

Nogo 与 Nogo 受体研究

吴兰香¹⁾ 孙长凯^{1)*} 范明^{2)*}

(¹⁾大连医科大学脑疾病研究所, 大连 116027; ²⁾军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

摘要 *nogo* 是新近发现的一种基因, 编码 3 种蛋白质: *Nogo-A*、*Nogo-B* 和 *Nogo-C*。迄今为止, 已证明它有抑制成熟中枢神经系统 (CNS) 神经元轴突再生及诱导细胞凋亡的作用。Nogo 受体是一种糖基醇磷脂结合蛋白。对 Nogo 和 Nogo 受体的研究, 对于 CNS 再生障碍及肿瘤的认识和治疗有重要意义。

关键词 神经再生, 细胞凋亡, Nogo, Nogo 受体

学科分类号 Q51

成熟中枢神经系统 (CNS) 神经元损伤后轴突再生的停滞及肿瘤是长期以来困扰医学界的两大难题, Nogo 的发现在二者的认识和治疗过程中是一个新的里程碑。1988 年, 分子质量分别为 35 ku 和 250 ku 的轴突生长抑制性蛋白 *NI-35* 与 *NI-250* 从大鼠脊髓髓鞘中被分离出来, 二者的特异性单克隆抗体 *IN-1* 可中和髓磷脂对轴突再生的抑制作用。2000 年, 通过对 *NI-250* 的同源物——牛的 *bNI220* 蛋白六个肽段序列的分析, 人们成功地获得了 *nogo* 的 cDNA 克隆。

1 Nogo 的生物化学与分子生物学

由于启动子和剪切方式不同, *nogo* 编码 3 种蛋白质: *Nogo-A*、*Nogo-B* 和 *Nogo-C*。人的 *Nogo-A* (*hNogo-A*) 由 1 192 个氨基酸残基组成, 包含一个由 1 024 个残基组成的胞间结构域, 7 个 N-糖基化位点, 多个 O-糖基化位点, 二或三个跨膜结构域和一个短的胞内区, 相当于大鼠的 *NI-250*。与 *Nogo-A* 相比, *Nogo-B* 缺少了 186~1 004 残基, 相当于大鼠的 *NI-35*。而 *Nogo-C* 在相同位置缺少了相同数目的残基, 但氨基端更短, 故分子质量最小, 相当于以往描述的大鼠的 *VP20* 和 *foocers*。3 种 Nogo 的氨基端没有同源性, 也没有通常作为信号肽的疏水区。但它们具有相同的羧基端, 由 188 个残基组成, 包含两个疏水结构域, 二者被一包含 66 个残基的亲水结构域 (*Nogo-66*) 分开, 这一点与网状蛋白质家族成员极其相似, 且 Nogo 主要存在于 CNS 少突胶质细胞内质网, 故认为 Nogo 是网状蛋白质家族的第四个成员——网状蛋白 4A。在羧基端, Nogo 有一个含双赖氨酸的内质网膜定位信号。

Nogo 的拓扑结构目前认为有 3 种可能:

a. Nogo 的氨基端和羧基端位于胞液中, *Nogo-66* 位于内质网腔或胞外; b. *Nogo-66* 位于胞液中, 其余部分位于内质网腔或胞外; c. *Nogo-66* 与其氨基端位于胞液中, 其余部分位于内质网腔或胞外。

在成年哺乳动物, *Nogo-A* 主要分布于 CNS 少突胶质细胞内质网, 只有极少量位于少突胶质细胞表面, 在某些神经元膜上或细胞内也有表达。施旺细胞和星形胶质细胞中未见分布。外周组织中, 仅在睾丸和心脏中有少量分布。*Nogo-B*、*Nogo-C* 的分布较 *Nogo-A* 广泛。除 CNS 外, *Nogo-B* 在外周组织如软骨、肾脏、皮肤、肺及脾中也有低水平分布; *Nogo-C* 在 CNS 主要分布于星形胶质细胞, 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。

2 Nogo 受体的生物化学与分子生物学

通过筛选小鼠脑的 cDNA 文库, *Nogo-66* 受体 (*NgR*) 被识别出来。此蛋白质包含 473 个残基, 氨基端有一信号肽, 其后为 8 个富含亮氨酸的重复区, 羧基端含丰富的半胱氨酸, 与糖基化磷酸肌醇 (GPI) 相连。作为一个糖基醇磷脂结合蛋白, *NgR* 并不跨越细胞膜, 其信号的转导必然要激活其他跨膜受体。实验表明, CNS 髓磷脂中另外 2 种轴突生长抑制性蛋白——髓磷脂相关糖蛋白 (*MAG*) 与少突胶质细胞髓磷脂糖蛋白 (*OMgp*), 均通过 *NgR* 及与其相连的受体复合物发挥作用。*Nogo-66* 与 *MAG* 结合于 *NgR* 的不同位点上, 而

* 通讯联系人。

Tel: 0411-4721396, E-mail: cksun110@mail.dlptt.ln.cn

收稿日期: 2002-09-04, 接受日期: 2002-09-28

Nog σ -66 与 OMgp 在 NgR 上的结合位点有重叠, 故二者存在竞争. 因此 NgR 似乎是 CNS 髓磷脂中各种轴突生长抑制性蛋白发挥作用的集中点^[1].

人类的 NgR 与小鼠 NgR 有 89% 的同源性, 其基因的外显子位于 22q¹¹ 染色体上.

NgR 在 CNS 中分布广泛, 灰质中含量较高, 大脑皮层、海马、脑桥、小脑蒲肯野细胞也有分布, 但不存在于少突胶质细胞. 外周组织中, 只有心脏和肾脏有极少量的分布.

3 Nogo 与 Nogo 受体的作用及其机制

目前一致认为, Nog σ -A 是 CNS 髓磷脂神经元轴突生长抑制因子. 依据如下: a. Nog σ -A 主要存在于 CNS 髓磷脂和少突胶质细胞中; b. Nog σ -A 抑制背根神经节神经元轴突生长及 3T3 成纤维细胞延伸; c. 单克隆抗体 IN-1 可中和 Nog σ -A 的轴突生长抑制作用, 促进损伤后神经元轴突再生. Nog σ -A 长的氨基端及 Nog σ -66 均有很强的轴突生长抑制作用. Nog σ -A 可能通过 3 种方式抑制神经元轴突再生: a. 细胞-细胞方式, 即完整少突胶质细胞表面的 Nog σ -66 与损伤神经元的 NgR 结合; b. 细胞-膜方式, 即从受损少突胶质细胞脱落下来的含 Nog σ -66 的膜片段与损伤神经元的 NgR 结合; c. 完全溶解的少突胶质细胞释放 Nog σ -A 氨基端和 Nog σ -66 的可溶性蛋白水解片段, 与其受体结合, 抑制作用更强^[2].

Nog σ -A 与其受体结合后, 小鸟嘌呤核苷三磷酸酶 (small GTPases) 的 Rho 家族成员——rho、rac1、cdc42 及内源性第二信使在其信号转导过程中发挥了重要作用. 用神经营养因子提高神经元内 cAMP 水平, 激活 PKA, 使 Rho 磷酸化而失活, 可以阻断髓磷脂对轴突生长的抑制作用. 细胞内游离钙也与生长锥延伸和收缩过程密切相关. Nog σ -A 导致生长锥溃变之前, 细胞内 Ca²⁺ 浓度明显升高. Ca²⁺ 与钙调蛋白结合后, 激活蛋白激酶, 也可以导致 Rho 磷酸化而失活, 促进生长锥延伸. 因此可以认为, CNS 神经元损伤后, 溶解的少突胶质细胞释放 Nog σ -A 氨基端和 Nog σ -66 的可溶性蛋白水解片段, 与其特异性受体复合物结合, 通过第二信使作用于 Rho, 对生长锥中的微丝进行调节, 使生长锥溃变, 抑制轴突再生.

除上述机制外, Nog σ -A 还对轴突生长相关基因有下调作用. 轴突再生需要受损神经元上调某些与生长相关的基因, 如 *c-jun*、*junD*、*gap-43* 等. 上述基因的表达上调或许由于神经元去除了某些来自轴突的抑制信号, Nog σ -A 可能是其中之一, 因为使用 IN-1 后, 细胞生长相关基因表达上调, 轴突再生明显. 此抑制作用的细胞内信号转导机制目前尚不清楚.

Nog σ -B 与 Nog σ -C 的功能目前研究较少. 实验表明, Nog σ -C 在体外也能导致背根神经节神经元生长锥溃变. 但由于二者分布较广, 其作用靶点可能不仅限于 CNS 中. 目前新发现一种基因 *ASY*, 其异位表达能有效诱导各种肿瘤细胞调亡. 研究表明 *ASY* 编码的蛋白即为 Nog σ -B, 诱导调亡的区域主要位于第二个跨膜的疏水结构域. 具体作用机制尚不清楚^[3].

与 Nogo 相关的基因和药物治疗将成为 CNS 损伤后促进轴突再生及抗肿瘤的新的有效手段. NgR 的竞争性拮抗剂——NEP1-40 已被成功制备出来, 体外实验表明, 它能明显地促进受损 CNS 轴突生长及功能恢复^[4]. 单克隆抗体 IN-1 已应用于大鼠脑缺血模型, 取得了同样显著的效果^[5]. Nog σ -B 无疑也将成为肿瘤治疗中的新靶点. 然而迄今为止, 关于 Nogo 的许多问题仍有待精确阐明: Nogo 分布广泛, 特别是神经元中也有分布, 还有其他哪些功能? Nogo 确切的拓扑结构及作用机制是什么? 其表达调控机制如何? 对 Nogo 的深入研究将有助于推动 CNS 损伤及肿瘤的临床治疗.

参 考 文 献

- 1 Woolf C J, Bloechlinger S. It takes more than two to Nogo. *Science*, 2002, **297** (5584): 1132~1134
- 2 Ng C E, Tang B L. Nogos and the nog σ -66 receptor: factors inhibiting CNS neuron regeneration. *J Neurosci Res*, 2002, **67** (5): 559~565
- 3 Li Q, Qi B, Oka K, *et al.* Link of a new type of apoptosis-inducing gene *ASY/Nog σ -B* to human cancer. *Oncogene*, 2001, **20** (30): 3929~3936
- 4 Grandpre T, Li S, Strittmatter S M. Nog σ -66 receptor antagonist peptide promotes axonal regeneration. *Nature*, 2002, **417** (6888): 547~551
- 5 Papadopoulos C M, Tsai S Y, Alsbie T, *et al.* Functional recovery and neuroanatomical plasticity following middle cerebral artery occlusion and IN-1 antibody treatment in the adult rat. *Ann Neurol*, 2002, **51** (4): 433~441

Nogo and Nogo Receptor

WU Lian Xiang¹⁾, SUN Chang-Kai^{1)*}, FAN Ming^{2)*}

(¹⁾ *Institute for Brain Disorders, Dalian Medical University, Dalian 116027, China;*

²⁾ *Institute of Basic Medical Science, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)*

Abstract *nogo* is a recently discovered gene. It mainly encodes three proteins: Nogo-A, Nogo-B and Nogo-C. To date, it has been proved to be associated with axonal outgrowth inhibition in mature central nervous system (CNS) and apoptosis-inducing. Nogo receptor is a glycosylphosphatidylinositol (GPI) -anchored protein. To investigate the Nogo and Nogo receptor is important for understanding of neurite outgrowth inhibition following CNS injury and cancer.

Key words neural regeneration, apoptosis, Nogo, Nogo receptor

* Corresponding author. Tel: 86-411-4721396, E-mail: cksun110@mail.dlptt.ln.cn

Received: September 4, 2002 Accepted: September 28, 2002