

3351

- 17 Baron-Epel O, Hernandez D, Jiang L W *et al.* J Cell Biol, 1988; **106**: 715
- 18 Cleland R E, Fujiwara T, Lucas W J. Protoplasma, 1994; **178**: 81
- 19 Tucker E B. Planta, 1988; **174**: 358
- 20 Tucker E B. Protoplasma, 1993; **174**: 45
- 21 Epel B L, Kuchuck B, Kotlizky G *et al.* In: Galbraith D W eds. Methods in cell biology: plant cell biology. New York: Academic Press. 1995: 438~459
- 22 Mushegian A R, Koonin E V. Plant Cell, 1993; **5**: 998
- 23 潘照明, 姜成后. 科学通报, 1996; **41**: 353

Progress of the Study on Plasmodesma-Associated Proteins in Plants. Wu Xiaodong, Yang

Shijie (College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094, China).

Abstract The recent advance of the plasmodesma-associated proteins (PAPs) in plants was reviewed. The homologies between plasmodesma-associated proteins and animal gap junction connexins, the localization of PAPs, the phosphorylation of PAPs and the molecular biology of PAPs were included. The research prospects of PAPs were forecasted as well.

Key words plasmodesma-associated proteins, connexins, cross-reaction, phosphorylation

胶质细胞源神经营养因子研究进展

陈 燕

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 叙述了新近纯化的胶质细胞源神经营养因子(GDNF)的生物功能及其在鼠胚中的分布. 着重介绍了该因子对损伤的多巴胺能神经元及运动神经元促进存活、修复损伤及再生的活性.

关键词 胶质细胞源神经营养因子, 多巴胺能神经元, 运动神经元, 神经再生与修复, 帕金森氏症

胶质细胞源神经营养因子(GDNF)是近来发现并已克隆其基因的一个蛋白因子. 它首先是从培养的鼠胶质细胞株 B49 中分离纯化出来, 它能激活体外培养的鼠胚中脑腹侧多巴胺(DA)能神经元摄取多巴胺, 促进神经元的存活^[1]. 该因子是由两个单体通过二硫键连接形成的二体, 单体是由 134 个氨基酸构成的糖基化肽链. 从结构上看它属于转化生长因子 β 家族(TGF- β)的远亲. 研究表明, 受运动神经元支配的肌肉组织在胚胎发育期表达较高的 GDNF mRNA. 用 I^{125} -GDNF 注入鼠后脚脚垫, 它通过与神经末梢受体结合进入神经纤维, 经轴突的逆向传输进入胞体. 可以在胞体中检测到 I^{125} -GDNF 的存在^[2]. 同样, 在中脑黑质 DA 能神经元靶部位纹状体注入 I^{125} -

GDNF 亦能在黑质 DA 神经元胞体中检测到标记的 GDNF^[3].

1 GDNF mRNA 的分布

人们用组织切片、分子原位杂交、RNase 保护分析及 RT-PCR 方法对鼠胚发育期间 GDNF mRNA 的分布作了较为全面的检测. 与 GDNF 对各种神经元功能研究相一致, 发现许多接受 GDNF 营养作用的神经元的靶组织一般都表达 GDNF mRNA. 鼠胚纹状体胚胎期表达 GDNF mRNA 是中枢神经系统中最高的, 直至出生后仍有较高表达^[4,5]. 运动及感觉神经元的靶组织肌肉、皮肤在鼠胚胎期都有较高

收稿日期: 1996-08-20, 修回日期: 1996-10-21

的表达. 交感神经靶组织肾、胃、肝、肺和心脏中有 GDNF mRNA 的表达, 其中肺、肝和心脏在出生后乃至成体中亦有表达^[6,7]. 脑内受交感神经支配的松果体有 GDNF mRNA 的表达^[8]. 鼠脑的黑质、海马区、皮层, 以及脊髓都检测到 GDNF mRNA 的表达^[9]. 另外, 在含有 DA 能神经元的黑质中, 含有感觉神经元的背根及颈前神经节中以及坐骨神经的髓鞘中也有 GDNF mRNA 的表达, 说明神经元所处的局域也有 GDNF 的生成, 它们可能会通过自泌或旁泌的方式作用于这些神经元. 在表达 GDNF mRNA 的一些细胞和组织中, 发现了剪切有异的两种 mRNA, 或者至少两种 mRNA, 它们编码的成熟蛋白完全相同, 仅在前体序列中相差 78 个碱基. 切断坐骨神经, 发现神经纤维中 GDNF mRNA 剧增, 同时雪旺氏细胞表达 GDNF mRNA, 因此坐骨神经的损伤激发髓鞘中雪旺氏细胞 GDNF mRNA 急增^[7], 是外周神经对损伤的一种保护反应. 同样, 去神经的肌肉组织中亦发现 GDNF mRNA 的增加^[10]. 出人意料的结果是在外周组织肾、睾丸、卵巢、胃中都有很高的 GDNF mRNA 表达, 有的是在胚胎期, 有的是在成体. GDNF 在这些组织中的功能尚待深入研究^[7].

2 GDNF 的生物功能

最早发现的 GDNF 的功能是它能使体外培养鼠胚中脑腹侧 DA 能神经元延长存活, 在离体培养条件下, 加入 GDNF 1 $\mu\text{g/L}$, 培养 21 d, 几乎全部 DA 能神经元都存活而对照中 70% DA 能神经元死亡. 它使离体培养的 DA 能神经元摄取 DA 提高 3 倍, 并长出粗长的神经纤维, 胞体也明显增大^[1]. 将鼠胚中脑腹侧组织植入去交感神经的前眼室中, 并注入 GDNF, 发现许多 DA 能神经元的纤维向植块表面长出, 并在 DA 能神经元附近形成纹状. 植块中 DA 能神经元存活增加, 酪氨酸羟化酶 TH⁺ 免疫活性增强^[11]. 近两年的研究表明 GDNF 对运动神经元也有明显的助存活、促分

化、增强代谢的功能. 离体培养运动神经元助存活的 50% 有效浓度 (EC_{50}) 为 BDNF 的 1/75, CNTF 的 1/650 及 LIF (白细胞抑制因子) 的 1/2500^[12]. GDNF 能使交感神经节中大部分神经元延长存活并使离体培养的交感神经节组织块长出丛生的、短粗索状纤维. GDNF 对背根神经节、节状节、颈前神经节的感觉神经元亦有助存活的作用, 但 50% 有效浓度较大^[7].

GDNF 对神经元的损伤修复作用已有许多研究, 本文仅介绍一些活体的实验研究, 它能较为真实地反应 GDNF 在体内的功能. 用神经毒 MPTP (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine) 及 6-OHDA 注射鼠脑黑质纹状体, 可以形成稳定的帕金森氏病鼠. 在药物注射前后分别注入 GDNF, 可从此部位的组织化学分析及鼠的运动行为看出 GDNF 对损伤神经元的修复作用^[4,5]. 鼠脑纹状体中注入 GDNF 使该部位 DA 含量增加, DA 代谢增强, 神经元酪氨酸羟化酶 (TH⁺) 免疫活性增加. 若使用突触后多巴胺受体拮抗剂阿扑吗啡 (apomorphine) 诱导病鼠旋转, 经 GDNF 处理要比对照病鼠旋转减少 85% 以上. 这是 GDNF 使 DA 能神经元修复的一种功能表现^[13]. 已经在与人相当接近的帕金森氏病恒河猴上进行这类实验. 用 MPTP 神经毒引发猴帕金森氏症状, 用立体定位方法给猴纹状体注入 GDNF, 摄像机记录并观察病猴行为变化. 无论在行动迟缓、四肢僵直及震颤以及体态不稳三个方面都比对照病猴症状明显减轻. 猴脑黑质纹状体的组化分析表明, 经 GDNF 处理纹状体 DA 能神经元 TH⁺ 免疫活性升高, DA 含量增加, DA 代谢加强. DA 能神经元胞体增大^[14]. 这些都表明受损的 DA 能神经元有一定程度的修复. 切断新生鼠脑内黑质 DA 能神经元通向纹状体的神经纤维束, 及内侧端脑索, 术前后在纹状体注入 GDNF, 它可使切断神经索造成的黑质中 50% DA 能神经元的死亡减少一半, 同时看到存活 DA 能神经元 TH⁺ 免疫活性的加强^[15]. 一些实验表明 GDNF 对运动神经元

的损伤也有显著的修复作用。在鸡胚发育中神经系统程序性死亡期间 (E6~E9), 从绒毛膜囊膜加入 GDNF, 可以看到 25% 本该程序性死亡的运动神经元得到拯救^[16]。切断雏鸡面神经, 可使脑核团中 90% 运动神经元死亡, 少数存活神经元亦萎缩, 若在切断处加入 GDNF, 可以阻止运动神经元死亡, 使几乎全部都存活下来^[2]。切断新生鼠脊髓运动神经纤维, 可使脊髓中 40%~50% 相应的运动神经元死亡, 存活者也呈现萎缩, 断口处加入 GDNF 则基本上阻止了神经元的死亡和萎缩, 存活神经元的胞体还有一定增大^[16]。

近两年的研究工作确实说明 GDNF 对神经元特别是 DA 能神经元和运动神经元有明显的修复损伤的作用, 这可能给帕金森氏症及运动神经元疾病如肌萎缩侧索硬化症等的治疗开辟新的途径。目前, 对 GDNF 通过什么途径促进神经元的存活和修复损伤还不清楚。因此, 进一步探讨 GDNF 作用机制, 对了解神经元的发育及修复损伤机制具有十分重要的意义。

参 考 文 献

- 1 Lin H L, Doherty D H, Lile J *et al.* Science, 1993; **260**: 1130
- 2 Yan Q, Matheson C, Lopez O T. Nature, 1995; **373**: 341
- 3 Tomac A, Widenfalk J, Lin H L *et al.* Proc Natl Acad Sci, 1995; **92**: 8274
- 4 Stromberg I, Bjorklund L, Johansson M *et al.* Exp Neurol, 1993; **124** (2): 401
- 5 Schaar D G, Sieber B A, Dreyfus C F *et al.* Exp Neurol, 1993; **124** (2): 368
- 6 Suter-Crazzolara C, Unsicker K. Neuroreport, 1994; **5** (18): 2486
- 7 Trupp M, Ryden M, Jornvall H *et al.* J Cell Biol, 1995;

- 130 (1): 137
- 8 Ebendal T, Tomac A, Hoffer B J *et al.* J Neurosci Res, 1995; **40** (2): 276
- 9 Springer J E, Mu X, Bergmann L W *et al.* Exp Neurol, 1994; **127** (2): 167
- 10 Springer J E, Seeburger J L, He J *et al.* Exp Neurol, 1995; **131** (1): 47
- 11 Johansson M, Friedemann M, Hoffer B *et al.* Exp Neurol, 1995; **134** (1): 25
- 12 Henderson C E, Philips H S, Pollock R A *et al.* Science, 1994; **266**: 1062
- 13 Bowenkamp K E, Hoffman A F, Gerhardt G A *et al.* J Comp Neurol, 1995; **355** (4): 479
- 14 Gash D M, Zhang Z M, Ovadia A *et al.* Nature, 1996; **380**: 252
- 15 Beck K D, Valverde J, Alexi T *et al.* Nature, 1995; **373**: 339
- 16 Oppenheim R W, Houenou L J, Johnson J E *et al.* Nature, 1995; **373**: 344

Progress in Research of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. Chen Yan (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101, China*).

Abstract The biological functions of glial cell line-derived neurotrophic factor purified recently and its distribution in rat embryo were described. The survival-promoting, restoring and regeneration activities of GDNF on injured motoneuron and dopaminergic neuron were emphasized.

Key words glial cell line-derived neurotrophic factor, dopaminergic neuron, motoneuron, nerve restoring and regeneration, Parkinson's disease

我刊顾问张龙翔教授逝世

著名的生物化学家和教育家、北京大学教授、博士生导师、原北京大学校长、中国共产党党员、中国民主同盟盟员张龙翔教授因病医治无效, 不幸于 1996 年 10 月 24 日在北京逝世, 享年 80 岁。