

Rho 与中枢神经系统轴突再生

于盼盼¹⁾ 徐晓明^{1,2)} 陆佩华¹⁾*

(¹⁾上海第二医科大学神经生物学实验室, 上海 200025;

²⁾Kentucky Spinal Cord Injury Research Center, Department of Neurological Surgery, University of Louisville, Louisville, KY40292, USA)

摘要 Rho 是小分子质量 GTP 酶 Rho 家族成员, 在细胞的一些信号转导途径中起着分子开关的作用. Rho 能通过作用于肌动蛋白骨架系统引起轴突生长锥塌陷, 从而抑制轴突生长. 研究表明, Nogo-A、MAG、OMgp 等髓鞘源性的轴突再生抑制分子均可通过激活 Rho 介导的信号转导途径抑制轴突再生.

关键词 生长锥, Rho, Rho 相关激酶

学科分类号 Q291

成年哺乳动物中枢神经系统 (CNS) 轴突损伤后很难再生的一个重要原因是损伤局部环境中存在一些生长抑制分子. 迄今主要发现了三种来源于髓鞘的能抑制轴突生长的分子: Nogo-A、髓鞘相关糖蛋白 (MAG) 和少突胶质细胞髓鞘糖蛋白 (OMgp)^[1]. 我们知道, 轴突的生长起始于生长锥, 生长锥能通过感受外界环境的信息来决定轴突生长的方向以及延伸的长度. 当生长锥接触到髓鞘中的这些抑制分子后, 其细胞骨架结构就会发生变化, 继而引起生长锥塌陷、回缩, 轴突生长停止^[2].

对于髓鞘源性抑制分子的具体作用机制目前还未完全清楚, 但许多科学家的研究焦点都集中在一个 Rho 族小 GTP 酶成员 Rho 分子上. 研究表明, Nogo-A、MAG、OMgp 可通过共同或不同的途径激活 Rho, 继而引起生长锥塌陷^[3].

1 Rho 的概况

Rho 是 ras 相关的小分子质量 GTP 酶超家族 Rho 亚家族成员. Rho 族 GTP 酶主要包括三个成员: Rho、Rac 和 Cdc42, 均与神经发育密切相关. 它们被认为是神经元细胞膜表面受体到肌动蛋白骨架信号转导途径中的分子开关, 在调节神经元发育及突起形成中具有重要作用. 其中 Rho 在介导轴突再生抑制分子引起的生长锥塌陷过程中起着非常关键的作用^[4].

Rho 有三种异构体: RhoA、RhoB 和 RhoC, 在神经元内主要为 RhoA. Rho 通常以两种形式存在: 一种是与 GDP 结合的非活化形式 (Rho-GDP); 另一种是与 GTP 结合的活化形式 (Rho-GTP). Rho

即是通过在两种形式间不断转换来实现其分子开关作用的. 同时, Rho 的结合状态 (Rho-GDP 或 Rho-GTP) 又要受到许多调节蛋白的调节, 其中鸟苷酸交换因子 (GEFs)、GTP 酶激活蛋白 (GAPs)、鸟苷酸解离抑制因子 (GDIs) 起着关键作用. GEFs 能够促使 Rho 释放 GDP 并结合 GTP; GAPs 能刺激 Rho 分子本身的 GTP 酶活性, 使 GTP 水解为 GDP; GDIs 可抑制 Rho-GDP 与 Rho-GTP 间的转换^[5]. 因此, 这三类蛋白质相互作用, 共同调节 Rho 在两种形式间的转换.

2 Rho 在抑制轴突再生中的作用

Rho 能够介导对轴突再生的抑制作用最初是在研究溶血磷脂酸 (LPA) 引起神经突起回缩的过程中发现的, 当时研究结果表明 Rho 可能参与了 LPA 诱导的生长锥塌陷过程^[6]. 随后的研究表明, 许多胞外的导向信息分子包括 Nogo-A、MAG、OMgp 均可通过激活 Rho 介导的信号转导途径而抑制轴突生长. 1999 年 Lehmann 等^[7]在实验中发现, 通过使 Rho 发生突变或用一种来源于肉毒杆菌的 C3 转化酶抑制 Rho 的活性, 可以逆转 MAG 对神经纤维生长的抑制作用, 认为小 GTP 酶 Rho 可能在介导抑制神经元轴突再生的信号转导途径中起着重要的作用. 随后 Dergham 等^[8]研究发现, 用对 Rho 特异的 C3 转化酶灭活 Rho 或用 Y27632 阻断其下游的 Rho 相关激酶 (ROK) 的作用, 可促进在含髓鞘来源的抑制性底物中原代培养的皮层神经元

* 通讯联系人.

Tel: 021-64453296, E-mail: peihualua3@yahoo.com.cn

收稿日期: 2003-09-08, 接受日期: 2003-11-28

突起的生长。另外,在使用 C3 或 Y27632 阻断 Rho 信号转导途径后,可促进脊髓损伤后的成年小鼠轴突再生,同时其后肢功能也得到了恢复。Fournier 等^[9]的研究也发现,阻断 Rho 或 ROK 后可促进损伤的 CNS 轴突再生及动物四肢功能的恢复,同时他们还发现 Nogo-66 可提高 Rho-GTP 在总 Rho 分子中的含量,认为 Nogo-66 对 Rho 具有激活作用。

另外,在研究神经生长因子(NGF)对轴突生长的促进作用中发现 NGF 可抑制 Rho 的活性,若组成性地激活 Rho 可以逆转 NGF 对轴突生长的促进作用^[10,11]。这也从另一个侧面反映了 Rho 在介导抑制性信号对轴突再生的抑制过程中起着关键性的作用。

3 Rho 作用于肌动蛋白骨架抑制轴突再生

对于 Rho 的研究,最初主要是在成纤维细胞上进行。1992 年, Ridley 等^[12]就利用 Swiss 3T3 细胞研究发现, Rho 能够调节肌动蛋白张力纤维及局部粘着复合体的形成,进一步研究发现, Rho 对肌动蛋白参与的许多细胞功能活动都具有调节作用。随后在神经元细胞中进行研究发现, Rho 可通过作用于肌动蛋白骨架系统而引起生长锥塌陷^[4]。生长锥是神经突起末端的膨大部分,是一个活跃的运动体,其表面有丝状伪足和片状伪足。丝状伪足是生长锥伸出的指状突起,能感受环境中的信息而引导生长锥向前运动,而肌动蛋白微丝是构成丝状伪足的主要部分,也是推动其前进的主要驱动力。在生长锥的形态发生明显的改变之前,其内部的肌动蛋白等细胞骨架系统的结构就在不断地发生改变,通过肌动蛋白不断聚集和解聚以及肌球蛋白参与下,丝状伪足和片状伪足的回缩运动驱使生长锥沿着特定的方向延伸,而 Rho 正是通过作用于这一过程而影响轴突生长的^[2,13]。

4 Rho 的上下游信号联系

作为连接膜表面受体与肌动蛋白细胞骨架的分子开关, Rho 在调节细胞骨架动力学及细胞运动中起着重要作用。一些实验室在研究轴突再生抑制分子引起生长锥塌陷的机制时发现 Rho 的激活起了很关键的作用,同时阻断 Rho 或其下游信号转导途径可以逆转抑制分子对轴突再生的抑制效应,提示这些抑制分子可能通过 Rho 介导的信号转导途径引起生长锥塌陷^[14]。这一发现在很大程度上促进了轴突再生抑制分子作用机制的研究。

对于这一信号转导的详细过程即 Rho 的上下游信号联系目前还未完全清楚,但近年来 Nogo-A、MAG 和 OMgp 的共同受体 NgR 及其协同受体 p75^{NTR}的发现使得我们对 Rho 上游的信号转导途径有了突破性的认识^[15,16]。目前主要认为 Nogo-A、MAG 和 OMgp 可通过其共同受体 NgR 或其他可能的受体(如有报道说脑神经节苷脂 GD1a 和 GD1b 也可能是 MAG 的受体^[17])与 p75^{NTR}形成的复合体来实现抑制信号的跨膜传递,而 p75^{NTR}可与 Rho 结合并使之激活^[18]。

有关 Rho 的下游信号转导目前了解得还较少,主要是一类能被 Rho 激活的 Ser/Thr 蛋白激酶称作 Rho 相关激酶(ROK)^[19,20],目前研究较多的是 p160ROCK(ROCK I)及 ROCK II^[9],有研究表明 ROK 被激活后能够使肌球蛋白磷酸酶磷酸化而失活,使得肌球蛋白轻链的磷酸化程度升高,从而影响了肌动-球蛋白系统而导致生长锥塌陷^[21,22]。最近的研究也表明,ROK 可能是通过调节肌球蛋白磷酸酶及其他一些调节蛋白,如肌动蛋白解聚因子(ADF)的活性来作用于肌动-球蛋白系统,从而影响肌动蛋白聚集和解聚过程,最终导致生长锥塌陷、回缩,轴突生长停止^[23],其具体机制还有待于进一步研究。

5 结语与展望

髓鞘来源的抑制分子是 CNS 损伤后轴突再生的主要障碍之一,而 Rho 介导的信号转导途径的发现在进一步明确了其作用机制的同时,也为 CNS 损伤后再生提供了新的研究思路和治疗靶点,具有潜在的应用价值。

除 Nogo-A 等髓鞘源性的抑制分子外,研究还发现细胞外环境中的许多导向信息分子如溶血磷脂酸(LPA)、凝血酶受体激活蛋白(TRP)、激活后的前列腺素 E 受体 EP3B 等均可激活 Rho 信号转导途径引起生长锥塌陷^[6,19]。这些发现进一步揭示了 Rho 对轴突再生的重要性以及深入研究 Rho 介导的信号转导途径,尤其是 Rho 下游的信号途径的必要性。另外, Rho 家族的另两个成员 Rac、Cdc42 也与神经发育及突起的生长密切相关,但其作用与 Rho 相反,它们被激活后能促进轴突再生。而且, Rho、Rac、Cdc42 所介导的信号转导途径间具有交互影响作用^[24],提示 Rho 是处于一个复杂的调节网络当中,这也可能会给接下来的研究带来一定的困难。

参 考 文 献

- 1 Woolf C J, Bloechlinger S. It takes more than two to Nogo. *Science*, 2002, **297** (5584): 1132 ~ 1134
- 2 Hall A, Nobes C D. Rho GTPases: molecular switches that control the organization and dynamics of the actin cytoskeleton. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2000, **355** (1399): 965 ~ 970
- 3 Niederost B, Oertle T, Fritsche J, *et al.* Nogo-A and myelin-associated glycoprotein mediate neurite growth inhibition by antagonistic regeneration of RhoA and Rac1. *J Neurosci*, 2002, **22** (23): 10368 ~ 10376
- 4 Hall A. Rho GTPase and the actin cytoskeleton. *Science*, 1998, **279** (5350): 509 ~ 514
- 5 Moon S Y, Zheng Y. Rho GTPase-activating proteins in cell regulation. *Trends in Cell Biology*, 2003, **13** (1): 13 ~ 22
- 6 Jalink K, Corven E J, Hengeveld T, *et al.* Inhibition of lysophosphatidate- and thrombin-induced neurite retraction and neuronal cell rounding by ADP ribosylation of the small GTP-binding protein Rho. *J Cell Biol*, 1994, **126** (3): 801 ~ 810
- 7 Lehmann M, Fournier A, Selles-Navarro I, *et al.* Inactivation of Rho signaling pathway promotes CNS axon regeneration. *J Neurosci*, 1999, **19** (17): 7537 ~ 7547
- 8 Dergham P, Ellezam B, Essagian C, *et al.* Rho signaling pathway targeted to promote spinal cord repair. *J Neurosci*, 2002, **22** (15): 6570 ~ 6577
- 9 Fournier A E, Takizawa B T, Strittmatter SM. Rho kinase inhibition enhances axonal regeneration in the injured CNS. *J Neurosci*, 2003, **23** (4): 1416 ~ 1423
- 10 Yamaguchi Y, Katoh H, Yasui H, *et al.* RhoA inhibits the nerve growth factor-induced Rac1 activation through Rho-associated kinase-dependent pathway. *J Biol Chem*, 2001, **276** (22): 18977 ~ 18983
- 11 Nusser N, Gosmanova E, Zheng Y, *et al.* Nerve growth factor signals through TrkA, phosphatidylinositol 3-kinase, and Rac1 to inactivate RhoA during the initiation of neuronal differentiation of PC12 cells. *J Biol Chem*, 2002, **277** (39): 35840 ~ 35846
- 12 Ridley A, Hall A. The small GTP-binding protein Rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell*, 1992, **70** (3): 389 ~ 399
- 13 Thies E, Davenport R W. Independent roles of Rho-GTPases in growth cone and axonal behavior. *J Neurobiol*, 2003, **54** (2): 358 ~ 369
- 14 Borisoff J F, Chan C C, Hiebert G W, *et al.* Suppression of Rho-kinase activity promotes axonal growth on inhibitory CNS substrates. *Mol Cell Neurosci*, 2003, **22** (3): 405 ~ 416
- 15 McKerracher L, Winton M J. Nogo on the go. *Neuron*, 2002, **36** (3): 345 ~ 348
- 16 Wang K C, Kim J A, Sivasankaran R, *et al.* p75 interacts with the Nogo receptor as a co-receptor for Nogo, MAG and OMgp. *Nature*, 2002, **420** (6911): 74 ~ 77
- 17 Vyas A A, Patel H V, Fromholt S E, *et al.* Gangliosides are functional nerve cell ligands for myelin-associated glycoprotein (MAG), an inhibitor of nerve regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (2): 8412 ~ 8417
- 18 Yamashita T, Higuchi H, Tohyama M. The p75 receptor transduces the signal from myelin-associated glycoprotein to Rho. *J Cell Biol*, 2002, **157** (4): 565 ~ 570
- 19 Katoh H, Aoki J, Ichikawa A, *et al.* p160 RhoA-binding kinase ROK α induces neurite retraction. *J Biol Chem*, 1998, **273** (5): 2489 ~ 2492
- 20 Matsui T, Amano M, Yamamoto T, *et al.* Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase, as a putative target for the small GTP binding protein Rho. *EMBO J*, 1996, **15** (9): 2208 ~ 2216
- 21 Kimura K, Ito M, Amano M, *et al.* Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-like). *Science*, 1996, **273** (5272): 245 ~ 248
- 22 Schmidt J T, Morgan P, Dowell N, *et al.* Myosin light chain phosphorylation and growth cone motility. *J Neurobiol*, 2002, **52** (3): 175 ~ 188
- 23 Meyer G, Feldman E L. Signaling mechanisms that regulate actin-based motility processes in the nervous system. *J Neurochem*, 2002, **83** (3): 490 ~ 503
- 24 Yuan X B, Jin M, Xu X, *et al.* Signalling and crosstalk of Rho GTPases in mediating axon guidance. *Nat Cell Biol*, 2003, **5** (1): 38 ~ 45

Rho and Axonal Regeneration in The Central Nervous System

YU Pan-Pan¹⁾, XU Xiao-Ming^{1,2)}, LU Pei-Hua^{1)*}⁽¹⁾Department of Neurobiology, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025, China;⁽²⁾Kentucky Spinal Cord Injury Research Center, Department of Neurological Surgery, University of Louisville, Louisville, KY40292, USA)

Abstract Rho is a member of the Rho family of small GTPase, and acts as a molecular switch in some signal transduction pathway. Rho can induce growth cones collapse and inhibit axonal outgrowth by regulating the actin cytoskeleton. Recent studies have indicated that three myelin-derived inhibitors including Nogo-A, MAG and OMgp all can inhibit axonal regeneration by activating the Rho-mediated signal transduction pathway.

Key words growth cone, Rho, Rho-associated kinase

* Corresponding author. Tel: 86-21-64453296, E-mail: peihualua3@yahoo.com.cn