

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00077

Nogo 蛋白与胶质瘤

吴小军¹, 卢亦成^{1*}, 杨治荣²

1. 第二军医大学长征医院神经外科, 上海 200003

2. 上海交通大学附属上海市第六人民医院神经外科, 上海 200233

[摘要] 胶质瘤是中枢神经系统中常见的肿瘤, 肿瘤细胞和肿瘤内微血管内皮细胞在胶质瘤中的发生发展中均起着重要的作用。Nogo 蛋白是一类中枢髓鞘源性抑制蛋白, 是抑制中枢神经元轴突再生的抑制因子。本文就其与胶质瘤细胞及胶质瘤内微血管内皮细胞的关系作一综述。

[关键词] Nogo; 胶质瘤; 中枢神经系统

[中图分类号] R 739.41

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2009)01-0077-03

Nogo-B protein and gliomas

WU Xiao-jun¹, LU Yi-cheng^{1*}, YANG Zhi-rong²

1. Department of Neurosurgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Neurosurgery, the 6th People's Hospital of Shanghai, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233

[ABSTRACT] Glioma is a common tumor of the central nervous system. Tumor cells and tumor microvascular endothelial cells play a very important role in the development and progression of gliomas. Nogo protein is a kind of inhibitory protein in myelin sheaths of the central nervous system and an inhibitor of axonal regeneration in the central nervous system. This paper reviews the relationship between glioma cells and glioma microvascular endothelial cells.

[KEY WORDS] Nogo; gliomas, central nervous system

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(1): 77-79]

胶质瘤是发生于神经外胚层的肿瘤, 属于中枢神经系统中较为常见的肿瘤, 可以发生在脑的任何部位, 没有完整的包膜, 与正常脑组织呈犬牙交错、浸润性生长, “手术—放疗—化疗”模式是常规的治疗模式, 但难以根治性切除, 易复发。关于其发生发展的分子生物学机制研究较多。Nogo 是一种新型的中枢神经髓鞘源性抑制蛋白, 本文综述了近年来 Nogo 蛋白与胶质瘤细胞及胶质瘤内微血管内皮细胞关系的研究进展。

1 Nogo 蛋白简介

1.1 Nogo 蛋白的发现 1981 年, David 等^[1]发现成年动物的轴突能够在外周神经移植物中再生, 进而人们发现在中枢神经系统(CNS)中轴突损伤后出芽又会很快发生退变^[2]。这些研究提示 CNS 内可能存在抑制中枢神经再生的因子。1985 年 Schwab 等^[3]在脊髓的髓磷脂中发现一种由髓鞘合成的新型蛋白, 命名为 Nogo 蛋白, 不过当时人们并没有发现

它的中枢神经再生抑制能力。1988 年 Caroni 等^[4]首次将 Nogo 分离出并纯化, 发现它能明显抑制神经元突起的生长, 针对该蛋白的单克隆抗体可阻断少突胶质细胞和髓鞘对轴突生长的抑制, 增强脊髓受损轴突的再生。2000 年, Prinjha 等^[5]发现了 Nogo 蛋白的基因。

1.2 Nogo 蛋白的结构 编码 Nogo 蛋白的基因有 3 个转录子, 分别编码 Nogo-A、Nogo-B、Nogo-C 蛋白。Nogo-A 含 1 192 个氨基酸, 相对分子质量 135 000~139 000; Nogo-B 含 373 个氨基酸, 相对分子质量 37 000~56 000; Nogo-C 含 199 个氨基酸, 相对分子质量 22 000~29 000。Nogo-A 包含有一个很大的胞间结构域(1 024 个氨基酸残基), 含有 7 个 N-糖基化位点, 以及 2~3 个跨膜区域和 1 个短的羧基端(43 个氨基酸残基)。Nogo-B 比 Nogo-A 少了 186~1 004 个残基。Nogo-C 同 Nogo-B 相比氨基端更短。这 3 种蛋白质有一共同 188 个氨基酸的羧基端, 含有两个基团。其中 66 个氨基酸基团——Nogo-66 组成一环形结构。而 Nogo-A 和 Nogo-

[收稿日期] 2008-07-22 **[接受日期]** 2008-10-13

[基金项目] 国家高技术研究发展(“863”)计划(2007AA02Z403), 第二军医大学青年启动基金(07QN29), Supported by National High-tech R&D Program(“863” Program, 2007AA02Z403), and Starting Fund for Young Scholars of Second Military Medical University(07QN29).

[作者简介] 吴小军, 博士, 讲师、主治医师。E-mail: Hunter2086228@yahoo.com.cn

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-63610109-73362, E-mail: lycheng@sh163.net

B还有一172个氨基酸组成的氨基端。靠近羧基端,3种Nogo蛋白都有2个长度分别为35和36个氨基酸的疏水区即跨膜区。这个共同的序列与网质素(reticulons, Rtn)具有高度同源性。因此人们将Nogo蛋白划归为Rtn家族的新成员,即Rtn4^[5]。

1.3 Nogo蛋白的分布 Nogo-A在成年哺乳动物外周组织中如睾丸、肌肉和心脏中有少量表达,在中枢神经系统主要位于少突胶质细胞内质网,少量位于少突胶质细胞表面,在雪旺细胞和星形胶质细胞无分布。在大鼠脊髓灰质前角的运动神经元也有分布,脊髓白质中未见分布。Nogo-A在周围神经系统的神经膜细胞不表达。Nogo-B分布广泛,在神经系统中高表达。在外周组织如血管组织、肾脏、肺脏、软骨、皮肤、脾中也有表达。Nogo-C在CNS主要分布于星形胶质细胞,CNS分化后的神经元中也有表达。在外周组织中大部分存在于骨骼肌细胞及脂肪细胞,心脏中也有少量分布^[6]。

2 Nogo蛋白的功能

Nogo-A主要与CNS损伤后轴突的再生有关。Nogo-A蛋白可以抑制离体成纤维细胞伸展和轴突的延伸,它对轴突再生中的抑制最明显。Nogo-A存在3个独立的功能区:N末端(aa59-172)功能区和特异区域(Nogo-A-specific region)和C末端Nogo-66环。N末端和特异区域可以抑制成纤维细胞生长,而特异性区域抑制作用更为广泛,可以抑制原始神经元生长、锥体生长区断裂,特别是可以抑制肿瘤细胞迁移。Nogo-66的抑制作用主要局限于神经元细胞,它与其特异性受体NgR结合发挥作用,再由NgR介导神经元生长抑制活性^[7]。Nogo-A蛋白还独有1个胞外指向的24氨基酸序列(amino-Nogo),能与神经元细胞上的受体NgR多位点结合。由于amino-Nogo作为Nogo-66的协同子不能独立发挥作用,不是Nogo-A的功能区^[8]。

有关Nogo-A抑制轴突生长的作用机制目前认为有3种可能途径:(1)髓磷关联糖蛋白(MAG)和少突胶质细胞髓磷脂糖蛋白(OMgp)与NgR结合,经P75、通过GTP酶RhoA、Rac1发挥作用。(2)通过amino-Nogo发挥抑制作用。(3)通过Nogo-66受体(NgR)发挥抑制作用。Nogo-66和amino-Nogo的靶细胞范围有所不同,Nogo-66仅能特异性地抑制神经纤维的生长,而amino-Nogo片段则作用更为广泛,除可阻断神经纤维生长,还可抑制非神经细胞的伸展和迁移。NgR是一种功能性细胞表面受体,此蛋白质包含473个氨基酸,C末端富含半胱氨酸的重复序列,N末端是富含8个亮氨酸重复序列,在羧基端有1个糖基化磷脂酰肌醇(GPI)附着点,可将NgR连接在细胞膜上。NgR与Nogo-66形成蛋白复合物,能够发挥轴突再生抑制作用并导致轴突生长锥变性萎缩。

Nogo-B在组织损伤后首先表现在参与CNS轴突再生抑制作用。Kim等^[9]发现Nogo-A/Nogo-B缺陷小鼠的轴突

再生能力改善;Tessier-Lavigne团队分别制造出Nogo-A,B,C三亚型同时缺失模型和Nogo-A,B缺失模型,未发现轴突再生改善;Simonen等^[10]报道伴随Nogo-A缺陷小鼠轴突生长抑制作用降低,CNS中Nogo-B表达上调。这些某种程度上证明了Nogo-B参与CNS损伤后再生。

Nogo-C的C端含有Nogo-66功能区,不含有Nogo-A的N末端特别的抑制区。Kim等^[11]研究转基因小鼠发现当周围神经系统的雪旺细胞表达Nogo-C后,轴突的损伤后再生受到抑制。此外,去神经小鼠的后肢肌肉中Nogo-C的mRNA表达降低。这说明Nogo-C同样参与中枢和周围神经损伤后再生的调节。

3 Nogo蛋白和胶质瘤

Nogo-A的胞外功能域(Nogo-66)可以让人胶质瘤细胞系U87MG的贴壁能力和迁移能力显著下降;在少突胶质瘤中Nogo-A的表达和肿瘤病理形态学表现没有相关性^[12]。Nogo-C和肿瘤的相关性研究较少。国内武肖娜等^[13]在大鼠嗜铬细胞瘤PC12细胞系中异位表达Nogo-C,发现转染带有pEGFPN1-Nogo-C的PC12细胞增殖受到抑制,细胞被阻滞于G₁期,提示Nogo-C可能对神经元的存活有重要的作用^[13]。

Nogo-B基因在恶性肿瘤细胞系中有很强的促凋亡倾向,例如SaOS-2、HT-1080、MeWo和CGL4。在这些细胞系中,凋亡发生时几乎100%表达Nogo,不能获得稳定表达Nogo的细胞系。Nogo-B可以诱导肿瘤细胞的凋亡,Teng等^[14]认为Nogo蛋白通过细胞内蛋白途径激活以及和其他分子结合两个途径,让细胞更加容易发生凋亡;Nogo蛋白的胞外功能域可以抑制中枢神经系统肿瘤的迁移和侵袭,提示Nogo属于抑制肿瘤基因或者具有抑制肿瘤活性。后者与C末端分子区域的功能有关,但目前尚不清楚这一作用是否与NgR有关。已知Nogo-B可与内质网上促凋亡基因Bcl-x_L和Bcl-2相互作用,诱导内质网张力改变和Ca²⁺内流,降低后者的促凋亡作用^[15]。不过也有研究^[16]对于Nogo-B的前凋亡蛋白身份表示了质疑。

在肿瘤组织,特别是恶性肿瘤中,除了肿瘤细胞,还有大量的新生血管的形成。一般情况下,低度恶性胶质瘤中度血管化,而高度恶性的胶质瘤高度血管化。在肿瘤新生血管中,血管内皮细胞起了极为关键的作用。它不仅是构成血管组织间屏障的重要成分,而且在调节机体内环境的稳定、维持正常的生理活动以及介导疾病的发生、发展和转归等方面都发挥着重要的作用。微血管内皮也是一种异质性组织,不同组织中的微血管内皮同样具有差异性。国内外尚未见Nogo蛋白和肿瘤源性血管的研究,多数研究是关于Nogo蛋白和外周组织血管内皮方面的。这些研究对于了解肿瘤,特别是胶质瘤源性的微血管内皮细胞的功能有一定的借鉴意义。

血管内皮细胞和平滑肌细胞中Nogo-B高表达,其可溶

性 N 端片段对于内皮细胞具有显著的类似 VEGF 样趋化修复作用,但对于血管平滑肌细胞有阻断 PDGF 诱导的增生作用,提示 Nogo-B 在血管病变中的重要作用^[17]。Pan 等^[18]报道粥样硬化斑块组织中 Nogo-B 的 mRNA 和蛋白表达下调与动脉瘤形成密切相关,Nogo-B 在其中起保护血管的作用。

下一步的研究方向将包括 Nogo-B 如何参与微血管生成调控的途径,特别是其上下游通路是什么。目前 Nogo-B 在血管病变损伤中的作用机制仍未能明确。在脂多糖诱导的巨噬细胞损伤机制中 Nogo-B 是张力激活蛋白激酶通路(SAPK/p38)的底物,其下游通路是什么目前仍不明确。Cuenda 等^[19]发现 Nogo-B 为 SAPK2a/p38 α 通路中 MAPKAP-K2 的磷酸化底物,提示 Nogo-B 活性与 MAPKs 通路密切相关。MAPKs 信号通路由一组以级联方式依次活化的丝/苏氨酸蛋白激酶组成,将与细胞膜受体结合的胞外刺激逐级放大并传导到细胞内,调节效应分子参与细胞生长、分化和死亡等阶段的病理生理活动。其中 p38 和 p42/44 已被证明在内皮细胞的迁移和平滑肌细胞增殖中起重要作用。Nogo-B 在 MAPKs 通路中的功能为 Nogo-B 的机制研究提供了线索,提示 Nogo-B 对心血管的保护作用与 MAPKs 通路有关^[20]。

4 结 语

Nogo 是一种新型中枢髓鞘源性抑制蛋白,是抑制中枢神经元轴突再生的抑制因子,分布广泛,在神经系统中高表达。其中 Nogo-A、Nogo-B 可以诱导肿瘤细胞的凋亡,Nogo-B 促进内皮细胞的迁移和抑制平滑肌细胞的再生,其作用机制尚在研究过程中。更多的关于 Nogo 蛋白和胶质瘤来源的微血管内皮细胞的关系需要进一步的研究。

[参 考 文 献]

[1] David S, Aguayo A J. Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats[J]. *Science*, 1981, 214: 931-933.

[2] De Carlos J A, Borrell J. A historical reflection of the contributions of Cajal and Golgi to the foundations of neuroscience[J]. *Brain Res Rev*, 2007, 55: 8-16.

[3] Schwab M E, Thoenen H. Dissociated neurons regenerate into sciatic but not optic nerve explants in culture irrespective of neurotrophic factors[J]. *J Neurosci*, 1985, 5: 2415-2423.

[4] Caroni P, Schwab M E. Two membrane protein fractions from rat central myelin with inhibitory properties for neurite growth and fibroblast spreading[J]. *J Cell Biol*, 1988, 106: 1281-1428.

[5] Prinjha R, Moore S E, Vinson M, Blake S, Morrow R, Christie

G, et al. Inhibitor of neurite outgrowth in humans[J]. *Nature*, 2000, 403: 383-384.

[6] GrandPré T, Nakamura F, Vartanian T, Strittmatter S M. Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein[J]. *Nature*, 2000, 403: 439-444.

[7] Schwab M E. Nogo and axon regeneration[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2004, 14: 118-124.

[8] Liebscher T, Schnell L, Schnell D, Scholl J, Schneider R, Gullo M, et al. Nogo-A antibody improves regeneration and locomotion of spinal cord-injured rats[J]. *Ann Neurol*, 2005, 58: 706-719.

[9] Kim J E, Li S, GrandPré T, Qiu D, Strittmatter S M. Axon regeneration in young adult mice lacking Nogo-A/B[J]. *Neuron*, 2003, 38: 187-199.

[10] Simonen M, Pedersen V, Weinmann O, Schnell L, Buss A, Ledermann B, et al. Systemic deletion of the myelin-associated outgrowth inhibitor Nogo-A improves regenerative and plastic responses after spinal cord injury[J]. *Neuron*, 2003, 38: 201-211.

[11] Kim J E, Bonilla I E, Qiu D, Strittmatter S M. Nogo-C is sufficient to delay nerve regeneration [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2003, 23: 451-459.

[12] Xiong N X, Zhao H Y, Zhang F C, He Z Q. Negative correlation of Nogo-A with the malignancy of oligodendroglial tumor[J]. *Neurosci Bull*, 2007, 23: 41-45.

[13] 武肖娜, 李 容, 李静雯, 鞠 躬. Nogo-C 对 PC12 细胞变化和突起生长的影响[J]. *第四军医大学学报*, 2006, 27: 327-329.

[14] Teng F Y, Tang B L. Nogo for brain tumors[J]? *J Mol Neurosci*, 2005, 25: 1-6.

[15] Kuang E, Wan Q, Li X, Xu H, Zou T, Qi Y. ER stress triggers apoptosis induced by Nogo-B/ASY overexpression[J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312: 1983-1988.

[16] Oertle T, Merkler D, Schwab M E. Do cancer cells die because of Nogo-B[J]? *Oncogene*, 2003, 22: 1390-1399.

[17] Raines E W. Nogo puts the brake on vascular lesions[J]. *Nat Med*, 2004, 10: 348-349.

[18] Pan J W, Wei M, Yang P Y, Zheng X, Li J B, Lu Z G, et al. Regulation of Nogo-B expression in the lesion of aortic aneurysms [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34: 856-860.

[19] Cuenda A, Rousseau S. p38 MAP-kinases pathway regulation, function and role in human diseases[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773: 1358-1375.

[20] Rousseau S, Dolado I, Beardmore V, Shpiro N, Marquez R, Nebreda A R, et al. CXCL12 and C5a trigger cell migration *via* a PAK1/2-p38 α MAPK-MAPKAP-K2-HSP27 pathway[J]. *Cell Signal*, 2006, 18: 1897-1905.

[本文编辑] 贾泽军