综述

文章编号: 1000-5404(1999)12-0958-03

蛋白激酶 C与周围神经再生

Protein kinase C and the peripheral nerve regeneration

杨 萍 综述,殷玉芹 审校 (第三军医大学基础医学部解剖学教研室,重庆 400038)

随着细胞生物学和分子生物学的飞速发展,周围神经(Peripheral nerve, PN)再生的研究重点已从 80年代采用显微外科技术加强神经修复时的精细操作逐渐转移到探讨调节神经再生的局部或整体的生物学因素。其中,神经再生的细胞内调节机制引起了人们极大的关注。细胞内生物信息传递系统是介于各种细胞外影响因素与细胞产生再生效应之间的桥梁,涉及多个重要的环节,蛋白激酶 C(Protein kinase C, PKC)就是其中之一,它通过影响多种蛋白质底物磷酸化,参与一系列与生命现象有关的过程,如参与细胞信号传递,控制细胞增殖与分化,调节基因表达,改变细胞形态,参与神经递质释放等[1]。近年来,不少学者对 PKC在 PN再生过程中的作用进行了有意义的探讨。

1 PKC在周围神经中的正常分布

PKC是 Nishizuka等于 1977年首次发现的,经过近 20年的研究,迄今为止至少已鉴定出 12种亚型,根据其结构及辅助因子的不同,通常将 PKC分成 3大类,即典型的 PKCs(α,βI ,βII ,γ),新 PKCs(δ,ε,η,θ,μ)和非典型 PKCs(ζ,λ,ι)[1,2]。PKC的这些亚型除了在结构上有差异外,在细胞和亚细胞分布上、底物特异性、对激活信号的敏感性以及对下调的易感性等方面都有所不同,因此,它们有各自特殊的功能。Miki[3]采用免疫组化的方法比较了大鼠脊髓颈段运动神经元自胚胎第 13天至生后 7周 α β γ 3种 Ca^{2+} -依赖型 PKCs分布的动态变化,发现:在胚胎第 13天,刚从神经上皮分化出来的运动神经元细胞核周围、树突和轴突内均有 α-β-γ-PKC 3种亚型分布,且酶活性反应程度相似;以后,核周的 PKC逐渐减少,胞浆、树突、轴突中 3种 PKC亚型的表达各自发生不同的变化;在生后第 28~35天,轴突中主要为 β-PKC,在核周胞质及细胞突起中 γ-PKC分布很少。这个阶段 PKC的分布与成年时期几乎相同。PKC这 3种亚型在运动神经元生长期和成熟期的不同分布,表明 PKC可能参与神经元形态和功能分化的不同方面,其在核周分布的变化也可能提示 PKC参与调节神经元细胞核的功能。Okajima等[4]用同样的方法研究了正常神经纤维中 α、β、γ-PKC的分布,发现这 3种亚型在正常有髓和无髓神经纤维中都存在,在有髓神经纤维中,它们主要分布在轴浆滑面内质网上,也散在于轴膜下,但在微管、微丝等细胞骨架区缺乏;在无髓神经纤维中,PKC弥散分布于整个轴浆。Kawano等[5]研究发现:正常神经纤维中 δ ε ζ 3种 Ca^{2+} -非依赖型 PKCs亚型同样存在,它们呈块状分布于轴浆中并不连续地分布于轴膜下。

2 PKC与周围神经再生的关系

由于 PKC在细胞中重要的生物学作用,并且在 PN中分布广泛,因此,近些年来,PKC与 PN再生的关系已引起人们的注意。有研究表明[4,5],在大鼠坐骨神经损伤后的再生过程中,Ca^{2+} -依赖型 PKCs(α、β、γ)和 Ca^{2+} -非依赖型 PKCs(δ ε ζ)亚型广泛分布于新生轴芽内,且活性明显增强,而当神经再生完成后其表达下调。由此可见 PKC在 PN再生中可能有非常重要的作用,它可能通过下列机制参与 PN再生:

2.1 PKC影响生长锥的延伸

生长锥是能引起新的胞浆突起并随之形成轴突的结构,它能对外来信号进行整合并作出适当反应。轴突的生长方向依赖于生长锥与周围环境如:细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)和细胞粘连分子(Cell adhesion molecular, CAMs)等的相互作用[6~8],而 PKC可能在生长锥的积极延伸中发挥重要的作用。首先,当轴突和生长锥形成后,PKC的激活可维持生长锥的丝状足和板状足结构,反之,则其足状突起快速回缩[9]。其次,PKC在生长锥延伸时所必需的蛋白质磷酸化中起着关键性作用[10]。再次,PKC促使神经与层粘连蛋白(Laminin)粘连,加强神经对神经生长因子(NGF)的应答反应,从而促进生长锥的延长[4]。最后,Laminin触发的生长锥的反应可能依赖于 PKC激活的细胞内信号机制[9]。

2.2 PKC参与 GAP-43的磷酸化

GAP-43(Growth associated protein-43)是神经特异性的钙调素连接蛋白,它是 PKC特异性的底物之一,其磷酸化主要由 βII -PKC调控,磷酸化发生在其第 41位丝氨酸残基上[8,11]。磷酸化和非磷酸化的 GAP-43具有不同的功能:前者直接参与轴突的生长和突触的形成,并存在于生长锥内恒定的区域,而后者与钙调素结合,并总是存在于退缩的生长锥中[8,11]。此外,2种形式的 GAP-43对 F-actin聚集的影响也不完全相同:磷酸

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39570373)

作者简介:杨 萍,女,1967.02.24生,四川省阆中市人,在读博士生,讲师,主要从事周围神经再生方面的研究。电话:(023)68752225

收稿日期:1999-03-04;修回日期:1999-07-08

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

化的 GAP-43与 F-actin具有高亲合性,直接调节 F-actin的聚集而改变生长锥的方向;而非磷酸化的 GAP-43则无此作用[11]。由此可见,GAP-43参与调节神经再生主要取决于 PKC的功能,只有被 PKC磷酸化了的 GAP-43,才能发挥其促进神经再生的作用。

2.3　PKC调节神经细胞骨架成份的磷酸化

周围神经再生的特点之一是轴突自身缺乏合成蛋白的能力,其再生所需的结构和功能物质由胞体合成后经过长距离的转运到达轴突末梢,而担任此重要功能的物质之一是微管,同时轴突的形成和径向生长也与微管密切相关[12]。处于不同状态的微管具有不同的功能。Diaz-Nido等[13]认为微管的聚集和稳定性的增加是轴突成熟和维持形状所必须的,微管的暂时解聚可使轴突改变形状。Rosner等[10]也提出,定向的轴突延伸可能基于微管的稳定和聚集成束。微管的解聚和聚集与轴突的稳定性和可塑性之间的平衡由微管相关糖蛋白(MAP)的磷酸化状态来调节,这类蛋白包括 MAP-1A(350× 10^3u),MAP-1B(320× 10^3u),MAP-2(270× 10^3u)和一组被称着 γ-因子的蛋白质,它们的磷酸化状态由不同的蛋白激酶调控。其中,MAP-2的磷酸化与 PKC密切相关。磷酸化的 MAP-2主要存在于未聚集的微管中,参与微管的解聚,有利于突起改变形状和可塑性反应[12]。细胞骨架的另一主要成份肌动蛋白控制着生长锥对细胞外信号的反应,肌动蛋白丝的聚集是调节生长锥形状和运动的重要方式,由磷酸化的 GAP-43调控[8,11],所以,PKC也可以通过间接作用方式调节着细胞骨架的结构与功能。

2.4　PKC促进 Schwann细胞增生

Schwann细胞是 PN的胶质细胞,能产生和释放大量营养因子,如 NGF脑源性神经营养因子(BDTF)、睫状神经营养因子(CNTF)、轴突趋化因子、以及 CAM,髓鞘相关糖蛋白(MAG)等,同时它还有合成、分泌和聚集 ECM,如:Laminin和Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ型胶原的能力。在离体实验中,上述蛋白质分子均是轴突生长的促进剂,其中 Laminin调节神经突起生长的作用最为显著[14]。因此,Schwann细胞良好的功能状态是周围神经成功再生必不可少的影响因素之一。PKC与 Schwann细胞的增生关系密切[4,15,16]。PN损伤以后,损伤局部 Schwann细胞内β-PKC的水平上升,显示出强烈的免疫阳性反应,并且 PKC的激活可促进损伤局部 Schwann细胞的增生[4]。Yoshimura等[15]在培养的 Schwann细胞的基质中加入神经胶质细胞生长因子(GGF),发现 Schwann细胞内 PKC的活性增加 167%,细胞内 DAG的含量增加 158%,同时,Schwann细胞的分裂增加 3倍;特别值得提出的是,GGF诱导的 Schwann细胞增殖可被 PKC抑制剂以剂量依赖的方式所抑制。此外,Schwann细胞另一细胞分裂素—血小板源性生长因子(PDGF)的受体被认为是与磷脂酰胆碱水解相关连,故 PDGF诱导的 Schwann细胞增生可能也是由 PKC中介的。Yamada等[16]曾设计了一组被称为 Twitcher鼠的动物模型,该实验动物由于缺乏半乳糖神经鞘氨醇酶(Galactosylceramidase),导致代谢毒物 Psychosine(PKC的抑制剂)在 Schwann细胞内堆集,使细胞代谢紊乱,分裂增生能力很低。为了进一步证实 PKC活性降低与 Schwann细胞减少的相关性,他们在建立此动物模型的基础上施加 PKC抑制剂 Staurosporine,发现:Schwann细胞的生长只需一般大鼠所需 Staurosporine浓度的 1/10便可以被抑制,因而,他们提出:PKC可能参与 Schwann细胞的增生。近年来,还有一些研究表明,PKC不但参与了 PN损伤后 Schwann细胞的分裂增殖,而且还能通过不同的细胞内机制参与 Schwann细胞产生促轴突生长分子的生物学过程,如 Laminin诱导神经突起生长必须有活化的 PKC参与;抑制 PKC的活性,便抑制了神经纤维与纤维连接素、胶原蛋白和 Laminin间的相互作用等[6]。

从以上的研究中可以看出,PKC在 PN再生过程中发挥了多方面的作用。它通过不同的途径直接或间接地参与 PN再生;同时,它对非神经细胞如 Schwann细胞功能的发挥也产生非常重要的影响。神经再生是多种因素共同参与、相互协调的结果,它遵循一定的程序并通过精细复杂的调控方式完成。因此,弄清 PKC以及信息传递系统其它重要环节在 PN再生中的调节作用,对于揭示神经再生的分子机制,进而在临床工作中通过人工干预来有效地促进神经损伤后的再生与功能的恢复,甚至为实现中枢神经的良好再生,都具有十分重要的理论意义及应用前景。

关键词　蛋白激酶 C;周围神经;再生
中图法分类号　R338;R345.57　　文献标识码　A

参考文献

[1] Casabona G. Intracellular signal modulation: A pivotal role for protein kinase C[J]. Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiatry, 1997, 21(3): 407-409.

[2] Newton A C. Protein kinase C: Structure, function, and regulation[J]. J Biological Chemistry, 1995, 270(48): 28495-28498.

[3] Miki A. Expression of alpha-beta and gamma-subspecies of protein kinase C in the motor neurons in the embryonic and postnatal rat spinal cord[J]. Neurosci, 1996, 72(3): 805-808.

[4] Okajima S, Mizoguchi A, Tamai K, *et al*. Distribution of protein kinase C(alpha, beta, gamma subtypes) in normal nerve fibers and in regeneration growth cones of the rat peripheral nervous system[J]. Neurosci, 1995, 66(3): 645-648.

[5] Kawano S, Okajima S, Mizoguchi A. Immunocytochemi-cal distribution of Ca^{2+}-independent protein kinase C subtypes(δ, ε, and ζ) in regeneration axonal growth cones of rat peripheral nerve[J]. Neurosci, 1997, 81(1): 263-266.

[6] Bixby J L, Jhabvala P. Extracellular matrix molecules and cell adhesion molecules induce neurites through different mechanisms[J]. J Cell Biol, 1990, 111(6, pt1): 2725-2728.

[7] Keynes R, Cook G M. Axon guidance molecules[J]. Cell, 1995, 83(2): 161-169.

[8] Dent E W, Meiri K F. GAP-43 phosphorylation is dynamically regulated in individual growth cones[J]. J

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Neurobiology, 1992, 23(8): 1037- 1039.
[9] Fan J, Raper J A. Localized collapsing cues can steer growth cones without inducing their full collapse [J]. Neuron, 1995, 14(2): 263- 274.
[10] Rosner H, Fischer H. In growth cones of rat cerebral neurons and human neuroblastoma cells, activation of protein kinase C causes a shift from filopodial to lamellipodial actin dynamics[J]. Neurosci Lett, 1996, 219(3): 175- 178.
[11] He Q, Dent EW, Meiri KF. Modulation of actin Filament behavior by GAP-43(Neuromodulin) is dependent on the phosphorylation status of serine 41, the protein kinase C site[J]. J Neurosci, 1997, 17(10): 3515- 3518.
[12] Bush M S, Tonge D A, Woolf C, *et al*. Expression of a developmentally regulated phosphorylated isoform of microtubule-associated protein 1B in regenerating axons of the sciatic nerve[J]. Neurosci, 1996, 73(2): 553- 558.
[13] Diaz-Nido J, Serrano L, Hernandez M, *et al*. Phosphorylation of microtubule protein in rat brain at different developmental stages: Comparison with that found in neuronal cultures [J]. J Neurochem, 1990, 54(1): 211- 214.
[14] Xu X M. Roles of Schwann cells in the repair and regeneration of the central nervous system [J]. Chin J Neuroanatomy, 1996, 12(4): 291- 294.
[15] Yoshimura T, Goda S, Kobayashi T, *et al*. Involvement of protein kinase C in the proliferation of cultured Schwann cells[J]. Brain Res, 1993, 617(1): 55- 58.
[16] Yamada H, Martin P, Suzuki K. Impairment of protein kinase C activity in twitcher Schwann cells *in vitro*. Brain Res, 1996, 718(1- 2): 138- 140.

(编辑 汪俭勤)

文章编号: 1000-5404(1999)12-0960-03

心脏功能的 MRI评价

MRI evaluation of cardiac function

邹利光 综述,戴书华 审校 (第三军医大学附属新桥医院放射科,重庆 400037)

MRI的成像方式大致可分为自旋回波(SE)和电影 MRI, SE序列 MRI可提供心脏三维影像,由于心腔内血液的"流空效应",很容易确定心内膜、心肌和心外膜;相反地,电影 MRI的任何成像序列(如快速梯度回波、回波平面成像等)流动的血液都表现为高信号。 MRI具有很高的空间分辨率,可准确显示人体心脏的解剖结构,它既可显示心腔的结构,也可显示心脏房室壁的结构,同时由于 MRI有较高的时间分辨率,它也可准确地反映心内跨瓣血流方式、室壁运动和增厚率、总体和区域射血分数等[1-4]。

1 心室整体收缩功能的测定

用心电图波信号激发磁共振成像(Magnetic resonance imaging, MRI)使心脏在心动周期的特定时相成像,能获得高分辨的心脏影像。 在一个心动周期中,可通过二尖瓣的运动情况确切地识别心脏各时相,紧邻二尖瓣开放前的一幅图像为收缩末期,紧邻二尖瓣关闭前的一幅图像为舒张末期,左、右心室各时相相同。左、右心房于心室收缩末为最大容积,心室舒张末期为最小容积。 将这些时相的图像选出静止于监视屏上,用计算机软件画出兴趣区,可计算心腔容积。 左心室容积的测定一般多选用垂直于室间隔的左室长轴像,于左室中部层面像连接二尖瓣中点至心尖成一直线,于该直线中点作一垂线,分别测得舒张末期和收缩末期左心室短径、左室壁和室间隔厚度。左、右心室容积测量结果见表 1,不同作者由于机器型号及检查、测量方法的不同,测量结果稍有不同[2-5]。

为了与经典成熟的 X线左室造影的右前、左前斜位对比,也有报道用 Simpson法和面积-长度法测定左心室的容积和射血分数。 取平行于室间隔的左室长轴像(LAPAS)及垂直于室间隔的左室长轴像(LAPES),将左室舒张末和收缩末图像静止于监视屏上,勾画出心内膜轮廓,即可计算出左室舒张末期容积(EDV)和收缩末期容积(ESV),结果见表 2 正常人用 2种不同方法测量结果无明显差异,但 LAPES成像所测得 EDV及 DSV均较 LAPAS像测得值大, EF值无显著差异。

K空间节段电影 MRI用于心脏的功能性检查可明显缩短检查所需时间,所需时间仅仅是心脏常规电影 MRI的 20%~40%[6]。 快速螺旋成像、回波平面成像和快速小角度激发(FLASH) 3种 MRI快速成像技术对心室容积测定的比较研究结果,梯度回波成像(FLASH)虽然时间分辨率较差,但图像质量较高,测量更可靠[7]。 电影 MRI与 X线心室造影、超声心动图、放射性同位素成像和标记物稀释法所测得左心室每搏输出量十分接近[8,9],而且有报道,电影 MRI测量的可重复性强,优

作者简介: 邹利光,男, 1964.01.19生,硕士,副主任医师,副教授,四川省江油市人,主要从事心血管影像诊断及介入治疗方面的研究,发表论文 10余篇。电话: (023)68754114-74680

收稿日期: 1999-04-21;修回日期: 1999-06-09

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net