DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.06.033

综述

脑损伤中的TGF β、TNF-α和β APP细胞信号作用

Cellular signaling roles of TGF β, TNF-α, AND βAPP in brain injury

黎海涛* 董燕麟 罗向东 (第三军医大学基础医学部解剖学教研室) 重庆,400038

在急慢性脑损伤中β淀粉前体蛋白(β amyloid precursor protein, β APP)、转化生长因子-β1(Transforming growth factor-β1,TGF β1)和肿瘤坏死因子-α(Tumor necrosis factor-α, TNF-α)是较突出的炎性细胞因子。这些脑损伤相关因子(Injury-associated factors)通过它们的变化作用(如表达水平,功能和代谢的变化,以及可能影响细胞易感性的基因和环境因素等)对中枢神经系统(CNS)产生影响。

1 TGB β、TNF-α和β APP:脑损伤的应答介质

TGF β,TNF-α和β APP都有着各自的家族成员。β APP的家族成员包括一系列进化中保存的淀粉前体类蛋白。TGF β家族的五个成员已确定,它们与哺乳动物的抑制蛋白,激活蛋白和Mullerian抑制物质有关。胶质细胞系衍生的神经营养因子(GDNF)也与TGF β家族有关[1]。TNF-α的同族包括淋巴细胞毒素-α(TGF β),CD40,CD30和CD27的配子体[2]。

激活的TGF β是一类二硫键连接的同源二聚体蛋白(Disultide-linked homodimeric protein),由两个同等的氨基酸亚单位组成。TGF β单体通过复合蛋白水解酶链由未激活的390氨基酸残基前体蛋白产生[3]。几乎所有哺乳类动物的成熟脑组织中星形胶质细胞,小神经胶质细胞和少突神经胶质细胞都能正常的表达TGF β,但神经细胞中的TGF β mRNA水平极低[4]。哺乳类动物脑内3个同源异构体TGF β已确定,而目前对TGF β1研究得最为广泛。TNF-α是一17×10^3u多体肽,它在附着TNF受体时被激活。TNF-α多由星形胶质细胞和小神经胶质细胞表达[5]。β APP是一种可能含有Kunitz型蛋白酶抑制物(Kunitz-type protease inhibitor,KPI)区的110~126×10^3u跨膜糖蛋白。从细胞表面释放两种分泌型的β APP蛋白水解裂切(Proteolytic cleavages):一种是发生于淀粉样蛋白β肽(Amyloid β-peptide,A β)序列中段(位于第16~17个氨基酸之间)的α-分泌酶(α-secretase),其导致sAPP α的释放并阻止完整A β的释放。另一分泌酶(β-secretase)在A β N-末端切开β APP从而导致sAPP β和完整A β的释放[6]。代谢和氧化损伤可能启动淀粉状蛋白β-分泌酶通路[7]。β APPs在神经细胞和胶质细胞中广泛表达,并以特殊细胞形式进行某些方式的优先表达(如神经细胞内的APP695)。

尽管TGF β、TNF-α和β APP 3者在结构上不相同,而大量的实验数据表明:在脑损伤中,与细胞反应相一致,其中的每一种细胞因子都起到了关键性的和相互制约的作用。在脑缺血和脑创伤兴奋性毒素(Excitotoxic)中,这3种细胞因子的应答水平都明显增高。由于脑缺血,兴奋性毒素和脑创伤造成的细胞损伤中一个关键问题是诱导性氧化应激反应和体内离子平衡失调。在编码TGF β_1,TNF-α和β APP基因中的启动子元件(Promoter elements)相应地将对反应性氧化物(Reactive oxygen species)和钙激活的转录因子(Transcription factors)作出应答[8]。当脑损伤引起许多不同的神经营养因子和细胞因子作出应答时,这3种细胞因子无论在短期损伤应答和慢性病变过程中都起到了尤为突出的作用[9]。

在细胞培养中,TGF β,TNF-α和β APP的多效性作用(Pleiotropic roles)可以从不同细胞对这些因子的反应中得到证实。在胶质细胞中,TGF β1抑制增生而引起神经生长因子(NGF),表皮生长因子(EGF)和白介素-6(IL-6)的产生,而且还抑制TNF-α的产生[10]。TGF β1在体内抑制小胶质细胞的激活作用(超氧化产物和表面抗原表达)以及细胞因子的产生和增生。TGF β在体外抑制了少突神经胶质细胞祖代细胞的增生,并启动了包括中脑多巴胺能神经(Dopaminergic neurons)和运动神经在内的CNS不同区域神经细胞的存活[11]。并且在培养的海马神经元中引起轴突的外生。TNF-α引起胶质细胞和神经祖代细胞的增生以及胶质细胞中NGF的产生。依靠细胞外蛋白质中的肝素附着区域,β APP可以影响神经细胞的附着,而sAPP α可能引起包括成纤维细胞在内的非神经细胞的增生,并能启动大量神经细胞的增殖和轴突的外生。相反,β APP衍生物A β能损毁和杀伤神经细胞,并能在星形细胞和小胶质细胞中引起反应性表型(Reactive phenotypes)[12]。

TGF β、TNF-α和β APP不仅各自在脑内能影响多种细胞形式,而且对互相的细胞形式表达也能造成影响。例如,TGF β1在培养的星形细胞和小胶质细胞能引起全β APP mRNA水平增长6倍[13]。TNF-α在星形细胞中引起TGF β的表达,而TGF β却相反抑制由星形细胞产生的TNF-α[14]。另一方

* 黎海涛,男,45岁,讲师,博士研究生

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

面，A β在星形细胞中引起 TNF-α 的表达。

2　TGF β、TNF-α 和 β APP 之间的信号传导通路

现已确定了 3 种不同的 TGF β受体，分别命名为第Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型受体，第Ⅰ、Ⅱ型受体介导高化学亲和力附着和信号传导。而第Ⅲ型受体是一蛋白聚糖，可能在将 TGF β传导到第Ⅰ、Ⅱ型受体中起作用。第Ⅰ、Ⅱ型受体在细胞质的 C 末端含有丝氨酸-苏氨酸激酶区(Serine-threonine-kinase domain)。实验表明，TGF β信号主要通过第Ⅰ，Ⅱ型受体的侧突二聚体(Heteromeric dimer)[14]。TNF-α 以相等的亲和力附着于两个独立的受体——P55 和 P75，而两个受体却以不同的传导通路相联系。TNF-α 附着于 P55 受体启动了一个与膜相连的神经鞘磷脂酶(Sphingomyelinase)，它从神经鞘髓磷脂中释放神经酰胺(Ceramide)。神经酰胺通过刺激激酶(Kinase)使 NFkB 化合物的 IkB 亚单位磷酸化，从而激活转录因子 NFkB[15]。非激活状态时，NFkB 由位于细胞质的三个蛋白质构成：P50，P65 和 IkB。信号通过引起泛素介导(Ubiqintin-mediated)的 IkB 解离而激活 NFkB；P50-P65 二聚体易位进入细胞核，与含有特异性 kB 附着序列的 DNA 元件结合。相比起来，P75 的信号传导通路不尽确定，但最近的实验数据提示 TNF-α 的附着引起了被称为 TRAF1 和 TRSF2 的受体相关细胞质蛋白(Receptor-associated cytoplasmic proteins)的联系[16]。

在神经细胞中的特异性 sAPP 附着点和 sAPP 在微微克分子(Picomolar)浓集水平影响神经细胞已得到证实[17]，介导 sAPP 引起信号传导的受体却尚未确定。然而，我们可以从 sAPP α 的细胞生物学中得到对这种受体本质的启示。β APP 以轴突式传导并在突触前端浓集。sAPP α s 作为 α-分泌酶活化的结果而被释放，在神经细胞中，可由细胞的活性(如膜的去极化作用)而引起 α-分泌酶的活化。最近的研究也提示释放性 sAPP α 的分泌机理与 TGF α 的方式相似[18]。海马区对刺激状态的反应可引起 sAPP 的最大量释放，并可引起递质谷氨酸的释放，这提示 sAPP α 的释放伴有神经递质的释放。介导sAPP α 活动的信号传导机制可能包括了一种联系 cGMP 水平升高，cGMP 依赖性蛋白激酶刺激以及高传导-敏感 K^+ 通道活动的受体[17]。实验提示 sAPP α 受体可能含有内在的鸟氨酸环化酶活性，因为从分离的大脑皮层 sAPP α 可引起 cGMP 的产生，而且在正常细胞内这种过程不受一氧化氮合酶阻断剂的影响[19]。

3　TGF β、TNF-α 和 β APP 对 CNS 的影响

为了研究 TGF β1 对 CNS 的影响，在转基因大鼠的胶质细胞内用胶质纤维酸性蛋白(GFAP)基因过度表达一种 TGF β的生物活性方式。在失控的转基因大鼠体内，由于星形胶质细胞过度表达 TGF β1，在 CNS 产生了一种较强的细胞外基质(ECM)高调控蛋白，包括层粘蛋白(Laminin)，纤维粘连蛋白(Fibronectin)，和硫酸肝素粘蛋白(Heparan sulfate proteolycan)。在转基因纯合子与杂合子对应联系中增高的 TGF β1 伴有 ECM 的表达的进一步的提高。TGF β1 表达的胶质细胞邻近区域(如脑血管和细胞膜周围)，ECM 成分表达增高得尤为明显。这提示 TGF β1 作为 ECM 成分有力的诱导物，在神经系统病变中起着重要作用。依靠不同的因子，TGF β1 具有前炎症(Proinflammatory)或免疫抑制(Immunosuppressive)作用[3]。虽然失控 TGF β1 转基因大鼠没有 CNS 炎症浸润的表现，免疫激发(Immune-challenged)TGF β1 转基因大鼠对实验性自动免疫性脑脊髓炎却显得更加敏感。与非转基因大鼠比较，前者临床症状表现得更加明显，在脊髓中单核细胞的浸润得更为广泛。在失控状态的转基因大鼠研究中，TGF β1 低水平表达的大鼠表现为健康状态，而高水平表达者却出现脑积水和神经系统异常表现，并且产后早期就死亡[20]。值得注意的是，除了 TGF β，TNF-α 和 β APP 以外，还有许多其它细胞因子参与象转基因这样的脑损伤反应。例如，大鼠过分表达 IL-6 将引起严重的神经系统改变，如共济失调，震颤及卒中。它提示了这种细胞因子在 CNS 中具有较明确的影响。在体内由特异性转基因产物引起的 CNS 的改变将主要依靠以下因素：①总的和区域性的转基因表达的水平；②转基因产物的细胞来源；③转基因表达的时间过程；④使用的观察方法；⑤病理共同因素的存在。虽然尚不能排除体内低水平 TGF β1 表达具有神经保护作用，但实验已表明胶质细胞 TGF β1 过度表达的许多结果都具有潜在的神经病理作用，高水平 TGF β1 过度表达在脑积水的发展中起一定作用，低水平 TGF β1 过度表达则加重 CNS 炎症性和淀粉样病变(Amyloidogenesis)。

从缺乏 TNF 受体的动物实验中观察到 TNF-α 对脑组织的作用。运用单纯缺乏 P55 和 P75 受体的纯合子杂交技术引起大鼠的两个受体丧失(TNFR-KO)[21]。这种大鼠没有明显的表型，而对免疫激发应答发生改变。尽管 TNFR-KO 大鼠没有明显的脑组织形态学和行为变化，但已证实对脑损伤有明显的细胞应答改变。接扎 TNFR-KO 大鼠大脑中动脉，脑缺血区明显大于对照组[21]。损伤 TNFP-KO 大鼠海马神经，癫痫病情明显加重，提示内源性 TNF 具有神经保护功能。在兴奋性毒素和缺血性损伤中，内源性 TNF-α 的神经保护作用可能有抗氧化剂(Antioxidant)的参与，因为在 TNFR-KO 大鼠的 CA3 神经区中由红藻氨酸(Kainic acid)引起的脂质过氧化物水平高于对照组。此外，在对照组红藻氨酸引起海马 CA3 区 Mn-SOD 免疫反应性增高，而在 TNF-KO 大鼠却无此发现，这提示损伤引起的这种抗氧化酶的 TNF-α 具有保护作用。

综上所述，TGF β，TNF-α 和 β APP 作为重要的细胞因子，在脑损伤中，不仅它们的功能和价值有待近一步深入研究，它们的基因表达调控，结构和功能，信号传递机制等诸方面也存在着未知的课题。特别是三者之间的信号传递调控点的研究发

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

现与脑损伤的发生,发展和结果密切相关。目前某些调节通路虽已明确,但这些因子之间复杂的信号传递关系,它们在脑损伤过程中的确切作用以及与其他重要基因产物的关系等研究内容需要更细致和广泛地探讨。

关键词 淀粉前体蛋白;转化生长因子;肿瘤坏死因子;细胞因子;脑损伤

中图法分类号 R394.2;R651.15

参考文献

1 Lin, L-F H, Doberty. GDAF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. Science,1993,260(5111):1130

2 Farrah T, Smith C A. Emerging cytokine family. Nature, 1992,358(6381):26

3 McCartney-Francis N L, Wahl S. Transforming growth factor β:a matter of life and death. J Leukoc Biol,1994,55 (3):401

4 Da Cunha A, Jefferson J A, Jackson R W. Glial cell-specific mechanisms of TGF-β1 induction by IL-1 in cerebral cortex. J Neuroimmunol,1993,42(1):71

5 Benveniste E N, Benos D J. TNF-α and IFN-γ-mediated signal transduction pathways:effects on glial cell gene expression and function. FASEB J,1995,9(15):1577

6 Selkoe D J. Cell biology of the amyloid β-protein precursor and the mechanism of Alzheimer's disease. Annu Rev Cell Biol,1994,10:373

7 Gabuzda D, Busciglio J, Chen L. Inhibition of energy metabolism alters the procession of amyloid precursor protein and induces a potentially amyloidogenic derivative. J Biol Chem,1994,269(18):13623

8 Tran-Thi T A, Decker K, Baeuerle P A. Differential activation of transcription factors NF-Kappa B and AP-1 in rat liver macrophages. Hepatology,1995,22(2):613

9 Rothwell N J, Hopkins S J. Cytokines and the nervous system Ⅱ:actions and mechanisms of action. Trends Neurosci,1995,18(3):130

10 Benveniste E N, Kwon J, Chung W J, *et al*. Differential modulation of astrocyte cytokine gene expression by TGF-β. J Immunol,1994,153(11):5210

11 Krieglstein K, Rufer M, Suter-Crazzolara C, *et al*. Neural functions of the transforming growth factors β. Int J Neurosci,1995,13(1):1

12 Mark R J, Hensley E, Butterfield D A, *et al*. Amyloid β-peptide impairs ion-motive ATPase activities evidence for a role in loss of neuronal Ca^{2+} homeostasis and cell death. J Neurosci,1995,15(10):6239

13 Gray C W, Patel A J. Regulation of β-amyloid precursor protein isoform mRNAs by transforming growth factor-β1 and interleukin-1 β in astrocytes. Mol Brain Res,1993,19 (3):251

14 Pike C J, Cummings B J, Monzavi R, *et al*. β-Amyloid-induced changes in cultured astrocytes parallel reactive astrocytosis associated with senile plaques in Alzheimer's disease. Neuroscience,1994,63(2):517

15 Miyazono K, Dijke P, Yamashita H, *et al*. Signal transduction via serine/threonine kinase receptors. Semin. Cell Biol,1994,5(6):389

16 Kolesnick R, Golde D W. The sphingomyelin pathway in tumor necrosis factor and interleukin-1 signaling. Cell, 1994,77(3):325

17 Rothe M, Pan M-G, Henzel W J, *et al*. The TNFR2-TRAF signaling complex contains two novel proteins related to baculoviral inhibitor of apoptosis proteins. Cell, 1995,83(7)1243

18 Furukawa K, Barger S W, Blalock E, *et al*. Activation of K^+ channels and suppression of neuronal activity by secreted β-amyloid precursor protein. Nature,1996,379(6560): 74

19 Arribas J, Massague J. Transforming growth factor-α and β-amyloid precursor protein share a secretory mechanism. J Cell Biol,1995,128(3):433

20 Barger S W, Mattson M P. Secreted form of the Alzheimer's amyloid precursor protein stimulates a membrane-associated guanylate cyclase. Biochem J,1995,311 (1):45

21 Wyss-Coray T, Feng L, Malish E, *et al*. Increased central nervous system production of extracellular matrix components and development of hydrocephalus in transgenic mice overexpressing transforming growth factor-β1. Am J Pathol,1995,147(1):53

(收稿:1999-03-02;修回:1999-05-07)

(编辑 汪勤俭)

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