图书资料分类号】 R 744.9

脊髓损伤在世界范围内都是常见的疾病<sup>[1,2]</sup>,其发病率呈逐年上升趋势。脊髓损伤除造成患者肢体感觉、运动障碍外,常常合并内脏功能异常,神经源性肠功能障碍(neurogenic bowel dysfunction, NBD)就是其中一种。NBD 主要表现为肠道蠕动减弱、频率降低、通过时间延长、肠道顺应性和反射异常、肛门括约肌和盆底肌功能紊乱<sup>[3]</sup>,已被公认为影响脊髓损伤患者身心健康及自理能力的一个重要因素。然而 NBD 的发病机制目前尚不清楚,肠神经系统(enteric nervous system, ENS)可能在其中扮演重要角色。研究表明,ENS 的发生、发育、存活和分化与神经生长因子(nerve growth factor, NGF)及其受体关系密切,但 NGF 及其受体在 ENS 中的具体表达和作用有待进一步总结和归纳。故本文综述 NGF 及其受体的结构、功能及信号转导通路,及其在 ENS 中的表达和作用,以期研究 NBD 的发病机制开辟新方向。

## 1 NGF 及其受体基本概念

1.1 NGF 的组成和结构 神经营养因子(neurotrophin factor, NTF)包括 NGF、脑源性神经营养因子、NTF-3、NTF-4、NTF-6 以及其受体包括酪氨酸激酶活性受体 A/B/C (TrkA/B/C) 和 p75NTR<sup>[4,5]</sup>。NGF 是 NTF 家族中研究最早和最多的一员,最早于上世纪五十年代由意大利科学家发现<sup>[6,7]</sup>。NGF 最早提纯化于鼠颌下腺,故称为鼠 NGF<sup>[8]</sup>。成熟的 NGF 是由 NGF 前体经过蛋白酶修剪后形成的,而 NGF 前体由

222 个氨基酸残基组成。成熟的 NGF 由两个分子量 12.5 KD 的单体构成,每个单体由 118 个氨基酸残基组成,在空间结构上形成了四个不同的环区和两个  $\beta$  折叠链<sup>[9]</sup>。NGF 又分为高分子量和低分子量两种,前者由  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  3 个亚基和锌离子构成, $\beta$  亚基由 2 条肽链组成,是 NGF 的活性亚单位,而  $\alpha$  和  $\gamma$  亚基的主要作用是维持  $\beta$  亚基的稳定性,调节其生物活性<sup>[10,11]</sup>。后者的低分子量形式,其结构与  $\beta$  亚基基本相同,主要是在其 N 端或 C 端发生不同形式的各种修饰。

1.2 TrkA 和 p75NTR 的组成和结构 NGF 的生物学效应需要通过与受体结合而启动,属于配体-受体模式。NGF 结合的受体包括高亲和力的具有酪氨酸激酶活性的 TrkA 和低亲和力的具有 G 蛋白偶联信号转导功能的 p75NTR。从结构上看,这两种受体都是跨膜糖蛋白,TrkA 主要由一种跨膜酪氨酸激酶 gp140 Trk 组成,分为细胞外部、跨膜部和胞质部,是原癌基因 Trk 的产物<sup>[12]</sup>。p75NTR 属于肿瘤坏死因子超家族成员,为 I 型膜蛋白,在胞质区域有约 80 个氨基酸长度的死亡结构域,在胞外区则具有半胱氨酸富集的结构域,在 p75NTR 靠近跨膜区的特殊区域为 Chopper 区域,由 29 个氨基酸构成,会诱导神经细胞的快速死亡<sup>[13]</sup>。

1.3 NGF 及其受体的信号转导通路及生物学效应 NGF 与上述两种受体结合后,通过激活细胞内下游的信号转导通路而产生生物学效应<sup>[14]</sup>。当 NGF 与 TrkA 结合后, gp140 Trk 能够自我催化酪氨酸残基磷酸化,从而增强自身的酪氨酸激酶活性,这是 NGF 发挥生物效应的始动阶段,而后主要通过激活细胞分裂素活化蛋白激酶/细胞外调节激酶、磷脂酰肌醇和磷脂酶 C 这三条信号通路<sup>[5]</sup>。NGF 与 p75NTR 结合后可以激活 Jun 激酶级联信号通路和 NF- $\kappa$ B 通路以及调节 Rho 蛋白活性<sup>[5]</sup>。研究发现,TrkA 和 p75NTR 之

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2015.11.011

基金项目:北京市自然科学基金(7144253)

作者单位:100191 北京,北京大学第三医院神经外科(韩芸峰、王振宇、于涛)

通讯作者:王振宇, E-mail: wzyu502@hotmail.com

间可能存在相互协同或拮抗作用,NGF/TrkA的通路激活会导致磷酸化级联反应,促进神经元生长、存活和分化;而NGF/p75NTR通路则具有多种生物学效应,即可产生正性促进作用,也可诱导神经元凋亡、抑制神经元轴突生长以及参与细胞周期的调节,或辅助TrkA受体发挥正性生物学效应<sup>[15]</sup>。另外p75NTR可能增加NGF与TrkA的亲合力或增强NGF的生物学效应<sup>[16,17]</sup>。Wehrman等<sup>[18]</sup>曾研究NGF/TrkA配体受体复合物结构及NGF/p75配体受体复合物结构,尝试揭示两者之间相互作用和影响的的空间结构机制。

目前研究表明,NGF及其受体通路的生物学效应主要表现在以下几个方面<sup>[10,19,20]</sup>:①维持神经元的存活、生长、发育,促进神经元分化<sup>[21-23]</sup>。这种作用不仅表现在中枢神经系统<sup>[24]</sup>,还表现在周围神经系统,其中包括ENS。②促进神经元的修复、轴突生长<sup>[25]</sup>。Mulholland等<sup>[26]</sup>体外观察幼猪肠道肌间神经丛神经节细胞对于NGF的反应,发现NGF能促进神经节细胞形态学发育和轴突生长。③增强特异及非特异免疫反应。研究发现NGF与肥大细胞之间关系密切<sup>[27]</sup>,同样许多过敏性和炎症疾病也和NGF的表达有关<sup>[28]</sup>。Coskun等<sup>[20]</sup>研究发现NGF能增加急性阑尾炎组织中肥大细胞的密度,说明NGF与局部炎症或免疫功能有关。④参与肿瘤的凋亡、转移、分化。Fritz等<sup>[29]</sup>研究发现NGF的低亲和力受体p75NTR可以通过抑制cyclin D2而促进PC12细胞肿瘤生长。Vera等<sup>[30]</sup>认为NGF及TrkA能诱发卵巢癌中血管内皮生长因子的表达、细胞增生、血管生成过程,这可能与肿瘤的恶性生物学行为有关。

## 2 ENS的结构和功能

2.1 ENS的起源和发育 ENS是中枢神经系统以外最大的外周神经系统,由神经元、神经胶质细胞、神经纤维及其神经递质和因子共同构成的庞大神经网络,作为区别于中枢神经系统的独立、自主的内在系统,在调节肠道动力、吸收、分泌等功能方面作用和意义重大。ENS起源于胚胎神经嵴细胞(neural crest cells, NCC),随着胚胎发育,NCC迁移进入肠道发育形成ENS。NCC主要沿着迷走神经嵴向肠管头尾方向迁移,最终发育成大部分肠道ENS;也有少部分来源于骶神经嵴,这部分NCC发育形成结直肠ENS<sup>[31]</sup>。多种分子和机制参与调控NCC迁移,ENS存活、增殖,ENS发育、分化的过程,其中与ENS增殖存活密切相关的是GDNF-RET和EdnrB/Et-3通路,还

包括Sox10和Phox2b转录因子;与细胞迁移有关的是RET和EdnrB通路,semaphorin3A、细胞间粘附分子以及Rho GTP酶;而Mash1、GDNF/neurturin、BMPs、Hand2、retinoic acid则与ENS的分化有关<sup>[31]</sup>。

2.2 ENS的结构和功能 ENS主要由三种类型的神经元构成:感觉神经元、中间神经元和运动神经元。这些神经元主要构成了肠道两大神经丛:肌间神经丛和粘膜下神经丛。前者主要与肠壁平滑肌的收缩和蠕动有关,而后者主要与分泌和吸收有关,同时粘膜下神经丛还和肠粘膜对肠腔内压力和化学刺激的感受有关,而中间神经元主要作用为联系和传导,这样共同构成ENS的自主神经体系。ENS除了有大量神经元和神经胶质细胞以外,还含有多种神经递质,包括兴奋性递质如乙酰胆碱、P物质,抑制性递质以非肾上腺素非胆碱能神经递质为主,包括一氧化氮、血管活性肠肽、生长抑素、降钙素基因相关肽、三磷酸腺苷等。多种肠道疾病如先天性巨结肠、先天性直肠肛门畸形、功能性便秘等都与肠神经系统发育异常、凋亡增加或功能障碍关系密切<sup>[32]</sup>。

## 3 NGF及其受体与ENS的关系

3.1 NGF及其受体在ENS中的表达 随着NGF研究的不断深入,发现NGF及其受体在胃肠道组织中广泛分布。NGF除分布在肠道上皮细胞以外,还在肠道神经胶质细胞、成纤维细胞、多种免疫细胞如肥大细胞、活化的T细胞及树突状细胞表达<sup>[33]</sup>。除了上述胃肠细胞,肠神经系统中也大量表达NGF及其受体。研究发现<sup>[34]</sup>大鼠结肠ENS的肌间神经丛大量表达TrkA和p75NTR,71%肠神经元表达TrkA,78%肠神经元表达p75NTR,而两种受体同时表达的神经元超过60%。Lucini等<sup>[35]</sup>发现小鼠肠道神经元和内分泌细胞也表达NGF。

3.2 NGF及其受体与ENS发生、发育、存活和分化之间的关系 多项研究表明,NGF及其受体与ENS的发生、发育、存活和分化之间的关系密切。Nakazawa等<sup>[36]</sup>研究小鼠胚胎结直肠组织中NCC的迁移情况,发现在NGF存在的前体下,层粘连蛋白-1能加速NCC的迁移速度。Mulholland等<sup>[26]</sup>体外观察幼猪肠道肌间神经丛神经节细胞对于NGF的反应,发现NGF能促进神经节细胞形态学变化和发育。Liu等<sup>[37]</sup>发现糖尿病大鼠的结肠神经丛中胶质纤维酸性蛋白和NGF mRNA表达下调,这将影响肠神经丛内神经胶质细胞功能,进而引起结肠功能障碍。Hoehner等<sup>[38]</sup>研究发现NTF及TrkA等受体在人胚胎肠道的不同

发育时期表达存在差异。李龙等<sup>[39]</sup>研究人胚胎结肠神经系统中 NGF 及其受体的变化,发现随着胚胎结肠神经系统的发育,p75NTR 表达水平不断下降,而 NGF、TrkA 表达水平不断上升,三者比例在不断变化。同样,也有研究发现 NGF 不仅对中枢神经系统有保护和修复作用,对于 ENS 同样有保护作用。Lin 等<sup>[40]</sup>发现大鼠结肠炎模型的结肠 ENS 中,肠神经元大量死亡,而 NGF 敏感型神经元则只是选择性死亡。虽然传统研究认为 NGF 及其高亲和力受体 TrkA 主要起到积极的促进作用。然而,Conti 等<sup>[41]</sup>研究发现,不同的 NGF 浓度会引起 TrkA 受体表达部位的变化;在低浓度 NGF 环境下,TrkA 受体主要表达在背根神经节神经元细胞表面,两者结合后主要激活磷脂酰肌醇通路,维持神经元生存和轴突生长;而在高浓度 NGF 环境下,TrkA 受体分布弥散,主要保留细胞分裂素活化蛋白激酶/细胞外调节激酶通路的激活,产生抑制轴突生长的作用,且这种作用并不依赖于 p75NTR 受体。Wehrman 等<sup>[18]</sup>也发现 NGF/TrkA 配体受体复合物和 NGF/p75NTR 配体受体复合物在空间结构存在相互影响和作用。

综上所述,关于脊髓损伤 NBD 的机制研究相对缺乏,目前的研究结果显示 NGF 及其受体不仅在消化道大量表达,且在 ENS 中也同样表达,并且 NGF 及其受体在 ENS 的发生、发育、存活和分化,轴突生长、功能维持等方面发挥作用,但这种作用机制复杂,仍待继续研究和探讨。既然 NGF 及其受体与 ENS 的形态和功能关系密切,而后者是调节肠道功能的重要指挥系统,那么 NGF 及其受体在脊髓损伤后肠道组织 ENS 中如何变化,与 NBD 的发生、发展有何联系、起到什么样的作用,具体机制和通路又是如何,能否成为 NBD 的治疗靶点,所有这些问题都有待进一步的研究。

#### 【参考文献】

[1] 吕学明,袁绍纪. PPAR $\gamma$ 在脊髓损伤后潜在的治疗靶点中的作用[J]. 中国临床神经外科杂志,2011,16:445-448.  
 [2] 杨彦玲,师养荣. 脊髓损伤治疗的研究进展[J]. 中国临床神经外科杂志,2011,16:633-639.  
 [3] 韩芸峰,王振宇,于涛. 大鼠脊髓损伤模型建立及神经源性肠功能障碍的初步评价[J]. 中国临床神经外科杂志,2015,617-620  
 [4] Kaplan DR, Miller FD. Signal transduction by the neurotrophin receptors [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1997, 9(2): 213-

221.  
 [5] Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2006, 361(1473): 1545-1564.  
 [6] Cohen S, Evi-Montalcini R, Hamburger V. A nerve growth-stimulating factor isolated from sarcoms 37 and 180 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1954, 40(4): 1014-1018.  
 [7] Cohen S. Purification and metabolic effects of a nerve growth-promoting protein from snake venom [J]. *J Biol Chem*, 1959, 234(5): 1129-1137.  
 [8] Varon S, Nomura J, Shooter EM. The isolation of the mouse nerve growth factor protein in a high molecular weight form [J]. *Biochemistry*, 1967, 6(7): 2202-2209.  
 [9] Eibl JK, Strasser BC, Ross GM. Structural, biological, and pharmacological strategies for the inhibition of nerve growth factor [J]. *Neurochem Int*, 2012, 61(8): 1266-1275.  
 [10] 何学元,张有成. 神经生长因子及其受体与肿瘤相关性研究进展[J]. 国际消化病杂志,2010,30(4): 234-236.  
 [11] 吕鹤,袁云. 神经生长因子与周围神经疾病[J]. 神经损伤与功能重建,2013,8(6):394-396.  
 [12] Benito-Gutiérrez E, Garcia-Fernández J, Comella JX. Origin and evolution of the Trk family of neurotrophic receptors [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2006, 31(2): 179-192.  
 [13] Coulson EJ, Reid K, Baca M, *et al.* Chopper, a new death domain of the p75 neurotrophin receptor that mediates rapid neuronal cell death [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(39): 30537-30545.  
 [14] 黄延红,黄瑾. 神经营养因子家族受体与信号转导的研究现状[J]. 国际脑血管病杂志,2006,14(11):870-873.  
 [15] Mirmics ZK, Yan C, Portugal C, *et al.* P75 neurotrophin receptor regulates expression of neural cell adhesion molecule 1 [J]. *Neurobiol Dis*, 2005, 20(3): 969-985.  
 [16] Barker PA, Shooter EM. Disruption of NGF binding to the low affinity neurotrophin receptor p75LNTR reduces NGF binding to TrkA on PC12 cells [J]. *Neuron*, 1994, 13(1): 203-215.  
 [17] von Schack D, Casademunt E, Schweigreiter R, *et al.* Complete ablation of the neurotrophin receptor p75NTR causes defects both in the nervous and the vascular system [J]. *Nat Neurosci*, 2001, 4(10): 977-978.  
 [18] Wehrman T, He X, Raab B, *et al.* Structural and mechanistic insights into nerve growth factor interactions with the TrkA and p75 receptors [J]. *Neuron*, 2007, 53(1): 25-38.  
 [19] 王万亮,吴万春. 神经生长因子与肠易激综合征[J]. 胃肠

病学和肝病杂志,2010,19(3):285-287.

[20] Coskun N, Sindel M, Elpek GO. Mast cell density, neuronal hypertrophy and nerve growth factor expression in patients with acute appendicitis [J]. *Folia Morphol (Warsz)*, 2002, 61(4): 237-243.

[21] Zhang H, Wu F, Kong X, *et al.* Nerve growth factor improves functional recovery by inhibiting endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis in rats with spinal cord injury [J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 130.

[22] Quarta S, Baeumer BE, Scherbakov N, *et al.* Peripheral nerve regeneration and NGF-dependent neurite outgrowth of adult sensory neurons converge on STAT3 phosphorylation downstream of neurotrophic cytokine receptor gp130 [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(39): 13222-13233.

[23] 林 宁,周迎春,刘 霄,等.局部应用医用生物蛋白胶释放 NGF 治疗大鼠视神经不完全损伤[J]. *中国临床神经外科杂志*,2010,15:603-606.

[24] Cai J, Hua F, Yuan L, *et al.* Potential therapeutic effects of neurotrophins for acute and chronic neurological diseases [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 601084.

[25] Lambiase A, Aloe L, Mantelli F, *et al.* Capsaicin-Induced Corneal Sensory Denervation and Healing Impairment Are Reversed by NGF Treatment [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(13): 8280-8287.

[26] Mulholland MW, Romanchuk G, Lally K, *et al.* Nerve growth factor promotes neurite outgrowth in guinea pig myenteric plexus ganglia [J]. *Am J Physiol*, 1994, 267(4 Pt 1): G716-G722.

[27] Kritas SK, Saggini A, Cerulli G, *et al.* Neuropeptide NGF mediates neuro-immune response and inflammation through mast cell activation [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2014, 28(2): 177-181.

[28] Scuri M, Samsell L, Piedimonte G. The role of neurotrophins in inflammation and allergy [J]. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2010, 9(3): 173-180.

[29] Fritz MD, Mimics ZK, Nylander KD, *et al.* P75NTR enhances PC12 cell tumor growth by a non-receptor mechanism involving downregulation of cyclin D2 [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(17): 3287-3297.

[30] Vera C, Tapia V, Vega M, *et al.* Role of nerve growth factor and its TRKA receptor in normal ovarian and epithelial ovarian cancer angiogenesis [J]. *J Ovarian Res*, 2014, 7: 82.

[31] Sasselli V, Pachnis V, Burns AJ. The enteric nervous system [J]. *Dev Biol*, 2012, 366(1): 64-73.

[32] Barlow AJ, Dixon J, Dixon MJ, *et al.* Balancing neural crest cell intrinsic processes with those of the microenvironment in *Tcof1* haploinsufficient mice enables complete enteric nervous system formation [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(8): 1782-1793.

[33] Reinshagen M, Steinkamp M. NGF—not just a nerve growth factor in the gut [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003, 284(5): R1322.

[34] Lin A, Lourenssen S, Stanzel RD, *et al.* Nerve growth factor sensitivity is broadly distributed among myenteric neurons of the rat colon [J]. *J Comp Neurol*, 2005, 490(2): 194-206.

[35] Lucini C, Maruccio L, de Girolamo P, *et al.* Localisation of neurotrophin-containing cells in higher vertebrate intestine [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 2002, 205(2): 135-140.

[36] Nakazawa N, Miyahara K, Okawada M, *et al.* Laminin-1 promotes enteric nervous system development in mouse embryo [J]. *Pediatr Surg Int*, 2013, 29(11): 1205-1208.

[37] Liu W, Yue W, Wu R. Effects of diabetes on expression of glial fibrillary acidic protein and neurotrophins in rat colon [J]. *Auton Neurosci*, 2010, 154(1-2): 79-83.

[38] Hoehner JC, Wester T, Pählman S, *et al.* Localization of neurotrophins and their high-affinity receptors during human enteric nervous system development [J]. *Gastroenterology*, 1996, 110(3): 756-767.

[39] 李 龙,王忠荣,王 亮.神经生长因子及其受体在人胚胎结肠神经系统中的表达与分布[J]. *实用医学杂志*, 2006,22(17):1961-1963.

[40] Lin A, Lourenssen S, Stanzel RD, *et al.* Selective loss of NGF-sensitive neurons following experimental colitis [J]. *Exp Neurol*, 2005, 191(2): 337-343.

[41] Conti AM, Brimijoin S, Miller LJ, *et al.* Suppression of neurite outgrowth by high-dose nerve growth factor is independent of functional p75NTR receptors [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 15(1): 106-114.

(2015-07-08收稿)