

睫状神经营养因子受体

何 成 路长林

(第二军医大学神经生物学教研室, 上海 200433)

敖世洲

(中国科学院上海生物化学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 睫状神经营养因子是一种能够促进感觉、交感和运动神经元存活和分化的细胞因子。睫状神经营养因子受体复合物由三个亚基组成, α 亚基是睫状神经营养因子的结合蛋白, 它不是跨膜蛋白, 而是通过 GPI 键锚在细胞膜上; 信号传递体的两个亚基分别是 gp130 和 LIFR β 。睫状神经营养因子受体复合物的形成是一个有序过程。Jak/Tyk 家族的激活与细胞内信号传导有关。

关键词 睫状神经营养因子, 白血病抑制因子, 白细胞介素-6, 受体, 酪氨酸激酶

睫状神经营养因子 (ciliary neurotrophic factor, CNTF) 以其最初发现能促进鸡胚睫状神经节神经元存活而得名, 它的分子结构不同于 NGF, 生物学活性也与 NGF 有所不同, 不属于 NGF 家族。近年来的研究表明, CNTF 能够促进多种神经细胞的存活, 在神经系统发育、分化和损伤修复中具有非常重要的作用^[1]。最初从小鸡眼的抽提物中纯化了 CNTF, 随后发现在大鼠和兔坐骨神经中 CNTF 的含量较高, 从中分离纯化得大鼠和兔 CNTF; CNTF 部分氨基酸序列的测定, 使 CNTF 基因得以克隆; 人 CNTF 基因的高效表达和重组人 CNTF 的制备, 大大促进了 CNTF 结构和功能研究^[2,3]。近年来, CNTF 受体基因的克隆、受体组成的研究, 不仅使人们深入认识了 CNTF 的生物学功能, 而且有力推动了有关细胞因子的研究。

1 CNTF 受体 α 亚基

CNTF 受体 α 亚基 (CNTFR α) 是 CNTF 结合蛋白。相对于白细胞介素-6 受体 α 亚基 (IL-6R α), CNTFR α 具有较高的保守性, 人、大鼠 CNTFR α 的氨基酸序列有 94% 的同源性, 而人、大鼠 IL-6R α 的氨基酸残基只有 55% 相

同。CNTFR α 和 IL-6 受体 α 亚基与天然杀伤细胞刺激因子的大亚基有很高的同源性^[4]。

CNTFR α 不是跨膜蛋白, 而是通过 GPI 键 (glycosyl-phosphatidylinositol linkage) 锚在细胞膜上。CNTFR α 藉以锚在细胞膜上的 GPI 键可以被存在于细胞膜上的磷脂酶裂解, 提示 CNTFR α 不仅可以作为膜表面受体而且可能被释放, 以可溶形式存在^[5]。

在外周神经系统中, 交感神经节、副交感神经节和感觉神经节被认为是 CNTF 发挥作用的靶组织, 而这些神经节的神经元上都有 CNTFR α 的表达, 这表明 CNTF 可能是直接作用于神经元而发挥生物效应。在外周神经 Schwann 细胞中存在大量的 CNTF, 当外周神经受损伤后, CNTF 得以释放进入细胞间隙。释放于损伤处的这些 CNTF 可以通过轴突逆向转运到达胞体, 也可以和肌肉中存在的可溶性 CNTFR α 形成复合物而发挥促进神经损伤修复的作用。外周神经损伤后, 会使得肌肉组织 CNTFR α 的表达增加数十倍, 可溶性的 CNTFR α 和 CNTF 形成的复合物大大增多, 从而利于神经的修复^[5]。

CNTF 受体不仅存在于外周神经系统, 在中枢神经系统也广泛存在. 在新皮层、海马、侧脑室、侧脑室室管膜下区、黑质、小脑以及一些脑干核团, 都有 CNTFR α mRNA 的表达. 令人感兴趣的是在脑脊液中存在可溶性的 CNTFR α , 这提示 CNTFR α 可能有潜在的、广泛的生理学作用^[5,6].

体外试验表明, CNTF 能够微弱抑制外周血单核细胞产生白细胞介素-8 和前列腺素 E₂, 但加入可溶性 CNTFR α 则 CNTF 的这种抑制作用大大增强. 在体外培养的人成纤维细胞中, 也存在类似现象. 这表明 CNTF/CNTFR α 复合物能够抑制炎症反应的发生^[7]. 神经损伤后, 单核细胞浸入损伤处会对神经再生起重要作用, 现在还不清楚 CNTF/CNTFR α 复合物是否通过作用于单核细胞和巨噬细胞来对神经损伤修复起作用.

在脊髓腹侧角运动神经元中, CNTFR α mRNA 大量表达, 在与运动有关的脑区、肌肉组织中也都有 CNTFR α mRNA 的表达, 提示 CNTF 可能与运动系统的功能有密切联系^[6]. CNTFR α 能够在骨骼肌细胞中较高水平表达, 当支配骨骼肌的神经去除后, 骨骼肌中 CNTFR α mRNA 水平急剧升高, 皮下给予大鼠外源性的 CNTF 能够阻止去神经引起的比目鱼肌萎缩, 这一现象提示 Schwann 细胞产生的 CNTF 在生理状态下可能作为肌细胞营养因子^[8].

2 CNTF 受体复合物

Bazan 在大鼠 CNTF 一级结构的基础上预测了 CNTF 的二级结构, 认为它和白细胞介素-6 (IL-6)、白血病抑制因子 (LIF)、粒细胞集落刺激因子 (GCSF) 及骨髓单核细胞生长因子 (MGF) 是一类富含 α -螺旋结构的细胞因子, 它们具有相似的空间结构, 即都有相似的四螺旋束样空间结构^[9]. 我们通过改造人 CNTF 编码基因, 分析了人 CNTF 结构和功能关系, 证实分子中 α -螺旋结构的维持为其生物活性所必需, 羧基端松散结构对其生物活

性贡献不大, CNTF 与 LIF 和 MGF 具有相似的空间结构 (何成等, 待发表资料). CNTF、LIF、IL-6、GCSF 和 MGF 不仅具有相似的空间结构, 而且它们的受体组成也密切相关.

CNTFR α 不是跨膜蛋白, 而是通过 GPI 键锚在细胞膜上, 这一结构特点提示 CNTF 受体复合物中还存在其他亚基做为信号传递体. CNTFR α 被克隆之后不久, LIF 受体中 LIF 的结合亚基 (LIFR β) 也被克隆. LIFR β 与 CNTFR α 和 IL-6R α 的同源性很低, 而与 IL-6 受体复合物中作为信号传递体的 gp130 (一种分子量为 130 000 的糖蛋白) 有着较高的同源性^[10]. 用 gp130、LIFR β 、CNTFR α 和 IL-6R α 的特异性单抗分析得知, CNTF 受体复合物中作为信号传递体的两个亚基, 它们分别是 gp130 和 LIFR β (图 1).

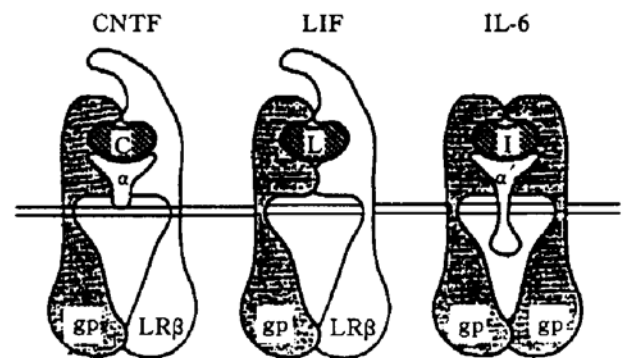


图 1 CNTF、LIF 和 IL-6 受体复合物组成示意图
gp 表示 gp130, LR β 表示 LIFR β , C 表示 CNTF, L 表示 LIF, I 表示 IL-6, α 表示 CNTFR α , α' 表示 IL-6R α .

受体重组实验表明, gp130、LIFR β 和 CNTFR α 可以重组为具有生物功能的 CNTF 受体复合物; 克隆的 CNTFR α 基因转染只存在 LIF 受体 (gp130 和 LIFR β 复合物) 的细胞, 可以实现 CNTF 受体的重组而形成稳定的复合物^[11]. 最近的研究表明, 交感神经节神经元上存在着 CNTF 的高亲和力和低亲和力结合位点, Cross-linking 试验显示, CNTFR α 、LIFR β 和 gp130 确实参与了 CNTF 与交感神经节神经元的结合^[12]. 由于 CNTF

和 LIF 受体具有相同的信号传递体 gp130 和 LIFR β , CNTF/CNTFR α 复合物可能会作用于通常 LIF 起作用而 CNTF 不起作用的一些细胞而导致 LIF 样作用. 大鼠静脉给予 CNTF 后, 在可溶性 CNTFR α 介导下可以作用于肝细胞上的 LIF 受体, 而导致肝脏结合珠蛋白 mRNA 的表达迅速升高^[13].

CNTF 受体复合物组成的阐明, 大大推动了以 gp130 和 LIFR β 作为信号传递体的细胞因子的研究进程, 揭示了这一类细胞因子功能多样性的本质.

3 细胞内信号传导

CNTF 受体复合物的形成是一个有序过程 (图 2). 首先 CNTF 与 CNTFR α 结合, 然后 CNTF/CNTFR α 复合物与偶联了 Jak/Tyk 激酶的信号传递体 gp130 结合, 最后这一复合物捕获偶联了 Jak/Tyk 激酶的信号传递体 LIFR β . gp130 和 LIFR β 的聚合, 从而激活 Jak/Tyk 激酶^[11, 14].

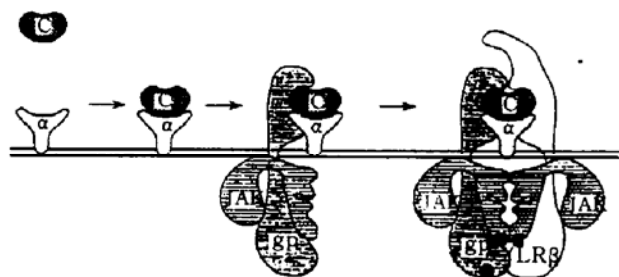


图 2 CNTF 受体复合物有序形成过程

gp 表示 gp130, LR β 表示 LIFR β , α 表示 CNTFR α , C 表示 CNTF, JAK 表示 Jak/Tyk 激酶家族.

Jak/Tyk 家族是一类非受体型的蛋白激酶, 这一家族 3 个已知成员是 Jak1、Jak2 和 Tyk2, 它们都有两个催化功能结构域. gp130 和 LIFR β 通过位于近膜处的保守区与 Jak/Tyk 偶联, 当 gp130 与 LIFR β 聚合后, Jak/Tyk 被激活. 非 CNTF 家族的细胞因子信号传递体只与特定种类的 Jak/Tyk 成员偶联, 例如, γ

干扰素受体的一个亚基偶联 Jak1, 另一个亚基偶联 Jak2; IL-3 受体的两个亚基均偶联 Jak2^[15]. CNTF 家族的信号传递体 gp130 和 LIFR β , 能够与 Jak/Tyk 家族的任一成员偶联, 在不同的细胞有不同的偶联组合, 在一种细胞中 gp130 或 LIFR β 与 Jak1 和 Jak2 偶联, 而在另一种细胞中, 却与 Jak2 和 Tyk2 偶联, 偶联组合的决定因素尚不清楚^[14].

Jak/Tyk 被激活后, 能够使许多作为信号分子的蛋白质发生酪氨酸磷酸化, 例如, 磷脂酶 C γ (PLC γ)、酪氨酸蛋白磷酸酯酶 1D (PTP1D) 等. 这些信息分子的磷酸化在其他生长因子信号传递过程中均能发生, 非 CNTF 家族独有. STAT 家族是一类 DNA 结合转录激活因子, 在 CNTF 信号传导过程中, Jak/Tyk 的激活导致这一家族的成员 STAT88/90 发生酪氨酸磷酸化. STAT88/90 蛋白酪氨酸磷酸化后成为 88 ku 形式, 进一步丝/苏氨酸磷酸化为 90 ku 形式, 这两种形式都能易位 (translocate) 至核内而结合于 DNA STAT91 结合序列区. CNTF 家族中的其他成员也都能使 STAT88/90 蛋白激活, 而其他家族的细胞因子却不能激活这一分子^[16].

鸡胚交感神经节细胞在体内正常发育过程中, 往往会分为两类细胞, 一种表现为酪氨酸羟化酶 (TH) 免疫反应阳性, 另一种表现为血管活性肠肽 (VIP) 免疫反应阳性. CNTF 能够使 VIP 免疫反应阳性细胞数目增多, 而同时 TH 免疫反应阳性细胞数目减少^[17]. CNTF 能够诱导体外培养的交感神经神经元和 NBFL 细胞株表达 VIP, VIP 基因的表达与该基因调控区中的由 180 碱基对组成的细胞因子反应元件 (CyRE) 有关, CyRE 中存在 STAT 家族蛋白的结合位点, 这一结合位点的缺失和突变都使得 VIP 基因表达受到抑制. 这一结果表明, STAT 家族蛋白参与了 CNTF 对交感神经元的诱导分化^[18].

最近的研究表明, STAT 家族能够异质聚合, 而且能够和其他信号传导辅助蛋白结合, 这使得 STAT 家族对基因的调控更为精细^[19].

CNTF 和 LIF 作用于神经元产生神经营养作用, 但 LIF 作用于其他细胞却产生另外的生物效应; CNTF 作用于交感神经元促进神经元向胆碱能型分化, 而作用于睫状神经节神经元却无这一作用; 这些作用都是通过 gp130 和 LIFR β 传导信号, 都使 Jak/Tyk 激活而导致 STAT88/90 蛋白的特异激活, 但为什么会产生截然不同的生物效应呢? 这可能是由于在不同的细胞中, 由于 DNA 甲基化状态和染色体的聚合度不同, 使得处于待激活状态的基因不同所致.

CNTF 在神经损伤与修复过程中具有重要作用, 极有可能用于治疗神经损伤和神经系统退行性病变. CNTF 受体的研究不仅能够深入揭示这一家族细胞因子作用的机制, 而且还将大大推动 CNTF 的临床应用进程.

参 考 文 献

- 1 Adler R. Curr Opin in Neurobiol, 1993; 3: 785
- 2 Negro A, Corona G, Bigon E *et al.* J Neurosci Res, 1991; 29: 251
- 3 何 成, 陈江野, 路长林等. 生物化学与生物物理学报, 1995; 27 (6): 675
- 4 Davis S, Aldrich T H, Valenzuela D M *et al.* Science, 1991; 253: 59
- 5 Davis S, Aldrich T H, Stahl N *et al.* Science, 1993; 260: 1805
- 6 Ip N Y, McClain J, Barrezuela N X *et al.* Neuron, 1993; 10: 89
- 7 Shapiro L, Panayotatos N, Meydani S N *et al.* Exp Cell Res, 1994; 215: 51
- 8 Helgren M E, Suinto S P, Davis H L *et al.* Cell, 1994; 76: 493
- 9 Bazan L F. Neuron, 1991; 7: 197
- 10 Gearing D P, Thut C J, VandenBos T *et al.* EMBO J, 1990; 10: 2839
- 11 Davis S, Aldrich T H, Stahl N *et al.* Science, 1993; 260: 1805
- 12 Wong V, Pearsall D, Arriaga R *et al.* J Biol Chem, 1995; 270: 313
- 13 Ditttrich F, Thoenen H, Sendtner M. Ann Neurol, 1994; 35: 151
- 14 Stahl N, Boulton T G, Farruggella T *et al.* Science, 1994; 263: 92
- 15 Muller M, Briscoe J, Laxton C *et al.* Nature, 1993; 366: 129
- 16 Boulton T G, Stahl N S, Yancopoulos G D. J Biol Chem, 1994; 269: 11648
- 17 Ernsberger U, Sendtner M, Roherer H *et al.* Neuron, 1989; 2: 1275
- 18 Symes A, Lewis S, Corpus L *et al.* Mol Endocrinol, 1994; 8: 1750
- 19 Shuai K, Horvath C M, Huang L H T *et al.* Cell, 1994; 76: 821

Ciliary Neurotrophic Factor Receptor. He Cheng, Lu Changlin (*Department of Neurobiology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China*); Ao Shizhou (*National Laboratory of Molecular Biology, Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031, China*).

Abstract Ciliary neurotrophic factor (CNTF) is a trophic protein that promotes survival and / or differentiation of a variety of neuronal cell types including sensory, sympathetic, and motor neurons. CNTF receptor is a three-component complex, the α -subunit is not a transmembrane protein, but is anchored to the membrane via a glycosyl-phosphatidylinositol linkage. The other two components of the receptor complex which participate in the signal transduction are gp130 and LIFR β . The three components of the receptor are assembled together stepwisely. In the intracellular signal transduction of the receptor, the Jak/Tyk family is involved.

Key words ciliary neurotrophic factor, leukemia inhibitive factor, interleukin-6, receptor, tyrosine kinase