

· 专家共识 ·

鼠神经生长因子神经外科临床应用专家共识

鼠神经生长因子神经外科(中国)临床应用专家共识委员会

【关键词】神经生长因子;鼠神经生长因子;临床应用;神经外科

【文章编号】1009-153X(2019)11-0717-04 【文献标志码】C 【中国图书资料分类号】R 651

神经营养因子是一类对神经元的发育、存活和凋亡起着重要作用的蛋白质,包括神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、脑源性神经营养因子、神经营养因子 3、神经营养因子 4 等。NGF 是最早被发现、目前研究最为透彻的神经营养因子,由意大利神经科学家 Rita Levi-Montalcini 和美国生物化学家 Stanley Cohen 发现并提取,为此,他们于 1986 年共同获得诺贝尔生理学或医学奖。NGF 在人体中以大分子复合蛋白的形式存在,由 α 、 β 、 γ 三种亚基组成, β 亚基为活性成分,在体内需与受体结合才发挥作用,对神经系统和非神经系统具有不同的生物学效应。

1 NGF 的产生与运输

NGF 在机体内的产生具有靶源性。它是由效应神经元支配的靶细胞、神经细胞、神经胶质细胞产生的。它的运输方式有两种:①由神经轴突到胞体的逆行运输;②由胞体、轴突至靶细胞的顺行运输。

2 NGF 及其受体的作用机制

NGF 与高亲和力 TrkA、低亲和力 p75NTR 受体特异性结合才能发挥生物学功效。NGF 主要与 TrkA 结合,促进神经元生长、维持其存活;而 p75NTR 则具有多种生物学效应,除可促进神经元存活、生长外,还可参与细胞周期的调节^[1,2]。NGF 与其受体结合后主要通过以下信号传导途径发挥效应。

2.1 胞膜受体介导的跨膜信号转导 ①Ras 依赖途径,活化的 TrkA 经过一系列的级联反应,激活 Ras/Raf/MEK/ERK 通路产生细胞生物学效应^[3];②Ras 非依赖途径,如 PI3K 途径、PLC- γ 途径、SNT 途径等^[4,5]。2.2 轴突末梢受体介导的膜内吞信号转导 靶源性 NGF 在与末梢受体结合后,激活 TrkA 受体,使其自身酪氨酸残基磷酸化,活化的 TrkA 受体或 NGF-

TrkA 受体复合物或 NGF-TrkA-p75NTR 复合物被内化,以小泡形式运输,并激活其他信使分子。这些信使分子或信使分子复合物沿轴突逆行运输,将信息稳定地转导至胞核,从而启动相关基因的表达^[6-10]。

3 NGF 的生物学效应

3.1 神经系统

3.1.1 在神经系统的发育过程中的作用 主要表现为促进神经元的分化、诱导神经轴突定向生长、控制神经元存活的数量、刺激胞体和树突的发育以及影响神经纤维支配靶区的密度。

3.1.2 在正常成熟神经细胞中的作用 在正常成熟神经细胞中,NGF、NGF-mRNA 和 NGF 受体的水平和分布都明显减少,主要效应神经元对 NGF 的依赖性也显著降低。NGF 通常发挥营养作用,只有部分交感神经元仍依赖 NGF 存活。

3.1.3 对于受损神经元的作用 NGF 主要表现在保护神经元胞体存活、加速轴突定向再生等方面。

3.2 非神经系统 NGF 对非神经系统的作用主要表现在^[11-13]:①促进炎症反应趋化作用和再生神经的血管形成;②增强葡萄糖引起的胰岛素分泌;③使成骨细胞发生磷酸化,成骨能力增强而促进骨折愈合;④可能对某些肿瘤生长具有抑制作用。

4 NGF 的神经保护、修复和再生的机制

在人的发育期,特别是出生前后,内源性 NGF 水平最高。当进入成熟期,内源性 NGF 会下降到很低的水平,此时,一旦神经损伤,内源性 NGF 会代偿性升高,但远远达不到修复神经的水平,这时需要添加外源性 NGF。这些内源性和外源性 NGF 通过保护神经胞体存活、促进受损神经修复、加速轴突定向再生而发挥作用,其机制包括以下两个方面。

4.1 NGF 的神经保护、修复机制

4.1.1 提高自由基清除的活力 神经细胞内含有多种清除自由基的酶,NGF 能增加多种自由基清除剂的

活性而减轻脑组织损伤^[14]。

4.1.2 维持细胞内 Ca^{2+} 浓度的稳态 NGF 诱导结合蛋白的表达、影响钙通道及钙排出系统的表达与活化,从而促进 Ca^{2+} 排出和(或)缓冲细胞内 Ca^{2+} 浓度的上升,以及减少 Ca^{2+} 的内流,使胞内 Ca^{2+} 处于稳态。

4.1.3 拮抗兴奋性氨基酸的神经毒性 兴奋性氨基酸 N-甲基-D-门冬氨酸(n-methyl-D-aspartate, NMDA)受体是配体门控的离子通道型受体。NMDA 受体的过度兴奋激活,导致细胞内 Ca^{2+} 超载,从而对神经元产生毒性作用^[15]。NGF 能对抗兴奋性氨基酸的兴奋性毒性作用,以保护神经细胞。

4.1.4 抑制神经细胞的凋亡 NGF 可以通过抑制神经元的凋亡实现其对神经元的保护,尤其在损伤后引起的迟发性神经细胞死亡中发挥重要作用^[16]。

4.2 NGF 的神经再生机制 主要包括三个方面:①加速轴突的定向生长,直接作用于再生轴突,通过受体介导细胞内信号传导途径,激活各种活化分子,发挥其神经趋化作用;②促进髓鞘的修复和再生,NGF 能上调雪旺氏细胞低亲和力受体 p75NTR 的表达,促进雪旺氏细胞迁移和髓鞘形成;③炎症细胞的趋化作用及促进再生神经的血管形成,NGF 能吸收多型核白细胞、单核细胞、成纤维细胞及巨噬细胞进入神经损伤部位,促进神经愈合^[17]。

5 NGF 与血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)

NGF 为水溶性大分子物质。研究表明,BBB 对 NGF 具有选择性的通透作用^[18]。Pan 等^[19]1998 年的一项实验研究证明外源性 NGF 可以透过 BBB,并且这种透过是高通透率的可饱和性通透。在一般情况下,NGF 约有 30% 能够透过 BBB^[20]。当颅脑损伤时,BBB 会相对开放,使 NGF 的透过更为容易^[21]。有学者认为,用 20% 甘露醇静脉给药后可暂时开放 BBB,这时用外源性 NGF,能增加 NGF 进入脑组织,发挥 NGF 的神经保护及促进神经修复作用^[22,23]。

6 鼠 NGF(mouse NGF, mNGF)

mNGF 是从雄性小鼠颌下腺中分离纯化而来,与人体内 NGF 的结构具有高度的同源性(达 90% 以上),从而降低了发生排斥反应的可能,其生物学效应与人体内 NGF 也无明显的种间(人与鼠)特异性。

6.1 mNGF 药代动力学 动物药代动力学资料显示,小鼠肌肉注射 mNGF 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,用电泳法测得的消除半衰期分别为 127.04、112.03、157.54 min;用酸沉法测得的消除半衰期分别为

134.19、165.86、158.93 min,达峰时间为 35 min。¹²⁵I-mNGF 平均血浆清除率为 0.48 L/hr/kg,表观分布容积为 1.73 L/kg,在体内的平均滞留时间为 199.75 min。¹²⁵I-mNGF 在组织器官内分布速率以颈上神经节、甲状腺、肾脏、肾上腺等组织较快,主要经尿液和肾脏排泄,在注射后 72 h 内,小鼠的大便、尿中放射性物总排泄量达 72.55%。

6.2 mNGF 毒理研究 急性毒性试验中,小鼠肌肉注射和静脉注射,采用的剂量为临床剂量的 1 000 倍,小鼠用药后无一死亡,活动、行为、摄食、饮水、皮毛色泽、大小便、体重、呼吸无明显差别,未检测到半数致死量。长期毒性试验,大鼠肌肉注射 60 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,长达 84 d 的给药时间,大鼠的精神行为、活动、摄食、体重等一般特征以及生化、脏器组织形态正常,未见明显毒性反应;家养杂种犬,采用 17.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$,连续肌肉注射 60 d,犬的精神行为、活动、摄食等一般体征无明显变化,对重要脏器及神经系统组织在光镜下进行病理组织学检查,也未见明显的病理改变。由此可见,长期使用 mNGF 是安全的。

6.3 mNGF 临床应用 mNGF 在临床多个科室的神经损伤病症上均有所应用,如颅脑损伤、脊髓损伤、视神经损伤、糖尿病周围神经病变、骨折、面神经炎等,疗效确切,未发现严重不良反应。现有相关文献 1 700 余篇,涉及相关病例超 10 万例。

7 mNGF 在神经外科中应用

在神经外科,mNGF 主要用于颅脑损伤、脑血管病、脊髓损伤等治疗。神经损伤的修复,尤其是中枢神经系统(central nervous system, CNS)损伤后的修复,经历了一个不断再认识的过程。CNS 相较于周围神经系统更难修复的主要原因集中于 CNS 损伤后,周围组织中缺乏必要神经营养因子的同时还存在大量神经生长抑制因子,并且损伤处周边的瘢痕组织会阻碍缓慢生长的轴突穿过损伤处^[24]。

7.1 颅脑损伤 近年来,我国颅脑损伤的发生率、致残率和病死率逐年增加。我国颅脑损伤的致残率、病死率较高,是临床治疗的重点与难点^[25-27]。创伤可导致神经组织机械性损伤(原发性损伤)或缺血、缺氧性损害(继发性损伤)。神经保护的目的是干预创伤灶周围组织或缺血“半暗带”发生的“瀑布式”级联损害反应,强调“早期”与“保护”,故应在 3~6 h 的神经保护时间窗内使用,防止神经细胞发展为不可逆性损害。目前,临床常用神经营养药物包括 mNGF 等^[28]。现有文献涉及到颅脑损伤病例数 1 554 例,其

中对照组有效率约为 75%,而 mNGF 治疗组有效率约为 92%,明显优于对照组($P<0.05$)。

有研究表明 mNGF 在颅脑损伤的急性期、术后及康复期均起到较好的疗效,并且越早使用,对受损神经的保护效果越好。但当脑软化及脑萎缩形成之后,mNGF 已经无法逆转这种损害,因此后期的应用以颅脑损伤 3 个月内为宜^[29]。在 mNGF 对颅脑损伤的治疗中,许多研究采用各种途径给药,如术后脑组织内局部注射、脑室内注射、静脉滴注、肌肉注射等^[29],均具有较好的疗效,且未见明显不良反应,可见 mNGF 在颅脑损伤时通过各种途径给药及应用药物暂时性开放 BBB 等方法,可使受损脑组织维持较高 mNGF 水平,对颅脑损伤效果较好。

7.2 脑血管病 脑血管病在全球范围内是严重危害人类健康及生命的主要疾病,分为出血性脑血管病和缺血性脑血管病。在脑血管病中,mNGF 对急性期的疗效更为显著,通过多种传导通路共同作用促进神经纤维的再生并维持再生神经元的功能。这些作用对病人运动功能障碍的恢复有着极为重要的作用。现有相关文献涉及到的脑血管病病例数约 11 808 例,其中对照组有效率约为 70%,而 mNGF 治疗组有效率约为 90%,明显优于对照组($P<0.05$)。

7.3 脊髓损伤 脊髓损伤是严重危害人类健康的脊柱脊髓疾病。据报道,其年发生率在(20~40)/100 万^[30]。mNGF 可以作用于交感、感觉和某些中枢胆碱能神经元,维持神经元的存活和正常功能的发挥,对受损的神经起到修复、促进轴突再生的作用,在脊髓损伤治疗方面显示着良好的作用^[31]。现有相关文献涉及到的脊髓损伤病例数约 931 例,其中对照组有效率约为 57%,而 mNGF 治疗组有效率约为 84%,明显优于对照组($P<0.05$)。对受伤 48 h 后的脊髓损伤病人,可使用 mNGF 等药物治疗,但缺少大样本多中心前瞻性临床研究报道,但由于不良反应较小,可作为一种治疗选择^[32]。

7.4 周围神经损伤 颅脑损伤可导致颅神经损伤,发生概率依次为嗅神经、动眼神经、视神经、面神经、外展神经、听神经、舌咽神经、迷走神经、副神经等^[33]。mNGF 可促进颅神经修复、再生,且在 mNGF 多年临床应用中,其在周围神经损伤上疗效更为确切。mNGF 可通过所有下行通路成功促进神经的再生,还可能提高神经元保护的效果。

8 mNGF 用法用量

20 μg(9 000U)/瓶,每次 1 瓶,用 2 ml 注射用水

溶解后肌肉注射,一天 1 次,4 周为一疗程,中枢神经系统损伤建议多疗程连续用药。急性期和重症期由于体内 TrkA 水平向上调节,所需 NGF 的量也相应增加,因此在这一时期可增大外源性 NGF 用量,目前临床上有单次使用 40 μg 的文献支持^[34]。

《鼠神经生长因子神经外科(中国)应用共识专家委员会》参与讨论的专家(按姓氏拼音排序):

陈谦学(武汉大学人民医院)、陈隆益(四川省人民医院)、程远(重庆医科大学附属第二医院)、党木仁加甫(新疆医科大学第一附属医院)、窦长武(内蒙古医科大学附属医院)、封亚平(中国人民解放军联勤保障部队第 920 医院)、黄光富(四川省人民医院)、简志宏(武汉大学人民医院)、蒋宇钢(中南大学湘雅二医院)、李建华(新疆生产建设兵团总医院)、李蕴潜(吉林大学白求恩第一医院)、李宗正(宁夏医科大学总医院)、廖勇仕(南华大学附属第二医院)、柳琛(新疆医科大学第一附属医院)、卢明(中国人民解放军联勤保障部队第 921 医院)、罗林(云南省肿瘤医院)、马廉亭(中国人民解放军中部战区总医院)、马越(青海省人民医院)、潘亚文(兰州大学第二医院)、蒲智(西藏自治区人民医院)、孙涛(宁夏医科大学总医院)、孙晓川(重庆医科大学附属第一医院)、王茂德(西安交通大学第一附属医院)、王守森(中国人民解放军联勤保障部队第 900 医院)、吴科学(西藏自治区人民医院)、杨华(贵州医科大学附属医院)、杨军(陕西省人民医院)、杨堃(海南医学院第一附属医院)、杨智勇(昆明医科大学第一附属医院)、游潮(四川大学华西医院)、余化霖(昆明医科大学第一附属医院)、袁贤瑞(中南大学湘雅医院)、赵刚(吉林大学白求恩第一医院)、赵洪洋(华中科技大学同济医学院附属协和医院)、赵建华(云南省第一人民医院)、张强(青海省人民医院)、章翔(空军军医大学西京医院)

【参考文献】

[1] Anton ES, Weskamp G, Reichardt LF, *et al.* Nerve growth factor and its low-affinity receptor promote Schwann cell migration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(7): 2795-2799.

[2] 魏传银,王丽梅,陈雪红,等. 神经营养受体 p75^{NTR}介导的信号转导[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2005, 21(2): 258-260.

- [3] Wang H, Wang R, Thrimawithana T, *et al.* The nerve growth factor signaling and its potential as therapeutic target for glaucoma [J]. *Biomed Res Int*, 2011; 759473.
- [4] Friedman WJ, Greene LA. Neurotrophin signaling via Trks and p75 [J]. *Exp Cell Res*, 1999, 253(1): 131-142.
- [5] Segal RA, Greenberg ME. Intracellular signaling pathways activated by neurotrophic factors [J]. *Annu Rev Neurosci*, 1996, 19: 463-489.
- [6] Hendry IA. Retrograde factors in peripheral nerves [J]. *Pharmacol Ther*, 1992, 56(3): 265-285.
- [7] Ross AH, Lachyankar MB, Poluha DK, *et al.* Axonal transport of the trkA high-affinity NGF receptor [J]. *Prog Brain Res*, 1994, 103: 15-21.
- [8] Bothwell M. Functional interactions of neurotrophins and neurotrophin receptors [J]. *Annu Rev Neurosci*, 1995, 18: 223-253.
- [9] Ehlers MD, Kaplan DR, Price DL, *et al.* NGF-stimulated retrograde transport of trkA in the mammalian nervous system [J]. *J Cell Biol*, 1995, 130(1): 149-156.
- [10] Johanson SO, Crouch MF, Hendry IA. Retrograde axonal transport of signal transduction proteins in rat sciatic nerve [J]. *Brain Res*, 1995, 690(1): 55-63.
- [11] 徐莉, 饶春明. 神经生长因子的研究进展[J]. *中国生物制品学杂志*, 2014, 27(1): 131-134.
- [12] 彭形. 神经生长因子生物学效应的研究进展[J]. *检验医学与临床*, 2009, 6(3): 203-204.
- [13] 朱奕, 王彤. 神经生长因子的生物学效应及其在脑损伤康复中的研究进展[J]. *中国康复医学杂志*, 2005, 20(6): 474-476.
- [14] Guegan C, Ceballos-Picot I, Chevalier E, *et al.* Reduction of ischemic damage in NGF-transgenic mice: correlation with enhancement of antioxidant enzyme activities [J]. *Neurobiol Dis*, 1999, 6(3): 180-189.
- [15] 黄俊红, 谭翱勇, 谭占国. 神经生长因子在中枢神经功能修复中的研究进展[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2014, 17(19): 126-127.
- [16] Lindholm D, Mercer EA, Yu LY, *et al.* Neuronal apoptosis inhibitory protein: structural requirements for hippocampal binding and effects on survival of NGF-dependent sympathetic neurons [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1600(1-2): 138-147.
- [17] 周健, 孙克华. 神经损伤后的再生与神经营养因子[J]. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2006, 11(1): 36-38.
- [18] Banks WA, Kastin AJ. Exchange of peptides between the circulation and the nervous system: role of the blood-brain barrier [J]. *Adv Exp Med Biol*, 1990, 274: 59-69.
- [19] Pan W, Banks WA, Kastin AJ. Permeability of the blood-brain barrier to neurotrophins [J]. *Brain Res*, 1998, 788(1-2): 87-94.
- [20] Fabian RH, Hulsebosch CE. Plasma nerve growth factor access to the postnatal central nervous system [J]. *Brain Res*, 1993, 611(1): 46-52.
- [21] 李兵, 鲁晓杰, 陈建, 等. 神经生长因子在大鼠脑损伤后血脑屏障的通透性[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2008, 7(3): 216-219.
- [22] 朱文平, 林宜生, 黄芸生, 等. 神经生长因子治疗急性重型颅脑外伤的疗效[J]. *广东医学*, 2001, 22(10): 915-916.
- [23] 韩宗利, 王诚, 刘胜, 等. 神经生长因子在颅脑损伤救治中的应用[J]. *骨科*, 2009, 33(3): 134-136.
- [24] Nomura H, Tator CH, Shoichet MS. Bioengineered strategies for spinal cord repair [J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(3-4): 496-507.
- [25] Bayir H, Clark RS, Kochanek PM. Promising strategies to minimize secondary brain injury after head trauma [J]. *Crit Care Med*, 2003, 31(1): S112-S117.
- [26] 蒋天伟. 神经生长因子在重型颅脑损伤救治中的应用[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2012, 15(9): 64-65.
- [27] 章翔, 费舟, 王占祥, 等. 重型颅脑损伤临床救治经验[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2003, 2(3): 203-207.
- [28] 徐如祥. 脑损伤神经功能损害与修复专家共识[J]. *中华神经创伤外科电子杂志*, 2016, 2(2): 100-104.
- [29] 冼成恩, 刘胜. 神经生长因子在颅脑外伤中的应用进展[J]. *中国现代医生*, 2013, 51(11): 29-31.
- [30] Albert T, Ravaud JF. Rehabilitation of spinal cord injury in France: a nationwide multicentre study of incidence and regional disparities [J]. *Spinal Cord*, 2005, 43(6): 357-365.
- [31] 赵澎, 胡微, 乌尤图, 等. 神经保护剂的应用与评价[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2015, 14(2): 188-189.
- [32] 孙天胜. 《新鲜胸腰段脊柱脊髓损伤评估与治疗》的专家共识[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2011, 21(11): 963-968.
- [33] 金海, 侯立军. 颅脑外伤合并颅神经损伤的研究[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2008, 35(2): 185-188.
- [34] 刘卫平, 伊西才, 甄海宁, 等. 鼠神经生长因子预防颅脑损伤后功能障碍临床观察[J]. *中华神经医学杂志*, 2010, 9(2): 193-195.