

# 神经生长因子在治疗脑梗死中的研究进展

徐静 葛汝丽 曹晓雨

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2018)01-0101-04  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2018.01.028

神经生长因子属于神经营养因子家族,在中枢神经系统的发育和成熟中具有调节神经细胞增生、促进分化和维持细胞生物活性的作用。它可以通过影响脑血管疾病的病理生理过程,保护受损的神经细胞,为细胞修复提供有利的环境,从而改善脑梗死患者的感觉和运动功能。

脑梗死是神经系统常见疾病,是各种原因导致的脑组织血液供应中断而发生缺血、缺氧性坏死,严重威胁着人们的生命健康及降低生活质量。目前,动脉溶栓是脑梗死急性期唯一有效的干预措施,然而短暂的溶栓时间窗即使动脉溶栓的使用大大受限。因此,寻找多种有效的治疗措施是降低患者致死、致残率的关键。神经生长因子(nerve growth factor,NGF)是一种天然多肽,属于神经营养因子家族,具有营养神经、保护细胞的作用,也参与了多种神经精神药物的作用机制<sup>[1]</sup>。本研究就神经生长因子在治疗脑梗死中的应用作一简要综述。

## 1 神经生长因子及其受体

NGF 经基因转录翻译后先形成前体蛋白-7S NGF 和 2.5S NGF,长的前体蛋白水解加工后为 7S NGF,是  $\alpha 2\beta\gamma 2$  三种亚单位的复合体,相对分子质量为 140 000 左右。短的前体蛋白水解加工成 2.5 NGF,为一碱性的 118 个氨基酸的蛋白,以二聚体形式存在,整个 NGF 的生物活性全依赖  $\beta$  亚单位,通常所说的神经生长因子就是  $\beta$ -NGF<sup>[2]</sup>。NGF 是神经营养因子家族中最早发现的神经活性因子,神经营养因子家族还包括脑源性神经营养因子(Brain-Derived Neurotrophic Factor,BDNF)、胶质细胞源神经神经营养因子、神经营养素-3(Neurotrophin-3,NT3)和神经营养素-4/5(Neurotrophin-4/5,NT4/5)<sup>[3]</sup>,还有神经营养因子-6 和神经营养因子-7 分别是从小鼠和鲤鱼中发现的<sup>[4]</sup>。

NGF 通过 2 种受体调节细胞的增殖、分化,参与细胞的存活与凋亡<sup>[5]</sup>,包括高亲和力的酪氨酸蛋白激酶受体(TrkR)和低亲和力非选择性的 P75 受体(P75<sup>NTR</sup>)。TrkR 又有 3 个亚型:TrkA、TrkB、TrkC,神经营养因子可以和每一种受体亚型相结合,但在不同的组织和环境中亲和力不同,NGF 易于与 TrkA 结合,BDNF 和 NT4/5 易于与 TrkB 结合,NT-3 易于与 TrkC 结合<sup>[6]</sup>,分别在不同的信号通路中占主导地位又相互协同。P75<sup>NTR</sup> 是一种跨膜糖蛋白,为肿瘤

坏死因子超家族之一,可与所有的神经营养因子及其前体相结合,有相似的亲和力,既可以介导程序性细胞凋亡<sup>[7]</sup>,又可以协同 NGF-TrkR 通路介导神经元存活<sup>[8]</sup>。一项动物实验提示受损细胞的走向可能和细胞内 TrkA/P75<sup>NTR</sup> 的比率有关<sup>[9]</sup>。

## 2 神经生长因子的主要信号通路

2.1 NGF 与 TrkA TrkA 存在于细胞内外,细胞外受体主要介导细胞存活,细胞内受体主要介导细胞分化。有研究证实 PC12 细胞和胆碱能基底前脑神经元中 NGF 疗法可以增加 TrkA mRNA 的水平,Laura Calvo 等<sup>[10]</sup>人推断这可能是通过 Bex3 调控 TrkA 基因启动子而间接影响 TrkA 表达。NGF 与 TrkA 结合,TrkA 发生磷酸化,触发下游信号通路如激活丝裂原激活蛋白激酶(mitogen activated protein kinase,MAPK)、磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)及磷脂酶 C(phospholipase C,PLC)<sup>[11]</sup>。其中有两种主要的信号机制:①PI3K-Akt 通路,抑制与细胞凋亡相关的叉头基因功能和与 BCL-2 相关的促凋亡蛋白(BAD),阻碍细胞死亡的必要过程。一项动物实验表明 NGF 对缺血缺氧的心肌细胞的预处理可以有效地减少心肌细胞死亡,这可能是由 PI3K/Akt 通路介导的<sup>[12]</sup>;②MAPK-MEK(MAPK\细胞外信号调节激酶 ERK)通路,可以通过信号瀑布级联反应上调抗凋亡蛋白 BCL-2 和转录因子 CREB<sup>[13]</sup>,抑制细胞凋亡。MEK-ERK 通路可以上调血红素氧合酶-1 发挥 NGF 的细胞保护作用<sup>[14]</sup>。另外,NGF-TrkA 结合还可以激活 MAPK-JNK 和 MAPK-P38 通路而保护细胞应激和控制炎症反应<sup>[15]</sup>。

2.2 NGF 与 P75<sup>NTR</sup> P75<sup>NTR</sup> 是 NGF 的低亲和力受体,NGF 与 P75<sup>NTR</sup> 结合主要介导细胞凋亡。P75<sup>NTR</sup> 与肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )受体有某些相同的结构域,研究发现 NGF-P75<sup>NTR</sup> 信号途径可以引起神经鞘磷脂水解作用,增加神经酰胺的水平,从而激活 C-Jun N 末端激酶,启动 P75 受体介导的细胞程序性死亡<sup>[16]</sup>。此外,细胞受损后 NGF 前体(Pro-NGF)也大量表达并结合 P75<sup>NTR</sup> 而引起细胞核内的染色体易位,核因子 NF- $\kappa$ B 进入施万细胞的细胞核,这也可能参与细胞凋亡过程<sup>[17]</sup>。有研究发现在神经发育过程中 P75<sup>NTR</sup> 高水平表达,在成年后逐渐下降至最低水平,当神经受损或发生某些疾病如阿尔兹海默、皮质脊髓束损伤、癫痫或脑缺血时 P75<sup>NTR</sup> 的表达会上升<sup>[18]</sup>,但其发生机制还不清楚<sup>[19]</sup>。然而最近发现,P75<sup>NTR</sup> 在神经存活过程中也发挥一定的积极作

用, P75<sup>NTR</sup>和 TrkR 虽是 NGF 的两种受体, 但其是相互作用的。对此, 有两种说法<sup>[20]</sup>: ①P75<sup>NTR</sup>、TrkA、NGF 可组合成三元配合物, 增加其稳定性; ②P75<sup>NTR</sup>具有聚集 NGF 的作用, 使之易于与 TrkA 结合<sup>[16]</sup>。动物实验发现在成年鼠中把 P75<sup>NTR</sup>基因敲除后并不能改变神经元的数量, 但可以延迟神经元凋亡的时间, 增加神经分布区域<sup>[21]</sup>。也有研究发现 P75<sup>NTR</sup>的抗凋亡作用一部分可能是通过神经营养因子-3 (NT-3) 实现的, P75<sup>NTR</sup>减少会减弱 NT-3 激活 TrkA 的能力, 限制了 TrkA 信号机制保护细胞的作用, 这还有待进一步证实。

### 3 神经生长因子在治疗脑梗死中的应用

#### 3.1 神经生长因子的作用

NGF 能够促进细胞增殖、分化、改善轴突生长, 提高突触可塑性, 修复受损的细胞, 维持细胞存活, 在成熟的神经形态学中触发适应性改变, 启动快速的突触应答。NGF 介导的信号途径可以经过轴突逆向运输一种核内体, 其中包括 NGF、TrkA 和激活该途径的中间介质如 ERK<sup>[22]</sup>。在发育过程中建立这样运输的神经元在神经发育中幸存下来, 无 NGF 营养支持的神经元则退化。在发育成熟后幸存下来的神经元会终生拥有这种逆向运输的能力, 并借此维持细胞分化与存活<sup>[23]</sup>。在外周神经系统中 NGF 主要作用于感觉和交感神经, 外源性的 NGF 可引起这类神经元轴突增生<sup>[24]</sup>; 在中枢神经系统中 NGF 主要对胆碱能神经元有作用, 研究发现当胆碱能神经系统受损时 TrkA mRNA 减少而 TrkB、TrkC、P75<sup>NTR</sup>似乎无明显变化, 提示 NGF-TrkA 信号通路受损。在阿尔兹海默病中胆碱能系统是最早受到影响的, 基底、前脑系统和它的神经支配区域都有神经缺失, 外源性给予 NGF 可以保持神经对 NGF 的敏感性<sup>[3]</sup>。最近研究表明 NGF 不但作用于胆碱能神经元, 还可以作用于单胺类、肽类神经元, 既可以维持神经元的生存, 又能增加神经递质的合成, 主要是影响参与神经递质合成和递质受体表达的通路中酶的合成。

#### 3.2 神经生长因子治疗脑梗死的基础

脑血管病的治疗在于挽救更多的神经细胞、神经轴突的再生、中枢神经系统功能的重组、潜伏神经通路的开放, 建立持久的神经通路等。研究证实脑缺血后在大脑皮层区域 NGF 的表达是增加的<sup>[25]</sup>。因此, NGF 有望成为治疗脑梗死的重要疗法。Claudia Fantacci 等<sup>[26]</sup>认为心室内注射 NGF 可以改善脑血流, 通过双皮质素的生物合成来激活神经发生分化的信号通路。细胞生物学研究表明外源性补充神经生长因子可促进受损局部神经修复, 增加脑损伤耐受。Lian Hui 等<sup>[27]</sup>通过动物实验研究表明, 神经生长因子可抑制运动神经元的凋亡是通过下调与细胞凋亡相关的 Caspase-3 的表达介导的。麦辉等<sup>[28]</sup>将 90 例脑梗死患者随机分为观察组和对照组, 观察组在常规用药的基础上加用外源性 NGF 并观察疗效, 结果显示 2 组患者治疗前 NIHSS 评分、MMSE 评分、FMA 评分比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 观察组患者治疗后 NIHSS 评分低于对照组, MMSE

评分和 FMA 评分高于对照组 ( $P < 0.05$ )。这一结果表明 NGF 能有效减轻急性脑梗死患者神经功能缺损程度, 改善患者认知功能和肢体运动功能。

#### 3.3 神经生长因子对脑梗死的效应机制

大量研究表明 NGF 可能是通过以下途径在脑梗死中发挥效应的: (1) 促进血管再生及改善血供。NGF 具有促进新血管形成作用<sup>[9]</sup>, 机制在于促进血管内皮细胞的增殖、迁移以及表达血管内皮生长因子<sup>[29]</sup>, 同时改善血液循环如在皮瓣移植手术中能够增加血液供应; (2) 稳定钙离子浓度。损伤细胞常由细胞内钙超载引起, NGF 通过激活钙调素的表达<sup>[30]</sup>、影响钙通道系统的活化, 从而促进  $\text{Ca}^{2+}$  排出、缓冲细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的上升, 最终使细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  处于稳态, 防止细胞内钙离子超载; (3) 抑制一氧化氮 (NO) 的毒性作用<sup>[31]</sup>。NO 在梗死早期可以改善缺血半暗带血液循环, 延缓受损神经细胞的死亡, 晚期能加剧中央坏死区组织的损害。NGF 能降低 NO 合成酶 (NOS) 的活性, 抑制 NO 的负性作用; (4) 提高自由基清除剂的活力。在各种脑损伤时脑组织中氧自由基的产生和脂质过氧化反应均异常活跃, NGF 能增加过氧化氢酶、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽、谷胱甘肽过氧化物酶等自由基清除剂的活性<sup>[32]</sup>, 提高受损细胞的抗氧化应激的能力, 从而减轻细胞损伤; (5) 拮抗兴奋性氨基酸的神经毒性作用<sup>[33]</sup>。脑内的兴奋性氨基酸包括谷氨酸和门冬氨酸, 其受体 (NMDA 受体) 过度激活会使细胞内钙超载, 产生神经毒性作用。Zassler 等<sup>[34]</sup>研究发现, 如将能够分泌 NGF 的单核细胞移植于鼠模型的脑内, NMDA 导致的胆碱能神经元凋亡可以被中和; (6) 抑制细胞凋亡。NGF 与其受体结合启动细胞存活信号通路, 上调抗凋亡因子以及抑制凋亡蛋白, 为受损细胞提供生存和修复环境, 同时介导无法挽救的细胞死亡, 减少有毒物质如 NO、氧自由基的产生。另外, NGF 还可通过以下机制修复脑梗死所致的神经损伤。抑制梗死部位的炎症反应; 促进轴突增生及生长延长, 促进髓鞘形成; 刺激神经干细胞增殖及分化等。

### 4 前 景

目前已经上市的神经生长因子为鼠神经生长因子 (mNGF), 与人的同源性可达 90%, 是从鼠中提取的, 工艺较简单, 故成为第一个上市的 NGF, 应用于周围神经病, 肿瘤, 外伤、代谢性疾病、神经退行性疾病以及脑血管病等。之前有人认为 NGF 的药代动力学和生物利用度不足, 不能通过血脑屏障对中枢神经系统发挥效应。然而, 一项研究发现自动射线照相术实验表明血中的 NGF 能直接透过鼠的血脑屏障到达脑实质<sup>[35]</sup>。在正常生理状态下外源性 NGF 肌注后的确不易透过血脑屏障, 但在脑梗死急性期微血管收缩出现障碍, 同时过氧化氢、活性氧族、内皮素-1、血管生成素-1 等释放会刺激产生血管舒缩因子, 血脑屏障通透性增加; 在亚急性期导致其完整性破坏, 最终血脑屏障受损开放, 鼠神经生长因子可透过血脑屏障进入中枢神经系统, 从而发挥神经保护和神经再生作用。另外, 多壁碳纳米管神经生长因子复合物 (MWCNTs-NGF)<sup>[36]</sup> 技术也应运而生, 大大增加了

mNGF 的生物利用度,经研究证实聚酰胺-胺功能化修饰的 MWCNTs-NGF 具有更好的生物相容性,并且减小了 MWCNTs-NGF 的细胞毒性。生物活性试验表明它能明显地促进细胞分化和神经生长。

在生命的神经发育和神经可塑性中 NGF 参与了神经的分化与增殖、存活和凋亡。在脑卒中的动物模型试验中 NGF 的改善脑损伤、保护神经功能的作用已被证实。一项脑卒中模型试验表明在脑梗死后整个神经功能恢复期 NGF 可改善 60%~90%<sup>[37]</sup> 的预后。因此,NGF 有很大的潜在价值。关于 NGF 的作用机制还需要进一步研究,在将来其应用范围会愈加广泛。

### 参 考 文 献

- [1] Hassanzadeh P, Arbabi E, Atyabi F, et al. The endocannabinoid system and NGF are involved in the mechanism of action of resveratrol: a multi-target nutraceutical with therapeutic potential in neuropsychiatric disorders[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2016, 233(6): 1087-1096.
- [2] 沈丽(综述),王妍(审校). 神经生长因子的研究及应用进展[J]. *微生物学免疫学进展*, 2015, 43(6): 48-52.
- [3] Martel A, Mirko messa, fabio benfenati. synapsins are downstream players of the BDNF-Mediated axonal growth[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 54(1): 484-494.
- [4] Skaper SD. Nerve growth factor: a neuroimmune crosstalk mediator for all seasons[J]. *Immunology*, 2017, 151(1): 1-15.
- [5] 吴泽宇,孙晋民,蔡冬梅. 神经生长因子在非神经系统中的作用研究进展[J]. *西北药学杂志*, 2015, 30(1): 104-106.
- [6] Calvo L, Anta B, López-Benito S, et al. Bex3 dimerization regulates NGF-Dependent neuronal survival and differentiation by enhancing trkA gene transcription[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(18): 7190-7202.
- [7] Kimura A, Namekata K, Guo X, et al. Neuroprotection, growth factors and BDNF-TrkB signalling in retinal degeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): 10.
- [8] Delbary-Gossart S, Lee S, Baroni M, et al. A novel inhibitor of p75-neurotrophin receptor improves functional outcomes in two models of traumatic brain injury[J]. *Brain*, 2016, 139(Pt 6): 1762-1782.
- [9] Alshehri MM, Robbins SM, Senger DL. The role of neurotrophin signaling in gliomagenesis: a focus on the p75 neurotrophin receptor (p75 (NTR)/CD271) [J]. *Vitam Horm*, 2017, 104(8): 367-404.
- [10] Chen Q, Wang H, Liao S, et al. Nerve growth factor protects retinal ganglion cells against injury induced by retinal ischemia-reperfusion in rats[J]. *Growth Factors*, 2015, 33(2): 149-159.
- [11] 盛鑫,黄晓江. 鼠神经生长因子联合奥拉西坦注射液治疗脑出血的疗效观察[J]. *内科急危重症杂志*, 2014, 20(3): 162-163, 172.
- [12] Ke W, Li L, Fei X. Nerve growth factor protects the ischemic heart via Attenuation of the endoplasmic reticulum stress induced apoptosis by activation of phosphatidylinositol3-Kinase [J]. *Int J of Med Sci*, 2015, 12(1): 83-91.
- [13] Jiang P, Zhu T, Xia Z, et al. Inhibition of MAPK/ERK signaling blocks hippocampal neurogenesis and impairs cognitive performance in prenatally infected neonatal rats[J]. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2015, 265(6): 497-509.
- [14] Chang MC, Lin LD, Wu MT, et al. Effects of camphorquinone on cytotoxicity, cell cycle regulation and prostaglandin E2 production of dental pulp cells: role of ROS, ATM/Chk2, MEK/ERK and hemeoxygenase-1 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0143663.
- [15] 吴莎,华清泉,杨琨,等. 脑源性神经营养因子研究进展[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7(9): 3988-3990.
- [16] Khodorova A, Nicol GD, Strichartz G. The TrkA receptor mediates experimental thermal hyperalgesia produced by nerve growth factor: Modulation by the p75 neurotrophin receptor [J]. *Neuroscience*, 2017, 340(7): 384-397.
- [17] Krock E, Currie B, Rosenzweig D, et al. (290) Toll-like receptor 2 regulates nerve growth factor through NF-kappaB and MAPK signaling in human intervertebral discs [J]. *J Pain*, 2016, 17(4S): S48.
- [18] Choi S, Friedman WJ. Interleukin-1 $\beta$  enhances neuronal vulnerability to proNGF-mediated apoptosis by increasing surface expression of p75 (NTR) and sortilin [J]. *Neuroscience*, 2014, 257(6): 11-19.
- [19] Irmady K, Jackman KA, Padow VA, et al. Mir-592 regulates the induction and cell death-promoting activity of p75NTR in neuronal ischemic injury [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(9): 3419-3428.
- [20] Sheffield KS, Vohra R, Scott JA, et al. Using surface plasmon resonance spectroscopy to characterize the inhibition of NGF-p75 (NTR) and proNGF-p75 (NTR) interactions by small molecule inhibitors [J]. *Pharmacological Research*, 2016, 103(56): 292-299.
- [21] Venkatesan R, Ji E, Kim SY. Phytochemicals that regulate neurodegenerative disease by targeting neurotrophins: a comprehensive review [J]. *Biomed Res Int*, 2015(5): 814068.
- [22] Tam SY, Lilla JN, Chen CC, et al. RabGEF1/rabex-5 regulates TrkA-Mediated neurite outgrowth and NMDA-Induced signaling activation in NGF-Differentiated PC12 cells [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142935.
- [23] 吴倩,邓扬嘉. 鼠神经生长因子对急性脑血管病认知功能及运动功能恢复的影响[J]. *中华神经医学杂志*, 2013, 12(7): 737-739.
- [24] Tuszyński MH, Yang JH, Barba D, et al. Nerve growth factor gene therapy activation of neuronal responses in alzheimer disease [J]. *JAMA Neurol*, 2015, 72(10): 1139-1147.
- [25] Donega V, Nijboer CH, Tilborg GV, et al. Intranasally administered mesenchymal stem cells promote aregenerative niche for repair of neonatal ischemic brain injury [J]. *Exp Neurol*, 2014, 261(9): 53-64.
- [26] Fantacci C, Capozzi D, Ferrara P, et al. Neuroprotective role of nerve growth factor in hypoxic-ischemic brain injury [J]. *Brain Sci*, 2013, 3(3): 1013-1022.
- [27] Hui L, Yuan J, Ren Z, et al. Nerve growth factor reduces apoptotic cell death in rat facial motor neurons after facial nerve injury [J]. *Neurosciences (Riyadh)*, 2015, 20(1): 65-68.
- [28] 麦辉,杨镇军,赖妮琳,等. 鼠神经生长因子对急性脑血管病患者认知功能和运动功能的影响研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2015, 23(4): 29-31.

- [29] 樊春月,王艳艳,张莹,等. 鼠神经生长因子治疗职业性手臂振动病的临床研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2014,32(12): 924-927.
- [30] Severini C, Petrocchi Passeri P, Ciotti MT, et al. Nerve growth factor derivative NGF61/100 promotes outgrowth of primary sensory neurons with reduced signs of nociceptive sensitization [J]. Neuropharmacology, 2017, 117(5): 134-148.
- [31] 李扬,陈晓迪,李爱丽. 神经生长因子与脑梗死的相关性分析[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(10): 1792-1794, 1795.
- [32] Sun Z, Hu W, Yin S, et al. NGF protects against Oxygen and glucose deprivation-induced oxidative stress and apoptosis by up-regulation of HO-1 through MEK/ERK pathway[J]. Neurosci Lett, 2017, 641(10): 8-14.
- [33] 孙斌,梁海燕,余慧立,等. 急性脑梗死患者血清铁蛋白和神经元烯醇化酶水平变化和临床意义[J]. 浙江中西医结合杂志, 2016, 26(1): 69-71.
- [34] 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.
- [35] Tan S, Wang RH, Niu HX, et al. Nerve growth factor for the treatment of spinocerebellar ataxia type 3: an open-label study [J]. Chin Med J, 2015, 128(3): 291-294.
- [36] Hassanzadeh P, Arbabi E, Atyabi F, et al. Nerve growth factor-carbon nanotube complex exerts prolonged protective effects in an in vitro model of ischemic stroke[J]. Life Sci, 2017, 179(11): 15-22.
- [37] Cai J, Hua F, Yuan L, et al. Potential therapeutic effects of neurotrophins for acute and chronic neurological diseases[J]. Biomed Res Int, 2014(8): 601084.

(2017-03-19 收稿)