

. 综 述 .

颅脑损伤后 BDNF 及其小分子模拟物的治疗潜力

张利超 综述 张 强 审校

【关键词】 颅脑损伤;7,8-二羟基黄酮;脑源性神经营养因子;原肌球蛋白相关激酶 B 受体(TrkB)

【文章编号】 1009-153X(2018)11-0757-03 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 651.1*5

颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是一个全球性的公共卫生问题^[1],是全球死亡、致残的主要原因。TBI是由外力所致的脑功能的损失或改变。原发性损伤指外部损害导致细胞立即死亡,继发性损伤是原发性损伤周围区域的一系列生物化学变化的结果,进一步导致记忆、认知等功能缺陷。目前的治疗主要集中在减轻继发性损伤的程度,同时增强神经再生。在损伤的早期阶段挽救损伤的脑组织并在恢复期促进再生是可取的。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)及其高亲和力受体原肌球蛋白受体激酶 B(tropomyosin receptor kinase B, TrkB)在促进神经元存活、可塑性和记忆功能方面起关键作用^[2]。与 BDNF 相比,7,8-二羟基黄酮(dihydroxy flavonoids, DHF)具有更长的半衰期和更小的分子量,能够穿透血脑屏障。本文就 BDNF/TrkB 信号通路的功能及 BDNF 和 DHF 作为 TBI 治疗的潜力进行综述。

1 神经营养因子(neurotrophic factor, NTF)及其受体

NTF 是神经元和神经胶质细胞分泌的内源肽,与整个大脑的个体细胞和神经网络的功能调节、存活和发育有关。NTF 调节突触可塑性、保护神经元免受氧化应激及细胞凋亡,并可刺激神经发生^[2]。NTF 家族成员包括神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、BDNF、神经营养因子-3(neurotrophin-3, NT-3)和 NT-4/5,且 NT-4/5 与 NGF 结构相似而归为一类^[3]。

NTF 能够通过结合跨膜受体和引发信号级联发挥神经保护作用。NTF 跨膜受体有两种主要类型,

包括酪氨酸激酶受体 Trk 家族(即 TrkA、TrkB 和 TrkC)和 p75 神经营养因子受体(p75NTR,肿瘤坏死因子家族之一)^[4]。NGF 优先与 TrkA, BDNF 和 NT-4/5 结合 TrkB, NT-3 结合 TrkC,均具有高亲和力,而这些 NTF 均以低亲和力结合 p75NTR 受体^[4,5]。此外,在一定程度上, p75NTR 促进 Trk 功能,并促进 NTF 与正确的 Trk 结合^[3]。一旦与 Trk 结合, NTF 可通过 Ras、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、磷脂酶-C γ (Phospholipase C γ , PLC γ)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)等信号通路激活一系列事件^[5]。

2 BDNF 及其下游信号通道

在所有 NTF 中, BDNF 因在突触中的有效作用以及在脑中的广泛表达引起广泛研究。p75NTR 和 TrkB 负责介导 BDNF 信号传导。BDNF 与 TrkB 及 p75NTR 表现出结合选择性和亲和力^[6],对 TrkB 的高亲和力发挥有效作用,而 p75NTR 与细胞凋亡有关。BDNF 前体与 p75NTR 结合,而成熟形式的 BDNF 对 TrkB 具有高亲和力^[7]。然而,当存在高浓度的 BDNF 时,成熟形式的 BDNF 可以结合 p75NTR。BDNF 受体在相同的细胞中具有协调和调节神经元反应的作用。此外,由每个受体产生的信号可以彼此增强或彼此抑制,在增强和抑制关系之间波动。

当结合 TrkB 时, BDNF 诱导受体的二聚化和自磷酸化,导致 TrkB 受体内源化并引发细胞内信号级联,包括 PI3K 途径、PLC γ 通路和 MAPK 通路。PI3K 途径激活蛋白激酶 B(Akt),抑制 Bad 促进细胞存活。Akt 在正常位点的磷酸化也导致促凋亡蛋白的抑制,上调的 Bcl2 水平与积极预后相关,如减少细胞死亡等。PLC γ 通路通过激活三磷酸肌醇受体,导致细胞内储存钙的释放,调节转录因子 cAMP 反应元件结合蛋白,增加钙调蛋白激酶活性,调节突触可塑性。MAPK 通路也被称为细胞外相关信号激酶通路,调节细胞生长、分化。PLC γ 介导的反应可能是

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2018.11.021

基金项目:青海省科技厅项目(2016-ZJ-783)

作者单位:810000 西宁,青海大学研究生院(张利超);810007 西宁,青海省人民医院神经外科(张 强)

通讯作者:张 强, E-mail: zhangqiang691212@163.com

快速、短期行为的主要因素,而 MAPK 和 PI3K 通路涉及长期转录效应。

3 BDNF/TrkB 信号通路在中枢神经系统中的功能

BDNF/TrkB 信号通路在调节细胞存活及其他生物学过程中具有深远的影响。BDNF 对于神经突和轴突生长尤为重要,并且是多巴胺能、 γ -氨基丁酸能、血清素能和胆碱能神经元的存活和发育所必需。研究显示 TrkB 途径的激活可改善认知功能,并且也与突触密度的增加相关^[8]。BDNF 和 TrkB 在发生神经元可塑性的区域表达上调,因此,BDNF 被认为是突触可塑性的功能和结构的分子介导体,在记忆形成及整合中起关键作用^[9]。产生和运输 BDNF 的途径受损,可导致记忆和认知功能障碍恶化^[2]。

学习和记忆的细胞基础被认为是在海马的突触。长时程增强(long-term potentiation, LTP)是在海马发生的特定形式的可塑性,是学习和记忆的细胞基础。BDNF 是海马和其他大脑区域 LTP 诱导和维持的主要调节因子^[2, 10]。BDNF/TrkB 信号通路介导新产生的神经元分化和存活来影响成年神经发生。

4 BDNF 和 TBI

TBI 后数小时内,BDNF mRNA 表达水平在损伤的皮层和海马中明显上调,伤后 24 h 下降,伤后 36 h 以后不再显著。BDNF 及其受体在 TBI 后瞬时激增,表明 BDNF 作为一种内源性神经保护反应,试图减轻 TBI 后继发性细胞损伤。BDNF 的治疗潜力由于其分子量大(27kDa)、半衰期短(<10 min)和不能穿过血脑屏障而受到限制。到目前为止,在实验性 TBI 研究中,BDNF 对 TBI 的直接应用尚未有效。然而,有限的研究表明,间接输送时,BDNF 可以显著促进受伤动物的功能恢复^[11, 12]。

5 DHF 和 TBI

与 BDNF 相比,诸如 TrkB 激动剂的小化合物,其模拟 BDNF 的神经营养信号而没有其药代动力学障碍,可能具有更大的治疗潜力。Jang 等^[12]为寻找模拟 BDNF 功能的小分子,进行一系列基于细胞的 TrkB 依赖的生存测定筛选化学文库,并发现 DHF。DHF 是一种在水果和蔬菜中发现的多酚类化合物,具有与 TrkB 结合的能力,模拟 BDNF 功能^[9]。DHF 以高亲和力特异性结合 TrkB 的受体细胞外结构域,并诱导受体二聚化和自磷酸化^[12],激活 BDNF/TrkB 途径的下游信号通路。

与 BDNF 相比, DHF 诱导的 TrkB 磷酸化持续时间更长。另外,由 DHF 激活的 TrkB 没有降解,而是在内源化之后被再循环到细胞表面,与 BDNF 活化的 TrkB 相反(被标记为泛素化并在内源化后降解)^[13]。内源化是启动 NTF-Trk 复合物信号转导的重要组成部分。DHF 可以成功模拟神经元 BDNF-TrkB 内源化,在 10 min 内产生具有 TrkB 的内含子,如 BDNF 一样,并在 60 min 产生比 BDNF 更强的内吞反应^[13]。DHF 与 BDNF 相比具有更长的半衰期(50 mg/kg 口服给药后血浆中为 134 min,而 BDNF 不足 10 min)^[14]。与 27 kDa BDNF 相比, DHF 小得多,为 254,对血脑屏障的渗透性更高^[13],口服生物活性为生物利用度的 5%^[14]。DHF 是一种选择性 TrkB 激动剂,能够激活 TrkB 而不与 p75NTR 结合,引发神经保护、可塑性和神经发生而不激活凋亡过程的信号传导途径^[6]。DHF 与 TrkB 细胞外结构域的结合激活诱导 TrkB 自磷酸化的信号级联,导致在与 BDNF 相当的时间范围内以剂量依赖性激活 MAPK、PI3/Akt 和 ERK1/2 信号通路^[15]。

6 DHF 治疗 TBI 的潜力

自从发现以来, DHF 相继被发现对帕金森病、亨廷顿病^[15]、阿尔茨海默病^[18, 13]、抑郁症、Rett 综合征和 TBI^[16, 17]动物模型提供神经保护作用,促进神经可塑性。在体外拉伸损伤模型中, DHF 可以减轻培养的原代神经元的拉伸损伤诱导的细胞毒性和细胞凋亡^[16]。在小鼠中度局灶性控制皮质冲击损伤模型中,以 20 mg/kg 剂量腹腔注射 DHF,持续 3 d,显著减轻脑水肿、减少皮质挫伤体积、神经元细胞死亡和凋亡,以及改善受伤动物的运动功能^[16]。在流体冲击大鼠模型中,连续 7 d 以 5 mg/kg 的单次剂量给予 DHF 干预,增强动物学习和记忆功能^[17]。研究中均观察到 TrkB 磷酸化增加和下游信号蛋白如 Akt 和 CREB 的激活^[16, 17]。在小鼠局灶性控制皮质冲击损伤模型中,在伤后 1、24、48、72 h 给予 5 mg/kg DHF 干预,还可以预防皮质神经元的树突变性并改善运动功能缺陷;减少海马齿状回中未成熟神经元的损伤诱导的神经细胞死亡,增强神经保护作用^[18]。

除了直接的神经元保护作用, DHF 在调节炎症中也发挥作用。在培养的小鼠小胶质细胞中, DHF 可抑制核因子- κ B 和 MAPK 信号转导活性,从而在脂多糖刺激后降低诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶-2、肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素-1 β ^[19]。提示 DHF 具有一定的抗炎作用,可能有助于 TBI 后恢复。

综上所述,在动物模型中,DHF 已被证明是 TBI 和多发性退行性神经障碍的可行治疗方案。因其在中枢神经系统中跨越血脑屏障和广泛治疗潜力的能力,DHF 有望成为临床上应用于 TBI 和其他神经系统疾病的有价值的复合物。

【参考文献】

- [1] Chauhan NB. Chronic neurodegenerative consequences of traumatic brain injury [J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2014, 32(2): 337-365.
- [2] Leal G, Afonso PM, Salazar IL, *et al.* Regulation of hippocampal synaptic plasticity by BDNF [J]. *Brain Res*, 2015, 1621: 82-101.
- [3] Skaper SD. The neurotrophin family of neurotrophic factors: an overview [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 846: 1-12.
- [4] Marco-Salazar P, Marquez M, Fondevila D, *et al.* Mapping of neurotrophins and their receptors in the adult mouse brain and their role in the pathogenesis of a transgenic murine model of bovine spongiform encephalopathy [J]. *J Comp Pathol*, 2014, 150(4): 449-462.
- [5] Skaper SD. The biology of neurotrophins, signalling pathways, and functional peptide mimetics of neurotrophins and their receptors [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2008, 7(1): 46-62.
- [6] Bernard-Gauthier V, Boudjemline M, Rosa-Neto P, *et al.* Towards tropomyosin-related kinase B (TrkB) receptor ligands for brain imaging with PET: radiosynthesis and evaluation of 2-(4-[(18F]fluorophenyl)-7,8-dihydroxy-4H-chromen-4-one and 2-(4-[(N-methyl-(11C)-dimethylamino)phenyl]-7,8-dihydroxy-4H-chromen-4-one [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(24): 7816-7829.
- [7] Bollen E, Vanmierlo T, Akkerman S, *et al.* 7,8-Dihydroxyflavone improves memory consolidation processes in rats and mice [J]. *Behav Brain Res*, 2013, 257: 8-12.
- [8] Castello NA, Nguyen MH, Tran JD, *et al.* 7,8-Dihydroxyflavone, a small molecule TrkB agonist, improves spatial memory and increases thin spine density in a mouse model of Alzheimer disease-like neuronal loss [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e91453.
- [9] Zeng Y, Liu Y, Wu M, *et al.* Activation of TrkB by 7,8-dihydroxyflavone prevents fear memory defects and facilitates amygdalar synaptic plasticity in aging [J]. *J Alzheimers Dis*, 2012, 31(4): 765-778.
- [10] Leal G, Comprido D, Duarte CB. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 76 Pt C: 639-656.
- [11] Khalin I, Alyautdin R, Wong TW, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor delivered to the brain using poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles improves neurological and cognitive outcome in mice with traumatic brain injury [J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(9): 3520-3528.
- [12] Jang SW, Liu X, Yepes M, *et al.* A selective TrkB agonist with potent neurotrophic activities by 7,8-dihydroxyflavone [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(6): 2687-2692.
- [13] Liu X, Obiany O, Chan CB, *et al.* Biochemical and biophysical investigation of the brain-derived neurotrophic factor mimetic 7,8-dihydroxyflavone in the binding and activation of the TrkB receptor [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(40): 27571-27584.
- [14] Zhang Z, Liu X, Schroeder JP, *et al.* 7,8-dihydroxyflavone prevents synaptic loss and memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2014, 39(3): 638-650.
- [15] Jiang M, Peng Q, Liu X, *et al.* Small-molecule TrkB receptor agonists improve motor function and extend survival in a mouse model of Huntington's disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(12): 2462-2470.
- [16] Wu CH, Hung TH, Chen CC, *et al.* Post-injury treatment with 7,8-dihydroxyflavone, a TrkB receptor agonist, protects against experimental traumatic brain injury via PI3K/Akt signaling [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e113397.
- [17] Agrawal R, Noble E, Tyagi E, *et al.* Flavonoid derivative 7,8-DHF attenuates TBI pathology via TrkB activation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(5): 862-872.
- [18] Chen L, Gao X, Zhao S, *et al.* The small-molecule trkb agonist 7,8-dihydroxyflavone decreases hippocampal newborn neuron death after traumatic brain injury [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2015, 74(6): 557-567.
- [19] Park HY, Park C, Hwang HJ, *et al.* 7,8-Dihydroxyflavone attenuates the release of pro-inflammatory mediators and cytokines in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells through the suppression of the NF-kappaB and MAPK signaling pathways [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(4): 1027-1034.

(2017-11-30 收稿, 2018-07-02 修回)